

(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  
2012年6月28日(28.06.2012)



(10) 国際公開番号  
WO 2012/086197 A1

- (51) 国際特許分類:  
G01N 33/68 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)  
G01N 27/62 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/007150
- (22) 国際出願日: 2011年12月21日(21.12.2011)
- (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 2010-285726 2010年12月22日(22.12.2010) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社MCBI (MCBI INC.) [JP/JP]; 〒3050035 茨城県つくば市松代4-9-29 Ibaraki (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 内田 和彦 (UCHIDA, Kazuhiko) [JP/JP]; 〒3050035 茨城県つくば市松代4-9-29 株式会社MCBI Ibaraki (JP). 目野 浩二 (MENO, Kohji) [JP/JP]; 〒3050035 茨城県つくば市松代4-9-29 株式会社MCBI Ibaraki (JP). 鈴木 秀昭 (SUZUKI, Hideaki) [JP/JP]; 〒3050035 茨城県つくば市松代4-9-29 株式会社MCBI Ibaraki (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, 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, 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, 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, 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, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告(条約第21条(3))  
— 明細書の別個の部分として表した配列リスト(規則 5.2(a))

(54) Title: BIOMARKER FOR COGNITIVE DYSFUNCTION DISEASES, AND METHOD FOR DETECTION OF COGNITIVE DYSFUNCTION DISEASES USING THE BIOMARKER

(54) 発明の名称: 認知機能障害疾患のバイオマーカーおよび該バイオマーカーを用いる認知機能障害疾患の検出方法

(57) Abstract: [Problem] To provide: a method for detecting cognitive dysfunction diseases including mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using a protein of which the abundance in a non-cognitive dysfunction subject and the abundance in a cognitive dysfunction disease patient are different from each other or a partial peptide of the protein; and a biomarker for detecting cognitive dysfunction diseases including mild cognitive impairment and Alzheimer's disease, which comprises the protein or the partial peptide. [Solution] A biomarker for diagnosing cognitive dysfunction diseases, which comprises at least one protein selected from proteins which respectively have the amino acid sequences represented by SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23 and 25 and partial peptides of the proteins which respectively have the amino acid sequences represented by SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 and 27 or a peptide fragment which is produced from the aforementioned protein and is composed of at least five amino acid residues; and a diagnosis method using the biomarker.

(57) 要約: 【課題】 非認知機能障害被験者と認知機能障害疾患患者において存在量が異なるタンパク質およびその部分ペプチドを用いて軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患を検出する方法ならびに該タンパク質および該部分ペプチドからなる軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーの提供。【解決手段】 配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25のタンパク質および、これらのタンパク質の部分ペプチドである配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、27で表されるアミノ酸配列から選択される少なくとも1つのタンパク質またはタンパク質から生じるアミノ酸残基5個以上のペプチド断片からなる認知機能障害疾患の診断のためのバイオマーカーならびにこれを用いた診断方法。

WO 2012/086197 A1

## 明 細 書

発明の名称：

認知機能障害疾患のバイオマーカーおよび該バイオマーカーを用いる認知機能障害疾患の検出方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患の検出に用い得る新規なタンパク質およびペプチドであるバイオマーカーおよび該バイオマーカーを用いた認知機能障害疾患の検出方法に関する。

### 背景技術

[0002] 生体の正常と正常以外の状態を呈する試料を用いてその差異を判別する手段としては、一般的には体外診断薬において用いられてきた技術が主たる従来技術である。体外診断薬のうち最も多いのが、血液中の成分をバイオマーカーとして分析することで診断検査を行うものである。本分野における従来技術では、血液中の単独の特定のタンパク質または分子量1万以下のいわゆるペプチドの存在量、あるいは酵素タンパク質の場合は活性の測定を行って、正常(健常人)試料と疾患試料との明らかな差をもって診断の一助としてきた。すなわちあらかじめ一定数の健常人と疾患患者由来の試料における単独もしくは複数の特定のタンパク質またはペプチドの量もしくは活性量を計測し、異常値と正常値の範囲を決め、評価する試料を同様の方法で測定し、異常値と正常値のどちらの範囲に属するかによって検査評価を行うものである。

[0003] 具体的な計測方法としては、試料をそのまま、またはあらかじめ希釈しておき、単独または複数の特定のタンパク質またはペプチドの量を、基質と反応させると発色する酵素によって標識された特異的1次抗体または2次抗体を用いて、試料の発色量で計測する酵素結合免疫吸着測定法(ELISA; Enzyme Linked Immunosorbent Assay)や化学発光測定法(CLIA; ChemiLuminescent Immunoassay)と、1次抗体または2次抗体に結合させたラジオアイソト

ープを用いて計測する放射性免疫測定法(RIA; RadioImmunoassay)、タンパク質が酵素の場合は直接基質を与えて産生物を発色などで計測する酵素活性測定法などがある。抗体を用いるこれらの方法を酵素もしくは蛍光もしくは放射性物質標識抗体法と呼ぶこととする。また酵素の基質分解産物を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析する方法もある。またHPLCと質量分析装置を組み合わせたLC-MS/MS法ならびにこれを用いたselected reaction monitoring (SRM)/multiple reaction monitoring (MRM)法もある。また、試料に適当な前処理を施した後、2次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動(2D-PAGE)を行ってタンパク質またはペプチドを分離した後、目的のタンパク質またはペプチドについて銀染色、クマシーブルー染色、あるいは対応する抗体を用いた免疫染色(ウエスタン・ブロッティング)を行って、試料中の濃度を測定する方法もある。また、生体試料をカラムクロマトグラフィーによって分画し、その画分に含まれるタンパク質とペプチドを質量分析によって分析する手法がある。またカラムクロマトグラフィーではなく、前処理としてプロテインチップを用いて質量分析する方法や、前処理として磁気ビーズを用いて質量分析する方法がある。

[0004] さらに、発明者はビーズ(磁気ビーズを含む)に対象となるタンパク質またはペプチドに対する抗体を結合させ、これにより測定したいタンパク質またはペプチドを捕捉したのち、ビーズから溶出して質量分析により測定するimmunoMS法を開発している。またインタクトなタンパク質の解析を目的としてトリプシンなどで分解した後、上記の方法で質量分析まで行う方法も報告されている(特許文献1参照)。しかしいずれもインタクトなタンパク質の性質を利用して、そのまま分画し、または特異的に吸着するタンパク質分子を選別して質量分析で解析するものである。

[0005] アルツハイマー病を主とする認知機能障害疾患は、我が国においても近年の高齢化に伴って急激に増加している。1995年に約130万人であったが、2005年には約190万人となり、2020年には約300万人に達すると予想されている。アルツハイマー病は認知機能障害疾患の60~90%を占めると言われている。本

疾患は患者の記憶を喪失させるのみでなく人格をも崩壊して患者の社会生活機能を喪失させてしまうことから、社会問題化しつつある。本邦においては1999年末に抗アセチルコリンエステラーゼ阻害薬である塩酸Donepezilが認可を受け、早期に投与されれば高い確率で認知機能の低下を「遅らせる」ことができるようになった。アルツハイマー病においては、現状の治療法やこれから開発される治療薬効果をあげるためには早期に診断することが最重要の課題となっている。

[0006] 米国精神医学会によるアルツハイマー病の主たる診断基準(DSM IV)を以下に示す。

A. 多彩な認知欠損の発現で、以下の両方により明らかにされる。

(1)記憶障害(新しい情報を学習したり、以前に学習した情報を想起する能力の障害)

(2)以下の認知障害の一つまたはそれ以上

a)失語(言語の障害)

b)失行(運動機能の障害がないにもかかわらず、動作を行う能力の障害)

c)失認(感覚機能の障害がないにもかかわらず、対象を認識または同定する能力の障害)

d)実行能力(計画を立てる・組織化する・順序だてる・抽象化する)の障害

B. 基準A(1)およびA(2)の認知欠損は、その各々が社会的または職業的機能の著しい障害を引き起こし、病前の機能水準から著しい低下を示す(非特許文献1)。

[0007] アルツハイマー病(Alzheimer disease)(AD)の関連疾患にはいろいろなものがある。ADなどの認知症は徐々に認知機能の低下が出現するため、認知症の前駆状態と呼ぶべき状態が存在する。このような状態を軽度認知障害(mild cognitive impairment)(MCI)と呼んでいる。米国のデータでは物忘れ外来を受診したMCIのうち、1年に10-15%、4年間でおよそ50%がADに移行すると

いう。ADの前駆状態の大部分は健忘型MCIに含まれる。現在の定義によると、MCIは認知機能の低下に関する訴えが聞かれるが、基本的な日常生活には支障がない状態とされる。前頭側頭型認知症(FTD)は認知機能低下とともに周囲を気にせずわが道を行く行動が特徴的で、周囲に合わせようとするADと対照的である。FTDには大脳皮質に組織学的にPick球の存在を認めるPick病が含まれる。レビー小体型認知症(DLB)は、記憶障害が進行性であり幻視などの視覚認知障害があることを特徴としている。臨床症状からの診断では認知症の10~30%がDLBであり、老年期の変性性認知症疾患ではアルツハイマー型認知症(AD)に次いで2番目に多いとされる。組織学的には大脳におけるレビー小体の存在を特徴とする。FTDおよびDLBは認知症を認め痴呆型であるので痴呆型神経疾患とも呼ばれる(非特許文献1)。

[0008] 本発明において、認知機能障害疾患と総称するとき、MCI、ADおよび痴呆型神経疾患を含むものとする。

[0009] 認知症の診断に広く用いられている検査は、改訂長谷川式知能評価スケール(HDS-R)とMMSE (Mini-Mental State Examination)で、被験者への問診を行い、その結果から判断するものである。HDSは1991年に改訂されてHDS-Rと称されるようになった。これは9項目の質問からなり、見当識、記銘力、計算能力、記憶・想起および常識をテストするものである。30点満点で23点以下を認知症の疑いありとする。また、MMSEは痴呆の診断のために米国で考案されたもので、見当識、記憶力、計算力、言語的能力、図形的能力などをカバーする。30点満点で11の質問からなり、HDS-Rと同様に23点以下で認知症の疑いありとする。両テストの結果は割合によく一致するとされている。これらの問診法はあくまでスクリーニングの目的で用いられ、確定診断に至ることはないし、HDS-R、MMSEともに重症度分類に用いられることはない(非特許文献1)。

[0010] 画像診断法としては、脳萎縮・脳溝脳室拡大など、脳の形態的異常を見るCT・MRIと脳血流量を見る脳血流シンチグラフィ(SPECT)および酸素消費量・ブドウ糖消費量を見るポジトロン断層法(PET)がある。SPECTおよびPETは核医学

的方法で、形態的異常の起きる前に異常を検出することができる(非特許文献1)。しかし、これらの画像診断は特殊な設備を必要とするため、すべての医療機関で実施することができないという欠点を有する。また画像を見る医師によって判断が異なることがあり、客観性に欠ける。

[0011] このようにADを含む認知症の診断は、客観性を欠く、かつ高価な装置の使用を前提とした方法に依存しているのが現状であり、疾患発見のためのスクリーニングは不可能である。ここに血液(血清、血漿を含む)のような容易に得られる患者の試料を用いて客観的診断を可能にするバイオマーカーが見出されるならば、スクリーニングを行うことによって、現在最重要の課題となっている認知機能障害疾患の早期発見が可能となる。本発明はそのような新規バイオマーカーおよび該バイオマーカーを用いた認知機能障害疾患の検出方法を提供するものである。

## 先行技術文献

### 特許文献

[0012] 特許文献1：特開2004-333274号公報

[0013] 特許文献2：特開2006-308533号公報

### 非特許文献

[0014] 非特許文献1：中野今治、水澤英洋編集：よくわかるアルツハイマー病、2004、永井書店

[0015] 非特許文献2：N. Benkiraneら、J. Biol. Chem. Vol. 268, 26279-26285, 1993

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0016] 本発明は、非認知機能障害被験者(健常人を含み、何らかの疾患に罹患していてもよいが認知機能障害疾患を含む精神疾患に罹患していない認知機能障害被験者と年齢と性別をマッチさせた被験者non-demented control、以下、NDCと略称する)と認知機能障害疾患患者において存在の有無、存在量が異なる

るタンパク質およびその部分ペプチドを用いて軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患を検出する方法を提供し、さらに該タンパク質および該部分ペプチドからなる軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーの提供を目的とする。

### 課題を解決するための手段

- [0017] 本発明者は、認知機能障害疾患を検出する方法について鋭意検討を行い、軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患を検出することができるペプチドを血清中に見出した。本発明において見出された該ペプチドは血清中のみならず、血液、血漿、脳脊髄液、尿などの他の生体試料中に検出される場合もバイオマーカーとして意義をもつものである。同時に、これらのペプチドの起源であるタンパク質またはペプチド(以下、インタクトタンパク質またはペプチドと称する)もバイオマーカーとしての意義をもつ。
- [0018] 具体的には、本発明者は、配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma、配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor、配列番号9で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein、配列番号11で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2、配列番号13で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin、配列番号15で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin、配列番号17で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16、配列番号19で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-A、配列番号21で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-B、配列番号23で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 1)、および配列番号25で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 2)からなる群から選択される少なくとも1つのタンパク質ないしペプチドまたは該タンパク質ないし該ペプチドから生じるアミノ酸残基5個以上のペプチド断

片を認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカーとして用い得ることを見出した。

[0019] さらに、配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3由来ペプチドC03、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma由来ペプチド AP2C、配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3由来ペプチドSYN3、配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor由来ペプチドOXYR、配列番号10で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチドITH5L、配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2由来ペプチドHERC2、配列番号14で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin由来ペプチドTHRB、配列番号16で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin由来ペプチドTTHY、配列番号18で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチドTNR16、配列番号20で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-1、配列番号22で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-2、配列番号24で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-1、配列番号26で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-2、および配列番号27で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-3を認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカーとして用い得ることを見出した。

[0020] 本発明者らは、さらに、これらのタンパク質やペプチドないしペプチド断片を2次元液体クロマトグラフィー(2D-LC) MALDI TOF-MS法(質量分析法)やimmunoMS法を用いることにより、一度に多数のタンパク質ないしペプチド断片を測定することに成功し、本発明を完成させるに至った。

[0021] すなわち、本発明の態様は以下のとおりである。

[1] 配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3、配列番

号3で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma、配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor、配列番号9で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein、配列番号11で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2、配列番号13で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin、配列番号15で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin、配列番号17で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16、配列番号19で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-A、配列番号21で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-B、配列番号23で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 1)、および配列番号25で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 2)からなる群から選択される少なくとも1つのタンパク質ないしペプチドまたは該タンパク質ないし該ペプチドから生じるアミノ酸残基5個以上のペプチド断片からなる認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカー。

[0022] [2] 配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3由来ペプチドC03、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma由来ペプチド AP2C、配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3由来ペプチドSYN3、配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor由来ペプチドOXYR、配列番号10で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチドITH5L、配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2由来ペプチドHERC2、配列番号14で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin由来ペプチドTHRB、配列番号16で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin由来ペプチドTTHY、配列番号18で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチドTNR16、配列番号20で表されるア

ミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-1、配列番号22で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-2、配列番号24で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-1、配列番号26で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-2、および配列番号27で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-3から選択される認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカー。

[0023] [3] 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26および27で表されるアミノ酸配列からなるペプチドから選択される、認知機能障害疾患患者生体試料中において、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加する認知機能障害疾患バイオマーカー。

[0024] [4] 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26および27で表されるアミノ酸配列からなるペプチドから選択される、アルツハイマー病患者生体試料中において、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加するアルツハイマー病バイオマーカー。

[0025] [5] 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26および27で表されるアミノ酸配列からなるペプチドから選択される、軽度認知障害患者生体試料中において、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加する軽度認知障害バイオマーカー。

[0026] [6] 生体試料中の[1]~[5]のいずれか1項に記載の少なくとも1つの認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカーを測定することを含む、認知機能障害疾患の検出方法。

[0027] [7] 検出がイムノ・ブロット法またはウエスタン・ブロット法、酵素もしくは蛍光もしくは放射性物質標識抗体法または質量分析法またはimmunoMS法または表面プラズモン共鳴法により行われる[6]に記載の認知機能障害疾患

の検出方法。

[0028] [8] [1]～[5]のいずれか1項に記載の少なくとも1つのバイオマーカーを測定するための認知機能障害疾患の検出キット。

[0029] [9] [1]～[5]のいずれか1項に記載の少なくとも1つのバイオマーカーに対する抗体もしくはアプタマーを含む認知機能障害疾患の検出キット。

### 発明の効果

[0030] 本発明によれば、被験者由来の生体試料中の配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma、配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor、配列番号9で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein、配列番号11で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2、配列番号13で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin、配列番号15で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin、配列番号17で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16、配列番号19で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-A、配列番号21で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-B、配列番号23で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 1)、および配列番号25で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 2)からなる群から選択される少なくとも1つのタンパク質ないしペプチドまたは該タンパク質ないし該ペプチドから生じるアミノ酸残基5個以上のペプチド断片から選択される少なくとも1つのバイオマーカーの量を計測することにより、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加する場合に当該被験者は軽度認知障害ないしアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患に罹患していると診断することができる。

[0031] また、本発明によれば、被験者由来の生体試料中の配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3由来ペプチドC03、配列番号4で表され

るアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma由来ペプチドA P2C、配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3由来ペプチドSY N3、配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor由来ペプチドOXYR、配列番号10で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチドITH5L、配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2由来ペプチドHERC2、配列番号14で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin由来ペプチドTHRB、配列番号16で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin由来ペプチドTTHY、配列番号18で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチドTNR16、配列番号20で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-1、配列番号22で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-2、配列番号24で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-1、配列番号26で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-2、および配列番号27で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-3からなる群から選択される少なくとも1つのペプチドの種類および量を計測することにより、精神疾患には罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加する場合に当該被験者は軽度認知障害ないしアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患に罹患していると診断することができる。

[0032] 本発明は、また精度および特異性の両方が極めて高い診断システムを提供する。本発明によって血液のような生体試料について特定の検査方法がなかった認知機能障害疾患に対して精度の高い診断がはじめて可能になる。さらに、本発明のバイオマーカーは、薬剤効果判定においても有用性が高い。

### 図面の簡単な説明

[0033] [図1](A)で示す長方形内の点(その集団をクラスターと呼ぶ)は個々の被験者の血清に検出されたMarker AのC18逆相クロマトグラフィー(2次元目)にお

ける質量ピークの保持時間(Retention Time)とm/zである。クラスター内の点は誤差範囲内で同一m/zかつ同一保持時間にあるとみなすことができ、同一ペプチドに由来すると規定される。

[図2]Marker Aの場合の差異解析の結果(ドット図)。Marker Aは図4のMS/MS解析の結果得られたアミノ酸配列に示すように、Complement C3由来ペプチドC03である。図2はC03に関する認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)とNDC間の比較である。

[図3]配列番号2 C03のROC曲線。ROC曲線の定義は実施例、結果の項を参照。A)はAD対NDC、B)はMCI対NDCの比較における、受信者操作特性曲線による分析で得たROC曲線である。

[図4]TOF/TOF型質量分析計によるMS/MSスペクトル図。図4上部にC03のアミノ酸配列と、MS/MSスペクトルで現れるbイオンとyイオンを示した。

[図5]配列番号4 AP2Cの差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図6]配列番号6 SYN3の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図7]配列番号8 OXYRの差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図8]配列番号10 ITH5Lの差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図9]配列番号12 HERC2の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図10]配列番号14 THRBの差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図11]配列番号16 TTHYの差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図12]配列番号18 TNR16の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図13]配列番号20 C04-1の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図14]配列番号22 C04-2の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図15]配列番号24 FIBA-1の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図16]配列番号26 FIBA-2の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

[図17]配列番号27 FIBA-3の差異解析の結果。精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と認知機能障害疾患患者(AD、MCI、DLB、FTD)間の比較である。

### 発明を実施するための形態

[0034] 本発明は、被験者が認知機能障害疾患に罹患しているとき、インタクトなタンパク質および／またはその部分ペプチドの種類および量を検出すると同時に、インタクトなタンパク質とその部分ペプチドの種類と量の変動を測定することにより被験者が認知機能障害疾患に罹患しているかどうかを診断する方法である。ここで、ペプチドは、一般的には分子量1万以下のアミノ酸が連結したものをいい、あるいはアミノ酸残基の数としては数個から50個以下程度のものをいう。本発明においては、インタクトなタンパク質の部分ペプチドを認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーとして用い得るが、部分ペプチドという場合、インタクトなタンパク質の有するアミノ酸配列の一部の部分的アミノ酸配列を有するペプチドであって分子量1万以下のものをいう。本発明において、インタクトなタンパク質の部分ペプチドとは、インタクトなタンパク質の有するアミノ酸配列の一部の部分的アミノ酸配列を有するペプチドをいい、転写・翻訳による発現合成過程で部分ペプチドとして生成する場合と、インタクトなタンパク質として合成された後に、生体内で消化分解を受けて消化分解産物ペプチドとして生成する場合がある。この原因としては、生体が認知機能障害疾患等の正常以外の状態にあるときに、タンパク質の合成および制御機構が脱制御されることが挙げられる。すなわ

ち、本発明は、生体内のタンパク質の発現合成および／または消化分解を指標として被験者が正常状態であるか認知機能障害疾患に罹患しているかを判別し、また認知機能障害疾患に罹患している場合の疾患の進行度をも評価判別する方法でもある。本発明において、認知機能障害疾患の検出とは、被験者が認知機能障害疾患に罹患しているかどうかの評価判別、すなわち診断を行うことをいう。また、被験者がより重篤な認知機能障害に罹患するリスクの評価等も含み得る。

[0035] 本発明の方法において、認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーとして用い得るインタクトなタンパク質として、具体的には、配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma、配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor、配列番号9で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein、配列番号11で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2、配列番号13で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin、配列番号15で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin、配列番号17で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16、配列番号19で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-A、配列番号21で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-B、配列番号23で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 1)、および配列番号25で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 2)が挙げられ、これらのインタクトなタンパク質の部分ペプチドであるアミノ酸残基5個以上のペプチド断片も同じ目的に用い得る。

[0036] また、認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーとして用い得る部分ペプチドとして、配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3由来ペプチドC03、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるTranscripti

on factor AP-2 gamma由来ペプチドAP2C、配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3由来ペプチドSYN3、配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor由来ペプチドOXYR、配列番号10で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチドITH5L、配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2由来ペプチドHERC2、配列番号14で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin由来ペプチドTHRB、配列番号16で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin由来ペプチドTTHY、配列番号18で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチドTNR16、配列番号20で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-1、配列番号22で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-2、配列番号24で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-1、配列番号26で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-2、および配列番号27で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-3が挙げられる。本発明においては、上記のインタクトなタンパク質およびペプチドをマーカーとして用いるが、配列番号1~27で表されるアミノ酸配列において、1個または数個のアミノ酸が欠失、置換、付加したアミノ酸配列からなるタンパク質およびペプチドも含み、これらのタンパク質またはペプチドも本発明の方法においてバイオマーカーとして用いることができる。ここで、「1個または数個」とは「1個または3個」、「1個または2個」または「1個」をいう。さらに、認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーとして用い得るこれらのペプチドとして、配列番号1~27で表されるアミノ酸配列から生じるアミノ酸残基5個以上のペプチド断片も含まれる。ペプチド断片についてアミノ酸残基5個以上とした理由は、非特許文献2の以下の記載による。すなわち、ヒストンH3のC端(130~135)のアミノ酸残基配列IRGERAについてRをKに置換したペプチドおよびIRを欠失させ、代わりにCGGをGERAに結合させ

たペプチドCGGGERAがペプチドIRGERAを免疫原として得た抗体によって認識されたとの報告である。これは、抗原性の認識が4個以上のアミノ酸残基からなるペプチドによってなされることを示している。本発明では、ヒストンH3のC端以外にも一般性を持たせるために、残基数を1つ増やして、5個以上としたが、このような低分子のペプチドをも対象とすることは、イムノ・ブロット法、ELISA法、immunoMS法などのような免疫学的手法を用いて検出ならびに分別する方法を用いるときに重要である。

- [0037] なお、インタクトなタンパク質またはその部分ペプチドに糖鎖が付加されることがある。これらの糖鎖が付加したタンパク質および部分ペプチドも認知機能障害疾患検出のためのバイオマーカーとして用い得る。
- [0038] なお、本発明において、バイオマーカーを定量してもよいし、定性により存在、非存在を決定してもよい。
- [0039] 本発明で血清等の生体試料中のバイオマーカーを分離する方法としては、2次元電気泳動あるいは2次元クロマトグラフィーを用い得る。この場合の2種類のクロマトグラフィーは、イオン交換クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー等の公知のクロマトグラフィーから選択すればよい。またLC-MS/MS法を用いたSRM/MRM法で定量することもできる。さらに、発明者が開発したビーズ(磁気ビーズを含む)に対象となるタンパク質またはペプチドに対する抗体を結合させ、これにより測定したいタンパク質またはペプチドを捕捉したのち、ビーズから溶出して質量分析により測定するimmunoMS法を用いれば、2次元電気泳動あるいはクロマトグラフィーを用いることなく、簡便に目的のタンパク質、タンパク質断片、ペプチドの有無あるいは量を評価することができる。
- [0040] 本発明の方法によれば、被験者の認知機能障害が軽度の段階で評価することができ、予防医学にも有用である。さらに、認知機能障害疾患に罹患した患者に心理療法や薬物療法を行った場合、障害の進行が抑制されるならば、血清などの生体試料中のタンパク質／部分ペプチドの量にも反映される。これを測定することにより、治療効果の評価と判定を行うこともできる。

[0041] 生体試料中のタンパク質の種類および量は種々の方法で測定することができる。対象となるタンパク質(タンパク質断片および部分ペプチドを含む)が特定されていて、それに対する抗体(1次抗体)が得られている場合は、以下の方法を用いることができる。

[0042] 1. イムノ・ブロット法

最も単純な方法である。数段階に希釈した被験血清を用意し、その一定量(1マイクロリットル前後)をニトロセルローズ・メンブレンなどの適当なメンブレンに滴下し、風乾する。BSAなどのタンパク質を含むブロッキング溶液で処理した後、洗浄し、1次抗体を反応させ、洗浄後1次抗体を検出するための標識された2次抗体を反応させる。メンブレンを洗浄後、標識を可視化して濃度を測定する。

[0043] 2. ウェスタン・ブロット法

等電点ないしSDS-PAGEを含む1次元ないし2次元ゲル電気泳動を行った後で、分離されたタンパク質を一旦、PVDFメンブレンなどの適当なメンブレンに転写し、1次抗体と標識された2次抗体を用いて上述のイムノ・ブロット法と同様に操作して、目的のタンパク質の存在量を測定する。

[0044] 3. E L I S A 法

タンパク質またはその部分ペプチドに対する抗体をあらかじめ特殊な化学修飾をしたマイクロタイタープレート等の担体に結合させ、試料を段階希釈後、抗体を結合させたマイクロタイタープレートにこれを適当量加えてインキュベーションする。その後洗浄し、捕捉されなかったタンパク質および部分ペプチドを除く。次に蛍光もしくは化学発光物質または酵素を結合させた2次抗体を加えインキュベーションする。検出はそれぞれの基質を加えた後、蛍光もしくは化学発光物質または酵素反応による可視光を計測することによって評価判定を行う。抗体の代わりにタンパク質またはその部分ペプチドに結合し得る物質を用いてもよい。例えば、アプタマー等を用いることができる。

[0045] さらに以下に方法(特許文献2参照)を例示するが、それらには限定されな

い。

#### 4. マイクロアレイ(マイクロチップ)を用いた方法

マイクロアレイとは、担体(基板)上に測定しようとする物質に結合し得る物質を整列(アレイ)固定化させたデバイスを総称している。本発明の場合、タンパク質および部分ペプチドに対する抗体またはアプタマーを整列固定化させて用いればよい。測定は、固相化した抗体等に、生体試料を添加し、マイクロアレイ上に測定しようとするタンパク質または部分ペプチドを結合させ、次に蛍光もしくは化学発光物質または酵素を結合させた2次抗体を加えインキュベーションする。検出はそれぞれの基質を加えた後、蛍光もしくは化学発光物質または酵素反応による可視光を計測すればよい。

#### [0046] 5. 質量分析法

質量分析法においては、例えば、特定のタンパク質とその部分ペプチドに対する抗体をあらかじめ特殊な化学修飾をしたマイクロビーズもしくは基板(プロテインチップ)に結合させる。マイクロビーズは磁気ビーズであってもよい。基板の素材は問わない。使用する抗体は(1)特定のタンパク質の完全長のみを認識する抗体、(2)部分ペプチドのみを認識する抗体、(3)特定のタンパク質とその部分ペプチドの両方を認識する抗体のすべて、または上記(1)と(2)、(1)と(3)、もしくは(2)と(3)の組み合わせでもよい。試料を原液または緩衝液で段階希釈後、抗体を結合させたマイクロビーズまたは基板にこれを適量加え、インキュベーションする。その後洗浄し、捕捉されなかったタンパク質および部分ペプチドを除く。その後、マイクロビーズまたは基板上に捕捉されたタンパク質および部分ペプチドをMALDI TOF-MS、SELDI TOF-MSなどを用いた質量分析によって分析し、タンパク質、タンパク質断片および部分ペプチドのピークの質量数とピーク強度を計測する。適当な内部標準物質をもとの生体試料に一定量加えておき、そのピーク強度を測定して、対象となる物質のピーク強度との比を求めることにより、もとの生体試料中の濃度を知ることができる。この方法をimmunoMS法という。また試料を原液または緩衝液で希釈または一部のタンパク質を除去した後、HPLCで分離

、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法を用いた質量分析によって定量することができる。その際に、同位体標識した内部標準ペプチドを用いたSRM/MRM法による絶対定量によって資料中の濃度を知ることができる。

[0047] さらに、上記の方法の他、2次元電気泳動を用いた方法、表面プラズモン共鳴を用いた方法等によっても、タンパク質および部分ペプチドを解析することが可能である。

[0048] 本発明は、被験者から採取した生体試料を2次元電気泳動ないし表面プラズモン共鳴法に供し、前記バイオマーカーの有無ないし量を指標に認知機能障害疾患を検出する方法をも包含する。

### 実施例

[0049] 2次元液体クロマトグラフィー質量分析(2D-LC-MALDI TOF-MS)による認知機能障害疾患診断マーカーペプチドの探索

[0050] (1)血清試料

以下、括弧の前は略称である。

AD(アルツハイマー病)40例、MCI(軽度認知障害)35例、DLB(レビー小体型認知症)13例、FTD(前頭側頭型認知症)7例、およびNDC(精神疾患に罹患していない被験者)21例からなる。

[0051] (2)方法

血清25 $\mu$ lの各々に475 $\mu$ lの0.1%トリフルオロ酢酸(TFA)を加え、100 $^{\circ}$ Cで15分間煮沸した。その後、分子量1万以下のペプチドを回収するためにミリポア社YM-10を用いて限外ろ過を行った。次に以下のように、2D-LC MALDI TOF-MS法による分析を行った。すなわち、限外ろ過で回収されたサンプルを2次元HPLC(1次元目SCX陽イオン交換ならびに2次元目C18逆相カラム)を用いて1サンプルあたり合計382に分画した。SCX陽イオン交換カラムでは2つの画分に分画した、すなわちSCX 1は素通り画分、SCX 2は塩濃度100%で溶出した画分である。SCXで分画された2つの画分はそれぞれC18逆相カラムクロマトグラフィーにより191の画分に分画した。1画分は6秒で溶出し、保持時間(Retention Time)は溶出済み画分数-1に6秒を乗じて求められた。すべてのサン

プルはオンラインで接続されたスポットティングロボット (AccuSpot, SHIMADZU) を用いてMALDI TOF/TOF型質量分析計 (ultraflex TOF/TOF, BRUKER DALTONICS) 用のMALDIターゲットプレート (MTP AnchorChip(TM) 600/384 plate (BRUKER DALTONICS)) 上のウエルにマトリックス溶液 ( $\alpha$ -シアノ-ヒドロキシケイ皮酸,  $\alpha$ -CHCA) と混合しながらスポットし共結晶化した。ultraflex TOF/TOFに装着した後、レーザーを照射しリフレクトロンモードで質量ならびにその質量におけるピーク面積 (以下に述べる正規化プロセスを含む) を自動測定した。ピーク面積はマトリックス溶液に予め加えられた各ウエル当り250fmoleのbradykinin 1-7で正規化し、Area値とした。すなわち、サンプルの特定の質量におけるピーク面積をbradykinin 1-7から得られるピーク面積で割った値をArea値とした。このArea値はサンプル血清25 $\mu$ lに対応する。群間で血清中の存在量に差のあるペプチドの検出 (差異解析) は、我々が開発した多群間統計解析ソフトウェアであるParnassum(TM) (MCBI) を用いて行った。存在量に差の認められたペプチドは、そのままultraflex TOF/TOFでMS/MSにてアミノ酸配列を決定し、その起源であるインタクトタンパク質またはペプチドを同定した。

### [0052] (3) 結果

以下に、個々の被験者の血清を2D-LC MALDI TOF-MSに供して得られたデータについてParnassumソフトウェアで差異解析を行った結果を示す。図1は1次元目のSCX陽イオン交換カラムで2つの画分に分画したもののうち、最初に分画される画分 (SCX 1) を2次元目にC18逆相カラムで191の画分に分画した画分をMALDI TOF-MSで測定したスペクトルについて、横軸は単位荷電当たりの質量 ( $m/z$ ) を、縦軸は2次元目の逆相カラムクロマトグラフィーの保持時間で表した図である。図中の点はそれぞれ個々の被験者に由来するTOF-MSのピークであり、点が集合している部分は誤差範囲内で同一  $m/z$  かつ同一保持時間の1個のペプチドに由来するピークと規定し、これをクラスターとして示している。図1の(A)で示された長方形内の点の集合はMarker Aのクラスター

である。

[0053] 図2はMarker Aの差異解析の結果を示す。Marker Aは後に図4に示すように、Complement C3由来ペプチドC03である。図2は認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)間の比較である。Area値は、NDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であった。

[0054] 図2の結果から、Marker Aがバイオマーカーとしてどの程度に有用であるかを評価するために受信者操作特性曲線(receiver operating characteristic curve, ROC曲線)による分析を行った。図3のA)、B)はそれぞれAD対NDC、MCI対NDCの比較におけるROC曲線である。ROC曲線の下部の面積値(AUC of ROC)(以下、AUC値という)が1に近いほどバイオマーカーとしての有用性が高くなる。感度(sensitivity)と特異度(specificity)の代表的な値は図3のA)、B)においてy軸上の100%の点からROC曲線に直線を引いたとき、その距離が最小となるROC曲線上の点の座標(図中のopen square)の値である。この点を与えるcutoff値が異なる群の間の分別に有用な閾値となり、そのときの感度と特異度(すなわち上述の代表的な値)がAUC値とともにバイオマーカーの有用性の指標となる。

図3のA)では、AD対NDCにおいて代表的な値としての感度(sensitivity)が73.0%、特異度(specificity)が100%、AUC値が0.88であり、B)ではMCI対NDCにおいて代表的な値としての感度(sensitivity)が70.6%、特異度(specificity)が89.5%、AUC値が0.83であった。

[0055] 以上の結果から、Marker AはAD患者およびMCI患者を精神疾患に罹患していない被験者(NDC)と区別するのに有用であることが分かった。とくに、MCIはADの前段階であることから、ADに移行する可能性がある被験者を早期に診断、検出するマーカーとしてMarker Aはきわめて有用と考えられる。

[0056] 図4はMarker Aについて、ultraflex TOF/TOF型質量分析計でMS/MS解析した結果を示す。y-ion、b-ion、a-ionを示すシグナルが十分に現れており、アミノ酸配列が容易に決定できた。この結果についてMascotによる検索を行

い、その起源であるタンパク質またはペプチド(以下、インタクトタンパク質またはペプチドという)がComplement C3と同定され、検出されたペプチドがこのたんぱく質に由来するアミノ酸配列APVIHQEMIGGLRN (配列番号2)であることが明らかとなった。検出されたペプチドについてはUniProtのEntry NameであるC03をペプチド名の略称として用いる。以下、C03以外のペプチドについても同様とする。

[0057] Marker Aを含め、群間で血清中の存在量に差のあるペプチドをultraflex TOF/TOFにてMS/MSを行い、アミノ酸配列を決定するとともに、インタクトタンパク質またはペプチドを同定した。結果を以下に示す。Marker A以外のペプチドについてもy-ionおよびb-ionを示すシグナルが十分に現れており、アミノ酸配列が容易に決定できた。以下のアミノ酸配列は2つの配列のセットを1組として示しているが、そのうちの1番目の配列はインタクトタンパク質のアミノ酸配列であり、2番目の配列は検出されたペプチドの配列である。1番目の配列の下線部が検出されたペプチドの配列に対応している。配列中の(0001)から始まるアミノ酸配列はN末端側であることを表わす。

[0058] [1] Complement C3由来ペプチド C03

配列番号2のC03はParnassum(TM)を用いたクラスタリングにより、図1のクラスターを形成していた。図2に示すように、Area値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号2のC03は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(図3のA)、B)、表1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001	SPMYSIITPN	ILRLESEETM	VLEAHDAQGD	VPVTVTVHDF	PGKKLVLSSE
0051	KTVLTPATNH	MGNVTFTIPA	NREFKSEKGR	NKFVTVQATF	GTQVVEKVVL
0101	VSLQSGYLFI	QTDKTIYTPG	STVLYRIFTV	NHKLLPVGRT	VMVNIENPEG

0151	IPVKQDSLSS	QNQLGVLPLS	WDIPELVNMG	QWKIRAYYEN	SPQQVFSTEF
0201	EVKEYVLPSF	EVIVEPTEKF	YYIYNEKGLE	VTITARFLYG	KKVEGTAFVI
0251	FGIQDGEQRI	SLPESLK RIP	IEDGSGEVVL	SRKVLLDGVQ	NPRAEDLVGK
0301	SLYVSATVIL	HSGSDMVQAE	RSGIPIVTSP	YQIHFTKTPK	YFKPGMPFDL
0351	MVFVTNPDGS	PAYRVPVAVQ	GEDTVQSLTQ	GDGVAKLSIN	THPSQKPLSI
0401	TVRTKKQELS	EAEQATRMTQ	ALPYSTVGNS	NNYLHLSVLR	TELRPGETLN
0451	VNFLLRMDRA	HEAKIRYYTY	LIMNKGRLLK	AGRQVREPGQ	DLVVLPLSIT
0501	TDFIPSFRLV	AYYTLIGASG	QREVVADSVW	VDVKDSCVGS	LVVKSGQSED
0551	RQPVPGQOMT	LKIEGDHGAR	VVLVAVDKGV	FVLNKKNKLT	QSKIWDVVEK
0601	ADIGCTPGSG	KDYAGVFSDA	GLTFTSSSGQ	QTAQRAELQC	PQPAARRRRS
0651	VQLTEKRMDK	VGKYPKELRK	CCEDGMRENP	MRFSCQRRTR	FISLGEACKK
0701	VFLDCCNYIT	ELRRQHARAS	HLGLARSNLD	EDIIAEENIV	SRSEFPESWL
0751	WNVEDLKEPP	KNGISTKLMN	IFLKDSITTW	EILAVSMSDK	KGICVADPFE
0801	VTVMQDFFID	LRLPYSVVRN	EQVEIRAVLY	NYRQNQELKV	RVELLHNPAF
0851	CSLATTKRRH	QQTVTIPPKS	SLSVPYVIVP	LKTGLQEVEV	KAAMYHHFIS
0901	DGVRKSLKVV	PEGIRMNKTV	AVRTLDPERL	GREGVQKEDI	PPADLSDQVP
0951	DTESETRILL	QGTPVAQMTE	DAVDAERLKH	LIVTPSGCGE	QNMIGMTPTV
1001	IAVHYLDETE	QWEKFGLEKR	QGALELIKKG	YTQQLAFRQP	SSAFAAFVKR
1051	APSTWLTAYV	VKVFSLAVNL	IAIDSQVLCG	AVKWLILEKQ	KPDGVFQEDA
1101	<u>PVIHQEMIGG</u>	LRNNNEKDMA	LTAFLVLSLQ	EAKDICEEQV	NSLPGSITKA
1151	GDFLEANYMN	LQRSYTV AIA	GYAL AQMGRL	KGPLL NKFLT	TAKDKNRWED
1201	PGKQLYNVEA	TSYALLALLQ	LKDFDFVPPV	VRWLNEQRY Y	GGGYGSTQAT
1251	FMVFQALAQY	QKDAPDHQEL	NLDVSLQLPS	RSSKITHRIH	WESASLLRSE
1301	ETKENEGFTV	TAEGKGQGT L	SVVTMYHAKA	KDQLTCNKFD	LKVTIKPAPE
1351	TEKRPQDAKN	TMILEICTRY	RGDQDATMSI	LDISMMTGFA	PDTDDLKQLA
1401	NGVDRYISKY	ELDKAFSDRN	TLIIYLDKVS	HSEDDCLAFK	VHQYFNVELI
1451	QPGAVKVYAY	YNLEESCTRF	YHPEKEDGKL	NKLCRDEL CR	CAEENCFIQK
1501	SDDKVTLEER	LDKACEPGVD	YVYKTRLVKV	QLSNDFDEYI	MAIEQTIKSG

1551 SDEVQVGQQR TFISPIKCRE ALKLEEKHY LMWGLSSDFW GEKPNLSYII

1601 GKDTWVEHWP EEDECQDEEN QKQCQDLGAF TESMVVFGCP N (配列番号1)

[0059] Complement C3由来ペプチド C03

APVIHQEMIGGLRN (配列番号2)

[0060] [2] Transcription factor AP-2 gamma由来ペプチド AP2C

配列番号4のAP2CのArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図5)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号4のAP2Cは有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質/ペプチド

0001 MLWKITDNVK YEEDCEDRHD GSSNGNPRVP HLSSAGQHLY SPAPPLSHTG

0051 VAEYQPPPYF PPPYQQLAYS QSADPYSHLG EAYAAAINPL HQPAPTGSQQ

0101 QAWPGRQSQE GAGLPSHHGR PAGLLPHLSG LEAGAVSARR DAYRRSDLLL

0151 PHAHALDAAG LAENLGLHDM PHQMDEVQNV DDQHLLLHDQ TVIRKGPISM

0201 TKNPLNLPCQ KELVGAVMNP TEVFCVSPGR LSLLSSTSKY KVTVAEVQRR

0251 LSPPECLNAS LLGGVLRRAK SKNGGRSLRE KLDKIGLNLP AGRRKAAHVT

0301 LLTSLVEGEA VHLARDFAYV CEAEFPSKPV AEYLTRPHLG GRNEMAARKN

0351 MLLAAQQLCK EFTELLSQDR TPHGTSRLAP VLETNIQNCL SHFSLITHGF

0401 GSQAICAAVS ALQNYIKEAL IVIDKSYMNP GDQSPADSNK TLEKMEKHRK (配列番号3)

[0061] Transcription factor AP-2 gamma由来ペプチド AP2C

PGRQSQEGAGLPSHHG (配列番号4)

[0062] [3] Synapsin-3由来ペプチド SYN3

配列番号6のSYN3のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図6)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被

験者(NDC)とを区別する上で配列番号6のSYN3は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001	MNFLRRRLSD	SSFMANLPNG	YMTDLQRPDS	STSSPASPAM	ERRHPQPLAA
0051	SFSSPGSSLF	SSLSSAMKQA	PQATSGLMPEP	PGPSTPIVQR	PRILLVIDDA
0101	HTDWSKYFHG	KKVNGEIEIR	VEQAEFSELN	LAAYVTGGCM	VDMQVVRNGT
0151	KVVSRSFKPD	FILVRQHAYS	MALGEDYRSL	VIGLQYGGLP	AVNSLYSVYN
0201	FCSKPWFVSQ	LIKIFHSLGP	EKFPLVEQTF	FPNHKPMVTA	PHFPVVVKLG
0251	HAHAGMGKIK	VENQLDFQDI	TSVVAMAKTY	ATTEAFIDSK	YDIRIQKIGS
0301	NYKAYMRTSI	SGNWKANTGS	AMLEQVAMTE	RYRLWVDSCS	<u>EMFGGLDICA</u>
0351	<u>VKAVHSKDGR</u>	DYIIEVMDSS	MPLIGEHVEE	DRQLMADLVV	SKMSQLPMPG
0401	GTAPSPLRPW	APQIKSAKSP	GQAQLGPQLG	QPQPRPPPQG	GPRQAQSPQP
0451	QRSGSPSQQR	LSPQGQQPLS	PQSGSPQQQR	SPGSPQLSRA	SSGSSPNQAS
0501	KPGATLASQP	RPPVQGRSTS	QQGEESKKPA	PPHPLNKSQ	SLTNSLSTSD
0551	TSQRGTPSED	EAKAETIRNL	RKSFASLFSD	(配列番号5)	

[0063] Synapsin-3由来ペプチド SYN3

EMFGGLDICA VKAVHSK (配列番号6)

[0064] [4] Oxytocin receptor由来ペプチド OXYR

配列番号8のOXYRのArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図7)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号8のOXYRは有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001	MEGALANWS	AEAANASA <u>AP</u>	<u>PGAEGNRTAG</u>	PPRRNEALAR	VEVAVLCLIL
0051	LLALSGNACV	LLALRTTRQK	HSRLFFFMKH	LSIADLVVAV	FQVLPQLLWD

0101 ITFRFYGPD LCR LVKYLQV VGMFASTYLL LLMSLDRCLA ICQPLRSLRR  
 0151 RTDRLAVLAT WLGCLVASAP QVHIFSLREV ADGVFDCWAV FIQPWGPKEY  
 0201 ITWITLAVYI VPVIVLAACY GLISFKIWQN LRLKTAATAAA AEAPEGAAAG  
 0251 DGGRVALARV SSVKLISKAK IRTVKMTFII VLA FIVCWTP FFFVQMWSVW  
 0301 DANAPKEASA FIIVMLLASL NSCCNPWIYM LFTGHLFHEL VQRFLCCSAS  
 0351 YLKGRR LGET SASKKSNSSS FVLSHRSSSQ RSCSQPSTA (配列番号7)

[0065] Oxytocin receptor由来ペプチド OXYR

AAPPGAEGNRT (配列番号8)

[0066] [5] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチド ITH5L

配列番号10のITH5LのArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図8)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号10のITH5Lは有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質/ペプチド

0001 GPPVPASSST KLLMTSYSMR STVVSRYAHT LVTSVLFNPH AEAHEAIFDL  
 0051 DLPHLAFISN FTMTINNKVY IAEVKEKHQA KKIYEEAHQQ GKTAHVHVGIR  
 0101 DRESEKFRIS TSLAAGTEVT FSLAYEELLQ RHQGQYQLVV SLRPGQLVKR  
 0151 LSIEVTVSER TGISYVHIPP LRTGRLRTNA HASEVDSPPS TRIERGETCV  
 0201 RITYCPTLQD QSSISGSGIM ADFLVQYDVV MEDIIGDVQI YDDYFIHYFA  
 0251 PRGLPMEKN VVFVIDVSSS MFGTKMEQTK TAMNVILSDL QANDYFNIIS  
 0301 FS DTVNVWKA GGSIQATIQN VHS AKDY LHC MEADGWTDVN SALLAAASVL  
 0351 NHSNQEPGRG PSVGRIPLII FLTDGEPTAG VTTSPVILSN VRQALGHRVS  
 0401 LFSLAFGDDA DFTLLRRLSL ENRGIARRIY EDTDAALQK GLYEEISMPL  
 0451 LADVRLNYLG GLVGASPAWV FPNYFSGSEL VVAGQVQPGK QELGIHLAAR  
 0501 GPKDQLLVAH HSEGATNNSQ KAFGCPGEPA PNVAHFIRRL WAYVTIGELL

0551 DAHFQARDTT TRHLLAAKVL NLSLEYNFVT PLTSLVMVQP KQASEETRRQ  
 0601 TSTSAGPDTI MPSSSSRHGL GVSTAQPALV PKVISPKSRP VKPKFYLSST  
 0651 TTAStKkMLs SKELEPLGES PHTLSMPTYP KAKIPAQQDS GTLAQPTLRT  
 0701 KPTILVPSNS GTLLPLKPGS LSHQNPdILP TNSRTQVPPV KPGIPASPKA  
 0751 DTVKCVTPLH SKPGAPSHpQ LGALTSQAPK GLPQSRPGVS TLQVPKYPLH  
 0801 TRPRVPAPKT RNNMPHLGPG ILLSKTPKIL LSLKPSAPPH QISTSISLSK  
 0851 PETPNPHMPQ TPLPPRPDRP RPPLPESLST FPNTISSSTG PSSTTTTSVL  
 0901 GEPLPMPFTP TLPPGRFWHQ YDLLPGPQRT RQVLGPSRPG VPTMSLLNSS  
 0951 RPTPEGSPPN LPILLPSSIL PEAISLLLLP EEELELLSESM VESKFVESLN  
 1001 PPAFYTFLTP DEDGSPNWDG NSEEILGGAG GSMESQGSSV GLAKGTLPSI  
 1051 FTFSSSVdGD PHFVIQIPHS EEKICFTLNG HPGDLLQLIE DPKAGLHVSG  
 1101 KLLGAPPRPG HKDQTRTYFQ IITVTTDKPR AYTITISRSS ISLRGEGTLR  
 1151 LSWDQPALLK RPQLELYVAA AARLTLRLGP YLEFLVLRHR YRHPSTLQLP  
 1201 HLGfYVANGS GLSPSARGLI GQFQHADIRL VTGPMGPCLR RHHGPDVPVI  
 1251 LGKRLlkDSP RLLPRWASCW LVKRSHVELL LGHPYLSYVL (配列番号9)

[0067] Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチド ITH5L

RVSLFSLAFGDAD (配列番号10)

[0068] [6] E3 ubiquitin-protein ligase HERC2由来ペプチド HERC2

配列番号12のHERC2のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図9)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号12のHERC2は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 MPSESFCLAA QARLDSKWlK TDIQLAFTRD GLCGLWNEMV KDGEIVYTGT  
 0051 ESTQNGELPP RKDDSVePSG TKKEDLNDKE KKDEEETPAP IYRAKSILDS

0101	WVWGKQPDVN	ELKECLSVLV	KEQQALAVQS	ATTTLSALRL	KQRLVILERY
0151	FIALNRTVFQ	ENVKVKWKSS	GISLPPVDKK	SSRPAGKGVE	GLARVGSRAA
0201	LSFAFAFLRR	AWRSGEDADL	CSELLQESLD	ALRALPEASL	FDESTVSSVW
0251	LEVVERATRF	LRSVVTGDVH	GTPATKGP GS	IPLQDQHLAL	AILLELAVQR
0301	GTLSQMLSAI	LLLLQLWDSG	AQETDNERSA	QGTSAPLLPL	LQRFQSIICR
0351	KDAPHSEGDM	HLLSGPLSPN	ESFLRYLTLP	QDNELAILDR	QTAVVVM AHL
0401	DRLATPCMP P	LCSSPTSHKG	SLQEVIWGL	IGWKYANVI	GPIQCEGLAN
0451	LGVTQIACAE	KRFLILSRNG	RVYTQAYNSD	TLAPQLVQGL	ASRNIVKIAA
0501	HSDGHHY LAL	AATGEVYSWG	CGDGGRLGHG	DTVPLEEPKV	ISAFSGKQAG
0551	KHVVHIACGS	TYSAAITAEG	ELYTWGRGNY	GRLGHGSS ED	EAI PMLVAGL
0601	KGLKVIDVAC	GSGDAQTLAV	TENGQVWSWG	DGDYGKLGRG	GSDGCKTPKL
0651	IEKLQDL DVV	KVRCGSQFSI	ALTKDQGVYS	WGKGDNQR LG	HGTEEHVRY P
0701	KLLEGLQGKK	VIDVAAGSTH	CLALTEDSEV	HSWGSNDQCQ	HFDTLRVTKP
0751	EPAALPGLDT	KHIVGIACGP	AQSFAWSSCS	EWSIGLRVPF	VVDICSM TFE
0801	QLDLLLRQVS	EGMDGSADWP	PPQEKECVAV	ATLNLLRLQL	HAAISHQVDP
0851	EFLGLGLGSI	LLNSLKQTVV	TLASSAGVLS	TVQSAAQAVL	QSGWSVLLPT
0901	AEERARALSA	LLPCAVSGNE	VNISPGRRFM	IDLLVGSLMA	DGGLESALHA
0951	AITAEIQDIE	AKKEAQKEKE	IDEQEANAST	FHRSRTPLDK	DLINTGICES
1001	SGKQCLPLVQ	LIQQLLRNIA	SQTVARLKDV	ARRISSCLDF	EQHSRERSAS
1051	LDLLLR FQRL	LISKLYPGES	IGQTS DISSP	ELMGVGSLLK	KYTALLCTHI
1101	GDILPVAASI	ASTSWRHFAE	VAYIVEGDFT	GVLLPELVVS	IVLLLSKNAG
1151	LMQEAGAVPL	LGGLLEHLDR	FNHLAPGKER	DDHEELAWPG	IMESFFT GQN
1201	CRNNEEVTLI	RKADLENH NK	DGGFWTVIDG	KVYDIKDFQT	QSLTGNSILA
1251	QFAGEDPVVA	LEAALQFEDT	RESMHAF CVG	QYLEPDQEIV	TIPDLGSLSS
1301	PLIDTERNLG	LLLGLHASYL	AMSTPLSPVE	IECAKWLQSS	IFSGGLQTSQ
1351	IHYSYNEEKD	EDHCSSPGGT	PASKSRLCSH	RRALGDHSQA	FLQAIADNNI
1401	QDHNVKDFLC	QIERYCRQCH	LTPPIMFPPE	HPVEEVGRLL	LCCLLK HEDL
1451	GHVALSLVHA	GALGIEQVKH	RTLPKSVVDV	CRVVYQAKCS	LIKTHQE QGR

1501	SYKEVCAPVI	ERLRFNFEL	RPAVCNDLSI	MSKFKLLSSL	PRWRRIAQKI
1551	IRERRKKRVP	KKPESTDDEE	KIGNEESDLE	EACILPHSPI	NVDKRPIAIK
1601	SPKDKWQPLL	STVTGVHKKYK	WLKQNVQGLY	PQSPLLSTIA	EFALKEEPVD
1651	VEKMRKCLLK	QLERAQVRLE	GIDTILKLAS	KNFLLPSVQY	AMFCGWQRLI
1701	PEGIDIGEPL	TDCLKDVDLI	PPFNRMLLEV	TFGKLYAWAV	QNIRNVLMDA
1751	SAKFKELGIQ	PVPLQTITNE	NPSGPSLGTI	PQARFLLVML	SMLTLQHGAN
1801	NLDLLNSGM	LALTQTALRL	IGPSCDNVEE	DMNASAQGAS	ATVLEETRKE
1851	TAPVQLPVSG	PELAAMMKIG	TRVMRGVDWK	WGDQDGPPPG	LGRVIGELGE
1901	DGWIRVQWDT	GSTNSYRMGK	EGKYDLKLAE	<u>LPAAAQPSAE</u>	<u>DSDTEDDSEA</u>
1951	EQTERNIHPT	AMMFTSTINL	LQTLCLSAGV	HAEIMQSEAT	KTLCGLLRML
2001	VESGTTDKTS	SPNRLVYREQ	HRSWCTLGFV	RSIALTPQVC	GALSSPQWIT
2051	LLMKVVEGHA	PFTATSLQRQ	ILAVHLLQAV	LPSWDKTERA	RDMKCLVEKL
2101	FDFLGSLTT	CSSDVPLLRE	STLRRRRVRP	QASLTATHSS	TLAEEVVALL
2151	RTLHSLTQWN	GLINKYINSQ	LRSITHSFVG	RPSEGAQLED	YFPDSENPEV
2201	GGLMAVLAVI	GGIDGRLRLG	GQVMHDEFGE	GTVTRITPKG	KITVQFSDMR
2251	TCRVCPLNQL	KPLPAVAFNV	NNLPFTEPML	SVWAQLVNLA	GSKLEKHKIK
2301	KSTKQAFAGQ	VDLDLLRCQQ	LKLYILKAGR	ALLSHQDKLR	QILSQPAVQE
2351	TGTVHTDDGA	VVSPDLGDMS	PEGPQPPMIL	LQQLLASATQ	PSPVKAIFDK
2401	QELEAAALAV	CQCLAVESTH	PSSPGFEDCS	SSEATTPVAV	QHIRPARVKR
2451	RKQSPVPALP	IVVQLMEMGF	SRRNIEFALK	SLTGASGNAS	SLPGVEALVG
2501	WLLDHSDIQV	TELSADTVS	DEYSDEEVVE	DVDDAAYSMS	TGAVVTESQT
2551	YKKRADFLSN	DDYAVYVREN	IQVGMVRC	RAYEEVCEGD	VGKVIKLRD
2601	GLHDLNVQCD	WQQKGGTYWV	RYIHVELIGY	PPSSSSSHIK	IGDKVRVKAS
2651	VTPKYKWGS	VTHQSVGVVK	AFSANGKDII	VDFPQQSHWT	GLLSEMELVP
2701	SIHPGVTCDG	CQMFPIGSR	FKCRNCDDFD	FCETCFKTKK	HNTRHTFGRI
2751	NEPGQSAVFC	GRSGKQLKRC	HSSQPGMLLD	SWSRMVKSLN	VSSSVNQASR
2801	LIDGSEPCWQ	SSGSQGKHWI	RLEIFPDVLV	HRLKMIVDPA	DSSYMPSLVV
2851	VSGGNSLNNL	IELKTININP	SDTTVPLLND	CTEYHRYIEI	AIKQCRSSGI

2901	DCKIHGLILL	GRIRAEEDL	AAVPFLASDN	EEEEDEKGN	GSLIRKKAAG
2951	LESAATIRTK	VFVWGLNDKD	QLGGLKGSKI	KVPSFSETLS	ALNVVQVAGG
3001	SKSLFAVTVE	GKVYACGEAT	NGRLGLGISS	GTVPPIRQIT	ALSSYVVKKV
3051	AVHSGGRHAT	ALTVDGKVFS	WGEADDGKLG	HFSRMNCDKP	RLIEALKTKR
3101	IRDIACGSSH	SAALTSSGEL	YTWGLGEYGR	LGHGDNTTQL	KPKMVKVLG
3151	HRVIQVACGS	RDAQTLALTD	EGLVFSWGDG	DFGKLGRGGS	EGCNIPQNI
3201	RLNGQGVCQI	ECGAQFSLAL	TKSGVVWTWG	KGDYFRLGHG	SDVHVRKPQV
3251	VEGLRGKKIV	HVAVGALHCL	AVTDSGQVYA	WGDNDHGQQG	NGTTTVNRKP
3301	TLVQGLEGQK	ITRVACGSSH	SWAWTTVDVA	TPSVHEPVL	QTARDPLGAS
3351	YLGVPDADS	SAASNKISGA	SNSKPNRPSL	AKILLSLDGN	LAKQQALSHI
3401	LTALQIMYAR	DAVVGALMPA	AMIAPVECPS	FSSAAPSAS	AMASPMNGEE
3451	CMLAVDIEDR	LSPNPWQEK	EIVSSEDAVT	PSAVTPSAPS	ASARPFIPVT
3501	DDLGAASIIA	ETMTKTKEDV	ESQNKAAAGPE	PQALDEFTSL	LIADDTRVVV
3551	DLLKLSVCSR	AGDRGRDVL	AVLSGMGTAY	PQVADMLLEL	CVTELEDVAT
3601	DSQSGRLSSQ	PVVVESSHYP	TDDTSTSGTV	KIPGAEGLRV	EFDRQCSTER
3651	RHDPLTVMDG	VNRIVSVRSG	REWSDWSEL	RIPGDELKWK	FISDGSVNGW
3701	GWRFTVYPIM	PAAGPKELLS	DRCVLSCPSM	DLVTCLLDFR	LNLASNRSIV
3751	PRLAASLAAC	AQLSALAASH	RMWALQRLRK	LLTTEFGQSI	NINRLLGEND
3801	GETRALSFTG	SALAALVKGL	PEALQRQFEY	EDPIVRGGKQ	LLHSPFFKVL
3851	VALACDLELD	TLPCCAETHK	WAWFRRYCMA	SRVAVALDKR	TPLPRLFLDE
3901	VAKKIRELMA	DSENMDVLHE	SHDIFKREQD	EQLVQWMNRR	PDDWTLSAGG
3951	SGTIYGWGHN	HRGQLGGIEG	AKVKVPTPCE	ALATLRPVQL	IGGEQTLFAV
4001	TADGKLYATG	YGAGGRLGIG	GTESVSTPTL	LESIQHVFIK	KVAVNSGGKH
4051	CLALSSEGEV	YSWGEAEDGK	LGHGNRSPCD	RPRVIESLRG	IEVVDVAAGG
4101	AHSACVTAAG	DLYTWGKGRY	GRLGHSDSED	QLKPKLVEAL	QGHRVVDIAC
4151	GSGDAQTLCL	TDDDTVWSWG	DGDYGKLGRG	GSDGCKVPMK	IDSLTGLGVV
4201	KVECGSQFSV	ALTKSGAVYT	WGKGDYHRLG	HGSDDHVRRP	RQVQGLQGKK
4251	VIAIATGSLH	CVCCTEDGEV	YTWGDNDGQ	LGDGTTNAIQ	RPRLVAALQG

4301 KKVNRVACGS AHTLAWSTSK PASAGKLPAQ VPMEYNHLQE IPIIALRNRL  
 4351 LLLHHLSELF CPCIPMFDLE GSLDETGLGP SVGFDTLRGI LISQGKEAAF  
 4401 RKVVQATMVR DRQHGPVVEL NRIQVKRSRS KGGLAGPDGT KSVFGQMCAK  
 4451 MSSFGPDSLL LPHRVWKVKF VGESVDDCGG GYSESIAEIC EELQNGLTPL  
 4501 LIVTPNGRDE SGANRDCYLL SPAARAPVHS SMFRFLGVLL GIAIRTSPL  
 4551 SLNLAEPVWK QLAGMSLTIA DLSEVDKDFI PGLMYIRDNE ATSEEFEAMS  
 4601 LPFTVPSASG QDIQLSSKHT HITLDNRAEY VRLAINYRLH EFDEQVA AVR  
 4651 EGMARVVPVP LLSLFTGYEL ETMVCSPDI PLHLLKSVAT YKGIEPSASL  
 4701 IQWFWEVMES FSNTERSLFL RFVWGRTRLP RTIADFRGRD FVIQVLDKYN  
 4751 PPDHFLPESY TCFLLKLPR YSCKQVLEEK LKYAIHFCKS IDTDDYARIA  
 4801 LTGEPAAADS SDDSDNEDVD SFASDSTQDY LTGH (配列番号 1 1)

[0069] E3 ubiquitin-protein ligase HERC2由来ペプチド HERC2

KLAELPAAAQPSAEDSD (配列番号 1 2)

[0070] [7] Prothrombin由来ペプチド THRB

配列番号 1 4 のTHRBのArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図 1 0)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 1 4 のTHRBは有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表 1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 ANTFLEEVK GNLERECVEE TCSYEEAFEA LESSTATDVF WAKYTACETA  
 0051 RTPRDKLAAC LEGNCAEGLG TNYRGHVNIT RSGIECQLWR SRYPHKPEIN  
 0101 STTHPGADLQ ENFCRNPDSST TTPGWCYTTD PTVRRQECESI PVCQDQVTV  
 0151 AMTPRSEGSS VNLSPPLEQC VPDRGQQYQG RLAVTTHGLP CLAWASAQAK  
 0201 ALSKHQDFNS AVQLVENFCR NPDGDEEGVW CYVAGKPGDF GYCDLNYCEE  
 0251 AVEEETGDGL DEDSDRAIEG RTATSEYQTF FNPRTFGSGE ADCGLRPLFE

0301 KKSLEDKTER ELLESYIDGR IVEGSDAEIG MSPWQVMLFR KSPQELLCGA  
 0351 SLISDRWVLT AAHCLLYPPW DKNFTENDLL VRIGKHSRTR YERNIEKISM  
 0401 LEKIYIHPRY NWRENLDRI ALMKLKKPVA FSDYIHPVCL PDRETAASLL  
 0451 QAGYKGRVTG WGNLKETWTA NVGKGQPSVL QVVNLPIVER PVCKDSTRIR  
 0501 ITDNMFCAGY KPDEGKRGDA CEGDSGGPFV MKSPFNRRWY QMGIVSWGEG  
 0551 CDRDGKYGFY THVFRLLKWI QKVIDQFGE (配列番号 1 3)

[0071] Prothrombin由来ペプチド THRB

TATSEYQTFNPRTFGSGEAD (配列番号 1 4)

[0072] [ 8 ] Transthyretin由来ペプチド TTHY

配列番号 1 6 のTTHYのArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図 1 1)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 1 6 のTTHYは有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表 1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 GPTGTGESKC PLMVKVLDAV RGSPAINVAV HVFRKAADDT WEPFASGKTS  
 0051 ESGELHGLTT EEEFVEGIYK VEIDTKSYWK ALGISPFHEH AEVVFTANDS  
 0101 GPRRYTIAAL LSPYSYSTTA VVTNPKE (配列番号 1 5)

[0073] Transthyretin由来ペプチド TTHY

AVRGSPAINVAVHVFRKAAD (配列番号 1 6)

[0074] [ 9 ] Tumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチド TNR16

配列番号 1 8 のTNR16のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図 1 2)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 1 8 のTNR16は有用であることが

分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 KEACPTGLYT HSGECCKACN LGEGVAQPCG ANQTVCEPCL DSVTFSDVVS  
 0051 ATEPCKPCTE CVGLQSMSAP CVEADDAVCR CAYGYYQDET TGRCEACRVC  
 0101 EAGSGLVFSC QDKQNTVCEE CPDGTYSDEA NHVDPCLPCT VCEDTERQLR  
 0151 ECTRWADAEC EEIPGRWITR STPPEGSdst APSTQEPEAP PEQDLIASTV  
 0201 AGVVTVMGS SQPVVTRGTT DNLIPVYCSI LAAVVVGLVA YIAFKRWNSC  
 0251 KQNKQGANSR PVNQTPPEEG EKLHSDSGIS VDSQSLHDQQ PHTQTASGQA  
 0301 LKGDGGLYSS LPPAKREEVE KLLNGSAGDT WRHLAGELGY QPEHIDSFTH  
 0351 EACPVRALLA SWATQDSATL DALLAALRRI QRADLVESLC SESTATSPV (配列番号17)

[0075] Tumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチド TNF16

QTASGQALKGDGGLYS (配列番号18)

[0076] [10] Complement C4-A由来ペプチド C04-1

配列番号20のC04-1のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図13)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号20のC04-1は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

Complement C4-Aタンパク質は生合成後、プロセッシングによりComplement C4 beta chain、Complement C4-A alpha chain、Complement C4 gamma chainに分かれる。配列番号19は、これらのすべてを含むインタクトタンパク質Complement C4-Aのアミノ酸配列である。

## インタクトタンパク質／ペプチド

0001	KPRLLLFSPS	VVHLGVPLSV	GVQLQDVPRG	QVVKGSVFLR	NPSRNNVPCS
0051	PKVDFTLSSE	RDFALLSLQV	PLKDAKSCGL	HQLLRGPEVQ	LVAHSPWLKD
0101	SLSRTTNIQG	INLLFSSRRG	HLFLQTDQPI	YNPGQVRVYR	VFALDQKMRP
0151	STDTITVMVE	NSHGLRVRKK	EVYMPSSIFQ	DDFVIPDISE	PGTWKISARF
0201	SDGLESNSST	QFEVKKYVLP	NFEVKITPGK	PYILTVPGHL	DEMQLDIQAR
0251	YIYGKPVQGV	AYVRFGLLDE	DGKKTFFRGL	ESQTKLVNGQ	SHISLSKAEF
0301	QDALEKLNMG	ITDLQGLRLY	VAAAIIESPG	GEMEEAELTS	WYFVSSPFSL
0351	DLSKTKRHLV	PGAPFLLQAL	VREMSGSPAS	GIPVKVSATV	SSPGSVPEVQ
0401	DIQQNTDGSG	QVSIPIIIPQ	TISELQLSVS	AGSPHPAIAR	LTVAAPPSGG
0451	PGFLSIERPD	SRPPRVGDTL	NLNLRAVGSG	ATFSHYYYMI	LSRGQIVFMN
0501	REPKRTLTSV	SVFVDHHLAP	SFYFVAFYYH	GDHPVANSLR	VDVQAGACEG
0551	KLELSVDGAK	QYRNGESVKL	HLETDSLALV	ALGALDTALY	AAGSKSHKPL
0601	NMGKVFAMN	SYDLGCGPGG	GDSALQVFQA	AGLAFSDGDQ	WTLRKRRLSC
0651	PKEKTRKKR	NVNFQKAIN	KLGOYASPTA	KRCCQDGVTR	LPMRSCQR
0701	AARVQQPDCR	EPFLSCCQFA	ESLRKKS RDK	GQAGLQRALE	ILQEEDLIDE
0751	DDIPVRSFFP	ENWLWRVETV	DRFQILTLWL	PDSLTTWEIH	GLSLSKTKGL
0801	CVATPVQLRV	FREFHLHLRL	PMSVRRFEQL	ELRPVLYNYL	DKNLTVSVHV
0851	SPVEGLCLAG	GGGLAQQVLV	PAGSARPVAF	SVVPTAAAAV	SLKVVARGSF
0901	EFVGDVAVSK	VLQIEKEGAI	HREELVYELN	PLDHRGRTLE	IPGNSDPNMI
0951	PDGDFNSYVR	VTASDPLDTL	GSEGALSPGG	VASLLRLPRG	CGEQTMIIYLA
1001	PTLAASRYLD	KTEQWSTLPP	ETKDHAVDLI	QKGYMRIQQF	RKADGSYAAW
1051	LSRDSSTWLT	AFVLKVLSLA	QEQVGG SPEK	LQETSNWLLS	QQQADGSFQD
1101	PCPVLDRSMQ	GGLVGNDTV	ALTAFVTIAL	HHGLAVFQDE	GAEPLKQRVE
1151	ASISKANSFL	GEKASAGLLG	AHAAAITAYA	LSLTKAPVDL	LGVAHNNLMA
1201	MAQETGDONLY	WGSVTGSQSN	AVSPTPAPRN	PSDPMPQAPA	LWIETTAYAL
1251	LHLLLHEGKA	EMADQASAWL	TRQGSFQGGF	RSTQDTVIAL	DALSAYWIAS
1301	HTTEERGLNV	TLSSSTGRNGF	<u>KSHALQLNNR</u>	<u>QIRGLEEELQ</u>	FSLGSKINVK

1351 VGGNSKGTKL VLRTYNVLDM KNTTCQDLQI EVTVKGHVEY TMEANEDYED  
 1401 YEYDELPKAD DPDAPLQPVT PLQLFEGRRN RRRREAPKVV EEQESRVHYT  
 1451 VCIWRNGKVG LSGMAIADVT LLSGFHALRA DLEKLTSLSD RYVSHFETEG  
 1501 PHVLLYFDSV PTSRECVGFE AVQEVVGLV QPASATLYDY YNPERRCSVF  
 1551 YGAPSKSRLI ATLCSAEVCQ CAEGKCPQR RALERGLQDE DGYRMKFACY  
 1601 YPRVEYGFQV KVLREDSRAA FRLFETKITQ VLHFTKDVKA AANQMRNFLV  
 1651 RASCRLRLEP GKEYLIMGLD GATYDLEGHP QYLDSNSWI EEMPSELRCL  
 1701 STRQRAACAQ LNDFLQEYGT QGCQV (配列番号 19)

[0077] Complement C4由来ペプチド C04-1

NGFKSHALQLNNRQIR (配列番号 20)

[0078] [11] Complement C4-B由来ペプチド C04-1

配列番号 20 のペプチド C04-1 は MS/MS および、MASCOT データベース検索の結果から、Complement C4-A (配列番号 19) および Complement C4-B のタンパク質に共通するトポロジカル領域部分に存在するアミノ酸配列である。

Complement C4-B タンパク質は生合成後、プロセッシングにより Complement C4 beta chain、Complement C4-B alpha chain、Complement C4 gamma chain に分かれる。配列番号 21 は、これらのすべてを含むインタクトタンパク質 Complement C4-B のアミノ酸配列である。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 KPRLLLFSPS VVHLGVPLSV GVQLQDVPRG QVVKGSVFLR NPSRNNVPCS  
 0051 PKVDFTLSSE RDFALLSLQV PLKDAKSCGL HQLLRGPEVQ LVAHSPWLKD  
 0101 SLSRTTNIQG INLLFSSRRG HLFLQTDQPI YNPGQVRVYR VFALDQKMRP  
 0151 STDTITVMVE NSHGLRVRKK EYMPSSIFQ DDFVIPDISE PGTWKISARF  
 0201 SDGLESNSST QFEVKKYVLP NFEVKITPGK PYILTVPGHL DEMQLDIQAR  
 0251 YIYGKPVQGV AYVRFGLLDE DGKKTFFRGL ESQTKLVNGQ SHISLSKAEF  
 0301 QDALEKLNMG ITDLQGLRLY VAAAIIESPG GEMEEAELTS WYFVSSPFSL  
 0351 DLSKTKRHLV PGAPFLLQAL VREMSGSPAS GIPVKVSATV SSPGSVPEVQ  
 0401 DIQQNTDGSG QVSIPIIIPQ TISELQLSVS AGSPHPAIAR LTVAAPPSGG

0451	PGFLSIERPD	SRPPRVGDTL	NLNLRAVGSG	ATFSHYYYMI	LSRGQIVFMN
0501	REPKRTLTSV	SVFVDHHLAP	SFYFVAFYYH	GDHPVANSLR	VDVQAGACEG
0551	KLELSVDGAK	QYRNGESVKL	HLETDSLALV	ALGALDTALY	AAGSKSHKPL
0601	NMGKVFAMN	SYDLGCGPGG	GDSALQVFQA	AGLAFSDGDQ	WTLSRKRLSC
0651	PKEKTTRKKR	NVNFQKAIN	KLQYASPTA	KRCCQDGVTR	LPMMRSCEQR
0701	AARVQQPDCR	EPFLSCCQFA	ESLRKKS RDK	GQAGLQRALE	ILQEEDLIDE
0751	DDIPVRSFFP	ENWLWRVETV	DRFQILTLWL	PDSLTTWEIH	GLSLSKTKGL
0801	CVATPVQLRV	FREFHLHLRL	PMSVRRFEQL	ELRPVLYNYL	DKNLTVSVHV
0851	SPVEGLCLAG	GGGLAQQVLV	PAGSARPVAF	SVVPTAAAAV	SLKVVARGSF
0901	EFPVGDVASK	VLQIEKEGAI	HREELVYELN	PLDHRGRTLE	IPGNSDPNMI
0951	PDGDFNSYVR	VTASDPLDTL	GSEGALSPGG	VASLLRLPRG	CGEQTMIIYA
1001	PTLAASRYLD	KTEQWSTLPP	ETKDHAVDLI	QKGYMRIQQF	RKADGSYAAW
1051	LSRDSSTWLT	AFVLKVLSLA	QEQVGG SPEK	LQETS NWLLS	QQQADGSFQD
1101	LSPVIHRSMQ	GGLVGNDTV	ALTAFTIAL	HHGLAVFQDE	GAEPLKQRVE
1151	ASISKANSFL	GEKASAGLLG	AHAAAITAYA	LSLTKAPVDL	LGVAHNNLMA
1201	MAQETGDONLY	WGSVTGSQSN	AVSPTPAPRN	PSDPMPQAPA	LWIETTAYAL
1251	LHLLLHEGKA	EMADQASAWL	TRQGSFQGGF	RSTQDTVIAL	DALSAYWIAS
1301	HTTEERGLNV	TLSSSTGRNGF	<u>KSHALQLNNR</u>	<u>QIRGLEEELQ</u>	FSLGSKINVK
1351	VGGNSKGTKL	VLRTYNVLDL	KNTTCQDLQI	EVTVKGHVEY	TMEANEDYED
1401	YEYDELPAKD	DPDAPLQPVT	PLQLFEGRRN	RRRREAPKVV	EEQESRVHYT
1451	VCIWRNGKVG	LSGMAIADVT	LLSGFHALRA	DLEKLTSLSD	RYVSHFETEG
1501	PHVLLYFDSV	PTSRECVGFE	AVQEVVGLV	QPASATLYDY	YNPERRCSVF
1551	YGAPSKSRL	ATLCSAEVCQ	CAEGKCPRQR	RALERGLQDE	DGYRMKFACY
1601	YPRVEYGFQV	KVLREDSRAA	FRLFETKITQ	VLHFTKDVKA	AANQMRNFLV
1651	RASCRLRLEP	GKEYLIMGLD	GATYDLEGHP	QYLLDSNSWI	EEMPSERLCR
1701	STRQRAACAQ	LNDFLQEYGT	QGCQV	(配列番号 2 1)	

[0079] 念のため、C04-1の配列を以下に示す。

Complement C4由来ペプチド C04-1

NGFKSHALQLNNRQIR (配列番号 20)

[0080] [12] Complement C4-A由来ペプチド C04-2

配列番号 22 のC04-2のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図14)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 22 のC04-2は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

Complement C4-Aタンパク質は生合成後、プロセッシングによりComplement C4 beta chain、Complement C4-A alpha chain、Complement C4 gamma chainに分かれる。配列番号 19 は、これらのすべてを含むインタクトタンパク質Complement C4-Aのアミノ酸配列である。

インタクトタンパク質/ペプチド

0001	KPRLLLFSPS	VVHLGVPLSV	GVQLQDVPRG	QVVKGSVFLR	NPSRNNVPCS
0051	PKVDFTLSSE	RDFALLSLQV	PLKDAKSCGL	HQLLRGPEVQ	LVAHSPWLKD
0101	SLSRTTNIQG	INLLFSSRRG	HLFLQTDQPI	YNPGQVRVYR	VFALDQKMRP
0151	STDTITVMVE	NSHGLRVRKK	EVYMPSSIFQ	DDFVIPDISE	PGTWKISARF
0201	SDGLESNSST	QFEVKKYVLP	NFEVKITPGK	PYILTVPGHL	DEMQLDIQAR
0251	YIYGKPVQGV	AYVRFGLLDE	DGKKTFFRGL	ESQTKLVNGQ	SHISLSKAEF
0301	QDALEKLNMG	ITDLQGLRLY	VAAAIIESPG	GEMEEAELTS	WYFVSSPFSL
0351	DLSKTKRHLV	PGAPFLLQAL	VREMSGSPAS	GIPVKVSATV	SSPGSVPEVQ
0401	DIQQNTDGSG	QVSIPIIIPQ	TISELQLSVS	AGSPHPAIAR	LTVAAPPSGG
0451	PGFLSIERPD	SRPPRVGDTL	NLNLRAVGSG	ATFSHYYYMI	LSRGQIVFMN
0501	REPKRTLTSV	SVFVDHHLAP	SFYFVAFYYH	GDHPVANSLR	VDVQAGACEG
0551	KLELSVDGAK	QYRNGESVKL	HLETDSLALV	ALGALDTALY	AAGSKSHKPL
0601	NMGKVFAMN	SYDLGCGPGG	GDSALQVFQA	AGLAFSDGDQ	WTLRSRKRISC
0651	PKEKTRKKR	NVNFQKAIN	KLQYASPTA	KRCCQDGVTR	LPMMRSCEQR

0701 AARVQQPDCR EPFLSCCQFA ESLRKKSRDK GQAGLQRALE ILQEEDLIDE  
 0751 DDIPVRSFFP ENWLWRVETV DRFQILTLWL PDSLTTWEIH GLSLSKTKGL  
 0801 CVATPVQLRV FREFHLHLRL PMSVRRFEQL ELRPVLYNYL DKNLTVSVHV  
 0851 SPVEGLCLAG GGGLAQQVLV PAGESARPAF SVVPTAAAAV SLKVVARGSF  
 0901 EFPVGDVASK VLQIEKEGAI HREELVYELN PLDHRGRTLE IPGNSDPNMI  
 0951 PDGDFNSYVR VTASDPLDTL GSEGALSPGG VASLLRLPRG CGEQTMIYLA  
 1001 PTLAASRYLD KTEQWSTLPP ETKDHAVDLI QKGYMRIQQF RKADGSYAAW  
 1051 LSRDSSTWLT AFVLKVLSLA QEQVGGSPK LQETSNWLLS QQQADGSFQD  
 1101 PCPVLDRSMQ GGLVGNDQTV ALTAFTIAL HHGLAVFQDE GAEPLKQRVE  
 1151 ASISKANSFL GEKASAGLLG AHAAAITAYA LSLTKAPVDL LGVAHNNLMA  
 1201 MAQETGDONLY WGSVTGSQSN AVSPTAPARN PSDPMPQAPA LWIETTAYAL  
 1251 LHLLLHEGKA EMADQASAWL TRQGSFQGGF RSTQDTVIAL DALSAYWIAS  
 1301 HTTEERGLNV TLSSTGRNGF KSHALQLNNR QIRGLEEELQ FSLGSKINVK  
 1351 VGGNSKGTKL VLRTYNVLDL KNTTCQDLQI ETVKKGHVEY TMEANEDYED  
 1401 YEYDELPKAD DPDAPLQPVT PLQLFEGRRN RRRREAPKVV EEQESRVHYT  
 1451 VCIWRNGKVG LSGMAIADVT LLSGFHALRA DLEKLTSLSD RYVSHFETEG  
 1501 PHVLLYFDSV PTSRECVGFE AVQEVVGLV QPASATLYDY YNPERRCSVF  
 1551 YGAPSKSRLI ATLCSAEVCQ CAEGKCPQR RALERGLQDE DGYRMKFACY  
 1601 YPRVEYGFQV KVLREDSRAA FRLFETKITQ VLHFTKDVKA AANQMRNFLV  
 1651 RASCRLRLEP GKEYLIMGLD GATYDLEGHP QYLLDSNSWI EEMPSERLCR  
 1701 STRQRAACAQ LNDFLQEYGT QGCQV (配列番号 19)

[0081] Complement C4由来ペプチド C04-2

APLQPVTPLQLFEGRRN (配列番号 22)

[0082] [13] Complement C4-B由来ペプチド C04-2

配列番号 22 のペプチド C04-2 は MS/MS および、MASCOT データベース検索の結果から、Complement C4-A (配列番号 19) および Complement C4-B のタンパク質に共通するトポロジカル領域部分に存在するアミノ酸配列である。

Complement C4-B タンパク質は生合成後、プロセッシングにより Complement

C4 beta chain、Complement C4-B alpha chain、Complement C4 gamma chainに分かれる。配列番号21は、これらのすべてを含むインタクトタンパク質Complement C4-Bのアミノ酸配列である。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001	KPRLLLFSPS	VVHLGVPLSV	GVQLQDVPRG	QVVKGSVFLR	NPSRNNVPCS
0051	PKVDFTLSSE	RDFALLSLQV	PLKDAKSCGL	HQLLRGPEVQ	LVAHSPWLKD
0101	SLSRTTNIQG	INLLFSSRRG	HLFLQTDQPI	YNPGQVRVYR	VFALDQKMRP
0151	STDTITVMVE	NSHGLRVRKK	EVYMPSSIFQ	DDFVIPDISE	PGTWKISARF
0201	SDGLESNSST	QFEVKKYVLP	NFEVKITPGK	PYILTVPGHL	DEMQLDIQAR
0251	YIYGKPVQGV	AYVRFGLLDE	DGKKTFFRGL	ESQTKLVNGQ	SHISLSKAEF
0301	QDALEKLNMG	ITDLQGLRLY	VAAAIIESPG	GEMEEAELTS	WYFVSSPFSL
0351	DLSKTKRHLV	PGAPFLLQAL	VREMSGSPAS	GIPVKVSATV	SSPGSVPEVQ
0401	DIQQNTDGSG	QVSIPIIIPQ	TISELQLSVS	AGSPHPAIAR	LTVAAPPSGG
0451	PGFLSIERPD	SRPPRVGDTL	NLNLRAVGSG	ATFSHYYYMI	LSRGQIVFMN
0501	REPKRTLTSV	SVFVDHHLAP	SFYFVAFYYH	GDHPVANSLR	VDVQAGACEG
0551	KLELSVDGAK	QYRNGESVKL	HLETDSLALV	ALGALDTALY	AAGSKSHKPL
0601	NMGKVFEAMN	SYDLGCGPGG	GDSALQVFQA	AGLAFSDGDQ	WTLRKRRLSC
0651	PKEKTRKKR	NVNFQKAIN	KLQYASPTA	KRCCQDGVTR	LPMMRSCEQR
0701	AARVQQPDCR	EPFLSCCQFA	ESLRKKS RDK	GQAGLQRALE	ILQEEDLIDE
0751	DDIPVRSFFP	ENWLWRVETV	DRFQILTLWL	PDSLTTWEIH	GLSLSKTKGL
0801	CVATPVQLRV	FREFHLHLRL	PMSVRRFEQL	ELRPVLYNYL	DKNLTVSVHV
0851	SPVEGLCLAG	GGGLAQQVLV	PAGSARPVAF	SVVPTAAAAV	SLKVVARGSF
0901	EFPVGDAVSK	VLQIEKEGAI	HREELVYELN	PLDHRGRTLE	IPGNSDPNMI
0951	PDGDFNSYVR	VTASDPLDTL	GSEGALSPGG	VASLLRLPRG	CGEQTMIIYLA
1001	PTLAASRYLD	KTEQWSTLPP	ETKDHAVDLI	QKGYMRIQQF	RKADGSYAAW
1051	LSRDSSTWLT	AFVLKVLSLA	QEQVGG SPEK	LQETS NWLLS	QQQADGSFQD
1101	LSPVIHRSMQ	GGLVGND ETV	ALTAFTIAL	HHGLAVFQDE	GAEPLKQRVE
1151	ASISKANSFL	GEKASAGLLG	AHAAAITAYA	LSLTKAPVDL	LGVAHNNLMA

1201 MAQETGDONLY WGSVTGSQSN AVSPTPAPRN PSDPMPQAPA LWIETTAYAL  
 1251 LHLLLHEGKA EMADQASAWL TRQGSFQGGF RSTQDTVIAL DALSAYWIAS  
 1301 HTTEERGLNV TLSSTGRNGF KSHALQLNNR QIRGLEEELQ FSLGSKINVK  
 1351 VGGNSKGTKL VLRTYNVLDL KNTTCQDLQI EVTVKGHVEY TMEANEDYED  
 1401 YEYDELPKAD DPDAPLQPVT PLQLFEGRRN RRRREAPKVV EEQESRVHYT  
 1451 VCIWRNGKVG LSGMAIADVT LLSGFHALRA DLEKLTSLSD RYVSHFETEG  
 1501 PHVLLYFDSV PTSRECVGFE AVQEVVGLV QPASATLYDY YNPERRCSVF  
 1551 YGAPSKSRLI ATLCSAEVCQ CAEGKCPRQR RALERGLQDE DGYRMKFACY  
 1601 YPRVEYGFQV KVLREDSRAA FRLFETKITQ VLHFTKDVKA AANQMRNFLV  
 1651 RASCRLRLEP GKEYLIMGLD GATYDLEGHP QYLLDSNSWI EEMPSERLCR  
 1701 STRQRAACAQ LNDFLQEYGT QGCQV (配列番号 2 1)

[0083] 念のため、C04-2の配列を以下に示す。

Complement C4由来ペプチド C04-2

APLQPVTPLQLFEGRRN (配列番号 2 2)

[0084] [14] Fibrinogen alpha chain (isoform 1)由来ペプチド FIBA-1

配列番号 2 4 のFIBA-1のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図 1 5)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 2 4 のFIBA-1は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表 1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 GPRVVERHQS ACKDSDWPFC SDEDWNYKCP SGCRMKGLID EVNQDFTNRI  
 0051 NKLNKSLFEY QKNNKDSHSL TTNIMEILRG DFSSANNRDN TYNRVSEDLR  
 0101 SRIEVLKRKV IEKVQHIQLL QKNVRAQLVD MKRLEVDIDI KIRSCRGSCS  
 0151 RALAREVDLK DYEDQQKQLE QVIAKDLLPS RDRQHPLIK MKPVPDLVPG  
 0201 NFKSQKQKVP PEWKALTDMP QMRMELERPG GNEITRGGST SYGTGSETES

0251 PRNPSSAGSW NSGSSGPGST GNRNPGSSGT GGTATWKPGS SGPGSTGSWN  
 0301 SGSSGTGSTG NQNPGSPRPG STGTWNPSS ERGSAGHWTS ESSVSGSTGQ  
 0351 WHSESGSFRP DSPGSGNARP NNPDWGTFEE VSGNVSPGTR REYHTEKLVT  
 0401 SKGDKELRTG KEKVTSGSTT TTRRSCSKTV TKTVIGPDGH KEVTKEVTS  
 0451 EDGSDCPEAM DLGTLGIGT LDGFRHRHPD EAAFFDTAST GKTFFGFFSP  
 0501 MLGEFVSETE SRGSESGIFT NTKESSSHHP GIAEFPSRGK SSSYSKQFTS  
 0551 STSYNRGDST FESKSYKMAD EAGSEADHEG THSTKRGHAK SRPVRDCDDV  
 0601 LQTHPSGTQS GIFNIKLPQS SKIFSVYCDQ ETSLGGWLLI QQRMDGSLNF  
 0651 NRTWQDYKRG FGSLNDEGEG EFWLGNDYLH LLTQRGSVLR VELEDWAGNE  
 0701 AYA EYHFRVG SEAEGYALQV SSYEGTAGDA LIEGSVEEGA EYTSNNMQF  
 0751 STFDRDADQW EENCAEVYGG GWWYNQCQAA NLNGIYYPGG SYDPRNNSPY  
 0801 EIENGVVWVS FRGADYSLRA VRMKIRPLVT Q (配列番号 23)

[0085] Fibrinogen alpha chain由来ペプチド FIBA-1

SSSYSKQFTSSTSYNRGDSTFES (配列番号 24)

[0086] [15] Fibrinogen alpha chain (isoform 2)由来ペプチド FIBA-1

配列番号 24 のペプチド FIBA-1 は MS/MS および、MASCOT データベース検索の結果から、Fibrinogen alpha chain (isoform 1) (配列番号 23) および、Fibrinogen alpha chain (isoform 2) のタンパク質に共通するトポロジカル領域部分に存在するアミノ酸配列である。以下に配列番号 25 として、Fibrinogen alpha chain (isoform 2) インタクトタンパク質のアミノ酸配列を示す。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 GPRVVERHQS ACKDSDWPFC SDEDWNYKCP SGCRMKGLID EVNQDFTNRI  
 0051 NKLNKSLFEY QKNNKDSHSL TTNIMEILRG DFSSANNRDN TYNRVSEDLR  
 0101 SRIEVLKRKV IEKVQHIQLL QKNVRAQLVD MKRLEVDIDI KIRSCRGSCS  
 0151 RALAREVDLK DYEDQQKQLE QVIAKDLLPS RDRQHLPLIK MKPVPDLVPG  
 0201 NFKSQKQKVP PEWKALTDMP QRMELERPG GNEITRGGST SYGTGSETES  
 0251 PRNPSSAGSW NSGSSGPGST GNRNPGSSGT GGTATWKPGS SGPGSTGSWN

0301 SGSSGTGSTG NQNPSPRPG STGTWNPSS ERGSAGHWTS ESSVSGSTGQ  
 0351 WHSESGSFRP DSPGSGNARP NNPDWGTFEE VSGNVSPGTR REYHTEKLV  
 0401 SKGDKELRTG KEKVTSGSTT TTRRSCSKTV TKTIVIGPDGH KEVTKEVTS  
 0451 EDGSDCPEAM DLGTLSGIGT LDGFRHRHPD EAAFFDTAST GKTFPGFFSP  
 0501 MLGEFVSETE SRGSESGIFT NTKESSSHHP GIAEFPSRGK SSSYSKQFTS  
 0551 STSYNRGDST FESKSYKMAD EAGSEADHEG THSTKRGHAK SRPVRGIHTS  
 0601 PLGKPSLSP (配列番号 25)

[0087] 念のため、FIBA-1の配列を以下に示す。

Fibrinogen alpha chain由来ペプチド FIBA-1

SSSYSKQFTSSTSYNRGDSTFES (配列番号 24)

[0088] [16] Fibrinogen alpha chain (isoform 1)由来ペプチド FIBA-2

配列番号 26 のFIBA-2のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図16)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 26 のFIBA-2は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質/ペプチド

0001 GPRVVERHQS ACKDSDWPFC SDEDWNYKCP SGCRMKGLID EVNQDFTNRI  
 0051 NKLKNSLFEY QKNNKDSHSL TTNIMEILRG DFSSANNRDN TYNRVSEDLR  
 0101 SRIEVLKRKV IEKVQHIQLL QKNVRAQLVD MKRLEVDIDI KIRSCRGSCS  
 0151 RALAREVDLK DYEDQQKQLE QVIAKDLLPS RDRQHPLIK MKPVPDLVPG  
 0201 NFKSQKQVP PEWKALTDMP QRMELERPG GNEITRGGST SYGTGSETES  
 0251 PRNPSSAGSW NSGSSGPGST GNRNPGSSGT GGTATWKPGS SGPGSTGSWN  
 0301 SGSSGTGSTG NQNPSPRPG STGTWNPSS ERGSAGHWTS ESSVSGSTGQ  
 0351 WHSESGSFRP DSPGSGNARP NNPDWGTFEE VSGNVSPGTR REYHTEKLV  
 0401 SKGDKELRTG KEKVTSGSTT TTRRSCSKTV TKTIVIGPDGH KEVTKEVTS

0451 EDGSDCPEAM DLGTLSGIGT LDGFRHRHPD EAAFFDTAST GKTFFPGFFSP  
 0501 MLGEFVSETE SRGSESGIFT NTKESSSHHP GIAEFPSRGK SSSYSKQFTS  
 0551 STSYNRGDST FESKSYKMAD EAGSEADHEG THSTKRGHAK SRPVRDCDDV  
 0601 LQTHPSGTQS GIFNIKLPGS SKIFSVYCDQ ETSLGGWLLI QQRMDGSLNF  
 0651 NRTWQDYKRG FGSLNDEGEG EFWLGNDYLH LLTQRGSVLR VELEDWAGNE  
 0701 AYAHEYFRVG SEAEGYALQV SSYEGTAGDA LIEGSVEEGA EYTSHNNMQF  
 0751 STFDRDADQW EENCAEVYGG GWWYNQCQAA NLNGIYYPGG SYDPRNNSPY  
 0801 EIENGVVVWS FRGADYSLRA VRMKIRPLVT Q (配列番号23)

[0089] Fibrinogen alpha chain由来ペプチド FIBA-2

SSSYSKQFTSSTSYNRGDSTFESKS (配列番号26)

[0090] [17] Fibrinogen alpha chain (isoform 2)由来ペプチド FIBA-2

配列番号26のペプチドFIBA-2はMS/MSおよび、MASCOTデータベース検索の結果から、Fibrinogen alpha chain (isoform 1)(配列番号23)および、Fibrinogen alpha chain (isoform 2)のタンパク質に共通するトポロジカル領域部分に存在するアミノ酸配列である。以下に配列番号25として、Fibrinogen alpha chain (isoform 2)インタクトタンパク質のアミノ酸配列を示す。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 GPRVVERHQS ACKDSDWPFC SDEDWNYKCP SGCRMKGLID EVNQDFTNRI  
 0051 NKLNKSLFEY QKNNKDSHSL TTNIMEILRG DFSSANNRDN TYNRVSEDLR  
 0101 SRIEVLKRKV IEKVQHIQLL QKNVRAQLVD MKRLEVDIDI KIRSCRGSCS  
 0151 RALAREVDLK DYEDQQKQLE QVIAKDLLPS RDRQHPLIK MKPVPDLVPG  
 0201 NFKSQKQKVP PEWKALTDMP QRMELERPG GNEITRGGST SYGTGSETES  
 0251 PRNPSSAGSW NSGSSGPGST GNRNPGSSGT GGTATWKPGS SGPGSTGSWN  
 0301 SGSSGTGSTG NQNPSPRPG STGTWNPGSS ERGSAGHWTS ESSVSGSTGQ  
 0351 WHSESGSFRP DSPGSGNARP NNPDWGTFEE VSGNVSPGTR REYHTEKLVT  
 0401 SKGDKELRTG KEKVTSGSTT TTRRSCSKTV TKTIVIGPDGH KEVTKEVVT  
 0451 EDGSDCPEAM DLGTLSGIGT LDGFRHRHPD EAAFFDTAST GKTFFPGFFSP

0501 MLGEFVSETE SRGSESGIFT NTKESSSHHP GIAEFPSRGK SSSYSKQFTS

0551 STSYNRGDST FESKSYKMAD EAGSEADHEG THSTKRGHAK SRPVRIHTS

0601 PLGKPSLSP (配列番号 25)

[0091] 念のため、FIBA-2の配列を以下に示す。

Fibrinogen alpha chain由来ペプチド FIBA-2

SSSYSKQFTSSTSYNRGDSTFESKS (配列番号 26)

[0092] [18] Fibrinogen alpha chain (isoform 1)由来ペプチド FIBA-3

配列番号 27 のFIBA-3のArea値はNDCと比較して認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)のほうがt-検定の結果、統計的に有意に( $p < 0.05$ )高値であり(図17)、認知機能障害疾患(AD、MCI、DLB、FTD)患者と精神疾患に罹患していない被験者(NDC)とを区別する上で配列番号 27 のFIBA-3は有用であることが分かった。受信者操作特性曲線による分析によれば、ADおよびMCI患者と精神疾患に罹患していない被験者とを区別するのに有用であることが明らかである(表1)。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 GPRVVERHQS ACKDSDWPFC SDEDWNYKCP SGCRMKGLID EVNQDFTNRI

0051 NKLNKSLFEY QKNNKDSHSL TTNIMEILRG DFSSANNRDN TYNRVSEDLR

0101 SRIEVLKRKV IEKVQHIQLL QKNVRAQLVD MKRLEVDIDI KIRSCRGSCS

0151 RALAREVDLK DYEDQQKQLE QVIAKDLLPS RDRQHPLIK MKPVPDLVPG

0201 NFKSQKQKVP PEWKALTDMP QRMELERPG GNEITRGGST SYGTGSETES

0251 PRNPSSAGSW NSGSSGPGST GNRNPGSSGT GGTATWKPGS SGPGSTGSWN

0301 SGSSGTGSTG NQNPSPRPG STGTWNPSS ERGSAGHWTS ESSVSGSTGQ

0351 WHSESGSFRP DSPGSGNARP NNPDWGTFEE VSGNVSPGTR REYHTEKLVT

0401 SKGDKELRTG KEKVTSGSTT TTRRSCSKTV TKTIVIGPDGH KEVTKEVVT

0451 EDGSDCPEAM DLGTLGIGT LDGFRHRHPD EAAFFDTAST GKTFPGFFSP

0501 MLGEFVSETE SRGSESGIFT NTKESSSHHP GIAEFPSRGK SSSYSKQFTS

0551 STSYNRGDST FESKSYKMAD EAGSEADHEG THSTKRGHAK SRPVRDCDDV

0601 LQTHPSGTQS GIFNIKLPQS SKIFSVYCDQ ETSLGGWLLI QQRMDGSLNF

0651 NRTWQDYKRG FGSLNDEGEG EFWLGNDYLH LLTQRGSVLR VELEDWAGNE  
 0701 AYA EYHFRVG SEAEGYALQV SSYEGTAGDA LIEGSVEEGA EYTSNNMQF  
 0751 STFDRDADQW EENCAEVYGG GWWYNQCQAA NLNGIYYPGG SYDPRNNSPY  
 0801 EIENGVVWVS FRGADYSLRA VRMKIRPLVT Q (配列番号 23)

[0093] Fibrinogen alpha chain由来ペプチド FIBA-3

SSSYSKQFTSSTS YNRGDSTFESKSY (配列番号 27)

[0094] [19] Fibrinogen alpha chain (isoform 2)由来ペプチド FIBA-3

配列番号 26 のペプチド FIBA-3 は MS/MS および、MASCOT データベース検索の結果から、Fibrinogen alpha chain (isoform 1) (配列番号 23) および、Fibrinogen alpha chain (isoform 2) のタンパク質に共通するトポロジカル領域部分に存在するアミノ酸配列である。以下に配列番号 25 として、Fibrinogen alpha chain (isoform 2) インタクトタンパク質のアミノ酸配列を示す。

インタクトタンパク質／ペプチド

0001 GPRVVERHQS ACKDSDWPFC SDEDWNYKCP SGCRMKGLID EVNQDFTNRI  
 0051 NKLNKSLFEY QKNNKDSHSL TTNIMEILRG DFSSANNRDN TYNRVSEDLR  
 0101 SRIEVLKRKV IEKVQHIQLL QKNVRAQLVD MKRLEVDIDI KIRSCRGSCS  
 0151 RALAREVDLK DYEDQQKQLE QVIAKDLLPS RDRQHLPLIK MKPVPDLVPG  
 0201 NFKSQKQKVP PEWKALTDMP QRMELERPG GNEITRGGST SYGTGSETES  
 0251 PRNPSSAGSW NSGSSGPGST GNRNPGSSGT GGTATWKPGS SGPGSTGSWN  
 0301 SGSSGTGSTG NQNPSPRPG STGTWNPSS ERGSAGHWTS ESSVSGSTGQ  
 0351 WHSESGSFRP DSPGSGNARP NNPDWGTFEE VSGNVSPGTR REYHTEKLVT  
 0401 SKGDKELRTG KEKVTSGSTT TTRRSCSKTV TKTIVIGPDGH KEVTKEVVT  
 0451 EDGSDCPEAM DLGTLGIGT LDGFRHRHPD EAAFFDTAST GKTFPGFFSP  
 0501 MLGEFVSETE SRGSESGIFT NTKESSHHP GIAEFPSRGK SSSYSKQFTS  
 0551 STSYNRGDST FESKSYKMAD EAGSEADHEG THSTKRGHAK SRPVRGIHTS  
 0601 PLGKPSLSP (配列番号 25)

[0095] 念のため、FIBA-3 の配列を以下に示す。

Fibrinogen alpha chain由来ペプチド FIBA-3

SSSYSKQFTSSTSYNRGDSTFESKSY (配列番号27)

[0096] [表1]

マーカーペプチド		AD vs. NDC	MCI vs. NDC
配列番号	配列名	AUC値	AUC値
2	CO3	0.88	0.83
4	AP2C	0.78	0.70
6	SYN3	0.77	0.77
8	OXYR	0.81	0.77
10	ITH5L	0.79	0.70
12	HERC2	0.76	0.73
14	THRB	0.85	0.79
16	TTHY	0.73	0.69
18	TNR16	0.75	0.74
20	CO4-1	0.73	0.67
22	CO4-2	0.76	0.74
24	FIBA-1	0.77	0.64
26	FIBA-2	0.74	0.61
27	FIBA-3	0.80	0.64

[0097] 表1には各マーカーペプチドの認知機能障害疾患の検出における受信者操作特性曲線による分析で得たAUC値が示されている。

[0098] これらのマーカーペプチドをそれぞれ単独、あるいは組み合わせで用いて、液体クロマトグラフィーおよび／または他の適当な分離手段を用いて、あるいは用いないで直接、血清中あるいは血漿中の存在量を質量分析または免疫学的あるいは酵素学的方法などの他の方法によって測定することにより、AD、MCI、DLB、FTDのような認知機能障害疾患を診断上、健常人を含む非精神疾患被験者と区別することが可能である。

産業上の利用可能性

[0099] 本発明において開示されたバイオマーカーを用いて、軽度認知障害およびアルツハイマー病を含む認知機能障害疾患を検出することができるので、診断薬を含む診断分野における用途に適用できる。

## 請求の範囲

[請求項1] 配列番号1で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3、配列番号3で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma、配列番号5で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3、配列番号7で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor、配列番号9で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein、配列番号11で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protein ligase HERC2、配列番号13で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin、配列番号15で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin、配列番号17で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16、配列番号19で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-A、配列番号21で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4-B、配列番号23で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 1)、および配列番号25で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain (isoform 2)からなる群から選択される少なくとも1つのタンパク質ないしペプチドまたは該タンパク質ないし該ペプチドから生じるアミノ酸残基5個以上のペプチド断片からなる認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカー。

[請求項2] 配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるComplement C3由来ペプチドC03、配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるTranscription factor AP-2 gamma由来ペプチドAP2C、配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるSynapsin-3由来ペプチドSYN3、配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるOxytocin receptor由来ペプチドOXYR、配列番号10で表されるアミノ酸配列からなるInter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5-like protein由来ペプチドITH5L、配列番号12で表されるアミノ酸配列からなるE3 ubiquitin-protei

n ligase HERC2由来ペプチドHERC2、配列番号14で表されるアミノ酸配列からなるProthrombin由来ペプチドTHRB、配列番号16で表されるアミノ酸配列からなるTransthyretin由来ペプチドTTHY、配列番号18で表されるアミノ酸配列からなるTumor necrosis factor receptor superfamily member 16由来ペプチドTNR16、配列番号20で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-1、配列番号22で表されるアミノ酸配列からなるComplement C4由来ペプチドC04-2、配列番号24で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-1、配列番号26で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-2、および配列番号27で表されるアミノ酸配列からなるFibrinogen alpha chain由来ペプチドFIBA-3から選択される認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカー。

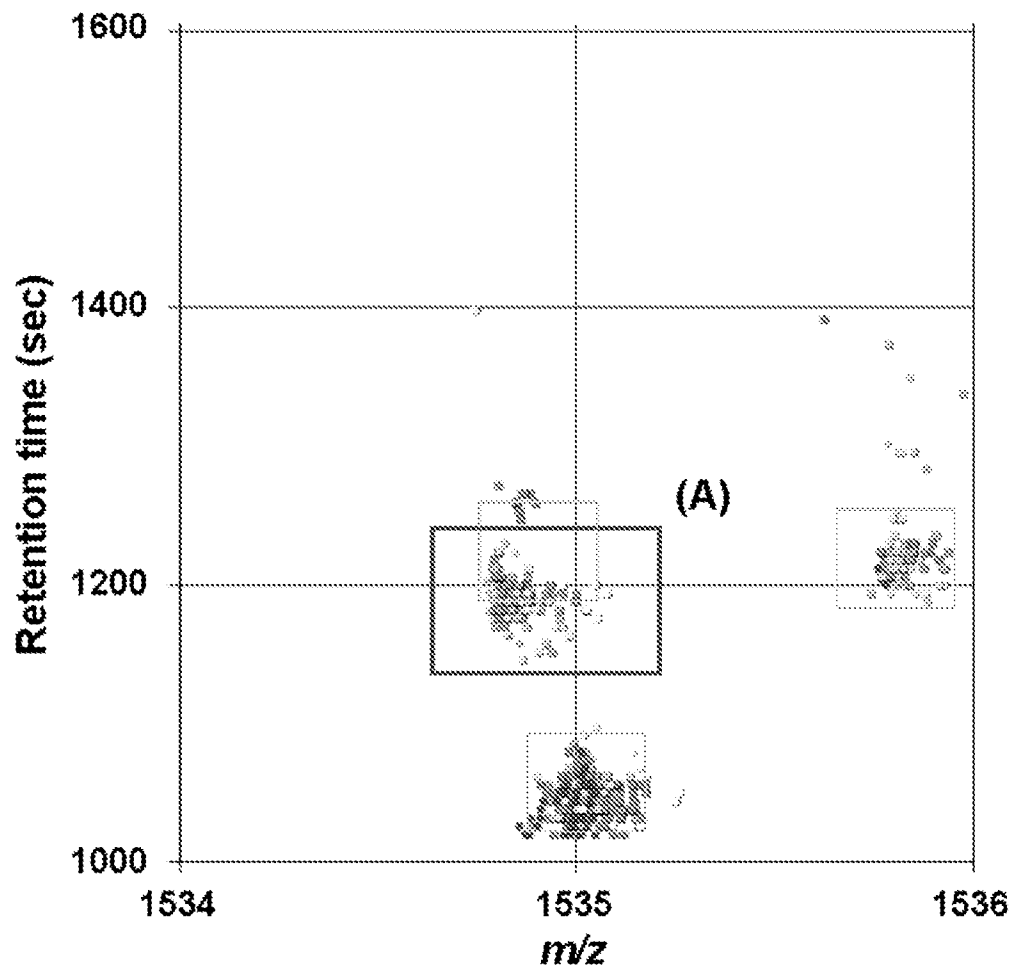
[請求項3] 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26および27で表されるアミノ酸配列からなるペプチドから選択される、認知機能障害疾患患者生体試料中において、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加する認知機能障害疾患バイオマーカー。

[請求項4] 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26および27で表されるアミノ酸配列からなるペプチドから選択される、アルツハイマー病患者生体試料中において、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加するアルツハイマー病バイオマーカー。

[請求項5] 配列番号2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26および27で表されるアミノ酸配列からなるペプチドから選択される、軽度認知障害患者生体試料中において、精神疾患に罹患していない被験者の生体試料中と比較し出現または増加する軽度認知障害バイオマーカー。

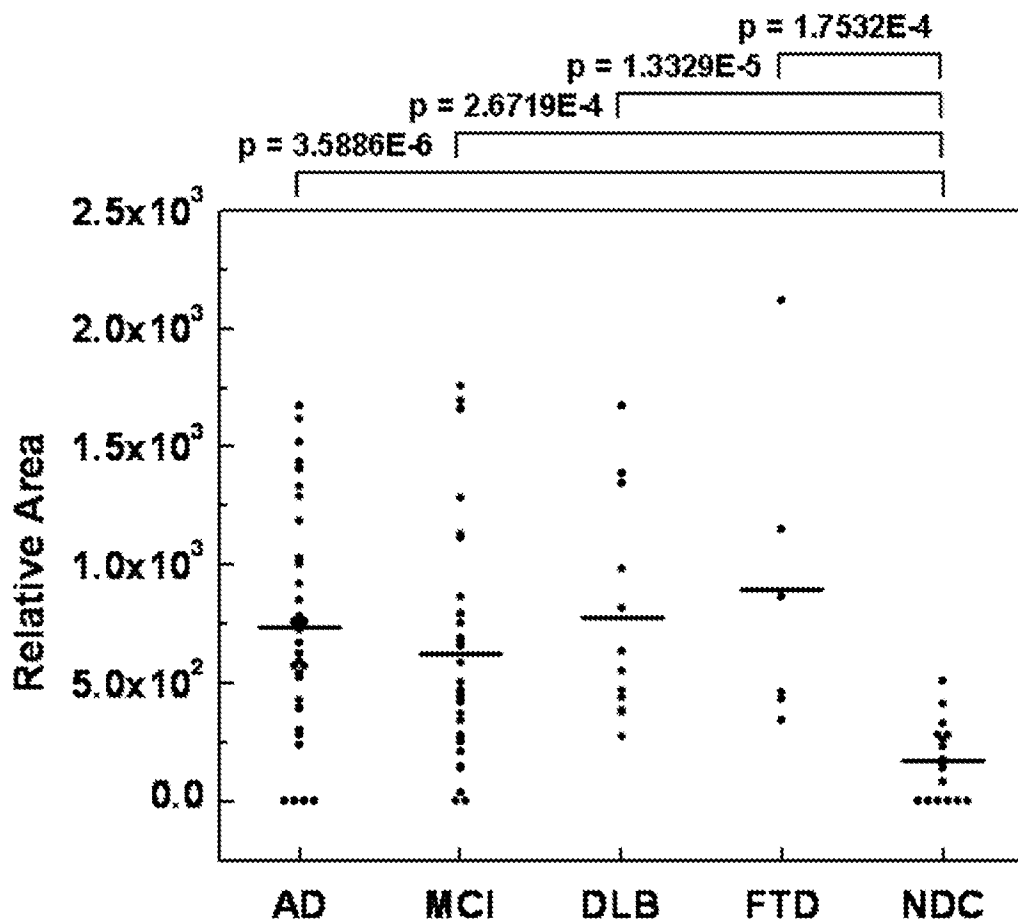
- [請求項6] 生体試料中の請求項1～5のいずれか1項に記載の少なくとも1つの認知機能障害疾患診断のためのバイオマーカーを測定することを含む、認知機能障害疾患の検出方法。
- [請求項7] 検出がイムノ・ブロット法またはウエスタン・ブロット法、酵素もしくは蛍光もしくは放射性物質標識抗体法または質量分析法またはimmunoMS法または表面プラズモン共鳴法により行われる請求項6に記載の認知機能障害疾患の検出方法。
- [請求項8] 請求項1～5のいずれか1項に記載の少なくとも1つのバイオマーカーを測定するための認知機能障害疾患の検出キット。
- [請求項9] 請求項1～5のいずれか1項に記載の少なくとも1つのバイオマーカーに対する抗体もしくはアプタマーを含む認知機能障害疾患の検出キット。

[図1]

Marker A = CO<sub>3</sub>

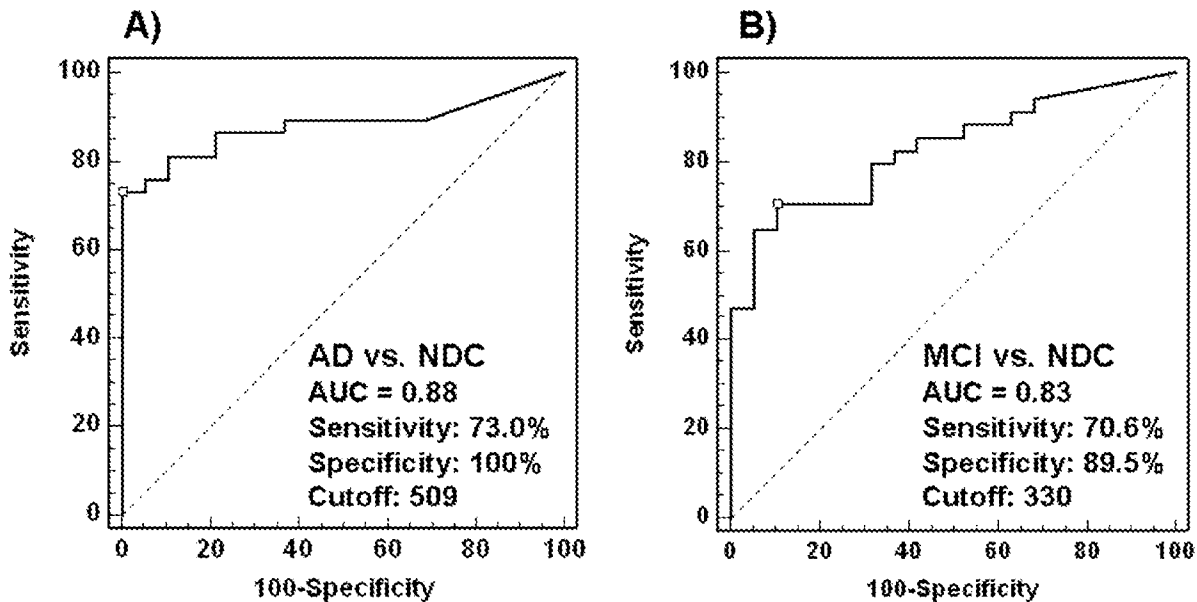
[圖2]

Marker A = CO3



[圖3]

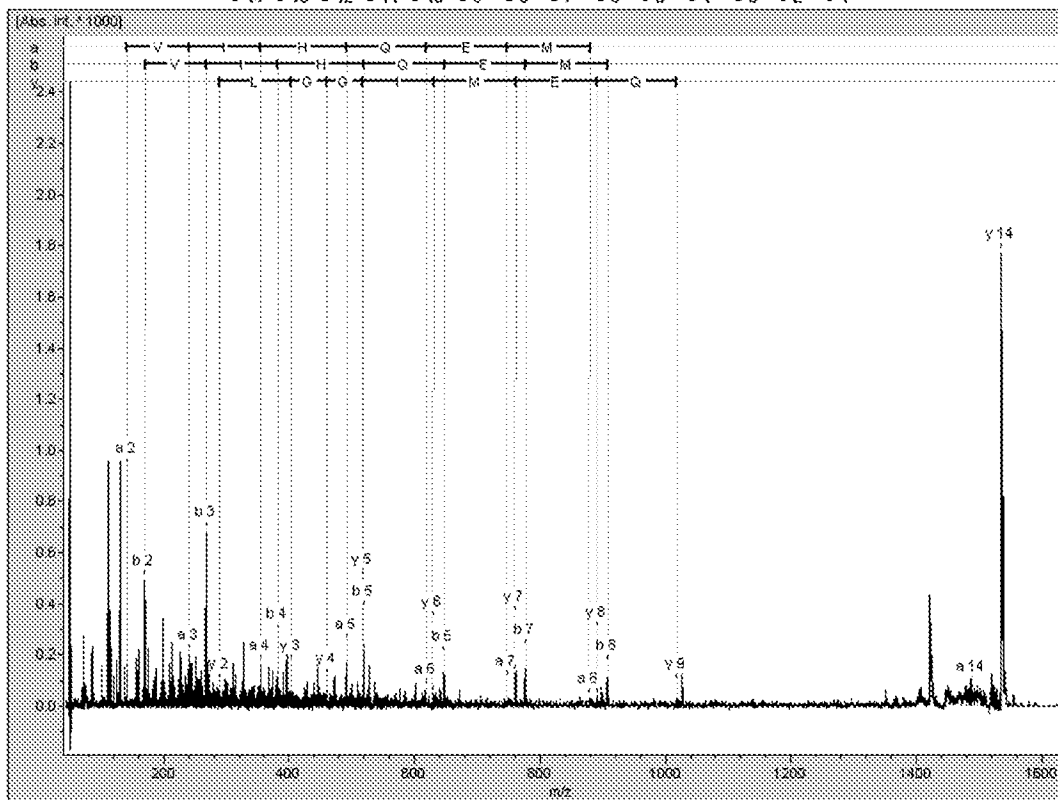
Marker A = CO3



[図4]

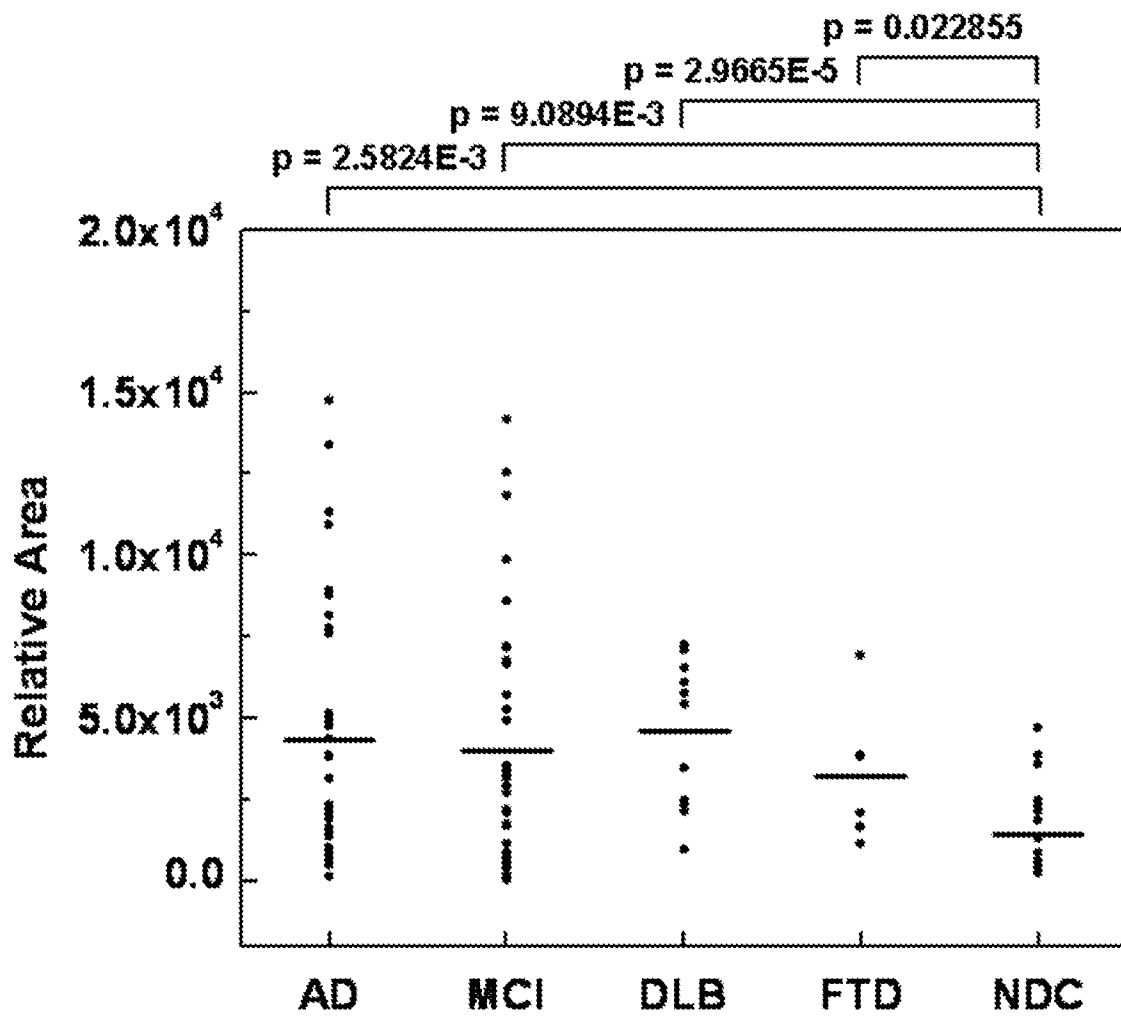
Marker A = CO<sub>3</sub>

$b_1$   $b_2$   $b_3$   $b_4$   $b_5$   $b_6$   $b_7$   $b_8$   $b_9$   $b_{10}$   $b_{11}$   $b_{12}$   $b_{13}$   $b_{14}$   
**A P V I H Q E M I G G L R N**  
 $y_{14}$   $y_{13}$   $y_{12}$   $y_{11}$   $y_{10}$   $y_9$   $y_8$   $y_7$   $y_6$   $y_5$   $y_4$   $y_3$   $y_2$   $y_1$

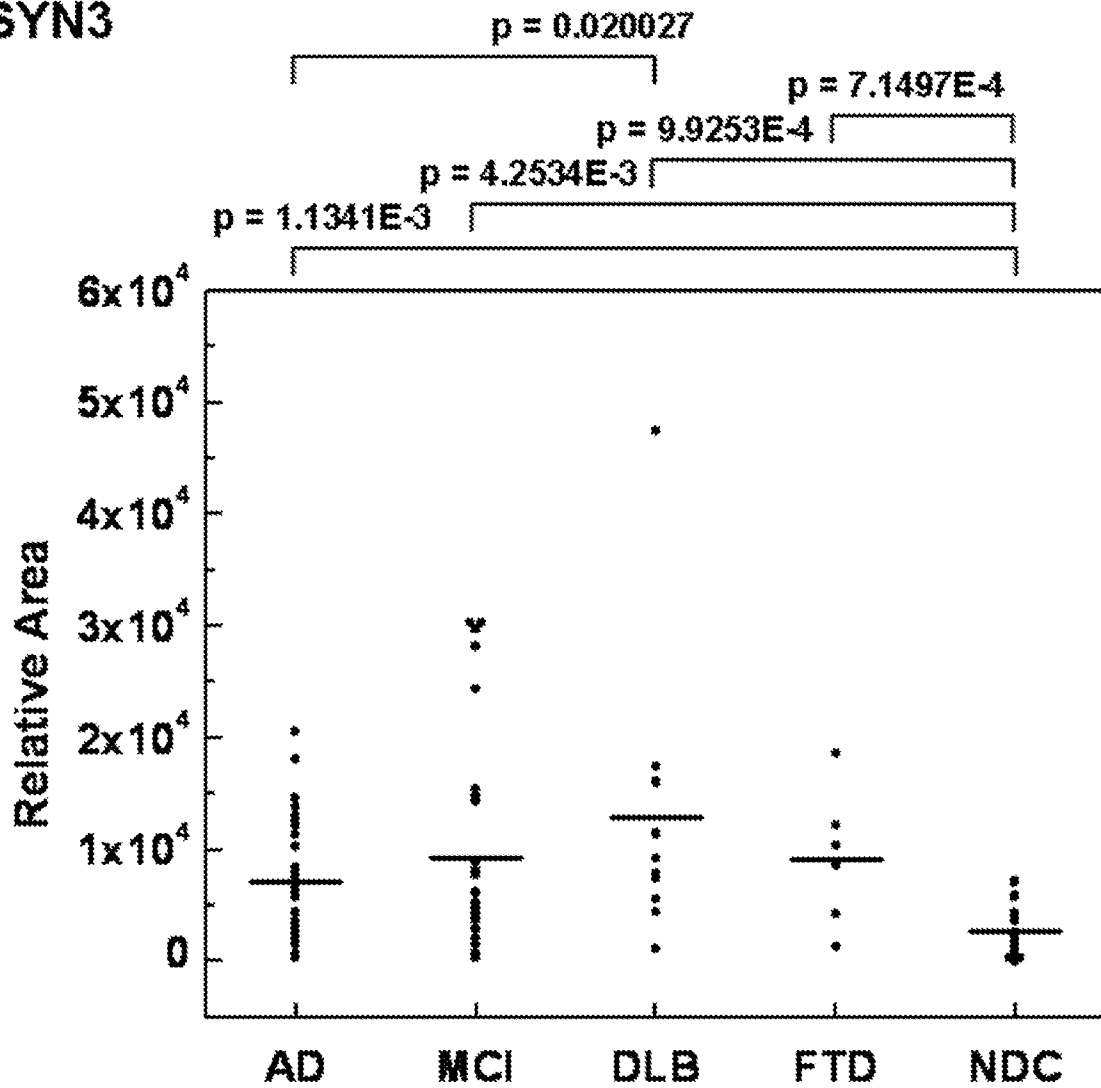


[図5]

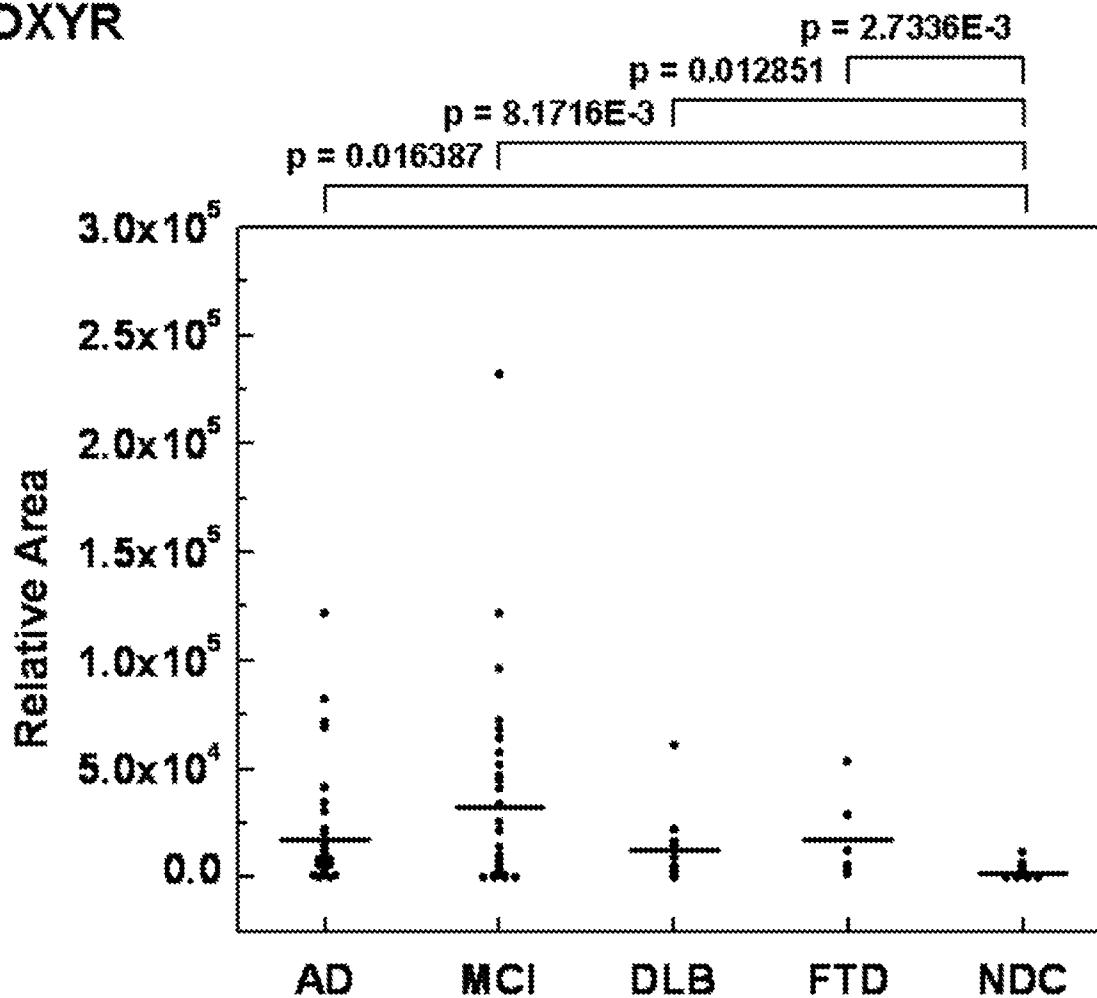
## AP2C



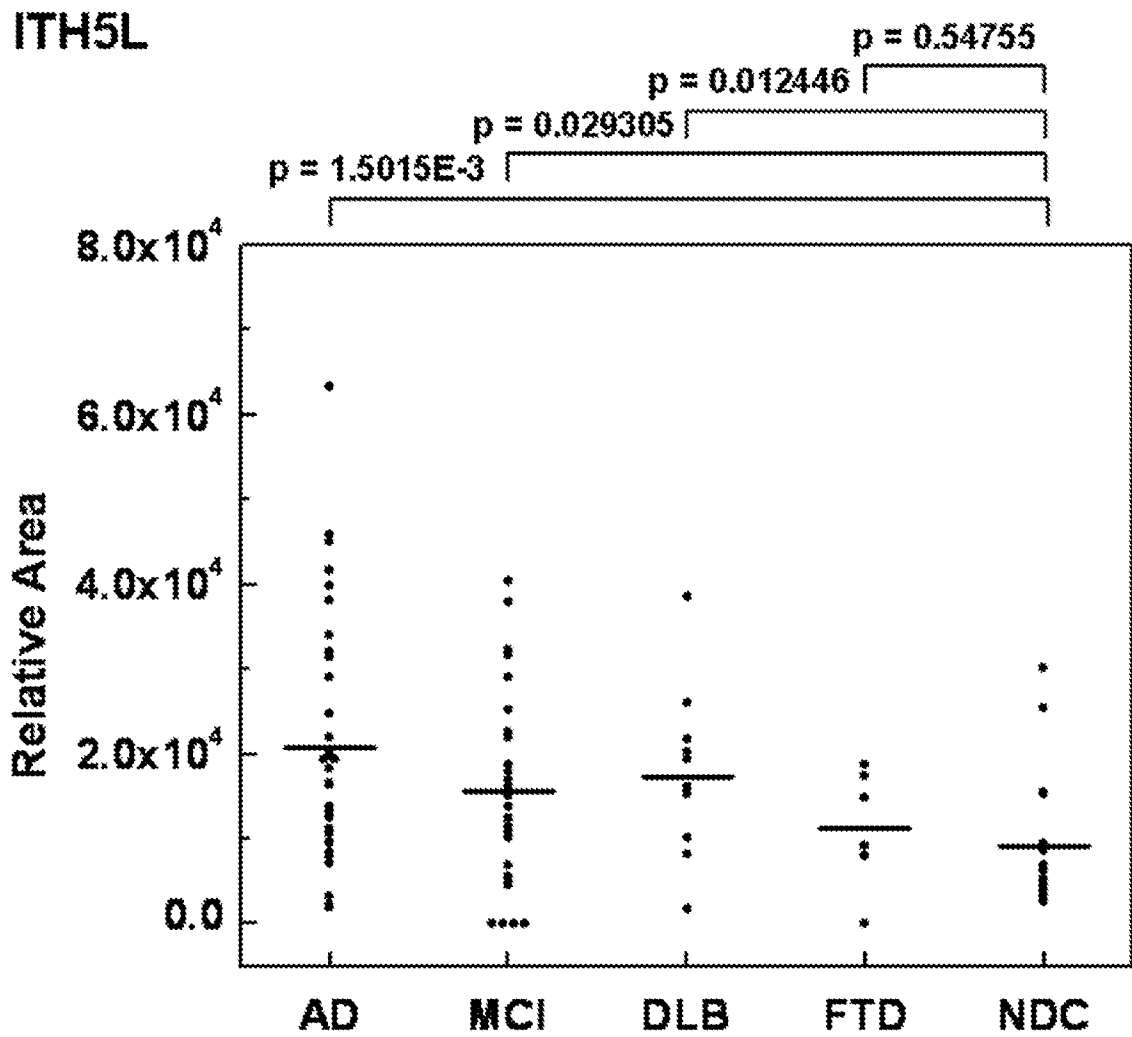
[図6]

**SYN3**

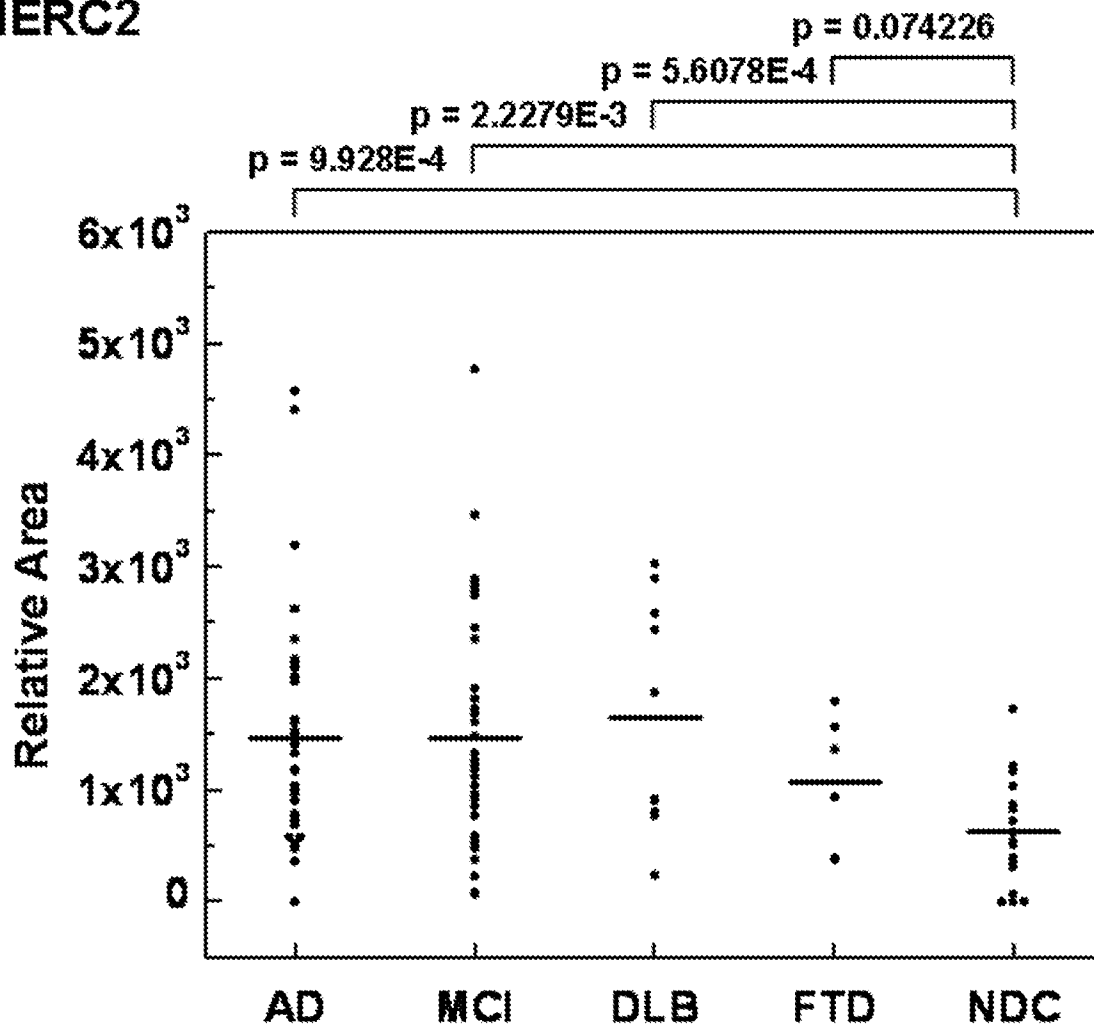
[図7]

**OXYR**

[圖8]

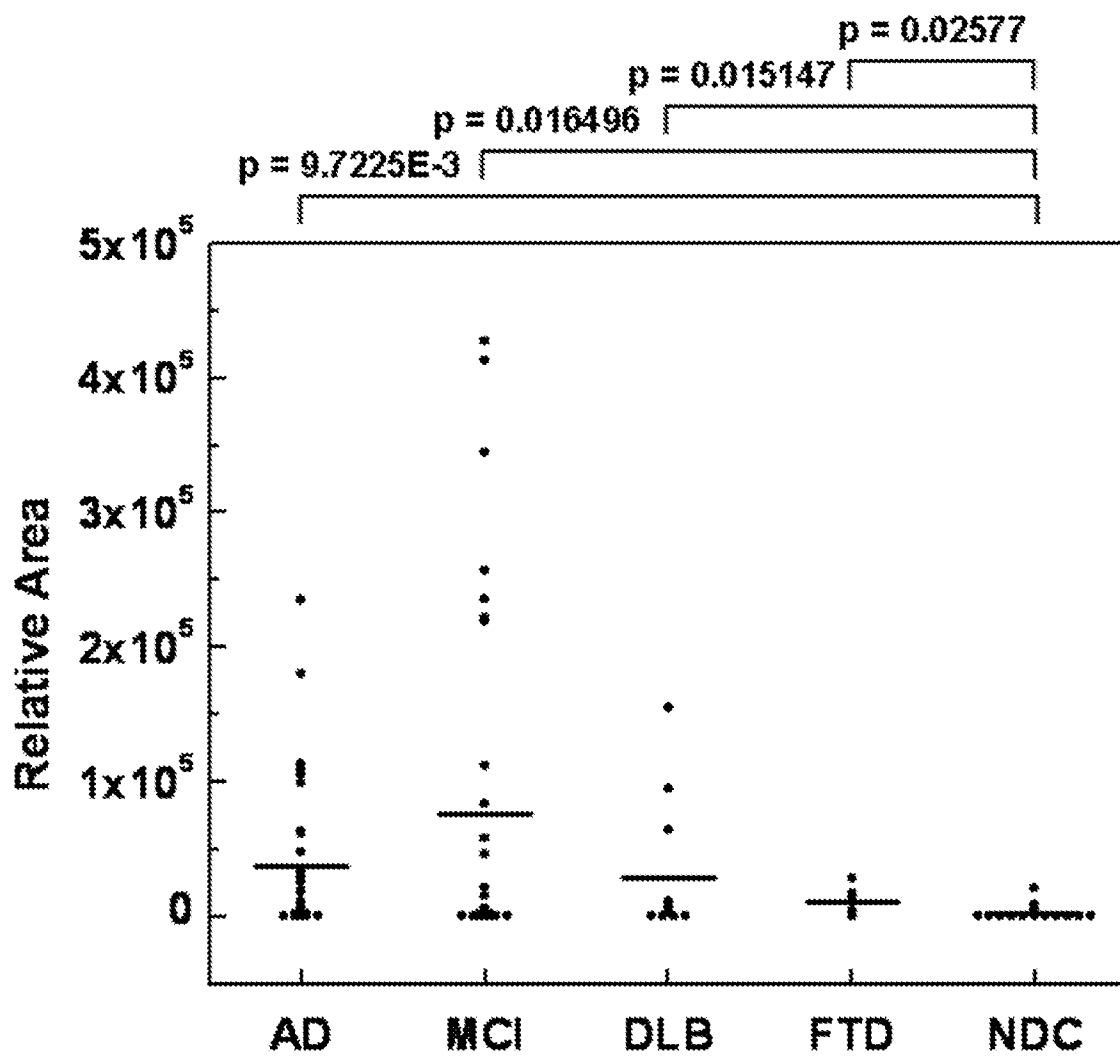


[圖9]

**HERC2**

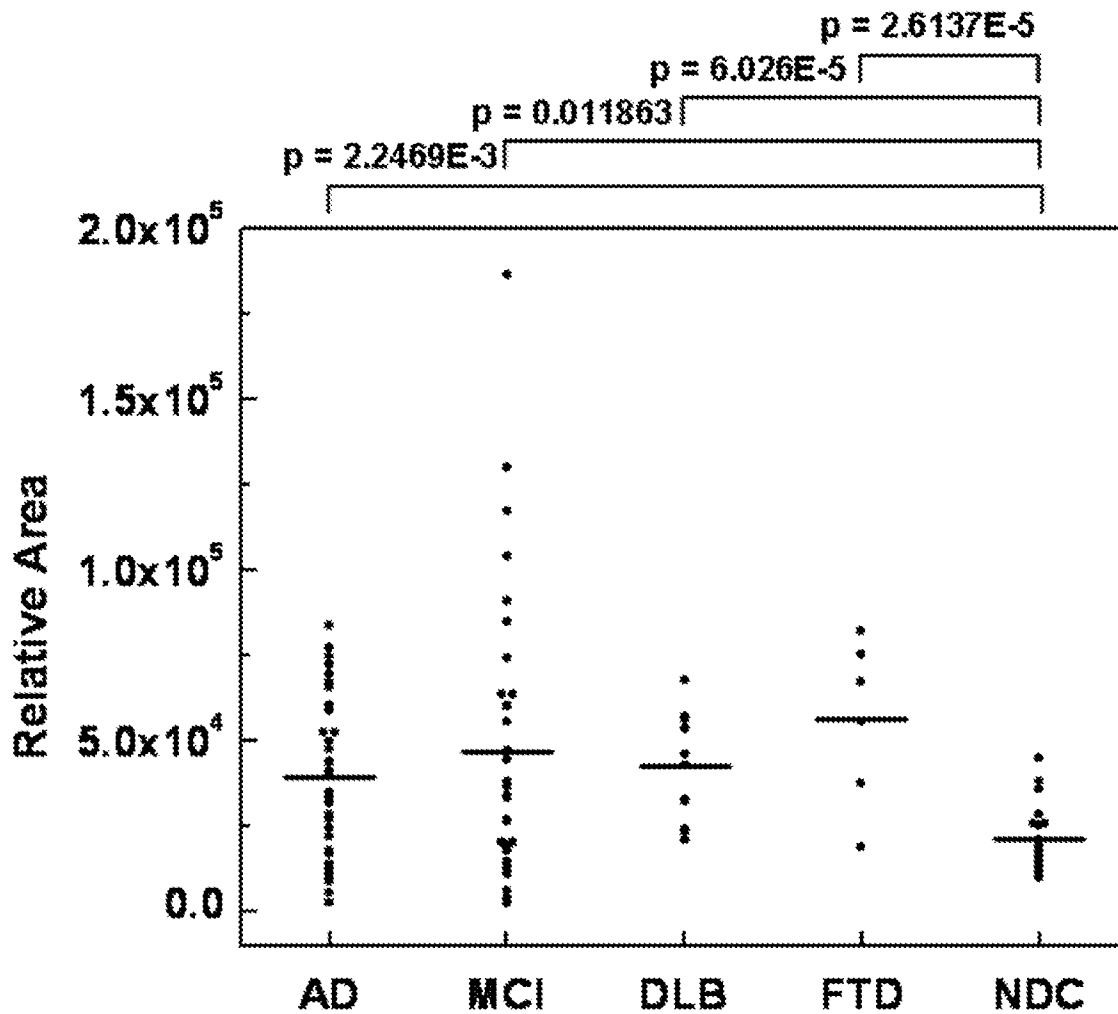
[図10]

## THRB

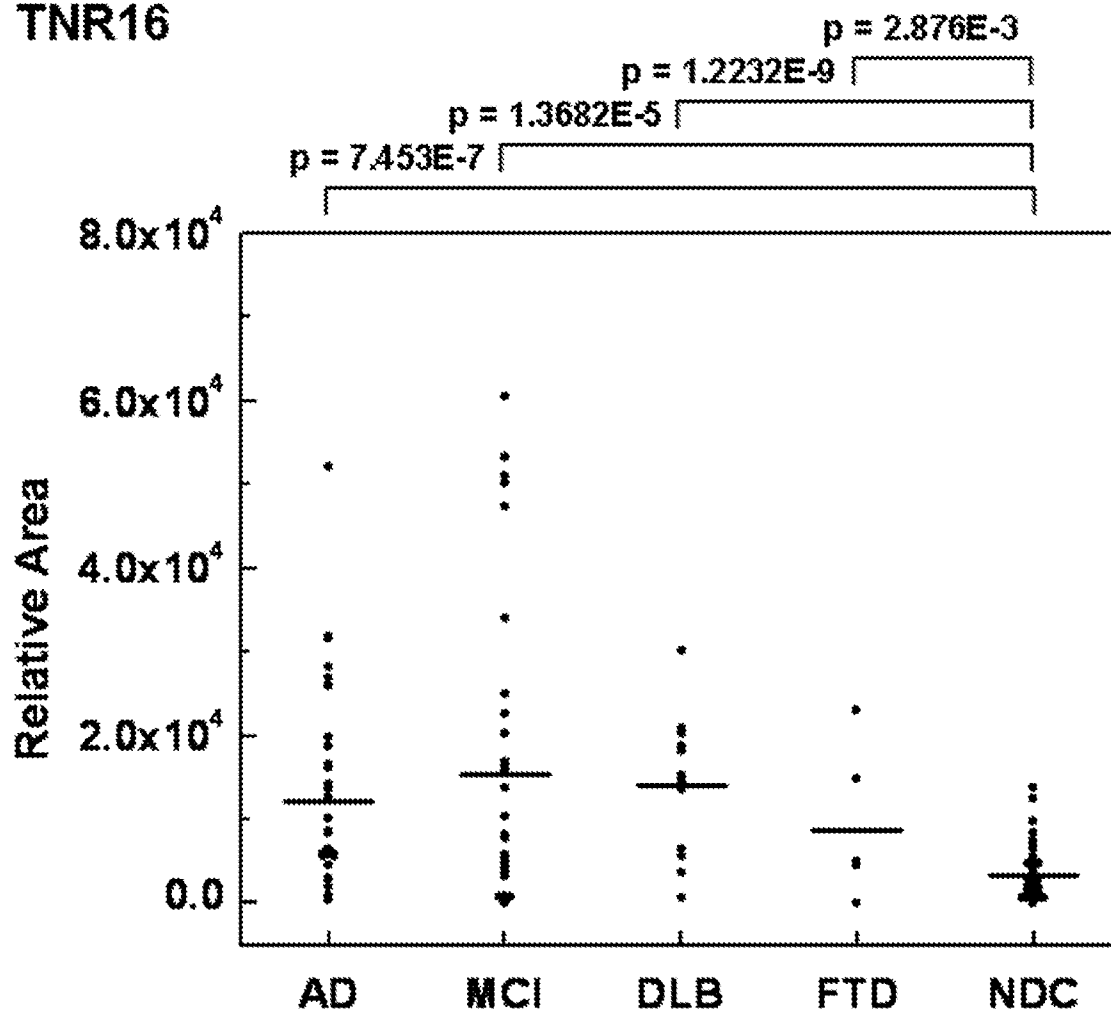


[図11]

# TTHY

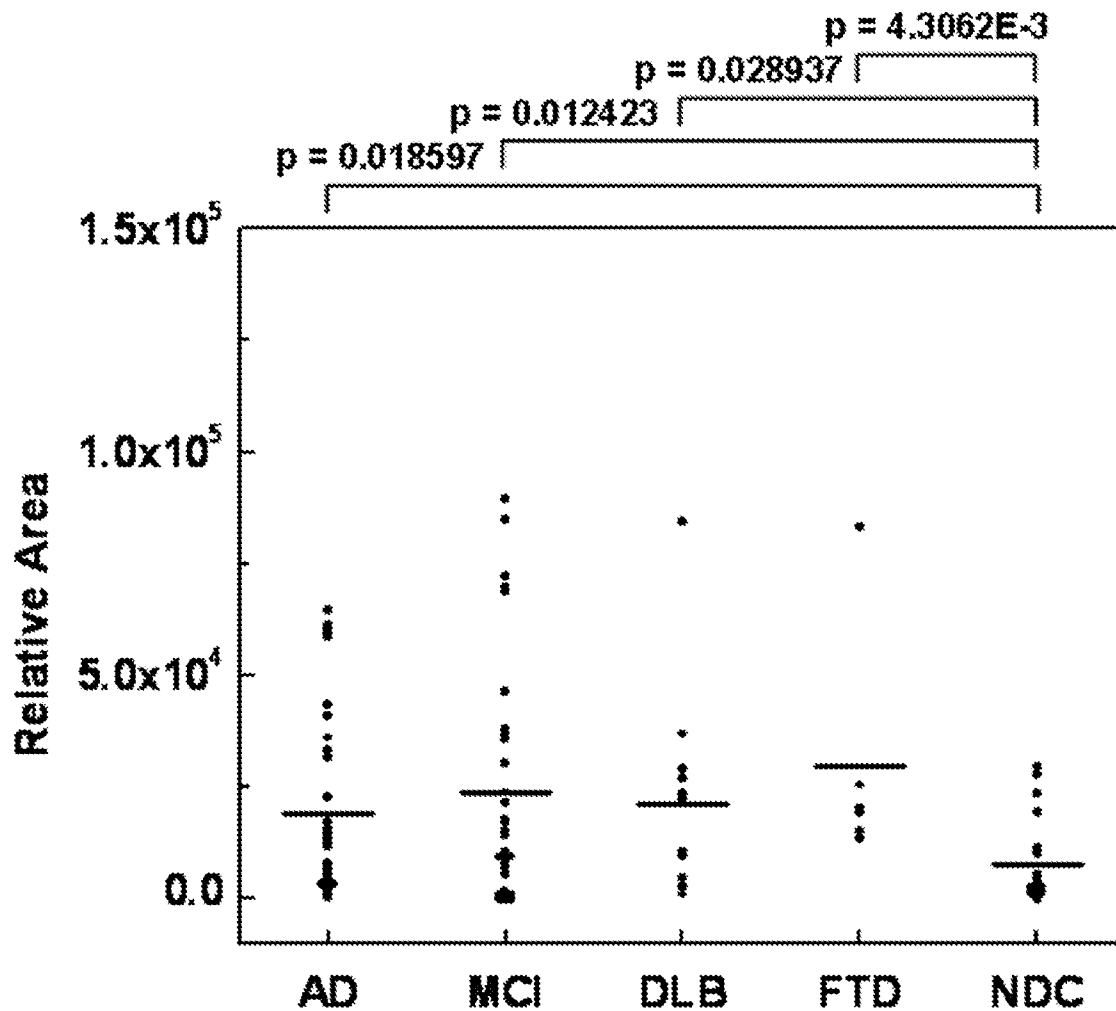


[図12]

**TNR16**

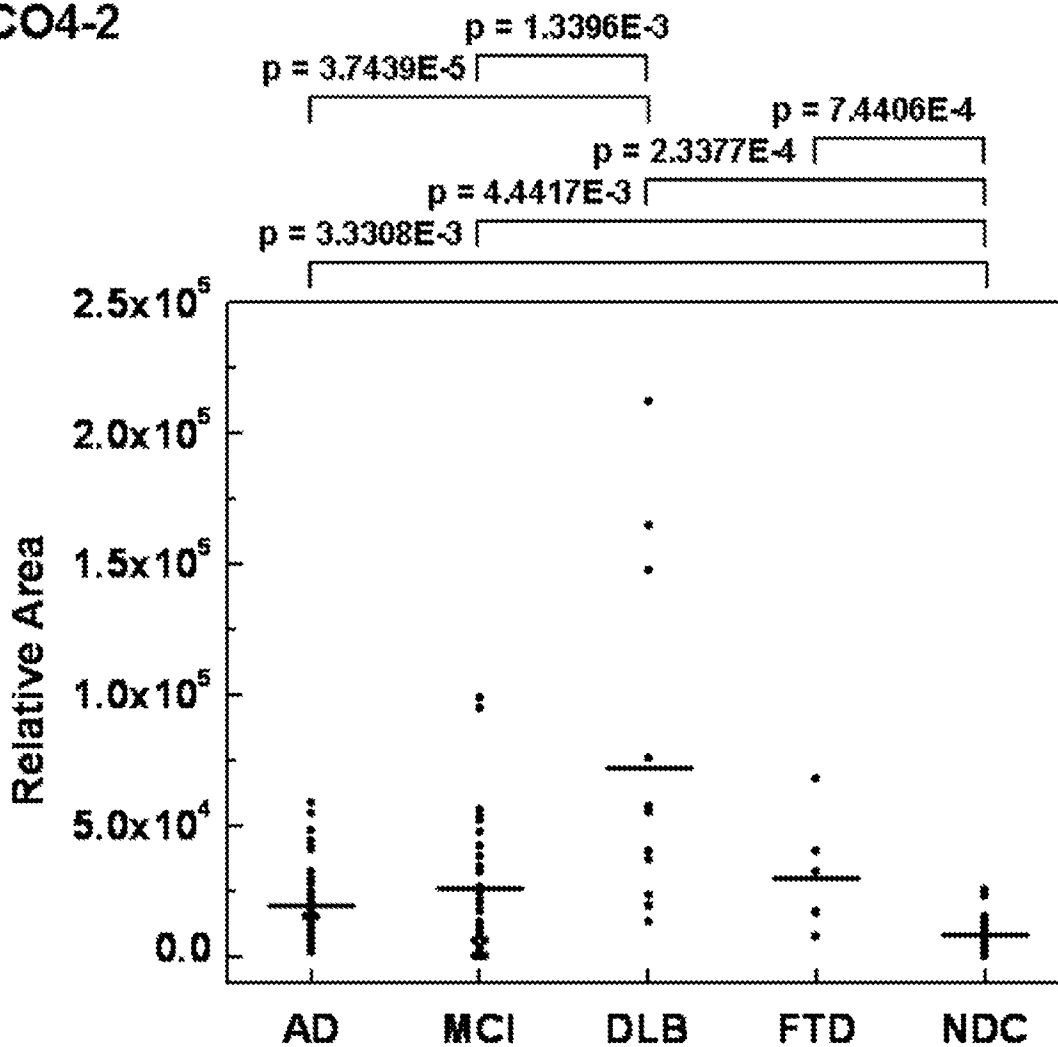
[圖13]

### CO4-1



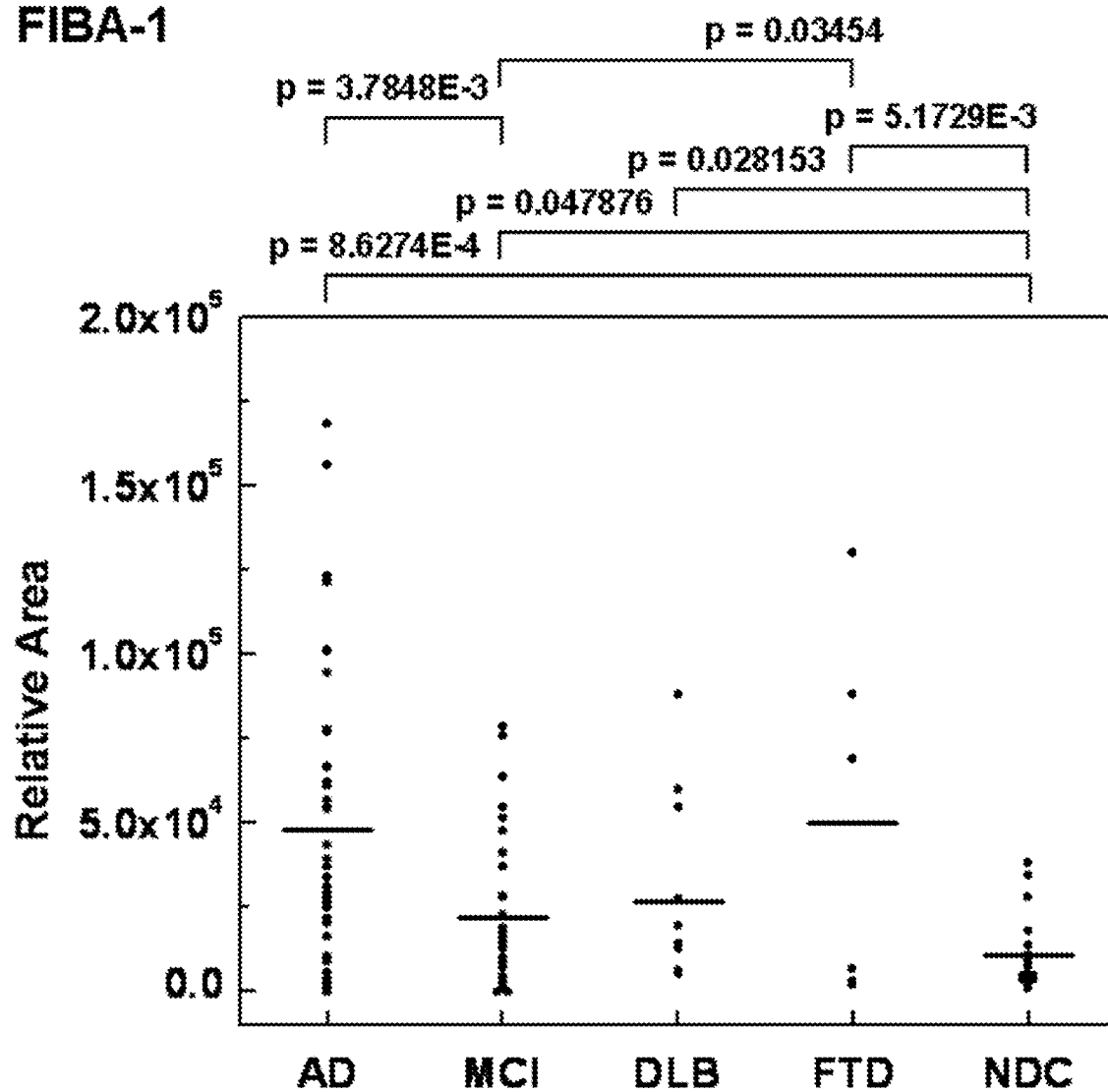
[圖14]

### CO4-2



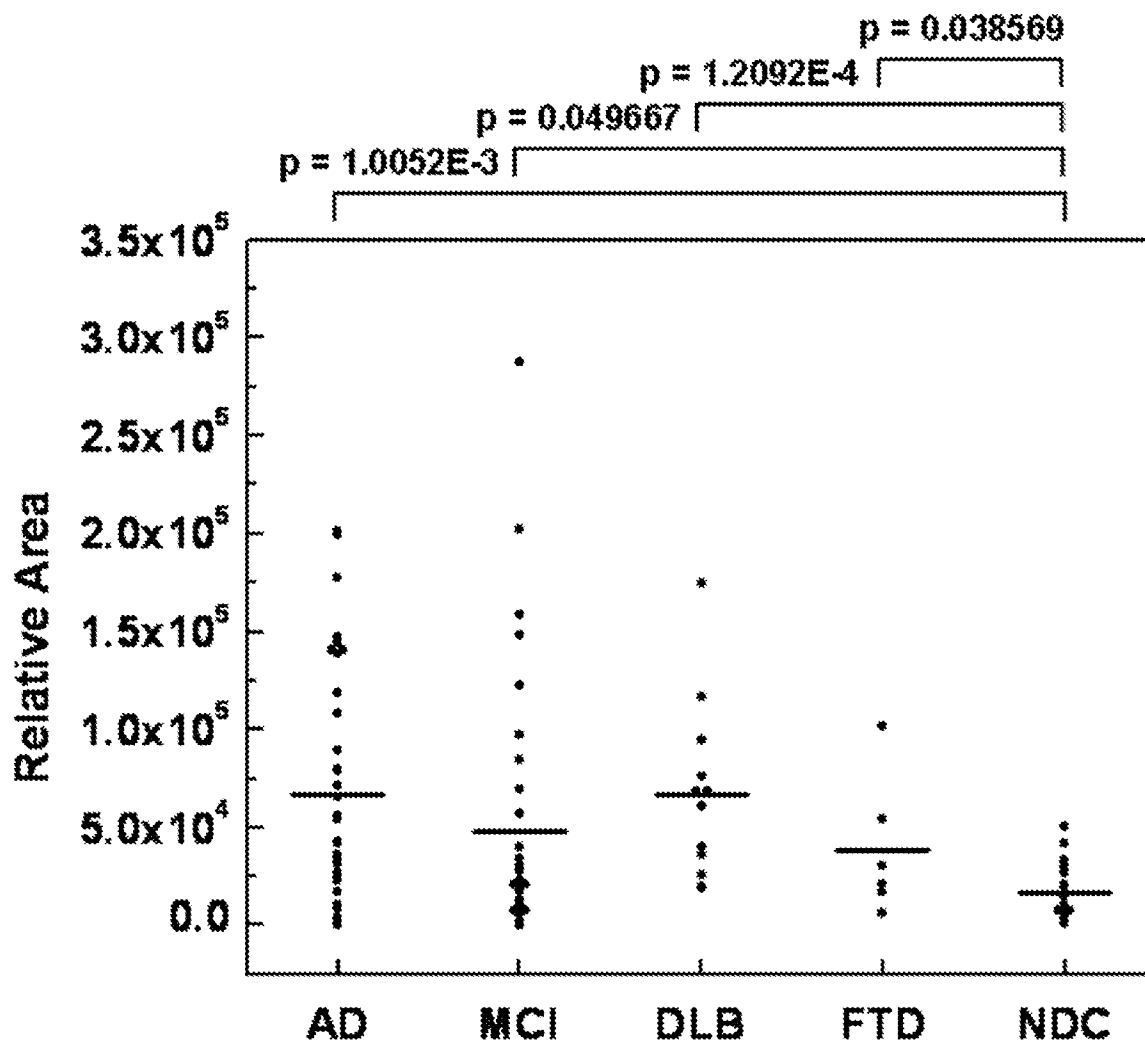
[圖15]

## FIBA-1

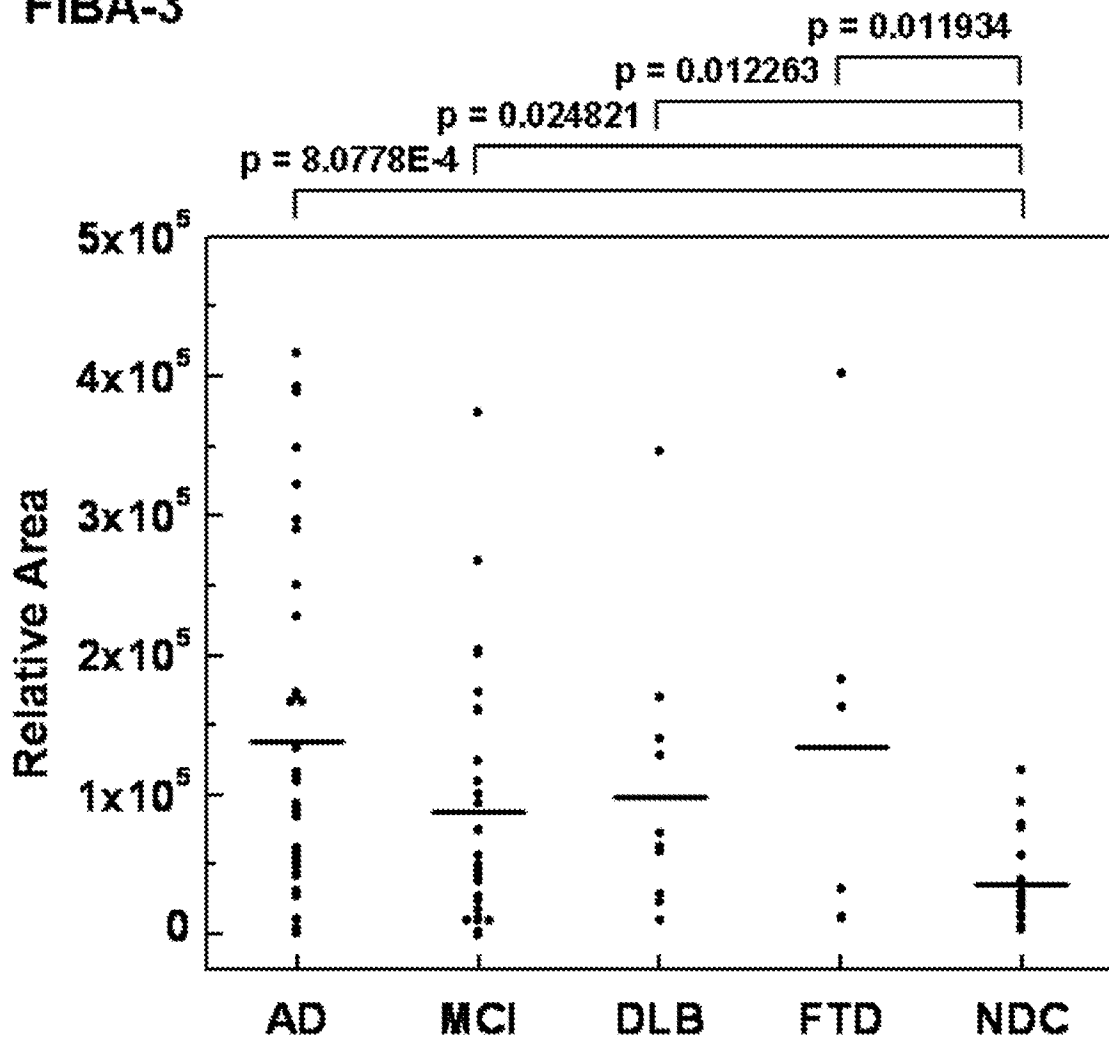


[圖16]

### FIBA-2



[圖17]

**FIBA-3**

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2011/007150

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

G01N33/68(2006.01)i, G01N27/62(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)

G01N33/68, G01N27/62, 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	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

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

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-523420 A (Syn.x Pharma, Inc.), 04 August 2005 (04.08.2005), claims; paragraphs [0016], [0029] & US 2003/0100016 A1 & WO 2003/045991 A2 & AU 2002335969 A	1-9
X A	JP 11-507821 A (Athena Neurosciences, Inc.), 13 July 1999 (13.07.1999), claims 7 to 8; page 58 & US 2002/0104104 A1 & EP 833901 A & WO 1996/040896 A1 & AU 6168396 A & CA 2222174 A	1, 6 2-5

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  
12 March, 2012 (12.03.12)

Date of mailing of the international search report  
19 March, 2012 (19.03.12)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/007150

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-511063 A (Biovision AG.), 28 April 2005 (28.04.2005), claim 1; paragraphs [0025] to [0027] & US 2005/0048584 A1      & EP 1451590 A & WO 2003/048775 A2      & DE 10158180 A & DE 10295664 D          & CA 2467073 A & AU 2002363825 A	1, 6
X	JP 2008-514946 A (PROTEOME SCIENCES PLC.), 08 May 2008 (08.05.2008), claim 19; paragraphs [0021], [0176], [0181]; fig. 15 & US 2008/0070995 A1      & GB 421639 D & GB 421639 D0              & EP 1794594 A & WO 2006/035237 A2      & DE 602005025897 D & CA 2580532 A              & AT 495445 T & AU 2005288689 A	1, 6

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2011/007150

**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.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
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:

In claims 1-5, the compounds which can be used as biomarkers are described as alternatives.

However, with regard to the compounds described as the alternatives in claims 1-5, (1) all of the alternatives do not share any common property, activity or important structural element or (2) all of the alternatives do not belong to a chemical substance group that is recognized as a group in the technical field to which the inventions pertain. Therefore, it cannot be considered that the alternatives recited in claims 1-5 have the same property as one another.

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.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
 Int.Cl. G01N33/68(2006.01)i, G01N27/62(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. G01N33/68, G01N27/62, 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 1971-2012年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2012年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2012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)  
 CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

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
X	JP 2005-523420 A (シン. クス ファーマ、インコーポレイテッド) 2005.08.04, 特許請求の範囲、段落【0016】、【0029】 & US 2003/0100016 A1 & WO 2003/045991 A2 & AU 2002335969 A	1-9
X A	JP 11-507821 A (アセナ ニューロサイエンシーズ、インコーポレ イテッド) 1999.07.13, 特許請求の範囲7-8、第58頁 & US 2002/0104104 A1 & EP 833901 A & WO 1996/040896 A1 & AU 6168396 A & CA 2222174 A	1,6 2-5

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	の日の後に公表された文献
「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	「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
「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	「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
「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)	「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
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 12.03.2012	国際調査報告の発送日 19.03.2012
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) 赤坂 祐樹 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
X	JP 2005-511063 A (バイオ・ビジョン・アーゲー) 2005. 04. 28, 請求項 1、段落【0025】 - 【0027】 & US 2005/0048584 A1 & EP 1451590 A & WO 2003/048775 A2 & DE 10158180 A & DE 10295664 D & CA 2467073 A & AU 2002363825 A	1, 6
X	JP 2008-514946 A (プロテオーム・サイエンシイズ・ピーエルシ ー) 2008. 05. 08, 請求項 19、段落【0021】 , 【0176】 , 【0181】 , 図 15 & US 2008/0070995 A1 & GB 421639 D & GB 421639 D0 & EP 1794594 A & WO 2006/035237 A2 & DE 602005025897 D & CA 2580532 A & AT 495445 T & AU 2005288689 A	1, 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 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
  
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ろの国際調査機関は認めた。

請求項1-5は、バイオマーカーとしての化合物が択一的に記載されている。

しかしながら、請求項1-5に係る各選択肢に係る化合物は、(1)すべての選択肢が共通の性質、活性または重要な構造的要素を有している訳でも、(2)すべての選択肢が、その発明の属する技術分野において一群のものとして認識される化学物質群に属する訳でもないため、請求項1-5に係る各選択肢は、同様の性質を持つとは認められない。

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。