(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-184642
(P2017-184642A)
(43)公開日　平成29年10月12日(2017.10.12)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A	4B063

審査請求 未請求　請求項の数 16　ＯＬ　（全 19 頁）

(21)出願番号　特願2016-74710(P2016-74710)
(22)出願日　平成28年4月1日(2016.4.1)

(71)出願人　506367087
株式会社ヘルシーパス
静岡県静岡市葵区栄町２－１０　１１９２ビル
(71)出願人　513086728
テオリアサイエンス株式会社
東京都千代田区岩本町２－１－９－１４０１
(74)代理人　100115255
弁理士　辻丸　光一郎
(74)代理人　100129137
弁理士　中山　ゆみ
(74)代理人　100154081
弁理士　伊佐治　創

最終頁に続く

(54)【発明の名称】認知症マーカー、それを用いた認知症の評価方法、評価試薬および評価キット

(57)【要約】　（修正有）
【課題】認知症の罹患可能性を判断することができる、新規の認知症マーカーの提供。
【解決手段】hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p等からなる群から選択された１つ以上のｍｉＲＮＡである、認知症マーカー。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-361-5p、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5pおよびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つのｍｉＲＮＡであることを特徴とする、認知症マーカー。
【請求項２】
前記ｍｉＲＮＡが、血清中のｍｉＲＮＡである、請求項１記載の認知症マーカー。
【請求項３】
前記認知症が、アルツハイマー病、軽度認知障害（ＭＣＩ)、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、脳血管性認知症、若年性認知症、ピック病、パーキンソン病、アルコール性認知症からなる群から選択された少なくとも一つの認知症である、請求項１または２記載の認知症マーカー。
【請求項４】
前記認知症が、軽度認知障害（ＭＣＩ)である、請求項１または２記載の認知症マーカー。
【請求項５】
前記認知症マーカーが、認知症の発症、前臨床期、臨床期または予後を判断するためのマーカーである、請求項１から４のいずれか一項に記載の認知症マーカー。
【請求項６】
生体試料における認知症マーカーの発現レベルを検出する工程、および
前記検出工程で検出した前記認知症マーカーの発現レベルと評価基準とから、認知症の可能性を決定する工程を含み、
前記認知症マーカーが、請求項１～５のいずれか一項に記載の認知症マーカーであることを特徴とする、認知症の可能性を評価する評価方法。
【請求項７】
前記評価基準が、正常者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルであり、
前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルと前記評価基準との差が有意である場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する、請求項６記載の評価方法。
【請求項８】
前記認知症マーカーが、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3

p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-142-5p、およびhsa-miR-361-5pからなる群から選択された少なくとも１つであり、
前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に低い場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する、請求項７記載の評価方法。
【請求項９】
前記認知症マーカーが、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5p、およびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つであり、
前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に高い場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する、請求項７記載の評価方法。
【請求項１０】
前記評価基準が、認知症患者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルであり、
前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルと前記評価基準との差が有意でない場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する、請求項６記載の評価方法。
【請求項１１】
前記生体試料が、血清を含む試料である、請求項６から１０のいずれか一項に記載の評価方法。
【請求項１２】
前記認知症が、アルツハイマー病、軽度認知障害（ＭＣＩ)、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、脳血管性認知症、若年性認知症、ピック病、パーキンソン病、アルコール性認知症からなる群から選択された少なくとも一つの認知症である、請求項６から１１のいずれか一項に記載の評価方法。
【請求項１３】
前記認知症が、軽度認知障害（ＭＣＩ)である、請求項６から１１のいずれか一項に記載の評価方法。
【請求項１４】
前記認知症マーカーの発現レベルが、前記生体試料における認知症マーカーの発現量で表わされる、請求項６から１３のいずれか一項に記載の評価方法。
【請求項１５】
hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-361-5p、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5pおよびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つのｍｉＲＮＡを検出するｍｉＲＮＡ検出試薬を含み、
請求項６から１４のいずれか一項に記載の評価方法に使用することを特徴とする、認知症の可能性を評価するための評価試薬。

【請求項１６】
請求項１５記載の評価試薬を含み、
請求項６から１４のいずれか一項に記載の評価方法に使用することを特徴とする、認知症の可能性を評価するための評価キット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、認知症マーカー、それを用いた認知症の評価方法、評価試薬および評価キットに関する。
【背景技術】
【０００２】
社会の高齢化に伴い、認知症の患者は増加しており、ｍｉＲＮＡが、そのマーカーとして利用されている（非特許文献１）。認知症の適切な治療のため、認知症の診断において、新たなマーカーが求められている。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００３】
【非特許文献１】“MicroRNA-Seq Data Analysis Pipeline to Identify Blood Biomarkers for Alzheimer's Disease from Public Data.” Satoh J, Kino Y, Niida S. Biomark Insights. 2015 Apr 15;10:21-31.
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００４】
そこで、本発明は、認知症の罹患可能性を判断できる新規の認知症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】
【０００５】
本発明の認知症マーカーは、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-361-5p、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5pおよびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つのｍｉＲＮＡであることを特徴とする。
【０００６】
本発明の認知症の可能性を評価する評価方法は、生体試料における認知症マーカーの発現レベルを検出する工程、および前記検出工程で検出した前記認知症マーカーの発現レベルと評価基準とから、認知症の可能性を決定する工程を含み、前記認知症マーカーが、前記本発明の認知症マーカーであることを特徴とする。
【０００７】
本発明の認知症の可能性を評価するための評価試薬は、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、h

sa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-361-5p、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5pおよびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つのｍｉＲＮＡを検出するｍｉＲＮＡ検出試薬を含み、前記本発明の評価方法に使用することを特徴とする。

【０００８】

本発明の認知症の可能性を評価するための評価キットは、前記本発明の評価試薬を含み、前記本発明の評価方法に使用することを特徴とする。

【発明の効果】

【０００９】

本発明の認知症マーカーは、認知症の発症により発現レベルが変動するため、例えば、発現レベルの測定により、認知症の罹患可能性を判断できる。

【発明を実施するための形態】

【００１０】

本発明の認知症マーカーは、例えば、前記ｍｉＲＮＡが、血清中のｍｉＲＮＡである。

【００１１】

本発明の認知症マーカーは、例えば、前記認知症が、アルツハイマー病、軽度認知障害（ＭＣＩ)、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、脳血管性認知症、若年性認知症、ピック病、パーキンソン病、アルコール性認知症からなる群から選択された少なくとも一つの認知症である。本発明の認知症マーカーは、例えば、前記認知症が、軽度認知障害（ＭＣＩ)である。

【００１２】

本発明の認知症マーカーは、例えば、前記認知症マーカーが、認知症の発症、前臨床期、臨床期または予後を判断するためのマーカーである。

【００１３】

本発明の評価方法は、例えば、前記評価基準が、正常者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルであり、前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルと前記評価基準との差が有意である場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。

【００１４】

本発明の評価方法は、例えば、前記認知症マーカーが、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-mi

R-142-5p、およびhsa-miR-361-5pからなる群から選択された少なくとも１つであり、前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に低い場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。

【００１５】

本発明の評価方法は、例えば、前記認知症マーカーが、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5p、およびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つであり、前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に高い場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。

【００１６】

本発明の評価方法は、例えば、前記評価基準が、認知症患者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルであり、前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルと前記評価基準との差が有意でない場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。

【００１７】

本発明の評価方法は、例えば、前記生体試料が、血清を含む試料である。

【００１８】

本発明の評価方法は、例えば、前記認知症が、アルツハイマー病、軽度認知障害（ＭＣＩ)、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、脳血管性認知症、若年性認知症、ピック病、パーキンソン病、アルコール性認知症からなる群から選択された少なくとも一つの認知症である。本発明の評価方法は、例えば、前記認知症が、軽度認知障害（ＭＣＩ)である。

【００１９】

本発明の評価方法は、例えば、前記認知症マーカーの発現レベルが、前記生体試料における認知症マーカーの発現量で表わされる。

【００２０】

＜認知症マーカー＞

本発明の認知症マーカーは、前述のように、hsa-miR-486-5p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-451a、hsa-let-7b-5p、hsa-miR-126-3p、hsa-miR-25-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-484、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-486-3p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-340-5p、hsa-miR-224-5p、hsa-miR-1180、hsa-miR-152、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-652-3p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-432-5p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-379-5p、hsa-miR-98、hsa-miR-339-5p、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-150-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-664-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-361-5p、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-92b-5pおよびhsa-miR-4669からなる群から選択された少なくとも１つのｍｉＲＮＡであることを特徴とする。

【００２１】

本発明者らは、鋭意研究の結果、認知症の発症に伴って、これらのｍｉＲＮＡの発現レベルが、生体において特異的に変動することを見出し、本発明に到った。具体的には、認知症の発症に伴って、例えば、血清において、その発現レベルが低下または上昇することが明らかとなった。このため、これらのｍｉＲＮＡの発現レベルの検出によって、例えば、認知症の可能性の評価等を行うことができる。また、このように認知症の発症と本発明の認知症マーカーの発現の変動とが関連していることから、例えば、前記マーカーの発現レベルの検出によって、認知症の発症を間接的に判断できるだけでなく、症状が現れてい

ない段階においても、認知症を発症する可能性を判断したり、認知症の改善程度等についても判断することが可能である。

【００２２】

本発明において、「認知症」は、一般的に、後天的に認知機能が低下した状態を意味する。

【００２３】

本発明の認知症マーカーの対象となる認知症は、特に制限されず、例えば、アルツハイマー病、軽度認知障害（ＭＣＩ）、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症、脳血管性認知症、若年性認知症、ピック病、パーキンソン病、アルコール性認知症等があげられる。

【００２４】

本発明において、ｍｉＲＮＡとは、例えば、一本鎖（一量体）でもよいし、二本鎖（二量体）であってもよい。また、本発明において、ｍｉＲＮＡは、Ｄｉｃｅｒ等のリボヌクレアーゼにより切断された成熟型ｍｉＲＮＡが好ましい。

【００２５】

前述のように、本発明の認知症マーカーは、認知症の発症に伴って、例えば、その発現レベルが低下または上昇する。認知症の発症に伴って、例えば、その発現レベルが低下するマーカーを、以下、低下マーカーとよぶ。低下マーカーは、例えば、以下に示すｍｉＲＮＡがあげられる。前記ｍｉＲＮＡの配列は、例えば、下記のアクセッション番号に登録されている。

hsa-miR-486-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００２１７７）
hsa-miR-21-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００７６）
hsa-miR-92a-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００９２）
hsa-miR-451a（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００１６３１）
hsa-let-7b-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００６３）
hsa-miR-126-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４４５）
hsa-miR-25-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００８１）
hsa-miR-10b-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２５４）
hsa-miR-30e-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００６９２）
hsa-miR-140-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４５９７）
hsa-miR-101-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００９９）
hsa-miR-222-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２７９）
hsa-miR-10a-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２５３）
hsa-miR-221-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２７８）
hsa-miR-375（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００７２８）
hsa-miR-30a-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００００８７）
hsa-miR-584-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００３２４９）
hsa-miR-27b-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４１９）
hsa-miR-484（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００２１７４）
hsa-miR-125a-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４４３）
hsa-miR-93-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００００９３）
hsa-miR-182-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２５９）
hsa-miR-223-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４５７０）
hsa-miR-16-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００００６９）
hsa-miR-20a-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００００７５）
hsa-miR-199a-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２３１）
hsa-miR-17-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００００７０）
hsa-miR-486-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４７６２）
hsa-miR-199a-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２３２）
hsa-miR-199b-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４５６３）
hsa-let-7c（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００６４）

hsa-miR-340-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４６９２）
hsa-miR-224-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ００００２８１）
hsa-miR-1180（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ００２６７３５）
hsa-miR-152（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００２６４７９）
hsa-let-7e-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００６６）
hsa-miR-223-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２８０）
hsa-miR-183-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２６１）
hsa-miR-126-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４４４）
hsa-miR-652-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００３３２２）
hsa-miR-197-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００２２７）
hsa-miR-432-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００２８１４）
hsa-miR-30e-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００６９３）
hsa-miR-92b-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００３２１８）
hsa-miR-424-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４７４９）
hsa-miR-338-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４７０１）
hsa-miR-140-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４３１）
hsa-miR-543（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４９５４）
hsa-miR-625-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４８０８）
hsa-miR-379-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００７３３）
hsa-miR-98（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００９６）
hsa-miR-339-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００７６４）
hsa-miR-654-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４８１４）
hsa-miR-150-3p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４６１０）
hsa-miR-130b-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４６８０）
hsa-miR-664-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００５９４８）
hsa-miR-20b-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００１４１３）
hsa-miR-194-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４６０）
hsa-miR-142-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００４３３）
hsa-miR-361-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００００７０３）

【００２６】

認知症の発症に伴って、例えば、その発現レベルが上昇するマーカーを、以下、上昇マーカーとよぶ。上昇マーカーは、例えば、以下に示すｍｉＲＮＡがあげられる。前記ｍｉＲＮＡの配列は、例えば、下記のアクセッション番号に登録されている。

hsa-miR-423-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４７４８）
hsa-miR-483-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４７６１）
hsa-miR-148a-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４５４９）
hsa-miR-92b-5p（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ０００４７９２）
hsa-miR-4669（アクセッション番号：ＭＩＭＡＴ００１９７４９）

【００２７】

本発明におけるｍｉＲＮＡは、例えば、さらに、前述の成熟型配列に対して数個の塩基が異なるバリアントも含む。

【００２８】

本発明におけるｍｉＲＮＡは、例えば、前記ｍｉＲＮＡの塩基配列と同一性を有する塩基配列からなるポリヌクレオチド、または、それらに相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドであって、本発明におけるｍｉＲＮＡの機能を有するポリヌクレオチドを含む。前記「同一性」とは、比較する配列同士を適切にアライメントしたときの同一の程度であり、前記配列間のアミノ酸の正確な一致の出現率（％）を意味する。前記アライメントは、例えば、ＢＬＡＳＴ等の任意のアルゴリズムの利用により行うことができる。前記同一性は、例えば、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または約９９％である。前記同一性を有する塩基配列からなるポリ

ヌクレオチドは、例えば、前記ｍｉＲＮＡの塩基配列において、点変異、欠失および／または付加を有してもよい。前記点変異等の塩基数は、例えば、１～２０個、１～１５個、１～１０個、１～５個、１～３個、１～２個、または１個である。また、前記相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドは、例えば、前記ｍｉＲＮＡの塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチドであって、本発明におけるｍｉＲＮＡの機能を有するポリヌクレオチドを含む。前記ストリンジェントな条件としては、特に限定されないが、例えば、６×ＳＳＣ、０．５％ＳＤＳ、５×デンハルト、０．０１％変性サケ精子核酸を含む溶液中、「Ｔｍ－２５℃」の温度で一晩保温する条件等があげられる。

【００２９】

本発明の認知症マーカーは、例えば、生体試料中に存在するｍｉＲＮＡである。前記生体試料は、例えば、被検者の生体から採取した試料である。前記生体試料の種類は、特に限定されず、例えば、血液、唾液、尿、これらの希釈液等があげられ、中でも、血液試料が好ましい。前記血液試料の種類は、特に制限されず、例えば、全血試料、血漿試料、血清試料、全血又は血球の溶血試料、これらの希釈試料等があげられる。

【００３０】

＜評価方法＞

本発明の評価方法は、前述のように、生体試料における認知症マーカーの発現レベルを検出する工程、および前記検出工程で検出した前記認知症マーカーの発現レベルと評価基準とから、認知症の可能性を決定する工程を含み、前記認知症マーカーが、前記本発明の認知症マーカーであることを特徴とする。

【００３１】

このような評価方法によれば、例えば、高い信頼性で、認知症の可能性を判断できる。このため、例えば、認知症の予防や治療において、投薬等の方針を決定するための重要な情報を、高い信頼性で得ることができる。

【００３２】

本発明の評価方法は、生体試料における前記本発明の認知症マーカーの発現レベルを検出することが特徴であって、その他の条件及び工程等は特に制限されない。また、本発明の認知症マーカーであるｍｉＲＮＡの発現レベルの検出方法は、何ら制限されず、例えば、従来公知の方法が採用できる。本発明において、検出する認知症マーカーは、例えば、前記本発明の認知症マーカーのうち、いずれか１つでもよいし、２つ以上の組み合わせでもよい。

【００３３】

本発明において、評価対象となる認知症は、特に制限されず、例えば、前述の認知症があげられる。

【００３４】

本発明において、認知症の可能性とは、例えば、認知症を発症する可能性、認知症を発症しているか否か、認知症の進行度、または、予後等の意味を含む。本発明において、「正常者」とは、例えば、評価対象の認知症を発症していると判断されていない者、または、前記認知症を発症している可能性があると判断されていない者を意味する。

【００３５】

本発明における検出工程は、前述のように、生体試料における認知症マーカーの発現レベルを検出する工程である。前記認知症マーカーの発現レベルとは、例えば、前記生体試料における前記認知症マーカーの発現量があげられる。前記発現量は、例えば、実際のｍｉＲＮＡの量でもよいし、実際のｍｉＲＮＡの量と相関関係にある値であってもよい。後者としては、例えば、前記ｍｉＲＮＡの検出の際に得られるシグナル値等があげられる。このシグナル値は、例えば、ｍｉＲＮＡの検出方法や、シグナル値の検出機器の種類に応じて適宜決定できる。前記検出方法が、例えば、リアルタイムＲＴ－ＰＣＲ（リアルタイム　逆転写－ポリメラーゼチェーンリアクション）法等のＰＣＲ法の場合、例えば、ｃｏｐｉｅｓ／μＬ等で表わすこともできる。

【００３６】
本発明において、前記生体試料は、特に制限されず、前述のように、血液、唾液、尿等があげられ、中でも、血液試料が好ましく、より好ましくは、血清試料である。
【００３７】
前記血清試料は、公知の方法で回収できる。具体例として、例えば、被検者から全血を採取し、遠心により血球画分を除去することによって調製できる。
【００３８】
生体試料中のｍｉＲＮＡの検出方法は、特に制限されず、前述のように、ｍｉＲＮＡの発現を検出できる方法であればよい。生体試料中のｍｉＲＮＡの検出は、例えば、前記生体試料から全ＲＮＡを抽出し、前記全ＲＮＡから目的のｍｉＲＮＡを検出することにより行える。全ＲＮＡの抽出方法は、特に制限されず、公知の方法が採用できる。前記抽出方法は、例えば、グアニジン－塩化セシウム超遠心法、ＡＧＰＣ（Ａｃｉｄ　Ｇｕａｎｉｄｉｎｉｕｍ－Ｐｈｅｎｏｌ－Ｃｈｌｏｒｏｆｏｒｍ）法等があげられる。
【００３９】
前記ｍｉＲＮＡの検出方法の具体例としては、例えば、ノーザンブロット分析、リアルタイムＲＴ－ＰＣＲ検出法、マイクロアレイ解析法等があげられる。
【００４０】
本発明の認知症マーカーの発現量を測定する際、例えば、補正マーカー等の内部標準を測定し、検出目的のｍｉＲＮＡについて、前記内部標準で補正した発現量を算出してもよい。
【００４１】
本発明において、生体試料の由来、すなわち、前記被検者は、特に制限されず、例えば、ヒト、イヌ、ネコ等の非ヒト動物等があげられる。
【００４２】
本発明における決定工程は、前述のように、前記検出工程で検出した前記認知症マーカーの発現レベルと評価基準とから、認知症の可能性を決定する工程である。本発明の認知症マーカーは、前述のように、認知症の発症に伴って、生体での発現レベルが、特異的に変動する。このため、例えば、生体由来の生体試料から検出した前記認知症マーカーの発現レベルと評価基準とを比較することで、認知症の可能性を決定できる。前記評価基準は、特に制限されず、例えば、正常者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルでもよいし、認知症患者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルでもよい。
【００４３】
前記評価基準が、正常者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルである場合、本発明の評価方法は、例えば、前記決定工程において、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルと前記評価基準との差が有意である場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。
【００４４】
前記本発明の認知症マーカーのうち、前記低下マーカーは、前述のように、例えば、認知症の発症に伴って、生体試料中での発現レベルが低下する。したがって、前記認知症マーカーとして前記低下マーカーの発現レベルを検出した場合は、前記決定工程において、例えば、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に低い場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。また、前記本発明の認知症マーカーのうち、前記上昇マーカーは、前述のように、例えば、認知症の発症に伴って、生体試料中での発現レベルが上昇する。したがって、前記認知症マーカーとして前記上昇マーカーの発現レベルを検出した場合は、前記決定工程において、例えば、前記検出した前記認知症マーカーの発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に高い場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。
【００４５】
前記評価基準が、前記認知症患者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルである場合、本発明の評価方法は、例えば、前記決定工程において、前記検出した前記認

知症マーカーの発現レベルと前記評価基準との差が有意でない場合に、前記被検者は、前記認知症の可能性が高いと決定する。

【００４６】

前記評価基準が、前記認知症患者の生体試料における前記認知症マーカーの発現レベルである場合、具体的には、評価基準とした認知症患者と同程度の認知症であるか否かを判断できる。前記認知症マーカーが前記低下マーカーまたは前記上昇マーカーであり、且つ、前記評価基準の認知症患者が軽度（または重度）の場合、前記評価基準との差が有意でなければ、前記被検者は、同様に軽度（または重度）と判断できる。前記認知症マーカーが前記低下マーカーであり、且つ、前記評価基準の認知症患者が軽度の場合、前記検出した発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に低い場合、前記被検者は、前記認知症患者よりも重度と判断できる。前記認知量マーカーが前記上昇マーカーであり、且つ、前記評価基準の認知症患者が軽度の場合、前記検出した発現レベルが、前記評価基準と比較して有意に高い場合、前記被検者は、前記認知症患者よりも重度と判断できる。

【００４７】

前記検出工程で検出した前記認知症マーカーと、前記評価基準のマーカーとは、同じ認知症マーカーであることが好ましい。前記評価基準は、予め、決定しておくことが好ましく、また、評価の度に、前記評価基準を決定する必要はない。すなわち、予め検出しておいた正常者または認知症患者における前記本発明の認知症マーカーの発現レベルを、前記評価基準として設定しておくことが好ましい。なお、前記評価基準は、例えば、１名の正常者または認知症患者の発現レベルから得た値であってもよいし、複数人の正常者または認知症患者の発現レベルから統計学的手法により算出した値であってもよい。

【００４８】

前記被検者の発現レベルと、正常者または認知症患者の発現レベルとを比較する際、その有意差は、例えば、Ｔ－ｔｅｓｔ（Ｔ検定）、Ｆ検定、カイ二乗検定等の統計学的手法により判断できる。

【００４９】

正常者の認知症マーカーの発現レベルは、例えば、予め、正常者から採取した生体試料を用いて、決定できる。また、認知症患者の認知症マーカーの発現レベルも、例えば、予め、患者から採取した生体試料を用いて、決定できる。正常者および患者の生体試料は、例えば、前記被検者の生体試料と同じ種類の生体試料である。また、前記正常者および患者の生体試料は、例えば、前記被検者の生体試料と同様の方法や条件で調製した試料である。

【００５０】

＜評価試薬＞

本発明の評価試薬は、前述のように、前記本発明の評価方法に使用するための評価試薬であって、前記本発明の認知症マーカーの検出試薬、すなわち、前記本発明の認知症マーカーを検出するためのｍｉＲＮＡ検出試薬を含むことを特徴とする。このような評価試薬によれば、本発明の評価方法を簡便に実施できる。

【００５１】

本発明は、前述のように、認知症のマーカーとして、前記本発明の認知症マーカーのうち少なくとも１つを検出することが特徴であって、これらのｍｉＲＮＡの検出方法は何ら制限されず、例えば、従来公知の方法が採用できる。前記ｍｉＲＮＡ検出試薬は、前記本発明の認知症マーカーのいずれかを検出できればよく、例えば、その試薬の種類や組成等は、何ら制限されない。また、当業者であれば、技術常識に基づいて、これらのｍｉＲＮＡの検出試薬を設定できる。

【００５２】

本発明の評価試薬は、例えば、各種検出方法に応じて、さらに、各種酵素、緩衝液、洗浄液、溶解液、分散液、希釈液等を含んでもよい。また、本発明の評価試薬の形態は、特に制限されず、例えば、液体状態のウェット系であってもよいし、乾燥状態のドライ系であってもよい。

【００５３】
前記ｍｉＲＮＡ検出試薬としては、特に制限されず、例えば、前述のようなノーザンブロット分析やリアルタイムＲＴ－ＰＣＲ検出法に使用する試薬があげられる。ノーザンブロット分析に使用するｍｉＲＮＡ検出試薬の具体例としては、例えば、前記本発明の認知症マーカーのいずれかにハイブリダイズ可能な標識化プローブがあげられる。また、リアルタイムＲＴ－ＰＣＲ検出法の試薬の具体例としては、全ＲＮＡからｃＤＮＡを増幅するためのプライマー、これらのｍｉＲＮＡのうちいずれかを増幅するためのプライマー、二本鎖核酸に特異的に結合またはインターカレートする蛍光試薬、核酸増幅に使用できる各種試薬等があげられる。前記各種試薬としては、例えば、ＤＮＡポリメラーゼ等の酵素、ヌクレオチド三リン酸（ｄＮＴＰ）等があげられる。
【００５４】
＜評価キット＞
本発明の評価キットは、前述のように、本発明の評価方法に使用するための評価キットであって、本発明の認知症マーカーを検出するｍｉＲＮＡ検出試薬（例えば、本発明の評価試薬）を含むことを特徴とする。このような評価キットによれば、本発明の評価方法を簡便に行うことができる。なお、本発明の評価キットにおいて、本発明の評価試薬は、例えば、前述の通りである。
【００５５】
本発明の評価キットの形態は、特に制限されず、液体状態のウェット系でもよいし、乾燥状態のドライ系であってもよい。本発明の評価キットにおける各種試薬は、例えば、それぞれ別個であり使用時に併用してもよいし、使用時前から混合されてもよい。
【００５６】
本発明の評価キットは、例えば、前述の本発明の評価試薬や、その他の各種試薬を配置した検査用具であってもよい。前記検査用具の形態としては、特に制限されず、例えば、マイクロリアクター等のリアクター、マイクロチップ等のチップ、マイクロタイタープレート等のプレート、マイクロアレイ等のアレイ等があげられる。このような検査用具であれば、例えば、リアルタイムＰＣＲ装置等の既存の各種検出機器で、必要なシグナルを検出することによって、本発明の評価方法を容易に実行できる。さらに、例えば、コンピュータ処理によって、検出したシグナルの数値化、被検者ごとのデータファイルの作成、データファイルの所定のディレクトリへの保存、被検者、正常者および患者の測定結果の統計解析等を行うシステムを伴ってもよい。このようなデータ処理のシステムは、当業者であれば、技術常識に基づいて、既存の技術、方式、手順から設計できる。
【００５７】
本発明の評価キットは、例えば、さらに、本発明の評価方法を実行するために使用できる各種機器等を含んでもよい。また、本発明の評価キットは、さらに、例えば、使用説明書を含む。
【実施例】
【００５８】
つぎに、本発明の実施例について説明する。ただし、本発明は、下記の実施例により制限されない。
【００５９】
［実施例１］
認知症マーカーとして、本発明の認知症マーカー（後述する表２におけるＮｏ．１～６０および表３におけるＮｏ．６１～６５）を用いて、正常者および認知症患者における認知症マーカーの発現レベルを測定した。
【００６０】
認知症患者（軽度認知症（ＭＣＩ）、男性４名、女性６名）および正常者（男性３名、女性７名）を被検者とし、認知症の症状が緩和される下記表１に示す組成のサプリメント（株式会社ヘルシーパス製）を、１日２回、５週間摂取させた。摂取方法は、粉末状の前記サプリメントを、お湯等に溶かし、食後に摂取させた。前記サプリメントの摂取前と摂

取後において、認知症患者について症状を診断したところ、摂取により、症状が緩和されていることが確認された。

【００６１】

【表１】

栄養素	１日分 ２包あたり
ビタミンD	25　μg
ビタミンE	134　mg
ビタミンB6	50　mg
葉酸	400　μg
ビタミンB12	100　μg
ビタミンC	500　mg
ホスファチジルコリン	100　mg
α-GPC	500　mg

その他の成分：微粒二酸化ケイ素、デンプン、マルトデキストリン、マルチトール、香料、甘味料、プルラン

【００６２】

そこで、認知症患者と正常者のそれぞれについて、摂取前と摂取後に血清を採取し、本発明の認知症マーカーの発現レベルを確認した。認知症患者と正常者の間で発現レベルに差があれば、そのｍｉＲＮＡは、認知症マーカーであるといえる。また、前述のように、サプリメントの摂取により認知症の症状が緩和されているため、認知症患者について、摂取前のｍｉＲＮＡの発現レベルが正常者と差があり、摂取後において正常者のレベルに近づいていれば、そのｍｉＲＮＡは、認知症マーカーであるといえる。

【００６３】

以下、各ｍｉＲＮＡの発現量の測定方法を説明する。まず、摂取前および５週間摂取後、前記被検者より採血した。前記採血した血液を、３０００ｒｐｍ、１５℃の条件で、１５分間遠心し、分離した血清画分を回収し、血清サンプルとした。そして、合計８群（認知症患者男性群、認知症患者女性群、正常者男性群、正常者女性群の摂取前および５週間摂取後）の前記血清サンプルについて、各２００μｌとなるように等量ずつ混合し、各群に対応する合計８種類のプール血清を作製した。

【００６４】

各プール血清を用い、miRNeasy　Serum/Plasmaキット（キアゲン社製）によりｍｉＲＮＡを調製し、これを１４μｌの水に溶解し、ｍｉＲＮＡサンプルとした。各ｍｉＲＮＡサンプルについて、バイオアナライザー（アジレント・テクノロジー社製）により分子量分布と濃度を確認した。

【００６５】

前記ｍｉＲＮＡサンプルについて、Next　Small　RNA　Library　Prep　Set　for　Illuminaキット（NEB社製）で、ライブラリーを調製した。ＰＣＲのサイクル数は、正常者女性群の摂取前サンプルについて２０サイクルとした以外は、１５サイクルで実施した。そして、反応生成物からｍｉＲＮＡ画分（19-22nt）を切り出した。次に、イルミナ社製次世代シーケンサーHiSeq　1500を使用し、SR50でランを行い、リードから20bpを切り出した。この配列を、Strand　NGS（アジレント・テクノロジー社製）を用いて、hg19にマッピングした。なお、全ての発現データでヒートマップとデンドログラムを作成し、特定の

サンプルが他と大きく異なっていないことを確認した。得られたデータに対して、quantile補正を行い、これを、各ｍｉＲＮＡの発現量とした。

【００６６】

そして、本発明の認知症マーカーの各ｍｉＲＮＡについて、正常者の発現量を発現レベル１とした場合における、認知症患者の発現レベルを算出した（認知症／正常者）。

【００６７】

これらの結果を下記表２および表３に示す。表２は、本発明の認知症マーカーのうち低下マーカーについて、正常者および認知症患者における発現レベルを測定した結果であり、表３は、本発明の認知症マーカーのうち上昇マーカーについて、正常者および認知症患者における発現レベルを測定した結果である。表２および表３において、「認知症マーカー」は、検出したｍｉＲＮＡの種類を示し、「認知症／正常者（摂取前）」は、サプリメント摂取前における認知症／正常者の値を示し、「認知症／正常者（摂取後）」は、５週間のサプリメント摂取後の認知症／正常者の値を示す。

【００６８】

【表２】

認知症マーカー		男性			女性		
No.	名称	正常者	認知症／正常者（摂取前）	認知症／正常者（摂取後）	正常者	認知症／正常者（摂取前）	認知症／正常者（摂取後）
1	hsa-miR-486-5p	1	0.186942954	0.83818116	-	-	-
2	hsa-miR-21-5p	1	0.11002536	0.98583971	1	0.722058935	2.004052773
3	hsa-miR-92a-3p	1	0.081740847	1.268163712	1	0.32926544	1.788053619
4	hsa-miR-451a	1	0.116904308	0.551646509	1	0.762235127	1.862135428
5	hsa-let-7b-5p	1	0.080863026	0.577535687	1	0.779645936	1.707731898
6	hsa-miR-126-3p	1	0.141419209	1.360972579	1	0.777476514	2.493069324
7	hsa-miR-25-3p	1	0.154140833	0.807549724	1	0.70614678	2.101566342
8	hsa-miR-10b-5p	1	0.033473541	1.77923121	1	0.399718569	2.019741277
9	hsa-miR-30e-5p	1	0.120427352	0.709531677	1	0.315628197	0.911082119
10	hsa-miR-140-3p	1	0.215740584	0.769913621	1	0.509893906	1.226385887
11	hsa-miR-101-3p	1	0.150843664	1.060772294	1	0.788275041	2.307582136
12	hsa-miR-222-3p	1	0.08240239	0.974972208	1	0.369162778	1.210959823
13	hsa-miR-10a-5p	1	0.031347656	1.740337968	1	0.302076529	1.478247667
14	hsa-miR-221-3p	1	0.134335918	0.639788959	1	0.449622769	1.080845265
15	hsa-miR-375	1	0.522743455	1.904532623	1	0.352084348	1.243253075
16	hsa-miR-30a-5p	1	0.145005749	0.964405645	1	0.488337001	1.402000632
17	hsa-miR-584-5p	1	0.166938313	0.915789545	1	0.457854149	2.237185679
18	hsa-miR-27b-3p	1	0.067644948	0.644076518	1	0.372423496	1.628947379
19	hsa-miR-484	1	0.061861259	0.758203489	1	0.545460261	1.989056835
20	hsa-miR-125a-5p	1	0.077724703	1.276984488	1	0.794243895	3.07117985
21	hsa-miR-93-5p	1	0.115707477	0.798176661	1	0.420813239	1.872518536
22	hsa-miR-182-5p	1	0.069064397	0.750963139	1	0.458967531	1.685334545
23	hsa-miR-223-5p	1	0.047105447	0.575342919	1	0.389959715	0.82363155
24	hsa-miR-16-5p	1	0.013960815	0.985936748	1	0.211691317	1.711238682
25	hsa-miR-20a-5p	1	0.014673298	0.853191206	1	0.223836001	1.724423346
26	hsa-miR-199a-5p	1	0.062686583	0.772137668	1	0.298462793	1.066070613
27	hsa-miR-17-5p	1	0.067934324	0.712169719	1	0.49325993	1.956286948
28	hsa-miR-486-3p	1	0.04760102	0.455735923	1	0.507958662	1.738145675
29	hsa-miR-199a-3p	1	0.062686583	0.772137668	1	0.298462793	1.066070613

30	hsa-miR-199b-3p	1	0.062686583	0.772137668	1	0.298462793	1.066070613
31	hsa-let-7c	1	0.034294475	0.923054029	1	0.322742081	1.929644389
32	hsa-miR-340-5p	1	0.045766412	1.114012947	1	0.532687562	1.602056468
33	hsa-miR-224-5p	1	0.020173479	1.458606775	1	0.383094973	1.584285123
34	hsa-miR-1180	1	0.219398262	0.566382266	1	0.773348179	1.807217317
35	hsa-miR-152	1	0.24274963	0.746679486	1	0.804543315	2.149036521
36	hsa-let-7e-5p	1	0.006673869	1.388711581	1	0.287950753	1.735748591
37	hsa-miR-223-3p	1	0.08631354	0.734090583	1	0.403026051	0.850948071
38	hsa-miR-183-5p	1	0.040423602	0.686385985	1	0.151091112	1.357800009
39	hsa-miR-126-5p	1	0.001674661	1.395916843	1	0.467885687	1.782854539
40	hsa-miR-652-3p	1	0.245495588	0.533002794	1	0.566144017	1.309332944
41	hsa-miR-197-3p	1	0.123026158	1.156443674	1	0.381151907	1.014761015
42	hsa-miR-432-5p	1	0.06612103	1.16077713	1	0.58508535	2.196557095
43	hsa-miR-30e-3p	1	0.120427352	0.709531677	1	0.315628197	0.911082119
44	hsa-miR-92b-3p	1	0.051741942	1.517572562	1	0.609405743	1.983256119
45	hsa-miR-424-3p	1	0.069400795	0.716246952	1	0.452092535	1.185955601
46	hsa-miR-338-5p	1	0.067903074	0.609215689	1	0.243231081	0.855927793
47	hsa-miR-140-5p	1	0.086162069	0.748195918	1	0.287623907	1.054915908
48	hsa-miR-543	1	0.08956985	0.806833561	1	0.466069335	1.329192447
49	hsa-miR-625-3p	1	0.018320576	0.617209854	1	0.179114123	0.885812954
50	hsa-miR-379-5p	1	0.117398917	0.898073856	1	0.778891241	2.878263751
51	hsa-miR-98	1	0.004542336	0.44353781	1	0.297734333	1.641322797
52	hsa-miR-339-5p	1	0.216528675	0.905692992	1	0.728408165	1.481567134
53	hsa-miR-654-3p	1	0.0221628	1.940498072	1	0.347824365	2.157885626
54	hsa-miR-150-3p	1	0.280519118	0.940777199	-	-	-
55	hsa-miR-130b-5p	1	0.002462131	0.932690935	1	0.44988214	1.38144105
56	hsa-miR-664-5p	1	0.337718707	0.870808865	1	0.726725785	1.927166205
57	hsa-miR-20b-5p	1	0.054461469	0.716249435	1	0.47637361	1.681722888
58	hsa-miR-194-5p	1	0.085241554	0.441254838	1	0.48427274	1.881692648
59	hsa-miR-142-5p	1	0.415343045	1.257578972	-	-	-
60	hsa-miR-361-5p	1	0.03431659	1.227204774	1	0.167978384	0.986256631

【００６９】

【表３】

認知症マーカー		男性			女性		
No.	名称	正常者	認知症／正常者（摂取前）	認知症／正常者（摂取後）	正常者	認知症／正常者（摂取前）	認知症／正常者（摂取後）
61	hsa-miR-423-5p	1	4.174944445	1.103500283	1	5.324831968	2.306053526
62	hsa-miR-483-5p	1	24.14041378	1.921806389	1	18.50114944	2.549423415
63	hsa-miR-148a-5p	1	1.13338931	0.353791845	1	2.216517879	0.902529129
64	hsa-miR-92b-5p	1	2.901312909	1.008050769	1	9.524350412	4.220067866
65	hsa-miR-4669	1	2.503092837	1.240114903	1	2.027878899	0.952118469

【００７０】

表２に示すように、本発明の認知症マーカーのうち低下マーカーは、サプリメント摂取前において、正常者と比較して、認知症患者における発現レベルが、いずれも低下していた。このことから、本発明の認知症マーカーのうち低下マーカーは、認知症マーカーとして、認知症を判断できることがわかった。中でも、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-30e-5p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-221-3p、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-584-5p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-223-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-199b-3p、hsa-let-7c、hsa-miR-224-5p、hsa-let-7e-5p、hsa-miR-223-3p、hsa-miR-183-5p、hsa-miR-126-5p、hsa-miR-197-3p、hsa-miR-30e-3p、hsa-miR-424-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-140-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-625-3p、hsa-miR-98、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-130b-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-194-5p、およびhsa-miR-361-5pは、正常者と比較して、認知症患者にける発現レベルが、男女ともに０．５以下であり、大きく低下していた。すなわち、これらのマーカーは、より感度良く、認知症を判断できることがわかった。また、５週間のサプリメント摂取後において、認知症マーカー発現レベルは、患者における認知症の症状が緩和されたのと相関して、いずれも回復していた。

【００７１】

また、表３に示すように、本発明の認知症マーカーのうち上昇マーカーは、サプリメント摂取前において、正常者と比較して、認知症患者における発現レベルが、いずれも上昇していた。このことから、本発明の認知症マーカーのうち上昇マーカーは、認知症マーカーとして、認知症を判断できることがわかった。中でも、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-483-5p、hsa-miR-92b-5p、およびhsa-miR-4669は、正常者と比較して、認知症患者にける発現レベルが、男女ともに２以上であり、大きく上昇していた。すなわち、これらのマーカーは、より感度良く、認知症を判断できることがわかった。また、５週間のサプリメント摂取後において、認知症マーカー発現レベルは、患者における認知症の症状が緩和されたのと相関して、いずれも回復していた。

【００７２】

以上の結果から、本発明の認知症マーカーによって、認知症の罹患可能性を判断することができることがわかった。

【００７３】

以上、実施形態および実施例を参照して本発明を説明したが、本発明は上記実施形態および実施例に限定されるものではない。本発明の構成や詳細には、本発明のスコープ内で当業者が理解し得る様々な変更をすることができる。

【産業上の利用可能性】

【００７４】

本発明によれば、生体試料中の本発明の認知症マーカーの発現レベルを検出することによって、例えば、認知症の可能性の評価等を行うことが可能となる。このため、本発明は、医薬等の分野において、極めて有用といえる。

フロントページの続き

(72)発明者　田村　忠司
静岡県静岡市葵区栄町２－１０　１１９２ビル
(72)発明者　村山　望美
静岡県静岡市葵区栄町２－１０　１１９２ビル
(72)発明者　金田　美郷
静岡県静岡市葵区栄町２－１０　１１９２ビル
(72)発明者　田中　孝
静岡県静岡市葵区音羽町８－３
(72)発明者　落谷　孝広
東京都千代田区岩本町２－１－９－１４０１
(72)発明者　園田　光
東京都千代田区岩本町２－１－９－１４０１

Ｆターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ52 QR08 QR42 QR55 QR62 QS25 QS28
QX01