(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119343602 A
(43)申请公布日 2025.01.21

(21)申请号 202380045370.4
(22)申请日 2023.06.07
(30)优先权数据
2022-092192 2022.06.07 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.06
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2023/021092 2023.06.07
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/238881 JA 2023.12.14
(71)申请人 日东电工株式会社
地址 日本
(72)发明人 斋藤崇人 中村骏太 梅田将史 青柳和宏 西井弘行 绫部时芳 中村公则
(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
专利代理师 王灵菇
(51)Int.Cl.
G01N 33/68(2006.01)
C12M 1/34(2006.01)
C12N 15/12(2006.01)
C12N 15/53(2006.01)
C12N 15/55(2006.01)
C12N 15/57(2006.01)
C12Q 1/6886(2006.01)

权利要求书6页 说明书17页

(54)发明名称

用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)或非酒精性脂肪肝炎(NASH)的标记物

(57)摘要

本发明的目的在于提供一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物。用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物中,所述标记物为选自由内肽酶、水解酶、钙离子结合蛋白、细胞骨架蛋白、转移酶、受体结合蛋白、磷酸酶、抗原结合蛋白、RNA结合蛋白、还原酶和钙粘素结合蛋白组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因;通过所述标记物,上述课题得到了解决。

CN 119343602 A

1.一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物,其中,

所述标记物为选自由内肽酶、水解酶、钙离子结合蛋白、细胞骨架蛋白、转移酶、受体结合蛋白、磷酸酶、抗原结合蛋白、RNA结合蛋白、还原酶和钙粘素结合蛋白组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

2.根据权利要求1所述的标记物,其中,

内肽酶为选自由蛋白酶体β亚基4型(Proteasome subunit beta type-4,PSMB4)、蛋白酶体α亚基2型(Proteasome subunit alpha type-2,PSMA2)、蛋白酶体β亚基8型(Proteasome subunit beta type-8,PSMB8)、蛋白酶体α亚基7型(Proteasome subunit alpha type-7,PSMA7)、蛋白酶体α亚基1型(Proteasome subunit alpha type-1,PSMA1)、蛋白酶体α亚基6型(Proteasome subunit alpha type-6,PSMA6)、蛋白酶体α亚基3型(Proteasome subunit alpha type-3,PSMA3)、蛋白酶体β亚基7型(Proteasome subunit beta type-7,PSMB7)、蛋白酶体激活因子复合体亚基2(Proteasome activator complex subunit 2,PSME2)、蛋白酶体β亚基2型(Proteasome subunit beta type-2,PSMB2)、蛋白酶体α亚基5型(Proteasome subunit alpha type-5,PSMA5)、前蛋白转化酶枯草溶菌素6型(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 6,PCSK6)、蛋白酶体β亚基6型(Proteasome subunit beta type-6,PSMB6)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、及补体C1r子组件样蛋白(Complement C1r subcomponent-like protein,C1RL)组成的组中的至少一种蛋白,

水解酶为选自由泛酰巯基乙胺酶(Pantetheinase,VNN1)、假定非活性羧酸酯酶4(Putative inactive carboxylesterase 4,CES1P1)、假定谷胱甘肽水解酶3酶原(Putative glutathione hydrolase 3proenzyme,GGT3P)、酸性鞘磷脂酶样磷酸二酯酶3a(Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3a,SMPDL3A)、及二氢嘧啶酶相关蛋白4(Dihydropyrimidinase-related protein 4,DPYSL4)组成的组中的至少一种蛋白,

钙离子结合蛋白为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、原钙粘蛋白Fat 1(Protocadherin Fat 1,FAT1)、核连蛋白-1(Nucleobindin-1,NUCB1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、复合型表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、及内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)组成的组中的至少一种蛋白,

细胞骨架蛋白为选自由肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、微管蛋白α-1B链(Tubulin alpha-1B chain,TUBA1B)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、及β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)组成的组中的至少一种蛋白,

转移酶为选自由UTP-葡萄糖-1-磷酸尿甙基转移酶(UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase,UGP2)、胞质10-甲酰四氢叶酸脱氢酶(Cytosolic 10-

formyltetrahydrofolate dehydrogenase,ALDH1L1)、乙酰辅酶A乙酰基转移酶胞质型(Acetyl-CoA acetyltransferase,cytosolic;ACAT2)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、及蛋白O连接甘露糖β-1,2-N-乙酰葡糖氨基转移酶1(Protein O-linked-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1,POMGNT1)组成的组中的至少一种蛋白,

受体结合蛋白为选自由D-多巴色素脱羧酶(D-dopachrome decarboxylase,DDT)、细丝蛋白-A(Filamin-A,FLNA)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)组成的组中的至少一种蛋白,

磷酸酶为选自由胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶S(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S,PTPRS)、及受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)组成的组中的至少一种蛋白,

抗原结合蛋白为选自由免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)及白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)组成的组中的至少一种蛋白,

RNA结合蛋白为选自由eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、胞质乌头酸水合酶(Cytoplasmic aconitate hydratase,ACO1)、热休克蛋白HSP 90-α(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、及分泌粒蛋白-3(Secretogranin-3,SCG3)组成的组中的至少一种蛋白,

还原酶为选自由L-木酮糖还原酶(L-xylulose reductase,DCXR)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、及苹果酸脱氢酶胞质型(Malate dehydrogenase,cytoplasmic;MDH1)组成的组中的至少一种蛋白,以及

钙粘素结合蛋白为选自由F-肌动蛋白加帽蛋白亚基α-1(F-actin-capping protein subunit alpha-1,CAPZA1)、及氯化物细胞内通道蛋白1(Chloride intracellular channel protein 1,CLIC1)组成的组中的至少一种蛋白。

3.一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物,其中,

所述标记物为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、蛋白酶体β亚基4型(Proteasome subunit beta type-4,PSMB4)、蛋白酶体α亚基2型(Proteasome subunit alpha type-2,PSMA2)、蛋白酶体β亚基8型(Proteasome subunit beta type-8,PSMB8)、胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、蛋

白酶体α亚基7型(Proteasome subunit alpha type-7,PSMA7)、D-多巴色素脱羧酶(D-dopachrome decarboxylase,DDT)、细丝蛋白-A(Filamin-A,FLNA)、富含脯氨酸的酸性蛋白1(Proline-rich acidic protein 1,PRAP1)、泛酰巯基乙胺酶(Pantetheinase,VNN1)、蛋白酶体α亚基1型(Proteasome subunit alpha type-1,PSMA1)、蛋白酶体α亚基6型(Proteasome subunit alpha type-6,PSMA6)、蛋白酶体α亚基3型(Proteasome subunit alpha type-3,PSMA3)、蛋白酶体β亚基7型(Proteasome subunit beta type-7,PSMB7)、蛋白酶体激活因子复合体亚基2(Proteasome activator complex subunit 2,PSME2)、假定非活性羧酸酯酶4(Putative inactive carboxylesterase 4,CES1P1)、纤维母细胞生长因子结合蛋白2(Fibroblast growth factor-binding protein 2,FGFBP2)、UTP-葡萄糖-1-磷酸尿甙基转移酶(UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase,UGP2)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、蛋白酶体β亚基2型(Proteasome subunit beta type-2,PSMB2)、蛋白酶体α亚基5型(Proteasome subunit alpha type-5,PSMA5)、假定谷胱甘肽水解酶3酶原(Putative glutathione hydrolase 3proenzyme,GGT3P)、LIM衰老细胞抗原样结构域蛋白1(LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 1,LIMS1)、免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)、eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、胞质乌头酸水合酶(Cytoplasmic aconitate hydratase,ACO1)、胞质10-甲酰四氢叶酸脱氢酶(Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase,ALDH1L1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶[NAD(+)]胞质型(Glycerol-3-phosphate dehydrogenase[NAD(+)],cytoplasmic;GPD1)、乙酰辅酶A乙酰基转移酶胞质型(Acetyl-CoA acetyltransferase,cytosolic;ACAT2)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、前蛋白转化酶枯草溶菌素6型(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 6,PCSK6)、原钙粘蛋白Fat 1(Protocadherin Fat 1,FAT1)、唾液酸结合Ig样凝集素5(Sialic acid-binding Ig-like lectin 5,SIGLEC5)、高亲和力免疫球蛋白α和免疫球蛋白μFc受体(High affinity immunoglobulin alpha and immunoglobulin mu Fc receptor,FCAMR)、L-木酮糖还原酶(L-xylulose reductase,DCXR)、βparvin(Beta-parvin,PARVB)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、核连蛋白-1(Nucleobindin-1,NUCB1)、环AMP依赖性转录因子ATF-6β(Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6beta,ATF6B)、蛋白酶体β亚基6型(Proteasome subunit beta type-6,PSMB6)、F-肌动蛋白加帽蛋白亚基α-1(F-actin-capping protein subunit alpha-1,CAPZA1)、5'-3'核酸外切酶PLD4(5'-3'exonuclease PLD4,PLD4)、氧化固醇结合蛋白相关蛋白11(Oxysterol-binding protein-related protein 11,OSBPL11)、富含半胱氨酸的分泌蛋白3(Cysteine-rich secretory protein 3,CRISP3)、免疫球蛋白超家族DCC亚类成员4(Immunoglobulin superfamily DCC subclass member 4,IGDCC4)、可溶性清道夫受体富含半胱氨酸结构域蛋白SSC5D(Soluble scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein SSC5D,SSC5D)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、精子发生相关蛋白17(Spermatogenesis-associated protein 17,SPATA17)、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰氨酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase,PGLYRP2)、Noelin(OLFM1)、Fermitin家族同源物3(Fermitin family homolog 3,FERMT3)、氯化物细胞内通

道蛋白1(Chloride intracellular channel protein 1,CLIC1)、细胞粘附分子伴侣蛋白1(Protein sidekick-1,SDK1)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、血小板膜糖蛋白Ibβ多肽(Platelet glycoprotein Ib beta chain,GP1BB)、微管蛋白α-1B链(Tubulin alpha-1B chain,TUBA1B)、Ly6/PLAUR结构域蛋白3(Ly6/PLAUR domain-containing protein 3,LYPD3)、假激酶FAM20A(Pseudokinase FAM20A,FAM20A)、Trem样转录2蛋白(Trem-like transcript 2protein,TREML2)、磷酸葡萄糖变位酶-1(Phosphoglucomutase-1,PGM1)、Ras抑制蛋白1(Ras suppressor protein 1,RSU1)、醇脱氢酶6(Alcohol dehydrogenase 6,ADH6)、醇脱氢酶亚类3(Alcohol dehydrogenase class-3,ADH5)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、CD109抗原(CD109antigen,CD109)、异戊烯半胱氨酸氧化酶1(Prenylcysteine oxidase 1,PCYOX1)、WD重复蛋白1(WD repeat-containing protein 1,WDR1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、Plexin域包含蛋白2(Plexin domain-containing protein 2,PLXDC2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、补体C1r子组件样蛋白(Complement C1r subcomponent-like protein,C1RL)、热休克蛋白HSP 90-α(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、神经细胞粘附分子2(Neural cell adhesion molecule 2,NCAM2)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶S(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S,PTPRS)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、接触蛋白-3(Contactin-3,CNTN3)、多表皮生长因子样结构域蛋白9(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 9,MEGF9)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、髓磷脂P2蛋白(Myelin P2 protein,PMP2)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、分泌粒蛋白-3(Secretogranin-3,SCG3)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、蛋白O连接甘露糖β-1,2-N乙酰葡糖氨基转移酶1(Protein O-linked-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1,POMGNT1)、上池蛋白(Suprabasin,SBSN)、生腱蛋白-X(Tenascin-X,TNXB)、心肌肌动蛋白α1(Actin,alpha cardiac muscle 1,ACTC1)、硒结合蛋白(Methanethiol oxidase,SELENBP1)、苹果酸脱氢酶胞质型(Malate dehydrogenase,cytoplasmic;MDH1)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)、C4b结合蛋白β链(C4b-binding protein beta chain,C4BPB)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)、补体因子H相关蛋白2(Complement factor H-related protein 2,CFHR2)、尿刊酸水合酶(Urocanate hydratase,UROC1)、酸性鞘磷脂酶样磷酸二酯酶3a(Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3a,SMPDL3A)、内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)、鸟嘌呤核苷酸

结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)、及二氢嘧啶酶相关蛋白4(Dihydropyrimidinase-related protein 4,DPYSL4)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

4.一种用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的标记物,其中,

所述标记物为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、富含脯氨酸的酸性蛋白1(Proline-rich acidic protein 1,PRAP1)、纤维母细胞生长因子结合蛋白2(Fibroblast growth factor-binding protein 2,FGFBP2)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)、eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、唾液酸结合Ig样凝集素5(Sialic acid-binding Ig-like lectin 5,SIGLEC5)、βparvin(Beta-parvin,PARVB)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、环AMP依赖性转录因子ATF-6β(Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6beta,ATF6B)、5’-3’核酸外切酶PLD4(5’-3’exonuclease PLD4,PLD4)、可溶性清道夫受体富含半胱氨酸结构域蛋白SSC5D(Soluble scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein SSC5D,SSC5D)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、精子发生相关蛋白17(Spermatogenesis-associated protein 17,SPATA17)、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰氨酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase,PGLYRP2)、Noelin(OLFM1)、Fermitin家族同源物3(Fermitin family homolog 3,FERMT3)、细胞粘附分子伴侣蛋白1(Protein sidekick-1,SDK1)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、血小板膜糖蛋白Ibβ多肽(Platelet glycoprotein Ib beta chain,GP1BB)、Ly6/PLAUR结构域蛋白3(Ly6/PLAUR domain-containing protein 3,LYPD3)、假激酶FAM20A(Pseudokinase FAM20A,FAM20A)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、CD109抗原(CD109 antigen,CD109)、异戊烯半胱氨酸氧化酶1(Prenylcysteine oxidase 1,PCYOX1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、Plexin域包含蛋白2(Plexin domain-containing protein 2,PLXDC2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、多表皮生长因子样结构域蛋白9(Multiple epidermal growth factor-like domains protein9,MEGF9)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16

(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、上池蛋白(Suprabasin,SBSN)、心肌肌动蛋白α1(Actin,alpha cardiac muscle 1,ACTC1)、硒结合蛋白(Methanethiol oxidase,SELENBP1)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily Amember 2,LILRA2)、C4b结合蛋白β链(C4b-binding protein beta chain,C4BPB)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)、补体因子H相关蛋白2(Complement factor H-related protein 2,CFHR2)、内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)、及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

5.一种辅助诊断对象的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的方法,其包含测定从所述对象得到的生物试样中所含的权利要求1～3中任一项所述的标记物的工序。

6.根据权利要求5所述的方法,其进一步包含将测定得到的标记物的量与基准值进行比较的工序。

7.根据权利要求5所述的方法,其中,所述生物试样为选自由血液、血清、血浆、尿、粪便、肠液、唾液和汗组成的组中的至少一种。

8.一种辅助诊断对象的非酒精性脂肪肝炎(NASH)的方法,其包含测定从所述对象得到的生物试样中所含的权利要求4所述的标记物的工序。

9.根据权利要求8所述的方法,其进一步包含将测定得到的标记物的量与基准值进行比较的工序。

10.根据权利要求8所述的方法,其中,所述生物试样为选自由血液、血清、血浆、尿、粪便、肠液、唾液和汗组成的组中的至少一种。

11.一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的试剂盒,其包含用于测定权利要求1～3中任一项所述的标记物的单元。

12.一种用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的试剂盒,其包含用于测定权利要求4所述的标记物的单元。

用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)或非酒精性脂肪肝炎(NASH)的标记物

技术领域

[0001] 本发明涉及用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)或非酒精性脂肪肝炎(NASH)的标记物。

背景技术

[0002] 将肝脏中积存中性脂肪的状态称为脂肪肝。脂肪肝大致分为酒精性和非酒精性这两种,不源于酒精的脂肪肝被统称为非酒精性脂肪性肝病(Non-alcoholic fatty liver disease,NAFLD)。另外,NAFLD可以分类为被认为病情几乎不进展的非酒精性脂肪肝(Non-alcoholic fatty liver,NAFL)和有可能进展为肝硬化或肝癌的非酒精性脂肪肝炎(Non-alcoholic steatohepatitis,NASH)。

[0003] 目前,NAFL通过基于腹部超声等的检查来诊断,但只能在持有专用设备的医疗机构等接受检查。因此,如果能够进行基于诊断标记物的检查,则能够通过通常的健康诊断中的血液检查等进行检查,因此对于大多数的人来说检查的机会增加,能够发现相当于NAFLD的早期阶段的NAFL。然而,目前,尚未知与NAFL相关的诊断标记物,因此希望开发出能够简便地检测并诊断NAFL的诊断标记物以及诊断方法。

[0004] 另外,对于NASH的确定诊断而言,现状是必须进行肝活检。然而,肝活检需要将针刺入肝脏来采集组织、细胞的一部分,会对患者造成过度的负担。另外,基于肝活检的诊断对于医疗从业者来说也需要大量的时间,难以经常性地实施。因此,研究了非侵入性且简便地诊断NASH的方法,其中一个是基于NASH诊断标记物的方法。然而,已有的NASH诊断标记物大多是用于评价纤维化发展后的阶段的后期,另外报告有在除NASH以外的其他疾病(例如癌等)中也会发生变动的情况(非专利文献1～6),因此不能说NASH的诊断性能充分。因此,期望开发出与现有的NASH诊断标记物相比NASH的诊断性能更优异、更能够简便且容易地诊断不受其他疾病的影响的NASH的诊断标记物以及诊断方法。

[0005] 这样,希望开发出能够诊断包括NAFL和NASH在内的NAFLD的诊断标记物及诊断方法。

[0006] 现有技术文献

[0007] 非专利文献

[0008] 非专利文献1:日本内科学会雑誌,109:47-55,2020

[0009] 非专利文献2:Kawanaka M.et al,J.Gastrointestinal cancer screening,58(6),2020

[0010] 非专利文献3:東ソー研究・技術報告,61:99-103,2017

[0011] 非专利文献4:Ozaki Y.et al.,Cancer,95(9),1954-1962,2002

[0012] 非专利文献5:Meng C.et al.,PLoS ONE,13(11),2018

[0013] 非专利文献6:Sides W.et al.,Acta Oncologica,47;580-590,2008

发明内容

[0014] 发明所要解决的课题

[0015] 本发明的目的在于提供用于诊断NAFLD或NASH的标记物、辅助诊断对象的NAFLD或NASH的方法、以及用于NAFLD或NASH的诊断的试剂盒。

[0016] 用于解决课题的手段

[0017] 本发明者们为了解决上述课题反复进行了深入研究,结果发现特定的蛋白可成为用于诊断NAFLD或NASH的标记物,通过使用该标记物,能够诊断对象的NAFLD或NASH,并进一步进行了研究,从而完成了本发明。

[0018] 即,本发明涉及以下。

[0019] [1]一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物,其中,所述标记物为选自由内肽酶、水解酶、钙离子结合蛋白、细胞骨架蛋白、转移酶、受体结合蛋白、磷酸酶、抗原结合蛋白、RNA结合蛋白、还原酶和钙粘素结合蛋白组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0020] [2]根据[1]所述的标记物,其中,

[0021] 内肽酶为选自由蛋白酶体β亚基4型(Proteasome subunit beta type-4,PSMB4)、蛋白酶体α亚基2型(Proteasome subunit alpha type-2,PSMA2)、蛋白酶体β亚基8型(Proteasome subunit beta type-8,PSMB8)、蛋白酶体α亚基7型(Proteasome subunit alpha type-7,PSMA7)、蛋白酶体α亚基1型(Proteasome subunit alpha type-1,PSMA1)、蛋白酶体α亚基6型(Proteasome subunit alpha type-6,PSMA6)、蛋白酶体α亚基3型(Proteasome subunit alpha type-3,PSMA3)、蛋白酶体β亚基7型(Proteasome subunit beta type-7,PSMB7)、蛋白酶体激活因子复合体亚基2(Proteasome activator complex subunit 2,PSME2)、蛋白酶体β亚基2型(Proteasome subunit beta type-2,PSMB2)、蛋白酶体α亚基5型(Proteasome subunit alpha type-5,PSMA5)、前蛋白转化酶枯草溶菌素6型(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 6,PCSK6)、蛋白酶体β亚基6型(Proteasome subunit beta type-6,PSMB6)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、及补体C1r子组件样蛋白(Complement C1r subcomponent-like protein,C1RL)组成的组中的至少一种蛋白,

[0022] 水解酶为选自由泛酰巯基乙胺酶(Pantetheinase,VNN1)、假定非活性羧酸酯酶4(Putative inactive carboxylesterase 4,CES1P1)、假定谷胱甘肽水解酶3酶原(Putative glutathione hydrolase 3proenzyme,GGT3P)、酸性鞘磷脂酶样磷酸二酯酶3a(Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3a,SMPDL3A)、及二氢嘧啶酶相关蛋白4(Dihydropyrimidinase-related protein 4,DPYSL4)组成的组中的至少一种蛋白,

[0023] 钙离子结合蛋白为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、原钙粘蛋白Fat 1(Protocadherin Fat 1,FAT1)、核连蛋白-1(Nucleobindin-1,NUCB1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、复合型表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,

MEGF8)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、及内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)组成的组中的至少一种蛋白,

[0024] 细胞骨架蛋白为选自由肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、微管蛋白α-1B链(Tubulin alpha-1B chain,TUBA1B)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、及β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)组成的组中的至少一种蛋白,

[0025] 转移酶为选自由UTP-葡萄糖-1-磷酸尿甙基转移酶(UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase,UGP2)、胞质10-甲酰四氢叶酸脱氢酶(Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase,ALDH1L1)、乙酰辅酶A乙酰基转移酶胞质型(Acetyl-CoA acetyltransferase,cytosolic;ACAT2)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、及蛋白O连接甘露糖β-1,2-N乙酰葡糖氨基转移酶1(Protein O-linked-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1,POMGNT1)组成的组中的至少一种蛋白,

[0026] 受体结合蛋白为选自由D-多巴色素脱羧酶(D-dopachrome decarboxylase,DDT)、细丝蛋白-A(Filamin-A,FLNA)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)组成的组中的至少一种蛋白,

[0027] 磷酸酶为选自由胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶S(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S,PTPRS)、及受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)组成的组中的至少一种蛋白,

[0028] 抗原结合蛋白为选自由免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)及白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)组成的组中的至少一种蛋白,

[0029] RNA结合蛋白为选自由eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、胞质乌头酸水合酶(Cytoplasmic aconitate hydratase,ACO1)、热休克蛋白HSP 90-α(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、及分泌粒蛋白-3(Secretogranin-3,SCG3)组成的组中的至少一种蛋白,

[0030] 还原酶为选自由L-木酮糖还原酶(L-xylulose reductase,DCXR)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、及苹果酸脱氢酶胞质型(Malate dehydrogenase,cytoplasmic;MDH1)组成的组中的至少一种蛋白,以

及

[0031] 钙粘素结合蛋白为选自由F-肌动蛋白加帽蛋白亚基α-1(F-actin-capping protein subunit alpha-1,CAPZA1)、及氯化物细胞内通道蛋白1(Chloride intracellular channel protein 1,CLIC1)组成的组中的至少一种蛋白。

[0032] [3]一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物,其中,所述标记物为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、蛋白酶体β亚基4型(Proteasome subunit beta type-4,PSMB4)、蛋白酶体α亚基2型(Proteasome subunit alpha type-2,PSMA2)、蛋白酶体β亚基8型(Proteasome subunit beta type-8,PSMB8)、胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、蛋白酶体α亚基7型(Proteasome subunit alpha type-7,PSMA7)、D-多巴色素脱羧酶(D-dopachrome decarboxylase,DDT)、细丝蛋白-A(Filamin-A,FLNA)、富含脯氨酸的酸性蛋白1(Proline-rich acidic protein 1,PRAP1)、泛酰巯基乙胺酶(Pantetheinase,VNN1)、蛋白酶体α亚基1型(Proteasome subunit alpha type-1,PSMA1)、蛋白酶体α亚基6型(Proteasome subunit alpha type-6,PSMA6)、蛋白酶体α亚基3型(Proteasome subunit alpha type-3,PSMA3)、蛋白酶体β亚基7型(Proteasome subunit beta type-7,PSMB7)、蛋白酶体激活因子复合体亚基2(Proteasome activator complex subunit 2,PSME2)、假定非活性羧酸酯酶4(Putative inactive carboxylesterase 4,CES1P1)、纤维母细胞生长因子结合蛋白2(Fibroblast growth factor-binding protein 2,FGFBP2)、UTP-葡萄糖-1-磷酸尿甙基转移酶(UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase,UGP2)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、蛋白酶体β亚基2型(Proteasome subunit beta type-2,PSMB2)、蛋白酶体α亚基5型(Proteasome subunit alpha type-5,PSMA5)、假定谷胱甘肽水解酶3酶原(Putative glutathione hydrolase 3proenzyme,GGT3P)、LIM衰老细胞抗原样结构域蛋白1(LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 1,LIMS1)、免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)、eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、胞质乌头酸水合酶(Cytoplasmic aconitate hydratase,ACO1)、胞质10-甲酰四氢叶酸脱氢酶(Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase,ALDH1L1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶[NAD(+)]胞质型(Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)],cytoplasmic;GPD1)、乙酰辅酶A乙酰基转移酶胞质型(Acetyl-CoA acetyltransferase,cytosolic;ACAT2)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、前蛋白转化酶枯草溶菌素6型(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 6,PCSK6)、原钙粘蛋白Fat 1(Protocadherin Fat 1,FAT1)、唾液酸结合Ig样凝集素5(Sialic acid-binding Ig-like lectin 5,SIGLEC5)、高亲和力免疫球蛋白α和免疫球蛋白μFc受体(High affinity immunoglobulin alpha and immunoglobulin mu Fc receptor,FCAMR)、L-木酮糖还原酶(L-xylulose reductase,DCXR)、βparvin(Beta-parvin,PARVB)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、核连蛋白-1(Nucleobindin-1,NUCB1)、环AMP依赖性转录因子ATF-6β(Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-

6beta,ATF6B)、蛋白酶体β亚基6型(Proteasome subunit beta type-6,PSMB6)、F-肌动蛋白加帽蛋白亚基α-1(F-actin-capping protein subunit alpha-1,CAPZA1)、5'-3'核酸外切酶PLD4(5'-3'exonuclease PLD4,PLD4)、氧化固醇结合蛋白相关蛋白11(Oxysterol-binding protein-related protein 11,OSBPL11)、富含半胱氨酸的分泌蛋白3(Cysteine-rich secretory protein 3,CRISP3)、免疫球蛋白超家族DCC亚类成员4(Immunoglobulin superfamily DCC subclass member 4,IGDCC4)、可溶性清道夫受体富含半胱氨酸结构域蛋白SSC5D(Soluble scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein SSC5D,SSC5D)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、精子发生相关蛋白17(Spermatogenesis-associated protein 17,SPATA17)、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰氨酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase,PGLYRP2)、Noelin(OLFM1)、Fermitin家族同源物3(Fermitin family homolog 3,FERMT3)、氯化物细胞内通道蛋白1(Chloride intracellular channel protein 1,CLIC1)、细胞粘附分子伴侣蛋白1(Protein sidekick-1,SDK1)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、血小板膜糖蛋白Ibβ多肽(Platelet glycoprotein Ib beta chain,GP1BB)、微管蛋白α-1B链(Tubulin alpha-1B chain,TUBA1B)、Ly6/PLAUR结构域蛋白3(Ly6/PLAUR domain-containing protein 3,LYPD3)、假激酶FAM20A(Pseudokinase FAM20A,FAM20A)、Trem样转录2蛋白(Trem-like transcript 2protein,TREML2)、磷酸葡萄糖变位酶-1(Phosphoglucomutase-1,PGM1)、Ras抑制蛋白1(Ras suppressor protein 1,RSU1)、醇脱氢酶6(Alcohol dehydrogenase 6,ADH6)、醇脱氢酶亚类3(Alcohol dehydrogenase class-3,ADH5)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、CD109抗原(CD109antigen,CD109)、异戊烯半胱氨酸氧化酶1(Prenylcysteine oxidase 1,PCYOX1)、WD重复蛋白1(WD repeat-containing protein 1,WDR1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、Plexin域包含蛋白2(Plexin domain-containing protein 2,PLXDC2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、补体C1r子组件样蛋白(Complement C1r subcomponent-like protein,C1RL)、热休克蛋白HSP 90-α(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、神经细胞粘附分子2(Neural cell adhesion molecule 2,NCAM2)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶S(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S,PTPRS)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、接触蛋白-3(Contactin-3,CNTN3)、多表皮生长因子样结构域蛋白9(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 9,MEGF9)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、髓磷脂P2蛋白(Myelin P2 protein,PMP2)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、分泌粒蛋白-3(Secretogranin-3,SCG3)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-

binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、蛋白O连接甘露糖β-1,2-N乙酰葡糖氨基转移酶1(Protein O-linked-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1,POMGNT1)、上池蛋白(Suprabasin,SBSN)、生腱蛋白-X(Tenascin-X,TNXB)、心肌肌动蛋白α1(Actin,alpha cardiac muscle 1,ACTC1)、硒结合蛋白(Methanethiol oxidase,SELENBP1)、苹果酸脱氢酶胞质型(Malate dehydrogenase,cytoplasmic;MDH1)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)、C4b结合蛋白β链(C4b-binding protein beta chain,C4BPB)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)、补体因子H相关蛋白2(Complement factor H-related protein 2,CFHR2)、尿刊酸水合酶(Urocanate hydratase,UROC1)、酸性鞘磷脂酶样磷酸二酯酶3a(Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3a,SMPDL3A)、内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)、及二氢嘧啶酶相关蛋白4(Dihydropyrimidinase-related protein 4,DPYSL4)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0033] [4]一种用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的标记物,其中,所述标记物为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、富含脯氨酸的酸性蛋白1(Proline-rich acidic protein 1,PRAP1)、纤维母细胞生长因子结合蛋白2(Fibroblast growth factor-binding protein 2,FGFBP2)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)、eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、唾液酸结合Ig样凝集素5(Sialic acid-binding Ig-like lectin 5,SIGLEC5)、βparvin(Beta-parvin,PARVB)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、环AMP依赖性转录因子ATF-6β(Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6beta,ATF6B)、5’-3’核酸外切酶PLD4(5’-3’exonuclease PLD4,PLD4)、可溶性清道夫受体富含半胱氨酸结构域蛋白SSC5D(Soluble scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein SSC5D,SSC5D)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、精子发生相关蛋白17(Spermatogenesis-associated protein 17,SPATA17)、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰氨酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase,PGLYRP2)、Noelin(OLFM1)、Fermitin家族同源物3(Fermitin family homolog 3,FERMT3)、细胞粘附分子伴侣蛋白1(Protein sidekick-1,SDK1)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、血小板膜糖蛋白Ibβ多肽(Platelet glycoprotein Ib beta chain,GP1BB)、Ly6/PLAUR结构域蛋白3(Ly6/PLAUR domain-containing protein 3,LYPD3)、假激酶FAM20A(Pseudokinase FAM20A,FAM20A)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex

subunit 5,ARPC5)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、CD109抗原(CD109 antigen,CD109)、异戊烯半胱氨酸氧化酶1(Prenylcysteine oxidase 1,PCYOX1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、Plexin域包含蛋白2(Plexin domain-containing protein 2,PLXDC2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、多表皮生长因子样结构域蛋白9(Multiple epidermal growth factor-like domains protein9,MEGF9)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、上池蛋白(Suprabasin,SBSN)、心肌肌动蛋白α1(Actin,alpha cardiac muscle 1,ACTC1)、硒结合蛋白(Methanethiol oxidase,SELENBP1)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily Amember 2,LILRA2)、C4b结合蛋白β链(C4b-binding protein beta chain,C4BPB)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)、补体因子H相关蛋白2(Complement factor H-related protein 2,CFHR2)、内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)、及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0034] [5]一种辅助诊断对象的非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的方法,其包含测定从所述对象得到的生物试样中所含的[1]~[3]中任一项所述的标记物的工序。

[0035] [6]一种辅助诊断对象的非酒精性脂肪肝炎(NASH)的方法,其包含测定从所述对象得到的生物试样中所含的[4]所述的标记物的工序。

[0036] [7]根据[5]或[6]所述的方法,其进一步包含将测定得到的标记物的量与基准值进行比较的工序。

[0037] [8]根据[5]~[7]中任一项所述的方法,其中,所述生物试样为选自由血液、血清、血浆、尿、粪便、肠液、唾液和汗组成的组中的至少一种。

[0038] [9]一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的试剂盒,其包含用于测定[1]~[3]中任一项所述的标记物的单元。

[0039] [10]一种用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的试剂盒,其包含用于测定[4]所述的标记物的单元。

[0040] 发明效果

[0041] 通过使用本发明的标记物,能够简便地诊断NAFLD或NASH。

具体实施方式

[0042] 以下,详细地说明本发明。

[0043] 只要本说明书中没有另外定义,则本说明书中使用的所有技术用语和科学用语具有与本领域技术人员通常理解的含义相同的含义。本说明书中所参照的所有专利、申请以

及其他出版物、信息通过参照将其整体援引至本说明书。另外,在本说明书中参照的出版物与本说明书的记载产生矛盾的情况下,本说明书的记载优先。

[0044] 本发明在一个方面涉及一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物。

[0045] 在本发明中,非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)如通常所知的,包括非酒精性脂肪肝(NAFL)和非酒精性脂肪肝炎(NASH)。

[0046] 本发明在一个方面涉及一种用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的标记物。

[0047] 在本发明中,用语“诊断”例如是指判定对象发病、判定对象患有疾病、判定对象疾病的进展程度或重症度等,但并不限定于这些含义。在本发明中,诊断没有限定,例如可以通过确认对象的生物试样中的标记物的存在、或者测定标记物的量并将测定得到的标记物的量与基准值进行比较来进行。在本说明书中,为了明确诊断可离开医生等医疗从业者的手来实施,有时称为“辅助诊断”。另外,在本说明书中,用语“诊断”和用语“辅助诊断”可互换使用。

[0048] 在本发明的一个方式中,用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的标记物是选自由内肽酶、水解酶、钙离子结合蛋白、细胞骨架蛋白、转移酶、受体结合蛋白、磷酸酶、抗原结合蛋白、RNA结合蛋白、还原酶和钙粘素结合蛋白组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0049] 在本发明中,内肽酶没有特别限定,例如为选自由蛋白酶体β亚基4型(Proteasome subunit beta type-4,PSMB4)、蛋白酶体α亚基2型(Proteasome subunit alpha type-2,PSMA2)、蛋白酶体β亚基8型(Proteasome subunit beta type-8,PSMB8)、蛋白酶体α亚基7型(Proteasome subunit alpha type-7,PSMA7)、蛋白酶体α亚基1型(Proteasome subunit alpha type-1,PSMA1)、蛋白酶体α亚基6型(Proteasome subunit alpha type-6,PSMA6)、蛋白酶体α亚基3型(Proteasome subunit alpha type-3,PSMA3)、蛋白酶体β亚基7型(Proteasome subunit beta type-7,PSMB7)、蛋白酶体激活因子复合体亚基2(Proteasome activator complex subunit 2,PSME2)、蛋白酶体β亚基2型(Proteasome subunit beta type-2,PSMB2)、蛋白酶体α亚基5型(Proteasome subunit alpha type-5,PSMA5)、前蛋白转化酶枯草溶菌素6型(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 6,PCSK6)、蛋白酶体β亚基6型(Proteasome subunit beta type-6,PSMB6)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、及补体C1r子组件样蛋白(Complement C1r subcomponent-like protein,C1RL)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0050] 在本发明中,水解酶没有特别限定,例如为选自由泛酰巯基乙胺酶(Pantetheinase,VNN1)、假定非活性羧酸酯酶4(Putative inactive carboxylesterase 4,CES1P1)、假定谷胱甘肽水解酶3酶原(Putative glutathione hydrolase 3proenzyme,GGT3P)、酸性鞘磷脂酶样磷酸二酯酶3a(Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3a,SMPDL3A)、及二氢嘧啶酶相关蛋白4(Dihydropyrimidinase-related protein 4,DPYSL4)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0051] 在本发明中,钙离子结合蛋白没有特别限定,例如为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,

CDHR2)、原钙粘蛋白Fat 1(Protocadherin Fat 1,FAT1)、核连蛋白-1(Nucleobindin-1,NUCB1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、及内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0052] 在本发明中,细胞骨架蛋白是指构成细胞骨架的蛋白,没有特别限定,例如为选自由肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、微管蛋白α-1B链(Tubulin alpha-1B chain,TUBA1B)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、及β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0053] 在本发明中,转移酶没有特别限定,例如为选自由UTP-葡萄糖-1-磷酸尿甙基转移酶(UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase,UGP2)、胞质10-甲酰四氢叶酸脱氢酶(Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase,ALDH1L1)、乙酰辅酶A乙酰基转移酶胞质型(Acetyl-CoA acetyltransferase,cytosolic;ACAT2)、B-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、及Protein O-linked-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1(POMGNT1)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0054] 在本发明中,受体结合蛋白没有特别限定,例如为选自由D-多巴色素脱羧酶(D-dopachrome decarboxylase,DDT)、细丝蛋白-A(Filamin-A,FLNA)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0055] 在本发明中,磷酸酶没有特别限定,例如为选自由胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶S(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S,PTPRS)、及受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0056] 在本发明中,抗原结合蛋白没有特别限定,例如为选自由免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)及白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0057] 在本发明中,RNA结合蛋白没有特别限定,例如为选自由eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、胞质乌头酸水合酶(Cytoplasmic aconitate hydratase,

ACO1)、热休克蛋白HSP 90-α(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、及分泌粒蛋白-3(Secretogranin-3,SCG3)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0058] 在本发明中,还原酶没有特别限定,例如为选自由L-木酮糖还原酶(L-xylulose reductase,DCXR)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、及苹果酸脱氢酶胞质型(Malate dehydrogenase,cytoplasmic;MDH1)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0059] 在本发明中,钙粘素结合蛋白没有特别限定,例如为选自由F-肌动蛋白加帽蛋白亚基α-1(F-actin-capping protein subunit alpha-1,CAPZA1)、及氯化物细胞内通道蛋白1(Chloride intracellular channel protein 1,CLIC1)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0060] 在本发明的一个方式中,用于诊断NAFLD的标记物为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、蛋白酶体β亚基4型(Proteasome subunit beta type-4,PSMB4)、蛋白酶体α亚基2型(Proteasome subunit alpha type-2,PSMA2)、蛋白酶体β亚基8型(Proteasome subunit beta type-8,PSMB8)、胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、蛋白酶体α亚基7型(Proteasome subunit alpha type-7,PSMA7)、D-多巴色素脱羧酶(D-dopachrome decarboxylase,DDT)、细丝蛋白-A(Filamin-A,FLNA)、富含脯氨酸的酸性蛋白1(Proline-rich acidic protein 1,PRAP1)、泛酰巯基乙胺酶(Pantetheinase,VNN1)、蛋白酶体α亚基1型(Proteasome subunit alpha type-1,PSMA1)、蛋白酶体α亚基6型(Proteasome subunit alpha type-6,PSMA6)、蛋白酶体α亚基3型(Proteasome subunit alpha type-3,PSMA3)、蛋白酶体β亚基7型(Proteasome subunit beta type-7,PSMB7)、蛋白酶体激活因子复合体亚基2(Proteasome activator complex subunit 2,PSME2)、假定非活性羧酸酯酶4(Putative inactive carboxylesterase 4,CES1P1)、纤维母细胞生长因子结合蛋白2(Fibroblast growth factor-binding protein 2,FGFBP2)、UTP-葡萄糖-1-磷酸尿甙基转移酶(UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase,UGP2)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、蛋白酶体β亚基2型(Proteasome subunit beta type-2,PSMB2)、蛋白酶体α亚基5型(Proteasome subunit alpha type-5,PSMA5)、假定谷胱甘肽水解酶3酶原(Putative glutathione hydrolase 3proenzyme,GGT3P)、LIM衰老细胞抗原样结构域蛋白1(LIM and senescent cell antigen-like-containing domain protein 1,LIMS1)、免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)、eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、胞质乌头酸水合酶(Cytoplasmic aconitate hydratase,ACO1)、胞质10-甲酰四氢叶酸脱氢酶(Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase,ALDH1L1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶[NAD(+)]胞质型(Glycerol-3-phosphate dehydrogenase[NAD(+)],cytoplasmic;GPD1)、乙酰辅酶A乙酰基转移酶胞质型(Acetyl-CoA acetyltransferase,cytosolic;ACAT2)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、前蛋白转化酶枯草溶菌素6型(Proprotein convertase subtilisin/kexin type 6,PCSK6)、原钙粘蛋白Fat 1(Protocadherin Fat 1,FAT1)、唾液

酸结合Ig样凝集素5(Sialic acid-binding Ig-like lectin 5,SIGLEC5)、高亲和力免疫球蛋白α和免疫球蛋白μFc受体(High affinity immunoglobulin alpha and immunoglobulin mu Fc receptor,FCAMR)、L-木酮糖还原酶(L-xylulose reductase,DCXR)、βparvin(Beta-parvin,PARVB)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、核连蛋白-1(Nucleobindin-1,NUCB1)、环AMP依赖性转录因子ATF-6β(Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6beta,ATF6B)、蛋白酶体β亚基6型(Proteasome subunit beta type-6,PSMB6)、F-肌动蛋白加帽蛋白亚基α-1(F-actin-capping protein subunit alpha-1,CAPZA1)、5’-3’核酸外切酶PLD4(5’-3’exonuclease PLD4,PLD4)、氧化固醇结合蛋白相关蛋白11(Oxysterol-binding protein-related protein 11,OSBPL11)、富含半胱氨酸的分泌蛋白3(Cysteine-rich secretory protein 3,CRISP3)、免疫球蛋白超家族DCC亚类成员4(Immunoglobulin superfamily DCC subclass member 4,IGDCC4)、可溶性清道夫受体富含半胱氨酸结构域蛋白SSC5D(Soluble scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein SSC5D,SSC5D)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、精子发生相关蛋白17(Spermatogenesis-associated protein 17,SPATA17)、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰氨酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase,PGLYRP2)、Noelin(OLFM1)、Fermitin家族同源物3(Fermitin family homolog 3,FERMT3)、氯化物细胞内通道蛋白1(Chloride intracellular channel protein 1,CLIC1)、细胞粘附分子伴侣蛋白1(Protein sidekick-1,SDK1)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein VAT-1homolog,VAT1)、血小板膜糖蛋白Ibβ多肽(Platelet glycoprotein Ib beta chain,GP1BB)、微管蛋白α-1B链(Tubulin alpha-1B chain,TUBA1B)、Ly6/PLAUR结构域蛋白3(Ly6/PLAUR domain-containing protein 3,LYPD3)、假激酶FAM20A(Pseudokinase FAM20A,FAM20A)、Trem样转录2蛋白(Trem-like transcript 2protein,TREML2)、磷酸葡萄糖变位酶-1(Phosphoglucomutase-1,PGM1)、Ras抑制蛋白1(Ras suppressor protein 1,RSU1)、醇脱氢酶6(Alcohol dehydrogenase 6,ADH6)、醇脱氢酶亚类3(Alcohol dehydrogenase class-3,ADH5)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、CD109抗原(CD109antigen,CD109)、异戊烯半胱氨酸氧化酶1(Prenylcysteine oxidase 1,PCYOX1)、WD重复蛋白1(WD repeat-containing protein 1,WDR1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、Plexin域包含蛋白2(Plexin domain-containing protein 2,PLXDC2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、补体C1r子组件样蛋白(Complement C1r subcomponent-like protein,C1RL)、热休克蛋白HSP 90-α(Heat shock protein HSP 90-alpha,HSP90AA1)、Neural cell adhesion molecule 2(NCAM2)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶S(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase S,PTPRS)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、接触蛋白-3

(Contactin-3,CNTN3)、多表皮生长因子样结构域蛋白9(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 9,MEGF9)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、Myelin P2protein(PMP2)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、分泌粒蛋白-3(Secretogranin-3,SCG3)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、Protein O-linked-mannose beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase 1(POMGNT1)、上池蛋白(Suprabasin,SBSN)、Tenascin-X(TNXB)、心肌肌动蛋白α1(Actin,alpha cardiac muscle 1,ACTC1)、硒结合蛋白(Methanethiol oxidase,SELENBP1)、苹果酸脱氢酶胞质型(Malate dehydrogenase,cytoplasmic;MDH1)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)、C4b结合蛋白β链(C4b-binding protein beta chain,C4BPB)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)、补体因子H相关蛋白2(Complement factor H-related protein 2,CFHR2)、Urocanate hydratase(UROC1)、酸性鞘磷脂酶样磷酸二酯酶3a(Acid sphingomyelinase-like phosphodiesterase 3a,SMPDL3A)、内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)、及二氢嘧啶酶相关蛋白4(Dihydropyrimidinase-related protein 4,DPYSL4)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0061] 在本发明的一个方式中,用于诊断NASH的标记物为选自由桥粒芯胶蛋白-2(Desmocollin-2,DSC2)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基2(Actin-related protein 2/3complex subunit 2,ARPC2)、钙粘蛋白相关家族成员2(Cadherin-related family member 2,CDHR2)、胞外核苷酸三磷酸盐二磷酸水解酶5(Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5,ENTPD5)、富含脯氨酸的酸性蛋白1(Proline-rich acidic protein 1,PRAP1)、纤维母细胞生长因子结合蛋白2(Fibroblast growth factor-binding protein 2,FGFBP2)、淀粉样蛋白样蛋白1(Amyloid-like protein 1,APLP1)、免疫球蛋白κ可变区1D-33(Immunoglobulin kappa variable 1D-33,IGKV1D-33)、eIF-2-α激酶GCN2(eIF-2-alpha kinase GCN2,EIF2AK4)、微管蛋白β-1链(Tubulin beta-1chain,TUBB1)、踝蛋白-1(Talin-1,TLN1)、唾液酸结合Ig样凝集素5(Sialic acid-binding Ig-like lectin 5,SIGLEC5)、βparvin(Beta-parvin,PARVB)、β-1,4-葡萄糖醛酸转移酶1(Beta-1,4-glucuronyltransferase 1,B4GAT1)、环AMP依赖性转录因子ATF-6β(Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6beta,ATF6B)、5’-3’核酸外切酶PLD4(5’-3’exonuclease PLD4,PLD4)、可溶性清道夫受体富含半胱氨酸结构域蛋白SSC5D(Soluble scavenger receptor cysteine-rich domain-containing protein SSC5D,SSC5D)、黏附类G蛋白偶联受体G6(Adhesion G-protein coupled receptor G6,ADGRG6)、精子发生相关蛋白17(Spermatogenesis-associated protein 17,SPATA17)、N-乙酰胞壁酰-L-丙氨酸酰氨酶(N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase,PGLYRP2)、Noelin(OLFM1)、Fermitin家族同源物3(Fermitin family homolog 3,FERMT3)、细胞粘附分子伴侣蛋白1(Protein sidekick-1,SDK1)、突触小泡膜蛋白VAT-1同源物(Synaptic vesicle membrane protein

VAT-1homolog,VAT1)、血小板膜糖蛋白Ibβ多肽(Platelet glycoprotein Ib beta chain,GP1BB)、Ly6/PLAUR结构域蛋白3(Ly6/PLAUR domain-containing protein 3,LYPD3)、假激酶FAM20A(Pseudokinase FAM20A,FAM20A)、多磷酸肌醇磷酸酶1(Multiple inositol polyphosphate phosphatase 1,MINPP1)、葡萄糖苷酶Ⅱβ亚基(Glucosidase 2subunit beta,PRKCSH)、肌动蛋白相关蛋白2/3复合体亚基5(Actin-related protein 2/3complex subunit 5,ARPC5)、透明质酸结合蛋白2(Hyaluronan-binding protein 2,HABP2)、β肌动蛋白样蛋白2(Beta-actin-like protein 2,ACTBL2)、钙粘蛋白-6(Cadherin-6,CDH6)、CD109抗原(CD109 antigen,CD109)、异戊烯半胱氨酸氧化酶1(Prenylcysteine oxidase 1,PCYOX1)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶γ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma,PTPRG)、Plexin域包含蛋白2(Plexin domain-containing protein 2,PLXDC2)、肝细胞生长因子样蛋白(Hepatocyte growth factor-like protein,MST1)、2型乳糖胺α-2,3-唾液酸转移酶(Type 2lactosamine alpha-2,3-sialyltransferase,ST3GAL6)、多表皮生长因子样结构域蛋白9(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 9,MEGF9)、多表皮生长因子样结构域蛋白8(Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8,MEGF8)、丛状蛋白-B1(Plexin-B1,PLXNB1)、巢蛋白-2(Nidogen-2,NID2)、原钙粘蛋白β-16(Protocadherin beta-16,PCDHB16)、鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-3(Guanine nucleotide-binding protein G(t)subunit alpha-3,GNAT3)、上池蛋白(Suprabasin,SBSN)、心肌肌动蛋白α1(Actin,alpha cardiac muscle 1,ACTC1)、硒结合蛋白(Methanethiol oxidase,SELENBP1)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(Leukocyte immunoglobulin-like receptor subfamily A member 2,LILRA2)、C4b结合蛋白β链(C4b-binding protein beta chain,C4BPB)、受体型酪氨酸蛋白磷酸酶μ(Receptor-type tyrosine-protein phosphatase mu,PTPRM)、补体因子H相关蛋白2(Complement factor H-related protein 2,CFHR2)、内质网素(Endoplasmin,HSP90B1)、及鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(t)α亚基-12(Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-12,GNA12)组成的组中的至少一种蛋白或编码所述蛋白的基因。

[0062] 本发明在一个方面涉及一种辅助诊断对象的NAFLD的方法。本发明在另一个方面涉及一种诊断对象的NAFLD的方法。

[0063] 在本发明的一个方式中,辅助诊断对象的NAFLD的方法包含测定从对象得到的生物试样中所含的本发明的用于诊断NAFLD的标记物的工序。在本发明的一个方式中,辅助诊断对象的NAFLD的方法包含将测定得到的标记物的量与基准值进行比较的工序。例如,将对象的生物试样中的用于诊断NAFLD的标记物的量与基准值进行比较,能够得到用于诊断对象患有NAFLD的信息。另外,例如也可以将对象的生物试样中的用于诊断NAFLD的标记物的量与基准值进行比较,得到用于诊断对象是患有NAFL还是患有NASH的信息。

[0064] 本发明在一个方面涉及一种辅助诊断对象的NASH的方法。本发明在另一方面涉及一种诊断对象的NASH的方法。

[0065] 在本发明的一个方式中,辅助诊断对象的NASH的方法包含测定从对象得到的生物试样中所含的本发明的用于诊断NASH的标记物的工序。在本发明的一个方式中,辅助诊断对象的NASH的方法包含将测定得到的标记物的量与基准值进行比较的工序。

[0066] 在本发明中,辅助诊断对象的NAFLD或NASH的方法除了上述工序以外,例如还可以

包含从对象得到生物试样的工序、从生物试样分离标记物的工序、检测标记物的量的上升或降低的工序、检测标记物的量超过或低于基准值的工序等进一步的工序,但并不限定于这些。另外,在本发明中,辅助诊断的方法中可以仅使用一个标记物,也可以组合使用多个标记物。

[0067] 在本发明中,“对象”例如是人或非人动物,但并不限定于这些。非人动物例如为小鼠、大鼠、豚鼠、兔子、猴、狗、猫、绵羊、山羊、猪、马、牛等,但并不限定于这些。

[0068] 在本发明中,生物试样没有特别限定,例如为血液、血清、血浆、尿、粪便、肠液、唾液和汗,优选为血液、血清、血浆。

[0069] 在本发明中,标记物的测定可以通过任意的方法进行。在标记物测定的测定中,可以测定标记物本身,或者也可以测定其派生物或衍生物。

[0070] 标记物存在的确认和量的测定例如可以通过使用了针对目标标记物的抗体的免疫分析、质谱分析法(MS)、高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱质谱分析法(LC/MS)、气相色谱质谱分析法(GC/MS)、毛细管电泳质谱分析法(CE-MS)、或毛细管电泳飞行时间型质谱分析法(CE-TOFMS)质谱分析来进行,但并不限定于这些。

[0071] 另外,在标记物为基因的情况下,例如可以通过新一代测序法、实时PCR法、竞争PCR法、微阵列法、DNA芯片、RNA芯片等进行测定。

[0072] 在标记物为酶的情况下,可以将酶反应后的该酶的底物或产物、或酶反应的共轭因子的变化量作为指标,测定标记物。另外,在标记物为结合性蛋白的情况下,可以将结合性蛋白与结合靶的结合量作为指标,测定标记物。

[0073] 本发明在一个方面涉及一种用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的试剂盒。在本发明的一个方式中,用于诊断非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的试剂盒包含用于测定本发明的用于诊断NAFLD的标记物的单元。

[0074] 本发明在一个方面涉及一种用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的试剂盒。在本发明的一个方式中,用于诊断非酒精性脂肪肝炎(NASH)的试剂盒包含用于测定本发明的用于诊断NASH的标记物的单元。

[0075] 在本发明中,作为用于测定标记物的单元,例如可举出用于通过免疫分析进行测定的试剂(例如与标记物结合的抗体、抗体片段及缓冲液等)、用于通过质谱分析或高效液相色谱法等进行测定的试剂(例如用于定性分析或定量分析的标准品及缓冲液等)、用于通过酶反应进行测定的试剂(例如酶的底物、用于测定酶反应产物的试剂及缓冲液等)等,但并不限定于这些。在本发明中,试剂盒可以包含记载有用于实施本发明的方法的步骤的说明书等。

[0076] 实施例

[0077] 参照以下的例子对本发明更详细地进行说明,但它们是用于表示本发明的特定的具体例的,本发明并不限定于这些。

[0078] (1)血清中的蛋白表达量的测定

[0079] 从日本国内的生物库,基于表1中记载的选定条件和表2中记载的选定排除条件,得到了健康组11个检样、NAFL组14个检样、NASH组12个检样的人血清检样共计37个检样。37个检样的病理学特征如表3所示。

[0080] 将在-80℃下冻结的血清融解,实施白蛋白除去的前处理,然后用液相色谱质谱分

析法(LC-MS)包罗性地测定血清中的蛋白的表达量。结果,检测出共计1067种蛋白,并得到了各蛋白的蛋白表达量(MS信号值)。

[0081] [表1]

[0082] 表1:人血清检样的选定条件

[0083]

	健康组	NAFL 组	NASH 组
饮酒量 （g/天，按乙醇换算）	男性＜20 女性＜10	男性＜20 女性＜10	男性＜20 女性＜10
图像所见	-	脂肪肝	脂肪肝
肝活检所见	-	脂肪肝*	NASH
空腹时血糖（mg/dL）	＜100	-	-
HbA1c（%）	＜5.6	-	-

[0084] *:认为缺失数据

[0085] [表2]

[0086] 表2:人血清检样的选定排除条件

[0087]

	排除条件
健康组	有肝病既往史者 有高脂血症或心血管系的疾病既往史者
NAFL 组	有除 NAFLD 或脂肪肝以外的肝病既往史者
NASH 组	有除 NAFLD 以外的肝病既往史者

[0088] [表3]

[0089] 表3:人血清检样的病理学特征

[0090]

	健康组	NAFL组	NASH组
检样数	11	14	12
男性	5(45%)	6(43%)	7(58%)
年龄	46±15	61±13	60±15
BMI (kg/m^2)	22.5±3.0	26.8±4.1	28.6±5.3
空腹时血糖* (mg/dL)	86±4.7	NA	NA
HbA1c* (%)	5.2±0.1	NA	NA
AST (U/L)	22±6	38±26	55±20
ALT (U/L)	29±8	54±50	77±54
AST/ALT	1.0±0.2	0.8±0.3	1.0±0.5
Fib-4 index*	NA	1.8	2.5

[0091] *:有缺失值

[0092] (2)标记物的选定

[0093] 使用前项得到的蛋白的表达量,对下述条件1～3的组间分别进行Welch的t检验,提取p＜0.05的蛋白。

[0094] 接着,在下述的条件1～3的组间,计算蛋白表达量(MS信号值)的变动比,进一步提取变动比高者:

[0095] 条件1.NAFL组vs NASH组

[0096] 条件2.健康组vs(NAFL组+NASH组)

[0097] 条件3.(健康组+NAFL组)vs NASH组

[0098] 然后,对于所提取的各个蛋白,使用Easy R version 1.55(自治医科大学)统计分析软件制作ROC曲线,计算出曲线下面积(AUROC)。

[0099] 作为肝纤维化标记物而广为人知的TIMP-1(比较例)的P值在条件1～条件3中分别为0.380、0.884、0.413,AUROC为0.649、0.565、0.637。将在条件1～3中超过TIMP-1的AUROC的蛋白的列表示于表4。表4中记载的实施例1～107的蛋白与TIMP-1相比组间的变动比更大,另外对于AUROC,与TIMP-1相比也显示更高值,显示出实施例1～107的蛋白具有优异的诊断能力。

[0100] [表4-1]

[0101] 表4

[0102]

		条件1			条件2			条件3			
实施例编号	蛋白名	AUROC (NAFL vs NASH)	MS信号的变动比 (NASH/NAFL) 求经log2变换的数值	组间显著性差异p值 (NASH/NAFL)	AUROC (健康vs NAFL+ NASH)	MS信号的变动比 (NAFL+NASH/健康) 求经log2变换的数值	组间显著性差异p值 (NAFL+NASH/健康)	AUROC (健康+NAFL vs NASH)	MS信号的变动比 (NASH/健康+NAFL) 求经log2变换的数值	组间显著性差异p值 (NASH/健康+NAFL)	条件1～3中最大的AUROC
比较例1	TIMP1	0.649	0.107	0.380	0.565	0.023	0.884	0.637	0.095	0.413	0.649
实施例1	PSMA7				0.881	1.859	0.001				0.881
实施例2	PSMA2				0.858	1.913	0.001				0.858
实施例3	PSMB8				0.853	4.076	0.000				0.853
实施例4	PSMB4				0.836	2.632	0.002				0.836
实施例5	PSMA1				0.822	2.053	0.032				0.822
实施例6	VNN1				0.801	1.071	0.001				0.801
实施例7	PSMA6				0.801	1.611	0.008				0.801
实施例8	PSMA3				0.801	1.203	0.007				0.801
实施例9	DSC2	0.789	2.366	0.016				0.703	1.458	0.046	0.789
实施例10	PSMB7				0.780	2.091	0.008				0.780
实施例11	ARPC2	0.679	-1.726	0.047				0.720	-2.059	0.003	0.720
实施例12	PSME2				0.668	2.165	0.032				0.668
实施例13	CDHR2				0.928	3.493	0.000	0.787	1.415	0.033	0.928
实施例14	CES1P1				0.895	1.840	0.000				0.895
实施例15	FGFBP2	0.887	-1.166	0.002				0.803	-0.940	0.001	0.887
实施例16	UGP2				0.883	3.014	0.001				0.883
实施例17	APLP1				0.862	-1.285	0.001	0.693	-0.830	0.035	0.862
实施例18	ENTPD5	0.860	-2.132	0.001				0.822	-2.049	0.000	0.860
实施例19	PSMB2				0.858	1.521	0.000				0.858
实施例20	PSMA5				0.829	1.964	0.004				0.829
实施例21	GGT3P				0.827	3.156	0.000				0.827
实施例22	LIMS1				0.822	-2.351	0.022				0.822
实施例23	PRAP1				0.822	1.180	0.003	0.820	0.927	0.042	0.822
实施例24	IGKV1D-33	0.821	-4.015	0.014				0.770	-3.712	0.002	0.821
实施例25	EIF2AK4	0.708	-1.208	0.046	0.816	-0.982	0.000	0.800	-1.473	0.001	0.816
实施例26	TUBB1				0.809	-1.648	0.025	0.655	-1.386	0.026	0.809
实施例27	ACO1				0.802	4.374	0.002				0.802
实施例28	ALDH1L1				0.799	4.350	0.000				0.799
实施例29	GPD1				0.794	2.792	0.001				0.794
实施例30	ACAT2				0.781	3.167	0.003				0.781
实施例31	TLN1				0.771	-1.569	0.034	0.657	-2.032	0.005	0.771
实施例32	PCSK6				0.759	3.605	0.000				0.759
实施例33	FAT1				0.724	5.563	0.003				0.724
实施例34	SIGLEC5	0.696	2.179	0.037							0.696
实施例35	FCAMR				0.682	2.864	0.002				0.682
实施例36	DCXR				0.682	2.469	0.026				0.682
实施例37	PARVB							0.670	-2.959	0.012	0.670
实施例38	B4GAT1				0.830	-0.290	0.002	0.748	-0.233	0.021	0.830
实施例39	NUCB1				0.809	0.629	0.014				0.809
实施例40	ATF6B				0.745	0.826	0.026	0.808	0.788	0.006	0.808
实施例41	PSMB6				0.799	1.486	0.002				0.799
实施例42	FLNA				0.762	-1.348	0.050				0.762
实施例43	CAPZA1				0.757	-1.102	0.020				0.757
实施例44	PLD4							0.740	1.359	0.041	0.740
实施例45	DDT				0.719	1.618	0.013				0.719
实施例46	OSBPL11				0.885	-0.455	0.000				0.885
实施例47	CRISP3				0.862	-0.609	0.000				0.862
实施例48	IGDCC4				0.860	-0.605	0.012				0.860
实施例49	SSC5D	0.839	-0.834	0.003							0.839
实施例50	ADGRG6	0.83	-0.314	0.004				0.713	-0.210	0.028	0.830
实施例51	SPATA17	0.807	-0.371	0.007				0.755	-0.281	0.011	0.807
实施例52	PGLYRP2	0.768	-0.350	0.017	0.710	-0.265	0.031	0.803	-0.401	0.002	0.803
实施例53	OLFM1	0.801	0.300	0.006				0.730	0.226	0.024	0.801
实施例54	FERMT3				0.781	-1.323	0.026	0.643	-1.335	0.013	0.781
实施例55	CLIC1				0.778	-1.242	0.015				0.778
实施例56	SDK1	0.777	1.332	0.018							0.777
实施例57	VAT1	0.679	-1.195	0.046				0.767	-1.290	0.002	0.767
实施例58	GP1BB				0.766	-1.707	0.011	0.638	-1.474	0.038	0.766
实施例59	TUBA1B				0.764	-1.226	0.022				0.764
实施例60	LYPD3				0.762	-1.170	0.016	0.710	-1.504	0.011	0.762

[0103] [表4-2]

		条件1			条件2			条件3			
实施例编号	蛋白名	AUROC (NAFL vs NASH)	MS信号的变动比（NASH/NAFL）※经log2变换的数值	组间显著性差异p值（NASH/NAFL）	AUROC（健康vs NAFL+ NASH）	MS信号的变动比（NAFL+NASH/健康）※经log2变换的数值	组间显著性差异p值（NAFL+NASH/健康）	AUROC（健康+NAFL vs NASH）	MS信号的变动比（NASH/健康+NAFL）※经log2变换的数值	组间显著性差异p值（NASH/健康+NAFL）	条件1～3中最大的AUROC
实施例61	FAM20A	0.747	-1.993	0.015							0.747
实施例62	TREML2				0.743	-1.434	0.031				0.743
实施例63	PGM1				0.734	1.874	0.004				0.734
实施例64	RSU1				0.713	-1.851	0.041				0.713
实施例65	ADH6				0.643	4.794	0.008				0.643
实施例66	ADH5				0.622	3.015	0.020				0.622
实施例67	MINPP1	0.789	-0.419	0.011				0.797	-0.386	0.004	0.797
实施例68	PRKCSH	0.795	0.314	0.013							0.795
实施例69	ARPC5				0.795	-0.979	0.005	0.650	-0.671	0.044	0.795
实施例70	HABP2	0.759	-0.427	0.035				0.778	-0.481	0.003	0.778
实施例71	ACTBL2				0.766	-0.507	0.021	0.692	-0.476	0.007	0.766
实施例72	CDH6	0.753	0.497	0.018				0.708	0.392	0.042	0.753
实施例73	CD109				0.652	0.278	0.035	0.740	0.384	0.037	0.740
实施例74	PCYOX1	0.738	-0.384	0.037							0.738
实施例75	WDR1				0.736	-0.514	0.038				0.736
实施例76	PTPRG	0.723	0.218	0.027							0.723
实施例77	PLXDC2	0.711	0.291	0.048							0.711
实施例78	MST1							0.687	-0.253	0.019	0.687
实施例79	C1RL				0.682	-0.136	0.040				0.682
实施例80	HSP90AA1				0.636	1.136	0.020				0.636
实施例81	NCAM2				0.794	-0.491	0.004				0.794
实施例82	PTPRS				0.790	-0.793	0.004				0.790
实施例83	ST3GAL6	0.729	-0.526	0.015				0.788	-0.499	0.004	0.788
实施例84	CNTN3				0.781	0.427	0.001				0.781
实施例85	MEGF9	0.777	-0.261	0.032							0.777
实施例86	MEGF8	0.717	-0.300	0.043	0.776	0.371	0.004				0.776
实施例87	PLXNB1	0.768	-0.343	0.028				0.740	-0.294	0.029	0.768
实施例88	PMP2				0.766	0.999	0.013				0.766
实施例89	NID2				0.760	-0.821	0.026	0.700	-0.819	0.022	0.760
实施例90	PCDHB16							0.758	-0.875	0.018	0.758
实施例91	SCG3				0.752	-0.683	0.013				0.752
实施例92	GNAT3	0.741	-0.829	0.043				0.730	-0.859	0.019	0.741
实施例93	POMGNT1				0.741	-0.908	0.027				0.741
实施例94	SBSN	0.732	-0.509	0.032				0.740	-0.602	0.010	0.740
实施例95	TNXB				0.740	-0.276	0.038				0.740
实施例96	ACTC1				0.736	-0.513	0.040	0.685	-0.473	0.020	0.736
实施例97	SELENBP1							0.720	0.541	0.046	0.720
实施例98	MDH1				0.719	0.632	0.019				0.719
实施例99	LILRA2				0.682	0.780	0.042	0.715	0.748	0.044	0.715
实施例100	C4BPB	0.714	-0.268	0.030							0.714
实施例101	PTPRM	0.711	0.297	0.044				0.687	0.255	0.047	0.711
实施例102	CFHR2							0.703	-0.721	0.013	0.703
实施例103	UROC1				0.692	-	0.004				0.692
实施例104	SMPDL3A				0.692	0.625	0.010				0.692
实施例105	HSP90B1							0.690	-0.395	0.018	0.690
实施例106	GNA12							0.680	-0.859	0.019	0.680
实施例107	DPYSL4				0.635	-	0.014				0.635

[0104]