



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107407682 A

(43)申请公布日 2017. 11. 28

(21)申请号 201680019641.9

(22)申请日 2016.04.08

(30)优先权数据

2015-081175 2015.04.10 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2017.09.28

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2016/061609 2016.04.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/163539 JA 2016.10.13

(71)申请人 社会福祉法人恩赐财团济生会

地址 日本东京都

申请人 大日本住友制药株式会社

(72)发明人 冈上武 吉村庆人 岩崎刚之

山崎一人 海老濑速雄 市原准二

(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322

代理人 杨琦 沈娟

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 21/27(2006.01)

G01N 33/48(2006.01)

G01N 33/483(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书9页 说明书65页 附图18页

(54)发明名称

判别肝疾病的病态的方法

(57)摘要

本发明在于提供一种非侵袭性且精度更高的判别非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的病态的方法。一种判别非酒精性脂肪肝(NAFL)与非酒精性脂肪肝(NASH)的方法,该方法包括:(1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,(2)从基于同一组的上述标记分子的数量算出的标准化分数求出指标值的工序,和(3)在上述指标值大于基准值时,判定为上述受试者可能患有NASH的工序。

1. 一种判别非酒精性脂肪肝 (NAFL) 与非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的方法, 其特征在于, 包括:

(1) 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序, 测定的所述标记分子为:

(A) 选自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的至少2个标记分子,

选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,

选自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和鞣酮组成的组3的至少2个标记分子, 或者,

选自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的至少2个标记分子,

或,

(B) 从选自所述组1、所述组2、所述组3和所述组4的2个组中的一个中选择的至少2个标记分子和从另一个中选择的至少2个标记分子,

(2) 从基于所述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序, 基于同一组的所述标记分子的量的所述标准化分数由下述式1算出,

[数1]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)} \quad (\text{式1})$$

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中, M表示标准化分数, N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值,

所述标记分子为(A)时, 所述指标值为所述标准化分数,

所述标记分子为(B)时, 所述指标值从2个组的标准化分数算出,

以及

(3) 所述指标值大于基准值时, 判定为所述受试者患有NASH或存在该可能性的工序。

2. 如权利要求1所述的方法, 其特征在于:

所述标记分子为所述(B)的情况下, 所述指标值从2个组的标准化分数中使用线性式或非线性式算出。

3. 一种判别非酒精性脂肪肝 (NAFL) 与非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的方法, 其特征在于, 包括:

(1) 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序, 测定的所述标记分子

为:

(A) 选自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的至少2个标记分子,

选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,

选自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和鞣酮组成的组3的至少2个标记分子,或者,

选自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的至少2个标记分子,

或,

(B) 从选自所述组1、所述组2、所述组3和所述组4的2个组中的一个中选择的至少2个标记分子和从另一个中选择的至少2个标记分子,

(2) 从基于所述标记分子的数量算出的标准化分数求出指标值的工序,基于同一组的所述标记分子的数量所述标准化分数由下述式1算出,

[数2]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的数量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子数量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子数量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子数量的平均值,

所述标记分子为(A)时,所述指标值为所述标准化分数,

所述标记分子为(B)时,所述指标值从2个组的标准化分数通过使用平均计算式的方法、使用线性回归式的方法、使用线性判别式的方法、使用逻辑回归式的方法、使用非线性平均计算式的方法、使用非线性回归式的方法、使用非线性判别式的方法、或使用非线性逻辑回归式的方法算出,

(3) 所述指标值大于基准值时,判定为所述受试者患有NASH或存在该可能性的工序。

4. 如权利要求1~3中任一项所述的方法,其特征在于:

所述标记分子为所述(B)的情况下,作为使用逻辑回归式的方法,所述指标值从2个组的标准化分数通过下述式2算出,

$$I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2} \quad (\text{式2})$$

式2中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示所述2个组之中的一个的标准化分数和另一个的标准化分数, a_1 和 a_2 表示由逻辑回归分析确定的常数。

5. 如权利要求1~3中任一项所述的方法,其特征在于:

所述标记分子为所述(B)的情况下,作为使用非线性判别式的方法,所述指标值从2个组的标准分数由下述决策树1~6中的任一个算出,

所述标记分子选自所述组1和组2时,

$M1_a \geq 0.476$ 时 $I=2$, $M1_a < 0.476$ 且 $M2_a \geq 0.466$ 时 $I=1$, $M1_a < 0.476$ 且 $M2_a < 0.466$ 时 $I=0$
(决策树1)

所述标记分子选自所述组1和组3时,

$M3_a \geq 0.409$ 且 $M1_a \geq 0.45$ 时 $I=2$, $M3_a \geq 0.409$ 且 $M1_a < 0.45$ 时 $I=1$, $M3_a < 0.409$ 时 $I=0$
(决策树2)

所述标记分子选自所述组1和组4时,

$M4_a \geq 0.547$ 时 $I=2$, $M4_a < 0.547$ 且 $M1_a \geq 0.468$ 时 $I=1$, $M4_a < 0.547$ 且 $M1_a < 0.468$ 时 $I=0$
(决策树3)

所述标记分子选自所述组2和组3时,

$M3_a \geq 0.409$ 且 $M2_a \geq 0.412$ 时 $I=2$, $M3_a \geq 0.409$ 且 $M2_a < 0.412$ 时 $I=1$, $M3_a < 0.409$ 时 $I=0$
(决策树4)

所述标记分子选自所述组2和组4时,

$M4_a \geq 0.547$ 时 $I=2$, $M4_a < 0.547$ 且 $M2_a \geq 0.413$ 时 $I=1$, $M4_a < 0.547$ 且 $M2_a < 0.413$ 时 $I=0$
(决策树5)

所述标记分子选自所述组3和组4时,

$M3_a \geq 0.409$ 时 $I=2$, $M3_a < 0.409$ 且 $M4_a \geq 0.588$ 时 $I=1$, $M3_a < 0.409$ 且 $M4_a < 0.588$ 时 $I=0$
(决策树6)

决策树1~6中, I 表示指标值, $M1_a$ 、 $M2_a$ 、 $M3_a$ 和 $M4_a$ 分别表示所述组1、组2、组3和组4的标准分数。

6. 如权利要求1~3中任一项所述的方法,其特征在于:

所述标记分子为所述(A)的情况下,所述标记分子为所述组1的PROS1和CLU。

7. 如权利要求1~3中任一项所述的方法,其特征在于:

所述标记分子为所述(A)的情况下,所述标记分子为所述组2的VCAM1和HA,或为VCAM1和CTSD,或为VCAM1和COL4,或为VCAM1和COL4-7S,或为HA和COL4-7S,或为HA和CTSD,或为HA和COL4,或为CTSD和COL4,或为CTSD和COL4-7S。

8. 如权利要求1~3中任一项所述的方法,其特征在于:

所述标记分子为所述(A)的情况下,所述标记分子为所述组3的AST和PSAT,或为AST和LEP,或为AST和ICAM1,或为AST、PSAT和LEP,或为AST、PSAT和ICAM1,或为AST、LEP和CK-18,或为AST、ICAM1和GSTA1,或为AST、PSAT和6Ckine。

9. 如权利要求1~5中任一项所述的方法,其特征在于:

所述标记分子为所述(B)的组1和组3的组合时,

选自组1的标记分子为PROS1和CLU,

选自组3的标记分子为AST和PSAT,或为AST和LEP,或为AST和ICAM1,或为AST、PSAT和LEP,或为AST、PSAT和ICAM1,或为AST、LEP和CK-18,或为AST、ICAM1和GSTA1,或为AST、PSAT和6Ckine。

10. 一种判别肝纤维化的方法,其特征在于,包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的所述标记分子为选自VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,或为VCAM1,

基于所述标记分子的量算出的标准化分数大于基准值时,判定为所述受试者为肝纤维化的病态、或存在该可能性的工序,所述标准化分数由下述式1算出,

[数3]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。

11. 如权利要求10所述的方法,其为判别肝纤维化的方法,其特征在于:

所述标记分子为VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40,或为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为VCAM1和CTSD,或为VCAM1和COL4,或为VCAM1和COL4-7S,或为HA和CTSD,或为CTSD和COL4,或为HA和COL4,或为HA和COL4-7S,或为CTSD和COL4-7S。

12. 如权利要求10或11所述的方法,其特征在于:

肝纤维化的判别为Matteoni分类中类型-1~类型-3的病态与类型-4的病态的判别、或纤维化阶段中阶段0、阶段1或阶段2的病态与阶段3或阶段4的病态的判别。

13. 一种判定肝疾病的病态的进展度的方法,其特征在于,包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的所述标记分子为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为HA和COL4,或为VCAM1和COL4,或为HA和COL4-7S,或为VCAM1和COL4-7S,以及

判定工序,基于所述标记分子的量算出的标准化分数越大,判定为所述受试者的肝脏的纤维化的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高,或存在这些的可能性,所述标准化分数由下述式1算出,

[数4]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中, M 表示标准化分数, N 表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。

14. 一种判定非酒精性脂肪性肝疾病 (NAFLD) 的病态的进展度的方法, 其特征在于, 包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序, 测定的所述标记分子为 VCAM1, 或为 VCAM1 和 HA, 或为 HA 和 COL4, 或为 VCAM1 和 COL4, 或为 HA 和 COL4-7S, 或为 VCAM1 和 COL4-7S, 以及

判定工序, 基于所述标记分子的量算出的标准化分数越大, 判定为所述受试者中肝脏的纤维化的进展度、非酒精性脂肪肝疾病的活动性的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高, 或存在这些的可能性, 所述标准化分数由下述式1算出, [数5]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中, M 表示标准化分数, N 表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。

15. 用于权利要求1~14中任一项所述的方法的试剂盒, 其特征在于, 包括:

用于检测所述标记分子的试剂, 和

用于实施所述方法的说明书。

16. 一种判别非酒精性脂肪肝 (NAFL) 与非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的方法, 其特征在于, 包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的 VCAM1 的量的工序, 和

所述 VCAM1 的量大于基准值时, 判定为所述受试者患有 NASH、或存在该可能性的工序。

17. 一种判别肝纤维化的方法, 其特征在于, 包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的 VCAM1 的量的工序, 和

所述 VCAM1 的量大于基准值时, 判定为所述受试者为肝纤维化的病态、或存在该可能性的工序。

18. 一种判定肝疾病的病态的进展度的方法, 其特征在于, 包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的 VCAM1 的量的工序, 和

所述 VCAM1 的量越大, 判定为所述受试者的肝脏的纤维化的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高、或存在这些的可能性的工序。

19. 一种判定非酒精性脂肪性肝疾病 (NAFLD) 的病态的进展度的方法, 其特征在于, 包括:

测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序, 和

所述VCAM1的量越大, 判定为所述受试者的肝脏的纤维化的进展度、非酒精性脂肪肝疾病的活动性的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高、或存在这些的可能性的工序。

20. 用于权利要求16~19中任一项所述的方法的试剂盒, 其特征在于, 包括:

用于检测VCAM1的试剂。

21. 用于权利要求1~14中任一项所述的方法的程序, 其特征在于:

其是用于在计算机中执行下述步骤的程序:

标准化步骤, 由从受试者采集的血液中所包含的所述标记分子的量的测定数据, 基于所述式1算出标准化分数, 从算出的标准化分数求出指标值,

比较步骤, 将求得的指标值与基准值进行比较, 和

判定步骤, 基于比较得到的结果, 判定是否具有肝疾病的病态。

22. 用于权利要求16~19中任一项所述的方法的程序, 其特征在于:

其是用于在计算机中执行下述步骤的程序:

比较步骤, 将从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量与基准值进行比较, 和

判定步骤, 基于比较得到的结果, 判定是否具有肝疾病的病态。

23. 如权利要求21或22所述的程序, 其特征在于:

进一步在计算机中执行获得步骤, 获得从受试者采集的血液中所包含的所述标记分子的量或所述VCAM1的量的测定数据。

24. 用于权利要求1~14、和16~19中任一项所述的方法的测定装置, 其特征在于, 具备:

用于设置试样的试样设置部、用于对所述试样照射光的光源部、和对透过了所述试样的光进行检测的检测部。

25. 用于权利要求1~14中任一项所述的方法的肝疾病判定系统, 其特征在于:

具备测定从受试者采集的血液中所包含的所述标记分子的量的测定装置、和基于测得的所述标记分子的量判定肝疾病的病态的肝疾病判定装置,

所述测定装置具备用于设置试样的试样设置部、用于对所述试样照射光的光源部、和对透过了所述试样的光进行检测的检测部,

所述肝疾病判定装置具备: 获得来自所述测定装置的测定数据的获得机构; 由所述测定数据基于所述式1算出标准化分数, 从算出的标准化分数求得指标值的标准化机构; 将求得的指标值与基准值进行比较的比较机构; 和基于比较得到的结果, 判定是否具有肝疾病的病态的判定机构。

26. 用于权利要求16~19中任一项所述的方法的肝疾病判定系统, 其特征在于:

具备测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的测定装置、和基于测得的所述VCAM1的量判定肝疾病的病态的肝疾病判定装置,

所述测定装置具备用于设置试样的试样设置部、用于对所述试样照射光的光源部、和对透过了所述试样的光进行检测的检测部,

所述肝疾病判定装置具备:获得来自所述测定装置的测定数据的获得机构;将所述VCAM1的量与基准值进行比较的比较机构;和基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态的判定机构。

27. 一种诊断剂,其特征在于:

用于判定:患有非酒精性脂肪肝炎(NASH),或为肝脏的纤维化的病态,或肝脏的纤维化的进展度高,或肝细胞的气球样变性的病态的进展度高,或肝脏的炎症的进展度高,或为肝肥大的病态,或为肝细胞的坏死的病态,或为肝细胞的凋亡的病态,或为肝细胞的变性的病态,或为肝脏的脂肪化的病态,或是否存在这些的可能性,

所述诊断剂含有用于检测VCAM1的试剂。

28. 如权利要求27所述的诊断剂,其特征在于:

所述用于检测VCAM1的试剂为抗体。

29. 用于检测VCAM1的试剂在用于体外检测非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝脏的纤维化、肝细胞的气球样变性、肝脏的炎症、肝肥大、肝细胞的坏死、肝细胞的凋亡、肝细胞的变性、或、肝脏的脂肪化的用途。

30. 如权利要求29所述的用途,其特征在于:

与其它诊断剂并用。

31. 如权利要求30所述的用途,其特征在于:

其它诊断剂为用于检测HA、COL4或COL4-7S的诊断剂。

32. 一种程序,其特征在于:

是用于在计算机中执行下述步骤的程序:

比较步骤,将由从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的测定数据求得的指标值与基准值进行比较,所述标记分子包括VCAM1,和

判定步骤,基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态。

33. 如权利要求32所述的程序,其特征在于:

进一步在计算机中执行获得步骤,获得从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的测定数据。

34. 如权利要求32或33所述的程序,其特征在于:

进一步在计算机中执行标准化步骤,从所述测定数据算出标准化分数,从算出的标准化分数求得指标值。

35. 如权利要求32~33中任一项所述的程序,其特征在于:

所述标记分子还包括HA、COL4或COL4-7S。

36. 一种判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)的治疗药的效果的方法,其特征在于,包括:

对NASH患者在所述治疗药的应用前和应用后分别测定从所述患者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的所述标记分子为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为HA和COL4,或为VCAM1和COL4,或为HA和COL4-7S,或为VCAM1和COL4-7S,和

判定工序,基于所述标记分子的量,算出所述治疗药的应用前和应用后的各个标准化分数,应用后的标准化分数比应用前的标准化分数减少时,判定为存在具有应用所述治疗药的效果的可能性的工序,所述标准化分数由下述式1算出,

[数6]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。

37. 一种判定非酒精性脂肪肝(NASH)的治疗药的效果的方法,其特征在于,包括:

对NASH患者在所述治疗药的应用前和应用后分别测定从所述患者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序,和

应用后的VCAM1的量比应用前的VCAM1的量减少时,判定为存在具有应用所述治疗药的效果的可能性的工序。

38. 一种判定非酒精性脂肪肝(NAFL)或非酒精性脂肪肝(NASH)的治疗药的效果的方法,其特征在于,包括:

对NAFL或NASH患者在所述治疗药的应用前和应用后分别

(1) 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的所述标记分子为:

(A) 选自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的至少2个标记分子,

选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,

选自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和睾酮组成的组3的至少2个标记分子,或者

选自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的至少2个标记分子,

或

(B) 选自从所述组1、所述组2、所述组3和所述组4中选择的2个组中的一个的至少2个标记分子和选自另一个的至少2个标记分子,

(2) 从基于所述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序,基于同一组的所述标记分子的量的所述标准化分数由下述式1算出,

[数7]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值,

所述标记分子为(A)时,所述指标值为所述标准化分数,

所述标记分子为(B)时,所述指标值从2个组的标准分数算出,

(3)应用后的标准化分数比应用前的标准化分数减少时,判定为存在具有应用所述治疗药的效果的可能性的工序。

判别肝疾病的病态的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及判别肝疾病的病态的方法。另外,本发明涉及判别非酒精性脂肪肝(NonaIcoholIc fatty Liver;NAFL)与非酒精性脂肪肝炎(NonaIcoholIc steatohepatitis;NASH)的方法、和判别肝纤维化的方法。

背景技术

[0002] 非酒精性脂肪性肝疾病(NonaIcoholIc fatty Liver disease;NAFLD)是与糖尿病和肥胖等的生活习惯病紧密相关的肝疾病。近年来,随着患有生活习惯病的人的增加,世界中NAFLD的患者数增加。NAFLD中,从预后良好的非酒精性脂肪肝(NAFL)到预后不良的非酒精性脂肪肝炎(NASH)均包括。另外,NASH已知伴随有炎症、肝细胞的变性或者坏死、或纤维化。NASH发展,则会变成肝硬化或肝癌。并且,NASH患者的数量在近年也在增加。因此,强烈要求诊断NASH,进行适当的治疗。

[0003] 现有技术文献

[0004] 非专利文献

[0005] 非专利文献1:Poynard,T.et al.Diagnostic value of biochemical markers (NashTest)for the prediction of non alcoholo steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease.BMC Gastroenterol.6,34(2006) .

[0006] 非专利文献2:Younossi,Z.M.et al.A novel diagnostic biomarker panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH) .Obes.Surg.18,1430-7(2008) .

[0007] 非专利文献3:Sumida,Y.et al.A simple clinical scoring system using ferritin,fasting insulin,and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease.J.Gastroenterol.46,257-68(2011) .

发明内容

[0008] 发明所要解决的技术问题

[0009] 现在,作为用于确诊NASH的方法,被诊疗指导(NAFLD/NASH诊疗指导2014,日本消化器病学会编,南江堂,2014)承认的仅有利用肝活检进行的病理组织诊断。肝活检是通过穿刺采集肝脏的组织这样的侵袭性高的手法。另外,肝活检由于通常需要入院、费用高等,在怀疑患有NASH时也无法应用的情况较多。因此,肝活检对于大量的患者进行诊断不能说是充分的方法。根据这样的现状,期待开发出不需要进行肝活检、利用非侵袭性的NASH诊断标记(用于诊断NASH的标记)的诊断方法(判别方法)。

[0010] 另外,作为NASH的病征之一的肝纤维化对NASH的预后产生大的影响(J HepatoI.2005Jan;42(1):132-8),因此,在NASH的诊断和治疗中,判别肝纤维化是重要的。现在,在肝纤维化的有无的判别或其进展度的评价中,也是在确诊中需要肝活检。根据这样的现状,还期待开发不需要肝活检而判别发生肝纤维化的NASH的方法和评价其进展度的手

法。

[0011] 至今,报道了大量的非侵袭性的NASH诊断标记。在目前的诊疗指导中,作为NASH的特征,例示有“脂肪变性、炎症、肝细胞障碍(气球样变性)”。另外,NASH中也包括伴随有肝纤维化的病例。NAFL-NASH的诊断中,广泛应用基于这样得到的肝活检的病理所见的Matteoni分类(Matteoni,C.,Younossi,Z.&Gramlich,T.NonaIcoholic fatty liver disease:a spectrum of clinical and pathological severity.Gastroenterology 1413-1419 (1999) .)。并且,现有的NASH诊断法的大多数为基于这样得到的NASH的特征性病态,并结合炎症的标记、肝细胞障碍的标记、纤维化的标记等的诊断法。通过现有的标记中基于独立的患者组的验证来确认真正的诊断精度局限于NASH Test (非专利文献1)、NASH Diagnostics (非专利文献2)、NAFIC score (非专利文献3)这三种。一般的NASH的诊断精度,通过以NAFLD患者为对象,针对能够何种程度正确地诊断NASH患者的敏感度和特异度的受信者操作特性(Receiver Operating Characteristic;ROC)曲线下的面积(Aria Under of Receiver Operating Characteristic curve;AUROC)来表示。对于上述3种的已知诊断法的学习/验证数据的NAFL-NASH诊断(基于病理所见的诊断)的AUROC值分别为0.69/0.80、0.91/0.70、0.85/0.78。这些诊断法均在现在的诊疗指导中不被认为能够应用于NASH的确诊,为了代替利用肝活检的确诊需要进一步提高精度。

[0012] 本发明是鉴于上述现状作出的,目的在于提供非侵袭性且精度更高的判别非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的病型或病态的方法。

[0013] 用于解决课题的手段

[0014] 本发明的发明人进行了深入研究,结果发现,通过使用相互具有生物学的控制关系的一组标记分子,能够通过非侵袭性的方法比现有的方法精度更高地判别非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的病态,从而完成了本发明。

[0015] 即,提供一种方法,包括:

[0016] (1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为:

[0017] (A)下述组1、下述组2、下述组3或下述组4任一个组中的至少1种的标记分子:

[0018] 由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素(tetranectin)、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1,

[0019] 由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2,

[0020] 由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和鞣酮组成的组3,

[0021] 由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4,

[0022] 或

[0023] (B)选自从上述组1、上述组2、上述组3和上述组4选择的2个组中的一个的至少1个标记分子和选自另一个的至少1个标记分子,

[0024] (2)从基于同一组的上述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序,和

[0025] (3)通过将上述指标值与基准值进行比较,判定存在受试者患有非酒精性脂肪肝

炎 (NASH) 的可能性、或存在受试者为肝纤维化的病态的可能性的工序。

[0026] 具体而言,本发明涉及以下内容。

[0027] [1]一种判别非酒精性脂肪肝 (NAFL) 与非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的方法,其特征在于,包括:

[0028] (1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为:

[0029] (A)选自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的至少2个标记分子,

[0030] 选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,

[0031] 选自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和鞣酮组成的组3的至少2个标记分子,或者,

[0032] 选自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的至少2个标记分子,

[0033] 或,

[0034] (B)从选自上述组1、上述组2、上述组3和上述组4的2个组中的一个中选择的至少2个标记分子和从另一个中选择的至少2个标记分子,

[0035] (2)从基于上述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序,基于同一组的上述标记分子的量的上述标准化分数由下述式1算出,

[0036] [数1]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0037]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0038] (式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量,mean(m_i)表示预先确定的各标记分子的量的平均值,sd(m_i)表示预先确定的各标记分子的标准偏差,mean(m_i^{NASH})表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值,mean(m_i^{NAFL})表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值),

[0039] 上述标记分子为(A)时,上述指标值为上述标准化分数,

[0040] 上述标记分子为(B)时,上述指标值从2个组的标准化分数算出,

[0041] 以及

[0042] (3)上述指标值大于基准值时,判定为上述受试者患有NASH或存在该可能性的工序。

[0043] [2]如上述[1]上述的方法,其中,上述(B)的情况下,上述指标值从2个组的标准化分数中使用线性式或非线性式算出。

[0044] [3]一种判别非酒精性脂肪肝 (NAFL) 与非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的方法,其特征

在于,包括:

[0045] (1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为:

[0046] (A)选自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的至少2个标记分子,

[0047] 选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,

[0048] 选自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和鞣酮组成的组3的至少2个标记分子,或者,

[0049] 选自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的至少2个标记分子,

[0050] 或,

[0051] (B)从选自上述组1、上述组2、上述组3和上述组4的2个组中的一个中选择的至少2个标记分子和从另一个中选择的至少2个标记分子,

[0052] (2)从基于上述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序,基于同一组的上述标记分子的量的上述标准化分数由下述式1算出,

[0053] [数2]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0054]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0055] (式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值),

[0056] 上述标记分子为(A)时,上述指标值为上述标准化分数,

[0057] 上述标记分子为(B)时,上述指标值从2个组的标准化分数通过使用平均计算式的方法、使用线性回归式的方法、使用线性判别式的方法、使用逻辑回归式的方法、使用非线性平均计算式的方法、使用非线性回归式的方法、使用非线性判别式的方法、或使用非线性逻辑回归式的方法算出,

[0058] (3)上述指标值大于基准值时,判定为上述受试者患有NASH或存在该可能性的工序。

[0059] [4]如上述[1]~[3]中任一项上述的方法,其中,上述(B)的情况下,作为使用逻辑回归式的方法,上述指标值从2个组的标准化分数通过下述式2算出,

[0060] $I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2}$ (式2)

[0061] (式2中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组之中的一个的标准化分数和另

一个的标准化分数, a_1 和 a_2 表示由逻辑回归分析确定的常数)。

[0062] [5]如上述[1]~[3]中任一项上述的方法,其中,上述(B)的情况下,作为使用非线性判别式的方法,上述指标值从2个组的标准化分数由下述决策树1~6中的任一个算出,

[0063] 上述标记分子选自上述组1和组2时,

[0064] $M_{1a} \geq 0.476$ 时 $I=2$, $M_{1a} < 0.476$ 且 $M_{2a} \geq 0.466$ 时 $I=1$, $M_{1a} < 0.476$ 且 $M_{2a} < 0.466$ 时 $I=0$ (决策树1)

[0065] 上述标记分子选自上述组1和组3时,

[0066] $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{1a} \geq 0.45$ 时 $I=2$, $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{1a} < 0.45$ 时 $I=1$, $M_{3a} < 0.409$ 时 $I=0$ (决策树2)

[0067] 上述标记分子选自上述组1和组4时,

[0068] $M_{4a} \geq 0.547$ 时 $I=2$, $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{1a} \geq 0.468$ 时 $I=1$, $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{1a} < 0.468$ 时 $I=0$ (决策树3)

[0069] 上述标记分子选自上述组2和组3时,

[0070] $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{2a} \geq 0.412$ 时 $I=2$, $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{2a} < 0.412$ 时 $I=1$, $M_{3a} < 0.409$ 时 $I=0$ (决策树4)

[0071] 上述标记分子选自上述组2和组4时,

[0072] $M_{4a} \geq 0.547$ 时 $I=2$, $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{2a} \geq 0.413$ 时 $I=1$, $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{2a} < 0.413$ 时 $I=0$ (决策树5)

[0073] 上述标记分子选自上述组3和组4时,

[0074] $M_{3a} \geq 0.409$ 时 $I=2$, $M_{3a} < 0.409$ 且 $M_{4a} \geq 0.588$ 时 $I=1$, $M_{3a} < 0.409$ 且 $M_{4a} < 0.588$ 时 $I=0$ (决策树6)

[0075] (决策树1~6中, I 表示指标值, M_{1a} 、 M_{2a} 、 M_{3a} 和 M_{4a} 分别表示上述组1、组2、组3和组4的标准化分数)。

[0076] [6]如上述[1]~[3]中任一项上述的方法,其中,上述(A)的情况下,上述标记分子为上述组1的PROS1和CLU。

[0077] [7]如上述[1]~[3]中任一项上述的方法,其中,上述(A)的情况下,上述标记分子为上述组2的VCAM1和HA,或为VCAM1和CTSD,或为VCAM1和COL4,或为VCAM1和COL4-7S,或为HA和COL4-7S,或为HA和CTSD,或为HA和COL4,或为CTSD和COL4,或为CTSD和COL4-7S。

[0078] [8]如上述[1]~[3]中任一项上述的方法,其中,上述(A)的情况下,上述标记分子为上述组3的AST和PSAT,或为AST和LEP,或为AST和ICAM1,或为AST、PSAT和LEP,或为AST、PSAT和ICAM1,或为AST、LEP和CK-18,或为AST、ICAM1和GSTA1,或为AST、PSAT和6Ckine。

[0079] [9]如上述[1]~[5]中任一项上述的方法,其中,上述(B)的组1和组3的组合时,

[0080] 选自组1的标记分子为PROS1和CLU,

[0081] 选自组3的标记分子为AST和PSAT,或为AST和LEP,或为AST和ICAM1,或为AST、PSAT和LEP,或为AST、PSAT和ICAM1,或为AST、LEP和CK-18,或为AST、ICAM1和GSTA1,或为AST、PSAT和6Ckine。

[0082] [10]一种判别肝纤维化的方法,包括:

[0083] 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、

CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子,或为VCAM1,

[0084] 基于上述标记分子的量算出的标准化分数大于基准值时,判定为上述受试者为肝纤维化的病态、或存在该可能性的工序,上述标准化分数由下述式1算出,

[0085] [数3]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0086]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0087] (式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值)。

[0088] [11]如上述[10]上述的方法,其为判别肝纤维化的方法,其中,

[0089] 上述标记分子为VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40,或为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为VCAM1和CTSD,或为VCAM1和COL4,或为VCAM1和COL4-7S,或为HA和CTSD,或为CTSD和COL4,或为HA和COL4,或为HA和COL4-7S,或为CTSD和COL4-7S。

[0090] [12]如上述[10]或[11]上述的方法,其中,肝纤维化的判别为Matteoni分类中类型-1~类型-3的病态与类型-4的病态的判别、或纤维化阶段中阶段0、阶段1或阶段2的病态与阶段3或阶段4的病态的判别。

[0091] [13]一种判定肝疾病的病态的进展度的方法,包括:

[0092] 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为HA和COL4,或为VCAM1和COL4,或为HA和COL4-7S,或为VCAM1和COL4-7S,以及

[0093] 判定工序,基于上述标记分子的量算出的标准化分数越大,判定为上述受试者的肝脏的纤维化的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高,或存在这些的可能性,上述标准化分数由下述式1算出,

[0094] [数4]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0095]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0096] (式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差)

标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值)。

[0097] [14] 如[13]上述的方法, 其中, 测定的上述标记分子为VCAM1, 或为VCAM1和HA, 或为VCAM1和COL4, 或为HA和COL4-7S, 或为VCAM1和COL4-7S。

[0098] [15] 一种判定非酒精性脂肪性肝疾病 (NAFLD) 的病态的进展度的方法, 其特征在于, 包括:

[0099] 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序, 测定的上述标记分子为VCAM1, 或为VCAM1和HA, 或为HA和COL4, 或为VCAM1和COL4, 或为HA和COL4-7S, 或为VCAM1和COL4-7S, 以及

[0100] 判定工序, 基于上述标记分子的量算出的标准化分数越大, 判定为上述受试者中肝脏的纤维化的进展度、非酒精性脂肪肝疾病的活动性的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高, 或存在这些的可能性, 上述标准化分数由下述式1算出,

[0101] [数5]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0102]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0103] (式1中, M表示标准化分数, N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值)。

[0104] [16] 如[15]上述的方法, 其中, 测定的上述标记分子为VCAM1, 或为VCAM1和HA, 或为VCAM1和COL4, 或为HA和COL4-7S, 或为VCAM1和COL4-7S。

[0105] [17] 用于上述[1]~[16]中任一项上述的方法的试剂盒, 包括:

[0106] 用于检测上述标记分子的试剂, 和

[0107] 用于实施上述方法的说明书。

[0108] [18] 一种判别非酒精性脂肪肝 (NAFL) 与非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 的方法, 包括:

[0109] 测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序, 和

[0110] 上述VCAM1的量大于基准值时, 判定为上述受试者患有NASH、或存在该可能性的工序。

[0111] [19] 一种判别肝纤维化的方法, 包括:

[0112] 测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序, 和

[0113] 上述VCAM1的量大于基准值时, 判定为上述受试者为肝纤维化的病态、或存在该可能性的工序。

[0114] [20] 一种判别肝疾病的病态的进展度的方法, 包括:

- [0115] 测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序,和
- [0116] 上述VCAM1的量越大,判定为上述受试者中肝脏的纤维化的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高,或存在这些的可能性的工序。
- [0117] [21]一种判定非酒精性脂肪性肝疾病 (NAFLD) 的病态的进展度的方法,包括:
- [0118] 测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序,和
- [0119] 上述VCAM1的量越大,判定为上述受试者中肝脏的纤维化的进展度、非酒精性脂肪肝疾病的活动性的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、或者肝脏的炎症的进展度越高,或存在这些的可能性的工序。
- [0120] [22]用于上述[18]~[21]中任一项上述的方法的试剂盒,包括:
- [0121] 用于检测VCAM1的试剂。
- [0122] [23]用于上述[1]~[16]中任一项上述的方法的程序,
- [0123] 其是用于在计算机中执行下述步骤的程序:
- [0124] 标准化步骤,由从受试者采集的血液中所包含的上述标记分子的量的测定数据,基于上述式1算出标准化分数,从算出的标准化分数求出指标值,
- [0125] 比较步骤,将求得的指标值与基准值进行比较,和
- [0126] 判定步骤,基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态。
- [0127] [24]用于上述[18]~[21]中任一项上述的方法的程序,
- [0128] 其是用于在计算机中执行下述步骤的程序:
- [0129] 比较步骤,将从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量与基准值进行比较,和
- [0130] 判定步骤,基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态。
- [0131] [25]如上述[23]或[24]上述的程序,进一步在计算机中执行获得步骤,获得从受试者采集的血液中所包含的上述标记分子的量或上述VCAM1的量的测定数据。
- [0132] [26]用于上述[1]~[16]和[18]~[21]中任一项上述的方法的测定装置,具备:
- [0133] 用于设置试样的试样设置部、用于对上述试样照射光的光源部、和对透过了上述试样的光进行检测的检测部。
- [0134] [27]用于上述[1]~[16]中任一项上述的方法的肝疾病判定系统,具备:
- [0135] 测定从受试者采集的血液中所包含的上述标记分子的量的测定装置、和基于上述标记分子的量判定肝疾病的病态的肝疾病判定装置,
- [0136] 上述测定装置具备用于设置试样的试样设置部、用于对上述试样照射光的光源部、和对透过了上述试样的光进行检测的检测部,
- [0137] 上述肝疾病判定装置具备:获得来自上述测定装置的测定数据的获得机构;由上述测定数据基于上述式1算出标准化分数,从算出的标准化分数求出指标值标准化机构;将求得的指标值与基准值进行比较的比较机构;基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态判定机构。
- [0138] [28]用于上述[18]~[21]中任一项上述的方法的肝疾病判定系统,具备:
- [0139] 测定从受试者采集的血液中所包含的VCAM1的量的测定装置、和基于测得的VCAM1的量判定肝疾病的病态的肝疾病判定装置,
- [0140] 上述测定装置具备用于设置试样的试样设置部、用于对上述试样照射光的光源部、和对透过了上述试样的光进行检测的检测部,

[0141] 上述肝疾病判定装置具备:获得来自上述测定装置的测定数据的获得机构;将上述VCAM1的量与基准值进行比较的比较机构;和基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态的判定机构。

[0142] [29]一种诊断剂,用于判定:患有非酒精性脂肪肝炎(NASH),或为肝脏的纤维化的病态,或为肝脏的纤维化的进展度高、肝细胞的气球样变性的病态的进展度高、肝脏的炎症的进展度高、肝肥大的病态,或为肝细胞的坏死的病态,或为肝细胞的凋亡的病态,或为肝细胞的变性的病态,或为肝脏的脂肪化的病态,或是否存在这些的可能性,上述诊断剂含有用于检测VCAM1的试剂。

[0143] [30]如上述[29]上述的诊断剂,其中,上述用于检测VCAM1的试剂为抗体。

[0144] [31]用于检测VCAM1的试剂在用于非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝脏的纤维化、肝细胞的气球样变性、肝脏的炎症、肝肥大、肝细胞的坏死、肝细胞的凋亡、肝细胞的变性、或、肝脏的脂肪化的体外检测的用途。

[0145] [32]如上述[31]上述的用途,其与其它诊断剂并用。

[0146] [33]如上述[32]上述的用途,其中,其它诊断剂为用于检测HA、COL4或COL4-7S的诊断剂。

[0147] [34]一种程序或其存储介质,其是用于在计算机中执行下述步骤的程序或其介质,

[0148] 比较步骤,将由从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的测定数据求得的指标值与基准值进行比较,上述标记分子包括VCAM1,和

[0149] 判定步骤,基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态。

[0150] [35]如上述[34]上述的程序或其存储介质,其进一步在计算机中执行获得步骤,获得从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的测定数据。

[0151] [36]如上述[34]或[35]上述的程序或其存储介质,其进一步在计算机中执行标准化步骤,由上述测定数据算出标准化分数,从算出的标准化分数求出指标值。

[0152] [37]如上述[34]~[36]中任一项上述的程序或其存储介质,上述标记分子还包括HA、COL4或COL4-7S。

[0153] 本发明还涉及以下内容。

[0154] [38]一种判别非酒精性脂肪肝(NAFL)与非酒精性脂肪肝炎(NASH)方法、或收集用于NAFL和NASH的诊断的数据的方法,包括:

[0155] (1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,上述标记分子为:

[0156] (A)由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的全部标记分子,

[0157] 由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的全部标记分子,

[0158] 由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{IVD}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和睾酮组成的组3的全部标记分子,或者

[0159] 由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的全部标记分子,

[0160] 或,

[0161] (B)选自上述组1、上述组2、上述组3和上述组4的2个组的全部标记分子，

[0162] (2)从基于同一组的上述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序，上述标准化分数由下述式1算出，

[0163] [数6]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0164]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0165] (式1中，M表示标准化分数，N表示标记分子的数， m_i 表示测得的各标记分子的量， $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。)

[0166] 上述标记分子为(A)时，上述指标值为上述标准化分数，

[0167] 上述标记分子为(B)时，上述指标值从下述式2算出，

[0168] $I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2}$ (式2)

[0169] (式2中，I表示指标值， M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组之中的一个的标准化分数和另一个的标准化分数， a_1 和 a_2 表示由逻辑回归分析确定的常数。)

[0170] (3)上述指标值大于基准值时，判定为上述受试者患有NASH、或存在该可能性的工序；或基于上述指标值大于基准值时存在上述受试者患有NASH的可能性的基准，收集用于判定上述受试者是否患有NASH的数据的工序。

[0171] [39]如上述[38]上述的方法，其中，上述(A)的情况下，上述标记分子为上述组1的全部分子。

[0172] [40]如上述[38]上述的方法，其中，上述(A)的情况下，上述标记分子为上述组2的全部分子。

[0173] [41]如上述[38]上述的方法，其中，上述(A)的情况下，上述标记分子为上述组3的全部分子。

[0174] [42]如上述[38]上述的方法，其中，上述(A)的情况下，上述标记分子为上述组4的全部分子。

[0175] [43]如上述[38]上述的方法，其中，上述(B)的情况下，为选自从上述组1、上述组2、上述组3和上述组4中选择的2个组的全部标记分子。

[0176] [44]如上述[2]上述的方法，其中，上述(B)的情况下，线性式为平均计算式、线性回归式、线性判别式、或逻辑回归式。

[0177] [45]如上述[44]上述的方法，其中，上述(B)的情况下，平均计算式为相加平均。

[0178] [46]如上述[44]上述的方法，其中，上述(B)的情况下，线性判别式为线性判别分析。

[0179] [47]如上述[2]上述的方法，其中，上述(B)的情况下，非线性式为非线性平均计算

式、非线性回归式、非线性判别式、或非线性逻辑回归式。

[0180] [48]如上述[47]上述的方法,其中,上述(B)的情况下,非线性平均计算式为几何平均。

[0181] [49]如上述[47]上述的方法,其中,上述(B)的情况下,非线性回归式为线性式的相乘、或神经式网络(neural network)。

[0182] [50]如上述[47]上述的方法,其中,上述(B)的情况下,非线性判别式为决策树、或支持向量机(support vector machine)。

[0183] [51]一种判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)的治疗药的效果的方法,包括:

[0184] 对NASH患者在上述治疗药的应用前和应用后分别测定从上述患者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为HA和COL4,或为VCAM1和COL4,或为HA和COL4-7S,或为VCAM1和COL4-7S,和

[0185] 基于上述标记分子的量,算出上述治疗药的应用前和应用后的各个标准化分数,应用后的标准化分数比应用前的标准化分数减少时,判定为存在具有应用上述治疗药的效果的可能性的工序,上述标准化分数由下述式1算出。

[0186] [数7]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0187]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0188] (式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量,mean(m_i)表示预先确定的各标记分子的量的平均值,sd(m_i)表示预先确定的各标记分子的标准偏差,mean(m_i^{NASH})表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值,mean(m_i^{NAFL})表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。)

[0189] [52]如[51]上述的方法,其中,测定的上述标记分子为VCAM1,或为VCAM1和HA,或为VCAM1和COL4,或为HA和COL4-7S,或为VCAM1和COL4-7S。

[0190] [53]一种判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)的治疗药的效果的方法,

[0191] 对NASH患者在上述治疗药的应用前和应用后分别测定从上述患者采集的血液中所包含的VCAM1的量的工序,和

[0192] 应用后的VCAM1的量比应用前的VCAM1的量减少时,判定为存在具有应用上述治疗药的效果的可能性的工序。

[0193] [54]一种判定非酒精性脂肪肝(NAFL)或非酒精性脂肪肝炎(NASH)的治疗药的效果的方法,包括:

[0194] 对NAFL或NASH患者在上述治疗药的应用前和应用后分别

[0195] (1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,测定的上述标记分子为:

[0196] (A)选自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮质醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、

IL23A、MET、MMP10、四连接素、TTR、VDBP和VEGFR-2组成的组1的至少2个标记分子，

[0197] 选自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF和YKL-40组成的组2的至少2个标记分子，

[0198] 选自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS^{I^{VD}}、INS^{MAP}、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP和鞣酮组成的组3的至少2个标记分子，或者

[0199] 选自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1和VTN组成的组4的至少2个标记分子，

[0200] 或，

[0201] (B) 选自从上述组1、上述组2、上述组3和组4中选择的2个组中的一个的至少2个标记分子和选自另一个的至少2个标记分子，

[0202] (2) 从基于上述标记分子的数量算出的标准化分数求出指标值的工序，基于同一组的上述标记分子的数量上述标准化分数由下述式1算出，

[0203] [数8]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0204]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0205] (式1中，M表示标准化分数，N表示标记分子的数， m_i 表示测得的各标记分子的数量， $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子数量的平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子数量的标准偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子数量的平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子数量的平均值。)，

[0206] 上述标记分子为(A)时，上述指标值为上述标准化分数，

[0207] 上述标记分子为(B)时，上述指标值从2个组的标准化分数算出，

[0208] (3) 应用后的标准化分数比应用前的标准化分数减少时，判定有存在具有应用上述治疗药的效果的可能性的工序。

[0209] 发明的效果

[0210] 根据本发明，能够提供非侵袭性、且精度更高地判定非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的病态的方法。

附图说明

[0211] #图1是表示使用各标记分子时的、NAFL的患者和NASH的患者中的标准化分数或指标值的图表。

[0212] 图2-1是表示使用各标记分子(测定法1)时的、NAFL的患者和NASH的患者中的标准化分数的图表。

[0213] 图2-2是表示使用各标记分子(测定法2)时的、NAFL的患者和NASH的患者中的标准化分数或VCAM1测定值的图表。

[0214] 图3是表示使用各标记分子时的、NAFL的患者和NASH的患者中的标准化分数的图表。

[0215] 图4是表示使用各标记分子时的、NAFL的患者和NASH的患者中的指标值的图表。

[0216] 图5-1是表示使用各标记分子(测定法1)时的、Matteoni分类的类型-1~类型-3的病态的患者和类型-4的病态的患者中的标准化分数的图表。

[0217] 图5-2是表示使用各标记分子(测定法2)时的、Matteoni分类的类型-1~类型-3的病态的患者和类型-4的病态的患者中的标准化分数或VCAM1测定值的图表。

[0218] 图6-1是表示使用各标记分子(测定法1)时的、作为肝纤维化的进展度的指标的“阶段”中的阶段0、阶段1或阶段2的病态的患者(F0-2)和阶段3或阶段4的病态的患者(F3-4)中的标准化分数的图表。

[0219] 图6-2是表示使用各标记分子(测定法2)时的、作为肝纤维化的进展度的指标的“阶段”中的阶段0、阶段1或阶段2的病态的患者(F0-2)和阶段3或阶段4的病态的患者(F3-4)中的标准化分数或VCAM1测定值的图表。

[0220] 图7是表示使用各标记分子时的、作为肝纤维化的进展度的指标的“阶段”与标准化分数的相关性的图表。

[0221] 图8是表示使用各标记分子时的、作为炎症的进展度的指标的基于肝活检的小叶内炎症的病理诊断分数与标准化分数的相关性的图表。

[0222] 图9是表示使用各标记分子时的、作为肝细胞的气球状变性的进展度的指标的基于肝活检的气球样变性的病理诊断分数与标准化分数的相关性图表。

[0223] 图10是表示使用各标记分子时的、作为NAFLD的活动性的指标的NAFLD活动性分数(NAFLD Activity Score, NAS)与标准化分数的相关性的图表。

[0224] 图11是表示肝疾病判定系统的一个实施方式的模式图。

[0225] 图12是表示肝疾病判定装置的功能性结构的概要图。

[0226] 图13是肝疾病的判定方法的流程图。

[0227] 图14是表示使用“HA, COL4”的标准化分数时的、作为肝纤维化的进展度的指标的“阶段”与标准化分数的相关性的图表。

[0228] 图15是表示使用“HA, COL4”的标准化分数时的、作为炎症的进展度的指标的基于肝活检的小叶内炎症的病理诊断分数与标准化分数的相关性的图表。

[0229] 图16是表示使用“HA, COL4”的标准化分数时的、作为肝细胞的气球状变性的进展度的指标的基于肝活检的气球样变性的病理诊断分数与标准化分数的相关性的图表。

[0230] 图17是表示使用“HA, COL4”的标准化分数时的、作为NAFLD的活动性的指标的NAFLD活动性分数(NAS)与标准化分数的相关性的图表。

具体实施方式

[0231] 以下,对本发明的合适的实施方式详细地进行说明。但是,本发明并不限于以下的实施方式。

[0232] 本实施方式所涉及的判别非酒精性脂肪肝(NAFL)与非酒精性脂肪肝炎(NASH)的方法(以下,有时称为“判别方法”)包括:

[0233] (1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序,

[0234] (2) 根据基于同一组的上述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序，和

[0235] (3) 上述指标值大于基准值时，判定为上述受试者患有NASH、或存在该可能性的工序。

[0236] 非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 是与非酒精性脂肪肝 (NAFL) 一起被分类于非酒精性脂肪性肝疾病 (NAFLD) 的疾病。NAFLD定义为除了病毒性的肝疾病和自身免疫性的肝疾病以外的肝疾病中、不伴随酒精的过量摄取的脂肪肝疾病。NASH定义为通过病理学的诊断“确认到肝细胞的大脂滴性脂肪化以及伴随炎症的肝细胞的气球样变性的疾病”。NASH与在Matteoni分类中分类为类型-3或类型-4的病例一致。已知如若NASH的病态发展，则可能发病为肝硬化或肝癌。作为NASH的特征，确认到有肝脏的纤维化、肝细胞的气球样变性、肝脏的炎症、肝肥大、肝细胞的坏死、肝细胞的凋亡、肝细胞的变性、肝脏的脂肪化等。另一个面，NAFL是在NAFLD中不相当于NASH、以肝细胞的大脂滴性脂肪化为基础的疾病。NAFL与在Matteoni分类中分类为类型-1或类型-2的病例一致。已知NAFL与NASH相比，预后良好。以下，对各工序进行说明。

[0237] (1) 测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序

[0238] 作为从受试者采集的血液，可以列举全血、血清、血浆等，优选使用血清或血浆。

[0239] 接着，对标记分子进行说明。本发明的发明人对从NAFL的患者和NASH的患者得到的血清试样中约260种类的活体分子的量与NAFL和NASH的病态的不同的关联性进行了深入研究，结果发现了4组在血中的存在量具有联动性、相互的生物学相关性强的多个活体分子的集合(有时称为“组”、“因子模块”或“模块”)。以下，对各组进行说明。

[0240] 组1(有时称为“模块1”)的标记分子是与对脂肪肝的防御反应相关的标记分子，为PROS1(维生素K依赖性蛋白质S)、CLU(丛生蛋白)、ANG(血管生成素)、APOC3(载脂蛋白C-III)、APOD(载脂蛋白D)、CFHR1(补体因子H相关蛋白1)、皮质醇、EGFR(上皮生长因子受体)、HPN(Hepsin)、IGFBP3(胰岛素样生长因子结合蛋白3型)、IL1B(白介素1 β)、IL23A(白介素23)、MET(肝细胞增殖因子受体)、MMP10(基质金属蛋白酶10)、四连接素、TTR(转甲状腺素蛋白)、VDBP(维生素D结合蛋白)和VEGFR-2(血管内皮细胞增殖因子受体2)的18种类。

[0241] 组2(有时称为“模块2”)的标记分子是与对肝细胞障碍的免疫系的防御反应相关的标记分子，是VCAM1(血管细胞粘接分子1)、HA(透明质酸)、CTSD(组织蛋白酶D)、COL4(胶原蛋白4)、COL4-7S(IV型胶原蛋白7S)、ALB(白蛋白)、AFP(α 甲胎蛋白)、AXL(AXL受体酪氨酸激酶)、CCL19(Chemokine(C-C motif) ligand 19)、CGB(人绒毛膜促性腺素 β)、CSF1(巨噬细胞集落刺激因子1)、FAS(FASLG Receptor)、Mac-2bp(Mac-2结合蛋白)、CA19-9(肿瘤抗原19-9)、NRCAM(神经细胞粘接分子)、OPG(骨保护因子)、VWF(von Willebrand factor, 血管性血友病因子)和YKL-40的18种类。

[0242] 组3(有时称为“模块3”)的标记分子是与由肝炎引起的自然免疫反应相关的标记分子，是AST(天冬氨酸转氨酶)、PSAT(Phosphoserine Aminotransferase, 磷酸丝氨酸转氨酶)、LEP(Leptin)、ICAM1(细胞间黏附分子1)、CK-18(CK18 M30片段)、GSTA1(Glutathione S-Transferase α 1)、ALT(丙氨酸)、INS^{IVD}(胰岛素、由CLIA法测得)、INS^{MAP}(胰岛素、由HumanMAP法(利用Myriad RBM公司的提供的多重免疫检测服务Human MAP测定,以下相同)测得)、6Ckine、AGT(血管紧张肽原)、CRP(C反应性蛋白)、CXCL10(C-X-C趋化因子10，

Interferon gamma Induced Protein 10)、FABP4(脂肪酸结合蛋白,脂肪细胞;Fatty Acid-Binding Protein4,adipocyte)、G6PI(葡萄糖-6-磷酸异构酶,Glucose-6-phosphate Isomerase)、HSP-60(热休克蛋白60)、P3NP(3型前胶原N端肽,Procollagen 3 N-terminal peptide)和鞣酮的18种类。

[0243] 组4(有时称为“模块4”)的标记分子是与和肝细胞障碍和肝纤维化相关的细胞增殖的具有关联性的标记分子,AREG(双调蛋白)、BDNF(脑源性神经营养因子)、CD40-L(CD40配体)、EREG(表皮调节素)、FGF2(碱性成纤维细胞增殖因子)、HBEGF(肝素结合EGF样增殖因子)、IGFBP2(胰岛素样增殖因子结合蛋白2)、MMP9(基质金属蛋白酶9)、PAI-1(血纤维蛋白溶酶原活化抑制因子1)、PDGFB(血小板源性生长因子BB)、PLGF(胎盘生长因子)、SAP(血清淀粉样蛋白P成分)、TGFA(转化生长因子 α)、TGFB1(转化生长因子 β 1潜伏期相关肽, Latency-Associated Peptide of Transforming Growth Factor beta 1)、THBS1(血小板反应素1)和VTN(玻璃粘连蛋白)的16种类。

[0244] 作为测定的标记分子,可以列举:

[0245] (A1)选自组1的至少2个标记分子、选自组2的至少2个标记分子、选自组3的至少2个标记分子、或者选自组4的至少2个标记分子、或、

[0246] (B1)选自从上述组1、上述组2、上述组3和上述组4选择的2个组中的一个的至少2个标记分子和选自另一个的至少2个标记分子。

[0247] 为上述(B1)时,测定的标记分子例如可以列举选自组1的至少2个标记分子和选自组2的至少2个标记分子、选自组1的至少2个标记分子和选自组3的至少2个标记分子、选自组1的至少2个标记分子和选自组4的至少2个标记分子、选自组2的至少2个标记分子和选自组3的至少2个标记分子、选自组2的至少2个标记分子和选自组4的至少2个标记分子、选自组3的至少2个标记分子和选自组4的至少2个标记分子。

[0248] 本实施方式的其它方面中,作为测定的标记分子,可以列举:

[0249] (A2)组1的全部标记分子、组2的全部标记分子、组3的全部标记分子、或者组4的全部标记分子、或、

[0250] (B2)选自上述组1、上述组2、上述组3和上述组4的2个组的全部标记分子。

[0251] 为上述(B2)时,测定的标记分子例如可以列举组1和组2的全部标记分子、组1和组3的全部标记分子、组1和组4的全部标记分子、组2和组3的全部标记分子、组2和组4的全部标记分子、组3和组4的全部标记分子,优选为组1和组3的全部标记分子。

[0252] 作为测定上述的标记分子的量的方法,只要能够测定血液中的量即可,没有特别限制,能够使用公知的方法。作为测定标记分子的量的方法,例如,可以列举ELISA法、免疫化学发光法(CLIA法)、乳胶凝集法、放射性免疫分析法、免疫比浊法、酶活性测定法、色素结合法、Luminex法、免疫蛋白印迹、HumanMAP法、质量分析法等,优选列举ELISA法、CLIA法、乳胶凝集法、放射性免疫分析法、免疫比浊法、酶活性测定法、色素结合法、Luminex法、HumanMAP法。

[0253] (2)从基于同一组的标记分子的量算出的标准化分数求出指标值工序

[0254] 基于同一组的标记分子的量算出标准化分数的工序中,包括:将来自测得的标记分子的量的数据标准化的工序,将标准化的数据的分布进行变换的工序,和将从变换得到的分布求得的代表值作为标准化分数进行选择的工序。

[0255] 将来自测得的标记分子的量的数据标准化的工序中能够没有特别限制地使用公知的方法。作为将上述数据标准化的方法,例如,可以列举进行比例变换使得均方根为1的方法、进行线性变换使得平均和分散相等的方法、使最大值为1且最小值为0的方法等,优选列举进行线性变换使得平均和分散相等的方法。

[0256] 将标准化的数据的分布进行变换的工序中能够没有特别限制地使用公知的方法。作为将标准化的数据的分布进行变换的方法,例如,可以列举利用对数函数的变换、利用 Sigmoid function 的变换等,优选列举利用标准 Sigmoid function 的变换。另外,也能够省略该工序。

[0257] 将从变换得到的分布求得的代表值作为标准化分数进行选择的过程中能够没有特别限制地使用公知的方法。作为上述代表值,例如,可以列举一般的统计值,即平均值、中央值、最频值、最大值、最小值、任意的百分位值等,优选列举平均值、中央值。

[0258] 作为组合这些工序的标准化分数的算出方法,优选列举包括通过进行线性变换使得平均和分散相等的方法将上述数据标准化的工序、通过标准 Sigmoid function 对数据的分布进行变换的工序、将从变换的分布求得的平均值作为代表值进行选择的方法。该方法中,标准化分数基于同一组的标记分子的量,由下述式1算出。

[0259] [数9]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

[0260]

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

[0261] 式1中,M表示标准化分数,N表示标记分子的数, m_i 表示测得的各标记分子的量, $\text{mean}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{sd}(m_i)$ 表示预先确定的各标记分子的标准偏差, $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示患有NASH的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值, $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示患有NAFL的患者中预先确定的各标记分子的量的平均值。

[0262] 这里, $\text{mean}(m_i)$ 能够使用各标记分子的量的平均值,能够使用测定NAFLD患者的被检测体得到的平均值、基于公知的测定数据的NAFLD患者的平均值、基于公知的测定数据的包括有要进行判别或评价的人的地域住民的平均值、基于公知的测定数据的要进行判别或评价的人种的平均值等。使用NAFLD患者的平均值时,能够使用患者集合整体的算术平均值、患者集合中的NAFL患者的平均值与NASH患者的平均值的算术平均值、分别对NAFL患者的平均值与NASH患者的平均值施以任意的加权并进行平均得到的加权平均值等。使用基于公知的测定数据的NAFLD患者的平均值时,能够使用基于公知的测定数据的NAFLD患者的算术平均值、基于公知的测定数据的NAFL患者的平均值与NASH患者的平均值的算术平均值、分别对基于公知的测定数据的NAFL患者的平均值和NASH罹患患者的平均值施以任意的加权并进行平均得到的加权平均值等。作为公知的测定数据,能够使用论文中发表的活体分子的测定值、体外诊断剂的添附文书上述的值、诊疗指导上述的值等。也能够将多个数据合计使用。优选列举测定NAFLD患者的被检测体而得到的患者集合整体的算术平均值、或患者

集合中的NAFL患者的平均值与NASH患者的平均值的算术平均值。更优选列举测定NAFLD患者的被检测体所得到的患者集合中的NAFL患者的平均值与NASH患者的平均值的算术平均值。

[0263] $sd(m_i)$ 中能够使用各标记分子的量的标准偏差,能够使用测定NAFLD患者的被检测体得到的标准偏差、基于公知的测定数据的NAFLD患者的标准偏差、基于公知的测定数据的包括有要进行判别或评价的人的地域住民的标准偏差、基于公知的测定数据的要进行判别或评价的人种的标准偏差等。使用NAFLD患者的标准偏差时,能够使用患者集合整体的标准偏差、患者集合中的NAFL患者的标准偏差与NASH患者的标准偏差的算术平均值、分别对NAFL患者的标准偏差和NASH患者的标准偏差施以任意的加权并进行平均得到的加权平均值等。使用基于公知的测定数据的NAFLD患者的标准偏差时,能够使用基于公知的测定数据的NAFLD患者的标准偏差、基于公知的测定数据的NAFL患者的标准偏差与NASH患者的标准偏差的算术平均值、分别对基于公知的测定数据的NAFL患者的标准偏差和NASH罹患患者的标准偏差施以任意的加权并进行平均得到的加权平均值等。作为公知的测定数据,能够使用论文中发表的活体分子的测定值、体外诊断剂的添附文书上述的值、诊疗指导上述的值等。也能够将多个数据合计使用。优选列举测定NAFLD患者的被检测体得到的患者集合整体的标准偏差、或患者集合中的NAFL患者的标准偏差与NASH患者的标准偏差的算术平均值。更优选测定NAFLD患者的被检测体得到的患者集合中的NAFL患者的标准偏差与NASH患者的标准偏差的算术平均值。

[0264] $mean(m_i)$ 、 $sd(m_i)$ 、 $mean(m_i^{NASH})$ 和 $mean(m_i^{NAFL})$ 可以为同一的标记分子,在标记分子的量的测定方法不同时,也可以分别设定与各个测定方法对应的不同的值。在不同的测定法的测定值之间确认到相关性时,也可以将在一个测定方法中设定的 $mean(m_i)$ 、 $sd(m_i)$ 、 $mean(m_i^{NASH})$ 和 $mean(m_i^{NAFL})$ 的值分别代入规定的关系式,变换为另一个测定方法的各个值。

[0265] $mean(m_i)$ 、 $sd(m_i)$ 、 $mean(m_i^{NASH})$ 和 $mean(m_i^{NAFL})$ 可以根据作为测定对象的人种或地域适当设定。作为 $mean(m_i)$ 、 $sd(m_i)$ 、 $mean(m_i^{NASH})$ 和 $mean(m_i^{NAFL})$ 的具体例,可以列举后述的表5~表8和表41记载的值。

[0266] 算出的标准化分数为1个时(标记分子为上述(A)时),标准化分数的值直接作为指标值使用。

[0267] 算出的标准化分数为2个以上时(标记分子为上述(B)时),能够使用多个标准化分数,求出指标值。从多个标准化分数求出指标值的工序中,能够没有特别限制地使用公知的方法。作为从多个标准化分数求出指标值的方法,例如,可以列举使用线性式的方法、和使用非线性式的方法。作为使用线性式的方法,例如,可以列举使用平均计算式的方法、使用线性回归式的方法、使用线性判别式的方法、和使用逻辑回归式的方法。作为使用平均计算式的方法,例如,可以列举相加平均的方法。作为使用线性判别式的方法,例如,可以列举使用线性判别分析的方法。作为使用非线性式的方法,例如,可以列举使用非线性平均计算式的方法、使用非线性回归式的方法、使用非线性判别式的方法、和使用非线性逻辑回归式的方法。作为使用非线性平均计算式的方法,可以列举使用几何平均的方法。作为使用非线性回归式的方法,可以列举使用线性式的相乘的方法、和使用神经式网络的方法。作为使用非线性判别式的方法,可以列举使用决策树的方法、和使用支持向量机的方法。作为优选的方法,可以列举使用决策树的方法、或使用逻辑回归式的方法。

[0268] 作为更优选的方法,可以列举使用逻辑回归式的方法,优选的指标值使用由下述式2算出的值。式2中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组之中的一个的标准化分数和另一个的标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”), a_1 和 a_2 表示以使得NAFL和NASH的判别误差为最小的方式确定的常数。

[0269] $I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2}$ (式2)

[0270] a_1 和 a_2 只要确定为使得NAFL和NASH的判别误差为最小即可,可以通过各种方法求得,例如,可以通过线性判别分析或逻辑回归分析等的方法求得。作为 a_1 和 a_2 的具体例,可以列举后述的表9记载的值。

[0271] 从多个标准化分数利用决策树求出指标值时,例如,使用以下的决策树1~6。利用决策树求出指标值时,基准值例如使用后述的实施例的表11记载的值。

[0272] 上述标记分子选自上述组1和组2时,

[0273] $M_{1a} \geq 0.476$ 时, $I = 2$; $M_{1a} < 0.476$ 且 $M_{2a} \geq 0.466$ 时, $I = 1$; $M_{1a} < 0.476$ 且 $M_{2a} < 0.466$ 时, $I = 0$ (决策树1)

[0274] 上述标记分子选自上述组1和组3时,

[0275] $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{1a} \geq 0.45$ 时, $I = 2$; $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{1a} < 0.45$ 时, $I = 1$; $M_{3a} < 0.409$ 时, $I = 0$ (决策树2)

[0276] 上述标记分子选自上述组1和组4时,

[0277] $M_{4a} \geq 0.547$ 时, $I = 2$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{1a} \geq 0.468$ 时, $I = 1$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{1a} < 0.468$ 时, $I = 0$ (决策树3)

[0278] 上述标记分子选自上述组2和组3时,

[0279] $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{2a} \geq 0.412$ 时, $I = 2$; $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{2a} < 0.412$ 时, $I = 1$; $M_{3a} < 0.409$ 时, $I = 0$ (决策树4)

[0280] 上述标记分子选自上述组2和组4时,

[0281] $M_{4a} \geq 0.547$ 时, $I = 2$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{2a} \geq 0.413$ 时, $I = 1$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{2a} < 0.413$ 时, $I = 0$ (决策树5)

[0282] 上述标记分子选自上述组3和组4时,

[0283] $M_{3a} \geq 0.409$ 时, $I = 2$; $M_{3a} < 0.409$ 且 $M_{4a} \geq 0.588$ 时, $I = 1$; $M_{3a} < 0.409$ 且 $M_{4a} < 0.588$ 时, $I = 0$ (决策树6)

[0284] (决策树1~6中,I表示指标值, M_{1a} 、 M_{2a} 、 M_{3a} 和 M_{4a} 分别表示上述组1、组2、组3、和组4的标准化分数。)

[0285] (3) 指标值大于基准值时,判定为存在受试者患有NASH的可能性的工序

[0286] 本说明书中的“基准值”是指作为用于判别2个状态的基准的值(截取值),能够任意地设定。基准值可以是NAFL患者的指标值,也可以是预先设定的值。作为预先设定的值,能够基于从通过保有的NAFL患者和NASH患者的指标值导出的ROC曲线推定的、基准值与敏感度(NASH患者的正确诊断率)和特异度(NAFL患者的正确诊断率)的关系,将达到使用者所需要的敏感度和特异度那样的指标值设定为上述基准值。

[0287] 作为用于判定是否存在受试者患有NASH的可能性的基准值,例如,可以列举以下的值。此外,以下所示的基准值例示对应于标准化分数的值直接作为指标值使用的情况和使用从多个标准化分数使用上述(式2)求得的指标值的情况的基准值。

- [0288] 标记分子为组1的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于0.149~0.907之间的值。
- [0289] 标记分子为组2的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于0.087~0.848之间的值。
- [0290] 标记分子为组3的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于0.164~0.909之间的值。
- [0291] 标记分子为组4的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于0.073~0.854之间的值。
- [0292] 标记分子为组1的全部标记分子时基准值例如为设定于0.359~0.586之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.359~0.486之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.486~0.586之间的值。
- [0293] 标记分子为组2的全部标记分子时,基准值例如为设定于0.357~0.509之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.357~0.419之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.419~0.509之间的值。
- [0294] 标记分子为组3的全部标记分子时,基准值例如为设定于0.378~0.545之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.378~0.45之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.45~0.545之间的值。
- [0295] 标记分子为组4的全部标记分子时,基准值例如为设定于0.272~0.583之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.272~0.489之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.489~0.583之间的值。
- [0296] 标记分子为组1的至少2个标记分子和组2的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于3.438~25.735之间的值。
- [0297] 标记分子为组1的至少2个标记分子和组3的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于5.987~34.702之间的值。
- [0298] 标记分子为组1的至少2个标记分子和组4的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于1.932~14.239之间的值。
- [0299] 标记分子为组2的至少2个标记分子和组3的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于2.836~19.664之间的值。
- [0300] 标记分子为组2的至少2个标记分子和组4的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于1.387~14.334之间的值。
- [0301] 标记分子为组3的至少2个标记分子和组4的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于3.044~20.554之间的值。
- [0302] 标记分子为组1和组2的全部标记分子时,基准值例如为设定于12.025~15.396之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于12.025~13.795之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.795~15.396之间的值。
- [0303] 标记分子为组1和组3的全部标记分子时,基准值例如为设定于15.915~20.712之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于15.915~18.297之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于18.297~20.712之间的值。
- [0304] 标记分子为组1和组4的全部标记分子时,基准值例如为设定于6.219~8.967之间

的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于6.219~7.533之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于7.533~8.967之间的值。

[0305] 标记分子为组2和组3的全部标记分子时,基准值例如为设定于8.497~11.466之间的值,优选为设定于8.497~10.129之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于10.129~11.466之间的值。

[0306] 标记分子为组2和组4的全部标记分子时,基准值例如为设定于5.889~8.934之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于5.889~7.445之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于7.445~8.934之间的值。

[0307] 标记分子为组3和组4的全部标记分子时,基准值例如为设定于9.023~12.548之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于9.023~10.665之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于10.665~12.548之间的值。

[0308] 如上所述,本实施方式所涉及的判别方法的一个方面在于,使用包括与血中的存在量具有相关性、相互的生物学的关系性强的多个活体分子(16~18种类)的组(模块)、以及使用不是基于各个标记分子的量而是基于规定的组(模块)的全部标记分子的测定的标准化分数为大的特点。至今为止也报道了基于多个标记分子的测定的NAFL与NASH的判别法。但是,任一个法均是基于少数的标记分子的测定的方法。基于少数的标记分子的测定的方法存在容易受到各标记分子的量的各次测定的波动或失衡的影响的趋势。本实施方式所涉及的判别方法,在基于更多的标记分子的测定,使用包括标记分子的相互的生物学的关系性强、且与血中的存在量具有相关性的标记分子的模块的代表值(标准化分数)这一点上,能够不易受到各个标记分子的测定上的误差和波动的影响,以更高的进度进行判别。

[0309] 另外,在现有的使用多个标记分子的NAFL与NASH的判别法中,使用分别对多个标记分子的测定值施以权重并加起来的方法、或对多个标记分子的测定值进行乘除的方法。但是,这些方法中,对于用于判别法的构建即学习的被检测体组,过度适合的倾向比较大。本实施方式所涉及的判别方法中,作为指标值,使用标准化的标记分子的测定值的平均值或中央值这样的统计值,由此,不进行该工序中的学习,因此,具有能够回避学习中使用的被检测体组的过度适合的优点。从这两点上来说,如上所述的本实施方式所涉及的判别方法与现有技术相比,是具有优异的优点的NAFL与NASH的判别法。

[0310] 本实施方式的其它方面中,测定的标记分子也可以是规定的组(模块)的1个或多个标记分子。通过选择代表各模块的标记分子,能够维持高的精度并且简便地进行判别。代表各模块的标记分子没有特别限制,能够适当选择。选择的上述标记分子的种类例如可以为2~3个种类,也可以为4个~全部种类。

[0311] 例如,为组1时,标记分子可以包括PROS1和CLU,也可以为PROS1和CLU。

[0312] 为组2时,标记分子可以包括VCAM1,可以为VCAM1,可以为VCAM1和HA,可以包括VCAM1和HA,可以为VCAM1和CTSD,可以包括VCAM1和CTSD,可以为VCAM1和COL4,可以包括VCAM1和COL4,可以为VCAM1和COL4-7S,可以包括VCAM1和COL4-7S,可以为HA和COL4-7S,可以包括HA和COL4-7S,可以为HA和CTSD,可以包括HA和CTSD,可以为HA和COL4,可以包括HA和COL4,可以为CTSD和COL4,可以包括CTSD和COL4,可以为CTSD和COL4-7S,可以包括CTSD和COL4-7S。

[0313] 为组3时,标记分子可以为AST和PSAT,可以包括AST和PSAT,可以为AST和LEP,可以

包括AST和LEP,可以为AST和ICAM1,可以包括AST和ICAM1,可以为AST、PSAT和LEP,可以包括AST、PSAT和LEP,可以为AST、PSAT和ICAM1,可以包括AST、PSAT和ICAM1,可以为AST、LEP和CK-18,可以包括AST、LEP和CK-18,可以为AST、ICAM1和GSTA1,可以包括AST、ICAM1和GSTA1,可以为AST、PSAT和6Ckine,可以包括AST、PSAT和6Ckine。

[0314] 标准化分数基于上述标记分子的量,从上述式1算出。作为用于判定是否存在受试者患有NASH的可能性的基准值,例如,可以列举以下的值。

[0315] 在PROS1和CLU的测定中使用HumanMAP法时,基准值能够如下上述设定。

[0316] 标记分子为PROS1和CLU时,基准值例如为设定于0.256~0.634之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.256~0.42之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.42~0.634之间的值。

[0317] 各标记分子的量的测定可以为任一种方法,例如,能够使用市售的试剂盒。在HA的测定中使用ELISA法“Hyaluronan Quantikine ELISA Kit”、在VCAM1、CTSD和COL4的测定中使用HumanMAP法、且在COL4-7S的测定中使用放射性免疫分析法“IV型胶原蛋白7S试剂盒”时,基准值能够如下上述设定。

[0318] 标记分子为VCAM1、为VCAM1和HA、为VCAM1和CTSD、为VCAM1和COL4、为VCAM1和COL4-7S、为HA和COL4-7S、为HA和CTSD、为HA和COL4、为CTSD和COL4、或为CTSD和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.256~0.644之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.256~0.42之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.389~0.644之间的值。

[0319] 标记分子为VCAM1时,基准值例如为设定于0.28~0.644之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.28~0.389之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.389~0.644之间的值。

[0320] 标记分子为VCAM1和HA时,基准值例如为设定于0.326~0.617之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.326~0.398之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.398~0.617之间的值。

[0321] 标记分子为VCAM1和CTSD时,基准值例如为设定于0.277~0.604之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.277~0.408之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.408~0.604之间的值。

[0322] 标记分子为VCAM1和COL4时,基准值例如为设定于0.319~0.617之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.319~0.407之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.407~0.617之间的值。

[0323] 标记分子为VCAM1和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.303~0.543之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.303~0.416之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.416~0.543之间的值。

[0324] 标记分子为HA和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.326~0.509之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.326~0.398之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.398~0.509之间的值。

[0325] 标记分子为HA和COL4时,基准值例如为设定于0.343~0.487之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.343~0.395之间的值,从提高NAFL患

者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.395~0.487之间的值。

[0326] 标记分子为HA和CTSD时,基准值例如为设定于0.305~0.545之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.305~0.411之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.411~0.545之间的值。

[0327] 标记分子为CTSD和COL4时,基准值例如为设定于0.307~0.536之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.307~0.415之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.415~0.536之间的值。

[0328] 标记分子为CTSD和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.271~0.575之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.271~0.419之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.419~0.575之间的值。

[0329] 在HA的测定中使用根据乳胶凝集法或CLIA法的体外诊断剂“ケミルミヒアルロン酸”、在VCAM1的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”、且在COL4-7S的测定中使用放射性免疫分析法“IV型胶原蛋白7S试剂盒”时,基准值能够如下上述测定。

[0330] 标记分子为VCAM1和HA时,基准值例如为设定于0.326~0.684之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为0.326~0.39之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为0.39~0.684之间的值。

[0331] 标记分子为VCAM1和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.293~0.548之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为0.293~0.394之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为0.394~0.548之间的值。

[0332] 标记分子为HA和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.308~0.662之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为0.308~0.394之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为0.394~0.662之间的值。

[0333] 标记分子为VCAM1时,可以代替由上述式1算出的标准化分数,将VCAM1的测定值(VCAM1的量)直接作为指标值。在VCAM1的量的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”时,基准值(血清中的浓度(ng/ml))例如为设定于551.1~1280.1之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于551.1~806.2之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于806.2~1280.1之间的值。

[0334] 在AST的测定中使用酶活性测定法、在PSAT、LEP、ICAM1、GSTA1、和6Ckine的测定中使用HumanMAP法、且在CK-18的测定中使用ELISA法“M30Apoptosense ELISA”时,基准值能够如下上述测定。

[0335] 标记分子为AST和PSAT、为AST和LEP、为AST和ICAM1、为AST、PSAT和LEP、为AST、PSAT和ICAM1、为AST、LEP和CK-18、为AST、ICAM1和GSTA1、或为AST、PSAT和6Ckine时,基准值例如为设定于0.284~0.629之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.284~0.439之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.393~0.629之间的值。

[0336] 标记分子为AST和PSAT时,基准值例如为设定于0.284~0.544之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.284~0.397之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.397~0.544之间的值。

[0337] 标记分子为AST和LEP时,基准值例如为设定于0.309~0.629之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.309~0.412之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.412~0.629之间的值。

[0338] 标记分子为AST和ICAM1时,基准值例如为设定于0.302~0.546之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.302~0.406之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.406~0.546之间的值。

[0339] 标记分子为AST、PSAT和LEP时,基准值例如为设定于0.303~0.619之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.303~0.418之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.418~0.619之间的值。

[0340] 标记分子为AST、PSAT和ICAM1时,基准值例如为设定于0.301~0.551之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.301~0.406之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.406~0.551之间的值。

[0341] 标记分子为AST、LEP和CK-18时,基准值例如为设定于0.297~0.625之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.297~0.439之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.439~0.625之间的值。

[0342] 标记分子为AST、ICAM1和GSTA1时,基准值例如为设定于0.302~0.573之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.302~0.393之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.393~0.573之间的值。

[0343] 标记分子为AST、PSAT和6Ckine时,基准值例如为设定于0.291~0.535之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.291~0.416之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.416~0.535之间的值。

[0344] 在本实施方式的其它方面中,可以将1种类的标记分子作为代表规定的组(模块)的标记分子选择。此时,可以代替由上述式1算出的标准化分数,将上述标记分子的测定值(测得的上述标记分子的量)直接作为指标值。

[0345] 例如,代表组2的标记分子为VCAM1,可以将VCAM1的测定值(例如,血清中的浓度)作为指标值。在VCAM1的量的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”时,基准值(血清中的浓度(ng/ml))例如为设定于551.1~1280.1之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于693.5~925.3之间的值。

[0346] 另外,作为第一标准化分数,可以使用基于PROS1和CLU的量算出的标准化分数,作为第二标准化分数可以使用基于选自组3的至少1个标记分子的量、AST和PSAT的量、AST和LEP的量、AST和ICAM1的量、AST、PSAT和LEP的量、AST、PSAT和ICAM1的量、AST、LEP和CK-18的量、AST、ICAM1和GSTA1的量、或AST、PSAT和6Ckine的量算出的标准化分数,由上述式2算出指标值。作为此时式2中的 a_1 和 a_2 的值,例如可以列举对应于下述表9中的“M1+M3”的值。作为用于判定是否存在受试者患有NASH的可能性的基准值,例如可以列举以下的值。

[0347] 在PROS1、CLU、PSAT、LEP、ICAM1、GSTA1和6Ckine的测定中使用HumanMAP法、在AST的测定中使用酶活性测定法、且在CK-18的测定中使用ELISA法“M30Apoptosense ELISA”时,基准值能够如下上述测定。

[0348] 标记分子为PROS1和CLU、以及、为AST和PSAT、为AST和LEP、为AST和ICAM1、为AST、PSAT和LEP、为AST、PSAT和ICAM1、为AST、LEP和CK-18、为AST、ICAM1和GSTA1、或为AST、PSAT

和6Ckine时,基准值例如为设定于13.493~21.205之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.493~18.331之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于16.789~21.205之间的值。

[0349] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST和PSAT时,基准值例如为设定于13.493~21.02之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.493~17.141之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于17.141~21.02之间的值。

[0350] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST和LEP时,基准值例如为设定于14.228~20.755之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于14.228~18.145之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于18.145~20.755之间的值。

[0351] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST和ICAM1时,基准值例如为设定于13.663~20.831之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.663~17.406之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于17.406~20.831之间的值。

[0352] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST、PSAT和LEP时,基准值例如为设定于14.229~20.843之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于14.229~18.331之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于18.331~20.843之间的值。

[0353] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST、PSAT和ICAM1时,基准值例如为设定于13.929~21.053之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.929~17.749之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于17.749~21.053之间的值。

[0354] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST、LEP和CK-18时,基准值例如为设定于13.544~21.168之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.544~18.319之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于18.319~21.168之间的值。

[0355] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST、ICAM1和GSTA1时,基准值例如为设定于13.788~20.882之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.788~17.643之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于17.643~20.882之间的值。

[0356] 标记分子为PROS1和CLU、以及为AST、PSAT和6Ckine时,基准值例如为设定于13.844~21.205之间的值,从提高NASH患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于13.844~16.789之间的值,从提高NAFL患者的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于16.789~21.205之间的值。

[0357] 本实施方式所涉及的判别方法也能够作为判定NAFLD、NAFL或NASH的病态的进展度的方法使用。指标值越大,判定为存在受试者的NAFLD、NAFL或NASH的病态的进展度高的可能性。或者,治疗药的应用后的指标值比应用前的指标值减少时,可以判定为存在具有应用上述治疗药的效果的可能性。

[0358] 本实施方式所涉及的判别方法也能够作为判别Matteoni分类中的类型—1~类型—3的病态与类型—4的病态的方法、和判别纤维化阶段中的阶段0、阶段1或阶段2的病态与阶段3或阶段4的病态的方法等的、判别肝纤维化的方法使用。判别上述肝纤维化的方法中,标准化分数大于基准值时,判定为存在受试者为肝纤维化的病态的可能性。至今,利用肝活检基于病理所见来判定这些病态,但是,采用上述判别方法,能够以非侵袭性的方法高精度地判定。

[0359] Matteoni分类是基于肝活检的病理所见的NAFL、NASH的诊断方法,为一般使用的方法(Matteoni,C.,Younossi,Z.&Gramlich,T.Nonalcoholic fatty liver disease:a spectrum of clinical and pathological severity.Gastroenterology 1413-1419 (1999).)。在表1表示Matteoni分类与病理所见(组织所见)的关系。近年来,已知在NASH的病态之中,肝纤维化是预后的恶化因子。因此,在NASH的病态中,判别包括具有肝纤维化的NASH患者的、分类于Matteoni分类的类型—4的病态的重要性增加。

[0360] [表1]

[0361] NAFL和NASH的诊断和Matteoni分类

[0362]

NAFL~NASH 诊断	Matteoni 分类	组织所见
NAFL	类型 1	仅脂肪沉积
	类型 2	脂肪沉积+小叶内炎症
NASH	类型 3	脂肪沉积+干细胞的气球样变性(气球化)
	类型 4	类型 3 的所见+纤维化或 Mallory-Denk 体

[0363] 纤维化的进展度一般以下述表2所示的“阶段(stage)”(Kleiner et.al.,Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease,Hepatology 41:1313-21 (2005))为指标进行评价。

[0364] [表2]

[0365] “纤维化的进展度”的指标“阶段”

[0366]

纤维化分类	组织所见
阶段 0	没有纤维化
阶段 1	中心静脉区域或肝门静脉区域纤维化 1A: 轻度的中心静脉区域纤维化

[0367]

	1B: 中程度的中心静脉区域纤维化 1C: 肝门静脉区域纤维化
阶段 2	中心静脉区域+肝门静脉区域纤维化
阶段 3	伴随桥接的纤维化 (bridging fibrosis)
阶段 4	肝硬化

[0368] 测定的标记分子可以为上述组2的全部标记分子,可以包括VCAM1,可以为VCAM1,可以为VCAM1和HA,可以包括VCAM1和HA,可以为VCAM1和CTSD,可以包括VCAM1和CTSD,可以为VCAM1和COL4,可以包括VCAM1和COL4,可以为VCAM1和COL4-7S,可以包括VCAM1和COL4-7S,可以为HA和COL4-7S,可以包括HA和COL4-7S,可以为HA和CTSD,可以包括HA和CTSD,可以为HA和COL4,可以包括HA和COL4,可以为CTSD和COL4,可以包括CTSD和COL4,可以为CTSD和COL4-7S,可以包括CTSD和COL4-7S。标准化分数基于上述标记分子的量,由上述式1算出。

[0369] 作为判别Matteoni分类中的类型-1~类型-3的病态与类型-4的病态的方法时,标准化分数大于基准值时,判定为具有受试者为Matteoni分类中的类型-4的病态的可能性。例如,在HA的测定中使用ELISA法“Hyaluronan Quantikine ELISA Kit”、在VCAM1、CTSD和COL4的测定中使用HumanMAP法、且在COL4-7S的测定中使用放射性免疫分析法“IV型胶原蛋白7S试剂盒”时,能够如下上述设定。

[0370] 标记分子为组2的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于0.087~0.848之间的值。

[0371] 标记分子为上述组2的全部标记分子、为VCAM1、为VCAM1和HA、为VCAM1和CTSD、为VCAM1和COL4、为VCAM1和COL4-7S、为HA和COL4-7S、为HA和CTSD、为HA和COL4、为CTSD和COL4、或为CTSD和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.303~0.617之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.303~0.475之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.408~0.536之间的值。

[0372] 标记分子为上述组2的全部标记分子时,基准值例如为设定于0.401~0.536之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.401~0.45之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.45~0.536之间的值。

[0373] 标记分子为VCAM1时,基准值例如为设定于0.303~0.538之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.303~0.421之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.421~0.538之间的值。

[0374] 标记分子为VCAM1和HA时,基准值例如为设定于0.328~0.617之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.328~0.418之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.418~0.617之间的值。

[0375] 标记分子为VCAM1和CTSD时,基准值例如为设定于0.313~0.581之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.313~0.432之间的值,从提高类

型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.432~0.581之间的值。

[0376] 标记分子为VCAM1和COL4时,基准值例如为设定于0.343~0.558之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.343~0.457之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.457~0.558之间的值。

[0377] 标记分子为VCAM1和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.358~0.602之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.358~0.438之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.438~0.602之间的值。

[0378] 标记分子为HA和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.354~0.562之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.354~0.451之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.451~0.562之间的值。

[0379] 标记分子为HA和COL4时,基准值例如为设定于0.36~0.522之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,为设定于0.36~0.408之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.408~0.522之间的值。

[0380] 标记分子为HA和CTSD时,基准值例如为设定于0.311~0.545之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.311~0.432之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.432~0.545之间的值。

[0381] 标记分子为CTSD和COL4时,基准值例如为设定于0.317~0.544之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.317~0.436之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.436~0.544之间的值。

[0382] 标记分子为CTSD和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.364~0.604之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.364~0.475之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.475~0.604之间的值。

[0383] 在HA的测定中使用根据乳胶凝集法或CLIA法的体外诊断剂“ケミルミヒアルロン酸”、在VCAM1的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”、且在COL4-7S的测定中使用放射性免疫分析法“IV型胶原蛋白7S试剂盒”时,基准值能够如下上述测定。

[0384] 标记分子为VCAM1和HA时,基准值例如为设定于0.357~0.572之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.357~0.403之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.403~0.572之间的值。

[0385] 标记分子为VCAM1和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.356~0.603之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.356~0.426之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.426~0.603之间的值。

[0386] 标记分子为HA和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.331~0.563之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.331~0.42之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.42~0.563之间的值。

[0387] 标记分子为VCAM1时,可以代替由上述式1算出的标准化分数,将VCAM1的测定值(VCAM1的量)直接作为指标值。

[0388] 在VCAM1的量的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”时,基准值(血清中的浓度(ng/ml))例如为设定于618.1~1239.5之间的值,从提高类型-4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于618.1~840.0之间的值,从提高类型-1~类型-3的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于840.0~1239.5之间的值。

[0389] 作为判别纤维化阶段中的阶段0、阶段1或阶段2的病态与阶段3或阶段4的病态的方法时,标准化分数大于基准值时,判定为存在受试者为纤维化的阶段中的阶段3或阶段4的病态的可能性。作为此时使用的基准值,在HA的测定中使用ELISA法“Hyaluronan Quantikine ELISA Kit”、且在VCAM1的测定使用HumanMAP法时,能够如下上述设定。

[0390] 例如可以列举以下的值。

[0391] 标记分子为组2的至少2个标记分子时,基准值例如为设定于0.087~0.848之间的值。

[0392] 标记分子为上述组2的全部标记分子、为VCAM1、为VCAM1和HA、为VCAM1和CTSD、为VCAM1和COL4、为VCAM1和COL4-7S、为HA和COL4-7S、为HA和CTSD、为HA和COL4、为CTSD和COL4、或为CTSD和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.353~0.766之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.353~0.574之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.453~0.766之间的值。

[0393] 标记分子为上述组2的全部标记分子时,基准值例如为设定于0.421~0.632之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.421~0.544之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.544~0.632之间的值。

[0394] 标记分子为VCAM1时,基准值例如为设定于0.371~0.587之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.371~0.453之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.453~0.587之间的值。

[0395] 标记分子为VCAM1和HA时,基准值例如为设定于0.389~0.766之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.389~0.519之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.519~0.766之间的值。

[0396] 标记分子为VCAM1和CTSD时,基准值例如为设定于0.406~0.718之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.406~0.524之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.524~0.718之间的值。

[0397] 标记分子为VCAM1和COL4时,基准值例如为设定于0.407~0.678之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.407~0.534之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.534~0.678之间的值。

[0398] 标记分子为VCAM1和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.413~0.685之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.413~0.574之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.574~0.685之间的值。

[0399] 标记分子为HA和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.398~0.7之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.398~0.539之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.539~0.7之间的值。

[0400] 标记分子为HA和COL4时,基准值例如为设定于0.392~0.683之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.392~0.463之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.463~0.683之间的值。

[0401] 标记分子为HA和CTSD时,基准值例如为设定于0.373~0.69之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.373~0.465之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.465~0.69之间的值。

[0402] 标记分子为CTSD和COL4时,基准值例如为设定于0.353~0.635之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.353~0.469之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.469~0.635之间的值。

[0403] 标记分子为CTSD和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.403~0.676之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.403~0.559之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.559~0.676之间的值。

[0404] 在HA的测定中使用根据乳胶凝集法或CLIA法的体外诊断剂“ケミルミヒアルロン酸”、在VCAM1的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”、且在COL4-7S的测定中使用放射性免疫分析法“IV型胶原蛋白7S试剂盒”时,基准值能够如下上述测定。

[0405] 标记分子为VCAM1和HA时,基准值例如为设定于0.381~0.759之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.381~0.526之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.526~0.759之间的值。

[0406] 标记分子为VCAM1和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.394~0.71之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.394~0.565之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.565~0.71之间的值。

[0407] 标记分子为HA和COL4-7S时,基准值例如为设定于0.373~0.698之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.373~0.563之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于0.563~0.698

之间的值。

[0408] 标记分子为VCAM1时,可以代替由上述式1算出的标准化分数,将VCAM1的测定值(VCAM1的量)直接作为指标值。

[0409] 在VCAM1的量的测定中使用ELISA法“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”时,基准值(血清中的浓度(ng/ml))例如为设定于789.8~1344.2之间的值,从提高阶段3或阶段4的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于789.8~1029.3之间的值,从提高阶段0、阶段1或阶段2的病态的正确诊断率的观点考虑,优选为设定于1029.3~1344.2之间的值。

[0410] 本实施方式所涉及的判别方法也能够作为判定NAFLD、NAFL或NASH的病态的进展度的方法使用。指标值越大,判定为存在受试者的NAFLD、NAFL或NASH的病态的进展度越高的可能性。另外,治疗药的应用后的指标值比应用前的指标值减少时,可以判定为存在具有应用上述治疗药的效果的可能性。

[0411] 本实施方式所涉及的判别方法也能够作为判定肝疾病的病态的进展度的方法使用。能够用非侵袭性的方法判定至今为止基于利用肝活检的病理所见判定的肝疾病的病态的进展度。作为肝疾病,可以列举NAFLD、酒精性肝障碍、慢性肝炎、药物性肝障碍等。作为肝疾病的病态的进展度,可以列举肝脏的纤维化的进展度、肝脏的炎症的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、NAFLD的活动性的进展度、肝细胞的坏死。肝脏的纤维化是例如在NAFLD、酒精性肝障碍、慢性肝炎、药物性肝障碍中可见的病态。肝脏的炎症、特别是肝脏的小叶内炎症,例如,是在NAFLD、酒精性肝障碍、慢性肝炎、药物性肝障碍中可见的病态。肝细胞的气球样变性例如是在NAFLD、酒精性肝障碍、慢性肝炎中可见的病态。肝细胞的坏死例如是在NAFLD、酒精性肝障碍、慢性肝炎、药物性肝障碍中可见的病态。

[0412] 这里,对作为评价NAFLD的活动性的分数的NAFLD活动性分数(NAS,NAFLD Activity Score)进行说明。NAFLD活动性分数根据肝细胞的脂肪化率、肝细胞的气球样变性和小叶内炎症的病理所见,基于下述表3分别施以点数,作为其合计值求出。其分数越高,判断为NAFLD的病态的重症度越高。

[0413] [表3]

[0414] “NAFLD的活动性”的指标“NAFLD活动性分数”

[0415]

活动性评价	组织所见		
	干细胞脂肪化率	气球样变性	小叶内炎症
0 点	~5%	无	无
1 点	5~33%	少数	在 200 倍视野中为~1 处
2 点	33~66%	多数	在 200 倍视野中为 2~4 处
3 点	67%~		在 200 倍视野中为 5 处~

[0416] ※以合计3个项目的点数(0~8点)评价活动性

[0417] 在工序(1)中测定的标记分子可以包括VCAM1,可以为VCAM1,可以为VCAM1和HA,可以包括VCAM1和HA,可以为VCAM1和COL4,可以包括VCAM1和COL4,可以为VCAM1和COL4-7S,可以包括VCAM1和COL4-7S,可以为HA和COL4-7S,可以包括HA和COL4-7S,可以为HA和COL4,可以包括HA和COL4。标准化分数基于上述标记分子的量,由上述式1算出。标准化分数能够作为肝疾病的病态的进展度的指标值使用。

[0418] 标记分子为VCAM1时,可以代替由上述式1算出的标准化分数,将VCAM1的测定值(VCAM1的量)直接作为指标值。

[0419] 指标值越大,判定为存在受试者中肝脏的纤维化的进展度、肝脏的炎症的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、NAFLD的活动性的进展度、或肝细胞的坏死的进展度越高的可能性。另外,指标值比上次求得的指标值增大时,可以判定为存在受试者中肝脏的纤维化的进展度、肝脏的炎症的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度、NAFLD的活动性的进展度、或肝细胞的坏死的进展度发展的可能性。另外,治疗药的应用后的指标值比应用前的指标值减少时,可以判定为存在具有应用上述治疗药的效果的可能性。

[0420] 作为治疗药,可以列举NAFLD的治疗药、特别是NASH的治疗药。作为NASH的治疗药,对于本领域技术人员来说是显而易见的,例如,可以列举噻唑烷衍生物(罗格列酮、匹格列酮)、HMG-CoA还原酶抑制剂(阿伐他汀)、胆固醇转运体抑制剂(依折麦布)、血管紧张素II受体拮抗剂(氯沙坦、替米沙坦、缬沙坦)、维生素E,但是不限于这些。另外,治疗药的应用期间能够根据需要适当设定,例如,可以确认应用12、24、36、48、60、72、84、96周后的效果。

[0421] 本实施方式的另外的其它方面中,提供用于本实施方式所涉及的上述方法的试剂盒,其包括用于检测上述标记分子的试剂和用于实施上述方法的说明书。

[0422] 另外,本实施方式的另外的其它方面中,提供用于本实施方式所涉及的上述方法的试剂盒,其包括用于检测VCAM1的试剂。上述试剂盒能够作为用于判定患有非酒精性脂肪肝炎(NASH)、为肝脏的纤维化的病态、为肝脏的纤维化的进展度高、肝细胞的气球样变性的病态的进展度高、肝脏的炎症的进展度高、肝肥大的病态、为肝细胞的坏死的病态、为肝细胞的凋亡的病态、为肝细胞的变性的病态、为肝脏的脂肪化的病态、或存在这些的可能性的

诊断剂把握。

[0423] 作为用于检测上述标记分子的试剂,例如,可以列举特异识别上述标记分子的抗体、与上述标记分子特异结合的蛋白质或核酸、用于作为质量分析的标准的合成VCAM1等。用于检测上述标记分子的试剂可以购入市售的商品,也可以通过公知的方法制造。

[0424] 用于实施上述方法的说明书只要记载为能够实施本实施方式所涉及的方法即可,没有特别限制,例如,可以列举记载有上述标准化分数或上述指标值的算出方法、上述方法中使用的基准值等的说明书。

[0425] 除了上述试剂盒、上述试剂和上述说明书以外,例如,也可以根据需要含有灭菌水、生理盐水、表面活性剂、缓冲剂、蛋白质稳定剂、保存剂、封闭溶液、反应溶液、反应终止液、对照用试剂(例如,组织样品、阳性对照和阴性对照用活体分子)、标记用试剂、固相支撑体。

[0426] 本实施方式的另外的其它方面中,提供用于在本实施方式所涉及的方法中使用的肝疾病判定系统。图11是表示肝疾病判定系统的一个实施方式的模式图。上述肝疾病判定系统100例如具备测定从受试者采集的血液中所包含的上述标记分子的量的测定装置1、和基于测得的上述标记分子的量判定肝疾病的病态的肝疾病判定装置11。以下,进行详细说明。

[0427] 上述测定装置具备用于设置试样的试样设置部3、用于对上述试样照射光的光源部2、对透过了上述试样的光进行检测的检测部4、和将通过检测部4得到的测定数据(上述标记分子的量的测定数据)电传送到上述肝疾病判定装置11的通信部5。上述试样例如由从受试者采集的血液等来制备。

[0428] 光源部2例如由能够照射多个波长的一个或多个光源构成。即,为如卤灯这样的多波长的光源或将其与波长选择滤片组合得到的光源、或者不同的峰波长的LED的集合体等。

[0429] 光源部2对设置于试样设置部3的试样照射规定的波长的光,其波长能够根据检测的试剂(荧光色素等)适当设定,例如,为400nm~1000nm。这里,光源部2可以为单色光源,也可以为组合多个光源得到的光源。另外,检测对象为发光色素的光量、从放射性同位体发出的放射线等时,也可以不具备光源部2。

[0430] 检测部4对透过了上述试样的光进行检测。检测部4可以检测荧光色素、发光色素等的光量,也可以检测从放射性同位体发出的放射线。

[0431] 通信部5将通过检测部4得到的测定数据电传送到上述肝疾病判定装置11。

[0432] 另外,光源部2、检测部4、通信部5与上述肝疾病判定装置11电连接,也可以通过位于上述肝疾病判定装置11内的控制部12控制其功能。

[0433] 图11的一部分也能够作为表示上述肝疾病判定装置11的硬件结构的概要图把握。上述肝疾病判定装置11包括控制部12、用于存储从上述通信部5传送的测定数据和解析所需的信息的存储部13、进行测量结果的演算解析的演算部14、进行解析结果的显示的显示部15、和用于输入控制所需的信息的输入部16。后述的肝疾病判定装置11的各功能,通过在存储部13、演算部14等的硬件上读入规定的计算机软件,在演算部14的控制下使输入部16、显示部15运转,并且进行存储部13、演算部14的数据的读取和写入来实现。

[0434] 控制部12是能够根据规定的顺序控制肝疾病判定系统100的运转状况的控制装置。

[0435] 肝疾病判定装置11和控制部12可以使用具备双方的功能的1个计算机,也可以使用具备相当于控制部12、存储部13、演算部14、显示部15、输入部16的功能的计算机等。

[0436] 图12是表示肝疾病判定装置11的功能结构的概要图。肝疾病判定装置11中,作为功能性的结构要素,具备获得机构D1、标准化机构D2、比较机构D3、判定机构D4和显示机构D5。

[0437] 获得机构D1是获得来自测定装置1的测定数据(上述标记分子的量的测定数据)的机构。标准化机构D2是将获得的测定数据基于上述式1算出标准化分数、从算出的标准化分数求出指标值的机构。比较机构D3是将通过标准化机构D2求得的指标值与基准值进行比较的机构。判定机构D4是基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态的机构。显示机构D5是显示判定的结果的机构。

[0438] (肝疾病的判定程序)

[0439] 用于在本实施方式所涉及的方法中使用的程序使计算机作为上述获得机构D1、标准化机构D2、比较机构D3、判定机构D4、和显示机构D5发挥作用。另外的方面中,上述程序在计算机中执行后述的获得步骤S1、标准化步骤S2、比较步骤S3、判定步骤S4和显示步骤S5。通过在计算机读取上述程序,计算机作为肝疾病判定装置11运转。上述程序例如存储于存储介质而被提供。此外,作为存储介质,可以例示闪存、CD、DVD等的存储介质、ROM等的存储介质、或半导体内存等。

[0440] (肝疾病的判定方法)

[0441] 接着,对利用肝疾病判定装置11进行的肝疾病的判定方法进行说明。图13是肝疾病的判定方法的流程图。通过利用肝疾病判定装置11进行的上述判定方法,能够定量且自动地高精度进行是否具有肝疾病的病态的判定。

[0442] [获得步骤S1]

[0443] 最初,获得机构D1获得来自测定装置1的测定数据(从受试者采集的血液中所包含的上述标记分子的量的测定数据)。

[0444] [标准化步骤S2]

[0445] 接着,标准化机构D2从利用获得机构D1获得的上述测定数据基于上述式1算出标准化分数,从算出的标准化分数求出指标值。上述测定数据,可以代替利用获得机构D1获得而将预先得到的测定数据输入肝疾病判定装置11。另外,也可以将上述标准化分数直接作为指标值。

[0446] [比较步骤S3]

[0447] 接着,比较机构D3对利用标准化机构D2求得的指标值与基准值进行比较。测定的标记分子为1种时,可以不进行标准化步骤S2,将利用获得机构D1获得的上述测定数据作为指标值使用,进行比较步骤S3。

[0448] [判定步骤S4]

[0449] 接着,判定机构D4基于比较得到的结果,判定是否具有肝疾病的病态。例如,指标值大于基准值时,判定为受试者患有非酒精性脂肪肝(NASH)、为肝脏的纤维化的病态、肝脏的纤维化的进展度、肝细胞的气球样变性的病态的进展度或者肝脏的炎症的进展度高、为肝肥大的病态、为肝细胞的坏死的病态、为肝细胞的凋亡的病态、为肝细胞的变性的病态、为肝脏的脂肪化的病态、或存在这些的可能性。

[0450] [显示步骤S5]

[0451] 接着,显示机构D5显示通过判定步骤S4判定的结果。例如,对象是否具有肝疾病的病态等通过显示机构D5显示。

[0452] 如以上说明,本实施方式所涉及的判别方法是非侵袭性的,能够以比现有方法精度更高地判别非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的病态。另外,上述判别方法也能够作为收集用于非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的诊断的数据的方法使用。

[0453] 上述判别方法中,使用从式1算出的标准化分数求出指标值,但是,也可以使用标准化分数以外的统计值求出指标值。作为上述统计值,例如,可以列举最大值、最小值、最频值、平均值、中央值、百分位值等。求出指标值时使用的统计值可以单独使用1种,也可以组合多种使用。组合多种使用时,为了修正各标记分子的测定值的单位、尺度、浓度、量等的不同,可以将测定值标准化。另外,也可以使用Sigmoid function变换为适于判别测定值的分布的分布。

[0454] 实施例

[0455] 以下,列举实施例详细地说明本发明,但是本发明不受这些实施例任何限定。

[0456] 试验例1:判别NAFL与NASH的方法(1)

[0457] 对于预先根据Matteoni分类分类为NASH的患者和NAFL的患者的132名患者,测定下述表4所示的活体分子(标记分子)的血液中的量。上述活体分子中,ALB、ALT、AST、COL4-7S和INS^{IVD}使用日本被药典承认的体外诊断用医药品测。具体而言,ALB通过作为色素结合法的1种的BCP改良法测定。ALT和AST通过酶活性测定法测定。COL4-7S通过RIA法测定。INS^{IVD}通过CLIA法测定。CK-18通过市售的评价试剂盒(M30Apoptosense(注册商标)ELISA)测定。HA通过市售的评价试剂盒(Hyaluronan Quantikine ELISA Kit)测定。Mac-2bp通过市售的评价试剂盒(Human Mac-2 binding protein(Mac-2bp) Assay Kit-IBL)测定。使用市售的评价试剂盒时,使用Multi-Mode Microplate Reader“Spectramax M5”(Molecular Devices公司制)。P3NP通过市售的评价试剂盒(ELISA Kit for Procollagen III N-Terminal Propeptide(PIIINP))测定。其它活体分子利用Myriad RBM公司提供的多重免疫检测服务Human DiscoveryMAP(注册商标)250+(v.2.0)测定。

[0458] [表4]

[0459]

	活体分子(标记分子)
模块1(M1,组1)	ANG, APOC3, APOD, CPHR1, CLU, 皮质醇, EGF, HPN, IGF1, IL1B, IL23A, MET, MMP10, PROS1, 四连接素, TTR, VEGF, VEGFR-2
模块2(M2,组2)	ALB, COL4-7S, AFP, AXL, CCL19, CGB, COL4, CSF1, CTSD, FAS, HA, Mac-2bp, CA19-9, NRCAM, OPG, VCAM1, VWF, YKL-40
模块3(M3,组3)	ALT, AST, INS ^{IVD} , INS ^{IR} , 6Slna, AGT, CK-18, CRP, CXCL10, FGF2, GDF1, GSTA1, HSP-60, ICAM1, LEP, P3NP, PSAT, 睾酮

[0460]

模块4(M4,组4)	AREG, BDNF, CD40-L, EREG, FGF2, HEGF, IGF1R2, MMP9, PAI-1, PDGFR, PLGF, SAP, TGFA, TGFB1, THBS1, VTN
------------	--

[0461] 接着,从同一模块的活体分子的量基于上述式1求出对应于M1~M4的各个标准化分数。这里,式1中的 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 、和 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 使用以下的表5~表8所示的值。

[0462] [表5]

[0463]

M1的活体分子	$\text{mean}(m_i)$	$\text{sd}(m_i)$	$\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$	$\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$
ANG	414.74	124.67	481.56	384.64
APOC3	231.59	96.87	277.80	210.77
APOD	129.81	54.44	160.27	116.09
CFHR1	3195.14	749.31	3447.56	3081.41
CLU	248.88	48.24	272.24	238.35
皮质醇	352.20	510.96	370.20	344.10
EGFR	4.12	0.79	4.45	3.97
HPN	1036.86	310.19	1167.27	978.11
IGFBP3	2903.80	753.69	3203.41	2768.81
IL1B	4.85	3.03	5.73	4.45
IL23A	1.77	0.36	1.95	1.68
MET	82.34	175.20	51.28	96.97
MMP10	1.34	0.57	1.51	1.26
PROS1	15.07	2.94	17.22	14.10
四连接素	13.65	2.96	15.31	12.90
TTR	27.51	7.49	32.95	25.05
VDBP	205.15	95.64	246.32	186.60
VEGFR-2	7.05	1.78	8.01	6.62

[0464] [表6]

[0465]

M2的活体分子	$\text{mean}(m_i)$	$\text{sd}(m_i)$	$\text{mean}(M_i^{\text{NASH}})$	$\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$
ALB	4.29	0.35	4.45	4.22
COL4-7S	5.39	1.67	4.24	5.88
AFP	2.73	4.21	1.57	3.25
AXL	15.62	5.95	12.96	16.82
CCL19	767.30	937.15	535.90	871.56
CGB	1.65	0.78	1.39	1.76
COL4	129.32	106.79	85.10	149.24
CSF1	0.85	0.41	0.72	0.91
CTSD	853.89	375.08	706.02	920.52
FAS	32.28	40.69	24.83	35.64
HA	193.51	227.08	72.14	248.19
Mac-2bp	1.84	0.86	1.52	1.99

CA19-9	23.91	26.75	11.76	29.39
NRCAM	1.74	1.26	1.25	1.96
OPG	7.02	2.85	5.80	7.57
VCAM1	632.91	242.86	521.59	683.07
VWF	91.67	39.94	74.95	99.20
YKL-40	85.99	84.47	43.98	104.92

[0466] [表7]

[0467]

M3的活体分子	mean (m_i)	sd (m_i)	mean (m_i^{NASH})	mean (m_i^{NAFL})
ALT	89.88	65.44	61.78	102.54
AST	59.28	36.01	37.68	69.01
INS ^{IVD}	15.25	12.51	11.14	17.21
INS ^{NAP}	2.30	3.82	2.11	2.39
6Ckine	627.81	238.55	497.37	686.58
AGT	229.13	602.43	72.39	299.75
CK-18	559.70	320.09	342.85	657.39
CRP	2.73	2.96	1.65	3.22
CXCL10	647.97	488.53	476.29	725.32
FABP4	21.01	12.74	16.30	23.13
G6PI	62.58	37.34	45.17	70.42
GSTA1	215.85	230.79	134.45	252.53
HSP-60	54.82	67.22	73.90	46.22
ICAM1	184.42	107.25	138.39	205.15
LEP	15.78	15.30	12.96	17.06
P3NP	13.99	6.07	11.62	15.00
PSAT	22.64	19.68	14.23	26.44
睾酮	3.25	1.92	3.95	2.94

[0468] [表8]

[0469]

M4的活体分子	mean (m_i)	sd (m_i)	mean (m_i^{NASH})	mean (m_i^{NAFL})
AREG	344.68	142.30	459.78	293.11
BDNF	25.45	10.51	30.32	23.26
CD40-L	2.13	1.13	2.59	1.93
EREG	66.43	40.44	94.24	53.90
FGF2	37.38	17.38	50.93	31.27
HBEGF	70.89	21.00	84.22	64.88
IGFBP2	59.45	32.01	49.32	64.01
MMP9	1547.88	598.87	1816.07	1427.04
PAI-1	197.98	62.65	225.41	185.62

PDGFB	15423.86	6877.80	18728.78	13934.84
PLGF	43.04	14.39	48.98	40.36
SAP	14.45	4.31	17.26	13.18
TGFA	17.47	7.64	20.22	16.23
TGFB1	11.01	3.60	12.38	10.39
THBS1	26881.59	12864.55	34515.61	23442.09
VTN	2370.23	551.50	2772.44	2189.01

[0470] 另外,使用2个对应于上述模块的标准化分数时,基于上述式2求出指标值。这里,式2中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)、 a_1 和 a_2 使用以下的值。

[0471] [表9]

模块	M_{a1}	a_1	M_{a2}	a_2
M1 + M2	对应于 M1 的标准化分数	14.253	对应于 M2 的标准化分数	18.104
M1 + M3	对应于 M1 的标准化分数	18.833	对应于 M3 的标准化分数	18.524
M1 + M4	对应于 M1 的标准化分数	10.007	对应于 M4 的标准化分数	8.045
M2 + M3	对应于 M2 的标准化分数	10.778	对应于 M3 的标准化分数	11.578
M2 + M4	对应于 M2 的标准化分数	11.156	对应于 M4 的标准化分数	8.808
M3 + M4	对应于 M3 的标准化分数	14.818	对应于 M4 的标准化分数	8.189

[0472]

[0473] 在图1中表示将求出的标准化分数或指标值分类为NAFL的患者组、NASH的患者组进行作图的图表。图1中,实现表示表10中的“基准值的范围A”的两端,虚线表示表10中的“基准值的范围B”的两端。在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表10所示的范围是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。[表10]

[0474]

NAFL-NASH 判定法	判定值 (至少一个是 A、B 的任一)	判定范围 A: 敏感度 95%		判定范围 B: 敏感度 50% 以上		判定范围 C: 敏感度 25%		判定范围 D: 敏感度 10%	
		判定值 (%)	判定范围 (%)	判定值 (%)	判定范围 (%)	判定值 (%)	判定范围 (%)	判定值 (%)	判定范围 (%)
0.43 多因子	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258	0.238~0.258
0.53 多因子	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273	0.253~0.273
0.63 多因子	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298	0.278~0.298
0.73 多因子	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323	0.303~0.323
0.83 多因子	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348	0.328~0.348
0.93 多因子	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373	0.353~0.373
1.03 多因子	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398	0.378~0.398
1.13 多因子	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423	0.403~0.423
1.23 多因子	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448	0.428~0.448
1.33 多因子	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473	0.453~0.473
1.43 多因子	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498	0.478~0.498
1.53 多因子	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523	0.503~0.523
1.63 多因子	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548	0.528~0.548
1.73 多因子	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573	0.553~0.573
1.83 多因子	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598	0.578~0.598
1.93 多因子	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623	0.603~0.623
2.03 多因子	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648	0.628~0.648
2.13 多因子	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673	0.653~0.673
2.23 多因子	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698	0.678~0.698
2.33 多因子	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723	0.703~0.723
2.43 多因子	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748	0.728~0.748
2.53 多因子	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773	0.753~0.773
2.63 多因子	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798	0.778~0.798
2.73 多因子	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823	0.803~0.823
2.83 多因子	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848	0.828~0.848
2.93 多因子	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873	0.853~0.873
3.03 多因子	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898	0.878~0.898
3.13 多因子	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923	0.903~0.923
3.23 多因子	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948	0.928~0.948
3.33 多因子	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973	0.953~0.973
3.43 多因子	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998	0.978~0.998
3.53 多因子	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023	1.003~1.023

[0475] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的决策树(决策树1~决策树6)求出指标值,结果如下所示。

[0476] 上述标记分子为选自上述组1和组2时,

[0477] $M1a \geq 0.476$ 时, $I = 2$; $M1a < 0.476$ 且 $M2a \geq 0.466$ 时, $I = 1$; $M1a < 0.476$ 且 $M2a < 0.466$ 时, $I = 0$ (决策树1)

[0478] 上述标记分子为选自上述组1和组3时,

[0479] $M3a \geq 0.409$ 且 $M1a \geq 0.45$ 时, $I = 2$; $M3a \geq 0.409$ 且 $M1a < 0.45$ 时, $I = 1$; $M3a < 0.409$ 时, $I = 0$ (决策树2)

[0480] 上述标记分子为选自上述组1和组4时,

[0481] $M_{4a} \geq 0.547$ 时, $I = 2$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{1a} \geq 0.468$ 时, $I = 1$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{1a} < 0.468$ 时, $I = 0$ (决策树3)

[0482] 上述标记分子为选自上述组2和组3时,

[0483] $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{2a} \geq 0.412$ 时, $I = 2$; $M_{3a} \geq 0.409$ 且 $M_{2a} < 0.412$ 时, $I = 1$; $M_{3a} < 0.409$ 时, $I = 0$ (决策树4)

[0484] 上述标记分子为选自上述组2和组4时,

[0485] $M_{4a} \geq 0.547$ 时, $I = 2$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{2a} \geq 0.413$ 时, $I = 1$; $M_{4a} < 0.547$ 且 $M_{2a} < 0.413$ 时, $I = 0$ (决策树5)

[0486] 上述标记分子为选自上述组3和组4时,

[0487] $M_{3a} \geq 0.409$ 时, $I = 2$; $M_{3a} < 0.409$ 且 $M_{4a} \geq 0.588$ 时, $I = 1$; $M_{3a} < 0.409$ 且 $M_{4a} < 0.588$ 时, $I = 0$ (决策树6)

[0488] (决策树1~6中, I表示指标值, M_{1a} 、 M_{2a} 、 M_{3a} 和 M_{4a} 分别表示上述组1、组2、组3、和组4的标准化分数。)

[0489] 在任一指标值中, 在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可以见显著的差异, 可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外, 作为基准值, 可知下述表11所示的值是有效的。另外, 将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较, 结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外, NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0490] [表11]

NAFL~NASH判别法	基于决策树的指标值			AUROC	基准值的例子		
	第一节	第二节	指标值		基准值	敏感度	特异度
$M_{1a} > M_{2a}$ (决策树1)	$M_{1a} \geq 0.478$	なし	2	0.82	0	0.945	0.883
	$M_{1a} < 0.478$	$M_{2a} \geq 0.486$	1				
$M_{1a} > M_{2a}$ (决策树2)	$M_{2a} \geq 0.409$	$M_{1a} \geq 0.45$	2	0.87	1	0.747	0.827
	$M_{2a} < 0.409$	なし	0				
$M_{1a} > M_{4a}$ (决策树3)	$M_{4a} \geq 0.547$	なし	2	0.857	0	0.880	0.888
	$M_{4a} < 0.547$	$M_{2a} \geq 0.486$	1				
$M_{2a} > M_{3a}$ (决策树4)	$M_{3a} \geq 0.409$	$M_{2a} \geq 0.412$	2	0.878	1	0.768	0.827
	$M_{3a} < 0.409$	なし	0				
$M_{2a} > M_{4a}$ (决策树5)	$M_{4a} \geq 0.547$	なし	0	0.862	0	0.878	0.899
	$M_{4a} < 0.547$	$M_{2a} \geq 0.413$	1				
$M_{3a} > M_{4a}$ (决策树6)	$M_{3a} \geq 0.409$	なし	2	0.815	0	0.845	0.888
	$M_{3a} < 0.409$	$M_{4a} \geq 0.588$	1				
		$M_{4a} < 0.588$	0				

[0492] 另外, 使用对应于上述模块的2个标准化分数时, 也基于上述的相加平均求出指标值, 结果如下所示。

[0493] 优选的指标值使用由下述式3算出的值。式3中, I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”)。

[0494] $I = (M_{a1} + M_{a2}) / 2$ (式3)

[0495] 这里, 式3中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)使用下述表12所示的

值。

[0496] [表12]

[0497]

	M_{a1}	M_{a2}
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数
M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数

[0498] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表13所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0499] [表13]

[0500]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1(全因子)+M2(全因子)	0.904	0.450	0.890	0.780
M1(全因子)+M3(全因子)	0.939	0.490	0.824	0.951
M1(全因子)+M4(全因子)	0.859	0.498	0.725	0.854
M2(全因子)+M3(全因子)	0.866	0.453	0.791	0.829
M2(全因子)+M4(全因子)	0.848	0.465	0.791	0.878
M3(全因子)+M4(全因子)	0.891	0.494	0.769	0.902

[0501] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的线性回归式求出指标值,结果如下所示。

[0502] 优选的指标值使用由下述式4算出的值。式4中, I 表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”), b_1 和 b_2 表示由线性回归分析确定的常数。

[0503] $I = b_1 \times M_{a1} + b_2 \times M_{a2}$ (式4)

[0504] 这里,式4中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)、 b_1 和 b_2 使用下述表14所示的值。

[0505] [表14]

[0506]

	M_{a1}	M_{a2}	b_1	b_2
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数	1.885	1.729
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数	2.113	2.405
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数	1.69	0.97
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数	1.473	1.952

M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数	1.519	1.081
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数	2.242	1.311

[0507] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表15所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0508] [表15]

[0509]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1(全因子)+M2(全因子)	0.904	1.629	0.901	0.780
M1(全因子)+M3(全因子)	0.941	2.148	0.857	0.902
M1(全因子)+M4(全因子)	0.860	1.196	0.846	0.732
M2(全因子)+M3(全因子)	0.869	1.474	0.868	0.780
M2(全因子)+M4(全因子)	0.850	1.177	0.802	0.854
M3(全因子)+M4(全因子)	0.899	1.692	0.802	0.854

[0510] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的线性判别分析求出指标值,结果如下所示。

[0511] 优选的指标值使用由下述式5算出的值。式5中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”), c_1 和 c_2 表示由线性判别分析确定的常数。

[0512] $I = c_1 \times M_{a1} + c_2 \times M_{a2}$ (式5)

[0513] 这里,式5中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)、 c_1 和 c_2 使用下述表16所示的值。

[0514] [表16]

[0515]

	M_{a1}	M_{a2}	c_1	c_2
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数	7.755	5.78
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数	8.543	9.254
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数	6.947	3.574
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数	4.997	8.024
M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数	5.081	4.771
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数	8.564	5.16

[0516] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表17所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0517] [表17]

[0518]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (全因子)+M2 (全因子)	0.902	6.155	0.879	0.780
M1 (全因子)+M3 (全因子)	0.940	8.756	0.802	0.951
M1 (全因子)+M4 (全因子)	0.859	4.912	0.802	0.780
M2 (全因子)+M3 (全因子)	0.871	5.512	0.890	0.780
M2 (全因子)+M4 (全因子)	0.848	4.553	0.791	0.878
M3 (全因子)+M4 (全因子)	0.899	6.536	0.813	0.854

[0519] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的几何平均求出指标值,结果如下所示。

[0520] 优选的指标值使用由下述式6算出的值。式6中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”)。

[0521] [数10]

$$I = \sqrt{M_{a1} \times M_{a2}} \quad (式6)$$

[0523] 这里,式6中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)使用下述表18所示的值。

[0524] [表18]

[0525]

	M_{a1}	M_{a2}
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数
M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数

[0526] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表19所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0527] [表19]

[0528]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (全因子)+M2 (全因子)	0.903	0.450	0.879	0.780
M1 (全因子)+M3 (全因子)	0.939	0.473	0.846	0.902
M1 (全因子)+M4 (全因子)	0.858	0.447	0.824	0.756
M2 (全因子)+M3 (全因子)	0.868	0.433	0.857	0.780
M2 (全因子)+M4 (全因子)	0.848	0.458	0.791	0.854

M3(全因子)+M4(全因子)	0.888	0.481	0.802	0.878
-----------------	-------	-------	-------	-------

[0529] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的线性式的相乘求出指标值,结果如下所示。

[0530] 优选的指标值使用由下述式7算出的值。式7中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”), d_1 、 d_2 和 d_3 表示由非线性回归分析确定的常数。

[0531] $I = d_1 \times M_{a1} + d_2 \times M_{a2} + d_3 \times M_{a1} \times M_{a2}$ (式7)

[0532] 这里,式7中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)、 d_1 、 d_2 和 d_3 使用下述表20所示的值。

[0533] [表20]

[0534]

	M_{a1}	M_{a2}	d_1	d_2	d_3
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数	4.606	4.711	-5.738
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数	0.863	1.17	2.682
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数	1	0.366	1.305
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数	3.56	3.964	-4.246
M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数	3.09	2.239	-2.683
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数	1.584	0.658	1.416

[0535] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表21所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0536] [表21]

[0537]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1(全因子)+M2(全因子)	0.902	3.031	0.901	0.780
M1(全因子)+M3(全因子)	0.940	1.563	0.846	0.902
M1(全因子)+M4(全因子)	0.860	0.871	0.846	0.732
M2(全因子)+M3(全因子)	0.866	2.461	0.868	0.756
M2(全因子)+M4(全因子)	0.851	1.850	0.802	0.854
M3(全因子)+M4(全因子)	0.900	1.331	0.835	0.829

[0538] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的神经式网络求出指标值,结果如下所示。

[0539] 优选的指标值使用由下述式8和式9算出的值。式8中, A_1 、 B_1 、 X_1 和 X_2 分别表示由神经式网络确定的常数。式9中,I表示指标值, A_2 、 B_2 和 X_2 表示由神经式网络确定的常数。

[0540] $X_2 = f(A_1 \cdot X_1 + B_1)$ (式8)

[0541] $I = f(A_2 \cdot X_2 + B_2)$ (式9)

[0542] 这里,

[0543] [数11]

[0544]
$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}}$$

[0545] “•”表示矩阵的内积，X₁为2×1的矩阵，A₁为2×2的矩阵，B₁为2×1的矩阵，X₂为2×1的矩阵，A₂为1×2的矩阵，B₂为实数。

[0546] A₁、B₁、X₁、A₂和B₂中使用下述表22所示的值。

[0547] [表22]

	X ₁	A ₁	B ₁	B ₂
M1+M2	[M ₁] [M ₂]	[48.982 38.888] [-12.907 -12.553]	[-39.235] [3.582]	[-26.048]
M1+M3	[M ₁] [M ₃]	[-2.439 -3.269] [-7.585 -8.845]	[-2.871] [8.853]	[3.002]
M1+M4	[M ₁] [M ₄]	[4.884 12.182] [4.443 0.505]	[-11.443] [-3.39]	[-11.274]
M2+M3	[M ₂] [M ₃]	[-4.143 -8.075] [3.085 3.442]	[3.584] [1.84]	[0.877]
M2+M4	[M ₂] [M ₄]	[-14.87 2.227] [4.188 -21.98]	[3.198] [11.858]	[13.884]
M3+M4	[M ₃] [M ₄]	[8.414 11.894] [-4.848 -2.674]	[0.772] [3.808]	[4.232]

[0549] 上述表22中的M_{a1}和M_{a2}分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”)。M_{a1}和M_{a2}中使用下述表23所示的值。

[0550] [表23]

[0551]

	M _{a1}	M _{a2}
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数
M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数

[0552] 在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表24所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0553] [表24]

[0554]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1(全因子)+M2(全因子)	0.871	0.573	0.901	0.780
M1(全因子)+M3(全因子)	0.941	0.454	0.857	0.902
M1(全因子)+M4(全因子)	0.867	0.475	0.736	0.854
M2(全因子)+M3(全因子)	0.872	0.357	0.890	0.780
M2(全因子)+M4(全因子)	0.867	0.399	0.813	0.829
M3(全因子)+M4(全因子)	0.899	0.441	0.835	0.829

[0555] 另外，使用对应于上述模块的2个标准化分数时，也基于上述的支持向量机求出指

M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数

[0572] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表27所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0573] [表27]

[0574]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1(全因子)+M2(全因子)	0.904	2.773	0.901	0.780
M1(全因子)+M3(全因子)	0.940	3.153	0.835	0.951
M1(全因子)+M4(全因子)	0.857	3.857	0.747	0.829
M2(全因子)+M3(全因子)	0.866	2.570	0.791	0.829
M2(全因子)+M4(全因子)	0.847	3.228	0.791	0.854
M3(全因子)+M4(全因子)	0.884	3.389	0.824	0.854

[0575] 另外,使用对应于上述模块的2个标准化分数时,也基于上述的非线性逻辑回归式求出指标值,结果如下所示。

[0576] 优选的指标值使用由下述式11算出的值。式11中,I表示指标值, M_{a1} 和 M_{a2} 分别表示上述2个组中的一个标准化分数和另一个标准化分数(“第一标准化分数”和“第二标准化分数”), e_1 、 e_2 和 e_3 表示由非线性回归分析确定的常数。

[0577] $I = e_1 \times M_{a1} + e_2 \times M_{a2} + e_3 \times M_{a1} \times M_{a2}$ (式11)

[0578] 这里,式11中的 M_{a1} (第一标准化分数)、 M_{a2} (第二标准化分数)、 e_1 、 e_2 和 e_3 使用下述表28所示的值。

[0579] [表28]

[0580]

	M_{a1}	M_{a2}	e_1	e_2	e_3
M1+M2	对应于M1的标准化分数	对应于M2的标准化分数	10.998	11.845	7.327
M1+M3	对应于M1的标准化分数	对应于M3的标准化分数	-8.17	-6.533	59.8
M1+M4	对应于M1的标准化分数	对应于M4的标准化分数	-1.668	-4.391	23.207
M2+M3	对应于M2的标准化分数	对应于M3的标准化分数	-10.043	-8.342	46.243
M2+M4	对应于M2的标准化分数	对应于M4的标准化分数	1.54	-2.617	19.485
M3+M4	对应于M3的标准化分数	对应于M4的标准化分数	1.965	-5.435	30.026

[0581] 在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表29所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0582] [表29]

[0583]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (全因子)+M2 (全因子)	0.904	11.762	0.890	0.780
M1 (全因子)+M3 (全因子)	0.939	6.371	0.835	0.902
M1 (全因子)+M4 (全因子)	0.859	2.721	0.714	0.854
M2 (全因子)+M3 (全因子)	0.872	0.581	0.857	0.780
M2 (全因子)+M4 (全因子)	0.850	3.563	0.758	0.878
M3 (全因子)+M4 (全因子)	0.902	4.698	0.835	0.829

[0584] 试验例2:判别NAFL与NASH的方法(2)

[0585] 测定法1

[0586] 除了将求出标准化分数时使用的活体分子使用下述表30所示的1~3种类的活体分子以外,以与上述试验例1同样的方法求出标准化分数。

[0587] [表30]

[0588]

	活体分子
M1 (PROS1、CLU)	PROS1,CLU
M2 (VCAM1)	VCAM1
M2 (VCAM1、HA)	VCAM1、HA
M2 (VCAM1、CTSD)	VCAM1、CTSD
M2 (VCAM1、COL4)	VCAM1、COL4
M2 (VCAM1、COL4-7S)	VCAM1、COL4-7S
M2 (HA、COL4-7S)	HA、COL4-7S
M2 (HA、COL4)	HA、COL4
M2 (HA、CTSD)	HA、CTSD
M2 (CTSD、COL4)	CTSD、COL4
M2 (CTSD、COL4-7S)	CTSD、COL4-7S
M3 (AST、PSAT)	AST、PSAT
M3 (AST、LEP)	AST、LEP
M3 (AST、(CAM1))	AST、ICAM1
M3 (AST、PSAT、LEP)	AST、PSAT、LEP
M3 (AST、PSAT、(CAM1))	AST、PSAT、ICAM1
M3 (AST、LEP、CK-18)	AST、LEP、CK-18
M3 (AST、(CAM1)、GSTA1)	AST、ICAM1、GSTA1
M3 (AST、PSAT、6Ckine)	AST、PSAT、6Ckine

[0589] 将上述模块1(M1)的标准化分数和模块3(M3)的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”,对于上述表30所示的M1和M3的全部组合,基于上述式2求出指标值,结果,在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表31所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有

技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0590] [表31]

[0591]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.900	18.17	0.747	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.889	18.635	0.758	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.904	18.434	0.769	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.904	18.528	0.769	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.906	17.905	0.791	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.906	18.319	0.802	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.902	17.643	0.813	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.915	15.867	0.934	0.756

[0592] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”,对于上述表12所示的M1和M3的全部组合,也基于上述决策树2求出指标值,结果,在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表32所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0593] [表32]

[0594]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.787	0	0.714	0.756
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.812	1	0.527	0.976
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.799	0	0.736	0.756
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.789	1	0.516	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, CAM1)	0.757	0	0.692	0.732
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.816	0	0.791	0.732
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.757	1	0.473	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.819	0	0.802	0.756

[0595] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”,对于上述表12所示的M1和M3的全部组合,也基于上述式3求出指标值,结果,在任一标准化分数、指标值中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表33所示的值是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0596] [表33]

[0597]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.901	0.479	0.736	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.889	0.49	0.758	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.903	0.482	0.769	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.905	0.486	0.780	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.906	0.478	0.769	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.906	0.48	0.791	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.901	0.469	0.802	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.914	0.416	0.934	0.756

[0598] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式4求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值（截取值）设定为下述表34所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0599] [表34]

[0600]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.899	2.131	0.747	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.890	2.189	0.758	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.905	2.158	0.791	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.902	2.191	0.758	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.904	2.119	0.791	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.906	2.184	0.780	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.901	2.076	0.813	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.917	1.934	0.901	0.805

[0601] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式5求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值（截取值）设定为下述表35所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0602] [表35]

[0603]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.900	8.236	0.769	0.902

M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.889	8.618	0.769	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.905	8.605	0.758	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.904	8.609	0.769	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.907	8.342	0.802	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.906	8.546	0.802	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.903	8.209	0.813	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.916	7.814	0.857	0.829

[0604] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式6求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值（截取值）设定为下述表36所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0605] [表36]

[0606]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.910	0.436	0.791	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.895	0.457	0.758	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.907	0.428	0.868	0.805
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.907	0.486	0.681	0.976
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.912	0.437	0.835	0.829
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.904	0.467	0.747	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.906	0.479	0.692	0.976
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.913	0.443	0.813	0.878

[0607] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式7求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值（截取值）设定为下述表37所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0608] [表37]

[0609]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.911	1.52	0.747	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.895	1.567	0.758	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.907	1.487	0.802	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.908	1.604	0.736	0.951

M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.914	1.459	0.813	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.910	1.676	0.714	0.976
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.909	1.467	0.813	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.921	1.308	0.923	0.829

[0610] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式8和式9求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表38所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0611] [表38]

[0612]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.899	0.416	0.747	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.890	0.552	0.758	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.906	0.476	0.791	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, LEP)	0.902	0.556	0.758	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.904	0.391	0.791	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.907	0.528	0.791	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.901	0.307	0.813	0.878
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	0.917	0.139	0.901	0.805

[0613] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式10求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表39所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0614] [表39]

[0615]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT)	0.901	3.082	0.736	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP)	0.890	3.295	0.736	0.902
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1)	0.903	3.125	0.769	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, UEP)	0.903	3.347	0.725	0.951
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, PSAT, ICAM1)	0.904	2.994	0.780	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, LEP, CK18)	0.906	3.216	0.769	0.927
M1 (PROS1, CLU) +M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	0.898	3.132	0.747	0.927

M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,PSAT,6Ckine)	0.911	2.306	0.934	0.756
-------------------------------------	-------	-------	-------	-------

[0616] 将上述模块1 (M1) 的标准化分数和模块3 (M3) 的标准化分数分别作为“第一标准化分数”和“第二标准化分数”，对于上述表12所示的M1和M3的全部组合，也基于上述式11求出指标值，结果，在任一标准化分数、指标值中，在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异，可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外，可知用于判别是否为NASH的基准值（截取值）设定为下述表40所示的值是有效的。另外，将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较，结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外，NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0617] [表40]

[0618]

NAFL~NASH判别法	AUROC	基准值	敏感度	特异度
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,PSAT)	0.915	5.778	0.714	0.976
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,LEP)	0.895	6.219	0.714	0.951
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,ICAM1)	0.906	6.682	0.670	1.000
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,PSAT,LEP)	0.908	6.343	0.714	0.951
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,PSAT,ICAM1)	0.911	3.789	0.912	0.756
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,LEP,CK18)	0.908	6.528	0.736	0.976
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,ICAM1,GSTA1)	0.906	6.675	0.681	0.976
M1 (PROS1,CLU)+M3 (AST,PSAT,6Ckine)	0.915	4.424	0.846	0.902

[0619] 测定法2

[0620] 以如下所示的方法测定HA、VCAM1和COL4-7S各自的量，求出标准化分数。HA的量通过使用体外诊断剂“エルピアエースHA” (LSI MEDIENCE公司制) 的乳胶凝集法测定。VCAM1的量通过使用“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit” (R&D Systems公司制) 的ELISA法测定。另外，COL4-7S的量通过使用体外诊断剂“IV型胶原蛋白・7S试剂盒” (LSI MEDIENCE公司制) 的放射性免疫分析法测定。从测得的各活体分子的量基于上述式1求出各自的标准化分数。这里，式1中的 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 、和 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 使用以下所示的表41的值。此外，表41记载的值在使用具有与利用上述诊断剂或试剂的方法同等的性能的测定法时也是能够使用的值。HA中，测定从NAFL患者44人和NASH患者95人得到的血清试样。VCAM1中，测定从NAFL患者68人和NASH患者127人得到的血清试样。关于COL4-7S，测定从NAFL患者62人和NASH患者130人得到的血清试样。关于各个分子，将NAFL患者的平均值和NASH患者的平均值的算术平均作为 $\text{mean}(m_i)$ ，将NAFL患者的标准偏差和NASH患者的标准偏差的算术平均作为 $\text{sd}(m_i)$ 。另外，对于HA的测定中通过使用体外诊断剂“ケミルミヒアルロン酸” (Siemens Healthcare Diagnostics公司制) 的CLIA法测定时的 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 中，使用将乳胶凝集法中使用的 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 代入附带文本中所述的相关式 ($y=1.36x-10.3$) 所得到的值来设定。这里， y 表示使用“ケミルミヒアルロン酸”时的 $\text{mean}(m_i)$ 或 $\text{sd}(m_i)$ 的值， x 表示使用“エルピアエースHA”时的 $\text{mean}(m_i)$ 或 $\text{sd}(s_i)$ 的值。

[0621] [表41]

[0622]

M2的活体分子	$\text{mean}(m_i)$	$\text{sd}(m_i)$	$\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$	$\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$
---------	--------------------	------------------	----------------------------------	----------------------------------

VCAM1	843.8	331.9	710.9	976.6
COL4-7S	4.75	1.6	3.97	5.54
HA (乳胶凝集法)	56.37	62.52	29.91	82.82
HA (ケミルミヒアルロン酸)	66.36	74.73	30.38	102.34

[0623] 将求得的标准化分数分类为NAFL的患者组、NASH的患者组并进行作图,在图2-1、图2-2和图3表示所得到的图表。图中,实线表示表42和43中的“基准值的范围A”的两端,虚线表示表42和43中的“基准值的范围B”的两端。在任一标准化分数中,在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表42和43所示的范围是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC (0.834) 相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0624] [表42]

[0627]

NAFL-NASH 判别法	基准值的范围 (至少满足 A、B 的任一)	基准值的范围 A: 敏感度 95% 特异度 95%		基准值范围 85% 敏感度 特异度 85%		基准值范围 75% 敏感度 特异度 75%		基准值范围 50% 敏感度 特异度 50%		基准值范围 30% 以上 敏感度 特异度 30% 以上	
		基准值	敏感度 (%)	基准值	敏感度 (%)	基准值	敏感度 (%)	基准值	敏感度 (%)	基准值	敏感度 (%)
0.000000	0.234~0.344	0.234	92.2	0.234	88.2	0.234	82.2	0.234	78.2	0.234	74.2
0.000001	0.302~0.408	0.302	91.2	0.302	87.2	0.302	81.2	0.302	77.2	0.302	73.2
0.000002	0.368~0.474	0.368	90.2	0.368	86.2	0.368	80.2	0.368	76.2	0.368	72.2
0.000003	0.434~0.540	0.434	89.2	0.434	85.2	0.434	79.2	0.434	75.2	0.434	71.2
0.000004	0.500~0.606	0.500	88.2	0.500	84.2	0.500	78.2	0.500	74.2	0.500	70.2
0.000005	0.566~0.672	0.566	87.2	0.566	83.2	0.566	77.2	0.566	73.2	0.566	69.2
0.000006	0.632~0.738	0.632	86.2	0.632	82.2	0.632	76.2	0.632	72.2	0.632	68.2
0.000007	0.698~0.804	0.698	85.2	0.698	81.2	0.698	75.2	0.698	71.2	0.698	67.2
0.000008	0.764~0.870	0.764	84.2	0.764	80.2	0.764	74.2	0.764	70.2	0.764	66.2
0.000009	0.830~0.936	0.830	83.2	0.830	79.2	0.830	73.2	0.830	69.2	0.830	65.2
0.000010	0.896~1.002	0.896	82.2	0.896	78.2	0.896	72.2	0.896	68.2	0.896	64.2

[0628] 试验例3: 判别NAFL与NASH的方法 (3)

[0629] 作为第一标准化分数, 使用对应于试验例2的M1 (PROS1、CLU) 的标准化分数, 作为第二标准化分数, 使用对应于试验例2的M3 (AST、PSAT)、M3 (AST、LEP)、M3 (AST、ICAM1)、M3 (AST、PSAT、LEP)、M3 (AST、PSAT、ICAM1)、M3 (AST、LEP、CK-18)、M3 (AST、ICAM1、GSTA1) 或M3 (AST、PSAT、6Ckine) 的标准化分数, 除此以外, 以与试验例1的“M1+M3”同样的计算方法求出指标值。

[0630] 将求得的指标值分类为NAFL的患者组、NASH的患者组并进行作图, 在图4表示所得到的图表。图4中, 实线表示表43中的“基准值的范围A”的两端, 虚线表示表44中的“基准值的范围B”的两端。在任一指标值中, 在NAFL的患者组与NASH的患者组之间均可见显著的差

异,可知对NAFL与NASH的判别是有效的。另外,可知用于判别是否为NASH的基准值(截取值)设定为下述表所示的范围是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的NAFIC分数的AUROC(0.834)相比较,结果暗示其优于现有技术的诊断精度。此外,NAFIC分数的AUROC是使用本实施例的被检测体组算出的值。

[0631] [表44]

NAFL-NASH 判别法	基准值的范围(至少将基准值的范围A、B中的任意一个设为A、B的任一一个)	基准值的范围A: 敏感度 95%		基准值的范围B: 敏感度 50%以上且特异度 50%以上		基准值的范围C: 敏感度 95%		基准值的范围D: 敏感度 50%以上且特异度 50%以上	
		基准值 (%)	敏感度 (%)	基准值 (%)	敏感度 (%)	基准值 (%)	敏感度 (%)	基准值 (%)	敏感度 (%)
8.000	13.400~21.00	14.004	90.0	13.400	90.0	13.400	90.0	13.400	90.0
8.000	14.000~20.500	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0
8.000	13.000~20.000	14.004	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0
8.000	14.000~20.000	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0
8.000	13.000~20.000	14.004	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0
8.000	14.000~20.000	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0
8.000	13.000~20.000	14.004	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0
8.000	14.000~20.000	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0
8.000	13.000~20.000	14.004	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0
8.000	14.000~20.000	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0
8.000	13.000~20.000	14.004	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0
8.000	14.000~20.000	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0
8.000	13.000~20.000	14.004	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0	13.000	90.0
8.000	14.000~20.000	14.004	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0	14.000	90.0

[0632]

[0633] 试验例4:判别Matteoni分类中的类型-1~类型-3的病态与类型-4的病态的方法

[0634] 将求出标准化分数时使用的活体分子使用下述表45所示的活体分子,除此以外,将与上述试验例2的测定法1或测定法2同样的方法求出标准化分数。

[0635] [表45]

M2 (M2 全因子)	脂类分子 Aβ, COL4-7S, AFP, AXL, GCL18, SGB, COL4, CSF1, CTSD, FAS, HA, Mac-2BP, GA13-3, NRCAM, GPG, VCAM1, VWF, YKL-40
M2 (VCAM1)	VCAM1
M2 (VCAM1, HA)	VCAM1, HA
M2 (VCAM1, CTSD)	VCAM1, CTSD
M2 (VCAM1, COL4)	VCAM1, COL4
M2 (VCAM1, COL4-7S)	VCAM1, COL4-7S
M2 (HA, COL4-7S)	HA, COL4-7S
M2 (HA, COL4)	HA, COL4
M2 (HA, CTSD)	HA, CTSD
M2 (CTSD, COL4)	CTSD, COL4
M2 (CTSD, COL4-7S)	CTSD, COL4-7S

[0636]

[0637] 将求得的标准化分数分类为相当于Matteoni分类中的类型-1~类型-3的病态的患者组(类型1-3)和相当于类型-4的病态的患者组并进行作图,在图5-1和图5-2中表示所得到的图表。图中,实线表示表46中的“基准值的范围A”的两端,虚线表示表46中的“基准值的范围B”的两端。在任一标准化分数中,在类型1-3的患者组与类型-4的患者组之间均可见显著的差异,可知对类型-1~类型-3的病态与类型-4的病态的判别是有效的。另外,用于判别是否相当于类型-4的病态的基准值(截取值)设定为下述表46所示的范围是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的FIB4index的AUROC(0.790)相比较,结果暗示其为与现有技术同等或其以上的诊断精度。

[0638] [表46]

[0639]

[0640] 试验例5:判别纤维化的阶段中的阶段0~阶段2的病态与阶段3或阶段4的病态的方法

[0641] 以与试验例4同样的活体分子和方法求出标准化分数。将求得的标准化分数分类为相当于纤维化的阶段中的阶段0~阶段2的病态的患者组(F0-2)和相当于阶段3或阶段4的病态的患者组(F3-4)并进行作图,在图6-1和图6-2中表示所得到的图表。图中,实线表示表47中的“基准值的范围A”的两端,虚线表示表47中的“基准值的范围B”的两端。这里,阶段0的病态是指Matteoni分类中的类型-1或类型-2的病态。在任一标准化分数中,在F0-2的患者组与F3-4的患者组之间均可见显著的差异,可知对阶段0~阶段2的病态与阶段3或阶段4的病态的判别是有效的。另外,用于判别是否相当于F3-4的病态的基准值(截取值)设定为下述表47所示的范围是有效的。另外,将从这些结果求出的AUROC与作为现有技术的FIB4index的AUROC(0.858)相比较,结果暗示其为优于现有技术的诊断精度。

[0642] [表47]

[0643]

纤维化阶段 F0-2 vs F3-4 判别法 (判定法1)	基准值的范围 A: 判定率 95% 至少一个 是 A、B 中的一个				基准值的范围 B: 判定率 50%以上且特异度 50%以上				基准值的范围 A: 判定率 95% 至少一个 是 A、B 中的一个				基准值的范围 B: 判定率 50%以上且特异度 50%以上			
	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)	基准值 (%)
225.57-229.45	2.271	0.272	0.333	0.265	0.271	0.272	0.273	0.274	0.275	0.276	0.277	0.278	0.279	0.280	0.281	0.282
229.57-233.41	0.875	0.371	0.383	0.371	0.371	0.372	0.373	0.374	0.375	0.376	0.377	0.378	0.379	0.380	0.381	0.382
233.57-237.24	0.515	0.369	0.376	0.369	0.369	0.370	0.371	0.372	0.373	0.374	0.375	0.376	0.377	0.378	0.379	0.380
237.37-240.91	0.328	0.469	0.373	0.469	0.469	0.470	0.471	0.472	0.473	0.474	0.475	0.476	0.477	0.478	0.479	0.480
240.97-244.43	0.209	0.417	0.384	0.417	0.417	0.418	0.419	0.420	0.421	0.422	0.423	0.424	0.425	0.426	0.427	0.428
244.57-247.92	0.173	0.433	0.388	0.433	0.433	0.434	0.435	0.436	0.437	0.438	0.439	0.440	0.441	0.442	0.443	0.444
247.98-251.28	0.108	0.398	0.373	0.398	0.398	0.399	0.400	0.401	0.402	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409
251.34-254.51	0.293	0.372	0.383	0.372	0.372	0.373	0.374	0.375	0.376	0.377	0.378	0.379	0.380	0.381	0.382	0.383
254.57-257.65	0.266	0.372	0.388	0.372	0.372	0.373	0.374	0.375	0.376	0.377	0.378	0.379	0.380	0.381	0.382	0.383
257.71-259.63	0.282	0.362	0.385	0.362	0.362	0.363	0.364	0.365	0.366	0.367	0.368	0.369	0.370	0.371	0.372	0.373
259.69-262.67	0.288	0.362	0.373	0.362	0.362	0.363	0.364	0.365	0.366	0.367	0.368	0.369	0.370	0.371	0.372	0.373
262.73-265.58	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
265.64-268.36	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
268.42-271.01	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
271.07-273.58	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
273.64-276.07	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
276.13-278.48	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
278.54-280.81	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
280.87-283.06	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
283.12-285.23	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
285.29-287.32	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
287.38-289.33	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
289.39-291.36	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
291.42-293.31	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
293.37-295.20	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
295.26-297.11	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
297.17-299.04	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
299.10-300.91	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
300.97-302.71	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
302.77-304.44	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
304.50-306.11	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
306.17-307.72	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
307.78-309.27	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
309.33-310.76	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
310.82-312.23	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
312.29-313.64	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
313.70-314.99	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
315.05-316.28	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
316.34-317.51	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
317.57-318.68	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
318.74-319.79	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
319.85-320.84	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
320.90-321.83	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
321.89-322.76	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
322.82-323.63	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
323.69-324.44	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
324.50-325.19	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
325.25-325.88	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
325.94-326.51	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
326.57-327.08	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
327.14-327.59	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
327.65-328.04	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
328.10-328.43	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
328.49-328.76	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
328.82-329.03	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
329.09-329.24	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
329.30-329.41	0.288	0.403	0.373	0.403	0.403	0.404	0.405	0.406	0.407	0.408	0.409	0.410	0.411	0.412	0.413	0.414
329.47-32																

[0645] 基于作为组2的活体分子的“VCAM1”、“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值(血中浓度),研究是否能够判定肝纤维化的进展度。作为肝脏的病理的指标,使用基于肝活检的肝纤维化的病理诊断分数、纤维化阶段(0~4点)(Kleiner et.al.,Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease,Hepatology 41:1313-21 (2005))。标准化分数使用与试验例1同样的方法求出。VCAM1的测定值通过根据ELISA法的试剂“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”定量。另外,根据受试者的年龄、AST、ALT和血小板数求出作为评价肝纤维化的指标已知的FIB4index (Hepatology.2006Jun;43 (6):1317-25.)。对于从记录有病理诊断分数的人采集的血清132被检测体,研究纤维化阶段与上述标准化分数、VCAM1的测定值和FIB4index的相关性。对于VCAM1的测定值,与另外测定的健康人的值一并进行研究。在图7表示结果。图7中,横轴表示纤维化阶段,纵轴表示标准化分数、VCAM1的测定值或FIB4index,横线表示各组的中央值。确认了随着纤维化阶段的分数变大,上述标准化分数和VCAM1的测定值变大。另外,确认了VCAM1在健康人中显示小于NAFLD患者的值的倾向。

[0646] 研究进行纤维化阶段为0点的被检测体与1点以上的被检测体的判别时的AUROC(阶段0vs阶段1-4)、进行纤维化阶段为1点以下的被检测体与2点以上的被检测体的判别时的AUROC(阶段0-1vs阶段2-4)、以及进行纤维化阶段为2点以下的被检测体与3点以上的被检测体的判别时的AUROC(阶段0-2vs阶段3-4),比较各个指标值的精度。在表48中表示结果。对于VCAM1”、“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值,上述全部判别中的AUROC高于相同条件的FIB4index的AUROC。根据以上结果,暗示上述标准化分数和VCAM1的测定值对判定肝纤维化的进展度是有用的。

[0647] [表48]

	AUROC		
	阶段 0 vs 阶段 1-4	阶段 0-1 vs 阶段 2-4	阶段 0-2 vs 阶段 3-4
M2(VCAM1)	0.786	0.842	0.913
M2(VCAM1, HA)	0.879	0.939	0.957
M2(VCAM1, COL4)	0.829	0.898	0.908
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.964	0.979	0.929
M2(HA, COL4-7S)	0.938	0.895	0.955
VCAM1 测定值	0.786	0.842	0.913
FIB4 index (比较例)	0.799	0.849	0.858

[0649] 试验例7:判定肝脏的炎症的进展度的方法

[0650] 基于作为组2的活体分子的“VCAM1”、“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值(血中浓度),研究是否能够判定肝脏的炎症的进展度。作为肝脏的炎症的指标,使用基于肝活检的小叶内炎症的病理诊断分数(0~3点)(Kleiner et.al.,Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease,Hepatology41:1313-21 (2005))。标准化分数使用与试验例1同样的方法求出。VCAM1的测定值通过根据ELISA法的试剂“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”定量。另外,作为评价肝脏的炎症的指标已知的高灵敏度CRP (Hepatogastroenterology.2014 Mar-Apr;61 (130):422-5)通过乳胶凝集法求出。对于从记录有病理诊断分数的人采集的血清132被检测体,研究肝脏的小叶内炎症的分

数与上述标准化分数、VCAM1的测定值、和高敏感度CRP的相关性。对于VCAM1的测定值,与另外测定的健康人的值一并进行研究。在图8表示结果。图8中,横轴表示肝脏的小叶内炎症的分数,纵轴表示标准化分数、VCAM1的测定值或高敏感度CRP的测定值,横线表示各组的中央值。确认了随着肝脏的小叶内炎症的分数变大,上述标准化分数和VCAM1的测定值变大。另外,确认了VCAM1在健康人中显示小于NAFLD患者的值的倾向。

[0651] 研究进行小叶内炎症的分数为0点的被检测体与1点以上的被检测体的判别时的AUROC(炎症0vs炎症1-3)和进行小叶内炎症的分数为1点以下的被检测体与2点以上的被检测体的判别时的AUROC(炎症0-1vs炎症2-3),比较各个指标值的精度。在表49表示结果。对于“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数,在分数为0点的被检测体与1点以上的被检测体的判别、以及分数为1点以下的被检测体与2点以上的被检测体的判别这二者中,AUROC高于高敏感度CRP。对于“VCAM1”和“VCAM1、COL4”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值,在分数为1点以下的被检测体与2点以上的被检测体的判别中,AUROC高于高敏感度CRP。根据以上结果,暗示上述标准化分数和VCAM1的测定值对判定肝脏的炎症的进展度是有用的。

[0652] [表49]

	AUROC	
	炎症 0 vs 炎症 1-3	炎症 0-1 vs 炎症 2-3
M2(VCAM1)	0.552	0.689
M2(VCAM1, HA)	0.837	0.582
M2(VCAM1, COL4)	0.547	0.725
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.753	0.713
M2(HA, COL4-7S)	0.776	0.575
VCAM1 测定值	0.552	0.689
高敏感度 CRP (比较例)	0.681	0.556

[0654] 试验例8:判定肝细胞的气球样变性的进展度的方法

[0655] 基于作为组2的活体分子的“VCAM1”、“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值(血中浓度),研究是否能够判定肝细胞的气球样变性的进展度。作为肝细胞的气球样变性的指标,使用基于肝活检的气球样变性的病理诊断分数(0~2点)(Kleiner et.al., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, Hepatology 41:1313-21 (2005))。标准化分数使用与试验例1同样的方法求出。VCAM1的测定值通过根据ELISA法的试剂“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”定量。另外,作为评价肝细胞的气球样变性的指标已知的CK18 M30片段(CK18 M30 fragment)(J Clin Gastroenterol. 2010 Jul; 44(6):440-7)通过ELISA法“M30Apoptosense ELISA”求出。对于从记录有病理诊断分数的人采集的血清132被检测体,研究肝细胞的气球样变性的分数与上述标准化分数、VCAM1的测定值、和CK18 M30 fragment的相关性。对于VCAM1的测定值和CK18 M30 fragment,与另外测定的健康人的值一并进行研究。在图9表示结果。图9中,横轴表示肝细胞的气球样变性的分数,纵轴表示标准化分数、VCAM1的测定值或CK18 M30 fragment的测定值,横线表示各组的中央值。确认了随着肝细胞的气球样变性的分数变大,上述标准化分数和VCAM1的测定值变大。另外,确认了VCAM1在健康人中显示小于NAFLD患者的值的倾向。

[0656] 研究进行肝细胞的气球样变性的分数为0点的被检测体与1点以上的被检测体的判别时的AUROC (气球样变性0vs气球样变性1-2) 和进行气球样变性的分数为1点以下的被检测体与2点的被检测体的判别时的AUROC (气球样变性0-1vs气球样变性2) ,比较各个指标值的精度。在表50表示结果。对于“VCAM1”、“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值,在上述二者的判别中,AUROC高于CK18 M30 fragment。根据以上结果,暗示上述标准化分数和VCAM1的测定值对判定肝细胞的气球样变性的进展度是有用的。

[0657] [表50]

	AUROC	
	气球样变性 0 vs 气球样变性 1-2	气球样变性 0-1 vs 气球样变性 2
M2(VCAM1)	0.746	0.768
M2(VCAM1, HA)	0.807	0.759
M2(VCAM1, COL4)	0.751	0.754
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.796	0.801
M2(HA, COL4-7S)	0.837	0.801
VCAM1 测定值	0.746	0.768
CK18 M30 片段 (比较例)	0.676	0.677

[0659] 试验例9:判定非酒精性脂肪肝疾病 (NAFLD) 活动性的方法

[0660] 基于作为组2的活体分子的“VCAM1”、“VCAM1、HA”、“VCAM1、COL4”、“VCAM1、COL4-7S”和“HA、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值(血中浓度),研究是否能够评价NAFLD的活动性。作为NAFLD的活动性的指标,使用基于肝活检的NAFLD的活动性的病理诊断分数(0~8点)(Kleiner et.al.,Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease,Hepatology 41:1313-21(2005))。标准化分数使用与试验例1同样的方法求出。VCAM1的测定值通过根据ELISA法的试剂“Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA Kit”定量。另外,作为评价NAFLD的活动性的指标已知的CK18 M30 fragment(J Clin Gastroenterol.2010 Jul;44(6):440-7)通过ELISA法“M30 Apoptosense ELISA”求出。对于从记录有病理诊断分数的人采集的血清132被检测体,研究NAFLD的活动性的分数与上述标准化分数、VCAM1的测定值、和CK18 M30 fragment的相关性。对于VCAM1的测定值和CK18 M30 fragment,与另外测定的健康人的值一并进行研究。在图10中表示结果。图10中,横轴表示NAFLD的活动性的分数,纵轴表示标准化分数、VCAM1的测定值或CK18 M30 fragment的测定值,横线表示各组的中央值。确认了随着NAFLD的活动性的分数变大,包括VCAM1的组2的标准化分数和VCAM1的测定值变大。另外,确认了VCAM1在健康人中显示小于NAFLD患者的值的倾向。

[0661] 研究进行NAFLD的活动性的分数为1点的被检测体与2点以上的被检测体的判别时的AUROC (NAS1vs NAS 2-8)、进行NAFLD的活动性的分数为2点以下的被检测体与3点以上的被检测体的判别时的AUROC (NAS1-2vs NAS 3-8)、进行NAFLD的活动性的分数为3点以下的被检测体与4点以上的被检测体的判别时的AUROC (NAS1-3vs NAS 4-8)、进行NAFLD的活动性的分数为4点以下的被检测体与5点以上的被检测体的判别时的AUROC (NAS1-4vs NAS 5-8)、以及进行NAFLD的活动性的分数为5点以下的被检测体与6点以上的被检测体的判别时的AUROC (NAS1-5vs NAS 6-8),比较各个指标值的精度。在表51中表示结果。对于“VCAM1、

HA”的标准化分数,在进行NAFLD的活动性的分数为5点以下的被检测体与6点以上的被检测体的判别时,AUROC高于CK18 M30 fragment。对于“VCAM1”、“VCAM1、COL4”和“VCAM1、COL4-7S”的各个标准化分数、以及VCAM1的测定值,在进行NAFLD的活动性的分数为4点以下的被检测体与5点以上的被检测体的判别时以及进行NAFLD的活动性的分数为5点以下的被检测体与6点以上的被检测体的判别时,AUROC高于CK18 M30 fragment。

[0662] 另一个面,对于“HA、COL4-7S”的标准化分数,在进行NAFLD的活动性的分数为2点以下的被检测体与3点以上的被检测体的判别时的AUROC、进行NAFLD的活动性的分数为3点以下的被检测体与4点以上的被检测体的判别时的AUROC、进行NAFLD的活动性的分数为4点以下的被检测体与5点以上的被检测体的判别时的AUROC、以及进行NAFLD的活动性的分数为5点以下的被检测体与6点以上的被检测体的判别时,AUROC高于CK18 M30 fragment。根据以上结果,暗示上述标准化分数和VCAM1的测定值对判定NAFLD的活动性是有用的。

[0663] [表51]

	AUROC				
	NAS1 vs NAS 2-8	NAS1-2 vs NAS 3-8	NAS1-3 vs NAS 4-8	NAS1-4 vs NAS 5-8	NAS1-5 vs NAS 6-8
M2(VCAM1)	0.593	0.853	0.829	0.700	0.745
M2(VCAM1, HA)	0.800	0.741	0.837	0.840	0.748
M2(VCAM1, COL4)	0.701	0.714	0.871	0.896	0.748
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.790	0.800	0.830	0.727	0.782
M2(HA, COL4-7S)	0.850	0.763	0.792	0.688	0.787
VCAM1 测定值	0.593	0.853	0.829	0.700	0.745
CK18 M30 (比较例)	0.851	0.766	0.688	0.672	0.794

[0665] 试验例10:基于“HA, COL4”的标准化分数判定肝纤维化的进展度、肝脏的炎症的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度和NAFLD活动性的方法

[0666] 基于作为组2的活体分子的“HA, COL4”的标准化分数,研究是否能够判定肝纤维化的进展度、肝脏的炎症的进展度、肝细胞的气球样变性的进展度和NAFLD活动性。方法分别使用与上述试验例6、试验例7、试验例8和试验例9相同的方法。

[0667] 在图14表示“HA, COL4”的标准化分数与肝纤维化的进展度的关系。图14中,横轴表示纤维化阶段(Fibrosis Stage),纵轴表示标准化分数,横线表示各组的中央值。确认了随着纤维化阶段的分数变大,上述标准化分数变大。

[0668] 在表52表示对于肝纤维化的进展度的判定结果。在全部判别中,AUROC高于相同条件下的FIB4 index的AUROC。根据以上结果,暗示“HA、COL4-7S”的标准化分数对判定肝纤维化的进展度是有用的。

[0669] [表52]

[0670]

诊断法	阶段: 0 vs. 阶段: 1-4	阶段: 0-1 vs. 阶段: 2-4	阶段: 0-2 vs. 阶段: 3-4
标准化分数“HA, COL4”	0.840	0.858	0.901
FIB4-index(比较例)	0.790	0.840	0.858

[0671] 在图15表示“HA, COL4”的标准化分数与肝脏的炎症的进展度的关系。图15中,横轴表示肝脏的小叶内炎症的分数,纵轴表示标准化分数,横线表示各组的中央值。确认了随着肝脏的小叶内炎症的分数变大,上述标准化分数变大。

[0672] 在表53中表示对于肝脏的炎症的进展度的判定结果。在肝脏的小叶内炎症的分数为1点以下的被检测体与2点以上的被检测体的判别中,上述标准化分数的AUROC高于相同条件下的高敏感度CRP的AUROC。根据以上结果,暗示“HA, COL4”的标准化分数对判定肝脏的炎症的进展度是有用的。

[0673] [表53]

[0674]

诊断法	炎症:0vs.炎症:1-3	炎症:0-1vs.炎症:2-3
标准化分数“HA, COL4”	0.650	0.693
高敏感度CRP (ng/ml) (比较例)	0.681	0.556

[0675] 在图16中表示“HA, COL4”的标准化分数与肝细胞的气球样变性的关系。图16中,横轴表示肝细胞的气球样变性的分数,纵轴表示标准化分数,横线表示各组的中央值。确认了随着肝细胞的气球样变性的分数变大,上述标准化分数变大。

[0676] 在表54中表示对于肝细胞的气球样变性的进展度的判定结果。在全部判别中,上述标准化分数的AUROC高于相同条件下的CK18 M30 fragment的AUROC。根据以上结果,暗示“HA, COL4”的标准化分数对判定肝细胞的气球样变性的进展度是有用的。

[0677] [表54]

[0678]

诊断法	气球样变性: 0 vs. 气球样变性: 1-2	气球样变性: 0-1 vs. 气球样变性: 2
标准化分数“HA, COL4”	0.783	0.792
CK18 M30 片段 (U/ml) (比较例)	0.676	0.677

[0679] 在图17中表示“HA, COL4”的标准化分数与NAFLD的活动性的关系。图17中,横轴表示NAFLD的活动性的分数,纵轴表示标准化分数,横线表示各组的中央值。确认了随着NAFLD的活动性的分数变大,上述标准化分数变大。

[0680] 在表55中表示关于NAFLD活动性的判定结果。在进行NAFLD的活动性的分数为4点以下的被检测体与5点以上的被检测体的判别时、以及进行NAFLD的活动性的分数为5点以下的被检测体与6点以上的被检测体的判别时,上述标准化分数的AUROC高于相同条件下的CK18 M30 fragment的AUROC。根据以上结果,暗示“HA, COL4”的标准化分数对判定NAFLD的活动性是有用的。

[0681] [表55]

诊断法	NAS:1 vs. NAS:2-8	NAS:1-2 vs. NAS:3-8	NAS:1-3 vs. NAS:4-8	NAS:1-4 vs. NAS:5-8	NAS:1-5 vs. NAS:6-8
标准化分数“HA, COL4”	0.636	0.721	0.678	0.882	0.741
CK18 M30 片段 (U/ml) (比较例)	0.851	0.760	0.888	0.872	0.704

[0683] 符号说明

[0684] 1…测定装置、2…光源部、3…试样设置部、4…检测部、5…通信部、11…肝疾病判定装置、12…控制部、13…存储部、14…演算部、15…显示部、16…输入部、100…肝疾病判定系统、D1…获得机构、D2…标准化机构、D3…比较机构、D4…判定机构、D5…显示机构、S1…获得步骤、S2…标准化步骤、S3…比较步骤、S4…判定步骤、S5…显示步骤。

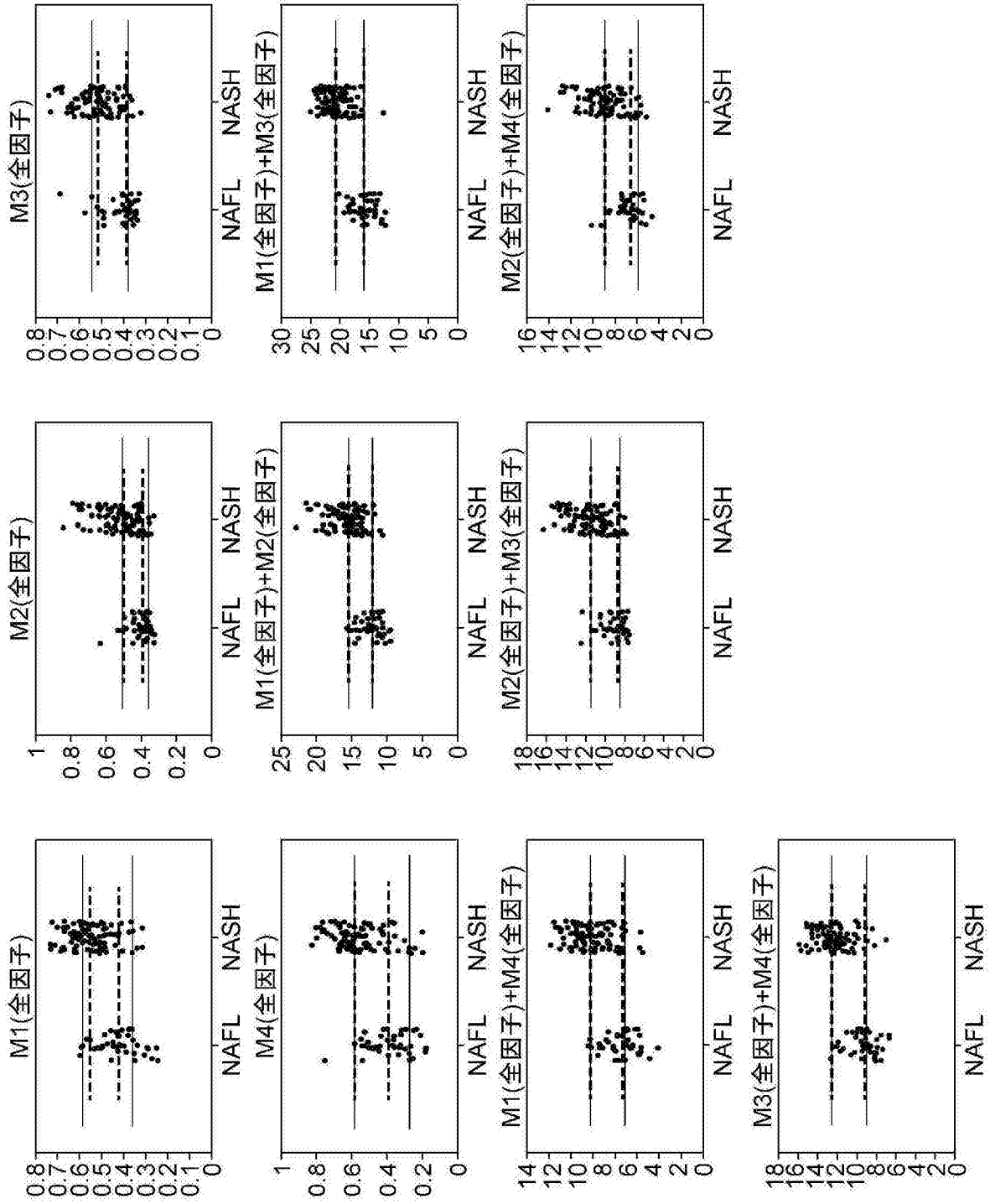


图1

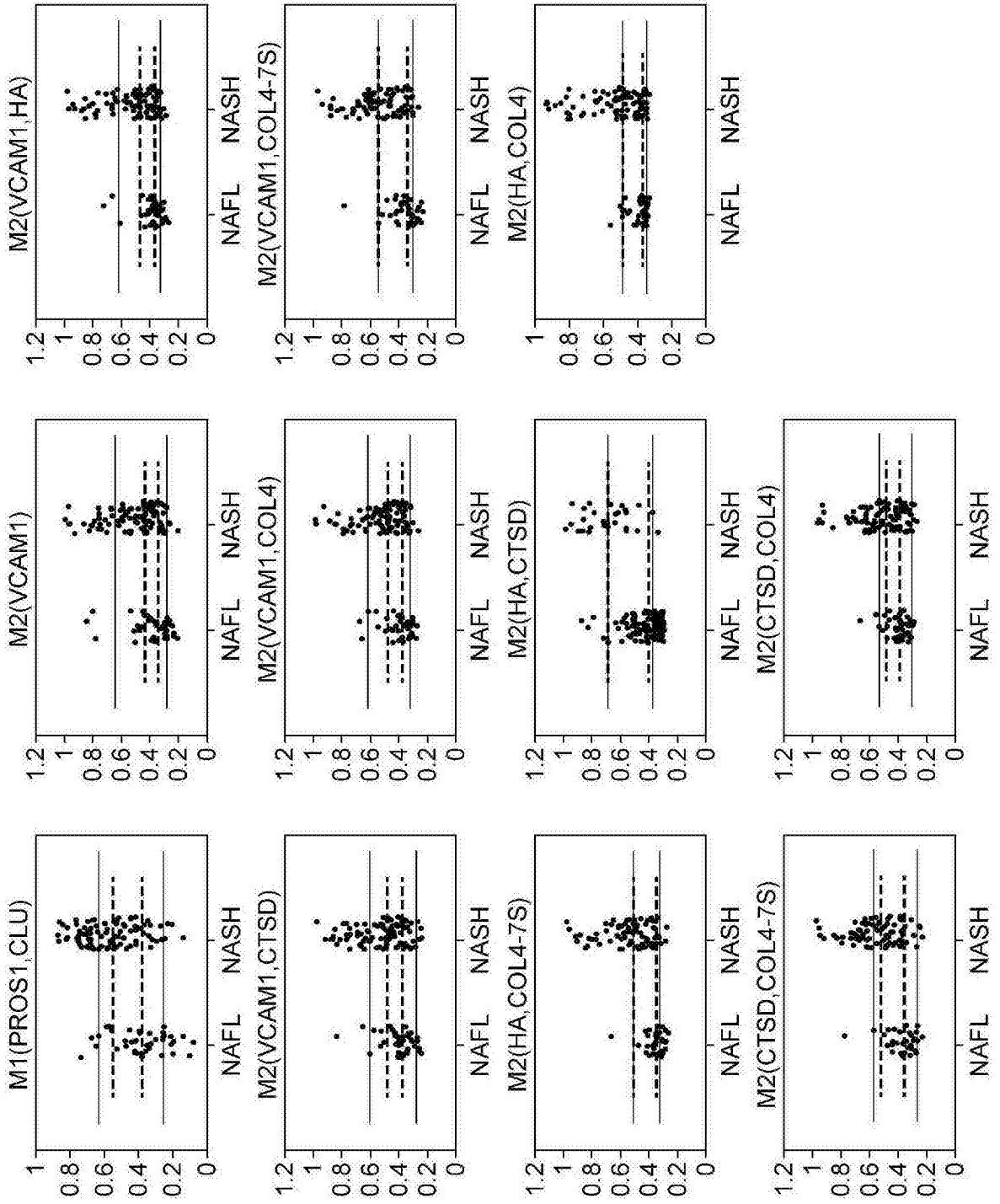


图2-1

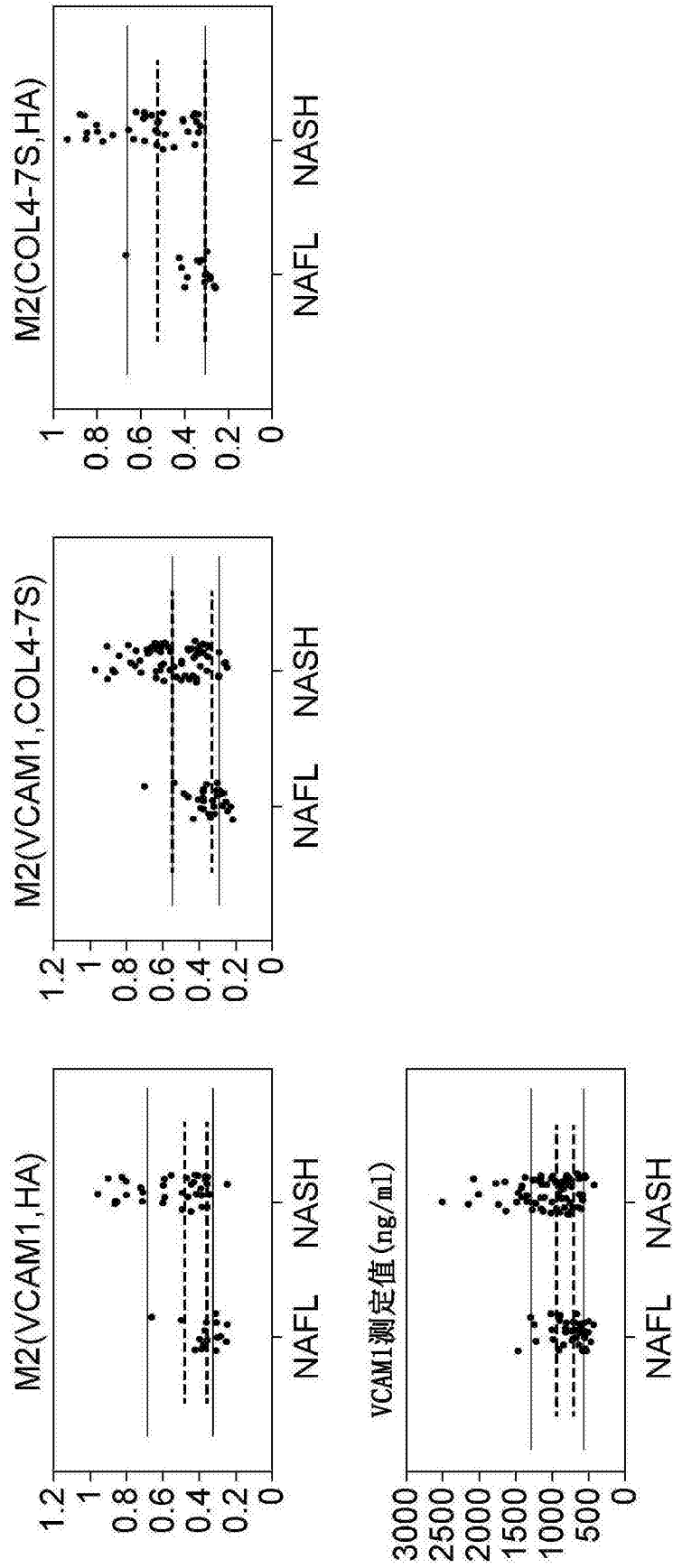


图2-2

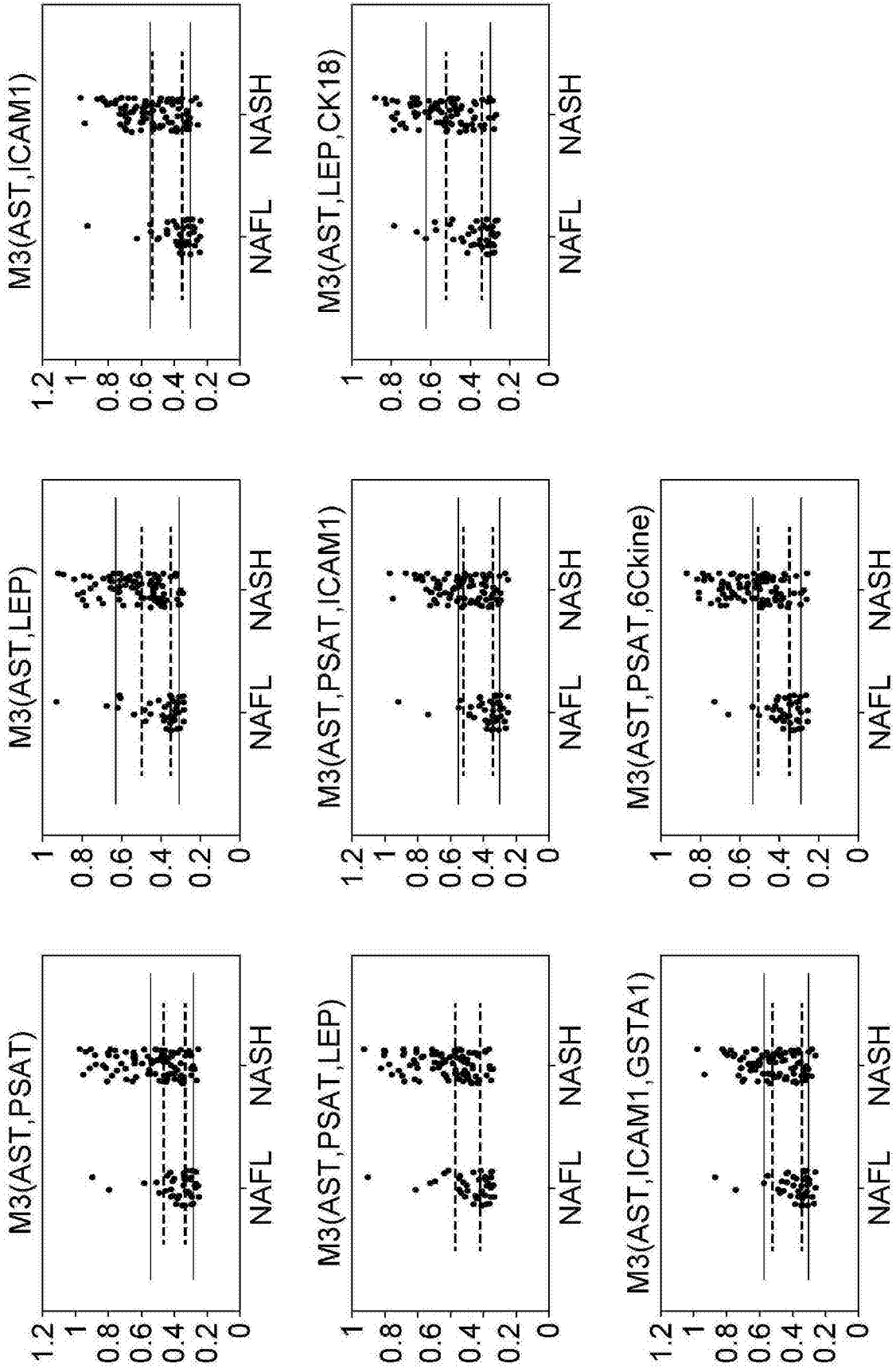


图3

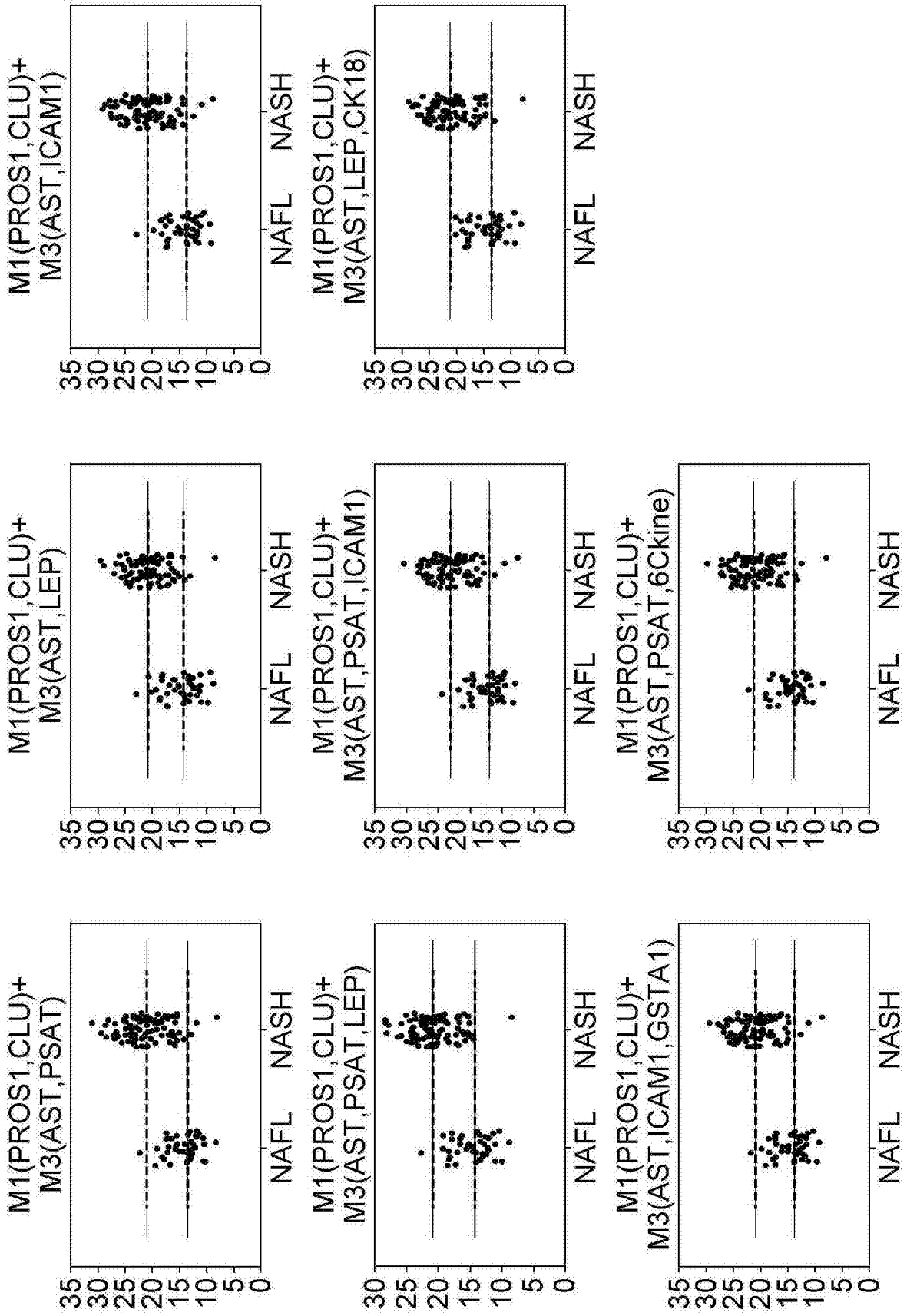


图4

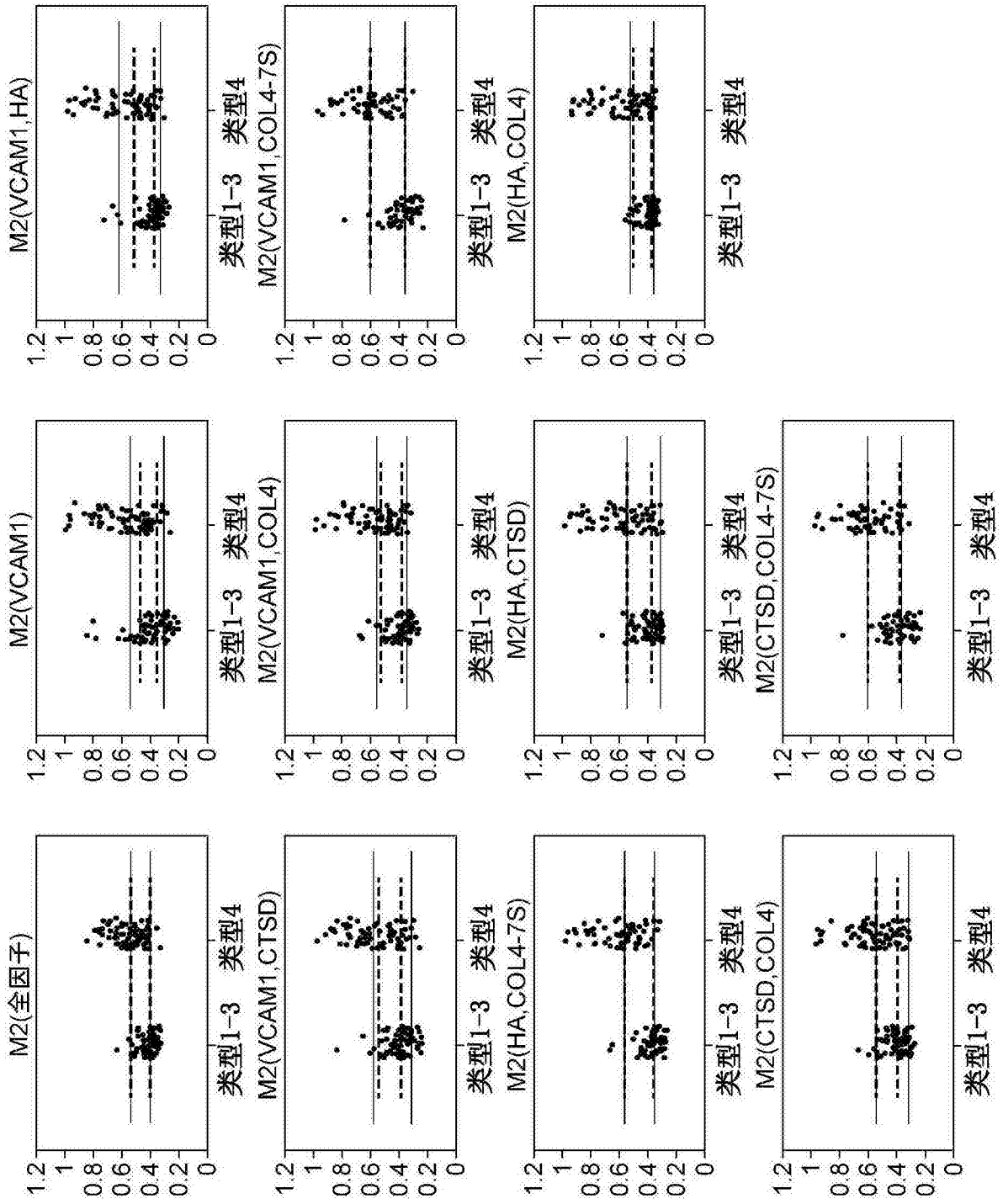


图5-1

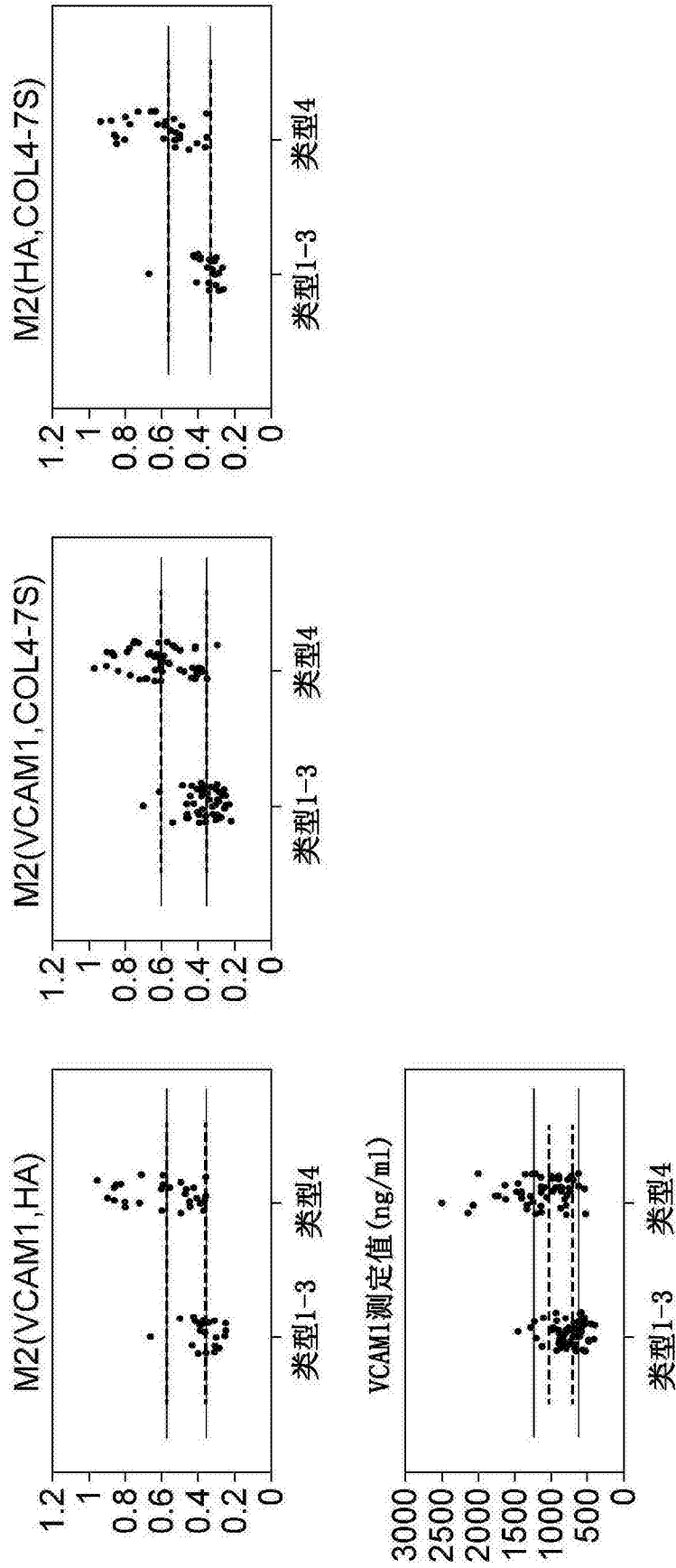


图5-2

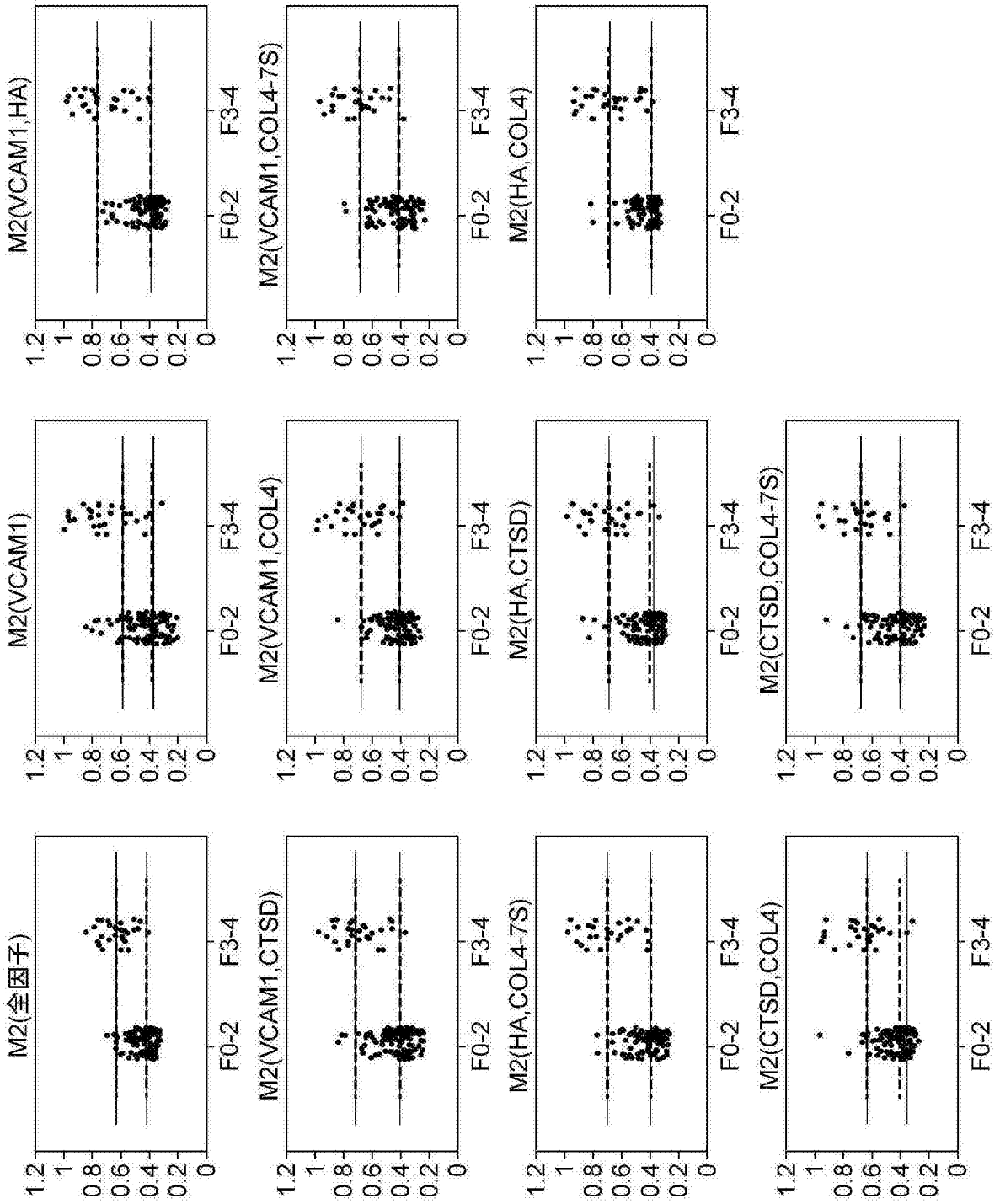


图6-1

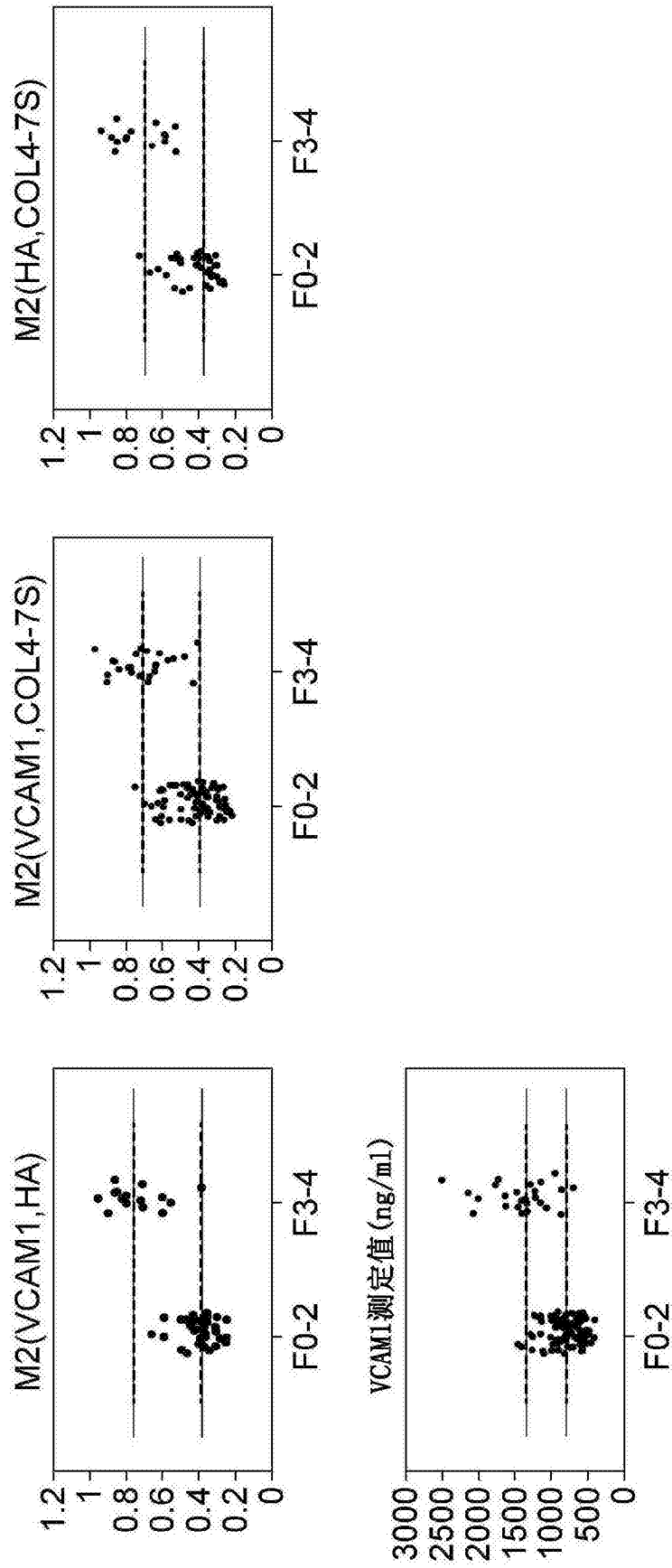


图6-2

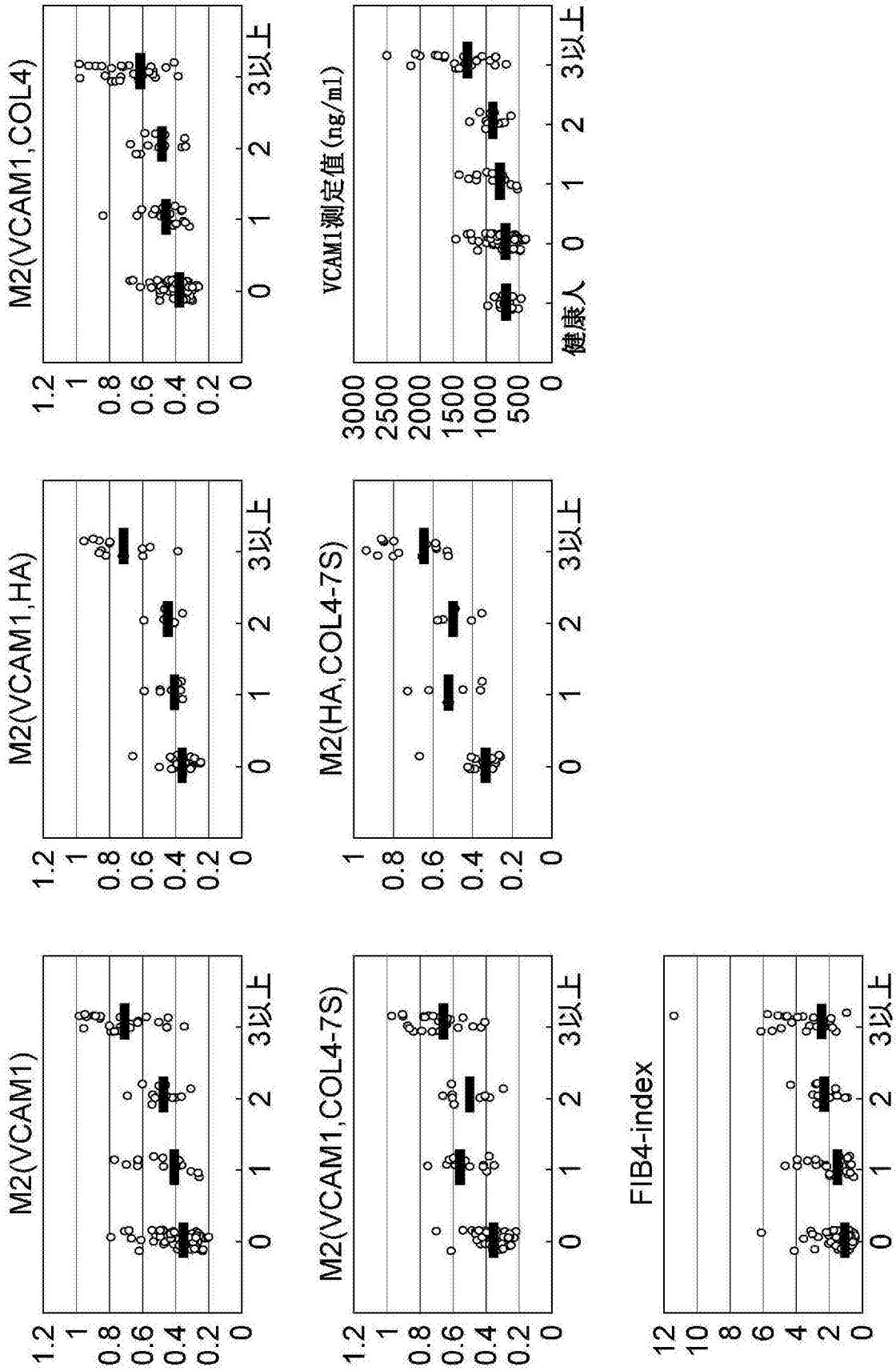


图7

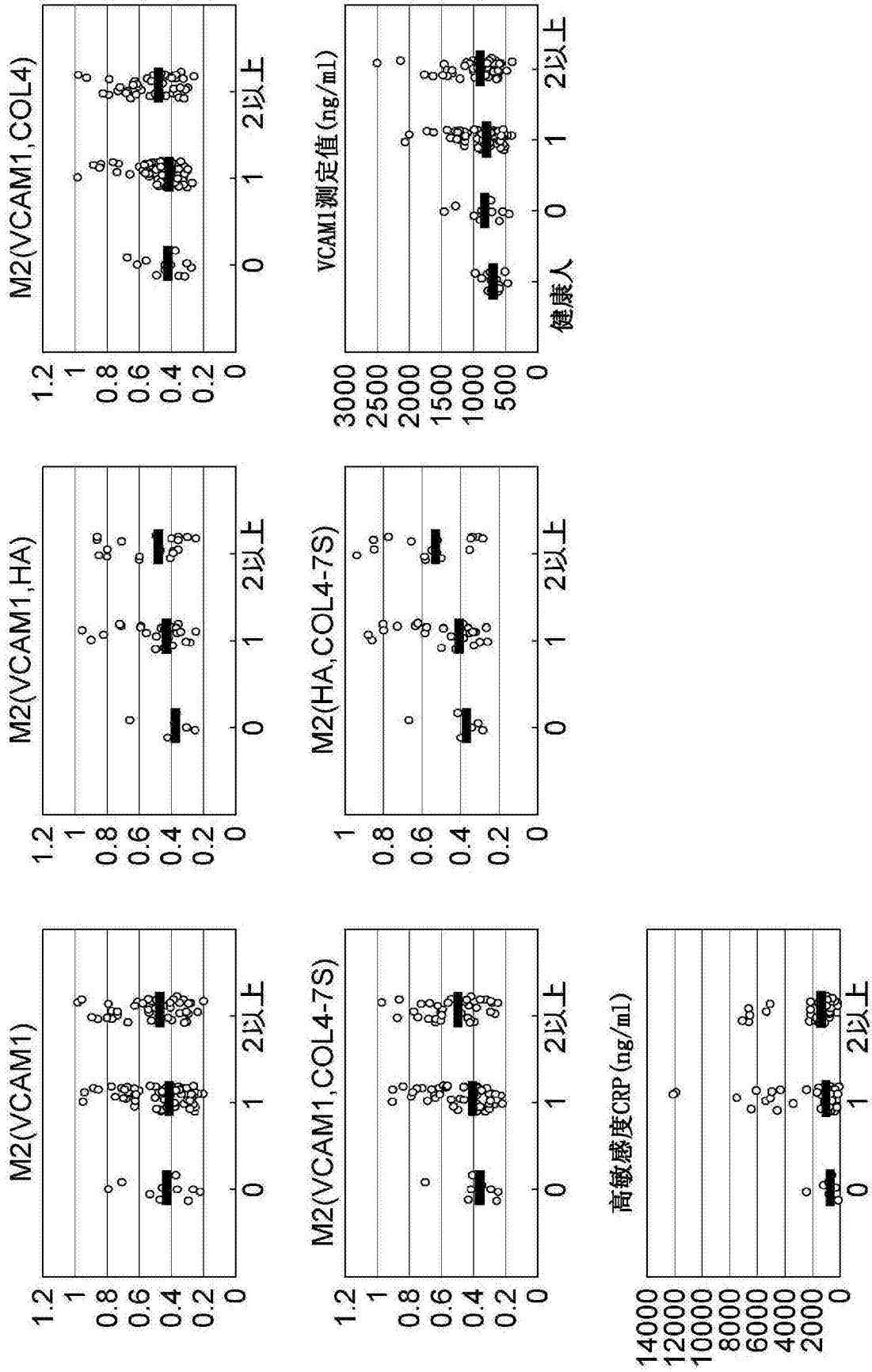


图8

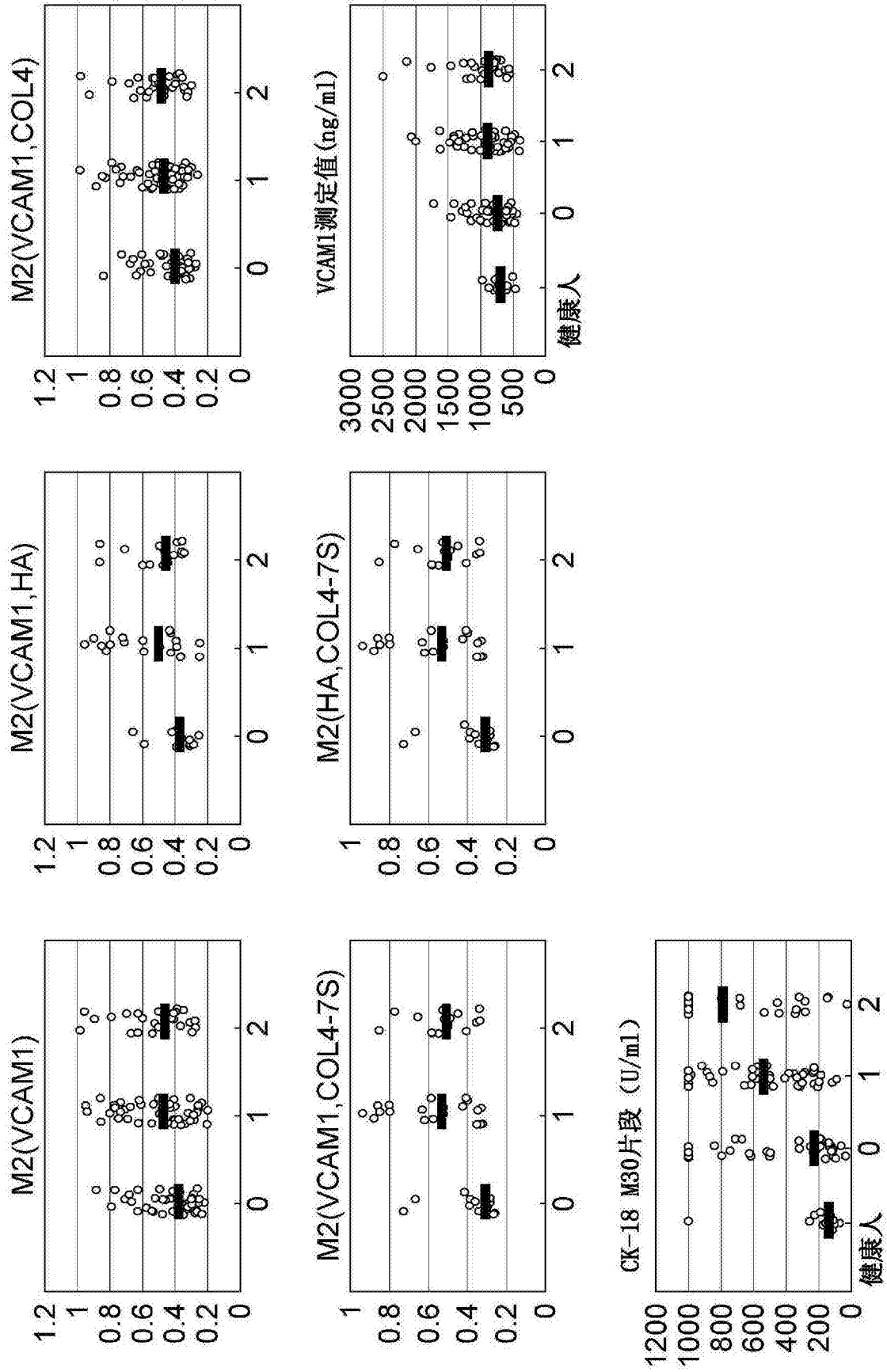


图9

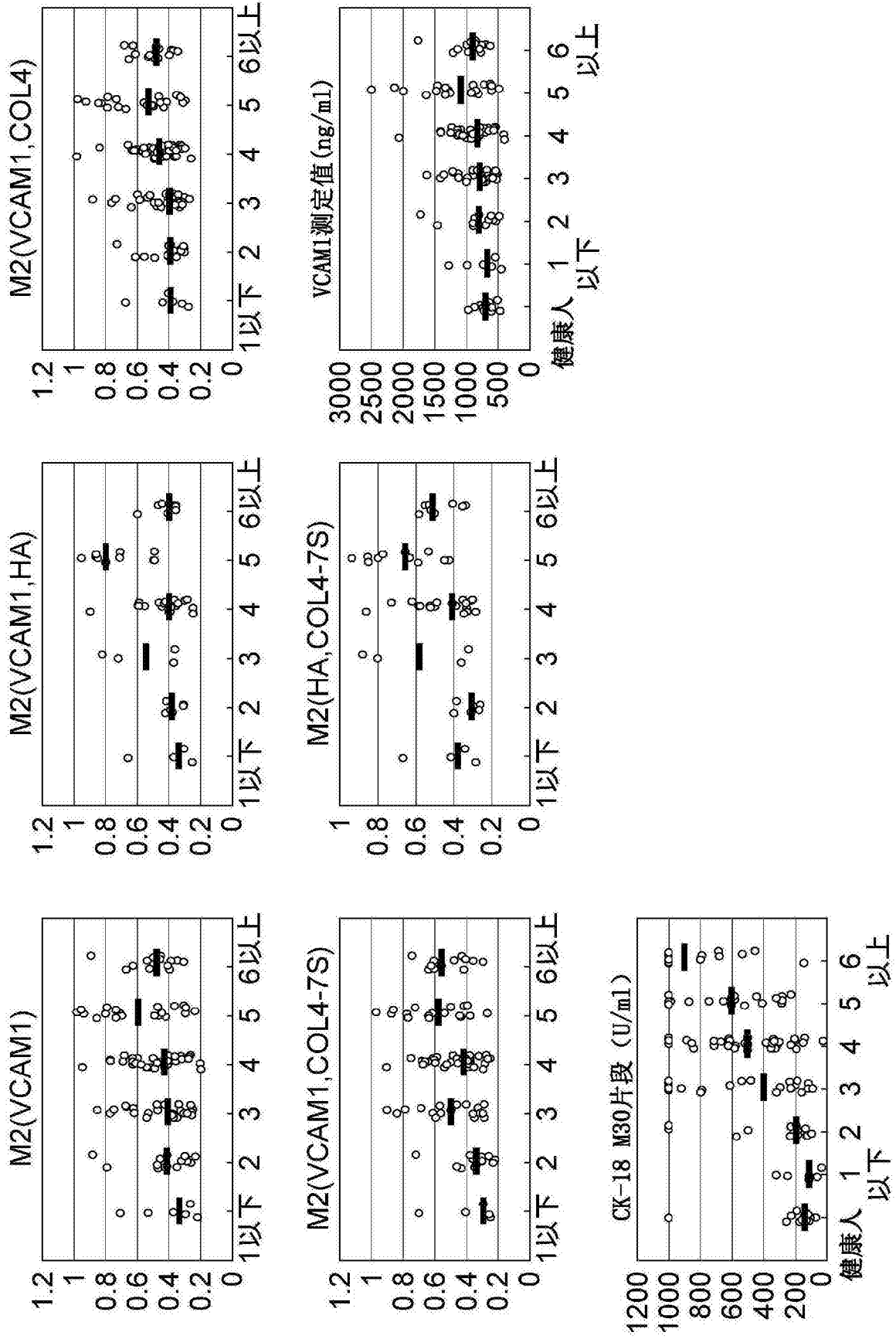


图10

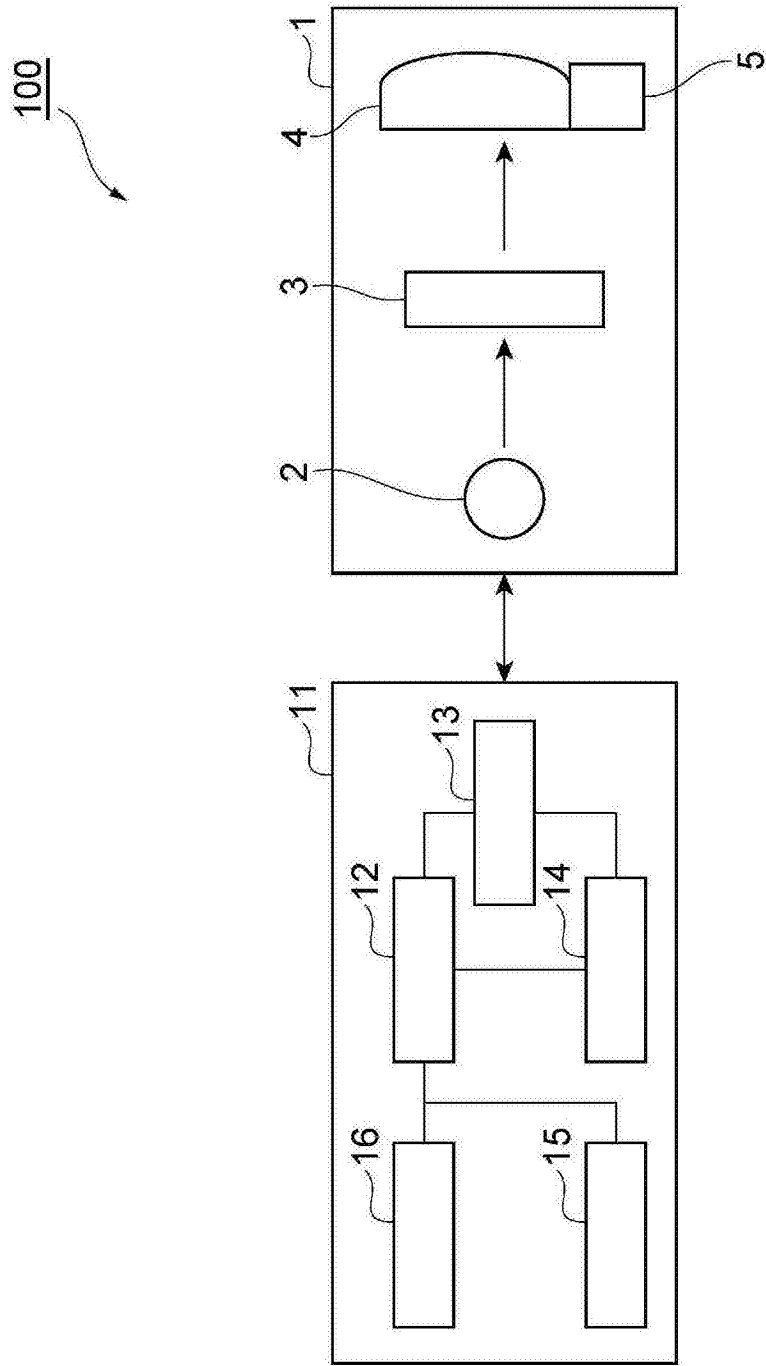


图11

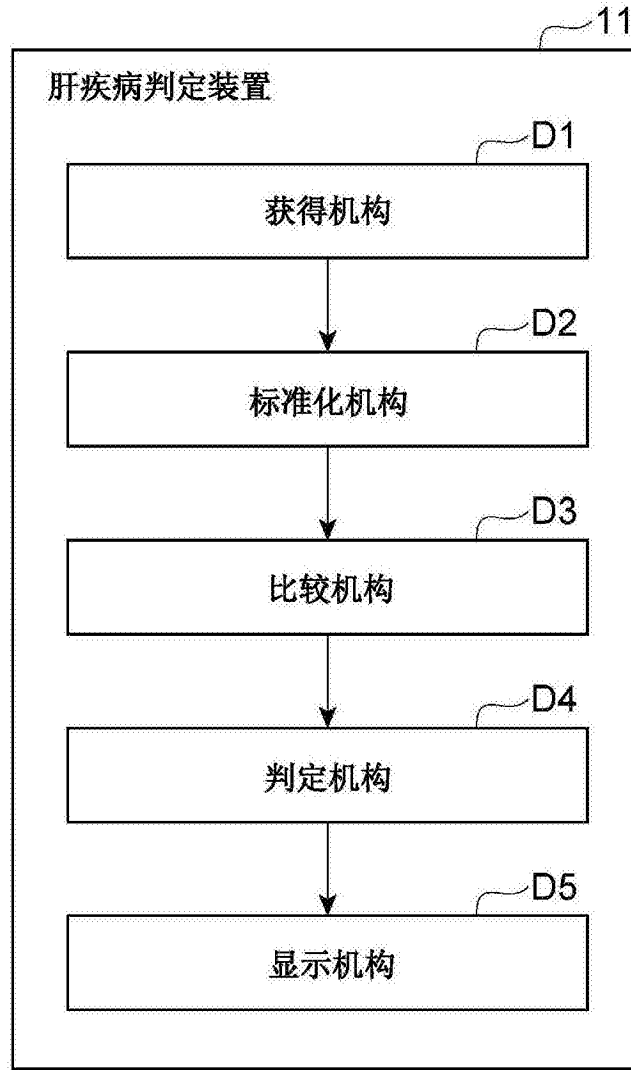


图12

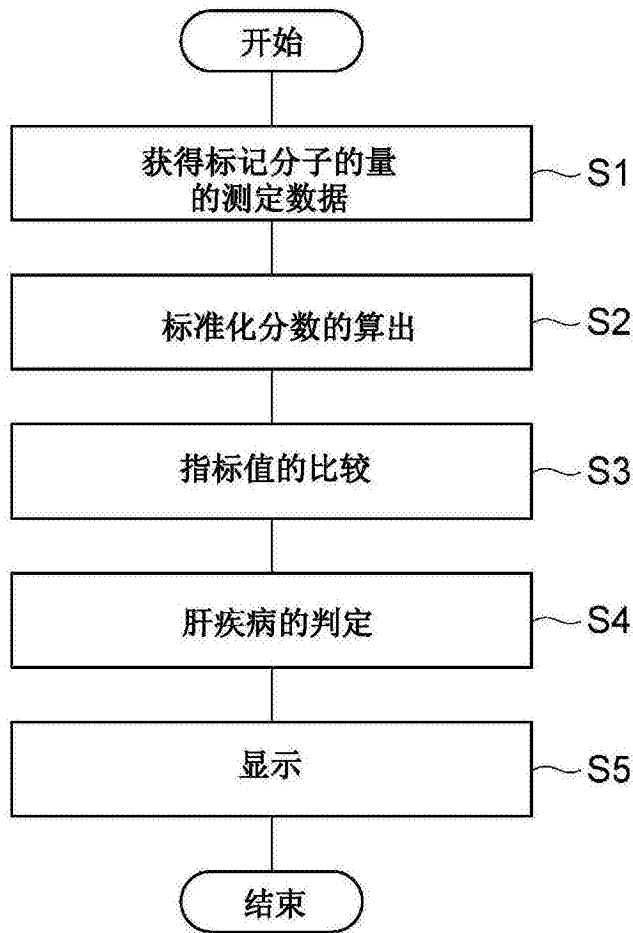


图13

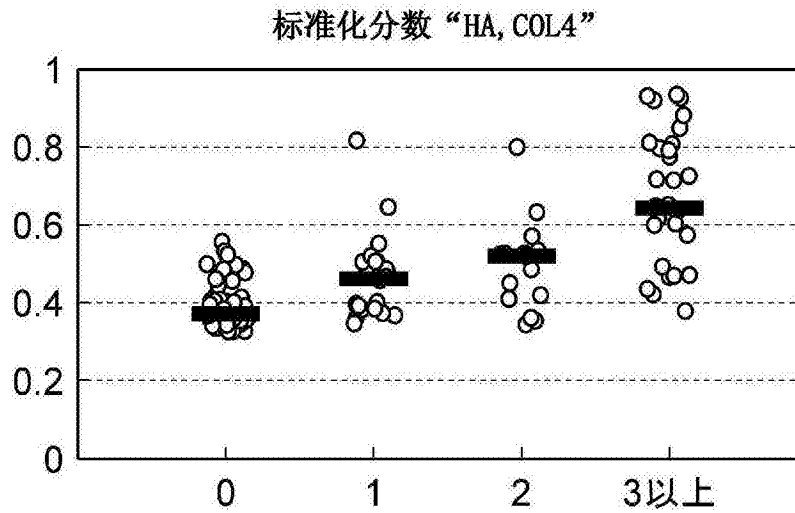


图14

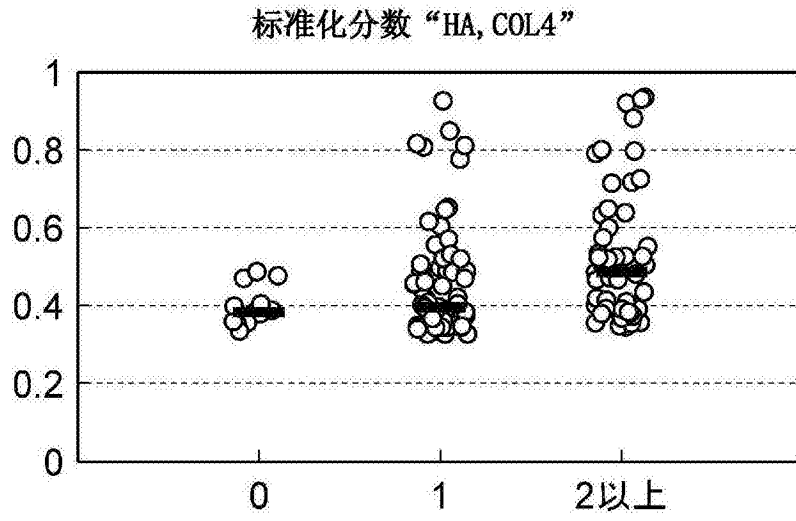


图15

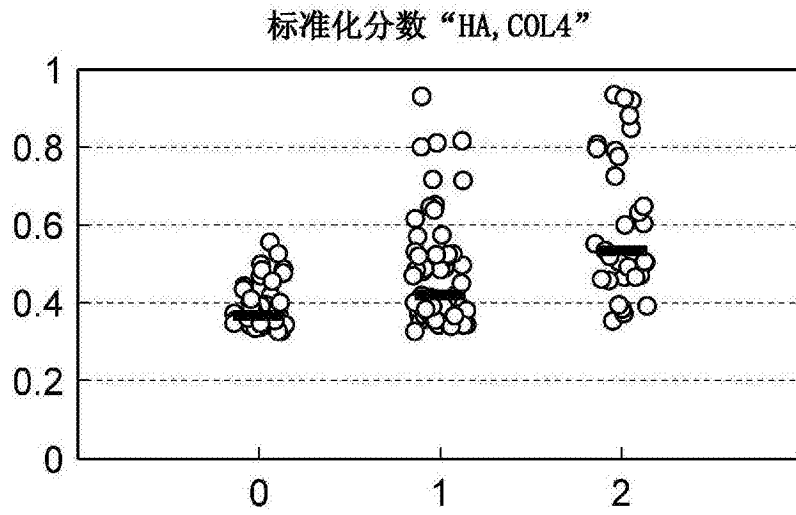


图16

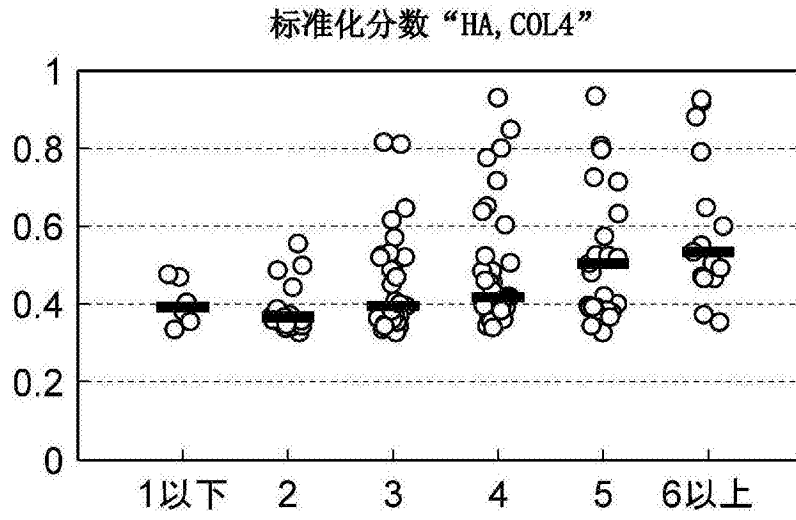


图17

专利名称(译)	判别肝疾病的病态的方法		
公开(公告)号	CN107407682A	公开(公告)日	2017-11-28
申请号	CN201680019641.9	申请日	2016-04-08
申请(专利权)人(译)	大日本住友制药株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	大日本住友制药株式会社		
[标]发明人	冈上武 吉村庆人 岩崎刚之 山崎一人 海老濑速雄 市原准二		
发明人	冈上武 吉村庆人 岩崎刚之 山崎一人 海老濑速雄 市原准二		
IPC分类号	G01N33/68 G01N21/27 G01N33/48 G01N33/483 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N21/27 G01N33/48 G01N33/483 G01N33/492 G01N33/6863 G01N33/6869 G01N33/74 G01N33/743 G01N33/92 G01N2333/70542 G01N2800/085 G01N2800/52 G01N2800/56 G01N2800/60 G01N2800/7052 G16H50/20		
代理人(译)	杨琦 沉娟		
优先权	2015081175 2015-04-10 JP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明在于提供一种非侵袭性且精度更高的判别非酒精性脂肪肝疾病等的肝疾病的病态的方法。一种判别非酒精性脂肪肝(NAFL)与非酒精性脂肪肝炎(NASH)的方法，该方法包括：(1)测定从受试者采集的血液中所包含的标记分子的量的工序，(2)从基于同一组的上述标记分子的量算出的标准化分数求出指标值的工序，和(3)在上述指标值大于基准值时，判定为上述受试者可能患有NASH的工序。

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & \left(\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})\right) \\ -1 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$