



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104285148 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 14

(21) 申请号 201380024024. 4

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 04. 26

G01N 33/53(2006. 01)

(30) 优先权数据

C07K 14/705(2006. 01)

2012-106217 2012. 05. 07 JP

2012-106216 2012. 05. 07 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 11. 07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2013/062352 2013. 04. 26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/168602 JA 2013. 11. 14

(71) 申请人 美迪恩斯生命科技株式会社

地址 日本东京都

申请人 学校法人福岡大学

(72) 发明人 石仓宏恭

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 庞立志 刘力

权利要求书1页 说明书26页

序列表2页 附图37页

(54) 发明名称

检测弥散性血管内凝血或感染性弥散性血管内凝血的方法

(57) 摘要

提供对弥散性血管内凝血(DIC)或感染性DIC的诊断有效的标志物。本发明的DIC的检测方法中,测定试样中的sCD14-ST。本发明的感染性DIC的检测方法中,测定试样中的sCD14-ST和凝血相关标志物。

1. 弥散性血管内凝血的检测方法,其中,测定试样中的 sCD14-ST。
2. 权利要求 1 所述的弥散性血管内凝血的检测方法,其包括:
对采集自疑似弥散性血管内凝血的患者或弥散性血管内凝血患者的试样中的 sCD14-ST 进行测定的步骤;和
在 sCD14-ST 值与非弥散性血管内凝血患者相比为高值时判断为弥散性血管内凝血的步骤。
3. 权利要求 2 所述的方法,其中,在所述判断步骤中,对 sCD14-ST 值和预先确定的阈值进行比较。
4. 权利要求 1 ~ 3 中任一项所述的方法,其中,以免疫学测定方法测定该 sCD14-ST。
5. 权利要求 1 所述的方法,其中,所述弥散性血管内凝血为感染性弥散性血管内凝血,并且除了 sCD14-ST 之外,还进一步测定试样中的凝血相关标志物。
6. 权利要求 5 所述的方法,其包括:
对采集自疑似感染性弥散性血管内凝血的患者或感染性弥散性血管内凝血患者的试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物进行测定的步骤;和
在 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与感染性非弥散性血管内凝血患者相比发生变化时判断为感染性弥散性血管内凝血的步骤。
7. 权利要求 6 所述的方法,其中,在所述判断步骤中,将所测定的 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与各自的预先确定的阈值进行比较。
8. 权利要求 5 ~ 7 中任一项所述的方法,其中,所述凝血相关标志物是选自 D- 二聚体、FDP、凝血酶·抗凝血酶 III 复合物、血小板数目、蛋白 C 中的至少一者。
9. 权利要求 5 ~ 8 中任一项所述的方法,其中,以免疫学测定方法测定该 sCD14-ST。
10. 检测弥散性血管内凝血的试剂盒,该试剂盒包含:
 - (a) sCD14-ST 的特异性抗体;
 - (b) 示出试样中的 sCD14-ST 的量与弥散性血管内凝血的相关的标准数据;
 - (c) 操作说明书。
11. 检测感染性弥散性血管内凝血的试剂盒,该试剂盒包含:
 - (a) sCD14-ST 的特异性抗体;
 - (b) 凝血相关标志物测定用试剂;
 - (c) 示出试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与感染性弥散性血管内凝血的相关的标准数据;
 - (d) 操作说明书。
12. 权利要求 11 所述的试剂盒,其中,所述凝血相关标志物是选自 D- 二聚体、FDP、凝血酶·抗凝血酶 III 复合物、血小板数目、蛋白 C 中的至少一者。

检测弥散性血管内凝血或感染性弥散性血管内凝血的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及检测弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation ;DIC)的方法和实施该方法的试剂盒。此外,本发明还涉及检测感染性弥散性血管内凝血(感染性 DIC)的方法和实施该方法的试剂盒。

背景技术

[0002] 弥散性血管内凝血(DIC)是以消耗性凝血障碍所致的出血倾向、和微小血管内血栓所致的器官障碍为特征的死亡率极高的综合征,早期诊断和早期治疗对于患者的生命维系和预后改善是必不可少的。以往以来,DIC 的诊断中,以厚生劳动省制定的诊断基准为代表,在临床现场进行的是各种凝血及纤溶系分子标志物(例如,可溶性纤维蛋白单体(SF)、D-二聚体(DD)、凝血酶·抗凝血酶 III 复合物(TAT)、胞浆素· α 2 胞浆素抑制剂复合物(PIC))的测定等。另外,还有对厚生劳动省基准进行了修正的 ISTH overt-DIC 诊断基准和急性期 DIC 诊断基准。但是,已知厚生劳动省基准和 ISTH overt-DIC 诊断基准的灵敏度低、急性期 DIC 诊断基准的特异度低。因此,为了进行精度更高的诊断而进行了研究(非专利文献 1),例如,迫切期望发现灵敏度和特异度高的标志物。

[0003] DIC 是与恶性肿瘤、白血病或严重感染症(或严重败血症)等重度基础疾病并发生的疾病。特别地,严重败血症的约 35% 会并发 DIC,若并发 DIC 则死亡率与非 DIC 相比会从 22.2 ~ 26.5% 上升至 40 ~ 46.2%,因而诊断败血症性 DIC 对于改善败血症的预后是非常重要的。

[0004] 由于所有 DIC 中必然存在基础疾病,因而首先进行基础疾病的治疗。例如有针对急性白血病或晚期癌的化学疗法、对败血症具有敏感性的抗生素治疗等。这样,由于基础疾病涉及许多方面,因而把握处于何种病况在选择有效治疗方法上是重要的。即使被诊断为相同的 DIC,若进行错误的治疗,则必然会陷入严重的状态。据报道,在败血症性 DIC 的情形中,对于难以通过基于抗凝血酶制剂的治疗治愈的患者来说,除了抗凝血作用还同时具有抗炎症作用的基因重组血栓调节蛋白制剂使得治疗效果提高(非专利文献 2)。

[0005] 以往,是否为败血症性 DIC 是基于败血症或 DIC 的诊断基准,根据医生的判断来进行诊断。例如,如上所述,DIC 的诊断中,以厚生劳动省制定的诊断基准为代表,在临床现场进行的是各种凝血及纤溶系分子标志物(例如,可溶性纤维蛋白单体(SF)、D-二聚体(DD)、凝血酶·抗凝血酶 III 复合物(TAT)、胞浆素· α 2 胞浆素抑制剂复合物(PIC))的测定等。另外,还有对厚生劳动省基准进行了修正的 ISTH overt-DIC 诊断基准和急性期 DIC 诊断基准。但是,已知厚生劳动省基准和 ISTH overt-DIC 诊断基准的灵敏度低、急性期 DIC 诊断基准的特异度低。

[0006] 另一方面,败血症的诊断中,将血液培养、白细胞数、体温、图像诊断、全身性炎症反应综合征(SIRS)的持续期等血液生化学检查结果等作为指标。此外,作为能够简便地检测败血症的标志物,报道有降钙素原(PCT)和 sCD14-ST。

[0007] 对于败血症而言,公开了试样中的 sCD14-ST 值与正常人相比非常高,因而测定

sCD14-ST 来诊断败血症(非专利文献 3、专利文献 1)。此外,还公开了通过 sCD14-ST 的特异性抗体来对其进行测定(专利文献 1、专利文献 2)。此外,还公开有其早期检测和评价严重程度的方法(专利文献 2、非专利文献 3-5)。如此,已知 sCD14-ST 可精度良好地诊断伴有细菌感染的败血症,但尚无对 DIC 的检测有用的报道。

[0008] 如上所述,还没有能够简便而精度良好地进行败血症性 DIC (或感染性 DIC) 的诊断的标志物的报道,实际情况是医生对于败血症性 DIC (或感染性 DIC) 的诊断煞费苦心,迫切期望这种标志物的发现。

[0009] 现有技术文献

专利文献

专利文献 1:日本专利第 4040666 号说明书

专利文献 2:日本特开 2005-106694 号公报

非专利文献

非专利文献 1:医学进展(医学のあゆみ) 2011;238(1):63-68.

非专利文献 2:医学进展 2011;238(1):114-119.

非专利文献 3:J Infect Chemother 2005;11:234-238.

非专利文献 4:Medical Postgraduates 2010;48:25-27.

非专利文献 5:Therapeutic Reserach 2004;25:1689-1694.

发明内容

[0010] 发明要解决的技术问题

本发明的课题在于提供对弥散性血管内凝血(DIC)或感染性 DIC 的诊断有效的标志物。在疑似感染性 DIC 后,需要迅速地确定对其适合的治疗方针。

[0011] 用于解决问题的方法

在深入研究前述课题的解决方法的过程中,本发明人在临床试验中研究了血液中的 sCD14-ST 的量与弥散性血管内凝血(DIC)的关系,结果发现:sCD14-ST 是针对 DIC 患者以高灵敏度和特异性进行反应的特异性的标志物,可根据其测定值或程度来检测 DIC,从而完成了本发明。特别是出乎意料地发现,无论有无感染,均可检测 DIC。

[0012] 此外,本发明人发现,在疑似感染性弥散性血管内凝血(感染性 DIC)时,通过测定试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物,可以根据其测定值或程度,简便地检测感染性 DIC,并且是可把握其病况的特异性的标志物,从而完成了本发明。

[0013] 本发明涉及:

[1] 弥散性血管内凝血的检测方法,其中,测定试样中的 sCD14-ST;

[2] [1] 的弥散性血管内凝血的检测方法,其包括:

对采集自疑似弥散性血管内凝血的患者或弥散性血管内凝血患者的试样中的 sCD14-ST 进行测定的步骤,和

在 sCD14-ST 值与非弥散性血管内凝血患者相比为高值时判断为弥散性血管内凝血的步骤;

[3][2] 的方法,其中,在所述判断步骤中,对 sCD14-ST 值和预先确定的阈值进行比较;

[4] [1]~[3] 中任一项的方法,其中,以免疫学测定方法测定该 sCD14-ST;

[5] [1] 的方法,其中,所述弥散性血管内凝血为感染性弥散性血管内凝血,并且除了 sCD14-ST 之外,还进一步测定试样中的凝血相关标志物;

[6] [5] 的方法,其包括:

对采集自疑似感染性弥散性血管内凝血的患者或感染性弥散性血管内凝血患者的试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物进行测定的步骤,和

在 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与感染性非弥散性血管内凝血患者相比发生变化时判断为感染性弥散性血管内凝血的步骤;

[7] [6] 的方法,其中,在所述判断步骤中,将所测定的 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与各自的预先确定的阈值进行比较;

[8] [5]~[7] 中任一项的方法,其中,所述凝血相关标志物是选自 D- 二聚体、FDP、凝血酶·抗凝血酶 III 复合物、血小板数目、蛋白 C 中的至少一者;

[9] [5]~[8] 中任一项的方法,其中,以免疫学测定方法测定该 sCD14-ST;

[10] 检测弥散性血管内凝血的试剂盒,该试剂盒包含:

(a) sCD14-ST 的特异性抗体、

(b) 示出试样中的 sCD14-ST 的量与弥散性血管内凝血的相关的标准数据、

(c) 操作说明书;

[11] 检测感染性弥散性血管内凝血的试剂盒,该试剂盒包含:

(a) sCD14-ST 的特异性抗体、

(b) 凝血相关标志物测定用试剂、

(c) 示出试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与感染性弥散性血管内凝血的相关的标准数据、

(d) 操作说明书;

[12] [11] 的试剂盒,其中,所述凝血相关标志物是选自 D- 二聚体、FDP、凝血酶·抗凝血酶 III 复合物、血小板数目、蛋白 C 中的至少一者。

[0014] 本说明书中,“人 sCD14-ST” (作为别称,也称为 Presepsin (注册商标)) 意指日本专利第 4040666 号说明书中记载的“第 1 方式的可溶性 CD14 抗原”,更具体地,是指具有下述 1)~3) 的性质的可溶性 CD14 抗原:

1) 非还原条件下的 SDS-PAGE 中,分子量为 13 ± 2 kDa,

2) N 末端序列具有 SEQ ID NO:1 的氨基酸序列,和

3) 与将 SEQ ID NO:2 记载的由 16 个氨基酸残基组成的肽作为抗原制作的抗体特异性地结合。

[0015] SEQ ID NO:1:

Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp Asp Glu
1 5 10

SEQ ID NO:2:

Arg Val Asp Ala Asp Ala Asp Pro Arg Gln Tyr Ala Asp Thr Val Lys
1 5 10 15

[0016] 本说明书中的“感染”可举出细菌、真菌、寄生虫或病毒等的感染。

[0017] 作为确认感染存在的方法，没有特别限定，除了通常进行的血液培养之外，可举出基因鉴定法(PCR、RT-PCR等)、图像诊断、超声波诊断、内窥镜检查、活检等(Am J Infect Control 1988;16:128-140)。

[0018] 本发明书中的“感染症”是指以微生物对正常组织的侵袭或针对其存在的炎症反应为特征的现象(Chest 1992;101(6):1644-1655)。引起感染症的病原体可举出细菌、真菌、寄生虫或病毒。菌血症、败血症、重症败血症和败血症性休克均包含在“感染症”中。菌血症是活菌存在于血液中的状态(细菌感染症 最新内科学大系 第27卷 1994:69-84)。败血症是由感染引起的全身性炎症反应综合征(SIRS)，是细菌、真菌等微生物及其代谢产物持续性地从体内的感染病灶转移至血液中的状态。

[0019] 本说明书中的“败血症”是指由感染引起的全身性炎症反应综合征(SIRS)。即，是感染症波及全身、且非常严重的状态，若无治疗则有时还会由休克、DIC、多器官功能衰竭等而导致死亡。“败血症”的诊断是指除了上述感染的存在之外，还满足，例如，全身性炎症反应综合征(SIRS)诊断项目即以下4项中的2项以上的状态(Chest 1992;101(6):1644-1655)：

- 1) 体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ 或 $< 36^{\circ}\text{C}$
- 2) 心率 > 90 次 / 分钟
- 3) 呼吸数 > 20 次 / 分钟或 $\text{PaCO}_2 > 32$ 托
- 4) 白细胞数 > 12000 、 $< 4000/\text{mm}^3$ 或未成熟型白细胞 $> 10\%$ 。

[0020] 本说明书中的“感染性DIC”是指具有感染症(或败血症)作为基础疾病的弥散性血管内凝血(DIC)。例如，据称重症败血症的约35%会并发DIC。在以往方法中，“感染性DIC”(或“败血症性DIC”)的诊断是医生依据上述感染症(或败血症)的诊断基准和DIC的诊断基准进行综合性判断来把握其病况。

[0021] 此外，其治疗方法是各种病况的对症疗法，例如，将抗菌剂等适宜用于感染症(或败血症)的治疗，和将抗凝血剂等适宜用于DIC的治疗。

[0022] 发明效果

根据本发明方法，可以迅速而精度良好地检测弥散性血管内凝血(DIC)或感染性DIC的发病，可以确定适合的治疗方针。

[0023] 此外，本发明的试剂盒可用于本发明的方法。

附图说明

[0024] [图1]是示出下述结果的图，即，将临床试验中登记的患者(49名)依照急性期DIC诊断基准分类为DIC组(23例)和非DIC组(26例)，对于入院时采集的样本的sCD14-ST值、降钙素原(PCT)值、白介素-6(IL-6)值，分别通过ROC分析对DIC检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0025] [图2]是示出下述结果的图，即，关于与图1进行了相同分类的患者，对于入院时采集的样本的C反应性蛋白(CRP)值、D-二聚体值、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)值，分别通过ROC分析对DIC检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0026] [图3]是示出下述结果的图，即，将临床试验中登记的患者(49名)依照厚生劳动省DIC诊断基准分类为DIC组(23例)和非DIC组(26例)，对于入院时采集的样本的

sCD14-ST 值、降钙素原(PCT) 值、白介素 -6 (IL-6) 值, 分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0027] [图 4] 是示出下述结果的图, 即, 关于与图 3 进行了相同分类的患者, 对于入院时采集的样本的 C 反应性蛋白(CRP) 值、D- 二聚体值、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP) 值, 分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0028] [图 5] 是示出下述结果的图, 即, 将临床试验中登记的患者(49 名) 依照 ISTH overt-DIC 诊断基准分类为 DIC 组(23 例) 和非 DIC 组(26 例), 对于入院时采集的样本的 sCD14-ST 值、降钙素原(PCT) 值、白介素 -6 (IL-6) 值, 分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0029] [图 6] 是示出下述结果的图, 即, 关于与图 5 进行了相同分类的患者, 对于入院时采集的样本的 C 反应性蛋白(CRP) 值、D- 二聚体值、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP) 值, 分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0030] [图 7] 是根据实施例 2 的以急性期 DIC 基准进行的 ROC 分析的结果示出 sCD14-ST 的临床灵敏度和特异度的图。横轴表示 sCD14-ST 值, 纵轴表示灵敏度或特异度。

[0031] [图 8] 是根据实施例 3 的以厚生劳动省 DIC 基准进行的 ROC 分析的结果示出 sCD14-ST 的临床灵敏度和特异度的图。横轴表示 sCD14-ST 值, 纵轴表示灵敏度或特异度。

[0032] [图 9] 是根据实施例 2 的以急性期 DIC 基准进行的 ROC 分析的结果示出 D- 二聚体的临床灵敏度和特异度的图。横轴表示 D- 二聚体值, 纵轴表示灵敏度或特异度。

[0033] [图 10] 是根据实施例 3 的以厚生劳动省 DIC 基准进行的 ROC 分析的结果示出 D- 二聚体的临床灵敏度和特异度的图。横轴表示 D- 二聚体值, 纵轴表示灵敏度或特异度。

[0034] [图 11] 是根据实施例 2 的以急性期 DIC 基准进行的 ROC 分析的结果示出纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP) 的临床灵敏度和特异度的图。横轴表示 FDP 值, 纵轴表示灵敏度或特异度。

[0035] [图 12] 是根据实施例 3 的以厚生劳动省 DIC 基准进行的 ROC 分析的结果示出纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP) 的临床灵敏度和特异度的图。横轴表示 FDP 值, 纵轴表示灵敏度或特异度。

[0036] [图 13] 是示出下述结果的图, 即, 以临床试验中登记的患者(49 名) 中为非感染的 SIRS 或非感染性疾病的病例 13 例为对象, 依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(4 例) 和非 DIC 组(9 例), 对于入院时采集的样本的 sCD14-ST 值、降钙素原(PCT) 值、白介素 -6 (IL-6) 值, 分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0037] [图 14] 是示出下述结果的图, 即, 关于与图 13 进行了相同分类的患者, 对于入院时采集的样本的 C 反应性蛋白(CRP) 值、D- 二聚体值、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP) 值, 分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0038] [图 15] 是示出下述结果的盒须图, 即, 以临床试验中登记的患者(49 名) 中的伴有感染的败血症、重症败血症、败血症性休克或感染性疾病的病例 33 例为对象, 求出 DIC 评分的同时测定 sCD14-ST, 以 DIC 评分分类, 对 sCD14-ST 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0039] [图 16] 是示出下述结果的盒须图, 即, 以与图 15 相同的病例 33 例为对象, 求出 DIC 评分的同时测定降钙素原(PCT), 以 DIC 评分分类, 对 PCT 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0040] [图 17] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 15 相同的病例 33 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定 C 反应性蛋白(CRP),以 DIC 评分分类,对 CRP 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0041] [图 18] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 15 相同的病例 33 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定白介素 -6 (IL-6),以 DIC 评分分类,对 IL-6 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0042] [图 19] 是示出下述结果的图,即将临床试验中登记的患者(49 名)分类为非感染组(SIRS 和非感染性疾病) 13 例和感染组(败血症、重症败血症、败血症性休克和感染性疾病) 36 例,通过 ROC 分析,对感染症检测中的 sCD14-ST 值的有用性进行评价的结果。

[0043] [图 20] 是示出下述结果的图,即以临床试验中登记的患者(49 名)中伴有感染的败血症、重症败血症、败血症性休克或感染性疾病的病例 36 例为对象,依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(19 例)和非 DIC 组(17 例),通过 ROC 分析对感染性 DIC 检测中的 sCD14-ST 值的有用性进行评价的结果。

[0044] [图 21] 是示出下述结果的盒须图,即以临床试验中登记的患者(49 名)中的伴有感染的败血症、重症败血症、败血症性休克或感染性疾病的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定 D-二聚体,以 DIC 评分分类,对 D-二聚体的测定值分布进行比较得到的结果。

[0045] [图 22] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP),以 DIC 评分分类,对 FDP 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0046] [图 23] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定血小板(Plt),以 DIC 评分分类,对血小板的测定值分布进行比较得到的结果。

[0047] [图 24] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定凝血酶原时间(PT)(秒),以 DIC 评分分类,对 PT(秒)的测定值分布进行比较得到的结果。

[0048] [图 25] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定凝血酶原时间(PT)(%),以 DIC 评分分类,对 PT(%)的测定值分布进行比较得到的结果。

[0049] [图 26] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定 INR 值,以 DIC 评分分类,对 INR 值的测定值分布进行比较得到的结果。

[0050] [图 27] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定活化部分凝血活酶时间(APTT),以 DIC 评分分类,对 APTT 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0051] [图 28] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定纤维蛋白原(FIB),以 DIC 评分分类,对纤维蛋白原的测定值分布进行比较得到的结果。

[0052] [图 29] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的病例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定抗凝血酶 III(ATIII),以 DIC 评分分类,对抗凝血酶 III 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0053] [图 30] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的症例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定乳酸(Lact),以 DIC 评分分类,对乳酸的测定值分布进行比较得到的结果。

[0054] [图 31] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的症例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定凝血酶·抗凝血酶 III 复合物(TAT),以 DIC 评分分类,对 TAT 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0055] [图 32] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的症例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定胞浆素· α 2 胞浆素抑制剂复合物(PIC),以 DIC 评分分类,对 PIC 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0056] [图 33] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的症例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定蛋白 C(PC),以 DIC 评分分类,对蛋白 C 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0057] [图 34] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的症例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定血栓调节蛋白(TM),以 DIC 评分分类,对血栓调节蛋白的测定值分布进行比较得到的结果。

[0058] [图 35] 是示出下述结果的盒须图,即以与图 21 相同的症例 26 例为对象,求出 DIC 评分的同时测定组织纤溶酶原激活剂(tPA)·纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1)复合物(Total PAI-1),以 DIC 评分分类,对 Total PAI-1 的测定值分布进行比较得到的结果。

[0059] [图 36] 是示出下述结果的图,即以临床试验中登记的患者(49 名)中为非感染的 SIRS 或非感染性疾病的症例 13 例为对象,依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(4 例)和非 DIC 组(9 例),对于入院时采集的样本的 sCD14-ST 值、降钙素原(PCT)值、白介素-6(IL-6)值,分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

[0060] [图 37] 是示出下述结果的图,即,关于与图 36 进行了相同分类的患者,对于入院时采集的样本的 C 反应性蛋白(CRP)值、D-二聚体值、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)值,分别通过 ROC 分析对 DIC 检测中的有用性进行比较得到的结果。

具体实施方式

[0061] 本发明的检测方法(以下称为本发明方法)中,测定从被检对象,特别是从疑似弥散性血管内凝血(DIC)的患者或 DIC 患者采集的试样中的 sCD14-ST。此外,本发明方法中对感染性 DIC 进行检测时,测定从疑似感染性弥散性血管内凝血(感染性 DIC)的患者或感染性 DIC 患者采集的试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物。

[0062] 本发明中可使用的凝血相关标志物为例如:D-二聚体、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)、血小板数目(P1t)、凝血酶原时间(PT)、INR 值、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、抗凝血酶 III(ATIII)(定量·活性)、乳酸(Lact)、凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)、 α 2 胞浆素抑制剂·胞浆素复合物(PIC)、蛋白 C(PC、定量·活性)、血栓调节蛋白(TM)、和组织纤溶酶原激活剂(tPA)·纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1)复合物(Total PAI-1)、纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1)、可溶性纤维蛋白(SF)、E-选择素等,优选为 D-二聚体、FDP、TAT、血小板数目、PC。

[0063] sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定方法本身是公知的,也可以使用市售的测定试

剂、测定装置。作为蛋白质的各种公知分析方法,可通过例如,使用抗体的免疫学分析方法、电泳等生化分析方法来实施,也可以使用临床检查用的自动分析仪。利用 RNA 适体等与抗体具有类似性质的物质的分析方法也是本发明的一部分。

[0064] 例如,日本专利第 4040666 号说明书中公开了人 sCD14-ST 的测定方法,更具体地,公开了使用了下述组合的夹心 EIA 体系,即以 SEQ ID NO:2 记载的由 16 个氨基酸残基组成的肽(日本专利第 4040666 号说明书记载的 S68 肽)作为抗原制作的多克隆抗体(S68 抗体)、单克隆抗体(F1146-17-2 抗体)、与抗 CD14 抗原单克隆抗体(例如, F1031-8-3 抗体、F1106-13-3 抗体等)的组合(日本专利第 4040666 号说明书的实施例 7-(1)),可以适用于本发明方法。

[0065] 此外,如后述实施例所示,对于 sCD14-ST 的测定试剂,还可通过使用了磁性粒子的化学发光酶联免疫测定法,使用自动化学发光免疫测定装置(PATHFAST ;三菱化学メデイエンス社)。

[0066] 作为本发明方法中使用的试样,只要 sCD14-ST (根据期望,凝血相关标志物)的测定能够进行,则没有特别限定,可使用例如血液试样(例如,全血、血浆、血清)。只要是本领域技术人员即可适宜选择使用。

[0067] 本发明方法中,将试样中的 sCD14-ST 浓度的上升作为 DIC 的指标。例如,如后述实施例所示, DIC 患者中, sCD14-ST 值显著性地变高。具体地,如实施例 5、实施例 8 所示, sCD14-ST 的截断值(阈值)为 1100pg/mL 的高值,可以用其以高的灵敏度、特异度来判断 DIC。如此,本发明方法中,在 sCD14-ST 值显示高值时,可以判定发生了 DIC。另一方面, sCD14-ST 值显示低值时,可以判定未发生 DIC。例如,试样中的 sCD14-ST 浓度较正常人、非 DIC 患者的分位数(例如,中位值)越高,则越可判定发生了 DIC。此外,还可通过 Cox 回归、逻辑回归等统计学方法来进行。判定用的基准可以使用预先准备的“阈值”。

[0068] 本发明方法中,预计检测 DIC 用的 sCD14-ST 浓度的阈值会根据各种条件,例如,性别、年龄等而发生变化,只要是本领域技术人员,即可适宜选择与受试者对应的适当的总体,使用由该总体得到的数据进行统计学处理,由此确定判定用阈值。作为前述总体,可以选择正常人组、非 DIC 组、DIC 组的各病况的种类组等。在后述实施例 5 中,根据非 DIC 组、DIC 组的 ROC 分析,确定了 1100pg/mL 的最适截断值。本发明方法中,通过确定判定用阈值,并对试样中的 sCD14-ST 浓度的测定值与判定用阈值进行比较,从而可不需要医生的判断而自动地进行 DIC 的检测。

[0069] 用于检测 DIC 的截断值优选根据 DIC 组和非 DIC 组的分布来适宜设定。具体可举出 150 ~ 10000pg/mL、优选 250 ~ 5000pg/mL、更优选 500 ~ 2300pg/mL。只要是本领域技术人员,即可在该范围内适当地设定 1 点的截断值而不需过度试错。

[0070] 此外,本发明方法中,将试样中的 sCD14-ST 值和凝血相关标志物值的上升或降低作为感染性 DIC 的指标。例如,如后述实施例 11 和实施例 14 所示,患有感染性 DIC 时, sCD14-ST 值、D-二聚体值、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)值、凝血酶原时间(PT(秒))值、INR 值、乳酸值、凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)值、 α 2 胞浆素抑制剂·胞浆素复合物(PIC 值)、血栓调节蛋白(TM 值)、组织纤溶酶原激活剂(tPA)·纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1)复合物(total PAI-1)值变高,另一方面,血小板(Plt)数值、PT(%)值、活化部分凝血活酶时间(APTT)值、纤维蛋白原(FIB)值、抗凝血酶 III (AtIII)值(%)、蛋白 C(PC)

值(%)变低。特别优选组合 sCD14-ST 与前述凝血相关标志物来作为指标,进一步优选可组合 sCD14-ST 与选自 D-二聚体、FDP、TAT、血小板数目、PC 中的至少一种凝血相关标志物来使用。此外,还可将多种败血症标志物或凝血相关标志物组合使用。

[0071] 例如, sCD14-ST 为高值, D-二聚体、FDP 或 TAT 为高值或者血小板数目或 PC 值为低值时,可判定为发生了感染性 DIC, sCD14-ST 为低值、或者 D-二聚体、FDP 或 TAT 为低值或血小板数目或 PC 值为高值时,可判定为未发生感染性 DIC。高值或低值可通过各值与正常人、感染性非 DIC 等的分位数(例如,中央值)进行比较来表示。比较可通过 Cox 回归、逻辑回归等统计学方法来进行。判定用的基准可以使用预先准备的“阈值”。

[0072] 本发明方法中,预计检测感染性 DIC 用的 sCD14-ST 浓度和凝血相关标志物的测定值的阈值会根据各种条件,例如,性别、年龄等而发生变化,只要是本领域技术人员,即可适宜选择与受试者对应的适当的总体,对由该总体得到的数据进行统计学处理,而确定判定用阈值。作为前述总体,可以选自正常人组、DIC 组、非 DIC 组、非感染组、感染组、SIRS 组、败血症组、重症败血症组、败血症性休克组、败血症的各病况重症度组、败血症的各病况的种类组、感染性 DIC 组、感染性非 DIC 组等。sCD14-ST 值如后述实施例 13 所示,确定了 900 ~ 1000pg/mL 的最适截断值。此外,如后述实施例 15 所示,可确定 D-二聚体值为 6.18 μ g/mL 或 10 μ g/mL、FDP 值为 25 μ g/mL 或 35 μ g/mL、TAT 值为 10ng/mL 或 26ng/mL、血小板值为 12×10^4 个/ μ L 的最适截断值,如实施例 20 所示,可确定 PC 值为 45% 或 55% 的最适截断值。本发明方法中,通过确定判定用阈值,并将试样中的 sCD14-ST 浓度的测定值和凝血相关标志物的测定值与判定用阈值进行比较,从而可不需要医生的判断而自动地进行感染性 DIC 的检测。

[0073] 用于检测感染性 DIC 的截断值优选根据感染性 DIC 组和感染性非 DIC 组的分布来适宜设定。例如,作为 sCD14-ST 值,可举出 150 ~ 10000pg/mL、优选 250 ~ 5000pg/mL、更优选 500 ~ 2300pg/mL。只要是本领域技术人员,即可在该范围内适当地设定 1 点的截断值而不需过度试错。

[0074] 本发明方法中,样本的采集时期优选为 DIC 或感染性 DIC 的疑似发生的阶段、进行了治疗之后等。通过经时性地采集并进行测定,可以适当地把握病况的变化。

[0075] 本发明的 DIC 检测用试剂盒可以用于实施本发明方法,其包含:

- (a) sCD14-ST 的特异性抗体、
- (b) 示出试样中的 sCD14-ST 的量与 DIC 的相关的标准数据、
- (c) 操作说明书。

[0076] 此外,本发明的感染性 DIC 检测用试剂盒可用于实施本发明方法,其包含:

- (a) sCD14-ST 的特异性抗体、
- (b) 凝血相关标志物测定用试剂、
- (c) 示出试样中的 sCD14-ST 和凝血相关标志物的测定值与感染性 DIC 的相关的标准数据、
- (d) 操作说明书。

[0077] 本发明的试剂盒中所用的前述抗体还可以是单克隆抗体或多克隆抗体中的任一者。此外,作为保持对 sCD14-ST 的特异性结合能力的抗体片段,例如, Fab、Fab'、F(ab')₂、或 Fv,也可以用于试剂盒。

[0078] 进而,前述抗体可以以其原本的状态用于试剂盒,也可以基于所利用的免疫学方法,以适于该方法的形态,例如,若利用胶乳凝集免疫测定法,则以固定于胶乳载体的状态;若采用利用磁性粒子等的高灵敏度测定法,则以固定于磁性粒子的状态;若为免疫层析色谱法等利用基板的方法,则以固定于基板的状态;若需要利用标记物质(例如,酶、荧光物质、化学发光物质、放射性同位素、生物素、抗生物素蛋白)的标记,则以进行了标记的状态用于试剂盒。

[0079] 对于可用于本发明的试剂盒的凝血相关标志物测定用试剂,只要是本领域技术人员,即可适宜组合公知的试剂使用。

[0080] 本发明的DIC检测用试剂盒中所含的前述标准数据只要是示出试样中的sCD14-ST的量与DIC的相关的数据,则没有特别限定,可举出例如,判定用阈值、或用于算出判定用阈值的原始数据或统计处理数据等。此外,本发明的感染性DIC检测用试剂盒中所含的前述标准数据只要是示出试样中的sCD14-ST和凝血相关标志物的测定值与感染性DIC的相关的数据,则没有特别限定,可举出例如,判定用阈值、或用于算出判定用阈值的原始数据或统计处理数据等。该标准数据可以记载于前述操作说明书中,也可以另外以数据单的形式附上。此外,所附文件的形态还包括:纸、CD-ROM等电子介质、来自网页等的下载。

[0081] 此外,本发明的DIC检测用试剂盒中所含的前述操作说明书只要至少提及试样中的sCD14-ST的量与DIC的关系,则没有特别限定,除了前述提及之外,还可包含例如:使用本发明的试剂盒的免疫学测定的实施程序相关的说明、基于所得测定值来检测DIC的程序相关的说明、试剂盒自身的保存·操作等相关的注意事项等。此外,本发明的感染性DIC检测用试剂盒中所含的前述操作说明书只要至少提及试样中的sCD14-ST和凝血相关标志物的测定值与感染性DIC的关系,则没有特别限定,除了前述提及之外,还可包含例如:使用本发明的试剂盒的免疫学测定的实施程序相关的说明、基于所得测定值来预测预后的程序相关的说明、试剂盒自身的保存·操作等相关的注意事项等。

实施例

[0082] 以下,通过实施例对本发明进行具体说明,但它们并不限定本发明的范围。

[0083] 试验对象 1

实施例 1 ~ 15、比较例 1、参考例 1 以下述作为试验对象。

[0084] 以在 1 设施的临床现场一定期间登记的急救患者作为对象来进行。应予说明,该试验是获得了伦理委员会的批准而进行的。试验中登记的患者是急救医院入院的 18 岁以上的男女、且在满足以下 4 项中的 1 项以上时作为对象,

- 1) 体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ 或 $< 36^{\circ}\text{C}$
- 2) 心率 > 90 次 / 分钟
- 3) 呼吸数 > 20 次 / 分钟或 $\text{PaCO}_2 > 32$ 托
- 4) 白细胞数 > 12000 、 $< 4000/\text{mm}^3$ 或未成熟型白细胞 $> 10\%$ 。

[0085] 该试验中登记的症例总计为 49 例,如下述实施例所示,依照各 DIC 诊断基准,分类为 DIC 患者组和非 DIC 患者组。

[0086] 此外,另外如下所示分类基础疾病的有无。未伴有感染症的全身性炎症反应综合征(SIRS)9 例、败血症 6 例、重症败血症 12 例、败血症性休克 10 例、非感染性疾病(感染症、

SIRS 均不符合的状态) 4 例、感染性疾病(虽然是感染症但不伴有 SIRS 的状态) 8 例。

[0087] 各患者的 DIC 的判定使用 3 种 DIC 诊断基准, 即, 急性期 DIC 诊断基准、厚生劳动省 DIC 诊断基准、ISTH overt-DIC 诊断基准来实施。以下, 示出各诊断基准的定义。

[0088] [表 1]

急性期 DIC 诊断基准

评分	SIRS	血小板 (mm ³)	PT 比	FDP (μg/mL)
0	0-2	12万≤	<1.2	<10
1	3项以上阳性	8万≤ <12万 或在24小时以内减少30%以上	1.2≤	10≤ <25
2	—	—	—	—
3	—	<8万或在24小时以内 减少50%以上		25≤
将4分以上判定为DIC				

注意

- 1) 血小板数目减少在计算出评分的前后任意 24 小时以内均可能。
- 2) 凝血酶原时间(PT)比(样本 PT 秒 / 正常对照值) ISI = 1.0 的情形等同于 INR。各设施中, 可以使用相当于 PT 比 1.2 的秒数的延长或活性值的降低。
- 3) 作为纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的替代, 还可使用 D-二聚体。根据各设施的测定试剂盒, 使用附表的换算表。

[0089] [表 2]

厚生劳动省 DIC 诊断基准

	造血器官肿瘤(+)	造血器官肿瘤(-)
基础疾病 临床症状	基础疾病: 1分(有) 器官症状: 1分(有)	基础疾病: 1分(有) 出血症状: 1分(有) 器官症状: 1分(有)
血小板 ($\times 10^3$ 个/ μ L)		80~120: 1分 50~80: 2分 50>: 3分
血清FDP (μ g/mL)		10~20: 1分 20~40: 2分 40<: 3分
纤维蛋白原 (FIB)		100~150mg/dL: 1分 100mg/dL>: 2分
PT		PT比 1.25~1.67: 1分 1.67<: 2分
DIC	4分以上	7分以上

[0090] [表 3]

ISTH overt-DIC 诊断基准

基础疾病 临床症状	必须项目 目前忽略
血小板 ($\times 10^3$ 个/ μ L)	50~100: 1分 50>: 2分
纤维蛋白关联产物	FDP, D-二聚体, SF: 中等程度增加: 2分 显著增加: 3分
纤维蛋白原 (FIB)	100mg/dL>: 1分
PT	PT秒: 3~6秒延长: 1分 6秒以上延长: 2分
DIC	5分以上

[0091] 此外,基础疾病的有无基于下述进行分类。

[0092] “SIRS”是指满足下述4项中的2项以上的状态(Chest 1992;101(6): 1644-1655),

- 1) 体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ 或 $< 36^{\circ}\text{C}$
- 2) 心率 > 90 次/分钟
- 3) 呼吸数 > 20 次/分钟或 $\text{PaCO}_2 > 32$ 托

4) 白细胞数 > 12000 、 $< 4000/\text{mm}^3$ 或未成熟型白细胞 $> 10\%$ 。

[0093] “感染症”是指以微生物对正常组织的侵袭或针对其存在的炎症反应为特征的现象 (Chest 1992; 101 (6):1644-1655)。引起感染症的病原体可举出细菌、真菌、寄生虫、或病毒。菌血症、败血症、重症败血症和败血症性休克均包含在“感染症”中。

[0094] “败血症”是指伴有感染的 SIRS。感染症的诊断需要炎症检查结果、器官症状、致病菌的鉴定, 诊断是由医生确定。其中, 在致病菌的鉴定之际, 期望无菌地从血液、髓液、胸腹水等进行采集, 在使用咳痰、尿、皮肤等作为材料时要留意常在菌。应予说明, 不能鉴定致病菌时, 可以根据医生的综合性判断进行败血症的诊断。

[0095] “重症败血症”是指败血症中的并发有器官功能损害·循环衰竭(乳酸性酸中毒、少尿、急性意识障碍等)或血压降低(收缩期血压 $< 90\text{mmHg}$ 或与平时的收缩期血压相比为 40mmHg 以上的血压降低)的状态。

[0096] “败血症性休克”是指重症败血症中即使是适当的补液, 也持续血压降低(收缩期血压 $< 90\text{mmHg}$ 或与平时的收缩期血压相比为 40mmHg 以上的血压降低)的状态。即使是通过使用血管激动剂来维持血压时, 也存在器官功能损害·循环衰竭(乳酸性酸中毒、少尿、急性意识障碍等)。

[0097] 作为 sCD14-ST 的测定中使用的样品, 依照规定方法, 在入院后由患者采集 EDTA 全血, 测定 sCD14-ST。对于降钙素原 (PCT)、白介素 -6 (IL-6)、C 反应性蛋白 (CRP), 同样地采集 EDTA 血浆, 对于 D-二聚体、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物 (FDP)、凝血酶原时间 (PT)、纤维蛋白原 (FIB)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、抗凝血酶 III (ATIII)、凝血酶 - 抗凝血酶复合物 (TAT)、 $\alpha 2$ 胞浆素抑制剂·胞浆素复合物 (PIC)、蛋白 C (PC)、组织纤溶酶原激活剂 (tPA)·纤溶酶原激活剂抑制剂 (PAI-1) 复合物 (Total PAI-1), 则采集柠檬酸血浆, 在各测定中使用。对于血小板数目 (Plt), 采集添加有 EDTA 的血液, 对于乳酸 (Lact), 采集除蛋白上清, 对于血栓调节蛋白 (TM) 则采集血清, 在各测定中使用。入院后表示从入院起 3 小时以内。

[0098] 实施例 1: 败血症标志物的测定

sCD14-ST 的测定是对日本专利第 4040666 号说明书的实施例 7-(1) 进行改变来进行。即, 使用进行了碱性磷酸酶 (ALP) 标记的多克隆抗体 (S68 抗体) 和固定化于磁性粒子 (JSR 社制) 的单克隆抗体 (F1031-8-3 抗体), 用自动化学发光酶联免疫测定装置 PATHFAST (三菱化学メデイエンス社制) 进行测定。进行了碱性磷酸酶 (ALP) 标记的多克隆抗体 (S68 抗体) 是制备该多克隆抗体 (S68 抗体) 的 Fab' 级分, 通过马来酰亚胺法与 ALP 结合来制作。发光底物使用了 CDP-star (アプライドバイオシステム社制)。

[0099] 测定依照以下的程序来进行。首先, 使样本与磁性粒子固定化抗体和 ALP 标记抗体反应, 由样本中的 sCD14-ST 与前述 2 种抗体形成复合物后, 通过磁体收集该复合物, 将未结合的 ALP 标记抗体除去。加入发光底物, 将发光量作为 sCD14-ST 量来进行检测。

[0100] 降钙素原 (PCT) 的测定是使用 EcLusys 试剂 BRAHMS PCT (ロシユ・ダイアグノステイクス社) 来进行测定。

[0101] 白介素 -6 (IL-6) 是使用 IMMULYZE IL-6 (シーメンスヘルスケア・ダイアグノステイクス社) 来进行测定。

[0102] C 反应性蛋白 (CRP) 是使用 CRP-LATEX X2 “生研” (デンカ生研社) 来进行测定。

测定机器使用日立 7170S (日立ハイテック社)。

[0103] 实施例 2 :基于急性期 DIC 诊断基准的各项目 DIC 诊断能力评价

以临床试验中登记的病例 49 例为对象,依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(23 例)和非 DIC 组(26 例),通过 ROC 分析对 DIC 检测中的 sCD14-ST、降钙素原(PCT)、C 反应性蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)、D-二聚体和纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的有用性进行比较。sCD14-ST 的测定依照实施例 1 来进行。PCT 的测定是使用 EcLusys 试剂 BRAHMS PCT (ロシユ・ダイアグノステイクス社)来进行测定。IL-6 是使用 IMMULYZE IL-6 (シーメンスヘルステア・ダイアグノステイクス社)来进行测定。CRP 是使用 CRP-LATEX X2 “生研”(デンカ生研社)来进行测定。测定机器使用日立 7170S (日立ハイテック社)。D-二聚体是使用 Nanopia D-二聚体(積水メディカル社)来进行测定。测定机器使用了 COAPRESTA 2000 (積水メディカル社)。FDP 是使用 Nanopia P-FDP (積水メディカル社)进行测定。测定机器使用了 COAPRESTA 2000 (積水メディカル社)。图 1 和图 2 中,横轴为“1-特异度”,纵轴为“灵敏度”。

[0104] 分别求出 AUC,结果 sCD14-ST 为 0.834、PCT 为 0.791、IL-6 为 0.734、CRP 为 0.567、D-二聚体为 0.824、FDP 为 0.810, sCD14-ST 的 AUC 为最大。由该结果确认, sCD14-ST 相对于现有的指标即 D-二聚体、FDP 等是有用的。

[0105] 实施例 3 :基于厚生劳动省 DIC 诊断基准的各项目 DIC 诊断能力评价

以与实施例 2 相同的病例 49 例为对象,依照厚生劳动省 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(13 例)和非 DIC 组(36 例),通过 ROC 分析对 DIC 检测中的 sCD14-ST、降钙素原(PCT)、C 反应性蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)、D-二聚体和纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的有用性进行比较。sCD14-ST、PCT、CRP、IL-6、D-二聚体和 FDP 的测定通过与实施例 2 相同的方法进行。图 3 和图 4 中,横轴为“1-特异度”,纵轴为“灵敏度”。

[0106] 分别求出 AUC,结果 sCD14-ST 为 0.842、PCT 为 0.739、IL-6 为 0.697、CRP 为 0.634、D-二聚体为 0.741、FDP 为 0.731, sCD14-ST 的 AUC 为最大。由该结果确认, sCD14-ST 相对于现有的指标即 D-二聚体、FDP 等是有用的。

[0107] 实施例 4 :基于 ISTH overt-DIC 诊断基准的各项目 DIC 诊断能力评价

以与实施例 2 相同的病例 49 例为对象,依照 ISTH overt-DIC 诊断基准分类为 DIC 组(15 例)和非 DIC 组(34 例),通过 ROC 分析对 DIC 检测中的 sCD14-ST、降钙素原(PCT)、C 反应性蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)、D-二聚体和纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的有用性进行比较。结果示于图 3。sCD14-ST、PCT、CRP、IL-6、D-二聚体和 FDP 的测定通过与实施例 2 相同的方法进行。图 5 和图 6 中,横轴为“1-特异度”,纵轴为“灵敏度”。

[0108] 分别求出 AUC,结果 sCD14-ST 为 0.853、PCT 为 0.694、IL-6 为 0.665、CRP 为 0.605、D-二聚体为 0.807、FDP 为 0.805, sCD14-ST 的 AUC 为最大。由该结果确认, sCD14-ST 相对于现有的指标即 D-二聚体、FDP 等是有用的。

[0109] 实施例 5 :DIC 诊断中的 sCD14-ST 截断值评价

根据实施例 2 或实施例 3 中进行的 ROC 分析的结果,将 sCD14-ST 的临床灵敏度和特异度示于图 7、图 8。根据图 7,在 sCD14-ST 值为 1033pg/mL 时,临床灵敏度为 78.3%、特异度为 76.9%,认为是最适的截断值。此外,根据图 8,在 sCD14-ST 值为 1170pg/mL 时,临床灵敏度为 76.9%、特异度为 75.0%,认为是最适的截断值。根据这些结果,认为基于 sCD14-ST 的

DIC 检测方法的截断值最适为 1100pg/mL。

[0110] 实施例 6 :DIC 诊断中的 D- 二聚体截断值评价

根据实施例 2 或实施例 3 中进行的 ROC 分析的结果,将 D- 二聚体的临床灵敏度和特异度示于图 9、图 10。根据图 9, D- 二聚体值为 10.1 μ g/mL 时,临床灵敏度为 78.3%、特异度为 84.6%,认为是最适的截断值。此外,根据图 10, D- 二聚体值为 11.3 μ g/mL 时,临床灵敏度为 69.2%、特异度为 69.4%,认为是最适的截断值。根据这些结果,认为基于 D- 二聚体的 DIC 检测方法的截断值最适为 11 μ g/mL。

[0111] 实施例 7 :DIC 诊断中的 FDP 截断值评价

根据实施例 2 或实施例 3 中进行的 ROC 分析的结果,将纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的临床灵敏度和特异度示于图 11、图 12。根据图 11, FDP 值为 20 μ g/mL 时,临床灵敏度为 73.9%、特异度为 73.1%,认为是最适的截断值。此外,根据图 12, FDP 值为 25 μ g/mL 时,临床灵敏度为 69.2%、特异度为 72.2%,认为是最适的截断值。根据这些结果,认为基于 FDP 的 DIC 检测方法的截断值最适为 23 μ g/mL。

[0112] 实施例 8 :DIC 诊断中的各项目的临床灵敏度·特异性

使用由实施例 5 ~ 实施例 7 评价的 sCD14-ST、D- 二聚体和纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的截断值,总结临床灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值,结果示于表 4。由该结果确认:sCD14-ST 无论使用急性期 DIC 基准、厚生劳动省 DIC 基准、ISTH overt-DIC 诊断基准中的任一基准,也相对于作为现有指标的 D- 二聚体、FDP 为同等以上,特别是灵敏度和阴性预测值高,从而有用。

[0113] [表 4]

DIC 诊断基准	项目	截断值	灵敏度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
急性期 DIC 基准	sCD14-ST	1100pg/mL	82.6%	76.9%	76.0%	83.3%
	D-二聚体	11 μ g/mL	69.6%	84.6%	80.0%	75.9%
	FDP	23 μ g/mL	69.6%	80.8%	76.2%	75.0%
厚生劳动省 DIC 基准	sCD14-ST	1100pg/mL	76.9%	66.7%	45.5%	88.9%
	D-二聚体	11 μ g/mL	69.2%	69.4%	45.0%	86.2%
	FDP	23 μ g/mL	69.2%	66.7%	42.9%	85.7%
ISTH overt-DIC 诊断基准	sCD14-ST	1100pg/mL	80.0%	70.6%	54.5%	88.9%
	D-二聚体	11 μ g/mL	73.3%	73.5%	55.0%	86.2%
	FDP	23 μ g/mL	73.3%	70.6%	52.4%	85.7%

[0114] 实施例 9 :对非感染组的 DIC 诊断的有用性

以实施例 2 的症例 49 例中为非感染的 SIRS 或非感染性疾病的症例 13 例为对象,依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(4 例)和非 DIC 组(9 例),通过 ROC 分析对 DIC 检测中的 sCD14-ST、降钙素原(PCT)、C 反应性蛋白(CRP)、白介素-6 (IL-6)、D- 二聚体和纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的有用性进行比较。结果示于图 13、图 14。图 13、图 14 中,横轴为“1- 特异度”,纵轴为“灵敏度”。

[0115] 分别求出 AUC,结果 sCD14-ST 为 0.806、PCT 为 0.778、IL-6 为 0.639、CRP 为 0.583、

D-二聚体为 0.764、FDP 为 0.792, sCD14-ST 的 AUC 为最大。由该结果确认到, sCD14-ST 相对于现有的指标即 D-二聚体、FDP 等是有用的, 而与有无感染无关。sCD14-ST 值的截断值为 600pg/mL 时, 临床灵敏度为 75.0%、特异度为 100%, 认为是最适的。

[0116] 实施例 10 : 作为对 DIC 患者实施抗凝血疗法的指标的各标志物的有用性

与实施例 2 相同的症例 49 例中, 使用依照急性期 DIC 诊断基准分类的 DIC 组 (23 例), 对小于各标志物的截断值或为截断值以上的症例中的抗凝血疗法实施率进行比较, 结果示于表 5。根据该结果, 对于 sCD14-ST, 相对于小于截断值的症例组, 为截断值以上的症例组的抗凝血疗法的实施比例大。另一方面, 对于 D-二聚体或 FDP, 与小于截断值的症例组相比, 为截断值以上的症例组的抗凝血疗法的实施比例小。因此, 暗示 sCD14-ST 与现有的 DIC 的指标即 D-二聚体、FDP 相比, 是作为是否实施抗凝血疗法的指标更加有用的标志物。

[0117] [表 5]

项目		sCD14-ST	D-二聚体	FDP
截断值		1100pg/mL	11 μ g/mL	23 μ g/mL
抗凝血疗法 实施例	小于截断值	28.6% (2/7)	57.1% (4/7)	57.1% (4/7)
	截断值以上	50.0% (8/16)	37.5% (6/16)	37.5% (6/16)

[0118] 实施例 11 : 感染组的相对于各 DIC 评分的败血症标志物的测定值分布

在试验中登记的症例 49 例中, 以伴有感染的败血症、重症败血症、败血症性休克或感染性疾病的症例 33 例为对象, 基于急性期 DIC 诊断基准求出 DIC 评分 (分数), 以各 DIC 评分分类, 对 sCD14-ST、降钙素原 (PCT)、C 反应性蛋白 (CRP) 和白介素 -6 (IL-6) 的测定值分布进行比较。sCD14-ST 的测定依照实施例 1 来进行。

[0119] 基于 Kruskal-Wallis 检验进行多组间统计分析, 结果如表 6 所示, sCD14-ST 为 p 值 = 0.0214、PCT 为 p 值 = 0.0436、IL-6 为 p 值 = 0.0729、CRP 为 p 值 = 0.3994, 确认 sCD14-ST 相对于 PCT、IL-6、CRP 具有显著性差异。认为 sCD14-ST 是最反映感染性 DIC 评分的标志物。图 15 ~ 18 示出相对于各 DIC 评分的各标志物的中央值和症例数。

[0120] [表 6]

	败血症标志物	显著性差异 (p值)
(A)	sCD14-ST	0.0214
(B)	PCT	0.0436
(C)	IL-6	0.0729
(D)	CRP	0.3994

[0121] 进而, 对于通过多组间统计分析确认到显著性差异的 sCD14-ST 和 PCT, 将同一患者组分类为感染性非 DIC (DIC 评分小于 4 分) ($n = 15$) 和感染性 DIC (DIC 评分为 4 分以上) ($n = 18$), 根据各自的 sCD14-ST 或 PCT 的测定值, 通过 Mann-Whitney U 检验进行 2 组间统计分析。其结果是, sCD14-ST 为 $p = 0.0075$ 、PCT 为 $p = 0.0329$, 表明 sCD14-ST 对

于感染性 DIC 检测最有用。

[0122] 此外, sCD14-ST 值随着 DIC 评分的增高而上升, 因此暗示可根据 sCD14-ST 值来把握 DIC 的程度。

[0123] 实施例 12 : sCD14-ST 的感染症检测能力和截断值评价

以试验中登记的症例 49 例为对象, 分类为非感染组 (SIRS 和非感染性疾病) 13 例和感染组 (败血症、重症败血症、败血症性休克和感染性疾病) 36 例, 通过 ROC 分析对感染症检测中的 sCD14-ST 的有用性进行评价。图 19 中, 横轴为“1- 特异度”, 纵轴为“灵敏度”。

[0124] sCD14-ST 的 AUC 为 0. 833, 确认是有用的。此外, 使临床灵敏度 / 特异度变得最大的 sCD14-ST 值为 647pg/mL, 其临床灵敏度为 83. 3%、特异度为 76. 9%。根据该结果, 认为感染症检测中的 sCD14-ST 的截断值为 600 ~ 700pg/mL 是最适的。

[0125] 实施例 13 : 感染组中的 sCD14-ST 的 DIC 检测能力和截断值评价

以试验中登记的症例 49 例中伴有感染的败血症、重症败血症、败血症性休克或感染性疾病的症例 36 例为对象, 依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组 (19 例) 和非 DIC 组 (17 例), 通过 ROC 分析对感染性 DIC 检测中的 sCD14-ST 的有用性进行评价。图 20 中, 横轴为“1- 特异度”, 纵轴为“灵敏度”。

[0126] sCD14-ST 的 AUC 为 0. 811, 确认是有用的。此外, 使临床灵敏度 / 特异度变得最大的 sCD14-ST 值为 929pg/mL, 其临床灵敏度为 94. 7%、特异度为 64. 7%。根据该结果, 认为感染性 DIC 检测中的 sCD14-ST 的截断值为 900 ~ 1000pg/mL 是最适的。

[0127] 实施例 14 : 感染组的相对于各 DIC 评分的凝血相关标志物的测定值分布

以试验中登记的症例 49 例中伴有感染的败血症、重症败血症、败血症性休克或感染性疾病的症例 26 例为对象, 以各 DIC 评分分类, 对 D- 二聚体、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物 (FDP)、血小板 (Plt)、凝血酶原时间 (PT)、INR 值、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原 (FIB)、抗凝血酶 III (ATIII)、乳酸 (Lact)、凝血酶-抗凝血酶复合物 (TAT)、 α 2 胞浆素抑制剂·胞浆素复合物 (PIC)、蛋白 C (PC)、血栓调节蛋白 (TM) 和组织纤溶酶原激活剂 (tPA)·纤溶酶原激活剂抑制剂 (PAI-1) 复合物 (Total PAI-1) 的测定值分布进行比较。D- 二聚体是使用 Nanopia D- 二聚体 (积水メディカル社) 来进行测定。FDP 是使用 Nanopia P-FDP (积水メディカル社) 进行测定。血小板是使用 CELL PACK II (シスメックス社) 进行测定。PT 是使用 COAGPIA PT-S (积水メディカル社) 进行测定。APTT 是使用 COAGPIA APTT-S (积水メディカル社) 进行测定。纤维蛋白原是使用 COAGPIA Fbg (积水メディカル社) 进行测定。抗凝血酶 III 是使用 STACIA CLEIA TAT (三菱化学メディカル社) 进行测定。乳酸是使用 Determiner-LA (協和メディックス社) 进行测定。TAT 是使用 STACIA CLEIA TAT (三菱化学メディカル社) 进行测定。PIC 是使用 Erupiaesu PPIII (三菱化学メディエンス社) 进行测定。蛋白 C 是使用 Erupiaesu PCII (三菱化学メディエンス社) 进行测定。血栓调节蛋白是使用 STACIA CLEIA TM (三菱化学メディカル社) 进行测定。Total PAI-1 是使用 LPIA tPAI TEST (三菱化学メディカル社) 进行测定。

[0128] 通过 Kruskal-Wallis 检验进行多组间统计分析, 结果示于表 7。认为 D- 二聚体、FDP、血小板和 TAT 是反映感染性 DIC 评分的标志物。图 21 ~ 35 示出相对于各 DIC 评分的各标志物的中央值和症例数。

[0129] [表 7]

	凝血相关标志物	显著性差异 (p值)
(A)	D-二聚体	0.0247
(B)	FDP	0.0365
(C)	血小板	0.0443
(D)	PT (秒)	0.3213
(E)	PT (%)	0.1325
(F)	INR值	0.1150
(G)	APTT	0.6533
(H)	纤维蛋白原	0.1239
(I)	抗凝血酶III	0.3493
(J)	乳酸	0.0629
(K)	TAT	0.0027
(L)	PIC	0.0585
(M)	蛋白C	0.0904
(N)	血栓调节蛋白	0.2304
(O)	Total PAI-1	0.1141

[0130] 接着,对于由多组间统计分析确认到显著性差异的D-二聚体、FDP、血小板和TAT,将同一患者组分类为感染性非DIC(DIC评分小于4分)(n=14)和感染性DIC(DIC评分为4分以上)(n=12),根据各自的D-二聚体、FDP、血小板或TAT的测定值,通过Mann-Whitney

U检验进行2组间统计分析。其结果是,D-二聚体为 $p=0.0017$ 、FDP为 $p=0.0037$ 、血小板为 $p=0.0464$ 、TAT为 $p=0.0002$,表明D-二聚体、FDP、血小板和TAT对感染性DIC检测有用。

[0131] 实施例15:组合sCD14-ST和凝血相关标志物的感染性DIC检测能力的评价
以试验中登记的病例49例中,败血症标志物(sCD14-ST、降钙素原(PCT)、白介素-6(IL-6)和C反应性蛋白(CRP))和凝血相关标志物(D-二聚体、纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)、血小板(P1t)、凝血酶原时间(PT)、INR值、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、抗凝血酶III(ATIII)、乳酸(Lact)、凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)、 α 2胞浆素抑制剂·胞浆素复合物(PIC)、蛋白C(PC)、血栓调节蛋白(TM)和组织纤溶酶原激活剂(tPA)·纤溶酶原激活剂抑制剂(PAI-1)复合物(Total PAI-1)的测定值全部确认到的44例为对象,以sCD14-ST和D-二聚体(表8~表10)、sCD14-ST和FDP(表11~表13)、sCD14-ST和血小板(表14~表15)、sCD14-ST和TAT(表16~表18)的组合来进行感染性DIC检测能力的评价。sCD14-ST的截断值是根据实施例12或13中所得的值设定的。D-二聚体的截断值采用以往多使用的 $6.18\mu\text{g/mL}$ 或通过与实施例13相同的程序求出并设定的 $10\mu\text{g/mL}$ 。FDP的截断值采用以往多使用的 $25\mu\text{g/mL}$ 或通过与实施例13相同的程序求出并设定的 $35\mu\text{g/mL}$ 。血小板的截断值采用以往多使用的 12×10^4 个/ μL 。TAT的截断值采用以往多使用的 10ng/mL 或通过与实施例13相同的程序求出并设定 26ng/mL 。在进行评价

时,算出各条件的临床灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值。

[0132] (A) D-二聚体

[表 8]

以往多使用的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<6.18	≥6.18	<6.18	≥6.18	<6.18	≥6.18
D-二聚体						
病例数	9	7	4	2	5	17
比例(病例数)						
有无感染	44%(4/9)	29%(2/7)	100%(4/4)	50%(1/2)	80%(4/5)	94%(16/17)
急性期DIC	0%(0/9)	14%(1/7)	0%(0/4)	50%(1/2)	60%(3/5)	82%(14/17)
急性期DIC(感染性)	0%(0/9)	0%(0/7)	0%(0/4)	0%(0/2)	40%(2/5)	76%(13/17)
28天死亡率	11%(1/9)	0%(0/7)	25%(1/4)	0%(0/2)	40%(2/5)	18%(3/17)
抗凝血疗法有无实施	11%(1/9)	0%(0/7)	25%(1/4)	0%(0/2)	40%(2/5)	35%(6/17)

[0133] [表 9]

通过与实施例 13 相同的程序得到的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<10	≥10	<10	≥10	<10	≥10
D-二聚体						
病例数	12	4	4	2	8	14
比例(病例数)						
有无感染	60%(6/12)	0%(0/4)	100%(4/4)	50%(1/2)	88%(7/8)	93%(13/14)
急性期DIC	0%(0/12)	25%(1/4)	0%(0/4)	50%(1/2)	38%(3/8)	100%(14/14)
急性期DIC(感染性)	0%(0/12)	0%(0/4)	0%(0/4)	0%(0/2)	25%(2/8)	93%(13/14)
28天死亡率	10%(1/12)	0%(0/4)	25%(1/4)	0%(0/2)	25%(2/8)	21%(3/14)
抗凝血疗法有无实施	10%(1/12)	0%(0/4)	25%(1/4)	0%(0/2)	38%(3/8)	36%(5/14)

[0134] [表 10]

各检测方法中的临床灵敏度、特异度、阴性预测值和阳性预测值

条件	检测方法		病例数				灵敏度	特异度	阴性预测值	阳性预测值	
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	D-二聚体 (μg/mL)	感染性DIC(阳性)		感染性DIC(阴性)					
				检查阳性	检查阴性	检查阳性					检查阴性
1	单独	600 ≤	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	单独	900 ≤	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
3	单独	—	6.18 ≤	13	2	13	16	86.7%	55.2%	88.9%	50.0%
4	单独	—	10 ≤	13	2	7	22	86.7%	75.9%	91.7%	65.0%
5	组合	600 ≤	6.18 ≤	13	2	6	23	86.7%	79.3%	92.0%	68.4%
6	组合	900 ≤	6.18 ≤	13	2	4	25	86.7%	86.2%	92.6%	76.5%
7	组合	600 ≤	10 ≤	13	2	3	26	86.7%	89.7%	92.9%	81.3%
8	组合	900 ≤	10 ≤	13	2	1	28	86.7%	96.6%	93.3%	92.9%

[0135] (B) 纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)

[表 11]

以往多用的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<25	≥25	<25	≥25	<25	≥25
FDP						
症例数	14	2	4	2	9	13
比例(症例数)						
有无感染	43%(6/14)	0%(0/2)	100%(4/4)	50%(1/2)	78%(7/9)	100%(13/13)
急性期DIC	0%(0/14)	50%(1/2)	0%(0/4)	50%(1/2)	56%(5/9)	92%(12/13)
急性期DIC (感染性)	0%(0/14)	0%(0/2)	0%(0/4)	0%(0/2)	33%(3/9)	92%(12/13)
28天死亡率	7%(1/14)	0%(0/2)	25%(1/4)	0%(0/2)	33%(3/9)	15%(2/13)
抗凝血疗法 有无实施	7%(1/14)	0%(0/2)	25%(1/4)	0%(0/2)	44%(4/9)	31%(4/13)

[0136] [表 12]

通过与实施例 13 相同的程序得到的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<35	≥35	<35	≥35	<35	≥35
FDP						
症例数	14	2	4	2	10	12
比例(症例数)						
有无感染	43%(6/14)	0%(0/2)	100%(4/4)	50%(1/2)	80%(8/10)	100%(12/12)
急性期DIC	0%(0/14)	50%(1/2)	0%(0/4)	50%(1/2)	50%(5/10)	100%(12/12)
急性期DIC (感染性)	0%(0/14)	0%(0/2)	0%(0/4)	0%(0/2)	30%(3/10)	100%(12/12)
28天死亡率	7%(1/14)	0%(0/2)	25%(1/4)	0%(0/2)	30%(3/10)	17%(2/12)
抗凝血疗法 有无实施	7%(1/14)	0%(0/2)	25%(1/4)	0%(0/2)	40%(4/10)	33%(4/12)

[0137] [表 13]

各检测方法中的临床灵敏度、特异度、阴性预测值和阳性预测值

条件	检测方法			症例数				灵敏度	特异度	阴性 预测值	阳性 预测值
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	FDP (μg/mL)	感染性DIC(阳性)		感染性DIC(阴性)					
				检查阳性	检查阴性	检查阳性	检查阴性				
1	单独	600≤	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	单独	900≤	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
9	单独	—	25≤	12	3	4	25	80.0%	82.8%	88.9%	70.6%
10	单独	—	35≤	12	3	5	24	80.0%	86.2%	89.3%	75.0%
11	组合	600≤	25≤	12	3	3	26	80.0%	89.7%	89.7%	80.0%
12	组合	900≤	25≤	12	3	1	28	80.0%	96.6%	90.3%	92.3%
13	组合	600≤	35≤	12	3	2	27	80.0%	93.1%	90.0%	85.7%
14	组合	900≤	35≤	12	3	0	29	80.0%	100.0%	90.8%	100.0%

[0138] (C) 血小板(Plt)

[表 14]

以往多用的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<12	≥12	<12	≥12	<12	≥12
Pit						
症例数	1	15	0	6	11	11
比例(症例数)						
有无感染	100%(1/1)	33%(5/15)	0%(0/0)	83%(5/6)	82%(9/11)	100%(11/11)
急性期DIC	0%(0/1)	7%(1/15)	0%(0/0)	17%(1/6)	100%(11/11)	55%(6/11)
急性期DIC (感染性)	0%(0/1)	0%(0/15)	0%(0/0)	0%(0/6)	82%(9/11)	55%(6/11)
28天死亡率	0%(0/1)	7%(1/15)	0%(0/0)	17%(1/6)	45%(5/11)	0%(0/11)
抗凝血疗法 有无实施	0%(0/1)	7%(1/15)	0%(0/0)	17%(1/6)	45%(5/11)	27%(3/11)

[0139] [表 15]

各检测方法中的临床灵敏度、特异度、阴性预测值和阳性预测值

条件	检测方法		症例数				灵敏度	特异度	阴性 预测值	阳性 预测值	
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	Pit ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	感染性DIC(阳性)		感染性DIC(阴性)					
				检查阳性	检查阴性	检查阳性					检查阴性
1	单独	600 ≤	-	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	单独	900 ≤	-	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
15	单独	-	<12	9	6	3	26	60.0%	89.7%	81.3%	75.0%
16	组合	600 ≤	<12	9	6	2	27	60.0%	93.1%	81.8%	81.8%
17	组合	900 ≤	<12	9	6	2	27	60.0%	93.1%	81.8%	81.8%

[0140] (D) 凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)

[表 16]

以往多用的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<10	≥10	<10	≥10	<10	≥10
TAT						
症例数	4	12	4	2	5	17
比例(症例数)						
有无感染	50%(2/4)	33%(4/12)	100%(4/4)	50%(1/2)	80%(4/5)	94%(16/17)
急性期DIC	0%(0/4)	8%(1/12)	0%(0/4)	50%(1/2)	40%(2/5)	88%(15/17)
急性期DIC (感染性)	0%(0/4)	0%(0/12)	0%(0/4)	0%(0/2)	20%(1/5)	82%(14/17)
28天死亡率	25%(1/4)	0%(0/12)	25%(1/4)	0%(0/2)	0%(0/5)	29%(5/17)
抗凝血疗法 有无实施	0%(0/4)	8%(1/12)	25%(1/4)	0%(0/2)	40%(2/5)	35%(6/17)

[0141] [表 17]

通过与实施例 13 相同的程序得到的截断值：

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
	<26	≥26	<26	≥26	<26	≥26
TAT						
症例数	11	5	4	2	10	12
比例(症例数)						
有无感染	45%(5/11)	20%(1/5)	100%(4/4)	50%(1/2)	90%(9/10)	92%(11/12)
急性期DIC	0%(0/11)	20%(1/5)	0%(0/4)	50%(1/2)	50%(5/10)	100%(12/12)
急性期DIC (感染性)	0%(0/11)	0%(0/5)	0%(0/4)	0%(0/2)	40%(4/10)	92%(11/12)
28天死亡率	9%(1/11)	0%(0/5)	25%(1/4)	0%(0/2)	0%(0/10)	42%(5/12)
抗凝血疗法 有无实施	9%(1/11)	0%(0/5)	25%(1/4)	0%(0/2)	0%(0/10)	33%(4/12)

[0142] [表 18]

各检测方法中的临床灵敏度、特异度、阴性预测值和阳性预测值

条件	检测方法			症例数				灵敏度	特异度	阴性 预测值	阳性 预测值
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	TAT (ng/mL)	感染性DIC(阳性)		感染性DIC(阴性)					
				检查阳性	检查阴性	检查阳性	检查阴性				
1	单独	600 ≤	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	单独	900 ≤	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
18	单独	—	10 ≤	14	1	17	12	93.3%	41.4%	92.3%	45.2%
19	单独	—	26 ≤	11	4	8	21	73.3%	72.4%	84.0%	57.9%
20	组合	600 ≤	10 ≤	14	1	5	24	93.3%	82.8%	96.0%	73.7%
21	组合	900 ≤	10 ≤	14	1	3	26	93.3%	89.7%	96.3%	82.4%
22	组合	600 ≤	26 ≤	11	4	3	26	73.3%	89.7%	86.7%	78.6%
23	组合	900 ≤	26 ≤	11	4	1	28	73.3%	96.6%	87.5%	91.7%

[0143] 结果表明,将 sCD14-ST 和凝血相关标志物(D-二聚体、FDP、血小板和 TAT)单独利用的检测方法中,均是临床灵敏度高但特异度低。另一方面,通过组合 sCD14-ST 和凝血相关标志物,临床灵敏度没有改变,特异度上升。由上述确认,相对于感染性 DIC 检测,通过使用 sCD14-ST 和 D-二聚体、sCD14-ST 和 FDP 以及 sCD14-ST 和 TAT 的组合,临床灵敏度和特异度变为 80% 以上,是以往的指标中并不存在的兼具临床灵敏度和特异度的指标,非常有用。

[0144] 比较例 1:组合 PCT 和 TAT 的感染性 DIC 检测能力的评价

以与实施例 15 相同的症例 44 例为对象,进行降钙素原(PCT)和凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)的组合(表 19~表 20)的感染性 DIC 检测能力的评价。PCT 的截断值采用以往多使用的 0.5ng/mL 和 2.0ng/mL。TAT 的截断值采用以往多使用的 10ng/mL。在进行评价时,算出各条件的临床灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值。

[0145] [表 19]

PCT	<0.5		0.5-2.0		≥2.0	
	<10	≥10	<10	≥10	<10	≥10
TAT						
症例数	5	10	1	8	7	13
比例 (症例数)						
有无感染	60% (3/5)	40% (4/10)	100% (1/1)	50% (4/8)	86% (6/7)	100% (13/13)
急性期DIC	0% (0/5)	30% (3/10)	0% (0/1)	50% (4/8)	29% (2/7)	77% (10/13)
急性期DIC (感染性)	0% (0/5)	20% (2/10)	0% (0/1)	25% (2/8)	14% (1/7)	77% (10/13)
28天死亡率	20% (1/5)	10% (1/10)	0% (0/1)	0% (0/8)	14% (1/7)	31% (4/13)
抗凝血疗法有无实施	20% (1/5)	10% (1/10)	0% (0/1)	13% (1/8)	29% (2/7)	46% (6/13)

[0146] [表 20]

各检测方法中的临床灵敏度、特异度、阴性预测值和阳性预测值

条件	检测方法			症例数				灵敏度	特异度	阴性预测值	阳性预测值
	方法	PCT (ng/mL)	TAT (ng/mL)	感染性DIC(阳性)		感染性DIC(阴性)					
				检查阳性	检查阴性	检查阳性	检查阴性				
24	单独	0.5 ≤	—	13	2	16	13	86.7%	44.8%	86.7%	44.8%
25	单独	2.0 ≤	—	11	4	9	20	73.3%	69.0%	83.3%	55.0%
18	单独	—	10 ≤	14	1	17	12	93.3%	41.4%	92.3%	45.2%
27	组合	0.5 ≤	10 ≤	12	3	9	20	80.0%	69.0%	87.0%	57.1%
28	组合	2.0 ≤	10 ≤	10	5	3	26	66.7%	89.7%	83.9%	76.9%

[0147] 结果表明,基于 PCT 和 TAT 的组的感染性 DIC 检测方法没有临床灵敏度和特异度均满足 80% 以上的条件,是较实施例 15 的 sCD14-ST 和 TAT 的组合差的结果。表明 sCD14-ST 与以往已知作为败血症标志物的 PCT 相比,对感染性 DIC 检测更加有用。

[0148] 试验对象 2

实施例 16 ~ 20 以下述作为试验对象。

[0149] 以在 1 设施的临床现场根据与试验对象 1 相同的基准登记的全部症例 87 例为对象进行评价。其中,确定了疾病名的症例为 84 例,具体地,未伴有感染症的全身性炎症反应综合征(SIRS)19 例、败血症 8 例、重症败血症 14 例、败血症性休克 21 例、非感染性疾病(感染症、SIRS 均不符合的状态)12 例、感染性疾病(虽然是感染症但不伴有 SIRS 的状态)10 例。

[0150] 实施例 16 :败血症标志物在 DIC 中的多重逻辑回归分析

以确定了疾病名称的症例 84 例为对象,进行多重逻辑回归分析(逐步法)。进行分析时,将客观变量设为急性期 DIC 诊断基准(非 DIC 组或 DIC 组)、将解释变量设为 sCD14-ST、降钙素原(PCT)、白介素 -6 (IL-6)、C 反应性蛋白(CRP),将单位优势比以连续变量仅改变 1 个单位的情形来进行。相对于效果的似然比检验的结果, sCD14-ST 的优势比为 1.001572、95%CI 为 1.000865-1.002446、p < 0.0001,是最有用的。

[0151] 实施例 17 :凝血相关标志物在 DIC 中的多重逻辑回归分析

以确定了疾病名称的症例 84 例为对象,进行多重逻辑回归分析(逐步法)。进行分析时,将客观变量设为急性期 DIC 诊断基准(非 DIC 组或 DIC 组)、将解释变量设为抗凝血酶

III (ATIII)、蛋白 C (PC)、血栓调节蛋白(TM),将单位优势比以连续变量仅改变 1 个单位的情形来进行。相对于效果的似然比检验的结果,蛋白 C 的优势比为 0.944377、95%CI 为 0.918842-0.965239、 $p < 0.0001$,是最有用的。

[0152] 实施例 18 :sCD14-ST 和 PC 的与败血症有无相关的 ROC 分析和截断值评价

以确定了疾病名称的病例 84 例中,sCD14-ST 和蛋白 C (PC)的测定值均得到确认的 80 例(败血症组 :40 例、非败血症组 :40 例)为对象,进行 ROC 分析,结果 AUC 如下 :sCD14-ST 为 0.925 ($p < 0.0001$)、PC 为 0.833 ($p < 0.0001$)。此外,对于截断值而言,sCD14-ST 为 647pg/mL(灵敏度 = 93.0%、特异度 = 75.6%)、PC 为 47%(灵敏度 = 77.5%、特异度 = 80.0%)。根据以上的结果,对于截断值而言,认为 sCD14-ST 为 650pg/mL、PC 为 45% 是适宜的。

[0153] 实施例 19 :sCD14-ST 和 PC 的与 DIC 有无相关的 ROC 分析和截断值评价

以确定了疾病名称的病例 84 例中,sCD14-ST 和蛋白 C (PC)的测定值均得到确认的 81 例(DIC 组 :36 例、非 DIC 组 :45 例)为对象,进行 ROC 分析,结果 AUC 如下 :sCD14-ST 为 0.836 ($p < 0.0001$)、PC 为 0.891 ($p < 0.0001$)。此外,对于截断值而言,sCD14-ST 为 899pg/mL(灵敏度 = 81.6%、特异度 = 80.9%)、PC 为 55%(灵敏度 = 89.2%、特异度 = 75.6%)。根据以上的结果,对于截断值而言,认为 sCD14-ST 为 900pg/mL、PC 为 55% 是适宜的。

[0154] 实施例 20 :组合 sCD14-ST 和 PC 的感染性 DIC 检测能力的评价

以确定了疾病名称的病例 84 例中,sCD14-ST 和蛋白 C (PC)的测定值均得到确认的 81 例为对象,与实施例 15 相同地以 sCD14-ST 和 PC (表 21 ~ 表 22)的组合来进行感染性 DIC 检测能力的评价。截断值是根据实施例 18 或 19 中所得的值来设定。在进行评价时,算出各条件的临床灵敏度、特异度、阴性预测值、阳性预测值。

[0155] [表 21]

sCD14-ST	<650			650-900			≥900		
	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55
PC	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55
病例数	2	3	30	7	0	2	28	3	6
比例(病例数)									
有无感染	0% (0/2)	33% (1/3)	27% (8/30)	71% (5/7)	0% (0/0)	50% (1/2)	96% (27/28)	67% (2/3)	83% (5/6)
急性期DIC	50% (1/2)	67% (2/3)	3% (1/30)	29% (2/7)	0% (0/0)	0% (0/2)	86% (24/28)	67% (2/3)	50% (3/6)
急性期DIC (感染性)	0% (0/2)	0% (0/3)	0% (0/30)	0% (0/7)	0% (0/0)	0% (0/2)	82% (23/28)	33% (1/3)	33% (2/6)
28天死亡率	0% (0/2)	33% (1/3)	7% (2/30)	29% (2/7)	0% (0/0)	0% (0/2)	29% (8/28)	0% (0/3)	17% (1/6)

[0156] [表 22]

各检测方法中的临床灵敏度、特异度、阴性预测值和阳性预测值

条件	检测方法		症例数				灵敏度	特异度	阴性 预测值	阳性 预测值
	方法	详细	感染性DIC(阳性)		感染性DIC(阴性)					
			检查阳性	检查阴性	检查阳性	检查阴性				
29	单独	sCD14-ST ≥ 650pg/mL	26	0	20	35	100.0%	63.6%	100.0%	56.5%
30	单独	sCD14-ST > 900pg/mL	26	0	11	44	100.0%	80.0%	100.0%	70.3%
31	单独	PC < 55%	24	2	19	36	92.3%	65.5%	94.7%	55.8%
32	单独	PC < 45%	23	3	21	34	88.5%	61.8%	91.9%	52.3%
33	组合	sCD14-ST < 650pg/mL 时 PC < 45%、或者 sCD14-ST 650-900pg/mL 时 PC < 55%、或者 sCD14-ST > 900pg/mL	26	0	20	35	100.0%	63.6%	100.0%	56.5%
34	组合	sCD14-ST > 900pg/mL 且 PC < 45%	23	3	5	50	88.5%	90.9%	94.3%	82.1%

[0157] 结果表明,与实施例 15 相同地将 sCD14-ST 和 PC 单独利用的检测方法中,均是临床灵敏度高但特异度低。另一方面,通过组合 sCD14-ST 和 PC,特异度上升。确认到相对于感染性 DIC 检测,通过使用 sCD14-ST 和 PC 的组合,临床灵敏度和特异度变为 80% 以上,是以往的指标中并不存在的兼具临床灵敏度和特异度的指标,非常有用。

[0158] 参考例 1:对非感染组的 DIC 诊断的有用性

以实施例 12 的非感染组,即,为非感染的 SIRS 或非感染性疾病的症例 13 例为对象,依照急性期 DIC 诊断基准分类为 DIC 组(4 例)和非 DIC 组(9 例),通过 ROC 分析对 DIC 检测中的 sCD14-ST、降钙素原(PCT)、C 反应性蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)、D-二聚体和纤维蛋白·纤维蛋白原分解产物(FDP)的有用性进行比较。

[0159] PCT 的测定是使用 EcLusys 试剂 BRAHMS PCT (ロシユ・ダイアグノステイツクス社)来进行测定。IL-6 是使用 IMMULYZE IL-6 (シーメンスヘルスケア・ダイアグノステイツクス社)来进行测定。CRP 是使用 CRP-LATEX X2 “生研”(デンカ生研社)来进行测定。测定机器使用日立 7170S (日立ハイテック社)。D-二聚体是使用 Nanopia D-二聚体(積水メディカル社)来进行测定。测定机器使用了 COAPRESTA 2000 (積水メディカル社)。FDP 是使用 Nanopia P-FDP (積水メディカル社)进行测定。测定机器使用了 COAPRESTA 2000 (積水メディカル社)。

[0160] 结果示于图 36、图 37。图 36、图 37 中,横轴为“1- 特异度”,纵轴为“灵敏度”。

[0161] 分别求出 AUC,结果 sCD14-ST 为 0.806、PCT 为 0.778、IL-6 为 0.639、CRP 为 0.583、D-二聚体为 0.764、FDP 为 0.792, sCD14-ST 的 AUC 为最大。由该结果确认到, sCD14-ST 相对于现有的指标即 D-二聚体、FDP 等是有用的,而与有无感染无关。sCD14-ST 值的截断值为 600pg/mL 时,临床灵敏度为 75.0%、特异度为 100%,认为是最适的。

[0162] 产业实用性

本发明可用于弥散性血管内凝血(DIC)的检测和其病况的把握。可以从疑似 DIC 的患者中特定 DIC 患者,也可以通过经时性地测定 DIC 患者而监控状态,有助于设定适合的治疗方针。

[0163] 此外,本发明还可用于感染性弥散性血管内凝血(感染性 DIC)的检测和其病况的把握。可以从疑似感染性 DIC 的患者中特定感染性 DIC 患者,也可以通过经时性地测定感染性 DIC 患者而监控状态,有助于设定适合的治疗方针。

[0164] 以上,根据特定的方式说明了本发明,但本领域技术人员显而易见的变形、改良也包含在本发明的范围内。

1

5

10

15

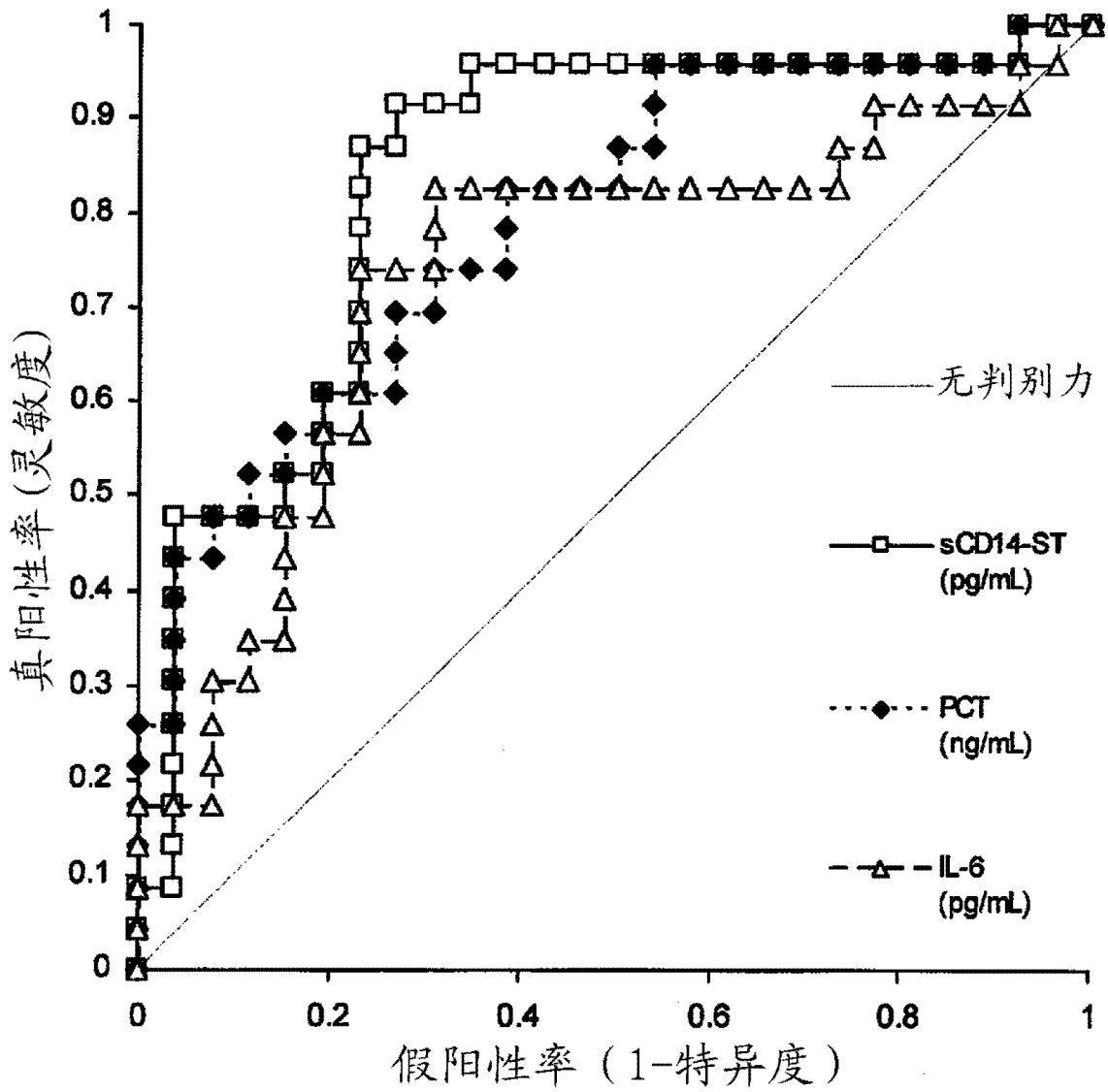


图 1

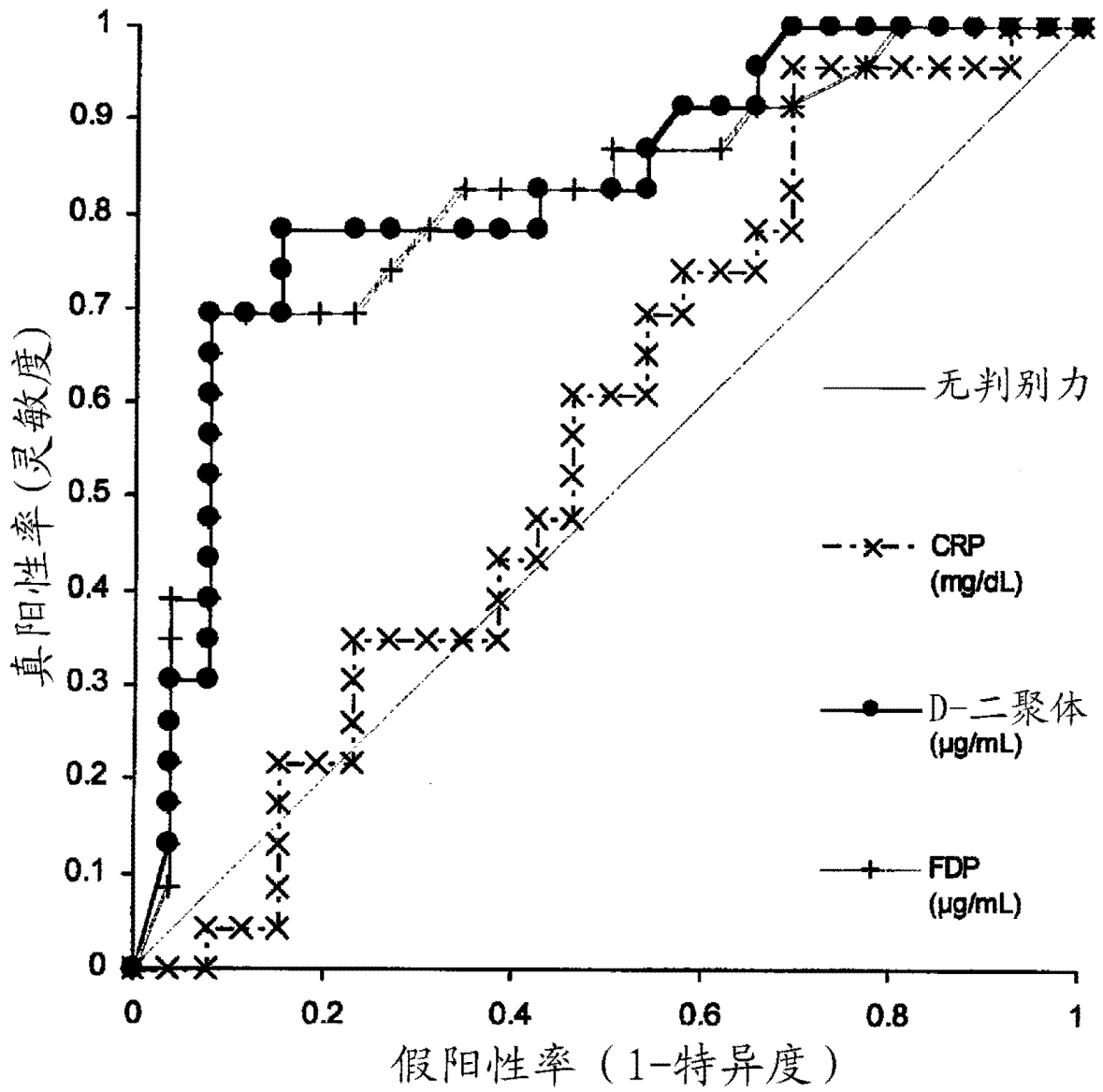


图 2

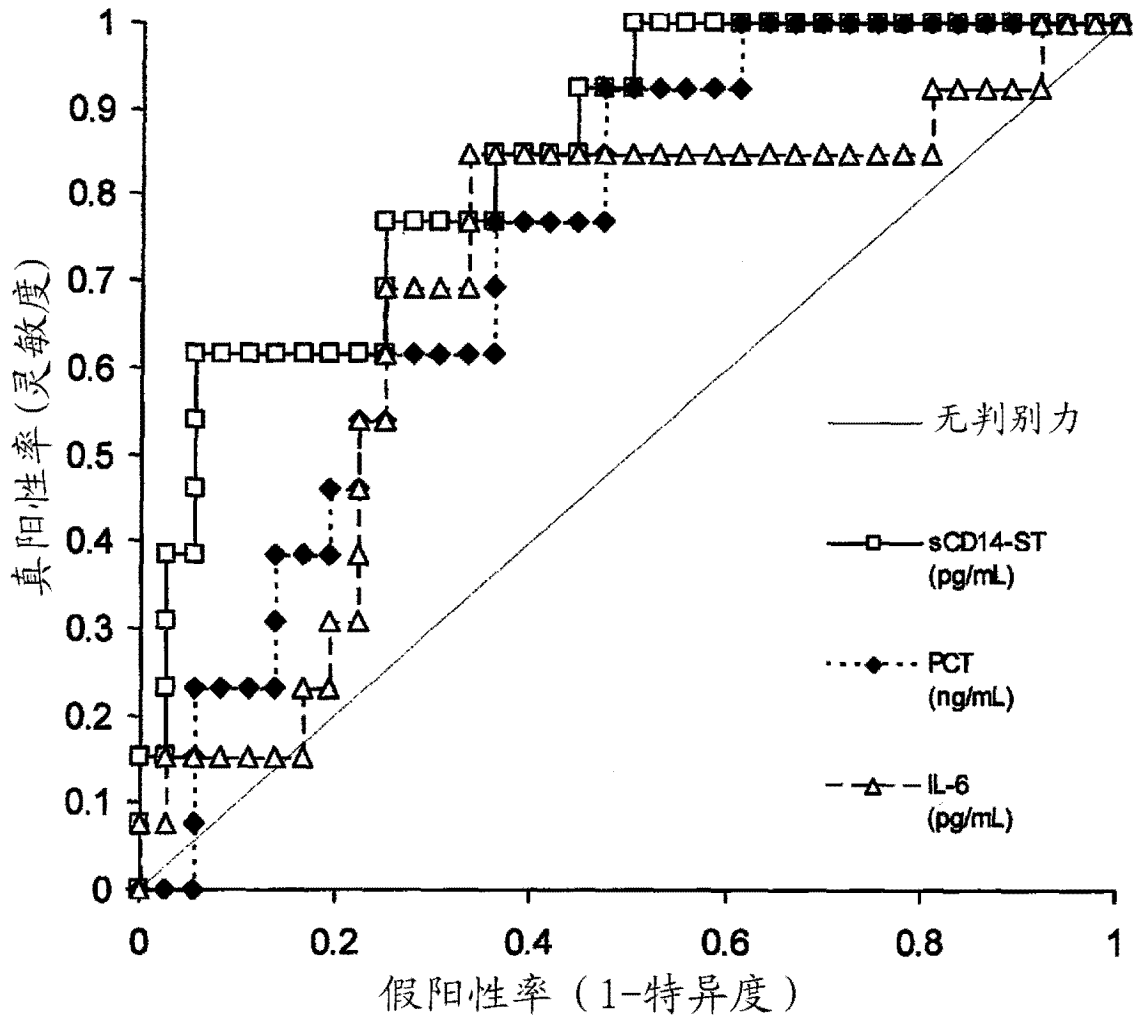


图 3

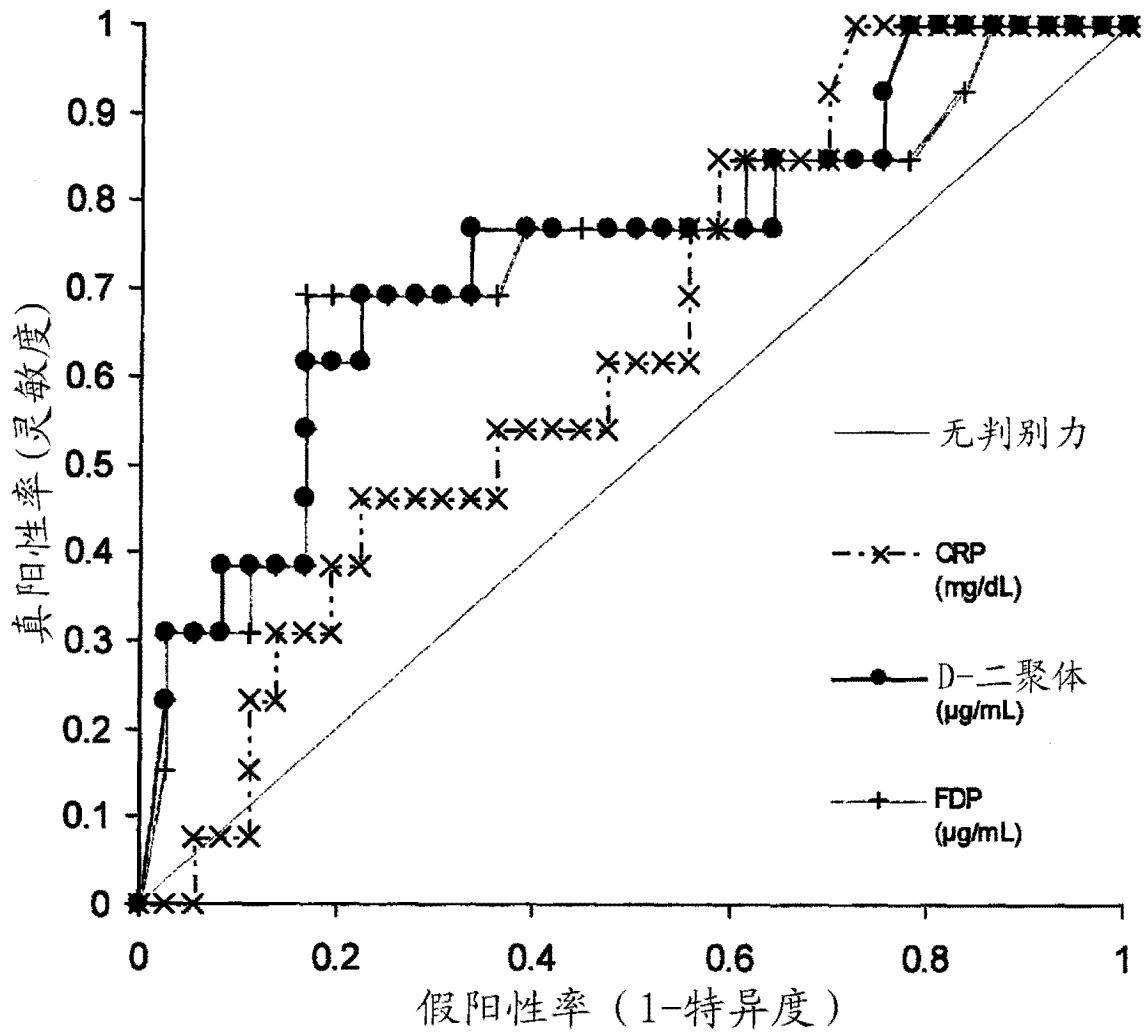


图 4

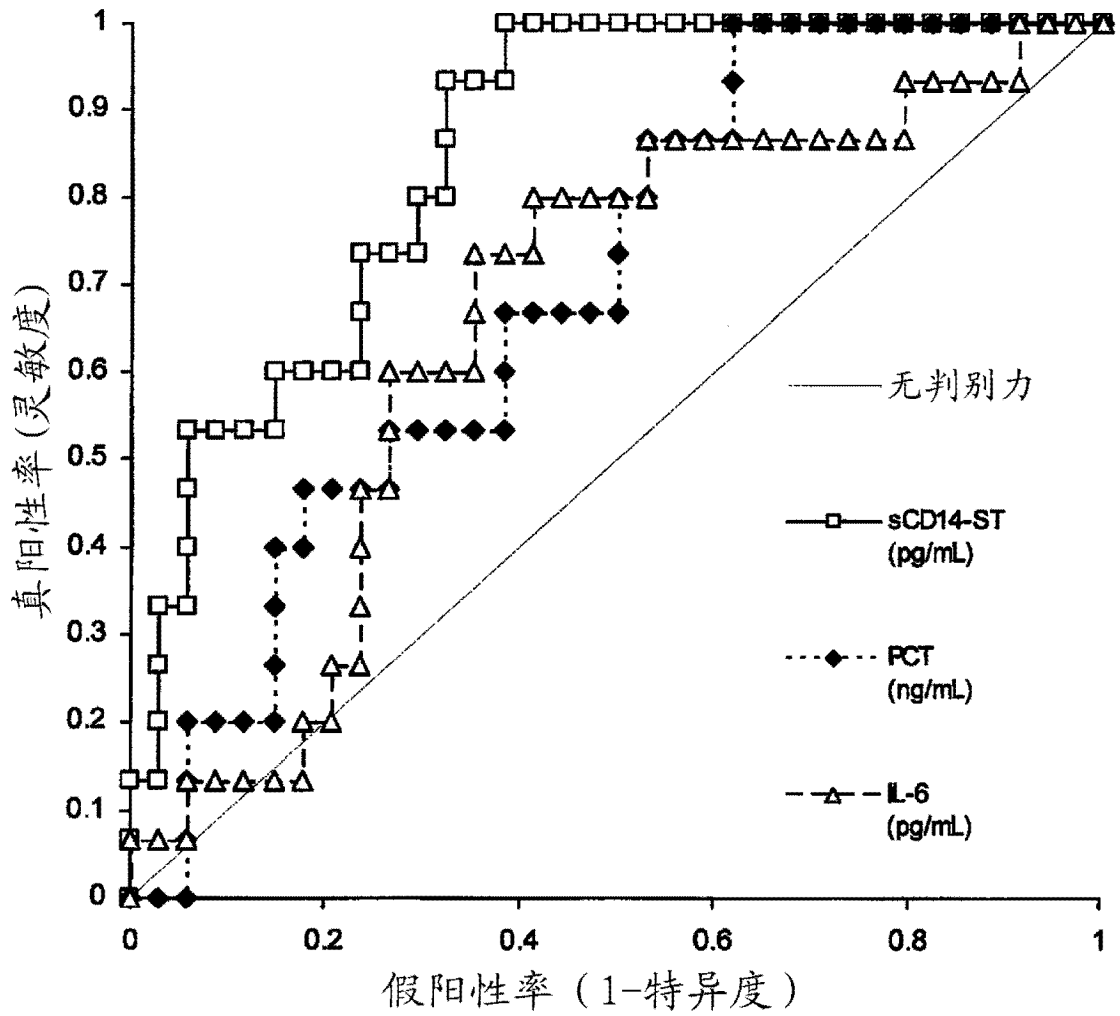


图 5

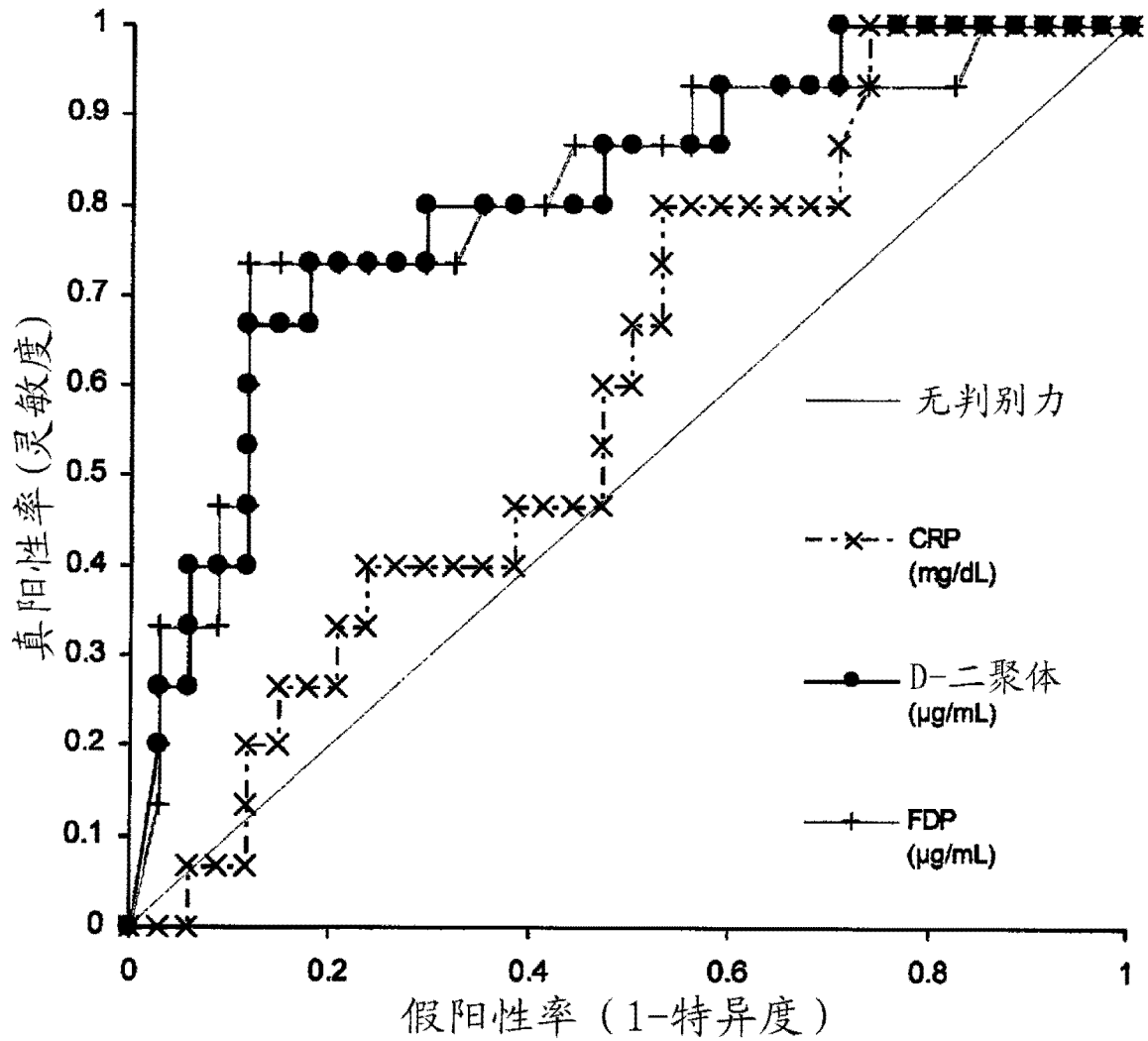


图 6

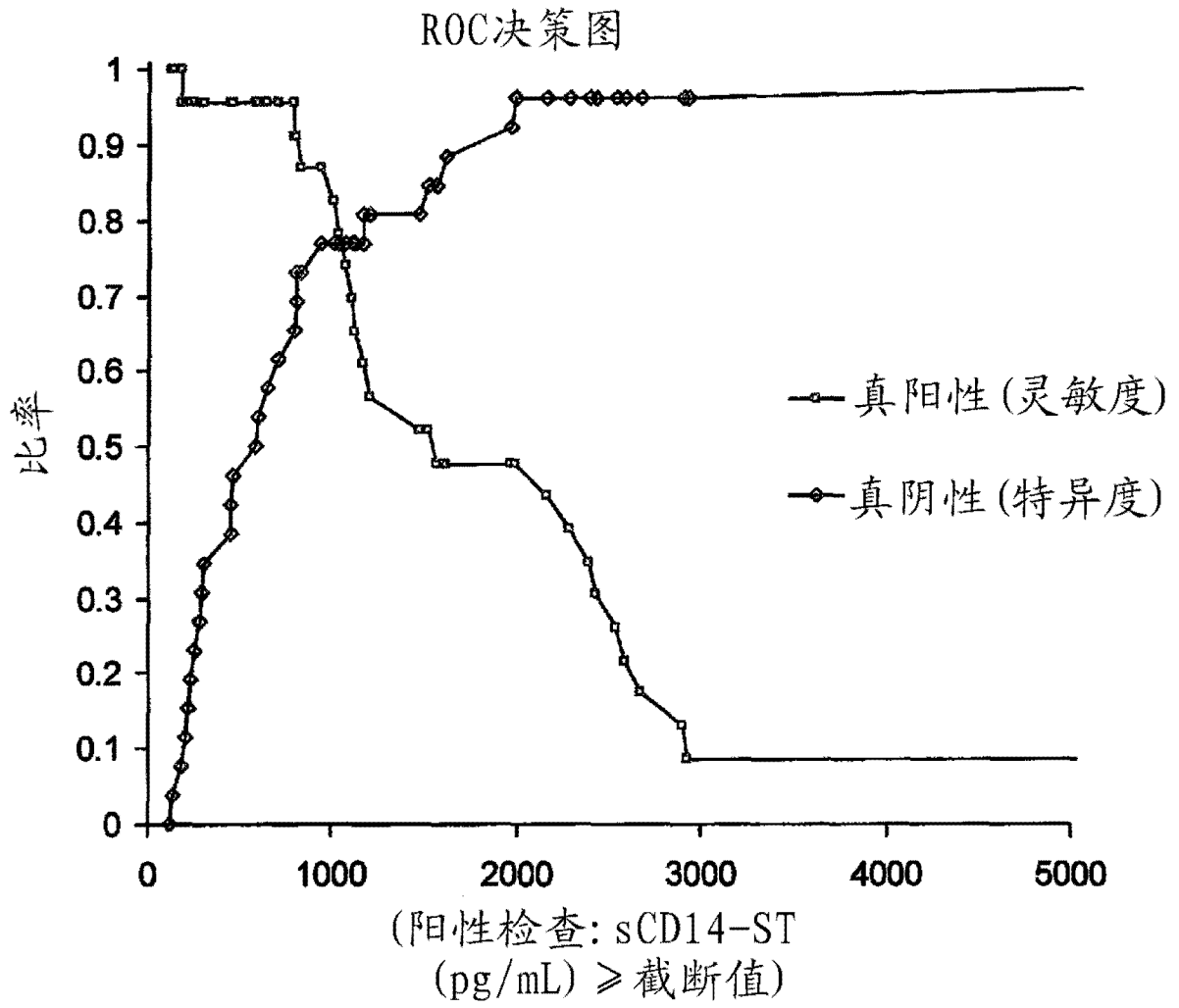


图 7

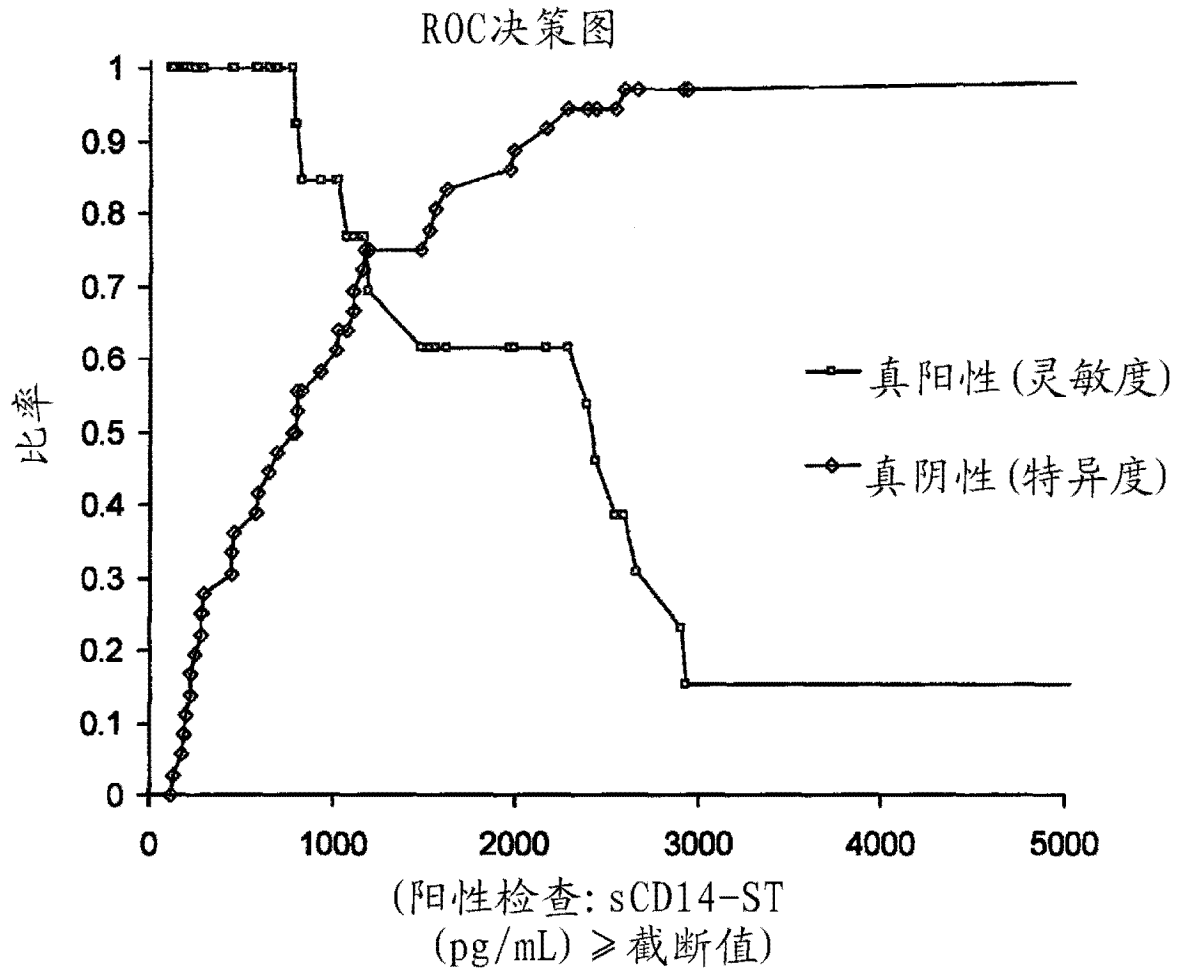


图 8

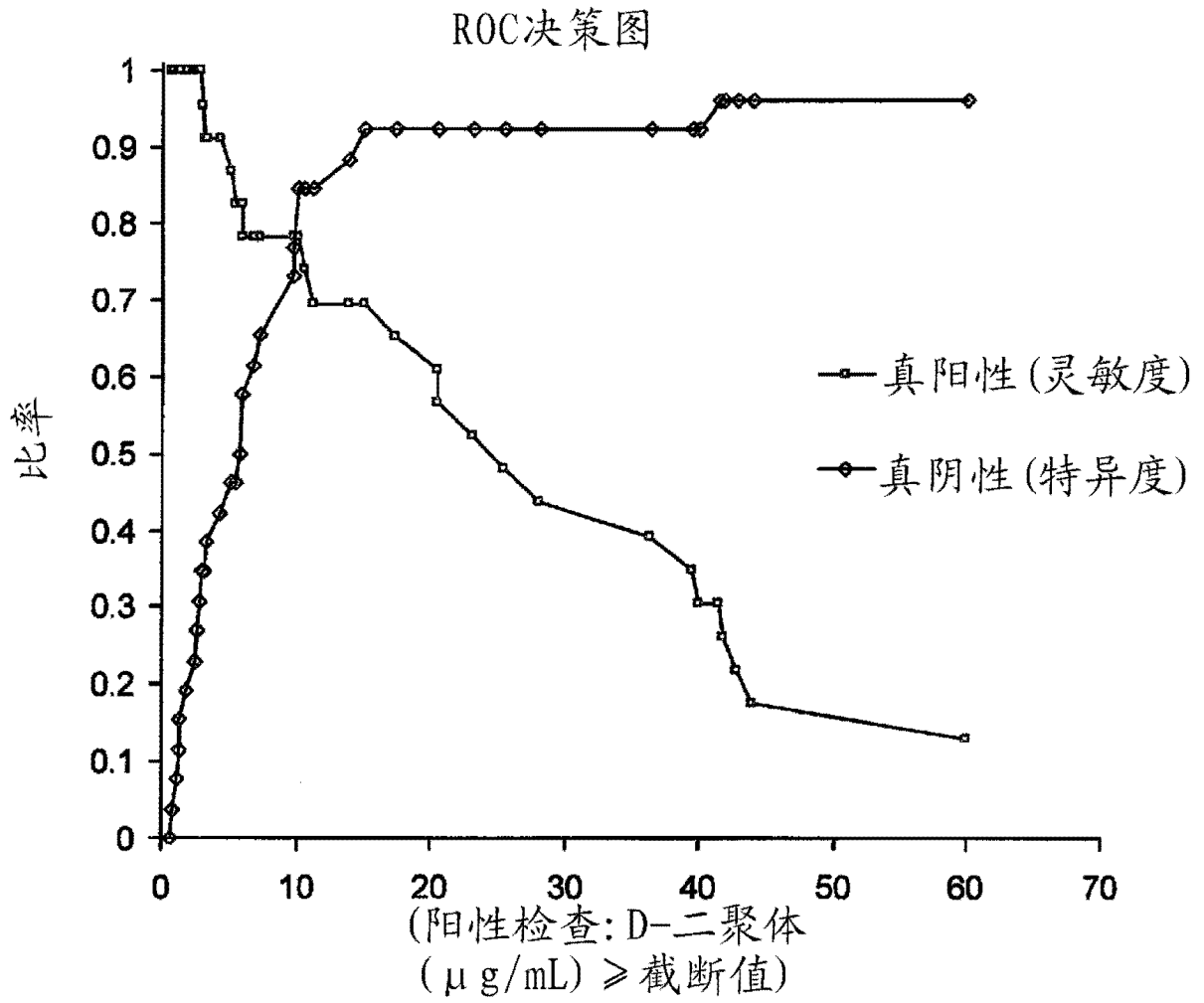


图 9

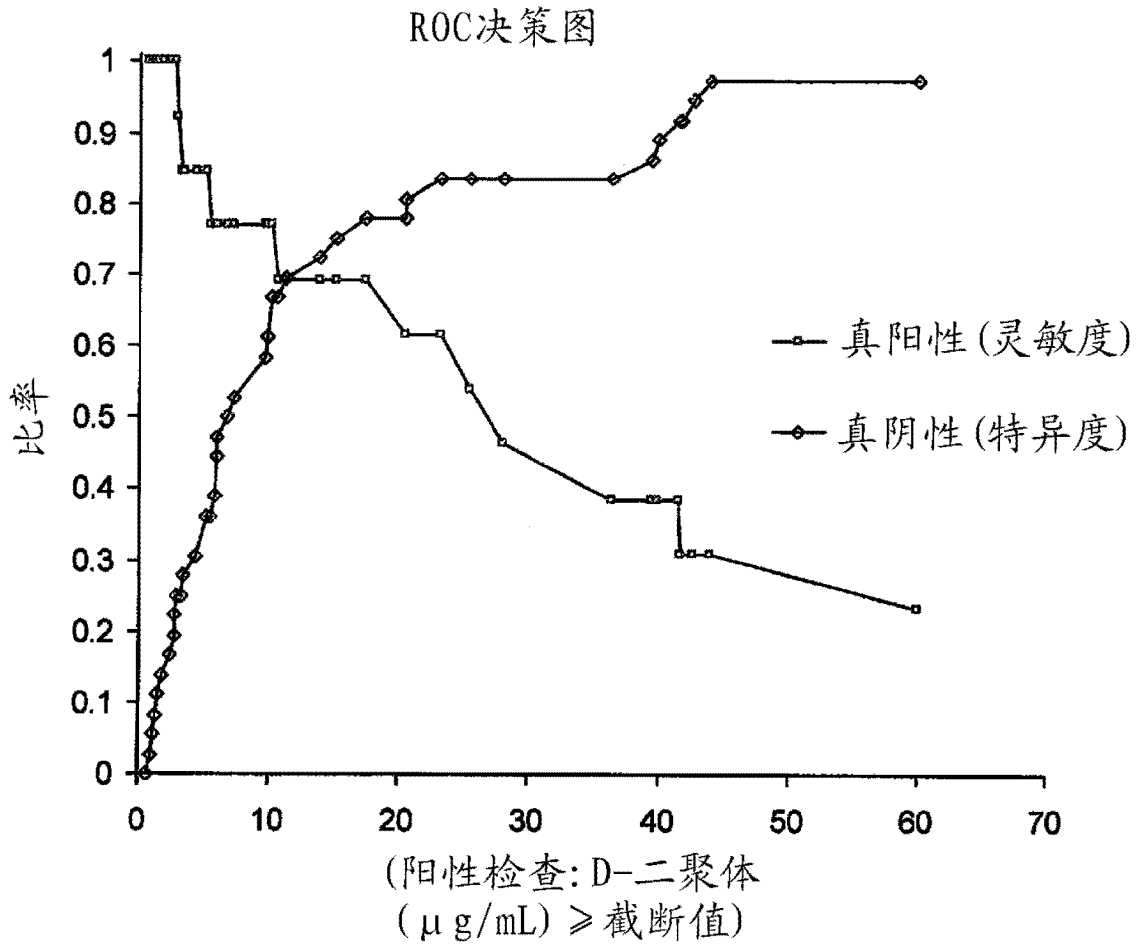


图 10

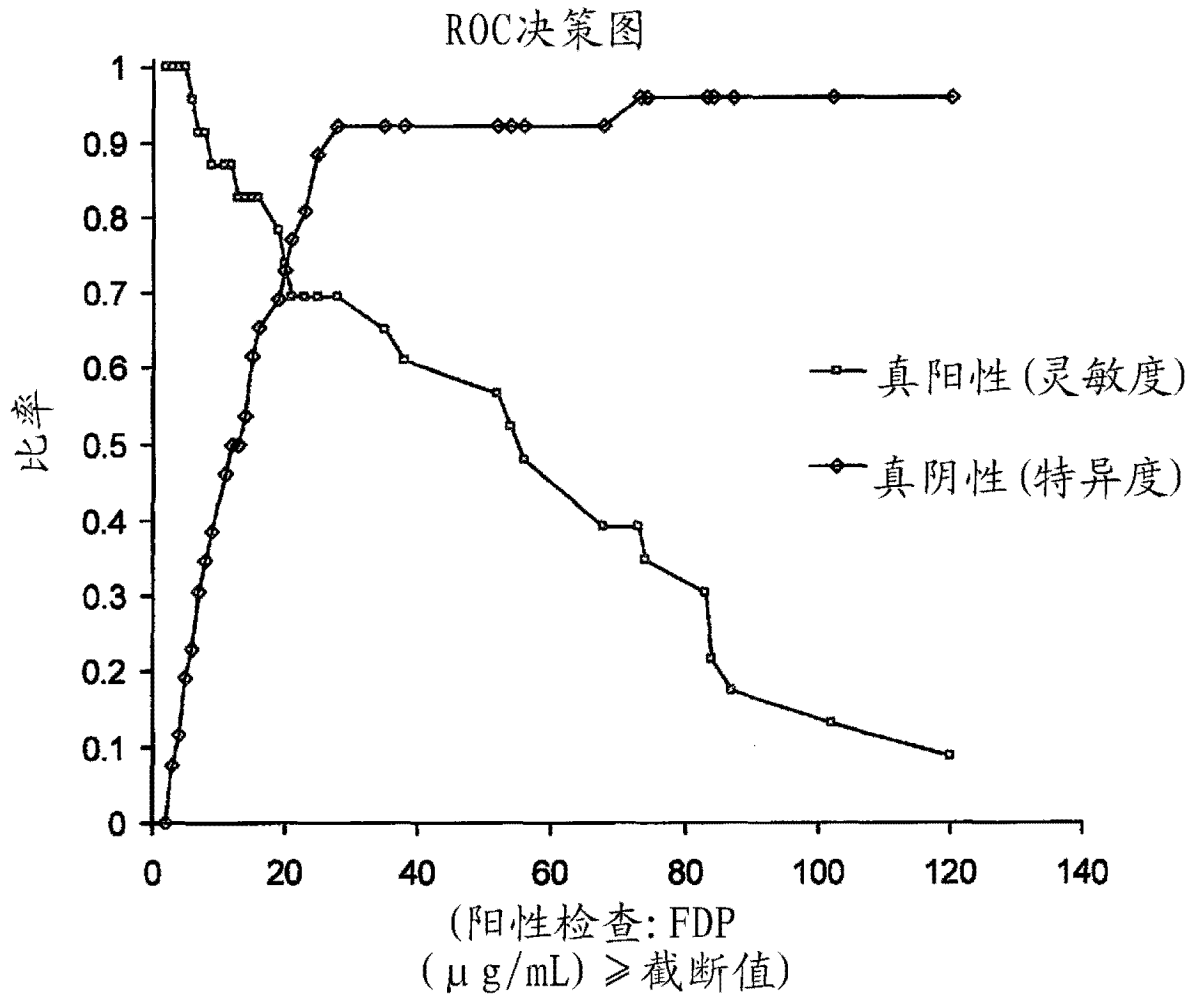


图 11

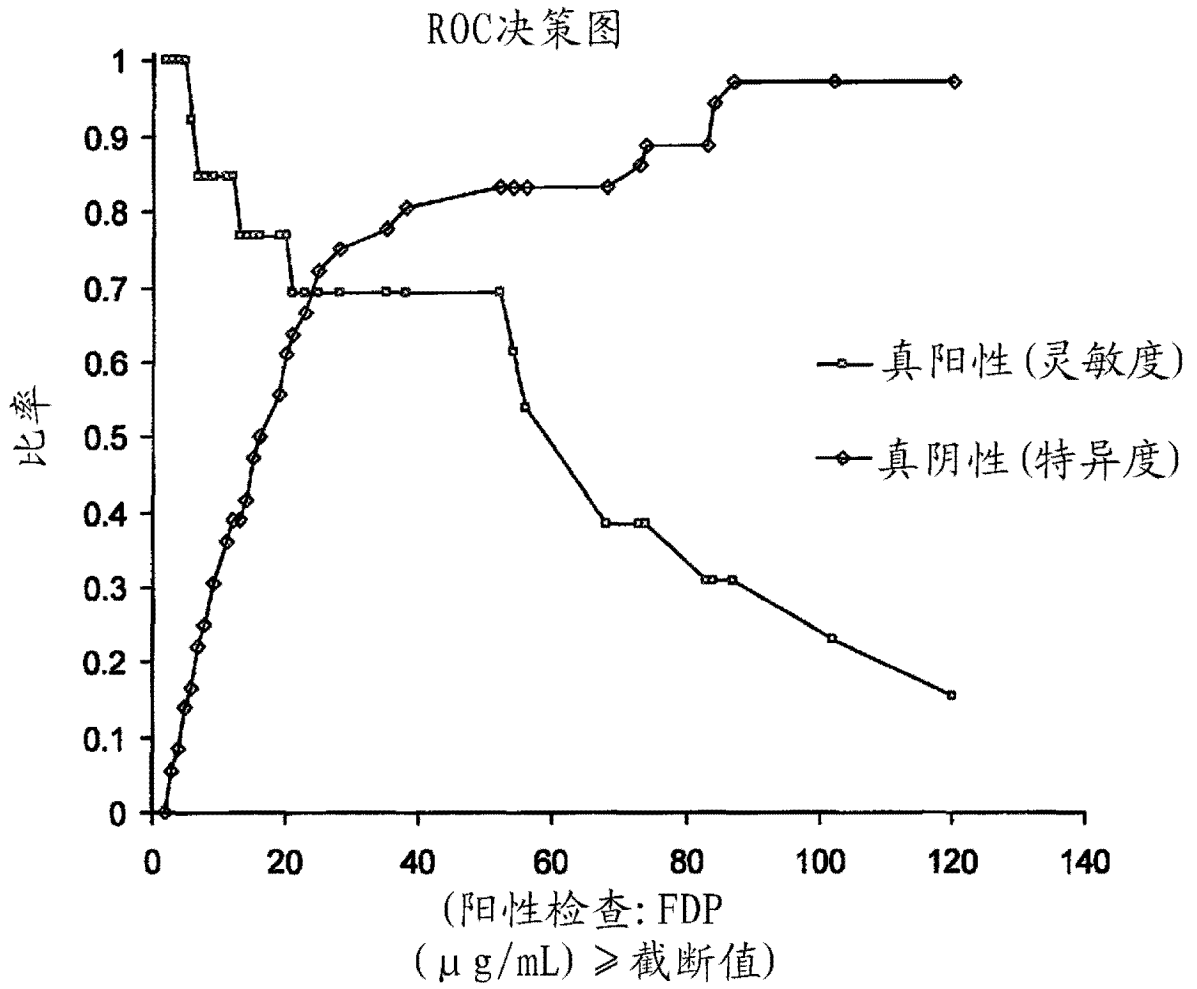


图 12

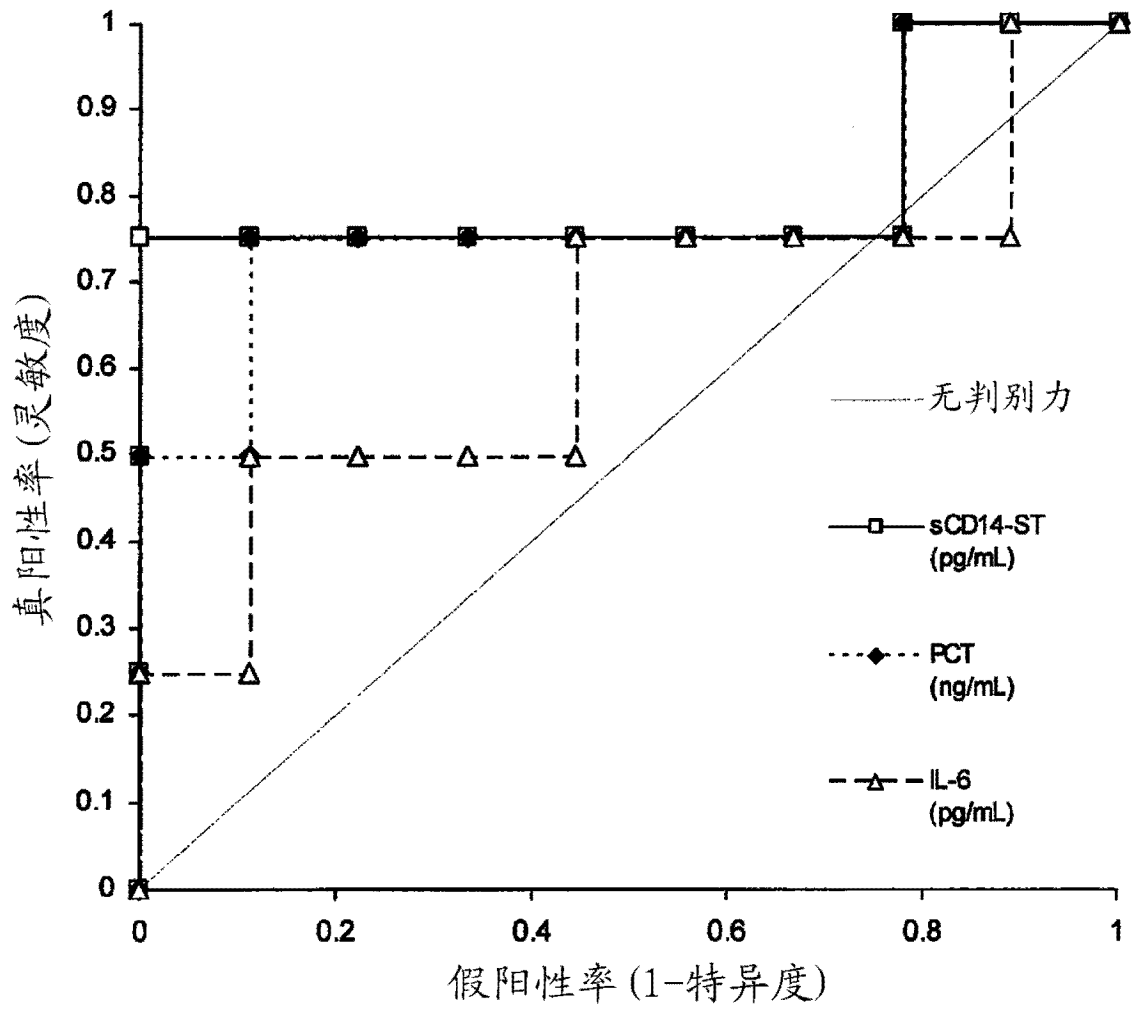


图 13

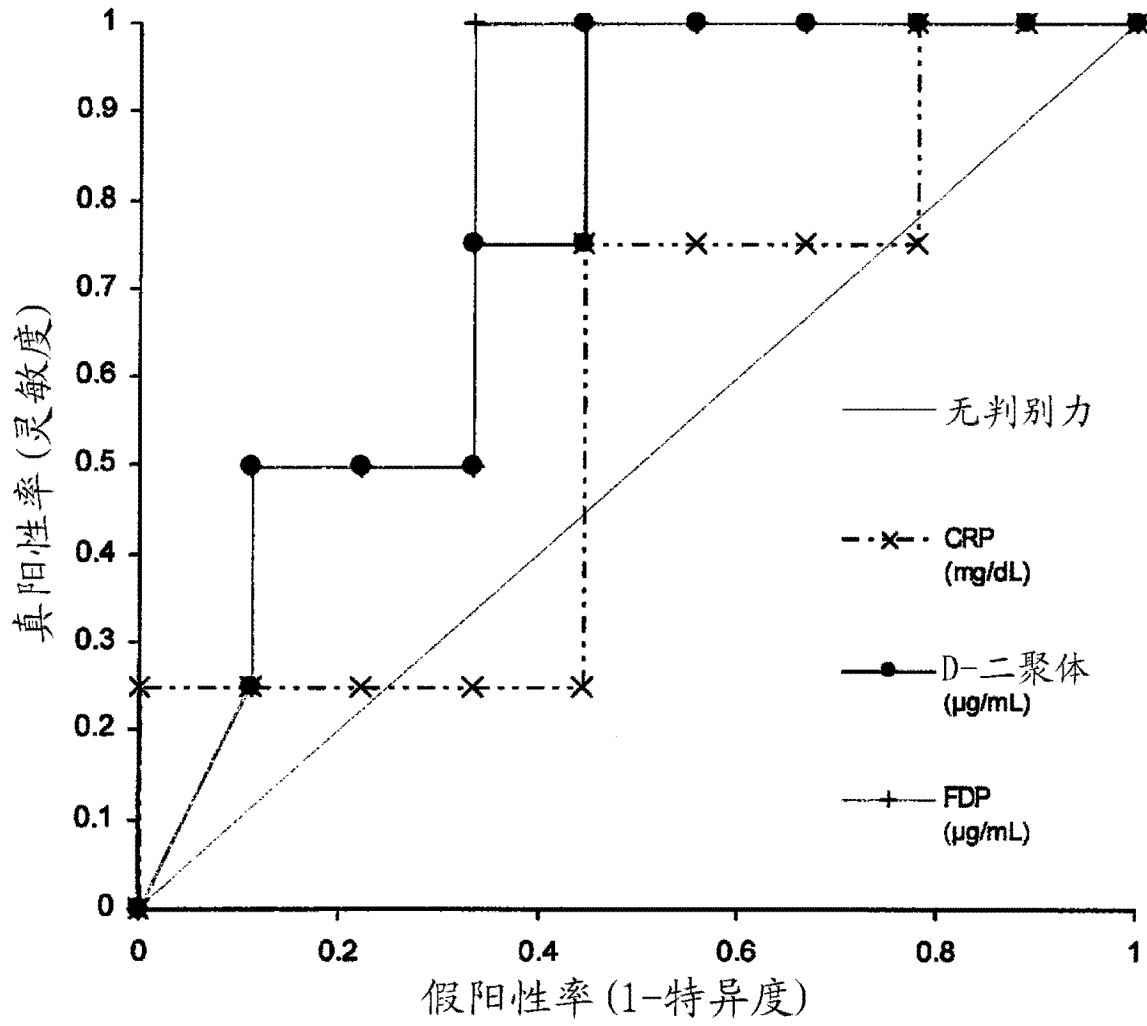


图 14

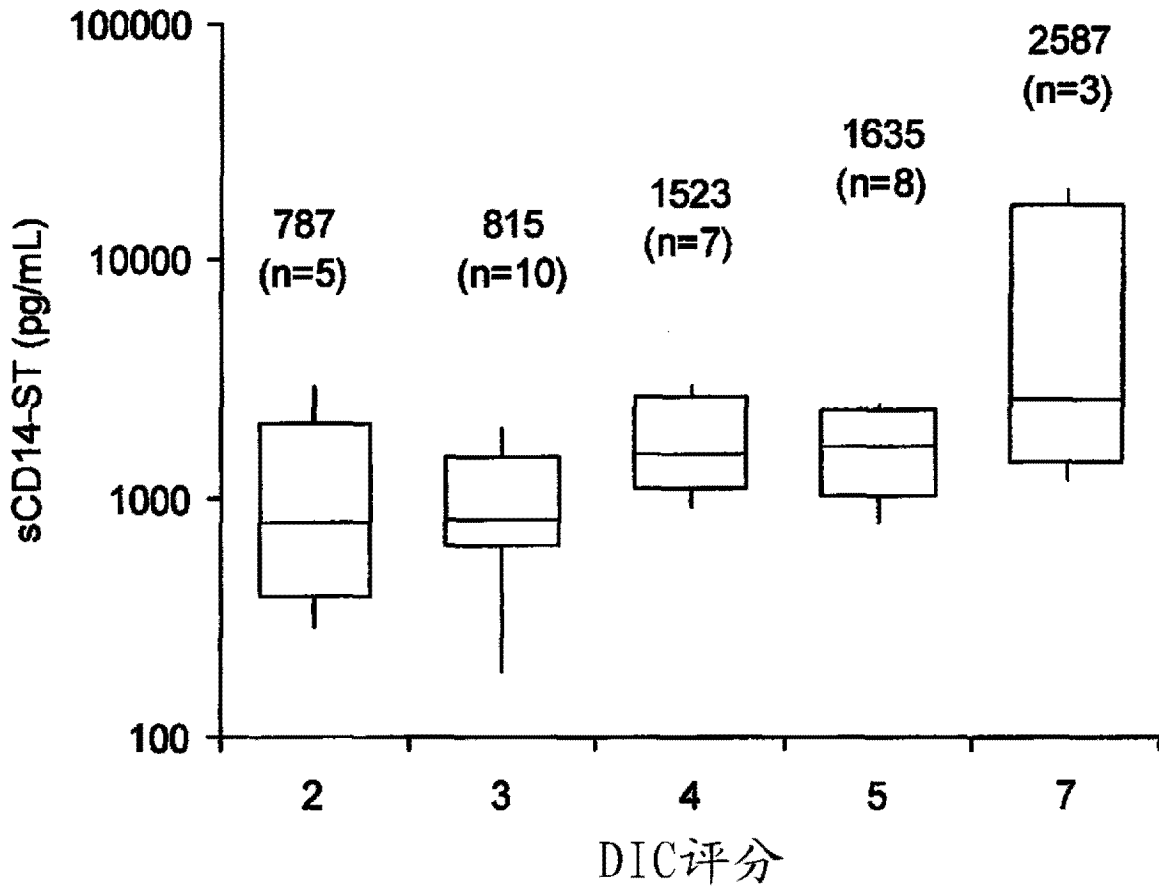


图 15

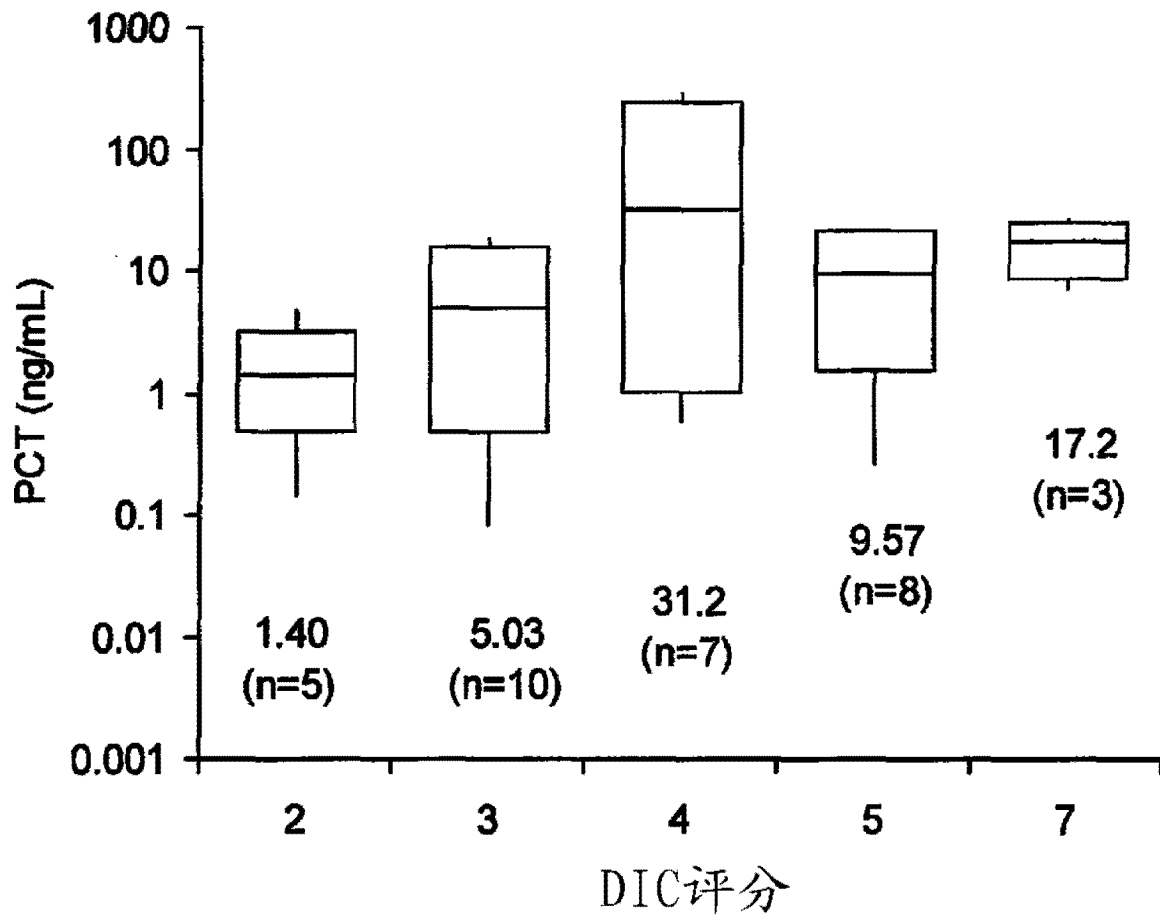


图 16

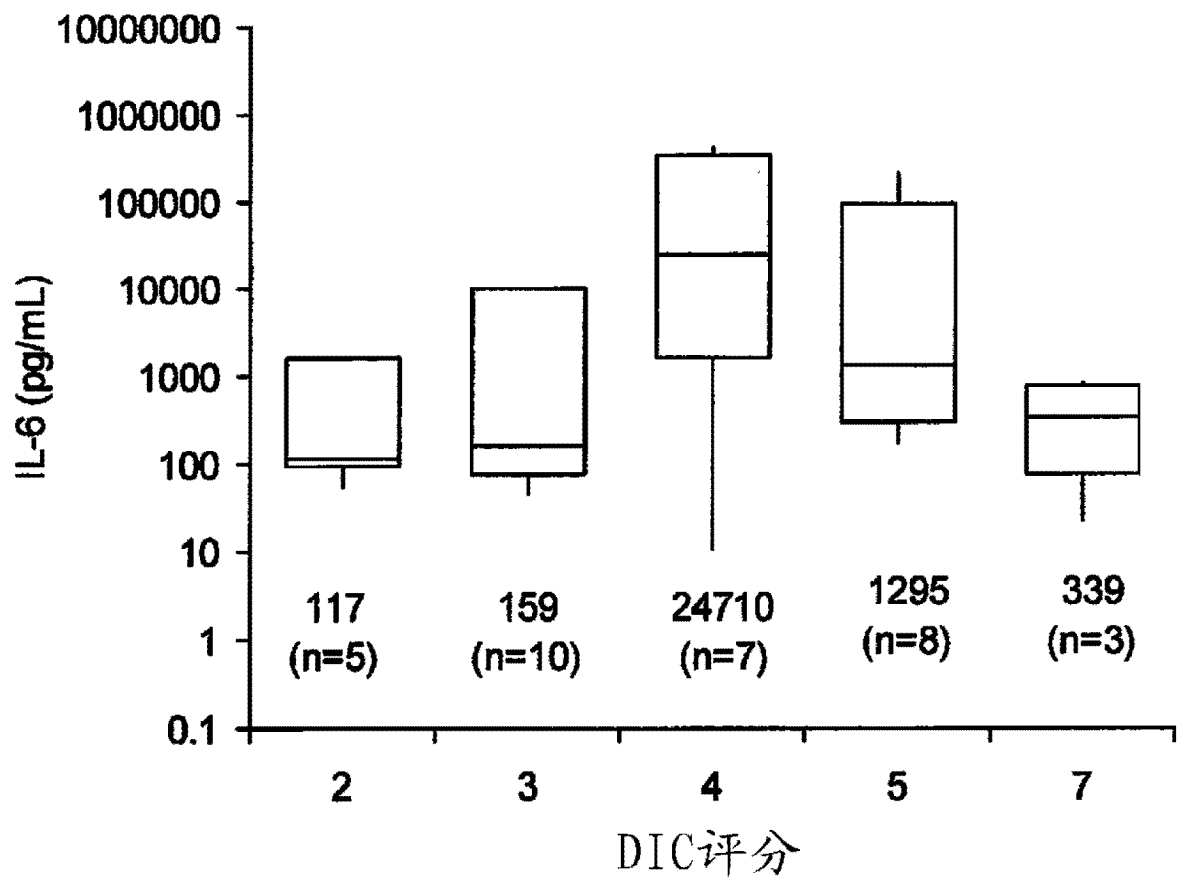


图 17

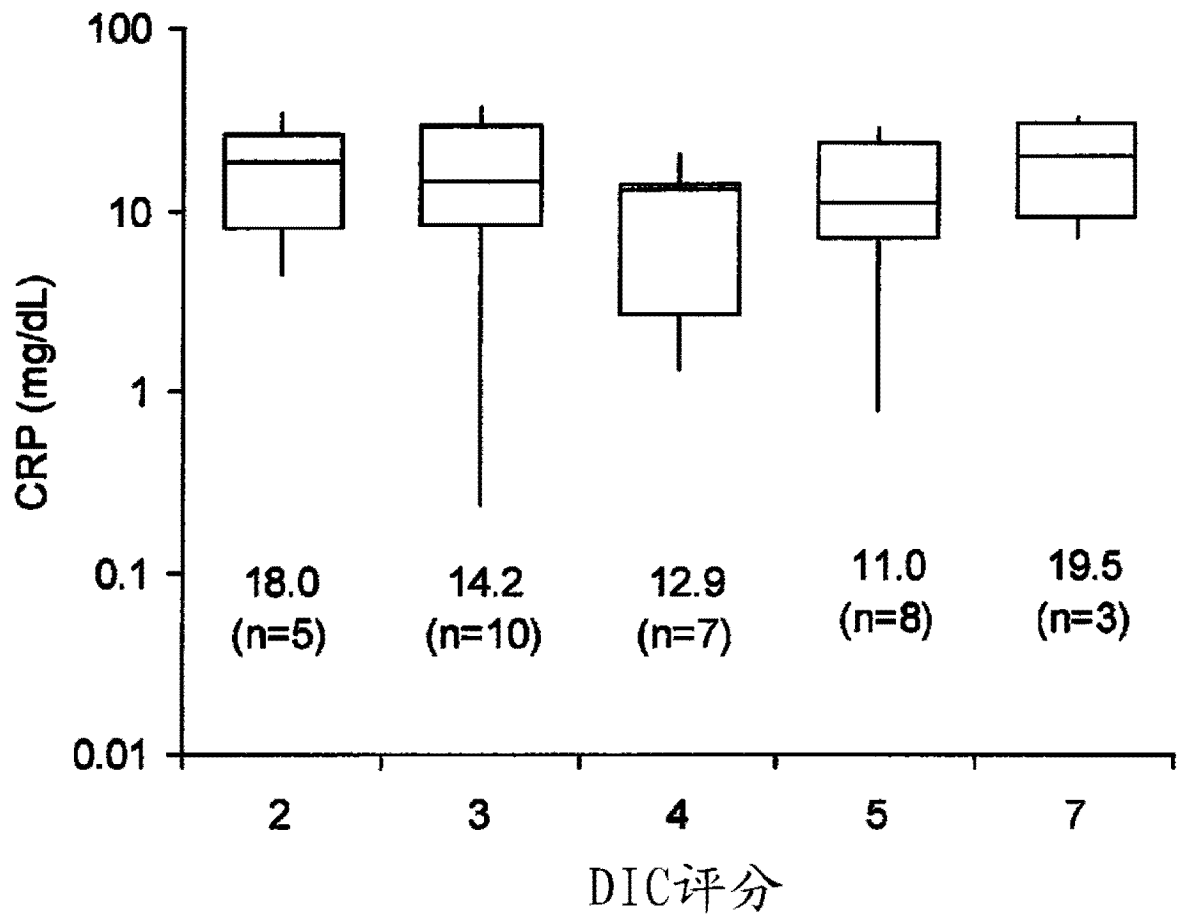


图 18

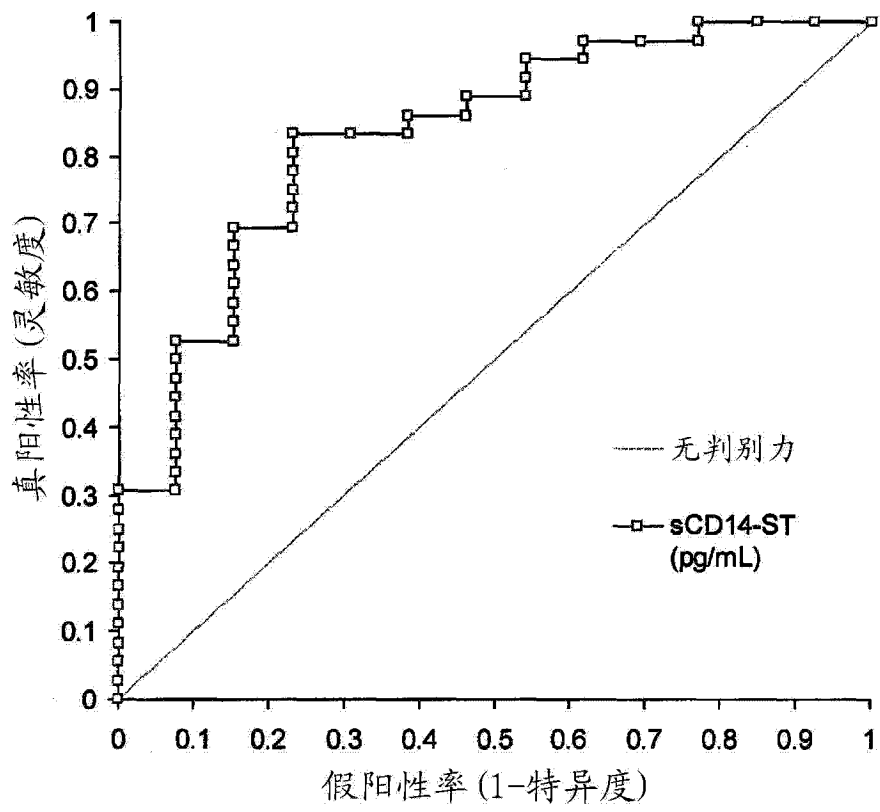


图 19

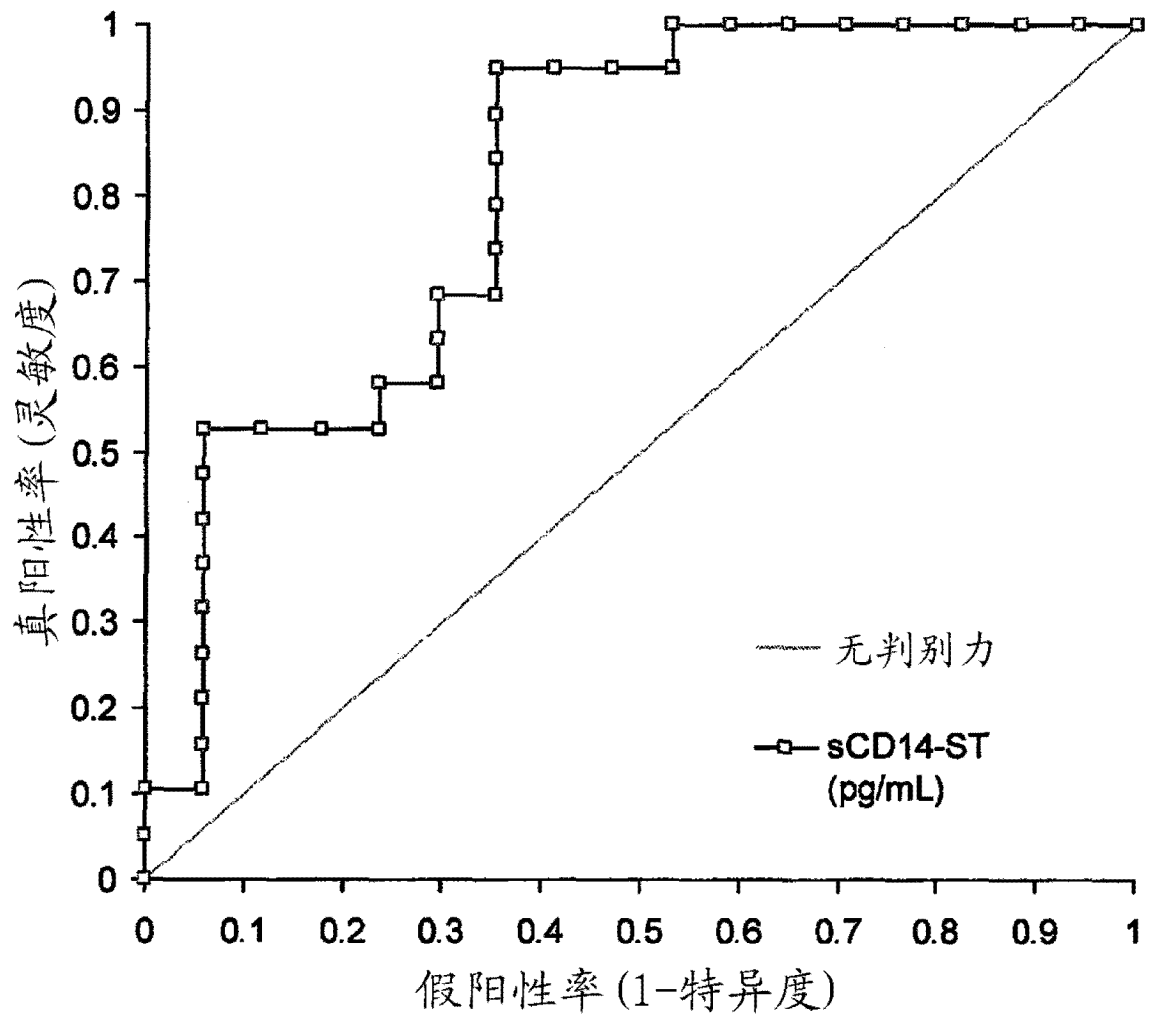


图 20

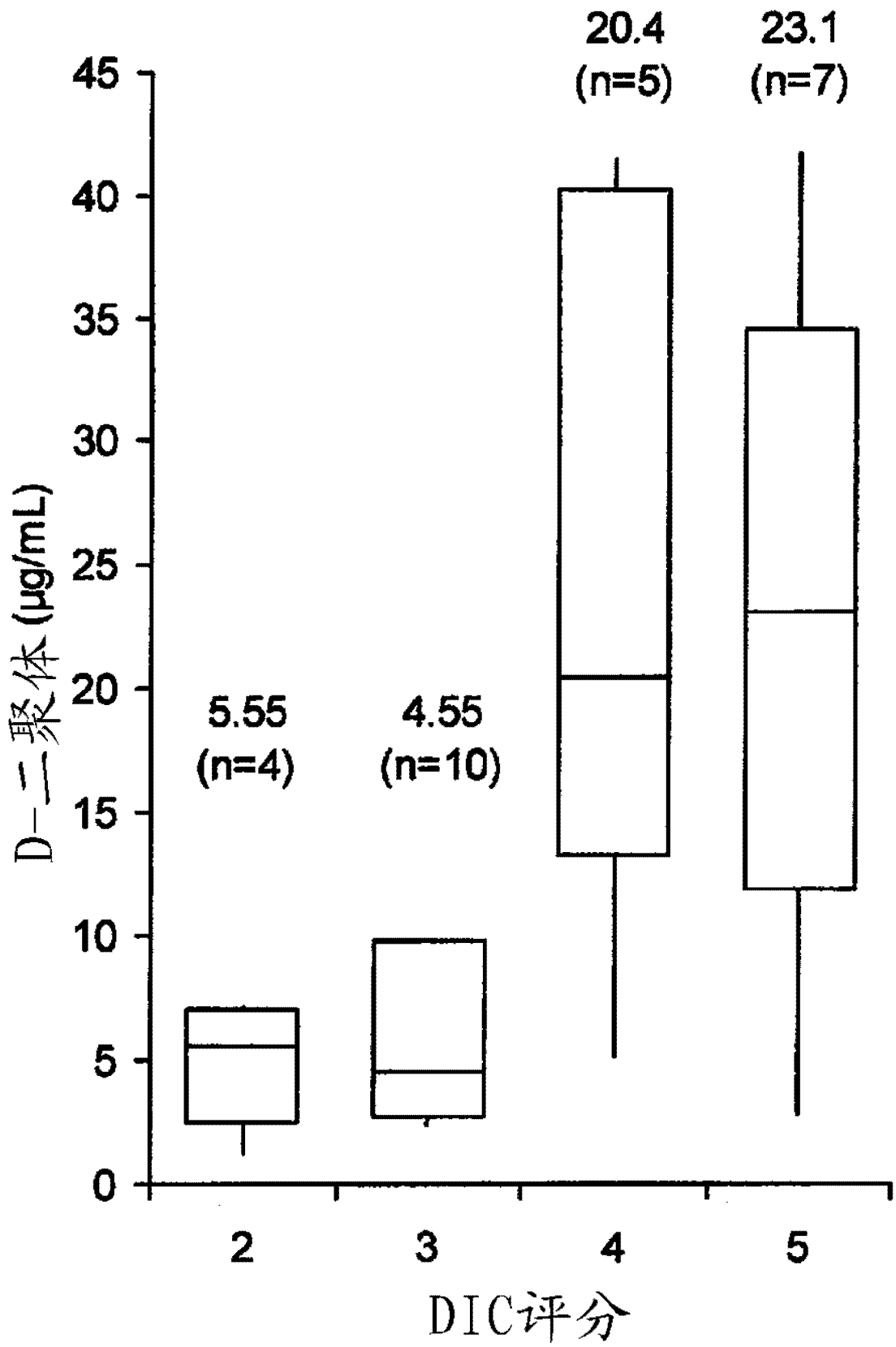


图 21

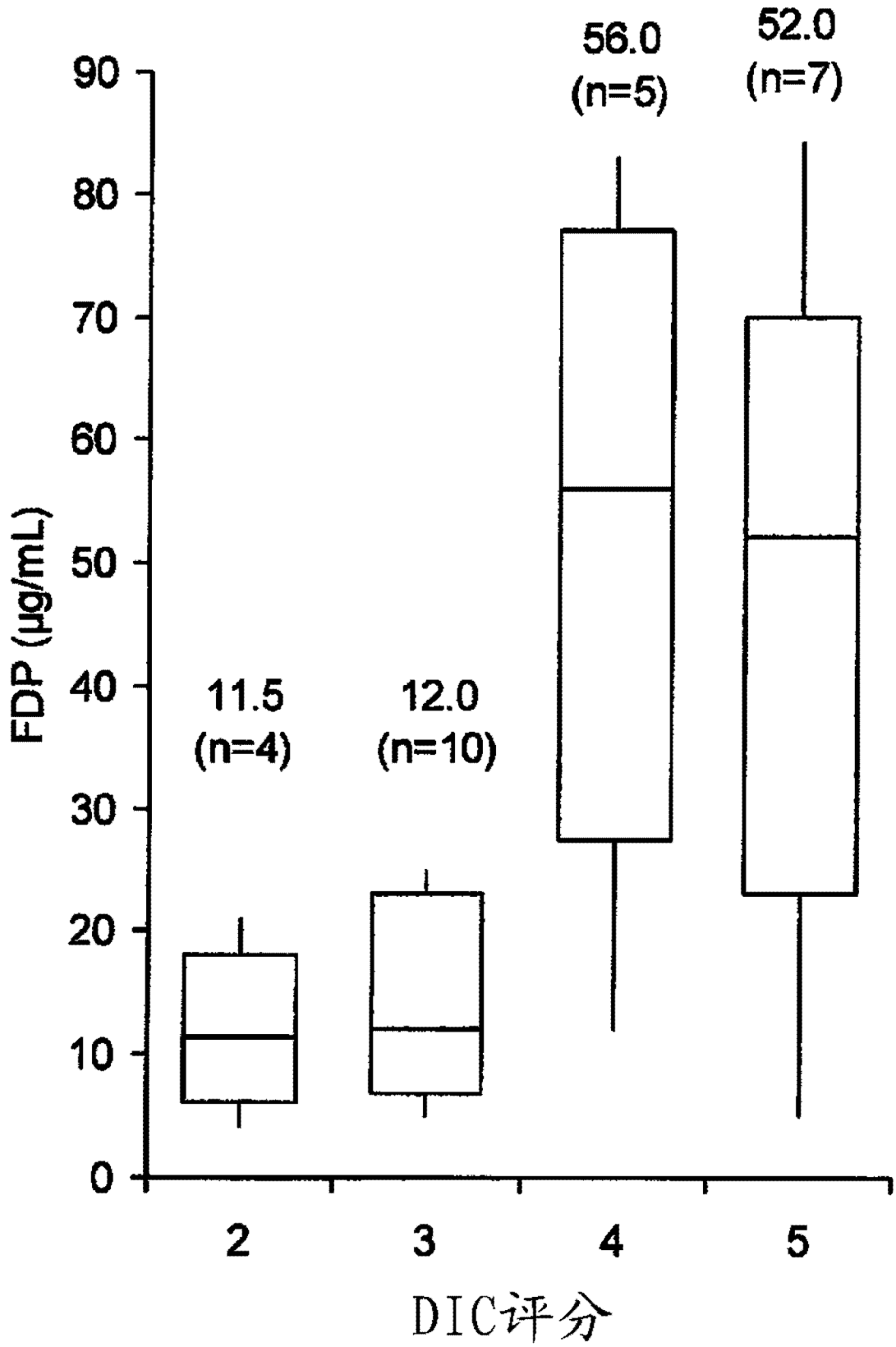


图 22

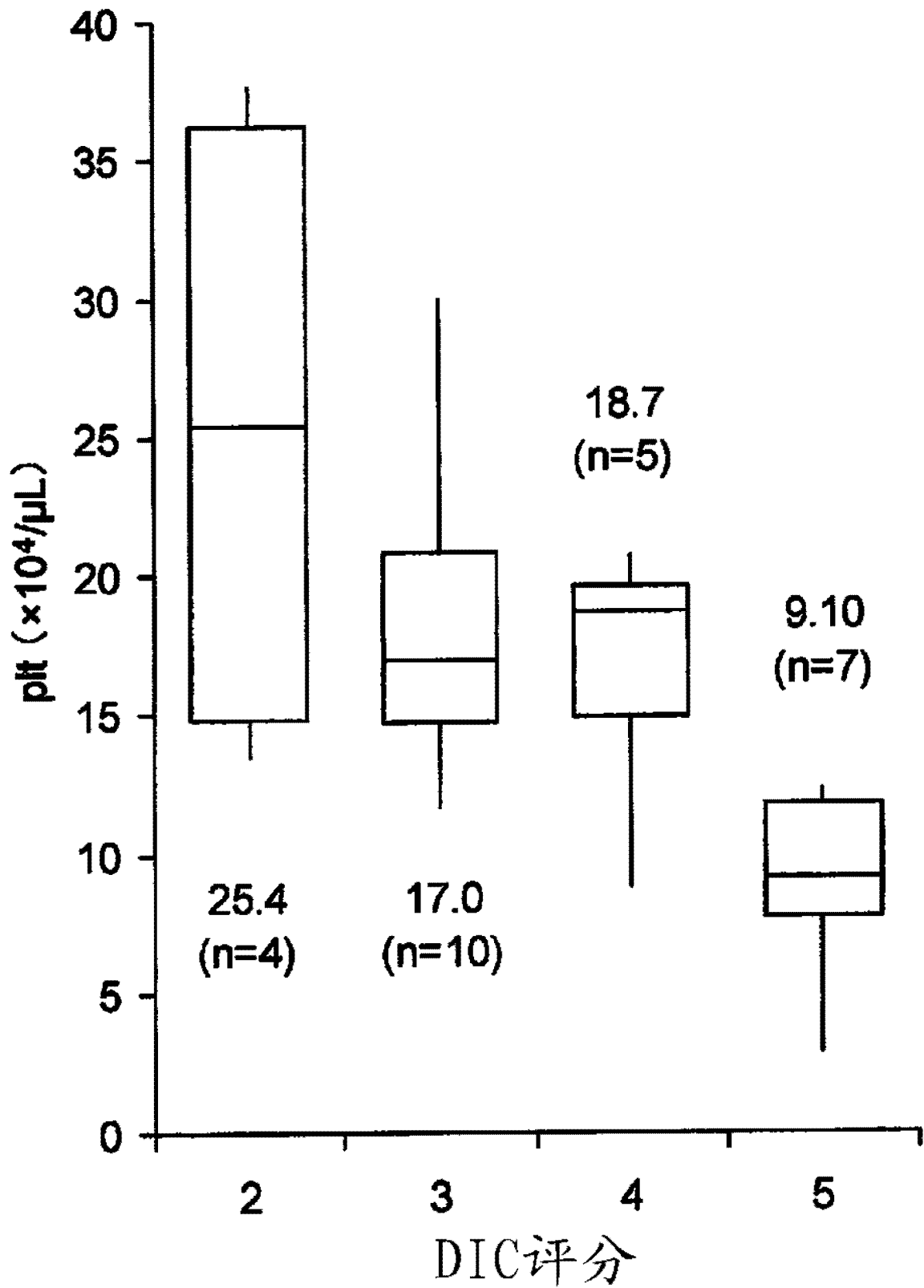


图 23

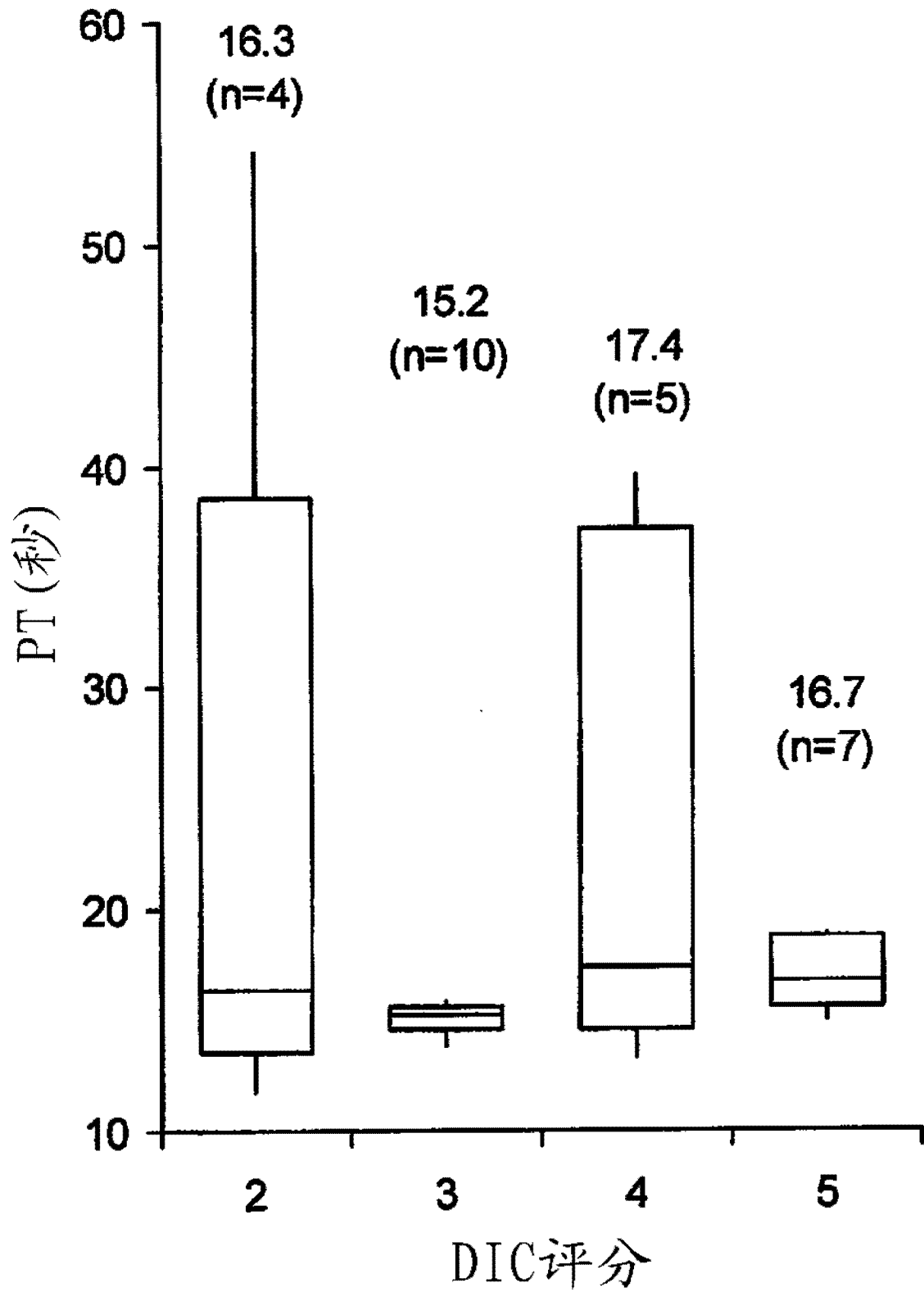


图 24

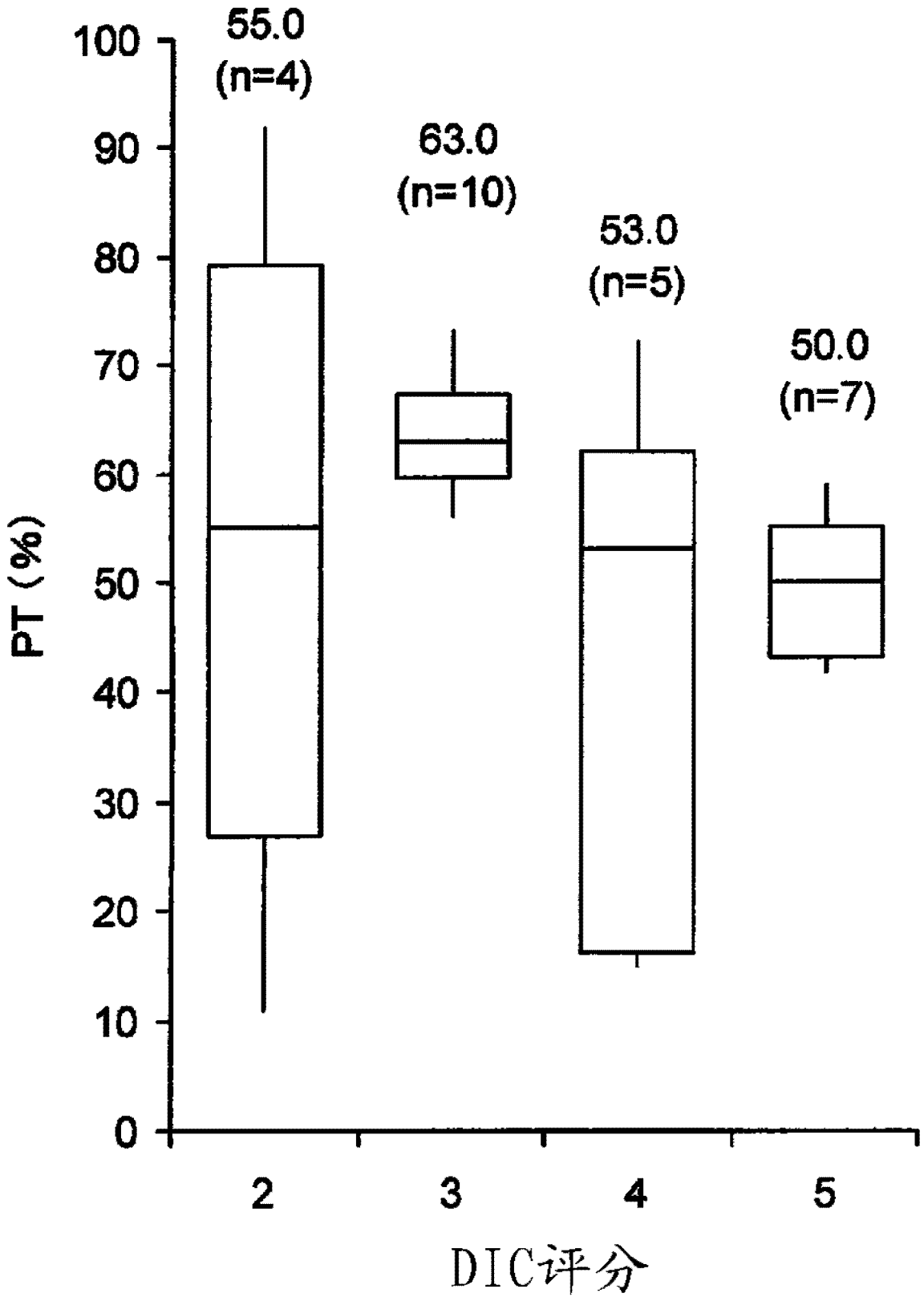


图 25

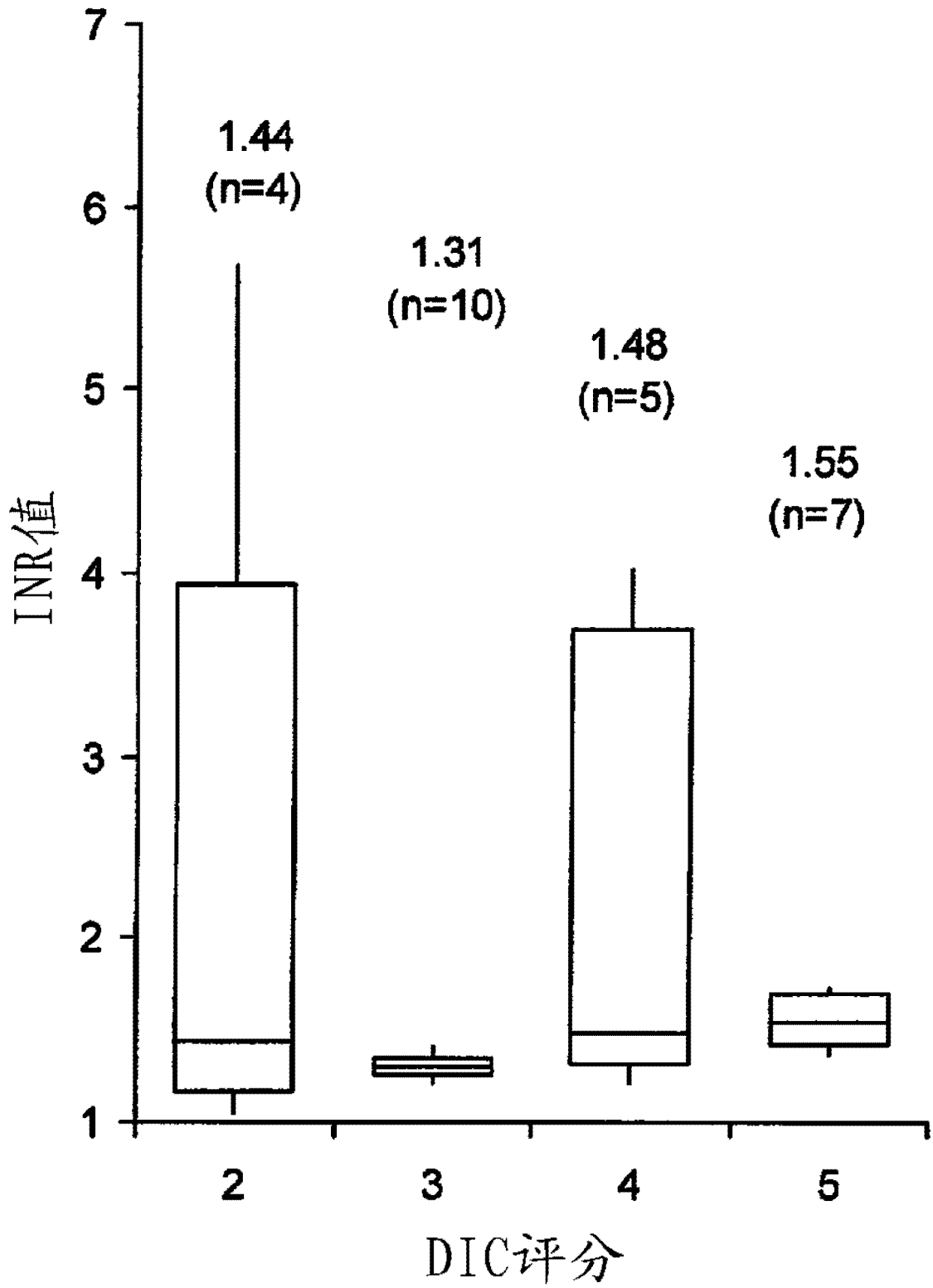


图 26

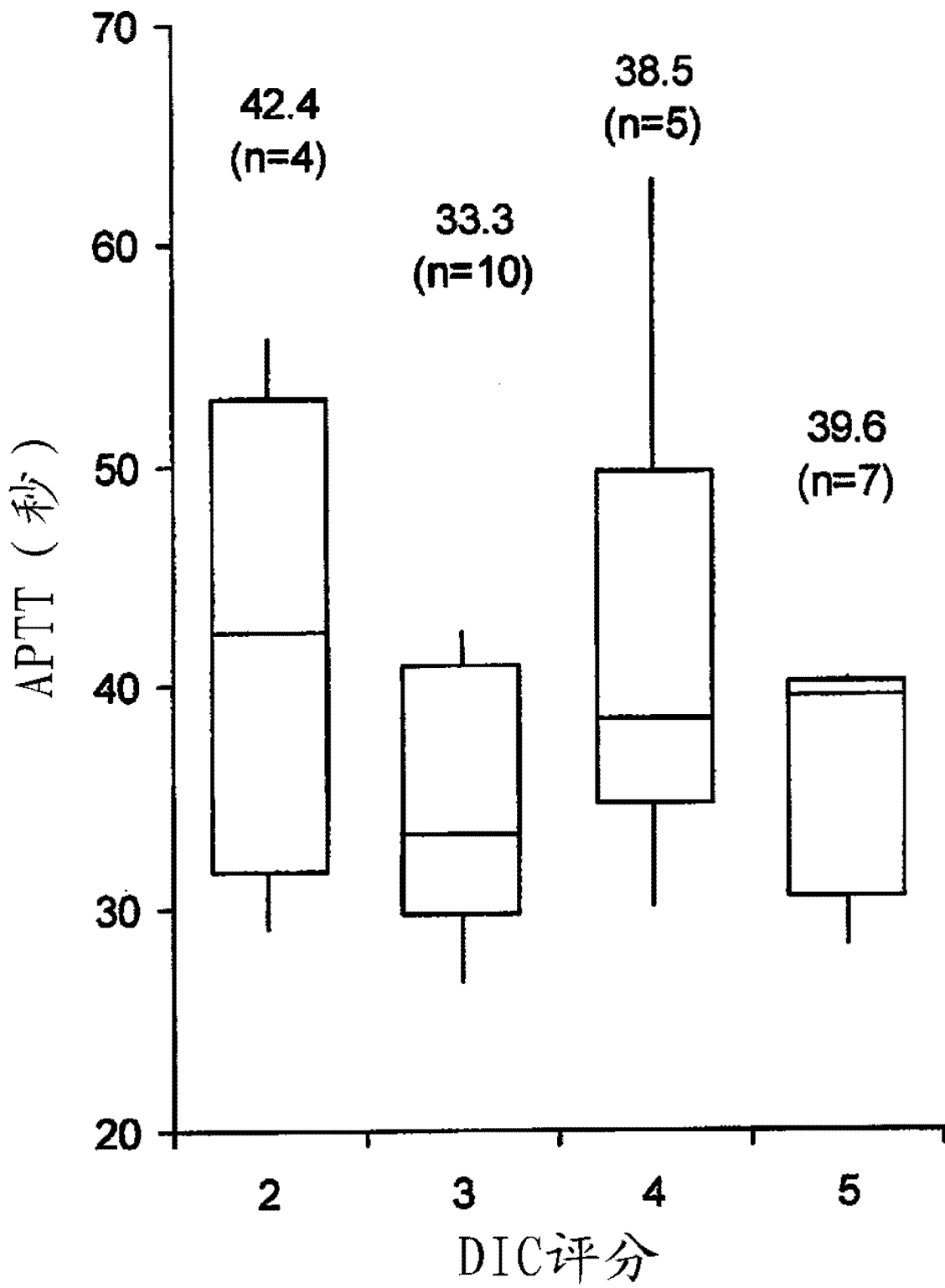


图 27

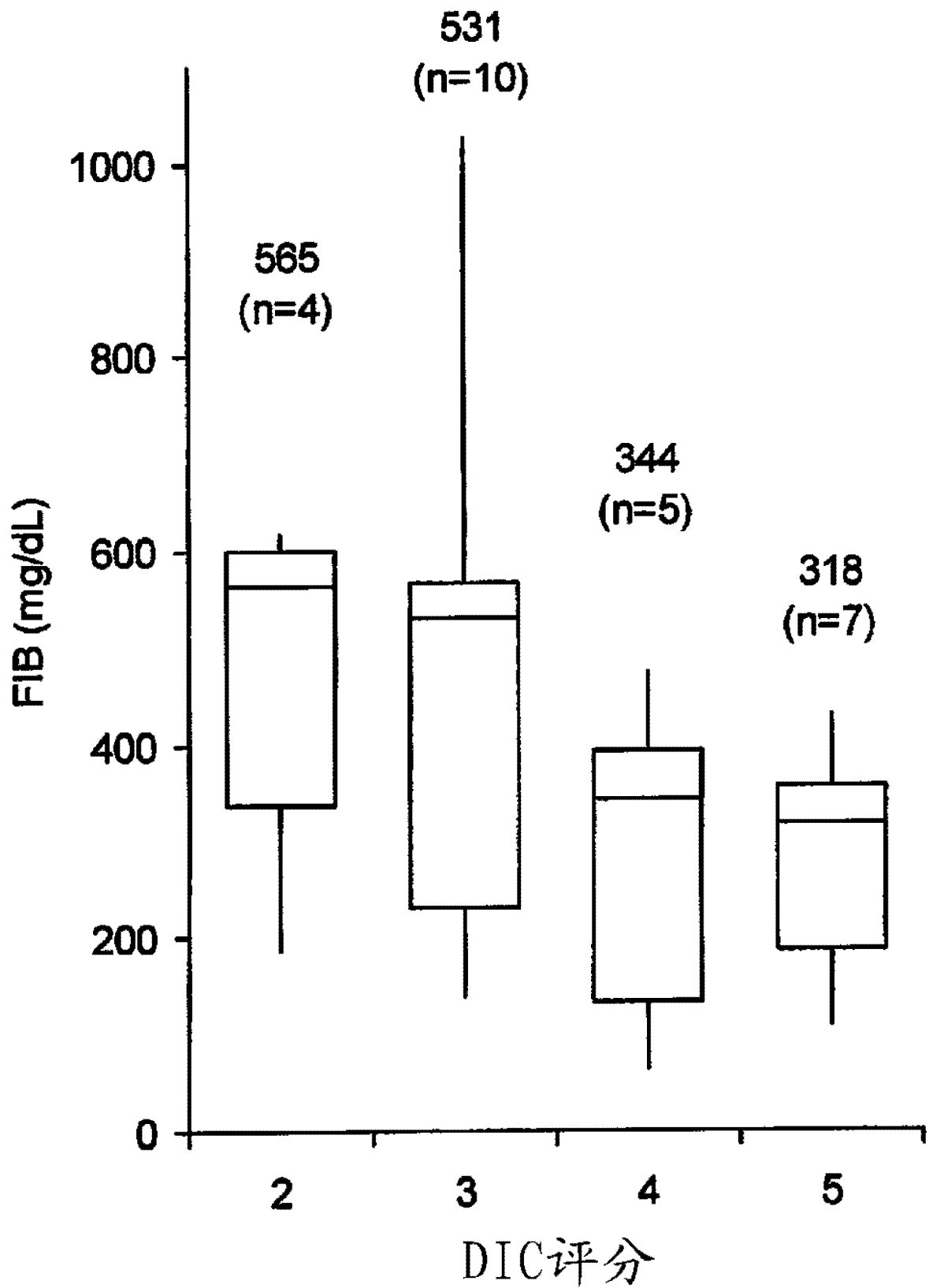


图 28

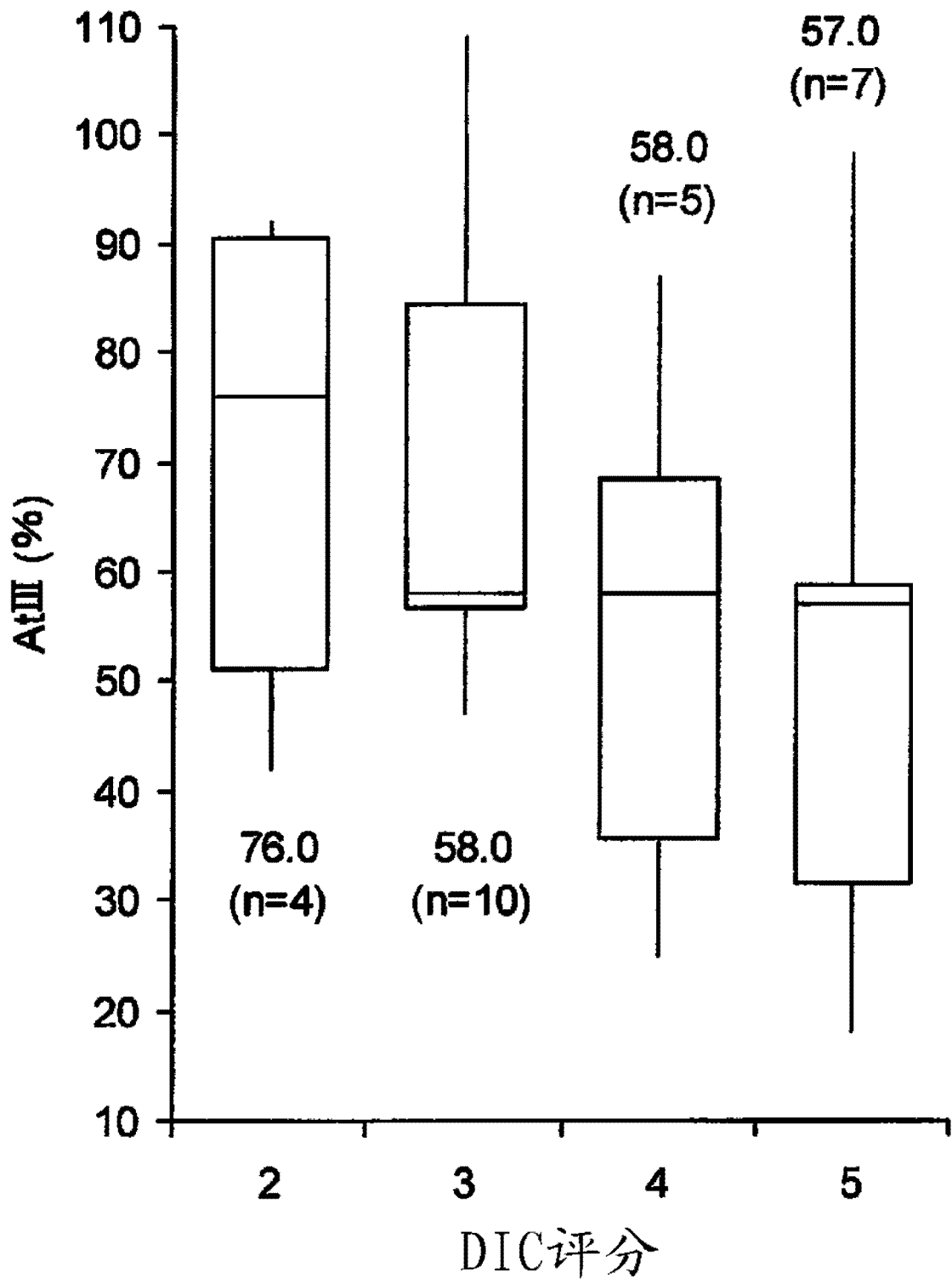


图 29

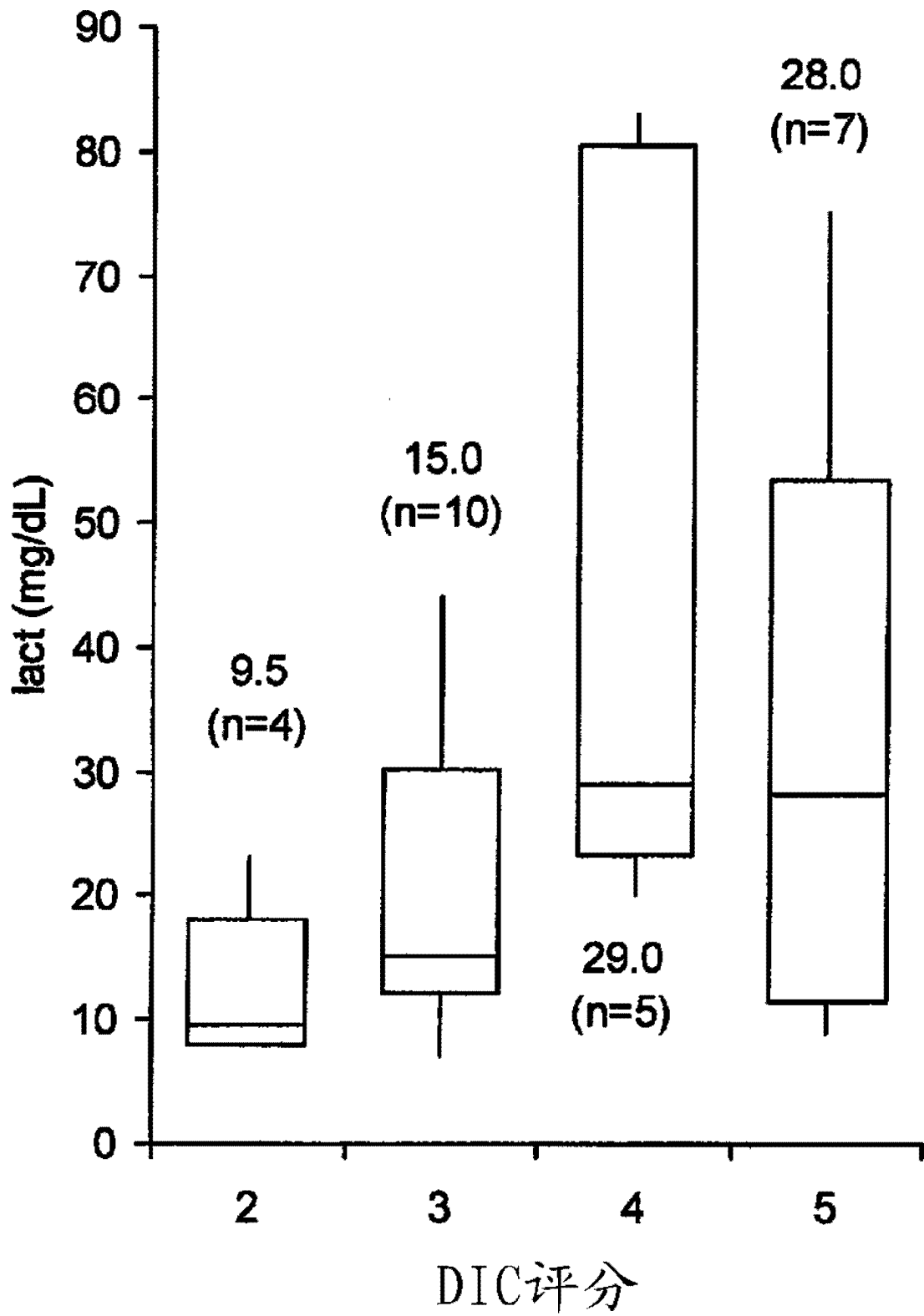


图 30

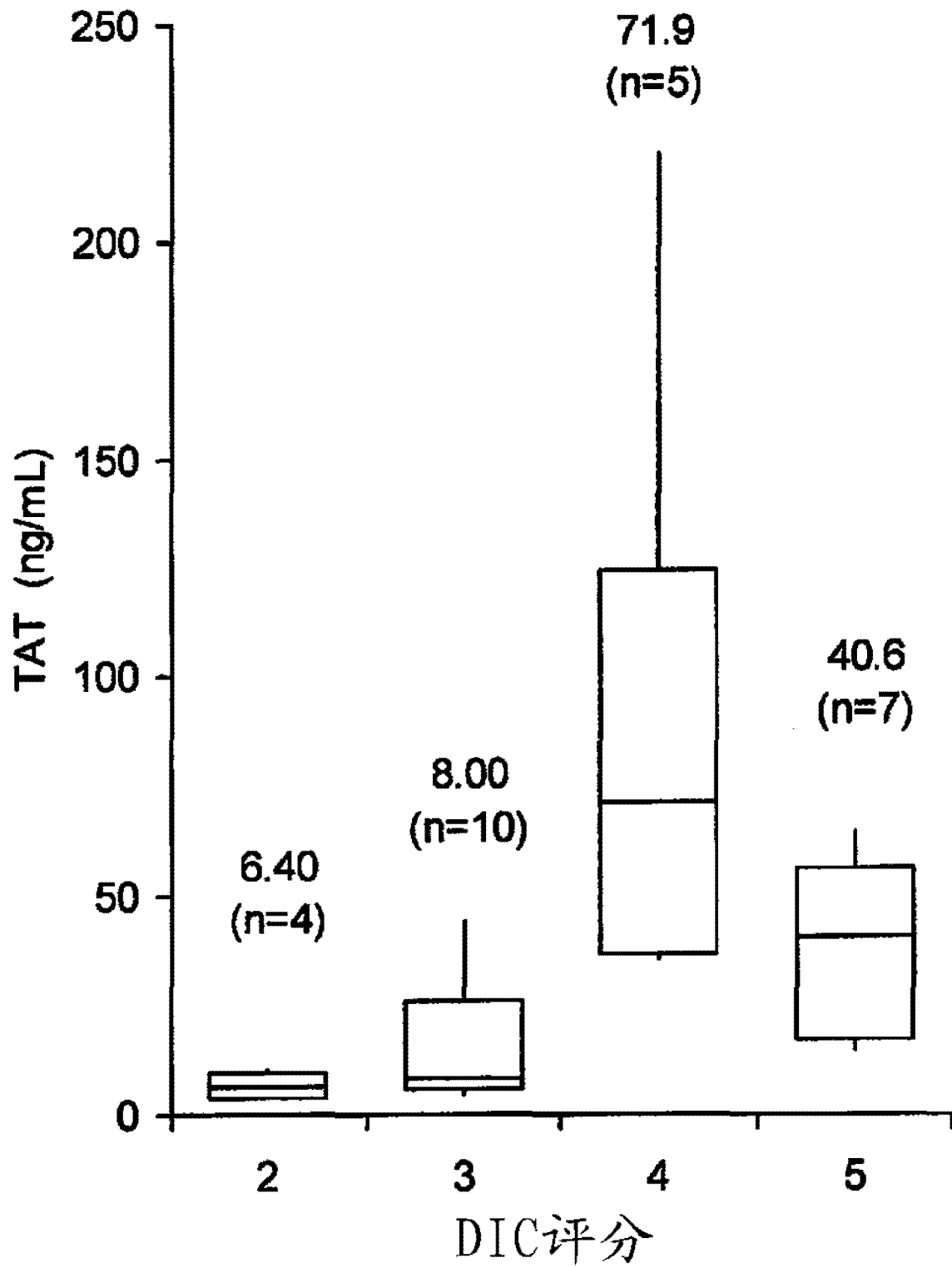


图 31

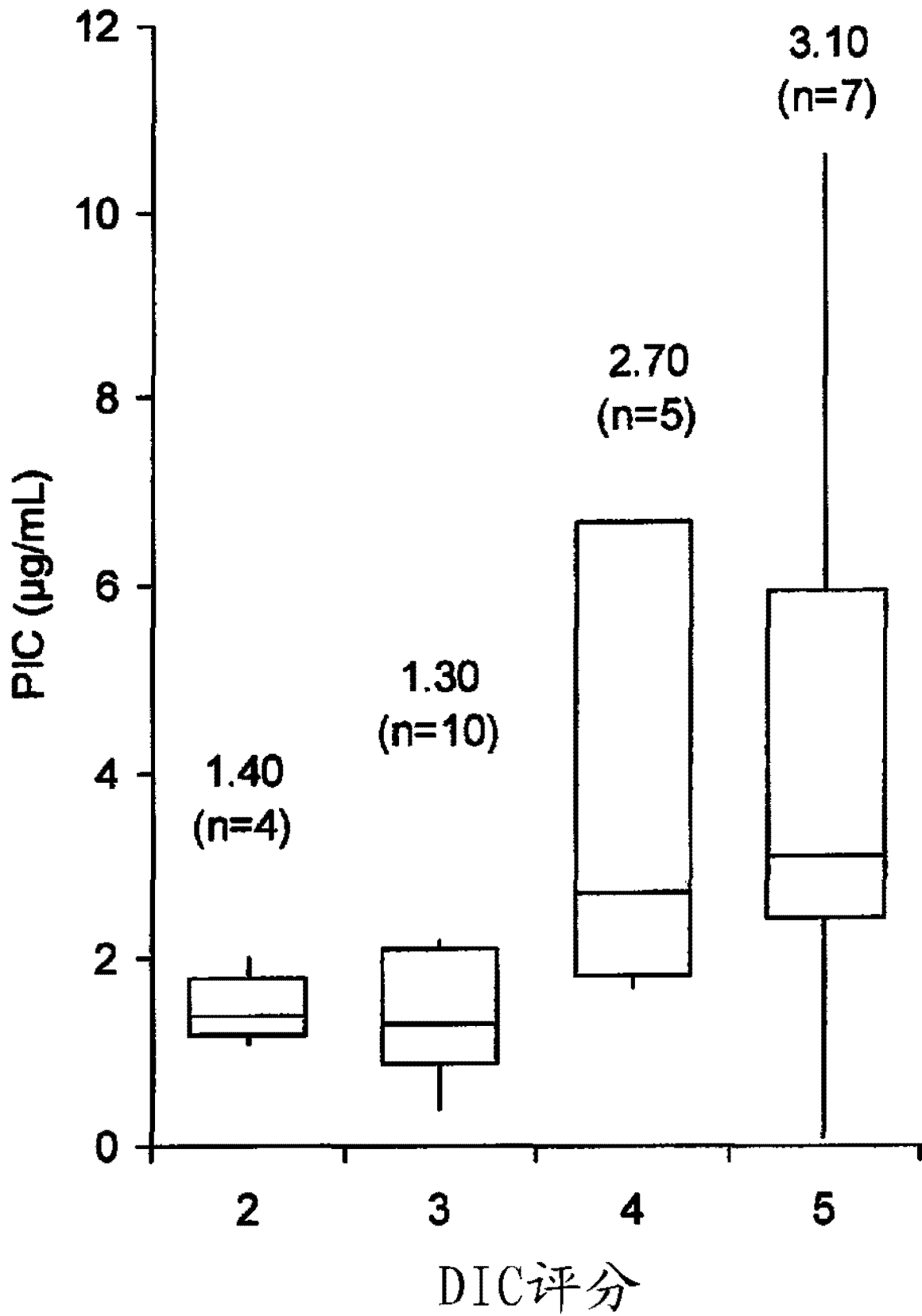


图 32

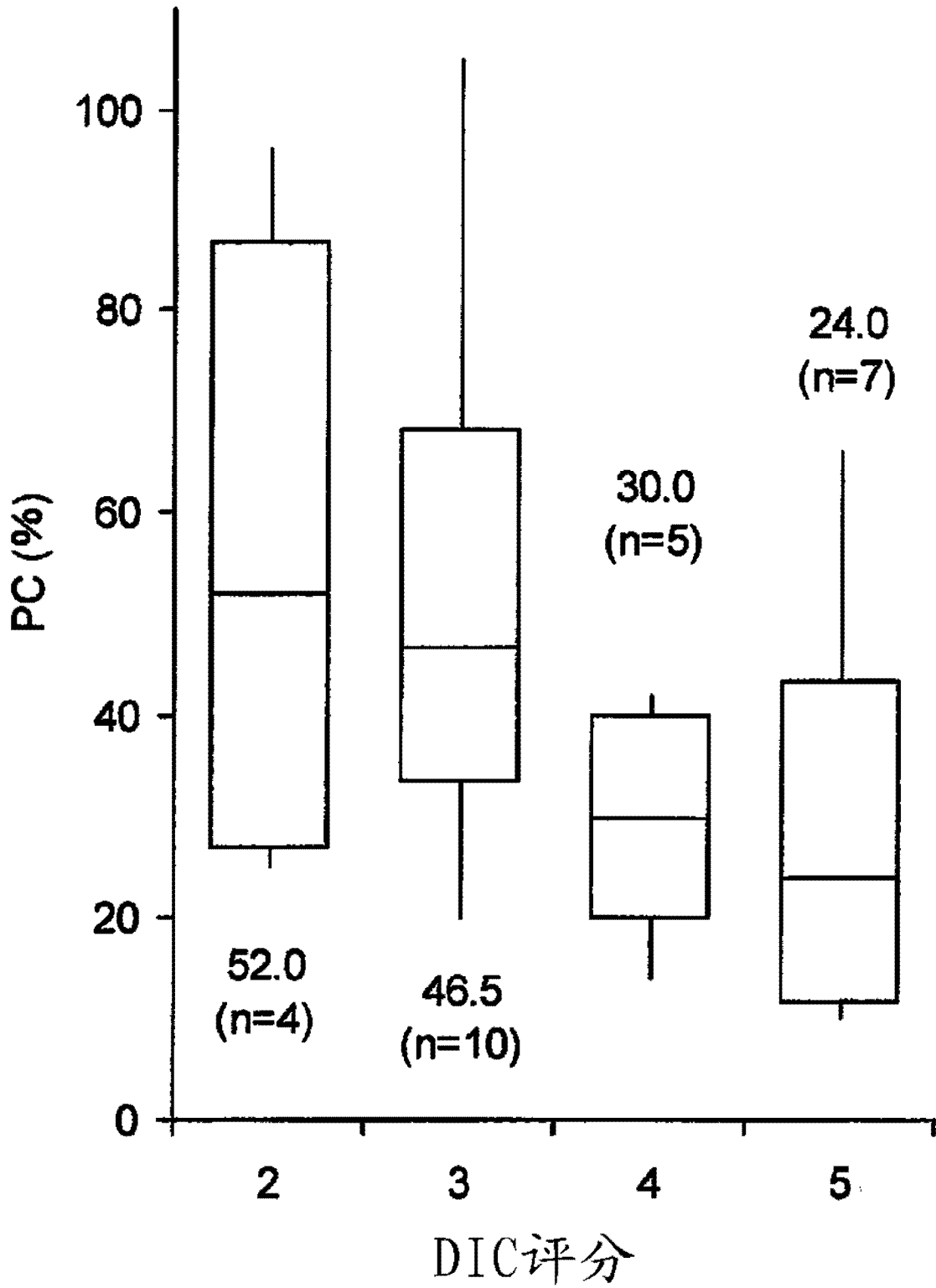


图 33

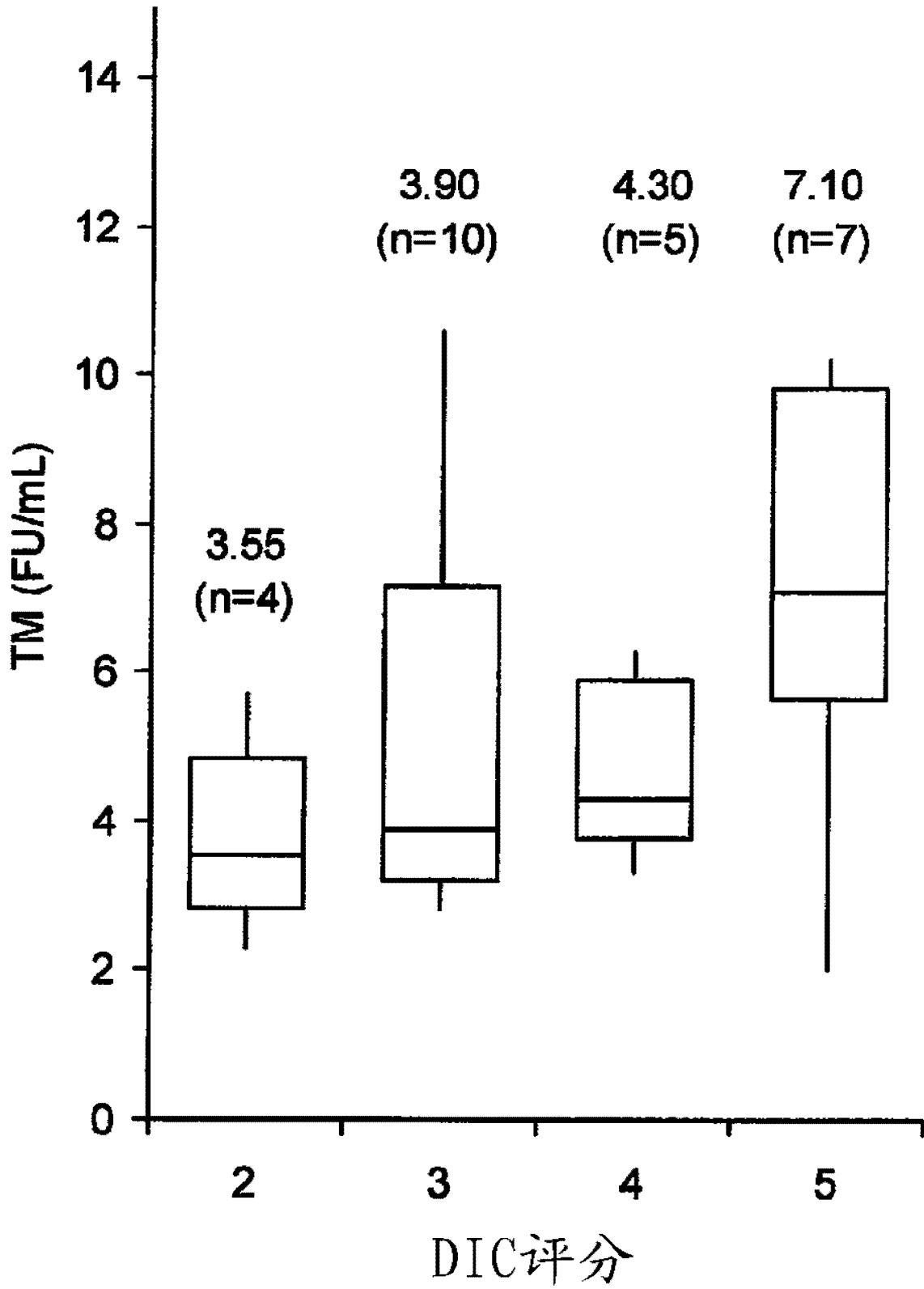


图 34

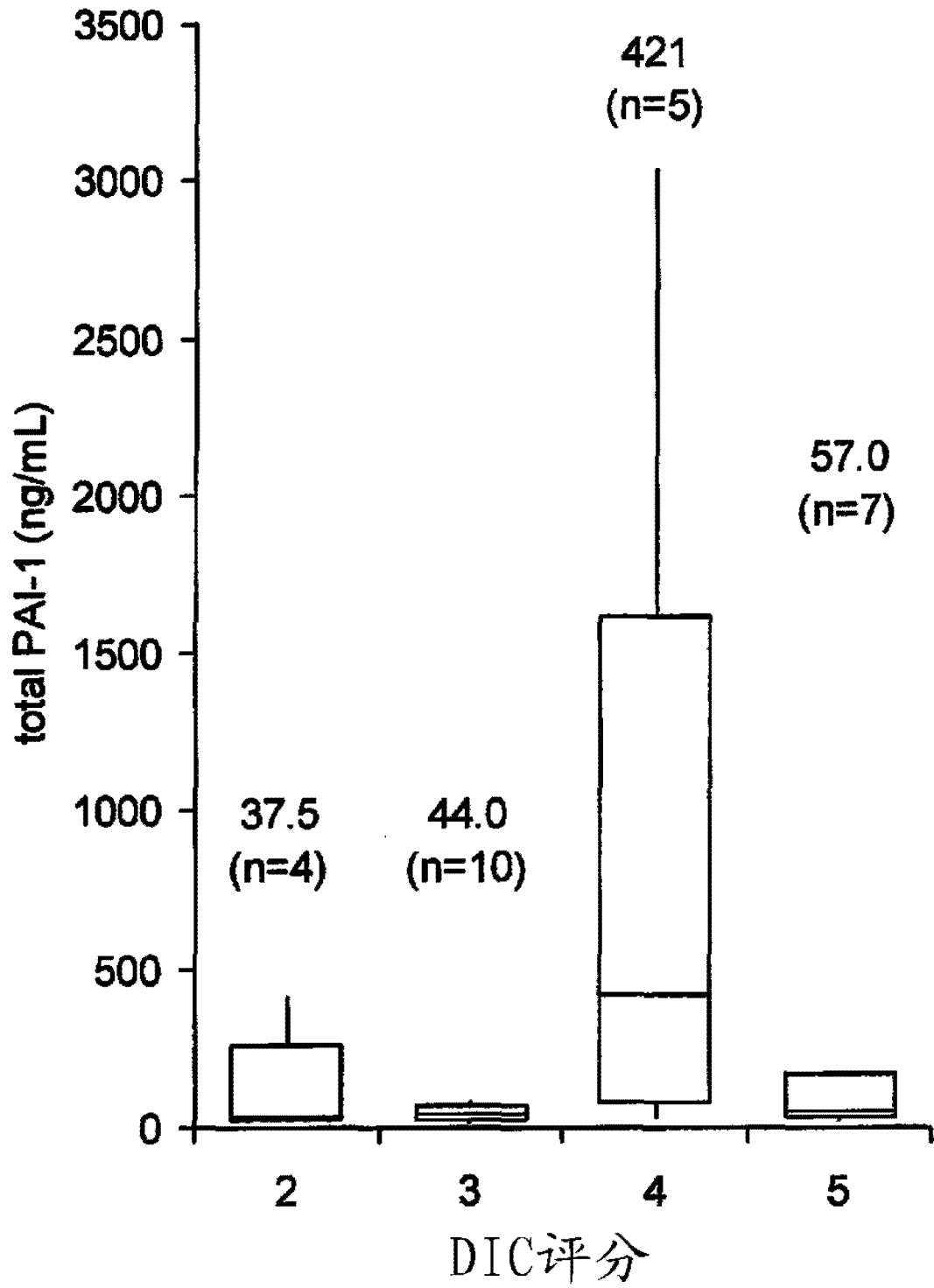


图 35

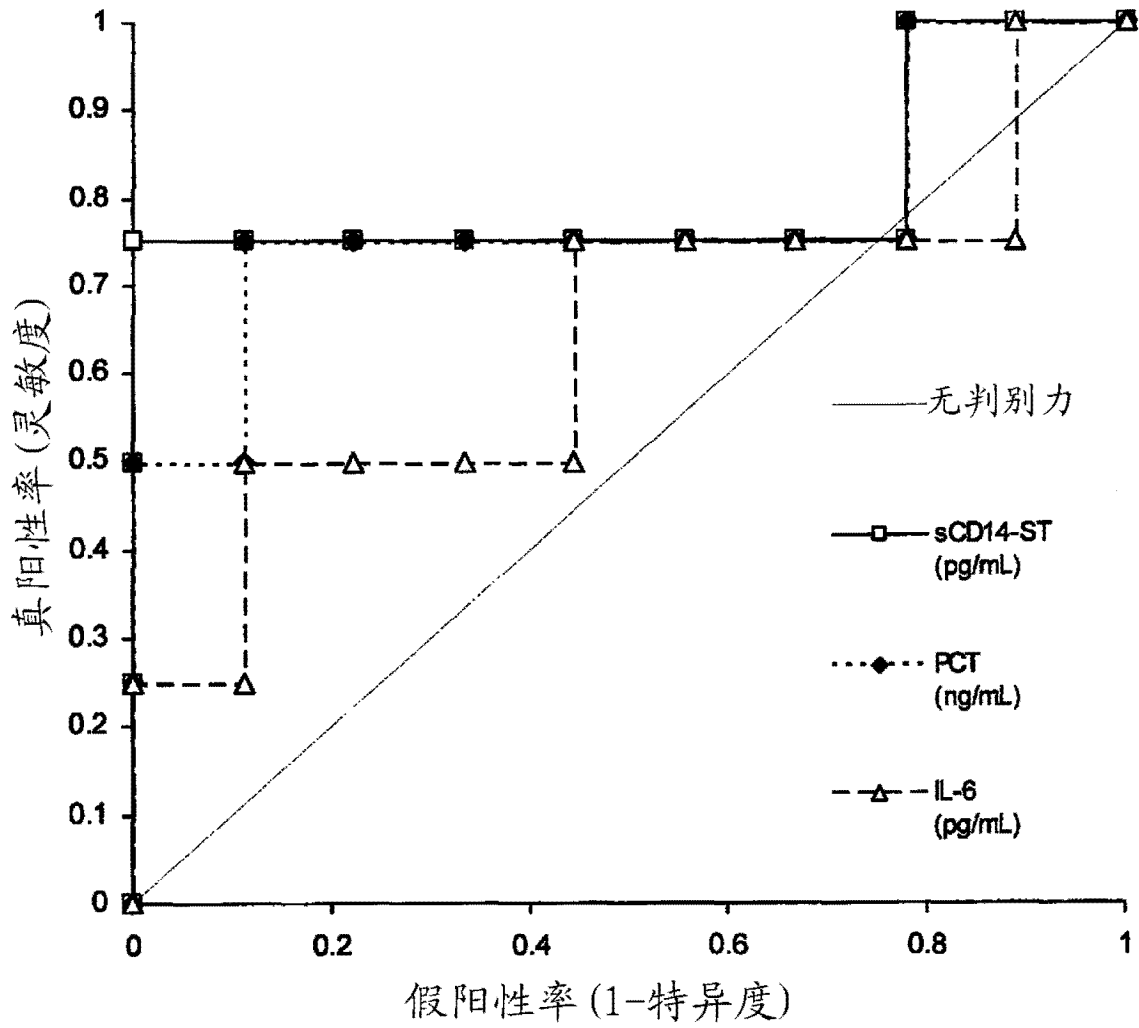


图 36

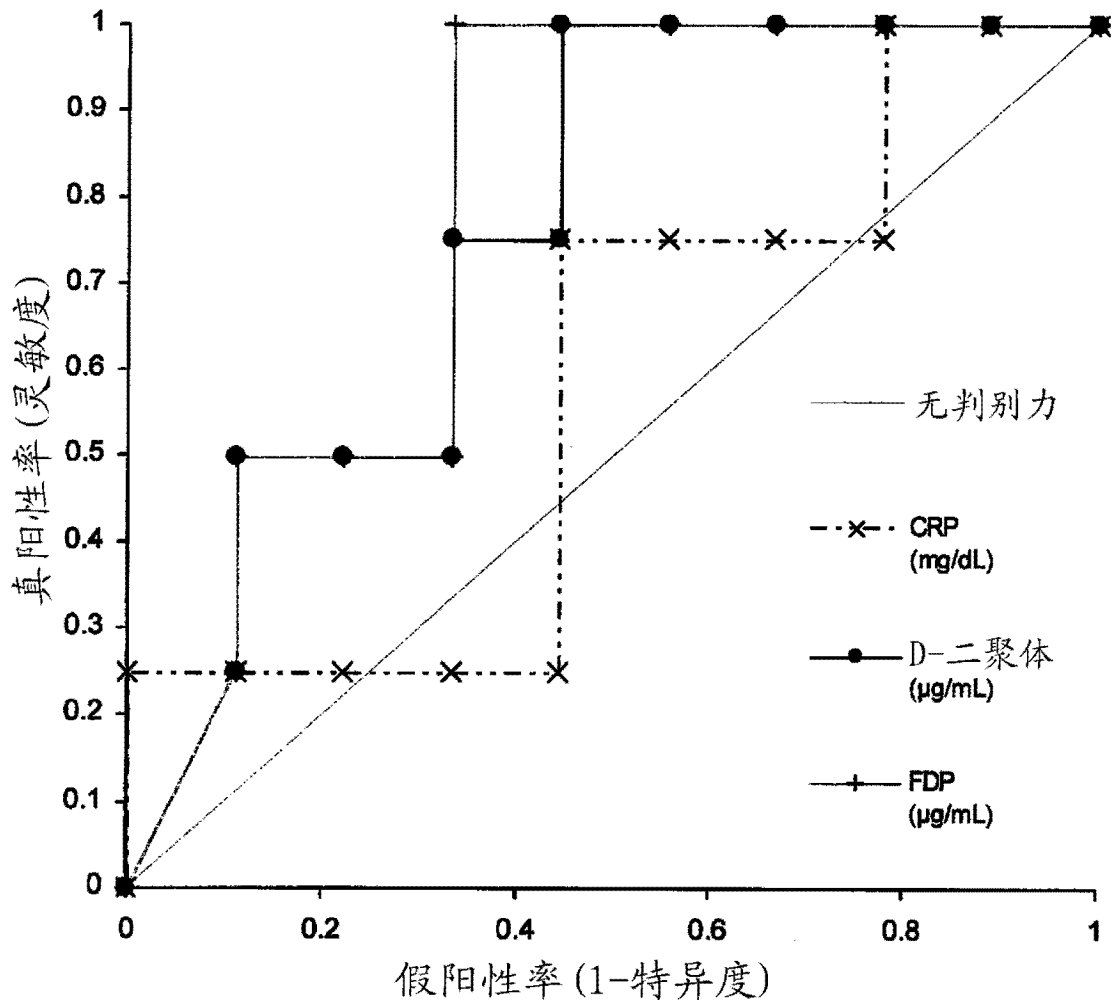


图 37

专利名称(译)	检测弥散性血管内凝血或感染性弥散性血管内凝血的方法		
公开(公告)号	CN104285148A	公开(公告)日	2015-01-14
申请号	CN201380024024.4	申请日	2013-04-26
[标]申请(专利权)人(译)	三菱化学美迪恩斯株式会社 学校法人福岡大学		
申请(专利权)人(译)	美迪恩斯生命科技株式会社 学校法人福岡大学		
当前申请(专利权)人(译)	美迪恩斯生命科技株式会社 学校法人福岡大学		
[标]发明人	石仓宏恭		
发明人	石仓宏恭		
IPC分类号	G01N33/53 C07K14/705		
CPC分类号	G01N2800/22 G01N33/6893 C07K14/70596 G01N33/86 C12Q1/56 G01N2333/70596 G01N2800/224		
代理人(译)	庞立志 刘力		
优先权	2012106217 2012-05-07 JP 2012106216 2012-05-07 JP		
其他公开文献	CN104285148B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

提供对弥散性血管内凝血 (DIC) 或感染性DIC的诊断有效的标志物。本发明的DIC的检测方法中,测定试样中的sCD14-ST。本发明的感染性DIC的检测方法中,测定试样中的sCD14-ST和凝血相关标志物。

