

(19) 日本国特許庁(JP)

再 公 表 特 許(A1)

(11) 国際公開番号

W02013/168602

発行日 平成28年1月7日(2016.1.7)

(43) 国際公開日 平成25年11月14日(2013.11.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Z N A D	4 H O 4 5
CO 7 K 14/705 (2006.01)	CO 7 K 14/705	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 43 頁)

出願番号	特願2014-514682 (P2014-514682)	(71) 出願人	591122956
(21) 国際出願番号	PCT/JP2013/062352		株式会社 L S I メディエンス
(22) 国際出願日	平成25年4月26日 (2013.4.26)		東京都千代田区内神田一丁目13番4号
(31) 優先権主張番号	特願2012-106216 (P2012-106216)	(71) 出願人	598015084
(32) 優先日	平成24年5月7日 (2012.5.7)		学校法人福岡大学
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		福岡県福岡市城南区七隈8丁目19番1号
(31) 優先権主張番号	特願2012-106217 (P2012-106217)	(74) 代理人	100090251
(32) 優先日	平成24年5月7日 (2012.5.7)		弁理士 森田 憲一
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100139594
			弁理士 山口 健次郎
		(72) 発明者	石倉 宏恭
			福岡県福岡市城南区七隈8丁目19番1号
			学校法人福岡大学内
		Fターム(参考)	2G045 AA25 DA36 FB03
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 播種性血管内凝固症候群または感染性播種性血管内凝固症候群を検出する方法

(57) 【要約】

播種性血管内凝固症候群 (D I C) 又は感染性 D I C の診断に有効なマーカーを提供する。

本発明の D I C の検出方法では、試料中の s C D 1 4 - S T を測定する。本発明の感染性 D I C の検出方法では、試料中の s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーを測定する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料中の s C D 1 4 - S T を測定する、播種性血管内凝固症候群の検出方法。

【請求項 2】

播種性血管内凝固症候群が疑われる患者又は播種性血管内凝固症候群患者から採取した試料中の s C D 1 4 - S T を測定する工程、及び

s C D 1 4 - S T 値が非播種性血管内凝固症候群患者と比較して高値である場合に播種性血管内凝固症候群であると判断する工程

を含む、請求項 1 に記載の播種性血管内凝固症候群の検出方法。

【請求項 3】

10

前記判断工程において、s C D 1 4 - S T 値と予め決定した閾値とを比較する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

該 s C D 1 4 - S T を免疫学的測定方法で測定する、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記播種性血管内凝固症候群が感染性播種性血管内凝固症候群であり、s C D 1 4 - S T に加え、更に試料中の凝固関連マーカーを測定する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

感染性播種性血管内凝固症候群が疑われる患者又は感染性播種性血管内凝固症候群患者から採取した試料中の s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーを測定する工程、及び

20

s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定値が感染性非播種性血管内凝固症候群患者と比較して変化している場合に感染性播種性血管内凝固症候群であると判断する工程を含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記判断工程において、測定された s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定値とそれぞれの予め決定した閾値とを比較する、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記凝固関連マーカーが、D - d i m e r、F D P、トロンビン・アンチトロンビン II I 複合体、血小板数、プロテイン C から少なくとも一つ選ばれる、請求項 5 ～ 7 のいずれ

30

か一項に記載の方法。

【請求項 9】

該 s C D 1 4 - S T を免疫学的測定方法で測定する、請求項 5 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

播種性血管内凝固症候群を検出するキットであって、

(a) s C D 1 4 - S T に特異的な抗体、

(b) 試料中の s C D 1 4 - S T の量と播種性血管内凝固症候群との相関を示す標準データ、

(c) 取扱説明書

40

を含む、該キット。

【請求項 11】

感染性播種性血管内凝固症候群を検出するキットであって、

(a) s C D 1 4 - S T に特異的な抗体、

(b) 凝固関連マーカー測定用試薬、

(c) 試料中の s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定値と感染性播種性血管内凝固症候群との相関を示す標準データ、

(d) 取扱説明書

を含む、該キット。

【請求項 12】

50

前記凝固関連マーカーが、D-dimer、FDP、トロンビン・アンチトロンビンIII複合体、血小板数、プロテインCから少なくとも一つ選ばれる、請求項11に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、播種性血管内凝固症候群（disseminated intravascular coagulation：DIC）を検出する方法と、該方法を実施するキットに関する。また、本発明は、感染性播種性血管内凝固症候群（感染性DIC）を検出する方法と、該方法を実施するキットに関する。

10

【背景技術】

【0002】

播種性血管内凝固症候群（DIC）は消費性凝固障害による出血傾向と、微小血管内血栓による臓器障害を特徴とした死亡率の極めて高い症候群であり、早期診断と早期治療が患者の生命の維持や予後の改善に必要である。従来から、DICの診断には厚生労働省が定める診断基準を初め、様々な凝固線溶系分子マーカー〔例えば、可溶性フィブリンモノマー（SF）、D-dimer（DD）、トロンビン・アンチトロンビンIII複合体（TAT）、プラスミン・ $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体（PIC）〕の測定等が臨床現場で行われている。その他、厚生労働省基準を修正したISTH overt-DIC診断基準や急性期DIC診断基準がある。しかし、厚生労働省基準やISTH overt-DIC診断基準は感度が低く、急性期DIC診断基準は特異度が低いことが知られる。そのため、更に精度の高い診断を行うための検討が行われており（非特許文献1）、例えば、更に感度や特異度が高いマーカーの発見が切望されている。

20

【0003】

DICは、悪性腫瘍、白血病、又は重症感染症（もしくは重症敗血症）など重篤な基礎疾患に合併して起こる疾患である。特に、重症敗血症の約35%はDICを合併し、DICを合併すると死亡率は非DICと比べて22.2~26.5%から40~46.2%に上昇することから、敗血症性DICを診断することは、敗血症の予後を改善するために非常に重要である。

【0004】

30

全てのDICには必ず基礎疾患が存在することから、まず、基礎疾患の治療が行われる。例えば、急性白血病や進行癌に対する化学療法、敗血症に対する感受性のある抗生剤治療などがある。このように基礎疾患が多岐にわたっているため、どのような病態にあるのか把握することが、有効な治療法を選択する上で重要である。同じDICと診断されても間違った治療を行うと重篤な状態に陥ってしまうのは言うまでも無い。敗血症性DICの場合には、アンチトロンビン製剤を中心とする治療に難知性であった患者において、抗凝固作用に加え抗炎症作用を合わせもつ遺伝子組み換えトロンボモジュリン製剤で治療効果が上がることが報告されている（非特許文献2）。

【0005】

40

従来、敗血症性DICであることは、敗血症あるいはDICの診断基準に基づいて、医師の判断により診断している。例えば、先述のとおり、DICの診断には厚生労働省が定める診断基準を初め、様々な凝固線溶系分子マーカー〔例えば、可溶性フィブリンモノマー（SF）、D-dimer（DD）、トロンビン・アンチトロンビンIII複合体（TAT）、プラスミン・ $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体（PIC）〕の測定等が臨床現場で行われている。その他、厚生労働省基準を修正したISTH overt-DIC診断基準や急性期DIC診断基準がある。しかし、厚生労働省基準やISTH overt-DIC診断基準は感度が低く、急性期DIC診断基準は特異度が低いことが知られる。

【0006】

一方、敗血症の診断には、血液培養、白血球数、体温、画像診断、全身性炎症反応症候群（SIRS）の持続期間などの血液生化学所見等を指標とされている。また、簡便に敗

50

血症を検出可能なマーカーとしてプロカルシトニン（PCT）やsCD14-STが報告されている。

【0007】

敗血症において試料中のsCD14-ST値は健常人よりも非常に高く、sCD14-STを測定して敗血症を診断することが開示されている（非特許文献3、特許文献1）。また、sCD14-STをその特異的抗体によって測定することも開示されている（特許文献1、特許文献2）。また、その早期検出及び重篤度を評価する方法が開示されている（特許文献2、非特許文献3-5）。このように、sCD14-STは、細菌感染を伴う敗血症を精度良く診断できることが知られているが、DICの検出に有用である報告はない。

10

【0008】

以上のように、未だ、敗血症性DIC（もしくは感染性DIC）の診断を簡便に精度良く行えるマーカーの報告はなく、医師は敗血症性DIC（もしくは感染性DIC）の診断に苦慮しているのが実情であり、そのようなマーカーの発見が切望されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特許第4040666号明細書

【特許文献2】特開2005-106694号公報

【非特許文献】

20

【0010】

【非特許文献1】医学のあゆみ 2011;238(1):63-68.

【非特許文献2】医学のあゆみ 2011;238(1):114-119.

【非特許文献3】J Infect Chemother 2005;11:234-238.

【非特許文献4】Medical Postgraduates 2010;48:25-27.

【非特許文献5】Therapeutic Reserach 2004;25:1689-1694.

【発明の概要】

30

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明の課題は、播種性血管内凝固症候群（DIC）、あるいは、感染性DICの診断に有効なマーカーを提供することにある。感染性DICが疑われた後、それに対する適切な治療方針を迅速に決定することが求められている。

【課題を解決するための手段】

【0012】

前記課題の解決手段を鋭意探求する中で、本発明者は、臨床試験において、血液中のsCD14-STの量と播種性血管内凝固症候群（DIC）との関係を検討していたところ、sCD14-STは、DIC患者に対し高い感度と特異性をもって反応する特異的なマーカーであり、その測定値あるいは程度から、DICを検出できることを発見し、本発明を完成した。特に感染の有無に関わらず、DICを検出できることは、驚くべき発見であった。

40

【0013】

また、本発明者は、感染性播種性血管内凝固症候群（感染性DIC）が疑われた際に、試料中のsCD14-ST及び凝固関連マーカーを測定することにより、その測定値あるいは程度から、簡便に感染性DICを検出し、またその病態を把握することが可能となる特異的なマーカーであることを発見し、本発明を完成した。

【0014】

本発明は、

50

[1] 試料中の s C D 1 4 - S T を測定する、播種性血管内凝固症候群の検出方法、
 [2] 播種性血管内凝固症候群が疑われる患者又は播種性血管内凝固症候群患者から採取した試料中の s C D 1 4 - S T を測定する工程、及び

s C D 1 4 - S T 値が非播種性血管内凝固症候群患者と比較して高値である場合に播種性血管内凝固症候群であると判断する工程

を含む、[1] の播種性血管内凝固症候群の検出方法、

[3] 前記判断工程において、s C D 1 4 - S T 値と予め決定した閾値とを比較する、[2] の方法、

[4] 該 s C D 1 4 - S T を免疫学的測定方法で測定する、[1] ~ [3] のいずれかの方法、

10

[5] 前記播種性血管内凝固症候群が感染性播種性血管内凝固症候群であり、s C D 1 4 - S T に加え、更に試料中の凝固関連マーカーを測定する、[1] の方法、

[6] 感染性播種性血管内凝固症候群が疑われる患者又は感染性播種性血管内凝固症候群患者から採取した試料中の s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーを測定する工程、及び

s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定値が感染性非播種性血管内凝固症候群患者と比較して変化している場合に感染性播種性血管内凝固症候群であると判断する工程を含む、[5] の方法、

[7] 前記判断工程において、測定された s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定値とそれぞれの予め決定した閾値とを比較する、[6] の方法、

[8] 前記凝固関連マーカーが、D - d i m e r、F D P、トロンビン・アンチトロンビン III 複合体、血小板数、プロテイン C から少なくとも一つ選ばれる、[5] ~ [7] のいずれかの方法、

20

[9] 該 s C D 1 4 - S T を免疫学的測定方法で測定する、[5] ~ [8] のいずれかの方法、

[10] 播種性血管内凝固症候群を検出するキットであって、

(a) s C D 1 4 - S T に特異的な抗体、

(b) 試料中の s C D 1 4 - S T の量と播種性血管内凝固症候群との相関を示す標準データ、

(c) 取扱説明書

を含む、該キット、

30

[11] 感染性播種性血管内凝固症候群を検出するキットであって、

(a) s C D 1 4 - S T に特異的な抗体、

(b) 凝固関連マーカー測定用試薬、

(c) 試料中の s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定値と感染性播種性血管内凝固症候群との相関を示す標準データ、

(d) 取扱説明書

を含む、該キット、

[12] 前記凝固関連マーカーが、D - d i m e r、F D P、トロンビン・アンチトロンビン III 複合体、血小板数、プロテイン C から少なくとも一つ選ばれる、[11] のキット

40

に関する。

【0015】

本明細書において「ヒト s C D 1 4 - S T」（別称としてプレセプシン（登録商標）ともいう）とは、特許第 4 0 4 0 6 6 6 号明細書に記載の「第 1 の態様の可溶性 C D 1 4 抗原」を意味し、より具体的には、下記の 1) ~ 3) の性質を有する可溶性 C D 1 4 抗原である。

1) 非還元条件下 S D S - P A G E では、分子量 13 ± 2 k D a、

2) N 末端配列に配列番号 1 のアミノ酸配列を有する、及び

3) 配列番号 2 に記載の 16 アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体に特異的に結合する。

50

【0016】

配列番号1:

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

配列番号2:

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

【0017】

本明細書における「感染」とは、細菌、真菌、寄生虫、またはウイルスなどの感染が挙げられる。

感染の存在を確認する方法としては、特に限定するものではないが、一般的に行われている血液培養の他に遺伝子同定法（PCR、RT-PCRなど）、画像診断、超音波診断、内視鏡検査、生検などが挙げられる（Am J Infect Control 1988; 16: 128-140）。

【0018】

本発明書における「感染症」とは、微生物の正常組織への侵襲もしくはその存在に対する炎症反応によって特徴付けられる現象である（Chest 1992; 101(6): 1644-1655）。感染症を引き起こす病原体には、細菌、真菌、寄生虫、またはウイルスが挙げられる。菌血症、敗血症、重症敗血症及び敗血症性ショックは、「感染症」の中に含まれる。菌血症は、血液中に生菌が存在している状態である（細菌感染症 最新内科学大系 第27巻 1994: 69-84）。敗血症は、感染によって引き起こされた全身性炎症反応症候群（SIRS）であり、体内の感染病巣から細菌や真菌などの微生物およびその代謝産物が持続的に血液中に移行している状態である。

【0019】

本明細書における「敗血症」とは、感染によって引き起こされた全身性炎症反応症候群（SIRS）である。すなわち、感染症が全身に波及したもので非常に重篤な状態であり、無治療ではショック、DIC、多臓器不全などから死に至ることもある。「敗血症」の診断は上記感染の存在に加え、例えば、全身性炎症反応症候群（SIRS）診断項目である以下4項目のうち2項目以上を満たす状態の事を言う（Chest 1992; 101(6): 1644-1655）。

- 1) 体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ または $< 36^{\circ}\text{C}$
- 2) 心拍数 > 90 回/分
- 3) 呼吸数 > 20 回/分または $\text{PaCO}_2 > 32 \text{ Torr}$
- 4) 白血球数 > 12000 、 $< 4000/\text{mm}^3$ または未熟型白血球 $> 10\%$

【0020】

本明細書における「感染性DIC」とは、感染症（もしくは敗血症）を基礎疾患として有する播種性血管内凝固症候群（DIC）である。例えば、重症敗血症の約35%はDICを合併すると言われている。従来法では、「感染性DIC」（もしくは「敗血症性DIC」）の診断は、医師が、上記感染症（もしくは敗血症）の診断基準及びDICの診断基準に即して総合的に判断し、その病態を把握する。

また、その治療法はそれぞれの病態の対処療法であり、例えば、感染症（もしくは敗血症）の治療のためには抗菌剤など、及び、DICの治療のためには抗凝固剤などが適宜使用される。

【発明の効果】

【0021】

本発明方法によれば、播種性血管内凝固症候群（DIC）又は感染性DICの発症を迅速に精度良く検出することができることから、適切な治療方針を策定することができる。

また、本発明のキットは、本発明方法に用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【0022】

10

20

30

40

50

【図 1】臨床試験に登録された患者（49 名）に関して、急性期 D I C 診断基準に従って D I C 群（23 例）と非 D I C 群（26 例）に分類し、来院時に採取した検体の s C D 1 4－S T 値、プロカルシトニン（P C T）値、インターロイキン－6（I L－6）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 2】図 1 と同じ分類を行った患者に関して、来院時に採取した検体の C 反応性蛋白（C R P）値、D－d i m e r 値、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物（F D P）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 3】臨床試験に登録された患者（49 名）に関して、厚生労働省 D I C 診断基準に従って D I C 群（23 例）と非 D I C 群（26 例）に分類し、来院時に採取した検体の s C D 1 4－S T 値、プロカルシトニン（P C T）値、インターロイキン－6（I L－6）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 4】図 3 と同じ分類を行った患者に関して、来院時に採取した検体の C 反応性蛋白（C R P）値、D－d i m e r 値、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物（F D P）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 5】臨床試験に登録された患者（49 名）に関して、I S T H o v e r t－D I C 診断基準に従って D I C 群（23 例）と非 D I C 群（26 例）に分類し、来院時に採取した検体の s C D 1 4－S T 値、プロカルシトニン（P C T）値、インターロイキン－6（I L－6）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 6】図 5 と同じ分類を行った患者に関して、来院時に採取した検体の C 反応性蛋白（C R P）値、D－d i m e r 値、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物（F D P）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 7】実施例 2 の急性期 D I C 基準で行った R O C 分析の結果から、s C D 1 4－S T の臨床感度および特異度を示すグラフである。横軸は s C D 1 4－S T 値、縦軸は感度あるいは特異度を示す。

【図 8】実施例 3 の厚生労働省 D I C 基準で行った R O C 分析の結果から、s C D 1 4－S T の臨床感度および特異度を示すグラフである。横軸は s C D 1 4－S T 値、縦軸は感度あるいは特異度を示す。

【図 9】実施例 2 の急性期 D I C 基準で行った R O C 分析の結果から、D－d i m e r の臨床感度および特異度を示すグラフである。横軸は D－d i m e r 値、縦軸は感度あるいは特異度を示す。

【図 10】実施例 3 の厚生労働省 D I C 基準で行った R O C 分析の結果から、D－d i m e r の臨床感度および特異度を示すグラフである。横軸は D－d i m e r 値、縦軸は感度あるいは特異度を示す。

【図 11】実施例 2 の急性期 D I C 基準で行った R O C 分析の結果から、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物（F D P）の臨床感度および特異度を示すグラフである。横軸は F D P 値、縦軸は感度あるいは特異度を示す。

【図 12】実施例 3 の厚生労働省 D I C 基準で行った R O C 分析の結果から、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物（F D P）の臨床感度および特異度を示すグラフである。横軸は F D P 値、縦軸は感度あるいは特異度を示す。

【図 13】臨床試験に登録された患者（49 名）のうち非感染であった S I R S または非感染性疾患の症例 13 例を対象に、急性期 D I C 診断基準に従って D I C 群（4 例）と非 D I C 群（9 例）に分類し、来院時に採取した検体の s C D 1 4－S T 値、プロカルシトニン（P C T）値、インターロイキン－6（I L－6）値それぞれに対して、D I C 検出における有用性を R O C 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

10

20

30

40

50

【図 1 4】図 1 3 と同じ分類を行った患者に関して、来院時に採取した検体の C 反応性蛋白 (CRP) 値、D-dimer 値、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (FDP) 値それぞれに対して、DIC 検出における有用性を ROC 分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図 1 5】臨床試験に登録された患者 (49 名) のうち、感染を伴う敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックまたは感染性疾患の症例 33 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、sCD14-ST を測定し、DIC スコア別の sCD14-ST の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 1 6】図 1 5 と同じ症例 33 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、プロカルシトニン (PCT) を測定し、DIC スコア別の PCT の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 1 7】図 1 5 と同じ症例 33 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、C 反応性蛋白 (CRP) を測定し、DIC スコア別の CRP の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 1 8】図 1 5 と同じ症例 33 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、インターロイキン-6 (IL-6) を測定し、DIC スコア別の IL-6 の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 1 9】臨床試験に登録された患者 (49 名) に関して、非感染群 (SIRS 及び非感染性疾患) 13 例と感染群 (敗血症、重症敗血症、敗血症性ショック及び感染性疾患) 36 例に分類し、感染症検出における sCD14-ST 値の有用性を ROC 分析により評価した結果を示すグラフである。

【図 2 0】臨床試験に登録された患者 (49 名) のうち、感染を伴った敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックまたは感染性疾患の症例 36 例を対象に、急性期 DIC 診断基準に従って DIC 群 (19 例) と非 DIC 群 (17 例) に分類し、感染性 DIC 検出における sCD14-ST 値の有用性を ROC 分析により評価した結果を示すグラフである。

【図 2 1】臨床試験に登録された患者 (49 名) のうち、感染を伴う敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックまたは感染性疾患の症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、D-dimer を測定し、DIC スコア別の D-dimer の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 2】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (FDP) を測定し、DIC スコア別の FDP の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 3】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、血小板 (Plt) を測定し、DIC スコア別の血小板の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 4】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、プロトロンビン時間 (PT) (秒) を測定し、DIC スコア別の PT (秒) の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 5】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、プロトロンビン時間 (PT) (%) を測定し、DIC スコア別の PT (%) の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 6】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、INR 値を測定し、DIC スコア別の INR 値の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 7】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定し、DIC スコア別の APTT の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図 2 8】図 2 1 と同じ症例 26 例を対象として、DIC スコアを求めると共に、フィブリノーゲン (FIB) を測定し、DIC スコア別のフィブリノーゲンの測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

10

20

30

40

50

【図29】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、アンチトロンビンIII (A T III) を測定し、D I Cスコア別のアンチトロンビンIIIの測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図30】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、乳酸 (L a c t) を測定し、D I Cスコア別の乳酸の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図31】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、トロンビン・アンチトロンビンIII複合体 (T A T) を測定し、D I Cスコア別のT A Tの測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図32】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、プラスミン・ α 2プラスミンインヒビター複合体 (P I C) を測定し、D I Cスコア別のP I Cの測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図33】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、プロテインC (P C) を測定し、D I Cスコア別のプロテインCの測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図34】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、トロンボモジュリン (T M) を測定し、D I Cスコア別のトロンボモジュリンの測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図35】図21と同じ症例26例を対象として、D I Cスコアを求めると共に、組織プラスミノゲンアクチベータ (t P A) ・プラスミノゲンアクチベータインヒビター (P A I - 1) 複合体 (T o t a l P A I - 1) を測定し、D I Cスコア別のT o t a l P A I - 1の測定値分布を比較した結果を示す箱ひげ図である。

【図36】臨床試験に登録された患者 (49名) のうち非感染であったS I R Sまたは非感染性疾患の症例13例を対象に、急性期D I C診断基準に従ってD I C群 (4例) と非D I C群 (9例) に分類し、来院時に採取した検体のs C D 1 4 - S T値、プロカルシトニン (P C T) 値、インターロイキン-6 (I L - 6) 値それぞれに対して、D I C検出における有用性をR O C分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【図37】図36と同じ分類を行った患者に関して、来院時に採取した検体のC反応性蛋白 (C R P) 値、D - d i m e r値、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P) 値それぞれに対して、D I C検出における有用性をR O C分析により比較を行った結果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0023】

本発明の検出方法 (以下、本発明方法と称する) では、被検対象者、特に、播種性血管内凝固症候群 (D I C) が疑われる患者又はD I C患者から採取した試料中のs C D 1 4 - S Tを測定する。また、本発明方法において感染性D I Cを検出する場合には、感染性播種性血管内凝固症候群 (感染性D I C) が疑われる患者又は感染性D I C患者から採取した試料中のs C D 1 4 - S T及び凝固関連マーカーを測定する。

【0024】

本発明で使用可能な凝固関連マーカーは、例えば、D - d i m e r、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P)、血小板数 (P l t)、プロトロンビン時間 (P T)、I N R値、活性化部分トロンボプラスチン時間 (A P T T)、フィブリノーゲン (F I B)、アンチトロンビンIII (A T III) (定量・活性)、乳酸 (L a c t)、トロンビン・アンチトロンビン複合体 (T A T)、 α 2プラスミンインヒビター・プラスミン複合体 (P I C)、プロテインC (P C、定量・活性)、トロンボモジュリン (T M)、及び組織プラスミノゲンアクチベータ (t P A) ・プラスミノゲンアクチベータインヒビター (P A I - 1) 複合体 (T o t a l P A I - 1)、プラスミノゲンアクチベータインヒビター (P A I - 1)、可溶性フィブリン (S F)、E - セレクチン等であり、好ましくは、D - d i m e r、F D P、T A T、血小板数、P Cである。

【0025】

s C D 1 4 - S T 及び凝固関連マーカーの測定方法それ自体は公知であり、市販の測定試薬や測定装置を使用することもできる。タンパク質の各種の公知分析方法としては、例えば、抗体を用いる免疫学的分析方法、電気泳動等の生化学的分析方法により実施することができ、臨床検査用の自動分析機を使用することもできる。R N A アプタマーなど、抗体と類似の性質を有する物質を利用する分析方法も本発明の一部である。

【0026】

例えば、特許第4040666号明細書には、ヒトs C D 1 4 - S T の測定方法、より具体的には、配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチド（特許第4040666号明細書に記載のS 6 8 ペプチド）を抗原として作製したポリクローナル抗体（S 6 8 抗体）、モノクローナル抗体（F 1 1 4 6 - 1 7 - 2 抗体）と、抗C D 1 4 抗原モノクローナル抗体（例えば、F 1 0 3 1 - 8 - 3 抗体、F 1 1 0 6 - 1 3 - 3 抗体等）との組合せを用いたサンドイッチE I A 系〔特許第4040666号明細書の実施例7 - (1)〕が開示されており、本発明方法に適用することができる。

また、後述する実施例に示すように、s C D 1 4 - S T の測定試薬は、磁性粒子を使用した化学発光酵素免疫測定法により、自動化学発光免疫測定装置（P A T H F A S T ; 三菱化学メディエンス社）を使用することもできる。

【0027】

本発明方法で用いる試料としては、s C D 1 4 - S T （所望により凝固関連マーカー）の測定が可能である限り、特に限定されるものではなく、例えば、血液試料（例えば、全血、血漿、血清）を用いることができる。当業者であれば、適宜、選択して使用することができる。

【0028】

本発明方法では、試料中のs C D 1 4 - S T 濃度の上昇を、D I C の指標とする。例えば、後述する実施例に示すように、D I C 患者では有意にs C D 1 4 - S T 値が高くなる。具体的には実施例5や実施例8に示すように、s C D 1 4 - S T のカットオフ値（閾値）が1100 pg / mL と高値であり、これを用いて、高い感度や特異度でD I C を判断できる。このように、本発明方法では、s C D 1 4 - S T 値が高値を示す場合には、D I C を起こしていると判定できる。一方、s C D 1 4 - S T 値が低値を示す場合には、D I C を起こしていないと判定することができる。例えば、試料中のs C D 1 4 - S T 濃度が健常人や非D I C 患者の分位数（例えば、中央値）より高ければ、D I C を起こしていると判定できる。また、C o x 回帰やロジスティック回帰などの統計学的手法によって行うことができる。判定のための基準は、事前に用意しておいた「閾値」を使用することができる。

【0029】

本発明方法において、D I C を検出するためのs C D 1 4 - S T 濃度の閾値は、種々条件、例えば、性別、年齢などにより変化することが予想されるが、当業者であれば、被験者に対応する適当な母集団を適宜選択して、その集団から得られたデータを用いて統計学的処理を行うことにより、判定用閾値を決定することができる。前記母集団としては、健常人群、非D I C 群、D I C 群の各病態の種類群などが選択できる。後述する実施例5では、非D I C 群、D I C 群のR O C 分析から、1100 pg / mL の最適カットオフ値を決定している。本発明方法では、判定用閾値を決定し、試料中のs C D 1 4 - S T 濃度の測定値と判定用閾値を比較することにより、医師の判断を必要とすることなく、自動的に、D I C の検出を行うことができる。

【0030】

D I C を検出するためのカットオフ値は、D I C 群と非D I C 群の分布から適宜設定することが好ましい。具体的には、150 ~ 10000 pg / mL 、好ましくは250 ~ 5000 pg / mL 、より好ましくは500 ~ 2300 pg / mL が挙げられる。当業者であれば、この範囲において、過度な試行錯誤なく適切に1点のカットオフ値も設定することができる。

【0031】

また、本発明方法では、試料中の s C D 1 4 - S T 値及び凝固関連マーカー値の上昇または低下を、感染性 D I C の指標とする。例えば、後述する実施例 1 1 及び実施例 1 4 に示すように、感染性 D I C があった場合には、s C D 1 4 - S T 値、D - d i m e r 値、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P) 値、プロトロンビン時間 (P T (秒)) 値、I N R 値、乳酸値、トロンビン-アンチトロンビン複合体 (T A T) 値、 α 2 プラスミンインヒビター・プラスミン複合体 (P I C 値)、トロンボモジュリン (T M 値)、組織プラスミノゲンアクチベーター (t P A) ・プラスミノゲンアクチベーターインヒビター (P A I - 1) 複合体 (t o t a l P A I - 1) 値が高くなり、一方、血小板 (P l t) 数値、P T (%) 値、活性化部分トロンボプラスチン時間 (A P T T) 値、フィブリノーゲン (F I B) 値、アンチトロンビン III (A t I I I) 値 (%)、プロテイン C (P C) 値 (%) は低くなる。特に s C D 1 4 - S T と前記凝固関連マーカーを組み合わせる指標とすることが好ましく、更に好ましくは、s C D 1 4 - S T と、D - d i m e r、F D P、T A T、血小板数、P C から少なくとも一つ選ばれる凝固関連マーカーを組み合わせ使用することができる。また、更に、複数の敗血症マーカーあるいは凝固関連マーカーを組み合わせ使用することができる。

【0032】

例えば、s C D 1 4 - S T が高値であり、D - d i m e r、F D P あるいは T A T が高値あるいは血小板数または P C 値が低値である場合は感染性 D I C を起こしていると判定でき、s C D 1 4 - S T が低値であるか、D - d i m e r、F D P あるいは T A T が低値あるいは血小板数または P C 値が高値である場合は感染性 D I C を起こしていないと判定できる。高値あるいは低値とは、それぞれの値が、健常人や感染性非 D I C 等の分位数 (例えば、中央値) と比較して示すことができる。比較は、C o x 回帰やロジスティック回帰などの統計学的手法によって行うことができる。判定のための基準は、事前に用意しておいた「閾値」を使用することができる。

【0033】

本発明方法において、感染性 D I C を検出するための s C D 1 4 - S T 濃度及び凝固関連マーカーの測定値の閾値は、種々条件、例えば、性別、年齢などにより変化することが予想されるが、当業者であれば、被験者に対応する適当な母集団を適宜選択して、その集団から得られたデータを統計学的処理することにより、判定用閾値を決定することができる。前記母集団としては、健常人群、D I C 群、非 D I C 群、非感染症群、感染症群、S I R S 群、敗血症群、重症敗血症群、敗血症性ショック群、敗血症の各病態重症度群、敗血症の各病態の種類群、感染性 D I C 群、感染性非 D I C 群などが選択できる。s C D 1 4 - S T 値は、後述する実施例 1 3 のように、900 ~ 1000 p g / m L の最適カットオフ値を決定している。また、後述する実施例 1 5 のように、D - d i m e r 値は 6 . 1 8 μ g / m L あるいは 10 μ g / m L、F D P 値は 25 μ g / m L あるいは 35 μ g / m L、T A T 値は 10 n g / m L あるいは 26 n g / m L、血小板値は 12×10^4 個 / μ L、実施例 20 のように、P C 値は 45 % あるいは 55 % の最適カットオフ値を決定している。本発明方法では、判定用閾値を決定し、試料中の s C D 1 4 - S T 濃度の測定値及び凝固関連マーカーの測定値を判定用閾値と比較することにより、医師の判断を必要とすることなく、自動的に、感染性 D I C の検出を行うことができる。

【0034】

感染性 D I C を検出するためのカットオフ値は、感染性 D I C 群と感染性非 D I C 群の分布から適宜設定することが好ましい。例えば、s C D 1 4 - S T 値としては、150 ~ 10000 p g / m L、好ましくは 250 ~ 5000 p g / m L、より好ましくは 500 ~ 2300 p g / m L が挙げられる。当業者であれば、この範囲において、過度な試行錯誤なく適切に 1 点のカットオフ値も設定することができる。

【0035】

本発明方法において、検体の採取時期は、D I C 又は感染性 D I C の疑いが生じた段階、治療を行った後などが好ましい。経時的に採取して測定することにより、適切に病態の変化を把握することができる。

【0036】

本発明のD I C検出用キットは、本発明方法を実施するのに用いることができ、
(a) s C D 1 4 - S Tに特異的な抗体、
(b) 試料中のs C D 1 4 - S Tの量とD I Cとの相関を示す標準データ、
(c) 取扱説明書
を含む。

【0037】

また、本発明の感染性D I C検出用キットは、本発明方法を実施するのに用いることができ、

(a) s C D 1 4 - S Tに特異的な抗体、
(b) 凝固関連マーカー測定用試薬、
(c) 試料中のs C D 1 4 - S T及び凝固関連マーカーの測定値と感染性D I Cとの相関を示す標準データ、
(d) 取扱説明書
を含む。

【0038】

本発明のキットに用いる前記抗体は、モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体のいずれであることもできる。また、s C D 1 4 - S Tへの特異的結合能を保持する抗体断片、例えば、F a b、F a b'、F (a b')₂、又はF vとして、キットに用いることもできる。

【0039】

更に、前記抗体は、そのままの状態でもキットに用いることもできるし、利用する免疫学的手法に基づいて、それに適した形態、例えば、ラテックス凝集免疫測定法を利用するのであれば、ラテックス担体に固定した状態で、磁性粒子などを利用した高感度測定法を利用するのであれば、磁性粒子に固定した状態で、イムノクロマトグラフ法などの基板を利用する方法であれば、基板に固定した状態で、標識物質（例えば、酵素、蛍光物質、化学発光物質、放射性同位体、ビオチン、アビジン）による標識の必要があれば、標識化した状態で、キットに用いることもできる。

本発明のキットに用いることができる凝固関連マーカー測定用試薬は、当業者であれば、公知の試薬を適宜組み合わせ使用することができる。

【0040】

本発明のD I C検出用キットに含まれる前記標準データは、試料中のs C D 1 4 - S Tの量とD I Cとの相関を示すものである限り、特に限定されるものではないが、例えば、判定用閾値、あるいは、判定用閾値を算出するためのオリジナルデータ又は統計処理データなどを挙げることができる。また、本発明の感染性D I C検出用キットに含まれる前記標準データは、試料中のs C D 1 4 - S T及び凝固関連マーカーの測定値と感染性D I Cとの相関を示すものである限り、特に限定されるものではないが、例えば、判定用閾値、あるいは、判定用閾値を算出するためのオリジナルデータ又は統計処理データなどを挙げることができる。該標準データは、前記取扱説明書中に記載されても良いし、別にデータシートとして添付しても良い。また、添付される文書の形態は、紙、C D - R O M等の電子媒体、ホームページ等からのダウンロードも含まれる。

【0041】

また、本発明のD I C検出用キットに含まれる前記取扱説明書は、少なくとも、試料中のs C D 1 4 - S Tの量とD I Cとの関係に言及するものであれば、特に限定するものではなく、前記言及に加え、例えば、本発明のキットを使用する免疫学的測定の実施手順に関する説明、得られた測定値に基づいてD I Cを検出する手順に関する説明、キット自体の保存・取り扱いなどに関する注意事項などを含むことができる。また、本発明の感染性D I C検出用キットに含まれる前記取扱説明書は、少なくとも、試料中のs C D 1 4 - S T及び凝固関連マーカーの測定値と感染性D I Cとの関係に言及するものであれば、特に限定するものではなく、前記言及に加え、例えば、本発明のキットを使用する免疫学的測

定の実施手順に関する説明、得られた測定値に基づいて予後を予測する手順に関する説明、キット自体の保存・取り扱いなどに関する注意事項などを含むことができる。

【実施例】

【0042】

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【0043】

《試験対象1》

実施例1～15、比較例1、参考例1は、以下を試験対象とした。

1施設の臨床現場で一定期間、登録された救急患者を対象に行った。なお、この試験は倫理委員会の承認を得て行った。試験に登録された患者は、救急病院に入院した18才以上の男女で、以下4項目のうち1項目以上を満たした場合を対象とした。

- 1) 体温 $> 38^{\circ}\text{C}$ または $< 36^{\circ}\text{C}$
- 2) 心拍数 > 90 回/分
- 3) 呼吸数 > 20 回/分または $\text{PaCO}_2 > 32 \text{ Torr}$
- 4) 白血球数 > 12000 、 $< 4000/\text{mm}^3$ または未熟型白血球 $> 10\%$

【0044】

この試験に登録された症例は全49例であり、下記の実施例に示すように、各々のDIC診断基準に従って、DIC患者群及び非DIC患者群に分類した。

また、別途、以下のように基礎疾患の有無を分類した。感染症を伴わない全身性炎症反応症候群(SIRS)9例、敗血症6例、重症敗血症12例、敗血症性ショック10例、非感染性疾患(感染症、SIRSどちらも該当しない状態)4例、感染性疾患(感染症であるがSIRSは伴っていない状態)8例であった。

各患者のDICの判定は、3つのDIC診断基準、すなわち急性期DIC診断基準、厚生労働省DIC診断基準、ISTH overt-DIC診断基準を用いて実施した。以下に、それぞれの診断基準の定義を示す。

【0045】

【表1】

急性期DIC診断基準

スコア	SIRS	血小板 (mm^3)	PT比	FDP ($\mu\text{g/mL}$)
0	0-2	12万 $\leq$	< 1.2	< 10
1	3項目以上陽性	8万 $\leq$ < 12 万 あるいは24時間以内に 30%以上の減少	$1.2 \leq$	$10 \leq$ < 25
2	—	—	—	—
3	—	< 8 万あるいは24時間以内に 50%以上の減少		$25 \leq$
4点以上をDICと判定				

注意

- 1) 血小板数減少はスコア算定の前後いずれの24時間以内でも可能。
- 2) プロトロンビン時間(PT)比(検体PT秒/正常対照値) $\text{ISI} = 1.0$ の場合は INR に等しい。各施設においてPT比1.2に相当する秒数の延長または活性値の低下を使用してもよい。
- 3) フィブリン・フィブリノーゲン分解産物(FDP)の代替としてD-dimerを使

用してもよい。各施設の測定キットにより別表の換算表を使用する。

【0046】

【表2】

厚生労働省DIC診断基準

	造血器腫瘍 (+)	造血器腫瘍 (-)
基礎疾患 臨床症状	基礎疾患：1点 (有り) 臓器症状：1点 (有り)	基礎疾患：1点 (有り) 出血症状：1点 (有り) 臓器症状：1点 (有り)
血小板 ($\times 10^3$ 個/ μ L)		80~120：1点 50~80：2点 50>：3点
血清FDP (μ g/mL)	10~20：1点 20~40：2点 40<：3点	
フィブリノーゲン (FIB)	100~150mg/dL：1点 100mg/dL>：2点	
PT	PT比 1.25~1.67：1点 1.67<：2点	
DIC	4点以上	7点以上

【0047】

【表3】

ISTH overt-DIC診断基準

基礎疾患 臨床症状	必須項目 現在のところ無視
血小板 ($\times 10^3$ 個/ μ L)	50~100：1点 50>：2点
フィブリン関連産物	FDP, D-dimer, SF： 中等度増加：2点 著明増加：3点
フィブリノーゲン (FIB)	100mg/dL>：1点
PT	PT秒：3~6秒延長：1点 6秒以上延長：2点
DIC	5点以上

【0048】

また、基礎疾患の有無は以下に基づいて分類した。

「SIRS」とは、下記4項目のうち2項目以上を満たす状態の事を言う〔Chest 1992;101(6):1644-1655〕。

- 1) 体温 $>38^{\circ}\text{C}$ または $<36^{\circ}\text{C}$
- 2) 心拍数 >90 回/分
- 3) 呼吸数 >20 回/分または $\text{PaCO}_2 > 32 \text{ Torr}$
- 4) 白血球数 >12000 、 $<4000/\text{mm}^3$ または未熟型白血球 $>10\%$

【0049】

「感染症」とは、微生物の正常組織への侵襲もしくはその存在に対する炎症反応によって特徴付けられる現象の事を言う(Chest 1992;101(6):1644-1655)。感染症を引き起こす病原体には、細菌、真菌、寄生虫、またはウイルスが挙げられる。菌血症、敗血症、重症敗血症及び敗血症性ショックは、「感染症」の中に含まれる。

10

【0050】

「敗血症」とは、感染を伴うSIRSのことを言う。感染症の診断には炎症所見、臓器症状、起炎菌の同定が必要であり、診断は医師によって確定される。但し、起炎菌の同定に際しては無菌的に血液、髄液、胸腹水等から採取することが望ましく、喀痰、尿、皮膚等を材料に用いた場合は常在菌に留意する。なお、起炎菌の同定が不可能であった場合においては、医師の総合的な判断から敗血症の診断を行うことができる。

【0051】

「重症敗血症」とは、敗血症のなかで、臓器機能障害・循環不全(乳酸アシドーシス、乏尿、急性意識障害など)あるいは血圧低下(収縮期血圧 $<90 \text{ mmHg}$ または平時の収縮期血圧より 40 mmHg 以上の血圧低下)を合併した状態である。

20

【0052】

「敗血症性ショック」とは、重症敗血症のなかで、適切な補液でも血圧低下(収縮期血圧 $<90 \text{ mmHg}$ または平時の収縮期血圧より 40 mmHg 以上の血圧低下)が持続する状態である。血管作動薬使用により血圧が維持されている場合でも、臓器機能障害・循環不全(乳酸アシドーシス、乏尿、急性意識障害など)がある。

【0053】

sCD14-STの測定に使用するサンプルとしては、定法に従って患者から入院後にEDTA全血を採取しsCD14-STを測定した。同様にプロカルシトニン(PECT)、インターロイキン-6(IL-6)、C反応性蛋白(CRP)はEDTA血漿を採取し、D-dimer、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物(FDP)、プロトロンビン時間(PT)、フィブリノーゲン(FIB)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、アンチトロンビンIII(ATIII)、トロンビン-アンチトロンビン複合体(TAT)、 $\alpha 2$ プラスミンインヒビター・プラスミン複合体(PIC)、プロテインC(PC)、組織プラスミノゲンアクチベーター(tPA)・プラスミノゲンアクチベーターインヒビター(PAI-1)複合体(Total PAI-1)はクエン酸血漿を採取して、それぞれの測定に使用した。血小板数(Plt)はEDTA加血液を採取し、乳酸(Lact)は除蛋白上清を採取し、トロンボモジュリン(TM)は血清を採取して、それぞれの測定に使用した。入院後とは、入院してから3時間以内のことを示す。

30

40

【0054】

《実施例1：敗血症マーカーの測定》

sCD14-STの測定は、特許第4040666号明細書の実施例7-(1)を改変して行った。すなわち、アルカリフォスファターゼ(ALP)標識したポリクローナル抗体(S68抗体)と、磁性粒子(JSR社製)に固定化したモノクローナル抗体(F1031-8-3抗体)を使用し、自動化学発光酵素免疫測定装置であるPATHFAST(三菱化学メディエンス社製)で測定した。アルカリフォスファターゼ(ALP)標識したポリクローナル抗体(S68抗体)は、該ポリクローナル抗体(S68抗体)のFab'画分を調製し、マレイミド法によりALPと結合させて作製した。発光基質は、CDP-star(アプライドバイオシステム社製)を使用した。

50

測定は以下の手順に従って行った。まず、検体を磁性粒子固定化抗体とALP標識抗体を反応させ、検体中のsCD14-STと前記2つの抗体で複合体を形成させた後、この複合体を磁力体で収集し、結合しなかったALP標識抗体を除いた。発光基質を加え、発光量をsCD14-ST量として検出した。

【0055】

プロカルシトニン（PCT）の測定は、エクレーシス試薬ブラームスPCT（ロシュ・ダイアグノスティックス社）を用いて測定を行った。

インターロイキン-6（IL-6）は、イムライズIL-6（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス社）を用いて測定を行った。

C反応性蛋白（CRP）は、CRP-ラテックスX2「生研」（デンカ生研社）を用いて測定を行った。測定機器は、日立7170S（日立ハイテク社）を用いた。

【0056】

《実施例2：急性期DIC診断基準に基づいた各項目のDIC診断能評価》

臨床試験に登録された症例49例を対象に、急性期DIC診断基準に従ってDIC群（23例）と非DIC群（26例）に分類し、DIC検出におけるsCD14-ST、プロカルシトニン（PCT）、C反応性蛋白（CRP）、インターロイキン-6（IL-6）、D-dimer及びフィブリン・フィブリノーゲン分解産物（FDP）の有用性をROC分析により比較を行った。sCD14-STの測定は、実施例1に従って行った。PCTの測定は、エクレーシス試薬ブラームスPCT（ロシュ・ダイアグノスティックス社）を用いて測定を行った。IL-6は、イムライズIL-6（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス社）を用いて測定を行った。CRPは、CRP-ラテックスX2「生研」（デンカ生研社）を用いて測定を行った。測定機器は、日立7170S（日立ハイテク社）を用いた。D-dimerは、ナノピアDダイマー（積水メディカル社）を用いて測定を行った。測定機器は、コアプレスタ2000（積水メディカル社）を用いた。FDPは、ナノピアP-FDP（積水メディカル社）を用いて測定を行った。測定機器は、コアプレスタ2000（積水メディカル社）を用いた。図1及び図2において、横軸は「1-特異度」であり、縦軸は「感度」である。

【0057】

AUCをそれぞれ求めたところ、sCD14-STは0.834、PCTは0.791、IL-6は0.734、CRPは0.567、D-dimerは0.824、FDPは0.810であり、sCD14-STのAUCが最も大きかった。この結果からsCD14-STは既存の指標であるD-dimerやFDP等に対し有用であることが確認された。

【0058】

《実施例3：厚生労働省DIC診断基準に基づいた各項目のDIC診断能評価》

実施例2と同じ症例49例を対象に、厚生労働省DIC診断基準に従ってDIC群（13例）と非DIC群（36例）に分類し、DIC検出におけるsCD14-ST、プロカルシトニン（PCT）、C反応性蛋白（CRP）、インターロイキン-6（IL-6）、D-dimer及びフィブリン・フィブリノーゲン分解産物（FDP）の有用性をROC分析により比較を行った。sCD14-ST、PCT、CRP、IL-6、D-dimer及びFDPの測定は、実施例2と同様の方法で行った。図3及び図4において、横軸は「1-特異度」であり、縦軸は「感度」である。

AUCをそれぞれ求めたところ、sCD14-STは0.842、PCTは0.739、IL-6は0.697、CRPは0.634、D-dimerは0.741、FDPは0.731であり、sCD14-STのAUCが最も大きかった。この結果からsCD14-STは既存の指標であるD-dimerやFDP等に対し有用であることが確認された。

【0059】

《実施例4：ISTH overt-DIC診断基準に基づいた各項目のDIC診断能評価》

10

20

30

40

50

実施例 2 と同じ症例 49 例を対象に、I S T H o v e r t - D I C 診断基準に従って D I C 群 (15 例) と非 D I C 群 (34 例) に分類し、D I C 検出における s C D 14 - S T、プロカルシトニン (P C T)、C 反応性蛋白 (C R P)、インターロイキン - 6 (I L - 6)、D - d i m e r 及びフィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P) の有用性を R O C 分析により比較を行った。結果を図 3 に示す。s C D 14 - S T、P C T、C R P、I L - 6、D - d i m e r 及び F D P の測定は、実施例 2 と同様の方法で行った。図 5 及び図 6 において、横軸は「1 - 特異度」であり、縦軸は「感度」である。

A U C をそれぞれ求めたところ、s C D 14 - S T は 0.853、P C T は 0.694、I L - 6 は 0.665、C R P は 0.605、D - d i m e r は 0.807、F D P は 0.805 であり、s C D 14 - S T の A U C が最も大きかった。この結果から s C D 14 - S T は既存の指標である D - d i m e r や F D P 等に対し有用であることが確認された。

10

【0060】

《実施例 5：D I C 診断における s C D 14 - S T カットオフ値評価》

実施例 2 または実施例 3 で行った R O C 分析の結果から、s C D 14 - S T の臨床感度および特異度を図 7、図 8 に示す。図 7 から、s C D 14 - S T 値が 1033 p g / m L の場合に、臨床感度は 78.3%、特異度 76.9% となり、最適のカットオフ値と考えられた。また、図 8 から、s C D 14 - S T 値が 1170 p g / m L の場合に、臨床感度は 76.9%、特異度 75.0% であり最適のカットオフ値と考えられた。これらの結果から、s C D 14 - S T による D I C 検出法のカットオフ値は、1100 p g / m L が最適であると考えられた。

20

【0061】

《実施例 6：D I C 診断における D - d i m e r カットオフ値評価》

実施例 2 または実施例 3 で行った R O C 分析の結果から、D - d i m e r の臨床感度および特異度を図 9、図 10 に示す。図 9 から、D - d i m e r 値が 10.1 μ g / m L の場合に、臨床感度は 78.3%、特異度 84.6% となり、最適のカットオフ値と考えられた。また、図 10 から、D - d i m e r 値が 11.3 μ g / m L の場合に、臨床感度は 69.2%、特異度 69.4% であり最適のカットオフ値と考えられた。これらの結果から、D - d i m e r による D I C 検出法のカットオフ値は、11 μ g / m L が最適であると考えられた。

30

【0062】

《実施例 7：D I C 診断における F D P カットオフ値評価》

実施例 2 または実施例 3 で行った R O C 分析の結果から、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P) の臨床感度および特異度を図 11、図 12 に示す。図 11 から、F D P 値が 20 μ g / m L の場合に、臨床感度は 73.9%、特異度 73.1% となり、最適のカットオフ値と考えられた。また、図 12 から、F D P 値が 25 μ g / m L の場合に、臨床感度は 69.2%、特異度 72.2% であり最適のカットオフ値と考えられた。これらの結果から、F D P による D I C 検出法のカットオフ値は、23 μ g / m L が最適であると考えられた。

【0063】

《実施例 8：D I C 診断における各項目の臨床感度・特異性》

実施例 5 ~ 実施例 7 によって評価した s C D 14 - S T、D - d i m e r およびフィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P) のカットオフ値を用いて、臨床感度、特異度、陽性反応的中率および陰性反応的中率をまとめた結果を表 4 に示す。この結果から s C D 14 - S T は、急性期 D I C 基準、厚生労働省 D I C 基準、I S T H o v e r t - D I C 診断基準のいずれの基準を使用しても、既存の指標である D - d i m e r や F D P に対し同等以上であり、特に感度および陰性反応的中率が高く有用であることが確認された。

40

【0064】

【表 4】

DIC 診断基準	項目	カットオフ値	感度	特異度	陽性反応 的中率	陰性反応 的中率
急性期DIC基準	sCD14-ST	1100pg/mL	82.6%	76.9%	76.0%	83.3%
	D-dimer	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%
厚生労働省DIC基準	sCD14-ST	1100pg/mL	76.9%	66.7%	45.5%	88.9%
	D-dimer	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 診断基準	sCD14-ST	1100pg/mL	80.0%	70.6%	54.5%	88.9%
	D-dimer	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%

10

【0065】

《実施例 9：非感染群における D I C 診断に対する有用性》

実施例 2 の症例 49 例のうち、非感染であった S I R S または非感染性疾患の症例 13 例を対象に、急性期 D I C 診断基準に従って D I C 群（4 例）と非 D I C 群（9 例）に分類し、D I C 検出における s C D 14 - S T、プロカルシトニン（P C T）、C 反応性蛋白（C R P）、インターロイキン-6（I L - 6）、D - d i m e r 及びフィブリン・フィブリノーゲン分解産物（F D P）の有用性を R O C 分析により比較を行った。結果を図 13、図 14 に示す。図 13、図 14 において、横軸は「1 - 特異度」であり、縦軸は「感度」である。

20

A U C をそれぞれ求めたところ、s C D 14 - S T は 0.806、P C T は 0.778、I L - 6 は 0.639、C R P は 0.583、D - d i m e r は 0.764、F D P は 0.792 であり、s C D 14 - S T の A U C が最も大きかった。この結果から s C D 14 - S T は感染の有無に関わらず、既存の指標である D - d i m e r や F D P 等に対し有用であることが確認された。s C D 14 - S T 値のカットオフ値は、600pg/mL の場合に臨床感度が 75.0%、特異度が 100% となり、最適と考えられた。

30

【0066】

《実施例 10：D I C 患者に対する抗凝固療法実施の指標としての各マーカーの有用性》

実施例 2 と同じ症例 49 例のうち、急性期 D I C 診断基準に従って分類された D I C 群（23 例）を用いて、各マーカーのカットオフ値未満またはカットオフ値以上の症例における抗凝固療法実施率の比較を行い、結果を表 5 に示す。この結果から、s C D 14 - S T はカットオフ値未満の症例群に対しカットオフ値以上の症例群の方が抗凝固療法の実施割合が大きかった。一方で、D - d i m e r や F D P は、カットオフ値未満の症例群よりもカットオフ値以上の症例群の方が抗凝固療法の実施割合が小さかった。従って、s C D 14 - S T は既存の D I C の指標である D - d i m e r や F D P よりも抗凝固療法を実施するか否かの指標として有用なマーカーであることが示唆された。

40

【0067】

【表 5】

項目		sCD14-ST	D-dimer	FDP
カットオフ値		1100pg/mL	11 μ g/mL	23 μ g/mL
抗凝固療法 実施例	カットオフ値未満	28.6% (2/7)	57.1% (4/7)	57.1% (4/7)
	カットオフ値以上	50.0% (8/16)	37.5% (6/16)	37.5% (6/16)

10

【0068】

《実施例 11：感染群の各 DIC スコアに対する敗血症マーカーの測定値分布》

試験に登録された症例 49 例のうち、感染を伴う敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックまたは感染性疾患の症例 33 例を対象に、急性期 DIC 診断基準に基づいて DIC スコア（点）を求め、各 DIC スコア別の sCD14-ST、プロカルシトニン（PCT）、C 反応性蛋白（CRP）およびインターロイキン-6（IL-6）の測定値分布を比較した。sCD14-ST の測定は、実施例 1 に従って行った。

【0069】

Kruskal-Wallis 検定による多群間統計解析を行った結果、表 6 に示すとおり、sCD14-ST は p 値 = 0.0214、PCT は p 値 = 0.0436、IL-6 は p 値 = 0.0729、CRP は p 値 = 0.3994 であり、sCD14-ST は PCT、IL-6、CRP に対し有意差を認めた。sCD14-ST は、感染性 DIC スコアを最も反映するマーカーと考えられた。図 15～18 に、各 DIC スコアに各マーカーの中央値と症例数を示した。

20

【0070】

【表 6】

	敗血症マーカー	有意差（ p 値）
(A)	sCD14-ST	0.0214
(B)	PCT	0.0436
(C)	IL-6	0.0729
(D)	CRP	0.3994

30

【0071】

さらに、多群間統計解析により有意差を認めた sCD14-ST 及び PCT については、同患者群を感染性非 DIC（DIC スコア 4 点未満）（ $n=15$ ）と感染性 DIC（DIC スコア 4 点以上）（ $n=18$ ）に分類し、それぞれの sCD14-ST または PCT の測定値から Mann-Whitney U 検定による 2 群間統計解析を行った。その結果、sCD14-ST は $p=0.0075$ 、PCT は $p=0.0329$ となり、sCD14-ST が感染性 DIC 検出に最も有用であることが示された。

40

また、sCD14-ST 値は、DIC スコアが高くなるのに従って上昇することから、sCD14-ST 値から DIC の程度を把握することが可能であることが示唆された。

【0072】

《実施例 12：sCD14-ST の感染症検出能及びカットオフ値評価》

試験に登録された症例 49 例を対象に、非感染群（SIRS 及び非感染性疾患）13 例と感染群（敗血症、重症敗血症、敗血症性ショック及び感染性疾患）36 例に分類し、感染症検出における sCD14-ST の有用性を ROC 分析により評価を行った。図 19 において、横軸は「1-特異度」であり、縦軸は「感度」である。

sCD14-ST の AUC は 0.833 であり、有用であることが確認された。また、

50

臨床感度／特異度が最大となる s C D 1 4 - S T 値は 6 4 7 p g / m L であり、その臨床感度は 8 3 . 3 %、特異度 7 6 . 9 % であった。この結果から、感染症検出における s C D 1 4 - S T のカットオフ値は 6 0 0 ~ 7 0 0 p g / m L が最適であると考えられた。

【 0 0 7 3 】

《実施例 1 3 : 感染群における s C D 1 4 - S T の D I C 検出能及びカットオフ値評価》

試験に登録された症例 4 9 例のうち、感染を伴った敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックまたは感染性疾患の症例 3 6 例を対象に、急性期 D I C 診断基準に従って D I C 群 (1 9 例) と非 D I C 群 (1 7 例) に分類し、感染性 D I C 検出における s C D 1 4 - S T の有用性を R O C 分析により評価を行った。図 2 0 において、横軸は「 1 - 特異度」であり、縦軸は「感度」である。

s C D 1 4 - S T の A U C は 0 . 8 1 1 であり、有用であることが確認された。また、臨床感度／特異度が最大となる s C D 1 4 - S T 値は 9 2 9 p g / m L であり、その臨床感度は 9 4 . 7 %、特異度 6 4 . 7 % であった。この結果から、感染性 D I C 検出における s C D 1 4 - S T のカットオフ値は 9 0 0 ~ 1 0 0 0 p g / m L が最適であると考えられた。

【 0 0 7 4 】

《実施例 1 4 : 感染群の各 D I C スコアに対する凝固関連マーカーの測定値分布》

試験に登録された症例 4 9 例のうち、感染を伴った敗血症、重症敗血症、敗血症性ショックまたは感染性疾患の症例 2 6 例を対象に、各 D I C スコア別の D - d i m e r、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (F D P)、血小板 (P l t)、プロトロンビン時間 (P T)、I N R 値、活性化部分トロンボプラスチン時間 (A P T T)、フィブリノーゲン (F I B)、アンチトロンビン III (A T I I I)、乳酸 (L a c t)、トロンビン-アンチトロンビン複合体 (T A T)、 $\alpha 2$ プラスミンインヒビター・プラスミン複合体 (P I C)、プロテイン C (P C)、トロンボモジュリン (T M) 及び組織プラスミノゲンアクチベータ (t P A)・プラスミノゲンアクチベータインヒビター (P A I - 1) 複合体 (T o t a l P A I - 1) の測定値分布を比較した。D - d i m e r は、ナノピア D ダイマー (積水メディカル社) を用いて測定を行った。F D P は、ナノピア P - F D P (積水メディカル社) を用いて測定を行った。血小板は、セルバック II (シスメックス社) を用いて測定を行った。P T は、コアグピア P T - S (積水メディカル社) を用いて測定を行った。A P T T は、コアグピア A P T T - S (積水メディカル社) を用いて測定を行った。フィブリノーゲンは、コアグピア F b g (積水メディカル社) を用いて測定を行った。アンチトロンビン III は、ステイシア C L E I A T A T (三菱化学メディカル社) を用いて測定を行った。乳酸は、デタミナー L A (協和メディックス社) を用いて測定を行った。T A T は、ステイシア C L E I A T A T (三菱化学メディカル社) を用いて測定を行った。P I C は、エルピアエース P P I I I (三菱化学メディエンス社) を用いて測定を行った。プロテイン C は、エルピアエース P C I I (三菱化学メディエンス社) を用いて測定を行った。トロンボモジュリンは、ステイシア C L E I A T M (三菱化学メディカル社) を用いて測定を行った。T o t a l P A I - 1 は、L P I A t P A I テスト (三菱化学メディカル社) を用いて測定を行った。

K r u s k a l - W a l l i s 検定による多群間統計解析を行った結果を、表 7 に示した。D - d i m e r、F D P、血小板及び T A T は、感染性 D I C スコアを反映するマーカーと考えられた。図 2 1 ~ 3 5 に、各 D I C スコアに各マーカーの中央値と症例数を示した。

【 0 0 7 5 】

10

20

30

40

【表 7】

	凝固関連マーカー	有意差 (p 値)
(A)	D-dimer	0.0247
(B)	FDP	0.0365
(C)	血小板	0.0443
(D)	PT (秒)	0.3213
(E)	PT (%)	0.1325
(F)	INR 値	0.1150
(G)	APTT	0.6533
(H)	フィブリノーゲン	0.1239
(I)	アンチトロンビンIII	0.3493
(J)	乳酸	0.0629
(K)	TAT	0.0027
(L)	PIC	0.0585
(M)	プロテインC	0.0904
(N)	トロンボモジュリン	0.2304
(O)	Total PAI-1	0.1141

10

20

【0076】

次に、多群間統計解析により有意差を認めたD-dimer、FDP、血小板及びTATについては、同患者群を感染性非DIC（DICスコア4点未満）（n=14）と感染性DIC（DICスコア4点以上）（n=12）に分類し、それぞれのD-dimer、FDP、血小板またはTATの測定値からMann-Whitney U検定による2群間統計解析を行った。その結果、D-dimerはp=0.0017、FDPはp=0.0037、血小板はp=0.0464、TATはp=0.0002となり、D-dimer、FDP、血小板及びTATが感染性DIC検出に有用であることが示された。

30

【0077】

《実施例15：sCD14-STと凝固関連マーカーを組み合わせた感染性DIC検出能の評価》 試験に登録された症例49例のうち、敗血症マーカー（sCD14-ST、プロカルシトニン（PCT）、インターロイキン-6（IL-6）及びC反応性蛋白（CRP））及び凝固関連マーカー（D-dimer、フィブリン・フィブリノーゲン分解産物（FDP）、血小板（Plt）、プロトロンビン時間（PT）、INR値、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、フィブリノーゲン（FIB）、アンチトロンビンII（ATIII）、乳酸（Lact）、トロンビン-アンチトロンビン複合体（TAT）、α2プラスミンインヒビター・プラスミン複合体（PIC）、プロテインC（PC）、トロンボモジュリン（TM）及び組織プラスミノゲンアクチベータ（tPA）・プラスミノゲンアクチベータインヒビター（PAI-1）複合体（Total PAI-1）の測定値がすべて確認された44例を対象に、sCD14-STとD-dimer（表8～表10）、sCD14-STとFDP（表11～表13）、sCD14-STと血小板（表14～表15）、sCD14-STとTAT（表16～表18）の組み合わせで感染性DIC検出能の評価を行った。sCD14-STのカットオフ値は、実施例12または13で得られた値から設定した。D-dimerのカットオフ値は、従来多用されている6.18 μg/mLまたは実施例13と同様の手順により求め設定した10 μg/mLを用い

40

50

た。FDPのカットオフ値は、従来多用されている $25\mu\text{g}/\text{mL}$ または実施例13と同様の手順により求め設定した $35\mu\text{g}/\text{mL}$ を用いた。血小板のカットオフ値は、従来多用されている $12\times 10^4\text{個}/\mu\text{L}$ を用いた。TATのカットオフ値は、従来多用されている $10\text{ng}/\text{mL}$ または実施例13と同様の手順により求め設定した $26\text{ng}/\text{mL}$ を用いた。評価にあたって、各条件の臨床感度、特異度、陰性反応的中率、陽性反応的中率を算出した。

【0078】

(A) D-dimer

【0079】

【表8】

従来多用されているカットオフ値： $6.18\mu\text{g}/\text{mL}$

10

sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
D-dimer	<6.18	≥ 6.18	<6.18	≥ 6.18	<6.18	≥ 6.18
症例数	9	7	4	2	5	17
割合（症例数）						
感染有無	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日死亡率	11% (1/9)	0% (0/7)	25% (1/4)	0% (0/2)	40% (2/5)	18% (3/17)
抗凝固療法 実施有無	11% (1/9)	0% (0/7)	25% (1/4)	0% (0/2)	40% (2/5)	35% (6/17)

20

【0080】

【表9】

実施例13と同様の手順により得られたカットオフ値： $10\mu\text{g}/\text{mL}$

30

sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
D-dimer	<10	≥ 10	<10	≥ 10	<10	≥ 10
症例数	12	4	4	2	8	14
割合（症例数）						
感染有無	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日死亡率	10% (1/12)	0% (0/4)	25% (1/4)	0% (0/2)	25% (2/8)	21% (3/14)
抗凝固療法 実施有無	10% (1/12)	0% (0/4)	25% (1/4)	0% (0/2)	38% (3/8)	36% (5/14)

40

【0081】

【表 10】

各検出法における臨床感度、特異度、陰性反応の中率および陽性反応の中率

条件	検出法			症例数				感度	特異度	陰性反応 の中率	陽性反応 の中率
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	D-dimer (μ g/mL)	感染性DIC(陽性)		感染性DIC(陰性)					
				検査陽性	検査陰性	検査陽性	検査陰性				
1	単独	600 $\leq$	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	単独	900 $\leq$	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
3	単独	—	6.18 $\leq$	13	2	13	16	86.7%	55.2%	88.9%	50.0%
4	単独	—	10 $\leq$	13	2	7	22	86.7%	75.9%	91.7%	65.0%
5	組合せ	600 $\leq$	6.18 $\leq$	13	2	6	23	86.7%	79.3%	92.0%	68.4%
6	組合せ	900 $\leq$	6.18 $\leq$	13	2	4	25	86.7%	86.2%	92.6%	76.5%
7	組合せ	600 $\leq$	10 $\leq$	13	2	3	26	86.7%	89.7%	92.9%	81.3%
8	組合せ	900 $\leq$	10 $\leq$	13	2	1	28	86.7%	96.6%	93.3%	92.9%

【0082】

(B) フィブリン・フィブリノーゲン分解産物 (FDP)

【0083】

【表 11】

従来多用されているカットオフ値：25 μ g/mL

sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
FDP	<25	≥ 25	<25	≥ 25	<25	≥ 25
症例数	14	2	4	2	9	13
割合 (症例数)						
感染有無	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日死亡率	7% (1/14)	0% (0/2)	25% (1/4)	0% (0/2)	33% (3/9)	15% (2/13)
抗凝固療法 実施有無	7% (1/14)	0% (0/2)	25% (1/4)	0% (0/2)	44% (4/9)	31% (4/13)

【0084】

10

20

30

【表 1 2】

実施例 13 と同様の手順により得られたカットオフ値：35 $\mu\text{g/mL}$

sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
FDP	<35	≥ 35	<35	≥ 35	<35	≥ 35
症例数	14	2	4	2	10	12
割合 (症例数)						
感染有無	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日死亡率	7% (1/14)	0% (0/2)	25% (1/4)	0% (0/2)	30% (3/10)	17% (2/12)
抗凝固療法 実施有無	7% (1/14)	0% (0/2)	25% (1/4)	0% (0/2)	40% (4/10)	33% (4/12)

10

【0085】

【表 1 3】

各検出法における臨床感度、特異度、陰性反応の中率および陽性反応の中率

条件	検出法			症例数				感度	特異度	陰性反応 の中率	陽性反応 の中率
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	FDP (μ g/mL)	感染性DIC(陽性)		感染性DIC(陰性)					
				検査陽性	検査陰性	検査陽性	検査陰性				
1	単独	600 $\leq$	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	単独	900 $\leq$	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
9	単独	—	25 $\leq$	12	3	4	25	80.0%	82.8%	88.9%	70.6%
10	単独	—	35 $\leq$	12	3	5	24	80.0%	86.2%	89.3%	75.0%
11	組合せ	600 $\leq$	25 $\leq$	12	3	3	26	80.0%	89.7%	89.7%	80.0%
12	組合せ	900 $\leq$	25 $\leq$	12	3	1	28	80.0%	96.6%	90.3%	92.3%
13	組合せ	600 $\leq$	35 $\leq$	12	3	2	27	80.0%	93.1%	90.0%	85.7%
14	組合せ	900 $\leq$	35 $\leq$	12	3	0	29	80.0%	100.0%	90.6%	100.0%

20

30

【0086】

(C) 血小板 (Plt)

【0087】

【表 1 4】

従来多用されているカットオフ値： 12×10^4 個/ μ L

sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
Plt	<12	≥ 12	<12	≥ 12	<12	≥ 12
症例数	1	15	0	6	11	11
割合（症例数）						
感染有無	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日死亡率	0% (0/1)	7% (1/15)	0% (0/0)	17% (1/6)	45% (5/11)	0% (0/11)
抗凝固療法 実施有無	0% (0/1)	7% (1/15)	0% (0/0)	17% (1/6)	45% (5/11)	27% (3/11)

【0088】

【表 1 5】

各検出法における臨床感度、特異度、陰性反応の中率および陽性反応の中率

条件	検出法			症例数				感度	特異度	陰性反応 の中率	陽性反応 の中率
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	Plt ($\times 10^4$ 個/ μ L)	感染性DIC（陽性）		感染性DIC（陰性）					
				検査陽性	検査陰性	検査陽性	検査陰性				
1	単独	600 $\leq$	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	単独	900 $\leq$	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
15	単独	—	<12	9	6	3	26	60.0%	89.7%	81.3%	75.0%
16	組合せ	600 $\leq$	<12	9	6	2	27	60.0%	93.1%	81.8%	81.8%
17	組合せ	900 $\leq$	<12	9	6	2	27	60.0%	93.1%	81.8%	81.8%

【0089】

(D) トロンビン-アンチトロンビン複合体 (TAT)

【0090】

【表 1 6】

従来多用されているカットオフ値：10ng/mL

sCD14-ST	<600		600-900		≥ 900	
TAT	<10	≥ 10	<10	≥ 10	<10	≥ 10
症例数	4	12	4	2	5	17
割合（症例数）						
感染有無	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日死亡率	25% (1/4)	0% (0/12)	25% (1/4)	0% (0/2)	0% (0/5)	29% (5/17)
抗凝固療法 実施有無	0% (0/4)	8% (1/12)	25% (1/4)	0% (0/2)	40% (2/5)	35% (6/17)

【0091】

【表 17】

実施例 13 と同様の手順により得られたカットオフ値：26 ng/mL

sCD14-ST	<600		600-900		≥900	
TAT	<26	≥26	<26	≥26	<26	≥26
症例数	11	5	4	2	10	12
割合（症例数）						
感染有無	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日死亡率	9% (1/11)	0% (0/5)	25% (1/4)	0% (0/2)	0% (0/10)	42% (5/12)
抗凝固療法 実施有無	9% (1/11)	0% (0/5)	25% (1/4)	0% (0/2)	0% (0/10)	33% (4/12)

【0092】

【表 18】

各検出法における臨床感度、特異度、陰性反応的中率および陽性反応的中率

条件	検出法			症例数				感度	特異度	陰性反応 の中率	陽性反応 の中率
	方法	sCD14-ST (pg/mL)	TAT (ng/mL)	感染性DIC（陽性）		感染性DIC（陰性）					
				検査陽性	検査陰性	検査陽性	検査陰性				
1	単独	600≦	—	15	0	13	16	100.0%	55.2%	100.0%	53.6%
2	単独	900≦	—	15	0	7	22	100.0%	75.9%	100.0%	68.2%
18	単独	—	10≦	14	1	17	12	93.3%	41.4%	92.3%	45.2%
19	単独	—	26≦	11	4	8	21	73.3%	72.4%	84.0%	57.9%
20	組合せ	600≦	10≦	14	1	5	24	93.3%	82.8%	96.0%	73.7%
21	組合せ	900≦	10≦	14	1	3	26	93.3%	89.7%	96.3%	82.4%
22	組合せ	600≦	26≦	11	4	3	26	73.3%	89.7%	86.7%	78.6%
23	組合せ	900≦	26≦	11	4	1	28	73.3%	96.6%	87.5%	91.7%

【0093】

結果から、sCD14-ST及び凝固関連マーカー（D-dimer、FDP、血小板及びTAT）単独による検出法は、いずれも臨床感度が高いが特異度は低かった。一方、sCD14-STと凝固関連マーカーを組み合わせることにより、臨床感度は変わらず特異度が上昇した。以上のことから、感染性DIC検出に対してsCD14-STとD-dimer、sCD14-STとFDP及びsCD14-STとTATの組み合わせを用いることにより、臨床感度と特異度が80%以上となり、従来の指標では無かった臨床感度と特異度を併せ持つ指標であり、非常に有用であることを確認した。

【0094】

＜比較例1：PCTとTATを組み合わせた感染性DIC検出能の評価＞

実施例15と同じ症例44例を対象に、プロカルシトニン（PCT）とトロンビン-アンチトロンビン複合体（TAT）の組み合わせ（表19～表20）による感染性DIC検出能の評価を行った。PCTのカットオフ値は、従来多用されている0.5 ng/mL及び2.0 ng/mLを用いた。TATのカットオフ値は、従来多用されている10 ng/mLを用いた。評価にあたって、各条件の臨床感度、特異度、陰性反応的中率、陽性反応的中率を算出した。

【0095】

10

20

30

40

50

【表 19】

PCT	<0.5		0.5-2.0		≥2.0	
TAT	<10	≥10	<10	≥10	<10	≥10
症例数	5	10	1	8	7	13
割合（症例数）						
感染有無	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日死亡率	20% (1/5)	10% (1/10)	0% (0/1)	0% (0/8)	14% (1/7)	31% (4/13)
抗凝固療法 実施有無	20% (1/5)	10% (1/10)	0% (0/1)	13% (1/8)	29% (2/7)	46% (6/13)

【0096】

【表 20】

各検出法における臨床感度、特異度、陰性反応的中率および陽性反応的中率

条件	検出法			症例数				感度	特異度	陰性反応 の中率	陽性反応 の中率
	方法	PCT (ng/mL)	TAT (ng/mL)	感染性DIC（陽性）		感染性DIC（陰性）					
				検査陽性	検査陰性	検査陽性	検査陰性				
24	単独	0.5≦	—	13	2	16	13	86.7%	44.8%	86.7%	44.8%
25	単独	2.0≦	—	11	4	9	20	73.3%	69.0%	83.3%	55.0%
18	単独	—	10≦	14	1	17	12	93.3%	41.4%	92.3%	45.2%
27	組合せ	0.5≦	10≦	12	3	9	20	80.0%	69.0%	87.0%	57.1%
28	組合せ	2.0≦	10≦	10	5	3	26	66.7%	89.7%	83.9%	76.9%

【0097】

結果から、PCTとTATの組み合わせによる感染性DIC検出法は、臨床感度と特異度共に80%以上を満たす条件はなく、実施例15のsCD14-STとTATの組み合わせと比較しても劣る結果となった。sCD14-STは、従来敗血症マーカーとして知られているPCTと比較し、感染性DIC検出に対し有用であることが示された。

【0098】

《試験対象2》

実施例16～20は、以下を試験対象とした。

1施設の臨床現場で、試験対象1と同様の基準により登録された症例全87例を対象に評価を行った。その内、疾患名が決定された症例は84例あり、詳細には、感染症を伴わない全身性炎症反応症候群（SIRS）19例、敗血症8例、重症敗血症14例、敗血症性ショック21例、非感染性疾患（感染症、SIRSどちらも該当しない状態）12例、感染性疾患（感染症であるがSIRSは伴っていない状態）10例であった。

【0099】

《実施例16：敗血症マーカーのDICにおける多重ロジスティック回帰分析》

疾患名が決定された症例84例を対象に、多重ロジスティック回帰分析（ステップワイズ法）を行った。分析にあたり、目的変数を急性期DIC診断基準（非DIC群またはDIC群）、説明変数をsCD14-ST、プロカルシトニン（PCT）、インターロイキン-6（IL-6）、C反応性蛋白（CRP）とし、単位オッズ比を連続変数が1単位だけ変化した場合で行った。効果に対する尤度比検定の結果、sCD14-STがオッズ比1.001572、95%CIが1.000865-1.002446、 $p < 0.000$

1 となりもっとも有用であった。

【0100】

《実施例17：凝固関連マーカーのDICにおける多重ロジスティック回帰分析》

疾患名が決定された症例84例を対象に、多重ロジスティック回帰分析（ステップワイズ法）を行った。分析にあたり、目的変数を急性期DIC診断基準（非DIC群またはDIC群）、説明変数をアンチトロンビンIII（ATIII）、プロテインC（PC）、トロンボモジュリン（TM）とし、単位オッズ比を連続変数が1単位だけ変化した場合で行った。効果に対する尤度比検定の結果、プロテインCがオッズ比0.944377、95%CIが0.918842-0.965239、 $p < 0.0001$ となりもっとも有用であった。

10

【0101】

《実施例18：sCD14-STとPCの敗血症有無に関するROC解析及びカットオフ値評価》

疾患名が決定された症例84例のうち、sCD14-ST及びプロテインC（PC）の測定値がすべて確認された80例（敗血症群：40例、非敗血症群：40例）を対象にROC解析を行ったところ、AUCはsCD14-STが0.925（ $p < 0.0001$ ）、PCが0.833（ $p < 0.0001$ ）であった。また、カットオフ値はsCD14-STが647 pg/mL（感度＝93.0%、特異度＝75.6%）、PCが47%（感度＝77.5%、特異度＝80.0%）となった。以上の結果から、カットオフ値はsCD14-STが650 pg/mL、PCが45%で好適と考えられた。

20

【0102】

《実施例19：sCD14-STとPCのDIC有無に関するROC解析及びカットオフ値評価》

疾患名が決定された症例84例のうち、sCD14-ST及びプロテインC（PC）の測定値がすべて確認された81例（DIC群：36例、非DIC群：45例）を対象にROC解析を行ったところ、AUCはsCD14-STが0.836（ $p < 0.0001$ ）、PCが0.891（ $p < 0.0001$ ）であった。また、カットオフ値はsCD14-STが899 pg/mL（感度＝81.6%、特異度＝80.9%）、PCが55%（感度＝89.2%、特異度＝75.6%）となった。以上の結果から、カットオフ値はsCD14-STが900 pg/mL、PCが55%で好適と考えられた。

30

【0103】

《実施例20：sCD14-STとPCを組み合わせた感染性DIC検出能の評価》

疾患名が決定された症例84例のうち、sCD14-ST及びプロテインC（PC）の測定値がすべて確認された81例を対象に、実施例15と同様にsCD14-STとPC（表21～表22）の組み合わせで感染性DIC検出能の評価を行った。カットオフ値は、実施例18または19で得られた値から設定した。評価にあたって、各条件の臨床感度、特異度、陰性反応的中率、陽性反応的中率を算出した。

【0104】

【表21】

sCD14-ST	<650			650-900			≥900		
PC	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55	<45	45-55	≥55
症例数	2	3	30	7	0	2	28	3	6
割合（症例数）									
感染有無	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日死亡率	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)

40

50

【0105】

【表22】

各検出法における臨床感度、特異度、陰性反応的中率および陽性反応的中率

条件	検出法		症例数				感度	特異度	陰性反応 の中率	陽性反応 の中率
	方法	詳細	感染性DIC（陽性）		感染性DIC（陰性）					
			検査陽性	検査陰性	検査陽性	検査陰性				
29	単独	sCD14-ST $\geq$ 650pg/mL	26	0	20	35	100.0%	63.6%	100.0%	56.5%
30	単独	sCD14-ST $>$ 900pg/mL	26	0	11	44	100.0%	80.0%	100.0%	70.3%
31	単独	PC $<$ 55%	24	2	19	36	92.3%	65.5%	94.7%	55.8%
32	単独	PC $<$ 45%	23	3	21	34	88.5%	61.8%	91.9%	52.3%
33	組合せ	sCD14-ST $<$ 650pg/mLの 場合にPC $<$ 45%、または sCD14-ST 650-900pg/mL の場合にPC $<$ 55%、または sCD14-ST $\geq$ 900pg/mL	26	0	20	35	100.0%	63.6%	100.0%	56.5%
34	組合せ	sCD14-ST $\geq$ 900pg/mL かつPC $<$ 45%	23	3	5	50	88.5%	90.9%	94.3%	82.1%

10

【0106】

結果から、実施例15と同様にsCD14-ST及びPC単独による検出法は、いずれも臨床感度が高いが特異度は低かった。一方、sCD14-STとPCを組み合わせることにより特異度が上昇した。感染性DIC検出に対してsCD14-STとPCの組み合わせを用いることにより、臨床感度と特異度が80%以上となり、従来の指標では無かった臨床感度と特異度を併せ持つ指標であり、非常に有用であることを確認した。

20

【0107】

《参考例1：非感染群におけるDIC診断に対する有用性》

実施例12の非感染群、すなわち、非感染であったSIRSまたは非感染性疾患の症例13例を対象に、急性期DIC診断基準に従ってDIC群（4例）と非DIC群（9例）に分類し、DIC検出におけるsCD14-ST、プロカルシトニン（PCT）、C反応性蛋白（CRP）、インターロイキン-6（IL-6）、D-dimer及びフィブリン・フィブリノーゲン分解産物（FDP）の有用性をROC分析により比較を行った。

30

PCTの測定は、エクルーシス試薬ブラームSPCT（ロシュ・ダイアグノスティックス社）を用いて測定を行った。IL-6は、イムライズIL-6（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス社）を用いて測定を行った。CRPは、CRP-ラテックスX2「生研」（デンカ生研社）を用いて測定を行った。測定機器は、日立7170S（日立ハイテク社）を用いた。D-dimerは、ナノピアDダイマー（積水メディカル社）を用いて測定を行った。測定機器は、コアプレスタ2000（積水メディカル社）を用いた。FDPは、ナノピアP-FDP（積水メディカル社）を用いて測定を行った。測定機器は、コアプレスタ2000（積水メディカル社）を用いた。

【0108】

結果を図36、図37に示す。図36、図37において、横軸は「1-特異度」であり、縦軸は「感度」である。

40

AUCをそれぞれ求めたところ、sCD14-STは0.806、PCTは0.778、IL-6は0.639、CRPは0.583、D-dimerは0.764、FDPは0.792であり、sCD14-STのAUCが最も大きかった。この結果からsCD14-STは感染の有無に関わらず、既存の指標であるD-dimerやFDP等に対し有用であることが確認された。sCD14-ST値のカットオフ値は、600pg/mLの場合に臨床感度が75.0%、特異度が100%となり、最適と考えられた。

【産業上の利用可能性】

【0109】

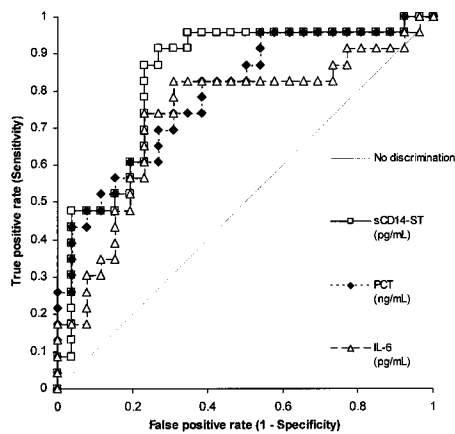
50

本発明は、播種性血管内凝固症候群（D I C）の検出及びその病態の把握に利用することができる。D I Cが疑われる患者からD I C患者を特定することもできるし、D I C患者に対して経時的に測定することによって、状態をモニタリングすることができ、適切な治療方針の策定に役立てることができる。

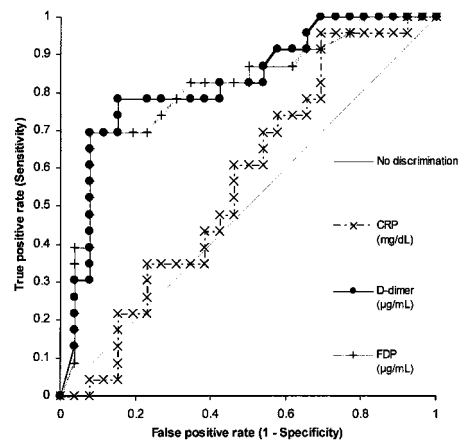
また、本発明は、感染性播種性血管内凝固症候群（感染性D I C）の検出及びその病態の把握に利用することができる。感染性D I Cが疑われる患者から感染性D I C患者を特定することもできるし、感染性D I C患者に対して経時的に測定することによって、状態をモニタリングすることができ、適切な治療方針の策定に役立てることができる。

以上、本発明を特定の態様に沿って説明したが、当業者に自明の変形や改良は本発明の範囲に含まれる。

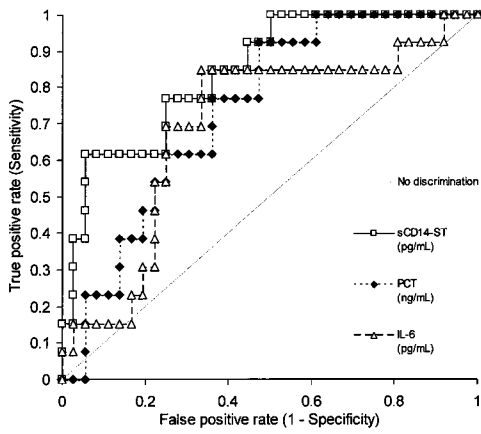
【図 1】



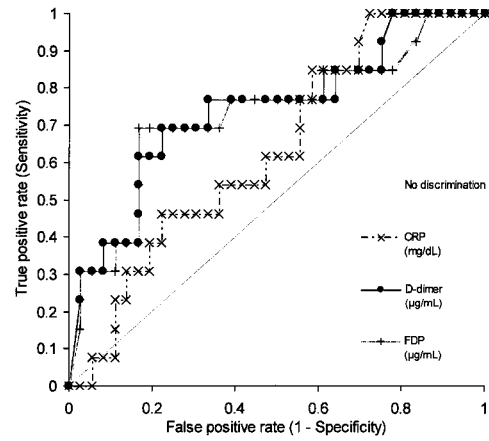
【図 2】



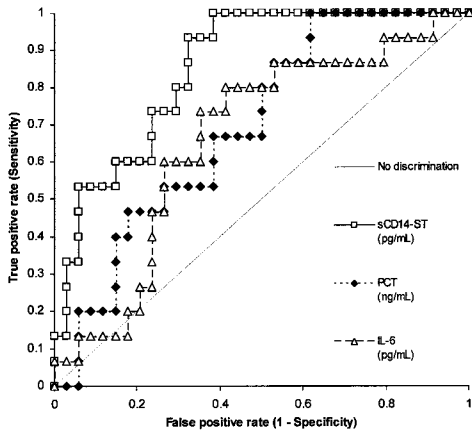
【図 3】



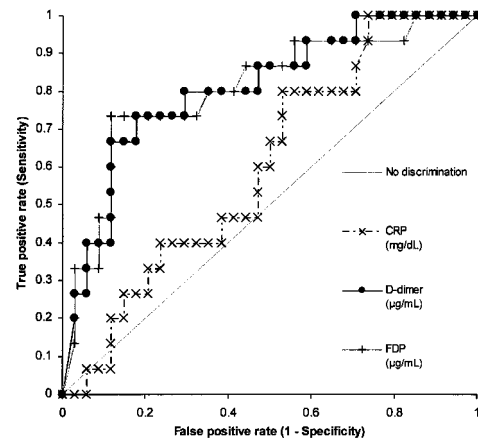
【図 4】



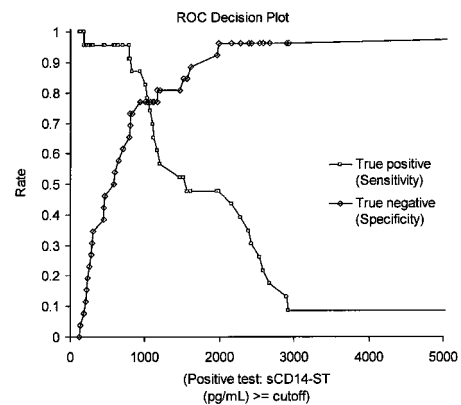
【図 5】



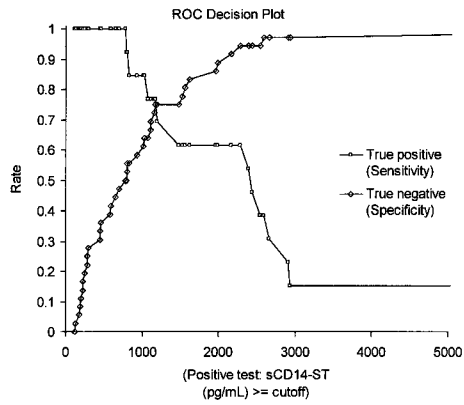
【図 6】



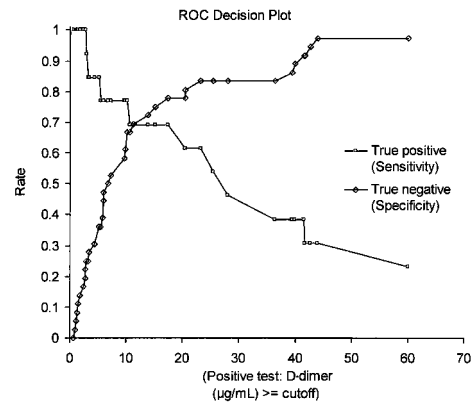
【図 7】



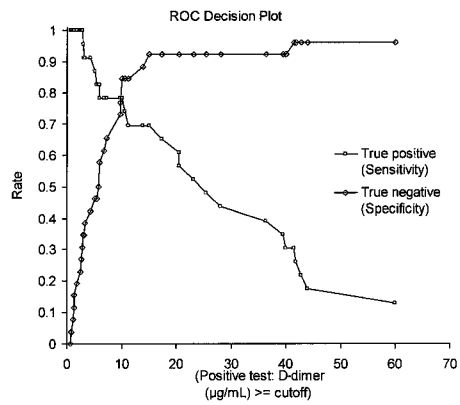
【図 8】



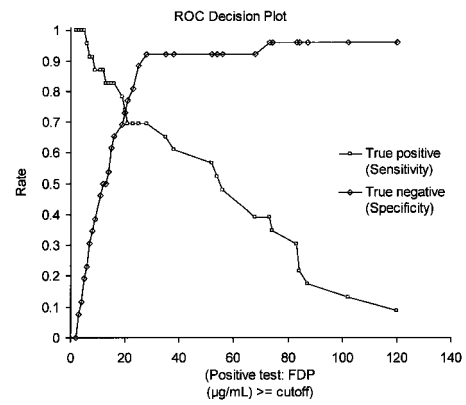
【図 10】



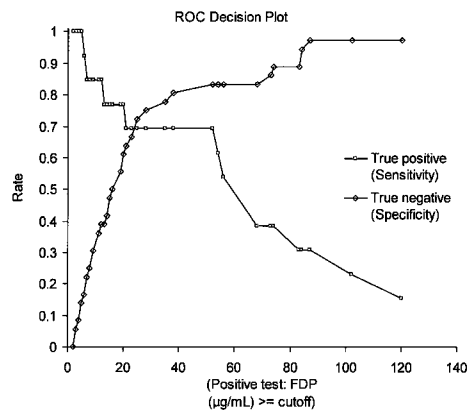
【図 9】



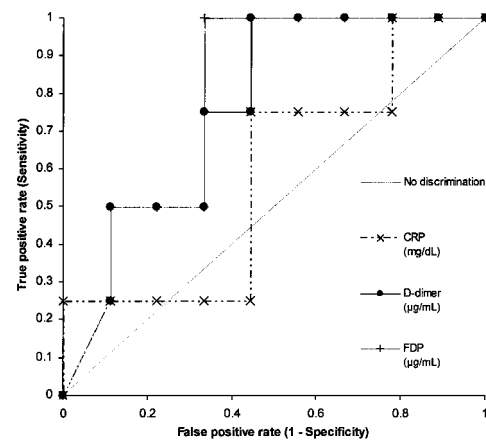
【図 11】



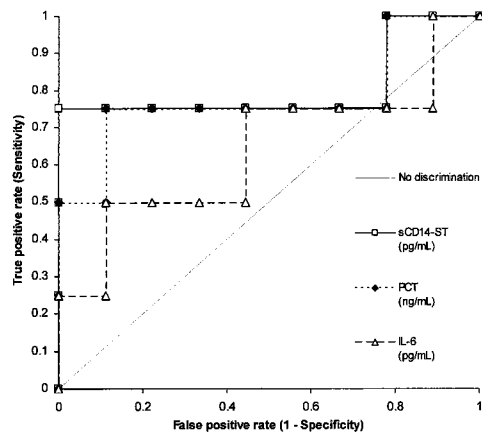
【図 12】



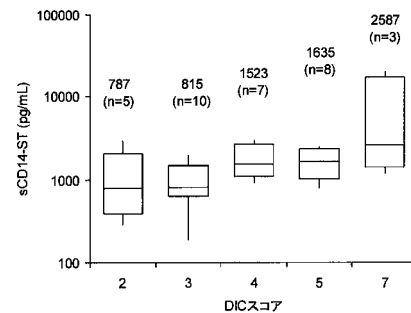
【図 14】



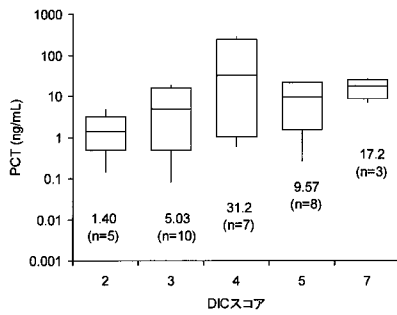
【図 13】



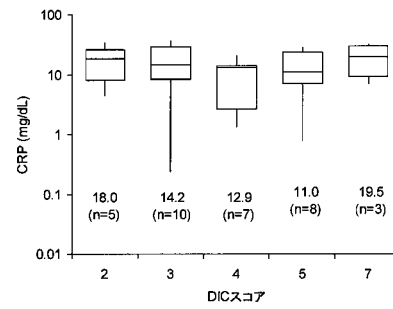
【図 15】



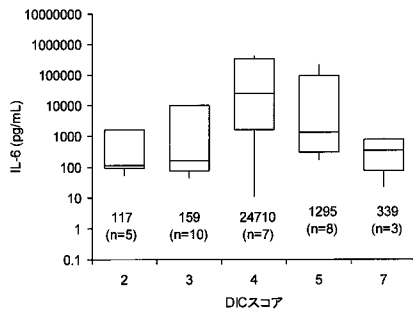
【図 16】



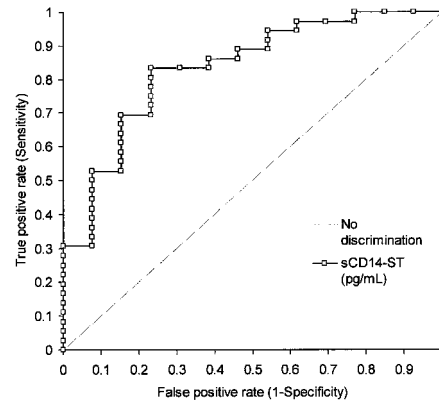
【図 18】



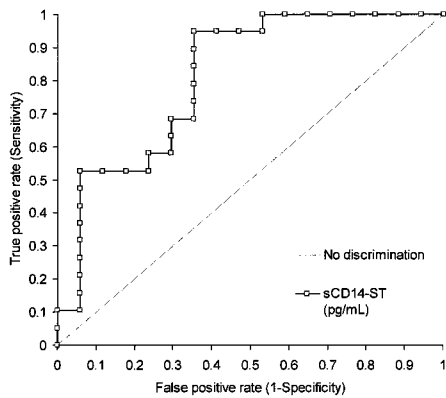
【図 17】



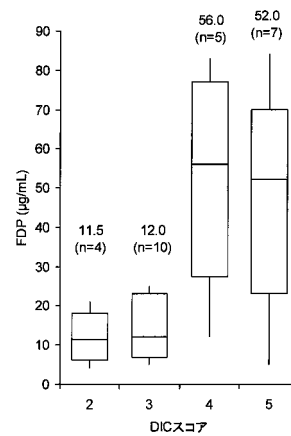
【図 19】



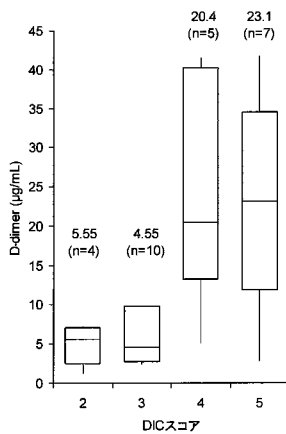
【図 20】



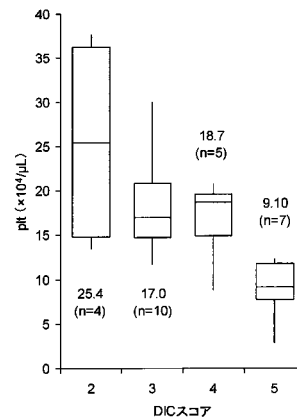
【図 22】



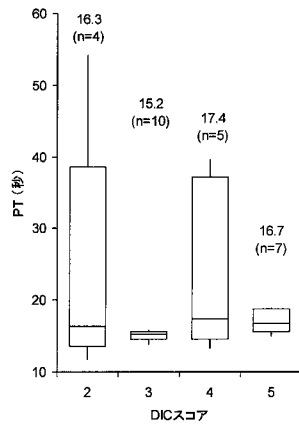
【図 21】



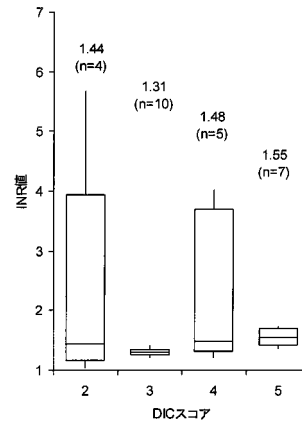
【図 23】



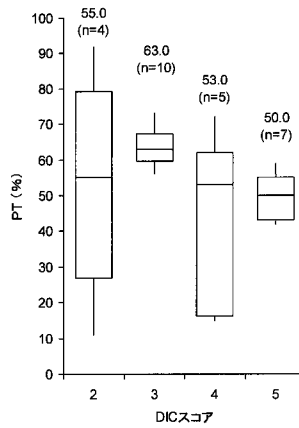
【図 24】



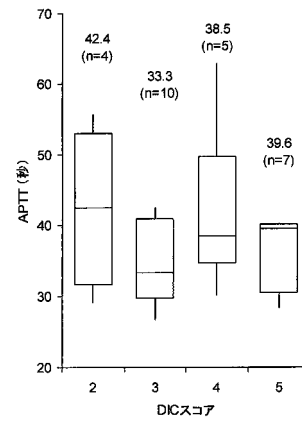
【図 26】



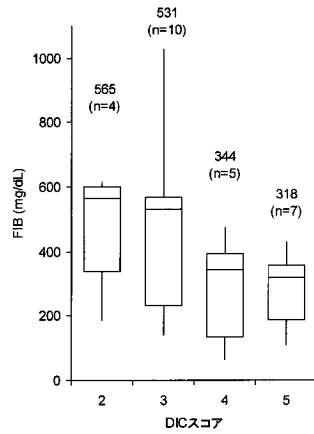
【図 25】



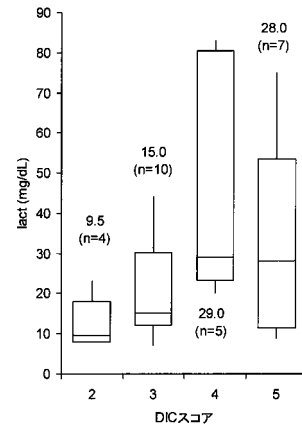
【図 27】



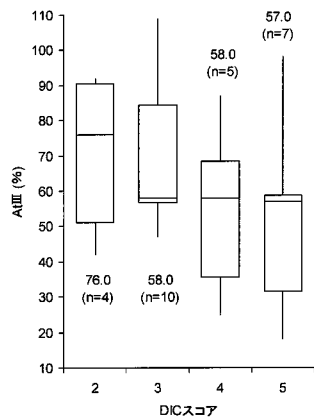
【図 28】



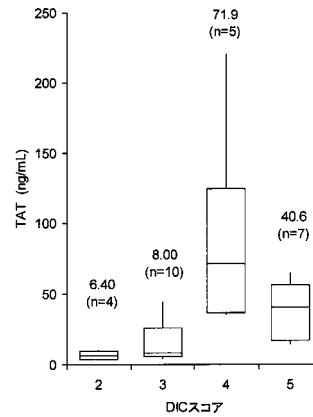
【図 30】



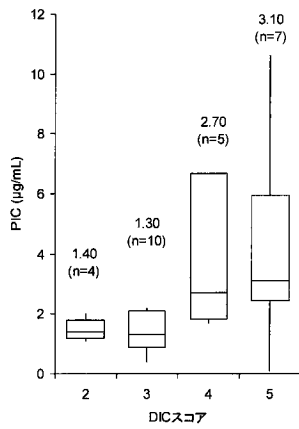
【図 29】



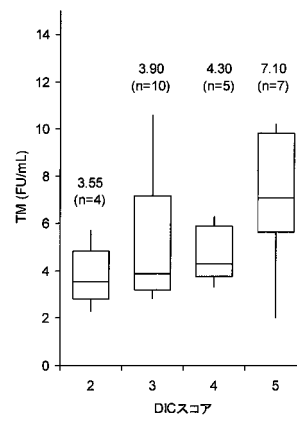
【図 31】



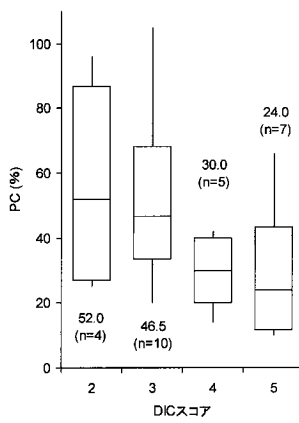
【図 3 2】



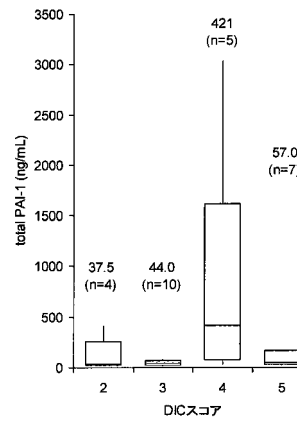
【図 3 4】



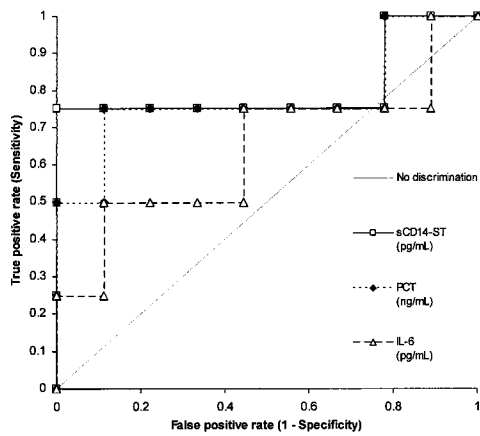
【図 3 3】



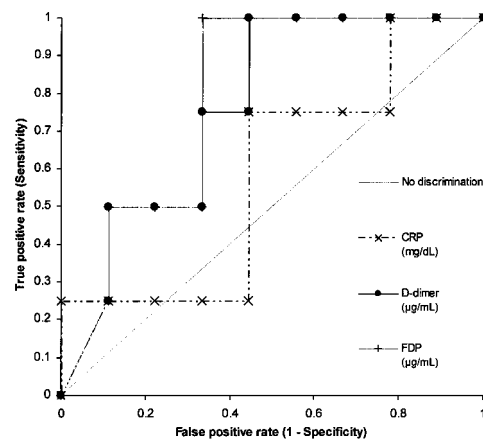
【図 3 5】



【図 3 6】



【図 3 7】



【配列表】

2013168602000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/062352

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/53(2006.01)i, C07K14/705(2006.01)n

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N33/53, C07K14/705

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
MEDLINE (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Rienk Nieuwland, Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis, blood, 2000.02.01, Vol. 95/No.3, 930-935	2, 3, 6, 7, 10-12
A	Sang Mee Hwang, Thrombomodulin phenotype of a distinct monocyte subtype is an independent prognostic marker for disseminated intravascular coagulation, Critical Care, 2011, Vol.15/Iss.2, R113	2, 3, 6, 7, 10-12
A	JP 4040666 B2 (Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.), 16 November 2007 (16.11.2007), (Family: none)	2, 3, 6, 7, 10-12

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
15 May, 2013 (15.05.13)Date of mailing of the international search report
28 May, 2013 (28.05.13)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/062352

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1, 4, 5, 8, 9
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
(See extra sheet)
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/062352

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet(2)

Claims 1, 4, 5, 8 and 9 disclose "a method for detecting disseminated intravascular coagulation", which substantially includes diagnostic methods to be practiced on the human body, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2) (a) (i) of the PCT and Rule 39.1 of the Regulations under the PCT, to search.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 2 3 5 2	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/53 (2006.01)i, C07K14/705 (2006.01)n			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/53, C07K14/705			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2013年 日本国実用新案登録公報 1996-2013年 日本国登録実用新案公報 1994-2013年			
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) MEDLINE (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
A	Rienk Nieuwland, Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis, blood, 2000.02.01, Vol.95/No.3, 930-935	2, 3, 6, 7, 10-12	
A	Sang Mee Hwang, Thrombomodulin phenotype of a distinct monocyte subtype is an independent prognostic marker for disseminated intravascular coagulation, Critical Care, 2011, Vol.15/Iss.2, R113	2, 3, 6, 7, 10-12	
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 15.05.2013		国際調査報告の発送日 28.05.2013	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 吉田 将志 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 4636

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 2 3 5 2
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 4040666 B2 (持田製薬株式会社) 2007. 11. 16, (ファミリーなし)	2, 3, 6, 7, 10-12

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 2 3 5 2

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 1, 4, 5, 8, 9 は、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項1, 4, 5, 8, 9は「播種性血管内凝固症候群の検出方法」であるところ、実質的に人間を診断する方法を含んでおり、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

様式PCT/ISA/210（第1ページの続葉（2））（2009年7月）

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

Fターム(参考) 4H045 AA11 AA20 AA30 BA16 BA17 CA40 CA42 DA65 DA75 DA76
DA86 EA50 FA74

(注) この公表は、国際事務局(W I P O)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JPWO2013168602A5	公开(公告)日	2016-06-09
申请号	JP2014514682	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)	有限公司的LSI Medience 学校法人福岡大学		
[标]发明人	石倉宏恭		
发明人	石倉 宏恭		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 C07K14/705		
CPC分类号	C07K14/70596 G01N33/6893 G01N33/86 G01N2800/22 C12Q1/56 G01N2333/70596 G01N2800/224		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/53.ZNA.D C07K14/705		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA36 2G045/FB03 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA16 4H045/BA17 4H045/CA40 4H045/CA42 4H045/DA65 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	森田健一 山口健次郎		
优先权	2012106216 2012-05-07 JP 2012106217 2012-05-07 JP		
其他公开文献	JP6108409B2 JPWO2013168602A1		

摘要(译)

提供了对于诊断弥散性血管内凝血 (DIC) 或传染性DIC有效的标志物。
 在本发明的DIC检测方法中，测定样品中的sCD14-ST。 在本发明的感染性DIC的检测方法中，测定样品中的sCD14-ST和凝血相关标志物。