

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2011-85586

(P2011-85586A)

(43) 公開日 平成23年4月28日(2011.4.28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/68</b> (2006.01)	GO 1 N 33/68	2GO45
<b>A 6 1 P 31/04</b> (2006.01)	A 6 1 P 31/04	4CO87
<b>A 6 1 K 35/74</b> (2006.01)	A 6 1 K 35/74 E	4HO45
<b>CO 7 K 14/585</b> (2006.01)	CO 7 K 14/585 ZNA	
<b>GO 1 N 33/53</b> (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	

審査請求 未請求 請求項の数 14 O L 外国語出願 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2010-229934 (P2010-229934)  
 (22) 出願日 平成22年10月12日 (2010.10.12)  
 (31) 優先権主張番号 09012947.9  
 (32) 優先日 平成21年10月13日 (2009.10.13)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 508093584  
 ベー. エル. アー. ハー. エム. エス ゲ  
 ゼルシャフト ミット ペシュレンクテル  
 ハフツング  
 ドイツ連邦共和国, 16761 ヘニヒス  
 ドルフ, ノイエンドルフシュトラッセ 2  
 5  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74) 代理人 100087871  
 弁理士 福本 積  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 急性脳卒中または一過性脳虚血発作を有する患者における細菌感染の診断のためのプロカルシトニン及び抗生物質治療のガイダンス

## (57) 【要約】

【課題】 急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者における細菌感染を診断するまたは同定するための方法を提供することを目的とする。

【解決手段】 急性の虚血性または出血性脳卒中に罹患した患者における細菌感染の診断及び治療ガイダンスのためのインビトロ (in vitro) での方法であって、当該方法は、患者由来の体液のサンプル中のプロカルシトニン (PCT) または少なくとも12のアミノ酸残基を有するこのフラグメントのレベル、及び患者における細菌感染の診断との測定されたレベルの相関の測定を含んでなる方法。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者における細菌感染を診断するための方法であって、

( i ) 急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者からのサンプルを提供するステップであって、当該サンプルが急性脳卒中または一過性脳虚血発作の症状の発生後 7 2 時間以内に当該患者から採取されたものであるステップ；

( i i ) 0 . 0 6 n g / m L 未満の機能分析感度での P C T 検出アッセイを使用して、上記サンプル中のプロカルシトニン ( P C T ) または少なくとも 1 2 アミノ酸長であるこのフラグメントのレベルを測定するステップ；並びに

( i i i ) 上記の測定された P C T レベルを所定の閾値レベルと比較することによって、上記患者が細菌に感染しているか否かを決定するステップ、  
を含んでなる、方法。

## 【請求項 2】

前記サンプルが、急性脳卒中または一過性脳虚血発作の症状の発生後 4 8 時間以内に、より好適には 2 4 時間以内に、最も好適には 1 2 時間以内に、前記患者から採取された、請求項 1 記載の方法。

## 【請求項 3】

前記サンプルが、体液、特に血液、血清、血漿、脳脊髄液、尿、唾液または胸水である、請求項 1 または 2 記載の方法。

## 【請求項 4】

前記急性脳卒中が、虚血性または出血性脳卒中である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 5】

P C T の前駆物質のフラグメントの P C T のフラグメントが、少なくとも 1 2 アミノ酸残基長を有する、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記所定の閾値レベルが、0 . 0 2 n g / m L ~ 0 . 5 n g / m L、より好適には 0 . 0 2 n g / m L ~ 0 . 2 5 n g / m L、さらに好適には 0 . 0 2 n g / m L ~ 0 . 1 n g / m L、さらに好適には 0 . 0 2 n g / m L ~ 0 . 0 6 n g / m L、最も好適には 0 . 0 2 n g / m L ~ 0 . 0 5 n g / m L ( 未満 ) である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記測定された P C T レベルが前記所定の閾値レベル以上である場合に、前記患者は細菌に感染している、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記細菌感染が抗生物質で治療可能である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記細菌感染が肺炎である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記細菌感染が ( 細菌感染の臨床症状がない ) 無症候性である、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 11】

( i v ) 抗生物質を患者へ投与するステップをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 12】

少なくとも 1 または複数のマーカー、例えば C - 反応性タンパク質 ( C R P )、ネオプテリン、白血球 ( W B C ) の数、体温、好中球、赤血球沈降速度 ( E S R ) 等のレベルを測定するステップをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 3】

急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者への抗生物質の投与のための治療ガイドランスを提供するための、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法の使用。

## 【請求項 1 4】

急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者を抗生物質で治療するための、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法の使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は臨床診断の分野である。特に本発明は、急性脳卒中または一過性脳虚血発作後の対象の体液由来のサンプルにおける、プロカルシトニン（PCT）のレベルの測定に関する。

10

## 【背景技術】

## 【0002】

脳卒中は、脳血管疾患に由来する急性の局所的な神経性障害として定義する。脳卒中の二つの主要なタイプは、虚血性及び出血性のものであり、各々約 85% 及び 15% の割合を占める (Hickey 2003. The clinical practice of neurological and neurosurgical nursing (5th ed.). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins)。虚血性の脳卒中が生じる場合、脳への血液の供給は遮断され、そして脳細胞はグルコース及び酸素が欠乏する。約 45% の虚血性の脳卒中は、大小の動脈血栓によって生じ、20% は閉栓症が原因であり、そして他は原因が不明である (Hickey 2003. The clinical practice of neurological and neurosurgical nursing (5th ed.). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins)。

20

## 【0003】

一過性脳虚血発作 (TIA) (また「軽度の脳卒中」として知られる) は、組織に基づく特徴により、急性梗塞のない、局所的な脳、脊髄または網膜虚血によって生じる神経学的機能不全の一過性の発現として定義される (Easton 等, 2009. Stroke 40: 2276-93)。TIA は、24 時間以内に完全に消散する神経症状の突発性の発生によってさらに特徴付けられる。TIA は、高齢者人口の 0.5% ~ 8% で報告されるかもしれない (Bots 等, 1997. Stroke 28(4): 768-73)。TIA を有する患者は有害事象の続くリスクが高い。脳卒中後 90 日のリスクが 10% 以上であり、最初の二日以内に最高のリスクが生じる、ことが報告されている (Johnston 等, 2003. Neurology 60: 1429-34)。

30

## 【0004】

脳卒中は、最も重要な血管性疾患の一つである。脳卒中は、世界中で死の第二の主因のままであり、そしてヨーロッパでは成人身体障害及び早期病弱 (early invalidity) の主な原因の一つである (Murray 及び Lopez, 1997. Lancet 349: 1269-76; Murray 及び Lopez 1997. Lancet 349:1498-504)。アメリカでは、70 万人以上が毎年脳卒中を起こし、このうち 55 万人は初めての脳卒中である (Thom 等, 2006. Circulation 113: 85-151)。従って、健康管理の計画及び提供に投じなければならない労力の量が膨大なので、このことは健康管理提供者及び地域社会にとって重要な公衆衛生の課題並びに負担である。

40

我々の社会では、脳卒中の発生率は年齢の増加とともに顕著に増加する (Modan 及び W agener, 1992. Stroke 23:1230-36)。大抵の虚血性脳卒中は年齢 71 ~ 80 歳で生じ、一方大抵の出血性脳卒中は 60 ~ 70 歳で見られる (Colombo 等, 1989. Rivista de Neurologia 59: 1-7)。

## 【0005】

一定の期間後の脳卒中患者の予後は、機能的となるかまたは個人の生存に関係する可能性がある。機能的帰結予後に関して、一定の時間後の患者の病的状態は、「修正ランキングスケール」(mRS; Bonita 及び Beaglehole, 1988. Stroke 19: 1497-1500) のようなスコアシステムまたは「国立衛生研究所脳卒中スケール」(NIHSS; Adams 等, 1999. Neurology 53: 126-3) を使用して測定される。NIHSS は現在、「信頼できる判断基準 (

50

Gold standard)」と考えられている。機能予後はまた、例えば、バーセルインデックス及びランキングスケールに従って、看護の必要性の観点からまたは日常生活動作 ( A D L ) に関して表現することができる ( Collin 等. 1988. International Disability Study 10: 61-3; Bonita 及び Beaglehole, 1988. Stroke 19: 1497-1500 )。

#### 【 0 0 0 6 】

脳卒中の予後は、主に合併症の発生率次第である ( Davenport 等. 1996. Stroke 27: 415-20; Johnston 等. 1998. Stroke 29: 447-53 )。感染症、特に肺炎は、三番目に最もよく見られる脳卒中の合併症であり ( Langhorne 等. 2000. Stroke 31: 1223-9; Katzan 等. 2003. Neurology 60: 620-5 )、そして脳卒中患者での不良転帰及び死の最も一般的な原因と考えられる ( Henon 等. 1995. Stroke 26: 392-8; Hilker 等. 2003. Stroke 34: 975-81; Heuschmann 等. 2004. Arch Intern Med 164: 1761-8 )。平均的に全患者の 7 ~ 10 % ( Bucher 等. 2000. Tidsskr Nor Laegeforen 120: 472-5 ) 及び術後の患者の約 3 % ( Smyth 及び Emmerson 2000. J Hosp Infect 45: 173-84 ) に生じる院内感染または健康管理に関連する感染の発生率と比較して、急性脳卒中患者での感染頻度は非常に高く、急性脳卒中を有する患者の 21 ~ 65 % は感染を生じ、そして 10 ~ 22 % は肺炎を生じる ( Castillo 等. 1998. Stroke 29: 2455-60; Davenport 等. 1996. Stroke 27: 415-20; Georgilis 等. 1999. J Int Med 246: 203-9; Grau 等. 1999. J Neurol Sci 171: 115-20; Johnston 等. 1998. Stroke 29: 447-53; Langhorne 等. 2000. Stroke 31: 1223-9 )。脳卒中後初日または二日目の脳卒中の急性状態において、感染のリスクが最も高いことが示された ( Grau 等. 1999. J Neurol Sci 171: 115-20; Kong 等. 1998. Arch Phys Med Rehabil 79: 1535-9 )。脳卒中患者における感染の高発生率は、免疫機能を損なうことが原因のようである ( Livingston 等. 1988. Arch Surg 123: 1309-12; Woiciechowsky 等. 1998. Nat Med 4: 808-13; Dirnagl 等. 2007. Stroke 38: 770-3 )。脳卒中後の免疫抑制は、虚血の誘発後、数時間内に検出することができ、そして数週間続く ( Dirnagl 等. 2007. Stroke 38: 770-3 )。様々なリスクファクター：寝たきり患者の傾眠、延髄反射障害、嚥下障害、及び血液沈渣 ( hypostasis ) に起因する吸引、並びに侵襲性の医学的治療の必要性は、脳卒中患者の感染に関する易罹患者性の増加の一因となる ( Perry 及び Love 2001. Dysphagia 16: 7-18 )。

#### 【 0 0 0 7 】

脳卒中後の感染はまた、TIAを有する患者で、特に急性の虚血性及び出血性脳卒中等の患者で発症する可能性が高く、これは短期の転帰不良につながる ( Kwan 及び Hand 2007. Acta Neurol Scand 115:331-8 )。

脳卒中は、白血球 ( WBC ) 数の増加 ( Kazmierski 等. 2001. Wiad Lek 54:143-51 ) 並びに中核体温の上昇 ( Boysen 及び Christensen 2001. Stroke 32:413-7 )、脳温度 ( Schwab 等. 1997. Neurology 48:762-7 ) 及び C 反応性タンパク ( CRP ) の増加 ( Idicula 等. 2009. BMC Neurology 9:18 ) を有する炎症反応を末梢血で生じることがよく知られる。しかしながら、脳卒中後の全身性の炎症反応は感染よりもむしろ壊死組織それ自体に対する応答に起因するかもしれない。壊死組織は、炎症反応のあらゆる部分における細胞性、体液性、及び代謝性メカニズムによって除去される ( Kogure 等. 1996. Acta Neurochir Suppl (Wien) 66:40-3 )。体温の上昇は、発症の 24 時間以内に開始し、一方感染に起因する熱は遅れて生じるようである ( Boysen 及び Christensen 2001. Stroke 32:413-7; Davalos 等. 1997. Cerebrovasc Dis 7:64-9; Castillo 等. 1999. Cerebrovasc Dis 9:22-7; Castillo 等. 1998. Stroke 29:2455-60 )。感染の徴候のない虚血性脳卒中患者において、体温及び WBC 並びに CRP の上昇及び増加は、病変体積及び初期脳卒中重症度と顕著に相関があった ( Audebert 等. 2004. Stroke 35: 2128-2133 )。さらに、全身性の炎症反応は、成功的な血栓溶解療法によって減弱されることが示された。したがって、大脳の壊死を回避することによって脳組織の救出が誘発されるのは、全身性の炎症が減弱される結果かもしれない。

#### 【 0 0 0 8 】

プロカルシトニン ( PCT ) は、敗血症の診断のための確立されたバイオマーカーとな

っている。PCTは、細菌感染症の重症度を反映し、そして特に敗血症、重度の敗血症、または敗血症性ショックにおける感染の進行をモニターするために使用される。全身性の炎症反応活性を測定するため、治療の成功をコントロールするため、及び予後を評価するためにPCTを使用することは可能である (Assicot 等. 1993. Lancet 341:515-8; Clec'h C 等. 2004. Crit Care Med 32:1166-9; Lee 等. 2004. Yonsei Med J 45:29-37; Meisner 等. 2005. Curr Opin Crit Care 11:473-480; Wunder 等. 2004. Inflamm Res 53:158-163)。敗血症患者でのPCTレベルの増加は死亡率と相関がある (Oberhoffer等. 1999. Clin Chem Lab Med 37:363-368)。

PCTは抗生物質の治療ガイドンスに既に使用されてきたが、急性脳卒中後においては除かれる。救急科において下気道感染の症状を表わす患者では、PCTが測定され、そしてPCT濃度 $> 0.25 \text{ ng/mL}$ または $> 0.5 \text{ ng/mL}$ を有する患者だけが抗生物質で治療を受けた (Christ-Crain 等. 2004. Lancet 363:600-7)。市中感染の肺炎 (CAP) に罹患した患者では、抗生物質治療は、血清PCT濃度 (PCT濃度 $< 0.1 \text{ ng/mL}$ で強く非推奨; PCT濃度 $< 0.25 \text{ ng/mL}$ で非推奨; PCT濃度 $> 0.25 \text{ ng/mL}$ で推奨, 及びPCT濃度 $> 0.5 \text{ ng/mL}$ で強く推奨) に基づいて実施された (Christ-Crain 等. 2006. Am J Resp Crit Care Med 174:84-93)。PCTのガイドンスによって、患者の予後を悪化させることなく、実質的にCAPでの抗生物質の使用が減少される。同様に、上述の同一の決定閾値を使用したPCTガイドされた治療はまた、患者の予後を損なうことなく、急性の気道感染のための抗生物質のプライマリケアでの使用を顕著に減少した (Briel 等. 2008. Arch Intern Med 168:2000-7)。

#### 【0009】

急性脳卒中のマネージメントの現在のガイドラインでは、抗生物質の予防投与をしないようアドバイスがなされる (Hacke 等. 2003. Cerebrovasc Dis 16: 311-37)。さらに、急性脳卒中の患者で感染を予防するにはレボフロキサシンの静脈内投与はプラセボより良好でないことが示されたので、ランダムに選ばれた抗生物質の予防法の臨床試験では、最近この推奨に対して証拠に基づく裏づけが提供された (Chamorro 等. 2005. Stroke 36:1495-500)。一方、急性の重度の脳卒中 (mRS  $>3$ ) である患者では、スルバクタムをプラスしたメズロシリンの投与が感染率を低下し、良好な臨床成績と関連があるかもしれない (Schwarz 等. 2008. Stroke 39: 1220-7)。しかしながら、抗生物質及び抗生物質に誘発される副作用に対して生じる可能性のある抵抗性の発生に関しては、急性脳卒中患者の予防的治療は適当だと考えられておらず、そして急性脳卒中のマネージメントの現在のガイドラインは抗生物質の予防投与をしないようアドバイスする (Hacke 等. 2003. Cerebrovasc Dis 16: 311-37; Ringleb 等. 2008. Cerebrovasc Dis 25: 457-507)。

#### 【0010】

一方では脳卒中患者での免疫機能不全の背景に対して、他方では脳卒中後の全身性の炎症反応に対して、脳卒中後に感染の患者でPCT濃度が変化するか否かは完全に不明である。

急性脳卒中に罹患した患者での血清PCTレベルの調査からは、入院日~7日目の間の有意差は明らかにならなかった (Miyakis 等. 2004. Clin Chim Acta 350: 437-9)。この実験では、PCTレベルの死亡率または神経学的予後との相関は見られなかった。モルナー (Molnar) 及び同僚は、急性の虚血性脳卒中及びTIAを有する患者の血清でPCTを測定した (Molnar 等. 2008. J Clin Pathol 61: 1209-13)。PCTを連続的に測定したにも関わらず、72時間後のPCTのわずかな増加から脳卒中後の感染が続くことが示された以外は、著者は脳卒中後の異なる時点で測定したPCTレベルにおいていずれの相違も発見できなかった。両研究の結果は、使用したPCTテストシステム各々、すなわちマイヤキス (Miyakis) 等の記載する機能分析感度 (FAS)  $0.08 \text{ ng/mL}$ でのPCT LIA、及びモルナー (Molnar) 等の記載するFAS  $0.06 \text{ ng/mL}$ でのPCT Kryptorが原因かもしれない。

ヴォゲルゲサン (Vogelgesang) 等は、患者の病院への入院後7日及び14日目に、 $> 0.5 \text{ ng/mL}$ のPCTのカットオフを使用して、感染の3つの基準の中の1つとして脳

10

20

30

40

50

卒中患者の血清中でPCT値を測定した (Vogelgesang 等, 2008, Stroke 39: 237-41)。

【0011】

PCT濃度を測定することにより炎症過程の原因を決定するため、及びペプチドの存在または非存在から炎症が感染性または非感染性の原因によるものか否かを決定するための診断方法が、EP 0 80 702 B1に記載される。

PCTのレベルを測定することによって脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者の予後またはリスクを評価するための方法が、EP 0 81 675 12 . 6及びEP 0 81 686 71 . 9に記載される。

PCTレベルを測定すること、及び未だ顕在化していない及び/又は未だ症状のないさらなる疾患或いは内科疾患に罹患する患者のリスクとこのPCTレベルとを関連付けることによる、初期の非伝染性疾患に罹患した患者のための予後診断の方法がEP 0 70 152 71 . 5に記載される。

【0012】

脳卒中後の感染の高発生率、並びにこれと脳卒中後/TIA後の感染に罹患した脳卒中またはTIA患者の予後不良との関連性に関して、これらの患者は感染に関して綿密にモニターされるべきである。

従って、本発明の発明者は、急性の虚血性または出血性脳卒中或いは一過性脳虚血発作に罹患した患者由来の体液サンプル中のプロカルシトニンのレベルの測定を、脳卒中後/TIA後のこれらの患者における細菌感染の診断及び治療ガイダンスに使用できるか否かを調査した。

【発明の概要】

【0013】

本発明は、急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者における細菌感染を診断するまたは同定するための方法に関する。当該方法は、次のステップ：

(i) 急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者からのサンプルを提供すること；

(ii) 0.06 ng/mL未満、より好適には0.04 ng/mL以下、さらに好適には0.03 ng/mL以下、最も好適には0.01 ng/mL以下の機能分析感度でのPCT検出アッセイを使用して、上記サンプルで、プロカルシトニン(PCT)或いは少なくとも12アミノ酸長、より好適には50以上のアミノ酸長、さらに好適には110以上のアミノ酸長であるこのフラグメントのレベルを測定すること；並びに

(iii) 上記の測定されたPCTレベルを所定の閾値レベルと比較することによって、上記患者が細菌に感染しているか否かを決定すること、を含んでなる。

【0014】

本発明はさらに、急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者への抗生物質の投与、並びに抗生物質療法をモニターするための治療ガイダンスを提供するためのこのような方法の使用に関する。

PCTレベルの検出が高感度なため、本発明は急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者において細菌感染症の早期の検出、並びに続く当該細菌感染症の早期の治療を可能にし、このため患者の予後の改善を可能にする。従って、当該方法は、医療機関、例えば病院で集中治療中の患者からのサンプルに適用するのに特に適当である。少量の予後の改善でさえ主要な公衆衛生上の影響を有する可能性があるため、良好な予後において、細菌感染の早期の同定及び早期の抗生物質治療に起因する5%の絶対的 (absolute) な改善でさえ価値がある、ということに留意すべきである (Lees 等, 2003, Lancet Neurology 2: 54-61)。従って、必要としている患者の早期治療は非常に重要である。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】 (急性脳卒中またはTIAの症状の発生後12時間以内に病院へ入院し最初の採血が行われた) 急性脳卒中及びTIA患者であって、感染中及び非感染中の患者における経

10

20

30

40

50

時的な P C T 濃度を示す。

【図 2】（急性脳卒中または T I A の症状の発生後 24 時間以内に病院へ入院し最初の採血が行われた）急性脳卒中及び T I A 患者であって、感染中及び非感染中の患者における経時的な P C T 濃度を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 6 】

本発明の詳細な説明

本発明は、急性脳卒中または一過性脳虚血発作（TIA）に罹患した患者における細菌感染を診断または同定するための方法、特にインビトロ（in vitro）での方法に関する。当該方法は、次のステップ：

（ i ）急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者からのサンプルを提供すること；

（ i i ） 0 . 0 6 n g / m L 未満、好適には 0 . 0 4 n g / m L 以下、より好適には 0 . 0 3 n g / m L 以下、最も好適には 0 . 0 1 n g / m L 以下の機能分析感度での P C T 検出アッセイを使用して、上記サンプルで、プロカルシトニン（PCT）或いは少なくとも 1 2 アミノ酸長、より好適には 5 0 以上のアミノ酸長、さらに好適には 1 1 0 以上のアミノ酸長であるこのフラグメントのレベルを測定すること；並びに

（ i i i ）上記の測定された P C T レベルを所定の閾値レベルと比較することによって、上記患者が細菌に感染しているか否かを決定すること、を含んでなる。

【 0 0 1 7 】

P C T 検出アッセイの機能分析感度は、好適には 0 . 0 6 n g / m L 未満、より好適には 0 . 0 4 n g / m L 以下、さらに好適には 0 . 0 3 n g / m L 以下、最も好適には 0 . 0 1 n g / m L 以下である。機能分析感度（FAS）は、アッセイ間の変動係数（CV）2 0 %（Spencer CA. 1989. J Clin Immunoassay 12: 82-9）で測定することができる最も低いアッセイ濃度として定義される。このような低機能分析感度によって、急性脳卒中または T I A 後の P C T レベルの、脳卒中または T I A に罹患した数日後の患者での進行している細菌感染の可能性との相関を示すことが可能である。

【 0 0 1 8 】

脳卒中後の感染の大多数は脳卒中後の後天的なものであり、そして脳卒中後 7 日以内に出現する。従って、本発明は特に、脳卒中後の後天的な細菌感染症を診断または同定することに有用である。これは、当該方法は、特に脳卒中前に感染しなかった脳卒中後の患者に有用であることを意味する。脳卒中後の後天性の感染は、脳卒中治療、侵襲性の医学的治療（例えば固定された患者での、眠気、延髄反射障害及び嚥下障害に起因する吸引、カテーテル治療）の使用の結果として生じるかもしれない（Perry 及び Love 2001. Dysphagia 16: 7-18）。脳卒中は、肺炎の発生により最初の 7 日間に 1 0 ~ 2 2 % で併発される。インドレダヴィク（Indredavik）等は 2 0 0 8 年に、脳卒中後の患者の感染率が脳卒中後の 1 2 週までさらに上昇する可能性があることを示している（Indredavik 等. 2008. Stroke 39: 414-20）。0 . 0 6 n g / m L 未満の機能分析感度を有する超高感度 P C T アッセイの使用により、非常に早期の時点で感染の同定が可能であり、従って早期の抗生物質治療が可能である。結果として、当該予後及び機能的帰結は、超高感度 P C T アッセイを使用した脳卒中後の患者の改善された診断及びモニターをすることである、と見なすことができるかもしれない。

従って、7 日、好適には 1 2 週、より好適には 6 月、さらに好適には 1 年までモニターすることが推奨される。

【 0 0 1 9 】

本発明の一実施形態では、細菌感染症は急性脳卒中または一過性脳虚血発作（TIA）に罹患した患者において無症候性である（例えば、まだ臨床症状が示されていない細菌感染症）。

本発明の文脈で用語「レベル」は、対象から採取されたサンプル中の P C T（またはフラグメント / 前駆物質）の濃度（好適には、重量 / 容積；w/vとして表わされる）に関

10

20

30

40

50

する。

ここで使用するように用語「患者」は、疾患が原因で医療を受けているまたは医療を受けるべき生存しているヒトまたはヒト以外の生物に言及する。これには、確定されていない疾患に罹患する人間であって症状の表れのため調査されている人間が含まれる。従って、ここに記載される当該方法及びアッセイは、ヒト及び動物の疾患いずれにおいても適用可能である。

【0020】

好適には、サンプルは、急性脳卒中またはT I A症状の発生後72時間より早期に患者から採取されたものである。さらに、サンプルは急性脳卒中またはT I A症状の発生後60時間、48時間、24時間、18時間、12時間、または6時間、最も好適には3時間以内に患者から採取されることが好適である。当該方法によれば、院内または医療関連感染を含む脳卒中後の感染を診断することができる。

ここで使用される用語「脳卒中後の感染」は、急性脳卒中またはT I Aの症状の発生後生じている細菌感染に言及する。感染は、病院の入院後48時間以降或いは病院または健康管理サービスユニットで治療を受けて退院後30日以内に最初に生じた場合に、院内または医療関連のもののみならず。用語「医療関連の感染」(HAI)は、ホーラン(Horan)等によって確定されている(Horan 等. 2008. Am J Infect Control 36: 309-32)。

【0021】

従って、本発明の対象は、急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者における細菌感染を診断するための方法であって、：

(i) 急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者からのサンプルを提供するステップであって、当該サンプルが急性脳卒中または一過性脳虚血発作の症状の発生後72時間以内に当該患者から採取されたものであるステップ；

(ii) 0.06 ng/mL未満の機能分析感度でのPCT検出アッセイを使用して、上記サンプル中のプロカルシトニン(PCT)または少なくとも12アミノ酸長であるこのフラグメントのレベルを測定するステップ；並びに

(iii) 上記の測定されたPCTレベルを所定の閾値レベルと比較することによって、上記患者が細菌に感染しているか否かを決定するステップ、を含んでなる方法である。

【0022】

ここで使用される用語「サンプル」は、診断、予後、または目的の対象、患者等の評価の目的のために得られた体液のサンプルに言及する。好適なテスト試験サンプルには、血液、血清、血漿、脳脊髄液、尿、唾液、痰、及び胸水が含まれる。さらに、当業者は、一部の試験サンプルは分画または精製法、例えば、全血の血清または血漿成分への分離に続いて容易に分析されることを理解することができるであろう。

従って、本発明の好適な実施形態において、サンプルは、血液サンプル、血清サンプル、血漿サンプル、脳脊髄液サンプル、唾液サンプル及び尿サンプル或いは任意の前述のサンプルの抽出物から成る群から選択される。好適には、サンプルは、血液サンプル、最も好適には血清サンプルまたは血漿サンプルである。

ここで使用される用語急性脳卒中は、虚血性及び出血性の脳卒中いずれも言及する。

【0023】

タンパク質またはペプチドの文脈においてここに言及するように、用語「フラグメント」は、大きなタンパク質またはペプチドから誘導することができる小さなタンパク質またはペプチドであって、従って大きなタンパク質またはペプチドの部分的な配列を含んでなるタンパク質またはペプチド、に言及する。当該フラグメントは、1または複数のペプチド結合のけん化によって大きなタンパク質またはペプチドから誘導することができる。

本発明の文脈においてプロカルシトニンは、好適にはアミノ酸残基1~116、2~116、または3~116或いはこれらのフラグメントに及ぶペプチドに関する。従って、プロカルシトニンフラグメントは、少なくとも12アミノ酸長、好適には50以上のアミノ酸長、より好適には110以上のアミノ酸長である。PCTは、糖鎖付加、脂質過酸化(lipoxidation)または誘導体化等の翻訳後の修飾を含んでよい。PCTそのものは、カル

10

20

30

40

50

シトニン及びカタカルシンの前駆物質である。PCT 1-116のアミノ酸配列は、配列番号1に示す。

【0024】

当該方法によれば、前記の測定したPCTレベルが所定の閾値レベル以上の場合に、患者が不顕性の細菌に感染している、と診断する。好適には、所定の閾値レベル0.02~0.5 ng/mL、より好適には0.02 ng/mL~0.25 ng/mL、さらに好適には0.02 ng/mL~0.1 ng/mL、さらに好適には0.02 ng/mL~0.06 ng/mL、最も好適には0.02 ng/mL~0.05 ng/mL(未満)である。

PCT若しくはフラグメントまたは前駆物質或いはこのフラグメントのレベルの測定は、ここでは検出方法及び/又は診断アッセイを使用して実施される。

【0025】

ここで言及するように、「アッセイ」または「診断アッセイ」は、診断分野で適用される任意のタイプのもので行うことができる。このようなアッセイは、検出する分析物の、1または複数のキャプチャー(capture)プローブとの一定の親和性による結合に基づいてよい。キャプチャー分子及び標的分子または目的の分子間の相互作用に関して、親和性定数は好適には $10^8 M^{-1}$ 以上である。

【0026】

本発明の文脈では、「キャプチャー分子」は、標的分子または目的の分子、すなわちサンプル由来の分析物(すなわち本発明の文脈では、心血管ペプチド(複数))を結合するために使用してよい分子である。従って、キャプチャー分子は、特異的に標的分子または目的の分子を結合するために、空間的、及び表面的特徴の観点、例えば表面電荷、疎水性、親水性、ルイス供与体及び/又は受容体の有無等の両方から、適切に形成されなければならない。これによって、結合は例えば、イオン結合、ファンデルワールス結合、 $\pi-\pi$ 結合、シグマ- $\pi$ 結合、疎水性結合または水素結合の相互作用、或いはキャプチャー分子及び標的分子または目的の分子間の2またはそれ以上の前述の相互作用の組合せによって媒介されてよい。本発明の文脈において、キャプチャー分子は例えば核酸分子、炭水化物分子、RNA分子、タンパク質、抗体、ペプチドまたは糖タンパク質を含んでなる群から選択されてよい。好適には、キャプチャー分子は抗体であり、これらには標的分子または目的の分子へ十分な親和性を有するこれらのフラグメントが含まれ、さらに組み換え抗体または組み換え抗体フラグメント、並びに化学的に及び/又は生化学的に変更された当該抗体の誘導体或いは少なくとも12アミノ酸長を有する変異鎖(variant chain)に由来するこれらのフラグメントが含まれる。

【0027】

好適な検出方法は、様々なフォーマット、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)、化学発光-及び蛍光-イムノアッセイ、酵素結合イムノアッセイ(ELISA)、ルミネックスに基づくビーズアレイ、タンパク質マイクロアレイアッセイ、及び例えば免疫クロマトグラフィストリップ試験等の迅速な試験フォーマットでのイムノアッセイを含んでなる。

当該アッセイは、同種または異種のアッセイ、競合的及び非競合的アッセイとすることができる。特に好適な実施形態では、アッセイは、非競合的イムノアッセイであるサンドイッチアッセイの形態であり、検出及び/又は定量化するための分子は一次抗体及び二次抗体へ結合される。一次抗体は、固相、例えばビーズ、ウェルまたは他の容器の表面、チップまたはストリップへ結合されてよく、そして二次抗体は、例えば染料、放射性同位元素、または反応性のあるまたは触媒的に活性のあるモイエティで標識された抗体である。次に分析物へ結合される標識抗体の量は、適当な方法で測定される。「サンドイッチアッセイ」と関係のある一般的な組成物及び手順は、確立され当業者に知られている(参照により取り込まれた、The Immunoassay Handbook, Ed. David Wild, Elsevier LTD, Oxford; 3rd ed. (May 2005), ISBN-13: 978-0080445267; Hultschig C等., Curr Opin Chem Biol. 2006 Feb;10(1):4-10. PMID: 16376134)。

【0028】

特に好適な実施形態では、アッセイは2つのキャプチャー分子、好適には液体反応混合物中にどちらも分散物として存在する抗体を含んでなり、第一の標識成分は第一のキャプチャー分子に付着され、蛍光または化学発光の消光或いは増幅に基づく標識システムの一部であり、そして当該マーキングシステムの第二の標識成分は第二のキャプチャー分子に付着され、これにより両キャプチャー分子の分析物への結合上で測定可能なシグナルが生成され、サンプルを含んでなる溶液中において形成されたサンドイッチ複合体の検出が可能となる。

さらに好適には、当該標識システムは、蛍光染料または化学発光染料、特にシアニン型染料と組合せて、希土類クリプテートまたは希土類キレートを含んでなる。

#### 【0029】

本発明の文脈では、蛍光に基づくアッセイは染料の使用を含んでなり、例えば、FAM (5-または6-カルボキシフルオレセイン)、VIC、NED、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート (FITC)、IRD-700/800、シアニン染料、例えばCY3、CY5、CY3.5、CY5.5、Cy7等、キサンテン、6-カルボキシ-2',4',7',4,7-ヘキサクロフルオレセイン (HEX)、TET、6-カルボキシ-4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメトキシ-フルオレセイン (JOE)、N,N,N',N'-テトラメチル-6-カルボキシローダミン (TAMRA)、6-カルボキシ-X-ローダミン (ROX)、5-カルボキシローダミン-6G (R6G5)、6-カルボキシローダミン-6G (R6G)、ローダミン、ローダミングリーン、ローダミンレッド、ローダミン110、ボディピイ (BODIPY) 染料、例えばボディピイ (BODIPY) TMR等、オレゴングリーン、クマリン、例えばウンベリフェロン等、ベンズイミド、例えばHoechst 33258等；フェナントリジン、例えばテキサスレッド、ヤキマイエロー、アレクサフルオール (Alexa Fluor)、PET、臭化エチジウム、アクリジニウム染料、カルバゾール染料、フェノキサジン染料、ポルフィリン染料、ポリメチン染料、等を含んでなる群から選択されてよい。本発明の文脈では、化学発光に基づくアッセイは、カークオスマーの科学技術百科事典、第4版 (executive editor, J. I. Kroschwitz; editor, M. Howe-Grant, John Wiley & Sons, 1993, vol.15, p. 518-562) に記載の、化学発光物質のための自然原理に基づく染料の使用を含んでなり、これは参照によりこの中に組み込まれており、ページ551~562に引用を含む。好適な化学発光染料は、アクリジニウムエステルである。

#### 【0030】

本発明の方法では、モルゲンターラー等が記載するように機能分析感度0.007 ng/mLを有する市販のPCT試験システムを使用することが最も好適である (Morgenthaler 等, 2002, Clin Chem 48:788-790)。

本発明の方法で診断される細菌感染症は、当業者に知られる適当な抗生物質で治療される。抗生物質の可能な種類は、ペニシリン (例えば、フルクロキサシリン、アモキシシリン、アンピシリン、メズロシリン)、セファロスポリン (例えばセファゾリン、セフロキシム、セフォタキシム、セファクロル、セファレキシン)、 $\beta$ -ラクタマーゼ阻害剤 (例えば、スルバクタム、タゾバクタム)、テトラサイクリン (例えば、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン)、アミノグリコシド (例えば、ゲンタマイシン、ネオマイシン、ストレプトマイシン)、マクロライド系抗生物質 (例えば、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、スピラマイシン、クリンダマイシン)、リンコサミド (例えば、リンコマイシン)、ギラーゼ阻害剤 (例えば、シプロフロキサシン、オフロキサシン、ノルフロキサシン)、スルホンアミド、トリメトプリム、グリコペプチド系抗生物質 (例えば、バンコマイシン)、ポリペプチド抗生物質 (例えば、コリスチン、ポリミキシン)、並びにアンフェニコール (例えば、クロラムフェニコール)、から成る群から選択される。

本発明の方法はさらに、患者が細菌感染の臨床症状を示す前に、抗生物質を患者に投与するステップを含んでよい。

#### 【0031】

10

20

30

40

50

方法は、細菌感染が肺炎及び気管気管支炎を含む気道感染、尿路感染または敗血症である場合に、特に適当である。当業者に知られるように、肺炎は異なる様々な生物によって生じうる。従って、細菌感染が臨床症状を示さないように予防するために、患者に投与する目的で広帯域の抗生物質クロラムフェニコール、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、アモキシシリン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、モキシフロキサシンを使用することは好適である。

さらに、無症候性の細菌感染症を診断または同定するためにマーカーを測定してよい。これらのマーカーは、：C - 反応性タンパク質 (CRP)、ネオプテリン、白血球 (WBC) の数、体温、好中球、赤血球沈降速度 (ESR) から成る群から選択してよい。

#### 【0032】

さらなる態様では、本発明は、急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者への抗生物質の投与のための治療ガイダンスを提供するための記載された方法の使用に言及する。

さらなる態様では、本発明は、急性脳卒中または一過性脳虚血発作に罹患した患者の抗生物質での予防的治療のための記載された方法の使用に言及する。

さらに、本発明は、急性の虚血性または出血性脳卒中或いはT I Aに罹患した患者における脳卒中後の細菌感染症の診断のために、P C Tまたはこのフラグメント或いはP C T前駆物質またはこのフラグメントに対する1または複数の抗体を含んでなるキットの使用に関する。

#### 【実施例】

#### 【0033】

##### 実施例1：臨床研究の説明

研究はパーゼルの大学病院の救急並びに神経系及び脳神経外科クリニックで実施した。本研究には、直前3日以内に症状の発生のあり、世界保健機関の基準に従って虚血性または出血性の脳卒中或いは一過性脳虚血発作 (TIA) で救急科へ入院した全継続患者が含まれた。インフォームドコンセントのない患者は排除した。

患者のベースラインのデータ収集には以下のものが含まれた：

- a) 年齢、
- b) 性別、
- c) 肥満度指数 (BMI)、
- d) 病歴項目：入院に先行した実際の病歴；一過性脳虚血発作を有する患者でのA B C Dスコア (Rothwell 等. 2005. Lancet 366: 29-36)；家族歴；チャールソンインデックスによってもまた評価した関連のある合併症 (Goldstein 等. 2004. Stroke 35: 1941-5) (例えば高血圧、以前の脳卒中、以前のT I A、虚血性の心疾患、心房細動、糖尿病、腎臓及び肝臓機能不全、うっ血性心不全、脂質異常症；低ナトリウム血症のリスクを有する合併症 (重度の甲状腺機能低下症、グルココルチコイド不全、腫瘍、HIV感染)；喫煙歴 (煙草の箱年数) 及び状況 (一日の箱数)；現在の投薬；飲酒量 (一日のグラス及びグラム)；症状の発生から入院までの時間。

#### 【0034】

e) 居住地：すなわち、身内の人たち及び/又は専門家のケアのサポートの有無にかかわらず、自宅または高齢者の家で暮らすこととして定義される、自立した生活 (身内の人たちは、配偶者及び/又は患者と一緒に暮らす他の重要な人からなる；依存した暮らしは、養護ホームの長期滞在科、他の病院での暮らしとして定義される。

f) 臨床項目：精神学的状態を含む健康診断、N I H S S (脳卒中の重症度を評価するため) 及びグラスゴー昏睡尺度 (GCS; Adams 等. 1999. Neurology 53: 126-31)、血圧、脈拍数、体重、ポリウム状態 (皮膚弾力、頸部静脈の膨張 (distension)、聴診、もし利用可能であれば水分摂取量及び体液喪失量のフローシート、を含む)、体温；日常の臨床マネージメント内で実施されるなら、脳神経外科の患者の脳内圧。

g) 入院時に、及びナトリウム不均衡の場合には、神経疾患患者で低ナトリウム血症の臨床症状を評価した。頭蓋内手術を受けている患者では、臨床症状を毎日診断するつもりで

10

20

30

40

50

ある。特に、頭痛、食欲不振、吐き気、嘔吐、筋けいれん及び痛み、発作、混乱、無欲または嗜眠の発生の存在をモニターした。

h) 日常的 / 標準的な臨床検査：以下を含む日常的な血液サンプリング：ヘマトクリット、血中尿素窒素、炭酸水素、総タンパク質、アルブミン、尿酸血清及び尿中電解質、尿及び血清浸透圧、クレアチニン、脂質、TSH、fT4、T3、並びに基礎コルチゾール。可能であればいずれの食物摂取、または喫煙の前にも全血サンプリングを行った。また、影響因子をモニターした。

#### 【0035】

i) 画像診断：脳頭蓋のコンピューター断層撮影法またはMRI（造影剤有りまたは無し）のT1、T2、拡散強調像シーケンス）、必要であれば磁気共鳴血管造影または通常の脳血管撮影。造影剤適用の時点記録した。脳卒中患者はまた虚血性病変の血管領域に基づき、以下のように分類する：総前方循環症候群（TACS）、部分的な前方循環症候群（PACS）、ラクナ循環症候群（LACS）、後方の循環症候群（POCS）。

j) さらに調査：脳卒中患者は超音波検査、心エコー検査、標準12誘導心電図検査及び24時間心電図検査を受け、そして患者を脳卒中の原因によって急性脳卒中治療におけるORG 10172の試行（Trial of Org 10172 in acute Treatment）（TOAST）に従って脳卒中亜型分類に分類したが、この分類は大動脈アテローム硬化、心塞栓、小動脈閉塞、他の病因、及び未確定の病因の間で異なる。

研究はバーゼルの倫理委員会によって承認された（Ethikkommission beider Basel）。これは、診査的及び観察的な研究であった；研究に関連する唯一の処置は、日常実施される血液サンプリングの間に得られた7.5mlの血漿であった。従って、患者は、科学的目的のための自分達のデータの使用に同意する、という書面によるインフォームドコンセントを準備した。急性のCNS病変の続発症によって「インフォームドコンセント」が実行可能でなかった患者では（後者は研究に含めるための必要条件）、患者の最近親者が患者の意志を推定的に述べるために同意フォームにサインした。万が一、最近親者とすぐに会うことができない場合には、治療を行っているが当該研究に関係していない医師が、自らの見地からこの研究に含めることに関して反対はなかったと認定した。これらのインフォームドコンセント手続きの後にのみ、患者を研究に含めた。

#### 【0036】

治験中の参加者のマネージメント：

ステップ1 . 救急科または神経性病棟の適格な全患者を当該研究に加えた。

ステップ2 . 全基本データを収集した。

ステップ3 . 入院の間、退院までの体重、血圧、脈拍数、ポリウム状態及び体温を含む臨床項目をカルテ審査によって評価した。

- ・液体治療及び薬剤

- ・低ナトリウム血症の潜在的症状、すなわち頭痛、吐き気、嘔吐、筋けいれん及び痛み、食欲不振、意識障害、発作。

- ・血液サンプリングが病棟で通常行われる時点で、日常的に実施される臨床検査（ケモグラム（chemogramm）、血漿グルコース、血清浸透圧、尿浸透圧、尿中ナトリウム、ヘマトクリット）をサンプリングした。

ステップ4 . 全患者で、入院の5日目に、NIHSS、バーセルインデックス及びランキングスケールでの臨床検査を実施した（Collin等、1988、International Disability Study 10: 61-3; Bonita及びBeaglehole、1988、Stroke 19: 1497-1500）。

今後の居住地（すなわち依存した生活対自立した生活）を評価した。

ステップ5 . 虚血性脳卒中患者において3月後に、（バーセルインデックス及びランキングスケールによって評価されるように）病的状態及び死亡率に関して電話により経過観察を得た。好ましくない予後がバーセルインデックス < 85 または 3 ~ 6 の修正ランキングスケールとして確定された。

#### 【0037】

実施例2：プロカルシトニンの測定

モーゲンターラー等によって記載されるように機能分析感度  $0.007 \text{ ng/mL}$  を有する超高感度市販の試験システムを使用して PCT を測定した (Morgenthaler 等, 2002, Clin Chem 48:788-790)。簡潔に言えば、ヒツジ抗体を PCT のカルシトニンモイエティに対して産生させ、そしてマウスモノクローナル抗体を PCT のカタカルシンモイエティに対して産生させた。チューブを抗カタカルシン抗体でコーティングした。抗カルシトニン抗体を MACN アクリジニウムエステル (InVent GmbH, Hennigsdorf, Germany) で標識し、トレーサーとして供給した。標準的なウマ血清中での組み換え型 PCT の希釈物を標準物質として使用した。  $100 \mu\text{L}$  のサンプルまたは標準物質をコーティングしたチューブで 30 分間培養し、  $200 \mu\text{L}$  のトレーサーを添加した。さらなる 2 時間の培養後、チューブを  $1 \text{ mL}$  の LIA 洗浄液で 4 回洗浄し (BRAHMS AG, Hennigsdorf, Germany)、そして LB952T ルミノメーターを使用して結合された化学発光を測定した (Berthold, Wildbad, Germany)。

10

## 【0038】

## 結果

(虚血性または出血性の)脳卒中或いは一過性脳虚血発作に罹患していると診断された患者の血液サンプル中で、プロカルシトニンのレベルを測定した。最初のアプローチでは、急性脳卒中または TIA の症状の発生後最初の 12 時間以内に病院に入院した時に患者を分析に加えた ( $n=376$ )。入院後 1 日目 (24~36 時)、3 日目 (72~84 時) 及び 5 日目 (120~132 時) に、(病院への入院時の)ベースラインでプロカルシトニンの濃度を測定した。この 376 人の患者のうち 24 人は脳卒中/TIA 発生後に細菌感染症 (例えば、肺炎、尿路感染) に感染した。細菌に感染している及びしていない (急性脳卒中及び TIA 症状の発生後 12 時間以内に病院へ入院した) 患者の経時的な PCT 濃度を 図 1 に示す。ロジスティック回帰分析により、PCT 濃度の増加及び細菌感染の有無の間の相関が明らかとなった (入院時 (0-12h)  $p=0.12$ ; 1 日目 (24-36h)  $p=0.067$ ; 3 日目 (72-84h)  $p=0.0042$  及び 5 日目 (120-132h)  $p=0.011$ )。対応する感度及び特異度を測定するために、異なるカットオフ値 (cut-off value) を使用した (表 1)。PCT のカットオフ値の  $0.06 \text{ ng/mL}$  における、急性脳卒中/TIA 症状の発生後 12 時間以内に入院した患者の入院時の感度及び特異度は、それぞれ 9.1 及び 94.1% であった。このカットオフ値を 2 分の 1 の  $0.03 \text{ ng/mL}$  とすると、感度は 2 倍以上 (22.7%) となり、特異度では中程度の減少 (85.7%) となった。症状発生後 24~36 時間内に PCT を測定した時、感度及び特異度は PCT のカットオフ値が  $0.06 \text{ ng/mL}$  の場合には各々 28.2 及び 94.6% であり、一方 PCT のカットオフ値が  $0.03 \text{ ng/mL}$  の場合には感度は 33.3% まで上昇し、特異度は 82.9% であった。

20

30

## 【0039】

第二のアプローチでは、症状の発生後最初の 24 時間以内に病院に入院した時に患者を分析に加えた ( $n=432$ )。入院後 1 日目 (24~48 時)、3 日目 (72~96 時) 及び 5 日目 (120~144 時) に、(病院への入院時の)ベースラインでプロカルシトニンの濃度を測定した。この 432 人の患者のうち 26 人は、脳卒中/TIA 発生後に細菌感染症 (例えば、肺炎、尿路感染) に感染した。細菌に感染している及びしていない患者の経時的な PCT の濃度を 図 2 に示す。ロジスティック回帰分析により、PCT 濃度の増加及び細菌感染の有無の間の相関が明らかとなった (入院時 (0-24h)  $p=0.035$ ; 1 日目 (24-48h)  $p=0.029$ ; 3 日目 (72-96h)  $p=0.0005$  及び 5 日目 (120-144h)  $p=0.01$ )。対応する感度及び特異度を測定するために、異なるカットオフ値を使用した (表 2)。PCT のカットオフ値  $0.06 \text{ ng/mL}$  における、急性脳卒中/TIA 症状の発生後 24 時間以内に入院した患者の入院時の感度及び特異度は、それぞれ 16.7 及び 94.4% であった。このカットオフ値を 2 分の 1 の  $0.03 \text{ ng/mL}$  とすると、感度はほぼ 2 倍 (29.2%) となり、特異度では緩やかな減少を有した (85.3%)。症状発生後 24~48 時間内に PCT を測定した時、感度及び特異度は PCT のカットオフ値が  $0.06 \text{ ng/mL}$  の場合には各々 31.8 及び 93.5% であり、一方 PCT のカットオフ値が  $0.03 \text{ ng/mL}$  の場合には感度は 40.9% まで上昇し、特異度は 81.5% であった。

40

50

【 0 0 4 0 】

プロカルシトニンの高品質を考慮して、この研究において脳卒中後の感染の診断は、標準的な基準：体温 > 37.5、白血球数 > 11000 / mL または < 4000 / mL、胸部 X 線の肺浸潤、或いは病原体に関する培養陽性に従って実施したことを検討しなければならない。この信頼できる基準の感染診断は、実際の感染数を非常に過小評価し、相当数が偽陰性となっている（実際に細菌に感染している急性脳卒中またはTIA患者を誤って非感染のサブグループへ割り当てる可能性がある、ということの意味している）。プロカルシトニンの超高感度検出のための本発明に記載の試験システムで、これらの偽陰性を細菌に感染しているとして正確に診断することができ、従って抗生物質で適切に治療することができる。

10

【 0 0 4 1 】

配列

配列番号 1 (PCTのアミノ酸配列) :

【 0 0 4 2 】

【 化 1 】

```

1   APFRSALESS PADPATLSED EARLLLLAALV QDYVQMKASE LEQEQEREGS
51  SLDSPRSKRC GNLSTCMLGT YTQDFNKFHT FPQTAIGVGA PGKKRDMSSD
101 LERDHRPHVS MPQNaN

```

20

【 0 0 4 3 】

表 1 : 症状の発生後 1 2 時間以内に病院に入院した急性脳卒中及び T I A 患者に関して、異なる測定時点での異なる P C T カットオフ値に関する感度及び特異度 (% 単位)

【 0 0 4 4 】

【 表 1 】

PCT- カットオフ (ng/ml)	0-12時間		24-36時間		72-84時間		120-132時間	
	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)
0.03	22.7	85.7	33.3	82.9	46.7	81.6	56.3	71.9
0.045	13.6	92.2	28.6	91.1	46.7	89.3	56.3	84.8
0.06	9.1	94.1	28.2	94.6	40.0	92.7	31.3	93.3
0.1	9.1	96.1	9.5	96.2	13.3	97.0	31.3	96.4

30

【 0 0 4 5 】

表 2 : 症状の発生後 2 4 時間以内に病院に入院した急性脳卒中及び T I A 患者に関して、異なる測定時点での異なる P C T カットオフ値に関する感度及び特異度 (% 単位)

【 0 0 4 6 】

40

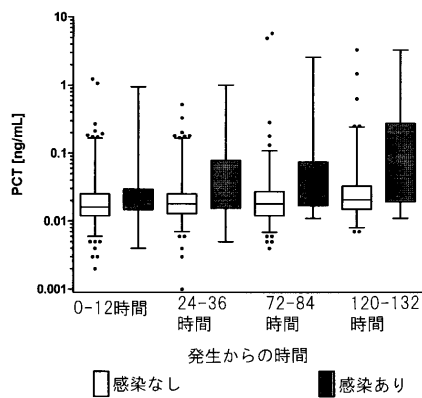
【表 2】

PCT カットオフ (ng/ml)	0-24時間		24-48時間		72-96時間		120-144時間	
	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)
0.03	29.2	85.3	40.9	81.5	52.9	81.8	55.6	72.9
0.045	20.8	91.7	31.8	90.5	52.9	89.1	55.6	85.4
0.06	16.7	94.4	31.8	93.5	47.1	92.3	33.3	92.7
0.1	12.5	96.1	13.7	95.8	17.7	96.8	33.3	96.0

10

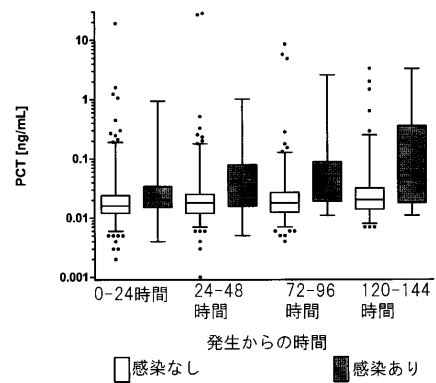
【図 1】

図1



【図 2】

図2



【配列表】

2011085586000001.app

## フロントページの続き

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100141977

弁理士 中島 勝

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(72)発明者 アンドレアス ベルクマン

ドイツ連邦共和国, 1 2 3 5 1 ベルリン, バウムレウーファーベーク 4 7

(72)発明者 オリバー ハルトマン

ドイツ連邦共和国, 1 0 1 1 7 ベルリン, トゥホルスキーシュトラッセ 4 5

(72)発明者 フラウク ハイネ

ドイツ連邦共和国, 1 0 4 0 7 ベルリン, アム シュバイツァー ガルテン 2 0

(72)発明者 ビート ミューラー

スイス国, 4 0 5 9 バーゼル, ブルダールホルツアレー 1 9 6

Fターム(参考) 2G045 DA36 FA11 FB03 FB13 GC15

4C087 AA01 BC15 BC30 CA10 ZB35

4H045 BA10 CA40 DA36 EA50

【外国語明細書】

2011085586000001.pdf

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2011085586A5</a>	公开(公告)日	2013-05-09
申请号	JP2010229934	申请日	2010-10-12
[标]申请(专利权)人(译)	布拉姆斯股份公司		
申请(专利权)人(译)	基地.厄尔尼诺啊.哈哈.他们.居GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司		
[标]发明人	アンドレアスベルクマン オリバーハルトマン フラウクハイン ビートミューラー		
发明人	アンドレアスベルクマン オリバーハルトマン フラウクハイン ビートミューラー		
IPC分类号	G01N33/68 A61P31/04 A61K35/74 C07K14/585 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/56911 G01N33/74 G01N2333/585 G01N2800/26 G01N2800/2871 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/68 A61P31/04 A61K35/74.E C07K14/585.ZNA G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/DA36 2G045/FA11 2G045/FB03 2G045/FB13 2G045/GC15 4C087/AA01 4C087/BC15 4C087/BC30 4C087/CA10 4C087/ZB35 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA36 4H045/EA50		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 渡边洋一 中岛胜 武井良太郎		
优先权	2009012947 2009-10-13 EP		
其他公开文献	JP2011085586A JP5722587B2		

#### 摘要(译)

要解决的问题：提供一种诊断或鉴定患有急性卒中或短暂性脑缺血发作的患者的细菌感染的方法。解决方案：本发明涉及一种用于诊断和治疗细菌感染的体外方法。患有急性缺血性或出血性中风的患者：该方法包括测定来自患者的体液样品中具有至少12个氨基酸残基的降钙素原（PCT）或其片段的水平以及所确定的相关性。诊断患者细菌感染的水平。