

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4585693号
(P4585693)

(45) 発行日 平成22年11月24日(2010.11.24)

(24) 登録日 平成22年9月10日(2010.9.10)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 W
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 E
GO 1 N 33/66 (2006.01)	GO 1 N 33/66 A
GO 1 R 33/465 (2006.01)	GO 1 N 24/08 5 1 O Q

請求項の数 22 (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2000-614054 (P2000-614054)	(73) 特許権者	501410780
(86) (22) 出願日	平成12年4月19日 (2000.4.19)		リボサイエンス、インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2002-543392 (P2002-543392A)		アメリカ合衆国ノースカロライナ州276
(43) 公表日	平成14年12月17日 (2002.12.17)		10, ローリー, ニュー・バーン・アヴェ
(86) 国際出願番号	PCT/US2000/010463		ニュー 3009
(87) 国際公開番号	W02000/065366	(73) 特許権者	598139601
(87) 国際公開日	平成12年11月2日 (2000.11.2)		ノース・キャロライナ・ステイト・ユニヴ
審査請求日	平成19年4月17日 (2007.4.17)		ァーシティ
(31) 優先権主張番号	60/130,612		アメリカ合衆国27695-8210 ノ
(32) 優先日	平成11年4月22日 (1999.4.22)		ースカロライナ州ローリー、キャンパス・
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ボックス 8210、スウィート1122
		(74) 代理人	100099623
			弁理士 奥山 尚一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 I I型糖尿病を発現する危険性のNMRによる決定方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

NMRにより導出されるリボタンパクに基づく情報により I I型糖尿病もしくはインスリン抵抗性の保有または発現に関する患者の危険性を評価する方法であって、

患者の血漿または血清サンプルについての少なくとも一つのプロトンNMRスペクトルのシグナルを得るステップと、そのNMRスペクトル分析を行うステップと、

前記シグナルを得るステップに基づいて、NMRに基づくリボタンパク測定値を、複数のリボタンパクサブクラス構成成分について導出するステップと、

該NMRに基づく測定されたリボタンパクサブクラス構成成分値を予め定められた試験判定基準と比較するステップであって、該予め定められた試験判定基準が、糖尿病性異常脂肪血症の存在を決定するために、その疾患に関連する好ましくない危険性の因子または正の危険性の因子を有する、任意のもしくは各々の前記複数の選択された関心あるリボタンパクサブクラス構成成分について、リボタンパクサブクラス構成成分値またはリボタンパクサブクラス構成成分値の範囲を定める、比較するステップと、

前記比較するステップの糖尿病性異常脂肪血症の決定に基づき、少なくとも I I型糖尿病及びインスリン抵抗性のいずれかの保有または発現に関する患者の危険性を評価するステップと

を含む方法。

【請求項2】

前記患者の血漿または血清サンプルについてのNMRに基づくグルコース測定値を並行

して発生させるステップと、

該NMRに基づくグルコース測定値を予め定められた試験判定基準と比較するステップと、

上昇したグルコースレベルの検出に基づき、I I型糖尿病の保有または発現に関する該患者の危険性を決定するステップと

をさらに含む請求項1に記載の方法。

【請求項3】

グルコースについてのプロトンNMRデータの3.29ppmから3.54ppmの範囲、または3.64ppmから3.90ppmの範囲が、グルコース分析に用いられる請求項2に記載の方法。

10

【請求項4】

前記比較するステップの前記予め定められた試験判定基準が、LDLサブクラス濃度、LDLサブクラス粒子サイズ、LDLサブクラス粒子濃度、小さいLDL濃度、大きいHDL濃度、及び大きいVLDL濃度、カイロミクロン、VLDLの6つのサブクラスのいずれか、IDL、LDLの3つのサブクラスのいずれか、HDLの5つのサブクラスのいずれかについての正の危険性の因子に関連する値を含む、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

前記好ましくないLDLの予め定められた試験判定基準が、前記小さいLDLサブクラスを上昇したとして同定する請求項1～4のいずれかに記載の方法。

20

【請求項6】

前記好ましくない大きいHDL濃度の予め定められた試験判定基準が、大きいHDLの低いレベルを同定する請求項1～5のいずれかに記載の方法。

【請求項7】

前記好ましくない大きいVLDL濃度の予め定められた試験判定基準が、大きいVLDLの上昇したレベルを同定する請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項8】

(a) 前記NMRに基づくグルコース測定値が血中グルコースの上昇したレベルを示し、

(b) 前記予め定められた試験判定基準によりリポタンパク構成成分サブクラス値の少なくとも2つが好ましくないという陽性の決定に基づいて、糖尿病性異常脂肪血症が同時に存在することが決定される、

30

の両方であるときに、前記患者が、I I型糖尿病及びインスリン抵抗性の危険性が同定される、請求項2～7のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

個人化されたNMR測定によるリポタンパクの情報に基づき、I I型糖尿病に対する治療を受けている被検者の治療の有効性を評価する方法であって、

患者の血漿または血清サンプルにおける複数のリポタンパクサブクラス構成成分についての測定値を含むベースラインプロフィールを得るステップであって、該ベースラインプロフィールが、濃度及び／またはサイズに関するリポタンパクサブクラス構成成分値を測定する該患者の血漿または血清サンプルのプロトンNMRスペクトル分析から導出される、プロフィールを得るステップと、

40

該被検者がI I型糖尿病に対する治療を受けた後に、患者の血漿または血清サンプルについてのプロトンNMRにより測定されたリポタンパクサブクラス構成成分値の第二のプロフィールを得るステップと、

該第二のプロフィールを該ベースラインプロフィールと比較するステップであって、該被検者の該第二のプロフィールと該ベースラインプロフィールとの差異が、該被検者のI I型糖尿病に対する治療の有効性を示す、比較するステップとを含む方法。

【請求項10】

50

前記ベースラインプロフィールと前記第二のプロフィールとのプロトンNMRスペクトルの分析が、前記患者の血漿または血清サンプルについてのグルコース測定値を与えるように行われ、前記グルコース測定が前記被検者の前記プロトンNMRにより測定されたりポタンパクサブクラス構成成分値と並行して得られる請求項9に記載の方法。

【請求項11】

参照する血漿または血清試料中のグルコースに対応する関心ある領域におけるプロトンNMR参照データスペクトルを得るステップと、

該参照スペクトル中の少なくとも1つのシグナルに基づき、該参照スペクトルにおける参照グルコース線形を決定するステップと、

該参照スペクトルにおける該参照グルコース線形に参照係数を割り当てるステップと、

該参照試料における関心ある領域に対応する、患者の血漿または血清試料のプロトンNMRスペクトルを得るステップと、

該参照スペクトルの参照グルコース線形を決定するのに使用されたのと同じ少なくとも1つのシグナルに基づき、該患者のNMRスペクトルにおける該患者の試料に対する患者グルコース線形を同定するステップと、

該参照グルコース線形と該患者グルコース線形を比較するステップと、

該参照グルコース線形の振幅を該患者グルコース線形に適合させるステップと、

該適合化ステップに基づいて換算係数を算出するステップと、

該換算係数と該参照係数の値の関数として、該患者の血漿または血清試料中のグルコース濃度を決定するステップと

によりグルコース濃度を測定するステップをさらに含む請求項2～8または10に記載の方法。

【請求項12】

前記参照係数の値が、前記参照試料のグルコース濃度についての独立した化学的測定に基づくものである請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記NMR参照スペクトルと患者のスペクトルとが、実質的に同一の磁場強度並びに実質的に同一の試料温度で得られる請求項11または12に記載の方法。

【請求項14】

前記血漿の参照スペクトルが、血漿のプロトンNMRスペクトルの3.64ppmから3.90ppmの間の領域内にあるものとして同定される請求項11～13のいずれかに記載の方法。

【請求項15】

前記血漿の参照スペクトルが、血漿のプロトンNMRスペクトルの3.29ppmから3.54ppmの間の領域内にあるものとして同定される請求項11～13のいずれかに記載の方法。

【請求項16】

前記血漿の参照スペクトルが、血漿のプロトンNMRスペクトルの関心ある2つの領域内にあるものとして同定され、第一の領域が3.64ppmから3.90ppmの範囲にあり、第二の領域が約3.29ppmから3.54ppmの範囲にある請求項11～13のいずれかに記載の方法。

【請求項17】

予め定められた冠状動脈性心疾患（CHD）試験判定基準に基づいて、選択されたNMRにより導出されるリポタンパクサブクラス測定を用いて、前記患者の冠状動脈性心疾患（CHD）の保有または発現に関する危険性を評価するステップをさらに含む、請求項1～16のいずれかに記載の方法。

【請求項18】

測定値の分布と標準的な試験判定基準の分布とを視覚的に比較することを容易にする患者報告書を作成するステップをさらに含む、請求項1～17のいずれかに記載の方法。

【請求項19】

10

20

30

40

50

若年性糖尿病、及び妊娠性糖尿病の発現に関する危険性を評価するステップをさらに含む、請求項 1 ～ 18 のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

被検者が I I 型糖尿病を発現する危険性を有するかどうかを決定するためのコンピュータプログラムであって、該コンピュータプログラムがコンピュータで読み取り可能な記録媒体を含み、該記録媒体にコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段が収蔵され、該コンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段が、

患者の血漿または血清サンプルについてのプロトン NMR スペクトルを発生させ、及び、複数のリポタンパクサブクラス構成成分の濃度又はサイズに関連する値を測定するためのコンピュータコード手段と、

NMR により測定された複数のリポタンパク構成成分値を、選択されたリポタンパクサブクラス構成成分についての好ましくない値または好ましくない値の範囲として定められた、予め定められた試験判定基準と比較するためのコンピュータコード手段であって、該コンピュータコード手段が少なくとも一つの好ましくない測定されたりポタンパクサブクラス構成成分値を同定し、糖尿病性異常脂肪血症の存在を決定する、コンピュータコード手段と、

前記糖尿病性異常脂肪血症に関する決定に基づき、I I 型糖尿病またはインスリン抵抗性の発現に関する患者の危険性を評価するためのコンピュータコード手段とを含むコンピュータプログラム。

【請求項 21】

前記患者の血漿または血清サンプルについてのプロトン NMR スペクトル分析を並行して発生させ、グルコースレベルを定めるためのコンピュータコード手段であって、該コンピュータコード手段が、患者のグルコース線形を発生させる手段と、該グルコーススペクトルを、関連する振幅を有する参照グルコース線形とを比較する手段と、該参照グルコース線形の振幅を、該患者のグルコース線形に適合させる手段と、該患者の血漿または血清サンプル中のグルコース濃度を決定する手段とを含み、

該測定されたグルコース濃度を予め定められた試験判定基準と比較し、該グルコース測定が上昇しているかどうかを評価するためのコンピュータコード手段と、

上昇したグルコースレベルに関する決定に少なくとも部分的に基づき、I I 型糖尿病の保有または発現に関する上記患者の危険性を評価するためのコンピュータコード手段とを含む請求項 20 に記載のコンピュータプログラム。

【請求項 22】

予め定められた冠動脈性心疾患 (CHD) 試験判定基準に基づいて、選択された NMR により導出されるリポタンパクサブクラス測定を用いて、前記患者の冠動脈性心疾患 (CHD) の保有または発現に関する危険性を評価するコンピュータコード手段をさらに含む、請求項 20 または 21 に記載のコンピュータプログラム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

[発明の分野]

本発明は、被検者が I I 型糖尿病及び他のインスリン抵抗性疾患を発現する危険性を有しているかどうかを決定するための方法及びコンピュータプログラム製品に関するものである。

【0002】

[発明の背景]

時に成人発病型糖尿病あるいはインスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) と呼ばれることもある I I 型糖尿病は、米国だけでも約 1 千 5 百万人の人々を冒している。更に、約 2 千万人のアメリカ国民が耐糖能の低下、即ち「境界型糖尿病」(糖尿病と診断する程には高くない高血糖値により特徴付けられる) 状態にある。I I 型糖尿病と境界型糖尿病は、共に、身体がインスリンに正常に応答できない状態であるインスリン抵抗性に関係している。インスリン抵抗性は、高血圧や心疾患を含む他の健康上の問題と関連性がある。更に

、インスリン抵抗性は、抑制しなければ、実際にⅠⅠ型糖尿病へ進行しかねない。ⅠⅠ型糖尿病は、冠状動脈性心疾患に関連する2倍ないし4倍過剰の危険性を抱えており、糖尿病患者は、心臓血管疾患に関連する罹患率及び死亡率に対する高い危険性を有する。

【0003】

ⅠⅠ型糖尿病は、伝統的に、上昇した血液中のグルコース（糖）レベル（高血糖症）を検出することにより診断されてきた。高血糖症は糖尿病の強力な指標ではあるが、インスリン抵抗性から発達しきった糖尿病へ至る連続した事象における後期の進行段階である。従って、高血糖症等の古典的な症状が発現する前に、被検者がⅠⅠ型糖尿病を発現する危険性を有するかどうか（即ち、その状態になりやすいかどうか）を確認する方法の確立が望まれる。この疾患に関する指標の早期検出（例えば、グルコースレベルが高血糖症と診断するのに十分な高値に達する以前の段階での、グルコースレベルの増加の検出）は、この疾患の発現に対する実際的な防止策ではないにしても、この疾患に対するより効果的な治療法を導き得る。

【0004】

冠状動脈性心疾患（CHD）等の心臓血管障害の診断は、そのような障害を有している疑いのある被検者の血中コレステロールレベルを測定及び分析することにより型どおりに実施される。そのような分析では、血漿トリグリセリドレベル（TG）のほか、血清総コレステロール（TC）が測定される。更に、大分類のリポタンパク構成成分または種々のクラスのコレステロールのレベルも測定されることが多い。これらの大分類のリポタンパク構成成分は、低密度リポタンパク（LDL）、高密度リポタンパク（HDL）、及び超低密度リポタンパク（VLDL）を含む。それらの大分類のリポタンパク構成成分は、粒子密度の更なる細分化に基づいて、サブクラスに更に細別することができる（Kraussら、J. Lipid Research 23、97-104（1982年）；Atgerら、Clinical Chemistry 37、1149-1152（1991年））。リポタンパク粒子の各サブクラスは、密度等、共通の物理的特性を有する粒子からなっている。密度に基づいて区別された複数のサブクラスは、それぞれが、それらのサブクラスの密度の粒子を包含する特定のリポタンパククラスの一つのサブクラスと考えることができる。

【0005】

Otvosに付与された米国特許第4,933,844号は、血漿を分析して血漿サンプル中に存在する大分類のリポタンパク構成成分の濃度を決定するためのプロトン核磁気共鳴（¹H NMR）分光法の使用について開示する。また、Otvosに付与された米国特許第5,343,389号は、リポタンパクサブクラスの濃度について血漿または血清を分析するための¹H NMR分光法の使用を開示している。これらの特許公報に開示されている方法は、ヒト血漿の¹H NMRスペクトルが（化学シフト基準に対して）約1.2 ppmと0.8 ppmに中心を有する2つの突出したピークを含んでいるという事実に基づくものである。これらのピークは、それぞれ、血漿脂質のメチレン（CH₂）及びメチル（CH₃）プロトンから生じるものである。これらのそれぞれのピークは、実質的に不均一で、血漿中に存在する幾つかの化学的に異なる脂質のクラス（トリグリセリド、コレステロール、コレステロールエステル、及びリン脂質）のプロトンからの共鳴線が重複したものである。これらの脂質は、包含する脂質の密度と脂質の割合がクラス毎に異なる、前述のリポタンパク粒子の3つの大分類のクラスにまとめて分類される。これらの血漿シグナルの不均一性は、それぞれが特徴的に異なる独自のNMRスペクトル特性を有する、異なるリポタンパク粒子の血漿濃度が変動するため、個人個人で多様化した複合線形が得られるという形態となって現れる。更に、大分類のリポタンパククラスまたはリポタンパク構成成分のリポタンパクサブクラスは、それぞれが、他のサブクラスとは異なるNMRにより測定可能な特性を呈示する。一つのサブクラスのNMR特性は、化学シフトや線形の変動等、数多くの様相において独特であり得、これにより、そのサブクラスを別のサブクラスから識別することが可能になる。

米国特許第5,685,300号は、NMR分析法を用い、グルコース又はコレステロ

10

20

30

40

50

ールを測定することを提案している。この提案された方法は、血液又は組織のNMRスペクトルにおいて、グルコースの共鳴の面積(3 ppmから4 ppmの範囲)又はコレステロールの共鳴の面積(2 ppm)を、水の共鳴の面積(約5 ppm)で割り、従来の血漿分析物に関連する参照データに対するこの比率を相互に関連付け、濃度測定値を得るものである。かかる文献は、とりわけ、個々のリポタンパク構成成分を測定することも、測定された一以上のリポタンパク構成成分値を判断し、患者が糖尿病又はインスリン障害を発言する傾向を評価し、または患者が糖尿病性異常脂肪血症であるかを決定することについて解説も示唆もしていない。

【0006】

[発明の目的及び概要]

前述の観点から、本発明の一つの目的は、被検者がI I型糖尿病を発現する危険性を有するかどうかを決定するためのさらに信頼性のある方法を提供することである。

【0007】

本発明の別の目的は、被検者がインスリン抵抗性症候群を発現する危険性を有するかどうかを決定するためのさらに正確な、及び／又は、さらに信頼性のある方法を提供することである。

【0008】

本発明の更に別の目的は、被検者がインスリン抵抗性症候群に罹っているかどうかを決定するための改善された方法を提供することである。

【0009】

更に別の本発明の目的は、I I型糖尿病に罹っている被検者に対する治療法の有効性を評価するための改善された方法を提供することである。

【0010】

加えて、本発明の別の目的は、血漿または血清サンプルにおけるグルコース濃度(「血中グルコースレベル」)を決定するための方法であって、更に、高血糖症レベルにある血中グルコースレベルを決定することができる方法を提供することである。

【0011】

I I型糖尿病並びにインスリン抵抗性の疾患に対する危険性を決定するために多数の高価で重複した試験を実施する必要性を最小化するため、本発明の更に別の目的は、I I型糖尿病またはインスリン抵抗性の疾患に対する脂質に基づく他の危険性の因子を決定すると並行して、血漿または血清サンプルにおけるグルコース濃度を決定する方法を提供することである。

【0012】

本発明の更なる目的は、I I型糖尿病の発現に関する患者の危険性を決定するために被検者の血漿サンプルをスクリーニングするための経済的な方法を提供することである。

【0013】

本発明の更に別の目的は、被検者がI I型糖尿病を発現する危険性を有するかどうかを決定するためのコンピュータプログラム製品を提供することである。

【0014】

本発明のこれらの目的及び他の目的は、NMRによる患者のリポタンパク構成成分測定値を分析して、その患者がI I型糖尿病を発現する危険性が高い患者であるかどうかを同定する方法により達成される。加えて、I I型糖尿病の発現に関する患者の危険性は、NMRスペクトル分析法を用いて、更に、その患者の血中グルコースレベルを分析することにより決定してもよい。NMR分析法で患者の血中グルコースレベルを分析する能力は、例えば、患者のリポタンパク構成成分測定と並行して、血中グルコース濃度測定を行うことが可能となり、それ故、I I型糖尿病に対する危険性を決定するのに何回も試験を行う必要を回避することができる等、幾つかの利点をもたらす。更に、NMRに基づく血中リポタンパク試験と組み合わせて実施されるNMRに基づく血中グルコース試験の感度は、I I型糖尿病を発現する危険性の早期検出を可能にする。この疾患を発現する危険性に関する他の指標を伴わない中程度の血中グルコースレベルの上昇は、この疾患を発現する高

10

20

30

40

50

い危険性が存在することを健康管理提供者や患者に警告するには十分でないかもしれない。しかし、本発明のNMRに基づく血中リポタンパク分析により確認される他の危険性の因子の存在との組み合わせにおいて、本発明のNMRに基づく方法により検出される中程度の上昇した血中グルコースレベルは、発達した疾患が発現する前に、診療医によりその疾患の進行する危険性を決定することを可能にする。

【0015】

詳細には、本発明の第一の態様は、被検者から採取した血液サンプルをNMRスペクトル分析法を用いて分析することにより、その被検者がI I型糖尿病を発現する危険性を有するかどうかを決定する方法である。まず、血漿または血清等の血液サンプルを被検者から採取する。その被検者は、I I型糖尿病を発現する危険性を有する疑いのある被検者であつてもよいし、あるいは、他の何らかの理由で（例えば、心臓血管疾患に対する標準的なスクリーニングとして）リポタンパク分析を受ける被検者であつてもよい。また、その被検者は、I I型糖尿病の症状を呈していてもよいし、あるいは無症候性であつてもよい。次いで、その血液サンプルをNMRスペクトル分析法で分析する。

10

【0016】

このNMRに基づく分析は、（他の構成成分値から単離された状態で）独立に予測できる危険性の因子であると同定されるリポタンパクの特定の構成成分を決定するステップと、特定の該構成成分測定値の組み合わせに関連する危険性を決定するステップとを含む。好ましくは、この組み合わせの方法は、その患者の結果が、NMR測定による重要な因子と陽性の適合(a positive match)をもたらすかどうかを同定する。一つのファクターは、糖尿病性異常脂肪血症の存在の決定である（即ち、予め定められた中程度の、境界線上にある、または陽性を表すNMRリポタンパクサブクラスまたはリポタンパク構成成分に基づく危険性を示す値のクラスターリング）。付加的なファクターは、NMR測定によるグルコースレベルの少なくとも中程度に上昇していることの検出である。有利なことに、このタイプの危険性の分析は、高血糖症と診断するのに十分な程に血中グルコースレベルが上昇する前の段階で、血中グルコースレベルの決定を可能にする（即ち、I I型糖尿病の潜在的な指標である血中グルコースレベルの中程度の上昇を検出することができる）。

20

【0017】

本発明の別の態様は、NMR測定によるリポタンパクに基づく情報により、I I型糖尿病の発現に関する患者の危険性を評価するための方法である。この方法は、患者の血漿または血清サンプルに対して、NMRに基づくリポタンパク測定値を生成させるステップを含む。それらのNMRに基づくリポタンパク測定値は、少なくとも1つのリポタンパク構成成分値を含むが、好ましくは、複数のリポタンパク構成成分値を含む。一つの好ましい実施形態では、上述の方法は、患者の血清または血漿サンプルに対して、NMRに基づくグルコース濃度測定値を発生するステップも含む。糖尿病性異常脂肪血症の存在を決定するため、上記のNMRに基づく複数のリポタンパク構成成分値を、予め定められた試験判定基準と比較する。また、I I型糖尿病に対する高い危険性の存在を決定するため、上述のNMRに基づくグルコース濃度測定値を、予め定められた試験判定基準と比較する。I I型糖尿病に関する患者の危険性は、糖尿病性異常脂肪血症の有無、及びグルコースレベルの少なくとも中程度の上昇の有無に基づいて評価することができる。

30

40

【0018】

一つの好ましい実施形態では、上述のNMRに基づくリポタンパク構成成分の測定値は、LDLサイズ、LDL粒子、大きいHDLコレステロール、及び大きいVLDLトリグリセリドに関する値を含む。

【0019】

本発明の付加的な態様は、血液中のグルコース濃度を測定するためのNMRに基づく方法である。この方法では、参照とする血漿または血清からなるサンプルあるいは試料中のグルコースに対応するNMR参照データスペクトルが取得され、コンピュータのメモリーに保存される。その参照スペクトルの一つのグルコースシグナルあるいはグルコースシグナルグループ（「参照グルコース線形 (reference glucose lineshape)」）に参照係数 (r

50

reference coefficient) が割り当てられ、その数値は、独立した化学的なグルコース測定により決定されたその参照試料のグルコース濃度に基づいている。それ以降の一定の時間に、上記のグルコース参照スペクトルを得るために使用したのと（実質的に）同一の測定条件下で、患者の血漿または血清試料のNMRスペクトルが取得され、コンピュータのメモリーに保存される。参照グルコース線形を、患者のスペクトルにおける同一のグルコースシグナルあるいはシグナルグループ（「患者グルコース線形」）と比較する。次いで、患者グルコース線形と最良の適合が得られるように参照グルコース線形の振幅を調整するのに必要な換算係数（scaling factor）を決定する計算を実施する。患者の血漿または血清試料中におけるグルコースの濃度を得るため、この換算係数に前述の参照係数を掛け合わせる。

10

【0020】

本発明の更なる態様は、I I 型糖尿病に対するNMRに基づく個人化された危険性評価のためのコンピュータプログラム製品である。このコンピュータプログラム製品はコンピュータで読み取り可能な記録媒体を含んでおり、その記録媒体にはコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段が収蔵されている。このコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段は、患者の血液サンプルについてのNMRに基づくリポタンパク測定値とNMRに基づくグルコース測定値を発生させるためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段を含んでおり、そして、そのリポタンパク測定値は、少なくとも1つのサブクラス変数値を含んでいる。また、このコンピュータプログラム製品は、患者のその少なくとも1つのリポタンパクサブクラス変数値を、前記の少なくとも1つのサブクラス変数値がI I 型糖尿病を発現するより高いまたはより低い危険性に関連性があるかどうかを決定すべく予め定められた試験判定基準と比較するためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段と、その少なくとも1つの測定されたサブクラス変数値に対して、I I 型糖尿病に関連する対応する危険性レベルを同定するためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段も含んでいる。更に、このコンピュータプログラム製品は、測定されたリポタンパク値に隣接して位置する危険性分析部分を提供するためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段も有しており、その危険性分析部分は、I I 型糖尿病に対するより高い又はより低い危険性に対応する情報を表示する。その測定された値は、それに関連する危険性レベルを視覚的に示すため、この危険性分析部分で視覚的に誇張され、これにより、前記の測定された値を説明するための並行した参照ガイドラインが提供される。加えて、このコンピュータプログラム製品は、NMRに基づく複数のリポタンパク測定値を、糖尿病性異常脂肪血症の存在を決定すべく予め定められた試験判定基準と比較するためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段も含んでいる。また、このコンピュータプログラム製品は、好ましくは、NMRに基づくグルコース測定値を、血中グルコースレベルの上昇の存在を決定するために予め定められた試験判定基準と比較するためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段も含んでいる。

20

30

【0021】

一つの好ましい実施形態では、NMRに基づくリポタンパク値は、LDLサイズ、LDL粒子、大きいHDLコレステロール、及び大きいVLDLトリグリセリドに関連するサブクラス値を含んでおり、そして、上述のコンピュータプログラム製品は、更に、それらの各リポタンパク測定値を実質的に調節された状態でそれらのリポタンパク測定値を表示するためのコンピュータで読み取り可能なプログラムコード手段を含んでいる。

40

【0022】

好ましくは、ここで説明されている方法及びコンピュータプログラム製品の場合、NMRにより測定される値は、（a）LDLサイズと、LDL粒子、大きいHDLコレステロール、及び大きいVLDLトリグリセリドの濃度、及び（b）測定された血中グルコースレベルとを含む。

【0023】

以上で説明された方法は、被検者がI I 型糖尿病またはインスリン抵抗性症候群等の別の

50

インスリン抵抗性疾患を発現する危険性を有するかどうかを正確且つ信頼性高く指示することができるため、本発明は有利である。本発明の方法は、I I型糖尿病及び他のインスリン抵抗性障害に対する従来の試験法に比べ、高血糖症と診断するのに十分な程に血中グルコースレベルが高くなる等のその疾患の症状が発現する前に、その疾患に対する危険性が高まっていることを示す指標を提示できるという利点を提供する。従来の方法でこれらの症状を検出できる時には、I I型糖尿病（または、他のインスリン抵抗性疾患）の障害は、既に、進んだ段階へ進行している。本発明のNMRに基づく方法は、（１）NMRに基づくリポタンパク分析により評価される危険性の因子が早期に疾患を示し、（２）NMRに基づくグルコース分析により高血糖症にある上昇したグルコースレベルが決定されるため、疾患の進行の早期に（即ち、症状が発現する前に）、I I型糖尿病を発現する危険性の高まりを示すことができる。

10

【0024】

I I型糖尿病の発現に対する他の危険性指標を伴わない状態での高血糖症下グルコースレベルの検出は、健康管理提供者や患者に対して、その患者がこの疾患を発現する危険性を有しているという警告を発するには十分でないかもしれない。しかし、他の危険性指標の検出と並行して行われる高血糖症下グルコースレベルの検出は、健康管理提供者が、I I型糖尿病の症状（即ち、高血糖症状態の血中グルコースレベル）が発現する前に、医学的介入を行う機会を与えるであろう。従って、本発明は、I I型糖尿病の発現に対する危険性の早期検出を容易にする。そこでは、血中グルコースレベルに対するNMRに基づく試験を、広範に求められる試験、典型的には冠状動脈性心疾患ベース（CHDベース）の血中リポタンパク値を評価するために行われるNMRに基づく試験またはスクリーニングと並行して決まった手順で実施することができ、これにより、何回も試験を行うことによる付加的な経費の発生や不便さを回避することができる。I I型糖尿病の発現に対する危険性を有する被検者の決まった手順のスクリーニングは、発達しきった疾患へ進行する患者数の低減を有利に促進することができ、これにより、早期の医学的介入、及び、この疾患の不治相への進行の潜在的な予防を可能にする。従って、本発明によりもたらされるこの疾患の素因の早期検により、危険性を有すると診断された被検者は、早い時点での適切な治療の開始やライフスタイルの変更が可能になる。この早期検出は、その疾患の発現を実際に防止することにはならないにしても、進行する際のその疾患の重症度を軽減し得る、という点において有利である。また、有利には、本発明の方法を、例えば心臓血管疾患等のための標準的なリポタンパクスクリーニングに組み入れることもできる。

20

30

【0025】

本明細書で説明されているように、本発明の付加的な態様は、被検者がインスリン抵抗性症候群（X症候群とも呼ばれる）を発現する危険性を有するかどうかを決定するための方法を含む。本発明の更なる態様は、被検者がインスリン抵抗性症候群、あるいは他のインスリン抵抗性疾患に既に罹患しているかどうかを決定するための方法を含む。本発明のこれらの目的及び他の目的では、血液サンプルが被検者から採取され、以上で説明されているように、それらのサンプルがNMR線形スペクトル分析法で分析される。詳細には、LDLサイズ、LDL粒子、大きいHDLコレステロール、及び大きいVLDLトリグリセリドに関連するサブクラス値等のNMRに基づくリポタンパク値が測定され、予め定められた試験判定基準と比較される。参照パラメーターと測定されたパラメーターとの間の関係に対する特定の試験判定基準を満たす事態は、その被検者が、インスリン抵抗性症候群を発現する危険性を有するか、あるいは、実際にインスリン抵抗性症候群に罹患していることを示している。

40

【0026】

本発明の一つの付加的な態様は、I I型糖尿病または他のインスリン抵抗性疾患に対する治療を受けている被検者の治療の有効性を評価する方法である。I I型糖尿病または他のインスリン抵抗性疾患に対する治療を受けている被検者の少なくとも1つのリポタンパクサブクラスのベースラインプロフィールが取得される。このプロフィールは、被検者から血液サンプルを採取し、以上で説明されているように、そのサンプルをNMRスペクトル

50

分析法で分析することにより得られる。このベースラインプロフィールは、その被検者に対して該当するインスリン抵抗性疾患に対する治療を実際に始める前に取得してもよいし、あるいは、治療の開始後に取得してもよい。ベースラインプロフィールの取得より後のある時点で、I I型糖尿病または他のインスリン抵抗性疾患に対する治療を受けているその患者の少なくとも1つのリボタンパクサブクラスの第二のプロフィールが取得される。この第二のプロフィールは、本質的に、以上で説明したベースラインプロフィールと同じ方法で取得される。次いで、ベースラインプロフィールと第二のプロフィールの比較が行われる。ベースラインプロフィールと第二のプロフィールの差異は、その被検者におけるI I型糖尿病または他のインスリン抵抗性疾患に対する治療の有効性に関する指示を提供する。

10

【0027】

次に、本発明の前述の目的及び他の目的、並びにそれらの態様を更に詳しく説明する。

【0028】

[発明の詳細な説明]

次に、本発明の好ましい実施形態が示されている添付図面を参照しながら本発明を下文にてさらに詳しく説明する。しかし、本発明は、多くの異なる形態で具体化することができ、ここで説明されている実施形態に限定されるものと解釈すべきではない。むしろこれらの実施形態は、この開示が徹底した完全なものとなり、当業者に本発明の範囲を伝えるべく提供されたものである。

【0029】

20

本発明は、医学及び獣医学の両分野で使用するのに適している。適当な被検者は、これらに限定するものではないが、哺乳類及び鳥類の被検者を含む。好ましくは、哺乳類被検者、より好ましくは、ヒト、サル、ブタ、ウシ、イヌ、ウマ、ネコ、ヒツジ、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、及びヤギであり、最も好ましくはヒト被検者である。

【0030】

本明細書で使用する場合、互換的に「インスリン非依存型糖尿病（N I D D M）」と呼ばれることもある「I I型糖尿病」という用語は、インスリンに対する細胞抵抗性、及び／又は、血中グルコースレベルの平衡を維持するのに必要な量未満のインスリン分泌により特徴付けられる疾患を指している。これとは対照的に、I型糖尿病は、自己免疫反応による膵臓のインスリン産生ベータ細胞の破壊により特徴付けられる疾患を指している。

30

【0031】

本発明の方法は、インスリン抵抗性の疾患を診断するのに有用である。インスリン抵抗性は、生体がインスリンに対して正常に応答しない状態を意味している。インスリン抵抗性はI I型糖尿病の先駆けであることが多い。「インスリン抵抗性症候群」または「X症候群」という用語は、インスリン抵抗性に関係する一群の医学的状態を指しており、そこでは、高血糖レベルがインスリンの産生を刺激する。被検者が過剰なインスリンを正常に処理できないと、インスリンレベルが上昇する。結局、その被検者は、高血糖レベル（高血糖症）及び高インスリンレベル（高インスリン血症）を有することになる。このような状況下では、インスリンは、脂肪代謝を調節する能力を失い、過剰な脂肪が血流中に入る（高脂質血症）。高脂質血症は、高血圧、心疾患、及び卒中に關与する障害である。インスリン抵抗性の他の疾患は、これらに限定するものではないが、異常脂肪血症（糖尿病性異常脂肪血症を含む）、及び、成熟しきったI I型糖尿病、若年性糖尿病、及び妊娠性糖尿病を含む。

40

【0032】

実際にインスリン抵抗性の疾患に罹患している被検者の診断に加え、本発明の方法は、被検者がI I型糖尿病を発現する危険性を有するかどうか（即ち、I I型糖尿病を発現する素因を持っているかどうか）の決定における用途も兼ね備えている。I I型糖尿病を発現する危険性を有する被検者とは、I I型糖尿病の発現に関して、一般の人々よりも高い危険性を有すると考えられる人のことである。

【0033】

50

本発明の方法では、まず、被検者から血液サンプルが採取される。被検者は、I I型糖尿病を発現する危険性を有する疑いのある被検者であってもよいし、あるいは、インスリン抵抗性の疾患に現在罹患している疑いのある被検者であってもよい。あるいは、被検者はI I型糖尿病または他のインスリン抵抗性疾患に対する危険性を有する疑い以外の理由（冠状動脈性心疾患に対するスクリーニング等）でリポタンパクプロフィールスクリーニングを受ける被検者であってもよい。血液サンプルは、既知の技法に従って採取してよく、そして、血漿サンプルあるいは血清サンプルであってもよい。次いで、その血液サンプルを、本明細書で定義されているようにNMRスペクトル分析法で分析し、そこでは、少なくとも一つのリポタンパク構成成分の少なくとも一つの値が測定される。

【0034】

好ましくは、本発明の方法は、リポタンパクプロフィール試験を受けるあらゆる人に対する標準的な全体的リポタンパクプロフィール分析プロトコルに常用的に含めることができる。実際、本発明の方法は、すべてのリポタンパクプロフィール試験で便利且つ迅速に自動的に実行することができ、これにより、患者が症状を伴わない場合であっても、経済的に危険性の情報を提供することができる。標準的なコレステロールサンプル以上には何ら付加的な血液サンプルを必要とせず、そして、被検者を比較的時間のかかる拡張的なグルコース試験にかける必要もない。潜在的に、そのような迅速で常用的な試験は、インスリン抵抗性疾患の発現を防ぐため、薬剤治療を受けるかライフスタイルを変えるべきである、容易に同定可能な危険性を有する患者の数を増大させることができる。

【0035】

本発明の実践において測定され得るリポタンパク構成成分値の例は、血液サンプル中におけるリポタンパク構成成分及びサブクラスの濃度、及び、リポタンパクサブクラスの平均粒径を含むが、それらに限定されるものではない。本明細書では、「リポタンパク構成成分」、「リポタンパククラス」、及び「大分類のリポタンパククラス」という用語は互換的に使用される。あらゆる既知のリポタンパク構成成分（VLDL、HDL、LDL、及びカイロミクロン）の値、及び選択された構成成分のサブクラスの値を測定することができる。測定し得るリポタンパクサブクラスは、カイロミクロン、超低密度リポタンパク（VLDL）の6つのサブクラス（V1、V2、V3、V4、V5、及びV6）、IDL、低密度リポタンパク（LDL）の3つのサブクラス（L1、L2、及びL3）、及び、高密度コレステロール（HDL）の5つのサブクラス（H1、H2、H3、H4、及びH5）である。ナンバリングシステムは、別個のリポタンパクサブクラスを同定するために使用されており、数字が小さいほど小さな粒径を示している。本発明の実践においては、それらのリポタンパクサブクラスのうちのいずれか一つのサブクラスの少なくとも一つの値を測定し得る。好ましくは、複数のリポタンパクサブクラスの値が測定されるであろう。更に一層好ましくは、本発明の方法は、少なくとも3つのリポタンパクサブクラスの少なくとも一つの値を測定する。

【0036】

本明細書で使用する場合、「NMRスペクトル分析」という用語は、本明細書で説明されているように、血漿または血清中に存在するリポタンパククラス及びサブクラスを測定するため、あるいは、血漿または血清中に存在するグルコースの濃度もしくは「レベル」を測定するために、プロトン（ ^1H ）核磁気共鳴分光法を用いることを意味している。リポタンパククラスまたはサブクラスを「測定する」ということは、リポタンパククラスまたはサブクラスの濃度、あるいはそれらの平均粒径等、そのリポタンパククラスまたはサブクラスのパラメーターを決定することをいう。より詳細には、本方法は、血漿または血清サンプルからプロトンNMRデータを取得するステップと、取得したNMRデータを処理して化学シフトスペクトルを生成するステップと、その生成されたスペクトルをその大分類リポタンパククラスにおけるサブクラスの参照スペクトルに関してデコンボリューションしてそれらの各リポタンパク構成成分の濃度及びそれらの構成成分のサブクラスの分布を与えるステップとを含む。また、本方法は、血漿または血清サンプルからプロトンNMRデータを取得するステップと、取得したNMRデータを処理して化学シフトスペクトル

ルを生成するステップと、生成されたスペクトルをグルコースの参照スペクトルに関してデコンボリューティングし、その血清または血漿サンプル中のグルコース濃度を与えるステップも含む。

【0037】

一つの好ましい実施形態では、リポタンパククラス及び／又はサブクラスの濃度は、個々のリポタンパククラス及び／又はサブクラスの参照スペクトルを取得することにより決定される。次いで、それらの参照スペクトルは、コンピュータプログラム等に保存され、付加的な血液サンプルまたは血清サンプルを評価するための参照基準を提供する。個々のリポタンパククラス及びサブクラスに関してNMR分光法により導出されるスペクトルは個体群の間で実質的に一定である。従って、個々のリポタンパク構成成分のNMR参照スペクトル（線形及び振幅）自体を、個人の全ての血の血漿（または血清）に関連する複合シグナルを「デコンボリ्यूート」するための「キー」として使用することができる。このようにして、単一の参照セットを、（実質的に一定の温度及び磁場でとられた場合）他の血液サンプルのリポタンパクプロフィールを決定するための基準として使用することができる。

10

【0038】

より詳細に述べると、本発明の一つの実施形態は、個々の参照構成成分標準に換算可能な係数を割り当て、それらの換算可能な（加重された）個々の構成成分パラメーターの総和をとる。（参照スペクトルで使用したのと同じ磁場強度及び温度で得られた）望ましい血漿または血清試料に対してNMR分光分析を実施し、実際の（測定された）複合血漿スペクトルシグナルを生成する。その後、本発明の好ましい方法は、上述の換算可能な係数の総和が前述の複合シグナル値に実質的に「適合（fits）」するまで、前述の換算可能な参照スペクトルを操作する。次いで、その換算可能な係数の値を用いて、その個人の血漿サンプル中におけるそれらのリポタンパク構成成分に対する実際の濃度値を決定する。

20

【0039】

有利には、その好ましいNMR分光分析法は、 ^1H NMRスペクトルから、多様なサブクラス情報と共に、血漿サンプルの3つの大分類リポタンパククラス（VLDL、LDL、及びHDL）の濃度を（比較的迅速に）抽出することができる。以上で説明されているように、本発明のNMR分光法は、好ましくは、参照血液サンプルの4つの個別な構成成分（VLDL、LDL、HDL、及びタンパク質）を同定し、且つ、それらを使用して、全ての血の血漿脂質に関連する線形をデコンボリ्यूートする。実際、O'tvosに付与された米国特許第4,933,844号に記載されているように、個体群の間で実質的に一定な個々のリポタンパク構成成分のNMRスペクトルの線形を、ある導出された数学的分析法を用いて前述の複合シグナルを操作するための「キー」として使用することができる。この好ましいNMRスペクトル分析法の更なる詳細は、共にO'tvosに付与された米国特許第4,933,844号と第5,343,389号に記載されており、引用することにより、本明細書の一部をなすものとする。

30

【0040】

血液中のリポタンパククラスLDL、HDL、及びVLDLとそれらのサブクラスのパラメーターを決定するのに加え、本発明のNMRスペクトル分析法は、血液サンプル中のトリグリセリド、タンパク質、及びカイロミクロンの濃度等、血液の他の構成成分のパラメーターを測定するためにも使用し得る。

40

【0041】

本発明の付加的な実施形態では、本発明の血液サンプル中におけるグルコースの濃度が、本明細書で説明されている ^1H NMR法を用いて決定される。本発明の一つの好ましい実施形態では、本発明の血液サンプル中におけるグルコースの濃度は、同一の血液サンプル中におけるNMRに基づくリポタンパク値の測定と並行して、NMRスペクトル分析法を用いて測定される。本明細書で使用する場合、「並行して」という言葉は、1回のNMR「実行」または測定中に実施することができるよう時間に十分近いことを意味している（即ち、「並行して」という表現は、同時であってもよいし、あるいは、相互に相前

50

後して短時間内に起こる2回もしくはそれ以上の回数の事象であってもよく、更には、同一のサンプルで、または、単一の血液採取セッションにおいて患者からとられた複数のサンプルで、もしくは、一旦開存性が確立された単一の静脈穿刺からとられた複数のサンプルで実施されるNMR評価であってもよい)。

【0042】

空腹時のグルコースレベルが中程度に上昇している患者は、特に糖尿病性異常脂肪血症等の他の指標が存在している場合、I I型糖尿病を発現する危険性が高い。従って、本発明の方法は、 ^1H NMRスペクトル分析により、血漿サンプル中におけるグルコース濃度の決定を可能にする。これは、そのサンプルの ^1H -NMRスペクトルを、グルコース濃度が既知のサンプルのスペクトルと比較することにより行われる。それらのサンプルのスペクトル強度における差異を比較することにより、そのスペクトルにおけるグルコースの濃度を算出することができる。

10

【0043】

図1は、指示されたグルコースにより生成されたシグナルを包含する2つの領域(領域1と領域2)を伴う、血漿のプロトンNMRスペクトルを示している。図2は、その血漿スペクトルのうちのグルコースシグナルが観測される領域の拡大図を示しており、それらの2つの領域が、領域1及び領域2として特定の示されている。3.64から3.90 ppmの範囲における領域1のピークを本発明によるグルコース分析に使用することができる。代替的に、3.29から3.54 ppmの範囲における領域2のピークを本発明のグルコース分析に使用することもできる。加えて、領域1と領域2のピークの組み合わせを本発明によるグルコースの定量的な決定に使用してもよい。「最良の適合状態」を見出すべく、本明細書で説明されているような線形適合化プロセスを用いて、参照または標準スペクトルと患者グルコースサンプルスペクトルのデータポイントが整合化され、標準スペクトルの強度が、サンプルスペクトルと適合するように換算される。サンプルの線形に適合させるために使用された換算係数をその標準のグルコース濃度に掛け合わせることで、この血液サンプルのグルコース濃度が与えられる。

20

【0044】

別な言い方をすれば、このグルコース測定法では、参照とする血漿または血清からなるサンプルあるいは試料中のグルコースに対応するNMR参照データスペクトルが取得され、コンピュータのメモリーに保存される。その参照スペクトルの一つのグルコースシグナルあるいはグルコースシグナルグループ(「参照グルコース線形」)に参照係数が割り当てられ、その数値は、独立した化学的なグルコース測定により決定されたその参照試料のグルコース濃度に基づくものである。それ以降の一定の時間に、上記のグルコース参照スペクトルを得るのに使用したのと(実質的に)同一の測定条件下で、患者の血漿または血清試料のNMRスペクトルが取得され、コンピュータのメモリーに保存される。即ち、例えば、それらのNMRデータスペクトルは、同一の磁場強度及び試料温度下で得られる。参照グルコース線形を、患者のスペクトルにおける同一のグルコースシグナルあるいはシグナルグループ(「患者グルコース線形」)と比較する。次いで、患者グルコース線形と最良の適合が得られるように参照グルコース線形の振幅を調整するのに必要な換算係数を決定する計算を実施する。患者の血漿または血清試料中におけるグルコースの濃度を得るため、この換算係数に前述の参照係数を掛け合わせる。

30

40

【0045】

線形適合化プロセスで使用される数学的手段(即ち、既知関数の加重総和による未知関数の最小二乗適合化(least squares fit))は広く知られており、F. B. Hildebrandによる「数値解析入門(Introduction to Numerical Analysis)」(第2版、pp. 314-326、539-567、McGraw-Hill、1975年)等の数値解析に関する多くの参考書で説明されている。患者の血清または血漿サンプル中のグルコース濃度を算出するために使用されるコンピュータプログラムを例証するフローチャートが図3A及び3Bに示されている。図3A及び3Bのフローチャートで使用されている用語の定義は以下の通りである。

50

【0046】

S g l u は、参照標準におけるグルコースの濃度を意味している。C g l u は、患者サンプルにおけるグルコースの濃度である。J は、最良の最小二乗適合化を求めて探索を開始する患者のスペクトルにおけるデータポイントを意味している（I C N T の増加と共に増加する）。N D S は、最良の最小二乗適合化を求めた探索において逐次的に横断するデータポイントの個数を意味している。I C N T は、逐次探索でのカウンターに相当し、1 から始まって N D S で終わる。

【0047】

A (1)、A (2)、A (3) . . . A (N D A T) は、患者血液サンプル N M R スペクトルからの N D A T データポイントを包含する配列を示している。

10

【0048】

N D は、参照標準グルコース N M R スペクトルにおけるデータポイントの個数を示している。

【0049】

G (1)、G (2)、G (3) . . . A (N D) は、標準グルコース N M R スペクトルからのデータポイントを包含する配列を示している。

【0050】

E (1)、E (2)、E (3) . . . A (N D) は、グルコースの共鳴を包含する選定された N M R スペクトル領域における患者血液サンプル N M R スペクトルからの（即ち、標準と同一の領域からの）データポイントを包含する配列を示している。

20

【0051】

C H I J という用語は、J 番目のデータポイントから始まるサンプル領域への最良の適合状態に対する最小二乗分散を表している。

【0052】

C J という用語は、J 番目のデータポイントから始まる患者サンプル領域に対して最良の適合状態を与えるべく標準グルコース配列 G () のデータポイントに掛け合わせる算出された係数を表している。

【0053】

C H I M I N という用語は、スペクトルの探索において見出される最も小さな最小二乗分散を表している（探索シーケンスでの最初の適合化により置換される大きな正数として初期化されている）。

30

【0054】

C M I N という用語は、C H I M I N が決定されるデータポイントから始まる患者のスペクトル領域において最良の適合状態を与えるべく標準グルコース配列 G () のデータポイントに掛け合わせる算出係数を表している。

図 3 A 及び 3 B のフローチャートから分かるように、最初のステップは、カウンターを 1 から N D S（最良の最小二乗適合化を得るべく横断するデータポイントの個数）までに設定することである。変数 I C N T はループカウンターをホールドする。変数 J は適合化を開始する実際のデータポイントである。J は I C N T と共に増加する。

【0055】

カウンターの計数値が N D S と比較され、プログラムを続けるべきかどうかを見る。プログラムを続けるべき場合には、被検体スペクトルのグルコース領域が配列変数 E に読み込まれる。

40

【0056】

換算定数 (scaling constant) C J は、以下で説明される式に従って、この配列に対して算出される。C H I J は、これらの換算定数に対して算出される。最小 χ が算出されるまで、C H I J が C H I M I N と比較される。C H I J が C H I M I N より低い場合には、C H I M I N は C H I J に設定され、その最低のカイに対する換算定数が C M I N に維持される。

【0057】

50

開始データポイント J とカウンター I C N T が 1 だけ増やされ、そのループが繰り返される。試験 I C N T > N D S が真であるときには、最良の整合性から得られた換算係数 C M I N を標準スペクトルにおける既知のグルコース濃度 S g l u と掛け合わせることで、被検体のグルコース濃度 C g l u が算出される。

【0058】

グルコース濃度の算出におけるそれらの変数は、以下の如くに提供される。E_i は、i 番目のデータポイントにおける実験スペクトルの強度である。G_i は、i 番目のデータポイントにおける標準グルコーススペクトルの強度である。「c」という用語は、標準スペクトルの強度を実験スペクトルの強度に関連付ける係数である。

χ を以下の式、

10

【数1】

$$\chi = \sum_i (E_i - cG_i)^2$$

により定義し、その多項式を次のように拡張する。

【数2】

$$\begin{aligned}\chi &= \sum_i (E_i^2 - 2cE_iG_i + c^2G_i^2) \\ \chi &= \sum_i E_i^2 - 2c \sum_i E_iG_i + c^2 \sum_i G_i^2\end{aligned}$$

20

最小二乗適合化を実施する。

【数3】

$$\frac{\partial \chi}{\partial c} = 0$$

$$\frac{\sum_i E_i^2}{\partial c} - \left(2 \sum_i E_i G_i \right) \frac{\partial c}{\partial c} + \left(\sum_i G_i^2 \right) \frac{\partial c^2}{\partial c} = 0$$

30

$$\begin{aligned}\downarrow & \qquad \qquad \downarrow \\ \frac{\sum_i E_i^2}{\partial c} &= 0 \qquad \qquad \frac{\partial c}{\partial c} = 1\end{aligned}$$

$$-2 \sum_i E_i G_i + \left(\sum_i G_i^2 \right) 2c = 0$$

$$\sum_i E_i G_i = c \sum_i G_i^2$$

40

$$c = \frac{\sum_i E_i G_i}{\sum_i G_i^2}$$

プログラムは一度に 1 データポイントずつ移動し、最小カイ > 最良の整合性、σ = (1/n) χ^{1/2} (n = データポイントの個数) を得る。

【0059】

どんな場合にも、血液中の望ましいリポタンパク構成成分パラメーター（1 つもしくはそれ以上のリポタンパクサブクラスの濃度等）とグルコース濃度が測定された後、少なくとも

50

も1つのNMRによる測定値、好ましくは1つより多くのNMRによる測定値が1つもしくはそれ以上の予め定められた試験判定基準と比較される。この比較から、II型糖尿病の発現に関する患者の危険性を評価することができる。

【0060】

予め定められた試験判定基準は、個体群ベースの規準または他の標的ベースの規準等、リポタンパク構成成分の正常値または標準値の適当な値または定義に基づくものでもよい。一つの好ましい実施形態では、それらの個体群値は、Framingham Offspring Studyにおける被検者から得られた科学的な結果に基づいている。Wilsonらによる「コレステロール危険性の因子のスクリーニングに対する国家指針のインパクト (Impact of National Guidelines for Cholesterol Risk Factor Screening)」(The Framingham Offspring Study, JAMA, 1989年; 262: 41-44)を参照のこと。勿論、危険性評価に対して現在定められているNMRに基づくリポタンパク構成成分またはサブクラスの値は時間の経過に連れて変わる可能性があり、より多くの危険性カテゴリーまたは代替的な危険性カテゴリーが加わり得る。更に、1つもしくはそれ以上の脂質パネルまたはサブクラスのカテゴリーの危険性カテゴリー値に関連する実際の範囲または定義も時間の経過に連れて変化し得るものであり、本発明は、それらに限定されることを意図したものではない。

【0061】

どんな場合でも、好ましい予め定められた試験判定基準は小さいLDLサイズ（パターンB）を含み、これは、「糖尿病性リポタンパク表現型」の証明であり、大きいLDL体質（パターンA）に比べ約2倍も高い危険性を付与する。小さいLDL粒子が大きいLDLよりも本質的により糖尿病性であり得ることを示唆する証拠がある。大きいHDLのみのサブクラス粒子は糖尿病を防ぐものと考えられ、一方、小さなHDLは糖尿病誘発性でさえあり得るため、低レベルの大きいHDL（例えば、 $< 29 \text{ mg/dL}$ 。この値は、その個体群の50パーセントに相当する）は、正の危険性の因子であり得る。従って、大きいHDLは、総HDLコレステロールよりもむしろ、より敏感な危険性の因子であり得る。FreedmanらによるArterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1998年; 18: 1046-53を参照のこと。同様に、高レベルの大きい多トリグリセリドVLDL粒子（例えば、 $> 26 \text{ mg/dL}$ 。この値は、その個体群の75パーセントに相当する）は、実質的に血漿トリグリセリドに依存しない糖尿病に対する高い危険性と関わっているものと思われる。空腹時血漿における高濃度の大きいVLDLは、遅延カイロミクロンクリアランス（食事性脂肪血症）に対するマーカーであり得る。

【0062】

以上で提示された3つの危険性の因子（即ち、小さいLDLのパターン、低レベルの大きいHDL、及び高レベルの大きいVLDL）のうちの2つが患者の分析結果に存在している場合、その患者は、以上で説明されたリポタンパクサブクラスに関する異常のクラスタリングとして定義される代謝性疾患素質である糖尿病性異常脂肪血症を有していると考えられる。そのような患者はII型糖尿病の発現に関する高い危険性を有すると考えられる。

【0063】

NMR測定によるグルコースレベルに関して説明すると、測定されるグルコースレベルは、好ましくは、空腹時の血中グルコースレベルであり、そして、一般的には、 mg/dL 単位で表される。望ましい空腹時グルコースレベルは約 90 mg/dL 未満の値であり、中程度に上昇した血中グルコースレベルは約 90 から 125 mg/dL の範囲内であり、上昇した（即ち、糖尿病性または高血糖症性）レベルは、約 125 mg/dL 以上のグルコースレベルである。空腹時グルコースレベルが中程度に上昇した患者であっても、特にそれらの患者が以上で定義された通りの糖尿病性異常脂肪血症も有しているときには、それらの患者はII型糖尿病を発現する高い危険性を有する。

【0064】

以上で説明されているように、本発明の一つの実施形態では、糖尿病の発現に関する被検者の危険性を評価するため、血液サンプルに対して少なくとも1つのリポタンパク構成成分の少なくとも1つの値、好ましくは複数のリポタンパク構成成分の値が決定される。各リポタンパク構成成分の測定値を編集して、そのサンプルについてのリポタンパク構成成分値のプロフィールを作成してもよい。従って、前記のプロフィールは、例えば、そのサンプルについてのリポタンパクサブクラスの濃度分布を示すものであってよい。さらに、本明細書で説明されている方法により決定されたその血液サンプル中に存在する空腹時グルコース濃度もそのプロフィールに含めてよい。測定値の分布と標準的な試験判定基準の分布の視覚的に比較することを容易にするため、このNMRによる測定値のプロフィールを報告書で図式的に表してもよい。そのような報告書の例が図4に示されている。この報告書は、本来、同一の譲受人による、引用することにより本明細書の一部をなすものとする同時係属米国出願第09/258,740号に開示されている報告書作成方法に従って作成及び提示される。図5は、NMRに基づくリポタンパク分析の実施中に作成し得る付加的な報告書を示している。この報告書の作成も米国出願第09/258,740号に記載されている。図5に示されている報告書は、任意選択的に、図4に示されているものの如き報告書の準備中に作成または準備されてよい。

10

【0065】

他のライフスタイル情報や遺伝情報を取得し、この危険性評価分析において因子化することもできる。例えば、体重、年齢、及び家族の糖尿病歴等にすべて危険性を示す値を割り当て、それらの危険性を示す値を血液リポタンパクベースの分析において（別々に、もしくは一緒に）因子化することができる。被検者は、家族情報、遺伝情報、またはライフスタイル情報のうちの1つもしくはそれ以上に帰因する高い危険性を示す値により、境界型の血液試験危険性評価を有している被検者であってもよいし、あるいは、「危険性を有する」（即ち、II型糖尿病を発現する危険性の高い）被検者と同定されていてもよい。このとき、この情報は、その被検者を矯正的な措置（薬物療法、運動、体重の減少、または食餌の変更）が必要な被検者と同定してもよいし、及び／又は、その被検者を定時的なモニタリングスケジュール下に置くべき被検者と同定してもよい。あるいは、遺伝的情報やライフスタイル情報に帰因する高い危険性を示す値が存在しない場合には、境界型の血液試験危険性評価を有する被検者をII型糖尿病（もしくは他のインスリン抵抗性疾患）の発現に関する危険性を有していない被検者と同定してもよい。

20

30

【0066】

当業者であれば、本明細書で説明されている方法が、II型糖尿病または他のインスリン抵抗性の疾患に対する治療プログラムの有効性を評価するのに有用であることが理解されよう。そのような方法では、まず、II型糖尿病または他のインスリン抵抗性疾患に対する治療を受けている被検者から血液サンプルが採取される。あるいは、被検者は、そのような治療がまだ開始されていないが、将来そのような治療を受けることが予測される被検者であってもよい。次いで、本明細書で説明されているNMRスペクトル分析法でその血液サンプルを分析することにより、少なくとも1つのリポタンパクサブクラスの少なくとも1つのパラメーターのベースラインプロフィールが取得される。治療が進行した後、その被検者から再度血液を採取し、次いで、本明細書で説明されているNMRスペクトル分析法を用いて、上記のベースラインプロフィールで測定されたりポタンパクサブクラスのパラメーターの第二のプロフィールが取得される。その後、この第二のプロフィールが上記のベースラインプロフィールと比較される。第二のプロフィールとベースラインプロフィールとの間の有意差（1つもしくはそれ以上の測定されたパラメーター間の有意差により指示される）は、治療の有効性に関する指示を提供する。

40

【0067】

図6は、本発明による方法、装置（システム）、及びコンピュータプログラム製品のフローチャートを示している。このフローチャートで図解されている各ブロック、及び、このフローチャートで図解されているブロックの組み合わせは、コンピュータプログラム命令

50

手段により実行できることが理解されよう。これらのコンピュータプログラム命令手段は、コンピュータあるいは他のプログラム可能なデータ処理装置上で履行されるそれらの命令手段がフローチャートの一つのブロックまたは複数のブロックで特定されている機能を果たすための手段を創出するようなマシンを製作するためのコンピュータあるいは他のプログラム可能なデータ処理装置に装填されていてよい。また、これらのコンピュータプログラム命令手段は、コンピュータで読み取り可能なメモリ内に保存されたそれらの命令手段がフローチャートの一つのブロックまたは複数のブロックで特定されている機能を果たす命令手段を含む製品を製作するように、コンピュータあるいは他のプログラム可能なデータ処理装置を特定の仕方で機能するコンピュータで読み取り可能なメモリに保存してもよい。更に、それらのコンピュータプログラム命令手段は、コンピュータあるいは他のプログラム可能な装置上で履行されるそれらの命令手段がフローチャートの一つのブロックまたは複数のブロックで特定されている機能を果たすためのステップを提供するようなコンピュータで実行されるプロセスを製作するため、コンピュータあるいは他のプログラム可能な装置で実施されるべき一連の動作ステップをもたらしべく、コンピュータあるいは他のプログラム可能な装置に負荷されていてよい。

10

【0068】

従って、フローチャートで図解されているブロックは、特定の機能を実施するための手段と、特定の機能を実施するためのプログラム命令手段との組み合わせを支持している。また、フローチャートで図解されている各ブロック、及びフローチャートで図解されているブロックの組み合わせは、特定の機能またはステップを実施する特殊目的のハードウェアをベースとしたコンピュータシステム、あるいは、特殊目的のハードウェアとコンピュータ命令手段との組み合わせによっても実行できることが理解されよう。

20

【0069】

図6に示されているように、血漿または血清サンプル（ブロック600）がNMRスペクトル分析法を用いて分析される。本明細書で説明されているNMR法を用いてNMRにより導出されるリポタンパク値が取得される（ブロック610）。好ましくは、NMRスペクトル分析は血漿サンプルで実施され、そして、測定されるリポタンパク値は選定されたサブクラス値を含む。そのNMRにより導出されたりポタンパク値が予め定められた試験判定基準と比較され（ブロック620）、その値がI I型糖尿病の発現に関連する高い危険性と関連性があるかどうか決定される（ブロック630）。好ましくは、そのリポタンパクの試験結果（リポタンパクサブクラス値を含む）に対して使用される試験判定基準は、I I型糖尿病の発現に関する定められた危険性レベル（低危険性から高危険性まで）に対応している。好ましくは、上述の予め定められた試験判定基準は、I I型糖尿病に関するより高いまたはより低い危険性に関連する科学的な標的「規準」または個体群ベースの規準に基づいている。これらの値は時間の経過に連れて変わり得、あるいは、高い二次的な危険性の因子を有する患者に対しては別様に同定され得る。

30

【0070】

ブロック600の血漿または血清サンプルを、任意選択的に、NMRにより導出されるグルコース値（即ち、そのサンプル中のグルコース濃度）を得るために使用してもよく、また、好ましくは使用することができる（ブロック640）。取得したら、NMRにより導出されたそのグルコース値を予め定められた試験判定基準と比較し（ブロック650）、その値がI I型糖尿病の発現に関する高い危険性と関わっているかどうか決定される（ブロック660）。NMRにより導出されるそのグルコース値は、NMRにより導出されるリポタンパク値と並行して取得してもよい（即ち、グルコース値とリポタンパク値の両方を決定するためのNMRスペクトル分析を、同一の血清または血漿サンプルについて、同時に、あるいは相互に短い時間間隔内で実施してよい）。

40

【0071】

NMRにより導出されたグルコース値とNMRにより導出された構成成分値がI I型糖尿病に関する高い危険性を示しているかどうか決定された後、そのNMRにより導出されたグルコース値とNMRにより導出された構成成分値の分析結果を示す報告書が作成され

50

てもよい（ブロック670）。この報告書は、例えば、NMRによる測定値自体、それ自体の危険性評価、あるいは、そのⅠⅠ型糖尿病の危険性評価中に決定された、もしくは得られた情報のあらゆる他の表示を含んでいてよい。

【0072】

本添付図面及び明細書では、本発明の典型的な好適実施形態が説明されているが、特別な用語が用いられているものの、それらは、何ら限定することを意図したものではなく、一般的且つ説明的な意味でのみ使用されており、本発明の範囲は特許請求の範囲で明らかにされる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、指示された血中グルコースのプロトンから生じるシグナルを含む2つの領域を有する、血漿のNMRスペクトルである。

10

【図2】 図2は、血中グルコースのプロトンにより生成されたシグナルを含む2つの領域を特に強調した、血漿の部分的なNMRスペクトルである。

【図3A-3B】 図3Aと3Bとは、本発明による血清または血漿サンプル中のグルコース濃度を決定するためのコンピュータプログラムのフローチャートと一緒に構成している。

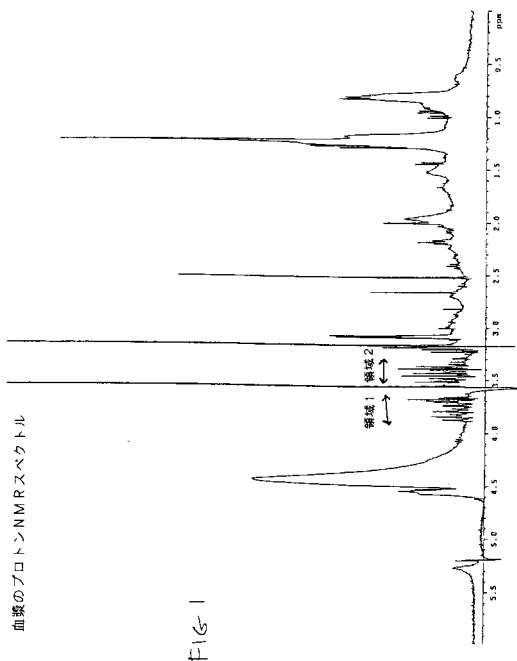
【図4】 図4は、本発明によるⅠⅠ型糖尿病の発現に対する患者の危険性を明らかにするサマリーレポートの具体例である。

【図5】 図5は、本発明の一つの実施形態による心疾患サマリーレポートの具体例であり、このレポートは、図4の糖尿病危険性に関するサマリーレポートに含まれていてもよいし、あるいは、それとは別に提供されてもよい。

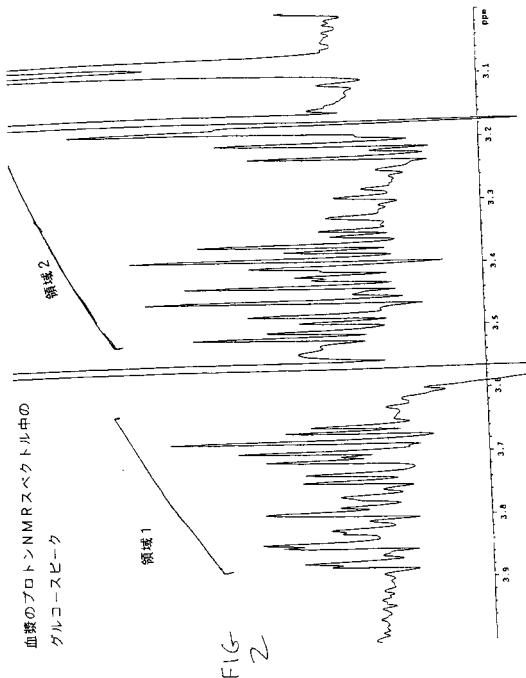
20

【図6】 図6は、本発明の方法を実施するための一つの方法のフローチャートである。

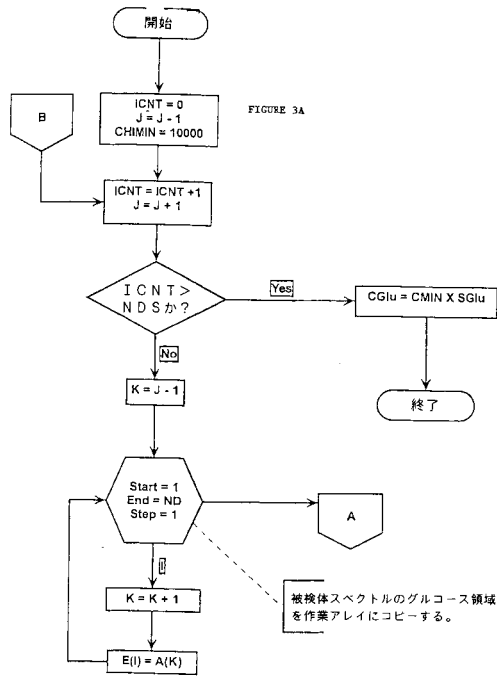
【図1】



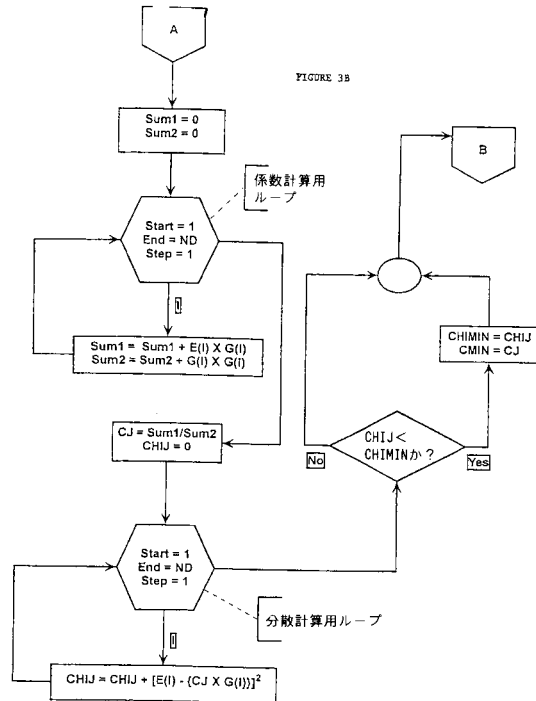
【図2】



【図 3 A】



【図 3 B】



【図 4】

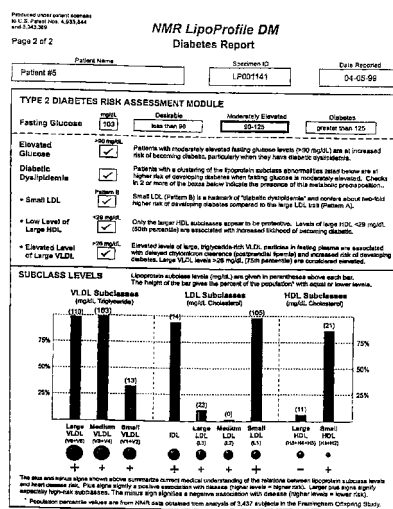


FIG 4

【図 5】

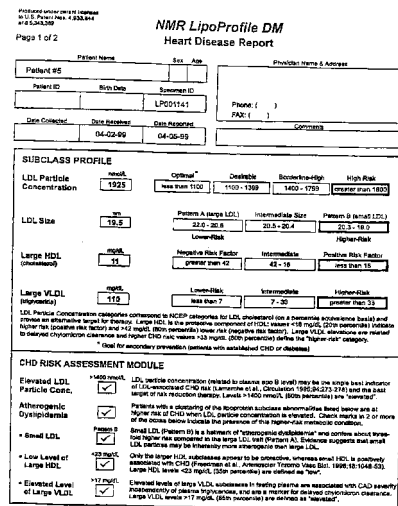
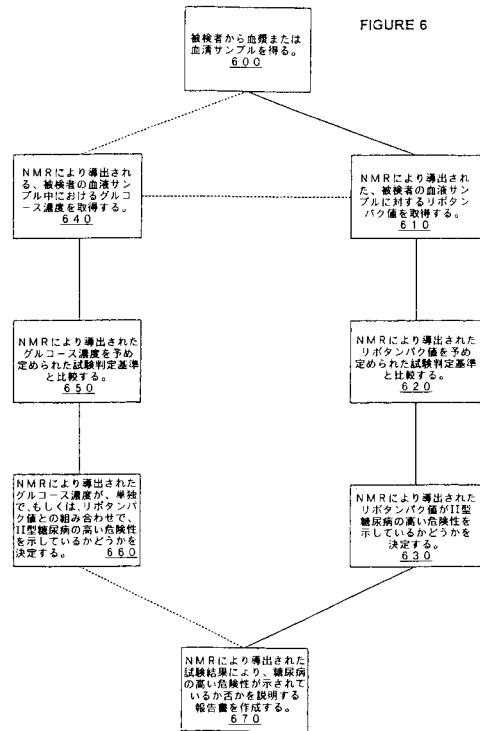


FIG 5

【図 6】



フロントページの続き

- (74)代理人 100096769
弁理士 有原 幸一
- (74)代理人 100107319
弁理士 松島 鉄男
- (72)発明者 オトヴォス, ジェイムズ・ディー
アメリカ合衆国ノースカロライナ州27502, エイペックス, ウェルストーン・サークル 11
17
- (72)発明者 ベネット, デニス・ダブリュー
アメリカ合衆国ウィスコンシン州53211, ショアウッド, ノース・モリス・ブルヴァード
4242

審査官 三木 隆

- (56)参考文献 特開平02-116743 (JP, A)
特表平09-504797 (JP, A)
週間医学のあゆみ, 1991年, Vol.157, No.13, Page.866-870
FEBS Lett, 1987年, Vol.219, No.1, Page.239-243
内科, 1996年, Vol.78, No.4, Page.689-694
週間医学のあゆみ, 1991年, Vol.156, No.13, Page.1029-1033
動脈硬化, 1991年, Vol.19, No.8, Page.723-731
日本臨床, 1997年, Vol.55 増刊号 糖尿病 1, Page.603-608
Anticancer Res, 1996年, Vol.16, No.3B, Page.1451-1460
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/53
G01N 33/483
G01N 33/66
G01R 33/465
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

专利名称(译)	通过NMR确定II型糖尿病风险的方法		
公开(公告)号	JP4585693B2	公开(公告)日	2010-11-24
申请号	JP2000614054	申请日	2000-04-19
[标]申请(专利权)人(译)	カ保科学公司 北卡罗莱纳州立大学		
申请(专利权)人(译)	硫辛酸科技有限公司 北卡罗来纳州盐湖城		
当前申请(专利权)人(译)	硫辛酸科技有限公司 北卡罗来纳州盐湖城		
[标]发明人	オトヴォスジェイムズディー ベネットデニスダブリュー		
发明人	オトヴォス,ジェイムズ・ディー ベネット,デニス・ダブリュー		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/483 G01N33/66 G01R33/465 G01N24/08 G01N33/68 G01N33/74		
CPC分类号	G01N33/66 G01N24/08 G01N33/6893 G01N33/74 G01N2405/00 G01N2800/042 G01N2800/324 G01R33/465 Y10T436/144444 Y10T436/24		
FI分类号	G01N33/53.W G01N33/483.E G01N33/66.A G01N24/08.510.Q		
审查员(译)	三木隆		
优先权	60/130612 1999-04-22 US		
其他公开文献	JP2002543392A JP2002543392A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

评估发生2型糖尿病和其他相关病症的风险的方法包括获得已知葡萄糖浓度样品的NMR衍生参考光谱并将该信息存储为参考标准。收集患者血液样品并获得血液样品的NMR衍生患者光谱。比较两个NMR数据集(参考和患者)并确定患者样品的葡萄糖浓度。可以用经历脂蛋白胆固醇评估的血液样品评估葡萄糖浓度。基于NMR的测试可用于基于单个测试事件同时提供葡萄糖浓度和脂蛋白成分值。本公开内容还包括多用途测试,即同时提供脂蛋白筛选和冠心病风险评估以及用于发展2型糖尿病的糖尿病筛查和风险评估的测试。用于评估糖尿病的方法包括基于预定的NMR测量的脂蛋白成分的值来识别糖尿病性血脂异常的存在。

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial \chi}{\partial c} &= 0 \\
 \frac{\sum_i E_i^2}{\partial c} - \left(2 \sum_i E_i G_i \right) \frac{\partial c}{\partial c} + \left(\sum G_i^2 \right) \frac{\partial c^2}{\partial c} & \\
 \downarrow & \qquad \qquad \qquad \downarrow \\
 \frac{\sum_i E_i^2}{\partial c} = 0 & \qquad \qquad \qquad \frac{\partial c}{\partial c} = 1 \\
 -2 \sum_i E_i G_i + \left(\sum_i G_i^2 \right) 2c &= 0 \\
 \sum_i E_i G_i = c \sum_i G_i^2 & \\
 c = \frac{\sum_i E_i G_i}{\sum_i G_i^2} &
 \end{aligned}$$