

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-529468

(P2010-529468A)

(43) 公表日 平成22年8月26日(2010.8.26)

(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 33/49 (2006.01)	GO 1 N 33/49	A 4 C O 8 6
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D
A 6 1 K 31/7056 (2006.01)	A 6 1 K 31/7056	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁)

(21) 出願番号 特願2010-511540 (P2010-511540)
 (86) (22) 出願日 平成20年6月12日 (2008.6.12)
 (85) 翻訳文提出日 平成22年2月4日 (2010.2.4)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2008/004743
 (87) 国際公開番号 W02008/151808
 (87) 国際公開日 平成20年12月18日 (2008.12.18)
 (31) 優先権主張番号 0711327.7
 (32) 優先日 平成19年6月12日 (2007.6.12)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 509342153
 ハンサ メディカル アクチボラゲット
 スウェーデン国 エス - 220 07
 ルンド、ビー、オー、ボックス 785
 (74) 代理人 110000855
 特許業務法人浅村特許事務所
 (74) 代理人 100066692
 弁理士 浅村 皓
 (74) 代理人 100072040
 弁理士 浅村 肇
 (74) 代理人 100088926
 弁理士 長沼 暉夫
 (74) 代理人 100102897
 弁理士 池田 幸弘

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 診断方法

(57) 【要約】

H B P のレベルは、重度の敗血症を引き続き発症する個体において増大することが実証されている。したがって、個体中の H B P のレベル、H B P / W B C 比、又は H B P / N C 比を用いて、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定することができる。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

個体中の H B P を測定するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとを含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを同定する方法。

【請求項 2】

個体から採取した体液試料中の H B P を測定する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

個体中の白血球数 (W B C) 又は好中球数 (N C) を測定するステップと、 H B P / W B C 比又は H B P / N C 比をそれぞれ計算するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとをさらに含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

個体から採取した血液試料中の W B C 又は N C を測定する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップが、 H B P の濃度が体液試料中 2 0 n g / m l を超えるか否かを決定するステップを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

体液試料中の H B P のレベル又は濃度が、 H B P のベースラインレベル又は濃度に対して少なくとも 2 . 5 倍増大する、請求項 2 に記載の方法。

20

【請求項 7】

体液試料中の H B P の濃度を n g / m l 単位で測定し、血液試料中の W B C を細胞数 ($\times 10^9$) / l 単位で測定する場合、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップが、 H B P / W B C 比が 2 を超えるか否かを決定するステップを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】

血液試料中の H B P / W B C 比又は H B P / N C 比が、それぞれベースラインの H B P / W B C 比又は H B P / N C 比に対して少なくとも 2 . 5 倍増大する、請求項 4 に記載の方法。

30

【請求項 9】

個体が、重度の敗血症を発症する危険性があることが疑われる、請求項 1 から 8 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

個体が、確認され若しくは疑われる感染症を有し、且つ / 又は 1 つ若しくは複数の S I R S 診断基準を示す、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

個体が、確認され若しくは疑われる感染症を有し、及び / 又は 2 つ以上の S I R S 診断基準を示す、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

確認され又は疑われる感染症が、肺、気道、肝臓、腎臓、尿路、皮膚 (皮膚及び皮下) 、心臓、胃、腸、血液、骨、関節、又はこれらのいずれかの組合せを冒している、請求項 10 又は 11 に記載の方法。

40

【請求項 13】

個体が、免疫無防備状態 ; 糖尿病 ; 静脈ライン、手術創、外科用ドレーン、若しくは褥瘡を有する入院患者 ; 又はこれらのいずれかの組合せである、請求項 9 から 12 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

個体が哺乳動物である、請求項 1 から 13 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

50

哺乳動物がヒトである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定する際に使用する、HBPを検出するための薬剤。

【請求項 17】

HBP 特異的抗体を含む、請求項 16 に記載の薬剤。

【請求項 18】

(i) 請求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の方法を用いて、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップと、

(ii) (i) において危険性があると同定された個体に、感染症の治療及び / 又は静脈内輸液に適する治療有効量の薬剤を投与するステップと

を含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性を低減する方法。

10

【請求項 19】

感染症の治療に適する薬剤が抗生物質である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

抗生物質が広域抗生物質である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

抗生物質がクリンダマイシンである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

個体中の HBP を検出するための薬剤を含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するための方法で使用する試験キット。

20

【請求項 23】

個体中の WBC を測定するための手段をさらに含む、請求項 21 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、重度の敗血症の発症に対する感受性の診断、及びその防止に関する。

【背景技術】

【0002】

敗血症は、臓器不全、及び重度の症例においては死をもたらす、感染に対する全身性の炎症反応である。敗血症は、特に高齢、免疫無防備状態、及び危篤状態の個体における、罹患率及び死亡率のますます一般的な原因である。敗血症は非冠状動脈性の集中治療室における死亡の最も一般的な原因であると報告されている (Bone RCら、Chest、1992年6月、101巻(6)、1644~55頁)。敗血症は入院全体の1~2%に生じ、死亡率は、敗血症では20%から、重度の敗血症では40%まで、敗血症性ショック(重度の敗血症の下位範疇)では>60%までである (Leibovici、Ann Intern Med、1991年、114巻(8)、703頁、Martinら、N Engl J Med、2003年4月17日、348巻(16)、1546~54頁)。

30

【0003】

敗血症の臨床上的定義は、以下の状態が2つ以上存在することであり：

(1) 発熱(体温>38)又は低体温(体温<36)

(2) 心拍数>1分間あたり拍動90回

(3) 呼吸数>1分間あたり呼吸20回又は $PaCO_2 < 32 \text{ mmHg}$ 、及び

(4) 白血球数>12($\times 10^9$ 細胞/L)又は<4($\times 10^9$ 細胞/L)

同時に、確認され又は疑われる感染症が存在する。

40

【0004】

(1) から (4) までの状態は、SIRS (重度炎症反応症候群) 診断基準 (Bone RCら、Chest、1992年6月、101巻(6)、1644~55頁) として知られており、重度の炎症の診断で認められている国際標準である。確認され又は疑われ

50

る感染症なしにSIRS診断基準の2つ以上を表す個体は、非感染に伴うSIRSを有すると分類される。

【0005】

重度の敗血症の診断上の定義は、敗血症誘発性低血圧、臓器不全、又は灌流障害に伴う、上記に記載した通りの敗血症である。敗血症誘発性低血圧は、収縮期血圧<90mmHg、又は低血圧の他の原因の非存在下でのベースラインからの<40mmHgの低下と定義される。灌流障害には、それだけには限定されないが、低灌流、乳酸アシドーシス、乏尿、又は精神状態における急性変化が含まれ得る。重度の敗血症には、下位範疇として敗血症ショックの状態が含まれる。この状態は、灌流障害の存在と一緒に、十分な初期輸液があるにもかかわらず敗血症誘発性低血圧が存在することによって特に定義される。陽性変力薬又は昇圧薬を投与されている個体は、灌流障害が測定された時点では低血圧でないことがある。

10

【0006】

重度の敗血症の治療では、十分な治療の実施とともに、より重度の症状(低血圧、臓器不全、又は低灌流)が始まる前に診断することが、結果の成功にとって最高に重要である(Riversら、N Engl J Med、2001年、345巻(19)、1368~77頁)。例えば、Kumarらは、死亡率は、最初の治療を施す前の敗血症誘発性低血圧の開始後に経過した時間数に相関することを示した(Kumarら、Crit Care Med、2006年、34巻(6)、1589~96頁)。治療の実施前の遅れを最小にするために、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かをできるだけ早期に決定するための、信頼できる生物学的マーカー又は臨床上のマーカーが必要とされている。

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

ヘパリン結合性タンパク質(HBP、CAP37、Azurocidin)は、ヒト好中球エラストラーゼに44%の配列同一性を示す、グリコシル化された、一本鎖の、負に荷電した37kDaの不活性なセリンプロテアーゼホモログである。HBPの3次構造は発表されている(Iversenら、Nat Struct Biol、1997年4月、4巻(4)、265~8頁)。これはヒト好中球のアズール顆粒中に含まれている(Lindmarkら、J Leukoc Biol、1999年、66巻(4)、634~43頁)。これは、血管の細胞骨格のCa²⁺バランスを変えることによって血管の漏出を誘発することが示されている多機能性のタンパク質である(Gautamら、Nature Medicine、2001年、7巻(10)、1123~7頁)。フィブリノーゲンと複合したA群レンサ球菌(GAS)のMタンパク質は、好中球のB2インテグリン受容体の刺激によってHBP放出を誘発することが示されている(Herwaldら、Cell、2004年、116巻(3)、367~79頁)。LPSは、未知のメカニズムによってHBPの放出をやはり誘発することができる。(Rasmussenら、FEBS Lett、1996年、390巻(1)、109~12頁)。HBPの配列は公に入手可能であり(例えば、NCBI受諾番号NP_001691 REGION:27..248)、配列番号1として下記に転載する。

30

40

配列番号1

I V G G R K A R P R Q F P F L A S I Q N Q G R H F C G G A L I H A R F V M T A
A S C F Q S Q N P G V S T V V L G A Y D L R R R E R Q S R Q T F S I S S M S E N
G Y D P Q Q N L N D L M L L Q L D R E A N L T S S V T I L P L P L Q N A T V E A
G T R C Q V A G W G S Q R S G G R L S R F P R F V N V T V T P E D Q C R P N N V
C T G V L T R R G G I C N G D G G T P L V C E G L A H G V A S F S L G P C G R G
P D F F T R V A L F R D W I D G V L N N P G P

【0008】

1つ又は複数のSIRS診断基準を示す個体中のHBPレベルは、以前に調査されてい

50

なかった。本発明者らは、初めて、H B Pのレベルは重度の敗血症を引き続き発症する個体において上昇することを示した。H B Pレベルは、敗血症誘発性低血圧が記録される12時間前までに上昇するが、治療が実施されれば速やかに低下する。本発明者らは、初めて、重度の敗血症を引き続き発症する個体においてH B P / 白血球数 (W B C) 比が上昇することを示した。

【課題を解決するための手段】

【0009】

このように、本発明によれば、個体中のH B Pを測定するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとを含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを同定する方法を提供する。

10

【0010】

本発明の方法は、個体中のW B C又は好中球数 (N C) を測定するステップと、H B P / W B C比又はH B P / N C比をそれぞれ計算するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとをさらに含み得る。

【0011】

したがって、本発明の方法は、個体中のH B Pを測定するステップと、個体中のH B P / W B Cレベル又はH B P / N C比を計算するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとをさらに含み得る。

【0012】

本発明は、
個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定する際に使用する、H B Pを検出するための薬剤、

20

個体中のH B Pを検出するための薬剤を含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するための方法で使用する試験キット、

(i) 本発明の方法を用いて個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップと、

(i i) (i) において危険性があると同定された個体に、感染症の治療及び / 又は静脈内輸液に適する治療有効量の薬剤を投与するステップと

を含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性を低減する方法

をさらに提供する。

30

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】重度の敗血症グループ (n = 51)、敗血症グループ (n = 95)、S I R Sなしの感染症グループ (n = 44)、及び感染症なしのS I R Sグループ (n = 12) における、H B P濃度 (図1 a)、H B P / W B C比 (図1 b)、C R Pレベル (図1 c)、I L - 6レベル (図1 d)、及び乳酸レベル (図1 e) を示す図である。ボックス内のライン：中央値、ボックスの縁：4分値 (Q 1、Q 3)、ひげ：値の範囲、x及びo：患者番号によって同定された異常値。ラインは、図1 a及び図1 bそれぞれに対して、H B Pレベル20ng / ml及びH B P / W B C比2に対するカットオフ値を表す。

【図2】H B Pレベル及び / 又はH B P / W B C比、H B Pレベル、H B P / W B C比、乳酸、白血球数、C R P、並びにI L - 6に対するR O C曲線を示す図である。0, 0から1, 1までの直線は基準線である。対角のセグメントは連結によって生成される。

40

【図3】測定された血圧が最低である時間 (0時間の矢印によって示される) に対して、第1の血漿試料の採取からの時間に対してプロットした、重度の敗血症グループにおける各個体 (n = 51) に対するH B P / W B C比 (図3 a) 又はH B P濃度 (図3 b) を示す図である。図3 aにおける白丸は、H B P / W B C比はカットオフレベル未満に低下したがH B P濃度はカットオフレベルを上回ってスコア付けされた患者を表す。図3 bにおける白丸は、H B P濃度はカットオフレベル未満に低下したがH B P / W B C比はカットオフレベルを上回ってスコア付けされた患者を表す。

【図4】96時間にわたって重度の敗血症を有する患者16人 (図4 a)、及び72時間

50

にわたって敗血症、SIRSなしの感染症、又は感染症なしの患者7人(図4b)から採取した連続的な血漿試料中のHBP/WBC比における変化を示す図である。各ラインは個々の患者を表す。

【発明を実施するための形態】

【0014】

診断

本発明は、対象が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを同定する方法に関する。したがって、本発明は、重度の敗血症に対する個体の感受性の診断に関する。試験下の個体は、典型的に、重度の敗血症を発症する危険性があることが疑われる。個体は、典型的には哺乳動物である。哺乳動物は、典型的にはヒト、又はウマ、ウシ、ヒツジ、イヌ、若しくはネコなどの家畜哺乳動物である。個体はヒトであることが好ましい。

10

【0015】

個体は、確認され、若しくは疑われる感染症を有し、且つ/又はSIRS診断基準を1つ若しくは複数、又は2つ以上示すという理由から、重度の敗血症を発症する危険性があることが疑われ得る。SIRS診断基準は、以下のものである：

- (1) 発熱(体温 > 38)又は低体温(体温 < 36)
- (2) 心拍数 > 1分間あたり拍動90回
- (3) 呼吸数 > 1分間あたり呼吸20回又は $P a C O_2 < 32 \text{ mmHg}$ 、及び
- (4) 白血球数 > $12 (\times 10^9 \text{ 細胞/L})$ 又は $< 4 (\times 10^9 \text{ 細胞/l})$ 。

【0016】

確認され又は疑われる感染症は、典型的に、1つ若しくは複数の細菌性、寄生虫性、又は真菌性の感染症である。細菌性感染症は、1つ又は複数の、グラム陰性又はグラム陽性の細菌によって引き起こされ得る。1つ又は複数のグラム陰性細菌は、大腸菌(*Escherichia coli*)、クレブシエラ属(*Klebsiella spp*) (典型的には、肺炎桿菌(*K. pneumoniae*)又はクレブシエラオキシトカ(*K. oxytoca*))、エンテロバクター属(*Enterobacter spp*) (典型的には、エンテロバクタークロアカエ(*E. cloacae*)又はエンテロバクターアエロゲネス(*E. aerogenes*))、ボルデテラ属(*Bordetella spp*) (典型的には、気管支敗血症菌(*B. bronchiseptica*)、百日咳菌(*B. pertussis*)、又はパラ百日咳菌(*B. parapertussis*))、クラミジア属(*Chlamydia spp*) (典型的には、トラコーマクラミジア(*C. trachomatis*))、レジオネラ属(*Legionella spp*) (典型的には、レジオネラニューモフィラ(*L. pneumophila*))、シュードモナス属(*Pseudomonas spp*) (典型的には、緑膿菌(*P. aeruginosa*))、マイコプラズマ属(*Mycoplasma spp*) (典型的には、肺炎マイコプラズマ(*M. pneumoniae*))、インフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*)、霊菌(*Serratia marcescens*)、プロテウスミラビリス(*Proteus mirabilis*)、アシネトバクターバウマンニ(*Acinetobacter baumannii*)、ステノトロフォモナスマルトフィリア(*Stenotrophomonas maltophilia*)、並びに髄膜炎菌(*Neisseria meningitidis*) (典型的には、血清型A、B、C、H、I、K、L、X、Y、Z、29E、又はW135)から選択され得る。1つ又は複数のグラム陽性細菌は、スタフィロコッカス属(*Staphylococcus spp*) (典型的には、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)、又はコアグラエゼ陰性ブドウ球菌(*Staphylococci*))、レンサ球菌属(*Streptococcus spp*) (典型的には、肺炎レンサ球菌(*S. pneumoniae*)、又は化膿レンサ球菌(*S. pyogenes*))、並びに腸球菌属(*Enterococcus spp*) (典型的には、エンテロコッカスフェシウム(*E. faecium*)、又はエンテロコッカスフェカリス(*E. faecalis*))から選択され得る。真菌感染症は、カンジダアルビカンス(*Candida albicans*)、カンジダトロピカリス(*Candida*

20

30

40

50

tropicalis)、カンジダパラブシロシス(Candida parapsilosis)、カンジダクルセイ(Candida krusei)、カンジダグラブラタ(Candida glabrata)、及びアスペリギルスフミガーツス(Asperigillus fumigatus)から選択される1つ又は複数の真菌によって引き起こされ得る。

【0017】

確認され又は疑われる感染症は、身体の任意の部分に冒し得る。典型的な例には、肺、気道、肝臓、腎臓、尿路、皮膚(皮膚及び皮下)、心臓、胃、腸、血液、骨、関節、又はこれらのいずれかの組合せを冒す感染症が含まれる。確認され又は疑われる感染症は髄膜炎であってよい。

10

【0018】

感染症は、当技術分野で知られている診断の実践、例えば、個体から採取した試料の微生物培養、個体から採取した尿若しくは他の体液試料の抗原検査(特に、肺炎レンサ球菌及びレジオネラ属感染症に対して)、又はPCR分析(特に、細菌感染(例えば、マイコプラズマ、レジオネラ、クラミジア、及び百日咳菌)によって引き起こされる非定型肺炎に対して)によって確認することができる。より最近では、複数の細菌及び真菌の感染症に対する同時検査を可能にするマルチプレックスPCR技術が開発されている。

【0019】

感染症は、1つ又は複数の以下の全身症状が存在するという理由で疑われ得る: 38を超える発熱、悪寒、疼痛、うずき又は圧痛、全身疲労感、寝汗、及び発赤、熱、腫脹、若しくは疼痛の伴う創傷又は切開、或いは白色の、黄ばんだ、若しくは緑がかった体液を浸出する創傷又は切開。

20

【0020】

本発明は、1つ若しくは複数のさらなるリスクファクター、及び/又は重度の敗血症を発症する素因を1つ若しくは複数有する個体における感受性を確認するために用いることができる。重度の敗血症を発症する感受性を増大するリスクファクターには、典型的に、感染に対する感受性を増大する任意のファクターが含まれる。これらのファクターには、免疫系の弱化(即ち、個体が免疫無防備状態である)、或いは入院患者における静脈ライン、手術創、外科用ドレーン、又は褥瘡性潰瘍若しくは床ずれとして知られる皮膚の部分の衰えの存在が含まれ得る。糖尿病の個体は、重度の敗血症をより発症しやすい。本発明の診断方法は、危険性の予測を精練するために別のアッセイ又は遺伝子検査と組み合わせて行ってもよい。

30

【0021】

典型的に、個体は、慢性炎症に伴う疾患を有さず、及び/又はこのような疾患に特に伴う症状を示さない。このような疾患の例には、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、喘息、関節リウマチ、骨関節炎、及び腸の炎症性疾患、例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎、過敏性腸症候群、及び炎症性腸疾患が含まれる。個体が慢性炎症に伴う疾患を有さない場合、個体は、上記に定義した確認され若しくは疑われる感染症をさらに有し、且つ/或いは1つ若しくは複数の、又は2つ以上のSIRS診断基準を示す。

【0022】

典型的に、個体は重度の敗血症を有さず、又は重度の敗血症の診断をもたらす症状を示さない。典型的に、このような症状には、敗血症誘発性低血圧、臓器不全、又は灌流障害が含まれる。敗血症誘発性低血圧は、収縮期血圧<90mmHg、又は低血圧の他の原因の非存在下でのベースラインからの<40mmHgの低下と定義される。灌流障害には、それだけには限定されないが、低灌流、乳酸アシドーシス、乏尿、又は精神状態における急性変化が含まれ得る。重度の敗血症には、下位範疇として敗血症ショックの状態が含まれる。この状態は、灌流障害の存在と一緒に、十分な初期輸液があるにもかかわらず敗血症誘発性低血圧が存在することによって特に定義される。強心薬又は昇圧薬を投与されている個体は、灌流障害が測定された時点では低血圧ではないことがある。

40

【0023】

50

本発明は、個体中のHBPのレベルを測定することを伴う。典型的に、HBPのレベルは、個体から採取した体液試料中のHBPの濃度を決定することによって測定する。本発明によれば、ベースラインレベル又は濃度に比べたHBPのレベルの上昇は、個体が重度の敗血症の発症に対して感受性がある、又は危険性があることを示している。ベースラインレベルは、典型的に、重度の敗血症を発症する危険性があると疑われるが、重度の敗血症を引き続き発症しない個体中のHBPのレベルである。例えば、本発明者らは、HBPのレベルを個体から採取した血漿試料中のHBPの濃度を決定することによって測定する場合、重度ではない敗血症を発症する個体はHBP濃度の中央値が約8.5 ng/mlであり、確認され又は疑われる感染症を有するが1つ以下のSIRS診断基準を示す個体はHBP濃度の中央値が約6.5 ng/mlであり、感染症の非存在下で2つ以上のSIRS診断基準を示す個体はHBP濃度の中央値が約9 ng/mlであることを示した。重度の敗血症を発症する危険性があると疑われるが引き続き重度の敗血症を発症しない個体の全カテゴリーに対するHBP濃度の中央値は、約8 ng/mlである。

10

【0024】

本発明において、個体から採取した体液試料において、重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBPの濃度の増大は、典型的に、約15 ng/mlを超え、又は約16、17、18、19、20、21、22、23、若しくは24 ng/mlを超える。重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBPの濃度の増大は、約20 ng/mlを超えることが好ましい。

【0025】

本発明によれば、重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBPレベル又は濃度における増大は、ベースラインレベル又は濃度に対して、少なくとも2倍、2.5倍、又は3倍である。重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBPレベル又は濃度における増大は、ベースラインレベル又は濃度に対して少なくとも2.5倍であることが好ましい。

20

【0026】

したがって、本発明は、重度の敗血症を発症する危険性を決定する、HBP/白血球数(WBC)の比の評価も含むことがある。

【0027】

本発明によれば、ベースライン比に比べたHBP/WBC比の増大は、個体が重度の敗血症の発症に対して感受性がある、又は危険性があることを示している。ベースライン比は、典型的に、重度の敗血症を発症する危険性があると疑われるが重度の敗血症を引き続き発症しない個体中のHBP/WBC比である。体液試料中のHBPの濃度をng/ml単位で測定し、血液試料中のWBCを細胞数($\times 10^9$)/l単位で測定する場合、本発明者らは、例えば、重度ではない敗血症を発症する個体のHBP/WBC比の中央値は約0.7:1であり、確認され又は疑われる感染症を有するが1つ以下のSIRS診断基準を示す個体のHBP/WBC比の中央値は約0.85:1であり、感染症の非存在下で2つ以上のSIRS診断基準を示す個体のHBP/WBC比の中央値は約0.9:1であることを示した。重度の敗血症を発症する危険性があると疑われるが引き続き重度の敗血症を発症しない個体の全カテゴリーに対するHBP/WBC比の中央値は、約0.75:1である。

30

40

【0028】

本発明において、体液試料中のHBPの濃度をng/ml単位で測定し、血液試料中のWBC数を細胞数($\times 10^9$)/l単位で測定する場合、重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/WBC比の増大は、典型的に、約1.4:1を超え、又は約1.5:1、1.6:1、1.7:1、1.8:1、1.9:1、2.0:1、2.1:1、2.2:1、2.3:1、若しくは2.4:1を超える。重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/WBC比の増大は、約2.0:1を超えることが好ましい。

【0029】

50

本発明によれば、重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/WBC比における増大は、ベースライン比に比べて、少なくとも1.5倍、2倍、2.5倍、又は3倍である。重度の敗血症を発症する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/WBC比における増大は、ベースライン比に比べて少なくとも2.5倍であることが好ましい。

【0030】

本発明者らは、重度の敗血症を発症する危険性があると疑われる個体中の平均好中球数(NC)は、白血球数(WBC)の約80%であると決定した。本発明は、重度の敗血症を発症する危険性を決定するためにHBP/NCの比をやはり評価することもできる。

【0031】

本発明によれば、ベースライン比に比べたHBP/NC比の増大は、個体が重度の敗血症の発症に対して感受性がある、又は危険性があることを示している。ベースライン比は、典型的に、感染症を有さず、且つ/又はあらゆるSIRS診断基準を示さない個体中のHBP/NC比である。体液試料中のHBPの濃度をng/ml単位で測定し、血液試料中のNC数を細胞数($\times 10^9$)/l単位で測定する場合、本発明者らは、例えば、重度ではない敗血症を発症する個体のHBP/NC比の中央値は約0.55:1であり、確認され又は疑われる感染症を有するが、1つ以下のSIRS診断基準を示す個体のHBP/NC比の中央値は約0.65:1であり、感染症の非存在下で2つ以上のSIRS診断基準を示す個体のHBP/NC比の中央値は約0.7:1であることを示した。重度の敗血症を発症する危険性があると疑われるが、重度の敗血症を引き続き発症しない個体の全カテゴリーに対するHBP/NC比の中央値は、約0.6:1である。

10

20

【0032】

本発明において、体液試料中のHBPの濃度をng/ml単位で測定し、血液試料中のNC数を細胞数($\times 10^9$)/l単位で測定する場合、重度の敗血症の発症に対する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/NC比の増大は、典型的に、約1.1:1を超え、又は約1.2:1、1.3:1、1.4:1、1.5:1、1.6:1、1.7:1、1.8:1、若しくは1.9:1を超える。重度の敗血症の発症に対する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/NC比の増大は、約1.6:1を超えることが好ましい。

【0033】

本発明によれば、重度の敗血症の発症に対する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/NC比における増大は、ベースライン比に対して少なくとも1.5倍、2倍、2.5倍、又は3倍である。重度の敗血症の発症に対する感受性又は危険性の増大に伴うHBP/NC比における増大は、ベースライン比に対して少なくとも2.5倍であることが好ましい。

30

【0034】

本発明は、典型的に、個体から得た試料に対して*in vitro*で行う。試料は、典型的に、個体の体液を含む。試料は血液、血漿、血清、尿、脳脊髄液、又は関節液の試料であることが好ましい。試料は血液試料であることが最も好ましい。典型的に、試料を、例えば遠心分離によって処理加工した後、アッセイする。典型的には、試料を、好ましくは-70 未満で貯蔵した後アッセイしてもよい。

【0035】

当技術分野で知られている標準方法を用いて、HBPのレベルをアッセイしてもよい。これらの方法は、典型的に、HBPを検出するための薬剤を用いることを伴う。薬剤は、典型的に、HBPに特異的に結合する。薬剤はHBPに特異的な抗体であってよい。特異的であることにより、薬剤又は抗体は、任意の他の分子、特に任意の他のタンパク質に対する重大な交差反応性なしにHBPに結合することが理解されよう。例えば、HBPに特異的な薬剤又は抗体は、ヒト好中球のエラスターゼとの重大な交差反応性を示さない。交差反応性は、任意の適切な方法によって評価され得る。

40

【0036】

本発明の方法において用いられる抗体は、抗体全体でもよく、又はHBPに結合することができるそのフラグメントであってよい。抗体はモノクローナルであってよい。この

50

ような抗体全体は、典型的に、当技術分野では知られている任意の適切な方法によって生成される抗体である。例えば、ポリクローナル抗体は、哺乳動物、典型的にはウサギ又はマウスを、適切な条件下でH B Pで免疫化し、抗体分子を、例えば前記哺乳動物の血清から単離することによって得ることができる。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ又は組換えの方法によって得ることができる。

【0037】

ハイブリドーマ法は、哺乳動物、典型的にはウサギ又はマウスを、適切な条件下でH B Pで免疫化し、次いで、前記哺乳動物の脾臓細胞を収集し、それらをミエローマ細胞と融合することを伴う。次いで、融合した細胞の混合物を希釈し、単一の親細胞からクローンを増殖させる。次いで、様々なクローンによって分泌された抗体を、それらがH B Pに結合する能力に対して試験し、次いで、最も増殖性で安定なクローンを培地において高体積に増殖させる。分泌された抗体を回収し、精製する。

10

【0038】

組換えの方法は、ファージ又は酵母菌の様々な免疫グロブリン遺伝子セグメントの中にクローニングして、アミノ酸配列がわずかに異なる抗体のライブラリーを作製することを伴う。H B Pに結合する抗体を生じるこれらの配列を選択し、配列を、例えば生成用に細菌細胞系中にクローニングしてもよい。

【0039】

典型的に、抗体は、霊長動物、ヒト、齧歯動物（例えば、マウス若しくはラット）、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウマ、又はラクダの抗体などの哺乳動物の抗体である。抗体は、ラクダ科動物の抗体、又はサメの抗体であってよい。抗体は、ナノボディであってよい。抗体は、抗体の任意のクラス又はアイソタイプ、例えばI g Mであってよいが、I g Gであることが好ましい。

20

【0040】

方法において用いることができる抗体全体のフラグメントは、抗原結合性部位、例えば、F a b又はF (a b) 2フラグメントを含む。抗体全体又はフラグメントは、2つ以上のフラグメント又は抗体と一緒に連結するのに用いることができるリンカーなどの他の部分に結合してよい。このようなリンカーは化学リンカーであってよく、又は、フラグメント若しくは抗体全体との融合タンパク質の形態で存在することができる。このようにリンカーは、抗体全体、又は、例えば、同じ若しくは異なる多型に結合することができる、同じ若しくは異なる結合特異性を有するフラグメントと一緒に連結するのに用いられ得る。抗体は、2つの異なる抗原に、典型的に、本明細書で言及する多型のいずれか2つに結合することができる2特異性抗体であってよい。抗体は、2つの可変ドメインを背中合わせで連結することによって形成される「ダイアボディ」であってよい。方法において用いられる抗体が、異なる特異性の異なる抗原結合性部位を有する上記の形態のいずれかに存在する場合、典型的に、これらの異なる特異性は異なるポジションの、又は異なるタンパク質に対する多型に対するものである。一実施形態において、抗体は、ヒト化抗体など、異なる天然の抗体からの配列を含むキメラ抗体である。

30

【0041】

H B Pレベルを評価するための方法は、H B Pに特異的に結合することができる薬剤又は抗体と試料を接触させることを典型的に伴う。このような方法には、ディップスティックアッセイ、及び酵素標識免疫吸着測定法（E L I S A）が含まれ得る。典型的に、ディップスティックは、H B Pに特異的に結合する抗体又はタンパク質を1つ又は複数含む。2つ以上の抗体が存在する場合、抗体がH B Pに同時に結合することができるように、異なる重複しない決定基を有することが好ましい。

40

【0042】

E L I S Aは、異種性の、試薬の分離を必要とする固相アッセイである。E L I S Aは、典型的に、サンドイッチ技術、又は競合技術を用いて行われる。サンドイッチ技術は抗体2つを必要とする。第1は、H B Pに特異的に結合し、固体支持体に結合している。第2の抗体は、典型的に、酵素のコンジュゲートであるマーカーに結合している。酵素に対

50

する基質を用いてHBP-抗体複合体を定量し、したがって試料中のHBPの量を定量する。抗原競合的阻害アッセイは、典型的に、支持体に結合しているHBP特異的抗体をやはり必要とする。HBP-酵素コンジュゲートを、アッセイする(HBPを含む)試料に加える。HBP-酵素コンジュゲートと非標識のHBPの間の競合的阻害により、試料中のHBPの量の定量が可能になる。ELISA反应用的の固体支持体がウェルを含むことが好ましい。

【0043】

本発明は、抗体を含まない、HBPを測定する方法も使用することもできる。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分離及び蛍光検出を、HBPレベルを決定する方法として用いることが好ましい。先に記載したHPLC装置及び方法を用いることができる(Tsikass Dら、J Chromatogr B Biomed Sci Appl、1998年、705巻、174~6頁)。HPLCの間の分離は、典型的に、サイズ又は荷電に基づいて行われる。HPLCの前に、内在性のアミノ酸、及び内部標準のL-ホモアルギニンを典型的にアッセイ試料に加え、これらがCBAカートリッジ(Varian Harbor City, CA)上に抽出される相である。試料内のアミノ酸を、o-フタルアルデヒド(OPA)で誘導体化することが好ましい。アッセイの正確さ及び精度を、アミノ酸すべてに対する精度管理試料内で決定することが好ましい。

10

【0044】

当技術分野で知られている標準方法を用いて、個体中の白血球数又は好中球数を測定してもよい。このような方法には、自動化の、又は手動の計数が含まれていた。

20

【0045】

本発明は、個体中のHBPレベルを測定し、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するための手段を含む診断用キットをさらに提供する。キットは、典型的に、HBPに特異的に結合する抗体を1つ又は複数含む。例えば、キットは、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、単鎖抗体、キメラ抗体、CDR-グラフト抗体、又はヒト化抗体を含んでよい。抗体は、インタクトな免疫グロブリン分子、又はそのフラグメント、例えば、Fab、F(ab')₂、又はFvフラグメントであってよい。2つ以上の抗体が存在する場合、抗体は、HBPに同時に結合することができるように、異なる、重複しない決定基を有することが好ましい。

30

【0046】

キットは、個体中のWBC数を測定するための手段をさらに含むことができる。

【0047】

キットは、上記で言及した方法のいずれかの実施形態を実施できるようにする他の試薬又は装置を1つ又は複数さらに含むことができる。このような試薬又は装置には、以下の1つ又は複数が含まれる：適切な(1つ若しくは複数の)バッファー(水溶液)、HBPを試料から単離するための手段、個体から試料を得るための手段(容器若しくは針を含む器具など)、又はその上で定量反応を行うことができるウェルを含む支持体。キットは、任意選択で、キットを本発明の方法において用いることができるようにする指示、又はどの個体に対して方法を実施できるかに関する詳細を含んでよい。

40

【0048】

治療

本発明は、本発明の方法によって重度の敗血症を発症する危険性があると同定された個体の治療にも関する。したがって、重度の敗血症を発症する危険性を低減するのに用いる物質を、本発明の方法によって重度の敗血症を発症する危険性があると同定された個体の治療に用いる薬物の製造に用いることができる。本発明の方法によって重度の敗血症を発症する危険性があると同定された個体の状態は、したがって、このような物質の投与によって改善され得る。このように、重度の敗血症を防止することができる。重度の敗血症を発症する危険性を低減するのに有用な治療有効量の物質を、本発明の方法によってそれを必要とする同定された個体に投与することができる。重度の敗血症を発症する危険性を低減するのに適する物質は、典型的に、1つ若しくは複数の抗生物質、及び/又は1つ若

50

しくは複数の静脈内輸液を含む。1つ又は複数の抗生物質は、典型的に、広域抗生物質である。広域抗生物質は、典型的に、1つ又は複数のアミノグリコシド、セファロsporin、フルオロキノロン、リンコサミド、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、又はテトラサイクリンから選択される。例えば、適切な抗生物質には、それだけには限定されないが、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、セファゾリン、セファレキシン、セファピリン、セフラジン、セフロキシム、セフィキシム、セフォタキシム、セフトジジム、セフトゾキシム、セフトリアキソン、シプロフロキサシン、レボフロキサシン、オフロキサシン、クリンダマイシン、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、アモキシシリン、アンピシリン、アンピシリン - スルバクタム、クロキサシリン、ジクロキサシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンGベンザチン、ペニシリンGカリウム、ペニシリンGプロカイン、ペニシリンVカリウム、ピペラシリン、チカルシリン、チカルシリン - クラブラン酸カリウム、ピリメタミン - スルファドキシム、スルファジジン (S u l f a d i z i n e)、スルフィソキサゾール、スルフメトキサゾール (s u l f m e t h o x a z o l e)、トリメトプリム - スルファメトキサゾール、クロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、及びテトラサイクリンが含まれる。

10

【0049】

本発明による、重度の敗血症を発症する危険性を低減するのに有用な物質は、典型的に、薬学的に許容できる担体又は希釈剤と一緒に、本発明において投与するために調合される。製薬上の担体又は希釈剤は、例えば、等張溶液であってよい。例えば、固体の経口用の形態は、有効物質と一緒に、希釈剤（例えば、ラクトース、デキストロース、ショ糖、セルロース、コーンスターチ、又はパレイショデンプン）、滑沢剤（例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム若しくはカルシウム、及び/又はポリエチレングリコール）、結合剤（例えば、デンプン、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、又はポリビニルピロリドン）、脱凝集剤（例えば、デンプン、アルギン酸、アルギン酸塩、又はデンプングリコール酸ナトリウム）、飽和剤、色素、甘味剤、湿潤剤（例えば、レシチン、ポリソルベート、ラウリル硫酸）、並びに、一般的に、薬剤製剤において用いられる非毒性の薬理的に不活性な物質を含むことができる。このような薬剤調製物は、知られている様式において、例えば、混合、顆粒化、成形、糖衣、又はフィルムコーティングのプロセスによって製造され得る。

20

30

【0050】

経口投与用の液体分散剤は、シロップ剤、乳剤、又は懸濁剤であってよい。シロップ剤は、担体として、例えば、ショ糖、又はグリセリン及び/若しくはマンニトール及び/若しくはソルビトールと一緒にショ糖を含むことができる。

【0051】

懸濁剤及び乳剤は、担体として、例えば、天然ゴム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、又はポリビニルアルコールを含むことができる。筋肉内注射用の懸濁剤又は液剤は、有効物質と一緒に、薬学的に許容できる担体、例えば、滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール（例えば、プロピレングリコール）、及び所望により適切な量の塩酸リドカインを含むことができる。

40

【0052】

静脈内投与用の液剤又は注入剤は、担体として、例えば、滅菌水を含むことができ、又は好ましくは、これらは滅菌の、水性の、等張の食塩水溶液の形態であってよい。

【0053】

重度の敗血症の防止に用いられる治療有効量の物質を、本発明の方法に従って同定された患者に投与する。例えば、抗生物質の投与量は、様々なパラメータに従って、特に用いられる物質；治療する患者の年齢、体重、及び状態；投与経路；並びに必要とされるレジメンに従って決定することができる。繰り返すが、医師は、任意の特定の患者に対して必要とされる投与経路及び投与量を決定することができる。典型的な1日量は、特定の抗生物質の活性、治療する対象の年齢、体重、及び状態、並びに投与の頻度及び経路に従って

50

、体重1kgあたり約0.1mgから50mgまでである。好ましくは、1日投与量のレベルは5mgから2gまでである。この投与量を、単一投与量として提供してもよく、又は複数回投与量として提供してもよく、例えば、定期的な間隔で投与して、例えば毎日2、3、又は4回投与する。

【0054】

以下の実施例は本発明を説明するものである。

【実施例】

【0055】

1. 方法

試験参加者

感染症を臨床的に疑われる成人患者202人が、2006年3月と2007年4月の間に、スウェーデン、Lund University Hospital、Infectious Disease Clinicの前向き研究に登録された。組入れ基準は、発熱 >38 及び抗生物質治療24時間未満であった。抗生物質治療の持続期間、人口統計、SIRS診断基準、及び収縮期血圧(SBP)を入院時に記録した。C反応性タンパク質(CRP)、乳酸、及びWBC数を分析し、HBP、IL-6レベルを後に分析するための血漿試料を入院から12時間以内に得た。20人の患者において、連続的な血漿試料を、SIRS診断基準及びSBPの記録と平衡して96時間まで得た。退院後、最終の診断及び28日間の死亡率を記録し、患者をSIRS診断基準に従って分類した(Bonera、Chest、1992年、101巻(6)、1644~55頁)。

10

20

【0056】

重度の敗血症(グループ1)を、敗血症の存在、及び血液試料採取24時間以内のベースラインからSBP <90 mmHg又は >40 mmHg SBPの低下と定義し、敗血症(グループ2)を感染症と一緒に2つ以上のSIRS診断基準を示すものと定義し、敗血症なし(グループ3)を感染症と一緒にSIRS診断基準を1つ示すものと定義し、感染症なし(グループ4)を感染症ではない最終の診断と一緒に2つ以上のSIRS診断基準を示すものと定義した。

【0057】

最終の感染症の診断は、肺炎($n=61$)、上気道感染症($n=35$)、尿路感染症($n=38$)、皮膚及び皮下の感染症($n=29$)、心内膜炎($n=4$)、胃腸炎($n=12$)、又は局所感染症を含む他の感染症($n=11$)であった。患者35人(17%)において菌血症が診断された(グラム陰性菌17人及びグラム陽性菌18人)。2つ以上のSIRS診断基準を示す、感染症ではない診断は、肺塞栓症及び全身性血管炎であった。血液試料を、4mLプラスチック製血漿クエン酸チューブ中に採取し、即座に3000rpmで10分間遠心分離し、分割して、分析まで -70 で貯蔵した。

30

【0058】

HBP、IL-6、CRP、乳酸、WBC、及びHBR/WBC比の分析

HBPの濃度(ng/ml)を、(Tapperら、Blood、2002年、99巻(5)、1785~93)に記載されているサンドイッチELISAによって決定した。血漿試料をPBS中1/40に希釈し、2回行った。組換えヒトHBPを生成し、(Rasmussenら、FEBS Lett、1996年、390巻(1)、109~12頁)に記載されている通りに精製した。組換えHBPに対するマウスモノクローナル抗体(2F23A)及びウサギ抗血清(409A)を準備し、(Lindmarkら、J. Leukoc. Biol、1999年、66巻(4)、634~43頁)に記載されている通りに精製し、それぞれ1/3000及び1/7000で用いた。Bio-Rad Laboratories(Richmond、CA)から入手したペルオキシダーゼコンジュゲートしたヤギ抗ウサギIgGを1/3000で用いた。HBP/WBC比を、HBP濃度(ng/ml)をWBC($\times 10^9$ 細胞/L)で除して算出した。

40

【0059】

IL-6を、市販のヒトIL-6キット(Quantikine、R&D System

50

ms、UK) 検出限界 3 pg/mL で測定した。血漿試料を 1/40 に希釈した。CRP 及び乳酸の分析を、乳酸分析用の試料をシュウ酸 - フッ化物チューブの代わりに血漿用クエン酸チューブから採取した以外は製造元の記載に従って、Roche Diagnostics (Mannheim, Germany) から入手した試薬で Roche Hitachi Modular-P 上で行った。

【0060】

白血球数 (WBC) を、製造元の記載 (Sysmex) に従って、Sysmex XE 2100 において測定した。

【0061】

統計学的分析

データを、中央値、四分位数間範囲として表す。有意性検定を Mann-Whitney の順位和検定を用いて行った。両側の p 値 < 0.05 を統計学的に有意とみなした。受信者動作特性 (ROC) 曲線 (DeLongら、Biometrics、1988年、44巻(3)、837~45頁) 及び曲線下面積 (AUC) を、HBP、HBP/WBC比、CRP、WBC、及び IL-6 に対して決定した。AUC 値を 95% 信頼区間 (95% CI) と一緒に報告する。感度、特異性、正の予測値、及び負の予測値を、クロス集計から計算した。正の尤度比及び負の尤度比も、表 1 に報告する。

【0062】

2. 結果

試験参加者の特徴

組入れ基準を満たした患者 202 人が含まれた。患者を以下の 4 グループに分類した：重度の敗血症を有する患者 51 人 (グループ 1)、敗血症を有する患者 95 人 (グループ 2)、敗血症ではない患者 44 人 (グループ 3)、及び感染症ではない患者 12 人 (グループ 4)、4 グループの年齢の中央値及び男/女比は、それぞれ、62 歳、31/21；57 歳、42/53；44 歳、15/29、及び 73 歳、11/1 であった。菌血症は、グループ 1、2、及び 3 における患者それぞれ 22 人、11 人、及び 2 人に見られた。

【0063】

試験参加者における HBP レベル及び HBP/WBC 比の分析

入院時、重度の敗血症グループでは HBP レベルは有意に高く ($p < 0.0001$) (図 1 a)、グループ 2、グループ 3、及びグループ 4 それぞれにおける患者 1 人/95 人、0 人/44 人、及び 0 人/12 人に比べて、42 人/51 人の患者が 20 ng/mL のカットオフレベルを超えていた。又、重度の敗血症グループにおける患者は、他のグループに比べて有意に ($p < 0.0001$) 高い HBP/WBC 比を示した (図 1 b)。重度の敗血症グループにおける患者 44 人/51 人、敗血症グループにおける患者 2 人/95 人、敗血症ではないグループにおける患者 0 人/44 人、及び感染症ではないグループにおける患者 0 人/12 人に、2.0 を超える HBP/WBC 比が見られた。さらに、重度の敗血症グループにおいて 47 人/51 人の患者が血漿 HBP レベル > 20 ng/mL 又は HBP/WBC 比 > 2.0 のいずれかである、それに対して敗血症グループにおける患者は 2 人/95 人、及び他の 2 グループにおける患者 0 人であった (表 1)。

【0064】

同様に、CRP、IL-6、及び乳酸レベルも、重度の敗血症グループにおいて有意に高かった ($p = 0.003$ 、 $p < 0.0001$ 、 $p < 0.0001$) が、グループ間にはかなりの重複があった (図 1 c ~ e)。

【0065】

HBP レベル及び HBP/WBC 比の予測値の分析

現在の試験において重度の敗血症の罹患率が 25% であると仮定すると、以下の変数は、計算した CRP 及び IL-6 のすべての異なるカットオフレベルに比べて重度の敗血症を診断する上で、特異性、感度、正の予測値 (PPV)、負の予測値 (NPV)、正の尤度比 (PLR)、及び負の尤度比 (NLR) がより良好であることを示していた：

HBP レベル > 20 ng/mL であれば、個体が重度の敗血症を発症することを示し、

10

20

30

40

50

又は

HBP/WBC比 >2.0 であれば、個体が重度の敗血症を発症することを示し、又はHBPレベル $>20\text{ ng/ml}$ 若しくはHBP/WBC比 >2.0 のいずれかであれば、個体が重度の敗血症を発症することを示す。

【0066】

これらの所見を表1a、1b、及び1cに要約し、ROC曲線(図2)によって裏付ける。ROC曲線の統計学的分析を表2に示す。

【0067】

HBPレベル及びHBP/WBC比は臨床症状の開始前に重度の敗血症を予測する

重度の敗血症グループにおける患者51人中20人において、最低のSBPに達する最高12時間前にHBP値が上昇した(図3a及び3b)。HBPレベルは、十分な抗生物質及び静脈内輸液で治療し、合併症なしで回復した患者11人において24時間以内に速やかに低下した。しかし、患者が循環性の不安定なHBPレベルを持続した5症例において上昇したままであり、これらの患者の1人がデータに組み入れた28日以内に死亡した(図4a)。

10

【0068】

死亡した患者全5人において、全員が重度の敗血症のグループであり、全員がHBPの上昇した試料を最後に採取して1~4日以内に死亡した。その後連続して試料採取した敗血症患者6人及び敗血症ではない患者1人においてHBPレベルは 20 ng/ml 未満のままであった(図4b)。

20

【0069】

重度の敗血症グループにおける患者20人は、入院時にはHBPレベル又はHBP/WBC比が上昇したがSBPは正常であり、これらの指標は標準の臨床診断が可能である前に重度の敗血症を予測することができることを指摘していた。これは、3日間、発熱、下痢、及び嘔吐の病歴を表していた70歳の女性によって例示される。医師の診察では、発熱 38°C 、脈拍数 100 であるがSBPは 130 mmHg で正常であった他は注目すべき点がなく、患者は胃腸炎の仮診断で入院した。患者に晶質液 1000 ml をi.v.投与した。6時間後、患者はSBP 70 mmHg の重度の低血圧、呼吸困難を発症し、即座にICUに移され、大腸菌(*E. coli*)敗血症による播種性血管内凝固症候群を有するARDS(成人呼吸窮迫症候群)と後に診断された。入院時、患者のHBPレベルは 80 ng/ml であり、HBP/WBC比は 4.2 であった。

30

【表 1 - 1】

表1a: 重度の細菌性敗血症の診断における試験した変数の感度、特異性、
 正の予測値、負の予測値、正の尤度比、及び負の尤度比

変数	カットオフ	感度 %	特異性 %	PPV %	NPV %	PLR	NLR
HBP (ng/ml)	>20	82.4	99.3	97.7	94.3	118	0.18
HBP/WBC比 ratio	>2	86.3	98.7	95.6	95.5	66.4	0.14
HBP/WBC比 又は HBPレベル (ng/ml)	>2 又は >20	92.2	98.7	95.9	97.4	71	0.08
CRP (mg/l)	>50 >100 >150 >200	88.2 82.3 64.7 37.2	36.4 53.6 71.3 80.8	31.9 37.5 42.9 39.6	90.2 90.0 85.6 79.2	1.39 1.77 2.25 1.94	0.32 0.33 0.49 0.77
IL6 (pg/ml)	>100 >200 >500 >1000	78.4 62.7 47.0 43.0	72.8 77.5 84.0 90.0	49.4 48.5 50.0 59.5	91.0 86.0 82.5 82.4	2.88 2.78 2.94 4.30	0.30 0.48 0.63 0.23
乳酸(mmol/l)	>2.5 >2.0 >1.5 >1	27.5 41.2 52.9 88.2	98.0 91.8 77.6 46.3	82.4 63.6 45.0 36.3	79.6 81.8 82.6 91.9	13.7 5.0 2.4 1.6	0.74 0.64 0.61 0.25

10

20

30

40

【表 1 - 2】

表1b: 重度の細菌性敗血症の診断におけるHBPの様々なカットオフレベルの感度及び特異性

HBPカットオフ (ng/ml)	特異性	感度	
>15	95.1	88.2	10
>16	98.0	88.2	
>17	98.6	84.3	
>19	98.6	84.3	
>20	99.3	82.4	
>21	99.3	80.4	
>22	99.3	78.4	
>23	99.3	76.5	20
>24	99.3	74.5	

表1c: 重度の細菌性敗血症の診断におけるHBP/WBC比の様々なカットオフレベルの感度及び特異性

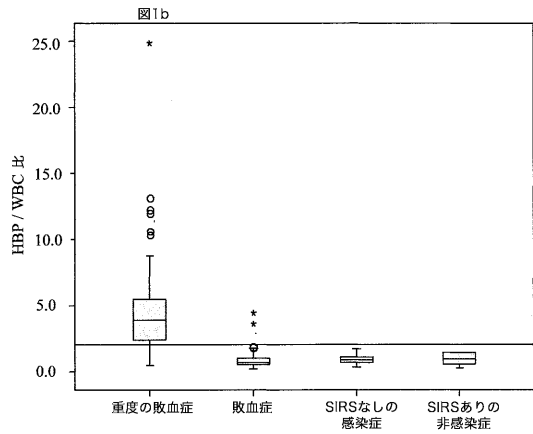
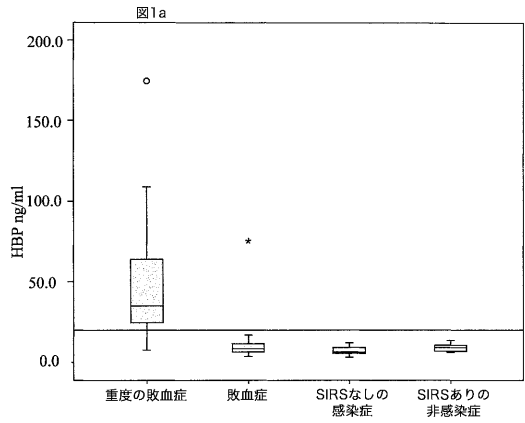
HBP/WBC 比カットオフ	特異性	感度	
1.4	87.1	92.2	30
1.5	95.0	88.2	
1.7	95.5	86.3	
1.8	96.3	86.3	
1.9	98.0	86.3	
2.0	98.6	86.3	
2.1	98.6	84.3	40
2.2	98.6	81.4	
2.3	98.6	78.4	
2.4	98.6	74.5	
3.6	99.3	54.9	

【表 2】

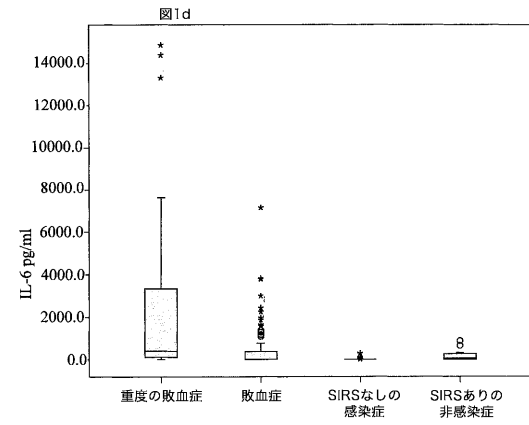
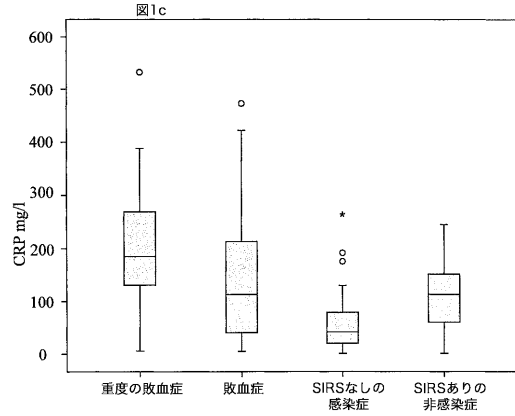
表2：重度の細菌性敗血症の診断における試験した変数に対するROC曲線の分析

試験結果 変数 (s)	曲線下 面積	標準誤差 (a)	漸近 有意性(b)	漸近 95% 信頼区間		
				下界	上界	
HBP (ng/ml)	.954	.017	.000	.920	.988	10
HBP/WBC 比	.949	.022	.000	.905	.993	
HBP/WBC 比 又は HBP レベル (ng/ml)	.960	.019	.000	.923	.997	20
CRP (mg/ml)	.719	.040	.000	.641	.797	
IL6 (pg/ml)	.789	.038	.000	.714	.863	
乳酸(mmol/l)	.769	.050	.000	.697	.841	
WBC 数	.511	.050	.820	.413	.608	30

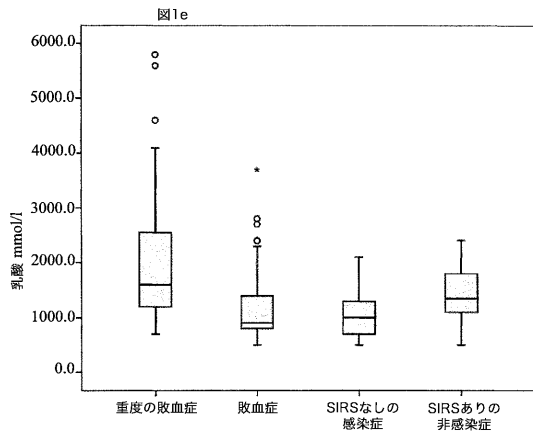
【 図 1 - 1 】



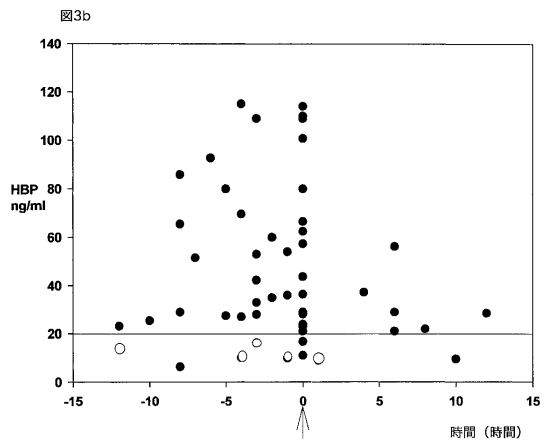
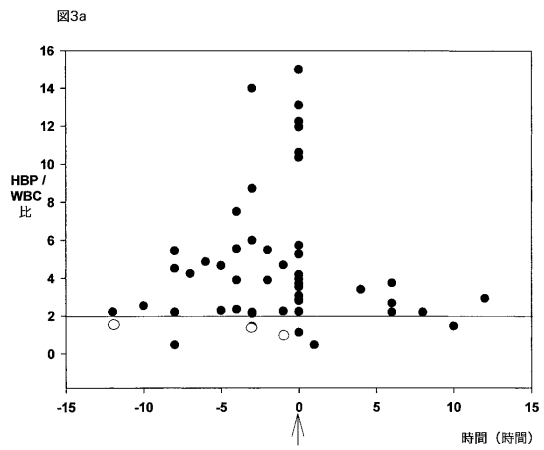
【 図 1 - 2 】



【 図 1 - 3 】

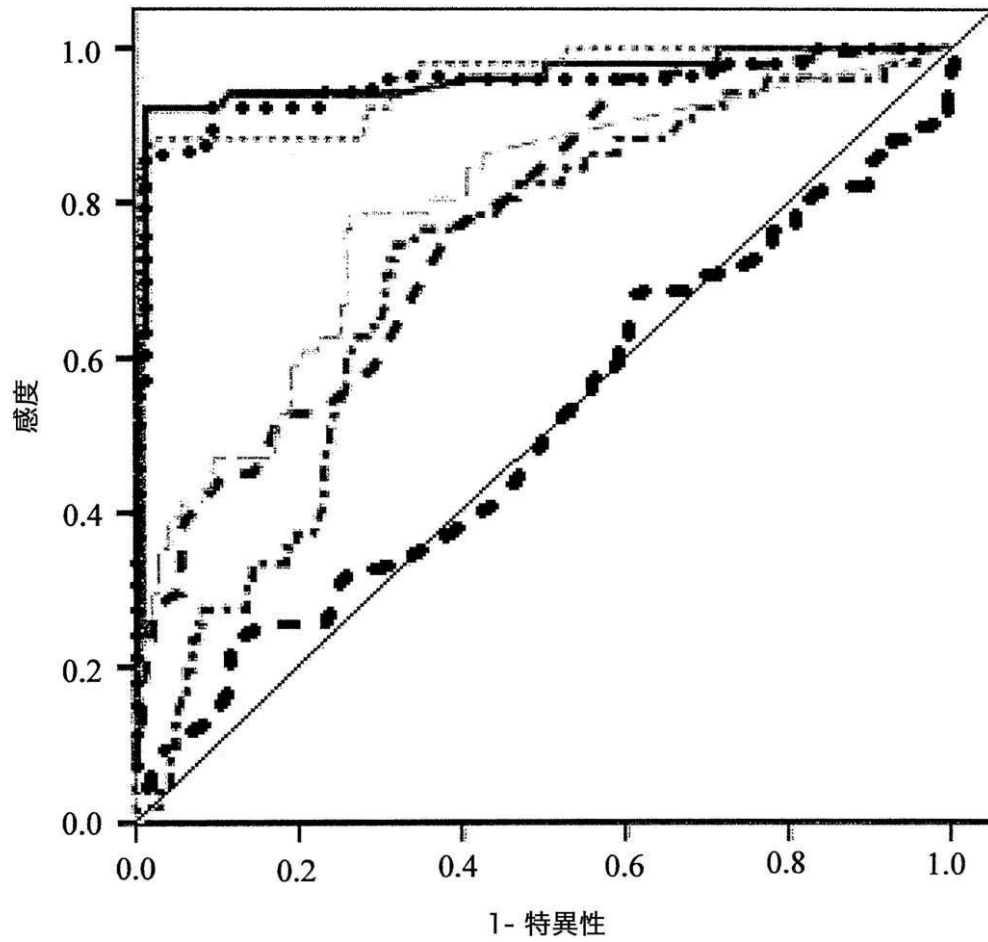


【 図 3 】



【 図 2 】

図2



- HBP 及び又は HBP/WBC 比
- HBP
- ◆◆◆ HBP/WBC 比
- ■ 乳酸
- ● WBC
- ◆ ◆ ◆ ◆ CRP
- IL-6
- 基準線

【 配列表 】

2010529468000001.app

【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成21年4月14日 (2009.4.14)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

個体中の H B P を測定するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとを含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを同定する方法。

【請求項 2】

個体から採取した体液試料中の H B P を測定する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

個体中の白血球数 (W B C) 又は好中球数 (N C) を測定するステップと、 H B P / W B C 比又は H B P / N C 比をそれぞれ計算するステップと、それによって個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップとをさらに含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

個体から採取した血液試料中の W B C 又は N C を測定する、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップが、 H B P の濃度が体液試料中 1 5 n g / m l もしくは 2 0 n g / m l を超えるか否かを決定するステップを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

体液試料中の H B P のレベル又は濃度が、 H B P のベースラインレベル又は濃度に対して少なくとも 2 . 5 倍増大する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 7】

体液試料中の H B P の濃度を n g / m l 単位で測定し、血液試料中の W B C を細胞数 ($\times 10^9$) / l 単位で測定する場合、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップが、 H B P / W B C 比が 2 を超えるか否かを決定するステップを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 8】

血液試料中の H B P / W B C 比又は H B P / N C 比が、それぞれベースラインの H B P / W B C 比又は H B P / N C 比に対して少なくとも 2 . 5 倍増大する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 9】

個体が、重度の敗血症を発症する危険性があることが疑われる、請求項 1 から 8 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

個体が、確認され若しくは疑われる感染症を有し、且つ / 又は 1 つ若しくは複数の S I R S 診断基準を示す、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

個体が、確認され若しくは疑われる感染症を有し、及び / 又は 2 つ以上の S I R S 診断基準を示す、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

確認され又は疑われる感染症が、肺、気道、肝臓、腎臓、尿路、皮膚 (皮膚及び皮下) 、心臓、胃、腸、血液、骨、関節、又はこれらのいずれかの組合せを冒している、請求項 10 又は 11 に記載の方法。

【請求項 13】

個体が、免疫無防備状態 ; 糖尿病 ; 静脈ライン、手術創、外科用ドレーン、若しくは褥瘡を有する入院患者 ; 又はこれらのいずれかの組合せである、請求項 9 から 12 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

個体が哺乳動物である、請求項 1 から 13 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

哺乳動物がヒトである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定する際に使用する、HBP 特異的抗体。

【請求項 17】

(i) 請求項 1 から 15 までのいずれか一項に記載の方法を用いて、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するステップと、

(ii) (i) において危険性があると同定された個体に、感染症の治療及び / 又は静脈内輸液に適する治療有効量の薬剤を投与するステップと

を含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性を低減する方法。

【請求項 18】

感染症の治療に適する薬剤が抗生物質である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

抗生物質が広域抗生物質である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

抗生物質がクリンダマイシンである、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 21】

個体中の HBP を検出するための薬剤と個体中の WBC を測定するための手段含む、個体が重度の敗血症を発症する危険性があるか否かを決定するための方法で使用する試験キット。

【手続補正書】

【提出日】平成22年2月16日(2010.2.16)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】図面

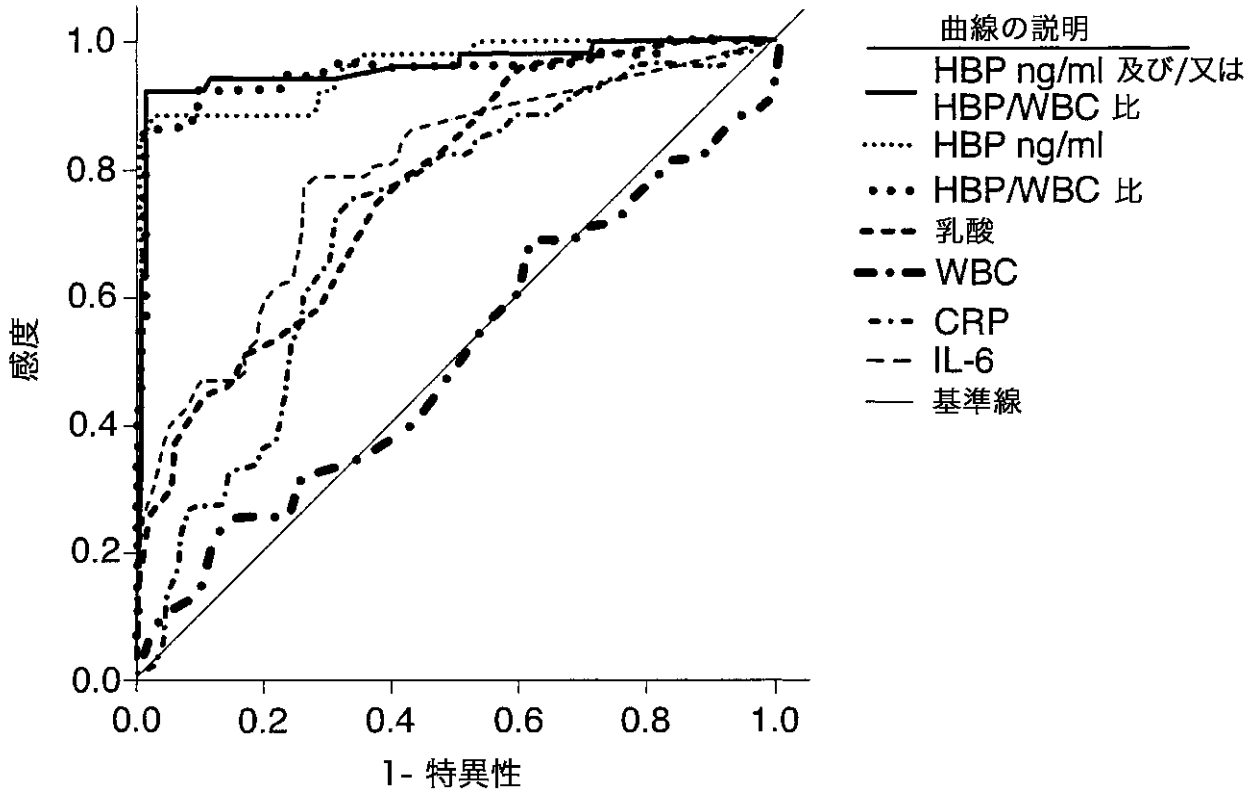
【補正対象項目名】図 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【 図 2 】

図2



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International application No PCT/EP2008/004743
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/00 G01N33/53		
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) A61K G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	US 2003/170745 A1 (PEREIRA HELOISE ANNE [US]) 11 September 2003 (2003-09-11) paragraphs 0017,0024,0059,0067-0069,0073.	1,2,5,6, 9-17,22 3,4,7,8, 18-21,23
X	WO 2004/088324 A (PROTEOGENIX INC [US]; ROSENFELD RON [US]; NAGALLA SRI [US]; GRAVETT MI) 14 October 2004 (2004-10-14) page 4, lines 4-20; page 7, lines 5-16; page 33, lines 10-34; page 34, lines 1-5, table2; page 59, lines 22-31; page 60, lines 1-10; page 61, lines 12-25; page 63, lines 23-25. ----- -/-	1,2,9, 14-17
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
<p>*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>*E* earlier document but published on or after the International filing date</p> <p>*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)</p> <p>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>*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</p> <p>*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</p> <p>*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.</p> <p>*Z* document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 9 September 2008		Date of mailing of the international search report 11/11/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Motrescu-Hateley, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/004743

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/028512 A (LEUKOTECH AS [DK]; DJURUP RENE [DK]; FLODGAARD HANS JAKOB [DK]; NORRIS) 31 March 2005 (2005-03-31) page 1, lines 5-11; page 10, lines 30-35; page 11, lines 12-32; pages 40-45.	22
Y	LENNARD E S ET AL: "IMPLICATIONS OF LEUKOCYTOSIS AND FEVER AT CONCLUSION OF ANTIBIOTIC THERAPY FOR INTRA ABDOMINAL SEPSIS" ANNALS OF SURGERY, vol. 195, no. 1, 1982, pages 19-24, XP002494881 ISSN: 0003-4932 the whole document	3,4,7,8, 18-21,23
Y	BOSSINK AILKO W J ET AL: "The clinical host response to microbial infection in medical patients with fever" CHEST, vol. 116, no. 2, August 1999 (1999-08), pages 380-390, XP002494882 the whole document	3,4,7,8, 18-21,23
Y	WEISS MANFRED ET AL: "Transient leukocytosis, granulocyte colony-stimulating factor plasma concentrations, and apoptosis determined by binding of annexin V by peripheral leukocytes in patients with severe sepsis." ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES, vol. 1010, December 2003 (2003-12), pages 742-747, XP002494883 the whole document	3,4,7,8, 18-21,23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2008/004743

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003170745 A1	11-09-2003	US 2007166768 A1	19-07-2007
WO 2004088324 A	14-10-2004	AU 2004225527 A1	14-10-2004
		CA 2560972 A1	14-10-2004
		CN 1795387 A	28-06-2006
		EP 1618388 A2	25-01-2006
		JP 2006524331 T	26-10-2006
		MX PA05010325-A	17-03-2006
		US 2004197930 A1	07-10-2004
WO 2005028512 A	31-03-2005	EP 1668034 A1	14-06-2006
		US 2007269437 A1	22-11-2007

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, 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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100097870

弁理士 梶原 齋子

(74)代理人 100140556

弁理士 新村 守男

(74)代理人 100114719

弁理士 金森 久司

(74)代理人 100143258

弁理士 長瀬 裕子

(74)代理人 100124969

弁理士 井上 洋一

(74)代理人 100132492

弁理士 弓削 麻理

(74)代理人 100163485

弁理士 渡邊 義敬

(72)発明者 ビヨルック、ラルス

スウェーデン国、ルンド、マグル ストラ キョルコガータ 10

(72)発明者 クリステンソン、ベルティル

スウェーデン国、ルンド、ポテュルフスガータン 5シー

(72)発明者 ハーワルド、ハイコ

スウェーデン国、ベベレド、キョルコガータン 8

(72)発明者 リンデル、アダム

スウェーデン国、ルンド、リタレグランデン 10

(72)発明者 アケッソン、ペル

スウェーデン国、ルンド、ステューデントガータン 25

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 DA36 DA77

4C086 EA16 ZB35

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2010529468A5	公开(公告)日	2011-07-28
申请号	JP2010511540	申请日	2008-06-12
[标]申请(专利权)人(译)	汉萨医疗公司		
申请(专利权)人(译)	汉莎医疗激活宝来获得		
[标]发明人	ビヨルックラルス クリステンソンベルティル ハーワールドヘイコ リンデルアダム アケッソンベル		
发明人	ビヨルック、ラルス クリステンソン、ベルティル ハーワールド、ヘイコ リンデル、アダム アケッソン、ベル		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/49 G01N33/53 A61K31/7056 A61P31/04		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2800/26 G01N33/569		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/49.A G01N33/53.D A61K31/7056 A61P31/04		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/DA36 2G045/DA77 4C086/EA16 4C086/ZB35		
代理人(译)	池田幸 新村守男 井上洋一		
优先权	2007011327 2007-06-12 GB		
其他公开文献	JP2010529468A JP5166522B2		

摘要(译)

已经证明，随后发生严重败血症的个体中HBP水平增加。因此，个体中的HBP，HBP / WBC比或HBP / NC比的水平可用于确定个体是否处于发展严重脓毒症的风险中。