

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6445840号
(P6445840)

(45) 発行日 平成30年12月26日 (2018.12.26)

(24) 登録日 平成30年12月7日 (2018.12.7)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68 Z N A
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D

請求項の数 10 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2014-220163 (P2014-220163)	(73) 特許権者	000181147
(22) 出願日	平成26年10月29日 (2014.10.29)		持田製薬株式会社
(65) 公開番号	特開2016-85198 (P2016-85198A)		東京都新宿区四谷1丁目7番地
(43) 公開日	平成28年5月19日 (2016.5.19)	(74) 代理人	100092783
審査請求日	平成29年8月23日 (2017.8.23)		弁理士 小林 浩
		(74) 代理人	100149010
			弁理士 星川 亮
		(74) 代理人	100104282
			弁理士 鈴木 康仁
		(72) 発明者	山下 浩平
			京都府京都市左京区吉田近衛町 国立大学
			法人京都大学大学院医学研究科内
		(72) 発明者	新井 康之
			京都府京都市左京区吉田近衛町 国立大学
			法人京都大学大学院医学研究科内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プレセプシン測定による血球貪食症候群の検出

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定する、血球貪食症候群の検出方法。

【請求項 2】

以下の工程を含む、請求項 1 に記載の検出方法；

被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記 s C D 1 4 - S T 濃度の測定値を基準値と比較する工程。

【請求項 3】

さらに以下の工程を含む請求項 2 に記載の検出方法；

前記測定値が前記基準値よりも高値である場合に、血球貪食症候群が検出されたと判定する工程。

【請求項 4】

さらに以下の工程を含む請求項 2 又は請求項 3 に記載の検出方法；

被検者由来の血液検体中の C 反応性蛋白濃度を測定して測定値を得る工程、前記 C 反応性蛋白濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも低値であるか否かを判定する工程。

【請求項 5】

さらに以下の工程を含む請求項 2 から請求項 4 のいずれか 1 項に記載の検出工程；

被検者由来の血液検体中のフェリチン濃度を測定して測定値を得る工程、

10

20

前記フェリチン濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、
前記測定値が前記基準値よりも高値であるか否かを判定する工程。

【請求項 6】

さらに以下の工程を含む請求項 2 から請求項 5 のいずれか 1 項に記載の検出工程；
被検者由来の血液検体中の乳酸脱水素酵素濃度を測定して測定値を得る工程、
前記乳酸脱水素酵素濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、
前記測定値が前記基準値よりも高値であるか否かを判定する工程。

【請求項 7】

前記被検者が、同種造血幹細胞移植を受けた患者である請求項 1 から請求項 6 のいずれ
か 1 項に記載の検出方法。

10

【請求項 8】

前記被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を、免疫学的測定法により測定す
る請求項 1 から請求項 7 のいずれか 1 項に記載の検出方法。

【請求項 9】

前記被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を、配列番号 2 に記載の 1 6 アミ
ノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体を用いて測定する請求項 1 から請求
項 8 のいずれか 1 項に記載の検出方法。

【請求項 1 0】

前記被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定して血球貪食症候群を検出
するためのキットであって、前記血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定する手段を含
むことを特徴とするキット。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、プレセプシン測定による血球貪食症候群の検出方法及び検出キットに関する
。

【背景技術】

【0 0 0 2】

血球貪食症候群（Hemophagocytic syndrome、以下「HPS」
とも称する。）は、マクロファージによる血球貪食を特徴とする疾患である。HPSは、
発熱、リンパ節浮腫、肝脾腫、汎血球減少、凝固異常、肝機能障害等の多彩な症状を呈す
ることが知られている（非特許文献 1）。また、HPSは極めて重篤な致死的疾患である
ため、正確に病態を把握し、適切な治療を開始することが求められる。一般的にHPSで
は、高フェリチン血症又は高乳酸脱水素酵素血症等の検査値異常が認められると考えられ
ている。

30

しかし、高フェリチン血症や高乳酸脱水素酵素血症を呈さない症例が存在するとの報告
もある（非特許文献 2 及び 3）。

そのため、HPSの診断に際しては、血球数、乳酸脱水素酵素値、LDH値等の検査値
の他に、臨床症状の確認と、骨髓、脾臓又はリンパ節等の病理組織における血球貪食像の
確認とを行う必要がある。

40

【0 0 0 3】

s C D 1 4 - S T（可溶性 C D 1 4 抗原サブタイプ、別名：プレセプシン（Prese
psin））は、血液中で細菌が増殖する全身感染症である敗血症の診断マーカーとして
有用であることが報告されている（特許文献 1）。

また、s C D 1 4 - S Tについては、白血球等が外来微生物等を貪食し消化する過程で
産生されることが報告されている。さらに、関節炎等のような局所における炎症や感染に
伴う貪食が生じている疾患においては、関節液等の局所検体中の s C D 1 4 - S T 濃度が
上昇することが報告されている。そのため、例えば、関節液中の s C D 1 4 - S T 濃度を
測定することにより、関節リウマチ等の疾患を検出することが可能であることが報告され

50

ている（特許文献2）。

一方、sCD14-STは、白血球等から産生されると推測されているため、化学療法等で白血球が減少している患者では菌感染があってもsCD14-ST濃度が高値を示さないことがあると報告されている（非特許文献4）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2005/108429号公報

【特許文献2】国際公開第2009/142303号公報

【非特許文献】

10

【0005】

【非特許文献1】南山堂 医学大辞典 19版 2006年3月10日発行

【非特許文献2】血栓止血学会誌（2008） 19（2）：210-215

【非特許文献3】Mod Rheumatol.（2004）：14：205-215

【非特許文献4】Cytokine（2013） 62（1）：34-37

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

簡便に測定可能なバイオマーカーを用いて、HPSを検出できる方法については、新たな技術開発が待ち望まれていた。

20

【0007】

本発明は、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して血球貪食症候群を簡便に検出する方法及びキットを提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は以下のとおりである。

<1> 被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定する、血球貪食症候群の検出方法。

<2> 以下の工程を含む、<1>に記載の検出方法；被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記sCD14-ST濃度の測定値を基準値と比較する工程。

30

<3> さらに以下の工程を含む<2>に記載の検出方法；前記測定値が前記基準値よりも高値である場合に、血球貪食症候群が検出されたと判定する工程。

<4> さらに以下の工程を含む<2>又は<3>に記載の検出方法；被検者由来の血液検体中のC反応性蛋白濃度を測定して測定値を得る工程、前記C反応性蛋白濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも低値であるか否かを判定する工程。

<5> さらに以下の工程を含む<2>から<4>のいずれか1つに記載の検出工程；被検者由来の血液検体中のフェリチン濃度を測定して測定値を得る工程、前記フェリチン濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも高値であるか否かを判定する工程。

40

<6> さらに以下の工程を含む<2>から<5>のいずれか1つに記載の検出工程；被検者由来の血液検体中の乳酸脱水素酵素濃度を測定して測定値を得る工程、前記乳酸脱水素酵素濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも高値であるか否かを判定する工程。

<7> 前記被検者が、同種造血幹細胞移植を受けた患者である<1>から<6>のいずれか1つに記載の検出方法。

<8> 前記被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を、免疫学的測定法により測定する<1>から<7>のいずれか1つに記載の検出方法。

<9> 前記被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を、配列番号2に記載の1

50

6 アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体を用いて測定する＜1＞から＜8＞のいずれか1つに記載の検出方法。

＜10＞ 前記被検者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して血球貪食症候群を検出するためのキットであって、前記血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定する手段を含むことを特徴とするキット。

＜11＞ 血球貪食症候群患者の治療方法であって、血球貪食症候群患者に血球貪食症候群治療剤を投与することを含み、前記血球貪食症候群患者が、患者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して検出される患者である血球貪食症候群患者の治療方法。

＜12＞ 血球貪食症候群患者の治療剤の製造における、血球貪食症候群治療剤を有効成分として含有する組成物の使用であって、前記血球貪食症候群患者が、患者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して検出される患者である、前記使用。

＜13＞ 血球貪食症候群患者検出用キットの製造における、抗 s C D 1 4－S T 抗体の使用であって、前記血球貪食症候群患者が、患者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して検出される患者である、前記使用。

＜14＞ 前記キットが免疫学的測定法キットである、＜13＞に記載の血球貪食症候群検出用キットの製造における、抗 s C D 1 4－S T 抗体の使用。

＜15＞ 前記抗 s C D 1 4－S T 抗体は、配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体である、＜13＞又は＜14＞に記載の血球貪食症候群検出用キットの製造における、抗 s C D 1 4－S T 抗体の使用。

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して血球貪食症候群を簡便に検出する方法及びキットを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】血球貪食症候群非罹患患者及び血球貪食症候群罹患患者の血清 s C D 1 4－S T 濃度を平均値及び標準誤差で示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0011】

以下、本発明について詳細に説明する。

＜血球貪食症候群の検出方法＞

本発明の血球貪食症候群の検出方法は、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定することによる検出方法である。

また、本発明における検出方法は、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記 s C D 1 4－S T 濃度の測定値を基準値と比較する工程を含んでいてもよい。また、本発明における検出方法は、さらにその他の工程を含んでいてもよい。

本発明における検出方法によれば、血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を指標とすることにより、H P S への罹患を簡便に検出することができる。また、簡便に H P S を検出することにより、医師は早い段階で適切な治療の選択が可能となる。また、本発明の検出方法は、医師が H P S と最終診断する前に H P S を補足できる可能性がある。つまり、本発明の検出方法は、医師が、骨髓、脾臓又はリンパ節等の病理組織における血球貪食像を確認し、患者を H P S であると最終診断する前の補助方法として用いることができる。なお、本発明の検出方法は、i n v i t r oで行うことができる。

【0012】

本発明の検出方法は、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4－S T 濃度を測定して測定値を得る工程を含む。

【0013】

本発明の検出方法において、被検者は基礎疾患等が特に制限されるものではない。被検者としては、例えば、同種造血幹細胞移植を受けた患者、血液悪性疾患患者、ウイルス感

10

20

30

40

50

染患者又は自己免疫疾患患者等が挙げられる。中でも、被検者としては、同種造血幹細胞移植を受けた患者又は血液悪性疾患患者が適している。

なお、本発明においては、必要に応じて、被検者は患者と読み替えることができ、患者は被検者と読み替えることもできる。

また、本発明の検出方法において、被検者は血球貪食症候群の罹患が疑われる患者であってもよい。具体的には、7日以上高熱が持続し、ピークが38.5℃以上である患者等が挙げられる。

【0014】

また、被検者としては、白血球数が正常値又は低値を示す被検者であってもよい。さらに、白血球数が正常値に比べて低値を示す被検者であってもよい。ここで、白血球数が正常値に比べて低値を示す被検者とは、例えば、白血球数が健常人に比較して減少している被検者等が挙げられる。

10

例えば、被検者としては、被検者の白血球数が4000(4000個/mm³)/μL～8000(8000個/mm³)/μLの被検者であってもよいし、4000/μL(4000個/mm³)より低値の被検者であってもよく、3000/μL(3000個/mm³)より低値の被検者であってもよく、1000/μL(1000個/mm³)より低値の被検者であってもよい。

本発明は、被検者の白血球数が正常値に比べて低値を示す場合にも、その効果を奏するため、被検者の白血球数は4000/μL(4000個/mm³)より低値であっても測定できる。なお、健常人における白血球数は、4000/μL～8000/μLである。

20

白血球数の測定は、血球計算器を用いて行うことができる。測定頻度は特に制限されるものではなく、適宜設定することができる。

【0015】

なお、菌血症、敗血症、呼吸器感染症、炎症性腸炎疾患及び発熱性好中球減少症からなる群より選ばれる患者は、本発明における被検者から除くことが好ましい。

【0016】

血液検体としては、特に限定されず、全血、血漿、血清のいずれを用いてもよい。

血液検体は採血後、EDTA、ヘパリン、クエン酸等の抗凝固剤を加えた検体でもよい。

30

【0017】

本発明の検出方法において、sCD14-ST濃度を測定する被検者由来の検体として、血液検体以外の尿、骨髓液等の被検者の体液由来の検体を用いて行うこともできる。具体的には、被検者の体液由来の検体中のsCD14-ST濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記sCD14-ST濃度の測定値を基準値と比較する工程を含む、血球貪食症候群の検出方法が挙げられる。

sCD14-ST濃度測定の際に、血液検体の代わりに被検者の体液由来の検体を用いる場合には、本発明の検出方法で説明する事項を、被検者由来の血液検体を、被検者の体液由来の検体に読み替えて、そのまま適用することができる。また、sCD14-ST濃度測定の際に、被検者の体液由来の検体を用いる場合にも、血液検体を用いる場合と同様に、その他の工程を含んでいてもよい。その他の工程としては、例えば、血液検体を用いる検出方法において説明した事項をそのまま適用することができる。

40

被検者由来の血液検体及び被検者の体液由来の検体の採取方法は常法に従えばよい。

【0018】

sCD14-STは可溶性CD14の分子種の一つであり、非還元条件下SDS-PAGEにおいて分子量13±2kDaに泳動されることを特徴とし、CD14のN端部を保持しているものである。

また、sCD14-STは全長CD14と比べると、C端側が大きく欠失したアミノ酸配列を有しており、両者は立体構造の点で異なるため、異なる免疫原性を示す。そのため、結合する抗体により両者を区別することが可能であり、sCD14-STは配列番号2

50

に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体に特異的に結合する、という性質を有する。さらに、sCD14-STは、配列番号3に記載のヒト全長可溶型CD14蛋白質のアミノ酸配列の17番目～26番目からなるペプチドに結合する抗体に特異的に結合すること、3C10抗体に結合しないこと、MEM-18抗体に結合しないこと、LPS結合能を有さないこと、ヒト血液から得られうること、という特徴のうち任意の一つ以上を付け加えることができる。sCD14-STはアミノ酸配列としては、N末端配列に配列番号1のアミノ酸配列を有する、という特徴を有し、より詳細には、N末端が配列番号3に記載のアミノ酸配列の1位であり、C末端が配列番号3に記載のアミノ酸配列の59～90位のいずれかである、という特徴により特定することができる。sCD14-STは詳細には国際公開第2005/108429号に開示されている。本明細書中においてsCD14-STは、特に断りのない限りヒトsCD14-STを意味する。

10

ここで、配列番号1に記載のアミノ酸配列は、配列番号3に記載のヒト全長可溶型CD14蛋白質のN末端のアミノ酸配列と一致する。また、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチドは、配列番号3に記載のヒト全長可溶型CD14蛋白質のアミノ酸配列の53位から68位までの16アミノ酸残基に該当する。

【0019】

血液検体中のsCD14-ST濃度の測定は公知の手法又は公知の装置により行うことができる。例えば、国際公開第2004/044005号公報又は国際公開第2005/108429号公報に開示されているsCD14-STを特異的に検出する免疫学的測定系を用いることができる。

20

また、血液検体中のsCD14-ST濃度は、パスファースト（PATHFAST（登録商標）、LSIメディエンス社）によって測定することも可能である。

【0020】

被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定に用いる抗体としては、sCD14-STの測定が可能であれば特に制限されるものではないが、例えば配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体を用いて測定すること等が挙げられる。

また、配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体（S68抗体）と、配列番号3に記載のアミノ酸配列の17位～26位からなるペプチドに結合する抗体又は該抗体と競合する抗体（F1106-13-3抗体又はF1031-8-3抗体）との組み合わせによるサンドイッチ免疫測定系が好適である。これらの抗体は、好ましくは、ラット（由来）抗体、マウス（由来）抗体、又はウサギ（由来）抗体のいずれかである。

30

特に、配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体は、sCD14-ST特異抗体であり、単独でsCD14-STの検出が可能である。配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体は、sCD14-STに対し解離定数（Kd）として 10^{-9} M未満の親和性を示す。配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体は、ラット（由来）抗体、マウス（由来）抗体、又はウサギ（由来）抗体のいずれかであることが好ましいが、より好ましくはウサギ抗体又はウサギ由来抗体であることが挙げられる。

40

【0021】

本発明においては、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定は、経時的に行ってもよい。測定を経時的に行うことにより、HPSの検出、選択又は決定を、より適切なタイミングで行うことができる。

【0022】

血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値は定量値、半定量値又は定性値のいずれを用いてもよい。半定量値を用いる場合、sCD14-ST濃度を0、1、2、3あるいは－、＋、＋＋、＋＋＋、といった段階で表示できる。この段階は、定量的なsCD14-ST濃度と相関するので、sCD14-ST濃度が予め定めた基準値以上であるかどうか

50

は、半定量の段階表示と定量的な s C D 1 4 - S T 濃度との相関関係に基づき判断すればよい。あるいは、半定量の場合、基準値未満を 0 又は - (マイナス) といった段階に設定してもよい。定性値を用いる場合、基準値未満である場合を陰性とし、基準値以上である場合を陽性となるよう設定すればよい。

【0023】

本発明の検出方法は、s C D 1 4 - S T 濃度の測定値を基準値と比較する工程を含む。

【0024】

本発明において、基準値は、正常人及び H P S 罹患患者の集団を識別するために予め設定される血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を意味する。本発明の検出方法、患者の選択方法、タイミングの決定方法、治療方法で用いる基準値は、同一でもよく、必要な場合は異なる値を用いてもよい。個々の患者群、患者個人、又は測定時の条件によって同一基準値を用いてもよいし異なる基準値を用いてもよい。

基準値は、偽陽性と偽陰性とのバランスがとれるようにスクリーニング効率がよい値に設定してもよいし、H P S 罹患患者の出現頻度が急激に上昇し始める値に設定してもよいし、病理学的・生理学的に理論づけられた値に設定してもよいし、統計的に定められた値に設定してもよい。

より詳細には、基準値は、例えば、医学的に健康な人の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度の測定値の平均値及び標準偏差 (S D) を求め、平均値 + 0.5 S D ~ + 5 S D の範囲内、具体的には、平均値 + S D、平均値 + 2 S D、平均値 + 3 S D などに設定してもよいし、前記平均値の 5 ~ 95、10 ~ 90、15 ~ 85 又は 25 ~ 75 パーセンタイル値に設定してもよい。基準値は、前記平均値 + 2 S D 又は平均値 + 3 S D に設定することが好ましい。具体的な数値としては、400 p g / m L ~ 600 p g / m L が挙げられ、500 p g / m L ~ 600 p g / m L が好ましく、より好ましくは 600 p g / m L であるが、これらに限定されるものではない。

また、検体として、冷凍保存等された保存検体を用いる場合の基準値としては、例えば、400 p g / m L ~ 2000 p g / m L が挙げられ、500 p g / m L ~ 1500 p g / m L が好ましく、より好ましくは 600 p g / m L ~ 1400 p g / m L 等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0025】

本発明における検出方法は、測定値が基準値よりも高値である場合に、H P S が検出されたと判定する工程を含んでいてもよい。あるいは、本発明における検出方法は、測定値が基準値よりも高値であることが、被検者が血球貪食症候群である、又はその疑いがあることを示してよい。

【0026】

本発明における検出方法において、H P S が検出されたと判定された患者は、医師による診断の後に、常法に従い、デキサメタゾン、エトポシド及びシクロスポリンの併用療法等による免疫抑制療法、基礎疾患に応じた治療等を行うことができる。

また、本発明における検出方法によって、H P S が検出されたと判定された患者には、基礎疾患に応じた治療以外で発熱等を抑制するために投与される、不必要な抗生剤、抗真菌剤、抗がん剤等の投与を中止することができる。

【0027】

本発明における検出方法は、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記 s C D 1 4 - S T 濃度の測定値を基準値と比較する工程の他に、被検者由来の血液検体中の C 反応性蛋白濃度を測定して測定値を得る工程、前記 C 反応性蛋白濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも低値であるか否かを判定する工程を含んでいてもよい。

s C D 1 4 - S T 濃度に C 反応性蛋白濃度を組合せることにより、H P S への罹患を簡便且つ感度よく検出することができる。また、これにより、他の疾患からの H P S の識別性を高めることができ、H P S の検出といった、H P S 診断の補助方法として、より信頼性を高めることができる。

10

20

30

40

50

【0028】

本発明におけるC反応性蛋白（C-reactive protein、以下、「CRP」とも称する。）は、急性炎症あるいは組織崩壊性病変で増加する代表的な炎症マーカーであり、炎症性病巣の存在や病変の程度を鋭敏に反映する。このため感染症、膠原病など炎症性疾患の活動性や重症度、経過観察及び予後判定の指標として用いられるマーカーである。

CRP濃度の測定は特に限定されるものではないが、例えば、被検者血清を用いて、ラテックス凝集比濁法等により定量的に測定し、測定値を得ることができる。

【0029】

本発明におけるCRPの基準値としては、 $5.0\text{ mg/dl} \sim 10.0\text{ mg/dl}$ が好ましく、 $5.0\text{ mg/dl} \sim 8.0\text{ mg/dl}$ がより好ましく、 $5.0\text{ mg/dl} \sim 6.0\text{ mg/dl}$ が更に好ましい。

なお、健常人におけるCRP濃度は 0.3 mg/dl であり、重症敗血症等の重体な疾患の発症の可能性が危惧される場合のCRP濃度は $15.0\text{ mg/dl} \sim 20.0\text{ mg/dl}$ である。

本発明における検出方法では、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値がsCD14-ST濃度の基準値よりも高値であり、且つ、CRP濃度の測定値がCRP濃度の基準値よりも低値であれば、血球貪食症候群が検出されたと判定することができる。あるいは、本発明における検出方法では、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値がsCD14-ST濃度の基準値よりも高値であり、且つ、CRP濃度の測定値がCRP濃度の基準値よりも低値であることが、被検者が血球貪食症候群である、又はその疑いがあることを示すのでもよい。また、この場合には、敗血症、呼吸器感染症、炎症性腸炎疾患及び発熱性好中球減少症ではなく、血球貪食症候群が検出されたと判定することもできる。

【0030】

本発明における検出方法は、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記sCD14-ST濃度の測定値を基準値と比較する工程の他に、被検者由来の血液検体中のフェリチン濃度を測定して測定値を得る工程、前記フェリチン濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも高値であるか否かを判定する工程を含んでもよい。

sCD14-ST濃度にフェリチン濃度を組合せることにより、HPSへの罹患を簡便且つ感度よく検出することができる。また、これにより、他の疾患からのHPSの識別性を高めることができ、HPSの検出といった、HPS診断の補助方法として、より信頼性を高めることができる。

また、例えば被検者由来の血液検体中のCRP濃度が高い場合であっても、sCD14-ST濃度にフェリチン濃度を組合せることにより、HPSへの罹患を補足することができる。

【0031】

本発明におけるフェリチン（ferritin）は、アポフェリチンの中に鉄を貯蔵する分子量約44万の可溶性蛋白である。また、フェリチンは、慢性炎症性疾患などにみられる網内系への鉄貯留や、肝炎などの細胞破壊による血中への逸脱などにより上昇するマーカーである。また、フェリチンは、ヘモクロマトーシス、ヘモジデロシス、炎症性疾患、悪性腫瘍、肝炎、心筋梗塞及び糖尿病等で高値を示すことが知られている。

【0032】

フェリチン濃度の測定は特に限定されるものではないが、例えば、被検者血清を用いて、蛍光酵素免疫測定法（FEIA法）等により定量的に測定し、測定値を得ることができる。

【0033】

本発明において、例えば血清フェリチン濃度の基準値としては、 1000 ng/ml が好ましい。

なお、健常人における血清フェリチン濃度は男性で $18.6 \text{ ng/ml} \sim 261 \text{ ng/ml}$ であり、女性で $4.0 \text{ ng/ml} \sim 64.2 \text{ ng/ml}$ である。

本発明における検出方法では、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値がsCD14-ST濃度の基準値よりも高値であり、且つ、フェリチン濃度の測定値がフェリチン濃度の基準値よりも高値であれば、血球貪食症候群が検出されたと判定することができる。あるいは、本発明における検出方法では、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値がsCD14-ST濃度の基準値よりも高値であり、且つ、フェリチン濃度の測定値がフェリチン濃度の基準値よりも高値であることが、被検者が血球貪食症候群である、又はその疑いがあることを示すのでもよい。

【0034】

本発明における検出方法は、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して測定値を得る工程、及び、前記sCD14-ST濃度の測定値を基準値と比較する工程の他に、被検者由来の血液検体中の乳酸脱水素酵素濃度を測定して測定値を得る工程、前記乳酸脱水素酵素濃度の測定値を基準値と比較する工程、及び、前記測定値が前記基準値よりも高値であるか否かを判定する工程を含んでいてもよい。

sCD14-ST濃度に乳酸脱水素酵素濃度を組合せることにより、HPSへの罹患を簡便且つ感度よく検出することができる。また、これにより、他の疾患からのHPSの識別性を高めることができ、HPSの検出といった、HPS診断の補助方法として、より信頼性を高めることができる。

また、例えば被検者由来の血液検体中のCRP濃度が高い場合であっても、sCD14-ST濃度に乳酸脱水素酵素濃度を組合せることにより、HPSへの罹患を補足することができる。

【0035】

本発明における乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase、以下「LDH」とも称する。) は、可溶性分画に属する酵素ではほとんどの組織や臓器に広く分布する酵素であり、LDHが含まれている臓器が損傷を受けると、その組織からLDHが逸脱し血清中濃度が上昇するマーカーである。溶血性貧血、悪性貧血、心筋梗塞、白血病、悪性腫瘍、急性肝炎、感染症等で高値を示すことが知られている。

【0036】

乳酸脱水素酵素濃度の測定は特に限定されるものではないが、例えば、被検者血清を用いて、日本臨床化学会 (JSCC) 酵素専門委員会が定める方法に準じた測定法 (酵素法) 等により定量的に測定し、測定値を得ることができる。

【0037】

本発明において、例えば、血清LDH濃度の基準値としては、 250 IU/L が好ましい。

なお、健常人における血清LDH濃度は $120 \text{ IU/L} \sim 240 \text{ IU/L}$ である。

本発明における検出方法では、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値がsCD14-ST濃度の基準値よりも高値であり、且つ、LDH濃度の測定値がLDH濃度の基準値よりも高値であれば、血球貪食症候群が検出されたと判定することができる。あるいは、本発明における検出方法では、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度の測定値がsCD14-ST濃度の基準値よりも高値であり、且つ、LDH濃度の測定値がLDH濃度の基準値よりも高値であることが、被検者が血球貪食症候群である、又はその疑いがあることを示すのでもよい。

【0038】

本発明における検出方法においては、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度と、CRP濃度、フェリチン濃度及びLDH濃度からなる群より選ばれる少なくとも1種のマーカーとを組合せることができる。これにより、確度の高い血球貪食症候群の判定が可能になる。

例えば、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度とCRP濃度との組合せ、被検者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度とフェリチン濃度との組合せ、被検者由来

10

20

30

40

50

の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度と L D H 濃度との組合せ、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度と、C R P 濃度と、フェリチン濃度又は L D H 濃度との組合せ、被検者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度と C R P 濃度とフェリチン濃度と L D H 濃度との組合せ等が好ましい。

【0039】

＜血球貪食症候群の検出キット＞

本発明の血球貪食症候群を検出するための検出キットは、血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定する手段を含む。

本発明における検出キットによれば、血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を指標とすることで、血球貪食症候群への罹患を簡便に検出することができる。また、簡便に血球貪食症候群を検出することにより、医師はより適切な治療の選択が可能となる。また、本発明の検出方法を用いることで、医師が血球貪食症候群と最終診断する前に血球貪食症候群を補足できる可能性がある。

10

【0040】

本発明における検出キットとしては、特に制限されるものではないが、好ましくは、免疫学的測定法キット（Immunoassay Kit）等が挙げられる。本発明における検出キットは、所望により、配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体（S68抗体）、配列番号3に記載のアミノ酸配列の17位～26位からなるペプチドに結合する抗体又は該抗体と競合する抗体（F1106-13-3抗体又はF1031-8-3抗体）、マルチウェルプレート及び分光光度計からなる群より選択される少なくとも1つを含んでもよい。

20

【0041】

本発明における検出キットは、好ましくは、S68抗体とF1106-13-3抗体又はF1031-8-3抗体との組合せによるサンドイッチ免疫測定法により、血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定することができる。

より好ましくは、本発明における検出キットは、S68抗体とF1106-13-3抗体との組合せによるサンドイッチ免疫測定法により、血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定することができる。

本発明における検出キットには、血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定する手段として、例えば、S68抗体、F1106-13-3抗体等の s C D 1 4 - S T の検出に使用しうる抗体の他に、サンドイッチ免疫測定法に必要な試薬又は器具（免疫学的測定法キット）、及び血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定するために必要な試薬又は器具等を含むものであるが、これらに限定されことなく、この他に検出キットは、標準物質、必要な試薬、試料、器具、備品等も含むことができる。

30

s C D 1 4 - S T の検出に使用しうる抗体としては、例えば上述したS68抗体、F1106-13-3抗体又はF1031-8-3抗体と同程度の s C D 1 4 - S T への結合活性を有する抗体が挙げられる。ここで結合活性を評価する方法は特に制限されるものではなく、公知の方法を用いることができる。

【0042】

＜血球貪食症候群患者の治療方法＞

40

本発明の血球貪食症候群患者の治療方法は、血球貪食症候群患者に血球貪食症候群治療剤を投与することを含み、前記血球貪食症候群患者が、患者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定して検出される患者である治療方法である。本発明の治療方法は、以上の工程を含むものであるが、更にその他の工程を含んでもよい。

本発明の治療方法によれば、血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を指標とすることにより、H P S へ罹患した患者を簡便に検出することができるため、医師は比較的早い段階で血球貪食症候群治療剤を投与することが可能になる。

なお、患者由来の血液検体中の s C D 1 4 - S T 濃度を測定して血球貪食症候群患者を検出する方法については、前述した事項をそのまま適用することができる。

【0043】

50

血球貪食症候群治療剤としては、血球貪食症候群を治療し得る薬剤であれば特に制限されるものではない。例えば、免疫抑制剤、基礎疾患の治療剤等が挙げられる。免疫抑制剤としては、デキサメタゾン、メチルプレドニゾロン、シクロスポリン、ガンマグロブリン製剤等が挙げられる。基礎疾患の治療剤としては、抗癌剤、抗ウイルス剤等が挙げられる。

【0044】

＜血球貪食症候群患者の治療剤の製造＞

本発明は、血球貪食症候群患者の治療剤の製造における、血球貪食症候群治療剤を有効成分として含有する組成物の使用であって、前記血球貪食症候群患者が、患者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して検出される患者である、組成物の使用を提供する。

10

本発明の治療剤の製造において、血液検体中のsCD14-ST濃度を指標として患者を検出することにより、HPSへ罹患した患者を簡便に検出することができるため、医師は比較的早い段階で血球貪食症候群治療剤を投与することが可能になる。

なお、患者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して血球貪食症候群患者を検出する方法については、前述した事項をそのまま適用することができる。

また、血球貪食症候群治療剤についても、前述した事項をそのまま適用することができる。

【0045】

＜血球貪食症候群患者検出用キットの製造＞

20

本発明の血球貪食症候群患者検出用キットの製造における、抗sCD14-ST抗体の使用であって、前記血球貪食症候群患者が、患者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して検出される患者である、抗sCD14-ST抗体の使用を提供する。

本発明の血球貪食症候群患者検出用キットの製造において、血液検体中のsCD14-ST濃度を指標として患者を検出することにより、HPSへ罹患した患者を簡便に検出することができるため、医師は比較的早い段階で血球貪食症候群治療剤を投与することが可能になる。

なお、患者由来の血液検体中のsCD14-ST濃度を測定して血球貪食症候群患者を検出する方法については、前述した事項をそのまま適用することができる。

本発明における血球貪食症候群患者検出用キットにおいては、その測定原理は特に限定されるものではないが、免疫学的測定法キットを用いることが好ましい。

30

本発明における血球貪食症候群患者検出用キットにおいては、抗sCD14-ST抗体は特に限定されるものではないが、配列番号2に記載の16アミノ酸残基からなるペプチドを抗原として作製した抗体を用いることが好ましい。

【0046】

以下の実施例により本発明を更に詳述するが、本発明はこれら実施例に限定して理解されるべきものではない。

【実施例】

【0047】

（実施例1）検体の採取

40

急性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群、急性リンパ性白血病、悪性リンパ腫又は成人T細胞白血病の治療のために同種造血幹細胞移植を受けた入院患者において、文書による同意を得られた患者58名より、同種造血幹細胞移植から約4週後に末梢血液を採取した。採取された末梢血液を4℃にて遠心分離（3000rpm、5分）することにより血清を分離した。なお、これら58名の患者は菌血症及び敗血症ではないことが確認されている。

【0048】

（実施例2）sCD14-ST濃度の測定

国際公開第2004/044005号に記載のF1106-13-3抗体及びS68抗体を用いた、サンドイッチELISA系を用いて血清中のsCD14-ST濃度を測定し

50

た。なお、s C D 1 4 - S T 蛋白質標準品としては、国際公開第 2 0 0 5 / 1 0 8 4 2 9 号に記載の r s C D 1 4 - S T を用いた。

【0049】

(実施例3) 血球貪食症候群罹患患者及び非罹患患者における s C D 1 4 - S T 濃度

実施例1に記載の患者58名のうち、病理所見又は臨床所見により血球貪食症候群を発症したと判断した6名の患者と、血球貪食症候群を発症していないと判断した52名の患者との血清 s C D 1 4 - S T 濃度とを比較した。

その結果を図1に示す。血球貪食症候群を発症した患者の血清 s C D 1 4 - S T 濃度の平均値は 8743.2 pg/ml であり、血球貪食症候群を発症していない患者の血清 s C D 1 4 - S T 濃度の平均値は 1375.6 pg/ml であり、血球貪食症候群を発症した患者の血清 s C D 1 4 - S T 濃度は、血球貪食症候群を発症していない患者の血清 s C D 1 4 - S T 濃度に比べて、有意に高かった。

図1は、血球貪食症候群罹患患者6名と非罹患患者52名との血清 s C D 1 4 - S T 濃度を、平均値及び標準誤差で示す。図1中、縦軸は血清 s C D 1 4 - S T 濃度 (pg/ml) を示し、「*」はマン・ホイットニーのU検定にて $p < 0.05$ を示す。

この結果より、s C D 1 4 - S T は、血球貪食症候群に罹患しているか否かの検出マーカーとして有用であることが示唆された。

【0050】

(実施例4) 血清 C R P 濃度の測定

実施例3において、血球貪食症候群を発症したと判断した6名の患者について、血清 C R P 濃度を測定した。

血清中の C R P の濃度は、自動分析装置 L A B O S P E C T 0 0 8 (日立ハイテクノロジーズ株式会社)を用いて、ラテックス凝集比濁法により測定した。

6名の患者の血清 C R P 濃度の平均値は 4.9 mg/dL であった。C R P は、急性期炎症マーカーとして広く知られており、敗血症、細菌感染症、発熱性好中球減少症に罹患した場合には、上昇するパラメーターであることが知られている。例えば敗血症の場合には、血清 C R P 濃度は約 15 mg/dL ~ 約 20 mg/dL 程度となる。

そのため、血清 s C D 1 4 - S T 濃度が高値を示し、且つ、血清 C R P 濃度が 15 mg/dL より低い場合には、敗血症、細菌感染症、発熱性好中球減少症に患者が罹患している可能性を排除することができ、且つ、患者は血球貪食症候群に罹患したものと判定し得ることが示唆された。

【0051】

(実施例5) 血清フェリチン濃度の測定

実施例3において、血球貪食症候群を発症したと判断した6名の患者について、血清フェリチン濃度を測定した。

血清中フェリチンの濃度は、全自動エンザイムイムノアッセイ装置 A I A 2 0 0 0 (東ソー株式会社)を用いて、蛍光酵素免疫測定法 (F E I A 法) により測定した。

6名の患者の血清フェリチン濃度の平均値は 12279.2 ng/ml であった。一方、健常人の血清フェリチン濃度は約 4 ng/ml ~ 約 261 ng/ml である。

この結果より、血清 s C D 1 4 - S T 濃度が高値を示し、血清フェリチン濃度が 1000 ng/ml より高い場合には、患者が血球貪食症候群を発症したと判定し得ることが示唆された。

【0052】

(実施例6) 血清 L D H 濃度の測定

実施例3において、血球貪食症候群を発症したと判断した6名の患者について、血清 L D H 濃度を測定した。

血清中 L D H の濃度は、自動分析装置 L A B O S P E C T 0 0 8 (日立ハイテクノロジーズ株式会社)を用いて、J S C C 標準化対応法 (酵素法) により測定した。

6名の患者の血清 L D H 濃度の平均値は 436 IU/L であった。一方、健常人の血清 L D H 濃度は約 120 IU/L ~ 約 240 IU/L である。

この結果より、血清 s C D 1 4 - S T 濃度が高値を示し、血清 L D H 濃度が 2 5 0 I U / L より高い場合には、患者が血球貪食症候群を発症したと判定し得ることが示唆された。

【 0 0 5 3 】

(実施例 7) 白血球数の測定

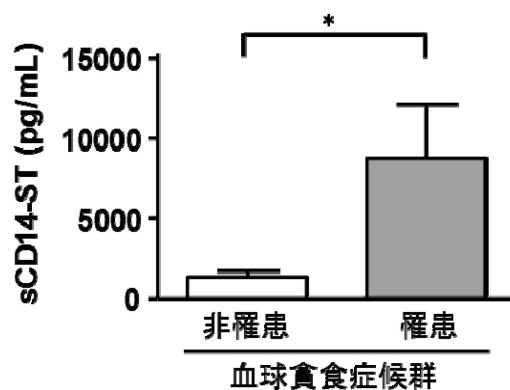
実施例 3 において、血球貪食症候群を発症したと判断した 6 名の患者について、白血球数を測定して、白血球数が s C D 1 4 - S T 産生に与える影響を確認した。白血球数は、血球計算器を用いて測定した。6 名の s C D 1 4 - S T 濃度の平均値は、8 7 4 3 . 2 p g / m L であり、白血球数の平均値は 1 0 5 0 / μ L であった。

6 名中 3 名は、白血球数が 0 (検出感度未満) であったが、これら 3 名の s C D 1 4 - S T 濃度の平均値は、6 1 6 2 . 9 p g / m l であり、6 名全体の平均値と同様に s C D 1 4 - S T 濃度は高値を示した。

この結果より、白血球数が 0 又は減少している患者においても、s C D 1 4 - S T 濃度を指標に血球貪食症候群への罹患を検出することが可能であることが示唆された。また、血球貪食症候群における s C D 1 4 - S T 濃度の上昇は、血中に存在する白血球による菌体貪食とは異なる場合における s C D 1 4 - S T 産生であることが示唆された。

10

【 図 1 】



【配列表】

0006445840000001.app

フロントページの続き

審査官 大瀧 真理

- (56)参考文献 特表2013-501046 (JP, A)
国際公開第2012/123570 (WO, A1)
国際公開第2005/108429 (WO, A1)
特開平11-295304 (JP, A)
熊倉俊一, 9. HPSの病態・診断・治療, 血栓止血誌, 2008年, Vol.19, No.2, pp.210-215
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/48 - 33/98

专利名称(译)	通过preseptin测量检测血细胞吞噬综合征		
公开(公告)号	JP6445840B2	公开(公告)日	2018-12-26
申请号	JP2014220163	申请日	2014-10-29
申请(专利权)人(译)	持田制薬株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	持田制薬株式会社		
[标]发明人	山下浩平 新井康之		
发明人	山下 浩平 新井 康之		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53		
FI分类号	G01N33/68.ZNA G01N33/53.D G01N33/53		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/DA36 2G045/FB01 2G045/FB03		
代理人(译)	小林 浩 铃木康仁		
其他公开文献	JP2016085198A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种方法和试剂盒，通过测量来自受试者的血液样本中的sCD14-ST浓度，方便地检测血细胞吞噬综合征。一种检测血细胞吞噬综合征的方法，其中测量来自受试者的血液样品中的sCD14-ST浓度。 【选择图】无

(19) 日本国特許庁 (JP)		(12) 特 許 公 報 (B2)	(11) 特許番号 特許第6445840号 (P6445840)
(45) 発行日 平成30年12月26日 (2018. 12. 26)		(24) 登録日 平成30年12月7日 (2018. 12. 7)	
(51) Int. Cl. G O I N 33/68 (2006.01) G O I N 33/53 (2006.01)		F I G O I N 33/68 Z N A G O I N 33/53 D	
請求項の数 10 (全 15 頁)			
(21) 出願番号 特願2014-220163 (P2014-220163) (22) 出願日 平成26年10月29日 (2014. 10. 29) (65) 公開番号 特開2016-85198 (P2016-85198A) (43) 公開日 平成28年5月19日 (2016. 5. 19) 審査請求日 平成29年8月23日 (2017. 8. 23)		(73) 特許権者 000181147 持田製薬株式会社 東京都新宿区四谷 1 丁目 7 番地 (74) 代理人 100092783 弁理士 小林 浩 (74) 代理人 100149010 弁理士 星川 亮 (74) 代理人 100104282 弁理士 鈴木 康仁 (72) 発明者 山下 浩平 京都府京都市左京区吉田近衛町 国立大学 法人京都大学大学院医学研究科内 新井 康之 (72) 発明者 京都府京都市左京区吉田近衛町 国立大学 法人京都大学大学院医学研究科内 最終頁に続く	
(54) 【発明の名称】 プレセプシン測定による血球貪食症候群の検出			