

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2011年12月8日(08.12.2011)

PCT

(10) 国際公開番号

WO 2011/152012 A1

- (51) 国際特許分類:  
G01N 33/50 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01)  
C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/002979
- (22) 国際出願日: 2011年5月27日(27.05.2011)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2010-125354 2010年5月31日(31.05.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人徳島大学 (THE UNIVERSITY OF TOKUSHIMA) [JP/JP]; 〒7708501 徳島県徳島市新蔵町2丁目2番地 Tokushima (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 木戸 博 (KIDO, Hiroshi) [JP/JP]; 〒7708503 徳島県徳島市新蔵町3丁目18番地の15国立大学法人徳島大学疾患酵素学研究中心内 Tokushima (JP). 西村 匡司 (NISHIMURA, Masaji) [JP/JP]; 〒7708503 徳島県徳島市新蔵町3丁目18番地の15国立大学法人徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部救急集中治療医学分野内

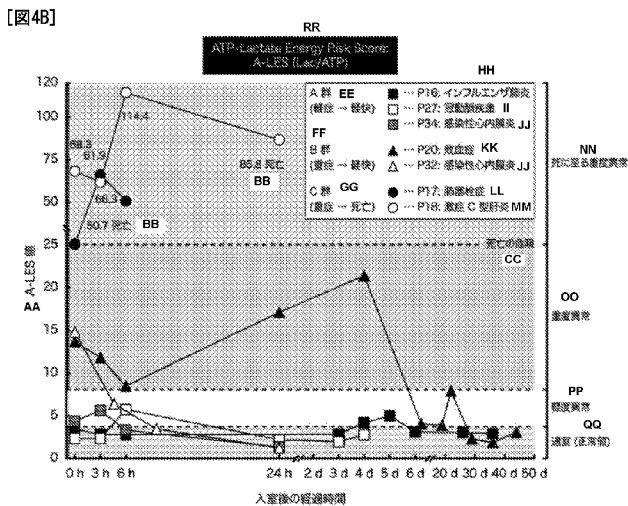
Tokushima (JP). 千田 淳司 (CHIDA, Junji) [JP/JP]; 〒7708503 徳島県徳島市新蔵町3丁目18番地の15国立大学法人徳島大学疾患酵素学研究中心内 Tokushima (JP).

- (74) 代理人: 廣田 雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒1070052 東京都港区赤坂二丁目8番5号若林ビル3階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR TESTING THE SEVERITY OF AN ILLNESS

(54) 発明の名称: 病気の重症度の検査方法



AA A-LES value	JJ Infective endocarditis
BB Death	KK Sepsis
CC Danger of death	LL Pulmonary embolism
DD Time since entering room	MM Fulminant hepatitis C
EE Group A (mild → recovery)	NN Severe abnormality leading to death
FF Group B (severe → recovery)	OO Severe abnormality
GG Group CC (severe → death)	PP Mild abnormality
HH Influenza pneumonia	QQ Leaving room (normal level)
II Coronary artery disease	RR ATP-Lactate Energy Risk Score: A-LES (Lac/ATP)

(57) Abstract: The disclosed testing method for measuring the severity of an illness in real-time can assess the severity of an illness in more detail than the existing APACHE II and SOFA scores. Said method can accurately measure the amount of ATP in a sample and accurately and quickly deduce the "state of intracellular energy, which organisms need in order to live" from the amount of ATP, and thus can evaluate the severity of an illness. Furthermore, the ATP concentration is used as an index to re-evaluate the amount of lactic acid accumulated in the sample as a result of breakdowns in metabolic balance accompanying increasing disease severity (specifically, the lactic acid level (mM) is divided by the ATP concentration (mM)), thereby providing a novel biomarker, the ATP-Lactate Energy Risk Score (A-LES), that can assess the severity of an illness. Additionally, the ATP concentration is used as an index to re-evaluate the ketone body level in the sample (specifically, the ketone body level (mM) is divided by the ATP concentration (mM)), thereby providing a novel biomarker, the ATP-Ketone Energy Risk Score (A-KES), that can assess the severity of an illness.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2011/152012 A1



NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI 添付公開書類:  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, — 国際調査報告 (条約第 21 条(3))  
NE, SN, TD, TG).

病気の重症度をリアルタイムに測定する方法に関し、従来のAPACHE II、SOFAスコアよりも、詳細に病気の重症度を判断しうる検査方法を提供することを課題とする。解決手段として、試料中のATP量を正確に測定することで、「生物が生存に必要とする細胞内エネルギー状態」をATP量から正確かつ迅速に類推する方法を確立することができ、ひいては病気の重症度を判定しうる。さらに病気の重症化に伴う体内代謝のバランスの破綻によって、試料中に蓄積する乳酸量を、ATP濃度を指標に再評価（具体的には、乳酸値mM/ATP濃度mMで換算）することにより、病気の重症度を判定しうる新規バイオマーカーATP-Lactate Energy Risk Score (A-LES) 値を提供する。また、試料中のケトン体量を、ATP濃度を指標に再評価（具体的には、ケトン体量mM/ATP濃度mMで換算）することにより、病気の重症度を判定しうる新規バイオマーカーATP-Ketone Energy Risk Score (A-KES) 値を提供する。

## 明 細 書

### 発明の名称： 病気の重症度の検査方法

#### 技術分野

[0001] 本発明は、試料中に含有されるアデノシン三リン酸（以下、「ATP」という。）量を測定して、病気の重症度を検査する方法に関する。さらには、試料中のATP量とエネルギー代謝中間代謝産物である乳酸やケトン体の量を測定してエネルギー産生状態を把握することで、病気の重症度を検査する方法に関する。

#### 背景技術

[0002] ATPは、すべての生物が生存に必要とするエネルギーとして使用される化学物質（ヌクレオチド）である。そのため、従来は生体試料中に含まれる微生物の有無の判定目的にATPの測定が汎用されてきた。また、ATPは主に細胞内オルガネラのミトコンドリアで産生されることから、ミトコンドリアの機能を測定するためにこれまでATPが測定されることがあった。しかし、従来のATP測定技術では、生体試料の中に含まれるATPを効率的に抽出する技術がなかったため、生体試料中のATP濃度に関する情報は、正確さに欠け、この数値をもって「生物が生存に必要とする細胞内エネルギー状態」を、ATP量の測定値から正確に類推することは困難であった。

[0003] 本発明者らは、試料中のATPを極めて効果的に抽出して、細胞内、組織内のATP濃度を正確に測定する画期的技術を確立した（特許文献1：W02009/096429：ヌクレオチドの抽出方法）。本方法により生体試料中のATP濃度に関する情報が、正確に得られることとなった。

[0004] 他方、「病気の重症度」を判定する従来技術では、入院患者の重症度を1985年に改定されたAPACHEIIスコア（非特許文献1：Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: A severity of disease classification system. Critical Care Medicine 13: 818-829, 1985）で判定する方法が、今日に至るまで続けられているが、APACHEIIスコアはリアルタイムス

コアでないことから、これに代わるリスクマーカーや評価の方法が求められていた。APACHE IIスコアは、急性生理学的スコア（12項目からなる：1. 深部体温、2. 平均動脈圧、3. 心拍数、4. 呼吸数、5. 酸素化能、6. 動脈血pH、7. 血清Na濃度、8. 血清K濃度、9. 血清クレアチニン濃度、10. ヘマトクリット値、11. 白血球値、12. グラスゴー昏睡尺度）＋年齢点数＋慢性疾患状態の点数の合計で評価する方法である。他にも、重要臓器の障害度をSOFAスコア（非特許文献2：Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG: The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Medicine* 7: 707-710, 1996)で判定する評価法が提案されている。SOFAスコアは、急性生理学的スコア（1. 呼吸機能、2. 血小板数、3. ビリルビン値、4. 血圧、5. グラスゴー昏睡尺度、6. 血清クレアチニン濃度、あるいは1日尿量）の点数の合計で算出される。しかしAPACHE IIスコア、SOFAスコアは測定項目が多く、1日尿量測定のように評価の集計に時間を要するためリアルタイムマーカーではなく、これに替わる評価法の確立が求められている。

### 先行技術文献

#### 特許文献

[0005] 特許文献1：国際公開パンフレットW02009/096429号

#### 非特許文献

[0006] 非特許文献1：Critical Care Medicine 13: 818-829, 1985

非特許文献2：Intensive Care Medicine 7: 707-710, 1996

#### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明の課題は、病気の重症度を評価する方法に関し、上記APACHE I

lスコアあるいはS O F Aスコアのような臓器の障害度を数値化した生理学的スコアではなく、病気の重症度をリアルタイムに判断しうる新規バイオマーカーとその判定基準を提供することにある。

### 課題を解決するための手段

- [0008] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を重ねた結果、本発明者らのヌクレオチドの抽出方法（特許文献1）により、試料中のATP量を正確に測定することが可能となり、「生物が生存に必要とする細胞内のエネルギー状態」をATP量から正確に類推する方法を確立することができ、ひいては病気の重症度を判定しうることを見だし、さらに重症化に伴う体内エネルギー代謝の破綻によって血液中に蓄積する乳酸やケトン体の量と、血液のATP濃度を指標に評価（具体的には、乳酸濃度mM/ATP濃度mMで換算、及び/又は、ケトン体濃度mM/ATP濃度mMで換算）することにより、病気の重症度をリアルタイムで判定しうることを見だし、本発明を完成するに至った。
- [0009] すなわち本発明は、〔1〕試料中のアデノシン三リン酸量を測定することを特徴とする、病気の重症度の検査方法や、〔2〕測定が1) 試料中に含有されるアデノシン三リン酸量を測定するために、フェノール化合物を含む溶液で試料を処理し、試料中のアデノシン三リン酸を抽出する工程；2) アデノシン三リン酸測定用試薬を用いて抽出したアデノシン三リン酸量を測定する工程；の工程を含む、前記〔1〕記載の検査方法や、〔3〕フェノール化合物を含む溶液が、pH4～10の溶液である前記〔2〕記載の検査方法や、〔4〕フェノール化合物を含む溶液が、さらにタンパク質変性剤を含む溶液である前記〔2〕又は〔3〕記載の検査方法や、〔5〕フェノール化合物がフェノールである、前記〔2〕～〔4〕のいずれか記載の検査方法からなる。
- [0010] また、本発明は〔6〕試料が、被検者から取得した血液であり、当該血液中のアデノシン三リン酸量が、正常値の下限0.52mM未満の場合に異常であると判断する、前記〔1〕～〔5〕のいずれか記載の検査方法や、〔7

〕病気の重症度を、血液中のアデノシン三リン酸量が、正常値の下限0.52 mM未満で0.3 mM以上を軽度異常、0.3 mM未満を重度異常、1日以内に0.3 mM以上への回復が無い場合は死に至るリスクが高いと判断する、前記〔6〕記載の検査方法や、〔8〕さらに、試料中の乳酸量を測定することを特徴とする、前記〔1〕～〔7〕のいずれか記載の検査方法や、〔9〕試料中のアデノシン三リン酸量（A；mM）に対する乳酸量（L；mM）の換算値（A－LES値）＝ $L/A$ を、病気の重症度指標とする、前記〔8〕記載の検査方法や、〔10〕試料が、被検者から取得した血液であり、当該血液中のアデノシン三リン酸量に対する乳酸量の換算値が、正常値の上限3.7を超える場合に異常であると判断する、前記〔8〕又は〔9〕記載の検査方法や、〔11〕病気の重症度を、血液中のアデノシン三リン酸量に対する乳酸量の換算値が、正常値の上限3.7を超え8.0以下を軽度異常、8.0を超え25.0以下を重度異常、25.0を超える高値が6時間以上続く場合は、死に至る重度異常と判断する、前記〔10〕記載の検査方法からなる。

[0011] また、本発明は〔12〕さらに、試料中のケトン体量を測定することを特徴とする、前記〔1〕～〔11〕のいずれか記載の検査方法や、〔13〕試料中のアデノシン三リン酸量（A；mM）に対するケトン体量（K；mM）の換算値（A－KES）＝ $K/A$ を、病気の重症度指標とする、前記〔12〕記載の検査方法や、〔14〕試料が、被検者から取得した血液であり、当該血液中のアデノシン三リン酸量に対するケトン体量の換算値が、正常値の上限0.25を超える場合に異常であると判断する、前記〔12〕又は〔13〕記載の検査方法からなる。

### 発明の効果

[0012] 本発明の検査方法によると、「生物が生存に必要とする細胞内のエネルギー状態」をATP量から正確に類推することにより、病気の重症度を評価・判定することができる。また、あらゆる生命体がエネルギー源として摂取する糖、脂質、アミノ酸がATP産生に順調に流れていかないエネルギー代謝

の破綻状態、あるいは過剰なエネルギー消費にATP産生が追いつかない代謝の破綻状態等から、体内に蓄積されるエネルギー代謝中間代謝産物の乳酸やケトン体の濃度を、ATP濃度と関連させて病気の重症度を評価・判定することができる。本発明の検査方法によると、これまでそれぞれの測定値単独の情報では図り知ることのできなかつた「病気の重症度」を、軽度異常状態、重度異常状態、死に至る危険性の極めて高い状態等を評価・判定することができるようになった。

### 図面の簡単な説明

- [0013] [図1] 健常者由来試料中のATP値、年齢、性別分布を示す図である。(参考例1)
- [図2] 健常者由来試料中の乳酸値、年齢、性別分布を示す図である。(参考例2)
- [図3] 健常者由来試料中のATP量及び乳酸量から換算したALES値と、その年齢、性別分布を示す図である。(参考例3)
- [図4A] 試料中のATP値を指標にモニターした場合の、種々の患者の集中治療室における重症度の経時的変化を示す図である。(実施例1)
- [図4B] ALES(乳酸値/ATP値)値を指標にモニターした場合の、種々の患者の集中治療室における重症度の経時的変化を示す図である。(実施例1)
- [図5] 集中治療室管理下の患者の入室時と退室時(あるいは死亡時)のAPACHEIIスコアとALES値の推移比較を示す図である。(実施例2)
- [図6] 健常マウス及びインフルエンザ感染重症化マウス血液中のATP値、乳酸値、ALES値、ケトン体(3-ヒドロキシ酪酸)値、AKES値を示す図である。(実施例3)

### 発明を実施するための形態

- [0014] 本発明の病気の重症度の検査方法としては、試料中のATP量を測定する方法であれば特に制限されないが、乳酸やケトン体等のエネルギー代謝中間代謝産物の量を測定し、ATP量に対するエネルギー代謝中間代謝産物の量

の比を評価・判定に利用することもできる。また、本発明において「病気の重症度」とは、ATP量の検査時点における病気の重篤さの程度をいい、本明細書においては「病気の重症化の程度」や「重症化の程度」等と区別なく用いられる。病気の重症度を把握することにより、検査時点での病気の状態を知り、今後の病状の推移を予想する指標とすることや、治療方法の選択などの治療方針の決定に利用することができる。すなわち、病気の重症度が軽度異常の場合は治療効果が見られる、あるいは今後の病状の軽快が予想される。また、病気の重症度が重度異常である場合は治療効果が見られない、あるいは今後の病状の悪化が予想され、最悪の場合死に至る可能性も示唆される。

[0015] また「病気の重症度」における病気としては特に制限されず、呼吸器系、血液と循環器系、消化器系、脳神経系、腎尿路系、内分泌系、感覚器系、生殖器系、骨格系や筋肉における疾患、多臓器不全、感染症などを挙げることができる。これらは、遺伝性疾患や生活習慣病などの内因性の疾患でも、病原菌やウイルスの感染により引き起こされる疾患でもよく、冠動脈疾患、感染性心内膜炎、敗血症、肺塞栓症、劇症C型肝炎、インフルエンザ肺炎、インフルエンザ感染症などを好適に例示することができる。

[0016] 本発明において、試料とは、生体から採取された組織や体液であれば特に制限されず、好ましくは、本発明の検査対象となりうるヒト（被検者）及びヒトをのぞく脊椎動物（被検動物）由来の血液試料を挙げることができる。被検動物としては、哺乳類、魚類、両生類、爬虫類、鳥類を挙げることができ、好ましくはサル、ウマ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウス、等の哺乳類の動物であり、中でもマウスを好適に例示することができる。血液試料としては、動脈（Artery：A）血、肺動脈（Pulmonary Artery：PA）血、静脈（Vein：V）血、中心静脈（Central Vein：CV）血、末梢静脈血の何れであってもよい。以下に示すATP量の測定方法により、同一の被検者においては血液採取の部位の違いによって、血液中のATP量に変化が無いことを確認することができた（表3参照）。また、



A T P量、及び、乳酸量又はケトン体量の測定を妨げない限りは、抗凝固剤や防腐剤などを適宜添加したり、血液中の特定の成分を除去あるいは凝縮して血液試料とすることもできる。

[0017] 本発明検査方法における試料中のA T P量の測定方法は特に制限されないが、特許文献1に記載の測定方法によることが、正確に測定することができるため、好適である。特に、採血後速やかに、フェノール化合物を含む溶液で試料を処理し、試料中のA T Pを抽出し、当該抽出したA T P量を測定するのが好適である。

[0018] 具体的には、以下の工程を含む方法による。

1) 試料中に含有されるA T P量測定のために、フェノール化合物を含む溶液で試料を処理し、試料中のA T Pを抽出する工程；

2) A T P測定用試薬を用いて抽出したA T P量を測定する工程。

[0019] 本発明の検査方法における、試料中に含有されるA T Pを抽出する工程で使用されるフェノール化合物は、フェノール基を有する化合物であって、試料中のA T Pを抽出しうる化合物であればよく、特に限定されない。特に好適にはフェノールである。また、フェノール化合物を含む溶液には、タンパク質変性剤を含んでいてもよく、かかるタンパク質変性剤としては、公知のタンパク質変性剤を用いることができるが、特に従来 of A T P抽出方法に使用可能であったタンパク質変性剤、例えばグアニジンイソチアネート、過塩素酸、T C A、プロテインキナーゼK等を好適に例示することができる。しかしながら、試料中に、A T P分解酵素以外のタンパク質が多く含まれる場合には、タンパク質変性剤を加えることでタンパク質が変性して凝集する場合がある。このような場合には測定対象物であるA T P等の核酸が変性により凝集したタンパク質中に埋没して抽出が困難になってしまう場合もあり、正確な測定ができるとはいえない。また、従来 of A T P抽出方法である加熱処理方法も、本発明のヌクレオチド抽出方法に組み合わせて処理することができるが、タンパク質が多く含まれる試料の場合には、同様に加熱により変性したタンパク質中に核酸が取り込まれる場合もある。従って、タンパク質

性剤や加熱処理を組み合わせないでフェノール化合物を含む溶液で処理することが最も効率的にATPを抽出することができる場合もある。

[0020] 前記フェノール化合物を含む溶液のpHは特に限定されないが、最も感度良く測定を行うためには、ルシフェラーゼ測定試薬等、核酸測定試薬において最も効率的に反応しうるpHに合わせることを好ましい。当該フェノール化合物を含む溶液を用いて試料を処理した場合には、例えばpH4~10等どのようなpHの溶液で処理しても、従来の抽出方法に比べて効果的にATPが抽出される。例えばルシフェラーゼ試薬を用いてATPを測定する場合には、ルシフェラーゼの特質によりpH7~9付近で効果的な測定を行うことができるため、本発明のフェノール化合物を含む溶液は、pH7~9付近とすることが好ましく、pH8付近とすることがより好ましい。上記のATP抽出工程に使用されるフェノール化合物を含む溶液は、試料からのATP抽出用試薬として利用することができる。

[0021] 前記フェノール化合物の溶媒は、特に限定されないが、例えばTE(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA)を用いることができる。さらに、必要に応じて安定化剤を加えても良い。本発明の検査方法におけるATP量の測定は、測定目的対象物に応じて適宜測定方法を選択することができる。公知の方法の他、今後開発されるあらゆる測定方法を含めることができる。上記公知の方法として、ルシフェリン-ルシフェラーゼ発光反応を利用する方法、ATP変換反応を利用する方法等を適用することができる。ルシフェリン-ルシフェラーゼ発光反応を利用するATPの測定方法としては、ルシフェリンおよびルシフェラーゼを含む発光試薬と、標的ATPとを、金属イオン(マグネシウムイオン等)の存在下で接触させ、生成した光の発光量を測定する方法が挙げられる。例えば、市販のATP測定用キットとして、XL-ATP kit(株式会社アプロサイエンス社製)を用いることによりATPを特異的かつ正確に測定することができる。

[0022] 本発明の病気の重症度の検査方法を確立するに当たり、健常者由来試料中のATP量を把握することが必要である。そこで、健常者ボランティアの末

梢静脈血を採取し、上記ATP量の測定方法により、血中のATP量を測定したところ、健常者の大半で0.52-1.3mMの濃度で存在することが確認された。また、血中ATPの値に、性別による有意な差がないことも確認された（図1参照）。本発明において、試料中のATP量の正常値は、0.52-1.3mMとすることができ、より詳しくは0.52-1.21mMとすることができ、中央値を0.72mMとすることができる。また、正常値の下限は、0.52mMとすることができる。

[0023] 本発明の病気の重症度の検査方法では、測定した試料中のATP量から、具体的には以下の方法により重症度を評価することができる。ヒトにおいては、試料中のATP量が、正常値の下限0.52mM未満の場合に異常であると判断することができる。さらに、ヒトにおける病気の重症度は、ATP量が正常値の下限0.52mM未満の場合で、ATP量の値に応じて、（1）軽度異常、（2）重度異常を判断することができる。

[0024] ヒトにおけるATP量と病気の重症度との関係は、以下の基準により判断することができる。

（1）0.52mM未満で0.3mM以上を軽度異常

（2）0.3mM未満を重度異常。なお6-24時間、特に24時間以内に0.3mM以上への回復がない場合は、死に至るリスクが高い。

[0025] 本発明における病気の重症度は、さらに試料中のエネルギー代謝中間代謝産物である乳酸量やケトン体量を測定することにより、より効果的に病気の重症度をエネルギー代謝から検査することができる。本発明における「ケトン体」とは、アセト酢酸及び3-ヒドロキシ酪酸のことをいい、アセトンは含まれない。したがって、本発明においてケトン体量とは、アセト酢酸及び／又は3-ヒドロキシ酪酸の量をいう。迅速測定装置で数分以内に測定可能であることから、3-ヒドロキシ酪酸の量をしばしばケトン体量の指標として用いる。

[0026] 試料中の乳酸量やケトン体量の測定は、血中の乳酸量やケトン体量を正確に測定しうる方法であれば、公知の方法であってもよいし、今後開発される

方法であってもよい。例えば、乳酸量の測定には、全自動血液ガス測定装置（860COT：バイアルメディカル社製）や簡易測定装置（ラクテート・プロ：ARKRAY社製）等を用いることができ、ケトン体量の測定には、「総ケトン体カインス」や「ケトダイアスティックス（シーメンスメディカルソリューションズ・ダイアグノスティックス株式会社製）」等を用いることができ、それぞれメーカー推奨の測定方法に従って測定することができる。

[0027] 本発明の病気の重症度の検査方法を確立するに当たり、健常者由来試料中のエネルギー代謝中間代謝産物の乳酸量を把握することが好ましい。そこで、健常者ボランティアの末梢静脈血を採取し、上記乳酸量の測定方法により、血中の乳酸量を測定したところ、男性では2.7 mM以下であり、女性では1.65 mM以下の値を示し、男女を通して2.7 mM以下の濃度であることが確認された（図2参照）。各年齢の中央値を図に示している。なお0.8 mM以下は測定した機材（ラクテート・プロ：ARKRAY社製）の検出限界以下として▽で示し、0.8 mMとして記載、計算している。

[0028] 前記乳酸量を用いて、上述の方法で測定したATP量に対する換算値（ALES値）を算出することで、より正確な病気の重症度として検査することができる。ALES値は、以下の式Iにより算出することができる。このように算出して得られた値は、エネルギー代謝による病気の重症度バイオマーカーとすることができる（図3参照）。

[0029] (式I)

$$\text{ALES値} = \text{乳酸値 (L) mM} / \text{ATP値 (A) mM}$$

[0030] 病気の重症度は、ATP量を基準にした場合に比べて、ALES値によってより細かく正確に判定できる。ALES値に応じて、(1)軽度異常、(2)重度異常、(3)死に至る重度異常状態を判断することができる。

ALES値とヒトにおける重症度との関係は、以下の基準により判断することができる。

(1) 正常値の上限3.7を超え8.0以下を軽度異常

(2) 8.0を超え25.0以下を重度異常

(3) 25.0を超える高値が、6-24時間、特に24時間以上続く場合は、死に至る重度異常と判断する。なお、被検動物においては、その種類によってかかるA-KES値と重症度との関係は適宜基準を設けて判断することができる。

[0031] 本発明における病気の重症度は、さらに試料中のエネルギー代謝中間代謝産物のケトン体量を測定することにより、より効果的に病気の重症度をエネルギー代謝から検査することができる。

[0032] 前記ケトン体量を用いて、上述の方法で測定したATP量に対する換算値(A-KES値)を算出することで、より正確な病気の重症度として検査することができる。A-KES値は、以下の式IIにより算出することができる。ケトン体量としてはアセト酢酸及び/又は3-ヒドロキシ酪酸のケトン体の量を用いることができ、かかるケトン体量として、迅速測定装置で数分以内に測定可能であることから、3-ヒドロキシ酪酸の量をケトン体量として用いることが好ましく、しばしば3-ヒドロキシ酪酸の量をケトン体量として用いる。このように算出して得られた値は、エネルギー代謝による病気の重症度バイオマーカーとすることができる(図6参照)。

[0033] (式II)

$$A-KES \text{ 値} = \text{ケトン体値 (K) mM} / \text{ATP 値 (A) mM}$$

[0034] 病気の重症度は、ATP量を基準にした場合に比べて、A-KES値によってより正確に判定できる。ケトン体量(アセト酢酸値及び3-ヒドロキシ酪酸値の総和)の正常値は $130 \mu\text{mol/L}$ ( $0.13 \text{ mM}$ )以下と考えられ(西ヶ谷 晴美 他, 医学検査, 45, 3, 353 (1996); 原納 優 他, 日本臨床, 48-増, 323~333 (1990) 参照)、血液中のATP量は $0.52 \text{ mM}$ 未満を示す場合は異常値と考えられることから、アセト酢酸値及び3-ヒドロキシ酪酸値の総和をケトン体量とした場合のA-KES値は、 $0.13 \text{ mM} / 0.52 \text{ mM} = 0.25$ 以上を異常とすることができる。したがって、A-KES値(アセト酢酸値及び3-ヒドロキシ酪酸値の総和/ATP値)の正常値上限 $0.25$ を指標として、ヒトにお

ける病気の重症度状態を判断することができる。また、3-ヒドロキシ酪酸値をケトン体量とした場合も同様に正常値上限を設定し、ヒトにおける病気の重症度状態を判断することもできる。なお、被検者又は被検動物それぞれにおいて、A-KES値と重症度との関係は適宜基準を設けて判断することができる。

## 実施例

[0035] 本発明の理解を助けるために、以下に参考例及び実施例を示して具体的に本発明を説明するが、本発明は本実施例に限定されるものでないことはいうまでもない。

[0036] (参考例1) 健常者由来試料中のATP量、年齢、性別分布の検討

本参考例では、本発明の病気の重症度の検査方法を確立するに際し、健常者由来試料中のATP量を把握することを目的として20-90歳代の男68名、女71名の合計139名の健常者ボランティアの末梢静脈血のATP量及び乳酸量を測定した。

[0037] ATP量は、XL-ATP kit (株式会社アプロサイエンス社製) を用い、取扱説明書に従って試料からATPを抽出し、測定した。ATP抽出用試薬として、本キットに添付の抽出試薬A (TE飽和フェノール、成分: フェノール69%含有、pH8.0) と抽出試薬B (クロロホルム、成分: クロロホルム99%含有) と滅菌超純水をそれぞれ3:5:5の割合で混合したものをを用いた。具体的には、採血した血液0.1mlをATP抽出試薬 (抽出試薬A 0.3ml、抽出試薬B 0.5ml、滅菌超純水 0.5ml) 中に添加・混合し、遠心等により有機溶媒層と水層に分離した後、その上清 (水層) を回収することで血液中のATPを抽出した。

[0038] 測定結果を図1及び表1及び表2に示した。末梢静脈血のATP値の男女差に統計学的有意差は殆どなく、高齢になるにつれてATP値が低値の0.5mMに集束する傾向が認められた。中央値は20代男性で0.82mM、20代女性で0.63mM、30代男性で0.68mM、30代女性で0.78mM、40代男性で0.78mM、40代女性で0.62mM、50代

男性で0.66 mM、50代女性で0.51 mM、60代男性で0.52 mM、60代女性で0.46 mM、70歳以上の高齢の男性で0.46 mM、70歳以上の高齢の女性で0.45 mMを示した。

[0039]

[表1]

観測者 ID	年齢/性別	検査部位	乳酸値 (mmol/L)	ATP 値 (mmol/L)	A-LES
H20M 01.	20 代/M	Y	1.49	0.56	2.61
H20M 02.	20 代/M	Y	1.30	0.52	2.50
H20M 03.	20 代/M	Y	1.29	0.85	1.84
H20M 04.	20 代/M	Y	1.27	0.66	1.48
H20M 05.	20 代/M	Y	1.06	0.61	1.74
H20M 06.	20 代/M	Y	1.09	0.66	1.27
H20M 07.	20 代/M	Y	2.07	0.67	3.09
H20M 08.	20 代/M	Y	1.73	0.85	2.04
H20M 09.	20 代/M	Y	1.69	0.65	1.99
H20M 10.	20 代/M	Y	2.17	0.94	2.31
H20M 11.	20 代/M	Y	1.17	1.13	1.04
H20F 01.	20 代/F	Y	1.80	0.57	1.75
H20F 02.	20 代/F	Y	0.64	0.62	1.36
H20F 03.	20 代/F	Y	1.58	0.60	0.95
H20F 04.	20 代/F	Y	0.74	0.59	1.35
H20F 05.	20 代/F	Y	0.84	0.84	1.12
H20F 06.	20 代/F	Y	1.03	1.16	0.67
H20F 07.	20 代/F	Y	0.83	0.85	1.09
H20F 08.	20 代/F	Y	0.68	0.72	1.22
H20F 09.	20 代/F	Y	1.18	0.63	1.84
H20F 10.	20 代/F	Y	1.26	0.52	2.42
H30M 01.	30 代/M	Y	1.19	0.59	2.02
H30M 02.	30 代/M	Y	2.08	0.57	3.65
H30M 03.	30 代/M	Y	1.66	0.57	2.91
H30M 04.	30 代/M	Y	1.43	0.57	2.51
H30M 05.	30 代/M	Y	1.20	0.57	2.11
H30M 06.	30 代/M	Y	1.40	0.68	1.59
H30M 07.	30 代/M	Y	0.91	0.77	1.18
H30M 08.	30 代/M	Y	2.64	0.72	3.67
H30M 09.	30 代/M	Y	1.55	0.87	1.78
H30M 10.	30 代/M	Y	1.41	0.59	2.39
H30M 11.	30 代/M	Y	< 0.80	0.57	1.18
H30M 12.	30 代/M	Y	1.21	0.77	1.57
H30M 13.	30 代/M	Y	1.19	0.73	1.63
H30M 14.	30 代/M	Y	0.87	0.68	0.82
H30M 15.	30 代/M	Y	1.12	0.76	1.47
H30F 01.	30 代/F	Y	1.14	0.62	1.84
H30F 02.	30 代/F	Y	1.59	0.68	2.41
H30F 03.	30 代/F	Y	0.95	0.96	0.97
H30F 04.	30 代/F	Y	0.68	0.74	1.19
H30F 05.	30 代/F	Y	1.31	0.86	1.49
H30F 06.	30 代/F	Y	1.44	0.81	1.78
H30F 07.	30 代/F	Y	1.33	1.06	1.23
H30F 08.	30 代/F	Y	0.99	0.52	1.90
H40M 01.	40 代/M	Y	1.10	0.62	1.77
H40M 02.	40 代/M	Y	1.42	0.54	2.62
H40M 03.	40 代/M	Y	1.69	0.55	3.00
H40M 04.	40 代/M	Y	1.04	0.85	1.60
H40M 05.	40 代/M	Y	1.17	0.78	1.50
H40M 06.	40 代/M	Y	2.08	0.77	2.70
H40M 07.	40 代/M	Y	1.95	0.64	3.05
H40M 08.	40 代/M	Y	1.16	0.94	1.23
H40M 09.	40 代/M	Y	1.68	1.16	1.45
H40M 10.	40 代/M	Y	1.92	1.21	1.59
H40M 11.	40 代/M	Y	1.48	1.16	1.29
H40M 12.	40 代/M	Y	0.92	0.95	0.97
H40F 01.	40 代/F	Y	1.84	0.59	2.63
H40F 02.	40 代/F	Y	1.39	0.54	2.57
H40F 03.	40 代/F	Y	1.17	0.89	1.70
H40F 04.	40 代/F	Y	0.61	0.61	1.00
H40F 05.	40 代/F	Y	0.78	0.76	1.02
H40F 06.	40 代/F	Y		0.56	
H40F 07.	40 代/F	Y	0.98	1.06	0.93
H40F 08.	40 代/F	Y	1.63	0.63	1.96
H40F 09.	40 代/F	Y	0.86	0.63	1.37
H40F 07.	40 代/F	Y	1.10	0.81	1.36
H40F 08.	42 代/F	Y	0.80	0.47	1.70
H40F 08.	46 代/F	Y	< 0.80	0.45	

[0040]



[表2]

標本番号	年齢/性別	検査部位	尿酸値 (μM)	ATP 値 (mg)	A-LES
H50M 01.	50 代/M	✓	2.08	0.88	3.06
H50M 02.	50 代/M	✓	1.38	0.75	1.84
H50M 03.	50 代/M	✓	1.85	0.84	2.32
H50M 04.	50 代/M	✓	1.64	0.98	1.71
H50M 05.	51 代/M	✓	< 0.80	0.44	
H50M 06.	54 代/M	✓	1.70	0.66	2.58
H50M 07.	57 代/M	✓	1.20	0.50	2.00
H50M 08.	58 代/M	✓	< 0.80	0.45	
H50M 09.	59 代/M	✓	1.10	0.46	2.39
H50F 01.	50 代/F	✓	0.85	0.65	1.31
H50F 02.	51 代/F	✓	< 0.80	0.42	
H50F 03.	59 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H50F 04.	59 代/F	✓	< 0.80	0.59	
H50M 01.	61 代/M	✓	1.60	0.72	2.22
H50M 02.	61 代/M	✓	< 0.80	0.50	
H50M 03.	62 代/M	✓	1.00	0.55	1.82
H50M 04.	66 代/M	✓	< 0.80	0.53	
H50M 05.	68 代/M	✓	0.90	0.52	1.70
H50M 06.	68 代/M	✓	1.00	0.42	2.38
H50M 07.	68 代/M	✓	1.30	0.41	3.17
H50M 08.	69 代/M	✓	1.20	0.52	1.92
H50F 01.	62 代/F	✓	0.90	0.51	1.76
H50F 02.	63 代/F	✓	0.80	0.54	1.48
H50F 03.	63 代/F	✓	< 0.80	0.46	
H50F 04.	63 代/F	✓	< 0.80	0.58	
H50F 05.	65 代/F	✓	< 0.80	0.49	
H50F 06.	65 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H50F 07.	65 代/F	✓	0.80	0.44	1.82
H50F 08.	65 代/F	✓	< 0.80	0.40	
H50F 09.	67 代/F	✓	< 0.80	0.49	
H50F 10.	69 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H50F 11.	69 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H70M 01.	70 代/M	✓	0.80	0.48	1.67
H70M 02.	73 代/M	✓	1.40	0.42	3.33
H70M 03.	74 代/M	✓	0.80	0.52	1.94
H70M 04.	76 代/M	✓	1.20	0.41	2.93
H70M 05.	76 代/M	✓	0.90	0.52	1.73
H70M 06.	77 代/M	✓	1.40	0.53	2.64
H70M 07.	78 代/M	✓	0.90	0.53	1.51
H70M 08.	79 代/M	✓	1.00		
H70M 09.	79 代/M	✓	1.20	0.43	2.78
H70F 01.	71 代/F	✓	1.20	0.48	2.04
H70F 02.	71 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H70F 03.	72 代/F	✓	< 0.80	0.49	
H70F 04.	73 代/F	✓	1.20	0.43	2.33
H70F 05.	73 代/F	✓	1.70	0.47	3.62
H70F 06.	73 代/F	✓	0.80	0.49	1.63
H70F 07.	73 代/F	✓	0.90	0.45	2.00
H70F 08.	73 代/F	✓	1.20	0.55	2.18
H70F 09.	74 代/F	✓	< 0.80	0.38	
H70F 10.	74 代/F	✓	1.00	0.49	2.04
H70F 11.	75 代/F	✓	0.80	0.45	1.78
H70F 12.	75 代/F	✓	< 0.80	0.47	
H70F 13.	75 代/F	✓	1.10	0.43	2.58
H70F 14.	75 代/F	✓	0.80	0.49	1.63
H70F 15.	75 代/F	✓	< 0.80	0.45	
H70F 16.	79 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H80M 01.	80 代/M	✓	0.80	0.38	2.77
H80M 02.	81 代/M	✓	< 0.80	0.41	
H80M 03.	82 代/M	✓	< 0.80	0.57	
H80M 04.	89 代/M	✓	1.00	0.43	2.33
H80F 01.	82 代/F	✓	0.90	0.45	2.00
H80F 02.	80 代/F	✓	1.60	0.37	4.32
H80F 03.	81 代/F	✓	0.90	0.43	1.88
H80F 04.	81 代/F	✓	1.10	0.43	2.56
H80F 05.	83 代/F	✓	1.60	0.56	2.88
H80F 06.	84 代/F	✓	0.90	0.49	1.63
H80F 07.	84 代/F	✓	0.90	0.52	1.73
H80F 08.	84 代/F	✓	< 0.80	0.43	
H80F 09.	84 代/F	✓	< 0.80	0.42	
H80F 10.	84 代/F	✓	< 0.80	0.48	
H80F 11.	87 代/F	✓	< 0.80	0.38	
H90F 01.	90 代/F	✓	2.30	0.54	4.26
H90F 02.	92 代/F	✓	0.90	0.45	1.78

[0041] (参考例 2) 健常者由来試料中の乳酸量、年齢、性別分布の検討

本参考例では、健常者由来試料中の乳酸量を把握することを目的とし、参考例 1 に示す合計 139 名の健常者ボランティアの末梢静脈血の乳酸量を測定した。乳酸量の測定は、全自動血液ガス測定装置 (860COT : バイアルメディカル社) あるいは簡易測定装置 (ラクテート・プロ : ARKRAY 社) を使用し、メーカー推奨の測定方法に従って測定した。

[0042] 表 1 及び 2 に示した健常者由来試料中の乳酸量測定値 (mM) と、その年齢、性別分布を図 2 に示した。計 139 名の健常者ボランティアの末梢静脈血の乳酸値の年齢差、男女差に統計学的有意差は認められなかった。中央値は 20 代男性で 1.30 mM、20 代女性で 0.97 mM、30 代男性で 1.30 mM、30 代女性で 1.20 mM、40 代男性で 1.50 mM、40 代女性で 1.04 mM、50 代男性で 1.60 mM、50 代女性で 0.85 mM、60 代男性で 1.00 mM、60 代女性で 0.80 mM、70 歳以上の高齢の男性で 1.00 mM、70 歳以上の高齢の女性で 1.00 mM を示した。

[0043] (参考例 3) 健常者由来試料中の ATP 量及び乳酸量から換算した A-L E S 値と、その年齢、性別分布の検討

本実施例では、参考例 1 及び 2 で得た健常者由来試料中の ATP 量の測定値及び乳酸量の測定値に基づき、健常者における A-L E S 値を把握することを目的とした。

A-L E S 値は、以下の式 I に従い、算出した。

(式 I)

$$\text{A-L E S 値} = \text{乳酸量 (L) mM} / \text{ATP 量 (a) mM}$$

[0044] 表 1 及び 2 に示した健常者由来試料での中の A-L E S 値と、その年齢、性別分布を図 3 に示した。20-90 歳代の男 68 名、女 71 名の合計 139 名の健常者ボランティアの A-L E S 値は、年齢差、男女差に統計学的有意差は認められなかった。中央値は 20 代男性で 1.99、20 代女性で 1.24、30 代男性で 1.78、30 代女性で 1.64、40 代男性で 1.

60、40代女性で1.70、50代男性で2.00、50代女性で1.78以下、60代男性で1.97、60代女性で1.76以下、70歳以上の高齢の男性で2.03、70歳以上の高齢の女性で1.90を示した。なお、▽は乳酸値が検出限界（0.8mM）以下の検体であることから、A-L E S値はこの値以下であることを示す。

[0045] （参考例4）採血部位の違いによる血液A T P量測定値の検討

本参考例では、採血部位の異なる血液を試料とした場合に、各試料によるばらつきがないかを確認することを目的とした。同一入院患者から医療検査目的（酸素分圧、炭酸ガス分圧測定等）のために、同時複数部位から採血した試料について、それぞれのA T P量及び乳酸量を測定し、これらの測定値を比較検討した。A T P量及び乳酸量の測定は参考例1及び3と同手法により行なった。

[0046] 表3に、動脈（Artery：A）、肺動脈（Pulmonary Artery：P A）、中心静脈（Central Vein：C V）のそれぞれからの採血した試料のA T P量を示した。中心静脈（C V）血と静脈（V）血では、通常は両者を区別せずに、どちらかであれば良い。そこで、患者負担を軽減するため、あえて中心静脈（C V）のほかに静脈（V）からは採血しなかった。その結果、測定値が示すように、動脈（A）、肺動脈（P A）、中心静脈（C V）から採血した試料に含まれるA T P量の間には有意な差は認められなかった。このことから、採血部位の動脈（A）、肺動脈（P A）、中心静脈（C V）、静脈（V）のいずれかで採血した試料のA T P量の測定値をもって、「生命の危険状態」を判定できるとした。

[0047] なお、表3には、A T P量（mM）のほかに、乳酸量（mM）と、A-L E S値：換算値を示した。

[0048]

[表3]

患者ID	病名	採血日	採血部位	乳酸値 (mM)	ATP値 (mM)	A-LES	APACHE IIスコア
P 23	冠動脈疾患	0113 2010 0 h	A	1.47	0.53	2.77	29
P 23		0113 2010 0 h	PA	1.30	0.37	2.28	29
P 23		0113 2010 0 h	CV	1.37	0.53	2.58	29
P 27	大動脈解離症、冠動脈疾患	0201 2010 0 h	A	1.72	0.70	2.56	13
P 27		0201 2010 0 h	PA	1.69	0.72	2.25	13
P 27		0201 2010 0 h	CV	1.97	0.73	2.70	13
P 27		0201 2010 3 h	A	1.55	0.53	2.36	13
P 27		0201 2010 3 h	PA	1.97	0.53	2.37	13
P 27		0201 2010 3 h	CV	2.16	0.50	2.70	13
P 27		0202 2010 6 h	A	2.09	0.34	2.75	13
P 27		0202 2010 6 h	PA	2.01	0.35	2.74	13
P 27		0202 2010 6 h	CV	2.01	0.34	2.91	13
P 27		0202 2010 24 h	A	1.59	0.71	2.37	13
P 27		0202 2010 24 h	PA	1.69	0.71	2.38	13
P 27		0202 2010 24 h	CV	1.63	0.74	2.20	13
P 28	急性心筋梗塞 (AMI)	0201 2010 0 h	A	2.98	0.56	3.00	
P 28		0201 2010 0 h	PA	2.89	0.59	2.91	
P 28		0201 2010 0 h	CV	2.76	0.56	2.62	
P 28		2010 0 h	A	2.47	0.55	2.48	13
P 28		2010 0 h	PA	2.49	0.53	2.70	13
P 28	2010 0 h	CV	2.20	0.55	2.73	13	
P 29	冠動脈疾患	0203 2010 0 h	A	2.29	0.38	2.88	9
P 29		0203 2010 0 h	PA	2.43	0.40	2.08	9
P 29		0203 2010 0 h	CV	2.73	0.37	2.38	9
P 30	心不全、腎不全	0205 2010 3 h	A	1.64	0.33	2.97	10
P 30		0205 2010 3 h	CV	1.51	0.34	2.44	10

[0049] (実施例1) 集中治療室に入室した患者の血中ATP量、乳酸量及びA-LES値

本実施例では、徳島大学の倫理委員会の承認を得た後、救急集中治療室で管理している43名の患者を対象に、患者の重症度を、採取した静脈末梢血由来試料中のATP量及び乳酸量を測定し、得られた結果から換算したA-LES値で評価した。ATP量及び乳酸量の測定は、参考例1及び参考例3に記載の方法と同手法により行なった。

[0050] A-LES値及び従来の重症度判定基準として、APACHEIIスコアを表4～8に示した。救急集中治療室で管理中に死亡した患者は、43名中、P17、P18、P43、P49、P50、P54、P60、P63の8例であった。

[0051]

[表4]

A群(軽症 → 軽快)

患者ID	病名	採血日(経過時間)	採血部位	乳酸値 (mmol/L)	ATP値 (mmol/L)	A-LES	APACHE IIスコア	
P 01.	感染性心内膜炎、脳膿瘍	Before	A	1.26	0.69	1.83	13	
P 01.		1111 2009 0 h	A	1.52	0.69	2.20	12	
P 01.		1111 2009 3 h	A	1.24	0.38	3.28		
P 01.		1111 2009 6 h	A	2.09	0.42	4.66		
P 01.		1112 2009 24 h	A	1.27	0.70	1.61	10	
P 01.		1113 2009 2 d	A	2.01	0.82	3.87	13	
P 01.		1115 2009 3 d	A	1.51	0.38	3.97	16	
P 01.		1115 2009 4 d	A	0.71	0.38	1.67	15	
P 01.	1116 2009 5 d	A	0.78	0.83	1.21	15		
P 02.	小腸出血	1112 2009 0 h	A	4.43	0.61	7.26	17	
P 02.		1112 2009 3 h	A	5.77	0.68	8.49		
P 02.		1113 2009 24 h	A	1.63	0.60	2.72	15	
P 03.	インフルエンザ肺炎	1111 2009 0 h	A	1.91	0.71	2.69	16	
P 03.		1112 2009 3 h	A	1.58	0.44	3.59		
P 03.		1112 2009 6 h	A	3.31	0.43	7.70		
P 03.		1113 2009 24 h	A	2.67	0.71	3.76	14	
P 03.		1114 2009 3 d	A	2.73	0.36	7.58	16	
P 03.		1115 2009 4 d	A	1.98	0.35	5.86	14	
P 03.		1116 2009 5 d	A	1.66	0.55	3.02	17	
P 07.		左房洞閉塞	1116 2009 0 h	A	6.87	0.81	7.03	8
P 07.	1116 2009 3 h		A	6.54	0.45	14.53		
P 07.	1117 2009 6 h		A	6.73	0.38	18.67		
P 07.	1117 2009 24 h		A	1.69	0.32	3.26	12	
P 07.	1118 2009 3 d		A	3.74	0.67	5.58	8	
P 07.	1119 2009 5 d		A	1.12	0.61	1.64	9	
P 13.	不安定狭心症	1126 2009 0 h	A	0.96	0.37	2.65	9	
P 13.		1126 2009 0 h	A	1.44	0.41	3.51		
P 13.		1127 2009 3 h	A	2.04	0.42	5.92		
P 13.		1127 2009 6 h	A	2.48	0.33	7.45		
P 13.		1127 2009 24 h	A	1.12	0.82	2.67	6	
P 16.	インフルエンザ肺炎(気管挿管時)	1215 2009 0 h	A	2.95	0.36	3.43	9	
P 16.		1216 2009 3 h	A	2.63	0.93	2.83		
P 16.		1216 2009 6 h	A	2.58	0.82	2.78		
P 16.		1217 2009 3 d	A	2.03	0.72	2.62	4	
P 16.		1219 2009 4 d	A	1.98	0.59	3.19	5	
P 16.		1219 2009 5 d	A	1.75	0.35	5.00	3	
P 16.		1220 2009 6 d	A	1.71	0.95	3.71	8	
P 16.		(リレンガ吸入開始日)	0109 2010 26 d	A	2.27	0.74	3.07	18
P 16.		PCR (Sw-Fh) 陽性化後	0119 2010 38 d	A	1.80	0.62	2.60	13
P 17.		腸管性肺炎、MRSA 菌血症 (スپردライド/リス後)	0107 2010 0 h	A	1.62	0.31	3.23	27
P 17.	0109 2010 24 h		A	1.09	0.48	2.42	13	
P 17.	0110 2010 3 d		A	1.16	0.82	2.76	14	
P 17.	0121 2010 14 d		A	0.89	0.47	1.89	18	
P 17.	0126 2010 19 d		A	1.17	0.51	2.29	22	
P 26.	菌血症	0116 2010 0 h	A	6.82	0.56	12.18	14	
P 26.		0116 2010 3 h	A	7.19	0.43	16.72		
P 26.		0119 2010 6 h	A	4.77	0.38	12.23		
P 26.		0119 2010 2 d	A	2.10	0.49	4.29	16	
P 26.		0120 2010 3 d	A	1.16	0.46	2.57	13	
P 26.		0122 2010 5 d	A	1.11	0.52	2.13	13	

[0052]

[表5]

P 27.	大動脈硬化症、冠動脈疾患	0201 2010 0 h	A	1.79	0.70	2.56	13
P 27.		0201 2010 3 h	A	1.85	0.83	2.35	
P 27.		0202 2010 8 h	A	2.09	0.34	6.15	
P 27.		0202 2010 24 h	A	1.88	0.71	2.37	
P 22.		0203 2010 3 d	A	1.27	0.84	1.88	13
P 28.	急性心筋梗塞 (AMI)	0201 2010 0 h	A	2.88	0.98	3.00	13
P 28.		0202 2010	A	6.43	0.57	11.28	
P 28.		0203 2010	A	2.61	0.51	5.12	
P 28.		2010 0 h	A	2.47	0.55	4.48	
P 28.		0204 2010 0 h	A		0.48		
P 28.		0204 2010 0 h	A	2.13	0.52	4.10	
P 28.		0205 2010 24 h	A	1.49	1.24	1.20	
P 28.		0210 2010 5 d	A	1.45	0.96	1.51	
P 28.	(AMI 継続後) (IASEP 継続後)	0215 2010 10 d	A	1.47	0.88	1.57	10
P 28.	冠動脈疾患	0203 2010 0 h	A	2.23	0.88	6.38	9
P 28.		0203 2010 3 h	A	1.24	0.67	1.85	
P 30.	心不全、肺不全	0204 2010 0 h	A	1.95	0.71	2.75	10
P 30.		0205 2010 3 h	A	1.64	0.33	4.97	
P 30.		0205 2010 8 h	A	1.16	0.41	2.83	
P 30.		0205 2010 24 h	A		0.83		
P 34.	慢性心臓病	0301 2010 0 h	A	3.38	0.77	4.39	9
P 34.		0301 2010 3 h	A	2.94	0.52	5.68	
P 34.		0302 2010 6 h	A	1.58	0.48	3.31	
P 34.		0302 2010 24 h	A	1.12	0.83	1.35	
P 37.	左房拡大症	0422 2010 0 h	A	2.06	0.40	5.15	
P 37.		0423 2010 3 h	A	2.29	0.34	6.74	
P 37.		0423 2010 6 h	A	2.22	0.51	4.34	
P 39.	慢性肺病下気腫	0430 2010 0 h	A	(測定不能)	0.44		
P 39.		0430 2010 3 h	A	4.48	0.47	8.49	
P 39.		0430 2010 6 h	A	2.82	0.42	6.71	
P 39.		0502 2010 24 h	A	0.98	0.42	2.33	
P 39.		0504 2010 3 d	A	0.95	0.24	3.54	
P 39.		0505 2010 4 d	A	1.49	0.44	3.39	
P 39.		0505 2010 5 d	A	2.18	0.52	4.10	
P 44.	心臓性肺水腫	0503 2010 0 h	A	1.23	0.38	0.38	9
P 44.		0504 2010	A	2.42	0.32	0.32	
P 44.		0505 2010 2 d	A	1.41	0.74	0.74	
P 44.		0505 2010 3 d	A	1.20	0.58	0.58	
P 57.	心臓拡張性水腫	0909 2010	A	1.43	0.50	2.88	30
P 57.		0910 2010	A	1.30	0.54	2.41	
P 57.		0912 2010	A	1.06	0.51	2.08	

[0053]

[表6]

B群(重症 → 軽快)

患者ID	病名	検査日 (経過時間)	検査部位	乳酸値 (mmol/L)	ATP値 (mmol/L)	A-LES	APACHE IIスコア
P 08	脳大動脈瘤	1118 2009 0 h	A	2.45	0.19	12.89	13
P 08		1118 2009 3 h	A	1.84	0.74	2.49	
P 08		1118 2009 6 h	A	2.36	0.30	7.87	
P 08		1119 2009 24 h	A	1.16	0.79	1.49	18
P 10	穿孔性腸膜炎	1122 2009 0 h	A	2.66	0.29	9.17	15
P 10		1122 2009 3 h	A	4.81	0.33	14.89	
P 10		1122 2009 6 h	A	3.06	0.30	10.20	
P 10		1123 2009 24 h	A	1.87	0.52	3.60	12
P 20	高血圧 (CHDF 開始後) (人工呼吸器撤去後)	1128 2009 0 h	V	2.19	0.16	13.69	38
P 20		1128 2009 3 h	V	1.77	0.15	11.83	
P 20		1128 2009 6 h	V	1.70	0.20	8.60	
P 20		1129 2009 24 h	V	0.30	0.31	11.10	24
P 20		0101 2010 4 d	V	0.20	0.43	21.40	26
P 20		0106 2010 9 d	V	2.27	0.56	4.06	19
P 20		0116 2010 19 d	A	1.91	0.89	3.90	17
P 20		0119 2010 22 d	A	2.46	0.31	7.83	30
P 20		0125 2010 29 d	A	1.46	0.63	2.30	15
P 20		0202 2010 36 d	A	1.21	0.65	1.86	12
P 20		0210 2010 44 d	A	2.38	0.77	3.05	18
P 13		PO 閉塞, 高血圧	0113 2010 0 h	A	2.77	0.29	8.56
P 13	0113 2010 3 h		A		0.27		
P 13	0113 2010 6 h		A		0.29		
P 13	0113 2010 24 h		A	0.90	0.33	2.73	13
P 23	潰瘍性	0118 2010 0 h	A	6.62	0.56	12.16	14
P 23		0118 2010 3 h	A	7.19	0.43	18.72	
P 23		0119 2010 6 h	A	4.77	0.39	12.23	
P 23		0119 2010 2 d	A	2.10	0.49	4.29	16
P 23		0120 2010 3 d	A	1.18	0.46	2.57	13
P 23		0122 2010 5 d	A	1.11	0.52	2.13	13
P 32		感染性心内膜炎	0210 2010 0 h	A	7.11	0.48	14.61
P 32	0211 2010 5 h		A	3.01	0.47	6.40	
P 32	0211 2010 8 h		A	1.42	0.41	3.46	
P 32	0212 2010 24 h		A	0.94	0.69	1.22	9
P 35	急性心筋梗塞 (AMI)、予備線、CPA	0302 2010 1 d	A	7.87	1.01	7.89	29
P 35		0303 2010 2 d	A	2.23	1.08	2.62	27
P 35		0304 2010 3 d			1.00		28
P 35		0305 2010 4 d		1.72	0.98	1.76	26
P 36	不安定狭心症  2回目の入室 (心アークボナーチ)	0419 2010 0 h	A	1.69	0.25	6.76	
P 36		0419 2010 3 h	A	2.64	0.34	7.76	
P 36		0419 2010 6 h	A	3.00	0.24	12.80	
P 36		0421 2010 24 h	A	2.77	0.46	6.02	
P 36		0423 2010 2 d	A	1.30	0.53	2.45	
P 36		0424 2010 3 d		1.21	0.31	3.09	
P 36		0425 2010 4 d		1.91	0.24	7.96	
P 36		0426 2010 5 d	V	1.35	0.30	4.50	
P 36		0502 2010 11 d	A	0.94	0.39	2.48	
P 36		0504 2010 13 d		1.02	0.33	3.09	
P 36		0505 2010 14 d		1.07	0.44	2.43	
P 36		0506 2010 15 d	A	1.27	0.47	2.70	
P 41	急性硬膜下血腫	0430 2010 0 h	A	(測定不能)	0.44		
P 41		0430 2010 3 h	A	4.48	0.47	8.49	
P 41		0430 2010 6 h	A	2.82	0.42	6.71	
P 41		0502 2010 24 h	A	0.98	0.42	2.33	
P 41		0504 2010 3 d	A	0.86	0.24	3.54	
P 41		0505 2010 4 d	A	1.49	0.44	3.39	
P 41		0506 2010 5 d	A	2.18	0.52	4.19	

[0054]

[表7]

P 42	心不全 - ADS 試験	0430 2010	3 h		1.63	0.23	7.09	29
P 42		0430 2010	6 h		1.67	0.22	7.59	29
P 42		0501 2010	2 d	A	1.74	0.31	6.61	17
P 42		0502 2010	3 d	A	1.46	0.42	3.49	19
P 45	大動脈弁閉鎖不全症	0510 2010	0 h	A	6.10	0.62	14.52	11
P 45		0510 2010	3 h	A	4.46	0.37	12.06	11
P 45		0510 2010	6 h	A	2.92	0.32	9.13	11
P 45		0511 2010	24 h	A	1.47	0.59	2.49	11
P 47	新薬従事試験等 - 総集次	0514 2010	0 h	A	14.62	0.36	41.17	20
P 47		0514 2010	6 h	A	9.68	0.46	22.19	20
P 47		0514 2010	12 h	A	5.66	0.41	13.79	20
P 47		0514 2010	18 h	A	3.64	0.51	5.78	20
P 47		0515 2010	24 h	A	2.43	0.54	4.50	19
P 47		0517 2010	3 d		1.43	0.50	2.88	17
P 47		0518 2010	4 d	A	1.46	0.47	3.11	16
P 47		0519 2010	5 d	A	1.57	0.34	4.62	13
P 47		0520 2010	6 d	A	1.13	0.26	4.52	17
P 47		0521 2010	7 d		2.37	0.39	6.13	16
P 47		0522 2010	8 d		1.40	0.39	3.59	19
P 47		0523 2010	9 d		1.18	0.41	2.60	18
P 47		0524 2010	10 d		1.38	0.42	3.45	17
P 47		0525 2010	11 d	A	1.05	0.37	2.84	16
P 47		0526 2010	12 d	A	1.09	0.28	3.89	16
P 47		0527 2010	13 d		1.67	0.41	4.07	
P 52	数値認知チェック	0616 2010		A	4.10	0.34	12.06	41
P 52		0618 2010		A	5.52	0.35	16.77	23
P 52		0619 2010		A	2.23	0.16	13.64	24
P 52		0620 2010		A	1.89	0.17	11.12	20
P 52	読解試験	0621 2010		A	1.90	0.23	7.63	29
P 52		0622 2010		A	1.19	0.46	2.59	20
P 52		0625 2010		A	0.89	0.46	1.85	13
P 53		三文字読取	0712 2010		A	5.39	0.35	15.43
P 53	0713 2010			A	6.06	0.42	22.70	22
P 53	0714 2010			A	1.78	0.34	5.24	19
P 53	0715 2010			A	1.53	0.39	3.92	14
P 53	0716 2010		A	1.29	0.44	2.82	13	
P 56	数値認知チェック (Focus 不明)	0809 2010		A	3.79	0.32	11.84	31
P 56		0810 2010		A	2.89	0.39	7.52	31
P 56		0811 2010		A	2.63	0.42	6.59	31
P 56		0812 2010		A	2.49	0.43	5.79	16
P 56		0819 2010		A	2.18	0.46	4.74	17
P 56		0819 2010		A	1.50	0.49	3.06	15
P 58	読解	0820 2010		A	6.29	0.35	17.86	32
P 58		0821 2010		A	2.79	0.52	5.31	18
P 58		0822 2010		A	2.27	0.65	3.49	22
P 58		0823 2010		A	2.13	0.65	3.29	23
P 59	言葉大動脈	0830 2010		A	8.20	0.57	18.14	12
P 59		0830 2010		A	8.59	0.59	14.80	12
P 59		0830 2010		A	8.21	0.61	13.46	12
P 59		0831 2010		A	6.64	0.67	12.00	8
P 59		0831 2010		A	6.52	0.68	9.69	8
P 59		0831 2010		A	2.48	0.69	3.65	8
P 59		0903 2010		A	1.93	0.69	3.27	6
P 62	読解	0301 2011		A	7.26	0.29	25.03	
P 62		0301 2011		A	4.66	0.37	12.59	
P 62		0302 2011		A	4.43	0.47	9.43	
P 62		0303 2011		A	2.20	0.58	3.79	
P 62	0307 2011		A	2.43				

[0055]



[表8]

○群(重症 → 死亡)

患者ID	病名	検査日(経過時間)	検査部位	乳酸値 (mmol)	ATP値 (mmol)	A-LES	APACHE IIスコア
P 17.	肺塞栓症	1219 2009 0 h	A	7.29	0.29	29.14	28
P 17.		1219 2009 3 h	A	10.80	0.18	86.25	
P 17.		1219 2009 6 h	A	13.20	0.26	53.77	
P 18.	C型肝炎による肝硬変	1220 2009 0 h	A	8.50	0.14	88.29	40
P 18.		1220 2009 3 h	A	18.00	0.26	81.85	
P 18.		1220 2009 6 h	A	18.44	0.17	114.38	
P 18.		1221 2009 24 h	A	17.35	0.30	86.76	
P 43.	敗血症	0502 2010 0 h	A	2.50	0.48	5.40	
P 43.		0502 2010 3 h	A	3.18	0.48	5.58	
P 43.		0502 2010 6 h	A	4.05	0.51	7.94	
P 43.		0503 2010 24 h	A	1.20	0.42	3.05	
P 43.		0504 2010 2 d	A	4.29	0.39	14.79	
P 43.		0505 2010 3 d	A	7.47	0.48	18.24	
P 43.		0505 2010 3 d	A	8.84	0.32	27.00	
P 49.		敗血症	0523 2010 0 h	A		0.25	
P 49.		0523 2010 6 h	A	2.07	0.48	4.31	17
P 49.		0523 2010 12 h	A	2.36	0.43	5.49	17
P 49.		0524 2010	A	3.78	0.40	8.40	20
P 49.		0525 2010 3 d	A	1.40	0.30	4.97	17
P 49.		0526 2010 4 d	A	3.18	0.30	12.50	19
P 49.		0527 2010 6 d	A	3.80	0.22	15.36	
P 50.	敗血症、肝性脳症	0607 2010	A	18.70	0.47	35.84	48
P 50.		0607 2010	A	13.10	0.43	30.80	36
P 50.		0608 2010	A	10.80	0.31	35.33	38
P 50.		0608 2010	A	12.30	0.30	41.68	38
P 54.		0717 2010	A	1.47	0.31	4.74	
P 54.		0718 2010	A	1.55	0.30	5.17	
P 54.		0720 2010	A	1.50	0.33	4.55	
P 54.		0721 2010	A	1.46	0.30	3.84	
P 54.		0722 2010	A	1.38	0.19	7.28	
P 54.		0722 2010	A				
P 60.	肝硬変	1006 2010	A	2.32	0.28	9.28	32
P 60.		1007 2010	A	2.30	0.24	9.96	26
P 60.		1009 2010	A	3.25	0.23	22.87	25
P 63	敗血症		A	29.51	0.33	99.73	44

[0056] 43名の中から、A群（軽症から軽快した群）として、P16（インフルエンザ肺炎）、P27（冠動脈疾患）、P34（感染性心内膜炎）の3名の患者を、B群（重症から軽快した群）として、P20（敗血症）、P32（感染性心内膜炎）の2名の患者を、C群（重症から死亡した群）として、P17（肺塞栓症）、P18（劇症C型肝炎）の2名の患者について、ATP量の時間経過を図4Aに示した。ATP量を指標にモニターした場合、軽快に向かうケースではATP量は徐々に増加して、最終的に正常値（0.52mM以上）にまで回復して救急集中治療室から退室した。

[0057] 図4Aに示すように、ATP量が0.3mM未満の場合は重度異常と判断され、治療に伴ってATP量の増加が見られる場合には、全身状態の改善が見られて軽快した。逆に、ATP量が6-24時間以上0.3mM未満で推移する場合、死に至るリスクが高い。なお、P32の患者は、入室時のATP量は軽度異常値を示したが、以下に示すA-LES値と全身状態から重症患者に分類した。

[0058] ATP量の代わりにA-L E S (L a c / A T P) 値を指標にモニターした場合を図4Bに示した。A-L E S 値を指標にした場合は、ATP量単独を指標とする場合よりも、エネルギー代謝中間代謝産物としての乳酸量をファクターに入れることで、重症度がより幅広くスコア化され、病気の重症度をより正確に反映した。

[0059] A群(軽症から軽快した群)の患者の大半は、A-L E S 値は正常域内か8.0を越えることなく、退室時には全例で正常域の3.7以下を示した。B群(重症から軽快した群)患者は、入室当初はA-L E S 値が8.0を超え25.0以下の重症域値を示し、病気によっては様々な経過をたどるが、軽快した症例の退室時には全例正常域の3.7以下を示した。なお、A-L E S 値が治療方法の評価に役立つ例として、P20の敗血症患者の例を示す。この患者は、入室時に処方した抗生剤に一時反応してA-L E S 値が低下したが、その後持続的にA-L E S 値が上昇して増悪化をたどり、入室4日目で細菌の感受性検査から選定した抗生剤に変更したところ、急速にA-L E S 値が低下して、改善に向かい退室した例で、治療薬剤、治療方法の効果のモニターにA-L E S 値が有益であることを示す例である。一方、C群の重症患者で増悪して死亡した例ではその大半が、A-L E S 値が入室時から25.0を超える高値を示し、治療にもかかわらず6-24時間以内にA-L E S 値が25.0以下に改善することがなかった。すなわち、正常域に入った患者しか集中治療室を退室できていないことが確認された。

[0060] (実施例2) 救急集中治療室への入室時と退室時(あるいは死亡時)のAPACHE IIスコアとA-L E S 推移の比較

本実施例では、徳島大学の倫理委員会の承認を得た後、様々な病気で救急集中治療室に入室した29名の患者を対象に、患者の入室時と退室時(あるいは死亡時)のAPACHE IIスコアとA-L E S 値の推移の比較について図5に示した。ATP量及び乳酸量の測定は参考例1及び3と同手法により行ない、A-L E S 値を算出した(図5)。

[0061] 重症、軽症から軽快した群: 男性16名、女性8名の患者の大半では、A

－LES値の低下に伴いAPACHEIIスコアは低下した。一方、重症患者で増悪して死亡した例ではAPACHEIIスコアは高いままで変化しないか、中には低下するものが認められたが、A－LES値は病状の悪化とともに上昇傾向が認められ、重症化の程度を良く反映した。以上の結果から、A－LES値はリアルタイムマーカーとして、病状を反映するだけでなく、APACHEIIスコアの高い患者においても、より詳細に重症化の程度を評価できる。

[0062] (実施例3) 健常マウス、インフルエンザウイルス感染重症化マウス由来の試料中のATP量、乳酸量、A－LES値、ケトン体量(β－ヒドロキシ酪酸値)、A－KES値(β－ヒドロキシ酪酸値/ATP値)

本実施例は、ヒトをのぞく脊椎動物(被検動物)由来の血液においても、ATP量、A－LES値が重症度評価に好適に使用できる例として、インフルエンザウイルスを感染させた重症化マウスの実験系におけるATP量、乳酸量、A－LES値と、ケトン体量(3－ヒドロキシ酪酸値)、A－KES値(3－ヒドロキシ酪酸値/ATP値)を示した。なお、測定に必要なマウス血液量の制限から、ケトン体量として3－ヒドロキシ酪酸値のみが測定されアセト酢酸値は測定されていない。そのため、A－KES値の測定は、3－ヒドロキシ酪酸値/ATP値によって評価した。ウイルス感染試験は、4週齢の野生型マウス(C57BL/6)にインフルエンザウイルス(Influenza A/PR/8/34: H1N1)を120PFU経鼻感染させた。一方、コントロールの健常マウスにはウイルスの代わりに生理食塩水を経鼻投与した。これらのマウスを死亡例の出る直前の7日目に採血を行って、ATP量、乳酸量、A－LES値、ケトン体量(3－ヒドロキシ酪酸値)、A－KES値(β－ヒドロキシ酪酸値/ATP値)を測定した(図6)。

[0063] 健常マウスと比較して、インフルエンザウイルスを感染させて重症化したマウスでは、ATP量の低下と乳酸量の増加が確認された。これによって、A－LES値の著明な上昇が確認された。以上の結果から、ヒト(被検者)以外の脊椎動物(被検動物)からの試料であっても、重症度あるいは治療効

果等の評価が可能であることが示された。なお、重症度のA-L E S基準値は、動物種によって値が異なるためヒトの基準は参考にはなるがそのままあてはまるものではない。また、健常マウスと比較して、インフルエンザウイルスを感染させて重症化したマウスでは、A T P量の低下とケトン体（3-ヒドロキシ酪酸値）量の増加が確認された。これによって、A-K E S値（3-ヒドロキシ酪酸値/A T P値）の著明な上昇が確認された。この結果から、A-K E S値によっても重症度あるいは治療効果等の評価が可能であることが示された。なお、重症度を示すA-K E S基準値は、ケトン体量の種類（例えば、3-ヒドロキシ酪酸量のみや、アセト酢酸量及び3-ヒドロキシ酪酸量の合計量など）や、動物種によってその値が異なる。

[0064] 以上に示す如く、血液A T P量は「生存に必要とするエネルギー状態」を反映していることが示され、疾患の重症度をリアルタイムで表す新たな指標になることが示された。さらに従来エネルギー代謝の中間代謝産物として、筋肉疲労や組織の酸素利用の障害時に増加する血液中の乳酸値を、血液A T Pを分母にA-L E S値として再評価することで鋭敏な「エネルギーリスクスコア」として表すことが可能となり病気の重症度を示した。特にA-L E S値は、エネルギー代謝に関係する疾患、例えば感染症、糖尿病、ミトコンドリア脳筋症等の代謝疾患、末梢循環不全、C O中毒、エネルギー代謝の酵素欠損症等の疾患で、感度良く病気の重症度を示すが、これら以外の疾患でも病気の重症度のリアルタイムリスクマーカーとなる。また、血液中のA T P量に対する血液中のケトン体量の比であるA-K E S値として再評価することでも病気の重症度を判定することができることを示した。

### 産業上の利用可能性

[0065] 以上詳述したように、本発明の検査方法により、試料中のA T P量や乳酸量、ケトン体量、その換算値（A-L E S（L a c/A T P）値；A-K E S（K e t o n e/A T P）値）に基づき、従来のA P A C H E II、S O F Aスコアに較べて、より客観的で簡便な手法で病気の重症度をリアルタイムに判断することができるようになった。この検査方法はこれまでにない「病

気の重症度を測定する方法」を明示している。本発明を臨床検査に応用することで、いち早く患者の病気の重症化のきざしをつかみ治療方針の良し悪しを点検、評価できるなど、その恩恵は計り知れない。さらに、ある疾患での「ハイリスク患者」、例えばインフルエンザ感染のハイリスク患者とされている糖尿病患者、肥満者、妊婦、人工透析患者、慢性疾患患者を、A-L E S値、A-K E S値で詳細に分類することで、重症化の機序の解明と治療法の開発が可能となる。

[0066] 本発明は、ヒトと家畜など動物の病気の重症度診断にも好適に使用できる。

## 請求の範囲

- [請求項1] 試料中のアデノシン三リン酸量を測定することを特徴とする、病気の重症度の検査方法。
- [請求項2] 測定が以下の工程を含む、請求項1記載の検査方法。  
1) 試料中に含有されるアデノシン三リン酸量を測定するために、フェノール化合物を含む溶液で試料を処理し、試料中のアデノシン三リン酸を抽出する工程；  
2) アデノシン三リン酸測定用試薬を用いて抽出したアデノシン三リン酸量を測定する工程；
- [請求項3] フェノール化合物を含む溶液が、pH4～10の溶液である請求項2記載の検査方法。
- [請求項4] フェノール化合物を含む溶液が、さらにタンパク質変性剤を含む溶液である請求項2又は3記載の検査方法。
- [請求項5] フェノール化合物がフェノールである、請求項2～4のいずれか記載の検査方法。
- [請求項6] 試料が、被検者から取得した血液であり、当該血液中のアデノシン三リン酸量が、正常値の下限0.52mM未満の場合に異常であると判断する、請求項1～5のいずれか記載の検査方法。
- [請求項7] 病気の重症度を、血液中のアデノシン三リン酸量が、正常値の下限0.52mM未満で0.3mM以上を軽度異常、0.3mM未満を重度異常、1日以内に0.3mM以上への回復が無い場合は死に至るリスクが高いと判断する、請求項6記載の検査方法。
- [請求項8] さらに、試料中の乳酸量を測定することを特徴とする、請求項1～7のいずれか記載の検査方法。
- [請求項9] 試料中のアデノシン三リン酸量（A；mM）に対する乳酸量（L；mM）の換算値（A－LES値）＝L/Aを、病気の重症度指標とする、請求項8記載の検査方法。
- [請求項10] 試料が、被検者から取得した血液であり、当該血液中のアデノシン

三リン酸量に対する乳酸量の換算値が、正常値の上限 3.7 を超える場合に異常であると判断する、請求項 8 又は 9 記載の検査方法。

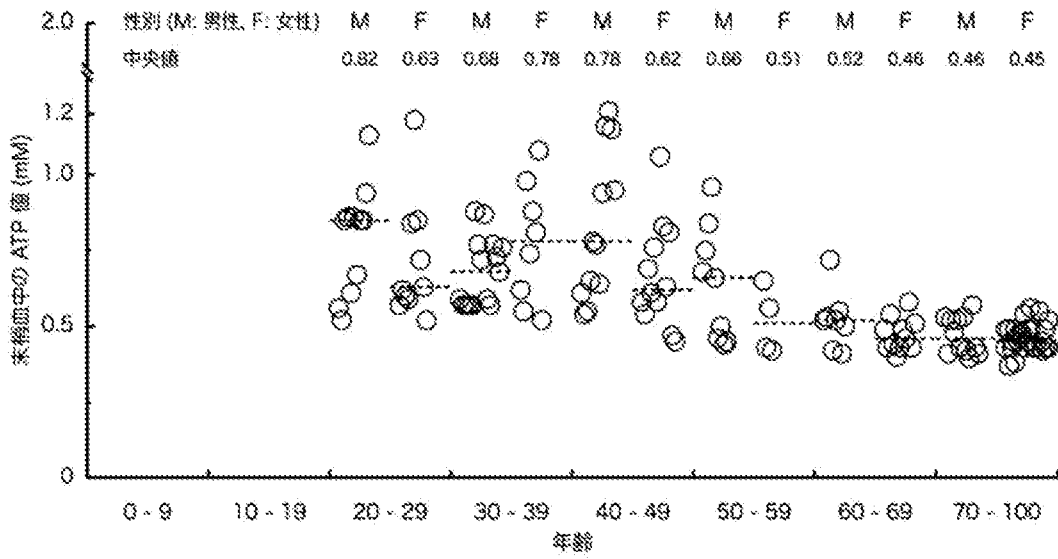
[請求項11] 病気の重症度を、血液中のアデノシン三リン酸量に対する乳酸量の換算値が、正常値の上限 3.7 を超え 8.0 以下を軽度異常、8.0 を超え 25.0 以下を重度異常、25.0 を超える高値が 6 時間以上続く場合は、死に至る重度異常と判断する、請求項 10 記載の検査方法。

[請求項12] さらに、試料中のケトン体量を測定することを特徴とする、請求項 1 ~ 11 のいずれか記載の検査方法。

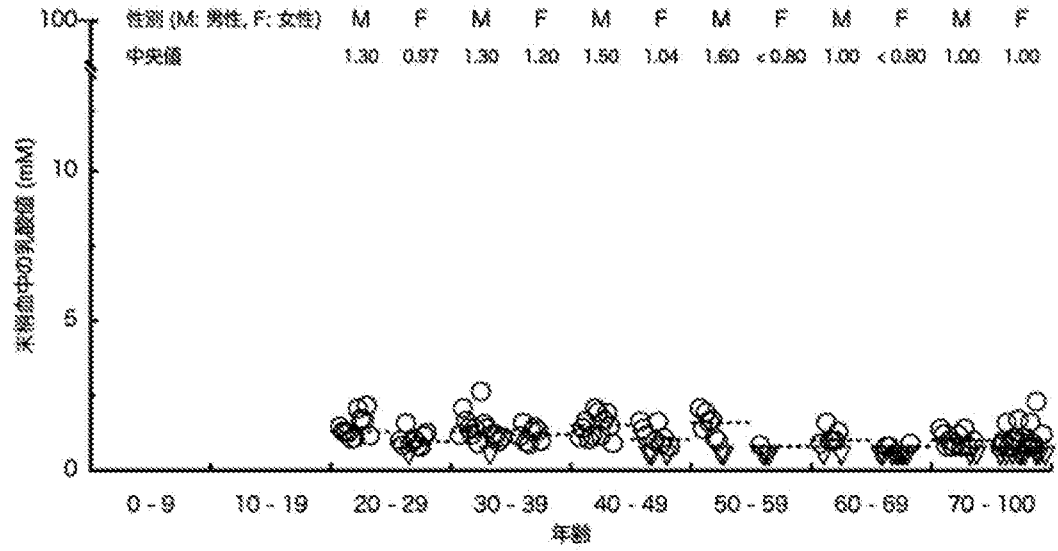
[請求項13] 試料中のアデノシン三リン酸量 (A ; mM) に対するケトン体量 (K ; mM) の換算値  $(A - KES) = K / A$  を、病気の重症度指標とする、請求項 12 記載の検査方法。

[請求項14] 試料が、被検者から取得した血液であり、当該血液中のアデノシン三リン酸量に対するケトン体量の換算値が正常値の上限 0.25 を超える場合に異常であると判断する、請求項 12 又は 13 記載の検査方法。

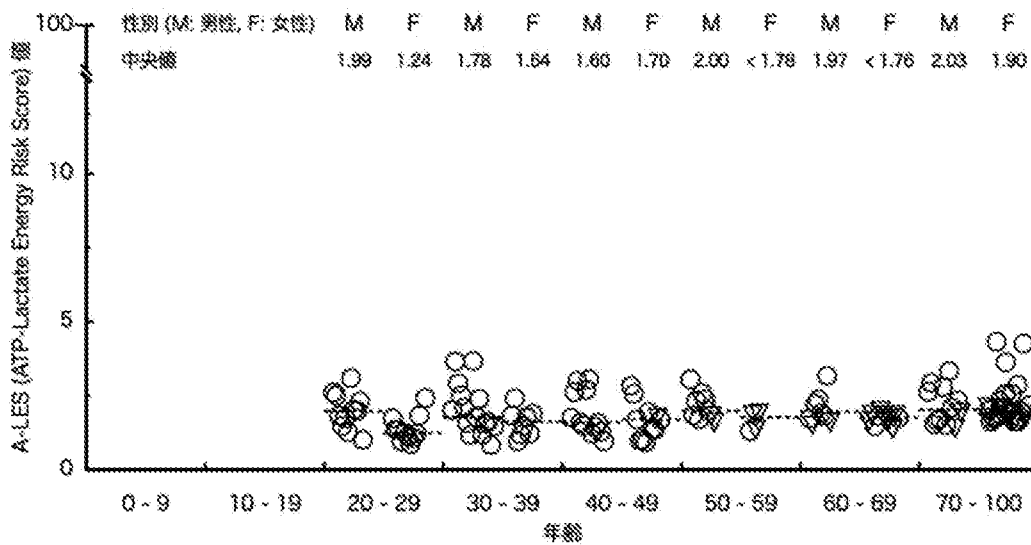
[図1]



[図2]

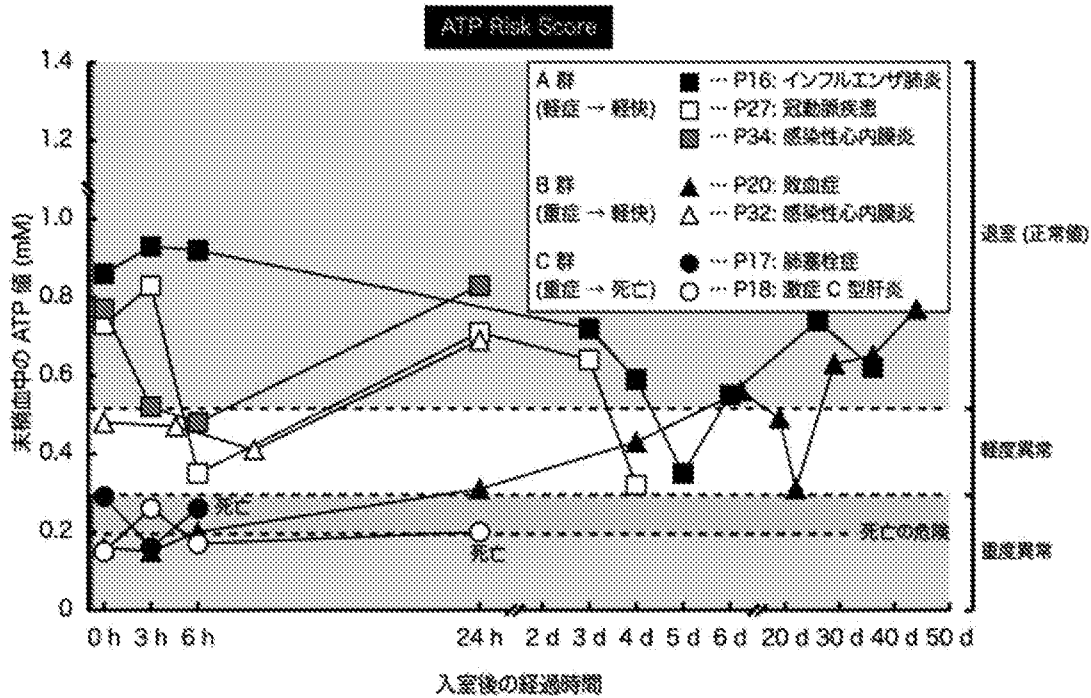


[図3]

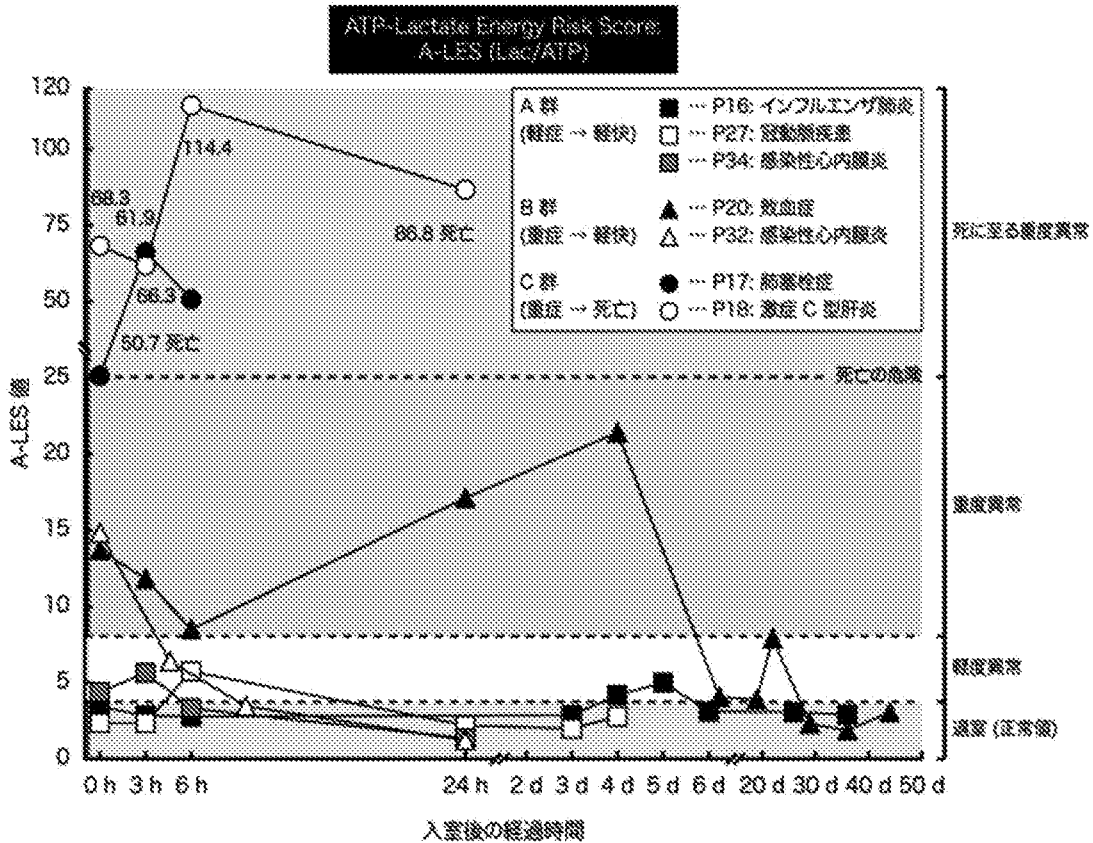




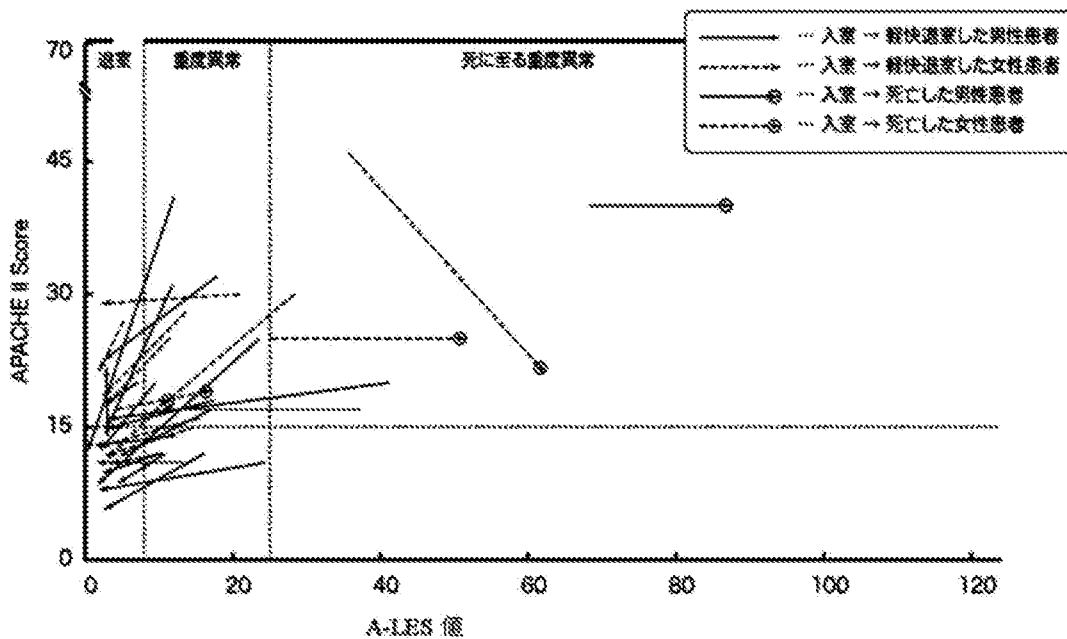
[図4A]



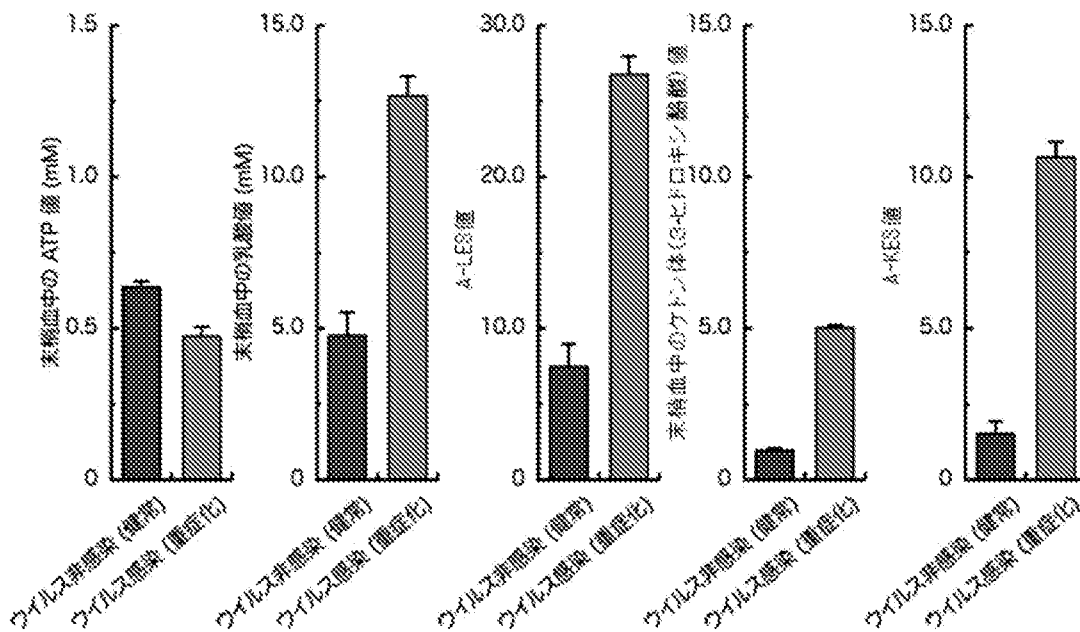
[図4B]



[図5]



[図6]



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2011/002979

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

G01N33/50(2006.01) i, C12Q1/68(2006.01) i, G01N33/48(2006.01) i

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

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/50, C12Q1/68, G01N33/48

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 2009/096429 A1 (The University of Tokushima), 06 August 2009 (06.08.2009), entire text; all drawings (Family: none)	1-6 7-14
X	JP 2009-527567 A (Edison Pharmaceuticals, Inc.), 30 July 2009 (30.07.2009), paragraph [0184] & US 2007/0225261 A1 & EP 1986636 A & WO 2007/100652 A2 & CA 2635280 A	1, 8

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
01 July, 2011 (01.07.11)

Date of mailing of the international search report  
12 July, 2011 (12.07.11)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/002979

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2009-519467 A (University of Florida Research Foundation, Inc.), 14 May 2009 (14.05.2009), claim 5; paragraphs [0134] to [0135] & US 2007/0167853 A1 & EP 1960775 A & WO 2007/089328 A2 & CA 2633826 A	1, 8, 12
X	JP 2005-505306 A (Novartis Forschungsstiftung, Zweigniederlassung Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research), 24 February 2005 (24.02.2005), claim 19 & US 2005/0004068 A1 & GB 124577 D & GB 124577 D0 & EP 1436623 A & WO 2003/034067 A1	1
X	WO 98/48044 A1 (Kikkoman Corp.), 29 October 1998 (29.10.1998), claim 7 & US 6569637 B1 & AU 6853398 A	1

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
 Int.Cl. G01N33/50(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i

B. 調査を行った分野  
 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
 Int.Cl. G01N33/50, C12Q1/68, G01N33/48

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの  
 日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2011年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2011年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2011年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
 CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)  
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	WO 2009/096429 A1 (国立大学法人徳島大学) 2009.08.06, 全文、全 図 (ファミリーなし)	1-6 7-14
X	JP 2009-527567 A (エジソン ファーマシューティカルズ, イン コーポレイテッド) 2009.07.30, 段落【0184】 & US 2007/0225261 A1 & EP 1986636 A & WO 2007/100652 A2 & CA 2635280 A	1, 8

C欄の続きにも文献が列挙されている。  パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 01.07.2011	国際調査報告の発送日 12.07.2011
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 赤坂 祐樹 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2009-519467 A (ユニバーシティ オブ フロリダ リサーチ ファウンデーション インコーポレーティッド) 2009.05.14, 請求項5、段落【0134】 - 【0135】 & US 2007/0167853 A1 & EP 1960775 A & WO 2007/089328 A2 & CA 2633826 A	1, 8, 12
X	JP 2005-505306 A (ノバルティス・フォルシュングスシュティフトUNG・ツヴァイクニーダーラッスング・フリードリッヒ・ミーシェー・インスティトゥート・フォー・バイオメディカル・リサーチ) 2005.02.24, 請求項19 & US 2005/0004068 A1 & GB 124577 D & GB 124577 D0 & EP 1436623 A & WO 2003/034067 A1	1
X	WO 98/48044 A1 (キッコーマン株式会社) 1998.10.29, 請求の範囲7 & US 6569637 B1 & AU 6853398 A	1