

(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
2024年12月5日(05.12.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/248019 A1

(51) 国際特許分類:

G01N 33/86 (2006.01)

(21) 国際出願番号:

PCT/JP2024/019652

(22) 国際出願日:

2024年5月29日(29.05.2024)

(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 2023-089032 2023年5月30日(30.05.2023) JP

(71) 出願人: 積水メディカル株式会社(SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 Tokyo (JP).

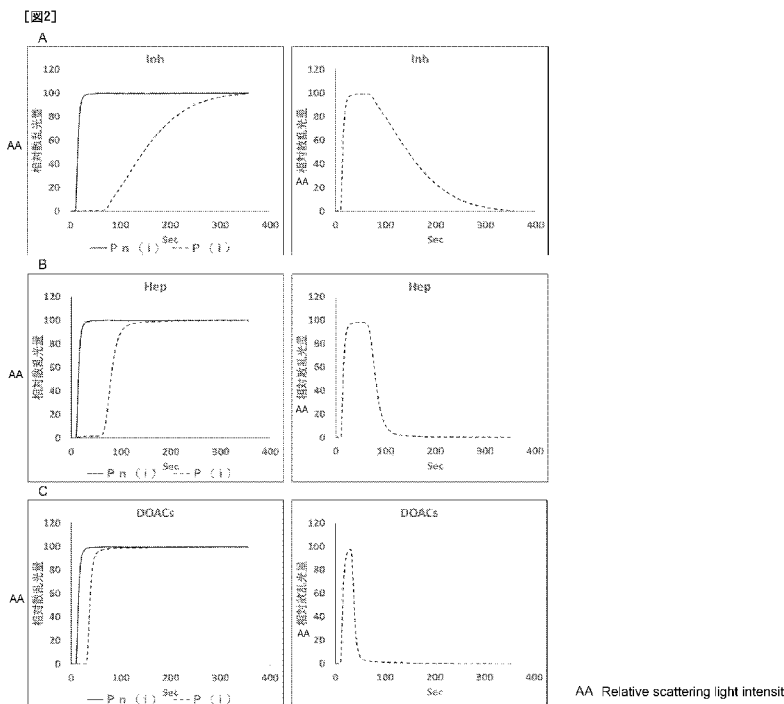
(72) 発明者: 小田 由紀夫(ODA, Yukio); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP). 遠見 真理(EMMI, Mari); 〒1030027 東京都中央区日本橋二丁目1番3号 積水メディカル株式会社内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人アルガ特許事務所(ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番8号 沢の鶴人形町ビル 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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,

(54) Title: METHOD FOR ESTIMATING CAUSE OF BLOOD COAGULATION ANOMALY BY ANALYSIS OF DEVIATION WAVEFORM

(54) 発明の名称: 乖離波形の解析による血液凝固異常の要因の推定方法



(57) Abstract: Provided is a method for estimating a cause of a coagulation anomaly in a blood specimen, said method comprising calculating a deviation curve $D(i)$ of a subject blood specimen, calculating a parameter which reflects the shape of said $D(i)$, and estimating a cause of a coagulation anomaly in said subject blood specimen on the basis of said parameter, wherein $D(i)=P(i)-P_n(i)$ where: i represents the number of measured points or time; $P(i)$ is a curve obtained by converting measurement data of a coagulation reaction of said subject blood specimen into a relative value so that the

HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

minimum value is 0, and the maximum value is A; $P_n(i)$ is a curve obtained by shifting $P'(i)$ so that a rise point thereof is aligned with a prescribed point X, where said $P'(i)$ is a curve obtained by converting measurement data of a coagulation reaction of a reference specimen into a relative value so that the minimum value is 0, and the maximum value is A; $A > 0$; and X is 5-15 seconds or the number of measured points corresponding thereto.

(57) 要約: 血液検体の凝固異常の要因の推定方法であって、被検血液検体の乖離曲線 $D(i)$ を算出すること、該 $D(i)$ の形状を反映するパラメータを算出すること、該パラメータに基づいて、該被検血液検体の凝固異常の要因を推定すること、を含み、ここで、 $D(i) = P(i) - P_n(i)$; i は計測点数又は時間を表し; $P(i)$ は、該被検血液検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり; $P_n(i)$ は、 $P'(i)$ を、その立ち上がり点を所定点 X に合わせるようにシフトさせた曲線であり、該 $P'(i)$ は、基準検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり; $A > 0$ であり; X は 5 ~ 15 秒、又はそれに対応する計測点数である、方法。

明 細 書

発明の名称：

乖離波形の解析による血液凝固異常の要因の推定方法

技術分野

[0001] 本発明は、血液凝固異常の要因の推定方法に関する。

背景技術

[0002] 血液凝固検査は、患者の血液検体に所定の試薬を添加して血液凝固時間等を測定することにより、患者の血液凝固能を診断するための検査である。血液凝固時間の典型的な例としては、プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、トロンビン時間などがある。血液凝固能の異常は、凝固時間の延長を引き起こす。血液凝固能の異常が生じる要因としては、抗凝固薬の影響、凝固関与成分の減少、先天的な血液凝固因子の欠乏、凝固反応を阻害する自己抗体の後天的な出現などが挙げられる。

[0003] 従来、血液凝固検査で被検検体の凝固時間の延長が見られた場合、一般的には、該検体が抗凝固薬を含有する疑いがない場合には、クロスミキシング試験が行われて凝固時間延長要因が判定される。クロスミキシング試験では、被検検体と正常検体との混合検体を調製し、その混合直後のAPTT（即時反応）と37℃で2時間インキュベーションした後のAPTT（遅延反応）が測定され、該即時反応及び遅延反応のパターンに基づいて、該被検検体のAPTTの延長要因が凝固因子インヒビター（抗凝固因子）、ループスアンチコアグラント（LA）又は血友病等の凝固因子欠乏のうちの何れに起因するかが判定される。しかし、従来のクロスミキシング試験は、上記のとおり非常に手間と時間がかかる。

[0004] 直接経口抗凝固剤（Directly Acting Oral Anticoagulants；DOACs）は、トロンビン又は活性化第X因子を阻害する経口抗凝固薬であり、血栓症のリスクがある患者に予防投与される。DOACs投与患者から採取された血液検体は、通常は凝固時間が延長

するが、凝固時間が正常時間内となることがあり、これは患者にとって重大な危険をもたらす恐れがある。例えば、DOACs投与患者が交通事故などで緊急搬送されて外科手術を受ける場合、通常の術前の凝固検査で凝固時間の延長が観察されないと、当該患者がDOACs投与患者であることを知らない医師は、患者の凝固能に異常があることに気づけず、適切な処置を施すことができない。

[0005] 特許文献1～4には、血液検体の凝固速度曲線の加重平均時間、加重平均高さ、ピーク幅、基線長などのパラメータを算出すること、及びそれらのパラメータを、血液凝固時間の延長要因の推定や、凝固因子欠乏の評価、血液凝固時間の算出などに用いることが記載されている。特許文献5には、凝固速度曲線が最大値に達する点の前後で、該凝固速度曲線が該最大値のS%となる点 p_k 及び q_k を算出し、該 p_k 及び q_k を用いて血液凝固異常要因の推定のためのパラメータを算出することが記載されている。特許文献6には、血液検体の凝固反応曲線 $P(i)$ が凝固反応終了点 P_e のX%に達する時間を表す関数 $T(X)$ の形状に基づいて、血液凝固時間の延長要因を推定することが記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開公報第2020/101025号
特許文献2：国際公開公報第2020/158948号
特許文献3：国際公開公報第2020/218425号
特許文献4：国際公開公報第2021/177452号
特許文献5：国際公開公報第2022/054819号
特許文献6：国際公開公報第2022/186381号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、血液検体の凝固異常の要因を推定するための新たな方法を提供

する。

課題を解決するための手段

[0008] すなわち、本発明は、以下を提供する。

〔1〕血液検体の凝固異常の要因の推定方法であって、

被検血液検体の乖離曲線 $D(i)$ を算出すること、

該 $D(i)$ の形状を反映するパラメータを算出すること、

該パラメータに基づいて、該被検血液検体の凝固異常の要因を推定すること、

を含み、

ここで、

$$D(i) = P(i) - P_n(i);$$

i は計測点数又は時間を表し；

$P(i)$ は、該被検血液検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり；

$P_n(i)$ は、 $P'(i)$ を、その立ち上がり点を所定点 X に合わせるようにシフトさせた曲線であり、該 $P'(i)$ は、基準検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり；

$A > 0$ であり；

X は 5 ～ 15 秒、又はそれに対応する計測点数である、
方法。

〔2〕前記 $D(i)$ の形状を反映するパラメータが、 $g_T(S)$ 、 $g_H(S)$ 、 $g_B(S)$ 、 $g_{AB}(S)$ 、及び $R_{g_B}(S_1/S_2)$ からなる群より選択される少なくとも 1 つであり、

ここで、

$g_T(S)$ 及び $g_H(S)$ は、それぞれ下記式で表され、

[数1]

$$g_T(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} D(i)}$$

$$g_H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i}$$

式中、 t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D(i) \geq D_{max} \times S(\%)$ を満たす i の最小値及び最大値であり、ここで D_{max} は $D(i)$ の最大値であり、 $0 < S < 100$ であり、

ただし式中 $D(i) < D_{max} \times S(\%)$ のときは、 $i = 0$ かつ $D(i) = 0$ とみなす；

$g_B(S)$ は、 t_1 と t_2 の間で $D(i) \geq D_{max} \times S(\%)$ を満たす時間又は計測点数を表し；

$g_{AB}(S) = g_H(S) / g_B(S)$ であり；

$R_{g_B}(S_1 / S_2) = g_B(S_1) / g_B(S_2)$ であり、ここで $0 < S_1 < 100$ かつ $0 < S_2 < 100$ であり、ただし $S_1 \neq S_2$ である、

〔1〕記載の方法。

〔3〕前記被検血液検体の凝固時間が延長していない場合に、 $g_B(S)$ 及び $g_{AB}(S)$ からなる群より選択される少なくとも1つを算出することを含む、〔2〕記載の方法。

〔4〕 $g_B(S)$ が閾値又はそれより大きい場合、又は $g_{AB}(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が $DOACs$ 陽性であると推定することを含む、〔3〕記載の方法。

〔5〕前記被検血液検体の凝固時間が延長している場合に、 $g_{AB}(S)$ 及び $R_{g_B}(S_1 / S_2)$ からなる群より選択される少なくとも1つを算出することを含む、〔2〕記載の方法。

〔6〕 $g_{AB}(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が凝固因子インヒビター陽性であると推定することを含む、〔5〕記載の方法

。

〔7〕 $S_1 < S_2$ かつ $R_{gB}(S_1/S_2)$ が閾値又はそれより小さい場合、又は、 $S_1 > S_2$ かつ $R_{gB}(S_1/S_2)$ が閾値又はそれより大きい場合に、前記被検血液検体がヘパリン陽性であると推定することを含む、〔5〕記載の方法。

〔8〕 $gAB(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が凝固因子インヒビター陽性であると推定すること、

$S_1 < S_2$ かつ $R_{gB}(S_1/S_2)$ が閾値又はそれより小さい場合、又は、 $S_1 > S_2$ かつ $R_{gB}(S_1/S_2)$ が閾値又はそれより大きい場合に、前記被検血液検体がヘパリン陽性であると推定すること、

凝固因子インヒビター陽性又はヘパリン陽性と推定されなかった被検血液検体がグループスアンチコアグラント陽性であるか又は凝固因子欠乏であるかを推定すること、

を含む、

〔5〕記載の方法。

〔9〕 前記凝固因子インヒビター陽性又はヘパリン陽性と推定されなかった被検血液検体と、正常検体との混合検体を調製すること、

該混合検体の乖離曲線 $D_m(i)$ 、及び該正常検体の乖離曲線 $D_s(i)$ を算出すること、

該 $D_m(i)$ 及び $D_s(i)$ についての $gAB(S)$ を算出すること、

パラメータ $R(S)$ を算出すること、

を含み、

ここで、

$$D_m(i) = P_m(i) - P_n(i) ;$$

$$D_s(i) = P_s(i) - P_n(i) ;$$

$P_m(i)$ は、該混合検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり；

$P_s(i)$ は、該正常検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値

Aになるよう相対値化した曲線であり；

$P_n(i)$ 及びAは前記で定義したとおりであり；

$D_s(i)$ についての $g_{AB}(S)$ が、下記式で表され、

$D_s(i)$ についての $g_{AB}(S) = [D_s(i)$ についての $g_H(S)] \div [D_s(i)$ についての $g_B(S)]$

ここで、

[数2]

$$D_s(i) \text{ についての } g_H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D_s(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i} \quad (I)$$

(式 (I) 中、

t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D_s(i) \geq [D_s(i) \text{ の最大値} \times S (\%)]$ を満たす i の最小値及び最大値であり、

$0 < S < 100$ であり、

ただし $D_s(i) < [D_s(i) \text{ の最大値} \times S (\%)]$ のときは、 $i = 0$ かつ $D_s(i) = 0$ とみなす)、

$D_s(i)$ についての $g_B(S)$ は、 t_1 と t_2 の間で $D_s(i) \geq [D_s(i) \text{ の最大値} \times S (\%)]$ を満たす時間又は計測点数を表す；

$D_m(i)$ についての $g_{AB}(S)$ が、下記式で表され、

$D_m(i)$ についての $g_{AB}(S) = [D_m(i)$ についての $g_H(S)] \div [D_m(i)$ についての $g_B(S)]$

ここで、

[数3]

$$D_m(i) \text{ についての } g_H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D_m(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i} \quad (II)$$

(式 (II) 中、

t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D_m(i) \geq [D_m(i) \text{ の最大値} \times S (\%)]$ を満たす i の最小値及び最大値であり、

$0 < S < 100$ であり、

ただし $D_m(i) < [D_m(i) \text{の最大値} \times S(\%)]$ のときは、 $i = 0$ かつ $D_m(i) = 0$ とみなす)、

$D_m(i)$ についての $g_B(S)$ は、 t_1 と t_2 の間で $D_m(i) \geq [D_m(i) \text{の最大値} \times S(\%)]$ を満たす時間又は計測点数を表す；

$R(S) = \{ (D_s(i) \text{についての} g_{AB}(S)) + (D(i) \text{についての} g_{AB}(S)) \} / 2 - (D_m(i) \text{についての} g_{AB}(S))$ である、

〔8〕記載の方法。

〔10〕 $R(S)$ が閾値又はそれより大きい場合に、前記被検血液検体がループスアンチコアグラント陽性であると推定するか、又は、 $R(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が凝固因子欠乏であると推定することを含む、〔9〕記載の方法。

〔11〕前記被検血液検体の凝固時間を算出することをさらに含む、〔1〕記載の方法。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、被検血液検体の凝固時間が延長していたときに、該凝固時間の延長をもたらした凝固異常の要因を推定することができる。また本発明によれば、凝固時間の延長のない、従来の凝固検査では凝固異常を検出できない被検血液検体の中から、DOACsを投与された血液検体を検出することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]基準検体 (RP) の $P(i)$ と $P_n(i)$ 。

[図2]凝固因子インヒビター陽性 (Inh) 検体 (A)、ヘパリン陽性 (Hep) 検体 (B)、及びDOACs陽性 (DOACs) 検体 (C) から得た $P(i)$ と $D(i)$ 。左： $P(i)$ と $P_n(i)$ 、右： $D(i)$ 。

[図3]DOACs陽性 (DOACs) 検体とその他のAPTT正常検体の、 g_{B50} (A)、 g_{B60} (B)、 g_{B70} (C)、及び g_{AB60} (D)。

[図4]凝固因子インヒビター陽性 (Inh) 検体とその他のAPTT延長要因の

ある検体の g A B O 5。

[図5]ヘパリン陽性 (Hep) 検体とその他の A P T T 延長要因のある検体の g B O 5 / g B 9 O。

[図6]L A 陽性 (LA) 検体及び凝固因子欠乏 (Def) 検体由来の混合検体の R (S) (S = 5、10、20、30、40、及び50)。

[図7]L A 陽性 (LA) 検体及び凝固因子欠乏 (Def) 検体由来の混合検体の R (S) (S = 60、70、80及び90)。

発明を実施するための形態

[0011] 血液凝固検査では、被検血液検体に所定の試薬を添加し、その後の血液凝固反応を計測し、凝固反応から血液凝固時間を測定する。本明細書において、血液凝固反応、血液凝固時間、及び血液検体を、それぞれ単に「凝固反応」、「凝固時間」及び「検体」と称する場合がある。凝固反応の計測には、一般的な手段、例えば、散乱光量、透過度、吸光度等を計測する光学的な手段、又は血漿の粘度を計測する力学的な手段などが用いられる。正常検体の凝固反応曲線は、計測手段に依存するが、基本的にはシグモイド形状を示す。例えば、正常検体の散乱光量に基づく凝固反応曲線は、通常、試薬添加からある程度の時間が経過した時点で凝固の進行により急激に上昇し、その後、凝固反応が終了に近づくとともにプラトーに達する。一方で、血液凝固に異常を有する異常検体の凝固反応曲線は、曲線の立ち上がり時間の遅れ、緩やかな上昇など、異常原因に依存して様々な形状を示す。結果、異常検体では、多くの場合、正常検体と比べて凝固時間が延長する。凝固時間の延長は、凝固異常要因の有無の指標である。一方で、凝固異常要因のタイプ（凝固時間延長要因）を凝固時間から推定することはできない。

[0012] 血液凝固検査で凝固時間、例えば A P T T の延長が見られた場合、一般的には、その要因としてまずヘパリンの混入（例えば、ヘパリンの投与、ヘパリンロックされた点滴ラインからの採血、透析後の採血等）が疑われる。ヘパリンが混入した血液検体は、ヘパリン中和効果のある硫酸プロタミン等によって凝固時間が短縮することから確認できる。血液検体にヘパリン混入の

疑いがない場合、可能な場合にはDOACs又はワルファリンの投与の有無を確認し、その後クロスミキシング試験が行われ、凝固時間延長要因（以下、単に「延長要因」ともいう）が判定される。詳細には、APTTの延長が凝固因子インヒビター（抗凝固因子）、ループスアンチコアグラント（LA）、又は血友病等の凝固因子欠乏のうちの何れに起因するかが判定される。クロスミキシング試験では正常検体、被検検体、及び被検検体と正常検体との混合検体の、混合直後のAPTT（即時反応）と37℃で2時間インキュベーションした後のAPTT（遅延反応）が測定される。これら即時反応及び遅延反応のパターンに基づいて、APTT延長要因が判定される。従来の手法では、凝固時間測定とは別途にクロスミキシング試験を行わなければ、延長要因を判定することはできない。しかし、クロスミキシング試験は、混合検体についての即時反応、及び2時間インキュベーション後の遅延反応の測定を要するため、時間と手間がかかる。

[0013] 前述の特許文献1～5のように、クロスミキシング試験によらずに延長要因に関するデータを取得する方法が提案されている。これらの文献における延長要因の評価では、凝固反応曲線の微分曲線、つまり凝固速度（1次微分）や凝固加速度（2次微分）を利用する。特許文献6では、上記のような微分曲線を用いることなく、凝固反応曲線に基づいて算出した関数 $T(X)$ を用いて延長要因の情報を抽出する。しかし、凝固反応曲線に着目して延長要因の情報を抽出する試みはこれまでほとんどなされていない。

[0014] 〔凝固時間の延長の要因の推定方法〕

本発明は、血液検体の凝固異常の要因を推定する方法に関する。本発明の方法では、被検検体と基準検体の凝固反応曲線の差分を解析することで、凝固異常の要因を推定する。

[0015] 1. 凝固反応計測

凝固反応計測では、被検検体の凝固反応を計測する。この計測で得られる凝固反応の時系列データから、凝固反応曲線を得ることができる。該凝固反応計測は、プロトロンビン時間（PT）、活性化部分トロンボプラスチン時

間（A P T T）等の凝固時間測定、又はフィブリノーゲン濃度（F b g）測定などで行われる一般的な凝固反応計測の手順に従って実施することができる。以下の本明細書においては、主に、A P T T測定での凝固反応計測に基づいて、本発明の方法を説明する。その他の計測法（例えばP T測定での凝固反応計測）への本発明の方法の変更は、当業者であれば実施可能である。

[0016] 凝固反応計測において、被検血液検体としては、被検者の血漿が好ましく用いられる。該検体には、凝固検査に通常用いられる抗凝固剤が添加され得る。例えば、クエン酸ナトリウム入り採血管を用いて採血された後、遠心分離されることで血漿が得られる。

[0017] 凝固反応計測では、該被検検体に凝固時間測定試薬が添加され、血液凝固反応を開始させる。試薬添加後の混合液の凝固反応が計測され得る。使用される試薬は、測定目的に合わせて任意に選択することができる。各種凝固時間測定のための試薬は市販されている（例えば、A P T T試薬コアグピア A P T T－N；積水メディカル株式会社製）。凝固反応の計測には、一般的な手段、例えば、散乱光量、透過度、吸光度等を計測する光学的な手段、又は血漿の粘度を計測する力学的な手段などを用いればよい。凝固反応の開始時点は、典型的には、検体に試薬を混合して凝固反応を開始させた時点として規定され得るが、他のタイミングが反応開始時点として規定されてもよい。凝固反応の計測時間は、任意に定めることができ、例えば、検体と試薬との混合の時点から数十秒～7分程度であり得る。該計測時間の間、所定の間隔で凝固反応の進行状況の計測（光学的に検出する場合は測光）が繰り返し行われ得る。例えば、0.1秒間隔で計測が行われればよい。該計測中の混合液の温度は、通常の場合、例えば30℃以上40℃以下、好ましくは35℃以上39℃以下である。また、計測の各種条件は、被検検体や試薬、計測手段等に応じて適宜設定され得る。

[0018] 前述の凝固反応計測における一連の操作は、自動分析装置を用いて行うことができる。自動分析装置の一例として、血液凝固自動分析装置C P 3 0 0 0（積水メディカル株式会社製）が挙げられる。あるいは、一部の操作が用

手法で行われてもよい。例えば、被検検体の調製を用手法で行い、それ以降の操作は自動分析装置で行うことができる。

[0019] 2. 凝固反応曲線

凝固反応計測により被検検体の計測データが取得される。このデータは、被検検体の凝固反応過程を反映するデータである。例えば、被検検体と凝固時間測定試薬とを含む混合液からの、塩化カルシウム液添加後の凝固反応の進行量（例えば散乱光量）の時間変化を示すデータ（以下、反応データ $C(i)$ という）が取得される。

[0020] 必要に応じて、反応データ $C(i)$ には、前処理が施される。該前処理には、ノイズを除去するための平滑化処理、又はゼロ点調整が含まれ得る。該平滑化処理には、公知のノイズ除去方法の何れかが用いられ得る。また、被検検体を含む混合液は、反応開始時点（時間 0）での散乱光量は 0 より大きい。該ゼロ点調整により、時間 0 での散乱光量が 0 に調整され得る。該ゼロ点調整は、好ましくは該平滑化処理後に行われる。

[0021] 次いで、該反応データ $C(i)$ を相対値化し、本発明で用いる凝固反応曲線 $P(i)$ を得る。好適には、下記式 (1) に従って、 $C(i)$ から $P(i)$ を求める。式 (1) 中、 C_{max} 及び C_{min} は、それぞれ $C(i)$ の最大値及び最小値を表し、 C_{range} は、 $C(i)$ の変化幅（すなわち $C_{max} - C_{min}$ ）を表し、 A は、任意の値であり、 $P(i)$ の最大値に相当する。 i は、検体の凝固反応開始からの時間（以下、単に「時間」ともいう）又は検体の凝固反応開始からの計測点数（以下、単に「計測点数」ともいう）を表す。

$$P(i) = [(C(i) - C_{min}) / C_{range}] \times A \quad (1)$$

（ A は任意、ただし $A > 0$ 、例えば $A = 100$ ）

[0022] 散乱光量に基づく $P(i)$ は、通常、シグモイド状である。一方、透過光量に基づく $P(i)$ は、通常、逆シグモイド状である。以下の本明細書では、散乱光量に基づく $P(i)$ を用いて、本発明の方法の手順について説明する。

[0023] 3. 乖離曲線

本発明では、前記凝固反応曲線 $P(i)$ から、被検検体についての乖離曲線を得る。該乖離曲線は、被検検体の $P(i)$ と、基準曲線 $P_n(i)$ との差を表す。本明細書では、乖離曲線を $D(i)$ で表す。被検検体についての $D(i)$ は、下記式 (2) で表される。

$$D(i) = \text{被検検体の } P(i) - P_n(i) \quad (2)$$

[0024] 基準曲線 $P_n(i)$ は、基準検体からの $P(i)$ (以下、 $P'(i)$ という) に基づいて作成される。基準検体には、血液凝固異常のない者に由来する血液検体、例えば、健常者から採取した血液検体、好ましくは血漿、それらのプール検体、市販の正常血漿など (以下、まとめて「正常検体」という) を使用することができる。好ましくは、該基準検体は、凝固時間 (APTT) が、24～39秒、より好ましくは24～30秒である検体であることが好ましい。あるいは、血液凝固異常のない者に由来する血液検体のうち、凝固時間が最短の検体からの $P(i)$ 、又は、血液凝固異常のない者に由来する血液検体からの $P(i)$ の平均値を、 $P'(i)$ として用いることができる。

[0025] $P_n(i)$ は、 $P'(i)$ を、その立ち上がり点 (時点又はそれに対応する計測点数) を所定点 X に合わせるようにシフトさせた曲線である。該所定点 X は、基本的には該立ち上がり点よりも早い点であり、好ましくは $X=5 \sim 15$ 秒、又はそれに対応する計測点数である。 $P'(i)$ の立ち上がり点は、 $P(i)$ がその最大値の1～5%、例えば2%に到達する時点又は計測点数として検出することができる。検出した立ち上がり点と、前記所定点 X との差を k としたとき、 $P_n(i)$ は以下の式 (3) で表される。

$$P_n(i) = P'(i+k) \quad (3)$$

したがって、一実施形態において $D(i)$ は、下記式 (2)' で表され得る。

$$D(i) = P(i) - P'(i+k) \quad (2)'$$

[0026] 4. 乖離曲線の形状評価

[0027] 本発明では、前記で得られた被検検体の乖離曲線 $D(i)$ の形状を反映するパラメータを算出することができる。当該パラメータとしては、加重平均時間、加重平均高さ、ピーク幅、などが挙げられる。

[0028] 一実施形態において、算出されるパラメータは、被検検体の乖離曲線 $D(i)$ の所定の演算対象域における加重平均時間及び／又は加重平均高さである。該演算対象域は、 $D(i)$ における、 $D(i) \geq D_{\max} \times S(\%)$ を満たす領域として定められ、ここで $D_{\max}$ は、 $D(i)$ の最大値を表し、 $0 < S < 100$ である。好ましくは $1 \leq S \leq 99$ 、より好ましくは $5 \leq S \leq 95$ である。したがって、該演算対象域、及びその加重平均時間と加重平均高さは、 S に依存して変動する。 S に応じた複数の加重平均時間と加重平均高さを算出することができる。本明細書において、 S に応じた加重平均時間及び加重平均高さを、それぞれ $g_T(S)$ 及び $g_H(S)$ と表す。

[0029] $g_T(S)$ 及び $g_H(S)$ は、それぞれ下記式 (4) 及び (5) で表される。

[数4]

$$g_T(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} D(i)} \quad (4)$$

$$g_H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i} \quad (5)$$

式中、 t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D(i) \geq D_{\max} \times S(\%)$ を満たす i の最小値及び最大値であり、ただし式中、 $D(i) < D_{\max} \times S(\%)$ のときは、 $i = 0$ かつ $D(i) = 0$ とみなす。

[0030] 一実施形態において、算出されるパラメータは、被検検体の乖離曲線 $D(i)$ の所定の演算対象域におけるピーク幅であり、これは、前記 t_1 と t_2 の間で $D(i) \geq D_{\max} \times S(\%)$ を満たす時間又は計測点数を表す。したがって、該ピーク幅は、 S に依存して変動する。 S に応じた複数のピーク幅を算出することができる。本明細書において、 S に応じたピーク幅を g_B

(S) と表す。

[0031] 一実施形態において、算出されるパラメータは、異なるSについての2つの $g_B(S)$ の比であり、具体的には $g_B(S_1) / g_B(S_2)$ で表され、以下 $R_{g_B}(S_1 / S_2)$ とも称される。ここで S_1 と S_2 は、それぞれ前述したSと同様に定義されるが、ただし $S_1 \neq S_2$ である。好ましくは、 $|S_1 - S_2| \geq 20$ であり、例えば、 $5 \leq S_1 \leq 40$ かつ $60 \leq S_2 \leq 90$ であるか、又は $60 \leq S_1 \leq 90$ かつ $5 \leq S_2 \leq 40$ である。

[0032] 一実施形態において、算出されるパラメータは $g_B(S)$ と $g_H(S)$ の比であり、具体的には $g_H(S) / g_B(S)$ で表され、このとき、好ましくは $5 < S < 90$ である。本明細書において、 $g_H(S) / g_B(S)$ を尖鋭率 $g_{AB}(S)$ とも表す。

[0033] 5. 凝固異常の要因の推定

前述した $D(i)$ の形状を反映するパラメータに基づいて、被検検体の凝固異常の要因を推定することができる。

一実施形態において、本発明では、凝固時間の延長のない被検検体について、該検体が正常であるか、又はDOACsを投与されている(DOACs陽性)かを推定することができる。

別の一実施形態において、本発明では、凝固時間の延長した被検検体について、該凝固時間の延長をもたらした凝固異常の要因を推定することができる。本発明で推定される凝固異常の要因としては、凝固因子欠乏、ループスアンチコアグラント陽性、凝固因子インヒビター陽性、及びヘパリン陽性が挙げられる。

[0034] (1. 凝固時間の算出)

したがって、本発明においては、前記凝固異常の要因の推定を行う前に、被検検体の凝固時間を算出する。凝固時間の算出は任意の方法に従って行うことができる。凝固時間の算出方法の例としては、 $P(i)$ がその最大値のN%に達した時点を凝固時間として算出する方法； P の1次微分曲線がその最大値のN%に達した時点を凝固時間として算出する方法；微小時間帯での

$P(i)$ の積算値の比が所定値に達したときを算出起点 T_e として、 $P(i)$ が $P(T_e)$ の $N\%$ に達した時点を凝固時間として算出する方法（特開平 6-249855 号公報）；微小時間帯での $P(i)$ の積算値の経時的変化に基づいて凝固時間を算出する方法（特願 2019-237427 参照）； P の 1 次微分曲線の加重平均時間に基づいて凝固時間を算出する方法（特願 2020-039344 参照）； P の 1 次微分曲線が最大値に達した後に所定値に達したときを算出起点 T_e として、 $P(i)$ が $P(T_e)$ の $N\%$ に達した時点を凝固時間として算出する方法（特願 2020-068877 参照）、などが挙げられるが、これらに限定されない。

[0035] (2. DOACs 陽性の推定)

被検検体の凝固時間が延長していない場合、前記の $D(i)$ の形状を反映するパラメータに基づいて、該検体が正常であるか又は DOACs 陽性であるかを推定する。

一実施形態において、該パラメータは $g_B(S)$ である。DOACs 陽性検体の $g_B(S)$ は、正常検体と比べて大きくなる傾向がある。したがって、被検検体の $g_B(S)$ が予め定めた閾値又はそれよりも大きければ、該検体を DOACs 陽性であると推定することができる。閾値は、既知の DOACs 陽性検体群から得た $g_B(S)$ に基づいて決定することができる。例えば、閾値は、既知の DOACs 陽性検体群の $g_B(S)$ の [平均値 - $k \times SD$]（好ましくは $k = 0.5 \sim 3$ ）として設定することができる。一方、被検検体の $g_B(S)$ が予め定めた閾値又はそれよりも小さければ、該検体を DOACs 陽性ではない（又は正常である）と推定することができる。

別の一実施形態において、該パラメータは $g_{AB}(S)$ である。DOACs 陽性検体の $g_{AB}(S)$ は、正常検体と比べて小さくなる傾向がある。したがって、被検検体の $g_{AB}(S)$ が予め定めた閾値又はそれよりも小さければ、該検体を DOACs 陽性であると推定することができる。閾値は、既知の DOACs 陽性検体群から得た $g_{AB}(S)$ に基づいて決定することができる。例えば、閾値は、既知の DOACs 陽性検体群の $g_{AB}(S)$ の [

平均値 + $k \times SD$] (好ましくは $k = 0.5 \sim 3$) として設定することができる。一方、被検検体の $gAB(S)$ が予め定めた閾値又はそれよりも大きければ、該検体を $DOACs$ 陽性ではない (又は正常である) と推定することができる。

[0036] (3. 凝固異常の要因の推定)

被検検体の凝固時間が延長している場合、該検体は、凝固時間の延長をもたらす凝固異常を有する。前記の $D(i)$ の形状を反映するパラメータに基づいて、該被検検体の凝固異常の要因を推定する。

[0037] (3. 1. ヘパリン陽性の推定)

一実施形態において、前記パラメータは $RgB(S1/S2)$ である。 $S1 < S2$ のとき、ヘパリン陽性検体の $RgB(S1/S2)$ は、他の凝固異常を有する検体と比べて小さくなる傾向がある。したがって、被検検体の $RgB(S1/S2)$ が予め定めた閾値又はそれよりも小さければ、該検体をヘパリン陽性 (Hep) であると推定することができる。閾値は、既知のヘパリン陽性検体群から得た $RgB(S1/S2)$ に基づいて決定することができる。例えば、閾値は、既知のヘパリン陽性検体群の $RgB(S1/S2)$ の [平均値 + $k \times SD$] (好ましくは $k = 0.5 \sim 3$) として設定することができる。一方、 $S1 > S2$ のときは、被検検体の $RgB(S1/S2)$ が予め定めた閾値又はそれよりも大きければ、該検体をヘパリン陽性 (Hep) であると推定することができ、このときの閾値は、例えば、既知のヘパリン陽性検体群の $RgB(S1/S2)$ の [平均値 - $k \times SD$] (好ましくは $k = 0.5 \sim 3$) として設定することができる。

[0038] (3. 2. インヒビター陽性の推定)

一実施形態において、前記パラメータは $gAB(S)$ である。凝固因子インヒビター陽性検体の $gAB(S)$ は、他の凝固異常を有する検体と比べて小さくなる傾向がある。したがって、被検検体の $gAB(S)$ が予め定めた閾値又はそれよりも小さければ、該検体を凝固因子インヒビター陽性 (Inh) であると推定することができる。閾値は、既知の凝固因子インヒビター陽性

検体群から得た $gAB(S)$ に基づいて決定することができる。例えば、閾値は、既知の凝固因子インヒビター陽性検体群の $gAB(S)$ の [平均値 + $k \times SD$] (好ましくは $k = 0.5 \sim 3$) として設定することができる。

[0039] (3. 3. ループスアンチコアグラント陽性及び凝固因子欠乏の推定)

一実施形態においては、前記の手順でヘパリン陽性 (Hep) 又は凝固因子インヒビター陽性 (Inh) と推定されなかった被検検体の凝固異常の要因を推定する。具体的には、該検体がループスアンチコアグラント陽性 (LA) であるか又は凝固因子欠乏 (Def) であるかを推定する。

[0040] LA及びDefの推定においては、被検検体と正常検体との混合検体を調製し、該混合検体についての乖離曲線 $D(i)$ を得る。別途、該被検検体及び該正常検体の $D(i)$ を得る。各々の $D(i)$ についての $gAB(S)$ を算出する。被検検体の $gAB(S)$ の算出の手順は、前記で説明したとおりである。

[0041] 混合検体の調製では、被検検体と正常検体とが所定の比率で混合される。正常検体としては、前述したとおりのもの、例えば、健常者から採取した血液検体、好ましくは血漿、それらのプール検体、市販の正常血漿などを使用することができる。該被検検体と該正常検体との混合比は、合計を10容量とした容量比で、被検検体：正常検体 = 1 : 9 ~ 9 : 1 の範囲であればよく、好ましくは 4 : 6 ~ 6 : 4 の範囲、より好ましくは 5 : 5 である。混合検体の凝固反応を計測し、該混合検体の $P(i)$ を取得する。ここで、該混合検体の $P(i)$ を $P_m(i)$ ともいう。該 $P_m(i)$ から該混合検体の $D(i)$ を算出する。ここで、該混合検体の $D(i)$ を $D_m(i)$ ともいう。次いで、該 $D_m(i)$ から $gAB(S)$ を算出する。一方で、該正常検体の凝固反応を計測し、該正常検体の $P(i)$ を取得する。ここで、該正常検体の $P(i)$ を $P_s(i)$ ともいう。該 $P_s(i)$ から該正常検体の $D(i)$ を算出する。ここで、該正常検体の $D(i)$ を $D_s(i)$ ともいう。次いで、該 $D_s(i)$ から $gAB(S)$ を算出する。混合検体及び正常検体の凝固反応計測、 $P_m(i)$ と $P_s(i)$ の取得、及び $D_m(i)$ と $D_s(i)$ の算

出の手順は、被検検体に関して前記で説明した手順に従う。 $D_m(i)$ 及び $D_s(i)$ からの $g_{AB}(S)$ の算出の手順は、それぞれ被検検体の $g_{AB}(S)$ について前記で説明した手順に従う。

[0042] 混合検体の $D_m(i)$ 、被検検体の $D(i)$ 、及び正常検体の $D_s(i)$ についての $g_{AB}(S)$ から、以下の式 (6) に従ってパラメータ $R(S)$ を算出する。

$$R(S) = \{ (D_s(i) \text{ についての } g_{AB}(S)) + (D(i) \text{ についての } g_{AB}(S)) \} / 2 - (D_m(i) \text{ についての } g_{AB}(S)) \quad (6)$$

LA検体の $R(S)$ は、Def検体と比べて大きくなる傾向がある。したがって、被検検体の $R(S)$ が予め定めた閾値よりも大きければ、該検体をLAであると推定することができ、他方、 $R(S)$ が予め定めた閾値よりも小さければ、該検体をDefであると推定することができる。閾値は、既知のLA検体群又はDef検体群から得た $R(S)$ に基づいて決定することができる。例えば、閾値は、LA検体群から得た $R(S)$ の最小値とDef検体群から得た $R(S)$ の最大値との間に設定することができる。あるいは、閾値は、LA検体群の $R(S)$ の [平均値 $- k \times SD$]、又はDef検体群の $R(S)$ の [平均値 $+ k \times SD$] (好ましくは $k = 2 \sim 5$) として設定することができる。

[0043] 前記の凝固異常の要因の推定の手順において、異なる凝固異常の要因を区別して推定できる限り、「閾値より大きい」の代わりに「閾値以上」を使用してもよく、又は「閾値より小さい」の代わりに「閾値以下」を使用してもよいことは、当業者であれば理解できるであろう。

[0044] 以上の手順で得た被検検体の凝固異常の要因の推定結果は、任意の形式で出力することができる。例えば、電子データ、プリント、ディスプレイ上への表示などの形式で出力され得る。該推定結果は、被検検体が正常であるか、又は、DOACs陽性、凝固因子欠乏、ループスアンチコアグラント陽性、凝固因子インヒビター陽性、もしくはヘパリン陽性であるかの情報を含む。該推定結果とともに、被検検体の凝固時間や、さらに被検検体の $P(i)$ 、 $D(i)$ 又は該 $D(i)$ の形状を反映するパラメータ、又は前記パラメー

タ $R(S)$ の値を出力してもよい。

[0045] 6. 他の凝固反応計測法への応用

以上、散乱光量に基づいて取得した凝固反応曲線を用いる場合を例として、本発明を説明した。しかしながら、当業者であれば、本発明の方法を他の凝固反応計測法（例えば透過度、吸光度、粘度などに基づく凝固反応計測法）から得られた取得した凝固反応曲線を用いる方法に応用することが可能である。例えば、透過光量に基づくような逆シグモイド状の凝固反応曲線は、上述した散乱光量に基づくものに対して正負が逆になる。このような場合に、パラメータの計算において $D(i)$ の符号が逆転すること、例えば、 $D(i)$ の最大値 D_{max} は最小値 D_{min} に置き換えられ、演算対象域は $D(i) \leq D_{min} \times S(\%)$ を満たす領域に置き換えられること等は、当業者に明らかである。

実施例

[0046] 以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

[0047] 参考例)

凝固異常の要因の推定の手順のフローの例を以下に説明する。

(S1) 被検検体の凝固反応曲線 $P(i)$ 、及び凝固時間 (APTT) を算出。

(S2) 被検検体の $D(i)$ を算出。 $D(i) = P(i) - P_n(i)$ 。

(S3) $D(i)$ の形状を反映するパラメータを算出。

(S4) APTT を基準値と比較。

→ APTT が延長していない場合は (S5) へ。

→ APTT が延長している場合は (S6) へ。

(S5) 被検検体についてのパラメータ $A[gB(S)]$ 又はパラメータ $B[gAB(S)]$ を算出し、閾値と比較。

→ パラメータ A が閾値より大きい場合は (S11) へ。

→ パラメータ B が閾値より小さい場合は (S11) へ。

→それ以外は（S 1 0）へ。

（S 6）被検検体についてのパラメータ $[gAB(S)]$ を算出し、閾値と比較。

→パラメータが閾値より小さい場合は（S 1 2）へ。

→それ以外は（S 7）へ。

（S 7）被検検体についてのパラメータ $[RgB(S1/S2)]$ （ $S1 < S2$ ）を算出し、閾値と比較。

→パラメータが閾値より小さい場合は（S 1 3）へ。

→それ以外は（S 8）へ。

（S 8）混合検体及び正常検体の $D(i)$ を算出。混合検体、被検検体及び正常検体についての $gAB(S)$ から、下記パラメータ $R(S)$ を算出し、閾値と比較。

$R(S) = \{ (正常検体のgAB(S)) + 被検検体のgAB(S) \} / 2 - (混合検体のgAB(S))$

→パラメータが閾値より大きい場合は（S 1 4）へ。

→パラメータが閾値より小さい場合は（S 1 5）へ。

上記のフローにおいて、（S 6）と（S 7）の順序は入れ換え可能である。また（S 8）における混合検体及び正常検体の $D(i)$ の算出は、予め（例えば（S 2）で）行われてもよい。

（S 1 0）被検検体が正常であるとの結果、及び APTT を出力。

（S 1 1）被検検体が DOACs 陽性であるとの結果、及び APTT を出力。

（S 1 2）被検検体が Inh であるとの結果、及び APTT を出力。

（S 1 3）被検検体が Hep であるとの結果、及び APTT を出力。

（S 1 4）被検検体が LA であるとの結果、及び APTT を出力。

（S 1 5）被検検体が Def であるとの結果、及び APTT を出力。

[0048] 実施例 1)

1) 検体

基準検体 (RP) : Precision BioLogic Inc. の Pooled Normal Plasma。

正常検体 (NP) : APTT が基準範囲内 (24 ~ 39 秒) である血漿 (N = 22)

異常検体 :

- ・ LA 陽性検体 (LA) : George King Biomedical Inc. の Positive Lupus Anticoagulant Plasma、及び LA 患者血漿 (計 N = 10)。

- ・ 凝固因子インヒビター陽性検体 (Inh) : George King Biomedical Inc. の Factor VIII Deficient with Inhibitor、及び Inh 患者血漿 (計 N = 9)。

- ・ 凝固因子欠乏検体 (Def) : 第 V 因子欠乏血漿、第 VIII 因子欠乏血漿 (HA)、第 IX 因子欠乏血漿 (HB)、第 X 因子欠乏血漿、第 XI 因子欠乏血漿 (George King Biomedical Inc. の Factor VIII Deficient、Factor IX Deficient、及び患者血漿 ; 計 N = 19)。

- ・ DOACs 陽性検体 (DOACs) : DOACs 投与患者血漿 (N = 5、うち 4 検体は APTT が基準範囲内)。

- ・ ヘパリン陽性検体 (Hep) : Hep 患者血漿、及び RP に未分画ヘパリンを添加したもの (計 N = 18)。

混合検体 : 前記 LA と NP の 1 : 1 混合血漿 (N = 8)、前記 Def と NP の 1 : 1 混合血漿 (N = 6、このうち 5 つが HA と NP の混合血漿、1 つが HB と NP の混合血漿)。

[0049] 2) 凝固反応計測

APTT 測定用試薬には、第 1 試薬として、コアグピア APTT-N (積水メディカル株式会社製) を、第 2 試薬として、コアグピア APTT-N 塩化カルシウム液 (25 mM 塩化カルシウム液、積水メディカル株式会社製) を用いた。凝固反応計測は、血液凝固自動分析装置 CP3000 (積水メディカル株式会社製) を用いて行った。検体 50 μ L をキュベット内にて 37 $^{\circ}$ C で 45 秒間加温した後、約 37 $^{\circ}$ C の第 1 試薬 50 μ L を添加し、さらに 171 秒経過後に第 2 試薬 50 μ L を添加して凝固反応を開始させた。反応は 37 $^{\circ}$ C で行った。凝固反応の計測は、キュベットに LED を光源とす

る波長 660 nm の光を照射し、0.1 秒間隔で 90 度側方散乱光の散乱光量を測光した。計測時間は 360 秒間とした。

[0050] 3) 凝固反応曲線 $P(i)$ の取得

各検体からの測光データ $C(i)$ に対してノイズ除去を含む平滑化処理を行った後、測光開始時点の散乱光量が 0 となるようにゼロ点調整した。調整後の $C(i)$ を、上記式 (1) に従って最大値が 100 になるように相対化して凝固反応曲線 $P(i)$ を得た。

[0051] 4) 基準曲線 $P_n(i)$ の取得

RP からの $P(i)$ を、その立ち上がり時点が 10 秒になるようにシフトさせ、 $P_n(i)$ を取得した。 $P(i)$ の立ち上がり時点は、 $P(i)$ の最大値 (最大散乱光量) の 2% となる時点として検出した。RP の $P(i)$ と $P_n(i)$ を図 1 に示す。

[0052] 5) 乖離曲線 $D(i)$ の取得

各検体の $P(i)$ と $P_n(i)$ から、上記式 (2) に従って $D(i)$ を取得した。図 2 に、Inh (A)、Hep (B)、及び DOACs (C) から得た $P(i)$ と $D(i)$ を示す。各図とも左は検体の $P(i)$ を $P_n(i)$ とともに示し、右は $D(i)$ を示す。Inh の $P(i)$ は立ち上がりが遅く上昇が緩やかであり、そのため $D(i)$ はピークが幅広であり、かつ緩やかに下降した (図 2 A)。Hep の $P(i)$ は立ち上がりが遅いが上昇は急激であり、そのため $D(i)$ はピークが幅広であるが速やかに上昇及び下降した (図 2 B)。DOACs の $P(i)$ は立ち上がりが早く上昇は急激であり、そのため $D(i)$ は鋭いピークを有した (図 2 C)。

[0053] 6) パラメータの算出

各検体の $D(i)$ について $g_T(S)$ 、 $g_H(S)$ 、及び $g_B(S)$ を算出した。 S を 5 ~ 90 の範囲で変更し、各々の S についての $g_T(S)$ 及び $g_H(S)$ を上記式 (4) 及び (5) に従って算出した。各々の S に対応した式 (4) の t_1 と t_2 の間で、 $D(i) \geq D_{max} \times S(\%)$ を満たす時間又は計測点数を $g_B(S)$ とした。さらに $g_{AB}(S)$ を算出した。混合

検体と、それに含まれる異常検体及びRPの $gAB(S)$ から、上記式 (6) に従ってパラメータ $R(S)$ を算出した。以下、 $gT(S)$ 、 $gH(S)$ 、 $gB(S)$ 、 $gAB(S)$ 、及び $R(S)$ を、それぞれ括弧を外して gTS 、 gHS 、 gBS 、 $gABS$ 、及び RS と表記することがある。

[0054] 7) DOACs 陽性検体の推定

83 検体中 26 検体は APTT が正常 (基準範囲内、延長なし) であり ($APTT \leq 39$)、このうち 22 検体が NP、4 検体が DOACs であった。これらの APTT が正常な検体の $gB50$ 、 $gB60$ 、 $gB70$ 、及び $gAB60$ を図 3A~D に示す。DOACs の $gB50 \sim gB70$ は、その他の APTT 正常検体 (すなわち NP) と比べて、大きい傾向があり異なる分布を示した。また DOACs の $gAB60$ は、その他の APTT 正常検体 (NP) と比べて、小さい傾向があり異なる分布を示した。 $gB(S)$ や $gAB(S)$ に基づいて正常検体と DOACs 陽性検体を区別できることが示された。

[0055] 8) 凝固因子インヒビター陽性検体の推定

57 検体が APTT の延長があり ($APTT > 39$)、このうち 9 検体が Inh であった。Inh と、その他の APTT 延長要因のある検体の $gAB05$ を図 4 に示す。Inh の $gAB05$ は、その他の検体よりも小さい傾向があった。 $gAB(S)$ に基づいて、APTT 延長がある異常検体の中から凝固因子インヒビター陽性検体を区別できることが示された。

[0056] 9) ヘパリン陽性検体の推定

前記 8) で用いた 57 検体から Inh の 9 検体を除いた 48 検体について、 $RgB(05/90)$ ($gB05/gB90$) を調べた。48 検体中 18 検体が Hep であった。Hep とその他の APTT 延長要因のある検体の $gB05/gB90$ を図 5 に示す。Hep の $gB05/gB90$ は、その他の検体よりも小さい傾向があった。ただし 1 個の第 X 因子欠乏検体が Hep の分布と重なった。異なる S についての $gB(S)$ の比 $RgB(S1/S2)$ ($gB(S1)/gB(S2)$) に基づいて、APTT 延長がある異常検体の中からヘパリン陽性検体を区別できることが示された。

[0057] 10) LA及びDefの推定

14の混合検体、及びその調製に用いた異常検体（LAが8検体、Defが6検体）とNPについて、Sが5、10、20、30、40、50、60、70、80、90のときの $gAB(S)$ を算出し、次いで $R(S)$ を調べた。LAとDefの $R(S)$ （ $S=5、10、20、30、40、50、60、70、80$ 及び90）を図6及び7に示す。LAの $R(S)$ はDefよりも大きい傾向があった。R(S)に基づいて、LA陽性検体と凝固因子欠乏検体を区別できることが示された。

請求の範囲

[請求項1]

血液検体の凝固異常の要因の推定方法であって、
被検血液検体の乖離曲線 $D(i)$ を算出すること、
該 $D(i)$ の形状を反映するパラメータを算出すること、
該パラメータに基づいて、該被検血液検体の凝固異常の要因を推定すること、
を含み、
ここで、
$$D(i) = P(i) - P_n(i) ;$$

 i は計測点数又は時間を表し；
 $P(i)$ は、該被検血液検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり；
 $P_n(i)$ は、 $P'(i)$ を、その立ち上がり点を所定点 X に合わせるようにシフトさせた曲線であり、該 $P'(i)$ は、基準検体の凝固反応の計測データを最小値 0、最大値 A になるよう相対値化した曲線であり；
 $A > 0$ であり；
 X は 5 ～ 15 秒、又はそれに対応する計測点数である、
方法。

[請求項2]

前記 $D(i)$ の形状を反映するパラメータが、 $g_T(S)$ 、 $g_H(S)$ 、 $g_B(S)$ 、 $g_{AB}(S)$ 、及び $R_{g_B}(S_1/S_2)$ からなる群より選択される少なくとも 1 つであり、
ここで、
 $g_T(S)$ 及び $g_H(S)$ は、それぞれ下記式で表され、

[数1]

$$g^T(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} D(i)}$$

$$g^H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i}$$

式中、 t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D(i) \geq D_{\max} \times S$ (%) を満たす i の最小値及び最大値であり、ここで $D_{\max}$ は $D(i)$ の最大値であり、 $0 < S < 100$ であり、

ただし式中 $D(i) < D_{\max} \times S$ (%) のときは、 $i = 0$ かつ $D(i) = 0$ とみなす；

$g^B(S)$ は、 t_1 と t_2 の間で $D(i) \geq D_{\max} \times S$ (%) を満たす時間又は計測点数を表し；

$g^{AB}(S) = g^H(S) / g^B(S)$ であり；

$Rg^B(S_1 / S_2) = g^B(S_1) / g^B(S_2)$ であり、ここで $0 < S_1 < 100$ かつ $0 < S_2 < 100$ であり、ただし $S_1 \neq S_2$ である、

請求項1記載の方法。

[請求項3] 前記被検血液検体の凝固時間が延長していない場合に、 $g^B(S)$ 及び $g^{AB}(S)$ からなる群より選択される少なくとも1つを算出することを含む、請求項2記載の方法。

[請求項4] $g^B(S)$ が閾値又はそれより大きい場合、又は $g^{AB}(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体がDOACs陽性であると推定することを含む、請求項3記載の方法。

[請求項5] 前記被検血液検体の凝固時間が延長している場合に、 $g^{AB}(S)$ 及び $Rg^B(S_1 / S_2)$ からなる群より選択される少なくとも1つを算出することを含む、請求項2記載の方法。

[請求項6] $g^{AB}(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が凝固因子インヒビター陽性であると推定することを含む、請求項5

記載の方法。

[請求項7] $S1 < S2$ かつ $R_{gB} (S1 / S2)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体がヘパリン陽性であると推定することを含む、請求項5記載の方法。

[請求項8] $gAB (S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が凝固因子インヒビター陽性であると推定すること、

$S1 < S2$ かつ $R_{gB} (S1 / S2)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体がヘパリン陽性であると推定すること、

凝固因子インヒビター陽性又はヘパリン陽性と推定されなかった被検血液検体がループスアンチコアグラント陽性であるか又は凝固因子欠乏であるかを推定すること、

を含む、

請求項5記載の方法。

[請求項9] 前記凝固因子インヒビター陽性又はヘパリン陽性と推定されなかった被検血液検体と、正常検体との混合検体を調製すること、

該混合検体の乖離曲線 $D_m (i)$ 、及び該正常検体の乖離曲線 $D_s (i)$ を算出すること、

該 $D_m (i)$ 及び $D_s (i)$ についての $gAB (S)$ を算出すること、

パラメータ $R (S)$ を算出すること、

を含み、

ここで、

$$D_m (i) = P_m (i) - P_n (i) ;$$

$$D_s (i) = P_s (i) - P_n (i) ;$$

$P_m (i)$ は、該混合検体の凝固反応の計測データを最小値0、最大値Aになるよう相対値化した曲線であり；

$P_s (i)$ は、該正常検体の凝固反応の計測データを最小値0、最大値Aになるよう相対値化した曲線であり；

$P_n(i)$ 及び A は前記で定義したとおりであり；

$D_s(i)$ についての $g_{AB}(S)$ が、下記式で表され、

$D_s(i)$ についての $g_{AB}(S) = [D_s(i) \text{ についての } g_H(S)] \div [D_s(i) \text{ についての } g_B(S)]$

ここで、

[数2]

$$D_s(i) \text{ についての } g_H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D_s(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i} \quad (I)$$

(式 (I) 中、

t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D_s(i) \geq [D_s(i) \text{ の最大値} \times S(\%)]$ を満たす i の最小値及び最大値であり、

$0 < S < 100$ であり、

ただし $D_s(i) < [D_s(i) \text{ の最大値} \times S(\%)]$ のときは、 $i = 0$ かつ $D_s(i) = 0$ とみなす)、

$D_s(i)$ についての $g_B(S)$ は、 t_1 と t_2 の間で $D_s(i) \geq [D_s(i) \text{ の最大値} \times S(\%)]$ を満たす時間又は計測点数を表す；

$D_m(i)$ についての $g_{AB}(S)$ が、下記式で表され、

$D_m(i)$ についての $g_{AB}(S) = [D_m(i) \text{ についての } g_H(S)] \div [D_m(i) \text{ についての } g_B(S)]$

ここで、

[数3]

$$D_m(i) \text{ についての } g_H(S) = \frac{\sum_{i=t_1}^{t_2} (i \times D_m(i))}{\sum_{i=t_1}^{t_2} i} \quad (II)$$

(式 (II) 中、

t_1 及び t_2 はそれぞれ、 $D_m(i) \geq [D_m(i) \text{ の最大値} \times S(\%)]$ を満たす i の最小値及び最大値であり、

$0 < S < 100$ であり、

ただし $D_m(i) < [D_m(i) \text{ の最大値} \times S(\%)]$ のときは、 $i = 0$ かつ $D_m(i) = 0$ とみなす)、

$D_m(i)$ についての $g_B(S)$ は、 t_1 と t_2 の間で $D_m(i) \geq [D_m(i) \text{ の最大値} \times S(\%)]$ を満たす時間又は計測点数を表す；

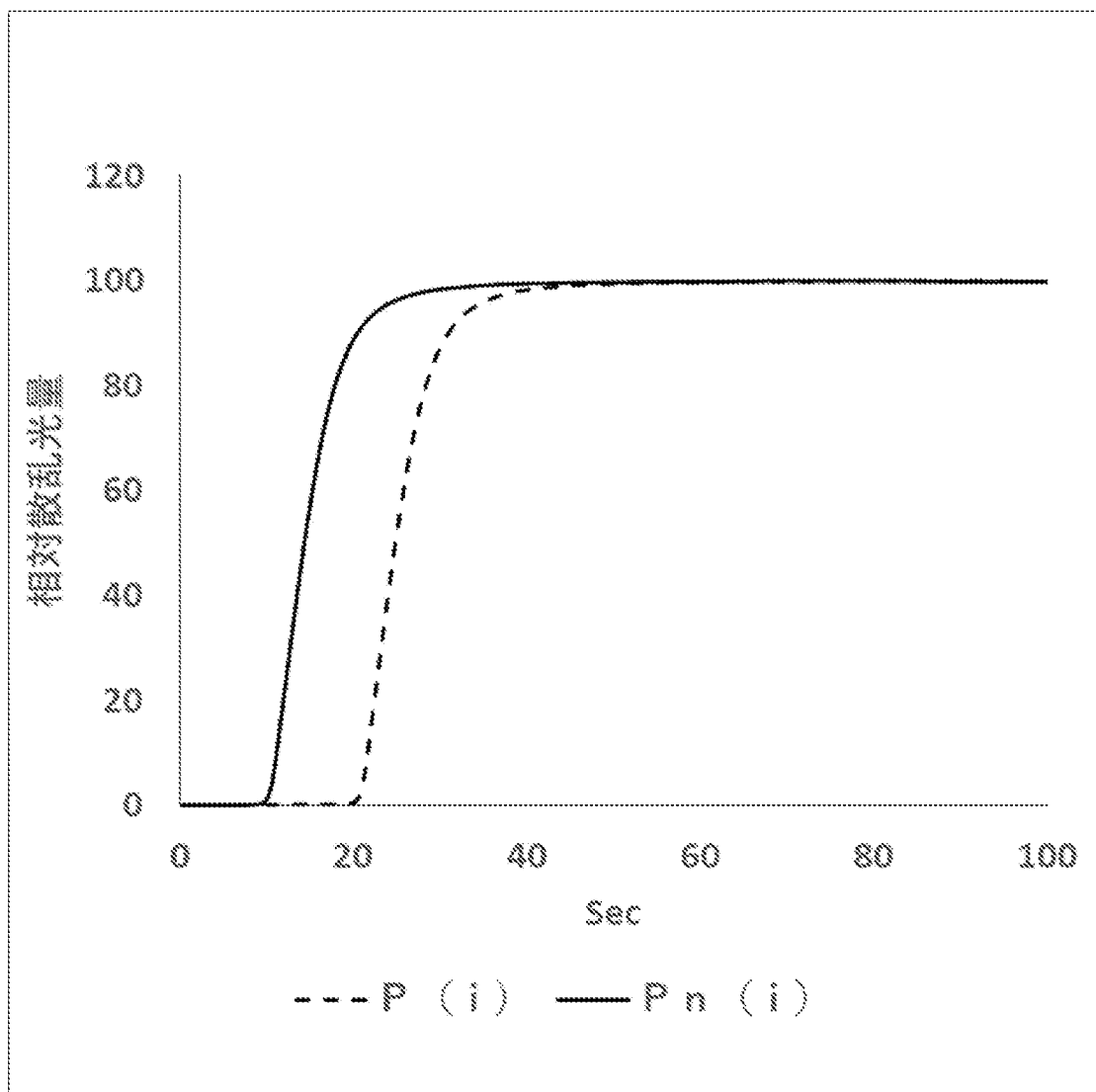
$R(S) = \{ (D_s(i) \text{ についての } g_{AB}(S)) + (D(i) \text{ についての } g_{AB}(S)) \} / 2 - (D_m(i) \text{ についての } g_{AB}(S))$ である、

請求項 8 記載の方法。

[請求項 10] $R(S)$ が閾値又はそれより大きい場合に、前記被検血液検体がループスアンチコアグラント陽性であると推定するか、又は、 $R(S)$ が閾値又はそれより小さい場合に、前記被検血液検体が凝固因子欠乏であると推定することを含む、請求項 9 記載の方法。

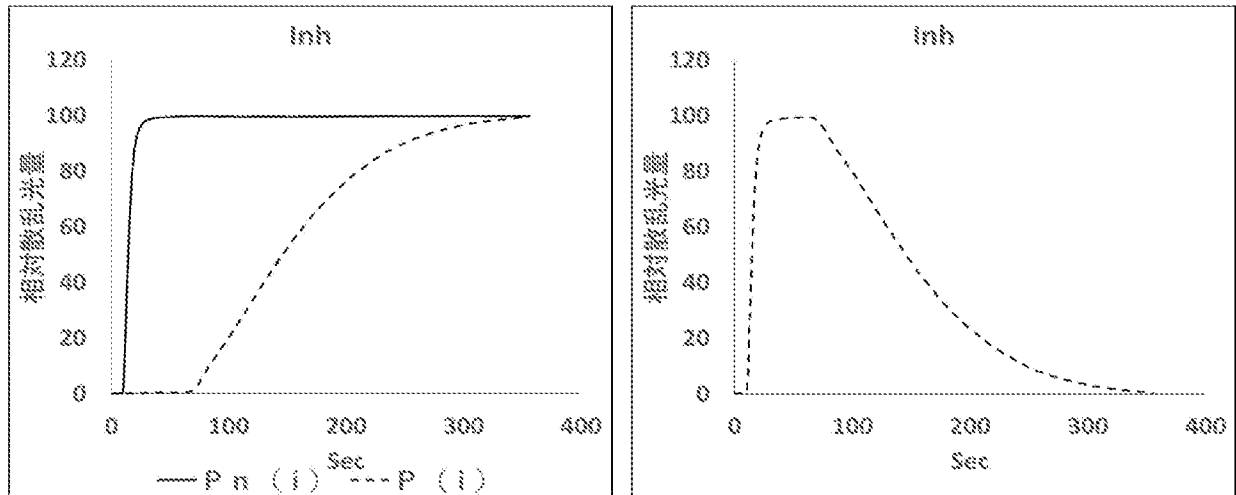
[請求項 11] 前記被検血液検体の凝固時間を算出することをさらに含む、請求項 1 記載の方法。

[図1]

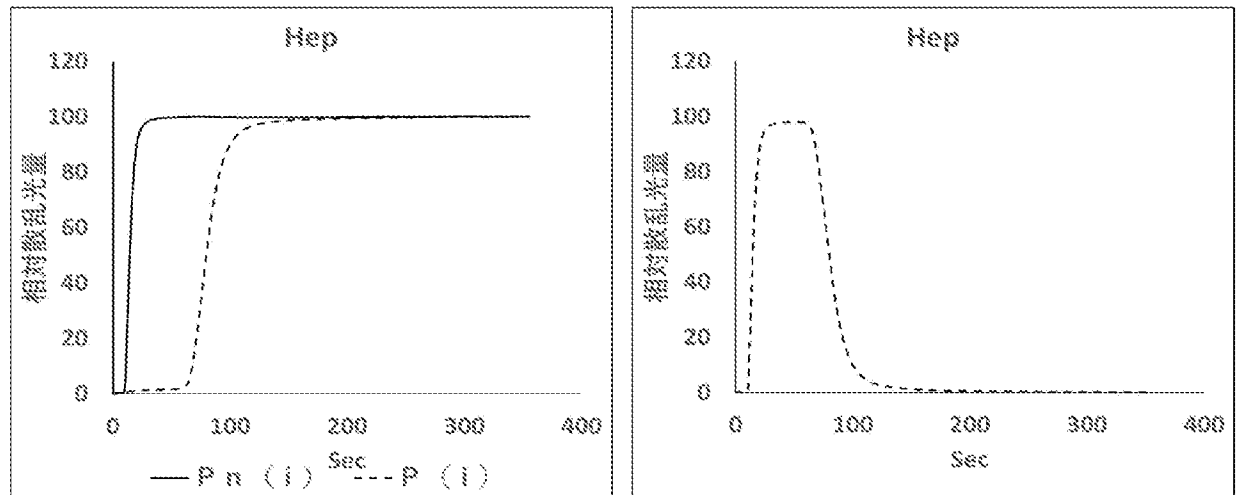


[図2]

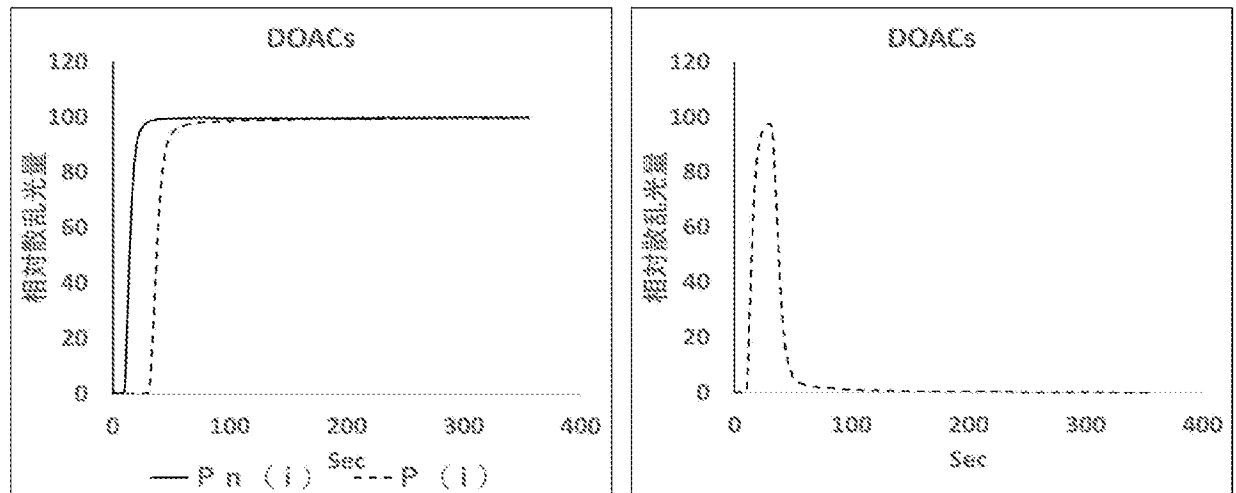
A



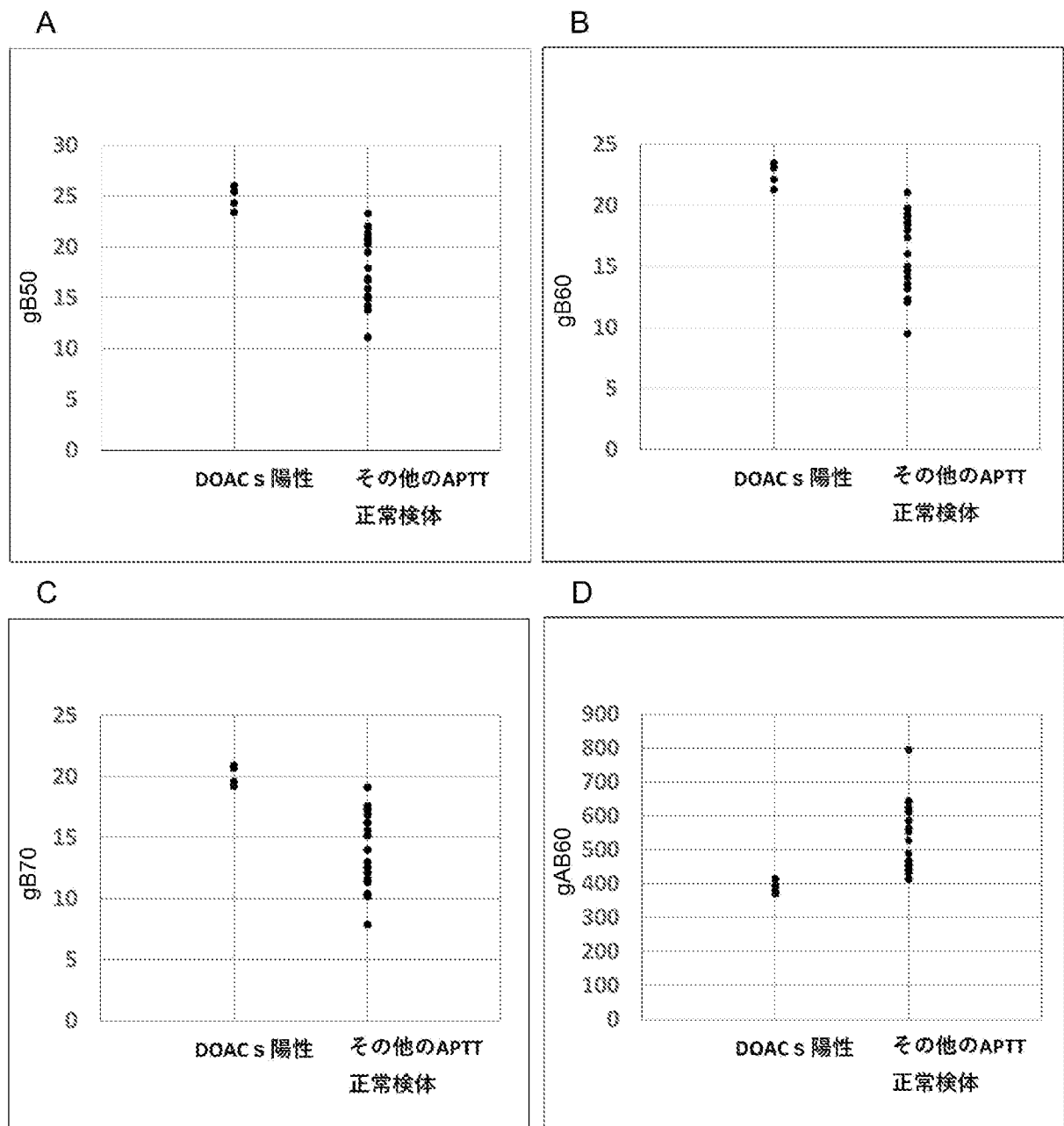
B



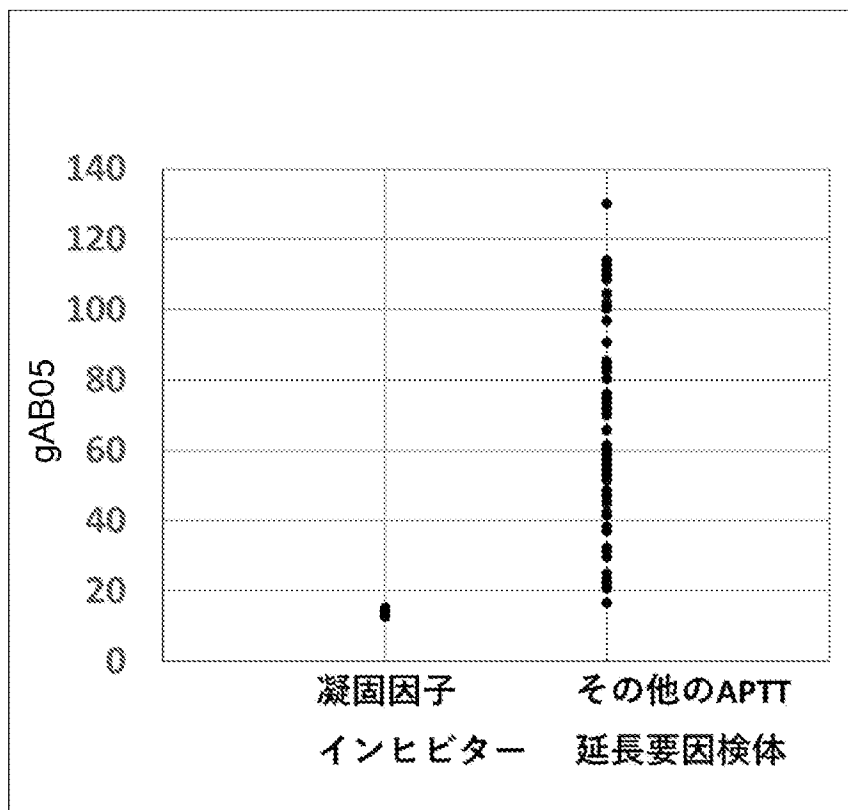
C



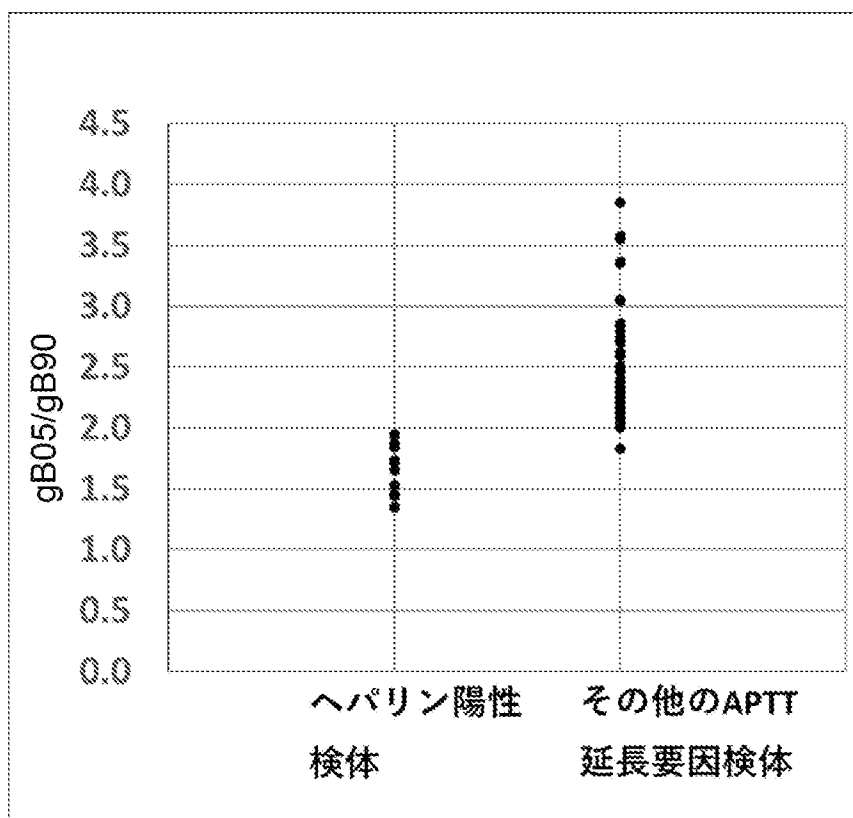
[図3]



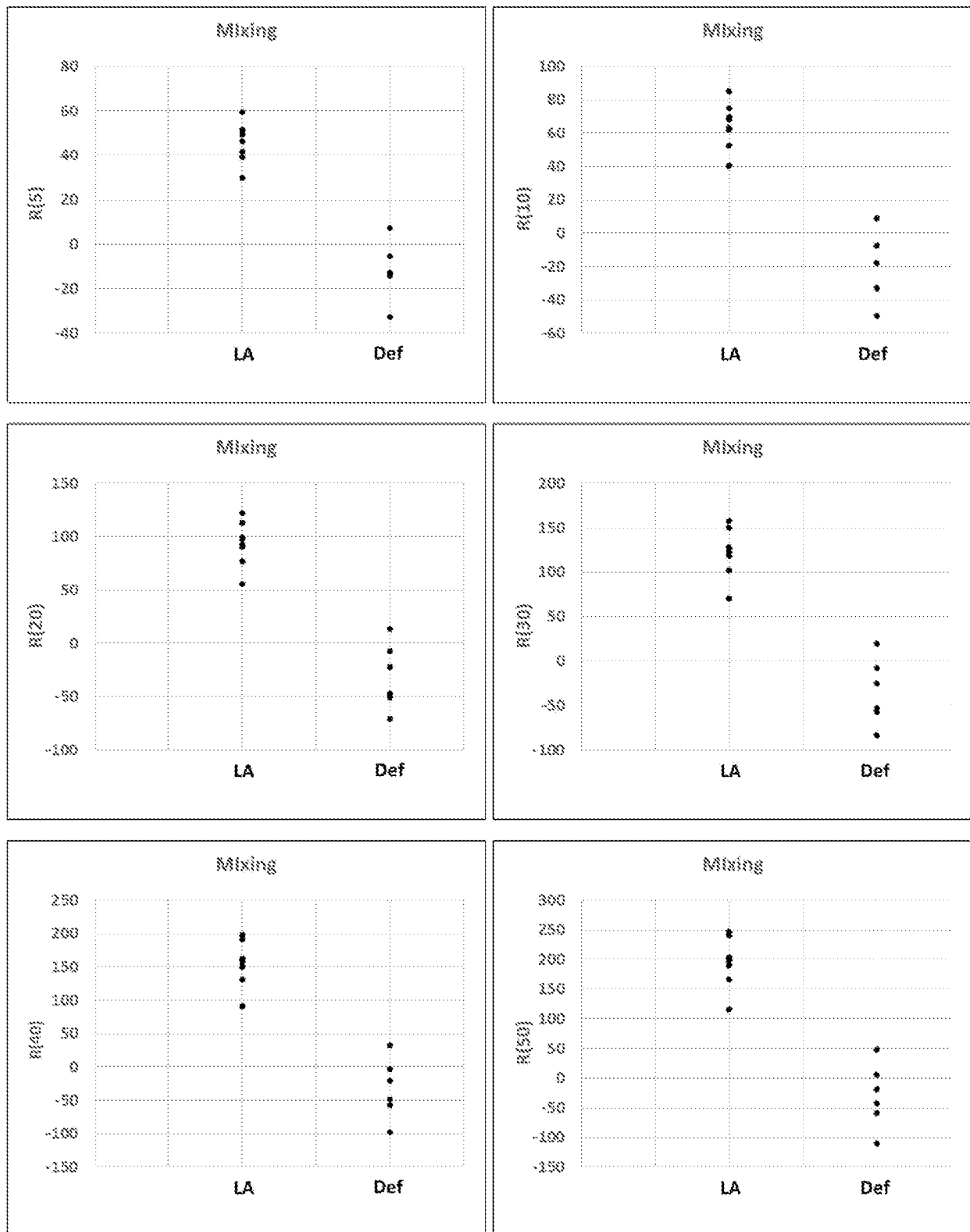
[図4]



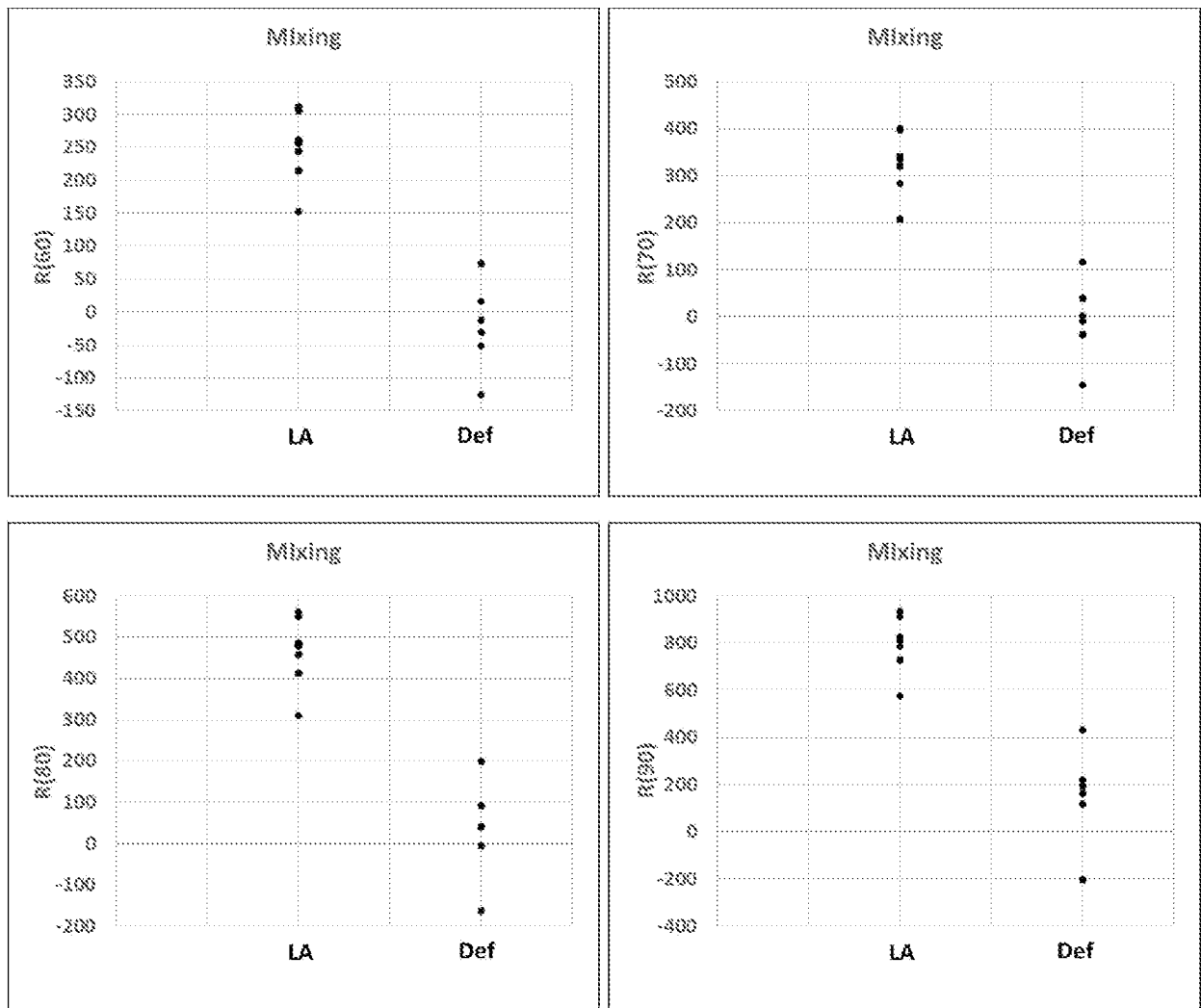
[図5]



[図6]



[図7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/019652

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N 33/86 (2006.01)i FI: G01N33/86 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) G01N33/86 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024 Registered utility model specifications of Japan 1996-2024 Published registered utility model applications of Japan 1994-2024 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2022/054819 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 17 March 2022 (2022-03-17) entire text, all drawings	1-11
A	WO 2022/186381 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 09 September 2022 (2022-09-09) entire text, all drawings	1-11
A	WO 2020/101025 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 22 May 2020 (2020-05-22) entire text, all drawings	1-11
A	WO 2020/158948 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 06 August 2020 (2020-08-06) entire text, all drawings	1-11
A	WO 2020/218425 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 29 October 2020 (2020-10-29) entire text, all drawings	1-11
A	WO 2021/177452 A1 (SEKISUI MEDICAL CO., LTD.) 10 September 2021 (2021-09-10) entire text, all drawings	1-11
☐ 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 “D” document cited by the applicant in the international application “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 31 July 2024		Date of mailing of the international search report 13 August 2024
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2024/019652

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2022/054819	A1	17 March 2022	US	2024/0027476	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	4212880	A1	
				CN	116057383	A	
WO	2022/186381	A1	09 September 2022	US	2024/0077504	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	4303586	A1	
				CN	116917739	A1	
WO	2020/101025	A1	22 May 2020	US	2021/0333295	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	3882628	A1	
				CN	113039436	A	
WO	2020/158948	A1	06 August 2020	US	2022/0146537	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	3919913	A1	
				CN	113366319	A	
WO	2020/218425	A1	29 October 2020	US	2022/0326262	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	3961211	A1	
				CN	113785197	A	
WO	2021/177452	A1	10 September 2021	US	2023/0152335	A1	
				entire text, all drawings			
				EP	4116714	A1	
				CN	115244402	A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

G01N 33/86(2006.01)i

FI: G01N33/86

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））

G01N33/86

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 - 2024年

日本国実用新案登録公報

1996 - 2024年

日本国登録実用新案公報

1994 - 2024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）

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
A	WO 2022/054819 A1（積水メディカル株式会社）17.03.2022（2022 - 03 - 17） 全文、全図	1-11
A	WO 2022/186381 A1（積水メディカル株式会社）09.09.2022（2022 - 09 - 09） 全文、全図	1-11
A	WO 2020/101025 A1（積水メディカル株式会社）22.05.2020（2020 - 05 - 22） 全文、全図	1-11
A	WO 2020/158948 A1（積水メディカル株式会社）06.08.2020（2020 - 08 - 06） 全文、全図	1-11
A	WO 2020/218425 A1（積水メディカル株式会社）29.10.2020（2020 - 10 - 29） 全文、全図	1-11
A	WO 2021/177452 A1（積水メディカル株式会社）10.09.2021（2021 - 09 - 10） 全文、全図	1-11

☐ 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

“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

“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献

“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

“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）

“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

“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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

“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

“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

“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

31.07.2024

国際調査報告の発送日

13.08.2024

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)

〒100-8915

日本国

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

海野 佳子 2J 3906

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

様式 PCT/ISA/210（第2ページ）（2022年7月）

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/019652

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2022/054819	A1	17.03.2022	US	2024/0027476	A1	
				全文、全図			
				EP	4212880	A1	
				CN	116057383	A	
WO	2022/186381	A1	09.09.2022	US	2024/0077504	A1	
				全文、全図			
				EP	4303586	A1	
				CN	116917739	A1	
WO	2020/101025	A1	22.05.2020	US	2021/0333295	A1	
				全文、全図			
				EP	3882628	A1	
				CN	113039436	A	
WO	2020/158948	A1	06.08.2020	US	2022/0146537	A1	
				全文、全図			
				EP	3919913	A1	
				CN	113366319	A	
WO	2020/218425	A1	29.10.2020	US	2022/0326262	A1	
				全文、全図			
				EP	3961211	A1	
				CN	113785197	A	
WO	2021/177452	A1	10.09.2021	US	2023/0152335	A1	
				全文、全図			
				EP	4116714	A1	
				CN	115244402	A	