



(21)申請案號：105135751

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 11 月 03 日

(51)Int. Cl. : G01N33/48 (2006.01)

G06F19/24 (2011.01)

G06Q50/22 (2012.01)

(30)優先權：2015/11/06 日本

2015-218530

(71)申請人：曾振武 (日本) SO, SHIMBU (JP)

日本

(72)發明人：曾振武 SO, SHIMBU (JP)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：4 項 圖式數：6 共 31 頁

(54)名稱

免疫狀態之檢查方法以及檢查裝置

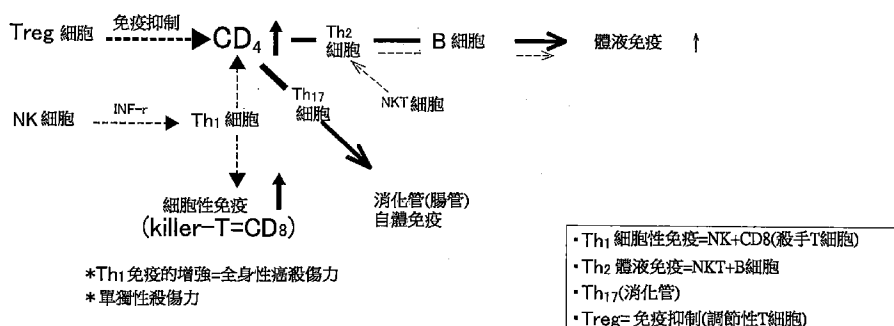
(57)摘要

本發明使得更詳細、簡易且廉價地檢查癌等的疾病的發現、與用以了解抗癌劑治療等的副作用、免疫治療的效果、預後狀態等之被檢驗者的免疫狀態成為可能。

本發明為具有以下步驟的免疫狀態檢查方法：根據被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊、和與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊，算出作為被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟，和根據免疫細胞子群的比例及個數變化分析被檢驗者的免疫狀態之步驟。

指定代表圖：

圖 2



發明摘要

※申請案號：105135751

※申請日：105 年 11 月 03 日

※IPC 分類：**G01N 33/48** (2006.01)
G06F 19/24 (2011.01)
G06Q 50/22 (2012.01)

【發明名稱】(中文/英文)

免疫狀態之檢查方法以及檢查裝置

【中文】

本發明使得更詳細、簡易且廉價地檢查癌等的疾病的發現、與用以了解抗癌劑治療等的副作用、免疫治療的效果、預後狀態等之被檢驗者的免疫狀態成為可能。

本發明為具有以下步驟的免疫狀態檢查方法：根據被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊、和與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊，算出作為被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟，和根據免疫細胞子群的比例及個數變化分析被檢驗者的免疫狀態之步驟。

【英文】

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(2)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

免疫狀態之檢查方法以及檢查裝置

【技術領域】

[0001] 本發明與根據各個免疫細胞子群的比例來進行之免疫狀態的檢查方法及檢查設備有關。

【先前技術】

[0002] 癌的診斷或治療後的追蹤觀察等，傳統上是經由 CT、PET-CT、胃鏡等的影像檢查，或利用腫瘤標記檢驗血液中存在的物質的血液檢查等來進行。其中利用腫瘤標記的血液檢查因為簡便所以常被用於臨床現場，且已有許多有效腫瘤標記的開發。此外，亦有研究揭示根據每腫瘤標記單位體積的份量來判斷是否罹癌之癌症檢查方法等(例如，專利文獻 1～3)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[0003]

[專利文獻 1]日本特開 2014-20930 號公報

[專利文獻 2]國際公開 00/58728 號公報

[專利文獻 3]日本特開 2015-141469 號公報

【發明內容】**[發明所欲解決之課題]**

[0004] 然而，也有並無發生癌症而腫瘤標記值卻上升的情況，或是儘管癌症存在而腫瘤標記值卻不上升的情況，難以只靠腫瘤標記之值來掌握癌症的狀態。而且，由於使用特別的腫瘤標記，分析費用會變的昂貴，還有要使用大型且昂貴的設備與 PCR 法等的麻煩，所以難在臨床現場使用。此外，雖然已知癌症的治療效果等不僅受癌細胞的存在影響也受患者本身的免疫力影響，但是尚未有著眼於免疫力的簡易且有效的檢查被開發出來。

[0005] 本發明為有鑑於上述情形而完成者，因此本發明以提供一種不使用昂貴的檢查設備或檢查套組的使用或 PCR 等複雜的手法，而能更詳細、簡易且廉價地檢查被檢驗者的免疫狀態之免疫狀態檢查方法為目的。

[用以解決課題之手段]

[0006] 為了達到上述目的，本申請之免疫狀態的檢查方法的特徵為具有以下步驟：根據被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊、和與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊，算出作為前述被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟，和根據前述免疫細胞子群的比例及個數變化分析前述被檢驗者的免疫狀態之步驟。

[發明之效果]

[0007] 藉由本發明，不需要昂貴的檢查設備或檢查套組的使用或 PCR 等複雜的手法，而根據在臨床一般進行的抽血檢查的血球計數及白血球形態檢查結果、和與存在於白血球細胞表面表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析結果，使得更詳細、簡易且廉價地檢查被檢驗者的免疫狀態成為可能。此外，根據此免疫狀態，使得簡易且明確掌握癌症等疾病的發現、投藥效果、抗癌劑治療等的副作用、免疫治療的效果、或預後的狀態等成為可能。

【圖式簡單說明】

[0008]

[圖 1]圖示本發明之實施方式的免疫狀態檢查方法中所使用的血液成分之血球計數及白血球形態檢查結果(檢查資訊)的一覽表之圖，與白血球細胞表面抗原的 CD 號碼的解析結果(解析資訊)的一覽表之圖。

[圖 2]用以說明免疫細胞中細胞性免疫與體液免疫之相關關係的說明圖。

[圖 3]用以說明本實施方式的免疫狀態檢查方法之檢查結果的說明圖，(A)為圖示腎臟癌患者的各個白血球子群成分之比例的圓餅圖，及以算式(1)~(12)算出之各成分的總數(個數)，(B)為圖示單核球與淋巴球子群之比例的圓餅圖，(C)為僅圖示淋巴球子群之比例的圓餅圖。

[圖 4A]用以說明本實施方式的免疫狀態檢查方法之檢

查結果之例的說明圖，圖示末期食道癌患者的檢查結果。

[圖 4B]用以說明本實施方式的免疫狀態檢查方法之檢查結果之例的說明圖，圖示健康人的檢查結果。

[圖 4C]用以說明本實施方式的免疫狀態檢查方法之檢查結果之例的說明圖，圖示以抗癌劑治療至 1 年前為止之大腸癌患者的檢查結果。

[圖 5]用以說明本實施方式的免疫狀態檢查方法之檢查結果之例的說明圖，(A)為類風濕性關節炎患者的檢查結果，(B)為異位性皮膚炎患者的檢查結果。

[圖 6]用以說明本實施方式的免疫狀態檢查設備的說明圖，(A)圖示檢察設備的硬體構成圖，(B)圖示檢查設備的功能區塊圖。

【實施方式】

[0009] 以下針對本發明之實施方式說明。本實施方式的免疫狀態檢查方法具有根據被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊、和與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊，算出作為被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟，和根據免疫細胞子群的比例及個數變化分析被檢驗者的免疫狀態之步驟。

[0010] 本實施方式的免疫狀態檢查方法具有如上述之步驟，藉由得知血液中免疫細胞子群的狀態(比例)，為不需要昂貴的檢查設備或檢查套組的使用或 PCR 等複雜

的手法，而使得簡易且廉價地檢查被檢驗者的免疫狀態成為可能者。此外，本發明為提供可提供早期發現各種癌症或免疫相關疾病等、或能得知投藥效果、抗癌劑治療等的副作用、免疫治療的效果、或預後的狀態等之檢查效果的免疫狀態檢查方法者。

[0011] 今日，除了少數體液免疫空間的癌症(以血癌為中心)以外，即使是使用強效抗癌劑的化學療法也難以完全將癌去除。癌症的治療效果並非僅以癌的大小變化作為判斷基準，也需要考慮到患者的餘命。癌症治療效果與餘命被認為受到患者本身體力(免疫力)的影響。免疫力的低下(CD4 陽性 T 細胞的減少)與癌細胞的轉移與成長有關。儘管新抗癌劑的種類增加，仍可觀察到許多在抗癌劑治療後癌症轉移至其他器官的例子。因為癌症的轉移有許多是發生在肉眼不可見的 micrometastasis(微轉移)的細胞等級，所以只要沒有將癌細胞全部消滅，在因為使用抗癌劑而免疫力下降的狀態下，反而會令患者的身體落入對癌細胞轉移無能為力的狀態。結果被認為會發生癌的全身轉移。

[0012] 此外，從 QOL(Quality Of Life)的觀點來看，也應該對片面使用全身放射線治療與化學療法抱持疑問。這是因為，根據最近的統計，顯示在使用抗癌劑與不使用抗癌劑的情況下，癌症患者的餘命僅差 3 個月。此現象的原因被認為是患者的免疫力因放射線治療與化學療法而低下(CD4 陽性 T 細胞的減少)。同時，發明者從過去的臨床

治療的統計驗證的結果了解到，自體免疫力影響癌症治療的預後(在疾病或手術等之後，恢復到什麼程度的預測)，即影響生存率。

[0013] 例如，在手術後的原發性肝癌患者，與天然免疫性有關的 NK 細胞(自然殺手細胞)的活性強度，大大影響患者的生存率。因此，可知 NK 細胞的活性擔負預防癌症復發的重要任務。此外，以進行細胞免疫療法的手術後的肺癌患者群與僅進行傳統療法的患者群比較 7 年生存率時，有 2 倍的差異。此外，進行細胞免疫療法和 MIS 療法的肝癌患者群與僅進行 MIS 療法的肝癌患者的生存率也存在很大的差異。由以上的統計數據分析，發現癌症治療的預後因自體免疫狀態而有所不同。總而言之，好的免疫狀態會帶來好的預後。

[0014] 自從 New England Journal of Medicine 刊登針對轉移性惡性黑色素瘤(melanoma)的小野藥品的新的免疫治療藥後，即在基因解析後的醫學界拉開以免疫治療為中心的新時代的序幕。小野藥品開發的 PD1 抗體的治療藥 Nivolumab(Nivolumab)具有作用於活性化淋巴球，並更進一步引出活性化的任務。因而，無法否定這種免疫治療藥在癌症患者以外的多發性硬化症、關節炎、全身紅斑性狼瘡等難治性自體免疫疾病患者引起強烈副作用的可能性。因此，為了掌握患者的免疫狀態，找出可極力迴避副作用的治療方法，也需要開發更簡易且低廉地釐清免疫細胞各子群的變化的檢查方法。

[0015] 此外，根據最近的臨床研究，我們體內免疫細胞各子群的生理及病理性任務逐漸被釐清。釐清免疫細胞的任務與免疫的流程(機制)不僅對癌症治療來說不可或缺，對免疫相關疾病(膠原病、慢性病毒感染症、急性病毒感染症等)的治療過程來說也是不可或缺。為了釐清必須掌握各免疫細胞子群的個數及比例。

[0016] 然而，在目前的臨床治療過程中，可驗證體內免疫系統的方法有限，而且臨床檢查費用高昂，有礙免疫釐清的普及。

[0017] 有鑑於上述狀況，發明者發現，藉由分析白血球中各免疫細胞子群(白血球子群)的比例可掌握患者的免疫力狀態，並完成本發明。即，根據在臨床一般進行的抽血檢查的血球計數(complete blood cell count)及白血球形態(white blood cell demarcation)、和與存在於白血球細胞表面表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類(CD: cluster of differentiation)解析結果，使得簡單地檢查免疫狀態成為可能。

[0018] 白血球大致被分為顆粒球(Granulocytes)、單核球(Mononuclear cell)、淋巴球(Lymphocytes)3 種。顆粒球更進一步被分為嗜酸性球(Eosinophils)、嗜中性球(Nneutrophils)、嗜鹼性球(Basophils)3 個子群。單核球在血液中作為單核球的子群而存在。

[0019] 此外，淋巴球子群中有輔助 T 細胞(CD4 陽性 T 細胞)、殺手 T 細胞(CD8 陽性 T 細胞)、B 細胞、NK(自

然殺手)細胞、NKT(自然殺手 T)細胞。B 細胞與 NKT 細胞參與抗體的產生等 Th2 體液免疫，NK 細胞與殺手 T 細胞參與病毒感染細胞、癌細胞及老廢細胞的去除等的 Th1 細胞性免疫。輔助 T 細胞，掌管免疫中樞。

[0020] 顆粒球子群(嗜酸性球、嗜鹼性球、嗜中性球)、單核球、NK 細胞為天然免疫性細胞，殺手 T 細胞、輔助 T 細胞、B 細胞等為適應免疫性(後天免疫)細胞。NKT 細胞為具有天然免疫性細胞與適應免疫性細胞雙方面性質的細胞。此外，NK 細胞、NKT 細胞為決定在感染數小時後被誘導的免疫流程之早期誘導反應細胞。

[0021] 因此，藉由分析上述免疫細胞子群的狀態，可以從體內免疫(健康度)的狀態、體內免疫的流程、免疫異常的早期發現、對癌症與其他各種疾病的投藥效果得知治療效果的狀態(從治療效果至副作用為止的狀態)。

[0022] 以下針對本實施方式之免疫狀態檢查方法詳細地說明。

[0023] 首先，取得被檢驗者的血液成分之血球計數及白血球形態檢查結果(檢查資訊)。從此檢查資訊中取得白血球數與白血球形態。白血球數與白血球形態的檢查可使用在臨床一般的檢查方法。例如，採取被檢驗者的血液，並經由委託臨床中心等檢查，即使沒有昂貴的檢查設備等也可簡單且廉價地取得檢查資訊。

[0024] 圖 1(A)中，圖示被檢驗者的血液成分之血球計數及白血球形態檢查結果的一覽表之圖。圖 1(A)中，

「WBC」為 1 μ l 中的白血球數，白血球形態(白血球成分資訊)的項目中「Baso」為白血球中嗜鹼性球的比例(%), 「Eosino」為嗜酸性球的比例(%), 「Neutro」為嗜中性球的比例(%), 「Lympho」為淋巴球的比例(%), 「Mono」為單核球的比例(%)。

[0025] 接著，取得白血球細胞(免疫細胞)表面抗原的 CD 號碼的解析結果(解析資訊)。作為分析方法，雖可使用為公眾所知的分析方法，但以經由例如 Two Color 流動式細胞測量術(Two Color Flow Cytometry)分析法來進行分析為佳。在此情況下，亦可使用臨床中心等解析結果。

[0026] CD 分類的解析中使用 CD3、CD4、CD8、CD16、CD56。CD3 為位於所有 T 細胞的膜表面的抗原。CD4 為位於輔助 T 細胞(CD4 陽性 T 細胞)的膜表面的抗原。CD8 為位於殺手 T 細胞(CD8 陽性 T 細胞)的膜表面的抗原。CD16 為位於 NK 細胞的膜表面的抗原。CD56 為位於 NK 細胞或 NKT 細胞的膜表面的抗原。

[0027] 以下，有時將陽性稱為「+」，陰性稱為「-」。輔助 T 細胞為表現「CD3+CD4+」特性的細胞、殺手 T 細胞為表現「CD3+CD8+」特性的細胞、B 細胞為表現「CD3-CD56-」特性的細胞、NK 細胞為表現「CD3-CD56+」特性的細胞、NKT 細胞為表現「CD3+CD56+」特性的細胞。

[0028] 圖 1(B)圖示 Two Color 流動式細胞測量術分析法之 CD 分類解析結果(解析資訊)的一覽表之圖。

[0029] 接下來，根據從檢查資訊取得之白血球數(圖 1(A)的「WBC」)及白血球成分資訊(圖 1(A)的「Baso」、「Eosino」、「Neutro」、「Lympho」、「Mono」)，以下述算式(1)~(5)算出被檢驗者的體內白血球(免疫細胞)的總數與各個白血球子群(免疫細胞子群)的總數(個數)。白血球的總數，在被檢驗者為男性的情況下以算式(1)算出，在被檢驗者為女性的情況下以算式(2)算出。

[0030]

[數 1]

$$\begin{aligned} \text{白血球的總數} &= \text{白血球數} (/ \mu\text{l}) \times 5000 (\text{血液量}) \text{ml} \times 1000 \\ (1000 \mu\text{l} &= 1 \text{ml}) \end{aligned} \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \text{白血球的總數} &= \text{白血球數} (/ \mu\text{l}) \times 4500 (\text{血液量}) \text{ml} \times 1000 \\ (1000 \mu\text{l} &= 1 \text{ml}) \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{顆粒球的總數} &= \text{白血球的總數} \times \text{顆粒球} (\text{嗜鹼性球} + \text{嗜酸性球} \\ &+ \text{嗜中性球}) (\%) \end{aligned} \quad (3)$$

$$\text{單核球的總數} = \text{白血球的總數} \times \text{單核球} (\%) \quad (4)$$

$$\text{淋巴球的總數} = \text{白血球的總數} \times \text{淋巴球} (\%) \quad (5)$$

[0031] 接下來，根據算出的淋巴球的總數及圖 1(B)的 CD 分類解析資訊，算出淋巴球子群的 T 細胞的總數、B 細胞的總數、NK 細胞的總數及 NKT 細胞的總數。針對 T 細胞，算出輔助 T 細胞的總數，與殺手 T 細胞的總數。

[0032] 首先，以下述算式(6)算出 T 細胞的總數。根據算出的 T 細胞的總數，以下述算式(7)、(8)算出輔助 T 細胞的總數及殺手 T 細胞的總數。

[0033] 接下來，根據 T 細胞的總數及淋巴球的總數，以下述算式(9)算出 T 細胞以外之非 T 細胞的總數。根據算出的非 T 細胞的總數及 T 細胞的總數，以下述算式(10)、(11)、(12)算出 B 細胞的總數、NK 細胞的總數及 NKT 細胞的總數。再者，經由上述各算式可算出各成分之 1 μ l 中的個數。

[0034]

[數 2]

$$\text{T 細胞的總數} = \text{淋巴球的總數} \times \text{CD3(+)(\%)} \quad (6)$$

$$\text{CD4(+)\text{T 細胞的總數}} = \text{T 細胞的總數} \times \text{CD4(+)(\%)} \quad (7)$$

$$\text{CD8(+)\text{T 細胞的總數}} = \text{T 細胞的總數} \times \text{CD8(+)(\%)} \quad (8)$$

$$\text{非 T 細胞的總數} = \text{淋巴球的總數} \times (100 - \text{CD3(+)(\%)}) \quad (9)$$

$$\text{B 細胞的總數} = \text{非 T 細胞的總數} \times (\text{CD16(-)/CD56(-)(\%)}) \quad (10)$$

$$\begin{aligned} \text{NK 細胞的總數} = & \text{非 T 細胞的總數} \times ((\text{CD16(+)}/\text{CD56(+)} + (\text{CD16(+)} \\ & / \text{CD56(-)}))(\%) \end{aligned} \quad (11)$$

$$\begin{aligned} \text{NKT 細胞的總數} = & \text{T 細胞的總數} \times ((\text{CD16(-)}/\text{CD56(+)})(\%) \\ & \quad \quad \quad (12) \end{aligned}$$

[0035] 根據經過上述方式算出之各個顆粒球(嗜酸性球、嗜鹼性球、嗜中性球)、單核球、淋巴球(輔助 T 細胞、殺手 T 細胞、B 細胞、NK 細胞、NKT 細胞)的增減或比例，可簡單地分析被檢驗者的免疫狀態。再者，使用上述算式之計算或以下之免疫狀態的分析，可藉由利用後述之檢查設備 10 更高速且更正確地來進行。

[0036] 圖 2 中，概略地圖示免疫細胞中細胞性免疫

與體液免疫的相關關係。如此圖 2 中所示，輔助 T 細胞 (CD4 陽性 T 細胞)被分為 Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞三者。Th1 細胞主要產生 IFN- γ ，並參與細胞性免疫的活性化等。Th2 細胞主要產生介白素-4(IL-4)，並參與體液免疫。Th17 大量存在於小腸等的消化管，產生介白素-17 (IL-17)，參與發炎反應等自體免疫。除此之外，作為 T 細胞還存在負責對過度免疫反應進行抑制性調節(免疫寬容)的調節性 T 細胞(Treg)等。

[0037] Th1 細胞參與的 Th1 細胞性免疫的狀態，可藉由分析 NK 細胞數與殺手 T 細胞數的總和或其增減等來得知。而且，Th2 細胞參與的 Th2 體液免疫的狀態，可藉由分析 NKT 細胞數與 B 細胞數的總和或其增減等來得知。

[0038] 經由本實施方式之免疫狀態的檢查方法的檢查結果之例示於圖 3。圖 3，為腎臟癌手術後的女性的免疫狀態之檢查結果(白血球子群之數)及根據該檢查結果將白血球子群的比例製成圓餅圖者。圖 3(A)中所示為圖示各個白血球子群成分之比例的圓餅圖，並於圓餅圖的左側圖示根據此比例算出之白血球子群之數的算出例。圖 3(B)為圖示單核球與淋巴球子群之比例的圓餅圖，(C)為僅圖示淋巴球子群之比例的圓餅圖。

[0039] 從圖 3 的各圓餅圖可知，關於白血球中的淋巴球的比例為健康狀態。此外，顯示細胞性免疫>體液免疫，可知表現出強的抗癌免疫模式。此外，顯示顆粒球與單核球與淋巴球的比例達良好平衡，顯示 Th1(NK 細胞+

殺手 T 細胞) $>$ Th2(NKT 細胞+B 細胞)，可知細胞性免疫佔優勢。由此可知，手術後的進展良好。

[0040] 接下來，根據圖 4A～圖 4C 中所示 3 個病例的免疫細胞子群(白血球子群)的檢查結果，一邊分析免疫狀態一邊說明分析判斷基準。圖 4A 為以抗癌劑治療中之末期食道癌患者(男性)的檢查結果，圖 4B 為健康人(正常)之高齡者(女性)的檢查結果，圖 4C 為以抗癌劑治療至 1 年前為止之大腸癌患者(女性)的檢查結果。各圖中所示為圖示白血球子群之比例的圓餅圖與白血球子群的總數等。

[0041] 首先，可藉由檢查交感神經與副交感神經之間的平衡來得知免疫狀態的健康程度。因此，本實施方式之免疫狀態檢查方法對健檢篩選來說是適合的。白血球子群的理想比例為顆粒球(嗜酸性球、嗜鹼性球、嗜中性球)：單核球：淋巴球=60：5：35(%)。

[0042] 顆粒球個數增加(圖中以 $\uparrow$ 表示)的狀態，為交感神經佔優勢的狀態(由於為感染、使用抗癌劑造成的壓力、癌症晚期至末期等)。又，淋巴球個數增加($\uparrow$)的狀態，為副交感神經佔優勢的狀態(由於為自體免疫性疾病、過敏性疾病、過敏或肥胖等)。

[0043] 圖 4A 的病例為以抗癌劑治療中之末期食道癌患者，顯示異常的淋巴球減少($\downarrow$)。圖 4B 的病例為健康之高齡者，因顆粒球與淋巴球的理想比例，而顯示交感神經與副交感神經達良好平衡。圖 4C 的病例為以抗癌劑治療至 1 年前為止之大腸癌患者，即使以抗癌劑治療結束後經

過 1 年，仍觀察到持續性的淋巴球減少，可知為免疫抑制與交感神經佔優勢的狀況。

[0044] 此外，從負責免疫中樞之淋巴球輔助 T 細胞子群(CD4)個數來分析自體免疫力，亦可知圖 4C 的病例為免疫力低下狀態，圖 4A 的病例為免疫危機狀態。根據圖 4A～圖 4C 中所示病例的免疫狀態檢查結果，當 CD4 的個數 >600 個/ μl 時可判斷為健康。當 CD4 的個數 >400 個/ μl 時可判斷為正常。當 CD4 的個數 <400 個/ μl 時可判斷為免疫低下狀態。當 CD4 的個數 <200 個/ μl 時可判斷為免疫危機狀態。因此，本實施方式之免疫狀態檢查方法，對於癌症治療或免疫抑制病例的分析來說是適合的。

[0045] 接下來，根據圖 5 中所示癌症以外之兩個病例的免疫細胞子群(白血球細胞子群)的檢查結果來分析免疫狀態。圖 5(A)為類風濕性關節炎患者的檢查結果，圖 5(B)為異位性皮膚炎患者的檢查結果。分析此等檢查結果可知體內免疫的流程或免疫體質。因此，本實施方式之免疫狀態檢查方法，對於膠原病或過敏疾病等之體內免疫的分析來說是適合的。

[0046] 圖 5(A)及圖 5(B)的病例中，B 細胞/輔助 T 細胞(CD4) >1 ，即 B 細胞 $>$ 輔助 T 細胞(CD4)，顯示 Th2 體液免疫佔優勢(Th2 體液免疫偏移)。

[0047] 根據圖 2 的細胞性免疫與體液免疫的相關關係來分析體內免疫。在 Th2 免疫異常(Th2 體液免疫偏移等)的情況下，可考慮過敏性病患(異位性皮膚炎)、重症肌

無力症、慢性活動性肝炎(HBsAg(-))、膜性腎絲球腎炎、尋常性天庖瘡、甲狀腺機能亢進或低下症、類肉瘤病等。此外，可考慮類風濕性關節炎、SLE、蕁麻疹、支氣管氣喘等。此外，可考慮禽流感、流感、SARS 等。

[0048] 此外，在 Th1 免疫異常(Th1 細胞性免疫偏移等)的情況下，可考慮接觸性皮膚炎、癌症的初期、結核、真菌感染症、病毒性肝炎、尋常性乾癬、多發性硬化症等。在 Th17 免疫異常的情況下，可考慮潰瘍性大腸炎、克隆氏症、過敏性腸疾病等的過敏性疾病等。

[0049] 接下來，針對對於實行上述檢查來說合適的檢查設備及程式說明。此檢查設備可由個人電腦(PC)、平板電腦、PDA、智慧型手機、電腦等具備演算功能之演算設備建構。以下，以圖 6 說明使用 PC 之檢查設備的一個實施方式。

[0050] 如圖 6(A)的硬體構成圖所示，本實施方式之檢查設備 10 主要具備控制檢查設備 10 全體動作的 CPU(Central Processing Unit)11、被使用作為 CPU11 的工作區之 RAM(Random Access Memory)12、儲存 CPU11 執行檢查程式等的各種程式之 ROM(Read Only Memory)13、快閃記憶體等的非揮發性半導體記憶體、SD 卡、或外接硬碟等的記錄媒體所構成的記憶部(記憶體)14、以有線或無線連接通訊網路之通訊 I/F15、顯示器(顯示部)16、輸出部 17、輸入部 18 而被構成。此等構成要素以匯流排 19 電性連接。除此之外，檢查設備 10 還具備 CD-ROM 磁碟

機和外部機器 I/F 等被連接至 PC 的構成零件。

[0051] 接下來，以圖 6(B)之功能方塊圖說明檢查設備 10 的功能。如圖 6(B)所示，檢查設備 10 具備輸入部 18、記憶部 14、顯示器 16、輸出部 17 與計算部 20。

[0052] 輸入部 18 具有對計算部 20 輸入血液檢查結果及 CD 分類解析結果的功能。作為輸入部 18，例如可使用鍵盤、滑鼠、觸控面板等。醫師等，可以從輸入部 18 直接輸入血液檢查結果及 CD 分類解析結果。此外，亦可經由輸入部 18 的操作，透過網路通信下載或 USB 記憶體等的拷貝將此等資訊送至計算部 20。

[0053] 記憶部 14 具有儲存各種資訊的功能。記憶部 14 中儲存在上述檢查方法中說明過的與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊等。顯示器 16(顯示部)具有顯示以計算部 20 計算之計算結果或分析結果等各種資訊的功能。作為顯示器 16，例如可使用液晶顯示器等。輸出部 17 具有輸出計算部 20 算出之算出結果或分析結果等各種情報的功能。作為輸出部 17，例如可使用印表機等。

[0054] 計算部 20 具有根據從記憶部 14 取得的解析資訊與從輸入部 18 輸入的決算及檢查資訊，藉由實行如前述之算式來算出白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數，根據免疫細胞子群的比例及個數變化來分析被檢驗者的免疫狀態，並輸出分析結果的功能。

[0055] 被安裝至上述檢查設備 10 的程式為用以令電

腦實行以下步驟之程式：根據被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊、和與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊，使用如前述之算式來算出作為被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟，和根據免疫細胞子群的比例及個數變化分析被檢驗者的免疫狀態之步驟。於本說明書，程式不僅包含以程式語言製作並被安裝至 PC 的程式，也包含以 Excel 和其他軟體製作的函數或巨集等。

[0056] 藉由使用如上述構成之檢查設備 10，經由計算部 20 可高速且正確地算出白血球的各個成分的總數。藉由將算出結果顯示在顯示器 16，或用輸出部 17 的印表機印刷，醫生或患者(被檢查者)可以容易地目視確認免疫狀態。此外，如圖 3～圖 5 所示，若採用經由計算部 20 進行將計算結果或分析結果圖形化等並顯示或印刷的方法，可以容易地掌握免疫狀態的變化等。圖形化、顯示畫面及印刷版面配置的編輯亦可經由計算部 20 精確度更高且更高速地來進行。

[0057] 因此，本實施方式之檢查設備 10 及程式，可簡易且廉價地檢查(分析)被檢驗者的免疫狀態，可適合用於健檢篩選、癌症治療或免疫抑制病例的分析、膠原病或過敏疾病等的體內免疫的分析等。

[0058] 如上，藉由本實施方式之免疫狀態的檢查方法及檢查設備 10，可簡易且低廉地實施癌症或免疫相關疾病等的分析。其結果使得容易且低廉地早期發現各種免

疫相關疾病等、或得知投藥效果、抗癌劑治療等的副作用、免疫治療的效果、或預後的狀態等成為可能。

[0059] 以上，已參照圖式詳細說明了本發明的實施方式，但具體的構成並被不限定於此實施方式或實施例，不脫離本發明之主旨的程度的設計變更也被包含在本發明之內。

[0060]

[相關申請的交叉引用]

本申請基於 2015 年 11 月 6 日向日本國專利局提出申請之日本特願 2015-218530 主張優先權，其全部的揭示內容經由引用併入本說明書中。

【符號說明】

[0061]

10：檢查設備

11：CPU

12：RAM

13：ROM

14：記憶部

15：通訊 I/F

16：顯示器

17：輸出部

18：輸入部

19：匯流排

20：計算部

申請專利範圍

1.一種免疫狀態的檢查方法，其特徵係具有以下步驟：

根據被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊、和與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊，算出作為前述被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟，

根據前述免疫細胞子群的比例及個數變化，分析前述被檢驗者的免疫狀態之步驟。

2.如請求項 1 之免疫狀態的檢查方法，其特徵係：

於前述算出白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數之步驟中，

根據前述白血球的總數及前述 CD 分類解析資訊，算出前述免疫細胞子群的顆粒球的個數、單核球的個數及淋巴球的個數，

並根據前述淋巴球的個數及前述 CD 分類解析資訊，算出前述淋巴球中的 T 細胞的個數、B 細胞的個數、NK 細胞的個數及 NKT 細胞的個數；

於分析前述免疫狀態的步驟中，

根據前述白血球的總數、前述顆粒球的個數、前述單核球的個數、前述淋巴球的個數、前述 T 細胞的個數、前述 B 細胞的個數、NK 細胞的個數及 NKT 細胞的個數，算出各成分的比例，並根據前述比例及個數變化分析前述被檢驗者的免疫狀態。

3.如請求項 1 之免疫狀態的檢查方法，其特徵係以下式(1)或(2)算出前述白血球的總數，以下式(3)、(4)、(5)分別算出前述顆粒球的總數、前述單核球的總數及前述淋巴球的總數，以下式(6)算出前述 T 細胞的總數，根據前述 T 細胞的總數，以下式(7)、(8)算出該 T 細胞中輔助 T 細胞的總數及殺手 T 細胞的總數，以下式(9)算出 T 細胞以外之非 T 細胞的總數，根據前述非 T 細胞的總數及前述 T 細胞的總數，以下式(10)、(11)、(12) 算出前述 B 細胞的總數、前述 NK 細胞的總數及前述 NKT 細胞的總數，

[數 1]

$$\text{白血球的總數} = \text{白血球數} (/ \mu\text{l}) \times 5000 (\text{血液量}) \text{ml} \times 1000$$

$$(1000 \mu\text{l} = 1 \text{ml}) \quad (1)$$

$$\text{白血球的總數} = \text{白血球數} (/ \mu\text{l}) \times 4500 (\text{血液量}) \text{ml} \times 1000$$

$$(1000 \mu\text{l} = 1 \text{ml}) \quad (2)$$

$$\text{顆粒球的總數} = \text{白血球的總數} \times \text{顆粒球 (嗜鹼性球 + 嗜酸性球 + 嗜中性球)} (\%)$$

$$(3)$$

$$\text{單核球的總數} = \text{白血球的總數} \times \text{單核球} (\%) \quad (4)$$

$$\text{淋巴球的總數} = \text{白血球的總數} \times \text{淋巴球} (\%) \quad (5)$$

[數 2]

$$\text{T 細胞的總數} = \text{淋巴球的總數} \times \text{CD3} (+) (\%) \quad (6)$$

$$\text{CD4} (+) \text{T 細胞的總數} = \text{T 細胞的總數} \times \text{CD4} (+) (\%) \quad (7)$$

$$\text{CD8} (+) \text{T 細胞的總數} = \text{T 細胞的總數} \times \text{CD8} (+) (\%) \quad (8)$$

$$\text{非 T 細胞的總數} = \text{淋巴球的總數} \times (100 - \text{CD3} (+) (\%)) \quad (9)$$

$$\text{B 細胞的總數} = \text{非 T 細胞的總數} \times (\text{CD16(-)}/\text{CD56(-)}) (\%) \quad (10)$$

$$\text{NK 細胞的總數} = \text{非 T 細胞的總數} \times ((\text{CD16(+)}/\text{CD56(+)} + (\text{CD16(+)}/\text{CD56(-)})) (\%) \quad (11)$$

$$\text{NKT 細胞的總數} = \text{T 細胞的總數} \times ((\text{CD16(-)}/\text{CD56(+)})) (\%) \quad (12)。$$

4. 一種檢查裝置，

其係用以實施如請求項 1～3 中任一項之免疫狀態檢查方法的檢查裝置，且其特徵係具有

儲存與白血球細胞表面抗原結合之單株抗體的 CD 分類解析資訊的記憶部，

根據前述分析資訊和從輸入部輸入之被檢驗者血液成分之血球計數及白血球形態檢查資訊，算出前述作為被檢驗者體內免疫細胞之白血球的總數及各個免疫細胞子群的個數，並根據前述免疫細胞子群的比例及個數變化分析前述被檢驗者的免疫狀態並輸出分析結果的計算部。

圖式

圖 1

(A)

○○診所				啟	
				醫師	
				科	
採取日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日		
受理日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日		
報告日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	外來・入院	
病歷 No.				年齡	
患者名				性別	
項目名	結果			基準値	
白血球數	WBC			× ×	3,500~9,700/ μ l
紅血球數	RBC			× ×	M 438~577 $\times 10^3/\mu$ l F 376~518 $\times 10^3/\mu$ l
血色素量	Hb			× ×	M 136~183 g/dl F 112~152 g/dl
血容比	Ht			× ×	M 40.4~51.9 % F 34.3~45.2 %
M C V	MCV			× ×	M 83~101 fl F 80~101 fl
M C H	MCH			× ×	M 28.2~34.7 pg F 26.2~34.3 pg
MCHC	MCHC			× ×	M 31.8~36.4 % F 31.3~36.1 %
血小板數	血小板			× ×	140~379 $\times 10^3/\mu$ l
網狀紅血球	網狀				0.1~2.6 %
白血球形態	Baso	B		× ×	0~2 %
	Eosino	E		× ×	0~7 %
	Neutro	N		× ×	42~74 %
	Stab	St			0~19 %
	Seg	Seg			27~72 %
	Lympho	L		× ×	18~50 %
	Mono	Mon		× ×	1~8 %
	其他之 1			× ×	
	其他之 2			× ×	
	EBL	EBL		× ×	
紅血球形態	大小不同	大小			(一)
	畸形	畸形			(一)
	多染性	多染			(一)
	有核	有核			(一)
(全血比重)		GB			M 1.055~1.093 F 1.052~1.090
檢查結束		合計		× × 分	× × 年 × × 月 × × 日

○○診所				啟			
				醫師			
				科			
採取日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日
受理日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日
報告日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日	××年××月××日
病歷 No.				年齡			
患者名				性別			
項目名	結果	基準值					
#CD3	× ×	58.6 ~ 89.0 %		× ×			
#Two-color							
# CD4+ CD8+	× ×	0.2 ~ 0.4 %		× ×			
# CD4+ CD8-	× ×	30.2 ~ 40.2 %		× ×			
# CD4- CD8+	× ×	21.5 ~ 30.5 %		× ×			
# CD4- CD8-	× ×	33.4 ~ 43.6 %		× ×			
#Two-color							
# CD16+ CD56+	× ×	%		× ×			
# CD16+ CD56-	× ×	%		× ×			
# CD16- CD56+	× ×	%		× ×			
# CD16- CD56-	× ×	%		× ×			

圖 3

腎臟癌	(千萬)
白血球	1904
顆粒球	1129
單核球	99
淋巴球	676
T細胞	477
非T細胞	199
CD4	209
CD8	166
NK細胞	35
NKT細胞	6.7
B細胞	161

顆粒球	1129
單核球	99
CD4	209
CD8	166
NK細胞	35
NKT細胞	6.7
B細胞	161

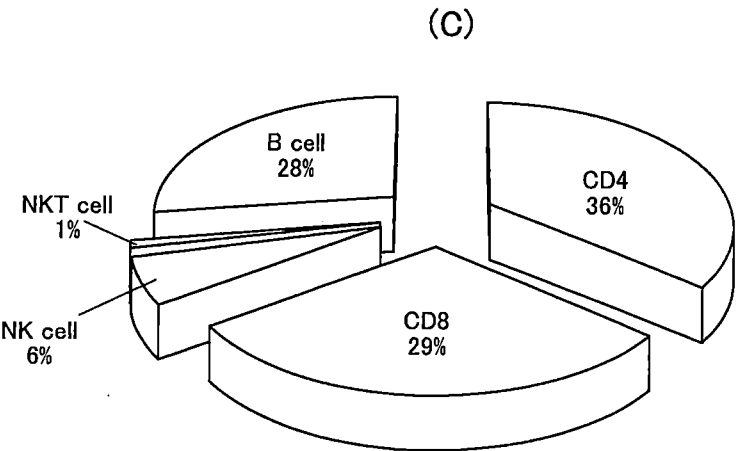
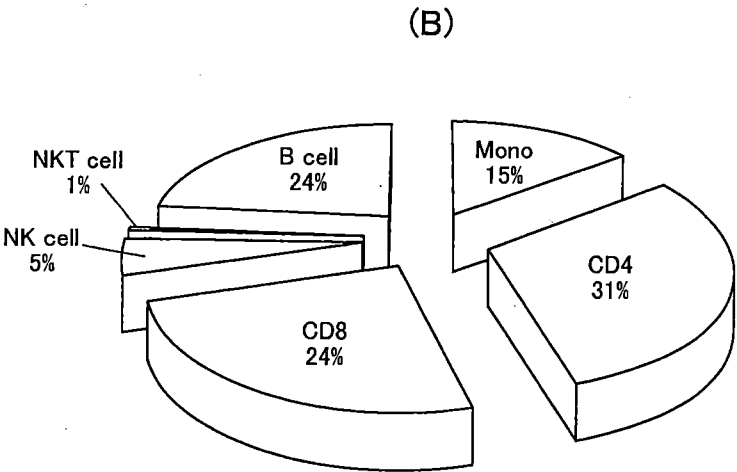
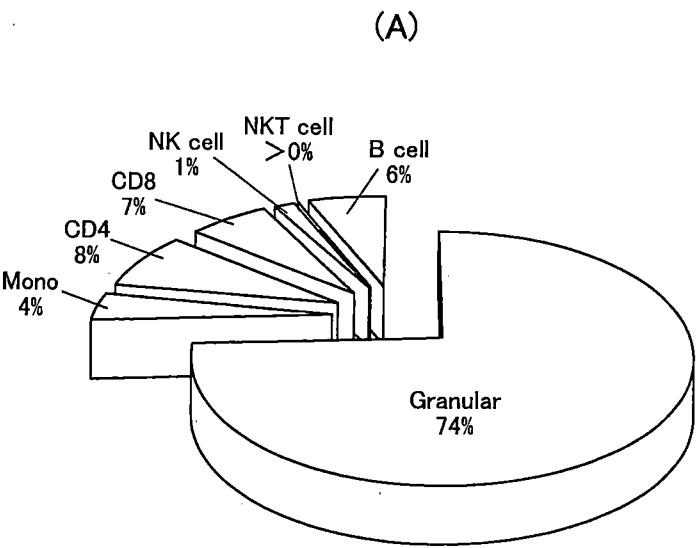
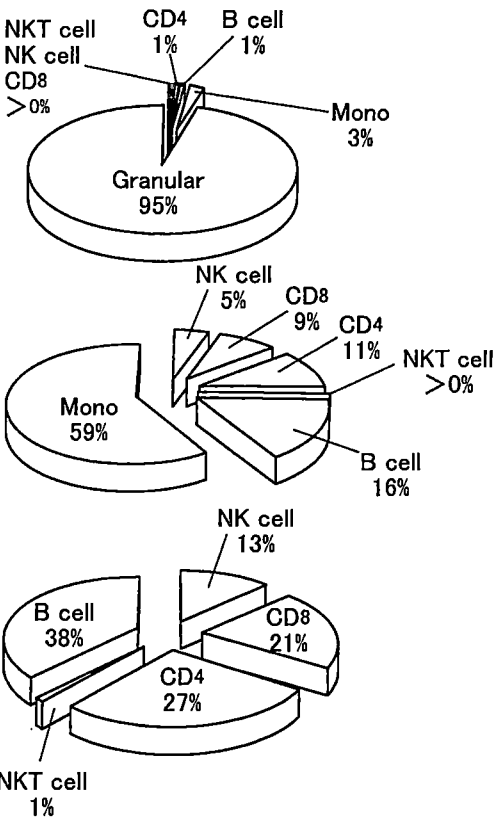


圖 4A

抗癌劑的免疫抑制病例

末期食道癌 56歲 男性
抗癌劑治療中死亡病例
(死亡2天前之臨床數據)



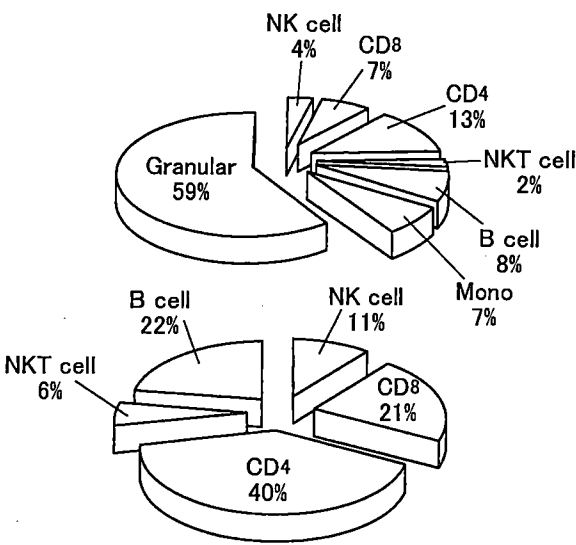
免疫中樞CD4淋巴球
個數的極端異常減少

- 顆粒球：單核球：淋巴球
= 95 ↑ : 3 : 2 ↓ %
- CD4 = 46 個 / μ l < 100 / μ l
(強的免疫危機)

圖 4B

抗癌劑的免疫抑制病例

健康人 94歲 女性



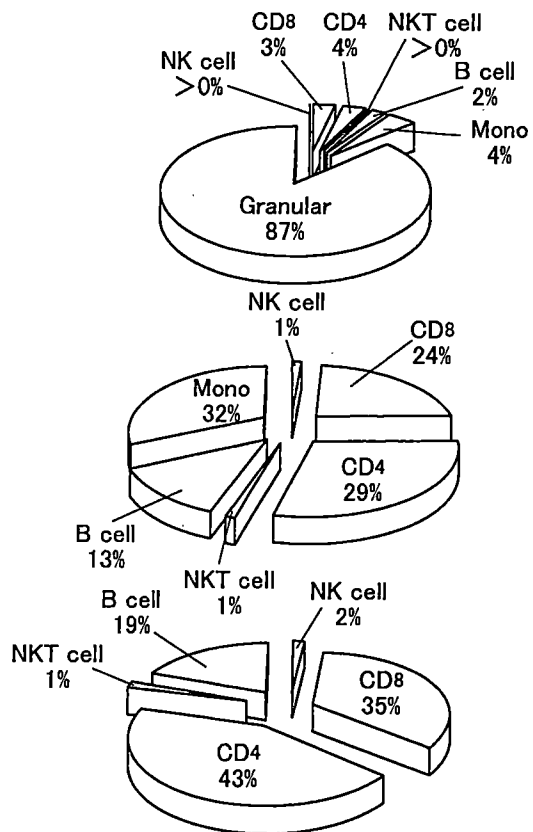
顆粒球：單核球：淋巴球＝59:7:34%

- 正常人(理想比)
- 顆粒球：單核球：淋巴球
= 60 : 5 : 35%
- 免疫中樞淋巴球=輔助T細胞
CD4=741個/μl<600個/μl
(顯示免疫正常的高個數)

圖 4C

抗癌劑的免疫抑制病例

大腸癌 79歲 女性
(接受抗癌劑療法至1年前為止)



即使在1年前中斷抗癌劑，
免疫低下的狀態仍然持續，
顯示幾乎半永久的免疫抑制

- 顆粒球：單核球：淋巴球
= 87 ↑ : 4 : 9 ↓ %
- CD4 = 240 個 / μ l < 400 / μ l
(免疫低下)

圖 5

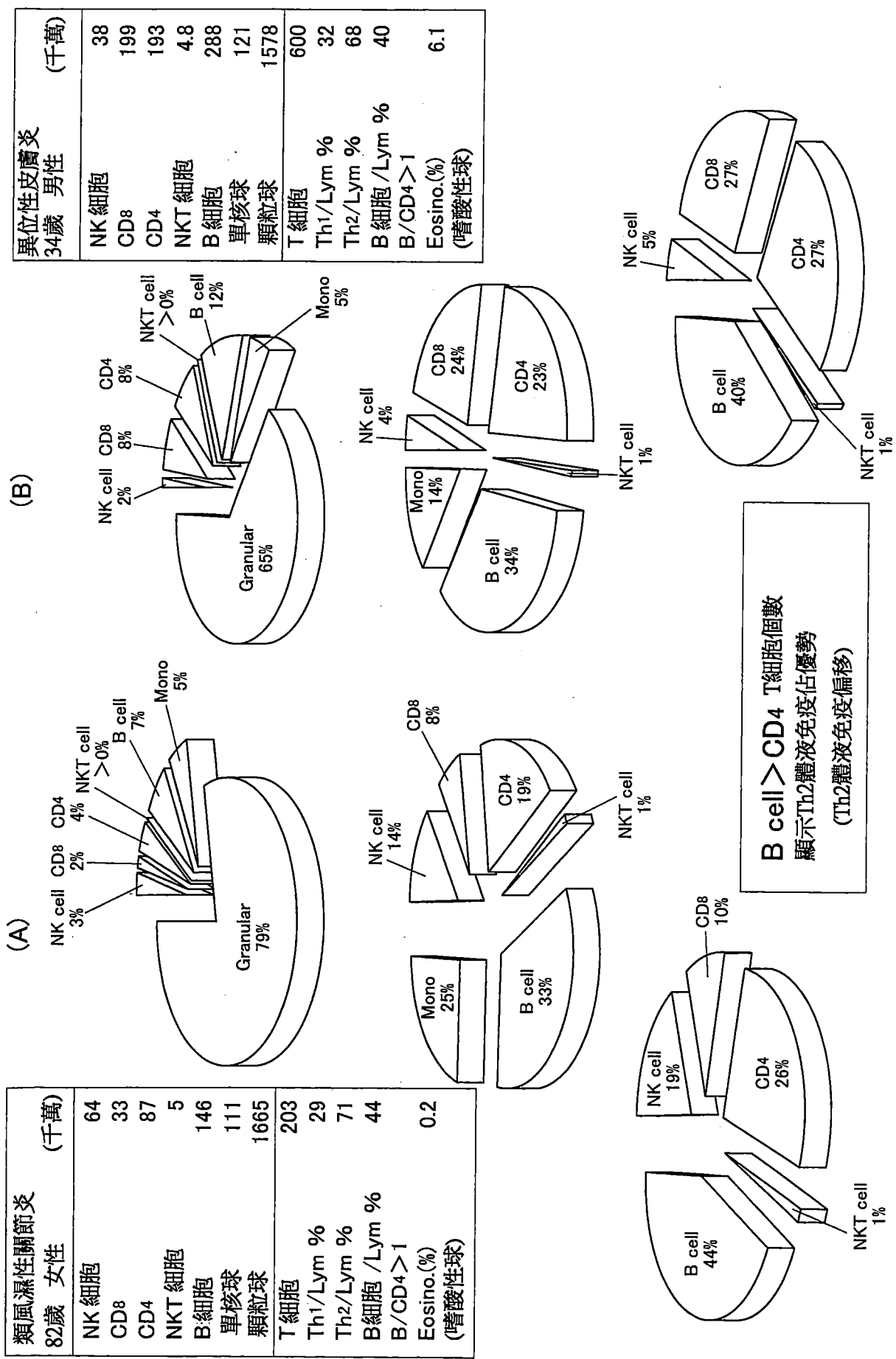


圖 6

