

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2018-525703

(P2018-525703A)

(43) 公表日 平成30年9月6日(2018.9.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>G 0 6 F 19/20 (2011.01)</b>	G O 6 F 19/20	2 G O 4 5
<b>G O 1 N 33/48 (2006.01)</b>	G O 1 N 33/48	4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/6851 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6851	Z
C 1 2 Q 1/683 (2018.01)	C 1 2 Q 1/683	Z
C 1 2 Q 1/6837 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6837	Z
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 84 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-561708 (P2017-561708)	(71) 出願人	515330672
(86) (22) 出願日	平成28年5月20日 (2016.5.20)		イミューンエクスプレス・プロプライエタリー・リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成30年1月29日 (2018.1.29)		ImmuneXpress Pty Ltd
(86) 国際出願番号	PCT/AU2016/050388		オーストラリア4310クイーンズランド州ブーナ、レオナルド・ストリート6番
(87) 国際公開番号	W02016/187655	(74) 代理人	100091982
(87) 国際公開日	平成28年12月1日 (2016.12.1)		弁理士 永井 浩之
(31) 優先権主張番号	2015901982	(74) 代理人	100091487
(32) 優先日	平成27年5月28日 (2015.5.28)		弁理士 中村 行孝
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)	(74) 代理人	100082991
			弁理士 佐藤 泰和
		(74) 代理人	100105153
			弁理士 朝倉 悟
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 バイオマーカー測定 of 妥当性確認

## (57) 【要約】

バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量される、ならびに複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す、バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定すること、各対照値と個々の対照参照を比較すること、および前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定することを含む方法。

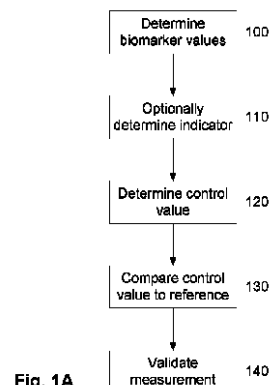


Fig. 1A

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、前記バイオマーカーが、選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、前記方法が、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、ここで、各バイオマーカー値は、生物学的被験体の少なくとも 1 つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも 1 つの対照値を決定すること；

c) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d) 前記比較の結果を用いて前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること

を含む、方法。

## 【請求項 2】

検査結果を示す指標を決定するために少なくとも第 1 および第 2 のバイオマーカー値が使用され、かつ、前記方法が、

a) 第 1 のバイオマーカー値と少なくとも 1 つの他のバイオマーカー値の組合せ；および

b) 第 2 のバイオマーカー値と少なくとも 1 つの他のバイオマーカー値の組合せ

を含む対照値を決定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記方法が、

a) 少なくとも 4 つのバイオマーカー値を決定すること、ここで、その指標は、

i) 第 1 および第 2 のバイオマーカー値を用いて計算される第 1 の指標値と、

i i) 第 3 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 2 の指標値と

の組合せに基づく；ならびに

b) 以下：

i) 第 1 および第 3 のバイオマーカー値を用いて計算される第 1 の対照値；

i i) 第 1 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 2 の対照値；

i i i) 第 2 および第 3 のバイオマーカー値を用いて計算される第 3 の対照値；なら

びに

i v) 第 2 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 4 の対照値

を含む対照値を決定すること

を含む、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記方法が、

a) 第 1 および第 2 のバイオマーカー値を用いて計算される第 5 の対照値；

b) 第 3 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 6 の対照値；ならびに

c) 測定されたバイオマーカーのうち指標値の決定時に使用されなかったものの組合せを用いて計算される対照値

を含む対照値を決定することを含む、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記方法が、個々のバイオマーカー値に関数を適用することにより、指標値および対照値のうち少なくとも 1 つを計算することを含む、請求項 3 または請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記関数が、

a) 2 つのバイオマーカー値の掛け算；

b) 2 つのバイオマーカー値の割り算；

c) 2 つのバイオマーカー値の比；

10

20

30

40

50

- d) 2つのバイオマーカー値の足し算；
- e) 2つのバイオマーカー値の引き算；
- f) 少なくとも2つのバイオマーカー値の加重和；
- g) 少なくとも2つのバイオマーカー値の対数和；および
- h) 少なくとも2つのバイオマーカー値のシグモイド関数

のうち1つを含む、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記方法が、

- a) 第1のバイオマーカー値と第3のバイオマーカー値の比を用いた第1の対照値；
- b) 第1のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いた第2の対照値；
- c) 第2のバイオマーカー値と第3のバイオマーカー値の比を用いた第3の対照値；および

10

d) 第2のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いた第4の対照値  
を決定することを含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記方法が、

- a) 第1のバイオマーカー値と第2のバイオマーカー値の比を用いた第5の対照値；
- b) 第3のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いた第6の対照値；および

20

c) 測定されたバイオマーカーのうち指標値の決定時に使用されなかったものの比を用いて計算される対照値  
を含む対照値を決定することを含む、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記方法が、

- a) 前記比較の結果に基づいて妥当性確率を決定すること；および
- b) 前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定するために前記妥当性確率を用いること

を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記方法が、

- a) 各対照値と個々の対照参照の比較のための対照値確率を決定すること；および
- b) 妥当性確率を決定するために前記対照値確率を組み合わせること

30

を含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記対照参照が、

- a) 対照値閾値範囲；
- b) 対照値閾値；および
- c) 対照値分布

のうち少なくとも1つである、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

40

前記対照参照が、対照値閾値範囲であり、かつ、前記方法が、

- a) 各対照値を個々の対照値閾値範囲と比較すること；および
- b) 前記対照値のいずれか1つが個々の対照値閾値範囲の外側にあれば、前記バイオマーカー値の少なくとも1つを妥当でないと決定すること

を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記対照参照が、対照値分布であり、かつ、前記方法が、

- a) 各対照値を個々の対照値分布と比較すること；および
- b) 前記比較の結果を用いて妥当性を決定すること

を含む、請求項11に記載の方法。

50

## 【請求項 14】

各個の参照が、サンプル集団中の複数の個体から収集されたバイオマーカー値から導出される、請求項 11 に記載の方法。

## 【請求項 15】

各個の参照が、サンプル集団の少なくとも一部に関して決定される、請求項 14 に記載の方法。

## 【請求項 16】

前記サンプル集団が、

- a) 性別の異なる複数の個体；
- b) 人種の異なる複数の個体；
- c) 複数の健常個体；
- d) 少なくとも 1 つの診断された医学的病態に罹患している複数の個体；
- e) 少なくとも 1 つの医学的病態の臨床徴候を示す複数の個体；および
- f) 各群の個体が個々の診断された医学的病態に罹患している第 1 および第 2 の群の個

10

体

を含む、請求項 14 または請求項 15 に記載の方法。

## 【請求項 17】

少なくとも請求項 2 に従属する場合、前記指標が、生物学的被験体が少なくとも 1 つの医学的病態を有する尤度を決定する上で使用するためのものであり、かつ、前記サンプル集団が、

20

- a) 少なくとも 1 つの医学的病態の臨床徴候を呈している個体；
- b) 少なくとも 1 つの医学的病態を有すると診断された個体；および
- c) 健常個体

を含む、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 18】

少なくとも請求項 2 に従属する場合、前記指標が、連結関数を用いて第 1 および第 2 の導出指標値を組み合わせることにより決定され、前記連結関数が、

- a) 加法モデル；
- b) 線形モデル；
- c) サポートベクターマシン；
- d) ニューラルネットワークモデル；
- e) ランダムフォレストモデル；
- f) 回帰モデル；
- g) 遺伝的アルゴリズム；
- h) アニールングアルゴリズム；
- i) 加重和；および
- j) 最近傍モデル

30

のうち少なくとも 1 つである、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 19】

少なくとも請求項 2 に従属する場合、前記方法が、

40

- a) 指標値を決定すること；
- b) 前記指標値を少なくとも 1 つの指標値範囲と比較すること；および
- c) 少なくとも一部に前記比較の結果を用いて前記指標を決定すること

を含む、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 20】

少なくとも請求項 2 に従属する場合、前記指標が、被験体が少なくとも 1 つの医学的病態を有する尤度を示す、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 21】

少なくとも請求項 2 に従属する場合、前記方法が、前記指標の表現を作成することを含む、請求項 1 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

50

## 【請求項 2 2】

前記表現が、

- a) 前記指標値の英数表示；
- b) 前記指標値と 1 以上の閾値の比較のグラフ表示；
- c) 被験体が少なくとも 1 つの医学的病態を有する尤度の英数表示

を含む、請求項 2 1 に記載の方法。

## 【請求項 2 3】

前記バイオマーカー値が、

- a) タンパク質；
- b) 核酸；
- c) 炭水化物；
- d) 脂質；
- e) プロテオグリカン；
- f) 細胞；
- g) 代謝産物；
- h) 組織切片；
- i) 生物体全体；および
- j) 分子複合体

のうち 1 以上から選択される分子、細胞または生物体のレベルまたは存在量を示す、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 4】

前記方法が、少なくとも部分的に 1 以上の電子プロセッシングデバイスを用いて実行される、請求項 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 5】

指標参照が、データベースから検索される、請求項 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 6】

前記方法が、1 以上の電子プロセッシングデバイスにおいて、

- a) バイオマーカー値を受け取ること；
  - b) 前記バイオマーカー値のうち少なくとも 2 つを用いて少なくとも 1 つの対照値を決定すること；
  - c) 前記少なくとも 1 つの対照値を個々の対照値閾値と比較すること；および
  - d) 前記比較の結果を用いて前記検査が妥当な検査であるかどうかを決定すること
- を含む、請求項 1 ~ 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 2 7】

前記方法が、1 以上の電子プロセッシングデバイスにおいて、

- a) 以下のことにより指標を決定すること；
  - i) 第 1 のバイオマーカー値と第 2 のバイオマーカー値の比を用いて第 1 の指標値を計算すること；
  - i i) 第 3 のバイオマーカー値と第 4 第 2 のバイオマーカー値の比を用いて第 2 の指標値を計算すること；および
  - i i i) 第 1 および第 2 の指標値の和を決定すること；
- b) 以下のことにより複数の対照値を決定すること；
  - i) 第 1 のバイオマーカー値と第 3 のバイオマーカー値の比を用いて第 1 の対照値を計算すること；
  - i i) 第 1 のバイオマーカー値と第 4 のバイオマーカー値の比を用いて第 2 の対照値を計算すること；
  - i i i) 第 2 のバイオマーカー値と第 3 のバイオマーカー値の比を用いて第 3 の対照値を計算すること；および
  - i v) 第 2 のバイオマーカー値と第 4 のバイオマーカー値の比を用いて第 4 の対照値

10

20

30

40

50

を計算すること；

c) 各対照値を個々の閾値範囲と比較すること；ならびに

d) 各対照値に関する比較の成功に応じて指標を表示すること

を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記方法が、1 以上の電子プロセッシングデバイスにおいて、

a) 第 1 のバイオマーカー値と第 2 のバイオマーカー値の比を用いて第 5 の対照値を計算すること；

b) 第 3 のバイオマーカー値と第 4 のバイオマーカー値の比を用いて第 6 の対照値を計算すること；および

c) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの組合せを使用することにより、付加的対照値または対照値のセットを計算すること

を含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記バイオマーカーが、遺伝子発現産物であり、かつ、前記方法が、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得すること、ここで、前記サンプルは遺伝子発現産物を含む；

b) 前記サンプル中の少なくとも前記遺伝子発現産物を増幅させること；および

c) 各遺伝子発現産物に関して、個々の遺伝子発現の定義されたレベルを得るために必要な増幅程度を表す増幅量を決定すること

を含む、請求項 1 ~ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記増幅量が、

a) サイクル時間；

b) サイクル数；

c) サイクル閾値；および

d) 増幅時間

のうち少なくとも 1 つである、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記バイオマーカーが、遺伝子発現産物であり、かつ、前記方法が、バイオマーカー値の組合せが個々の遺伝子発現産物の相対濃度の比を表すように、個々の遺伝子発現産物関する増幅量を差し引くことにより、バイオマーカー値の組合せを決定することを含む、請求項 29 または請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記バイオマーカー値が、少なくとも 1 つの医学的病態の臨床徴候を呈する生物学的被験体から取得される、請求項 1 ~ 31 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記少なくとも 1 つの病態が i p S I R S を含み、かつ、前記バイオマーカー値が L A M P 1、C E A C A M 4、P L A C 8 および P L A 2 G 7 の相対濃度に相当する、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記バイオマーカー値が、第 1 および第 2 の病態に共通の臨床徴候を呈する生物学的被験体から取得され、かつ、前記指標が、第 1 の病態と第 2 の病態を識別する上で使用するのためのものである、請求項 32 または請求項 33 に記載の方法。

【請求項 35】

第 1 および第 2 の病態が i n S I R S および i p S I R S を含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記定量技術が、

a) 核酸増幅技術；

10

20

30

40

50

- b) ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) ;
- c) ハイブリダイゼーション技術 ;
- d) マイクロアレイ分析 ;
- e) 低密度アレイ ;
- f) 対立遺伝子特異的プローブとのハイブリダイゼーション ;
- g) 酵素の突然変異検出 ;
- h) ライゲーション連鎖反応 (LCR) ;
- i) オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ (OLA) ;
- j) フローサイトメトリーヘテロ二重鎖分析 ;
- k) ミスマッチの化学的切断 ;
- l) 質量分析 ;
- m) フローサイトメトリー ;
- n) 液体クロマトグラフィー ;
- o) ガスクロマトグラフィー ;
- p) 免疫組織化学 ;
- q) 核酸シーケンシング ;
- r) 一本鎖高次構造多形 (SSCP) ;
- s) 変性勾配ゲル電気泳動 (DGGE) ;
- t) 温度勾配ゲル電気泳動 (TGGE) ;
- u) 制限断片多形 ;
- v) 包括的遺伝子発現解析 (SAGE) ;
- w) 親和性アッセイ ;
- x) ラジオイムノアッセイ (RIA) ;
- y) ラテラルフローイムノクロマトグラフィー ;
- z) フローサイトメトリー ;
- aa) 電子顕微鏡 (EM) ; および、
- bb) 酵素基質アッセイ

10

20

のうち少なくとも1つである、請求項1～35のいずれか一項に記載の方法。

【請求項37】

指標作成時に使用されたバイオマーカー値の測定の妥当性を確認するための装置であって、前記バイオマーカーが、選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、前記装置が、

30

a) 複数のバイオマーカー値を決定するプロセッシングデバイス、ここで、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中の前記バイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す ;

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定するプロセッシングデバイス ;

c) 各対照値を個々の対照参照と比較するプロセッシングデバイス ; かつ

d) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定するプロセッシングデバイス

40

のうちの少なくとも1つのプロセッシングデバイスを含む、装置。

【請求項38】

請求項1～36のいずれか一項に記載の方法を実施する際に使用される、請求項37に記載の装置。

【請求項39】

生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための方法であって、前記バイオマーカーが、選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、前記方法が、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、ここで、各バイオマーカー値は、前記生

50

物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示す；

b) 以下のことにより生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

i) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて第1の指標値を計算すること；

i i) 第3および第4第2のバイオマーカー値を用いて第2の指標値を計算すること；および

i i i) 第1および第2の指標値を用いて指標値を決定すること；

c) 以下の少なくとも1つを計算すること；

i) 第1および第3のバイオマーカー値を用いた第1の対照値；

i i) 第1および第4のバイオマーカー値を用いた第2の対照値；

i i i) 第2および第3のバイオマーカー値を用いた第3の対照値；

i v) 第2および第4のバイオマーカー値を用いた第4の対照値；

v) 第1および第4第2値を用いた第5の対照値；

v i) 第3および第4のバイオマーカー値を用いた第6の対照値；および

v i i) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセット；

d) 前記少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較すること；ならびに

e) 前記比較の結果を用いて選択的に前記指標の妥当性を確認すること

を含む、方法。

【請求項40】

遺伝子発現産物の測定値を示す指標の妥当性を確認するための装置であって、前記バイオマーカーが、選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、前記装置が、

a) 複数のバイオマーカー値を決定するプロセッシングデバイス、ここで、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定または導出された値を示す；

b) 以下により指標を決定するプロセッシングデバイス；

i) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて第1の指標値を計算すること；

i i) 第3および第4第2のバイオマーカー値を用いて第2の指標値を計算すること；および

i i i) 第1および第2の指標値を用いて指標を決定すること；

c) 以下のうち少なくとも1つを計算するプロセッシングデバイス；

i) 第1および第3のバイオマーカー値を用いた第1の対照値；

i i) 第1および第4のバイオマーカー値を用いた第2の対照値；

i i i) 第2および第3のバイオマーカー値を用いた第3の対照値；

i v) 第2および第4のバイオマーカー値を用いた第4の対照値；

v) 第1および第2のバイオマーカー値を用いた第5の対照値；

v i) 第3および第4のバイオマーカー値を用いた第6の対照値；および

v i i) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセット；

d) 前記少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較するプロセッシングデバイス；ならびに

e) 前記比較の結果を用いて選択的に前記指標の妥当性を確認するプロセッシングデバイス

のうちの少なくとも1つのプロセッシングデバイスを含む、装置。

【請求項41】

生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための方法であって、前記バイオマーカーが、選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、前記方法が、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得すること、ここで、前記サンプルは遺伝子発現



産物を含む；

b) 前記サンプル中の遺伝子発現産物の濃度を決定するために、前記サンプル中の少なくとも一部の遺伝子発現産物を定量すること；

c) 以下を組み合わせることにより、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

i) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の指標値；および

i i) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の指標値；

d) 以下のうち少なくとも1つを決定することにより対照値を決定すること；

i) 第1の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の対照値；

i i) 第1の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の対照値；

i i i) 第2の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第3の対照値

；

i v) 第2の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第4の対照値；

v) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第5の対照値；

v i) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第6の対照値；

v i i) 指標値の決定時に使用されなかった遺伝子発現産物の組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセット；

e) 各対照値を個々の対照値閾値範囲と比較すること；ならびに

f) 前記対照値のそれぞれが個々の対照値範囲内にあるかどうか前記指標の妥当性を確認すること

を含む、方法。

【請求項42】

前記方法が、

以下のことにより遺伝子発現産物の濃度を定量すること；

a) 前記サンプル中の少なくとも一部の遺伝子発現産物を増幅させること；および

b) 複数の遺伝子発現産物のそれぞれに関して、前記個々の遺伝子発現産物の定義されたレベルを得るために必要な増幅程度を表す増幅量を決定すること

を含む、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

前記方法が、

a) 以下のことにより指標を決定すること；

i) 第1および第2の遺伝子発現産物の濃度を示す第1および第2の増幅時間を用いて計算される第1の指標値を決定すること；および

i i) 第3および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第3および第4の増幅時間を用いて計算される第2の指標値；ならびに

b) 以下のうち少なくとも1つを決定することにより対照値を決定すること；

i) 第1および第3の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第1および第3の増幅時間を用いて計算される第1の対照値；

i i) 第1および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第1および第4の増幅時間を用いて計算される第2の対照値；

i i i) 第2および第3の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第2および第3の増幅時間を用いて計算される第3の対照値；

i v) 第2および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第2および第4の増幅時間を用いて計算される第4の対照値；

v) 第1および第2の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第1および第2の増幅時間を用いて計算される第5の対照値；

v i) 第3および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第3および第4の増幅時間を用いて計算される第6の対照値；および

v i i) 指標値の決定時に使用されなかった増幅時間の組合せを使用することによる

10

20

30

40

50

付加的対照値または対照値のセット

を含む、請求項 4 1 または請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

生物学的被験体が少なくとも 1 つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための装置であって、前記装置が、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得するサンプリングデバイス、ここで、前記サンプルは遺伝子発現産物を含む；

b) 前記サンプル中の遺伝子発現産物の濃度を決定するために、前記サンプル中の少なくとも一部の遺伝子発現産物を定量する定量デバイス；および

c) 以下のことを行う少なくとも 1 つのプロセッシングデバイス；

i) 以下を組み合わせることにより、生物学的被験体が少なくとも 1 つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

(1) 第 1 の遺伝子発現産物と第 2 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 1 の指標値；および

(2) 第 3 の遺伝子発現産物と第 4 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 2 の指標値；

ii) 以下のうち少なくとも 1 つを決定することにより対照値を決定すること；

(1) 第 1 の遺伝子発現産物と第 3 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 1 の対照値；

(2) 第 1 の遺伝子発現産物と第 4 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 2 の対照値；

(3) 第 2 の遺伝子発現産物と第 3 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 3 の対照値；

(4) 第 2 の遺伝子発現産物と第 4 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 4 の対照値；

(5) 第 1 の遺伝子発現産物と第 2 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 5 の対照値；

(6) 第 3 の遺伝子発現産物と第 4 の遺伝子発現産物の濃度比を示す第 6 の対照値；および

(7) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの濃度比を示す付加的対照値または対照値のセット；

(iii) 各対照値を個々の対照値閾値範囲と比較すること；および

(iv) 前記対照値のそれぞれが個々の対照値範囲内にあるかどうか前記指標の妥当性を確認すること

を含む、装置。

【請求項 4 5】

バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、前記方法が、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、ここで、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも 1 つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも 1 つの対照値を決定すること；

c) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること、ここで、前記バイオマーカー値は、

i) タンパク質；

ii) 核酸；

iii) 炭水化物；

iv) 脂質；

10

20

30

40

50

- v) プロテオグリカン；
- vi) 細胞；および
- vii) 病原生物

の1以上から選択される分子、細胞または生物体のレベルまたは存在量を示すを含む、方法。

【請求項46】

バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、前記方法が、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、ここで、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定すること；

c) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること、ここで、前記バイオマーカー値は、

- i) タンパク質；
- ii) 核酸；
- iii) 炭水化物；
- iv) 脂質；
- v) プロテオグリカン；
- vi) 細胞；
- vii) 代謝産物；
- viii) 組織切片；
- ix) 生物体全体；および
- x) 分子複合体

の1以上から選択される分子、細胞または生物体のレベルまたは存在量を示すを含む、方法。

【請求項47】

バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、前記方法が、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、ここで、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定すること；

c) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること、ここで、前記バイオマーカーは、

- i) 核酸増幅技術；
- ii) ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)；
- iii) ハイブリダイゼーション技術；
- iv) マイクロアレイ分析；
- v) 低密度アレイ；
- vi) 対立遺伝子特異的プローブとのハイブリダイゼーション；
- vii) 酵素的突然変異検出；
- viii) ライゲーション連鎖反応 (LCR)；
- ix) オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ (OLA)；
- x) フローサイトメトリーヘテロ二重鎖分析；
- xi) ミスマッチの化学的切断；

x i i ) 質量分析 ;  
 x i i i ) フローサイトメトリー ;  
 x i v ) 液体クロマトグラフィー ;  
 x v ) ガスクロマトグラフィー ;  
 x v i ) 免疫組織化学 ;  
 x v i i ) 核酸シーケンシング ;  
 x v i i i ) 一本鎖高次構造多形 ( S S C P ) ;  
 x i x ) 変性勾配ゲル電気泳動 ( D G G E ) ;  
 x x ) 温度勾配ゲル電気泳動 ( T G G E ) ;  
 x x i ) 制限断片多形 ;  
 x x i i ) 包括的遺伝子発現解析 ( S A G E ) ;  
 x x i i i ) 親和性アッセイ ;  
 x x i v ) ラジオイムノアッセイ ( R I A ) ;  
 x x v ) ラテラルフローイムノクロマトグラフィー ;  
 x x v i ) フローサイトメトリー ;  
 x x v i i ) 電子顕微鏡 ( E M ) ; および、  
 x x v i i i ) 酵素基質アッセイ

10

のうち少なくとも1つを用いて定量される、  
 を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

本発明は、指標作成時に使用されたバイオマーカー値の測定の妥当性を確認するための方法および装置、ならびに一例として、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための方法および装置に関する。

【背景技術】

【0002】

本明細書中の、いずれの先行文献（またはそれから導き出される情報）、またはいずれの既知の事項に対する参照も、先行文献（またはそれから導き出される情報）もしくは既知の事項が、本明細書が関連する努力傾注分野における共通の一般知識の一部を成すことの承認または容認または何らかの形の示唆とは見なされず、または見なされるべきでない。

30

【0003】

生きている生物体から採取されたサンプルにおける遺伝子発現（RNAまたはタンパク質として）の測定は、限定されるものではないが、病状の決定、疾患の程度または重篤度の決定、疾患の予後および早期同定、組織種（正常組織および癌を含む罹患組織の両方）の同定、細胞混合物における細胞種の同定および計数、ならびに正常な代謝プロセスおよび外的な因子または影響（損傷、創傷、火傷、ストレス、ウイルスまたは細菌または寄生虫または真菌感染、運動、食事、治療薬、毒素、療法、処置および試験手順を含む）に対するそれらの応答の理解を含む実用上の適用を持つ。遺伝子発現（RNAまたはタンパク質として）を測定するためには、ロースルーブット（単一の遺伝子および遺伝子産物）からハイスルーブット（エキソームおよびアレイ）まで、ノーザンブロット、ポリメラーゼ連鎖反応（qPCR）、マイクロアレイ、RNAシーケンシング（RNA-seq）、標的RNAシーケンシング、ELISA、EIA、質量分析、HPLC、SNP分析、およびエピジェネティック技術（ChIP-seq、クロマチンコンフォメーションシグネチャー（CCA）、DNAメチル化分析）を含む、当技術分野で周知の利用可能ないくつかの方法がある。

40

【0004】

これらの技術手順のそれぞれでは、測定された産物のそれぞれに関する値、または値の

50

セットが得られる。医学的発見およびその適用に関しては、これらの値は「バイオマーカー」と呼ばれる。いずれの遺伝子発現産物（RNAまたはタンパク質として）に関して測定された値も、処理機器またはデバイスにより測定された場合、測定バイオマーカーと定義される。測定バイオマーカーの例としては、特定のタンパク質に関するタンパク質濃度、RNAシーケンシングの場合の単一の転写産物に関する転写産物総数、マイクロアレイの場合のエキソンまたは転写産物に関する発現値、質量分析の場合の $m/z$ 値、またはフローサイトメトリーの場合の蛍光値が挙げられる。測定バイオマーカーは、機器により測定される場合、「生データ」と理解することができる。マルチバイオマーカーアッセイは、いくつかのバイオマーカーを並行して測定し、測定バイオマーカーの集合を報告する。

#### 【0005】

指標値は、いくつかの病態、病期、診断または予後またはそれらの不在を相関させる、分類する、またはそうでなければ示すように設計された値である。例えば、で報告される温度は、熱の指標値である。いずれかの目的で任意の複合指標を構成してもよく、マルチバイオマーカー医療デバイスの場合には、指標は、方程式によってある患者に関していくつかの病期もしくは病態（またはそれらの不在）を相関させる指標値を生成するバイオマーカーのいくつかの組合せである。

#### 【0006】

指標値の設定および使用は、遺伝子発現（RNAまたはタンパク質として）測定値の正確かつ妥当な測定を必要とし、2つの重要な工程：正規化と対照の使用によって達成することができる。対照は基礎値が妥当であるという確認を提供し、正規化は、サンプル間の非生物学的原因の変動を除くことによりサンプルが比較可能とされ得る任意の方法である。

#### 【0007】

対照は、関連のある不適格の潜在的様式が確実に検出され得るように使用される。不適格が対照で検出されれば、そのアッセイまたは試験は不適格と見なされ、結果として指標値（あれば）も妥当ではなくなる。医療デバイスに関して、対照は、指標に対して基礎にある入力がある場合、その検査結果（指標値）が報告されないようにし、従って、オペレーターが誤った結論を引き出す可能性を回避する。使用可能な対照には以下のものが含まれる（どれが使用されるかは、一部には、ユーザー、適用およびそのアッセイの開発段階によって異なる）：

- ・非鋳型対照（夾雑の程度を決定するために他の反応と並行して行う - PCRの場合）
- ・核酸増幅に依拠する（例えば、ポリメラーゼ不含有 - これにより例えば、FRET原理に依拠する標識プローブの完全性を確認する - PCRの場合）アッセイのための非増幅対照
- ・陽性対照（アッセイ使用中に、その検査が報告可能な範囲に結果を出し得ることを確認するために使用されるサンプル）。これはこの対照に関して報告される値は所与の閾値より上（例えば、ある疾患に関する陽性）を意味するのではなく、単に、その対照がその検査の報告可能な範囲に値を明確に生成できることを意味する。陽性対照は生物学的起源または合成物（またはその両者のハイブリッド、例えば、組換え産物）であり得、陽性対照は内的（検査されるサンプル内に由来する）または外部（検査されるサンプルと並行して、非依存的に実施される）であり得る。陽性対照は、陽性または陰性の生物学的または合成対照を含み得る。

- ・逆転写酵素不含有の対照（特にプライマーがエキソン/イントロン境界をわたって設計されない場合に、夾雑DNAの程度を決定するため - PCRの場合）

- ・スパイクイン対照は、検査されるサンプルのいずれかに添加される（いずれの段階でもよい）人工核酸を含み、PCR阻害の程度を決定するために、また、アレイおよびRNA-seqにおいて（定量、感度、被覆率および直線性のため）質的対照として使用される。

#### 【0008】

これらの測定対照のうち、おそらく最も一般的なものは、既知濃度の所与のアナライトおよびスパイクインを含有する外部陽性対照である。このような対照の使用は、試薬およ

10

20

30

40

50

び対照自体を購入しなければならないことを通して、また、そうでなければ標的に使用できた試験上の「不動産」の使用を通して、また、指標値を生成するのに必要とされる標的に加えてこれらの対照標的を持つことに内在する付加的な資源および複雑性において、試験またはアッセイの実施の費用および複雑性に寄与する。従って、指標値の決定の過程で測定されない付加的な測定対照を減らすことは有利である。

#### 【0009】

正規化は、サンプル間、または参照とサンプル間の比較を確実に行えるようにする重要な工程である。正規化工程の目的は、バッチ効果、および濃度、時間、温度、機器、オペレーターまたはアッセイパラメーター（不明のものまたはアッセイユーザーの制御外のものを含む）により導入されるもの、例えば、下記のような典型的なワークフローにおいて導入されるものを含む技術的なばらつきの他の原因など、生物学的ばらつきに帰することができない差異を除くことである。

#### 【0010】

例としてマイクロアレイまたはPCRまたはRNA-seqを用いた遺伝子発現の測定は通常、方法によって以下の工程の一部または全部を含む（バイオマーカーを測定するほとんどの試験で類似のタイプの対照が必要とされる）：

- ・検定力計算および使用される反復の数を含む試験計画
- ・対象とするサンプルからのRNAまたはmRNAの単離
- ・RNAの質および量の決定
- ・フラグメンテーションおよびサイズ選択（RNA-seqの場合）
- ・RNAの相補的DNA（cDNA）への変換
- ・cDNAのcRNAへの変換（特定のマイクロアレイの場合）
- ・フラグメンテーションおよび標識（アレイの場合、またはPCR用の標識プローブの使用）
- ・検出
- ・データキャプチャー
- ・データの質の決定
- ・データの正規化
- ・偽判定の制御。

#### 【0011】

制御される（正規化される）必要のある試験法変数のいくつかを、適当な工程下、Roche Applied Science Technical Note No. LC15/2002から採用した下記表1に詳細に示す。

#### 【0012】

【表1】

サンプル		DNA / RNA		cDNA	産物
サンプル調製	核酸単離	逆転写	増幅	検出	
<ul style="list-style-type: none"><li>● 調製法</li><li>● 核酸の安定性</li><li>● 保存</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>● 単離法</li><li>● 純度</li><li>● 単離のばらつき</li><li>● 保存</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>● 効率</li><li>● 酵素のばらつき</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>● 効率</li><li>● 酵素のばらつき</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>● 使用する方法</li><li>● アッセイの直線性</li></ul>	

## 【 0 0 1 3 】

データセットが比較可能なように、また、公開データが高質のものであるように、遺伝子発現分析試験のための最小限の情報ガイドラインがPCRおよびマイクロアレイの両方に関して科学雑誌に公開されており(Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, et al. (2009) The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry* 55: 611-622) (Brazma A, Hingamp P, Quackenbush J, Sherlock G, Spellman P, et al. (2001) Minimum information about a microarray experiment (MIAME)-toward standards for microarray data. *Nat Genet* 29: 365-371)、また、RNA-seqに関して公開されている(MINSEQE - [www.mged.org/minseqe/](http://www.mged.org/minseqe/))。

10

## 【 0 0 1 4 】

測定されたバイオマーカーを用いてこれらの効果を説明するためには、データの正規化が一般的である。例えば、既知濃度の外部陽性対照をサンプルと並行して実施することができる。次に、サンプル中の測定バイオマーカー値の値を、参照とともに測定外部陽性対照に対して推測(正規化)することができる。これが、正規化に使用される標準的な検量線の背後にある概念である。測定バイオマーカーを用いた別の一般的な正規化法では内部陽性対照を使用し;例えば、RNAシーケンシング試験では、ある特定の遺伝子(または遺伝子群)は一定の生物学的発現レベルを有すると想定され得る(これらはノーマライザーバイオマーカーである)。そして、ノーマライザーバイオマーカーに関する測定値におけるサンプル間の違いは非生物学的であると想定される。次に、各サンプルに関する測定値は、各サンプル中のノーマライザーバイオマーカーが同じ値を有するように上下調節され、そして、このデータは正規化されると言われる。その後、各バイオマーカーの正規化された値は、例えば、各サンプルに関する測定値が各サンプルに関する正規化値が同じ分布に適合するように調整される医学的病態の診断のためにサンプル間で直接比較することができる。この概念の延長も知られており、例えば、ロバストマイクロアレイ分析(Irizarry, RA; Hobbs, B; Collin, F; Beazer-Barclay, YD; Antonellis, KJ; Scherf, U; Speed, TP (2003) "Exploration, normalisation, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data.". *Biostatistics* 4 (2): 249-64)がある。

20

## 【 0 0 1 5 】

実施では、マイクロアレイおよびRNA-seqおよびその他のプラットフォームが、早期「発見」またはエキソームまたはゲノムもしくはその調節機構を包含する測定バイオマーカーセットを生成するための研究段階の試験で 사용되는場合が多い。このような発見試験において生成された測定バイオマーカーセットは、6,000を超える遺伝子もしくは転写産物、またはタンデム質量分析発見データセットの場合には最大1,000,000ピークであり得る。一般に、各データセットには患者サンプルよりも多くの測定バイオマーカーが存在する。バイオマーカー発見の当業者に認識されているように、これは偽発見の問題の直接つながる。偽発見は、検討下の病態に対して真正な生物学的相関が無い測定バイオマーカーが前記病態への相関を偶然に生じる場合である。これらの偽発見は、より多くの患者サンプルが検定されるまで、真の発見から区別できる。

30

## 【 0 0 1 6 】

ひと度、特定のバイオマーカーが「発見される」か、または所望の試験エンドポイントと有意に相関することが示されれば、バイオマーカーの最小セットは、適当な対照の最小セットとともに、qPCRまたはポイント・オブ・ケアRNA-シーケンシングプラットフォームなどの適当な臨床デバイスに移行される場合が多い。

40

## 【 0 0 1 7 】

qPCRは、現在のところ、特に臨床環境で使用される場合には、マイクロアレイおよびRNA-seq(標的RNA-seqを含む)を超える、多大な商業上魅力のある利点を有する。このような利点には、速いターンアラウンドタイム、アッセイをセットアップするための技術的実践時間の限定、アッセイを実行するために必要な技能レベルの限定、PCR機の接近可能性および入手可能性、省スペースのPCR機、結果の解釈の容易さ、

50

情報技術インフラ（ソフトウェア、アルゴリズム、ハードウェア、ネットワーク）をサポートするための要件の限定、ライセンス料の限定、試薬の入手可能性およびコストが上げられる。このような因子は、販売される商品のコストの低減およびアッセイの市場受け入れのより高い可能性につながる。

#### 【 0 0 1 8 】

関連のバイオマーカーの q P C R への移行の成功は、現在のところ、以下を含むいくつかの因子によって限定されている：

- ・多重化能の限定
- ・リポーター色素の限定（重複しない放出スペクトルまたは良好なスペクトル分解能を有する）
- ・陽性対照およびスパイクインの必要
- ・パッシブリファレンス色素を実施する必要
- ・スパイクイン対照のコスト
- ・対照、特に外部対照のコストおよび付加される複雑性
- ・サンプル調製の制限。

#### 【 0 0 1 9 】

最大 3 つの色素（パッシブリファレンス、内部、スパイクイン）が対照として使用されるので、このような因子は一般に多重 q P C R を 2 から最大で 4 つの標的に限定する。

#### 【 0 0 2 0 】

よって、コストおよび実施上の理由のために、遺伝子発現分析、特に、医療デバイスにおいて使用するために適合されたものにおける良好な対照戦略の必要がある。

#### 【 0 0 2 1 】

遺伝子発現分析での対照の設計および使用における従来技術の実施は限定され、一般に、スパイクイン（人工配列および天然配列）および内部測定対照の使用のテーマのバリエーションに基づく。例えば、Vandesompele et al., (2002) (Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, et al. (2002) Accurate normalisation of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol* 3: RESEARCH0034) は、1 つだけの内部対照遺伝子ではなく複数の内部対照遺伝子（測定バイオマーカーの集合体）の使用、および組織特異的内部対照遺伝子の使用のために、異なる組織で安定に発現される遺伝子を同定する方法を記載している。この著者らは、組織が異なれば異なる内部対照遺伝子の使用が必要とされ得ること、および 2 つ以上の内部対照遺伝子を使用すれば正規化に関してより一貫した結果が得られることを示唆している。この刊行物の以前には、正規化には単一の遺伝子で十分であること、および遺伝子 G A P D H、 $\beta$ -2 ミクログロブリンまたは 1 8 S リボゾームは全組織および全病態にわたって安定に発現されることが一般に認知されており、このことは、それ以来、特に、敗血症における末梢血遺伝子発現などの遺伝子発現に対して大きな影響を持つ病態においては適正でないことが分かった。

#### 【 0 0 2 2 】

Fardin et al., (2007) (Fardin P, Moretti S, Biasotti B, Ricciardi A, Bonassi S, et al. (2007) Normalisation of low-density microarray using external spike-in controls: analysis of macrophage cell lines expression profile. *BMC Genomics* 8: 17. doi:10.1186/1471-2164-8-17) は、特にアップレギュレートおよびダウンレギュレートされた遺伝子の分布が非対称である場合の低密度アレイ q P C R データに、より一貫性のある正規化を提供する方法としての人工スパイクイン R N A の使用を記載している。同様に、Jiang et al., (2011) (Jiang L, Schlesinger F, Davis CA, Zhang Y, Li R, et al. (2011) Synthetic spike-in standards for RNA-seq experiments. *Genome Res* 21: 1543-1551. doi:10.1101/gr.121095.111) は、R N A - s e q 試験における使用のための合成 R N A スパイクイン対照を記載している。

#### 【 0 0 2 3 】

種々の公開特許が、特に血液用の内部対照遺伝子（測定バイオマーカー）（ E P 2 3 9

10

20

30

40

50



2 6 6 8 A 2、U S 2 0 1 0 0 1 8 4 6 0 8) またはいずれの組織種にも使用するための人工ユニバーサルスパイクイン(外部)対照(U S 2 0 0 3 0 1 4 8 3 3 9)の使用を記載している。

【0024】

「診断および予後検査(Diagnostic and Prognostic Tests)」という名称の特許(U S 7 6 2 2 2 6 0)では、当該発明者らは、生物学的状態または病態、特に、癌を診断するため、および他の肺癌からまたは正常な肺組織から悪性胸腔中皮腫を識別するために、および悪性胸腔中皮腫のサブクラス間を識別するために遺伝子発現の比を使用するアプローチを記載している。

【発明の概要】

10

【0025】

1つの広い形態で、本発明は、バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定すること；

20

c) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d) 前記比較の結果を用いて前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定することを含む方法を提供しようとするものである。

【0026】

一般に、少なくとも第1および第2のバイオマーカー値は、検査結果を示す指標を決定するために使用され、前記方法は、

a) 第1のバイオマーカー値と少なくとも1つの他のバイオマーカー値の組合せ；および

b) 第2のバイオマーカー値と少なくとも1つの他のバイオマーカー値の組合せを含む対照値を決定することを含む。

30

【0027】

一般に、前記方法は、

a) 少なくとも4つのバイオマーカー値を決定すること、その指標は、

i) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて計算される第1の指標値と、

i i) 第3および第4のバイオマーカー値を用いて計算される第2の指標値と

の組合せに基づく；ならびに

b) 以下：

i) 第1および第3のバイオマーカー値を用いて計算される第1の対照値；

i i) 第1および第4のバイオマーカー値を用いて計算される第2の対照値；

i i i) 第2および第3のバイオマーカー値を用いて計算される第3の対照値；なら

40

びに

i v) 第2および第4のバイオマーカー値を用いて計算される第4の対照値

を含む対照値を決定すること

を含む。

【0028】

一般に、前記方法は、

a) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて計算される第5の対照値；

b) 第3および第4のバイオマーカー値を用いて計算される第6の対照値；ならびに

c) 測定されたバイオマーカーのうち指標値の決定時に使用されなかったものの組合せを用いて計算される対照値

50

を含む対照値を決定することを含む。

【0029】

一般に、前記方法は、個々のバイオマーカ値に関数を適用することにより、指標値および対照値のうち少なくとも1つを計算することを含む。

【0030】

一般に、前記関数は、

- a) 2つのバイオマーカ値の掛け算；
- b) 2つのバイオマーカ値の割り算；
- c) 2つのバイオマーカ値の比；
- d) 2つのバイオマーカ値の足し算；
- e) 2つのバイオマーカ値の引き算；
- f) 少なくとも2つのバイオマーカ値の加重和；
- g) 少なくとも2つのバイオマーカ値の対数和；および
- h) 少なくとも2つのバイオマーカ値のシグモイド関数

のうち1つを含む。

10

【0031】

一般に、前記方法は、

- a) 第1のバイオマーカ値と第3のバイオマーカ値の比を用いた第1の対照値；
- b) 第1のバイオマーカ値と第4のバイオマーカ値の比を用いた第2の対照値；
- c) 第2のバイオマーカ値と第3のバイオマーカ値の比を用いた第3の対照値；お

よび

d) 第2のバイオマーカ値と第4のバイオマーカ値の比を用いた第4の対照値を決定することを含む。

20

【0032】

一般に、前記方法は、

- a) 第1のバイオマーカ値と第2のバイオマーカ値の比を用いた第5の対照値；
- b) 第3のバイオマーカ値と第4のバイオマーカ値の比を用いた第6の対照値；お

よび

c) 測定されたバイオマーカのうち指標値の決定時に使用されなかったものの比を用いて計算される対照値

30

を含む対照値を決定することを含む。

【0033】

一般に、前記方法は、

- a) 前記比較の結果に基づいて妥当性確率を決定すること；および
- b) 前記バイオマーカ値が妥当であるかどうかを決定するために前記妥当性確率を用

いること

を含む。

【0034】

一般に、前記方法は、

- a) 各対照値と個々の対照参照の比較のための対照値確率を決定すること；および
- b) 妥当性確率を決定するために前記対照値確率を組み合わせること

を含む。

40

【0035】

一般に、前記対照参照は、

- a) 対照値閾値範囲；
- b) 対照値閾値；および
- c) 対照値分布

のうち少なくとも1つである。

【0036】

一般に、前記対照参照は、対照値閾値範囲であり、かつ、前記方法は、

50

a) 各対照値を個々の対照値閾値範囲と比較すること；および  
 b) 前記対照値のいずれか1つが個々の対照値閾値範囲の外側にあれば、前記バイオマーカー値の少なくとも1つを妥当でないと決定することを含む。

【0037】

一般に、前記対照参照は対照値分布であり、かつ、前記方法は、  
 a) 各対照値を個々の対照値分布と比較すること；および  
 b) 前記比較の結果を用いて妥当性を決定することを含む。

【0038】

一般に、各個の参照は、サンプル集団中の複数の個体から収集されたバイオマーカー値から導出される。

【0039】

一般に、各個の参照は、サンプル集団の少なくとも一部に関して決定される。

【0040】

一般に、前記サンプル集団は、  
 a) 性別の異なる複数の個体；  
 b) 人種の異なる複数の個体；  
 c) 複数の健常個体；  
 d) 少なくとも1つの診断された医学的病態に罹患している複数の個体；  
 e) 少なくとも1つの医学的病態の臨床徴候を示す複数の個体；および  
 f) 各群の個体が個々の診断された医学的病態に罹患している第1および第2の群の個体を含む。

【0041】

一般に、前記指標は、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する上で使用するためのものであり、かつ、前記サンプル集団は、

- a) 少なくとも1つの医学的病態の臨床徴候を呈している個体；
- b) 少なくとも1つの医学的病態を有すると診断された個体；および
- c) 健常個体

を含む。

【0042】

一般に、前記指標は、連結関数を用いて第1および第2の導出指標値を組み合わせることにより決定され、前記連結関数が、

- a) 加法モデル；
- b) 線形モデル；
- c) サポートベクターマシン；
- d) ニューラルネットワークモデル；
- e) ランダムフォレストモデル；
- f) 回帰モデル；
- g) 遺伝的アルゴリズム；
- h) アニールングアルゴリズム；
- i) 加重和；および
- j) 最近傍モデル

のうち少なくとも1つである。

【0043】

一般に、前記方法は、

- a) 指標値を決定すること；
- b) 前記指標値を少なくとも1つの指標値範囲と比較すること；および
- c) 少なくとも一部に前記比較の結果を用いて前記指標を決定すること

10

20

30

40

50

を含む。

【0044】

一般に、前記指標は、被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す。

【0045】

一般に前記方法は、前記指標の表現を作成することを含む。

【0046】

一般に、前記表現は、

- a) 前記指標値の英数表示；
- b) 前記指標値と1以上の閾値の比較のグラフ表示；
- c) 被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度の英数表示

10

を含む。

【0047】

一般に、前記バイオマーカ―値は、

- a) タンパク質；
- b) 核酸；
- c) 炭水化物；
- d) 脂質；
- e) プロテオグリカン；
- f) 細胞；
- g) 代謝産物；
- h) 組織切片；
- i) 生物体全体；および
- j) 分子複合体

20

のうち1以上から選択される分子、細胞または生物体のレベルまたは存在量を示す。

【0048】

一般に前記方法は、少なくとも部分的に1以上の電子プロセッシングデバイスを用いて実行される。

【0049】

一般に、前記指標参照は、データベースから検索される。

【0050】

30

一般に前記方法は、1以上の電子プロセッシングデバイスにおいて、

- a) バイオマーカ―値を受け取ること；
- b) 前記バイオマーカ―値のうち少なくとも2つを用いて少なくとも1つの対照値を決定すること；
- c) 前記少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較すること；および
- d) 前記比較の結果を用いて前記検査が妥当な検査であるかどうかを決定すること

を含む。

【0051】

一般に前記方法は、1以上の電子プロセッシングデバイスにおいて、

- a) 以下のことにより指標を決定すること；
  - i) 第1のバイオマーカ―値と第2のバイオマーカ―値の比を用いて第1の指標値を計算すること；
  - ii) 第3のバイオマーカ―値と第4のバイオマーカ―値の比を用いて第2の指標値を計算すること；および
  - iii) 第1および第2の指標値の和を決定すること；
- b) 以下のことにより複数の対照値を決定すること；
  - i) 第1のバイオマーカ―値と第3のバイオマーカ―値の比を用いて第1の対照値を計算すること；
  - ii) 第1のバイオマーカ―値と第4のバイオマーカ―値の比を用いて第2の対照値を計算すること；

40

50

i i i) 第2のバイオマーカー値と第3のバイオマーカー値の比を用いて第3の対照値を計算すること；および

i v) 第2のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いて第4の対照値を計算すること；

c) 各対照値を個々の閾値範囲と比較すること；ならびに

d) 各対照値に関する比較の成功に応じて指標を表示することを含む。

【0052】

一般に前記方法は、1以上の電子プロセッシングデバイスにおいて、

a) 第1のバイオマーカー値と第2のバイオマーカー値の比を用いて第5の対照値を計算すること；

b) 第3のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いて第6の対照値を計算すること；および

c) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの組合せを使用することにより、付加的対照値または対照値のセットを計算することを含む。

【0053】

一般に、前記バイオマーカーは遺伝子発現産物であり、かつ、前記方法は、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得すること、前記サンプルは遺伝子発現産物を含む；

b) 前記サンプル中の少なくとも前記遺伝子発現産物を増幅させること；および

c) 各遺伝子発現産物に関して、個々の遺伝子発現の定義されたレベルを得るために必要な増幅程度を表す増幅量を決定することを含む。

【0054】

一般に、前記増幅量は、

a) サイクル時間；

b) サイクル数；

c) サイクル閾値；および

d) 増幅時間

のうち少なくとも1つである。

【0055】

一般に、前記バイオマーカーは遺伝子発現産物であり、かつ、前記方法は、バイオマーカー値の組合せが個々の遺伝子発現産物の相対濃度の比を表すように、個々の遺伝子発現産物関する増幅量を差し引くことによりバイオマーカー値の組合せを決定することを含む。

【0056】

一般に、前記バイオマーカー値は、少なくとも1つの医学的病態の臨床徴候を呈する生物学的被験体から取得される。

【0057】

一般に、前記少なくとも1つの病態は i p S I R S (infection positive Systemic Inflammatory Response Syndrome) (感染陽性全身性炎症反応症候群) を含み、かつ、前記バイオマーカー値は、L A M P 1、C E A C A M 4、P L A C 8 および P L A 2 G 7 の相対濃度に相当する。

【0058】

一般に、前記バイオマーカー値は、第1および第2の病態に共通の臨床徴候を呈する生物学的被験体から取得され、かつ、前記指標は、第1の病態と第2の病態を識別する上で使用するためのものである。

【0059】

一般に、第1および第2の病態は、i n S I R S (感染陰性全身性炎症反応症候群) お

10

20

30

40

50

よび i p S I R S を含む。

【 0 0 6 0 】

一般に、前記定量技術は、

- a) 核酸増幅技術；
- b) ポリメラーゼ連鎖反応 ( P C R ) ；
- c) ハイブリダイゼーション技術；
- d) マイクロアレイ分析；
- e) 低密度アレイ；
- f) 対立遺伝子特異的プローブとのハイブリダイゼーション；
- g) 酵素の突然変異検出；
- h) ライゲーション連鎖反応 ( L C R ) ；
- i) オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ ( O L A ) ；
- j) フローサイトメトリーヘテロ二重鎖分析；
- k) ミスマッチの化学的切断；
- l) 質量分析；
- m) フローサイトメトリー；
- n) 液体クロマトグラフィー；
- o) ガスクロマトグラフィー；
- p) 免疫組織化学；
- q) 核酸シーケンシング；
- r) 一本鎖高次構造多形 ( S S C P ) ；
- s) 変性勾配ゲル電気泳動 ( D G G E ) ；
- t) 温度勾配ゲル電気泳動 ( T G G E ) ；
- u) 制限断片多形；
- v) 包括的遺伝子発現解析 ( S A G E ) ；
- w) 親和性アッセイ；
- x) ラジオイムノアッセイ ( R I A ) ；
- y) ラテラルフローイムノクロマトグラフィー；
- z) フローサイトメトリー；
- a a) 電子顕微鏡 ( E M ) ；および、
- b b) 酵素基質アッセイ

10

20

30

のうち少なくとも1つである。

【 0 0 6 1 】

1つの広い形態で、本発明は、指標作成時に使用されたバイオマーカー値の測定の妥当性を確認するための装置であって、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、前記装置は、

- a) 複数のバイオマーカー値を決定する、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中の前記バイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；
  - b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定する；
  - c) 各対照値を個々の対照参照と比較する；かつ
  - d) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定する
- 少なくとも1つのプロセッシングデバイスを含む装置を提供しようとするものである。

40

【 0 0 6 2 】

1つの広い形態で、本発明は、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための方法であって、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、

- a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、前記生物学的被

50

験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示す；

b) 以下のことにより生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

i) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて第1の指標値を計算すること；

i i) 第3および第4第2のバイオマーカー値を用いて第2の指標値を計算すること；および

i i i) 第1および第2の指標値を用いて指標値を決定すること；

c) 以下の少なくとも1つを計算すること；

i) 第1および第3のバイオマーカー値を用いた第1の対照値；

i i) 第1および第4のバイオマーカー値を用いた第2の対照値；

i i i) 第2および第3のバイオマーカー値を用いた第3の対照値；

i v) 第2および第4のバイオマーカー値を用いた第4の対照値；

v) 第1および第4第2値を用いた第5の対照値；

v i) 第3および第4のバイオマーカー値を用いた第6の対照値；および

v i i) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセット；

d) 前記少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較すること；ならびに

e) 前記比較の結果を用いて選択的に前記指標の妥当性を確認すること

を含む方法を提供しようとするものである。

#### 【0063】

1つの広い形態で、本発明は、遺伝子発現産物の測定値を示す指標の妥当性を確認するための装置であって、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、前記装置は、

a) 複数のバイオマーカー値を決定する、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定または導出された値を示す；

b) 以下により指標を決定する；

i) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて第1の指標値を計算すること；

i i) 第3および第4第2のバイオマーカー値を用いて第2の指標値を計算すること；および

i i i) 第1および第2の指標値を用いて指標を決定すること；

c) 以下のうち少なくとも1つを計算する；

i) 第1および第3のバイオマーカー値を用いた第1の対照値；

i i) 第1および第4のバイオマーカー値を用いた第2の対照値；

i i i) 第2および第3のバイオマーカー値を用いた第3の対照値；

i v) 第2および第4のバイオマーカー値を用いた第4の対照値；

v) 第1および第2のバイオマーカー値を用いた第5の対照値；

v i) 第3および第4のバイオマーカー値を用いた第6の対照値；および

v i i) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセット；

d) 前記少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較する；ならびに

e) 前記比較の結果を用いて選択的に前記指標の妥当性を確認する

少なくとも1つのプロセッシングデバイスを含む装置を提供しようとするものである。

#### 【0064】

1つの広い形態で、本発明は、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための方法であって、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、かつ、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得すること、前記サンプルは遺伝子発現産物を含む；

b) 前記サンプル中の遺伝子発現産物の濃度を決定するために、前記サンプル中の少な

10

20

30

40

50

くとも一部の遺伝子発現産物を定量すること；

c) 以下を組み合わせることにより、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

i) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の指標値；および

ii) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の指標値；

d) 以下のうち少なくとも1つを決定することにより対照値を決定すること；

i) 第1の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の対照値；

ii) 第1の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の対照値；

iii) 第2の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第3の対照値

10

；

iv) 第2の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第4の対照値；

v) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第5の対照値；

vi) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第6の対照値；

vii) 指標値の決定時に使用されなかった遺伝子発現産物の組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセット；

e) 各対照値を個々の対照値閾値範囲と比較すること；ならびに

f) 前記対照値のそれぞれが個々の対照値範囲内にあるかどうか前記指標の妥当性を確認すること

を含む方法を提供しようとするものである。

20

#### 【0065】

一般に前記方法は、以下のことにより遺伝子発現産物の濃度を定量すること；

a) 前記サンプル中の少なくとも一部の遺伝子発現産物を増幅させること；および

b) 複数の遺伝子発現産物のそれぞれに関して、前記個々の遺伝子発現産物の定義されたレベルを得るために必要な増幅程度を表す増幅量を決定することを含む。

#### 【0066】

一般に前記方法は、

a) 以下のことにより指標を決定すること；

i) 第1および第2の遺伝子発現産物の濃度を示す第1および第2の増幅時間を用いて計算される第1の指標値を決定すること；および

ii) 第3および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第3および第4の増幅時間を用いて計算される第2の指標値；ならびに

30

b) 以下のうち少なくとも1つを決定することにより対照値を決定すること；

i) 第1および第3の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第1および第3の増幅時間を用いて計算される第1の対照値；

ii) 第1および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第1および第4の増幅時間を用いて計算される第2の対照値；

iii) 第2および第3の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第2および第3の増幅時間を用いて計算される第3の対照値；

40

iv) 第2および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第2および第4の増幅時間を用いて計算される第4の対照値；

v) 第1および第2の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第1および第2の増幅時間を用いて計算される第5の対照値；

vi) 第3および第4の遺伝子発現産物の相対濃度を示す第3および第4の増幅時間を用いて計算される第6の対照値；および

vii) 指標値の決定時に使用されなかった増幅時間の組合せを使用することによる付加的対照値または対照値のセットを含む。

#### 【0067】

50



1つの広い形態で、本発明は、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するための装置であって、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得するサンプリングデバイス、前記サンプルは遺伝子発現産物を含む；

b) 前記サンプル中の遺伝子発現産物の濃度を決定するために、前記サンプル中の少なくとも一部の遺伝子発現産物を定量する定量デバイス；および

c) 以下のことを行う少なくとも1つのプロセッシングデバイス；

(i) 以下を組み合わせることにより、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

(1) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の指標値；および

(2) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の指標値；

(ii) 以下のうち少なくとも1つを決定することにより対照値を決定すること；

(1) 第1の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の対照値；

(2) 第1の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の対照値；

(3) 第2の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第3の対照値；

(4) 第2の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第4の対照値；

(5) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第5の対照値；

(6) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第6の対照値；および

(7) 指標値の決定時に使用されなかったバイオマーカーの濃度比を示す付加的対照値または対照値のセット；

(iii) 各対照値を個々の対照値閾値範囲と比較すること；および

(iv) 前記対照値のそれぞれが個々の対照値範囲内にあるかどうか前記指標の妥当性を確認すること

を含む装置を提供しようとするものである。

#### 【0068】

1つの広い形態で、本発明は、バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも1つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも1つの対照値を決定すること；

c) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること、前記バイオマーカー値は、

i) タンパク質；

ii) 核酸；

iii) 炭水化物；

iv) 脂質；

v) プロテオグリカン；

vi) 細胞；および

10

20

30

40

50

## v i i ) 病原生物

の 1 以上から選択される分子、細胞または生物体のレベルまたは存在量を示すを含む方法を提供しようとするものである。

## 【 0 0 6 9 】

1 つの広い形態で、本発明は、  
バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、

a ) 複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも 1 つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b ) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも 1 つの対照値を決定すること；

c ) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d ) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること、前記バイオマーカー値は、

i ) タンパク質；

i i ) 核酸；

i i i ) 炭水化物；

i v ) 脂質；

v ) プロテオグリカン；

v i ) 細胞；

v i i ) 代謝産物；

v i i i ) 組織切片；

i x ) 生物体全体；および

x ) 分子複合体

の 1 以上から選択される分子、細胞または生物体のレベルまたは存在量を示すを含む方法を提供しようとするものである。

## 【 0 0 7 0 】

1 つの広い形態で、本発明は、バイオマーカーの定量の妥当性を確認するための方法であって、

a ) 複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、前記生物学的被験体の少なくとも 1 つの対応するバイオマーカーに関して測定された値または測定された値から導出された値を示し、かつ、前記被験体から採取されたサンプル中のバイオマーカーの濃度を少なくとも部分的に示す；

b ) バイオマーカー値の組合せを決定することにより少なくとも 1 つの対照値を決定すること；

c ) 各対照値を個々の対照参照と比較すること；および

d ) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを決定すること、前記バイオマーカーは、

i ) 核酸増幅技術；

i i ) ポリメラーゼ連鎖反応 ( P C R ) ；

i i i ) ハイブリダイゼーション技術；

i v ) マイクロアレイ分析；

v ) 低密度アレイ；

v i ) 対立遺伝子特異的プローブとのハイブリダイゼーション；

v i i ) 酵素的突然変異検出；

v i i i ) ライゲーション連鎖反応 ( L C R ) ；

i x ) オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ ( O L A ) ；

x ) フローサイトメトリーヘテロ二重鎖分析；

x i ) ミスマッチの化学的切断；

x i i ) 質量分析 ;  
 x i i i ) フローサイトメトリー ;  
 x i v ) 液体クロマトグラフィー ;  
 x v ) ガスクロマトグラフィー ;  
 x v i ) 免疫組織化学 ;  
 x v i i ) 核酸シーケンシング ;  
 x v i i i ) 一本鎖高次構造多形 ( S S C P ) ;  
 x i x ) 変性勾配ゲル電気泳動 ( D G G E ) ;  
 x x ) 温度勾配ゲル電気泳動 ( T G G E ) ;  
 x x i ) 制限断片多形 ;  
 x x i i ) 包括的遺伝子発現解析 ( S A G E ) ;  
 x x i i i ) 親和性アッセイ ;  
 x x i v ) ラジオイムノアッセイ ( R I A ) ;  
 x x v ) ラテラルフローイムノクロマトグラフィー ;  
 x x v i ) フローサイトメトリー ;  
 x x v i i ) 電子顕微鏡 ( E M ) ; および、  
 x x v i i i ) 酵素基質アッセイ

10

のうち少なくとも1つを用いて定量される、  
 を含む方法を提供しようとするものである。

20

【 0 0 7 1 】

本発明の広い形態およびそれらの個々の特徴は、一緒に、互換的におよび / または非依  
 存的に使用することができ、別個の広い形態に対する言及は限定を意図しないと認識され  
 る。

【 0 0 7 2 】

以下、本発明の例を、添付図面を参照しながら説明する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 7 3 】

【 図 1 A 】 図 1 A は、バイオマーカー値の測定の妥当性を確認するための方法の一例のフ  
 ローチャートである。

【 図 1 B 】 図 1 B は、非依存的相対対照アプローチの比較の一例のフローチャートである

30

【 図 1 C 】 図 1 C は、非依存的相対対照アプローチの比較の一例のフローチャートである

【 図 2 】 図 2 は、分散コンピューターアーキテクチャーの一例の概略図である。

【 図 3 】 図 3 は、ベースステーションプロセッシングシステムの一例の概略図である。

【 図 4 】 図 4 は、図 2 のクライアントデバイスの一例の概略図である。

【 図 5 】 図 5 は、バイオマーカー測定および対応する参照分布から得られた指標の妥当性  
 を確認するための方法の一例のフローチャートである。

【 図 6 】 図 6 は、バイオマーカー測定から得られた指標の妥当性を確認するための方法の  
 一例のフローチャートである。

40

【 図 7 A 】 図 7 A は、図 5 のプロセスにおけるバイオマーカー値の関係の指標の概略図で  
 ある。

【 図 7 B 】 図 7 B は、標準的な対照構成におけるバイオマーカー値と対照の関係の表示の  
 概略図である。

【 図 8 A 】 図 8 A は、バイオマーカー測定から導出された指標の妥当性を確認するための  
 方法の一例のフローチャートである。

【 図 8 B 】 図 8 B は、バイオマーカー測定から導出された指標の妥当性を確認するための  
 方法の一例のフローチャートである。

【 図 9 A 】 図 9 A は、指標値の表現の一例の概略図である。

【 図 9 B 】 図 9 B は、指標値の表現の一例の概略図である。

50

【図 10 A】図 10 A は、マルチバイオマーカー医療デバイスにおける対照の標準使用の一例のフローチャートである。

【図 10 B】図 10 B は、マルチバイオマーカー医療デバイスにおいて標準対照の代わりに相対対照を使用する一例のフローチャートである。

【図 10 C】図 10 C は、マルチバイオマーカー医療デバイスにおいて標準対照と相対対照のハイブリッドの使用の一例(an example of the use of)のフローチャートである。

【図 11 A】図 11 A は、ある濃度範囲にわたって測定されたバイオマーカーに関して得られたサイクル時間のプロットである。

【図 11 B】図 11 B は、図 11 A のサイクル時間から導出されたバイオマーカー値に関する指標値のプロットである。

【図 12 A】図 12 A は、あるサンプル集団に関する測定バイオマーカー値の密度プロットである。

【図 12 B】図 12 B (a) ~ (f) は、測定バイオマーカーの参照集団に対して示された妥当でないサンプルに関する各測定バイオマーカー値のプロットである。

【図 12 C】図 12 C (a) ~ (f) は、参照導出対照値に対して示された妥当でないサンプルに関する導出対照値のプロットである。

【図 12 D】図 12 D は、参照導出対照バイオマーカーの 1 つに対する妥当でないサンプルを示す散布図である。

【図 13 A】図 13 A (a) ~ (d) は、測定バイオマーカーの参照集団に対する妥当でないサンプルを示すプロットである。

【図 13 B】図 13 B (a) ~ (f) は、導出対照バイオマーカーの参照集団に対する同じ妥当でないサンプルを示すプロットである。

【発明を実施するための形態】

【0074】

好ましい実施形態の詳細な説明

生物学的被験体が少なくとも 1 つの優勢な医学的病態を有する尤度を示す指標などの指標の決定に使用するためのバイオマーカーの測定の妥当性を確認するためのプロセスの一例を以下に図 1 を参照して記載する。

【0075】

説明のために、いくつかの異なる用語を使用する。

【0076】

例えば、用語「バイオマーカー」は、生物学的状態の指標として使用され得る、任意の定量可能な値、またはパラメーターの組合せもしくは派生物を意味する。本出願の文脈では、バイオマーカーは、タンパク質、核酸、例えば、DNA、RNA など、炭水化物、脂質、プロテオグリカン、細胞、代謝産物、組織切片、生物体全体（例えば、病原体性および非病原性微生物）および分子複合体（例えば、タンパク質 / 核酸複合体）などを含む。

【0077】

用語「バイオマーカー値」は、被験体または個体内の対応するバイオマーカーの量(amt)、存在量、レベル、濃度、量(quantity)、または活性により決定される値を意味する。バイオマーカー値は、測定されたバイオマーカー値またはそれから導出された値に基づいてよく、例は以下により詳細に記載される。

【0078】

用語「参照バイオマーカー」は、その値が 1 以上の個体が 1 以上の病態、1 以上の病態の病期、1 以上の病態のサブタイプまたは異なる診断のサンプル集団に関して知られているバイオマーカーを意味して用いられる。用語「参照データ」は、サンプル集団中の 1 以上の個体に関して測定されたデータを意味し、各個体に関して測定されたバイオマーカーのレベルまたは活性の定量、その個体のいずれかの病態に関する情報、および場合により測定されたマーカーから導出された導出バイオマーカーを含む、対象とする他のいずれかの情報を含み得る。参照バイオマーカーは、それに対して新たなまたは未知のサンプルが比較され得る参照を提供するというそれらの主目的のために呼称される。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 7 9 】

用語「指標値」は、ある生物学的病態に罹患している被験体の尤度を示す指標を導出する際に使用されるバイオマーカー値の組合せを意味して使用される。指標は絶対的または相対的数値または他の値の形態であってよく、ある値と1以上の閾値の比較に基づいてもよい。

## 【 0 0 8 0 】

用語「検査」は、個々のバイオマーカー値（これは次に指標値を決定する際に使用できる）を決定するために複数のバイオマーカーを定量する際に使用された機構を意味して使用される。「検査」は1以上の測定プロセスまたは工程を含んでよく、それらは集合的にまたは非依存的に実施することができるが、選択されたタイプの定量プラットフォームまたは技術を用いて実施される。「検査」は、より広い「医学的評価」の一部を形成してもよく、ある医学的病態に関連する存在、不在、程度または予後の診断を可能とするために実施されるいくつかの異なる検査を含み得る。

## 【 0 0 8 1 】

用語「選択されたタイプの定量プラットフォーム」および「選択されたタイプの定量技術」は、本明細書では、質的対照尺度が手順全体の一部として使用されるか、または1もしくは複数の対照が使用される場合に、対象とする1以上のバイオマーカーの量(amount)、存在量、レベル、濃度、量(quantity)または活性を決定することができるデバイスおよび/もしくは方法またはデバイスおよび/もしくは方法の組合せを意味して互換的に使用される。このようなものの代表例として、ポリメラーゼ連鎖反応(polymerase chain reaction) (PCR) (例えば、PCRに基づく方法、例えば、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(real time polymerase chain reaction) (RT-PCR)、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応(quantitative real time polymerase chain reaction) (Q-PCR/qPCR)、クロマチンコンフォメーションを分析するための(analyse chromatin conformation) (CCA) PCRの使用など)を含む核酸増幅技術、ハイブリダイゼーション技術(マイクロアレイ分析、低密度アレイ、対立遺伝子特異的プローブとのハイブリダイゼーションを含む)、酵素突然変異検出、ライゲーション連鎖反応(ligation chain reaction) (LCR)、オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ(oligonucleotide ligation assay) (OLA)、フローサイトメトリーヘテロ二重鎖分析、ミスマッチの化学的切断、質量分析、フローサイトメトリー、液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、免疫組織化学、核酸シーケンシング(次世代シーケンシング、ChIP-seq、DNAメチル化分析を含む)、一本鎖高次構造多形(single strand conformation polymorphism) (SSCP)、変性勾配ゲル電気泳動(denaturing gradient gel electrophoresis) (DGGE)、温度勾配ゲル電気泳動(temperature gradient gel electrophoresis) (TGGE)、制限断片多形、包括的遺伝子発現解析(serial analysis of gene expression) (SAGE)、イムノプロットなどのイムノアッセイを含む親和性アッセイ、免疫沈降、酵素結合免疫吸着アッセイ(enzyme-linked immunosorbent assay) (ELISA; EIA)、ラテラルフローイムノクロマトグラフィー、ラジオイムノアッセイ(RIA)、電子顕微鏡(EM)、酵素基質アッセイ、またはそれらの組合せが含まれる。

## 【 0 0 8 2 】

用語「対照」は、ある検査の妥当性、従って、出力の妥当性に関して適格または不適格状態を決定するために使用される機構を意味して使用される。

## 【 0 0 8 3 】

対照は、検査に付加され、かつ、定量されるバイオマーカーに依存しない「非依存的対照」を含み得る。よって、非依存的対照は、測定バイオマーカーに依存せず、試験全体の妥当性に関する独立検査と考えることができる。一例は、既知濃度での遺伝子発現検査において合成的に産生されたin vitro転写産物である。この場合、検査されるサンプル(すなわち、血液)は、非依存的対照とは全く相互作用しない。対照は、全検査にわたって使用される試薬が予測される値に対してこの非依存的対照に関する値を再現できることを単に保証するために用いられる。

## 【 0 0 8 4 】

用語「対照値」は、バイオマーカー値、例えば指標値を導出するために使用されるバイオマーカー値および結果としての指標値が妥当であるかどうかを確認する上で使用されるバイオマーカー値または指標の組合せを意味して使用される。これに関して、バイオマーカー値または指標値は、不適切に測定、計算または定量されていれば、従って、対象とする病態を真正に示さなければ、またはその値が上手くいった検査からは導出され得なかった、従って、そのアッセイは妥当でないと言明されなければならない（不成功の対照の場合）ことが合理的に真と推定され得るという対応する参照データにおいてその値が十分まれにしか表されなければ、妥当でない可能性がある。真であると予測されると見なされ得る p 値の例は、以下の範囲である：

10

- ・ 0 . 5 0 ~ 0 . 2 0
- ・ 0 . 2 0 ~ 0 . 1 0
- ・ 0 . 1 0 ~ 0 . 0 5
- ・ 0 . 0 5 ~ 0 . 0 1
- ・ 0 . 0 1 ~ 0 . 0 0 1
- ・ 0 . 0 0 1 ~ 0 .

## 【 0 0 8 5 】

対照値は、定量されるバイオマーカーに非依存的でない検査の適格または不適格状態を定義する「相対対照」である。例えば、その検査で測定される 2 つのマーカー、マーカー A およびマーカー B が存在する場合、これらのマーカーが互いに相対し得る 1 つの方法がマーカー A とマーカー B の比である。この関係は、その値がある検査の妥当性を適合または不適合とするために使用される場合には対照である。この例では、マーカー A とマーカー B の比がある許容範囲の外側の値である場合に、その検査は妥当でないと見なされる。

20

## 【 0 0 8 6 】

「陽性対照」は、その検査が陽性結果を出し得ることを示して使用される。一般に、陽性対照は、測定される他のマーカーと同じ処置に曝した際に、それが特定のレベルで検出されるように設計される。仮定は、その処置が陽性対照に関して許容可能に働いたならば、それはまたその検査の他のアッセイに対しても働いたということである。これが有用である一例は、その検査が輸送中に許容されない温度に曝され、これが検査中の一部の重要な成分を破壊した場合である。ある重要な成分が破壊されれば、陽性対照は予想通りに働かず、その検査は妥当でないと見なされる。

30

## 【 0 0 8 7 】

「陰性対照」は、その検査が陰性結果を出し得ることを示して使用される。一般に、陰性対照は、測定される他のマーカーと同じ処置を受けた際に、それが特定のレベル未満（通常、その検査の検出可能な限界未満）で検出されるように設計される。仮定は、その処置が陰性対照に関して陽性検出をもたらさなかったならば、その検査の他のアッセイに対しても陰性検出され得るということである。

## 【 0 0 8 8 】

用語「生物学的被験体」、「被験体」、「個体」および「患者」は、本明細書では、動物被験体、特に、脊椎動物被験体、いっそうより詳しくは、哺乳動物被験体を意味して互換的に使用される。本発明の範囲内にある好適な脊椎動物としては、限定されるものではないが、霊長類、齧歯類（例えば、マウス、ラット、モルモット）、ウサギ目（例えば、ウサギ、ノウサギ）、ウシ類（例えば、ウシ）、ヒツジ類（例えば、ヒツジ）、ヤギ類（例えば、ヤギ）、ブタ類（例えば、ブタ）、ウマ類（例えば、ウマ）、イヌ類（例えば、イヌ）、ネコ類（例えば、ネコ）、鳥類（例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、カモ、ガン、カナリア、セキセイインコなどの伴侶鳥類）、海洋哺乳類動物（例えば、イルカ、クジラ）、爬虫類（ヘビ、カエル、トカゲなど）、および魚類を含む脊索動物亜門のいずれのメンバーも含む。好ましい被験体は、霊長類（例えば、ヒト、無尾猿、サル、チンパンジー）である。

40

## 【 0 0 8 9 】

50

本明細書において使用する場合、S I R S (systemic inflammatory response syndrome) (「全身性炎症反応症候群」) は、以下の測定可能な臨床的特徴；38 を超えるもしくは36 を下回る体温、毎分90回を超える心拍数、毎分20回を超える呼吸数、 $12,000/mm^3$  を超えるもしくは $4,000/mm^3$  未満の白血球総数(総白血球)、または10%を超える桿状好中球パーセンテージのうち2つを伴う非特異的傷害から起こる臨床応答を意味する。免疫学的観点からは、それは傷害(例えば、大手術)または全身性炎症に対する全身性応答を表すと見ることができる。本明細書において使用される場合、「i n S I R S」(その範囲に「術後(post-surgical)」(P S) 炎症)を含む)は、全身性感染プロセス(感染陰性全身性炎症反応症候群(infection-negative systemic inflammatory response syndrome)) が不在であること以外は上記で示される臨床応答を含む。対照的に、「i p S I R S」(感染陽性全身性炎症反応症候群(infection-positive systemic inflammatory response syndrome)) は、推定されるまたは確認された感染が存在していること以外は上記で示される臨床応答を含む。推定される感染は、臨床医の判断に基づくものであり得、感染性因子の微生物学的培養、単離もしくは検出を用いて、または感染の証拠を示す他のパラメーターの使用によって感染の確定がなされ得る。免疫学的観点からは、i p S I R S は、それが局部感染であれ末梢感染であれ全身感染であれ、微生物に対する全身性応答と見ることができる。

10

#### 【0090】

本明細書で使用される場合、ある病態の「尤度」という用語は、被験体がある病態に罹患している可能性があるかどうかに関連した確実性のレベルを意味する。これは必ずしもある病態の程度、深刻度、重篤度、病期または状態に相関しないということに留意されたい。

20

#### 【0091】

上記用語および関連の定義は単に説明の目的で使用され、限定することは意図されないと認識される。

#### 【0092】

この例では、本方法は、工程100において複数のバイオマーカー値を決定することを含み、各バイオマーカー値は、生物学的被験体の少なくとも1つのバイオマーカーに関して測定または導出された値を示す。

#### 【0093】

バイオマーカー値は、いずれの適当な形態のものであってもよく、特に、値が定量され得る被験体の任意の属性に関連し得る。この技術は特に、質量分析、シーケンシングプラットフォーム、アレイおよびハイブリダイゼーションプラットフォーム、イムノアッセイ、フローサイトメトリーなどのハイスループット技術に適合され、1つの好ましい例では、バイオマーカー値は発現産物または他の測定可能な分子の活性のレベルまたは存在量に関連する。

30

#### 【0094】

バイオマーカー値は、被験体に関して測定されたバイオマーカーの値である測定バイオマーカー値であってもよく、あるいはまたは例えば1以上の測定バイオマーカー値に関数を適用することにより、1以上の測定バイオマーカー値から導出された値である導出バイオマーカー値であってもよい。本明細書で使用される場合、関数が適用されたバイオマーカーは、「導出バイオマーカー」と呼ばれる。

40

#### 【0095】

バイオマーカー値は、いくつかの方法のうちいずれか1つで決定することができる。一例では、バイオマーカー値を決定するプロセスは、例えば、生物学的被験体からサンプルを取得するし、次いでそのサンプル内のバイオマーカーを定量することによってバイオマーカー値を測定することを含み得る。しかしながら、より一般には、バイオマーカー値を決定する工程は、電子プロセッシングデバイスに、事前に測定または導出されたバイオマーカー値を受け取らせる、またはそうでなければ取得させることを含む。これは、例えば、ローカルまたはリモートインストルメントまたはデータベースなどのデータストアから

50

バイオマーカー値を検索すること、または入力デバイスを用いて手動で入力されたバイオマーカー値を取得することなどを含み得る。

【0096】

工程110では、場合により指標を決定することができ、その指標はバイオマーカー値に少なくとも部分的に基づく。この指標は一般に、検査結果を示し、いくつかの方法のうちいずれか1つで決定することができ、以下により詳細に記載するように、バイオマーカー値の比に少なくとも部分的に基づき得る。しかしながら、これは必須ではなく、あるいはバイオマーカー値は、定量が適正に実施されたことを確認するために使用することができ、指標またはバイオマーカー値の他の解釈は次の下流プロセスで実施される。

【0097】

工程120では、1以上の対照値が決定される。これらの対照値は、バイオマーカー値の組合せに基づいて決定される。バイオマーカー値は、いくつかの方法のうちいずれか1つで組み合わせることができ、これは、例えば、対照値を決定するためのバイオマーカー値の足し算、掛け算、引き算または割り算を含み得る。この工程は、以下により詳細に記載するように、複数のバイオマーカー値を単一の対照値、一般には、自己正規化値に組み合わせることができるように実施される。

【0098】

工程130では、各対照値が個々の対照参照と比較される。個々の対照参照は一般に、健常個体および1以上の病態の臨床徴候下にあるまたは1以上の病態の臨床徴候を呈している個体の混合を含むサンプル集団に関して決定された参照対照値に基づいて確立される。対照参照は、単一の閾値または個々の上方値および下方値により定義される範囲であり得るが、より一般には、対照値の分布の形態である。

【0099】

工程140では、バイオマーカー値の測定は、前記比較の結果を用いて妥当性が確認される。従って、任意の対照値が閾値を超える/下回るか、定義された閾値範囲の外側にあるか、または閾値内のある特定の点を超えるか、または分布のある特定の点を超えるならば、これは、確認済みの測定バイオマーカー値が、ある病態の尤度を決定する際に使用するために十分な信頼性がある指標を生成する際に使用するには好適でないことを示すために使用される。

【0100】

よって、上記の技術では、バイオマーカー値が妥当であるかどうかを識別するためにバイオマーカー値の異なる組合せを使用する。

【0101】

一例では、対照値は、検査結果を示す指標を確立するために使用されるバイオマーカーの組合せとは異なるバイオマーカー値の組合せに基づく。例えば、値が被験体に関する3つのバイオマーカー、すなわち、A、BおよびCに関して定量され、かつ、バイオマーカー値AおよびBが指標を確立するために使用される場合には、対照値を決定するためにAとCおよびBとCの組合せを使用することができる。

【0102】

この例では、例えば、被験体からのサンプルの獲得、保存または処理などの不適格のためにバイオマーカーAの測定が偽であれば、これは、被験体がある病態を有することまたは有さないことを示すバイオマーカーAおよびBの組合せに基づく指標値を生じ得る。しかしながら、実際には、測定バイオマーカーAは不正確であるので、この結果は無意味であり、ゆえに、これに頼れば不正確な診断につながり得る。

【0103】

この場合、AとCおよびBとCの組合せを用いて対照値の値を決定することによっても、AとCに対応する対照値が対象とする病態を有するまたは有さない個体に関する予測範囲の外側にあることが確認され、これは、Aおよび/またはBに関するバイオマーカー値が妥当でないこと、ゆえに、正確な指標を確立する際に使用できないことを意味する。

【0104】

10

20

30

40

50



よって、上記のプロセスは、それらが病態に罹患しているかどうかにかかわらず、バイオマーカー値が一般に個体に関して定義された範囲内にあることを認識する。よって、異なるバイオマーカー値の種々の組合せを測定し、これらを健常個体を含む、ある範囲の異なる病態を有する個体の参照集団に関して確立された範囲と比較することにより、これは、バイオマーカー値が予測範囲内にあるかどうかを確定するために使用できる。

#### 【0105】

これは理論的には組合せではなく個々のバイオマーカーを用いて実施可能であるが、サンプル内のバイオマーカーの絶対濃度などの絶対値を測定する能力を要し、これは一般には実施できないということがさらに認識されるであろう。これは一般に、既知濃度の対照と相対的にバイオマーカーの濃度が測定されるように、非依存的対照を使用することで取り組まれる。しかしながら、このような非依存的対照の使用は一般に、対照バイオマーカー自体の生産が困難で、複雑性を導入し、また、測定手法の能力によって測定され得るバイオマーカーの数が限られることから費用がかかり、ずっと多くの対照が導入され、これにより被験体に関して測定され得るバイオマーカーの数が減る。しかしながら、比などバイオマーカー値の組合せを使用することにより、これは測定バイオマーカー値が相対濃度を示すこと、ゆえに自己正規化を可能とする。特に、最終的な出力が例えば遺伝子の比に基づく場合には、同様の遺伝子の比を用いた妥当性の評価は、より直観的、ロバスト、かつ適正となる。よって、バイオマーカー値の異なる組合せを閾値と比較することにより、これは、本来の測定空間（すなわち、比）における測定値の妥当性の確認を実施可能とし、これは特に非依存的対照の測定の必要のない、自己妥当性確認試験につながる。

10

20

#### 【0106】

このようなアプローチは、より良好な対照戦略を提供する。対照として測定されるバイオマーカーの使用は、具体的には、正規化結果に関連する問題に取り組み、上手いかなかったアッセイの検出のための統計的検定力を改善し、使用する対照の総数を減らし、アッセイの複雑性を軽減し、総アッセイコストおよびリスクを低減する。

#### 【0107】

第一に、例として、記載の対照戦略を使用することにより、多くのバイオマーカーを、各導出バイオマーカーに関して対応する参照範囲に対する対照範囲として使用するための導出バイオマーカーを定義するために使用することができる。これらのバイオマーカーは、対象とする病態に関して患者を分類するために使用される指標バイオマーカーに含まれるものである必要はない。この目的のための多くの相対的内部バイオマーカーの使用は、正規化に対してスムーズかつ安定化効果を有し、それにより、ばらつき全体を小さくする。

30

#### 【0108】

第二に、外部またはスパイクイン対照に頼ることにより、これらの対照が不適格である場合には、測定遺伝子からの、従って指標値の結果が正確であるとしても、アッセイは妥当でないといわれる。第三に、利用可能なより多くの相対的内部バイオマーカーを調べることでより測定バイオマーカー間の複数の相互作用を測定することによって、測定される各バイオマーカーに関してより関連のある対照確認ができ、より高い統計的検定力、信頼および感受性が得られる。第四に、外部対照の使用または無関係のハウスキーピング対照の使用を回避することにより、アッセイの複雑性が軽減され、これはコストおよびリスクの低減に現れる。

40

#### 【0109】

特に、この技術は、検査の妥当性を自己評価するために対象とする測定バイオマーカーから導出された対照値を使用することにより、非依存的対照の必要を回避することができる。このアプローチは、図1Bおよび1Cに示される非依存的アプローチと相対対照アプローチの比較により例示される。

#### 【0110】

この例に示されるように、各場合において、バイオマーカー値が工程151、161で測定され、工程152、162で、指標値を生成するために使用される。依存的対照プロ

50

セスでは、工程 1 5 3 で、別個の対照が測定され、工程 1 5 4 で、これらが予測範囲内にあるかどうかを決定するために評価される。これに対して相対対照アプローチでは、工程 1 6 3 で、対照値を導出するために測定バイオマーカー値が使用され、それらが次に、工程 1 6 4 で、それらが予測範囲内にあるかどうかを決定するために評価される。各場合において、対照が範囲内にあれば、工程 1 5 5、1 6 5 で、それらの検査結果が報告され、そうでなければ、工程 1 5 6、1 6 6 で、その検査は不適格となる。

#### 【0 1 1 1】

よって、測定バイオマーカー値から導出された対照値から形成された相対対照は、非依存的対照の存在を必要としないこと以外は非依存的対照と同様にして使用できることが分かる。これにより付加的な対照マーカーの必要が回避され、これはその検査がより安価になることを意味する。これによってまた、妥当な検査を不必要に無効にする可能性のある、非依存的に不適格である付加的非依存的対照の必要が回避される。加えて、以下により詳細に記載するように、測定マーカー間の関係は予測値によりきつく、かつ多数の制約を課し、従って、統計的検定力、従って、妥当でない検査の検出における信頼を高める。

10

#### 【0 1 1 2】

以下、いくつかのさらなる特徴を記載する。

#### 【0 1 1 3】

一例では、少なくとも 3 つのバイオマーカー値が使用され、第 1 および第 2 のバイオマーカー値は指標を決定するために使用され、対照値は、第 1 および少なくとも 1 つの他のバイオマーカー値と第 2 および少なくとも 1 つの他のバイオマーカー値の組合せを用いて決定される。しかしながら、別の好ましい例では、本方法は、少なくとも 4 つのバイオマーカー値を決定することを含む。この場合、指標は、第 1 および第 2 のバイオマーカー値を用いて計算される第 1 の指標値と第 3 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 2 の指標値の組合せに基づき得る。次に、これら 2 つの指標値を、指標を形成するために組み合わせることができ、第 1 の 2 つの指標値のそれぞれの示差的検定力を組み合わせる。これにより、バイオマーカー値の 2 つの非依存的ペアは、組み合わせて、指標を確立するために使用することが可能となり、被験体が病態を有する尤度を識別する指標の能力を有意に高めることができる。

20

#### 【0 1 1 4】

さらに、4 つのバイオマーカー値を使用する場合、これにより、第 1 および第 3 のバイオマーカー値を用いて計算される第 1 の対照値、第 1 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 2 の対照値、第 2 および第 3 のバイオマーカー値を用いて計算される第 3 の対照値、ならびに第 2 および第 4 のバイオマーカー値を用いて計算される第 4 の対照値を含む少なくとも 4 つの対照値を決定することが可能となる。よって、この場合にも、これにより、付加的対照値を使用することが可能となり、妥当でない測定が正確に識別される尤度がさらに高まる。指標値を含んでなるバイオマーカーの組合せもまた対照値であり得ると認識され、この例では、第 1 および第 2 のバイオマーカーと第 3 および第 4 のバイオマーカーが指標値を構成し、それらもまた、対応する参照に対する範囲の外側にあれば、アッセイの不適格を示し得る。

30

#### 【0 1 1 5】

また、上記の例において、指標を確立する際に使用されるバイオマーカー値のそれぞれは妥当性の確認にも使用されることも認識されるであろう。これはバイオマーカーの使用を最大化し、従って、事実上、各測定バイオマーカー値は指標の作成と妥当性の確認の両方に使用される。限定数のバイオマーカー値のみを扱うことができるプラットフォームおよびプロセスについては、これは従って、総ての測定バイオマーカー値を指標の決定に使用可能とすることにより、指標の妥当性をなお確保しつつ指標の示差的検定力を最大化することができる。しかしながら、これは必須ではなく、それに加えておよび/またはそれに代えて、被験体に関して測定され、ただし、その指標の作成には使用されなかったバイオマーカー値との比較を行うことができる。

40

#### 【0 1 1 6】

50

また、指標値もまた対照値として使用可能であることにも留意されたい。この場合、一般に、指標値に関して許容可能な範囲が、被験体がある病態を有する尤度を評価するために特定され、この範囲は標的集団において観測または予測された最大および最小指標値を表す。この範囲の外側の値は、基礎値のうちの少なくとも1つが指標値を含んでなり、その検査が妥当でないと見なされるという問題を含意し得る。よって、この例では、本方法は、第1のバイオマーカー値と第2のバイオマーカー値の比を用いた第5の対照値、第3のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いた第6の対照値、測定されたバイオマーカーのうち指標値の決定時に使用されなかったものの比を用いて計算される単一の対照値または対照値のセットのうち1以上を含む対照値を決定することを含む。

#### 【0117】

本方法は一般に、個々のバイオマーカー値に関数を適用することにより、指標値および対照値のうち少なくとも1つを計算することを含む。従って、使用する関数は、好ましい実装形態によって異なる。一例では、関数は、2つのバイオマーカー値の掛け算、2つのバイオマーカー値の割り算、2つのバイオマーカー値の足し算、2つのバイオマーカー値の引き算、少なくとも2つのバイオマーカー値の加重和、少なくとも2つのバイオマーカー値の対数和、および少なくとも2つのバイオマーカー値のシグモイド関数のうち少なくとも1つを含む。

#### 【0118】

より一般には、関数は、2つのバイオマーカー値の割り算、または対数減算（絶対値の割り算に等しい）であり、従って、導出バイオマーカー値は2つの測定バイオマーカー値の比に相当する。なぜ比が好ましいと考えられるかという理由はいくつかある。例えば、比の使用は自己正規化型であり、比の使用は自己正規化型であり、これは測定技術の変動が自動的に適合されることを意味する。例えば、サンプルの入力濃度が二倍となっても、バイオマーカーの相対的割合は同じままである。従って、結果として、このタイプの関数は一定範囲の入力濃度で安定なプロファイルを持ち、このことは、入力濃度が発現データの既知の変数であることから重要である。加えて、多くのバイオマーカーは生化学的経路上のノードであり、従って、バイオマーカーの比は、系内の生物学的変化の自然の表現である、ある生物学的経路の、別の経路に対する相対的活性化に関する情報を与える。最後に、比は一般に容易に解釈される。

#### 【0119】

一例では、対照値は比であり、各対照値は個々の対照値閾値範囲と比較され、それらの対照値のうちいずれか1つが個々の対照値閾値範囲の外側にあれば、バイオマーカー値のうち少なくとも1つを妥当でないと決定する。この場合、各個の閾値範囲は一般に、サンプル集団内の複数の個体から採取されたバイオマーカー値から導出される。これは例えば、統計的方法またはサンプル集団に関するバイオマーカー値で訓練された、コンピューターにより実施される分類アルゴリズムを用いて実施することができる。サンプル集団は一般に、複数の健常個体、少なくとも1つの診断された医学的病態に罹患している複数の個体、少なくとも1つの医学的病態の臨床徴候を示す複数の個体、または各群の個体が個々の診断された医学的病態に罹患している個体の第1および第2の群を含む。これは集団の好適な断面図を提供するため、また、対照値閾値範囲が病態の存在または不在により影響を受けないことを保証するために使用することができる。

#### 【0120】

特に、指標が生物学的被験体が特定の医学的病態を有する尤度を決定する際に使用するためのものである場合、サンプル集団は、その特定の医学的病態の臨床徴候を呈する個体、その特定の医学的病態を有するもしくは有さないことが診断もしくは確定された個体（後ろ向きを含む）および/または健常個体を含む。これは、この個体が特定の病態を有するかどうかに関わらずに指標の妥当性の評価が当てはまることを保証する。

#### 【0121】

また、サンプル集団はまた、性別、人種、または年齢などの異なる複数の個体も含み得、対照値範囲は集団間で共通となり得ることも認識されるであろう。しかしながら、これ

10

20

30

40

50

は必須ではなく、代わりに、集団の特定のサブセットに特異的な対照値閾値を確立することもできる。この場合、使用される対照値閾値範囲が検討下の被験体に適当であることを保証することは必要であろう。

【0122】

一般に、指標は、連結関数を用いて第1の導出指標値と第2の導出指標値を組み合わせることにより決定され、連結関数は、加法モデル、線形モデル、サポートベクターマシン、ニューラルネットワークモデル、ランダムフォレストモデル、回帰モデル、遺伝的アルゴリズム、アニーリングアルゴリズム、加重和および最近傍モデルのうち少なくとも1つである。

【0123】

一例では、本方法はさらに、指標値を決定すること、その指標値を少なくとも1つの指標値範囲と比較すること、および前記比較の結果を少なくとも部分的に用いて指標を決定することを含む。よって、ひと度、バイオマーカー値が指標を決定するために使用するために好適であることが確定されれば、指標を計算し、被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を評価するために指標値範囲と比較することができる。

【0124】

この後、本方法はさらに、指標の表現を作成することを含み得る。これに関して、表現は、例えば医師による指標の可視化を可能とし、これにより医師は、診断およびあればどんな介入かの評価を行うことができる。表現はいずれの適当な形態であってもよく、指標値の英数表示、指標値と1以上の閾値の比較のグラフ表示、および被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度の英数表示のうち1以上を含み得る。表現の具体例は、以下により詳細に記載する。

【0125】

本方法は一般に、例えば、コンピューターまたはサーバーなどの1以上のプロセッシングシステムの一部を形成する1以上の電子プロセッシングデバイスを少なくとも部分的に使用して実施され、これらは次に、以下により詳細に記載するように、ネットワークアーキテクチャーを介してモバイルホンまたはポータブルコンピューターなどの1以上の他のコンピューターデバイスに接続され得る。

【0126】

一例では、1以上の電子プロセッシングデバイスがバイオマーカー値を受け取り、バイオマーカー値を用いて指標を決定し、バイオマーカー値のうち少なくとも2つを用いて少なくとも1つの対照値を決定し、少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較し、その比較の結果を用いてその検査が妥当な検査であるかどうかを決定する。

【0127】

これに関して、バイオマーカー値は、それらの値が予め保存されていたデータベースなどから受け取ることができ、またはバイオマーカー値を決定する際に使用されるPCR装置などの測定デバイスから直接受け取ることでもできる。次に、プロセッシングデバイスは、測定の妥当性を自動的に評価することができる、次いで、妥当であれば、指標を計算し、必要に応じてこれの表現を作成および表示する。よって、これはサンプルが測定デバイスにロードされた時点から実質的に自動化された手順を提供し得ることが認識されるであろう。

【0128】

一例では、1以上の電子プロセッシングデバイスは、各対照値を個々の閾値範囲と比較し、各対照値に関する比較の成功に応じて指標を表示する前に、第1のバイオマーカー値と第2のバイオマーカー値の比を用いて第1の指標値を計算すること、第3のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いて第2の指標値を計算すること、および第1の指標値と第2の指標値の和を決定することにより指標を決定する。1以上の電子プロセッシングデバイスも同様に、第1のバイオマーカー値と第3のバイオマーカー値の比を用いて第1の対照値を計算すること、第1のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いて第2の対照値を計算すること、第2のバイオマーカー値と第3のバイオマ

10

20

30

40

50

ーカークの比を用いて第3の対照値を計算すること、および第2のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比を用いて第4の対照値を計算することにより、複数の内部相対対照値を決定する。

#### 【0129】

バイオマーカーが遺伝子発現産物である場合、標的バイオマーカーの相対存在量はこのようにして決定することができ、サンプルが標的遺伝子発現産物を含むように生物学的被験体からサンプルを得、次に、そのサンプル中の少なくとも標的遺伝子発現産物を増幅し、その後、各遺伝子発現産物に関して、定義されたレベルの個々の遺伝子発現産物を得るために必要とされる増幅量を決定し、その増幅量は、サイクル時間、増幅サイクル数、サイクル閾値、または増幅時間などに基づくサンプル中の遺伝子発現産物の濃度に依存する。この場合、相対バイオマーカーは、個々の遺伝子発現産物に関する増幅時間を差し引くことにより、増幅時間の組合せを用いて作成することができ、従って、これらの相対バイオマーカー値は、個々の遺伝子発現産物の相対濃度の比を表す。

10

#### 【0130】

上記のプロセスは一般に、少なくとも1つの医学的病態の臨床徴候を呈する生物学的被験体に対して実施されることが認識されるであろう。この場合、医師は一般に、臨床徴候の初期評価を行い、行うべき特定の検査を確定する。例えば、医師が、その被験体が*i p S I R S*を有し得ると識別すれば、上記のプロセスは一般に*L A M P 1*、*C E A C A M 4*、*P L A C 8*および*P L A 2 G 7*の相対濃度に対応する相対バイオマーカー値を用いて行われる。

20

#### 【0131】

より一般には、臨床徴候は第1および第2の病態に共通であってもよく、その場合、指標は、第1の病態と第2の病態を識別するために使用するためのものである。よって、例えば、*i n S I R S*および*i p S I R S*は一般に類似の臨床徴候を有し、従って、医師はこれらの病態を識別するためにその指標を使用することができる。

#### 【0132】

よって、上記は、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するために使用することができ、前記バイオマーカーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、その方法は、

a) 複数のバイオマーカー値を決定すること、各バイオマーカー値は、測定された値または生物学的被験体の少なくとも1つの対応する測定バイオマーカーから導出された値を示す；

30

b) 以下のことにより生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

i) 第1および第2のバイオマーカー値を用いて第1の指標値を計算すること；

i i) 第3および第4のバイオマーカー値を用いて第2の指標値を計算すること；

；

i i i) 第1および第2の指標値を用いて指標を決定すること；

c) 以下のうち少なくとも1つを計算すること；

i) 第1および第3のバイオマーカー値を用いた第1の対照値；

40

i i) 第1および第4のバイオマーカー値を用いた第2の対照値；

i i i) 第2および第3のバイオマーカー値を用いた第3の対照値；

i v) 第2および第4のバイオマーカー値を用いた第4の対照値；

d) 前記少なくとも1つの対照値を個々の対照値閾値と比較すること；ならびに

e) 前記比較の結果を用いて、前記バイオマーカー値が妥当であるかどうかを選択的に確認すること

を含む。

#### 【0133】

よって、上記は、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を決定する際に使用された指標の妥当性を確認するためにも使用することができ、前記バイオマ

50

カーは選択されたタイプの定量技術を用いて定量され、その方法は、

a) 生物学的被験体からサンプルを取得すること、前記サンプルは遺伝子発現産物を含む；

b) 前記サンプル中の遺伝子発現産物の濃度を決定するために、前記サンプル中の少なくとも一部の遺伝子発現産物を定量すること；

c) 以下を組み合わせることにより、生物学的被験体が少なくとも1つの医学的病態を有する尤度を示す指標を決定すること；

i) 第1の遺伝子発現産物と第2の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の指標値；および

i i) 第3の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の指標値；

10

d) 以下を決定することにより対照値を決定すること；

i) 第1の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第1の対照値；

i i) 第1の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第2の対照値；

i i i) 第2の遺伝子発現産物と第3の遺伝子発現産物の濃度比を示す第3の対照値

；

i v) 第2の遺伝子発現産物と第4の遺伝子発現産物の濃度比を示す第4の対照値；

e) 各対照値を個々の対照値閾値と比較すること；ならびに

f) 前記比較の結果を用いて前記指標妥当性を選択的に確認すること

を含む。

【0134】

20

一例では、このプロセスは、分散アーキテクチャーの一部として作動する1以上のプロセッシングシステムにより実行され、以下、その例を、図2を参照して説明する。

【0135】

この例では、複数のベースステーション201が、インターネット202、および/または複数のローカルエリアネットワーク(LAN)204などのコミュニケーションネットワークを介して、複数のクライアントデバイス203および1以上の測定デバイス205、例えばPCRまたはシーケンシング装置などに連結される。ネットワーク202、204の構成は単に例示目的であり、実際には、ベースステーション201、クライアントデバイス203および測定デバイス205は、限定されるものではないが、モバイルネットワーク、プライベートネットワーク(例えば、802.11ネットワーク)、インターネット、LAN、またはWANなどを含む有線または無線接続を介するもの、ならびに直接接続またはBluetooth(登録商標)などのポイント・ツー・ポイント接続などを介するものといったいずれかの適当な機構を介して通信し得ることが認識されるであろう。

30

【0136】

一例では、各ベースステーション201は1以上のプロセッシングシステム210を含み、それらはそれぞれ1以上のデータベース211に連結させることができる。ベースステーション201は、指標を計算し、妥当性を確認し、クライアントデバイスを介して表示されるこれらに関する表現を作成するように適合されている。クライアントデバイス203は一般に、ベースステーション201と通信するように適合され、指標表現を表示させることを可能とする。

40

【0137】

ベースステーション201は単一の实体として示されているが、ベースステーション201は、例えば、クラウドベースの環境の一部として提供されるプロセッシングシステム210および/またはデータベース211を使用することにより、複数の地理的に分かれた場所に分散させる得ることが認識されるであろう。しかしながら、上記の構成は必須ではなく、他の好適な配置も使用可能である。

【0138】

好適なプロセッシングシステム210の一例を図3に示す。この例では、プロセッシングシステム210は、示されているようにバス304を介して相互接続された少なくとも

50

1つのマイクロプロセッサ300、メモリ301、任意選択の入力/出力デバイス302（例えば、キーボードおよび/もしくはディスプレイ）、ならびに外部インターフェース303を含む。この例では、外部インターフェース303は、プロセッシングシステム201をコミュニケーションネットワーク202、204、データベース211、または他の保存デバイスなどの周辺デバイスに接続するために利用され得る。単一の外部インターフェース303が示されているが、これは単に例示のためであり、実際には、様々な方法（例えば、イーサネット（登録商標）、シリアル、USB、または無線など）を用いて複数のインターフェースが提供され得る。

#### 【0139】

使用上、マイクロプロセッサ300は、必要とされるプロセスの実行を可能とするためにメモリ301に保存されているアプリケーションソフトウェアの形態で命令を実行する。アプリケーションソフトウェアは1以上のソフトウェアモジュールを含んでよく、オペレーティングシステム環境などの好適な実行環境で実行され得る。

#### 【0140】

よって、プロセッシングシステム201は、適切にプログラムされたクライアントデバイス、PC、ウェブサーバー、またはネットワークサーバーなどの任意の好適なプロセッシングシステムから形成され得ることが認識されるであろう。1つの特定の例では、プロセッシングシステム201は、不揮発性（例えば、ハードディスク）記憶域に保存されているソフトウェアアプリケーションを実行する標準的なプロセッシングシステムであるが、これは必須ではない。しかしながら、プロセッシングシステムは、場合によりFPGA（フィールド・プログラマブル・ゲート・アレイ (Field Programmable Gate Array)）などの実装ロジックと関連したマイクロプロセッサ、マイクロチッププロセッサ、論理ゲート構成、ファームウェアなどの任意の電子プロセッシングデバイス、または他の任意の電子デバイス、システムまたは構成であり得るということも理解されるであろう。

#### 【0141】

図4に示されるように、一例では、クライアントデバイス203は、示されているようにバス404を介して相互接続された、少なくとも1つのマイクロプロセッサ400、メモリ401、入力/出力デバイス402（例えば、キーボードおよび/またはディスプレイ）、ならびに外部インターフェース403を含む。この例では、外部インターフェース403は、クライアントデバイス203を、コミュニケーションネットワーク202、204、データベース、または他の保存デバイスなどの周辺デバイスに接続するために利用され得る。単一の外部インターフェース403が示されているが、これは単に例示のためであり、実際には、様々な方法（例えば、イーサネット、シリアル、USB、または無線など）を用いて複数のインターフェースが提供され得る。

#### 【0142】

使用上、マイクロプロセッサ400は、ベースステーション201との通信を可能とするため、例えば、パラメータ値の選択および表現の可視化などを可能とするために、メモリ401に保存されているアプリケーションソフトウェアの形態で命令を実行する。

#### 【0143】

よって、クライアントデバイス203は、適切にプログラムされたPC、インターネット端子、ラップトップ、またはハンドヘルドPCなどの任意の好適なプロセッシングシステム（好ましい例では、タブレットまたはスマートフォンなどである）から形成され得ることが認識されるであろう。よって、一例では、プロセッシングシステム210は、不揮発性（例えば、ハードディスク）記憶域に保存されているソフトウェアアプリケーションを実行する標準的なプロセッシングシステムであるが、これは必須ではない。しかしながら、また、クライアントデバイス203は、FPGAなどの実装ロジックと関連したマイクロプロセッサ、マイクロチッププロセッサ、論理ゲート構成、ファームウェアなどの任意の電子プロセッシングデバイス、または他の任意の電子デバイス、システムまたは構成であり得ることも理解されるであろう。

10

20

30

40

50

## 【0144】

以下、指標を決定し、その測定の妥当性を確認するためのプロセスの例をさらに詳細に説明する。これらの例の目的では、1以上のプロセッシングシステム210は、測定デバイスから測定バイオマーカー値を受け取り、指標値および対照値を計算し、これらを用いて指標を計算し、その妥当性を確認する働きをし、次にその指標がホストのウェブページまたはクライアントデバイス203上に存在するAppを介して表現の一部として表示され得ることが想定される。従って、プロセッシングシステム210は一般に、利用可能な特定のネットワークインフラに応じて、コミュニケーションネットワークを介してクライアントデバイス203および測定デバイス205と通信するサーバーである。

## 【0145】

これを達成するためには、ベースステーション201のプロセッシングシステム210は一般に、必要とされるプロセスを遂行するためのアプリケーションソフトウェアを実行し、プロセッシングシステム210により遂行されるアクションは、メモリー301内にアプリケーションソフトウェアとして保存されている命令、および/またはI/Oデバイス302を介してユーザーから受け取られた入力コマンド、またはクライアントデバイス203から受け取られたコマンドに従って、プロセッサ300により実行される。

## 【0146】

また、ユーザーは、クライアントデバイス203に提供されているGUI（グラフィックユーザーインターフェース）などを介して、1つの特定の例では、ベースステーション201、またはプロセッシングシステム210により供給されたデータを表示するAppをホストとするウェブページを表示するブラウザアプリケーションを介して、プロセッシングシステム210と相互作用することも想定されるであろう。クライアントデバイス203により遂行されるアクションは、メモリー401内にアプリケーションソフトウェアとして保存されている命令および/またはI/Oデバイス402を介してユーザーから受け取られた入力コマンドに従って、プロセッサ400により遂行される。

## 【0147】

しかしながら、上記の構成は以下の例の目的では必須ではないと想定され、他の多くの構成が使用可能であることが認識されるであろう。また、クライアントデバイス203とベースステーション201の間の機能の区分は特定の実施によって可変であるということも認識されるであろう。

## 【0148】

以下、対照および指標参照wp確定するための一例のプロセスを、図5を参照してより詳細に説明する。

## 【0149】

この例では、工程500で、プロセッシングシステム210が、参照集団に関して得られたバイオマーカー値の形態で参照データを決定する。

## 【0150】

参照集団は、情報が収集される任意の対象集団であり、それに対する参照を作成することができる。例えば、前記集団は、ある病態を有するもしくは有さないもの、または種々の程度の重篤度、予後、病期もしくは類似の疾患または病態階層化法を有するものに分類され得る。

## 【0151】

参照データは、適当ないずれの方法で取得してもよいが、一般に、これは対象とする1以上の病態を有すると診断された個体ならびに健常個体を含むように選択された複数の個体から遺伝子発現産物データを取得することを含む。用語「発現」または「遺伝子発現」は、RNAの産生のみまたはRNAの産生とRNAのタンパク質もしくはポリペプチドへの翻訳を意味する。特定の実施形態では、用語「発現」または「遺伝子発現」は、メッセンジャーRNA（mRNA）、リボソームRNA（rRNA）、マイクロRNA（miRNA）、もしくはミトコンドリアRNA（mtRNA）、ノンコーディングRNA（ncRNA、lncRNA（long））、低分子干渉RNA（siRNA）、トランスファ

10

20

30

40

50



ーRNA ( tRNA ) など他のRNAクラス、またはタンパク質の生産を意味する。

【 0 1 5 2 】

本明細書で使用される場合、用語「マイクロRNA」または「miRNA」は、標的mRNA上の相補配列との結合を介して標的メッセンジャーRNA ( mRNA ) 転写産物を転写後調節し、標的mRNAの分解をもたらす、およそ18 ~ 30ヌクレオチド長 ( 好適には18 ~ 24ヌクレオチド、一般には21 ~ 23ヌクレオチド長 ) の短いボ核酸 ( RNA ) を意味する。これらの用語はまた、miRNA遺伝子からの前駆体 ( 非プロセッシング ) または成熟 ( プロセッシング ) RNA転写産物も包含する。前駆体miRNAの成熟miRNAへの変換は、Dicer、Argonaut、またはRNAアーゼIIIなどのRNAアーゼによって補助される。

10

【 0 1 5 3 】

参照データ内に取り込まれる病態は、一般に医学的、獣医学的または他の健康状態であり、任意の病気、疾患、疾患の病期、疾患のサブタイプ、疾患の重篤度、または種々の予後の疾患などを含み得る。

【 0 1 5 4 】

参照バイオマーカー例は、核酸またはタンパク質性分子などの発現産物、ならびに臨床評価を下す際に適切な他の分子を含み得る。

【 0 1 5 5 】

参照集団中の個体はまた一般にいずれの病態も参照集団に関する特性決定プロセスの一部として臨床的に同定可能とする臨床評価を受け、いずれの評価または病態の表示も参照データの一部を形成する。いずれの病態も評価され得るが、一例では、このプロセスは具体的には、SIRS ( 全身性炎症反応症候群 ) (M S Rangel-Frausto, D Pittet, M Costigan, T Hwang, C S Davis, and R P Wenzel, "The Natural History of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS). a Prospective Study.", JAMA : the Journal of the American Medical Association 273, no. 2 (January 11, 1995): 117-123.)などの病態を同定するために使用される。SIRSは感染性または非感染性病因を持ち得る圧倒的な全身反応であり、一方、敗血症は、感染中に起こるSIRSである。双方とも心拍数、呼吸数、体温および白血球総数における変化を含むいくつかの非特異的宿主応答パラメーターによって定義される (Mitchell M Levy et al., "2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference", Critical Care Medicine 31, no. 4 (April 2003): 1250-1256.; K Reinhart, M Bauer, N C Riedemann, and C S Hartog, "New Approaches to Sepsis: Molecular Diagnostics and Biomarkers", Clinical Microbiology Reviews 25, no. 4 (October 3, 2012): 609-634)。これらの病態を区別するために、それらは本明細書ではSIRS ( 両病態 )、感染陰性SIRS ( 感染のないSIRS、以下、本明細書では「inSIRS」と呼ばれる ) および感染陽性SIRS ( 敗血症、既知のまたは疑われる感染のあるSIRS、以下、本明細書では「ipSIRS」と呼ばれる ) と呼ばれる。SIRSの原因は複数あり、様々であり、限定されるものではないが、外傷、火傷、肺炎、内毒素血症、手術、有害薬物反応、および感染 ( 局部および全身 ) を含み得る。しかしながら、以下から、これはある範囲の異なる病態に当てはまり得、inSIRSまたはipSIRSに対する言及は限定を意図しないことが認識されるであろう。

20

30

40

【 0 1 5 6 】

また、参照集団に関して付加的参照データが収集されてもよく、機器的測定または臨床評価によっては生成されなかったまたは取り込まれなかった、個体および/またはそれらの関連個体の1以上の表現型パラメーターまたは臨床パラメーターなどの付加的バイオマーカーを含み得る。表現型パラメーターは、性別、人種、年齢、毛の色、眼の色、身長、体重、または胴囲および腰囲などの情報を含み得る。また、ヒト以外の個体に適用される技術の場合、これはまた、種、または品種などの呼称のような情報も含み得る。臨床形質は、遺伝情報、白血球総数、拡張期血圧および収縮期血圧、骨密度、肥満度指数、糖尿病の有無、安静時心拍数、HOMA ( ホメオスタシスモデル評価 )、HOMA - IR ( ホメ

50

オスタシスモデル評価インスリン抵抗性)、IVGT(静脈内糖負荷試験)、安静時心拍数、細胞機能、大血管機能、微小血管機能、アテローム指数、低密度リポタンパク質/高密度リポタンパク質比、内臓中膜厚、体温、およびSequential Organ Failure Assessment(SOFA)などを含み得る。

#### 【0157】

参照集団は2つの機能を持ち、1つは、対象とする病態に関して患者の特性決定を行うこと、この例では、患者をinSIRSとipSIRSに分類することである。もう1つは、アッセイに使用される値を生成するために必要とされる値を取り込むことである。よって、参照集団に関して、また、特定の指標に関して、参照データに指標を適用するとinSIRSおよびipSIRSなどの既知のカテゴリまたは程度に対応する値の参照指標分布が得られ、これに対して新規サンプルから決定された指標値を比較することができる。

10

#### 【0158】

同様に、内部相対対照も参照集団データを用いて作成し、各新規サンプルに関して同様に作成された内部相対対照と比較することができる。

#### 【0159】

参照集団内の各個体は一般に群に割り当てられる。これらの群は、ある病態の存在、不在、程度、病期、重篤度、予後もしくは進行の指標、他の検査もしくはアッセイ、またはその個体に関連する測定バイオマーカーのうちいずれか1以上などの任意の適当な様式で定義され得る。

20

#### 【0160】

例えば、群の第1の選択は、SIRSに罹患している個体の1以上の群、ipSIRSに罹患している個体の1以上の群、およびinSIRSに罹患している個体の1以上の群を識別するために使用可能である。また、他の病態に罹患している個体に関してさらなる群が定義されてもよい。これらの群は重複する群を含んでもよく、従って例えば、健常個体およびSIRSを有する個体の群を定義すること(さらにipSIRS患者からinSIRS患者を識別するために定義される)ならびにinSIRSまたはipSIRSの異なる程度を定義すること(これらの群は共通にSIRSを有するが、各患者群は臨床医が感染の存在を決定したかどうかで異なる)が望ましい場合がある。加えて、表現形質に基づいてさらなる再分が実行されてもよく、従って、群は性別または人種などに基づいて定義可能であり、それにより、ある病態に罹患している個体の複数の群が定義され、各群は異なる表現形質に関連する。

30

#### 【0161】

しかしながら、また、異なる群の識別は、例えば、参照個体の生物学的サンプル内のバイオマーカーの特定の活性または特性に基づくなどの他の方法で行ってもよく、従って、病態に対する言及は限定されるものではなく、必要に応じて他の情報も使用可能であるということも認識されるであろう。

#### 【0162】

参照集団中の患者の群への分類が実施される方法は、好ましい実施によって異なり得る。一例では、これは、プロセッシングシステム201により、例えば、主成分分析(PCA)などの教師なしの方法(unsupervised methods)、またはk-平均法(k-means)もしくは自己組織化マップ(Self Organizing Map)(SOM)などの教師ありの方法(supervised methods)を用いて自動的に実行され得る。あるいは、これは、オペレーターに、グラフィックユーザーインターフェース(GUI)に提供される参照データを再検討させ、適当な入力コマンドを用いて各群を定義させることによって、オペレーターにより手動で実行されてもよい。

40

#### 【0163】

従って、一例では、参照データは、少なくとも1つのおよび望ましくは複数の参照バイオマーカーに関する参照個体情報のそれぞれに関して、ある病態の存在、不在、程度または進行を含み得る。

50

## 【0164】

参照データは、ある医療センターにおいて、対象とする任意の関連のある病態に関する臨床徴候を呈する個体から収集してもよく、臨床評価を確定するため、ならびにバイオマーカー、および/または臨床徴候、および/または臨床徴候の重篤度の変化を識別するために、一定期間にわたる追跡診察を含み得る。この後者の場合、参照データはある病態の進行および/または参照バイオマーカーの活性を示す時系列データを含んでよく、従って、ある個体に関する参照データは、その個体の病態が改善、増悪または安定しているかどうかを決定するために使用することができる。また、参照バイオマーカーはそのサンプル集団内の個体については好ましくは実質的に類似し、従って、個体間での測定された活性の比較を行うことができることも認識されるであろう。

10

## 【0165】

この参照データはまた、単一の個体から経時的に、例えば、その個体の進行内のある病態として収集することもできるが、より一般には、それぞれが対象とする1以上の病態の異なる病期を有する複数の個体から取得される。

## 【0166】

ひと度収集されれば、参照データはデータベース211に保存することができ、それにより次に、これがその後の分析のためにプロセッシングシステム210により検索可能となり、または分析のためにプロセッシングシステム210に直接提供することもできることが認識されるであろう。

## 【0167】

一例では、測定は生データとして受け取られ、その後、前処理を受ける。このような生データは、PCR装置、アレイ（例えば、マイクロアレイ）スキャナ、シーケンシング装置などの機器からの出力、臨床記録または他の任意の生化学的、生物学的観察データなどの情報源から無修正で得られた情報に相当する。この工程は、生データを分析により良く適合された形式に変換するために使用できる。一例では、これは、生データを正規化し、それにより、異なる技術、または異なる装置などを用いて測定された場合でもバイオマーカー値が一貫性を示すように補助するために行われる。よって、正規化の目的は、検討下の特定の分析に直接帰属し得ないサンプル内の変動を除去することである。例えば、異なる部位におけるサンプル処理の違いによって起こった変動を除去するため。当技術分野で周知の正規化の例としては、全般的データに関するz-スコア変換、またはマイクロアレイのためのRMA正規化などのポピュラー・ドメイン・スペシフィック・ノーマライゼーション(popular domain specific normalization)が含まれる。

20

30

## 【0168】

しかしながら、また、単一のデータ取得装置で実施される単一サンプル試験などの一部の適用では、この工程は厳密には必要ではなく、この場合、関数は、入力と同一の出力を生じる零関数であり得ることも認識されるであろう。

## 【0169】

一例では、参照データを作成するための好ましいアプローチは、対数正規化データに対する対関数アプローチである。対数正規化は、機器により直接測定される場合には測定されたバイオマーカーが対数正規分布に従うことから、遺伝子およびタンパク質発現データに対する標準的なデータ変換である。対数変換を適用すると、データはプロセスに適した正規分布データとなる。測定されたバイオマーカー値は、このようにして測定される優勢な病態によって異なり、例えば、被験体がinSIRSではなくipSIRSを有する尤度を決定する場合では、使用されるRNAバイオマーカー $B_{m_1}$ 、 $B_{m_2}$ 、 $B_{m_3}$ 、 $B_{m_4}$ は、LAMP1、CEACAM4、PLA2G7およびPLA2G7であり得る。第2の可能性のある例として、被験体が肝臓疾患を有する尤度を決定する場合には、使用されるタンパク質バイオマーカー $B_{m_1}$ 、 $B_{m_2}$ 、 $B_{m_3}$ 、 $B_{m_4}$ は、アルカリ性ホスファターゼ(AP)、アミノトランスフェラーゼ(AT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AspAT)および-グルタミルトランスペプチダーゼ(GGT)であり得る。

40

## 【0170】

50

上記のプロセスの一部として、工程 5 1 0 で、それらの測定が首尾良く実施された、ゆえに妥当であることを保証するために、それらの測定は慣例の従来技術を用いて妥当性が確認される。

#### 【0171】

工程 5 2 0 では、参照集団に関して少なくとも 4 つの内部相対対照値  $C t r l_1$ 、 $C t r l_2$ 、 $C t r l_3$ 、 $C t r l_4$  が決定され、場合により 2 つの付加的対照値  $C t r l_5$ 、 $C t r l_6$  が次のように決定される。

$$C t r l_1 = (B m_1 / B m_3)$$

$$C t r l_2 = (B m_1 / B m_4)$$

$$C t r l_3 = (B m_2 / B m_3)$$

$$C t r l_4 = (B m_2 / B m_4)$$

$$C t r l_5 = (B m_1 / B m_2)$$

$$C t r l_6 = (B m_3 / B m_4)$$

10

#### 【0172】

工程 5 3 0 では、対照値は個々の対照参照データを更新または作出するために使用される。これに関して、現行の例では、各対照参照は、健常個体および対象とする病態に罹患している個体を含む参照集団に関する対照値の分布の形態である。分布自体を対照参照として使用することができ、あるいはまた、閾値範囲を定義するためなど、それから 1 以上の値を導出することもできる。例えば、これは分布の 99% を包含するように設定され得る。

20

#### 【0173】

あるいは、対照参照は、性別、人種、年齢、体重、身長または被験体の他の物理的特徴など、その個体の特徴に特異的となるように定義することもでき、それにより、類似の特徴を有する個体の異なる群に関して異なる対照参照を定義することが可能となる。

#### 【0174】

ひと度、対照参照、特に、対照分布が作出されれば、その後の使用のためにデータベース 2 1 1 に保存される。

#### 【0175】

工程 5 4 0 では、第 1 および第 2 の指標値が決定される。第 1 および第 2 の指標値  $I n_1$ 、 $I n_2$  は、それぞれ第 1 のバイオマーカー値と第 2 のバイオマーカー値、および第 3 のバイオマーカー値と第 4 のバイオマーカー値の比に基づいて決定される。

30

$$I n_1 = (B m_1 / B m_2)$$

$$I n_2 = (B m_3 / B m_4)$$

#### 【0176】

これらの指標値は、工程 5 5 0 で指標参照のセットを更新または作出するために使用され、前記セットは、その被験体がある病態を有する尤度を確定するためにその被験体に関して測定された指標値を分析する際に使用される。特に、各参照群に関する指標値は、各群を示す指標値の範囲または分布を確定するために統計的に分析され、それにより、以下に詳細に記載するように、それらの指標値が異なる群間を識別するため、ゆえに被験体が特定の病態に罹患している尤度を確定するために使用可能となる。

40

#### 【0177】

以下、指標作成時に使用されたバイオマーカー値の測定の妥当性を確認するためのプロセスのプロセス例を、図 6 を参照してより詳細に説明する。

#### 【0178】

この例では、工程 6 0 0 において、4 つのバイオマーカー  $B m_1$ 、 $B m_2$ 、 $B m_3$ 、 $B m_4$  の値が測定デバイス 2 0 5 により測定される。選択されたこれら 4 つのバイオマーカー値は、評価される優勢な病態によって異なる。例えば、患者が  $i n S I R S$  ではなく  $i p S I R S$  を有する尤度を決定する場合には、使用されるバイオマーカー  $B m_1$ 、 $B m_2$ 、 $B m_3$ 、 $B m_4$  は  $L A M P 1$ 、 $C E A C A M 4$ 、 $P L A C 8$  および  $P L A 2 G 7$  となる。

50

## 【0179】

工程610では、プロセッシングシステム210は、測定デバイス205から直接またはデータベース211もしくは他のデータストアに保存後に値を検索することにより、第1および第2の指標値を決定する。第1および第2の指標値 $I_{n1}$ 、 $I_{n2}$ はそれぞれ第1のバイオマーカー値と第2のバイオマーカー値、および第3のバイオマーカー値と第4のバイオマーカー値の比に基づいて決定される。

$$I_{n1} = (B_{m1} / B_{m2})$$

$$I_{n2} = (B_{m3} / B_{m4})$$

## 【0180】

工程620では、プロセッシングデバイス210は、第1の指標値と第2の指標値の和または他の類似の尺度を用いて達成され得る指標 $I_n$ を決定するために指標値を組み合わせる。従って、例えば、

$$I_n = I_{n1} + I_{n2} = (B_{m1} / B_{m2}) + (B_{m3} / B_{m4})$$

## 【0181】

工程630では、プロセッシングデバイス210は、4つの対照値 $C_{trl1}$ 、 $C_{trl2}$ 、 $C_{trl3}$ 、 $C_{trl4}$ 、および場合により付加的対照値 $C_{trl5}$ 、 $C_{trl6}$ を次のように決定する。

$$C_{trl1} = (B_{m1} / B_{m3})$$

$$C_{trl2} = (B_{m1} / B_{m4})$$

$$C_{trl3} = (B_{m2} / B_{m3})$$

$$C_{trl4} = (B_{m2} / B_{m4})$$

$$C_{trl5} = (B_{m1} / B_{m2})$$

$$C_{trl6} = (B_{m3} / B_{m4})$$

## 【0182】

よって、図6に示されるように、4つのバイオマーカー $B_{m1}$ 、 $B_{m2}$ 、 $B_{m3}$ 、 $B_{m4}$ の値の各可能性のある比が計算され、それらの比のうち2つが指標値、ゆえに指標を形成するために使用され、これらの比は総て対照値に使用される。

## 【0183】

次に、これらの対照値はそれぞれ、工程640において、個々の対照参照、特に、対照分布と比較される。これに関して、プロセッシングシステム210は、個々の対照値 $C_{trl1}$ 、 $C_{trl2}$ 、 $C_{trl3}$ 、 $C_{trl4}$ 、場合により付加的対照値 $C_{trl5}$ 、 $C_{trl6}$ を決定するために使用される特定のバイオマーカーに関して個々の対照分布を検索し、これらの対照分布は上記のように、予め決定され、データベース211に保存されていることが認識されるであろう。工程650では、プロセッシングシステム210は、前記比較の結果に基づいて各対照値が許容されるかどうかを決定する。これに関して、いずれか1つの対照値が定義された対照値閾値範囲の外側にあれば、これは検査の不適合を示し、それは、工程660において、例えば、その検査を要求する医師のクライアントデバイス203に表示を行うことにより、ユーザーに伝達される。そうでなければ、以下により詳細に記載するように、工程670において、指標の表現がクライアントデバイス203に表示される。

## 【0184】

上記のプロセスにおいて、4つのバイオマーカー $B_{m1}$ 、 $B_{m2}$ 、 $B_{m3}$ 、 $B_{m4}$ の値は、4つの（または場合により6つ）の対照値を決定するために使用される。各バイオマーカー（ $B_{m1}$ 、 $B_{m2}$ 、 $B_{m3}$ 、 $B_{m4}$ ）は対照（ $C_{trl1}$ 、 $C_{trl2}$ 、 $C_{trl3}$ 、 $C_{trl4}$ ）としての他のバイオマーカーとの多重比較に含まれるので、各バイオマーカーがただ1つの予測範囲に対してまたは単一の対照バイオマーカーに対して測定された場合よりも、妥当でない基礎バイオマーカーを検出する機会が増える。この各バイオマーカーの多重検定により、図7Bの構成に示されるように、非依存的対照との個々の比較で達成されるものより遙かに高い感度を得られる。

## 【0185】

10

20

30

40

50

例えば、測定バイオマーカーに基づく標準的な対照戦略を表す図 7 B の場合、 $Bm_1$  は、対照と相対して、または等価に、値を導出するために対照を用いて絶対値と相対して測定される。予測範囲の外側にある測定値は 1000 サンプルに 1 回見られるに過ぎず、従って、もし測定値がこの範囲の外側であれば、このサンプル測定がその分布に属す（すなわち、それが妥当である）確率は  $1 / 1000$  であり、偽検出の  $p$  値は  $0.001$  である。

#### 【0186】

これに対し、図 7 A の現行システムの場合では、バイオマーカー  $Bm_1$  の測定値は、バイオマーカー  $Bm_2$ 、 $Bm_3$ 、 $Bm_4$  のそれぞれと比較される。それぞれは  $Bm_1$  の測定値に対する非依存的チェックを表し、従って、その範囲の外側の値は、各比較に関して 1000 サンプルに 1 回だけである。このサンプルが妥当なサンプルの分布内でない（不適格である）確率は  $1 / 1000 \times 1 / 1000 \times 1 / 1000$  であり、従って、不適格な検出の  $p$  値は  $1e-9$  であり、このことは図 7 A に示されるこの相対対照の組合せは図 7 B に示される標準的な測定対照よりも 100 万倍感度が高いことを意味する。

#### 【0187】

以下、さらなる例を図 8 A および 8 B を参照して説明する。

#### 【0188】

この例では、工程 800 において、被験体からサンプルが取得される。このサンプルは、決定されるバイオマーカー値の性質に応じて、末梢血サンプルなどのいずれの好適なサンプルであってもよい。工程 805 で前記サンプルは調製を受け、これにより、これが測定デバイス 205 に提供され、工程 810 で定量プロセスにおいて使用されることが可能となる。この例の目的では、定量プロセスは PCR 増幅を含み、測定デバイスは PCR 装置であるが、他の好適なバイオマーカー測定デバイスおよび技術も使用可能である。この場合、工程 815 において増幅時間  $At_1$ 、 $At_2$ 、 $At_3$ 、 $At_4$  が、4 つのバイオマーカー  $Bm_1$ 、 $Bm_2$ 、 $Bm_3$ 、 $Bm_4$  のそれぞれに関して決定され、これらの増幅時間は測定デバイス 205 からプロセッシングシステム 210 に転送され、これにより、プロセッシングシステム 210 は対応するバイオマーカー値の分析を実行することが可能となる。

#### 【0189】

よって、工程 820 において、プロセッシングシステム 210 は増幅時間を用いて比を計算する。これに関して、増幅時間は対数値を表すので、当業者により認識されるように、比は増幅時間を差し引くことにより決定される。

#### 【0190】

よって、この例では、指標および対照値は次のように決定される。

$$\begin{aligned} Ctrl_1 &= (Log Bm_1 - Log Bm_3) = (At_1 - At_3) \\ Ctrl_2 &= (Log Bm_1 - Log Bm_4) = (At_1 - At_4) \\ Ctrl_3 &= (Log Bm_2 - Log Bm_3) = (At_2 - At_3) \\ Ctrl_4 &= (Log Bm_2 - Log Bm_4) = (At_2 - At_4) \end{aligned}$$

#### 【0191】

従前に述べたように、指標値はまた対照値としても使用可能であり、2 つのさらなる対照値が得られる。

$$\begin{aligned} Ctrl_5 &= (Log Bm_1 - Log Bm_2) = (At_1 - At_2) \\ Ctrl_6 &= (Log Bm_3 - Log Bm_4) = (At_3 - At_4) \end{aligned}$$

#### 【0192】

プロセッシングシステムは、工程 825 で、これらの対照値を表す比をデータベース 211 から検索された個々の対照値閾値範囲と比較する。この場合にもまた、これは被験体の特徴に基づくものであり得、これらの対照値は、類似の特徴を有する個体のサンプル集団に関して測定された対照値から導出される。

#### 【0193】

工程 830 で、プロセッシングシステム 210 は、対照比が許容可能な対照値に相当す

るかどうかが、言い換えれば、それらが定義された閾値範囲内にあるかどうかを決定する。そうでない場合には、工程 8 3 5 で、例えば、プロセッシングシステム 2 1 0 に不適格の通知を出させ、これをクライアントデバイス 2 0 5 に提示させることにより、検査の不適格が示される。この通知はいずれの好適な形態であってもよく、電子メール、または検査管理ソフトウェアアプリケーションのダッシュボードの通知を含み得る。この一部として、対照値範囲の外側にあるいずれのアウトライアー比も識別することができ、オペレーターにバイオマーカー値のいずれかが不適格であるか、または何らかの理由で正確に測定されなかったかを識別することを可能とする。

#### 【0194】

対照値のそれぞれが許容可能である場合、工程 8 4 0 で、プロセッシングシステム 2 1 0 は、次のように指標値に関する比を組み合わせることによって指標値を決定する。

$$I n = ( L o g \quad B m _ { 1 } - L o g \quad B m _ { 2 } ) + ( L o g \quad B m _ { 3 } - L o g \quad B m _ { 4 } ) = ( A t _ { 1 } - A t _ { 2 } ) + ( A t _ { 3 } - A t _ { 4 } )$$

#### 【0195】

次に、工程 8 4 5 で、プロセッシングシステム 2 1 0 は、指標値を 1 以上の個々の指標閾値と比較する。

#### 【0196】

従前に記載したように、指標参照はサンプル集団に関して導出され、被験体が i p S I R S または別の病態に罹患している尤度を示すために使用される。これを達成するために、指標参照は一般に被験体と類似の特徴を有するサンプル集団から導出される。サンプル集団は一般に、臨床評価に基づいて、それらの病態またはその病態の重篤度、リスクもしくは進行病期の尺度を有する / 有さない群に分類され、これは次に、これらの群間を識別するかまたは重篤度、リスクもしくは進行病期の尺度を提供することができる閾値指標値を評価するために使用される。この比較の結果は、工程 8 5 0 で被験体が i p S I R S を有する尤度を計算するためにプロセッシングシステム 2 1 0 により使用され、これは工程 8 5 5 でこれらの結果の表現を作成するために使用され、それが工程 8 6 0 で表示のために例えば、電子メール、またはダッシュボード表示の一部としてクライアントデバイス 2 0 3 に転送される。

#### 【0197】

表現の一例を図 9 A および 9 B に示す。

#### 【0198】

この例では、表現 9 0 0 は、線形目盛り 9 3 0 に対して動くポインター 9 1 0 を含む。この線形目盛りは、領域 9 2 1、9 2 2、9 2 3、9 2 4 に分割され、被験体が S I R S または敗血症のいずれかを有する確率を示す。工程 9 3 0 で、対応する指標数値が表示され、工程 9 4 0 で、対応する値が i n S I R S の尤度を表すか i p S I R S の尤度を表すかの表示が示される。工程 9 5 1 では、スコアの英数表示が、工程 9 5 2 における生物学的被験体が i p S I R S を有する関連確率とともに示される。

#### 【0199】

この例に示されるように、ポインターが位置する線形目盛りの領域は、被験体はその尺度上のどこに位置するかを絶対的に明瞭にするために、可能性の最も低い診断をグレーアウトして強調される。これにより、工程 8 6 0 で表示された際に臨床が容易に理解し、迅速な診断を行うことが容易である表現が得られる。

#### 【0200】

以下、導出内部対照を使用することの従来技術に優る利益の特徴を、図 1 0 A、1 0 B および 1 0 C を参照して説明する。

#### 【0201】

上記の例を指標値作成時に使用された 4 つの測定バイオマーカーとともに用いる場合の、標準的な対照戦略を図 1 0 A に示す。アッセイのワークフローは物理的構成要素 1 0 1 0 とアルゴリズム的構成要素 1 0 2 0 に分けられ、物理的構成要素 1 0 1 0 は、固有のハードウェア、試薬および非ソフトウェア構成要素であり、アルゴリズム的構成要素 1 0 2

10

20

30

40

50

0 は適当なコンピューティングデバイス 2 1 0 で行われる。測定バイオマーカー 1 0 1 5 および外部測定対照 1 0 3 0 の値は、物理的デバイス 1 0 1 0 を用いて生成される。外部陽性対照 1 0 3 0 は、参照範囲 1 0 4 0 に対して測定することにより、その検査が報告可能な範囲に結果を生成できることを確認するために使用され、できないならば検査 1 0 5 0 を不適格とし、またはできるならばレポート 1 0 7 0 に指標値 1 0 6 0 を出力する。

#### 【0202】

比較のため、内部相対対照を用いた同じデバイスを図 1 0 B に示す。この場合もまた、ワークフローは物理的構成要素 1 0 1 0 とアルゴリズム的構成要素 1 0 2 0 に分けられ、測定バイオマーカー 1 0 1 5 は物理的デバイス 1 0 1 0 で生成される。図 1 0 A に示される外部陽性対照 1 0 3 0 は存在せず、測定バイオマーカー 1 0 1 5 から導出される内部相対対照 1 0 3 5 の付加的生成があることに留意されたい。それ以外の点ではこれら 2 つの方法は参照閾値 1 0 4 0 に対する対照の検定と同等であり、これらの閾値の外側であれば、そのアッセイの不適格が報告され 1 0 5 0、そうでなければ、指標値 1 0 6 0 がレポート 1 0 7 0 の形態で出力される。

#### 【0203】

外部対照 1 0 3 0 の形態のデバイスの物理的構成要素を除き、それらの機能を内部相対対照 1 0 3 5 の使用で置き換えることにより、その検査の対照構成要素が、ユニット当たりのコストが固定された物理的構成要素から、ソフトウェアとして実質的によりスケーラブルなアルゴリズム的構成要素へ移行されたことが認識されるであろう。よって、図 1 0 B に示されるような内部相対対照の使用は、コスト、複雑性および工業生産に関するリスクまたは処理リスクの低さを含め、従来技術の測定対照図 1 0 A の使用に優る利点を有する。

#### 【0204】

この方法の拡張が図 1 0 C の例であり、測定バイオマーカー 1 0 1 5 が、不適格なサンプルが検出されるはずの 1 0 4 0 あらゆる場合を完全にカバーする相対対照 1 0 3 5 を生成できないまたは生成するには実用的でない場合に使用され得る。このような付加的内部相対対照の使用は、指標を含んでなる対照の組合せが全く範囲の外にない場合であっても指標値が妥当でない可能性のある場合に有用である。一例は、感染のために炎症反応を有する人々に使用するために検査が設計される場合であり得、指標値は、その患者が次の 2 4 時間で改善または悪化する尤度の尺度であり得る。この指標はこの集団において予後予測性が高く、この指標に無関連の内部相対バイオマーカーは感染のある者となない者を確実に識別できる可能性がある。この例では、内部相対バイオマーカーは、その患者が実際に感染している、従って、意図される使用集団の一部であること、従って、その指標値がこの患者に使用するために妥当であることを保証するために付加的対照として使用することができる。この場合、付加的測定バイオマーカー 1 0 3 1 は物理的デバイス 1 0 1 0 で、指標値 1 0 6 0 のために使用される測定バイオマーカー 1 0 1 5 と並行して実行することができる。付加的測定バイオマーカー 1 0 3 1 は指標値（検査結果）において使用する必要はなく、いずれの妥当でないサンプルも、許容可能な範囲 1 0 4 0 に関して検査した場合に、検査 1 0 5 0 を適切に不適格にすることを保証するために特に選択される。可能性のある全場合の妥当でないサンプルをカバーするために複数の付加的内部対照 1 0 3 1 が必要とされることもあり、この目標を満たすために他のそれぞれのバイオマーカー、および指標値を含んでなる測定バイオマーカーを組み合わせた付加的測定内部対照に複数の関数が適用されてもよいことが認識されるであろう。さらに、医療デバイスにおいて、外部対照 1 0 3 0 を使用するよりも付加的内部対照 1 0 3 1 を測定する方が簡単で安価であり、従って、多くの内部対照を付加しても少数の外部対照を使用するよりも、一般になおコストおよび複雑性の利点を得られることも認識されるであろう。

#### 【0205】

以下、この集団のカーネル密度プロットを示す図 1 2 A ~ 1 2 C ( a ) ~ ( f ) を参照して一例を説明する。各遺伝子のサイクル閾値 ( C t ) の分布を実線で示し、対照としての既知濃度の合成 I n - V i t r o 転写産物の C t 値を破線で示す。

10

20

30

40

50



## 【0206】

標準的な測定対照に優る相対対照法の使用のもう1つの利点を、同じ例を用い、図11Aおよび11Bを参照して説明する。図11Aでは、各測定バイオマーカー（ $Bm_1$ 、 $Bm_2$ 、 $Bm_3$ 、 $Bm_4$ ）のCt値を、PCR反応への投入濃度範囲20～2000 ngにわたって示す。この例では、指標値は、これらの測定バイオマーカーの割合の和として測定される：

$$In = In_1 + In_2 = (Bm_1 / Bm_2) + (Bm_3 / Bm_4)$$

各濃度におけるこれらのバイオマーカーの指標値を図11Bに示し、この図は、投入範囲において濃度変化が極めて大きいにもかかわらず平坦なプロフィールを示す。これらの結果は、この指標はバイオマーカー間の相対濃度の尺度であるので、その指標が一定の投入範囲では安定であることを示す。参照閾値（単位はCt）を安定な指標範囲（20～2000 ng投入）で図11Aの測定バイオマーカーのそれぞれに適用したとすると、それらの参照範囲は極めて広がったであろう。この例では、PLAC8の妥当な範囲は、17～23 Ct単位の範囲であったであろう。このような広い対照参照範囲は一般に適切でなく、従って一般に、アッセイは測定バイオマーカー参照範囲が十分に狭くなり得るように狭い投入範囲を指定する。サンプルから投入濃度を作成する際のこの工程は、指標値が測定バイオマーカーから導出された相対的情報を使用する場合、および対照もまた測定バイオマーカーから導出された相対的情報を使用する場合には除くことができる、処理過程における余分な工程である。このような例は、この場合、指定された投入濃度に希釈することを要する処理工程を除くことにより、測定バイオマーカーを用いた対照よりも有用性の向上を示し、時間、コストを節約し、複雑性を軽減する。

## 【0207】

この例では、図12Aに示されるデータは、2以上のipSIRS判定基準を有する106の一連のサンプルから採取され、シグネチャー遺伝子LAMP1、CEACAM4、PLAC8およびPLA2G7の形態のバイオマーカーに関して感染のある患者とない患者に分けられている。

## 【0208】

次に、これら4つのシグネチャー遺伝子のうち1つの測定の不適格を説明する。本発明者らは、サンプル番号13を用い、LAMP1反応の反応効率を89%に人為的に引き下げ（不適格アッセイ）、記録されたCt値を25.71から22.88に引き下げた。図12B(a)～(f)のLAMP1に関して示されるように、アッセイが不適格となったこの遺伝子の参照Ct所見に基づく確率は32.5%であり、不適格アッセイと断定するには十分でない。図12B(a)～(f)は、不適格サンプルに関する他のバイオマーカー（PLA2G7、PLAC8およびCEACAM4）のそれぞれに関して記録されたCt値、およびまた、高および低陽性対照の両方に関して、値が予測範囲内にあることを示す。

## 【0209】

表2は、各測定バイオマーカーおよび両対照に関して値は参照範囲内にあり、不適格サンプルを識別するのに十分なエビデンスがないこと（ $p < 0.05$ ）を示す。

## 【0210】

## 【表2】

	PLA2G7	PLAC8	CEACAM4	LAMP1	Hi Pos Cntl	Low Pos Cntl
サンプル値	30	22	24	25.5	21	33
In範囲	はい	はい	はい	はい	はい	はい
P値	1.000	0.280	1.000	0.325	1.00	1.00

## 【0211】

以下、図12C(a)～(f)の測定バイオマーカー間の比を見れば、比PLAC8-LAMP1は不適格を明らかに検出し $p < 0.001$ 、これはアッセイを正確に不適格と断定するのに十分である。

## 【 0 2 1 2 】

表 3 は、L A M P 1 に対する P L A C 8 の相対値に関して低 p 値 ( < 0 . 0 1 ) により不適格アッセイが検出されることを示す。

## 【 0 2 1 3 】

## 【表 3】

	PLA2G7 - PLAC8	PLA2G7 - CEACAM 4	PLA2G7 - LAMP1	PLAC8 - CEACAM 4	PLAC8 - LAMP1	CEACAM 4 - LAMP1
サンプル値	8	6	4.5	-2	-3.5	1.5
In 範囲	はい	はい	はい	はい	いいえ	はい
P 値	0.204	0.927	0.291	0.133	<0.001	0.133

10

## 【 0 2 1 4 】

図 1 2 D は、不適格サンプルを P L A C 8 および L A M P 1 の散布図としてプロットする。このサンプルは P L A C 8 および L A M P 1 の両方の最大および最小範囲内にあるが、それはこれらのバイオマーカーのそれぞれに対する相対的な位置を考慮した場合には明らかなアウトライアーであることが見て取れる。このことは、それが参照範囲の外側にあり、従って、不適格サンプルとして正確に識別されるので、この相対対照の低 p 値に反映される。

## 【 0 2 1 5 】

よって、このアプローチを用い、個々には不適格アッセイと断定するのに十分であるとは言えない複数の相対対照を、ベイズ規則または不適格の同時確率を得るための他の確率法を用いて組み合わせることができる。

20

## 【 0 2 1 6 】

よって、上記のプロセスは、遺伝子発現試験および分析において、非標的内部対照または外部対照またはスパイクインの使用ではなく、標的遺伝子の発現などの測定バイオマーカー値の比からなる対照の使用を記載した。このようなアプローチの利点には、高い感度および指標値もまた比からなる場合に処理過程から投入正規化工程を省略できることに加え、指標値のために使用されるものを超える付加的測定がないこと、1 回の試験でより多くの標的を分析できること、および遺伝子発現分析を実施する総コストが低減されることが含まれる。

30

## 【 0 2 1 7 】

以下、アルコール依存症による肝傷害の検出のための男性患者の試験における B U P A Medical Research Ltd からデータを示す図 1 3 A ( a ) ~ ( d ) を参照して一例を説明する。この試験には、飲酒家として分類される 1 4 4 名の登録ボランティアと非飲酒家として分類される 2 0 0 名の登録ボランティアが存在する。各ボランティアについて末梢血からの肝臓関連タンパク質の測定を行い、アルコール関連肝傷害に関するこれらのタンパク質 ( 指標 ) の診断組合せは 9 4 % の分類精度をもたらした ( Comak, Emre, et al. "A new medical decision making system: Least square support vector machine (LSSVM) with Fuzzy Weighting Pre-processing." Expert Systems with Applications 32.2 (2007): 409-414. )。この試験の有用性は、侵襲的でより高くつく肝生検よりもむしろ末梢血からのマルチマーカータンパク質パネルを用いて、アルコール依存症による肝傷害の正確な診断が行えることである。4 つのタンパク質、アルカリ性ホスファターゼ ( A P )、アミノトランスフェラーゼ ( A T )、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ ( A s p A T ) および - グルタミルトランスペプチダーゼ ( G G T ) は、末梢血から測定された。参照集団は、この試験における患者のセットであり、参照データは、タンパク質濃度のそれぞれに関する測定値と各タンパク質の存在量の総てのペアワイズ比として定義される相対対照である。この例では、以下の測定 A P = 5 6、A T = 4 9、A s p A T = 2 8 および G G T = 6 を有する未知の肝臓状態を有する患者に関する仮想の新規サンプルを考える。これらの測定から肝疾患の指標値を作成することができるが、そ

40

50

これらの値が妥当であるかどうか（測定に何らかの不備があったかどうか）はまだ分からない。これらの測定は総てこれらのタンパク質のそれぞれについて観測された値の範囲内にあり、従って、このサンプルは慣例的に、それらの対照を満たしていたと見なされるであろう（観測された参照分布内にある。図 1 3 A ( a ) ~ ( d ) は、各測定バイオマーカー（ A P、 A T、 A s p A T および G G T ）の参照分布に対する新規サンプルの測定値を示す）。サンプルは各測定バイオマーカーの参照範囲内にあり、従って、慣例的に妥当と見なされることが見て取れる。表 4 は、参照分布に対する各測定バイオマーカーの値および各参照分布に関する不適格の確率を示す。

【 0 2 1 8 】

【表 4】

	AP	AT	AspAT	GGT
サンプル値	56	49	28	6
In 範囲	はい	はい	はい	はい
P 値	0.451	0.340	0.739	0.411

10

【 0 2 1 9 】

図 1 3 B ( a ) ~ ( f ) は、導出対照分布に対する同じサンプルを示す。 A T - G G T および A s p - G G T の場合、 0 . 0 5 未満の p 値が存在し、このサンプルはこの検査が設計されたサンプルの集団に由来する可能性は低いか、または他の何らかの不備があり、従って、この検査の指標値（結果）が妥当でないことを示す。

20

【 0 2 2 0 】

表 5 は、このサンプルの相対対照値およびこの不備を検出し得る特定の対照を示す。

【 0 2 2 1 】

【表 5】

	AP - AT	AP - AspAT	AP - GGT	AT - AspAT	AT - GGT	AspAT - GGT
サンプル Value	7	28	50	21	43	22
In 範囲	はい	はい	はい	はい	いいえ	いいえ
P 値	0.208	0.381	0.653	0.157	0.023	0.006

30

【 0 2 2 2 】

よって、上記のシステムは、マルチバイオマーカー医療デバイスの場合に相対内部対照の使用を導入し、従って、内部相対対照でない対照の必要は小さくなるかまたはなくなり得る。

【 0 2 2 3 】

一例では、相対内部対照は、指標を確定する際に使用された値が妥当であることを保証するために使用されるサンプルに内在する相対バイオマーカーである。相対バイオマーカーは測定バイオマーカー値から導出することができ、これらは各相対バイオマーカーに関して対応する許容可能な参照閾値を定義することにより使用される。これらの相対バイオマーカーは、指標を決定する際に使用された相対バイオマーカーを含んでも含まなくてもよく、異なるまたは同じ組合せで使用された同じバイオマーカー値を含み得る。一例では、これにより、そのアッセイに追加される付加的測定バイオマーカーの必要なく、関連対照のセットが得られる。

40

【 0 2 2 4 】

このシステムはさらに、指標値を確立する際に使用された相対バイオマーカーを用いる医療デバイスにおいてこれらの対照の適切な使用を提供するために使用することもできる。

【 0 2 2 5 】

このシステムはまた、最小セットの付加的測定バイオマーカーだけが必要とされるよう、従って、最小のコストに対して最適な性能を提供するよう、任意にストリンジेंटな

50

対照要求を満たすために、付加的内部相対バイオマーカーが相対対照の群に付加され得る方法も提供することができる。

#### 【0226】

付加的マーカーを回避可能とするにもかかわらず、このシステムは、従来技術の方法での不能な検査の不適格を上手く検出することができ、これは妥当でない検査結果に対する行為が潜在的に命を脅かす結果を持ち得る医療デバイスの場合には重要な進展である。

#### 【0227】

このシステムはまた、従来技術の方法が不必要にサンプルを不適格とする場合の結果を適切に適格とすることが例により示される。また、検査が不必要に不適格とされる（従って、その結果が利用できない）場合に潜在的に命を脅かす結果を持つ医療デバイスにとっての重要な進展。

10

#### 【0228】

以下、敗血症の疑いのある患者から採取した546の血液サンプルに対するリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）の使用から得られたインハウスデータを用い、さらなる例を説明する。このアッセイの結果は、4つの標的遺伝子（PLA2G7、PLAC8、LAMP1およびCEACAM4）のそれぞれに関するPCR Ct（サイクル時間）値を用いる式に基づき、患者が敗血症（またはSIRS）を有する確率を提供する。

#### 【0229】

本方法を簡単に述べれば以下の通りである。患者の血液をPAXgeneチューブに直接採取し、全RNAを抽出した。RT-PCRアッセイは、ネーデルランドに拠点を置く病院の検査室にキット形態で提供された。このアッセイでは、qRT-PCR機（例えば、Applied Biosystems 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument、Applied Biosystems、フォスターシティ、CA、カタログ番号440685；K082562）での蛍光の検出に基づく、サンプル中の4つの各宿主免疫細胞RNA転写産物の量の定量的リアルタイム決定を用いる。転写産物はそれぞれ、FAMチャンネルで可視化されたプローブを用い、各標的遺伝子に関して別個の反応ウェルで、逆転写し、増幅させ、検出し、定量した。これら4つの標的遺伝子のそれぞれは既知のCt範囲を有し、これらの範囲の外側にアッセイ結果が得られる場合、その検査は不適格とされる。各サンプルに関して、以下の内部対照も別個の反応バイアルで実施した-HIGH、LOW、NEGATIVEおよび非鋳型（NTC）。HIGH、LOWおよびNEGATIVE内部対照は、既知量の人工DNA鋳型を含有し、これらの別個の反応のそれぞれもまたアッセイを適格とするための特定のCt範囲内になければならず、NTCはPCR産物を増幅してはならない。

20

30

#### 【0230】

対照方法（「通常」および「相対」）を用いてこれらの546のサンプルに対してアッセイを実施して得られた結果の概要表を以下の表6に示す。全結果は表7、8、9および10に示す。

#### 【0231】

#### 【表6】

40

通常	相対	
	Fail	Pass
不適格(対照)	0	23
不適格(4標的)	2	3
適格	13	505

#### 【0232】

これらの結果の簡単な概要、説明および考察を以下に示す。

50

## 【0233】

505のサンプル(92.5%)が両対照方法を用いて適格とされた。

## 【0234】

2つのサンプルは、両対照戦略を用いて不適格とされた。通常対照方法を用いた場合、両サンプルは標的遺伝子PLA2G7のCt値が予測Ct範囲外であったために不適格とされた。相対対照方法を用いた場合には、これらの同じ2つのサンプルは、0.001未満の複数の相対対照p値が得られたために強く不適格であるとされた。

## 【0235】

26のサンプルは、通常対照方法を用いて不適格とされたが、相対対照方法を用いて適格とされた。これら26のサンプルのうち23は、LOW対照が範囲外であったために不適格とされた。これら23のサンプルについて、個々の遺伝子標的測定(PLA2G7、PLAC8、LAMP1およびCEACAM4)は総て予測Ct範囲内であり、総ての相対対照が適格であった。個々の遺伝子のCt値および他の通常対照をさらに調査したところ、1つの範囲外通常対照(LOW)のために不適格とされた23のサンプルはそうされるべきではなかった。相対対照戦略は、これらのサンプルを不適格としなかった。実際に、これは、相対対照戦略の使用は、通常対照方法を用いた場合に患者に否定的であったであろう23の妥当な診断検査を「救済」したであろうことを意味するであろう。

## 【0236】

他の3つのサンプルは、通常方法を用い、PLA2G7のCt値がこの遺伝子の予測範囲の外にあったために不適格であった。これら3つのサンプルは以下のものであった。

1) サンプルIXP\_128: 0.045を超える、相対対照に関する調整済みp値を報告。このようなp値は、このサンプルが不適格とされるべきではなかったことを示唆する。Ct値をさらに調査したところ、個々の遺伝子測定は総て比較的高かった(他の3つの遺伝子に関して予測される値については高範囲であるが、範囲外であった)。このような結果は、このアッセイが低い投入RNA濃度かまたは低品質のRNAで実施されたことを示唆する。これにもかかわらず、敗血症の妥当な確率がなお計算できる。さらに、患者の後ろ向き臨床診断は、このアッセイから得られた敗血症確率と合致し、アッセイ結果が妥当であり、不適格とされるべきではなかったことを含意する。

2) サンプル6869: 報告された相対対照p値は、0.0016という低いものであった。このような結果は、通常検査1000につき16で予測され得る。

3) サンプル1357: 報告された相対対照p値は、0.002という低いものであった。このような結果は、通常検査100につき1つで予測され得る。

## 【0237】

相対対照p値の使用は、絶対的判定というよりも異常レベル(p値)の妥当性の臨床解釈を可能とし、治療する医師(または医師に代わる手順)がその検査において不適格状態を判定するために最適なp値を決定することを可能とする。

## 【0238】

通常方法がサンプルを適格としたが相対方法が適格としなかった13の場合があった。これらの場合では、総ての測定遺伝子マーカーが予測Ct範囲内にあり、総ての通常対照も範囲内にあった。しかしながら、これらのサンプルは、相対方法を用いた場合には低いp値となった。実際に、これらのサンプルのいずれかに関して相対対照測定が偶然に起こった確率は、1000に1つ未満である。これらの相対対照結果は、これら13のサンプルの高レベルの異常を示唆し、これらのサンプルが観測された他のサンプルと類似せず、その診断法の開発および解釈に使用された患者集団とも類似していないことを含意する。相対対照アプローチを用いた場合の高レベルの異常に基づけば、これら13のサンプルは、測定マーカーおよび通常対照が予測Ct範囲内にあるにもかかわらず不適格とされるべきである。この場合、相対対照アプローチは、通常対照アプローチを用いた場合の診断結果の解釈が妥当でない患者を識別したので、特に有用である。さらに、相対対照アプローチは、その結果の非妥当性の信頼を提供する。これら後者の2つの点を以下により詳細に述べる。

## 【 0 2 3 9 】

サンプル 3 7 8 7 の考察： これらの遺伝子の総ての C t 値は予測範囲内にあり、通常内部対照も総て範囲内にある。よって、この結果は、通常対照アプローチを用いた場合には妥当と見なされる。しかしながら、相対対照 C E A C A M 4 / L A M P 1 は 0 . 0 0 0 7 6 4 2 の p 値を有し、相対対照 L A M P 1 / P L A C 8 は 3 . 9 6 E - 0 7 の p 値を有し、このような結果は 1 0 0 万例に 1 未満しか起こらないことを示す（予測結果の分布曲線に基づく）。このような結果は 2 通りに解釈することができる。

1 ) これらの検査値は正確であり、これは真に 1 0 0 万人に 1 人の患者である。

2 ) これらの検査値は不正確であり、このアッセイには何らかの問題がある。

## 【 0 2 4 0 】

他の総ての患者サンプルとは極めて根本的に異なる（ 1 : 1 , 0 0 0 , 0 0 0 の機会）検査結果を生じる患者サンプルは、正規分布内に適合する他の患者サンプル結果を参照して診断されるべきではなく、このような結果は少なくともさらに検討されなければならない（例えば、アッセイを繰り返す、および / または患者の臨床記録を検討する）。

## 【 0 2 4 1 】

よって、相対対照アプローチが極めて見込みの低い結果（ p 値に基づく）を表す場合には、その検査は不適格とされるべきである。これら 1 3 例では、それらのサンプルを適切に不適格とすることのより、相対対照アプローチは、 1 ) 実際に妥当である見込みの低い診断判定から患者を「保護」し、かつ、 2 ) 患者の真の状態を反映しない検査結果をより高感度に検出することができる。

## 【 0 2 4 2 】

5 4 6 のアッセイの全結果を表 7、 8、 9 および 1 0 に示す。

## 【 0 2 4 3 】

表 7 は、通常および相対対照方法の両方を用いて適格となった 5 0 5 のサンプル（ 5 4 6 のうち）の生のデータ結果を示す。

## 【 0 2 4 4 】

## 【表 7】

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
6607	21.3	23.7	25.0	21.6	P	P	0.368	0.233	0.472	0.535	0.222	0.185	P
6617	22.5	24.3	28.0	19.8	P	P	0.769	0.267	0.838	0.163	0.941	0.405	P
6629	21.6	24.0	27.3	21.1	P	P	0.363	0.581	0.762	0.945	0.897	0.948	P
6636	22.0	24.7	32.7	22.0	P	P	0.205	0.331	0.003	0.906	0.012	0.049	P
6648	23.7	23.6	29.2	22.3	P	P	0.072	0.916	0.810	0.233	0.248	0.787	P
6650	21.6	24.3	29.5	17.9	P	P	0.224	0.059	0.146	0.004	0.341	0.018	P
6653	21.2	24.0	26.8	18.3	P	P	0.183	0.193	0.809	0.019	0.685	0.328	P

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
6656	24.0	24.3	28.5	22.3	P	P	0.148	0.737	0.786	0.491	0.668	0.971	P
6657	22.4	23.2	26.9	21.2	P	P	0.414	0.963	0.753	0.521	0.944	0.765	P
6658	22.0	24.3	31.1	21.4	P	P	0.480	0.672	0.036	0.953	0.058	0.120	P
IPX-098	21.5	23.8	30.5	19.3	P	P	0.433	0.422	0.041	0.155	0.072	0.025	P
IXP-080	23.9	24.4	25.2	20.0	P	P	0.232	0.042	0.050	0.191	0.133	0.627	P
IXP-081	23.6	24.3	27.2	22.0	P	P	0.368	0.778	0.451	0.725	0.719	0.628	P
IXP-082	23.2	25.2	28.5	21.9	P	P	0.623	0.984	0.921	0.706	0.890	0.922	P
IXP-083	24.0	24.7	29.5	22.1	P	P	0.317	0.592	0.820	0.879	0.458	0.608	P
IXP-087	23.1	23.7	26.4	21.1	P	P	0.265	0.595	0.363	0.810	0.674	0.638	P
IXP-088	22.5	24.7	25.5	21.6	P	P	0.489	0.816	0.263	0.800	0.122	0.270	P
IXP-089	21.2	23.1	28.8	20.4	P	P	0.705	0.738	0.188	0.935	0.221	0.348	P
IXP-090	21.1	23.7	29.0	21.2	P	P	0.256	0.319	0.142	0.810	0.313	0.498	P
IXP-095	22.6	25.2	27.4	18.7	P	P	0.246	0.043	0.870	0.003	0.450	0.292	P
IXP-096	22.9	24.5	27.3	22.0	P	P	0.954	0.779	0.708	0.797	0.666	0.624	P
IXP-097	24.0	25.0	28.8	21.9	P	P	0.566	0.508	0.911	0.771	0.868	0.768	P
6681	25.2	26.0	30.3	23.1	P	P	0.380	0.530	0.977	0.972	0.640	0.692	P
6694	21.4	24.3	27.3	21.7	P	P	0.159	0.248	0.669	0.831	0.808	0.754	P
6706	22.7	24.4	28.2	20.7	P	P	0.896	0.559	0.808	0.473	0.845	0.579	P
6709	21.5	24.5	26.9	21.3	P	P	0.102	0.423	0.860	0.743	0.532	0.748	P
6713	21.4	24.2	26.1	19.5	P	P	0.174	0.596	0.844	0.121	0.374	0.886	P
6718	23.2	24.3	29.7	19.6	P	P	0.612	0.069	0.452	0.116	0.289	0.085	P
6735	23.1	25.7	27.4	23.2	P	P	0.247	0.311	0.696	0.808	0.319	0.349	P
6744	20.5	23.7	31.1	19.1	P	P	0.066	0.923	0.004	0.151	0.027	0.010	P
6746	21.1	23.2	26.1	18.2	P	P	0.573	0.184	0.935	0.068	0.712	0.475	P
6750	22.3	23.6	26.1	21.0	P	P	0.759	0.923	0.492	0.906	0.559	0.592	P
6888	23.4	24.5	26.3	22.2	P	P	0.593	0.985	0.238	0.714	0.317	0.313	P
IXP_099	23.0	24.6	25.5	21.2	P	P	0.997	0.639	0.175	0.619	0.146	0.372	P
IXP_102	24.8	26.2	28.2	22.8	P	P	0.806	0.575	0.367	0.675	0.398	0.654	P
IXP_104	24.4	25.7	28.9	22.5	P	P	0.783	0.646	0.763	0.772	0.852	0.992	P
IXP_105	22.4	24.2	28.1	19.6	P	P	0.857	0.210	0.760	0.142	0.812	0.315	P
IXP_107	22.5	23.6	25.2	21.3	P	P	0.532	0.996	0.214	0.648	0.307	0.282	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
IXP_108	23.2	25.1	27.3	22.2	P	P	0.759	0.852	0.597	0.982	0.471	0.571	P
IXP_110	22.1	23.9	29.4	19.5	P	P	0.829	0.291	0.261	0.200	0.272	0.111	P
IXP_111	22.2	24.4	27.1	21.6	P	P	0.472	0.630	0.907	0.994	0.629	0.700	P
IXP_112	24.2	25.2	27.2	22.9	P	P	0.486	0.949	0.271	0.663	0.405	0.362	P
IXP_113	23.0	23.7	29.9	22.1	P	P	0.306	0.802	0.333	0.314	0.121	0.492	P
IXP_117	22.0	22.7	28.3	19.6	P	P	0.327	0.371	0.540	0.807	0.252	0.290	P
IXP_122	23.2	24.1	27.0	21.7	P	P	0.420	0.836	0.499	0.716	0.746	0.644	P
6762	25.1	24.9	29.0	20.4	P	P	0.050	0.008	0.531	0.164	0.761	0.310	P
6773	23.7	24.1	29.4	20.9	P	P	0.181	0.238	0.725	0.771	0.296	0.316	P
6776	22.7	24.3	28.8	20.1	P	P	0.998	0.298	0.587	0.266	0.561	0.278	P
6786	21.5	23.4	27.7	18.6	P	P	0.730	0.190	0.587	0.100	0.681	0.214	P
6796	25.1	25.4	29.9	20.5	P	P	0.169	0.011	0.889	0.085	0.592	0.166	P
6824	23.2	24.6	29.2	22.2	P	P	0.882	0.828	0.625	0.734	0.549	0.769	P
6825	22.2	24.4	27.8	23.4	P	P	0.517	0.065	0.779	0.135	0.982	0.397	P
6841	22.5	24.1	28.2	20.2	P	P	0.939	0.412	0.765	0.413	0.720	0.458	P
6844	22.2	23.7	29.1	20.4	P	P	0.973	0.690	0.329	0.688	0.287	0.281	P
6845	22.6	24.6	28.1	22.5	P	P	0.624	0.385	0.800	0.568	0.979	0.768	P
6867	21.0	23.2	24.5	20.2	P	P	0.474	0.731	0.411	0.880	0.215	0.361	P
IXP_123	24.4	24.7	28.3	22.4	P	P	0.161	0.546	0.519	0.711	0.994	0.842	P
IXP_124	22.4	25.1	29.1	19.3	P	P	0.200	0.174	0.398	0.017	0.789	0.125	P
IXP_129	23.4	24.7	27.1	23.2	P	P	0.728	0.417	0.455	0.264	0.530	0.261	P
IXP_130	23.0	23.8	26.0	21.1	P	P	0.404	0.607	0.278	0.956	0.454	0.527	P
IXP_131	22.2	24.5	26.8	20.3	P	P	0.427	0.609	0.816	0.263	0.518	0.919	P
IXP_132	22.9	24.7	25.4	20.4	P	P	0.841	0.351	0.182	0.255	0.125	0.547	P
IXP_135	22.0	24.5	28.4	19.4	P	P	0.336	0.292	0.496	0.069	0.802	0.226	P
IXP_137	23.4	24.7	30.1	22.1	P	P	0.808	0.964	0.398	0.898	0.303	0.449	P
IXP_142	23.3	24.3	27.3	21.2	P	P	0.479	0.475	0.563	0.804	0.790	0.939	P
IXP_145	22.9	25.0	28.2	22.5	P	P	0.561	0.530	0.892	0.803	0.885	0.799	P
6890	22.1	22.8	28.2	19.2	P	P	0.325	0.215	0.587	0.542	0.283	0.229	P
6650	22.3	22.7	29.8	18.6	P	P	0.175	0.060	0.209	0.306	0.043	0.028	P
6869	23.2	24.7	26.9	23.2	P	P	0.898	0.359	0.439	0.285	0.443	0.226	P

10

20

30



サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
IXP_128	25.6	26.7	30.8	24.1	P	P	0.560	0.869	0.935	0.805	0.705	0.867	P
6592	22.4	24.3	26.0	20.4	P	P	0.712	0.524	0.410	0.344	0.285	0.737	P
6598	21.3	22.6	26.0	20.5	P	P	0.739	0.698	0.872	0.512	0.995	0.713	P
6601	22.5	23.5	25.3	20.3	P	P	0.523	0.458	0.228	0.742	0.329	0.547	P
6603	22.1	23.3	29.0	22.2	P	P	0.651	0.328	0.360	0.170	0.227	0.832	P
6622	27.3	29.5	30.1	24.5	P	P	0.429	0.233	0.234	0.065	0.094	0.746	P
6624	23.0	24.0	27.5	21.1	P	P	0.492	0.611	0.736	0.964	0.985	0.992	P
6631	22.3	23.5	27.0	20.1	P	P	0.641	0.431	0.810	0.615	0.980	0.796	P
6641	21.9	23.0	26.2	19.7	P	P	0.559	0.466	0.678	0.723	0.878	0.942	P
6643	21.5	22.7	27.6	18.7	P	P	0.677	0.250	0.575	0.354	0.418	0.244	P
6647	20.4	24.1	30.9	23.2	P	P	0.016	0.002	0.004	0.129	0.064	0.516	P
6649	23.7	24.5	27.5	19.2	P	P	0.381	0.013	0.509	0.043	0.786	0.365	P
6665	24.1	23.6	29.3	20.6	P	P	0.017	0.082	0.990	0.905	0.227	0.299	P
IXP-084	21.1	23.3	31.4	19.4	P	P	0.512	0.741	0.007	0.408	0.010	0.011	P
IXP-085	22.0	25.3	25.1	20.0	P	P	0.066	0.555	0.292	0.050	0.041	0.575	P
IXP-086	22.6	24.2	31.8	19.7	P	P	0.997	0.198	0.031	0.170	0.020	0.009	P
IXP-091	23.8	25.0	26.9	22.5	P	P	0.692	0.945	0.291	0.832	0.350	0.384	P
IXP-092	24.3	26.1	28.0	22.5	P	P	0.816	0.701	0.482	0.563	0.384	0.704	P
IXP-093	22.5	24.2	28.1	20.0	P	P	0.966	0.324	0.794	0.278	0.795	0.418	P
IXP-094	23.8	25.4	26.8	22.0	P	P	0.997	0.669	0.261	0.647	0.227	0.473	P
IXP-100	24.0	25.9	25.6	22.1	P	P	0.730	0.594	0.064	0.413	0.031	0.200	P
IXP-101	21.9	24.0	27.9	19.0	P	P	0.536	0.222	0.618	0.080	0.821	0.249	P
IXP-103	22.7	24.9	29.5	20.1	P	P	0.473	0.318	0.378	0.113	0.557	0.177	P
IXP-106	23.2	24.4	27.9	20.2	P	P	0.666	0.180	0.850	0.264	0.991	0.530	P
IXP-114	23.9	25.6	27.1	21.8	P	P	0.918	0.477	0.307	0.405	0.251	0.644	P
6669	21.4	22.6	26.5	20.0	P	P	0.659	0.897	0.995	0.856	0.821	0.935	P
6678	22.1	23.2	26.4	20.4	P	P	0.584	0.717	0.680	0.991	0.866	0.887	P
6679	23.1	23.4	27.8	20.7	P	P	0.141	0.366	0.860	0.919	0.586	0.703	P
6686	22.7	24.5	30.2	22.1	P	P	0.801	0.602	0.202	0.708	0.214	0.428	P
6689	21.9	24.1	29.9	22.0	P	P	0.497	0.297	0.124	0.535	0.190	0.477	P
6698	22.7	23.5	25.1	21.9	P	P	0.397	0.706	0.160	0.310	0.277	0.151	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
6715	20.2	22.6	27.7	19.2	P	P	0.362	0.830	0.203	0.666	0.362	0.331	P
6732	23.0	24.1	25.9	21.0	P	P	0.565	0.536	0.249	0.808	0.341	0.528	P
6748	22.0	23.9	25.5	21.9	P	P	0.739	0.386	0.406	0.494	0.290	0.218	P
6752	22.9	23.7	27.4	19.8	P	P	0.394	0.163	0.756	0.385	0.927	0.579	P
6758	21.6	22.4	27.1	18.3	P	P	0.407	0.125	0.830	0.301	0.520	0.275	P
6882	22.1	24.3	27.6	22.9	P	P	0.459	0.114	0.826	0.251	0.894	0.457	P
IXP-115	22.4	24.1	26.4	20.5	P	P	0.883	0.607	0.574	0.512	0.498	0.856	P
IXP-116	22.4	23.4	27.8	21.4	P	P	0.469	0.913	0.870	0.522	0.591	0.939	P
IXP-118	21.2	24.4	27.6	22.9	P	P	0.064	0.026	0.481	0.299	0.867	0.477	P
IXP-119	22.5	24.4	28.0	20.5	P	P	0.771	0.542	0.840	0.390	0.942	0.593	P
IXP-120	22.5	24.0	28.0	21.8	P	P	0.936	0.680	0.840	0.618	0.797	0.945	P
IXP-121	20.4	22.7	29.3	18.1	P	P	0.407	0.426	0.044	0.147	0.080	0.027	P
IXP-125	22.7	25.1	28.8	22.7	P	P	0.382	0.341	0.595	0.703	0.893	0.918	P
IXP-126	22.3	24.1	26.2	20.3	P	P	0.838	0.567	0.546	0.448	0.453	0.854	P
IXP-127	23.0	24.4	26.2	21.2	P	P	0.869	0.674	0.322	0.742	0.326	0.544	P
IXP-133	22.3	25.1	27.8	21.1	P	P	0.188	0.989	0.832	0.348	0.669	0.861	P
IXP-134	23.2	25.9	25.4	19.0	P	P	0.209	0.028	0.138	0.001	0.027	0.983	P
3967	24.6	26.0	29.3	21.3	P	P	0.874	0.121	0.845	0.124	0.897	0.454	P
3746	20.7	23.1	24.9	20.9	P	P	0.375	0.265	0.653	0.585	0.355	0.295	P
3555	23.0	25.7	29.7	22.7	P	P	0.235	0.484	0.419	0.910	0.783	0.776	P
3469	20.1	23.0	26.8	19.8	P	P	0.134	0.487	0.399	0.731	0.874	0.750	P
3179	22.9	24.3	27.2	21.4	P	P	0.812	0.794	0.647	0.915	0.709	0.809	P
3363	21.0	23.4	25.3	19.5	P	P	0.346	0.839	0.685	0.369	0.365	0.818	P
2732	22.3	23.5	28.1	20.1	P	P	0.675	0.460	0.680	0.627	0.514	0.427	P
2603	22.3	23.9	26.1	21.6	P	P	0.952	0.652	0.519	0.661	0.470	0.410	P
2553	21.6	24.2	26.9	19.5	P	P	0.237	0.550	0.891	0.135	0.658	0.637	P
3974	23.1	25.4	30.5	22.5	P	P	0.408	0.592	0.230	0.978	0.381	0.472	P
3729_2	21.9	24.4	30.1	22.0	P	P	0.313	0.310	0.107	0.726	0.220	0.428	P
3499	24.6	24.9	27.8	22.2	P	P	0.140	0.382	0.314	0.892	0.729	0.724	P
3447	22.1	24.3	27.8	20.2	P	P	0.522	0.627	0.769	0.326	0.996	0.589	P
3248	22.3	24.3	27.6	19.7	P	P	0.623	0.322	0.905	0.158	0.907	0.491	P

10

20

30

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
3398	22.9	23.7	25.2	22.3	P	P	0.342	0.641	0.146	0.236	0.277	0.126	P
3008	22.5	24.2	26.5	21.1	P	P	0.935	0.874	0.552	0.820	0.497	0.674	P
2662	23.4	24.6	26.2	21.1	P	P	0.677	0.449	0.236	0.612	0.288	0.565	P
2568	22.3	24.4	29.3	20.3	P	P	0.548	0.564	0.298	0.293	0.414	0.215	P
3921	24.6	25.0	30.3	22.7	P	P	0.180	0.581	0.762	0.702	0.321	0.557	P
3729_1	21.1	22.7	27.1	19.0	P	P	0.959	0.485	0.638	0.434	0.632	0.413	P
3485	22.0	23.2	30.1	18.7	P	P	0.649	0.122	0.117	0.188	0.056	0.023	P
3445	22.4	23.9	30.6	18.6	P	P	0.965	0.049	0.104	0.039	0.077	0.010	P
3168	22.1	24.0	25.0	20.9	P	P	0.706	0.995	0.262	0.789	0.164	0.331	P
3367	23.8	26.0	29.0	21.0	P	P	0.447	0.243	0.946	0.073	0.759	0.454	P
3045	22.0	23.0	26.8	20.5	P	P	0.525	0.814	0.891	0.834	0.865	0.984	P
2776	23.0	24.5	28.0	21.8	P	P	0.918	0.979	0.993	0.919	0.967	0.982	P
2566	21.7	23.8	27.0	20.0	P	P	0.605	0.726	0.942	0.454	0.857	0.787	P
3934	20.6	22.8	27.7	17.8	P	P	0.507	0.238	0.277	0.082	0.404	0.102	P
3676_1	20.4	23.3	26.5	19.1	P	P	0.146	0.932	0.616	0.253	0.852	0.629	P
3485_1	22.3	24.7	29.4	21.8	P	P	0.387	0.610	0.312	0.934	0.513	0.567	P
3652	22.3	23.7	28.4	20.2	P	P	0.811	0.490	0.605	0.574	0.500	0.393	P
3201	21.6	23.5	24.5	19.6	P	P	0.666	0.563	0.250	0.353	0.147	0.515	P
3282	22.1	24.4	27.9	19.0	P	P	0.420	0.158	0.698	0.037	0.988	0.242	P
2990	23.0	24.8	25.9	21.2	P	P	0.862	0.650	0.245	0.542	0.182	0.462	P
2943	21.6	23.2	27.3	21.8	P	P	0.989	0.259	0.740	0.225	0.716	0.704	P
2541	22.0	23.4	31.0	19.9	P	P	0.858	0.545	0.039	0.605	0.021	0.032	P
3875	21.3	23.6	29.5	19.3	P	P	0.409	0.538	0.107	0.210	0.187	0.079	P
3677	21.3	23.9	26.2	20.3	P	P	0.245	0.852	0.926	0.520	0.497	0.849	P
3449	21.2	24.2	25.1	20.7	P	P	0.117	0.582	0.515	0.585	0.139	0.375	P
3136	22.6	23.1	24.9	20.2	P	P	0.262	0.398	0.149	0.929	0.322	0.455	P
3311	23.3	25.7	25.8	20.5	P	P	0.350	0.234	0.169	0.052	0.052	0.627	P
3333	23.1	23.8	27.1	20.8	P	P	0.317	0.408	0.538	0.876	0.872	0.965	P
3108	22.6	24.2	24.1	20.9	P	P	0.988	0.736	0.066	0.711	0.048	0.165	P
2855	21.4	23.3	25.1	20.8	P	P	0.735	0.639	0.448	0.798	0.325	0.351	P
2539	21.6	22.9	29.3	19.4	P	P	0.766	0.480	0.174	0.590	0.108	0.111	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
3900	22.0	25.1	26.1	19.8	P	P	0.092	0.461	0.605	0.045	0.163	0.991	P
3701	21.2	24.0	30.0	19.4	P	P	0.167	0.685	0.051	0.152	0.160	0.054	P
3803	22.3	24.5	28.6	20.5	P	P	0.486	0.670	0.505	0.337	0.713	0.408	P
3612	21.4	22.6	26.8	17.7	P	P	0.692	0.070	0.851	0.099	0.689	0.217	P
3233	24.0	25.1	30.1	21.4	P	P	0.543	0.274	0.624	0.468	0.406	0.284	P
3304	22.0	23.3	25.9	20.1	P	P	0.773	0.637	0.536	0.768	0.602	0.798	P
3059	22.2	24.5	28.6	22.8	P	P	0.422	0.165	0.496	0.369	0.741	0.816	P
3863	22.2	24.4	27.0	20.7	P	P	0.503	0.841	0.880	0.484	0.620	0.990	P
3676	22.2	23.9	27.4	19.4	P	P	0.957	0.238	0.968	0.194	0.987	0.464	P
3796	21.4	22.3	26.1	20.7	P	P	0.455	0.680	0.824	0.327	0.894	0.663	P
3583	21.9	22.6	26.8	19.3	P	P	0.312	0.288	0.933	0.689	0.678	0.578	P
3428	21.7	23.3	24.8	21.2	P	P	0.997	0.599	0.289	0.574	0.256	0.220	P
3317	23.2	26.1	29.8	19.5	P	P	0.159	0.063	0.437	0.003	0.894	0.076	P
3323	23.0	24.1	28.7	22.0	P	P	0.537	0.854	0.758	0.521	0.523	0.875	P
2960	20.3	22.2	26.4	17.1	P	P	0.727	0.145	0.574	0.071	0.668	0.178	P
3074	22.2	22.4	27.4	19.5	P	P	0.108	0.247	0.972	0.942	0.402	0.475	P
3848	21.6	23.5	27.8	18.3	P	P	0.746	0.110	0.561	0.052	0.643	0.148	P
3644	22.8	23.2	27.8	21.3	P	P	0.191	0.843	0.950	0.462	0.559	0.950	P
3729	21.6	24.3	26.7	22.6	P	P	0.226	0.089	0.984	0.348	0.532	0.306	P
3577	22.3	23.7	27.9	18.3	P	P	0.789	0.037	0.790	0.042	0.675	0.143	P
3390_1	20.9	23.5	27.5	18.0	P	P	0.299	0.183	0.435	0.030	0.749	0.144	P
3381	22.6	22.5	27.8	20.4	P	P	0.054	0.467	0.945	0.537	0.301	0.624	P
3330	20.4	23.1	26.0	20.2	P	P	0.238	0.445	0.786	0.969	0.766	0.828	P
2903	21.7	23.3	25.3	20.8	P	P	0.994	0.827	0.410	0.820	0.374	0.400	P
2582	22.2	23.8	28.3	21.1	P	P	0.903	0.889	0.590	0.952	0.605	0.702	P
3842	22.2	25.4	26.1	22.9	P	P	0.084	0.136	0.529	0.736	0.124	0.155	P
4001	21.0	23.9	30.7	17.3	P	P	0.158	0.051	0.017	0.002	0.062	0.001	P
3720	20.2	21.7	26.1	19.3	P	P	0.969	0.773	0.650	0.737	0.612	0.825	P
3575	20.7	23.0	28.4	21.1	P	P	0.429	0.208	0.179	0.441	0.294	0.677	P
3438	23.0	24.0	25.8	20.5	P	P	0.485	0.330	0.214	0.594	0.324	0.618	P
3320	22.9	24.4	27.7	21.3	P	P	0.929	0.793	0.849	0.830	0.873	0.992	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
3390	20.8	23.8	29.1	17.2	P	P	0.105	0.069	0.089	0.002	0.308	0.011	P
2832	23.1	23.8	27.2	21.3	P	P	0.350	0.700	0.617	0.791	0.944	0.839	P
2656_1	22.4	23.6	30.7	20.9	P	P	0.654	0.854	0.097	0.898	0.045	0.123	P
2462055	21.8	23.4	27.7	20.0	P	P	0.948	0.636	0.706	0.647	0.662	0.545	P
2724618	22.5	24.8	27.1	21.2	P	P	0.435	0.975	0.810	0.549	0.517	0.850	P
2114572	21.2	22.9	24.9	20.9	P	P	0.968	0.478	0.447	0.467	0.403	0.282	P
673	20.8	22.6	26.1	21.3	P	P	0.828	0.177	0.920	0.199	0.999	0.477	P
2040977	21.0	22.6	24.9	21.2	P	P	0.995	0.272	0.532	0.240	0.504	0.234	P
2110722	21.9	23.5	27.1	22.6	P	P	0.983	0.134	0.962	0.106	0.951	0.398	P
2699937	21.7	24.1	26.7	21.7	P	P	0.362	0.360	0.968	0.753	0.619	0.565	P
2965737	20.0	24.3	26.5	20.1	P	P	0.002	0.301	0.459	0.247	0.446	0.977	P
2765556	21.9	24.5	26.3	19.6	P	P	0.243	0.437	0.729	0.094	0.340	0.873	P
2690379	23.0	24.6	27.4	22.0	P	P	0.956	0.865	0.714	0.825	0.715	0.677	P
2568313	23.9	24.0	27.1	20.6	P	P	0.103	0.119	0.343	0.630	0.837	0.919	P
2746904	22.7	24.1	26.4	21.7	P	P	0.830	0.870	0.447	0.741	0.478	0.451	P
2983402	23.3	24.3	28.1	22.7	P	P	0.545	0.618	0.896	0.332	0.871	0.683	P
2661258	22.2	23.6	26.1	21.1	P	P	0.800	0.927	0.551	0.779	0.607	0.569	P
2392555	23.2	25.3	30.4	22.2	P	P	0.524	0.853	0.254	0.792	0.364	0.381	P
676	21.3	22.8	25.4	19.9	P	P	0.908	0.920	0.607	0.981	0.621	0.700	P
870	22.7	23.1	24.6	19.9	P	P	0.198	0.253	0.094	0.773	0.248	0.441	P
2235988	22.7	24.7	30.0	20.0	P	P	0.629	0.252	0.254	0.116	0.325	0.097	P
2256503	24.3	25.8	30.4	21.9	P	P	0.944	0.359	0.609	0.353	0.560	0.325	P
2258733	21.6	24.2	27.6	21.4	P	P	0.280	0.417	0.643	0.933	0.968	0.937	P
2488145	23.9	26.5	29.0	20.7	P	P	0.280	0.135	0.983	0.018	0.575	0.387	P
2140058	19.9	23.4	27.7	21.5	P	P	0.034	0.031	0.153	0.442	0.635	0.965	P
2668849	21.7	23.4	28.3	20.2	P	P	0.929	0.819	0.453	0.758	0.446	0.433	P
2752236	23.8	26.4	29.3	23.1	P	P	0.254	0.726	0.860	0.651	0.705	0.957	P
2405147	23.5	26.8	32.0	23.0	P	P	0.051	0.554	0.070	0.435	0.332	0.225	P
2267987	23.2	24.6	30.1	21.2	P	P	0.765	0.525	0.365	0.645	0.262	0.247	P
2303930	23.1	25.6	25.6	22.5	P	P	0.305	0.642	0.178	0.805	0.050	0.150	P
2268023	24.0	25.8	29.9	23.3	P	P	0.783	0.698	0.690	0.831	0.772	0.909	P

10

20

30

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2235292	22.1	23.4	27.6	18.4	P	P	0.755	0.065	0.825	0.081	0.694	0.199	P
2260065	26.5	27.0	31.8	23.6	P	P	0.226	0.215	0.895	0.655	0.456	0.397	P
2557316	22.0	24.4	28.1	19.8	P	P	0.329	0.493	0.589	0.150	0.927	0.383	P
2564997	23.4	25.6	29.5	21.3	P	P	0.461	0.494	0.591	0.207	0.835	0.386	P
2197899	23.1	24.2	28.5	21.1	P	P	0.554	0.549	0.867	0.833	0.635	0.618	P
2202851	23.2	24.3	25.6	21.3	P	P	0.567	0.591	0.161	0.874	0.223	0.372	P
2370415	23.6	27.2	29.4	24.2	P	P	0.024	0.161	0.723	0.889	0.456	0.601	P
2387538	23.2	26.7	28.3	21.8	P	P	0.034	0.875	0.988	0.089	0.298	0.916	P
2520432	23.0	23.5	26.3	21.9	P	P	0.201	0.948	0.356	0.319	0.724	0.403	P
2469194	22.8	24.4	28.2	21.9	P	P	0.982	0.819	0.867	0.820	0.866	0.993	P
2493616	22.6	25.6	28.3	19.5	P	P	0.108	0.146	0.752	0.007	0.644	0.258	P
2511358	21.9	22.4	26.1	18.0	P	P	0.216	0.041	0.640	0.200	0.908	0.422	P
620	22.8	24.2	26.5	21.2	P	P	0.884	0.794	0.487	0.863	0.500	0.655	P
583	22.1	23.7	29.0	21.5	P	P	0.971	0.614	0.354	0.572	0.311	0.616	P
512	21.9	23.6	29.6	21.3	P	P	0.855	0.615	0.172	0.686	0.169	0.377	P
517	23.2	25.0	29.7	21.1	P	P	0.832	0.497	0.460	0.380	0.492	0.299	P
514	21.9	24.0	25.9	21.4	P	P	0.552	0.580	0.555	0.874	0.353	0.403	P
5678_1	20.9	22.9	27.1	16.9	P	P	0.720	0.033	0.581	0.011	0.679	0.083	P
391	20.8	22.3	25.9	19.5	P	P	0.935	0.977	0.995	0.978	0.962	0.982	P
333	23.0	23.7	31.3	19.2	P	P	0.349	0.058	0.093	0.179	0.023	0.010	P
360	23.1	25.6	26.5	21.4	P	P	0.330	0.720	0.377	0.277	0.151	0.581	P
330	21.3	23.6	25.3	21.6	P	P	0.445	0.243	0.558	0.489	0.312	0.231	P
302	21.6	22.2	23.3	19.0	P	P	0.300	0.320	0.082	0.756	0.177	0.360	P
2475364	23.0	24.8	25.5	21.5	P	P	0.859	0.819	0.167	0.709	0.116	0.290	P
249291	22.4	24.2	27.0	22.5	P	P	0.809	0.330	0.797	0.387	0.691	0.424	P
4186	20.9	23.2	26.4	20.3	P	P	0.423	0.639	0.804	0.937	0.894	0.950	P
4109	23.3	25.3	30.8	19.1	P	P	0.685	0.023	0.215	0.007	0.259	0.016	P
4087	21.7	23.7	27.4	19.1	P	P	0.680	0.279	0.785	0.146	0.931	0.381	P
458	21.2	22.5	28.1	17.3	P	P	0.744	0.041	0.337	0.052	0.232	0.042	P
454_1	21.4	23.2	26.1	19.6	P	P	0.860	0.638	0.809	0.530	0.728	0.945	P
487	21.5	23.2	26.0	21.0	P	P	0.950	0.577	0.733	0.583	0.691	0.532	P

10

20

30

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
454	21.3	23.0	25.1	20.2	P	P	0.937	0.928	0.497	0.969	0.442	0.522	P
450	24.6	25.2	28.1	22.2	P	P	0.242	0.371	0.401	0.915	0.750	0.844	P
5769_1	23.1	25.9	30.3	21.2	P	P	0.157	0.620	0.261	0.120	0.617	0.206	P
286	22.6	23.5	27.2	21.4	P	P	0.447	0.989	0.800	0.571	0.914	0.820	P
204	20.3	22.7	25.7	21.1	P	P	0.387	0.134	0.875	0.331	0.792	0.453	P
194	22.0	23.2	26.5	20.9	P	P	0.640	0.925	0.756	0.661	0.920	0.746	P
4348	21.1	23.1	27.4	21.3	P	P	0.672	0.289	0.533	0.410	0.647	0.930	P
4229	21.7	24.2	27.4	21.5	P	P	0.291	0.414	0.746	0.915	0.858	0.839	P
4273	22.9	24.3	27.2	21.6	P	P	0.811	0.951	0.683	0.914	0.750	0.752	P
4206	24.2	25.6	31.2	20.1	P	P	0.839	0.025	0.320	0.025	0.242	0.029	P
4224	20.5	23.8	31.7	21.7	P	P	0.054	0.064	0.001	0.563	0.013	0.095	P
1654	23.0	26.8	27.4	22.2	P	P	0.012	0.725	0.696	0.152	0.096	0.586	P
3215498	22.6	24.1	26.3	21.9	P	P	0.917	0.706	0.444	0.633	0.442	0.377	P
2875063	21.9	23.8	25.1	20.2	P	P	0.706	0.750	0.322	0.540	0.211	0.504	P
2916462	23.2	25.2	30.3	23.3	P	P	0.621	0.328	0.286	0.493	0.368	0.731	P
2989696	24.9	26.2	28.1	22.4	P	P	0.725	0.345	0.338	0.452	0.393	0.787	P
3150468	22.0	22.3	25.7	18.5	P	P	0.155	0.084	0.458	0.415	0.932	0.702	P
3269616	22.5	23.6	28.5	21.0	P	P	0.661	0.840	0.613	0.919	0.446	0.578	P
2823098	21.2	24.3	31.1	21.8	P	P	0.077	0.143	0.011	0.780	0.063	0.180	P
3253112	22.6	24.2	28.0	20.5	P	P	0.994	0.481	0.869	0.449	0.862	0.576	P
3182559	20.5	22.1	24.3	19.9	P	P	0.982	0.618	0.492	0.606	0.454	0.374	P
2892503	24.0	25.2	28.9	22.9	P	P	0.712	0.912	0.931	0.701	0.927	0.889	P
2954473	22.0	24.0	26.5	21.0	P	P	0.644	0.831	0.774	0.914	0.590	0.709	P
3075030	21.9	23.2	25.1	20.7	P	P	0.695	0.981	0.301	0.757	0.360	0.364	P
3151800	24.2	25.3	30.3	21.9	P	P	0.589	0.400	0.608	0.613	0.412	0.347	P
2842448	24.6	25.0	30.7	21.3	P	P	0.205	0.114	0.584	0.442	0.223	0.159	P
2152744	21.4	23.5	29.1	22.9	P	P	0.564	0.033	0.166	0.063	0.230	0.948	P
3285480	24.1	24.7	27.7	23.1	P	P	0.285	0.854	0.447	0.332	0.777	0.444	P
3187134	21.8	21.3	24.7	19.3	P	P	0.018	0.332	0.238	0.497	0.932	0.656	P
2996445	22.0	24.2	28.2	20.5	P	P	0.533	0.844	0.585	0.508	0.783	0.557	P
2973087	21.8	23.3	25.3	19.5	P	P	0.950	0.455	0.430	0.452	0.414	0.810	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
3007078	23.2	24.7	29.3	19.1	P	P	0.892	0.028	0.610	0.024	0.538	0.081	P
3143971	21.7	24.0	27.2	19.5	P	P	0.441	0.456	0.831	0.177	0.877	0.532	P
3241087	21.8	22.2	25.0	20.0	P	P	0.161	0.658	0.328	0.587	0.727	0.560	P
2801327	24.5	25.3	26.7	22.3	P	P	0.380	0.453	0.121	0.869	0.220	0.370	P
2774672	22.9	24.4	26.8	19.8	P	P	0.902	0.146	0.541	0.144	0.552	0.740	P
3267724	24.1	24.1	26.8	20.1	P	P	0.070	0.032	0.214	0.329	0.667	0.846	P
3219499	24.8	25.5	26.9	20.5	P	P	0.367	0.021	0.128	0.070	0.237	0.958	P
3022381	21.8	21.9	25.0	19.4	P	P	0.105	0.399	0.325	0.786	0.803	0.725	P
2973476	24.2	25.3	30.1	22.0	P	P	0.600	0.501	0.637	0.736	0.443	0.421	P
3143818	22.3	24.0	26.6	21.2	P	P	0.874	0.930	0.691	0.983	0.613	0.692	P
3118227	24.2	24.6	29.2	23.8	P	P	0.179	0.516	0.967	0.096	0.532	0.674	P
3250409	22.5	24.2	27.5	20.5	P	P	0.878	0.583	0.954	0.486	0.890	0.783	P
2654918	24.0	25.2	26.7	21.5	P	P	0.664	0.370	0.229	0.522	0.282	0.610	P
2163170	22.3	23.5	28.1	20.1	P	P	0.695	0.489	0.678	0.650	0.522	0.443	P
3257803	23.4	24.7	28.6	21.8	P	P	0.733	0.761	0.989	0.939	0.853	0.848	P
2911717	23.9	25.0	29.3	22.9	P	P	0.563	0.875	0.873	0.558	0.645	0.964	P
3082897	24.7	25.3	30.7	20.3	P	P	0.261	0.014	0.622	0.071	0.276	0.060	P
2893476	24.0	26.9	30.0	24.1	P	P	0.167	0.306	0.668	0.928	0.818	0.814	P
3136847	22.1	23.2	26.1	21.7	P	P	0.557	0.503	0.557	0.254	0.735	0.366	P
3161091	20.4	22.2	24.9	19.6	P	P	0.761	0.740	0.762	0.893	0.634	0.647	P
3263354	23.2	24.0	26.9	20.1	P	P	0.354	0.163	0.474	0.413	0.760	0.836	P
2156886	23.7	25.2	29.6	22.5	P	P	0.999	0.958	0.655	0.956	0.632	0.723	P
3247954	20.6	24.1	26.8	20.8	P	P	0.031	0.281	0.578	0.681	0.633	0.876	P
3042060	24.6	26.9	27.6	22.8	P	P	0.373	0.670	0.289	0.272	0.114	0.507	P
2961182	25.1	26.5	32.4	23.7	P	P	0.859	0.896	0.258	0.992	0.192	0.292	P
3141749	21.0	23.0	24.0	20.0	P	P	0.610	0.844	0.287	0.873	0.162	0.300	P
3174398	22.5	23.4	27.2	22.2	P	P	0.466	0.492	0.842	0.207	0.881	0.563	P
2425352	21.3	23.2	24.4	20.0	P	P	0.713	0.969	0.287	0.758	0.185	0.370	P
2628334	21.1	25.0	27.1	22.4	P	P	0.009	0.054	0.642	0.870	0.421	0.461	P
2156857	22.4	23.5	27.7	20.7	P	P	0.553	0.753	0.893	0.925	0.660	0.762	P
3222786	22.9	24.0	27.4	20.9	P	P	0.622	0.586	0.770	0.824	0.946	0.945	P

10

20

30



サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
3008502	23.1	24.4	28.1	19.3	P	P	0.749	0.047	0.950	0.059	0.927	0.263	P
3007162	23.4	25.9	28.1	23.0	P	P	0.335	0.536	0.845	0.969	0.490	0.593	P
3173057	24.3	24.8	31.1	21.7	P	P	0.213	0.320	0.366	0.875	0.112	0.172	P
3111443	21.0	23.4	28.2	19.1	P	P	0.353	0.625	0.265	0.233	0.463	0.211	P
2671979	24.0	25.8	29.6	22.7	P	P	0.817	0.935	0.792	0.799	0.867	0.783	P
2627904	22.8	24.7	27.6	22.0	P	P	0.686	0.703	0.900	0.909	0.737	0.739	P
2789061	22.2	25.3	29.6	24.1	P	P	0.074	0.016	0.210	0.204	0.649	0.735	P
3269868	21.6	24.6	27.0	22.1	P	P	0.118	0.197	0.865	0.806	0.550	0.538	P
3033996	22.4	24.5	26.8	21.4	P	P	0.576	0.864	0.706	0.824	0.494	0.670	P
2910981	23.4	27.5	29.8	24.4	P	P	0.005	0.095	0.503	0.815	0.505	0.684	P
3018183	22.0	24.3	28.9	21.1	P	P	0.420	0.808	0.346	0.745	0.543	0.503	P
3125147	23.1	24.7	27.4	22.8	P	P	0.981	0.485	0.687	0.467	0.657	0.447	P
3129468	21.0	24.5	28.4	22.1	P	P	0.030	0.075	0.224	0.748	0.826	0.999	P
2857601	22.5	23.8	26.8	21.9	P	P	0.784	0.616	0.682	0.463	0.762	0.515	P
2636623	25.4	27.0	31.6	24.4	P	P	0.953	0.806	0.558	0.826	0.549	0.719	P
2781026	24.2	27.5	31.4	25.3	P	P	0.045	0.073	0.260	0.641	0.833	0.929	P
3255360	23.1	24.7	27.4	21.5	P	P	0.951	0.803	0.698	0.756	0.655	0.851	P
3029652	23.8	26.8	27.0	22.7	P	P	0.115	0.966	0.313	0.273	0.062	0.370	P
2912013	25.7	27.1	33.5	25.4	P	P	0.819	0.455	0.146	0.336	0.094	0.415	P
2880471	22.9	25.3	29.5	20.8	P	P	0.419	0.497	0.442	0.190	0.673	0.286	P
3151473	22.3	23.1	25.3	20.5	P	P	0.369	0.646	0.276	0.873	0.472	0.504	P
3131243	23.4	24.3	26.2	20.9	P	P	0.444	0.328	0.234	0.625	0.371	0.653	P
2811174	22.3	26.2	27.9	21.9	P	P	0.009	0.541	0.804	0.217	0.301	0.883	P
2768722	24.3	25.8	29.1	21.7	P	P	0.953	0.324	0.895	0.314	0.911	0.639	P
2601748	22.3	23.1	27.1	20.2	P	P	0.370	0.496	0.871	0.938	0.785	0.793	P
2793139	21.2	21.4	26.5	17.9	P	P	0.103	0.114	0.900	0.615	0.343	0.297	P
175	22.8	23.6	28.7	18.0	P	P	0.380	0.007	0.665	0.026	0.366	0.050	P
1528	23.9	24.2	29.4	20.6	P	P	0.133	0.114	0.850	0.550	0.342	0.273	P
763	21.6	22.4	23.6	19.4	P	P	0.402	0.467	0.104	0.866	0.185	0.330	P
2449113	23.7	25.2	28.5	22.7	P	P	0.922	0.865	0.902	0.801	0.934	0.836	P
1239	23.7	25.9	27.6	23.1	P	P	0.508	0.631	0.530	0.974	0.315	0.409	P

10

20

30

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2240	20.9	25.2	30.4	19.5	P	P	0.002	0.865	0.021	0.016	0.343	0.036	P
1894	23.3	25.5	27.6	23.2	P	P	0.475	0.390	0.691	0.690	0.434	0.395	P
1143	23.8	25.6	30.4	20.3	P	P	0.855	0.086	0.445	0.049	0.466	0.094	P
2888477	21.3	23.4	28.7	19.6	P	P	0.591	0.678	0.228	0.406	0.305	0.199	P
2786127	22.2	23.7	27.0	20.8	P	P	0.920	0.894	0.871	0.944	0.901	0.951	P
1782	26.3	25.0	30.0	21.2	P	P	0.001	0.003	0.492	0.443	0.376	0.255	P
2774321	24.8	26.2	31.1	19.8	P	P	0.887	0.005	0.509	0.004	0.435	0.025	P
2512541	21.6	23.6	27.8	18.1	P	P	0.612	0.089	0.571	0.029	0.723	0.135	P
2109	23.1	25.3	28.1	21.4	P	P	0.514	0.728	0.934	0.399	0.679	0.893	P
2005	22.1	24.2	27.8	21.7	P	P	0.543	0.518	0.768	0.803	0.989	0.899	P
1145	22.8	25.6	31.0	19.3	P	P	0.168	0.088	0.097	0.005	0.275	0.015	P
2545687	19.7	21.6	28.4	19.0	P	P	0.748	0.710	0.061	0.869	0.064	0.161	P
1824	26.1	25.2	30.0	21.0	P	P	0.004	0.003	0.539	0.266	0.443	0.217	P
554	22.3	22.6	25.8	19.1	P	P	0.150	0.131	0.405	0.572	0.860	0.864	P
2152399	25.2	25.0	31.4	20.1	P	P	0.047	0.003	0.573	0.083	0.111	0.025	P
1630	23.9	24.9	26.2	23.0	P	P	0.499	0.756	0.146	0.412	0.221	0.150	P
2089	22.5	24.3	28.3	20.3	P	P	0.812	0.467	0.732	0.343	0.803	0.468	P
1914	21.0	22.0	25.5	18.5	P	P	0.519	0.346	0.774	0.591	0.990	0.758	P
1189	20.9	24.5	28.0	20.3	P	P	0.024	0.613	0.289	0.275	0.989	0.538	P
2677542	25.1	26.7	30.1	22.9	P	P	0.989	0.472	0.952	0.438	0.943	0.710	P
2073538	23.5	23.5	29.5	20.4	P	P	0.074	0.152	0.656	0.814	0.171	0.218	P
1967	21.6	23.1	26.2	19.5	P	P	0.905	0.533	0.810	0.563	0.842	0.873	P
2550576	22.5	24.2	27.2	22.5	P	P	0.911	0.372	0.810	0.384	0.754	0.462	P
438	22.7	22.3	26.9	18.0	P	P	0.024	0.008	0.659	0.241	0.514	0.240	P
1550	25.1	26.0	30.1	23.2	P	P	0.420	0.635	0.970	0.938	0.718	0.804	P
2087	21.4	23.4	26.7	19.4	P	P	0.655	0.538	0.941	0.327	0.886	0.668	P
1902	22.4	24.4	26.5	21.4	P	P	0.591	0.820	0.619	0.884	0.423	0.573	P
3485126	24.1	27.1	29.8	23.9	P	P	0.108	0.421	0.720	0.761	0.678	0.868	P
1957	23.8	24.5	28.6	20.7	P	P	0.306	0.138	0.848	0.400	0.761	0.477	P
278	24.3	25.4	31.7	21.3	P	P	0.528	0.155	0.247	0.289	0.120	0.066	P
2276373	23.6	24.2	28.4	21.0	P	P	0.312	0.297	0.904	0.705	0.708	0.609	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2318175	21.7	23.9	28.5	21.0	P	P	0.485	0.699	0.369	0.925	0.538	0.584	P
2079564	23.4	24.3	27.6	18.0	P	P	0.426	0.001	0.647	0.005	0.925	0.136	P
2295511	26.3	26.1	29.3	22.7	P	P	0.041	0.063	0.274	0.612	0.875	0.877	P
2495	23.5	25.5	27.0	21.3	P	P	0.575	0.466	0.420	0.237	0.252	0.791	P
1837	25.2	26.9	32.1	23.3	P	P	0.924	0.634	0.346	0.564	0.335	0.273	P
1223	24.8	26.3	28.9	23.1	P	P	0.934	0.719	0.575	0.747	0.576	0.786	P
2193	25.1	26.4	31.2	23.4	P	P	0.762	0.700	0.593	0.849	0.468	0.490	P
2045301	25.0	25.3	31.1	21.0	P	P	0.176	0.041	0.570	0.229	0.199	0.089	P
2469217	21.2	22.5	27.3	19.9	P	P	0.681	0.933	0.630	0.835	0.470	0.641	P
2351284	20.9	21.9	22.4	19.2	P	P	0.466	0.733	0.057	0.870	0.094	0.150	P
2712378	21.6	23.2	26.5	19.3	P	P	0.949	0.415	0.921	0.411	0.941	0.692	P
2739656	24.6	26.2	29.0	23.6	P	P	0.984	0.856	0.704	0.858	0.676	0.664	P
2462	20.0	24.1	27.7	21.5	P	P	0.006	0.041	0.186	0.834	0.953	0.945	P
1835	22.1	23.5	26.6	21.1	P	P	0.848	0.837	0.767	0.720	0.824	0.705	P
1400	22.0	23.9	25.0	20.7	P	P	0.694	0.990	0.286	0.766	0.180	0.361	P
2662486	24.7	24.7	27.6	22.1	P	P	0.071	0.279	0.247	0.879	0.732	0.719	P
2654139	20.8	22.4	24.0	20.1	P	P	0.905	0.679	0.339	0.723	0.278	0.284	P
2309104	23.0	25.8	28.6	20.0	P	P	0.192	0.182	0.797	0.018	0.709	0.312	P
1426	23.4	24.1	28.9	21.7	P	P	0.329	0.767	0.810	0.696	0.457	0.702	P
2661366	26.4	25.9	29.9	22.2	P	P	0.018	0.022	0.410	0.466	0.765	0.519	P
2143801	25.0	25.6	28.9	22.6	P	P	0.255	0.363	0.542	0.884	0.931	0.991	P
1717	23.3	24.7	28.5	20.9	P	P	0.849	0.380	0.943	0.424	0.864	0.561	P
1863	23.7	25.6	26.9	22.4	P	P	0.771	0.970	0.310	0.801	0.216	0.392	P
1218	24.9	26.4	29.3	23.1	P	P	0.870	0.622	0.689	0.683	0.728	0.957	P
2566446	21.9	22.0	25.5	20.0	P	P	0.080	0.589	0.431	0.490	0.979	0.718	P
2355070	23.3	26.3	30.2	20.0	P	P	0.105	0.111	0.325	0.004	0.803	0.073	P
2512233	24.8	26.2	31.2	20.6	P	P	0.808	0.023	0.495	0.024	0.393	0.053	P
2317	22.1	25.1	25.8	21.9	P	P	0.111	0.428	0.489	0.757	0.124	0.287	P
2286	22.9	25.7	28.6	22.3	P	P	0.179	0.636	0.761	0.639	0.731	0.986	P
1128	21.6	25.0	27.7	22.3	P	P	0.037	0.131	0.605	0.923	0.626	0.656	P
1536	19.4	23.4	24.9	17.3	P	P	0.008	0.492	0.840	0.008	0.266	0.561	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2257043	21.1	22.5	27.0	17.7	P	P	0.786	0.098	0.660	0.117	0.544	0.174	P
2231993	22.7	23.1	25.9	20.1	P	P	0.190	0.287	0.319	0.852	0.677	0.817	P
1521	25.5	24.8	27.5	22.3	P	P	0.011	0.142	0.111	0.785	0.657	0.611	P
220	24.1	24.8	27.5	20.0	P	P	0.338	0.027	0.360	0.097	0.614	0.606	P
893	23.8	24.8	28.5	20.8	P	P	0.490	0.177	0.826	0.348	0.913	0.543	P
2138	23.6	25.5	30.3	23.0	P	P	0.705	0.595	0.389	0.770	0.462	0.667	P
2076	22.3	24.3	25.8	22.6	P	P	0.660	0.250	0.400	0.364	0.261	0.159	P
1142	23.1	26.8	28.7	24.6	P	P	0.016	0.036	0.794	0.632	0.355	0.312	P
1539	22.8	24.3	30.3	20.8	P	P	0.923	0.552	0.211	0.572	0.165	0.152	P
349	21.9	23.6	26.2	20.1	P	P	0.887	0.652	0.672	0.560	0.599	0.921	P
1669	26.0	25.8	28.1	23.6	P	P	0.042	0.367	0.116	0.610	0.501	0.410	P
2740095	21.3	24.7	28.6	22.1	P	P	0.050	0.119	0.269	0.805	0.833	0.974	P
2855706	21.2	22.8	26.8	19.9	P	P	0.962	0.982	0.793	0.954	0.796	0.810	P
2259	20.6	22.1	27.0	16.6	P	P	0.908	0.032	0.502	0.027	0.436	0.064	P
2593636	22.0	22.6	28.3	17.2	P	P	0.230	0.006	0.531	0.042	0.204	0.032	P
2937810	22.8	24.3	30.0	20.8	P	P	0.862	0.540	0.270	0.597	0.204	0.189	P
2792222	24.2	25.4	29.2	23.2	P	P	0.656	0.846	0.931	0.596	0.896	0.850	P
1853	22.2	23.3	26.3	19.6	P	P	0.582	0.312	0.639	0.496	0.818	0.847	P
2802981	22.6	25.2	28.1	19.1	P	P	0.225	0.092	0.797	0.008	0.743	0.223	P
2060742	21.4	22.3	25.5	18.8	P	P	0.406	0.277	0.584	0.577	0.863	0.865	P
820	20.8	21.2	25.5	17.8	P	P	0.213	0.181	0.866	0.599	0.660	0.518	P
922	21.7	22.1	28.0	18.7	P	P	0.180	0.158	0.556	0.592	0.194	0.179	P
2319	25.9	25.8	34.3	21.2	P	P	0.059	0.008	0.088	0.143	0.006	0.002	P
1532	23.9	25.9	30.4	24.1	P	P	0.659	0.300	0.474	0.432	0.583	0.995	P
632	24.4	25.4	31.0	23.7	P	P	0.483	0.734	0.438	0.384	0.238	0.640	P
2226	24.1	25.1	29.6	22.4	P	P	0.507	0.721	0.830	0.920	0.575	0.692	P
2332187	21.5	23.7	26.8	18.3	P	P	0.497	0.134	0.915	0.037	0.822	0.328	P
2423724	23.7	26.1	29.6	20.9	P	P	0.391	0.222	0.692	0.055	0.998	0.287	P
2269	25.5	26.5	29.1	23.1	P	P	0.574	0.381	0.455	0.598	0.602	0.899	P
893_1	24.8	26.3	28.5	21.0	P	P	0.878	0.045	0.455	0.043	0.468	0.589	P
1016	24.8	24.9	26.8	21.4	P	P	0.113	0.106	0.107	0.565	0.347	0.662	P

10

20

30

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4/ LAMP1 pVal	CEACAM4/ PLAC8 pVal	CEACAM4/ PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2914265	24.4	25.8	28.7	21.1	P	P	0.912	0.130	0.687	0.125	0.705	0.585	P
2235173	23.6	24.5	31.8	19.8	P	P	0.454	0.055	0.098	0.133	0.032	0.010	P
615	24.3	25.3	30.3	23.8	P	P	0.525	0.592	0.629	0.302	0.404	0.920	P
2555715	24.5	26.5	30.7	21.5	P	P	0.664	0.173	0.557	0.077	0.679	0.189	P
3032	25.0	26.3	31.2	21.1	P	P	0.725	0.036	0.561	0.048	0.424	0.082	P
2533160	23.9	26.6	31.9	24.4	P	P	0.203	0.181	0.138	0.614	0.338	0.623	P
2108553	25.0	25.6	30.4	21.1	P	P	0.280	0.039	0.889	0.157	0.491	0.181	P
2855460	24.3	25.6	26.6	21.5	P	P	0.718	0.223	0.149	0.299	0.171	0.598	P
2505890	25.3	26.9	30.1	21.5	P	P	0.945	0.046	0.851	0.037	0.867	0.308	P
438_1	24.9	24.5	28.7	21.4	P	P	0.028	0.089	0.522	0.820	0.685	0.651	P
1670	24.1	24.6	29.1	21.7	P	P	0.196	0.344	0.939	0.941	0.574	0.622	P
2895821	26.2	26.8	30.2	23.4	P	P	0.271	0.241	0.563	0.651	0.942	0.847	P
382	24.8	24.3	27.6	22.3	P	P	0.020	0.322	0.222	0.533	0.878	0.639	P
923	23.4	24.2	26.0	19.6	P	P	0.406	0.051	0.188	0.138	0.318	0.986	P
739	20.6	21.3	25.1	17.2	P	P	0.319	0.109	0.775	0.324	0.850	0.484	P
1023	25.4	25.7	29.0	21.7	P	P	0.127	0.058	0.431	0.358	0.932	0.659	P
2197135	26.2	26.7	33.0	22.2	P	P	0.234	0.033	0.365	0.160	0.117	0.041	P
2442	23.8	24.7	29.8	20.3	P	P	0.421	0.075	0.645	0.187	0.370	0.147	P
3245	23.0	25.3	29.1	21.8	P	P	0.486	0.967	0.607	0.584	0.838	0.640	P
2214618	22.5	23.5	27.9	20.1	P	P	0.502	0.375	0.865	0.645	0.605	0.502	P
2923104	25.6	28.3	31.1	24.1	P	P	0.216	0.829	0.836	0.260	0.693	0.759	P
2577185	25.3	25.9	26.8	23.8	P	P	0.229	0.839	0.058	0.513	0.152	0.130	P
2691741	25.6	25.9	29.1	23.6	P	P	0.147	0.583	0.394	0.642	0.848	0.681	P
2067	26.1	27.6	29.9	23.7	P	P	0.940	0.360	0.497	0.357	0.490	0.964	P
2866838	24.6	27.4	29.7	24.1	P	P	0.193	0.592	0.993	0.711	0.510	0.746	P
651	24.2	25.8	25.2	19.1	P	P	0.979	0.003	0.033	0.002	0.023	0.935	P
784	22.8	24.4	27.8	21.8	P	P	0.991	0.854	0.966	0.851	0.959	0.884	P
2538	22.5	22.5	24.8	20.5	P	P	0.072	0.530	0.135	0.526	0.479	0.357	P
243	22.6	22.8	25.3	18.1	P	P	0.134	0.014	0.210	0.126	0.551	0.713	P
2024940	23.7	26.4	30.3	25.1	P	P	0.195	0.043	0.428	0.222	0.839	0.608	P
2473497	25.3	26.5	29.8	21.3	P	P	0.657	0.037	0.776	0.058	0.934	0.325	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2727912	24.6	25.6	27.0	21.1	P	P	0.569	0.093	0.161	0.168	0.222	0.828	P
687	24.3	25.5	31.0	20.4	P	P	0.662	0.039	0.400	0.059	0.262	0.051	P
160	24.3	24.8	29.0	21.2	P	P	0.245	0.167	0.858	0.527	0.698	0.507	P
670	27.3	27.5	29.9	24.9	P	P	0.109	0.394	0.200	0.802	0.565	0.547	P
2629101	26.5	26.9	30.3	24.4	P	P	0.186	0.526	0.513	0.778	0.967	0.850	P
2532	23.1	24.3	28.2	17.7	P	P	0.706	0.001	0.999	0.002	0.852	0.060	P
2071896	24.0	25.9	29.8	20.8	P	P	0.713	0.132	0.725	0.061	0.846	0.233	P
2788747	25.9	27.6	29.8	22.6	P	P	0.903	0.108	0.550	0.072	0.482	0.665	P
1611	22.8	24.3	27.6	17.9	P	P	0.919	0.005	0.904	0.004	0.937	0.121	P
1248	21.8	23.1	28.7	18.9	P	P	0.738	0.215	0.346	0.280	0.239	0.122	P
790	23.6	23.7	27.3	19.4	P	P	0.091	0.021	0.454	0.216	0.969	0.474	P
1079	24.3	25.2	30.3	24.0	P	P	0.483	0.438	0.624	0.182	0.381	0.972	P
3063	24.7	25.9	29.9	20.2	P	P	0.651	0.013	0.947	0.020	0.767	0.127	P
3117	25.0	25.3	29.7	20.8	P	P	0.143	0.024	0.865	0.176	0.583	0.234	P
852	25.5	26.2	29.4	22.6	P	P	0.351	0.223	0.527	0.532	0.831	0.862	P
2295	23.8	23.8	25.1	20.4	P	P	0.072	0.096	0.046	0.637	0.214	0.460	P
2912	25.1	26.1	31.0	20.9	P	P	0.488	0.022	0.672	0.053	0.423	0.086	P
3137	24.9	25.8	29.1	22.5	P	P	0.398	0.359	0.621	0.715	0.914	0.908	P
1206	22.0	22.5	25.0	20.1	P	P	0.200	0.581	0.271	0.734	0.589	0.533	P
2974887	23.0	24.6	29.5	20.8	P	P	0.972	0.464	0.446	0.450	0.404	0.275	P
2526	23.1	25.3	30.7	21.6	P	P	0.495	0.809	0.190	0.452	0.286	0.202	P
3044	22.0	22.8	27.0	20.1	P	P	0.336	0.586	0.960	0.907	0.669	0.780	P
2907847	22.8	23.6	26.6	19.1	P	P	0.337	0.060	0.476	0.191	0.775	0.620	P
3210	23.3	25.0	26.2	22.1	P	P	0.913	0.994	0.235	0.943	0.184	0.303	P
3199	25.4	25.1	30.0	21.4	P	P	0.033	0.039	0.801	0.508	0.429	0.316	P
3318	26.5	27.4	32.4	22.5	P	P	0.431	0.037	0.659	0.098	0.386	0.106	P
3111	24.5	26.1	29.1	21.3	P	P	0.990	0.140	0.803	0.113	0.784	0.511	P
3210_1	26.4	26.7	29.5	23.2	P	P	0.160	0.129	0.310	0.547	0.698	0.983	P
3088	24.0	24.8	26.9	20.0	P	P	0.398	0.037	0.246	0.107	0.410	0.818	P
2912876	27.2	28.4	32.7	26.0	P	P	0.635	0.995	0.831	0.726	0.642	0.857	P
2825793	25.6	25.4	30.2	22.1	P	P	0.044	0.083	0.769	0.695	0.491	0.440	P

10

20

30

	通常対照						相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2761	20.7	21.2	25.9	17.4	P	P	0.233	0.127	0.936	0.444	0.496	0.331	P
2440	22.1	22.4	26.1	20.0	P	P	0.128	0.473	0.542	0.737	0.917	0.919	P

40

表 8 は、通常対照および相対対照方法の両方で不適格とされた 2 つのサンプル（546 のうち）の生のデータ結果を示す。

【0246】

【表 8】

	通常対照					相対対照						
サンプル	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
2712753	21.30	22.23	<b>36.06</b>	18.67	F	0.460	0.286	<b>0.000</b>	0.547	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	F
2023537	25.29	25.22	<b>37.02</b>	21.26	F	0.062	0.032	<b>0.001</b>	0.351	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	F

10

【0247】

表 9 は、通常対照方法では不適格とされたが、相対対照方法では適格とされた 26 のサンプル（546 のうち）の生のデータ結果を示す。

【0248】

【表 9】

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
6759	22.5 0	23.6 6	26.5 1	22.0 2	F	F	0.62 9	0.56 6	0.57 0	0.33 7	0.71 2	0.40 7	P
6769	23.8 9	24.0 5	27.3 2	21.3 4	F	F	0.10 7	0.31 7	0.38 5	0.92 1	0.89 7	0.87 3	P
6789	22.5 2	23.2 6	26.8 3	21.7 6	F	F	0.33 8	0.71 7	0.68 1	0.28 0	0.97 1	0.56 9	P
6812	21.9 7	23.7 1	26.1 2	22.1 2	F	F	0.86 4	0.29 0	0.62 2	0.31 5	0.53 9	0.29 3	P
6829	22.0 4	23.9 5	26.7 5	22.4 9	F	F	0.72 1	0.19 7	0.84 2	0.26 4	0.69 5	0.35 0	P
6834	21.2 9	23.9 7	29.1 1	20.8 8	F	F	0.22 1	0.52 6	0.15 3	0.83 4	0.35 6	0.39 1	P
6836	21.2 0	23.5 2	27.8 8	20.3 8	F	F	0.41 2	0.75 3	0.40 5	0.79 6	0.62 7	0.59 4	P
6843	21.4 2	22.5 8	24.0 7	20.4 6	F	F	0.63 2	0.83 3	0.20 0	0.56 8	0.25 6	0.21 8	P
6852	21.9 0	24.0 3	26.3 3	22.6 4	F	F	0.54 6	0.13 2	0.72 6	0.24 2	0.49 8	0.23 3	P
6853	23.8 7	24.4 9	25.9 7	21.2 5	F	F	0.27 3	0.28 9	0.11 7	0.73 6	0.25 6	0.46 7	P
6870	24.1 0	25.3 5	28.1 7	22.1 1	F	F	0.70 2	0.56 4	0.59 3	0.73 5	0.70 2	0.90 4	P
IXP-109	22.6 1	24.0 5	27.7 9	20.5 0	F	F	0.86 6	0.50 3	0.96 1	0.55 4	0.89 1	0.66 1	P
ixp-136	23.0 4	24.4 1	25.5 6	19.5 9	F	F	0.80 8	0.09 0	0.17 8	0.10 3	0.18 5	0.87 1	P
IXP-138	23.4 7	24.1 2	28.7 5	20.7 9	F	F	0.29 1	0.27 2	0.92 0	0.68 3	0.52 6	0.46 1	P
IXP-139	22.1 2	23.3 5	26.0 9	20.9 7	F	F	0.68 8	0.94 7	0.55 5	0.71 8	0.66 5	0.58 3	P
IXP-140	21.4 8	23.3 6	27.5 5	22.0 4	F	F	0.74 4	0.16 8	0.60 7	0.21 8	0.69 7	0.71 1	P
IXP-141	23.9 5	25.1 2	27.5 5	20.6 3	F	F	0.63 7	0.11 1	0.43 4	0.17 4	0.54 6	0.78 9	P
IXP-143	23.2 4	24.4 0	26.0 9	22.1 6	F	F	0.63 5	0.90 3	0.24 0	0.63 5	0.30 6	0.27 7	P
IXP-144	22.5 2	24.8 9	27.0 6	22.0 1	F	F	0.37 8	0.57 9	0.77 4	0.96 3	0.45 5	0.56 4	P
IXP-146	22.0 5	24.1 9	27.2 0	21.3 5	F	F	0.53 1	0.68 2	0.97 4	0.98 6	0.78 1	0.83 0	P
IXP-	24.9	25.7	26.2	21.6	F	F	0.33	0.11	0.04	0.32	0.09	0.42	P

10

20

30

40



サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
147	9	2	4	9			2	5	4	9	4	0	
IXP-148	21.4 6	23.1 8	25.7 5	21.8 0	F	F	0.88 7	0.22 8	0.67 4	0.23 7	0.60 2	0.28 2	P
IXP-149	23.6 7	24.1 9	25.5 0	22.1 4	F	F	0.22 6	0.82 1	0.08 7	0.52 6	0.21 8	0.17 9	P
6869	31.6 0	35.9 9	37.2 2	33.4 6	P	F	0.00 2	0.01 8	0.78 4	0.80 9	0.20 1	0.24 5	P
IXP_128	31.8 7	33.3 9	38.0 3	28.1 1	P	F	0.94 0	0.05 3	0.57 8	0.04 5	0.52 6	0.10 5	P
1357	27.2 7	27.0 5	35.0 6	22.1 2	P	F	0.04 2	0.00 3	0.15 7	0.08 5	0.01 1	0.00 3	P

10

【 0 2 4 9 】

表 1 0 は、通常対照方法では適格とされ、相対対照方法では不適格とされた 1 3 のサンプル ( 5 4 6 のうち ) の生のデータ結果を示す。

20

【 0 2 5 0 】

【表 10】

サンプル	通常対照						相対対照						
	CEACAM4	LAMP1	PLA2G7	PLAC8	外部対照	状態	CEACAM4 / LAMP1 pVal	CEACAM4 / PLAC8 pVal	CEACAM4 / PLA2G7 pVal	LAMP1 / PLAC8 pVal	LAMP1 / PLA2G7 pVal	PLAC8 / PLA2G7 pVal	状態
240006 5	21.1 1	27.0 1	29.5 8	23.3 7	P	P	<b>0.00</b> 0	0.00 8	0.07 7	0.50 8	0.60 0	0.95 6	F
249193 0	21.4 8	26.4 2	28.0 4	23.0 1	P	P	<b>0.00</b> 0	0.03 5	0.44 3	0.62 8	0.28 7	0.55 7	F
228361 4	22.0 5	26.9 5	30.1 3	24.6 9	P	P	<b>0.00</b> 0	0.00 3	0.11 8	0.65 1	0.85 2	0.68 8	F
254184 5	20.2 8	25.1 7	27.5 3	22.4 1	P	P	<b>0.00</b> 0	0.01 0	0.25 9	0.95 6	0.52 1	0.58 5	F
3787	26.1	30.7	31.0	21.6	P	P	<b>0.00</b>	0.01	0.92	<b>0.00</b>	<b>0.07</b>	0.16	F
	5	3	7	9			1	3	9	0	6	6	
278105 6	22.2 1	27.4 9	29.0 8	24.3 8	P	P	<b>0.00</b> 0	0.00 9	0.35 2	0.81 8	0.28 3	0.46 1	F
263694 8	19.6 2	24.7 1	27.1 8	21.2 0	P	P	<b>0.00</b> 0	0.03 1	0.19 6	0.57 4	0.56 3	0.87 7	F
258073 9	27.2 7	26.5 5	29.7 8	20.6 6	P	P	0.00 9	<b>0.00</b> 0	0.17 7	0.01 2	0.88 0	0.20 6	F
1329	26.1 4	24.0 3	30.8 6	22.3 6	P	P	<b>0.00</b> 0	0.05 2	0.84 7	0.34 6	0.06 1	0.32 6	F
242311 3	23.9 0	26.7 2	32.4 1	19.8 0	P	P	0.16 4	0.02 9	0.07 3	<b>0.00</b> 1	0.21 9	0.00 4	F
2791	25.5 7	23.5 9	31.4 0	19.1 3	P	P	<b>0.00</b> 0	<b>0.00</b> 0	0.70 1	0.18 0	0.01 6	0.00 7	F
1914	24.6 5	26.2 9	29.9 1	17.7 2	P	P	0.95 8	<b>0.00</b> 0	0.93 3	<b>0.00</b> 0	0.94 8	0.00 8	F
2452	23.4 8	22.9 8	26.3 0	17.5 6	P	P	0.01 8	<b>0.00</b> 0	0.23 4	0.03 5	0.92 0	0.27 6	F

10

20

30

## 【0251】

本明細書および以下に続く特許請求の範囲を通して、文脈がそうではないことを要求しない限り、「含んでなる(comprise)」という用語および「含んでなる(comprises)」または「含んでなる(comprising)」などの変形は、示された整数または整数もしくは工程の群の包含を意味するが、他の整数または整数の群の排除を意味するものではないと理解される。

## 【0252】

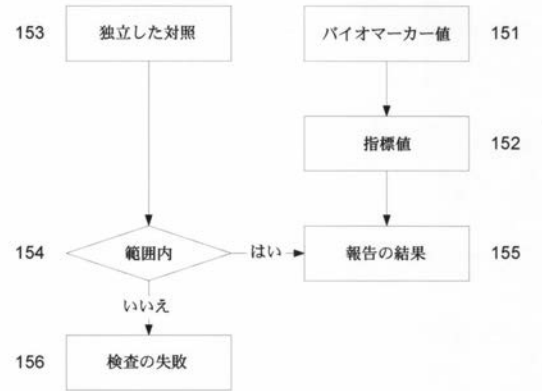
当業者ならば、多くの変形および改変が自明となることを認識するであろう。当業者に自明となるこのような変形および改変は、以上に記載される、本発明が広く示す趣旨および範囲内にあると見なされるべきである。

40

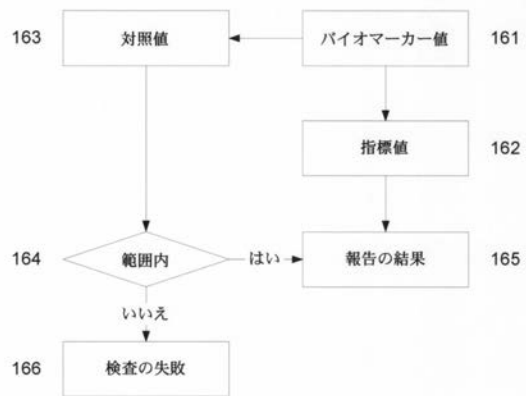
【図 1 A】



【図 1 B】



【図 1 C】



【図 2】

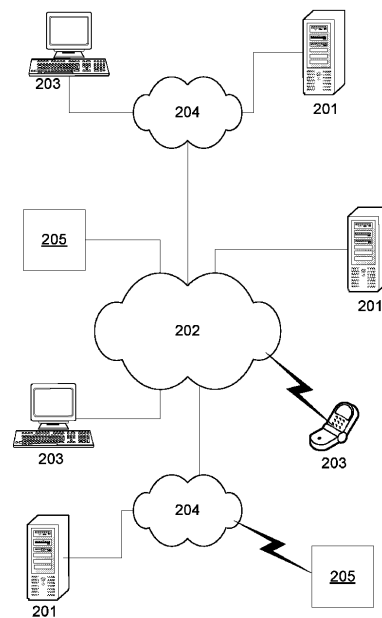
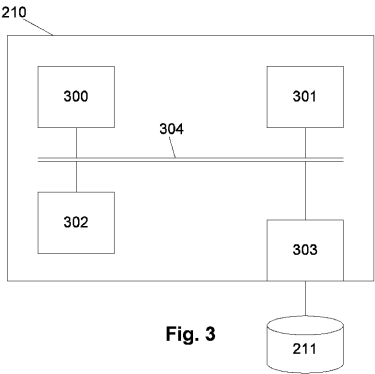
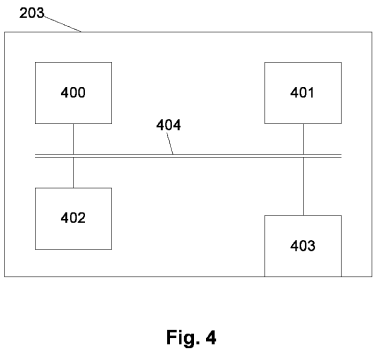


Fig. 2

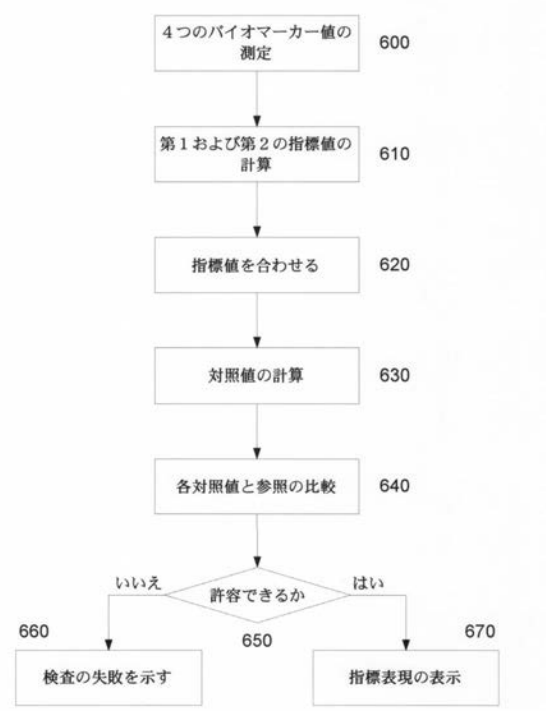
【 図 3 】



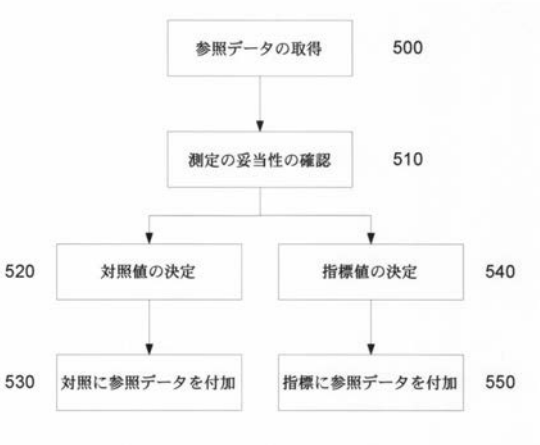
【 図 4 】



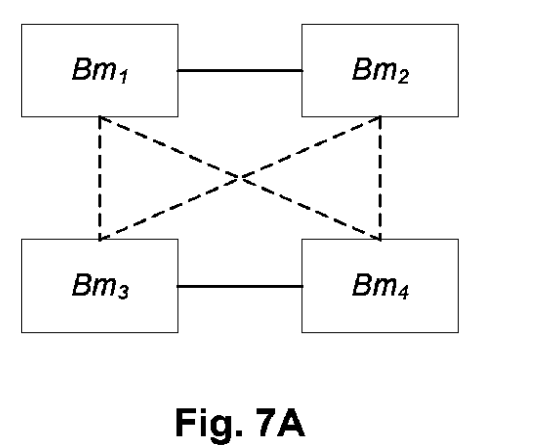
【 図 6 】



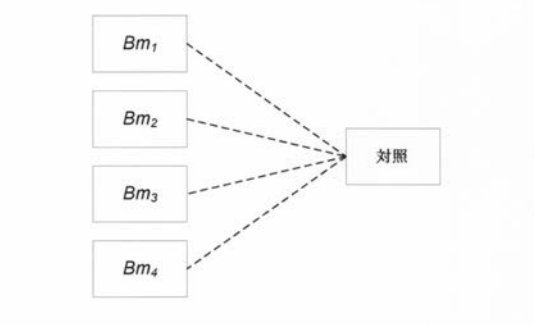
【 図 5 】



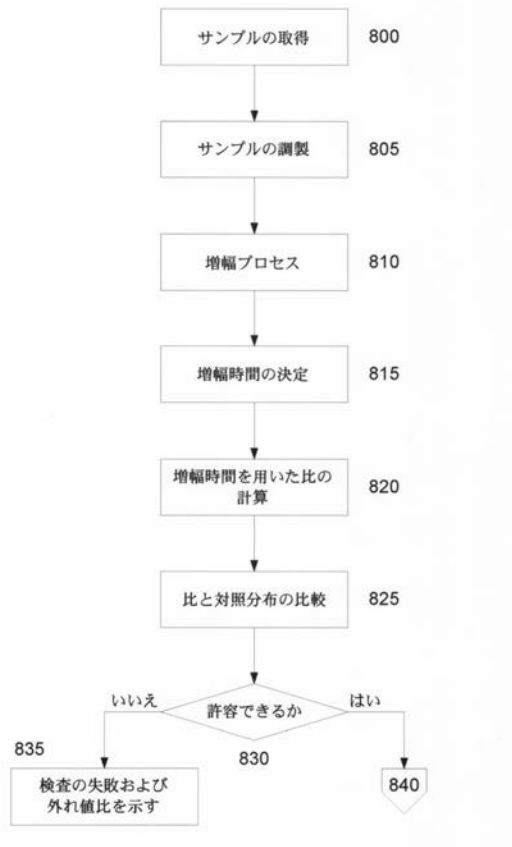
【 図 7 A 】



【 図 7 B 】



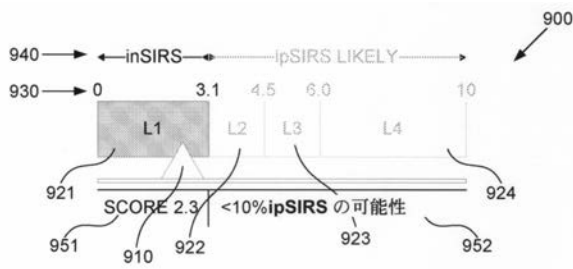
【図 8 A】



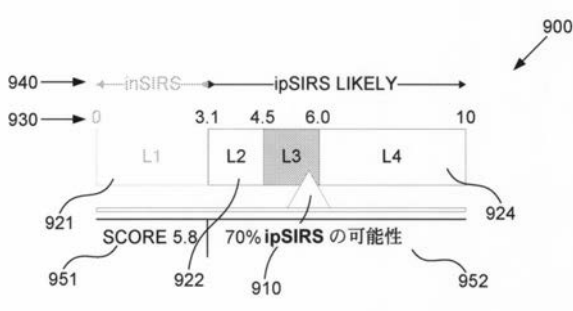
【図 8 B】



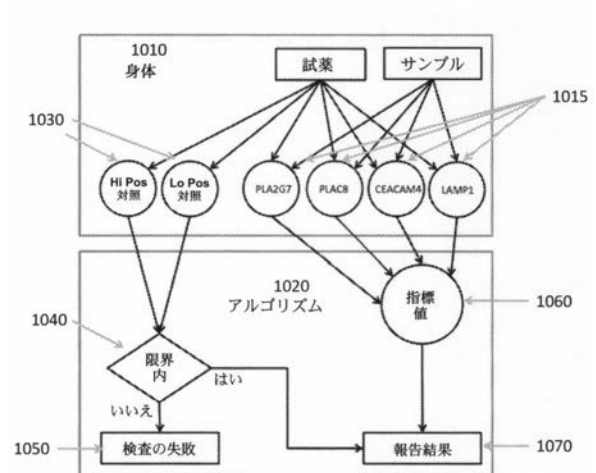
【図 9 A】



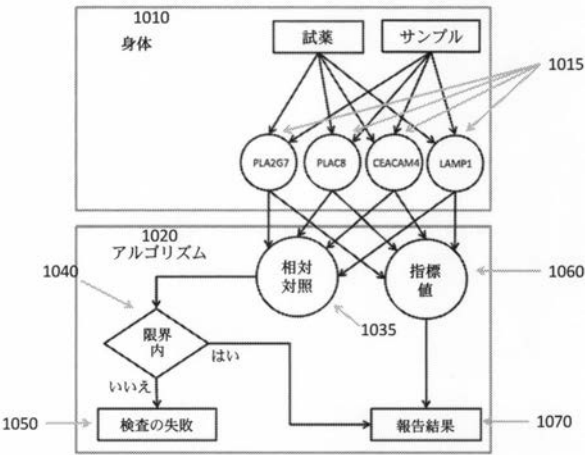
【図 9 B】



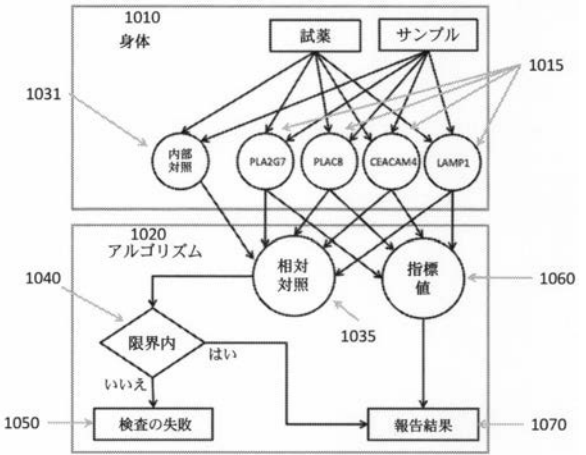
【図 10 A】



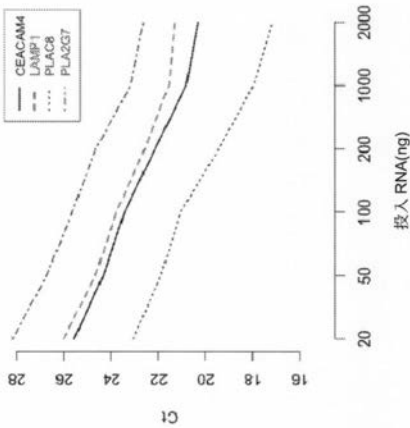
【図 1 0 B】



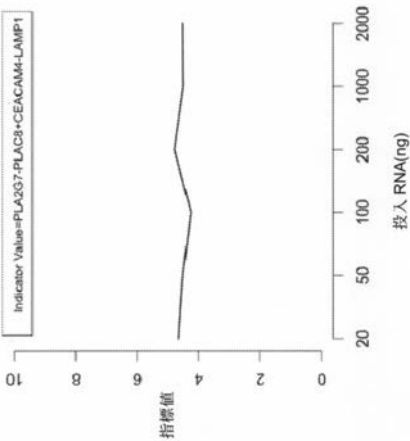
【図 1 0 C】



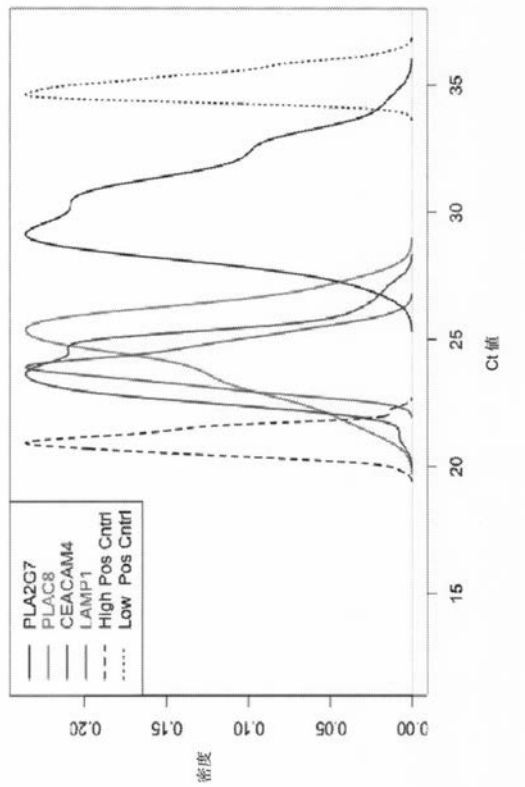
【図 1 1 A】



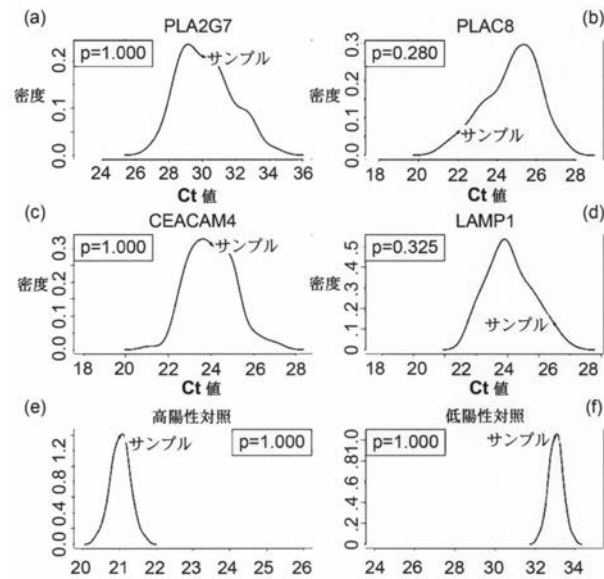
【図 1 1 B】



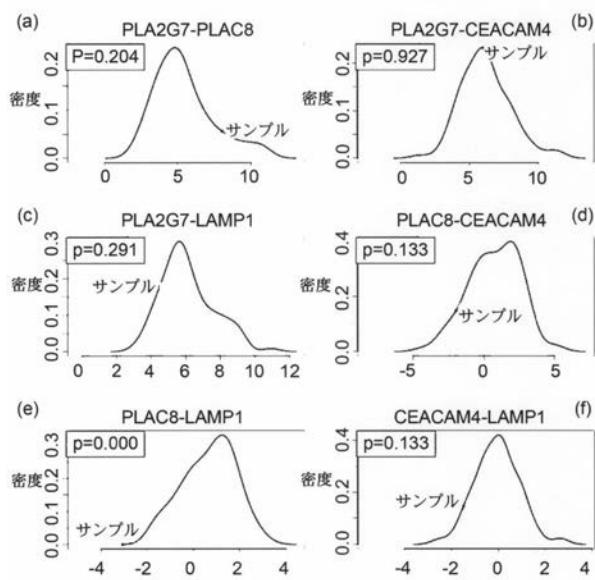
【図 1 2 A】



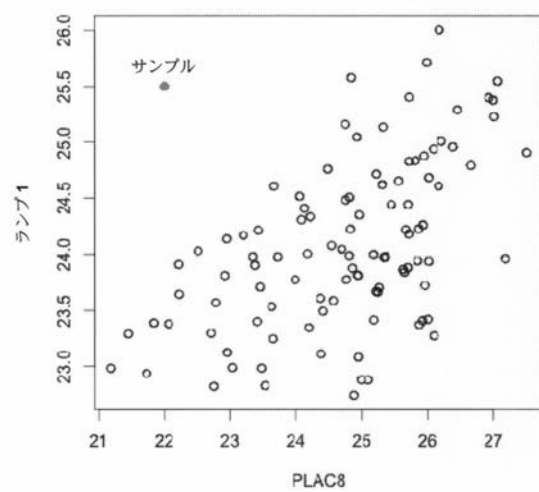
【図 1 2 B】



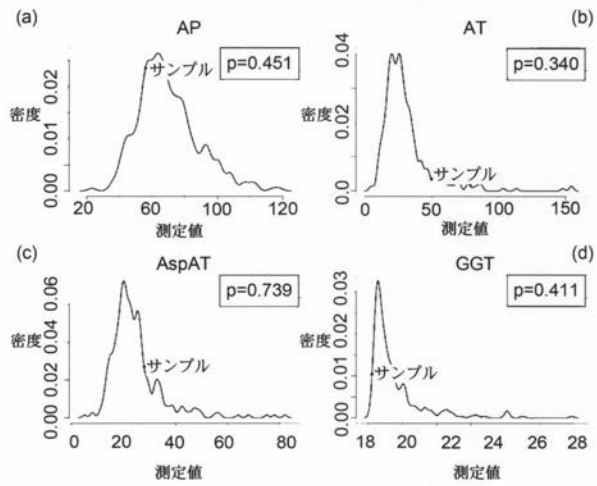
【図 1 2 C】



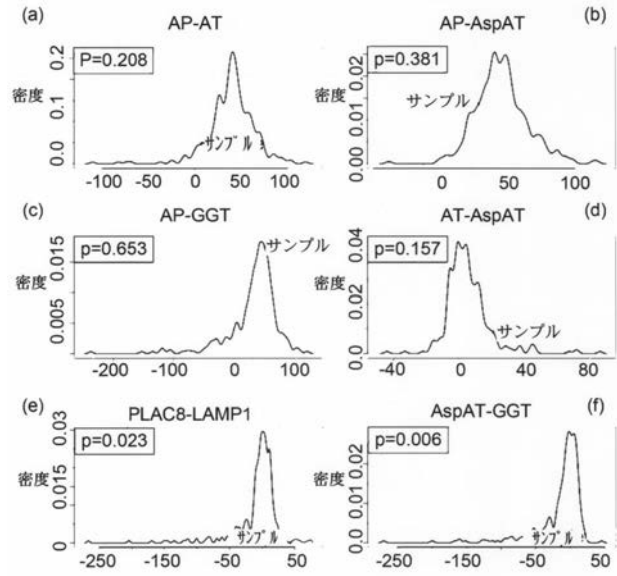
【図 1 2 D】



【図 13 A】



【図 13 B】





## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/AU2016/050388</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>G01N 35/00 (2006.01) G06F 19/20 (2011.01) C12Q 1/68 (2006.01)</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
Google, Espacenet, EPDOC, WPI, CAPLUS, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, INSPEC: ratio, difference, expression, biomarker, control, assay, validation, quality, and like terms		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex		
* "A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 4 July 2016		Date of mailing of the international search report 04 July 2016
<b>Name and mailing address of the ISA/AU</b>  AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaaustralia.gov.au		<b>Authorised officer</b>  Felix White AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. 0262832565

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/AU2016/050388
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Merker, J.D. et al "Design and Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Quantification of JAK2 V617F and Wild-Type JAK2 Transcript Levels in the Clinical Laboratory", Journal of Molecular Diagnostics, 2010, vol. 12, pps 58-64 p. 59 l.h. column, p. 60 r.h. column, Table 2	1, 11-13, 23-26, 29-32, 36-38, 45-47
X	US 2004/0180365 A1 (David) 16 September 2004 Abstract, Table 1	1, 11-13, 23-26, 32, 36-38, 45-47
A	US 2010/0009370 A1 (Sazuka et al) 14 January 2010 Fig 14, paragraphs [0076], [0087], [0100].	
A	WO 2006/023769 A2 (ABBOTT MOLECULAR, INC) 02 March 2006 p. 19 et seq, [0093]	
A	WO 2011/139900 A1 (ESOTERIX GENETIC LABORATORIES, LLC) 10 November 2011 p. 31	
<p>Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2009)</p>		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/AU2016/050388	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
US 2004/0180365 A1	16 September 2004	US 2004180365 A1	16 Sep 2004
US 2010/0009370 A1	14 January 2010	US 2010009370 A1	14 Jan 2010
		US 8396673 B2	12 Mar 2013
		CN 101624628 A	13 Jan 2010
		CN 101624628 B	12 Jun 2013
		JP 2010017112 A	28 Jan 2010
		JP 4666237 B2	06 Apr 2011
WO 2006/023769 A2	02 March 2006	WO 2006023769 A2	02 Mar 2006
		CA 2577741 A1	02 Mar 2006
		EP 1789786 A2	30 May 2007
		JP 2008511058 A	10 Apr 2008
		US 2006057618 A1	16 Mar 2006
		US 2009087848 A1	02 Apr 2009
WO 2011/1399001 A1	10 November 2011	None	
End of Annex			
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.			

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード ( 参考 )
C 1 2 Q	1/686	(2018.01)	C 1 2 Q	1/686 Z
C 1 2 Q	1/6862	(2018.01)	C 1 2 Q	1/6862 Z
C 1 2 Q	1/6869	(2018.01)	C 1 2 Q	1/6869 Z

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(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,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,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,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,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,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74)代理人 100120617  
弁理士 浅野 真理

(74)代理人 100126099  
弁理士 反町 洋

(74)代理人 100172557  
弁理士 鈴木 啓靖

(72)発明者 レオ、チャールズ、マクヒュー  
アメリカ合衆国ワシントン州、シアトル、テンス、アベニュー、イースト、 1 1 2

Fターム(参考) 2G045 CB01 DA13 DA14 DA36 JA01  
4B063 QA01 QA20 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR55 QR62 QS25  
QS34 QX02

## 【要約の続き】

