



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201643760 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 12 月 16 日

(21)申請案號：105111186

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 04 月 08 日

(51)Int. Cl. : G06F19/24 (2011.01)

G01N33/53 (2006.01)

G01N33/576 (2006.01)

(30)優先權：2015/04/10 日本

2015-081175

(71)申請人：社會福祉法人恩賜財團大阪府濟生會吹田病院(日本) SOCIAL WELFARE

ORGANIZATION SAISEIKAI IMPERIAL GIFT FOUNDATION, INC. SAISEIKAI  
SUITA HOSPITAL, OSAKA (JP)

日本

大日本住友製藥股份有限公司(日本) SUMITOMO DAINIPPON PHARMA CO., LTD.  
(JP)

日本

(72)發明人：岡上武 OKANOUE, TAKESHI (JP)；吉村慶人 YOSHIMURA, KEITO (JP)；岩崎  
剛之 IWASAKI, TSUYOSHI (JP)；山崎一人 YAMAZAKI, KAZUTO (JP)；海老瀨  
速雄 EBISE, HAYAO (JP)；市原準二 ICHIHARA, JUNJI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：38 項 圖式數：17 共 151 頁

(54)名稱

判別肝疾病之疾病狀態之方法

(57)摘要

本發明提供非侵入性、精度更高之判別非酒精性脂肪肝疾病等肝疾病之疾病狀態之方法。本發明係一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，其包括：(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟；(2)根據基於同一群之上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟；(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定為存在上述受驗者罹患 NASH 之可能性之步驟。

201643760

## 發明摘要

※ 申請案號：105111186

※ 申請日：105. 4. -8

G06F<sup>19</sup>/A4 (2011.01)※IPC 分類：G01N<sup>33</sup>/<sub>53</sub>.<sup>33</sup>/<sub>576</sub> (2006.01)

## 【發明名稱】

判別肝疾病之疾病狀態之方法

## 【中文】

本發明提供非侵入性、精度更高之判別非酒精性脂肪肝疾病等肝疾病之疾病狀態之方法。本發明係一種判別非酒精性脂肪肝 (NAFL) 與非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法，其包括：

(1) 測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟；

(2) 根據基於同一群之上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟；

(3) 於上述指標值大於基準值之情形時，判定為存在上述受驗者罹患 NASH 之可能性之步驟。

## 【英文】

無

**【代表圖】**

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】

判別肝疾病之疾病狀態之方法

## 【技術領域】

本發明係關於一種判別肝疾病之疾病狀態之方法。又，本發明係關於一種判別非酒精性脂肪肝(Nonalcoholic fatty liver；NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis；NASH)之方法、及判別肝纖維化之方法。

## 【先前技術】

非酒精性脂肪性肝疾病(Nonalcoholic fatty liver disease；NAFLD)係與糖尿病及肥胖等生活習慣疾病密接關聯之肝疾病。近年來，隨著罹患生活習慣疾病之人之增加，NAFLD之患者數世界性地增加。NAFLD包含預後良好之非酒精性脂肪肝(NAFL)至預後不良之非酒精性脂肪肝炎(NASH)。又，已知NASH伴隨著炎症、肝細胞之變性或壞死、或纖維化。NASH若發展，則可成為肝硬化或肝癌。進而，NASH患者數亦於近年來增加。因此，強烈要求診斷NASH，進行適宜之治療。

[先前技術文獻]

[非專利文獻]

[非專利文獻1]Poynard, T. et al. Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. BMC Gastroenterol. 6, 34 (2006).

[非專利文獻2]Younossi, Z. M. et al. A novel diagnostic biomarker

panel for obesity-related nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Obes. Surg.* 18, 1430-7 (2008).

[非專利文獻3]Sumida, Y. et al. A simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin, and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease. *J. Gastroenterol.* 46, 257-68 (2011).

### 【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

現在，作為用以決定診斷NASH之方法，於診療準則(NAFLD/NASH診療準則2014、日本消化系統疾病學會編、南江堂、2014)中所承認的僅僅是利用肝活組織檢查之病理組織診斷。肝活組織檢查係藉由穿刺採取肝臟組織之侵入性高之手法。而且，肝活組織檢查通常必需住院、費用高昂等，因此即使於懷疑罹患NASH之情形時，多數情況下亦不應用。因此，肝活組織檢查並不能說是對於數量眾多之患者進行診斷而言足夠之方法。根據此種事實，期待開發出無需肝活組織檢查、利用非侵入性NASH診斷標記(用以診斷NASH之標記)之診斷方法(判別方法)。

又，作為NASH之病狀之一的肝纖維化由於對NASH之預後造成較大之影響(*J Hepatol.* 2005 Jan ; 42(1) : 132-8)，因此重要的是於NASH之診斷及治療中判別肝纖維化。現在，於肝纖維化之有無之判別或其進展度之評價中，於決定診斷中亦必需肝活組織檢查。根據此種事實，亦期待開發出並不依據肝活組織檢查而判別產生肝纖維化之NASH之方法及評價其進展度之手法。

迄今為止，已報告有數量眾多之非侵入性之NASH診斷標記。於現在之診療準則中，表示了「脂肪變性、炎症、肝細胞損傷(氣球狀變性)」而作為NASH之特徵。而且，於NASH中亦包含伴隨著肝纖維

化之病例。於NAFL-NASH之診斷中廣泛使用基於此種肝活組織檢查之病理觀察結果的Matteoni分類(Matteoni, C., Younossi, Z. & Gramlich, T. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1413-1419 (1999).)。而且，既有之NASH診斷法大半係基於此種NASH之特徵性疾病狀態，組合炎症之標記、肝細胞損傷之標記、纖維化之標記等。既有之標記中，藉由基於獨立之患者群之驗證而確認真的診斷精度係停留於NASH測試(非專利文獻1)、NASH診斷(非專利文獻2)、NAFIC得分(非專利文獻3)此3種。一般情況下NASH之診斷精度係關於以NAFLD患者為對象而何種程度地正確診斷NASH患者，藉由感度及特異度之接受者操作特性(Receiver Operating Characteristic; ROC)曲線下之面積(Area Under of Receiver Operating Characteristic curve; AUROC)而表示。對於上述3種已知診斷法之學習/驗證資料的NAFL-NASH診斷(基於病理觀察結果之診斷)之AUROC值分別為0.69/0.80、0.91/0.70、0.85/0.78。該等診斷法均係於現在之診療準則中，並不能認為可應用於NASH之決定診斷者，為了代替肝活組織檢查之決定診斷而必需更進一步提高精度。

本發明係鑒於上述事實而成者，其目的在於提供非侵入性、精度更高之判別非酒精性脂肪肝疾病等肝疾病之疾病類型或疾病狀態之方法。

[解決問題之技術手段]

本發明者等人進行了銳意研究，結果發現藉由使用相互具有生物學控制關係的一群標記分子，可較先前之方法更精度良好地藉由非侵入性方法判別非酒精性脂肪肝疾病等肝疾病之疾病狀態，從而完成本發明。

即，提供一種包括如下步驟之方法：

5

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A)下述群1、下述群2、下述群3或下述群4之任意1個群中之至少1種標記分子：

由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1、

由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2、

由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及舉固酮所組成之群3、

由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4、

或

(B)選自2個群中之一個群之至少1個標記分子及選自另一個群之至少1個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群；

(2)根據基於同一群之上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值的步驟；及

(3)藉由將上述指標值與基準值比較，判定存在受驗者罹患非酒精性脂肪肝炎(NASH)之可能性、或存在受驗者為肝纖維化之疾病狀態的可能性之步驟。

具體而言，本發明係關於以下者。

[1] 一種判別非酒精性脂肪肝 (NAFL) 與非酒精性脂肪肝炎 (NASH) 之方法，其包括如下步驟：

(1) 測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A) 選自由 PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP 及 VEGFR-2 所組成之群 1 中之至少 2 個標記分子，

選自由 VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF 及 YKL-40 所組成之群 2 中之至少 2 個標記分子，

選自由 AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP 及 鞣固酮 所組成之群 3 中之至少 2 個標記分子，或

選自由 AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1 及 VTN 所組成之群 4 中之至少 2 個標記分子，

或

(B) 選自 2 個群中之一個群之至少 2 個標記分子及選自另一個群之至少 2 個標記分子，上述 2 個群係選自上述群 1、上述群 2、上述群 3 及上述群 4 中之 2 個群；

(2) 根據基於上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟，其中基於同一群之上述標記分子之量的上述標準化得分係根據下述式 1 而算出，

[數 1]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係根據2個群之標準化得分而算出，

(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟。

[2] 如上述[1]之方法，其中於上述(B)之情形時，上述指標值係根據2個群之標準化得分，使用線性式或非線性式而算出。

[3] 一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，其包括如下步驟：

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A)選自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連

接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1中之至少2個標記分子，

選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，

選自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及鞣固酮所組成之群3中之至少2個標記分子，或

選自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4中之至少2個標記分子，

或

(B)選自2個群中之一個群之至少2個標記分子及選自另一個群之至少2個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群；

(2)根據基於上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟，其中基於同一群之上述標記分子之量的上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數2]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測

定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係藉由如下方法而算出：根據2個群之標準化得分而使用平均算出式之方法、使用線性回歸方程式之方法、使用線性判別式之方法、使用羅吉斯回歸方程式之方法、使用非線性平均算出式之方法、使用非線性回歸方程式之方法、使用非線性判別式之方法、或使用非線性羅吉斯回歸方程式之方法；

(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟。

[4] 如上述[1]~[3]中任一項之方法，其中於上述(B)之情形時，作為使用羅吉斯回歸方程式之方法，上述指標值係根據2個群之標準化得分，藉由下述式2而算出：

$$I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2} \quad (\text{式2})$$

(於式2中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分， $a_1$ 及 $a_2$ 表示藉由羅吉斯回歸分析所決定之常數)。

[5] 如上述[1]~[3]中任一項之方法，其中於上述(B)之情形時，作為使用非線性判別式之方法，上述指標值係根據2個群之標準化得分，藉由下述決策樹1~6之任意者而算出：

於上述標記分子為選自上述群1及群2之情形時，

若  $M1_a \geq 0.476$  則  $I = 2$ 、若  $M1_a < 0.476$  且  $M2_a \geq 0.466$  則  $I = 1$ 、若  $M1_a < 0.476$  且  $M2_a < 0.466$  則  $I = 0$  (決策樹1)

於上述標記分子為選自上述群1及群3之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M1_a \geq 0.45$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M1_a < 0.45$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  則  $I = 0$  (決策樹2)

於上述標記分子為選自上述群1及群4之情形時，

若  $M4_a \geq 0.547$  則  $I = 2$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M1_a \geq 0.468$  則  $I = 1$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M1_a < 0.468$  則  $I = 0$  (決策樹3)

於上述標記分子為選自上述群2及群3之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M2_a \geq 0.412$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M2_a < 0.412$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  則  $I = 0$  (決策樹4)

於上述標記分子為選自上述群2及群4之情形時，

若  $M4_a \geq 0.547$  則  $I = 2$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M2_a \geq 0.413$  則  $I = 1$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M2_a < 0.413$  則  $I = 0$  (決策樹5)

於上述標記分子為選自上述群3及群4之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a < 0.409$  且  $M4_a \geq 0.588$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  且  $M4_a < 0.588$  則  $I = 0$  (決策樹6)

(於決策樹1~6中， $I$ 表示指標值， $M1_a$ 、 $M2_a$ 、 $M3_a$ 及 $M4_a$ 分別表示上述群1、群2、群3、及群4之標準化得分)。

[6] 如上述[1]~[3]中任一項之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群1之PROS1及CLU。

[7] 如上述[1]~[3]中任一項之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群2之VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為HA及COL4，或為CTSD及COL4，或為CTSD及COL4-7S。

[8] 如上述[1]~[3]中任一項之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群3之AST及PSAT，或為AST及LEP，或為AST及ICAM1，或為AST、PSAT及LEP，或為AST、PSAT及ICAM1，或為AST、LEP及CK-18，或為AST、ICAM1及GSTA1，或為AST、PSAT及6Ckine。

[9] 如上述[1]~[5]中任一項之方法，其中於上述(B)之群1與群3之組合之情形時，選自群1之標記分子為上述群1之PROS1及CLU，選自群3之標記分子為AST及PSAT，或為AST及LEP，或為AST及ICAM1，或為AST、PSAT及LEP，或為AST、PSAT及ICAM1，或為AST、LEP及CK-18，或為AST、ICAM1及GSTA1，或為AST、PSAT及6Ckine。

[10] 一種判別肝纖維化之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，或為VCAM1；

於基於上述標記分子之量而算出之標準化得分大於基準值之情形時，判定為上述受驗者係肝纖維化之疾病狀態、或存在該可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數3]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

[11] 如上述[10]之判別肝纖維化之方法，其中

上述標記分子為VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40，或為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為CTSD及COL4，或為HA及COL4，或為HA及COL4-7S，或為CTSD及COL4-7S。

[12] 如上述[10]或[11]之方法，其中肝纖維化之判別係Matteoni分類中之1型～3型之疾病狀態與4型之疾病狀態之判別，或為纖維化階段中之階段0、階段1或階段2之疾病狀態與階段3或階段4之疾病狀態之判別。

[13] 一種判定肝疾病之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為HA及COL4，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S；

基於上述標記分子之量而算出之標準化得分越大，則越判定上述受驗者中之肝臟之纖維化之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度較高，或存在該等可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數4]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示NASH發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示NAFL發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

[14] 如[13]之方法，其中所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S。

[15] 一種判定非酒精性脂肪性肝疾病(NAFLD)之疾病狀態之進

展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為HA及COL4，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S；

基於上述標記分子之量而算出之標準化得分越大，則越判定上述受驗者中之肝臟之纖維化之進展度、非酒精性脂肪肝疾病之活動性之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度較高，或存在該等可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數5]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & \left(\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})\right) \\ -1 & \text{(其他)} \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示NASH發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示NAFL發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

[16] 如[15]之方法，其中所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為

VCAM1及COL4-7S。

[17] 一種套組，其係用以於如上述[1]~[16]中任一項之方法中使用之套組，其包含：

用以檢測上述標記分子之試劑、

用以實施上述方法之說明書。

[18] 一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

於上述VCAM1之量大於基準值之情形時，判定為上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟。

[19] 一種判別肝纖維化之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

於上述VCAM1之量大於基準值之情形時，判定為上述受驗者係肝纖維化之疾病狀態、或存在該可能性之步驟。

[20] 一種判定肝疾病之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

上述VCAM1之量越大，則越判定為上述受驗者中之肝臟之纖維化之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度較高，或存在該等可能性之步驟。

[21] 一種判定非酒精性脂肪性肝疾病(NAFLD)之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟，

上述VCAM1之量越大，則越判定為上述受驗者中之肝臟之纖維化之進展度、非酒精性脂肪肝疾病之活動性之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度較高，或存在該等可能性之

步驟。

[22] 一種套組，其係用以於如上述[18]~[21]中任一項之方法中使用之套組，其包含：

用以檢測VCAM1之試劑。

[23] 一種程式，其係用以於如上述[1]~[16]中任一項之方法中使用者，並且係用以於電腦中執行如下步驟：

標準化步驟，根據自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子之量的測定資料，基於上述式1而算出標準化得分，根據所算出之標準化得分而求出指標值；

比較步驟，將所求出之指標值與基準值比較；

判定步驟，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

[24] 一種程式，其係用以於如上述[18]~[21]中任一項之方法中使用者，並且係用以於電腦中執行如下步驟：

比較步驟，將自試驗者採取之血液中所含之VCAM1之量與基準值比較；

判定步驟，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

[25] 如上述[23]或[24]之程式，其中於電腦中進而執行取得步驟，取得自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子之量或上述VCAM1之量的測定資料。

[26] 一種測定裝置，其係用以於如上述[1]~[16]、及[18]~[21]中任一項之方法中使用者，其具備：

[27] 一種肝疾病判定系統，其係用以於如上述[1]~[16]中任一項之方法中使用者，其具備：

測定裝置，測定自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子之

量；肝疾病判定裝置，基於所測定之上述標記分子之量而判定肝疾病之疾病狀態；

上述測定裝置具備：用以設置試樣之試樣設置部、用以對上述試樣照射光之光源部、及檢測透過上述試樣之光之檢測部，

上述肝疾病判定裝置具備：取得機構，取得來自上述測定裝置之測定資料；標準化機構，根據上述測定資料，基於上述式1算出標準化得分，根據所算出之標準化得分而求出指標值；比較機構，將所求出之指標值與基準值比較；判定機構，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

[28] 一種肝疾病判定系統，其係用以於如上述[18]~[21]中任一項之方法中使用，其具備：

測定裝置，測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量；肝疾病判定裝置，基於所測定之上述VCAM1之量而判定肝疾病之疾病狀態；

上述測定裝置具備：用以設置試樣之試樣設置部、用以對上述試樣照射光之光源部、及檢測透過上述試樣之光之檢測部，

上述肝疾病判定裝置具備：取得機構，取得來自上述測定裝置之測定資料；比較機構，將上述VCAM1之量與基準值比較；判定機構，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

[29] 一種診斷藥，其係用以判斷罹患非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝臟之纖維化之疾病狀態、肝臟之纖維化之進展度較高、肝細胞之氣球狀變性之疾病狀態之進展度較高、肝臟之炎症之進展度較高、肝肥大之疾病狀態、肝細胞壞死之疾病狀態、肝細胞凋亡之疾病狀態、肝細胞變性之疾病狀態、肝臟脂肪化之疾病狀態、或存在該等可能性的診斷藥，其含有用以檢測VCAM1之試劑。

[30] 如上述[29]之診斷藥，其中上述用以檢測VCAM1之試劑為

抗體。

[31] 一種用以檢測VCAM1之試劑之用途，其係用於非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝臟之纖維化、肝細胞之氣球狀變性、肝臟之炎症、肝肥大、肝細胞之壞死、肝細胞之凋亡、肝細胞之變性、或肝臟之脂肪化之體外檢測。

[32] 如上述[31]之用以檢測VCAM1之試劑之用途，其與其他診斷藥併用。

[33] 如上述[32]之用以檢測VCAM1之試劑之用途，其中其他診斷藥係用以檢測HA、COL4、或COL4-7S之診斷藥。

[34] 一種程式或其記錄媒體，其係用以於電腦中執行如下步驟：

比較步驟，將根據自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的測定資料而求出之指標值與基準值比較，上述標記分子包含VCAM1；

判定步驟，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

[35] 如上述[34]之程式或其記錄媒體，其中於電腦中進而執行取得步驟，取得自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的測定資料。

[36] 如上述[34]或[35]之程式或其記錄媒體，其中於電腦中進而執行標準化步驟，根據上述測定資料算出標準化得分，根據所算出之標準化得分而求出指標值。

[37] 如上述[34]~[36]中任一項之程式或其記錄媒體，其中上述標記分子進而包含HA、COL4、或COL4-7S。

進而，本發明係關於以下者。

[38] 一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎

(NASH)之方法、或收集用以診斷NAFL及NASH之資料之方法，其包括如下步驟：

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，其中上述標記分子為

(A)由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1中之所有標記分子，

由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之所有標記分子，由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及鞣固酮所組成之群3中之所有標記分子，或

由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4中之所有標記分子，

或

(B)選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群的所有標記分子；

(2)根據基於同一群之上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數6]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係根據下述式2而算出，

$$I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2} \quad (\text{式2})$$

(於式2中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分， $a_1$ 及 $a_2$ 表示藉由羅吉斯回歸分析所決定之常數)；

(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟；或者於上述指標值大於基準值之情形時，收集基於存在上述受驗者罹患NASH之可能性的基準而判定上述受驗者是否罹患NASH之資料的步驟。

[39] 如上述[38]之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分

子為上述群1的所有分子。

[40] 如上述[38]之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群2的所有分子。

[41] 如上述[38]之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群3的所有分子。

[42] 如上述[38]之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群4的所有分子。

[43] 如上述[38]之方法，其中於上述(B)之情形時，係選自2個群的全部標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群。

[44] 如上述[2]之方法，其中於上述(B)之情形時，線性式係平均算出式、線性回歸方程式、線性判別式、或羅吉斯回歸方程式。

[45] 如上述[44]之方法，其中於上述(B)之情形時，平均算出式係算術平均。

[46] 如上述[44]之方法，其中於上述(B)之情形時，線性判別式係線性判別分析。

[47] 如上述[2]之方法，其中於上述(B)之情形時，非線性式係非線性平均算出式、非線性回歸方程式、非線性判別式、或非線性羅吉斯回歸方程式。

[48] 如上述[47]之方法，其中於上述(B)之情形時，非線性平均算出式係幾何平均。

[49] 如上述[47]之方法，其中於上述(B)之情形時，非線性回歸方程式係線性式之乘算、或類神經網路。

[50] 如上述[47]之方法，其中於上述(B)之情形時，非線性判別式係決策樹、或支持向量機。

[51] 一種判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療藥之效果之方

法，其包括如下步驟：

於對NASH患者應用上述治療藥之前與應用後，分別測定自上述患者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為HA及COL4，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S；

基於上述標記分子之量而算出上述治療藥之應用前與應用後之各自之標準化得分，於應用後之標準化得分較應用前之標準化得分減少之情形時，判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數7]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & \left(\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})\right) \\ -1 & \text{(其他)} \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示NASH發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示NAFL發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

[52] 如[51]之方法，其中所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S。

[53] 一種判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療藥之效果之方法，其包括如下步驟：

於對NASH患者應用上述治療藥之前與應用後，分別測定自上述患者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

於應用後之VCAM1之量較應用前之VCAM1之量減少之情形時，判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性之步驟。

[54] 一種判定非酒精性脂肪肝(NAFL)或非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療藥之效果之方法，其包括：

於對NAFL或NASH患者應用上述治療藥之前與應用後，分別

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A)選自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1中之至少2個標記分子，

選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，

選自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及鞣固酮所組成之群3中之至少2個標記分子，或

選自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4中之至少2個標記分子，

或

(B)選自2個群中之一個群之至少2個標記分子及選自另一個群之至少2個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及

上述群4中之2個群；

(2)根據基於上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟，基於同一群之上述標記分子之量的上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數8]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係根據2個群之標準化得分而算出，

(3)於應用後之標準化得分較應用前之標準化得分減少之情形時，判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性的步驟。

[發明之效果]

藉由本發明，變得可提供非侵入性、精度更高之判別非酒精性

脂肪肝疾病等肝疾病之疾病狀態之方法。

**【圖式簡單說明】**

圖1係表示於使用各標記分子時，NAFL之患者及NASH之患者的標準化得分或指標值之圖表。

圖2-1係表示於使用各標記分子(測定法1)時，NAFL之患者及NASH之患者的標準化得分之圖表。

圖2-2係表示於使用各標記分子(測定法2)時，NAFL之患者及NASH之患者的標準化得分或VCAM1測定值之圖表。

圖3係表示於使用各標記分子時，NAFL之患者及NASH之患者的標準化得分之圖表。

圖4係表示於使用各標記分子時，NAFL之患者及NASH之患者的指標值之圖表。

圖5-1係表示於使用各標記分子(測定法1)時，Matteoni分類之1型～3型之疾病狀態之患者及4型之疾病狀態之患者的標準化得分之圖表。

圖5-2係表示於使用各標記分子(測定法2)時，Matteoni分類之1型～3型之疾病狀態之患者及4型之疾病狀態之患者的標準化得分或VCAM1測定值之圖表。

圖6-1係表示於使用各標記分子(測定法1)時，作為肝纖維化之進展度之指標的「階段」中之階段0、階段1或階段2之疾病狀態之患者(F0-2)及階段3或階段4之疾病狀態之患者(F3-4)的標準化得分之圖表。

圖6-2係表示於使用各標記分子(測定法2)時，作為肝纖維化之進展度之指標的「階段」中之階段0、階段1或階段2之疾病狀態之患者(F0-2)及階段3或階段4之疾病狀態之患者(F3-4)的標準化得分或VCAM1測定值之圖表。

圖7係表示於使用各標記分子時，作為肝纖維化之進展度之指標的「階段」與標準化得分之關聯的圖表。

圖8係表示於使用各標記分子時，作為炎症之進展度之指標的基於肝活組織檢查之小葉內炎症之病理診斷得分與標準化得分之關聯的圖表。

圖9係表示於使用各標記分子時，作為肝細胞之氣球狀變性之進展度之指標的基於肝活組織檢查之氣球狀變性之病理診斷得分與標準化得分之關聯的圖表。

圖10係表示於使用各標記分子時，作為NAFLD之活動性之指標的NAFLD活動性得分(NAFLD Activity Score, NAS)與標準化得分之關聯的圖表。

圖11係表示肝疾病判定系統之一實施形態的模式圖。

圖12係表示肝疾病判定裝置之功能性構成之概要圖。

圖13係表示肝疾病之判定方法之流程圖。

圖14係表示於使用「HA、COL4」之標準化得分時，作為肝纖維化之進展度之指標的「階段」與標準化得分之關聯的圖表。

圖15係表示於使用「HA、COL4」之標準化得分時，作為炎症之進展度之指標的基於肝活組織檢查之小葉內炎症之病理診斷得分與標準化得分之關聯的圖表。

圖16係表示於使用「HA、COL4」之標準化得分時，作為肝細胞之氣球狀變性之進展度之指標的基於肝活組織檢查之氣球狀變性之病理診斷得分與標準化得分之關聯的圖表。

圖17係表示於使用「HA、COL4」之標準化得分時，作為NAFLD之活動性之指標的NAFLD活動性得分(NAFLD Activity Score, NAS)與標準化得分之關聯的圖表。

## 【實施方式】

以下，關於本發明之適宜之實施形態而進行詳細說明。但本發明並不限定於以下之實施形態。

本實施形態之判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法(以下有時稱為「判別方法」)包括如下步驟：

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟；

(2)根據基於同一群之上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟；

(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定為上述受驗者NASH發病、或存在該可能性之步驟。

非酒精性脂肪肝炎(NASH)係與非酒精性脂肪肝(NAFL)一同被分類為非酒精性脂肪性肝疾病(NAFLD)之疾病。NAFLD被定義為病毒性肝疾病及自體免疫性肝疾病除外之肝疾病中之並不伴隨著究竟之過量攝取之脂肪肝疾病。NASH被定義為根據病理學之診斷，「除了肝細胞之大滴性脂肪化以外，發現伴隨著炎症之肝細胞之氣球狀變性者」。NASH於Matteoni分類中，與分類為3型或4型之病例一致。已知NASH若其疾病狀態發展，則可發病肝硬化或肝癌。作為NASH之特徵，發現有肝臟纖維化、肝細胞之氣球狀變性、肝臟炎症、肝肥大、肝細胞壞死、肝細胞凋亡、肝細胞變性、肝臟脂肪化等。另一方面，NAFL係於NAFLD中並不相當於NASH，以肝細胞之大滴性脂肪化為基礎之疾病。NAFL於Matteoni分類中與分類為1型或2型之病例一致。已知NAFL與NASH比較而言，預後良好。以下，關於各步驟而加以說明。

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟

作為自受驗者採取之血液，可列舉全血、血清、血漿等，可較佳地使用血清或血漿。

其次，關於標記分子而加以說明。本發明者等人於由NAFL之患

者及NASH之患者所得之血清試樣中，銳意研究約260種生物分子之量與NAFL及NASH之疾病狀態不同之關聯性，結果發現4個與血中之存在量具有連動性，且相互之生物學關係性較強之複數個生物分子之集團(有時稱為「群」、「因子模組」或「模組」)。以下，關於各群而加以說明。

群1(有時稱為「模組1」)之標記分子為與對於脂肪肝之防禦反應具有關聯之標記分子，係PROS1(維他命K依賴性蛋白S)、CLU(網格蛋白)、ANG(血管生成素)、APOC3(載脂蛋白C-III)、APOD(載脂蛋白D)、CFHR1(Complement factor H-related protein 1，補體因子H相關蛋白2)、皮質醇、EGFR(上皮生長因子受體)、HPN(Hepsin)、IGFBP3(類胰島素生長因子結合蛋白3型)、IL1B(介白素1 $\beta$ )、IL23A(介白素23)、MET(肝細胞增生因子受體)、MMP10(基質金屬蛋白酶10)、四連接素、TTR(transthyretin，甲狀腺素運送蛋白)、VDBP(維他命D結合蛋白質)及VEGFR-2(血管內皮細胞增生因子受體2)此18種。

群2(有時稱為「模組2」)之標記分子為與對於肝細胞損傷之免疫系統之防禦反應具有關聯之標記分子，係VCAM1(血管細胞接著分子1)、HA(玻尿酸)、CTSD(組織蛋白酶D)、COL4(膠原蛋白4)、COL4-7S(4型膠原蛋白7S)、ALB(白蛋白)、AFP( $\alpha$ 胎蛋白)、AXL(AXL受體酪胺酸激酶)、CCL19(Chemokine (C-C motif) ligand 19，趨化因子(C-C基元)配位體19)、CGB(人類絨毛膜激性腺素 $\beta$ )、CSF1(巨噬細胞菌落刺激因子1)、FAS(FASLG受體)、Mac-2bp(Mac-2結合蛋白質)、CA19-9(腫瘤抗原19-9)、NRCAM(神經細胞接著分子)、OPG(護骨素)、VWF(溫韋伯氏因子)及YKL-40此18種。

群3(有時稱為「模組3」)之標記分子為與肝炎所引起之自然免疫反應具有關聯之標記分子，係AST(天冬醯胺酸胺基轉移酶) §

PSAT(Phosphoserine Aminotransferase, 磷絲胺酸轉胺酶)、LEP(瘦體素)、ICAM1(細胞間接著分子1)、CK-18(CK18 M30 片段)、GSTA1(Glutathione S-Transferase alpha, 麩胱甘肽硫轉換酶)、ALT(丙胺酸)、INS<sup>IVD</sup>(胰島素、藉由CLIA法而測定者)、INS<sup>MAP</sup>(胰島素、藉由HumanMAP法(Myriad RBM公司提供之多重免疫測定服務Human MAP之測定、下同)而測定者)、6Ckine、AGT(血管收縮素原)、CRP(C反應性蛋白質)、CXCL10(C-X-C 結構趨化素10、Interferon gamma Induced Protein 10(干擾素 $\gamma$ 誘導蛋白10))、FABP4(Fatty Acid-Binding Protein4(脂肪酸結合蛋白4), 脂肪細胞)、G6PI(Glucose-6-phosphate Isomerase, 葡萄糖-6-磷酸異構酶)、HSP-60(熱休克蛋白質60)、P3NP(Procollagen 3 N-terminal peptide, III型前膠原端肽)及鞣固酮此18種。

群4(有時稱為「模組4」)之標記分子為與肝細胞損傷及肝纖維化相關之細胞增生具有關聯之標記分子, 係AREG(雙調蛋白)、BDNF(腦源性神經營養因子)、CD40-L(CD40 配位體)、EREG(表皮調節素)、FGF2(鹼性纖維母細胞生長因子)、HBEGF(肝素結合類EGF增生因子)、IGFBP2(類胰島素增生因子 結合蛋白質2)、MMP9(基質金屬蛋白酶9)、PAI-1(纖溶酶原活化抑制因子1)、PDGFB(血小板源性生長因子BB)、PLGF(胎盤增生因子)、SAP(血清澱粉狀蛋白P成分)、TGFA(轉化增生因子 $\alpha$ )、TGFB1(Latency-Associated Peptide of Transforming Growth Factor beta 1, 轉化生長因子 $\beta$ 1之隱性相關肽)、THBS1(凝血因子1)及VTN(玻璃體結合蛋白)此16種。

作為所測定之標記分子, 可列舉:

- (A1)選自群1之至少2個標記分子、選自群2之至少2個標記分子、選自群3之至少2個標記分子、或選自群4之至少2個標記分子、或
- (B1)選自2個群中之一個群之至少2個標記分子及選自另一個群之

至少2個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群。

於上述(B1)之情形時，所測定之標記分子例如可列舉選自群1之至少2個標記分子及選自群2之至少2個標記分子、選自群1之至少2個標記分子及選自群3之至少2個標記分子、選自群1之至少2個標記分子及選自群4之至少2個標記分子、選自群2之至少2個標記分子及選自群3之至少2個標記分子、選自群2之至少2個標記分子及選自群4之至少2個標記分子、選自群3之至少2個標記分子及選自群4之至少2個標記分子。

於本實施形態之其他態樣中，作為所測定之標記分子，可列舉

(A2)群1之所有標記分子、群2之所有標記分子、群3之所有標記分子、或、群4之所有標記分子，或

(B2)選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群的全部標記分子。

於上述(B2)之情形時，所測定之標記分子例如可列舉群1及群2之所有標記分子、群1及群3之所有標記分子、群1及群4之所有標記分子、群2及群3之所有標記分子、群2及群4之所有標記分子、群3及群4之所有標記分子，較佳為群1及群3之所有標記分子。

作為測定上述之標記分子之量的方法，若為可測定血液中之量，則可並無特別限制地使用公知之方法。作為測定標記分子之量的方法，例如可列舉ELISA法、免疫化學發光法(CLIA法)、乳膠凝集法、放射免疫測定法、免疫比濁法、酶活性測定法、色素結合法、Luminex法、西方墨點法、HumanMAP法、質量分析法等，較佳可列舉ELISA法、CLIA法、乳膠凝集法、放射免疫測定法、免疫比濁法、酶活性測定法、色素結合法、Luminex法、HumanMAP法。

(2)根據基於同一群之標記分子之量而算出之標準化得分，求出

## 指標值之步驟

基於同一群之標記分子之量而算出標準化得分之步驟包含：對源自所測定之標記分子之量的資料進行標準化之步驟，轉換進行了標準化之資料之分佈的步驟，選擇根據轉換之分佈而求出之代表值作為標準化得分的步驟。

於對源自所測定之標記分子之量的資料進行標準化之步驟中，可並無特別限制地使用公知之方法。作為對上述資料進行標準化之方法，例如可列舉以均方根成為1之方式進行比例轉換之方法、以平均與方差變同等之方式進行線性轉換之方法、使最大值為1且使最小值為0之方法等，較佳可列舉以平均與方差變同等之方式進行線性轉換之方法。

於轉換進行了標準化之資料之分佈的步驟中，可並無特別限制地使用公知之方法。作為轉換進行了標準化之資料之分佈的方法，例如可列舉利用對數函數之轉換、利用S型函數之轉換等，較佳可列舉利用標準S型函數之轉換。又，該步驟亦可省略。

於選擇根據轉換之分佈而求出之代表值作為標準化得分的步驟中，可並無特別限制地使用公知之方法。作為上述代表值，例如可列舉一般的統計值，即平均值、中央值、最頻值、最大值、最小值、任意之百分位數值等，較佳可列舉平均值、中央值。

作為組合該等步驟的標準化得分之算出方法，較佳可列舉包括如下步驟之方法：藉由以平均與方差變同等之方式進行線性轉換之方法對上述資料進行標準化之步驟，藉由標準S型函數轉換資料之分佈的步驟，選擇根據轉換之分佈而求出之平均值作為代表值的步驟。於該方法中，標準化得分係基於同一群之標記分子之量，根據下述式1而算出。

[數9]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值。

此處， $\text{mean}(m_i)$ 係各標記分子之量之平均值，可使用測定NAFLD罹患者之檢體所獲得之平均值、基於公知之測定資料的NAFLD罹患者之平均值、基於公知之測定資料的包括欲進行判別或評價之人的當地居民之平均值、基於公知之測定資料的欲進行判別或評價之人種之平均值等。於使用NAFLD罹患者之平均值之情形時，可使用罹患者集團全體之簡單平均值、罹患者集團中之NAFL罹患者之平均值與NASH患者之平均值的簡單平均值、藉由對NAFL罹患者之平均值與NASH患者之平均值的各個乘以任意之加權後進行平均而所得的加權平均值等。於使用基於公知之測定資料的NAFLD罹患者之平均值之情形時，可使用基於公知之測定資料的NAFLD罹患者之簡單平均值、基於公知之測定資料的NAFL罹患者之平均值與NASH患者之平均值的簡單平均值、藉由對基於公知之測定資料的NAFL罹患者之平均值與NASH患病患者之平均值之各個乘以任意之加權後進

行平均而所得的加權平均值等。作為公知之測定資料，可使用論文中所公佈之生物分子之測定值、體外診斷藥之隨附文書中所記載之值、診療準則中所記載之值等。亦可將複數個資料累加而使用。較佳可列舉測定NAFLD罹患者之檢體而所得的罹患者集團全體之簡單平均值、或罹患者集團中之NAFL罹患者之平均值與NASH患者之平均值的簡單平均值。更佳可列舉測定NAFLD罹患者之檢體而所得的罹患者集團中之NAFL罹患者之平均值與NASH患者之平均值的簡單平均值。

$sd(m_i)$ 係各標記分子之量之標準偏差，可使用檢測NAFLD罹患者之檢體所獲得之標準偏差、基於公知之測定資料的NAFLD罹患者之標準偏差、基於公知之測定資料的包括欲進行判別或評價之人的當地居民之標準偏差、基於公知之測定資料的欲進行判別或評價之人種之標準偏差等。於使用NAFLD罹患者之標準偏差之情形時，可使用罹患者集團全體之標準偏差、罹患者集團中之NAFL罹患者之標準偏差與NASH患者之標準偏差的簡單平均值、藉由對NAFL罹患者之標準偏差與NASH患者之標準偏差之各個乘以任意之加權後進行平均而所得的加權平均值等。於使用基於公知之測定資料的NAFLD罹患者之標準偏差之情形時，可使用基於公知之測定資料的NAFLD罹患者之標準偏差、基於公知之測定資料的NAFL罹患者之標準偏差與NASH患者之標準偏差的簡單平均值、藉由對基於公知之測定資料的NAFL罹患者之標準偏差とNASH患病患者之標準偏差之各個乘以任意之加權後進行平均而所得的加權平均值等。作為公知之測定資料，可使用論文中所公佈之生物分子之測定值、體外診斷藥之隨附文書中所記載之值、診療準則中所記載之值等。亦可將複數個資料累加而使用。較佳可列舉測定NAFLD罹患者之檢體而所得的罹患者集團全體之標準偏差、或罹患者集團中之NAFL罹患者之標準偏差與NASH患者之標

準偏差之簡單平均值。更佳可列舉檢測NAFLD罹患者之檢體而所得的罹患者集團中之NAFL罹患者之標準偏差與NASH患者之標準偏差之簡單平均值。

$\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 及 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 即使是同一標記分子，於標記分子之量之測定方法不同之情形時，亦可分別設為與各個測定方法對應之不同之值。於不同測定法之測定值之間發現關係性之情形時，亦可將其中一個測定方法中設定之 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 及 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 之值分別代入至特定之關係式中，轉換為另一測定方法之各個值。

$\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 及 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 亦可根據作為測定對象之人種或地域而適宜設定。作為 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 及 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 之具體例，可列舉下述之表5～表8及表41中所記載之值。

於所算出之標準化得分為1個之情形時(標記分子為上述(A)之情形時)，標準化得分之值可直接作為指標值而使用。

於所算出之標準化得分為2個以上之情形時(標記分子為上述(B)之情形時)，可使用複數個標準化得分而求出指標值。由複數個標準化得分求出指標值之步驟可並無特別限制地使用公知之方法。作為由複數個標準化得分求出指標值之方法，例如可列舉使用線性式之方法、及使用非線性式之方法。作為使用線性式之方法，例如可列舉使用平均算出式之方法、使用線性回歸方程式之方法、使用線性判別式之方法、及使用羅吉斯回歸方程式之方法。作為使用平均算出式之方法，例如可列舉使用算術平均之方法。作為使用線性判別式之方法，例如可列舉使用線性判別分析之方法。作為使用非線性式之方法，例如可列舉使用非線性平均算出式之方法、使用非線性回歸方程式之方法、使用非線性判別式之方法、及使用非線性羅吉斯回歸方程式之方法。

法。作為使用非線性平均算出式之方法，可列舉使用幾何平均之方法。作為使用非線性回歸方程式之方法，可列舉使用線性式乘算之方法、及使用類神經網路之方法。作為使用非線性判別式之方法，可列舉使用決策樹之方法、及使用支持向量機之方法。作為較佳之方法，可列舉使用決策樹之方法、或使用羅吉斯回歸方程式之方法。

作為更佳之方法，可列舉使用羅吉斯回歸方程式之方法，較佳之指標值係使用由下述式2所算出之值。於式2中， $I$ 表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)， $a_1$ 及 $a_2$ 表示以NAFL與NASH之判別誤差成為最小之方式決定之常數。

$$I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2} \quad (\text{式2})$$

$a_1$ 及 $a_2$ 若以NAFL與NASH之判別誤差變得最小之方式決定，則可藉由任何方法而求出，例如可藉由線性判別分析、或羅吉斯回歸分析等方法而求出。作為 $a_1$ 及 $a_2$ 之具體例，可列舉下述之表9中所記載之值。

於藉由決策樹而由複數個標準化得分求出指標值之情形時，例如使用以下之決策樹1~6。於藉由決策樹求出指標值之情形時，基準值例如使用下述之實施例之表11中所記載之值。

於上述標記分子為選自上述群1及群2之情形時，

若 $M1_a \geq 0.476$ 則 $I = 2$ 、若 $M1_a < 0.476$ 且 $M2_a \geq 0.466$ 則 $I = 1$ 、若 $M1_a < 0.476$ 且 $M2_a < 0.466$ 則 $I = 0$  (決策樹1)

於上述標記分子為選自上述群1及群3之情形時，

若 $M3_a \geq 0.409$ 且 $M1_a \geq 0.45$ 則 $I = 2$ 、若 $M3_a \geq 0.409$ 且 $M1_a < 0.45$ 則 $I = 1$ 、若 $M3_a < 0.409$ 則 $I = 0$  (決策樹2)

於上述標記分子為選自上述群1及群4之情形時，

若 $M4_a \geq 0.547$ 則 $I = 2$ 、若 $M4_a < 0.547$ 且 $M1_a \geq 0.468$ 則 $I = 1$ 、若

$M4_a < 0.547$  且  $M1_a < 0.468$  則  $I = 0$  (決策樹3)

於上述標記分子為選自上述群2及群3之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M2_a \geq 0.412$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M2_a < 0.412$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  則  $I = 0$  (決策樹4)

於上述標記分子為選自上述群2及群4之情形時，

若  $M4_a \geq 0.547$  則  $I = 2$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M2_a \geq 0.413$  則  $I = 1$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M2_a < 0.413$  則  $I = 0$  (決策樹5)

於上述標記分子為選自上述群3及群4之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a < 0.409$  且  $M4_a \geq 0.588$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  且  $M4_a < 0.588$  則  $I = 0$  (決策樹6)

(於決策樹1~6中， $I$ 表示指標值， $M1_a$ 、 $M2_a$ 、 $M3_a$ 及 $M4_a$ 分別表示上述群1、群2、群3、及群4之標準化得分)。

(3)於指標值大於基準值之情形時，判定為具有受驗者罹患NASH之可能性的步驟

本說明書中之所謂「基準值」係成為用以判別2個狀態之基準之值(臨界值)，可任意地設定。基準值可為NAFL罹患者的指標值，亦可為預先設定之值。作為預先設定之值，可基於根據藉由保有之NAFL罹患者及NASH罹患者之指標值所導出之ROC曲線而推定的基準值與感度(NASH罹患者之確診率)及特異度(NAFL罹患者之確診率)之關係，將成為使用者所必需之感度與特異度的指標值設定為上述基準值。

作為用以判定是否具有受驗者罹患NASH之可能性的基準值，例如可列舉以下之值。另外，以下所示之基準值係例示與如下之情形對應之基準值：標準化得分之值直接作為指標值而使用之情形、及使用根據複數個標準化得分而藉由上述(式2)求出之指標值之情形。

於標記分子為群1之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為

於0.149~0.907之間所設定之值。

於標記分子為群2之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於0.087~0.848之間所設定之值。

於標記分子為群3之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於0.164~0.909之間所設定之值。

於標記分子為群4之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於0.073~0.854之間所設定之值。

於標記分子為群1的所有標記分子之情形時，基準值例如為於0.359~0.586之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.359~0.486之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.486~0.586之間所設定之值。

於標記分子為群2的所有標記分子之情形時，基準值例如為於0.357~0.509之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.357~0.419之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.419~0.509之間所設定之值。

於標記分子為群3的所有標記分子之情形時，基準值例如為於0.378~0.545之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.378~0.45之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.45~0.545之間所設定之值。

於標記分子為群4的所有標記分子之情形時，基準值例如為於0.272~0.583之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.272~0.489之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.489~0.583之間所設定之值。

於標記分子為群1之至少2個標記分子及群2之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於3.438~25.735之間所設定之值。

於標記分子為群1之至少2個標記分子及群3之至少2個標記分子

之情形時，基準值例如為於5.987~34.702之間所設定之值。

於標記分子為群1之至少2個標記分子及群4之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於1.932~14.239之間所設定之值。

於標記分子為群2之至少2個標記分子及群3之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於2.836~19.664之間所設定之值。

於標記分子為群2之至少2個標記分子及群4之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於1.387~14.334之間所設定之值。

於標記分子為群3之至少2個標記分子及群4之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於3.044~20.554之間所設定之值。

於標記分子為群1及群2的所有標記分子之情形時，基準值例如為於12.025~15.396之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於12.025~13.795之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.795~15.396之間所設定之值。

於標記分子為群1及群3的所有標記分子之情形時，基準值例如為於15.915~20.712之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於15.915~18.297之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於18.297~20.712之間所設定之值。

於標記分子為群1及群4的所有標記分子之情形時，基準值例如為於6.219~8.967之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於6.219~7.533之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於7.533~8.967之間所設定之值。

於標記分子為群2及群3的所有標記分子之情形時，基準值例如為於8.497~11.466之間所設定之值，較佳為8.497~10.129之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於10.129

11.466之間所設定之值。

於標記分子為群2及群4的所有標記分子之情形時，基準值例如為於5.889～8.934之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於5.889～7.445之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於7.445～8.934之間所設定之值。

於標記分子為群3及群4的所有標記分子之情形時，基準值例如為於9.023～12.548之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於9.023～10.665之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於10.665～12.548之間所設定之值。

如上所述，本實施形態之判別方法之一態樣之較大的特長在於：使用由與血中之存在量具有連動性，且相互之生物學關係性較強之複數個生物分子(16～18種)所構成之群(模組)；以及並非各個標記分子之量，而是使用基於特定之群(模組)的所有標記分子之測定的標準化得分。迄今為止亦報告有基於複數個標記分子之測定的NAFL與NASH之判別法。然而，任意之方法均係基於少數標記分子之測定的方法。基於少數標記分子之測定的方法存在如下傾向：容易受到各標記分子之量之每個測定之不均或偏差之影響。本實施形態之判別方法係基於更多之標記分子之測定，使用由標記分子之相互之生物學關係性較強、且與血中之存在量具有連動性之標記分子所構成之模組之代表值(標準化得分)，於此方面而言難以受到各個標記分子之測定上之誤差、及不均之影響，可進行精度更高之判別。

又，於先前之使用複數個標記分子之NAFL與NASH之判別法中，使用對複數個標記分子之測定值之各個加以權重後進行合計之方法、或對複數個標記分子之測定值進行乘除之方法。然而，該等方法對於判別法之構築即學習中所使用之檢體群而言，過度地適合之傾向

比較大。本實施形態之判別方法藉由使用標準化之標記分子之測定值之平均值或中央值等統計值而作為指標值，並不進行該步驟中之學習，因此具有可回避對於在學習中所使用之檢體群的過度地適合之優點。根據該等2點，如上所述本實施形態之判別方法係具有比先前技術優異之特長的NAFL與NASH之判別法。

於本實施形態之其他態樣中，所測定之標記分子可為特定之群(模組)之1個或複數個標記分子。藉由選擇代表各模組之標記分子，可維持較高之精度而簡便地進行判別。代表各模組之標記分子可並無特別限制地適宜選擇。所選擇之上述標記分子之種類例如可為2~3種，亦可為4種~所有種類。

例如，於群1之情形時，標記分子亦可包含PROS1及CLU，亦可為PROS1及CLU。

於群2之情形時，標記分子亦可包含VCAM1，亦可為VCAM1，亦可為VCAM1及HA，亦可包含VCAM1及HA，亦可為VCAM1及CTSD，亦可包含VCAM1及CTSD，亦可為VCAM1及COL4，亦可包含VCAM1及COL4，亦可為VCAM1及COL4-7S，亦可包含VCAM1及COL4-7S，亦可為HA及COL4-7S，亦可包含HA及COL4-7S，亦可為HA及CTSD，亦可包含HA及CTSD，亦可為HA及COL4，亦可包含HA及COL4，亦可為CTSD及COL4，亦可包含CTSD及COL4，亦可為CTSD及COL4-7S，亦可包含CTSD及COL4-7S。

於群3之情形時，標記分子亦可為AST及PSAT，亦可包含AST及PSAT，亦可為AST及LEP，亦可包含AST及LEP，亦可為AST及ICAM1，亦可包含AST及ICAM1，亦可為AST、PSAT及LEP，亦可包含AST、PSAT及LEP，亦可為AST、PSAT及ICAM1，亦可包含AST、PSAT及ICAM1，亦可為AST、LEP及CK-18，亦可包含AST、LEP及CK-18，亦可為AST、ICAM1及GSTA1，亦可包含AST、ICAM1及

GSTA1，亦可為AST、PSAT及6Ckine，亦可包含AST、PSAT及6Ckine。

標準化得分係基於上述標記分子之量，根據上述式1而算出。作為用以判定是否存在受驗者罹患NASH之可能性的基準值，例如可列舉以下之值。

於PROS1及CLU之測定中使用HumanMAP法之情形時，基準值可如下所述地設定。

於標記分子為PROS1及CLU之情形時，基準值例如為於0.256～0.634之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.256～0.42之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.42～0.634之間所設定之值。

各標記分子之量之測定可藉由任意方法，例如可利用市售者。於HA之測定中使用ELISA法「Hyaluronan Quantikine ELISA 套組」，於VCAM1、CTSD及COL4之測定中使用HumanMAP法，且於COL4-7S之測定中放射免疫測定法「IV型膠原蛋白7S套組」之情形時，基準值可如下所示地設定。

於標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為HA及COL4，或為CTSD及COL4，或為CTSD及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.256～0.644之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.256～0.42之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.389～0.644之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1之情形時，基準值例如為於0.28～0.644之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.28～0.389之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考

慮，較佳為於0.389～0.644之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及HA之情形時，基準值例如為於0.326～0.617之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.326～0.398之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.398～0.617之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及CTSD之情形時，基準值例如為於0.277～0.604之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.277～0.408之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.408～0.604之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4之情形時，基準值例如為於0.319～0.617之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.319～0.407之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.407～0.617之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.303～0.543之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.303～0.416之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.416～0.543之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.326～0.509之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.326～0.398之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.398～0.509之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4之情形時，基準值例如為於0.343～0.487之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.343～0.395之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.395～0.487之間所設定之值。

於標記分子為HA及CTSD之情形時，基準值例如為於0.305

0.545之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.305~0.411之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.411~0.545之間所設定之值。

於標記分子為CTSD及COL4之情形時，基準值例如為於0.307~0.536之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.307~0.415之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.415~0.536之間所設定之值。

於標記分子為CTSD及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.271~0.575之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.271~0.419之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.419~0.575之間所設定之值。

於HA之測定中使用依據乳膠凝集法或CLIA法之體外診斷藥「化學發光玻尿酸」，於VCAM1之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」，且於COL4-7S之測定中使用放射免疫測定法「IV型膠原蛋白7S套組」之情形時，基準值可如下所示地設定。

於標記分子為VCAM1及HA之情形時，基準值例如為於0.326~0.684之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.326~0.39之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.39~0.684之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.293~0.548之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.293~0.394之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.394~0.548之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.308~0.662之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較

佳為於0.308~0.394之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.394~0.662之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1之情形時，亦可將VCAM1之測定值(VCAM1之量)直接作為指標值而代替由上述式1所算出之標準化得分。於VCAM1之量之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」之情形時，基準值(血清中之濃度(ng/ml))例如為於551.1~1280.1之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於551.1~806.2之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於806.2~1280.1之間所設定之值。

於AST之測定中使用酶活性測定法，於PSAT、LEP、ICAM1、GSTA1、及6Ckine之測定中使用HumanMAP法，且於CK-18之測定中使用ELISA法「M30 Apoptosense ELISA」之情形時，基準值可如下所示地設定。

於標記分子為AST及PSAT，或為AST及LEP，或為AST及ICAM1，或為AST、PSAT及LEP，或為AST、PSAT及ICAM1，或為AST、LEP及CK-18，或為AST、ICAM1及GSTA1，或為AST、PSAT及6Ckine之情形時，基準值例如為於0.284~0.629之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.284~0.439之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.393~0.629之間所設定之值。

於標記分子為AST及PSAT之情形時，基準值例如為於0.284~0.544之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.284~0.397之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.397~0.544之間所設定之值。

於標記分子為AST及LEP之情形時，基準值例如為於0.309~0.629之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較

佳為於0.309~0.412之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.412~0.629之間所設定之值。

於標記分子為AST及ICAM1之情形時，基準值例如為於0.302~0.546之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.302~0.406之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.406~0.546之間所設定之值。

於標記分子為AST、PSAT及LEP之情形時，基準值例如為於0.303~0.619之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.303~0.418之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.418~0.619之間所設定之值。

於標記分子為AST、PSAT及ICAM1之情形時，基準值例如為於0.301~0.551之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.301~0.406之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.406~0.551之間所設定之值。

於標記分子為AST、LEP及CK-18之情形時，基準值例如為於0.297~0.625之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.297~0.439之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.439~0.625之間所設定之值。

於標記分子為AST、ICAM1及GSTA1之情形時，基準值例如為於0.302~0.573之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.302~0.393之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.393~0.573之間所設定之值。

於標記分子為AST、PSAT及6Ckine之情形時，基準值例如為於0.291~0.535之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.291~0.416之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於0.416~0.535之間所設定之值。

於本實施形態之其他態樣中，亦可選擇1種標記分子而作為代表特定之群(模組)的標記分子。於此情形時，亦可將上述標記分子之測定值(所測定之上述標記分子之量)直接作為指標值而代替由上述式1而算出之標準化得分。

例如，代表群2之標記分子為VCAM1，亦可將VCAM1之測定值(例如血清中之濃度)作為指標值。於VCAM1之量之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」之情形時，基準值(血清中之濃度(ng/ml))例如為551.1~1280.1之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於693.5~925.3之間所設定之值。

又，亦可使用基於PROS1及CLU之量而算出的標準化得分作為第1標準化得分，使用基於選自群3之至少1個標記分子之量、AST及PSAT之量、AST及LEP之量、AST及ICAM1之量、AST、PSAT及LEP之量、AST、PSAT及ICAM1之量、AST、LEP及CK-18之量、AST、ICAM1及GSTA1之量、或AST、PSAT及6Ckine之量而算出的標準化得分作為第2標準化得分，根據上述式2而算出指標值。此時，作為式2中之 $a_1$ 及 $a_2$ 之值，例如可列舉下述表9中之與「M1+M3」對應之值。作為用以判定是否存在受驗者罹患NASH之可能性的基準值，例如可列舉以下之值。

於PROS1、CLU、PSAT、LEP、ICAM1、GSTA1及6Ckine之測定中使用HumanMAP法，於AST之測定中使用酶活性測定法，且於CK-18之測定中使用ELISA法「M30 Apoptosense ELISA」之情形時，基準值可如下所示地設定。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST及PSAT，或為AST及LEP，或為AST及ICAM1，或為AST、PSAT及LEP，或為AST、PSAT及ICAM1，或為AST、LEP及CK-18，或為AST、ICAM1及GSTA1

或為AST、PSAT及6Ckine之情形時，基準值例如為於13.493～21.205之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.493～18.331之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於16.789～21.205之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST及PSAT之情形時，基準值例如為於13.493～21.02之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.493～17.141之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於17.141～21.02之間所設定之值。

於標記分子為、PROS1及CLU、以及為AST及LEP之情形時，基準值例如為於14.228～20.755之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於14.228～18.145之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於18.145～20.755之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST及ICAM1之情形時，基準值例如為於13.663～20.831之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.663～17.406之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於17.406～20.831之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為、AST、PSAT及LEP之情形時，基準值例如為於14.229～20.843之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於14.229～18.331之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於18.331～20.843之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST、PSAT及ICAM1之情形時，基準值例如為於13.929～21.053之間所設定之值，自提高

NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.929~17.749之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於17.749~21.053之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST、LEP及CK-18之情形時，基準值例如為於13.544~21.168之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.544~18.319之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於18.319~21.168之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST、ICAM1及GSTA1之情形時，基準值例如為於13.788~20.882之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.788~17.643之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於17.643~20.882之間所設定之值。

於標記分子為PROS1及CLU、以及為AST、PSAT及6Ckine之情形時，基準值例如為於13.844~21.205之間所設定之值，自提高NASH罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於13.844~16.789之間所設定之值，自提高NAFL罹患者之確診率之觀點考慮，較佳為於16.789~21.205之間所設定之值。

本實施形態之判別方法亦可作為判定NAFLD、NAFL或NASH之疾病狀態之進展度的方法而使用。指標值越大，越判定為存在受驗者的NAFLD、NAFL或NASH之疾病狀態之進展度較高之可能性。或者於治療藥之應用後之指標值較應用前之指標值減少之情形時，亦可判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性。

本實施形態之判別方法亦可作為判別Matteoni分類中之1型~3型之疾病狀態與4型之疾病狀態之方法、及判別纖維化階段中之階段0、階段1或階段2之疾病狀態與階段3或階段4之疾病狀態之方法等判別肝

纖維化之方法而使用。於上述判別肝纖維化之方法中，標準化得分大於基準值之情形時，判定為存在受驗者係肝纖維化之疾病狀態的可能性。迄今為止基於肝活組織檢查之病理觀察結果而判定該等疾病狀態，但若藉由上述判別方法。則可藉由非侵入性之方法而精度良好地判定。

Matteoni分類係基於肝活組織檢查之病理觀察結果的NAFL、NASH之診斷方法，係通常使用之方法(Matteoni, C., Younossi, Z. & Gramlich, T. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1413-1419 (1999).)。將Matteoni分類與病理觀察結果(組織觀察結果)之關係表示於表1中。近年來，可知於NASH之疾病狀態中，肝纖維化係預後之惡化因子。因此，於NASH之疾病狀態中，判別具有肝纖維化之NASH罹患者所含之分類為Matteoni分類之4型的疾病狀態之重要性增大。

[表1]

NAFL及NASH之診斷與Matteoni分類

NAFL~NASH診斷	Matteoni分類	組織觀察結果
NAFL	1型	僅僅脂肪沈積
	2型	脂肪沈積+小葉內炎症
NASH	3型	脂肪沈積+肝細胞之氣球狀變性(氣圈)
	4型	3型之觀察結果+纖維化或Mallory-Denk體

纖維化之進展度通過以下述表2中所示之「階段」(Kleiner et. al., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology* 41: 1313-21 (2005))為指標而進行評價。

[表2]

「纖維化之進展度」之指標「階段」

纖維化分類	組織觀察結果
階段0	無纖維化
階段1	中心靜脈區域或門靜脈區域纖維化 1A：輕度之中心靜脈區域纖維化 1B：中等程度之中心靜脈區域纖維化 1C：門靜脈區域纖維化
階段2	中心靜脈區域+門靜脈區域纖維化
階段3	伴隨著形成架橋之纖維化(bridging fibrosis)
階段4	肝硬化

所測定之標記分子可為上述群2的所有標記分子，亦可包含VCAM1，亦可為VCAM1，亦可為VCAM1及HA，亦可包含VCAM1及HA，亦可為VCAM1及CTSD，亦可包含VCAM1及CTSD，亦可為VCAM1及COL4，亦可包含VCAM1及COL4，亦可為VCAM1及COL4-7S，亦可包含VCAM1及COL4-7S，亦可為HA及COL4-7S，亦可包含HA及COL4-7S，亦可為HA及CTSD，亦可包含HA及CTSD，亦可為HA及COL4，亦可包含HA及COL4，亦可為CTSD及COL4，亦可包含CTSD及COL4，亦可為CTSD及COL4-7S，亦可包含CTSD及COL4-7S。標準化得分係基於上述標記分子之量，由上述式1而算出。

於判別Matteoni分類中之1型~3型之疾病狀態與4型之疾病狀態的方法之情形時，於標準化得分大於基準值之情形時，判定為具有受驗者係Matteoni分類中之4型之疾病狀態的可能性。例如，於HA之測定中使用ELISA法「Hyaluronan Quantikine ELISA 套組」，於VCAM1、CTSD及COL4之測定中使用HumanMAP法，且於COL4-7S之測定中使用放射免疫測定法「IV型膠原蛋白7S套組」之情形時，可如下所示地設定。

於標記分子為群2之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為

於0.087~0.848之間所設定之值。

於標記分子為上述群2的所有標記分子，或為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為HA及COL4，或為CTSD及COL4，或為CTSD及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.303~0.617之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.303~0.475之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.408~0.536之間所設定之值。

於標記分子為上述群2的所有標記分子之情形時，基準值例如為於0.401~0.536之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.401~0.45之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.45~0.536之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1之情形時，基準值例如為於0.303~0.538之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.303~0.421之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.421~0.538之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及HA之情形時，基準值例如為於0.328~0.617之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.328~0.418之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.418~0.617之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及CTSD之情形時，基準值例如為於0.313~0.581之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.313~0.432之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.432~0.581之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4之情形時，基準值例如為於0.343

~0.558之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.343~0.457之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.457~0.558之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.358~0.602之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.358~0.438之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.438~0.602之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.354~0.562之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.354~0.451之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.451~0.562之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4之情形時，基準值例如為於0.36~0.522之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，係0.36~0.408之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.408~0.522之間所設定之值。

於標記分子為HA及CTSD之情形時，基準值例如為於0.311~0.545之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.311~0.432之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.432~0.545之間所設定之值。

於標記分子為CTSD及COL4之情形時，基準值例如為於0.317~0.544之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.317~0.436之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.436~0.544之間所設定之值。

於標記分子為CTSD及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.364~0.604之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考

慮，較佳為於0.364~0.475之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.475~0.604之間所設定之值。

於HA之測定中使用依據乳膠凝集法或CLIA法之體外診斷藥「化學發光玻尿酸」，於VCAM1之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」，且於COL4-7S之測定中使用放射免疫測定法「IV型膠原蛋白7S套組」之情形時，基準值可如下所示地設定。

於標記分子為VCAM1及HA之情形時，基準值例如為於0.357~0.572之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.357~0.403之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.403~0.572之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.356~0.603之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.356~0.426之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.426~0.603之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.331~0.563之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.331~0.42之間所設定之值，自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於0.42~0.563之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1之情形時，亦可將VCAM1之測定值(VCAM1之量)直接作為指標值而代替根據上述式1所算出之標準化得分。

於VCAM1之量之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 定量ikine ELISA 套組」之情形時，基準值(血清中之濃度(ng/ml))例如為於618.1~1239.5之間所設定之值，自提高4型之疾病狀態之確診

率的觀點考慮，較佳為於618.1~840.0之間所設定之值；自提高1型~3型之疾病狀態之確診率的觀點考慮，較佳為於840.0~1239.5之間所設定之值。

於判別纖維化階段中之階段0、階段1或階段2之疾病狀態與階段3或階段4之疾病狀態之方法之情形時，於標準化得分大於基準值之情形時，判定為存在受驗者係纖維化之階段中的階段3或階段4之疾病狀態之可能性。作為此時所使用之基準值，於HA之測定中使用ELISA法「Hyaluronan Quantikine ELISA 套組」，且於VCAM1之測定中使用HumanMAP法之情形時，可如下所述地設定。

例如可列舉以下之值。

於標記分子為群2之至少2個標記分子之情形時，基準值例如為於0.087~0.848之間所設定之值。

於標記分子為上述群2的所有標記分子，或為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為HA及COL4，或為CTSD及COL4，或為CTSD及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.353~0.766之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.353~0.574之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.453~0.766之間所設定之值。

於標記分子為上述群2的所有標記分子之情形時，基準值例如為於0.421~0.632之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.421~0.544之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.544~0.632之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1之情形時，基準值例如為於0.371~0.587之

間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.371~0.453之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.453~0.587之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及HA之情形時，基準值例如為於0.389~0.766之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.389~0.519之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.519~0.766之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及CTSD之情形時，基準值例如為於0.406~0.718之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.406~0.524之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.524~0.718之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4之情形時，基準值例如為於0.407~0.678之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.407~0.534之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.534~0.678之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.413~0.685之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.413~0.574之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.574~0.685之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.398~0.7之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀

點考慮，較佳為0.398～0.539之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.539～0.7之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4之情形時，基準值例如為於0.392～0.683之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.392～0.463之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.463～0.683之間所設定之值。

於標記分子為HA及CTSD之情形時，基準值例如為於0.373～0.69之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.373～0.465之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.465～0.69之間所設定之值。

於標記分子為CTSD及COL4之情形時，基準值例如為於0.353～0.635之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.353～0.469之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.469～0.635之間所設定之值。

於標記分子為CTSD及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.403～0.676之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.403～0.559之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.559～0.676之間所設定之值。

於HA之測定中使用依據乳膠凝集法或CLIA法之體外診斷藥「化學發光玻尿酸」，於VCAM1之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」，且於COL4-7S之測定中使用放射

免疫測定法「IV型膠原蛋白7S套組」之情形時，基準值可如下所示地設定。

於標記分子為VCAM1及HA之情形時，基準值例如為於0.381～0.759之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.381～0.526之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.526～0.759之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.394～0.71之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.394～0.565之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.565～0.71之間所設定之值。

於標記分子為HA及COL4-7S之情形時，基準值例如為於0.373～0.698之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.373～0.563之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為0.563～0.698之間所設定之值。

於標記分子為VCAM1之情形時，亦可將VCAM1之測定值(VCAM1之量)直接作為指標值而代替由上述式1所算出之標準化得分。

於VCAM1之量之測定中使用ELISA法「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」之情形時，基準值(血清中之濃度(ng/ml))例如為於789.8～1344.2之間所設定之值，自提高階段3或階段4之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為789.8～1029.3之間所設定之值，自提高階段0、階段1或階段2之疾病狀態之確診率之觀點考慮，較佳為1029.3～1344.2之間所設定之值。

本實施形態之判別方法亦可作為判定NAFLD、NAFL或NASH之疾病狀態之進展度的方法而使用。指標值越大，則越判定為存在受驗者的NAFLD、NAFL或NASH之疾病狀態之進展度較高之可能性。或者，於治療藥之應用後的指標值較應用前之指標值減少之情形時，亦可判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性。

本實施形態之判別方法亦可作為判定肝疾病之疾病狀態之進展度的方法而使用。可藉由非侵入性之方法而判定迄今為止基於肝活組織檢查之病理觀察結果而判定的肝疾病之疾病狀態之進展度。作為肝疾病，可列舉NAFLD、酒精性肝損傷、慢性肝炎、藥物性肝損傷等。作為肝疾病之疾病狀態之進展度，可列舉肝臟之纖維化之進展度、肝臟之炎症之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、NAFLD之活動性之進展度、肝細胞之壞死。肝臟之纖維化係於例如NAFLD、酒精性肝損傷、慢性肝炎、藥物性肝損傷中所發現之疾病狀態。肝臟之炎症、特別是肝臟之小葉內炎症係於例如NAFLD、酒精性肝損傷、慢性肝炎、藥物性肝損傷中所發現之疾病狀態。肝細胞之氣球狀變性係於例如NAFLD、酒精性肝損傷、慢性肝炎中所發現之疾病狀態。肝細胞之壞死係於例如NAFLD、酒精性肝損傷、慢性肝炎、藥物性肝損傷中所發現之疾病狀態。

此處，關於評價NAFLD之活動性之得分的NAFLD活動性得分(NAFLD Activity Score, NAS)而加以說明。NAFLD活動性得分係根據肝細胞之脂肪化率、肝細胞之氣球狀變性及小葉內炎症之病理觀察結果，基於下述表3分別得出分數，求出其合計值。該得分越高，則越判斷NAFLD之疾病狀態之重症度較高。

[表3]

「NAFLD之活動性」之指標「NAFLD活動性得分」

活動性評價	組織觀察結果		
分數	肝細胞脂肪化率	氣球狀變性	小葉內炎症
0分	~5%	無	無
1分	5~33%	少數	於200倍視野下 ~1處
2分	33~66%	多數	於200倍視野下 2~4處
3分	67%~		於200倍視野下 5處~

※藉由3個項目之合計分數(0分~8分)評價活動性

步驟(1)中所測定之標記分子亦可包含VCAM1，亦可為VCAM1，亦可為VCAM1及HA，亦可包含VCAM1及HA，亦可為VCAM1及COL4，亦可包含VCAM1及COL4，亦可為VCAM1及COL4-7S，亦可包含VCAM1及COL4-7S，亦可為HA及COL4-7S，亦可包含HA及COL4-7S，亦可為HA及COL4，亦可包含HA及COL4。標準化得分係基於上述標記分子之量，根據上述式1而算出。標準化得分可作為肝疾病之疾病狀態之進展度之指標值而使用。

於標記分子為VCAM1之情形時間，亦可將VCAM1之測定值(VCAM1之量)直接作為指標值而代替根據上述式1所算出之標準化得分。

指標值越大，越可以判定存在受驗者的肝臟之纖維化之進展度、肝臟炎症之進展度、肝細胞氣球狀變性之進展度、NAFLD之活動性之進展度、或肝細胞壞死之進展度較高之可能性。或者，於指標值比前次所求得之指標值增大之情形時，亦可判定為存在受驗者的肝臟之纖維化之進展度、肝臟炎症之進展度、肝細胞氣球狀變性之進展度、NAFLD之活動性之進展度、或肝細胞壞死之進展度發展的可能

性。或者，於治療藥之應用後之指標值較應用前之指標值減少之情形時，亦可判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性。

作為治療藥，可列舉NAFLD之治療藥、特別是NASH之治療藥。作為NASH之治療藥，係對於業者而言自明者，例如可列舉噻唑烷衍生物(羅格列酮、吡格列酮)、HMG-CoA還原酶抑制藥(阿托伐他汀)、膽固醇轉運體抑制藥(依折麥布)、血管緊張素II受體拮抗劑(洛沙坦、替米沙坦、巰沙坦)、維他命E，但並不限定於該等。又，治療藥之應用期間可根據需要而適宜設定，例如可確認應用12、24、36、48、60、72、84、96週後之效果。

於本實施形態之另外其他態樣中，提供一種套組，其係用以於本實施形態之上述方法中使用之套組，其包含用以檢測上述標記分子之試劑、用以實施上述方法之說明書。

又，於本實施形態之另外其他態樣中，提供一種套組，其係用以於本實施形態之上述方法中使用之套組，其包含用以檢測VCAM1之試劑。上述套組亦可作為用以判定罹患非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝臟之纖維化之疾病狀態、肝臟之纖維化之進展度較高、肝細胞之氣球狀變性之疾病狀態之進展度較高、肝臟之炎症之進展度較高、肝肥大之疾病狀態、肝細胞壞死之疾病狀態、肝細胞凋亡之疾病狀態、肝細胞變性之疾病狀態、肝臟脂肪化之疾病狀態、或存在該等可能性之診斷藥而掌握。

作為用以檢測上述標記分子的試劑，例如可列舉特異性識別上述標記分子之抗體、特異性結合於上述標記分子上之蛋白質或核酸、用以作為質量分析之標準的合成VCAM1等。用以檢測上述標記分子之試劑亦可獲得市售者，亦可藉由公知之方法而製造。

用以實施上述方法之說明書若可實施本實施形態之方法地記載，則並無特別限制，例如可列舉記載有上述標準化得分或上述指標

值之算出方法、上述方法中所使用之基準值等之說明書。

上述套組除了上述試劑及上述說明書以外，亦可視需要包含例如殺菌水、生理鹽水、界面活性劑、緩衝劑、蛋白質穩定劑、防腐劑、阻斷溶液、反應溶液、反應停止液、對照用試劑(例如組織樣品、陽性對照及陰性對照用生物分子)、標識用試劑、固相載體。

於本實施形態之另外其他態樣中提供一種肝疾病判定系統，其係用以於本實施形態之方法中使用。圖11係表示肝疾病判定系統之一實施形態之模式圖。上述肝疾病判定系統100例如具備：測定裝置1，測定自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子之量；肝疾病判定裝置11，基於所測定之上述標記分子之量而判定肝疾病之疾病狀態。以下，進行詳細說明。

上述測定裝置具備：用以設置試樣之試樣設置部3、用以對上述試樣照射光之光源部2、檢測透過上述試樣之光之檢測部4、將利用檢測部4所獲得之測定資料(上述標記分子之量的測定資料)電性發送至上述肝疾病判定裝置11的通訊部5。上述試樣係由例如自受驗者採取之血液等而製備。

光源部2例如包含可照射複數個波長之單一或複數個光源。即，如鹵素燈般將多波長之光源或對其組合波長選擇型濾光片而成者、及不同之峰值波長之LED之集合體等。

光源部2係對試樣設置部3所設置之試樣照射特定波長之光者，其波長可根據檢測之試劑(螢光色素等)而適宜設定，例如為400 nm～1000 nm。此處，光源部2可為單色光源，亦可為組合有複數個光源之光源。又，檢測之對象為發光色素之光量、由放射性同位素發出之放射線等之情形時，亦可不具有光源部2。

檢測部4係檢測透過上述試樣之光者。檢測部4可為檢測螢光色素、發光色素等之光量者，亦可為檢測自放射性同位素所發出之放射

線者。

通訊部5係將利用檢測部4所獲得之測定資料電性發送至上述肝疾病判定裝置11者。

又，光源部2、檢測部4、通訊部5係與上述肝疾病判定裝置11電性連接，亦可利用位於上述肝疾病判定裝置11內之控制部12而控制其功能。

圖11之一部分亦可理解為表示上述肝疾病判定裝置11之硬體構成之概要圖。上述肝疾病判定裝置11具備：控制部12；記錄部13，記錄自上述通訊部5傳遞來之測定資料或分析所必需之資訊；運算部14，進行測量結果之運算分析；顯示部15，進行分析結果之顯示；輸入部16，用以輸入控制所必需之資訊。下述之肝疾病判定裝置11之各功能係藉由如下方式而實現：於記錄部13、運算部14等之硬體上讀入特定之電腦軟體，藉此於運算部14之控制下使輸入部16、顯示部15運作，同時進行記錄部13、運算部14中之資料之讀出及寫入。

控制部12係可依照特定順序控制肝疾病判定系統100之作動狀況的控制裝置。

肝疾病判定裝置11與控制部12可使用具有兩者之功能的1個電腦，亦可使用具有相當於控制部12、記錄部13、運算部14、顯示部15、輸入部16之功能的電腦等。

圖12係表示肝疾病判定裝置11之功能性構成之概要圖。肝疾病判定裝置11具備取得機構D1、標準化機構D2、比較機構D3、判定機構D4及顯示機構D5作為功能性構成元件。

取得機構D1係取得來自測定裝置1之測定資料(上述標記分子之量的測定資料)者。標準化機構D2係由所取得之測定資料，基於上述式1而算出標準化得分，根據所算出之標準化得分求出指標值者。比較機構D3係將利用標準化機構D2所求出之指標值與基準值進行比較

者。判定機構D4係基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態者。顯示機構D5係顯示判定之結果者。

(肝疾病之判定程式)

用以於本實施形態之方法中使用之程式係使電腦作為上述之取得機構D1、標準化機構D2、比較機構D3、判定機構D4、及顯示機構D5而發揮功能者。於另一態樣中，上述程式係於電腦中執行下述之取得步驟S1、標準化步驟S2、比較步驟S3、判定步驟S4及顯示步驟S5。藉由於電腦中讀入上述程式，使電腦作為肝疾病判定裝置11而運作。上述程式例如係儲存於記錄媒體中而提供。再者，作為記錄媒體，可例示軟碟、CD、DVD等記錄媒體、ROM等記錄媒體、或半導體記憶體等。

(肝疾病之判定方法)

其次，對利用肝疾病判定裝置11所進行之肝疾病之判定方法加以說明。圖13係肝疾病之判定方法之流程圖。藉由利用肝疾病判定裝置11所進行之上述判定方法，可定量且自動地、精度較高地進行是否具有肝疾病之疾病狀態之判定。

[取得步驟S1]

首先，取得機構D1取得來自測定裝置1之測定資料(自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子之量的測定資料)。

[標準化步驟S2]

其次，標準化機構D2係根據藉由取得機構D1所取得之上述測定資料，基於上述式1而算出標準化得分，根據所算出之標準化得分而求出指標值。上述測定資料亦可將預先獲得之測定資料輸入至肝疾病判定裝置11而代替利用取得機構D1來取得。又，亦可將上述標準化得分直接作為指標值。

[比較步驟S3]

其次，比較機構D3係將藉由標準化機構D2而求得之指標值與基準值比較。於所測定之標記分子為1種之情形時，亦可並不進行標準化步驟S2，使用藉由取得機構D1所取得之上述測定資料作為指標值，進行比較步驟S3。

#### [判定步驟S4]

其次，判定機構D4係基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。例如，於指標值大於基準值之情形時，判定為受驗者罹患非酒精性脂肪肝炎(NASH)，係肝臟之纖維化之疾病狀態，肝臟之纖維化之進展度、肝細胞之氣球狀變性之疾病狀態之進展度、或肝臟之炎症之進展度較高，係肝肥大之疾病狀態，係肝細胞壞死之疾病狀態，係肝細胞凋亡之疾病狀態，係肝細胞變性之疾病狀態，係肝臟脂肪化之疾病狀態，或存在該等可能性。

#### [顯示步驟S5]

其次，顯示機構D5顯示藉由判定步驟S4而判定之結果。例如，藉由顯示機構D5顯示對象是否具有肝疾病之疾病狀態等。

若以上所說明般，本實施形態之判別方法係非侵入性，變得可藉由比先前方法精度更高地判別非酒精性脂肪肝疾病等肝疾病之疾病狀態。又，上述判別方法亦可作為收集用以診斷非酒精性脂肪肝疾病等肝疾病之資料的方法而使用。

於上述判別方法中，使用根據式1算出之標準化得分而求出指標值，但亦可使用標準化得分以外之統計值而求出指標值。作為上述統計值，例如可列舉最大值、最小值、最頻值、平均值、中央值、百分位數值等。於求出指標值時所使用之統計值可單獨使用1種，亦可組合複數種而使用。於組合複數種而使用之情形時，為了修正各標記分子中之測定值之單位、尺度、濃度、量等之不同，亦可對測定值進行標準化。又，亦可使用S型函數將測定值之分佈轉換為適合判別之分

佈。

#### [實施例]

以下，列舉實施例而對本發明進行詳細說明，但本發明並不受該等任何限定。

#### 試驗例1：判別NAFL與NASH之方法(1)

關於預先藉由Matteoni分類而分類為NASH之患者及NAFL之患者的132名患者，測定下述表4所示之生物分子(標記分子)於血液中之量。上述生物分子中，ALB、ALT、AST、COL4-7S及INS<sup>IVD</sup>係使用於日本經過藥事承認之體外診斷用醫藥品而進行測定。具體而言，ALB係藉由色素結合法之1種的BCP改良法而測定。ALT及AST係藉由酶活性測定法而測定。COL4-7S係藉由RIA法而測定。INS<sup>IVD</sup>係藉由CLIA法而測定。CK-18係藉由市售之評價套組(M30 Apoptosense(註冊商標)ELISA)而測定。HA係藉由市售之評價套組(Hyaluronan Quantikine ELISA 套組)而測定。Mac-2bp係藉由市售之評價套組(Human Mac-2結合蛋白(Mac-2bp)檢定套組 - IBL)而測定。於使用市售之評價套組時，使用多模微盤讀取器「Spectramax M5」(Molecular Devices公司製造)。P3NP使用市售之評價套組(III原膠原胺基末端肽(PIIINP)之ELISA套組；ELISA Kit for Procollagen III N-Terminal Propeptide (PIIINP))而測定。其他生物分子係利用Myriad RBM公司提供之多重免疫測定服務Human DiscoveryMAP(註冊商標) 250+(v. 2.0)而測定。

[表4]

	生物分子(標記分子)
模組1(M1、群1)	ANG、APOC3、APOD、CFHR1、CLU、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、PROS1、四連接素、TTR、VDBP、VEGFR-2
模組2(M2、群2)	ALB、COL4-7S、AFP、AXL、CCL19、CGB、COL4、CSF1、CTSD、FAS、HA、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VCAM1、VWF、YKL-40
模組3(M3、群3)	ALT、AST、INS <sup>IVD</sup> 、INS <sup>MAP</sup> 、6Ckine、AGT、CK-18、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、GSTA1、HSP-60、ICAM1、LEP、P3NP、PSAT、鞣固酮
模組4(M4、群4)	AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1、VTN

其次，根據同一模組的生物分子之量，基於上述式1而求出與M1～M4對應之各個之標準化得分。此處，式1中之 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 、及 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 使用以下之表5～表8中所示之值。

[表5]

M1之生物分子	$\text{mean}(m_i)$	$\text{sd}(m_i)$	$\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$	$\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$
ANG	414.74	124.67	481.56	384.64
APOC3	231.59	96.87	277.80	210.77
APOD	129.81	54.44	160.27	116.09
CFHR1	3195.14	749.31	3447.56	3081.41
CLU	248.88	48.24	272.24	238.35
皮質醇	352.20	510.96	370.20	344.10
EGFR	4.12	0.79	4.45	3.97
HPN	1036.86	310.19	1167.27	978.11
IGFBP3	2903.80	753.69	3203.41	2768.81
IL1B	4.85	3.03	5.73	4.45
IL23A	1.77	0.36	1.95	1.68
MET	82.34	175.20	51.28	96.97
MMP10	1.34	0.57	1.51	1.26
PROS1	15.07	2.94	17.22	14.10
四連接素	13.65	2.96	15.31	12.90
TTR	27.51	7.49	32.95	25.05
VDBP	205.15	95.64	246.32	186.60
VEGFR-2	7.05	1.78	8.01	6.62

[表 6]

M2之生物分子	mean( $m_i$ )	sd( $m_i$ )	mean( $m_i^{NASH}$ )	mean( $m_i^{NAFL}$ )
ALB	4.29	0.35	4.45	4.22
COL4-7S	5.39	1.67	4.24	5.88
AFP	2.73	4.21	1.57	3.25
AXL	15.62	5.95	12.96	16.82
CCL19	767.30	937.15	535.90	871.56
CGB	1.65	0.78	1.39	1.76
COL4	129.32	106.79	85.10	149.24
CSF1	0.85	0.41	0.72	0.91
CTSD	853.89	375.08	706.02	920.52
FAS	32.28	40.69	24.83	35.64
HA	193.51	227.08	72.14	248.19
Mac-2bp	1.84	0.86	1.52	1.99
CA19-9	23.91	26.75	11.76	29.39
NRCAM	1.74	1.26	1.25	1.96
OPG	7.02	2.85	5.80	7.57
VCAM1	632.91	242.86	521.59	683.07
VWF	91.67	39.94	74.95	99.20
YKL-40	85.99	84.47	43.98	104.92

[表 7]

M3之生物分子	mean( $m_i$ )	sd( $m_i$ )	mean( $m_i^{NASH}$ )	mean( $m_i^{NAFL}$ )
ALT	89.88	65.44	61.78	102.54
AST	59.28	36.01	37.68	69.01
INS <sup>IVP</sup>	15.25	12.51	11.14	17.21
INS <sup>MAP</sup>	2.30	3.82	2.11	2.39
$\delta$ Ckine	627.81	238.55	497.37	686.58
AGT	229.13	602.43	72.39	299.75
CK-18	559.70	320.09	342.85	657.39
CRP	2.73	2.96	1.65	3.22
CXCL10	647.97	488.53	476.29	725.32
FABP4	21.01	12.74	16.30	23.13
G6PI	62.58	37.34	45.17	70.42
GSTA1	215.85	230.79	134.45	252.53
HSP-60	54.82	67.22	73.90	46.22
ICAM1	184.42	107.25	138.39	205.15
LEP	15.78	15.30	12.96	17.06
P3NP	13.99	6.07	11.62	15.00
PSAT	22.64	19.68	14.23	26.44
鞣固酮	3.25	1.92	3.95	2.94

[表8]

M4之生物分子	mean( $m_i$ )	sd( $m_i$ )	mean( $m_i^{NASH}$ )	mean( $m_i^{NAFL}$ )
AREG	344.88	142.30	459.78	293.11
BDNF	25.45	10.51	30.32	23.26
CD40-L	2.13	1.13	2.59	1.93
EREG	66.43	40.44	94.24	53.90
FGF2	37.38	17.38	50.93	31.27
HBEGF	70.89	21.00	84.22	64.88
IGFBP2	59.45	32.01	49.32	64.01
MMP9	1547.88	598.87	1816.07	1427.04
PAI-1	197.98	62.65	225.41	185.62
PDGFB	15423.86	6877.80	18728.78	13934.84
PLGF	43.04	14.39	48.98	40.36
SAP	14.45	4.31	17.26	13.18
TGFA	17.47	7.64	20.22	16.23
TGFB1	11.01	3.60	12.38	10.39
THBS1	26881.59	12864.55	34515.61	23442.09
VTN	2370.23	551.50	2772.44	2189.01

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，基於上述式2而求出指標值。此處，式2中之 $M_{a1}$ (第1標準化得分)、 $M_{a2}$ (第2標準化得分)、 $a_1$ 及 $a_2$ 使用以下之值。

[表9]

	$M_{a1}$	$a_1$	$M_{a2}$	$a_2$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	14.253	與M2對應之標準化得分	15.104
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	18.693	與M3對應之標準化得分	19.524
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	10.007	與M4對應之標準化得分	6.045
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	10.778	與M3對應之標準化得分	11.578
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	11.165	與M4對應之標準化得分	5.698
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	14.918	與M4對應之標準化得分	8.189

將所求得之標準化得分或指標值分類為NAFL之患者群、NASH之患者群而繪製之圖表表示於圖1中。於圖1中，實線表示表10中之「基準值之範圍A」之兩端，虛線表示表10中之「基準值之範圍B」之兩端。於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別

有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表10中所示之範圍之方法有效。又，將根據該等結果而求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表 10]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、B之任意者)	基準値之範圍 A：感度為95% ~特異度為95%		基準値：感度為95%			基準値：特異度為95%			基準値之範圍 B：特異度為50%以上且感度為50%以上		基準値：特異度為50%			基準値：感度為50%		
			感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)
M1(全部因子)	0.832	0.359~0.586	0.359	95.6	26.8	0.359	95.6	39.6	95.1	0.42~0.553	0.420	90.1	51.2	0.553	50.5	90.2		
M2(全部因子)	0.825	0.357~0.509	0.357	95.6	19.5	0.357	95.6	45.1	95.1	0.391~0.499	0.391	90.1	51.2	0.499	50.5	92.7		
M3(全部因子)	0.846	0.378~0.545	0.378	95.6	43.9	0.378	95.6	38.5	95.1	0.388~0.515	0.388	94.5	51.2	0.515	50.5	90.2		
M4(全部因子)	0.818	0.272~0.583	0.272	95.6	22.0	0.272	95.6	58.2	95.1	0.392~0.583	0.392	86.8	51.2	0.583	50.5	97.6		
M1(全部因子)+ M2(全部因子)	0.903	12.025~15.396	12.259	95.6	61.0	12.259	95.6	64.8	95.1	12.025~15.396	12.025	95.6	51.2	15.396	50.5	97.6		
M1(全部因子)+ M3(全部因子)	0.939	15.915~20.712	16.654	95.6	68.3	16.654	95.6	82.4	95.1	15.915~20.712	15.915	98.9	51.2	20.712	50.5	100.0		
M1(全部因子)+ M4(全部因子)	0.859	6.219~8.967	6.219	95.6	46.3	6.219	95.6	52.7	95.1	6.409~8.967	6.409	93.4	51.2	8.967	50.5	95.1		
M2(全部因子)+ M3(全部因子)	0.867	8.497~11.466	8.497	95.6	39.0	8.497	95.6	54.9	95.1	8.719~11.466	8.719	94.5	51.2	11.466	50.5	95.1		
M2(全部因子)+ M4(全部因子)	0.852	5.889~8.934	5.889	95.6	26.8	5.889	95.6	58.2	95.1	6.599~8.934	6.599	89.0	51.2	8.934	50.5	95.1		
M3(全部因子)+ M4(全部因子)	0.899	9.023~12.548	9.023	95.6	46.3	9.023	95.6	61.5	95.1	9.185~12.548	9.185	94.5	51.2	12.548	50.5	97.6		

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述之決策樹(決策樹1~決策樹6)之指標值，結果變得如下所示。

於上述標記分子選自上述群1及群2之情形時，

若  $M1_a \geq 0.476$  則  $I = 2$ 、若  $M1_a < 0.476$  且  $M2_a \geq 0.466$  則  $I = 1$ 、若  $M1_a < 0.476$  且  $M2_a < 0.466$  則  $I = 0$  (決策樹1)

於上述標記分子為選自上述群1及群3之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M1_a \geq 0.45$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M1_a < 0.45$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  則  $I = 0$  (決策樹2)

於上述標記分子為選自上述群1及群4之情形時，

若  $M4_a \geq 0.547$  則  $I = 2$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M1_a \geq 0.468$  則  $I = 1$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M1_a < 0.468$  則  $I = 0$  (決策樹3)

於上述標記分子為選自上述群2及群3之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M2_a \geq 0.412$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a \geq 0.409$  且  $M2_a < 0.412$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  則  $I = 0$  (決策樹4)

於上述標記分子為選自上述群2及群4之情形時，

若  $M4_a \geq 0.547$  則  $I = 2$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M2_a \geq 0.413$  則  $I = 1$ 、若  $M4_a < 0.547$  且  $M2_a < 0.413$  則  $I = 0$  (決策樹5)

於上述標記分子為選自上述群3及群4之情形時，

若  $M3_a \geq 0.409$  則  $I = 2$ 、若  $M3_a < 0.409$  且  $M4_a \geq 0.588$  則  $I = 1$ 、若  $M3_a < 0.409$  且  $M4_a < 0.588$  則  $I = 0$  (決策樹6)

(於決策樹1~6中，I表示指標值， $M1_a$ 、 $M2_a$ 、 $M3_a$ 及 $M4_a$ 分別表示上述群1、群2、群3、及群4之標準化得分)。

於任意之指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。而且，可知作為基準值，有效的是下述表11中所示之值。又，將根據該等結果而求

出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術為同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表 11]

NAFL~NASH判別法	基於決策樹之指標值			AUROC	基準值之例		
	第1節	第2節	指標值		基準值	感度	特異度
M1 <sub>a</sub> +M2 <sub>a</sub> (決策樹1)	M1 <sub>a</sub> ≥0.476	無	2	0.82	0	0.945	0.683
	M1 <sub>a</sub> <0.476	M2 <sub>a</sub> ≥0.466	1				
		M2 <sub>a</sub> <0.466	0				
M1 <sub>a</sub> +M3 <sub>a</sub> (決策樹2)	M3 <sub>a</sub> ≥0.409	M1 <sub>a</sub> ≥0.45	2	0.87	1	0.747	0.927
		M1 <sub>a</sub> <0.45	1				
	M3 <sub>a</sub> <0.409	無	0				
M1 <sub>a</sub> +M4 <sub>a</sub> (決策樹3)	M4 <sub>a</sub> ≥0.547	無	2	0.857	0	0.890	0.683
	M1 <sub>a</sub> <0.547	M2 <sub>a</sub> ≥0.468	1				
		M2 <sub>a</sub> <0.468	0				
M2 <sub>a</sub> +M3 <sub>a</sub> (決策樹4)	M3 <sub>a</sub> ≥0.409	M2 <sub>a</sub> ≥0.412	2	0.872	1	0.758	0.927
		M2 <sub>a</sub> <0.412	1				
	M3 <sub>a</sub> <0.409	無	0				
M2 <sub>a</sub> +M4 <sub>a</sub> (決策樹5)	M4 <sub>a</sub> ≥0.547	無	2	0.852	0	0.879	0.683
	M4 <sub>a</sub> <0.547	M2 <sub>a</sub> ≥0.413	1				
		M2 <sub>a</sub> <0.413	0				
M3 <sub>a</sub> +M4 <sub>a</sub> (決策樹6)	M3 <sub>a</sub> ≥0.409	無	2	0.815	0	0.945	0.683
	M3 <sub>a</sub> <0.409	M4 <sub>a</sub> ≥0.588	1				
		M2 <sub>a</sub> ≥0.588	0				

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述算術平均之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式3而算出之值。於式3中，I表示指標值，M<sub>a1</sub>及M<sub>a2</sub>分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)。

$$I = (M_{a1} + M_{a2}) / 2 \quad (\text{式3})$$

此處，式3中之M<sub>a1</sub>(第1標準化得分)、M<sub>a2</sub>(第2標準化得分)使用下述表12中所示之值。

[表 12]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表13中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表13]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.904	0.450	0.890	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.939	0.490	0.824	0.951
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.859	0.498	0.725	0.854
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.866	0.453	0.791	0.829
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.848	0.465	0.791	0.878
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.891	0.494	0.769	0.902

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述線性回歸方程式之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值使用根據下述式4而算出之值。於式4中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)， $b_1$ 及 $b_2$

表示藉由線性回歸分析所決定之常數。

$$I = b_1 \times M_{a1} + b_2 \times M_{a2} \quad (\text{式4})$$

此處，式4中之 $M_{a1}$ (第1標準化得分)、 $M_{a2}$ (第2標準化得分)、 $b_1$ 及 $b_2$ 使用下述表14中所示之值。

[表14]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$	$b_1$	$b_2$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分	1.885	1.729
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	2.113	2.405
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	1.69	0.97
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	1.473	1.952
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	1.519	1.081
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	2.242	1.311

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表15中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表15]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.904	1.629	0.901	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.941	2.148	0.857	0.902
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.860	1.196	0.846	0.732
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.869	1.474	0.868	0.780
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.850	1.177	0.802	0.854
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.899	1.692	0.802	0.854

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出

基於上述線性判別分析之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式5而算出之值。於式5中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)， $C_1$ 及 $C_2$ 係表示藉由線性判別分析所決定之常數。

$$I = c_1 \times M_{a1} + c_2 \times M_{a2} \quad (\text{式5})$$

此處，式5中之 $M_{a1}$ (第1標準化得分)、 $M_{a2}$ (第2標準化得分)、 $c_1$ 及 $c_2$ 使用下述表16中所示之值。

[表16]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$	$c_1$	$c_2$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分	7.755	5.78
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	8.543	9.254
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	6.947	3.574
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	4.997	8.024
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	5.081	4.771
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	8.564	5.16

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表17中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表 17]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.902	6.155	0.879	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.940	8.756	0.802	0.951
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.859	4.912	0.802	0.780
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.871	5.512	0.890	0.780
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.848	4.553	0.791	0.878
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.899	6.536	0.813	0.854

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述幾何平均之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式6而算出之值。於式6中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)。

[數 10]

$$I = \sqrt{M_{a1} \times M_{a2}} \quad (\text{式6})$$

此處，式6中之 $M_{a1}$ (第1標準化得分)、 $M_{a2}$ (第2標準化得分)係使用下述表18中所示之值。

[表 18]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之

患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表19中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表19]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.903	0.405	0.879	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.939	0.473	0.846	0.902
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.858	0.447	0.824	0.756
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.868	0.433	0.857	0.780
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.848	0.458	0.791	0.854
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.888	0.481	0.802	0.878

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述線性式之乘算之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式7而算出之值。於式7中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)， $d_1$ 、 $d_2$ 及 $d_3$ 表示藉由非線性回歸分析所決定之常數。

$$I = d_1 \times M_{a1} + d_2 \times M_{a2} + d_3 \times M_{a1} \times M_{a2} \quad (\text{式7})$$

此處，式7中之 $M_{a1}$ (第1標準化得分)、 $M_{a2}$ (第2標準化得分)、 $d_1$ 、 $d_2$ 及 $d_3$ 使用下述表20中所示之值。

[表 20]

	M <sub>a1</sub>	M <sub>a2</sub>	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	d <sub>3</sub>
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分	4.606	4.711	-5.738
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	0.863	1.17	2.682
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	1	0.366	1.305
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	3.56	3.964	-4.246
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	3.09	2.239	-2.683
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	1.584	0.658	1.416

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表21中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表 21]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.902	3.031	0.901	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.940	1.563	0.846	0.902
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.860	0.871	0.846	0.732
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.866	2.461	0.868	0.756
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.851	1.850	0.802	0.854
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.900	1.331	0.835	0.829

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述類神經網路之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式8及式9而算出之值。於式8中， $A_1$ 、 $B_1$ 、 $X_1$ 及 $X_2$ 分別表示藉由類神經網路而決定之常數。於式9中， $I$ 表示指標值， $A_2$ 、 $B_2$ 及 $X_2$ 表示藉由類神經網路而決定之常數。

$$X_2 = f(A_1 \cdot X_1 + B_1) \quad (\text{式8})$$

$$I = f(A_2 \cdot X_2 + B_2) \quad (\text{式9})$$

此處，

[數11]

$$f(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}},$$

「 $\cdot$ 」表示矩陣之內積， $X_1$ 係 $2 \times 1$ 之矩陣， $A_1$ 係 $2 \times 2$ 之矩陣， $B_1$ 係 $2 \times 1$ 之矩陣， $X_2$ 係 $2 \times 1$ 之矩陣， $A_2$ 係 $1 \times 2$ 之矩陣， $B_2$ 係實數。

$A_1$ 、 $B_1$ 、 $X_1$ 、 $A_2$ 及 $B_2$ 使用下述表22中所示之值。

[表22]

	$X_1$	$A_1$	$B_1$	$B_2$
M1 + M2	[[ $M_{a1}$ ], [ $M_{a2}$ ]]	[[46.992, 38.658], [-12.907, -12.553]]	[[[-39.335], [3.592]]]	[-26.046]
M1 + M3	[[ $M_{a1}$ ], [ $M_{a2}$ ]]	[[[-2.459, -3.359], [-7.585, -8.645]]]	[[[-2.971], [8.653]]]	[9.002]
M1 + M4	[[ $M_{a1}$ ], [ $M_{a2}$ ]]	[[4.894, 12.162], [14.443, 0.505]]	[[[-11.443], [-3.39]]]	[-11.274]
M2 + M3	[[ $M_{a1}$ ], [ $M_{a2}$ ]]	[[[-4.143, -6.075], [3.085, 3.442]]]	[[[3.564], [1.64]]]	[0.677]
M2 + M4	[[ $M_{a1}$ ], [ $M_{a2}$ ]]	[[[-14.87, 2.227], [4.188, -21.96]]]	[[[3.196], [11.856]]]	[13.664]
M3 + M4	[[ $M_{a1}$ ], [ $M_{a2}$ ]]	[[[8.414, 11.694], [-4.648, -2.674]]]	[[[0.772], [3.909]]]	[4.232]

上述表22中之 $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)。 $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 使用下述表23中所示之值。

[表23]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表24中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表24]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.871	0.573	0.901	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.941	0.454	0.857	0.902
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.867	0.475	0.736	0.854
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.872	0.357	0.890	0.780
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.867	0.399	0.813	0.829
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.899	0.441	0.835	0.829

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出基於上述支持向量機之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式10而算出之值。於式10中，I表示指標值，N、 $\alpha$ 、 $\chi$ 及v表示藉由支持向量機而決定之常數。

[數12]

$$I = \sum_{i=1}^N \alpha_i \times K(x, v_i)$$

此處，

[數13]

$$K(x, v) = (x^T \cdot v)^2 ,$$

「 $\cdot$ 」係表示矩陣之內積， $\chi$ 係 $2 \times 1$ 之矩陣， $\chi^T$ 係 $\chi$ 之轉置矩陣， $\alpha$ 係 $1 \times N$ 之矩陣， $\alpha_i$ 係 $\alpha$ 之第 $i$ 行之實數， $v$ 係 $2 \times N$ 之矩陣， $v_i$ 係 $v$ 之第 $i$ 行之 $2 \times 1$ 之矩陣， $N$ 、 $\alpha$ 、 $\chi$ 及 $v$ 係使用下述表25中所示之值。







上述表25中之 $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)。 $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 係使用下述表26中所示之值。

[表26]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$
M1+M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分
M1+M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M1+M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M2+M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分
M2+M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分
M3+M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表27中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表27]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.904	2.773	0.901	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.940	3.153	0.835	0.951
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.857	3.857	0.747	0.829
M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.866	2.570	0.791	0.829
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.847	3.228	0.791	0.854
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.884	3.389	0.824	0.854

又，於使用2個與上述模組對應之標準化得分之情形時，亦求出

基於上述非線性羅吉斯回歸方程式之指標值，結果變得如下所示。

較佳之指標值係使用根據下述式11而算出之值。於式11中，I表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分(「第1標準化得分」及「第2標準化得分」)， $e_1$ 、 $e_2$ 及 $e_3$ 係藉由非線性回歸分析所決定之常數。

$$I = e_1 \times M_{a1} + e_2 \times M_{a2} + e_3 \times M_{a1} \times M_{a2} \quad (\text{式11})$$

此處，式11中之 $M_{a1}$ (第1標準化得分)、 $M_{a2}$ (第2標準化得分)、 $e_1$ 、 $e_2$ 及 $e_3$ 係使用下述表28中所示之值。

[表28]

	$M_{a1}$	$M_{a2}$	$e_1$	$e_2$	$e_3$
M1 + M2	與M1對應之標準化得分	與M2對應之標準化得分	10.998	11.845	7.327
M1 + M3	與M1對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	-8.17	-6.533	59.8
M1 + M4	與M1對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	-1.668	-4.391	23.207
M2 + M3	與M2對應之標準化得分	與M3對應之標準化得分	-10.043	-8.342	46.243
M2 + M4	與M2對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	1.54	-2.617	19.485
M3 + M4	與M3對應之標準化得分	與M4對應之標準化得分	1.965	-5.435	30.026

於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表29中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表29]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(全部因子)+M2(全部因子)	0.904	11.762	0.890	0.780
M1(全部因子)+M3(全部因子)	0.939	6.371	0.835	0.902
M1(全部因子)+M4(全部因子)	0.859	2.721	0.714	0.854

M2(全部因子)+M3(全部因子)	0.872	0.581	0.857	0.780
M2(全部因子)+M4(全部因子)	0.850	3.563	0.758	0.878
M3(全部因子)+M4(全部因子)	0.902	4.698	0.835	0.829

## 試驗例2：判別NAFL與NASH之方法(2)

### 測定法1

對於求出標準化得分時所使用之生物分子，使用下述表30中所示之1~3種生物分子，除此以外，藉由與上述試驗例1同樣之方法求出標準化得分。

[表30]

	生物分子
M1 (PROS1, CLU)	PROS1, CLU
M2 (VCAM1)	VCAM1
M2 (VCAM1, HA)	VCAM1, HA
M2 (VCAM1, CTSD)	VCAM1, CTSD
M2 (VCAM1, COL4)	VCAM1, COL4
M2 (VCAM1, COL4-7S)	VCAM1, COL4-7S
M2 (HA, COL4-7S)	HA, COL4-7S
M2 (HA, COL4)	HA, COL4
M2 (HA, CTSD)	HA, CTSD
M2 (CTSD, COL4)	CTSD, COL4
M2 (CTSD, COL4-7S)	CTSD, COL4-7S
M3 (AST, PSAT)	AST, PSAT
M3 (AST, LEP)	AST, LEP
M3 (AST, ICAM1)	AST, ICAM1
M3 (AST, PSAT, LEP)	AST, PSAT, LEP
M3 (AST, PSAT, ICAM1)	AST, PSAT, ICAM1
M3 (AST, LEP, CK-18)	AST, LEP, CK-18
M3 (AST, ICAM1, GSTA1)	AST, ICAM1, GSTA1
M3 (AST, PSAT, 6Ckine)	AST, PSAT, 6Ckine

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表30中所示之M1與M3之所有組合，基於上述式2求出指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表31中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之

NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表31]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.900	18.17	0.747	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.889	18.635	0.758	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.904	18.434	0.769	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.904	18.528	0.769	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.906	17.905	0.791	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.906	18.319	0.802	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.902	17.643	0.813	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.915	15.867	0.934	0.756

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述決策樹2之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表32中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表32]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.787	0	0.714	0.756
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,LEP)	0.812	1	0.527	0.976
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.799	0	0.736	0.756
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.789	1	0.516	0.951
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.757	0	0.692	0.732
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.816	0	0.791	0.732
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.757	1	0.473	0.951
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.819	0	0.802	0.756

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式3之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表33中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表33]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.901	0.479	0.736	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,LEP)	0.889	0.49	0.758	0.902
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.903	0.482	0.769	0.951
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.905	0.486	0.780	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.906	0.478	0.769	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.906	0.48	0.791	0.902
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.901	0.469	0.802	0.878
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.914	0.416	0.934	0.756

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式4之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表34中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表34]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.899	2.131	0.747	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.890	2.189	0.758	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.905	2.158	0.791	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.902	2.191	0.758	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.904	2.119	0.791	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.906	2.184	0.780	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.901	2.076	0.813	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.917	1.934	0.901	0.805

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式5之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表35中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術

之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表35]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.900	8.236	0.769	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.889	8.618	0.769	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.905	8.605	0.758	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.904	8.609	0.769	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.907	8.342	0.802	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.906	8.546	0.802	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.903	8.209	0.813	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.916	7.814	0.857	0.829

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式6之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表36中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表36]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.910	0.436	0.791	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.895	0.457	0.758	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.907	0.428	0.868	0.805
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.907	0.486	0.681	0.976
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.912	0.437	0.835	0.829
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.904	0.467	0.747	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.906	0.479	0.692	0.976
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.913	0.443	0.813	0.878

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式7之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表37中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表37]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.911	1.52	0.747	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.895	1.567	0.758	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.907	1.487	0.802	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.908	1.604	0.736	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.914	1.459	0.813	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.910	1.676	0.714	0.976
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.909	1.467	0.813	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.921	1.308	0.923	0.829

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式8及式9之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表38中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表38]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.899	0.416	0.747	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.890	0.552	0.758	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.906	0.476	0.791	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.902	0.556	0.758	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.904	0.391	0.791	0.902
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.907	0.528	0.791	0.927
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.901	0.307	0.813	0.878
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.917	0.139	0.901	0.805

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式10之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表39中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等

或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表39]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.901	3.082	0.736	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,LEP)	0.890	3.295	0.736	0.902
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.903	3.125	0.769	0.951
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.903	3.347	0.725	0.951
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.904	2.994	0.780	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.906	3.216	0.769	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.898	3.132	0.747	0.927
M1(PROSI,CLU)+M3(AST,PSAT,6Ckine)	0.911	2.306	0.934	0.756

將上述模組1(M1)之標準化得分及模組3(M3)之標準化得分分別作為「第1標準化得分」及「第2標準化得分」，關於上述表12中所示之M1與M3之所有組合，亦求出基於上述式11之指標值，結果於任意之標準化得分、指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表40中所示之值之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表40]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準值	感度	特異度
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT)	0.915	5.778	0.714	0.976
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP)	0.895	6.219	0.714	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1)	0.906	6.682	0.670	1.000
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,LEP)	0.908	6.343	0.714	0.951
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,ICAM1)	0.911	3.789	0.912	0.756
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,LEP,CK18)	0.908	6.528	0.736	0.976
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,ICAM1,GSTA1)	0.906	6.675	0.681	0.976
M1(PRO1,CLU)+M3(AST,PSAT,8Ckine)	0.915	4.424	0.846	0.902

## 測定法2

藉由以下所示之方法測定HA、VCAM1及COL4-7S各自之量，求出標準化得分。HA之量係藉由使用體外診斷藥「LPIA-ACE HA」(LSI Medience公司製造)之乳膠凝集法而測定。VCAM1之量係藉由使用「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」(R&D Systems公司製造)之ELISA法而測定。進而，COL4-7S之量係藉由使用體外診斷藥「IV型膠原蛋白·7S套組」(LSI Medience公司製造)之放射免疫測定法而測定。根據所測定之各生物分子之量，基於上述式1求出各自之標準化得分。此處，式1中之 $\text{mean}(m_i)$ 、 $\text{sd}(m_i)$ 、 $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 、及 $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 使用以下所示之表41之值。再者，表41中所記載之值係於使用與使用上述診斷藥或試劑之方法具有同等性能之測定法之情形時亦使用之值。於HA中，測定自NAFL罹患者44人及NASH罹患者95人獲得之血清試樣。於VCAM1中，測定自NAFL罹患者68人及NASH罹患者127人獲得之血清試樣。於COL4-7S中，測定自NAFL罹患者62人及NASH罹患者130人獲得之血清試樣。關於各個分子，將NAFL罹患者之平均值及NASH罹患者之平均值之簡單平均值設為 $\text{mean}(m_i)$ ，將NAFL罹患者之標準偏差及NASH罹患者之標準偏差之簡

單平均值設為 $sd(m_i)$ 。又，藉由於HA之測定中使用體外診斷藥「化學發光玻尿酸」(西門子醫療診斷公司製造)之CLIA法而進行測定之情形時之 $mean(m_i)$ 、 $sd(m_i)$ 係使用將乳膠凝集法中所使用之 $mean(m_i)$ 、 $sd(m_i)$ 之值帶入至隨附文書中所記載之關係式( $y = 1.36x - 10.3$ )而獲得之值進行設定。此處， $y$ 表示使用「化學發光玻尿酸」之情形時之 $mean(m_i)$ 或 $sd(m_i)$ 之值， $x$ 表示使用「LPIA-ACE HA」之情形時之 $mean(m_i)$ 或 $sd(m_i)$ 之值。

[表41]

M2之生物分子	$mean(m_i)$	$sd(m_i)$	$mean(m_i^{NASH})$	$mean(m_i^{NAFL})$
VCAM1	843.8	331.9	710.9	976.6
COL4-7S	4.75	1.6	3.97	5.54
HA(乳膠凝集法)	56.37	62.52	29.91	82.82
HA(化學發光玻尿酸)	66.36	74.73	30.38	102.34

將所求得之標準化得分分類為NAFL之患者群、NASH之患者群而繪製之圖表表示於圖2-1、圖2-2及圖3中。圖中，實線表示表42及43中之「基準值之範圍A」之兩端，虛線表示表42及43中之「基準值之範圍B」之兩端。於任意之標準化得分中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表42及43中所示之範圍之方法有效。又，將根據該等結果所求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表 42]

NAFL~NASH判別法 (測定法1)	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、B 之任意者)	基準値之範圍 A：感度為 95%~特異度 為95%		基準値：感度為95%		基準値：特異度為95%		基準値之範圍 B：特異度為 50%以上且感度 為50%以上		基準値：特異度為50%		基準値：感度為50%			
			基準值	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	
M1(PROSI, CLU)	0.789	0.256~0.634	0.256	95.6	95.6	29.3	0.634	36.3	95.1	0.378~0.549	0.378	84.6	51.2	0.549	50.5	85.4
M2(HA, COL4-7S)	0.734	0.326~0.509	0.326	96.2	96.2	39.4	0.476	60.3	97.0	0.348~0.509	0.348	91.0	51.5	0.509	50.0	97.0
M2(VCAM1)	0.791	0.28~0.644	0.280	95.6	95.6	24.4	0.644	11.0	95.1	0.339~0.433	0.339	81.3	51.2	0.433	50.5	82.9
M2(VCAM1, CTSD)	0.731	0.277~0.604	0.277	95.6	95.6	12.2	0.604	31.9	95.1	0.377~0.481	0.377	78.0	51.2	0.481	50.5	82.9
M2(VCAM1, COL4)	0.757	0.319~0.617	0.319	95.6	95.6	22.0	0.617	23.1	95.1	0.375~0.481	0.375	79.1	51.2	0.480	50.5	82.9
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.821	0.303~0.543	0.303	96.2	96.2	27.3	0.543	50.0	97.0	0.339~0.543	0.339	89.7	51.5	0.543	50.0	97.0
M2(VCAM1, HA)	0.740	0.326~0.617	0.326	95.6	95.6	26.8	0.617	28.6	95.1	0.367~0.471	0.367	81.3	51.2	0.471	50.5	92.7
M2(HA, COL4)	0.796	0.343~0.487	0.343	95.6	95.6	17.1	0.487	47.3	95.1	0.367~0.485	0.367	86.8	51.2	0.485	50.5	92.7
M2(HA, CTSD)	0.874	0.305~0.545	0.305	95.6	95.6	9.8	0.545	38.5	95.1	0.363~0.492	0.363	79.1	51.2	0.492	50.5	87.8
M2(CTSD, COL4)	0.708	0.307~0.536	0.307	95.6	95.6	4.9	0.536	40.7	95.1	0.392~0.487	0.392	72.5	51.2	0.487	50.5	87.8
M2(CTSD, COL4-7S)	0.809	0.271~0.575	0.271	96.2	96.2	9.1	0.575	42.3	97.0	0.361~0.523	0.361	89.7	51.5	0.523	50.0	93.9

NAFL~NASH判別法 (測定法2)	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、B 之任意者)	基準値之範圍 A：感度為95% ~特異度為 95%		基準値：感度為95%		基準値：特異度為95%		基準値之範圍 B：特異度為 50%以上且感度 為50%以上		基準値：特異度為50%		基準値：感度為50%			
			基準值	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	
M2(VCAM1, HA)	0.813	0.326~0.684	0.326	97.2	97.2	43.8	0.684	30.6	100.0	0.36~0.482	0.360	86.1	50.0	0.482	50.0	87.5
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.844	0.293~0.548	0.293	95.5	95.5	32.3	0.539	52.2	96.8	0.333~0.548	0.333	91.0	51.6	0.548	50.7	96.8
M2(HA, COL4-7S)	0.884	0.308~0.662	0.331	97.2	97.2	62.5	0.662	25.0	100.0	0.308~0.526	0.308	100.0	50.0	0.526	50.0	93.8
VCAM1測定値(ng/ml)	0.737	551.1~1280.1	551.1	96.0	96.0	25.6	1280.1	22.7	97.4	693.5~925.3	693.5	82.7	51.3	925.3	50.7	82.1

[表 43]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、 B之任意者)	基準値之範圍 A：感度為95% ~特異度為 95%			基準値：感度為95%			基準値：特異度為95%			基準値之範圍 B：特異度為 50%以上且感 度為50%以上	基準値：特異度為50%			基準値：感度為50%		
			基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)		基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)
M3(AST, PSAT)	0.791	0.284~0.544	0.284	95.6	19.5	0.544	33.0	95.1	0.332~0.465	0.332	87.9	51.2	0.465	50.5	87.8			
M3(AST, LEP)	0.778	0.309~0.629	0.309	95.6	17.1	0.629	23.1	95.1	0.352~0.498	0.352	89.0	51.2	0.498	50.5	85.4			
M3(AST, ICAMI)	0.788	0.302~0.546	0.302	95.6	24.4	0.546	47.3	95.1	0.352~0.533	0.352	83.5	51.2	0.533	50.5	90.2			
M3(AST, PSAT, LEP)	0.778	0.303~0.619	0.303	95.6	19.5	0.619	26.4	95.1	0.349~0.476	0.349	91.2	51.2	0.476	50.5	85.4			
M3(AST, PSAT, ICAMI)	0.793	0.301~0.551	0.301	95.6	22.0	0.551	42.9	95.1	0.34~0.522	0.340	89.0	51.2	0.522	50.5	90.2			
M3(AST, LEP, CK18)	0.802	0.297~0.625	0.297	95.6	29.3	0.625	27.5	95.1	0.341~0.521	0.341	87.9	51.2	0.521	50.5	87.8			
M3(AST, ICAMI, GSTA1)	0.790	0.302~0.573	0.302	95.6	14.6	0.573	39.6	95.1	0.343~0.521	0.343	87.9	51.2	0.521	50.5	90.2			
M3(AST, PSAT, 6Ckine)	0.836	0.291~0.535	0.291	95.6	12.2	0.535	44.0	95.1	0.348~0.508	0.348	92.3	51.2	0.508	50.5	92.7			

### 試驗例3：判別NAFL與NASH之方法(3)

使用與試驗例2之M1(PRO1、CLU)對應之標準化得分而作為第1標準化得分，使用與試驗例2之M3(AST、PSAT)、M3(AST、LEP)、M3(AST、ICAM1)、M3(AST、PSAT、LEP)、M3(AST、PSAT、ICAM1)、M3(AST、LEP、CK-18)、M3(AST、ICAM1、GSTA1)或M3(AST、PSAT、6Ckine)對應之標準化得分而作為第2標準化得分，除此以外藉由與試驗例1之「M1 + M3」同樣之計算方法求出指標值。

將所求得之指標值分類為NAFL之患者群、NASH之患者群而繪製之圖表表示於圖4中。於圖4中，實線表示表43中之「基準值之範圍A」之兩端，虛線表示表44中之「基準值之範圍B」之兩端。於任意之指標值中，於NAFL之患者群與NASH之患者群之間均發現有意義差，可知對於NAFL與NASH之判別有效。又，可知將用以判別是否為NASH之基準值(臨界值)設定為下述表中所示之範圍之方法有效。又，將根據該等結果而求出之AUROC與作為先前技術之NAFIC得分之AUROC(0.834)比較，結果提示其係比先前技術更優異之診斷精度。再者，NAFIC得分之AUROC係使用本實施例之檢體群而算出之值。

[表 44]

NAFL~NASH判別法	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、B 之任意者)	基準値之範圍 A：感度為95% ~特異度為95%	基準値：感度為95%			基準値：特異度為95%			基準値之範圍 B：特異度為 50%以上且感度 為50%以上	基準値：特異度為50%			基準値：感度為50%		
				基準値	感度 (%)	特異度 (%)	基準値	感度 (%)	特異度 (%)		基準値	感度 (%)	特異度 (%)	基準値	感度 (%)	特異度 (%)
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , PSAT)	0.900	13.493~21.02	14.641~19.125	14.641	95.6	58.5	19.125	69.2	95.1	13.493~21.02	13.493	96.7	51.2	21.020	50.5	97.6
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , LEP)	0.889	14.228~20.755	14.814~20.289	14.814	95.6	56.1	20.289	56.0	95.1	14.228~20.755	14.228	96.7	51.2	20.755	50.5	97.6
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , ICAMI)	0.904	13.663~20.831	14.314~18.434	14.314	95.6	58.5	18.434	76.9	95.1	13.663~20.831	13.663	96.7	51.2	20.831	50.5	97.6
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , PSAT , LEP)	0.904	14.229~20.843	15.095~19.186	15.095	95.6	56.1	19.186	71.4	95.1	14.229~20.843	14.229	98.9	51.2	20.843	50.5	97.6
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , PSAT , ICAMI)	0.906	13.929~21.053	14.945~18.959	14.945	95.6	61.0	18.959	70.3	95.1	13.929~21.053	13.929	96.7	51.2	21.053	50.5	97.6
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , LEP , CK18)	0.906	13.544~21.168	14.694~19.163	14.694	95.6	58.5	19.163	73.6	95.1	13.544~21.168	13.544	97.8	51.2	21.168	50.5	100.0
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , ICAMI , GSTA1)	0.902	13.788~20.882	14.903~19.109	14.903	95.6	61.0	19.109	71.4	95.1	13.788~20.882	13.788	96.7	51.2	20.882	50.5	97.6
M1(PROSI , CLU) + M3(AST , PSAT , 6Ckine)	0.915	13.844~21.205	15.113~18.982	15.113	95.6	65.9	18.982	68.1	95.1	13.844~21.205	13.844	95.6	51.2	21.205	50.5	97.6

#### 試驗例4：判別Matteoni分類中之1型～3型之疾病狀態與4型之疾病狀態之方法

求出標準化得分時所使用之生物分子係使用下述表45中所示之生物分子，除此以外藉由與上述試驗例2之測定法1或測定法2同樣之方法而求出標準化得分。

[表45]

	生物分子
M2(M2全部因子)	ALB、COL4-7S、AFP、AXL、CCL19、CGB、COL4、CSF1、CTSD、FAS、HA、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VCAM1、VWF、YKL-40
M2 (VCAM1)	VCAM1
M2 (VCAM1、HA)	VCAM1、HA
M2 (VCAM1、CTSD)	VCAM1、CTSD
M2 (VCAM1、COL4)	VCAM1、COL4
M2 (VCAM1、COL4-7S)	VCAM1、COL4-7S
M2 (HA、COL4-7S)	HA、COL4-7S
M2 (HA、COL4)	HA、COL4
M2 (HA、CTSD)	HA、CTSD
M2 (CTSD、COL4)	CTSD、COL4
M2 (CTSD、COL4-7S)	CTSD、COL4-7S

將所求得之標準化得分分類為相當於Matteoni分類中之1型～3型之疾病狀態的患者群(1-3型)與相當於4型之疾病狀態的患者群而繪製之圖表表示於圖5-1及圖5-2中。於圖中，實線表示表46中之「基準值之範圍A」之兩端，虛線表示表46中之「基準值之範圍B」之兩端。於任意之標準化得分中，於1-3型之患者群與4型之患者群之間均發現有意義差，可知於1型～3型之疾病狀態與4型之疾病狀態之判別中有效。又，可知將用以判別是否相當於4型之疾病狀態的基準值(臨界值)設定為下述表46中所示之範圍之方法有效。又，將根據該等結果而求出之AUROC與作為先前技術之FIB4 index之AUROC(0.790)比較，結果提示其係與先前技術同等或其以上之診斷精度。

[表 46]

Matteoni分類 1-3型 vs 4型 判別法(測定法1)	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、B 之任意者)	基準値之範圍 A: 感度為 95%~特異度 為95%			基準値: 感度為95%			基準値: 特異度為95%			基準値之範圍 B: 特異度為 50%以上且感度 為50%以上			基準値: 特異度為50%			基準値: 感度為50%		
			基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)
M2(全部因子)	0.867	0.401~0.536	0.410	95.5	58.5	0.532	50.7	95.4	0.401	97.0	50.8	0.536	50.7	96.9	0.401	97.0	50.8	0.536	50.7	96.9
M2(VCAM1)	0.793	0.303~0.538	0.303	95.5	32.3	0.538	34.3	95.4	0.351	88.1	50.8	0.470	50.7	89.2	0.351	88.1	50.8	0.470	50.7	89.2
M2(VCAM1, HA)	0.838	0.328~0.617	0.328	95.5	20.0	0.617	37.3	95.4	0.373	88.1	50.8	0.514	50.7	93.8	0.373	88.1	50.8	0.514	50.7	93.8
M2(VCAM1, CTSD)	0.785	0.313~0.581	0.313	95.5	16.9	0.581	46.3	95.4	0.387	83.6	50.8	0.542	50.7	93.8	0.387	83.6	50.8	0.542	50.7	93.8
M2(VCAM1, COL4)	0.820	0.343~0.558	0.343	95.5	32.3	0.558	43.3	95.4	0.380	88.1	50.8	0.528	50.7	92.3	0.380	88.1	50.8	0.528	50.7	92.3
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.893	0.358~0.602	0.367	96.6	56.6	0.554	63.8	96.2	0.358	96.6	50.9	0.602	50.0	96.2	0.358	96.6	50.9	0.602	50.0	96.2
M2(HA, COL4-7S)	0.785	0.354~0.562	0.354	96.6	47.2	0.501	70.7	96.2	0.358	94.8	50.9	0.562	50.0	96.2	0.358	94.8	50.9	0.562	50.0	96.2
M2(HA, COL4)	0.840	0.36~0.522	0.360	95.5	40.0	0.522	46.3	95.4	0.372	91.0	50.8	0.505	50.7	93.8	0.372	91.0	50.8	0.505	50.7	93.8
M2(HA, CTSD)	0.915	0.311~0.545	0.311	95.5	15.4	0.545	50.7	95.4	0.373	82.1	50.8	0.545	50.7	95.4	0.373	82.1	50.8	0.545	50.7	95.4
M2(CTSD, COL4)	0.779	0.317~0.544	0.317	95.5	10.8	0.538	52.2	95.4	0.392	80.6	50.8	0.544	50.7	95.4	0.392	80.6	50.8	0.544	50.7	95.4
M2(CTSD, COL4-7S)	0.862	0.364~0.604	0.364	96.6	45.3	0.535	65.5	96.2	0.379	89.7	50.9	0.604	50.0	98.1	0.379	89.7	50.9	0.604	50.0	98.1

Matteoni分類 1-3型 vs 4型 判別法(測定法2)	AUROC	基準値之範圍 (至少滿足A、 B之任意者)	基準値: 感度為95%			基準値: 特異度為95%			基準値之範圍 A: 感度為 95%~特異度 為95%			基準値: 特異度為50%			基準値: 感度為50%					
			基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)			
M2(VCAM1, HA)	0.870	0.357~0.572	0.357	96.7	45.5	0.526	53.3	95.5	0.360	93.3	50.0	0.572	50.0	95.5	0.360	93.3	50.0	0.572	50.0	95.5
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.904	0.356~0.603	0.377	96.1	59.6	0.539	66.7	95.7	0.356	96.1	51.1	0.603	51.0	95.7	0.356	96.1	51.1	0.603	51.0	95.7
M2(HA, COL4-7S)	0.936	0.331~0.563	0.350	96.7	68.2	0.420	86.7	95.5	0.331	100.0	50.0	0.563	50.0	95.5	0.331	100.0	50.0	0.563	50.0	95.5
VCAM1測定値(ng/ml)	0.796	618.1~1239.5	618.1	96.4	37.9	1239.5	33.9	96.6	701.1	91.1	50.0	1029.3	50.0	89.7	701.1	91.1	50.0	1029.3	50.0	89.7

試驗例5：判別纖維化之階段中之階段0～階段2之疾病狀態與階段3或階段4之疾病狀態的方法

藉由與試驗例4同樣之生物分子及方法而求出標準化得分。將所求得之標準化得分分類為相當於纖維化之階段中之階段0～階段2之疾病狀態的患者群(F0-2)與相當於階段3或階段4之疾病狀態的患者群(F3-4)而繪製之圖表表示於圖6-1及圖6-2中。圖中，實線表示表47中之「基準值之範圍A」之兩端，虛線表示表47中之「基準值之範圍B」之兩端。此處，所謂階段0之疾病狀態係表示Matteoni分類中之1型或2型之疾病狀態。於任意之標準化得分中，於F0-2之患者群與F3-4之患者群之間均發現有意義差，可知於階段0～階段2之疾病狀態與階段3或階段4之疾病狀態之判別中有效。又，可知將用以判別是否相當於F3-4之疾病狀態的基準值(臨界值)設定為下述表47中所示之範圍之方法有效。又，將根據該等結果而求出之AUROC與作為先前技術之FIB4 index之AUROC(0.858)比較，結果提示其係比先前技術更優異之診斷精度。

[表 47]

纖維化階段 FO-2 vs. F3-4判別法(測 定法1)	AUROC	基準值之範圍 (至少滿足A、 B之任意者)	基準值之範圍 A：感度為 95%~特異度 為95%		基準值：感度為95%				基準值之範圍 B：特異度為 50%以上且感 度為50%以上				基準值：特異度為50%				
			基準值	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)		
M2(全部因子)	0.911	0.421~0.632	0.461~0.629	67.3	96.4	0.461	67.3	0.629	50.0	95.2	0.421~0.632	0.421	96.4	50.0	0.632	50.0	96.2
M2(VCAM1)	0.873	0.371~0.587	0.371~0.571	46.2	96.4	0.371	46.2	0.571	53.6	95.2	0.383~0.587	0.383	92.9	50.0	0.587	50.0	96.2
M2(VCAM1, HA)	0.911	0.389~0.766	0.392~0.661	51.0	96.4	0.392	51.0	0.661	60.7	95.2	0.389~0.766	0.389	100.0	50.0	0.766	50.0	100.0
M2(VCAM1, CTSD)	0.900	0.406~0.718	0.457~0.667	67.3	96.4	0.457	67.3	0.667	57.1	95.2	0.406~0.718	0.406	96.4	50.0	0.718	50.0	97.1
M2(VCAM1, COL4)	0.905	0.407~0.678	0.407~0.635	50.0	96.4	0.407	50.0	0.635	53.6	95.2	0.407~0.678	0.407	96.4	50.0	0.678	50.0	99.0
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.913	0.413~0.685	0.47~0.632	68.6	96.0	0.470	68.6	0.632	68.0	95.3	0.413~0.685	0.413	96.0	50.0	0.685	52.0	97.7
M2(HA, COL4-7S)	0.899	0.398~0.7	0.417~0.655	55.8	96.0	0.417	55.8	0.655	60.0	95.3	0.398~0.7	0.398	100.0	50.0	0.700	52.0	97.7
M2(HA, COL4)	0.901	0.392~0.683	0.42~0.563	64.4	96.4	0.420	64.4	0.563	75.0	95.2	0.392~0.683	0.392	96.4	50.0	0.683	50.0	98.1
M2(HA, CTSD)	0.906	0.373~0.69	0.373~0.633	42.3	96.4	0.373	42.3	0.633	64.3	95.2	0.401~0.69	0.401	92.9	50.0	0.690	50.0	96.2
M2(CTSD, COL4)	0.882	0.353~0.635	0.353~0.633	24.0	96.4	0.353	24.0	0.633	50.0	95.2	0.405~0.635	0.405	92.9	50.0	0.635	50.0	96.2
M2(CTSD, COL4-7S)	0.889	0.403~0.676	0.475~0.671	67.4	96.0	0.475	67.4	0.671	56.0	95.3	0.403~0.676	0.403	96.0	50.0	0.676	52.0	95.3

纖維化階段 FO-2 vs. F3-4判別法(測 定法2)	AUROC	基準值之範圍 (至少滿足A、 B之任意者)	基準值之範圍 A：感度為 95%~特異度 為95%		基準值：感度為95%				基準值之範圍 B：特異度為 50%以上且感 度為50%以上				基準值：特異度為50%				
			基準值	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	基準值	感度 (%)	特異度 (%)	感度 (%)	特異度 (%)		
M2(VCAM1, HA)	0.957	0.381~0.759	0.381~0.595	48.6	1000	0.381	48.6	0.595	86.7	97.3	0.388~0.759	0.388	93.3	51.4	0.759	53.3	100.0
M2(VCAM1, COL4-7S)	0.925	0.394~0.71	0.426~0.637	62.2	95.8	0.426	62.2	0.637	70.8	95.9	0.394~0.71	0.394	100.0	50.0	0.710	50.0	98.6
M2(HA, COL4-7S)	0.955	0.373~0.698	0.521~0.662	83.8	100.0	0.521	83.8	0.662	53.3	97.3	0.373~0.698	0.373	100.0	51.4	0.698	53.3	100.0
VCAM1測定值(ng/ml)	0.910	789.8~1344.2	840~1253.9	61.8	96.0	840.0	61.8	1253.9	64.0	95.5	789.8~1344.2	789.8	96.0	50.6	1344.2	52.0	97.8

### 試驗例6：判定肝纖維化之進展度的方法

調查是否可基於作為群2之生物分子的「VCAM1」、「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4」、「VCAM1、COL4-7S」及「HA、COL4-7S」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值(血藥濃度)而判定肝纖維化之進展度。作為肝臟之病理之指標，使用基於肝活組織檢查之肝纖維化之病理診斷得分、纖維化階段(0~4分)(Kleiner et. al., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology* 41: 1313-21 (2005))。標準化得分係使用與試驗例1同樣之方法而求出。VCAM1之測定值係藉由依據ELISA法之試劑「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」而定量。又，根據受驗者之年齡、AST、ALT及血小板數求出已知為評價肝纖維化之指標的FIB4 index(*Hepatology*. 2006 Jun;43(6): 1317-25.)。關於自記錄病理診斷得分之人採取之血清132檢體，調查纖維化階段與上述標準化得分、VCAM1之測定值、及FIB4 index之關聯。關於VCAM1之測定值，亦與另行測定之健康者之值一同研究。將結果表示於圖7中。於圖7中，橫軸表示纖維化階段，縱軸表示標準化得分、VCAM1之測定值或FIB4 index，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分及VCAM1之測定值隨著纖維化階段之得分變大而變大。而且，發現如下傾向：VCAM1在健康者中顯示出比NAFLD患者更小之值。

調查進行纖維化階段為0分之檢體與1分以上之檢體之判別時的AUROC(階段0 vs 階段1-4)、進行纖維化階段為1分以下之檢體與2分以上之檢體之判別時的AUROC(階段0-1 vs 階段2-4)、及進行纖維化階段為2分以下之檢體與3點以上之檢體之判別時的AUROC(階段0-2 vs 階段3-4)，比較各個指標值之精度。將結果表示於表48中。關於「VCAM1」、「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4」、「VCAM1、

COL4-7S」、及「HA、COL4-7S」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值，上述所有判別中之AUROC均超過於相同條件下之FIB4 index之AUROC。根據以上現象，提示上述標準化得分及VCAM1之測定值於肝纖維化之進展度之判定中有用。

[表48]

	AUROC		
	階段0 vs 階段1-4	階段0-1 vs 階段2-4	階段0-2 vs 階段3-4
M2(VCAM1)	0.796	0.842	0.910
M2(VCAM1、HA)	0.870	0.900	0.957
M2(VCAM1、COL4)	0.820	0.858	0.905
M2(VCAM1、COL4-7S)	0.904	0.870	0.925
M2(HA、COL4-7S)	0.936	0.895	0.955
VCAM1測定值	0.796	0.842	0.910
FIB4 index(比較例)	0.790	0.840	0.858

#### 試驗例7：判定肝臟炎症之進展度之方法

調查是否可基於作為群2之生物分子的「VCAM1」、「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4」、「VCAM1、COL4-7S」、及「HA、COL4-7S」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值(血藥濃度)而評價肝臟炎症之進展度。作為肝臟炎症之指標，使用基於肝活組織檢查之小葉內炎症之病理診斷得分(0~3分)(Kleiner et. al., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology* 41: 1313-21 (2005))。標準化得分係使用與試驗例1同樣之方法而求出。VCAM1之測定值係藉由依據ELISA法之試劑「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」而定量。又，已知為評價肝臟炎症之指標的高感度CRP(*Hepatogastroenterology*. 2014 Mar-Apr;61(130): 422-5)係藉由乳膠凝集法而求出。關於自記錄病理診斷得分之人採取之血清132檢體，調查肝臟之小葉內炎症之得分與上述標準化得分、VCAM1之測定值、及高感度CRP之關聯。關於

VCAM1之測定值，亦與另行測定之健康者之值一同研究。將結果表示於圖8中。於圖8中，橫軸表示肝臟之小葉內炎症之得分，縱軸表示標準化得分、VCAM1之測定值或高感度CRP之測定值，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分及VCAM1之測定值隨著肝臟之小葉內炎症之得分變大而變大。而且，發現如下傾向：VCAM1在健康者中顯示出比NAFLD患者更小之值。

調查進行小葉內炎症之得分為0分之檢體與1分以上之檢體之判別時的AUROC(炎症0 vs 炎症1-3)及、進行小葉內炎症之得分為1分以下之檢體與2分以上之檢體之判別時的AUROC(炎症0-1 vs 炎症2-3)，比較各個指標值之精度。將結果表示於表49中。關於「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4-7S」及「HA、COL4-7S」之各自之標準化得分，於得分為0分之檢體與1分以上之檢體之判別、及得分為1分以下之檢體與2分以上之檢體之判別之兩者中，AUROC超過高感度CRP。關於「VCAM1」及「VCAM1、COL4」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值，於得分為1分以下之檢體與2分以上之檢體之判別中，AUROC超過高感度CRP。根據以上現象，提示上述標準化得分及VCAM1之測定值於肝臟炎症之進展度之判定中 useful。

[表49]

	AUROC	
	炎症0 vs 炎症1-3	炎症0-1 vs 炎症2-3
M2(VCAM1)	0.552	0.689
M2(VCAM1、HA)	0.837	0.582
M2(VCAM1、COL4)	0.647	0.725
M2(VCAM1、COL4-7S)	0.763	0.713
M2(HA、COL4-7S)	0.776	0.575
VCAM1測定值	0.552	0.689
高感度CRP(比較例)	0.681	0.556

試驗例8：判定肝細胞之氣球狀變性之進展度的方法

調查是否可基於作為群2之生物分子的「VCAM1」、「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4」、「VCAM1、COL4-7S」、及「HA、COL4-7S」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值(血藥濃度)而判定肝細胞之氣球狀變性之進展度。作為肝細胞之氣球狀變性之指標，使用基於肝活組織檢查之氣球狀變性之病理診斷得分(0~2分) (Kleiner et. al., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology* 41 : 1313-21 (2005))。標準化得分係使用與試驗例1同樣之方法而求出。VCAM1之測定值係藉由依據ELISA法之試劑「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」而定量。又，已知為評價肝細胞之氣球狀變性之指標的CK18 M30片段(*J Clin Gastroenterol.* 2010 Jul;44(6) : 440-7)係藉由ELISA法「M30 Apoptosense ELISA」而求出。關於自記錄病理診斷得分之人採取之血清132檢體，調查肝細胞之氣球狀變性之得分與上述標準化得分、VCAM1之測定值、及CK18 M30片段之關聯。關於VCAM1之測定值及CK18 M30片段，亦與另行測定之健康者之值一同研究。將結果表示於圖9中。於圖9中，橫軸表示肝細胞之氣球狀變性之得分，縱軸表示標準化得分、VCAM1之測定值或CK18 M30片段之測定值，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分及VCAM1之測定值隨著肝細胞之氣球狀變性之得分變大而變大。而且，發現如下傾向：VCAM1在健康者中顯示出比NAFLD患者更小之值。

調查進行肝細胞之氣球狀變性之得分為0分之檢體與1分以上之檢體之判別時的AUROC(氣球狀變性 0 vs 氣球狀變性1-2)及、進行氣球狀變性之得分為1分以下之檢體與2分之檢體之判別時的AUROC(氣球狀變性0-1 vs 氣球狀變性2)，比較各個指標值之精度。將結果表示於表50中。關於「VCAM1」、「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4」、「VCAM1、COL4-7S」、及「HA、COL4-7S」之

各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值，於上述兩者之判別中，AUROC超過CK18 M30片段。根據以上現象，提示上述標準化得分及VCAM1之測定值於肝細胞之氣球狀變性之進展度之判定中 useful。

[表 50]

	AUROC	
	氣球狀變性0 vs 氣球狀變性1-2	氣球狀變性0-1 vs 氣球狀變性2
M2(VCAM1)	0.746	0.768
M2(VCAM1、HA)	0.807	0.759
M2(VCAM1、COL4)	0.751	0.784
M2(VCAM1、COL4-7S)	0.796	0.801
M2(HA、COL4-7S)	0.837	0.801
VCAM1測定值	0.746	0.768
CK18 M30片段(比較例)	0.676	0.677

#### 試驗例9：判定非酒精性脂肪肝疾病(NAFLD)活動性之方法

調查是否可基於作為群2之生物分子的「VCAM1」、「VCAM1、HA」、「VCAM1、COL4」、「VCAM1、COL4-7S」、及「HA、COL4-7S」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值(血藥濃度)而評價NAFLD之活動性。作為NAFLD之活動性之指標，使用基於肝活組織檢查之NAFLD之活動性之病理診斷得分(0~8分)(Kleiner et. al., Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease, *Hepatology* 41: 1313-21 (2005))。標準化得分係使用與試驗例1同樣之方法而求出。VCAM1之測定值係藉由依據ELISA法之試劑「Human sVCAM-1/CD106 Quantikine ELISA 套組」而定量。又，已知為評價NAFLD之活動性之指標的CK18 M30片段(*J Clin Gastroenterol.* 2010 Jul;44(6): 440-7)係藉由ELISA法「M30 Apoptosense ELISA」而求出。關於自記錄病理診斷得分之人採取之血清132檢體，調查NAFLD之活動性之得分與上述標準化得分、

VCAM1之測定值、及CK18 M30片段之關聯。關於VCAM1之測定值及CK18 M30片段，亦與另行測定之健康者之值一同研究。將結果表示於圖10中。於圖10中，橫軸係表示NAFLD之活動性之得分，縱軸表示標準化得分、VCAM1之測定值或CK18 M30片段之測定值，橫線表示各群之中央值。發現包含VCAM1之群2之標準化得分及VCAM1之測定值隨著NAFLD之活動性之得分變大而變大。而且，發現如下傾向：VCAM1在健康者中顯示出比NAFLD患者更小之值。

調查進行NAFLD之活動性之得分為1分之檢體與2分以上之檢體之判別時的AUROC(NAS1 vs NAS 2-8)、進行NAFLD之活動性之得分為2分以下之檢體與3分以上之檢體之判別時的AUROC(NAS1-2 vs NAS 3-8)、進行NAFLD之活動性之得分為3分以下之檢體與4分以上之檢體之判別時的AUROC(NAS1-3 vs NAS 4-8)、進行NAFLD之活動性之得分為4分以下之檢體與5分以上之檢體之判別時的AUROC(NAS1-4 vs NAS 5-8)、及進行NAFLD之活動性之得分為5分以下之檢體與6分以上之檢體之判別時的AUROC(NAS1-5 vs NAS 6-8)，比較各個指標值之精度。將結果表示於表51中。關於「VCAM1、HA」之標準化得分，於進行NAFLD之活動性之得分為5分以下之檢體與6分以上之檢體之判別時，AUROC超過CK18 M30片段。關於「VCAM1」、「VCAM1、COL4」及「VCAM1、COL4-7S」之各自之標準化得分、以及VCAM1之測定值，於進行NAFLD之活動性之得分為4分以下之檢體與5分以上之檢體之判別時、及NAFLD之活動性之得分為5分以下之檢體與6分以上之檢體之判別時，AUROC超過CK18 M30片段。

另一方面，關於「HA、COL4-7S」之標準化得分，於進行NAFLD之活動性之得分為2分以下之檢體與3分以上之檢體之判別時的AUROC、進行NAFLD之活動性之得分為3分以下之檢體與4分以上

之檢體之判別時的AUROC、進行NAFLD之活動性之得分為4分以下之檢體與5分以上之檢體之判別時的AUROC、以及進行NAFLD之活動性之得分為5點以下之檢體與6點以上之檢體之判別時，AUROC超過CK18 M30片段。根據以上現象，提示上述標準化得分及VCAM1之測定值於NAFLD之活動性之判定中 useful。

[表 51]

	AUROC				
	NAS 1 vs NAS 2-8	NAS 1-2 vs NAS 3-8	NAS 1-3 vs NAS 4-8	NAS 1-4 vs NAS 5-8	NAS 1-5 vs NAS 6-8
M2(VCAM1)	0.593	0.653	0.629	0.700	0.745
M2(VCAM1、HA)	0.800	0.741	0.657	0.640	0.749
M2(VCAM1、COL4)	0.701	0.714	0.671	0.696	0.748
M2(VCAM1、COL4-7S)	0.790	0.800	0.690	0.727	0.785
M2(HA、COL4-7S)	0.650	0.763	0.702	0.688	0.787
VCAM1測定值	0.593	0.653	0.629	0.700	0.745
CK18 M30片段(比較例)	0.851	0.760	0.698	0.672	0.704

試驗例10：基於「HA、COL4」之標準化得分，判定肝纖維化之進展度、肝臟炎症之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度及NAFLD活動性之方法

調查是否可基於作為群2之生物分子的「HA、COL4」之標準化得分，判定肝纖維化之進展度、肝臟炎症之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度及NAFLD活動性。方法分別使用與上述試驗例6、試驗例7、試驗例8及試驗例9相同之方法。

將「HA、COL4」之標準化得分與肝纖維化之進展度之關係表示於圖14中。於圖14中，橫軸表示纖維化階段，縱軸表示標準化得分，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分隨著纖維化階段之得分變大而變大。

將關於肝纖維化之進展度之判定的結果表示於表52中。於所有

判別中，AUROC超過相同條件下之FIB4 index之AUROC。根據以上現象，提示「HA、COL4-7S」之標準化得分於肝纖維化之進展度之判定中 useful。

[表52]

診斷法	階段：0 vs. 階段：1-4	階段：0-1 vs. 階段：2-4	階段：0-2 vs. 階段：3-4
標準化得分「HA，COL4」	0.840	0.858	0.901
FIB4-index(比較例)	0.790	0.840	0.858

將「HA、COL4」之標準化得分與肝臟炎症之進展度之關係表示於圖15中。於圖15中，橫軸表示肝臟之小葉內炎症之得分，縱軸表示標準化得分，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分隨著肝臟之小葉內炎症之得分變大而變大。

將關於肝臟炎症之進展度之判定之結果表示於表53中。於肝臟之小葉內炎症之得分為1分以下之檢體與2分以上之檢體之判別中，上述標準化得分之AUROC超過相同條件下之高感度CRP之AUROC。根據以上現象，提示「HA、COL4」之標準化得分於肝臟炎症之進展度之判定中 useful。

[表53]

診斷法	炎症：0 vs. 炎症：1-3	炎症：0-1 vs. 炎症：2-3
標準化得分「HA，COL4」	0.650	0.693
高感度CRP (ng/ml) (比較例)	0.681	0.556

將「HA、COL4」之標準化得分與肝細胞之氣球狀變性之關係表示於圖16中。於圖16中，橫軸表示肝細胞之氣球狀變性之得分，縱軸表示標準化得分，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分隨著肝細胞之氣球狀變性之得分變大而變大。

將關於肝細胞之氣球狀變性之進展度的判定之結果表示於表54中。於所有之判別中，上述標準化得分之AUROC超過相同條件下之CK18 M30片段之AUROC。根據以上現象，提示「HA、COL4」之標準化得分於肝細胞之氣球狀變性之進展度之判定中 useful。

[表54]

診斷法	氣球狀變性：0 vs. 氣球狀變性：1-2	氣球狀變性：0-1 vs. 氣球狀變性：2
標準化得分「HA、COL4」	0.783	0.792
CK18 M30片段 (U/ml) (比較例)	0.676	0.677

將「HA、COL4」之標準化得分與NAFLD之活動性之關係表示於圖17中。於圖17中，橫軸表示NAFLD之活動性之得分，縱軸表示標準化得分，橫線表示各群之中央值。發現上述標準化得分及隨著NAFLD之活動性之得分變大而變大。

將關於NAFLD活動性之判定之結果表示於表55中。於進行NAFLD之活動性之得分為4分以下之檢體與5分以上之檢體之判別時，及進行NAFLD之活動性之得分為5分以下之檢體與6分以上之檢體之判別時，上述標準化得分之AUROC超過相同條件下之CK18 M30片段之AUROC。根據以上現象，提示「HA、COL4」之標準化得分於NAFLD之活動性之判定中 useful。

[表55]

診斷法	NAS：1 vs NAS：2-8	NAS：1-2 vs NAS：3-8	NAS：1-3 vs NAS：4-8	NAS：1-4 vs NAS：5-8	NAS：1-5 vs NAS：6-8
標準化得分 「HA、COL4」	0.636	0.721	0.678	0.682	0.741
CK18 M30片段 (U/ml) (比較例)	0.851	0.760	0.698	0.672	0.704

**【符號說明】**

1	測定裝置
2	光源部
3	試樣設置部
4	檢測部
5	通訊部
11	肝疾病判定裝置
12	控制部
13	記錄部
14	運算部
15	顯示部
16	輸入部
100	肝疾病判定系統
D1	取得機構
D2	標準化機構
D3	比較機構
D4	判定機構
D5	顯示機構
S1	取得步驟
S2	標準化步驟
S3	比較步驟
S4	判定步驟
S5	顯示步驟

## 申請專利範圍

1. 一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，其包括如下步驟：

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A)選自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1中之至少2個標記分子，

選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，

選自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及舉固酮所組成之群3中之至少2個標記分子，或

選自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4中之至少2個標記分子，

或

(B)選自2個群中之一個群之至少2個標記分子及選自另一個群之至少2個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群；

(2)根據基於上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指

標值之步驟，基於同一群之上述標記分子之量的上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數1]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係根據2個群之標準化得分而算出，

(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟。

2. 如請求項1之方法，其中於上述(B)之情形時，上述指標值係根據2個群之標準化得分，使用線性式或非線性式而算出。
3. 一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，其包括如下步驟：

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A)選自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1中之至少2個標記分子，

選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，

選自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及鞣固酮所組成之群3中之至少2個標記分子，或

選自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4中之至少2個標記分子，

或

(B)選自2個群中之一個群之至少2個標記分子及選自另一個群之至少2個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群；

(2)根據基於上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟，其中基於同一群之上述標記分子之量的上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數2]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係藉由如下方法而算出：根據2個群之標準化得分而使用平均算出式之方法、使用線性回歸方程式之方法、使用線性判別式之方法、使用羅吉斯回歸方程式之方法、使用非線性平均算出式之方法、使用非線性回歸方程式之方法、使用非線性判別式之方法、或使用非線性羅吉斯回歸方程式之方法；

(3)於上述指標值大於基準值之情形時，判定上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟。

4. 如請求項1至3中任一項之方法，其中於上述(B)之情形時，作為使用羅吉斯回歸方程式之方法，上述指標值係根據2個群之標準化得分，藉由下述式2而算出，

$$I = a_1 \times M_{a1} + a_2 \times M_{a2} \quad (\text{式2})$$

(於式2中， $I$ 表示指標值， $M_{a1}$ 及 $M_{a2}$ 分別表示上述2個群中之一個群之標準化得分及另一群之標準化得分， $a_1$ 及 $a_2$ 表示藉由羅吉斯回歸分析所決定之常數)。

5. 如請求項1至3中任一項之方法，其中於上述(B)之情形時，作為使用非線性判別式之方法，上述指標值係根據2個群之標準化得分，藉由下述決策樹1~6之任意者而算出：

於上述標記分子為選自上述群1及群2之情形時，

若 $M1_a \geq 0.476$ 則 $I = 2$ 、若 $M1_a < 0.476$ 且 $M2_a \geq 0.466$ 則 $I = 1$ 、若 $M1_a < 0.476$ 且 $M2_a < 0.466$ 則 $I = 0$  (決策樹1)

於上述標記分子為選自上述群1及群3之情形時，

若 $M3_a \geq 0.409$ 且 $M1_a \geq 0.45$ 則 $I = 2$ 、若 $M3_a \geq 0.409$ 且 $M1_a < 0.45$ 則 $I = 1$ 、若 $M3_a < 0.409$ 則 $I = 0$  (決策樹2)

於上述標記分子為選自上述群1及群4之情形時，

若 $M4_a \geq 0.547$ 則 $I = 2$ 、若 $M4_a < 0.547$ 且 $M1_a \geq 0.468$ 則 $I = 1$ 、若 $M4_a < 0.547$ 且 $M1_a < 0.468$ 則 $I = 0$  (決策樹3)

於上述標記分子為選自上述群2及群3之情形時，

若 $M3_a \geq 0.409$ 且 $M2_a \geq 0.412$ 則 $I = 2$ 、若 $M3_a \geq 0.409$ 且 $M2_a < 0.412$ 則 $I = 1$ 、若 $M3_a < 0.409$ 則 $I = 0$  (決策樹4)

於上述標記分子為選自上述群2及群4之情形時，

若 $M4_a \geq 0.547$ 則 $I = 2$ 、若 $M4_a < 0.547$ 且 $M2_a \geq 0.413$ 則 $I = 1$ 、若 $M4_a < 0.547$ 且 $M2_a < 0.413$ 則 $I = 0$  (決策樹5)

於上述標記分子為選自上述群3及群4之情形時，

若 $M3_a \geq 0.409$ 則 $I = 2$ 、若 $M3_a < 0.409$ 且 $M4_a \geq 0.588$ 則 $I = 1$ 、若 $M3_a < 0.409$ 且 $M4_a < 0.588$ 則 $I = 0$  (決策樹6)

(於決策樹1~6中， $I$ 表示指標值， $M1_a$ 、 $M2_a$ 、 $M3_a$ 及 $M4_a$ 分別表示上述群1、群2、群3、及群4之標準化得分)。

5

6. 如請求項1至3中任一項之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群1之PROS1及CLU。
7. 如請求項1至3中任一項之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群2之VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為HA及COL4，或為CTSD及COL4，或為CTSD及COL4-7S。
8. 如請求項1至3中任一項之方法，其中於上述(A)之情形時，上述標記分子為上述群3之AST及PSAT，或為AST及LEP，或為AST及ICAM1，或為AST、PSAT及LEP，或為AST、PSAT及ICAM1，或為AST、LEP及CK-18，或為AST、ICAM1及GSTA1，或為AST、PSAT及6Ckine。
9. 如請求項1至5中任一項之方法，其中於上述(B)之群1與群3之組合之情形時，選自群1之標記分子為PROS1及CLU，選自群3之標記分子為AST及PSAT，或為AST及LEP，或為AST及ICAM1，或為AST、PSAT及LEP，或為AST、PSAT及ICAM1，或為AST、LEP及CK-18，或為AST、ICAM1及GSTA1，或為AST、PSAT及6Ckine。
10. 一種判別肝纖維化之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，或為VCAM1；

於基於上述標記分子之量而算出之標準化得分大於基準值之情形時，判定為上述受驗者係肝纖維化之疾病狀態、或存在該

可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數3]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

11. 如請求項10之判別肝纖維化之方法，其中

上述標記分子為VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40，或為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為VCAM1及CTSD，或為VCAM1及COL4，或為VCAM1及COL4-7S，或為HA及CTSD，或為CTSD及COL4，或為HA及COL4，或為HA及COL4-7S，或為CTSD及COL4-7S。

12. 如請求項10或11之方法，其中肝纖維化之判別係Matteoni分類中之1型~3型之疾病狀態與4型之疾病狀態之判別，或為纖維化階段中之階段0、階段1或階段2之疾病狀態與階段3或階段4之疾病狀態之判別。

13. 一種判定肝疾病之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為HA及COL4，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S；

基於上述標記分子之量而算出之標準化得分越大，則越判定上述受驗者中之肝臟之纖維化之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度高，或存在該等可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數4]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示NASH發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示NAFL發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

14. 一種判定非酒精性脂肪性肝疾病(NAFLD)之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為HA及COL4，或為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S；

基於上述標記分子之量而算出之標準化得分越大，則越判定上述受驗者之肝臟之纖維化之進展度、非酒精性脂肪肝疾病之活動性之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度高，或存在該等可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數5]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)} \quad (\text{式1})$$

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示NASH發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示NAFL發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

15. 一種套組，其係用以於如請求項1至14中任一項之方法中使用之套組，其包含：

用以檢測上述標記分子之試劑、

用以實施上述方法之說明書。

16. 一種判別非酒精性脂肪肝(NAFL)與非酒精性脂肪肝炎(NASH)之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

於上述VCAM1之量大於基準值之情形時，判定為上述受驗者罹患NASH、或存在該可能性之步驟。

17. 一種判別肝纖維化之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

於上述VCAM1之量大於基準值之情形時，判定為上述受驗者係肝纖維化之疾病狀態、或存在該可能性之步驟。

18. 一種判定肝疾病之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

上述VCAM1之量越大，則越判定為上述受驗者之肝臟之纖維化之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度高，或存在該等可能性之步驟。

19. 一種判定非酒精性脂肪性肝疾病(NAFLD)之疾病狀態之進展度之方法，其包括如下步驟：

測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟，

上述VCAM1之量越大，則越判定為上述受驗者之肝臟之纖維化之進展度、非酒精性脂肪肝疾病之活動性之進展度、肝細胞之氣球狀變性之進展度、或肝臟之炎症之進展度高，或存在該等可能性之步驟。

20. 一種套組，其係用以於如請求項16至19中任一項之方法中使用之套組，其包含：

用以檢測VCAM1之試劑。

21. 一種程式，其係用以於如請求項1至14中任一項之方法中使用  
者，並且係用以使電腦執行如下步驟：  
標準化步驟，根據自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子  
之量的測定資料，基於上述式1而算出標準化得分，根據所算  
出之標準化得分而求出指標值；  
比較步驟，將所求出之指標值與基準值比較；  
判定步驟，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀  
態。
22. 一種程式，其係用以於如請求項16至19中任一項之方法中使用  
者，並且係用以使電腦執行如下步驟：  
比較步驟，將自試驗者採取之血液中所含之VCAM1之量與基  
準值比較；  
判定步驟，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀  
態。
23. 如請求項21或22之程式，其中使電腦進而執行取得步驟，取得  
自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子之量或上述VCAM1  
之量的測定資料。
24. 一種測定裝置，其係用以於如請求項1至14、及16~19中任一項  
之方法中使用者，其具備：  
用以設置試樣之試樣設置部、用以對上述試樣照射光之光源  
部、及檢測透過上述試樣之光之檢測部。
25. 一種肝疾病判定系統，其係用以於如請求項1至14中任一項之方  
法中使用者，其具備：  
測定裝置，測定自受驗者採取之血液中所含之上述標記分子  
之量；肝疾病判定裝置，基於所測定之上述標記分子之量而判  
定肝疾病之疾病狀態；

上述測定裝置具備：用以設置試樣之試樣設置部、用以對上述試樣照射光之光源部、及檢測透過上述試樣之光的檢測部，

上述肝疾病判定裝置具備：取得機構，取得來自上述測定裝置之測定資料；標準化機構，根據上述測定資料，基於上述式1算出標準化得分，根據所算出之標準化得分而求出指標值；比較機構，將所求出之指標值與基準值比較；判定機構，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

26. 一種肝疾病判定系統，其係用以於如請求項16至19中任一項之方法中使用者，其具備：

測定裝置，測定自受驗者採取之血液中所含之VCAM1之量；肝疾病判定裝置，基於所測定之上述VCAM1之量而判定肝疾病之疾病狀態；

上述測定裝置具備：用以設置試樣之試樣設置部、用以對上述試樣照射光之光源部、及檢測透過上述試樣之光的檢測部，

上述肝疾病判定裝置具備：取得機構，取得來自上述測定裝置之測定資料；比較機構，將上述VCAM1之量與基準值比較；判定機構，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。

27. 一種診斷藥，其係用以判斷罹患非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝臟之纖維化之疾病狀態、肝臟之纖維化之進展度高、肝細胞之氣球狀變性之疾病狀態之進展度高、肝臟之炎症之進展度高、肝肥大之疾病狀態、肝細胞壞死之疾病狀態、肝細胞凋亡之疾病狀態、肝細胞變性之疾病狀態、肝臟脂肪化之疾病狀態、或存在該等可能性者，其含有用以檢測VCAM1之試劑。

28. 如請求項27之診斷藥，其中上述用以檢測VCAM1之試劑為抗體。

29. 一種用以檢測VCAM1之試劑之用途，其係用於非酒精性脂肪肝炎(NASH)、肝臟之纖維化、肝細胞之氣球狀變性、肝臟之炎症、肝肥大、肝細胞之壞死、肝細胞之凋亡、肝細胞之變性、或肝臟之脂肪化之體外檢測。
30. 如請求項29之用以檢測VCAM1之試劑之用途，其與其他診斷藥併用。
31. 如請求項30之用以檢測VCAM1之試劑之用途，其中其他診斷藥係用以檢測HA、COL4、或COL4-7S之診斷藥。
32. 一種程式，其係用以使電腦執行如下步驟：
  - 比較步驟，將根據自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的測定資料而求出之指標值與基準值比較，上述標記分子包含VCAM1；
  - 判定步驟，基於比較之結果，判定是否具有肝疾病之疾病狀態。
33. 如請求項32之程式，其中使電腦進而執行取得步驟，取得自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的測定資料。
34. 如請求項32或33之程式，其中使電腦進而執行標準化步驟，根據上述測定資料算出標準化得分，根據所算出之標準化得分而求出指標值。
35. 如請求項32至33中任一項之程式，其中上述標記分子進而包含HA、COL4、或COL4-7S。
36. 一種判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療藥之效果之方法，其包括如下步驟：
  - 於對NASH患者應用上述治療藥之前與應用後，分別測定自上述患者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為VCAM1，或為VCAM1及HA，或為HA及COL4，或

為VCAM1及COL4，或為HA及COL4-7S，或為VCAM1及COL4-7S；

基於上述標記分子之量而算出上述治療藥之應用前與應用後之各自之標準化得分，於應用後之標準化得分較應用前之標準化得分減少之情形時，判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性之步驟，上述標準化得分係根據下述式1而算出，

[數6]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)} \quad (\text{式1})$$

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示NASH發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示NAFL發病之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)。

37. 一種判定非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療藥之效果之方法，其包括如下步驟：

於對NASH患者應用上述治療藥之前與應用後，分別測定自上述患者採取之血液中所含之VCAM1之量之步驟；

於應用後之VCAM1之量較應用前之VCAM1之量減少之情形時，判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性之步驟。

38. 一種判定非酒精性脂肪肝(NAFL)或非酒精性脂肪肝炎(NASH)之治療藥之效果之方法，其包括：

於對NAFL或NASH患者應用上述治療藥之前與應用後，分別

(1)測定自受驗者採取之血液中所含之標記分子之量的步驟，所測定之上述標記分子為

(A)選自由PROS1、CLU、ANG、APOC3、APOD、CFHR1、皮質醇、EGFR、HPN、IGFBP3、IL1B、IL23A、MET、MMP10、四連接素、TTR、VDBP及VEGFR-2所組成之群1中之至少2個標記分子，

選自由VCAM1、HA、CTSD、COL4、COL4-7S、ALB、AFP、AXL、CCL19、CGB、CSF1、FAS、Mac-2bp、CA19-9、NRCAM、OPG、VWF及YKL-40所組成之群2中之至少2個標記分子，

選自由AST、PSAT、LEP、ICAM1、CK-18、GSTA1、ALT、INS<sup>IVD</sup>、INS<sup>MAP</sup>、6Ckine、AGT、CRP、CXCL10、FABP4、G6PI、HSP-60、P3NP及鞣固酮所組成之群3中之至少2個標記分子，或

選自由AREG、BDNF、CD40-L、EREG、FGF2、HBEGF、IGFBP2、MMP9、PAI-1、PDGFB、PLGF、SAP、TGFA、TGFB1、THBS1及VTN所組成之群4中之至少2個標記分子，

或

(B)選自2個群中之一個群之至少2個標記分子及選自另一個群之至少2個標記分子，上述2個群係選自上述群1、上述群2、上述群3及上述群4中之2個群；

(2)根據基於上述標記分子之量而算出之標準化得分，求出指標值之步驟，基於同一群之上述標記分子之量的上述標準化得

分係根據下述式1而算出，

[數7]

$$M = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{1 + \exp\left(-\alpha_i \times \frac{m_i - \text{mean}(m_i)}{\text{sd}(m_i)}\right)}$$

(式1)

$$\alpha_i = \begin{cases} 1 & (\text{mean}(m_i^{\text{NASH}}) > \text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})) \\ -1 & (\text{其他}) \end{cases}$$

(於式1中，M表示標準化得分，N表示標記分子數， $m_i$ 表示所測定之各標記分子之量， $\text{mean}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{sd}(m_i)$ 表示預先決定之各標記分子之標準偏差， $\text{mean}(m_i^{\text{NASH}})$ 表示罹患NASH之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值， $\text{mean}(m_i^{\text{NAFL}})$ 表示罹患NAFL之患者之預先決定之各標記分子之量之平均值)，

於上述標記分子為(A)之情形時，上述指標值係上述標準化得分，

於上述標記分子為(B)之情形時，上述指標值係根據2個群之標準化得分而算出，

(3)於應用後之標準化得分較應用前之標準化得分減少之情形時，判定為存在具有應用上述治療藥之效果的可能性的步驟。

圖式

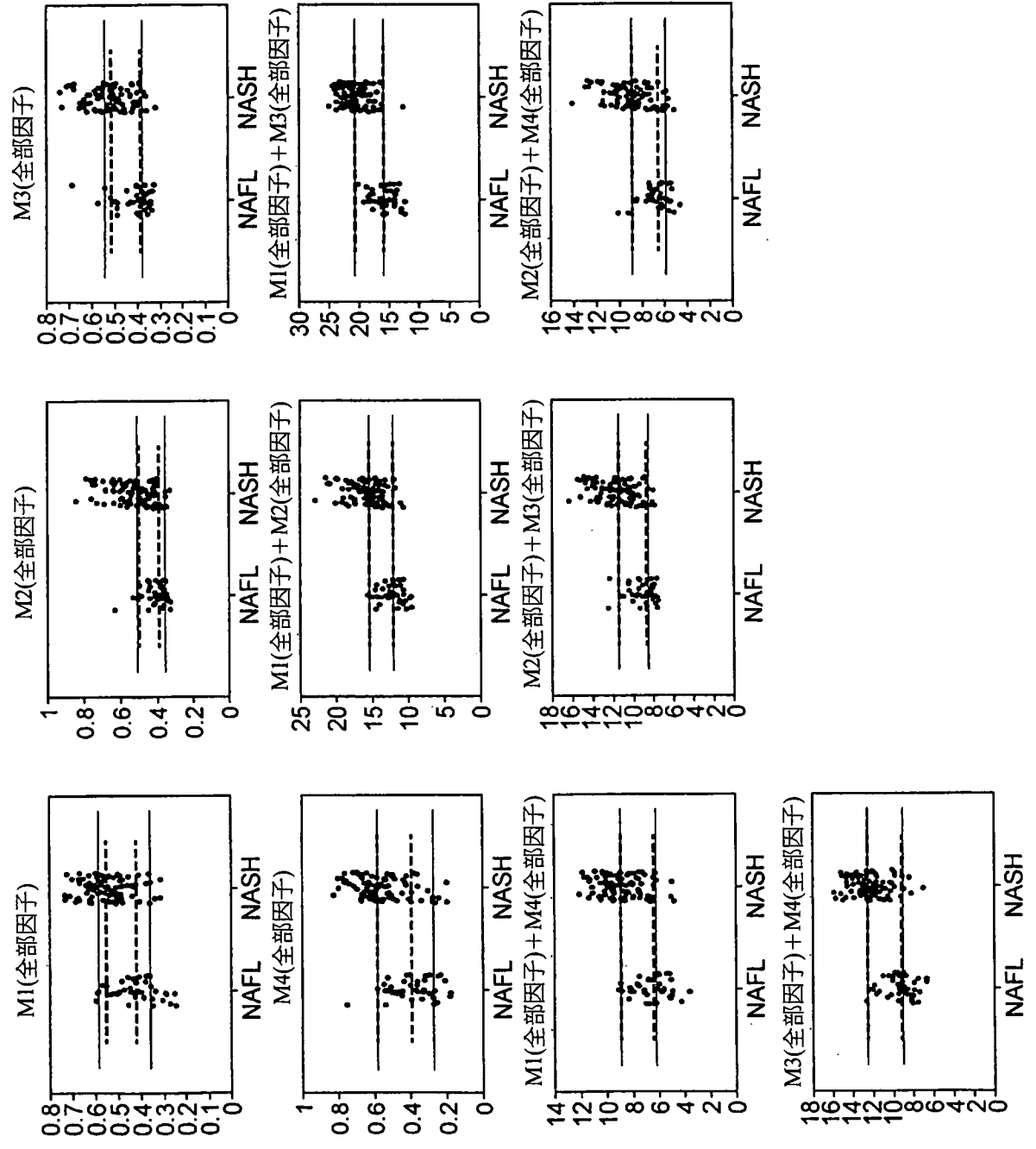


圖1

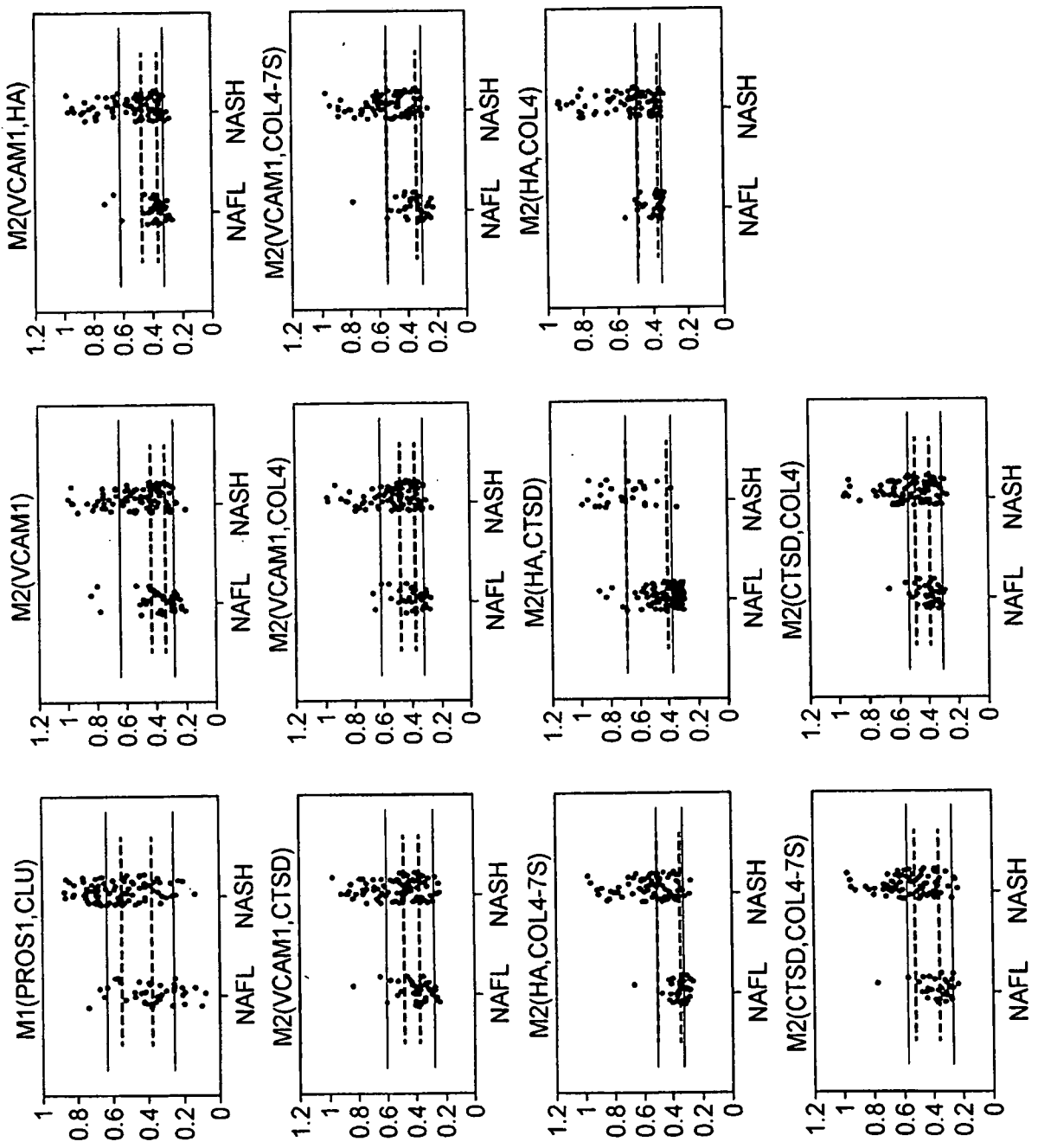


圖2-1

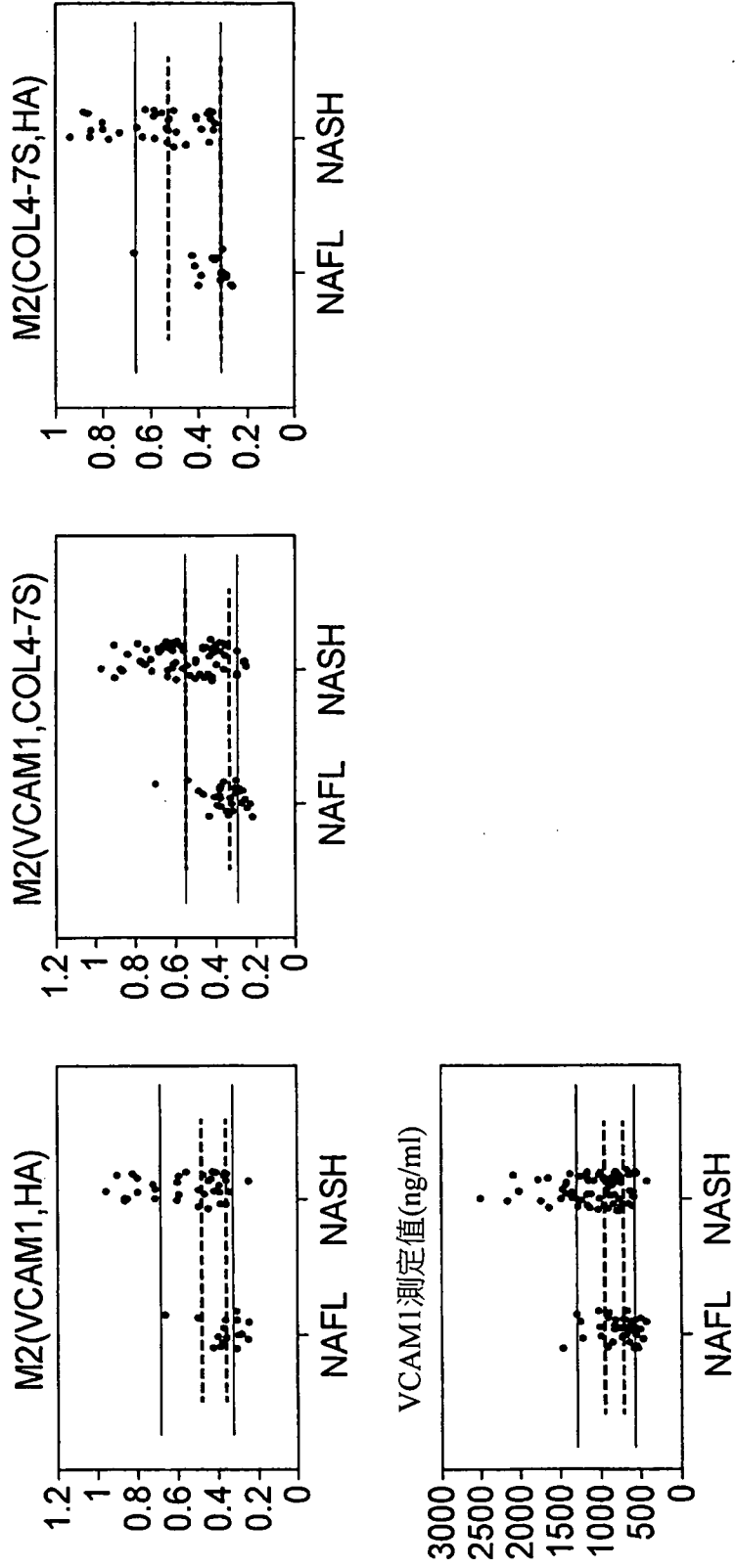


圖2-2

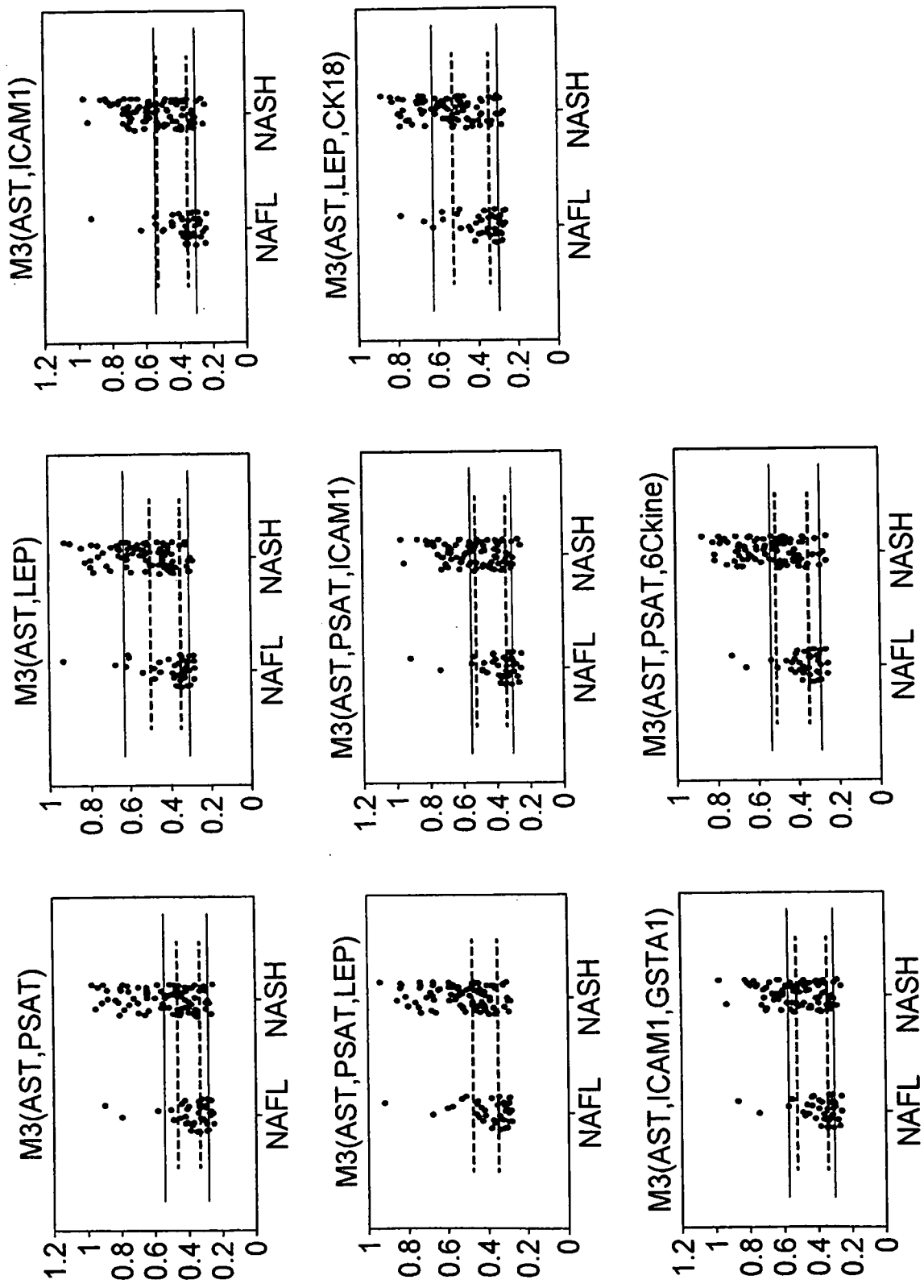


圖3

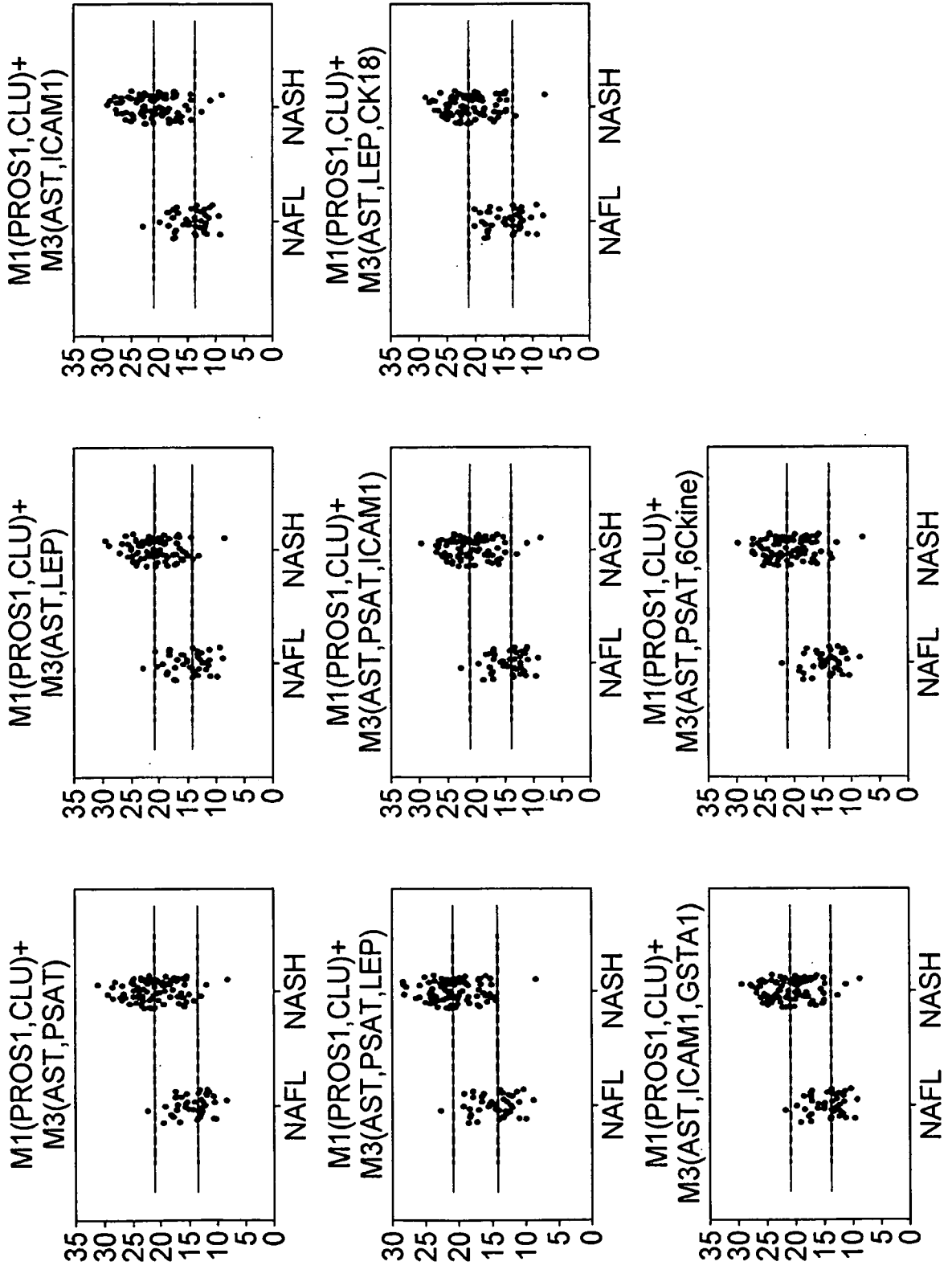


圖4

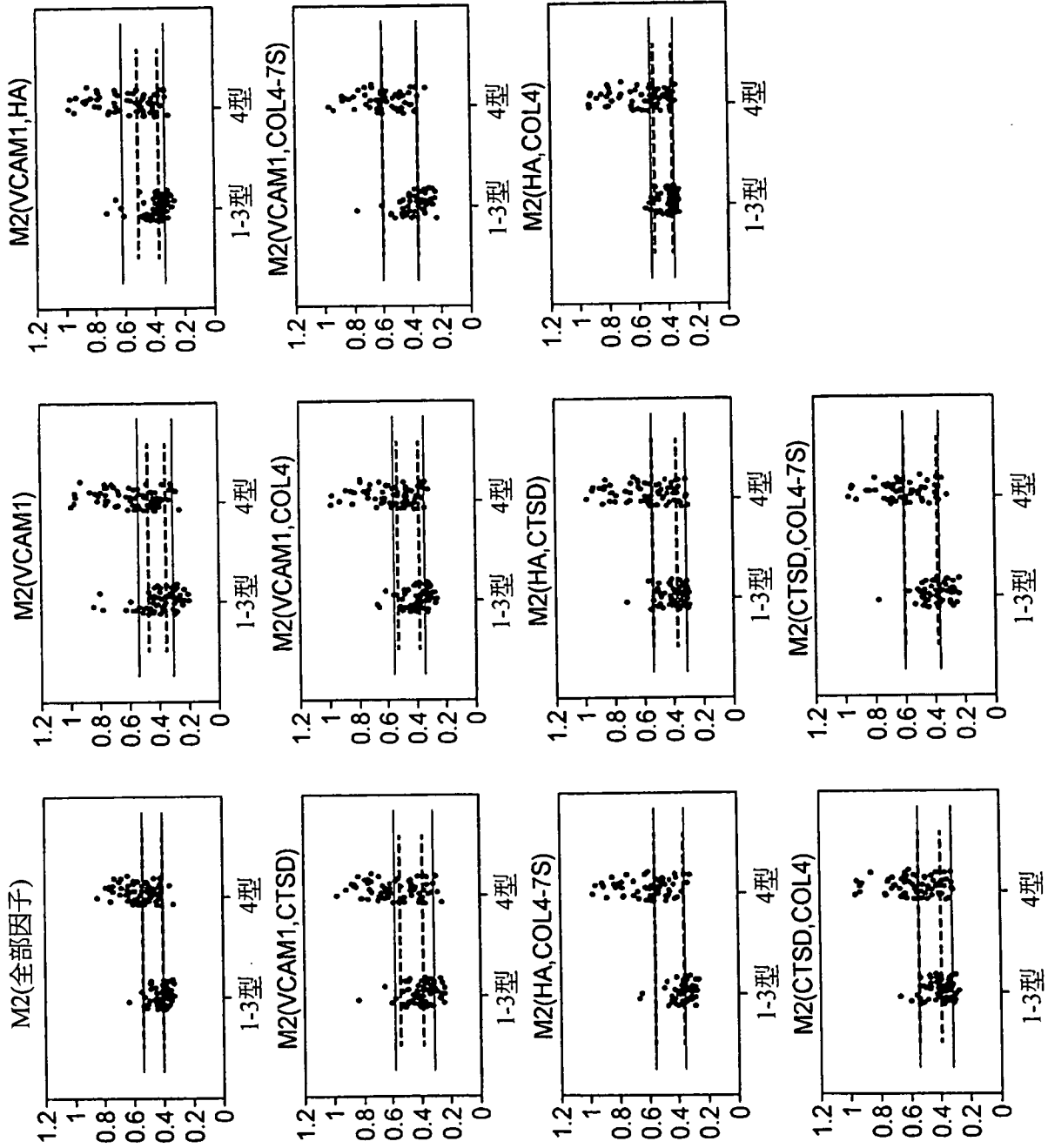


圖5-1

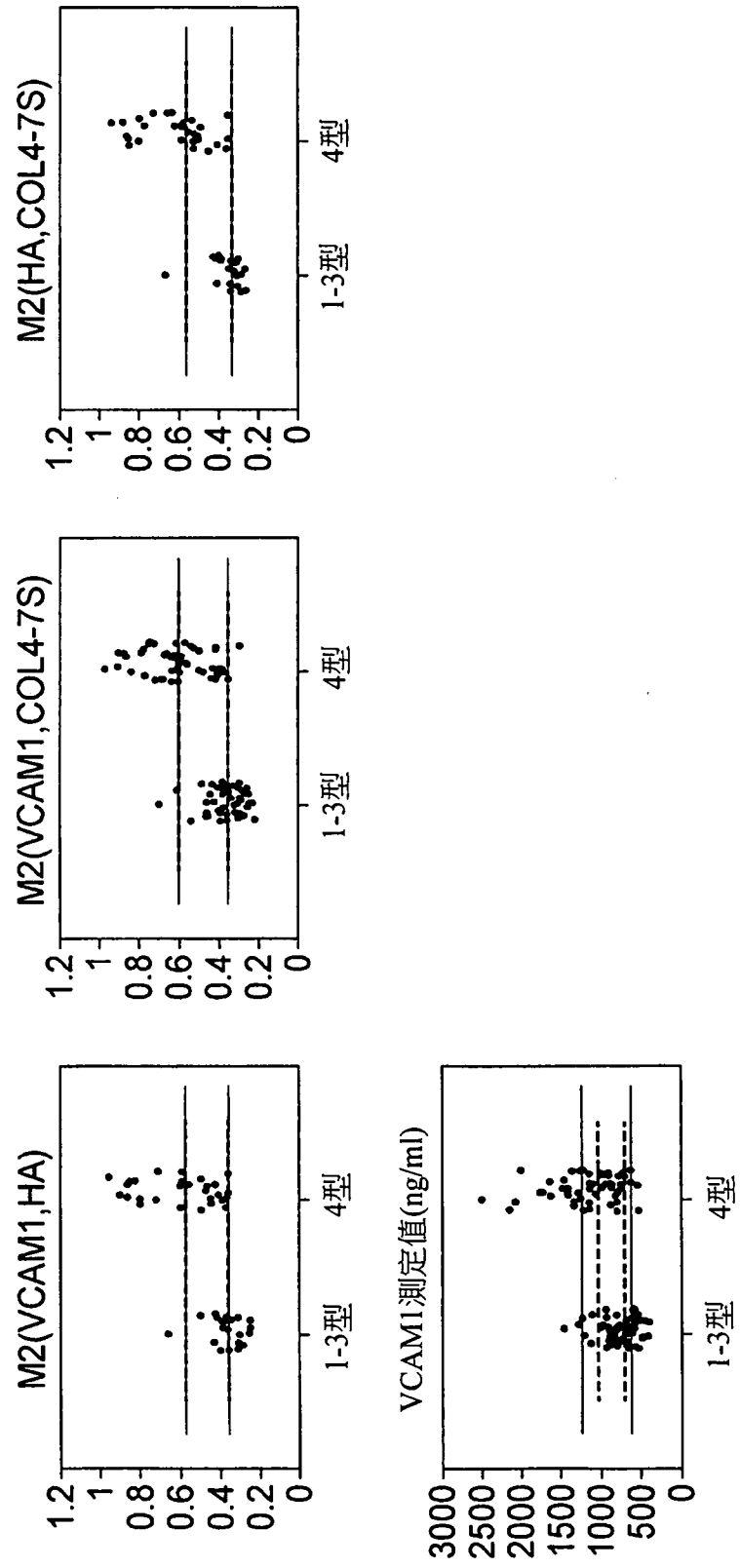


圖5-2

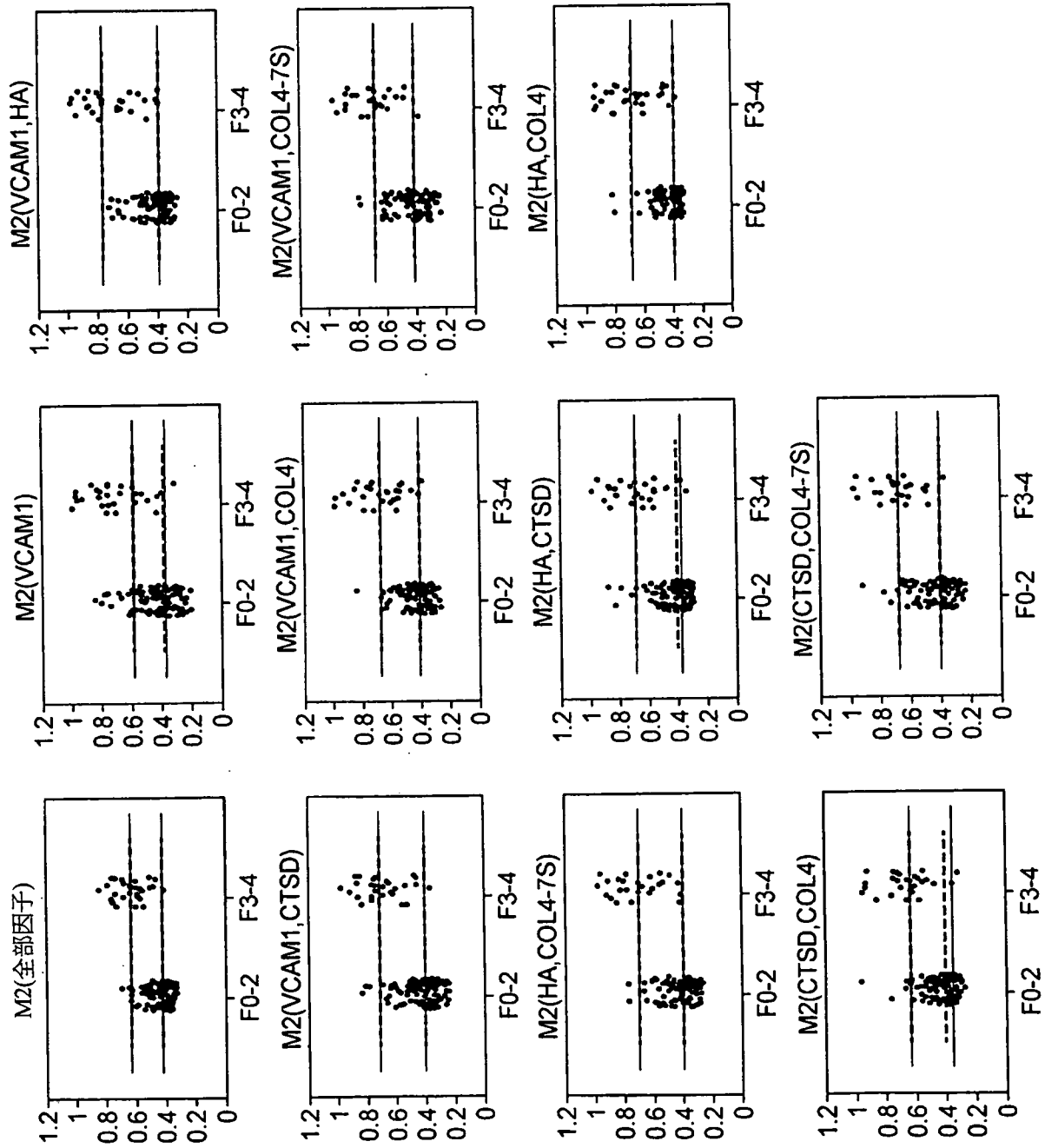


圖6-1

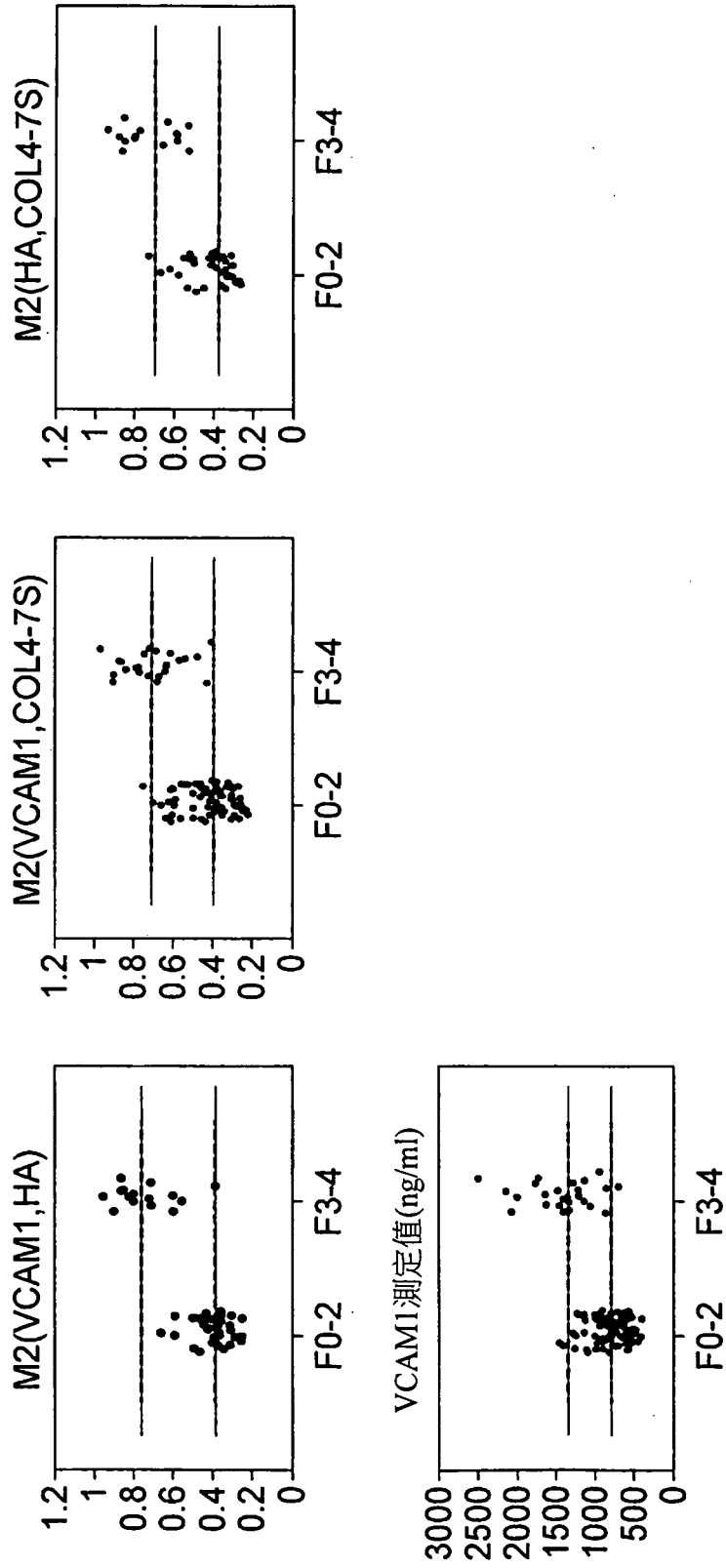


圖6-2

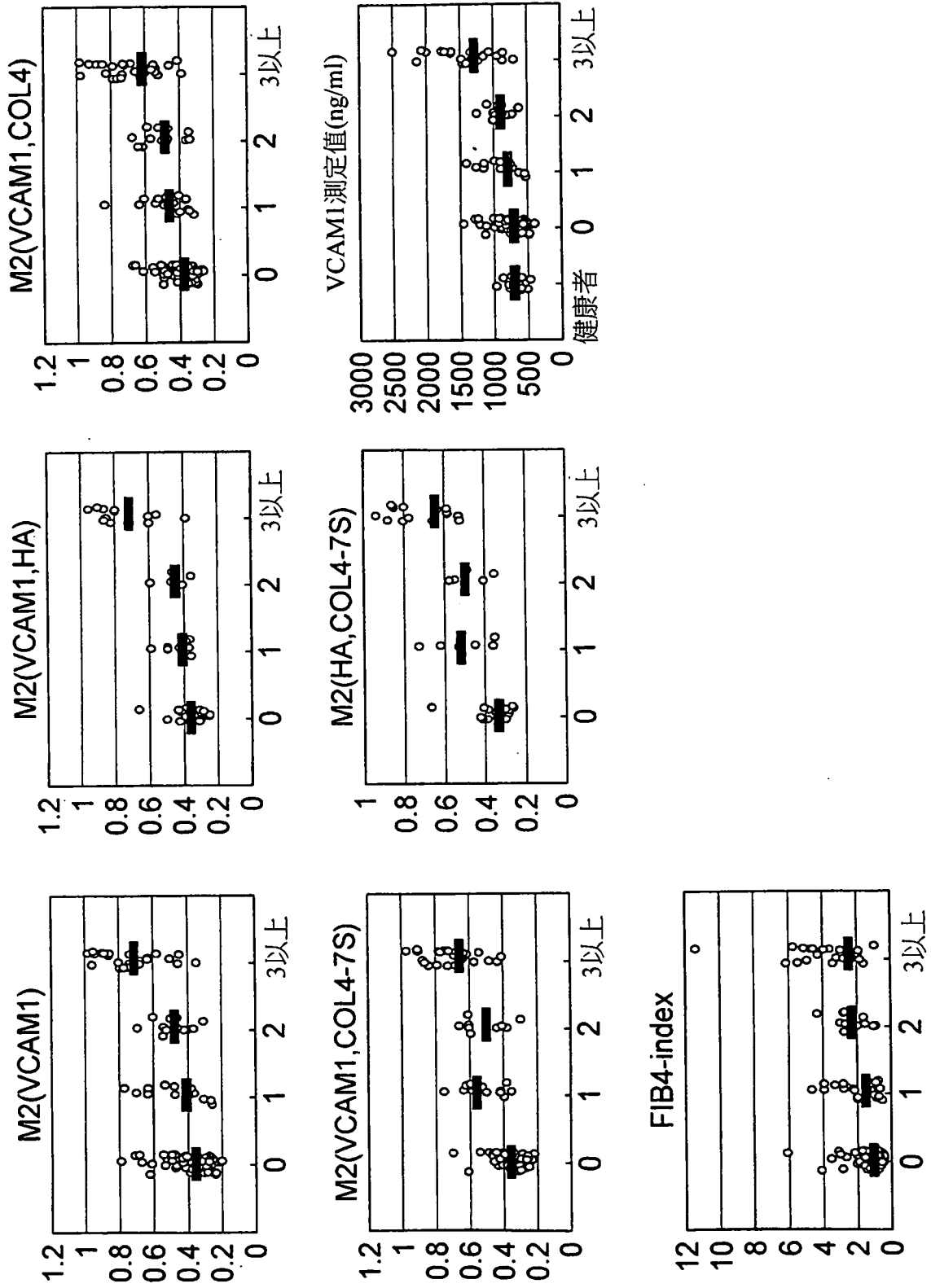


圖7

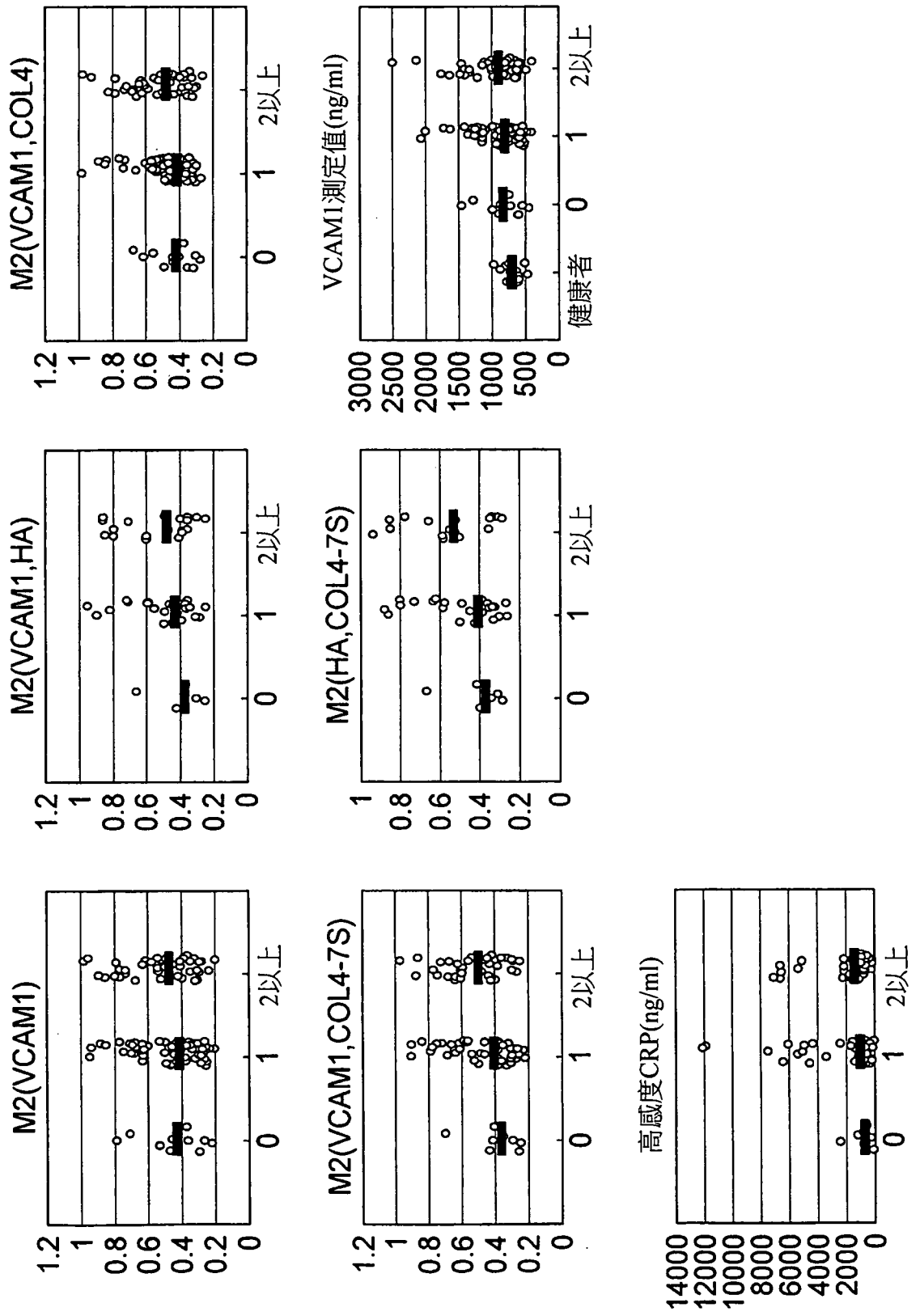


圖8

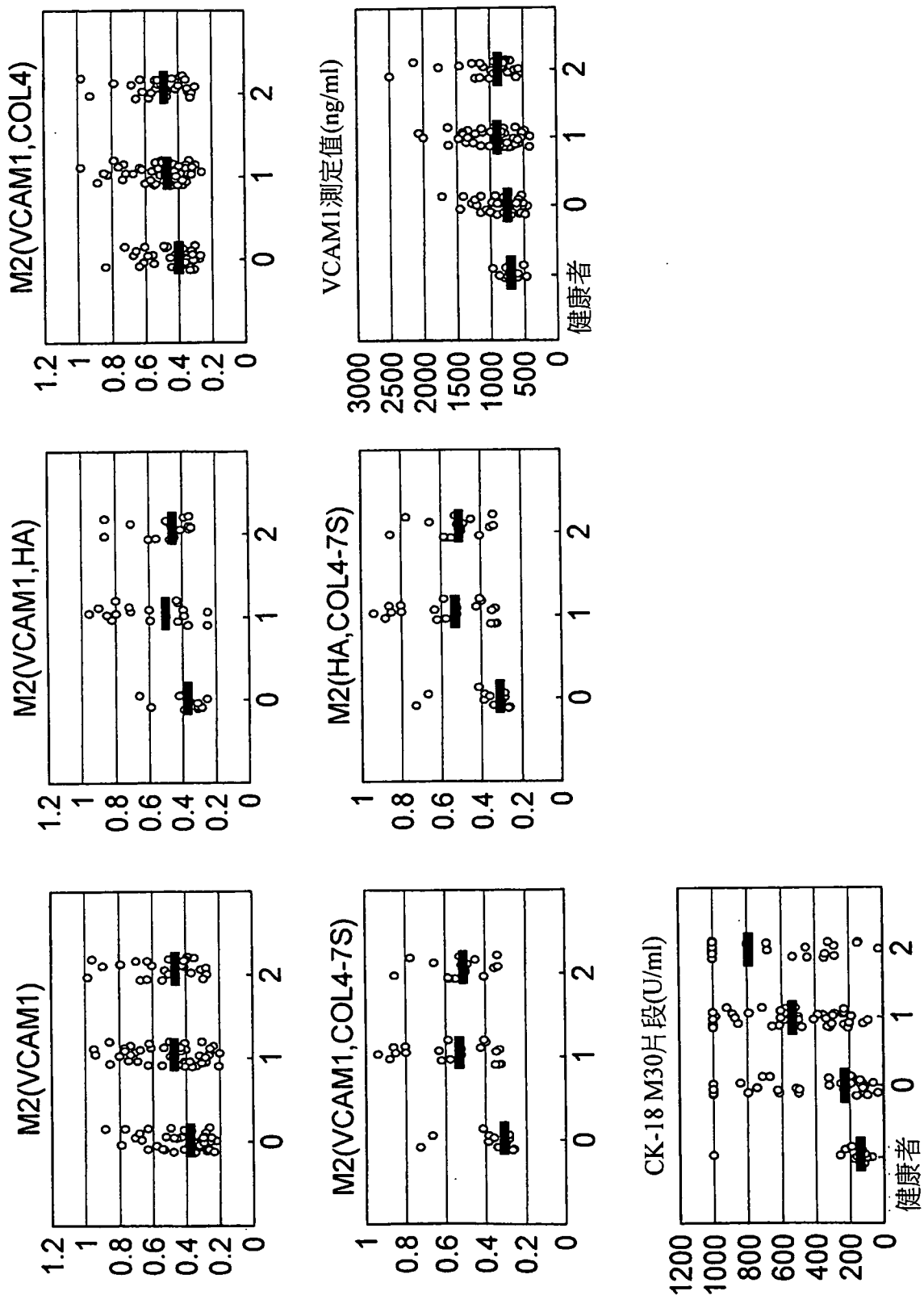


圖9

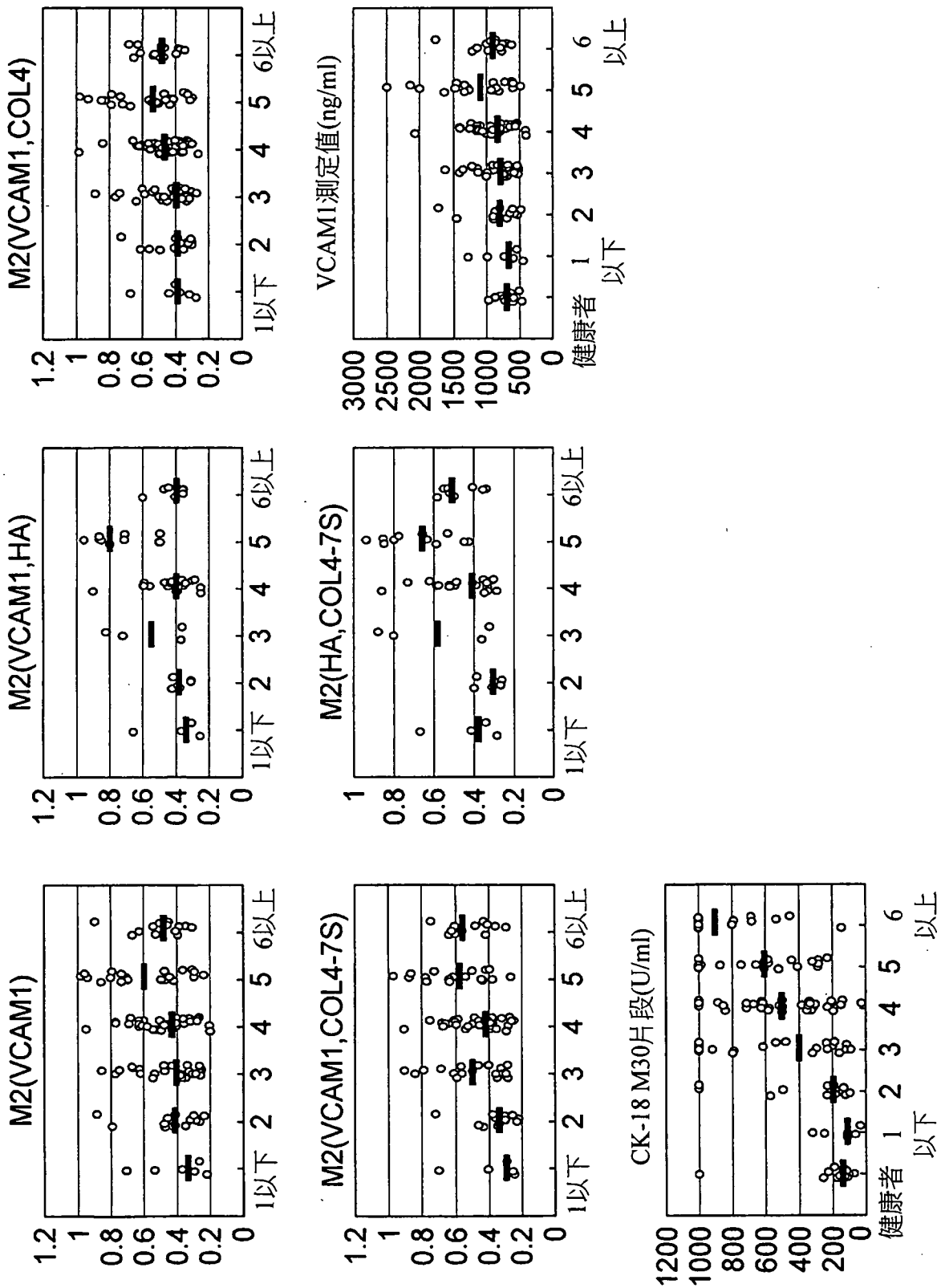


圖10

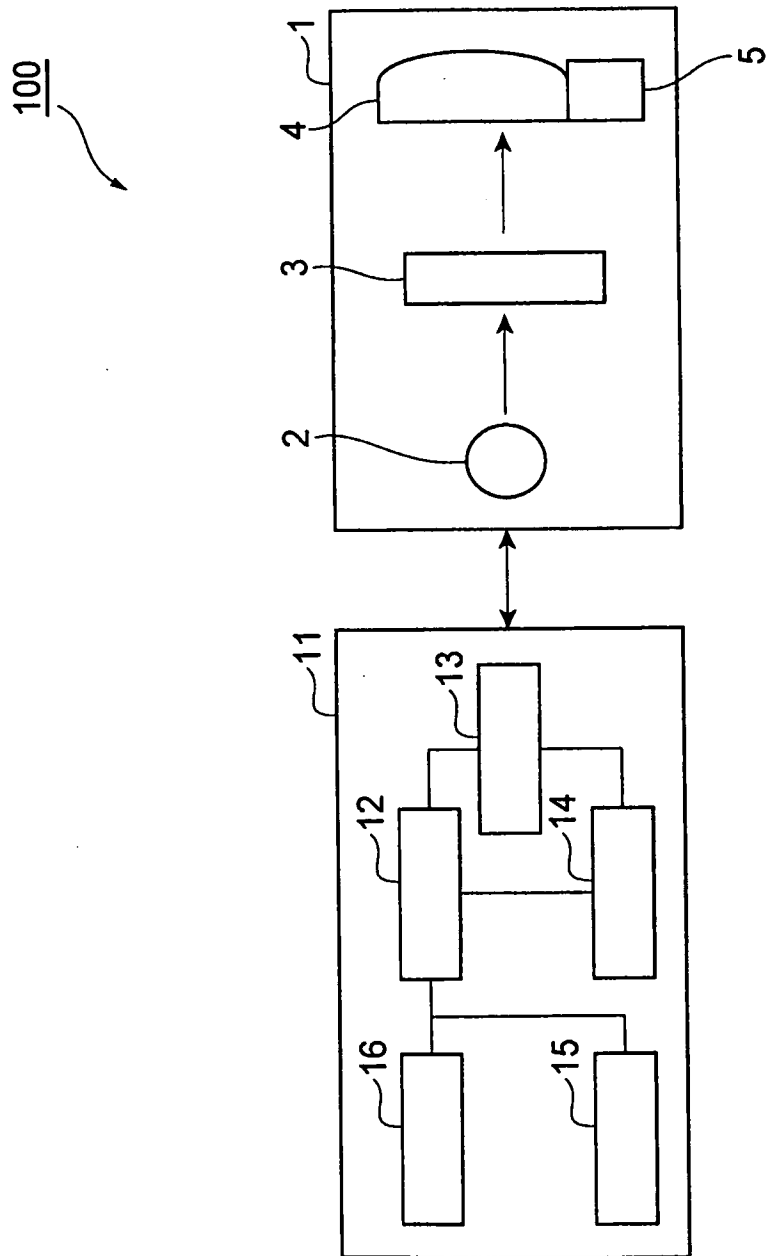


圖11

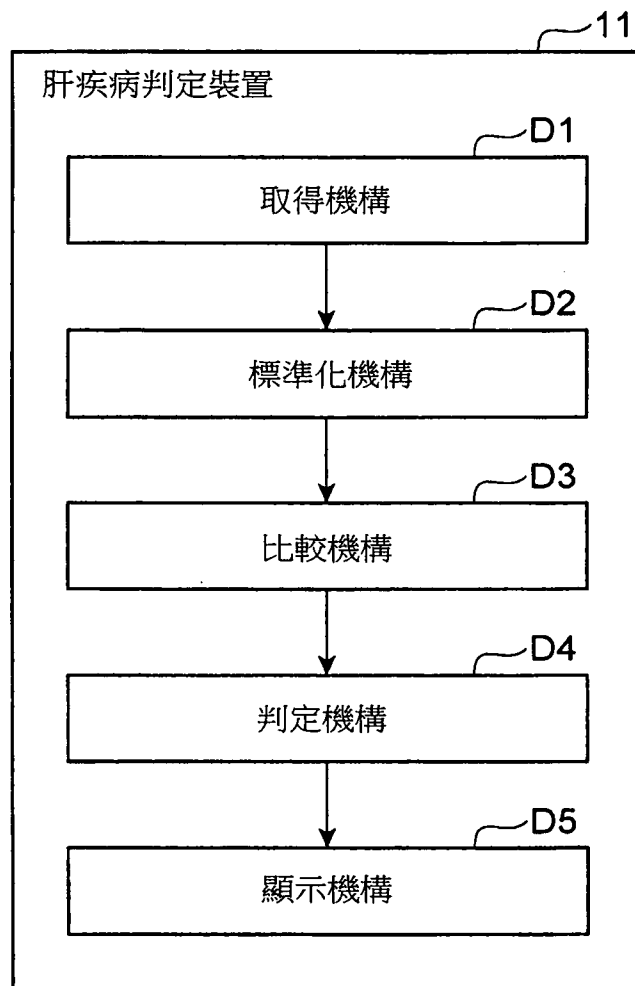


圖12

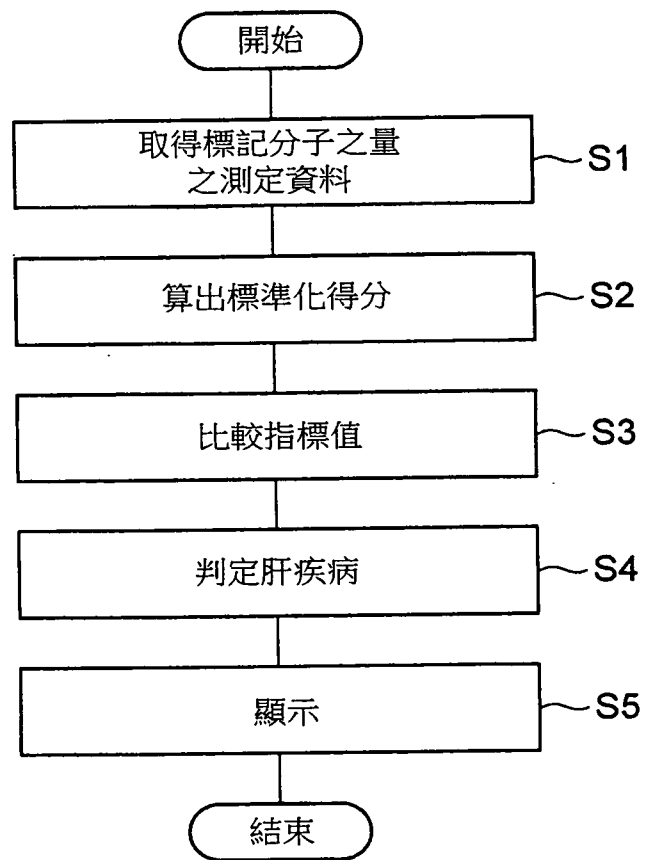


圖13

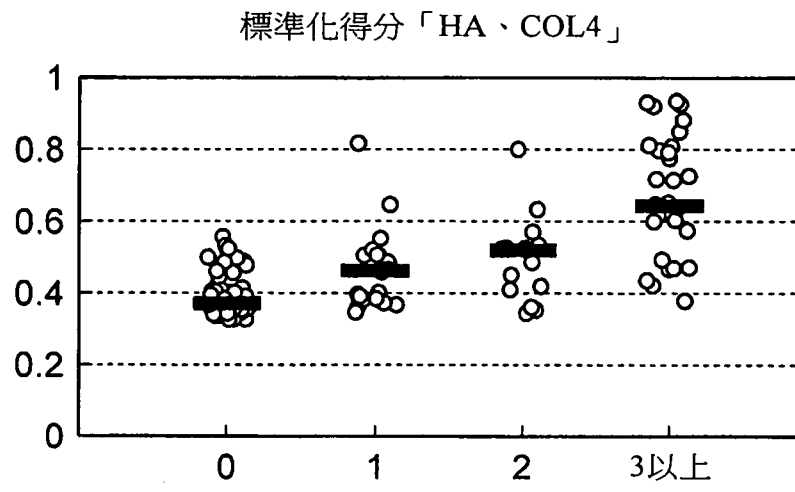


圖14

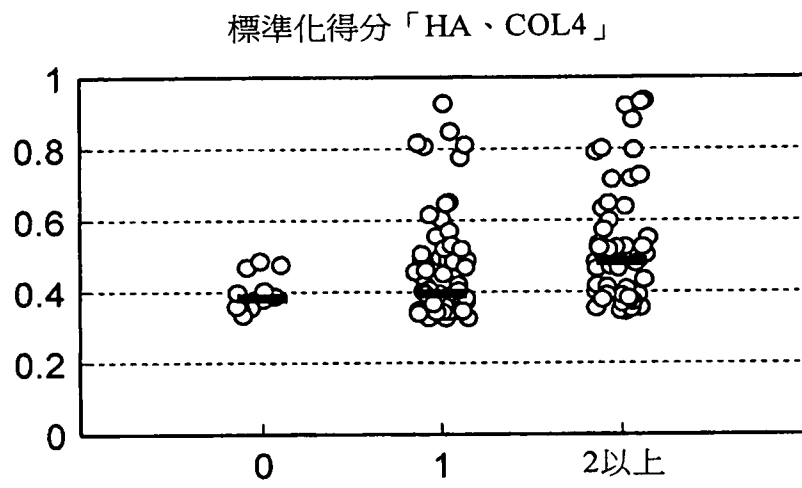


圖15

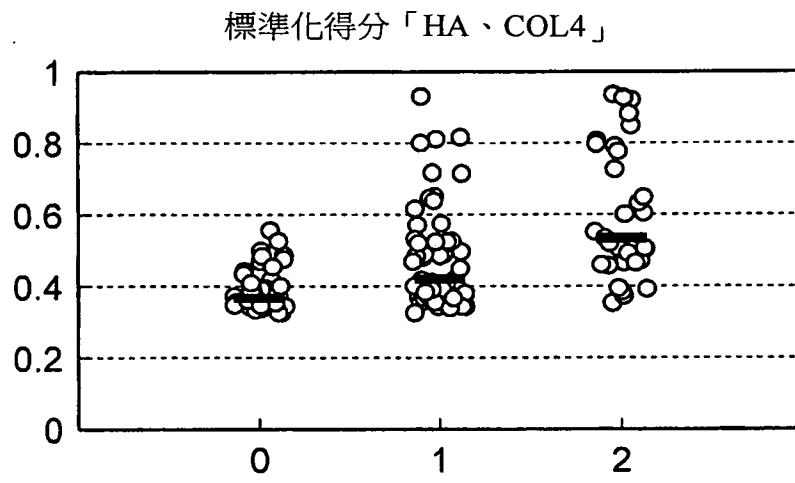


圖16

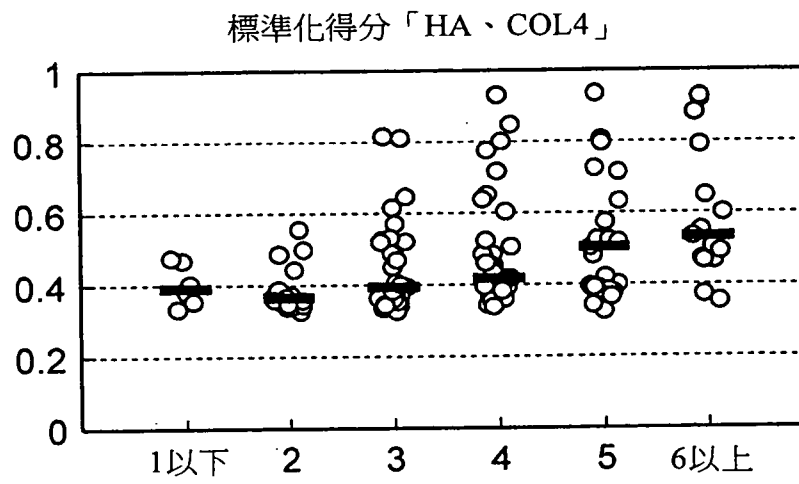


圖17