

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4822562号
(P4822562)

(45) 発行日 平成23年11月24日(2011.11.24)

(24) 登録日 平成23年9月16日(2011.9.16)

| | | | | |
|--------------|-----------|--------------|---|--|
| (51) Int.Cl. | | F I | | |
| GO 1 N 33/72 | (2006.01) | GO 1 N 33/72 | A | |
| GO 1 N 33/49 | (2006.01) | GO 1 N 33/49 | A | |
| | | GO 1 N 33/49 | Y | |

請求項の数 14 (全 18 頁)

| | | | |
|---------------|-------------------------------|-----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願2008-551542 (P2008-551542) | (73) 特許権者 | 510005889 |
| (86) (22) 出願日 | 平成19年1月19日 (2007.1.19) | | ベックマン コールター, インコーポレ イテッド |
| (65) 公表番号 | 特表2009-524069 (P2009-524069A) | | アメリカ合衆国 カリフォルニア 928 21, ブレア, エス. クレーマー ブー ルバード 250 |
| (43) 公表日 | 平成21年6月25日 (2009.6.25) | (74) 代理人 | 100078282 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US2007/060753 | | 弁理士 山本 秀策 |
| (87) 国際公開番号 | W02007/084977 | (74) 代理人 | 100062409 |
| (87) 国際公開日 | 平成19年7月26日 (2007.7.26) | | 弁理士 安村 高明 |
| 審査請求日 | 平成21年11月19日 (2009.11.19) | (74) 代理人 | 100113413 |
| (31) 優先権主張番号 | 60/760,520 | | 弁理士 森下 夏樹 |
| (32) 優先日 | 平成18年1月20日 (2006.1.20) | | |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | | |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 低ヘモグロビン濃度細胞百分率および鉄欠乏の検出における使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

血液サンプルの低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)を血液分析装置で生成する方法であって、

(a) 血液サンプルの第1のアリコート血液希釈剤と混合して、第1のサンプル混合物を形成し、前記第1のサンプル混合物を前記血液分析装置で分析し、赤血球の平均赤血球容積(MCV)および赤血球濃度(RBC)を得ること；

(b) 前記血液サンプルの第2のアリコートを試薬系と混合して、第2のサンプル混合物を形成し、前記第2のサンプル混合物を前記血液分析装置で分析し、前記血液サンプルのヘモグロビン濃度(Hgb)を得ること；

(c) 前記MCV、前記RBCおよび前記Hgbを使用して平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)を得ること；

(d) 前記MCHCの関数として前記低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)を得ること；および

(e) 前記血液サンプルの前記LHCC%を前記血液分析装置で報告することを含む方法。

【請求項2】

前記LHCC%が前記MCHCのシグモイド関数である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記LHCC%が、下記の式：

$LHCC\% = 1 / (1 + (EXP (d * (q - MCHC)))) * 100$
 (式中、dおよびqは定数である)

によって定義される、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

前記dおよびqがそれぞれ1.8および30である、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記LHCC%が、下記の式：

強調 $LHCC\% = SQRT ((1 - (1 / (1 + (EXP (d * (q - MCHC))))))) * 100$

(式中、dおよびqは定数である)

10

によって定義される強調LHCC%である、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記dおよびqがそれぞれ1.8および30である、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)が低色素性赤血球百分率と線形相関する、請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)が前記MCHCの非線形リスケーリングによって得られる、請求項1に記載の方法。

【請求項9】

20

鉄欠乏を検出する方法であって、

(a) 血液サンプルを血液分析装置で分析し、赤血球の平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)を得る工程；

(b) 前記MCHCの関数として低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)を得る工程；

(c) 前記LHCC%を所定の鉄欠乏基準と比較する工程；および

(d) 前記LHCC%が前記所定の鉄欠乏基準を満たす場合に、鉄欠乏を示すことを報告する工程

を含む方法。

【請求項10】

30

前記LHCC%が前記MCHCのシグモイド関数である、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記LHCC%が、下記の式：

$LHCC\% = 1 / (1 + (EXP (d * (q - MCHC)))) * 100$

(式中、dおよびqは定数である)

によって定義される、請求項9に記載の方法。

【請求項12】

前記dおよびqがそれぞれ1.8および30である、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

40

前記LHCC%が、下記の式：

強調 $LHCC\% = SQRT ((1 - (1 / (1 + (EXP (d * (q - MCHC))))))) * 100$

(式中、dおよびqは定数である)

によって定義される強調LHCC%である、請求項9に記載の方法。

【請求項14】

前記dおよびqがそれぞれ1.8および30である、請求項13に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

50

本願は、2006年1月20日に出願された米国仮特許出願第60/760,520号の、米国特許法第119(e)条の下での利益を主張する。米国仮特許出願第60/760,520号は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【0002】

発明の分野

本発明は、新しい診断パラメーターである低ヘモグロビン濃度細胞百分率を生成する方法、および鉄欠乏の検出において使用されるその方法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

鉄欠乏(ID)は、世界中各地で最もよく見られる単一欠乏状態である。鉄欠乏により、罹患者は肉体労働を行うことができなくなり、また、小児における成長および学習の両方が損なわれるので、鉄欠乏は経済的に重要である。

【0004】

絶対的鉄欠乏(貧血を伴う場合でも、または、貧血を伴わない場合でも)、および機能的鉄欠乏(FID)は高頻度の臨床的状态であり、これらの患者は、鉄が不足した赤血球生成を有する。絶対的鉄欠乏は、体内総鉄含有量の低下として定義される。鉄欠乏が十分に重篤であり、赤血球生成を損ない、貧血の発症を引き起こすとき、鉄欠乏性貧血(IDA)が生じる。機能的鉄欠乏は、体内の総鉄含有量が正常であるか、または上昇させているが、鉄が「閉じ込められ」、赤血球の産生のために利用できない状態を表す。この状態が、主として、血液透析を受けている慢性腎不全の患者、および慢性的炎症または慢性的感染症の患者において認められる。

【0005】

鉄の状態を、血液学的指数および生化学的指数を使用して測定することができる。鉄状態のそれぞれのパラメーターが、異なる身体鉄区画における変化を反映し、また、鉄枯渇の異なるレベルで影響を受ける。具体的な鉄測定値には、ヘモグロビン(Hgb)、平均赤血球容積(MCV)、ヘマトクリット(Hct)、赤血球プロトポルフィリン、血漿鉄、トランスフェリン、トランスフェリン飽和レベル(TSAT)、血清フェリチン(SF)、ならびに、より近年では、可溶性トランスフェリン受容体(sTfR)および赤血球分布幅(RDW)が含まれる。

【0006】

正常な鉄状態についての典型的な値は、SFが 100 ± 60 ng/mLであり、Hgbが女性については $12 \sim 17$ g/dLであり、男性については $14 \sim 19$ g/dLである。鉄欠乏性貧血についての典型的な値は、SFが 22 ng/mL未満であり、Hgbが女性については 12 g/dL未満であり、男性については 13 g/dL未満である。

【0007】

ヘモグロビン(Hgb)が、どの他の鉄状態パラメーターよりも長く使用されている。ヘモグロビンは、貧血が発症すると、鉄欠乏の重篤度の量的尺度を提供する。ヘモグロビンの測定は便利かつ簡便なスクリーニング方法であり、妊娠期間または乳児期でのように、鉄欠乏の罹患率が高いときには特に有用である。ヘモグロビンを鉄状態の尺度として使用することの限界は、(様々な要因、例えば、ビタミンB₁₂欠乏症または葉酸欠乏症、遺伝的障害および慢性的感染症などにより、赤血球生成が制限され得るので)ヘモグロビンには特異性がないことであり、また、正常集団と、鉄欠乏集団との間での値における著しい重なりのために、ヘモグロビンは相対的に感度がないことである。鉄欠乏性貧血を特定するために、ヘモグロビンは鉄状態のより選択的な測定値と一緒に測定される。

【0008】

平均赤血球容積(MCV)における低下が、鉄欠乏が重篤になり、ほぼ同時に、貧血が発症し始めるときに生じる。平均赤血球容積は、サラセミアおよび慢性的疾患の貧血が除外されると、鉄欠乏のかなり特異的な指標である。 80 fLのカットオフ値が、成人における正常の下限として許容される。Technicon血液分析装置(これは赤血球の光

10

20

30

40

50

学的測定を使用する)で測定されたとき、鉄欠乏の血液サンプルが、低下した平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)および平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)を有することが報告されている。しかしながら、インピーダンスに基づく血液分析装置(例えば、Coulter装置またはSysmex装置など)によって測定されたときには、MCHCは鉄欠乏について感度がなく、しかし、より特異的である(Bain, B. J., Blood Cells, A Practical Guide、第2版、Blackwell Science Ltd., 1995年、第8章、197~199頁)。赤血球分布幅(RDW)が、近年では、貧血の分類のために他のパラメーターとの組合せで使用されている。赤血球分布幅は赤血球のサイズにおける変動を反映しており、赤血球不同症の微妙な程度を検出するために使用することができる。

10

【0009】

最も一般的に使用される鉄状態パラメーターは現在、トランスフェリン飽和(TSAT)および血清フェリチン(SF)である。しかしながら、これらはともに、鉄状態の間接的な尺度である。トランスフェリンは、トランスフェリンが鉄を貯蔵部位から赤芽球前駆体に輸送する、2つの鉄結合部位を含有する輸送タンパク質である。TSAT(すなわち、鉄によって占められる総結合部位の割合)は、赤血球生成のために利用可能である鉄の尺度である。TSATは、血清鉄を総鉄結合能(TIBC)(循環トランスフェリンの測定値)により除し、100を乗じることによって計算される。フェリチンは、主に細網内皮系内に含有される貯蔵タンパク質であり、若干量が血清に放出される。鉄過剰の状態のもとでは、フェリチンの産生が、血漿中の鉄における増大を打ち消すために増大する。したがって、血清中のフェリチンのレベルは、貯蔵されている鉄の量を反映する。

20

【表A】

腎臓病予後改善機構(K/DOQI(U. S. A))による機能的鉄欠乏(FID)および絶対的鉄欠乏(AID)の定義

| | | |
|-----------------------|------|---------|
| フェリチン $\mu\text{g/L}$ | <100 | 100-800 |
| TSAT <20% | AID | |
| TSAT <20% | | FID |

30

【0010】

慢性腎臓病の患者については、絶対的鉄欠乏が、TSATが20%未満であり、SFが100ng/ml未満であるときに診断されることがある。機能的鉄欠乏は、鉄状態パラメーターが適切な鉄貯蔵を示すことがあるので、診断することがより困難である場合がある。FIDを定義する際には様々な基準があり、それらの1つが、上記の表に示されるように、腎臓病予後改善機構(K/DOQI)によって発表され(Eknoyan G.ら、Continuous quality improvement: DOQIはK/DOQIになる)、更新される(米国腎臓病財団:透析療法予後改善機構、Am J Kidney Dis., 2001年1月、第37巻(1号)、179~194頁; Anemia Management in Chronic Kidney Disease: Role of Factors Affecting Epoetin Responsiveness, ESCHBACH, J., J Am Soc Nephrol, 第13巻、1412~1414頁、2002年)。

40

【0011】

トランスフェリン飽和を使用することの限界は、血清鉄の限界、すなわち、広い日周変動および低い特異性を反映する。TSATもまた、炎症性疾患では低下する。トランスフェリン飽和は、鉄状態の他の指標と組み合わせられた集団研究では一般に使用される。他方で、フェリチンは急性期の反応物であるので、その血清レベルは、慢性的炎症、感染、悪性腫瘍および肝臓疾患が存在する場合には上昇することがある。アルコールの消費もまた、血清フェリチンを独立して上昇させることが示唆されている。

50

【 0 0 1 2 】

近年、鉄欠乏および機能的鉄欠乏の検出において有用性を有するいくつかの新しい赤血球パラメーターおよび網状赤血球パラメーターが報告されている。これらのパラメーターのうち2つが、Bayer ADVIA 120血液分析装置によって報告される低色素性赤血球百分率（これは% Hypoとして示される）およびCHr（網状赤血球ヘモグロビン含有量）である（非特許文献1）。低色素性赤血球百分率は、28g/dL未満のヘモグロビン濃度を有する赤血球の割合として定義される。

【 0 0 1 3 】

網状赤血球は、寿命がわずかに1日～2日にすぎない未成熟な赤血球である。これらが最初に骨髄から放出されるとき、そのヘモグロビン含有量の測定により、赤血球生成のために直ちに利用可能である鉄の量が提供され得る。これらの網状赤血球における正常未満のヘモグロビン含有量は、要求に対する不十分な鉄供給を示すものである。これらの網状赤血球におけるヘモグロビンの量はまた、成熟赤血球におけるヘモグロビンの量に対応する。CHrは、近年では数多くの研究において、鉄欠乏および機能的鉄欠乏についての検査として評価されており、非常に高感度かつ特異的であることが見出されている。しかしながら、正確な閾値は、閾値が、研究室および使用された装置に依存して変動するので、確立されていない。

10

【 0 0 1 4 】

エリスロポイエチンは、赤血球の産生を刺激することにおいて効果的であり、しかし、ヘモグロビンに結合するための十分な鉄供給がない場合、赤血球は低色素性になる（すなわち、ヘモグロビン含有量が低くなる）。したがって、鉄欠乏の状態では、骨髄を離れる赤血球の著しい割合が低いヘモグロビン含有量を有する。ヘモグロビン含有量が28g/dL未満である赤血球の割合を測定することによって、鉄欠乏を検出することができる。10%を越える% Hypoは鉄欠乏と相関しており、したがって、鉄欠乏を検出するための診断基準として使用されている（非特許文献2）。

20

【 0 0 1 5 】

% Hypoは、光学的な細胞毎のヘモグロビン測定に基づくいくつかのBayer血液分析装置での報告されるパラメーターである。% Hypoは、新鮮な全血サンプル（採血後4時間未満）を使用して測定されなければならない。貯蔵したとき、または、サンプルが古くなると、赤血球の膨潤のために、% Hypo報告の誤った増大がもたらされる（非特許文献3）。

30

【 0 0 1 6 】

% HypoおよびCHrに相関する2つの他のパラメーターが近年には報告されており、これらは、Sysmex XE-2100血液分析装置によって報告されるRBC-YおよびRet-H_eである（非特許文献4；および非特許文献5）。RBC-Yは成熟赤血球集団内の前方光散乱ヒストグラムの平均値であり、Ret-H_eは、Sysmex XE-2100血液分析装置での網状赤血球測定で得られる網状赤血球集団内の前方光散乱ヒストグラムの平均値である。

【 0 0 1 7 】

最も近年には、赤血球パラメーターならびに網状赤血球パラメーターのいくつかの関数が、鉄欠乏の検出において有用であるとSimon-Lopezによって同時係属中の米国特許出願第11/524,682号に開示されている。これらには、MCVおよびMRVの積関数として定義されるRBCサイズ関数(RSf)、MCVおよびHgbの積関数として定義される容積-ヘモグロビン因子(VHf)、MCV、HgbおよびRDWの積関数として定義される容積-ヘモグロビン/分布因子(VHDWf)が含まれる。

40

【非特許文献1】Thomasら、Biochemical Markers and Hematologic Indices in the Diagnosis of Functional Iron Deficiency、Clinical Chemistry、第48巻、7号、1066～1076頁、2002年

【非特許文献2】Revised European Best Practice G

50

uidelines for the Management of Anaemia in Patients With Chronic Renal Failure, Locatelli, F.ら、Nephrology and Dialysis Transplantation、第19巻、2004年5月(増刊第2号)、ガイドラインIII.2、ii22~24頁

【非特許文献3】Revised European Best Practice Guidelines for the Management of Anaemia in Patients With Chronic Renal Failure, Locatelli, F.ら、Nephrology and Dialysis Transplantation、第19巻、2004年5月(増刊第2号)、付録B、ii39~41頁

10

【非特許文献4】Machin S. J.ら、Functional Iron Deficiency and New Red Cell Parameters on the Sysmex XE-2100、ISLH 2001 Industry-Sponsored Workshops, ISLH XIVth International Symposium、2001年

【非特許文献5】Thomas, C.ら、Anemia of Chronic Disease: Pathophysiology and Laboratory Diagnosis, Laboratory Hematology、2005年、11号、14~23頁

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0018】

CHrおよび%HypoはBayer社の血液分析装置で提供されるだけであることが認識されている。したがって、この情報は多くの臨床研究室および病院のために利用することができない。鉄欠乏を、既知のパラメータ(例えば、CHrおよび%Hypoなど)に対する匹敵する臨床的正確性、感度および特異性をもって鉄欠乏を検出するための新しい診断指標を開発することが求められている。

【課題を解決するための手段】

【0019】

30

発明の要旨

1つの実施形態において、本発明は、低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)を血液分析装置で生成する方法に関する。この方法は、血液サンプルの第1のアリコート血液希釈剤と混合して、第1のサンプル混合物を形成し、第1のサンプル混合物を血液分析装置で分析し、赤血球の平均赤血球容積(MCV)および赤血球濃度(RBC)を得ること；血液サンプルの第2のアリコート試薬系と混合して、第2のサンプル混合物を形成し、第2のサンプル混合物を血液分析装置で分析し、血液サンプルのヘモグロビン濃度(Hgb)を得ること；得られたMCV、RBCおよびHgbを使用して平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)を得ること；得られたMCHCを使用して低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)を得ること；および血液サンプルのLHCC%を血液分析装置で報告することを含む。

40

【0020】

1つの実施形態において、LHCC%は、 $LHCC\% = 1 / (1 + (EXP(d * (q - MCHC)))) * 100$ (式中、dおよびqは定数である)の式によって定義されるシグモイド関数である。1つの例示的な実施形態において、dおよびqがそれぞれ1.8および30である。別の実施形態において、強調LHCC%が提供され、これは、 $LHCC\% = SQR T((1 - (1 / (1 + (EXP(d * (q - MCHC)))))) * 100$ (式中、dおよびqは定数である)の式によって定義される。

【0021】

さらなる実施形態において、本発明は、鉄欠乏の検出において%Hypoと類似する診

50

断能を両方が有するLHCC%または強調LHCC%を使用して鉄欠乏を検出する方法に関する。1つの実施形態において、この方法は、血液サンプルを血液分析装置で分析し、赤血球のMCHCを得る工程；MCHCのシグモイド関数として定義されるLHCC%を得る工程；LHCC%を所定のLHCC%鉄欠乏基準と比較する工程；およびLHCC%が所定のLHCC%鉄欠乏基準を満たす場合に、鉄欠乏を示すことを報告する工程を含む。

【0022】

本発明の利点が、本発明の例示的な実施形態を示す添付された図面と併せて理解される下記の説明から明らかになる。

【発明を実施するための最良の形態】

10

【0023】

発明の詳細な説明

本発明は、新しい診断パラメータである低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)、および鉄欠乏の検出のために使用される方法を提供する。

【0024】

本明細書中で使用される鉄欠乏の用語は、絶対的鉄欠乏および機能的鉄欠乏(FID)を包含する。絶対的鉄欠乏は、文献ではしばしば鉄欠乏として示され、低下した総鉄身体含有量として定義される。鉄欠乏が十分に重篤であり、赤血球生成を損ない、貧血の発症を引き起こすとき、鉄欠乏性貧血(IDA)が生じる。潜在性の鉄欠乏は、鉄欠乏が存在し、しかし、未だ貧血が存在しないことを示す。他方で、機能的鉄欠乏では、身体 20の総鉄含有量が正常であるか、または上昇さえしており、しかし、鉄が赤血球の産生のために利用できない状態が規定される。この状態が、主として、血液透析を受けている慢性腎不全の患者において認められる。潜在性の機能的鉄欠乏は機能的鉄欠乏の前貧血状態を示す。上記で記載されたように、鉄欠乏の異なる形態を有する個体は、鉄が不足した赤血球生成の異なる程度を有する。

20

【0025】

1つの態様において、本発明は、血液サンプルの低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)を血液分析装置で生成する方法を提供する。

【0026】

1つの実施形態において、低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)は、下記の式 30

$$LHCC\% = 1 / (1 + (EXP(d * (q - MCHC)))) * 100$$

(式中、dおよびqは定数である)

によって定義される平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)のシグモイド関数である。

1つの例示的な実施形態において、dおよびqがそれぞれ1.8および30である。

【0027】

平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)は、赤血球あたりのヘモグロビン濃度としてもまた示され、 $MCHC = (Hgb / (RBC * MCV)) * 1000$ (式中、Hgbは血液サンプルの総ヘモグロビン濃度であり、RBCは一般に赤血球数と呼ばれる血液サンプルにおける赤血球濃度である)の式によって定義される。自動化血液分析装置では、本明細書中下記で詳しく記載されるように、RBCおよびMCVが典型的には、希釈された血液サンプルから測定され、Hgbが、溶解されたサンプル混合物を使用して測定される。MCHCが、これらの直接に測定されたパラメータから導かれる。そのうえ、MCHCは、細胞を溶解することなく、赤血球容積測定、および個々の赤血球のヘモグロビンの光学的な細胞毎のヘモグロビン測定によって得ることができる。本発明の目的のために、MCHCは、いずれかの方法を使用して得ることができる。

40

【0028】

上記で記載されたように、低色素性赤血球百分率(%Hypo)は、28g/dL未満のヘモグロビン濃度を有する赤血球の割合として定義される。これらの赤血球は、Bayer社の血液分析装置での個々の赤血球のヘモグロビンの光学的な細胞毎のヘモグロビン 50

測定によって検出される。%Hypoは、鉄欠乏を検出するための有効な診断基準として使用されている。5%未満の%Hypoが正常と見なされる。2つの異なる基準、より具体的には、5%を越える%Hypo、および10%を越える%Hypoが使用されている。10%を越える%Hypoが、絶対的鉄欠乏および機能的鉄欠乏を規定するためにより一般に使用されている(Revised European Best Practice Guidelines for the Management of Anaemia in Patients With Chronic Renal Failure、Locatelli, F.ら、Nephrology and Dialysis Transplantation、第19巻、2004年5月(増刊第2号)、付録B、ii39~41頁)。

10

【0029】

図1Aは、血液サンプルの赤血球内または赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)の分布を例示する。示されるように、血液サンプルにおける赤血球の赤血球ヘモグロビン濃度は典型的にはガウス分布を有し、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)がガウス曲線の中心に存在する。示されるように、低色素性赤血球がガウス曲線の左側テール部に分布する。

【0030】

MCHCの低下が鉄欠乏と関連づけられていると以前から報告されているが、しかしながら、一般には、MCHCは、赤血球ヘモグロビン含有量における変化に対して不感性であると見なされている。新しい診断指標を、それらの容易に得ることができる血液学パラメーターに基づいて開発する際の長年にわたって感じられた必要性にもかかわらず、MCHCは、鉄欠乏を検出するための臨床的な診断基準として使用されていない。

20

【0031】

本明細書中下記の実施例において記載されるように、Coulter LH750血液分析装置およびBayer ADVIA 120血液分析装置でそれぞれ分析された247個の臨床での全血サンプルを伴う研究において、驚くべきことに、MCHCが、鉄欠乏を検出するための%Hypoと類似した診断能を有すること、すなわち、鉄欠乏の血液サンプルを正常な血液サンプルから識別することが見出されている。

【0032】

実施例において記載されるように、MCHCの受信者動作特性(ROC)分析が、10%以上の%Hypoを、正常および鉄欠乏を分類するための基準として使用して247個の血液サンプルに対して行われた。より具体的には、10%を越える%Hypoを有する105個のサンプルが鉄欠乏または陽性として特定され、10%以下の%Hypoを有する142個のサンプルが正常または陰性として特定された。得られたROC曲線が図2に示され、統計学的データが、AUC、標準誤差(SE)、p値および95%信頼区間を含めて、表1に示される。

30

【0033】

図2において、y軸には、感度(真陽性率)がプロットされ、x軸には、100-特異性(偽陽性率)がプロットされる。識別が完全である試験は、真陽性率が100%である場合(完全な感度)、左上隅を通過するROC曲線を有する。識別が全くない試験についての理論的曲線は、左下隅から右上隅までの45°の対角線である。曲線が左上隅に接近するほど、試験の全体的な正確性が大きくなる。そのうえ、ROC曲線下面積(AUC)もまた、診断試験の臨床的正確性の一般的な尺度である。AUCの値およびROC曲線により、MCHCが、鉄欠乏の血液サンプルを正常な血液サンプルから区別することにおいて%Hypoと類似する診断能を有したことが示された。

40

【0034】

しかしながら、他方で、図3Aおよび図3Bに示されるように、MCHCは%Hypoとの線形相関を有していない。図3Bに示されるように、MCHCは%Hypoに対して非線形のS字型相関を有する。そのようなものとして、異常の範囲において、すなわち、10%から約75%の%Hypoの範囲において、MCHC値は患者の低色素性レベルま

50

たは疾患の程度を反映していない。そのうえ、正常な血液サンプルおよび異常な血液サンプルのMCHC値がかなり狭い範囲で変化することを容易に認めることができる。示されるように、これらの247個の血液サンプルは0%から約75%までの広い%Hypo範囲を有し、一方、これらのサンプルのMCHC値は約25g/dLから約36g/dLまで変化するにすぎない。数値的分解能および線形相関がないことにより、臨床家がこのパラメーターを診断指標として理解し、使用することが困難になっている。

【0035】

本発明の低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)は、鉄欠乏を検出することにおけるMCHCの診断能を依然として維持して、MCHCの上記で記載された不完全さを解決するために開発される。

10

【0036】

上記で記載されたように、血液サンプルにおける赤血球の赤血球ヘモグロビン濃度は典型的にはガウス分布を有する。ガウス曲線の左テール部の積分値が、低ヘモグロビン濃度を有する赤血球の割合を表し、この積分値はS字型の曲線として現れる。シグモイド関数は直線関係をS字型の曲線に変換することができること、または、逆に、シグモイド関数はまた、S字型の曲線をその変換により直線関係に戻すことができることが知られている。本発明の1つの実施形態において、シグモイド関数が、MCHCと%Hypoの関係をシミュレーションするために、また、%Hypoと線形に相関するMCHCの関数を作成するために利用されている。

【0037】

20

図4Aは、これらの247個の臨床での全血サンプルの得られたLHCC%(MCHCのシグモイド関数)対%Hypoを示す。示されるように、LHCC%は%Hypoと実質的に線形に相関する。そのようなものとして、数学的には、MCHCのこのシグモイド関数は、図1Bに示されるように、血液サンプルの低ヘモグロビン濃度赤血球の割合を反映する。換算係数を適用することによって、このシグモイド関数は百分率で表され、したがって、低ヘモグロビン濃度細胞百分率(LHCC%)として示される。

【0038】

LHCC%を定義する式において、dおよびqの定数は、異なる製造者により製造された異なる血液分析装置で得られたMCHCに依存して変化し得ることは特筆される。異なる血液分析装置で得られたMCHCが、使用された検出方法および試薬に依存して、ある範囲で変化することが知られている。本明細書中に記載されるdおよびqの値は本発明の限定として解釈してはならない。

30

【0039】

非直線関係を上記で記載される直線関係に変換するプロセスは数学的には非線形リスケーリングと呼ばれる。シグモイド関数に加えて、他の好適な数学的関数(例えば、タンジェントおよびアークタンジェントなど)もまた、S字型の関係を直線関係に変換するために使用することができ、したがって、これらもまた、本発明の目的のために使用することができる。

【0040】

さらなる実施形態において、本発明は、下記の式：
 強調 $LHCC\% = SQR T \left(\left(1 - \left(1 / \left(1 + \left(EXP \left(d * \left(q - MCHC \right) \right) \right) \right) \right) \right) * 100 \right)$
 (式中、dおよびqは定数である)
 によって定義される強調LHCC%を提供する。1つの例示的な実施形態において、dおよびqがそれぞれ1.8および30である。

40

【0041】

強調LHCC%を定義する式において、標準的なシグモイド関数に加えて、平方根が、比較的低い値のLHCC%を有する血液サンプルの中での、正常と、異常との区別を改善するために、%Hypoの下端に対応する領域における数値的分解能をさらに高めるために適用される。

50

【 0 0 4 2 】

図 4 B は、これらの 2 4 7 個の臨床での全血サンプルの強調 L H C C % (M C H C のシグモイド関数) 対 % H y p o を示す。示されるように、強調 L H C C % は % H y p o と実質的に線形に相関する。そのうえ、% H y p o の下端に対応する領域における数値的分解能が実質的に増大している。示されるように、垂直軸の下端において、強調 L H C C % 値の緩やかな増大を明瞭に認めることができる。

【 0 0 4 3 】

L H C C % を血液分析装置で生成する方法に関して、1 つの例示的な実施形態において、この方法は、(a) 血液サンプルの第 1 のアリコート血液希釈剤と混合して、第 1 のサンプル混合物を形成し、第 1 のサンプル混合物を血液分析装置で分析し、赤血球の平均赤血球容積 (M C V) および赤血球濃度 (R B C) を得る工程；(b) 血液サンプルの第 2 のアリコート試薬系と混合して、第 2 のサンプル混合物を形成し、第 2 のサンプル混合物を血液分析装置で分析し、血液サンプルのヘモグロビン濃度 (H g b) を得る工程；(c) 得られた M C V 、 R B C および H g b を使用して平均赤血球ヘモグロビン濃度 (M C H C) を得る工程；(d) M C H C の関数として低ヘモグロビン濃度細胞百分率 (L H C C %) を得る工程；および (e) 血液サンプルの L H C C % を血液分析装置で報告する工程を含む。

【 0 0 4 4 】

血液分析装置での赤血球の測定において、血液サンプルは典型的には、サンプルチャンパーまたはサンプルバスにおいて希釈剤により実質的に希釈される。非収束型フローアパーチャーを用いたインピーダンス測定を使用する場合、血液サンプルは、例えば、6 2 5 0 : 1 の希釈比率により高度希釈され得る。非収束型フローセルが測定のために使用されるとき、希釈比率は実質的に小さくすることができる (例えば、2 9 0 : 1 など)。赤血球の容積および形態を血液分析装置でのその測定の期間中に維持するために、等張性の希釈剤が、血液サンプルを希釈するために使用される。典型的には、希釈剤は 1 つまたは複数のアルカリ金属塩を含有する。市販されている様々な等張性の血液希釈剤を、血液サンプルを希釈するために使用することができる。好適な例には、米国特許第 4 , 5 2 1 , 5 1 8 号、同第 4 , 5 2 8 , 2 7 4 号、同第 5 , 9 3 5 , 8 5 7 号および同第 6 , 7 0 6 , 5 2 6 号に記載される希釈剤が含まれるが、これらに限定されない。

【 0 0 4 5 】

導電性溶液に懸濁された粒子または血液細胞がフローセルまたはアパーチャーを通過するとき、電気的シグナル、すなわち、パルスインピーダンスの増大のために測定することができる。このような電気的パルスが、血液サンプルの血液細胞の数を計数するために使用されている。他方で、パルスの形状、高さおよび幅は粒子の容積またはサイズに直接に関係づけられ、測定された細胞の容積に転換することができる。異なる容積を有する 2 つ以上の異なる血液細胞を含有するサンプルが測定されるとき、測定から得られるヒストグラムはこれらの血液細胞の容積分布を表すことができる。D C インピーダンス測定デバイスを備える血液分析計による血液細胞の計数およびサイズ分類のために使用される検出方法および装置が、米国特許第 2 , 6 5 6 , 5 0 8 号、同第 3 , 8 1 0 , 0 1 1 号および同第 5 , 1 2 5 , 7 3 7 号 (これらは本明細書によりその全体が参考として組み込まれる) に概略的に記載される。本明細書中において、表現「血液細胞のサイズ分類」は細胞容積の測定を示す。

【 0 0 4 6 】

あるいは、小角度光散乱測定もまた、血液細胞の計数およびサイズ分類のために使用することができる。本明細書中において、用語「小角度光散乱」は、入射光から 1 0 ° 未満の範囲で測定される光散乱シグナルを示す。

【 0 0 4 7 】

細胞容積の測定では、細胞容積分布ヒストグラムが得られる。赤血球の測定について、得られたヒストグラムは赤血球分布ヒストグラムと呼ばれる。正常な血液サンプルについては、狭い十分に規定された赤血球分布 (典型的には、ガウス分布) が得られる。臨床的

10

20

30

40

50

に異常な血液サンプルについては、分布の様々な乱れが観測されている（例えば、高容積側または低容積側のいずれかへの分布の変化、非対称な分布、高容積側または低容積側のいずれかあるいは両側での集団拡大など）。平均赤血球容積（M C V）および赤血球分布幅（R D W）が赤血球分布ヒストグラムから計算される。

【 0 0 4 8 】

血液サンプルの総ヘモグロビン濃度（H g b）が典型的には、血液サンプルのアリコート溶解試薬と混合することによって、自動化された血液分析装置で測定される。溶解試薬にさらしたとき、赤血球は完全に溶解され、ヘモグロビンがサンプル混合物に放出され、その後、ヘモグロビンは、溶解試薬におけるリガンドと反応したとき、クロモゲンを形成する。ヘモグロビンのクロモゲンがその後、所定の波長でU V - V I S分光法によって測定され、H g bが測定値から計算される。H g bを測定するために好適である1つの溶解試薬系は、等張性の血液希釈剤（例えば、米国特許第4,521,518号、同第4,528,274号、同第5,935,857号および同第6,706,526号に記載される希釈剤など）、および溶解試薬（例えば、米国特許第5,763,280号、同第5,834,315号および同第6,573,102号に記載される溶解試薬など）を含む（これらの特許は本明細書によりその全体が参考により組み込まれる）。あるいは、試薬系はまた、米国特許第5,882,934号（これは本明細書によりその全体が参考により組み込まれる）に記載されるような単一の溶解試薬であることが可能である。そのうえ、ヘモグロビンを測定するためにこの分野で知られている様々な溶解試薬を本発明の目的のために使用することができる。

【 0 0 4 9 】

C o u l t e r L H 7 5 0血液分析装置またはG E N * S血液分析装置（B e c k m a n C o u l t e r , I n c . , F u l l e r t o n , C A）では、血液サンプルの複数のアリコートが、異なる分析モードで同時に分析される。C B Cモードでは、血液サンプルの第1のアリコートが希釈剤によって希釈されて、第1のサンプル混合物を形成し、赤血球および血小板がこの第1のサンプル混合物から測定される。同時に、血液サンプルの第2のアリコートが希釈剤および溶解試薬と混合されて、第2のサンプル混合物を形成し、ヘモグロビン濃度が、この第2のサンプル混合物を使用して測定される。とりわけ、様々な赤血球パラメーターがこれらの測定値から報告され、それらには、赤血球濃度（R B C）、平均赤血球容積（M C V）、総ヘモグロビン濃度（H g b）、平均赤血球ヘモグロビン量（M C H）および平均赤血球ヘモグロビン濃度（M C H C）などが含まれる。これらの血液分析装置では、M C H Cが、M C V、R B CおよびH g bから計算される。

【 0 0 5 0 】

さらなる態様において、本発明は、鉄欠乏を、上記で定義されるL H C C %または強調L H C C %を使用して検出する方法を提供する。

【 0 0 5 1 】

より具体的には、この方法は、（a）血液サンプルを血液分析装置で分析し、血液サンプルのM C H Cを得る工程；（b）得られたM C H Cを使用してL H C C %または強調L H C C %を得る工程；（c）L H C C %または強調L H C C %を所定の鉄欠乏基準と比較する工程；および（d）L H C C %または強調L H C C %が所定の鉄欠乏基準を満たす場合に、鉄欠乏を示すことを報告する工程を含む。

【 0 0 5 2 】

本明細書中に記載される所定の鉄欠乏基準はまた、本明細書中下記に記載される実施例において使用されるように、臨床的状態の診断のためのカットオフ値と一般に呼ばれることは特筆される。例えば、所定の鉄欠乏基準では、L H C C %がL H C C %についてのカットオフ値よりも大きいならば、鉄欠乏が規定される。そのようなものとして、所定の鉄欠乏基準はそれぞれの関数に対して特異的である。例えば、所定の鉄欠乏基準は、所定のL H C C %鉄欠乏基準または所定の強調L H C C %鉄欠乏基準として示すことができる。

【 0 0 5 3 】

実施例ではさらに、% H y p oとの比較で、鉄欠乏を検出するための上記で定義される

L H C C % および強調 L H C C % を使用する本発明の方法が例示される。本研究では、247個の臨床での全血サンプルの L H C C % 値および強調 L H C C % 値が、C o u l t e r L H 7 5 0 血液分析装置から報告された M C H C を使用して計算された。この場合、L H C C % が、 $L H C C \% = 1 / (1 + (E X P (1 . 8 * (3 0 - M C H C)))) * 1 0 0$ の式によって定義され、強調 L H C C % が、 $L H C C \% = S Q R T ((1 - (1 / (1 + (E X P (1 . 8 * (3 0 - M C H C))))))) * 1 0 0$ の式によって定義された。

【 0 0 5 4 】

図 4 A および図 4 B に例示されるように、得られた L H C C % 値および強調 L H C C % 値は、% H y p o の比較可能な範囲で、0 から 1 0 0 % の間に分布し、また、% H y p o と実質的に線形に相関する。

10

【 0 0 5 5 】

図 4 B に示されるように、正常な血液サンプルの大多数が 0 % から約 2 7 % の強調 L H C C % 値を有し、鉄欠乏サンプルの大多数が約 2 7 % から 1 0 0 % の広い範囲での強調 L H C C % 値を有する。改善された数値的分解能により、強調 L H C C % は、臨床家が鉄欠乏サンプルを認識するために便利である。理解され得るように、低色素性赤血球の割合とのその実質的に線形の相関、および鉄欠乏サンプルについての広い分布範囲のために、この指数は、潜在的には患者の低色素性レベルを反映する場合があります。また、血色素減少症の重篤度を決定することを助けるために利用される場合がある。

【 0 0 5 6 】

20

鉄欠乏を検出するための L H C C % および強調 L H C C % の臨床的正確性が、実施例において記載されるようなこれらの 2 4 7 個の臨床での全血サンプルの R O C 分析を使用して評価される。図 5 A および図 5 B は L H C C % および強調 L H C C % の R O C 曲線をそれぞれ示す。表 1 は L H C C % の R O C 分析の統計学的分析結果を示す。示されるように、A U C が L H C C % については 0 . 9 6 2 であり、このことは、L H C C % が % H y p o と非常に相関することを示している。A U C の値および R O C 曲線は、L H C C % が、鉄欠乏を検出することにおいて % H y p o と類似する診断能を有することを示している。7 . 4 5 のカットオフを用いた場合、L H C C % は 9 3 . 3 % の感度および 9 0 . 1 % の特異性を有する。

【 0 0 5 7 】

30

図 5 B に示されるように、強調 L H C C % についての R O C 曲線は L H C C % の R O C 曲線と同じである。強調 L H C C % の R O C 分析の統計学的分析結果は、表 1 に示される L H C C % について得られた統計学的分析結果と同じである。2 7 . 3 % のカットオフを用いた場合、強調 L H C C % は 9 3 . 3 % の感度および 9 0 . 1 % の特異性を有する。このことは、L H C C % および強調 L H C C % がともに、鉄欠乏を検出することについて同じ臨床的正確性を有すること、また、両者が、鉄欠乏を検出することにおいて % H y p o と類似する診断能を有することを意味する。

【 0 0 5 8 】

上記から理解され得るように、L H C C % および強調 L H C C % はともに、血液サンプルの低ヘモグロビン濃度赤血球の割合を直線的に表すことができるので、L H C C % および強調 L H C C % はともに、M C H C の診断能を改善している。

40

【 0 0 5 9 】

そのうえ、上記で記載されるように、図 4 B において垂直軸の下端で示されるように、強調 L H C C % 値の緩やかな増大を明瞭に認めることができる。このことは、亜異常状態（例えば、増大した低ヘモグロビン濃度赤血球を有し、それにもかかわらず、依然として前貧血段階にあるそのような血液サンプルなど）を特定するために、この診断指標の感度をさらに改善する。

【 0 0 6 0 】

そのようなものとして、本発明の L H C C % または強調 L H C C % は、鉄欠乏を検出するための有効な指標として使用することができる。その実質的に改善された数値的分解能

50

により、実現可能性が臨床的診断ツールに提供される。そのうえ、%Hyp oに対するその実質的な線形相関は潜在的には、低色素性状態の定量的評価のために利用することができる。

【0061】

上記で記載されるように、サンプルが古くなると、赤血球の膨潤のために、%Hyp o報告の誤った増大がもたらされるので、%Hyp oは、採血後4時間未満の新鮮な全血サンプルを使用して測定されなければならない。対照的に、MCHCは採血後24時間で安定である。そのようなものとして、鉄欠乏を診断する目的のために、LHCC%を、%Hyp oの分析において要求される時間枠のようなサンプル年齢の狭い時間枠によって制限されることなく、全血サンプルの日常的な血液学分析を使用して得ることができる。このことは、実質的な利点をサンプル取り扱いおよび作業フロー管理に関して血液学試験所に提供する。例えば、様々な商業的血液学試験所では、多くの全血サンプルが個々の診療所で採取され、分析のために試験所に送られる。そのような血液サンプルは採血後24時間以上経ることが多い。これらのサンプルはもはや、%Hyp oの分析には適していない。しかしながら、信頼できるLHCC%を、これらの24時間経った古いサンプルを用いて依然として得ることができる。

10

【0062】

報告されたHgb、MCVおよびRBCは、異なる装置製造者によって使用される検出方法および試薬に依存して、異なる血液分析装置の間ではわずかに変化することを理解しなければならない。結果として、MCHC(導かれたパラメーター)は、異なる血液分析装置の間で、ある程度変化する。したがって、カットオフ値、すなわち、本発明の方法におけるLHCC%または強調LHCC%についての対応する所定の鉄欠乏基準が、使用された血液分析装置に依存して変化し得る。そのうえ、Hgb、MCVおよびRBC、ならびに、導かれたMCHCが、患者の人口統計、ならびに、特定の病院または施設(例えば、ガンセンターまたは腎臓透析センターなど)の臨床的拠点に依存して変化し得ることが知られている。そのようなものとして、本発明の目的のためのLHCC%または強調LHCC%についてのカットオフ値は、それぞれの病院、または、使用された血液分析装置について経験的に確認されなければならない。本明細書中に示される研究で得られたLHCC%または強調LHCC%についてのカットオフ値は本発明の方法の有用性を例示しており、本発明の限定として解釈してはならない。

20

30

【0063】

MCHCが、ハイスループット装置、および診療所で使用される小型装置の両方を含めて、すべての製造者によって製造されるすべての市販の血液分析装置での報告されたパラメーターであることを理解することができる。したがって、LHCC%または強調LHCC%(本発明の方法を使用して鉄欠乏を検出するために必要とされる指数)をすべての市販の血液分析装置から得ることができる。

【0064】

そのうえ、これらのパラメーターは、さらなるコストを伴うことなく、全血サンプルの日常的な血液学分析から得ることができるので、鉄欠乏を検出するためにLHCC%または強調LHCC%を使用する本発明の方法は、時間を節約する低コストの方法である。

40

【0065】

下記の実施例は本発明の例示であり、特許請求の範囲において定義されるような本発明の範囲を限定するものとしていかなる点でも解釈してはならない。様々な他の成分および割合が、前記の開示に従って用いられ得ることが理解される。

【実施例】

【0066】

247個の臨床での全血サンプルを、University College Hospital of Londonにおいて、Coulter LH750血液分析装置およびBayer ADVIA 120血液分析装置でそれぞれ分析した。すべての血液分析装置をそれらの標準的な操作条件のもとで操作し、製造者によって提供される校正用材料

50

を操作者マニュアルおよび本研究のプロトコルに従って使用して校正した。

【0067】

Coulter LH750血液分析装置(Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA)では、サンプルを、CBCモードおよびReticモードを使用して分析した。血液サンプルの1.6μlの第1のアリコートに6250:1の希釈比率によりIsoton 3Eによって希釈して、第1のサンプル混合物を形成し、これをDCインピーダンス測定によって測定して、赤血球パラメーターを得た。血液サンプルの28μlの第2のアリコートに6mlのIsoton 3Eにより希釈し、その後、1mlのLyse S III diffと混合して、第2のサンプル混合物を形成した。第2のサンプル混合物の吸収を約540nmで測定して、Hgbを得た。上記で記載されたすべての試薬がBeckman Coulter, Inc.の製造物であった。

10

【0068】

それぞれの血液サンプルのMCHCを、Coulter LH750血液分析装置で得た。MCHC対%Hypoの相関を図3Aに示し、図3Bでは拡大スケールで示した。示されるように、MCHCは%Hypoとの非直線性の相関を有する。

【0069】

受信者動作特性(ROC)分析を、10%を越える%Hypoを、正常および鉄欠乏を分類するための基準として使用して、Coulter LH750血液分析装置で得られたMCHCに対して行った。より具体的には、10%を越える%Hypoを有する105個のサンプルが鉄欠乏または陽性として特定され、10%以下の%Hypoを有する142個のサンプルが正常または陰性として特定された。得られたROC曲線が図2に示され、統計学的データが、AUC、標準誤差(SE)、p値および95%信頼区間を含めて、表1に示される。AUCの値およびROC曲線により、MCHCが、鉄欠乏を検出することにおいて%Hypoと類似する診断能を有したことが示された。

20

【0070】

LHCC%および強調LHCC%を、Coulter LH750血液分析装置から報告されるMCHCを使用して計算した。この場合、LHCC%が、 $LHCC\% = 1 / (1 + (EXP(1.8 * (30 - MCHC)))) * 100$ の式によって定義され、強調LHCC%が、 $強調LHCC\% = SQRT((1 - (1 / (1 + (EXP(1.8 * (30 - MCHC)))))) * 100$ の式によって定義された。

30

【0071】

図4Aおよび図4Bは、得られたLHCC%対%Hypo、および強調LHCC%対%Hypoをそれぞれ示した。示されるように、LHCC%および強調LHCC%はともに、%Hypoとの実質的に線形の相関を有した。線形回帰分析を、LHCC%と、%Hypoとの間、および強調LHCC%と、%Hypoとの間で行った。得られた相関係数(r)がそれぞれ0.8938および0.8950であった。

【0072】

受信者動作特性(ROC)分析を、10%を越える%Hypoを上記のような基準として使用して、LHCC%および強調LHCC%に対して行った。得られたROC曲線が図5Aおよび図5Bに示された。統計学的データは、AUC、標準誤差(SE)、p値および95%信頼区間を含めて、LHCC%および強調LHCC%の両方について同じであり、表1に示される。

40

【0073】

示されるように、LHCC%および強調LHCC%は%Hypoと非常に相関した。AUCの値およびROC曲線により、LHCC%および強調LHCC%が鉄欠乏の検出において%Hypoと類似する診断能を有したことが示された。LHCC%および強調LHCC%についてのカットオフ値がROC分析から得られた。7.45のカットオフを用いた場合、LHCC%は93.3%の感度および90.1%の特異性を有した。27.3%のカットオフを用いた場合、強調LHCC%は93.3%の感度および90.1%の特異性を有した。

50

【 0 0 7 4 】

表 1 . M C H C および L H C C % (% H y p o > 1 0 %) の R O C 分析の統計学的データ

【 0 0 7 5 】

【表 1】

| 統計学 | MCHC | LHCC% |
|-----|----------|----------|
| AUC | 0.962 | 0.962 |
| SE | 0.012 | 0.013 |
| P-値 | < 0.0001 | < 0.0001 |
| 下限 | 0.93 | 0.93 |
| 上限 | 0.982 | 0.982 |

10

本発明は、特に好ましい実施形態を参照して記載されている。しかしながら、様々な変化が、本発明の精神から逸脱することなく、行われ得ることが理解され、そのような変化は、添付された請求項の範囲に含まれることが意図される。本発明は詳細に記載されており、また、添付された図面において図により示されているが、これらは、本発明の範囲に対する限定として解釈してはならず、むしろ、その好ましい実施形態として解釈しなければならない。しかしながら、様々な改変および変化が、上記の明細書において記載されるような、また、添付された請求項およびその合法的均等物において定義されるような本発明の精神および範囲において行われ得ることが明らかである。本明細書中に引用されるすべての特許および他の刊行物は特に参考として組み込まれる。

20

【図面の簡単な説明】

【 0 0 7 6 】

【図 1 A】図 1 A は、赤血球分布および低色素性赤血球の分布のグラフによる例示である。

【図 1 B】図 1 B は、本発明の M C H C のシグモイド関数によって表される、赤血球分布および低ヘモグロビン濃度赤血球の分布のグラフによる例示である。

【図 2】図 2 は、実施例において記載されるように、M C H C の R O C 曲線である。

【図 3 A】図 3 A は、実施例において記載されるように、M C H C 対 % H y p o の相関を示す。

【図 3 B】図 3 B は、y 軸の目盛りが拡大された、図 3 A の M C H C 対 % H y p o の相関を示す。

30

【図 4 A】図 4 A は、実施例において記載されるように、L H C C % 対 % H y p o の相関を示す。

【図 4 B】図 4 B は、実施例において記載されるように、強調 L H C C % 対 % H y p o の相関を示す。

【図 5 A】図 5 A は、実施例において記載されるように、L H C C % の R O C 曲線である。

【図 5 B】図 5 B は、実施例において記載されるように、強調 L H C C % の R O C 曲線である。

【 図 1 A 】

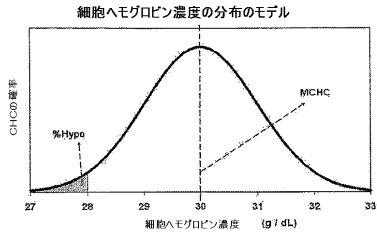


Fig. 1A

【 図 2 】

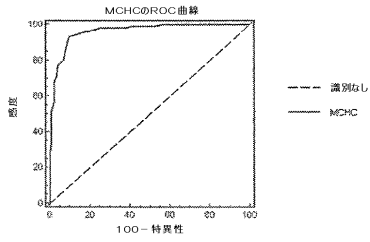


Fig. 2

【 図 1 B 】

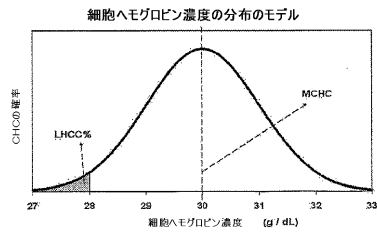


Fig. 1B

【 図 3 A 】

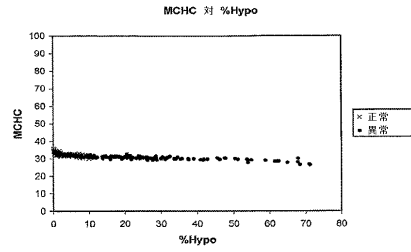


Fig. 3A

【 図 3 B 】

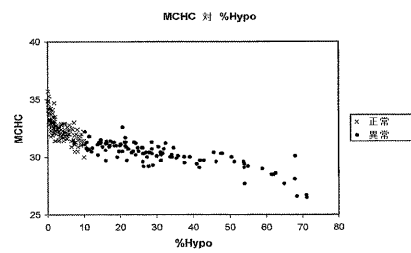


Fig. 3B

【 図 4 B 】

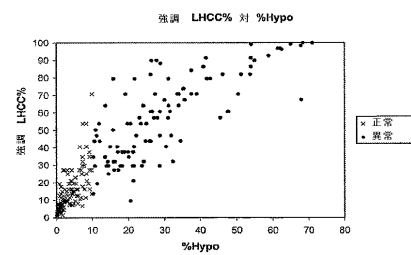


Fig. 4B

【 図 4 A 】

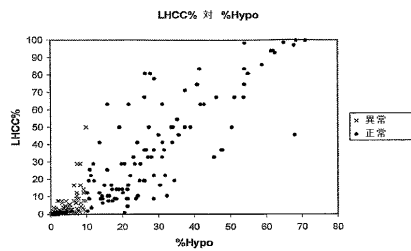


Fig. 4A

【 図 5 A 】

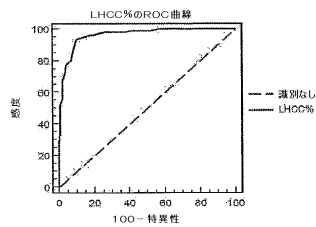


Fig. 5A

【 図 5 B 】

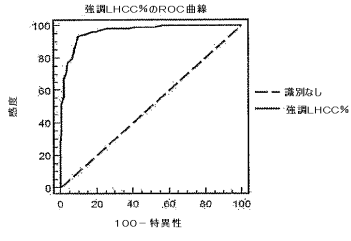


Fig. 5B

フロントページの続き

- (72)発明者 チアン, チェン
アメリカ合衆国 フロリダ 33196, マイアミ, エス.ダブリュー. 156 プレイス
11283
- (72)発明者 フォ, チーリン
アメリカ合衆国 フロリダ 33176, マイアミ, エス.ダブリュー. 124 ロード
11010
- (72)発明者 シモン-ロペス, ラモン
スイス国 ツェーハー-1264 セント チェルク, シュマン ヴュー シャトー ヴィラ
シモン

審査官 三木 隆

- (56)参考文献 特開平11-326315(JP,A)
特開平02-304354(JP,A)
特表2007-514955(JP,A)
特表2004-510974(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/72

G01N 33/49