

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-525593
(P2014-525593A)

(43) 公表日 平成26年9月29日(2014.9.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	L
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/53	X
	GO 1 N 33/53	D
	GO 1 N 33/53	N
	GO 1 N 33/543	5 4 5 A

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 32 頁)

(21) 出願番号 特願2014-529704 (P2014-529704)
 (86) (22) 出願日 平成24年3月1日 (2012.3.1)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年5月7日 (2014.5.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/027354
 (87) 国際公開番号 WO2013/036285
 (87) 国際公開日 平成25年3月14日 (2013.3.14)
 (31) 優先権主張番号 61/532, 012
 (32) 優先日 平成23年9月7日 (2011.9.7)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 514058577
 ジェンウェイ バイオテック, インコーポレイテッド
 GENWAY BIOTECH, INC
 .
 アメリカ合衆国 カルフォルニア 92121
 サン ディエゴ ナンシー リッジ
 ドライブ 6777

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心臓血管リスクを予測するための診断分析

(57) 【要約】

【課題】非浸潤性の、敏感な、そして、特にCADおよびその結果に関するリスクを有する人のための不良な心血管予後の評価および予測に信頼性のある診断および予測方法並びにシステムを提供する。

【解決手段】対象において、不良な心血管予後のリスクを決定する方法であって、該方法は、該対象から得たテスト生物試料における複数のバイオマーカーのそれぞれのレベルを測定することを含み、該複数のバイオマーカーは、(i) FDPマーカー(但し、該FDPマーカーは少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲンの分解産物(FDPs)の混合物を含む)、および(ii)少なくとも1つの炎症性バイオマーカー、自己免疫疾患バイオマーカー、または細胞ストレスバイオマーカーを含み;および該複数のバイオマーカーのレベルは、該対象における不良な心血管予後のリスクを示すことを特徴とする方法により解決される。

【選択図】図1

Figure 1: Summary of Baseline Demographics by Biomarker

	Number of Biomarkers Positive				p for trend
	0 (n=1248)	1 (n=1475)	2 (n=585)	3 (n=127)	
Age (years)	64 ± 11	62 ± 13	65 ± 12	65 ± 11	5.9 × 10 ⁻⁶
Male (%)	71	61	62	60	1.4 × 10 ⁻⁶
Education (%)	87	81	80	74	8.8 × 10 ⁻⁶
BMI (kg/m ²)	29 ± 6	30 ± 7	30 ± 7	28 ± 8	9.3 × 10 ⁻¹³
Systolic BP (mmHg)	137 ± 22	136 ± 23	137 ± 25	135 ± 24	0.345
Diastolic BP (mmHg)	76 ± 12	76 ± 12	76 ± 12	74 ± 13	0.350
LDL (mg/dL)	98 ± 35	102 ± 38	100 ± 39	89 ± 35	0.001
HbA _{1c} (mg/dL)	42 ± 13	42 ± 13	40 ± 12	42 ± 15	0.016
Glucose (mg/dL)	118 ± 35	124 ± 43	131 ± 56	128 ± 57	4.0 × 10 ⁻¹⁵
Genesil	41 ± 61	35 ± 53	47 ± 86	44 ± 61	0.25 ^{NS}
LVEF (%)	55 ± 11	54 ± 13	51 ± 13	47 ± 18	1.4 × 10 ⁻¹³
eGFR (ml/min)	78 ± 43	81 ± 50	89 ± 48	81 ± 47	1.9 × 10 ⁻¹¹
History of DM (%)	25	32	39	45	7.8 × 10 ⁻¹¹
History of HTN (%)	68	63	62	63	0.004
History of Dyslipidemia (%)	73	70	68	64	8.9 × 10 ⁻⁵
Ever Smoked (%)	58	50	51	67	0.018
ACE on presentation (%)	7	18	17	2	4.9 × 10 ⁻¹⁵
History of previous MI (%)	20	30	37	30	0.009
On Statin (%)	75	72	72	81	0.012
On ARB or ACE-I (%)	59	65	60	60	0.002
On Aspirin (%)	61	61	64	72	0.020
On Plavix (%)	48	48	63	45	0.006
On Beta Blocker (%)	55	65	67	72	1.8 × 10 ⁻⁵
CRP (mg/L)	1.3 ± 0.9	0 ± 1.2	1.5 ± 2.0	1.0 ± 2.4	<0.000 [†]
CRW (μM/L)	1.0 ± 1.3	1.1 ± 1.4	1.1 ± 1.6	1.7 ± 3.2	0.033 [†]
hsCRP (mg/L)	1.06 ± 0.7	1.07 ± 0.9	1.00 ± 0.9	1.56 ± 0.9	0.444 [†]
HsFPG (ng/mL)	0.0 ± 0.0	30 ± 140	224 ± 529	836 ± 1714	<0.000 [†]
FDP (μg/mL)	0.5 ± 0.2	2.4 ± 1.2	8.9 ± 2.5	26 ± 4.2	8.3 × 10 ⁻¹⁰ NS
Management: Medical (%)	86.8	86.7	85.8	81.2	0.430
Management: PCI (%)	33.6	38.5	38.8	37.2	0.187
Management: CABG (%)	5.8	4.3	4.5	1.7	0.198
Management: Other (%)	1.8	1.9	1.3	0	0.372
Follow-up: MI	1.6	3.9	5.4	5.5	2.1 × 10 ⁻⁶
Follow-up: RVA/culiculation	7.2	11.7	15.4	13.4	8.9 × 10 ⁻⁷
Follow-up: All-cause (% cardiac)	3.1 (87)	6.4 (39)	10.4 (30)	34.6 (48)	4.9 × 10 ⁻⁸⁷

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象において、不良な心血管予後のリスクを決定する方法であって、
該方法は、該対象から得たテスト生物試料における複数のバイオマーカのそれぞれのレベルを測定することを含み、
該複数のバイオマーカは、(i) F D P マーカ(但し、該 F D P マーカは少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲンの分解産物(FDPs)の混合物を含む)、および(ii)少なくとも1つの炎症バイオマーカ、自己免疫疾患バイオマーカ、または細胞ストレスバイオマーカを含み；および
該複数のバイオマーカのレベルは、該対象における不良な心血管予後のリスクを示すことを特徴とする方法。

10

【請求項 2】

対象における不良な心血管予後のリスクを決定する方法であって、
該方法は、該対象からのテスト生物試料を、複数のバイオマーカに特異的に結合する薬剤のパネルと接触させ、それにより該複数のバイオマーカのレベルを測定することを含み；
該複数のバイオマーカは、F D P マーカおよび少なくとも1つの炎症バイオマーカ、自己免疫疾患バイオマーカ、または細胞ストレスバイオマーカを含み；
該薬剤のパネルは、少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物(FDPs)に特異的に結合する薬剤(1または複数)を含み；および、
そのように測定されたレベルは、該対象における不良な心血管予後のリスクを示すことを特徴とする方法。

20

【請求項 3】

該複数のバイオマーカが少なくとも1つの炎症バイオマーカまたは少なくとも1つの細胞ストレスバイオマーカを含むことを特徴とする請求項 1 または 2 の方法。

【請求項 4】

該複数のバイオマーカが少なくとも1つの炎症バイオマーカおよび少なくとも1つの自己免疫疾患もしくは細胞ストレスバイオマーカを含むことを特徴とする請求項 1 または 2 の方法。

30

【請求項 5】

該複数のバイオマーカが少なくとも1つの炎症バイオマーカおよび少なくとも1つの細胞ストレスバイオマーカを含むことを特徴とする請求項 1 または 2 の方法。

【請求項 6】

該複数のバイオマーカが少なくとも1つの炎症バイオマーカを含み、C - 反応性タンパク質(CRP)遺伝子産物を含むことを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

該複数のバイオマーカが少なくとも1つの細胞ストレスバイオマーカを含み、熱ショックタンパク質 70 (HSP70) 遺伝子産物を含むことを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 8】

該不良な心血管予後が C A D を発症することを特徴とする請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

該不良な心血管予後が C A D の不良な結果であることを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

該 C A D の不良な結果が心筋梗塞(MI)または死亡であることを特徴とする請求項 9 の方法。

50

【請求項 1 1】

該対象が C A D を有することが知られている患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

該対象が、顕著な C A D を有する患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

該対象が、非顕著な C A D を有する患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 1 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 4】

該対象が、C A D を有すると疑われる患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5】

該対象が、冠動脈疾患の症状を有さないことを特徴とする請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法は更に、該テスト生物試料において測定される該複数のバイオマーカーのそれぞれのレベルを、該バイオマーカーのコントロールレベルと比較することを含む。

【請求項 1 7】

該比較が、コントロール試料における該複数のバイオマーカーのそれぞれのレベルを測定することおよび、そのように測定されたレベルと該テスト生物試料において測定されたレベルを比較することを含むことを特徴とする請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

対象において不良な心血管予後のリスクを決定する方法であって、
該方法は、該対象からのテスト生物試料における複数のバイオマーカーのそれぞれのレベルを、各バイオマーカーのコントロールレベルと比較することを含み、
該複数のバイオマーカーは、(i) F D P マーカー（但し、該 F D P マーカーは、少なくとも 2 つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物 (F D P s) の混合物を含む）、および、(i i) 少なくとも 1 つの炎症または自己免疫疾患バイオマーカーを含み；および
該コントロールレベルと比較した該テスト試料における該複数のバイオマーカーのレベルの増加が、該対象における不良な心血管予後のリスクを示すことを特徴とする方法。

【請求項 1 9】

該各バイオマーカーのコントロールレベルが、複数のコントロール対象からのコントロール生物試料における該バイオマーカーのレベルを含むデータから計算され、該コントロール対象および評価を受ける対象は、同一の種であり、および、該テスト生物試料および該コントロール試料はプラズマまたは血清を含むことを特徴とする請求項 1 6 または 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

該不良な心血管予後のリスクが、該テスト生物試料におけるレベル（複数）が該コントロールレベル（複数）よりも高い場合に増加することを特徴とする請求項 1 6 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 1】

該複数のバイオマーカーが抗サイトメガロウイルス抗体遺伝子産物または熱ショックタンパク質 6 0 に対する抗体 (anti - H S P 6 0) の遺伝子産物を更に含むことを特徴とする請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 2】

該 F D P マーカーが少なくとも 2 つの F D P を含み、フラグメント D、フラグメント E、および D - ダイマーからなる群より選択される F D P を含むことを特徴とする請求項 1 ~

10

20

30

40

50

2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

該少なくとも 2 つの F D P がフラグメント D、フラグメント E、および D - ダイマーを含むことを特徴とする請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

該少なくとも 2 つの F D P が更にフラグメント X、フラグメント Y、または初期プラスミン消化産物 (IPDP) を含むことを特徴とする請求項 2 2 または 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

該テスト生物試料が該対象からの体液または組織を含むことを特徴とする請求項 1 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 2 6】

前記テスト生物試料が、全血、血液分画、血液成分、プラズマ、血小板、血清、脳脊髄液 (CSF)、骨髄、尿、涙、乳、リンパ液、臓器組織、神経系組織、非神経系組織、筋組織、生検、剖検、脂肪生検、脂肪組織、細胞、糞便、胎盤、脾臓組織、リンパ組織、膵臓組織、気管支肺胞洗浄 (BAL)、および滑液からなる群より選択されることを特徴とする請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記テスト生物試料が全血、血液分画、血液成分、プラズマ、血小板、血清、または尿を含むことを特徴とする請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

該テスト生物試料における該複数のバイオマーカーのレベルを測定することが、免疫分析により行われることを特徴とする請求項 1 ~ 1 7 および 1 9 ~ 2 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 2 9】

該免疫分析が E L I S A であることを特徴とする請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

該複数のバイオマーカーが熱ショックタンパク質 7 0 (HSP70)、C - 反応性タンパク質 (CRP)、および該 F D P マーカーを含むことを特徴とする請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 1】

該対象がヒトであることを特徴とする請求項 1 ~ 3 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 3 2】

該対象が、安定な C A D を有する患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 3】

該対象が、最近急性冠症候群 (ACS) を有する患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 4】

該複数のバイオマーカーのレベルの上昇が該不良な心血管予後のリスクの増加を総合して示すことを特徴とする請求項 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 3 5】

試料ミリリッター当たり 1 マイクログラムより大きい場合に該 F D P マーカーのレベルが上昇することを特徴とする請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

該複数のバイオマーカーが C R P 遺伝子産物を含み、および試料リッター当たり 3 ミリグラムより大きい場合に該 C R P 遺伝子産物のレベルが上昇することを特徴とする請求項 3 4 または 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

該複数のバイオマーカーが H S P 7 0 遺伝子産物を含み、および該試料において検出可能な場合に、該 H S P 7 0 遺伝子産物のレベルが上昇することを特徴とする請求項 3 4 ~ 3

50

6のいずれか1項に記載の方法。

【請求項38】

該複数のバイオマーカーのレベルの上昇が、該対象において、1年間に、該複数のバイオマーカーのいずれもが上昇しない対象と比較して、急性心筋梗塞(AMI)または死亡のリスクが少なくとも2倍大きいことを総合して示すことを特徴とする請求項34~37のいずれか1項に記載の方法。

【請求項39】

該複数のバイオマーカーのレベルの上昇が、該対象において、1年間に、該複数のバイオマーカーのいずれもが上昇しない対象と比較して、急性心筋梗塞(AMI)または死亡のリスクが少なくとも3倍大きいことを総合して示すことを特徴とする請求項38に記載の方法。

10

【請求項40】

該複数のバイオマーカーのレベルの上昇が、該対象において、1年間に、該複数のバイオマーカーのいずれもが上昇しない対象と比較して、急性心筋梗塞(AMI)または死亡のリスクが少なくとも5倍大きいことを総合して示すことを特徴とする請求項38に記載の方法。

【請求項41】

該バイオマーカーの中の1つのみの単独でのレベルの上昇は、リスクの増加を示さないであろうことを特徴とする請求項34~40のいずれか1項に記載の方法。

【請求項42】

該対象が、FRSテスト、冠動脈カルシウムテスト、または第二の血液テストの結果に基づく中程度または高いリスクを有する対象であることを特徴とする請求項1~41のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項43】

該対象が、直近の30日間で急性心筋梗塞(AMI)イベントを有していなかった対象であることを特徴とする請求項1~42のいずれか1項に記載の方法。

【請求項44】

治療の方法であって、該方法は、

(a) 請求項1~43のいずれか1項に記載の方法によって対象における不良な心血管予後のリスクを評価すること；および、

(b) 該対象を不良な心血管予後について治療することを含むことを特徴とする方法。

30

【請求項45】

請求項44に記載の方法は、

(c) 治療後の期間の後にステップ(a)を繰り返すことを更に含み、該バイオマーカーのレベルが減少していないまたは実質的に減少していないことの決定が、追加の治療が必要であることを示すこと

を特徴とする方法。

【請求項46】

請求項45に記載の方法が、(d) 該対象に追加の治療をほどこすことを更に含むことを特徴とする方法。

40

【発明の詳細な説明】

【関連出願との相互関係】

【0001】

本出願は、2011年9月7日に提出された米国仮出願番号61/532,012号の優先権を主張し、これに記載される事項は、その全体が引用により本願に組み込まれる。

【技術分野】

【0002】

いくつかの側面において本発明は、マーカーの組み合わせが冠動脈疾患(CAD)および、狭心症および末梢血管疾患のような関連する疾病の発症(develop)に関する個人のリス

50

クを予測するために（これらを発症する個人の可能性を提供するために）使用される診断および予測テストに関連し、および、さらに特別には、マーカーの組み合わせが心筋梗塞、死亡、および/または脳卒中の個人のリスクを決定するために使用される診断および予測テストに関連する。本方法と組成物は、1) 既知の冠動脈疾患でない個人におけるCADを検出するために、またはCADを発症するリスクを検出するために、2) 既知のCADを有する個人における急性の心筋梗塞（AMI）または死亡のリスクを検出するために、および、3) 既知のCADでない個人におけるAMIまたは死亡のリスクを検出するために、いくつかの側面において使用され得る。

【背景技術】

【0003】

冠動脈疾患およびその結果は、世界中の何百万の人々に影響を与え、これは、米国において、死因の主要なものである。もっとも一般的なCADの兆候は、心筋虚血を原因とする胸の痛み（狭心症）であり、心臓麻痺（急性心筋梗塞またはAMI）および突然死を導き得る。CDCによれば、約130万のアメリカ人が、毎年、心臓麻痺を患っている。虚血性心疾患の臨床症状を示す者に加えて、他の多くの人々が、高血圧、高レベルの血清コレステロールおよび/または家族の（疾病の）履歴のような標識に基づき、心臓疾患を発症する高いリスクを有している。しかしながら、UCLAによる全国的調査（national study）は、心臓麻痺を患った患者の約75%が、高いコレステロールを有していなかったことを表す（Am Heart J. 2009 Jan;157(1):111-117.e2. Epub 2008 Oct 22）。心臓麻痺を有するこれらの患者のうちの88%が、ちょうど前日に、低程度から中程度のリスクを有するとみなされている（BaleDoneen CVD prevention program. www.baledoneen.com）。現存のツールは、心臓のイベントに関する高いリスクを有する多くの患者を決定することについては十分でない（remiss）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】 Am Heart J. 2009 Jan;157(1):111-117.e2. Epub 2008 Oct 22

【非特許文献2】 BaleDoneen CVD prevention program. www.baledoneen.com

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

現在の診断手段は、例えば、ある予後に関するリスクを有する個人を特定するには完全に満足できるものではない。非浸潤性の、敏感な、そして、特にCADおよびその結果に関するリスクを有する人のための、不良な（adverse）心血管予後（outcomes）の評価および予測に信頼性のあるような診断および予測方法並びにシステムが、冠動脈疾患に必要である。これらの必要性を満たすための実施形態が提供される。

【課題を解決するための手段】

【0006】

一側面において、本願に記載される発明は、特に、CADのリスクを有する個人およびCADおよびCADの結果を有する個人についての不良な心血管予後を評価および予測する必要性を満たす。CADおよび関連する予後および状態のような不良な心血管予後（およびそれらのリスク）を評価し、検出し、予測し、および予知するための診断および予測方法；これら方法を行うための、例えばキットのようなシステム；及び、例えば、診断または予測方法を使用して評価される個人の治療の方法を提供する。いくつかの実施形態において、方法は、リスクを決定しまたは、1以上のCADの不良な予後の可能性の増加（ないし、増加した可能性）を評価する。一側面において、提供される方法およびシステムは、1) 既知のCADでない個人において、CADを検出するまたはCADを発症するリスクを検出するため、2) 既知のCADを有する患者（個人）における、心筋梗塞（MI）、例えば急性心筋梗塞（AMI）、および/または死亡のリスクを検出しおよび予測するため、および、脳卒中のリスクを予測するため、および、3) 以前に知られてい

10

20

30

40

50

ないCADを有する患者（個人）における、AMIおよび/または死亡のリスクを予測し、および/または脳卒中のリスクを予測するための非浸潤的な方法の必要性を満たす。

【発明を実施するための形態】

【0007】

いくつかの実施形態において、方法は、（典型的には、この方法により評価される対象から得られるような、例えばテスト生物試料のような試料における複数のバイオマーカのそれぞれの）バイオマーカの有無、発現および/またはレベルを検出または測定することにより行われる。

【0008】

いくつかの実施形態において、方法は、この方法により評価される対象から得られるようなテスト生物試料と、複数のバイオマーカに特異的に結合する薬剤のパネルを接触させることにより行われ、それにより、複数のバイオマーカのレベルを測定する。

10

【0009】

いくつかの実施形態において、方法は、対象（例えば、対象由来のテスト試料）における複数のバイオマーカのそれぞれのレベルと、個別のバイオマーカのコントロール（ないしは対照、control）レベルを比較することにより行われる。

【0010】

複数のバイオマーカは、一般的に、血栓症バイオマーカ、細胞ストレスバイオマーカ、炎症バイオマーカ、および/または自己免疫バイオマーカの1以上、典型的には、血栓症バイオマーカ、細胞ストレスバイオマーカもしくは自己免疫バイオマーカ、炎症バイオマーカの少なくとも2つを含み、およびいくつかの側面においては、血栓症バイオマーカ、細胞ストレスバイオマーカもしくは自己免疫バイオマーカ、および、炎症バイオマーカを含み、例えば、血栓症バイオマーカ、細胞ストレスバイオマーカおよび炎症バイオマーカ、または、血栓症バイオマーカ、自己免疫バイオマーカおよび炎症バイオマーカを含む。複数のバイオマーカは、いくつかのケースにおいて、更に、感染バイオマーカを含む。2以上、3以上、または4、または全てのタイプのバイオマーカ（炎症性バイオマーカ、感染性バイオマーカ、血栓症バイオマーカ、細胞ストレスバイオマーカ、自己免疫バイオマーカ）のレベルが評価され得る。同一のタイプの2以上のバイオマーカ（例えば、2以上の炎症性バイオマーカ、2以上の感染性バイオマーカ、2以上の血栓症バイオマーカ、2以上の細胞ストレスバイオマーカ、2以上の自己免疫バイオマーカ）のレベルが測定され得る。

20

30

【0011】

いくつかの実施形態において、血栓症バイオマーカはFDPマーカであり、ここで、FDPマーカは、少なくとも1つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物（FDP）を含み、およびいくつかの実施形態においては、少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物（FDP）の混合物を含む。したがって、いくつかの実施例において、複数のバイオマーカは、FDPマーカを含み、ここで、FDPマーカは、少なくとも1つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物の遺伝子産物、または少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物の遺伝子産物の混合物（例えば、少なくとも1つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物（FDPs）または少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物（FDPs）の混合物）を含む。一実施例において、少なくとも1つまたは少なくとも2つのFDPは、フラグメントD、フラグメントE、およびD-ダイマーの中から選択されるFDPを含み、または、フラグメントDおよびフラグメントEの中から選択されるFDPを含む。一実施例において、少なくとも1つまたは2つのFDPは、フラグメントD、フラグメントE、およびD-ダイマー、またはフラグメントDおよびEを含む。いくつかの実施例において、FDPは、更に、フラグメントX、フラグメントY、または1以上の初期プラスミン消化産物（IPDPs）を含む。いくつかのケースにおいて、少なくとも1つまたは2つのFDPは、DR-70（登録商標）ELISA分析によって検出される1以上、または全てのFDPを含む。他の実施例において、これらは、1以上の、国際出願公開番号WO2010/114514A1号に

40

50

記載される、FDPを含む。他の実施例において、これらは、1以上の、フィブリノーゲンELISA分析により検出される、FDPを含む。

【0012】

したがって、いくつかの実施形態において、薬剤のパネルは、FDPマーカの検出用の1つの薬剤または薬剤（複数）を含む。いくつかの側面において、パネルは、（フラグメントD、フラグメントE、およびD-ダイマーの中から選択され、またはフラグメントDおよびフラグメントEから選択される少なくとも2つのFDPのような）少なくとも2つのFDPに特異的に結合することが可能な、一つの薬剤または薬剤（複数）を含む。一つの実施例において、少なくとも1つまたは2つのFDPは、フラグメントD、フラグメントE、およびD-ダイマー、またはフラグメントDおよびEを含む。いくつかの実施例において、FDPは、更に、フラグメントX、フラグメントY、または、1以上の初期プラスミン消化産物（IPDPs）を含む。いくつかのケースにおいて、少なくとも1つまたは2つのFDPは、DR-70（登録商標）ELISA分析により検出される、1以上、あるいは全てのFDPを含む。他の実施例において、これらは、国際出願公開番号WO2010/114514A1号に記載される1以上のFDPを含む。他の実施例において、これらは、フィブリノーゲンELISA分析により検出される1以上のFDPを含む。

10

【0013】

いくつかのそのような実施例において、複数のバイオマーカーは、更に、少なくとも1つの炎症または自己免疫疾患または細胞ストレスバイオマーカーを含み、または（例えば、炎症および自己免疫疾患バイオマーカーまたは炎症および細胞ストレスバイオマーカーのような）炎症バイオマーカーと、自己免疫疾患のバイオマーカーまたは細胞ストレスバイオマーカーかの両者の少なくとも1つを含む。したがって、いくつかの側面において、薬剤は、そのようなバイオマーカーに特異的に結合する1つの薬剤または薬剤（複数）を含む。

20

【0014】

いくつかの側面において、少なくとも1つの炎症バイオマーカーは、CRPタンパク質のようなC-反応性タンパク質（CRP）遺伝子産物を含む。いくつかの側面において、少なくとも1つの自己免疫疾患または細胞ストレスバイオマーカーは、HSP70タンパク質のような熱ショックタンパク質70（HSP70）遺伝子産物を含む。したがって、いくつかの側面において、薬剤は、そのようなバイオマーカーに特異的に結合する一つの薬剤または薬剤（複数）を含む。

30

【0015】

いくつかの側面において、バイオマーカーは、更に、抗サイトメガロウイルス抗体のような抗サイトメガロウイルス抗体遺伝子産物を含む。いくつかの側面において、バイオマーカーは、更に、例えば抗HSP60タンパク質のような熱ショックタンパク質60に対する抗体（anti-HSP60）の遺伝子産物を含む。したがって、いくつかの側面において、薬剤は、そのようなバイオマーカーに特異的に結合する一つの薬剤または薬剤（複数）を含む。

【0016】

いくつかの実施形態において、複数のバイオマーカーは、熱ショックタンパク質70（HSP70）、C-反応性タンパク質（CRP）、およびFDPマーカを含む。いくつかの実施形態において、方法は、CRPおよびFDPマーカのレベルを測定し、CRP、FDPマーカおよびHSP70のレベルを測定し、CRP、FDPマーカおよび抗CMVAbのレベルを測定し、または、CRP、FDPマーカ、HSP70および抗CMVAbのレベルを測定する。したがって、いくつかの側面において、薬剤は、そのようなバイオマーカーに特異的に結合する一つの薬剤または薬剤（複数）を含む。

40

【0017】

複数のバイオマーカーのレベル（例えば、検出されまたは測定されるレベル）または、複数のバイオマーカーの、コントロールレベルのような他のレベルと比較されるレベルは、一般的に、対象における不良な（adverse）心血管予後のリスクを示す。典型的に、レベ

50

ル（複数）、例えばレベル（複数）はリスクを総合して示す。例えば、バイオマーカー（複数）のレベル（複数）は、不良な心血管予後のリスクの増加（ないし、増加したリスク）（例えば、不良な心血管予後が、健康な個々人、CADを有さない個々人、またはそのような予後に関して低いリスクを有する個々人のような対象の所定の集団における予後の平均の可能性と比較して対象においてより起こりそうであることを）を総合して示すことができる。

【0018】

いくつかの側面において、バイオマーカー（複数）の中の一つのみの単独でのレベルの上昇（ないし、上昇したレベル）またはレベルの増加（ないし、増加したレベル）（すなわち、すくなくとも1つの他の上昇または増加したバイオマーカーを有さないこと）は、リスクの増加を示さないだろう。

10

【0019】

いくつかの側面において、バイオマーカーの、（例えば、上昇したレベルのような）レベルは、（複数のバイオマーカーのいずれもが上昇しないまたは陽性でないような）他の対象と比較した、対象における、例えば1年間で、少なくとも1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、8、9、10以上倍大きい、例えば脳卒中または死亡のような不良な心血管予後のリスクを例えば総合して示す。

【0020】

いくつかの側面において、一つのバイオマーカー、および典型的に少なくとも2つ（例えば、2、3、4以上）のバイオマーカーが上昇するという結果（ないしは決定、determination）は、対象における不良な心血管予後のリスク、例えば、1200日以内のような、1年、2年、3年、4年以上のような、所定の期間内のAMIまたは死亡のような不良な予後が発症する（例えば、ちょうど（at）または約（about）または少なくともちょうど（at least at）または少なくとも約（at least about）20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%以上の）リスクを示す。一つの実施例において、少なくとも2つのバイオマーカーが上昇するという結果は、一定期間内の、ちょうどまたは約20%、25%、30%または35%の不良な予後のリスクを示し；他の実施例において、少なくとも3つのバイオマーカーが上昇するという結果は、一定期間内の、ちょうどまたは約30%、35%、40%、45%または50%の不良な予後のリスクを示す。

20

30

【0021】

1つの側面において、対象における、例えばコントロールレベルと比較されるテスト試料における、複数のバイオマーカーのレベルの増加は、対象における不良な心血管予後のリスクを例えば総合して示す。

【0022】

いくつかの実施形態において、FDPマーカーのレベルは、試料ミリリッター当たり1マイクログラムよりも大きい場合に、上昇または陽性である；いくつかの実施形態において、CRP遺伝子産物のレベルは、試料リッター当たり3ミリグラムよりも大きい場合に、上昇または陽性である；ひとつの実施形態において、HSP70遺伝子産物のレベルは、試料において検出可能である場合に、上昇または陽性である。

40

【0023】

本願に記載されるように、CRP、FDPマーカーおよびHSP70の測定に基づいた総合スコア（aggregate score）は、個々人におけるCADを発症する（発症する可能性の）更なるリスクの強力な予測の判断材料（predictor）である。ひとつの実施形態において、総合スコアは、CADを有することが知られていない対象（例えば、冠動脈造影法によるような評価が考慮されている患者）における、心筋梗塞（MI）（または、急性MI（AMI）ともいう）および死亡のようなCADの不良な結果のリスクの強力な予測判断材料である。代替の実施形態において、総合スコアは、既知のCADを有する対象（例えば患者）におけるAMIおよび死亡のようなCADの不良な結果のリスクの強力な予測判断材料である。

50

【 0 0 2 4 】

したがって、不良な心血管予後は、C A D、C A Dの不良な結果、そのようなA M I、脳卒中または死亡を発症[生じ]させ得る。いくつかのケースにおいて、不良な心血管予後は、1～2、2～3、または1～3年以内のような、例えば、1年、2年、3年、4年、5年以上の所定の期間におけるそのような予後の発生である。したがって、いくつかのケースにおいて、方法は、上記の予後のいずれかのものの近い期間のリスク(例えば、予後が2～3年において生じるだろうリスク)を予測する。

【 0 0 2 5 】

評価される個人由来の生物学的(テスト)試料においてF D Pマーカのレベルが測定される実施形態において、生物試料におけるF D Pマーカのレベルが、(C A Dを有しない個々人におけるF D Pマーカのレベルのような)参照または標準におけるレベルより著しく高い場合には、評価される個体は、C A DまたはC A Dの不良な予後を発症するリスクの増加を有し、またはC A DまたはC A Dの不良な予後を発症するより大きな可能性(probability)がある。評価される個体由来の生物試料においてF D PマーカのレベルおよびC R Pのレベルが測定される実施形態において、生物試料におけるF D Pマーカのレベルが、(C A Dを有しない個々人におけるF D Pマーカのレベルのような)参照または標準におけるF D Pマーカレベルより著しく高い場合および、生物試料におけるC R Pのレベルが、(C A Dを有しない個々人におけるC R Pレベルのような)参照または標準におけるC R Pレベルより著しく高い場合には、評価される個体は、C A DまたはC A Dの不良な予後を発症するリスクの増加を有し、またはC A DまたはC A Dの不良な予後を発症するより大きな可能性がある。評価される個体由来の生物試料においてF D Pマーカのレベル、C R Pのレベル、およびH S P 7 0のレベルが測定される実施形態において、(a)生物試料におけるF D Pマーカのレベルが、(C A Dを有しない個々人におけるF D Pマーカのレベルのような)参照または標準におけるF D Pレベルより著しく高い場合；(b)生物試料におけるC R Pのレベルが、(C A Dを有しない個々人におけるC R Pレベルのような)参照または標準におけるC R Pレベルより著しく高い場合；および(c)H S P 7 0が、(C A Dを有しない個々人におけるH S P 7 0レベルのような)参照または標準におけるH S P 7 0レベルより著しく高い場合には、評価される個体は、C A DまたはC A Dの不良な予後を発症するリスクの増加を有し、またはC A DまたはC A Dの不良な予後が発症するより大きな可能性がある。

【 0 0 2 6 】

1つの実施形態において、生物試料におけるF D Pマーカのレベルが約1.0 μ g / m lより大きいと決定され；生物試料におけるC R Pのレベルが、約3.0 m g / Lより大きい、かつ(例えば、生物試料において、H S P 7 0がとても低いレベルで検出されたとしても)H S P 7 0が検出可能である場合には、評価される個体は、F D Pマーカレベルが約1.0 μ g / m lに満たない；C R Pレベルが3.0 m g / Lに満たないそしてH S P 7 0が検出されない場合よりもより大きなリスクを有する。

【 0 0 2 7 】

方法は、様々な対象、典型的には患者を評価するために行うことができる。いくつかの実施形態において、対象は、例えばヒトのような哺乳類である。対象は、例えば、(顕著なまたは非顕著なC A D、安定なC A Dのような)C A Dを有することが知られている患者、すなわち、確認されたC A Dを有する患者、またはC A Dを有することが疑われる患者であり得る。いくつかの側面において、対象は、C A Dを有することが知られている患者、顕著なC A Dを有する患者または非顕著なC A Dを有する患者である。いくつかのケースにおいて、対象は、C A Dを有することが疑われる患者である。いくつかの側面において、対象は、[C A Dを]示さない者、今まで[C A Dを]示していない者、またはC A Dの症状を有さないかまたは他の心血管予後の症状を有する者である。1つの側面において、対象は、最近急性冠症候群(ACS)を患った者である。他の側面において、対象は、既知のC A Dを有するまたは有しない患者であり又は、C A Dの症状を有するまたは有しない患者であるが、高冠動脈カルシウムスコアを有すると見出された者であり、またはF R

10

20

30

40

50

S、冠動脈カルシウムテスト、または、対象が中程度または高いリスクを有することを示す第二の血液テストでテストされたばかりの者である。他の側面において、対象は、直近の (the last) 30 日間に A M I イベント (event) を有していない、顕著な C A D を有する患者である。

【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態において、方法は、更に、テスト生物試料において測定される複数のバイオマーカーの 1 つ以上、典型的にはそれぞれのレベルを、個々のバイオマーカーのコントロールレベルと比較することを含む。1 つの側面において、比較は、コントロール試料における複数のバイオマーカーの 1 つ以上、例えばそれぞれの、レベルを測定することを含む。典型的に、そのように測定されるコントロールレベルは、次に、テスト生物試料において測定されるレベルと比較される。あるいは、方法は、以前に決定されるか、または予め定義されたコントロールレベルをテスト生物試料において測定されたレベルと単純に比較することを含むことができる。例えば、各バイオマーカーのコントロールレベルは、複数のコントロール対象由来のコントロール生物試料におけるバイオマーカーのレベルを含んでいるデータなどのデータから計算することができる。多くの場合、コントロール対象および評価対象は、同種である。一つの実施例において、テスト生物試料およびコントロール試料はプラズマまたは血清を含む。一つの側面において、テスト生物試料におけるレベルがコントロールレベルよりも高い場合に、対象における不良な心血管予後のリスクは増加する。

10

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施例において、少なくとも 2 つのバイオマーカーのレベルが、その個々のコントロールレベルと著しく異なる (または、より高い) 場合は、対象 (例えば哺乳類) は、C A D または心筋梗塞または死亡の可能性が増加すると評価されるかまたは特定される。

20

【 0 0 3 0 】

試料 (例えば、テスト生物試料およびコントロール試料) は、任意の生物試料であり得る。典型的には、試料は、対象から得られる体液または組織である。方法で使用するための試料のタイプは、全血、血液分画、血液成分、プラズマ、血小板、血清、脳脊髄液 (CSF)、骨髄、尿、涙、乳、リンパ液、臓器組織、神経系組織、非神経系組織、筋組織、生検 (biopsy)、剖検 (necropsy)、脂肪生検、脂肪組織、細胞、糞便、胎盤、脾臓組織、リンパ組織、膵臓組織、気管支肺胞洗浄 (BAL)、および滑液である。いくつかの実施形態において、テスト生物試料および / またはコントロール試料は、全血、血液分画、血液成分、プラズマ、血小板、血清、または尿である。

30

【 0 0 3 1 】

バイオマーカーレベルの検出または測定は、多くの既知の方法の任意のものを使用して行うことができる。1 つの側面において、測定または検出は、E L I S A によるような、例えば、評価される生物試料またはそれら由来の試料と、個々の相手と抗体の結合が生じるような条件で複数のバイオマーカーに特異的に結合する抗体を合わせることによる免疫学的検定によって行われる。1 つの側面において、F D P マーカー (例えば、F D P (複数) の混合物) のレベルは、D R 7 0 (登録商標) 分析を使用して測定される。他の実施例において、これらは、抗フィブリノーゲンポリクローナル抗体または、多重の (multiple) モノクローナル抗体のいずれかを使用するフィブリノーゲン E L I S A 分析によって検出される 1 以上の F D P を含む。他の側面において、C R P 遺伝子産物 (例えば、C R P タンパク質) は、高感度 C R P (hs-CRP) 分析を使用して測定される。

40

【 0 0 3 2 】

また、例えば、上記の方法により評価される対象の治療の方法も提供される。いくつかの実施形態において、方法は、不良な心血管予後のリスクを評価するまたは決定すること、または、上記の方法の任意のものにより対象における複数のバイオマーカーのレベルを検出することおよび例えば不良な心血管予後に関して対象の治療を処置し、変更または修正しまたは、対象の治療を停止することにより行われる。いくつかのケースにおいて、方

50

法は、リスクを決定する前に、心血管イベントまたは予後に関して対象を最初に処置するステップを更に含む。

【0033】

いくつかの側面において、そのような方法は、繰り返す仕方で行われる。例えば、いくつかのケースにおいて、方法は、治療後のある一定の期間、例えば、治療後の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12カ月以上の期間、例えば、リスクおよび/または疾患が治療により好ましく変化しているかどうかを決定するため、および/または追加の(例えば、より積極的な)治療が必要であるかどうかを決定するために、治療後に評価または決定ステップを繰り返すことを更に含む。例えば、バイオマーカーレベルが減少していないまたは実質的に減少していないというそのような繰り返しの後の決定は、リスクが好ましく変化していないこと、および/または追加の(例えば、より積極的な)治療が必要であることを示すことができる。したがって、いくつかの側面において方法は、次に追加の治療を対象にほどこすことを更に含む。いくつかの側面において、治療方法は、対象が、例えば上記方法により不良な心血管予後を有するリスクの増加(可能性の増加)を有するかどうかを決定すること、および、対象が不良な心血管予後を有する可能性の増加を有する場合に特別な治療コースを選択することを含む。

10

【0034】

上記のような任意の組み合わせで、バイオマーカーに特異的に結合するまたはハイブリダイズする1以上の薬剤、典型的には複数のバイオマーカーのそれぞれに特異的に結合またはハイブリダイズする薬剤を含むキットのような診断方法を行うためのシステム(例えば、キット)も提供される。

20

【図面の簡単な説明】

【0035】

【図1】図1は、実施例2Aに記載の研究における患者に関するバイオマーカーによるベースラインデモグラフィックス(baseline demographics)の概要を表す。

【0036】

【図2】図2は、実施例2Aに記載されるような顕著(重症)なCADを有する患者における1、2、または3つの上昇したバイオマーカーの存在を使用した死亡またはMI(心筋梗塞)の将来リスクに関するリスクスコア(ハザード比、HR)を表す(ここで、FDPマーカーは、 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ よりも大きい場合に上昇したとみなされ; CRPのレベルは、約 $3.0 \text{mg}/\text{L}$ よりも大きい場合に上昇したとみなされ、および、HSP70は検出可能な場合に上昇したとみなされた)。括弧の前に表示される番号は、HRの中央値を表し; 括弧の中の番号は、信頼区間を表す。

30

【0037】

【図3】図3は、実施例2Aに記載されるような非顕著(非重症)なCADを有する患者における1、2、または3つの上昇したバイオマーカーの存在を使用した死亡またはMIの将来リスクに関するリスクスコア(ハザード比、HR)を表す(ここで、FDPマーカーは、 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ よりも大きい場合に上昇したとみなされ; CRPのレベルは、約 $3.0 \text{mg}/\text{L}$ よりも大きい場合に上昇したとみなされおよび、HSP70は検出可能な場合に上昇したとみなされた)。括弧の前に表示される番号は、HRの中央値を表し; 括弧の中の番号は、信頼区間を表す。

40

【0038】

【図4】図4は、次の群における、顕著なCADを有する患者(パネルA)、および非顕著なCADを有する患者(パネルB)に関する一年間イベント率(1年以内にイベント(AMIまたは死亡のいずれか)を有する患者の所定の群におけるパーセンテージ)を表す: 実施例2Aに定められているように、0のバイオマーカーが上昇した[群]、1つのバイオマーカーが上昇した[群]、2つのバイオマーカーが上昇した[群]、および3つのバイオマーカーが上昇した[群](ここで、FDPマーカーは、 $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ よりも大きい場合に上昇したとみなされ; CRPのレベルは、約 $3.0 \text{mg}/\text{L}$ よりも大きい場合に上昇したとみなされおよび、HSP70は検出可能な場合に上昇したとみなされた)

50

。Y軸は、1年以内にイベントを有する患者群のパーセンテージを表す。各グラフにおいて、4つの棒は、左から右に、(1)0の上昇したバイオマーカーを有する患者(患者の40%)、(2)1の上昇したバイオマーカーを有する患者(患者の40%)、(3)2の上昇したバイオマーカーを有する患者(患者の15%)、および(4)3の上昇したバイオマーカーを有する患者(患者の5%)を表す。

【0039】

【図5】図5は、実施例2Aに記載の、上昇したとみなされたバイオマーカーの数にしたがって群分けされた、実施例2Aおよび2Bに記載された研究における、顕著な冠動脈疾患を有する参加者(図5A)および非顕著な冠動脈疾患を有する参加者(図5B)のイベントフリー生存曲線を表す。

10

【0040】

[発明の詳細な説明]

[既知の]利用できるCAD診断および予測方法は、例えば、急性心筋梗塞(AMI)または死亡のリスクを有する個々の人の大部分を特定することにおいて完全に効果的ではなかった。心臓のマーカーは、心血管疾患の早期検出およびモニタリングにおいて重要な役割を果たす。疾病のマーカーは、典型的に、簡単に測定できる身体試料において見出される物質である。測定される量は、根本的な疾病病態生理、進行中のまたは差し迫った心臓イベントの有無、または将来の心臓イベントの可能性と関連付けることができる。既存のマーカーは、他の測定またはリスク因子と組み合わせても、CADおよびその不良な結果のリスクを有する患者を的確に特定しない。

20

【0041】

[発明の効果]

本願発明は、炎症、血栓症疾患、細胞ストレス、および自己免疫疾患(そして特に、炎症、血栓症、および細胞ストレス)およびに任意に感染に関連するバイオマーカーの組み合わせのレベルが測定でき、および集合において(総合して、in the aggregate)、レベルが、ヒトにおける不良な心臓イベントのリスクを評価するのに使用されることができるといふ発見にある程度関連する。炎症、細胞ストレス、感染、および血栓症および自己免疫疾患は、個々の経路を介して、CADおよびその不良な結果、特に、プラーク破綻(急性心筋梗塞(AMI)としても知られる)または死亡に関するリスクの総合の負担(aggregate burden)に寄与することができる。炎症性、細胞ストレス、感染性、血栓症、および免疫経路を含む種々の病態生理学的過程の活性化は、CAD、それに続くプラーク破綻および不良な予後の発症の一因となる。いくつかの実施形態において、CRP遺伝子産物およびFDPMマーカー(2以上のFDPを含む)のようなバイオマーカーの測定を含む方法を提供し、いくつかのケースにおいて、[これは]HSP70および/またはCMVと組み合わせ、対象における不良な心臓予後のリスク評価を行う。そのような方法は、例えば、既知のCADを示し、プラーク破綻のような顕著な不良な心血管予後を経験する可能性(確率)が上昇している対象を特定するのに役立つ。分析はまた、CADの事前の診断結果を有していない対象、CADを有しているが、狭窄が血行動態として顕著(重症)であるとみなされない対象、および/または不良な心臓予後のリスクの増加を有する対象を特定するのに役立つ(個々人を特定するのに役立つ)。

30

40

[定義]

【0042】

提供される実施形態の理解を助けるために、本出願で使用される選択された用語が以下に論じられる。

【0043】

アテローム動脈硬化[症]から生じる、用語「不良な心血管予後」は、冠動脈疾患(CAD)、虚血性心疾患(IHD)、狭心症、AMI、死亡、脳卒中および末梢血管疾患を意味する。

【0044】

用語「冠動脈疾患」は、冠状動脈のアテローム性動脈硬化症を意味するが、また、足およ

50

び脳にあるような末梢動脈のアテローム性動脈硬化症の可能性を推測し、および、（心筋梗塞および死亡、狭心症、脳卒中および末梢血疾患のような）C A Dの結果を含む。

【 0 0 4 5 】

用語「バイオマーカー」とは、代表的な、生物学のまたは生物学的に由来する、過程、イベント、または状態の指標を意味する。本願で使用されるようなバイオマーカーは、タンパク質を含む遺伝子産物、核酸および代謝物、それと共に、それらの多型、変異体 (mutations)、バリエーション (variants)、修飾物 (modifications)、サブユニット、フラグメント、タンパク質 - リガンド複合体、および分解産物、タンパク質 - リガンド複合体、エレメント、関係する代謝物、および他の検体 (analytes) または生物学的状態に関連する試料由来の測定物 (sample-derived measures) を制限なしに包含する。バイオマーカーは、また、変異タンパク質または変異核酸をも含むことができる。バイオマーカーは、好ましくは、炎症性、感染、血栓症のまたは自己免疫バイオマーカーを含む。

10

【 0 0 4 6 】

本願で用いられる用語「炎症バイオマーカー」または「炎症のバイオマーカー」は、炎症の指標であるバイオマーカーを意味する。例示的な炎症バイオマーカーは、C - 反応性タンパク質 (CRP)、インターロイキン (IL) - 6、および血清アミロイド A タンパク質、ホモシステインを含む。

【 0 0 4 7 】

本願で用いられる用語「感染のバイオマーカー」または「感染バイオマーカー」は、感染症の指標であるバイオマーカーを意味する。潜在的な感染バイオマーカー (感染のバイオマーカー) のリストは、感染症バイオマーカーデータベース (IDBD、<http://biomarker.cd.go.kr> および <http://biomarker.korea.ac.kr>) にて見出すことができる。例示的な感染バイオマーカーは、C R P、抗サイトメガロウイルス (CMV) 抗体、クラミジアニューモニア (*Chlamydia pneumonia*)、単純ヘルペスウイルス (HSV) 1 型および 2 型、ヘリコバクターピロリ、および A 型肝炎ウイルス、並びに、歯周病原菌 (periodontal pathogens) の遺伝子産物 (タンパク質を含む) を含む。

20

【 0 0 4 8 】

本願で用いられる「自己免疫疾患バイオマーカー」または「自己免疫疾患のバイオマーカー」は、自己免疫疾患の指標であるバイオマーカーを意味する。遺伝子産物 (例えば、タンパク質) の 3 つの群は、自己免疫疾患過程を反映する：(1) 影響を受けた組織の破壊から生じた分解産物、(2) 組織分解において役割を果たす酵素および (3) 免疫活性と関連するサイトカインおよび他のタンパク質 (Prince, H.E., Biomarkers, 2005, Nov. 10, Suppl 1: S44-49)。例示的な自己免疫疾患バイオマーカーは、熱ショックタンパク質 60 に対する抗体 (anti-HSP60)、熱ショックタンパク質 70 (HSP70)、アグレカン (aggrecan) フラグメント、I I 型コラーゲンの C - プロペプチドおよび軟骨オリゴママトリクスタンパク質 (cartilage oligomeric matrix protein)、マトリクスメタロプロテアーゼ (MMP) - 1、M M P - 3 および M M P - 1 / 阻害剤複合体チオレドキシン (MMP -1/inhibitor complexes thioredoxin)、I L - 16 および腫瘍壊死因子 (TNF) - アルファ、ニューロフィラメント光タンパク質 (neurofilament light protein) およびグリア細胞繊維性酸性タンパク質 (glial fibrillary acidic protein)、M M P - 2 および M M P - 9 および T N F - アルファおよび可溶性血管接着分子 - 1 の遺伝子産物 (タンパク質を含む) を含む。

30

40

【 0 0 4 9 】

本願で用いられる「細胞ストレスバイオマーカー」または「細胞ストレスのバイオマーカー」は、バイオマーカーを意味し、細胞がストレスに曝される場合にこのバイオマーカーのレベルは増加する。例示的な細胞ストレスバイオマーカーは、熱ショックタンパク質 (HSP) 70 (HSP70)、および、H S P 3 2、H S P 2 7、H S P 7 2、H S P 9 0、H S P 4 7 のようなある特定の他の H S P、並びに、ユビキチン、および H s c 7 0、および、Rajdev and Sharp, Toxicologic Pathology, 28(1) 105-112 (2000); Zhou ら、Circulation, 110: 207-213 (2004) で議論される細胞ストレスバイオマーカーを含む。

50

【0050】

本願で用いられる用語「血栓症のバイオマーカー」または「血栓症バイオマーカー」は、血栓症の指標であるバイオマーカーを意味する。いくつかの実施例は、フィブリノーゲン、プロトロンビン1・2、組織プラスミノゲンアクチベーター抗原(tPA)、プラスミノゲンアクチベーター阻害剤-1(PAI-1)、および、少なくとも2つのフィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物(FDPs)(例えば、2以上のフラグメントX、Y、D、D-ダイマー、およびEフラグメントY、および初期プラスミン消化産物(IPDP))の混合物を含むFDPマーカーのようなFDPマーカーを含む。

【0051】

本願で用いられるように、用語「フィブリン分解産物(1または複数)」、「フィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物(1または複数)」および「FDP」は、フィブリンまたはフィブリノーゲンのいずれかが分解されるときに生じる1以上のフラグメントを意味する。FDPは、様々なコンビネーション(combinations)で遊離するX、Y、D、およびEフラグメント(フラグメントX、フラグメントY、フラグメントD、およびフラグメントE)と称される4つの主要なFDPを含む。プラスミンによるフィブリノーゲンの開裂は、主要最終産物(primary end-products)として、フラグメントDおよびEを生じる。トロンピンは、フィブリノーゲンをフィブリンに変換する。フィブリン塊(fibrin clot)がプラスミンにより壊されるときに、分解される最終のフラグメント(2つのDサブユニットおよび1つのEサブユニットを含む)は分裂し、Eフラグメントおよび、お互いに結合する2つのDフラグメント(「D-ダイマー」と称される)を放出する。このD-ダイマーは、フィブリンから生じ、フィブリノーゲン分解により生じるものではない。その結果、FDPバイオマーカーは、1以上のX、D、およびEフラグメントの存在を含み得る。一つの実施例において、FDPバイオマーカーは、フラグメントYを含み;一つの実施例においては、これは、初期プラスミン消化産物(IPDP)の1または2の区別できる形態を含む。いくつかの実施形態において、提供される方法およびシステムは、FDPマーカーのレベルを検出する;一側面において、このFDPマーカーは、少なくとも2つの(フラグメントD、E、およびDダイマーのような)FDPの混合物を含み、およびいくつかの側面において、更に1以上のフラグメントX、Y、およびIPDPを含む。一つの実施例において、FDPマーカーは、DR-70(登録商標)ELISA分析により検出される、1以上、または全てのFDPを含む。他の実施例において、FDPは、国際出願公開番号WO2010/114514A1号に記載される1以上のFDPを含む。他の実施例において、これらは、抗フィブリノーゲンポリクローナル抗体または多重の(multiple)モノクローナル抗体のいずれかを使用したフィブリノーゲンELISA分析によって検出される1以上のFDPを含む。

【0052】

「C-反応性タンパク質」はまた、「hsCRP」または「CRP」としても知られ、炎症性反応の反応物プラズマタンパク質コンポーネント(reactant plasma protein component)のマーカーである。CRPは、炎症状態への非特異的急性期反応(non-specific acute phase response)の一部として肝細胞により生じるタンパク質である。これは、広い範囲の感染症の診断および観察に使用される。

【0053】

「熱ショックタンパク質70」はまた、「HSP70」、「HSP73」、「HSPA8」としても知られている。他のファミリーのメンバーは、HSP70-1、HSP70-2、HSP70-4、HSP70-4L、HSP70-5、HSP70-6、HSP70-7、HSP70-8、HSP70-9、HSP70-12a、HSP70-14を含む。レベルの増加は、細胞がストレスにさらされる状態の間に見出される。したがって、HSP70は、細胞ストレスバイオマーカーの1つである。

【0054】

「サイトメガロウイルス」、「CMV」は、ウイルスのヘルペスファミリーの一種である。他のファミリーメンバーは、単純ヘルペスウイルス1型(HSV-1またはHHV-1)および単

10

20

30

40

50

純ヘルペスウイルス2型(HSV-2またはHHV-2)、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)、ヒトヘルペスウイルス(HHV)-6、HHV-7、およびHHV-8を含む。CMVを検出するためのバイオマーカーは、CMV抗体(CMV-Ab)を含む。

【0055】

用語「哺乳類」または「対象」は、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ウマ、ヒツジ、ウシ、ネコ、イヌ、ブタのような生物を意味し、より好ましくは、サルおよび類人猿であり、そしてもっとも好ましくはヒトである。いくつかの実施形態において、対象はヒトであり、そして使用されるテストまたは生物試料(テスト試料またはコントロール試料であり得る)は体液または体組織である。

【0056】

本願で用いられる用語「体液」は、循環する液体および非循環の液体を含む。循環する液体の例としては、血液、CSF、およびリンパ液を含む。非循環の液体の例としては、滑液を含む。

【0057】

体液は、全血、血液分画、血液成分、プラズマ、血小板、リンパ液、唾液、血清、胃液、胆汁、脳脊髄液(CSF)、骨髄、涙、乳、臓器組織、神経系組織、非神経系組織、筋組織、生検(biopsy)、剖検(necropsy)、脂肪生検、脂肪組織、細胞、糞便、胎盤、脾臓組織、リンパ組織、膵臓組織、気管支肺胞洗浄(BAL)、滑液および尿からなる群から選択される。ほとんどの場合の体液は、血液である。

【0058】

生物試料におけるバイオマーカーは、クロマトグラフィー、免疫分析、酵素学的分析、および分光法からなる群より選択される方法を限定されずに含む様々な方法により測定され得る；バイオマーカーは、直接的にまたは間接的に検出され得る。

【0059】

「マーカーレベル」は、試料におけるマーカーの量を意味し、そして、濃度、質量、モル、体積、濃度、または試料に存在するマーカーの量を示す他の尺度(measure)のユニットを意味する。

【0060】

使用されるクロマトグラフの方法は、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)またはガスクロマトグラフィー(GC)であり得る。使用される分光法は、例えば、紫外分光法(UVまたはUV/Vis分光法)、赤外分光法(IR)、または核磁気共鳴分光法(NMR)であり得る。

【0061】

免疫分析は、CRP、FDP、HSP70および抗CMVAbからなる群より選択される(少なくとも1つの；一つ以上の)生物学的マーカーを好ましくは検出する。好ましくは、免疫分析は、抗マーカー抗体または他の免疫学的に活性な分子を使用して、テスト試料におけるバイオマーカーを検出する。免疫分析は、酵素結合免疫吸着分析(enzyme-linked immunosorbent assay)(ELISA)であり得る。FDPは、DR70(登録商標)と称されるELISAを使用して測定され得る。FDPはまた、抗フィブリノーゲンポリクローナル抗体または多重の(multiple)モノクローナル抗体のいずれかを使用するフィブリノーゲンELISAによって測定され得る。

【0062】

用語「バイオマーカーのコントロールレベル」は、正常な対象の母集団におけるバイオマーカーのレベルを意味する。評価を受ける対象およびコントロール対象は、同一の種である(例えば、ヒト対象は評価される対象であり、およびコントロール対象もまたヒトである)。

【0063】

本願で用いられるように、「顕著(重症)な」冠動脈疾患(CAD)は、血管造影法により決定されるような、50%以上(50%)の冠動脈狭窄を伴う1以上の病変部(lesion)を有するCADを意味する。したがって、「非顕著(非重症)な(insignificant)」または「顕著(重症)でない(non-significant)」CADは、血管造影法により決定さ

10

20

30

40

50

れるような、50%以上(50%)の冠動脈狭窄を伴わない(即ち、50%未満(50%>)の冠動脈狭窄のみである)CADを意味する。

[実施形態]

【0064】

対象(例えば、ヒト)における不良な心血管予後のリスクを決定するための診断、予知(prognostic)、および予測(predictive)方法及びシステム(例えば、キット)が提供される。一つの実施形態において、方法およびシステムは、哺乳類における既知の疾病がない状況において、冠動脈疾患(CAD)または関連する疾病、またはCADまたは関連する疾病を発症するリスクを検出し、または予測する。他の実施形態において、方法およびシステムは、(AMIの可能性の増加を評価するための方法のような)方法を行った後の1年のような所定の期間内における、心筋梗塞(MI)(例えば急性MI(AMI))または死亡のようなCADの不良な結果を検出または予測する。したがって、方法は、CAD(例えば、顕著なまたは非顕著なCAD)を有することが知られているまたは、CADを有する疑いのある対象、CADの如何なる症状も示さない対象、安定的なCADを有する対象、または例えば30日以内のような最近の期間内で、MIのイベントを有していない対象を含む最近急性冠症候群(ACS)を有している対象において行われてもよい。いくつかの側面において、方法は、既知のCADを示し、例えばプラーク破綻(plaque rupture)のような顕著な不良な心血管予後を経験する可能性が上昇している対象を特定するのに役立つ。この分析はまた以前CADの診断結果を有していない一般的な集団から、不良な心臓予後(adverse cardiac outcome)のリスクの増加を有する対象を特定する役割を有し、

10

20

【0065】

方法は、対象における(通常、対象から得られるテスト生物試料における)複数のバイオマーカーの有無、またはレベルを検出することまたは測定することを通常含む。いくつかの側面において、複数のバイオマーカーのレベルは、対象における、上記のような不良な心血管予後のリスクを、例えば総合して示す。

【0066】

一側面において、方法は、この方法における使用のための生物試料を提供するまたは得るステップを含む。試料は、例えば細胞、組織、または体液からの任意の生物試料タイプであり得、そして、通常は、全血、血液分画、血液成分、プラズマ、血小板、または血清のような血液由来の試料である。他の例示の試料タイプは、脳脊髄液(CSF)、骨髄、尿、涙、乳、リンパ液、臓器組織、神経系組織、非神経系組織、筋組織、生検(biopsy)、剖検(necropsy)、脂肪生検、脂肪組織、細胞、糞便、胎盤、脾臓組織、リンパ組織、膵臓組織、気管支肺胞洗浄(BAL)、および滑液を含む。

30

【0067】

複数のバイオマーカーは、少なくとも2つのバイオマーカーを含み、かつ通常、1以上の血栓症バイオマーカーを含み、通常FDPマーカーを含む。上記のように、FDPマーカーは典型的には、例えばフラグメントD、E、およびD-ダイマーのような、少なくとも2つのFDPの混合物であり、およびいくつかの側面においては、更に、1以上のフラグメントX、Y、及びIPDP、DR-70(登録商標)ELISA分析によって検出される1以上、または全てのFDP、または国際出願公開番号WO2010/114514A1号に記載されるようなFDPを含む。他の例において、FDPは、抗フィブリノーゲンポリクローナル抗体または多重のモノクローナル抗体を使用するフィブリノーゲンELISAにより測定され得る。バイオマーカーのパネル(組み合わせ)は、通常また、少なくとも1つの炎症性(炎症)バイオマーカー、少なくとも1つの自己免疫疾患または細胞ストレスバイオマーカー、およびいくつかのケースにおいては、感染バイオマーカー、またはそれらの組み合わせを含む。例示の炎症バイオマーカーは、CRPタンパク質のようなC-反応性タンパク質(CRP)遺伝子産物を含む。例示の細胞ストレスバイオマーカーはHSP70タンパク質のような熱ショックタンパク質70(HSP70)遺伝子産物を含む。い

40

50

いくつかの実施形態において、パネルは、血栓症バイオマーカー、炎症バイオマーカー、および自己免疫疾患もしくは細胞ストレスバイオマーカー、およびいくつかの場合において、血栓症バイオマーカー、炎症バイオマーカー、および細胞ストレスマーカーを含み；いくつかの側面において、これは更に、感染バイオマーカーを含む。

【0068】

したがって、特別の実施形態において、方法は、対象における不良な心臓予後のリスク評価を決定するためにバイオマーカー、CRPおよびFDPマーカーを測定すること；CRP、FDPマーカーおよびHSP70を測定すること；CRP、FDPマーカー、および抗CMVAbを[測定すること]、またはCRP、FDPマーカー、HSP70および抗CMVAbを測定することを含む。

10

【0069】

一つの側面において、方法は、哺乳類由来の試料（テスト生物試料と称される）における少なくとも2つのバイオマーカー（HSP70、CRP、FDPおよび/または抗CMVAb）のレベルを測定するステップ；（b）テスト試料において測定されるバイオマーカーのレベルを各[バイオマーカーの]コントロールレベルと比較する[ステップ]；および（c）2以上のバイオマーカーのレベルが、そのそれぞれのコントロールバイオマーカーレベルと有意に（significantly）異なっているかどうかを決定するステップを含む。このとき、2以上の各バイオマーカーのレベルが、各個のコントロールレベルより有意に大きい場合には、個体はリスクの増加（ないしは、増加したリスク）を有する。

【0070】

一つの実施形態において、方法は、CRPおよびFDPマーカーのレベルを測定する。他の実施形態において、方法は、CRP、FDPマーカーおよびHSP70のレベルを測定する。代替の実施形態において、方法は、CRP、FDPマーカーおよび抗CMVAbのレベルを測定する。代替の実施形態において、方法は、CRP、FDPマーカー、HSP70および抗CMVAbのレベルを測定する。

20

【0071】

他の実施形態において、方法は以下のステップにより、HSP70、C反応性タンパク質（CRP）、FDPマーカー、および、サイトメガロウイルス（CMV）抗体のレベルを測定する：即ち、体液を提供する（provide）こと；HSP70、C-反応性タンパク質（CRP）、FDPマーカー、および/または抗サイトメガロウイルス抗体への薬剤の結合が可能である状況下で、ホモジネート（homogenate）をバイオマーカー特異的結合薬剤に接触させ、もしあるならば、複合体（complex）を形成すること；および、前記対象の生体試料において、もしあれば、HSP70、CRPおよびFDPマーカーおよび抗サイトメガロウイルス抗体をその免疫学的分析により検出すること。

30

【0072】

いくつかの実施例において、レベルがコントロールレベルより高い、または著しく高い、または特有の程度で高い（例えば、レベルがそのようでない状況と比較して上昇しているとみなされる）場合に、所定の不良な予後のリスクは、例えば2、3、4、5、6以上に増加しているとみなされる。一つの実施例において、ミリリッター当たり1マイクログラムより大きい場合に、FDPマーカーは上昇する[とみなされる]。一つの実施例において、試料リッター当たり3ミリグラムより大きい場合に、CRP遺伝子産物は上昇する[とみなされる]。一つの実施例において、検出された場合に、HSP70遺伝子産物は上昇する[とみなされる]。

40

【0073】

いくつかの側面において、方法は、体組織または他の生物試料のホモジネートを提供することおよび、薬剤のバイオマーカーへの結合が可能である状況下で、ホモジネートまたは試料をバイオマーカー特異的結合剤と接触させ、もしあるならば、複合体を形成することを含む。いくつかの側面において、[方法は、]バイオマーカーの免疫分析によって、もしあるならば、生物試料におけるバイオマーカーを検出することを含む。この実施形態において、薬剤は、1つのバイオマーカーと結合するものであり得、または、それぞれが、

50

異なったバイオマーカーと結合する、または二つ以上のバイオマーカーと結合することができる多重（多反応性）薬剤（multi-reagent）であり得る。したがって、バイオマーカーのレベルは、免疫分析によって測定され得る。好ましくは、免疫分析は、抗マーカー抗体を使用して、テスト試料におけるバイオマーカーを検出する。免疫分析は、好ましくは、酵素結合免疫吸着分析（ELISA）であり得る。一つの実施形態において、FDPマーカー用のELISAはDR70（登録商標）である。DR70（登録商標）は、結腸直腸癌を観察するためにUSFDAによってクリアされた、診断に用いる癌テストである。DR70（登録商標）は、一つの経路または一つの経路産物を測定するのみの他のFDP分析とは異なる、多重の経路から生じるFDPマーカーレベルを測定する。他の実施例において、FDP産物は、ポリクローナル抗フィブリノーゲン抗体または多重モノクローナル抗フィブリノーゲン抗体のいずれかを含むフィブリノーゲンELISAによるような、ポリクローナル抗フィブリノーゲン抗体および/またはモノクローナル抗フィブリノーゲン抗体、典型的には、多重モノクローナル抗体を使用して測定され得る。

10

20

30

40

50

【0074】

いくつかの実施形態において、CRPバイオマーカー（例えば、CRPタンパク質）は、Robertsら, *Clinical Chemistry*, 46:4, 461-68 (2000)に記載される分析、Shine Bら, *Clin Chim, Acta* 1981; 117:13-23に記載される分析のような高感度CRP (hs-CRP) 分析、Dade-Behring Inc. から市販されているBNII自動化システム、および/またはrate nephelometry (Behring NA latex CRP; Behring, Germany) および/またはGenWay Biotech., Inc., カタログ番号40-052-115042により利用できるテストを使用して測定される。

【0075】

いくつかの実施形態において、少なくとも2つのバイオマーカーのレベルは、そのようなバイオマーカーのコントロールレベル（例えば、それらの個々の所定の値（コントロール値）のレベル）と比較される。好まれる実施形態において、所定の値は、正常な心臓の状態を示す。

【0076】

この所定の値は、既知の方法または本願に記載された方法を使用して決定され得、および、特定の患者に対して特別のものであり得または所定の集団に関して包括的な（generic）ものであり得る。一つの実施形態において、コントロールバイオマーカーレベル（バイオマーカーに関するコントロールレベル）は、健康的な対象（20% > [20%未満] 冠動脈狭窄を有する対象のようなCADを有さない対象）の集団におけるバイオマーカー（すなわち、FDPマーカー、CRP、HSP70、抗CMVA b）に関するレベル（またはレベルの範囲）である。

【0077】

所定の（コントロール）値は、（生物試料（これはまたテスト試料と称される）から得られる）評価される対象とおよそ同じ年齢のヒトから、好ましくは得られる。性別、民族（ethnicity）、喫煙歴、体重/他の状態（例えば、糖尿病および心血管リスク因子）のような追加の特徴はまた、考慮に入れられる。ある実施形態において、所定の値は、例えば前歴が無く患者が心臓の症状（例えば胸の痛み）を有した時のような特定の患者のマーカーレベル、および/または確認されたCADを有する患者におけるマーカーレベルの前もっての測定により構築されていてもよい。

【0078】

更なる実施形態において、方法は、対象を治療する方法であり、対象が不良な心血管予後を有するという増加した可能性を有しているかどうかを決定すること、および、対象が、不良な心血管予後を有するという増加した可能性を有している場合に特定の治療コースを選択することを含む。不良な心血管予後の可能性の増加の予測は、CADの症状を示す対象、またはそれを示さない対象においてなされ得る。

【0079】

また、上記のような任意の組み合わせにおける、複数のバイオマーカーと特異的に結合しおよび/または検出する複数の薬剤を含むキットのような、この方法における使用のためのシステム（例えば、キット）も提供される。方法において有用なキットは、費用効率が高く、不良な心臓予後、他の心臓の状態、急性心筋梗塞（AMI）の可能性を評価するために使用される得る迅速なテストを提供する。キットは、生物試料において評価される2つ以上のバイオマーカーのうちの1つに特異的な少なくとも1つのバイオマーカーを含む。例えば、キットは、FRPを検出する特異的なバイオマーカー（例えば、そしてCRPを検出する特異的なバイオマーカー）を含んでもよい。

【0080】

加えて、ある実施形態において、提供される診断方法は、（CADを示さない人々において；CADを有することが知られていない人々において）症状が起こる前にCADを有するまたは発症する可能性を評価する、または、冠動脈狭窄の重症度が、重症または重症でないとなされるかどうかに関わらず既知のCADを有する人々における心筋梗塞または死亡のリスクを評価するのに有用である。加えて、方法および組成物は、虚血および心臓不全を取り除く（ないし軽減する、relieve）ためにデザインされた治療介入（therapeutic intervention）の有効性を観察するのに使用され得る。観察のためのいくつかの実施形態は、必要に応じて、3か月、6か月、または1年の間隔での治療介入の間またはその後、対象をテストすることを含む。

10

【0081】

記載されるような診断または予知の方法を行い、および続いて、例えば分析の結果を基にして、対象の治療を処置し、治療を中止し、または治療を変えることを含む治療の方法もまた提供される。いくつかの側面において、方法は更に対象を第一に治療することを含む。

20

【0082】

いくつかの実施形態において、方法は、リスク評価アルゴリズムを含む統計的な解析を含む。ひとつの実施例において、提供される方法およびシステムは、例えば、所定の期間内の所定の予後（例えば、AMIまたは死亡）を有するだろうと思われるまたは有する可能性の高い個々人と、そのような予後を有しないだろうと思われるまたは有しない可能性が高い個々人を区別することができる。

【0083】

いくつかの側面において、例えば、（1以上のバイオマーカーの特有のレベルまたは、1以上のバイオマーカーが、本願に記載されるように、上昇しているまたは陽性であるとみなされる特有のレベルのような）1以上の所定の値（1または複数）または共変量（1または複数）（covariate）と、（死亡またはAMIの発生のような）、特別な予後、終点（endpoint）、またはイベントとの関係を示すために、よく知られた統計学的な解析方法を用いて、ハザード比（HR）が計算される。したがって、HRは、値（1または複数）または共変量（1または複数）に関連する、予後、イベント、または、終点の発生のリスクを記載する。

30

【0084】

1つの側面において、方法は、受信者動作特性（ROC）曲線およびROC曲線下の領域（面積、area）（AUC；C - 統計量）の確率解釈（probabilistic interpretation）の使用を含む。ROC曲線は、所与のテストまたは予測モデルの感度（y軸にプロットされる）のテストまたはモデルの偽陽性率（FPR；1 - 特異度）（x軸にプロットされる）に対するプロットである。グラフ上の各点は異なった切点（cut-point）を使用することによって生じる。いくつかの実施例において、切点は、バイオマーカーが、切点以上のとき試料において「上昇する」とみなされる点に対する所与のバイオマーカーの濃度または量である。AUC（C - 統計量）は、全ての可能性のあるカットオフ値に関するプロット（曲線）の下の面積である。したがって、ROC曲線は、全ての可能性のある切点での尺度の共通のセットでの2以上のテストの直接目視比較を可能にする。1.0のC - 統計量を有するテスト（例えばリスク予測モデル）は、完全に正確である（なぜなら、FPRが0.0

40

50

の時、感度が1.0であるからである)；0.0のC-統計量を有するテストは、完全に不正確である。したがって、いくつかの実施形態において、ROC曲線を利用してC-統計量が求められ、かつ個別のバイオマーカーが加えられる場合並びにバイオマーカーのサブセットが評価されている場合に、バイオマーカーを使用するようリスク予測モデルに関してC-統計量が比較される。全体的に、C-統計量が1.0に近づけば近づくほど、リスク予測モデルは良くなる。

【0085】

以下の実施例は、発明を説明するために提供されるが、発明を限定するものではない。

【実施例】

【0086】

実施例1：臨床検証試験 (Clinical Validation Study)

C-反応性たんぱく質 (CPR)、フィブリンおよびフィブリノーゲン分解産物 (FDP) マーカー (多重FDPの混合物を含む)、および熱ショックタンパク質70 (HSP70) のレベルを含む総合のバイオマーカーリスクスコアを決定することを示すこの実施例は、対象における不良なイベントの更なるリスクを評価しまたは示すことができる。サイトメガロウイルス抗体 (anti-CMV Ab) および熱ショックタンパク質60に対する抗体 (anti-HSP60) もまた評価した。CRPは、高感度CRP (hs-CRP) 分析を使用して測定した (GenWay Biotech., Inc., カタログ番号40-052-115042)。FDPマーカーは、DR-70 (登録商標) ELISA分析を使用して測定した。

【0087】

方法：ケースコントロール研究 (case-control study) において、Emory Cardiology Biobank (心臓カテーテルを受ける患者の登録) から、1500の対象を選択した。；これは、(1)登録後の追跡 (follow-up) の2年の時点で、死亡、MIを患っており、血管造影法によるCADを有する対象 (n=200対象)；(2)血管造影法によるCADを有しMIまたは死亡していないもの (n=800) であり、このうち300の対象は登録後の2年間の追跡の間、血行再建手術を受けた；および(3)血管造影法に基づいて顕著でないCADを有するもの (n=500) を含む。群は、傾向スコアリング (propensity scoring) を使用して、年齢、性別および心臓血管リスク因子に関してマッチさせた (match) (Rosenbaum, P.R. および Rubin, D.B., Biometrika, 1983, 70(1), 41-55; http://en.wikipedia.org/wiki/Propensity_score_matching)。血清バイオマーカーは、ELISA (GenWay (登録商標) Inc.) を使用して測定した。Cox比例ハザードサバイバル解析は、年齢、BMI、性別、人種、喫煙、糖尿病、および高血圧に関して更に調整したモデルを使用して行った。データは、連続変数として、かつ、認められた (accepted) 数値を元に割り当てられたカットポイントで解析した。

【0088】

結果：CMV抗体および抗HSP60のレベルは、如何なる予後にも有意に関連するものではなかった。2年の時点の死亡またはMIの主要予後 (primary outcome) に関して、標準の心臓血管リスク因子に関する調整を使用して、各バイオマーカーの関連性をモデル化し、続いて、1.55 (p<0.0001) のハザード比 (HR) を表した。切点を使用したモデリングは、CPR>3.0mg/Lの場合に関して1.89 (p<0.001) のハザード比を表し；HSP70が検出可能な場合には、HSP70に関して1.42 (p=0.005) のHRを表し；およびFDP>1.0μg/mlの場合に関して2.04 (p<0.001) のHRを表した。集合において (総合して)、3つの有意なバイオマーカーの全てを使用して計算されたカテゴリーリスクスコア (categorical risk score) を使用した主要予後に関するHRは、1つの上昇したバイオマーカーに関しては1.68 (p=0.008)、2つの上昇したバイオマーカーに関しては2.64 (p<0.0001)、および3つの上昇したバイオマーカーに関しては3.76 (p<0.0001) を表した。これらの結果は、スコアリングシステムについての基礎および総合スコア (aggregate score) についての基礎を提供した。

【0089】

結果は、CRP、FDPマーカー、およびHSP70のレベルの、特に総合した測定は、既知のCADでない患者における死亡およびMIの将来のリスクの強力な予測判断材料であることを表した。

[表1]

CADを「コントロール」群として使用したCRP、HSP70およびDR70とMI+死亡イベントの関連

	調整1* HR(95% CI); p値	調整2** HR(95% CI); p値
分離モデル (Separate Models):		
3. 0でのCRP	1.94 (1.49, 2.51); <0.0001	1.78 (1.37, 2.32); <0.0001
6. 7でのCRP	1.84 (1.42, 2.37); <0.0001	1.71 (1.32, 2.21); <0.0001
0でのHSP70	1.44 (1.13, 1.85); 0.004	1.47 (1.14, 1.90); 0.003
1. 0でのDR70	1.99 (1.54, 2.58); <0.0001	1.93 (1.49, 2.51); <0.0001
オールインワンモデル (All in one Model):		
3. 0でのCRP	1.75 (1.34, 2.28); <0.0001	1.59 (1.22, 2.09); 0.0007
0でのHSP70	1.25 (0.97, 1.61); 0.09	1.30 (1.00, 1.68); 0.05
1. 0でのDR70	1.73 (1.33, 2.26); <0.0001	1.66 (1.27, 2.19); 0.0002
6. 7でのCRP	1.69 (1.30, 2.18); <0.0001	1.57 (1.22, 2.04); 0.0006
0でのHSP70	1.27 (0.99, 1.64); 0.06	1.31 (1.01, 1.70); 0.04
1. 0でのDR70	1.78 (1.36, 2.32); <0.0001	1.72 (1.31, 2.25); <0.0001

10

20

* 年齢、性別、人種、BMI、以前の喫煙、HTNおよび糖尿病に関して調整された

** PCI履歴、以前のMI、プラビックス（登録商標）(Plavix)およびアスピリンの使用を調整1に加えたもの

オールインワンモデルとは、全ての列挙されたバイオマーカーが同一モデルにおいて検討されたことを意味する

分離モデルとは、列挙されたバイオマーカーのそれぞれが、別個のモデルにおいて検討されたことを意味する

30

[表2]

表2 異なる解析群についてのリスクスコアモデルの比較

	全ての参加者*			「コントロール」としてのみのCAD群**		
	3つ全てのマーカー、3.0でのCRP HR(95% CI); p値	3つ全てのマーカー、6.7でのCRP HR(95% CI); p値	3つ全てのマーカー、3.0でのCRP HR(95% CI); p値	3つ全てのマーカー、3.0でのCRP HR(95% CI); p値	3つ全てのマーカー、6.7でのCRP HR(95% CI); p値	3つ全てのマーカー、6.7でのCRP HR(95% CI); p値
非加重連続(Unweighted continuous)	1.55 (1.37, 1.77); <0.0001	1.58 (1.39, 1.81); <0.0001	1.51 (1.33, 1.73); <0.0001	1.53 (1.34, 1.75); <0.0001		
非加重カテゴリ(Unweighted categorical)						
1対0マーカー	1.70 (1.16, 2.49); 0.006	1.80 (1.29, 2.50); 0.001	1.75 (1.19, 2.59); 0.005	1.87 (1.34, 2.61); 0.0002		
2対0マーカー	2.66 (1.81, 3.92); <0.0001	3.11 (2.19, 4.42); <0.0001	2.69 (1.81, 3.98); <0.0001	2.81 (1.96, 4.02); <0.0001		
3対0マーカー	3.79 (2.44, 5.89); <0.0001	3.40 (2.11, 5.47); <0.0001	3.50 (2.22, 5.51); <0.0001	3.27 (2.01, 5.33); <0.0001		
加重カテゴリ(Weighted categorical)(中央値)						
加重カテゴリ(中央値)	1.98 (1.50, 2.60); <0.0001	2.12 (1.65, 2.72); <0.0001	1.95 (1.47, 2.57); <0.0001	1.95 (1.52, 2.52); <0.0001		
マーカーの特異性:						
CRPのみ対0マーカー	1.69 (1.09, 2.62); 0.02	2.09 (1.32, 3.31); 0.002	1.73 (1.10, 2.70); 0.02	2.02 (1.27, 3.22); 0.003		
HSP70のみ対0マーカー	1.57 (0.99, 2.49); 0.05	1.63 (1.13, 2.36); 0.01	1.65 (1.04, 2.62); 0.03	1.74 (1.20, 2.54); 0.004		
DR70のみ対0マーカー	2.09 (1.04, 4.19); 0.04	1.96 (1.12, 3.42); 0.02	2.28 (1.13, 4.59); 0.02	2.08 (1.18, 3.65); 0.01		
CRP/HSP70対0マーカー	2.29 (1.50, 3.52); 0.0001	2.45 (1.55, 3.89); 0.0001	2.41 (1.56, 3.72); <0.0001	2.28 (1.43, 3.61); 0.0005		
CRP/DR70対0マーカー	4.42 (2.64, 7.40); <0.0001	6.94 (4.04, 11.93); <0.0001	3.71 (2.20, 6.27); <0.0001	4.63 (2.66, 8.06); <0.0001		
HSP70/DR70対0マーカー	1.89 (0.98, 3.64); 0.06	2.70 (1.74, 4.19); <0.0001	2.17 (1.09, 4.30); 0.03	2.65 (1.68, 4.17); <0.0001		
3つ全てのマーカー対0マーカー	3.88 (2.37, 5.72); <0.0001	3.30 (1.07, 5.37); <0.0001	3.43 (2.17, 5.42); <0.0001	3.21 (1.97, 5.23); <0.0001		

* 年齢、性別、人種、BMI、今までの喫煙、HTN、糖尿病、Gensiniスコアに関して調整されたモデル
 ** 年齢、性別、人種、BMI、今までの喫煙、HTN、糖尿病、PCI履歴、以前のMI、プラビックス(登録商標)の使用、アスピリンの使用に関して調整されたモデル
 加重とは、所定のいくつかの要素において、同一のセットにおける他の要素よりも加重を掛けたことを意味する
 非加重とは、全ての要素において、所定の等分の加重を掛けたことを意味する
 連続とは、ある間隔にわたってその最初の値と最後の値の間が連続していることを意味する
 カテゴリ(ordinal)とは、値が連続せず、それぞれ個別のものであることを意味する

10

20

30

40

50

【0090】

実施例2A: 臨床検証研究 (Clinical Validation Study)

追加の研究を、4つの患者群を使用して行った: コホートA - MIまたは死亡であり、顕著なCAD (50% [50%以上]の冠動脈狭窄)が血管造影によって確認された[群]; コホートB - MIまたは死亡でなく、顕著なCADが血管造影法によって確認された[群]; コホートC - MIまたは死亡であり、非顕著なCAD (血管造影法により決定された<50% [50%未満]の冠動脈狭窄)が血管造影によって確認された[群]; およ

びコホート D - M I または死亡でなく、非顕著な C A D (血管造影法により決定された < 50% [50%未満] の冠動脈狭窄) が血管造影法によって確認された [群] ; 総計 3800 の対象。1500 の対象を、初期テスト研究 (initial testing study) に使用し ; 2300 の対象を、次の検証研究に使用した。

【0091】

血液は、サンプリング用に採取され、その全てが、カテーテル処置の前に採取された。重症度および冠動脈疾患の存在を、アルゴリズムを用いて実証した。データ回収期間は、2.75 年の平均追跡で示した。CRP、HSP70 抗原、(上記の) FDP マーカー、および CMV 抗体の血清レベルを測定した。CRP は、GenWay Biotech., Inc., カタログ番号 40-052-115042 に記載されたような高感度 CRP (hs-CRP) 分析を使用して測定した。以下の表 3 は、群による対象のベースラインデモグラフィックを概要する。図 1 は、バイオマーカー陽性 (すなわち、以下に記載の「上昇した」もの) の数に関するベースラインデモグラフィックを表す。

[表 3]

群によるベースラインデモグラフィックの概要

	総参加者* n=2951	CAD患者のみ** n=1637
年齢	63.0 ± 11.4	65.1 ± 10.6
男性	1869 (63%)	1149 (70%)
アフリカ人 - アメリカ人	483 (16%)	219 (13%)
今までの喫煙者	1721 (58%)	1045 (64%)
BMI	29.8 ± 6.5	29.6 ± 6.0
糖尿病†	954 (32%)	598 (37%)
高血圧‡	2679 (91%)	1551 (95%)
プラビックス (登録商標) の使用	1308 (44%)	977 (60%)
アスピリンの使用	2372 (80%)	1456 (89%)
スタチンの使用	2099 (71%)	1330 (81%)
Gensini スコア、中央値(Q1, Q3)	11.0 (0, 49.1)	32.0 (10.0, 91.0)
以前の MI	866 (30%)	797 (49%)
PCI 履歴	1181 (40%)	1061 (65%)
CRP, mg/L (中央値(Q1, Q3))	2.7 (1.2, 6.6)	2.5 (1.0, 6.5)
HSP70, ng/mL (中央値(Q1, Q3))	0 (0, 0)	0 (0, 0)
FDP, ug/mL (中央値(Q1, Q3))	0.54 (0.36, 0.81)	0.54 (0.36, 0.82)
上昇したバイオマーカーの数 (◆)		
0	1141 (39%)	659 (40%)
1	1234 (42%)	651 (40%)
2	455 (15%)	266 (16%)
3	121 (4%)	61 (4%)

* * 急性 M I を有していた参加者、移植を有する参加者、および、以前の M I、P C I 履歴またはバイオマーカーリスクスコアに関するデータが欠落した参加者を除いた後、C A D を有する参加者のみに関して、この解析においては、1637 の参加者があった ; これら参加者のうち 190 が死亡または M I イベントを有していた。

* 急性 M I を有していた参加者、移植を有する参加者、および、以前の M I、P C I 履歴またはバイオマーカーリスクスコアに関するデータが欠落した参加者を除いた後、総参加者に関して、この解析においては 2951 の参加者があった ; これら参加者のうち 296

が死亡またはM Iイベントを有していた。

† 糖尿病を薬剤の使用またはグルコース 200mg/dLと定義した

‡ 高血圧を、薬剤の使用、SBP > 140またはDBP > 90と定義した

CRP > 3.0mg/L、HSP70 > 0ng/mL、FDP > 1.0μg/mL

【0092】

Cox比較ハザードサバイバル解析を、年齢、性別、人種、喫煙、糖尿病、および高血圧に関して更に調整したモデルを使用して行った。CRPは、3.0mg/Lより大きい場合に、「上昇した」とみなした。HSP70は、検出可能な場合に「上昇した」とみなした。FDPマーカーは、1.0マイクログラム/mLより大きい場合に「上昇した」とみなした。

【0093】

図2に表されるように、顕著なCADを有する患者において、集合において(総合して)、様々な数のバイオマーカーを使用して計算したカテゴリーリスクスコアを使用した死亡またはM Iの将来のリスクに関するハザード比(HR)は、1つの上昇したバイオマーカーについては、2.08、2つの上昇したバイオマーカーについては、3.38、および3つの上昇したバイオマーカーについては、5.37であった。括弧内の番号は、HR(ハザード比)信頼区間を示す。

【0094】

図3に表されるように、非顕著なCADを有する患者において、集合において(総合して)、様々な数のバイオマーカーを使用して計算したカテゴリーリスクスコアを使用した死亡またはM Iの将来のリスクに関するハザード比は、1つの上昇したバイオマーカーについては、1.40、2つの上昇したバイオマーカーについては、4.11、および3つの上昇したバイオマーカーについては、5.50であった。括弧内の番号は、信頼区間のHR(ハザード比)を示す。

【0095】

中央値および括弧内の信頼区間に関してリストされた番号と共に、結果の詳細な概要を以下の表4に表す。

[表4]

研究の結果の概要(実施例2)

	全ての参加者* HR(95% CI); p値	顕著なCADを有する参加者のみ HR(95% CI); p値	非顕著なCADを有する参加者のみ† HR(95% CI); p値
同一モデルにおける全てのバイオマーカー			
3.0mg/LでのCRP	1.64 (1.31, 2.07); <0.0001	1.60 (1.20, 2.12); 0.0011	2.08 (1.40, 3.08); 0.0003
0ng/mLでのHSP70	2.39 (1.87, 3.04); <0.0001	2.37 (1.75, 3.22); <0.0001	1.82 (1.25, 2.65); 0.0018
1.0μg/mLでのFDP	1.69 (1.34, 2.12); <0.0001	1.53 (1.15, 2.04); 0.0040	2.02 (1.38, 2.96); 0.0003
連続のバイオマーカーリスクスコア(Continuous Biomarker Risk Score)	1.84 (1.64, 2.07); <0.0001	1.74 (1.50, 2.02); <0.0001	1.95 (1.61, 2.36); <0.0001
カテゴリーバイオマーカーリスクスコア			
1対0マーカー	1.85 (1.35, 2.54); 0.0001	2.08 (1.42, 3.06); 0.0002	1.40 (0.82, 2.38); 0.22
2対0マーカー	3.73 (2.71, 5.13); <0.0001	3.38 (2.28, 5.03); <0.0001	4.11 (2.42, 6.98); <0.0001
3対0マーカー	5.66 (3.78, 8.49); <0.0001	5.37 (3.17, 9.09); <0.0001	5.50 (2.91, 10.38); <0.0001

* 年齢、人種、性別、BMI、今までの喫煙、HTN、糖尿病、アスピリン使用、スタチン使用、急性M I、以前のM I、gensiniスコア、脂質異常症およびeGFRに関する調整

** 年齢、人種、性別、BMI、今までの喫煙、HTN、糖尿病、アスピリン使用、プラビックス(登録商標)使用、スタチン使用、PCI履歴、急性M I、以前のM I、gensiniスコア、脂質異常症およびeGFRに関する調整

† 年齢、人種、性別、BMI、以前の喫煙、HTN、糖尿病、アスピリン使用、スタチン使用、gensiniスコア、脂質異常症およびeGFRに関する調整

留意点: これらのモデルは、AMIに関して調整したが、移植は依然として除外した

【0096】

R O C 曲線を使用して、C - 統計量を得、かつ、バイオマーカー対従来のリスク因子（ベースモデル）を使用したリスク予測モデルに関して比較した。以下の表5に表されるように、3つのバイオマーカー（FDPマーカー、HSP70、およびCRP）の従来のリスク因子への追加により、C - 統計量を改良し、利用できるリスク評価ツールと比較した本願において提供される心血管予後のリスクを評価する方法の有用性を表す。

[表5]

全ての参加者モデルに関するC-統計量		
	C-統計量 (下限、上限)	p 値
ベースモデル*	0.695 (0.665, 0.725)	—
1つのモデル†におけるCRP, FDP, HSP 70 [の追加]	0.750 (0.723, 0.776)	7.1311 x 10 ⁻⁸

10

* 年齢、性別、人種、糖尿病、高血圧、喫煙、BMI、P C I c o m p o s i t e、アスピリン使用、プラビックス（登録商標）使用、スタチン使用、O l d M i c o m p o s i t e、以前のA M I、G e n s i n i スコア、脂質C o m p o s i t e、およびe G F R C K D に関して調整したモデル

20

† 3 . 0 m g / L を超えて上昇したとみなされたC R P、検出された（0でカット）場合に上昇したとみなされたH S P 7 0、m L 当たり1 . 0 マイクログラムを超えて上昇したとみなされたF D P が、ベースラインモデルに加えられた。

【0097】

顕著なC A D を有する患者および非顕著なC A D を有する患者に関して、年間基準（annual basis）の主要なイベント（A M I または死亡）を有する各4つの群（0、1、2、または3つ全てのバイオマーカーが上昇したとみなされたもの）の患者のパーセンテージを計算した。図4に表される結果には、3つ全てのバイオマーカーが上昇した顕著なC A D 患者の18.2%が、1年間に（annually）、主要なイベントを有した、それと比較して、正常なバイオマーカーレベルを有するC A D 患者ではたった2.4%であったことを示し、および、3つ全てのバイオマーカーが上昇した非顕著なC A D 患者の14.2%が、1年間に主要なイベントを有した、それと比較して、正常なバイオマーカーレベルを有する非顕著なC A D 患者では、たった1.8%であったことを示した。

30

【0098】

実施例2B：臨床検証研究に関するイベントフリー生存曲線

図5に表されるイベントフリー生存曲線は、実施例2Aに記載の研究に関して得られたものであり、0、1、2、および3つの上昇したバイオマーカー（CRP、HSP70、およびFDPマーカー）を有する個々人に関するイベントフリー生存（A M I または死亡の終点がない）を比較した。顕著なC A D （50% [50%以上]の狭窄）を有する個々人に関して、バイオマーカーがひとつも上昇しなかったもののうち約2%のみが、追跡の1200日の間にイベント（A M I または死亡）を有した。これに対して、顕著なC A D を有しかつ3つ全てのバイオマーカーが上昇した個々人のうち45%が、追跡の1200日の間にイベントを有した。

40

【0099】

この結果は、顕著でない（非顕著な）C A D を有する個々人に関して類似していた。このコホートにおいて、1200日間のイベントのリスクは、ゼロまたは1つの上昇したバイオマーカーを有する患者については低かった。2つの上昇したバイオマーカーの存在は、

50

1200日間のイベントの中度のリスクを示した（このコホート中の2つの上昇したバイオマーカーを有する参加者のうち20%が、血液採取後1200日間にそのようなイベントを有した（20%イベント率））。3つ全ての上昇したバイオマーカーの存在は、血液採取後1200日間のイベントの高いリスクを示した。3つ全ての上昇したバイオマーカーを有する患者は、非顕著なCADを有するコホートの5%にあたった。血液採取後の1200日間で、この群の35%の者がイベントを有した（35%イベント率）。

【0100】

この結果は、この研究において、（図5Aおよび5Bを比較することにより示されるような）狭窄のパーセンテージおよび単一のバイオマーカーの上昇のいずれも不良なイベントのリスクの良い予測材料でないことを表した。これに対して、2つまたは3つのバイオマーカーのレベルの上昇は、イベント（AMIまたは死亡）のリスクを総合して予測した。

10

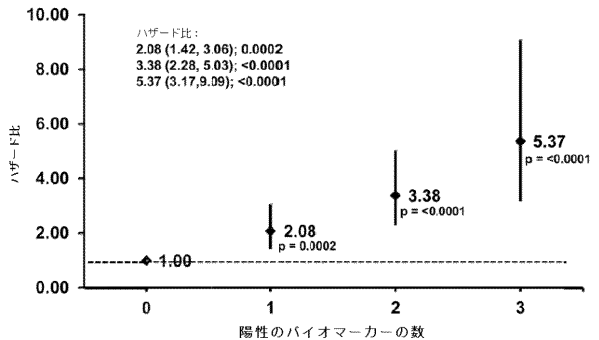
【図1】

バイオマーカーによるベースラインデモグラフィックの概要

	陽性のバイオマーカーの数				傾向におけるp値
	0 (n=1248)	1 (n=1475)	2 (n=565)	3 (n=127)	
年齢 (年)	64 ± 11	62 ± 13	65 ± 12	65 ± 11	5.9 × 10 ⁻⁵
男性 (%)	71	61	62	60	1.4 × 10 ⁻⁷
白色人種 (%)	87	81	80	74	6.8 × 10 ⁻⁵
BMI (kg/m ²)	29 ± 6	30 ± 7	30 ± 7	28 ± 6	9.3 × 10 ⁻³
収縮期血圧 (mmHg)	137 ± 22	138 ± 23	137 ± 25	135 ± 24	0.343
拡張期血圧 (mmHg)	76 ± 12	76 ± 12	76 ± 12	74 ± 13	0.350
LDL (mg/dL)	96 ± 35	102 ± 39	100 ± 39	93 ± 35	0.001
HDL (mg/dL)	42 ± 13	42 ± 13	40 ± 12	42 ± 15	0.016
グルコース (mg/dL)	116 ± 35	124 ± 46	131 ± 65	126 ± 67	4.0 × 10 ⁻¹⁰
Gensini (%)	41 ± 61	35 ± 53	47 ± 66	44 ± 61	0.251 ^v
LVEF (%)	55 ± 11	54 ± 13	51 ± 13	47 ± 18	1.4 × 10 ⁻⁹
eGFR (ml/s)	78 ± 43	81 ± 50	80 ± 48	61 ± 47	1.9 × 10 ⁻⁹
DMの罹患率 (%)	26	35	39	45	7.6 × 10 ⁻¹
HTNの罹患率 (%)	89	93	92	93	0.004
脂質代謝異常症の罹患率 (%)	73	70	68	64	9.5 × 10 ⁻⁵
喫煙率 (%)	56	60	61	67	0.015
初発のAMI: (%)(on presentation)	7	15	17	2	4.8 × 10 ⁻⁶
以前のMIの罹患率 (%)	29	30	37	30	0.009
スタチンの使用 (%)	75	72	72	61	0.012
ASAまたはACE-1の使用 (%)	59	65	60	60	0.002
アスピリンの使用 (%)	81	81	84	72	0.020
アラビックスの使用 (%)	45	45	53	45	0.006
ベータブロッカー (Beta blocker) の使用 (%)	58	65	67	72	1.6 × 10 ⁻⁵
CRP (mg/L)	1.3 ± 0.8	8 ± 12	15 ± 20	19 ± 24	<0.000 ^v
CMV (IU/mL)	10 ± 13	11 ± 14	11 ± 16	17 ± 32	0.033 ^v
antiHSP60 (ng/mL)	168 ± 97	167 ± 91	166 ± 93	156 ± 90	0.444 ^v
HSP70 (ng/mL)	0.0 ± 0.0	30 ± 140	224 ± 829	839 ± 1714	<0.000 ^v
FDP (ug/mL)	0.5 ± 0.2	2.4 ± 12	8.9 ± 25	26 ± 42	2.3 × 10 ^{-190v}
マネージメント: 診断 (%)	58.8	56.7	55.6	61.2	0.430
マネージメント: PCI (%)	33.8	36.5	38.6	37.2	0.187
マネージメント: CABG (%)	5.8	4.9	4.6	1.7	0.109
マネージメント: その他 (%)	1.6	1.9	1.3	0	0.372
遠隔: MI	1.6	3.9	6.4	5.5	2.1 × 10 ⁰
遠隔: 血管再植手術	7.2	11.7	15.4	13.4	8.6 × 10 ⁻⁷
遠隔: 全ての原因 (心臓病の%)	3.1 (27)	6.4 (39)	18.4 (30)	34.6 (48)	4.9 × 10 ⁻³²

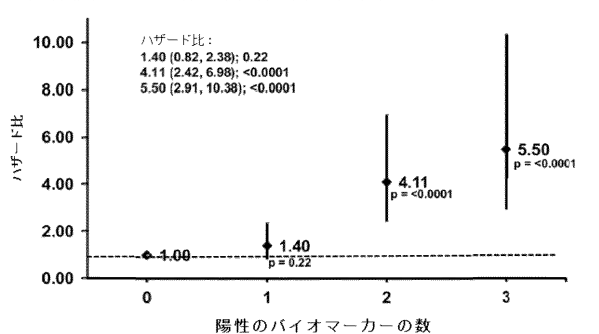
【図2】

顕著なCADを有する患者に関する総合バイオマーカーリスクスコア



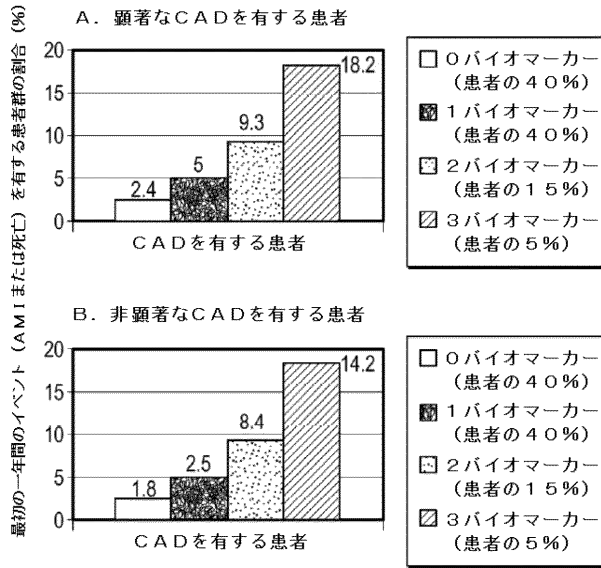
【図3】

非顕著なCADを有する患者に関する総合バイオマーカーリスクスコア

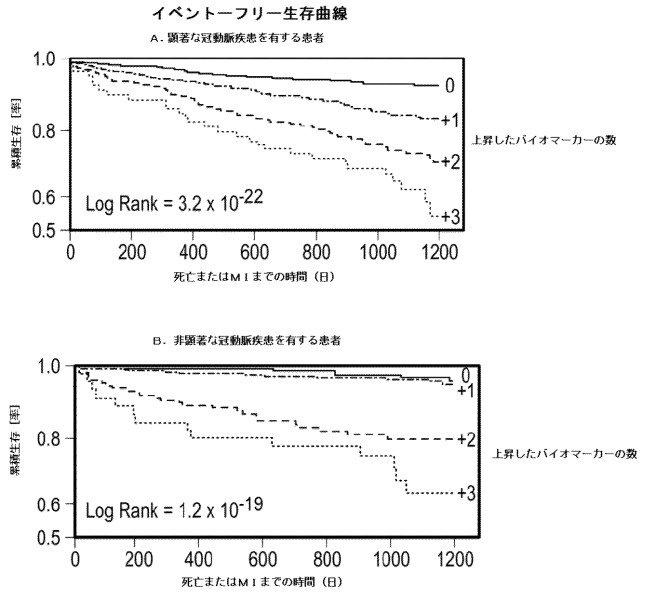


【 図 4 】

一年間のイベント率 (AMIまたは死亡)



【 図 5 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/027354

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	EAPEN DANNY J ET AL: "Aggregate Risk Score Based on Markers of Inflammation, Immunity, and Thrombosis is an Independent Predictor of Adverse Cardiovascular Outcomes", CIRCULATION, vol. 124, no. 21, Suppl. S, November 2011 (2011-11), XP009158886, & SCIENTIFIC SESSIONS OF THE AMERICAN-HEART-ASSOCIATION/RESUSCITATION SCIENCE SYMPOSIUM; ORLANDO, FL, USA; NOVEMBER 12 -16, 2011 the whole document	1-46
A	WO 2010/114514 A1 (AMD INC [US]; SMALL-HOWARD ANDREA [US]) 7 October 2010 (2010-10-07)	1-46
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
27 April 2012		15/05/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Behrens, Ralf

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/027354

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ASPASIA SOULTATI ET AL: "Predicting utility of a model for end stage liver disease in alcoholic liver disease.", WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, vol. 12, no. 25, 1 July 2006 (2006-07-01), pages 4020-4025, XP55025800, ISSN: 1007-9327</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-46
A	<p>IAN B.A MENOWN ET AL: "Prediction of Recurrent Events by D-Dimer and Inflammatory Markers in Patients with Normal Cardiac Troponin I (PREDICT) study", AMERICAN HEART JOURNAL, vol. 145, no. 6, 1 June 2003 (2003-06-01), pages 986-992, XP55025775, ISSN: 0002-8703, DOI: 10.1016/S0002-8703(03)00169-8</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-46

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/027354

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010114514 A1	07-10-2010	AU 2009343805 A1	29-09-2011
		CA 2755486 A1	07-10-2010
		CN 102405413 A	04-04-2012
		EP 2414843 A1	08-02-2012
		WO 2010114514 A1	07-10-2010

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, T
J, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, R
O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H
U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI
, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN

(71)出願人 514058588

メドスター ヘルス リサーチ インスティテュート
MEDSTAR HEALTH RESEARCH INSTITUTE
アメリカ合衆国 メリーランド 20782 ハイアッツビル ベルクレスト ロード 6525
スイート 700

(71)出願人 509304896

エモリー ユニバーシティ
アメリカ合衆国, ジョージア州 30322, アトランタ, 4階, エヌイー, クリフトン ロード
1599, オフィス オブ テクノロジー トランスファー

(74)代理人 100080816

弁理士 加藤 朝道

(74)代理人 100098648

弁理士 内田 潔人

(74)代理人 100119415

弁理士 青木 充

(72)発明者 シコラ、セルゲイ

アメリカ合衆国 カルフォルニア 92121 サン ディエゴ ナンシー リッジ ドライブ
6777

(72)発明者 エプスタイン、スティーブン

アメリカ合衆国 メリーランド ロックビル

(72)発明者 クイユミ、アルシェッド、エー.

アメリカ合衆国 ジョージア 30322 アトランタ クリフトン ロード ノースイースト
1462 スイート 507 エモリー クリニカル カーディオバスキュラー リサーチ イン
スティテュート

专利名称(译)	诊断分析预测心血管风险		
公开(公告)号	JP2014525593A	公开(公告)日	2014-09-29
申请号	JP2014529704	申请日	2012-03-01
[标]申请(专利权)人(译)	创道生物技术公司 梅德福星健康研究所 MEDSTAR健康RES INST 埃默里大学		
申请(专利权)人(译)	创道生物科技有限公司 Medosuta卫生研究院 埃默里大学		
[标]发明人	シコラセルゲイ エプスタインステーブン クイユミアルシェッドエー		
发明人	シコラ、セルゲイ エプスタイン、ステーブン クイユミ、アルシェッド、エー。		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/6893 C07K14/47 C07K14/75 G01N33/50 G01N33/5091 G01N33/53 G01N33/86 G01N2333 /4737 G01N2333/75 G01N2800/324 G01N2800/325 G01N2800/50 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/53.L G01N33/53.X G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/543.545.A		
代理人(译)	青木 充		
优先权	61/532012 2011-09-07 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及心血管疾病领域，具体涉及使用标志物组合来预测个体发展冠状动脉疾病 (CAD) 和相关疾病 (例如心绞痛和外周血管疾病) 的风险的诊断测试方法等。特别是，确定个体患心肌梗塞，死亡和中风的风险。示例性生物标志物包括C-反应蛋白 (CRP)，纤维蛋白降解产物 (FDP)，热休克蛋白70 (HSP70) 和/或抗CMV抗体。

	Number of Biomarkers Positive				p for trend
	0 (n=1240)	1 (n=1475)	2 (n=685)	≥ 3 (n=127)	
Age (years)	64 ± 11	62 ± 13	65 ± 12	65 ± 11	0.9 × 10 ⁻⁶
Male (%)	71	61	62	60	1.4 × 10 ⁻⁷
Cholesterol (%)	87	84	80	74	0.9 × 10 ⁻⁶
BMI (kg/m ²)	29 ± 6	28 ± 7	30 ± 7	28 ± 6	9.3 × 10 ⁻³
Systemic BP (mmHg)	137 ± 22	136 ± 23	137 ± 23	135 ± 24	0.340
Diastolic BP (mmHg)	76 ± 12	76 ± 12	75 ± 12	74 ± 13	0.350
LDL (mg/dL)	138 ± 38	132 ± 35	130 ± 33	126 ± 35	0.001*
HDL (mg/dL)	42 ± 12	42 ± 13	40 ± 12	42 ± 15	0.016
Glucose (mg/dL)	119 ± 35	124 ± 43	131 ± 56	126 ± 57	4.0 × 10 ⁻⁸
Creatinin	41 ± 61	35 ± 53	47 ± 86	44 ± 61	0.251*
UVEF (%)	35 ± 11	24 ± 13	31 ± 13	27 ± 13	1.4 × 10 ⁻³
ACE-II (ng/ml)	78 ± 43	81 ± 50	89 ± 46	81 ± 47	1.0 × 10 ⁻⁵
History of DM (%)	25	33	38	45	7.5 × 10 ⁻¹¹
History of IHD (%)	88	93	92	93	0.004
History of Dyslipidemia (%)	73	70	68	64	0.0 × 10 ⁻⁷
Ever Smoker (%)	88	80	81	82	0.016
AMI on presentation (%)	7	18	17	2	4.8 × 10 ⁻⁴
History of previous AM (%)	20	30	37	31	0.009
On Statin (%)	75	72	72	61	0.012
On ARB or ACE-I (%)	59	65	60	60	0.002
On Aspirin (%)	81	81	84	72	0.020
On Plavix (%)	48	45	60	46	0.006
On Beta Blocker (%)	88	85	87	72	1.0 × 10 ⁻⁵
CRP (mg/L)	1.3 ± 0.9	1.1 ± 1.2	1.5 ± 2.0	1.0 ± 2.4	<0.0001*
CMV (ng/mL)	10 ± 13	7 ± 14	11 ± 15	17 ± 22	0.036*
Anti-HSP70 (ng/mL)	100 ± 97	107 ± 91	100 ± 93	100 ± 90	0.444*
HSP70 (ng/mL)	0.0 ± 0.0	3.0 ± 14.0	22.4 ± 82.0	83.0 ± 17.4	<0.0001*
FDP (ng/mL)	0.8 ± 0.2	2.4 ± 1.2	8.9 ± 2.6	2.6 ± 4.2	6.3 × 10 ⁻¹⁰ **
Management Medical (%)	88.8	88.7	85.9	81.2	0.420
Management PCI (%)	33.6	38.2	39.9	37.2	0.187
Management CABG (%)	4.8	4.9	4.9	1.7	0.169
Management Other (%)	1.8	1.9	1.3	0	0.372
Follow-up AM	1.6	3.9	6.4	5.5	2.1 × 10 ⁻⁶ *
Follow-up Revascularization	7.2	11.7	15.4	13.4	8.6 × 10 ⁻⁶ *
Follow-up All-cause (% cardiac)	3.1 (27)	3.4 (30)	16.4 (30)	34.6 (40)	4.3 × 10 ⁻¹⁰ **