

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-155767

(P2018-155767A)

(43) 公開日 平成30年10月4日(2018.10.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 5
GO 1 N 33/50 (2006.01)	GO 1 N 33/50	Z 4 C O 8 4
GO 1 N 33/15 (2006.01)	GO 1 N 33/15	Z
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53	D
A 6 1 P 9/04 (2006.01)	A 6 1 P 9/04	

審査請求 有 請求項の数 12 O L (全 68 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-92916 (P2018-92916)	(71) 出願人	591003013
(22) 出願日	平成30年5月14日 (2018. 5. 14)		エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(62) 分割の表示	特願2015-545994 (P2015-545994) の分割		F. HOFFMANN-LA ROCH E AKTIENGESELLSCHAFT
原出願日	平成25年12月4日 (2013. 12. 4)		スイス・シーエイチ-4070バーゼル・ グレンツアーヘルストラッセ124
(31) 優先権主張番号	12195491.1	(74) 代理人	100140109
(32) 優先日	平成24年12月4日 (2012. 12. 4)		弁理士 小野 新次郎
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100118902
(特許庁注：以下のものは登録商標)			弁理士 山本 修
1. BLACKBERRY		(74) 代理人	100106208
2. TWEEN			弁理士 宮前 徹
		(74) 代理人	100120112
			弁理士 中西 基晴

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心不全の治療選択におけるバイオマーカー

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適切な被検体を同定する。

【解決手段】 心不全に罹患している被検体試料から G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性 S T 2)、P l G F、s F l t - 1、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカーの量を決定することに基づく。さらに、こうして決定した量を基準量と比較する工程を含み、その結果からすくなくとも1種類の医薬の投与に適切な被検体が同定できる方法、キット及びデバイス。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための方法であって、

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量を決定すること；および、

b) ステップ a) で決定した量を基準量と比較し、それにより前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること；を含み、

前記医薬はベータ遮断薬であり、前記バイオマーカーは I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7) またはミメカンである、前記方法。

【請求項 2】

ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための方法であって、

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、G D F - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、B N P タイプペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、P 1 G F、s F 1 t - 1、s S T 2 (可溶性 S T 2)、P 1 N P、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量を決定すること；および

b) ステップ a) で決定した量を基準量 (単数または複数) と比較し、それにより前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること；を含み、

特に、

i) バイオマーカーはオステオポンチンであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬および / またはベータ遮断薬である；

i i) バイオマーカーはエンドスタチンであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

i i i) バイオマーカーは s F 1 t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニスト、レニン - アンジオテンシン系の阻害薬および / またはベータ遮断薬である；

i v) バイオマーカーは P 1 G F であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストおよび / またはアルドステロンアンタゴニストである；

v) バイオマーカーは心臓トロポニンであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である；

v i) バイオマーカーは B N P タイプペプチドであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬および / またはベータ遮断薬である；

v i i) バイオマーカーは尿酸であり、医薬は利尿薬および / またはレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である；

v i i i) バイオマーカーは G D F - 1 5 であり、医薬は利尿薬および / またはレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である；

i x) バイオマーカーは s S T 2 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストおよび / またはベータ遮断薬である；

x) バイオマーカーは I G F B P 7 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である；

x i) バイオマーカーは P 1 N P であり、医薬はベータ遮断薬である；

x i i) バイオマーカーはシスタチン C であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

x i i i) バイオマーカーはプレアルブミンであり、医薬は利尿薬である；

x i v) バイオマーカーはトランスフェリンであり、医薬は利尿薬である；ならびに / あるいは

x v) バイオマーカーは P 1 G F および s F 1 t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストであり、その際、P 1 G F の量 - 対 - s F 1 t - 1 の量 (またはその逆) の

10

20

30

40

50

比を計算し、その比を基準量で計算する、前記方法。

【請求項 3】

投与が、前記少なくとも 1 種類の医薬の投与開始、またはより高い投与量での前記少なくとも 1 種類の医薬の投与である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

被検体がヒトである、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

試料が血液、血清または血漿である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法であって、

・バイオマーカーは I G F B P 7、P 1 N P、s F l t - 1 および / またはオステオポンチンであり、医薬はベータ遮断薬である；

・バイオマーカーはエンドスタチンおよび / または s F l t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

・バイオマーカーは尿酸、プレアルブミン、トランスフェリンおよび / または G D F - 1 5 であり、医薬は利尿薬である；および / または、

・バイオマーカーは s F l t - 1 および / または I G F B P 7 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であり；

基準量と比較して減少した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量と比較して増加した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である、前記方法。

【請求項 7】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法であって、

・バイオマーカーはミメカン、B N P タイプペプチド、および / または s S T 2 であり、医薬はベータ遮断薬である；

・バイオマーカーはオステオポンチン、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、および / または G D F - 1 5 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である；および / または、

・バイオマーカーは s S T 2、シスタチン C および / または P l G F であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストであり；

基準量と比較して増加した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量と比較して減少した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である、前記方法。

【請求項 8】

バイオマーカーが I G F B P - 7 である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法であって、当該方法はベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するためのものである、前記方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法であって、

ステップ a) で決定した I G F B P 7 の量を、ステップ b) で、i) 単一の基準量、または i i) ベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定するための I G F B P 7 の基準量およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための I G F B P 7 の基準量と比較する、前記方法。

【請求項 10】

請求項 8 および 9 に記載の方法であって、

基準量と比較して減少した試験試料中のバイオマーカーの量はベータ遮断薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量と比較して増加したバイオマーカーの量はベータ遮断薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、

10

20

30

40

50

基準量と比較して増加した試験試料中のバイオマーカの量はアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量と比較して減少したバイオマーカの量はアルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である、前記方法。

【請求項 1 1】

被検体が ACC / AHA 分類に従った心不全ステージ B、C または D に罹患している、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、心不全に罹患している被検体の試料における、i) GDF - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP 7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、Gal 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、sST 2 (可溶性 ST 2)、sFlt - 1、PlGF、P1NP、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも 1 種類のバイオマーカ、および/または ii) GDF - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP 7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、Gal 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、sFlt - 1、PlGF、sST 2 (可溶性 ST 2)、P1NP、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるバイオマーカに特異的に結合する検出剤の使用。

10

20

【請求項 1 3】

請求項 1 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法を実施するために適合させたデバイスであって、

a) GDF - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP 7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、Gal 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、sFlt - 1、PlGF、sST 2 (可溶性 ST 2)、P1NP、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるマーカーに特異的に結合する検出剤を含む分析ユニットであって、心不全に罹患している被検体の試料においてマーカーの量を決定するために適合させた前記ユニット；および、

30

b) 決定した量を基準量と比較し、それによりベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための分析ユニットであって、基準量を備えたデータベースおよび比較を実施するためのコンピューター実装されたアルゴリズムを含む前記ユニット；を含む、前記デバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ベータアドレナリン受容体遮断薬 (ベータ遮断薬)、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬またはアンジオテンシン受容体遮断薬 (ARB) (後の 2 つはレニン - アンジオテンシン系の阻害薬と総称される) からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための方法に関する。本方法は、心不全に罹患している被検体からの試料において、GDF - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン (endostatin)、ミメカン (mimcan)、IGFBP 7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプのペプチド、尿酸、ガレクチン - 3 (Galectin-3) (Gal 3)、可溶性 ST 2 (sST 2)、PlGF、sFlt - 1、P1NP、シスタチン C (Cystatin C)、プレアルブミン (Prealbumin)、およびトランスフェリン (Transferrin) からなる群から選択される少なくとも 1 種類のバイオマーカの量を決定することに基づく。さらに、本方法は、こうして決定した量を

40

50

基準量と比較する工程を含む。さらに本発明は、本発明の方法を実施するために適合させたキットおよびデバイスを想定する。本発明はまた、本明細書に開示する少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するためのシステム、および本明細書に開示する方法を実施する際に使用する試薬およびキットに関する。

【背景技術】

【0002】

近代医療の目的は、個人化または個別化された治療計画を提供することである。それらは、患者の個々のニーズまたはリスクを考慮に入れた治療計画である。個人化または個別化された治療計画は、有望な治療計画を決定することが要求される際の方策すら考慮されるべきである。

10

【0003】

心不全(HF)は主要な増大しつつある重大な健康問題である。米国で約500万人の患者がHFを伴っており、米国で毎年500,000人を超える患者がHFを伴うと初めて診断され、毎年250,000人を超える患者が主因としてのHFで死亡していると推定される。心不全(HF)は先進国における罹病および死亡の主因のひとつである。集団の高齢化および心血管疾患患者の長命化のため、HFの発病率および有病率は増大している。

【0004】

心不全は、心室が血液を充満または排出する能力および血液/酸素の供給に対する身体の代謝要求を確保する能力を損なう何らかの構造的または機能的な心臓障害から生じる可能性のある、複雑な臨床症候群である。そのような場合、身体は要求される供給を維持するために、心筋の構造変化(たとえば肥大;最終的には線維症、アポトーシス、壊死に至る)および神経液性刺激(交感神経系およびレニン-アンギオテンシン-アルドステロン系の活性化)によって供給不足を代償しようとする。HFは種々の重症度に分類される。

20

【0005】

ひとつの分類法は、いわゆるNYHA(New York Heart Association)分類である。心不全患者は、NYHAクラスI、II、IIIおよびIV、またはAmerican College of Cardiology and the American Heart Association(ACC/AHA)ステージA、B、CおよびDに分類される。患者はその健康を完全には回復することができないと予想され、治療的処置の必要がある。NYHAクラスIの患者は、心血管疾患の明らかな症状をもたないが、既に機能障害の客観的証拠を備えている。NYHAクラスIIの患者は、身体活動がわずかに制限される。NYHAクラスIIIの患者は、身体活動の顕著な制限を示す。NYHAクラスIVの患者は、不快感なしにいかなる身体活動も行なうことができない。彼らは静止時に心不全の症状を示す。

30

【0006】

この機能分類法は、American College of Cardiology and the American Heart Association(参照:J. Am. Coll. Cardiol. 2001; 38; 2101-2113, 2005年に更新, 参照:J. Am. Coll. Cardiol. 2005; 46; e1-e82)による、より最近の分類法によって補足される。4つのステージA、B、CおよびDが規定される。心不全ステージB、CまたはDを伴う患者は、心臓に構造および機能の変化が既に生じている。患者はその健康を完全には回復することができないと予想され、治療的処置の必要がある。

40

【0007】

急性および慢性心不全についての投薬および治療ガイドラインはESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failureに記載されている(European Heart Journal (2008) 29, 2388-2442)。得られる治療選択肢はHFを伴う患者の罹病率および死亡率を低下させることができるが、これらの治療を受けるのに適格な患者の相対数は依然として不満足なほど低い(O'Donoghue M. & Braunwald E., Nat. Rev. Cardiol. 2010; 7: 13-20)。さらに、治療に適格な患者において、治療は主に原疾患ならびにHFの徴候および症状により、薬物の最大忍容性にまでガイドおよび調整されてきた(たとえば、NYHAステージ、ACC/AHAステージ、またはうっ血スコアにより

50

)。

【 0 0 0 8 】

ナトリウム利尿ペプチドマーカ-、たとえばB型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、またはそのアミノ末端フラグメントであるN末端proBNP(NT-proBNP)の測定が、収縮期HFを伴う患者の診断およびリスク層別化のための重要なツールとして浮上した(O'Donoghue M. & Braunwald E., Nat. Rev. Cardiol. 2010; 7: 13-20)。BNP/NT-proBNPガイドによるHF療-は、治療強化が必要な患者を同定でき、そのような強化のタイミングを指示することができる。しかし、BNP/NT-proBNPガイドによるHF療-は、患者に有益な可能性がある薬物の種類は指示しない。

【 0 0 0 9 】

たとえば、NYHAクラスII、IIIまたはIVの重篤な症候性HFを伴う患者の心血管疾患の治療に対するスピロラクトン(spiro-lactone)の有益な効果は周知であるが、これらの薬物は重篤な副作用(たとえば、高カリウム血症、不整脈、突然死、低血圧症、勃起不全、筋衰弱性、女性化乳房症、および胃炎)についても知られている。Williams et al. 2006 Clin. Cardiol. 29, 149-153。特に、高カリウム血症を発現するリスクは脅威である(D.N. Juurlink et.al. NEJM 2004; 351 543)。

【 0 0 1 0 】

言い換えると、原疾患、臨床判定、およびBNP/NT-proBNPガイドによるHF療-だけでは、治療選択または治療強化についての十分な情報が得られない。特定の治療を強化し、または逆に特定の治療もしくはその強化を避けるために、さらに新たなバイオマ-、特に治療に対する応答を予測できるものまたは適切な治療の選択を補助するものが必要とされている。

【 0 0 1 1 】

したがって、特定の心不全治療が有益であると思われる被検体または逆に特定の心不全治療から害を受けるとと思われる被検体を同定できるバイオマ-が必要とされている。

IGFBP系は細胞の増殖および分化において重要な役割を果たす。IGF結合タンパク質7(=IGFBP-7)は、内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞、および上皮細胞により分泌されることが知られている30-kDaのモジュール状の糖タンパク質である(Ono, Y., et al., Biochem Biophys Res Comm 202 (1994) 1490-1496)。その文献では、この分子はFSTL2; IBP-7; IGF結合タンパク質関連タンパク質I; IGFBP-7; IGFBP-7v; IGFBP-rP1; IGFBP7; IGFBP RP1; インスリン様増殖因子結合タンパク質7; インスリン様増殖因子結合タンパク質7前駆体; MAC25; MAC25タンパク質; PGI2刺激因子; およびPSFまたはプロスタサイクリン刺激因子とも呼ばれている。低レベルのIGFB-7はランダムなヒト血清中に検出され、血清レベルの増大はインスリン抵抗性と関連することが認められた(Lopez-Bermejo, A., et al., J. Clinical Endocrinology and Metabolism 88 (2003) 3401-3408, Lopez-Bermejo, A., et al., Diabetes 55 (2006) 2333-2339)。

【 0 0 1 2 】

US20100285491には、心不全の評価におけるIGFBP-7の使用が開示されている。それにはさらに、HFに罹患している患者のための治療計画を選択するのにマ-IGFBP-7を使用できることが開示されている。さらに、HF患者の経過観察に際してIGFBP-7レベル増大は有効なHF治療についての陽性指標であると主張されている。

【 0 0 1 3 】

WO2008/015254には、心不全治療、好ましくはスピロラクトンを含めたアルドステロンアンタゴニ-などの医薬を用いる薬物ベースの治療に適格な被検体を同定する、GDF-15検出ベースの方法が開示されている。好ましくは、さらにTnTまたはNTproBNPの検出がなされている。さらに、好ましくは基準量(好ましくは1200pg/ml)より多いGDF-15の量は心不全治療に適格な被検体の指標である。しかし、その文書にはどの薬物治療を考慮すべきか、あるいは投薬調整または治療強化を考慮すべきかどうかは開示されていない。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 4 】

ミメカン（オステオグリシン(osteoglycin)とも呼ばれる）は、細胞外マトリックスの多機能性成分である。ミメカンは、コラーゲン原線維形成、すなわち発生、組織修復および転移に際して必須であるプロセスの調節に関与することが示された(Tasheva et al., Mol. Vis. 8 (2002) 407-415)。それは骨形成に際して TGF-β1 または TGF-β2 との組み合わせで役割を果たす。ラットおよびヒトの心臓組織におけるトランスクリプトーム解析により、拡張性心筋障害におけるミメカンと左心室質量および細胞外リモデリングとの高い相関性が明らかになった(Petretto, E. et al., Nature Genetics 40 (2008) 546-552)。

【 0 0 1 5 】

WO2011/012268には、個体から得られた体液試料中のミメカンを心不全の評価のために使用することが開示されている。それはさらに、マーカーであるミメカンを HF に罹患している患者のための治療計画の選択に使用することに関する。さらに、それには HF 患者の経過観察に際してミメカンのレベル増大は有効な HF 治療についての陽性指標であることが開示されている。しかし、その文書には、どの薬物治療を考慮すべきか、あるいは投薬調整または治療強化を考慮すべきかどうかは開示されていない。

【 0 0 1 6 】

エンドスタチンは、最初はネズミ血管内皮腫から X V I I I 型コラーゲンの 20 k D A タンパク質分解フラグメントとして単離された(O'Reilly, M.S. et al., Cell 88 (1997) 277-285)。コラーゲンは、組織構造統合性の維持に主要な役割を果たす超分子凝集体を形成する特徴的な三重らせん立体構造をもつ、細胞外マトリックスタンパク質のファミリーを表わす。過度のコラーゲン沈着は線維症をもたらして、周囲組織の正常な機能を攪乱する。エンドスタチンは、種々のタンパク質分解酵素の作用によりコラーゲン X V I I I のアルファ1鎖から放出される(Ortega, N. and Werb, Z., Journal of Cell Science 115 (2002) 4201-4214)。エンドスタチンは血管形成および血管増殖の強力な阻害剤である。しかし、その文献には、どの薬物治療を考慮すべきか、あるいは投薬調整または治療強化を考慮すべきかどうかは開示されていない。

【 0 0 1 7 】

WO2010/124821には、心不全を評価するためにエンドスタチンを測定することが開示されている。それはさらに、マーカーであるエンドスタチンを HF に罹患している患者のための治療計画の選択に使用することに関する。さらに、HF 患者の経過観察に際してエンドスタチンのレベル増大は有効な HF 治療についての陽性指標であると主張されている。

【 0 0 1 8 】

GDF-15（増殖分化因子15）はトランスフォーミング増殖因子-サイトカインスーパーファミリーのメンバーであり、最初はマクロファージ阻害性サイトカイン-1（MIC-1）として同定され、後に胎盤性トランスフォーミング増殖因子-とも命名された(Bootcov 1997, Proc Natl Acad Sci 94:11514-11519; Tan 2000, Proc Natl Acad Sci 97:109-114)。GDF-15は心血管事象の強力な予測子および心血管合併症の指標として記載された(Brown, D. A. et al., 2002 The Lancet, 359: 2159-2163; US2003/0232385; Kempf 2006, Circ Res 98: 351-360)。Kempfらは、GDF-15の循環レベルが HF の重症度に関係があり、慢性心不全を伴う患者において死亡のリスクを予測することを示した(Clinical Chemistry 53:2; 284-291 (2007); Am Coll Cardiol, 2007; 50:1054-1060)。

【 0 0 1 9 】

WO2012/025355には、トロポニンTおよびGDF-15の検出をベースとする、スピロラク톤のようなアルドステロンアンタゴニストの投与を受けている心不全患者における治療モニタリングおよび治療適合のための方法が開示されている。その文書にはさらに、トロポニンT、NT-proBNPおよびGDF-15の検出により心不全患者における治療のモニタリングまたは適合が可能になることが開示されている。

【 0 0 2 0 】

10

20

30

40

50

WO2010/0070411には、GDF-15、NT-proANP、NT-proBNPおよび心臓トロポニンの検出をベースとする、心不全に罹患している見掛け上は安定な被検体をモニタリングする方法が開示されている。さらにそれには、心不全に罹患しておりその生理状態が変化しつつある見掛け上は安定な被検体に、どの治療/投薬を適用すべきであるかを診断および/または決断する方法が開示されている。

【0021】

WO2009/047283には、BNP、cTnT、および少なくとも1種類の炎症マーカー、オステオポンチン(OPN)、GDF-15、CRPの決定により、心筋梗塞後の被検体のリモデリングプロセスでどの治療または併用治療を適用すべきであるかを診断する方法が開示されている。それには500pg/mlのオステオポンチンレベルがACE阻害薬、

10

【0022】

Kubo et al. 2011 (Circulation J, 75, 919-926)には、BNPおよびトロポニンベースの検出をベースとする、肥大型心筋障害に罹患している患者における臨床悪化を予測するためのリスク予測が開示されている。評価された患者の多くは心不全に罹患していた。肥大型心筋障害を伴う患者をモニタリングするために、それら2種類のマーカーの組合わせ測定が有用な可能性がある」と推論されている。

【0023】

Fonarow et al. 2008 (Am J Cardiol, 101, 231-237)には、BNPおよびトロポニンの検出をベースとする、心不全に罹患している患者における死亡率予測が開示されている。

20

Mentz et al. 2011 (Circ J, 75(9):2031-7)には、NT-proBNP検出をベースとする、心不全患者における治療のガイダンスおよびモニタリングのための方法が開示され、その際、治療は利尿薬、ACE阻害薬、ベータ遮断薬、スピロラク톤、ナイトレートまたはジゴキシンによる治療から選択される。

【0024】

Boehm et al. 2011 (Clin Res Cardiol, 100:973-981)は、NT-proBNP検出をベースとする、心不全患者における治療のガイダンスおよびモニタリングのための方法を概説している。それは、心不全治療をガイドするためにBNPをトロポニンと組み合わせる可能性についても述べている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0025】

【特許文献1】US20100285491

【特許文献2】WO2008/015254

【特許文献3】WO2011/012268

【特許文献4】WO2010/124821

【特許文献5】US2003/0232385

【特許文献6】WO2012/025355

【特許文献7】WO2010/0070411

40

【特許文献8】WO2009/047283

【非特許文献】

【0026】

【非特許文献1】J. Am. Coll. Cardiol. 2001; 38; 2101-2113

【非特許文献2】J. Am. Coll. Cardiol. 2005; 46; e1-e82

【非特許文献3】European Heart Journal (2008) 29, 2388-2442

【非特許文献4】O'Donoghue M. & Braunwald E., Nat. Rev. Cardiol. 2010; 7: 13-20

【非特許文献5】Williams et al. 2006, Clin. Cardiol. 29, 149-153

【非特許文献6】D.N. Juurlink et.al. NEJM 2004; 351 543

【非特許文献7】Ono, Y., et al., Biochem Biophys Res Comm 202 (1994) 1490-1496

50

【非特許文献 8】Lopez-Bermejo, A., et al., J. Clinical Endocrinology and Metabolism 88 (2003) 3401-3408

【非特許文献 9】Lopez-Bermejo, A., et al., Diabetes 55 (2006) 2333-2339

【非特許文献 10】Tasheva et al., Mol. Vis. 8 (2002) 407-415

【非特許文献 11】Petretto, E. et al., Nature Genetics 40 (2008) 546-552

【非特許文献 12】O'Reilly, M.S. et al., Cell 88 (1997) 277-285

【非特許文献 13】Ortega, N. and Werb, Z., Journal of Cell Science 115 (2002) 4201-4214

【非特許文献 14】Bootcov 1997, Proc Natl Acad Sci 94:11514-11519

【非特許文献 15】Tan 2000, Proc Natl Acad Sci 97:109-114

【非特許文献 16】Brown, D. A. et al., 2002, The Lancet, 359: 2159-2163

【非特許文献 17】Kempf 2006, Circ Res 98: 351-360

【非特許文献 18】Kempf et al. Clinical Chemistry 53:2; 284-291 (2007)

【非特許文献 19】Kempf et al. Am Coll Cardiol, 2007; 50:1054-1060

【非特許文献 20】Kubo et al. 2011, Circulation J, 75, 919-926

【非特許文献 21】Fonarow et al. 2008, Am J Cardiol, 101, 231-237

【非特許文献 22】Mentz et al. 2011, Circ J, 75(9): 2031-2037

【非特許文献 23】Boehm et al. 2011, Clin Res Cardiol, 100: 973-981

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0027】

本発明の基礎となる研究の観点において、有利なことに、GDF-15、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7、心臓トロポニン、BNPタイプペプチド、尿酸、ガレクチン-3、可溶性ST2、PLGF、sFlt-1、P1NP、シスタチンC、プレアルブミンおよび/またはトランスフェリンの決定によって特定の心不全治療が有益であると思われる被検体を同定できることが示された。たとえば、ベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストの投与が特定のグループの患者のみに有益であり、他のグループにはその投与が有益ではないであろうということが示された。上記バイオマーカーの量を決定することにより、その治療が有益であると予想される被検体と、その治療が有益ではない被検体または有益な効果が無い状態での不必要な強化/増量のためその治療から副作用もしくは害すら受けると予想される被検体とを鑑別できる。

【0028】

本発明の基礎となる技術的課題は上記のニーズに応じるための手段および方法を提供することであるとみることができる。

【課題を解決するための手段】

【0029】

この技術的課題は、以下の特許請求の範囲および明細書に示す態様により解決される。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】図1：マーカーレベルに基づくアルドステロンアンタゴニストの追加/増量の効果。

【図2】図2：マーカーレベルに基づくβ遮断薬の追加/増量の効果。

【図3】図3：マーカーレベルに基づく利尿薬の追加/増量の効果。

【図4】図4：マーカーレベルに基づくレニン-アンギオテンシン系の阻害薬の追加/増量の効果。

【発明を実施するための形態】

【0031】

本発明は、心不全治療のための少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において少なくとも1種類のバイオマーカー

10

20

30

40

50

一の量を決定すること；および、

b) ステップ a) で決定した少なくとも 1 種類のバイオマーカの量 (単数または複数) を基準量 (単数または複数) と比較し、それにより前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること。

【0032】

好ましくは、前記少なくとも 1 種類の医薬は、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される。

【0033】

好ましくは、前記少なくとも 1 種類のバイオマーカは、IGFBP7 (IGF 結合タンパク質 7)、ミメカン、オステオポンチン、エンドスタチン、sFlt-1 (可溶性 fms 様チロシンキナーゼ 1)、PLGF (胎盤性増殖因子)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、GDF-15 (増殖分化因子 15)、sST2 (可溶性 ST2)、Gal3 (ガレクチン-3)、PINP (プロコラーゲン 1 型 N 末端プロペプチド)、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される。

【0034】

したがって、本発明は、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、IGFBP7 (IGF 結合タンパク質 7)、ミメカン、オステオポンチン、エンドスタチン、sFlt-1 (可溶性 fms 様チロシンキナーゼ 1)、PLGF (胎盤性増殖因子)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、GDF-15 (増殖分化因子 15)、sST2 (可溶性 ST2)、Gal3 (ガレクチン-3)、PINP (プロコラーゲン 1 型 N 末端プロペプチド)、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも 1 種類のバイオマーカの量を決定すること；および、

b) ステップ a) で決定した量 (単数または複数) を基準量 (単数または複数) と比較し、それにより前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること。

【0035】

本発明方法の好ましい態様において、少なくとも 1 種類の医薬はアルドステロンアンタゴニストである。この場合、少なくとも 1 種類のバイオマーカは IGFBP7、エンドスタチン、尿酸、BNP タイプペプチド、心臓トロポニン、sFlt-1、PLGF、sST2、Gal-3 およびシスタチン C から選択される。好ましくは、上記バイオマーカのうち 1 種類のみを決定する。しかし、2 種類以上の組み合わせのバイオマーカの量を決定することも考慮する。好ましい組み合わせは、sFlt-1 と IGFBP7；sFlt-1 と心臓トロポニン；sFlt-1 と Gal-3；心臓トロポニンと Gal-3；心臓トロポニンと IGFBP7；IGFBP7 と Gal-3；およびこれらのマーカと BNP タイプペプチドの組み合わせである。特に好ましい組み合わせは、IGFBP7 とミメカンである。さらなる好ましい組み合わせは、PLGF と sFlt-1 の組み合わせである。さらに、PLGF の量 - 対 - sFlt-1 の量 (または sFlt-1 - 対 - PLGF の量) の比を計算することを想定する。この場合、計算した比を基準比と比較する。

【0036】

本発明方法の他の好ましい態様において、少なくとも 1 種類の医薬はベータ遮断薬である。この場合、少なくとも 1 種類のバイオマーカは、好ましくは IGFBP7、GDF-15、エンドスタチン、ミメカン、BNP タイプペプチド、心臓トロポニン、オステオポンチン、sFlt-1 および PINP からなる群から選択される。好ましくは、1 種類のバイオマーカのみを決定する。しかし、2 種類以上の組み合わせのバイオマーカの量を決定することも考慮する。好ましい組み合わせは、GDF-15 とエンドスタチン；GDF-15 と心臓トロポニン；GDF-15 とミメカン；GDF-15 と sST2；エンドスタチンと心臓トロポニン；エンドスタチンとミメカン；エンドスタチンと IGFB

10

20

30

40

50

P 7 ; ミメカンと心臓トロポニン ; ミメカンと I G F B P 7 ; 心臓トロポニンと I G F B P 7 である。特に好ましい組み合わせは、エンドスタチンと s F 1 t - 1 である。さらなる好ましい組み合わせは、エンドスタチンと P 1 G F である。

【 0 0 3 7 】

本発明方法の他の好ましい態様において、少なくとも 1 種類の医薬はレニン - アンギオテンシン系の阻害薬である。この場合、少なくとも 1 種類のバイオマーカーは、好ましくはオステオポンチン、G D F - 1 5、BNP タイプのペプチド、s F 1 t - 1、心臓トロポニン、G a l - 3、尿酸、または I G F B P 7 である。好ましくは、1 種類のバイオマーカーの量を決定する。しかし、2 種類以上の組み合わせのバイオマーカーの量を決定することも考慮する。好ましい組み合わせは、心臓トロポニンと G a l - 3、心臓トロポニンと尿酸、および G a l - 3 と尿酸である。さらなる好ましい組み合わせは、オステオポンチンと s F 1 t - 1、s F 1 t - 1 と心臓トロポニン、およびオステオポンチンと心臓トロポニンである。

10

【 0 0 3 8 】

本発明方法の他の好ましい態様において、少なくとも 1 種類の医薬は利尿薬である。この場合、少なくとも 1 種類のバイオマーカーは、好ましくは G D F - 1 5、エンドスタチン、ミメカン、BNP タイプのペプチド、尿酸、オステオポンチン、I G F B P - 7、G a l - 3、トランスフェリン、プレアルブミンからなる群から選択される。好ましくは、1 種類のバイオマーカーのみの量を決定する。しかし、2 種類以上の組み合わせのバイオマーカーの量を決定することも考慮する。好ましい組み合わせは、G D F - 1 5 とエンドスタチン ; G D F - 1 5 と BNP タイプのペプチド ; G D F - 1 5 と ミメカン ; G D F - 1 5 と G a l - 3 ; エンドスタチンと BNP タイプのペプチド ; エンドスタチンと ミメカン ; エンドスタチンと G a l - 3 ; ミメカンと BNP タイプのペプチド ; ミメカンと G a l - 3 ; BNP タイプのペプチドと G a l - 3 ; BNP タイプのペプチドと尿酸 ; BNP タイプのペプチドと I G F B P - 7 ; BNP タイプのペプチドとオステオポンチンである。特に尿酸と G D F - 1 5 の組み合わせを想定する。

20

【 0 0 3 9 】

したがって、本発明は特に下記の方法を想定する :

アルドステロンアンタゴニストの投与に (すなわち、初回投与または強化、特に、より高い用量での投与に) 適格な被検体を同定するための、下記を含む方法を考慮する :

30

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、I G F B P 7、エンドスタチン、尿酸、BNP タイプのペプチド、心臓トロポニン、s F 1 t - 1、P 1 G F、s S T - 2、G a l - 3 およびシスタチン C からなる群から選択される少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量を決定すること ; および、

b) ステップ a) で決定した量 (単数または複数) を基準量 (単数または複数) と比較し、それにより前記アルドステロンの投与に適格な被検体を同定すること。

【 0 0 4 0 】

ある態様において、P 1 G F および s F 1 t - 1 の量をステップ a) で決定し、P 1 G F の量 - 対 - s F 1 t - 1 の量 (または s F 1 t - 1 - 対 - P 1 G F の量) の比をさらなるステップ a 1) で計算し、こうして比較した比をステップ b) で基準比と比較する。

40

【 0 0 4 1 】

したがって、この方法は下記の工程を含むことができる :

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、P 1 G F および s F 1 t - 1 の量を決定すること ;

a 1) P 1 G F の量 - 対 - s F 1 t - 1 の量 (またはその逆) の比を計算すること ;

b) ステップ a 1) で計算した比を基準比と比較し、それにより前記アルドステロンの投与に適格な被検体を同定すること。

【 0 0 4 2 】

同様に、ベータ遮断薬の投与に (すなわち、初回投与または投与強化、特に、より高い用量での投与に) 適格な被検体を同定するための、下記を含む方法を考慮する :

50

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、IGFBP7、GDF-15、エンドスタチン、ミメカン、BNPタイプのペプチド、心臓トロポニン、オステオポンチン、sFlt-1およびP1NPからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカの量を決定すること；および、

b) ステップa) で決定した量(単数または複数)を基準量(単数または複数)と比較し、それによりベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定すること。

【0043】

さらに、レニン-アンギオテンシン阻害薬の投与に(すなわち、初回投与または投与強化、特に、より高い用量での投与に)適格な被検体を同定するための、下記を含む方法を想定する：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、オステオポンチン、GDF-15、BNPタイプのペプチド、sFlt-1、心臓トロポニン、Gal-3、尿酸およびIGFBP7からなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカの量を決定すること；および、

b) ステップa) で決定した量(単数または複数)を基準量(単数または複数)と比較し、それによりレニン-アンギオテンシンの投与に適格な被検体を同定すること。

【0044】

本発明はまた、利尿薬の投与に(すなわち、初回投与または投与強化に)適格な被検体を同定するための、下記を含む方法を考慮する：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、IGFBP7、心臓トロポニン、エンドスタチン、ミメカン、BNPタイプのペプチド、尿酸、オステオポンチン、Gal-3、プレアルブミンおよびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカの量を決定すること；および、

b) ステップa) で決定した量(単数または複数)を基準量(単数または複数)と比較し、それにより利尿薬の投与に適格な被検体を同定すること。

【0045】

好ましくは、被検体が少なくとも1種類の医薬の投与に適格であると同定するさらなるステップc)を実施することにより、被検体を少なくとも1種類の医薬の投与に適格であると同定することを含む。

【0046】

ある態様において、少なくとも1種類のバイオマーカの量は、試料を各マーカに特異的に結合する作用剤と接触させ、それにより前記作用剤と前記マーカの間に複合体を形成させ、形成された複合体の量を検出し、それにより前記マーカの量を測定することにより測定される。バイオマーカが尿酸である場合、前記バイオマーカのレベルは、前記バイオマーカを変換できる、たとえば尿酸を酸化できる、酵素または化合物と試料を接触させることにより測定できる。酵素は、尿酸から5-ヒドロキシイソ尿酸への酸化を触媒するウリカーゼ(EC 1.7.3.3)であってもよい。化合物はリンタングステン酸であってもよい。

【0047】

下記のバイオマーカ-医薬の組み合わせが最も好ましい態様である：

本発明の方法、使用、キット、システムおよびデバイスの好ましい態様において、バイオマーカはIGFBP-7であり、医薬はベータ遮断薬である。

【0048】

他の好ましい態様において、バイオマーカはミメカンであり、医薬はベータ遮断薬である。

他の好ましい態様において、バイオマーカはオステオポンチンであり、医薬はレニン-アンギオテンシン系の阻害薬である。医薬がベータ遮断薬であることも想定される。

【0049】

他の好ましい態様において、バイオマーカはエンドスタチンであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである。

10

20

30

40

50

他の好ましい態様において、バイオマーカーは s F l t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである。バイオマーカーが s F l t - 1 であり、医薬がレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であることも好ましい。さらに、医薬がベータ遮断薬であることも想定される。

【 0 0 5 0 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーは P l G F であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである。

他の好ましい態様において、バイオマーカーは心臓トロポニンであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である。

【 0 0 5 1 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーは B N P タイプペプチドであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である。バイオマーカーが B N P タイプペプチドであり、医薬がベータ遮断薬であることも好ましい。

【 0 0 5 2 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーは尿酸であり、医薬は利尿薬である。バイオマーカーが尿酸であり、医薬がレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であることも好ましい。

【 0 0 5 3 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーは G D F - 1 5 であり、医薬は利尿薬である。バイオマーカーが G D F - 1 5 であり、医薬がレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であることも好ましい。

【 0 0 5 4 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーは s S T 2 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである。バイオマーカーが s S T 2 であり、医薬がベータ遮断薬であることも好ましい。

【 0 0 5 5 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーは P 1 N P であり、医薬はベータ遮断薬である。

他の好ましい態様において、バイオマーカーはシスタチン C であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである。

【 0 0 5 6 】

他の好ましい態様において、バイオマーカーはプレアルブミンであり、医薬は利尿薬、たとえばループ利尿薬である。

他の好ましい態様において、バイオマーカーは I G F B P 7 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である。

【 0 0 5 7 】

さらなる好ましいバイオマーカー / 医薬の組合わせを実施例に開示する。

前記の本発明方法は、好ましくはエキスピボ法またはインビトロ法である。さらに、本方法は前記に明記した工程に追加した工程を含むことができる。たとえば、さらなる工程は、試料の前処理または本方法により得られた結果の評価に関するものであってもよい。本方法は手動で実施でき、あるいは自動化により支援できる。好ましくは、ステップ (a) および / または (b) の全部または一部を自動化により支援できる ; たとえば、ステップ (a) における決定に適したロボット装置およびセンサー装置、あるいはステップ (b) におけるコンピューター実装した比較および / またはその比較に基づく評価。

【 0 0 5 8 】

したがって、本発明は、同様に好ましくは、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記のものを含むシステムに関する :

a) 被検体からの試料の一部を、 G D F - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン

10

20

30

40

50

、ミメカン、IGFBP7 (IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、尿酸、ガレクチン-3 (Gal-3)、可溶性ST2 (sST2)、PLGF、sFlt-1、P1NP、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカーに対する特異的結合親和性を含むリガンド(または2種類以上のバイオマーカーの量を決定する場合は複数のリガンド)とインビトロで接触させるように構成された分析ユニット;

b) リガンド(単数または複数)と接触させた被検体からの試料の一部からの信号を検出するように構成された分析ユニット;

c) プロセッサを備え、かつ前記の分析ユニット類と作動可能な状態で連絡した、コンピューティングデバイス; および、

d) プロセッサが実行できる複数の指令、すなわち実行した際に少なくとも1種類のバイオマーカーの量を計算し、少なくとも1種類のバイオマーカーの量を基準量(または2種類以上のマーカーの量を決定する場合は複数の基準量)と比較し、それにより少なくとも1種類の医薬の投与に適格である被検体を同定するための指令を含む、非一過性の(non-transient)機械可読媒体。

【0059】

本明細書中で用いる用語“同定する”は、ある被検体が少なくとも1種類の医薬の投与に適格であると予想されるか否かを評価することを意味する。少なくとも1種類の医薬の投与に適格である被検体はその少なくとも1種類の医薬の投与が有益であると予想され、これに対し、少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体は前記少なくとも1種類の医薬の投与から副作用もしくは害を受ける可能性があることを理解すべきである。特に、前記少なくとも1種類の医薬の投与により被検体の死亡のリスクが低下すれば、および/または特に試料を入手した後18か月または3年のウインドウ期間内の被検体の入院のリスクが低下すれば、前記被検体にはその少なくとも1種類の医薬の投与が有益である。好ましくは、上記のリスク(単数または複数)が5%、より好ましくは10%、よりさらに好ましくは15%、最も好ましくは20%低下する。好ましくは、本明細書中で述べる入院は心不全によるものでなければならない。

【0060】

これと対照的に、少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体には前記少なくとも1種類の医薬の投与が有益ではないであろう(特に、有意には有益ではないであろう)。特に、前記少なくとも1種類の医薬の投与により被検体の死亡のリスクが低下しない(特に、有意には低下しない)ならば、および/または特に試料を入手した後18か月または3年のウインドウ期間内の被検体の入院のリスクが低下しない(特に、有意には低下しない)ならば、および/または不都合な作用のリスクが増大すれば、その被検体には前記少なくとも1種類の医薬の投与が有益ではない。この場合、前記医薬を投与しなければ、不必要な医療費を避けることができる。さらに、投与から生じる可能性がある有害な副作用を避けることができる。

【0061】

したがって、少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定することにより、被検体にその投与(すなわち、初回投与または投与強化、特に、より高い用量での投与)が有益であると予想されるか否かを評価できる。したがって、本発明はまた、本明細書の他の箇所に述べる工程に基づいて、少なくとも1種類の医薬の投与が有益であると予想される被検体を同定する方法に関する。

【0062】

当業者に理解されるように、ある被検体が少なくとも1種類の医薬の投与に適格であるかどうかの評価は、通常は評価される被検体の100%について正確であることを意図しない。ただし、この用語は、統計学的に有意部分の被検体(たとえば、コホート試験におけるコホート)について評価が正確であることを要求する。ある部分が統計学的に有意であるかどうかは、多様な周知の統計学的評価ツール、たとえば信頼区間の決定、p値の決定、スチューデントのt検定(Student's t-test)、マン-ホイットニー検定(Mann-Whitn

10

20

30

40

50

ey test)などを用いて、さらなる労苦なしに当業者が判定できる。詳細は、Dowdy and Wearden, Statistics for Research, John Wiley & Sons, New York 1983にある。好ましい信頼区間は、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%である。p値は、好ましくは0.1、0.05、0.01、0.005または0.0001である。より好ましくは、集団の少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、または少なくとも90%の被検体を本発明方法によって適正に同定できる。

【0063】

本発明に関して、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体が同定される。

10

【0064】

本発明方法に関する“投与”とは、(i)その少なくとも1種類の医薬の投与を開始すべきである(したがって、治療に加えるべきである)こと、または(ii)その少なくとも1種類の医薬をより高い用量で投与すべきである(したがって、増量すべきである)ことを意味する。

【0065】

本明細書中で用いる用語“用量”は、一日量を表わす。

最初の例(i)では、被検体は前記少なくとも1種類の医薬を以前に投与されていないはずである。したがって、前記少なくとも1種類の医薬は試験試料を入手する前には被検体に投与されていないはずである。好ましくは、前記少なくとも1種類の医薬は、試験試料を入手する前の少なくとも3か月間、より好ましくは少なくとも6か月間は、被検体に投与されていない。

20

【0066】

後の例(ii)では、被検体は前記少なくとも1種類の医薬で既に治療されているはずである(試験試料を入手する前に)。好ましくは、試験試料を入手する前に、少なくとも2週間、より好ましくは少なくとも2か月間、よりさらに好ましくは少なくとも6か月間、最も好ましくは少なくとも1年間、被検体は前記少なくとも1種類の医薬で治療されていた。好ましくは、前記少なくとも1種類の医薬の用量はこの期間中に変更されなかった。

【0067】

検査される被検体が前記少なくとも1種類の医薬で既に治療されており、被検体がより高い用量での前記医薬の投与に適格であるか(否か)、すなわちより高い用量の前記少なくとも1種類の医薬による治療を継続すべきであるかどうかを評価することが特に好ましい。したがって、前記少なくとも1種類の医薬の用量を増加すべきであるかどうかを評価できる。

30

【0068】

まとめると、少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体は、前記少なくとも1種類の医薬の投与の開始に適格であり、あるいはより高い用量での前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格であり、これに対し、少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体は、前記少なくとも1種類の医薬の投与の開始に適格ではなく(試験試料を入手する前に被検体が前記医薬で治療されていなかった場合)、あるいはより高い用量での前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない(試験試料を入手する前に被検体が前記医薬で治療されていた場合)。したがって、ある被検体が前記医薬の投与に適格であれば、その医薬の投与を開始することができ、あるいはその医薬の用量を増加することができる。しかし、ある被検体が前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格でなければ、その医薬の投与を開始すべきではなく、あるいはより高い用量に増量すべきではない。したがって、被検体が前記医薬の投与に適格でなければ、試験試料を入手する前に被検体が前記医薬で治療されていた場合には、用量を変更せずに、特に用量を増加せずに、前記治療を継続すべきである。同様に好ましくは、ある医薬の投与に適格ではない被検体にはより低い用量の前記医薬を投与してもよい。

40

50

【 0 0 6 9 】

本発明に関して述べる医薬は当技術分野で周知である；たとえばHeart Disease, 2008, 8th Edition, Eds. Braunwald, Elsevier Saunders, chapter 24、または ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure (European Heart Journal (2008) 29, 2388-2442)に記載されている。

【 0 0 7 0 】

ベータ遮断薬（しばしばベータアドレナリン遮断薬と呼ばれる）は、特に β -アドレナリン受容体上において、内因性のカテコールアミン類であるエピネフリン（アドレナリン）およびノルエピネフリン（ノルアドレナリン）の作用を遮断する。好ましくは、ベータ遮断薬はセプトロール(cebutolol)、アルプレノロール(alprenolol)、アテノロール(atenolol)、ベタキソロール(betaxolol)、ピソプロロール(bisoprolol)、ブプラノロール(bupranolol)、カラゾロール(carazolol)、カルテオロール(carateolol)、カルベジロール(carvedilol)、セリプロロール(ceiprolol)、メチプラノロール(metipranolol)、メトプロロール(metoprolol)、ナドロール(nadolol)、ネビボロール(nebivolol)、オキシプレノロール(oxprenolol)、ペンブトロール(penbutolol)、ピンドロール(pindolol)、プロプラノロール(propranolol)、ソタロール(sotalol)、タニロロール(tanilolol)、およびチモロール(timolol)からなる群から選択される。最も好ましいベータ遮断薬はアテノロール、カルベジロール、メトプロロール、およびピソプロロールである。

10

【 0 0 7 1 】

アルドステロンアンタゴニストは利尿薬のクラスに属し、ミネラルコルチコイド受容体においてアルドステロンの作用に拮抗する。それらはしばしば慢性心不全の管理のために補助療法として他の薬物と組み合わせて用いられる。好ましくは、アルドステロンアンタゴニストはエプレレノン(epplerenone)、スピロノラクトン(spironolactone)、カンレノン(canrenone)、メキシレノン(mexrenone)、プロレノン(prorenone)からなる群から選択される。特に好ましいアルドステロンアンタゴニストは、スピロノラクトン（7-アセチルチオ-3-オキソ-17-プレグナ-4-エン-21,17-カルボラクトン）またはエプレレノン(epplerenone)である。

20

【 0 0 7 2 】

利尿薬は、尿によるナトリウムおよび水の排出を増加させる利尿薬である。特に好ましい利尿薬は、ループ利尿薬またはチアジド系利尿薬である。

30

好ましくは、ループ利尿薬はそれらの有効性および迅速な作用開始のため用いられる。それらは腎臓の上行性ヘンレ係蹄(ascending loop of Henle)に作用する。好ましくは、ループ利尿薬はフロセミド(furosemide)、アゾセミド(azosemide)、ブメタニド(bumetanide)、ピレタニド(piretanide)、トラセミド(torasemide)、エタクリン酸(ethacrynic acid)、エトゾリン(etozolin)の群から選択される。特に、ループ利尿薬はフロセミドである。

【 0 0 7 3 】

好ましくは、チアジド系利尿薬はヒドロクロロチアジド(hydrochlorothiazide)およびクロルタリドン(chlortalidon)の群から選択される。特に好ましいチアジド系利尿薬はヒドロクロロチアジドである。

40

【 0 0 7 4 】

レニン-アンジオテンシン系(RAS)の阻害薬には、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB、アンジオテンシンII受容体アンタゴニスト)、および直接的レニン阻害薬が含まれる。好ましくは、阻害薬はACE阻害薬である。同様に好ましくは、阻害薬はアンジオテンシンII受容体遮断薬である。

【 0 0 7 5 】

好ましくは、ACE阻害薬はベナゼプリル(benazepril)、カプトプリル(captopril)、シラザプリル(cilazapril)、エナラプリル(enalapril)、ホシノプリル(fosinopril)、リシノプリル(lisinopril)、モエキシプリル(moexipril)、ペリンドプリル(perindopril)、

50

キナプリル(quinapril)、ラミプリル(ramipril)、スピラプリル(spirapril)、およびトランドラプリル(trandolapril)からなる群から選択される。特に好ましいACE阻害薬は、カプトプリル、エナラプリル、リシノプリル、ラミプリル、またはトランドラプリルである。

【0076】

好ましくは、アンギオテンシンII受容体アンタゴニストはロサルタン(losartan)、バルサルタン(valsartan)、イルベサルタン(irbesartan)、カンデサルタン(candesartan)、オルメサルタン(olmesartan)、テルミサルタン(telmisartan)、およびエプロサルタン(eprosartan)からなる群から選択される。特に好ましいARBはバルサルタン、ロサルタン、カンデサルタン、またはテルミサルタンである。

10

【0077】

好ましい直接的レニン阻害薬はアリスキレン(aliskiren)である。

本明細書中で前記に述べたように、検査される被検体は、試験試料を入手した時点で既に前記少なくとも1種類の医薬で治療されていてもよい。したがって、本発明方法を実施することにより、より高い用量、すなわち試験試料を入手する前に投与された前記医薬の用量より高い用量の前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体が同定される。好ましくは、日用量をより高くすべきである。本発明に関して、用量を最高で500%またはそれ以上増加させることが考慮される。好ましくは、試験試料を入手する前に投与された用量より少なくとも30%、より好ましくは少なくとも50%、よりさらに好ましくは少なくとも100%、または最も好ましくは少なくとも200%、用量を高くすべきである。

20

【0078】

前記方法に関して本明細書中で用いる用語“被検体(subject)”は、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトに関する。本発明に関して、被検体が心不全(HF)に罹患していることを想定する。

【0079】

本明細書中で用いる用語“心不全”は、心臓の収縮期および/または拡張期機能障害であって、当業者に既知の心不全の顕性徴候が付随するものに関する。好ましくは、本明細書中で心不全は慢性心不全をも表わす。本発明による心不全には、顕性および/または進行性の心不全が含まれる。顕性心不全において、被検体は当業者に既知の心不全の症状を示す。

30

【0080】

HFは種々の重症度に分類できる。

NYHA(New York Heart Association)分類法によれば、心不全患者はNYHAクラスI、II、IIIおよびIVに属するものとして分類される。心不全を伴う患者は、既にその心膜、心筋、冠動脈循環または心臓弁に構造および機能の変化が生じている。患者はその健康を完全には回復できないと予想され、治療処置の必要がある。NYHAクラスIの患者は、心血管疾患の明らかな症状をもたないが、既に機能障害の客観的証拠を備えている。NYHAクラスIIの患者は、身体活動がわずかに制限される。NYHAクラスIIIの患者は、身体活動の顕著な制限を示す。NYHAクラスIVの患者は、不快感なしにいかなる身体活動も行なうことができない。彼らは静止時に心不全の症状を示す。

40

【0081】

この機能分類法は、American College of Cardiology and the American Heart Association(参照:J. Am. Coll. Cardiol. 2001; 38:2101-2113, 2005年に更新, 参照:J. Am. Coll. Cardiol. 2005; 46:e1-e82)による、より最近の分類法によって補足される。4つのステージA、B、CおよびDが規定される。ステージAおよびBはHFではないが、“実際に”HFを発症する前に患者を早期同定するのに役立つと考えられる。ステージAおよびBの患者は、HFを発症するリスク因子をもつ者と定義するのが最良である。たとえば、冠動脈疾患、高血圧症または糖尿病を伴う患者であってまだ左心室(LV)機能障害、肥大、または心室の幾何学的変形を呈していない者はステージAとみなされ、これ

50

に対し、無症候性ではあるがLV肥大および/またはLV機能障害を呈している患者はステージBと表示されるであろう。次いでステージCは根源となる構造的な心疾患に関連する現在または過去のHFの症状を伴う患者を表わし(HFを伴う患者の大部分)、ステージDは真に難治性のHFを伴う患者を示す。

【0082】

本明細書中で用いる用語“心不全”は、特に、前記のACC/AHA分類のステージB、CおよびDを表わす。これらのステージでは、被検体は心不全の典型的な症状を示す。したがって、心不全に罹患している被検体は、ACC/AHAクラス分類のステージB、CまたはD、特にステージCまたはDに罹患している。同様に好ましくは、被検体をNYHAクラスII、IIIまたはIV、特にクラスIIIまたはIVに属すると分類することもできる。

10

【0083】

好ましくは、本発明に関して被検体は腎機能障害を伴わない。好ましくは、被検体は腎不全に罹患してはならず、特に被検体は急性、慢性および/または末期の腎不全に罹患してはならない。さらに、被検体は、好ましくは腎性高血圧症に罹患してはならない。被検体が腎機能障害を示すかどうかを評価する方法は当技術分野で周知である。腎障害は、適切であると思われるいずれか既知の手段により診断できる。特に、腎機能は糸球体濾過速度(GFR)により評価できる。たとえば、GFRはコックグロフト-ゴールト(Cockcroft-Gault)式またはMDRD式により計算できる(Levey 1999, Annals of Internal Medicine, 461-470)。GFRは、単位時間当たり腎糸球体毛細血管からボーマン嚢内へ濾過される体液の体積である。臨床において、これは腎機能を判定するためにしばしば用いられる。コックグロフト-ゴールト式またはMDRD式などの式から得られるすべての計算値は、イヌリンを血漿に注入することによって“真の”GFRではなく推定値を与える。イヌリンは糸球体濾過後に腎臓により再吸収されないため、その排出速度は糸球体フィルターを通る水および溶質の濾過速度に正比例する。しかし、臨床実務では、クレアチンクリアランスがGFRの測定に用いられる。クレアチンは内因性分子であり、体内で合成され、糸球体によって自由に濾過される(ただし、尿細管によってごく少量排出される)。したがって、クレアチンクリアランス(CrCl)はGFRに近似する。GFRは一般にミリリットル/分(mL/分)で記録される。男性についてGFRの正常範囲は97~137mL/分であり、女性についてGFRの正常範囲は88~128mL/分である。したがって、特に、腎機能障害を示していない被検体のGFRはこの範囲内にあると考えられる。さらに、その被検体は、好ましくは0.9mg/dlより下、より好ましくは1.1mg/dlより下、最も好ましくは1.3mg/dlより下の血中クレアチンレベル(特に、血清クレアチンレベル)をもつ。

20

30

【0084】

好ましくは、被検体はACS(acute coronary syndrome(急性冠動脈症候群))に罹患していない。本明細書中で用いる用語“ACS”は、STEMI(ST-elevation myocardial infarction(ST上昇型心筋梗塞)); NSTEMI(non ST-elevation myocardial infarction(非ST上昇型心筋梗塞))および不安定狭心症を含む。検査される被検体がACS歴をもたないことをさらに想定する。特に、被検体は本発明方法の実施前1か月の期間内(より厳密には、試料の入手前1か月の期間内)にACSに罹患してはならない。

40

【0085】

前記のように、検査される被検体を本発明方法に関して述べる医薬で治療することができる。好ましくは、被検体を利尿薬、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、および/またはレニン-アンジオテンシン系の阻害薬で治療する。この場合、本発明方法はより高い用量の医薬の投与に適格な被検体を同定でき、あるいはより高い用量の医薬の投与に適格ではない(好ましくは、用量を変更せずにその治療を継続できる)被検体を同定できる。

【0086】

50

用語“試料”は、体液の試料、分離した細胞の試料、または組織もしくは臓器からの試料を表わす。体液の試料は周知の手法により得ることができ、好ましくは血液、血漿、血清または尿の試料、より好ましくは血液、血漿または血清の試料を含む。組織または臓器の試料は、いずれかの組織または臓器から、たとえば生検により得ることができる。分離した細胞は、体液または組織もしくは臓器から、遠心分離またはセルソーティングなどの分離法により得ることができる。好ましくは、細胞、組織または臓器の試料は、本明細書中で述べるペプチドを発現または産生する細胞、組織または臓器から得られる。

【0087】

本明細書中で用いる用語“BNPタイプペプチド”は、pre-proBNP、proBNP、NT-proBNP、およびBNPを含む。pre-proペプチド(pre-proBNPの場合は134個のアミノ酸)は短いシグナルペプチドを含み、それが酵素により開裂除去されてproペプチド(proBNPの場合は108個のアミノ酸)を放出する。このproペプチドがさらに開裂して、N末端proペプチド(NT-proペプチド; NT-proBNPの場合は76個のアミノ酸)と活性ホルモン(BNPの場合は32個のアミノ酸)になる。好ましくは、本発明によるBNPタイプペプチドは、NT-proBNP、BNP、およびそのバリエーションである。BNPは活性ホルモンであり、それぞれの不活性カウンターパートNT-proBNPより短い半減期をもつ。BNPは血中で代謝され、これに対しNT-proBNPは無傷分子として血中を循環し、そのまま腎排出される。NT-proBNPのインビボ半減期は、BNPの半減期である20分より120分長い(Smith 2000, J Endocrinol. 167: 239-46.)。予備分析ではNT-proBNPはより堅牢であり、試料を中央検査室へ容易に運搬できる(Mueller 2004, Clin Chem Lab Med 42: 942-4.)。血液試料を室温で数日間保存でき、あるいは回収損失なしに郵送または輸送できる。これと対照的に、BNPを室温または4℃で48時間保存すると、少なくとも20%の濃度損失が生じる(Mueller 前掲; Wu 2004, Clin Chem 50: 867-73.)。したがって、目的とするタイムコースまたは特性に応じて、活性形または不活性形のナトリウム利尿ペプチドのいずれかの測定が有利である可能性がある。本発明による最も好ましいナトリウム利尿ペプチドは、NT-proBNPまたはそのバリエーションである。前記で簡単に考察したように、本発明に従って述べるヒトNT-proBNPは、好ましくはヒトNT-proBNP分子のN末端部分に対応する長さ76個のアミノ酸を含むポリペプチドである。ヒトのBNPおよびNT-proBNPの構造は先行技術において既に詳細に記載されている;たとえば、WO 02/089657、WO 02/083913、またはBonow 前掲。好ましくは、本発明に用いるヒトNT-proBNPは、EP 0 648 228 B1に開示されるヒトNT-proBNPである。これらの先行技術文献を、それらに開示される特定のNT-proBNPおよびそのバリエーションの特定の配列に関して本明細書に援用する。本発明に従って述べるNT-proBNPは、さらに、前記で考察したヒトNT-proBNPについての特定の配列の対立遺伝子バリエーションおよび他のバリエーションを包含する。具体的には、アミノ酸レベルで、ヒトNT-proBNPと、好ましくはヒトNT-proBNPの全長にわたって、少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、または99%同一であるバリエーションポリペプチドが想定される。2つのアミノ酸配列間の同一度は前記に従って決定できる。同様に包含されるのは、ヒトNT-proBNPのアミノ酸配列と比較してアミノ酸の欠失、置換および/または付加をもつバリエーションポリペプチドであり、ただし、それらのポリペプチドがNT-proBNP特性をもつ限りにおいてである。本明細書中で述べるNT-proBNP特性は、免疫学的および/または生物学的特性である。好ましくは、NT-proBNPバリエーションはヒトNT-proBNPのものに匹敵する免疫学的特性(すなわち、エピトープ組成)をもつ。したがって、それらのバリエーションは、ナトリウム利尿ペプチドの量を決定するために用いる前記の手段またはリガンドによって特異的に認識されるはずである。生物学的および/または免疫学的NT-proBNP特性は、Karl et al. (Karl 1999, Scand J Clin Lab Invest 230:177-181)、Yeo et al. (Yeo 2003, Clinica Chimica Acta 338:107-115)に記載されるアッセイにより検出できる。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 8 】

用語“増殖分化因子 - 1 5”または“G D F - 1 5”は、トランスフォーミング増殖因子 (T G F) サイトカインスーパーファミリーのメンバーであるポリペプチドに関する。用語ポリペプチド、ペプチドおよびタンパク質は本明細書全体において互換性をもって用いられる。G D F - 1 5 は最初はマクロファージ阻害性サイトカイン 1 としてクローニングされ、後に胎盤性トランスフォーミング増殖因子 - 1 5、胎盤性骨形態形成タンパク質、非ステロイド系抗炎症薬活性化遺伝子 1、および前立腺由来因子としても同定された (Bootcov 前掲; Hromas, 1997 *Biochim Biophys Acta* 1354:40-44; Lawton 1997, *Gene* 203:17-26; Yokoyama-Kobayashi 1997, *J Biochem (Tokyo)*, 122:622-626; Paralkar 1998, *J Biol Chem* 273:13760-13767)。他の T G F 関連サイトカインと同様に、G D F - 1 5 は不活性前駆タンパク質として合成され、それがジスルフィド結合ホモダイマー化を受ける。N末端 p r o - ペプチドがタンパク質分解開裂されると、G D F - 1 5 が約 2 8 k D a のダイマータンパク質として分泌される (Bauskin 2000, *Embo J* 19:2212-2220)。G D F - 1 5 のアミノ酸配列は、W099/06445, W000/70051, W02005/113585, Bottner 1999, *Gene* 237: 105-111, Bootcov 前掲, Tan 前掲 Baek 2001, *Mol Pharmacol* 59: 901-908, Hromas 前掲, Paralkar 前掲, Morrish 1996, *Placenta* 17:431-441 または Yokoyama-Kobayashi 前掲に開示されている。本明細書中で用いる G D F - 1 5 は、前記特定の G D F - 1 5 のバリエーションをも包含する。そのようなバリエーションは、少なくとも前記特定の G D F - 1 5 ポリペプチドと同じ本質的な生物学的および免疫学的特性をもつ。特に、それらを本明細書に述べるものと同じ特異的アッセイ法、たとえばその G D F - 1 5 ポリペプチドを特異的に認識するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を用いる E L I S A アッセイにより検出できれば、それらは同じ本質的な生物学的および免疫学的特性を共有する。好ましいアッセイを付随する実施例に記載する。さらに、下記のことを理解すべきである：本発明に従って述べるバリエーションは少なくとも 1 つのアミノ酸の欠失、置換および/または付加のため異なるアミノ酸配列をもつはずであり、その際、バリエーションのアミノ酸配列はなお、その特定の G D F - 1 5 ポリペプチドのアミノ酸配列と、好ましくはヒト G D F - 1 5 のアミノ酸配列と、より好ましくはその特定の G D F - 1 5 の、たとえばヒト G D F - 1 5 の全長にわたって、少なくとも約 5 0 %、少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 2 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、または少なくとも約 9 9 %、同一である。2 つのアミノ酸配列間の同一度は前記に従って決定できる。前記に述べたバリエーションは、対立遺伝子バリエーション、または他のいずれかの種特異的なホモログ (homolog)、パラログ (paralog) もしくはオルソログ (ortholog) であってもよい。さらに、本明細書中で述べるバリエーションには、その特定の G D F - 1 5 ポリペプチドまたは前記タイプのバリエーションの、フラグメントが含まれる；ただし、これらのフラグメントが前記に述べた本質的な免疫学的および生物学的特性をもつ限りにおいてである。そのようなフラグメントは、たとえば G D F - 1 5 ポリペプチドの分解生成物であってもよい。さらに、翻訳後修飾、たとえばリン酸化またはミリスチル化のため異なるバリエーションが含まれる。

【 0 0 8 9 】

インスリン様増殖因子結合タンパク質 (I G F B P) 系は、細胞の増殖および分化に際して重要な役割を果たす。それは 2 種類のリガンドである I G F - I および I G F - I I、2 種類の受容体である 1 型および 2 型 I G F 受容体、ならびに 1 9 9 5 年現在で 6 種類の I G F 結合タンパク質 (I G F B P) である I G F B P - 1 ~ - 6 を含む (Jones, J. I., et al., *Endocr. Rev.* 16 (1995) 3-34)。最近、I G F B P ファミリーは、I G F B P と有意の構造類似性をもつ I G F B P 関連タンパク質 (I G F B P - r P) を含むように拡張された (Hwa, V., et al., *Endocr. Rev.* 20 (1999) 761-787)。したがって、I G F B P スーパーファミリーは、I G F に対する高い親和性をもつ 6 種類の一般的 I G F B P、ならびに I G F B P の保存されたアミノ末端ドメインを共有するだけでなく I G F およびインスリンに対してもある程度の親和性を示す少なくとも 1 0 種類の I G F B P - r P を

10

20

30

40

50

含む。IGFBP-rPは、多様な細胞機能、たとえば細胞増殖、細胞の接着および移動ならびに細胞外マトリックスの合成を制御する、一群のシステインリッチタンパク質である。さらに、これらのタンパク質は、組織の増殖および分化、リプロダクション、血管形成、創傷修復、炎症、線維形成、および腫瘍形成などの生物学的プロセスに参与している可能性がある(Hwa, V., et al., *Endocr. Rev* 20 (1999)761-787)。

【0090】

IGF結合タンパク質7 (= IGFBP7)は、内皮細胞、血管平滑筋細胞、線維芽細胞、および上皮細胞により分泌されることが知られている30 - kDaのモジュール状の糖タンパク質である(Ono, Y., et al., *Biochem Biophys Res Comm* 202 (1994) 1490-1496)。その文献では、この分子はFSTL2; IBP7; IGF結合タンパク質関連タンパク質I; IGFBP7; IGFBP7v; IGFBP-rP1; IGFBP7; IGFBP RP1; インスリン様増殖因子結合タンパク質7; インスリン様増殖因子結合タンパク質7前駆体; MAC25; MAC25タンパク質; PGI2刺激因子; およびPSFまたはプロスタサイクリン刺激因子とも呼ばれている。ノーザンブロット研究により、この遺伝子が心臓、脳、胎盤、肝臓、骨格筋、および膵臓を含めたヒト組織に広く発現することが明らかになった(Oh, Y., et al., *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 30322-30325)。

10

【0091】

IGFBP7は、最初は、正常な軟髄膜(leptomeningeal)細胞および哺乳動物上皮細胞にそれらのカウンターパート腫瘍細胞と比較して差別発現する遺伝子として同定され、髄膜腫関連cDNA(MAC25)と命名された(Burger, A.M., et al., *Oncogene* 16 (1998) 2459-2467)。発現したタンパク質は、腫瘍由来接着因子(後にアンギオモジュリン(angiomodulin)と名称変更された)(Sprenger, C.C., et al., *Cancer Res* 59 (1999) 2370-2375)、およびプロスタサイクリン刺激因子(Akaogi, K., et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 93 (1996) 8384-8389)として、独立して精製された。それはさらに、T1A12、すなわち乳癌においてダウンレギュレートされる遺伝子として報告された(StCroix, B., et al., *Science* 289 (2000) 1197-1202)。

20

【0092】

IGFBP7 mRNAの差別発現が、心疾患、腎疾患、炎症性疾患(US 6,709,855; Scios Inc.)および人工血管疾患(US 2006/0,003,338)を含めた種々の疾患に罹患している患者において測定された。

30

【0093】

IGFBP7のホルモン結合特性を調べるための多種多様なアッセイ法が記載され、使用されている。低親和性IGF結合は、競合親和性架橋アッセイにより分析された。組換えヒトmac25タンパク質は、IGF-Iおよび-IIを特異的に結合する(Oh, Y., et al., *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 20322-20325; Kim, H.S., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA*94 (1997) 12981-12986.)。IGFBP活性は、このタンパク質が放射性標識IGFを結合する能力をウェスタンリガンドブロット法で測定することによっても検出できる。

【0094】

好ましくは、用語“IGFBP7”はヒトIGFBP7を表わす。このタンパク質の配列は当技術分野で周知であり、たとえばGenBank(NP_001240764.1)によりアクセスできる。本明細書中で用いるIGFBP7は、好ましくはその特定のIGFBP7ポリペプチドのパリアントも包含する。用語“パリアント”の説明については前記を参照されたい。

40

【0095】

循環型IGFBP7の免疫学的決定は最近行なわれた。低レベルのこの分析物がランダムなヒト血清において検出され、血清レベル増大がインスリン抵抗性と関連してみられた(Lopez-Bermejo, A., et al., *J. Clinical Endocrinology and Metabolism* 88 (2003) 3401-3408, Lopez-Bermejo, A., et al., *Diabetes* 55 (2006) 2333-2339)。

【0096】

50

用語“心臓トロポニン”は、前記の特定のトロポニン類の、すなわち好ましくはトロポニンIの、より好ましくはトロポニンTの、バリエーションをも包含する。そのようなバリエーションは、少なくともそれらの特定の心臓トロポニンと同じ本質的な生物学的および免疫学的特性をもつ。特に、それらを本明細書中で述べるものと同じ特異的アッセイ、たとえばそれらの心臓トロポニンを特異的に認識するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を用いるELISAアッセイにより検出できれば、それらは同じ本質的な生物学的および免疫学的特性を共有する。さらに、本発明に従って述べるバリエーションは少なくとも1つのアミノ酸の置換、欠失および/または付加のため異なるアミノ酸配列をもつはずであり、その際、バリエーションのアミノ酸配列はなお、好ましくは、特定のトロポニンのアミノ配列と、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約92%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%、同一であることを理解すべきである。バリエーションは、対立遺伝子バリエーション、または他のいずれかの種特異的なホモログ、パラログもしくはオルソログであってもよい。さらに、本明細書中で述べるバリエーションには、特定の心臓トロポニンまたは前記タイプのバリエーションの、フラグメントが含まれる；ただし、これらのフラグメントが前記の本質的な免疫学的および生物学的特性をもつ限りにおいてである。好ましくは、心臓トロポニンバリエーションはヒトのトロポニンTまたはトロポニンIのものに匹敵する免疫学的特性（すなわち、エピトープ組成）をもつ。したがって、バリエーションは心臓トロポニンの濃度を測定するために用いる前記の手段またはリガンドによって特異的に認識できるはずである。したがって、バリエーションは心臓トロポニンの濃度を測定するために用いる前記の手段またはリガンドによって特異的に認識できるはずである。そのようなフラグメントは、たとえばトロポニンの分解生成物であってもよい。さらに、翻訳後修飾、たとえばリン酸化またはミリスチル化のため異なるバリエーションが含まれる。好ましくは、トロポニンIおよびそのバリエーションの生物学的特性は、インビボおよびインビトロでアクトミオシンATPアーゼを阻害する能力または血管形成を阻害する能力であり、それらは、たとえばMoses et al., 1999 PNAS USA 96 (6): 2645-2650)により記載されたアッセイに基づいて検出できる。好ましくは、トロポニンTおよびそのバリエーションの生物学的特性は、トロポニンCおよびIと複合体を形成する能力、カルシウムイオンを結合する能力、またはトロポミオシンに結合する能力である；好ましくは、トロポニンC、IおよびTの複合体、またはトロポニンC、トロポニンIおよびトロポニンTバリエーションにより形成された複合体として存在する場合。低濃度の循環型心臓トロポニンを種々の状態の被検体において検出できることが知られているが、それらのそれぞれの役割および割合を理解するためにはさらなる研究が必要である (Masson et al., Curr Heart Fail Rep (2010) 7:15-21)。

【0097】

マーカーであるエンドスタチンは当技術分野で周知である。エンドスタチンは、最初にネズミ血管内皮腫からXVII型コラーゲンの20kDAタンパク質分解フラグメントとして単離された(O'Reilly, M.S. et al., Cell 88 (1997) 277-285)。コラーゲンは、組織構造統合性の維持に主要な役割を果たす超分子凝集体を形成する特徴的な三重らせんコンホメーションをもつ、細胞外マトリックスタンパク質のファミリーを表わす。過度のコラーゲン沈着は線維症をもたらして、周囲組織の正常な機能を攪乱する。コラーゲンXVIIは、中央三重らせんドメインに多数の介在配列をもち、主に基底膜にあるC末端にユニークな非三重らせんドメインをもつ、マルチプレキシン(Multiplexin)ファミリーのコラーゲンのメンバーである。短いイソ形のコラーゲンXVIIのヒト型アルファ1鎖 (SwissProt: P39060) の配列は、たとえばWO2010/124821に開示されており、これをその開示内容全体について本明細書に援用する。

【0098】

エンドスタチンは、種々のタンパク質分解酵素の作用によりコラーゲンXVIIのアルファ1鎖から放出される(詳細については、Ortega, N. and Werb, Z., Journal of Cell Science 115 (2002) 4201-4214を参照 - この報文の記載全体を本明細書に援用する)。

10

20

30

40

50

本明細書中で用いるエンドスタチンは、WO2010/124821に開示されるようにコラーゲンX V I I Iのアミノ酸位置1337からアミノ酸位置1519までの範囲のコラーゲンX V I I Iフラグメントにより表わされる。コラーゲンX V I I Iのアルファ鎖のC末端のヒンジ領域は、幾つかのプロテアーゼ感受性部位を含み、好中球エラスターゼ、カテプシンおよびマトリックスメタロプロテイナーゼを含めた多数の酵素がコラーゲン鎖をこの領域で開裂することによりエンドスタチンを生成することが知られている。これらのプロテアーゼはエンドスタチンのみを放出するわけではなく、エンドスタチン配列を含む他のより大きなフラグメントも放出する可能性がある。当業者に明らかなように、そのようなより大きなフラグメントもエンドスタチンに対する免疫アッセイにより測定されるであろう。

【0099】

オステオポンチン(本明細書中で“OPN”とも呼ぶ)は、骨シアロタンパク質I(bone sialoprotein I)(BSP-1またはBNSP)、初期Tリンパ球活性化(early T-lymphocyte activation)(ETA-1)、分泌型リンタンパク質1(secreted phosphoprotein 1)(SPP1)、2ar、およびリケッチア抵抗性(Rickettsia resistance)(Ric)としても知られ、広範囲(extensive)二次構造を欠如する高負電荷の細胞外マトリックスタンパク質であるポリペプチドである。それは約300個のアミノ酸(マウスでは297個;ヒトでは314個)から構成され、33-kDaの原始型(nascent)タンパク質として発現する;機能的に重要な開裂部位もある。OPNは翻訳後修飾を受ける可能性があり、これにより見掛け分子量が約44kDaに増大する。オステオポンチンの配列は当技術分野で周知である(ヒトオステオポンチン:UniProt P10451, GenBank NP_000573.1)。オステオポンチンは、正常な血漿、尿、乳汁および胆汁中にみられる(US 6,414,219; US 5,695,761; Denhardt, D.T. and Guo, X., FASEB J. 7 (1993) 1475-1482; Oldberg, A., et al., PNAS 83 (1986) 8819-8823; Oldberg, A., et al., J. Biol. Chem. 263 (1988) 19433-19436; Giachelli, CM., et al., Trends Cardiovasc. Med. 5 (1995) 88-95)。ヒトOPNのタンパク質およびcDNAが単離および配列決定された(Kiefer M. C, et al., Nucl. Acids Res. 17 (1989) 3306)。OPNは、細胞接着、走化性、マクロファージ指向性インターロイキン-10において機能する。OPNは多数のインテグリン受容体と相互作用することが知られている。OPN発現増大が多数のヒト癌において報告されており、そのコグネイト受容体(av-b3、av-b5、およびav-b1インテグリン類、ならびにCD44)が同定された。Irby, R.B., et al., Clin. Exp. Metastasis 21 (2004) 515-523によるインビトロ研究は、内因性OPN発現(安定トランスフェクションによるもの)および外因性OPN(培地に添加されたもの)の両方ともインビトロでヒト結腸癌細胞の運動性および浸潤能を増強することを示す。

【0100】

エンドスタチンは血管形成および血管増殖の強力な阻害剤である。エンドスタチンとサイトカインネットワークの関係は判定されていないが、エンドスタチンは広範な遺伝子の発現を変更できることが知られている(Abdollahi, A. et al., Mol. Cell 13 (2004) 649-663)。

【0101】

本明細書中で用いるエンドスタチンは、好ましくは特定のエンドスタチンポリペプチドのバリエーションをも包含する。用語“バリエーション”の説明については前記を参照されたい。

ミメカンは、ロイシンリッチ反復配列をもつ小プロテオグリカンであり、298個のアミノ酸を含む前駆体である。ミメカンの別名はOGN、オステオグリシン、OG、OIF、SLRR3Aである。

【0102】

ミメカンは、構造関連コアタンパク質をもつ分泌型の小ロイシンリッチプロテオグリカン(small leucine rich proteoglycan)(SLRP)ファミリーのメンバーである。すべてのSLRPが共有する共通の特徴は、コアタンパク質のC末端側半分にある縦列ロイシンリッチ反復配列(leucine-rich repeat)(LRR)単位である。しかしN末端領域にお

10

20

30

40

50

いて、各クラスのSLRPは、保存されたスペーシングを備えたシステインクラスターを含むLRN - ドメインと呼ばれるユニークドメインをもつ。クラスIII SLRPは6つのカルボキシル側LRNを含み、これにはミメカン、エピフィカン(epiphycan)、およびオプチシン(opticin)が含まれる。

【0103】

クラスIおよびIIのメンバー、たとえばデコリン(decorin)、ビグリカン(biglycan)、ルーメカン(lumecan)およびフィブロモジュリン(fibromodulin)についてのマウスノックアウト体からの機能試験は、SLRP欠損マウスが異常なコラーゲン原線維形成に起因する広範な一連の欠陥を呈することを示し、これはこれらのSLRPがコラーゲンマトリックスの樹立および維持に重要な役割を果たすことを示唆する(Ameye, L. and Young, M. F., *Glycobiology* 12 (2002) 107R-116R)。クラスIII ミメカンはコラーゲン細線維の異常も引き起こした(Tasheva, E.S. et al., *Mol. Vis.* 8 (2002) 407-415)。

10

【0104】

ミメカンは細胞外マトリックスの多機能成分である。それは多様な他のタンパク質(IGF2、IKBK G、IFNB1、INSR、CHUK、IKBKB、NFKBIA、IL15、Cd3、レチノイン酸、APP、TNF、リポ多糖、c-abl癌遺伝子1、受容体型チロシンキナーゼ、v-src肉腫ウイルス癌遺伝子)に結合する。これらの多様な結合活性は、ミメカンが多くの組織において多様な機能を発揮する能力に寄与している可能性がある。

【0105】

ミメカンは角膜、骨、皮膚、およびさらに他の組織に見出された。その発現パターンは種々の病的状態に変化する。ミメカンの生物学的役割に関するデータの量は増加しているにもかかわらず、その機能はまだ明らかではない。ミメカンは、発生、組織修復、および転移に際して必須のプロセスであるコラーゲン原線維形成の調節に参与することが示された(Tasheva et al., *Mol. Vis.* 8 (2002) 407-415)。それは骨形成に際してTGF-β1またはTGF-β2との組み合わせで役割を果たす。

20

【0106】

ヒト ミメカンポリペプチドの配列は当技術分野で周知であり、たとえばGenBank 寄託番号NP_054776.1 GI:7661704でアクセスできる。さらに、その配列はW02011/012268に開示されている。本明細書中で用いるミメカンは、好ましくは特定のミメカンポリペプチドのバリエーションをも包含する。用語“バリエーション”の説明については前記を参照されたい。本発明に関して、ミメカンは、好ましくはW02011/012268の記載に従って決定される。

30

【0107】

本明細書中で用いる用語“可溶性Flt-1”または“sFlt-1”(可溶性fms様チロシンキナーゼ-1)は、可溶性形態のVEGF受容体Flt1であるポリペプチドを表わす。それはヒト臍帯静脈内皮細胞の調整培地中で同定された。内因性の可溶性Flt1(sFlt1)受容体は、クロマトグラフィー的および免疫学的に組換えヒトsFlt1に類似し、それに匹敵する高い親和性で[125I]VEGFを結合する。ヒトsFlt1は、インビトロでKDR/Flk-1の細胞外ドメインと共にVEGF安定化された複合体を形成することが示されている。好ましくは、sFlt1はヒトsFlt1を表わす。より好ましくは、ヒトsFlt1はGenbank 寄託番号P17948, GI:125361に示されるFlt-1のアミノ酸配列から推論できる。マウスsFlt1のアミノ酸配列はGenbank 寄託番号BAA24499.1, GI:2809071に示されている。

40

【0108】

本明細書中で用いる用語“sFlt-1”は、上記の特定のsFlt-1ポリペプチドのバリエーションをも包含する。そのようなバリエーションは、少なくともその特定のsFlt-1ポリペプチドと同じ本質的な生物学的および免疫学的特性をもつ。特に、それらを本明細書に述べるものと同じ特異的アッセイ法、たとえばそのsFlt-1ポリペプチドを特

50

異的に認識するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を用いる E L I S A アッセイにより検出できれば、それらは同じ本質的な生物学的および免疫学的特性を共有する。用語“バリエーション”のより詳細な説明については前記を参照されたい。

【0109】

本明細書中で用いる用語“P L G F”（胎盤増殖因子）は、胎盤由来増殖因子を表わし、それは149アミノ酸長さのポリペプチドであり、ヒト血管内皮増殖因子（V E G F）の血小板由来増殖因子様の領域に対して高度に相同性である（53%の同一性）。V E G Fと同様に、P L G Fはインビトロおよびインビボで血管形成活性をもつ。たとえば、トランスフェクションしたC O S - 1細胞に由来するP L G Fの生物学的および機能的な特性解明により、それはインビトロで内皮細胞増殖を刺激することができるグリコシル化されたダイマー状の分泌タンパク質であることが明らかになった(Maqlione1993, Oncogene 8(4):925-31)。好ましくは、P L G FはヒトP L G F、より好ましくはGene bank 寄託番号P 4 9 7 6 3, G I : 1 7 3 8 0 5 5 3 (Gene bankは米国NCBIからwww.ncbi.nlm.nih.gov/entrezで入手できる)に示されるアミノ酸配列をもつヒトP L G Fを表わす。

10

【0110】

本発明方法に関して、特にヒトのペプチドまたはポリペプチドの量を決定することを想定する。

尿酸は被検生物におけるプリン代謝の最終産物である。I U P A C名は7, 9 - ジヒドロ - 3 H - プリン - 2, 6, 8 - トリオンである。この化合物はしばしばウレート、リチン酸(Lithic acid)、2, 6, 8 - トリオキシプリン、2, 6, 8 - トリヒドロキシプリン、2, 6, 8 - トリオキソプリン、1 H - プリン - 2, 6, 8 - トリオールとも呼ばれる(化合物の式C₅H₄N₄O₃, PubChem CID 1175, CAS番号69 - 93 - 2)。

20

【0111】

尿酸測定は、腎不全、痛風、白血病、乾癬、飢餓または他の消耗状態を含めた多数の腎障害および代謝障害の、および細胞毒を投与されている患者の、診断および治療に用いられる。尿酸の酸化が、このプリン代謝産物を定量決定するための2つの方法の基礎となる。1方法は、リタングステン酸をアルカリ性溶液中でタングステンブルーに還元し、これを測光法で測定するものである。PraetoriusおよびPoulsonが記載する第2の方法は、尿酸を酸化するために酵素ウリカーゼを用いる；この方法では化学的酸化に固有の干渉が排除される(Praetorius E, Poulsen H. Enzymatic Determination of Uric Acid with Detailed Directions. Scandinv J Clin Lab Investigation 1953;3:273-280)。ウリカーゼは、尿酸消費のUV測定を伴う方法に、または比色アッセイが得られる他の酵素と組み合わせで使用できる。他の方法は、Townら(Town MH, Gehm S, Hammer B, Ziegenhorn J. J Clin Chem Clin Biochem 1985;23:591)が開発した比色法である。試料をまず、アスコルビン酸オキシダーゼおよび清澄化系を含有する試薬混合物と共にインキュベートする。この試験系では、試料中に存在するアスコルビン酸があればそれを予備反応で排除することが重要である；これにより、後続のPOD指示薬反応との何らかのアスコルビン酸干渉が除かれる。開始試薬を添加すると、ウリカーゼによる尿酸の酸化が開始する。

30

40

【0112】

本発明に関して、尿酸は適切と思われるいずれかの方法により決定できる。好ましくは、このバイオマーカーは前記方法により決定される。より好ましくは、尿酸は前記の比色法のわずかな改変を適用することにより決定される。この反応では、ペルオキシドがペルオキシダーゼ(POD)、N - エチル - N - (2 - ヒドロキシ - 3 - スルホプロピル) - 3 - メチルアニリン(T O O S)、および4 - アミノフェナゾンの存在下で反応して、キノン - ジイミン色素を形成する。生じた赤色の強度は尿酸濃度に比例し、測光法で決定される。

【0113】

ガレクチン - 3 (G a l - 3) は、構造的にユニークな、ベータ - ガラクシド結合レク

50

チンファミリーのメンバーである。ガレクチン - 3 の発現は、マクロファージ、好中球およびマスト細胞を含めた上皮細胞および炎症細胞と関連づけられた。ガレクチン - 3 は心不全において重要である多様な生物学的プロセスに参与することが示唆され、これには筋線維芽細胞増殖、線維形成、組織修復、心臓リモデリングおよび炎症が含まれる。ガレクチン - 3 は約 30 kDa であり、すべてのガレクチン類と同様に、 α - ガラクトシド類の特異的結合を可能にするアミノ酸約 130 個の炭水化物 - 認識 - 結合ドメイン(carbohydrate-recognition-binding domain) (CRD) を含む。ガレクチン - 3 は単一遺伝子 LGALS3 によりコードされる。それは、アミノ酸約 130 個の単一 C 末端 CRD に連結した短いアミノ酸セグメントの縦列反復配列をもつ N 末端ドメイン (合計 110 ~ 130 個のアミノ酸) を含む。それは、核、細胞質、ミトコンドリア、細胞表面、および細胞外空間に発現する。このタンパク質は、下記の生物学的プロセスに参与することが示された：細胞接着、細胞の活性化および化学誘引、細胞の増殖および分化、細胞周期、ならびにアポトーシス。ガレクチン - 3 レベルの増大は、急性非代償性心不全および慢性心不全の両集団において、より高い死亡リスクと有意に関連することが見出された(たとえば、DeFilippi C, Christenson R, Shah R, et al. (2009). Clinical validation of a novel assay for galectin-3 for risk assessment in acutely destabilized heart failureを参照)。

10

【0114】

ガレクチン - 3 のタンパク質配列は当技術分野で周知である；たとえば、uniprot 寄託番号 P17931 (バージョン 5, 2008 年 11 月 25 日)、GenBank 寄託番号 NP_002297.2 NM_002306.3 を参照。

20

【0115】

ST2 は、機械的ストレス条件下で心臓線維芽細胞および心筋細胞により産生される IL-1 受容体ファミリーのメンバーである。ST2 はインターロイキン - 1 受容体ファミリーのメンバーであり、膜結合イソ形および可溶性イソ形 (sST2) の両方で存在する。本発明に関しては、可溶性 ST2 の量を測定すべきである(参照：Dieplinger et al. (Clinical Biochemistry, 43, 2010: 1169 to 1170)。インターロイキン 1 受容体様 1 または IL1RL1 としても知られる ST2 は、ヒトにおいて IL1RL1 遺伝子によりコードされる。ヒト ST2 ポリペプチドの配列は当技術分野で周知であり、たとえば GenBank によりアクセスできる；参照：NP_003847.2 GI: 27894328。可溶性 ST2 (sST2) は、IL-33 を結合し、そうでなければ心臓保護性である細胞膜結合型 ST2 による IL-33 のシグナル伝達作用を阻止することにより、デコイ受容体として機能すると考えられる。

30

【0116】

マーカーであるシスタチン C は、当技術分野で周知である。シスタチン C は CST3 遺伝子によりコードされ、すべての有核細胞によって一定速度で産生され、ヒトにおける産生速度は全生涯にわたって著しく一定である。循環からの排除はほぼすべて糸球体濾過による。この理由で、シスタチン C の血清濃度は 1 ~ 50 歳の年齢範囲では筋量および性別とは無関係である。したがって、血漿および血清中のシスタチン C はより感度の高い GFR マーカーとして提唱された。ヒトシスタチン C ポリペプチドの配列は Genbank によりアクセスできる(たとえば、寄託番号 NP_000090.1 を参照)。このバイオマーカーは、粒子増強型イムノタービディメトリーアッセイにより決定できる。ヒトシスタチン C は、抗シスタチン C 抗体でコートしたラテックス粒子と共に凝集する。この凝集体をタービディメトリーにより決定する。

40

【0117】

マーカーであるプレアルブミンは当業者に周知である。それは肝細胞で合成されるトリプトファンリッチタンパク質であり、55000 ダルトンのモル質量をもつ。アノードへのその拡散速度が大きいため、8.6 の pH でアルブミンの前に相対量 < 2.5% の電気泳動バンドが現われる。その機能は、低分子量のレチノール結合タンパク質 (21000 ダルトン未満のモル質量) を結合して輸送し、それらの糸球体濾過を阻止することで

50

ある。循環型プレアルブミンのうち30～50%がレチノール結合タンパク質により複合体形成する。さらに、それはチロキシン(T4)を結合して輸送するにもかかわらず、このホルモンに対するその親和性はチロキシン結合グロブリンのものより低い。ヒトプレアルブミンポリペプチドの配列はGenbank(たとえば、寄託番号NP_000362.1を参照)によりアクセスできる。プレアルブミンの決定には多様な方法、たとえば放射免疫拡散(RID)、ネフェメトリーおよびタービディメトリーを利用できる。

【0118】

トランスフェリン(しばしば、セロトランスフェリン(Serotransferrin)またはベータ-1金属結合グロブリンとも呼ばれる)は、分子量79570ダルトンをもつ糖タンパク質である。それは、N-グリコシド連結した2つのオリゴ糖鎖を含むポリペプチド鎖からなる。トランスフェリンは鉄結合性輸送タンパク質であり、1つのアニオン(通常はバイカーボネート)の結合に付随して2つのFe³⁺イオンを結合できる。トランスフェリンの決定には、放射免疫拡散、ネフェメトリーおよびタービディメトリーを含めた多様な方法を利用できる。トランスフェリンの配列は当技術分野で周知である;たとえば、Schaeffer et al. Gene 56:109-116(1987)、またはUniProt寄託番号P02787、特にバージョン178を参照)。

10

【0119】

P1NP(プロコラーゲン1型N末端プロペプチド)は、骨形成のマーカーである。それは1型コラーゲン沈着の特異的指標である。それはトリマー型構造体として放出されるが、分解してモノマーになる。好ましくは、総P1NP量(総プロコラーゲン1型N末端プロペプチド)を測定する。

20

【0120】

本明細書中に述べるペプチドまたはポリペプチド、特にGDF-15(増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7(IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、Gal3(ガレクチン-3)、sST2(可溶性ST2)、sFlt-1、PLGF、P1NP、シスタチンC、またはプレアルブミンの量の決定は、量または濃度を、好ましくは半定量的または定量的に測定することに関する。測定は直接的または間接的に行なうことができる。

【0121】

尿酸の量を決定する方法は本明細書中で先に記載した。バイオマーカーがペプチドまたはポリペプチド、たとえばGDF-15(増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7(IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、尿酸、Gal3(ガレクチン-3)、またはsST2(可溶性ST2)、sFlt-1、PLGF、P1NP、シスタチンC、またはプレアルブミンである場合、下記を適用する:

30

直接測定は、ペプチドまたはポリペプチド自体から得られる信号であってその強度が試料中に存在するペプチドの分子数と直接相関する信号に基づいて、ペプチドまたはポリペプチドの量または濃度を測定することに関する。そのような信号 - 本明細書中で時には強度信号と呼ぶ - は、たとえばペプチドまたはポリペプチドの特異的な物理的または化学的特性の強度値を測定することによって得ることができる。間接測定には、二次成分(すなわち、そのペプチドまたはポリペプチド自体ではない成分)または生物学的読出し系、たとえば測定可能な細胞応答、リガンド、標識、または酵素反応生成物から得られる信号を測定することが含まれる。

40

【0122】

本発明によれば、ペプチドまたはポリペプチドの量の決定は、試料中のペプチドの量を決定するためのあらゆる既知手段により達成できる。それらの手段には、イムノアッセイ、および標識分子を多様なサンドイッチ、競合その他のアッセイ様式で利用できる方法が含まれる。そのようなアッセイ法は、好ましくは、決定すべきペプチドまたはポリペプチドを特異的に認識する検出剤、たとえば抗体に基づく。検出剤は、ペプチドまたはポリペプチドの存在または非存在の指標となる信号を直接的または間接的に発することができる

50

べきである。さらに、信号強度を、好ましくは試料中に存在するポリペプチドの量に直接的または間接的（たとえば、反比例）に相関させることができる。さらに他の適切な方法は、ペプチドまたはポリペプチドに特異的な物理的または化学的特性、たとえばその厳密な分子質量またはNMRスペクトルを測定することを含む。それらの方法は、好ましくはバイオセンサー、イムノアッセイに連携した光学機器、バイオチップ、分析機器、たとえば質量分析計、NMR分析器、またはクロマトグラフィー機器を含む。さらに、方法にはマイクロプレートELISAベースの方法、全自動またはロボット式イムノアッセイ（たとえば、E l e c s y s（商標）分析器で得られる）、CBA（酵素によるコバルト結合アッセイ(Cobalt Binding Assay)；たとえば、R o c h e - H i t a c h i（商標）分析器で得られる）、およびラテックス凝集アッセイ（たとえば、R o c h e - H i t a c h i（商標）分析器で得られる）が含まれる。

【0123】

好ましくは、ペプチドまたはポリペプチドの量の決定は、下記のステップを含む：（a）その強度がペプチドまたはポリペプチドの量の指標となる細胞応答を誘発できる細胞を、適切な期間、そのペプチドまたはポリペプチドと接触させ、（b）細胞応答を測定する。細胞応答を測定するために、試料または処理済み試料を、好ましくは細胞培養物に添加し、細胞内または細胞外応答を測定する。細胞応答には、測定可能なレポーター遺伝子発現、または物質、たとえばペプチド、ポリペプチドもしくは小分子の分泌を含めることができる。この発現または物質は、ペプチドまたはポリペプチドの量に相関する強度信号を発すべきである。

【0124】

同様に好ましくは、ペプチドまたはポリペプチドの量の決定は、試料中のペプチドまたはポリペプチドから得られる特異的な強度信号を測定するステップを含む。前記のように、そのような信号は、質量スペクトルにみられるペプチドもしくはポリペプチドに特異的な m/z 変数で観察される信号強度、またはペプチドもしくはポリペプチドに特異的なNMRスペクトルであってもよい。

【0125】

ペプチドまたはポリペプチドの量の決定は、好ましくは下記のステップを含むことができる：（a）ペプチドを特異的リガンドと接触させ、（b）（場合により）結合していないリガンドを分離し、（c）結合したリガンドの量を測定する。

【0126】

好ましい態様によれば、これらの接触、分離および測定ステップは、本明細書に開示するシステムの分析ユニットにより実施できる。若干の態様によれば、それらの工程は前記システムの単一の分析ユニットにより、または互いに作動可能な状態で連絡する2以上の分析ユニットにより実施できる。たとえば、特定の態様によれば、本明細書に開示するシステムは、接触および分離のステップを実施するための第1分析ユニット、ならびに第1分析ユニットに輸送ユニット（たとえば、ロボットアーム）によって作動可能な状態で接続して測定ステップを実施する第2分析ユニットを含むことができる。

【0127】

結合したリガンド、特にリガンドまたはリガンド/ペプチド複合体は、強度信号を発するのである。本発明による結合には、共有結合および非共有結合の両方が含まれる。本発明によるリガンドは、本明細書に記載するペプチドまたはポリペプチドに結合するいずれかの化合物、たとえばペプチド、ポリペプチド、核酸、または小分子であってもよい。好ましいリガンドには、抗体、核酸、ペプチドまたはポリペプチド、たとえば前記のペプチドまたはポリペプチドに対する受容体または結合パートナー、およびそのフラグメント（前記ペプチドに対する結合ドメインを含むもの）、ならびにアプタマー、たとえば核酸アプタマーまたはペプチドアプタマーが含まれる。そのようなリガンドを作成する方法は当技術分野で周知である。たとえば、適切な抗体またはアプタマーの同定および作成は供給業者によっても提供される。当業者は、より高い親和性または特異性を備えたそのようなリガンドの誘導体を開発する方法に精通している。たとえば、核酸、ペプチドまたはポリ

ペプチドにランダム変異を導入することができる。これらの誘導体を、次いで当技術分野で既知のスクリーニング法、たとえばファージディスプレイ法に従って、結合について試験することができる。本明細書中で述べる抗体には、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の両方、ならびに抗原またはハプテンを結合できるそのフラグメント、たとえばFv、FabおよびF(ab)₂フラグメントが含まれる。本発明には、一本鎖抗体、および目的とする抗原特異性を示す非ヒト・ドナー抗体のアミノ酸配列をヒト・アクセプター抗体の配列と組み合わせたヒト化ハイブリッド抗体も含まれる。ドナー配列は通常は少なくともドナーの抗原結合性アミノ酸残基を含むであろうが、ドナー抗体の他の構造関連および/または機能関連アミノ酸残基も含むことができる。そのようなハイブリッドは、当技術分野で周知である幾つかの方法で作成できる。好ましくは、リガンドまたは作用剤は前記のペプチドまたはポリペプチドに特異的に結合する。本発明による特異的結合は、リガンドまたは作用剤が、分析すべき試料中に存在する他のペプチド、ポリペプチドまたは物質に実質的に結合（それらと“交差反応”）すべきではないことを意味する。好ましくは、特異的に結合されるペプチドまたはポリペプチドは、他のいずれかの関連ペプチドまたはポリペプチドより少なくとも3倍高い、より好ましくは少なくとも10倍高い、よりさらに好ましくは少なくとも50倍高い親和性で結合されるべきである。非特異的結合は、たとえばウェスタンブロット上でのそのサイズに従って、または試料中での相対的に高いその存在量によって、それをなお明白に識別および測定できるならば許容できる。リガンドの結合は、当技術分野で周知であるいずれかの方法により測定できる。好ましくは、その方法は半定量的または定量的である。ポリペプチドまたはペプチドの決定に適したさらに他の手法を以下に記載する。

10

20

【0128】

第1に、リガンドの結合は、直接的に、たとえばNMRまたは表面プラズモン共鳴により測定できる。リガンド結合の測定は、好ましい態様によれば、本明細書に開示するシステムの分析ユニットにより実施される。その後、測定した結合の量を、本明細書に開示するシステムのコンピューティングデバイスにより計算することができる。第2に、リガンドが、目的とするペプチドまたはポリペプチドの酵素活性の基質としても作用するならば、その酵素反応生成物を測定してもよい（たとえば、プロテアーゼの量は開裂した基質の量をたとえばウェスタンブロットで測定することにより測定できる）。あるいは、リガンドが酵素特性そのものを示す場合があり、その“リガンド/ペプチドまたはポリペプチド”複合体、すなわちそれぞれペプチドまたはポリペプチドが結合したリガンドを、強度信号の発生により検出可能にする適切な基質と接触させることができる。酵素反応生成物の測定のためには、好ましくは基質の量は飽和状態である。反応前に基質を検出可能な標識で標識化することもできる。好ましくは、適切な期間、試料を基質と接触させる。適切な期間は、検出可能な量、好ましくは測定可能な量の生成物が生成するのに必要な時間を表わす。生成物の量を測定する代わりに、一定の（たとえば、検出可能な）量の生成物が出現するのに必要な時間を測定することができる。第3に、リガンドの検出および測定を可能にする標識にリガンドを共有結合または非共有結合させてもよい。標識化は、直接法または間接法により実施できる。直接標識化は、標識をリガンドに直接（共有または非共有）結合させることを伴なう。間接標識化は、二次リガンドを一次リガンドに（共有または非共有）結合させることを伴なう。二次リガンドは一次リガンドに特異的に結合すべきである。この二次リガンドは、適切な標識とカップリングさせることができ、および/または二次リガンドに結合する三次リガンドのターゲット（レセプター）であってもよい。二次、三次またはよりさらに高次のリガンドの使用は、信号を増強するためにしばしば採用される。適切な二次およびより高次のリガンドには、抗体、二次抗体、および周知のストレプトアビジン・ビオチン系（Vector Laboratories, Inc.）を含めることができる。リガンドまたは基質に、当技術分野で既知である1以上のタグを“タグ付け”することもできる。その際、そのようなタグはより高次のリガンドにとってのターゲットであってもよい。適切なタグには、ビオチン、ジゴキシゲニン、His-タグ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、FLAG、GFP、myc-タグ、インフル

30

40

50

エンザ A ウイルス - ヘマグルチニン (H A)、マルトース結合タンパク質などが含まれる。ペプチドまたはポリペプチドの場合、タグは好ましくは N 末端および / または C 末端にある。適切な標識は、適切な検出法により検出できるいずれかの標識である。代表的な標識には、金粒子、ラテックスビーズ、アクリダン(acridan)エステル、ルミノール、ルテニウム、酵素活性標識、放射性標識、磁性標識(たとえば、常磁性および超常磁性標識を含む“磁性ビーズ”)、および蛍光標識が含まれる。酵素活性標識には、たとえば西洋わさびペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータ - ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、およびその誘導体が含まれる。検出に適した基質には、ジ - アミノ - ベンジジン(D A B)、3, 3' - 5, 5' - テトラメチルベンジジン、N B T - B C I P (4 - ニトロブルー - テトラゾリウムクロリドおよび 5 - プロモ - 4 - クロロ - 3 - インドリル - ホスフェート; 既製原液として Roche Diagnostics から入手できる)、C D P - S t a r (商標)(Amersham Biosciences)、E C F (商標)(Amersham Biosciences) が含まれる。適切な酵素 - 基質の組み合わせは、有色反応生成物、蛍光または化学発光を生じることができ、それらを当技術分野で既知の方法に従って測定できる(たとえば、感光性フィルムまたは適切なカメラシステムを用いて)。酵素反応の測定については、前記に挙げた基準を同様に適用する。代表的な蛍光標識には、蛍光タンパク質(たとえば、G F P およびその誘導体)、C y 3、C y 5、テキサスレッド、フルオレセイン、および A l e x a 色素(たとえば、A l e x a 5 6 8) が含まれる。さらに他の蛍光標識を、たとえば M o l e c u l a r P r o b e s (オレゴン州) から入手できる。蛍光標識としての量子ドットの使用も考慮される。代表的な放射性標識には、3 5 S、1 2 5 I、3 2 P、3 3 P などが含まれる。放射性標識は、いずれか既知の適切な方法、たとえば感光性フィルムまたはホスフォイメージャー(phosphor imager)により検出できる。本発明による適切な測定法には、下記のものも含まれる: 沈降法(特に免疫沈降法)、電気化学発光(電氣的に発生する化学発光)、R I A (ラジオイムノアッセイ)、E L I S A (酵素結合イムノソルベントアッセイ)、サンドイッチ酵素免疫試験、電気化学発光サンドイッチイムノアッセイ(electrochemiluminescence sandwich immunoassay)(E C L I A)、解離増強型ランタニド蛍光イムノアッセイ(dissociation-enhanced lanthanide fluoro immuno assay)(D E L F I A)、シンチレーション近接アッセイ(S P A)、タービディメトリー(濁度測定)、ネフェロメトリー(比濁分析)、ラテックス増強型タービディメトリーもしくはネフェロメトリー、または固相免疫試験。当技術分野で周知であるさらに他の方法(たとえば、ゲル電気泳動、2 D ゲル電気泳動、S D S ポリアクリルアミドゲル電気泳動(S D S - P A G E)、ウェスタンブロット法、および質量分析)を、単独で、または前記の標識法もしくは他の検出法と組み合わせて使用できる。

【0129】

ペプチドまたはポリペプチドの量は、同様に好ましくは下記により決定できる: (a) 前記に明記したペプチドまたはポリペプチドに対するリガンドを含む固体支持体を、そのペプチドまたはポリペプチドを含む試料と接触させ、そして (b) 支持体に結合しているペプチドまたはポリペプチドの量を測定する。好ましくは核酸、ペプチド、ポリペプチド、抗体およびアプタマーからなる群から選択されるリガンドは、好ましくは固体支持体上に固定化された形態で存在する。固体支持体を作成するための材料は当技術分野で周知であり、特に市販のカラム材料、ポリスチレンビーズ、ラテックスビーズ、磁性ビーズ、コロイド金属粒子、ガラスおよび / またはシリコンのチップおよび表面、ニトロセルロースのストリップ、膜、シート、デュラサイト(duracyte)、反応トレーのウェルおよび壁、プラスチックチューブなどを含む。リガンドまたは作用剤を多種多様なキャリアーに結合させることができる。周知のキャリアーの例には、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカーボネート、デキストラン、ナイロン、アミロース、天然および改質セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、および磁鉄鉱が含まれる。本発明の目的に関して、キャリアーの性質は可溶性または不溶性のいずれであってもよい。それらのリガンドを固定 / 固定化するのに適した方法は周知であり、イオン性

10

20

30

40

50

、疎水性、共有結合性の相互作用などが含まれるが、これらに限定されない。本発明に従ってアレイとして“懸濁アレイ”を用いることも考慮される(Nolan 2002, Trends Biotechnol. 20(1): 9-12)。そのような懸濁アレイには、キャリアー、たとえばマクイロビーズまたはマイクロスフェアが懸濁状態で存在する。アレイは、種々のリガンドを保有する、おそらく標識された種々のマクイロビーズまたはマイクロスフェアからなる。そのようなアレイを調製する方法、たとえば固相化学および光不安定保護基に基づくものが一般に知られている(US 5,744,305)。

【0130】

好ましくは、本明細書中で述べる個々のバイオマーカの量は実施例のセクションの記載に従って決定される。

本明細書中で用いる用語“量”は、バイオマーカの絶対量、そのバイオマーカの相対量または濃度、およびそれらに相関するかまたはそれらから誘導できるいずれかの数値またはパラメーターを包含する。そのような数値またはパラメーターは、それらのペプチドから直接測定により得られるあらゆる特異的な物理的または化学的特性からの強度信号値、たとえば質量スペクトルまたはNMRスペクトルにおける強度値を含む。さらに、本明細書の他の箇所に明記する間接測定により得られるすべての数値またはパラメーター、たとえばペプチドに応答した生物学的読出し系から決定される応答レベル、または特異的に結合したりガンドから得られる強度信号が包含される。前記の量またはパラメーターに相関する数値はあらゆる標準的数学操作によっても得られることを理解すべきである。本発明の好ましい態様によれば、“量”の決定は開示するシステムにより行なわれ、それによればそのシステムの1以上の分析ユニットにより実施される接触および測定 of 工程に基づいてコンピューティングデバイスが“量”を決定する。

【0131】

本明細書中で用いる用語“比較する”は、分析すべき試料が含むバイオマーカ、特にペプチドまたはポリペプチドの量を、本明細書の他の箇所に明記する適切な基準源と比較することを包含する。本明細書中で用いる比較するとは、対応するパラメーターまたは数値の比較を表わすことを理解すべきである；たとえば、絶対量を絶対基準量と比較し、一方で濃度を基準濃度と比較し、あるいは試験試料から得られる強度信号を標準試料の同じタイプの強度信号と比較する。本発明方法のステップ(b)に述べる比較は、手動で、またはコンピューター支援により実施できる。したがって、本発明方法のステップ(b)に述べる比較は、(たとえば、本明細書に開示するシステムの)コンピューティングデバイスにより実施できる。たとえばその量と基準の数値を互いに比較し、その比較は、比較のためのアルゴリズムを実行するコンピュータープログラムによって自動的に実施できる。その評価を行なうコンピュータープログラムは、目的とする評価を適切な出力フォーマットで提供するであろう。コンピューター支援による比較のために、決定した量の数値を、データベースに記憶された適切な基準に対応する数値とコンピュータープログラムにより比較することができる。コンピュータープログラムはさらに比較の結果を評価することができ、すなわち目的とする評価を適切な出力フォーマットで自動的に提供する。コンピューター支援による比較のために、決定した量の数値を、データベースに記憶された適切な基準に対応する数値とコンピュータープログラムにより比較することができる。コンピュータープログラムはさらに比較の結果を評価することができ、すなわち目的とする評価を適切な出力フォーマットで自動的に提供する。その結果は、好ましくは、本明細書の他の箇所に述べる少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための補助として採用できる。

【0132】

本明細書中で用いる用語“基準量”(または基準比)は、好ましくは、被検体を本発明の方法に関して述べるその少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体のグループまたはその少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体のグループのいずれかに配属できる量を表わす。したがって、基準量(または基準比)は、少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の同定を可能にすべきである。

10

20

30

40

50

【0133】

そのような基準量（または比）は、これらのグループを互いに分離する閾値量であってもよい。同定は、計算“量”（または比）と基準または閾値との比較に基づいて、本明細書に開示するシステムのコンピューティングデバイスにより提供できる。たとえば、システムのコンピューティングデバイスは、被検体の同定を指示する言語、記号または数値の形の指標を提供できる。

【0134】

個々の被検体に適用できる基準量（または基準比）は、種々の生理学的パラメーター、たとえば年齢、性別または亜集団に応じて、および本明細書中で述べるポリペプチドまたはペプチドの決定に用いる手段に応じて、異なる可能性がある。適切な基準量は、試験試料と一緒に、すなわち同時または逐次に分析される標準試料から決定できる。

10

【0135】

基準量（または比）は、原則として、統計の標準法を適用することにより、被検体のコホートにつき前記のように特定のバイオマーカーについての平均(averageまたはmean)値に基づいて計算できる。特に、ある事象（またはそうではないこと）を診断することを目的とした方法などの試験の精度は、その受信者操作特性(receiver-operating characteristics) (ROC) によって最も良く記述できる(特に、Zweig 1993, Clin. Chem. 39:56 1-577を参照)。ROCグラフは、決定閾値を観察データの全範囲にわたって連続的に変化させることから得られる感度と特異度のすべての対のプロットである。診断方法の臨床性能は、その精度、すなわちそれが被検体を特定の予後または診断に正確に配属する能力に依存する。ROCプロットは、区別を行なうのに適した全範囲の閾値について感度を1 - 特異度に対してプロットすることにより、2つの分布間のオーバーラップを指示する。y軸には感度、または真の陽性画分があり、これは真の陽性試験結果の数と偽陰性試験結果の数の積に対する真の陽性試験結果の数の比として定義される。これは、ある疾患または状態の存在下での陽性度とも言われている。それは専ら罹患サブグループから計算される。x軸には偽陽性画分、または1 - 特異度があり、これは真の陰性結果の数と偽陽性結果の数の積に対する偽陽性結果の数の比として定義される。それは特異度の指数であり、完全に非罹患サブグループから計算される。真の陽性画分と偽陽性画分は2つの異なるサブグループからの試験結果を用いて完全に分離して計算されるので、ROCプロットはそのコホートにおけるその事象の罹病率とは無関係である。ROCプロット上の各点は、特定の決定閾値に対応する感度 / - 特異度の対を表わす。完全識別を伴う試験（結果の2つの分布にオーバーラップがない）は、上左隅を通るROCプロットをもち、その際、真の陽性画分は1.0、すなわち100%（完全感度）であり、偽陽性画分は0（完全特異度）である。識別されない試験についての理論的プロット（2グループについての結果が同一分布）は、下左隅から上右隅への45°の対角線である。大部分のプロットはこれら両極端の間にある。ROCプロットが完全に45°の対角線の下側にあれば、これは“陽性度”についての基準を“より大”から“より小”に逆転することによって容易に対処され、あるいはその逆も成り立つ。定性的に、プロットが上左隅に近づくほど、その試験の全般的精度は高くなる。希望する信頼区間に応じて、本明細書に述べる投与に適格な被検体を同定できる閾値を、それぞれ感度と特異度の適正なバランスでROC曲線から導くことができる。したがって、好ましくはそのコホートについて前記のようにROCを確立し、それから閾値量を導くことにより、前記の本発明方法に使用する基準、すなわち本明細書に述べる投与に適格な被検体またはその投与に適格ではない被検体を識別できる閾値を作成できる。診断方法のための希望する感度および特異度に応じて、ROCプロットによって適切な閾値を導くことができる。

20

30

40

【0136】

診断アルゴリズム、すなわちある医薬の投与を開始すべきか否か、または医薬の用量を増加させる（“増量する(uptrirate)”）べきか否かを実施例のセクションに開示する。以下に好ましい診断アルゴリズムをまとめる：

少なくとも1種類の医薬がベータ遮断薬であり、かつ少なくとも1種類のバイオマーカー

50

ーがエンドスタチン、ミメカン、GDF-15、心臓トロポニンおよび/またはBNPタイプのペプチドであれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量（単数または複数）と比較して増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適切な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適切ではない被検体の指標である。

【0137】

より好ましくは、検査される被検体は既にベータ遮断薬で治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適切な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適切ではない被検体の指標である。

10

【0138】

少なくとも1種類の医薬がベータ遮断薬であり、かつバイオマーカーがIGFBP7、PINP、sFlt-1またはオステオポンチンであれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量（単数または複数）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記ベータ遮断薬の投与に適切な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記ベータ遮断薬の投与に適切ではない被検体の指標である。特に、基準量（単数または複数）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記ベータ遮断薬の投与に適切な被検体の指標である。

20

【0139】

より好ましくは、検査される被検体は既にベータ遮断薬で治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適切な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適切ではない被検体の指標である。特に、基準量（単数または複数）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記ベータ遮断薬の投与に適切な被検体の指標である。

30

【0140】

少なくとも1種類の医薬がアルドステロンアンタゴニストであり、かつ少なくとも1種類のバイオマーカーがIGFBP7、心臓トロポニン、Gal-3、シスタチンC、PLGF、GDF-15および/またはsST2であれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量（単数または複数）と比較して増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適切な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適切ではない被検体の指標である。

40

【0141】

より好ましくは、検査される被検体は既にアルドステロンアンタゴニストで治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適切な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬（単数または複数）の投与に適切ではない被検体の指標である。

【0142】

50

P 1 G F の量 - 対 - s F 1 t - 1 の量の比を決定するのであれば、下記の診断アルゴリズムを適用する：

好ましくは、基準比と比較して増大した試験試料中の P 1 G F の量 - 対 - s F 1 t - 1 の量の比はそのアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準比と比較して低下した比はそのアルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 4 3 】

より好ましくは、検査される被検体は既にアルドステロンアンタゴニストで治療されている。この場合、基準比と比較して増大した試験試料中の P 1 G F の量 - 対 - s F 1 t - 1 の量の比はより高い用量での前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準比と比較して低下した比はより高い用量での前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である。

10

【 0 1 4 4 】

少なくとも 1 種類の医薬がアルドステロンアンタゴニストであり、かつ少なくとも 1 種類のバイオマーカーがエンドスタチン、尿酸および/または s F 1 t - 1 であれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量（単数または複数）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

20

【 0 1 4 5 】

より好ましくは、検査される被検体は既にアルドステロンアンタゴニストで治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 4 6 】

少なくとも 1 種類の医薬がレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であり、かつ少なくとも 1 種類のバイオマーカーが G D F - 1 5、心臓トロポニン、尿酸、B N P タイプのペプチドおよび/またはオステオポンチンであれば、好ましくは下記を適用する：

30

好ましくは、基準量（単数または複数）と比較して増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 4 7 】

より好ましくは、検査される被検体は既にレニン - アンジオテンシン系の阻害薬で治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

40

【 0 1 4 8 】

少なくとも 1 種類の医薬が利尿薬であり、かつ少なくとも 1 種類のバイオマーカーが、I G F B P 7、エンドスタチン、ミメカン、G D F - 1 5、プレアルブミン、トランスフェリン、B N P タイプのペプチド、および尿酸からなる群から選択されれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量（単数または複数）と比較して増加した試験試料中のバイオマーカー

50

ー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の指標である。

【0149】

より好ましくは、検査される被検体は既に利尿薬で治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、基準量（単数または複数）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより低い用量での前記医薬の投与に適格な被検体の指標である。

10

【0150】

少なくとも1種類の医薬がレニン-アンギオテンシン系の阻害薬であり、かつ少なくとも1種類のバイオマーカーがsFlt-1および/またはIGFBP7であれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量と比較して増加した試験試料中のバイオマーカーの量は前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、および/または基準量と比較して増加したバイオマーカーの量は前記医薬の投与に適格な被検体の指標である。

20

【0151】

より好ましくは、検査される被検体は既にレニン-アンギオテンシン系の阻害薬で治療されている。この場合、基準量と比較して増加したバイオマーカーの量はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、および/または基準量と比較して減少したバイオマーカーの量はより高い用量での前記医薬の投与に適格な被検体の指標である。

【0152】

基準量を、前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから、および/または前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導くことも好ましい。

30

【0153】

この場合、好ましい診断アルゴリズムは下記のものである：

少なくとも1種類の医薬がベータ遮断薬であり、かつ少なくとも1種類のバイオマーカーがエンドスタチン、ミメカン、GDF-15、心臓トロポニンおよび/またはBNPタイプのペプチドであれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量はその少なくとも1種類の医薬の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、ならびに/あるいは基準量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

40

【0154】

少なくとも1種類の医薬がベータ遮断薬であり、かつバイオマーカーがIGFBP7、P1NP、sFlt-1および/またはオステオポンチンであれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、IGFBP7、P1NP、sFlt-1および/またはオステオポンチンについての基準量は、そのベータ遮断薬の投与に適格であることが分かっている被検体ま

50

たは被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中の I G F B P 7、P 1 N P、s F 1 t - 1 および / またはオステオポンチンの量は、前記ベータ遮断薬の投与に適格な被検体の指標であり、ならびに / あるいは基準量はその少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中の I G F B P 7、P 1 N P、s F 1 t - 1 および / またはオステオポンチンの量は、前記ベータ遮断薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 5 5 】

少なくとも 1 種類の医薬がアルドステロンアンタゴニストであり、かつ少なくとも 1 種類のバイオマーカーが I G F B P 7、シスタチン C、心臓トロポニン、G a l - 3、P 1 G F、G D F - 1 5 および / または s S T 2 であれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 5 6 】

少なくとも 1 種類の医薬がアルドステロンアンタゴニストであり、かつ少なくとも 1 種類のバイオマーカーがエンドスタチン、尿酸および / または s F 1 t - 1 であれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量は前記少なくとも 1 種類の医薬（すなわち、アルドステロンアンタゴニスト）の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 5 7 】

より好ましくは、検査される被検体は既にアルドステロンアンタゴニストで治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、および / または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 1 5 8 】

少なくとも 1 種類の医薬がレニン - アンギオテンシン系の阻害薬であり、かつ少なくとも 1 種類のバイオマーカーが G D F - 1 5、心臓トロポニン、尿酸、B N P タイプのペプチドおよび / またはオステオポンチンであれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、これらのバイオマーカー（単数または複数）についての基準量（単数または複数）は、前記レニン - アンギオテンシン系の阻害薬の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中の両バイオマーカーの量は、前記レニン - アンギオテンシン系の阻害薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量は前記レニン - アンギオテンシン系の阻害薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または

10

20

30

40

50

被検体グループから導かれ、その際、i) 心臓トロポニンについての基準量と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中の心臓トロポニンの量、あるいはii) 基準量と比較して本質的に同一および/または減少した試験試料中の両バイオマーカーの量は、前記レニン-アンジオテンシン系の阻害薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【0159】

少なくとも1種類の医薬が利尿薬であり、かつ少なくとも1種類のバイオマーカーが、エンドスタチン、ミメカン、GDF-15、プレアルブミン、トランスフェリン、BNPタイプのペプチド、および尿酸からなる群から選択されれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量は前記少なくとも1種類の医薬（すなわち、利尿薬）の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、ならびに/あるいは基準量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【0160】

同様に好ましくは、基準量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量（単数または複数）と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中のバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）は、より低い用量での前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の指標である。

【0161】

より好ましくは、検査される被検体は既に利尿薬で治療されている。この場合、基準量（単数または複数）と比較して増加したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、および/または基準量（単数または複数）と比較して減少したバイオマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）はより高い用量での前記医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【0162】

少なくとも1種類の医薬がレニン-アンジオテンシン系の阻害薬であり、かつ少なくとも1種類のバイオマーカーがsFlt-1および/またはIGFBP7であれば、好ましくは下記を適用する：

好ましくは、基準量は、前記レニン-アンジオテンシン系の阻害薬の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中のsFlt-1および/またはIGFBP7の量は、前記レニン-アンジオテンシン系の阻害薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量は前記レニン-アンジオテンシン系の阻害薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中のsFlt-1および/またはIGFBP7の量は、前記レニン-アンジオテンシン系の阻害薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【0163】

本発明に関して適用するのに好ましい基準量は、実施例に記載するものである。さらに好ましい基準量は下記のものである：

- ・ GDF-15：約3000～約5000 ng/mlの範囲内、特に4000 ng/ml

- ・エンドスタチン：約 230 ~ 約 270 ng / ml の範囲内、特に 250 ng / ml
 - ・ミメカン：約 30 ~ 約 70 ng / ml の範囲内、特に 50 ng / ml
 - ・IGFBP7：約 70 ~ 約 130 ng / ml の範囲内、特に 100 ng / ml
 - ・NT-proBNP：約 2500 ~ 約 3500 pg / ml の範囲内、特に約 3000 pg / ml
 - ・トロポニン：約 22 ~ 約 30 ng / ml の範囲内、特に 26 ng / ml
 - ・尿酸：約 5 ~ 約 10 ng / ml の範囲内、特に 7.3 ng / ml
 - ・Gal3 (ガレクチン-3)：約 26 ~ 約 38 ng / ml の範囲内、特に 31.6 ng / ml
 - ・オステオポンチン：約 80 ~ 約 120 ng / ml の範囲内、特に 100 ng / ml
 - ・sST2 (可溶性ST2)：約 30 ~ 約 38 ng / ml の範囲内、特に 34.0 ng / ml
 - ・sFLT-1：約 85 ~ 約 111 ng / ml の範囲内、特に 98 ng / ml
 - ・PLGF：約 15 ~ 約 31 ng / ml の範囲内、特に 20.7 ng / ml
 - ・PINP：約 29.0 ng / ml ~ 約 43.5 ng / ml の範囲内、特に 36.72 ng / ml
 - ・シスタチンC：約 1.20 mg / l ~ 約 2.3 mg / l の範囲内、特に 1.76 mg / l
 - ・プレアルブミン：約 0.11 g / l ~ 約 0.27 g / l の範囲内、特に 0.19 g / l
 - ・トランスフェリン：約 2.15 g / l ~ 約 2.80 g / l の範囲内、特に 2.48 g / l
- PLGF - 対 - sFlt - 1 の比を計算する場合、基準比は特に約 0.17 ~ 約 0.29 の範囲である。ある態様において、基準比は 0.23 である。

10

20

30

40

50

【0164】

好ましくは、前記に述べた基準量(比)は、本明細書中に述べるこれらのグループを互いに分離する閾値量(比)である。

本発明に関して、ある被検体がある医薬の投与に適切であるかどうかを評価するために2種類以上のバイオマーカーを決定する場合、特に個々のバイオマーカーの決定量を個々のバイオマーカーについての基準量と比較することを想定する。たとえば、バイオマーカーIGFBP7の量はIGFB7についての基準量と比較すべきであり、バイオマーカーミメカンの量はミメカンについての基準量と比較すべきであり、バイオマーカーエンドスタチンの量はエンドスタチンの基準量と比較すべきであり、バイオマーカーsFlt-1の量はsFlt-1の基準量と比較すべきである、など。この場合、診断。さらに、2種類以上のバイオマーカーを決定する場合、本明細書中に述べる個々のバイオマーカーについての診断アルゴリズムを組み合わせるのが好ましい。

【0165】

さらに、本発明は、心不全の治療のための少なくとも1種類の医薬で被検体を治療する、下記を含む方法に関する：

- a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、本発明の方法に関して前記に述べた少なくとも1種類のバイオマーカーの量を決定すること；および
- b) ステップa)で決定した少なくとも1種類のバイオマーカーの量(単数または複数)を基準量(単数または複数)と比較し、それにより前記少なくとも1種類の医薬の投与に適切な被検体を同定すること；
- c) 被検体を少なくとも1種類の医薬の投与に適切であると同定すること；
- d) 前記少なくとも1種類の医薬をその被検体に投与すること。

【0166】

医薬は前記に開示したものである。投与は前記少なくとも1種類の医薬の投与の開始であってもよく、あるいはより高い用量での前記少なくとも1種類の医薬の投与であってもよい。

【0167】

ステップc)は比較ステップb)の結果に基づく。診断アルゴリズムは本明細書の他の箇所に開示される。

本発明の基礎となる研究に関して、単一バイオマーカーの使用により幾つかの医薬クラスの投与に関して決定を行なうのが可能であることが示された。したがって、本発明の方法は特に単一バイオマーカーの使用により被検体が2種類以上の医薬の投与に適格であるかどうかを評価することを想定する。

【0168】

したがって、本発明方法の好ましい態様において、2種類以上の医薬の投与、特に2または3種類の医薬の投与に適格である被検体を同定する。好ましい態様は下記のものである：

10

バイオマーカーがGDF-5である場合、医薬は好ましくは下記のものである：

- i . ベータ遮断薬およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬
- ii . ベータ遮断薬および利尿薬
- iii . レニン-アンギオテンシン系の阻害薬および利尿薬、または
- iv . ベータ遮断薬、レニン-アンギオテンシン系の阻害薬、および利尿薬。

【0169】

バイオマーカーがIGFBP7である場合、医薬は好ましくはベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストである。同様に、医薬は好ましくはベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニストおよび利尿薬である。さらに、医薬がベータ遮断薬、アルドステロン

20

【0170】

バイオマーカーがミメカンである場合、医薬は好ましくはベータ遮断薬および利尿薬である。

バイオマーカーがエンドスタチンである場合、医薬は好ましくは下記のものである：

- i . ベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニスト
- ii . ベータ遮断薬および利尿薬
- iii . アルドステロンアンタゴニストおよび利尿薬、または
- iv . ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、および利尿薬。

30

【0171】

バイオマーカーが心臓トロポニンである場合、医薬は好ましくは下記のものである：

- i . ベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニスト
- ii . ベータ遮断薬およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬
- iii . アルドステロンアンタゴニストおよびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬、または
- iv . ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬。

【0172】

バイオマーカーが尿酸である場合、医薬は好ましくは下記のものである：

40

- i . 利尿薬およびアルドステロンアンタゴニスト
- ii . 利尿薬およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬
- iii . アルドステロンアンタゴニストおよびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬、または
- iv . 利尿薬、アルドステロンアンタゴニスト、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬。

【0173】

したがって、本発明は、2または3種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する：

- a) 心不全に罹患している被検体からの試料においてGDF-15(増殖分化因子15

50

)の量を決定する；および

b)工程a)で決定した量を基準量と比較し、それによりそれらの医薬の投与に適格な被検体を同定する；

その際、それら2または3種類の医薬は下記のものである：

i . ベータ遮断薬およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬

i i . ベータ遮断薬および利尿薬

i i i . レニン - アンジオテンシン系の阻害薬および利尿薬、または

i v . ベータ遮断薬、レニン - アンジオテンシン系の阻害薬、および利尿薬。

【0174】

さらに、本発明は、2種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する；

a)心不全に罹患している被検体からの試料においてIGFBP7の量を決定すること；および

b)ステップa)で決定した量を基準量(単数または複数)と比較し、それによりそれらの医薬の投与に適格な被検体を同定すること；

その際、それら2種類の医薬はベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストである。

【0175】

さらに、本発明は、2種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する；

a)心不全に罹患している被検体からの試料においてミメカンの量を決定すること；および

b)ステップa)で決定した量を基準量(単数または複数)と比較し、それによりそれらの医薬の投与に適格な被検体を同定すること；

その際、それら2種類の医薬はベータ遮断薬および利尿薬である。

【0176】

したがって、本発明は、2または3種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する；

a)心不全に罹患している被検体からの試料において心臓トロポニンの量を決定すること；および

b)ステップa)で決定した量を基準量と比較し、それによりそれらの医薬の投与に適格な被検体を同定すること；

その際、それら2または3種類の医薬は下記のものである：

i . ベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニスト

i i . ベータ遮断薬およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬、

i i i . アルドステロンアンタゴニストおよびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬、または

i v . ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬。

【0177】

したがって、本発明は、2または3種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法に関する；

a)心不全に罹患している被検体からの試料においてエンドスタチンの量を決定すること；および

b)ステップa)で決定した量を基準量(単数または複数)と比較し、それによりそれらの医薬の投与に適格な被検体を同定すること；

その際、それら2または3種類の医薬は下記のものである：

i . ベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニスト

i i . ベータ遮断薬および利尿薬

i i i . アルドステロンアンタゴニストおよび利尿薬、または

10

20

30

40

50

i v . ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、および利尿薬。

【0178】

単一バイオマーカの量の決定に基づいて2種類以上の医薬の投与に適格である被検体を同定する場合、基準量に関して下記を適用すべきである：

好ましくは、種々の医薬についてステップ b) に述べた基準量は、個々のマーカについて同一であってもよい。したがって、本発明方法のステップ a) で決定したバイオマーカの量を、好ましくは単一の基準量、したがって個々のマーカについて被検体はその2または3種類の医薬の投与に適格であるか否かを評価できる基準量（すなわち、すべての医薬に適用される基準量）と比較する。同様に好ましくは、種々の医薬に関する個々のバイオマーカについての基準量は異なってもよい；すなわち、それは医薬特異的であつてもよい。したがって、本発明方法のステップ a) で決定したバイオマーカの量を、好ましくは2または3種類の基準量と比較する。したがって、2種類の医薬の投与に適格である被検体を同定する場合、そのバイオマーカの量を2種類の基準量と比較すべきである。同様に、3種類の医薬の投与に適格である被検体を同定する場合、そのバイオマーカの量を3種類の基準量と比較すべきである。それら個々の基準量は医薬特異的であろう。したがって、種々の医薬についての個々の基準量（単一マーカに関して）を適用できる。たとえば、ベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格である被検体を同定すべき場合、ステップ a) で決定したバイオマーカの量を、i) ベータ遮断薬の投与に適格である被検体を同定するための前記バイオマーカについての基準量、および i i) アルドステロンアンタゴニストの投与に適格である被検体を同定するためのそのバイオマーカについての基準量と比較すべきである（これは、たとえばバイオマーカが I G F B P 7 である場合に当てはまる）。たとえば、ベータ遮断薬および利尿薬の投与に適格である被検体を同定すべき場合、ステップ a) で決定したバイオマーカの量を、i) ベータ遮断薬の投与に適格である被検体を同定するためのそのバイオマーカについての基準量、および i i) 利尿薬の投与に適格である被検体を同定するためのそのバイオマーカについての基準量と比較すべきである（これは、バイオマーカがミメカンである場合に当てはまる）。

10

20

30

40

50

【0179】

個々の医薬と組み合わせた個々のバイオマーカについての診断アルゴリズムは、本明細書の他の箇所に述べてある。さらに、好ましい基準量を前記に述べた。それらの診断アルゴリズムおよび好ましい基準量は、好ましくは、単一バイオマーカの量の決定に基づいて2または3種類の医薬の投与に適格である被検体を同定すべき場合にも当てはまる。2または3種類の医薬の投与に適格である被検体を同定すべきである場合、それらの医薬と組み合わせた個々のバイオマーカについて本明細書中で前記に述べた診断アルゴリズムを組み合わせる。

【0180】

たとえば、バイオマーカ I G F B P 7 に関しては下記を適用する：

好ましくは、基準量（特に、ベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定するための基準量）と比較して減少した試験試料中のバイオマーカの量は前記ベータ遮断薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量と比較して増加した前記バイオマーカの量は前記ベータ遮断薬の投与に適格ではない被検体の指標である；これに対し、基準量（特に、アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための基準量）と比較して増加した試験試料中のバイオマーカの量は前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量と比較して減少した前記バイオマーカの量は前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である。

【0181】

あるいは、ベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定するためのバイオマーカ I G F B P 7 に関する基準量は、前記ベータ遮断薬の投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかま

たは減少した試験試料中の I G F B P 7 の量は、前記ベータ遮断薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / またはベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定するための基準量は前記ベータ遮断薬の投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中の I G F B P 7 の量は、前記ベータ遮断薬の投与に適格ではない被検体の指標である ; これに対し、アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための I G F B P 7 に関する基準量は、前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格であることが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは増加した試験試料中の I G F B P 7 の量は、前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および / またはアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための I G F B P 7 に関する基準量は前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではないことが分かっている被検体または被検体グループから導かれ、その際、基準量と比較して本質的に同一であるかまたは減少した試験試料中の I G F B P 7 の量は、前記アルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である。

10

【 0 1 8 2 】

本発明のある観点において、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための補助を確立する方法を考慮し、その方法は下記を含む :

20

a) G D F - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性 S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも 1 種類のマーカーの量を下記により決定する : (i) その少なくとも 1 種類のマーカーに特異的に結合する検出剤 (単数または複数) と試料を、その検出剤と試料からの少なくとも 1 種類のマーカーとの複合体を形成させるのに十分な期間、接触させ、(i i) 形成された複合体の量を測定し、その際、形成された複合体の量は試料中に存在する少なくとも 1 種類のマーカーの量に比例し、そして (i i i) 形成された複合体の量を試料中に存在する少なくとも 1 種類のマーカーの量を反映する少なくとも 1 種類のマーカーの量に換算すること ;

30

b) その量を基準と比較すること ; および、

c) ステップ b) で行なった比較の結果に基づいて、前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための補助を確立すること。

【 0 1 8 3 】

本発明の他の観点において、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定する補助を確立するための、下記のものを含むシステムを考慮する :

40

a) G D F - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性 S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも 1 種類のマーカーに特異的に結合する検出剤 (単数または複数) と試料を、前記検出剤と試料からの少なくとも 1 種類のマーカーとの複合体を形成させるのに十分な期間、接触させるように構成された分析ユニット ;

b) 形成された複合体の量を測定するように構成された分析ユニット ; その際、形成された複合体の量は試料中に存在する少なくとも 1 種類のマーカーの量に比例する ;

c) プロセッサを備え、かつ前記の分析ユニット類と作動可能な状態で連絡した、コンピューティングデバイス ; および、

50

d) プロセッサが実行できる複数の指令、すなわち実行した際に、形成された複合体の量を試料中に存在する少なくとも1種類のマーカーの量を反映する少なくとも1種類のマーカーの量に換算し、前記量を基準量と比較し、前記基準との比較の結果に基づいて、前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定する補助を確立するための指令を含む、非一過性の機械可読媒体。

【0184】

適切な検出剤は、ある観点において、本発明の方法により検査すべき被検体の試料中の少なくとも1種類のマーカーに特異的に結合する抗体、すなわちGDF-15(増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7(IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、尿酸、Gal3(ガレクチン-3)、オステオポンチン、sST2(可溶性ST2)、sFlt-1、PLGF、PlNP、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンに結合する検出剤であってもよい。適用できる他の検出剤は、ある観点において、試料中の少なくとも1種類のマーカーに特異的に結合するアプタマーであってもよい。さらに他の観点において、検出剤と少なくとも1種類のマーカーの間に形成された複合体から、形成された複合体の量を測定する前に試料を分離する。したがって、ある観点において、検出剤を固体支持体に固定化してもよい。さらに他の観点において、固体支持体上に形成された複合体から洗浄溶液の適用により試料を分離することができる。形成された複合体は試料中に存在する少なくとも1種類のマーカーの量に比例すべきである。適用する検出剤の特異度および/または感度が試料中に含まれる特異的に結合できる少なくとも1種類のマーカーの比例度を規定することは理解されるであろう。決定を実施できる方法についてのさらなる詳細は本明細書の他の箇所にもある。形成された複合体の量を、試料中に実際に存在する量を反映する少なくとも1種類のマーカーの量に換算すべきである。そのような量は、ある観点において、本質的に試料中に存在する量であってもよく、あるいは他の観点において、形成された複合体と元の試料中に存在する量との関係のため、その一定割合である量であってもよい。

10

20

【0185】

前記方法のさらに他の観点において、ステップa)は分析ユニット、ある観点において、本明細書の他の箇所に定める分析ユニットにより実施できる。

本発明方法のある観点において、ステップa)で決定した量(単数または複数)を基準と比較する。ある観点において、基準は本明細書の他の箇所に定める基準である。さらに他の観点において、基準は複合体の測定量と元の試料中に存在する量との比例関係を考慮に入れる。したがって、本発明方法のある観点に適用する基準は、用いた検出剤の限界を反映するように採用された人為的基準である。他の観点において、比較を実施する際に、たとえば決定量と基準の数値を実際に比較する前に、決定量についての正規化および/または補正計算の工程を含めることにより、その関係を考慮に入れることもできる。この場合も、決定量についての正規化および/または補正計算のステップは、用いた検出剤の限界が適正に反映されるように比較ステップを採用する。ある観点において、比較は自動的に、たとえばコンピューターシステムなどにより支援して実施される。

30

【0186】

その少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための補助は、本明細書の他の箇所に述べるように、ステップb)で実施した比較に基づいて、投与に適格な被検体グループまたは投与に適格ではない被検体グループのいずれかに被検体を配属することにより確立される。既に本明細書の他の箇所で考察したように、検査した被検体の配属は検査した症例の100%において正確でなければならないわけではない。さらに、検査した被検体が配属される被検体グループは、それらが統計学的考慮、すなわち本発明の方法をそれに基づいて操作すべき一定の前選択した尤度(degree of likelihood)に基づいて確立されるという点で、人為的グループである。本発明のある観点において、本明細書に記載および開示するように、前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための補助は、自動的に、たとえばコンピューティングデバイスなどにより支援して確立される。

40

50

【0187】

本発明方法のある観点において、本方法はさらに、本明細書の他の箇所に詳細に述べるようにステップc)で確立された結果に従って被検体を推奨および/または管理し、ならびに/あるいは疾患モニタリングの集中度を適合させるステップを含む。

【0188】

前記方法のある観点において、ステップb)および/またはc)は、本明細書の他の箇所に述べる1以上の分析ユニットにより実施される。

本発明はまた、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、心不全に罹患している被検体の試料における、i) G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカー、および/またはi i) G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるバイオマーカーに特異的に結合する検出剤の使用に関する。

10

20

【0189】

本発明はまた、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定する医薬組成物または診断薬組成物の製造のための、i) G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカー、および/またはi i) G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるバイオマーカーに特異的に結合する検出剤の使用に関する。

30

【0190】

さらに本発明は、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカー、および/またはi i) G D F - 1 5 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるバイオマーカーに特異的に結合する検出剤に関する。前記少なくとも1種類のバイオマーカーまたは前記少なくとも1種類の検出剤はキットに収容されていてもよい。

40

【0191】

50

本明細書中で用いる用語“検出剤”は、試料中に存在するバイオマーカーポリペプチド（単数または複数）を特異的に認識してそれに結合することができる作用剤を表わす。さらに、前記作用剤は、当該作用剤とバイオマーカーにより形成された複合体の直接検出または間接検出を可能にするものでなければならない。直接検出は、前記作用剤に検出可能な標識を含有させることにより達成できる。間接標識化は、バイオマーカーおよび検出剤を含む複合体に特異的に結合するさらなる作用剤により達成でき、その際、このさらなる作用剤は検出可能な信号を発することができるものである。検出剤として使用できる適切な化合物は当技術分野で周知である。好ましくは、検出剤はバイオマーカーに特異的に結合する抗体またはアプタマーである。用語“抗体”は本明細書の他の箇所に記載されている。

10

【0192】

本発明の好ましい態様によれば、本発明の方法を実施するために適合させた、下記のものを含むデバイスが提供される：

a) G D F - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、s S T 2 (可溶性 S T 2)、s F l t - 1、P l G F、P 1 N P、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるマーカーに特異的に結合する検出剤（単数または複数）を含む分析ユニットであって、心不全に罹患している被検体の試料においてこれらのマーカー（単数または複数）の量（単数または複数）を決定するために適合させたユニット；および、

20

b) 決定した量（単数または複数）を基準量（単数または複数）と比較し、それによりベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための分析ユニットであって、基準量（単数または複数）を備えたデータベースおよび比較を実施するためのコンピューター実装されたアルゴリズムを含むユニット。

【0193】

好ましい基準量およびアルゴリズムは本明細書の他の箇所に開示されている。

本発明の好ましい態様は、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するためのシステムを含む。システムの例には、化学反応もしくは生物反応の結果を検出するために、または化学反応もしくは生物反応の進行をモニターするために用いられる、臨床化学分析計、凝固化学分析計、免疫化学分析計、尿分析計、核酸分析計が含まれる。より具体的には、本明細書に開示する代表的システムには、R o c h e の E l e c s y s (商標) システムおよび C o b a s (登録商標) e イムノアッセイ分析計、A b b o t t の A r c h i t e c t (商標) および A x s y m (商標) 分析計、S i e m e n s の C e n t a u r (商標) および I m m u l i t e (商標) 分析計、ならびに B e c k m a n C o u l t e r の U n i C e l (商標) および A c e s s (商標) 分析計などを含めることができる。

30

【0194】

システムの態様には、本明細書の開示内容を実施するために用いる 1 以上の分析ユニットを含めることができる。本明細書に開示するシステムの分析ユニットは、既知のように有線接続、B l u e t o o t h (登録商標)、L A N S、または無線信号のいずれかにより、本明細書に開示するコンピューティングデバイスと作動可能な状態で連絡している。さらに、本明細書の開示によれば、分析ユニットは、診断の目的で試料の検出、たとえば定性および / または定量評価の一方または両方を実施する独立型装置または大型機器内のモジュールを含むことができる。たとえば、分析ユニットは試料および / または試薬のピペティング、投入、混合を実施または支援することができる。分析ユニットは、アッセイを行なう試薬を保持するための試薬保持ユニットを含むことができる。試薬は、たとえば個々の試薬または一群の試薬を収容した容器またはカセットの形態で、貯蔵コンパートメントまたはコンベヤー内の適宜な受器または位置に置いた状態に配置することができる

40

50

。検出試薬は、試料と接触させる固体支持体に固定化された形態であってもよい。さらに、分析ユニットは、個々の分析に最適化できる処理および/または検出の構成要素を含むことができる。

【0195】

若干の態様によれば、分析ユニットは、試料について分析物、たとえばマーカを光学検出するために構成できる。光学検出のために構成された代表的な分析ユニットは、電磁エネルギーを電気信号に変換するために構成されたデバイスを含み、それには単一素子および多重素子またはアレイ状の光学検出器が共に含まれる。本明細書の開示によれば、光学検出器は光電磁信号をモニターし、そして光路に配置された試料中の分析物の存在および/または濃度の指標となる電氣的な出力信号または応答信号をベースライン信号に対比して提供することができる。そのようなデバイスには、たとえば下記のものも含めることができる：アバランシェフォトダイオード(avalanche photodiode)を含むフォトダイオード、フォトランジスタ、光伝導検出器、リニアセンサーアレイ、CCD検出器、CMOSアレイ検出器を含むCMOS検出器、光電子増倍管、および光電子増倍管アレイ。特定の態様によれば、光学検出器、たとえばフォトダイオードまたは光電子増倍管は、信号の調整または処理用の追加エレクトロニクスを含むことができる。たとえば、光学検出器は少なくとも1つの前置増幅器、フィルター回路、または集積回路を含むことができる。適切な前置増幅器には、たとえば積分型、トランスインピーダンス型、および電流利得型(current gain)(カレントミラー(current mirror))の前置増幅器が含まれる。

10

【0196】

さらに、本明細書の開示による1以上の分析ユニットは、光を発するための光源を含むことができる。たとえば、分析ユニットの光源は、試験試料について分析物濃度を測定するための、またはエネルギー移動(たとえば、蛍光共鳴エネルギー移動による、または酵素の触媒作用による)を可能にするための、少なくとも1つの発光素子(たとえば、発光ダイオード、電源付き輻射線源、たとえば白熱電球、エレクトロルミネセントランプ、気体放電ランプ、高輝度放電ランプ、レーザー)からなることができる。

20

【0197】

さらに、このシステムの分析ユニットは、1以上の保温ユニット(たとえば、試料または試薬を、特定した温度または温度範囲に保持するためのもの)を含むことができる。若干の態様において、分析ユニットは、試料に反復温度サイクルを施してその試料について増幅生成物の量の変化をモニターするためのサーモサイクラー(リアルタイムサーモサイクラーを含む)を含むことができる。

30

【0198】

加えて、本明細書に開示するシステムの分析ユニットは、反応器またはキュベットへの供給ユニットを含むことができ、あるいはそれに作動可能な状態で接続していてもよい。代表的な供給ユニットには、試料および/または試薬を反応器へ送達するための液体操作ユニット、たとえばピペティングユニットが含まれる。ピペティングユニットは、再利用可能な可洗ニードル、たとえばスチールニードル、または使い捨てピペットチップを含むことができる。分析ユニットは、さらに1以上の混合ユニット、たとえば液体を入れたキュベットを振とうするためのシェーカー、またはキュベットもしくは試薬容器内の液体を混合するための混合パドルを含むことができる。

40

【0199】

以上から、本明細書に開示する若干の態様によれば、本明細書に開示および記載した方法の幾つかの工程の一部をコンピューティングデバイスにより実施できることが分かる。コンピューティングデバイスは、たとえば汎用コンピューターまたはポータブルコンピューティングデバイスであってもよい。本明細書に開示する方法の1以上の工程を実施するために、多数のコンピューティングデバイスを、たとえばネットワークまたは他のデータ移送方法を介して一緒に使用することも理解すべきである。代表的なコンピューティングデバイスには、デスクトップコンピューター、ラップトップコンピューター、パーソナルデータアシスタント(personal data assistant)(“PDA”)、たとえばBLACK

50

B E R R Y 銘柄のデバイス、セル方式デバイス、タブレットコンピューター、サーバーなどが含まれる。一般に、コンピューティングデバイスは複数の指令（たとえば、ソフトウェアのプログラム）を実行できるプロセッサを含む。

【0200】

コンピューティングデバイスはメモリーにアクセスできる。メモリーはコンピューター可読媒体であり、単一記憶デバイスまたは多重記憶デバイスを含むことができ、それらはコンピューティングデバイスと共に局所に配置され、あるいはたとえばネットワークを介してコンピューティングデバイスにアクセス可能であってもよい。コンピューター可読媒体はコンピューティングデバイスがアクセスできる入手可能ないかなる媒体であってもよく、これには持久性(volatile)および非持久性(non-volatile)の両方の媒体が含まれる。さらに、コンピューター可読媒体はリムーバブル媒体および非リムーバブル媒体のうち的一方または両方であってもよい。たとえば、限定ではなく、コンピューター可読媒体はコンピューター記憶媒体を含むことができる。代表的なコンピューター記憶媒体には下記のものが含まれるが、それらに限定されない：RAM、ROM、EEPROM、フラッシュメモリーまたは他のいずれかの記憶テクノロジー、CD-ROM、デジタル多目的ディスク(Digital Versatile Disk)(DVD)もしくは他の光ディスク記憶媒体、磁気カセット、磁気テープ、磁気ディスク記憶デバイスもしくは他の磁気記憶デバイス、またはコンピューティングデバイスによりアクセスしてコンピューティングデバイスのプロセッサにより実行できる複数の指令を記憶させるために使用できる他のいずれかの媒体。

10

【0201】

本明細書に開示する態様によれば、ソフトウェアは、コンピューティングデバイスのプロセッサにより実行された際に本明細書に開示する方法の1以上の工程を実施できる指令を含むことができる。若干の指令は、他の機械の操作を制御する信号を発するように適合させることができ、こうしてそれらの制御信号によりコンピューター自体から遠く離れた資料を変換する操作を行なうことができる。これらの記述および表現は、データ処理技術分野の専門家が、たとえば彼らの作業の内容を最も効率的に他の当業者へ伝達するために用いる手段である。

20

【0202】

複数の指令は、目的とする結果を導く自己矛盾しない一連の工程であると一般に考えられるアルゴリズムをも含むことができる。これらの工程は、理学的量の理学的操作を必要とするものである。通常は(必然的ではないが)これらの量は、記憶、転送、変換、結合、比較その他の形で操作できる電氣的または磁氣的なパルスまたは信号の形をとる。それは時には、主に、これらの信号をそのような信号が出現または発生する理学的な事項または発現に対する基準としての数値、文字、ディスプレイデータ、番号などとして表わすための共用化という理由で、好都合になる。ただし、これらおよび類似の用語はすべて適宜な理学的量と関連づけるべきものであり、ここではこれらの量に適用される便宜的なラベルとして用いられるにすぎないことを留意すべきである。本明細書に開示する若干の態様によれば、本明細書に開示する1種類以上のマーカーの決定量と適切な基準との比較を実施するためのアルゴリズムは、指令を実行することによって具体化および実施される。それらの結果を、パラメトリック診断生データの出力として、または絶対量もしくは相対量として得ることができる。本明細書に開示するシステムの多様な態様によれば、“診断”は本明細書に開示するシステムのコンピューティングデバイスにより、計算“量”と基準または閾値との比較に基づいて提供できる。たとえば、あるシステムのコンピューティングデバイスは、特定の診断を指示する言語、記号または数値の形の指標を提供できる。

30

40

【0203】

コンピューティングデバイスは、出力デバイスにもアクセスできる。代表的な出力デバイスには、たとえばファックス機、ディスプレイ、プリンター、およびファイルが含まれる。本明細書に開示する若干の態様によれば、コンピューティングデバイスは本明細書に開示する方法の1以上の工程を実施し、その後、本方法の結果、指示、比または他のファクターに関係する出力を出力デバイスにより提供することができる。

50

【0204】

最後に、本発明は、好ましくは本発明の方法を実施するために適合させたキットであって、GDF-15（増殖分化因子15）、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7（IGF結合タンパク質7）、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、尿酸、Gal3（ガレクチン-3）、オステオポンチン、sST2（可溶性ST2）、sFlt-1、PLGF、P1NP、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるマーカーに特異的に結合する少なくとも1種類の検出剤、標準品、および前記方法を実施するための指示を含む、キットに関する。

【0205】

本明細書中で用いる用語“キット”は、前記構成要素の集合体であって、好ましくは個別に、または単一容器内で提供されるものを表わす。容器は本発明の方法を実施するための指示をも含む。これらの指示は、マニュアルの形であってもよく、あるいはコンピューターまたはデータ処理デバイスに実装した際に本発明の方法において述べた比較を実施してそれに従って診断を確立することができるコンピュータープログラムコードにより提供されてもよい。コンピュータープログラムコードは、データ記憶媒体もしくはデバイス、たとえば光学記憶媒体（たとえば、コンパクトディスク）上に、または直接にコンピューターもしくはデータ処理デバイス上に提供されてもよい。さらにキットは、本明細書中で前記に定めた基準のための少なくとも1つの標準品、すなわち本明細書中に述べるバイオマーカーについて基準量となる前決定量を含む溶液を含むであろう。

【0206】

若干の態様において、本明細書に開示するキットは、開示された方法を実施するための少なくとも1つの構成要素、またはパッケージされた組み合わせの構成要素類を含む。“パッケージされた組み合わせ”とは、それらのキットが本明細書に開示する1以上の構成要素、たとえばプローブ（たとえば、抗体）、対照、緩衝液、試薬（たとえば、コンジュゲートおよび/または基質）、指示などの組み合わせを収容した単一のパッケージを備えていることを意味する。単一の容器を収容したキットも“パッケージされた組み合わせ”の定義に含まれる。ある態様において、キットは少なくとも1種類のプローブ、たとえば抗体（本明細書に開示するバイオマーカーのエピトープに対して特異的な親和性をもつもの）を含む。たとえば、キットは、蛍光体で標識した抗体、または融合タンパク質の構成員子である抗体を含むことができる。キットにおいて、プローブは固定化されていてもよく、特定のコンホメーションで固定化されていてもよい。たとえば、固定化されたプローブは、ターゲットタンパク質を特異的に結合するために、試料中のターゲットタンパク質を検出するために、および/またはターゲットタンパク質を試料から分離するために、キットに備えることができる。

【0207】

若干の態様によれば、キットは、固定化されていてもよい少なくとも1種類のプローブを少なくとも1つの容器内に含む。キットは、場合により固定化された複数のプローブを1以上の容器内に含むこともできる。たとえば、複数のプローブが、たとえば単一の容器内または別個の容器内（その際、各容器は単一のプローブを収容している）に存在してもよい。

【0208】

若干の態様において、キットは1種類以上の固定化されていないプローブおよび1以上の固体支持体（固定化されたプローブを含むもの、または含まないもの）を含むことができる。そのような若干の態様は、1種類以上のプローブを固体支持体に固定化するのに必要な試薬および補充用品の一部または全部、あるいは固定化されたプローブを試料中の特定のタンパク質に結合させるのに必要な試薬および補充用品の一部または全部を含むことができる。

【0209】

特定の態様において、単一プローブ（同一プローブの複数コピーを含む）を単一の固体支持体に固定化し、単一容器に入れて提供することができる。他の態様において、それぞ

10

20

30

40

50

れが異なるターゲットタンパク質または異なる形態の単一のターゲットタンパク質（たとえば、特異的エピトープ）に対して特異的な２種類以上のプローブを、単一容器に入れて提供する。そのような若干の態様において、ある固定化されたプローブを複数の異なる容器に入れて提供することができ（たとえば、１回用形態）、あるいは複数種類の固定化されたプローブを複数の異なる容器に入れて提供することができる。さらなる態様において、プローブ類を複数の異なるタイプの固体支持体に固定化することができる。固定化されたプローブ（単数または複数）と容器（単数または複数）のいかなる組み合わせも本明細書に開示するキットについて考慮され、目的用途に適したキットを達成するためにそのいずれかの組み合わせを選択できる。

【 0 2 1 0 】

キットの容器は、たとえばプローブ（たとえば、抗体）、対照、緩衝液、および試薬（たとえば、コンジュゲートおよび/または基質）を含めた本明細書に開示する１以上の構成要素をパッケージおよび/または収容するのに適したいかなる容器であってもよい。適切な材料にはガラス、プラスチック、厚紙その他の紙製品、木材、金属、およびそのいずれかのアロイが含まれるが、これらに限定されない。ある態様において、容器は固定化されたプローブ（単数または複数）を完全に包み込んでよく、あるいは粉塵、油などによる汚染、および露光を最小限に抑えるために、プローブを覆うだけでもよい。若干のさらなる態様において、キットは単一の容器または複数の容器を含むことができ、複数の容器が存在する場合、各容器は他のすべての容器と同一であってもよく、他の容器と異なってもよく、あるいは他のすべての容器ではなく一部の容器と異なってもよい。

【 0 2 1 1 】

本発明の好ましい態様

以下に本発明の好ましい態様を開示する。定義および説明を、必要な変更を加えて適用する。

【 0 2 1 2 】

１．少なくとも１種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において少なくとも１種類のバイオマーカの量を決定すること；および

b) ステップ a) で決定した量を基準量と比較し、それにより前記少なくとも１種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること；

その際、前記医薬はベータ遮断薬であり、前記バイオマーカは I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7) またはミメカンである。

【 0 2 1 3 】

２．ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも１種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、下記を含む方法：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、G D F - 1 5 (増殖分化因子 1 5)、エンドスタチン、ミメカン、I G F B P 7 (I G F 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、G a l 3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、P 1 G F、s F 1 t - 1、s S T 2 (可溶性 S T 2)、P 1 N P、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも１種類のバイオマーカの量を決定すること；および、

b) ステップ a) で決定した量を基準量（単数または複数）と比較し、それにより前記少なくとも１種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること；

特に、その際、

i) バイオマーカはオステオポンチンであり、医薬はレニン - アンギオテンシン系の阻害薬である；

i i) バイオマーカはエンドスタチンであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

10

20

30

40

50

i i i) バイオマーカーは s F l t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストおよび / またはレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である ;

i v) バイオマーカーは P l G F であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである ;

v) バイオマーカーは心臓トロポニンであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である ;

v i) バイオマーカーは B N P タイプのペプチドであり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬および / またはベータ遮断薬である ;

v i i) バイオマーカーは尿酸であり、医薬は利尿薬および / またはレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である ;

v i i i) バイオマーカーは G D F - 1 5 であり、医薬は利尿薬および / またはレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である ;

i x) バイオマーカーは s S T 2 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストおよび / またはベータ遮断薬である ;

x) バイオマーカーは I G F B P 7 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である ;

x i) バイオマーカーは P 1 N P であり、医薬はベータ遮断薬である ;

x i i) バイオマーカーはシスタチン C であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである ;

x i i i) バイオマーカーはプレアルブミンであり、医薬は利尿薬である ;

x i v) バイオマーカーはトランスフェリンであり、医薬は利尿薬である ; および / または

x v) バイオマーカーは P l G F および s F l t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストであり、その際、P l G F の量 - 対 - s F l t - 1 の量 (またはその逆) の比を計算し、その比を基準量で計算する。

【 0 2 1 4 】

3 . 投与が、前記少なくとも 1 種類の医薬の投与開始、またはより高い投与量での前記少なくとも 1 種類の医薬の投与である、態様 1 または 2 の方法。

4 . 被検体がヒトである、態様 1 ~ 3 のいずれか 1 つの方法。

【 0 2 1 5 】

5 . 試料が血液、血清または血漿である、態様 1 ~ 4 のいずれか 1 つの方法。

6 . 態様 1 ~ 5 のいずれか 1 つの方法 :

・ バイオマーカーは I G F B P 7、P 1 N P、s F l t - 1 および / またはオステオポンチンであり、医薬はベータ遮断薬である ;

・ バイオマーカーはエンドスタチンおよび / または s F l t - 1 であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである ;

・ バイオマーカーは尿酸および / または G D F - 1 5 であり、医薬は利尿薬である ; および / または

・ バイオマーカーは s F l t - 1 および / または I G F B P 7 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である ;

その際、基準量と比較して減少した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および / または基準量と比較して増加した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 2 1 6 】

7 . 態様 1 ~ 6 のいずれか 1 つの方法 :

・ バイオマーカーはミメカン、B N P タイプのペプチド、および / または s S T 2 であり、医薬はベータ遮断薬である ;

・ バイオマーカーはオステオポンチン、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、尿酸、および / または G D F - 1 5 であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬で

10

20

30

40

50

ある；および／または

・バイオマーカーは s S T 2、シスタチン C および／または P 1 G F であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

その際、基準量と比較して増加した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および／または基準量と比較して減少した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である。

【 0 2 1 7 】

8．バイオマーカーは I G F B P - 7 であり、その方法はベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するためのものである、態様 1 ~ 7 のいずれか 1 つの方法。

【 0 2 1 8 】

9．ステップ a) で決定した I G F B P 7 の量を、ステップ b) で、i) 単一の基準量、または i i) ベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定するための I G F B P 7 の基準量およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための I G F B P 7 の基準量と比較する、態様 8 の方法。

【 0 2 1 9 】

10．基準量と比較して減少した試験試料中のバイオマーカーの量はベータ遮断薬の投与に適格な被検体の指標であり、および／または基準量と比較して増加したバイオマーカーの量はベータ遮断薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、

基準量と比較して増加した試験試料中のバイオマーカーの量はアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および／または基準量と比較して減少したバイオマーカーの量はアルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である、

態様 8 および 9 の方法。

【 0 2 2 0 】

11．被検体が A C C / A H A 分類に従った心不全ステージ B、C または D に罹患している、態様 1 ~ 10 のいずれか 1 つの方法。

12．i) 少なくとも 1 種類の医薬はアルドステロンアンタゴニストであり、少なくとも 1 種類のバイオマーカーは G D F - 1 5、I G F B P 7、心臓トロポニン、尿酸および G a l 3 からなる群から選択され、あるいは i i) 少なくとも 1 種類の医薬はベータ遮断薬であり、少なくとも 1 種類のバイオマーカーはエンドスタチン、ミメカン、心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、および s S T 2 からなる群から選択され、あるいは i i i) 少なくとも 1 種類の医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であり、少なくとも 1 種類のバイオマーカーは心臓トロポニン、B N P タイプのペプチド、オステオポンチンおよび／または尿酸からなる群から選択される、態様 2 の方法。

【 0 2 2 1 】

13．基準量と比較して増加した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および／または基準量と比較して減少した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に

適格ではない被検体の指標である、態様 12 の方法。

【 0 2 2 2 】

14．少なくとも 1 種類の医薬は利尿薬であり、バイオマーカーはエンドスタチン、ミメカン、G D F - 1 5、尿酸、および／または B N P タイプのペプチドである、態様 2 の方法。

【 0 2 2 3 】

15．基準量と比較して減少した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および／または基準量と比較して増加した少なくとも 1 種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも 1 種類の医薬の投与に

適格ではない被検体の指標である、態様 14 の方法。

10

20

30

40

50

【0224】

16. ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、心不全に罹患している被検体の試料における、i) GDF-15 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7 (IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、尿酸、Gal3 (ガレクチン-3)、オステオポンチンおよびsST2 (可溶性ST2)、sFlt-1、PlGF、P1NP、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカー、またはii) ナトリウム利尿ペプチドに特異的に結合する少なくとも1種類の検出剤、および/またはGDF-15 (増殖分化因子15)、

10

【0225】

17. 態様1~12のいずれか1つの方法を実施するために適合させた、下記のものを含むデバイス:

a) GDF-15 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7 (IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプのペプチド、尿酸、Gal3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、sFlt-1、PlGF、sST2 (可溶性ST2)、P1NP、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるマーカーに特異的に結合する検出剤 (単数または複数) を含む分析ユニットであって、心不全に罹患している被検体の試料においてこれらのマーカー (単数または複数) の量 (単数または複数) を決定するために適合させたユニット; および

20

b) 決定した量 (単数または複数) を基準量 (単数または複数) と比較し、それによりベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための分析ユニットであって、基準量 (単数または複数) を備えたデータベースおよび比較を実施するためのコンピューター実装されたアルゴリズムを含むユニット。

30

【0226】

前記に引用するすべての参考文献を、それらの開示内容全体および前記で明白に言及した具体的な開示内容に関して本明細書に援用する。

【実施例】

【0227】

本発明を以下の実施例により説明する; それらは本発明の範囲を制限または限定するためのものではない。

実施例1: アッセイ法

以下のマーカーを血漿において決定した:

トロポニンTは、Rocheの電気化学発光ELISAサンドイッチ試験 Elecsys トロポニンT hs (high sensitive (高感度)) STAT (Short Turn Around Time (短いターンアラウンド時間)) アッセイを用いて決定された。この試験は、ヒト心臓トロポニンTを特異的に指向する2種類のモノクローナル抗体を用いる。これらの抗体は、288個のアミノ酸からなる心臓トロポニンTタンパク質の中央部分にある2つのエピートプ (アミノ酸位置125-131および136-147) を認識する。このhs-TnTアッセイは、3~10000 pg/mLの範囲のトロポニンTレベルの測定が可能である。

40

【0228】

NT-proBNPは、血漿試料においてRocheの電気化学発光ELISAサンドイッチ試験 Elecsys proBNP I I STAT (短いターンアラウンド時

50

間)アッセイを用いて測定された。この試験は、proBNP(1-108)のN末端部分(1-76)にあるエピトープ類を認識する2種類のモノクローナル抗体を用いる。

【0229】

血清および血漿試料中のGDF-15の濃度を決定するために、ポリクローナル、GDF-15アフィニティークロマトグラフィー精製ヤギ抗ヒトGDF-15 IgG抗体(R&D Systemsから(AF957))を用いるElesys基本型試験を採用した。各実験において、R&D Systemsからの組換えヒトGDF-15(957-GD/CF)を用いて標準曲線を作成した。新しいバッチまたは組換えGDF-15タンパク質についての結果を、標準血漿試料において試験し、10%を超える偏差はいずれもこのアッセイについての調整係数の導入により補正した。同じ患者からの血清試料と血漿試料におけるGDF-15測定値は、最終的な希釈係数について補正した後、実質的に同一の結果を与えた。このアッセイの検出限界は200pg/mlであった。

10

【0230】

ヒトの血清または血漿中のIGFBP7の検出のために、サンドイッチELISAを用いた。抗原の捕獲および検出のために、アリコートの抗IGFBP7ポリクローナル抗体(R&D Systemsから(カタログ番号:AF 1334))を、それぞれビオチンおよびジゴキシゲニンとコンジュゲートさせた。

【0231】

ストレプトアビジンでコートした96ウェルマイクロタイタープレートを、100pLのビオチニル化-抗IGFBP7ポリクローナル抗体と共に60分間、1xPBS溶液中、1pg/mlでインキュベートした。インキュベーション後、プレートを1xPBS+0.02% Tween-20で3回洗浄し、PBS+1% BSA(ウシ血清アルブミン)でブロックし、次いで再び1xPBS+0.02% Tween-20で3回洗浄した。ウェルを次いで1.5時間、それぞれ標準抗原としての組換えIGFBP7の系列希釈液、または患者もしくは対照個体からの希釈した血清もしくは血漿試料(1:50)のいずれかと共にインキュベートした。IGFBP7の結合後、プレートを1xPBS+0.02% Tween-20で3回洗浄した。結合したIGFBP7の特異的検出のために、ウェルを100μLのジゴキシゲニル化-抗IGFBP7ポリクローナル抗体と共に60分間、1xPBS+1% BSA中、1μg/mlでインキュベートした。その後、プレートを3回洗浄して、結合していない抗体を除去した。次の工程で、ウェルを75mU/mlの抗ジゴキシゲニン-PODコンジュゲート(Roche Diagnostics GmbH, ドイツ、マンハイム, カタログNo. 1633716)と共に60分間、1xPBS+1% BSA中でインキュベートした。プレートを続けて同じ緩衝液で6回洗浄した。抗原-抗体複合体の検出のために、ウェルを100μLのABTS溶液(Roche Diagnostics GmbH, ドイツ、マンハイム, カタログNo. 11685767)と共にインキュベートし、15分後に405および492nmにおける光学濃度(OD)をELISAリーダーで測定した。

20

30

【0232】

Gal-3は、BGM ガレクチン-3アッセイ(BG medicine, 米国メリーランド州ウォルサム)を用いて決定された。それは、血清またはEDTA-血漿中のガレクチン-3を、マイクロタイタープレートプラットホーム上でガレクチン-3に対する2種類のモノクローナル抗体を用いる酵素結合免疫ソルベントアッセイ(ELISA)により定量測定する。1種類のラットモノクローナル抗マウスガレクチン-3抗体をマイクロタイタープレートのウェルの表面にコートして試料中のガレクチン-3分子を結合する捕獲抗体として用い、一方で、他方のマウスモノクローナル抗ヒトガレクチン-3抗体は溶液状で供給され、捕獲抗体に結合したガレクチン-3分子を検出するためのトレーサー抗体として機能する。

40

【0233】

ヒト血清または血漿中のミメカンの検出のために、サンドイッチELISAを用いた。抗原の捕獲および検出のために、アリコートの抗ミメカンポリクローナル抗体(R&D

50

S y s t e m s から (カ タ ロ グ 番 号 : A F 2 6 6 0) を、それぞれビオチンおよびジゴキシゲニンとコンジュゲートさせる。ストレプトアビジンでコートした96ウェルマイクロタイタープレートを、100 μ lのビオチニル化 - 抗ミメカン ポリクローナル抗体と共に60分間、1 \times PBS溶液中、0.2 μ g/mlでインキュベートする。インキュベーション後、プレートを1 \times PBS+0.02% Tween-20で3回洗浄し、PBS+2% BSA (ウシ血清アルブミン)で45分間ブロックし、次いで再び1 \times PBS+0.02% Tween-20で3回洗浄する。ウェルを次いで1時間、100 μ lのそれぞれ標準抗原としての組換えミメカンの系列希釈液、または患者もしくは対照個体からの希釈した血清もしくは血漿試料 (1:5, 1 \times PBS+1% BSA中)のいずれかと共にインキュベートする。ミメカンの結合後、プレートを1 \times PBS+0.02% Tween-20で3回洗浄する。結合したミメカンの特異的検出のために、ウェルを100 μ lのジゴキシゲニル化 - 抗ミメカン ポリクローナル抗体と共に45分間、1 \times PBS+1% BSA中、0.2 μ g/mlでインキュベートする。その後、プレートを3回洗浄して、結合していない抗体を除去する。次の工程で、ウェルを75mU/mlの抗ジゴキシゲニン - PODコンジュゲート (Roche Diagnostics GmbH, ドイツ、マンハイム, カタログNo. 1633716) 100 μ lと共に30分間、1 \times PBS+1% BSA中でインキュベートする。プレートを続いて前記と同じ洗浄用緩衝液で6回洗浄する。抗原 - 抗体複合体の検出のために、ウェルを100 μ lのABTS溶液 (Roche Diagnostics GmbH, ドイツ、マンハイム, カタログNo. 11685767) と共にインキュベートし、15分後に405および492nmにおける光学濃度 (OD) をELISAリーダーで測定する。

【0234】

ヒトの血清または血漿中のエンドスタチンの測定のために、市販のサンドイッチELISA (Quantikine ヒト エンドスタチン イムノアッセイ, カタログ番号DNSTO, R&D Systems) を用いた。製造業者が示した指示に従って測定を実施する。

【0235】

sST2は、Critical Diagnostics (米国カリフォルニア州サンディエゴ) からのPresage (商標) ST2アッセイを用いて測定された。このアッセイは、血清または血漿中のST2を測定するための96ウェルプレート様式の定量サンドイッチモノクローナルELISAである。抗ST2抗体でコートしたプレートの適宜なウェルに希釈血漿を装填し、指定された時間、インキュベートした。試薬をプレートから洗浄除去し、追加試薬を添加し、続いて洗浄除去する一連の工程の後、最後に比色測定試薬を添加して生じた信号を450nmにおいて分光法で測定することにより分析物を検出した。

【0236】

バイオマーカーであるミメカンは、W02011/012268の記載に従って決定された。

PLGFおよびsFlt1は、それぞれPLGFおよびsFlt1に対して特異的な2種類の抗体を用いるELECSYSイムノアッセイを用いて試験された。この試験は、ELECSYS 2010およびcobra e411およびcobra e601を含めた種々のRoche分析計を用いて自動的に実施できる。この試験は、PLGFに関して3pg/mlの感度をもつ。sFlt-1は10~85,000pg/mlの量である。

【0237】

プレアルブミンは、Roche/Hitachi cobas cシステム (ACN 710をc 311/501分析計に; ACN 8710をc 520分析計に; カタログNo. 20764655 322) で、ヒト血清中のプレアルブミンの定量決定のためのインビトロ試験を用いて試験された。このアッセイはイムノタービディメトリーアッセイである。ヒト プレアルブミンは特異的な抗血清と共に沈殿を形成し、それをタービディメトリーにより決定する。

【0238】

シスタチンCは、R o c h e自動臨床化学分析計 (R o c h e / H i t a c h i 9 1 7 に、M O D U L A R P分析計：A C N 4 3 1 , カタログNo . 0 4 9 7 5 7 7 4 1 9 0) で、ヒトの血清および血漿中のシスタチンCのインビトロ定量決定のためのイムノタービディメトリーアッセイの使用により用いられた。ヒトシスタチンCは、抗シスタチンC抗体でコートしたラテックス粒子と共に凝集する。この凝集体を546nmでタービディメトリーにより決定する。

【0239】

実施例2：患者コホート / 結果

T I M E - C H F試験からの例：G D F - 1 5、T n T - h s、尿酸、エンドスタチン、I G F B P - 7、ミメカン、s S T 2、ガレクチン - 3およびオステオポンチンのレベルを、T I M E - C H Fランダム化試験からのn = 4 5 0の患者の試料において決定した (年齢60歳以上；HFのために入院する前の1年以内に、収縮期HF (駆出分画 4 5 %)、N Y H AクラスII以上、および正常上限の2倍以上のN T p r o B N Pレベルを伴う)。T I M E - C H F試験はBNP-Guided vs Symptom-Guided Heart Failure Therapy JAMA, 2009; 301 (4):383-392に記載されている。

10

【0240】

ベースラインで、大部分の患者は推奨HF療法であるACE阻害薬またはアンギオテンシンII受容体遮断薬、 β -遮断薬、利尿薬を投与されていた。

これらのバイオマーカーをベースラインおよび6か月後に測定した。次表に示す数値は“転帰不良”患者 (死亡、反復入院) の%である。測定したバイオマーカーにより、ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、および/またはレニン - アンギオテンシン系の阻害薬の用量増加または投与間隔短縮および/または治療への特定の医薬の追加が有益であると予想される患者を同定できるかどうかを分析した。この分析のために、患者を、i) 増加した用量の医薬を投与された被検体および/または追加医薬を投与された被検体のグループ、およびii) 治療計画を修正しなかった被検体のグループに分けた。さらなる段階で、これら2グループをそれぞれ各バイオマーカーレベル (中央値より下 / 閾値より上) に基づくグループに分けた。結果を表1に示す。

20

【0241】

【 表 1 】

表 1: マーカールレベルに基づく治療選択の効果 (RAS: レニン-アンギオテンシン系の阻害薬、たとえば ACEi, ARBs, BB: β -遮断薬, Spiro: スピロノラクトン, アルドステロンアンタゴニスト)

	RAS		BB		利尿薬		Spiro		
	増大せず	増大	増大せず	増大	増大せず	増大	増大せず	増大	
エンドスタチン 250	より下	18,8%	22,0%	20,8%	20,4%	13,2%	33,3%***	20,0%	21,9%
	より上	39,2%	39,3%	49,1%	29,6%***	28,3%	50,0%***	37,2%	47,6%
ミメカン 50	より下	18,9%	19,2%	18,9%	19,2%	11,9%	31,6%***	17,6%	22,2%
	より上	40,0%	39,7%	50,0%	30,4%***	29,6%	50,0%***	38,4%	45,5%
IGFBP7 100	より下	34,8%	36,5%	42,3%	29,8%*	25,4%	48,0%***	31,3%	50,0%**
	より上	23,1%	23,1%	26,4%	19,6%	14,5%	35,7%***	26,0%	14,8%
GDF-15 4000	より下	15,7%	24,2%	20,3%	20,4%	11,8%	33,3%***	15,7%	33,3%
	より上	50,0%	50,0%	58,1%	41,0%*	37,5%	61,9%***	52,2%	40,0%
NT-BNP 3000	より下	13,6%	20,4%	20,8%	13,3%	17,7%	16,1%	15,9%	20,8%
	より上	40,7%	39,7%	49,2%	31,8%***	22,6%	56,9%***	40,6%	38,7%
hs-TnT 中央値	より下	19,3%	25,9%	23,4%	21,6%	12,5%	39,5%***	21,8%	25,0%
	より上	50,0%	43,5%	56,8%	37,2%**	38,9%	52,3%	44,4%	52,9%
sST-2 34	より下	16,3%	16,7%	15,7%	17,4%	12,3%	25,0%	15,1%	20,8%
	より上	48,4%	52,4%	62,9%	39,5%	39,4%	60,0%	49,1%	56,2%
Gal-3 31.6	より下	34,4%	22,7%	32,4%	23,1%	16,3%	42,4%	23,2%	40,0%
	より上	27,9%	45,7%	37,2%	34,3%	27,1%	50,0%	38,1%	26,7%
OPN 99.8	より下	15,8%	21,3%	22,5%	15,6%	13,0%	29,0%	16,1%	26,1%
	より上	42,9%	47,6%	50,0%	40,0%	31,8%	60,0%	44,8%	47,1%
尿酸	より下	17,4%	30,0%*	28,1%	20,4%	18,2%	35,0%**	22,4%	30,0%
	より上	50,0%	44,4%	50,0%	44,4%	27,8%	65,0%***	45,3%	58,3%

10

20

30

40

【 0 2 4 2 】

表 1 に示す結果の説明：たとえば、ベースラインで 250 より下のエンドスタチン値をもち、最初の 6 か月間に増量した β 遮断薬 (BB) を投与された患者は、増量しなかった場合の 20.8% と比較して 20.4% の事象率をもつ。これに対し、250 より上のエンドスタチンレベル患者においては事象率に有意差があった ($p < 0.05$) ; BB を増量した患者では 29.6% であったが、BB を増量しなかった患者では 49.1% であった。

【 0 2 4 3 】

p - 値 :

* 0.1 ~ 0.2

50

* * 0 . 0 5 ~ 0 . 1
* * * 0 . 0 1 ~ 0 . 0 5
* * * * < 0 . 0 1

関数型主成分分析(functional principal component analysis) (f P C A) を用いてデータをさらに分析した。f P C A は複雑な薬物投与データのディメンジョナリティー (dimensionality) を低減して、種々の時点 (ベースライン以後) でのマーカーレベルと転帰についての相互作用分析を可能にする。この場合、下記のものを表わす 3 つの主成分を用いた : 1) 試験中の薬物の全用量レベル (最も重要な成分) 、 2) 試験中に薬物用量を増加または減少させる動向、および 3) 薬物用量を最初は増加させ、次いで減少させる動向、または最初は減少させ、次いで増加させる動向。ベースラインでの階層化分析 (従来の分析) に優る f P C A の利点および補足情報は、それによりベースライン以後の時点でのマーカーと薬物の相互作用が明らかになることである。したがって、追加の相互作用および治療応答予測を評価できる。f P C A の成分を、次いで上記と同じエンドポイントを用いて、中央マーカーレベルでの相互作用および治療応答予測、ならびに転帰について調べた。転帰および相互作用の強さを次表に示す。これらの結果により、これまでに見出された多数の相互作用が確認され、さらなるマーカー - 薬物組合わせが示唆される。

10

【 0 2 4 4 】

結果を下記の表に示す。

【 0 2 4 5 】

【表 2】

表 2: 関数型主成分分析

薬物クラス 化合物	ループ利尿薬			利尿薬			RAS			BB			スピロノラクトン		
	*1	*2	*3	*1	*2	*3	*1	*2	*3	*1	*2	*3	*1	*2	*3
IGFBP7				1						4	1	1		1	4
エンドスタチン	1			1			3						1		2
ミメカン							3			3	2		2	1	
sST2												3	2	1	
Gal-3			3	1		2			3				3	1	
Hs-cTnT		3	1		3	2		1							
sFlt-1			2					4			2		2		3
PLGF		1				1							4		
P1NP										3	3				
シスタチンC															4
プレアルブミン	3			2											
トランスフェリン	2					2									
オステオポニン			2							3		1			3
GDF-15				3		1		3		3					1
尿酸	2			2				1					1	2	
NT-proBNP			1			1		3		2	3		2		

相互作用項(interaction term)の有意性

- 1 0.1 - 0.2
- 2 0.05 - 0.1
- 3 0.01 - 0.05
- 4 <0.01

【0246】

IGFBP7 についての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より下の IGFBP-7 レベル（この試験では < 100 ng/mL）（他のバイオマーカーとは無関係に）をもつ患者にはスピロノラクトンの追加または増量が有益ではないことが示された。IGFBP-7 レベルが基準値より上であれば（この試験では > 100 ng/mL，カットオフを決定すべきである；年齢依存性，若い集団ほど通常はより低いレベルがみられる）、アルドステロンアンタゴニスト（たとえば、スピロノラクトン）および/またはベータ遮断薬を追加または増量すべきである。第2グループの18か月生存率は改善されたが、第1グループでは生存率は変化しない。

【0247】

GDF-15 についての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より下の GDF-15 レベル（この試験では < 4000 pg/mL）（他のバイオマーカーとは無関係

10

20

30

40

50

に)をもつ患者には - 遮断薬またはアルドステロンアンタゴニスト(たとえば、スピロノラクトン)の追加投与または増量が有益ではなく、一方、基準値より上のGDF-15レベル(この試験では $> 4000 \text{ pg/mL}$)をもつ患者には - 遮断薬またはアルドステロンアンタゴニストの追加または増量が有益である可能性のあることが示された。第2グループの18か月生存率は改善されたが、第1グループでは生存率は変化しない。

【0248】

エンドスタチンについての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より下のエンドスタチンレベル(この試験では $< 250 \text{ ng/mL}$) (他のバイオマーカーとは無関係に)をもつ患者には - 遮断薬の追加投与または増量が有益ではないことが示された。既に - 遮断薬を投与されていた患者は維持すべきであるが、用量を増加する必要はない。基準値より上のエンドスタチンレベル(この試験では $> 250 \text{ ng/mL}$)をもつ患者には - 遮断薬の追加投与が有益である可能性がある。さらに、利尿薬の増量を避けるべきである。第2グループの18か月生存率は改善されたが、第1グループでは生存率は変化しない。

10

【0249】

ミメカンについての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より下のミメカンレベル(この試験では $< 50 \text{ ng/mL}$) (他のバイオマーカーとは無関係に)をもつ患者には - 遮断薬の追加投与または増量が有益ではないことが示された。ミメカンレベルが基準値より上であれば(この試験では $> 50 \text{ ng/mL}$)、 - 遮断薬を追加するか、あるいは - 遮断薬の用量を増加すべきである。さらに、利尿薬の増量を避けるべきである。

20

【0250】

NTproBNPについての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より上のNTproBNP(この試験では $> 3000 \text{ pg/mL}$)をもつ患者には利尿薬の追加または増量が有益ではないことが示された。

【0251】

sST2についての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より上のsST2(この試験では $> 34.0 \text{ g/mL}$)をもつ患者には - 遮断薬の追加または増量が有益であることが示された。

【0252】

Gal-3についての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より下のGal-3(この試験では $< 31.6 \text{ g/mL}$)をもつ患者にはレニン-アンジオテンシン系の阻害薬の追加または増量が有益であることが示された。

30

【0253】

sFlt-1についての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より下のsFlt-1(この試験では $< 98 \text{ g/mL}$)をもつ患者にはRAS阻害薬および/またはアルドステロンアンタゴニストの追加または増量が有益であることが示された。

【0254】

PLGFについての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より上のsFlt-1(この試験では $> 20.7 \text{ g/mL}$)をもつ患者にはアルドステロンアンタゴニストの追加または増量が有益であることが示された。

40

【0255】

オステオポンチンについての結果：データ評価により、ベースラインで基準値より上のオステオポンチン(この試験では $> 100 \text{ g/mL}$)をもつ患者には利尿薬治療の追加または増量が有益ではないことが示された。

【0256】

以下の結論を引き出すことができる：

- ・エンドスタチンが基準量より上であれば、BBを追加し、および/またはそれらの用量を増加すべきである。さらに、アルドステロンアンタゴニストおよび/または利尿薬の増量を避けるべきである。

50

【0257】

・ミメカンが基準量より上であれば、BBを追加し、および/またはBBの用量を増加すべきである。さらに、利尿薬の増量避けるべきである。

・IGFBP7が基準量より下であれば、BBを追加し、または増量すべきである。IGFBP7が基準量より上であれば、アルドステロンアンタゴニストを追加または増量すべきである。

【0258】

・IGFBP7が基準量より下であれば、アルドステロンアンタゴニストおよびRAS阻害薬を追加または増量すべきではない。

・GDF-15が基準量より上であれば、BB、RAS阻害薬およびアルドステロンアンタゴニストを追加または増量すべきである。これに対し、利尿薬を追加すべきではなく、あるいは利尿薬を増量すべきではない。

10

【0259】

・cTnT-hsが中央量より上であれば、RAS阻害薬、BB化合物またはアルドステロンアンタゴニストを増量でき、一方、cTnT-hsが中央量より下であればこれを行なうべきではない。

【0260】

・尿酸が中央量より上であれば、RAS阻害化合物を増量できる。さらに、利尿薬および/またはアルドステロンアンタゴニストの増量避けるべきである。

・基準値より上のNTproBNP（この試験では $> 3000 \text{ pg/mL}$ ）をもつ患者には利尿薬の増量は有益ではないが、RAS阻害薬およびBBは増量すべきである。基準値より下のNTproBNP（この試験では $< 3000 \text{ pg/mL}$ ）をもつ患者にはRAS阻害薬の増量は有益ではない。

20

【0261】

・Gal-3が中央量より上であれば、アルドステロンアンタゴニストを追加および/または増量すべきである。

・オステオポンチンが中央量より上であれば、RAS阻害薬を追加および/または増量すべきである。オステオポンチンが中央量より下であれば、BB化合物を追加および/または増量すべきである。

【0262】

・sFlt-1が基準量（この試験では中央値を用いた）より下であれば、RAS阻害薬、BB化合物および/またはアルドステロンアンタゴニストを追加および/または増量すべきである。

30

【0263】

・PLGFが基準量（たとえば中央値）より上であれば、アルドステロンアンタゴニストを追加および/または増量すべきである。

・sST2が基準量（たとえば中央値）より上であれば、アルドステロンアンタゴニストおよび/またはベータ遮断薬を追加および/または増量すべきである。

【0264】

・P1NPが基準量（たとえば中央値）より下であれば、ベータ遮断薬を追加および/または増量すべきである。

40

・プレアルブミンが基準量（たとえば中央値）より上であれば、利尿薬を追加すべきではなく、用量を減少させるべきであり、あるいは増量すべきではない。

【0265】

・トランスフェリンが基準量（たとえば中央値）より上であれば、利尿薬を追加すべきではなく、用量を減少させるべきであり、あるいは増量すべきではない。

・シスタチンCが基準量（たとえば中央値）より下であれば、アルドステロンアンタゴニストを追加または増量すべきではなく、高い用量を減少させるべきである。

【0266】

・PLGF/sFlt-1比が基準比（たとえば中央値）より上であれば、アルドステ

50

ロンアンタゴニストを追加し、または用量を増加すべきである。

したがって、上記にまとめた診断アルゴリズムを適用することにより、前記の医薬の投与（すなわち、初回投与、またはより高い用量での投与、“増量”）に適切な被検体を同定できる。適切な基準量は本明細書の記載に従って決定できる。をもつ患者

実施例 3：個体症例研究

クラスC心不全を伴う89歳の男性患者は、低用量のクロルタリドン(chlortalidon) (25mg/日)、エナラプリル(enalapril) (5mg/日)、およびメトプロロール(metoprolol) (25mg/日)を投与されている。この患者はNT-proBNPレベルの増大を伴う心不全進行の徴候を示す。患者は喘息も伴っており、担当医はBBを増量すべきかどうか迷っている。患者から得た血漿試料においてミメカン(Mimcan)を決定する。ミメカン値は80pg/mLより上である。エナラプリル(20mg/日に)およびメトプロロール(100mg/日)の逐次増量により治療を強化する。これに対し、クロルタリドンは増量しない。患者は試験終了まで安定を維持し、転帰良好である(死亡または入院はない)。

10

【0267】

クラスC心不全を伴う90歳の女性患者は、合わせて固定量のヒドロクロロチアジド(hydrochlorothiazide) (12.5mg/日)およびバルサルタン(valsartan) (80mg/日)ならびにアテノロロール(atenolol) (100mg/日)の組合せを投与されている。この患者には過去に代償不全および入院のエピソードがあった。最終来院時には患者の運動不耐性が悪化しており、6分間歩行テストは3か月前の最終来院と比較して歩行距離が短縮していた。患者から得た血漿試料においてNT-proBNPおよびIGFBP-7を測定する。NT-proBNP値は1000pg/mLより上であり、IGFBP-7値は100pg/mLより上である。患者は時々カリウムレベルの増大を呈しているので、担当医はスピロラクトン(spironolactone)を安全に追加できるかどうか確信がない。治療を強化し、血清カリウムレベルを緊密にモニターしながらスピロラクトンを25mg/日から開始して追加し、後に100mg/日まで増量する。その結果、NT-proBNP値は1000pg/mLより下にまで低下する。患者は試験終了まで安定を維持し、転帰良好である(死亡または入院はない)。

20

【0268】

クラスD心不全を伴う93歳の男性患者は、ヒドロクロロチアジド(25mg/日)およびバルサルタン(160mg/日)ならびにビソプロロール(bisoprolol) (2.5mg/日)を投与されている。この患者には過去に代償不全および長期入院のエピソードがあった。過去の来院に際して、患者から得た血漿試料においてNT-proBNPおよびIGFBP-7を測定している。NT-proBNP値は1000pg/mLより上であり、IGFBP-7値は100pg/mLより下である。担当医はスピロラクトンを追加しない。代わりに、ビソプロロールを10mg/日に増量することにより治療を強化する。患者は試験終了まで安定を維持し、転帰良好である(死亡または入院はない)。

30

【0269】

クラスB心不全を伴う70歳の女性患者は、カプトプリル(captopril) (2x6.25mg/日)を投与されている。患者は10か月間は安定であったが、TVを観ながらポテトチップ1袋を食べ尽くした後に急性心不全のため入院した。計画前来院時に、患者から得た血漿試料においてGDF-15およびcTnT-hsを測定している。GDF-15値は4000pg/mLより上であり、cTnT-hsは中央値より上である。治療を強化するためにベータ遮断薬であるメトプロロールおよびアルドステロンアンタゴニストであるスピロラクトンの追加を選択する。患者は、めまいおよび低血圧のためさらに1回だけ入院した。

40

【0270】

クラスC心不全を伴う77歳の男性の菜食主義患者は、バルサルタン(160mg/日)およびカルベジロール(carvedilol) (12.5mg/日)を投与されている。患者は過去5か月間は安定であったが、急性呼吸困難、ラ音および頻脈を伴う代償不全状態で

50

救急部に到着している。患者から得た血漿試料において尿酸およびGal-3を測定する。尿酸およびGal-3は中央値より下である。担当医はカルベジロールを50mg/日に増量することにより治療を強化する。さらに、スピロノラクトンを25mg/日から開始して追加し、後に50mg/日まで増量する。患者は1か月間は安定を維持したが、次いで浮腫、心房細動、呼吸困難および咳を発症する。病院への途中で患者は突然死のため死亡する。

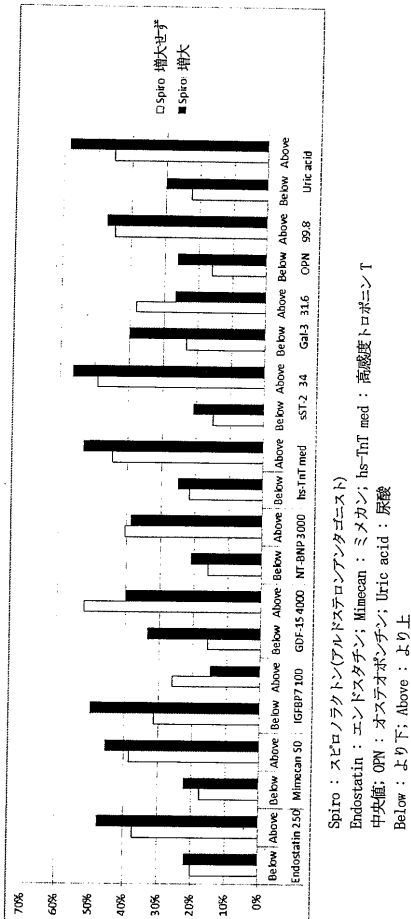
【0271】

結論：

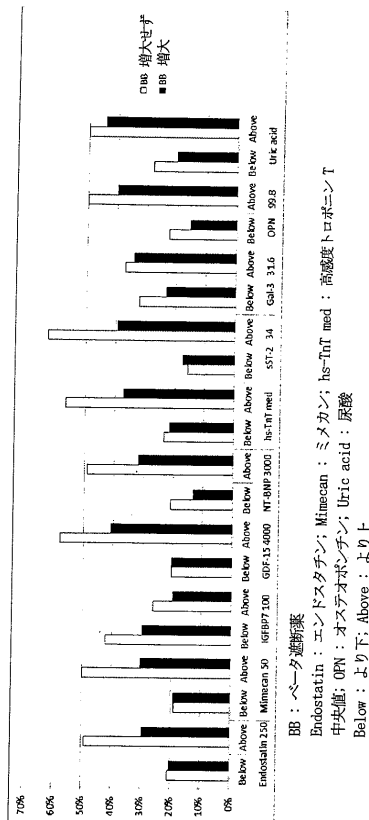
本発明は、心不全に罹患している患者に有益であると予想される薬物治療の選択方法を提供する。本方法は、治療に対する応答を予測し、および/または適切な治療もしくは治療強化の選択を補助する。先行技術および従来のバイオマーカーガイドによる心不全対処法と比較して、本発明は治療選択および投薬のための多様なマーカーの具体的な目標レベルおよび具体的な指示を提供する。本発明はまた、患者に有益になるように、また逆に患者に有害な可能性のある治療を避けるように、薬物治療の同定および使用を改善する。したがって、本発明は心不全患者における死亡率および罹病率の低下を目的とする。

10

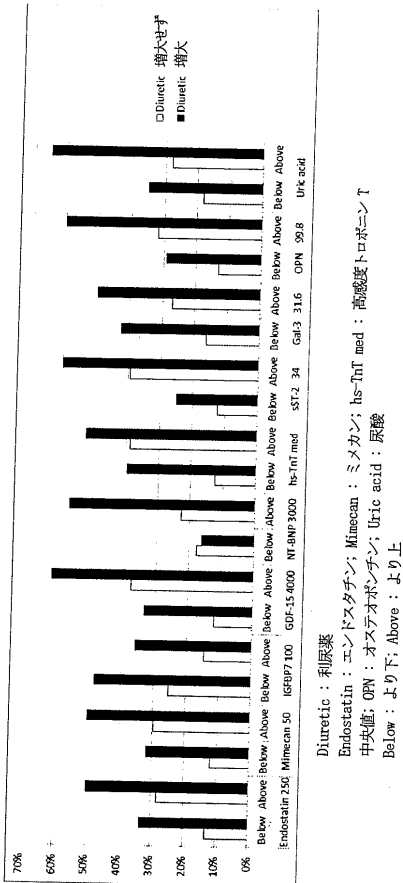
【図1】



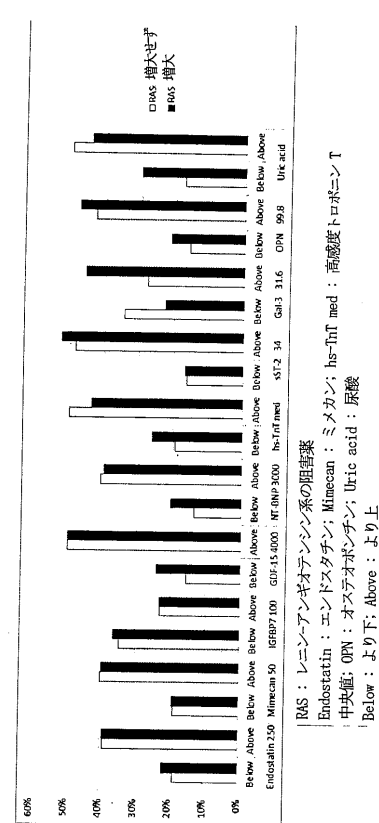
【図2】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】平成30年5月17日 (2018.5.17)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】全文

【 補正方法 】変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定する方法であって、以下を含む、前記方法：

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、少なくともバイオマーカーであるシスタチンCの量を決定すること、および、

b) ステップ a) で決定した量を基準量と比較し、それにより前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること。

【 請求項 2 】

被検体がヒトである、請求項 1 に記載の方法。

【 請求項 3 】

試料が血液、血清または血漿である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【 請求項 4 】

投与が、アルドステロンアンタゴニストの投与開始、またはより高い投与量でのアルドステロンアンタゴニストの投与である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【 請求項 5 】

基準量と比較して増加した前記バイオマーカーの量が、アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量と比較して減少した前記バイ

オマーカーの量が、アルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

被検体が、ACC/AHA 分類に従った心不全ステージ B、C または D に罹患している、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための、心不全に罹患している被検体の試料における、バイオマーカーとしてのシスタチン C の使用。

【請求項 8】

アルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するための、心不全に罹患している被検体の試料における、シスタチン C に特異的に結合する少なくとも 1 つの検出剤の使用。

【請求項 9】

請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法を実施するために適合させたデバイスであって、

a) マーカーであるシスタチン C に特異的に結合する検出剤を含む分析ユニットであって、心不全に罹患している被検体の試料において前記マーカーの量を決定するために適合させた前記ユニット、および、

b) 決定した量を基準量と比較し、それによりアルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンジオテンシン系の阻害薬の投与に適格な被検体を同定するための分析ユニットであって、基準量を備えたデータベースおよび比較を実施するためのコンピューター実装されたアルゴリズムを含む前記ユニット、を含む、前記デバイス。

【請求項 10】

検出剤が、抗体またはその抗原結合フラグメントである、請求項 7 もしくは 8 に記載の使用、または請求項 9 に記載のデバイス。

【請求項 11】

試料が血液、血清もしくは血漿であり、および/または、被検体がヒトであり、および/または、被検体が ACC/AHA 分類に従った心不全ステージ B、C または D に罹患しているものであり、および/または、投与がアルドステロンアンタゴニストの投与開始、もしくはより高い投与量でのアルドステロンアンタゴニストの投与である、請求項 7、8 もしくは 10 に記載の使用、または請求項 9 もしくは 10 に記載のデバイス。

【請求項 12】

アルドステロンアンタゴニストが、エプレレノン、スピロラクトン、カンレノン、メキシレノン、およびプロレノンからなる群から選択される、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法、請求項 7、8、10 および 11 のいずれか 1 項に記載の使用、または請求項 9 ~ 11 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0271

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0271】

結論：

本発明は、心不全に罹患している患者に有益であると予想される薬物治療の選択方法を提供する。本方法は、治療に対する応答を予測し、および/または適切な治療もしくは治療強化の選択を補助する。先行技術および従来のバイオマーカーガイドによる心不全対処法と比較して、本発明は治療選択および投薬のための多様なマーカーの具体的な目標レベルおよび具体的な指示を提供する。本発明はまた、患者に有益になるように、また逆に患者に有害な可能性のある治療を避けるように、薬物治療の同定および使用を改善する。し

たがって、本発明は心不全患者における死亡率および罹病率の低下を目的とする。

以下に、出願時の特許請求の範囲の記載を示す。

[請求項1]

少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための方法であって、

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において少なくとも1種類のバイオマーカの量を決定すること；および、

b) ステップa)で決定した量を基準量と比較し、それにより前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること；を含み、

前記医薬はベータ遮断薬であり、前記バイオマーカはIGFBP7 (IGF結合タンパク質7) またはミメカンである、前記方法。

[請求項2]

ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン-アンギオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための方法であって、

a) 心不全に罹患している被検体からの試料において、GDF-15 (増殖分化因子15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7 (IGF結合タンパク質7)、心臓トロポニン、BNPタイプペプチド、尿酸、Gal3 (ガレクチン-3)、オステオポンチン、PLGF、sFlt-1、sST2 (可溶性ST2)、P1NP、シスタチンC、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも1種類のバイオマーカの量を決定すること；および

b) ステップa)で決定した量を基準量 (単数または複数) と比較し、それにより前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体を同定すること；を含み、

特に、

i) バイオマーカはオステオポンチンであり、医薬はレニン-アンギオテンシン系の阻害薬および/またはベータ遮断薬である；

ii) バイオマーカはエンドスタチンであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

iii) バイオマーカはsFlt-1であり、医薬はアルドステロンアンタゴニスト、レニン-アンギオテンシン系の阻害薬および/またはベータ遮断薬である；

iv) バイオマーカはPLGFであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストおよび/またはアルドステロンアンタゴニストである；

v) バイオマーカは心臓トロポニンであり、医薬はレニン-アンギオテンシン系の阻害薬である；

vi) バイオマーカはBNPタイプペプチドであり、医薬はレニン-アンギオテンシン系の阻害薬および/またはベータ遮断薬である；

vii) バイオマーカは尿酸であり、医薬は利尿薬および/またはレニン-アンギオテンシン系の阻害薬である；

viii) バイオマーカはGDF-15であり、医薬は利尿薬および/またはレニン-アンギオテンシン系の阻害薬である；

ix) バイオマーカはsST2であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストおよび/またはベータ遮断薬である；

x) バイオマーカはIGFBP7であり、医薬はレニン-アンギオテンシン系の阻害薬である；

xi) バイオマーカはP1NPであり、医薬はベータ遮断薬である；

xii) バイオマーカはシスタチンCであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

xiii) バイオマーカはプレアルブミンであり、医薬は利尿薬である；

xiv) バイオマーカはトランスフェリンであり、医薬は利尿薬である；ならびに/あるいは

xv) バイオマーカはPLGFおよびsFlt-1であり、医薬はアルドステロンア

ンタゴニストであり、その際、P I G Fの量 - 対 - s F l t - 1の量（またはその逆）の比を計算し、その比を基準量で計算する、前記方法。

[請求項 3]

投与が、前記少なくとも1種類の医薬の投与開始、またはより高い投与量での前記少なくとも1種類の医薬の投与である、請求項1または2に記載の方法。

[請求項 4]

被検体がヒトである、請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

[請求項 5]

試料が血液、血清または血漿である、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

[請求項 6]

請求項1～5のいずれか1項に記載の方法であって、

・バイオマーカーはI G F B P 7、P 1 N P、s F l t - 1および/またはオステオポンチンであり、医薬はベータ遮断薬である；

・バイオマーカーはエンドスタチンおよび/またはs F l t - 1であり、医薬はアルドステロンアンタゴニストである；

・バイオマーカーは尿酸、プレアルブミン、トランスフェリンおよび/またはG D F - 1 5であり、医薬は利尿薬である；および/または、

・バイオマーカーはs F l t - 1および/またはI G F B P 7であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬であり；

基準量と比較して減少した少なくとも1種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量と比較して増加した少なくとも1種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である、前記方法。

[請求項 7]

請求項1～5のいずれか1項に記載の方法であって、

・バイオマーカーはミメカン、B N Pタイプペプチド、および/またはs S T 2であり、医薬はベータ遮断薬である；

・バイオマーカーはオステオポンチン、心臓トロポニン、B N Pタイプのペプチド、尿酸、および/またはG D F - 1 5であり、医薬はレニン - アンジオテンシン系の阻害薬である；および/または、

・バイオマーカーはs S T 2、シスタチンCおよび/またはP I G Fであり、医薬はアルドステロンアンタゴニストであり；

基準量と比較して増加した少なくとも1種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量と比較して減少した少なくとも1種類のバイオマーカーの量は前記少なくとも1種類の医薬の投与に適格ではない被検体の指標である、前記方法。

[請求項 8]

バイオマーカーがI G F B P - 7である、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法であって、当該方法はベータ遮断薬およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するためのものである、前記方法。

[請求項 9]

請求項8に記載の方法であって、

ステップa)で決定したI G F B P 7の量を、ステップb)で、i)単一の基準量、またはii)ベータ遮断薬の投与に適格な被検体を同定するためのI G F B P 7の基準量およびアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体を同定するためのI G F B P 7の基準量と比較する、前記方法。

[請求項 10]

請求項8および9に記載の方法であって、

基準量と比較して減少した試験試料中のバイオマーカーの量はベータ遮断薬の投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量と比較して増加したバイオマーカーの量

はベータ遮断薬の投与に適格ではない被検体の指標であり、

基準量と比較して増加した試験試料中のバイオマーカの量はアルドステロンアンタゴニストの投与に適格な被検体の指標であり、および/または基準量と比較して減少したバイオマーカの量はアルドステロンアンタゴニストの投与に適格ではない被検体の指標である、前記方法。

[請求項 1 1]

被検体が ACC / AHA 分類に従った心不全ステージ B、C または D に罹患している、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

[請求項 1 2]

ベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための、心不全に罹患している被検体の試料における、i) GDF - 15 (増殖分化因子 15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、Gal3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、sST2 (可溶性 ST2)、sFlt - 1、PlGF、P1NP、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択される少なくとも 1 種類のバイオマーカ、および/または ii) GDF - 15 (増殖分化因子 15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、Gal3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、sFlt - 1、PlGF、sST2 (可溶性 ST2)、P1NP、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるバイオマーカに特異的に結合する検出剤の使用。

[請求項 1 3]

請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法を実施するために適合させたデバイスであって、

a) GDF - 15 (増殖分化因子 15)、エンドスタチン、ミメカン、IGFBP7 (IGF 結合タンパク質 7)、心臓トロポニン、BNP タイプペプチド、尿酸、Gal3 (ガレクチン - 3)、オステオポンチン、sFlt - 1、PlGF、sST2 (可溶性 ST2)、P1NP、シスタチン C、プレアルブミン、およびトランスフェリンからなる群から選択されるマーカーに特異的に結合する検出剤を含む分析ユニットであって、心不全に罹患している被検体の試料においてマーカーの量を決定するために適合させた前記ユニット；および、

b) 決定した量を基準量と比較し、それによりベータ遮断薬、アルドステロンアンタゴニスト、利尿薬、およびレニン - アンジオテンシン系の阻害薬からなる群から選択される少なくとも 1 種類の医薬の投与に適格な被検体を同定するための分析ユニットであって、基準量を備えたデータベースおよび比較を実施するためのコンピューター実装されたアルゴリズムを含む前記ユニット；を含む、前記デバイス。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00	(2006.01)		A 6 1 K 45/00			
A 6 1 P 43/00	(2006.01)		A 6 1 P 43/00	1 1 1		
(72)発明者	ツァウグ, クリスティアン					
	スイス国	4 3 1 0	ラインフェルデン, フランケヴェーク	6		
(72)発明者	ブロック, ディルク					
	ドイツ国	8 3 6 7 3	ビヒル, クロイトヴェーク	1 0		
(72)発明者	ヴィーンヒューズ - テレン, ウルスラ - ヘンリケ					
	ドイツ国	8 2 1 5 2	クライリング, ガルテンシュトラーセ	1 0		
(72)発明者	ブルンナー, ハンス - ペーター					
	スイス国	4 1 4 2	ミュンヘンシュタイン, イム・カスパール	2 2		
(72)発明者	クラウゼ, フリーデマン					
	ドイツ国	8 2 3 7 7	ペンツベルク, アン・デア・フライハイト	1 5 0		
(72)発明者	モデル, ファービアーン					
	ドイツ国	8 2 3 7 7	ペンツベルク, ポーンホルツヴェーク	6		
(72)発明者	ロルニー, ヴィンツェント					
	ドイツ国	8 0 3 3 7	ミュンヘン, カプツィーナーシュトラーセ	2 5 アー		
F ターム(参考)	2G045	AA25	CA26	DA36	FB03	
	4C084	AA17	NA05	NA06	ZA361	ZC41

专利名称(译)	生物标志物治疗心力衰竭的选择		
公开(公告)号	JP2018155767A	公开(公告)日	2018-10-04
申请号	JP2018092916	申请日	2018-05-14
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
[标]发明人	ツァウグクリスティアン ブロックディルク ヴィーンヒューズテレンウルスラヘンリケ ブルンナーハンスペーター クラウゼフリーデマン モーデルファービアー ロルニーヴィンツェント		
发明人	ツァウグ,クリスティアン ブロック,ディルク ヴィーンヒューズ-テレン,ウルスラ-ヘンリケ ブルンナー,ハンス-ペーター クラウゼ,フリーデマン モーデル,ファービアー ロルニー,ヴィンツェント		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/50 G01N33/15 G01N33/53 A61P9/04 A61K45/00 A61P43/00		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2333/4745 G01N2800/325 G01N2800/52 G01N2800/60 A61P9/04 G01N2333/8139		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/50.Z G01N33/15.Z G01N33/53.D A61P9/04 A61K45/00 A61P43/00.111		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FB03 4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/NA06 4C084/ZA361 4C084/ZC41		
代理人(译)	山本修 宮前徹 中西 基晴		
优先权	2012195491 2012-12-04 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
要解决的问题：鉴定有资格接受至少一种选自β受体阻滞剂，醛固酮拮抗剂，利尿剂和肾素 - 血管紧张素系统抑制剂的药物的受试者。甲GDF-15来自受试者样品从心脏衰竭（生长分化因子15），内皮素，mimcan，IGFBP7（IGF结合蛋白7），心肌钙蛋白，BNP型肽，尿酸，GAL3痛苦（半乳糖素-3），骨桥蛋白，sST2（可溶性ST2），PIGF，sFlt-1，P1NP，胱抑素C，前白蛋白和转铁蛋白在至少一种生物标志物存在下。此外，提供了一种方法，试剂盒和装置，其包括将如此确定的量与参考量进行比较的步骤，从该参考量可以鉴定有资格施用至少一种药物的受试者。

(19) 日本国特許庁 (JP)	(12) 公開特許公報 (A)	(11) 特許出願公開番号 特開2018-155767 (P2018-155767A)
	(43) 公開日	平成30年10月4日 (2018.10.4)
(5) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO1N 33/68 (2006.01)	GO1N 33/68	2G045
GO1N 33/50 (2006.01)	GO1N 33/50	4C084
GO1N 33/15 (2006.01)	GO1N 33/15	Z
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53	D
AG1P 9/04 (2006.01)	AG1P 9/04	
	審査請求 有	請求項の数 12 O L (全 68 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号	特願2018-92916 (P2018-92916)	(71) 出願人
(22) 出願日	平成30年5月14日 (2018.5.14)	エフ・ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(62) 分割の表示	特願2015-545994 (P2015-545994) の分割	F. HOFFMANN-LA ROCH E AKTIENGESELLSCHAFT
原出願日	平成25年12月4日 (2013.12.4)	スイス・シーエイチ-4070バーゼル・グレンツァーヘルストラッゼ124
(31) 優先権主張番号	12195491.1	(74) 代理人
(32) 優先日	平成24年12月4日 (2012.12.4)	100140109
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	弁理士 小野 新次郎
(特許庁注：以下のものは登録商標)		(74) 代理人 100118902
1. BLACKBERRY		弁理士 山本 修
2. TWEEN		(74) 代理人 100106208
		弁理士 宮前 徹
		(74) 代理人 100120112
		弁理士 中西 基晴
		最終頁に続く
(54) 【発明の名称】	心不全の治療選択におけるバイオマーカー	