

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-522473

(P2007-522473A)

(43) 公表日 平成19年8月9日(2007.8.9)

| (51) Int. Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|-------------------------------|--------------|-------------|
| GO 1 N 33/53 (2006.01) | GO 1 N 33/53 | W 4HO45 |
| CO 7 K 16/18 (2006.01) | GO 1 N 33/53 | X |
| | GO 1 N 33/53 | L |
| | GO 1 N 33/53 | D |
| | CO 7 K 16/18 | |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) | | |

| | | | |
|---------------|------------------------------|----------|------------------------------------------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2006-553139 (P2006-553139) | (71) 出願人 | 506241097 |
| (86) (22) 出願日 | 平成17年1月25日 (2005.1.25) | | ナショナル スクリーニング インスティテュート, エルエルシー |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成18年7月13日 (2006.7.13) | | NATIONAL SCREENING INSTITUTE, LLC |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US2005/002327 | | アメリカ合衆国、カリフォルニア 92663、ニューポート ビーチ、ヴィア リド ノード 904 |
| (87) 国際公開番号 | W02005/083446 | | 904 Via Lido Nord, Newport Beach, CA 92663, U. S. A. |
| (87) 国際公開日 | 平成17年9月9日 (2005.9.9) | | |
| (31) 優先権主張番号 | 10/777,543 | (74) 代理人 | 100065248 |
| (32) 優先日 | 平成16年2月12日 (2004.2.12) | | 弁理士 野河 信太郎 |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) | | |
| 最終頁に続く | | | |

(54) 【発明の名称】 アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質を用いる無症状性冠状動脈疾患の検出

(57) 【要約】

冠状動脈疾患に対して無症状の人が実際に該疾患を有する可能性を評価する方法が開示される。個体についてのアテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質のレベルを得て、これらの物質に関係する1つ又はそれより多いカットポイントと比較し、そして比較に基づいて、該個体が冠状動脈疾患である可能性についての評価を行う。アテローム発生源タンパク質はOxLDLであり得、急性期反応物質はC反応性タンパク質又はフィブリノゲンであり得、反アテローム発生源タンパク質はHDLであり得る。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の工程：

(a) 患者からの試料中のアテローム発生源タンパク質のレベルを得、患者からの試料中の急性期反応物質のレベルを得、かつ任意に、患者からの試料中の反アテローム発生源タンパク質のレベルを得て；

(b) (i) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第一カットポイント、及び該急性期反応物質に関係する第二カットポイント、

(ii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに関係する第三カットポイント、

(iii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに関係する第四カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に関係する第五カットポイント、

(iv) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第六カットポイント、及び該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第七カットポイント、

(v) 該アテローム発生源タンパク質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第八カットポイント、及び該急性期反応物質に関係する第九カットポイント、

(vi) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第十カットポイント、

(vii) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第十一カットポイント、該急性期反応物質に関係する第十二カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質

の少なくとも1つを得て；そして

(c) 次の少なくとも1つ：

(i) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第一の値の第一カットポイントとの比較、及び急性期反応物質のレベルに関係する第二の値の第二カットポイントとの比較、

(ii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する第三の値の第三カットポイントとの比較、

(iii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する第四の値の第四カットポイントとの比較、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに

関係する第五の値の第五カットポイントとの比較、

(iv) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第六の値の第六カットポイントとの比較、及び急性期反応物質と反アテローム発生源タンパク質とのレベルに関係する第七の値の第七カットポイントとの比較、

(v) アテローム発生源タンパク質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第八の値の第八カットポイントとの比較、及び急性期反応物質のレベルに関係する第九の値の第九カットポイントとの比較、

(vi) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十の値の第十カットポイントとの比較、並びに

(vii) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十一の値の第十一

カットポイントとの比較、急性期反応物質のレベルに関係する第十二の値の第十二カットポイントとの比較、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十三の値の第十三カットポイントとの比較

に基づいて該患者が無症状性冠状動脈疾患を有する可能性があるかを評価する

を含む、冠状動脈疾患について無症状のヒト患者が該疾患を有する可能性を評価する方法

。

【請求項2】

前記アテローム発生源タンパク質が、OxLDL (酸化低密度リポタンパク質)を含む請求項1に記載の方法。

【請求項3】

10

20

30

40

50

前記OxLDLが、アポB-100 (アポリポタンパク質B-100)部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有する請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記急性期反応物質が、正の急性期反応物質又は負の急性期反応物質を含む請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記正の急性期反応物質が、C反応性タンパク質、血清アミロイドA、フォンウィルブラント因子、フェチリン及びフィブリノゲンからなる群より選択され、前記負の急性期反応物質が、アルブミン、アポA-I (アポリポタンパク質A-I)、アポA-II (アポリポタンパク質A-II)及びHDL (高密度リポタンパク質)からなる群より選択される請求項4に記載の方法

10

【請求項6】

前記反アテローム発生源タンパク質が、HDLを含む請求項1に記載の方法。

【請求項7】

前記アテローム発生源タンパク質がOxLDLを含み、前記急性期反応物質がC反応性タンパク質及びフィブリノゲンからなる群より選択される請求項1に記載の方法。

【請求項8】

前記反アテローム発生源タンパク質が、HDLを含む請求項7に記載の方法。

【請求項9】

工程(a)が、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために免疫学的アッセイを用いる請求項1に記載の方法。

20

【請求項10】

前記免疫学的アッセイが、少なくとも約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ のアテローム発生源タンパク質に対する親和性をそれぞれ有する1種又はそれより多いモノクローナル抗体を用いる請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記免疫学的アッセイが、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために少なくとも1種の次のモノクローナル抗体：受託番号LMBP 1660 CBでBCCM (Belgian Coordinated Collections of Microorganisms)に寄託されたハイブリドーマHyb4E6により産生されるmAb-4E6、受託番号LMBP 1659 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb1H11により産生されるmAb-1H11、及び受託番号LMBP 1661 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb8A2により産生されるmAb-8A2を用いる請求項10に記載の方法。

30

【請求項12】

前記アテローム発生源タンパク質がアテローム発生源低密度リポタンパク質を含み、工程(a)が免疫学的アッセイを用いて行われる請求項1に記載の方法。

【請求項13】

前記アテローム発生源タンパク質がOxLDLを含み、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために免疫学的アッセイが用いられる請求項1に記載の方法。

【請求項14】

前記免疫学的アッセイが、少なくとも約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ のアテローム発生源タンパク質に対する親和性をそれぞれ有する1種又はそれより多いモノクローナル抗体を用いる請求項13に記載の方法。

40

【請求項15】

工程(a)において、反アテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、該反アテローム発生源タンパク質がHDLを含む請求項13に記載の方法。

【請求項16】

前記急性期反応物質が、C反応性タンパク質及びフィブリノゲンからなる群より選択される請求項13に記載の方法。

【請求項17】

工程(a)において、反アテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、該反アテローム

50

発生源タンパク質がHDLを含む請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記OxLDLが、アポB-100部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有する請求項13に記載の方法。

【請求項19】

工程(a)において、反アテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、該反アテローム発生源タンパク質がHDLを含む請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記急性期反応物質が、C反応性タンパク質及びフィブリノゲンからなる群より選択される請求項19に記載の方法。

【請求項21】

前記免疫学的アッセイが、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために少なくとも1種の次のモノクローナル抗体：受託番号LMBP 1660 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb4E6により産生されるmAb-4E6、受託番号LMBP 1659 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb1H11により産生されるmAb-1H11、及び受託番号LMBP 1661 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb8A2により産生されるmAb-8A2を用いる請求項12に記載の方法。

【請求項22】

以下の工程：

(a) 患者からの試料中のアテローム発生源タンパク質のレベルを得、患者からの試料中の急性期反応物質のレベルを得、かつ任意に、患者からの試料中の反アテローム発生源タンパク質のレベルを得て；

(b) (i) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第一カットポイント、及び該急性期反応物質に関係する第二カットポイント、

(ii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに関係する第三カットポイント、

(iii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに関係する第四カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に関係する第五カットポイント、

(iv) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第六カットポイント、及び該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第七カットポイント、

(v) 該アテローム発生源タンパク質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第八カットポイント、及び該急性期反応物質に関係する第九カットポイント、

(vi) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第十カットポイント、

(vii) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第十一カットポイント、該急性期反応物質に関係する第十二カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に関係する第十三カットポイント

の少なくとも1つを得て；

(c) (i) 該アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第一の値及び該急性期反応物質のレベルに関係する第二の値、

(ii) 該アテローム発生源タンパク質及び該急性期反応物質のレベルに関係する第三の値、

(iii) 該アテローム発生源タンパク質及び該急性期反応物質のレベルに関係する第四の値、及び該反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第五の値、

(iv) 該アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第六の値、並びに該急性期反応物質及び該反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第七の値、

(v) 該アテローム発生源タンパク質及び該反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第八の値、並びに該急性期反応物質のレベルに関係する第九の値、並びに

(vi) 該アテローム発生源タンパク質、該急性期反応物質及び該反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十の値、

10

20

30

40

50

(vii) 該アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十一の値、該急性期反応物質のレベルに関係する第十二の値、及び該反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十三の値

の少なくとも1つを医療専門家に提供し；そして

(d) 次の少なくとも1つ：

(i) 第一の値の第一カットポイントとの比較、及び第二の値の第二カットポイントとの比較、

(ii) 第三の値の第三カットポイントとの比較、

(iii) 第四の値の第四カットポイントとの比較、及び第五の値の第五カットポイントとの比較、

(iv) 第六の値の第六カットポイントとの比較、及び第七の値の第七カットポイントとの比較、

(v) 第八の値の第八カットポイントとの比較、及び第九の値の第九カットポイントとの比較、

(vi) 第十の値の第十カットポイントとの比較、並びに

(vii) 第十一の値の第十一カットポイントとの比較、第十二の値の第十二カットポイントとの比較、及び第十三の値の第十三カットポイントとの比較

に基づいて患者が無症状性冠状動脈疾患を有する可能性があるかを評価することを医療専門家に許容するように、医療専門家に1又はそれより多い適切なカットポイントを提供する

を含む、冠状動脈疾患について無症状のヒト患者が該疾患を有する可能性の医療専門家による評価を促進する方法。

【請求項 2 3】

前記アテローム発生源タンパク質が、OxLDLを含む請求項22に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記OxLDLが、アポB-100部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有する請求項23に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記急性期反応物質が、正の急性期反応物質又は負の急性期反応物質を含む請求項22に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記正の急性期反応物質が、C反応性タンパク質、血清アミロイドA、フォンウィルブラント因子、フェチリン及びフィブリノゲンからなる群より選択され、前記負の急性期反応物質が、アルブミン、アポA-I、アポA-II及びHDLからなる群より選択される請求項25に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記反アテローム発生源タンパク質が、HDLを含む請求項22に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記アテローム発生源タンパク質がOxLDLを含み、前記急性期反応物質がC反応性タンパク質及びフィブリノゲンからなる群より選択される請求項22に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記反アテローム発生源タンパク質が、HDLを含む請求項28に記載の方法。

【請求項 3 0】

工程(a)が、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために免疫学的アッセイを用いる請求項22に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記免疫学的アッセイが、少なくとも約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ のアテローム発生源タンパク質に対する親和性をそれぞれ有する1種又はそれより多いモノクローナル抗体を用いる請求項30に記載の方法。

【請求項 3 2】

10

20

30

40

50

前記免疫学的アッセイが、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために少なくとも1種の次のモノクローナル抗体：受託番号LMBP 1660 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb4E6により産生されるmAb-4E6、受託番号LMBP 1659 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb1H11により産生されるmAb-1H11、及び受託番号LMBP 1661 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb8A2により産生されるmAb-8A2を用いる請求項30に記載の方法。

【請求項33】

前記アテローム発生源タンパク質がアテローム発生源低密度リポタンパク質を含み、工程(a)が免疫学的アッセイを用いて行われる請求項22に記載の方法。

【請求項34】

前記アテローム発生源タンパク質がOxLDLを含み、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために免疫学的アッセイが用いられる請求項22に記載の方法。

10

【請求項35】

前記免疫学的アッセイが、少なくとも約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ のアテローム発生源タンパク質に対する親和性をそれぞれ有する1種又はそれより多いモノクローナル抗体を用いる請求項34に記載の方法。

【請求項36】

工程(a)において、反アテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、該反アテローム発生源タンパク質がHDLを含む請求項34に記載の方法。

【請求項37】

前記急性期反応物質が、C反応性タンパク質及びフィブリノゲンからなる群より選択される請求項34に記載の方法。

20

【請求項38】

工程(a)において、反アテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、該反アテローム発生源タンパク質がHDLを含む請求項37に記載の方法。

【請求項39】

前記OxLDLが、アポB-100部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有する請求項34に記載の方法。

【請求項40】

工程(a)において、反アテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、該反アテローム発生源タンパク質がHDLを含む請求項39に記載の方法。

30

【請求項41】

前記急性期反応物質が、C反応性タンパク質及びフィブリノゲンからなる群より選択される請求項40に記載の方法。

【請求項42】

前記免疫学的アッセイが、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために少なくとも1種の次のモノクローナル抗体：受託番号LMBP 1660 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb4E6により産生されるmAb-4E6、受託番号LMBP 1659 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb1H11により産生されるmAb-1H11、及び受託番号LMBP 1661 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb8A2により産生されるmAb-8A2を用いる請求項33に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

発明の背景

技術分野

本発明は、冠状動脈疾患の分野に関する。より具体的には、本発明は、無症状の患者、特に無症状の一般的な集団からの患者における冠状動脈疾患の検出の向上に関する。

【背景技術】

【0002】

従来技術

冠状動脈疾患(CAD)は、西洋化された国における主要な死因である。しかし、冠状動脈

50

疾患の検出の問題点がよく知られている。つまり、米国において冠状動脈疾患で毎年死亡する650,000を超える個体の半分より多くが、死の前にこの疾患に対して無症状である(すなわち、彼らは冠状動脈疾患の症状、例えば胸痛を認識していなかった)。

【0003】

米国特許第5,380,667号(1995年発行)は、心臓疾患を有するほとんどの個体はその最初の心臓発作まではほぼ無症状であること、従来技術において特定された主な危険因子は完璧な予測因子ではないこと(特にいずれの単独の個体において冠状動脈疾患の危険性を予測するためには)、集団の30~40%が既知の主要危険因子を用いて未だに誤った診断を受けている(第1欄、第31~39行)ことを記載した(本明細書において記載又は参照するすべての文献は、すべての目的のためにその全体を本明細書に組み込む)。

10

【0004】

米国特許第5,756,067号(1998年発行)は、アテローム性動脈硬化症を発症する危険性を測定するのに現在利用可能な試験は、コレステロール、トリグリセリド及びリポタンパク質の血漿含量の測定を含むが、アテローム性動脈硬化症による心臓疾患の約半分が血漿トリグリセリドとコレステロールが集団中で正常範囲内の患者に起こりかつ脂質が正常レベルの患者においてアテローム性動脈硬化症の血管造影による証拠が示されているので、これらの試験が決定的でないことが明らかであることを記載した。

【0005】

Sasavage N, "Predicting Coronary Artery Disease, New Markers Could Identify Patients At Risk," Clin. Lab. News March 1998, 第6~7頁は、低密度リポタンパク質の酸化によりこれがさらにアテローム発生源になること、冠状動脈疾患は多因子性疾患であるとみられること、この分野で働く者は、新しい世代の生化学マーカーが臨床医に患者の危険性をよりよく評価しかつ有害な結果を避けるための治療を行うことを可能にすることで一致していることを記載した。

20

【0006】

個体が冠状動脈疾患を有するか又は将来有する可能性があるかを十分に正確な診断で決定できる能力は、医療の長年にわたる目標である。研究者らは、アテローム性動脈硬化症用の十分に正確なマーカー及び個体が冠状動脈疾患を将来有する可能性を予測する方法を決定し確立するために、多くの試みを行っている。例えば、種々の低密度リポタンパク質(LDL)物質及び/又はアテローム性動脈硬化症及び/又は血栓に関係するであろうその他の物質を認識するモノクローナル抗体を得る試みが行われている。

30

【0007】

例えば、上記のこと及び冠状動脈疾患、脂質及び一般的なアッセイに関する次の文献を参照されたい。米国特許第5,024,829、5,026,537、5,046,499、5,120,834、5,196,324、5,223,410、5,362,649、5,380,667、5,396,886、5,453,359、5,487,892、5,597,726、5,604,105、5,658,729、5,690,103、5,710,008、5,731,208、5,756,067、6,040,147及び6,309,888号;米国特許出願第2003/0100486及び2003/0152566号;非米国特許文献EP 0 327 418 A1、EP 0 433 088 B1、EP 0 484 863 A1、WO 94/23302、WO 98/59248、WO 00/14548、JP公開第8-304395号及びJP公開第9-5323号;

【0008】

Adams et al., "Cardiac Troponin I, A Marker With High Specificity For Cardiac Injury," Circulation 1993; 88(1): 101-106; American Biogenetic Sciences Inc., 1995 Annual Report, 24 pages (1995); American Biogenetic Sciences, Focus on Diagnostic Tests: A Technology Analysis. Updated Full Report, 33 pages, Paisley and Habermas, Inc. (June 3, 1996); American Biogenetic Sciences, Inc., "Renal dialysis joint venture announced by American Biogenetic Sciences, Inc. and Gull Laboratories, Inc.," News Release (9/26/96); American Biogenetic Sciences, Inc., Jesup & Lamont Securities Corporation, "New Buy Recommendation dated March 28, 1996" (12 pages); Antman et al., "Cardiac Specific Troponin I Levels To Predict The Risk Of Mortality In Patients With Acute Coronary Syndromes," N. Eng. J. Med. 1996; 33

40

50

5(18): 1342-1349; AtheroGenics, Inc. Printout of Web Site (WWW.ATHEROGENICS.COM), Home page and "Technology Platform" and "In The News" sections, 17 pages (printed June 8, 1998);

【 0 0 0 9 】

Aviram et al., "Phospholipase D-Modified Low Density Lipoprotein Is Taken Up By Macrophages At Increased Rate, A Possible Role For Phosphatidic Acid." *J. Clin. Invest.* 1993; 91: 1942-1952; Berliner et al., "The Role Of Oxidized Lipoproteins In Atherogenesis," *Free Radical Biology & Medicine* 1996; 20(5): 707-727; Boyd et al., "Direct Evidence For A Protein Recognized By A Monoclonal Antibody Against Oxidatively Modified LDL In Atherosclerotic Lesions From A Watanabe Hyperlipidemic Rabbit," *Am. J. Pathol.* 1989 November; 135(5): 815-825; Brody, "Hunt For Heart Disease Tracks A New Suspect," *The New York Times*, 3 pages (Jan. 6, 2004); Brown et al., "Lipoprotein Metabolism In The Macrophage: Implications For Cholesterol Deposition In Atherosclerosis," *Annu. Review Biochem.* 1983; 52: 223-261; Cartier et al., "Chronic Exposure To Cyclosporin Affects Endothelial And Smooth Muscle Reactivity In The Rat Aorta," *Ann. Thorac. Surg.* 1994; 58: 789-794; Chapelle, "How Should We proceed When A Myocardial Infarction Is Suspected," *Acta Clinica Belgica* 1984; 39(6): 393-395;

【 0 0 1 0 】

Chen et al., "Basic Fibroblast Growth Factor Reverses Atherosclerotic Impairment Of Human Coronary Angiogenesis-Like Responses In Vitro," *Atherosclerosis* 1995; 116: 261-268; Chin et al., "Inactivation Of Endothelial Derived Relaxing Factor By Oxidized Lipoproteins," *J. Clin. Invest.* 1992; 89: 10-18; Cockcroft et al., "Prediction of creatinine clearance from serum creatinine," *Nephron* 1976; 16: 31-41; Crisp et al., "Antiendothelial Antibodies After Heart Transplantation: The Accelerating Factor In Transplant-Associated Coronary Artery Disease?" *J. Heart Lung Transplant.* 1994; 13(1, Part 1): 81-92; Declerck et al., "Fibrinolytic Response And Fibrin Fragment D-Dimer Levels In Patients With Deep Vein Thrombosis," *Thromb. Haemost.* 1987; 58(4): 1024-1029; Degoulet et al., "Mortality Risk Factors In Patients Treated By Chronic Hemodialysis," *Nephron* 1982; 31: 103-110; Esterbauer et al., "Autooxidation Of Human Low Density Lipoprotein: Loss Of Polyunsaturated Fatty Acids And Vitamin E And Generation Of Aldehydes," *J. Lipid Res.* 1987; 28: 495-509;

【 0 0 1 1 】

Farber et al., "Differences In Prostaglandin Metabolism In Cultured Aortic And Pulmonary Arterial Endothelial Cells Exposed To Acute And Chronic Hypoxia," *Circ. Res.* 1991; 68(5): 1446-1457; Fogelman et al., "Malondialdehyde Alteration Of Low Density Lipoproteins Leads To Cholesteryl Ester Accumulation In Human Monocyte-Macrophages," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1980; 77(4): 2214-2218; Folcik et al., "Lipoxygenase Contributes To The Oxidation Of Lipids In Human Atherosclerotic Plaques," *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 504-510; Friedman et al., "Hyperhomocysteinemia As A Risk Factor For Cardiovascular Disease In Patients Undergoing Hemodialysis," *Nutr. Rev.* 1995; 53(7): 197-201; Galle et al., "Oxidized Lipoprotein(A) Inhibits Endothelium-Dependent Dilatation: Prevention By High Density Lipoprotein," *Eur. J. Pharmacol.* 1994; 265: 111-115;

【 0 0 1 2 】

Galle et al., "Cyclosporin And Oxidized Low Density Lipoproteins Synergistically Potentiate Vasoconstriction: Influence Of The Endothelium," *Eur. Heart J.* 1993; 14(Suppl. 1): 111-117; Gerrity, "The Role Of The Monocyte In Atherogenesis. I. Transition Of Blood-Borne Monocytes Into Foam Cells In Fatty Lesions," *Am. J. Pa*

thol. 1981; 103(2): 181-190; Grattan et al., "Cytomegalovirus Infection Is Associated With Cardiac Allograft Rejection And Atherosclerosis," J. Am. Med. Assoc. 1989; 261(24): 3561-3566; Haberland et al., "Specificity Of Receptor-Mediated Recognition Of Malondialdehyde-Modified Low Density Lipoproteins," Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1982; 79: 1712-1716; Haberland et al., "Role Of Lysines In Mediating Interaction Of Modified Low Density Lipoproteins With The Scavenger Receptor Of Human Monocyte Macrophages," J. Biol. Chem. 1984; 259(18): 11305-11311;

【 0 0 1 3 】

Hamm et al., "Emergency Room Triage Of Patients With Acute Chest Pain By Means Of Rapid Testing For Cardiac Troponin T Or Troponin I," N. Eng. J. Med. 1997; 337 (23): 1648-1653; Hamm et al., "Emergency Room Triage Of Patients With Acute Chest Pain By Means Of Rapid Testing For Cardiac Troponin T Or Troponin I," N. Eng. J. Med. 1997; 337(23): 1648-1653. Letters concerning same and authors' reply, published in N. Eng. J. Med. 1998; 338(18): 1314 1315; Hammer et al., "Generation, Characterization, And Histochemical Application Of Monoclonal Antibodies Selectively Recognizing Oxidatively Modified ApoB-Containing Serum Lipoproteins," Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1995; 15(5): 704-713;

【 0 0 1 4 】

Hansson et al. (eds.). Immune Functions of the Vessel Wall, Volume II (Harwood Academic Publishers 1996). Chapter 9: Witztum JL, Palinski W. "Autoimmunity To Oxidized Lipoproteins," Pages 159-171; Havel et al., "The Distribution And Chemical Composition Of Ultracentrifugally Separated Lipoproteins In Human Serum," J. Clin. Invest. 1955; 34: 1345-1353; Heery et al., "Oxidatively Modified LDL Contains Phospholipids With Platelet-Activating Factor Like Activity And Stimulates The Growth Of Smooth Muscle Cells," J. Clin. Invest. 1995; 96: 2322-2330; Hirschfield et al., "C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule," Q J Med. 2003 Nov; 96(11): 793-807; Hlatky, "Evaluation Of Chest Pain In The Emergency Department," N. Eng. J. Med. 1997; 337(23): 1687-1689;

【 0 0 1 5 】

Hoff et al., "Lesion-Derived Low Density Lipoprotein And Oxidized Low Density Lipoprotein Share A Liability For Aggregation, Leading To Enhanced Macrophage Degradation," Arterioscler. Thromb. 1991; 11(5): 1209-1222; Hoff et al., "Modification Of Low Density Lipoprotein With 4 Hydroxynonenal Induces Uptake By Macrophages," Arteriosclerosis 1989; 9(4): 538-549; Hoffmeister et al., "Alterations Of Coagulation And Fibrinolytic And Kallikrein-Kinin Systems In The Acute And Post-Acute Phases In Patients With Unstable Angina Pectoris," Circulation 1995; 91(10): 2520-2527; Holvoet et al., "Stimulation With A Monoclonal Antibody (mAb4E4) Of Scavenger Receptor Mediated Uptake Of Chemically Modified Low Density Lipoproteins By THP 1 Derived Macrophages Enhances Foam Cell Generation," J. Clin. Invest. 1994; 93: 89-98;

【 0 0 1 6 】

Holvoet et al., "Beta-VLDL Hypercholesterolemia Relative To LDL Hypercholesterolemia Is Associated With Higher Levels Of Oxidized Lipoproteins And A More Rapid Progression Of Coronary Atherosclerosis In Rabbits," Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1997; 17(11): 2376-2382; Holvoet et al., "Oxidized Lipoproteins In Atherosclerosis And Thrombosis," FASEB J. 1994; 8: 1279-1284; Holvoet et al., "Thrombosis And Atherosclerosis," Curr. Opinion Lipidol. 1997; 8: 320 328; Holvoet et al., "Malondialdehyde Modified Low Density Lipoproteins In Patients With Atherosclerotic Disease," J. Clin. Invest. 1995; 95: 2611 2619; Holvoet et al., "Correlation Between Oxidized Low Density Lipoproteins And Von Willebrand Factor In Chron

ic Renal Failure," *Thromb. Haemost.* 1996; 76(5): 663-669;

【 0 0 1 7 】

Holvoet et al., "Correlation Between Oxidized Low Density Lipoproteins And Coronary Artery Disease In Heart Transplant Patients," Abstract published in Final Programme of 66th Congress of the European Atherosclerosis Society, Florence (Italy), July 13 14, 1996; Abstract Book, page 47; Holvoet et al., "Oxidized Low Density Lipoproteins In Patients With Transplant-Associated Coronary Artery Disease," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18(1): 100-107; Holvoet et al., "LDL Hypercholesterolemia Is Associated With Accumulation Of Oxidized LDL, Atherosclerotic Plaque Growth, And Compensatory Vessel Enlargement In Coronary Arteries Of Miniature Pigs," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 415-422;

【 0 0 1 8 】

Holvoet et al., Presentation at 70th Scientific Session Of The American Heart Association, Orlando, Florida, November 9-12, and published in abstract form in *Circulation* 1997; 96(Suppl. 1): 1417 (Abstract 2328); Holvoet et al., "Oxidized LDL And Malondialdehyde-Modified LDL In Patients With Acute Coronary Syndromes And Stable Coronary Artery Disease," *Circulation* 1998; 98: 1487-1494; Holvoet et al., "Malondialdehyde Modified LDL As A Marker Of Acute Coronary Syndromes," *J. Am. Med. Assoc.* 1999; 281(18): 1718-1721; Holvoet P, "Oxidative Modification Of Low-Density Lipoproteins In Atherothrombosis," *Acta Cardiol.* 1998; 53(5): 253-260; Holvoet et al., "Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease," *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 May; 21(5):844-8;

【 0 0 1 9 】

Holvoet P et al., "Association of high coronary heart disease risk status with circulating oxidized LDL in the well-functioning elderly: findings from the Health, Aging, and Body Composition study," *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Aug; 23(8): 1444-1448; Hruban et al., "Accelerated Arteriosclerosis In Heart Transplant Recipients Is Associated With A T-Lymphocyte Mediated Endothelialitis," *Am. J. Pathol.* 1990; 137(4): 871-882; Hulthe J et al., "Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study)," *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Jul 1; 22(7): 1162-1167; Itabe et al., "A Monoclonal Antibody Against Oxidized Lipoprotein Recognizes Foam Cells In Atherosclerotic Lesions: Complex Formation Of Oxidized Phosphatidylcholines And Polypeptides," *J. Biol. Chem.* 1994; 269(21): 15274-15279;

【 0 0 2 0 】

Itabe et al., "Sensitive Detection Of Oxidatively Modified Low Density Lipoprotein Using A Monoclonal Antibody," *J. Lipid Res.* 1996; 37: 45-53; Juckett et al., "Ferritin Protects Endothelial Cells From Oxidized Low Density Lipoprotein In Vitro," *Am. J. Pathol.* 1995; 147(3): 782-789; Kaplan et al., "Renal Vasoconstriction Caused By Short-Term Cholesterol Feeding Is Corrected By Thromboxane Antagonist Or Probucol," *J. Clin. Invest.* 1990; 86: 1707-1714; Keane et al., "Hyperlipidemia And Progressive Renal Disease," *Kidney Int.* 1991; 39(Suppl.): S41-S48; Kolata, "A New Generation Of Tests To Determine Heart Trouble," *New York Times News Service*, 7 pages (Nov. 26, 1995); Koskinen et al., "Acute Cytomegalovirus Infection Induces A Subendothelial Inflammation (Endothelialitis) In The Allograft Vascular Wall, A Possible Linkage With Enhanced Allograft Arteriosclerosis," *Am. J. Pathol.* 1994; 144(1): 41-50; Kotani et al., "Distribution Of Immunoreactive Malondialdehyde-Modified Low-Density Lipoprotein In Human Serum," *Biochimica et Biophysica Acta* 1994; 1215: 121-125; Lee et al., "Serum Enzymes In The Diagnosis Of

f Acute Myocardial Infarction, *Annals of Internal Medicine* 1986; 105: 221-223;

【 0 0 2 1 】

Libby et al., "Functions Of Vascular Wall Cells Related To Development Of Transplantation-Associated Coronary Arteriosclerosis," *Transplant. Proc.* 1989; 21(4): 3677-3684; Lynch et al., "Formation Of Non-Cyclooxygenase-Derived Prostanoids (F2-Isoprostanes) In Plasma And Low Density Lipoprotein Exposed To Oxidative Stress In Vitro," *J. Clin. Invest.* 1994; 93: 998-1004; Mabile et al., "Alpha Tocopherol And Trolox Block The Early Intracellular Events (TBARS And Calcium Rises) Elicited By Oxidized Low Density Lipoproteins In Cultured Endothelial Cells," *Free Radic. Biol. Med.* 1995; 19(2): 177-187; Major et al., "Increased Cholesterol Efflux In Apolipoprotein AI (ApoAI)-Producing Macrophages As A Mechanism For Reduced Atherosclerosis In ApoAI(-/-) mice," *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Nov; 21(11): 1790-1795; Menschikowski et al., "Secretory Group II Phospholipase A2 In Human Atherosclerotic Plaques," *Atherosclerosis* 1995; 118: 173-181;

【 0 0 2 2 】

McCully, "Chemical Pathology Of Homocysteine. I. Atherogenesis." *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1993; 23(6): 477-493; Morrow et al., "Non-Cyclooxygenase-Derived Prostanoids (F2-isoprostanes) Are Formed In Situ On Phospholipids," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 10721-10725; Muldoon et al., Ryan et al., Oltrona et al., and Liuzzo et al., Letters and reply by authors, "C-Reactive Protein And Serum Amyloid A Protein In Unstable Angina," *N. Engl. J. Med.* 1995; 332(6): 398-400; Murugesan et al., "Oxidized Low Density Lipoprotein Inhibits The Migration Of Aortic Endothelial Cells In Vitro," *J. Cell. Biol.* 1993; 120(4): 1011-1019; Neff et al., "Patients Surviving 10 Years Of Hemodialysis," *Am. J. Med.* 1983; 74: 996-1004;

【 0 0 2 3 】

Ohman et al., "Cardiac Troponin T Levels For Risk Stratification In Acute Myocardial Ischemia," *N. Eng. J. Med.* 1996 335(18): 1333-1341; O'Marcaigh et al., "Estimating The Predictive Value Of A Diagnostic Test, How To Prevent Misleading Or Confusing Results," *Clin. Ped.* 1993; 32(8): 485-491; Palinski et al., "Low Density Lipoprotein Undergoes Oxidative Modification In Vivo," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989; 86: 1372 1376; Palinski et al., "Antisera And Monoclonal Antibodies Specific For Epitopes Generated During Oxidative Modification Of Low Density Lipoprotein," *Arteriosclerosis* 1990; 10(3): 325-335;

【 0 0 2 4 】

Parthasarathy et al., "A Role For Endothelial Cell Lipoxygenase In The Oxidative Modification Of Low Density Lipoprotein," *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1989; 86: 1046-1050; Penn et al., "Oxidized lipoproteins, altered cell function and atherosclerosis," *Atherosclerosis* 1994; 108(Suppl.): S21-S29; Pocock, *Clinical Trials. A Practical Approach*, Chapter 14: "Further Aspects Of Data Analysis," Pages 211-233, John Wiley & Sons. 1993; Rasmussen et al., "Decrease Of Von Willebrand Factor Levels After A High-Monounsaturated Fat Diet In Non-Insulin-Dependent Diabetic Subjects," *Metabolism* 1994; 43(11): 1406-1409; Ravalli et al., "Immunohistochemical Demonstration Of 15-Lipoxygenase In Transplant Coronary Artery Disease," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15(3): 340-348; Reade et al., "Expression Of Apolipoprotein B Epitopes In Low Density Lipoproteins Of Hemodialyzed Patients," *Kidney Int.* 1993; 44: 1360-1365;

【 0 0 2 5 】

Reverter et al., "Platelet Activation During Hemodialysis Measured Through Exposure Of P-Selectin: Analysis By Flow Cytometric And Ultrastructural Techniques," *J. Lab. Clin. Med.* 1994; 124(1): 79-85; Ridker et al., "C-Reactive Protein Adds

To The Predictive Value Of Total And HDL Cholesterol In Determining Risk Of First Myocardial Infarction," *Circulation* 1998; 97:2007-2011; Ridker et al., "Prospective study of C reactive protein and the risk of future cardiovascular events in stable and unstable angina," *Circulation* 1998; 98:731733; Rose et al., "Humoral immune responses after cardiac transplantation: correlation with fatal rejection and graft atherosclerosis," *Surgery* 1989; 106(2): 203-208;

【 0 0 2 6 】

Rosenfeld et al., "Distribution Of Oxidation Specific Lipid-Protein Adducts And Apolipoprotein B In Atherosclerotic Lesions Of Varying Severity From WHHL Rabbits," *Arteriosclerosis* 1990; 10(3): 336-349; Ross, "The Pathogenesis Of Atherosclerosis: A Perspective For The 1990s," *Nature* 1993; 362: 801-809; Salonen et al., "Autoantibody Against Oxidised LDL And Progression Of Carotid Atherosclerosis," *Lancet* 1992; 339(8798): 883-887; Sasavage, "Predicting Coronary Artery Disease, New Markers Could Identify Patients At Risk," *Clin. Lab. News* March 1998; pages 6-7; Savenkova et al., "Tyrosyl Radical Generated By Myeloperoxidase Is A Physiological Catalyst For The Initiation Of Lipid Peroxidation In Low Density Lipoprotein," *J. Biol. Chem.* 1994; 269(32): 20394-20400; Schaffner et al., "Arterial Foam Cells With Distinctive Immunomorphologic And Histochemical Features Of Macrophages," *Am. J. Pathol.* 1980; 100(1): 57-80;

【 0 0 2 7 】

Schonbeck et al., "Oxidized Low-Density Lipoprotein Augments And 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors Limit CD40 And CD40L Expression In Human Vascular Cells," *Circulation* 2002; 106(23): 2888-2893; Shacter, "Quantification And Significance Of Protein Oxidation In Biological Samples," *Drug Metab Rev.* 2000 Aug-Nov; 32(3-4): 307-26; Shultz, "Clinical Interpretation Of Laboratory Procedures," Chapter 14 in Teitz, *Fundamentals of Clinical Chemistry*, Burtis et al. (eds.), 4th edition 1996, W.B.Saunders Company, Pages 192-199; Schulz et al., "Preserved Antioxidative Defense Of Lipoproteins In Renal Failure And During Hemodialysis," *Am. J. Kidney Dis.* 1995; 25(4): 564-571;

【 0 0 2 8 】

Selwyn et al., "Atherogenic Lipids, Vascular Dysfunction, And Clinical Signs Of Ischemic Heart Disease," *Circulation* 1997; 95(1): 5-7; Sparrow et al., "Cellular Oxidative Modification Of Low Density Lipoprotein Does Not Require Lipoxygenases," *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 128-131; Sparrow et al., "Enzymatic Modification Of Low Density Lipoprotein By Purified Lipoxygenase Plus Phospholipase-A2 Mimic Cell Mediated Oxidative Modification," *J. Lipid Res.* 1988; 29: 745-753; Steinberg et al., "Lipoproteins And Atherogenesis: Current Concepts," *J. Am. Med. Assoc.* 1990; 264(23): 3047-3052; Steinberg, "Clinical Trials Of Antioxidants In Atherosclerosis: Are We Doing The Right Thing?" *Lancet* 1995; 346: 36-38; Steinberg, "Lewis A. Conner Memorial Lecture, Oxidative Modification Of LDL And Atherogenesis," *Circulation* 1997; 95: 1062-1071; Steinbrecher et al., "Modification Of Low Density Lipoprotein By Endothelial Cells Involves Lipid Peroxidation And Degradation Of Low Density Lipoprotein Phospholipids," *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1984; 81: 3883-3887;

【 0 0 2 9 】

Steinbrecher, "Oxidation Of Low Density Lipoprotein Results In Derivatization Of Lysine Residues Of Apolipoprotein B By Lipid Peroxide Decomposition Products," *J. Biol. Chem.* 1987; 262(8): 3603-3608; Steinbrecher et al., "Scavenger Receptor-Independent Stimulation Of Cholesterol Esterification In Macrophages By Low Density Lipoprotein Extracted From Human Aortic Intima," *Arterioscler. Thromb.* 1992

10

20

30

40

50

; 12(5): 608-625; Sutherland et al., "Oxidation Of Low Density Lipoproteins From Patients With Renal Failure Or Renal Transplants," *Kidney Int.* 1995; 48: 227-236; Tamai et al., "Single LDL Apheresis Improves Endothelium-Dependent Vasodilation In Hypercholesterolemic Humans," *Circulation* 1997; 95(1): 76-82; Tanaka et al., "Endothelial And Smooth Muscle Cells Express Leukocyte Adhesion Molecules Heterogeneously During Acute Rejection Of Rabbit Cardiac Allografts," *Am. J. Pathol.* 1994; 144(5): 938-951; Trachtman et al., "Dietary Vitamin E Supplementation Ameliorates Renal Injury In Chronic Puromycin Aminonucleoside Nephropathy," *J. Am. Soc. Nephrol.* 1995; 5(10): 1811-1819;

【 0 0 3 0 】

Tuzcu et al., "Occult And Frequent Transmission Of Atherosclerotic Coronary Disease With Cardiac Transplantation. Insights From Intravascular Ultrasound," *Circulation* 1995; 91(6): 1706-1713; Uchida K et al., "Protein-Bound Acrolein: Potential Markers For Oxidative Stress," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 4882-4887; Van de Werf, "Cardiac Troponins In Acute Coronary Syndromes," *N. Eng. J. Med.* 1996; 335(18): 1388-1389; Varo et al., "Soluble CD40L: Risk Prediction After Acute Coronary Syndromes," *Circulation* 2003; 108(9): 1049-1052; Wentworth et al., "Evidence for ozone formation in human atherosclerotic arteries," *Science* 2003; 302(5647): 1053-1056; Yla-Herttuala et al., "Evidence For The Presence Of Oxidatively Modified Low Density Lipoprotein In Atherosclerotic Lesions Of Rabbit And Man," *J. Clin. Invest.* 1989 October; 84: 1086-1095;

【 0 0 3 1 】

Zaidi et al., "A Rapid Method For Preparation Of Sarcolemma From Frog Leg Skeletal Muscle," *Chemical Abstracts* 1982 June 7; 96(23): 196091e; Zawadzki et al., "An Immunochemical Marker Of Low Density Lipoprotein Oxidation," *J. Lipid Res.* 1989; 30: 885-891; Zhao et al., "Oxidized LDL Induces Serotonin Release From Blood Platelets," *Am. J. Hematol.* 1995; 48: 285-287; Zwaginga et al., "Thrombus Formation And Platelet Vessel Wall Interaction In The Nephrotic Syndrome Under Flow Conditions," *J. Clin. Invest.* 1994; 93: 204-211; Zweig et al., "ROC Curve Analysis: An Example Showing The Relationships Among Serum Lipid And Apolipoprotein Concentrations In Identifying Patients With Coronary Artery Disease," *Clin. Chem.* 1992; 38(8): 1425-1428.

【 0 0 3 2 】

米国特許第6,040,147号(2000年発行)は、心臓血管性障害を将来発症する個人の危険性プロフィールを特徴付けるために、全身性炎症マーカー(例えばC反応性タンパク質)の使用を提案している。C反応性タンパク質は、単独で又は総コレステロール若しくは総コレステロール:HDL比との組み合わせで用いられる。

【 0 0 3 3 】

米国特許第6,309,888号(2001年発行)において、Holvoetらは、一般的な集団からのヒト患者における冠状動脈疾患の存在を検出するため及び疾患の段階を区別するための、臨床的に十分な程度の診断精度を有する方法を提供している。段階とは、まず、無症状の冠状動脈疾患又は安定狭心症である非急性段階、次に、不安定狭心症として知られる急性段階、第三に、急性心筋梗塞として知られる急性段階である。罹患状態(非罹患状態に対して)は、患者からの試料中に第一マーカーが臨床的に著しく存在することにより示される。2つの急性段階、すなわち不安定狭心症又は急性心筋梗塞のうち一つの存在は、患者からの試料中に第二マーカーが臨床的に著しく存在することにより示される。急性心筋梗塞として知られるより重篤な急性段階の存在は、患者からの試料中に第三マーカーが臨床的に著しく存在することにより示される。好ましくは、第一マーカーはOxLDL(酸化低密度リポタンパク質)を含み、第二マーカーはMDA-修飾LDL(マロンジアルデヒド修飾低密度リポタンパク質)を含み、第三マーカーはトロポニンであろう。好ましくは、OxLDL及びMDA修

10

20

30

40

50

飾LDLは、これらのマーカーの存在を0.02 mg/dlの低濃度で未希釈のヒト血漿中に検出できるモノクローナル抗体を用いて検出される。実施例で議論される物質は、OxLDL、MDA修飾LDL、HDL及びC反応性タンパク質である。用い得る抗体は、アポB 100部分がアポB-100部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を有するMDA修飾LDL及び/又はOxLDLに高い親和性を有しかつ結合する。好ましいモノクローナル抗体は、mAb-4E6、mAb-1H11及びmAb 8 A2である。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0034】

上記のことにもかかわらず、可能な限り高い精度の、無症状の患者における冠状動脈疾患を検出する方法に対する技術的必要性が存在する。 10

【課題を解決するための手段】

【0035】

発明の開示

この必要性を満たし、当業者に明らかな利点及び利益を有する発明が、今回、開発された。概して、本発明は、冠状動脈疾患について無症状のヒト患者が該疾患を有する可能性の評価をする方法を提供し、該方法は、次の工程：

(a) 患者からの試料中のアテローム発生源タンパク質(atherogenic protein)のレベル(level)を得、患者からの試料中の急性期反応物質のレベルを得、かつ任意に、患者からの試料中の反アテローム発生源タンパク質のレベルを得て； 20

(b) (i) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第一カットポイント、及び該急性期反応物質に関係する第二カットポイント、

(ii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに関係する第三カットポイント、

(iii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに関係する第四カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に関係する第五カットポイント、

(iv) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第六カットポイント、及び該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第七カットポイント、

(v) 該アテローム発生源タンパク質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第八カットポイント、及び該急性期反応物質に関係する第九カットポイント、 30

(vi) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに関係する第十カットポイント、

(vii) 該アテローム発生源タンパク質に関係する第十一カットポイント、該急性期反応物質に関係する第十二カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に関係する第十三カットポイント

の少なくとも1つを得て；そして

【0036】

(c) 次の少なくとも1つ：

(i) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第一の値の第一カットポイントとの比較、及び急性期反応物質のレベルに関係する第二の値の第二カットポイントとの比較、 40

(ii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する第三の値の第三カットポイントとの比較、

(iii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する第四の値の第四カットポイントとの比較、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第五の値の第五カットポイントとの比較、

(iv) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第六の値の第六カットポイントとの比較、及び急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第七の値の第七カットポイントとの比較、

(v) アテローム発生源タンパク質及び反アテローム発生源タンパク質のレ 50

ベルに係する第八の値の第八カットポイントとの比較、及び急性期反応物質のレベルに係する第九の値の第九カットポイントとの比較、

(vi) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第十の値の第十カットポイントとの比較、並びに

(vii) アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第十一の値の第十一カットポイントとの比較、急性期反応物質のレベルに係する第十二の値の第十二カットポイントとの比較、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第十三の値の第十三カットポイントとの比較

に基づいて該患者が無症状性冠状動脈疾患を有する可能性があるかを評価するを含む。

10

【0037】

別の観点において、本発明は、冠状動脈疾患について無症状のヒト患者が該疾患を有する可能性の医療専門家による評価を促進する方法を提供し、該方法は、次の工程：

(a) 患者からの試料中のアテローム発生源タンパク質のレベルを得、患者からの試料中の急性期反応物質のレベルを得、かつ任意に、患者からの試料中の反アテローム発生源タンパク質のレベルを得て；

(b) (i) 該アテローム発生源タンパク質に係する第一カットポイント、及び該急性期反応物質に係する第二カットポイント、

(ii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに係する第三カットポイント、

20

(iii) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質とに係する第四カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に係する第五カットポイント、

(iv) 該アテローム発生源タンパク質に係する第六カットポイント、及び該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに係する第七カットポイント、

(v) 該アテローム発生源タンパク質と該反アテローム発生源タンパク質とに係する第八カットポイント、及び該急性期反応物質に係する第九カットポイント、

(vi) 該アテローム発生源タンパク質と該急性期反応物質と該反アテローム発生源タンパク質とに係する第十カットポイント、

(vii) 該アテローム発生源タンパク質に係する第十一カットポイント、該急性期反応物質に係する第十二カットポイント、及び該反アテローム発生源タンパク質に係する第十三カットポイント

30

の少なくとも1つを得て；

【0038】

(c) (i) アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第一の値及び急性期反応物質のレベルに係する第二の値、

(ii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに係する第三の値、

(iii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに係する第四の値、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第五の値、

(iv) アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第六の値、並びに急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第七の値、

40

(v) アテローム発生源タンパク質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第八の値、並びに急性期反応物質のレベルに係する第九の値、並びに

(vi) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第十の値、

(vii) アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第十一の値、急性期反応物質のレベルに係する第十二の値、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに係する第十三の値

の少なくとも1つを医療専門家に提供し；そして

【0039】

50

(d) 次の少なくとも1つ：

- (i) 第一の値の第一カットポイントとの比較、及び第二の値の第二カットポイントとの比較、
- (ii) 第三の値の第三カットポイントとの比較、
- (iii) 第四の値の第四カットポイントとの比較、及び第五の値の第五カットポイントとの比較、
- (iv) 第六の値の第六カットポイントとの比較、及び第七の値の第七カットポイントとの比較、
- (v) 第八の値の第八カットポイントとの比較、及び第九の値の第九カットポイントとの比較、
- (vi) 第十の値の第十カットポイントとの比較、並びに
- (vii) 第十一の値の第十一カットポイントとの比較、第十二の値の第十二カットポイントとの比較、及び第十三の値の第十三カットポイントとの比較

に基づいて、患者が無症状性冠状動脈疾患を有する可能性があるかを評価することを医療専門家に許容するように、医療専門家に1又はそれより多い適切なカットポイントを提供するを含む。

【0040】

請求の範囲自体により明示的に又は暗黙的に要求されない限り、請求項の工程は、いずれの順序でもいずれのときにも工程間の最大限の時間なしに行うことができる。例えば、臨床化学検査室は、特定の患者についての興味対象の物質に関係する値が医療専門家に提供されるならば、患者についての値を提供する数ヶ月前に医療専門家に適切なカットポイントを提供していたとしても、本発明のプロセスを実行しているであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【0041】

ある実施形態において、アテローム発生源タンパク質はOxLDLを含む。ある実施形態において、アテローム発生源タンパク質は、アポB-100部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有するOxLDLを含む。ある実施形態において、急性期反応物質は、C反応性タンパク質及び/又はフィブリノゲンである。ある実施形態において、反アテローム発生源タンパク質は、HDLを含む。ある実施形態において、免疫学的アッセイが、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るのに用いられる。ある実施形態において、免疫学的アッセイが、少なくとも約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ のアテローム発生源タンパク質に対する親和性をそれぞれ有する1種又はそれより多いモノクローナル抗体を用いる。ある実施形態において、免疫学的アッセイは、アテローム発生源タンパク質のレベルを得るために、少なくとも1種の次のモノクローナル抗体を用いる：受託番号LMBP 1660 CBでBCCM (Belgian Coordinated Collections of Microorganisms)に寄託されたハイブリドーマHyb4E6により産生されるmAb-4E6、受託番号LMBP 1659 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb1H11により産生されるmAb-1H11、及び受託番号LMBP 1661 CBでBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb8A2により産生されるmAb-8A2(細胞系統は、1997年4月24日に寄託された)。ある実施形態において、アテローム発生源タンパク質はアテローム発生源低密度リポタンパク質を含み、工程(a)は免疫学的アッセイを用いて行われ、免疫学的アッセイは、0.02 mg/dlの濃度の未希釈のヒト血漿中のアテローム発生源低密度リポタンパク質の存在を検出できる。

【0042】

本発明は、冠状動脈疾患を有する人と、有さないがそのすべてが無症状である人との間の著しく良好な区別を許容する。このことは、以下のことを考慮することにより、よりよく理解できる。

【0043】

冠状動脈疾患について無症状である人の群(すなわち集団)を典型的な試験により試験する場合(例えば、各個人からの1又はそれより多い試料を1又はそれより多い生化学マーカーについてアッセイし、次いでアッセイの結果を1又はそれより多いマーカーについて

10

20

30

40

50

の1又はそれより多い所定のカットポイントそれぞれと比較することにより)、冠状動脈疾患を有するある人は、疾患を有するとみなされ(「真の陽性」)、疾患を有するある人は、疾患を有しないとみなされる(「偽陰性」)。同様に、疾患を有さないある人は疾患を有するとみなされ(「偽陽性」)、疾患を有さないある人は疾患を有しないとみなされる(「真の陰性」)。試験の「感度」(すなわち、真の陽性の割合)は、(試験に基づいて)疾患を有するとみなされる、疾患を有する人のパーセンテージ(すなわち、真の陽性の数+偽陰性の数で割った真の陽性の数)である。試験の「特異性」(すなわち、真の陰性の数)は、(試験に基づいて)疾患を有しないとみなされる、疾患を有さない人のパーセンテージ(すなわち、真の陰性の数+偽陽性の数で割った真の陰性の数)である。Shultz EK, "Clinical Interpretation Of Laboratory Procedures," Chapter 14 in Teitz, Fundamentals of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER (eds.), 4th edition 1996, W.B.Saunders Company, pages 192-199を参照されたい。 10

【0044】

完璧な(perfect)試験は、完璧な精度を有する。よって、疾患を有する個体にとっては、該試験は、陽性の試験結果のみを示し、これらの個体のいずれかが陰性であると報告しないであろう(偽陰性がないであろう)。言い換えると、試験の感度は100%であろう。一方、疾患を有していなかった個体として、該試験は陰性の試験結果のみを示し、これらの個体のいずれかが陽性であるとは報告しないであろう(偽陽性がないであろう)。言い換えると、特異性が100%であろう。O'Marcaigh AS, Jacobson RM, "Estimating The Predictive Value Of A Diagnostic Test, How To Prevent Misleading Or Confusing Results," Clin. Ped. 1993, 32(8): 485-491を参照されたい。 20

【0045】

試験又はアッセイのカットポイント(又は閾値の値)を変更することは、感度及び特異性をしばしば変更するが、質的に逆の関係に変更する。例えば、カットポイントを低くすると、試験された集団のより多くの個体がカットポイント又は閾値の値を超える試験結果を典型的に有する。カットポイントを超える試験結果を有する個体が、試験が行われた疾患を有すると報告される場合、カットポイントを下げることは、より多くの個体が陽性の結果を有する(すなわち、疾患を有する)と報告されることになる。よって、疾患を有する人のより高い割合が、試験により疾患を有すると示される。よって、試験の感度(真の陽性の割合)は増大される。しかし、同時に、より多くの偽陽性が増える。なぜなら、疾患を有さない人のより多く(すなわち、真に「陰性」の人)が、試験に基づいて陰性であると正しくみなされるよりはむしろ、試験により、カットポイントを超える分析物の値を有すると示され、よって陽性である(すなわち、疾患を有する)と報告される。よって、試験の特異性(真の陰性の割合)は減少する。同様に、カットポイントを上昇させることは、感度を減少させかつ特異性を増加させる。よって、患者の状態を評価するための、提案される医療試験、アッセイ又は方法の精度及び有用性の評価において、感度及び特性の両方を常に考慮に入れるべきであり、感度及び特異性が報告されるカットポイントはどれであるかに注意すべきである。なぜなら、感度及び特異性は、カットポイントの範囲によって著しく変動し得るからである。 30

【0046】

しかし、試験、アッセイ又は方法の感度及び特異性を、カットポイントの全範囲にわたって単一の値のみで代表することを許容する指標が存在する。この指標は、問題の試験、アッセイ又は方法の受信者動作特性(Receiver Operating Characteristics; ROC)曲線に由来する。Shultz, "Clinical Interpretation Of Laboratory Procedures," chapter 14 in Teitz, Fundamentals of Clinical Chemistry, Burtis and Ashwood (eds.), 4th edition 1996, W.B.Saunders Company, pages 192-199; and Zweig et al., "ROC Curve Analysis: An Example Showing The Relationships Among Serum Lipid And Apolipoprotein Concentrations In Identifying Patients With Coronary Artery Disease," Clin. Chem., 1992, 38(8): 1425-1428を参照されたい。 40

【0047】

ROC曲線は、0から1まで（すなわち100%）のスケールのy軸上の感度の、0から1まで（すなわち100%）のスケールのx軸上の1マイナス特異性に等しい値に対するx-yプロットである。言い換えると、これは、試験、アッセイ又は方法の真の陽性の割合の偽陽性の割合に対するプロットである。問題の試験、アッセイ又は方法についてのROC曲線を構築するためには、患者を、問題の試験、アッセイ又は方法に無関係な、完璧に正確な又は「ゴールドスタンダード」な方法で評価して、患者が疾患、状態又は症候群について真に陽性又は陰性であるかを決定する（例えば、冠動脈造影法は、冠状動脈硬化症の存在についてのゴールドスタンダードな試験である）。また、患者は問題の試験、アッセイ又は方法を用いて試験され、カットポイントを変動させるために、患者は、試験、アッセイ又は方法に従って陽性又は陰性であると報告される。感度（真の陽性の割合）及び1マイナス特異性に等しい値（この値は偽陽性の割合に等しい）は、各カットポイントについて決定され、x-yの値の各対は、x-yダイアグラムに単独の点としてプロットされる。これらの点をつなぐ「曲線」が、ROC曲線である。

10

【0048】

曲線下面積（area under the curve；AUC）は、カットポイントの全範囲で試験、アッセイ又は方法の感度及び特異性を単独の値のみで代表することを許容する指標である。最大AUCは1（完璧な試験）であり、最小面積は1/2である。AUCが1に近いほど、試験の精度がよい。よって、例えば非アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質を用いることと比較した、（例えばアテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質を用いる）本発明の優位性を考えるある方法としては、本発明を用いて得ることができるAUCの期待される増加がある。よって、本発明は、適切に構築された比較試験が行われたとして、少なくとも5%、望ましくは少なくとも10%、好ましくは少なくとも15%のAUCの増加を示すであろう。

20

【0049】

本発明の方法の利点を理解するための別の方法が存在する。集団内の個体が疾患を有するか又は有さないかを決定するためのゴールドスタンダードな試験が存在し（例えば冠状動脈疾患のための血管造影法）、かつ問題の方法（例えばその有用性を評価している最中の新規な方法）が、個体が興味対象の疾患（例えば冠状動脈疾患）を有するかを決定するために単独のマーカー（例えば総コレステロール）のみを用いる状況を考える。x-y（二次元）グラフを用い、マーカーの値をx軸上にプロットする（例えば、デシリットル当たりのミリグラムでの総コレステロール値、この値は、始点から離れてx軸に沿って移動して増加する）。x軸に沿った各マーカー値（例えば総コレステロールレベル）について、集団中の疾患を有し（ゴールドスタンダード法により決定される）かつそのマーカー値を有する人の数を、y軸上にプロットする。次いで、これらのx-yの点をつなぐことにより、疾患を有する人の度数多角形（又は曲線）を形成する（この曲線は、集団内の真の陽性のみを表す）。（度数多角形は、異なる高さの垂直のバーを用いてx変数の異なるバンド又はクラスの度数を表すグラフであるヒストグラムに類似している。）同じ様式で、各マーカーの値について、集団内の疾患を有さず（ゴールドスタンダード法により決定される）かつそのマーカー値を有する人の数を、y軸上にプロットする。次いで、これらのx-yの点をつなぐことにより、疾患を有さない人の度数多角形（又は曲線）を形成する（この曲線は、集団内の真の陰性のみを表す）。

30

40

【0050】

問題の方法が、疾患を有さない個体（左又は真の陰性曲線）と疾患を有する個体（右又は真の陽性曲線）とを完璧に区別することができる場合、2つの曲線はオーバーラップ（交差）しない。一方、試験又は方法が2つの副次集団を完璧には区別できない場合、オーバーラップ（すなわち交差）が存在する。左の曲線の右端が右の曲線の左端にオーバーラップする。言い換えると、問題の方法を用いて試験される個体が陽性（すなわち疾患を有する）又は陰性（すなわち疾患を有さない）のいずれであるともみなすことができないマーカー（例えばコレステロールレベル）のx軸の値の範囲が存在する。疾患を有する個体が、問題の方法により疾患を有しないとみなされる場合、これは偽陰性である。疾患を有さない個体が、問題の試験により疾患を有するとみなされる場合、これは偽陽性である。

50

2つの曲線についての平均(mean)が離れるほど及び/又は各曲線についての標準偏差が小さいほど、オーバーラップの可能性は小さくかつ偽陽性又は偽陰性が存在する可能性が小さい。

【0051】

問題の方法によりいくつのマーカーが用いられるかにかかわらず、分析は同じである。例えば、方法が2つのマーカーを用い、それぞれについての読みを組み合わせることで単一の値を得る(例えば、2つの値のそれぞれを標準化し、標準化された2つの値を掛けて単一の値を得る)場合、この単一の値をグラフのx軸に、度数をy軸に表すことができる(ちょうど上記と同様に)。方法が2つのマーカーを別々に用いる場合、一方のマーカーをグラフのx軸に、他方のマーカーをy軸に、そして度数をz軸に表して三次元(すなわちx-y-z)グラフを用いることができる。この場合、陰性及び陽性の多角形(曲線)のそれぞれは、二次元であるよりもむしろ三次元であろう。問題の方法が、疾患を有するものと疾患を有さないものとの間を完璧に区別した場合、2つの三次元曲線はオーバーラップしないであろう。一方、2つの三次元曲線は、方法が完璧ではない場合にオーバーラップし、該方法は、個体の2つのマーカーの値がその個体をオーバーラップの領域(ボリューム)に位置づける場合に、その個体が疾患を有するか又は有しないとみなす(分類する)ことができないであろう。

10

【0052】

当業者は、用いられるマーカーの数にかかわらず、(真の陰性曲線と真の陽性曲線の間の)オーバーラップが小さいほど、方法がよりよいことを理解するであろう。冠状動脈疾患について無症状である一般の集団内の人々について、C反応性タンパク質及び総コレステロールを用いる方法(例えば米国特許第6,040,147号)を用いると、オーバーラップ面積は約25~40%であると予想される。言い換えると、オーバーラップ面積は、両方の曲線の全面積の約25~40%を占める(両方の曲線の全面積は、すべての無症状の人の集団を表す)。C反応性タンパク質及びアテローム発生源タンパク質、例えばOxLDLを用いる本発明の方法を用いると、オーバーラップ面積は、約20~30%に減少すると予想される。C反応性タンパク質及び総コレステロール:HDL比を用いる方法(例えば米国特許第6,040,147号)を用いると、オーバーラップ面積は約20~30%と予想される。C反応性タンパク質とアテローム発生源タンパク質、例えばOxLDLとHDLとを用いる本発明の方法を用いると、オーバーラップ面積は約15~25%に減少されると予想される。本発明の方法を用いる場合の小さいパーセンテージに見えるこれらのオーバーラップの減少は、(そうでなければおそらく手遅れになるまで冠状動脈疾患を有するとは検出されなかったであろう)関係する個体及び一般社会の両方にとって非常に重要である。

20

30

【0053】

一般の集団の約25~30%が、無症状の促進アテローム性動脈硬化症を有すると推測される。2億9千万人の2004年の米国の総人口で、一般集団の20%が無症状性冠状動脈疾患を有すると控えめに見積もって、米国で約5800万人の人が無症状の冠状動脈疾患を有する。オーバーラップのたった数パーセントのわずかな減少でさえも、少なくともさらに100~200万人の人が冠状動脈疾患を有すると検出する結果をもたらす、そして疾患を有すると知ったこれらの個体は、彼らの生活様式(例えば食事、運動)を変えようと努力するか及び/又は疾患を阻止又は後戻りさせるために薬剤(例えばスタチン)での治療を受けようとする。このような早期の介入が、彼らのうちのわずかな部分の人が急性心筋梗塞を有すること又は種々の手術(例えば大動脈冠動脈バイパス移植手術)を受けることを防ぐならば、実質的な生命及び金銭の救済となるであろう。

40

【0054】

米国心臓協会(American Heart Association)によると、2004年の米国での冠状動脈性心疾患の直接又は間接的な総費用は、約1330億ドル(比較として、すべての心血管疾患について2004年の米国での費用は約3680億ドルと見積もられる)であると見積もられ、このうち約660億ドルが直接的費用(すなわち、病院、ナーシングホーム、医療専門家、薬剤及び医療用耐久品、並びに家庭での健康管理の費用)であり、約670億ドルが間接的な費

50

用（すなわち、病的状態及び死亡による生産性の損失の費用）である。2001年に米国で冠状動脈性心疾患を有すると診断された人の数は、約1320万人と推定される。米国では、毎年40万人を超える個体が大動脈冠動脈バイパス移植手術を受け、これが米国で最も頻繁に行われている主要な手術である。これらの手術にかかる年間の費用は少なくとも100億ドルであり、寿命は平均約5年間延びる。これらの数は、血管形成術に類似する。

【0055】

冠状動脈疾患が、数千万人の無症状の個体のわずかな部分で検出することができ、それによりそのうちの少なくともいくらかが適切な行動を起こし、疾患の進行を遅らせるか又は後戻りさせることができれば、関係する社会及び個体にとってはるかに有利であろうことは明らかである。最も有利には、本発明は、無症状の人における冠状動脈疾患の著しく改良された検出を促進することにより、関係する個体及び社会に利益をもたらす。

10

【0056】

発明を実施するための最良の形態

本発明は、冠状動脈疾患について無症状のヒト患者が実際は該疾患を有する可能性を評価する方法に関する。「冠状動脈疾患」は、冠状動脈（心筋に供給する2つの主な冠状動脈、左冠状動脈と右冠状動脈とがある）内の脂肪沈着（アテローム又は動脈斑(plaque)）を伴うアテローム性動脈硬化症（動脈壁の病的な硬化又は肥厚）の段階である。

【0057】

本発明の方法において、患者からの試料中のアテローム発生源タンパク質のレベルが得られ、患者からの試料中の急性期反応物質のレベルが得られる。

20

アテローム発生源タンパク質は、いずれのアテローム発生源タンパク質でもあり得るが、当業者により理解されるように、あるものを用いるのがより望ましい（例えば、患者にとってその値を得るのが容易であるから、採用する特定の急性期反応物質との組み合わせにおいて、よりよい区別を提供する、すなわちオーバーラップを低減するからという理由による）。本明細書において用いられるように、「アテローム発生源タンパク質」は、動脈の内層（lining）において斑の形成を引き起こすか又はその形成に参加するか、あるいは言い換えると、アテローム硬化性疾患の経過に参加するタンパク質である。用いられるアテローム発生源タンパク質は、冠状動脈疾患経過の早期に体内に最初に出現するアテローム発生源タンパク質（例えば、酸化低密度リポタンパク質又はOxLDL）が、疾患の後期に最初に出現するもの（MDA修飾LDLがそのような物質であり得る）よりむしろ望ましい。よって、MDA修飾LDL（例えば、アポB-100（アポリポタンパク質 B-100）部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有するMDA修飾LDL）が有用である場合もあり得る。好ましいアテローム発生源タンパク質はOxLDLを含み、特にアポB-100（アポリポタンパク質 B-100）部分当たり少なくとも60の置換リシン残基を含有するOxLDLを含む。アテローム発生源タンパク質は、2又はそれより多いアテローム発生源タンパク質の混合物であってもよい。

30

【0058】

急性期反応物質はいずれの急性期反応物質であってもよいが、当業者により理解されるように、あるものを用いるのがより望ましい（例えば、患者にとってその値を得るのが容易であるから、採用する特定のアテローム発生源タンパク質との組み合わせにおいて、よりよい区別を提供する、すなわちオーバーラップを低減するからという理由による）。「急性期反応物質」は、炎症性刺激の結果として体内でのレベルが増加（すなわち、正の急性期反応物質）又は減少（すなわち、負の急性期反応物質）するタンパク質である。急性期反応物質は、「急性期タンパク質」ともよばれる。ほとんどの急性期反応物質が肝細胞で合成されるが、いくらかはその他の細胞、例えば単球、内皮細胞、繊維芽細胞及び脂肪細胞でつくられる。いくつかの正の急性期反応物質は、その正常のレベルが約1.5倍（by about half）から数倍まで、炎症性（急性期）応答の一部として増加するが、その他のものは、その正常のレベルの1000倍に増加することができる。負の急性期反応物質の産生は、炎症性応答の間に減少してその合成能力のより多くを正の急性期反応物質をつくる方向に体を向けることを許容すると考えられている。急性期反応物質は、2種又はそれより多い急性期反応物質の混合物であってもよいが、このような混合物は、正の急性期反応物質の

40

50

み、又は負の急性期反応物質のみを含有するのが好ましい。

【0059】

ヒトにおいて、正の急性期反応物質は、主要急性期反応物質、すなわち血清アミロイドA (SAA)及びC反応性タンパク質 (CPR)、並びにいくつかの副次的な急性期反応物質：(i) 補体系タンパク質C2、C3、C4、C5、C9、C1阻害剤及びC4結合タンパク質；(ii) 凝固タンパク質：フィブリノゲン及びフォンウィルブランド因子；(iii) プロテイナーゼ阻害剤：1-抗トリプシン、1-抗キモトリプシン、2-抗プラスミン、ヘパリンコファクターII、プラスミノゲンアクチベータ阻害剤I；金属結合タンパク質ハプトグロビン、ヘモペキシン、セルロプラスミン、マンガンスーパーオキシドジスムターゼ、並びに(iv) その他のタンパク質：1-酸性糖タンパク質、ヘムオキシゲナーゼ、フェリチン、マンノース-結合タンパク質、白血球タンパク質I、リポタンパク質(a)、リポ多糖-結合タンパク質を含む。ヒトにおいて、負の急性期反応物質は、アルブミン、プレアルブミン、トランスフェリン、アポA-I (アポリポタンパク質 A-I)、アポA-II (アポリポタンパク質 A-II)、HDL (高密度リポタンパク質)、HS糖タンパク質、インター- -トリプシン阻害剤及びヒスチジンリッチ糖タンパク質を含む。

10

【0060】

本発明において用いられる好ましい正の急性期反応物質は、C反応性タンパク質、血清アミロイドA、フォンウィルブランド因子、フェリチン及びフィブリノゲンであり、本発明において用いられる好ましい負の急性期反応物質は、アルブミン、アポA-I、アポA-II及びHDLである。最も好ましい急性期反応物質は、C反応性タンパク質及びフィブリノゲン

20

【0061】

概して、急性期反応物質は、全身性炎症のマーカーであり、いずれの特定の器官の炎症又は損傷のマーカーでもなく、いずれの特定の疾患の特異的マーカーでもない。急性期反応物質の上昇したレベルは、広い範囲の疾患及び状態（例えば、グラム陰性及びグラム陽性生物での感染、リウマチ性関節炎、腹部膿瘍、多発性硬化症、結核、熱傷及び外科的損傷を有する患者）に関係する。

【0062】

任意に用いられる反アテローム発生源タンパク質は、いずれの反アテローム発生源タンパク質であってもよいが、当業者により理解されるように、あるものを用いるのがより望ましい（例えば、患者にとってその値を得るのが容易であるから、採用する特定のアテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質との組み合わせにおいて、よりよい区別を提供する、すなわちオーバーラップを低減するからという理由による）。本明細書において用いられるように「反アテローム発生源タンパク質」は、動脈の内層において斑の形成を直接又は間接的に妨げる、あるいは言い換えると、アテローム硬化性疾患の経過を直接的又は間接的に妨げるタンパク質である。好ましい反アテローム発生源タンパク質は、HDLである。反アテローム発生源タンパク質は、2種又はそれより多いアテローム発生源タンパク質の混合物であってよい。

30

【0063】

いくつかの物質が、1より多いカテゴリに入り得る。例えば、あるタンパク質は、負の急性期反応物質であるとともに反アテローム発生源タンパク質でもあり得る（例えばHDL及びアポA-I）。このような場合において、この物質は、ただ1つのカテゴリに入るものとみなす。なぜなら、それが1より多いカテゴリに入ることは、無症状の個体が冠状動脈疾患を有したか又は有さなかったかを決定するために新たな情報を与えないからである。

40

【0064】

アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質と任意にアテローム発生源タンパク質との7つの可能な組み合わせを用いることができる（例えば算術的に(arithmetically)、図表的に(graphically)）。(i) アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質とを個別に用い、いずれの反アテローム発生源タンパク質も用いない、(ii) アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質とを一緒に用い、いずれの反アテローム発生源タンパク質も用い

50

ない、(iii) アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質とを一緒に用い、反アテローム発生源タンパク質を個別に用いる、(iv) アテローム発生源タンパク質を個別に用い、急性期反応物質と反アテローム発生源タンパク質とを一緒に用いる、(v) アテローム発生源タンパク質と反アテローム発生源タンパク質とを一緒に用い、急性期反応物質を単独で用いる、(vi) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質の3つを一緒に用いる、そして(vii) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のそれぞれを個別に用いる。

【0065】

アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質と任意に反アテローム発生源タンパク質との7つの可能な組み合わせを、以下の表1にまとめる。各組み合わせのうち、「一緒に用いる」と記載された物質は互いに一緒に用い、「単独で用いる」と記載された物質は個別に用いる。7つの組み合わせのそれぞれについて、比較を行うために必要な値の総数とカットポイントの総数(各組み合わせについて、値の数はカットポイントの数と同じである)、並びに用いられた値及びカットポイントの序数(第一から第十三まで)も示す。例えば、評価を行う場合、行うことができる比較は、(i) 第一の値(アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する)の第一カットポイント(用いられたアテローム発生源タンパク質に関係する)との比較、及び第二の値(急性期反応物質のレベルに関係する)の第二カットポイント(用いられた急性期反応物質に関係する)との比較、及び/又は(ii) 第三の値(アテローム発生源タンパク質のレベル及び急性期反応物質のレベルの両方に関係する)の第三カットポイント(アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質の両方に関係する)との比較、及び/又は(iii) 第四の値(アテローム発生源タンパク質のレベル及び急性期反応物質のレベルの両方に関係する)の第四カットポイント(アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質の両方に関係する)との比較、及び第五の値(反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する)の第五のカットポイント(反アテローム発生源タンパク質に関係する)との比較などである。

【0066】

10

20

【表 1】

表1

アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質と
任意に反アテローム発生源タンパク質との7つの組み合わせ

| | (i) | (ii) | (iii) | (iv) | (v) | (vi) | (vii) |
|--------------------|-----------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------------|
| アテローム発生源タンパク質 | 単独で用いる | 一緒に用いる | 一緒に用いる | 単独で用いる | 一緒に用いる | 一緒に用いる | 単独で用いる |
| 急性期反応物質 | 単独で用いる | 一緒に用いる | 一緒に用いる | 一緒に用いる | 単独で用いる | 一緒に用いる | 単独で用いる |
| 反アテローム発生源タンパク質 | -- [用いない] | -- [用いない] | 単独で用いる | 一緒に用いる | 一緒に用いる | 一緒に用いる | 単独で用いる |
| それぞれ必要な全値と全カットポイント | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 3 |
| 値とカットポイントの序数 | 第一及び第二 | 第三 | 第四及び第五 | 第六及び第七 | 第八及び第九 | 第十 | 第十一、第十二及び第十三 |

10

20

30

【0067】

「得る」、「得られる」など（例えば「患者からの試料中のアテローム発生源タンパク質のレベルを得」「患者からの試料中の急性期反応物質のレベルを得」「任意に、患者からの試料中の反アテローム発生源タンパク質のレベルを得て」「カットポイントを得て」などにおける）は、実体(entity)が問題のものを直接又は間接的に所有することとなるすべての方法、又はその実体がそれを有することなく、その実体の代わりに1又はそれより多い第三者により第四者へ伝えさせるすべての方法（例えば、データ及び評価を含むすべての種類の試料及び情報）を意味すると広く理解されるべきである。よって、実体が試料を得ることは、次のそれぞれを含む。(i) 実体が患者から試料を採取する（又は1又はそれより多い第三者に採取させる）こと、及び(ii) 実体が試料のライブラリを検査して（又は1又はそれより多い第三者に検査させる）、以前に分類された試料を抽出すること。同様に、実体が患者からの試料中の物質のレベルを得ることは、次のそれぞれを含む。(i) 実体が試料（患者から誰が試料を採取するか又はそれをどのようにして若しくはいつ採取する又は採取したかにかかわらず）を分析して（又は1又はそれより多い第三者に分析させる）、物質のレベルを決定すること、及び(ii) 実体が物質のデータベース又はライブラリを調べて（又は1又はそれより多い第三者に調べさせる）、物質情報の以前に得られたレベルを抽出すること。実体がカットポイントを得ることは、次のそれぞれを含む。(i) 実体が情報及び/又は試料（誰が情報及び/又は試料を得るか又はどのようにして若

40

50

しくはいつ得られたかにかかわらず)を分析して(又は1又はそれより多い第三者に分析させる)、カットポイントを決定すること、及び(ii)実体がデータベース又はライブラリを調べて(又は1又はそれより多い第三者に調べさせる)、以前に得られたカットポイントを抽出する(だれがカットポイントを抽出するか又はどのようにして若しくはいつ前に得られたかにかかわらず)こと。(本明細書において用いられるように、「含む」、「含み」などの用語は、例えば、例示的要素の非限定的及び非網羅的なリストを導入するように広く理解されるべきである。)

【0068】

よって、例えば、臨床化学検査室は、試料についてアッセイを行うときに物質のレベルを得ることができ、試料中の該物質のレベル(濃度)を決定する。臨床化学検査室は、集団についてのデータを分析するときカットポイントを得て、危険性が著しく増加するときの値を決定することができるか、又は医療の文献又はその独自のデータベースを調べてその文献又はデータベースからカットポイントを抽出するときカットポイントを得ることができる。医師は、検査室が医師にレベルを報告するとき、試料中の1又はそれより多い物質のレベルを直接得ることができるか、又は医師は、検査室が医師に物質のそのような又は類似のレベルを有する個体の冠状動脈疾患の危険性が増大している(又は減少している)か又は増大していないかを報告するか(1又はそれより多いレベルが明示的に報告されないとしても)、あるいは医師に、問題の個体はその個体についての物質のレベルのために冠状動脈疾患の危険性が増大していることを報告する(1又はそれより多いレベルが明示的に報告されないとしても)ときに、試料中の1又はそれより多い物質のレベルを間接的に得ることができる。医師は、集団についてのデータを分析して危険性が著しく増大する値を決定するとき、又は検査室が医師にカットポイントを報告するとき、カットポイントを直接得ることができる。医師は、検査室が医師に、患者の試料中に見つかった物質のレベルを有する個体の冠状動脈疾患の危険性が増大している(又は減少している)か又は増大していないかを報告する(患者のレベル及び/又はカットポイントが明示的に報告されないとしても)ときに、間接的にカットポイントを得ることができる。

【0069】

試料は、達成されるべき本発明の利益を許容するいずれの試料でもあり得る。アテローム発生源タンパク質のレベルが得られる試料、急性期反応物質のレベルが得られる試料、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルが任意に得られる試料は、患者からの同じ試料又は患者からの異なる試料であり得る。1種又はそれより多い試料は、固体、液体及び/又は気体を含み得る。例えば、試料は、組織又はそのフラクション若しくは派生物(例えば組織抽出物)、あるいは全血若しくはその他の体液又はそのフラクション若しくは派生物(例えば血漿、血清)を含み得る。好ましくは、患者からの単一の血液試料を採取し、自動化検査室設備により処理してアテローム発生源タンパク質、急性期反応物質などのレベルを得るのに必要な2又はそれより多い分析を行う。

【0070】

典型的には、「患者からの試料」は、流体試料、典型的には全血又は全血に由来する流体(例えば血漿又は血清)である。流体試料(特に全血、血漿又は血清)は、組織試料とは逆に、簡便に迅速に得られて試験されるという利点を有する。このことは、時間が本質的であり得る臨床環境において特に重要である。また、臨床医は患者から流体試料(特に血液)を採取するのに慣れており、あるマーカーは組織試料中には存在しないか又は十分な量で存在しないだろう。

【0071】

全血は、本発明の方法において用いる試験を妨害する物質、例えば細胞を含有するので、全血はあまり好ましい試料ではない。好ましい試料は、例えば遠心分離により細胞(赤血球、白血球及び血小板)を除去した全血である血漿である。血清は、(例えば凝固を起こし、次いで凝固した物質を除去することにより)フィブリノゲンを除去した血漿であり、試料として用いるには血漿に比べるとあまり好ましくない。

【0072】

10

20

30

40

50

興味対象の物質のレベルを得ることに加えて、これらの物質に関係するカットポイントを得る。カットポイント（又は閾値）は、正の指標を負の指標からわかる所定のパラメータ（例えば反応物質）の値である。例えば、成人においてデシリットル当たり40ミリグラム(mg/dL)より低いHDLの値により、しばしば、この成人が冠状動脈疾患の危険性を有するとみなされる。この場合、40 mg/dLは、少なくともその危険因子に関して、危険性がある（カットポイント未満）か又は危険性がない（カットポイント以上）ことの間のカットポイントである。糖尿病分野のある研究者は、この疾患が、一晩の絶食後に126 mg/dl又はそれより高い血糖値によるか、又は200 mg/dlを超えるランダムな血糖値（絶食なし）により示されると考えている。これらの研究者にとって、126 mg/dLの絶食血糖値が、糖尿病の指標（カットポイント以上であれば）と糖尿病でない指標（カットポイント未満であれば）との間のカットポイントである。 10

【0073】

アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質と任意にアテローム発生源タンパク質との7つの可能な組み合わせを用いることができるので（例えば算術的に、図表的に）、カットポイントのいずれの7つの組を用いることができる。(i) アテローム発生源タンパク質に関係する第一カットポイントと急性期反応物質に関係する第二カットポイント、(ii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質に関係する第三カットポイント、(iii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質に関係する第四カットポイントと反アテローム発生源タンパク質に関係する第五カットポイント、(iv) アテローム発生源タンパク質に関係する第六カットポイントと急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質に関係する第七カットポイント、(v) アテローム発生源タンパク質及び反アテローム発生源タンパク質に関係する第八カットポイントと急性期反応物質に関係する第九カットポイント、(vi) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質に関係する第十カットポイント、及び/又は(vii) アテローム発生源タンパク質に関係する第十一カットポイントと、急性期反応物質に関係する第十二カットポイントと、反アテローム発生源タンパク質に関係する第十三カットポイント。当業者には明確なように、「関係する」とは、定量的又は定性的のいずれの種類の関係を含むように広く理解されるべきである。 20

【0074】

用いられるカットポイントは、どのアテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質を採用するか（並びにこれらのカテゴリのいずれでもないいずれの更なる物質が用いられるか）、それらのレベルを決定するのにどのアッセイが用いられるか、及びどのようにしてレベルが用いられるか（例えば、アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質とが一緒に用いられ、反アテローム発生源タンパク質が個別に用いられる）に依存する。例えば、アテローム発生源タンパク質がそれ自体により使用され、採用される特定のアテローム発生源タンパク質が、冠状動脈疾患を有する個体において血漿の少なくとも2 mg/dLのレベルで典型的に存在し、冠状動脈疾患を有さない個体では検出されない（採用される特定のアッセイに応じて、0.6 mg/dL又はそれ未満のバックグラウンド又はノイズレベルを除く）ものである場合、アテローム発生源タンパク質に「関係する」カットポイントは、1.9 mg/dLと確立することができる。 30 40

【0075】

3つの物質の1つのみに関係するカットポイント(例えば、アテローム発生源タンパク質に関係するカットポイント、又は急性期反応物質に関係するカットポイント、又は反アテローム発生源タンパク質に関係するカットポイント)は、その1つの物質がその他の物質の1つとの組み合わせで用いられるならば、得る必要がない。例えば、アテローム発生源タンパク質に関係する第一カットポイントも急性期反応物質に関係する第二カットポイントも、これらの2つの物質のレベルがこれらの2つのレベルに基づく単一の値を得るために用いられるならば、得る（又は用いる）必要がない。しかし、この場合、アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質に関係する第三カットポイントは必要であろう。

【0076】

アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質(及び任意にアテローム発生源タンパク質)の患者のレベル、並びに1又はそれより多い、必要とされるカットポイントを得た後に、少なくとも1つの以下の比較を行う。(i) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第一の値の第一カットポイントとの比較、及び急性期反応物質のレベルに関係する第二の値の第二カットポイントとの比較、(ii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する第三の値の第三カットポイントとの比較、(iii) アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する第四の値の第四カットポイントとの比較、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第五の値の第五カットポイントとの比較、(iv) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第六の値の第六カットポイントとの比較、及び急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第七の値の第七カットポイントとの比較、(v) アテローム発生源タンパク質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第八の値の第八カットポイントとの比較、及び急性期反応物質のレベルに関係する第九の値の第九カットポイントとの比較、(vi) アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十の値の第十カットポイントとの比較、並びに(vii) アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十一の値の第十一カットポイントとの比較、急性期反応物質のレベルに関係する第十二の値の第十二カットポイントとの比較、及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十三の値の第十三カットポイントとの比較。用語「比較」は、予備的又は最終的、数学的又はそうでない、及び定性的又は定量的のいずれの種類と比較も含むように広く理解されるべきである。

10

20

【0077】

比較を行うのに用いられる第一、第二、第三、第四、第五、第六、第七、第八、第九、第十、第十一、第十二及び第十三の値は、患者から得られる、単独又は組み合わせでの種々の物質のレベル(すなわち、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質)に関係する。第一の値、第六の値及び第十一の値はそれぞれアテローム発生源タンパク質のレベルに関係するが、これらは同じであっても異なってもよい(なぜなら、例えば、評価を行うのに他のどの値が用いられるかに依存して、各値を決定するのに用いる方法論が異なり得るからである)。同様に、第三の値及び第四の値はそれぞれアテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質の両方のレベルに関係するが、これらは異なってもよい。同様に、第二の値、第九の値及び第十二の値は、それぞれ急性期反応物質のレベルに関係するが、これらは異なってもよい。同様に、第五の値及び第十三の値はそれぞれ反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係するが、これらは異なってもよい。

30

【0078】

同じ物質のレベルに関係する値が異なってもよいことと同様に、物質自体に関係するカットポイントも異なってもよい。例えば、第一カットポイント、第六カットポイント及び第十一カットポイントはそれぞれアテローム発生源タンパク質に関係するが、これらは、例えば、評価を行うのに他のどの物質を用いるかによって、同じであっても異なってもよい。

【0079】

当業者により理解されるように、「関係する」とは、実現されるべき本発明の利点を許容する、値のレベルとのいずれの種類の間接的関係を言うことと広く理解されるべきであり、定量的及び定性的な関係(例えば算術的、図表的)を含む。例えば、患者について得られるレベルは、単独で、又は2つからなる群で(例えば、患者についてのアテローム発生源タンパク質レベルにその患者についての急性期反応物質レベルを乗じることにより、アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質のレベルに関係する単一の値を得る)、又は3つからなる群で(例えば、患者についての標準化されたアテローム発生源タンパク質レベルにその患者についての標準化された急性期反応物質レベルを乗じ、その患者についての標準化された反アテローム発生源タンパク質レベルで除することにより、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反急性期反応物質に関係する単一の値を得る)数学

40

50

的に処理され得る。よって、各レベルは、（例えば各アッセイにより得られた後に）そのまま用いてレベルに関係する値を得るか、又はレベルに派生する値を得てレベルに関係する値を得ることができる。例えば、レベルのいくつかが又はすべては、標準化される（例えば集団全体又は副次集団についての平均又は中間で除する）か、又は標準化されるかされずにレベルの累乗（例えば二乗、三乗根）を用いることができるか、又はこれらのいずれの逆数を用いることができる。1又はそれより多いレベル（又はそれらの1又はそれより多い派生物）を階級付けする(rank)ことができ（例えば四分位で）、階級（又はそれらの1又はそれより多い派生物）が用いられる。

【0080】

1又はそれより多い他の物質（すなわち、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質の3つのカテゴリのいずれにも入らない物質）を、2つの必須の物質カテゴリ（アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質）及び任意の物質カテゴリ（反アテローム発生源タンパク質）に加えて、組み合わせ（例えば、他の物質のレベルは、3つのカテゴリの1又はそれより多い物質のレベルと数学的に組み合わせられる）又は単独で（例えば、他の物質のレベルは、3つのカテゴリの1又はそれより多い物質のレベルと数学的に組み合わせられない）用いることもできる。しかし、好ましくは、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質のカテゴリ内の物質のみを用いる。

10

【0081】

これらの3つの物質の1又はそれより多くのレベルに基づく値は、該値が1又はそれより多い他の物質にも基づいていてもまだ、これらの3つの物質の1又はそれより多くに「関係する」。例えば、1又はそれより多いこのような他の物質のレベルとともに急性期反応物質のレベルにも基づく値は、急性期反応物質のレベルに関係する。別の例としては、1又はそれより多い他の物質のレベルとともにアテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルにも基づく値は、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び反アテローム発生源タンパク質のレベルに基づく。他の物質のレベルを用いて比較に用いられる値を算出する場合（すなわち、値のそのそれぞれのカットポイントとの比較）、それぞれのカットポイントを得ることは、他の物質を考慮に入れることである。

20

【0082】

1又はそれより多い比較に基づいて（例えば、個体について得られるアテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十一の値の第十一カットポイントとの比較、個体について得られる急性期反応物質のレベルに関係する第十二の値の第十二カットポイントとの比較、並びに個体について得られる反アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する第十三の値の第十三カットポイントとの比較）、該個体が無症状性冠状動脈疾患を有する可能性について評価する。

30

【0083】

評価は、医療専門家により行われる必要はない。「医療専門家」の用語は、医師、整骨治療学の医師、ナースプラクティショナー、及び該当する法の下で診断すること及び/又は医療の経過を指図し及び/又は施すこと（例えば手術及び/又は薬）が許されるいずれの人を含む。「評価する」「評価」などの用語は、医療診断のレベルを向上させるか又はさせないいずれの種類の予備的又は最終的な決定、評定（appraisal）、斟酌、評価（evaluation）などを含むと広く理解されるべきである。主要な興味対象の物質（すなわち、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質）についての検査室の決定の結果を（例えば医師に）提供する臨床化学検査室は、あるレベルを有する個体において冠状動脈疾患の危険性が増大しているか（又は増大しているようであるか又は増大していないなど）の表示に何が提供されているか（例えば結果通知書又は他の報告書に）を単に含むことにより、評価を行ったとみなされるであろう。検査室は、ある種の比較を行うまでは、そのようなメッセージを通知書に含めないであろう。

40

【0084】

50

臨床検査室又は他の人又は実体は、医療専門家による評価（すなわち、冠状動脈疾患について無症状の患者が実際は疾患を有する可能性の評価）を促進することもできる。この場合、臨床化学検査室又は他の人又は実体は、患者からの1又はそれより多い試料における適切なレベルを直接又は間接的に得て、1又はそれより多い必要なカットポイントを直接又は間接的に得て、医療専門家にその患者についての物質に関係する1又はそれより多い値を直接又は間接的に提供し、医療専門家に適切なカットポイントを直接的又は間接的に提供することにより、医療専門家は評価を行うことができる。

【0085】

「提供する」「提供」など（例えば、「アテローム発生源タンパク質のレベルに関する第一の値及び急性期反応物質のレベルに関する第二の値...の少なくとも1つを医療専門家に提供し」「次の少なくとも1つに基づいて、患者が無症状性冠状動脈疾患を有する可能性があるかを評価することを医療専門家に許容するように、医療専門家に1又はそれより多い適切なカットポイントを提供する」におけるような）は、実体が、問題のものを実体の代わりに1又はそれより多い第三者により受容者（例えば医療専門家）に、実体がそれを所有することなく伝えさせることを含んで（例えばデータ及び評価を含むすべての種類の試料及び情報）、実体が問題のものを直接又は間接的に提供するすべての方法を意味すると広く理解されるべきである。例えば、実体が「医療専門家に1又はそれより多い適切なカットポイントを提供する」ことは、1又はそれより多いカットポイントの起源やカットポイントがいつ得られたかには関係なく、実体が医療専門家に1又はそれより多い適切なカットポイントを与えるか、入手可能にするか、伝えるかなど（又は1またはそれより多い第三者に与えさせるか、入手可能にさせるか、伝えさせるかなど）することを含む。

10

20

【0086】

アテローム発生源タンパク質及び反アテローム発生源タンパク質のそれぞれは、しばしばリポタンパク質を含む。リポタンパク質は、タンパク質と脂質の多成分複合体である。各種のリポタンパク質は、特徴的な分子量、サイズ、化学組成、密度及び物理的役割を有する。タンパク質と脂質とは、非共有力により一緒になっている。

【0087】

リポタンパク質は、超遠心分離により決定される密度に基づいて分類できる。よって、リポタンパク質の4つの種類が区別されている：高密度リポタンパク質（「HDL」）、中間型リポタンパク質（「IDL」）、低密度リポタンパク質（「LDL」）及び超低密度リポタンパク質（「VLDL」）。

30

【0088】

リポタンパク質粒子の精製タンパク質成分は、アポリポタンパク質(apo)とよばれる。各種のリポタンパク質は、特徴的なアポリポタンパク質組成を有する。LDLでは、顕著なアポリポタンパク質タンパクはアポB-100であり、これは知られている単鎖ポリペプチドペプチドでは最長のものの一つであり、4536アミノ酸からなる。これらのアミノ酸のうち、リシン残基又は部分（このようなリシン残基又は部分が356存在する）は、アルデヒド（例えばマロンジアルデヒド）により置換又は修飾されることができる。

【0089】

LDL中の脂質の酸化（インビトロ、例えば銅誘導酸化、又はインビボのいずれでも）は、反応性アルデヒドの発生をもたらし、これは次いでアポB-100のリシン残基又は部分と相互作用することができる。このリシンの置換又は修飾の結果、マロンジアルデヒド修飾低密度リポタンパク質（「MDA修飾LDL」）でもある、得られる酸化低密度リポタンパク質（「OxLDL」）は、繊維芽細胞の表面にあるLDL受容体にはもはや認識されず、マクロファージの表面にあるスカベンジャー受容体により認識される。Holvoetらは、スカベンジャー受容体に認識されるためには、アポB-100の356のリシン（又はリシン残基若しくは部分）のうち少なくとも60が置換されなければならないと報告している。マクロファージによるこのようなOxLDLの取り込みは、泡沫細胞の発生をもたらし、このことはアテローム性動脈硬化症の初期段階であると考えられる。

40

50

【0090】

酸化ストレス下の（すなわち、急性心筋梗塞患者における）内皮細胞及び活性化血小板もアルデヒドを産生し、これはアポB-100のリシン部分と相互作用してアルデヒド修飾LDLの産生をもたらす、これもスカベンジャー受容体により認識される。しかし、このアルデヒド修飾LDL中の脂質は、酸化されない。マクロファージ内の酵素活性（例えばミエロペルオキシダーゼ）は、LDLの脂質及びタンパク質部分の両方の酸化をもたらす。これらのすべての経路は、LDLのタンパク質部分のアルデヒド型修飾をもたらす。

【0091】

試料をアテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質についての試験は、達成されるべき本発明の利益を許容するいずれのアッセイ、方法論及び装置を用いることができ、例えば化学的アッセイ及び免疫学的アッセイ、例えば競合及びサンドイッチアッセイを、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質、及び反アテローム発生源タンパク質について用いることができる。

10

【0092】

免疫学的アッセイにおいて、標的種に適切な高い親和性を有するいずれの抗体を用いることができ、好ましくは、抗体はモノクローナル抗体である。「高い親和性」とは、少なくとも約 $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ （ここで、「M」はモル濃度又はリットル当たりのモル数を示し、「 M^{-1} 」は逆数モル濃度又はモル当たりのリットル数を示す）、望ましくは少なくとも約 $1 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、好ましくは少なくとも約 $1 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、最も好ましくは少なくとも約 $1 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ の親和定数（結合定数）を意味する。本明細書に用いられるように、「低い親和性」（高い親和性の反対）は、約 $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 未満、望ましくは約 $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 未満、好ましくは約 $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 未満の親和定数（結合定数）を意味する。親和定数は、Holvoetら, J. Clin. Invest. 1994, 93: 89~98に記載される適切な方法に従って測定される。

20

【0093】

好ましいアテローム発生源タンパク質は、アポB-100部分が少なくとも60、望ましくは約90まで、より望ましくは約120まで、好ましくは約180まで、より好ましくは約210まで、最も好ましくは約240までの置換リシン残基をアポB-100部分当たり含有するOxLDLを含む。上記のように、アテローム発生源タンパク質がMDA修飾LDLを含む場合があるが、この場合、MDA修飾LDLは、置換の同様な好ましいレベルを有する。リシン置換の範囲は、通常、アポB-100部分当たり60から約240までの置換リシン部分、ときにアポB-100部分当たり60から約180までの置換リシン部分である。アポB-100部分当たり約60より少ないリシンが置換又は修飾されるときに存在する、エピトープを認識する抗体は、特異性がより小さいが、それでも有用である（例えば、サンドイッチ酵素結合免疫吸着アッセイ（「ELISA」）において二次抗体として用いることができる）。

30

【0094】

OxLDL及びMDA修飾LDLのレベルを検出及び決定するのに用いられる好ましい抗体は、モノクローナル抗体mAb-4E6、mAb-1H11及びmAb-8A2である。本来の（native）LDL、MDA修飾LDL及びOxLDLについてのこれらの親和定数を、次の表2に示す（単位はモル当たりのリットル数であり、これはモル濃度の逆数又は M^{-1} である）。

【0095】

40

【表 2】

表2

| 抗体 | 本来のLDL | MDA修飾LDL | OxLDL |
|----------|----------------------|--------------------|----------------------|
| mAb-4E6 | 1×10 ⁶ 未満 | 3×10 ¹⁰ | 2×10 ¹⁰ |
| mAb-1H11 | 1×10 ⁶ 未満 | 3×10 ¹⁰ | 1×10 ⁶ 未満 |
| mAb-8A2 | 5×10 ⁹ | 1×10 ¹⁰ | 1×10 ¹⁰ |

10

【0096】

モノクローナル抗体mAb-4E6は、1997年4月24日に受託番号LMBP 1660 CBの下でBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb4E6により産生される。モノクローナル抗体mAb-1H11は、1997年4月24日に受託番号LMBP 1659 CBの下でBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb1H11により産生される。モノクローナル抗体mAb-8A2は、1997年4月24日に受託番号LMBP 1661 CBの下でBCCMに寄託されたハイブリドーマHyb8A2により産生される。

BCCMは、特許手続上の微生物の寄託の国際的承認に関する1977年4月28日のブダペスト条約（「ブダペスト条約」）で認可されたBelgian Coordinated Collections of Microorganismsである。その住所は、c/o The University of Gent, K. L. Ledeganckstraat 35, B 9000 Gent, Belgiumである。

20

【0097】

3つの寄託は、1997年4月24日に、BCCMに、ブダペスト条約により規定された条件下で、連邦規則合衆国法典（The United States Code Of Federal Regulations）（37 CFR § 1.808を参照）及び米国特許商標庁の特許審査便覧（The United States Patent And Trademark Office's Manual Of Patent Examination; MPEP）（§ 2410.01を参照）にしたがって行われた。発行された米国特許第6,309,888号は、同じ3つの寄託について言及している。

【0098】

3つの好ましい抗体は、米国特許第6,309,888号及び国際特許公報W0 98/59248及びW0 00/14548（上記のように、これらは本明細書に全体がすべての目的のために組み込まれる）に詳細に記載された手順を用いて作製された。簡単に、Balb/cマウスをOxLDL又はhMDA修飾LDLのいずれかの静脈内及び腹腔内注射により免疫にした。OxLDLは、LDL（最終アポB-100濃度700 µg/mL（ミリリットル当たりマイクログラム））の塩化銅（最終濃度640 µM）との37 °Cで16時間のインビトロインキュベーションにより得た。MDA修飾LDLは、LDL（最終アポB-100濃度700 µg/mL）の0.25 M（モル濃度）MDA溶液との37 °Cで3時間のインキュベーションにより作製した。TBARSアッセイで測定した置換リシンの数は、アポB-100分子当たりOxLDLについて典型的に210であり、MDA修飾LDLについて240であった。ハイブリドーマは、標準的な方法（Holvoetら, J. Clin. Invest. 1994; 93: 89-98）に従う、免疫にされたマウス由来の脾臓リンパ球のP3-X63/Ag-6.5.3骨髄腫細胞とのPEG誘導融合により得た。特異的抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングを、MDA修飾LDL又は銅酸化LDLでコートしたマイクロプレートを用いるELISAで行った。OxLDL（211）又はMDA修飾LDL（97）のいずれかでマウスを免疫した後に、308個のハイブリドーマを得た。Hyb4E6は、MDA修飾及び銅酸化の両方のLDLに特異的な抗体（mAb-4E6）を産生し、Hyb1H11は、MDA修飾LDLのみに特異的な抗体（mAb-1H11）を産生した。同様の方法でLDLで免疫にされたマウスはハイブリドーマHyb8A2を産生し、これは抗体mAb-8A2を産生した。

30

40

【0099】

好ましいアテローム発生源タンパク質を測定するための競合ELISAの場合、OxLDL又はMDA修飾LDLでコートされた固体の基体は、所定の時間モノクローナル抗体mAb-4E6及びOxLDL及び/又はMDA修飾LDLを含有すると考えられるか又はわかっている試料と接触させることができ、その後、試料を除去し、抗体と基体に結合したOxLDL及び/又はMDA修飾LDLとの

50

間の結合反応を視覚化して及び/又は定量する。競合ELISAでの定量化は、抗体と試料中の分析物との結合は測定されず、代わりに基体にコートされた(結合した)既知量のOxLDL又はMDA修飾LDLに結合した抗体の量を測定するので、間接的である。基体にコートした既知量のOxLDL又はMDA修飾LDLに結合した抗体が多いほど、試料中の分析物が少ない。

【0100】

モノクローナル抗体mAb-4E6を用いる典型的な競合アッセイは、次のとおりである。これは、銅酸化LDLによるmAb-4E6のマイクロタイタープレートのコートしたウェルへの結合の障害に基づく。つまり、標準OxLDL(又はMDA修飾LDL)と血漿試料とを、1 mM(ミリモル濃度) EDTA、20 μM(マイクロモル濃度)、ビタミンE、10 μM プチル化ヒドロキシトルエン、20 μM ジピリダモール及び15 mM テオフィリン含有PBS(リン酸緩衝生理食塩水)で希釈してインビトロでのLDL酸化及び血小板活性化を防ぐ。等容量の、希釈した精製mAb-4E6溶液(最終濃度7.5 ng/mL(ミリリットルあたりのナノグラム))と希釈した標準溶液又は希釈した血漿試料(50~500 ng/mLの範囲の最終濃度で、競合リガンドとして加えた銅酸化LDL)のいずれかとを混合し、室温で30分間インキュベートする。次いで、混合物の200 μL(マイクロリットル)の一定量を、MDA修飾LDL又はOxLDLでコートしたウェルに加える。一定量を室温で2時間インキュベートする。洗浄後、ウェルを1時間、マウス免疫グロブリンに対する西洋ワサビペルオキシダーゼ結合ウサギIgGでインキュベートし、再洗浄する。ペルオキシダーゼ反応を行い(Holvoetら, J. Clin. Invest. 1995, 95: 2611~2619を参照)、吸光度(A)を492 nm(ナノメートル)で読み取る。競合リガンドの存在しないコントロール及び抗体の存在しないブランクを、日常的に含めることができる。固定化されたりリガンドに対するmAb-4E6の結合のパーセント障害は:

$$\frac{A^{492\text{nm}} \text{コントロール} - A^{492\text{nm}} \text{試料}}{A^{492\text{nm}} \text{コントロール} - A^{492\text{nm}} \text{ブランク}}$$

のようにして算出でき、標準曲線は、競合リガンドの濃度に対する障害のパーセンテージをプロットすることにより得ることができる。検出の下限は未希釈のヒト血漿中に0.020 mg/dLである。

【0101】

サンドイッチELISAの場合、mAb-4E6(MDA修飾LDL及びOxLDL用)又はmAb-1H11(MDA修飾LDL用)は、固体基体に結合させ、その後、アッセイされる試料と接触させることができる。試料の除去後、特異的抗体と試料から捕捉されたOxLDL及び/又はMDA修飾LDLとの結合は、検出手段により視覚化及び/又は定量化される。検出手段は、捕捉された分析物のアポB-100部分の異なる部分を認識する、標識された、特異性がより少ない二次抗体(例えばmAb-8A2)であってよい。

【0102】

モノクローナル抗体mAb-4E6及びmAb-8A2を用いる好ましいアテローム発生源タンパク質のための典型的なサンドイッチアッセイは、次のようである。これは、モノクローナル抗体mAb-4E6でコートされたマイクロタイタープレートのウェルへの免疫反応性物質の結合、及びペルオキシダーゼで標識したモノクローナル抗体mAb-8A2を用いる、結合した免疫反応性物質の検出に基づく。この種のELISAは、インビトロ酸化及び/又はアルデヒド修飾LDLの標準溶液を調製する必要性を克服するので、臨床検査室での使用により適する。

【0103】

標準調製物及び血漿試料を、競合ELISAとの関係において上記で述べた抗酸化剤及び抗血小板物質を含有するPBSで希釈し、80倍希釈血漿及び10~0.01 nM(ナノモル濃度)のMDA修飾LDLを含有する標準溶液の180 μLの一定量を、mAb-4E6(4 μg/mL IgG溶液200 μL)でコートしたマイクロタイタープレートのウェルに入れ、室温で2時間インキュベートする。洗浄後、ウェルを1時間、西洋ワサビペルオキシダーゼ結合mAb-8A2, IgG(最終IgG濃度65 ng/mL)とインキュベートし、再洗浄する。ペルオキシダーゼ反応を、競合ELISAとの関係において上記で述べたようにして行う。492 nmで測定した吸光度は、1.5 nM~0.3 nMの間の範囲のMDA修飾LDL濃度のlogの値と相互に関係する。

【0104】

10

20

30

40

50

上記のように、本発明の利益が達成できるならば、いずれのアッセイ、方法論及び装置をも用いることができる。例えば、アッセイが抗体を用いるならば、これらの抗体は、多様な種類の自動化免疫アッセイシステムにおいて用いることができ、化学発光免疫アッセイシステム、微粒酵素免疫アッセイシステム、蛍光偏光免疫アッセイシステム及び放射性免疫アッセイシステムを含む。

【0105】

本発明の方法を、米国特許第6,309,888号に記載のデータに適用することにより、本発明の予期せぬ利点が証明される。この特許で述べているように、ルヴェン大学病院に、従業員としてか又は救急部に連れてこられたか若しくは病院に入院した個人として関係する全部で286人の個体を研究した。105人の患者が急性冠状症候群であり、64人の患者が安定CADであり、117人がコントロールであった。

10

【0106】

個体は、0.5 mmを超えるST部の上昇又は下降あるいは1 mmを超えるT波逆転を有する虚血性胸部不全感を有するのであれば、急性冠状症候群である(すなわち、冠状動脈疾患の急性段階である)と分類した。冠状動脈疾患の急性段階を有する個体のうち、入院時に又は入院後6~8時間で採取された試料中にクレアチンキナーゼ(CK)-MBレベルが上昇していた(及び全CKの少なくとも3%)個体を、AMIを有すると分類した(すなわち、急性心筋梗塞)。あるいは、このようなCK-MBの上昇がないこれらの急性段階の個体を、不安定狭心症を有すると分類した。血管造影で記録されたCADを有し、前の月に虚血の臨床的徴候を有さなかった個体は、安定CAD(すなわち、この場合、安定(慢性)狭心症)を有するとみなした。

20

【0107】

アテローム硬化性心臓血管疾患の経歴がない117人の個体(72人の男性/45人の女性;平均年齢 = 55歳)を、コントロールとして用いた。彼らは、アテローム硬化性心臓血管疾患の経歴がない病院の検査室及び臨床スタッフ並びに病院に入院した個体の集団から選択した。

【0108】

静脈血試料を、絶食状態のコントロール及び安定(慢性)狭心症の個体から採取した。急性冠状症候群の個体において、血液試料は入院時に治療を開始する前に採取した。血液試料を1 mM EDTA、20 μ M ビタミンE、10 μ M ブチル化ヒドロキシトルエン、20 μ M ジピリダモール及び15 mM テオフィリン含有0.01 Mシトレートに回収して、インビトロLDL酸化及び血小板活性化を防いだ。血液試料を、採取から1時間以内に3,000 g、室温で15分間遠心分離し、得られた血漿を、アッセイを行うまで-20 で貯蔵した。

30

【0109】

LDLを、絶食した正常リポタンパク血性のドナーからプールした血漿から、密度勾配超遠心により単離した(Havelら, J. Clin. Invest. 1955, 34: 1345~1353)。MDA修飾LDL及び銅酸化LDLは、Haberlandら, Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1982, 79: 1712~1716及びSteinbrecher, J. Biol. Chem. 1987, 262(8): 3603~3608に記載されているようにして調製し、標準物質として用いた。修飾LDLの特徴づけは、チオバルビツール酸反応性物質(「TBARS」)の測定、1%アガロースゲルでの電気泳動の移動性の測定、Nova-Pak C-18 逆相カラム(Waters Associates, Milford, Massachusetts)でのHPLCによるコレステロール及び脂肪酸の定量、Lowryアッセイによるタンパク質の定量及び酵素アッセイ(Biomerieux, Marcy, France)によるリン脂質の定量を含む。Holvoetら, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1998, 18(1): 100~107、及びHolvoetら J. Clin. Invest. 1995, 95: 2611~2619を参照。インビトロMDA修飾LDL及び銅酸化LDLのアポB-100分子は、それぞれ平均で244及び210の置換リシンを含有していた。上記のように、インビトロMDA修飾LDL及び銅酸化LDLのリシン置換の程度は非常によく似ているが、MDA修飾LDLの脂質部分は酸化されない。

40

【0110】

mAb-4E6に基づくELISAは、血漿中のOxLDLの定量に用いた(Holvoetら, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1998, 18(1): 100~107; Holvoetら, Thromb. Haemost. 1996, 76(5

50

) : 663 ~ 669; Holvoetら, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997, 17(11): 2376 ~ 2382; 及び Holvoetら, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998, 18: 415 ~ 422) を参照)。このモノクローナル抗体は、500 mg/dL の本来の LDL の存在下で、0.025 mg/dL MDA 修飾 LDL 又は銅酸化 LDL の検出を許容する。MDA 修飾 LDL の血漿レベルは、mAb-1H11 に基づく ELISA で測定した (Holvoetら, *J. Clin. Invest.* 1995, 95: 2611 ~ 2619 を参照)。このモノクローナル抗体は、500 mg/dL の本来の LDL の存在下で、0.025 mg/dL MDA 修飾 LDL の検出を許容するが、銅酸化 LDL の検出はできない。2 つの抗体の特異性がタンパク質修飾の程度に依存するので、すべてのリポタンパク質の濃度は、タンパク質について表す。

【 0 1 1 1 】

総コレステロール、HDLコレステロール及びトリグリセリドは、酵素学的方法 (Boehringer Mannheim, Meylan, France) により測定した。LDLコレステロール値は、フリーデヴァルト (Friedewald) 式を用いて算出した。トロポニン I のレベルは、Beckman ACCESS イムノアナライザーで、市販のモノクローナル抗体 (Sanofi, Toulouse, France) を用いて測定した。C 反応性タンパク質のレベルは、市販のイムノアッセイ (Boehringer, Brussels, Belgium) で測定し、Dダイマーの血漿レベルは、以前に記載されたようにして ELISA で測定した (Declerck et al., *Thromb. Haemost.* 1987, 58(4): 1024 ~ 1029 を参照)。上記のように、C 反応性タンパク質は、本発明において用いられる好ましい急性期反応物質である。Dダイマーは、血栓症候群のマーカーである。

10

得られた値を以下の表 3 に示す (「n」は、各カテゴリに入ることが独立してわかっている個体の数を示す)。

20

【 0 1 1 2 】

【表 3】

表3

| | コントロール (n = 117) | 安定狭心症 (n = 64) | 不安定狭 心症 (n = 42) | AMI (n = 63) |
|------------------------|---------------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| 年齢 | 55 ± 11 | 65 ± 10 | 72 ± 12 | 63 ± 11 |
| 男性/女性比 | 72/45 | 53/11 | 28/14 | 42/21 |
| 総コレステロール(mg/dL) | 180 ± 31 | 180 ± 35.3 | 175 ± 36.9 | 175 ± 37.2 |
| LDLコレステロール(mg/dL) | 110 ± 26 | 115 ± 30 | 109 ± 33.4 | 111 ± 32.4 |
| HDL コレステロール (mg/dL) | 49 ± 18 | 37.6 ± 13.2 | 45.2 ± 15.6 | 37.5 ± 9.7 |
| トリグリセリド(mg/dL) | 137 ± 66 | 123 ± 46.2 | 103 ± 55.4 | 125 ± 56.7 |
| 酸化LDL (mg/dL) | 0.85 ± 0.54 | 2.65 ± 0.97 | 3.22 ± 0.85 | 2.97 ± 1.02 |
| MDA修飾LDL (mg/dL) | 0.39 ± 0.15 | 0.46 ± 0.20 | 1.07 ± 0.28 | 1.19 ± 0.43 |
| トロポニンI (ng/mL) | 0.0092 ± 0.011 | 0.035 ± 0.12 | 0.37 ± 0.66 | 1.30 ± 1.08 |
| C反応性タンパク質(mg/dL) | 3.38 ± 1.79 | 6.28 ± 9.0 | 17.4 ± 29.8 | 18.2 ± 35.5 |
| Dダイマー(μg/dL) | 166 ± 162 | 299 ± 208 | 367 ± 340 | 602 ± 632 |

定量データは、平均 ± 標準偏差を示す。

【 0 1 1 3 】

oxLDLの血漿レベルは、117人のコントロールで0.85 ± 0.54 mg/dL (平均 ± 標準偏差)であり、安定狭心症の64人の患者では3.1倍高く (p < 0.001)、不安定狭心症の42人の患者で

10

20

30

40

50

は3.8倍高く ($p < 0.001$)、AMIの63人の患者では3.5倍高かった ($p < 0.001$)。(比較のために、CADでない79人の心臓移植患者は、 1.27 ± 0.061 mg/dLの又は117人のコントロールより1.5倍高いOxLDLを有し、安定CADの28人の心臓移植患者は、 2.49 ± 0.18 mg/dL又はコントロールより2.9倍高いOxLDLを有していた。心臓移植をした非CAD個体又はしなかった非CAD個体の間の明らかな違いの理由は、確かでない。)

【0114】

MDA修飾LDLの血漿レベルは、117人のコントロールで 0.39 ± 0.15 mg/dLであり、安定狭心症の64人の患者では1.2倍高いだけであったが、不安定狭心症の42人の患者では2.7倍高く ($p < 0.001$)、AMIの63人の患者では3.1倍高かった ($p < 0.001$)。(比較のために、CADでない79人の心臓移植患者は、 0.38 ± 0.016 mg/dLの又は117人のコントロールと実質的に同じMDA修飾LDLを有し、安定CADの28人の心臓移植患者は、 0.39 ± 0.038 mg/dLの又はコントロールと実質的に同じMDA修飾LDLを有していた。)

10

【0115】

C反応性タンパク質の血漿レベルは、117人のコントロールで 3.38 ± 1.79 mg/dLであり、安定狭心症の64人の患者では1.9倍高いだけであったが、不安定狭心症の42人の患者では5.1倍高く ($p < 0.001$)、AMIの63人の患者では5.4倍高かった ($p < 0.001$)。以前に発表されたデータに合致して、C反応性タンパク質は、急性冠状症候群のマーカーであることが見出された(Muldoonら, Ryanら, Oltronaら, 及びLiuzzoら, letters and reply by authors, N. Engl. J. Med. 1995, 332(6): 398~400を参照)。

【0116】

Dダイマーの血漿レベルは、117人のコントロールで 166 ± 162 μ g/dLであり、安定狭心症の64人の患者では1.8倍高いだけであったが、不安定狭心症の42人の患者では2.2倍高く ($p < 0.001$)、AMIの63人の患者では3.6倍高かった ($p < 0.001$)。以前に発表されたデータに合致して、Dダイマーは、急性冠状症候群のマーカーであることが見出された(Hoffmeister, Circulation 1995, 91(10): 2520~2527)。

20

【0117】

副次集団の「コントロール」「安定(慢性)狭心症」及び「急性冠状症候群」(後者の副次集団は、不安定狭心症の42人の個体と急性心筋梗塞の63人の個体とを含む)について、次の表4は、本発明に従って算出された値、すなわち(i)平均C反応性タンパク質を乗じた平均OxLDL、及び(ii)平均C反応性タンパク質を乗じて平均HDLで除した平均OxLDLを示す。比較として、3つの副次集団について5つの比較の場合の値も示す:(a)平均OxLDLのみ、(b)平均CRPのみ、(c)平均HDLのみ、(d)平均総コレステロールを乗じた平均C反応性タンパク質(例えば米国特許第6,040,147号及びRidkerら, "C-Reactive Protein Adds To The Predictive Value Of Total And HDL Cholesterol In Determining Risk Of First Myocardial Infarction," Circulation 1998; 97:2007~2011を参照)、及び(e)平均総コレステロールを乗じて平均HDL(id.)で除した平均C反応性タンパク質。

30

【0118】

これらを算出するのに用いる値及び数を、単位なしで表4に示す(単位は、同じ単位を有する値についてすべての比較が行われるので、適切でない)。「急性冠状症候群」欄についての値は、不安定狭心症及び急性心筋梗塞についての値の加重平均(個体の数により重みをつける)である。コントロールに対する優位性は、各コントロール平均で除した物質又は冠状動脈疾患副次集団(すなわち、「安定狭心症」又は「急性冠状症候群」)内の組み合わせについての平均として、HDL以外の各物質又は物質の組み合わせについて算出される。しかし、より高いHDLの影響は危険性を減少させることであるので(HDLは、反アテローム発生源タンパク質である)、HDLについてのコントロールに対する優位性は、冠状動脈疾患副次集団内の平均HDLで除したコントロール平均である。

40

【0119】

【表 4】

表4

| | コントロール | 安定 (慢性) 狭心症 | 急性冠状 症候群 |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| (i) OxLDL×CRP | $0.85 \times 3.38 = 2.87$ | $2.65 \times 6.28 = 16.6$ | $3.07 \times 17.9 = 55.0$ |
| コントロールに対する優位性 | -- | $16.6 / 2.87 = \mathbf{5.78}$ | $55.0 / 2.87 = \mathbf{19.2}$ |
| (ii) OxLDL×CRP / HDL | $0.85 \times 3.38 / 49 = 0.0586$ | $2.65 \times 6.28 / 37.6 = 0.443$ | $3.07 \times 17.9 / 40.5 = 1.36$ |
| コントロールに対する優位性 | -- | $0.443 / 0.0586 = \mathbf{7.56}$ | $1.36 / 0.0586 = \mathbf{23.2}$ |
| (a) OxLDL | 0.85 | 2.65 | 3.07 |
| コントロールに対する優位性 | -- | $2.65 / 0.85 = \mathbf{3.11}$ | $3.07 / 0.85 = \mathbf{3.61}$ |
| (b) CRP | 3.38 | 6.28 | 17.9 |
| コントロールに対する優位性 | -- | $6.28 / 3.38 = \mathbf{1.86}$ | $17.9 / 3.38 = \mathbf{5.30}$ |
| (c) HDL | 49 | 37.6 | 40.5 |
| コントロールに対する優位性 | -- | $49 / 37.6 = \mathbf{1.30}$ | $49 / 40.5 = \mathbf{1.21}$ |
| (d) CRP×コレステロール | $3.38 \times 180 = 608$ | $6.28 \times 180 = 1130$ | $17.9 \times 175 = 3133$ |
| コントロールに対する優位性 | -- | $1130 / 608 = \mathbf{1.86}$ | $3133 / 608 = \mathbf{5.15}$ |
| (e) CRP×コレステロール / HDL | $3.38 \times 180 / 49 = 12.4$ | $6.28 \times 180 / 37.6 = 30.1$ | $17.9 \times 175 / 40.5 = 77.3$ |
| コントロールに対する優位性 | -- | $30.1 / 12.4 = \mathbf{2.43}$ | $77.3 / 12.4 = \mathbf{6.23}$ |

10

20

30

40

【 0 1 2 0 】

本発明の利点を証明する目的のために、コントロール群にあるものが真の陰性であると仮定することができる（これは、すべてが無症状であるコントロール個体のいくらかが実際は冠状動脈疾患を有し得るので、控えめな仮定である）。当業者には理解されるように

50

、該して、2つの所定の分布（例えばある分布又は陰性曲線と陽性のもう一方）について、2つの分布の平均が遠く離れている（その他すべては等しい）場合に、2つの分布のオーバーラップはより小さい傾向にある。

【0121】

本発明の方法を用いると、コントロール副次集団についてCRP値を乗じたOxLDL値は、2.87（単位は無視する）であり、安定（慢性）狭心症副次集団について16.6（再び単位は無視する）である。よって、安定（慢性）狭心症副次集団についての平均は、コントロール副次集団の5.78倍（16.6割る2.87）であり、このことは、平均がよく分離しているのでオーバーラップがより少ないことを示す。急性冠状症候群副次集団についての平均は、コントロール副次集団の平均の19.2倍（55.0割る2.87）であり、このことは、平均がさらによく分離しているので、オーバーラップがさらに少ないことを示す。

【0122】

C反応性タンパク質との組み合わせでOxLDL（アテローム発生源タンパク質）を用いる代わりに、C反応性タンパク質との組み合わせで総コレステロール（非アテローム発生源タンパク質）を用いる場合、コントロール副次集団についてCRP値を乗じた総コレステロール値は608（単位は無視する）であり、安定（慢性）狭心症副次集団については1130（再び単位は無視する）である。安定（慢性）狭心症副次集団についての平均は、コントロール副次集団の1.86倍（1130割る608）でしかなく、このことにより、分布のオーバーラップがより大きくなる。同様に、急性冠状症候群副次集団についての平均は、コントロール副次集団の平均の5.15倍（3133割る608）であるが、本発明の範囲内の組み合わせ、すなわち、OxLDLとCRPとを一緒に用いて比が19.2（前の段落参照）であったものよりもはるかに小さい。（MDA修飾LDL（OxLDLの代わりに）をC反応性タンパク質又はC反応性タンパク質及びHDLとの組み合わせで用いる場合、該して、分離は、OxLDLを用いる場合ほど大きくはないが、総コレステロールをC反応性タンパク質又はC反応性タンパク質及びHDLとの組み合わせで用いる場合よりもよい。）

【0123】

本発明の利点を量的に表す別の方法は、安定（慢性）狭心症について（5.78（本発明で達成された）を1.86（本発明を用いずに得られた）で割ることによる）と急性冠状症候群について（19.2（本発明により達成された）を5.15（本発明を用いずに得られた）で割ることによる）の分離の2つのレベルを算術的に比較することであり、それぞれの場合は3より大きくなる。このことは、アテローム発生源タンパク質（OxLDL）と急性期反応物質（C反応性タンパク質）を用いること（本発明の範囲内）が、非アテローム発生源タンパク質（総コレステロール）と（C反応性タンパク質）（本発明の範囲外の組み合わせ）とを用いて達成される分布平均の分離よりも3倍を超えて大きい分布平均の分離を与えることを示す。

【0124】

同様に、反アテローム発生源タンパク質（例えばHDL）をもアテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質とともに用いる場合（本発明の範囲内）、安定（慢性）狭心症副次集団についての平均は、コントロール群の平均の7.56倍（0.443割る0.0586）である。急性冠状症候群の副次集団については、比が23.2（1.36割る0.0586）であり、すなわち、アテローム発生源タンパク質と急性期反応物質とアテローム発生源タンパク質とを用いる本発明を用いる場合、急性冠状症候群の副次集団の平均が、コントロール副次集団の23倍である。よって、本発明（アテローム発生源タンパク質（OxLDL）、急性期反応物質（C反応性タンパク質）及び反アテローム発生源タンパク質（HDL）の使用）を用いる場合の集団の分離は、本発明を用いない場合（総コレステロール、C反応性タンパク質及びHDLの使用）に比べて、これもまた3倍を超えて大きい（安定（慢性）狭心症の副次集団について7.56割る2.43は3より大きく、急性冠状症候群副次集団について23.2割る6.23は3よりも大きい）。

【0125】

本発明を用いて得られる分離は、OxLDL、C反応性タンパク質又はHDLのいずれかを単独で用いる場合よりもはるかによい。安定（慢性）狭心症副次集団をまず考えると、OxLDL単独では、安定（慢性）狭心症副次集団についての平均がコントロール副次集団について

の平均の3.11倍となり、C反応性タンパク質単独では、安定（慢性）狭心症副次集団についての平均がコントロール副次集団についての平均の1.86倍となり、HDL単独では、安定（慢性）狭心症副次集団の平均がコントロール副次集団の平均の1.30倍となる（それぞれ、0xLDL及びC反応性タンパク質を一緒に用いる場合の本発明の5.78よりはるかに小さく、それぞれ、0xLDL、C反応性タンパク質及びHDLを一緒に用いる場合の本発明の7.56よりはるかに小さい）。

【0126】

急性冠状症候群副次集団について、0xLDL単独では、急性冠状症候群副次集団についての平均がコントロール副次集団の平均の3.61倍となり、C反応性タンパク質単独では、安定（慢性）狭心症副次集団についての平均がコントロール副次集団の平均の5.30倍となり、HDL単独では、安定（慢性）狭心症副次集団についての平均がコントロール副次集団の平均の1.21倍となる（それぞれ、0xLDL及びC反応性タンパク質を一緒に用いる場合の本発明の19.2よりはるかに小さく、それぞれ、0xLDL、C反応性タンパク質及びHDLを一緒に用いる場合の本発明の23.2よりはるかに小さい）。

【0127】

まとめると、陰性（コントロール副次集団内のもの）と陽性（安定（慢性）狭心症又は急性冠状症候群副次集団のいずれかの内のもの）との分離は、本発明の方法を用いる場合（反アテローム発生源タンパク質あり又はなしでのアテローム発生源タンパク質と急性期反応物質）は、本発明を用いない場合（すなわち、総コレステロールとC反応性タンパク質、又は総コレステロールとC反応性タンパク質とHDL、又は3つの物質それぞれを単独で）に比べて有意に大きい。分離におけるこれらの有意な増加は、疾患の全範囲を通して本発明の方法を用いる場合に、無症状性冠状動脈疾患の人を冠状動脈疾患でない人と区別することを含めて、分離が増大することを十分に示していると考えられる。

【0128】

冠状動脈疾患を有する無症状の個体は、平均して、安定狭心症の個体についての値に比べてそれほど低くない0xLDL及びC反応性タンパク質の値を組み合わせで有すると考えられる。よって、冠状動脈疾患を有する無症状の個体を検出するために、0xLDLとC反応性タンパク質を一緒に用いるための単独のカットポイントは、例えば12の値とすることができる（コントロール副次集団は、2.87の平均値を有し、CAD陽性副次集団（安定（慢性）狭心症及び急性冠状症候群）は16.6及び55の平均値をそれぞれ有し、0xLDL及びC反応性タンパク質それぞれの標準偏差は上記の表3に示す）。

【0129】

0xLDL及びC反応性タンパク質を一緒に用いることは、上記の表1に示す第二の組み合わせである。これらを一緒に用いることにより得られる値は、本明細書において、アテローム発生源タンパク質のレベル及び急性期反応物質のレベルの両方に関係する第三の値を意味し、第三の値と比較されるカットポイントが第三カットポイントであり、アテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質の両方に関係する（上記の表1を参照）。

【0130】

0xLDL及びC反応性タンパク質を個別に用いることは、上記の表1に示す第一の組み合わせである。これらの個別のレベルから得られる値は、第一の値（アテローム発生源タンパク質のレベルに関係する）及び第二の値（急性期反応物質のレベルに関係する）であり、2つのカットポイントは、第一カットポイント（アテローム発生源タンパク質に関係する）及び第二カットポイント（急性期反応物質に関係する）である。第一カットポイント（0xLDLについて）は、1.4であり、第二カットポイント（C反応性タンパク質について）は5.2であり得る（表3の0xLDL及びC反応性タンパク質の列を参照、これらは平均及び標準偏差を示す）。

【0131】

当業者には変更及び修飾は明らかであり、請求の範囲は、本発明の真の意図及び範囲内のすべての変更及び修飾をカバーすることを意図する。

【0132】

上記のように、3つの特定のもの（すなわちアテローム発生源タンパク質、急性期反応

物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質)以外の物質を、これらの3つに加えて、単独又はこれら3つとの組み合わせのいずれかで用いることができ、請求の範囲は、少なくともアテローム発生源タンパク質及び急性期反応物質が用いられるという条件の下でのこのような使用をもカバーすることを意図する。よって、このような他の物質の使用は、これらの3つ(すなわち、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質)のうちの1つに少なくとも部分的に基づく値が、その3つのうちの1つ又はそれより多くに「関係する」ことを妨げない。例えば、アテローム発生源タンパク質のレベル及び第四の物質(すなわち、アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質又はアテローム発生源タンパク質ではない物質)のレベルに基づく値は、やはりアテローム発生源タンパク質に関する(例えば、第四の物質のレベルを乗じたアテローム発生源タンパク質のレベルは、アテローム発生源タンパク質のレベルに関する)。

10

【0133】

表4の列(i)に示す値を決定する計算を行う際に、0xLDL(アテローム発生源タンパク質)のレベルにC反応性タンパク質(急性期反応物質)のレベルを乗じた。同様に、表4の列(ii)に示す値を決定する計算を行う際に、0xLDL(アテローム発生源タンパク質)のレベルにC反応性タンパク質(急性期反応物質)のレベルを乗じ、HDL(反アテローム発生源タンパク質)のレベルで除した。

【0134】

荷重係数(例えば、0.5 C反応性タンパク質レベルを乗じた0.6 0xLDLレベル)を用いることが望ましい場合(例えば、異なるアテローム発生源タンパク質及び/又は異なるC反応性タンパク質及び/又は異なる反アテローム発生源タンパク質を用いるか、0xLDL及びC反応性タンパク質及びHDLを用いる)がある。上記のように、物質の3つのカテゴリ(アテローム発生源タンパク質、急性期反応物質及び任意に反アテローム発生源タンパク質)の2つ以上を一緒に用いる場合に、いずれの定性的又は定量的な関係を採用することができる。

20

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/US05/02327 | | | | | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---|-----------------------------------------------------------------------------|------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : G01N 33/92 US CL : 436/71 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | | | | | | | | | | |
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : Please See Continuation Sheet Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EAST/WEST, PUBMED, PALM | | | | | | | | | | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Category *</th> <th style="text-align: center;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: center;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">X</td> <td>US 6,309,888 (HOLVOET et al.) 30 October 2001 (30.10.2001), entire document</td> <td style="text-align: center;">1-42</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>ARMITAGE & COLTON. Encyclopedia of biostatistics. 1998, Vol. 5, pages 3628-3629, 3838-3842.</td> <td style="text-align: center;">1-42</td> </tr> </tbody> </table> | | | Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | X | US 6,309,888 (HOLVOET et al.) 30 October 2001 (30.10.2001), entire document | 1-42 | A | ARMITAGE & COLTON. Encyclopedia of biostatistics. 1998, Vol. 5, pages 3628-3629, 3838-3842. | 1-42 |
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | | | | | | | | | |
| X | US 6,309,888 (HOLVOET et al.) 30 October 2001 (30.10.2001), entire document | 1-42 | | | | | | | | | |
| A | ARMITAGE & COLTON. Encyclopedia of biostatistics. 1998, Vol. 5, pages 3628-3629, 3838-3842. | 1-42 | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. | | <input type="checkbox"/> See patent family annex. | | | | | | | | | |
| * Special categories of cited documents: <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </td> </tr> </table> | | | <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> | <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> | | | | | | | |
| <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> | <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> | | | | | | | | | | |
| Date of the actual completion of the international search 04 April 2005 (04.04.2005) | | Date of mailing of the international search report 08 JUN 2005 | | | | | | | | | |
| Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230 | | Authorized officer David J. Venzel <i>David J. Venzel</i> Telephone No. 571.272.1600 | | | | | | | | | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US05/02327

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 1:
436/71,13,15,811,815
435/7.1,7.2,7.21,7.92,7.93,7.94,7.95,13,967,973

フロントページの続き

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

(72) 発明者 ベイツ, ハロルド, エム.

アメリカ合衆国、ニュージャージー 08816、イースト ブランズウィック、バーンズ コート 4

Fターム(参考) 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA50 FA72 GA26

| | | | |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译) | <无法获取翻译> | | |
| 公开(公告)号 | JP2007522473A5 | 公开(公告)日 | 2007-12-27 |
| 申请号 | JP2006553139 | 申请日 | 2005-01-25 |
| [标]申请(专利权)人(译) | NAT筛选INST | | |
| 申请(专利权)人(译) | 全国筛选研究所有限责任公司 | | |
| [标]发明人 | ベイツハロルドエム | | |
| 发明人 | ベイツ,ハロルド,エム. | | |
| IPC分类号 | G01N33/53 C07K16/18 | | |
| CPC分类号 | G01N33/6893 G01N2800/324 | | |
| FI分类号 | G01N33/53.W G01N33/53.X G01N33/53.L G01N33/53.D C07K16/18 | | |
| F-TERM分类号 | 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/GA26 | | |
| 优先权 | 10/777543 2004-02-12 US | | |
| 其他公开文献 | JP2007522473A | | |

摘要(译)

如何评价具有实际的疾病中公开冠状动脉疾病的人的无症状的可能性。在动脉粥样硬化源蛋白和急性期反应物 and 任何单独的，以获得抗动脉硬化源蛋白的水平相比，有关这些材料的一个或多个切点，并且所述比较的基础上，的个人是冠状动脉疾病的可能性的评估做。动脉粥样硬化源蛋白可以是脂蛋白，急性期反应物可以是C-反应蛋白或纤维蛋白原，抗动脉粥样硬化源蛋白质可以是高密度脂蛋白。技术领域