

(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2008-502888

(P2008-502888A)

(43) 公表日 平成20年1月31日(2008.1.31)

(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 B	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
	A 6 1 P 9/00	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 37 頁)

(21) 出願番号 特願2007-515858 (P2007-515858)
 (86) (22) 出願日 平成17年6月14日 (2005. 6. 14)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年2月6日 (2007. 2. 6)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2005/006359
 (87) 国際公開番号 W02005/124364
 (87) 国際公開日 平成17年12月29日 (2005. 12. 29)
 (31) 優先権主張番号 04013954.5
 (32) 優先日 平成16年6月15日 (2004. 6. 15)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 591003013
 エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
 F. HOFFMANN-LA ROCH
 E AKTIENGESELLSCHAFT
 スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
 グレンツアーヘルストラツセ124
 (74) 代理人 100091096
 弁理士 平木 祐輔
 (74) 代理人 100096183
 弁理士 石井 貞次
 (74) 代理人 100118773
 弁理士 藤田 節

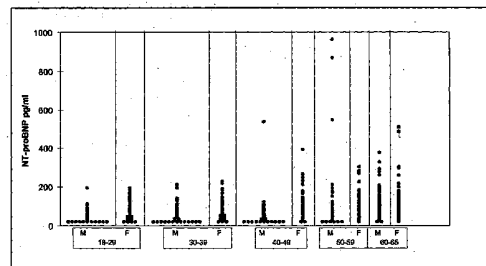
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための心臓ホルモンの使用

(57) 【要約】

本発明は、心臓毒性医薬、特にアントラサイクリンをはじめとする化学療法薬の結果として、心血管合併症、特に心疾患または急性冠症候群に罹患するリスクを診断するための、心臓ホルモンの、特にナトリウム利尿ペプチドの使用に関する。特に、本発明は、心臓毒性医薬を投与されようとしている患者についての、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断する方法に関し、該方法は、以下のステップ：(a) 体液または組織サンプルを取得するステップ、および(b) 好ましくは *in vitro* で、心臓ホルモンのレベルを測定するステップを含む。本発明に関連して好ましい心臓ホルモンは、ANP、NT-proANP、BNP、およびNT-proBNPである。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための方法であって、以下のステップ：

a) 好ましくは *in vitro* で、心臓ホルモンのレベルを測定するステップ、

b) 測定したレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、該患者のリスクを診断するステップ

を含む、上記方法。

【請求項 2】

ステップ a) を、心臓毒性医薬を投与する前に行う、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記心臓ホルモンがナトリウム利尿ペプチドである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記心臓ホルモンが、ANP 型ペプチドもしくはその変異体および / または BNP 型ペプチドもしくはその変異体である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記心臓ホルモンが BNP 型ペプチドまたはその変異体である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

BNP 型ペプチドが NT-proBNP またはその変異体である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 7】

男性患者での 60 pg/ml より高くかつ 1000 pg/ml より低い NT-proBNP の血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

女性患者での 120 pg/ml より高くかつ 1000 pg/ml より低い NT-proBNP の血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

$1000 \sim 5000 \text{ pg/ml}$ の NT-proBNP の血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの非常な増大に関連する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 10】

5000 pg/ml より高い NT-proBNP の血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの非常な増大に関連する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記心臓毒性医薬が、抗新生物薬、三環系抗うつ剤、多発性硬化症薬、局所麻酔薬、インターフェロン、コカイン、アンドロゲン、同化剤、および HIV 抗ウイルス薬からなる群より選択される、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

前記心臓毒性医薬が、抗新生物薬、特にアントラサイクリンである、請求項 11 に記載の方法。

40

【請求項 13】

前記心血管合併症が、冠動脈心疾患、急性冠症候群、心筋梗塞、左室機能不全、またはうっ血性心不全である、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

診断ステップが、リスクのモニタリングまたは確認と関連付けられる、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 15】

前記心臓ホルモンのレベルを、特異的結合リガンド、アレイ、微小流体デバイス、化学

50

発光分析器、またはロボット化デバイスを用いて測定する、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記特異的結合リガンドが、抗体またはアプタマーである、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記特異的結合リガンドが標識されている、請求項 15 または 16 に記載の方法。

【請求項 18】

患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための、患者の心臓ホルモン、特にナトリウム利尿ペプチドのレベルを、好ましくは *in vitro* で測定することが可能な診断手段の使用。

10

【請求項 19】

心臓毒性医薬を用いた患者の治療を決定する方法であって、以下のステップ：

(a) 好ましくは *in vitro* で、心臓ホルモンのレベルを測定するステップ、

(b) 測定された該心臓ホルモンレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、計画された治療の結果として患者が心血管合併症に罹患するリスクを診断するステップ、

(c) 任意により心臓病専門医による患者の診察を開始するステップ、

(d) 該方法が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの存在を示唆する場合、該治療を避けることを推奨するステップ

を含む、上記方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの診断に関する。

【背景技術】

【0002】

現代医学の目標は、個人的もしくは個別的な治療法を提供することである。それらは、患者一人一人のニーズまたはリスクを考慮に入れた治療法である。特に重大なリスクは、心血管合併症、特に、見落とされる心血管合併症の存在である。

【0003】

心血管合併症、特に心疾患は、西半球における罹患および死亡の主原因である。心血管合併症は、心臓毒性作用を示す特定の医薬、例えばアントラサイクリン治療薬が原因で生じる可能性があることが知られている。多くの場合、心臓毒性医薬に伴うリスクは用量制限的である。

30

【0004】

分子マーカーまたは生化学的マーカーとしてのナトリウム利尿ペプチドの使用は、それ自体公知である。WO 02/089657 には、心筋梗塞を診断するために脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) を測定することが推奨されている。WO 02/083913 には、うっ血性心不全、心筋梗塞、ST 上昇型心筋梗塞、または非 ST 上昇型急性冠症候群の患者において、差し迫る罹患または死亡を予測するために BNP を使用することが推奨されている。

40

【0005】

Suzuki らは、アントラサイクリンが BNP の血漿濃度に影響を与える可能性があるかを調べた (Suzuki, T. ら (1998). Elevated B-type natriuretic peptide levels after anthracycline administration. American Heart Journal, vol. 136(2), p. 362-363.). この研究から、アントラサイクリンを投与した後の心臓の状態を評価するために BNP レベルを使用しうることが示唆される。彼らの解釈によれば、BNP レベルは、心臓毒性薬剤に対する心臓の耐性を反映する可能性が最も高い。

【0006】

Okumura らは、ダウノルピシン含有療法で急性白血病を治療した患者において心

50

臓毒性の予測因子としてBNPを使用しうるかを調べた (Okumura, H.ら(2000). Brain natriuretic peptide is a predictor of anthracycline-induced cardiotoxicity. Acta Haematologica, vol. 104, p. 158-163)。著者らは、彼らの予備的結果からBNPがアントラサイクリン起因性心臓毒性に対する早期の高感度な指標として役立つことが示唆されると結論付けている。

【0007】

しかしながら、心臓毒性に関連する診断マーカーとしてのBNPの値は、依然として議論を必要とする。最近の総説では、薬剤関連心臓毒性をモニターするためにBNPを使用しうるか疑問視されている (Mohideen, M.R. (2002), Brain natriuretic peptide is more than a marker. Ceylon Medical Journal, vol. 47(3), p. 81-82)。上記の総説の後で発表された他の最近の総説では、アントラサイクリンが原因で生じる心臓毒性の診断にBNPを用いる左室機能不全の早期診断に関して「期待のもてるデータは存在しない」という結論に達している (Tsekoura, D.K.ら(2003). Brain natriuretic peptide. Hellenic Journal of Cardiology, vol. 44, p. 266-270)。

10

【0008】

アントラサイクリンにより媒介される心臓毒性の診断に対するNT-proBNPの役割は、研究の対象になっていない。

【0009】

更に、先行技術は、心臓毒性、即ち、治療が既に開始された後で薬剤が原因で生じる心臓毒性をモニターするためのBNPの潜在的使用に関するものにすぎない。

20

【0010】

しかしながら、心臓毒性医薬を投与する前でもリスク患者を特定できれば好ましいであろう。心血管合併症は長期間にわたり無症候のままである可能性があることを認識することが重要である。従って、心血管合併症の存在の信頼性の高い診断は、一般に考えられているよりも困難であり誤りを生じやすい (Svendstrup Nielsen, L.ら(2004). N-terminal pro-brain natriuretic peptide for discriminating between cardiac and non-cardiac dyspnoea. The European Journal of Heart Failure)。

【0011】

現在のところ、心疾患または高血圧症の既往歴を有する患者だけが、心臓毒性医薬を用いる治療の際に、より綿密なモニタリングを受けるにすぎない。特に、一般医や非心臓病専門医は、これまで見落とされてきた心血管障害を明らかにする簡潔な手段を有していない。

30

【特許文献1】WO 02/089657

【特許文献2】WO 02/083913

【非特許文献1】Suzuki, T.ら(1998) American Heart Journal, vol. 136(2), p. 362-363.

【非特許文献2】Okumura, H.ら(2000) Acta Haematologica, vol. 104, p. 158-163

【非特許文献3】Mohideen, M.R. (2002) Ceylon Medical Journal, vol. 47(3), p. 81-82

【非特許文献4】Tsekoura, D.K.ら(2003) Hellenic Journal of Cardiology, vol. 44, p. 266-270

40

【非特許文献5】Svendstrup Nielsen, L.ら(2004) The European Journal of Heart Failure, 6(1):63-70.

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

従って、心臓毒性医薬を投与される前にリスク患者を特定する方法または手段が必要とされている。特に、好適な診断手段を提供することが必要とされている。特に、心血管合併症の病歴を有していないリスク患者の特定を可能にする診断手段が必要とされている。特に、診断手段は、簡潔で、迅速で、信頼性が高く、しかも一般医や非心臓病専門医によ

50

る利用に適したものでなければならない。従って、本発明の目的は、そのような手段および方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明の目的は、患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための方法により達成される。この方法は、以下のステップ：

a) 好ましくは *in vitro* で、患者の心臓ホルモン、特にナトリウム利尿ペプチドのレベルを測定するステップ、

b) 測定したレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、該患者のリスクを診断するステップを含む。

【0014】

本方法はまた、患者の体液または組織サンプルを取得するステップを含みうる。

【0015】

本発明の目的はまた、患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための、患者の心臓ホルモン、特にナトリウム利尿ペプチドのレベルを、好ましくは *in vitro* で測定するための診断手段の使用により達成される。好ましくは、該レベルは、患者の体液または組織サンプル中で決定される。

【0016】

本発明は、心臓毒性医薬を投与されているかまたは投与されようとしている患者をスクリーニングして該患者が該心臓毒性医薬の結果として心血管合併症を発症するリスクを調べる簡単かつ安価な方法および手段を提供する。本発明はまた、心血管合併症の明確な症状を有するかまたは有していない患者における心血管合併症の存在または重症度を表す心臓ホルモンのレベルを提供する。

【0017】

本発明はまた、薬物の用量を患者のリスクに適合させることを可能にする。アントラサイクリンなどの多くの心臓毒性薬物では、できる限り高い用量から始めることが好ましい。しかしながら、治療を開始した後では、薬剤の用量を適合させることが困難であったり、さらには不可能であったりする可能性がある。従って、心血管合併症のリスクを最小限に抑えるために、多くの場合、最適な治療効果を示すには少なすぎる心臓毒性薬物の用量が選択される。本発明によれば治療を開始する前にリスクの診断または評価が行えるようになるので、心血管合併症を回避しつつ、それぞれの患者で治療効果が最大になるように、心臓毒性医薬の用量の最適化、特に増大を行うことが可能である。

【0018】

従って、本発明によれば、心臓毒性医薬を適用するべきか、その用量、および/または好適な併用治療もしくはモニタリングを手配するべきかに関して注意深くかつ情報に基づいた決断をすることが可能になる。

【0019】

本発明は、心臓病専門医による詳細な心臓病学的診察を頻繁に利用できない一般医、専門医、および専門の病棟、部門、または診療所に特に有利である。本発明は、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクに直面している患者についての患者の単純でかつ信頼性の高いスクリーニングを行う手段および方法をそのような非心臓病専門医に提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0020】

本発明は、特定の生化学的マーカーまたは分子マーカーを利用する。「生化学的マーカー」および「分子マーカー」という用語は、当業者に公知である。特に、生化学的マーカーまたは分子マーカーは、特定の病状、疾患、もしくは合併症の存在下または不在下で示差的に発現される（即ち、アップレギュレートまたはダウンレギュレートされる）遺伝子発現産物である。通常、分子マーカーとは、核酸（例えば mRNA）として定義され、生

10

20

30

40

50

化学的マーカーとは、タンパク質またはペプチドである。好適な生化学的マーカーまたは分子マーカーのレベルは、病状、疾患、もしくは合併症の存在または不在を示しうるので、診断を可能にする。

【0021】

本発明は、特に、生化学的マーカーとして心臓ホルモン、より特定的にはナトリウム利尿ペプチドを利用する。本発明に関連して、任意の心臓ホルモンまたはナトリウム利尿ペプチドの組合せを生化学的マーカーとして利用することも考えられる。

【0022】

本発明に係る心臓ホルモンは、ナトリウム利尿ペプチドおよびウロテンシンを包含する。特に、本発明に係る心臓ホルモンは、ナトリウム利尿ペプチドである。

10

【0023】

本発明に係るナトリウム利尿ペプチドは、ANP型およびBNP型のペプチドならびにそれらの変異体を包含する(例えば、Bonow, R.O. (1996). *New insights into the cardiac natriuretic peptides*. *Circulation* 93: 1946-1950を参照されたい)。

【0024】

ANP型ペプチドは、pre-pro ANP、pro ANP、NT-pro ANP、およびANPを包含する。

【0025】

BNP型ペプチドは、pre-pro BNP、pro BNP、NT-pro BNP、およびBNPを包含する。

20

【0026】

プレプロペプチド(pre-pro BNP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、このシグナルペプチドが酵素的に切断除去されてプロペプチド(pro BNPの場合は108個のアミノ酸)が放出される。プロペプチドはさらに、N末端プロペプチド(NTプロペプチド、NT-pro BNPの場合は76個のアミノ酸)と活性ホルモン(BNPの場合は32個のアミノ酸およびANPの場合は28個のアミノ酸)とに切断される。

【0027】

本発明に係る好ましいナトリウム利尿ペプチドは、NT-pro ANP、ANP、NT-pro BNP、BNP、およびそれらの変異体である。ANPおよびBNPは、活性ホルモンであり、それらのそれぞれの対応する不活性体であるNT-pro ANPおよびNT-pro BNPよりも短い半減期を有する。したがって、対象となる時間経過に応じて、活性型または不活性型のいずれかを測定することが有利であろう。本発明に係る最も好ましいナトリウム利尿ペプチドは、NT-pro BNPおよびその変異体である。

30

【0028】

これに関連して、「変異体」という用語は、該ペプチドに実質的に類似したペプチドを表す。「実質的に類似した」という用語は、当業者の熟知するところである。特に、変異体は、ヒト集団において最も優勢なペプチドアイソフォームのアミノ酸配列と比較してアミノ酸交換を示すアイソフォームまたは対立遺伝子でありうる。好ましくは、そのような実質的に類似したペプチドは、ペプチドの最も優勢なアイソフォームに対して、少なくとも80%、好ましくは少なくとも85%、より好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも95%の配列類似性を有する。同様に実質的に類似しているのは、診断手段によりまたは対応する全長ペプチドに対するリガンドにより依然として認識される分解産物、例えばタンパク質分解産物である。「変異体」という用語はまた、スプライス変異体をも表すものとする。

40

【0029】

「変異体」という用語はまた、グリコシル化ペプチドのような翻訳後修飾ペプチドをも表す。「変異体」はまた、例えば、標識、特に放射性標識または蛍光標識をペプチドに共有結合もしくは非共有結合させることにより、サンプル採取後に修飾されたペプチドである。

50

【0030】

特定の変異体の例およびそれらの測定方法は公知である（例えば、Ala-Kopsala, M., M agga, J., Peuhkurinen, K. et al. (2004): Molecular heterogeneity has a major impact on the measurement of circulating N-terminal fragments of A-type and B-type natriuretic peptides. Clinical Chemistry, vol. 50(9), 1576-1588を参照されたい）。

【0031】

本発明の他の実施形態は、様々なマーカーを組み合わせて同時または非同時に測定することを含む。一例は、NT-proBNPをBNPと組み合わせて測定することである。他の例は、ナトリウム利尿ホルモン、特にNT-proBNPを、トロポニン-T、CK-MB、またはミオグロビンのような心臓壊死のマーカーと組み合わせて測定することである。

10

【0032】

本発明に係る診断は、関連する疾患、合併症、またはリスクの決定、モニタリング、確認、細分類、および予測を行うことを包含する。決定とは、疾患、合併症、またはリスクに気付くことを表す。モニタリングとは、既に診断の下された疾患または合併症を追跡すること、例えば、疾患の進行を分析するかまたは疾患もしくは合併症の進行に及ぼす特定の治療の影響を分析することを表す。確認とは、他の指標またはマーカーを用いて既に行われた診断を強化または実証することを表す。細分類とは、診断の下された疾患の様々なサブクラスに基づいて診断をさらに規定すること、例えば、疾患を軽症型および重症型に規定することを表す。予測とは、他の症状またはマーカーが顕在化した状態になるかまたは顕著に変化した状態になる前に疾患または合併症の予後を判定することを表す。

20

【0033】

心血管疾患に罹患している個体は、安定狭心症(SAP)に罹患している個体および急性冠症候群(ACS)を有する個体でありうる。ACS患者は、不安定狭心症(UAP)を示す可能性があるか、またはこれらの個体は、既に心筋梗塞(MI)に罹患している。MIは、ST上昇型MIまたは非ST上昇型MIでありうる。MIが起こると、続いて、左室機能不全(LVD)が起こる可能性がある。最後に、LVD患者は、約15%の死亡率を有するうっ血性心不全(CHF)に罹患する。

【0034】

心血管疾患は、New York Heart Association(NYHA)による機能的分類体系に分類されている。クラスIの患者は、心血管疾患の明確な症状を有していない。身体活動は制限されず、通常身体活動では、過度の疲労も動悸も呼吸困難(息切れ)も生じない。クラスIIの患者は、身体活動のわずかな制限を受ける。患者は、安静時は快適であるが、通常身体活動で、疲労、動悸、または呼吸困難を生じる。クラスIIIの患者は、身体活動の顕著な制限を受ける。患者は、安静時は快適であるが、通常よりも少ない活動で、疲労、動悸、または呼吸困難を生じる。クラスIVの患者は、いかなる身体活動を行うときにも不快感を伴う。患者は、安静時に心不全の症状を示す。いかなる身体活動を始めても、不快感が増大する。従って、臨床症状を示さない個体と症状(例えば呼吸困難)を有する個体とに患者を分けることが可能である。

30

40

【0035】

心血管疾患の他の特徴は、「駆出率」としても知られる「左室駆出率」(LVEF)でありうる。健康な心臓を有する人々は、通常、50%超として一般に記述される無損傷LVEFを有する。症候性の収縮期心疾患を有するほとんどの人々は、一般的には40%以下のLVEFを有する。

【0036】

本発明は、心臓毒性医薬の結果として発症する「心血管合併症」に関する。

【0037】

本発明に係る「心血管合併症」は、任意の心血管疾患または心血管事象を表す。心血管疾患または心血管事象が二次的合併症、例えば、肺うっ血またはうっ血肺(例えば、左室

50

不全が原因で起こりうる)を引き起こす限り、二次的合併症もまた、「心血管合併症」という用語に包含されると解釈される。

【0038】

特定的には、「心血管合併症」とは、冠動脈心疾患、SAP、ACS、UAP、MI、ST上昇型MI、非ST上昇型MI、LVD、またはCHFを表す。

【0039】

より特定的には、「心血管合併症」とは、ACS、UAP、MI、ST上昇型MI、非ST上昇型MI、LVD、またはCHFを表す。

【0040】

本発明に係る心血管合併症は、症状、特定的にはNYHAクラスII~IVの症状、より特定的にはNYHAクラスIII~IVの症状を引き起こしうる。

10

【0041】

心血管合併症は、40%以下のLVEFに関連付けられる場合がある。

【0042】

心血管合併症は、「代償性」または「非代償性」のいずれかでありうる。代償性とは、生体による通常の酸素要求を依然として満たしうることを意味し、一方、非代償性とは、生体による通常の酸素要求がもはや満たされないことを意味する。

【0043】

本発明に係る「心血管合併症に罹患すること」は、既存の心血管合併症の悪化をも包含する。

20

【0044】

本発明に係る「患者」という用語は、健常な個体、外見上健常な個体、または特に疾患に罹患している個体を表す。特定的には、患者は、AIDS、癌(例えば、カポジ肉腫、乳癌、前立腺癌、もしくは白血病)、または神経障害(例えば、多発性硬化症もしくはうつ病)に罹患しているか、あるいはそれらの治療を受けている。更により特定的には、患者は、心血管合併症の既往歴を有しておらず、かつ/または心血管合併症の症状をまったくもしくはほとんど有しておらず(NYHAクラスIもしくはII)、かつ/または心血管合併症の治療を受けていない。

【0045】

好ましくは、患者は、心臓毒性医薬を投与されているかまたは投与されようとしている患者である。

30

【0046】

心臓毒性医薬は、当業者に公知である。心臓毒性医薬とは、心血管合併症を引き起こしうる任意の種類薬剤を表す。特定的には、心臓毒性医薬は、心臓の細胞損傷(例えば、アポトーシスの誘導によるもの)、組織損傷を引き起こしうるか、または心臓の伝導系に影響を及ぼしうる。

【0047】

本発明に係る心臓毒性医薬の例としては、抗新生物薬(化学療法薬)、三環系抗うつ剤、多発性硬化症薬、局所麻酔薬、インターフェロン、コカイン、アンドロゲンや同化剤のような性ホルモン、およびHIV抗ウイルス薬が挙げられる。

40

【0048】

本発明に係る抗新生物薬の例としては、アントラサイクリン(例えば、ダウノルピシン、イダルピシン、ドキシソルピシン(アドリアマイシン)、およびエピルピシン)、アントラキノン誘導体(例えば、ミトキサントロン)、アクリジン誘導体(例えば、アムサクリン)、三酸化ヒ素、ならびに、癌療法用の抗体(特定的には、HER2およびHER3に対する抗体、例えば、トラスツズマブ(ハーセプチン))が挙げられる。

【0049】

抗新生物性であるミトキサントロンはまた、多発性硬化症の治療にも使用される。

【0050】

本発明に係る三環系抗うつ剤の例としては、アミトリプチリン、アモキサピン、クロミ

50

ブラミン、デシブラミン、ドキセピン、イミブラミン、ノルトリプチリン、プロトリプチリン、およびトリミブラミンが挙げられる。

【0051】

本発明に係る局所麻酔薬の例としては、コカインおよびその誘導体、例えば、ベンゾカイン、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、エチドカイン、プリロカイン、メピバカイン、プピバカイン、ロピバカイン、S-ロピバカイン、アルチカイン、およびフォモカインが挙げられる。

【0052】

以上に規定された薬物の修飾体もまた、本発明に係る心臓毒性医薬であると解釈される。そのような修飾体の例としては、ペグ化体またはリポソーム製剤、例えば、いわゆる「ステルスリポソーム」が挙げられる。特定例は、リポソーム化ドキシソルピシン（例えば、D-99）、ペグ化リポソーム化ドキシソルピシン（例えば、Caelyx、Doxil）、およびリポソーム化ダウノルピシン（例えば、Daunoxome）である。

10

【0053】

アンドロゲンの例は、テストステロン、5 α -ジヒドロテストステロン、メチルテストステロン、プロピオン酸テストステロン、ウンデカン酸テストステロン、エナント酸テストステロン、フルオキシメステロン、およびメステロンである。

【0054】

同化剤としては、アンドロゲン作用を減少させると同時にタンパク質生成に及ぼす刺激作用を増大させるように改変されたアンドロゲンが挙げられる。同化剤の例は、デカン酸ナンドロロン、酢酸クロステポール、および酢酸メテノロン、アロマターゼ阻害剤、ならびに交感神経刺激剤（例えば、クレンプテロール）である。

20

【0055】

HIV抗ウイルス薬の例は、HIVプロテアーゼ阻害剤（例えば、アンブレナビル、インジナビル、ネルフィナビル、リトナビル、サキナビル）、ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤（NRTI、例えば、ジドブジン（AZT）、アバカビル、ジダノシン、ラミブジン、スタブジン、ザルシタピン）、および非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤（NNRTI、例えば、デラビルジン、エファビレンツ、ネビラピン）である。

【0056】

HIV抗ウイルス薬はまた、HAART（高活性抗レトロウイルス治療）療法にも含まれる。古典的HAART療法は、2種のNRTIと1種のHIVプロテアーゼ阻害剤との同時治療を含む。

30

【0057】

HIV治療で使用される心臓毒性薬物の詳細なリストは、Barbaro, G., (2002). Cardiovascular Manifestations of HIV Infection. Circulation, vol. 106, pp.1420-1425の1424頁の表2に与えられている。

【0058】

同様に心臓毒性医薬とみなされるのは、記載の薬剤と他の薬剤との組合せであり、例えば、化学療法薬を、三環系抗うつ剤、局所麻酔薬、インターフェロン、またはアンドロゲンと組み合わせることが可能である。他の例として、多発性硬化症薬を三環系抗うつ剤またはインターフェロンと組み合わせることが可能である。

40

【0059】

当業者に公知のように、特定の組合せまたは修飾体は、より少ない心臓毒性作用を示すので、本発明により心血管合併症のリスクの増大または大きな増大が示唆される場合、治療の選択肢を提供する。例えば、先に挙げたペグ化薬物またはリポソーム製剤は、心臓毒性を減少させる目的で開発されてきた。

【0060】

コカインおよびアンドロゲンは、乱用薬物としても知られる。例えば、多くのHIV患者は、薬物乱用者でもあるので、HIV抗ウイルス薬を用いて治療を開始すると、心血管合併症を引き起こす可能性がある。同様に、アスリートは、運動能力を増大させるために

50

コカインおよび/またはアンドロゲンを頻繁に使用する。この場合も、追加の心臓毒性医薬により、心血管合併症を引き起こす可能性がある。従って、本発明はまた、そのような患者が追加の心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの診断に関する。

【0061】

どのような状況のときに心血管合併症が心臓毒性医薬の「結果として」発症したとみなしうるかについては、当業者に公知である。特に、心血管合併症は、心臓毒性医薬による治療開始後1ヶ月間以内、特定的には1週間以内、より特定的には1日以内に発症したならば心臓毒性医薬の結果として発症したとみなされる。

【0062】

本発明に係る診断は、好ましくは、診断手段を用いて行われる。診断手段とは、対象物質、特定的には対象ペプチドまたは対象ポリペプチド、より特定的には心臓ホルモンのレベル、量、または濃度の測定を可能にする任意の手段のことである。

10

【0063】

それぞれのペプチドのレベルを決定するのに使用しうる方法および診断手段は、当業者に公知である。これらの方法としては、ELISAに基づくマイクロプレート法、完全自動化もしくはロボット化免疫アッセイ（例えば、E l e c s y s ^{T M} 分析器を用いて実施可能）、CBA（酵素的コバルト結合アッセイ、例えば、R o c h e - H i t a c h i ^{T M} 分析器を用いて実施可能）、およびラテックス凝集アッセイ（例えば、R o c h e - H i t a c h i ^{T M} 分析器を用いて実施可能）が挙げられる。

【0064】

さらに、当業者は、ペプチドまたはポリペプチドのレベルを測定する様々な方法に精通している。「レベル」という用語は、患者または患者から採取されたサンプルにおけるペプチドもしくはポリペプチドの量または濃度を表す。

20

【0065】

本発明に係る「測定」という用語は、核酸、ペプチド、ポリペプチド、または他の対象物質の量もしくは濃度を、好ましくは半定量的または定量的に、決定することを表す。測定は、直接的または間接的に実施可能である。間接的測定としては、細胞応答、結合リガンド、標識、または酵素反応生成物の測定が挙げられる。

【0066】

本発明に関連して、量とは、濃度も表す。自明なことではあるが、既知サイズのサンプル中の対象物質の全量から物質の濃度を計算することが可能であり、その逆方向の計算も可能である。

30

【0067】

測定は、当技術分野で公知の任意の方法により実施可能である。好ましい方法について、以下で説明する。

【0068】

好ましい実施形態では、対象ペプチドまたは対象ポリペプチド、特に心臓ホルモンのレベルを測定するための方法は、以下のステップ：（a）該ペプチドまたはポリペプチドに対して細胞応答を起こしうる細胞を適切な時間にわたり該ペプチドまたはポリペプチドに接触させるステップ、（b）細胞応答を測定するステップ、を含む。

40

【0069】

他の好ましい実施形態では、対象ペプチドまたは対象ポリペプチド、特に心臓ホルモンのレベルを測定するための方法は、以下のステップ：（a）該ペプチドまたはポリペプチドを適切な時間にわたり好適な基質に接触させるステップ、（b）生成物の量を測定するステップ、を含む。

【0070】

他の好ましい実施形態では、対象ペプチドまたは対象ポリペプチド、特に心臓ホルモンのレベルを測定するための方法は、以下のステップ：（a）該ペプチドまたはポリペプチドを特異的結合リガンドに接触させるステップ、（b）（任意により）非結合リガンドを除去するステップ、（c）結合リガンドの量を測定するステップ、を含む。

50

【0071】

好ましくは、ペプチドまたはポリペプチドは、サンプル中、特に体液または組織サンプル中に含まれ、サンプル中のペプチドまたはポリペプチドの量が測定される。

【0072】

ペプチドおよびポリペプチド(タンパク質)は、組織、細胞、および体液サンプルで、即ち、好ましくは *in vitro* で、測定可能である。好ましくは、対象ペプチドまたは対象ポリペプチドは、体液サンプルで測定される。

【0073】

本発明に係る組織サンプルは、死亡したかもしくは生きている人体または動物体から取得される任意の種類組織を意味する。組織サンプルは、当業者に公知の任意の方法により、例えば、生検または搔爬により、取得可能である。

10

【0074】

本発明に係る体液としては、血液、血清、血漿、リンパ液、脳脊髄液、唾液、および尿が挙げられる。特に、体液としては、血液、血清、血漿、および尿が挙げられる。体液のサンプルは、当技術分野で公知の任意の方法により取得可能である。

【0075】

細胞サンプルの取得方法としては、単一細胞または少数の細胞群の直接的調製、組織の分散(例えば、トリプシンを用いる)、および濾過や遠心分離などによる体液からの細胞分離が挙げられる。本発明に係る細胞はまた、血小板および他の無核細胞、例えば赤血球を包含する。

20

【0076】

必要であれば、サンプルを更に処理することも可能である。特に、濾過法、遠心分離法、またはクロロホルム/フェノール抽出のような抽出法をはじめとする当技術分野で公知の方法により、核酸、ペプチド、またはポリペプチドをサンプルから精製することが可能である。

【0077】

細胞応答を測定するために、サンプルまたは処理サンプルを細胞培養物に添加して、細胞内または細胞外の応答を測定する。細胞応答としては、レポーター遺伝子の発現、またはペプチド、ポリペプチド、もしくは小分子などの物質の分泌が挙げられる。

【0078】

他の好ましい測定方法としては、対象ペプチドまたは対象ポリペプチドに特異的に結合するリガンドの量を測定することが挙げられる。本発明に係る結合は、共有結合と非共有結合の両方を包含する。

30

【0079】

本発明に係るリガンドは、対象ペプチドまたは対象ポリペプチドに結合する任意のペプチド、ポリペプチド、核酸、または他の物質でありうる。周知のごとく、ペプチドまたはポリペプチドは、人体もしくは動物体から取得または精製する場合、グリコシル化などにより修飾されている可能性がある。本発明に係る好適なリガンドは、そのような部位を介してペプチドまたはポリペプチドに結合するものでもよい。

【0080】

好ましくは、リガンドは、測定対象のペプチドまたはポリペプチドに特異的に結合するものでなければならない。本発明に係る「特異的結合」は、リガンドが試験サンプル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する(それらと「交差反応する」)ものであってはならないことを意味する。好ましくは、特異的に結合されるタンパク質またはアイソフォームは、任意の他の相応なペプチドまたはポリペプチドの少なくとも3倍、より好ましくは少なくとも10倍、さらにより好ましくは少なくとも50倍高いアフィニティーで結合されなければならない。

40

【0081】

特に、検査されるペプチドまたはポリペプチドが、例えば、ウェスタンブロットにおけるサイズにより、またはサンプル中の比較的高い存在量により、依然として識別可能であ

50

りかつ明確に測定可能であるならば、非特異的結合は、許容される場合がある。

【0082】

リガンドの結合は、当技術分野で公知の任意の方法により測定可能である。好ましくは、方法は、半定量的または定量的である。好適な方法について、以下で説明する。

【0083】

第1に、例えば、NMRまたは表面プラズモン共鳴により、リガンドの結合を直接測定しうる。

【0084】

第2に、リガンドが対象ペプチドまたは対象ポリペプチドの酵素活性の基質としても機能するのであれば、酵素反応生成物を測定することが可能である（例えば、切断された基質の量をウェスタンブロットなどで測定することにより、プロテアーゼの量を測定することが可能である）。

【0085】

酵素反応生成物の測定では、好ましくは、基質の量は飽和状態である。また、反応前に、検出可能な標識で基質を標識することも可能である。好ましくは、サンプルを適切な時間にわたり基質に接触させる。適切な時間とは、検出可能な、好ましくは測定可能な量の生成物を生成するのに必要な時間を意味する。生成物の量を測定する代わりに、所与の（例えば検出可能な）量の生成物が出現するのに必要な時間を測定することも可能である。

【0086】

第3に、リガンドを共有結合または非共有結合で標識に結合させることにより、リガンドの検出および測定を可能にすることができる。

【0087】

標識化は、直接的または間接的な方法により実施可能である。直接的な標識化は、標識をリガンドに（共有結合または非共有結合で）直接結合させることを含む。間接的な標識化は、一次リガンドに二次リガンドを（共有結合または非共有結合で）結合させることを含む。二次リガンドは、一次リガンドに特異的に結合するものでなければならない。該二次リガンドは、好適な標識に結合可能であり、かつ/または二次リガンドに結合する三次リガンドの標的（受容体）でありうる。シグナルを増大させるために、二次、三次、またはより高次のリガンドの使用がしばしば行われる。好適な二次およびより高次のリガンドとしては、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.）が挙げられる。

【0088】

当技術分野で公知のように、リガンドまたは基質を1種以上のタグで「タグ付け」することも可能である。その場合、そのようなタグは、より高次のリガンドの標的でありうる。好適なタグとしては、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、A型インフルエンザウイルスヘマグルチニン（HA）、マルトース結合タンパク質などが挙げられる。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末端に存在する。

【0089】

好適な標識は、適切な検出法により検出可能な任意の標識である。典型的な標識としては、金粒子、ラテックスビーズ、アクリダンエステル、ルミノール、ルテニウム、酵素活性標識、放射性標識、磁気標識（「例えば、磁気ビーズ」、常磁性標識および超常磁性標識を包含する）、および蛍光標識が挙げられる。

【0090】

酵素活性標識としては、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、およびそれらの誘導体が挙げられる。検出に好適な基質としては、ジアミノベンジジン（DAB）、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン、NBT - BCIP（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（Roche Diagnosticsから調製済みのストック溶液として入手可能））、CDP - StarTM（Amersham Biosciences）

10

20

30

40

50

、E C F^{T M} (Amersham Biosciences) が挙げられる。好適な酵素 - 基質の組合せを用いれば、当技術分野で公知の方法 (例えば、感光性フィルムまたは好適なカメラシステムを用いる方法) により測定しうる着色反応生成物 (蛍光または化学発光) を生成させることが可能である。酵素反応の測定に関しては、先に記載した基準が同じように適用される。

【0091】

典型的な蛍光標識としては、蛍光タンパク質 (例えば、GFP およびその誘導体)、Cy3、Cy5、Texas Red、フルオレセイン、および Alexa 色素 (例えば、Alexa 568) が挙げられる。さらなる蛍光標識は、例えば、Molecular Probes (Oragon) から入手可能である。さらに、蛍光標識として量子ドットの使用も考えられる。

【0092】

典型的な放射性標識としては、³⁵S、¹²⁵I、³²P、³³Pなどが挙げられる。放射性標識は、任意の公知の適切な方法、例えば、感光性フィルムまたは蛍光体イメージャーにより、検出可能である。

【0093】

本発明に係る好適な測定法としては、このほかに、沈降 (特に免疫沈降)、電気化学発光 (電解発生化学発光)、RIA (放射免疫アッセイ)、ELISA (酵素結合免疫吸着アッセイ)、サンドイッチ酵素免疫試験、電気化学発光サンドイッチ免疫アッセイ (ECLA)、解離増強ランタニド蛍光免疫アッセイ (DELFLIA)、シンチレーション近接アッセイ (SPA)、比濁法、比臙法、ラテックス増強比濁法またはラテックス増強比臙法、固相免疫試験、および質量分析、例えば、SELDI-TOF、MALDI-TOF、またはキャピラリー電気泳動 - 質量分析 (CE-MS) が挙げられる。当技術分野で公知のさらなる方法 (例えば、ゲル電気泳動、2Dゲル電気泳動、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)、ウェスタンブロッティング) を、単独でまたは標識化もしくは先に記載の他の検出法と組み合わせて、使用することが可能である。

【0094】

好ましいリガンドとしては、抗体、核酸、ペプチドまたはポリペプチド、およびアプタマー (例えば、核酸アプタマーまたはペプチドアプタマー) が挙げられる。そのようなリガンドに対する方法は、当技術分野で周知である。例えば、好適な抗体またはアプタマーの特定法および産生法もまた、供給業者により提供される。当業者は、より高い親和性または特異性を有するそのようなリガンドの誘導体の開発方法に精通している。例えば、ランダム突然変異を核酸、ペプチド、またはポリペプチドに導入することが可能である。次に、当技術分野で公知のスクリーニング手順、例えば、ファージディスプレイにより、これらの誘導体を結合に関して試験することが可能である。

【0095】

本明細書中で使用される「抗体」という用語は、ポリクロナール抗体およびモノクロナール抗体の両方、更にはそれらのフラグメント、例えば、抗原またはハプテンに結合可能な Fv、Fab、および F(ab)₂ フラグメントを包含する。

【0096】

他の好ましい実施形態では、好ましくは核酸、ペプチド、ポリペプチドよりなる群から、より好ましくは核酸、抗体、またはアプタマーよりなる群から選択されるリガンドは、アレイ上に存在する。

【0097】

該アレイは、対象のペプチド、ポリペプチド、または核酸に対して特異性を有する少なくとも1種の追加のリガンドを含む。該追加のリガンドはまた、本発明に関連する特定の対象でないペプチド、ポリペプチド、または核酸に対して特異性を有していてもよい。好ましくは、本発明に関連する少なくとも3種、好ましくは少なくとも5種、より好ましくは少なくとも8種の対象ペプチドまたは対象ポリペプチドに対するリガンドが、アレイ上に含まれる。

【0098】

本発明では、「アレイ」という用語は、少なくとも2種の化合物が一次元、二次元、も

10

20

30

40

50

しくは三次元の配置で付着または結合する固相もしくはゲル状の担体を意味する。そのようなアレイ（例えば、「遺伝子チップ」、「タンパク質チップ」、抗体アレイなど）は、当業者に広く知られており、典型的にはガラス製顕微鏡スライド上、特にコーティングガラススライド上、例えば、ポリカチオン、ニトロセルロース、もしくはビオチンでコーティングされたスライド上、カバースリップ上、および膜上、例えば、ニトロセルロースまたはナイロンをベースとする膜上に作製される。

【0099】

アレイは、結合リガンドまたはそれぞれ少なくとも1種のリガンドを発現する少なくとも2種の細胞を含む。

【0100】

本発明に係るアレイとして「サスペンションアレイ」を使用することも考えられる（No lan JP, Sklar LA. (2002). Suspension array technology: evolution of the flat-array paradigm. Trends Biotechnol. 20(1):9-12）。そのようなサスペンションアレイでは、マイクロビーズやマイクロスフェアなどの担体は、懸濁状態で存在する。アレイは、様々なリガンドを担持する様々なマイクロビーズまたはマイクロスフェア（標識化されていてもよい）で構成される。

【0101】

本発明は更に、少なくとも1種のリガンドを他のリガンドに加えて担体材料に結合してなる先に規定されるようなアレイの作製方法に関する。

【0102】

固相化学や光活性保護基などをベースとするそのようなアレイの作製方法は、広く知られている（US 5,744,305）。そのようなアレイはまた、物質または物質ライブラリーに接触させることにより、結合やコンフォメーション変化などの相互作用に関して試験することが可能である。従って、先に規定されるようなペプチドまたはポリペプチドを含むアレイは、該ペプチドまたはポリペプチドに特異的に結合するリガンドを特定するために使用可能である。

【0103】

本発明に係る方法は、測定したレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、患者のリスクを診断するステップを含む。

【0104】

当業者であれば、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの種々の段階に関連する心臓ホルモンの既知のレベルを決定することが可能である。

【0105】

本発明では、「リスク」という用語は、特定の事象、より特定的には心血管合併症が発生する可能性を表す。リスクの段階は、増大しているか、大きく増大しているか、または非常に大きく増大している、とすることができる。リスクの段階はまた、増大していない可能性もある。「リスクの増大なし」とは、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクが見かけ上存在しないことを意味する。

【0106】

どのレベルがリスクのどの段階に関連するかに関する指標は、心血管疾患の存在または重症度に関連する公知の心臓ホルモンのレベルから導出することが可能である。例えば、50歳未満の個体で得られた97.5百分位数に基づいて、NT-proBNPの血漿レベル125pg/mlを正常レベルであるとみなした（実施例3参照）。より高いNT-proBNPレベルは、例えば、NYHA分類に基づく症状レベルおよびLVEFの悪化レベルと相関する。「血漿レベル」という用語は、血漿中で測定されるNT-proBNPのレベルを表す。

【0107】

心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの指定の段階に関連すると一般にみなされるNT-proBNPの血漿レベルを以下に示す。

【0108】

10

20

30

40

50

以下に示したレベルは、患者のリスクの第1の分類としての役割を果たすにすぎないことは明らかである。例えば、リスクはまた、特定の患者の心臓の余剰ポンプ容量に依存する。

【0109】

既知レベルの値はまた、診断の所望の感度または特異性に応じて選択することが可能である。所望の感度が高いほど、診断の特異性は低く、その逆も成り立つ。例えば、リスクを規定するために選択されるNT-proBNPの既知レベルが高いほど、診断の特異性は高いであろう。しかしながら、診断の感度は、より低いであろう。

【0110】

そのほかに、当業者であれば、以下に更に示される実施例から、他の適合するレベル、特に、高齢患者や甲状腺機能のマーカー（例えば、TSHまたはFT4）のレベルが増大または低減した患者のような特定の患者集団において適合するレベル、を決定することが可能である。

10

【0111】

典型的には、50 pg/ml未満のNT-proBNPの血漿レベルは、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連しない。特に、男性患者では、約60~100 pg/ml未満の血漿レベルは、リスクの増大に関連せず、女性患者では、約120~150 pg/ml未満の血漿レベルは、リスクの増大に関連しない。平均値は125 pg/mlである。

【0112】

典型的には、リスクの増大なしに対する血漿レベルよりも高いが1000 pg/mlよりも低いNT-proBNPの血漿レベルは、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する。

20

【0113】

典型的には、1000~5000 pg/mlのNT-proBNPの血漿レベルは、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの大きな増大に関連する。

【0114】

典型的には、5000 pg/mlよりも高いNT-proBNPの血漿レベルは、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの非常に大きな増大に関連する。

【0115】

患者のリスクが診断されれば、以下に記載されるような後続治療の結果を有しうる。以下に記載のリスクの段階は、特に、以上に記載のNT-proBNPのレベルに関連するリスクの段階を意味する。

30

【0116】

本発明に係る方法によりリスクの増大なしと示唆された場合、計画通り治療を継続しうる。

【0117】

本発明に係る方法によりリスクの増大が示唆された場合、治療を適合化させることができる。好ましくは、治療は、本発明に係る心臓ホルモンのレベルのさらなる測定およびさらなる診断、例えば、心電図検査、心エコー検査、または熟練心臓病専門医に公知の任意の他の好適な方法を伴うであろう。心臓毒性医薬の用量を減少させてもよく、かつ/または心臓毒性のより低いタイプの医薬を治療に供すべく選択してもよい。そのほかに、治療の適合化としては、塩分摂取の制限、定期的な適度の運動、非ステロイド系抗炎症剤の回避、インフルエンザおよび肺炎球菌の予防接種の実施、利尿剤（2種以上の利尿剤の共投与を包含する）、ACE阻害剤、アドレナリンブロッカー、アンジオテンシン受容体ブロッカー、ジギタリスなどの薬物の投与のような手段、および公知で当業者により適切であるとみなされる任意の他の手段が挙げられる。従って、本発明はまた、心臓毒性医薬を投与されているかまたは投与されようとしている患者を治療する方法を提供する。

40

【0118】

本発明に係る方法によりリスクの大きな増大が示唆された場合、リスクの増大に関して

50

記載されるように治療を適合化させることができる。しかしながら、いずれかの心臓毒性医薬が許容されるか再検討することも可能である。

【0119】

本発明に係る方法によりリスクの非常に大きな増大が示唆された場合、リスクの大きな増大に関して記載されるように治療を適合化させることができる。しかしながら、即時入院および/または集中的心臓治療も考えられる。

【0120】

他の実施形態では、本発明は、心臓毒性医薬を用いた患者の治療を決定する方法に関する。該方法は、以下のステップ：(a)好ましくは *in vitro* で、心臓ホルモンのレベルを測定するステップ、(b)測定された該心臓ホルモンレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、計画された治療の結果として患者が心血管合併症に罹患するリスクを診断するステップ、(c)任意により心臓病専門医による患者の診察を開始するステップ、(d)任意により心臓病専門医による患者の診察の結果を考慮して、治療を開始することまたは治療を避けることを推奨するステップを含む。好ましくは、心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの存在が本方法により示唆された場合、心臓病専門医による診察を開始することおよび/または治療を避けることを推奨する。本明細書に記載の本発明のすべての実施形態または好ましい態様に基づいて本方法を適合化させることは明らかである。

10

【実施例】

【0121】

以下の実施例により本発明について説明する。

20

【0122】

実施例 1

NT-proBNPの測定：

Electsys 2010を用いて電気化学発光免疫アッセイ (Electsys proBNP サンドイッチ免疫アッセイ; Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) により、NT-proBNPを測定した。電気化学発光サンドイッチ免疫アッセイの原則に従ってアッセイを行う。第1のステップでは、ビオチン標識化 IgG (1-21) 捕捉抗体、ルテニウム標識化 $F(ab')_2$ (39-50) シグナル抗体、および20マイクロリットルのサンプルを37 で9分間インキュベートする。その後、ストレプトアビジンコーティング磁気マイクロ粒子を添加し、混合物を更に9分間インキュベートする。第2のインキュベーションの後、反応混合物をシステムの測定セルに移して、ビーズを電極の表面に磁氣的に捕捉する。測定セルを緩衝液で洗浄することにより、未結合標識を除去する。

30

【0123】

最後のステップでは、トリプロピルアミン含有緩衝液の存在下で電極に電圧を印加し、得られた電気化学発光シグナルを光電子増倍管により記録する。すべての試薬およびサンプルをElectsys (登録商標) 装置により完全に自動で操作する。二点検量により装置固有に作成された検量線と試薬バーコードにより提供されたマスターカーブとを利用して、結果を定量化する。製造業者の使用説明書に従って試験を行った。

40

【0124】

実施例 2

分析：

5000Uのアプロチニン (Trasylol, Beyer, Germany) を入れたEDTA管および必要に応じてリチウムヘパリン管 (臨床化学用) にホルモン分析用の血液のサンプルを採取した。直ちに、血液および尿のサンプルを3400rpm、4 で10分間遠心した。上清を分析まで-80 で貯蔵した。

【0125】

NT-proANPの測定：

同一のウサギ抗ラット proANP ポリクロナール血清、標準として Peninsula Lab (Bachem Ltd, St. Helene, UK) 製のヒト proANP (1-30)、および放射性標識化に

50

供すべく HPLC により精製したヨウ素化 proANP 1-30 を用いて、Sundsfjord, J.A., Thibault, G.ら(1988) (Identification and plasma concentrations of the N-terminal fragment of proatrial natriuretic factor in man. J Clin Endocrinol Metab 66:605-10.) に変更を加えた磁気固相技術を用いる競合結合放射免疫アッセイにより、NT-proANP を測定した。高感度かつ良好な精度を達成するために、固相および二次抗体として、ヒツジ抗ウサギ IgG を有する Dynabeads M280 (DynaL Bio tech, Oslo, Norway) を使用した。425、1163、および 2490 pmol・l⁻¹ における変動係数は、それぞれ、7.5、3.7、および 3.4% であった。検出限界は、30 pmol / l であった。

【0126】

NT-proBNP の測定：

Elecsys 2010 を用いて電気化学発光免疫アッセイ (Elecsys proBNP サンドイッチ免疫アッセイ; Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) により NT-proBNP を測定した (Mueller, T., Gegenhuber, A. (2003). Comparison of the Biomedica NT-proBNP enzyme immuno assay and the Roche NT-proBNP chemiluminescence immuno assay: implications for the prediction of symptomatic and asymptomatic structural heart disease. Clin. Chem. 49:976-9)。実施例 1 も参照されたい。平均アッセイ内変動は、4.3% であった (範囲: 7.6 ~ 2732 pmol・l⁻¹ の濃度を有する血漿サンプルで 2.7 ~ 5.9%、アッセイ間変動 3.2%)。下方検出限界は、0.6 pmol・l⁻¹ であった。

【0127】

実施例 3

供血者の NT-proBNP レベルに関する試験：

University of Mainz, Germany の輸血部門から合計 1981 名の供血者を集めた。供血者の大多数は反復供与者であった。また、反復供与者は、1 年間隔で健康診断を受ける。この健診に基づいて、試験に組み込まれた供血者はすべて、臨床的に健常であるとみなされた。献血時、ヘモグロビンレベルおよびクレアチニンレベルを調べた。献血前にすべての測定を行った。試験は、ヘルシンキ宣言に準拠して行われ、地域の倫理委員会により承認された。

【0128】

図 1 に示されるように、各 NT-proBNP 値は、年齢および性別に対してプロットされている。図 1 から明らかなように、NT-proBNP レベル (メジアン) は、男性よりも女性のほうが高かった。高齢の個体 (年齢 50 歳超) では、外れ値がより高頻度で観測されたが、若齢の個体 (年齢 50 歳未満) では、各測定値はクラスター化していた。97.5 百分位数に基づいて、年齢および性別に関連する参照値を計算したところ、それぞれ年齢 50 歳未満において、男性では 84.2 pg / ml および女性では 146.2 pg / ml であることがわかった (表 1)。

10

20

30

【表 1】

表 1：供血者における年齢群分類および性別特異的 NT-proBNP レベル。N：供血者数；m：男性；f：女性。

年齢(歳)	18-49	18-49	18-29	18-29	30-39	30-39	40-49	40-49	50-59	50-59	>60	>60
性別	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f	m	f
N	964	574	278	232	379	194	307	148	211	94	110	28
メジアン	20.0	39.3	20.0	37.0	20.0	36.9	20.0	49.8	27.4	65.8	42.0	61.4
97.5 %												
百分位数	84.2	146.2	64.7	129.7	88.1	132.2	94.6	230.7	178.5	270.3	278.0	261.7

10

20

【0129】

表 2 からわかるように、上記の範囲から外れたすべての個体から約 12 ヶ月間隔で第 2 のサンプルを採取したところ、サンプルの大多数がそれぞれの参照範囲から外れたままであったことから、これらの高値は定常的に観察される知見であることが示唆された。範囲を外れた初期値を有する第 2 のサンプルに示される個体の小さなサブセットは、所定の参照範囲内にあるとみなされる値を有していた。

【0130】

NT-proBNP 値がヘモグロビンレベルに依存しないかを評価するために、男性および女性でヘモグロビン濃度を測定したところ、男性よりも女性のほうが平均で 1.5 g / ml 低いことがわかった(図 2)。ヘモグロビンレベルは、年齢に依存しなかった。

30

【表 2】

表 2：NT-proBNP レベルが上昇した供血者 (N=48) の追跡 (12 ヶ月)

	NT-proBNP 正常範囲に復帰	NT-proBNP 上昇したまま
N 男性	7	14
N 女性	7	20
N 全体	14	34

40

【0131】

同一のヘモグロビンレベルでかつ年齢の一致する群で男性と女性との間で NT-proBNP 値を比較した場合、NT-proBNP レベルに関して依然として男性と女性との間で差が存在したことから、ヘモグロビンレベルは男性と女性との間で見いだされた NT-proBNP の異なる濃度を説明するものではないことが示唆された。また、NT-p

50

r o B N P レベルは、實際上、ヘモグロビン依存性であり、N T - p r o B N P レベルは、ヘモグロビン濃度の減少に伴って増大することが明らかになった（図 2）。

【 0 1 3 2 】

あるサブセットの個体でクレアチニンレベルを N T - p r o B N P レベルと比較した。試験した群では、クレアチニンレベルは、試験したすべての個体で正常な範囲内であった。クレアチニンレベルは年齢と共に増大することはなかったが、これとは対照的に N T - p r o B N P レベルは年齢と共に増大したことから、腎機能は年齢の増加に伴う N T - p r o B N P の増大を引き起こす可能性はないことが示唆された（表 3）。

【表 3】

表 3：クレアチニンレベルとの関連での、供血者における年齢群および性別特異的 NT-proBNP レベル（メジアン）。Crea：クレアチニン；N：供血者数。

年齢 分布	全体			男性			女性		
	N	Crea [mg/dL] メジアン	NT- proBNP [pg/ml] メジアン	N	Crea [mg/dL] メジアン	NT- proBNP [pg/ml] メジアン	N	Crea [mg/dL] メジアン	NT- proBNP [pg/ml] メジアン
全体	880	0,79	25,3	528	0,80	20,0	352	0,66	47,0
≤ 20	7	0,81	20,0	2	0,90	20,0	5	0,72	20,0
21-30	192	0,78	20,0	109	0,87	20,0	83	0,66	43,4
31-40	264	0,78	22,0	155	0,80	20,0	109	0,66	37,2
41-50	205	0,79	25,5	121	0,89	20,0	84	0,66	53,2
51-60	157	0,80	37,6	100	0,83	25,3	57	0,67	61,4
61-65	55	0,79	43,7	41	0,83	41,6	14	0,63	72,3

【 0 1 3 3 】

外見上健常な集団で正常および参照の N T - p r o B N P 値を決定すべく試験を開始した。示されるように、各 N T - p r o B N P レベルは、ごく少数の外れ値を有して年齢 50 歳までクラスター化された。この知見は、心臓疾患、特に心血管疾患がこの年齢群では稀であるという仮定と一致しているので、97.5 百分位数に基づいて、50 歳未満の個体で得られた値を正常値とみなした。これらの値はまた、男性と女性との間で異なることがわかった。より少ないヘモグロビンを有する個体がより高い N T - p r o B N P レベルを有していたことから、實際上、ヘモグロビンレベルが N T - p r o B N P のレベルに影響を及ぼすことも実証することができた。同一のヘモグロビンレベルで見た場合、依然として男性と女性との間で差が存在した。従って、ヘモグロビンレベルは、両性別間で見られた N T - p r o B N P レベルの差を説明するものではなかった。

【 0 1 3 4 】

10

20

30

40

50

この試験から、多くの個体が、50歳未満の個体の97.5百分位数を超えるNT-proBNPレベルを有することが実証された。これらの外れ値を有する患者の数は、年齢と共に増大した。NT-proBNPレベルの測定は、実施例1に記載されるようにEleviss（登録商標）免疫アッセイにより行った。

【0135】

実施例4

心臓障害が疑われる患者におけるNT-proBNPレベルに関する試験：

18名の心臓病専門医の診察を受けている合計473名の患者を試験のために集めた。患者は、病歴聴取、健康診断、および左室駆出率が記録される心エコー図検査を受けた。そのほかに、10mlの血液を採取し、遠心分離し、そして分析時まで-20で貯蔵した。この試験に組み込まれた患者の主な個体群統計学的変数を表4に示す。試験は、地域の倫理委員会により承認され、ヘルシンキ宣言に準拠して行われた。

【表 4】

表 4 : 心臓障害が疑われる被験集団の特徴. t : 全体 ; m : 男性 ; f : 女性.

患者	t	m	f
N	473	258	215
年齢 [メジアン]	66,0	64,5	68,0
症状&徴候	N	N	N
動脈性高血圧	280	144	136
収縮期血圧	182	96	86
拡張期血圧	78	34	44
呼吸困難	208	102	106
浮腫	45	20	25
不整脈	32	16	16
狭心症	122	64	58
AMI 既往歴	165	59	106
分類	N	N	N
NYHA I	308	176	132
NYHA II	112	52	60
NYHA III	50	27	23
NYHA IV	3	3	0
NYHA II-IV	165	82	83
LVEF < 30%	27	18	9
LVEF 30-50%	86	56	30
LVEF > 50%	360	184	176

10

20

30

40

【 0 1 3 6 】

全員または大多数の患者で次の試験を行った：クレアチニンレベル、TSH、FT4、およびNT-proBNP。製造業者（Roche Diagnostics, Mannheim, Germany）の使用説明書に従って試験を行った。最近開発された免疫アッセイ（Roche Diagnostics, Mannheim, Germany）を用いてElesys（登録商標）2010装置によりNT-proBNPを分析した（実施例1参照）。

【 0 1 3 7 】

Wilcoxonスコア法およびPearson²検定に基づいて有意性を計算した：p値 * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ のとき、有意性が存在する。誤差の確率は、5%を超えてはならない。

50

【0138】

左室駆出率（LVEF）に基づいて、患者を3つの群に分けた。即ち、30%未満のLVEF、30～50%のLVEF、および50%超のLVEF。また、グレードI～IVのNYHA分類に基づいて、患者を等級付けした。

【0139】

表5に示されるように、左室駆出率のレベルに基づいてかつ症状に基づいて、NT-proBNPレベルを記録した。男性では84pg/mlおよび女性では146pg/mlのカットオフを使用した場合（これは、正常な心臓機能と異常な心臓機能とを識別する）、大多数の個体は、増大したNT-proBNPレベルを有していた（実施例1参照）。平均NT-proBNPレベルは、NYHA分類により評価される症状レベルと共にかつエコーにより測定される駆出率の悪化レベルと共に、増大した。左室駆出率へのNT-proBNPの依存性を男性および女性についてそれぞれ図3および4にまとめる。図からわかるように、NT-proBNPレベル（メジアン）は、駆出率の減少に伴って増大した。

【表5】

表5：LVEFおよびNYHA分類に従う患者におけるNT-proBNPレベル。

	LVEF	≤30%	30-50%	>50%
NYHA	N, 合計	27	86	361
I	N	2	27	280
	NT-proBNP [pg/ml] 平均	2848,8	506,4	302,1
II	N	6	36	70
	NT-proBNP [pg/ml] 平均	1896,5	862,5	488,5
III	N	16	23	11
	NT-proBNP [pg/ml] 平均	2467,9	1946,3	698,4
IV	N	3	0	0
	NT-proBNP [pg/ml] 平均	16223,2	0	0

【0140】

表6に示されるように、心臓病専門医センターで試験のために集められた個体のうちのごく少数は、50歳未満の供血者の試験から作成されたカットオフに基づいて正常なNT

- proBNPレベルを有していた（実施例3参照）。正常なNT-proBNP値は、悪化のない左室駆出率を有しかつ症状を有していない個体としてクラスター化され、ごくわずかの外れ値が確認された。

【表6】

表6：LVEFが低下した、カットオフ（男性：84 pg/ml；女性 155 pg/ml）未満のNT-proBNPレベルを有する患者。

	LVEF	≤30%		30-50%		>50%	
	N, 合計	27		86		361	
NYHA		男性	女性	男性	女性	男性	女性
I	N	0	0	2	0	29	11
II	N	0	0	0	3	1	5
III	N	0	0	0	0	0	0
IV	N	0	0	0	0	0	0

10

20

【0141】

合計32名の個体は、心電図（ECG）により示される心房細動を有していたが、大多数の個体は、心房細動の所見を有していなかった。表7からわかるように、心房細動群のメジアン値は、非心房細動群の場合よりも高かった。これらの患者群に対する主な個体群統計学的変数を示す。心房細動を有していない個体は、より高頻度で心筋梗塞および狭心症の病歴を有していた。データから、心房細動はNT-proBNPレベルの上昇に対する独立寄与因子であることが示唆される（P：0.0002）。

【表 7】

表 7 : 心房細動を伴わない患者との比較における心房細動を伴う患者での NT-proBNP レベル.

	心房細動		心房細動なし		p 値
N, 合計	32		442		
年齢 [メジアン]	68,0		66,0		
NT-proBNP [pg/ml] メジアン	1055,0		401,7		0.0002 ** *
	N	%	N	%	
NYHA I	22	68,8 %	287	64,9 %	>= 0.05
NYHA II	6	18,8 %	106	24,0 %	>= 0.05
NYHA III	4	12,5 %	46	10,4 %	>= 0.05
NYHA IV	0	0	3	0,7 %	>= 0.05
LVEF < 30%	0	0	27	6,1 %	>= 0.05
LVEF 30-50%	6	18,8 %	80	18,1 %	>= 0.05
LVEF > 50%	26	81,3 %	335	75,8 %	>= 0.05
動脈性高血圧	13	40,6 %	267	60,4 %	>= 0.05
収縮期血圧	12	37,5 %	170	38,5 %	>= 0.05
拡張期血圧	7	21,9 %	71	16,1 %	>= 0.05
呼吸困難	13	40,6 %	195	44,1 %	>= 0.05
浮腫	3	9,4 %	42	9,5 %	>= 0.05
狭心症	6	18,8 %	116	26,2 %	>= 0.05
AMI 既往歴	0	0	78	17,6 %	0.0154*

【 0 1 4 2 】

合計 78 名の個体は、心筋梗塞 (MI) の病歴を有していたが、大多数は、MI の病歴を有していなかった。心筋梗塞の病歴を有する個体は、MI の病歴を有していない個体よりも高い NT - pro BNP レベルを有していた (表 8)。

10

20

30

40

【表 8】

表 8 : 心筋梗塞既往歴 (AMI) を有しない患者との比較における AMI 既往歴を有する患者での NT-proBNP レベル.

	AMI		AMI なし		p 値
N, 合計	78		381		
年齢 [メジアン]	67,5		66,0		
NT-proBNP [pg/ml] メジアン	797,0		370,8		0.0001 ***
	N	%	N	%	
NYHA I	33	42,3 %	266	69,8 %	0.001 **
NYHA II	31	39,7 %	79	20,7 %	0.001 **
NYHA III	14	17,9 %	33	8,7 %	0.001 **
NYHA IV	0	0	3	0,8 %	0.001 **
LVEF < 30%	7	9,0 %	19	5,0 %	0.001 **
LVEF 30-50%	37	47,4 %	47	12,3 %	0.001 **
LVEF > 50%	34	43,6 %	315	82,7 %	0.001 **
動脈性高血圧	45	57,7 %	234	61,4 %	>= 0.05
収縮期血圧	21	26,9 %	154	40,4 %	>= 0.05
拡張期血圧	4	5,1 %	72	18,9 %	>= 0.05
呼吸困難	51	65,4 %	156	40,9 %	0.0001* **
浮腫	10	12,8 %	35	9,2 %	>= 0.05
狭心症	32	41,0 %	89	23,4 %	0.0015**
不整脈	0	0	27	7,1 %	0.0154*

【 0 1 4 3 】

NT-proBNP 値は、狭心症の病歴を有していない個体よりも狭心症の病歴を有する個体のほうが高かった (表 9)。狭心症の病歴を有する患者は、症候性であることはあまりなく、より高頻度で心疾患を有し、より高頻度で心筋梗塞の病歴を有していた (表 8)。

【表 9】

表 9 : 狭心症を伴わない患者との比較における狭心症患者での NT-proBNP レベル.

	狭心症		狭心症なし		p値
N	122		335		
年齢 [メジアン]	69,5		64,0		
NT-proBNP [pg/ml] メジアン	589,5		369,3		0.009 **
	N	%	N	%	
NYHA I	55	45.1 %	242	72.2 %	0.00001 ***
NYHA II	50	41.0 %	60	17.9 %	0.00001 ***
NYHA III	16	13.1 %	31	9.3 %	0.00001 ***
NYHA IV	1	0,8 %	2	0.6 %	0.00001 ***
LVEF < 30%	6	4.9 %	12	3.6 %	>=0.05
LVEF 30-50%	30	24.6 %	62	18.5 %	>=0.05
LVEF > 50%	86	70.5 %	261	77.9 %	>=0.05
動脈性高血圧	87	71,3 %	191	57,0 %	0.0056**
収縮期血圧	45	36,9 %	129	38,5 %	>=0.05
拡張期血圧	18	14,8 %	57	17,0 %	>=0.05
呼吸困難	81	66,4 %	125	37,3 %	0.001***
浮腫	20	16,4 %	25	7,5 %	0.0042**
AMI 既往歴	32	26,2 %	46	13,7 %	0.0015**
不整脈	6	4,9 %	21	6,3 %	>=0.05

10

20

30

【 0 1 4 4 】

470名の個体でクレアチンを測定した。152名の個体だけが、正常な範囲内のクレアチンレベルを有し、318名は、正常な範囲から外れていた。高クレアチンレベルを有する個体は、正常なクレアチンレベルを有する個体よりも高いNT-proBNPレベルを有していた。高クレアチンレベルを有する個体は、より高頻度で心筋梗塞の病歴を有することが個体群統計学的変数から示唆される。MIの病歴(AMI)を有する患者を評価から除外した場合、腎機能自体の悪化は、NT-proBNPレベルの増加に寄与する可能性があることがデータから示唆される(表9)。

40

【表 10】

表 10：クレアチニンレベルの上昇を伴う患者での NT-proBNP レベル。

クレアチニン	正常		上昇		p 値
	0.66-1.1 mg/dl		> 1.1 mg/dl		
N, 合計	140		253		
年齢 [メジアン]	66,0		65,0		
NT-proBNP [pg/ml] メジアン	289,7		456,5		0.0003 ***
	N	%	N	%	
NYHA I	99	70,7 %	176	69,6 %	>=0.05
NYHA II	31	22,1 %	49	19,4 %	>=0.05
NYHA III	10	7,1 %	25	9,9 %	>=0.05
NYHA IV	0	0	3	1,2 %	>=0.05
LVEF ≤ 30%	5	3,6 %	15	5,9 %	>=0.05
LVEF 30-50% + > 50 %	135	96,4 %	238	94,1 %	>=0.05
動脈性高血圧	92	65,7 %	141	55,7 %	>=0.05
収縮期血圧	66	47,1 %	94	37,2 %	>=0.05
拡張期血圧	32	22,9 %	41	16,2 %	>=0.05
呼吸困難	57	40,7 %	97	38,3 %	>=0.05
浮腫	16	11,4 %	19	7,5 %	>=0.05
狭心症	31	22,1 %	58	22,9 %	>=0.05
不整脈	8	5,7 %	24	9,5 %	>=0.05

10

20

30

【 0 1 4 5 】

306名の個体のサブグループで、甲状腺機能を測定した。TSHおよびFT4のレベルに基づいて、患者を正常な甲状腺機能を有する個体と異常な甲状腺機能を有する個体とに分けた。異常な甲状腺機能を有する個体の大多数は、高TSHレベルを有していたが、FT4は正常であったことから、代償的甲状腺機能低下が示唆される。メジアンNT-proBNPレベルは、正常な甲状腺機能を有する個体よりも異常な甲状腺機能を有する個体のほうが高かった。このことから、甲状腺機能不全は、甲状腺機能の悪化を介して心臓機能の悪化に関連付けられる可能性が最も高い高NT-proBNPレベルに対する寄与因子であることが示唆される(表11)。

【表 1 1】

表 11：甲状腺機能不全患者との比較における通常の甲状腺機能を有する患者での NT-proBNP レベル。

	甲状腺機能正常		甲状腺機能不全		p 値
N, 合計	139		167		
年齢 [メジアン]	66,0		66,0		
NT-proBNP [pg/ml] メジアン	397,2		555,5		0.048*
	N	%	N	%	
NYHA I	97	69,8 %	109	65,3 %	>=0.05
NYHA II	30	21,6 %	38	22,8 %	>=0.05
NYHA III	12	8,6 %	19	11,4 %	>=0.05
NYHA IV	0	0	1	0,6 %	>=0.05
LVEF < 30%	6	4,3 %	8	4,8 %	>=0.05
LVEF 30-50%	24	17,3 %	37	22,2 %	>=0.05
LVEF > 50%	109	78,4 %	122	73,1 %	>=0.05
動脈性高血圧	83	59,7 %	96	57,5 %	>=0.05
収縮期血圧	54	38,8 %	53	31,7 %	>=0.05
拡張期血圧	24	17,3 %	23	13,8 %	>=0.05
呼吸困難	53	38,1 %	76	45,5 %	>=0.05
浮腫	13	9,4 %	18	10,8 %	>=0.05
狭心症	37	26,6 %	41	24,6 %	>=0.05
AMI 既往歴	22	15,8 %	29	17,4 %	>=0.05
不整脈	6	4,3 %	12	7,2 %	>=0.05

【0146】

供血者で得られたデータ（実施例 3）と比較した場合、心臓病専門医の診察を受けている患者の大多数は高 NT-proBNP レベルを有することが本データから示唆される。NT-proBNP レベルは、症状のレベルと共にかつ左室駆出率の悪化と共に増大した。高 NT-proBNP レベルが無症候の個体および悪化した駆出率を有する個体で記録されたという事実から、NT-proBNP は心臓病専門医により用いられる現在の最も基準となる方法よりも早期に心臓合併症を見分けることが示唆される。本試験において、心臓合併症の所見を有する一群の患者では、腎機能は、クレアチニンレベルに基づいて高頻度で悪化していることがわかった。このことは、類似の年齢の集団で顕著に低い正常なクレアチニンレベルが見いだされた供血者の試験（実施例 3 参照）とは対照的である。腎機能と心臓合併症の両要素を考慮に入れる必要があることが本試験から示唆され、さらに、軽度～中等度の腎機能不全は、心臓合併症の診断および評価において、NT-proBNP

10

20

30

40

50

N P 値の解釈に影響を及ぼさないことがデータから示唆される。

【0147】

そのほかに、甲状腺機能不全は心機能不全に関連する可能性がありかつ高NT - proBNPレベルに寄与する可能性があることがデータから示唆される。

【0148】

実施例 6

貧血を併発している46歳の腫瘍患者の治療の選択肢について検討する。アントラサイクリンを用いる治療は、好ましい選択肢であるように思われる。心血管合併症のリスクを診断するために、患者のNT - proBNP値を求める。800 pg/mlのNT - proBNP値は、心血管合併症のリスクの増大を示唆するが、心エコー図は変化しない。アントラサイクリンを用いる治療を開始し、NT - proBNP値を短い間隔でモニタリングする。心エコー図および超音波検査では変化は見られないが、NT - proBNP値は3500 pg/mlの値に増大している。これらの値に基づいて、心血管合併症に罹患するリスクの大きな増大が診断される。医師は、治療を中断すべきか、ヘモグロビン値を増大させるべきか、または心臓療法を開始すべきかについて検討する。

10

【0149】

実施例 7

初診時に1200 pg/mlのNT - proBNP値を有する62歳のうつ病患者は、三環系抗うつ剤で治療されている。心機能不全が疑われるので、ECG、心エコー図、およびNT - proBNPにより、定期的に患者を追跡する。二週間の間隔で測定した場合、NT - proBNP値は、2050 pg/mlまで顕著に増大する。それと同時点で、ECGおよび心エコー図は、変化しないままである。患者は、ループ利尿剤を含む心機能不全のより強い治療を受ける。その後、NT - proBNP値は減少し、代替抗うつ剤療法が検討される。

20

【0150】

実施例 8

慢性C型肝炎(主に遺伝子型1)に罹患している48名の患者を500万単位の非ペグ化インターフェロン 2bで週3回48週間にわたり治療した。追加的に、患者にリビリンを投与した。サンプルを採取し、治療開始前、24週間後、48週間後、および96週間後に、NT - proBNPレベルを測定した。すべての患者の測定されたNT - proBNPレベルは、治療中に増大した(メジアン:記載の時点で37.1、44.3、52.4、および49 pg/mlのNT - proBNP)。しかしながら、治療開始前に既に増大したNT - proBNPレベル(368 pg/mlのNT - proBNP)を示した1名の患者は、後で、臨床的に明らかな心不全を発症した。この患者はまた、他の患者よりも治療中にNT - proBNPのより大きな増大を示した(測定されたレベルは、368、696、376、および413 pg/mlのNT - proBNPであった)。それと比較して、他の47名のすべての患者で測定されたNT - proBNPの最高レベルは、記載の時点で約200、370、280、430 pg/mlであった。96週間後に他の患者で測定された最高レベル(430 pg/ml)の次のレベルは、約280 pg/mlのNT - proBNPであった。従って、本発明によれば、治療開始前に368 pg/mlのNT - proBNPレベルを示す患者で心血管合併症に罹患するリスクがあると診断することが可能である。

30

40

【0151】

実施例 9

乳癌に罹患している98名の患者をアントラサイクリンで治療する。治療を開始する前、1名の患者は、既に増大したNT - proBNPレベルを示す。治療中、この患者のNT - proBNPの測定レベルは、大きく増大する。この患者は心不全を発症する。心不全の臨床症状が明らかになる前に、NT - proBNPレベルの増大が見られる。

【図面の簡単な説明】

【0152】

50

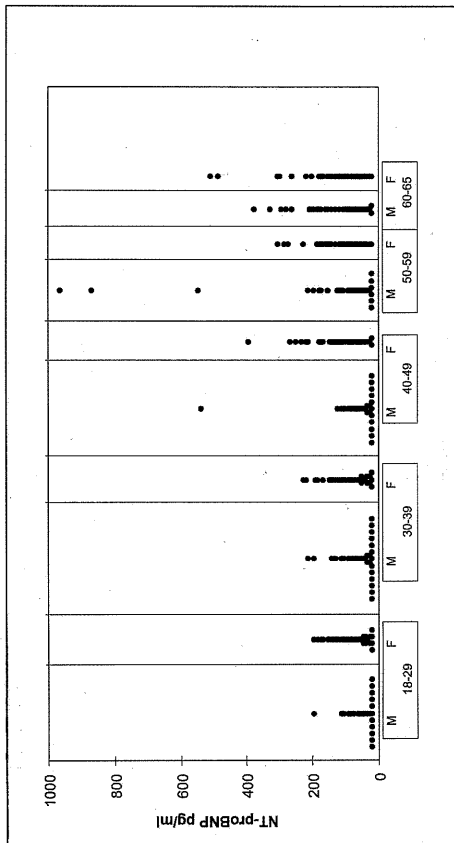
【図1】年齢18～65歳（18～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60～65歳）の供血者（n=2948）におけるNT-proBNPレベル（メジアン）の度数分布。M、男性；F、女性。

【図2】供血者のNT-proBNPレベルおよびヘモグロビンレベルとの関係。m、男性（菱形）；f、女性（正方形）、t、全体（三角形）。

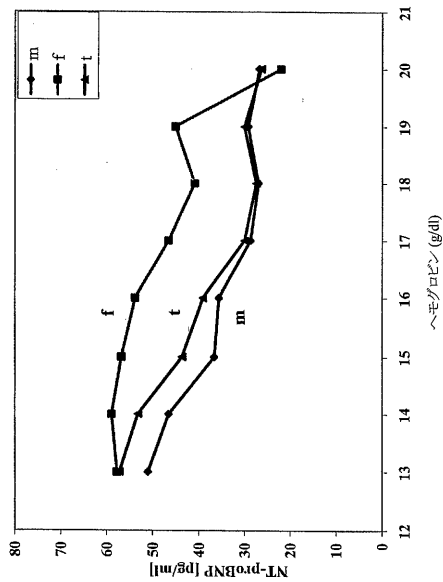
【図3】LVEFに対応させた男性のNT-proBNPレベル。

【図4】LVEFに対応させた女性のNT-proBNPレベル。

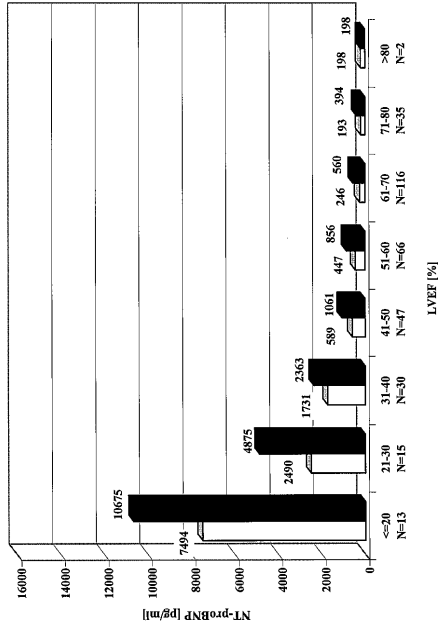
【図1】



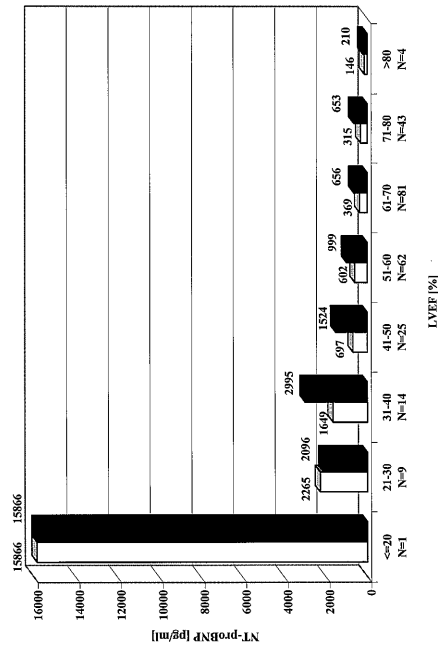
【図2】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成19年2月14日 (2007.2.14)

【 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 】

患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための方法であって、該診断は該心臓毒性医薬を用いた治療が開始される前に行われ、以下のステップ：

a) 好ましくは *in vitro* で、心臓ホルモンのレベルを測定するステップ、

b) 測定したレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、該患者のリスクを診断するステップ

を含む、上記方法。

【 請求項 2 】

前記心臓ホルモンがナトリウム利尿ペプチドである、請求項 1 に記載の方法。

【 請求項 3 】

前記心臓ホルモンが、ANP型ペプチドもしくはその変異体および/またはBNP型ペプチドもしくはその変異体である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【 請求項 4 】

前記心臓ホルモンがBNP型ペプチドまたはその変異体である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【 請求項 5 】

BNP型ペプチドがNT-proBNPまたはその変異体である、請求項1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

男性患者での60pg/mlより高くかつ1000pg/mlより低いNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

女性患者での120pg/mlより高くかつ1000pg/mlより低いNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

1000～5000pg/mlのNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの非常な増大に関連する、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

5000pg/mlより高いNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの非常な増大に関連する、請求項1～5のいずれか1項に記載の方法。

【請求項10】

前記心臓毒性医薬が、抗新生物薬、三環系抗うつ剤、多発性硬化症薬、局所麻酔薬、インターフェロン、コカイン、アンドロゲン、同化剤、およびHIV抗ウイルス薬からなる群より選択される、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項11】

前記心臓毒性医薬が、抗新生物薬、特にアントラサイクリンである、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記心血管合併症が、冠動脈心疾患、急性冠症候群、心筋梗塞、左室機能不全、またはうっ血性心不全である、請求項1～11のいずれか1項に記載の方法。

【請求項13】

診断ステップが、リスクのモニタリングまたは確認と関連付けられる、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記心臓ホルモンのレベルを、特異的結合リガンド、アレイ、微小流体デバイス、化学発光分析器、またはロボット化デバイスを用いて測定する、請求項1～13のいずれか1項に記載の方法。

【請求項15】

前記特異的結合リガンドが、抗体またはアプタマーである、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記特異的結合リガンドが標識されている、請求項14または15に記載の方法。

【請求項17】

患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための、患者の心臓ホルモン、特にナトリウム利尿ペプチドのレベルを、好ましくは*in vitro*で測定することが可能な診断手段の使用であって、該診断は該心臓毒性医薬を用いた治療が開始される前に行われる、上記使用。

【請求項18】

心臓毒性医薬を用いた患者の治療を決定する方法であって、以下のステップ：

- (a) 好ましくは*in vitro*で、心臓ホルモンのレベルを測定するステップ、
- (b) 測定された該心臓ホルモンレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、計画された治療の結果として患者が心血管合併症に罹患するリスクを診断するステップ、
- (c) 任意により心臓病専門医による患者の診察を開始するステップ、
- (d) 該方法が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクの存在を示

唆する場合、該治療を避けることを推奨するステップを含む、上記方法。

【手続補正書】

【提出日】平成19年7月11日(2007.7.11)

【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】

患者が心臓毒性医薬の結果として心血管合併症に罹患するリスクを診断するための方法であって、該診断は該心臓毒性医薬を用いた治療が開始される前に行われ、以下のステップ:

a) *in vitro*で心臓ホルモンのレベルを測定するステップ、

b) 測定したレベルを、患者でのリスクの種々の段階に関連する既知のレベルと比較することにより、該患者のリスクを診断するステップ

を含む、上記方法。

【請求項2】

前記心臓ホルモンがナトリウム利尿ペプチドである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記心臓ホルモンが、NT-proBNPまたはその変異体である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

男性患者での60pg/mlより高くかつ1000pg/mlより低いNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項5】

女性患者での120pg/mlより高くかつ1000pg/mlより低いNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの増大に関連する、請求項1~4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

1000~5000pg/mlのNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの非常な増大に関連する、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項7】

5000pg/mlより高いNT-proBNPの血漿レベルが、心血管合併症に罹患するリスクの非常な増大に関連する、請求項1~3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項8】

前記心臓毒性医薬が、抗新生物薬、三環系抗うつ剤、多発性硬化症薬、局所麻酔薬、インターフェロン、コカイン、アンドロゲン、同化剤、およびHIV抗ウイルス薬からなる群より選択される、請求項1~7のいずれか1項に記載の方法。

【請求項9】

前記心血管合併症が、冠動脈心疾患、急性冠症候群、心筋梗塞、左室機能不全、またはうっ血性心不全である、請求項1~8のいずれか1項に記載の方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/006359

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N33/74		
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) IPC 7 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MEINARDI M T ET AL: "Prospective evaluation of early cardiac damage induced by epirubicin-containing adjuvant chemotherapy and locoregional radiotherapy in breast cancer patients" JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 19, no. 10, 15 May 2001 (2001-05-15), pages 2746-2753, XP002340911 ISSN: 0732-183X abstract; figure 2 ----- -/-	1-19
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *I* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *G* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 August 2005		Date of mailing of the international search report 12/09/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Weijland, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/006359

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>SUZUKI TORU ET AL: "Elevated B-type natriuretic peptide levels after anthracycline administration" AMERICAN HEART JOURNAL, vol. 136, no. 2, August 1998 (1998-08), pages 362-363, XP002340912 ISSN: 0002-8703 abstract; table 1 page 363, left-hand column, last paragraph page 363, right-hand column, last paragraph</p> <p>-----</p>	1-19
A	<p>NIELSEN LENE SVENDSTRUP ET AL: "N-terminal pro-brain natriuretic peptide for discriminating between cardiac and non-cardiac dyspnoea." EUROPEAN JOURNAL OF HEART FAILURE : JOURNAL OF THE WORKING GROUP ON HEART FAILURE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY. JAN 2004, vol. 6, no. 1, January 2004 (2004-01), pages 63-70, XP002340913 ISSN: 1388-9842 the whole document</p> <p>-----</p>	1-19
A	<p>WO 02/089657 A (BIOSITE, INC; VALKIRS, GUNARS, E; DAHLEN, JEFFREY, R; KIRCHICK, HOWARD) 14 November 2002 (2002-11-14) the whole document</p> <p>-----</p>	1-19
A	<p>WO 02/083913 A (BIOSITE DIAGNOSTICS, INC; DAHLEN, JEFFREY, R; VALKIRS, GUNARS, E; BUJEC) 24 October 2002 (2002-10-24) the whole document</p> <p>-----</p>	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/006359

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
WO 02089657	A	14-11-2002	CA 2414073 A1	14-11-2002
			EP 1322957 A2	02-07-2003
			JP 2004520598 T	08-07-2004
			JP 2005121664 A	12-05-2005
			WO 02089657 A2	14-11-2002
			US 2003109420 A1	12-06-2003
			US 2003219734 A1	27-11-2003
			US 2004253637 A1	16-12-2004
			US 2004176914 A1	09-09-2004
			US 2004203083 A1	14-10-2004
			WO 02083913	A
CA 2412648 A1	24-10-2002			
EP 1311701 A1	21-05-2003			
JP 2004519688 T	02-07-2004			
JP 2005049351 A	24-02-2005			
WO 02083913 A1	24-10-2002			
US 2004171064 A1	02-09-2004			
US 2003219734 A1	27-11-2003			
US 2004253637 A1	16-12-2004			
US 2004176914 A1	09-09-2004			
US 2004203083 A1	14-10-2004			

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, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, 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 ヘス, ゲオルク

ドイツ連邦共和国 5 5 1 3 0 マインツ, オッペンハイマー シュトラーセ 8 2

(72)発明者 ホルシュ, アンドレア

ドイツ連邦共和国 6 8 2 5 9 マンハイム, クリスティアン - モルゲンシュテルン シュトラーセ 1 1

Fターム(参考) 4C084 AA17 NA06 ZA36

专利名称(译)	使用心脏激素来诊断由于心脏毒性药物而患心血管并发症的风险		
公开(公告)号	JP2008502888A	公开(公告)日	2008-01-31
申请号	JP2007515858	申请日	2005-06-14
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
[标]发明人	ヘスゲオルク ホルシュアンドレア		
发明人	ヘス,ゲオルク ホルシュ,アンドレア		
IPC分类号	G01N33/53 A61K45/00 A61P9/00 G01N33/74		
CPC分类号	A61P9/00 G01N33/74 G01N2333/58 G01N2800/32 Y10S435/805 Y10S435/81		
FI分类号	G01N33/53.B G01N33/53.D A61K45/00 A61P9/00		
F-TERM分类号	4C084/AA17 4C084/NA06 4C084/ZA36		
优先权	2004013954 2004-06-15 EP		
其他公开文献	JP4838794B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明是心脏毒性药物，特别是作为化学治疗剂，包括蒽环类，心血管并发症，用于诊断心脏疾病或特别地，心脏激素急性冠脉综合征，特别是钠尿遭受的风险的结果使用肽。特别地，本发明涉及由心脏毒性药物给患者施用心脏毒性药物来诊断患心血管并发症的风险的方法，该方法包括以下步骤：(a) 获得体液或组织样品，和 (b) 优选在体外测量心脏激素的水平。在本发明的上下文中优选的心脏激素是ANP，NT-proANP，BNP和NT-proBNP。

