

(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2018-537661

(P2018-537661A)

(43) 公表日 平成30年12月20日 (2018. 12. 20)

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68	(2006.01)	GO 1 N	33/68	2 GO 4 5
GO 1 N 33/74	(2006.01)	GO 1 N	33/74	
GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N	33/53	D

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

(21) 出願番号 特願2018-521651 (P2018-521651) (86) (22) 出願日 平成28年11月7日 (2016. 11. 7) (85) 翻訳文提出日 平成30年6月26日 (2018. 6. 26) (86) 国際出願番号 PCT/EP2016/076862 (87) 国際公開番号 W02017/077117 (87) 国際公開日 平成29年5月11日 (2017. 5. 11) (31) 優先権主張番号 15193565.7 (32) 優先日 平成27年11月6日 (2015. 11. 6) (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)	(71) 出願人 515010040 マイカーティス・エヌフェー ベルギー・B-9052・ズウェイナール デ/ヘント・テクノロジーパーク・4・フ ェーイーペー・バイオインキュベーター (74) 代理人 100108453 弁理士 村山 靖彦 (74) 代理人 100110364 弁理士 実広 信哉 (74) 代理人 100133400 弁理士 阿部 達彦 (72) 発明者 アレクサンドル・メバザア フランス・F-92120・モンルージュ ・アヴニユ・アンリ・ジヌー・43 最終頁に続く
---	--

(54) 【発明の名称】 血管壁の張力のマーカーとしてのCD146の使用

(57) 【要約】

本発明は、血管壁の張力のマーカーとしての、特に血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するための、CD146の使用に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するためのマーカーとしてのCD146の使用。

【請求項 2】

対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するための方法であって、対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程を含む、方法。

【請求項 3】

前記疾患が、僧帽弁疾患、有利には僧帽弁狭窄症又は僧帽弁逆流である、請求項 1 に記載の使用又は請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記疾患が、臓器鬱血、有利には肺鬱血又は内臓鬱血であり、前記対象が、心臓疾患の臨床的兆候を有していない、請求項 1 に記載の使用又は請求項 2 に記載の方法。

【請求項 5】

(i) 前記対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程；

(ii) (i) において測定したCD146の量を、前記疾患に罹患していない対象の参照値と比較する工程、及び

(iii) 前記量が前記参照値と比較して増加している又は減少している場合に、前記対象において前記疾患を診断、予測、及び/又は予知する工程を含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 6】

(i) 前記対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程；

(ii) (i) において測定したCD146の量を、前記疾患の既知の診断、予測、及び/又は予知を表す参照値と比較する工程；

(iii) (i) において測定した前記量が、前記参照値から逸脱している又は逸脱していないことを見出す工程；及び

(iv) 前記逸脱している又は逸脱していないという所見を、前記対象において前記疾患の特定の診断、予測、及び/又は予知に結び付ける工程を含む、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7】

前記試料が、血液又はその分画成分、有利には血漿である、請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記対象の試料において、前記疾患の診断、予測、及び/又は予知に有用な1種以上の他のバイオマーカー、有利にはB型ナトリウム利尿ペプチド (BNP)、プロB型ナトリウム利尿ペプチド (proBNP)、アミノ末端プロB型ナトリウム利尿ペプチド (NTproBNP)、中央領域プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド (MR-proANP)、及び/又はトロポニンTの存在若しくは不存在及び/又は量を測定する工程をさらに含む、請求項 2 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

CD146の量、並びに/又は1種以上の他のバイオマーカーの存在若しくは不存在及び/若しくは量が、CD146及び/又はその断片に特異的に結合することができる結合剤、及び前記1種以上の他のバイオマーカーに特異的に結合することができる結合剤を用いて、有利には、イムノアッセイ技術、例えば直接ELISA、間接ELISA、サンドイッチELISA、競合ELISA、マルチプレックスELISA、ラジオイムノアッセイ (RIA)、若しくはELISPOT技術を用いて、又は質量分析法を用いて、又はクロマトグラフィー法を用いて、又は前記方法の組合せを用いて測定される、請求項 2 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 10】

CD146の量を測定するための手段、有利にはその結合剤、より有利には抗体を含む、血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するためのキットの使用

50

。

【請求項 1 1】

前記疾患が、僧帽弁疾患、有利には僧帽弁狭窄症又は僧帽弁逆流である、請求項 1 0 に記載の使用。

【請求項 1 2】

前記疾患が、臓器鬱血、有利には肺鬱血又は内臓鬱血であり、前記対象が、心臓疾患の臨床的兆候を有していない、請求項 1 0 に記載の使用。

【請求項 1 3】

前記キットが、前記疾患に罹患していないか、又は前記疾患の既知の診断、予測、及び/又は予知を有する対象から得られた参照対照を含む、請求項 1 0 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の使用。

10

【請求項 1 4】

前記キットが、前記疾患の診断、予測、及び/又は予知に有用な1種以上の他のバイオマーカー、有利にはB型ナトリウム利尿ペプチド (BNP)、プロB型ナトリウム利尿ペプチド (proBNP)、アミノ末端プロB型ナトリウム利尿ペプチド (NTproBNP)、中央領域プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド (MR-proANP)、及び/又はトロポニンTを検出及び/又は測定する手段を含む、請求項 1 0 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、対象における疾患又は状態の予測、診断、予知、及び/又はモニタリングにおける使用のための、タンパク及び/又はペプチドに基づくマーカー (バイオマーカーとも称される)、並びにそれに特異的に結合する剤に関する。より特定すると、本願は、血管壁の張力の変動に関連する疾患の新規バイオマーカーとしてのCD146; 前記マーカーを測定することに基づく、前記疾患を予測、診断、及び/又は予知するための方法; 並びに前記マーカーを測定するため及び/又は前記方法を実行するためのキット及び装置を開示する。

20

【背景技術】

【0 0 0 2】

多くの疾患及び状態において、予防的及び/又は治療的処置の好ましい転帰は、疾患又は状態の早期の及び/又は正確な予測、診断、及び/又は予知と強力に関連している。したがって、処置の選択肢に導くための、疾患及び状態の早期の及び/又は正確な予測、診断、及び/又は予知のための追加的かつ好ましくは改善された手段及び方法の継続的な需要が存在する。

30

【0 0 0 3】

心不全 (HF) は、西洋諸国において死亡の主要な原因の一つであり、相当の罹患率と関連している (Go AS et al. Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2014;129:e28-e292)。再入院は、ほとんどが臓器鬱血の存在に起因するものであるが、慢性心不全 (CHF) の患者で特に頻度が高く、有害な転帰に関連している (Gheorghiade M et al., Am J Cardiol. 2005; 96:11G-17G)。

40

【0 0 0 4】

鬱血の連鎖 (カスケード) は、症状の発現の数日又は数週間前から始まる場合が多く、無症候性の心室充満圧の増加 (「血行動態的 (hemodynamic) 鬱血」) を含むが、これがさらに肺及び内臓器官の内部での体液の再配分 (「臓器鬱血」) をもたらし、最終的には体液量過剰の顕性の兆候及び症状 (「臨床的鬱血」) をもたらす可能性がある (Picano E et al., Heart Fail Rev. 2010; 15:63-72)。無症候性臓器鬱血の早期の検出のための複数の方策、例えば日々の体重測定、又はより最近では、胸郭インピーダンスのモニタリング及び埋め込み型血行動態モニタリングが提案されてきた (Bourge RC et al., J Am Coll Cardiol. 2008; 51:1073-1079; Hindricks G et al., Lancet. 2014; 384:583-590;

50

Abraham WT et al., Lancet. 2011; 377:658-666)。

【0005】

しかしながら、望ましくは、入院を減らし、転帰を改善するための、信頼性があり非侵襲的な、初期の血行動態段階での鬱血の検出の未だ満たされていない需要(アンメットニーズ)が依然として存在する。

【0006】

バイオマーカー、特にナトリウム利尿ペプチド(NP)の使用が、この目的のために提唱された(McMurray JJV et al., European Heart Journal. 2012; 33:1787-1847)。しかしながら、循環NPのレベルは、心筋伸展及び細胞壊死を含む、広範囲の心臓異常に影響され、したがって末梢鬱血を正確に反映しない可能性がある(Sabatine MS et al., J Am Coll Cardiol. 2004; 44:1988-1995)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Go AS et al. Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2014;129:e28-e292

【非特許文献2】Gheorghiade M et al., Am J Cardiol. 2005; 96:11G-17G

【非特許文献3】Picano E et al., Heart Fail Rev. 2010; 15:63-72

【非特許文献4】Bourge RC et al., J Am Coll Cardiol. 2008; 51:1073-1079

【非特許文献5】Hindricks G et al., Lancet. 2014; 384:583-590

【非特許文献6】Abraham WT et al., Lancet. 2011; 377:658-666

【非特許文献7】McMurray JJV et al., European Heart Journal. 2012; 33:1787-1847

【非特許文献8】Sabatine MS et al., J Am Coll Cardiol. 2004; 44:1988-1995

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

この観点から、鬱血、すなわち血管が血液で過剰充満及び膨張されることをモニタリングするための、追加的かつ好ましくは特異的なバイオマーカーの需要が絶えず存在する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本願発明者らは、広範囲に及ぶ実験及び試験を行い、メラノーマ細胞接着分子(MCAM、CD146又はMUC18としても知られる)が、末梢鬱血の新たなバイオマーカーの役割を果たすことを明らかにした。より一般的には、これは、血管の(血管)壁の張力(伸び)のマーカーであり、血管壁の張力の変動に関連する疾患の予測、診断、モニタリング、及び/又は予知に特に有利である。

【0010】

冠詞「a」及び「an」は、本願明細書においては、1、又は1より多い(すなわち、少なくとも1の)その冠詞の文法的目的語を指すために用いられる。例として、「(an)要素」は、1要素、又は1より多い要素を意味する。

【0011】

本願明細書において用いられる「約」は、量、時間的持続等の測定可能な値について言及する場合、特定された値の±20%又は±10%、より好ましくは±5%、さらにより好ましくは±1%、またさらにより好ましくは±0.1%の変動を意味するが、それはそのような値が開示された方法を実行するのに適切であるためである。

【0012】

範囲：本開示全体にわたって、本発明の様々な態様が、幅を持たせた(範囲)の形式で提示される場合がある。範囲の形式の記述は、単に便宜及び簡潔のためのものであることが理解されるべきであり、本発明の範囲の変更不可能な限定と解釈されるべきではない。したがって、範囲の記述は、全ての可能な部分的範囲及びその範囲内の個々の数値を特定的に開示するものとみなされるべきである。例えば、1~6等の範囲の記述は、1~3、1~4

、1～5、2～4、2～6、3～6等の部分的範囲、並びにその範囲内の個々の数、例えば1、2、2.7、3、4、5、5.3、及び6を特異的に開示しているとみなされるべきである。これは、範囲の広さに関係無く適用される。

【0013】

本願明細書において用いられる用語「含む」(「comprising」、「comprises」、及び「comprised of」)は、「含む」(「including」、「includes」)又は「含有する」(「containing」、「contains」)と同義であり、包括的であり又は制限が無く(オープンエンドであり)、追加的な、記載されていない構成員、要素、又は方法工程を排除しない。

【0014】

本願明細書において用いられる用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」は、互換的に用いられ、ペプチド結合により共有結合で連結されたアミノ酸残基を含む化合物を指す。タンパク質又はペプチドは、少なくとも2個のアミノ酸を含有していなければならない、タンパク質又はペプチドの配列を含むアミノ酸の最大数に対する制限は設定されていない。ポリペプチドには、ペプチド結合により互いにつなが合わされた2個以上のアミノ酸を含む任意のペプチド又はタンパク質が含まれる。本願明細書において用いられる場合、この用語は、当該技術分野では一般的に例えばペプチド、オリゴペプチド、及びオリゴマーとも称される短鎖と、多くの種類が存在する、当該技術分野では一般的にタンパク質と称される長鎖の両方を指す。「ポリペプチド」には、例えば、とりわけ、生物学的に活性な断片、実質的に相同なポリペプチド、オリゴペプチド、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドのバリエーション、修飾ポリペプチド、誘導体、アナログ、融合タンパク質が含まれる。ポリペプチドには、天然ペプチド、組換えペプチド、合成ペプチド、又はこれらの組合せが含まれる。

【0015】

「相同な」又は「同一の」は、2つのポリペプチド間又は2つの核酸分子間の配列類似性又は配列同一性を指す。比較される2つの配列における位置がどちらも同一の塩基又はアミノ酸モノマーサブユニットで占められている場合、例えば2つのDNA分子の各々の位置がアデニンで占められていれば、その分子はその位置において相同又は同一である。2つの配列間の相同性/同一性のパーセントは、2つの配列が共有する一致した又は相同な位置の数を位置の数で割ったものの関数 $\times 100$ である。例えば、仮に2つの配列において10中6の位置が一致する又は相同である場合、2つの配列は60%相同/同一である。一般的に、2つの配列が最大の相同性/同一性を示すようにアラインされる場合に、比較が行われる。

【0016】

特定の化合物(例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、又はその断片等)に関しての用語「単離された」は、一般的に、そのような化合物が分離された形態で存在している、例えばその天然の環境の1種以上の他の化合物から分離されているか、それらとは別個に調製されたことを示す。例えば、単離されたヒト又は動物のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、又はその断片は、それが自然に生じるヒト又は動物から分離して存在する。

【0017】

本願明細書において用いられる用語「単離された」は、好ましくは「精製された」という修飾語も包含していてもよい。本願明細書において用いられる場合、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、及び/又はその断片に関する用語「精製された」は、絶対的な純粋さを必要としない。その代わりに、この用語は、そのようなタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、及び/又は断片が、他のタンパク質に対してのその存在量(便宜上質量又は重量又は濃度の単位で表される)が生体試料中における存在量よりも多い、生体分離された環境中にあることを示す。分離された環境は、単一の媒質、例えば単一の溶液、ゲル、沈殿物、凍結乾燥物等を示す。精製されたペプチド、ポリペプチド、又は断片は、例えば、実験室的又は組換え的合成、クロマトグラフィー、調製的電気泳動、遠心分離、沈殿、アフィニティー精製等を含む、公知の方法により得ることができる。精製されたタンパク質

10

20

30

40

50

、ポリペプチド、ペプチド、及び/又は断片は、質量で、分離された環境のタンパク質含有量の好ましくは10%、より好ましくは50%、例えば60%、さらにより好ましくは70%、例えば80%、またさらにより好ましくは90%、例えば95%、96%、97%、98%、99%、又はさらに100%を構成してもよい。タンパク質含有量は、例えば、Lowry法（Lowry et al. 1951. J Biol Chem 193: 265）によって、場合によりHartree 1972（Anal Biochem 48: 422-427）に記述されるとおりに、決定されてよい。また、ペプチド又はポリペプチドの純度は、還元的又は非還元的条件下で、クマシーブルーか、又は好ましくは銀染色を用いて、SDS-PAGEにより決定されてもよい。

【0018】

用語「バイオマーカー」、当該技術分野に広まっており、例えば、対象におけるその定性的及び/又は定量的評価が、対象の表現型及び/又は遺伝子型の1つ以上の態様に関して、例えば、所与の疾患又は状態についての対象の状態に関して、予測的であるか又は情報を与える（例えば、予測的、診断的、及び/又は予知的である）、生体分子及び/又はその検出可能なタンパク質を広く示してもよい。

【0019】

用語「予測する」又は「予測」、「診断する」又は「診断」、及び「予知する」又は「予知」は、医学及び臨床の実務において一般的かつ十分に理解されている。

【0020】

さらなる説明によって、また限定するものではないが、「予測する」及び「予測」は、一般的には、（まだ）疾患又は状態を有していない対象における、前記疾患又は状態の事前の宣言、指示、又は予言を指す。例えば、対象における疾患又は状態の予測は、対象が前記疾患又は状態を、例えば一定の期間内に、又は一定の年齢までに発症する、蓋然性、可能性、又はリスクを示しても良い。前記蓋然性、可能性、又はリスクは、とりわけ、絶対的な値、範囲、又は統計量として示されてもよいし、又は適切な対照の対象若しくは対象の集団に対して（例えば、一般的な、正常な、又は健康な対象又は対象の集団に対して等）示されてもよい。したがって、対象が疾患又は状態を発症する蓋然性、可能性、又はリスクは、有利には、増加若しくは減少として、又は適切な対照の対象又は対象の集団に対する～倍の増加若しくは～倍の減少として、示されてもよい。本願明細書で用いられる場合、対象における「疾患の予測」は、対象が前記疾患の「陽性の」予測を有していること、すなわち前記疾患を有する危険性がある（例えば、リスクが対照の対象又は対象の集団に対して有意に高い）ことを特に意味してもよい。

【0021】

用語「診断する」又は「診断」は、一般的には、症状及び兆候に基づいて、並びに/又は様々な診断法の結果から（例えば、診断される疾患又は状態に特徴的な1種以上のバイオマーカーの存在、不存在、及び/又は量を知ること等から）、対象において疾患又は状態を識別する、決定する、又は結論を出す過程又は行為を指す。本願明細書において用いられる、対象における「疾患の診断」は、対象が前記疾患を有している、したがって前記疾患を有していると診断されることを特に意味してもよい。対象は、本願明細書に記述されるように、その疾患を連想させる従来の症状及び兆候を呈しているにも関わらず、前記疾患を有していないと診断されてもよい。

【0022】

用語「予知する」又は「予知（予後）」は、一般的には、疾患又は状態の進行及び回復の見通し（例えば、蓋然性、持続期間、及び/又は程度）に対する予期を指す。疾患の良好な予知（予後良好）は、一般的には、好ましくは許容可能な期間内での、前記疾患からの満足のいく部分的又は完全な回復の予期を包含する。前記疾患の良好な予知とは、一般的には、好ましくは許容可能な期間内に、状態がさらに悪化又は増悪しない予期を包含する。疾患の不良な予知（予後不良）とは、一般的には、基準以下の回復及び/又は不満足なほど遅い回復の予期、又は実施的に回復していないか、若しくはさらには前記疾患の悪化までも包含してもよい。

【0023】

10

20

30

40

50

タンパク質、ポリペプチド、若しくはペプチド等の分子若しくは検体、又は2以上のタンパク質、ポリペプチド、若しくはペプチド等の2以上の分子若しくは検体の群は、前記分子又は検体の存在若しくは不存在及び/又は量が、好ましくは他の分子又は検体を実質的に除いて、試料中で検出されるか又は決定される場合、試料中で「測定される」。

【0024】

用語「量 (quantity)」、「量 (amount)」、及び「レベル」は、同義であり、一般的に当該技術分野において十分理解されている。本願明細書で用いられるこれらの用語は、特に試料中の分子又は検体の絶対的な定量を指してもよいし、試料中の検体の相対的な、すなわち別の値に対する、例えば本願明細書に教示される参照値に対する、又はバイオマーカーのベースライン発現を示す値の範囲に対する、定量を指してもよい。これらの値または範囲は、単一の患者から、又は患者の群から得ることができる。

10

【0025】

試料中の分子又は検体の絶対量は、有利には質量として、又はモル量として、又はより一般的には濃度、例えば体積当たりの質量又は体積当たりのmolとして表現されてもよい。

【0026】

試料中の分子又は検体の相対量は、有利には増加若しくは減少として、又は前記別の値に対する、例えば本願明細書に教示される参照値に対する、～倍の増加若しくは～倍の減少として、表現されてもよい。第一及び第二のパラメーター（例えば第一及び第二の量）間での相対比較の実行には、まず第一及び第二のパラメーターの絶対値を決定することが必要となるかもしれないが、必ずしも必要でない。例えば、測定方法によって、前記第一及び第二のパラメーターに関する定量可能な読み出し情報（例えば、シグナル強度）を得ることができ、前記読み出し情報は、前記パラメーターの値の関数であり、前記読み出し情報を直接比較して、第一のパラメーター対第二のパラメーターに関する相対値を、最初に読み出し値をそれぞれのパラメーターの絶対値に変換することを実際に必要とすることなく、得ることができる。

20

【0027】

用語「異常」は、生物、組織、細胞、又はその構成要素との関連において用いられる場合、「正常な」（予想される）それぞれの特徴を呈する、生物、組織、細胞、又はその構成要素と、少なくとも1つの観察可能な又は検出可能な特徴（例えば、年齢、処置、時間帯）において異なる、生物、組織、細胞、又はその構成要素を指す。ある細胞又は組織の型に関して正常な又は予想される特徴は、異なる細胞又は組織の型に関しては異常である可能性がある。

30

【0028】

用語「患者」、「対象（被験者）」、「個体」等は、本願明細書において互換的に用いられ、任意の動物、又はインビトロ又はインサイチュのいずれかの、本願明細書に記述する方法に適しているその細胞を指す。本願明細書で用いられるこれらの用語は、典型的にはヒトを表すが、非ヒト動物、好ましくは温血動物、より好ましくは哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、げっ歯類、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ブタ等への言及も包含してもよい。

40

【0029】

「疾患」は、動物の健康状態であって、その動物が恒常性（ホメオスタシス）を維持することができず、その疾患が改善しない場合、その動物の健康が悪化し続ける、状態である。対照的に、動物における「障害」は、動物が恒常性を維持することができるが、動物の健康状態が、その障害がない場合よりも好ましくない、健康状態である。未処置のままであっても、障害は、動物の健康状態のさらなる減少を必ずしも引き起こさない。

【0030】

疾患又は障害の症状の重症度、患者がそのような症状を経験する頻度、又はその両方が減少する場合、疾患又は障害は「軽減（緩和）される」。疾患又は障害の症状の重症度、患者がそのような症状を経験する頻度、又はその両方が取り除かれる場合、疾患又は障害

50

は「治療する」。

【0031】

「治療的」処置は、病状の兆候を示す対象に、それらの兆候を減少させるか又は取り除く目的で施される処置である。

【0032】

本願明細書で用いられる場合、「疾患又は障害を処置する」は、対象が経験する疾患又は障害の少なくとも一つの兆候又は症状の頻度又は重症度を低減することを意味する。疾患及び障害は、本願明細書において、治療という文脈において、互換的に用いられる。

【0033】

化合物の「有効量」は、有益な効果をその化合物が投与される対象に提供するのに十分な化合物の量である。本願明細書で用いられる語句「治療的有效量」は、疾患の症状の緩和を含む、疾患又は障害又は状態を予防する又は治療する（発症を遅延させる又は防止する、進行を防止する、阻害する、減少させる、又は食い止める）のに十分であるか又は有効である量を指す。送達ビヒクルの「有効量」とは、効果的に化合物に結合するか又はそれを送達するのに十分な量である。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【図1】図1は、静脈ストレス試験の前後の可溶性CD146及びNT-proBNPのレベルを示す。

【図2】図2は、MS患者における重度の狭窄、心房細動、及び肺高血圧症、並びにそれらの組合せの患者数を示す。

【図3】図3は、僧帽弁狭窄症、肺高血圧症、及び心房細動の重症度による、血漿バイオマーカーレベルを示す。Aは、中程度又は重度の狭窄の患者における、BNP[pg/ml]、MR-proANP[pmol/l]、及びsCD146[ng/ml]の血漿レベルを示す。Bは、肺高血圧症を伴う又は伴わないMS患者における、3つのバイオマーカーの血漿レベルを示す。Cは、心房細動の存在又は非存在下でのバイオマーカーのレベルを示す。

【図4】図4は、バイオマーカーの値の、収縮期肺動脈圧との相関を示す。図形は、収縮期肺（動脈）圧[sPAP, in mmHg]と、バイオマーカーBNP[pg/ml]、MR-proANP[pmol/l]、sCD146[ng/ml]との間の相関を示す。丸印はMS患者、十字印はPAH患者を示す。

【図5】図5は、肺高血圧症の病因による血漿のバイオマーカーのレベルを示す。図は、僧帽弁狭窄症（後毛細血管性）及び前毛細血管性に続発する肺動脈高血圧症の患者における、BNP[pg/ml]、MR-proANP[pmol/l]、及びsCD146[ng/ml]の血漿レベルを示す。

【図6】図6は、肺鬱血によるBNP及びsCD146の血漿レベルを示す。肺鬱血の放射線のエビデンスの増加は、sCD146のより高いレベルと相関している。BNPの血漿レベルは、より高度の分散を示し、放射線学的肺鬱血と相関しない。

【図7】図7は、トロポニンレベルによる、BNP及びsCD146の血漿レベルを示す。トロポニンのレベルの増加は、より高いBNPに関連しているが、sCD146のレベルは類似又はより低い。中央値及び四分位範囲を表示する。

【発明を実施するための形態】

【0035】

第一の態様によれば、本発明は、血管壁の張力のマーカーとしてのCD146の使用に関する。

【0036】

本願明細書で用いられる用語「CD146」は、メラノーマ細胞接着分子(MCAM)又はMUC18として一般的に知られているタンパク質、すなわち当該技術分野においてこれらの記号表示で一般的に知られているタンパク質及びポリペプチドに相当する。これらの用語は、任意の生物で見出されたタンパク質及びポリペプチド、特に動物、好ましくは脊椎動物、より好ましくは、ヒト及び非ヒト哺乳動物を含む哺乳動物、さらにより好ましくはヒトのものを包含する。これらの用語は、天然の配列、すなわち一次配列が天然に見出されるか又はそれに由来するCD146のものと同一であるタンパク質及びポリペプチドを特に包含する。当業者は、CD146の天然配列が、異なる種間では、そのような種間の遺伝的多様性に起

10

20

30

40

50

因して、相違することを理解する。さらに、CD146の天然配列は、所与の種内での通常の遺伝的多様性（バリエーション）に起因して、同一の種の異なる個体の間で、又はその中で、異なってもよい。また、CD146の天然配列は、転写後又は翻訳後の修飾に起因して、同一の種の異なる個体の間で、又はその中でさえも、異なってもよい。したがって、天然に見出される、又は天然に由来する全てのCD146配列は、「天然である」とみなされる。これらの用語は、生物、臓器、組織、又は細胞の一部を構成する場合、生体試料の一部を構成する場合、及びそのような由来するものから少なくとも部分的に単離される場合、CD146タンパク質及びポリペプチドを包含する。また、これらの用語は、組換え又は合成の手段により作製される場合、タンパク質及びポリペプチドも包含する。

【0037】

例示的なCD146には、限定するものではないが、WO 2011/048168の図1（配列番号1）に示される、Uniprot/Swissprot（<http://www.expasy.org/>）アクセッション番号NP_006491でアノテーションされた一次アミノ酸配列を有するヒトCD146が含まれる。当業者であれば、前記配列が、CD146の前駆体であり、成熟CD146からプロセッシングされて除かれる部分が含まれ得ることも理解できる。例えば、CD146タンパク質は、可溶性形態であることもできるし、細胞膜に連結されることもできる。WO 2011/048168の図1において、シグナルペプチド並びに膜貫通及び細胞質ドメインは、アミノ酸配列中に小文字で示されている。また、選択されたMASSsterclass定量化ペプチドも示されている（pept25 - 太字、下線：WO 2011/048168の配列番号2）。このMASSsterclassペプチドは、全長及び切断された可溶性形態のCD146を定量することができるが、実験の設計の都合により、血漿循環画分（すな

【0038】

CD146タンパク質は、内皮細胞及び血管平滑筋細胞に特異的であり、膜結合型のCD146に基づいて、内皮細胞を血液細胞の集団から選別するためのツールとして用いられてきた。CD146は、5つの免疫グロブリン様ドメイン（V-V-C2-C2-C2）、膜貫通ドメイン、及び63残基の細胞質尾部を有する免疫グロブリンスーパー遺伝子ファミリーに属する。異親性の（ヘテロフィリックな）細胞同士の相互作用に関与するCa²⁺非依存的細胞接着分子として機能する膜糖タンパク質である。このタンパク質は、還元型で130 kDaの分子量を有し（非還元型では118 kDa）、N結合型糖鎖付加が、見かけの分子量の50パーセントを占める。可溶性CD146は、（MMPの作用による）細胞外ドメインの切断（シェディング）により放出される。可溶性CD146の血漿レベルの増加が、慢性腎不全の患者において観察されており（健康な血清レベル：270ng/ml；腎不全患者：500ng/ml）、これはSaito et al., 2008 (Clin Exp Nephrol. 2008 Feb;12(1):58-64. Epub 2008 Jan 5) に考察されている。その一方で、sCD146（可溶性CD146）の血清レベルの減少が、クローン病等の炎症性腸疾患（IBD）の患者において観察されたが、活動性IBDでは膜結合CD146の発現は増加する（Bardin et al., Inflamm. Bowel Dis. 2006 Jan;12(1):16-21 and Reumaux et al., Inflamm. Bowel Dis. 2007 Oct;13(10):1315-7）。

【0039】

好ましい実施形態において、膜又は細胞に結合しているCD146タンパク質（例えば内皮細胞表面に存在しているCD146）ではなく、循環CD146タンパク質、例えば血漿中で循環している形態が用いられる。

【0040】

CD146は、内皮細胞損傷マーカーとしては公知であったが、前記マーカーは、内皮細胞を選別するためのツールとして用いられる場合が多く、膜結合型の（全長の）タンパク質が用いられていることを意味する（例えば、WO 2006/020936参照）。WO 2011/048168は、このマーカーが、AHF患者を、他の原因により呼吸困難を有している患者（非AHF患者）と区別するのに有用であることを示している。

【0041】

本願明細書におけるCD146への言及は、CD146の断片をも包含してもよい。したがって、本願明細書における、CD146を測定すること、又はCD146の量を測定することへの言及は、

10

20

30

40

50

CD146タンパク質又はポリペプチドを測定すること、例えば成熟形態及び/若しくはMMPにプロセシングされた可溶性形態（以下、簡潔に「可溶性形態」と呼ぶ）のCD146を測定すること、並びに/又はその1つ以上の断片を測定することを包含してもよい。例えば、CD146及び/又はその1つ以上の断片は、測定された量が集合的に測定された種の合計量に相当するように、集合的に測定されてもよい。別の例において、CD146及び/又はその1つ以上の断片は、それぞれ個別に測定されてもよい。好ましくは、前記CD146の断片は、血漿循環型のCD146である。「血漿循環型のCD146」又は簡潔に「循環形態」という表現は、血漿中を循環している、すなわち細胞又は膜に結合していない、全てのCD146タンパク質又はその断片を包含する。いかなる理論にも拘束されるものではないが、そのような循環形態は、天然のプロセシング（例えば、上述の「可溶性形態」へのMMP切断）により全長CD146タンパク質から生じることができ、又は前記試料中で生じる公知の分解プロセスから生じることでもある。ある特定の状況において、循環形態は、血漿中に循環していることが見出される、全長CD146タンパク質であることができる。したがって、前記「循環形態」は、試料中を循環している、すなわち前記試料の細胞又は膜画分に結合していない、任意のCD146タンパク質若しくは任意のプロセシングされた可溶性形態のCD146又はいずれかの断片であることができる。

10

【0042】

本願明細書で用いられる用語「血管の」は、血管を指し、対象の、好ましくはヒトの血管系を構成する動脈、静脈、及び毛細血管を含む。特定の実施形態によれば、本発明は、末梢血管系に関する。

20

【0043】

用語「壁の張力」又は「壁の伸び」は、本発明の枠組みにおいて、類似の意味を有するとみなされる。これらは、当該技術分野において公知の方法によって、例えば血管の圧力又は直径を、例えばカテーテル又はイメージング（特に超音波検査）解析を用いて、評価することによって、物理的に評価することができる。

【0044】

本発明の枠組みにおいて、CD146が血管壁の張力のマーカーであることが実証された。したがって、血管壁の張力を評価するために、又はその変動をモニタリングために、これを用いることができる。前記マーカーの測定は、特に対象の試料に対して行われるインビトロ方法によれば簡便であり、迅速で、信頼性があり、費用効率が良いが、インビボの侵襲的な方法による壁の張力の直接的な測定に置き換えることができる。

30

【0045】

本発明の枠組みにおいて、CD146のレベルと、血管壁の張力の状態との間に、直接的な相関があることが示された：血管ストレスの場合、すなわち壁の張力又は伸び（及び場合によっては血管の圧力及び/又は直径）が増加する場合、CD146、特に可溶性CD146の放出が増加し、そしてCD146のレベルが増加する。

【0046】

一態様によれば、本発明は、対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知する方法における使用のためのCD146に関する。換言すれば、本発明は、対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するための（インビボ）方法を提供し、方法は、対象においてCD146の量を測定する工程を含む。

40

【0047】

別の態様によれば、本発明は、対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するためのマーカーとしてのCD146の使用に関する。換言すれば、本発明は、対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するための（インビトロ）方法を提供し、方法は、対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程を含む。

【0048】

疾患又は状態の予測、診断、及び/又は予知の方法には、通常、対象から及び/又は対象

50

についてのデータを集める検査段階が含まれることが理解される。一実施形態によれば、本発明の方法は、対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程を含む。

【0049】

本発明において実証されるように、CD146は、血管壁の張力の変動に関連する疾患又は状態を診断、予測、及び/又は予知するのに有用である。

【0050】

上述のとおり、鬱血は段階的に（カスケードで）起こり、症状の発現の数日又は数週間前から始まる場合が多く、無症候性の心室充満圧の増加（「血行動態的鬱血」）を含むが、これがさらに肺及び内臓器官の内部での体液の再配分（「臓器鬱血」）をもたらし、最終的には体液量過剰の顕性の兆候及び症状（「臨床的鬱血」）をもたらし得る。本発明によれば、CD146は、血管壁の張力の変化、特に血管壁の張力の増加に関連する任意の状態に関して用いることができるマーカーである。本願は、sCD146の血漿レベルと血行動態的鬱血（右心房圧、左心房圧、又は肺動脈閉塞圧）との間の相関を明確に確立する。したがって、血行動態的鬱血の直接的なマーカーとみなすこともできるが、そこから生じるさらなる状態、特に臓器鬱血の間接的な初期のマーカーとみなすこともできる。

10

【0051】

好ましい実施形態によれば、前記疾患又は状態は、以下の群から選択される：

- ・血行動態障害；
- ・臓器鬱血、有利には肺鬱血又は内臓の（有利には腎臓又は肝臓）鬱血；
- ・僧帽弁疾患、有利には、僧帽弁狭窄症又は僧帽弁逆流；
- ・動脈、静脈、又は毛細血管に影響を及ぼす肺高血圧症、有利には前毛細血管性肺高血圧症

20

【0052】

特定の実施形態によれば、本発明は、水腫のマーカーとしてのCD146の使用に関しない。

【0053】

一態様によれば、本発明は、僧帽弁狭窄症（MS）に関する。僧帽弁狭窄症は、典型的にはリウマチ熱に続発し、僧帽弁の開口部が狭くなることである。処置しないまま放置すると、僧帽弁狭窄症はゆっくりと進行する、すなわち僧帽弁の開口部が時間をかけて狭くなっていき、それにより合併症、例えば進行性の労作時呼吸困難、肺高血圧症（PH）、心房細動、及び右室（RV）不全を引き起こし得る。実際、本願は、ECG及び心エコー検査を含む完全な心臓病学的評価に代わる、MS及びその合併症の初期評価の代替手段としてのバイオマーカーCD146の使用の可能性を報告する。換言すれば、多数の側面の中でも特に、本発明により、対象が合併症の臨床的兆候を未だ呈していない段階で、僧帽弁狭窄症を早期に断定することができる。

30

【0054】

別の態様によれば、本発明は、肺鬱血に関する。実際、本願は、従来の胸部X線、又はさらにより正確な左側の鬱血の評価の方法、例えば非侵襲的（肺静脈の流れ、肺の超音波、CTスキャン）又は侵襲的（肺カテーテル）方法に代わる、肺鬱血の評価の代替手段としてのバイオマーカーCD146の使用の可能性を報告する。

40

【0055】

血管壁の張力の変動、特に血管壁の張力の増加は、様々な疾患又は状態に関連している可能性があり、それらの中には、後にさらなる臨床的合併症に発展し得るものもある。したがって、本発明の方法は、様々な対象にとって、実際の臨床状態とは関係なく、有用である可能性がある。

【0056】

一実施形態によれば、本発明の方法は、心臓疾患の臨床的兆候を有していない、好ましくは心不全（HF）、有利には慢性心不全（CHF）又は急性冠症候群（ACS）の臨床的兆候を有していない対象に対して行われる。

【0057】

50

好ましい実施形態において、本発明の方法は、対象において血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するためのものであり、前記方法は、対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程を含み、前記疾患は、臓器鬱血、有利には肺鬱血又は内臓鬱血であり、前記対象は、心臓疾患の臨床的兆候を有しておらず、好ましくは、前記対象は、健康な心臓を有しており、有利には、前記対象は、健康な心肺系を有している。

【0058】

「健康な心臓」とは、本願明細書においては、既知の病変が何も無い心臓を指す。好ましくは、健康な心臓は、心疾患を患っていない。「健康な心肺系」とは、本願明細書においては、既知の病変が何も無い心肺系を指す。

【0059】

「内臓鬱血」とは、本願明細書においては、内臓器官、すなわち3つの主要な体腔：胸部（胸腔）、腹部（腹腔）、骨盤（骨盆腔）の内部に位置する器官の鬱血を指す。胸部の内臓器官には、心臓及び肺が含まれる。腹部の内臓器官には、胃、大腸及び小腸、膵臓、腎臓、虫垂、副腎、胆嚢、肝臓、脾臓、並びに腹膜が含まれる。骨盤の内臓器官には、膀胱、卵巣及び精巣、子宮、並びに直腸が含まれる。

【0060】

好ましくは、内臓鬱血という用語は、腹部及び/又は骨盤の内臓器官の鬱血を指す。

【0061】

一実施形態によれば、本発明の方法は、心不全、有利には慢性心不全を患う対象に対して行われる。

【0062】

本願明細書で用いられる用語「心不全」（HF）、「急性心不全」（AHF）、及び「慢性心不全」（CHF）は、当該技術分野において確立されたそれぞれの意味を有する。さらなる誘導により、本願明細書において用いられる用語「心不全」は、拡張期又は収縮期の血流量が低下する、したがって心室から末梢器官への血流が不十分になることを特徴とする病的状態を広く指す。「急性心不全」又は「急性非代償性心不全」とも称される疾患は、心機能異常に続発する症状及び兆候の急激な発現として定義されてもよく、緊急治療の必要性を生じる。AHFは、新たな急性（疾患）として生じることにもできるし（それまで心機能障害が無かった患者における急性心不全の新たな発症）、又はCHFの急性代償不全として生じることにもできる。用語「慢性心不全」は、通常、進行が非常に遅いために様々な代償機構が機能して疾患が平衡状態に至っている、心不全の症例を指す。CHFの一般的な臨床的症状には、とりわけ、息切れ、運動能力の低下、倦怠感、嗜眠、及び末梢水腫の任意の1以上が含まれる。比較的一般的でない他の症状には、動悸、記憶障害又は睡眠障害、及び錯乱の任意の1以上が含まれ、通常、上記の一般的な症状と共に起こる。本願のような研究において、CHF患者には急性代償不全がなく、したがってそのような試験又は研究において用いられる臨床的試料が取得される時点においては、EDを示していないという点において、CHFの集団は、AHFの集団とは異なる可能性がある。しかしながら、慢性心不全患者は、容易に代償不全になり「急性心不全」をもたらし得る。

【0063】

本発明は、HF患者の管理に複数の利益をもたらし得る。利尿療法を調節するための鬱血の程度の早期の評価は、HF患者において必ずしも容易ではない。早期の、信頼できる非侵襲性の無症候性臓器鬱血の検出のための様々なツールが提案されてきたが、多大な努力にも関わらず、体重測定、鬱血スコア、生体インピーダンスのデータは、依然として決定的でない。本発明は、sCD146が末梢鬱血のバイオマーカーであること、そしてsCD146の診断的及び予知的価値、並びに左室及び右室HFにおける鬱血緩和療法へと導く潜在性を報告する。

【0064】

一実施形態によれば、本発明の方法は、急性冠症候群を患う対象に対して行われる。実際、本願は、ACSの初期の段階における、肺鬱血の評価についてのsCD146の能力を報告している。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 5 】

急性冠症候群（ACS）は、一般的な急性心不全（AHF）の増悪因子であり、急性冠症候群の患者における肺鬱血の存在は、短期間の転帰に悪い影響を及ぼす。信頼できかつ非侵襲的な肺鬱血の評価は、より集中的なモニタリング及び治療を必要とする患者を選択するために重要である。本願に示すとおり、CD146は、ナトリウム利尿ペプチドの有益な代替的マーカーであると思われる。これは、循環ナトリウム利尿ペプチドのレベルが心筋虚血の量に影響を受け、ACSの状況において肺鬱血を正確に反映しない可能性があるためである。

【 0 0 6 6 】

一実施形態によれば、本発明の方法は、以下の工程を含む：

10

- ・対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程；
- ・第一の工程で測定したCD146の量を、前記疾患に罹患していない対象の参照値と比較する工程、及び
- ・前記量が前記参照値と比較して増加している又は減少している場合に、前記対象において前記疾患を診断、予測、及び/又は予知する工程

【 0 0 6 7 】

以下に挙げる好ましい疾患及び状態に関して、前記疾患又は状態に罹患している対象の試料中のCD146の量は、参照値と比較して増加している。

【 0 0 6 8 】

別の実施形態によれば、本発明の方法は、以下の方法を含む：

20

- ・対象由来の試料中のCD146の量を測定する工程；
- ・第一の工程において測定したCD146の量を、前記疾患の既知の診断、予測、及び/又は予知を表す参照値と比較する工程；
- ・第一の工程において測定した前記量が、前記参照値から逸脱している又は逸脱していないことを見出す工程；及び
- ・前記逸脱している又は逸脱していないという所見を、前記対象において前記疾患の特定の診断、予測、及び/又は予知に結び付ける工程

【 0 0 6 9 】

上述のとおり、本方法は、CD146の量に関して参照値を採用してもよく、これは、他のバイオマーカーについて以前に採用された公知の手順に従って確立してもよい。そのような参照値は、本願明細書に規定する本発明の方法の中で確立されても（すなわち、工程を構成する）又はその外で確立されても（すなわち、工程を構成しない）よい。したがって、本願明細書に教示されるあらゆる方法は、CD146に関する参照値を確立する工程を含んでもよく、前記参照値は、(a)疾患が無いという予測若しくは診断、又は前記疾患の良好な予後、又は(b)疾患が有るという予測若しくは診断、又は前記疾患の不良な予後のいずれかを表す。

30

【 0 0 7 0 】

したがって、様々な実施形態において、前記疾患又は状態を予測、診断、及び/又は予知するため本方法を、前記疾患を有していると未だ診断されていない（例えば、予防又はスクリーニング）、又は前記疾患を有していると既に診断されている、又は前記疾患を有していることが疑われる（例えば、前記疾患に特徴的な症状を1つ以上呈している）、前記疾患を発症する危険性がある（例えば、遺伝的素因；1つ以上の発生的、環境的、又は行動的な危険因子）、個体に使用してもよい。

40

【 0 0 7 1 】

また、本方法は、前記疾患の様々な進行又は重症度の段階を検出するために使用してもよい。

【 0 0 7 2 】

また、本方法は、予防的若しくは治療的処置又は他の介入への応答（奏功）を検出するために使用してもよい。本願の枠組みにおいて、医療処置には、薬物治療（利尿薬、抗凝固剤、ベータブロッカー、ACE阻害薬、カルシウム拮抗剤（カルシウムチャネルブロッカ

50

ー) ...) 及び/又は外科的治療(弁修復、...)が含まれる。

【0073】

本方法は、医師が、患者の疾患からの悪化、現状維持、部分的回復、又は完全回復を決定するのを助けるためにさらに使用することができ、患者のさらなる治療若しくは観察、又は退院のいずれかをもたらす。本発明の方法により、医師は、患者の試料中のCD146のレベルを測定することにより、疾患の進行をモニタリングすることができ、前のCD146のレベル(例えば、入院時の)と比較してCD146のレベルが低下していることは、対象の状態が改善中であるか又は改善したことを示し、CD146のレベル(例えば、入院時の)と比較してCD146レベルが増加していることは、対象の状態が悪化中であるか又は悪化したことを示す。

10

【0074】

本発明は：

- ・上で教示した予測、診断、及び/又は予知の方法を、対象に対し、1以上の連続した時点において適用する工程であって、対象における前記疾患の予測、診断、及び/又は予知が、前記連続した時点において決定される、工程；
- ・第一の工程において決定した、前記連続した時点での、対象における前記疾患の予測、診断、及び/又は予知を比較する工程；及び
- ・第一の工程において決定した、前記連続した時点での、対象における前記疾患の予測、診断、及び/又は予知の間の変化の存在又は不存在を見出す工程

を含む、対象における前記疾患の予測、診断、及び/又は予知の変化をモニタリングする方法をさらに提供する。

20

【0075】

この態様により、対象の状態を経時的にモニタリングすることができる。これにより、とりわけ、前記対象において、疾患の進行、疾患の悪化又は軽減、疾患の再発、治療への応答(奏功)、他の外部因子又は内部因子、状態、ストレス要因への応答等をモニタリングすることができる。有利には、対象における前記疾患の予測、診断、及び/又は予知の変化は、前記対象の医療処置、好ましくは前記疾患を治療することを目的とした医療処置の過程でモニタリングしてもよい。そのようなモニタリングには、例えば、患者が退院してもよい、又はさらなる入院若しくは治療が必要であるかの意思決定が含まれていてもよい。典型的には、これは、EDの滞在中の異なる時点で、対象においてCD146レベルを測定することにより行われ、時間に応じてCD146レベルが減少することは、対象の状態が改善中であるか又は改善したことを示し、一方、時間に応じてCD146レベルが増加することは、対象の状態が悪化中であるか又は悪化したことを示す。

30

【0076】

本願明細書で用いられる用語「試料」又は「生体試料」は、対象から得られる任意の生物標本を含む。試料は、全血、血漿、血清、赤血球細胞、白血球細胞(例えば、末梢血単核細胞)、唾液、尿、糞便(すなわち排泄物)、涙液、汗、皮脂、乳頭吸引液、乳管洗浄細胞診(ductal lavage)、腫瘍滲出液、滑液、脳脊髄液、リンパ液、細針吸引物、羊水、任意の他の体液、細胞溶解物、細胞分泌物、炎症液、精液、及び膣分泌物を含んでもよいが、これに限定されない。

40

【0077】

好ましい試料には、CD146を検出可能な量で含むものを含んでもよい。好ましい実施形態において、試料は、全血又はその分画成分、例えば、血漿、血清、又は細胞ペレットである。特定の実施形態によれば、本発明に係る方法において用いられる試料は、血液又はその分画成分、有利には血漿である。好ましくは、試料は、侵襲が最小限の方法により容易に得ることができる。また、試料には、組織試料及び生検、組織ホモジネート等も含んでもよい。好ましくは、CD146レベルを検出するために用いられる試料は、血漿である。用語「血漿」は、血液の無色の水性液体であって、細胞を含まないが、血液細胞(赤血球、白血球、血小板等)が懸濁されており、栄養素、糖、タンパク質、ミネラル、酵素等を含有するものを規定する。

50

【0078】

特定の実施形態によれば、本発明の方法は、対象の前記試料において、前記疾患の診断、予測、及び/又は予知に有用な1種以上の他のバイオマーカー、有利にはナトリウム利尿ペプチド、より有利にはB型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)、プロB型ナトリウム利尿ペプチド(proBNP)、アミノ末端プロB型ナトリウム利尿ペプチド(NTproBNP)、中央領域プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド(MR-proANP)、及び/又はトロポニンTの存在若しくは非存在及び/又は量を測定する工程をさらに含む。

【0079】

本願明細書で用いられる用語「プロB型ナトリウム利尿ペプチド」(「proBNP」とも略される)及び「アミノ末端プロB型ナトリウム利尿ペプチド」(「NTproBNP」とも略される)及び「B型ナトリウム利尿ペプチド」(「BNP」とも略される)は、当該技術分野において、これらの記号表示で一般的に知られているペプチドを指す。さらなる説明として、また限定するものではないが、インビボのproBNP、NTproBNP、及びBNPは、ナトリウム利尿ペプチド前駆体Bのプレプロタンパク質(preproBNP)に由来する。特に、proBNPペプチドは、N末端分泌シグナル(リーダー)配列をpreproBNPから除去した後の、preproBNPの部分に相当する。後者(BNP)のC末端に隣接するproBNPのアミノ酸76の切断の後のproBNPペプチドの、NTproBNPはN末端部分に相当し、BNPはC末端部分に相当する。CD146に関して上に詳述したとおり、これらの用語は、天然の配列を有するものを含む、任意の生物由来のペプチド、又はそのバリエーション及び断片を包含する。

【0080】

例示的なヒトproBNPペプチドは、限定するものではないが、NIH Entrez Protein(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=protein>)アクセッション番号NP_002512(2009年1月25日に修正されたバージョンNP_002512.1)でアノテーションされた、ナトリウム利尿ペプチド前駆体Bプレプロタンパク質配列の27位~134位のアミノ酸由来のペプチドである。NP_002512の配列は、WO2011/048168の図3A(配列番号3)に示され、NP_002512由来のproBNPの例示的配列は、WO2011/048168の図3B(配列番号4)に示される。例示的なヒトNTproBNPペプチドには、限定するものではないが、前記NIH Entrez Proteinアクセッション番号NP_002512でアノテーションされたナトリウム利尿ペプチド前駆体Bプレプロタンパク質配列の27位~102位のアミノ酸位置由来のペプチドが含まれる。NP_002512由来のNTproBNPの例示的な配列は、WO2011/048168の図3C(配列番号5)に示される。例示的なヒトBNPペプチドには、限定するものではないが、前記NIH Entrez Proteinアクセッション番号NP_002512でアノテーションされたナトリウム利尿ペプチド前駆体Bプレプロタンパク質配列の103位~134位のアミノ酸位置由来のペプチドが含まれる。NP_002512由来のBNPの例示的な配列は、WO2011/048168の図3D(配列番号6)に示される。proBNP、NTproBNP、及びBNPを含むヒトpreproBNP由来のペプチドのさらなる例示については、Sudoh et al. 1989(Biochem Biophys Res Commun 159: 1427-1434)も参照されたい。また、臨床の現場でナトリウム利尿ペプチドのレベルを用いることについては、Maisel et al. 2008(Eur J Heart Fail 10(9): 824-39)及びMiller et al. 2007(Biomarkers Med 1(4): 503-512)も参照されたい。

【0081】

本願明細書において教示される方法において、CD146の量並びに/又は1以上の他のバイオマーカーの存在若しくは不存在、及び/若しくは量を、当該技術分野において公知であり得るもの等の任意の適切な技術により測定してもよい。

【0082】

本発明の方法及びキットの特定の実施形態によれば、CD146の量、並びに/又は1種以上の他のバイオマーカーの存在若しくは不存在及び/若しくは量は、CD146及び/又はその断片に特異的に結合することができる結合剤、及び前記1種以上の他のバイオマーカーに特異的に結合することができる結合剤を用いて、有利には、イムノアッセイ技術、例えば直接ELISA、間接ELISA、サンドイッチELISA、競合ELISA、マルチプレックス(多重)ELISA、ラジオイムノアッセイ(RIA)、若しくはELISPOT技術を用いて、又は質量分析法を用い

て、又はクロマトグラフィー法を用いて、又は前記方法の組合せを用いて測定される。

【0083】

一実施形態において、CD146の量、並びに/又は1種以上の他のバイオマーカーの存在若しくは不存在及び/若しくは量は、CD146及び/又はその断片に特異的に結合することができる結合剤、及び前記1種以上の他のバイオマーカーに特異的に結合することができる結合剤をそれぞれ用いて、測定してもよい。

【0084】

好ましい実施形態において、前記結合剤は、膜結合型及び血漿循環型の両方のCD146に結合することができる。好ましくは、前記結合剤は、血漿循環型のCD146に特異的に結合するか又はこれを検出することができる。

10

【0085】

一実施形態において、結合剤は、抗体、アプタマー、フォトアプタマー (photoaptamer)、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣物、又は小分子であってもよい。

【0086】

さらなる実施形態において、CD146の量、並びに/又は1種以上の他のバイオマーカーの存在若しくは不存在及び/若しくは量は、イムノアッセイ技術、例えば直接ELISA、間接ELISA、サンドイッチELISA、競合ELISA、マルチプレックスELISA、ラジオイムノアッセイ (RIA)、若しくはELISPOT技術を用いて、又は質量分析法を用いて、又はクロマトグラフィー法を用いて、又は前記方法の組合せを用いて測定される。

20

【0087】

別の態様によれば、本発明は、CD146の量を測定するための手段、有利にはその結合剤、より有利には抗体を含む、血管壁の張力の変動に関連する疾患を診断、予測、及び/又は予知するためのキット、及び前記目的のためのその使用に関する。

【0088】

好ましい実施形態によれば、前記キットは、前記疾患に罹患していないか、又は前記疾患の既知の診断、予測、及び/又は予知を有する対象から得られた参照対照を含む。

【0089】

別の実施形態によれば、前記キットは、前記疾患の診断、予測、及び/又は予知に有用な1種以上の他のバイオマーカー、有利にはB型ナトリウム利尿ペプチド (BNP)、プロB型ナトリウム利尿ペプチド (proBNP)、アミノ末端プロB型ナトリウム利尿ペプチド (NTproBNP)、中央領域プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド (MR-proANP)、及び/又はトロポニンTを検出及び/又は測定する手段を含む

30

【0090】

一実施形態において、任意の前記1種以上の結合剤は、有利には、固相又は担体に固定されていてもよい。

【0091】

また、前記キットは、公知の量又は濃度のCD146及び/又はその断片を、例えば対照、標準、及び/又は校正物としての使用のために含むこともできる。また、対象から試料を回収するための手段を含むこともできる。

【0092】

全ての成分は、当業者に公知のとおり、適切に標識されてもよい。

40

【0093】

また、CD146及び場合により本願に係る1種以上の他のバイオマーカーを測定するために有用な試薬及びツールも開示される。

【0094】

本願に開示されたバイオマーカーを検出及び/又は定量するための、結合剤、抗体、標識抗体、及び必要な試薬又は装置は、当業者に公知であり、WO 2011/048168に詳述されている。さらに、キット及び/又は系が市販されており、例えば：

・ NT-proBNP濃度の測定は、(例えば、Cobas (Roche Diagnostics) 又はDimension Vista Flex (Siemens) を用いた) 1ステップサンドイッチ化学発光イムノアッセイを用いて、

50

分析することができる；

- ・BNPは、ARCHITECT i2000SRシステム（Abbott Laboratories）及びAxSYM BNP-Microparticle Enzyme Immunoassay（Abbott Laboratories）を用いて測定することができる；
- ・MR-proANPは、免疫発光測定アッセイ（B.R.A.H.M.S. AG）を用いて測定することができる；
- ・トロポニンTは、Roche Diagnosticsの高感度アッセイを用いて分析することができる；
- ・sCD146の濃度は、ELISAにより、例えばCY-QUANT ELISA sCD14（Biocytex）を用いて、決定することができる。

【実施例】

【0095】

以下の実験的实施例を参照して、本発明をさらに詳細に説明する。これらの実施例は、例示の目的でのみ提供されるものであって、別段の特定がされない限りは、限定を意図するものではない。

【0096】

さらなる説明が無くても、当業者であれば、上記の説明及び以下の例示的な実施例を用いて、本発明の化合物を作製及び利用して、特許請求の範囲に記載した方法を実施することができると考えられる。したがって、以下の実際の実施例は、本発明の好ましい実施形態に具体的に注目するものであり、決して、本開示の残りの部分を限定するものと解釈されてはならない。

【0097】

I/ 血管ストレスのCD146に対する作用：

静脈ストレス機構試験は、慢性HF患者における末梢鬱血のsCD146血漿レベルに対する役割を評価することを目的としている。

【0098】

方法

被験者

合計44名の、Columbia University Medical Center（ニューヨーク、米国）の慢性HFの外来患者であって、左室駆出率（LVEF）<40%、NYHA機能クラスII又はIII、理学的検査で鬱血のエビデンス無し、かつ安定的な薬物治療を受けている患者が、以前に説明されたプロトコル（Colombo PC et al., European Heart Journal, 2014; 35:448-454）に従って、静脈ストレス試験を受けた。組み入れ基準及び除外基準を、表1に要約する：

【0099】

10

20

30

【表 1】

組み入れ基準	除外基準
- 年齢>18 歳 - LVEF <40% - 末梢静脈鬱血のエビデンスが無い (末梢浮腫無し、頸静脈怒張 <6 cm、肝頸静脈逆流が陰性、腹水無し) - 忍容される場合、ACEi 又は ARB 及びベータブロッカーを含む至適医学療法を少なくとも 4 週間受けている患者	- 収縮期血圧 ≤90 mmHg - どちらの前腕部でも末梢静脈のアクセスを達成することができない - NYHAクラス ≥ II 狭心症 - 心臓移植 - 関連する腎機能障害 (血清クレアチニン >2.5 mg/dl) - 急性の感染症 - 静脈血栓塞栓症の既往歴 - 肝硬変 - 妊娠

表 1: 「静脈応力」試験の組み入れ基準及び除外基準

【0100】

圧力カフを利き腕 (= 試験腕) の周りで膨らませ、静脈腕圧をベースラインより最大 30 mmHg まで増加させることにより、虚血を伴わない末梢静脈ストレスを作り出した。血液を、留置静脈カテーテルを通して、試験腕の肘正中静脈又は尺側皮静脈から 90 分後に、及び対照腕 (膨らませたカフが無い) から、ベースライン時及び 90 分後に、サンプリングした。

【0101】

血液試料の保管及び分析

全ての試料を直ちに遠心分離し、血漿及び血清のアリコート量を、微量遠心管中、-80 で、分析まで保存した。特定できないようにした標本を、分析のために、独立した中核的な研究所に送った。NT-proBNP の濃度の測定は、Lariboisiere University Hospital、パリ、フランスで、1 ステップサンドイッチ化学発光イムノアッセイ (Cobas, Roche Diagnostics、バーゼル、スイス) を用いて行った。sCD146 の濃度は、ELISA (CY-QUANT ELISA sCD146 (著作権表示)、Biocytex、フランス) により、Lariboisiere University Hospital、パリ、フランスで決定された。

【0102】

統計解析

連続変数は、シャピロ-ウィルク検定を用いた正規性の検定の後に、必要に応じて、平均 ± 標準偏差又は中央値 [四分位範囲] として表現される。名義変数は、頻度 (パーセンテージ) として表される。ウィルコクソンの符号順位検定を用いて、静脈性鬱血の前後の、試験及び対照の腕の間の差を調べた。2 つの独立した群間の差は、ウィルコクソンの順位和検定又はフィッシャーの正確確率検定を、必要に応じて用いて、評価した。調整された両側 p 値 < 0.05 で、帰無仮説は棄却された。解析は、IBM SPSS Statistics, Version 21.0. (IBM Corp、アーモック、NY、米国) 及び SAS, Version 9.2. (SAS Institute Inc、ケリー、NC、米国) を用いて行われた。

【0103】

倫理的考慮

本試験は、国内法令を遵守して、かつヘルシンキ宣言の倫理基準に従って行われ、現地の倫理委員会により承認された。全ての患者は、書面でのインフォームドコンセントを提出した。

【 0 1 0 4 】

結果

ベースライン特性

この試験に組み入れられた患者は、臨床的に安定であり、大部分が、LVEFが激しく低下した慢性HFを患う中年の男性であった。循環器の危険因子は、非常に広く見られ、虚血性心疾患は、HFの病因の少なくとも3分の1を占めていた。大部分の患者は、現行のガイドライン (McMurray JJV et al., ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. European Heart Journal. 2012; 33:1787-1847.) に従った疾患修飾療法を受けていた。

10

【 0 1 0 5 】

この試験に組み入れられた患者のベースライン特性を、表2に要約する：

【 0 1 0 6 】

【表 2】

患者の特性	
年齢, 歳	53.5±12.2
男性, n (%)	30 (68%)
BMI, kg/m ²	29.1±6.8
糖尿病, n (%)	16 (36%)
高血圧症, n (%)	26 (59%)
脂質異常症, n (%)	22 (50%)
能動喫煙, n (%)	2 (5%)
虚血性心筋症, n (%)	14 (32%)
脳血管発作の既往歴, n (%)	5 (11%)
NYHA クラス >II, n (%)	28 (64%)
収縮期 BP, mmHg	120±14
拡張期 BP, mmHg	77±10
心拍数, bpm	71±12.7
薬物治療	
ACEi/ARB, n (%)	40 (91%)
ベータブロッカー, n (%)	43 (98%)
アルドステロン拮抗薬, n (%)	29 (66%)
ループ利尿薬, n (%)	36 (82%)
ジゴキシン, n (%)	18 (41%)
ヒドララジン, n (%)	3 (7%)
硝酸塩, n (%)	5 (11%)
スタチン, n (%)	26 (59%)
アミオダロン, n (%)	8 (18%)
ASA, n (%)	24 (55%)
クマジン, n (%)	9 (20%)
心エコー及び検査値	
LVEF, %	22±8
LV 拡張終末期直径	64±9
クレアチニン, mg/dL	1.17±0.3

説明文: ACEi アンジオテンシン変換酵素阻害薬 – ARB アンジオテンシン受容体拮抗薬 – ASA アセチルサリチル酸 – BMI ボディマス指数 – LV 左心室 – LVEF 左室駆出

表 2: 本試験に組み入れられた患者のベースライン特性 (n=44)

【0107】

静脈ストレスのバイオマーカーレベルに対する影響

図1Aに示されるとおり、安定したHF患者における静脈ストレスの誘導は、ベースライン (454 [339-507] ng/ml, p=0.001) と、及び対照腕 (442 [374-527] ng/ml, p=0.02) と比較すると、鬱血腕のsCD146の循環レベルの増加と関連していた (481 [371-553] ng/ml)。特筆すべきは、sCD146レベルは、90分後の対照腕において、ベースラインと比較してわずかに高くもあった (442 [374-527]対454 [339-507] ng/ml, p=0.04)。

【 0 1 0 8 】

一方、図1Bは、鬱血の前後のNT-proBNPの血漿レベルを示している：鬱血腕（308 [218-1140] ng/ml）において、ベースライン（341 [191-1147] ng/ml、 $p=0.51$ ）と、及び対照腕（327 [152-1137] ng/ml、 $p=0.29$ ）と比較した場合、NT-proBNPのレベルの差は見られなかった。

【 0 1 0 9 】

結論

本試験は、HF患者における、正常値（Bardin N et al., Thromb Haemost. 2003; 90:915-920）を上回る、高い循環sCD146を確認した。前腕静脈の圧力の増加により、鬱血腕においてsCD146の血漿レベルが上昇したが、NT-proBNPはしなかった。それよりは控えめだが有意なsCD146の血漿レベルの増加が、（鬱血させていない）対側腕においてもみられたが、これは鬱血腕からの血流への溢出に起因していると考えられる（Colombo PC et al., European Heart Journal. 2014; 35:448-454）。

10

【 0 1 1 0 】

本試験は、静脈ストレスの存在下でのsCD146の放出の増加を実証する。本件発明者らが知る限り、これが、末梢静脈性鬱血に特異的に関連するバイオマーカーの最初の実証である。したがって、HFにおいて、内皮sCD146は、末梢血管系の鬱血のマーカーである。

【 0 1 1 1 】

静脈ストレス試験中にカフを膨らませると、鬱血が促進されるだけでなく、上腕動脈に作用することにより、必然的に動脈灌流圧が減少した。しかしながら、灌流圧の減少は、動脈血圧が徐々に減少する進行したHFの典型的な臨床的特徴であり（Barlera S, et al., Circ Heart Fail. 2013; 6:31-39）、そのため、病態生理学の観点からから、このモデルはより関連のある（有意義な）ものとなる。特筆すべきは、この静脈性鬱血のヒトモデルは、急性HFに典型的な表現型の重要な特徴、例えば炎症、神経ホルモン、及び内皮細胞の活性化を局所スケールで模倣することが以前に示されていた（Colombo PC et al., European Heart Journal. 2014; 35:448-454）。

20

【 0 1 1 2 】

III/ 僧帽弁狭窄症の評価のための使用

僧帽弁狭窄症（MS）は、進行性の労作時呼吸困難、肺高血圧症（PH）、心房細動、及び右室（RV）不全を引き起こし得る。呼吸困難の重症度の変化を呈するMSの患者は、完全な心臓病学的評価を必要とする場合が多いが、バイオマーカーの使用は、MS及びその合併症の初期評価の代替手段となる可能性がある。この試験のねらいは、この目的のための複数の循環器バイオマーカーの役割を評価することである

30

【 0 1 1 3 】

方法

試験集団

連続的な、臨床的に安定した、中程度（弁口面積が $1.5 \sim 2 \text{ cm}^2$ の間）又は重度（弁口面積 $<1.5 \text{ cm}^2$ ）のMSの患者が、2011年1月1日～2015年3月31日の間、試験に組み入れられた。この前向き多施設観察研究は、University Hospital of Besancon（フランス）、Bichat University Hospital in Paris（フランス）、及びCumhuriyet University Hospital of Sivas（トルコ）で行われた。除外基準は：年齢 <18 歳；左室駆出率 $<40\%$ ；直近の急性冠症候群、又は記録された冠動脈疾患；MSの、重度の大動脈弁疾患又は軽度を越える僧帽弁逆流との組合せ；直近の（ <1 ヶ月）心不全であった。高心拍数（1分間当たり >110 拍）、管理不良高血圧（収縮期血圧 $>180 \text{ mmHg}$ ）、重度の貧血（ヘモグロビン $<9 \text{ g/dL}$ ）の患者、又は妊娠している患者も除外した。

40

【 0 1 1 4 】

University Hospital of Besanconで試験された、前毛細血管性PH（PAH）の患者の1つの小コホート（ $n=16$ ）が、肺高血圧症の種々の病因におけるバイオマーカーレベルの比較のために組み入れられた。

【 0 1 1 5 】

50

心エコー試験

全ての患者は、組み入れ時に経胸壁心エコーを受け、測定は、European Association for Echocardiography (Baumgartner H, et al. (2009) EAE/ASE recommendations for clinical practice. Eur J Echocardiogr 10:1-25. doi: 10.1093/ejechocard/jen303) の推奨に従って行われた。僧帽弁狭窄 (MS) の重症度は、傍胸骨短軸像における面積測定評価により、評価された。MSは、弁口面積が 1.5 cm^2 の場合、重度であるとみなされ、弁口面積が $1.5 \sim 2 \text{ cm}^2$ の間の場合、中程度であるとみなされた。僧帽弁逆流の程度は、カラー Doppler 法により推定され、左心房への血流の流入の程度に応じて分類された。左室 (LV) 収縮機能は、シン普森の biplane 法による LV 駆出率の測定により評価された。左心房の大きさは、心尖部四腔断層像の面積、又は四腔像及び二腔像の両方における体積を測定することにより評価された。左心房 (LA) は、面積が $>20 \text{ cm}^2$ 、又は体積が $>60 \text{ mL}$ 、又は直径が $>40 \text{ mm}$ の場合、拡張しているとみなされた。肺圧は、心尖部四腔断層像における連続波 Doppler での最大三尖弁逆流速度から、下大静脈の大きさ及びコンプライアンスを考慮して、算出した。収縮期肺動脈圧 (PAP) $>30 \text{ mmHg}$ に相当する、三尖弁逆流速度 $>2.8 \text{ m/sec}$ について、PH の診断が保持される。右室 (RV) 機能は、RV 内空面積変化率 (RV fac)、三尖弁輪収縮期移動距離 (TAPSE)、及び側壁三尖弁輪での収縮期心筋速度 (TAPSE S') を測定することにより評価した。RV 機能不全は、これら3つの基準のいずれかの変化 (すなわち、RV fac $<40\%$ 、TAPSE $<18 \text{ mm}$; TAPSE S' $<12 \text{ cm/sec}$) として定義される。

10

【0116】

バイオマーカー検査

20

静脈血の試料は、心エコーが行われた日と同日に採取された。試料は、冷却された遠心機で10分間以内で遠心分離され、 -80°C で保存された。

【0117】

BNPは、ARCHITECT i2000システム (Abbott Laboratories、シカゴ、IL、米国) を用いて測定した。MR-proANPは、免疫発光測定アッセイ (B.R.A.H.M.S. AG、ヘニッヒスドルフ、ドイツ) を用いて、sCD146は、CY-QUANT ELISA sCD146キット (Biocytex、アニエール、フランス) を用いて測定した。

【0118】

統計解析

連続変数は、中央値 (四分位範囲) として、名義変数は頻度 (パーセンテージ) として表される。群の特性は、ノンパラメトリック検定により比較された: 2つの群については、必要に応じて、フィッシャーの正確確率検定又はマン・ホイットニーのU検定; 3つの群については、必要に応じて、カイ二乗又はクラスカル・ウォリスのH検定。群間の統計的有意差については、続いてダンの方法を用い、多重比較の場合にはp値のボンフェローニ補正を行って、一対比較を行った。補正されたp値を報告する。相関解析を、スピアマンの相関係数を用いて行った。3つ全てのバイオマーカーの診断能は、受信者動作特性 (ROC) 解析により評価され、曲線下面積 (AUC) として表された。調整された両側p値 <0.05 で、帰無仮説は棄却された。全ての解析は、IBM SPSS Statistics, Version 21.0. (IBM Corp、アーモック、NY、米国) を用いて行われた。

30

【0119】

倫理的考慮

本試験は、ヘルシンキ宣言の原則及び現地の国内法令に従って行われ、現地の倫理委員会により承認された。全ての患者は、書面でのインフォームドコンセントを提出した。本試験は、ClinicalTrials.govに、番号NCT01374880で登録される。

40

【0120】

結果

試験集団

合計117名の、大部分が女性 ($n=96$ 、72%) で、僧帽弁狭窄症 (MS) を患う患者が組み入れられた。82名の患者 (70%) において、狭窄が重度であると分類され、他の35名の患者 (30%) において中程度であると分類された。面積測定法の面積 (planimetric area) の

50

中央値は、 1.34 cm^2 (IQR $1.1\text{-}1.58 \text{ cm}^2$) であり、左心房は、大部分の患者 ($n= 104$ 、 89%) で拡張しており、直径の中央値は 49 mm ($42\text{-}54 \text{ mm}$)、体積の中央値は 101 ml ($75\text{-}135 \text{ ml}$) であった。

【 0 1 2 1 】

肺高血圧症 ($n= 83$ 、 71%) 及び心房細動 ($n=49$ 、 42%) は、MS患者によく見られた (図2)。

【 0 1 2 2 】

表3に、MS患者のベースライン特性を要約する：

【 0 1 2 3 】

【 表 3 - 1 】

10

	僧帽弁狭窄症 ($n=117$)	PAH ($n=16$)	p 値
患者背景			
年齢 [歳]	55 (46 - 67)	64 (53 - 71)	0.10
男性の性別	21 (18%)	8 (50%)	0.008
体重[kg]	73 (60 - 82)	61 (49 - 89)	0.31
身長[cm]	160 (155 - 166)	168 (158 - 173)	0.052
BMI [kg/m ²]	27.8 (23.5 - 31.3)	23.6 (19.1 - 28.2)	0.01
高血圧症	37 (32%)	6 (38%)	0.78
NYHA クラス			
I	26 (22%)	3 (19%)	
II	58 (50%)	5 (31%)	
III	32 (27%)	2 (12%)	
IV	1 (1%)	6 (38%)	
治療			
ベータブロッカー	61 (52%)	2 (13%)	0.003
ACE-阻害薬又は AT2 拮抗薬	15 (29%)	4 (25%)	1.00
アルドステロン拮抗薬	34 (29%)	4 (25%)	1.00
利尿薬	57 (49%)	13 (81%)	0.017
ジゴキシン	14 (28%)	0 (0%)	0.016

20

30

【表 3 - 2】

バイタルサイン				
収縮期血圧[mmHg]	120 (108 - 130)	123 (118 - 132)	0.41	
拡張期血圧[mmHg]	71 (65 - 81)	70 (69 - 78)	0.76	
心拍数[bpm]	75 (69 - 86)	78 (66 - 95)	0.62	
心房細動	49 (42%)	2 (13%)	0.028	
検査値				
ヘモグロビン[g/dl]	13.7 (12.6 - 14.5)	14 (12.5 - 15)	0.54	10
eGFR [ml/min]	75 (59 - 90)	65 (57 - 97)	0.52	
BNP [pg/ml]	121 (77 - 205)	103 (56 - 165)	0.35	
MR-proANP [pmol/l]	96 (39 - 188)	174 (103 - 225)	0.054	
sCD146 [ng/ml]	320 (263 - 440)	562 (322 - 620)	0.003	
心エコー				
左心室				
隔壁厚[mm]	9 (8 - 10)	11 (9 - 13)	0.016	
PW-厚[mm]	9 (8 - 10)	10 (9 - 11)	0.032	
LV-EDD [mm]	47 (43 - 51)	45 (40 - 50)	0.11	20
LV-ESD [mm]	32 (29 - 35)	26 (19 - 33)	0.002	
LV-EF [%]	60 (57 - 68)	65 (60 - 70)	0.11	
右心室				
RV 拡張	29 (25%)	14 (87%)	< 0.001	
RV 機能障害	0 (0%)	5 (31%)	< 0.001	
収縮期 PAP [mmHg]	37 (30 - 45)	68 (46 - 80)	< 0.001	
僧帽弁				
面積 (面積測定) [cm2]	1.34 (1.1 - 1.58)	2.05 (2 - 2.1)	< 0.001	
左心房				
LA 直径[mm]	49 (42 - 54)	39 (32 - 43)	< 0.001	30
LA 面積[cm2]	33 (28 - 38)	18 (16 - 20)	< 0.001	
LA 体積[ml]	101 (75 - 135)	. (. - .)	-	

表3: 試験した患者のベースライン特性

【 0 1 2 4 】

MS、肺高血圧症、及び心房細動の重症度のバイオマーカーに対する影響

図3Aに示すとおり、BNP (p=0.029)、MR-proANP (p=0.027)、及びsCD146 (p=0.011)の血漿レベルは、中程度のMSと比較して重度のMSの患者において高かった。

【 0 1 2 5 】

以下の表4に示すとおり、重度及び中程度のMSを区別するためのROC解析後の曲線下面積 (AUC) は、3つ全てのバイオマーカーについて、0.63~0.65の間であった：

【 0 1 2 6 】

【表 4】

	曲線下面積 (95%信頼区間)	
	重度の狭窄	肺高血圧
バイオマーカー		
BNP [pg/ml]	0.633 (0.512 – 0.754)	0.636 (0.521 – 0.752)
MR-proANP [pmol/l]	0.635 (0.525 – 0.744)	0.629 (0.516 – 0.741)
sCD146 [ng/ml]	0.653 (0.532 – 0.775)	0.604 (0.490 – 0.717)

10

表 4: 僧帽弁狭窄症の合併症の評価についての異なるバイオマーカーの受信者動作特性(ROC)曲線

【0127】

図3Bは、収縮期肺（動脈）圧が30 mmHgより高いMS患者が、PHの無い患者と比較して、より高いレベルのBNP（ $p=0.025$ ）及びMR-proANP（ $p=0.034$ ）を有したが、sCD146レベルは変わらないことを示す。収縮期肺動脈圧（sPAP）は、図4に示すとおり、BNP（ $p=0.185$ 、 $p=0.044$ ）、MR-proANP（ $p=0.338$ 、 $p<0.001$ ）、sCD146（ $p=0.341$ 、 $p<0.001$ ）と多少相関していた。sPAP 30 mmHgとsPAP > 30 mmHgとを区別するためのROC解析後の曲線下面積（AUC）は、3つ全てのバイオマーカーについて、0.60～0.64の間であった（表4）。

20

【0128】

図3Cに示すとおり、BNP（ $p=0.002$ ）、及びsCD146（ $p<0.001$ ）の血漿レベルは、心房細動を有するMS患者において、洞調律の患者と比較して高かった。しかしながら、心房細動の存在又は不存在は、血漿MR-proANPに影響しなかった。

【0129】

肺高血圧症におけるバイオマーカー

高肺動脈圧の患者（ $n=99$ ）中、収縮期肺動脈圧の中央値は、PHを伴うMS患者（ $n=83$ ）では45 mmHg（35-50 mmHg）、前毛細血管性PAHの患者では68 mmHg（46-80 mmHg）であった（ $p<0.001$ ）。PAHを伴う患者のコホート（ $n=16$ ）のベースライン特性を、表3に要約する。

30

【0130】

図5は、PHを伴うMS患者における、PAHを伴う患者におけるレベルと比較した、3つ全てのバイオマーカーの血漿レベルを示す：PAH患者は、PHを伴うMS患者と比較して、sCD146のレベルがより高かった（ $p=0.007$ ）が、一方でBNP及びMR-proANPには差が観察されなかった。さらに、高肺動脈圧の患者中、RV機能不全が5例（5%）に存在し、正常なRV機能の患者と比較して、sCD146のレベルのより高い中央値に関連していた（612対344 ng/ml、 $p=0.013$ ）が、一方でBNP及びMR-proANPのレベルには差が観察されなかった。

【0131】

結論

40

3つ全てのバイオマーカーの血漿レベルが、重度のMSにおいて、中程度のMSと比較して、より高かった。PHは、BNP及びMR-proANPのレベルに関連していた。心房細動の存在により、BNP及びsCD146の血漿レベルが増加したが、一方でMR-proANPは、心房細動に影響を受けなかった。PAH患者は、PHを伴うMS患者と比較して、sCD146のレベルがより高かった。RV機能不全は、sCD146のより高いレベルに関連していた。

【0132】

結論として、僧帽弁狭窄症（MS）及びその合併症は、循環器バイオマーカーの血漿レベルに影響を及ぼす。MR-proANPの使用は、MSにおける疾患の進行のモニタリングに、特に重度の狭窄及び初期段階での肺高血圧症の存在の評価に、有用である可能性がある。sCD146は、より進行した肺高血圧症及びRV機能不全の患者を特定するのに役立つ可能性がある。

50

。

【 0 1 3 3 】

III/ 肺鬱血の評価のための使用

この試験のねらいは、ACSの初期段階での肺鬱血の程度の評価のためのsCD146の評価であった。

【 0 1 3 4 】

方法

試験集団

University Hospital of Brno (チェコ共和国) の心臓病部門の冠状疾患集中治療室 (CCU) に、2009年7月～2012年11月に入院した連続的なACSの患者が登録された。ACSの診断は、心電図の一貫した変化、すなわちSTセグメントの上昇又は低下、新たな左脚ブロック、又は陰性T波 (Thygesen K, et al. Third universal definition of myocardial infarction. 2012. pp. 2551-67) を併発する、妥当な症状に基づいた。除外基準は：年齢>85歳、又は非循環器系の理由に起因する推定余命<12ヶ月；既知の又は新たに診断された悪性腫瘍、炎症性疾患、又は結合組織病；居住地から病院までの距離>100 km；冠動脈造影で、管腔内径の>50%の減少を伴う冠状狭窄が無いこと、であった。

10

【 0 1 3 5 】

血液試料の保管及び分析

標準的な生化学的及び血液学的分析、並びにsCD146のための静脈血の試料を、病院への入院直後、PCIの前に、採取した。トロポニンT及び脳ナトリウム利尿ペプチド (BNP) を、胸痛の発症のちょうど24時間後に採取した。試料は、冷却された遠心機で10分間以内に遠心分離され、-80℃で保存された。トロポニンTは高感度アッセイ (Roche Diagnostics、パーゼル、スイス) を用いて、BNPはAxSYM BNP-Microparticle Enzyme Immunoassay (Abbott Laboratories、シカゴ、IL、米国) を用いて、及びsCD146はELISA (CY-QUANT ELISA sCD146 (著作権表示)、Biocytex、フランス) によって、分析した。

20

【 0 1 3 6 】

肺鬱血の放射線学的評価

肺鬱血は、入院時に従来の胸部X線により評価した。画像は、有資格の放射線科医により解析され、3つの群に分類された：鬱血が無い又は軽度、間質性肺水腫、肺泡性肺水腫。

30

【 0 1 3 7 】

倫理的考慮

本試験への参加の前に、書面でのインフォームドコンセントを全ての被験者より得た。本試験は、国内法令を遵守して、かつヘルシンキ宣言の倫理基準に従って行われ、Faculty Hospital Brno (ブルノ、チェコ共和国) の倫理委員会により承認された。

【 0 1 3 8 】

統計解析

値は、必要に応じて、中央値 (四分位範囲、IQR) として、又は数字 (パーセンテージ) として表される。3つの群は、必要に応じて、カイ二乗又はクラスカル・ウォリスのH検定を用いて比較された。群間の統計的有意差については、続いてダンの方法を用い、多重比較の場合にはp値のボンフェローニ補正を行って、一対比較を行った。調整された両側p値<0.05で、帰無仮説は棄却された。全ての解析は、IBM SPSS Statistics, Version 21.0 (IBM Corp、アーモンク、NY、米国) を用いて行われた。

40

【 0 1 3 9 】

結果

ACSを呈する合計1021名の患者を予めスクリーニングした。入院時の胸部X線が無い患者 (n = 94; 9%) を、この解析から除外した。本試験に組み入れられた927名の患者のベースライン特性を、表5に要約する：

【 0 1 4 0 】

【表 5 - 1】

	合計 N = 927	鬱血が無い か又は軽度 N = 835	間質性水腫 N = 72	肺胞水腫 N = 20	p 値
年齢[歳]	61 (55 - 67)	61 (55 - 67)	63 (55 - 68)	70 (59 - 73)	0.010
男性の性別	707 (76%)	643 (77%)	50 (69%)	14 (70%)	0.281
身長[cm]	174 (168 - 179)	174 (168 - 180)	170 (168 - 179)	170 (165 - 174)	0.120
体重[kg]	85 (75 - 95)	85 (75 - 95)	8 (76 - 90)	83 (74 - 97)	0.582
収縮期血圧 [mmHg]	140 (120 - 160)	140 (120 - 160)	135 (113 - 155)	135 (103 - 151)	0.071
拡張期血圧 [mmHg]	80 (70 - 90)	80 (70 - 90)	80 (70 - 90)	70 (63 - 80)	0.008
心拍数 [/min]	76 (66 - 87)	75 (66 - 86)	82 (74 - 105)	87 (73 - 98)	< 0.001
急性冠症候群の 種類					0.022
不安定狭心症	36 (4%)	35 (4%)	1 (1%)	0 (0%)	
NSTEMI	278 (30%)	248 (30%)	18 (25%)	12 (60%)	
STEMI	613 (66%)	552 (66%)	53 (74%)	8 (40%)	
危険因子					
高血圧症	508 (55%)	459 (55%)	35 (49%)	14 (70%)	0.224
脂質異常症	380 (41%)	339 (41%)	31 (43%)	10 (50%)	0.653
糖尿病	206 (22%)	171 (21%)	24 (33%)	11 (55%)	< 0.001
能動喫煙	424 (46%)	384 (46%)	34 (49%)	6 (30%)	0.597
家族歴	192 (28%)	179 (29%)	11 (24%)	2 (20%)	0.718
以前に心筋梗塞	107 (12%)	99 (12%)	7 (10%)	1 (5%)	0.562
以前に PCI	83 (9%)	80 (10%)	2 (3%)	1 (5%)	0.125
以前に CABG	22 (2%)	18 (2%)	4 (6%)	0 (0%)	0.149
以前に脳卒中	49 (5%)	38 (5%)	9 (13%)	2 (10%)	0.010
末梢動脈疾患	53 (6%)	41 (5%)	7 (10%)	5 (25%)	< 0.001
COPD	39 (4%)	35 (4%)	2 (3%)	2 (10%)	0.362
心房細動	25 (3%)	19 (2%)	3 (4%)	3 (15%)	0.002

10

20

30

40

【表 5 - 2】

入院時の検査値					
ヘモグロビン [g/L]	143 (133 - 153)	143 (133 - 153)	142 (129 - 157)	137 (113.5- 149)	0.170
白血球[G/L]	10.9 (8.7 - 13.7)	10.7 (8.6 - 13.3)	12.4 (9.7 - 16.5)	13.4 (10.9 17.8)	< 0.001
ナトリウム [mmol/L]	140 (137 - 141)	140 (137 - 141)	139 (137 - 141)	138 (137 - 142)	0.196
カリウム [mmol/L]	4 (3.7 - 4.4)	4 (3.7 - 4.4)	4.1 (3.8 - 4.4)	4.5 (4.1 - 5.0)	0.002
グルコース [mmol/L]	7.6 (6.3 - 10)	7.5 (6.2 - 9.7)	9 (7.8 - 12.1)	13 (7.5 - 17.1)	< 0.001
クレアチニン [μmol/L]	82 (71 - 97)	82 (70 - 96)	84 (75 - 98)	103 (81 - 131)	0.002
トロポニン T* [μg/L]	1.41 (0.372- 3.78)	1.34 (0.33 - 3.52)	3.47 (1.22 - 7.00)	1.16 (0.52-3.66)	< 0.001
CRP* [mg/L]	18 (6 - 62)	15 (6 - 51)	70 (24 - 175)	66 (39 - 163)	< 0.001
入院期間 [日間]	5 (4 - 7)	5 (4 - 7)	6 (4 - 9)	7 (5 - 12)	0.007
院内死亡率	10 (1.1%)	4 (0.5%)	4 (5.6%)	2 (10.0%)	< 0.001

説明文: BNP 脳ナトリウム利尿ペプチド - CABG 冠動脈バイパス移植術 - COPD 慢性閉塞性肺疾患 - CRP C 反応性タンパク質 - NSTEMI 非ST 上昇型心筋梗塞 - PCI 経皮的冠動脈形成術 - STEMI ST 上昇型心筋梗塞.

* 報告された BNP 及びトロポニン T の値は、入院 24 時間後のもの、CRP 値は入院 48 時間後のもの

表5: 試験した患者のベースライン特性

【 0 1 4 1 】

患者は、続いて入院時の胸部X線での肺鬱血の程度に応じて、3つの群に分類された：鬱血が無いが又は軽度（n = 835）、間質性水腫（n = 72）、肺胞水腫（n = 20）。92名（10%）の患者が、胸部X線で肺水腫の兆候を示した。

【 0 1 4 2 】

重度の肺鬱血の患者は、入院時に、他のサブグループと比較して、NSTEMIを呈する方がより多く、より高齢であり、糖尿病、心房細動、及び末梢動脈疾患の有病率がより高く、クレアチニンレベルがより高く、拡張期血圧がより低かった。鬱血が無いが又は軽度の患者は、重度の鬱血の患者と比較して、心拍数がより低く、炎症パラメータがより低く、グルコースがより低かった。特筆すべきは、間質性水腫は、他のサブグループと比較して、より高いトロポニンレベルに関連していた。

【 0 1 4 3 】

肺鬱血（間質性又は肺胞の水腫）の患者では、肺鬱血を伴わないが又は軽度の患者と比較して、院内死亡率が増加していた（5.6%及び10.0%対0.5%、p < 0.001）。また、一対比較は統計的に有意ではなかったが、肺鬱血の増加に伴って入院期間が長くなる傾向もあっ

た。

【 0 1 4 4 】

集団全体について、sCD146のレベルの中央値は、320 ng/mL (IQR 251 - 398 ng/mL, 範囲 95 - 2866 ng/mL) であり、BNPのレベルの中央値は、263 pg/mL (IQR 125 - 473 pg/mL、範囲 10 - 11567 pg/mL) であった。

【 0 1 4 5 】

図6は、BNPの血漿レベルの中央値が、間質性 (679 pg/mL、IQR 355 - 1097 pg/mL) 又は肺胞 (665 pg/mL、IQR 267 - 1214 pg/mL) の肺水腫の患者では、鬱血の兆候が無いが又は軽度の患者 (251 pg/mL、IQR 119 - 430 pg/mL) と比較して高かったことを示す。間質及び肺胞の肺疾患の患者間では、差は見られなかった (p値を図6に示す) 。

10

【 0 1 4 6 】

図6は、sCD146の血漿レベルが、BNPよりも肺鬱血の放射線のエビデンスとより良く関連し、肺鬱血の程度の増加に伴って循環sCD146が段階的に増加したことをさらに示す：鬱血の兆候が無いが又は軽度、間質性水腫、及び肺胞水腫の患者におけるsCD146の血漿レベルの中央値は、それぞれ、316 ng/mL (IQR 249 - 388 ng/mL) 、348 ng/mL (IQR 267 - 478 ng/mL) 、及び438 ng/mL (IQR 346 - 690 ng/mL) であった。さらに、sCD146の血漿レベルは、BNPと比較してより低いばらつきを示した。

【 0 1 4 7 】

図7は、BNP、sCD146、及び心筋壊死の関係を示す。BNPのレベルは、トロポニンのレベルと関連していた。トロポニンレベルによって集団を3つの群に分割すると、BNP値は、トロポニンの第2及び第3三分位において、第1三分位と比較して高かった ($p < 0.001$) 。BNPと対照的に、sCD146のレベルは、トロポニンの第2及び第3三分位において、ベースラインと比較して増加せず、わずかに減少すらした。

20

【 0 1 4 8 】

結論

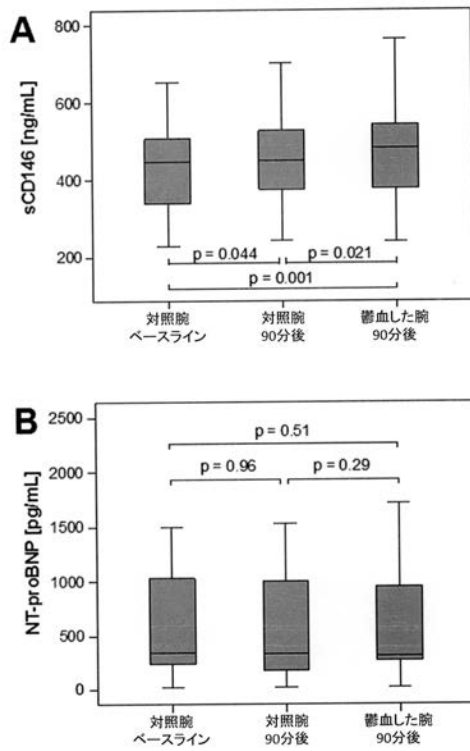
sCD146の血漿レベルは、肺鬱血の放射線のエビデンスを良く反映した：sCD146の血漿レベルが高くなるほど、肺鬱血の程度が悪くなる。興味深いことに、BNPと対照的に、sCD146のレベルは、トロポニンのレベルに影響を受けなかった。換言すれば、新規内皮バイオマーカーsCD146は、ACSの初期段階において、肺鬱血の放射線のエビデンスと相関し、BNPと対照的に、心筋細胞壊死の量に影響を受けない。

30

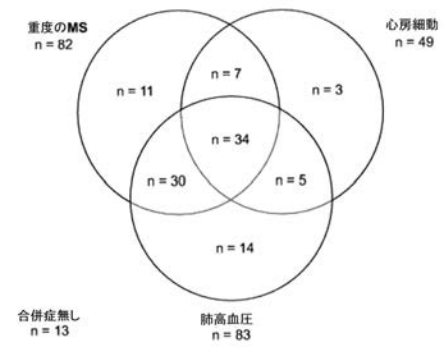
【 0 1 4 9 】

関連する肺鬱血は、ACSを呈する患者の10名に1名の経過中に合併し、また本試験において確認されたとおり、短期間の転帰に悪い影響を及ぼすため、sCD146は、救急医、心臓専門医、及び集中治療専門医が、進行中のACSの患者において、肺鬱血を評価及びモニタリングするのに役立つ可能性がある。

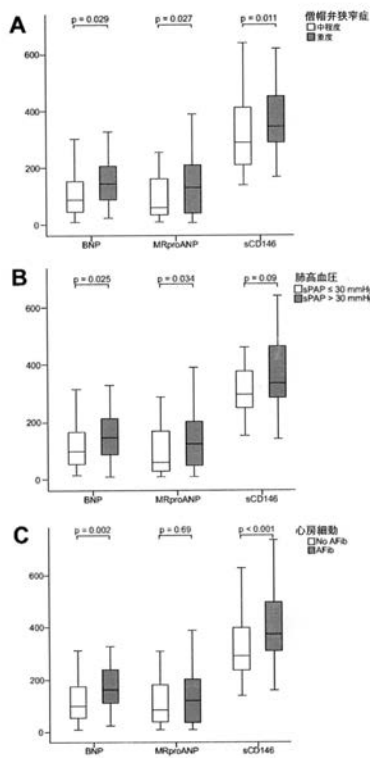
【 図 1 】



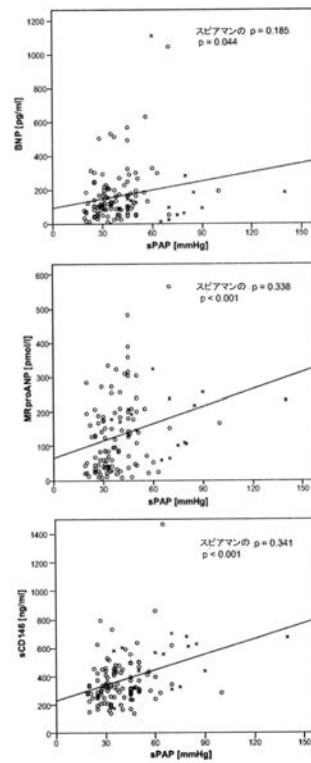
【 図 2 】



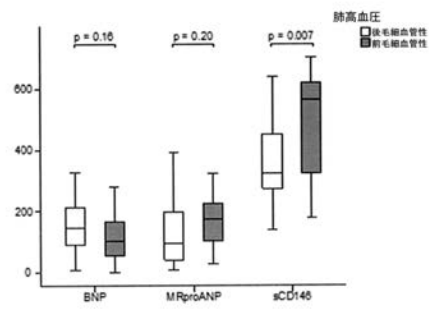
【 図 3 】



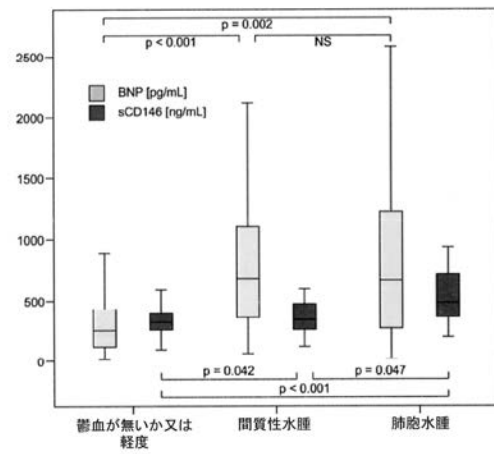
【 図 4 】



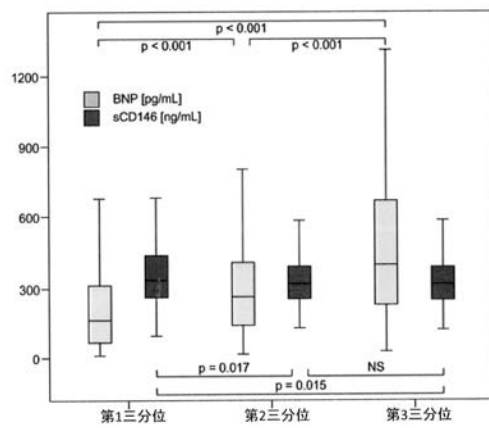
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/076862

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/574 G01N33/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	E. GAYAT ET AL: "R 306 Intérêt du CD146 pour la de'termination de l'origine cardiaque d'une dyspne'e aigue", ANNALES FRANCAISES D'ANESTHESIE ET DE REANIMATION., vol. 32, no. suupl 1, 1 September 2013 (2013-09-01), pages A190-A191, XP055244481, FR ISSN: 0750-7658, DOI: 10.1016/j.annfar.2013.07.362 page A190, page A191 ----- -/--	1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 January 2017

Date of mailing of the international search report

16/01/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gonçalves Mauger, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/076862

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LOTTE JACOBS ET AL: "Heart 'omics' in AGEing (HOMAGE): design, research objectives and characteristics of the common database", JOURNAL OF BIOMEDICAL RESEARCH, vol. 28, no. 5, 31 July 2014 (2014-07-31), - 1 September 2014 (2014-09-01), pages 349-359, XP055244486, ISSN: 1674-8301, DOI: 10.7555/JBR.28.20140045 abstract; table 3 -----	1-14
A	DUYGU ONAT ET AL: "Human Vascular Endothelial Cells: A Model System for Studying Vascular Inflammation in Diabetes and Atherosclerosis", CURRENT DIABETES REPORTS, CURRENT SCIENCE INC, NEW YORK, vol. 11, no. 3, 22 February 2011 (2011-02-22), pages 193-202, XP019897678, ISSN: 1539-0829, DOI: 10.1007/S11892-011-0182-2 page 196 - page 197; table 2 -----	1-14
X	GAYAT ETIENNE ET AL: "Soluble CD146, a new endothelial biomarker of acutely decompensated heart failure", INTERNATIONAL JOURNAL OF CARDIOLOGY, vol. 199, 12 July 2015 (2015-07-12), pages 241-247, XP029269493, ISSN: 0167-5273, DOI: 10.1016/J.IJCARD.2015.07.039 page 242 - page 243; table 1 -----	1-14
X	EP 2 491 400 A1 (PRONOTA NV [BE]) 29 August 2012 (2012-08-29) see abstract; paragraph [0144]; claims; examples -----	1-14
A	WO 2010/054810 A1 (BRAHMS AG [DE]; BERGMANN ANDREAS [DE]; HARTMANN OLIVER [DE]) 20 May 2010 (2010-05-20) abstract; claims; examples -----	1-14
X	WO 2011/048168 A1 (PRONOTA N V [BE]; KAS KOEN [BE]) 28 April 2011 (2011-04-28) cited in the application page 28; claims; examples -----	1-14
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2016/076862

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	MATTIA ARRIGO ET AL: "Soluble CD146 is a Marker of Peripheral Congestion in Global Heart Failure Patients", CIRCULATION, LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, US, vol. 132, no. 19, 6 November 2015 (2015-11-06), - 10 November 2015 (2015-11-10), XP009188165, ISSN: 0009-7322 the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/076862

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP 2491400	A1	29-08-2012	AU	2010309808 A1	03-05-2012
			CA	2776978 A1	28-04-2011
			DK	2491400 T3	11-01-2016
			EP	2491400 A1	29-08-2012
			EP	2491401 A1	29-08-2012
			ES	2558440 T3	04-02-2016
			JP	5714019 B2	07-05-2015
			JP	5810089 B2	11-11-2015
			JP	2013508707 A	07-03-2013
			JP	2013508708 A	07-03-2013
			JP	2015232563 A	24-12-2015
			US	2012220493 A1	30-08-2012
			US	2012237962 A1	20-09-2012
			US	2014113308 A1	24-04-2014
			US	2015330995 A1	19-11-2015
			US	2016047822 A1	18-02-2016
			WO	2011048168 A1	28-04-2011
			WO	2011048173 A1	28-04-2011

WO 2010054810	A1	20-05-2010	CN	102317790 A	11-01-2012
			EP	2347266 A1	27-07-2011
			ES	2431358 T3	26-11-2013
			HK	1163813 A1	17-07-2015
			JP	5584695 B2	03-09-2014
			JP	2012508386 A	05-04-2012
			US	2010159474 A1	24-06-2010
			WO	2010054810 A1	20-05-2010

WO 2011048168	A1	28-04-2011	AU	2010309808 A1	03-05-2012
			CA	2776978 A1	28-04-2011
			DK	2491400 T3	11-01-2016
			EP	2491400 A1	29-08-2012
			EP	2491401 A1	29-08-2012
			ES	2558440 T3	04-02-2016
			JP	5714019 B2	07-05-2015
			JP	5810089 B2	11-11-2015
			JP	2013508707 A	07-03-2013
			JP	2013508708 A	07-03-2013
			JP	2015232563 A	24-12-2015
			US	2012220493 A1	30-08-2012
			US	2012237962 A1	20-09-2012
			US	2014113308 A1	24-04-2014
			US	2015330995 A1	19-11-2015
			US	2016047822 A1	18-02-2016
			WO	2011048168 A1	28-04-2011
			WO	2011048173 A1	28-04-2011

フロントページの続き

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

(72)発明者 マッティア・アルリーゴ

フランス・パリ・アンセルム・ユエムエル - エス・ 9 4 2

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA36 DA54 FB03

專利名称(译)	使用CD146作为血管壁张力的标志物		
公开(公告)号	JP2018537661A	公开(公告)日	2018-12-20
申请号	JP2018521651	申请日	2016-11-07
[标]申请(专利权)人(译)	比奥卡尔齐斯股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	我柯蒂斯Enufe		
[标]发明人	アレクサンドルメバザア マッティアアルリーゴ		
发明人	アレクサンドル・メバザア マッティア・アルリーゴ		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/74 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N33/54366 G01N33/56966 G01N33/574 G01N33/68 G01N2333/70596 G01N2800/321 G01N2800/324 G01N2800/325 G01N2800/326 G01N2800/329		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/74 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/DA54 2G045/FB03		
代理人(译)	村山彦 安倍晋三龙彦		
优先权	2015193565 2015-11-06 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及CD146作为血管壁张力的标志物的用途，特别是用于诊断，预测和/或预后与血管壁张力变化有关的疾病。

(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2018-537661 (P2018-537661A)
		(43) 公表日	平成30年12月20日 (2018. 12. 20)
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)	
G O 1 N 33/68 (2006.01)	G O 1 N 33/68	2 G O 4 5	
G O 1 N 33/74 (2006.01)	G O 1 N 33/74		
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53	D	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)			
(21) 出願番号	特願2018-521651 (P2018-521651)	(71) 出 発 人	515010040
(86) (22) 出 願 日	平成28年11月7日 (2016. 11. 7)		マイカーティス・エヌフエー
(85) 翻訳文提出日	平成30年6月26日 (2018. 6. 26)		ベルギー・B-9052・ズウェイナー デ／ヘント・テクノロギパルク・4・フ エーイーペー・バイオインキュベーター
(86) 国際出願番号	PCT/EP2016/078862	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開番号	W02017/077117		弁理士 村山 靖彦
(87) 国際公開日	平成29年5月11日 (2017. 5. 11)	(74) 代理人	100110364
(31) 優先権主張番号	15193565.7		弁理士 実広 信哉
(32) 優先日	平成27年11月6日 (2015. 11. 6)	(74) 代理人	100133400
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 阿部 達彦
		(72) 発明者	アレクサンドル・メバザア フランス・F-92120・モンルージュ ・アヴニユ・アンリ・ジヌー・43
最終頁に続く			
(54) 【発明の名称】 血管壁の強力のマーカーとしてのCD146の使用			

(54) 【発明の名称】 血管壁の張力のマーカーとしてのCD146の使用