

(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2005-532564

(P2005-532564A)

(43) 公表日 平成17年10月27日(2005.10.27)

(51) Int. Cl.⁷

G01N 33/53

F I

G01N 33/53

D

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2004-520852 (P2004-520852)	(71) 出願人	302044591
(86) (22) 出願日	平成15年7月11日 (2003. 7. 11)		インバーネス・メデイカル・スウィツァーランド・ゲゼルシャフト・ミット・ベシユレンクテル・ハフツング
(85) 翻訳文提出日	平成17年2月23日 (2005. 2. 23)		スイス国、ツーク、ツエー・ハー-630
(86) 国際出願番号	PCT/GB2003/003011		O、ブンデスプラッツ・1
(87) 国際公開番号	W02004/008140	(74) 代理人	100062007
(87) 国際公開日	平成16年1月22日 (2004. 1. 22)		弁理士 川口 義雄
(31) 優先権主張番号	0216191.7	(74) 代理人	100114188
(32) 優先日	平成14年7月11日 (2002. 7. 11)		弁理士 小野 誠
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100103920
(31) 優先権主張番号	0216500.9		弁理士 大崎 勝真
(32) 優先日	平成14年7月16日 (2002. 7. 16)	(74) 代理人	100124855
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		弁理士 坪倉 道明
(31) 優先権主張番号	0216505.8	(74) 代理人	100124855
(32) 優先日	平成14年7月17日 (2002. 7. 17)		弁理士 坪倉 道明
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト心不全における血漿ウロテンシン

(57) 【要約】

本発明は、哺乳類被験体の心不全の診断の方法を提供する。被験体の体液の試料中のウロテンシンのレベルを測定し、心不全が無いことを示す被験体の前記体液中に一般的にみられる基準レベルを比較する。高レベルのウロテンシンは心不全を示す。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

体液の試料中のウロテンシンのレベルを測定し、心不全が無いことを示す被験体の前記体液中に一般的にみられる基準レベルと比較し、それによって高レベルのウロテンシンが心不全を示すように構成された、哺乳類被験体の心不全の診断のための方法。

【請求項 2】

ウロテンシンのレベルが免疫測定法を使用して決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

心不全を示す少なくとも一つのさらなる標識を付加的に測定し、心不全が無いことを示す被験体の前記体液中に一般的にみられる基準レベルと比較し、それによって高レベルの前記少なくとも一つのさらなる標識が心不全を示すように構成された、請求項 1 または 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記さらなる標識が NT - proBNP または BNP である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記さらなる標識のレベルが免疫測定法を使用して決定される、請求項 3 または 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記体液が血漿または間質液である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記被験体がヒトである、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 8】

請求項 1 から 7 に記載の方法を組み込んだ、体液の試料中のウロテンシンを検出するための免疫測定法。

【請求項 9】

ウロテンシンおよび心不全を示す少なくとも一つのさらなる標識の一回測定またはある期間にわたる二回以上の測定を行なって標準モデルと比較することにより、ヒト被験体の心疾患の重症度を追跡して病期分類 (staging) する方法。

【請求項 10】

前記標準モデルが被分析物のレベル対病状の標準モデルである、請求項 9 に記載の方法

30

【請求項 11】

前記病期分類が NYHA 分類に従って決定される、請求項 9 または 10 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヒトのような哺乳類被験体の心不全の診断のための方法に関する。特に、それは、体液の試料中のウロテンシンのレベルを測定するように構成された、そのような方法に関する。

【背景技術】

40

【0002】

心不全 (左心室収縮機能障害) は死亡および発病の主要な原因である。その病態生理学は、カテコラミン、レニン - アンジオテンシン、エンドセリン、心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチド系をはじめとする多くの神経ホルモン系の活性化が関与する。

【0003】

最近の研究は、硬骨類のホルモンとの相同性を持つウロテンシン II (U T N) と呼ばれる新規の心臓血管ペプチドの存在を明らかにした (エイムズら、Nature 1999 ; 16 : 282 - 286)。この環状ウンデカペプチドはオーファン G タンパク質受容体 (G P R 14) のリガンドであり、ペプチドおよび受容体は両方とも心筋、内皮、血管筋細胞、および神経系内に分布する (エイムズら、Nature 1999 ; 16 : 28

50

2 - 286)。それはラットおよびサルの特定の血管床にとっては強力な血管収縮剤であるが(エイムズら、Nature 1999; 16: 282 - 286; ダグラスら、J Cardiovasc Pharmacol 2000; 36: S163 - 6)、腸間膜抵抗血管では血管拡張剤となる(ポトリルら、Br J Pharm 2000; 130: 1865 - 1870)。UTNに対する様々な血管の反応性には重要な種差がある。例えば、サルの血管はUTNによって強く血管収縮するが、ヒトの肺血管系および腸間膜抵抗血管はUTNによって強力に血管拡張し(ストラットら、Am J Physiol 2001; 280: H925 - 928)、ヒトの皮下抵抗血管はUTNに反応性を示さない(ヒリアーら、Circulation 2001; 103: 1378 - 1381)。UTNによる血管平滑筋の慢性刺激は、肥大性応答を導く(ワタナベら、J Hypertens 2001; 19: 2191 - 2196)。心筋に対する直接の影響は、おそらく冠血管収縮の結果生じる心筋抑制を持つサルで示唆された(エイムズら、Nature 1999; 16: 282 - 286)が、ヒトの心筋では、陽性変力作用が示された(ラッセルら、Br J Pharm 2001; 132: 5 - 9)。さらに、コラーゲン沈積の増加を含む肥大効果が記述されており、心不全の心室リモデリングにおけるUTNの役割の可能性が示唆された(ゾウら、FEBS Lett 2001; 508: 57 - 60; ツアニディスら、Eur Heart J 2000; 21: 72)。UTNは、より原始的な表現型への復帰により心不全で予想される変化、心筋細胞の心房性および脳性ナトリウム利尿ペプチドの発現の増加(ゾウら、FEBS Lett 2001; 508: 57 - 60)を導いた。ダグラスらによる最近の研究(ダグラスら、Lancet 2002; 359: 1990 - 1997)は、病気の早期段階でさえ心不全患者の心筋におけるUTNおよびその受容体の両方の発現の増加を実証した。UTNは心臓内の心筋細胞、血管平滑筋細胞、内皮および炎症細胞に存在した。心不全におけるウロテンシンの推定上の役割に関して、リモデリングの前のヒトにおける初期陽性変力および血管拡張剤効果は代償的であり、線維化の増大はますます不適応性応答を導くようになる。

【発明の開示】

【0004】

第一態様では、本発明は、体液の試料中のウロテンシンのレベルを測定し、心不全が無いことを示す被験体の前記体液中に一般的にみられる基準レベルと比較し、それによって高レベルのウロテンシンが心不全の徴候を示すように構成された、哺乳類被験体の心不全の診断方法を提供する。

【0005】

N末端前脳性ナトリウム利尿ペプチド(NT-proBNP)または脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)のような、心不全を示す少なくとも一つのさらなる標識のレベルを付加的に測定し、心不全が無いことを示す哺乳類被験体の体液に一般的にみられる基準レベルと比較し、それによって高レベルの少なくとも一つのさらなる標識が心不全を示すことができる。

【0006】

ウロテンシンまたはさらなる標識のレベルは免疫測定法を使用することによって決定することができ、体液は血漿または間質液とすることができる。

【0007】

一実施形態では、本発明の方法は、ヒト被験体の心不全の診断用である。

【0008】

第二態様では、本発明は、第一態様の方法を組み込んだ、体液の試料中のウロテンシンの検出のための免疫測定法を提供する。

【0009】

第三態様では、本発明は、ウロテンシンおよび心不全を示す少なくとも一つのさらなる標識の一回測定またはある期間にわたる二回以上の測定を行なって標準モデルと比較することにより、ヒト被験体の心疾患の重症度を追跡して病期分類する方法を提供する。

【0010】

標準モデルは、被分析物のレベル対病状の標準モデルとすることができ、病期分析はニューヨーク心臓協会（NYHA）分類に従って決定することができる。これは次の四段階分類である。

【0011】

- 分類1 患者は労作レベルでのみ症状のみを示す。
- 分類2 通常の労作で症状を示す。
- 分類3 最小限の労作で症状を示す。
- 分類4 静止時に症状を示す。

【0012】

本発明の発明者は、ヒト心不全（左心室収縮機能障害）のUTNの血漿レベルを調査し、それらをより確立されたN末端前脳性ナトリウム利尿ペプチド（N末端proBNP）の血漿上昇と比較した。血漿は、126名の心不全の患者および年齢と性別が一致する220名の健常者の対照から得た。N末端proBNPおよびUTNはイムノルミノメトリックアッセイ（immunoluminometric assay）によって測定した。N末端proBNPおよびUTNは両方とも心不全の患者の血漿で上昇し、かなりの相関性があった（ $r_s = 0.35$ 、 $P < 0.001$ ）。N末端proBNPとは対照的に、血漿UTNとNYHA分類の関係は無かった。血漿N末端proBNPは年齢および女性との明らかな関連性を示したが、血漿UTNにはそのような年齢依存変化は無く、健常な女性は男性に比べて低レベルであった。心不全の診断のための受診者動作特性曲線は、N末端proBNPおよびUTNについてそれぞれ0.90および0.86の領域を有した（両方とも $P < 0.001$ ）。血漿UTNはヒト心不全で上昇し、該疾患の病態生理学におけるこのペプチドの役割を示唆している。血漿UTNは、心不全におけるそのレベルが年齢、性別、またはNYHA分類に関係なく上昇するので、心不全の診断におけるN末端proBNPの有用な代替物になり得る。

10

20

【0013】

本発明では、ウロテンシン（および測定した場合、心疾患を示すさらなる標識）の測定レベルを、心不全が無いことを示す被験体の前記体液中に一般的にみられる基準レベルと比較する。これらの基準レベルは、心不全の無い被験体の人口調査から決定することができる。そのような被験体は年齢および/または性別を一致させることができる。

【0014】

先に示した通り、さらなる標識はN末端proBNPとすることができる。代替的に、または付加的に、BNPのレベルを測定することができる。左心室の心筋細胞からの貯蔵proBNP（二つの循環形態つまりBNP（活性ペプチド）およびN末端BNP（NT-proBNP、不活性ペプチド）の無傷の前駆体）の放出、およびBNPの生産の増加は、心筋の伸張、心筋の緊張、および心筋の損傷によって誘発される。

30

【0015】

ウロテンシンのレベルを測定する体液は血漿または間質液とすることができるが、他の体液源、例えば全血、血清、または尿を使用することもできる。

【0016】

本発明で測定する標識は、免疫測定法を使用して検出することができる。一実施形態では、免疫測定法は、検査対象の被験体からの試料を、標識が存在する場合に免疫特異的な結合が発生できるような条件下で適切な抗体に接触させ、抗体による免疫特異的な結合の量を検出または測定することによって実行される。ウェスタンブロット、放射性免疫測定法、ELISA（酵素結合免疫吸着測定法）、「サンドイッチ」免疫測定法、免疫沈降測定法、沈降素反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散測定法、凝集測定法、補体結合測定法、免疫放射線測定法、蛍光免疫測定法、およびタンパク質A免疫測定法のような技法を使用する競合または非競合測定システムをはじめ、それらに限らず、任意の適切な免疫測定法を使用することができる。

40

【0017】

例えば、標識は二段階サンドイッチ測定法によって流体試料中で検出することができる

50

。第一段階で、捕獲試薬（例えば抗標識抗体）を使用して標識を捕獲する。捕獲試薬は任意選択的に固相上に固定することができる。第二段階で、直接または間接的に標識化された検出試薬を使用して、捕獲された標識を検出する。一実施形態では、検出試薬は抗体である。別の実施形態では、検出試薬はレクチンである。

【0018】

本発明はまた、本発明の第一態様の方法を組み込むことができる、ウロテンシン検出用の免疫測定法、キット、または装置をも提供する。そのような免疫測定キットまたは装置は、ウロテンシンに特異的に結合する抗体、および任意選択的に心不全のさらなる標識を結合する抗体を含むことができる。加えて、そのような免疫測定法は任意選択的に、次のうちの一つまたはそれ以上を含むことができる。（1）心不全の診断のために免疫測定法、キットまたは装置を使用するための説明書、（2）抗体の標識結合パートナー、（3）抗体または各抗体を固定する固相（試薬ストリップなど）、および（4）診断、予後、または治療上の使用またはそれらの任意の組合せに対する規制当局の認可を示すラベルまたは挿入物。抗体または各抗体の標識結合パートナーが提供されない場合、抗体または各抗体自体に検出可能な標識、例えば化学発光性、酵素的、蛍光性、または放射性成分を付けることができる。

10

【0019】

本書で使用する用語「抗体」とは、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、つまり抗原を特異的に結合する抗原結合部位を含む分子を指す。本発明で有用な免疫グロブリン分子は、任意のクラス（例えばIgG、IgE、IgM、IgD、およびIgA）またはサブクラスの免疫グロブリン分子とすることができる。抗体はポリクローナル、モノクローナル、二重特異性、ヒト化およびキメラ抗体、単鎖抗体、FabフラグメントおよびF(ab')フラグメント、Fab発現ライブラリによって作製されたフラグメント、抗イディオタイプ（抗Id）抗体、および上記のいずれかのエピトープ結合フラグメントを含むが、それらに限定されない。

20

【0020】

本発明は、体液の試料中の心不全を示す少なくとも第一標識および/またはウロテンシンのレベルを測定して、心不全が無いことを示す哺乳類被験体の前記体液中に一般的にみられる基準レベルと比較し、よって少なくとも一つの第一標識および/またはウロテンシンのレベルの上昇が心不全を示すように構成された、哺乳類被験体の心不全の診断のための方法を提供する。本発明はまた、少なくとも第一標識およびウロテンシンの一回測定またはある期間にわたる二回以上の測定を行なって標準モデルと比較することにより、ヒト被験体の心疾患の重症度を追跡して病期分類する方法をも提供する。

30

【0021】

本発明の各態様の好適な特長は、必要な変更を加えて他の態様の各々にも当てはまる。本書で示した先行技術の文書は、法律が許す範囲で最大限に本書に組み込む。

【0022】

以下の非限定実施例で、添付の図面を参照しながら本発明をさらに詳しく説明する。

【発明を実施するための最良の形態】**【0023】**

40

方法

健常な対照および心不全の患者からの血漿試料

心不全の患者は、レスター王立病院診療室および病棟から募集した。全員が心不全の臨床診断を受けており、45%未満の駆出分画率が心エコー検査により確認された。健常な対照は年齢および性別がこれらの患者と一致し、薬物治療中ではなく、55%を超える駆出分画率が心エコー検査により確認された。患者の特性を表1に報告する。

【0024】

15分間のベッド安静後に静脈穿刺により10mlの血液を得て、EDTAおよびアプロチニンを含む氷冷試験管内で混合した。遠心分離に従って回収された血漿は、測定まで-70で保管された。

50

【0025】

N末端proBNPの測定

N末端proBNPの測定は、カールによって記載された非競合N末端proBNP測定法に基づいた(カールら、Scand J Clin Lab Invest Suppl 1999; 230: 177-181)。ウサギのポリクローナル抗体をヒトN末端proBNPのN末端(アミノ酸1-12)およびC末端(アミノ酸65-76)に産生させた。

【0026】

血清からのIgGをタンパク質Aセファロースカラム上で精製した。C末端特異的抗体(各ELISAプレートウェルに100 μ L中0.5 μ g)は捕獲抗体として働いた。N末端抗体はアフィニティ精製し、ビオチン化した。試料またはN-BNP標準のアリコート(20 μ L)は、C末端抗体被覆ウェル内でビオチン化された抗体と共に4で24時間インキュベートした。洗浄後、メチルアクリジニウムエステルで標識したストレプトアビジン(ストレプトアビジンMAE、 5×10^6 相対光単位/ml)(Hart & Taaffe, J Immunol Methods 1987; 101: 91-86)を各ウェルに添加した。プレートを前述の通りダイナテック社のMLX照度計で読み取った(ヒューら、Clin Sci 1999; 96: 373-380)。検出の下限は非抽出血漿の5.7 fmol/mlであった。測定内および測定間の変動係数はそれぞれ2.3%および4.8%で許容されるものであった。ANP、BNPまたはCNPの交差反応性は無かった。

【0027】

ウロテンシンIIの測定

環状形態のUTNに特異的な抗体は、カリフォルニア州ベルモントのフェニックス・ファーマシューティカルズ社から入手した。逆相HPLCで精製されたビオチン化UTNをトレーサとして使用した。血漿のC₁₈抽出物を使用する競合測定法を利用し、50 ngの抗体を抽出物または標準(1ウェル当たり1から2000 fmolの範囲)と共に、100 μ Lのアッセイ緩衝液中(12に記載するとおり)でインキュベートした。4で24時間インキュベートした後、ビオチン化UTNとトレーサを添加した(1ウェル当たり250 fmol)。抗ウサギIgG(1ウェル当たり100 ng)を被覆したELISAプレートで免疫沈降物を回収した。洗浄しストレプトアビジンMAEとインキュベートした後、上述したように化学発光を誘発させた。測定内および測定間の変動係数はそれぞれ2.3%および8.1%であり、BNPまたはN末端proBNPに対する反応性は無かった。検出の下限は3.1 fmol/mlであった。

【0028】

統計分析

SPSSバージョン11で統計分析を実行した。データは中央値[範囲]として提示される。比較はクルスカル-ウォリス分散分析によって行ない、受診者動作特性(ROC)曲線を描画(プロット)した。相関分析はスピアマンのロー(r_s)を使用した。 $P < 0.05$ の値が統計的に有意であるとみなされた。

【0029】

結果

表1は、年齢および性別がよく一致する健常者および心不全患者の特性を示す。予想どおり、N末端proBNPは心不全患者で有意に上昇した。健常者の母集団では、N末端proBNPは加齢に対し正の相関があり($r_s = 0.41$ 、 $P < 0.001$)、女性は男性より高レベルであった($P < 0.001$ 、表1)。N末端proBNPは、NYHA分類が高くなるにつれて増加した(図1a、クルスカル-ウォリス試験により $P < 0.001$)。血漿UTNもまた心不全患者で上昇した(表1)が、年齢との相関は無かった。N末端proBNPとは対照的に、女性のレベルは男性に比較して低かった($P < 0.001$ 、表1)。血漿UTNは、NYHA分類が高くなることによって影響されなかった(図1b)。N末端proBNPおよびUTNは両方とも、性別に関係なく、心不全患者で

10

20

30

40

50

上昇した（全ての比較に対し、 $P < 0.001$ ）。N末端 proBNP および UTN もまたやや相関性があった（ $r_s = 0.35$ 、 $P < 0.001$ ）。

【0030】

心不全患者では、血漿 UTN レベルは利尿薬、ベータ遮断薬、または ACE 遮断薬の使用に依存しなかった。両方のペプチドの心不全の検出の ROC 曲線は、N末端 proBNP および UTN についてそれぞれ 0.90 および 0.86 の領域を明らかにした（診断基準線に比較して $P < 0.001$ ）。

【0031】

SPSS で単変量一般線形モデル手順を使用し、共変量として年齢を、かつ因子として性別および NYHA 分類を入力すると、心不全患者の N末端 proBNP の対数正規化レベルの分析から、年齢、性別、および NYHA 分類（それぞれ $P < 0.034$ 、 0.002 、および 0.001 ）を有意の予測変数とするモデルの場合、0.446 の r^2 が明らかになった。これらの因子のいずれも UTN の予測変数とは識別されなかった（ $r^2 = 0.058$ ）。したがって、心不全患者の UTN レベルは年齢、性別、または NYHA 分類に関係なく上昇する。

【0032】

図 1 a および 1 b の比較から、血漿 UTN の測定と血漿 NT-proBNP のそれを組み合わせると、NT-proBNP 単独の測定より、心不全に診断に関して多くの情報を産出することができる。つまり、NT-proBNP のレベルのみは、NYHA 分類 3 への進行後によく上昇し始めるが、血漿 UTN レベルは、1 を超える NYHA 分類の患者で上昇することが示されている。したがって、これらの二つの標識の測定は、心不全の早期段階の識別を導くことができる。

【0033】

表 1 . 患者の特性。中央値 [範囲] を報告され、P 値はクルスカル - ウォリスまたはマン・ホイットニー試験を使用して計算した（健常者と心不全患者の比較）。

【0034】

【表 1】

	健常者の対照	心不全患者	P 値
人数	220(78(35%)女性)	126(37(29%)女性)	性別の言及無し
年齢(歳)	61.3 [26~80.6]	63 [20~87]	言及無し
薬物治療	無し		
利尿薬		98	
β 遮断薬		47	
ACE 阻害薬		99	
病因論			
虚血性心筋症		83	
拡張型心筋症		32	
高血圧心筋症		7	
弁膜症		4	
NT proBNP レベル			
全体	21.4 [5.7~991.9]	657 [6~29368]	0.001
男性	12.5 [5.7~631.2]	464 [6~25182]	0.001
女性	47.7 [5.7~991.9]	3127 [104~29368]	0.001
UTN レベル			
全体	6.6 [3.1~42.6]	22.1 [3.1~49.2]	0.001
男性	7.2 [3.1~42.6]	22.4 [3.1~46.7]	0.001
女性	4.6 [3.1~17.4]	20.6 [3.1~49.2]	0.001

10

20

30

40

50

【0035】

この研究は血漿中のUTNおよびNT-proBNPのレベルを検討したが、他の体液源、つまり全血、血清、間質液、または尿の分析も考えられる。さらに、BNPもまた血漿中にNT-proBNPと共に発現するので、NT-proBNPの代わりにBNPを血漿UTNと一緒に監視して、心不全の診断に関する同様の情報を産出することができることが予想され得る。

【0036】

考察

この研究は、以前に発表されたN末端proBNPレベルの上昇に関連して(ハントら、*Clin Endocrinol* 1997; 47: 287-296; ヒューら、*Clin Sci* 1999; 96: 373-380)、血漿UTNレベルが心不全の患者で非常に顕著に上昇することを初めて実証するものである。したがって、心不全患者のヒト心筋におけるUTNの発現の増加(ダグラスら、*Lancet* 2002; 359: 1990-1997)は、血漿にも反映される。血漿N末端proBNPは年齢によりかつ女性で上昇するが、UTNの場合、そのような年齢傾向は健常な母集団では明白ではない。ペプチド測定におけるこれらの年齢および性別の相違は、この研究で行なわれたように、年齢および性別の両方を患者と健常者対照とを一致させる重要性を際立たせる。二つの血漿ペプチドの相関関係は、UTNが心筋のBNPの発現を増大させるという*in vitro*観察(ゾウら、*FEB S Lett* 2001; 508: 57-60)と非常によく一致する。レベルがNYHA分類と共に上昇するN末端proBNPとは対照的に、UTNレベルはNYHA分類1の患者で上昇し、より重症な疾患に対しそれ以上変化しなかった。これが疾患の重症度によるクリアランス速度の相違を反映しているか否かは、依然として調査中である。心不全の検出のためのUTNのROC曲線の下領域は、N末端proBNPのそれに匹敵し、心不全の正確な診断における該ペプチドの用途が示唆される。心不全の診断にとってのUTNの特に有用な特長は、それが患者の年齢、性別、およびNYHA分類などの因子に依存しないことである。対照的に、N末端proBNPはこれらの全ての変数によって非常に大きく影響される。

【0037】

血漿中のUTNの源は現在不明であるが、心筋細胞、内皮、血管筋細胞、および炎症細胞中の発現の増加が実証されているので、起源は心血管であり得る(ダグラスら、*Lancet* 2002; 359: 1990-1997)。この証拠と併せて検討すると、我々のデータは、UTN系が心不全の病態生理学に関与している可能性があることを示唆している。現在、活性の増加が心室機能不全の原因または影響であるかどうかは不明瞭である。

【0038】

この新しい心血管ペプチドの心不全病態生理学における関与は、将来適切な受容体作用薬または拮抗薬により調節することができる付加的ホルモン系を示唆している。心不全の診断試験としてのその使用は近い将来ありえる。

【図面の簡単な説明】

【0039】

【図1a】NYHA分類による血漿NT-proBNPを示すグラフ。

【図1b】NYHA分類による血漿UTNを示すグラフ。

【図2a】心不全の診断におけるNT-proBNPの受診者動作曲線(ROC)。

【図2b】心不全の診断におけるUTNの受診者動作曲線(ROC)。

【図3】心不全の診断におけるN末端proBNPとUTNの組合せのROC曲線の予後指標。

10

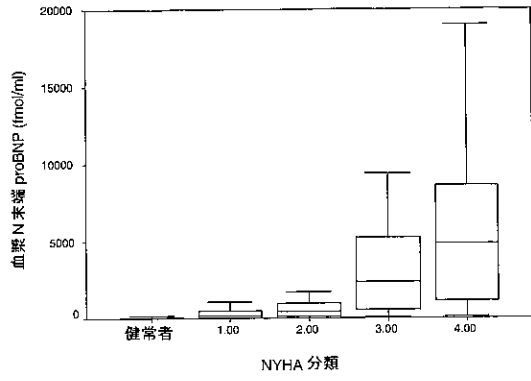
20

30

40

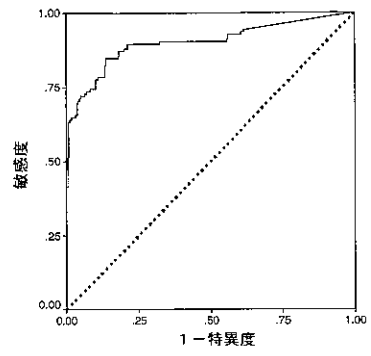
【 図 1 a 】

Figure 1a



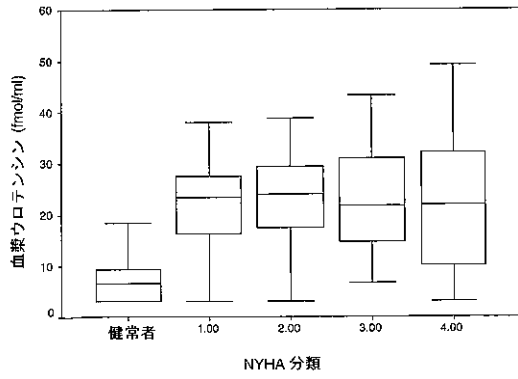
【 図 2 a 】

Figure 2a



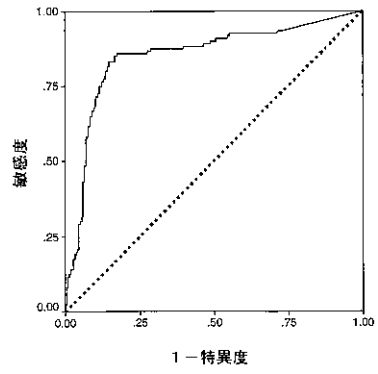
【 図 1 b 】

Figure 1b



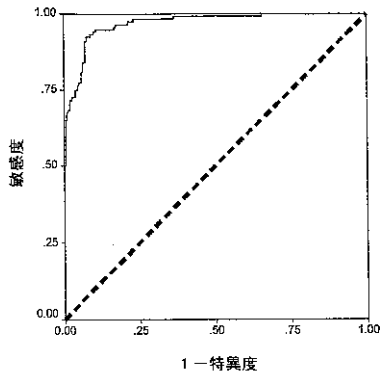
【 図 2 b 】

Figure 2b



【 図 3 】

Figure 3



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Internatio application No PCT/GB 03/03011
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N33/68 C07K16/26		
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 C07K		
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, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 00 45176 A (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH) 3 August 2000 (2000-08-03) claims 1-19; examples 2-5	1-11
Y	DOUGLAS S.A. ET AL.: "Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II." LANCET, vol. 359, 8 June 2002 (2002-06-08), pages 1990-1997, XP004366039 the whole document	1-11
-/-		
<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 "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. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the International search		Date of mailing of the International search report
5 December 2003		18/03/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3010		Authorized officer Giry, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Internatic application No
 PCT/GB 03/03011

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ZOU Y. ET AL.: "Urotensin II induces hypertrophic responses in cultured cardiomyocytes from neonatal rats." FEBS LETT., vol. 508, 2001, pages 57-60, XP004322277 cited in the application the whole document	1-11
Y	HUNT P.J. ET AL.: "Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment." CLIN. ENDOCRIN., vol. 47, 1997, pages 287-296, XP000913471 the whole document	4-11
Y	DAGGUBATI S. ET AL.: "Adrenomedulin, endothelin, neuropeptide Y, atrial, brain, and C-natriuretic prohormone peptides compared as early heart failure indicators." CARDIOVASC. RES., vol. 36, 1997, pages 246-255, XP000913576 the whole document	4-11
P,X	NG L.L. ET AL.: "Plasma urotensin in human systolic heart failure." CIRCULATION, vol. 106, 3 December 2002 (2002-12-03), pages 2877-2880, XP002263937 the whole document	1-11
P,X	EP 1 241 479 A (IMMUNDIAGNOSTIK AG) 18 September 2002 (2002-09-18) the whole document	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB 03/03011**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: 3, 5-II
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/GB 03 03011

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 3, 5-11

Present claims 3, and 5-11 relate to an extremely large number of possible "markers indicative of heart failure". Support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found, however, for only a very small proportion of the markers claimed. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be supported and disclosed, namely those parts relating to the further markers mentioned in the Examples.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB 03/03011

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0045176	A	03-08-2000	AU 758562 B2 27-03-2003
			AU 2545100 A 18-08-2000
			CA 2359667 A1 03-08-2000
			CN 1339107 T 06-03-2002
			WO 0045176 A2 03-08-2000
			EP 1151304 A2 07-11-2001
			HU 0105195 A2 29-04-2002
			JP 2003508724 T 04-03-2003
			NO 20013698 A 28-09-2001
			NZ 512762 A 28-02-2003
			ZA 200106193 A 02-05-2002
EP 1241479	A	18-09-2002	EP 1241479 A2 18-09-2002

フロントページの続き

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, 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, IT, LU, MC, NL, 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, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ング, レオン
 イギリス国、レスター・エル・イー・１・７・エル・エツクス、クリニカル・サイエンス・ビルディング、デパートメント・オブ・メディスン・アンド・セラピューティクス、ユニバーシテイ・オブ・レスター

专利名称(译)	血浆尿嘧啶在人类心力衰竭中的作用		
公开(公告)号	JP2005532564A	公开(公告)日	2005-10-27
申请号	JP2004520852	申请日	2003-07-11
[标]申请(专利权)人(译)	因弗因斯医药瑞士股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	因弗内斯Medeikaru Sul的德国之旅土地Gezerushiyafuto-Mitsuto-Beshiyurenkuteru-有限公司		
[标]发明人	ングレオン		
发明人	ング,レオン		
IPC分类号	G01N33/53 C07K16/26 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/6893 C07K16/26 G01N2333/5751		
FI分类号	G01N33/53.D		
代理人(译)	小野 诚 Masarushin大崎		
优先权	2002016191 2002-07-11 GB 2002016500 2002-07-16 GB 2002016505 2002-07-17 GB		
其他公开文献	JP4602078B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了诊断哺乳动物受试者心力衰竭的方法。测量受试者体液样品中尾加压素的水平，并比较受试者体液中常见的参考水平，表明没有心脏衰竭。高水平的尾加压素表示心力衰竭。

	健常者の対照	心不全患者	P 値
人数	220(78(35%)女性)	126(37(29%)女性)	性別の言及無し
年齢(歳)	61.3 [26~80.6]	63 [20~87]	言及無し
薬物治療	無し		
利尿薬		98	
β 遮断薬		47	
ACE 阻害薬		99	
病因論			
虚血性心筋症		83	
拡張型心筋症		32	
高血圧心筋症		7	
弁膜症		4	
NT proBNP レベル			
全体	21.4 [5.7~991.9]	657 [6~29368]	0.001
男性	12.5 [5.7~631.2]	464 [6~25182]	0.001
女性	47.7 [5.7~991.9]	3127 [104~29368]	0.001
UTN レベル			
全体	6.6 [3.1~42.6]	22.1 [3.1~49.2]	0.001
男性	7.2 [3.1~42.6]	22.4 [3.1~46.7]	0.001
女性	4.6 [3.1~17.4]	20.6 [3.1~49.2]	0.001