

(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2009-537797
(P2009-537797A)

(43) 公表日 平成21年10月29日(2009.10.29)

(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 33/53 (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 17 頁)

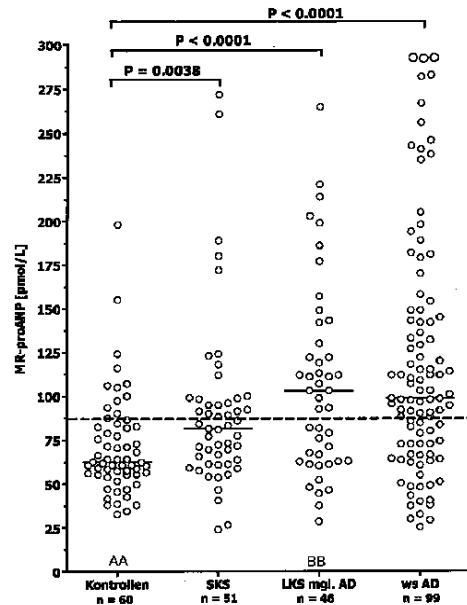
(21) 出願番号	特願2009-510344 (P2009-510344)	(71) 出願人	501154389
(86) (22) 出願日	平成19年5月15日 (2007.5.15)		ベー・エル・アー・ハー・エム・エス・ア
(85) 翻訳文提出日	平成21年1月9日 (2009.1.9)		クティエンゲゼルシャフト
(86) 国際出願番号	PCT/EP2007/004314		ドイツ・D-16761・ヘーニッシドル
(87) 国際公開番号	W02007/131775		ルフ・ノイエンドルフシュトラッセ・25
(87) 国際公開日	平成19年11月22日 (2007.11.22)	(74) 代理人	100064908
(31) 優先権主張番号	102006023175.9		弁理士 志賀 正武
(32) 優先日	平成18年5月17日 (2006.5.17)	(74) 代理人	100089037
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		弁理士 渡邊 隆
		(74) 代理人	100108453
			弁理士 村山 靖彦
		(74) 代理人	100110364
			弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 神経変性疾患の診断及び早期診断のための *in vitro* 方法

(57) 【要約】

患者の生物学的流体においてナトリウム利尿ペプチド、特にANP、及び必要な場合にはBNP及び/又はCNPから選択される分析物の濃度を測定することによる、主観的又は客観的に検出可能な認知障害に罹患している患者において、神経変性疾患の検出及び早期検出、重度の測定、並びに進行の評価及び予後のための *in vitro* 方法であって、前記分析物の測定が、共通のプロペプチドから生じる関連するコペプチドの測定として直接的及び/又は間接的に実施され、かつ、測定した分析物の測定濃度に基づいて、神経変性疾患若しくはそのような疾患に典型的な早期の形態又は前記疾患の経過、及び/あるいは前記疾患の緩和又は予防の試みの成功についての結論を導くことが可能である、*in vitro* 方法。



AA... Controls
BB... possibly

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

神経変性疾患の検出及び早期検出、重度の測定、並びに経過及び予後の評価のための *in vitro* 方法であって、ナトリウム利尿ペプチドから選択される分析物の濃度を、主観的又は客観的に検出可能な認知障害に罹患している患者の生物学的流体において測定し、前記分析物の測定が共通のプロペプチドから形成される関連するコペプチドの測定として間接的及び / 又は直接的に実施され、神経変性疾患の存在又は前記疾患に典型的な早期の形態の存在に関して、或いは前記疾患の経過及び / 又はその緩和若しくは予防のための試みの成功に関しての結論が、測定した分析物の測定濃度に基づいて導き出される、*in vitro* 方法。

10

【請求項 2】

少なくとも前記ナトリウム利尿ペプチドである ANP と、任意に加えて BNP 及び / 又は CNP とを測定することを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

proANP 断片が、proANP の中央領域 (MR-proANP) を検出するアッセイを用いて、患者の血漿において測定されることを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記免疫診断アッセイが、サンドイッチタイプの免疫アッセイであることを特徴とする、請求項 2 又は 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記神経変性疾患が、アルツハイマー病 (AD)、レヴィー小体を有する認知症 (DLB)、前頭側頭認知症 (FTD)、及び血管性認知症 (VD) の各種の形態からなる群から選択される初老期認知症であることを特徴とする、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 6】

アルツハイマー病 (AD) の早期の形態の検出のための、アルツハイマー病の診断の一部として実施されることを特徴とする、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

個々の臨床像のために有益である少なくとも 1 つの更なる生化学的パラメータ又は生理学的パラメータを同時に測定し、測定結果が一連の少なくとも 2 つの測定した変数の形態で得られ、神経変性疾患の精密な診断のために評価される、マルチパラメータ測定の一部として実施されることを特徴とする、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 8】

炎症メディエーター、補体成分、サイトカイン、ケモカイン、血液凝固因子及び線溶因子、急性期タンパク質、及びラジカル化合物からなる群から選択される、少なくとも 1 つの更なる生化学的パラメータが、ANP 及び / 又は NT-proANP 若しくは MR-proANP の測定に加えて、マルチパラメータ測定の一部として測定されることを特徴とする、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記マルチパラメータ測定が、チップ技術による測定装置又は免疫クロマトグラフィーによる測定装置を用いて、同時測定として実施されることを特徴とする、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記マルチパラメータ測定の複合的な測定結果の評価が、コンピュータプログラムを用いて実施されることを特徴とする、請求項 7 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、神経変性疾患、特に認知症、例えば、アルツハイマー症及びその前駆症の診断、特に早期診断のための新規な *in vitro* 方法に関する。

50

【背景技術】

【0002】

本発明の背景において、「診断」なる用語は、測定を実施する患者の臨床症状による各種の異なる問題に基づく可能性があり、本発明の場合、疾患の検出、特に早期検出、重度の測定、及び治療を伴う経過の評価を含む経過の評価、並びに未来の経過の予後のために役に立つ、医学的な測定についての総括的な用語として使用する。本発明の背景において特に重要なことは、診断が、ある疾患に典型的なある特徴を確立できないこと、例えば、患者の血液サンプルにおける関連の疾患に関するバイオマーカーを検出できないことによって、その疾患がありそうにないものとするネガティブ診断であってもよいということである。

10

【0003】

複数の異なる疾患の場合におけるレベルの上昇が見られるバイオマーカーは、それら自体によっては特定の疾患のポジティブ診断を可能にするものではないが、概して、さらなる臨床的又は生化学的パラメータを含めるとポジティブ診断について決定的となる可能性があり、ネガティブ診断についても大きな価値がある。

【0004】

本発明に関連する診断に関する疾患は、ゆっくりと発症する傾向があり、非感染性の原因による慢性的な神経変性疾患、特に初老期認知症である。

【0005】

認知症は、後天的な知的能力、特に記憶、脳損傷の結果としての正常な人格レベルの損失を共通の特徴とする疾患として一般的に示される。認知症は、概して、比較的ゆっくりと発症する慢性的な特徴を有する疾患である。認知症が高齢になる前、つまり中年期に出現する場合には、それらは初老期認知症と称され、それらに典型的な症状及び脳疾患の変化に基づいて区別され、特に、以下の疾患又は疾患の群である。

20

【0006】

アルツハイマー病は、最も頻繁に起こる神経変性型の認知症であり、認知症の全てのケースの2/3を占め、本発明についての使用の実用的な最も重要な領域である。ADは、3つの重要な病理的な特徴によって区別されるが、死後にのみ確実に検出することができる：アミロイド班及び神経原線維束の形成並びに神経細胞の損失（参考文献1）。アミロイド班は、アミロイド-タンパク質の神経外凝集体からなるが、神経原線維束は主にタウタンパク質及び神経フィラメントを含む。前記アミロイド班及び神経原線維束の形成は神経細胞死の原因であると推定されている。

30

【0007】

ADの最も重要な症状は、相対的に持続性の感情的反応と併せて、記録容量の障害の増大及び知的機能の障害であり、これらの症状は、認知症の他の形態からADを区別することをより困難にする、より低い特異性の障害を伴う。

【0008】

何年にも亘る、それらの臨床的所見の経過においてADを発症する患者及びAD患者の観察は、

(a)主観的及び客観的に認知障害がないヒト（本発明の背景においては、対照群を表す）

40

;

(b)主観的な認識能力の減少について訴えているが、認知障害が認められないヒト（本発明の背景においては、これは「SCD」患者の群であり、「SCD」は「主観的な認知障害」を表す）；

(c)中程度の認知障害を有することが認められており、他の認知症を引き起こす疾患は存在しない「ADの可能性」（「pos AD」）があると診断されている患者（本発明の背景では、これは「MCD pos AD」群であり、「MCD」は「中程度の認知障害」を表す）；

(d)認知症の他の原因を除外する際に「ADの可能性」があると診断されている、徐々に始まり、ゆっくりと進行する大きな認知障害についての典型的な臨床象を有する患者の群（本発明の背景においては、これは「pr AD」群であり、当該略語は「アルツハイマーの推

50

定」を表す)

までの全範囲を満たす患者の群を互いに区別する基準の形成を導いた。

【0009】

主観的及び/又は客観的に認知障害を有する患者の各種の群への割り当てに関して、非特許文献2、3、4、及び5を参照のこと。

【0010】

レヴィー小体(DLB)を有する認知症は、アルツハイマーの次に二番目に頻度の高い原因である。神経病理学的に、DLBは、脳幹及び大脳皮質中の所謂レヴィー小体の出現によって特徴付けられる。これらのレヴィー小体は、おもに、シナプス前のタンパク質(α-シヌクレイン)及び指キチンの凝集を含む。レヴィー小体という病理は、アルツハイマー及びパーキンソンに典型的な神経変性型の変化の各種の程度に関連し得る。かくして、DLBの場合であっても、β-アミロイド及び老人斑の形成が出現するが、神経原線維束は出現しない(参考資料(6)参照のこと)。レヴィー小体は、パーキンソン病の患者の脳にも存在するが、異なる分布である。

10

【0011】

DLBの主要な症状は、進行性の認知障害、変動する注意力及び認識による混乱の症状の出現、パーキンソニズム、頻繁な転倒及び気絶(短時間の発作性意識消失)である。診断基準の感度及び特異性は、全体的に高い特異性を示すが、ある場合においては非常に低い感度を示す。これは、DLBが、毎日の臨床ルーチンで高い頻度で診断されないことを意味する。

20

【0012】

前頭側頭認知症(FTD)も、ピック病と称され、初老期認知症の約20%を占める。FTDは、幾つかの場合においては遺伝的原因のものであり、所謂タウオパシーのものであって、タウタンパク質サブタイプの過剰発現若しくは発現不足又は変異したタウタンパク質の発現によって区別される。神経病理学的に、前頭皮質及び/又は側頭皮質、黒質、並びに脳幹神経節の局所的な萎縮が出現する。これは、各種の重度の言語障害、人格変化、及び行動障害を引き起こす。全体として、FTDは、93%の感度及び23%に過ぎない特異性で過小診断されており、ADは最も頻繁に誤診されるものである。

【0013】

血管性認知症(VAD)なる用語は、認知症が脳の血流障害によって生じる疾患を総称するものである。多発梗塞性認知症(MID)及び皮質下VAD(ピンスワンガー病とも称される)が最も頻度の高い形態である、各種のタイプのVADが存在する。

30

【0014】

ピンスワンガー病は、白色脳質(white brain substance)における心・血管病変によって病理学的に特徴づけられる、ゆっくりと進行する認知症である。臨床的に、これは、動揺、興奮、うつ、及び幸福感などの行動異常並びに僅かな記憶障害を引き起こす。

【0015】

多発梗塞性認知症は、大脳皮質及び/又は皮質下領域における脳組織の破壊を生じさせる、一過性脳虚血発作(TIA)とも称される、複数の小さな梗塞によるものとして次第に出現する。前記梗塞は、完全に自覚されないままである可能性があり、その場合には、認知症が最初の自覚可能な影響である。MIDが存在する際には、重度のうつ病、気分の変化、及びてんかんと関連する、認知能力における緩やかな低減が存在する。

40

【0016】

認知症の診断は、現在では、主に、認知症のある形態についての排除基準を使用して、神経心理学的調査及び疾患の発症及びその経過の観察に基づいて実施される。非常に多くの場合において、これらの調査は、あいまいな結果を与え、これによって、上述の複数の過小診断される認知症の形態又は誤診の場合が説明される。前記疾患に典型的な脳の変化は、言うまでもなく、生きている患者に対して直接測定することができず、例えば、X線トモグラフィー又は磁気共鳴撮影による医療機器を用いる脳機能の調査は、複雑かつ高価である。

50

【 0 0 1 7 】

したがって、比較的単純な試験方法を使用する、例えば、患者の血液サンプル（血清サンプル、血漿サンプル）における、測定可能な有益なバイオマーカーの測定によって、認知症の検出、特に早期検出を補い、それによって大きく改善できることが望ましい。

【 0 0 1 8 】

アルツハイマー病の診断のために、アルツハイマー病協会のロナルドアンドナンシーレーガン研究所及び国立老化研究所は、ADの検出のための理想的なマーカーに関して設定された基準についてのガイドラインを公表した（非特許文献7）。以下の基準：

- 1．脳に特異的であり、かつ、これらの疾患の神経病理の基本的特徴を検出するべきである；
 - 2．少なくとも80%の診断感度及び特異性が存在するべきである；
 - 3．適切な治療手段を始められるように、バイオマーカーの疾患特異的な変化が、前記疾患の可能な限り早期に現れるべきである（非特許文献8）；
- が、理想的には、バイオマーカーによって満たされるべきである。

10

【 0 0 1 9 】

しかしながら、現在まで、ADの早期診断及び鑑別診断のために十分な確実性をもって、血液又は脳脊髄液において、毎日の臨床ルーチンにおいて使用され、かつ、全ての上述の基準を満たし得るバイオマーカーは存在しない。現在、各種の潜在的なマーカー候補が調べられており、その中には、炎症マーカー、例えば、IL-6及びTNF、酸化ストレスについてのマーカー、例えば、3-ニトロチロシン、及びADの特徴的な症状と関連するマーカー、例えば、アミロイド斑の主要な構成成分であるアミロイド並びに神経原繊維束の実質的な構成成分であるタウタンパク質が含まれる（非特許文献7、10）。

20

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 2 0 】

【非特許文献1】SELKOE D. J. (2001). Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiological Reviews* 81: 741-766

【非特許文献2】Boetsch T., Stubner S., Auer S., *Klinisches Bild, Verlauf und Prognose, Chapter 5 in: Hampel, Padberg, Moller (editors), Alzheimer Demenz - Klinische Verlaufe, diagnostische Moglichkeiten, moderne Therapiestrategien; WVG mbH Stuttgart 2003*

30

【非特許文献3】Boetsch T., *Operationalisierte Demenzdiagnostik, Chapter 6.1 in: Hampel, Padberg, Moller (editors), Alzheimer Demenz - Klinische Verlaufe, diagnostische Moglichkeiten, moderne Therapiestrategien; WVG mbH Stuttgart 2003*

【非特許文献4】Reisberg B., Ferris S.H., de Leon M.J., Crook T., 1982, The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia, *Am J Psychiatry* 139:1136-1139

【非特許文献5】McKhann G., Drachmann D., Folstein M., Katzman R., Price D., Stadlan E.M. 1984, Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ARDA work group under the auspices of department of health services task force on Alzheimer's disease, *Neurology* 24: 939-944

40

【非特許文献6】MCKEITH I. G. (2002). Dementia with lewy bodies. *British Journal of Psychiatry* 180: 144-147

【非特許文献7】FRANK R. A., GALASKO D., HAMPSEL H., HARDY J., DE LEON M. J., MEHTA P. D., ROGERS J., SIEMERS E., TROJANOWSKI J. Q. (2003). Biological markers for therapeutic trials in Alzheimer's disease. *Proceedings of the biological markers working group; NIA initiative on neuroimaging in Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging* 24: 521-536

【非特許文献8】GROWDON J. H., SELKOE D. J., ROSES A., TROJANOWSKI J. Q., DAVIES P., APPEL S. et al. [Working Group Advisory Committee].(1998). Consensus report

50

of the Working Group on Biological Markers of Alzheimer's Disease. [Ronald and Nancy Reagan Institute of the Alzheimer's Association and National Institute on Aging Working Group on Biological Biomarkers of Alzheimer's Disease]. *Neurobiology of Aging* 19: 109-116

【非特許文献 9】Nils G. Morgenthaler, Joachim Struck, Barbara Thomas, Andreas Bergmann, "Immunoluminometric Assay for the Midregion of Pro-Atrial Natriuretic Peptide in Human Plasma", *Clinical Chemistry* 50, No. 1, 2004, pages 234-236.

【非特許文献 10】TEUNISSEN C. E., DE VENTE J., STEINBUSCH H. W. M., DE BRUIJN C. (2002). Biochemical markers related to Alzheimer's dementia in serum and cerebrospinal fluid. *Neurobiology of Aging* 23:485-508

【非特許文献 11】TARKOWSKI E. (2002). Cytokines in dementias. *Current Drug Targets - Inflammation and Allergy* 1: 193-200

【非特許文献 12】TARKOWSKI E., LILJEROTH A. M., MINTHON L., TARKOWSKI A., WALLIN A., BLENNOW K. (2003). Cerebral pattern of pro- and anti-inflammatory cytokines in dementias. *Brain Research Bulletin* 61: 255-260

【非特許文献 13】CHU D.Q., SMITH D.M., BRAIN S.D.(2001). Studies of the microvascular effects of adrenomedullin and related peptides. *Peptides* 22:1881-1886

【非特許文献 14】Karin Nilsson, Lars Gustavson, Bjorn Hultberg, Plasma Homocystein Concentration and Its Relation to Symptoms of Vascular Disease in Psychogeriatric Patients, *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005; 20:35-41

【非特許文献 15】M.D. Albadalejo, M. Antem, I. Pastor, C. Ruiz, R. Gonzalez-Anorte, M. Asensio, Determinacion plasmatica de peptidos natriureticos en dementes, *Rev Neurol* 1997; 25 (139)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0021】

有効な検査所見を提供し、かつ、血液又は血漿サンプルにおいて認知症、特にアルツハイマー病についてのバイオマーカーとして適切な物質の測定に基づくとともに、認知症、特にADを有する疑いがある患者の場合に早期のポジティブ診断及び/又は除外することによるネガティブ診断に適切である、補助的な調査方法が現在では求められている。

【課題を解決するための手段】

【0022】

本発明は、ナトリウム利尿ペプチドから選択される分析物の濃度を、主観的又は客観的に検出可能な認知障害を罹患している患者の生物学的流体において測定し、共通のプロペプチドから形成される関連するコペプチドの測定によって間接的及び/又は直接的に前記分析物の特定を実施してよく、神経変性疾患又は前記疾患の典型的な早期の形態の存在に関して、或いは前記疾患の経過及び/又は前記疾患の緩和若しくは予防の試みの成功に関しての結論が、測定した分析物の濃度に基づいて導き出される、神経変性疾患の検出及び早期検出、重度の測定、並びに経過及び予後の評価のための *in vitro* 方法の形態における、そのような調査方法を提供する。

【0023】

請求項 1 に係る発明の有利又は好ましい態様は、従属する請求項 2 から 10 に記載している。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図 1】106人の健康な対照のヒトのEDTA血漿中、及び上述の群 (b)、(c)、(d)、すなわち、「SCD」群 (50人の患者)、「MCD pos AD」群 (46人の患者)、及び「pr AD」群 (100人の患者) に対応する、各種の重度の認知障害を有する196人の患者のEDTA血漿中のMR-proANP濃度の測定結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 5 】

その測定が好ましくは、いわゆるNT-proANP (pro-ANPのN末端、すなわち、共通の前駆体からのANPの放出により形成されるN末端部分ペプチド) の測定の状態を実施される、ペプチドであるANP (「心房性ナトリウム利尿ペプチド」) 、その測定が、いわゆるNT-ProBNP (pro-BNPのN末端、すなわち、共通の前駆体からのBNPの放出により形成されるN末端部分ペプチド) の測定の状態と同様に実施されるBNP (所謂、「脳性ナトリウム利尿ペプチド」) 、並びに前記ナトリウム利尿ペプチドの最も短いペプチド鎖を有する、関連する所謂CNPが、特に、「ナトリウム利尿ペプチド又は共通のプロペプチドから形成されるそのコペプチド」であると解されてよい。

【 0 0 2 6 】

本発明の背景においては、好ましくはANPが、特に好ましくはMR-proANPとして測定され、NT-proANPの測定は、好ましくは、proANP又はNT-proANPの中央領域 (MR) のアミノ酸配列を検出し、より詳細にはWO 2004/046181又は欧州特許第1 562 984号に開示されている免疫アッセイを用いて実施する。当該免疫アッセイの更なる説明は、参考文献 (非特許文献9) において認められる。

【 0 0 2 7 】

本発明の方法の好ましい変形例は、単独のナトリウム利尿ペプチドのみを測定するだけでなく、上述のアッセイ方法によって好適に実施されるANPの測定に加えて、BNPの直接的又は間接的な測定のための任意の既知の方法によるBNPの測定をし、個々の患者についての臨床的所見と他の試験パラメータとを同時に考慮に入れることによって、ANPとBNPとを共に測定した測定結果を考察し、その評価にそれらを使用することからなる。

【 0 0 2 8 】

本発明は、最初により詳細に説明した初老期認知症の既知の形態が、各種の異なる程度において、認知症の発症、症状、及び経過に必須なものとして解されている炎症プロセス及び内皮障害を伴い、そのため、神経変性疾患は神経炎症疾患とも解され得るという知識を使用することによる、認知症の診断を改善するための本発明者らによる考察に基づくものである。

【 0 0 2 9 】

かくして、アルツハイマー病は、とりわけ、各種の炎症タンパク質、例えば、補体因子、急性期タンパク質、及び炎症性サイトカインの作用による、脳における慢性的で局所的な炎症反応の出現によって特徴付けられる (非特許文献10) 。

【 0 0 3 0 】

炎症プロセスは、血管性認知症 (VAD) の原因においても役割を担っている。TNF 、 TGF 、 IL-6、及びGM-CSF (顆粒球マクロファージ刺激因子) のレベルは、VAD患者において実質的に増大する (非特許文献11、12) 。

【 0 0 3 1 】

DLBの場合においても、炎症プロセスは役割を担っているようである。かくして、DLB患者の脳における活性化した小グリア細胞の数は増大し、炎症性サイトカイン、例えば、TNF は、ある脳の領域、例えば、扁桃及び海馬において過剰発現する。

【 0 0 3 2 】

他方、FTD患者の脳における炎症反応の出現に関する孤立した症例における情報のみが存在する。

【 0 0 3 3 】

(i) 認知症に関連する神経炎症プロセスが血流障害、特に脳の微小循環障害を引き起こし、(ii) この点で、心臓組織の血流障害又は微小循環の障害に関連する心臓血管疾患と類似しているという仮説、並びに (iii) とりわけ、ナトリウム利尿ペプチドであるANP及びBNPの形成の増大が、その様な心臓血管疾患の場合において検出可能であることを示す分析結果から出発し、(iv) 非特許文献9によるproANP (MR-proANP) の中央領域の測定のための本出願人の上述の新規な免疫アッセイを使用して、信頼でき、かつ、臨床的に有効な形態におけるナトリウム利尿ペプチドの測定についての改善された分析の実現性を生

10

20

30

40

50

かして、本発明者は、ANPの濃度上昇についての兆候が、ナトリウム利尿ペプチドの生産の増加と関連する既知の疾患に罹患していない、各種の異なる程度の認知障害を有する患者の場合における血漿中で認められるか否かについての疑義を調査した。

【0034】

認知症様の症状を示したヒトにおいてナトリウム利尿ペプチドを測定する試みは、文献において開示されているところ、有意な相関関係は認められていない（非特許文献14及び15）。

【0035】

以下の実験の欄において開示する、106人の健康で正常なヒト（症状が無い対照）及び最初に記載した（b）から（d）群の中程度から重度の認知障害を有する196人の患者のEDTA血漿サンプルにおける測定結果は、初めて、MR-proANPについて認められる濃度と認知障害の形態における認知症の症状との間の、明らかに診断学的に有意な相関関係を与えるものであり、測定した濃度は、認知障害の重度、したがってAD前駆症の重度と有意な様式で相関しており、かくして、各種の患者群の差異に寄与する。

10

【0036】

現在までの調査は、「アルツハイマー病の可能性」があると診断されているか又はADの前駆症の兆候を示した患者の血漿サンプルに限定されたものであったが、本発明者は、各種の異なる典型的な治療域を有する可能性があり、患者の血漿におけるMR-proANPにおける特徴的な濃度増加が認知症の他の神経炎症の形態の場合、特に血管性認知症（VAD及びレヴィー小体を有する認知症（DLB））の場合であっても検出可能であろうと推定している。

20

【0037】

患者の血漿中のMR-proANPについて実験の欄に記載した測定のために使用するアッセイ方法は、本出願人のWO 2004/046181又は非特許文献9に詳細に説明している、上述の非競争的免疫発光サンドイッチアッセイ（B.R.A.H.M.S SERISTRA（登録商標））を使用して実施した。本願の記載を補うために、前記文献において、患者サンプルにおけるANP測定の問題に対する概論及び前記アッセイを実施するための説明を明示的に参照する。

【0038】

以下においては、本発明を、測定結果及び添付の図面を参照してより詳細に説明する。

【実施例】

30

【0039】

実験について

アッセイについて

血漿中のMR-proANPの測定は、上述のWO 2004/046181の実験の欄又は非特許文献9に実質的に記載されているような、免疫発光サンドイッチアッセイを用いて実施した。

【0040】

特に、10 µlのサンプル/校正試料と200 µlのトレーサー（標識した第一の抗体）とを、第二の抗体で被覆したチューブに導入して、2時間に亘って室温（18から24 °C）で混合（170から300 rpm）しながらインキュベートした。その後、液体相を静かに移して、チューブを1 mlのLUMI test洗浄溶液（B.R.A.H.M.S Aktiengesellschaft, Hennigsdorf, Germany）で4回洗浄した。次いで、結合した化学発光を、LB952Tルミノメーター（Berthold, Wildbad, Germany）を使用して、1つのチューブあたり1秒間に亘って測定した。

40

【0041】

各種の重度の認知障害を有する患者及び健康な対照の血漿におけるMR-proANPの測定

MR-proANPの濃度についての参照値を測定するために、認知障害の症状を示さず、かつ、ナトリウム利尿ペプチドであるANP及びBNPの上昇したレベルが測定されることが既知の任意の他の検出可能な疾患（心臓血管疾患；重度の感染症又は炎症）に罹患していない、106人の症状を有しない対照のヒトのEDTA血漿において測定を実施した。対照群については、63.45 pmol/lの中央値が、測定したMR-proANP濃度について決定された。

【0042】

50

個々の患者の割当が上述の群(B)、(C)、又は(d)の1つにされることに基づく、各種の重度の認知障害の形態における認知症の症状を有する患者は、患者群として扱った。

【0043】

健康な対照及び認知障害を有する患者の血漿において測定したMR-proANP濃度を図1に示す。

【0044】

各種の患者群についていわゆる中間値の形態において測定した数値、並びに80.70 pmol/mlのカットオフのための所定の値を使用して、測定したデータから算出した各種の患者群についての特異性及び感度を以下に示す。

【0045】

【表1】

	中央値 対照	中央値 SCD	中央値 MCD pos AD	中央値 Pr AD
MR-proANP (pmol/l)	62.6	81.5	103.0	98.8

	カットオフ (pmol/l)	特異性 (%)	感度 SCD (%)	感度 MCD pos AD (%)	感度 pr AD (%)
MR-proANP	87.0	81.7	43.1	58.7	64.7

【0046】

各種の患者群の中央値から明らかなMR-proANP濃度は、下式の順で症状の重度と共に明らかに増加している。

【0047】

【化1】

対照 < SCD < MED pos AD ≈ prAD

【0048】

同じ患者群に由来する患者の場合における(Roche Diagnostics社製の市販のNT-proBNPキットを使用する)BNP濃度の予備的な診査測定は、SCD群については38.0%、「MCD pos AD」群については58.0%、及び「pr AD」群については61.0%の感度が、82.2%の特異性において得られた。

【0049】

かくして、BMPの測定は、ANP(MR-proANP)の測定結果を実質的に確認する。測定の有意性は、概して2以上のパラメータを測定し、双方の測定結果が共に有益なものであると考えられ、及び/又は適切な様式でコンピュータを用いて組み合わせられる場合に改善されるため、ANP及びBNP並びに/又は任意にCNPの同時測定は、明らかに、本発明の範囲内である。

【0050】

血漿においてMR-proANP濃度として測定される、ナトリウム利尿ペプチド、例えば、ANPの放出の増大は、他の疾患(敗血症; 心臓血管疾患/心不全; しかしながら、これらは、概して、認知症からは容易に区別することができる)の場合においても測定可能であり、

10

20

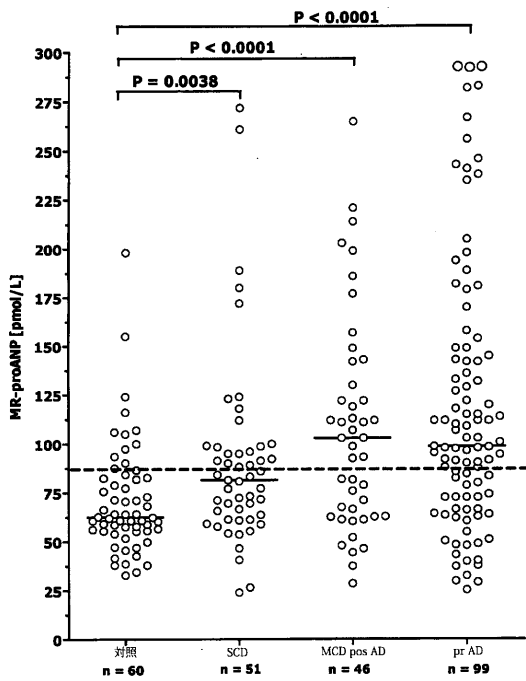
30

40

50

ナトリウム利尿ペプチドは脳特異的なパラメータではないが、任意にBNP及び/又はCNP測定との組み合わせにおいて、ANP測定は、高い特異性及び明確に区別することが可能な感度に基づいて、容易なAD診断を支援するために非常に適切である。

【 図 1 】



Figur 1

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/EP2007/004314
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/68		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ALBADALEJO M D ET AL: "[Plasmatic determination of natriuretic peptides in demented patients. Letter]" REVISTA DE NEUROLOGIA MAR 1997, vol. 25, no. 139, March 1997 (1997-03), page 475, XP008082686 ISSN: 0210-0010 cited in the application the whole document	1,2,4
A	JP 06 160383 A (EIKEN CHEMICAL) 7 June 1994 (1994-06-07) paragraph [0016]	1,2,4-10
----- -/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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		*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
E earlier document but published on or after the international filing date		*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
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)		*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.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*G* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 22 August 2007		Date of mailing of the international search report 30/08/2007
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 Schlegel, Birgit

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/004314

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004/046181 A (B R A H M S AG [DE]; BERGMANN ANDREAS [DE]; STRUCK JOACHIM [DE]) 3 June 2004 (2004-06-03) cited in the application the whole document	1,2,4-10
A	MUDERS ET AL: "Evaluation of plasma natriuretic peptides as markers for left ventricular dysfunction" AMERICAN HEART JOURNAL, MOSBY- YEAR BOOK INC., ST. LOUIS, MO, US, vol. 134, no. 3, September 1997 (1997-09), pages 442-449, XP005119735 ISSN: 0002-8703 page 446, column 2, paragraph 2 ~ page 448, paragraph 1 figure 2 abstract	1,2,4-10
X	WO 2004/059293 A (BIOSITE INC [US]; BUECHLER KENNETH F [US]; MAISEL ALAN [US]; ANDERBERG) 15 July 2004 (2004-07-15) paragraphs [0011], [0015], [0020], [0080], [0137]	1,2,4, 6-10
A	NILSSON KARIN ET AL: "Plasma homocysteine concentration and its relation to symptoms of vascular disease in psychogeriatric patients." DEMENTIA AND GERIATRIC COGNITIVE DISORDERS 2005, vol. 20, no. 1, 2005, pages 35-41, XP008082685 ISSN: 1420-8008 cited in the application the whole document	1,2,4-7, 9,10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/004314

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 6160383	A	07-06-1994	NONE
WO 2004046181	A	03-06-2004	AT 335763 T 15-09-2006 EP 1562984 A1 17-08-2005 ES 2271674 T3 16-04-2007 JP 2006523298 T 12-10-2006 US 2006234295 A1 19-10-2006
WO 2004059293	A	15-07-2004	AU 2003302340 A1 22-07-2004 CA 2511501 A1 15-07-2004 EP 1587955 A2 26-10-2005 JP 2006526140 T 16-11-2006

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/004314

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G01N33/68		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) G01N		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	ALBADALEJO M D ET AL: "[Plasmatic determination of natriuretic peptides in demented patients. Letter]" REVISTA DE NEUROLOGIA MAR 1997, Bd. 25, Nr. 139, März 1997 (1997-03), Seite 475, XP008082686 ISSN: 0210-0010 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2,4
A	JP 06 160383 A (EIKEN CHEMICAL) 7. Juni 1994 (1994-06-07) Absatz [0016]	1,2,4-10
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :</p> <p>*A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>*E* Älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>*P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipis oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>*Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
22. August 2007		30/08/2007
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Schlegel, Birgit

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/004314

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 2004/046181 A (B R A H M S AG [DE]; BERGMANN ANDREAS [DE]; STRUCK JOACHIM [DE]) 3. Juni 2004 (2004-06-03) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1,2,4-10
A	MUDERS ET AL: "Evaluation of plasma natriuretic peptides as markers for left ventricular dysfunction" AMERICAN HEART JOURNAL, MOSBY- YEAR BOOK INC., ST. LOUIS, MO, US, Bd. 134, Nr. 3, September 1997 (1997-09), Seiten 442-449, XP005119735 ISSN: 0002-8703 Seite 446, Spalte 2, Absatz 2 - Seite 448, Absatz 1 Abbildung 2 Zusammenfassung -----	1,2,4-10
X	WO 2004/059293 A (BIOSITE INC [US]; BUECHLER KENNETH F [US]; MAISEL ALAN [US]; ANDERBERG) 15. Juli 2004 (2004-07-15) Absätze [0011], [0015], [0020], [0080], [0137] -----	1,2,4, 6-10
A	NILSSON KARIN ET AL: "Plasma homocysteine concentration and its relation to symptoms of vascular disease in psychogeriatric patients." DEMENTIA AND GERIATRIC COGNITIVE DISORDERS 2005, Bd. 20, Nr. 1, 2005, Seiten 35-41, XP008082685 ISSN: 1420-8008 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1,2,4-7, 9,10

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/004314

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
JP 6160383	A	07-06-1994	KEINE	
WO 2004046181	A	03-06-2004	AT 335763 T	15-09-2006
			EP 1562984 A1	17-08-2005
			ES 2271674 T3	16-04-2007
			JP 2006523298 T	12-10-2006
			US 2006234295 A1	19-10-2006
WO 2004059293	A	15-07-2004	AU 2003302340 A1	22-07-2004
			CA 2511501 A1	15-07-2004
			EP 1587955 A2	26-10-2005
			JP 2006526140 T	16-11-2006

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, LV, MC, MT, 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, BH, 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, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 アンドレアス・ベルグマン

ドイツ・1 2 3 5 1・ベルリン・パウムロイファーヴェーク・4 7

(72)発明者 アンドレア・エルンスト

ドイツ・1 6 7 6 1・ヘンニヒスドルフ・ファルケンセーレ・シュトラッセ・4

(72)発明者 ハラルド・ハンペル

ドイツ・8 0 3 3 1・ミュンヘン・ウェステンリーダーシュトラッセ・2 1

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA26 DA36 FB03 FB13

专利名称(译)	Invitro方法用于神经退行性疾病的诊断和早期诊断		
公开(公告)号	JP2009537797A	公开(公告)日	2009-10-29
申请号	JP2009510344	申请日	2007-05-15
[标]申请(专利权)人(译)	布拉姆斯股份公司		
申请(专利权)人(译)	裴埃尔啊她IMS股份公司		
[标]发明人	アンドレアスベルグマン アンドレアエルンスト ハラルドハンベル		
发明人	アンドレアス・ベルグマン アンドレア・エルンスト ハラルド・ハンベル		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/6896 G01N2800/28		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/FB13		
代理人(译)	渡边 隆 村山彦		
优先权	102006023175 2006-05-17 DE		
其他公开文献	JP5295101B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

通过测量选自利尿钠肽，特别是ANP的分析物的浓度，以及必要时患者生物体液中的BNP和/或CNP的浓度来主观或客观地检测到的认知障碍用于检测和早期检测患有常见前肽的患者的神经退行性疾病，严重测量以及进展的评估和预后的体外方法直接和/或间接地作为相关同肽的测量并且基于测量的分析物的测量浓度，神经变性疾病或这种疾病的典型早期形式或所述疾病的过程进行。 ，和/或有可能得出关于减轻或预防所述疾病的尝试成功的结论。

