

(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2016-511407

(P2016-511407A)

(43) 公表日 平成28年4月14日(2016.4.14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 S	4 B 0 6 3
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 0 1 A	4 C 0 8 4
CO 7 K 16/18 (2006.01)	CO 7 K 16/18	4 C 0 8 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 C 0 8 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 2 0 6

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 69 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-560715 (P2015-560715)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月7日 (2014.3.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年9月7日 (2015.9.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/054499
 (87) 国際公開番号 W02014/135696
 (87) 国際公開日 平成26年9月12日 (2014.9.12)
 (31) 優先権主張番号 61/775,445
 (32) 優先日 平成25年3月8日 (2013.3.8)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 512285007
 ゼラ バイオサイエンシーズ オサケ ユ
 キチュア
 フィンランド エフイーエン-02150
 エスプー ビオロギンクヤ 1
 (74) 代理人 100086771
 弁理士 西島 孝喜
 (74) 代理人 100088694
 弁理士 弟子丸 健
 (74) 代理人 100094569
 弁理士 田中 伸一郎
 (74) 代理人 100084663
 弁理士 稲田 篤
 (74) 代理人 100093300
 弁理士 浅井 賢治

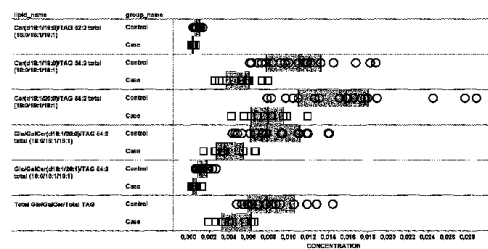
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 非高比重リポタンパク質由来CVDマーカー

(57) 【要約】

本発明は、とりわけ、アテローム性動脈硬化症または心血管疾患 (CVD) および例えば急性心筋梗塞を含むその合併症を診断、予測、予防、および/または処置するための、脂質/脂質の濃度比の決定に関わる方法および使用に関する。本方法は、患者からの非高比重リポタンパク質試料の脂質濃度および得られた脂質/脂質の濃度比を分析するステップと、それらを対照と比較するステップとを含む。

Figure 4



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患（CVD）および／または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するのに使用するためのデータを取得する方法であって、

（a）前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップ、

（b）前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップ、

（c）前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップ、または

（d）前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップ

を含む、方法。

【請求項 2】

対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患（CVD）および／または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定する方法であって、

（a）前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび／または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

（b）前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび／または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

（c）前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび／または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、または

（d）前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび／または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

を含む、方法。

【請求項 3】

対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび／または1つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法であって、

（a）前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、

（b）前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、

（c）前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、または

（d）前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、

10

20

30

40

50

を含む、方法。

【請求項 4】

対象において、アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法であって、

(a) 前記対象に由来する非 H D L 試料中のセラミド / T A G の濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ、

(b) 前記対象に由来する非 H D L 試料中の C E / T A G の濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ、

(c) 前記対象に由来する非 H D L 試料中の L P E / T A G の濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ、または

(d) 前記対象に由来する非 H D L 試料中のセラミド / C E の濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ

を含む、方法。

【請求項 5】

コンピュータが実行する方法である、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

(e) 少なくとも 1 つのプロセッサにより、非 H D L 試料中のセラミド / T A G の濃度比、非 H D L 試料中の C E / T A G の濃度比、非 H D L 試料中の L P E / T A G の濃度比、または非 H D L 試料中のセラミド / C E の濃度を反映する情報を得るステップ、

(f) 少なくとも 1 つのプロセッサにより、非 H D L 試料中のセラミド / T A G の濃度比、非 H D L 試料中の C E / T A G の濃度比、非 H D L 試料中の L P E / T A G の濃度比、または非 H D L 試料中のセラミド / C E の濃度を決定するステップ、および

(g) ユーザーが読み取り可能なフォーマットで、非 H D L 試料中のセラミド / T A G の濃度比、非 H D L 試料中の C E / T A G の濃度比、非 H D L 試料中の L P E / T A G の濃度比、または非 H D L 試料中のセラミド / C E の濃度を出力するステップ

をさらに含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

(h) 少なくとも 1 つのプロセッサにより、対照と非 H D L 試料中のセラミド / T A G の濃度比との間、対照と非 H D L 試料中の C E / T A G の濃度比との間、対照と非 H D L 試料中の L P E / T A G の濃度比との間、または対照と非 H D L 試料中のセラミド / C E の濃度との間のパーセント差を決定するステップ、および

(i) ユーザーが読み取り可能なフォーマットで、ステップ (h) の決定において得られたパーセント差を出力するステップ

をさらに含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

対象が、出力ステップにおいて得られたパーセント差に基づいて、アテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患 (C V D) および / または 1 つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、またはそれらを罹患しているかどうかを決定するステップをさらに含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

決定ステップの後に、決定ステップにおいて得られたセラミド / T A G の濃度比、C E / T A G の濃度比、L P E / T A G の濃度比、またはセラミド / C E の濃度比に基づいて、前記対象において既に行われた処置を変更する、補足する、またはそれと同じ処置を維持するステップをさらに含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 10】

10

20

30

40

50

決定ステップの後に、決定ステップにおいて得られたセラミド / T A G の濃度比、 C E / T A G の濃度比、 L P E / T A G の濃度比、またはセラミド / C E の濃度比に基づいて、前記対象を処置するステップをさらに含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 1 1】

(a) セラミド / T A G の濃度比が、表 1 に記載のセラミド / T A G の濃度比のいずれかから選択され、

(b) C E / T A G の濃度比が、表 2 に記載の C E / T A G の濃度比のいずれかから選択され、

(c) L P E / T A G の濃度比が、表 3 に記載の L P E / T A G の濃度比のいずれかから選択され、

(d) セラミド / C E の濃度比が、表 4 に記載のセラミド / C E の濃度比のいずれかから選択される、請求項 1 から 1 0 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

脂質 / 脂質の濃度比の決定が、アッセイを使用して行われる、請求項 1 から 1 1 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記処置が、脂質修飾処置である、請求項 3、4、9 または 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 4】

(a) セラミド / T A G の濃度比が、

G l c / G a l C e r (d 1 8 : 1 / 2 2 : 0) / T A G 合計 5 0 : 1 (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 1)、

C e r (d 1 8 : 1 / 2 2 : 0) / T A G 合計 5 0 : 1 (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 1)、または

G M 3 - d 1 8 : 1 / 2 4 : 0 / T A G 合計 5 4 : 2 (1 8 : 0 / 1 8 : 1 / 1 8 : 1)

から選択され、

(b) C E / T A G の濃度比が、

C E 2 2 : 6 / T A G 合計 5 0 : 1 (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 1)、

C E 1 6 : 0 / T A G 合計 5 0 : 1 (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 1)、または

C E 2 2 : 6 / T A G 合計 5 0 : 2 (1 4 : 0 / 1 8 : 1 / 1 8 : 1) (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 2) (1 6 : 0 / 1 6 : 1 / 1 8 : 1)

から選択され、

(c) L P E / T A G の濃度比が、

L P E 1 8 : 0 / T A G 合計 5 0 : 1 (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 1)、

L P E 1 8 : 0 / T A G 合計 5 0 : 2 (1 4 : 0 / 1 8 : 1 / 1 8 : 1)、(1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 2) (1 6 : 0 / 1 6 : 1 / 1 8 : 1)、または

L P E 1 6 : 0 / T A G 合計 5 0 : 2 (1 4 : 0 / 1 8 : 1 / 1 8 : 1) (1 6 : 0 / 1 6 : 0 / 1 8 : 2) (1 6 : 0 / 1 6 : 1 / 1 8 : 1) から選択され、または

(d) セラミド / C E の濃度比が、

C e r (d 1 8 : 1 / 1 8 : 0) / C E 2 2 : 0、

C e r (d 1 8 : 1 / 2 0 : 0) / C E 2 2 : 0、または

C e r (d 1 8 : 1 / 2 2 : 0) / C E 2 2 : 0

から選択される、請求項 1 から 1 3 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記脂質 / 脂質の濃度比の少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 7 つ、もしくは少なくとも 8 つ、またはそれらの組合せを決定するステップを含む、請求項 1 から 1 4 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

(a) 前記 C V D が、冠動脈疾患、末梢動脈疾患、卒中および / または C V D 死を特徴とするか、および / もしくは

10

20

30

40

50

- (b) 前記 C V D が、アテローム性動脈硬化症誘発性であるか、ならびに / または、
 (c) 前記対象が、アテローム性動脈硬化症を有するか、もしくは
 (d) 前記対象が、アテローム性動脈硬化症を有していない、請求項 1 から 15 までの
 いずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

(a) 前記方法が、前記対象に由来する試料中の、総コレステロール、低比重リポタンパク質コレステロール (L D L - C)、高比重リポタンパク質コレステロール (H D L - C)、アポリポタンパク質 B (アポ B) および / またはアポリポタンパク質 C - I I I (アポ C - I I I) の血清中レベルを決定するステップをさらに含むか、および / または

(b) 対象が、総コレステロール、低比重リポタンパク質コレステロール (L D L - C)、アポリポタンパク質 C - I I I (アポ C - I I I)、もしくはアポリポタンパク質 B (アポ B) の 1 つまたは複数が増加している血清中レベル、または H D L コレステロール (H D L - C) が低下している血清中レベルを有していない、請求項 1 から 16 までのいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 18】

前記対象が、

(a) スタチン、別の脂質低下薬、および / または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターにより処置されているか、もしくは処置されていた、または

(b) スタチン治療、別の脂質低下薬による治療、および / または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターによる治療をまだ受けていない、請求項 1 から 17 までのいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 19】

非 H D L 試料が、L D L 試料、超低比重リポタンパク質 (V L D L) 試料、もしくは中比重リポタンパク質 (I D L) 試料、またはそれらの組合せである、請求項 1 から 18 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

非 H D L 試料が L D L 試料である、請求項 1 から 19 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

脂質 / 脂質の濃度比が、質量分析法、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法または二面偏波式干渉法、H P L C、U H P L C もしくは U P L C などの高性能分離法、E L I S A などの免疫アッセイ、および / または分析種に特異的に結合することができる結合部位によるアッセイを使用することにより決定される、請求項 1 から 20 までのいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 22】

(a) 前記患者が C V D を発症するリスクの決定、

(b) 前記患者における、C V D の初期徴候の決定、

(c) 患者におけるアテローム性動脈硬化症の発生の決定または予測、および / または

(d) 心筋梗塞 (M I)、狭心症、一過性脳虚血発作 (T I A) および卒中の予測ならびに / または診断を含む、C V D および / または C V D 合併症の予測または診断、あるいは死亡の予測、

40

のための、請求項 1 から 21 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の処置または予防に使用するための、請求項 1 から 4 まで、11 または 14 のいずれか 1 項に記載の脂質 / 脂質の濃度比を調節することができる薬物であって、前記対象に由来する試料中の前記脂質 / 脂質の濃度比が、対照と比較した場合、著しく異ならないよう薬物が投与され、さらにスタチン、別の脂質低下薬、または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターである、薬物。

【請求項 24】

50

請求項 1 から 4 まで、11 または 14 のいずれか 1 項に記載の脂質 / 脂質の濃度比を調節することができる薬物の治療有効用量を投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法であって、前記脂質 / 脂質の濃度比が、対照と比較した場合、著しく異ならないよう薬物が投与され、さらに薬物がスタチン、別の脂質低下薬、または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターである、方法。

【請求項 25】

請求項 1 から 4 まで、11 または 14 のいずれか 1 項目による脂質 / 脂質の濃度比を調節することができる薬物の治療有効用量を対象に投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法であって、前記脂質 / 脂質の濃度比が、対照と比較した場合、著しく異ならないよう薬物が投与され、さらに前記薬物がスタチン；スタチン以外の HMG - CoA レダクターゼ阻害剤、ナイアシン（ニコチン酸）、コレステロール吸収阻害剤、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）、胆汁酸隔離剤、フィブラート、フィトステロール、および PCSK9 阻害剤から選択される別の脂質低下薬；または低分子、抗体、アンチセンス RNA、低分子干渉 RNA（siRNA）、および天然もしくは修飾脂質から選択される脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターである、方法。

10

【請求項 26】

対象に治療有効用量の薬物を投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法であって、前記薬物が、スタチン；スタチン以外の HMG - CoA レダクターゼ阻害剤、ナイアシン（ニコチン酸）、コレステロール吸収阻害剤、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）、胆汁酸隔離剤、フィブラート、フィトステロール、および PCSK9 阻害剤から選択される別の脂質低下薬；または低分子、抗体、アンチセンス RNA、低分子干渉 RNA（siRNA）、および天然もしくは修飾脂質から選択される脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターであり、これらの薬物を投与する前に、対象が、対照と比べると、セラミド / TAG 濃度の比の低下、CE / TAG の濃度比の低下、LPE / TAG の濃度比の低下、またはセラミド / CE の濃度比の低下に基づいて、アテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症に罹患しているか、あるいはそれらを発症するリスクが増加していると特定された、方法。

20

30

【請求項 27】

対象において、アテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症を予測または検出するため、または請求項 1 から 26 までもしくは以下の請求項のいずれか 1 項に記載の方法を実施するためのキットであって、

(a) 請求項 1 から 4 まで、11 または 14 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質から選択される 1 つまたは複数の脂質標準品、ならびに / または対照較正線、ならびに / またはポジティブおよび / もしくはネガティブ対照、を含む、キット。

40

【請求項 28】

(b) 請求項 1 から 4 まで、11 または 14 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質、またはタンパク質である、1 つまたは複数の対照マーカー、

(c) 内部および / または外部標準、

(d) 請求項 1 から 4 まで、11 または 14 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに結合することができる薬剤、

(e) 前記方法を行うための試薬、

の 1 つまたは複数を含み、請求項 27 のキット。

【請求項 29】

請求項 1 から 4 まで、11 または 14 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにあ

50

る脂質のいずれか1つに結合することができる薬剤が、抗体である、請求項28に記載のキット。

【請求項30】

アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するための、請求項27から29までのいずれかにおいて定義されているキットの使用であって、対象に由来する試料中の脂質/脂質の濃度比が、質量分析法を使用することにより決定されてもよい、使用。

【請求項31】

対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するため、または請求項1から30までのいずれか1項による方法もしくは使用を実施するためのキットであって、

(a) 酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされている、請求項1から4まで、11または14に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つに結合することができる抗体、または酵素もしくは検出可能な標識にコンジュゲートされている、請求項1から4まで、11または14に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つを含み、

(b) 前記酵素に特異的な基質、

(c) (a)の抗体のいずれかに結合することができる二次抗体でコーティングされたアッセイプレート、

(d) 標準品および/または標準校正線、

(e) ストップ溶液、および

(f) 1つまたは複数の緩衝液および/または試薬の1つまたは複数を含んでもよい、キット。

【請求項32】

酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされている抗体が、請求項14に記載の脂質/脂質の濃度比にある脂質のいずれか1つに結合することができ、かつ/または酵素もしくは検出可能な標識にコンジュゲートされている脂質が、請求項14に記載の脂質/脂質の濃度比にある脂質のいずれか1つである、請求項31に記載のキット。

【請求項33】

対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するための方法であって、

(a) 対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するために、

(b) 対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するために、

(c) 対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するために、または

(d) 対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するために、請求項27から29まで、31および32のいずれか1項のキットを使用するステップを含む、方法。

【請求項34】

対象に由来する試料中の脂質 / 脂質の濃度比が、質量分析法を使用することにより決定される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

対象がアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、あるいは罹患しているかを決定する方法であって、

(a) 請求項 1 から 4 まで、1 1 または 1 4 に記載のセラミド / T A G の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに対する抗体を使用する、前記対象に由来する非 H D L 試料中のセラミド / T A G の濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比のセラミド / T A G の濃度比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

10

(b) 請求項 1 から 4 まで、1 1 または 1 4 に記載の C E / T A G の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに対する抗体を使用する、前記対象に由来する非 H D L 試料中の C E / T A G の濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の C E / T A G の濃度比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

(c) 請求項 1 から 4 まで、1 1 または 1 4 に記載の L P E / T A G の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに対する抗体を使用する、前記対象に由来する非 H D L 試料中の L P E / T A G の濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の L P E / T A G の濃度比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、または

20

(d) 請求項 1 から 4 まで、1 1 または 1 4 に記載のセラミド / C E の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに対する抗体を使用する、前記対象に由来する非 H D L 試料中のセラミド / C E の濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中のセラミド / C E の濃度比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ

を含む、方法。

30

【請求項 3 6】

請求項 1 から 4 まで、1 1 または 1 4 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに対する抗体の治療有効用量を投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法。

【請求項 3 7】

対象が、急性心筋梗塞などの 1 つまたは複数の C V D 合併症を発症するリスクがあるか、またはそれを罹患しており、かつ / または心筋死のリスクがある、請求項 1 から 3 6 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 8】

対象が、心血管疾患を罹患している、請求項 1 から 3 7 までのいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 3 9】

a) 対象が、アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を発症するリスクまたは罹患するリスクを予測するステップ、または

b) 対象において、アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を予防または処置するステップ

において使用するための、請求項 1 から 4 まで、1 1 または 1 4 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに対する抗体。

【請求項 4 0】

50

対象におけるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは処置に使用するための、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであって、

a) 請求項1から39までのいずれか1項に記載の方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかを適用すると、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定されるか、

b) 請求項1から39までのいずれか1項に記載の方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかにより、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定されたか、

c) 請求項1から39までのいずれか1項に記載の方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかを適用すると、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定されるか、および/または

d) 請求項1から39までのいずれか1項に記載の方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかにより、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定された、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【請求項41】

脂質低下薬が、スタチン以外のHMG-CoAレダクターゼ阻害剤；ナイアシン（ニコチン酸）；コレステロール吸収阻害剤；コレステリルエステル輸送タンパク質（CEETP）；胆汁酸隔離剤；フィブラート；フィトステロール；またはPCSK9阻害剤から選択される、請求項18から22まで、25もしくは26のいずれか1項に記載の方法、請求項23に記載の薬物、または請求項40に記載のスタチン、他の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【請求項42】

それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法であって、対象にスタチン；スタチン以外のHMG-CoAレダクターゼ阻害剤、ナイアシン（ニコチン酸）、コレステロール吸収阻害剤、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEETP）、胆汁酸隔離剤、フィブラート、フィトステロール、およびPCSK9阻害剤から選択される別の脂質低下薬；または低分子、抗体、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA（siRNA）、および天然もしくは修飾脂質から選択される脂質/脂質の濃度比のモジュレーターの治療有効用量を投与するステップを含み、

a) 請求項2から22まで、または33から35までのいずれか1項の方法により、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定されるか、

b) 請求項2から22まで、または33から35までのいずれか1項の方法により、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定されたか、

c) 請求項2から22まで、または33から35までのいずれか1項の方法により、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定されるか、かつ/または

d) 請求項2から22まで、または33から35までのいずれか1項の方法により、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定された、方法。

【請求項43】

10

20

30

40

50

コレステロール吸収阻害剤が、エゼチミブまたはSCH-48461から選択され、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）阻害剤が、アナセトラピブ、エバセトラピブおよびダルセトラピブから選択され、胆汁酸隔離剤が、コレセベラム、コレステルアミン、およびコレステポールから選択され、フィブラートが、フェノフィブラート、ゲムフィプロジル、クロフィブラート、およびベザフィブラートから選択され、PCSK9阻害剤が、PCSK9特異的抗体、siRNA、およびペプチド模倣薬から選択される、請求項25、26、41または42のいずれか1項に記載の方法。

【請求項44】

スタチンが、アトルバスタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、フルバスタチンXL、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、およびシンバスタチンからなる群から選択される、請求項18、25、26または41または42のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項45】

脂質/脂質の濃度比のモジュレーターが、低分子、抗体、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA（siRNA）、および天然もしくは修飾脂質、好ましくは請求項1から4までまたは7に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質から選択される、請求項18から22まで、25、26、41もしくは42のいずれか1項に記載の方法、請求項23に記載の薬物、または請求項40に記載のスタチン、他の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【請求項46】

対照が、健常な個体、健常な個体の一般集団、いかなる主要なCVD合併症のない状態にあるCAD患者、またはいかなる主要なCVD合併症のない状態にあるCAD患者の群に由来する、請求項2から22まで、24、25、26、33から35まで、41または42のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項47】

対照が非HDL試料である、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

非HDL試料中が、LDL試料、超低比重リポタンパク質（VLDL）試料、または中比重リポタンパク質（IDL）試料、またはそれらの組合せである、請求項47に記載の方法。

30

【請求項49】

非HDL試料がLDL試料である、請求項48に記載の方法。

【請求項50】

予防または処置されるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDの1つまたは複数の合併症が、心筋梗塞（MI）、急性心筋梗塞（AMI）、狭心症、一過性脳虚血発作（TIA）、および卒中から選択される、請求項1から49までのいずれか1項に記載の、方法、薬物、使用、キット、抗体、スタチン、他の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【請求項51】

予防されるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDの1つまたは複数の合併症が死亡である、請求項1から50までのいずれか1項に記載の、方法、薬物、使用、キット、抗体、スタチン、他の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アテローム性動脈硬化症または心血管疾患（CVD）および例えば急性心筋梗塞もしくは心筋死を含むその合併症を診断、予測、予防、および/または処置するための、脂質/脂質の濃度比の決定に関わる方法および使用に関する。本方法は、生物学的試料の脂質濃度および得られた脂質/脂質の濃度比を分析するステップと、それらを対照と比較するステップとを含む。詳細には、本発明は、血漿/血清の総コレステロール、トリ

50

グリセリド、LDL-C、HDL-C、またはそれらの比を含む標準脂質検査と比べて優れたCVDマーカーである新規脂質バイオマーカーの特定に関する。この新規なバイオマーカーは、脂質分子種、またはセラミドおよびセラミド誘導体と一緒にしたトリアシルグリセリド（グルコシル/ガラクトシルセラミド、GM3ガングリオシド）、コレステリルエステルもしくはリゾリン脂質の脂質クラスの合計濃度から導かれた比である。

【背景技術】

【0002】

世界的に、心血管疾患（CVD）は、死亡率および罹患率の主要な原因の1つであり、有病率は増加し続けている。CVDは、心臓、心臓弁、血液、および身体の血管構造に影響を及ぼす様々な状態を分類するために使用される。これらの状態の1つが、冠動脈疾患（CAD）である。CADの発症における中心的な様相は、様々な脂質を含有する複合分子形成体であるアテローム斑をもたらす恐れのある、血管壁における脂質物質の蓄積である。この主な脂質源は、低比重リポタンパク質（LDL）粒子であり、これらは動脈壁に容易に浸透して閉じ込められ、そこでこれらはその滞留を強化する修飾（例えば、酸化または凝集）を受ける。一般にアテローム生成抑制性であるとみなされている高比重リポタンパク質（HDL）粒子は、コレステロール逆輸送と呼ばれる過程で、血管壁からLDL由来脂質を除去することができる。さらに、HDL粒子は、有益な抗炎症、抗アポトーシスおよび抗酸化特性を有する。

10

【0003】

血液中で総コレステロールまたは低比重リポタンパク質コレステロール（LDL-C）濃度が高いことは、CVDのリスクの予測になるということが一般に認められている。血漿または血清の総コレステロール、LDL-CまたはHDL-C濃度は、CVD/CADリスクを予測するための判断基準として使用されてきた。大規模集団の検討に基づいて、コレステロールの標準測定値は、急性心筋梗塞（AMI）または心筋死などのCADリスクおよびCADのエンドポイントと関連することは明白である。したがって、コレステロール濃度、とりわけLDL-Cの低下（主にスタチン処置による）が主な治療戦略であり続けており、この戦略は、集団レベルではうまく出現量を低下させてきた。

20

しかし、LDL-Cは、いくつかの理由のため、診断的/治療的目的に対する最適な標的ではない場合がある。第1に、急性心筋梗塞（AMI）患者の半分は、推奨される正常範囲内のLDL-Cコレステロールレベルを有していることが観察されている。第2に、スタチン処置患者において、LDL-Cは低下しているにもかかわらず、依然として、CVD/CADを発症する相当な（約65%）残存リスクがあることに留意することが重要である。したがって、LDL-Cを凌駕する追加的な診断的/治療的標的が必要とされている。

30

【0004】

残存リスクの一部は、HDL-Cレベルが低いことに起因する。HDL粒子上の主な表面タンパク質であるアポリポタンパク質A1のレベル、およびこれらの粒子中におけるコレステロールの量であるHDL-Cは互いに相関しており、陰性のリスク因子として個別に考えられている。したがって、標準脂質検査の結果から容易に算出される総コレステロール/HDLコレステロールの比は、CVDリスクアセスメントにおける十分に確立されている別のマーカーである。例えば、ナイアシン、フィブラート、またはCETP-阻害剤を使用することによりHDL-Cレベルを向上することは、LDLの低下と組み合わせた別の治療的手法である。総コレステロール、LDL-C、およびHDL-Cの他に、いくつかの非脂質リスク因子（年齢、血圧、糖尿病、喫煙、および肥満指数）が、心血管イベントに対する個体のリスクを評価/計算するためのリスクアセスメントに使用されている。最もよく知られているリスクスコアであるフラミンガムスコアは、心血管イベントを有するという個体の10年のリスクを評価するものであり、総コレステロールおよびHDL-C、年齢、性別、血圧、喫煙状況、および脂質低下投薬治療の使用を含めた因子から算出される。しかし、これらのリスクスコアは、集団レベルでは有用となり得るが、心血管イベントに対する個人のリスクをそれほど正確に明らかにするものではない。

40

50

【 0 0 0 5 】

スタチンは、心血管合併症のリスクが高いヒトのコレステロール低下薬のファミリーである。スタチンは、幅広く使用されている。例えば、米国では、ほぼ2000万人のスタチン処置患者がいる。さらに米国だけでも概ね5000万人の患者がスタチン処置からの恩恵を受けていると計算されている。しかし、スタチン処置にも関わらず、CVD患者は、深刻なCVD合併症を発症するかなりのリスクを有する。AMIおよび死亡などのCVD関連性の深刻な合併症に対する予防的手段を早期に開始することを目標とすることは大きな利益があり、CVD罹患患者における死亡率および罹患率を低減する大きな機会を実現すると思われる。CVDおよびCVD合併症を発症するリスクのある個体の正確な特定が必須である。個体の大きな集団は中間リスクを有するものとして分類されるが、伝統的なリスクアセスメントは、リスクが高い患者の大きな集団を認識することには成功せず、患者の管理を不確かなものになっている。したがって、ハイリスクCVDのリスクアセスメントの精度をさらに高めるための、さらなる戦略が切望されている。

10

【 0 0 0 6 】

LDLとHDLはいずれも極めて不均質なクラスの粒子であり、いずれもサイズ、密度、電荷、およびその分子組成が異なるサブクラスにさらに分類することができる。これらの特性は、リポタンパク質のアテローム生成的またはアテローム生成抑制的な能力、すなわち動脈壁に浸透して閉じ込められる能力、または抗酸化および抗炎症特性を発揮する能力ならびに動脈壁からコレステロールを除去する能力に直接影響を及ぼすことが示唆される。しかし、粒子のサブクラスとアテローム生成促進性/アテローム生成抑制的な能力との関連はそれほどよく理解されていない。例えば、より小さなLDL粒子は、より大きなLDL粒子よりもアテローム生成的であることが示唆されているが、矛盾する証拠もある。

20

【 0 0 0 7 】

ヒト血漿または血清は、LDLおよびHDLの他に、他のトリグリセリドに富む粒子を含有している。これらには、超低比重リポタンパク質(VLDL)および中比重リポタンパク質(IDL)が含まれる。LDL、VLDLおよびIDL粒子を含有している総血漿/血清は、まとめて非HDL画分と呼ばれる。この非HDL画分は、単に、HDL画分を除く、総血漿/血清の画分である。非HDL画分のリポタンパク質は、共通の起源を有しており、機能的および組成的に関連していると考えられている。肝臓中で合成されるVLDLは、リパーゼおよび脂質交換タンパク質により、心血管内で処理されて、LDLへとさらに処理される、中間生成物であるIDLが形成する。LDLは、非HDL画分、次いでVLDL(その質量は、LDLのほぼ3分の1である)の主要構成物質である一方、IDLは、少量種として存在している。実際には、LDL-Cは、直接測定されないが、総コレステロール含有量からHDL-Cおよび(2.2により除算した)トリグリセリド含有量を減算することによる、式(例えば、フリードワルドの式)を使用して算出されることが多い。

30

【 0 0 0 8 】

様々なリポタンパク質のサブクラスは、その脂質組成が著しく異なる場合がある。その結果、標準コレステロール検査から同じ結果を有する2人のヒトは、リポタンパク質粒子の量およびサイズが実質的に異なる場合がある(図1)。したがって、コレステロール含有量の代わりに、粒子数が、CVDを発症するリスクをより良く反映することが示唆される。アポリポタンパク質B(アポB)は、各粒子上のアポB分子の1つとして存在している、LDL、VLDLおよびIDL粒子(非HDL画分)の主要な表面タンパク質である。したがって、アポBレベルは、試料中に存在しているアテローム生成的リポタンパク質粒子の量を直接反映する一方、粒子の量および心血管リスクは、粒子サイズ(および、コレステロール含有量)が変動する場合、所与のLDL-C濃度に応じて実質的に変動する可能性がある。試料の分布、サイズおよび粒子数は、核磁気共鳴(NMR)分光法により容易に入手できる。すべてではないが、一部の研究により、LDL粒子(LDL-P)またはアポBの量が、LDL-CよりもCVDリスクに密接に関連しているということが見

40

50

出されている。しかし、最近の研究により、LDL-Pと小粒子および大粒子の分布のどちらも、総/HDLコレステロール比を計算することにより得られるCVDリスクアセスメントを改善しないことが実証された(Parishら、2012年)。

【0009】

LDL-C、HDL-C、および粒子数を決定する他のパラメータの主な欠点は、それらが、粒子の質を必ずしも反映しないという点にある。コレステロールは、明らかにCVDに関連しているが、中心的な役割を有しているという評判があるにもかかわらず、コレステロールが実効的なリスク分子であるという説得力のある証拠は存在していないように思われる。コレステロールの役割を支持する中心的な議論の1つは、スタチンの使用に関連するリスク低下、すなわちコレステロール低下薬の服用により、CVDのリスクが低減するということに起因している。しかしこれは、スタチンは、コレステロールの他にいくつかの他の分子のレベルも低下させることが知られているので、大雑把な過度な単純化である。コレステロールは、すべてのリポタンパク質粒子に必須で存在しているので、LDL粒子により運ばれる他の危険分子に関連する間接的な測定に過ぎない可能性がある。さらに、分子の視点から見ると、コレステロールは、機能的に異なる形態で、すなわち遊離コレステロールとして、または様々な脂肪酸とエステル化されたものとして、リポタンパク質粒子中に存在している。したがって、これらの特定の粒子中の総コレステロール(遊離体およびエステル体)を決定するLDL-CおよびHDL-C検査は、該粒子の質および機能をそれほど正確に反映しないことがある。これらの特性は、より優れた診断的または予後的価値を有する可能性がある生物活性タンパク質または脂質分子の存在などの、総コレステロール以外の因子により決定される可能性が高い。リポタンパク質の質は、例えば、LDL粒子が酸化されるか凝集する傾向を測定する生化学的方法により伝統的に検討されている。これらの方法は、時間がかかり、慣例的手順の臨床使用には適していない。したがって、リポタンパク質の質を測定することができ、かつ慣例的手順の臨床使用に適した、ロバストな方法が必要とされている。したがって、どの分子がリポタンパク質の機能、および危険なまたは致死性にさえなる心血管イベントに直接関連するかを特定することが極めて重要である。

10

20

【0010】

特定のリポタンパク質クラスにしばしば存在するタンパク質構成物質とは対照的に、基本的にあらゆるリポタンパク質(サブ)クラスにおいて、任意の所与の脂質分子が(様々な量ではあるが)見出される可能性がある。リポタンパク質粒子は、構造タンパク質、およびホスホ脂質およびスフィンゴ脂質を含めた極性脂質の層により取り囲まれた、トリアシルグリセロール(TAG)およびコレステリルエステル(CE)などの疎水性脂質が豊富にある中性コアからなる。リポタンパク質表面にある少量の脂質構成成分には、それらの血漿中レベルの向上が糖尿病およびアテローム性動脈硬化症を含めた代謝性疾患にリンクしている、極めて強力な生物活性セラミド(Cer、Glc/GalCer)、GM3ガングリオシド、およびリゾリン脂質が含まれる。同様に、血漿中のTAGレベルの向上は、心血管リスクと関係していると考えられている。循環中では、TAGの大部分は、VLDLおよびIDL粒子中で主に輸送されており、LDL画分中のこうした脂質の役割については知られていない。

30

40

【0011】

リポタンパク質の(サブ)クラスは、様々な機能的役割を有するので、特定の脂質分子が関連している粒子により評価することは当を得ている。したがって、有害な粒子と有益な粒子との間の脂質の分布は、その循環レベルを変化させることなく影響を受ける可能性があり、総血漿/血清から測定した場合、ある種の粒子において関連脂質分子が豊富であることがマスキングされる可能性がある。一例として、コレステロールは、時として、それぞれHDL画分またはLDL画分であるかに応じて「善玉」または「悪玉」と呼ばれる。しかし、上記の通り、LDL-Cは、CVDの診断および治療目的に対する最適なバイオマーカーではない。

【発明の概要】

50

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよびその合併症、またはリスクの指標となる新規なバイオマーカーであって、したがって、血漿/血清の総コレステロール、トリグリセリド、LDL-C、HDL-C、またはそれらの比を含めた、標準脂質検査の代替となるか、またはそれより優れたバイオマーカーが当業界で必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明はとりわけ、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のCVDの合併症を罹患しているか、またはアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のCVDの合併症を発症するリスクのある対象を特定するための、新規なバイオマーカー、および関連する診断方法、および使用を提供する。こうした方法および使用は、こうした対象に由来する、対象の血漿または血清のLDL画分などの非HDL試料から特定の脂質/脂質の濃度比をモニタリングするステップ、およびこうした比を対照における比と比較するステップを含む。

10

【0014】

したがって、本発明の第1の態様では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するための方法であって、前記方法が、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップを含む方法が提供される。

20

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、セラミド/TAGの濃度比は、表1に記載のセラミド/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、セラミド/TAGの濃度比は、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、Cer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、およびGM3-d18:1/24:0/TAG合計54:2(18:0/18:1/18:1)から選択される。

30

【0015】

本発明のこうした態様の別の実施形態では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するための方法であって、前記方法が、前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップを含む方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、CE/TAGの濃度比は、表2に記載のCE/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

40

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、CE/TAGの濃度比は、CE22:6/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、CE16:0/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、およびCE22:6/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択される。

【0016】

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するための方法であって、前記方法が、前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対

50

照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップを含む方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比は、表3に記載のLPE/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比は、LPE 18 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、LPE 18 : 0 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1)、およびLPE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1) から選択される。

10

【0017】

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するための方法であって、前記方法が、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップを含む方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比は、表4に記載のセラミド/CEの濃度比のいずれかから選択される。

20

好ましい実施形態では、その増加が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比は、Cer(d 18 : 1 / 18 : 0) / CE 22 : 0、Cer(d 18 : 1 / 20 : 0) / CE 22 : 0、およびCer(d 18 : 1 / 22 : 0) / CE 22 : 0 から選択される。

【0018】

本発明の別の態様では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するのに使用するためのデータを取得する方法であって、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップを含む、方法が提供される。

30

好ましい実施形態では、セラミド/TAGの濃度比は、表1に記載のセラミド/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、セラミド/TAGの濃度比は、Glc/GalCer(d 18 : 1 / 22 : 0) / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、Cer(d 18 : 1 / 22 : 0) / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、およびGM3 - d 18 : 1 / 24 : 0 / TAG 合計 54 : 2 (18 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) から選択される。

【0019】

本発明のこうした態様の別の態様では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するのに使用するためのデータを取得する方法であって、前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップを含む、方法が提供される。

40

【0020】

好ましい実施形態では、CE/TAGの濃度比は、表2に記載のCE/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、CE/TAGの濃度比は、CE 22 : 6 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、CE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、およびCE 22 : 6 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1

50

) から選択される。

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患 (CVD) および / または 1 つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するために使用するためのデータを取得する方法であって、前記対象に由来する非 HDL 試料中の LPE / TAG の濃度比を決定するステップを含む、方法が提供される。

【0021】

好ましい実施形態では、LPE / TAG の濃度比は、表 3 に記載の LPE / TAG の濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、LPE / TAG の濃度比は、LPE 18 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、LPE 18 : 0 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1)、および LPE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1) から選択される。

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患 (CVD) および / または 1 つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定するために使用するためのデータを取得する方法であって、前記対象に由来する非 HDL 試料中のセラミド / CE の濃度比を決定するステップを含む、方法が提供される。

【0022】

好ましい実施形態では、セラミド / CE の濃度比は、表 4 に記載のセラミド / CE の濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、セラミド / CE の濃度比は、Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / CE 22 : 0、Cer (d 18 : 1 / 20 : 0) / CE 22 : 0、および Cer (d 18 : 1 / 22 : 0) / CE 22 : 0 から選択される。

本発明の別の態様では、対象において、前記対象に由来する非 HDL 試料中のセラミド / TAG の濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、セラミド / TAG の濃度比は、表 1 に記載のセラミド / TAG の濃度比のいずれかから選択される。

【0023】

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、セラミド / TAG の濃度比は、Glc / Gal Cer (d 18 : 1 / 22 : 0) / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、Cer (d 18 : 1 / 22 : 0) / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、および GM3 - d 18 : 1 / 24 : 0 / TAG 合計 54 : 2 (18 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) から選択される。

本発明のこうした態様の別の実施形態では、対象において、前記対象に由来する非 HDL 試料中の CE / TAG の濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくは CVD および / または 1 つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、方法が提供される。

【0024】

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、CE / TAG の濃度比は、表 2 に記載の CE / TAG の濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、CE / TAG の濃度比は、CE 22 : 6 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、CE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、および CE 22 : 6 / TAG

10

20

30

40

50

G合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択される。

【0025】

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象において、前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比は、表3に記載のLPE/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

10

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比は、LPE18:0/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、LPE18:0/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)、およびLPE16:0/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択される。

【0026】

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象において、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、方法が提供される。

20

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比は、表4に記載のセラミド/CEの濃度比のいずれかから選択される。

好ましい実施形態によれば、その増加が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比は、Cer(d18:1/18:0)/CE22:0、Cer(d18:1/20:0)/CE22:0、およびCer(d18:1/22:0)/CE22:0から選択される。

【0027】

別の好ましい実施形態では、本発明による対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法は、決定ステップの後に、決定ステップにおいて得られたセラミド/TAGの濃度比、CE/TAGの濃度比、LPE/TAGの濃度比、またはセラミド/CEの濃度比に基づいて、前記対象において既に行われた処置を変更する、補足する、またはそれと同じ処置を維持するステップをさらに含んでもよい。

30

本発明の別の態様では、対象において、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、方法が提供される。

【0028】

40

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、セラミド/TAGの濃度比は、表1に記載のセラミド/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、セラミド/TAGの濃度比は、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、Cer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、およびGM3-d18:1/24:0/TAG合計54:2(18:0/18:1/18:1)から選択される。

本発明のこうした態様の別の実施形態では、対象において、前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法

50

であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、方法が提供される。

【0029】

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、CE/TAGの濃度比は、表2に記載のCE/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、CE/TAGの濃度比は、CE22:6/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、CE16:0/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、およびCE22:6/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択される。

10

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象において、前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比は、表3に記載のLPE/TAGの濃度比のいずれかから選択される。

特に好ましい実施形態によれば、その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比は、LPE18:0/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、LPE18:0/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)、およびLPE16:0/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択される。

20

【0030】

本発明のこうした態様のさらに別の実施形態では、対象において、前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップを含む、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法であって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、方法が提供される。

好ましい実施形態では、その低下が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比は、表4に記載のセラミド/CEの濃度比のいずれかから選択される。

30

好ましい実施形態によれば、その増加が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比は、Cer(d18:1/18:0)/CE22:0、Cer(d18:1/20:0)/CE22:0、およびCer(d18:1/22:0)/CE22:0から選択される。

【0031】

別の好ましい実施形態では、対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法は、決定ステップの後に、決定ステップにおいて得られたセラミド/TAGの濃度比、CE/TAGの濃度比、LPE/TAGの濃度比、またはセラミド/CEの濃度比に基づいて、前記対象を処置するステップをさらに含んでもよい。

40

【0032】

本発明のすべての態様および実施形態によれば、提供される方法は、コンピュータで実行することができる。

好ましい実施形態では、本発明のコンピュータが実行する方法のいずれも、(i)少なくとも1つのプロセッサにより、非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比、非HDL試料中のCE/TAGの濃度比、非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比、または非HDL試料中のセラミド/CEの濃度を反映する情報を得るステップ、(ii)少なくとも1つのプロセッサにより、非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比、非HDL試料中のCE/TAGの濃度比、非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比、または非HDL試料中のセラミド/CEの濃度を決定するステップ、および(iii)ユーザーが読み取り

50

可能なフォーマットで、非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比、非HDL試料中のCE/TAGの濃度比、非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比、または非HDL試料中のセラミド/CEの濃度を出力するステップをさらに含んでもよい。

【0033】

本発明のコンピュータが実行する方法の好ましい別の実施形態では、本方法は追加的に、(iv)少なくとも1つのプロセッサにより、対照と非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比との間、対照と非HDL試料中のCE/TAGの濃度比との間、対照と非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比との間、または対照と非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比との間のパーセント差を決定するステップ、および(v)ユーザーが読み取り可能なフォーマットで、ステップ(iv)の決定において得られたパーセント差を出力するステップをさらに含むことができる。

10

【0034】

本発明のコンピュータが実行する方法の特に好ましい実施形態では、本方法は追加的に、対象が、出力ステップにおいて得られたパーセント差に基づいて、アテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、またはそれらを罹患しているかどうかを決定するステップをさらに含む。

コンピュータが実行する方法の好ましい実施形態では、セラミド/TAGの濃度比は、表1に記載のセラミド/TAGの濃度比のいずれかから選択され、CE/TAGの濃度比は、表2に記載のCE/TAGの濃度比のいずれかから選択され、LPE/TAGの濃度比は、表3に記載のLPE/TAGの濃度比のいずれかから選択され、セラミド/CEの濃度比は、表4に記載のセラミド/CEの濃度比のいずれかから選択される。

20

【0035】

コンピュータが実行する方法の特に好ましい実施形態によれば、セラミド/TAGの濃度比は、Glc/GalCer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、Cer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、およびGM3-d18:1/24:0/TAG合計54:2(18:0/18:1/18:1)から選択され、CE/TAGの濃度比は、CE22:6/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、CE16:0/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、およびCE22:6/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択され、LPE/TAGの濃度比は、LPE18:0/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、LPE18:0/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)、およびLPE16:0/TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2)(16:0/16:1/18:1)から選択され、セラミド/CEの濃度比は、Cer(d18:1/18:0)/CE22:0、Cer(d18:1/20:0)/CE22:0、およびCer(d18:1/22:0)/CE22:0から選択される。

30

【0036】

同様に、本発明のすべての態様および実施形態によれば、個々の態様または実施形態に関して言及された脂質/脂質の濃度比の少なくとも2つを決定することが可能であり、かつ利点があり得る。同様に、個々の態様または実施形態に関して言及された脂質/脂質の濃度比の少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、または少なくとも8つを決定することが好ましい。

40

本発明によれば、CVDは、冠動脈疾患、末梢動脈疾患、卒中および/またはCVD死を特徴とする疾患である。CVDは、アテローム性動脈硬化症誘発性であってもよく、そうでなくてもよい。

その非HDL試料が、本発明の方法および使用と関連して分析される対象は、アテローム性動脈硬化症を有する対象とすることができる。あるいは、アテローム性動脈硬化症を

50

有していない対象の試料も同様に、本発明の方法および使用に従って分析されてもよい。

【0037】

本発明の方法および使用が、前記対象に由来する試料中の、総コレステロール、低比重リポタンパク質コレステロール(LDL-C)、高比重リポタンパク質コレステロール(HDL-C)、アポリポタンパク質B(アポB)および/またはアポリポタンパク質C-III(アポC-III)の血清中レベルを決定するステップをさらに含むことが有用であり、かつ利点さえあり得ることが理解されよう。さらに、本発明の方法または使用の好ましい実施形態によれば、対象は、好ましくは、総コレステロール、低比重リポタンパク質コレステロール(LDL-C)、アポリポタンパク質C-III(アポC-III)、もしくはアポリポタンパク質B(アポB)の少なくとも1つまたは複数が増加している血清中レベル、またはHDLコレステロール(HDL-C)が低下している血清中レベルを有していない対象である。

10

【0038】

本発明の方法または使用のいずれかによれば、対象は、スタチン、別の脂質低下薬、および/または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターにより処置中か、またはこれまでに処置されている。あるいは、対象は、スタチン治療、別の脂質低下薬による治療、および/または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターによる治療をまだ受けていない対象も含んでもよい。

本発明に従って分析しようとする非HDL試料は、HDL粒子が実質的に低下しているか、本質的に含まないか、または完全に含まない(すなわち血漿または血清からHDLを除く)血漿または血清試料とするのが有利な場合がある。分析しようとする非HDL試料がLDL試料である実施形態も好ましい。しかし、適切な別の実施形態では、非HDL試料はまた、超低比重リポタンパク質(VLDL)試料であってもよい。非HDL試料はさらに、中比重リポタンパク質(IDL)試料であるのが有利な場合がある。さらに別の実施形態では、非HDL試料は、LDL試料およびVLDL試料の組合せとするのが有利な場合がある。LDL試料とIDL試料との組合せ、またはVLDL試料とIDL試料との組合せが、同様に好適である。本発明の非HDL試料として、LDL試料、VLDL試料およびIDL試料の組合せも好ましい。

20

【0039】

本発明の一態様では、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の処置または予防に使用するための、本発明による脂質/脂質の濃度比を調節することができる薬物が提供される。一実施形態では、本薬物は、前記対象に由来する試料中の前記脂質/脂質の濃度比が、対照と比較した場合に著しく違いのないように投与される。好ましい実施形態では、薬物はスタチンである。しかし、薬物は、別の脂質低下薬であるのも有利となり得る。あるいは、前記薬物として好適なものはやはり、脂質/脂質の濃度比、具体的には、本明細書において記載および/または特許請求されている脂質/脂質の濃度比のモジュレーターである。

30

【0040】

したがって、別の態様では、本発明は、本明細書において記載および/または特許請求されている脂質/脂質の濃度比を調節することができる薬物の治療有効用量を投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法を提供する。やはり、本薬物は、前記脂質/脂質の濃度比が、対照と比較した場合に著しく違いのないように好適に投与される。本薬物は、好ましくはスタチンであるが、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターの使用も同様に考えられる。

40

【0041】

さらに別の態様では、本発明は、対象に治療有効用量の薬物を投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法であって、薬物が、スタチン;スタチン以外のHMG-CoAレダクターゼ阻害剤、ナイアシン(ニコチン酸)、コ

50

レステロール吸収阻害剤、コレステリルエステル輸送タンパク質（CETP）、胆汁酸隔離剤、フィブラート、フィステロール、およびPCSK9阻害剤から選択される別の脂質低下薬；または低分子、抗体、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA（siRNA）、および天然もしくは修飾脂質から選択される脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであり、該薬物を投与する前に、対象が、対照と比べると、セラミド/TAG濃度の比の低下、CE/TAGの濃度比の低下、LPE/TAGの濃度比の低下、またはセラミド/CEの濃度比の低下に基づいて、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症に罹患しているか、またはそれらを発症するリスクが増加していると特定された、方法を提供する。

【0042】

本発明の別の態様では、対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するため、あるいは本発明による方法または使用のいずれかを行うためのキットであって、(a)表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質から選択される1つまたは複数の脂質標準品および/または対照校正線、ならびに/またはポジティブおよび/もしくはネガティブ対照を含む、キットが提供される。本発明のこうした態様のキットは、1つまたは複数の以下の構成成分、すなわち(b)脂質(単数または複数)、例えば表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質、またはタンパク質などの1つまたは複数の対照マーカー、(c)内部および/または外部標準品、(d)表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つに結合することができる抗体でもよい薬剤、および(e)前記方法または使用を行うための試薬をさらに含んでもよい。

本発明の別の態様は、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するための本発明のキットの使用であって、対象に由来する試料中の脂質/脂質の濃度比が、質量分析法を使用することにより決定されてもよい、使用に関する。

【0043】

本発明の別の態様では、対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するため、あるいは本発明による方法または使用のいずれかを実施するためのキットであって、(a)酵素もしくは検出可能な標識にコンジュゲートされている、表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つに結合することができる抗体(単数または複数)、または酵素もしくは検出可能な標識にコンジュゲートされている、表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つを含む、キットが提供される。本発明のこうした態様によるキットは、1つまたは複数の以下の構成成分、すなわち(b)前記酵素に特異的な基質、(c)(a)の抗体のいずれかに結合することができる二次抗体でコーティングされたアッセイプレート、(d)標準品および/または標準校正線、(e)ストップ溶液、および(f)必要な緩衝液および/またはアッセイを実施するために必要な試薬をさらに含んでもよい。

【0044】

さらなる実施形態では、本発明のキットは、上の実施形態の(a)において抗体上の検出可能な標識に特異的なタンパク質にコンジュゲートされている酵素、例えば、ストレプトアビジンにコンジュゲートされているアルカリホスファターゼを含む。

本発明のこうした態様の好ましい実施形態では、上の実施形態のキットは、項目1または請求項1、特に項目7または請求項14などの本明細書において一覧表示されている項目または特許請求の範囲に言及されている脂質/脂質の濃度比にある脂質のいずれか1つに結合することができる酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされている抗体を含み、かつ/または酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされている脂質が、項目1または請求項1、特に項目7または請求項14などの本明細書において一覧表示されている項目または特許請求の範囲に言及されている脂質/脂質の濃度比にある脂質のいずれか1つである。

10

20

30

40

50

本発明のキットはすべて、本明細書で定義されているアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測、診断または検出するために、それを使用するための指示書が添付されていてもよい。

【0045】

別の態様では、本発明は、a)アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するかまたはそれを罹患する対象のリスクを予測するため、あるいはb)対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予防または処置するのに使用するための、表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つに対する抗体に関する。a)アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するかまたはそれを罹患する対象のリスクの予測、あるいはb)こうした抗体が使用されるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDの予防または処置の対応する方法、およびこうした抗体の対応する使用が、同様に、本発明のこうした態様の実施形態である。

10

【0046】

一態様では、本発明は、対象におけるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは処置に使用するための、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであって、本明細書において記載および/または特許請求されている方法、薬物、キット、使用または抗体のいずれかを適用すると、前記対象がアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つ

20

もしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定される、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターに関する。

この態様のさらなる実施形態では、本発明は、対象におけるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは処置に使用するための、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであって、本明細書において記載および/または特許請求されている方法、薬物、キット、使用または抗体のいずれかにより、前記対象がアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定された、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターに関する。

30

【0047】

この態様のさらなる実施形態では、本発明は、対象におけるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは処置に使用するための、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであって、前記対象が、本明細書において記載および/または特許請求されている方法、薬物、キット、使用または抗体のいずれかにより、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定される、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターに関する。

40

【0048】

この態様のさらなる実施形態では、本発明は、対象におけるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは処置に使用するための、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであって、本明細書において記載および/または特許請求されている方法、薬物、キット、使用または抗体のいずれかにより、前記対象がアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定された、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターに関する。

【0049】

50

前記スタチン、前記他の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比の前記モジュレーター
の対応する使用と同様に、対象において、前記スタチン、前記他の脂質低下薬、または脂
質/脂質の濃度比の前記モジュレーターの治療有効量を投与することによる、アテローム
性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは
は処置の相当する方法も同様に、本発明のこうした態様により考えられる。

【0050】

本発明の文脈において、脂質濃度または脂質/脂質の濃度比の決定は、アッセイを使用
して通常行われる。好ましくは、こうしたアッセイは、質量分析法、核磁気共鳴分光法、
蛍光分光法または二面偏波式干渉法、HPLC、UHPLCもしくはUPLCなどの高性能分離法、
ELISAなどの免疫アッセイ、および/または分析種に特異的に結合すること
ができる結合部位によるアッセイであるか、これらを含む。特に好ましいのは、質量分
析法の使用である。

10

【0051】

本発明の文脈では、CVDには、内皮機能不全、冠動脈疾患、狭心症、心筋梗塞、アテ
ローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、高血圧症、脳血管疾患、卒中、一過性脳虚血発作
、深部静脈血栓、末梢動脈疾患、心筋症、不整脈、大動脈弁狭窄症、および動脈瘤が含ま
れる。こうした疾患は、アテローム性動脈硬化症を伴うことが多い。本発明の好ましい実
施形態では、心血管疾患は、アテローム性動脈硬化症に関連する心血管疾患である。さら
なる実施形態では、CVD合併症は、以下に限定されないが、心筋梗塞(myocardial
infarction)(MI)、狭心症、一過性虚血発作(TIA)、卒中
および死亡を含む。

20

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1】粒子サイズとコレステロール含有量との間の関係を示す図である。平均粒子サイ
ズに応じて、粒子数が顕著に異なり得ることを実証している、同一のLDL-C濃度を有
する状況にある、粒子組成の2つの例である。

【図2】標準脂質検査は、健常な対照から顕著な割合のCVD患者を特定することに成功
していないことを示すグラフである。A.この標準脂質検査は、ボルケーノプロット(volcano
plot)の下のボックス領域(box)(点線)において強調されており、この場合、CVD患者(「症例(case)」)
と対照との間の平均割合変化を、統計的有意性(p値)に対してプロットしている。各記号は、血清またはLDL画分のい
ずれかの測定された分析種(脂質または脂質/脂質比)を表す。B.「症例」(四角形)お
よび対照(円)の臨床測定濃度(g/lまたはmmol/l)の描写。

30

【図3】統計的有意性(p値)に対してプロットした、症例と対照との間の計算したLDL
脂質/脂質比の平均割合変化を表すボルケーノプロットを示すグラフである。各記号は
、計算された脂質/脂質比を表す。ボックス領域は、統計的な有意差がないか(下のボッ
クス領域)、または検討群間に大きな有意差がある(上のボックス領域)、分析種または
脂質比を強調している。正の%差の値(x軸)を有する分析種は、対照に比べて、CVD
症例の「増加」である。負の%差の値(x軸)を有する分析種は、対照に比べて、CVD
症例の「低下」である。

40

【図4】CVD患者(症例:四角形)と健常な対照(対照;円)との間に差があるバイオ
マーカーの比の例を示す図である。

【図5】総血漿(A)、およびLDL画分(B)、および総血漿から測定したLDLコレ
ステロール(C)におけるCer(d18:1/18:0)/総TAG比に関する、ROC
曲線および曲線下面積(AUC)を示す図である。

【図6】本発明の一部の実施形態による、システムの概略を示す図である。特に、この図
は、開示されているシステムおよび方法による、コンピュータシステム106の実行に使用
することができる、様々なハードウェア、ソフトウェアおよび他のリソースを例示して
いる。示されている実施形態では、コンピュータシステム106は、オペレーティングシ
ステムの制御下、またはそれと共に、ランダムアクセスメモリオペレーティングに接続し

50

た1つまたは複数のプロセッサ110を含むことができる。実施形態におけるプロセッサ110は、サーバー、クラスター、または別のコンピュータもしくはハードウェアリソースの1つまたは複数に含まれるか、あるいはクラウドベースのリソースを使用して実行することができる。このオペレーティングシステムは、例えば、Linux（登録商標）オペレーティングシステム、Unix（登録商標）オペレーティングシステム、または他のオープンソースもしくは所有権のあるオペレーティングシステム、またはプラットフォームの流通品とすることができる。プロセッサ110は、命令プログラム、他のデータにアクセスするかまたはこれらを格納するためのハードドライブまたはドライブアレイに格納されているデータベースなど、データストア112と通信してもよい。プロセッサ110は、ネットワークインターフェース108を介してさらに通信されていてもよく、このインターフェースは、ひいては、インターネットまたは他の公共もしくは個人のネットワークなどの1つまたは複数のネットワーク104を介して通信してもよく、こうして、クライアント102または他の装置もしくはサービスからクエリまたは他のリクエストを受け取ることができる。さらに、プロセッサ110は、情報、命令、ワークフローエリーの部分ワークフロー、または他のデータを1つまたは複数のネットワーク104を介して、ユーザーに送信するためのネットワークインターフェース108を利用することができる。ネットワークインターフェース104は、1つまたは複数のサーバーを含んでもよく、またはそれに通信接続していてもよい。クライアント102は、例えば、インターネットに接続したパーソナルコンピュータであってもよい。プロセッサ110は、一般に、本明細書において開示されている方法を実行するための制御理論および制御オペレーションを実施するよう、プログラム化または構成されていてもよい。プロセッサ110はさらに、コプロセッサ114に通信接続（すなわち、コミュニケーションチャンネルによって接続されている）されていてもよい。コプロセッサ114は、本明細書において開示されている方法を実施するよう構成されている、専用ハードウェアおよび/またはファームウェアコンポーネントとすることができる。したがって、本明細書において開示されている方法は、プロセッサ110および/またはコプロセッサ114によって実施することができる。コンピュータシステム106、関連ネットワーク接続、および他のハードウェア、ソフトウェア、およびサービスリソースからなる他の構成も考えられる。

10

20

30

40

50

【発明を実施するための形態】

【0053】

本発明は、粒子の質の変化によるものが最も可能性が高いために、CVDを有する患者の非HDL粒子において、ある種の（非タンパク質）分子が低下し、ある種の分子が増加するという知見に基づいている。これらの分子から導かれた脂質比は、予想外なことに、CVDの優れたバイオマーカーであった。本発明によれば、（コレステロールに無関係の）生物活性セラミド、およびセラミドのグルコシル化/ガラクトシル化/ガングリオシド誘導体、およびエステル化コレステロール（総コレステロールではない）が、CVD患者のLDL粒子において、より低い濃度で存在していた。本発明者らは、LDL粒子中のこれらの分子のレベルが低いことが有害となり得ること、およびCVDの発症に関連し得ることを示す証拠を提供する。これらのマーカーまたは標準マーカーが、総血漿/血清から測定される場合、上記の変化はマスキングされる可能性があり、したがって、好ましくはLDL画分を含む血漿/血清試料の非HDL画分から、前記比が決定されることが、本発明の重要な態様である。

【0054】

心血管疾患は、極めて不均質な疾患である。したがって、診断測定を個体レベルで機能させるには、個体の変動を正規化すべきである。TAG分子は、CVD患者のLDL粒子中でより高い濃度で発現することが特定された。本発明は、セラミド、セラミド誘導体、エステル化コレステロール、およびリゾリン脂質分子のレベルが、TAG分子のレベルと組み合わせて使用され、濃度比を算出することができることを提供する。この比は、CVD患者と対照とを分離する診断力を改善する。したがって、この比の変化は、CVDを有するかまたは発症する個体のリスクに反映する。

【 0 0 5 5 】

C E / T A G 比と、L D L と H D L の両方の構造および組成との関連性が、C V D に関して示唆されている (D e c k e l b a u m ら) 。しかし、この比の低下は、有害であると示唆されている、低比重 L D L 粒子タイプの出現率の向上を示すと解釈されることが多かった。さらに、最近の研究により、L D L の粒子サイズに基づく C V D リスクアセスメントは、伝統的な総 / H D L コレステロール比をベースとするリスクアセスメントから改善されない (P a r i s h ら、2 0 1 2 年) ことが実証された。本発明によれば、特定の C E および T A G 分子、およびそれらの比 (L D L サイズではない) は、C V D のリスク増加の一因となる。

【 0 0 5 6 】

本発明による方法は、C V D を特定かつ予測するために使用することができる、特異的かつ感度の高い検査を提供する。さらに、本発明は、従来の C V D およびアテローム性動脈硬化症向けマーカーが陰性である場合、C V D およびアテローム性動脈硬化症の診断に使用することができる。本発明は、患者が C V D 合併症を発症するリスクが高いかどうかを評価するために、スタチン処置に関して、患者に使用するのが有利な場合がある。

一般に、本発明は、アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を検出する方法であって、対象の検査試料 (血漿または血清試料) に由来する非 H D L 画分、例えば L D L 画分からマーカーのレベルを測定するステップ、該マーカーのレベルの比を計算するステップ、および非 H D L をベースとするマーカーの比が、アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症に相関するかどうかを決定するステップを含む、方法を提供する。

【 0 0 5 7 】

リポミクスの高い感度と特異性の両方のために、どれほど少量の試料でさえも分析することができる。対象の試料から、さらにまた対照試料から、本発明の方法による脂質バイオマーカー (すなわち、本明細書に記載および / または特許請求されている脂質 / 脂質の濃度比) に関する情報を収集するステップは、様々な化学的および高分解能分析技法により行うことができる。特に適した分析技法には、以下に限定されないが、質量分析法および核磁気共鳴分光法が含まれる。実際に、個々の脂質または脂質クラスを分割することができ、かつそれらの構造的情報を提供することができる、任意の高分解能技法を使用して、対象の試料さらにまた対照の試料から本発明による脂質マーカーを決定することができる。したがって、本発明の方法のために、脂質濃度または脂質 / 脂質の濃度比が、好ましくは質量分析法により決定される。しかし、この点に関する、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法または二面偏波式干渉法、H P L C または U P L C などの高性能分離法、E L I S A などの免疫アッセイ、および / または脂質分析種に特異的に結合することができる結合部位の使用も有用である。

【 0 0 5 8 】

本発明では、血漿 / 血清試料の非 H D L 画分 (例えば、L D L 画分) から決定される新規な脂質バイオマーカーが特定された。驚くべきことに、セラミドまたはセラミド誘導体 (グルコシル化 / ガラクトシル化 / ガングリオシド) 、コレステリルエステル、リゾリン脂質分子種、またはこれらの分子種の任意のものの合計と、トリグリセリド (T A G) 分子種または T A G 分子種の合計との比は、L D L 画分などの非 H D L 画分から測定した場合、既存のかつ従来的に使用されているバイオマーカーと比べて、C V D のバイオマーカーとして優れた性能を示した。

本発明に関して、総血漿の L D L 画分中の脂質の比を決定した。L D L は、機能的に関連しているアテローム生成的非 H D L リポタンパク質のクラス (V L D L 、 I D L および L D L) の主なクラスであるので、本発明の比は、L D L 画分以外の非 H D L 画分から測定した場合、C V D リスクアセスメントに使用することもできると想定される。したがって、本発明による診断方法は、L D L 画分以外の、血漿または血清試料の非 H D L 画分から前記比を測定するために使用することもできる。

【 0 0 5 9 】

定義：

本明細書で使用する場合、「CVD」は、冠血管疾患/心血管疾患であり、当業界におけるその一般的な意味は、心臓、心臓弁、血液、および身体の血管構造に影響を及ぼす状態を分類するものである。「CAD」は冠動脈疾患であり、「AMI」は急性心筋梗塞であり、「ACS」は、急性冠症候群であり、「CAC」は、冠動脈石灰化であり、「RCT」は、コレステロール逆輸送であり、「LDL」は、低比重リポタンパク質であり、「HDL」は、高比重リポタンパク質であり、「LDL-C」は、低比重リポタンパク質コレステロールであり、「HDL-C」は、高比重リポタンパク質コレステロールであり、「アポA」は、アポリポタンパク質Aであり、「アポB」は、アポリポタンパク質Bであり、「アポC」は、アポリポタンパク質Cであり、「MS」は質量分析法であり、「HPLC」は、高速液体クロマトグラフィーであり、「UPLC」は、超高速液体クロマトグラフィーである。

10

【0060】

本明細書で使用する場合、「セラミド」とは、グルコシルセラミド、ガラクトシルセラミド、およびガングリオシド（オリゴ糖に連結したセラミド）を含めた、セラミドをベースとする任意の分子を指す。

本明細書で使用する場合、「対象」には、非限定的にヒトを含むが、やはり非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ウサギ、ブタ、およびげっ歯類を含めたすべての哺乳動物が含まれる。本発明による特に好ましい対象は、ヒト対象であることが理解されよう。

20

「試料」とは、対象または群または対象の集団から得られた、生物学的試料として定義される。

【0061】

「非HDL試料」は、血清もしくは血漿試料、または血清もしくは血漿から得られた試料、例えば本明細書に記載されている通りに得られたリポタンパク質含有画分であり、この画分はHDL粒子が実質的に低下しているか、本質的に含まないか、または完全に含まない。HDL粒子が「実質的に低下している」とは、試料中のリポタンパク質の70%（w/w）未満、好ましくは80%（w/w）未満、より好ましくは90%未満がHDLであることを意味する。HDL粒子が「本質的に含まない」とは、試料中のリポタンパク質の95%（w/w）未満、好ましくは98%（w/w）未満がHDLであることを意味する。HDL粒子が「完全に含まない」とは、試料中のリポタンパク質の99%（w/w）未満、好ましくは99.5%（w/w）未満がHDLであることを意味する。したがって、本発明による非HDL試料は、上で説明した通り、本明細書に記載されている方法により、HDL粒子がそこから除去されて、HDL粒子が実質的に低下しているか、本質的に含まないか、または完全に含まないようにする（すなわち、血漿または血清からHDLを除く）、血清または血漿あることが有利である。しかし、血清または血漿から得られた、分析しようとする非HDL試料がLDL試料である実施形態も好ましい。血清または血漿から得られた、VLDL試料もしくはIDL試料、またはLDL、VLDLおよびIDL試料の組合せとすることも有利となり得る。これらのすべての非HDL試料は、当業界公知の方法および/または本明細書に記載されている方法により、血清または血漿から、それぞれ、非HDL画分、LDL画分、VLDL画分、またはIDL画分を調製することにより得ることができる。さらに、血清または血漿を得るために、患者の血液試料を採取するステップは、通常の臨床実作業の一部である。この血液試料は、患者において、例えばコレステロールレベルを測定することと関連して、採取することができる。採取した血液試料は、当業者に周知の技法により調製することができ、血清または血漿は上記の技法により分離することができる。静脈血液試料は、ニードルおよびBD Vacutainer（登録商標）Plastic TubesまたはVacutainer（登録商標）Plus Plastic Tubes（BD Vacutainer（登録商標）SST（商標）Tubesは、血清分離用のスプレーコーティングされたシリカおよびポリマーゲルを含有する）を使用して患者から採取することができる。血清は、室温で10分間、

30

40

50

1300RCFで遠心分離することにより分離して、プラスチック製の小管に-80で保管することができる。

【0062】

「非HDL画分」は、HDLを除く、総血漿/血清の画分として定義される。非HDL画分は、LDL、VLDLおよび/またはIDL、またはそれらの組合せを含むことができ、LDLが、通常、主要構成物質である。非HDL画分は、HDL含有画分とは機能的に異なる。非HDL画分は、遠心分離および/または沈殿、例えば、Stahlmanらにおいて記載されている臭化カリウム溶液を使用する逐次的な分画微量超遠心分離によるもの、またはBursteinらにおいて記載されている通りに沈殿させることによるものを含めた、当業界公知の任意の技法を使用して調製することができる。あるいは、非HDL画分は、例えばWiesnerらに記載されているファストパフォーマンス液体クロマトグラフィー(FPLC)により、または例えばDallinga-Thieらに記載されているゲルろ過法により調製することができる。

10

【0063】

「LDL画分」は、LDLを含み、HDLを除く、総血漿/血清の画分として定義される。LDL画分は、LDLの他に、VLDLおよび/またはIDLを含むことができ、LDLが通常、主要構成物質である。LDL画分は、HDL含有画分とは機能的に異なる。LDL画分は、超遠心分離および/または沈殿、例えば、Stahlmanらに記載されている臭化カリウム溶液を使用する逐次的な分画微量超遠心分離によるもの、またはBursteinらに記載されている通り沈殿させることによるものなどを含めた、当業界公知の任意の技法を使用して調製することができる。

20

【0064】

「VLDL画分」は、VLDLを含み、HDLを除く、総血漿/血清の画分として定義される。VLDL画分は、VLDLの他に、LDLおよび/またはIDLを含むことができ、VLDLが通常、主要構成物質である。VLDL画分は、HDL含有画分とは機能的に異なる。VLDL画分は、超遠心分離および/または沈殿、例えば、Stahlmanらに記載されている臭化カリウム溶液を使用する逐次的な分画微量超遠心分離によるもの、またはBursteinらに記載されている通り沈殿させることによるものなどを含めた、当業界公知の任意の技法を使用して調製することができる。

30

【0065】

「IDL画分」は、IDLを含み、HDLを除く、総血漿/血清の画分として定義される。IDL画分は、IDLの他に、LDLおよび/またはVLDLを含むことができ、IDLが通常、主要構成物質である。IDL画分は、HDL含有画分とは機能的に異なる。IDL画分は、超遠心分離および/または沈殿、例えば、Stahlmanらに記載されている臭化カリウム溶液を使用する逐次的な分画微量超遠心分離によるもの、またはBursteinらに記載されている通り沈殿させることによるものなどを含めた、当業界公知の任意の技法を使用して調製することができる。

【0066】

「HDL含有画分」は、HDL粒子を含む、総血漿/血清の画分として定義される。HDL含有画分は、通常、LDL、VLDLおよびIDL粒子を除く。HDL含有画分は、非HDL、LDL、VLDLおよびIDL画分とは機能的に異なる。

40

本発明による「非HDL試料」は、総血漿/血清の「非HDL画分」に由来する物質を含むことになる、好ましくは本質的にこれからなる、より好ましくこれからなる、またはこれに相当することになる。

同様に、本発明による「LDL試料」、「VLDL試料」、または「IDL試料」は、総血漿/血清の「非HDL画分」の、それぞれ「LDL画分」、「VLDL画分」、または「IDL画分」に由来する物質を含むことになる、好ましくは本質的にこれからなる、より好ましくこれからなる、またはこれに相当することになる。

用語「対照」とは、本明細書で使用する場合、対照試料とすることができる。あるいは、対照は、対照値とすることもできる。対照が対照値である場合、対照は、本発明の方法

50

を開始する前に既に決定、計算または外挿されていてもよいことが理解されよう。あるいは、対照値は、本発明の方法に従って、前記脂質 / 脂質の濃度比の決定後に決定、計算または外挿されてもよい。したがって、本発明による適切な対照値は、文献から採用されたものであってもよいことが理解されよう。

【0067】

本明細書で使用する「対照」、すなわち対照値または対照試料は、通常、対象の群または対象の集団の代表である。この文脈では、「代表」とは、本発明の文脈において比較が行われる、前記対照値により反映される脂質 / 脂質の濃度が、前記群または集団の対象に由来する対応する個々の試料中の前記脂質 / 脂質の濃度比の平均濃度値に相当することを意味する。同様に、対照試料の場合、「代表」とは、本発明の文脈において比較が行われる、前記対照試料における脂質 / 脂質濃度が、前記群または集団の対象に由来する対応する個々の試料中の前記脂質 / 脂質の濃度比の平均濃度に相当することを意味する。好ましくは、前記対照試料中の脂質 / 脂質の濃度比のすべての濃度は、前記群または集団の対象に由来する対応する個々の試料中の前記脂質 / 脂質の濃度比の平均濃度に相当する。こうした値を有する個体は、本発明の目的では、「健常な個体」とみなすことができる。好ましい実施形態では、本発明の意味において、対象の群に由来する対照試料または対象の集団に由来する対照試料は、前記群もしくは集団の対象から直接得られたかまたは採用した試料の等量を混合することにより、あるいは等量の画分、構成物質、またはそれらの反応生成物（例えば、酵素反応生成物または沈殿物）を混合することにより得られる。

10

【0068】

本発明の文脈では、対照試料は、健常な個体、健常な個体の一般集団、いかなる主要な C V D 合併症のない状態にある C A D 患者、またはいかなる主要な C V D 合併症のない状態にある C A D 患者の群に由来することができる。

20

本発明の文脈において、同じ対象に由来する、または別の（異なる）対象に由来する対照試料を言う場合、該対照試料が、前記対象から直接得られたことを意味することができる。しかし、代替として、上記の対照試料は、前記対象から直接得られるかまたは採取された試料の、遠心分離、分画、酵素的消化、沈殿などの物理的または化学的処理の結果として得られたものであることも意味することができる。同じことが、本明細書における、対象の群または対象の集団に由来する対照試料のいずれかを言うことに当てはまる。

【0069】

対照試料は、同一または本質的に同一の方法で同じタイプの生物学的組織または源から得られた場合、対象の試料と特に好適に比較することができる。例えば、対象の試料が、本明細書で定義されている非 H D L 試料、L D L 試料、V L D L 試料または I D L 試料である場合、対応する対照試料は、同様に、それぞれ、非 H D L 試料、L D L 試料、V L D L 試料または I D L 試料となる。こうした対応する対照試料は、対象の群または集団に由来する、それぞれ非 H D L 試料、L D L 試料、V L D L 試料または I D L 試料を混合することにより得られる、非 H D L 試料、L D L 試料、V L D L 試料または I D L 試料を含むことが理解されよう。

30

【0070】

本発明のための有用な対照値は、好ましくは、本明細書に記載されている適切な対照試料のいずれか1つであり、または本明細書に記載されている適切な対照試料のいずれか1つを使用して得られるものであることが理解されよう。

40

用語「脂質」は、本明細書で使用する場合、疎水性または両親媒性低分子として定義される。

本発明のためには、脂質は、以下の命名法に従って命名される。C e r はセラミドであり、G l c / G a l C e r は、グルコシルおよびガラクトシルセラミドであり、G M はモノシアロ gangslioside であり、G M 3 は、モノシアロジヘキソシル gangslioside であり、C E はコレステリルエステルであり、L P E はリゾホスファチジルエタノールアミンであり、T A G はトリアシルグリセロールである。

【0071】

50

命名 X : Y は、該分子の脂肪酸部分の総炭素原子数が X、および該分子の脂肪酸部分の二重結合の総数が Y であることを示す。

命名 A / B / C は、TAG 分子に関すると、該分子のグリセロール骨格に結合している、脂肪酸部位が A、B および C のタイプであることを示す。

命名 (dE / F) (例えば、Cer (d18 : 0 / 20 : 0)) は、Cer、Glcer および GM の分子の場合、アミド連結した脂肪酸部位 F を有する長鎖塩基のタイプ E を示す。

GM の分子の場合、その後の数 (例えば、GM2 および GM3) は、炭水化物配列を特徴づける。

【0072】

本発明の文脈では、「セラミド」は、セラミド脂質のファミリーの脂質のいずれか 1 つを指し、セラミド脂質には、セラミドのグルコシル化 (Glc) 誘導体、ガラクトシル化 (Gal) 誘導体およびガングリオシド誘導体 (GM3 など) が含まれ、これらは、それぞれのグルコシルまたはガラクトシルシターゼにより、または GM3 の場合、ベータ - ガラクトシダーゼおよびガングリオシド GM3 シターゼによりセラミドから修飾されたものであり、

用語「TAG ブルート (brutto) 種」は、脂肪酸の 1 種または複数の考えられる組合せからなる TAG 分子の化学種として定義される (例えば、表 7 を参照されたい)。

「セラミド / TAG の濃度比」は、少なくとも 1 つのセラミド分子の濃度と、少なくとも 1 つの TAG 分子の濃度との比、すなわちセラミドの濃度を TAG の濃度により除算したものと定義される。あるいは、少なくとも 1 つのセラミド分子の濃度と、任意の TAG ブルート種の濃度との比であり、またはすべてのセラミド分子の合計の濃度とすべての TAG 分子の合計の濃度との比である。

「CE / TAG の濃度比」は、少なくとも 1 つの CE 分子の濃度と、少なくとも 1 つの TAG 分子の濃度との比、すなわち CE の濃度を TAG の濃度により除算したものと定義される。あるいは、少なくとも 1 つの CE 分子の濃度と、任意の TAG ブルート種の濃度との比であり、またはすべての CE 分子の合計の濃度とすべての TAG 分子の合計の濃度との比である。

「LPE / TAG の濃度比」は、少なくとも 1 つの LPE 分子の濃度と、少なくとも 1 つの TAG 分子の濃度との比、すなわち LPE の濃度を TAG の濃度により除算したものと定義される。あるいは、少なくとも 1 つの LPE 分子の濃度と、任意の TAG ブルート種の濃度との比であり、またはすべての LPE 分子の合計の濃度とすべての TAG 分子の合計の濃度との比である。

【0073】

「セラミド / CE の濃度比」は、少なくとも 1 つのセラミド分子の濃度と、少なくとも 1 つの CE 分子の濃度との比、すなわちセラミドの濃度を CE の濃度により除算したものと定義される。あるいは、すべてのセラミド分子の合計の濃度と、すべての CE 分子の合計の濃度との比である。

【0074】

「比の低下」は、対象の試料と対照の間の脂質 / 脂質の濃度比における値の負のパーセント差 (差%) として定義され、ここで対象の試料と対照の間の特定の脂質 / 脂質の濃度比に関する負のパーセント差が、脂質 / 脂質比が対照と比較して対象においてより小さい数値を有することの指標となる。例えば、-50% という具体的な比に関する差% は、具体的な比の値が、対照と比べると、対象において 50% 低いことを意味する。

【0075】

以下の計算が、表 6 からの平均濃度値に基づく計算例である。

脂質比 : CE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)

対照中の濃度 :

CE 16 : 0 308.7 pmol / μ g

TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1) 20.3 pmol / μ g

10

20

30

40

50

対照中の脂質比： $308.7 \text{ pmol} / \mu\text{g} / 20.3 \text{ pmol} / \mu\text{g} = 15.2$

症例における濃度：

CE16：0 298.4 pmol / μg

TAG合計50：1 (16：0 / 16：0 / 18：1) 29.2 pmol / μg

症例における脂質比： $298.4 \text{ pmol} / \mu\text{g} / 29.2 \text{ pmol} / \mu\text{g} = 10.2$

症例と対照との間のパーセント差：

(症例比 - 対照比) / 症例比 = 差%

$(10.2 - 15.2) / 10.2 = -0.49 \times 100\% = -49\%$

症例における比は、対照と比べて50%低い。

【0076】

本発明の文脈における比の低下は、少なくとも-10%、好ましくは少なくとも-20%、-30%または-40%、より好ましくは少なくとも-50%、またはやはり-60%、-70%、-80%または-90%、および特に好ましい実施形態では、少なくとも-100%だけでなく、少なくとも-120%、少なくとも-140%、少なくとも-160%、少なくとも-180%または少なくとも-200%の、対象と対照との間の脂質/脂質比の差%に相当する。

「比の向上」は、対象と対照との間の脂質/脂質比の値の正のパーセント差(差%)として定義され、ここで対象の試料と対照との間の特定の脂質/脂質比に関する正のパーセント差が、対照と比較すると、脂質/脂質比が対象においてより大きな数値を有することの指標となる。例えば、50%の具体的な比に関する差%は、具体的な比の値が、対照と比べると、対象において50%高いことを意味する。

本発明の文脈における比の向上は、少なくとも10%、好ましくは少なくとも20%、30%または40%、より好ましくは少なくとも50%、またはやはり60%、70%、80%または90%、および特に好ましい実施形態では、少なくとも100%ばかりでなく、少なくとも120%、少なくとも140%、少なくとも160%、少なくとも180%または少なくとも200%の、対象と対照との間の脂質/脂質比の差%に相当する。

用語「著しく異なる」とは、対象と対照との間の脂質/脂質比の比較により、両値間に正または負の方向のどちらかに、15%より大きい差異が現れることを意味する。したがって、用語「著しく異なる」とは、対象と対照との間の脂質/脂質比の比較により、両値間に正または負の方向のどちらかに、15%未満の差異(すなわち、有意差がない)しか現れないことを意味する。

【0077】

本発明の文脈における用語「コンピュータが実行する方法」とは、その目的を達成するために機械または装置を利用する方法を意味する。

【0078】

用語「プロセッサ」とは、命令を理解して実施することができるデバイスを意味する。具体的には、プロセッサは、入力データを受信するため、および適切な出力データを提供するための理論回路を使用する。プロセッサは、ネットワークを介して、互いに通信することができる。

用語「処置の有効性」とは、そのために行われる治療目的を達成するための処置の能力の意味をとる。

本明細書において記載および/または特許請求されている本発明の態様および実施形態すべての文脈において、「スタチン」は、以下に限定されないが、アトルバスタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、フルバスタチンXL、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、およびシンバスタチンからなる群から選択することができる。

本発明による「モジュレーター」は、低分子(<1500ダルトンの分子量、好ましくは<800ダルトンの分子量)、抗体、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA(sRNA)、または天然もしくは修飾脂質、好ましくは表1から4に記載の脂質/脂質の濃度比にあるいずれか1つの脂質とすることができる。

10

20

30

40

50

【0079】

本発明による「脂質低下薬」は、好ましくは、HMG-CoAレダクターゼ阻害剤、ナイアシン（ニコチン酸）、コレステロール吸収阻害剤、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）阻害剤、胆汁酸隔離剤、フィブラート、フィトステロール、またはPCSK9阻害剤である。

本発明のためには、「コレステロール吸収阻害剤」は、好ましくはエゼチミブまたはSCH-48461であり、コレステリルエステル輸送タンパク質（CEPT）阻害剤は、好ましくはエパセトラピブ、アナセトラピブ、またはダルセトラピブであり、胆汁酸隔離剤は、好ましくはコレセベラム、コレスチルアミン、またはコレスチポールであり、フィブラートは、好ましくはフェノフィブラート、ゲムフィプロジル、クロフィブラート、またはベザフィブラートであり、PCSK9阻害剤は、PCSK9特異的抗体、siRNA、およびペプチド模倣薬から選択される。

【0080】

本明細書で使用する場合、用語「抗体」は、ジスルフィド結合により相互結合している少なくとも2本の重（H）鎖および2本の軽（L）鎖、またはそれらの一部に結合している抗原を含む、糖タンパク質を指す。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書では、 V_H として略す）および重鎖定常領域からなる。重鎖定常領域は、3つのドメインであるCH1、CH2およびCH3からなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書では、 V_L として略す）および軽鎖定常領域からなる。軽鎖定常領域は、1つのドメイン、 C_L からなる。 V_H および V_L 領域は、より保存された領域により散在している、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超過変性の領域、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるものにさらに小分類することができる。 V_H および V_L の各々は、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序でアミノ末端からカルボキシ末端へと配列している、3つのCDRおよび4つのFRからなる。重鎖および軽鎖可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第1の構成成分（C1q）を含めた、宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

【0081】

本発明の抗体には、モノクローナルおよびポリクローナル抗体、完全抗体、抗体断片、および前記脂質に特異的な結合を示す、抗体サブ断片が含まれる。したがって、適切な「抗体」は、任意のクラス、例えば、IgG、IgM、IgA、IgD、IgE、二重または多重の抗原もしくはエピトープ特異性を有するキメラ抗体またはハイブリッド抗体、あるいは断片、例えば、ハイブリッド断片を含めた $F(ab')_2$ 、 Fab' 、 Fab などの完全免疫グロブリンとすることができ、さらに、任意の免疫グロブリン、または特定の抗原に結合して複合体を形成することにより抗体のようにふるまう任意の天然、合成、もしくは遺伝子組換えタンパク質を含む。用語「抗体」は、抗体（例えば、短鎖抗体、 Fab 断片、 $F(ab')_2$ 、 Fd 断片、 Fv 断片および dAb 断片）の抗原結合断片、および完全抗体を包含する。例えば、 Fab 分子は、遺伝子的に形質転換された大腸菌（*E. coli*）のような宿主中で発現するおよび組み立てることができる。したがって、先祖抗体を生成する対象に等しいかまたはそれを越える潜在的多様性を有する Fab' の集団を発現するために、ラムダベクター系が使用可能である。Huse WD, et al., Science 1989, 246:1275-81を参照されたい。こうした Fab' は、「抗体」の定義に含まれる。抗体断片またはサブ断片を含めて、所与の分子が、抗体のようにふるまう、および特定の抗原に特異的に結合する能力は、当業界公知の結合アッセイにより、例えば、結合パートナーとして対象となる抗原を使用することにより決定することができる。

【0082】

本発明による脂質に対する抗体は、当業者に周知の方法により調製することができる。例えば、マウスは、アジュバントを含む脂質により免疫される。血清抗体力価を求めるため、1週間おきに検査採血を行いながら、2週間の間隔で3回免疫投与されたマウスから、プールとして脾臓細胞を摘出する。脾臓細胞は、融合実験に直ちに使用するか、または

将来の融合に使用するために液体窒素中で保存する、3つの一定分量として調製する。

次に、融合実験は、Stewart & Fuller, J. Immunol. Methods 1989, 123:45-53の順序に従って実施した。成長したハイブリッドを含むウェルからの上澄み液を前記脂質によりコーティングした96ウェルのELISA用プレート上に、モノクローナル抗体(MAb)の分泌型について、酵素結合免疫吸着法(ELISA)によりスクリーニングする。ELISAの陽性培養物を、限界希釈によりクローニングすると、通常、2段階クローニング実験の後に、単一コロニーから定着したハイブリドーマになる。

【0083】

本発明のためには、「酵素」は、ELISAにおいて検出するのに適した酵素である。こうした酵素は、当業者に公知である。こうした酵素は、例えばアセチルコリンエステラーゼ、ホースラディッシュオキシダーゼ、またはアルカリホスファターゼとすることができる。

10

【0084】

同様に、本明細書に記載されている意味では、「検出可能な標識」は、ELISA、EIA(酵素免疫アッセイ)、またはRIA(放射免疫アッセイ)において検出するのに適したものである。やはり、当業者は、例えば、ビオチンまたは他のハプテンとすることができる、適切な検出可能な標識に精通していよう。あるいは、検出可能な標識は、FITC、TRITC、Texas Red、ローダミン、フィコエリスリン(PE)、APC、Cy-3、Cy-5、Cy-7、Alexa Fluor、DyLight Fluor、ATTO Dye、もしくは任意の適切な蛍光標識などの蛍光標識、またはそれらの変化体とすることができる。ビオチンが検出可能な標識の場合、酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされているストレプトアビジンが、その検出のために使用することができる。検出可能な標識はまた、 ^{125}I 、 ^{131}I または ^{32}P などの放射性同位体とすることもできる。

20

用語「本発明の」、「本発明による(in accordance with the invention)」、または「本発明による(according to the invention)」とは、本明細書で使用する場合、本明細書において記載および/または特許請求されている本発明の態様および実施形態すべてを指すことが意図される。

【0085】

本明細書で使用する場合、用語「含んでいる(comprising)」は、「含んでいる(including)」と「からなる(consisting of)」の両方を包含するものとして解釈されるものとし、どちらの意味も、具体的に意図されているものであり、したがって、本発明による、個々に開示されている実施形態である。

30

【実施例】

【0086】

(例1)

材料および方法

血清試料はHealth 2000 Surveyから取得し、これには、徹底した健康検査および参加者の面接が含まれた。冠動脈症状(狭心症または心筋梗塞)を有する患者、および健常な対象が含まれた。

40

低比重リポタンパク質(LDL)粒子は、Stahlmanらに記載されている臭化カリウム溶液を使用する逐次的な分画微量超遠心分離により、冠動脈疾患の患者19名(非脂質をベースとする診断)の血清試料、および10名の健常な対照から分画した。LDL粒子は、比重 $d = 1.063$ の一分分に集めた。リポタンパク質の単離には、Beckman Coulter Optima MAX-XP超遠心分離器およびTLA-120.2ローターを使用した。

【0087】

LDL試料の総タンパク質含有量は、脂質抽出の前に、Micro BCA(商標)タンパク質アッセイキットを用いて決定した。脂質抽出、そのあとのLDL試料の定量的分

50

子リピドミクス分析種をもたらす、確立されている / 妥当性が承認されているプラットフォームを Dec k e l b a u m らに既に記載されている通り実施した。得られた脂質データは、試料のタンパク質濃度に正規化した。

セラミド (C e r) の定量に関しては、トリアシルグリセロール (T A G)、コレステリルエステル (C E) およびリゾリン脂質、脂質は、 J u n g らにおいて記載されている通り、 H a m i l t o n M i c r o l a b S t a r ロボットで実施する、修正 F o l c h 脂質抽出を使用して抽出した。試料に、既知量の非内因性の合成内部標準品を混ぜた。脂質抽出後、試料は、クロロホルム : メタノール (1 : 2 、 v / v) 中に再構成し、合成外部標準品を該抽出物に抽出後に混ぜた。MS 分析前に、この抽出物を - 2 0 に保管した。

10

ガングリオシドは、わずかな修正を加えた、 F o n g および共同研究者 (2 0 0 9 年) に従って抽出した。試料に、既知量の非内因性の合成内部標準を混ぜた。脂質抽出後、試料は、クロロホルム : メタノール (1 : 2 、 v / v) 中に再構成し、MS 分析前に、この抽出物を - 2 0 に保管した。

【 0 0 8 8 】

ショットガンリピドミクスでは、脂質抽出物は、 S t a h l m a n および共同研究者 (2 0 0 8 年) に従って、ロボット型ナノフローイオン源 (r o b o t i c n a n o f l o w i o n s o u r c e) (N a n o M a t e H D 、 A d v i o n B i o s c i e n c e s) を装備したハイブリッド三連四重極 / 線形イオントラップ型質量分析計 (Q T R A P 、 A B S c i e x) を用いて分析した。脂質分子は、 E k r o o s ら (2 0 0 2 年、 2 0 0 3 年) に従い、多重プレカーサーイオンスキミング (M P I S) に基づいた方法を使用する、ポジティブモードとネガティブモードの両方で分析した。トリアシルグリセロール (T A G) は、プレカーサーイオンスキミング (P I S) およびニュートラルロススキミング (N L) に基づく方法を使用して分析した。脂質分子種を特定し、 E j s i n g ら (2 0 0 6 年) に記載されている半絶対量または絶対量で定量した。

20

スフィンゴ脂質は、 S u l l a r d s ら (2 0 0 7 年) による記載に基づいて、ネガティブイオンモードでの多重反応モニタリング (M R M) に基づく方法を使用して、超高速液体クロマトグラフィー (U H P L C) システム (C T C H T C P A L オートサンプラーおよび R h e o s A l l e g r o ポンプ) を装備したハイブリッド三連四重極 / 線形イオントラップ型質量分析計 (Q T R A P) で分析した。

30

【 0 0 8 9 】

質量分析法により検出されたピークの質量およびカウント数は、対応する脂質名および濃度のリストに変換した。モニターした各脂質クラスの動的定量範囲、例えば定量限界を決定するために、校正線を作成した。内因性脂質種を定量するために、内部標準を使用した。この方法の定量限界を決定するために、校正線を使用した。

【 0 0 9 0 】

各プラットフォームに關すると、実際の脂質ピークからバックグラウンドのノイズを分離するため、厳密なカットオフを適用した。各試料を照合し、許容基準を満足する場合だけ、許容した。検出されたピークの質量およびカウント数は、対応する脂質名のリストに変換した。脂質は、その濃度を正すため、個々の内部標準および試料体積に正規化した。

40

データはほぼ対数正規であるので、独立スチューデント t 検定を対数に変換した脂質濃度を実施した。脂質 / 脂質比の場合、t 検定を適用し、ほぼ対数正規である、対数に変換した比にした。対数に変換した脂質濃度および脂質 / 脂質比に適合させた、ロジスティック回帰モデルから、ROC 曲線、オッズ比 (O R) および関連する記述統計のすべてを導いた。使用した方法の正規性仮定は、シャピロ - ウィルク検定により検定した。すべての分析種は、S A S 9 . 3 ソフトウェアを使用して実施した。群の平均値間の報告した差異は、元の尺度から計算した。

【 0 0 9 1 】

(例 2)

結果

50

標準脂質パラメータは、個体の血漿/血清試料から慣例の手順で測定し、個体のCVDのリスクを評価する。Health 2000 Surveyの一部として、標準脂質パラメータを含めた、全健康検査を行い、一般集団の総合的な健康状態を得た。一般に、アポリポタンパク質B、総コレステロール(総C)、LDLコレステロール(LDL-C)、およびトリグリセリドの高いレベル、一方では、HDLコレステロール(HDL-C)の低いレベルが、リスク因子としてみなされる。合計とHDLコレステロールとの比の向上も使用して、CVDのリスクを評価する。しかし、先に議論した通り、これらのパラメータは、CVD患者の大きな集団を特定することには成功しない。本発明者らは、CVDであると確認した患者の標準脂質検査からの結果と対照の個体の結果を比較した。図2Aに示されている通り、症例と対照との間に、標準脂質検査のいずれも有意差はなかった。これらの現在使用されているCVDマーカーのすべてが、ボルケーノプロットの下(点線)のボックス領域中で観察され(図2A)、これらのマーカーが、症例と対照との間に差異がなかったことを意味する。上記のことは、実験室検査に基づく、CVD患者の分離において、現在の方法の性能は乏しいことを実証している。標準検査の濃度は、図2Bに例示されている。実際、このコホートのCVD患者は、対照よりも有益な脂質結果を有しており、このことは、アポリポタンパク質B、総CおよびLDL-Cがより低いことを示している。注目すべきことに、これらの参加者の中にスタチンユーザーが存在しないので、LDL-Cがより低いことは、脂質低下投薬治療によって説明することができない。

10

【0092】

慣例の手順で測定した標準脂質検査は、特定のHDL-CおよびLDL-C検査を含む、総血漿/血清のレベルで測定している。特定の脂質の機能は、関係するリポタンパク質粒子に応じて異なり得るので、本発明者らは、さらなる分析のために、試料のLDL画分を単離することにした。これらの画分は、その脂質含有量について包括的に分析した。この脂質データは、いくつかの脂質クラス、およびこの脂質クラスの分子脂質濃度を合計することにより得られた脂質クラスの濃度からの脂質分子(すなわち、特定された脂質クラスおよび脂肪酸部位)の濃度からなる。

20

【0093】

臨床使用では、脂質濃度を、総試料体積に対して正規化し、この濃度単位を例えば、 mmol/l または mg/dl として示す。LDL画分は、サイズ、密度、および電荷を含むそれらの物理特性、および脂質分子のそれらの量が異なる、粒子の不均質な集団からなる。上記のことは、所与の脂質濃度では、粒子数は、個体間で実質的に変動する恐れがあり、このことは、リスク見積もりにおける著しい偏りをもたらし得ることを意味する(図1を参照されたい)。CVDリスクの情報を与えるマーカーと示唆される試料中の粒子数の差異を一様にするため、本発明者らは、試料の総タンパク質濃度に対して、脂質データを正規化した。

30

【0094】

脂質分子種の濃度、および/または脂質クラスの総濃度(上記の通り導かれた)を使用して、これらの脂質データから、症例と対照との間の各比の統計的有意性と一緒に、いくつかの脂質比を計算した。個々の脂質の濃度と個別の脂質/脂質比を一緒にすると、症例を対照から分離する予測値が著しく改善される。図3では、分子脂質および脂質クラスの濃度、ならびに算出した脂質/脂質比を、ボルケーノプロットとして表している。このプロットは、色調強度により、CVD症例と対照との間の各分析種(円)の差異、およびそれらの統計的有意性を例示している。下のボックス領域(点線)における円は、CVD患者と対照との間に差が無い分析種を表している。定量した脂質および計算した比の大部分、および標準脂質検査は、下のボックス領域に収まった(図3)。一方、いくつかの脂質比は、群間にかなり有意な差($p < 0.001$)があり(図3、上のボックス領域)、CVD症例と対照とを分離した。X軸に沿った円の位置は、対照と比べて、CVD患者におけるこの分析種のレベルが低下または向上したことを示す。表1は、有意性が高い($p < 0.001$)脂質比をまとめている。各脂質比について、パーセント差(差%)、およびそれらのP値と一緒にした95%信頼区間(95%CI)を有する標準偏差あたりのオッ

40

50

ズ比 (S D あたりの O R) を表している。これらの比に使用した脂質分子の濃度は、表 6 に表されている。

【 0 0 9 5 】

表 1 の特定された比の大部分は、セラミド (C e r)、セラミド誘導体 (G l c / G a l C e r / G M 3 ガングリオシド) またはコレステリルエステル (C E) 脂質とトリアシルグリセロール (T A G) 脂質とからなる。さらに、リゾホスファチジルエタノールアミン (L P E) 脂質と T A G 脂質との比は、C V D 患者と対照との間で有意な差があった。重要なことに、脂質分子種からなる比、および脂質クラスの合計により、2 つの群を有意に分離することができる。したがって、これらの比は、現在使用されている従来の脂質検査と比べて、優れた C V D バイオマーカーとして働く。

10

本発明は、C V D バイオマーカーとしての、非 H D L 画分中のセラミド、セラミド誘導体またはコレステロールエステルとトリグリセリドとの比の使用に関する。前記トリグリセリド分子種は、表 7 による脂肪酸の 1 つまたは複数の可能な組合せからなり得る、分子の合計 (例えば T A G 合計 5 2 : 2) として表される。前記バイオマーカーは、前記脂質分子および / または脂質クラスの合計の濃度からなり得る。バイオマーカー比の一部の例は、図 4 に表されている。

本発明の重要な態様は、前記脂質比が、L D L 画分などの非 H D L 画分から決定され、この L D L 画分は、総血液 / 血漿 / 血清に由来する同じ脂質比と比べると、C V D 患者および対照の優れた区別が生じる (図 5、表 5) ことである。L D L 画分 (図 5 A) および総血漿 (図 5 A) における、C e r (d 1 8 : 1 / 1 8 : 0) / 総 T A G 比に関する R O C 曲線および曲線下面積 (A U C) の値が示されている。比較のために、L D L コレステロール (図 5 C) に関する R O C 曲線を示している。血漿 / L D L 脂質比のさらなる A U C 値が、表 5 に一覧表示されている。このことは、特定の画分から脂質比を決定するのに、総血液 / 血漿試料の代わりに、本発明による診断的な改善があることを実証している。

20

【 0 0 9 6 】

【表 1】

表 1 CVD の対象と健常な対象との間の、統計的に高度に有意な影響を及ぼすセラミド/TAG 比のアルファベット順のリスト。

略語: Cer、セラミド; TAG、トリアシルグリセロール; CI、信頼区間; OR、オッズ比; SD、標準偏差

脂質比	脂質名	差%	差の P 値	SD あたりの OR (95% CI)	OR の P 値
Cer/ TAG	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 50:1 (16:0/16:0/18:1)	-48.752421	0.000166098	0.05 (0.01-0.47)	0.008516792
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 50:2 (14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)	-47.20322653	0.00015799	0.05 (0-0.49)	0.010679812
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 50:3 (14:0/18:1/18:2) (16:0/16:1/18:2) (16:1/16:1/18:1)	-42.08091904	0.000523248	0.11 (0.02-0.63)	0.013132572
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 52:1 (16:0/18:0/18:1)	-44.27468227	0.001009493	0.07 (0.01-0.69)	0.022208178
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 52:2 (16:0/18:1/18:1)	-42.57694689	0.000180974	0.06 (0.01-0.60)	0.016289902
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 54:2 (18:0/18:1/18:1)	-47.54491485	6.10151E-05	0.05 (0-0.51)	0.01218665
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 54:3 (18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)	-44.37414538	0.000345047	0.11 (0.02-0.60)	0.011104454
	Cer (d18:1/16:0)/TAG 合計 50:1 (16:0/16:0/18:1)	-41.79547104	7.79439E-05	0.07 (0.01-0.53)	0.009663408
	Cer (d18:1/18:0)/TAG 合計 50:1 (16:0/16:0/18:1)	-54.06151621	7.11956E-05	0.03 (0-0.57)	0.019753252
	Cer (d18:1/18:0)/TAG 合計 50:2 (14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)	-52.67281363	0.00011323	0.08 (0.01-0.50)	0.007100191

10

20

30

40

50

Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
50:3 (14:0/18:1/18:2) (16:0/16:1/18:2)	-48.08116181	0.000290459	0.13 (0.03-0.57)	0.00702318		
(16:1/16:1/18:1)						
Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
52:1 (16:0/18:0/18:1)	-50.25309842	0.000126003	0.01 (0-0.58)	0.026040316		
Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-48.52580266	1.95365E-05	0.03 (0-0.47)	0.0122222699		
Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
52:3 (16:0/18:1/18:2) (16:1/18:1/18:1)	-43.73805728	9.54262E-05	0.10 (0.02-0.57)	0.010067355		
Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-52.97910407	8.11792E-06	0.01 (0-0.53)	0.021925869		
Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
54:3 (18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)	-50.13681679	0.00012045	0.04 (0-0.56)	0.016915397		
Cer (d18:1/18:0) /TAG 合計						
56:6 (18:1/18:1/20:4)	-43.19362704	7.83745E-05	0.06 (0-0.62)	0.018705794		
Cer (d18:1/18:0) /総 TAG	-47.82528536	1.18026E-05	0.05 (0.01-0.47)	0.008563296		
Cer (d18:1/20:0) /TAG 合計						
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-51.07967684	0.00035324	0.08 (0.01-0.54)	0.009378047		
Cer (d18:1/20:0) /TAG 合計						
50:2 (14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)	-49.60083442	0.00036983	0.12 (0.03-0.54)	0.005562702		
Cer (d18:1/20:0) /TAG 合計						
50:3 (14:0/18:1/18:2) (16:0/16:1/18:2) (16:1/16:1/18:1)	-44.71114124	0.00067035	0.18 (0.05-0.62)	0.006637052		
Cer (d18:1/20:0) /TAG 合計						
52:1 (16:0/18:0/18:1)	-46.71394776	0.000805399	0.06 (0-0.63)	0.020057495		
Cer (d18:1/20:0) /TAG 合計						
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-45.18464346	0.000179325	0.10 (0.02-0.56)	0.00830346		

Cer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
52:3 (16:0/18:1/18:2)	-40.08612841	0.001098672	0.22 (0.07-0.67)	0.007752838				
(16:1/18:1/18:1)								
Cer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-49.92700599	2.31097E-05	0.04 (0-0.46)	0.009716428				
(18:1/18:1/18:1)								
Cer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
54:3 (18:0/18:1/18:2)	-46.90022755	0.000145218	0.10 (0.02-0.57)	0.009189241				
(18:1/18:1/18:1)								
Cer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
56:6 (18:1/18:1/20:4)	-39.50635952	0.000188787	0.12 (0.03-0.58)	0.007750974				
Cer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-44.438656	8.54937E-05	0.13 (0.03-0.52)	0.004224931				
(16:0/16:0/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-53.58109129	0.00023659	0.08 (0.01-0.57)	0.012601799				
(16:0/16:0/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
50:2 (14:0/18:1/18:1)	-52.17786565	0.000288951	0.11 (0.02-0.58)	0.009345276				
(16:0/16:0/18:2)								
(16:0/16:1/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
50:3 (14:0/18:1/18:2)	-47.53819431	0.000479329	0.16 (0.04-0.63)	0.009057205				
(16:0/16:1/18:2)								
(16:1/16:1/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
52:1 (16:0/18:0/18:1)	-49.15063459	0.000338764	0.08 (0.01-0.70)	0.022509865				
(16:0/18:0/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-47.98748522	0.000289811	0.08 (0.01-0.62)	0.015578464				
(16:0/18:1/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
52:3 (16:0/18:1/18:2)	-43.14966957	0.000710325	0.17 (0.04-0.63)	0.008486871				
(16:1/18:1/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-52.48735928	5.29829E-05	0.04 (0-0.58)	0.019368016				
(18:0/18:1/18:1)								
Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
54:3 (18:0/18:1/18:2)	-49.61534734	0.000441818	0.06 (0.01-0.65)	0.020586911				
(18:1/18:1/18:1)								

Cer (d18:1/22:0)/TAG 合計	-42.59954567	0.000480576	0.12 (0.03-0.60)	0.00931006
56:6 (18:1/18:1/20:4)	-47.2796419	0.00016605	0.08 (0.01-0.56)	0.01060759
Cer (d18:1/22:0)/総 TAG	-48.31909669	0.000813514	0.11 (0.02-0.62)	0.01193207
Cer (d18:1/24:0)/TAG 合計	-48.52009701	0.000608121	0.08 (0.01-0.56)	0.011370368
54:2 (18:0/18:1/18:1)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-46.96387948	0.000459534	0.08 (0.01-0.61)	0.015225147
50:1 (16:0/16:0/18:1)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-41.8183507	0.000628271	0.11 (0.02-0.63)	0.013117455
50:2 (14:0/18:1/18:1)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-42.31662723	0.000235581	0.04 (0-0.59)	0.018240847
50:3 (14:0/18:1/18:2)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-36.95135073	0.000878437	0.15 (0.04-0.63)	0.009213082
52:3 (16:0/18:1/18:2)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-47.3071168	4.07174E-05	0.04 (0-0.46)	0.010207713
54:2 (18:0/18:1/18:1)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-44.12197307	0.000170274	0.05 (0.01-0.55)	0.01355825
54:3 (18:0/18:1/18:2)				
Cer (d18:1/24:1)/TAG 合計	-36.34124752	0.000253129	0.08 (0.01-0.56)	0.010326536
56:6 (18:1/18:1/20:4)				
Cer (d18:1/24:1)/総 TAG	-41.53160866	6.42362E-05	0.03 (0-0.50)	0.014523864
総 Cer/TAG 合計	-93.47556594	0.000272754	13.30 (1.81-	0.011018646
54:2 (18:0/18:1/18:1)			97.83)	
総 Cer/TAG 合計	-82.44712561	0.001138831	7.68 (1.48-39.95)	0.015361807
54:3 (18:0/18:1/18:2)				
(18:1/18:1/18:1)				

	総 d18:1 セラミド/TAG 合計							
	54:3 (18:0/18:1/18:2)	-82.92609499	0.001083691	7.85 (1.48-41.48)	0.015297638			
	(18:1/18:1/18:1)							
	総 Cer/TAG 合計	-60.14742672	0.000884847	6.89 (1.59-29.91)	0.009911384			
	総 d18:1 セラミド/TAG 合計							
	56:6 (18:1/18:1/20:4)	-60.56785381	0.000848238	6.98 (1.60-30.50)	0.009824386			
	総 Cer/総 TAG	-42.64872769	0.000603575	0.11 (0.02-0.65)	0.014348107			
	総 d18:1 セラミド/総 TAG	-74.82179733	0.000578675	9.07 (1.55-52.91)	0.01427796			
Glc/GalCer	Glc/GalCer (d18:1/16:0)/TAG 合計							
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-42.6878551	0.000951748	0.14 (0.03-0.64)	0.011141958			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/TAG 合計							
	50:1 (16:0/16:0/18:1)	-52.10795906	0.000488565	0.10 (0.02-0.59)	0.011045001			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/TAG 合計							
	50:2 (14:0/18:1/18:1)							
	(16:0/16:0/18:2)							
	(16:0/16:1/18:1)	-50.66020121	0.000882456	0.18 (0.03-0.67)	0.014860639			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/TAG 合計							
	52:2 (16:0/18:1/18:1)	-46.33683652	0.000616647	0.15 (0.04-0.64)	0.009971645			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/TAG 合計							
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-50.97951681	0.000204656	0.14 (0.04-0.57)	0.005637086			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/TAG 合計							
	54:3 (18:0/18:1/18:2)							
	(18:1/18:1/18:1)	-48.01635983	0.00081905	0.17 (0.04-0.66)	0.010933335			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/TAG 合計							
	56:6 (18:1/18:1/20:4)	-40.77790744	0.000666425	0.16 (0.04-0.64)	0.009366469			
	Glc/GalCer (d18:1/18:0)/総 TAG							
	50:1 (16:0/16:0/18:1)	-45.60652936	0.000478938	0.12 (0.02-0.62)	0.011970804			
	Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計							
	50:2 (14:0/18:1/18:1)	-55.04078833	0.000133758	0.04 (0-0.61)	0.021020952			
	Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計							
	(16:0/16:0/18:2)	-53.68168877	0.000218475	0.07 (0.01-0.60)	0.015645537			

(16:0/16:1/18:1)								
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
50:3 (14:0/18:1/18:2)								
(16:0/16:1/18:2)								
(16:1/16:1/18:1)	-49.18791734	0.00080153	0.13 (0.03-0.65)					0.012986495
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
52:1 (16:0/18:0/18:1)	-51.98420651	0.000540009	0.04 (0-0.53)					0.014394168
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-49.62307977	0.000243073	0.11 (0.02-0.57)					0.008866958
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-53.98145001	4.07269E-05	0.07 (0.01-0.49)					0.007918652
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
54:3 (18:0/18:1/18:2)	-51.19975185	0.000290981	0.14 (0.03-0.63)					0.010700818
(18:1/18:1/18:1)								
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
56:6 (18:1/18:1/20:4)	-44.4045703	0.000705583	0.16 (0.04-0.65)					0.01099809
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
54:3 (18:0/18:1/18:2)	-48.93749541	0.000222238	0.09 (0.01-0.59)					0.011912562
(18:1/18:1/18:1)								
Glc/GalCer (d18:1/20:0)/TAG 合計								
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-55.32685281	0.000102912	0.04 (0-0.66)					0.024037939
Glc/GalCer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
50:2 (14:0/18:1/18:1)								
(16:0/16:0/18:2)								
(16:0/16:1/18:1)	-53.97640087	0.000173957	0.06 (0.01-0.66)					0.020716648
Glc/GalCer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
50:3 (14:0/18:1/18:2)								
(16:0/16:1/18:2)								
(16:1/16:1/18:1)	-49.5112222	0.000407293	0.10 (0.02-0.63)					0.014271167
Glc/GalCer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-49.9436158	0.00017632	0.09 (0.01-0.61)					0.013149102
Glc/GalCer (d18:1/22:0)/TAG 合計								
52:3 (16:0/18:1/18:2)								
(16:1/18:1/18:1)	-45.28774481	0.000680072	0.14 (0.03-0.65)					0.011950505

Glc/GalCer (d18:1/22:0) /TAG 合計	-54.2742548	3.60126E-05	0.04 (0-0.59)	0.018971304
54:2 (18:0/18:1/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/22:0) /TAG 合計	-51.51025591	0.000302081	0.10 (0.02-0.60)	0.012505469
54:3 (18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/22:0) /TAG 合計	-44.75831044	0.000184079	0.07 (0.01-0.54)	0.010969077
56:6 (18:1/18:1/20:4)				
Glc/GalCer (d18:1/22:0) /総TAG	-49.26239365	9.3085E-05	0.05 (0-0.60)	0.018336691
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計	-55.15665582	0.000170067	0.06 (0.01-0.61)	0.016749449
50:1 (16:0/16:0/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計				
50:2 (14:0/18:1/18:1)				
(16:0/16:0/18:2)				
(16:0/16:1/18:1)	-53.8010589	0.000214304	0.07 (0.01-0.67)	0.021531098
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計				
50:3 (14:0/18:1/18:2)				
(16:0/16:1/18:2)				
(16:1/16:1/18:1)	-49.31886867	0.000499666	0.09 (0.01-0.63)	0.014794401
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計	-49.75290961	0.000353382	0.11 (0.02-0.63)	0.012684883
52:2 (16:0/18:1/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計	-54.1000476	8.16695E-05	0.07 (0.01-0.57)	0.012883588
54:2 (18:0/18:1/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計	-51.32551835	0.000671333	0.13 (0.03-0.65)	0.012216797
54:3 (18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /TAG 合計	-44.54784913	0.000561678	0.11 (0.02-0.63)	0.013873219
56:6 (18:1/18:1/20:4)				
Glc/GalCer (d18:1/24:0) /総TAG	-49.06909212	0.000188996	0.06 (0.01-0.62)	0.017457288
Glc/GalCer (d18:1/24:1) /TAG 合計	-52.61216995	0.000178771	0.04 (0-0.48)	0.011857847
50:1 (16:0/16:0/18:1)				
Glc/GalCer (d18:1/24:1) /TAG 合計	-51.1796542	0.000164445	0.03 (0-0.56)	0.019609454
50:2 (14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2)				

(16:0/16:1/18:1)						
Glc/GalCer (d18:1/24:1)/TAG 合計						
50:3 (14:0/18:1/18:2)						
(16:0/16:1/18:2)						
(16:1/16:1/18:1)	-46.44313705	0.000418266	0.06 (0.01-0.54)			0.012615067
Glc/GalCer (d18:1/24:1)/TAG 合計						
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-46.9018062	0.000207267	0.09 (0.01-0.57)			0.010481396
Glc/GalCer (d18:1/24:1)/TAG 合計						
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-51.49560801	8.34753E-05	0.08 (0.01-0.51)			0.007372168
Glc/GalCer (d18:1/24:1)/TAG 合計						
54:3 (18:0/18:1/18:2)						
(18:1/18:1/18:1)	-48.56364737	0.000252843	0.12 (0.02-0.62)			0.011331076
Glc/GalCer (d18:1/24:1)/TAG 合計						
56:6 (18:1/18:1/20:4)	-41.40140193	0.000203892	0.13 (0.03-0.56)			0.006282738
Glc/GalCer (d18:1/24:1)/TAG 合計						
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-46.17918777	9.597E-05	0.05 (0-0.51)			0.011981999
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-109.7500847	0.000201984	20.57 (1.81-234)			0.014779054
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
50:2 (14:0/18:1/18:1)						
(16:0/16:0/18:2)						
(16:0/16:1/18:1)	-103.5954724	0.00022412	20.49 (1.55-270)			0.021813495
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
50:3 (14:0/18:1/18:2)						
(16:0/16:1/18:2)	-85.58968578	0.000530685	12.76 (1.58-103)			0.016963849
(16:1/16:1/18:1)						
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
52:1 (16:0/18:0/18:1)	-93.3539266	0.000854638	8.82 (1.62-47.97)			0.011792095
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-87.19283378	0.000292318	9.58 (1.67-55.05)			0.01131096
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-104.9216774	6.86079E-05	14.64 (1.86-116)			0.01088292
総 Glc/GalCer/TAG 合計						
54:3 (18:0/18:1/18:2)	-93.240789	0.000429377	7.84 (1.57-39.16)			0.012094311

	(18:1/18:1/18:1)						
	総 Glc/GalCer/TAG 合計						
	56:6 (18:1/18:1/20:4)	-69.62182875	0.000315152	8.95 (1.69-47.53)		0.010057693	
	総 Glc/GalCer/総 TAG	-45.85214211	0.000139129	0.05 (0-0.58)		0.016330674	
GM3/ TAG	GM3-d18:1/16:0/TAG 合計						
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-44.62727355	0.000866369	0.13 (0.03-0.63)		0.011202794	
	GM3-d18:1/18:0/TAG 合計						
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-47.58019159	0.000370199	0.11 (0.02-0.56)		0.007463096	
	GM3-d18:1/18:0/TAG 合計						
	54:3 (18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)	-44.4115545	0.001124577	0.18 (0.05-0.66)		0.009625029	
	GM3-d18:1/18:0/総 TAG	-41.83461435	0.00102188	0.16 (0.04-0.66)		0.011033472	
	GM3-d18:1/20:0/TAG 合計						
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-48.73514992	0.000337253	0.10 (0.02-0.56)		0.008436377	
	GM3-d18:1/22:0/TAG 合計						
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-47.59852265	0.000353485	0.11 (0.02-0.56)		0.008022188	
	GM3-d18:1/24:0/TAG 合計						
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-49.58171839	0.000387986	0.13 (0.03-0.58)		0.007417309	
	GM3-d18:1/24:1/TAG 合計						
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-45.47552978	0.000663984	0.13 (0.03-0.63)		0.0113227		
総 GM3/TAG 合計							
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-86.29374823	0.000330584	9.42 (1.78-49.87)		0.008326932		
総 GM3/TAG 合計							
54:3 (18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)	-75.67468387	0.001110228	5.06 (1.49-17.20)		0.009334768		
総 GM3/総 TAG	-40.43777651	0.001080782	0.16 (0.04-0.66)		0.011128257		

【 表 2 】

表 2 CVD の対象と健常な対象との間の、統計的に高度に有意な影響を及ぼす CE/TAG 比のアルファベットの順のリスト。
略語:CE、コレステリルエステル;TAG、トリアシルグリセロール;CI、信頼区間;OR、オッズ比;SD、標準偏差

脂質比	脂質名	差%	差の P 値	SD あたりの OR (95% CI)	OR の P 値
CE/TAG	CE 16:0/TAG 合計 50:1 (16:0/16:0/18:1)	-41.77988901	0.000635295	0.08 (0.01-0.50)	0.007055675
	CE 16:0/TAG 合計 50:2 (14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)	-40.01991761	0.000672668	0.10 (0.02-0.57)	0.009271536
	CE 16:0/TAG 合計 52:2 (16:0/18:1/18:1)	-34.76420564	0.00063125	0.19 (0.05-0.74)	0.015958213
	CE 16:0/総 TAG	-33.87640544	0.001037532	0.16 (0.04-0.65)	0.011035706
	CE 18:1/TAG 合計 50:1 (16:0/16:0/18:1)	-42.24238441	0.000668698	0.09 (0.02-0.53)	0.007960104
	CE 18:1/TAG 合計 50:2 (14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)	-40.49639406	0.000770178	0.12 (0.02-0.60)	0.009471792
	CE 18:1/TAG 合計 54:2 (18:0/18:1/18:1)	-40.88148743	0.000523992	0.09 (0.01-0.58)	0.010910903
	CE 18:1/総 TAG	-34.40168541	0.000590023	0.13 (0.03-0.65)	0.013031498
	CE 18:2/TAG 合計 54:2 (18:0/18:1/18:1)	-42.01672171	0.000423203	0.12 (0.02-0.59)	0.008907275
	CE 18:2/総 TAG	-35.6613493	0.000769184	0.15 (0.04-0.65)	0.01080422
	CE 22:6/TAG 合計 50:1 (16:0/16:0/18:1)	-52.34329499	0.000745707	0.10 (0.01-0.66)	0.017451128
	CE 22:6/TAG 合計 50:2 (14:0/18:1/18:1)	-50.90265125	0.000381581	0.08 (0.01-0.69)	0.021781292

10

20

30

40

(16:0/16:0/18:2)							
(16:0/16:1/18:1)							
CE 22:6/TAG 合計							
50:3 (14:0/18:1/18:2)							
(16:0/16:1/18:2)							
(16:1/16:1/18:1)	-46.13925946	0.000393586	0.11 (0.02-0.63)	0.013081488			
CE 22:6/TAG 合計							
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-46.60053106	0.000863207	0.10 (0.01-0.65)	0.016802733			
CE 22:6/TAG 合計							
52:3 (16:0/18:1/18:2)							
(16:1/18:1/18:1)	-41.6337113	0.000797672	0.12 (0.02-0.63)	0.012520056			
CE 22:6/TAG 合計							
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-51.22039776	0.000974666	0.14 (0.03-0.68)	0.015423985			
CE 22:6/総TAG	-45.87881255	0.000344987	0.07 (0.01-0.62)	0.01632663			
総CE/TAG 合計							
50:1 (16:0/16:0/18:1)	-74.85142488	0.000904531	10.74 (1.75-65.78)	0.010270424			
総CE/TAG 合計							
50:2 (14:0/18:1/18:1)							
(16:0/16:0/18:2)							
(16:0/16:1/18:1)	-69.72082992	0.000991382	7.54 (1.63-34.85)	0.009701666			
総CE/TAG 合計							
52:2 (16:0/18:1/18:1)	-56.04729677	0.000390543	6.27 (1.44-27.28)	0.014458112			
総CE/TAG 合計							
54:2 (18:0/18:1/18:1)	-70.82637813	0.000596554	8.81 (1.62-47.86)	0.011702092			

【 表 3 】

表 3 CVD の対象と健常な対象との間の、統計的に高度に有意な影響を及ぼす LPE/TAG 比のアルファベット順のリスト。
略語:LPE、リゾホスファチジルエタノールアミン;TAG、トリアシルグリセロール;CI、信頼区間;OR、オッズ比;SD、標準偏差

脂質比	脂質名	差%	差の P 値	SD あたりの OR (95% CI)	OR の P 値
LPE/T AG	LPE 16:0/TAG 合計				
	50:2 (14:0/18:1/18:1)				
	(16:0/16:0/18:2)				
	(16:0/16:1/18:1)	-43.19159064	0.000996081	0.11 (0.02-0.67)	0.016217869
	LPE 18:0/TAG 合計				
	50:1 (16:0/16:0/18:1)	-46.44305484	0.00091767	0.11 (0.02-0.62)	0.012432671
LPE 18:0/TAG 合計	LPE 18:0/TAG 合計				
	50:2 (14:0/18:1/18:1)				
	(16:0/16:0/18:2)				
	(16:0/16:1/18:1)	-44.82404913	0.000829839	0.12 (0.02-0.66)	0.015423019
	LPE 18:0/TAG 合計				
	54:2 (18:0/18:1/18:1)	-45.18113493	0.00053068	0.12 (0.02-0.58)	0.008888866

10

20

30

40

【 表 4 】

表 4 CVD の対象と健常な対象との間の、統計的に高度に有意な影響を及ぼすセラミド/CE比のアルファベット順のリスト。

略語: Cer、セラミド; CE、コレステリルエステル; CI、信頼区間; OR、オッズ比; SD、標準偏差

脂質比	脂質名	差%	差の P 値	SD あたりの OR (95% CI)	OR の P 値
Cer/CE	Cer (d18:1/18:0)/CE 22:0	-70.05576628	2.15393E-05	20.0 (2.09-193)	0.009371028
	Cer (d18:1/20:0)/CE 22:0	-56.11901368	0.000431534	10.35 (1.51-70.90)	0.017297373
	Cer (d18:1/22:0)/CE 22:0	-65.01134108	0.000116348	13.17 (1.93-89.62)	0.008427653
	Cer (d18:1/18:0)/CE 22:0	-70.05576628	2.15393E-05	20.0 (2.09-193)	0.009371028

10

20

30

40

【 0 0 9 7 】

【表5】

表5 LDL画分において極めて優れた区別を実証する血漿とLDL画分との間の選択した脂質比の95%信頼区間(95%CI)を有する曲線下面積(AUC)の値の比較。

脂質名	AUC (95% CI)	
	総血漿	LDL画分
Cer(d18:1/18:0)/総TAG	0.62 (0.50 - 0.74)	0.92 (0.81 - 1.00)
Cer(d18:1/20:0)/総TAG	0.60 (0.48 - 0.73)	0.89 (0.77 - 1.00)
Cer(d18:1/24:1)/総TAG	0.62 (0.51 - 0.74)	0.93 (0.82 - 1.00)
Glc/GalCer(d18:1/22:0)/総TAG	0.50 (0.38 - 0.63)	0.88 (0.75 - 1.00)
Glc/GalCer(d18:1/24:1)/総TAG	0.54 (0.42 - 0.67)	0.92 (0.81 - 1.00)

10

【0098】

【表6】

表6 表1の比を計算するために使用された脂質分子の平均脂質濃度(総タンパク質のpmol/ μ g)

脂質名	濃度	
	CVD患者	対照
CE 16:0	298.436	308.734
CE 18:1	493.614	520.839
CE 18:2	1218.582	1328.557
CE 22:0	1.373	1.082
CE 22:6	45.213	50.363
Cer(d18:1/16:0)	0.092	0.104
Cer(d18:1/18:0)	0.056	0.056
Cer(d18:1/20:0)	0.078	0.077
Cer(d18:1/22:0)	0.637	0.728
Cer(d18:1/24:0)	3.211	3.485
Cer(d18:1/24:1)	1.321	1.473
Glc/GalCer(d18:1/16:0)	0.333	0.412
Glc/GalCer(d18:1/18:0)	0.032	0.046
Glc/GalCer(d18:1/20:0)	0.029	0.041
Glc/GalCer(d18:1/22:0)	0.314	0.445
Glc/GalCer(d18:1/24:0)	0.493	0.692
Glc/GalCer(d18:1/24:1)	0.351	0.507
GM3-d18:1/16:0	3.955	4.764
GM3-d18:1/18:0	2.470	2.849
GM3-d18:1/20:0	0.719	0.776
GM3-d18:1/22:0	1.310	1.485
GM3-d18:1/24:0	0.896	1.056
GM3-d18:1/24:1	2.134	2.545
LPE 16:0	0.473	0.492
LPE 18:0	0.651	0.674
TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)	29.188	20.286
TAG合計50:2(14:0/18:1/18:1)(16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)	40.117	31.148
TAG合計50:3(14:0/18:1/18:2)(16:0/16:1/18:2) (16:1/16:1/18:1)	14.563	12.220
TAG合計52:1(16:0/18:0/18:1)	8.840	6.032
TAG合計52:2(16:0/18:1/18:1)	106.587	83.909
TAG合計52:3(16:0/18:1/18:2)(16:1/18:1/18:1)	81.169	67.655
TAG合計54:2(18:0/18:1/18:1)	8.843	6.025
TAG合計54:3(18:0/18:1/18:2)(18:1/18:1/18:1)	29.748	22.944
TAG合計56:6(18:1/18:1/20:4)	2.218	1.773

10

20

30

40

【 0 0 9 9 】

【表7】

表7 TAGブルート種あたりの考えられる脂肪酸組合せ

TAGブルート種	考えられる脂肪酸組合せ
TAG合計50:1	(16:0/16:0/18:1)
TAG合計50:2	(14:0/18:1/18:1) (16:0/16:0/18:2) (16:0/16:1/18:1)
TAG合計50:3	(14:0/18:1/18:2) (16:0/16:1/18:2) (16:1/16:1/18:1)
TAG合計52:1	(16:0/18:0/18:1)
TAG合計52:2	(16:0/18:1/18:1)
TAG合計52:3	(16:0/18:1/18:2) (16:1/18:1/18:1)
TAG合計54:2	(18:0/18:1/18:1)
TAG合計54:3	(18:0/18:1/18:2) (18:1/18:1/18:1)
TAG合計56:6	(18:1/18:1/20:4)

10

20

【0100】

本発明のさらなる実施形態

上記を鑑みると、本発明は、以下の段落の数字を付けた項目に説明されている実施形態も包含することが理解されよう。

【0101】

1. 対象がアテローム性動脈硬化症もしくは心血管疾患(CVD)および/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがあるか、または罹患しているかを決定する方法であって、

(a) 前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

(b) 前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、

(c) 前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップ、または

(d) 前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップであって、対照と比べた場合の前記試料中の比の低下が、前記対象のアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の罹患、あるいはそれらの発症リスクの増加の指標となる、ステップを含む、方法。

【0102】

2. 対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の処置の有効性を評価する方法であって、

(a) 前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステ

30

40

50

ップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、

(b) 前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、

(c) 前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップ、または

(d) 前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記処置の有効性の指標となる、ステップを含む、方法。

10

【0103】

3. 対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の適切な処置を選択する方法であって、

(a) 前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ、

(b) 前記対象に由来する非HDL試料中のCE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ、

20

(c) 前記対象に由来する非HDL試料中のLPE/TAGの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップ、または

(d) 前記対象に由来する非HDL試料中のセラミド/CEの濃度比を決定するステップであって、対照と比較した場合の前記試料中の比の低下が、前記対象が処置、または既に行われた処置の変更もしくは補足を必要とする指標となる、ステップを含む、方法。

【0104】

4. (a) その低下が対照と比較される、セラミド/TAGの濃度比が、表1に記載のセラミド/TAGの濃度比のいずれかから選択され、

30

(b) その低下が対照と比較される、CE/TAGの濃度比が、表2に記載のCE/TAGの濃度比のいずれかから選択され、

(c) その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比が、表3に記載のLPE/TAGの濃度比のいずれかから選択され、または

(d) その低下が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比が、表4に記載のセラミド/CEの濃度比のいずれかから選択される、項目1から3までのいずれか1項目に記載の方法。

5. 脂質/脂質の濃度比の決定が、アッセイを使用して行われる、項目1から4までのいずれか1項目に記載の方法。

40

6. 前記処置が、脂質修飾処置である、項目2または3に記載の方法。

【0105】

7. (a) その低下が対照と比較される、セラミド/TAGの濃度比が、

Glc/GalCer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、

Cer(d18:1/22:0)/TAG合計50:1(16:0/16:0/18:1)、または

GM3-d18:1/24:0/TAG合計54:2(18:0/18:1/18:1)

から選択され、

50

(b) その低下が対照と比較される、CE/TAGの濃度比が、
 CE 22 : 6 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、
 CE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、または
 CE 22 : 6 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0 /
 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1)
 から選択され、

(c) その低下が対照と比較される、LPE/TAGの濃度比が、
 LPE 18 : 0 / TAG 合計 50 : 1 (16 : 0 / 16 : 0 / 18 : 1)、
 LPE 18 : 0 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0
 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1)、または
 LPE 16 : 0 / TAG 合計 50 : 2 (14 : 0 / 18 : 1 / 18 : 1) (16 : 0
 / 16 : 0 / 18 : 2) (16 : 0 / 16 : 1 / 18 : 1)
 から選択され、または

(d) その増加が対照と比較される、セラミド/CEの濃度比が、
 Cer (d 18 : 1 / 18 : 0) / CE 22 : 0、
 Cer (d 18 : 1 / 20 : 0) / CE 22 : 0、または
 Cer (d 18 : 1 / 22 : 0) / CE 22 : 0
 から選択される、項目1から6までのいずれか1項目に記載の方法。

【0106】

8. 前記脂質/脂質の濃度比の少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、
 少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、もしくは少なくとも8つ、またはそ
 れらの組合せを決定するステップを含む、項目1から7までのいずれか1項目に記載の方
 法。

【0107】

9. (a) 前記CVDが、冠動脈疾患、末梢動脈疾患、卒中および/またはCVD死
 を特徴とするか、および/もしくは
 (b) 前記CVDが、アテローム性動脈硬化症誘発性であるか、ならびに/または
 (c) 前記対象が、アテローム性動脈硬化症を有するか、もしくは
 (d) 前記対象が、アテローム性動脈硬化症を有していない、項目1から8までのい
 ずれか1項目に記載の方法。

【0108】

10. (a) 本方法が、前記対象に由来する試料中の、総コレステロール、低比重リ
 ポタンパク質コレステロール(LDL-C)、高比重リポタンパク質コレステロール(H
 DL-C)、アポリタンパク質B(アポB)および/またはアポリタンパク質C-I
 I I(アポC-I I I)の血清中レベルを決定するステップをさらに含むか、および/ま
 たは

(b) 対象が、総コレステロール、低比重リポタンパク質コレステロール(LDL-C
)、アポリタンパク質C-I I I(アポC-I I I)、もしくはアポリタンパク質B
 (アポB)の1つまたは複数が増加している血清中レベル、またはHDLコレステロール
 (HDL-C)が低下している血清中レベルを有していない、項目1から9までのい
 ずれか1項目に記載の方法。

【0109】

11. 前記対象が、
 (a) スタチン、別の脂質低下薬、および/または脂質/脂質の濃度比のモジュレータ
 ーにより処置されているか、もしくは処置されていた、または
 (b) スタチン治療、別の脂質低下薬による治療、および/または脂質/脂質の濃度比
 のモジュレーターによる治療をまだ受けていない、項目1から10までのいずれか1項目
 に記載の方法。

【0110】

12. 非HDL試料が、

10

20

30

40

50

L D L 試料、
 超低比重リポタンパク質 (V L D L) 試料、または
 中比重リポタンパク質 (I D L) 試料、またはそれらの組合せ
 である、項目 1 から 1 1 までのいずれか 1 項目に記載の方法。

1 3 . 非 H D L 試料が L D L 試料である、項目 1 から 1 2 までのいずれか 1 項目に記載の方法。

1 4 . 脂質 / 脂質の濃度比が、質量分析法、核磁気共鳴分光法、蛍光分光法または二面偏波式干渉法、H P L C、U H P L C もしくは U P L C などの高性能分離法、E L I S A などの免疫アッセイ、および / または分析種に特異的に結合することができる結合部位によるアッセイを使用することにより決定される、項目 1 から 1 3 までのいずれか 1 項目に記載の方法。

10

【 0 1 1 1 】

1 5 . (a) 前記患者が C V D を発症するリスクの決定、

(b) 前記患者における、C V D の初期徴候の決定、

(c) 患者におけるアテローム性動脈硬化症の発生の決定または予測、および / または

、

(d) 心筋梗塞 (M I)、狭心症、一過性脳虚血発作 (T I A) および卒中の予測ならびに / または診断を含む、C V D および / または C V D 合併症の予測または診断、あるいは死亡の予測

のための、項目 1 から 1 4 までのいずれか 1 項目に記載の方法。

20

1 6 . アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症の処置または予防に使用するための、項目 1 から 4 まで、または 7 のいずれか 1 項目に記載の脂質 / 脂質の濃度比を調節することができる薬物であって、前記対象に由来する試料中の前記脂質 / 脂質の濃度比が、対照と比較した場合、著しく異ならないよう薬物が投与され、さらにスタチン、別の脂質低下薬、または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターである、薬物。

【 0 1 1 2 】

1 7 . 項目 1 から 4 まで、または 7 のいずれか 1 項目による脂質 / 脂質の濃度比を調節することができる薬物の治療有効用量を投与するステップを含む、それを必要としている対象においてアテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を処置または予防する方法であって、前記脂質 / 脂質の濃度比が、対照と比較した場合、著しく異ならないよう薬物が投与され、さらに薬物がスタチン、別の脂質低下薬、または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーターである、方法。

30

【 0 1 1 3 】

1 8 . 対象において、アテローム性動脈硬化症もしくは C V D および / または 1 つもしくは複数のその合併症を予測または検出するため、あるいは項目 1 から 1 7 までもしくは以下の項目のいずれか 1 項目による方法または使用を実施するためのキットであって、

(a) 項目 1 から 4 まで、または 7 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質から選択される 1 つまたは複数の脂質標準品、ならびに / または対照校正線、ならびに / またはポジティブおよび / もしくはネガティブ対照を含み、

40

(b) 脂質 (単数または複数)、例えば、項目 1 から 4 まで、または 7 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質などの 1 つまたは複数の対照マーカー、あるいはタンパク質、

(c) 内部および / または外部標準、

(d) 抗体でもあってもよい、項目 1 から 4 まで、または 7 に記載の脂質 / 脂質の濃度比のいずれか 1 つにある脂質のいずれか 1 つに結合することができる薬剤、

(e) 前記方法または使用を行うための試薬

の 1 つまたは複数を含んでもよい、
 キット。

【 0 1 1 4 】

50

19. アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するための、項目18において定義されている発明のキットの使用であって、対象に由来する試料中の脂質/脂質の濃度比が、質量分析法を使用することにより決定されてもよい、使用。

【0115】

20. 対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予測または検出するため、あるいは項目1から19までのいずれか1項目による方法または使用を実施するためのキットであって、

(a) 酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされている、項目1から4まで、または7に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つに結合することができる抗体、または酵素もしくは検出可能な標識にコンジュゲートされている、項目1から4まで、または7に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つを含み、

(b) 前記酵素に特異的な基質、

(c) (a)の抗体のいずれかに結合することができる二次抗体でコーティングされたアッセイプレート、

(d) 標準品および/または標準校正線、

(e) ストップ溶液、および

(f) 必要な緩衝液および/またはアッセイを実施するために必要な試薬の1つまたは複数を含んでもよい、を含む、キット。

【0116】

21. 酵素または検出可能な標識にコンジュゲートされている抗体が、項目7に記載の脂質/脂質の濃度比にある脂質のいずれか1つに結合することができ、かつ/または酵素もしくは検出可能な標識にコンジュゲートされている脂質が、項目7に記載の脂質/脂質の濃度比にある脂質のいずれか1つである、項目20に記載のキット。

22. a) 対象がアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクまたは罹患するリスクを予測するステップ、または

b) 対象において、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を予防または処置するステップ

において使用するための、項目1から4まで、または7に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質のいずれか1つに対する抗体。

23. 対象が、急性心筋梗塞などの1つまたは複数のCVD合併症を発症するリスクがあるか、またはそれを罹患しており、かつ/または心筋死のリスクがある、項目1から22までのいずれか1項目に記載の方法、薬物、キット、使用、または抗体。

24. 対象が、心血管疾患を罹患している、項目1から23までのいずれか1項目に記載の方法、薬物、キット、使用、または抗体。

【0117】

25. 対象におけるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症の予防もしくは処置に使用するための、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーターであって、

a) 項目1から24までのいずれか1項目の、方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかを適用すると、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定されるか、

b) 項目1から24までのいずれか1項目の、方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかにより、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがある、またはそれに罹患していると特定されたか、

c) 項目1から24までのいずれか1項目の、方法、薬物、キット、使用、または抗体

10

20

30

40

50

のいずれかを適用すると、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定されるか、および/または

d) 項目1から24までのいずれか1項目の、方法、薬物、キット、使用、または抗体のいずれかにより、前記対象が、アテローム性動脈硬化症もしくはCVDおよび/または1つもしくは複数のその合併症を発症するリスクがないか、またはそれに罹患していると特定された、スタチン、別の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【0118】

26. 脂質低下薬が、スタチン以外のHMG-CoAレダクターゼ阻害剤；ナイアシン(ニコチン酸)；コレステロール吸収阻害剤；コレステリルエステル輸送タンパク質(CETP)；胆汁酸隔離剤；フィブラート；フィトステロール；またはPCSK9阻害剤から選択される、項目11から15まで、17、23もしくは24のいずれか1項目に記載の方法、項目16、23もしくは24のいずれか1項目に記載の薬物、または項目25に記載のスタチン、他の脂質低下薬、もしくは脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

10

【0119】

27. コレステロール吸収阻害剤が、エゼチミブおよびSCH-48461から選択され、

コレステリルエステル輸送タンパク質(CETP)阻害剤が、アナセトラピブ、エバセトラピブおよびダルセトラピブから選択され、

胆汁酸隔離剤が、コレセベラム、コレスチルアミン、およびコレスチポールから選択され、

20

フィブラートが、フェノフィブラート、ゲムフィプロジル、クロフィブラート、およびベザフィブラートから選択され、

PCSK9阻害剤が、PCSK9特異的抗体、siRNA、およびペプチド模倣薬から選択される、項目26に記載の方法、薬物、または他の脂質低下薬。

【0120】

28. スタチンが、アトルバスタチン、セリバスタチン、フルバスタチン、フルバスタチンXL、ロバスタチン、ピタバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、およびシンバスタチンからなる群から選択される、項目11から15まで、17、23もしくは24のいずれか1項目に記載の方法、項目16、23もしくは24のいずれか1項目に記載の薬物、または項目25に記載のスタチン、他の脂質低下薬、もしくは脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

30

29. 脂質/脂質の濃度比のモジュレーターが、低分子、抗体、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA(siRNA)、および天然もしくは修飾脂質、好ましくは項目1から4までまたは7に記載の脂質/脂質の濃度比のいずれか1つにある脂質から選択される、項目11から15まで、17、23もしくは24のいずれか1項目に記載の方法、項目16、23もしくは24のいずれか1項目に記載の薬物、または項目25に記載のスタチン、他の脂質低下薬、もしくは脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【0121】

30. 対照が、健常な個体、
健常な個体の一般集団、

40

いかなる主要なCVD合併症のない状態にあるCAD患者、

いかなる主要なCVD合併症のない状態にあるCAD患者の群

に由来する、項目1から15まで、17、23、24および26から29までのいずれか1項目に記載の方法、項目16、23、24および26から29までのいずれか1項目に記載の薬物、または項目25から29までのいずれか1項目に記載のスタチン、他の脂質低下薬、もしくは脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

【0122】

31. 対照が非HDL試料である、項目30に記載の方法、薬物、スタチン、他の脂質低下薬、または脂質/脂質の濃度比のモジュレーター。

50

32. 対照が、
LDL 試料、
超低比重リポタンパク質 (VLDL) 試料もしくは
中比重リポタンパク質 (IDL) 試料、またはそれらの組合せ
である、項目30または31に記載の方法、薬物、スタチン、他の脂質低下薬、または脂
質 / 脂質の濃度比のモジュレーター。

【0123】

33. 対照が、
LDL 試料
である、項目30または31に記載の方法、薬物、スタチン、他の脂質低下薬、または脂
質 / 脂質の濃度比のモジュレーター。 10

【0124】

34. 予防または処置されるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDの1つまたは複
数の合併症が、心筋梗塞 (MI)、急性心筋梗塞 (AMI)、狭心症、一過性脳虚血発作
(TIA)、および卒中から選択される、項目1から33までのいずれか1項目に記載の
、方法、薬物、使用、キット、抗体、スタチン、他の脂質低下薬、または脂質 / 脂質の濃
度比のモジュレーター。

35. 予防されるアテローム性動脈硬化症もしくはCVDの1つまたは複数の合併症
が死亡である、項目1から34までのいずれか1項目に記載の、方法、薬物、使用、キッ
ト、抗体、スタチン、他の脂質低下薬、または脂質 / 脂質の濃度比のモジュレーター。 20

【0125】

参照文献

1. Parish, S. et al. Lipids and lipoproteins and risk of different vascular even
ts in the MRC/BHF Heart Protection Study. *Circulation* 125, 2469-78 (2012).
2. Stahlman, M. et al. Proteomics and lipids of lipoproteins isolated at low sal
t concentrations in D20/sucrose or in KBr. *Journal of lipid research* 49, 481-90
(2008).
3. Jung, H. R. et al. High throughput quantitative molecular lipidomics. *Biochim
ica et biophysica acta* 1811, 925-34 (2011).
4. Deckelbaum, R. J., Granot, E., Oschry, Y., Rose, L. & Eisenberg, S. Plasma tr
iglyceride determines structure-composition in low and high density lipoproteins
. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 4, 225-231 (1984). 30
5. Burstein, M., Scholnick, H. R., & Morfin, R. (1970). Rapid method for the iso
lation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions, 11.
6. Dallinga-Thie, G. M., Schneijderberg, V. L. M., & Toll, A. Van. (1986). Ident
ification and characterization of rat serum lipoprotein subclasses. Isolation by
chromatography on agarose columns and sequential immunoprecipitation, 27, 1035-
1043.
7. Wiesner, P., Leidl, K., Boettcher, A., Schmitz, G., & Liebisch, G. (2009). Li
pid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization
tandem mass spectrometry. *Journal of lipid research*, 50(3), 574-85. doi:10.1194
/jlr.D800028-JLR200. 40
8. Sullards, M.C., et al., Structure-specific, quantitative methods for analysis
of sphingolipids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: "inside-out
" sphingolipidomics. *Methods Enzymol* 2007.
9. Fong, B., et al., Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for
quantitative analysis of gangliosides. *Lipids*, 2009. 44(9): p. 867-74.
10. Stahlman, M., et al., High-throughput shotgun lipidomics by quadrupole time-
of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009
. 50

- 11. Ekroos, K., et al., Quantitative profiling of phospholipids by multiple precursor ion scanning on a hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometer. Anal Chem, 2002. 74(5): p. 941-9.
- 12. Ekroos, K., et al., Charting molecular composition of phosphatidylcholines by fatty acid scanning and ion trap MS3 fragmentation. J Lipid Res, 2003. 44(11): p. 2181-92.
- 13. Ejsing, C.S., et al., Automated identification and quantification of glycerophospholipid molecular species by multiple precursor ion scanning. Anal Chem, 2006. 78(17): p. 6202-14.

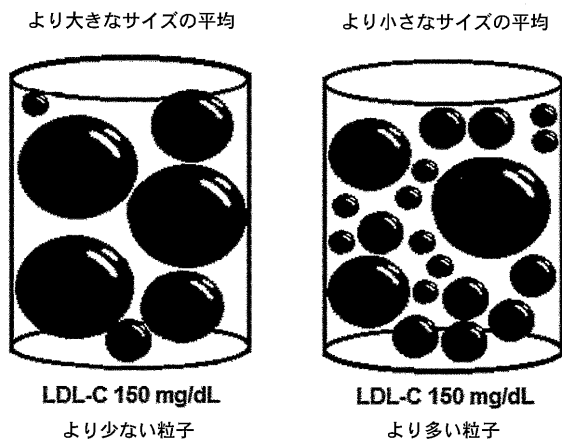
【 0 1 2 6 】

10

当業者は、慣例的手順の範囲内の実験を使用して、実施例および全特許説明の本体の両方において、本明細書に記載されている具体的な実施形態の様々な等価物を認識したりまたは確認したりすることが可能であることが理解されるものとする。こうした等価物は、本発明の範囲内とみなされ、以下の特許請求の範囲または上で列挙した項目に包含されることが意図される。本明細書に引用されている特許、特許出願、および公開されている参照文献はすべて、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【 図 1 】

Figure 1



【 図 5 】

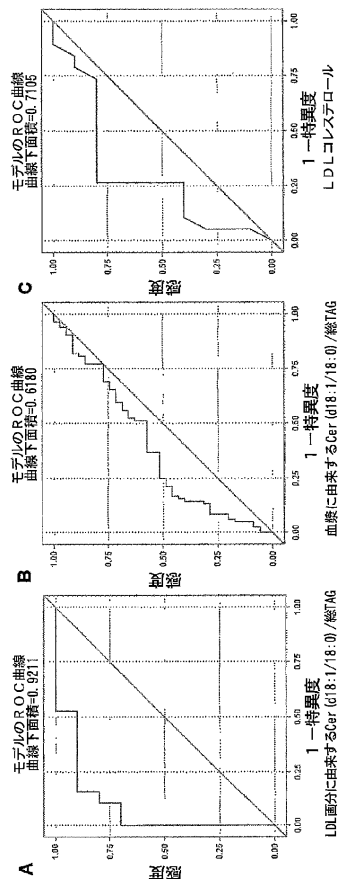
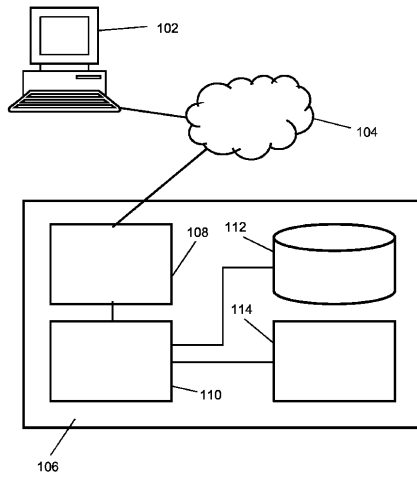


Figure 5

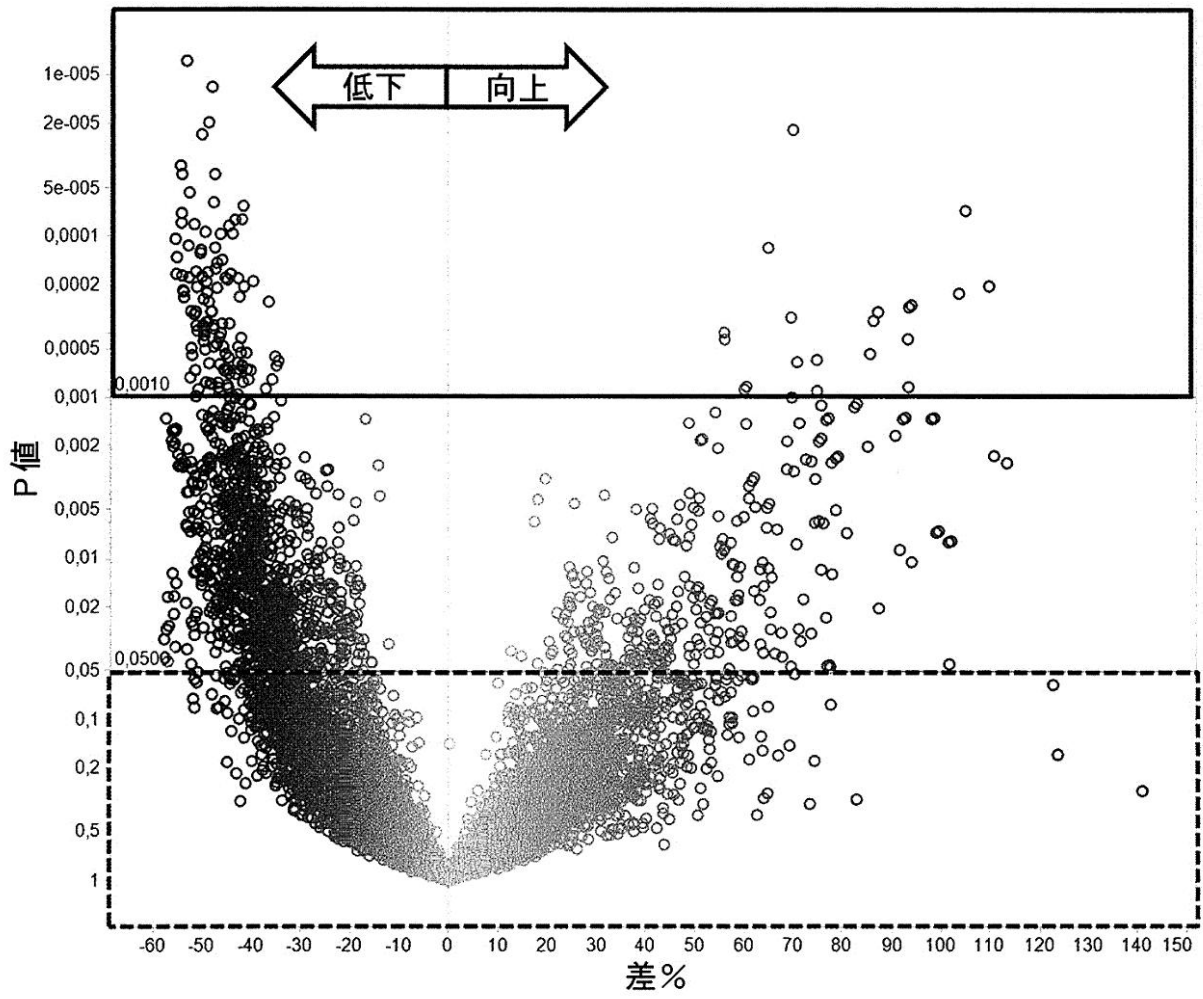
【 図 6 】

Figure 6



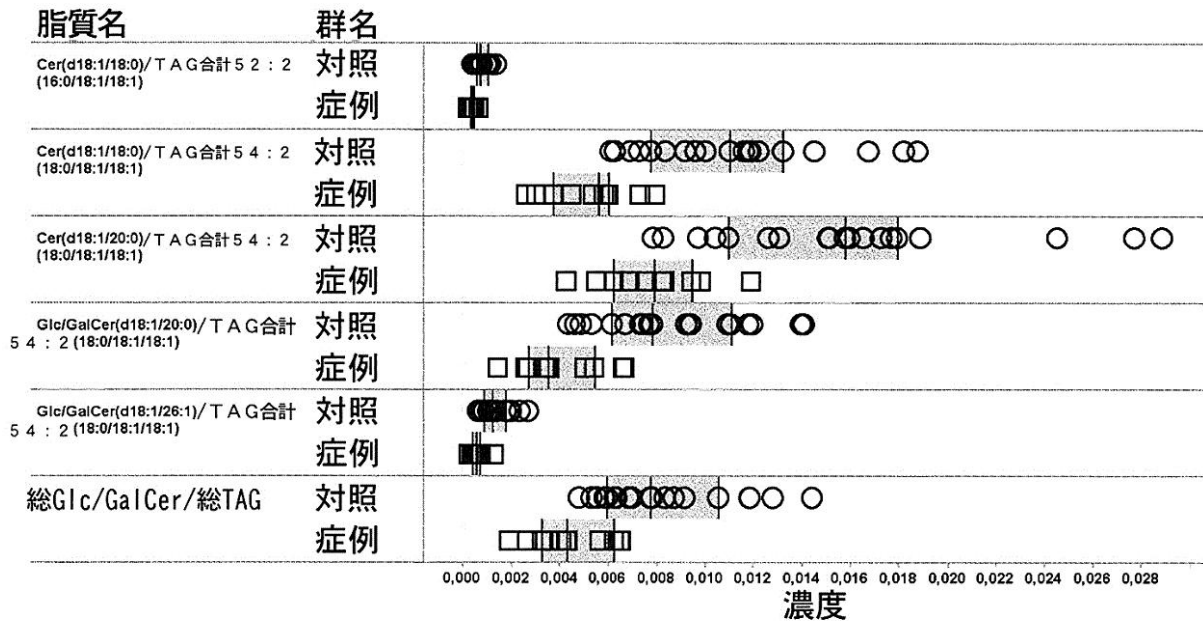
【 図 3 】

Figure 3



【 図 4 】

Figure 4



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2014/054499**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 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.:
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:
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 No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

see additional sheet

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 fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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.:
1-35, 37, 38, 40-51(all partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/054499

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/92 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, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/161062 A2 (ZORA BIOSCIENCES OY [FI]; LAAKSONEN REIJO [FI]; EKROOS KIM [FI]; HURME) 29 December 2011 (2011-12-29) claim 1	1-35,37,38,40-51
X	----- KAHRI J ET AL: "Plasma cholesteryl ester transfer protein activity in non-insulin-dependent diabetic patients with and without coronary artery disease", METABOLISM, CLINICAL AND EXPERIMENTAL, W.B. SAUNDERS CO., PHILADELPHIA, PA, US, vol. 43, no. 12, 1 December 1994 (1994-12-01), pages 1498-1502, XP026313683, ISSN: 0026-0495, DOI: 10.1016/0026-0495(94)90007-8 [retrieved on 1994-12-01] page 76, line 5 - line 14; claim 1 ----- -/--	1-35,37,38,40-51
<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 "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		Date of mailing of the international search report
7 April 2014		11/07/2014
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 Griesinger, Irina

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/054499

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	P. WIESNER ET AL: "Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization tandem mass spectrometry", THE JOURNAL OF LIPID RESEARCH, vol. 50, no. 3, 31 October 2008 (2008-10-31), pages 574-585, XP055111474, ISSN: 0022-2275, DOI: 10.1194/jlr.D800028-JLR200 abstract -----	1-35,37, 38,40-51
A	ALAN R. TALL ET AL: "Studies on the Structure of Low Density Lipoproteins Isolated from Macaca Fascicularis Fed an Atherogenic Diet", JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, vol. 62, no. 6, 1 December 1978 (1978-12-01), pages 1354-1363, XP055111654, ISSN: 0021-9738, DOI: 10.1172/JCI109256 abstract -----	1-35,37, 38,40-51
A	STÉPHANIE BOUÉ ET AL: "Modulation of atherogenic lipidome by cigarette smoke in apolipoprotein E-deficient mice", ATHEROSCLEROSIS, vol. 225, no. 2, 1 December 2012 (2012-12-01), pages 328-334, XP055111667, ISSN: 0021-9150, DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.09.032 abstract -----	1-35,37, 38,40-51
A	RISHI PURI ET AL: "Lipidomics: Opportunities to Identify New Causal Mechanisms and Therapeutics for Atherosclerosis", CURRENT CARDIOVASCULAR RISK REPORTS, CURRENT SCIENCE INC, NEW YORK, vol. 7, no. 1, 11 December 2012 (2012-12-11), pages 60-65, XP035164047, ISSN: 1932-9563, DOI: 10.1007/S12170-012-0284-7 the whole document -----	1-35,37, 38,40-51
X,P	EP 2 667 197 A1 (ZORA BIOSCIENCES OY [F1]) 27 November 2013 (2013-11-27) claims 1,12 -----	1-35,37, 38,40-51

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/054499

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011161062 A2	29-12-2011	CA 2801459 A1	29-12-2011
		CN 103154742 A	12-06-2013
		EP 2583107 A2	24-04-2013
		JP 2013531238 A	01-08-2013
		US 2013216560 A1	22-08-2013
		WO 2011161062 A2	29-12-2011

EP 2667197 A1	27-11-2013	EP 2667197 A1	27-11-2013
		WO 2013175016 A1	28-11-2013

International Application No. PCT/ EP2014/ 054499

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-35, 37, 38, 40-51(all partially)

relate to a method comprising determining in a non -HDL sample the ratio of ceramide to triglyceride (TAG), wherein said method may be applied for different purposes such as e.g. for determining if a subject is at risk to develop or is suffering from atherosclerosis or a cardiovascular disease or for evaluating the effectiveness of a treatment, the corresponding kits, uses of kits and the corresponding medical uses of drugs and antibodies.

2. claims: 1-35, 37, 38, 40-51(all partially)

relate to a method comprising determining in a non -HDL sample the ratio of cholesteryl ester to triglyceride (TAG), wherein said method may be applied for different purposes such as e.g. for determining if a subject is at risk to develop or is suffering from atherosclerosis or a cardiovascular disease or for evaluating the effectiveness of a treatment, the corresponding kits, uses of kits and the corresponding medical uses of drugs and antibodies.

3. claims: 1-35, 37, 38, 40-51(all partially)

relate to a method comprising determining in a non -HDL sample the ratio of lipophosphatidylethanolamine (LPE) to triglyceride (TAG), wherein said method may be applied for different purposes such as e.g. for determining if a subject is at risk to develop or is suffering from atherosclerosis or a cardiovascular disease or for evaluating the effectiveness of a treatment, the corresponding kits, uses of kits and the corresponding medical uses of drugs and antibodies.

4. claims: 1-35, 37, 38, 40-51(all partially)

relate to a method comprising determining in a non -HDL sample the ratio of ceramide to cholesteryl ester, wherein said method may be applied for different purposes such as e.g. for determining if a subject is at risk to develop or is suffering from atherosclerosis or a cardiovascular disease or for evaluating the effectiveness of a treatment, the corresponding kits, uses of kits and the corresponding medical uses of drugs and antibodies.

5. claims: 36, 39(completely); 1-35, 37, 38, 40-51(partially)

relate to an antibody binding to any of ceramide, TAG,

International Application No. PCT/EP2014/054499

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

cholesteryl ester or LPE or the uses of said antibody.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/197 (2006.01)	A 6 1 K 31/197	4 H 0 4 5
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 31/40 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 31/4418 (2006.01)	A 6 1 K 31/40	
A 6 1 K 31/4045 (2006.01)	A 6 1 K 31/4418	
A 6 1 K 31/366 (2006.01)	A 6 1 K 31/4045	
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/366	
A 6 1 K 31/22 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	
A 6 1 K 31/505 (2006.01)	A 6 1 K 31/22	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/505	
	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, T M), 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, R S, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, UG, US

(74)代理人 100119013
弁理士 山崎 一夫

(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき

(74)代理人 100137626
弁理士 田代 玄

(72)発明者 ラークソネン レイヨ
フィンランド エフィー - 3 7 5 0 0 レンパーラ ヒンミンボルク 1 1

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ03 QQ08 QQ70 QR47 QR72 QR77 QS36
QX01
4C084 AA23 NA05 ZA451 ZC332 ZC411 ZC412
4C085 AA13 AA14 CC22 CC23 EE03
4C086 AA01 AA02 BA17 BC05 BC13 BC17 BC28 BC42 MA03 MA05
NA05 ZC33 ZC41
4C206 AA01 AA02 DB03 DB56 FA47 MA03 MA05 NA05 ZA45 ZC33
ZC41
4H045 AA11 AA30 DA75 EA20 EA50

专利名称(译)	非高密度脂蛋白衍生的CVD标记物		
公开(公告)号	JP2016511407A	公开(公告)日	2016-04-14
申请号	JP2015560715	申请日	2014-03-07
申请(专利权)人(译)	佐拉生物科学Osake Yukichua		
[标]发明人	ラークソネンレイヨ		
发明人	ラークソネン レイヨ		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C07K16/18 C12Q1/02 A61K45/00 A61K31/197 A61P3/06 A61P9/10 A61K39/395 A61K31/40 A61K31/4418 A61K31/4045 A61K31/366 A61K31/47 A61K31/22 A61K31/505 A61P43/00		
CPC分类号	G01N33/92 A61K31/00 A61K38/1709 G01N2333/775 G01N2405/02 G01N2405/04 G01N2405/08 G01N2570/00 G01N2800/32 G01N2800/323 G01N2800/324 G01N2800/50 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/53.S G01N33/543.501.A C07K16/18 C12Q1/02 A61K45/00 A61K31/197 A61P3/06 A61P9/10 A61K39/395.N A61K39/395.D A61K31/40 A61K31/4418 A61K31/4045 A61K31/366 A61K31/47 A61K31/22 A61K31/505 A61P43/00.111		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ70 4B063/QR47 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS36 4B063/QX01 4C084/AA23 4C084/NA05 4C084/ZA451 4C084/ZC332 4C084/ZC411 4C084/ZC412 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE03 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BA17 4C086/BC05 4C086/BC13 4C086/BC17 4C086/BC28 4C086/BC42 4C086/MA03 4C086/MA05 4C086/NA05 4C086/ZC33 4C086/ZC41 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/DB03 4C206/DB56 4C206/FA47 4C206/MA03 4C206/MA05 4C206/NA05 4C206/ZA45 4C206/ZC33 4C206/ZC41 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/EA50		
代理人(译)	西岛隆义 田中真一郎 山崎 一夫		
优先权	61/775445 2013-03-08 US		
其他公开文献	JP2016511407A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明尤其提供用于诊断, 预测, 预防和/或治疗动脉粥样硬化或心血管疾病 (CVD) 及其并发症的脂质/脂质浓度比, 所述并发症包括例如急性心肌梗塞。关于决策所涉及的方法和用途。该方法包括以下步骤: 分析来自患者的非高密度脂蛋白样品的脂质浓度和所得的脂质/脂质浓度比, 并将它们与对照进行比较。

(21) 出願番号	特願2015-560715 (P2015-560715)	(71) 出願人	512285007
(86) (22) 出願日	平成26年3月7日 (2014.3.7)		ゾラ バイオサイエンス オサケ ユ
(85) 翻訳文提出日	平成27年9月7日 (2015.9.7)		キチュア
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/054499		フィンランド エフイーエン-02150
(87) 国際公開番号	WO2014/135696		エスプー ビオロギンケーヤ I
(87) 国際公開日	平成26年9月12日 (2014.9.12)	(74) 代理人	100086771
(31) 優先権主張番号	61/775,445		弁理士 西島 幸吾
(32) 優先日	平成25年3月8日 (2013.3.8)	(74) 代理人	100086694
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 弟子丸 健
		(74) 代理人	100094569
			弁理士 田中 伸一郎
		(74) 代理人	100084663
			弁理士 福田 篤
		(74) 代理人	100093300
			弁理士 浅井 賢治