

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-58180

(P2019-58180A)

(43) 公開日 平成31年4月18日(2019.4.18)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12Q 1/6827 (2018.01)	C12Q 1/6827 ZNAZ	2G045
GO1N 33/50 (2006.01)	GO1N 33/50 P	4B063
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 M	4C084
C12Q 1/04 (2006.01)	C12Q 1/04	4C206
C12Q 1/6837 (2018.01)	C12Q 1/6837 Z	4H006

審査請求 有 請求項の数 36 O L 外国語出願 (全 61 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-228045 (P2018-228045)
 (22) 出願日 平成30年12月5日 (2018.12.5)
 (62) 分割の表示 特願2016-504603 (P2016-504603) の分割
 原出願日 平成26年3月24日 (2014.3.24)
 (31) 優先権主張番号 13161386.1
 (32) 優先日 平成25年3月27日 (2013.3.27)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 591003013
 エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
 F. HOFFMANN-LA ROCH
 E AKTIENGESELLSCHAFT
 スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
 グレンツァーヘルストラッセ124
 (74) 代理人 110001508
 特許業務法人 津国

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療に対する応答性を予測するための遺伝マーカー

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤、特に CETP 阻害薬 / モデュレーターを用いた処置から恩恵を受けるであろう、心血管疾患を有する患者を選択するための遺伝子型決定法及び組成物を提供する。

【解決手段】 HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤から恩恵を受けている対象を同定するための方法であって、該対象のタンパク質 ADCY9 の遺伝子における 1 つ以上の多型性部位での該対象の遺伝子型を決定することを含む方法。多型性部位が、rs1967309 又は rs12595857 を含む方法。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤から恩恵を受けている対象を同定するための方法であって、該対象のタンパク質ADCY9の遺伝子における1つ以上の多型性部位での該対象の遺伝子型を決定することを含む方法。

【請求項 2】

多型性部位が、以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448の1つ以上を含む、請求項1記載の方法。

10

【請求項 3】

多型性部位が、以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967又はrs3730119、rs13337675の1つ以上を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 4】

多型性部位が、rs1967309又はrs12595857を含む、請求項1又は3記載の方法。

20

【請求項 5】

多型性部位が、rs1967309を含む、請求項1～4のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6】

対象のタンパク質ADCY9の遺伝子におけるrs1967309での遺伝子型AAを決定することを含む、HDL上昇剤又はHDL模倣剤から恩恵を受けている対象を同定するための、請求項1記載の方法。

【請求項 7】

対象が、HDL上昇剤又はHDL模倣剤から恩恵を受けている、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項 8】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、ナイアシン、フィブラート、グリタゾン、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、DEZ-001、ATH-03、DRL-17822 (Dr. Reddy's)、DLBS-1449、RVX-208、CSL-112、CER-001又はApoA1-Milnanoである、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項 9】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、CETP阻害薬/モデュレーターである、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、DEZ-001、ATH-03、DRL-17822又はDLBS-1449である、請求項1～7のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項 11】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、S-(2-{[1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボニル]-アミノ}-フェニル)エステルである、請求項1～9のいずれか一項記載の方法。

【請求項 12】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、前記対象に投与される、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

50

【請求項 13】

恩恵を受けている対象が、心血管障害を有する、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 14】

心血管障害の処置を必要とする対象においてそれを処置する方法であって、

(a) 以下の部位：rs 1967309、rs 12595857、rs 2239310、rs 11647828、rs 8049452、rs 12935810、rs 74702385、rs 17136707、rs 8061182、rs 111590482、rs 4786454、rs 2283497、rs 2531967、rs 3730119、rs 13337675 の 1 つ以上で応答向上型遺伝子型を有する対象を選択すること；

(b) 該対象に HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤、特に CETP 阻害薬 / モデュレーターを投与することを含む方法。

10

【請求項 15】

処置される対象が、以下の部位：rs 1967309、rs 12595857、rs 2239310、rs 11647828、rs 8049452、rs 12935810、rs 74702385、rs 17136707、rs 8061182、rs 111590482、rs 4786454、rs 2283497、rs 2531967、rs 3730119、rs 13337675 の 1 つ以上で応答向上型遺伝子型を有する、心血管障害の処置のための医薬の製造における HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤、特に CETP 阻害薬 / モデュレーターの使用。

20

【請求項 16】

処置される対象が、以下の部位：rs 1967309、rs 12595857、rs 2239310、rs 11647828、rs 8049452、rs 12935810、rs 74702385、rs 17136707、rs 8061182、rs 111590482、rs 4786454、rs 2283497、rs 2531967、rs 3730119、rs 13337675 の 1 つ以上で応答向上型遺伝子型を有する、心血管障害の処置に使用するための HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤、特に CETP 阻害薬 / モデュレーター。

30

【請求項 17】

遺伝子型が、rs 12595857 / GG、rs 1967309 / AA、rs 111590482 / AG、rs 111590482 / GG、rs 11647828 / GG、rs 12935810 / GG、rs 17136707 / GG、rs 2239310 / GG、rs 2283497 / AA、rs 2531967 / AA、rs 3730119 / AA、rs 4786454 / AA、rs 74702385 / GA、rs 74702385 / AA、rs 8049452 / GG 及び rs 8061182 / AA より選択される、応答向上型遺伝子型を保有する、心血管障害を有する患者を処置するための S - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステル。

40

【請求項 18】

心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄 (angioplastic restenosis)、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項 19】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症 (hyperlipidoproteinemia)、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、請求項 1 ~ 15 のいずれか

50

一 項 記 載 の 方 法 。

【請求項 20】

部位の1つが、rs1967309又はrs12595857である、請求項14記載の方法。

【請求項 21】

応答向上型遺伝子型を有する対象が、rs1967309 / AAを有する、請求項14記載の方法。

【請求項 22】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤がCETP阻害薬 / モデュレーターである、請求項14～20のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項 23】

HDL上昇剤又はHDL模倣剤がS - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステルである、請求項14～22のいずれか一項記載の方法。

【請求項 24】

処置された対象が、rs1967309で応答向上型遺伝子型を有する、請求項15記載の使用。

【請求項 25】

処置された対象が、応答向上型遺伝子型rs1967309を有する、心血管障害の処置に使用するためのHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬 / モデュレーター。

20

【請求項 26】

遺伝子型がAAである、請求項25記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤。

【請求項 27】

心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、請求項25又は26記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤。

30

【請求項 28】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、請求項25～27のいずれか一項記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤。

【請求項 29】

HDL上昇剤、特にCETP阻害薬 / モデュレーターであり、さらに特定すれば - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステルである、請求項25～28のいずれか一項記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤。

40

【請求項 30】

応答向上型遺伝子型がrs1967309 / AAである、請求項17記載のS - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステル。

【請求項 31】

心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、請求項17又は30記載のS - (2 - { [1 - (2 - エチル -

50

ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ} - フェニル) エステル。

【請求項 32】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、請求項 17 ~ 31 のいずれか一項記載の S - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ} - フェニル) エステル。

【請求項 33】

心血管障害の患者が、HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤、特に CETP 阻害薬 / モデュレーターを用いた処置から恩恵を受ける可能性が高いかどうかを予測する方法であって、rs12595857 / GG、rs1967309 / AA、rs111590482 / AG、rs111590482 / GG、rs11647828 / GG、rs12935810 / GG、rs17136707 / GG、rs2239310 / GG、rs2283497 / AA、rs2531967 / AA、rs3730119 / AA、rs4786454 / AA、rs74702385 / GA、rs74702385 / AA、rs8049452 / GG 及び rs8061182 / AA より選択される、アデニル酸シクラーゼ 9 型遺伝子 (ADCY9) 中の遺伝マーカーについて該患者から単離された試料をスクリーニングすることを含み、該患者が、該処置から恩恵を受ける可能性が高い、方法。

10

【請求項 34】

前記遺伝マーカーが、rs12595857 / GG、rs1967309 / AA、好ましくは rs1967309 / AA である、請求項 33 記載の方法。

20

【請求項 35】

HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を含む治療に対して応答する可能性があるとして、心血管障害の患者を選択する方法であって、

- a. 患者由来の試料中から rs1967309 で AA 遺伝子型を検出すること、
- b. 患者由来の試料中から rs1967309 で AA 遺伝子型が検出された場合、HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を含む治療に応答する可能性がより高いとして該患者を選択すること

を含む方法。

30

【請求項 36】

参照試料中の rs1967309 で AA 遺伝子型が存在することが、患者が HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を用いた治療に応答する可能性がより高いことを示す、請求項 35 記載の方法。

【請求項 37】

c) HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を含む治療を選択すること
をさらに含む、請求項 35 又は 36 記載の方法。

【請求項 38】

rs1967309 を検出することが、患者由来の試料中から rs1967309 を検出すること、rs1967309 と結合する試薬と試料を接触させること、それによって試薬と rs1967309 との間に複合体を形成させること、形成された複合体を検出すること、及びそれによって rs1967309 を検出することによって行われる、請求項 35 ~ 37 のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項 39】

HDL 上昇剤又は模倣剤に対する遅延型臨床応答、部分的最適以下の臨床応答、又は臨床応答欠如に関連する、患者の ADCY9 遺伝子における少なくとも 1 つの多型の存在が決定され、少なくとも 1 つの、その際少なくとも 1 つの最初の多型 rs1967309 が決定される、該 HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤に対するヒト患者における臨床応答の予後を決定するための方法。

【請求項 40】

50

多型が、遺伝子型決定解析によって決定される、請求項 39 記載の方法。

【請求項 41】

遺伝子型決定解析が、マイクロアレイ分析又は質量分析又は多型特異的プライマー及び/若しくはプローブの使用、特にプライマー伸長反応を含む、請求項 39 又は 40 記載の方法。

【請求項 42】

HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤が HDL 上昇剤である、請求項 39 ~ 41 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 43】

HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤が CETP 阻害薬 / モデュレーターである、請求項 39 ~ 42 のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項 44】

HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤が、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、DEZ-001、ATH-03、DRL-17822 又は DLBS-1449 である、請求項 39 ~ 42 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 45】

HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤が、S-(2-{[1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボニル]-アミノ}-フェニル)エステルである、請求項 39 ~ 43 のいずれか一項記載の方法。

【請求項 46】

HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤が、CETP 阻害 / モデュレーション、PPAR アゴニズム、LXR アゴニズム、HM74 アゴニズム (ナイアシンレセプター)、甲状腺刺激ホルモンレセプターアゴニズム、リパーゼ及び HDL の異化の阻害薬、ApoA1 誘導因子により HDL レベルを増加させる化合物である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項 47】

心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、請求項 14 記載の方法。

30

【請求項 48】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、請求項 14 記載の方法。

【請求項 49】

心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、請求項 15 記載の HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤の使用。

40

【請求項 50】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、請求項 15 記載の HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤の使用。

【請求項 51】

心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、

50

高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、請求項16記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤。

【請求項52】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、請求項16記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤。

【請求項53】

本明細書前記の発明。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の分野は、心血管障害を有する対象の治療又は予防に関する。

【0002】

20年前は、画一的な処置が、非常にすぐれた「ブロックバクター」薬につながる、採用されたアプローチであった。今日、ヒトゲノムの配列決定及び分子プロファイリング技法の進歩に伴い、薬剤開発のアプローチは、より大きく層別化又は個別化されたアプローチを採ることである。これらの進歩は、特定の疾患のリスクがある、特定の処置に应答する、特定の処置に应答しない、又は処置されたときに有害事象の高いリスクがある、部分集団に個体を分類することをますます可能にする。そのような遺伝子検査は、診断、予後及び処置の選択を通知するために使用することができる。数多くの研究が、遺伝子型と薬物療法に対する应答との間の関係を示した。このアプローチは、過去数年間にわたり、特に数多くの個別化医療アプローチがうまく開発され、臨床的成果の大きな改善を提供している腫瘍学において、広く受け入れられている。

【0003】

心血管障害では、特定の治療的介入のための遺伝子型による母集団の層別化は、限られている。本発明の目的の1つは、心血管障害を患う母集団が様々に挙動するおそれがあり、結果が特異的処置に様々に应答しうると実証することである。LDLの低下は、心血管疾患を管理する上で重要な治療戦略である。実際、Crestor、Lipitor、Pravachol、及びZocorなどのLDLを低下させるスタチン系薬剤は、広く使用されており、最も多く処方される薬物に含まれる。ここしばらくの間、また、HDLの増加も心血管疾患の治療に役立つと一般に受け入れられている。ナイアシン並びにトルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ及びダルセトラピブなどのCETP阻害薬を含むいくつかの薬物、すなわちHDL上昇薬が開発されている。

【0004】

血漿脂質輸送タンパク質とも呼ばれるコレステリルエステル転送タンパク質(CETP)は、いくつかの組織内で合成されるが、主に肝臓内で合成される疎水性糖タンパク質である。CETPは、全ての血漿リポタンパク質粒子の間でコレステリルエステル及びトリグリセリドの双方向輸送を促進する。血漿リポタンパク質に及ぼすCETP活性の影響の最初の根拠は、CETPを遺伝的に欠損した人々での観察によって提供された。最初のCETP突然変異が、顕著に上昇したHDL-Cの原因として1989年に日本で同定された。その後、CETP欠損に関連する10個の突然変異がアジア人において、1個が白人において同定された。日本においてHDL-Cレベル>100mg/dLを有する対象の57%がCETP遺伝子の突然変異を有することが見いだされた。加えて、75~100mg/dLのHDL-Cレベルを有する日本人の37%がCETP遺伝子の突然変異を有する。続いて、抗CETP抗体で処置された動物の研究から、CETPの阻害がHDL-C濃度の実質的な増加を招いたことが示された。CETP欠損患者及び抗CETP抗体で処置されたウサギにおけるこれらの観察に一致して、その後、CETP阻害薬を用いたヒトの処置

10

20

30

40

50

がHDLコレステロール濃度及びアポA-I(HDL中の主要アポリポタンパク質)を増加させることが見いだされている。ヒト突然変異の研究を含む数多くの疫学的研究が、CETP活性の変動の効果を冠動脈疾患のリスクと関連づけている(Hirano, K.I. Yamishita, S. and Matsuzawa Y. (2000) Curr. Opin. Lipido. 11(4), 389-396)。

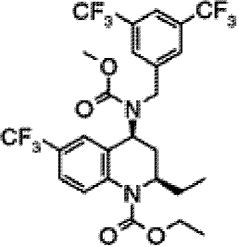
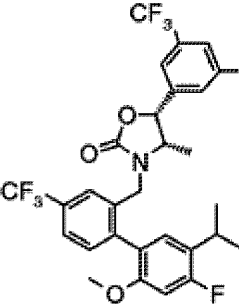
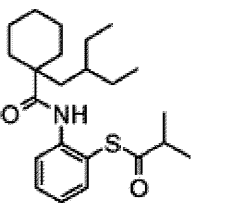
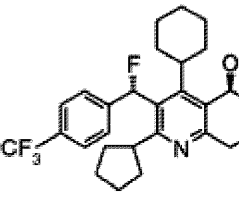
【0005】

アテローム動脈硬化症、並びに冠動脈心疾患(CHD)、卒中及び末梢血管疾患を含むその臨床的結果は、世界的に保健医療システムにとっての莫大な重荷である。CETPを阻害する薬物(CETP阻害薬)は、ここしばらくの間、アテローム動脈硬化症を治療又は予防するために有用であるという期待の下に開発中である。ダルセトラピブ、トルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、BAY60-5521及びその他を含むCETP阻害薬のいくつかのクラスは、ヒトにおいてHDLを増加させ、LDLを減少させること、並びにアテローム動脈硬化症及び心血管疾患の処置に治療効果を有することが示されている(表1)。

【0006】

【表 1】

表 1: 先導 CETP 阻害薬及び臨床状態の概要

構造	化合物	臨床試験の相
	トルセトラピブ	2006年に第 III 相を中止
	アナセトラピブ	第 III 相
	ダルセトラピブ	2012年5月に第 III 相試験を停止
	BAY 60-5521	第 I 相

10

20

30

40

【 0 0 0 7 】

しかし、これらの薬物が全ての患者に安全で有効なわけではないかもしれないという根拠がある。アトルバスタチン単独で処置された患者に比べた、トルセトラピブ及びアトルバスタチンを同時に投与された患者における死亡の発生率のせいで、トルセトラピブの臨床試験は第 III 相で終了された。ダルセトラピブの臨床試験も、第 III 相で停止されたが、この場合はスタチン単独に比べた有効性の欠如が原因である。追加的な CETP 阻害薬が、まだ、臨床試験及びより開発初期で探究されている。より良好な有効性を提供する CETP 阻害薬を使用する一般的処置戦略では、低下したオフターゲット効果が臨床的に有益であろう。CETP 阻害薬に対する応答を予測し、CETP 阻害薬の投与に関連する有害事象のリスクを評価するためのバイオマーカー、方法及びアプローチの必要性がある。

50

【 0 0 0 8 】

C E T P 阻害薬は、アテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高 リポタンパク血症、低 リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、心血管障害、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄 (angioplastic restenosis)、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症の治療及び / 又は予防に有用である。

【 0 0 0 9 】

臨床試験によって、医薬品を用いた処置に対する患者の応答が多くの場合に不均一であることが示されている。薬剤開発、臨床開発及び個体又は患者の部分集団についての薬物の治療影響を改善する、差し迫った必要がある。S N P は、特定の医薬製剤を用いた治療に最も適した患者を同定するために使用することができる (これは、しばしば「ファーマコゲノミクス」と呼ばれる)。同様に、S N P を使用して、患者が毒性副作用を発生する高い可能性又は患者が処置に応答しない可能性につき、患者をある処置から除外することができる。ファーマコゲノミクスを薬学研究に使用して、薬剤の開発及び選択工程を援助することもできる。Linder et al, *Clinical Chemistry* 43:254 (1997); Marshall, *Nature Biotechnology* 15: 1249 (1997); 国際特許出願である国際公開公報第 9 7 / 4 0 4 6 2 号 (Spectra Biomedical); 及び Schafer et al, *Nature Biotechnology* 16:3 (1998)。

10

【 0 0 1 0 】

ダルセトラピブの死亡率及び罹病率試験 (d a l - O U T C O M E S) は、急性冠症候群 (A C S) のため最近入院した安定 C H D 患者における二重盲検ランダム化プラセボ対照並行群間多施設試験であった。該試験は、C E T P の阻害が、C E T P の阻害を通じて H D L - C のレベルを上昇させることによって、最近の A C S を有する患者における再発性心血管イベントのリスクを低下させるという仮説を検証するために行われた。患者が安定化すること及び計画された血行再建手順の完了を可能にするために、適格な患者が、約 4 ~ 6 週間の単純盲検プラセボならし期間に入った。ならし期間の終わりに、安定状態の適格な患者が、A C S に対する根拠に基づく医療に加えて、1 : 1 の比でダルセトラピブ 6 0 0 mg 又はプラセボにランダム化された。ダルセトラピブは、コレステロールエステル転送タンパク質 (C E T P) の阻害薬である。ダルセトラピブは、いくつかの動物種及びヒトにおいて C E T P 活性の用量関連減少及び H D L - C レベルの増加を誘導することが示されている。いくつかの動物モデルで異なるアプローチにより C E T P 活性を減少させることによって、抗アテローム動脈硬化作用が実証された。該試験は、無益であるという理由から D S M B によって 2 0 1 2 年 5 月に中断された。d a l - O U T C O M E S 試験は、心血管疾患の進行に関連する予想外の観察を招いた。H D L - c の顕著な増加にもかかわらず、処置を受けている患者は、心血管イベントの有意な低減を示さず、試験は終了された。

20

30

【 0 0 1 1 】

d a l - O U T C O M E S 試験の終了後に、試験を受けた患者の部分集団がダルセトラピブに対して異なって応答しており、ダルセトラピブが患者の部分集団において有意な治療効果を有している可能性があるという仮説が立てられた。ダルセトラピブの応答における個体間変動を研究するために、並びに患者の層別化及び処置の選択用にダルセトラピブ又は他の C E T P 阻害薬に対する治療応答を予測するための遺伝マーカーを同定するために、d a l - O U T C O M E S 試験の母集団のファーマコゲノミクス研究が行われた。

40

【 0 0 1 2 】

本発明は、H D L 上昇剤又は H D L 模倣剤、特に C E T P 阻害薬 / モデュレーターを用いた処置から恩恵を受けることができる個体を選択するための遺伝子型決定法、試薬及び組成物を提供し、特にその際、該個体は心血管障害を有する。本発明は、また、心血管障害を有する患者を処置する方法であって、H D L 上昇剤又は H D L 模倣剤、特に C E T P 阻害薬 / モデュレーターを用いた処置から恩恵を受けるであろう患者を遺伝子型決定及び選択することを含む方法を提供する。驚くことに、d a l - O U T C O M E S の患者コホ

50

ートのファーマコゲノミクス試験によって、ダルセトラピブに対する個体の応答に関連し、HDL上昇剤又はHDL模倣剤（特にCETP阻害薬/モジュレーター）に対する治療応答の予測及びHDL上昇剤又はHDL模倣剤（特にCETP阻害薬/モジュレーター）を用いた患者の処置に有用である遺伝マーカー、一塩基多型（SNP）が見いだされた。

【0013】

本発明の遺伝子型決定法において検出された遺伝マーカーは、16番染色体上のアデニル酸シクラーゼ9型（ADCY9）遺伝子中に出現する15個のSNP、すなわちrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119及びrs13337675、特に、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターに対する応答と強く関連するrs1967309（ $P = 4.11 \cdot 10^{-8}$ ）を含む。

10

【0014】

本発明の他の遺伝子マーカーは、rs1967309と連鎖不平衡状態にあるか、又は $P < 0.05$ で関連シグナルを提供したADCY9遺伝子中のSNPであって、rs1967309の有用な代替バイオマーカーを提供しうるSNPを含む。一実施態様では、rs1967309と連鎖不平衡状態で遺伝したSNPからなる代替バイオマーカーが検出され、rs1967309の遺伝子型が推測される。

20

【0015】

本発明は、患者を遺伝子型決定して、HDL上昇薬、特にCETP阻害薬を用いて患者を処置する方法に関する。rs1967309での3つの遺伝子型AA、AG及びGGは、HDL上昇薬、特にCETP阻害薬に対する個体の応答を予測する。これらのうち、AA遺伝子型は、HDL上昇薬で処置された患者における治療応答改善に関連し、AG遺伝子型は、部分応答に関連し、GG遺伝子型は応答の欠如（無応答）に関連する。本発明のために、AA遺伝子型を保有する患者は、HDL上昇薬を用いた処置から恩恵を受けることができ、AG遺伝子型を保有する患者は、HDL上昇薬を用いた処置から恩恵を受けることができ、GG遺伝子型を保有する患者は、HDL上昇薬を用いた処置から恩恵を受けることができない。rs1967309での2つの遺伝子型AA及びAGは、心血管障害を有する患者におけるCETP阻害薬、特にダルセトラピブに対する治療応答を示す。特に、rs1967309についてのAA遺伝子型は、心血管障害を有する患者におけるCETP阻害薬、特にダルセトラピブに対する治療応答がより大きいことを示す。

30

【0016】

本発明は、多型又は遺伝子変異体を含む核酸分子、これらの核酸分子によってコードされる変異型タンパク質、多型核酸分子を検出するための試薬、並びに核酸分子及びタンパク質を使用する方法に加えて、それらの検出のために試薬（例えば、本発明の遺伝子型決定法に使用するためのプライマー及びプローブ）を使用する方法に関する。

【0017】

一実施態様では、本発明は、本発明の遺伝子変異体を検出する方法及びこれらの方法に使用するためのプローブ又はプライマーなどの検出試薬を提供する。

40

【0018】

本発明は、具体的には、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターに対する治療応答に関連する遺伝マーカー、及び本発明の遺伝子変異体を含む合成核酸分子（DNA及びRNA分子を含む）を提供する。本発明は、さらに、そのような遺伝子変異体を含む核酸分子によってコードされる変異型タンパク質、コードされる変異型タンパク質に対する抗体、新規な遺伝子変異体又はSNP情報を含むコンピューターベースのシステム及びデータ格納システム、被験試料中のこれらのSNPを検出する方法、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを投与されたときに、本発明の1つ以上の遺伝子変異体の存在若しくは不在又は1つ以上のコ

50

ードされる変異型産物 { 例えば、変異型 mRNA 転写物又は変異型タンパク質 } の検出に基づき治療的に応答する個体を同定する方法、並びに本発明の1つ以上の遺伝子変異体を保有する、心血管疾患を有する個体を処置する方法を提供する。

【0019】

本発明の例示的な実施態様は、さらに、治療計画を選択又は策定するための方法(例えば、個体にHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーター処置を施行するか否かを決定するための方法)を提供する。

【0020】

本発明の様々な実施態様は、また、個体の遺伝子型に基づきHDL上昇剤又はHDL模倣剤(特にCETP阻害薬/モジュレーター)が治療的に投与されうる個体を選択するための方法、及び個体の遺伝子型に基づき、特に、個体の遺伝子型がrs1967309でAAであるとき、HDL上昇剤又はHDL模倣剤(特にCETP阻害薬/モジュレーター)の臨床試験への参加について個体を選択する(例えば、個体の遺伝子型に基づき、正の応答をする可能性が最も高い個体を試験に参加するように選択し、かつ/若しくは処置に対して正の応答をする可能性がなさそうな個体を試験から除外する)ため、又は正の応答をする可能性がなさそうな個体を、彼らの利益となりうる代替薬の臨床試験への参加について選択するための方法を提供する。

10

【0021】

本発明の核酸分子を発現ベクターに挿入して、宿主細胞において変異型タンパク質を生産させることができる。したがって本発明は、また、本発明のSNP含有核酸分子を含むベクター、該ベクターを含有する遺伝子改変宿主細胞、及びそのような宿主細胞を使用して組換え変異型タンパク質を発現させるための方法を提供する。別の特定の実施態様では、宿主細胞、SNP含有核酸分子、及び/又は変異型タンパク質は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤(特にCETP阻害薬/モジュレーター)である治療剤をスクリーニング又は同定するための方法におけるターゲットとして使用することができる。

20

【0022】

ダルセトラピブに対する向上型応答を同定するための、本明細書提供の方法で決定/評価されうる例示的なADCY9のSNPは、突然変異が、配列番号1及び2に示すように、それぞれ識別子rs12595857及びrs1967309を有する一塩基多型としても公知である、位置4,062,592及び4,065,583(ゲノムアセンブリGRCh37.p5)でのヌクレオチド配列変化を招くSNPである。

30

【0023】

本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを用いた処置が心血管障害を有する患者に利益を与えるという可能性が高いことを予測する遺伝子多型の同定に基づく。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】本発明のSNPであるrs1967309及びrs12595857が、CETP阻害薬ダルセトラピブを用いて処置された患者における心血管イベント(主要複合イベント又は予期しない冠血行再建)の低減に強く関連することを示す図である。これらの図は、dal-OUTCOMES試験の処置群からの試料を用いたゲノムワイド関連研究(GWAS)の結果を示す。A欄は、16番染色体上のADCY9遺伝子領域に強いシグナルを有するロジスティック回帰のためのマンハッタンプロットを示す。各ドットは、処置の途中に心血管イベントを経験した参加者と、経験しなかった参加者を比較するためのP値を、性別及び遺伝的祖先についての5つの主成分について調整したものを表す。B欄は、ADCY9領域中の一塩基多型(SNP)についてのP値を示す。処置途中の心血管イベントと、rs1967309 SNPとの間、及びrs1967309と連鎖不平衡状態にある隣接SNP、rs12595857との間に強い関連がある。x軸は、16番染色体上のSNP位置(National Center for Biotechnology InformationアセンブリGRCh37.p5)を示す。左側y軸は、A欄に記載の心血管イベントと無イベントとの間の比較のた

40

50

めのP値の \log_{10} に-1をかけたものを示す。右側y軸は、16番染色体での組換え率を示す。菱形は、HapMapからの参照CEU試料から推定されたような、試料における連鎖不平衡(LD)の程度を示す。

【図2】ダルセトラピブ及びプラセボ処置群における試験中止までの心血管イベント(dal-OUTCOMESの主要複合イベント又は予期しない冠血行再建)の頻度を別々に、ADCY9遺伝子中のrs1967309遺伝子型別に示す図である。イベントのパーセンテージを95%CIと共に報告する。

【図3】心血管イベント(dal-OUTCOMESの主要複合イベント又は予期しない冠血行再建)の累積発生率を、ダルセトラピブ処置群及びプラセボ群について別々に、ADCY9遺伝子におけるrs1967309 SNPでの3つの遺伝子型(GG、AG、AA)別に層別化して示す図である。

【図4】24ヶ月の処置途中の遺伝子型に応じた脂質レベルの変化を示す図である。A欄。ダルセトラピブ処置群について、ADCY9のSNPであるrs1967309の遺伝子型の群別の、ベースラインから1ヶ月までの脂質値の変化の平均±SE(mg/dL)。脂質の変化と遺伝子型との間の単変量統計のためのP値を示す。B欄。処置群の患者についてのdal-OUTCOMES試験の経過観察期間途中のLDLコレステロールの絶対値についての平均±95%CI。P値は、多変量混合回帰モデルについての値である。

【図5】dal-Outcomeの遺伝子試験からの個体6297人並びに1000人ゲノム(1000 Genomes)データセットからのCEU創始者83人、JPT-CHB創始者186人及びYRI創始者88人についての76,854個のSNPからの最初の2次元(C1、C2)を示すMDSプロットを示す図である。

【図6】dal-Outcomeの遺伝子試験からの個体6297人並びに1000人ゲノムデータセットからのCEU創始者83人、JPT-CHB創始者186人及びYRI創始者88人についての76,854個のSNPからの主成分分析法からの最初の10成分によって説明される累積分散のプロットを示す図である。

【図7】MAF 0.05を有するSNPとのゲノムワイド関連についてヌル下での予想値に対する $-\log_{10}$ P実測値の分位数(QQ)を示す図である。網がけされた領域は、帰無仮説下での分布の2.5パーセントイル及び97.5パーセントイルを計算することによって形成された95%集中バンド(concentration band)である。点は、処置の途中に心血管イベントを経験した処置群中のdal-Outcome参加者と経験しなかった参加者との比較のためのPLINKでのロジスティック回帰からの順位付きP値を性別及び遺伝的祖先についての5つの主成分について調整したものを表す。

【図8】強く関連したSNP rs1967309周囲のADCY9遺伝子での連鎖不平衡パターン(r^2)を示すヒートプロットを示す図である。ブロック6、7、8及び9は、SNP rs12935810~SNP rs13337675の位置chr16:4049365からchr16:4077178(アセンブリGRCh37/hg19)に及び、rs1967309、と高い連鎖不平衡状態にある領域を示す。

【0025】

本発明の様々な特徴及び実施態様が本明細書に開示されるが、本発明の他の特徴、改変及び等価物は、提供される教示に基づき関連業者に明らかである。記載された本発明は、提供された実施例及び実施態様に限定されず、様々な代替物及び等価物が当業者によって認識されている。本明細書に使用される単数形「a」、「an」及び「the」は、文脈が明らかに別のことを指示しない限り複数を含む。例えば、「a細胞(cell)は、「(複数の)細胞(cells)」も含む。

【0026】

「アレル」は、所与の遺伝子の任意の1つ以上の選択的(alternative)形態として定義される。二倍体細胞又は生物において、アレル対のメンバー(すなわち所与の遺伝子の2つのアレル)は、相同染色体対上の対応する位置(ローカス)を占有し、これらのアレルが遺伝的に同一ならば、該細胞又は生物は、特定の遺伝子に関して「ホモ接合性」であると言われるが、遺伝的に異なるならば、該細胞又は生物は、「ヘテロ接合性」であると

10

20

30

40

50

言われる。

【 0 0 2 7 】

「遺伝子」は、特異機能的産物をコードする、特定の染色体上の特定位置にあるヌクレオチドの秩序化配列であり、コード領域近くの非翻訳配列及び比転写配列を含みうる。そのような非コード配列は、配列若しくはイントロン等の転写及び翻訳のために必要とされる調節配列を含有する場合があります、又は今までのところ対象となるSNPの出現を超えてそれらに起因する任意の機能を有する

【 0 0 2 8 】

「遺伝子型決定」は、個体がゲノム中の1つ以上の位置で保有する遺伝情報を決定することを表す。例えば、遺伝子型決定は、単一のSNPについて個体がどの1つ以上のアレルを保有するかを決定すること、又は複数のSNPについて個体がどの1つ以上のアレルを保有するかを決定することを含みうる。例えば、rs1967309でヌクレオチドは、ある個体においてA、他の個体においてGでありうる。該位置にAを有する個体は、Aアレルを有し、Gを有する個体はGアレルを有する。二倍体生物において、個体は、多型性位置を含有する配列の2つのコピーを有し、それで該個体は、Aアレル及びGアレル、又はAアレルのコピー2つ若しくはGアレルのコピー2つを有しうる。Gアレルのコピー2つを有する個体は、Gアレルについてホモ接合性であり、Aアレルのコピー2つを有する個体は、Aアレルについてホモ接合性であり、各アレルのコピー1つを有する個体は、ヘテロ接合性である。多くの場合、アレルは、Aアレル（多くの場合にメジャーアレル）及びBアレル（多くの場合にマイナーアレル）と呼ばれる。遺伝子型は、AA（ホモ接合性A）、BB（ホモ接合性B）又はAB（ヘテロ接合性）でありうる。遺伝子型決定法は、一般に、AA、BB又はABとしての試料の同定を提供する。

10

20

【 0 0 2 9 】

用語「含んでいる」は、組成物及び方法が、列挙された要素を含むが、他の要素を除外しないことを意味することが意図される。

【 0 0 3 0 】

「HDL上昇剤又はHDL模倣剤」は、以下のメカニズムのいずれか1つによってHDLレベルを増加させる化合物を表す：CETPの阻害/モデュレーション、PPARアゴニズム、LXRアゴニズム、HM74アゴニズム（ナイアシンレセプター）、甲状腺刺激ホルモンレセプターアゴニズム、リパーゼ及びHDLの異化の阻害薬、ApoA1誘導因子、細胞性脂質（コレステロール及び/又はリン脂質）の流出を増加させる化合物、抗酸化活性を有する化合物及び抗炎症活性を有する化合物などの、HDLアテローム形成抑制活性の少なくとも1つを提供する化合物。特にHDL模倣剤は、ApoA1及びApoA1誘導体（apoA1 Milano、ApoA1 Parisなど）、並びに他のアナログ、ApoA1及び/又はApoAIIと、リン脂質などの適切な脂質とを含有する再構成型HDL、両親媒性リポタンパク質のApoE誘導体、アナログ、及びペプチド模倣体である。「HDL上昇剤又はHDL模倣剤」の例は、ナイアシン、フィブラート、グリタゾン、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、DEZ-001（以前はTA-8995として公知）（田辺三菱製薬）、ATH-03（Affris）、DRL-17822（Dr. Reddy's）、DLBS-1449（Dexa Medica）、RVX-208（Resverlogix）、CSL-112（Cis Behring）、CER-001（Cerenis）、ApoA1-Milano（Medicine Company）である。「HDL上昇剤又はHDL模倣剤」の特定の例は、ナイアシン、フィブラート、グリタゾン、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、トルセトラピブ、好ましくはナイアシン、フィブラート、グリタゾン、ダルセトラピブ、アナセトラピブ又はエバセトラピブである。さらに特定すれば、HDL上昇剤又は模倣剤は、CETP阻害薬/モデュレーターより選択される。CETP阻害薬/モデュレーターの例は、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エバセトラピブ、DEZ-001（以前はTA-8995として公知）（田辺三菱製薬）、ATH-03（Affris）、DRL-17822（Dr. Reddy's）、DLBS-1449（Dexa Medica）である。さらに特定すれば、CETP阻害薬/モデュレーターの例は、ダルセトラピブ、アナセトラピブ、エ

30

40

50

バセトラピブ及びトルセトラピブ、好ましくはダルセトラピブ、アナセトラピブ及びエバセトラピブである。最も特定の、特にCETP阻害薬/モデュレーターがダルセトラピブであるとき、本発明によるHDL上昇剤又は模倣剤は、CETP阻害薬/モデュレーターを表す。

【0031】

「CETP阻害薬/モデュレーター」は、CETPを阻害すること及び/又はCETPポリペプチドに結合後にCETPポリペプチドのコンフォメーション変化を誘導することによってCETP活性を減少させる化合物を表す(標準的な転送アッセイ法により評価)。CETPポリペプチドのCETPコンフォメーション変化は、CETP活性がHDL粒子の間を進行することを可能にし、発生のプレHDL形成の産生を増加させることによ

10

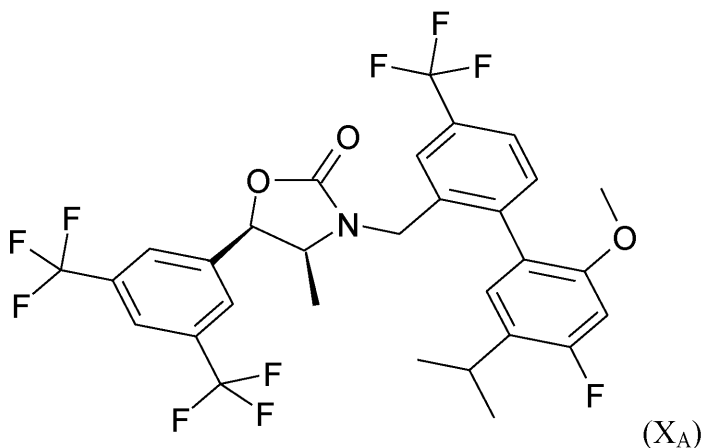
ってそのリサイクリング/代謝回転を増加させる。好ましくは、CETP阻害薬/モデュレーターは、CETPポリペプチドのシステイン13に結合する全ての化合物を表す。より好ましくは、「CETP阻害薬/モデュレーター」は、S-[2-[1-(2-エチルブチル)シクロヘキシルカルボニルアミノ]-フェニル]2-メチルチオプロピオナート、1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボン酸(2-メルカプト-フェニル)-アミド及び/又はビス[2-[1-(2-エチルブチル)シクロヘキシルカルボニルアミノ]フェニル]ジスルフィドより選択される。最も好ましくは、「CETP阻害薬/モデュレーター」は、プロドラッグとしてのS-[2-[1-(2-エチルブチル)シクロヘキシルカルボニルアミノ]-フェニル]2-メチルチオプロピオナート又はその活性代謝物としての1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボン酸(2-メルカ

20

プト-フェニル)-アミドである。

【0032】

「アナセトラピブ」は、MK0859、CAS875446-37-0又は式(X_A)【化1】



で示される化合物としても公知の((4S, 5R)-5-[3, 5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]-3-{[4'-フルオロ-2'-メトキシ-5'-(プロパン-2-イル)-4-(トリフルオロメチル)[1, 1'-ビフェニル]-2-イル]メチル}-4-メチル-1, 3-オキサゾリジン-2-オン)を表す。

40

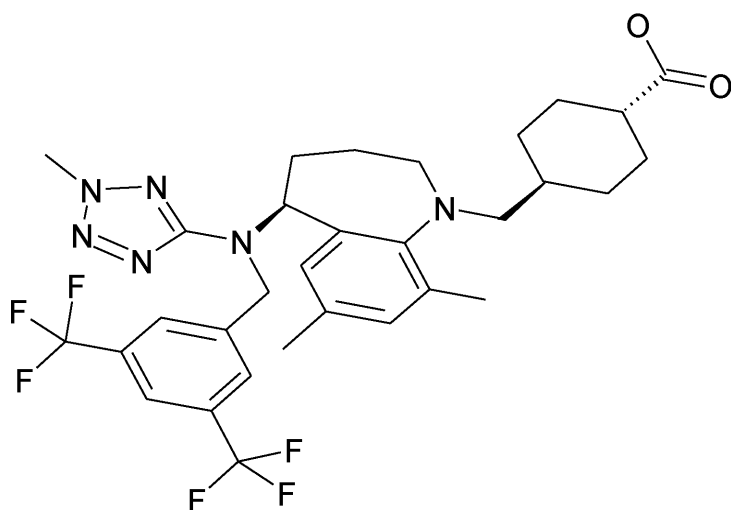
【0033】

アナセトラピブ並びに該化合物を製造及び使用する方法は、国際公開公報第2006/014413号、国際公開公報第2006/014357号、国際公開公報第2007005572号に記載されている。

【0034】

「エバカトラピブ(evacatrapib)」は、LY2484595、CAS1186486-62-3又は式(X_B)

【化2】



(XB)

10

で示される化合物としても公知の *trans*-4-({(5*S*)-5-[{[3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]メチル}(2-メチル-2*H*-テトラゾール-5-イル)アミノ]-7,9-ジメチル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1*H*-ベンゾアゼピン-1-イル)メチル)シクロヘキサンカルボン酸を表す。

20

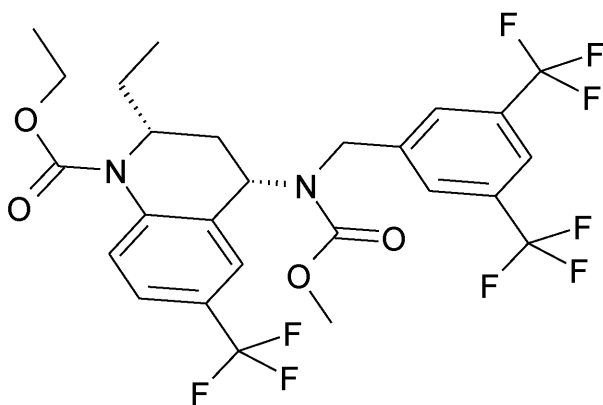
【0035】

エバカトラピブ並びに該化合物を製造及び使用する方法は、国際公開公報第2011002696号に記載されている。

【0036】

「トルセトラピブ」は、CP-529,414、CAS 262352-17-0又は式(X_c)

【化3】



(Xc)

30

で示される化合物としても公知の(2*R*,4*S*)-4-[(3,5-ビストリフルオロメチルベンジル)メトキシカルボニルアミノ]-2-エチル-6-トリフルオロメチル-3,4-ジヒドロ-2*H*-キノリン-1-カルボン酸エチルエステルを表す。

40

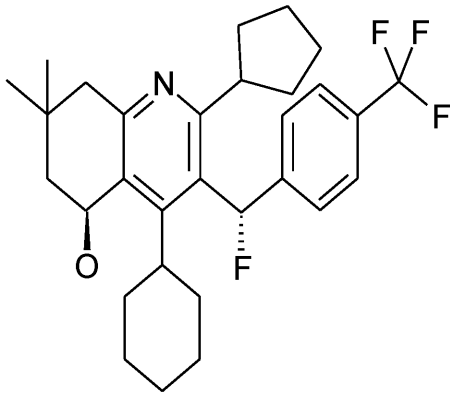
【0037】

トルセトラピブ及び該化合物を製造及び使用する方法は、国際公開公報第0017164号又は国際公開公報第0140190号に記載されている。

【0038】

「BAY60-5521」は、CAS 893409-49-9又は式(X_D)

【化4】

(X_D)

10

で示される化合物としても公知の(5S)-5-キノリノール、4-シクロヘキシル-2-シクロペンチル-3-[(S)-フルオロ[4-(トリフルオロメチル)フェニル]メチル]-5,6,7,8-テトラヒドロ-7,7-ジメチル-を表す。

【0039】

BAY60-5521並びに該化合物を製造及び使用する方法は、国際公開公報第2006063828号に記載されている。

20

【0040】

「処置」は、治療的処置と予防策又は防止策との両方を表す。処置を必要とする者は、すでに障害を有する者及び障害が予防又は遅延されるべき者を含む。

【0041】

用語「多型」、「多型部位」、「多型性部位」又は「一塩基多型部位」(SNP部位)又は「一塩基多型」は、母集団内で変動する、遺伝子配列中の位置を表す。多型は、最もまれな形態の存在が突然変異だけでは説明できない頻度で、母集団において2つ以上の形態の遺伝子又は遺伝子「アレル」内の位置が出現することである。好ましい多型性部位は、少なくとも2つのアレルを有する。意味は、多型性アレルが宿主にある程度の表現型の変動性を付与するということである。多型は、遺伝子のコード領域と非コード領域との両方に出現しうる。多型は、単一ヌクレオチド部位に出現することがあり、又は挿入若しくは欠失を伴いうる。そのような多型の位置は、遺伝子中、染色体上、若しくはその転写物上のヌクレオチド位置によって、又はヌクレオチド多型によって変化されるアミノ酸によって同定することができる。個別の多型は、また、当業者に公知の独特な識別子(「参照SNP」、「refSNP」又は「rs#」)が割り当てられ、例えばNCBIウェブサイト入手可能なヌクレオチド配列変異の一塩基多型データベース(dbSNP)に利用される。

30

【0042】

用語「連鎖不平衡」又は「連鎖不平衡状態にある」又は「LD」は、個体の集団におけるアレルの非ランダムな関連を表し、言い換えると、それは、特定の多型性形態が偶然から予想されるよりも高い頻度で異なる染色体位置に別の多型性形態と優先的に分離することである。反対に、予想される頻度で同時出現するアレルは、「連鎖平衡」状態にあると言われる。

40

【0043】

「rs」という接頭辞は、NCBIのSNPデータベース<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term>で見いだされるデータベース中のSNPを表す。「rs」番号は、NCBIのrsSNP ID形式である。

【0044】

用語「試料」は、細胞、組織試料又は体液を含む、患者又は個体から採取された任意の生物学的試料を含む。例えば、試料は、皮膚試料、頬細胞試料、唾液又は血液細胞を含み

50

うる。試料は、非限定的に、単一細胞、複数の細胞、細胞フラグメント、体液の一部、全血、血小板、血清、血漿、赤血球、白血球、内皮細胞、組織生検材料、滑液及びリンパ液を含みうる。特に「試料」は、血液細胞を表す。

【0045】

用語「治療剤」は、心血管障害を治療又は予防することができる薬剤を表す。本明細書に使用される「心血管障害を治療又は予防することができる」薬剤は、心血管障害のヒト及び/又は細胞若しくは動物モデルにおいて該心血管障害を治療及び/又は予防することができる分子を表す。

【0046】

本明細書に使用される「応答向上型(improved response)多型」、「応答向上型遺伝子型」又は「応答性遺伝子型」は、対象がHDL上昇剤又はHDL模倣剤の投与に対してより小さく応答することを予測するアレル変異体又は遺伝子型又は多型(例えばrs1967309/AG又はrs1967309/GG)と比較した、対象がHDL上昇剤又はHDL模倣剤を用いた処置から治療的に応答して恩恵を受けることを予測する(これは、心血管イベント数の減少によって測定することができる)、本明細書記載のADCY9遺伝子内の1つ以上の多型性部位でのアレル変異体又は遺伝子型(例えば、rs1967309/AA)を表す。「低減した応答」、「部分応答」、「無応答」又は「治療有効性の欠如」は、「応答向上型遺伝子型」を有する対象に比べて心血管イベント数の相対的増加によって測定することができる。あるいは、「応答向上型」、「応答者」又は「治療有効性」は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤に対する「無応答」又は「部分応答」に関連する多型を保有する対象に比べた、心血管イベント数の相対的減少によって測定することができる。特に、rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/AAは、応答向上型遺伝子型である。さらに特定すれば、rs1967309/AAは応答向上型遺伝子型である。

【0047】

本明細書に使用される「心血管イベント」は、心血管死、非致死性心筋梗塞(MI)、虚血に起因する非致死性卒中、不安定狭心症及び冠血行再建のための入院を表す。

【0048】

本明細書に使用される「オリゴヌクレオチド」は、多様な長さの核酸又はポリヌクレオチドである。そのようなオリゴヌクレオチドは、特異的核酸の検出及び/又は増幅のためのプローブ及びプライマーとして、並びにマイクロアレイ(アレイ)の製造に有用でありうる。そのようなDNA又はRNA鎖は、不溶性支持体に連結されうる成長鎖への活性化モノマーの連続付加(5'-3'又は3'-5')によって合成することができる。その後の個別の使用のために、又は例えばアレイにおける不溶性支持体の一部としてオリゴヌクレオチドを合成するために、数多くの方法が当技術分野において公知である(BERNFIELD MR. and ROTTMAN FM. J. Biol. Chem. (1967) 242(18):4134-43; SULSTON J. et al. PNAS (1968) 60(2):409-415; GILLAM S. et al. NucleicAcidRes.(1975) 2(5):613-624; BONORA GM. et al. NucleicAcidRes.(1990) 18(11):3155-9; LASHKARI DA. et al. PNAS (1995) 92(17):7912-5; MCGALL G. et al. PNAS (1996) 93(24): 13555-60; ALBERT TJ. et al. Nucleic Acid Res.(2003) 31(7):e35; GAO X. et al. Biopolymers (2004) 73(5): 579-96; 及びMOORCROFT MJ. et al. Nucleic Acid Res.(2005) 33(8):e75)。一般に、オリゴヌクレオチドは、使用されている方法に応じて、多様な条件下で、活性化及び保護されたモノマーの段階的付加を通じて合成される。続いて、特異的保護基を除去してさらなる伸長を可能にすることができ、続いて合成が完了した後に、全ての保護基を除去することができ、オリゴヌクレオチドが、その固体支持体から除去され、所望により完全鎖の精製に供される。

10

20

30

40

50

【0049】

用語「遺伝子型」は、通常、1つの遺伝子又は少数の遺伝子又は特定の状況に関連する遺伝子領域（すなわち特定の表現型の原因となるローカス）に関する生物の遺伝子構成を表す。特に、例えば rs1967309 SNPの可能な遺伝子型である遺伝子型 AA、AG、又は GG などの、遺伝子中の所与の位置でのアレルの特異的組み合わせである。

【0050】

「表現型」は、生物の観察可能な性質として定義される。表1に、ADCY9 SNPについて、HDL上昇剤又はHDL模倣剤を用いた心血管障害の処置に対する応答性の指標を表す値との遺伝子型の対比を示す。

【0051】

本明細書に使用される用語「バイオマーカー」は、特定の変異型アレル（SNPなどの多型性部位）又は野生型アレルの配列特性を表す。バイオマーカーは、また、特定の変異型又は野生型アレルによってコードされるペプチド又はエピトープを表す。

【0052】

本明細書に使用される用語「代替マーカー」は、本発明の応答向上型遺伝子型、特に rs1967309 AAと連鎖不平衡状態で存在するSNPを含む遺伝子変異体を表す。

【0053】

本明細書に使用される用語「遺伝マーカー」は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特に CETP阻害薬/モデュレーターに対する応答に関連する特定の遺伝子の多型性部位の変異体を表す。特に、本明細書に使用される「遺伝マーカー」は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特に CETP阻害薬/モデュレーターに対する応答に関連する、ADCY9遺伝子における多型性部位の変異体を表す。

【0054】

本明細書記載のある方法では、1つ以上のバイオマーカーが、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特に CETP阻害薬/モデュレーターを用いた処置から恩恵を受けるであろう個体を同定又は選択するために使用される。本発明に使用するためのSNPバイオマーカーは、処置に対する治療応答（R）又は処置に対する無応答（NR）のいずれかを予測することができる。表2に、dal-Outcome cohortで観察された、多型性部位 rs1967309に存在する遺伝子型を示すが、それらの遺伝子型は、ダルセトラピブ又はHDL上昇剤若しくはHDL模倣剤、特に他のCETP阻害薬/モデュレーターに対する応答を予測するためのバイオマーカーとして使用することができる。表2又は3に示される各遺伝子型は、単独で、又は他の多型性部位での遺伝子型と組み合わせ、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特に CETP阻害薬/モデュレーター）に対する応答を予測するためのバイオマーカーとして使用することができる。

【0055】

10

20

30

【表 2】

表 2: HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を用いた処置に対する遺伝マーカー及び予測される応答

SNP	遺伝子型	処置に対する応答性
rs1967309	AA	R
rs1967309	AG	PR
rs1967309	GG	NR

10

R: 応答性

PR: 部分応答性

NR: 無応答性

【 0 0 5 6 】

【表 3】

表 3: HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を用いた処置に対する遺伝マーカー及び予測される応答

SNP	遺伝子型	処置に対する応答性
rs12595857	AA	NR
rs12595857	AG	PR
rs12595857	GG	R

20

R: 応答性

PR: 部分応答性

NR: 無応答性

【 0 0 5 7 】

30

【表 4】

表 4: HDL 上昇剤又は HDL 模倣剤を用いた処置に対する遺伝マーカー及び予測される応答

SNP	遺伝子型	処置に対する応答性
rs111590482	AA	NR
	AG	R
	GG	R
rs11647828	AA	NR
	AG	PR
	GG	R
rs12935810	GG	R
	GA	NR
	AA	NR
rs13337675	AA	NR
	AG	PR
	GG	PR
rs17136707	AA	NR
	AG	PR
	GG	R
rs2239310	AA	NR
	AG	PR
	GG	R
rs2283497	CC	NR
	CA	PR
	AA	R
rs2531967	GG	NR
	GA	PR
	AA	R
rs3730119	GG	NR
	GA	PR
	AA	R
rs4786454	GG	NR
	GA	PR
	AA	R
rs74702385	GG	NR
	GA	R
	AA	R
rs8049452	GG	R
	GA	PR
	AA	NR
rs8061182	AA	R
	AG	PR
	GG	NR

R: 応答性

PR: 部分応答性

NR: 無応答性

【 0 0 5 8 】

10

20

30

40

50

rs1967309及びrs12595857の両方は、ADCY9遺伝子発現に調節活性を有することに一致する領域中である、ADCY9遺伝子のイントロン（非コード）領域に位置する。

【0059】

本明細書に記載されたある方法では、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モデュレーターを用いた処置に対して治療的に応答する個体は、本発明の遺伝子型決定法を使用する処置のために同定及び選択される。特に、以下の応答向上型遺伝子型の1つ以上を保有する患者が、本発明の方法における処置のために選択される：rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/AA。さらに特定すれば、rs12595857/GG又はrs1967309/AA遺伝子型を保有する患者が、本発明の方法における処置のために選択される：最も特定すれば、rs1967309/AA遺伝子型を保有する患者が、本発明の方法における処置のために選択される。

10

【0060】

別の実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤から恩恵を受けている対象を同定するための方法であって、ADCY9遺伝子における1つ以上の多形性部位での該対照の遺伝子型を決定すること（例えば遺伝子型決定）を含む方法を提供する。

20

【0061】

別の実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬に対する個体の応答性を決定するための方法であって、本明細書開示の1つ以上のプライマー又はプローブを使用して、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448の1つ以上で前記対象の遺伝子型を決定すること（例えば遺伝子型決定）を含む方法を提供する。

30

【0062】

別の実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬に対する個体の応答性を決定するための方法であって、本明細書開示の1つ以上のプライマー又はプローブを使用して、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967又はrs3730119、rs13337675の1つ以上で前記対象の遺伝子型を決定すること（例えば遺伝子型決定）を含む方法を提供する。

40

【0063】

特定の一実施態様では、本発明は、多型性部位が、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448からなる群より選ばれる、以下の部位の1つ以上を含む、特に多型性部位が、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs228

50

3497、rs2531967、rs3730119及びrs13337675からなる群より選択される、さらに特定すれば、多型性部位がrs1967309又はrs12595857である、さらに特定すれば多型性部位がrs1967309である、特に対応する遺伝子型がAAを含む、本明細書記載の方法を提供する。

【0064】

特定の一実施態様では、本発明は、特に、多型性部位が、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119及びrs13337675からなる群より選ばれる、さらに特定すれば、多型性部位がrs1967309又はrs12595857である、さらに特定すれば、多型性部位がrs1967309である、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448からなる群より選択される1つ以上の多型性部位を遺伝子型決定する方法を提供する。

10

【0065】

特定の一実施態様では、本発明は、rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/AAの1つ以上を保有する対象が、HDL上昇剤又はHDL模倣剤を用いた処置から恩恵を受ける方法、特に、HDL上昇剤又はHDL模倣剤がCETP阻害薬/モデュレーターであり、さらに特定すれば、HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、S-(2-{[1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボニル]-アミノ}-フェニル)エステルである、方法を提供する。特定の実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤が該対象に投与される方法を提供する。

20

30

【0066】

特定の一実施態様では、本発明は、rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/AAの1つ以上を保有する対象が、HDL上昇剤又はHDL模倣剤で処置され、特に、HDL上昇剤又はHDL模倣剤がCETP阻害薬/モデュレーターであり、さらに特定すれば、HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、S-(2-{[1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボニル]-アミノ}-フェニル)エステルである、方法を提供する。

40

【0067】

特定の実施態様では、本発明は、対象が心血管障害を有し、特に、心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択され、さらに特定すれば、心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動

50

脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症 (hyperlipidoprotein emia)、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、方法を提供する。

【0068】

別の実施態様では、本発明は、心血管障害の処置を必要とする対象においてそれを処置する方法であって、

(a) 以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448の1つ以上で応答向上型遺伝子型を有する対象を選択すること；

(b) 該対象にHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを投与すること

を含む方法を提供する。

【0069】

別の実施態様では、本発明は、心血管障害の処置を必要とする対象においてそれを処置する方法であって、

(a) 以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675の1つ以上で応答向上型遺伝子型を有する対象を選択すること；

(b) 該対象にHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを投与すること

を含む方法を提供する。

【0070】

特定の一実施態様では、本発明は、心血管障害の処置を必要とする対象においてそれを処置する方法であって、

(a) rs1967309で応答向上型多型を有する対象、特にrs1967309でAA遺伝子型を有する対象を選択すること；

(b) 該対象にHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを投与すること

を含む方法を提供する。

【0071】

別の実施態様では、本発明は、心血管障害の処置を必要とする対象においてそれを処置する方法であって、

(a) 以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448の1つ以上で対象を遺伝子型決定すること；

(b) 該対象にHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを投与すること

を含む方法を提供する。

【0072】

別の実施態様では、本発明は、心血管障害の処置を必要とする対象においてそれを処置する方法であって、

(c) 以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、

rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675の1つ以上で対象を遺伝子型決定すること；

(d) 該対象にHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モデュレーターを投与すること

を含む方法を提供する。

【0073】

本発明は、また、

a. rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG及びrs8061182/AAからなる群より選択される1つ以上の遺伝マーカーの存在について患者の試料を分析すること、並びに

b. 該遺伝マーカーの1つ以上を保有する患者を、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モデュレーターを用いて処置すること

を含む、患者を処置する方法を提供する。

【0074】

特定の一実施態様では、本発明は、遺伝子型がrs1967309、rs12595857より選択される1つ以上の部位で決定される方法を提供する。

【0075】

特に、

a. 遺伝物質を含む試料を個体から得ること；

b. 試料を試薬と接触させること、試薬と表7より選択される遺伝マーカーとの間で複合体を生成させること；

c. 複合体を検出して、試料に関連するデータセットを得ること、及び

d. データセットを分析して、遺伝マーカーの存在又は不在を決定すること

を含む、HDL上昇薬に対する個体の応答性を決定する方法。

【0076】

提供された遺伝子型決定法において生成された、試薬と遺伝マーカーとの間の複合体は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)又はDNA配列決定のいずれかによって生成させることができる。

【0077】

本発明は、rs12595857/GG；rs1967309/AA；rs111590482/AG；rs111590482/GG；rs11647828/GG；rs12935810/GG；rs17136707/GG；rs2239310/GG；rs2283497/AA；rs2531967/AA；rs3730119/AA；rs4786454/AA；rs74702385/GA；rs74702385/AA；rs8049452/GG；rs8061182/AA；rs1967309/GA、rs12595857/AG、rs13337675/AG、rs13337675/GG、rs17136707/AG、rs2239310/AG、rs2283497/CA、rs2531967/GA、rs3730119/GA、rs4786454/GA、rs8049452/GA、rs8061182/AG、rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/A

10

20

30

40

50

A、rs12935810/GA、rs12935810/AA、rs11647828/AA、rs2531967/GG、rs3730119/GG、rs2239310/AA、rs12595857/AA、rs111590482/AA、rs74702385/GG、rs1967309/GG、rs2283497/CC、rs8061182/GG、rs17136707/AA、rs8049452/AA、rs4786454/GG、rs13337675/AA及びrs11647828/AGからなる群より選択される遺伝マーカーを遺伝子型決定するための試薬、特にプライマー又はプローブを提供する。

【0078】

特定の一実施態様では、プライマーはDNA鎖を含み、該DNA鎖は、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下でrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448に隣接する16番染色体領域とハイブリダイゼーションする。

10

【0079】

特定の一実施態様では、プライマーはDNA鎖を含み、該DNA鎖は、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下でrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119又はrs13337675に隣接する16番染色体領域とハイブリダイゼーションする。

20

【0080】

別の実施態様では、試薬は、DNA鎖を含むプライマーであり、該DNA鎖は、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下でrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448とオーバーラップする16番染色体領域とハイブリダイゼーションする。

30

【0081】

別の実施態様では、試薬はDNA鎖を含むプライマーであり、該DNA鎖は、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下でrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119又はrs13337675とオーバーラップする16番染色体領域とハイブリダイゼーションする。

40

【0082】

別の実施態様では、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下でrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675、rs12920508、rs12599911、rs2531971又はrs2238448とオーバーラップする16番染色体領域とハイブリダイゼーションするものを含むプロー

50

ブ。

【0083】

別の実施態様では、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下で rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119又はrs13337675とオーバーラップする16番染色体領域とハイブリダイゼーションするものを含むプローブ。

【0084】

別の実施態様では、15～30ヌクレオチド長であり、高ストリンジェンシー条件下で配列番号1～配列番号15より選択されるオリゴヌクレオチドとハイブリダイゼーションするものを含むプローブ。

【0085】

特定の一実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤がCETP阻害薬/モジュレーターであり、特に、HDL上昇剤又はHDL模倣剤がS-(2-{[1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサンカルボニル]-アミノ}-フェニル)エステルである方法を提供する。

【0086】

なお別の実施態様では、本発明は、処置される対象が、以下の部位：rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119又はrs13337675の1つ以上で応答向上型遺伝子型を有する、心血管障害の処置のための医薬の製造におけるHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターの使用を提供する。

【0087】

特定の一実施態様では、本発明は、処置される対象が、rs1967309で応答向上型多型を有する、本明細書において同義の使用を提供する。

【0088】

別の実施態様では、本発明は、処置される対象は、rs12595857/GG；rs1967309/AA；rs111590482/AG；rs111590482/GG；rs11647828/GG；rs12935810/GG；rs17136707/GG；rs2239310/GG；rs2283497/AA；rs2531967/AA；rs3730119/AA；rs4786454/AA；rs74702385/GA；rs74702385/AA；rs8049452/GG；rs8061182/AA；rs1967309/GA、rs12595857/AG、rs13337675/AG、rs13337675/GG、rs17136707/AG、rs2239310/AG、rs2283497/CA、rs2531967/GA、rs3730119/GA、rs4786454/GA、rs8049452/GA、rs8061182/AG、rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/AA、rs12935810/GA、rs12935810/AA、rs11647828/AA、rs2531967/GG、rs3730119/GG、rs2239310/AA、rs12595857/AA、rs111590482/AA、rs74702385/GG、rs1967309/GG、rs2283497/CC、rs8061182/GG、rs17136707/AA、rs8049452/AA、rs4786454/GG、rs13337675/AA及びrs

10

20

30

40

50

11647828 / AGより選択される1つ以上の遺伝マーカーを保有する、心血管障害の処置に使用するためのHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを提供する。

【0089】

特定の一実施態様では、本発明は、処置される対象が、応答向上型遺伝子型1967309を保有する、心血管障害の処置に使用するためのHDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを提供する。特定の一実施態様では、本発明は、遺伝子型がAAである、本明細書において同義のHDL上昇剤又はHDL模倣剤を提供する。

【0090】

特定の一実施態様では、本発明は、心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、本明細書記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤を提供する。

10

【0091】

特定の一実施態様では、本発明は、心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、本明細書記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤を提供する。

20

【0092】

特定の一実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又は模倣剤が、HDL上昇剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターであり、さらに特定すれば - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステルである、本明細書記載のHDL上昇剤又はHDL模倣剤を提供する。

【0093】

別の実施態様では、本発明は、特に、遺伝子型が、rs12595857 / GG、rs1967309 / AA、rs111590482 / AG、rs111590482 / GG、rs11647828 / GG、rs12935810 / GG、rs17136707 / GG、rs2239310 / GG、rs2283497 / AA、rs2531967 / AA、rs3730119 / AA、rs4786454 / AA、rs74702385 / GA、rs74702385 / AA、rs8049452 / GG又はrs8061182 / AAであり、さらに特定すれば、遺伝子型が、rs1967309 / AAである、応答向上型遺伝子型を保有する、心血管障害を有する患者を処置するためのS - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステルを提供する。

30

【0094】

特定の一実施態様では、本発明は、心血管障害が、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される、応答向上型遺伝子型を保有する、心血管障害を有する患者を処置するためのS - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステルを提供する。

40

【0095】

特定の一実施態様では、本発明は、心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される、応答向上型遺伝子型

50

を保有する、心血管障害を有する患者を処置するための S - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ } - フェニル) エステルを提供する。

【 0 0 9 6 】

別の実施態様では、本発明は、心血管障害の患者が、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モデュレーターを用いた処置から恩恵を受ける可能性が高いかどうかを予測する方法であって、該患者から単離された試料を、rs12595857/GG、rs1967309/AA、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8061182/AAより選択されるアデニル酸シクラーゼ9型遺伝子(ADCY9)中の遺伝マーカーについてスクリーニングすることを含む方法を提供し、その際、該患者は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤を用いた該処置から恩恵を受ける可能性が高い。特定の一実施態様では、スクリーニングされる遺伝マーカーは、rs12595857/GG; rs1967309/AAより選択される。さらに特定すれば、スクリーニングされる遺伝マーカーは、rs1967309/AAである。

10

【 0 0 9 7 】

さらなる一実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤を含む治療に応答する可能性があるとして、心血管障害を有する患者を選択する方法であって、
(a) 患者由来の試料中からrs1967309でAA遺伝子型を検出すること、
(b) AA遺伝子型を有するrs1967309が患者由来の試料中から検出されるとき、HDL上昇剤又はHDL模倣剤を含む治療に応答する可能性がより高いとして患者を選択すること
を含む方法を提供する。

20

【 0 0 9 8 】

特定の一実施態様では、本発明は、参照試料中にrs1967309でAA遺伝子型が存在することは、患者がHDL上昇剤又はHDL模倣剤を用いた治療に応答する可能性がより高いことを示す、本明細書記載の方法を提供する。

【 0 0 9 9 】

特定の一実施態様では、本発明は、c) HDL上昇剤又はHDL模倣剤を含む治療を選択することをさらに含む、本明細書記載の方法を提供する。

30

【 0 1 0 0 】

特定の一実施態様では、本発明は、rs1967309を検出することが、患者由来の試料中からrs1967309を検出すること、rs1967309に結合する試薬と試料を接触させること、それによって試薬とrs1967309との間の複合体を形成させること、形成された複合体を検出すること、及びそれによってrs1967309を検出することによって行われる、本明細書記載の方法を提供する。

【 0 1 0 1 】

別の実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又は模倣剤に対する遅延型臨床応答、部分的最適以下の臨床応答、又は臨床応答欠如に関連する、患者のADCY9遺伝子における少なくとも1つの多型の存在が決定され、少なくとも1つの、その際少なくとも1つの最初の多型rs1967309が決定される、該HDL上昇剤又はHDL模倣剤に対するヒト患者における臨床応答の予後を決定するための方法を提供する。

40

【 0 1 0 2 】

特定の一実施態様では、本発明は、多型が遺伝子型決定解析によって決定される、本明細書記載の方法を提供する。

【 0 1 0 3 】

特定の一実施態様では、本発明は、遺伝子型決定解析が、マイクロアレイ解析又は質量分析又は多型特異的プライマー及び/若しくはプローブの使用、特にプライマー伸長反応

50

を含む、本明細書記載の方法を提供する。

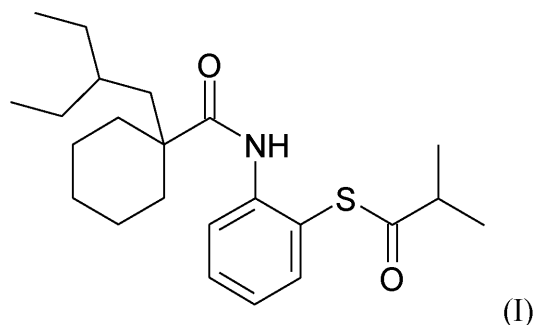
【0104】

特定の一実施態様では、本発明は、HDL上昇剤又はHDL模倣剤が、HDL上昇剤、特にCETP阻害薬/モデュレーター、さらに特定すればS - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ} - フェニル) エステルである、本明細書記載の方法を提供する。

【0105】

特定の一実施態様では、「CETP阻害薬/モデュレーター」は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート、ダルセトラピブ又は式I

【化5】



で示される化合物としても公知のチオイソ酪酸S - (2 - { [1 - (2 - エチル - ブチル) - シクロヘキサンカルボニル] - アミノ} - フェニル) エステルである。

【0106】

S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) シクロヘキシル] カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアートは、ヒト (de Grooth et al., Circulation, 105, 2159-2165 (2002)) 及びウサギ (Shinkai et al., J. Med. Chem., 43, 3566-3572 (2000); Kobayashi et al., Atherosclerosis, 162, 131-135 (2002); 及びOkamoto et al., Nature, 406 (13), 203-207 (2000)) においてCETP活性の阻害薬であると示されている。S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) シクロヘキシル] カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアートは、ヒト (de Grooth et al., 前記) 及びウサギ (Shinkai et al., 前記; Kobayashi et al., 前記; Okamoto et al., 前記) において血漿HDLコレステロールを増加させることが示されている。さらに、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) シクロヘキシル] カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアートは、ヒト (de Grooth et al., 前記) 及びウサギ (Okamoto et al., 前記) においてLDLコレステロールを減少させることが示されている。S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) シクロヘキシル] カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート並びに該化合物を製造及び使用する方法は、EP1020439、Shinkai et al., J. Med. Chem. 43:3566-3572 (2000)又は国際公開公報第2007/051714号、国際公開公報第2008/074677号若しくは国際公開公報第2011/000793号に記載されている。

【0107】

好ましい一実施態様では、CETP阻害薬/モデュレーター (例えば式Iで示される化合物) は、結晶又は無定形形態の、より好ましくは結晶形態の固体である。特定の一実施態様では、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアートは、国際公開公報第2012/069087号に開示されているように結晶形態Aである。形態Aは、約7.9°、8.5°、11.7°、12.7°、17.1°、18.0°、18.5°、20.2°、22.1°、24.7° ± 0.2°にピークを有する粉末X線回折パターンによって、特に回折角2θが7.9°、11.7°、17.1°、18.5° (± 0.2°) で観察されるX

10

20

30

40

50

R P D ピークによって特徴付けられる。

【 0 1 0 8 】

当技術分野において公知で、本発明に有用な他の C E T P 阻害薬は、エバセトラピブ、アナセトラピブ及びトルセトラピブ、特にエバセトラピブ及びアナセトラピブを含む。

【 0 1 0 9 】

したがって、本発明は、哺乳動物における心血管障害の治療又は予防のための方法であって、哺乳動物（好ましくはそれを必要とする哺乳動物）に治療有効量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。哺乳動物は、好ましくは、ヒト（すなわち男性又は女性のヒト）である。ヒトは、任意の人種でありうる（例えば白人又は東洋人）。

【 0 1 1 0 】

心血管障害は、好ましくは、哺乳動物におけるアテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、及び糖尿病、肥満又は内毒血症の血管合併症からなる群より選択される。より好ましくは、心血管障害は、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、低リポタンパク血症、高リポタンパク血症、高コレステロール血症、高脂血症、アテローム動脈硬化症、高血圧症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、末梢血管疾患、狭心症、虚血、及び心筋梗塞からなる群より選択される。

【 0 1 1 1 】

本発明のある実施態様では、対象は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート 1 0 0 mg から 6 0 0 mg の間を投与される。特に、対象は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート 1 5 0 mg から 4 5 0 mg の間を投与される。さらに特定すれば、対象は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート 2 5 0 mg から 3 5 0 mg の間を投与される。最も特定すれば、対象は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート 2 5 0 mg から 3 5 0 mg の間を投与される。

【 0 1 1 2 】

本発明の別の実施態様では、小児への使用のための対象は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート 2 5 mg から 3 0 0 mg の間を投与される。特に、小児への使用のための対象は、S - [2 - ([[1 - (2 - エチルブチル) - シクロヘキシル] - カルボニル] アミノ) フェニル] 2 - メチルプロパンチオアート 7 5 mg ~ 1 5 0 mg を投与される。

【 0 1 1 3 】

C E T P 阻害薬は、（例えば治療有効量を達成するために）任意の適切な投薬量で哺乳動物に投与することができる。例えば、患者に投与するための化合物 I の治療有効量の適切な用量は、1日約 1 0 0 mg から約 1 8 0 0 mg の間である。望ましい用量は、好ましくは 1 日約 3 0 0 mg ~ 約 9 0 0 mg である。好ましい用量は、1日約 6 0 0 mg である。

【 0 1 1 4 】

遺伝子型決定法

試料中の特定の遺伝子型の同定は、当業者に周知のいくつかの方法のいずれかによって行うことができる。例えば、多型の同定は、アレルをクローニングすること及び当技術分野において周知の技法を使用してそれを配列決定することによって果たすことができる。あるいは、遺伝子配列は、例えば P C R を使用して、ゲノム D N A から増幅することができ、産物が配列決定される。ポリメラーゼ連鎖反応（P C R）、ライゲーション連鎖反応（ligation chain reaction）（L C R）又はライゲーション増幅及び自家持続配列複製法などの増幅法を含む、対象の D N A を単離し、所与の遺伝マーカーについて分析するための多数の方法が当技術分野において公知である。所与の遺伝子ローカスで突然変異につ

10

20

30

40

50

いて患者のDNAを分析するためのいくつかの非限定的な方法を、下述する。

【0115】

DNAマイクロアレイ技法、例えば、ハイスループットスクリーニング適用のためのDNAチップデバイス及び高密度マイクロアレイ並びに低密度マイクロアレイが使用される。マイクロアレイの製作方法は、当技術分野において公知であり、様々なインクジェット及びマイクロジェット系沈着又はスポットティングの技法及び工程、その場又はオンチップフォトリソグラフィオリゴヌクレオチド合成工程、並びに電子DNAプローブアドレスング工程を含む。DNAマイクロアレイハイブリダイゼーション適用は、遺伝子発現解析並びに点突然変異、一塩基多型(SNP)、及び短反復配列(STR)についての遺伝子型決定の領域にうまく適用されている。追加的な方法は、干渉性RNAマイクロアレイ、並びにマイクロアレイとレーザー捕捉顕微解剖(LCM)、比較ゲノムハイブリダイゼーション(CGH)及びクロマチン免疫沈降(ChIP)などの他の方法との組み合わせを含む。例えば、He et al. (2007) Adv. Exp. Med. Biol. 593: 117-133及びHeller (2002) Annu. Rev. Biomed. Eng. 4: 129-153を参照されたい。他の方法は、PCR、xMAP、インベーターアッセイ法、質量分析法、及びピロシーケンシングを含む(Springer New York出版社のシリーズ本Advances in Experimental Medicine and BiologyのWang et al. (2007) Microarray Technology and Cancer Gene Profiling Vol 593)。

10

【0116】

別の検出法は、多型性部位と重複し、多型性領域周辺のヌクレオチド約5、又は10、又は20、又は25、又は30個を有するプローブを使用するアレル特異的ハイブリダイゼーションである。例えば、関心対象のアレル変異体又は遺伝マーカーと特異的にハイブリダイゼーションできるいくつかのプローブが、固相支持体、例えば「チップ」に付着される。オリゴヌクレオチドプローブは、リソグラフィを含む多様な工程によって固体支持体に結合させることができる。「DNAプローブアレイ」とも呼ばれる、オリゴヌクレオチドを含むこれらのチップを使用する突然変異検出分析は、例えばCronin et al. (1996) Human Mutation 7:244に記載されている。

20

【0117】

他の検出法では、アレル変異体を同定する前に遺伝子の少なくとも一部を最初に増幅することが必要である。増幅は、例えば、PCR及び/若しくはLCR又は当技術分野において周知の他の方法によって行うことができる。

30

【0118】

場合によっては、対象由来のDNA中に特異的アレルが存在することは、制限酵素分析によって示すことができる。例えば、特異的ヌクレオチド多型は、別のアレル変異体のヌクレオチド配列に不在の制限部位を含むヌクレオチド配列を生じうる。

【0119】

さらなる一実施態様では、切断剤(ヌクレアーゼ、ヒドロキシルアミン又は四酸化オスミウムなど、及びピペリジンをを用いる)からの保護を用いて、RNA/RNA、DNA/DNA、又はRNA/DNAヘテロ二重鎖中のミスマッチ塩基を検出することができる(例えば、Myers et al. (1985) Science 230: 1242参照)。一般に、「ミスマッチ切断」の技法は、遺伝子のアレル変異体のヌクレオチド配列を含む、場合により標識されているプローブ、例えばRNA又はDNAを、組織試料から得られた試料核酸とハイブリダイゼーションさせることによって形成される二重鎖を提供することによって開始する。二本鎖を形成している二重鎖は、対照鎖と試料鎖との間の塩基対ミスマッチに基づき形成された二重鎖などの二重鎖の一本鎖領域を切断する薬剤で処理される。例えば、ミスマッチ領域を酵素的に消化するために、RNA/DNA二重鎖はRNAアーゼで処理することができ、DNA/DNAハイブリッドはSIヌクレアーゼで処理することができる。あるいは、ミスマッチ領域を消化するために、DNA/DNA又はRNA/DNA二重鎖は、ヒドロキシルアミン又は四酸化オスミウム及びピペリジンで処理することができる。次に、ミスマッチ領域の消化後に、結果として生じた物質が、変性ポリアクリルアミドゲル上でサイズに応じて分離されて、対照核酸及び試料核酸が同一のヌクレオチド配列を有するかどうか

40

50

、又はどのヌクレオチドでそれらが異なるかが決定される。例えば、米国特許第 6, 4 5 5, 2 4 9 号; Cotton et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:4397; Saleeba et al. (1992) Meth. Enzymol. 217:286-295を参照されたい。

【 0 1 2 0 】

特定のアレル変異体を同定するために、電気泳動移動度における変化も使用することができる。例えば、一本鎖コンフォメーション多型 (SSCP) を使用して突然変異型核酸と野生型核酸との間の電気泳動移動度における差を検出することができる (Orita et al. (1989) Proc Natl. Acad. Sci USA 86:2766; Cotton (1993) Mutat. Res. 285: 125-144 及び Hayashi (1992) Genet. Anal. Tech. Appl. 9:73-79)。試料核酸及び対照核酸の一本鎖 DNA フラグメントが変性され、復元させられる。一本鎖核酸の二次構造は、配列に応じて変動する; 結果として生じた電気泳動移動度における変化は、一塩基変化の検出さえも可能にする。DNA フラグメントは、標識プローブを用いて標識又は検出することができる。アッセイ法の感度は、(DNA よりも) 配列変化に対する二次構造の感受性が高い RA を使用することによって高めることができる。別の好ましい実施態様では、対象方法は、二本鎖を形成しているヘテロ二重鎖分子を電気泳動移動度の変化に基づき分離するために、ヘテロ二重鎖分析を利用する (Keen et al. (1991) Trends Genet. 7:5)。

10

【 0 1 2 1 】

アレル変異体又は遺伝マーカーの同一性は、また、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DGGE) を使用してアッセイされる、濃度勾配をかけた変性剤を含有するポリアクリルアミドゲルにおける多型性領域を含む核酸の移動を分析することによって得ることができる (Myers et al. (1985) Nature 313:495)。DGGE が分析法として使用される場合、DNA は、完全に変性しないことを確実にするために、例えば約 40 bp の高融解温度の GC 豊富 DNA の GC クランプを PCR により付加することによって改変される。さらなる一実施態様では、対照及び試料 DNA の移動度の差を同定するために、変性剤の勾配の代わりに温度勾配が使用される (Rosenbaum and Reissner (1987) Biophys. Chem. 265: 1275)。

20

【 0 1 2 2 】

2つの核酸の間の少なくとも1つのヌクレオチドの差を検出するための技法の例は、非限定的に、選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、又は選択的プライマー伸長を含む。例えば、公知の多型性ヌクレオチドが中心に配置されているオリゴヌクレオチドプローブ (アレル特異的プローブ) を調製し、次に完全なマッチが見られる場合にのみハイブリダイゼーションを可能にする条件下でターゲット DNA とハイブリダイゼーションさせることができる (Saiki et al. (1986) Nature 324: 163); Saiki et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:6230)。そのようなアレル特異的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション技法は、遺伝子の多型性領域中からヌクレオチド変化を検出するために使用される。例えば、特異的アレル変異体のヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチドプローブが、ハイブリダイゼーション用メンブレンに付着され、次に、このメンブレンが、標識試料核酸とハイブリダイゼーションされる。次に、ハイブリダイゼーションシグナルの分析によって、試料核酸のヌクレオチドの同一性が明らかになる。

30

40

【 0 1 2 3 】

あるいは、選択的 PCR 増幅に依存するアレル特異的増幅技法を、本発明に関連して使用することができる。特異的増幅用のプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、関心対象のアレル変異体を分子の中心に保有することがあるか (その結果、増幅は差次的なハイブリダイゼーションに依存する) 又は一方のプライマーの 3' 最末端に保有することがあり (Gibbs et al. (1989) Nucl. Acids Res. 17:2437-2448)、その場合、適切な条件下でミスマッチがポリメラーゼ伸長を防止又は低減することができる (Prossner (1993) Tibtech 11 :238 及び Newton et al. (1989) Nucl. Acids Res. 17:2503)。この技法は、Probe Oligo Base Extension にちなんで「PROBE」とも呼ばれる。加えて、切断に基づく検出を引き起こすために、突然変異領域中に新規な制限部位を導入することが

50

望ましい場合がある (Gasparini et al. (1992) Mol. Cell. Probes 6: 1)。

【0124】

別の実施態様では、アレル変異体又は遺伝マーカーの同定は、例えば、米国特許第4,998,617号及びLaridegren, U. et al. Science 241: 1077-1080 (1988)に記載されているようなオリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ法 (OLA) を用いて実施される。OLAのプロトコルは、ターゲットの一本鎖の隣接配列にハイブリダイゼーションすることができるように設計されている2つのオリゴヌクレオチドプローブを使用する。オリゴヌクレオチドの一方は、分離マーカーに連結、例えばビオチン化され、もう一方は、検出可能なように標識される。正確な相補的配列がターゲット分子から見つかる場合、オリゴヌクレオチドは、それらの末端が隣接し、ライゲーションの基質を生み出すようにハイブリダイゼーションする。次に、ライゲーションにより、アビジン又は別のビオチンリガンドを使用して標識オリゴヌクレオチドが回収されることを可能にする。Nickerson, D. A.らは、PCR及びOLAの特質を組み合わせた核酸検出アッセイ法を記載している (Nickerson, D. A. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8923-8927)。この方法では、PCRが、ターゲットDNAの指数的増幅を達成するために使用され、次にターゲットDNAは、OLAを用いて検出される。Tobe et al. (1996) Nucleic Acids Res. 24: 3728に記載されているようなOLA法の変法では、各アレル特異的プライマーは、独特なハプテン、すなわちジゴキシゲイン (digoxigenin) 及びフルオレセインを用いて標識され、各OLA反応は、レポーター酵素で標識されたハプテン特異的抗体を使用して検出される。

10

20

【0125】

本発明は、ADCY9における一塩基多型 (SNP) を検出するための方法を提供する。一塩基多型は、不変配列の領域によって隣接されるので、それらの分析は、単一の変異型ヌクレオチドの同一性を決定することだけを要し、各患者について完全な遺伝子配列を決定することは不必要である。SNPの解析を容易にするために、いくつかの方法が開発されている。

【0126】

単一塩基多型 (single base polymorphism) は、例えば米国特許第4,656,127号に開示されているように、特殊化されたエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを使用することによって検出することができる。該方法によると、多型性部位の直接3'側のアレル配列に相補的なプライマーを、特定の動物又はヒトから得られたターゲット分子とハイブリダイゼーションさせる。ターゲット分子上の多型性部位が、存在する特定のエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチド誘導体に相補的なヌクレオチドを含有するならば、その誘導体は、ハイブリダイゼーションされたプライマーの末端に組み入れられる。そのような組み入れは、プライマーをエキソヌクレアーゼに耐性にすることによって、その検出を許す。試料のエキソヌクレアーゼ耐性誘導体の同一性は公知であるので、プライマーがエキソヌクレアーゼに耐性になったという結果は、ターゲット分子の多型性部位に存在するヌクレオチドが、反応に使用されたヌクレオチド誘導体のヌクレオチドに相補的であったことを示す。この方法は、多量の外来配列データの決定を要さないという利点を有する。

30

40

【0127】

溶液に基づく方法も、多型性部位のヌクレオチドの同一性を決定するために使用することができる (国際公開公報第91/02087号)。上記のように、多型性部位の直接3'側のアレル配列に相補的なプライマーが採用される。該方法は、標識ジデオキシヌクレオチド誘導体を使用してその部位のヌクレオチドの同一性を決定し、該ヌクレオチドは、多型性部位のヌクレオチドに相補的であれば、プライマーの末端に組み入れられるようになる。

【0128】

代替法は、国際公開公報第92/15712号に記載されている。この方法は、標識ターミネーターと、多型性部位の3'側配列に相補的なプライマーとの混合物を使用する。したがって、組み入れられた標識ターミネーターは、評価されようとするターゲット分子

50

の多型性部位に存在するヌクレオチドによって決定され、該ヌクレオチドに相補的である。この方法は、通常、プライマー又はターゲット分子が固相に固定化されている不均一相アッセイ法である。

【0129】

DNA中の多型性部位をアッセイするための多数の他のプライマーガイド下ヌクレオチド組み入れ手順が記載されている (Komher, J. S. et al. (1989) Nucl. Acids. Res. 17:7779-7784; Sokolov, B. P. (1990) Nucl. Acids Res. 18:3671; Syvanen, A.-C, et al. (1990) Genomics 8:684-692; Kuppaswamy, M. N. et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 1143-1147; Prezant, T. R. et al. (1992) Hum. Mutat. 1: 159-164; Ugozoli, L. et al. (1992) GATA 9: 107-112; Nyren, P. et al. (1993) Anal. Biochem. 208: 171-175)。これらの方法は、全て、多型性部位で塩基を識別するために標識デオキシヌクレオチドの組み入れに依存している。

10

【0130】

そのうえ、遺伝子又は遺伝子産物又は多型性変異体における変化を検出するための上記方法のいずれかは、処置又は治療の経過を監視するために使用できると理解されている。

【0131】

本明細書記載の方法を、例えば、遺伝子型決定のため、例えば、ADCY9遺伝子中に存在する遺伝マーカーを分析するために好都合に使用されうる少なくとも1つのプローブ、プライマー核酸、又は試薬を含む、下記のような予めパッケージされた診断キットを利用することによって行って、個体が、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターを含むHDL上昇剤又は模倣剤を用いた処置から恩恵を受ける可能性が高いかどうかを決定することができる。特に、遺伝マーカーは本明細書記載の通りである。

20

【0132】

ADCY9遺伝子中に存在する遺伝マーカーを遺伝子型決定するための試薬として使用するための本発明のプライマー又はプローブは、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119及びrs13337675より選択される1つ以上のSNP、好ましくはrs1967309に隣接又はそれを包含する好ましくはヌクレオチド12~30個の、ADCY9遺伝子内の連続配列に相補的であり、それとハイブリダイゼーションする合成ヌクレオチド配列を含む。別の態様では、プライマーは、ヌクレオチド100個以下、ある態様ではヌクレオチド12~50個又はヌクレオチド12~30個を含む。プライマーは、該連続配列又は該連続ヌクレオチド配列の相補体と少なくとも70%同一であり、好ましくは少なくとも80%同一であり、より好ましくは少なくとも90%同一である。本発明のプライマー又はプローブは、好ましくは、配列番号1~15より選択される配列に相補的な、特に配列番号1の配列に相補的な、ヌクレオチド15~20個の領域を含む、15~50ヌクレオチド長である。プローブ又はプライマーと配列番号1~15との間の相補度は、100%、95%、90%、85%、80%又は75%でありうる。

30

40

【0133】

遺伝子アレル又は遺伝マーカー「に特異的な」プローブ及びプライマーを含むオリゴヌクレオチドは、遺伝子の多型性領域に結合するか、又は遺伝子の多型性領域に隣接して結合するかのいずれかである。増幅用のプライマーとして使用されるべきオリゴヌクレオチドについて、プライマーが、多型性領域を含むポリヌクレオチドを産生させるために使用するに足るほど近接しているならば、それらは隣接している。一実施態様では、オリゴヌクレオチドが、約1~2kb以内、例えば多型から1kb未満で結合するならば、それらは隣接している。特異的オリゴヌクレオチドは、配列にハイブリダイゼーションすることができ、適切な条件下では、一つのヌクレオチドが異なる配列に結合しない。

【0134】

50

プローブとして使用されようと、プライマーとして使用されようと、本発明のオリゴヌクレオチドは、検出可能なように標識することができる。標識は、直接的（例えば蛍光標識について）又は間接的のいずれかで検出することができる。間接的検出は、ビオチン-アビジン相互作用、抗体結合などを含む、当業者に公知の任意の検出法を含みうる。蛍光標識オリゴヌクレオチドは、また、クエンチング分子を含有しうる。オリゴヌクレオチドは、表面に結合されうる。いくつかの実施態様では、表面はシリカ又はガラスである。いくつかの実施態様では、表面は金属電極である。

【0135】

プローブは、試料の遺伝子型を直接決定するために使用することができ、又は増幅と同時に若しくは増幅後に使用することができる。用語「プローブ」は、天然若しくは組換え型の一本鎖若しくは二本鎖核酸又は化学合成された核酸を含む。それらは、ニックトランスレーション、Klenowフィルイン反応、PCR又は当技術分野において公知の他の方法によって標識することができる。本発明のプローブ、それらの調製及び/又は標識は、Sambrookら（1989）、前記に記載されている。プローブは、本発明の多型性領域を含有する核酸への選択的ハイブリダイゼーションに適した任意の長さのポリヌクレオチドでありうる。使用されるプローブの長さは、部分的に、使用されるアッセイ法の性質及び採用されるハイブリダイゼーション条件に依存する。

【0136】

標識プローブも、多型の増幅に関連して使用することができる（Holland et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7276-7280）。米国特許第5,210,015号は、PCRの途中の増幅産物のリアルタイム測定を提供するための蛍光ベースのアプローチを記載している。そのようなアプローチは、存在する二本鎖DNAの量を示すために挿入色素（臭化エチジウムなど）を採用したか、又は蛍光クエンチャーペアを含有するプローブ（「TaqMan（登録商標）」アプローチとも呼ばれる）を採用し、その際、プローブは、増幅の途中に切断されて蛍光分子を放出し、蛍光分子の濃度は、存在する二本鎖DNAの量に比例する。増幅の途中に、プローブは、ターゲット配列とハイブリダイゼーションするとポリメラーゼのヌクレアーゼ活性によって消化されて、蛍光分子をクエンチャー分子から分離させ、それによってレポーター分子から蛍光を出現させる。TaqMan（登録商標）アプローチは、多型を含有するターゲットポリヌクレオチドの領域と特異的にアニーリングするレポーター分子-クエンチャー分子ペアを含有するプローブを使用する。

【0137】

プローブは、「遺伝子チップ」として使用するために表面に固着させることができる。そのような遺伝子チップは、当業者に公知のいくつかの技法によって遺伝子変異を検出するために使用することができる。一技法では、オリゴヌクレオチドは、米国特許第6,025,136号及び第6,018,041号に概要を述べられたようなハイブリダイゼーションによる配列決定アプローチによってDNA配列を決定するために遺伝子チップ上に整列される。本発明のプローブは、また、遺伝子配列の蛍光検出のために使用することができる。そのような技法は、例えば米国特許に記載されている。本発明のプローブは、また、遺伝子配列の蛍光検出のために使用することができる。そのような技法は、例えば、米国特許第5,968,740号及び第5,858,659号に記載されている。プローブは、また、米国特許第5,952,172号に、及びKelley, S. O. et al. (1999) Nucl. Acids Res. 27:4830-4837によって記載されているような核酸配列の電気化学的検出のために電極表面に固着させることができる。本発明のSNPを検出するための1つ以上のプローブ（表2、3、4又は5、特に表2）は、チップに取り付けることができ、そのようなデバイスは、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターに対する応答を予測するため及び心血管疾患を有する個体のための有効な処置を選択するために使用することができる。本発明のSNPを検出するためのプローブは、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モジュレーターに対する応答を予測すること以外の使用のために、多様な他のプローブと共にチップ上に含まれうると考えられる。

【0138】

追加的に、プローブ又はプライマーとして使用される合成オリゴヌクレオチドは、より安定になるように改変することができる。改変される例示的な核酸分子は、DNAのホスホルアミダート、オスホチオアート (phosphothioate) 及びメチルホスホナートアナログなどの非荷電結合を含む (米国特許第5,176,996号;第5,264,564号及び第5,256,775号も参照されたい)。本発明のプライマー及びプローブは、例えば標識メチル化、ペンダント部分 (例えばポリペプチド)、インターカレーター (例えばアクリジン、ソラレン)、キレート剤、アルキル化剤、及び改変された結合 (例えば - アノマー性核酸) などのヌクレオチド間改変を含みうる。水素結合形成、及びヌクレオチド主鎖におけるリン酸結合の代わりとなるペプチド結合を含む他の化学的相互作用による指定配列に結合する能力においてヌクレオチド酸 (nucleotide acid) 分子を模倣する合成分子も含まれる。

10

【0139】

本発明は、本明細書記載の天然オリゴヌクレオチドであるADCY9遺伝子の遺伝子マーカーに高ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイゼーションする合成オリゴヌクレオチド分子、プライマー及びプローブに関する。オリゴヌクレオチドは、高ストリンジェンシー条件下で特異的ハイブリダイゼーションにより検出及び/又は単離することができる。「高ストリンジェンシー条件」は、当技術分野において公知であり、第1と第2のオリゴヌクレオチドとの間に高い相補度がある場合、第2のオリゴヌクレオチドに第1のオリゴヌクレオチドを特異的にハイブリダイゼーションさせる。本明細書開示の遺伝子型決定法について、この相補度は、80%から100%の間、好ましくは90%から100%の間である。

20

【0140】

本発明のSNPは、また、データベースに存在する全ゲノム配列データなどの既存のデータから検出することができる。本発明は、CETP阻害薬に対する患者の応答を予測して結果的に該患者を処置する、すなわち応答者である患者をCETP阻害薬で処置するための遺伝子型を決定するために、ゲノムデータを問い合わせるコンピューター実装方法を提供する。

【0141】

遺伝子型決定法、処置の選択又は処置方法に使用するための本発明の試料核酸は、対象の任意の細胞型又は組織から得ることができる。例えば、対象の体液、試料 (例えば血液) は、公知の技法により得ることができる。あるいは、核酸検査は、乾燥した試料 (例えば毛髪又は皮膚) に行うことができる。さらに特定すれば、遺伝子型決定法、処置の選択又は処置方法は、血液細胞型を使用する。

30

【0142】

本明細書記載の発明は、ADCY9遺伝子上のrs1967309若しくはrs12595857に存在するアレル、又は位置chr16:4049365からchr16:4077178 (アセンブリGRCh37/hg19に及ぶ、図8に示すような2つのSNPと連鎖不平衡状態にある任意の他の遺伝子変異体を決定及び同定するための方法及び試薬に関する。特に本発明は、また、ADCY9遺伝子のrs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、rs13337675中に、さらに特定すればrs1967309又はrs12595857に、最も特定すればrs1967309に存在するアレルを決定及び同定するための方法及び試薬に関する。

40

【0143】

本明細書に示すように、本発明は、また、ADCY9遺伝子中に存在する1つ以上の遺伝子マーカーを検出することを含む処置選択方法を提供する。いくつかの実施態様では、該方法は、ADCY9の多型性領域に相補的なヌクレオチド配列を含むプローブ又はプライ

50

マーを使用する。したがって、本発明は、本発明の遺伝子型決定法を行うためのプローブ及びプライマーを含むキットを提供する。

【0144】

いくつかの実施態様では、本発明は、心血管障害を有する患者が、HDL上昇剤又はHDL模倣剤、特にCETP阻害薬/モデュレーターを用いた処置から恩恵を受ける可能性が高いかどうかを判定するためのキットを提供する。そのようなキットは、本明細書記載の1つ以上の試薬、特にプライマー又はプローブ、及び使用のための説明書を含有する。ほんの一例として、本発明は、また、心血管障害を有する患者が、チオイソ酪酸S-(2-{[1-(2-エチル-ブチル)-シクロヘキサカルボニル]-アミノ}-フェニル)エステルを用いた処置から恩恵を受ける可能性が高いかどうかを決定するためのキットであって、ADCY9のrs1967309のSNPにおけるAA多型に特異的な第1のオリゴヌクレオチド及び第2のオリゴヌクレオチドを含むキットを提供する。

10

【0145】

キットは、ADCY9の多型性領域と特異的にハイブリダイゼーションできる少なくとも1つのプローブ又はプライマー、及び使用のための説明書を含みうる。キットは、通常、上記核酸の少なくとも1つを含む。ADCY9の少なくとも一部を増幅するためのキットは、一般に、少なくとも一方がアレル変異体配列にハイブリダイゼーションできる2つのプライマーを含む。そのようなキットは、例えば蛍光検出による、電気化学的検出による、又は他の検出による遺伝子型の検出に適している。

20

【0146】

本発明のなお他のキットは、アッセイ法を行うために必要な少なくとも1つの試薬を含む。例えば、キットは酵素を含みうる。あるいは、キットは、緩衝剤又は任意の他の必要な試薬を含みうる。

【0147】

キットは、ADCY9の多型性領域における対象の遺伝子型を決定するための本明細書記載の陽性対照、陰性対照、試薬、プライマー、配列決定マーカー、プローブ及び抗体の全て又は一部を含みうる。

【0148】

以下の例は、単に本発明の実施を例示することを意図するものであって、限定として提供されるものではない。

30

【0149】

本発明は、以下のヌクレオチド及びアミノ酸配列を参照する：

本明細書に提供される配列は、NCBIデータベースから入手することができ、www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=geneから検索することができる。これらの配列は、また、注釈及び改変された配列に関する。本発明は、また、本明細書に提供される簡潔な配列の相同配列及び変異体を使用される技法及び方法を提供する。好ましくは、そのような「変異体」は遺伝子変異体である。NCBIデータベースから、ホモサピエンス(homo sapiens)アデニル酸シクラーゼ9型(ADCY9)をコードするヌクレオチド配列が入手可能である。

40

【0150】

ホモサピエンス・アデニル酸シクラーゼ9型(ADCY9)、16番染色体上のRefSeq Gene

NCBI参照配列：NCBIアクセッションナンバーNG_011434.1

ホモサピエンス16番染色体ゲノムコンティグ、GRCh37.p10一次アセンブリ

NCBI参照配列：NCBIアクセッションナンバーNT_010393.16

【0151】

「rs」呼称、アレル及び対応する配列番号の呼称を提供している、ホモサピエンスADCY9遺伝子のSNPについてのイントロン配列を、表2に開示する。多型はボールドの下線付き文字で明確化する。

【0152】

50

【表 5】

表 4: ACDY9 の SNP 及び該当するイントロン配列

SNP の rs ID	配列番号	イントロン配列 ¹	HGVS 名
rs1967309	20	TTAACCTATTTATTT CTTTCAACCCT[C/T] AGCCCAGATCCTAA CCTTCGGTAAG (ゲノムビルド 37.3 に対応)	NC_000016.9:g.4065583A>G NG_011434.1:g.105604T>C NM_001116.3:c.1694-8024T>C NT_010393.16:g.4005583A>G
rs12595857	2	CATTGATTTTAAAC CTCAACAACAGC[A/ G]ATGTCTTTTATCA GCTTAATTTTAC(ゲノムビルド 37.3 に対応)	NC_000016.9:g.4062592G>A NG_011434.1:g.108595C>T NM_001116.3:c.1694-5033C>T NT_010393.16:g.4002592G>A

10

20

1. 出典: NCBI ゲノム参照ビルド 37.3

【 0 1 5 3 】

【表 6】

表 5: 実験のために使用された遺伝子型決定チップ(Illumina OMNI2.5S)からの参照配列を用いた GWAS 試験から、ダルセトラピブを用いた処置に対する応答との関連の証拠($P < 0.05$)を提供した、chr16 上の遺伝子 ADCY9 における遺伝子変異体のリスト:

染色体	位置 (GRCh37 /hg19)	SNPrs 識別子 (NCBI)	P 値	配列 ^{1,2}	配列番号
16	4,065,583	rs1967309	4.11E-08	TTCATGCACCCA GCAGACTAAATG TTACTGAGTAC TTACCGAAGGTT AGGATCTGGGCT [A/G]AGGGTTGA AAGAAATAAATA GGTTAAAAAAGA AAAAAAGCCACC TAGGTGACTTTC ACTC ¹	1
16	4,062,592	rs12595857	4.53E-07	TTAATATGATTT CTTATATTCTTTC CTGGTTATCCAT TGATTTTAAACC TCAACAACAGC A/G ATGTCTTTT	2

10

20

30

				ATCAGCTTAATT TTACAAAGGCTA CAGAGAGGGGT GGGCATTCCTA ATGG ²	
16	4,060,661	rs2239310	1.29E-06	CCTGTGTGGAGC CCATTACCTGAA GAGGGGCCAAG AGGACAAGCAG GTATGACTATGG TC[A/G]GGCGTG CCAAGTCCCAGG ACAAGGAAGGA CGGGTGCTCCAG GAAGCACAGGA GGGGGCAT ²	3
16	4,051,513	rs11647828	2.76E-06	TACCGGATGGCA GTGAGCAGGGA GGCTCACCTGGA TCATTTGGTGAA GGTGGCATCTGC C[T/C]GGTTTGTC CACTGTGAAGTT CCTATTCCTACC CCGCCCCCACC TTTCTTTTTTGAG ATG ²	4
16	4,076,094	rs8049452	6.63E-06	ACTTAACTATTT GTTGGGTGAATA TAGAAATGAATG AATGAATGGATG GATGAGCAGATA [T/C]ATCAAGAA	5

10

20

30

40

50

				GTTAATTCACAA ATTAAAGCCCAT TATGAACTAAA GTAGAGGCTGGG CGCG ¹	
16	4,049,365	rs12935810	2.98E-05	ACCCGTGAACAA GTCGGGCCCCCA TCCACGCAATAT CTGCAGTCTCGA CTGTATGATCTC[A/G]TCCTTTGCA GCCACACTGTGA GGCAGCAATGAT CATTCCGCAGAC GGCCACAGACTC CAG ²	6
16	4,065,495	rs74702385	8.87E-05	GACGACACCCAG CACACCCAGCAC ACCCAGCACACC AGCGAACAGCCC ACCAGGTGCTAT [T/C]GCTGTCATT CATTTGCTCATT CGCTCGTTCATG CACCCAGCAGAC TAAATGTTTACT GAG ¹	7
16	4,076,047	rs17136707	9.11E-05	AAAACAGTGCTC CAAAGGCAAAG AAATAGCAAAG ACAGAAGTAAG GCACTTAACTAT TTG[T/C]TGGGTG	8

10

20

30

40

50

				AATATAGAAATG AATGAATGAATG GATGGATGAGCA GATACATCAAGA AGTTAA ¹	
16	4,070,333	rs8061182	1.51E-04	GGCAGCTATGTA GGAAGCAGTGA AGATCCACATCC TTCCTTATTGGT GAAAGGAATGA AT[T/C]GGAAAC AGAAAGTTCTTT TTTACCTTTATTA AATAAACGTGAA GTCATAAGAACT ACTAA ²	9
16	4,064,368	rs11159048 2	1.64E-04	AGACTTTGTCTC AAAAAAGAAAA AAAAAAAAAAAA GAAGTCCCAAT AATAAAATATGA GA[T/C]GGATTT ATGGAAGAAAGT GAAAGAAACAA AGGGTAGGCACC TTGCCTGTTTAA TTTGATC ¹	10
16	4,076,136	rs4786454	1.98E-04	TGGATGGATGAG CAGATACATCAA GAAGTTAATTCA CAAATTAAGCC CATTATGAAACT[A/G]AAGTAGAG	11

10

20

30

40

50

				GCTGGGCGCGGT GGATCACGCCTA TAATCCCAGCAC TTGGGAGGTCA AGGC ²	
16	4,066,061	rs2283497	8.87E-04	TGTGATATGATG GTCATATCATAG CACAGGGCTGTT GTGAGGATTA TGAGTTGATTCA T/G JGTAAACAGG GACATCCGAAAA AGGGAAAGACG GTGCTTGTCTG AGAACAGCTGTG AATG ¹	12
16	4,052,486	rs2531967	1.11E-03	AGGTGAGTGGCC TTAAAGGGGAAG GAGAAACCTTTT GAAAGCAGGAC AGGTCCTCTCTG A/A/G JTCATCCCC GTATGGGTAAAT CTACATCACTAG CTTCATTACTGA CTGGTCCATGTA GAAA ¹	13
16	4,057,603	rs3730119	0.0108	CAGGTATGTCTT CAAACCTATGAT GGATAAAAGTTA CAGTCAGCACAG ATTGAAAGCACC A/G JTCTGTTGAA	14

10

20

30

40

50

				ACGCAGCTCCGT CTTGCTCTCTGG AGAGGACTCACT CCTGGAAAGTTG AGA ²	
16	4,077,178	rs13337675	0.0377	TGTAACCAAGTA ACCAATGGTAAA CCTCTACAGGGT ATTAAGGCTCCA GAAAATTCTCTA[A/G]TCAGCCACT TGCTCCTGCTCG AGCCTGCTCCCA CTCCGTGGAGTG TACTTTCATTCA GT ¹	15

10

20

【 0 1 5 4 】

Chr : 染色体番号 ; P 値 : CETP 阻害薬ダルセトラピブで処置された患者における心血管イベント (一次複合イベント又は予期しない冠血行再建) との関連について ; 1 : OMNI 2.5SチップHumanOmni25Exome-8v1_A.csvについてのILLUMINAアノテーションファイルに提示されているような、1000人ゲノム公的データベースからの参照配列 ; 2 : OMNI 2.5SチップHumanOmni25Exome-8v1_A.csvについてのILLUMINAアノテーションファイルに提示されているような、NCBIからのdbSNP公的データベース131からの参照配列

30

【 0 1 5 5 】

【表 7】

表 6: 16 番染色体上の遺伝子 ADCY9 における追加的な遺伝子変異体のリスト:

変異	位置 ¹	a からの 距離(bp)	r2 ¹	D' ¹	欄 ²	HGV 名 ²	配列 番号
rs12920508	16:4066891	1308	0.952954	1	TTTGGGGTGACG AAAATGTAAAAT TA[C/G/T]GTTGT GGTGATGGTTGC ACAACACC	NC_000016.9:g.4066891 G>C NC_000016.9:g.4066891 G>T NG_011434.1:g.104296 C>A NG_011434.1:g.104296 C>G NM_001116.3:c.1694- 9332C>A NM_001116.3:c.1694- 9332C>G NT_010393.16:g.400689 1G>C NT_010393.16:g.400689 1G>T	16
rs12599911	16:4062436	3147	0.908417	1	GAATAACCACAC ACATGGACCCCTG GG[G/T]TCCAAG TTCATTAGAATG GCTCTTT	NC_000016.9:g.4062436 G>T NG_011434.1:g.108751 C>A NM_001116.3:c.1694- 4877C>A NT_010393.16:g.400243 6G>T	17
rs2531971	16:4051261	14322	0.840627	0.973493	AAGACAGAGGA ACCCCATAGGC TGG[G/T]GGTGA GCAGGGGGCATG AGGGCTAA	NC_000016.9:g.4051261 C>A NG_011434.1:g.119926 G>T NM_001116.3:c.1884+6 108G>T NT_010393.16:g.399126 1C>A	18
rs2238448	16:4059439	6144	0.840582	0.973467	TGTCCAACACTATT TCTTTCTTTCTTT T[C/T]TGAGATGG GGGTCTCACTGT GTTGG	NC_000016.9:g.4059439 T>C NG_011434.1:g.111748 A>G NM_001116.3:c.1694- 1880A>G NT_010393.16:g.399943 9T>C	19

10

20

30

【 0 1 5 6 】

参照:

a . rs1967309

1 . 1000人ゲノム公的データベースからの位置、r2及びD'値

2 . NCBIのdbSNP公的データベース、バージョン137からの参照配列及びHGV名

40

【 0 1 5 7 】

実施例 1

d a l - O U T C O M E S 試験 (N C 2 0 9 7 1) は、急性冠症候群 (A C S) のため最近入院した患者における C E T P 阻害薬ダルセトラピブの安全性及び有効性を評価するための二重盲検ランダム化プラセボ対照並行群間多施設第 I I I 相試験であった。中間解析の時点で、該試験は、2つの処置群、すなわちプラセボ (患者 7 9 3 3 人) 及びダルセトラピブ (1 日 6 0 0 m g ; 患者 7 9 3 8 人) に振り分けられた、ランダム化された患者 1 5 8 7 1 人を含んでいた。該試験は、プラセボ群に比べてダルセトラピブ群における主要有効性評価項目でのイベント率の低下の証拠を示さなかった。 d a l - O U T C O M E S

50

試験の詳細は、G. Schwartz et al., N. Engl. J. Med.367;22, 2012から見いだすことができる。遺伝子型決定:

【0158】

全ゲノム解析は、Beaulieu-Saucier Pharmacogenomics CentreのGLP環境内で行った。ゲノムマーカー2, 567, 845個を含むInfinium HumanOmni25Exome-8v1_A BeadChip (Illumina, San Diego, CA) を使用し、製造業者の仕様書に従って処理した。ゲノムDNA約200ngを全ゲノム増幅し、フラグメント化し、各BeadChipの表面に結合したローカス特異的プローブにハイブリダイゼーションさせた。蛍光標識一塩基伸長アッセイ法を用いてDNAを遺伝子型決定した。Illumina iScan Readerを使用してBeadChipをスキャン及び解析した。Infiniumプロセスコントロールを監視したが、全ての結果は製造業者の仕様の範囲内であった。GenTrain 2.0クラスターアルゴリズムを備えるIllumina's GenomeStudioバージョン2011.1を用いて、ノーコール(No-Call)しきい値0.15を採用し、マニュアルクラスター調整を行わずに、製造業者のIllumina HumanOmni25Exome-8v1_Aクラスターファイルを使用して、スキャン後の画像を解析した。データが入手可能になると、類似のサイズの3分割された遺伝子型データファイルが作成された。GenomeStudioによって生成されたPLINK形式の3つの遺伝子型決定ファイルを一緒にし、バイナリーPLINK形式に変換した。

10

【0159】

試料及びSNPについての遺伝子型決定完了率を98%に設定した。遺伝子型決定プレートバイアスを有するSNP(希釈DNA試料に使用した96ウェルプレートに基づく)にフラグをつけたが、遺伝的祖先の影響を排除できないため、取り除かなかった。ペアワイズIBDを用いて近い血縁関係のチェックを行った。本発明者らは、非相関SNPの選択($r^2 < 0.1$)に基づく関係づけられたペア及び試料2つ組の1つを除く全てのペアメンバーにフラグをつけ、取り除いた($IBS2^*$ 比 > 0.80)。多次元尺度構成法(MDS)による試料及び試料外れ値の間の隠れた関係性を確認するために、距離測定基準としてペアワイズIBS行列を使用した。HapMap CEU、JPT-CHB、及びYRIデータの遺伝子型を含む、各対象の最初の2つのMDS成分をプロットした(創始者個体のみを確保)。白人の主クラスターからの外れ値にフラグをつけ、k近傍法によって除去した。(補足図1)EIGENSOFTスイートのsmartpcaプログラム(バージョン3.0)を使用して、スクリープロット(scree plot)及び累積説明済み分散(cumulative explained variance)を計算した。使用したオプションは、numoutlieriter(外れ値除去の反復の最大数)=0(ターンオフ)及びaltnormstyle(規準化式)=ノーであった。⁴(補足図2)

20

30

【0160】

統計法

Beaulieu-Saucier Pharmacogenomics Centreで統計解析計画を策定し、最終バージョンが遺伝子型決定完了前の2012年10月に承認された。遺伝子データに行われた統計検定は、両側で行い、SNPの複数の検査を考慮するために調整された。有意な結果についての受容しきい値としてゲノムワイド有意性しきい値 $p < 5 \cdot 10^{-8}$ を用いた。 $p < 1 \cdot 10^{-6}$ を有する結果を潜在的候補として見なした。集団構造による交絡を回避するために、多変量モデルは、共変量としての性別及び集団構造の最初の5つの主成分(PC)を含んだ。解析対象集団をダルセトラピブ処置群への参加者として定義し、効果の不在を確認するため、及び合わせた集団で遺伝子-処置群相互作用について検定するためにプラセボ群での妥当性確認を行った。

40

【0161】

PLINKソフトウェアバージョン1.07を使用して、高頻度の遺伝子変異体(MAF 0.05)を用いたゲノムワイド関連試験を行った。P値 10^{-6} の全ての結果をSASソフトウェアで検証した。自由度1の相加的遺伝子検定を用いた。マイナーアレルのカウントに応じて遺伝子型を0、1又は2にコード化した。共変量の存在下で、相加的遺伝子検定についてのP値を、

【数 1】

$$\log\left(\frac{r}{1-r}\right) = b_0 + b_1 add + \sum_j b_j cov_j \text{ 又は } \log(\text{イベント率}) = b_0 + b_1 add + \sum_j b_j cov_j$$

のように共変量に関して調製し、相加的検定下の帰無仮説 (null) (H_0) は $b_1 = 0$ である。最初に、イベントの不発生に対する発生について、PLINKソフトウェアを用いるロジスティック回帰モデルを用いてゲノムワイド解析を行った。P値 10^{-6} を提供したロジスティック回帰検定からの全ての結果をSASソフトウェア v. 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) で検証し、Cox比例ハザード回帰を用いて検定した。Cox回帰からの結果を、ロジスティック回帰からの結果よりも試験の目的に適していると予め定義し、一次結果として報告することを計画した。また、Cox比例ハザード回帰モデルも使用して、処置群試料及びプラセボ群試料の両方を使用した $\log(\text{イベント率}) \sim \text{遺伝子型} + \text{処置群} + \text{遺伝子型} * \text{処置群} + \text{性別} + \text{PC}$ により遺伝子-処置相互作用について検定した。

10

【0162】

アデニル酸シクラーゼ9型遺伝子ADCY9におけるイントロン変異体 rs1967309 は、イベントと有意に関連した (Cox比例ハザード $p = 2.4 \cdot 10^{-8}$)。この位置での遺伝子変異体は、マイナーアレル頻度 0.45 を有し、dal-Outcome s 処置群におけるイベントについて1つのアレルの相加的遺伝子効果は $HR = 0.65$ (95% CI 0.55、0.76) を有する。処置群相互作用による遺伝子の p 値は 0.0013 であり、プラセボ群単独において変異体の検出可能な遺伝子効果はなかった ($p = 0.25$)。スタチンについて調整した感度解析は一致している ($p = 5.4 \cdot 10^{-8}$)。連鎖不平衡状態 ($r^2 = 0.86$) の隣接 SNP、rs12595857 は、対応した結果を有する。遺伝子型による層別は、dal-Outcome s 処置群でのイベントについて、 $HR = 0.68$ (95% CI 0.55、0.84) を有する参照のGGホモ接合体及びヘテロ接合体AGに比べて、rs1967309でのホモ接合体AAが $HR = 0.40$ (95% CI 0.28、0.57) を有することを示している。rs1967309でのホモ接合体AAの部分集団において、プラセボに比べてダルセトラピブを用いた処置は $HR = 0.61$ を有した (95% CI 0.41、0.92)。

20

【0163】

30

【表 8】

表 7: ADCY9 遺伝子におけるイベントと関連していると同定された SNP についての変異型アレルについてヘテロ接合性及びホモ接合性の患者を、共通アレルについてホモ接合性の患者と比較したダルセトラピブ処置群のみの患者についてのイベント(CHD 死、MI、ACS が原因の入院、蘇生された心停止、アテローム血栓性卒中又は予期しない冠血行再建の最初の発生)までの時間についてのハザード比(HR)

SNP の rs 識別子	患者数	遺伝子型の比較	HR (95% CI)*
rs12935810	2844	GA vs GG	1.3 (1.02, 1.65)
rs12935810	2844	AA vs GG	1.87 (1.42, 2.48)
rs11647828	2822	AG vs AA	0.74 (0.6, 0.92)
rs11647828	2822	GG vs AA	0.46 (0.33, 0.63)
rs2531967	2834	GA vs GG	0.75 (0.61, 0.93)
rs2531967	2834	AA vs GG	0.5 (0.29, 0.86)
rs3730119	2845	GA vs GG	0.78 (0.62, 0.99)
rs3730119	2845	AA vs GG	0.49 (0.22, 1.1)
rs2239310	2841	AG vs AA	0.71 (0.58, 0.87)
rs2239310	2841	GG vs AA	0.43 (0.29, 0.63)
rs12595857	2838	AG vs AA	0.7 (0.57, 0.87)
rs12595857	2838	GG vs AA	0.45 (0.33, 0.62)
rs111590482	2783	AG vs AA	0.64 (0.49, 0.84)
rs111590482	2783	GG vs AA	0.15 (0.02, 1.1)
rs74702385	2845	GA vs GG	0.63 (0.48, 0.83)
rs74702385	2845	AA vs GG	0.14 (0.02, 1)

10

20

30

40

rs1967309	2842	GA vs GG	0.68 (0.56, 0.84)
rs1967309	2842	AA vs GG	0.4 (0.28, 0.57)
rs2283497	2845	CA vs CC	0.83 (0.67, 1.02)
rs2283497	2845	AA vs CC	0.53 (0.37, 0.76)
rs8061182	2843	AG vs AA	1.23 (0.98, 1.56)
rs8061182	2843	GG vs AA	1.81 (1.37, 2.39)
rs17136707	2841	AG vs AA	0.62 (0.47, 0.81)
rs17136707	2841	GG vs AA	0.16 (0.02, 1.15)
rs8049452	2845	GA vs GG	1.26 (0.99, 1.6)
rs8049452	2845	AA vs GG	1.98 (1.51, 2.61)
rs4786454	2845	GA vs GG	0.69 (0.54, 0.87)
rs4786454	2845	AA vs GG	0.37 (0.15, 0.9)
rs13337675	2843	AG vs AA	0.84 (0.68, 1.03)
rs13337675	2843	GG vs AA	0.7 (0.43, 1.14)

10

20

30

* 遺伝子型により各SNPについて層別化された共変量について調整しない、参照群として共通アレルのホモ接合性遺伝子型とのCox比例ハザード回帰。

【 0 1 6 4 】

【表 9】

表 8: ADCY9 遺伝子における心血管イベントと関連していると同定された SNP の遺伝子型によって層別化されたプラセボ群に比したダルセトラピブ処置群のイベント(CHD 死、MI、ACS が原因の入院、蘇生された心停止、アテローム血栓性卒中又は予期しない冠血行再建の最初の発生)までの時間についてのハザード比(HR):

SNP の rs 識別子	遺伝子型	患者数	イベントを有する患者数	イベントを有さない患者数	HR(95% CI)*	予測される応答
rs12935810	GG	1848	225	1623	0.79 (0.61, 1.03)	R
rs12935810	GA	2861	385	2476	1.03 (0.84, 1.26)	NR
rs12935810	AA	1038	177	861	1.28 (0.95, 1.73)	NR
rs11647828	AA	1789	276	1513	1.33 (1.05, 1.68)	NR
rs11647828	AG	2830	385	2445	0.97 (0.8, 1.19)	PR
rs11647828	GG	1087	121	966	0.61 (0.42, 0.87)	R
rs2531967	GG	3396	497	2899	1.12 (0.94, 1.33)	NR
rs2531967	GA	2010	258	1752	0.86 (0.67, 1.1)	PR
rs2531967	AA	324	32	292	0.67 (0.33, 1.34)	R
rs3730119	GG	3934	559	3375	1.08 (0.92, 1.28)	NR
rs3730119	GA	1655	211	1444	0.86 (0.66, 1.13)	PR
rs3730119	AA	160	18	142	0.48 (0.18, 1.27)	R
rs2239310	AA	2322	370	1952	1.16 (0.95, 1.42)	NR
rs2239310	AG	2690	343	2347	0.96 (0.78, 1.19)	PR
rs2239310	GG	733	75	658	0.6 (0.37, 0.95)	R

10

20

30

40

rs12595857	AA	1741	282	1459	1.27 (1.01, 1.61)	NR
rs12595857	AG	2867	385	2482	0.95 (0.78, 1.16)	PR
rs12595857	GG	1131	119	1012	0.7 (0.48, 1)	R
rs111590482	AA	4301	632	3669	1.04 (0.89, 1.22)	NR
rs111590482	AG	1252	135	1117	0.85 (0.6, 1.19)	R
rs111590482	GG	81	5	76	0.26 (0.03, 2.3)	R
rs74702385	GG	4393	646	3747	1.05 (0.9, 1.23)	NR
rs74702385	GA	1266	137	1129	0.84 (0.6, 1.18)	R
rs74702385	AA	89	5	84	0.26 (0.03, 2.36)	R
rs1967309	GG	1984	322	1662	1.27 (1.02, 1.58)	NR
rs1967309	GA	2796	368	2428	0.94 (0.77, 1.16)	PR
rs1967309	AA	961	97	864	0.61 (0.41, 0.92)	R
rs2283497	CC	2098	304	1794	1.23 (0.98, 1.54)	NR
rs2283497	CA	2765	377	2388	0.99 (0.81, 1.21)	PR
rs2283497	AA	885	107	778	0.57 (0.38, 0.85)	R
rs8061182	AA	2018	257	1761	0.79 (0.62, 1.01)	R
rs8061182	AG	2800	381	2419	0.99 (0.81, 1.21)	PR
rs8061182	GG	923	148	775	1.55 (1.11, 2.15)	NR
rs17136707	AA	4423	649	3774	1.06 (0.91, 1.24)	NR
rs17136707	AG	1241	135	1106	0.8 (0.57, 1.13)	PR
rs17136707	GG	80	4	76	0.37 (0.04, 3.54)	R

10

20

30

40

50

rs8049452	GG	1930	239	1691	0.78 (0.6, 1)	R
rs8049452	GA	2832	384	2448	0.97 (0.8, 1.19)	PR
rs8049452	AA	983	165	818	1.55 (1.14, 2.12)	NR
rs4786454	GG	3973	588	3385	1.06 (0.9, 1.25)	NR
rs4786454	GA	1615	186	1429	0.89 (0.67, 1.19)	PR
rs4786454	AA	161	14	147	0.52 (0.17, 1.54)	R
rs13337675	AA	3250	467	2783	1.07 (0.89, 1.28)	NR
rs13337675	AG	2145	284	1861	0.89 (0.71, 1.13)	PR
rs13337675	GG	345	36	309	1.03 (0.53, 1.97)	PR

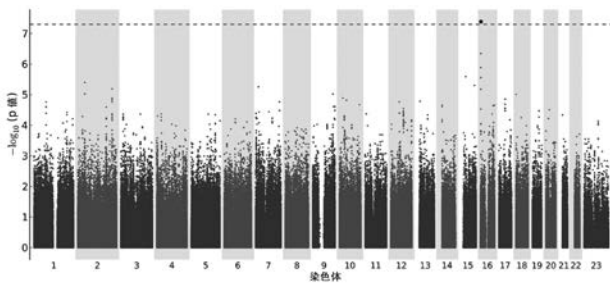
10

20

* 共変量調整を行わずに、遺伝子型群によって層別化された処置効果についてのC o x 比例ハザード回帰

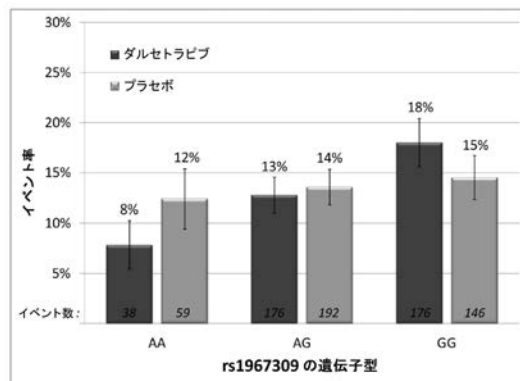
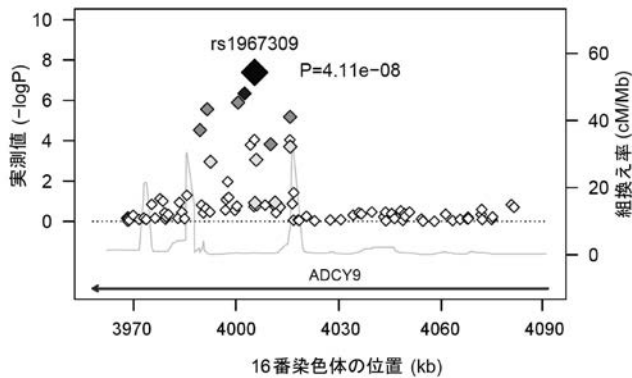
【 図 1 】

【 図 2 】

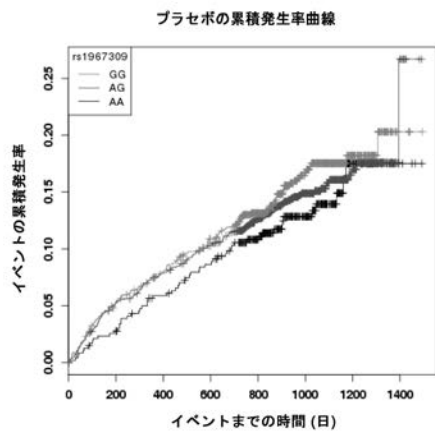
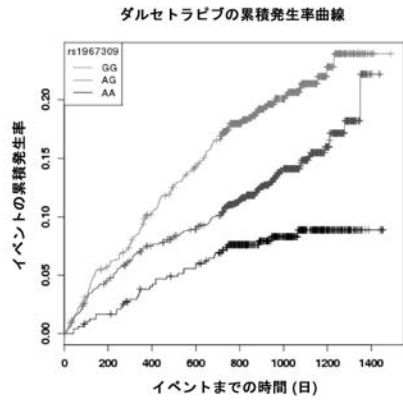


B. ADCY9 領域中の SNP

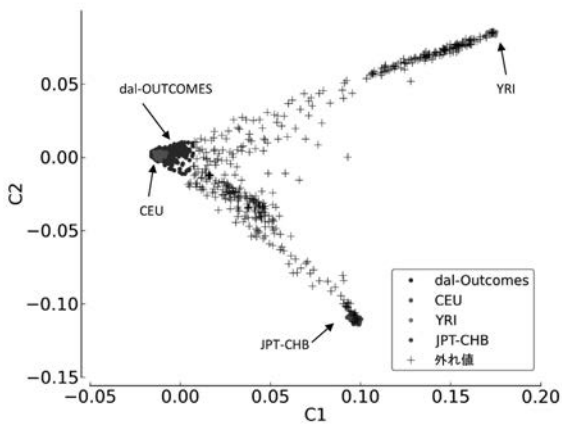
ADCY9



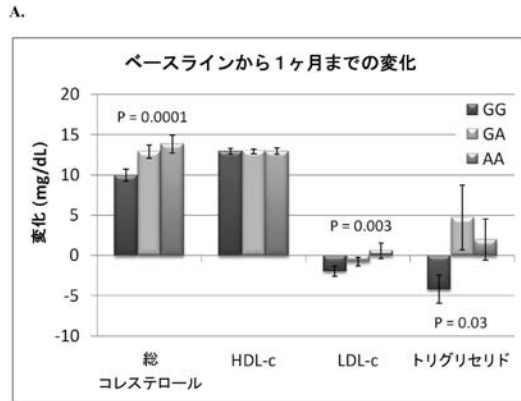
【 図 3 】



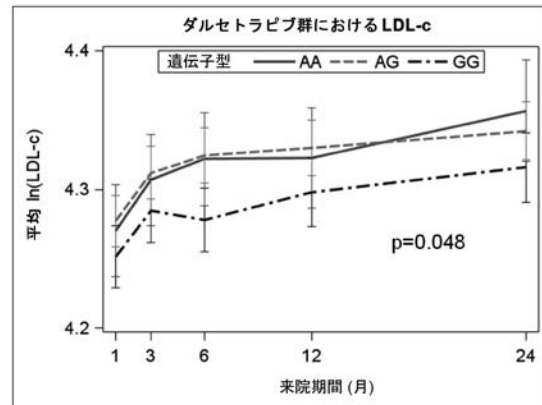
【 図 5 】



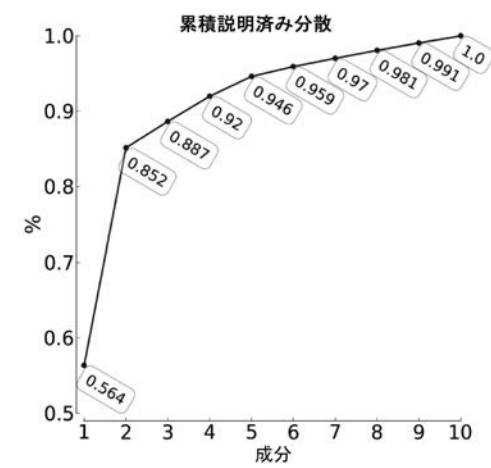
【 図 4 】



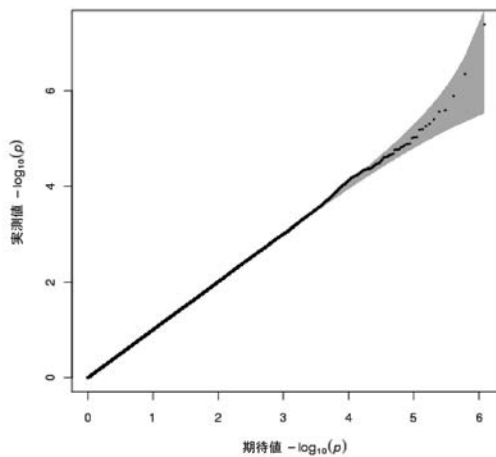
B.



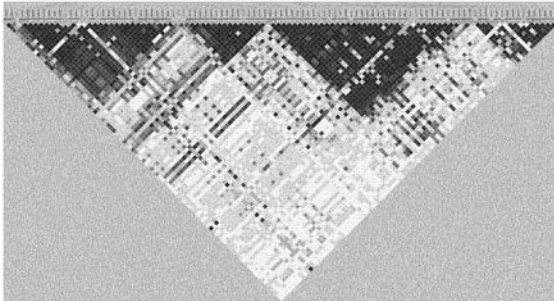
【 図 6 】



【図 7】



【図 8】



【配列表】

2019058180000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成30年12月27日(2018.12.27)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0035

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0035】

エバセトラピブ並びに該化合物を製造及び使用する方法は、国際公開公報第2011002696号に記載されている。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

A D C Y 9 遺伝子における 1 つ以上の多型性部位で改善された応答向上型遺伝子型を有すると同定された対象の、心血管障害を処置するための医薬の製造におけるエバセトラピブ、トルセトラピブ、アナセトラピブ、B A Y 6 0 - 5 5 2 1、D E Z - 0 0 1、A T H - 0 3、D R L - 1 7 8 2 2 又は D L B S - 1 4 4 9 の使用であって、
該 1 つ以上の多形性部位が、r s 1 9 6 7 3 0 9、r s 1 2 5 9 5 8 5 7、r s 2 2 3 9

310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、及びrs13337675の1つ以上である、使用。

【請求項2】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、rs1967309/AG、rs12595857/GG、rs12595857/AG、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs11647828/AG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs17136707/AG、rs2239310/GG、rs2239310/AG、rs2283497/AA、rs2283497/CA、rs2531967/AA、rs2531967/GA、rs3730119/AA、rs3730119/GA、rs4786454/AA、rs4786454/GA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8049452/GA、rs8061182/AA、rs8061182/AG、及びrs13337675/AGの1つ以上である、請求項1記載の使用。

【請求項3】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、rs12595857/GG、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、及びrs8061182/AAの1つ以上である、請求項1又は2記載の使用。

【請求項4】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AAである、請求項1～3のいずれか一項記載の使用。

【請求項5】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs12595857/GGである、請求項1～3のいずれか一項記載の使用。

【請求項6】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、及びrs12595857/GGである、請求項1～3のいずれか一項記載の使用。

【請求項7】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、高脂血症、高リポタンパク血症 (hyperlipidoproteinemia)、アテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、又は糖尿病、肥満又は内毒症の血管合併症である、請求項1～6のいずれか一項記載の使用。

【請求項8】

心血管障害が、急性冠症候群である、請求項1～7のいずれか一項記載の使用。

【請求項9】

ADCY9遺伝子における1つ以上の多形性部位で応答向上型遺伝子型を有すると同定された対象の、心血管イベントのリスクを低下させるための医薬を製造におけるエバセトラピブ、トルセトラピブ、アナセトラピブ、BAY60-5521、DEZ-001、ATH-03、DRL-17822又はDLBS-1449の使用であって、該1つ以上の多形性部位が、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、

rs 4786454、rs 2283497、rs 2531967、rs 3730119、及びrs 13337675の1つ以上である、使用。

【請求項10】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs 1967309 / AA、rs 1967309 / AG、rs 12595857 / GG、rs 12595857 / AG、rs 111590482 / AG、rs 111590482 / GG、rs 11647828 / GG、rs 11647828 / AG、rs 12935810 / GG、rs 17136707 / GG、rs 17136707 / AG、rs 2239310 / GG、rs 2239310 / AG、rs 2283497 / AA、rs 2283497 / CA、rs 2531967 / AA、rs 2531967 / GA、rs 3730119 / AA、rs 3730119 / GA、rs 4786454 / AA、rs 4786454 / GA、rs 74702385 / GA、rs 74702385 / AA、rs 8049452 / GG、rs 8049452 / GA、rs 8061182 / AA、rs 8061182 / AG、及びrs 13337675 / AGの1つ以上である、請求項9記載の使用。

【請求項11】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs 1967309 / AA、rs 12595857 / GG、rs 111590482 / AG、rs 111590482 / GG、rs 11647828 / GG、rs 12935810 / GG、rs 17136707 / GG、rs 2239310 / GG、rs 2283497 / AA、rs 2531967 / AA、rs 3730119 / AA、rs 4786454 / AA、rs 74702385 / GA、rs 74702385 / AA、rs 8049452 / GG、及びrs 8061182 / AAの1つ以上である、請求項9記載の使用。

【請求項12】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs 1967309 / AAである、請求項9記載の使用。

【請求項13】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs 12595857 / GGである、請求項9記載の使用。

【請求項14】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs 1967309 / AA、及びrs 12595857 / GGである、請求項9記載の使用。

【請求項15】

対象が、心血管疾患を有する、請求項9～14のいずれか一項記載の使用。

【請求項16】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、高脂血症、高リポタンパク血症 (hyperlipidoproteinemia)、アテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、又は糖尿病、肥満又は内毒症の血管合併症である、請求項15記載の使用。

【請求項17】

心血管障害が、急性冠症候群である、請求項15記載の使用。

【請求項18】

心血管イベントが、冠動脈疾患死、蘇生された心停止、非致死性心筋梗塞、非致死性虚血性卒中、不安定狭心症、又は予期しない冠血行再建である、請求項9～17のいずれか一項記載の使用。

【請求項19】

ADCY9遺伝子における1つ以上の多形性部位で応答向上型遺伝子型を有すると同定された対象の、心血管障害を処置するための、エパセトラピブ、トルセトラピブ、アナセトラピブ、BAY60-5521、DEZ-001、ATH-03、DRL-17822

又はDLBS - 1449を含む医薬組成物であって、
 該1つ以上の多形性部位が、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、及びrs13337675の1つ以上である、医薬組成物。

【請求項20】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、rs1967309/AG、rs12595857/GG、rs12595857/AG、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs11647828/AG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs17136707/AG、rs2239310/GG、rs2239310/AG、rs2283497/AA、rs2283497/CA、rs2531967/AA、rs2531967/GA、rs3730119/AA、rs3730119/GA、rs4786454/AA、rs4786454/GA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8049452/GA、rs8061182/AA、rs8061182/AG、及びrs13337675/AGの1つ以上である、請求項19記載の医薬組成物。

【請求項21】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、rs12595857/GG、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、及びrs8061182/AAの1つ以上である、請求項19記載の医薬組成物。

【請求項22】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AAである、請求項19記載の医薬組成物。

【請求項23】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs12595857/GGである、請求項19記載の医薬組成物。

【請求項24】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、及びrs12595857/GGである、請求項19記載の医薬組成物。

【請求項25】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、高脂血症、高リポタンパク血症 (hyperlipidoproteinemia)、アテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、又は糖尿病、肥満又は内毒症の血管合併症である、請求項19～24のいずれか一項記載の医薬組成物。

【請求項26】

心血管障害が、急性冠症候群である、請求項19～25のいずれか一項記載の医薬組成物。

【請求項27】

ADCY9遺伝子における1つ以上の多形性部位で応答向上型遺伝子型を有すると同定された対象の、心血管イベントのリスクを低下させるための、エバセトラピブ、トルセトラピブ、アナセトラピブ、BAY60-5521、DEZ-001、ATH-03、DRL-17822又はDLBS-1449を含む医薬組成物であって、

該1つ以上の多形性部位が、rs1967309、rs12595857、rs2239310、rs11647828、rs8049452、rs12935810、rs74702385、rs17136707、rs8061182、rs111590482、rs4786454、rs2283497、rs2531967、rs3730119、及びrs13337675の1つ以上である、医薬組成物。

【請求項28】

応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、rs1967309/AG、rs12595857/GG、rs12595857/AG、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs11647828/AG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs17136707/AG、rs2239310/GG、rs2239310/AG、rs2283497/AA、rs2283497/CA、rs2531967/AA、rs2531967/GA、rs3730119/AA、rs3730119/GA、rs4786454/AA、rs4786454/GA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、rs8049452/GA、rs8061182/AA、rs8061182/AG、及びrs13337675/AGの1つ以上である、請求項27記載の医薬組成物。

【請求項29】

応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、rs12595857/GG、rs111590482/AG、rs111590482/GG、rs11647828/GG、rs12935810/GG、rs17136707/GG、rs2239310/GG、rs2283497/AA、rs2531967/AA、rs3730119/AA、rs4786454/AA、rs74702385/GA、rs74702385/AA、rs8049452/GG、及びrs8061182/AAの1つ以上である、請求項27記載の医薬組成物。

【請求項30】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AAである、請求項27記載の医薬組成物。

【請求項31】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs12595857/GGである、請求項27記載の医薬組成物。

【請求項32】

1つ以上の応答向上型遺伝子型が、rs1967309/AA、及びrs12595857/GGである、請求項27記載の医薬組成物。

【請求項33】

対象が、心血管疾患を有する、請求項27～32のいずれか一項記載の医薬組成物。

【請求項34】

心血管障害が、心血管疾患、冠動脈心疾患、冠動脈疾患、高脂血症、高リポタンパク血症(hyperlipidoproteinemia)、アテローム動脈硬化症、末梢血管疾患、脂質異常症、高リポタンパク血症、低リポタンパク血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、家族性高コレステロール血症、狭心症、虚血、心虚血、卒中、心筋梗塞、再灌流傷害、血管形成術後の再狭窄、高血圧症、又は糖尿病、肥満又は内毒症の血管合併症である、請求項33記載の医薬組成物。

【請求項35】

心血管障害が、急性冠症候群である、請求項33記載の医薬組成物。

【請求項36】

心血管イベントが、冠動脈疾患死、蘇生された心停止、非致死性心筋梗塞、非致死性虚血性卒中、不安定狭心症、又は予期しない冠血行再建である、請求項27～35のいずれか一項記載の医薬組成物。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 Q 1/6872 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6872	Z
C 1 2 Q 1/6883 (2018.01)	C 1 2 Q 1/6883	Z
C 1 2 N 15/54 (2006.01)	C 1 2 N 15/54	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 1
A 6 1 K 31/265 (2006.01)	A 6 1 K 31/265	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	
A 6 1 P 7/00 (2006.01)	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
C 0 7 C 327/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
	A 6 1 P 9/10	1 0 3
	C 0 7 C 327/06	C S P

(72)発明者 デュベ, マリー - ピエール

カナダ国、エイチ1ティー1シー8、モントリオール、ビューロー・エス - 1 4 3 0、リュ・ベランジェー・エスト 5 0 0 0、シーノオー・サントル・ドゥ・ルシエルシュ・アンスティチュ・ドゥ・カルディオロジー・ドゥ・モントリオール

(72)発明者 ニエソル, エリック・ジ

スイス国、ツェーハー - 1 2 6 0 ニヨン、シュマン・ドゥ・ボンモン 1 3 セー

(72)発明者 タルディフ, ジャン - クロード

カナダ国、エイチ1ティー1シー8、モントリオール、イースト・ストリート、ベランジェー 5 0 0 0、シーノオー・モントリオール・ハート・インスティテュート

(72)発明者 ウパマニュ, ルチ

イギリス国、ハートフォードシャー エーエル7 1ティーダブリュ、ウェルイン・ガーデン・シティ、シャイア・パーク、ファルコン・ウェイ 6

Fターム(参考) 2G045 AA35 AA40 DA13 FA40 FB01 FB02

4B063 QA13 QA19 QQ02 QQ08 QQ44 QQ53 QR32 QR36 QR55 QR62

QR72 QR77 QS02 QS25 QS34 QX01

4C084 AA17 NA05 NA14 ZA361 ZA401 ZA421 ZA451 ZA511 ZA701 ZC331

ZC332 ZC351 ZC411 ZC412

4C206 AA01 AA02 JA66 KA01 MA01 MA04 NA05 NA14 ZA36 ZA40

ZA42 ZA45 ZA51 ZA70 ZC33 ZC35 ZC41

4H006 AA01 AA03 AB20 TN60

【外国語明細書】

2019058180000001.pdf

专利名称(译)	用于预测对治疗反应的遗传标记		
公开(公告)号	JP2019058180A	公开(公告)日	2019-04-18
申请号	JP2018228045	申请日	2018-12-05
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏公司		
[标]发明人	デュベマリーピエール ニエソルエリックジ タルディフジャンクロード ウパマニユルチ		
发明人	デュベ,マリーピエール ニエソル,エリックジ タルディフ、ジャンクロード ウパマニユルチ		
IPC分类号	C12Q1/6827 G01N33/50 G01N33/53 C12Q1/04 C12Q1/6837 C12Q1/6872 C12Q1/6883 C12N15/54 A61P9/00 A61K45/00 A61P43/00 A61K31/265 A61P9/10 A61P3/06 A61P7/00 A61P9/12 A61P3/10 A61P3/04 C07C327/06		
CPC分类号	A61K31/167 A61P3/04 A61P3/06 A61P3/10 A61P7/00 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P43/00 C12Q1/686 C12Q2600/106 C12Q1/6827 C12Q1/6874 C12Q2600/158		
FI分类号	C12Q1/6827.ZNA.Z G01N33/50.P G01N33/53.M C12Q1/04 C12Q1/6837.Z C12Q1/6872.Z C12Q1/6883.Z C12N15/54 A61P9/00 A61K45/00 A61P43/00.101 A61K31/265 A61P9/10.101 A61P3/06 A61P7/00 A61P9/10 A61P9/12 A61P3/10 A61P3/04 A61P9/10.103 C07C327/06.CSP C12Q1/6827.ZZN.A		
F-TERM分类号	2G045/AA35 2G045/AA40 2G045/DA13 2G045/FA40 2G045/FB01 2G045/FB02 4B063/QA13 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ44 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS02 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QX01 4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA361 4C084/ZA401 4C084/ZA421 4C084/ZA451 4C084/ZA511 4C084/ZA701 4C084/ZC331 4C084/ZC332 4C084/ZC351 4C084/ZC411 4C084/ZC412 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/JA66 4C206/KA01 4C206/MA01 4C206/MA04 4C206/NA05 4C206/NA14 4C206/ZA36 4C206/ZA40 4C206/ZA42 4C206/ZA45 4C206/ZA51 4C206/ZA70 4C206/ZC33 4C206/ZC35 4C206/ZC41 4H006/AA01 4H006/AA03 4H006/AB20 4H006/TN60		
优先权	2013161386 2013-03-27 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
 本发明提供了用于选择患有心血管疾病的患者的基因分型方法和组合物，其将受益于用HDL升高剂或HDLm模拟物，特别是CETP抑制剂/调节剂治疗。一种鉴定受益于HDL产生剂或HDL模拟物的受试者的方法，所述基因位于所述受试者的蛋白质ADCY9的基因中的所述一个或多个多态性位点一种涉及确定类型的方法。该方法，其中多态性位点包含rs1967309或rs12595857。【选择图表】无

(19) 日本国特許庁 (JP)	(12) 公開特許公報 (A)	(11) 特許出願公開番号 特開2019-58180 (P2019-58180A)
	(43) 公開日	平成31年4月18日 (2019. 4. 18)
(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1 / 6 8 2 7 (2018. 01)	C 1 2 Q 1 / 6 8 2 7	Z N A Z 2 G 0 4 5
G O 1 N 3 3 / 5 0 (2006. 01)	G O 1 N 3 3 / 5 0	P 4 B 0 6 3
G O 1 N 3 3 / 5 3 (2006. 01)	G O 1 N 3 3 / 5 3	M 4 C 0 8 4
C 1 2 Q 1 / 0 4 (2006. 01)	C 1 2 Q 1 / 0 4	4 C 2 0 6
C 1 2 Q 1 / 6 8 3 7 (2018. 01)	C 1 2 Q 1 / 6 8 3 7	Z 4 H 0 0 6
	審査請求 有	請求項の数 36 O L 外国特許出願 (全 61 頁) 最終頁に続く
(21) 出願番号	特願2018-228045 (P2018-228045)	(71) 出願人
(22) 出願日	平成30年12月5日 (2018. 12. 5)	エフ・ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(23) 分割の表示	特願2016-504603 (P2016-504603) の分割	F. HOFFMANN-LA ROCH E AKTIENGESELLSCHAFT
原出願日	平成28年3月24日 (2014. 3. 24)	スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
(31) 優先権主張番号	13161386.1	グレンツァーヘルストラッセ124
(32) 優先日	平成25年3月27日 (2013. 3. 27)	(74) 代理人
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	110001508 特許業務法人 津田