

(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2016-520843  
(P2016-520843A)

(43) 公表日 平成28年7月14日(2016.7.14)

(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	D	4 H O 4 5
GO 1 N 33/543 (2006.01)		GO 1 N 33/543	5 4 5 A	
CO 7 K 14/47 (2006.01)		CO 7 K 14/47		

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2016-517619 (P2016-517619)  
 (86) (22) 出願日 平成26年6月6日(2014.6.6)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年1月29日(2016.1.29)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/061819  
 (87) 国際公開番号 W02014/195456  
 (87) 国際公開日 平成26年12月11日(2014.12.11)  
 (31) 優先権主張番号 13305760.4  
 (32) 優先日 平成25年6月6日(2013.6.6)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁(EP)

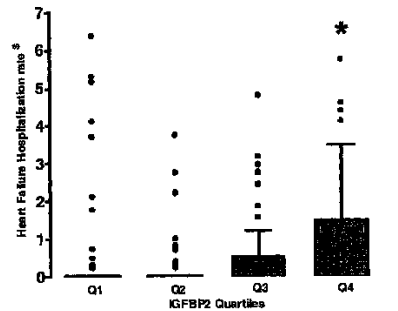
(71) 出願人 591100596  
 アンスティチュ ナショナル ドウ ラ  
 サンテ エ ドウ ラ ルシエルシュ メ  
 ディカル  
 フランス国、エフー75013 パリ、リ  
 ユ・ドウ・トルビアック 101  
 (71) 出願人 510139564  
 ユニヴェルシテ ポール サバティエ ト  
 ウールーズ トロワ  
 フランス共和国 エフー31062 トウ  
 ールーズ セデックス 9, ルート ド  
 ウ ナルボンヌ 118

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心不全後の再入院のバイオマーカー

(57) 【要約】

本発明は、心不全患者が入院及び/又は再入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中のIGFBP2濃度を測定する工程を含む方法に関する。



\* Kruskal Wallis test P=0.0028, post hoc comparison with Q1 and Q2 p<0.05

§ Patient mean annual rate of hospitalization for heart failure cause

Quartile	Q1	Q2	Q3	Q4	P for trend
N	77	76	77	76	
Median (ng/ml)	53.5	126.9	213.0	261.8	
95% CI	(44.7-558)	(111.6-386.4)	(206.5-226.0)	(866.8-448.4)	
Lower limit (ng/ml)	1.8	78.0	174.0	276.4	
Upper limit (ng/ml)	76.9	171.9	279.0	1206.0	
Heart failure Hospitalization rate 75 <sup>th</sup> Percentile	0	0	0.48	1.42	0.0028

Figure 4

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

心不全患者が入院及び／又は再入院されられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定することを含む方法。

## 【請求項 2】

( i ) 心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定する工程、

( i i ) 工程 ( i ) で測定された I G F B P 2 濃度を、心不全の特定ステージにある患者からの試料中の I G F B P 2 濃度から導き出された閾値及び／又は健康な患者からの試料中の I G F B P 2 濃度から導き出された閾値と比較する工程

をさらに含む、請求項 1 記載の方法。

10

## 【請求項 3】

心不全が、無症候性心不全、慢性心不全又は急性心不全である、請求項 1 又は 2 記載の方法。

## 【請求項 4】

試料が、血液、血漿又は血漿試料からなる群より選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか記載の方法。

## 【請求項 5】

I G F B P 2 濃度が、試料中の I G F B P 2 タンパク質のレベルを定量することによって測定される、請求項 1 ~ 4 のいずれか記載の方法。

## 【請求項 6】

I G F B P 2 タンパク質のレベルの定量が、I G F B P 2 に対する抗体のセットを使用することによって行われる、請求項 5 記載の方法。

20

## 【請求項 7】

I G F B P 2 タンパク質のレベルの定量が、E L I S A によって行われる、請求項 5 記載の方法。

## 【請求項 8】

I G F B P 2 タンパク質のレベルの定量が、キャピラリー電気泳動 - 質量分析法 ( C E - M S ) によって行われる、請求項 5 記載の方法。

## 【請求項 9】

心不全患者がさらに入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定することを含む方法。

30

## 【請求項 10】

( i ) 心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定する工程、

( i i ) 工程 ( i ) で測定された I G F B P 2 濃度を、心不全の特定ステージにある患者からの試料中の I G F B P 2 濃度から導き出された閾値及び／又は健康な患者からの試料中の I G F B P 2 濃度から導き出された閾値と比較する工程

をさらに含む、請求項 9 記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

40

発明の分野：

本発明は、心不全患者が入院 ( ホスピタライズ : hospitalize ) 及び／又は再入院 ( リホスピタライズ : rehospitalize ) させられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定することを含む方法に関する。

## 【0002】

発明の背景：

一般集団における加齢及び心血管リスク因子のせいで、心不全 ( H F ) の有病率は増加の一途である [ Delahaye, F. et al., 2001 ]。非定型の症状 ( presentation ) 及び専門化された治療アクセスの必要性のせいで、H F の診断は、依然として多くの場合に複雑す

50

ざる。臨床医が心不全を診断するのを助けるために、ナトリウム利尿ペプチド（NP）などの血液HFバイオマーカーが提唱されている。しかし、NPには限界があり、そのことにより、促進された大規模なHFのスクリーニングを可能にする、より特異的でより正確なバイオマーカーの必要性があり続ける。加えて、急性呼吸困難のために救急処置室に入れられた患者の30%は、診断が可能でない「グレーゾーン」の脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）濃度を有する。これらの場合に、HFの診断は、高価で時間のかかる検査を必要とする。しかし、患者の迅速な診断及び早期の医療が患者の健康にプラスの影響を及ぼし、処置のコストも下げることが認識されている。

#### 【0003】

入院させられた心不全患者の安全な退院は、非常に重要な課題である。患者にとっての生命リスクを避けるために、臨床検査によって、そしてまた客観的な生物学的パラメーターの支援を得て、患者の臨床状態を慎重に評価することが不可欠である。そのうえ、患者の予後の楽観的推定に起因する再入院は、心不全についての過度の再入院率の計算によって判定される罰則によって、米国の病院に重要な財務問題を引き起こすおそれがある（Hospital Readmission Reduction Program of the social security: <http://www.cms.gov/Medicare/Medicare-Fee-for-Service-Payment/AcuteInpatientPPS/Readmissions-Reduction-Program.html>）。したがって、心不全後の再入院の客観的生物学的バイオマーカーを有することは、関心対象である。

#### 【0004】

発明の概要：

本発明者らは、大都市アトランタ圏における大学附属病院3施設からの心不全（HF）を有する患者を用いて前向き研究を開始した。単変量解析から、IGFBP2と、心不全のための患者の再入院との関連が明らかとなった。

#### 【0005】

したがって、本発明は、心不全患者が入院及び/又は再入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中のIGFBP2濃度を測定することを含む方法に関する。

#### 【0006】

発明の詳細な説明：

入院及び再入院のリスクを推定するための方法

本発明は、心不全患者が入院及び/又は再入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中のIGFBP2濃度を測定することを含む方法に関する。

#### 【0007】

一実施態様では、本発明は、心不全患者が入院（入院率）及び/又は再入院（再入院率）させられやすいかどうかを確定するための方法であって、該心不全患者から得られた試料中のIGFBP2濃度を測定することを含む方法に関する。

#### 【0008】

特定の一態様では、該方法は、

(i) 心不全患者から得られた試料中のIGFBP2濃度を測定すること、

(ii) 工程(i)で測定されたIGFBP2濃度を、心不全の特定ステージにある患者からの試料中のIGFBP2濃度から導き出された閾値及び/又は健康な患者からの試料中のIGFBP2濃度から導き出された閾値と比較すること

をさらに含む。

#### 【0009】

一実施態様では、閾値は、慢性心不全を有する患者からの試料中の第2四分位（中央値）濃度に対応する。この閾値は、入院させられなかった患者の中央値と入院又は再入院させられた患者の中央値との間にある。

#### 【0010】

本発明は、また、心不全患者が入院及び/又は再入院させられやすいかどうかを確定す

るための方法であって、i) 該患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を決定すること；及び i i) 該濃度を閾値と比較することからなる工程を含む方法に関する。

【0011】

本明細書に使用される「心不全患者」という用語は、心不全を患う患者であって、任意のステージの心不全のために入院させられた又は入院させられている患者を意味する。「心不全患者」という用語は、また、過去に心不全のために入院させられたことのある患者を意味する。

【0012】

本明細書に使用される「再入院させられた」は、心不全のために入院させられた (hospitalized) ことのある患者であって、再度入院させられた患者を意味する。この状況で、患者は、同じ疾患のために再度入院させられたものである。言い換えると「再入院させられた」という用語は、心不全によるさらなる入院を意味する。

【0013】

一実施態様では、心不全は、無症候性心不全、慢性心不全又は急性心不全であり得る。

【0014】

典型的には、本発明による試料は、血液、血漿、血清、リンパ液又は尿試料であり得る。特定の一態様では、該試料は、血液又は血漿である。

【0015】

本明細書に使用される「インスリン様成長因子結合タンパク質 2」に対する「I G F B P 2」という用語は、インスリン様成長因子 1 (I G F I) 又はインスリン様成長因子 2 (I G F I I) に対する担体タンパク質として作用するタンパク質を意味する。本明細書に使用される「I G F B P 2」という用語は、I G F B P 2 のフラグメントも意味する。本明細書に使用される「I G F B P 2 のフラグメント」という用語は、I G F B P 2 の化学的又は生化学的加水分解から生じる、より短鎖のペプチドを意味する。

【0016】

本明細書に使用される「心不全」という用語は、心臓が身体の必要に答えるに足る血流を供給できないことを意味し、この病理は、診療において十分に説明される。この用語は、慢性心不全、急性心不全、心筋梗塞、不安定狭心症、拡張機能障害、収縮機能障害及び糖尿病性心筋症を包含する。

【0017】

本明細書に使用される糖尿病性心筋症という用語は、心臓が血液を全身に循環できないことに至る心不全の一形態である。

【0018】

本明細書に使用される「慢性心不全」という用語は、通常、処置後の安定な総体症状を伴う長期状況を意味する。

【0019】

本明細書に使用される「急性心不全」という用語は、既知の慢性心不全がある患者又は慢性心不全のない患者が突然に症状の悪化を生じ、入院を要するというエピソードを表す、突然の心不全発症及び急性の「増悪」又は「代償不全 (decompensated)」心不全を意味する。急性心不全による一般的な合併症は、非限定的に、肺うっ血による呼吸困難又は低い心拍出量による心原性ショック、易疲労性 (低運動能)、末梢性浮腫、全身水腫 (顕著な全身浮腫)、低血圧、失神、尿量減少又は無尿、高カリウム血症を含む。

【0020】

心不全を有する患者は、国際的な等級づけ、すなわちニューヨーク心臓協会 (N Y H A) 心機能分類により分類される。心不全の機能分類は、一般的に、ニューヨーク心臓協会心機能分類 (Criteria Committee, New York Heart Association. Diseases of the heart and blood vessels). Nomenclature and criteria for diagnosis, 6th ed. Boston: Little, Brown and co, 1964;114) により行われる。この分類は、心不全の重症度を 4 つのクラス (I ~ IV) にステージ分けしている。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 1 】

心疾患があるが、身体活動に制限がない患者は、NYHAクラスIとして分類される。日常的な身体活動で、著しい疲労、動悸、呼吸困難又は狭心痛を生じない。無症候性の患者は、NYHAクラスIとして分類される。

## 【 0 0 2 2 】

心疾患があり、軽度の身体活動の制限がある患者は、NYHAクラスIIとして分類される。日常的な身体活動で、疲労、動悸、呼吸困難又は狭心痛を生じる。患者は、安静時に安定している。

## 【 0 0 2 3 】

心疾患があり、高度な身体活動の制限がある患者は、NYHAクラスIIIとして分類される。日常的な身体活動に満たない労作で、疲労、動悸、呼吸困難又は狭心痛を生じる。患者は、安静時に無症状である。

## 【 0 0 2 4 】

心疾患があり、不快感なしに身体活動を全く続けることができない患者は、NYHAクラスIVとして分類される。心不全又は狭心症症候群の症状が、安静時にも存在し得る。わずかな身体活動で不快感が増悪する。

## 【 0 0 2 5 】

上記に使用される「検出する」又は「決定する」という用語は、対照を参照した又は参照しない定性及び/又は定量検出(レベルを測定する)を含む。典型的には、IGFBP2濃度は、例えば試料に対して行われたキャピラリー電気泳動-質量分析法(CE-MS)、他の質量分析法又はELISAによって測定され得る。

## 【 0 0 2 6 】

好ましくは、本発明は、熱患者(a heat patient)が入院及び/又は再入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、a)該心不全患者から得られた試料中のIGFBP2濃度を測定することからなる工程を含む方法に関する。好ましくは、本発明の方法は、さらに、工程a)で得られたIGFBP2濃度を閾値レベルと比較する工程を含む。

## 【 0 0 2 7 】

「対照」は、健康な対象、すなわち心不全を全く患わない対象であり得る。対照は、心不全を患う対象でもあり得る。好ましくは、該対照は、健康な対象である。

## 【 0 0 2 8 】

試料中のIGFBP2濃度の検出は、また、IGFBP2タンパク質のレベルを測定することによって行われ得る。本出願において、「IGFBP2タンパク質のレベル」は、該IGFBP2タンパク質の量又は濃度を意味する。別の実施態様において、「IGFBP2のレベル」は、IGFBP2フラグメントのレベルを意味する。

## 【 0 0 2 9 】

そのような方法は、試料中に存在するIGFBP2タンパク質ペプチドと選択的に相互作用する能力がある結合パートナーと試料を接触させることを含む。結合パートナーは、一般的に、ポリクローナル又はモノクローナル、好ましくはモノクローナルであり得る抗体である。

## 【 0 0 3 0 】

タンパク質の存在は、競合アッセイ法、直接反応アッセイ法、又はサンドイッチ型アッセイ法などのイムノアッセイ法を含む、標準的な電気泳動技法及び免疫診断技法を用いて検出することができる。そのようなアッセイ法は、非限定的に、ウエスタンブロット;凝集試験;ELISAなどの酵素標識及び酵素媒介イムノアッセイ法;ビオチン/アビジン型アッセイ法;ラジオイムノアッセイ法;免疫電気泳動法;免疫沈降法、キャピラリー電気泳動-質量分析法(CE-MS)などを含む。反応は、一般的に、蛍光標識、化学発光標識、放射性標識、酵素標識若しくは色素分子などの明示の(revealing)標識、又は抗原と、それと反応する1種以上の抗体との複合体の形成を検出するための他の方法を含む。

10

20

30

40

50

## 【0031】

前記アッセイ法は、一般的に、抗原 - 抗体複合体が結合している固相支持体から液相中への未結合タンパク質の分離を伴う。本発明の実施に使用することができる固体支持体は、ニトロセルロース（例えば、メンブラン又はマイクロタイターウェル形式のもの）；ポリ塩化ビニル（例えば、シート又はマイクロタイターウェル）；ポリスチレンラテックス（例えば、ビーズ又はマイクロタイタープレート）；ポリフッ化ビニリジン（polyvinylidene fluoride）；ジアゾ化紙；ナイロンメンブラン；活性化ビーズ、磁気反応性ビーズなどの基材を含む。

## 【0032】

より詳細には、マイクロタイタープレートのウェルが被験タンパク質に対する抗体のセットでコーティングされているELISA法を使用することができる。次に、コーティング済みのウェルに、マーカータンパク質を含有する又は含有する疑いのある試料が添加される。抗体 - 抗原複合体を形成させるために十分なインキュベーション期間の後に、未結合の部分を除去するためにプレートが洗浄され、検出可能に標識された二次結合分子が添加される。二次結合分子は、任意の捕捉済み試料マーカータンパク質と反応させられ、プレートが洗浄され、当技術分野において周知の方法を用いて二次結合分子の存在が検出される。

## 【0033】

本発明の方法は、循環している細胞中のIGFBP2タンパク質及びフラグメントの濃度を対照値と比較することからなる工程を含み得る。本明細書に使用される「IGFBP2濃度」は、転写産物、例えばタンパク質IGFBP2の量又は濃度を表す。典型的には、タンパク質のレベルは、例えば、組織1マイクログラムあたりのナノグラム又は培地1ミリリットルあたりのナノグラムとして表現することができる。あるいは、相対単位を採用して濃度を記載することができる。特定の一態様では、「IGFBP2濃度」は、IGFBP2のフラグメントを表し得る。したがって、特定の一態様では、IGFBP2のフラグメントは、測定もされ得る。

## 【0034】

本発明者らは、患者の入院及び/又は再入院のリスクが、血漿中のIGFBP2タンパク質濃度と関連していることを確定した。したがって、IGFBP2タンパク質血漿濃度が171ng/ml（コホートにおけるIGFBP2タンパク質血漿濃度の中央値よりも高い場合に、心不全疾患のために入院又は再入院させられた患者の比率は、より高い（図1、図2、表4）。心不全及び他の原因のための年間入院率は、IGFBP2タンパク質の血漿濃度と正の相関関係にある（それぞれ図3及び図4）。患者にとっての入院及び/又は再入院のリスクは、血漿中IGFBP2タンパク質濃度に比例する。したがって、IGFBP2タンパク質が100ng/ml増加する毎に、入院/再入院率は20%増加する。言い換えると、171ng/mlという閾値（コホートにおけるIGFBP2濃度の中央値）を超えるあらゆる100ng/mlで、患者は、心不全及び全ての原因のために再入院させられる見込みが20%大きい（表3、表4参照）。なお別の言葉で説明すると、IGFBP2濃度が閾値+100ng/mlである患者は、心不全のために再入院させられる見込みが20%大きい。IGFBP2濃度が閾値+200ng/mlである患者は、心不全のために再入院させられる見込みが40%大きい。IGFBP2濃度が閾値+300ng/mlである患者は、心不全のために再入院させられる見込みが60%大きい。

## 【0035】

典型的には、「閾値」、「閾値レベル」又は「カットオフ値」は、実験的、経験的、又は理論的に決定することができる。当業者によって認識されるように、閾値は、また、既存の実験条件及び/又は臨床条件に基づき任意に選択することができる。好ましくは、当業者は、本発明の方法により得られたIGFBP2濃度を規定の閾値と比較してもよい。

## 【0036】

好ましくは、該閾値は、健康な個体の集団の平均IGFBP2濃度である。本明細書に使用される用語「健康な個体」は、健康であることが公知のヒト、すなわち心不全を患わ

10

20

30

40

50

ないヒト、そのような慢性心不全に罹ったことのないヒト、及び医療の必要が全くないヒトを意味する。

【0037】

好ましくは、該閾値は、病気の個体の集団の平均 I G F B P 2 濃度である。本明細書に使用される「病気の個体」という用語は、病気であることが公知のヒト、すなわち N Y H A 心不全分類による任意の心不全ステージの心不全を患うヒトを意味する。

【0038】

典型的には、当業者は、健康又は病気であることが公知の 100 個体の生物学的試料中の、好ましくは血漿又は尿中の I G F B P 2 濃度を決定し得る。次に、平均 I G F B P 2 濃度を得るために、得られた濃度の平均値が周知の統計解析により決定される。次に、該値は正規性に見なされ、したがって閾値となる。次に、I G F B P 2 濃度をこの閾値と比較することによって、医師は、心不全患者を再入院させるべきかどうかを決定することができる。実際に、所与の対象の生物学的試料中から、好ましくは血漿又は尿中から、得られた I G F B P 2 濃度を閾値と比較することによって、該対照が心不全を患うか否かを容易に決定することができ、又は N Y H A の心不全分類による心不全ステージを容易に決定することができる。

10

【0039】

それゆえに、医師は、心不全を患う、重態及び生命に関わる状態の対象の適切な医療を適応及び最適化することができる。予後の判定は、経過観察医療及び臨床的意志決定のために極めて適切である。

20

【0040】

したがって、本発明は、心不全患者が再入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、以下の工程：

- a) 該心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を決定すること；
- b) 健康な個体集団又は病気の個体集団、好ましくは健康な 100 個体の生物学的試料中の平均 I G F B P 2 濃度を決定すること；及び
- c) a) で得られた I G F B P 2 濃度を、b) で得られた平均 I G F B P 2 濃度と比較する工程

を含む方法に導かれる。

【0041】

本発明のなお別の目的は、本発明の方法を行うためのキットであって、心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定するための手段を含むキットに関する。

30

【0042】

キットは、上記のような抗体又は抗体のセットを含み得る。特定の一態様では、抗体又は抗体のセットは、上記のように標識される。キットは、また、他の適切にパッケージされた試薬、及び妥当であれば固相マトリックス及び標準を含む、特定の検出プロトコールのために必要な材料を含有し得る。キットは、また、さらなるバイオマーカーの検出のための 1 つ以上の手段を含有し得る。

【0043】

本発明のさらなる目的は、心不全患者が入院及び / 又は再入院させられやすいかどうかを確定するための方法であって、

40

- (i) 該心不全患者から得られた試料中の I G F B P 2 濃度を測定すること、
- (ii) 段階 (i) で測定された I G F B P 2 濃度を、健康な患者由来の試料中の I G F B P 2 濃度から導き出された閾値と比較することであって、該試料中の I G F B P 2 濃度が閾値よりも高い場合に、患者は入院又は再入院させられやすいことをさらに含む方法に関する。

【0044】

本発明のさらなる目的は、心不全後の患者の入院及び / 又は再入院についてのバイオマーカーとしての I G F B P 2 の使用に関する。

【0045】

50

本発明は、以下の図面及び実施例によってさらに例示される。しかし、これらの実施例及び図面は、決して本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【0046】

【図1】アトランタ心筋症コンソーシアム：試験計画を示す図である。

【図2】IGFBP2の記述統計量を示す図である。IGFBP2の平均±SD：211±180 ng/mL、中央値(IQR)：172 [76, 274] ng/mL。IGFBP2の分布：対数正規性の検定(対数正規データのためのシャピロ-ウィルクのW検定：P=0.90)。

【図3】IGFBP2の四分位による全ての原因の入院率の箱ひげ図を示す図である。

10

【図4】IGFBP2の四分位による心不全の入院率の箱ひげ図を示す図である。

【0047】

表1：患者の特徴(N=306)

臨床的特徴：

年齢：57±12歳

性別：男性196人(64.0%)、女性110人(36.0%)

人種：白人158人(51.6%)、黒人138(45.1%)、その他10人(3.3%)

病因：虚血性125人(40.8%)、非虚血性181人(59.2%)

LV駆出分画：37 [25, 50] %

20

NYHAクラス：I~IIが214人(69.9%)；III~IVが92人(30.1%)

糖尿病：102人(33.3%)

収縮期血圧：113±20 mmHg

BNP：210 [70, 662] ng/mL (参加者240人中)

クレアチニン：1.2 [1.0, 1.5] mg/dL

血中尿素窒素：18 [13, 26] mg/dL

ナトリウム：138.4±2.9 mEq/dL

ヘモグロビン：13.2±1.8 g/dL

遮断薬：279人(91.2%)

30

ACEI又はARB：239人(78.1%)

アルドステロンアンタゴニスト：134人(43.8%)

ICD±CRT装置：194人(64.5%)

患者212人における心エコーのPASP：41±15 mmHg

【0048】

略語：

LV、左心室；NYHA、ニューヨーク心臓協会；BNP、脳性ナトリウム利尿ペプチド；ACEI、アンジオテンシン変換酵素阻害薬；ARB、アンジオテンシン受容体遮断薬；ICD、植込み型除細動器；CRT、心臓再同期療法；PASP、肺動脈収縮期圧

【0049】

40

正規性連続型変数を、平均±標準偏差として表現する。

【0050】

非正規性変数を、中央値及び[四分位範囲]として表現する。

【0051】

カテゴリ変数を、発生数及び(パーセンテージ)として表現する。

【0052】

## 【表 1】

表 2: GFBP2 と臨床特徴との相関関係

特徴	スピアマンの ρ	P 値
年齢	0.107	0.062
性別 (男性=0; 女性=1)	-0.073	0.20
人種 (白人=1)	-0.078	0.17
病因 (虚血性=1)	0.078	0.17
LV 駆出分画	-0.089	0.12
NYHA クラス	0.097	0.095
糖尿病	0.076	0.19
収縮期血圧	-0.104	0.071
BNP (患者 240 人における)	0.319	<0.0001
クレアチニン	0.318	<0.0001
血中尿素窒素	0.312	<0.0001
ナトリウム	-0.018	0.76
ヘモグロビン	-0.206	0.0005
β 遮断薬	0.044	0.44
ACEI 又は ARB	-0.167	0.0034
アルドステロンアンタゴニスト	-0.009	0.87
ICD/CRT 装置	0.009	0.87
エコーの PASP (患者 212 人における)	0.220	0.0013

10

20

## 【0053】

L V、左心室；N Y H A、ニューヨーク心臓協会；B N P、脳性ナトリウム利尿ペプチド；A C E I、アンジオテンシン変換酵素阻害薬；A R B、アンジオテンシン受容体遮断薬；I C D、植込み型除細動器；C R T、心臓再同期療法；P A S P、肺動脈収縮期圧。

## 【0054】

## 表 3：転帰

経過観察：中央値、3.1 [ 1.9, 3.9 ] 年；平均、2.8 ± 1.1 年

主要臨床事象 52 件：死亡 42 件；左心補助人工心臓 (L V A D) の植込み 5 件；緊急心臓移植 5 件。

全ての原因の入院 765 件；H F のための入院 278 件 (全入院の 36.3%)。

## 【0055】

30

【表 2】

IGFBP2 (連続型変数) と転帰との関連 (N=303)		
<b>単変量解析</b>		
主要臨床事象との関連 (コックス回帰): 100 ng/mL あたりの HR	1.22 (95% CI: 1.09 ~ 1.36)	P < 0.001
全ての原因の入院との関連 (ポアソン過程, 負の二項回帰): 100 ng/mL あたりの IRR	1.12 (95% CI: 1.03 ~ 1.22)	P = 0.007
<b>多変量解析*</b>		
主要臨床事象との関連 (コックス回帰): 100 ng/mL あたりの HR	1.23 (95% CI: 1.06 ~ 1.43)	P = 0.005
HF の入院との関連 (ポアソン過程, 負の二項回帰): 100 ng/mL あたりの IRR	1.20 (95% CI: 1.00 ~ 1.44);	P = 0.05

10

## 【 0 0 5 6 】

\* 補正モデル：年齢、性別、人種、病因、NYHAクラス、収縮期血圧、ナトリウム、血中尿素窒素（クレアチニンよりも強く共線性）、LVEF、ヘモグロビン、処置（遮断薬、ACEI又はARB、アルドステロンアンタゴニスト、植込み型装置）。

HR：ハザード比；IRR、発生率の比

## 【 0 0 5 7 】

20

## 【表 3】

表 4: 閾値未満及び閾値超の IGFBP2 濃度を有する入院率及び再入院率

高い IGFBP2 及び低い IGFBP2 (二分状態) に応じた転帰 (N=303)				
転帰	低 IGFBP2 IGFBP2<172 ng/ml	高 IGFBP2 IGFBP2>172 ng/ml	発生率の比 (95% CI)	P 値
<b>資源の利用 (100 人-年あたり)</b>				
全ての原因の入院	72.8	104.2	1.43 (1.24 - 1.65)	<0.0001
心不全の入院	21.8	43.1	1.98 (1.54 - 2.55)	<0.0001
全ての原因の総入院日数	274	566	1.94 (1.81 - 2.07)	<0.0001
心不全関連の総入院日数	175	346	1.97 (1.81 - 2.15)	<0.0001
全ての原因の再入院	111	151	1.37 (1.15 - 1.63)	<0.0001
<b>患者の分布</b>				
全ての原因で入院させられた患者 73% (N=221)	48% (106)	52% (115)		= 0.710
全ての原因で再入院させられた患者 51% (N=155)	44 % (69)	55% (86)		= 0.311
HF で入院させられた患者 31% (N=95)	36 % (34)	64% (61)		=0.021
HF で再入院させられた患者 18% (N=54)	31 % (17)	68% (37)		=0.018

10

20

30

## 【 0 0 5 8 】

## 実施例

## 材料及び方法

## 患者集団

アトランタ心筋症コンソーシアムは、大都市アトランタ圏における大学附属病院 3 施設からの HF を有する外来患者を登録している前向きコホート研究である (図 1)。組入れ基準は、年齢 > 18 歳、書面のインフォームドコンセントを理解し、それに署名し、参加できること、並びに駆出分画が低下又は維持された HF と診断されていることを含んでいた。駆出分画が維持された HF の診断は、HF の臨床診断に加えて、B 型ナトリウム利尿ペプチドレベルの > 200 pg/dl への上昇及び / 又は拡張機能障害の心エコー的根拠を必要とした [Paulus WJ et al., 2007]。除外基準は、先天性心疾患、心臓移植の既往又は移植待機、公知の心臓浸潤性疾患 (例えばアミロイドーシス)、他の実質臓器移植の既往、及び通院型の強心薬連続注入を必要とする末期 HF を含んでいた。

40

## 【 0 0 5 9 】

## 研究手順

全ての患者は、過去の病歴調査、病歴及び身体検査、心エコー、6 分間歩行試験、いくつかの質問票調査、並びにベースラインでの血液及び尿試料の採取を受ける。人種は自己申告である。6 ヶ月毎に、患者と連絡をとり、投薬の変更、手法、新たな診断、及び入院を評価する。死亡データは、医療記録の再調査、家族からの情報、及び社会保障死亡指数

50

クエリによって収集する。入院データは、電子健康記録の再調査、外部病院への任意の入院に関する任意の専門外来 (specialty encounter) からの外来患者覚え書き、及び経過観察途中の患者への直接的な問診から得られる。施設内審査委員会は本研究を承認した。登録前に全ての患者からインフォームドコンセントを得た。

【0060】

転帰

臨床事象を、死亡、心臓移植、又は左心補助人工心臓の設置の複合体として定義する。資源の利用を、救急部門への来院、全ての原因及びHFの入院、並びに100人-経過観察年あたりの合計入院日数として判断した。

【0061】

血液試料の採取

ベッドで15分間休憩後全ての患者から瀉血を行い、ナトリウム/EDTA管内に末梢静脈血を抜き取った。1500gにおいて4で15分間遠心分離後、血漿を分離し、小分けし、アッセイまで-80で保存した。

【0062】

免疫法

IGFBP-2酵素結合免疫吸着アッセイ法。R&D DuoSet ELISA開発キット(サンドイッチELISA; no. DY674; R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN)を使用して、製造業者の規格書の通りヒトIGFBP-2を測定した。

【0063】

結果

試験の参加者

ベースラインの患者の特徴を表1に示す。患者の平均年齢は $57 \pm 12$ 歳(25~87歳の範囲); 女性36%、黒人45.1%であった。大部分の患者は駆出分画が低下したHFを有していた。

【0064】

相関分析

IGFBP2の血漿レベルは、年齢、性別、人種、病因、左心室駆出分画、NYHAクラス、糖尿病、収縮期血圧、ナトリウム、b遮断薬、アルドステロンアンタゴニストICD/CRT装置と関連していなかった。IGFBP2レベルは、BNP、クレアチニン、血中尿素窒素、心エコーのPASPと正の関連を示し、ヘモグロビン、ACEI及びARB薬の処方と負の関連を示した(表2参照)。

【0065】

転帰

平均経過観察期間 $2.8 \pm 1.1$ 年(合計: 857患者-年)の間に、合計臨床事象率12%及び年間事象率6%に対して、患者42人が死亡し、5人が移植を受け、5人が心補助人工心臓を受けた。HFの入院回数及び入院日数並びにより低い全ての原因の及びHF特異的な救急部門来院が記録された。患者は、全ての原因の入院765回; HFのための入院278回(全入院の36.3%)に供された。IGFBP2の分布は対数正規型であるものの、主要臨床事象及び入院との関連形態は線形であるので(分数多項式及び制限三次スプラインの両方を用いて評価)、転帰のモデリングのために変換は必要なかった(図2)。中央値( $172 \text{ ng/ml}$ )よりも高いIGFBP2タンパク質の血漿濃度を有する患者は、HFのために有意に多く入院又は再入院させられている(表4)。IGFBP2タンパク質の血漿濃度により四分位に層別化された患者の入院率の解析から、IGFBP2濃度と患者の入院率との間に正の傾向があること、及び最高の四分位にある患者が、第1又は第2四分位にある患者よりも全ての原因及び心不全のための入院率が有意に高いことが実証されている。それぞれ図3及び図4。

【0066】

単変量解析から、IGFBP2と、主要臨床事象( $100 \text{ ng/mL}$ あたり $\text{HR} = 1.22$ ; 95%CI [1.09 - 1.36];  $P < 0.001$ )及び全ての原因の入院率(10

10

20

30

40

50

0 ng/mLあたり IRR = 1.12 (95% CI [1.03 - 1.22] ; P = 0.007)との関連が明らかとなった。多変量解析における調整モデルから、実際に、主要臨床事象のリスクが IGFBP2 レベルと共に増加したこと (100 ng/mLあたり HR = 1.23 ; 95% CI [1.06 - 1.43] ; P = 0.005) ; 及び心不全のための入院率が IGFBP2 レベルと共に増加したこと (IRR : 100 ng/mLあたり 1.20 ; 95% CI [1.00 - 1.44] ; P = 0.05) が示された (表3 参照)。したがって、IGFBP2 は再入院の強力な予後マーカーである。

【0067】

参考文献 :

本出願にわたり、本発明が属する技術の現状を様々な参考文献が説明している。これらの参考文献の開示は、本開示への参照によって本明細書に組み入れられる。

10

【0068】

【表4】

Delahaye, F., Roth, O., Aupetit, J. F. & de Gevigney, G. [Epidemiology and prognosis of cardiac insufficiency]. Arch Mal Coeur Vaiss 94, 1393-1403 (2001).

Mischak, H. et al. Comprehensive human urine standards for comparability and standardization in clinical proteome analysis. Proteomics Clin Appl 4, 464-478, doi:10.1002/prca.200900189 (2010).

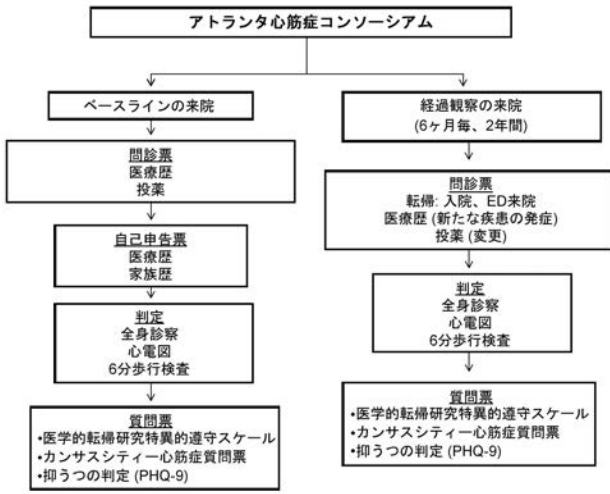
20

Paulus WJ, Tschope C, Sanderson JE, Rusconi C, Flachskampf FA, Rademakers FE, et al. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. European Heart Journal. 2007;28:2539-50.

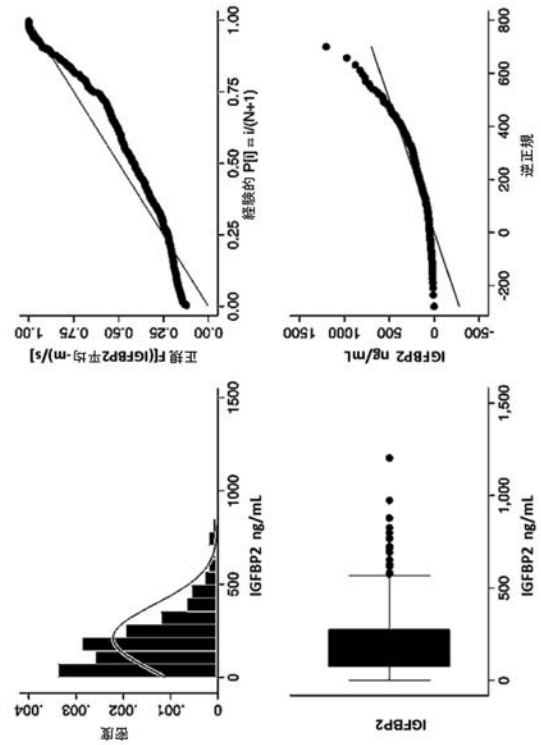
Phillips K, M A Park, L H Quarrie, M Boutinaud, J D Lochrie, D J Flint, G J Allan, J Beattie. Hormonal control of IGF-binding protein (IGFBP)-5 and IGFBP-2 secretion during differentiation of the HC11 mouse mammary epithelial cell line. Journal of molecular endocrinology, 31:197-208 (2003).

30

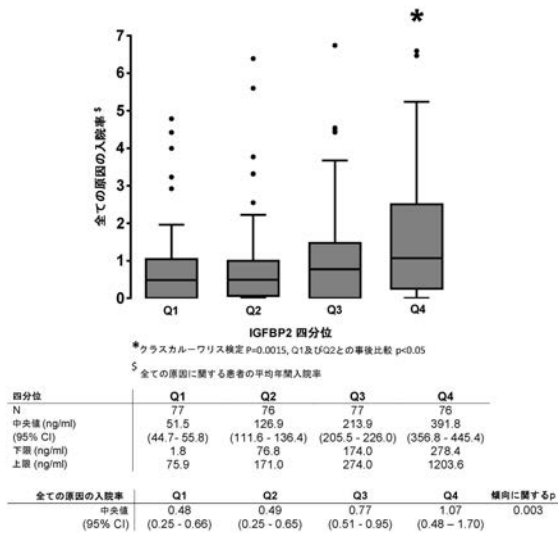
【 図 1 】



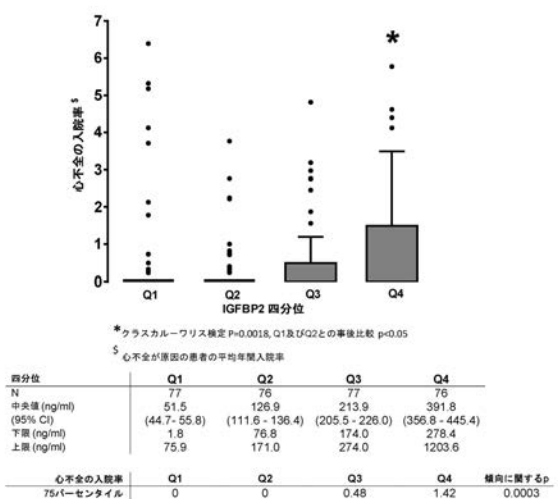
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2014/061819
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> 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, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Ram Prakash Narayanan ET AL: "IGF binding protein-2 is associated with all-cause and cardiovascular mortality in type 2 diabetes", 18 March 2013 (2013-03-18), XP055085380, Retrieved from the Internet: URL: <a href="http://www.endocrine-abstracts.org/ea/0031/ea0031p139.htm">http://www.endocrine-abstracts.org/ea/0031/ea0031p139.htm</a> [retrieved on 2013-10-25] the whole document ----- -/--	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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
15 August 2014		02/09/2014
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
		Behrens, Ralf

2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/061819

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	S. HASSFELD ET AL: "Insulin-like growth factor-binding proteins 2 and 3 are independent predictors of a poor prognosis in patients with dilated cardiomyopathy", HEART, vol. 93, no. 3, 1 March 2007 (2007-03-01), pages 359-360, XP055041582, ISSN: 1355-6037, DOI: 10.1136/hrt.2006.090092 results -----	1-10
X	SHWETA R. MOTIWALA ET AL: "Using Biomarkers to "Guide" Heart Failure Management", CARDIOLOGY IN REVIEW, vol. 21, no. 3, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 127-134, XP055085391, ISSN: 1061-5377, DOI: 10.1097/CRD.0b013e3182769073 the whole document -----	1-10
A	EDWARD F PHILBIN ET AL: "Prediction of hospital readmission for heart failure: development of a simple risk score based on administrative data", JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY, vol. 33, no. 6, 1 May 1999 (1999-05-01), pages 1560-1566, XP055085386, ISSN: 0735-1097, DOI: 10.1016/S0735-1097(99)00059-5 -----	1-10
X,P	WO 2014/023820 A1 (INST NAT SANTE RECH MED [FR]; UNIV TOULOUSE 3 PAUL SABATIER [FR]) 13 February 2014 (2014-02-13) the whole document -----	1-10

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2014/061819

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014023820	A1	13-02-2014	NONE
-----			

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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

(71)出願人 515034781

サントル・オスピタリエ・ユニヴェルシテール・ドゥ・トゥールーズ  
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE TOULOUSE  
フランス国、エフ - 3 1 3 0 0 トールーズ、オテル - デュー・ボン・ヌフ、リュ・ヴィグエリ  
- 2

(74)代理人 110001508

特許業務法人 津国

(72)発明者 ルエ, フィリップ

フランス国、エフ - 3 1 4 3 2 トールーズ・セデックス・4、ベペ84225、アヴニュー・ジャン・プール 1、アンセルム・ユエムエール1048

(72)発明者 スミス - ルエ, ファティマ

フランス国、エフ - 3 1 4 3 2 トールーズ・セデックス・4、ベペ84225、アヴニュー・ジャン・プール 1、アンセルム・ユエムエール1048

(72)発明者 デムーラン, フランク

フランス国、エフ - 3 1 4 3 2 トールーズ・セデックス・4、ベペ84225、アヴニュー・ジャン・プール 1、アンセルム・ユエムエール1048

(72)発明者 ガリエニエ, ミシェル

フランス国、エフ - 3 1 4 3 2 トールーズ・セデックス・4、ベペ84225、アヴニュー・ジャン・プール 1、アンセルム・ユエムエール1048

Fターム(参考) 4H045 AA30 CA40 EA50

专利名称(译)	心力衰竭后再住院的生物标志物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2016520843A</a>	公开(公告)日	2016-07-14
申请号	JP2016517619	申请日	2014-06-06
[标]申请(专利权)人(译)	法国国家健康医学研究院 男性中心南某处δ统一威赛牛油果尾图卢兹		
申请(专利权)人(译)	Ansutichu国家德拉桑特等德拉RECHERCHE医疗 Université电保罗萨巴蒂埃图卢兹特鲁瓦 中心 - Osupitarie统一威赛仕尾图卢兹		
[标]发明人	ルエフィリップ スミスルエファティマ デムーランフランク ガリニエミシェル		
发明人	ルエ,フィリップ スミス-ルエ,ファティマ デムーラン,フランク ガリニエ,ミシェル		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 C07K14/47		
CPC分类号	G01N33/74 G01N2333/4745 G01N2800/325 G01N33/6893 G01N2333/4704 G01N2800/56		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/543.545.A C07K14/47		
F-TERM分类号	4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/EA50		
优先权	2013305760 2013-06-06 EP		
其他公开文献	JP6480427B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种用于确定心力衰竭患者是否易于住院和/或再入院的方法，包括测量从心功能不全患者获得的样品中IGFBP2的浓度。

Quantity	IG	IG	IG	IG
IG	17	78	77	78
IGFBP2 (ng/ml)	15.5	106.0	210.0	211.0
IGFBP2 (ng/ml)	(44.7 - 80.0)	(111.0 - 139.4)	(205.0 - 220.0)	(200.0 - 448.4)
IGFBP2 (ng/ml)	1.8	78.8	174.0	218.4
IGFBP2 (ng/ml)	26.0	179.0	229.0	1200.0