

(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2015-511007  
(P2015-511007A)

(43) 公表日 平成27年4月13日(2015.4.13)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 5
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 B	4 C O 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	GO 1 N 33/53 X	4 C O 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-560403 (P2014-560403)  
 (86) (22) 出願日 平成25年3月8日 (2013.3.8)  
 (85) 翻訳文提出日 平成26年11月5日 (2014.11.5)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2013/054799  
 (87) 国際公開番号 W02013/132088  
 (87) 国際公開日 平成25年9月12日 (2013.9.12)  
 (31) 優先権主張番号 12158678.8  
 (32) 優先日 平成24年3月8日 (2012.3.8)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)  
 (31) 優先権主張番号 61/608,376  
 (32) 優先日 平成24年3月8日 (2012.3.8)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 12165057.6  
 (32) 優先日 平成24年4月20日 (2012.4.20)  
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 514122524  
 シュピーングテック ゲゼルシャフト ミ  
 ット ベシュレンクテル ハフツング  
 ドイツ連邦共和国, 16761 ヘニッヒ  
 スドルフ, ノイエンドルフシュトラーセ  
 15アー  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74) 代理人 100087871  
 弁理士 福本 積  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

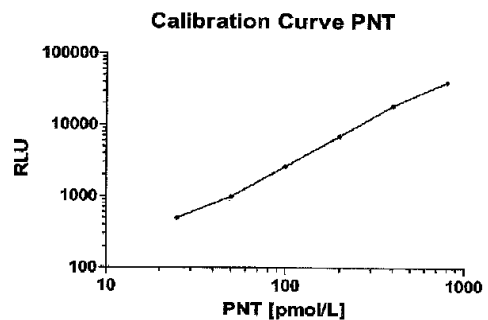
(54) 【発明の名称】 女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法

(57) 【要約】

本発明の内容は、女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法であって、以下のステップ：前記女性の対象から得た体液中のプロニューロテンシン又は少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片のレベルを測定し；そして心臓血管事象に罹患するリスクと、前記プロニューロテンシン又はその断片のレベルとを、高いレベルが、心臓血管事象に罹患する高いリスクの予測となるように関連付けること、を含む、前記方法である。

【選択図】なし

Figure 1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法であって、以下のステップ

・前記女性の対象から得た体液中のプロニューロテンシン 1 - 1 1 7 又は少なくとも 5 つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン 1 - 1 1 7 含有ペプチドのレベルを測定し、そして

・前記対象が心臓血管事象に罹患するリスクと、前記プロニューロテンシン 1 - 1 1 7 又はその断片、又はプロニューロテンシン 1 - 1 1 7 含有ペプチドのレベルとを、高いレベルが、心臓血管事象に罹患する高いリスクの予測となるように関連付けること、  
を含み、当該心臓血管事象が、心筋梗塞、心臓発作、急性心不全及び心筋梗塞、心臓発作、急性心不全に関連する心臓血管性の死からなる群から選択され、当該体液中のプロニューロテンシン 1 - 1 1 7 又は少なくとも 5 つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン 1 - 1 1 7 含有ペプチドのレベルが、空腹時レベルである、当該方法。

10

**【請求項 2】**

前記女性の対象が、体液が採取される時点で心臓血管事象と診断された経験が無い、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記体液採取時点で、女性の対象が、心臓血管疾患又は糖尿病と診断されている、請求項 1 又は 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

**【請求項 4】**

前記体液採取時点で診断されている心臓血管疾患が、心不全、アテローム動脈硬化、及び高血圧からなる群から選択される、請求項 3 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記体液採取時点で、女性の対象が、I I 型糖尿病と診断されている、請求項 3 に記載の方法。

**【請求項 6】**

追加で、以下のマーカー：pro - BNP 若しくは少なくとも 5 つのアミノ酸から成るその断片若しくは前駆体、及び / 又は C - 反応性タンパク質 (CRP) のレベルが判定され使用される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

**【請求項 7】**

追加で、年齢、収縮期血圧、拡張期血圧、抗高血圧治療、ボディーマスインデックス、糖尿病の存在、喫煙からなる群から選択される、1 つ以上の臨床的パラメーターが判定される、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記プロニューロテンシン 1 - 1 1 7 のレベルが判定される、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 9】**

プロニューロテンシン 1 - 1 1 7 又は少なくとも 5 つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン 1 - 1 1 7 含有ペプチドのレベルが免疫学的手法を用いて測定される、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

**【請求項 10】**

女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクをモニタリングするため、あるいは治療の経過をモニタリングするために、2 回以上実施される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記モニタリングが、前記女性の対象における、治療的処置又は予防的処置に対する応答を評価するために実施される、請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

リスク群ごとに女性の対象を階層化するための、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載

50

の方法。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法を実施するためのデバイス、例えばポイントオブケアデバイスの使用。

【請求項 14】

心臓血管事象に罹患するリスクを予測するためのデバイスの使用であって、当該デバイスが、

pro-BNP 若しくは少なくとも 5 つのアミノ酸から成るその断片若しくは前駆体に対する結合剤、及び

プロニューロテンシン 1 - 117 又は少なくとも 5 つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン 1 - 117 含有ペプチドに対する結合剤、及び / 又は CRP に対する結合剤

を備える、当該使用。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の心臓血管事象に罹患するリスクを予測するためのデバイスの使用であって、前記結合剤が、抗体、請求項 15 に記載の抗体断片、及び非 Ig 足場 (Scaffold) からなる群から選択される、当該使用。

【請求項 16】

女性の対象における心臓血管事象の予防又は治療に使用される、ニューロテンシンに対する、又はニューロテンシン受容体に対する結合剤。

【請求項 17】

ニューロテンシンの生理活性を 70% 以下に低下させる、請求項 16 に記載の結合剤。

【請求項 18】

請求項 16 又は 17 のいずれか 1 項に記載の結合剤であって、抗体、例えば IgG、典型的な完全長免疫グロブリン、又は、例えば Fab ミニボディ、一本鎖 Fab 抗体、エピトープタグを有する一価の Fab 抗体、例えば Fab - V5Sx2 を含めた Fab 断片を、これだけに限定されることなく含む、例えば化学的に結合された抗体のような重鎖及び / 又は軽鎖の F 可変ドメインを少なくとも含む抗体断片 (断片抗原結合) ; CH3 ドメインで二量化された二価の Fab (ミニ抗体) ; 例えば dHLX ドメインの二量化を介して異種のドメインを用いた多量体化により形成された二価の Fab 又は多価の Fab、例えば Fab - dHLX - FSx2 ; F(ab')<sub>2</sub> 断片、scFv 断片、多量体化した多価及び / 又は多特異性 scFv 断片、二価及び / 又は二重特異性ダイアボディ、BITE (登録商標) (二重特異性 T 細胞エンゲイジャー)、三官能性抗体、例えば G と別のクラスからの多価抗体 ; 単ドメイン抗体、例えばラクダ科の動物又は魚類の免疫グロブリンから得られたナノボディから成る群から選択される、当該結合剤。

【請求項 19】

抗体、例えば IgG、典型的な完全長免疫グロブリン、又は、例えば Fab ミニボディ、一本鎖 Fab 抗体、エピトープタグを有する一価の Fab 抗体、例えば Fab - V5Sx2 を含めた Fab 断片を、これだけに限定されることなく含む、例えば化学的に結合された抗体のような重鎖及び / 又は軽鎖の F 可変ドメインを少なくとも含む抗体断片 (断片抗原結合) ; CH3 ドメインで二量化された二価の Fab (ミニ抗体) ; 例えば dHLX ドメインの二量化を介して異種のドメインを用いた多量体化により形成された二価の Fab 又は多価の Fab、例えば Fab - dHLX - FSx2 ; F(ab')<sub>2</sub> 断片、scFv 断片、多量体化した多価及び / 又は多特異性 scFv 断片、二価及び / 又は二重特異性ダイアボディ (diabodies)、BITE (登録商標) (二重特異性 T 細胞エンゲイジャー)、三官能性抗体、例えば G と別のクラスからの多価抗体 ; 単ドメイン抗体、例えばラクダ科の動物又は魚類の免疫グロブリンから得られたナノボディ、あるいは、ペプチド拮抗薬、例えば [D - Trp<sup>11</sup>] - ニューロテンシン、[Tyr(Me)<sup>11</sup>] - ニューロテンシン、又は非ペプチド拮抗薬、例えば Levocabastine、SR - 48692 (NTS1 選択性)、SR - 142948 (非選択性)、SR - 1429

10

20

30

40

50

48A, CP96345、[3H]SR-48692、SR48692、SR-48527及びSR-49711、あるいは、結合剤足場、例えばテトラネクチンベースの非Ig足場、フィブロネクチン足場；リポカリンベースの足場；ユビキチン足場、移動足場、プロテインA足場、アンキリン反復ベースの足場、マイクロタンパク質、好ましくはシスチンノット(knot)足場を形成するマイクロタンパク質、Fyn SH3ドメインベースの足場、EGFR-Aドメインベースの足場及びKunitzドメインベースの足場から成る群から選択される、請求項16~18のいずれか1項に記載のニューロテンシン受容体に対する結合剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明の内容は、女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法であって、以下のステップ：

- ・前記女性の対象から得た体液中のプロニューロテンシン又は少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片のレベルを測定し、そして

- ・前記対象が心臓血管事象に罹患するリスクと、前記プロニューロテンシン又はその断片のレベルとを、高いレベルが、心臓血管事象に罹患する高いリスクの予測となるように関連付けること、

を含む、前記方法である。

「高いレベル」という用語は、閾値レベルを上回るレベルを意味し得る。

20

【背景技術】

【0002】

ニューロテンシンは、プレプロニューロテンシン前駆体由来の13アミノ酸神経ペプチドであって、安定した117アミノ酸ペプチドであるプロニューロテンシン(P-NT)と一緒に化学量論的に放出され、そして、その成熟ホルモンは、3種類の異なった受容体、Gタンパク質共役受容体であるニューロテンシン受容体1と2(Ntsr1とNtsr2)及び非Gタンパク質共役受容体であり、且つ、Sortillin-1(SORT1)としても知られているニューロテンシン受容体3(Ntsr3)に結合する。

【0003】

ニューロテンシンは、小腸から末梢部に放出され、並びに視床下部から中枢部に放出される。ニューロテンシンの末梢分泌は、食物摂取、特に脂肪によって刺激され、消化管運動、並びに膵液分泌及び胆汁分泌を調整することが知られている。興味深いことに、ニューロテンシンは、ラットにおける中枢(脳室内)及び末梢(腹腔内)注射の後に、急性的に食物摂取を低減させたので、食欲抑制ホルモンとして食欲制御に関係し、そして、その効果は、ニューロテンシン1受容体(Ntsr1)を通して主に媒介されるようである。

30

【0004】

正常体重ヒト対象と比較した肥満では、食後血漿ニューロテンシン濃度は、液状脂肪食の後に低下し(Widen et al 1992, Reg peptides; Plasma concentrations of regulatory peptides in obesity following modified sham feeding (MSF) and a liquid test meal)、ニューロテンシン分泌の調整が、肥満では乱されていることを示唆した。しかしながら、ニューロテンシンが肥満の程度に相関しているのか、そして、どのように相関しているのか、大規模な研究が全く調査されていない。興味深いことに、P-NTは、肥満のII型糖尿病患者の大部分で正常血糖につながることを示されている手術である胃バイパス(Roux-en-Y)後に有意に増加するが、ニューロテンシンが通常、糖尿病の発症に関わるかどうか知られていない。さらに、Ntsr3(SORT1)遺伝子の変異型は、ヒトで知られている最も一般的な冠動脈障害感受性遺伝子の1つなので、ニューロテンシン系は、冠動脈障害や心筋梗塞の発症に関与した。

40

【0005】

50

肥満と癌との機構的なつながりは大部分が未知であるが、しかしながら、支配的な理論の1つは、過剰な脂肪沈着が末梢組織におけるアンドロゲンの高い芳香族化をもたらし、そしてそれが、高い循環エストロゲンレベルをもたらすというものである。加えて、肥満の顕著な特徴の1つである高インスリン血症が、性ホルモン結合グロブリン(SHBG)の肝臓での産生を阻害し、これによりエストロゲンとアンドロゲンの両方の生物学的に利用可能レベルを増強することが示され、肥満が、それを通じて乳癌や前立腺癌などの癌の性ホルモン駆動形態の一般的な形態のリスクを高め得る形を示唆した。興味深いことに、ニューロテンシンとNtsr1発現の両方が悪性乳管癌腫においてよく見られ、そして、NTSR1の実験的な薬理的遮断又はRNAサイレンシングが、マウスにおける腫瘍増殖を低減する。

10

## 【0006】

乳癌細胞におけるニューロテンシン受容体1(NTSR1)の発現レベルは、乳癌に罹患している対象の予後を判断するために使用された(US2011/0305633)。さらに、同じ著者らによって、おそらく肝臓による急速なクリアランスにより、循環ニューロテンシンと、膵臓、前立腺、又は髄様甲状腺腫瘍の病期との明らかな相関が、現在、説明されていないことが記載されている。興味深いことに、浸潤性乳管癌を患っている一連の51人の患者において、すべての腫瘍のうちの91%がニューロテンシン受容体1(NTSR1)に関して陽性であったが、すべての腫瘍のうちの31%だけが前記組織中でニューロテンシンに関して陽性であることがわかった(Souaze et al. Cancer Research 2006; 66: (12) pages 6243-6249)。

20

## 【0007】

癌の増殖、特に肺癌、膵臓癌、及び結腸癌にニューロテンシンとニューロテンシン受容体が関与するいくつかの徴候が存在する(Carraway et al.; Peptides 27 (2006) 2445-2460)。膵臓癌を患っている患者の血清のNTレベルが有意に上昇することが報告された(Picheon et al, Anticancer Research 1999; 19; 1445-50)。興味深いことに、このグループは、膵臓癌において両方の前立腺に対する疾患の進行によりNTレベルが低下することを見出した。それとは対照的に、Meggiatoら; Tumor 1996; 82; 592-5; は、血漿NTレベルが、膵臓癌では正常であったが、膵炎と診断された場合には、高かったことを見出した。

30

## 【0008】

男性における癌リスクの予測の為に血管作用性ペプチドの使用は、Belting et al, Cancer, Epidemiology, Biomarkes & Preventionにより報告されている。MR-pro-ANP、MR-pro-ADM及びコペプチンが、1991年~1996年のベースライン試験の前に癌に罹患していなかったMalmo Diet and Cancer Studyの参加者(男性1768名、女性2293名)の空腹時血漿中で測定された。著者は、女性の間で、バイオマーカーと癌の発症との間で相関は無かったと述べている。

40

## 【0009】

CRP及びPro-BNPは、集団内の心臓血管事象の公知の予測因子である(Melander et al, JAMA. 2009; 302(1): 49-57)。現在、CVD終点におけるCRP及びPro-BNPの予測能力の性別による差異についての情報は存在しない。

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0010】

本発明の目的は、対象が心臓血管事象を発症するリスクを予測するためのNTの予測及び診断能力を調査することであった。

## 【課題を解決するための手段】

50

## 【0011】

この問題に対処するために、我々は、前記スウェーデンの前向きコホート研究(Malmö Diet and Cancer Study、Melander et. al, JAMA. 2009; 302(1): 49-57を参照されたい)における空腹時血漿中のプロニューロテンシンの安定な断片を評価して、15年間の経過観察中の心臓血管事象の発症に対して、このバイオマーカーの基準濃度を関連付けた。

## 【0012】

驚くべきことに、ニューロテンシンは、女性が心臓血管事象に罹患するリスクの予測において、強力かつ高度に顕著なバイオマーカーであることが示された。

## 【0013】

従って、本発明の内容は、女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法であって、以下のステップ：

- ・前記女性の対象から得た体液中のプロニューロテンシン又は少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片のレベルを測定し、そして

- ・前記対象が心臓血管事象に罹患するリスクと、前記プロニューロテンシン又はその断片のレベルとを、高いレベルが、心臓血管事象に罹患する高いリスクの予測となるように関連付けること、

を含む、前記方法である。

## 【0014】

本発明の特定の態様において、前記心臓血管事象は、心筋梗塞、心臓発作、急性心不全及び心筋梗塞、心臓発作、急性心不全に関連する心臓血管性の死からなる群から選択される、急性の心臓血管事象である。

## 【0015】

本発明の特定の態様において、本発明の内容は、女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法であって、以下のステップ：

- ・前記女性の対象から得た体液中のプロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルを測定し、そして

- ・心臓血管事象に罹患するリスクと、前記プロニューロテンシン1-117若しくはその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルとを、高いレベルが、心臓血管事象に罹患する高いリスクの予測となるように関連付けること、

を含み、

当該心臓血管事象が、心筋梗塞、心臓発作、急性心不全及び心筋梗塞、心臓発作、急性心不全に関連する心臓血管性の死からなる群から選択される、急性の心臓血管事象であ、前記方法である。

## 【0016】

心臓血管事象に罹患するリスクを予想させる、体液中のプロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルは、小腸から放出されてもよい。小腸からのニューロテンシンの放出は、食物摂取、特に脂肪によって刺激され、消化管運動及び膵液や胆汁分泌を調整することが知られている。プロニューロテンシン1-117及びその断片又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドは、ニューロテンシン及びプロニューロテンシン1-117とその断片又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドは、プロニューロテンシンから等モル量で放出されるので、放出されたニューロテンシンの代用マーカーとして使用される。

## 【0017】

ニューロテンシン/プロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドの末梢組織における分泌が、心臓血管事象に罹患することに対する女性対象の感受性について暗示していることは、本発明の驚くべき知見である。これにより、脂肪摂取の削減としての食事療法

10

20

30

40

50

は、前記女性の対象の前記リスクを軽減し得る。

【0018】

本研究で得られたデータは、男性の対象の心臓血管事象の罹患のリスクと、当該対象の体液中のプロニューロテンシン又は少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片のレベルとの間の相関を明らかにしたが；斯かる相関は、現在のデータセットからは顕著ではなかった。従って、本発明の方法は男性の対象に対しても有効であると予想されるが、現在の研究では、観察された効果は強いものではなかった。

【0019】

本明細書中、「対象」という用語は、生きたヒト又は非ヒト生物を意味する。好ましくは、本明細書中、対象はヒトである。

10

【0020】

前記対象から得た体液中のプロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルと、心臓血管事象に罹患するリスクとの相関は連続的である、すなわち、レベルが高ければ高いほど、リスクもより高い。これは、例えば表17のデータから認められる。第一の群と比較して、第二、第三及び第四の群は、それぞれより高いHazard Riskを示す。

【0021】

実用性のために、当業者は（単数若しくは複数の）閾値を使用してもよい。

【0022】

これにより、「高いレベル」という用語は、閾値レベルを上回るレベルを意味し得る。

20

【0023】

本発明の一つの態様において、体液中のプロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルは、プロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドの空腹時レベルである。空腹時レベルは、血液のサンプリングの前に12時間食物摂取していないことを意味する。

【0024】

体液は、血液、血清、血漿、尿、脳脊髄液（csf）、及び唾液を含む群から選択され得る。

30

【0025】

本発明の一つの態様において、前記女性の対象は、体液が採取される時点で急性の心臓血管事象と診断された履歴を有しない。他の態様において、当該女性の対象は、体液採取時点で心臓血管疾患又は糖尿病に罹患していると診断されている。

【0026】

特定の態様において前記体液採取時点での心臓血管疾患は、心不全、アテローム性動脈硬化及び高血圧からなる群から選択されてもよい。

【0027】

本データは、プロニューロテンシン又はその断片のレベルと、糖尿病、乳癌及び心臓血管疾患に罹患していない女性における、心臓血管事象との間に、強い相関関係を示唆している。

40

【0028】

本データはまた、プロニューロテンシン又はその断片のレベルと、心臓血管疾患の一般的なハイリスク群である高血圧の女性における、心臓血管事象との間にも、強い相関関係を示唆している。

【0029】

更に、本データは、プロニューロテンシン又はその断片のレベルと、正常血圧の女性における、心臓血管事象との間にも、強い相関関係を示唆している。更に、本データは、プロニューロテンシン又はその断片のレベルと、糖尿病の女性における、心臓血管事象との

50

間にも、強い相関関係を示唆している。

【0030】

本発明の他の態様において、体液採取時点で、女性の対象は、II型糖尿病を有すると診断されている。本発明の特定の態様において、対象における第一の有害事象の予想、又は第一の有害事象に罹患するリスクが高い対象の同定は、CRP、LpLA2、サイスタチンC及びA-型及びB-型のナトリウム利尿ペプチド、それらの前駆体、及びそれらの断片、ANP、proANP、NT-proANP、MR-proANP、BNP、proBNP、NT-proBNPトリグリセリド、HDLコレステロール又はそのサブトラクション(subtractions)、LDLコレステロール又はそのサブトラクション(subtractions)、GDF15、ST2からなる群から選択される、1つ以上の更なるマーカーのレベルを追加で判定することにより改善される。

10

【0031】

本発明の特定の態様において、体液中のプロニューロテンシン1-117若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルに加えて、以下のマーカー：proBNP又はその12アミノ酸以上の断片又は前駆体、及び/又はCRPのレベルが判定され、使用される。

【0032】

本発明の他の特定の態様において、追加で1つ以上の臨床的パラメーターが判定され、当該パラメーターとして：収縮期血圧、拡張期血圧、抗高血圧治療、ボディーマスインデックス、年齢、糖尿病の存在、喫煙が含まれる。

20

【0033】

心臓血管事象(CVD)は、環状動脈の事象又は致死のもしくは比致死の脳卒中(stroke)として定義された。事象は、3つの登録(the Swedish Hospital Discharge Register、the Swedish Cause of Death Register、及びthe Stroke in Malmö register)を有する各スウェーデン市民の10桁の個人識別番号の連結を通じて同定された。心筋梗塞は、International Classification of Diseases, 9th and 10th revisions (ICD-9及びICD-10)のそれぞれコード410及び121に基づいて定義された。致死のもしくは比致死の脳卒中は、コード430、431、434及び436(ICD-9)並びに160、161、163及び164(ICD-10)を使用して定義された。

30

【0034】

糖尿病の定義は、以下のとおりである：

医師による診断の履歴、抗糖尿病薬薬物療法をおこなっていること、又は基準検査において空腹時全血グルコース $>/=6.1\text{ mmol/l}$ であること(これが血漿中では $=7.0\text{ mmol/l}$ であることに留意する)。

【0035】

正常血圧/高血圧(HBP)の定義は、以下のとおりである：

HBP：収縮期BP $>/=140\text{ mmHg}$ 若しくは拡張期BP $>/=90\text{ mmHg}$ 、又は降圧薬薬物療法をおこなっていること。正常血圧(BP)の対象は、その他のすべての対象である、すなわち、収縮期BP $<140\text{ mmHg}$ 若しくは拡張期BP $<90\text{ mmHg}$ を有するか、又は降圧薬薬物療法をおこなっていない対象である。

40

【0036】

体液中で測定され得るプロニューロテンシンの断片は、例えば以下の断片の群から選択されてもよい。

配列番号1(プロニューロテンシン1-147)

【化 1】

SDSEEEMKAL EADFLTNMHT SKISKAHVPS WKMTLLNVCS LVNNLNSPA  
 ETGEVHEEEL VARRKLPTAL DGFSLEAMLT IYQLHKICHS RAFQHWELIQ  
 EDILDTGNDK NGKEEVIK RK IPYILKRQLY ENKPRRPYIL KRDSYYY

【0037】

10

配列番号 2 (プロニューロテンシン 1 - 125 (長いニューロメジン N))

【化 2】

SDSEEEMKAL EADFLTNMHT SKISKAHVPS WKMTLLNVCS LVNNLNSPA  
 ETGEVHEEEL VARRKLPTAL DGFSLEAMLT IYQLHKICHS RAFQHWELIQ  
 EDILDTGNDK NGKEEVI KR KIPYIL

20

【0038】

配列番号 3 (ニューロメジン N : )

【化 3】

KIPYIL

【0039】

30

配列番号 4 (ニューロテンシン)

【化 4】

pyroQLYENKPRRP YIL

【0040】

配列番号 5 (プロニューロテンシン 1 - 117)

【化 5】

40

SDSEEEMKAL EADFLTNMHT SKISKAHVPS WKMTLLNVCS LVNNLNSPA  
 ETGEVHEEEL VARRKLPTAL DGFSLEAMLT IYQLHKICHS RAFQHWELIQ  
 EDILDTGNDK NGKEEVI

【0041】

配列番号 6 (プロニューロテンシン 1 - 132)

【化 6】

SDSEEEMKAL EADFLTNMHT SKISKAHVPS WKMTLLNVCS LVNNLNPAE  
 ETGEVHEEEL VARRKLPTAL DGFSLEAMLT IYQLHKICHS RAFQHWELIQ  
 EDILDTGNDK NGKEEVIKRRK IPYILKRQLY EN

【0042】

10

配列番号 7 : (プロニューロテンシン 1 - 125)

【化 7】

SDSEEEMKAL EADFLTNMHT SKISKAHVPS WKMTLLNVCS LVNNLNPAE  
 ETGEVHEEEL VARRKLPTAL DGFSLEAMLT IYQLHKICHS RAFQHWELIQ  
 EDILDTGNDK NGKEEVIKRRK IPYIL

20

【0043】

配列番号 8 (プロニューロテンシン 120 - 140)

【化 8】

KIPYILKRQL YENKPRRPYIL

【0044】

30

配列番号 9 (プロニューロテンシン 120 - 147)

【化 9】

KIPYILKRQL YENKPRRPYIL KRDSYYY

【0045】

配列番号 10 (プロニューロテンシン 128 - 147)

【化 10】

40

QLYENKPRRP YILKRDSYYY

【0046】

本発明による方法のより具体的な実施形態において、プロニューロテンシン 1 - 117 のレベルが測定される。

具体的な実施形態において、プロニューロテンシン、特にプロニューロテンシン 1 - 117 若しくはその断片、又はプロニューロテンシン 1 - 117 含有ペプチドのレベルは、免疫学的アッセイで計測される。

50

より詳しく述べると、免疫学的アッセイは、Ernst et al. Peptides 27 (2006) 1787-1793に記載されているように使用される。

【0047】

プロニューロテンシン若しくは少なくとも5つのアミノ酸から成るその断片、又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルを測定するのに有用である免疫学的アッセイは、実施例2の概要のステップを含み得る。すべての閾値及び値は、実施例2に従って使用される試験及び校正の観点から理解されるべきである。当業者は、閾値の絶対値が使用される校正によって影響を受けるであろうことを知っている可能性もある。このことは、本明細書中に与えられるすべての値及び閾値が、本明細書中で使用される校正に照らして理解されるべきであることを意味している(実施例2)。ヒトP-NT校正物質は、ICI-Diagnostics, Berlin, Germanyで入手可能である。あるいは、アッセイは、合成又は遺伝子組み換えP-NT1-117若しくはその断片によって校正されてもよい(Ernst et al., 2006もまた参照のこと)。

10

【0048】

本発明の方法に従って、女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクを決定するための閾値は、78 pmol/l超のPNTであり、好ましい閾値は100 pmol/l超、さらに好ましい閾値は150 pmol/l超である。具体的な実施形態において、前記閾値は約100 pmol/lである。これらの閾値は、先に触れた較正法に関係している。前記閾値を上回るプロNT値は、対象が心臓血管事象に罹患する高いリスクを有していることを意味する。

20

【0049】

本発明の方法の特定の態様において、収縮性心臓血管事象における対象のリスクの予測は：1つ以上の検査パラメーター、又は空腹時血糖又は血漿グルコース、トリグリセリド、HDLコレステロール若しくはそのサブフラクション、LDLコレステロール若しくはそのサブフラクション、シスタチンC、インスリン、CRP、バソプレシン若しくはその前駆体若しくは断片、及びBNP若しくはその前駆体若しくは断片からなる群から選択される更なるマーカーのレベルを追加で判定及び使用することにより改善される。

【0050】

本発明の方法の特定の態様において、追加で1つ以上の臨床的パラメーターが判定され、当該パラメーターとして：年齢、性別、収縮期血圧、拡張期血圧、抗高血圧治療(AHT)、ボディマスインデックス、胴囲、ウエストヒップ比、喫煙、年齢、糖尿病、遺伝的及び過去の心臓血管疾患(CVD)が挙げられる。

30

【0051】

本発明の目的は、先の態様に従い、対象が心臓血管事象に罹患するリスクを予測する方法、あるいは、心臓血管事象に罹患するリスクの高い対象を同定する方法であって、当該対象から採取した体液中のプロニューロテンシン又はその5アミノ酸残基以上の断片のレベルは単独で、又は他の予測に有用な検査パラメーター又は臨床のパラメーターと組み合わせて、以下の選択肢から選択され得る方法によって、対象に有害事象が生じるリスクの予測のために使用される：

40

【0052】

- 健康な、又は見掛けが健康そうな対象集団における所定のサンプル式の、プロニューロテンシン若しくはその断片又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルの中央値との比較、

- 健康な、又は見掛けが健康そうな対象集団における所定のサンプル式の、プロニューロテンシン若しくはその断片又はプロニューロテンシン1-117含有ペプチドのレベルの変位値との比較、

- コックス比例ハザード解析に基づく計算、又はNRI(純再分類指数)若しくはIDI(統合判別指数)などのRisk指数計算を使用することによる計算。

【0053】

50

本発明の一つの態様において、前記方法は、女性の対象が心臓血管事象に罹患するリスクをモニタリングするために、2回以上実施される。本発明の他の特定の態様において、前記モニタリングは、前記女性の対象における、治療的処置又は予防的処置に対する応答を評価するために実施される。

【0054】

本発明の方法の他の態様において、当該方法は、リスク群ごとに女性の対象を階層化するために使用される。

【0055】

本発明は、本発明の方法を実施するためのポイントオブケアデバイスも想定する。

【0056】

また、本発明は、本発明の方法を実施するためのアッセイ及び/又はキットも想定する。

【0057】

本発明の内容はまた、女性の対象における心臓血管事象の予防又は治療における使用のための、ニューロテンシン又はニューロテンシン受容体に対する結合剤である。

本発明の一実施形態において、結合剤は、ニューロテンシンの生理活性を70%以下に低減する。

【0058】

本発明によると、ニューロテンシンに対する結合剤は、抗体、例えばIgG、典型的な完全長免疫グロブリン、又は、例えばFabミニボディ、一本鎖Fab抗体、エプトータグを有する一価のFab抗体、例えばFab-V5Sx2を含めたFab断片を、これだけに限定されることなく含む、例えば化学的に結合された抗体のような重鎖及び/又は軽鎖のF可変ドメインを少なくとも含む抗体断片(断片抗原結合); CH3ドメインで二量化された二価のFab(ミニ抗体); 例えばdHLXドメインの二量化を介して異種のドメインを用いた多量体化により形成された二価のFab又は多価のFab、例えばFab-dHLX-FSx2; F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv断片、多量体化した多価及び/又は多特異性scFv断片、二価及び/又は二重特異性ダイアボディ(diabodies)、BITE(登録商標)(二重特異性T細胞エンゲイジャー(bispecific T-cell engager))、三官能性抗体、例えばGと別のクラスからの多価抗体; 単ドメイン抗体、例えばラクダ科の動物又は魚類の免疫グロブリンから得られたナノボディから成る群から選択される。

【0059】

本発明によると、ニューロテンシン受容体に対する結合剤は、抗体、例えばIgG、典型的な完全長免疫グロブリン、又は、例えばFabミニボディ、一本鎖Fab抗体、エプトータグを有する一価のFab抗体、例えばFab-V5Sx2を含めたFab断片を、これだけに限定されることなく含む、例えば化学的に結合された抗体のような重鎖及び/又は軽鎖のF可変ドメインを少なくとも含む抗体断片(断片抗原結合); CH3ドメインで二量化された二価のFab(ミニ抗体); 例えばdHLXドメインの二量化を介して異種のドメインを用いた多量体化により形成された二価のFab又は多価のFab、例えばFab-dHLX-FSx2; F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv断片、多量体化した多価及び/又は多特異性scFv断片、二価及び/又は二重特異性ダイアボディ(diabodies)、BITE(登録商標)(二重特異性T細胞エンゲイジャー)、三官能性抗体、例えばGと別のクラスからの多価抗体; 単ドメイン抗体、例えばラクダ科の動物又は魚類の免疫グロブリンから得られたナノボディ、あるいは、ペプチド拮抗薬、例えば[D-Trp<sup>11</sup>]-ニューロテンシン、[Tyr(Me)<sup>11</sup>]-ニューロテンシン(例えば、Quironらによって記載された)、又は非ペプチド拮抗薬、例えばLevocabastine、SR-48692(NTS1選択性)、SR-142948(非選択性)、SR-142948A、CP96345、[3H]SR-48692、SR48692、SR-48527及びSR-49711、あるいは、結合剤足場、例えばテトラネクチンベースの非Ig足場(例えば、US2010/0028995に記載)、フィプロ

10

20

30

40

50

ネクチン足場 (EP 1266025 に記載) ; リポカリンベースの足場 (例えば、WO 2011/154420 に記載) ; ユビキチン足場 (例えば、WO 2011/073214 に記載) 、移動足場 (例えば、US 2004/0023334 に記載) 、プロテインA足場 (例えば、EP 2231860 に記載) 、アンキリン反復ベースの足場 (例えば、WO 2010/060748 に記載) 、マイクロタンパク質、好ましくはシスチンノット (knot) 足場を形成するマイクロタンパク質 (例えば、EP 2314308 に記載) 、Fyn SH3ドメインベースの足場 (例えば、WO 2011/023685 に記載) 、EGFR-Aドメインベースの足場 (例えば、WO 2005/040229 に記載) 及び Kunitzドメインベースの足場 (例えば、EP 1941867 に記載) から成る群から選択される。

10

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図1】典型的な P - NT 用量 / シグナルカーブを示す。

【図2】女性における累積 CVD 事象を示す Kaplan-Meier グラフ、カットオフ < 中央値 = 109 pmol / l P - NT .

【実施例】

【0061】

実施例 1

抗体の開発

免疫化のためのペプチド / 複合体 :

免疫化のためのペプチドを、ウシ血清アルブミン (BSA) へのペプチドの結合のために、追加の N 末端システイン残基を用いて合成した (JPT Technologies, Berlin, Germany)。そのペプチドを、Sulfo-SMCC (Perbio-science, Bonn, Germany) を使用することによって BSA に共有結合で連結した。カップリング手順を、Perbio のマニュアルに従って実施した。

20

【0062】

標識抗体 (LA) ペプチド (P - NT 1 - 19) :

【化 11】

30

**H-CSDSEEEMKALEADFLTNMH-NH<sub>2</sub>**

【0063】

固相抗体 (SPA) ペプチド (P - NT 44 - 62) :

【化 12】

40

**H-CNLNSPAEETGEVHEEELVA-NH<sub>2</sub>**

【0064】

前記抗体を、以下の方法に従って作製した :

BALB / c マウスを、0 及び 14 日目に 100 µg のペプチド - BSA 複合体 (100 µl の完全フロイントアジュバント中に乳化) 、そして 21 及び 28 日目に 50 µg (100 µl の不完全フロイントアジュバント中) で免疫した。

細胞融合実験を実施する 3 日前に、動物に、1 回の腹腔内注射及び 1 回の静脈内注射として与えられる、100 µl の生理食塩水中に溶解した 50 µg の複合体を与えた。

【0065】

50

免疫したマウスからの脾細胞と、骨髓腫細胞株SP2/0の細胞とを、37℃にて30分間、1mlの50%ポリエチレングリコールを用いて融合した。洗浄後に、その細胞を、96ウェル細胞培養プレートに播種した。ハイブリッドクローンを、HAT培地中での成長によって選択した[20%のウシ胎仔血清及びHATサプリメントを補ったRPMI 1640培地]。2週間後に、HAT培地を、3回の継代の間、HT培地に置き換え、それに続いて正常細胞培養培地に置き換えた。

【0066】

融合の3週間後に、細胞培養上清を、抗原に特異的なIgG抗体について一次スクリーニングした。陽性の試験微量培養を、繁殖のために24ウェルプレートに移した。再試験後に、選択した培養物をクローニングし、限界希釈を使用することで再びクローニングし、そして、アイソタイプを決定した。

10

【0067】

(Lane, R. D. A short-duration polyethylene glycol fusion technique for increasing production of monoclonal antibody-secreting hybridomas, J. Immunol. Meth. 81: 223-228; (1985), Ziegler, B. et al. Glutamate decarboxylase (GAD) is not detectable on the surface of rat islet cells examined by cytofluorometry and complement-dependent antibody-mediated cytotoxicity of monoclonal GAD antibodies, Horm. Metab. Res. 28: 11-15, (1996))

20

【0068】

モノクローナル抗体産生

抗体を、標準的な抗体製造法によって産生させ(Marx et al, Monoclonal Antibody Production, ATLA 25, 121, 1997)、Protein A-クロマトグラフィーによって精製した。抗体純度は、SDSゲル電気泳動分析に基づき>95%であった。

30

【0069】

実施例2

ヒトプロニューロテンシンの定量化のための免疫学的アッセイ

使用される技術は、Acridiniumエステル標識に基づいたサンドイッチコートしたチューブの発光イムノアッセイであった。

【0070】

化標識化合物(トレーサー): 100µg(100µl) LA(PBS中に1mg/ml、pH7.4)を、10µlのAcridinium NHS-エステル(アセトニトリル中に1mg/ml、InVent GmbH, Germany)(EP0353971)と混合し、室温で20分間インキュベートした。標識したLAを、Bio-Sil SEC400-5(Bio-Rad Laboratories, Inc., USA)によるゲル濾過HPLCによって精製した。精製したLAを、(300mmol/lのリン酸カリウム、100mmol/lのNaCl、10mmol/lのNa-EDTA、5g/lのウシ血清アルブミン、pH7.0)中に希釈した。終濃度は、200µlあたり約800,000相対発酵単位(RLU)の標識化合物(約20ngの標識抗体)であった。アクリジニウムエステル化学発光を、AutoLumat LB953(Berthold Technologies GmbH & Co. KG)を使用することによって評価した。

40

【0071】

固相: ポリスチレンチューブ(Greiner Bio-One International AG, Austria)を、SPA(1.5µgのSPA/0.3mlの1

50

00 mmol/l NaCl、50 mmol/lのTRIS/HCl、pH7.8)で被覆した(室温にて18時間)。5%のウシ血清アルブミンでブロッキングした後に、そのチューブを、PBS、pH7.4で洗浄し、そして、真空乾燥水した。

#### 【0072】

較正:

P-NT含有ヒト血清の希釈物を使用して、アッセイを較正した。高いP-NT免疫反応性を有するヒト血清プール(InVest Diagnostika, Hennigsdorf, Germany)を、ウマ血清(Biochrom AG, Deutschland)で希釈した(アッセイ基準物質)。

標準物質を、ヒトPro-NT校正物質(ICI-Diagnostics, Berlin, Germany)の使用によって較正した。あるいは、アッセイは、合成又は遺伝子組み換えP-NT1-117又はその断片によっても較正され得る(Ernst et al., 2006もまた参照のこと)。

#### 【0073】

Pro-NT免疫学的アッセイ:

50 µlのサンプル(又は較正物資)をSPAコートチューブ内にピペットで計り取り、標識したLA(200 µl)を加えた後に、そのチューブを18~25 °Cで16~22時間インキュベートした。洗浄液(20 mMのPBS、pH7.4、0.1%のTriton X-100)で5回(各1 ml)洗浄することによって、結合していないトレーサーを取り除いた。

チューブに結合したLAを、LB953を使用することによって計測した。

図1には、典型的なP-NT用量/シグナルカーブを示す。

#### 【0074】

実施例3

集団調査

我々は、1991~1994年のMalmo Diet and Cancer Study基準試験ベースの集団(人々の年齢 $58 \pm 6$ 歳、そして59%が女性)の4362人の参加者からの空腹時血漿中のP-NTを計測した。我々は、12年を超える平均経過観察期間中の最初の事象の試験終点のそれぞれに対する、基準P-NT(対数変換P-NTの標準偏差増大毎あたりのハザード比)を関連付けるために、多変数補正された(すべての従来的心疾患リスク因子、糖尿病リスク因子、そして、癌の分析において癌の遺伝も同様である)コックス比例ハザードモデルを使用した。終点は、Swedish National Hospital Discharge Registry, the Swedish Myocardial Infarction Registry, the Stroke in Malmo Registry and the Swedish Cancer Registryを通じて検索した。これらの登録簿を通じた終点の検索は、正当性が立証され、且つ、正確であることがわかっていた。

#### 【0075】

表1

全研究集団の臨床的特徴

【表 1】

	N	平均	標準偏差
MDCSスクリーニング時の年齢	4362	57.643	5.9797
収縮期血圧 (mmHg)	4362	141.91	19.158
拡張期血圧 (mmHg)	4362	87.02	9.501
ボディーマスインデックス (体重/kg x kg)	4362	25.7642	3.91173
胸囲 (cm)	4361	83.56	12.791
グルコース (mmol/l)	4362	5.1826	1.33736
トリグリセリド (mmol/l)	4362	1.3142	.63660
高密度リポタンパク質 (mmol/l)	4362	1.3908	.37068
低密度リポタンパク質 (mmol/l)	4362	4.1632	.98774
P-インスリン	4280	7.889	7.6975
PNT [pmol/l]	4362	123.01743	76.746549
有効なN (リストワイズ)	4279		

10

【0076】

表 2

性別

20

【表 2】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効な男性	1803	41.3	41.3	41.3
女性	2559	58.7	58.7	100.0
合計	4362	100.0	100.0	

【0077】

表 3

Q + 日誌 : アンケート又は日誌による基準での抗高血圧治療 (C02、C03、C07、C08、C09)

30

【表 3】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効ないいえ	3684	84.5	84.5	84.5
はい	678	15.5	15.5	100.0
合計	4362	100.0	100.0	

40

【0078】

表 4

DIAB MELL (fb > 6.0又はpos Q DM)

【表 4】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効ないいえ	3993	91.5	91.5	91.5
はい	369	8.5	8.5	100.0
合計	4362	100.0	100.0	

【0079】

表 5

現在の喫煙者 0

【表 5】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効な .00	3212	73.6	73.6	73.6
1.00	1150	26.4	26.4	100.0
合計	4362	100.0	100.0	

【0080】

表 6

試験における女性の臨床的特徴

記述統計学

【表 6】

	N	平均	標準偏差
MDCSスクリーニング時の年齢	2559	57.554	5.9403
収縮期血圧 (mmHg)	2559	140.50	19.311
拡張期血圧 (mmHg)	2559	85.65	9.117
ボディーマスインデックス (体重/kg x kg)	2559	25.5196	4.19083
胸囲 (cm)	2559	76.99	10.245
グルコース (mmol/l)	2559	5.0418	1.21798
トリグリセリド (mmol/l)	2559	1.2245	.58404
高密度リポタンパク質 (mmol/l)	2559	1.5123	.36949
低密度リポタンパク質 (mmol/l)	2559	4.2016	1.04762
P-インスリン	2512	7.223	5.4223
PNT [pmol/l]	2559	125.60633	77.681673
有効なN (リストワイズ)	2512		

【0081】

表 7

Q + 日誌 : アンケート又は日誌による基準での抗高血圧治療 (C02、C03、C07、C08、C09)

【表 7】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効ないいえ	2173	84.9	84.9	84.9
はい	386	15.1	15.1	100.0
合計	2559	100.0	100.0	

【0082】

表 8

D I A B M E L L ( f b &gt; 6 . 0 又は p o s Q D M )

【表 8】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効ないいえ	2396	93.6	93.6	93.6
はい	163	6.4	6.4	100.0
合計	2559	100.0	100.0	

10

20

【0083】

表 9

現在の喫煙者 0

【表 9】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効な .00	1906	74.5	74.5	74.5
1.00	653	25.5	25.5	100.0
合計	2559	100.0	100.0	

30

【0084】

表 10

試験における男性の臨床的特徴  
記述統計学

【表 1 0】

	N	平均	標準偏差
MDCSスクリーニング時の年齢	1803	57.769	6.0345
収縮期血圧 (mmHg)	1803	143.90	18.766
拡張期血圧 (mmHg)	1803	88.95	9.698
ボディーマスインデックス (体重/kg x kg)	1803	26.1113	3.44882
胴囲 (cm)	1802	92.89	9.932
グルコース (mmol/l)	1803	5.3825	1.46780
トリグリセリド (mmol/l)	1803	1.4416	.68477
高密度リポタンパク質 (mmol/l)	1803	1.2183	.29669
低密度リポタンパク質 (mmol/l)	1803	4.1087	.89336
P-インスリン	1768	8.835	10.0090
PNT [pmol/l]	1803	119.34300	75.268054
有効なN (リストワイズ)	1767		

10

【0085】

表 1 1

20

Q + 日誌 : アンケート又は日誌による基準での抗高血圧治療 (C 0 2、C 0 3、C 0 7、C 0 8、C 0 9)

【表 1 1】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効ないいえ	1511	83.8	83.8	83.8
はい	292	16.2	16.2	100.0
合計	1803	100.0	100.0	

30

【0086】

表 1 2

DIAB MELL (fb > 6.0又はpos Q DM)

【表 1 2】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効ないいえ	1597	88.6	88.6	88.6
はい	206	11.4	11.4	100.0
合計	1803	100.0	100.0	

40

【0087】

表 1 3

現在の喫煙者 0

【表 1 3】

	頻度	パーセント	有効なパーセント	累積パーセント
有効な .00	1306	72.4	72.4	72.4
1.00	497	27.6	27.6	100.0
合計	1803	100.0	100.0	

【0088】

10

結果

心臓代謝リスク因子と P - NT との間の断面的関連性

研究集団の基準の特徴を図 1 に示す。女性は、男性と比較して僅かだが優位に P - NT (中間値(四分位間の幅))が高かった(109(79 - 150)対99(71 - 144) pmol/l) ( $p < 0.001$ )。P - NT と、肥満、心臓血管リスク因子及び糖尿病リスク因子の尺度との間の断面的関連性は、一般に弱く、両方の性において、空腹時インスリン濃度との相関が最も強かった(補充の表 1)。変数減少及び保持 p 値 0.10 を有する線形回帰モデルにおいて、P - NT の顕著な独立した決定因子は、女性において喫煙及び空腹時インスリン濃度、グルコース及び HDL (全て陽性)、男性において喫煙及び空腹時インスリン濃度及び HDL (陽性に関連)及び年齢及び LDL (陰性に関連)であった。

20

【0089】

表 1 4

全体の PNT の四分位数：

PNT (pmol/l)

【表 1 4】

PNT のパーセンタイル群 (pmol/l)	N	中央値	最小	最大
1	1091	60.22000	3.270	75.740
2	1090	89.29000	75.790	104.600
3	1092	122.67000	104.640	147.610
4	1089	190.03000	147.660	1154.520
合計	4362	104.62000	3.270	1154.520

30

【0090】

表 1 5

女性の PNT の四分位数：

PNT (pmol/l)

40

【表 1 5】

PNTのパーセンタイル群 (pmol/l)	N	中央値	最小	最大
1	639	62.37000	5.100	78.580
2	639	92.07000	78.610	108.770
3	641	125.07000	108.960	150.000
4	640	194.38500	150.050	1154.520
合計	2559	108.96000	5.100	1154.520

10

【0091】

表 1 6

男性のPNTの四分位数：

PNT (pmol/l)

【表 1 6】

PNTのパーセンタイル群 (pmol/l)	N	中央値	最小	最大
1	450	58.02000	3.270	70.800
2	451	85.88000	70.970	98.820
3	451	118.18000	98.880	143.940
4	451	186.39000	144.180	1057.360
合計	1803	98.88000	3.270	1057.360

20

【0092】

表 1 7

【表 17】

心臓血管疾患							
	1SDあたりのHR	P値	四分位1	四分位2	四分位3	四分位4	トレンドのP
全体 (4362/519)	1.17 (1.07-1.27)	<0.001	1.0 (ref)	1.09 (0.84-1.42)	1.39 (1.09-1.78)	1.37 (1.07-1.75)	0.003
女性 (2559/224)	1.33 (1.17-1.51)	<0.001	1.0 (ref)	0.91 (0.59-1.41)	1.58 (1.08-2.30)	1.65 (1.13-2.41)	0.001
男性 (1803/295)	1.06 (0.95-1.19)	0.310	1.0 (ref)	1.25 (0.90-1.74)	1.26 (0.90-1.76)	1.21 (0.87-1.69)	0.278
心臓血管死亡率							
	1SDあたりのHR	P値	四分位1	四分位2	四分位3	四分位4	トレンドのP
全体 (4362/174)	1.29 (1.12-1.49)	0.001	1.0 (ref)	0.95 (0.59-1.53)	1.41 (0.91-2.17)	1.73 (1.14-2.61)	0.003
女性 (2559/75)	1.50 (1.21-1.87)	<0.001	1.0 (ref)	1.02 (0.47-2.22)	1.53 (0.76-3.08)	2.18 (1.13-4.20)	0.008
男性 (1803/99)	1.16 (0.96-1.41)	0.132	1.0 (ref)	1.06 (0.58-1.93)	1.36 (0.76-2.42)	1.43 (0.82-2.51)	0.147

10

20

30

40

【0093】

P - NTと、心臓血管疾患、心臓血管死亡率、及び全ての原因の死亡率の予測

基準の試験の前に心臓血管疾患の病歴の無い対象の内、519人が、 $1.4 \pm 4.4$ 

50

年間に、第一の心臓血管事象に罹患した。心臓血管リスク因子の基準レベルを完全に調整した後（年齢、性別、抗高血圧治療、収縮期血圧、ボディーマスインデックス、糖尿病、HDL、LDL、及び喫煙）、P - NTの各SDの増大は、心臓血管疾患のリスクの17%の増大と関連した（表3）。P - NTと女性の性別との間には強い相関があり（ $P < 0.001$ ）、性別階層化解析は、最高の四分位と最低の四分位との間で、全体の集団内での心臓血管疾患の発生するリスクの37%の増大と関連し、女性においては65%の増大と関連していた（表3）。空腹時インスリン濃度、即ちP - NTの最も強い断面的関連因子における追加の調整は、結果に影響しなかった（データ無し）。

#### 【0094】

そして、全集団、男性及び女性のモデルを、全ての心臓血管リスク因子において調整して、全死亡率と心臓血管死亡率との間の関連性を評価した。P - NTの各SDの増大は、全集団において全ての死因の死亡率の有意な8%の増大、及び女性の全ての死因の死亡率のリスクの13%の増大と関連していたが、男性において、P - NTと関連したリスクの増大は見られなかった（表3）。SDあたり29%の主に心臓血管死によると見られる死の過剰のリスクは、全体の集団における心臓血管死のリスク及び女性の50%の過剰リスクを増大させる。P - NTの最高の四分位と最低の四分位に属する女性の対象とを比較すると、心臓血管死に罹患するリスクの増大は2倍以上であった（表3）。

#### 【0095】

基準P - NT対心臓血管疾患発症における多変量コックス比例ハザードモデル、全 - cause - 及び心臓血管死亡率。

#### 【0096】

P - NT、N - BNP及びCRPの間の直接比較

P - NT及び確立された血漿バイオマーカーとの間の統計的強度及び研究された終点に対する効果の見積もりを比較するために、完全に調整されたモデルにおいて、P - NTをN - BNP及びCRPと同時に入力した（CRP及びN - BNPは、Melander et al., JAMA. 2009; 302(1): 49 - 57に記載のように測定された）。下記のように、全体の集団では、殆どの終点において、P - NTの性能はN - BNP及びCRPと同等であったが、女性において、P - NTの性能は、N - BNP及びCRPよりも明らかに優れていた（CRP単独は女性では有意でなかった）。N - BNP及びP - NTを組み合わせる（Melander et al., JAMA. 2009; 302(1): 49 - 57参照）ことは、女性のCVDにおける予測力を、1SDあたり33%HR改善した（P - NT単独に対して、P - NT及びN - BNPの組み合わせでは、1SDあたり34.8%の増大（ $p < 0.001$ ））。

#### 【0097】

表18

CVD発症率 - 全体の対象

10

20

30

【表 18】

## 方程式中の変数

	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp (B)	Exp (B) に関する 95.0%のCI	
							より下	より上
年齢	.079	.010	68.888	1	.000	1.082	1.062	1.103
性別	-.476	.106	20.042	1	.000	.621	.505	.765
AHT_B	.231	.116	3.991	1	.046	1.260	1.004	1.581
SBP_B	.015	.003	35.264	1	.000	1.015	1.010	1.020
BMI_B	-.012	.014	.775	1	.379	.988	.962	1.015
DM_B	.544	.130	17.618	1	.000	1.723	1.336	2.221
HDL_B	-.851	.169	25.479	1	.000	.427	.307	.594
LDL_B	.152	.048	9.800	1	.002	1.164	1.058	1.280
現在の喫煙者0	.495	.106	21.876	1	.000	1.640	1.333	2.017
ZLN_PNT	.133	.046	8.336	1	.004	1.142	1.044	1.250
ZLN_BNP	.132	.049	7.168	1	.007	1.141	1.036	1.257
ZLN_CRP	.147	.050	8.523	1	.004	1.158	1.049	1.278

10

20

【0098】

表 19

CVD発症率 - 女性の対象

【表 19 - 1】

## 方程式中の変数

	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp (B)	Exp (B) に関する 95.0%のCI	
							より下	より上
年齢	.080	.015	28.703	1	.000	1.084	1.052	1.116
性別				0 <sup>a</sup>				
AHT_B	.466	.168	7.664	1	.006	1.593	1.146	2.215
SBP_B	.014	.004	13.454	1	.000	1.014	1.007	1.022
BMI_B	-.038	.019	3.908	1	.048	.962	.927	1.000
DM_B	.925	.202	21.035	1	.000	2.522	1.699	3.745
HDL_B	-.926	.231	16.088	1	.000	.396	.252	.623
LDL_B	.116	.069	2.801	1	.094	1.123	.980	1.286
現在の喫煙者0	.740	.155	22.725	1	.000	2.095	1.546	2.840
Z_LNBNP	.154	.071	4.755	1	.029	1.167	1.016	1.340
ZLN_CRP	.112	.077	2.123	1	.145	1.119	.962	1.301
ZLN_PNT	.224	.070	10.217	1	.001	1.251	1.091	1.435

30

40

【表 19 - 2】

方程式中の変数

	B	SE	Wald	df	Sig.	Exp (B)	Exp (B) に関する 95.0%のCI	
							より下	より上
年齢	.080	.015	28.703	1	.000	1.084	1.052	1.116
性別				0 <sup>a</sup>				
AHT_B	.466	.168	7.664	1	.006	1.593	1.146	2.215
SBP_B	.014	.004	13.454	1	.000	1.014	1.007	1.022
BMI_B	-.038	.019	3.908	1	.048	.962	.927	1.000
DM_B	.925	.202	21.035	1	.000	2.522	1.699	3.745
HDL_B	-.926	.231	16.088	1	.000	.396	.252	.623
LDL_B	.116	.069	2.801	1	.094	1.123	.980	1.286
現在の喫煙者0	.740	.155	22.725	1	.000	2.095	1.546	2.840
Z_LNBNP	.154	.071	4.755	1	.029	1.167	1.016	1.340
ZLN_CRP	.112	.077	2.123	1	.145	1.119	.962	1.301
ZLN_PNT	.224	.070	10.217	1	.001	1.251	1.091	1.435

10

20

【0099】

図2：女性における累積CVD事象を示す Kaplan-Meier グラフ、カットオフ < 中央値 = 109 pmol/l P-NT.

【0100】

基準 P-NT による CVD 事象の予測は、完全な観察期間に渡り与えられた。

【0101】

サブグループ解析

上記等式と同一の変数を使用して、CVD、死亡、CVD 死亡率の予測のために様々なサブグループを調査した。CVD 事象の病歴のある対象は除外した。

30

【0102】

表 20

CVD 事象の予測

【表 20】

サブグループ	対象数	事象数	PNTの1SDあたりの ハザードリスク	有意性 (p値)
全体	4361	519	16,5%	<0,001
女性	2559	224	33,2%	<0,001
男性	1802	295	6%	0,31 (n. s.)
糖尿病の女性	163	40	42,9%	0,05
糖尿病でない女性	2396	184	33,6%	<0,001
HBPの女性	1545	178	30,6%	<0,001
正常血圧の女性	1014	46	40,8%	0,014
癌、糖尿病及びCVD事象 の病歴の無い女性	2022	144	30,6%	0,001

40

【0103】

50

CVD事象の予測は、女性においてのみ関連していた。P - NTの予測力は完全に健康な女性及び糖尿病やHBP等の高リスクの女性において類似していた。

【0104】

表21

CVD死亡率の予測

【表21】

サブグループ	対象数	事象数	PNTの1SDあたりの ハザードリスク	有意性 (p値)
全体	4361	174	28,7%	0,001
女性	2559	75	50%	<0,001
男性	1803	99	16%	0,132 (n. s.)
糖尿病の女性	163	14	141%	0,006
糖尿病でない女性	2396	61	39,6%	0,006
HBPの女性	1545	63	35,1%	0,016
正常血圧の女性	1014	12	125,7%	0,001
癌、糖尿病及びCVD事象 の病歴の無い女性	2022	48	36%	0,025

10

20

【0105】

P - NTによるCVD死亡率の予測は、女性では強力だが、男性では顕著でなかった。P - NTの予測力は健康な女性及び高リスク（糖尿病又はHBP）の女性において優れていた。

【0106】

リスク群への女性の再分類

方法：

モデルc - 統計を計算し、Net Reclassification Improvement (NRI)を用いて、P - NTを有する及び有しないモデルにおいて、様々な事象における10年間の予想されるリスクのカテゴリー（それぞれ<5%、>=5 - 10%、>=10 - 20% and >=20%）に再分類した。

30

【0107】

全ての解析は、Stata software version 11 (Stata Corp, College Station, Texas)を用いて実施された。両側p値<0.5で、統計的に有意と見做した。

【0108】

心臓血管死亡率において、全体のNRIの顕著な増大が11%の境界線が存在した。P - NTは、実際に心臓血管死に至った女性の19%をより高いリスクカテゴリーに正しく再分類したが、心臓血管死に至らなかった女性をより低いリスクカテゴリーに再分類したのは5%に留まった（表5）。女性の中で、10年リスクが中間（10~20%）、即ちバイオマーカーのサポートが、最初の予防的治療の開始に関する臨床決定を作成するのに特に重要と示唆された群の中で、伝統的な心臓血管リスク因子にP - NTを加えることで、心臓血管死亡率において40%の顕著な臨床NRIがもたらされ、心臓血管死に至った女性の21%がより高いリスクカテゴリーに再分類され、心臓血管死に至らなかった女性の30%がより低いリスクカテゴリーに再分類された。

40

【0109】

文献：

Pencina MJ, D'Agostino RB. Overall C as a measure of discrimination in survival

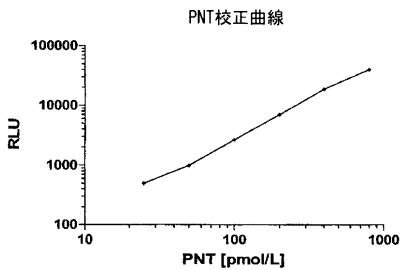
50

analysis: model specific population value and confidence interval estimation. Stat Med. Jul 15 2004; 23(13): 2109-2123. Pencina MJ, D'Agostino RB, Sr., D'Agostino RB, Jr., Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. Stat Med. Jan 30 2008; 27(2): 157-172; discussion 207-112. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, Cook NR. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. Jama. Feb 14 2007; 297(6): 611-619.

10

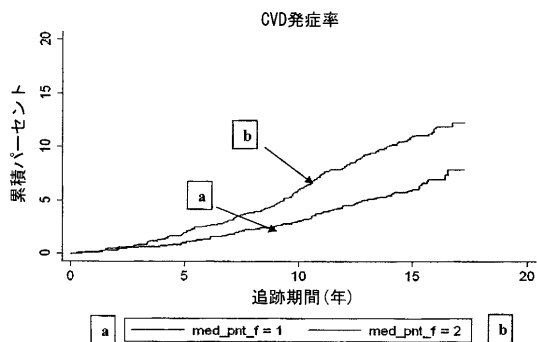
【 図 1 】

Figure 1



【 図 2 】

Figure 2



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2013/054799**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

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

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-14

**Remark on Protest**

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/054799

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/74 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, 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.
A	ERNST A ET AL: "Proneurotensin 1-117, a stable neurotensin precursor fragment identified in human circulation", PEPTIDES, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 27, no. 7, 1 July 2006 (2006-07-01), pages 1787-1793, XP027957440, ISSN: 0196-9781 [retrieved on 2006-07-01] the whole document page 1789, column 1 page 1791, column 1 ----- -/--	1-14
<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
8 May 2013		22/07/2013
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  Jenkins, Gareth

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/054799

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE EMBASE [Online]  ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM,  NL;  October 2004 (2004-10),  LIU R -M ET AL: "Correlation of plasma  neuropeptide Y and neurotensin with  cardiac functional damage and prognosis in  essential hypertension patients",  XP002677074,  Database accession no. EMB-2005023506  abstract  &amp; CHINESE JOURNAL OF CLINICAL  REHABILITATION 200410 CN,  vol. 8, no. 30, October 2004 (2004-10),  pages 6794-6795,  ISSN: 1671-5926</p>	1-8, 10-14
X	<p>-----  WO 2010/128071 A1 (BRAHMS AG [DE];  BERGMANN ANDREAS [DE]; STRUCK JOACHIM  [DE]; HARTMANN O)  11 November 2010 (2010-11-11)  the whole document  claims 1,5,13  page 3, paragraph 1</p>	1-8, 10-14
X	<p>-----  US 2005/130230 A1 (DAVALOS ANTONI [ES] ET  AL) 16 June 2005 (2005-06-16)  the whole document  claims 1,11</p>	1-8, 10-14
X,P	<p>-----  MELANDER OLLE ET AL: "Plasma  Proneurotensin and Incidence of Diabetes,  Cardiovascular Disease, Breast Cancer, and  Mortality",  JAMA THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL  ASSOCIATION, AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION,  US,  vol. 308, no. 14,  1 October 2012 (2012-10-01), pages  1469-1475, XP009165659,  ISSN: 0098-7484  the whole document  abstract</p> <p>-----</p>	1-14

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/054799

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010128071 A1	11-11-2010	CN 102428368 A	25-04-2012
		EP 2427764 A1	14-03-2012
		JP 2012526271 A	25-10-2012
		US 2012142120 A1	07-06-2012
		WO 2010128071 A1	11-11-2010
-----			
US 2005130230 A1	16-06-2005	EP 1792178 A2	06-06-2007
		US 2005130230 A1	16-06-2005
		WO 2006036220 A2	06-04-2006
-----			

International Application No. PCT/ EP2013/ 054799

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

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

1. claims: 1-14

Method according to claim 1.

---

2. claims: 15, 16(partially)

Use of a device according to claim 15 wherein the binders are against proBNP and proNT.

---

3. claims: 15, 16(partially)

Use of a device according to claim 15 wherein the binders are against proBNP and CRP.

---

4. claims: 17-20

Composition-for-use according to claim 17.

---

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 P 25/00	
	A 6 1 K 39/395	N
	A 6 1 K 39/395	D

(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, 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, IS, JP, KE, KG, KM, 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, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

(74) 代理人 100117019  
弁理士 渡辺 陽一

(74) 代理人 100150810  
弁理士 武居 良太郎

(74) 代理人 100182730  
弁理士 大島 浩明

(72) 発明者 アンドレアス ベルクマン  
ドイツ連邦共和国, 1 3 6 4 5 ベルリン, アム ローゼンガーター 7 8

(72) 発明者 ウッレ メランデル  
スウェーデン国, エス - 2 0 5 0 2 マルメ, ビルディング 9 1, エントランス 7 2, フロア 1 2, スカネ ユニバーシティ ホスピタル, クリニカル リサーチ センター

F ターム(参考) 2G045 AA25 DA36 DA54  
4C084 AA17 NA20 ZA011 ZC421  
4C085 AA13 AA14 BB36 BB41 BB43 BB44 CC22 CC23

专利名称(译)	用于预测女性受试者患心血管事件的风险的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2015511007A</a>	公开(公告)日	2015-04-13
申请号	JP2014560403	申请日	2013-03-08
[标]申请(专利权)人(译)	思芬构技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	格哈德·戈尔抛丸科技GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司		
[标]发明人	アンドレアスベルクマン ウツレメランデル		
发明人	アンドレアスベルクマン ウツレメランデル		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 A61K45/00 A61P43/00 A61P25/00 A61K39/395		
CPC分类号	A61P25/00 G01N33/74 G01N2800/32 G01N2800/50 G01N33/53 G01N33/68 C07K16/26 G01N33/6893 G01N2333/575 G01N2800/323 G01N2800/325		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/53.B G01N33/53.X A61K45/00 A61P43/00.111 A61P25/00 A61K39/395.N A61K39/395.D		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA36 2G045/DA54 4C084/AA17 4C084/NA20 4C084/ZA011 4C084/ZC421 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB44 4C085/CC22 4C085/CC23		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 渡边洋一 武井良太郎		
优先权	2012158678 2012-03-08 EP 61/608376 2012-03-08 US 2012165057 2012-04-20 EP		
其他公开文献	JP6431373B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明的主题是预测女性受试者发生心血管事件的风险的方法，包括测定从所述女性受试者获得的体液中至少5个氨基酸的促神经降压素或其片段的水平；并将所述促神经降压素或其片段的水平与获得心血管事件的风险相关联，其中升高的水平预示获得心血管事件的风险增加。

