

(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2011-500868

(P2011-500868A)

(43) 公表日 平成23年1月6日(2011.1.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/685 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/685	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 P 37/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 37/04	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 K 39/39 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/39	
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395	D
<b>A 6 1 P 9/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395	N
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 22 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2010-531575 (P2010-531575)	(71) 出願人	510119773
(86) (22) 出願日	平成20年10月29日 (2008.10.29)		アセラ・バイオテクノロジーズ・アーベー
(85) 翻訳文提出日	平成22年5月27日 (2010.5.27)		スウェーデン・S-171・77・ストック
(86) 国際出願番号	PCT/GB2008/003661		ホルム・フォグデヴレテン・2アー
(87) 国際公開番号	W02009/056826	(74) 代理人	100108453
(87) 国際公開日	平成21年5月7日 (2009.5.7)		弁理士 村山 靖彦
(31) 優先権主張番号	60/983,880	(74) 代理人	100064908
(32) 優先日	平成19年10月30日 (2007.10.30)		弁理士 志賀 正武
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100089037
			弁理士 渡邊 隆
		(74) 代理人	100110364
			弁理士 実広 信哉
		(72) 発明者	ハンス・グロンルンド
			スウェーデン・SE-181・38・リデ
			インゴ・ラルスベルグスヴァーゲン・55
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心血管疾患用の診断及び治療法並びに組成物

(57) 【要約】

PAF共役体と反応性を有する低レベルの抗体は心血管疾患を発症させるリスクの増加に関連する。従って、心血管疾患のための診断及び治療用組成物及び方法が提供される。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止または治療用医薬の製造における、少なくとも1つのPAF誘導体、1のPAF共役体、または、PAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体の使用。

**【請求項 2】**

前記心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄から選択される、請求項1に記載の使用。

10

**【請求項 3】**

心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止及び治療方法であって、前記方法は、少なくとも1つのPAF誘導体、1のPAF共役体、またはPAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体を含む医薬組成物を哺乳類に投与する工程を含む方法。

**【請求項 4】**

前記心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄から選択される、請求項3に記載の方法。

20

**【請求項 5】**

前記医薬が注射による投与用であるか、または前記組成物が注射により投与される、請求項1または2に記載の使用、あるいは請求項3または4に記載の方法。

**【請求項 6】**

心血管疾患の予防、防止または治療のための、場合によりアジュバントと組み合わせての、医薬組成物の製造における請求項1から5のいずれか一項に規定の、1つ以上のPAF誘導体またはPAF共役体の使用。

**【請求項 7】**

アテローム性動脈硬化症を患っている、または心血管疾患を発症するリスクに直面している、哺乳類、例えばヒトの予防的処置または治療的処置のための方法であって、治療上有効量の、少なくとも1つのPAF誘導体、1のPAF共役体、またはPAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体が投与される、方法。

30

**【請求項 8】**

PAF共役体を使用して、虚血性心血管疾患を発症するリスクの増減に関わりのあるIgM、IgG、またはIgA抗体の有無を診断する方法。

**【請求項 9】**

PAF共役体を個体由来のサンプルにさらす工程、及びPAF共役体に結合する抗体を検出する工程を含む、請求項8に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記個体がヒトである請求項9に記載の方法。

40

**【請求項 11】**

前記サンプルが血清である請求項9または10に記載の方法。

**【請求項 12】**

PAFがスペーサーを介して担体に結合する、請求項8から11のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記担体がタンパク質である、請求項9から12のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記タンパク質がKLH(キーホールリンペットヘモシアニン)、トランスフェリン、ヒト血清アルブミン(HSA)またはウシ血清アルブミン(BSA)である、請求項10に記載の方法。

50

## 【請求項 15】

前記担体がラテックスビーズである、請求項12の記載の方法。

## 【請求項 16】

PAF共役体に結合する抗体が、アッセイ、好ましくは免疫アッセイにより決定される、請求項8から15のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 17】

虚血性心血管疾患の発症又は進行の患者におけるリスクを評価するための方法におけるPAF共役体の使用であって、PAF共役体と反応性を有するIgM、IgGまたはIgA抗体の患者におけるレベルが評価される、使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明はアテローム性動脈硬化症及び心血管疾患のための予防、治療及びリスク評価の分野に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

アテローム性動脈硬化症とは、大動脈及び中動脈の最内層（内膜）の肥厚を引き起こす慢性疾患である。それは血流量を減少させ、罹患血管と連結している臓器の組織破壊及び虚血を引き起こすことがある。アテローム性動脈硬化症は心筋梗塞、脳卒中及び末梢動脈疾患を含む心血管疾患の主な原因である。それは西欧諸国の主な死亡原因であり、20年以内

## 【0003】

この疾患は、血管の細胞外マトリックスにおける、リポタンパク、主に低密度リポタンパク（LDL）により開始される。これらLDL粒子は凝集体となり、酸化修飾を受ける。酸化LDLは有毒で炎症促進性があり、血管損傷を引き起こす。アテローム性動脈硬化症は炎症及び線維症を含むこの損傷に対する反応を多くの点で示す。

## 【0004】

1989年にPalinski W他は、ヒトにおける酸化LDLに対する循環自己抗体を同定した(Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. Proc Natl Acad Sci USA. 1989, 86:1372-6)。

## 【0005】

この見解はアテローム性動脈硬化症が酸化リポタンパクに対する免疫反応によって引き起こされた自己免疫疾患であり得ることを示唆した。

## 【0006】

現段階で、複数の研究所が酸化LDLに対する抗体力価と心血管疾患の間の関連性について調べ始めた。しかし、これらの研究から明らかにされた事実は明確性とは程遠かった。抗体は酸化LDLにおける多くの異なるエピトープに対して存在したが、これらのエピトープの構造は不明であった。用語「酸化LDL抗体」は、従って、単一特異性を有する抗体よりも、むしろ、異なる特異性を有する抗体の混合物を意味する。

## 【0007】

免疫適格細胞の活性化及び炎症性サイトカインの産生により特徴付けられる、アテローム性動脈硬化症の損傷には、持続的炎症があることが十分立証されている。高血圧、血中脂質、糖尿病、及び喫煙のような確立された危険因子は、かかる炎症反応を促進すると思われるが、これが起こるメカニズムはよく特徴付けられておらず、異なる非相互排他可能性が存在する。酸化低密度リポタンパク（oxLDL）及び熱ショックタンパク質（HSP）を含むこの免疫反応を引き出す複数の異なる自己抗原が提案されている（Binder CJ et al. Innate and acquired immunity in atherogenesis. Nat Med. 2002, 8:1218-26; Frostegard J. Autoimmunity, oxidized LDL and cardiovascular disease. Autoimmun Rev. 2002, 1:233-7）。アテローム性動脈硬化における免疫反応が果たす役割の有効データは複雑な関係を示している。この一例はアテローム発生に影響を及ぼすために動物モデルに免疫付与

10

20

30

40

50

することである。HSPを用いる場合、アテローム性動脈硬化症は増加するがoxLDLが抗原である場合には減少する(Palinski W et al. Immunization of low density lipoprotein (LDL) receptor-deficient rabbits with homologous malondialdehyde-modified LDL reduces atherogenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 1995, 92:821-5; Xu Q et al. Induction of arteriosclerosis in normocholesterolemic rabbits by immunization with heat shock protein 65. Arterioscler Thromb. 1992, 12:789-99)。

【 0 0 0 8 】

ヒト疾患におけるoxLDLを対象とした抗体(抗OxLDL)の役割は複雑であるように思われる。ヒトでは、初期の心血管疾患の例では、抗OxLDLは境界域高血圧を有する人々より健常対照群で高いことがすでに実証されている(Wu R et al. Autoantibodies to OxLDL are decreased in individuals with borderline hypertension. Hypertension 1999, 33:53-59)。

【 0 0 0 9 】

一方、複数の著者が、抗OxLDLはヒトの特に後期の心血管疾患(CVD)において上昇するということを報告している(Bergmark C et al. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1995, 15:441-5; Salonen JT et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. Lancet 1992, 339:883-887)。一例は、CVDを引き起こすリスクが非常に高い自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)である。CVDの病歴を有するSLE患者は抗OxLDL値を明らかに上昇させる(Svenungsson E et al. Risk factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. Circulation 2001, 104:1887-93)。これらのある程度相反する結果は、抗原性に差異を生み出す、LDL-酸化の異なる方法及び段階に依存しているかもしれない。病期及び危険因子のプロファイルも抗体価に関連しているようである。

【 0 0 1 0 】

酸化低密度リポタンパク質(oxLDL)自身、T細胞、単球/マクロファージ及び内皮細胞の活性化を含む多くの炎症促進性の性質を有する(Berliner JA et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. J Clin Invest. 1990, 85:1260-6; Frostegard J et al. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937. Proc Natl Acad Sci USA. 1990, 87:904-8; Frostegard J et al. Biologically modified LDL increases the adhesive properties of endothelial cells. Atherosclerosis. 1991, 90:119-26)。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 1 1 】

【 特許文献 1 】 WO 00/02046

【 特許文献 2 】 WO 2005/100405

【 非特許文献 】

【 0 0 1 2 】

【 非特許文献 1 】 Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. Proc Natl Acad Sci USA. 1989, 86:1372-6、1989年、Palinski W他

【 非特許文献 2 】 Binder CJ et al. Innate and acquired immunity in atherogenesis. Nat Med. 2002, 8:1218-26

【 非特許文献 3 】 Frostegard J. Autoimmunity, oxidized LDL and cardiovascular disease. Autoimmun Rev. 2002, 1:233-7

【 非特許文献 4 】 Palinski W et al. Immunization of low density lipoprotein (LDL) receptor-deficient rabbits with homologous malondialdehyde-modified LDL reduces atherogenesis. Proc Natl Acad Sci USA. 1995, 92:821-5

【 非特許文献 5 】 Xu Q et al. Induction of arteriosclerosis in normocholesterolemi

10

20

30

40

50

c rabbits by immunization with heat shock protein 65. *Arterioscler Thromb.* 1992, 12:789-99

【非特許文献 6】Wu R et al. Autoantibodies to OxLDL are decreased in individuals with borderline hypertension. *Hypertension* 1999, 33:53-59

【非特許文献 7】Bergmark C et al. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995, 15:441-5

【非特許文献 8】Salonen JT et al. Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992, 339:883-887

【非特許文献 9】Svenungsson E et al. Risk factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Circulation* 2001, 104:1887-93 10

【非特許文献 10】Berliner JA et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest.* 1990, 85:1260-6

【非特許文献 11】Frostegard J et al. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990, 87:904-8

【非特許文献 12】Frostegard J et al. Biologically modified LDL increases the adhesive properties of endothelial cells. *Atherosclerosis.* 1991, 90:119-26

【非特許文献 13】Frostegard J et al. Platelet-activating factor and oxidized LDL induce immune activation by a common mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997, 17:963-8 20

【非特許文献 14】Heery JM et al. Oxidatively modified LDL contains phospholipids with platelet-activating factor-like activity and stimulates the growth of smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1995, 96:2322-30

【非特許文献 15】Subbanagounder G et al. Evidence that phospholipid oxidation products and/or platelet-activating factor play an important role in early atherogenesis: in vitro and in vivo inhibition by WEB 2086. *Circ Res.* 1999, 85:311-8

【非特許文献 16】Barquinero J et al. Antibodies against platelet-activating factor in patients with antiphospholipid antibodies. *Lupus* 1994, 3: 55-58

【非特許文献 17】Tektonidou MG et al., Clinical importance of antibodies against platelet activating factor in antiphospholipid syndrome manifestations. *Eur J Clin Invest.* 2000, 30:646-52 30

【非特許文献 18】Wu et al., Antibodies to platelet-activating factor are associated with borderline hypertension, early atherosclerosis and the metabolic syndrome. *J Intern Med.* 1999 246: 389-397

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

しかしながら、注目すべきはoxLDLは酷い炎症反応をも改善し、代わりにアテローム性動脈硬化症において観察されるようなより低度の慢性炎症を促進するかもしれないことである。興味深いことには、oxLDLの多くの生物学的効果がoxLDLにおける血小板活性化因子(PAF)様脂質によって引き起こされることである(Frostegard J et al. Platelet-activating factor and oxidized LDL induce immune activation by a common mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997, 17:963-8; Heery JM et al. Oxidatively modified LDL contains phospholipids with platelet-activating factor-like activity and stimulates the growth of smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1995, 96:2322-30; Subbanagounder G et al. Evidence that phospholipid oxidation products and/or platelet-activating factor play an important role in early atherogenesis : in vitro and in vivo inhibition by WEB 2086. *Circ Res.* 1999, 85:311-8)。

【0014】

血小板活性化因子 (PAF) は、単球及び内皮細胞を含む、さまざまな細胞によって合成されるリン脂質炎症性メディエーターである。LDLの酸化中、PAF様脂質が産生される。PAFは従ってアテローム性動脈硬化症や高血圧のような血管壁における病理過程において重要かもしれない。これまでの報告では、PAFに対する抗体の存在は、リン脂質抗体症候群を有する個体において記載されていた (Barquinero J et al. Antibodies against platelet-activating factor in patients with antiphospholipid antibodies. *Lupus* 1994, 3 : 55-58)。

【 0 0 1 5 】

Tektonidou MG et al. (Clinical importance of antibodies against platelet activating factor in antiphospholipid syndrome manifestations. *Eur J Clin Invest.* 2000, 30:646-52) は、抗PAF抗体はAPS及びSLEによく見られ、血栓症発症の独立因子を含むと報告している。

10

【 0 0 1 6 】

WO 00/02046は、PAFに対する高濃度抗体は、境界域高血圧及びメタボリック症候群、つまり早期心血管疾患と相関があることを述べている。PAFに対する高濃度抗体は早期アテローム性動脈硬化症を発症するリスクを増大させることと関係があるとみられている。

【 0 0 1 7 】

Wu et al. (Antibodies to platelet-activating factor are associated with border line hypertension, early atherosclerosis and the metabolic syndrome. *J Intern Med.* 1999 246: 389-397) は、さらに、抗PAF抗体は、早期血管変化を反映し、そのため疾病用新規マーカーとしての役割を果たし得ること、並びにそれらがまた血管壁における炎症反応を引き起こすことにより病原性となり得ることを示唆した。

20

【 0 0 1 8 】

WO 2005/100405は虚血性心血管疾患を発症させるリスクの増減に関わりのあるホスホリルコリン (PC) に対する抗体、例えばIgM抗体またはIgG抗体の有無を決定する方法を述べており、さらにアテローム性動脈硬化症の治療または予防におけるPC共役体を対象とした抗体またはPC共役体の使用を示唆する。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 9 】

本発明の第一の態様は、アテローム性動脈硬化症もしくはアテローム性動脈硬化関連疾患などの心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止または治療用医薬の製造における、少なくとも1つのPAF誘導体、1のPAF共役体、または、PAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体の使用を提供する。この医薬は、心血管疾患に対する免疫原性または治療特性を有する免疫付与を提供する事を意図する。

30

【 0 0 2 0 】

本発明の第二の様態は、アテローム性動脈硬化症またはアテローム性動脈硬化関連疾患のような心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の治療及び免疫付与のための方法を提供することであって、少なくとも1つのPAF誘導体、1のPAF共役体、またはPAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体を含む医薬組成物を哺乳類に投与する工程を含む方法を提供する。この医薬組成物は、アテローム性動脈硬化症に対する免疫原性または治療特性を有する免疫付与を提供することを意図する。

40

【 0 0 2 1 】

本発明の第三の態様は、心血管疾患の防止、予防及び/または治療のための免疫療法または療法用の医薬組成物の製造において、場合によりアジュバントと組み合わせて、本発明の前述の態様に関連して定義したような、1以上のPAF誘導体及びPAF共役体の使用を提供する。

【 0 0 2 2 】

本発明の第四の態様は、アテローム性動脈硬化症を患っている、または心血管疾患を発症するリスクに直面している、哺乳類 (ヒトであってもよい) の予防的処置または治療的処置の方法を提供することであり、ここで、治療上有効量の、少なくとも1つのPAF誘導体

50

、1のPAF共役体またはPAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体が投与される。

【0023】

本発明の第五の態様は、PAF共役体を使用して、心血管疾患を発症するリスクの増減に関わりのある抗体、例えばIgM、IgG、またはIgA抗体の有無を診断する方法を提供する。

【0024】

本発明の第六の態様は、心血管疾患の発達または進行に関する患者のリスクを評価するための方法におけるPAF共役体の使用を提供し、ここで、PAF共役体との反応性を有する、抗体、例えばIgM、IgGまたはIgA抗体の患者におけるレベルが評価される。

【発明を実施するための形態】

【0025】

本発明者らは、PAF共役体と反応性を有する低レベルの抗体が、心血管疾患を発症するリスクの増加に関係のあることを驚くべきことに発見した。これはPAFに対する高レベルの抗体が心血管疾患を発症するリスクを増大させるのに関係していることを示唆する、先行技術によって報告されていることに反している。

【0026】

本発明は、PAF誘導体、PAF共役体、またはPAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体を含む医薬組成物、ならびに、アテローム性動脈硬化症のような心血管疾患の治療、予防または防止、例えばアテローム性動脈硬化症のさらなる進行の治療、予防または減少における、これらの組成物の使用に関する。さらに、本発明は、場合によりアジュバントを有する医薬組成物を製造するためのPAF誘導体、PAF共役体、または抗体調製物、例えばモノクローナル抗体の使用にも関する。

【0027】

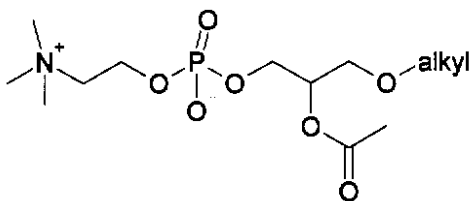
さらに、本発明は、心血管疾患を発症するリスクの増減に関連する、例えばIgM、IgGまたはIgA抗体のような抗体の有無及び/または濃度の診断に関する。

【0028】

PAFは、以下の式による1-O-アルキル-2-アセチル-sn-glycero-3-ホスホコリンを意味する：

【0029】

【化1】



【0030】

好ましくは、アルキル基は、パルミチル(ヘキサデシル)基またはオレイル(オクタデシル)基である。

【0031】

PAF共役体は、好ましくはスペーサーを介して担体に連結するPAF部分を意味する。PAF部分は、共有結合的もしくは非共有結合的に担体に連結することができる。PAF部分は、PAFの誘導体であってよい。好ましくは、PAF部分は、アルキル基を介して担体に連結する。

【0032】

PAFの誘導体の例は、以下の式による化合物：

【0033】

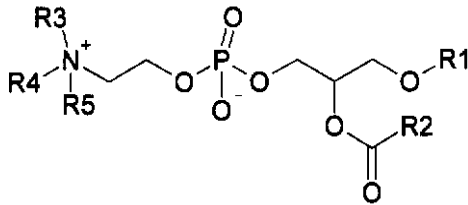
10

20

30

40

## 【化2】



## 【0034】

ここでWO 87/05904及びUS 5,061,626に記載されているように、R1はC2からC25のアルキレン、アルケニレン、またはアルキニレン連結基であり、R2からR5はC1からC6のアルキルから独立して選択される、

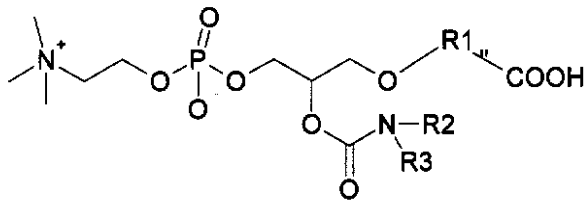
10

## 【0035】

以下の式による化合物：

## 【0036】

## 【化3】



20

## 【0037】

ここで、Karasawa K et al. J Biochem (Tokyo) 1991, 110:683-687に記載されているように、R1はC2からC18のアルキル、好ましくはペンタデシルであり、R2はH、メチル、エチル、プロピル、またはイソプロピルであり、R3はメチル、エチル、プロピルまたはイソプロピルである、

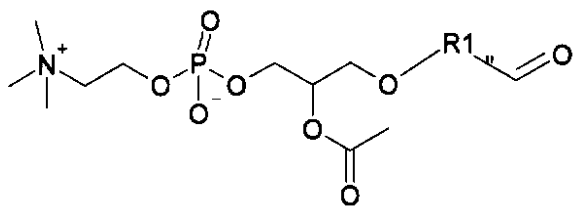
## 【0038】

以下の式による化合物：

30

## 【0039】

## 【化4】



40

## 【0040】

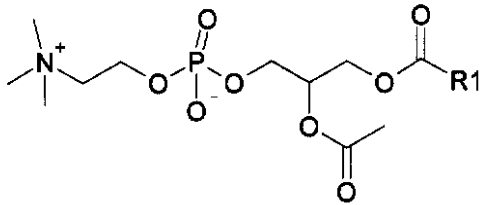
ここで、Smal MA et al. Lipids 1991, 26:1130-5に記載されているように、R1はC6からC18のアルキル、好ましくはヘキシルまたはドデシルである、

## 【0041】

以下の式による化合物：

## 【0042】

## 【化5】



## 【0043】

ここで、Muzya GI et al. Immunologiya (Moscow) 1997, 6, 9-11に記載されているように、R1はC6からC18のアルキル、好ましくはヘキシルまたはドデシル(1-アシル-PAF)である。

10

## 【0044】

担体は、例えばタンパク質、炭水化物、ポリマー、ラテックスビーズ、またはコロイド金属であってよい。

## 【0045】

PAF共役体は、ヒト血清アルブミン(HAS)-PAF共役体、トランスフェリン-PAF共役体、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)-PAF共役体またはウシ血清アルブミン(BSA)-PAF共役体のような、例えばタンパク質-PAF共役体であってよい。

## 【0046】

PAF共役体及び抗PAF抗体の産生の例は、WO 87/05904中及びKarasawa K et al. (Antibodies to synthetic platelet-activating factor (1-O-alkyl-2-O-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) analogues with substituents at the sn-2 position. J Biochem (Tokyo). 1991, 110:683-7), Macpherson JL et al. (Production and characterization of antibodies to platelet-activating factor. J Lipid Mediat. 1992, 5:49-59), Smal M A et al. (Synthesis of a PAF immunogen and production of PAF-specific antibodies. Lipids. 1991, 26:1130-5), Tomii A and Masugi F. (Production of anti-platelet-activating factor antibodies by the use of colloidal gold as carrier. Jpn J Med Sci Biol. 1991, 44:75-80)、並びにWang C及びTai HH. (A sensitive and specific radioimmunoassay for platelet-activating factor. Lipids. 1992, 27:206-8)及びUS 5,061,626に記載されており、参照によってそれらの内容が本願明細書に取り込まれる。

20

30

## 【0047】

本発明により治療及び/または予防できる心血管疾患は、限定されないが以下に例示される：アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄。

## 【0048】

本発明の第一の態様による使用、または本発明の第二の態様による方法においては、心血管疾患は以下から選択してもよい：アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄。

40

## 【0049】

好ましくは、本発明の第一の態様による使用、または本発明の第二の態様による方法においては、医薬は注射による投与用である。

## 【0050】

本発明の第五の態様は、心血管疾患を発症するリスクの増減に関連する、PAF共役体と反応性を有する、抗体、例えばIgM、IgGまたはIgA抗体の有無を決定するための方法を提供してもよい。

## 【0051】

典型的には、本発明の第五の態様の方法は、PAF共役体を個体由来のサンプルにさらす

50

工程、及びPAF共役体に結合する抗体を検出する工程を含む。

【0052】

好ましくは、本発明の第五の態様の方法において、個体はヒトである。

【0053】

好ましくは、本発明の第五の態様の方法において、サンプルは血清である。

【0054】

本発明の第六の態様によるPAF共役体の使用は、本発明の第五の態様によるPAF共役体を使用する方法に相当してもよい。

【0055】

好ましくは、本発明の第五または第六の態様において、PAFはスパーサーを介して担体に連結する。この実施形態において、典型的に担体はタンパク質、好ましくはKLH(キーホールリンペットヘモシアニン)、トランスフェリン、ヒト血清アルブミン(HSA)またはウシ血清アルブミン(BSA)である。あるいは、担体はラテックスビーズであってよい。

10

【0056】

典型的には、本発明の第五の態様によると、PAF共役体に結合する抗体は、アッセイ、好ましくは免疫アッセイにより決定される。

【0057】

PAF共役体に対する反応性を有する、患者の抗体価、例えばIgM、IgG、またはIgA抗体の抗体価は、免疫アッセイを用いて評価してもよい。適切な免疫アッセイの例は以下に記載され、いずれの場合でも当業者に明らかであろう。

20

【0058】

典型的に、本発明の第五及び第六の実施形態において、PAF共役体に対する反応性を有する低レベルの抗体は心血管疾患を発症するリスクの増加を示す。逆に、PAF共役体に対する反応性を有する高レベルの抗体は心血管疾患を発症するリスクの低下を示す。典型的に、抗体は患者の血漿又は血清のサンプルにおいて決定される。

【0059】

ある個体群において、PAF共役体に対する反応性を有する抗体価は、変化しやすい。ある個体に対して決定されるPAF共役体に対する反応性を有する抗体価は、より広範囲の集団に観測される範囲を参照することにより高い又は低いとして分類してよい。例えば、より広範囲の集団を参照することで測定される特定のパーセンタイル値より低いこのような抗体価は低抗体価(低レベル)として分類してもよい。適切には、低抗体価は、25パーセンタイル値以下、または20、10もしくは5パーセンタイル値以下の値に相当してよい。高抗体価(高レベル)は、例えば、5、10、20又は25パーセンタイル値以上の値に相当してよい。

30

【0060】

個体がPAF共役体に対する反応性を有する低いレベルの抗体を有するものとして特徴づけられる場合、この情報は虚血性心血管疾患の発症又は進行のリスクの増加の診断または予後に役立ててよい。臨床医は、診断又は予後に至る他の要因を考慮に入れてよい。個体が虚血性心血管疾患を発症するリスクが高いとみなされる場合、予防的処置及び/または生活様式の変化を推奨してよい。個体が進行性の虚血性心血管疾患であると診断される場合、臨床医はその個体に合わせた処置及び/または生活様式の変化を推奨してよい。

40

【0061】

本発明の第五及び第六の態様において、抗体価はPAF共役体に対する反応性を有する全ての抗体、または特定のアイソタイプ、例えばIgM、IgGまたはIgAなど、のただ一つの抗体、または2つ以上の抗体アイソタイプの組み合わせに対してアッセイすることで特徴付けてもよい。好ましくは、IgGのレベルが決定される。

【0062】

免疫アッセイは、競合的であるかまたは非競合的であってよい。典型的な競合的免疫アッセイにおいて、サンプル中の抗体は、PAF共役体と結合する標識抗体と競合する。PAF共役体に結合する標識抗体の量が、次いで測定される。サンプル中の抗体濃度と検出される

50

標識抗体量の間には反比例の関係がある。非競合的免疫アッセイでは、サンプル中の抗体はPAF共役体に結合し、次いで、標識検出剤、典型的には抗イムノグロブリン抗体が、抗体に結合する。抗体と結合する標識検出剤の量が次いで測定される。競合的方法と異なり、非競合的方法の結果は、抗体濃度に正比例するだろう。

【0063】

非競合的免疫アッセイ又はウエスタンブロットにおいて、標識検出剤、典型的には抗イムノグロブリン抗体は、PAF共役体に結合する抗体の検出に用いられる。適切な抗イムノグロブリン抗体は、サンプルを採取する種のイムノグロブリンと特異的に結合しなければならない。それは、その種の全てのイムノグロブリンアイソタイプ、またはアイソタイプサブセットだけと結合してよい。例えば、IgA、IgD、IgE、IgGまたはIgM、またはこれらのアイソタイプの2つ以上の組み合わせとのみ結合してよい。抗イムノグロブリン抗体は、あるアイソタイプの特定のサブタイプとだけ特異的に結合してよい。ヒトIgAのサブタイプは、IgA1及びIgA2である。抗イムノグロブリン抗体は、これらのサブタイプの1つまたは両方と結合してよい。ヒトIgGのサブタイプは、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4である。抗イムノグロブリンはこれらのヒトIgGサブタイプの1つ以上と結合してよい。異なる脊椎動物種には異なるアイソタイプ及びサブタイプがあると理解される。

10

【0064】

ラジオイムノアッセイでは、抗体又は検出剤は、 $^{131}\text{I}$ 又は $^{125}\text{I}$ のような、ラジオアイソトープで標識される。酵素イムノアッセイでは、抗体又は検出剤は、酵素で標識される。適切な酵素は、発色基質の使用で検出されることができる。発色基質は、酵素との反応の結果として、着色産物を生じさせる基質であり、従って、分光光度法で検出可能である。西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ、及び大腸菌由来のピロホスファターゼなどの酵素が広く用いられている。ルシフェラーゼなどの酵素に基づく化学発光システムも使用できる。他の標識は、Alexaシリーズのフルオロフォアなどの蛍光性の標識を含む。

20

【0065】

抗体の共役又はビタミンビオチンを用いた検出剤が頻繁に使用されるが、それは、これらが、高い特異性及び親和性で結合する、酵素-又はフルオロフォア-結合アビジン又はストレプトアビジンとの反応により、容易に検出されることが可能だからである。

【0066】

典型的な非競合的酵素イムノアッセイでは、分析されるサンプルは、固体基板上で吸着されるPAF共役体と接触して配置され、かつインキュベーションされる。サンプル中に存在している可能性のあるいずれの抗PAF共役体抗体も、固体基板上で吸着されるPAF共役体によって従って特異的に結合され、PAF共役体/抗PAF共役体抗体複合体を産生する。サンプルは、例えば、洗浄により、非結合物質を除外するために固体基板から次いで分離される。この方法の次の段階では、PAF共役体/抗PAF共役体抗体複合体の形態にある基盤上に存在するいずれの抗PAF共役体抗体に結合することが可能な指標抗体が、個体基板に添加され、これによりPAF共役体/抗PAF共役体抗体/指標抗体複合体が産生される。指標抗体は、例えば、非ヒト動物種で生じる抗ヒトIgGイムノグロブリンであってよい。最後に、固体基板上のPAF共役体/抗PAF共役体抗体/指標抗体複合体の存在が検出され、前述の固体基板上の複合体の存在が、個体由来のサンプル中の抗PAF共役体抗体の存在の指標となる。

30

40

【0067】

典型的に、固体基板は、マイクロ滴定プレート、例えば、ELISA免疫アッセイを実施するために一般に使われるタイプのマイクロ滴定プレートである。マイクロ滴定プレートは、好ましくは、ポリスチレンプレートである。他の適切な固体基板は、ラテックス粒子、ビーズ、及び被覆赤血球である。好適には、PAF共役体は、固体基板を用いてPAF共役体を緩衝剤中でインキュベーションすることにより、固体基板に吸着される。適切な緩衝剤は、炭酸塩緩衝剤又はリン酸緩衝食塩水を含む。あるいは、PAF共役体は、固体基板と共有結合してよい。典型的には、固体基板へのPAF共役体の共有結合又は吸着の後、固体基板は、サンプル由来の物質の固体基板への非特異的結合を減少させるために遮断薬を用いて

50

インキュベーションされる。適切な遮断薬には、ウシ血清アルブミンが挙げられる。

【0068】

PAF共役体と結合できる抗体の量的推計は1つ以上の上述の技術によって得られることが好ましい。典型的な非競合的アッセイでは、実測された変数、それが光学的濃度であろうと他の読出し(read-out)であろうと、と、抗体濃度との間には直線関係が推測される。例えば、もしサンプルAがアッセイにおいてサンプルBの倍の光学的濃度を有する(バックグラウンド値は両方から除去される)場合、抗体濃度はBに比べAは倍であると推測される。しかしながら、陽性血清サンプルのプールの連続希釈標準曲線を作ることが好ましい。好ましくは、このような希釈はテストサンプルとして同時にアッセイされる。そうすることで、直線関係における任意の変動量が、サンプル中の抗体量を決定する際に考慮されてもよい。

10

【0069】

PAF共役体に対する反応性を有する測定用抗体、例えば、IgM、IgG又はIgA抗体のみならず、oxLDL又はマロンジアルデヒド修飾LDL(MD-LDL)と反応性を有する抗体を測定することが望ましいであろう。代わりに又は加えて、PAF共役体に対する反応性を有する測定用抗体、例えば、IgM、IgG又はIgA抗体のみならず、リポタンパク質関連のホスホリパーゼA<sub>2</sub>(LpPLA<sub>2</sub>)、ホモシステイン、C反応性タンパク質(CRP)、HSP70、高密度リポタンパク(HDL)、TNF、特にTNF及び/またはHSP60のレベルを測定することが望ましいであろう。このような因子に対するアッセイすることで心血管疾患の発症又は進行のリスクの増加の診断又は予測に役立ててよい。

20

【0070】

本明細書に記載されるいずれかの方法又は組成物が、本明細書に記載されるいずれかの他の方法又は組成物に関して実施され得ることが意図される。同様に、本発明の一態様に関して議論されるいずれかの実施形態も、本発明の他の態様の文脈において使用してよい。

【0071】

本出願書類を通して、用語「約(about)」は、値の測定に用いる装置又は方法に対する誤差の標準偏差をその値が含むことを示すために使用される。

【0072】

本特許請求の範囲及び/または本明細書中で用語「~を含む」とともに使用されるとき、「a」又は「an」という単語の使用は「1つ」を意味してよいが、「1つ以上」、「少なくとも1つ」及び「1または1を超えて」の意味とも矛盾することはない。

30

【0073】

本特許請求の範囲における用語「or」の使用は、本開示が代替的なもののみ及び「及び/または(and/or)」を意味する定義を支持するが、代替的なもののみまたは相互に排他的である代替的なものを意味するために排他的に示されない限り、「及び/または(and/or)」を意味するものとして使用される。

【0074】

本発明の他の目的、特徴及び利点は、以下の詳細な説明により明らかになるだろう。しかし、詳細な説明及び具体例は、本発明の具体的な実施形態を示している一方で、例示としてだけ与えられるものということが理解されるべきである。なぜならば、本発明の精神及び範囲内で種々の変更及び改良が、この詳細な説明により当業者に明らかであるからである。

40

【0075】

以下に開示される実施例は、本発明を例示する目的のためだけに提供され、添付の特許請求の範囲の概要としての範囲のいずれの制限としても解釈されるべきではない。本明細書で参照される文書は、参照することにより本明細書中に組み込まれる。

【0076】

心血管疾患を発症するリスクの増減に関係のあるPAF共役体に対する反応性を有するIgG抗体の有無及び/またはレベルを決定する方法の例が記載される。当技術分野で周知の他

50

の方法も使用してよい。

【0077】

類似した方法が、PAF共役体に対する反応性を有するIgM又はIgA抗体の有無及び/またはレベル(抗体価)を決定するために使用されてもよい。

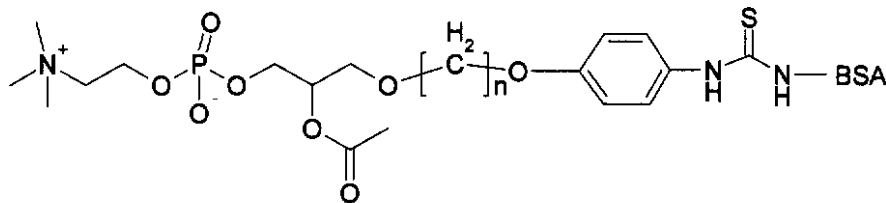
【0078】

#### A. PAF共役体

以下のPAF-BSA共役体が、合成され、かつ本発明による方法に使用される。

【0079】

【化6】



$n = 16$

【0080】

#### B. PAF共役体に対する反応性を有する抗体の有無及び/またはレベルの決定方法。

マイクロ滴定プレートを、リン酸緩衝食塩水(PBS)中5 $\mu$ g/ml PAF-BSA共役体入り(上述)で被覆した。

【0081】

PBSで洗浄後、プレートを1%のBSA溶液でブロッキングした。血清サンプルをサンプル希釈剤中で希釈し(1:101)、プレートに添加した。プレートを室温で30分間インキュベーションし、洗浄した。1:1000で希釈した西洋ワサビペルオキシターゼ共役ウサギ抗ヒトIgGを添加し、室温で30分間インキュベーションした。洗浄後、3,3',5,5',テトラメチルベンジジン(TMB)基質を添加することにより発色させ、プレートを室温で暗闇の中で10分間インキュベーションした。吸光度を450nmで分光光度計中で測定した。PAF-BSA共役体と反応性を有する抗体価は、テストしたサンプルから得られる吸光度と各アッセイに含まれる陽性対照から得られる吸光度の間の比率として算出した。

【0082】

#### C. PAF共役体に対する抗体

PAF共役体に対する抗体は、上述のように産生させることができる。例えば、W087/05904、Macpherson JL et al. (Production and characterization of antibodies to platelet-activating factor. J Lipid Mediat. 1992, 5:49-59), and Smal MA et al. (Synthesis of a PAF immunogen and production of PAF-specific antibodies. Lipids. 1991, 26:1130-5)を参照のこと。

【0083】

#### D. PAF共役体に対するモノクローナル抗体

PAFに対するモノクローナル抗体は、当該技術分野で周知のいずれかの標準方法を使用して産生させ得る。例えばTomii A及びMasugi F. (Production of anti-platelet-activating factor antibodies by the use of colloidal gold as carrier. Jpn J Med Sci Biol. 1991, 44:75-80)を参照のこと。

【0084】

PAF共役体と反応性を有する他の抗体は、当業者によく知られた方法を使用して調製され得る。例えば、PAF共役体に対する反応性を有するヒトイムノグロブリン製剤のサブフラクションが、例えば以下に記載されるように、例えばPAF共役体を使用したアフィニティ精製によって調製され得る。

【0085】

静脈内イムノグロブリン製剤(例えば、IGIV; Baxterなど)は、市販の高度に精製され

10

20

30

40

50

たIgG製剤であり、抗体生産がゼロもしくは極低レベルの患者の治療において使用される。イムノグロブリン製剤は、以下の製造業者から入手できるものが含まれる：Baxter (US)、例えばGammagard (登録商標)、Isiven (Antimo Naples, Italy)、Omrix (Tel-Hashomer, Israel)、Miles (Biological Products Division, West Heaven, CT)、Sclavo (Lucca, Italy)、Sandoz (Novartis, Basel, Switzerland)、例えばSandoglobulin (登録商標)、Biotest Diagnostic Corporation (Deville, NJ)。イムノグロブリン製剤の例は、GammagardS/D (登録商標)、GammarIV (登録商標)、Gaimnar-PIV (登録商標)、Gammimune N (登録商標)、Iveegam (登録商標)、Panglobulin (登録商標)、Polygam S/D (登録商標)、Sandoglobulin (登録商標)、Venoglobulin (登録商標)である。イムノグロブリン製剤は典型的にいくらかのIgMならびにIgGを含む。微量のIgMは、Gammagard (登録商標)中に存在する。Pentaglobin (Biotest)は、SARSの治療に使用されているIgM強化製剤である。PAF共役体に対する反応性を有するサブフラクションは、IgG及びIgMの両方を含んでもよく、または、主にIgG (例えば、Gammagard (登録商標)などのIgGに富む製剤で開始させること、及び/またはIgGに対して選択させることによって) ; または、主にIgM (例えば、PentaglobinなどのIgMに富む製剤で開始させること、及び/またはIgMに対して選択させることによって)を含むように選択してもよい。

10

【0086】

#### E. 能動免疫化

本発明の一実施形態は、従って、アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄などの心血管疾患の治療、予防又は防止において使用される医薬組成物の調製用の、PAF誘導体又はPAF共役体を使用することである。共役体は医薬的に許容できるタンパク質、炭水化物又はポリマーに連結したPAF又はPAF誘導体であってよい。医薬組成物は好ましくは注射により供される。

20

【0087】

提案される能動免疫化の方法は、抗体力価を調節し、同時に、この抗体力価は心血管疾患の発症に関して好ましい影響を与えるだろう。

【0088】

#### F. 受動免疫化

本発明の他の実施形態は、アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄などの心血管疾患の治療、予防または防止に使用される医薬組成物の調製用のPAF共役体を認識する、抗体調製物、例えばモノクローナル抗体を使用することである。モノクローナル抗体は、当技術分野で周知の方法を使用して産生することができる。

30

【0089】

#### G. 診断及びリスク評価

本発明のさらなる実施形態は、PAF共役体を使用して、どの因子が心血管疾患を発症させるリスクの増減と関係するか、PAF共役体に対する反応性を有する抗体、例えばIgA、IgM又はIgG抗体の有無及び/またはレベル(抗体価)を診断する方法を提供することである。好ましい方法は免疫アッセイである。この方法は、患者の心血管疾患の発症又は進行のリスク評価に使用してよい。

40

【実施例】

【0090】

#### [実施例1]

以下の実施例は、本発明の好ましい実施形態を実証することを含む。当業者であれば、以下の実施例に開示される技術が、本発明の実施において十分に機能させるために本発明者によって発見された技術を表すこと、従って、その実施のために好ましい様式を構成するとみなされることが可能であることを理解する。しかしながら、当業者は、本開示を踏

50

まえ、本発明の精神及び範囲から逸脱することなく、多くの変化が、開示される具体的な実施形態において成され得ること、及び、類似又は同様の結果を依然として得ることが可能であることを理解するであろう。

【0091】

#### A. 対象

Malmö (the Malmö Diet and Cancer Study)の観察研究では、30000人の集団の対象のうちより、約6000人が、頸動脈超音波測定により無症候性アテローム性動脈硬化症の非侵襲評価を含む、広範な心血管の調査のために募集された。総計で、CVD患者（主に心筋梗塞(MI)及び虚血性脳卒中）は137人、及び年齢と性別をマッチさせたコントロール群は384人であった。抗PAF-BSAに対するカットオフレベルは、抗PAFレベルの10パーセンタイル値で307であった。抗PAF-BSA IgGに対するカットオフレベルは25パーセンタイル値で60.8であった。3.19の相対ハザード(95% CI 2.04 - 4.99)に相当する、25パーセンタイル値以下の抗PAF-BSA IgGを有するCVD患者は全部で58人(42%)、及び健常者79人(21%)であった(表1)。

10

【0092】

これらの結果は、低抗体価(低レベル)の抗PAF-BSAは、健常者における心血管疾患の発生を予測し、及び心血管疾患マーカーとして作用し得ることを示唆する。

【0093】

#### B. 試薬

Maxisorp lockウェル、C96というマイクロタイタープレートは、Nunc (Roskilde Denmark)から購入し、PAF-BSAはIsoSep、Uppsala (Sweden)により合成されかつ提供された。

20

【0094】

ウサギ抗ヒトIgG(-特異的)と共役した西洋ワサビペルオキシターゼは、DakoCytomation、Stockholm (Sweden)から購入した。TMB基質は、Phadia、Freiburg (Germany)から購入した。

【0095】

#### C. PAF共役体に対する抗体の決定

PAF-BSAに対するIgG抗体は、酵素免疫吸着法(ELISA)で測定された。0.5 - 0.7 ODの吸光度を産出する血清が、内部標準として使用され、全てのプレート上で試験された。抗体結合のプラトーは、5 µg/mlの抗体濃度に達した。C96マイクロタイターMaxisorpプレートは、PBS中にPAF-BSA (5 µg/ml) 100 µg/wellでコーティングされ、4 °Cで一晩インキュベーションされた。コーティング溶液の吸引後、プレートは、室温で2時間、1%のBSA-PBSでブロッキングされた。ブロッキング溶液を吸引し、0.2% BSA-PBS中で1:101に希釈された血清サンプルを100 µl/wellで添加した。プレートを上述のように、室温で30分間インキュベーションし、洗浄バッファー(Phadia, Freiburg, Germany)で3回洗浄した。ウサギ抗ヒトIgGと共役した100 µl西洋ワサビペルオキシターゼ(1:1000で希釈)をwellごとに添加し、室温で30分間インキュベーションした。3回洗浄後、上述したように、TMB基質100 µl/wellを添加することにより発色させた。室温で暗闇の中10分間インキュベーションした後、反応を、50 µl/wellで0.5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を添加することにより停止させた。ELISA DigiScan分光光度計で450nmでプレートを読み込んだ。全てのサンプルはデュプリケートで測定され、変動係数は、全てのサンプルについて15%以下だった。

30

40

【0096】

#### D. 結果

【0097】

【表 1】

表 1

パーセンタイル値	P	RR	95% CI
25	0.0001	3.190	2.039 - 4.992
20	0.0001	3.085	1.929 - 4.933
15	0.0001	2.780	1.667 - 4.636
10	0.0001	3.294	1.798 - 6.034

【0098】

10

本明細書で開示されかつ特許請求される組成物及び/または方法の全てが、本開示を踏まえて、過度の実験なしに為されかつ実行され得る。本発明の組成物及び方法が、好ましい実施形態の観点で記載されている一方で、本発明の概念、精神及び範囲から外れることなく、変形が、本明細書に記述される組成物、及び/または方法、及び方法における段階において、または方法の段階の順序において適用されてもよいことを、当業者であれば理解するであろう。より具体的には、化学的及び生理学的の両方に関係のある特定の薬剤が本明細書に記載される薬剤に対する代替物となってもよい一方で、同一または類似の結果が達成されるであろうことが明らかである。当業者に明らかな全てのかかる類似の代替及び改変が、添付の特許請求の範囲で定義されるように、本発明の精神、範囲及び概念内であるとみなされる。

20

【手続補正書】

【提出日】平成21年8月24日(2009.8.24)

【手続補正1】

【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】

心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止または治療用医薬の製造における、少なくとも1つのPAF誘導体またはPAF共役体の使用であって、前記免疫付与が哺乳類における少なくとも1つのPAF誘導体またはPAF共役体に対する抗体力価を上昇させる、使用。

【請求項2】

前記医薬がアジュバントと組み合わせた免疫付与用である、請求項1に記載の使用。

【請求項3】

心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止または治療用医薬の製造における、PAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体の少なくとも1つの使用。

【請求項4】

前記心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄から選択される、請求項1から3のいずれか一項に記載の使用。

【請求項5】

心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止及び治療方法であって、前記方法は、少なくとも1つのPAF誘導体またはPAF共役体を含む医薬組成物を哺乳類に投与する工程を含み、それにより哺乳類における少なくとも1つのPAF誘導体またはPAF共役体に対する抗体力価を上昇させる方法。

【請求項6】

前記医薬組成物がアジュバントと組み合わせて投与される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

心血管疾患に対する、ヒトを含む哺乳類の免疫付与及び予防、防止及び治療方法であって、前記方法は、PAF共役体と反応性を有する抗体調製物、例えばモノクローナル抗体を含む医薬組成物を哺乳類に投与する工程を含む方法。

【請求項8】

前記心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、急性心筋梗塞、安定及び不安定狭心症、脳卒中、動脈移植術、動脈ステント術、及びバルーン血管形成術後の再狭窄、特に冠状動脈バイパス術、冠状動脈ステント移植及び冠動脈血管形成術後の再狭窄から選択される、請求項5から7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

前記医薬が注射による投与用であるか、または前記組成物が注射により投与される、請求項1から4のいずれか一項に記載の使用、あるいは請求項5から8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

PAF共役体を使用して、虚血性心血管疾患の発症または進行のリスクの増減に関わりのあるIgM、IgG、またはIgA抗体の有無を診断する方法であって、PAF共役体と反応性を有する低レベルの抗体が虚血性心血管疾患の発症または進行のリスクの増加の指標である方法。

【請求項11】

PAF共役体を個体由来のサンプルにさらす工程、及びPAF共役体に結合する抗体を検出する工程を含む、請求項10に記載の方法。

【請求項12】

前記個体がヒトである請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記サンプルが血清である請求項11または12に記載の方法。

【請求項14】

PAFがスパーサーを介して担体に結合する、請求項10から13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

前記担体がタンパク質である、請求項11から14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

前記タンパク質がKLH(キーホールリンペットヘモシアニン)、トランスフェリン、ヒト血清アルブミン(HSA)またはウシ血清アルブミン(BSA)である、請求項12に記載の方法。

【請求項17】

前記担体がラテックスビーズである、請求項14に記載の方法。

【請求項18】

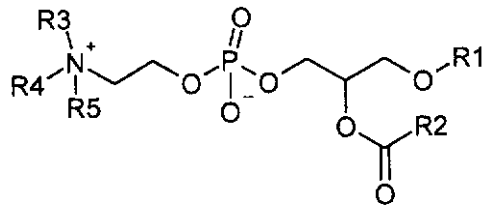
PAF共役体に結合する抗体が、アッセイ、好ましくは免疫アッセイにより決定される、請求項10から17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

前記PAF誘導体または前記PAF共役体のPAFが以下の式による化合物である、請求項1から4または9のいずれか一項に記載の使用、あるいは請求項5から18のいずれか一項に記載の方法：

(a)

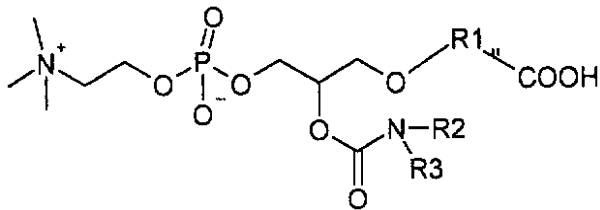
## 【化 1】



(式中、R1はC2からC25のアルキレン、アルケニレン、またはアルキニレン連結基であり、R2からR5はC1からC6のアルキルから独立して選択される)、

(b)

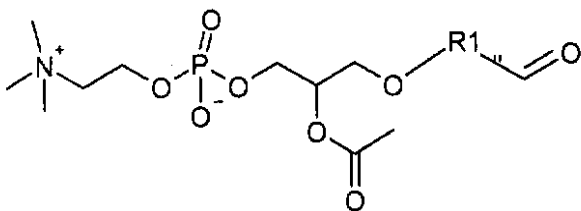
## 【化 2】



(式中、R1はC2からC18のアルキル、好ましくはペンタデシルであり、R2はH、メチル、エチル、プロピル、またはイソプロピルであり、R3はメチル、エチル、プロピルまたはイソプロピルである)、

(c)

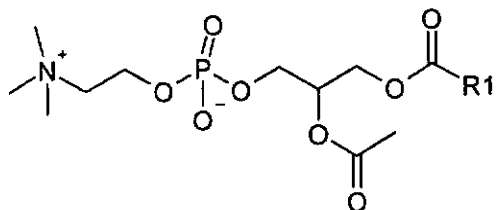
## 【化 3】



(式中、R1はC6からC18のアルキル、好ましくはヘキシルまたはドデシルである)、あるいは

(d)

## 【化 4】



(式中、R1はC6からC18のアルキル、好ましくはヘキシルまたはドデシル(1-アシル-PAF)である)。

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/GB2008/003661

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
INV. A61K47/48 A61P9/10		
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) A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, BIOSIS, BEILSTEIN Data, CHEM ABS 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	WO 2004/106486 A (VASCULAR BIOGENICS LTD [IL]; HARATS DROR [IL]; GEORGE JACOB [IL]; HALP) 9 December 2004 (2004-12-09) * claims 52-54, 68, 69, 71, 72 * * page 15, line 29-page 18, line 12 * * page 47, lines 4-10, lines 28-30 * * page 53, line 18-page 54, line 8 * * see page 71, example I *	1-7
Y		1-17
X	US 6 780 605 B1 (FROSTEGAERD JOHAN [SE]) 24 August 2004 (2004-08-24) * column 1, lines 14-21, lines 57 - 65 * * column 2, lines 21-34 * * column 2, line 66 - column 3, line 24 * * claims 1-12 *	8-11, 16, 17
	----- -/-	
<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 document 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 *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search  11 February 2009		Date of mailing of the international search report  17/02/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentleaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Birikaki, LEMONIA

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No  
 PCT/GB2008/003661

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2005/100405 A (ATHERA BIOTECHNOLOGIES AB [SE]; DE FAIRE ULF [SE]; FROSTEGAARD JOHAN []) 27 October 2005 (2005-10-27) cited in the application * claims 1-16 *	1-17
Y		1-17
X	US 2004/147485 A1 (KOZAK ALEXANDER [IL] ET AL) 29 July 2004 (2004-07-29) * abstract * * claims 11-29 * * page 8, paragraph [0115] * * page 12, paragraph [0221] - page 16, paragraph [0315] * * page 19, paragraph [0361] *	1-7
X	US 2003/040505 A1 (FOGELMAN ALAN M [US] ET AL) 27 February 2003 (2003-02-27) * claims 1, 3-5, 8 and 11 *	1-7
A	BARQUINERO J ET AL: "ANTIBODIES AGAINST PLATELET-ACTIVATING FACTOR IN PATIENTS WITH ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES" LUPUS, BASINGSTOKE, GB, vol. 3, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 55-58, XPO01000811 ISSN: 0961-2033 cited in the application * whole document *	1-17
A	WO 87/05904 A (UNIV SYDNEY [AU]; UNIV MACQUARIE [AU]; ROYAL NORTH SHORE HOSPITAL [AU]) 8 October 1987 (1987-10-08) cited in the application * whole document *	1-17
A	US 6 214 343 B1 (KINK JOHN A [US] ET AL) 10 April 2001 (2001-04-10) * abstract * * claim 1 *	1-17

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2008/003661

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004106486	A	09-12-2004	AU 2004243695 A1	09-12-2004
			CA 2527483 A1	09-12-2004
			CN 1826122 A	30-08-2006
			EP 1626728 A2	22-02-2006
			JP 2007531706 T	08-11-2007
			KR 20060006973 A	20-01-2006
			MX PA05012784 A	28-02-2006
			NZ 544285 A	28-11-2008
			US 2007099868 A1	03-05-2007
			US 2008261865 A1	23-10-2008
US 6780605	B1	24-08-2004	NONE	
WO 2005100405	A	27-10-2005	AU 2005233361 A1	27-10-2005
			CA 2562550 A1	27-10-2005
			CN 1968965 A	23-05-2007
			EP 1735349 A2	27-12-2006
			JP 2008501636 T	24-01-2008
			US 2007286868 A1	13-12-2007
US 2004147485	A1	29-07-2004	NONE	
US 2003040505	A1	27-02-2003	NONE	
WO 8705904	A	08-10-1987	EP 0299965 A1	25-01-1989
			JP 1502584 T	07-09-1989
			US 5061626 A	29-10-1991
US 6214343	B1	10-04-2001	US 2002031516 A1	14-03-2002

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 9/08 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
G 0 1 N 33/548 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
G 0 1 N 33/545 (2006.01)	A 6 1 P 9/08	
	G 0 1 N 33/53	N
	G 0 1 N 33/548	Z
	G 0 1 N 33/545	Z

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ヨハン・フロステガード  
スウェーデン・S E - 1 1 2 ・ 4 2 ・ ストックホルム・ドロットニングホルムスヴァーゲン・1

(72) 発明者 イングリッド・ダールボム  
スウェーデン・S E - 7 5 3 ・ 3 1 ・ ウプサラ・シュトルガタン・6

F ターム(参考) 4C085 AA13 AA14 AA38 CC22 CC23 EE01 EE06 FF24  
4C086 AA01 AA02 DA41 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA36 ZA39  
ZA40 ZA45 ZB09

专利名称(译)	用于心血管疾病的诊断和治疗方法和组合物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2011500868A</a>	公开(公告)日	2011-01-06
申请号	JP2010531575	申请日	2008-10-29
[标]申请(专利权)人(译)	阿瑟拉生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	ACELA生物技术, 安倍晋三		
[标]发明人	ハンスグロンlund ヨハンフロステガード イングリッドダールボム		
发明人	ハンス・グロンlund ヨハン・フロステガード イングリッド・ダールボム		
IPC分类号	A61K31/685 A61P37/04 A61K39/39 A61K39/395 A61P9/00 A61P9/10 A61P9/08 G01N33/53 G01N33/548 G01N33/545		
CPC分类号	G01N33/6854 A61K47/643 A61K47/644 A61K47/646 A61K47/6843 G01N2800/32		
FI分类号	A61K31/685 A61P37/04 A61K39/39 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K39/395.U A61P9/00 A61P9/10.101 A61P9/10 A61P9/08 G01N33/53.N G01N33/548.Z G01N33/545.Z		
F-TERM分类号	4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA38 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE06 4C085/FF24 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/DA41 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/ZA36 4C086/ZA39 4C086/ZA40 4C086/ZA45 4C086/ZB09		
代理人(译)	村山彦 渡边 隆		
优先权	60/983880 2007-10-30 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

与PAF-缀合物反应的低水平抗体与发生心血管疾病的风险增加有关。因此, 提供了心血管疾病的诊断和治疗的组合物和方法。

