

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5190067号
(P5190067)

(45) 発行日 平成25年4月24日(2013.4.24)

(24) 登録日 平成25年2月1日(2013.2.1)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68 Z N A
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D
GO 1 N 33/573 (2006.01)	GO 1 N 33/53 P
CO 7 K 14/47 (2006.01)	GO 1 N 33/573 A
	GO 1 N 33/53 F

請求項の数 31 (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2009-541763 (P2009-541763)	(73) 特許権者	509091332
(86) (22) 出願日	平成19年12月22日(2007.12.22)		ベー. エル. アー. ハー. エム. エス ゲ
(65) 公表番号	特表2010-513880 (P2010-513880A)		ーエムペーハー
(43) 公表日	平成22年4月30日(2010.4.30)		ドイツ国 1 6 7 6 1 ヘニングスドルフ
(86) 国際出願番号	PCT/DE2007/002313		, ノイエンドルファーシュトラッセ 2
(87) 国際公開番号	W02008/077396		5
(87) 国際公開日	平成20年7月3日(2008.7.3)	(74) 代理人	100140109
審査請求日	平成22年10月5日(2010.10.5)		弁理士 小野 新次郎
(31) 優先権主張番号	102006060835.6	(74) 代理人	100075270
(32) 優先日	平成18年12月22日(2006.12.22)		弁理士 小林 泰
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)	(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行
		(74) 代理人	100092967
			弁理士 星野 修

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 NT-プロBNPと組み合わせたCT-プロET-1による急性冠症候群の診断および危険性の分類

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のために、患者から得た血液中において、配列番号2および/または配列番号3の遊離フラグメントを有するCT-プロET-1と、NT-プロBNP(配列番号4)とを組み合わせるインビトロで測定する、方法。

【請求項2】

急性冠症候群、心筋梗塞、狭心症、および/または心筋梗塞後の増大した危険性および/または好ましくない予後を有する患者における、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の指標および/または危険性の分類のための請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記患者は、徴候を示すおよび/または無症候性の患者である、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の指標および/または危険性の分類のための請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

患者が救急救命室の患者である、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の指標および/または危険性の分類は、急性冠症候群、心筋梗塞(AMI)および狭心症(AP)、ならびに/または心筋梗塞後の治療制御のためにことで特徴づけられる、請求項1~4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

集中医療もしくは救急救命医療において行われる、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の指標および/または危険性の分類は、前記患者を入院させるための決定を含む、臨床的決定を行うために行われることで特徴づけられる、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

医薬品による処置および治療を行うために行われる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

集中医療もしくは救急救命医療における継続的な処置および治療を行うために行われる、請求項 7 または 8 に記載の方法。

10

【請求項 10】

前記急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の指標および/または危険性の分類は、予後のための、鑑別診断的初期検出および認識のための、重篤度の程度の評価のための、ならびに経過の治療に付随する評価のためのものであることで特徴づけられる、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

カットオフ値が、CT-プロET-1 については $80 \sim 150 \text{ pmol/l}$ であり、そして NT-プロBNP については $750 \sim 1100 \text{ pmol/l}$ であることで特徴づけられる、請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 12】

CT-プロET-1 についてのカットオフ値が $90 \sim 130 \text{ pmol/l}$ であり、NT-プロBNP についてのカットオフ値が $800 \sim 950 \text{ pmol/l}$ である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

CT-プロET-1 についてのカットオフ値が 109.5 pmol/l であり、NT-プロBNP についてのカットオフ値が 827.2 pmol/l である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】

前記方法はさらに、指標および/または分類のために、炎症マーカー、心血管マーカー、神経ホルモンマーカー、または虚血マーカーの群から選択されるさらなるマーカーを使用する、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 15】

前記炎症マーカーは、C 反応性タンパク質 (CRP)、サイトカイン、インターロイキン、プロカルシトニン (1-116、3-116)、および接着分子の群の少なくとも 1 種のマーカーから選択されることで特徴づけられる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

サイトカインが TNF- α であり、インターロイキンが IL-6 であり、接着分子が VCAM または ICAM である、請求項 15 に記載の方法。

40

【請求項 17】

前記心血管マーカーは、クレアチンキナーゼ、ミオグロビン、ミエロペルオキシダーゼ、ナトリウム利尿性タンパク質、心筋トロポニン、CRP、および循環調節 (プロ) ホルモン、またはこれらの部分配列の群から選択されることで特徴づけられる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

ナトリウム利尿性タンパク質が、ANP (もしくは ANF)、プロANP、NT-プロANP、BNP、プロ-BNP、またはこれらの部分配列である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

50

循環調節（プロ）ホルモンが、プロ - ガストリン放出ペプチド（プロGRP）、プロ - エンドセリン - 1、プロ - レプチン、プロ - ニューロペプチド - Y、プロ - ソマトスタチン、プロ - ニューロペプチド - YY、プロ - オピオメラノコルチン、またはプロ - アドレノメデュリン（プロADM）である、請求項 17 または 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記虚血マーカーは、トロポニン I および T、CK - MB の群の少なくとも 1 種のマーカーから選択されることで特徴づけられる、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 21】

前記神経ホルモンマーカーは、少なくとも 1 種の、ナトリウム利尿性タンパク質であることで特徴づけられる、請求項 14 に記載の方法。

10

【請求項 22】

ナトリウム利尿性タンパク質が、ANP（もしくはANF）、プロANP、NT - プロANP、BNP、プロ - BNP、またはこれらの部分配列である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記マーカーの並行した測定もしくは同時測定が行われることで特徴づけられる、請求項 1 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記測定は、少なくとも 1 つの患者サンプルに対して行われることで特徴づけられる、請求項 23 に記載の方法。

20

【請求項 25】

前記測定は、迅速な試験によって行われることで特徴づけられる、請求項 23 または 24 に記載の方法。

【請求項 26】

迅速な試験が、単一パラメーターもしくは複数パラメーターの測定によって行われる、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

NT - プロBNP（配列番号 4）と組み合わせて、配列番号 2 および / または配列番号 3 の遊離フラグメントを有する CT - プロET - 1 を測定するための検出試薬、ならびに補助的手段を含む、急性冠症候群、心筋梗塞、狭心症、および / または心筋梗塞後の危険性の分類のためのキット。

30

【請求項 28】

さらに請求項 14 ~ 22 のいずれか 1 項に記載のさらなるマーカーを測定するための検出試薬を含む、請求項 27 に記載のキット。

【請求項 29】

請求項 1 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の方法を行うための、免疫アッセイのための診断デバイス。

【請求項 30】

NT - プロBNP（配列番号 4）と組み合わせて、配列番号 2 および / または配列番号 3 の遊離フラグメントを有する CT - プロET - 1 を測定するための検出試薬、ならびに補助的手段を含む、急性冠症候群、心筋梗塞、および / または狭心症の診断のためのキット。

40

【請求項 31】

さらに請求項 14 ~ 22 のいずれか 1 項に記載のさらなるマーカーを測定するための検出試薬を含む、請求項 30 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、急性冠症候群（ACS）、特に、急性心筋梗塞（AMI 後）の診断および / または危険性の分類のための方法に関し、ここで C 末端プロ - エンドセリン（CP - プロ

50

ET - 1) またはそのフラグメントおよび部分ペプチドの測定は、NT - プロBNP と組み合わせて行われる。

【背景技術】

【0002】

上記危険性の分類は、徴候を示す患者もしくは無徴候性の患者に拘わらず、心疾患の領域において増大しつつある重要性を有する。特に、急性冠症候群 (ACS) および急性心筋梗塞 (AMI) および狭心症 (AP)、ならびに心筋梗塞後 (AMI 後) の領域において、適切な危険性の分類についての需要が高い。

【0003】

適切な治療は、救急救命室においてすぐ臨床的決定を行うための必要性に関連して、急性冠症候群の初期診断および鑑別を要する。急性冠症候群における特定されていない症状 (胸痛) に起因して、他の病気の鑑別および範囲、ならびに急性冠症候群の認識の両方が必須である。これはまた、心筋梗塞後の場合において必要である。

【0004】

生化学的マーカー、特に、心筋トロポニン、ミオグロビン、および CK - MB - mass のような伝統的なものは、心筋梗塞の予後のために、先行技術において行われてきた (非特許文献 1)。ナトリウム利尿性タンパク質の B タイプ (BNP) は、プロ - BNP、NT - プロBNP (特許文献 1、特許文献 2) とともに、親近の診断においてさらに有効な生化学的マーカーであることが分かった。

【0005】

C 末端プロ - エンドセリンフラグメント (CT - プロ - ET - 1) は、プレプロ (prepro) - エンドセリン (配列番号 1) のアミノ酸配列 93 ~ 212 もしくは 168 ~ 212 とともに、エンドセリン - 1 の間接的測定もしくは大きなエンドセリン - 1 含有量についての心血管疾患の診断に関して、特許文献 3 に記載されている。さらに、ANP、BNP およびプロBNP のような心臓パラメーターが、マルチパラメーター診断のために、心臓診断において利用され得ることは、特許文献 3 から公知である。

【0006】

しかし、現在公知のマーカーを利用する公知の診断法の 1 つの欠点は、危険性のある患者の時期尚早のおよび完全な決定が、十分に成功していないことである。従って、本発明に基づく 1 つの目的は、危険性のある患者の改善された決定を可能にする、急性冠症候群および心筋梗塞後の危険性の分類のための方法を開発することである。

【0007】

別の欠点は、先行技術によれば、上記マーカーの十分な感度および / または特異性がしばしば得られないことである。

【0008】

別の目的は、急性冠症候群および心筋梗塞後の危険性の分類のための方法を提供することであり、ここで少なくとも 1 つのマーカー、マーカー組み合わせは、インビトロ診断において十分な感度および特異性を有する。

【0009】

従って、本発明の課題は、急性冠症候群および心筋梗塞後の診断および / または危険性の分類のための方法を提供することである。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目 1)

急性冠症候群、および / または心筋梗塞後のインビトロ診断および / または危険性の分類のための方法であって、該方法は、CT - プロET - 1 と、その遊離フラグメント (配列番号 2 および / または配列番号 3) もしくはフラグメントおよび部分ペプチドの測定は、試験されるべき患者において NT - プロBNP (配列番号 4) と組み合わせて行われることで特徴づけられる、方法。

(項目 2)

前記方法は、急性冠症候群、特に、心筋梗塞、狭心症、および / または心筋梗塞後の増大

10

20

30

40

50

した危険性および/または好ましくない予後を有する患者を同定するためのものである、項目1に記載の、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のための方法。

(項目3)

前記患者は、徴候を示すおよび/または無症候性の患者、特に、救急救命室の患者である、項目1または2に記載の、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のための方法。

(項目4)

前記方法は、急性冠症候群、特に、心筋梗塞(A M I)および狭心症(A P)、ならびに/または心筋梗塞後の治療制御のための、特に、集中医療もしくは救急救命医療におけるものである、項目1~3のいずれか1項に記載の、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のための方法。

10

(項目5)

前記方法は、前記患者を入院させるための決定を含む、臨床的決定、特に、医薬品による、特に、集中医療もしくは救急救命医療における継続的な処置および治療を行うためのものである、項目1~4のいずれか1項に記載の、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のための方法。

(項目6)

前記方法は、予後のための、鑑別診断的初期検出および認識のための、重篤度の程度の評価のための、ならびに経過の治療に付随する評価のためのものである、項目1~4のいずれか1項に記載の、急性冠症候群、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のための方法。

20

(項目7)

カットオフ値は、C T - プロ E T - 1については80~150 p m o l / l、特に、90~130 p m o l / l、特に、109.5 p m o l / lであり、そしてN T - プロ B N Pについては750~1100 p m o l / l、特に、800~950 p m o l / l、特に、827.2 p m o l / lであることで特徴づけられる、項目1~6のいずれか1項に記載の方法。

(項目8)

少なくとも1種のさらなるマーカーの決定がさらに行われ、該少なくとも1種のさらなるマーカーは、炎症マーカー、心血管マーカー、神経ホルモンマーカー、または虚血マーカーの群から選択されることで特徴づけられる、項目1~7のいずれか1項に記載の方法。

30

(項目9)

前記炎症マーカーは、C反応性タンパク質(C R P)、T N F - のようなサイトカイン、I L - 6のようなインターロイキン、プロカルシトニン(1-116、3-116)、およびV C A MもしくはI C A Mのような接着分子の群の少なくとも1種のマーカーから選択されることで特徴づけられる、項目1~8のいずれか1項に記載の方法。

(項目10)

前記心血管マーカーは、クレアチンキナーゼ、ミオグロビン、ミエロペルオキシダーゼ、ナトリウム利尿性タンパク質、特に、A N P (もしくはA N F)、プロA N P、N T - プロA N P、B N P、プロ - B N P、またはこれらの部分配列、心筋トロポニン、C R P、およびプロ - ガストリン放出ペプチド(プロG R P)、プロ - エンドセリン - 1、プロ - レプチン、プロ - ニューロペプチド - Y、プロ - ソマトスタチン、プロ - ニューロペプチド - Y Y、プロ - オピオメラノコルチン、もしくはプロ - アドレノメデュリン(プロA D M)のような循環調節(プロ)ホルモン、またはこれらの部分配列の群から選択されることで特徴づけられる、項目1~9のいずれか1項に記載の方法。

40

(項目11)

前記虚血マーカーは、トロポニンIおよびT、C K - M Bの群の少なくとも1種のマーカーから選択される、項目1~10のいずれか1項に記載の方法。

(項目12)

50

前記神経ホルモンマーカーは、少なくとも1種の、ナトリウム利尿性タンパク質、特に、ANP（もしくはANF）、プロANP、NT-プロANP、BNP、プロBNP、またはこれらの部分配列であることで特徴づけられる、項目1～11のいずれか1項に記載の方法。

(項目13)

前記マーカーの並行した測定もしくは同時測定が行われることで特徴づけられる、項目1～12のいずれか1項に記載の方法。

(項目14)

前記測定は、少なくとも1つの患者サンプルに対して行われることで特徴づけられる、項目1～13のいずれか1項に記載の方法。

10

(項目15)

前記測定は、自動分析デバイスで、特に、Kryptorによって行われることで特徴づけられる、項目1～14のいずれか1項に記載の方法。

(項目16)

前記測定は、迅速な試験、特に、単一パラメーターもしくは複数パラメーターの測定によって行われることで特徴づけられる、項目1～15のいずれか1項に記載の方法。

(項目17)

急性冠症候群、心筋梗塞、狭心症、および/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のための、NT-プロBNP（配列番号4）および必要に応じて、項目8～12のいずれか1項に記載のさらなるマーカーと組み合わせた、遊離フラグメント（配列番号2および/または配列番号3）またはそのフラグメントおよび部分ペプチドとのCT-プロET-1の使用。

20

(項目18)

NT-プロBNP（配列番号4）および必要に応じて、項目8～12のいずれか1項に記載のさらなるマーカーと組み合わせて、CT-プロET-1と、その遊離フラグメント（配列番号2および/または配列番号3）またはフラグメントおよび部分ペプチドを測定するための検出試薬、ならびに補助的手段を含む、急性冠症候群、心筋梗塞、狭心症、および/または心筋梗塞後の危険性の分類のためのキット。

(項目19)

項目1～16のいずれか1項に記載の方法を行うための診断デバイス。

30

(項目20)

NT-プロBNP（配列番号4）および必要に応じて、項目8～12のいずれか1項に記載のさらなるマーカーと組み合わせて、CT-プロET-1と、その遊離フラグメント（配列番号2および/または配列番号3）またはフラグメントおよび部分ペプチドを測定するための検出試薬、ならびに補助的手段を含む、急性冠症候群、心筋梗塞、および/または狭心症の診断のためのキット。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【特許文献1】 欧州特許第1363128号明細書

40

【特許文献2】 欧州特許出願公開第1666881号明細書

【特許文献3】 欧州特許第1564558号明細書

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献1】 Katus, H. A.; Remppis, A.; Scheffold, T.; Diederich, K. W. and Kuebler, W: Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction, Am J Cardio (1991) 67 (16

50

) : 1 3 6 0 - 1 3 6 7

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0012】

上記課題は、急性冠症候群および心筋梗塞後の診断および危険性の分類のための方法によって解決される。ここで上記CT-プロET-1の測定は、NT-プロBNP（配列番号4）と組み合わせて、遊離フラグメント（配列番号2および/または配列番号3）（要するに：「CT-プロET-1」）、またはそのフラグメントおよび部分ペプチドに対して行われる（本明細書中以降、本発明に従う方法といわれる）。

【0013】

驚くべきことに、CT-プロET-1またはそのフラグメントおよび部分ペプチドは、NT-プロBNPと組み合わせて、急性冠症候群および心筋梗塞後の診断についての高い感度および特異性を有する（実施例および図面を参照のこと）。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】プローブ（抗体）によるその検出での、CT-プロET（配列番号3）の診断的利用可能性の方式

【図2】NT-プロBNPもしくはCT-プロET-1による、または論理的回帰モデルから得られる両方のパラメーターの組み合わせから死亡/心機能不全の予後についてのROC曲線。

【図3】示したCT-プロET-1およびNT-プロBNP（ともにpmol/l単位）についてのカットオフ濃度に従う、上記心臓発作患者を亜群に分けることによる事象（死亡、心機能不全）の速度。上記カットオフ濃度は、ROC分析からの濃度として各々決定した。ここで感度および特異性の積は、事象予後の最大にあった。

【図4】すべての心臓発作患者の測定値のそれぞれのメジアンに基づいて、CT-プロET-1およびNT-プロBNPについての測定値の位置に従う、上記心臓発作患者を亜群に分けることによる事象（死亡、心機能不全）の速度。上記メジアンは、CT-プロET-1については77pmol/lであり、NT-プロBNPについては914pmol/lであった。

【発明を実施するための形態】

【0015】

用語「急性冠症候群」とは、生命の直接的な驚異である冠動脈心疾患の種々の相を含む。これは、救急救命医療、実際に、急性心筋梗塞および/または狭心症、ならびに突然心臓死に適用される。WHO基準（WHO（1979）：Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature, Circulation 59（3）：607-609）に従って定義される急性心筋梗塞に加えて、20分間を超えて持続する急性胸痛事象は、ST部分の上昇および/または心筋酵素の増加と合わさっていたので、不安定性狭心症（AP）という用語は除去され、この用語は、本発明によれば、「急性冠症候群」の下で、文献中で見いだされる（Hamm CW: Guidelines: Acute Coronary Syndrome (ACS) - Part 1: ACS without persisting elevation of ST segment. Z Kardiol (2004) 93: 72-90; Pschyrembel, De Gruyter, Berlin 2004もまた参照のこと）。

【0016】

「心筋梗塞後患者における不利な（ネガティブな）事象」とは、特に、さらなる（その

10

20

30

40

50

後の) 心筋梗塞、冠動脈不全 (Herzversagen)、もしくは死亡、または本発明の過程において患者の予後の他の悪化を意味する。

【0017】

「心筋梗塞」(心臓発作、AMI(急性心筋梗塞))とは、本発明の過程において、心臓の急性かつ生命を脅かす疾患を意味する。ここで心筋(Herzmuskel)(心筋(Myokard))の死滅もしくは一部の組織壊死は、通常、20分間より長く持続する循環障害(虚血)に起因して生じる。心臓発作の主要な症状は、突然生じる、20分間より長く持続する、胸部における大部分は強い疼痛(「胸痛」)である。この疼痛は、肩、腕、下顎、および上腹部へ拡がり得、そして発汗、悪心、およびおそらく嘔吐が付随し得る。冠動脈不全は、おそらく心筋梗塞に起因する。

10

【0018】

用語「心筋梗塞後」とは、過去に、例えば、1時間にわたって、特に、20時間にわたって、特に、1~5日間にわたって、または3~5日間にわたって、心筋梗塞に既に罹患しており、後(post)の(「後の(Danach)」)相で現在生存している患者、および直接的死亡を経験しなかったが、さらなる不利な事象を経験した患者は、直接的または間接的に予期され得ることを意味する。

【0019】

すべての示される適応症は、例えば、Pschyrembel, De Gruyter, Berlin 2004においてさらに記載されている。

【0020】

用語「危険性の分類」は、できるだけ有利である過程を可能にするという目的とともに、急性冠症候群、特に、心筋梗塞、狭心症、および/または心筋梗塞後のより集中的な診断および治療/処置の目的で、患者、特に、救急救命室の患者および危険性のある患者におけるより悪い予後を含む。危険性の分類は、本発明によれば、経皮的冠状動脈介入およびより新たな医薬品を利用して、急性冠症候群で適切である、連続して有効な処置プロセスを可能にする。

20

【0021】

従って、本発明はまた、特に、徴候のある患者および/または無徴候性の患者、特に、救急救命室の患者において、急性冠症候群、特に、心筋梗塞、狭心症、および/または心筋梗塞後の増大した危険性および/または不利な予後を有する患者を同定することに関する。

30

【0022】

安全な分類は、本発明に従う方法によって、特に、救急救命医療および/または集中医療の場合において、特に有利に生じ得る。従って、本発明に従う方法は、迅速な治療の成功および死亡の回避をもたらす臨床的決定を可能にする。このような臨床的決定はまた、急性冠症候群、特に、心筋梗塞(AMI)および/または狭心症(AP)および/または心筋梗塞後の処置もしくは治療のための医薬品による継続した処置を含む。

【0023】

従って、本発明はまた、好ましくは、時間的に重要な集中医療もしくは救急救命医療において、患者の入院の決定を含む、臨床的決定(例えば、医薬品による継続した処置および治療)を行うための、急性冠症候群および/または心筋梗塞後を有する患者の診断および/または危険性の分類のための方法に関する。

40

【0024】

従って、さらなる好ましい実施形態において、本発明に従う方法は、急性冠症候群、特に、心筋梗塞(AMI)、および狭心症(AP)、ならびに心筋梗塞後の治療制御に関する。

【0025】

本発明に従う方法のさらなる好ましい実施形態において、予後、鑑別診断的初期検出および認識、重篤度の程度の評価、ならびに過程の治療に付随する評価の診断および/または危険性の分類が行われる。

50

【0026】

さらなる好ましい実施形態において、本発明は、急性冠症候群、もしくは心筋梗塞、もしくは狭心症、および/または心筋梗塞後の初期診断もしくは鑑別的診断または予後のための、インビトロ診断のための方法に関する。ここでマーカーCT-プロET-1またはそのフラグメントおよび部分ペプチドの測定は、試験されるべき患者に対して、NT-プロBNPと組み合わせて行われる。

【0027】

本発明はさらに、急性冠症候群の診断および危険性の分類のための方法、あるいは上記の実施形態のうちの1つに従う、急性冠症候群、特に、心筋梗塞もしくは狭心症および/または心筋梗塞後の初期診断もしくは鑑別的診断または予後のための方法に関する。ここで上記の実施形態において、診断および/または危険性の分類のための感度および特異性の最大において、上記症状の発生の後に、CT-プロET-1またはそのフラグメントおよび部分ペプチドと、NT-プロBNPとの組み合わせについてのカットオフ値(閾値)は、CT-プロET-1については80~150 pmol/l、特に、90~130 pmol/l、特に、109.5 pmol/lであり、NT-プロBNPについては750~1100 pmol/l、特に、800~950 pmol/l、特に、827.2 pmol/lである(図3および4を参照のこと)。

【0028】

上記に基づいて、本発明に従う方法は、有利には、感度が高くかつ特異的である。

【0029】

本発明に従う方法の一実施形態において、体液、好ましくは血液が、試験されるべき患者から抜かれ(必要に応じて、全血もしくは血清、または利用可能な血漿)、そして上記診断は、インビトロ/エキソビボで(例えば、ヒトもしくは動物の身体の外で)行われる。NT-プロBNPと組み合わせて、マーカーCT-プロET-1またはそのフラグメントおよび部分ペプチドの測定に基づいて、急性冠症候群、心筋梗塞、および狭心症ならびに/または心筋梗塞後についての高感度および特異性が得られ、そして次いで、上記診断または危険性の分類は、少なくとも1種の患者サンプルに存在する量に基づいて行われ得る。

【0030】

「CT-プロET-1」とは、本発明の過程におけるヒトタンパク質もしくはポリペプチドを意味する。これは、プレプロエンドセリンから得られ得、およびプレプロエンドセリン(配列番号1)の過程において、アミノ酸93~212を有する遊離フラグメント(129AS、配列番号2: ALENLLPT KATDRENRCQ CASQKDKK CW NFCQAGKELR AEDIMEKDOWN NHKKGKDCSK LGKK CIYQQL VRGRKIRRSS EEHLRQTRSE TMRNSVKSSF HDPKLK GKPS RERYVTHNRA HW)またはアミノ酸168~212を有する遊離フラグメント(44AS、配列番号3: RSS EEHLRQTRSE TMRNSVKSSF HDPKLK GKPS RERYVTHNRA HW、図もまた参照のこと)、ならびにこれから利用可能なフラグメントもしくは部分ペプチドもまた含む。本発明に従う上記ポリペプチドはまた、翻訳後修飾(例えば、グリコシル化、脂質化、または誘導体化)を有し得る。

【0031】

本発明の過程における「NT-プロBNP」は、ナトリウム利尿性ペプチドのBタイプのN末端プロ-ホルモン、配列番号4(76AS: HPLG SPGSASDLET SGLQEQRNHL QGKLSLELQVE QTSLEPLQES PRPTGVWKS SR EVATEGIRGH RKMVLYTLRA PR)に従うアミノ酸配列を有するヒトタンパク質、もしくはポリペプチドを意味する。

【0032】

別の実施形態において、NT-プロBNPと組み合わせて、CT-プロET-1またはそのフラグメントおよび部分ペプチドの測定は、さらなるマーカー、実際に、このような

10

20

30

40

50

マーカー（これは、急性冠症候群、特に、心筋梗塞、もしくは狭心症、ならびに心筋梗塞後を既に示す）を用いてさらに行われ得る。

【0033】

従って、本発明は、本発明に従う方法のこのような実施形態に関する。ここで本発明に従う組み合わせに加えて、上記測定は、炎症マーカー、心血管マーカー、神経ホルモンマーカー、または虚血マーカーの群から選択される少なくとも1種のさらなるマーカーを用いて、試験されるべき患者に対して行われる。

【0034】

本発明によれば、上記炎症マーカーは、C反応性タンパク質（CRP）、TNF- α のようなサイトカイン、IL-6のようなインターロイキン、プロカルシトニン（1-116、3-116）、およびVCAMもしくはICAMのような接着分子の群の少なくとも1種のマーカーから選択され得、そして上記心血管マーカーは、心筋組織の壊死を特に示すマーカー、および血圧に対する影響を有するマーカーから、クレアチンキナーゼ、ミオグロビン、ミエロペルオキシダーゼ、さらなるナトリウム利尿性タンパク質、特に、ANP（もしくはANF）、プロANP、NT-プロANP、BNP、プロ-BNP、またはこれらの部分配列、心筋トロポニン、CRPの群から選択される少なくとも1種のマーカーから選択されうる。さらに、これらはまた、循環調節（プロ）ホルモン、特に、プロ-ガストリン放出ペプチド（プロGRP）、プロ-レプチン、プロ-ニューロペプチド-Y、プロ-ソマトスタチン、プロ-ニューロペプチド-YY、プロ-オピオメラノコルチン、もしくはプロ-アドレノメデュリン（プロADM）またはこれらの部分配列を意味する。

【0035】

上記虚血マーカーは、トロポニンIおよびT、CK-MBの群から選択される少なくとも1種のマーカーから選択されうる。さらに、上記神経ホルモンマーカーは、少なくとも1種のさらなるナトリウム利尿性タンパク質、特に、ANP（もしくはANF）、プロANP、NT-プロANP、BNP、プロBNP、またはこれらの部分配列であり得る。

【0036】

本発明のさらなる実施形態において、本発明に従う方法は、上記マーカーの並行した測定もしくは同時測定によって（すなわち、96穴以上を有するマルチタイタープレート）、インビトロ診断の過程内で行われ得る。ここで上記測定は、少なくとも1種の患者サンプルに対して行われる。

【0037】

さらに、本発明に従う方法およびその測定は、診断デバイスにおいて、自動分析デバイスによって、特に、Kryptor（<http://www.kryptor.net/>）によって行われうる。

【0038】

さらなる実施形態において、本発明に従う方法およびその測定は、単一パラメーターもしくは複数パラメーターの測定に拘わらず、迅速な試験（すなわち、ラテラルフロー試験（lateral-flow Test）もしくはポイント・オブ・ケア（point-of-care））によって、行われ得る。特に好ましい実施形態は、自己診断（Self-test）または救急救命診断に適したデバイスである。

【0039】

さらに、本発明は、急性冠症候群、心筋梗塞、もしくは狭心症および/または心筋梗塞後の危険性の分類のための、ならびに/あるいは急性冠症候群、心筋梗塞、もしくは狭心症および/または心筋梗塞後の初期診断もしくは鑑別診断もしくは予後のインビトロ診断のための、NT-プロBNPと組み合わせた、CT-プロET-1またはそのフラグメントおよび部分ペプチドの使用に関する。

【0040】

さらなる目的は、本発明に従う方法を行うための診断デバイス、またはその使用をそれぞれ提供することである。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 1 】

本発明の過程において、このような診断デバイスは、アレイ、もしくはアッセイ（例えば、免疫アッセイ、E L I S A など）、さらなる意味において本発明に従う方法を行うためのデバイスである。

【 0 0 4 2 】

本発明はまた、NT - プロBNP（配列番号4）および必要に応じて、上記のさらなるマーカーと組み合わせて、CT - プロET - 1と、その遊離フラグメント（配列番号2および/または配列番号3）またはフラグメントおよび部分ペプチドを測定するための検出試薬を含む、急性冠症候群、心筋梗塞、および/もしくは狭心症、ならびに/または心筋梗塞後の診断および/または危険性の分類のためのキットに関する。このような検出試薬は、例えば、抗体などを含む。

10

【 0 0 4 3 】

以下の実施例および図面は、本発明を詳細に説明するために供されるが、本発明を上記実施例および図面に限定することはない。

【実施例】

【 0 0 4 4 】

（実施例および図面）

（実施例1）

血液サンプルを、胸痛の主症状と関連する心臓発作を有するとして病院の救急救命室に入った983名の患者から採取した。

20

【 0 0 4 5 】

上記患者を、342日間のメジアン期間にわたって観察したところ、上記患者のうちの10.3%は死亡し、そして5.0%は、心機能不全に起因して、再入院した。

【 0 0 4 6 】

心臓発作を有する患者におけるCT - プロET - 1の血漿濃度は、正常範囲（メジアン値：44.3 pmol / l、範囲10.5 ~ 77.4 pmol / l）とは対照的に、4.6 ~ 671 pmol / lの範囲の71 pmol / lのメジアンにおいて増大した。いかなる後の事象もない患者と比較して、上記CT - プロET - 1は、後に死亡した患者、または心機能不全により再入院した患者においてより高かった（メジアン [範囲] pmol / l、123.5 ; [14 ~ 671] 対 74 ; [4.6 ~ 530 ; p < 0.0001）。

NT - プロBNPはまた、いかなる後の事象もない患者とは対照的に、事象を有する患者において増大した（p < 0.0001）。さらなる詳細は、表1および表2に例示される。

30

【 0 0 4 7 】

死亡/心機能不全の推定のためのC o x 比例ハザードモデルは、独立した予測変数としてCT - プロET - 1およびNT - プロBNPを同定した（log CT - プロET - 1（HT 6.82）、log NT - BNP（HR 2.661）。CT - プロET - 1の受容者操作者曲線は、0.77の曲線下面積（AUC）を生じた（95% CI : 0.71 ~ 0.83, p < 0.001）；NT - プロBNPについては、AUCはまた、0.77であった（95% CI : 0.71 ~ 0.83, p < 0.001）；論理モデルにおける両方のマーカーの組み合わせは、0.82のAUCを生じ（95% CI : 0.77 ~ 0.87, p < 0.001）、また、上記2つの個々のマーカーのものより大きなAUCを生じた（図2）。

40

【 0 0 4 8 】

両方の個々のマーカーとは対照的に、両方のマーカーCT - プロET - 1およびNT - プロBNPの組み合わせから生じるさらなる利益はまた、図3および図4に示され、ここで60日間後の事象速度を、基本として採取する。上記患者を、カットオフ値に従って分類し、このようにして得られる上記亜群において得た上記事象速度は、例示される。図3において、それらの濃度を、カットオフ値としてROC分析から検出した。ここで感度と特異性との積は、事象予後の最大において存在した。図4において、患者集団全体のメジ

50

アンは、カットオフ値として機能する。

【 0 0 4 9 】

【表 1 - 1】

表1:CT-プロET-1四分位数へと分離した患者の特性。その値は、メジアン値(SD)または図(%)として示される。

【表1】

	第1の四分位数	第2の四分位数	第3の四分位数	第4の四分位数	P値
年齢(年単位)	58.9±11.7	63.5±11.7	65.9±11.3	71.7±10.7	<0.0001
男性	202(84.2)	184(75.7)	168(70.0)	158(64.8)	<0.0001
病歴					
急性心筋梗塞	26(10.8)	40(16.5)	38(15.8)	60(24.6)	0.001
狭心症	56(23.3)	62(25.5)	52(21.7)	79(32.4)	0.038
高血圧症	82(24.2)	106(43.6)	101(42.1)	131(53.7)	<0.0001
糖尿病	34(14.2)	47(19.3)	51(21.3)	79(32.4)	<0.0001
高コレステロール	47(19.6)	52(21.4)	66(27.5)	60(24.6)	0.176
喫煙者(かつてのまたは現在)	149(62.1)	159(65.4)	162(67.5)	135(55.3)	0.030
ST部分の上昇を伴う急性心筋梗塞	196(81.7)	179(72.8)	209(83.8)	208(80.3)	0.284
血栓溶解剤(Thrombolytica)	143(59.6)	126(51.9)	143(59.6)	119(48.8)	0.034
梗塞領域					0.077
前方	105(43.8)	102(42.0)	102(42.5)	102(41.8)	
下方	103(42.9)	89(36.6)	98(40.8)	83(34.0)	
その他	32(13.3)	52(21.4)	40(16.7)	58(23.8)	
入院時の Killip クラス					<0.0001
I	162(67.5)	132(54.3)	114(46.3)	84(34.4)	
II	68(28.3)	93(38.3)	104(43.3)	109(44.7)	
III	9(3.8)	14(5.8)	24(10.0)	41(16.8)	
IV	1(0.4)	0(0)	0(0)	9(3.7)	

【 0 0 5 0 】

10

20

30

40

【表 1 - 2】

ピークCK (IU/L)	838.5±794.9	895.4±1091.8	1261.5±1243.1	1273.0±1590.7	<0.0001
eGFR (ml/分/1.73m ²)	76.9±16.0	74.5±16.1	67.7±17.5	52.7±18.5	<0.0001
NTプロBNP (pmol/L)	1031.6±2267.7	1224.9±1783.0	2141.5±2400.5	4350.6±3547.1	<0.0001

10

【 0 0 5 1 】

【表 2】

表 2:CT-プロ ET-1 および NT-プロ BNO の比較

急性心筋梗塞を有する患者の種々の亜群における濃度

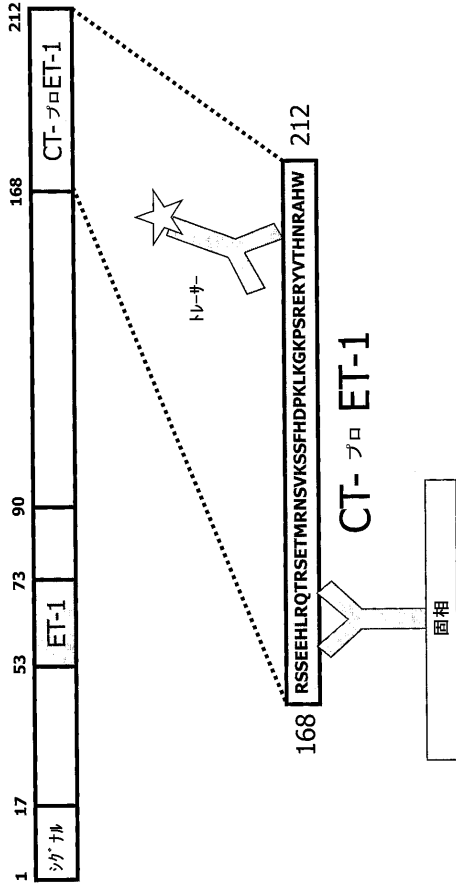
	メジアン CT-プロ ET-1(pmol/l)	p値	メジアン NT プロ BNP(pmol/l)	p値
死亡 対 生存	126.0 対 74.0	p<0.0001	5929.3 対 802.4	p<0.0001
心機能不全 対 事象なし	112 対 74.9	p<0.0001	3932.9 対 839.0	p<0.0001
男性 対 女性	89.0 対 73.0	p<0.0001	788.7 対 1632.6	p<0.0001
以前の AMI 対 以前の AMI なし	85.0 対 75.0	p<0.0001	1332.3 対 844.4	P<0.001
高血圧症 対 正常血圧	84.0 対 73.2	p<0.0001	1105.6 対 802.4	p<0.0001
以前の心機能不全 対 以 前の心機能不全なし	108.0 対 75.9	P<0.0001	4160.1 対 856.6	P<0.0001
STEMI 対 NSTEMI	78.1 対 72.9	p=NS	1017.9 対 624.6	P<0.002
1 より高い Killip クラス 対 Killip クラス 1	88.9 対 70.0	p<0.0001	1595.1 対 631.5	p<0.0001

20

30

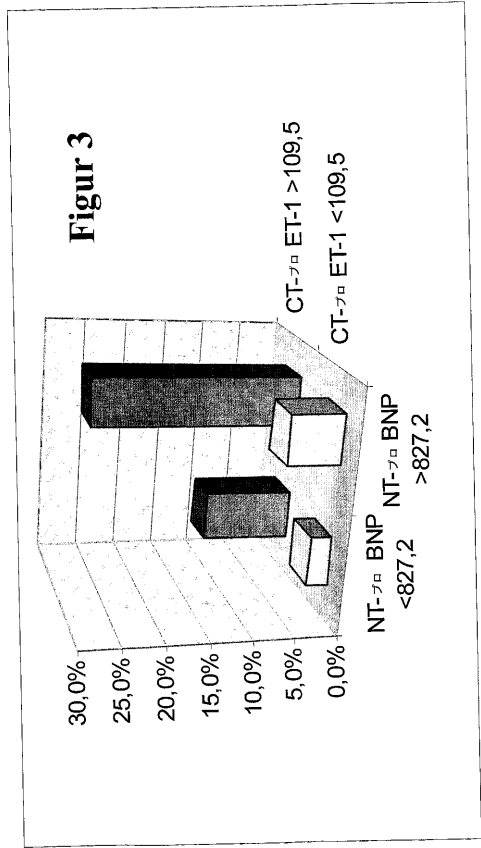
【 図 1 】

Figure 1



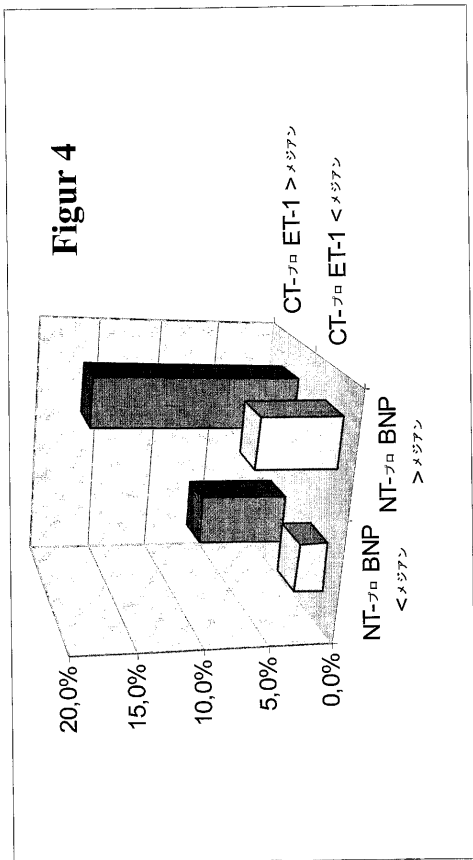
【 図 3 】

Figure 3



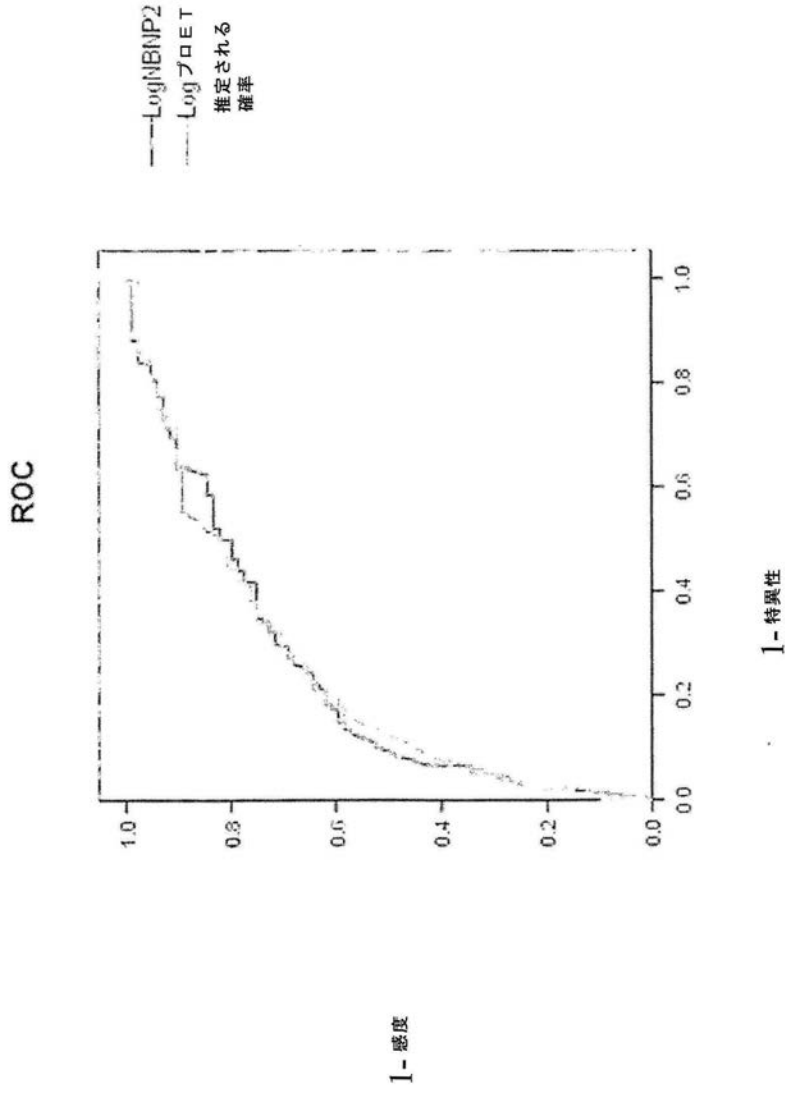
【 図 4 】

Figure 4



【 図 2 】

Figur 2



【 配列表 】

0005190067000001.app

フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I
C 0 7 K 14/47
- (74)代理人 100091638
弁理士 江尻 ひろ子
- (72)発明者 ベルクマン, アンドレアス
ドイツ国 1 2 3 5 1 ベルリン, バウムロイファーヴェーク 4 7
- (72)発明者 モルゲンターラー, ニールス
ドイツ国 1 3 5 0 3 ベルリン, ハイリゲンゼーシュトラッセ 1 2 1 エフ
- (72)発明者 パパツチロー, ヤナ
ドイツ国 1 4 1 6 3 ベルリン, スウェン-ヘディン-シュトラッセ 4 5
- (72)発明者 ストラック, ヨアキム
ドイツ国 1 3 4 6 5 ベルリン, ツェルンドルフアーヴェーク 5 2 アー
- (72)発明者 イン, レオン エル.
イギリス国 エルイー2 3 エヌビー レスター, シャーリー アベニュー 3 5

審査官 三木 隆

- (56)参考文献 国際公開第2005/078456(WO, A1)
特表2006-507510(JP, A)
特開2004-037455(JP, A)
特表2007-510146(JP, A)
特表2004-531687(JP, A)
欧州特許出願公開第01619505(EP, A1)
KHAN SOHAIL Q, AMERICAN HEART JOURNAL, 2007年10月, V154 N4, P736-742

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 33/68
G01N 33/53
G01N 33/573
C07K 14/47
CA/BIOSIS/MEDLINE(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

专利名称(译)	CT-pro ET-1联合NT-pro BNP对急性冠状动脉综合征的诊断和危险分类		
公开(公告)号	JP5190067B2	公开(公告)日	2013-04-24
申请号	JP2009541763	申请日	2007-12-22
[标]申请(专利权)人(译)	模糊切姆斯福德股份公司		
申请(专利权)人(译)	勃拉姆斯股份公司		
当前申请(专利权)人(译)	基地.厄尔尼诺啊.哈哈.他们.居有限公司		
[标]发明人	ベルクマンアンドレアス モルゲンターラーニールス パパッソチローヤナ ストラックヨアキム インレオンエル		
发明人	ベルクマン, アンドレアス モルゲンターラー, ニールス パパッソチロー, ヤナ ストラック, ヨアキム イン, レオン エル.		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 G01N33/573 C07K14/47		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2333/58 G01N2800/324		
FI分类号	G01N33/68.ZNA G01N33/53.D G01N33/53.P G01N33/573.A G01N33/53.F C07K14/47		
代理人(译)	小林 泰 星野 修		
审查员(译)	三木隆		
优先权	102006060835 2006-12-22 DE		
其他公开文献	JP2010513880A JP2010513880A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于分类急性冠状动脉综合征 (ACS) , 特别是急性心肌梗塞 (AMI) 和心绞痛 (AP) 和/或心肌梗塞后的诊断和/或风险的方法。此处, C末端前内皮素 (CT-pro ET-1) 或其片段和部分肽的测量与NT-proBNP组合进行。在一个实施方案中, 本发明提供了鉴定患有急性冠状动脉综合征的患者的方法, 特别是心肌梗塞, 心绞痛和/或心肌梗塞的风险增加和/或不利的预后。到。

	第1の四分位数	第2の四分位数	第3の四分位数	第4の四分位数	P値
年齢(年単位)	58.9±11.7	63.5±11.7	65.9±11.3	71.7±10.7	<0.0001
男性	202(64.2)	184(75.7)	168(70.0)	158(64.8)	<0.0001
病歴					
急性心筋梗塞	26(10.8)	40(16.5)	38(15.8)	60(24.6)	0.001
狭心症	56(23.3)	62(25.5)	52(21.7)	79(32.4)	0.038
高血圧症	82(24.2)	106(43.8)	101(42.1)	131(53.7)	<0.0001
糖尿病	34(14.2)	47(19.3)	51(21.3)	79(32.4)	<0.0001
高コレステロール	47(19.6)	52(21.4)	66(27.5)	60(24.6)	0.176
喫煙者(かつてのまたは現在)	148(62.1)	159(65.4)	162(67.5)	135(55.3)	0.030
ST部分の上昇を伴う急性心筋梗塞	196(81.7)	179(72.8)	209(83.8)	208(80.3)	0.284
血栓溶解剤(Thrombolytica)	143(59.6)	126(51.8)	143(59.6)	119(48.8)	0.034
梗塞領域					0.077
前方	105(43.8)	102(42.0)	102(42.5)	102(41.8)	
下方	103(42.9)	88(36.6)	98(40.8)	83(34.0)	
その他	32(13.3)	52(21.4)	40(16.7)	58(23.8)	
入院時の Killip クラス					<0.0001
I	162(67.5)	132(54.3)	114(46.3)	84(34.4)	
II	68(28.3)	93(38.3)	104(43.3)	109(44.7)	
III	9(3.8)	14(5.8)	24(10.0)	41(16.8)	
IV	1(0.4)	0(0)	0(0)	9(3.7)	