

(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2007-518985

(P2007-518985A)

(43) 公表日 平成19年7月12日(2007.7.12)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/53</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N 33/53	D	4 H O 4 5
<b>CO 7 K 7/06</b>	<b>(2006.01)</b>	CO 7 K 7/06	Z N A	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

(21) 出願番号	特願2006-548410 (P2006-548410)	(71) 出願人	506203903
(86) (22) 出願日	平成17年1月19日 (2005.1.19)		インバーネス メディカル スウィツァーランド ゲーエムベーハー
(85) 翻訳文提出日	平成18年6月27日 (2006.6.27)		スイス国 ツーク 6300, ブンデスプラッツ 1
(86) 国際出願番号	PCT/GB2005/000182	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開番号	W02005/071407		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開日	平成17年8月4日 (2005.8.4)	(74) 代理人	100062409
(31) 優先権主張番号	0401085.6		弁理士 安村 高明
(32) 優先日	平成16年1月19日 (2004.1.19)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	10/835,084		
(32) 優先日	平成16年4月29日 (2004.4.29)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ウロテンシン I I を測定することによって、急性冠状動脈症候群を診断する方法

## (57) 【要約】

本発明は、哺乳動物被験体における急性冠状動脈症候群 (ACS) のスクリーニング、診断もしくは予後のため、哺乳動物被験体において ACS のステージもしくは重篤度を決定するため、ACS を発症する危険のある哺乳動物被験体を同定するため、または、ACS を有する哺乳動物被験体に対して行なわれる治療の効果をモニターするための、方法を提供する。この方法は、哺乳動物被験体に由来する体液のサンプル中のウロテンシン I I (UTN) のレベルを測定する工程を包含する。本発明はまた、上記方法を実施するためのキット、イムノアッセイまたはデバイスも提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

哺乳動物被験体における急性冠状動脈症候群（ACS）のスクリーニング、診断もしくは予後のため、哺乳動物被験体においてACSのステージもしくは重篤度を決定するため、ACSを発症する危険のある哺乳動物被験体を同定するため、または、ACSを有する哺乳動物被験体に対して行なわれる治療の効果をモニターするための方法であって、該方法は、

該哺乳動物被験体由来する体液のサンプル中の第1のマーカのレベルを測定する工程

を包含し、該第1のマーカは、ウロテンシンII（UTN）である、方法。

10

## 【請求項 2】

前記体液が血漿である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 3】

ACSを示す第2のマーカのレベルを測定する工程をさらに包含する、請求項1または2に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記第2のマーカが、脳ナトリウム利尿ペプチド、トロポニン、クレアチンキナーゼMBアイソフォームおよびミオグロビンのうちの1種以上である、請求項3に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記哺乳動物被験体が、ヒトである、請求項1～4のいずれかに記載の方法。

20

## 【請求項 6】

前記測定されたマーカのレベルが、ACSの非存在を示すマーカのレベルと比較される、請求項1～5のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 7】

前記ACSの非存在を示すマーカのレベルが、ACSを有さない1以上の哺乳動物被験体からのマーカのレベルであるか、または、ACSを有さない哺乳動物被験体におけるマーカの以前に決定された参照範囲である、請求項6に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記マーカのレベルが、前記サンプルを該マーカに対して免疫特異的な抗体に接触させて、かつ、該サンプル中で該抗体と少なくとも1つの種との間に生じる、あらゆる結合を測定することによって測定される、請求項1～7のいずれかに記載の方法。

30

## 【請求項 9】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項8に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記急性冠状動脈症候群が、心筋梗塞または不安定狭心症である、請求項1～9のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 11】

請求項1～10のいずれかに記載の方法を実施するための、キット、免疫アッセイ、またはデバイス。

## 【請求項 12】

哺乳動物被験体における急性冠状動脈症候群（ACS）のスクリーニング、診断もしくは予後のため、哺乳動物被験体においてACSのステージもしくは重篤度を決定するため、ACSを発症する危険のある哺乳動物被験体を同定するため、または、ACSを有する哺乳動物被験体に対して行なわれる治療の効果をモニターするための、キット、免疫アッセイ、またはデバイスであって、該キット、免疫アッセイまたはデバイスは、以下：

40

該哺乳動物被験体から体液のサンプルを採取するための指示書；および

該サンプル中の第1のマーカのレベルを測定するための1種以上の試薬

を含み、該第1のマーカは、ウロテンシンII（UTN）である、キット、免疫アッセイ、またはデバイス。

## 【請求項 13】

50

前記体液が血漿である、請求項 1 2 に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

【請求項 1 4】

前記第 1 のマーカーのレベルを測定するための 1 種以上の試薬が、ウロテンシンに特異的に結合する抗体を含む、請求項 1 2 または 1 3 に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

【請求項 1 5】

A C S を示す第 2 のマーカーのレベルを測定するための 1 種以上の試薬をさらに含む、請求項 1 2、1 3 または 1 4 に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

【請求項 1 6】

前記第 2 のマーカーのレベルを測定するための 1 種以上の試薬が、前記第 2 のマーカーに対して特異的に結合する抗体を含む、請求項 1 5 に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

10

【請求項 1 7】

前記抗体が、モノクローナル抗体である、請求項 1 4 または 1 6 に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

【請求項 1 8】

前記第 2 のマーカーが、脳ナトリウム利尿ペプチド、トロポニン、クレアチンキナーゼ M B アイソフォームおよびミオグロビンのうちの 1 種以上である、請求項 1 5、1 6 または 1 7 に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

【請求項 1 9】

前記哺乳動物被験体がヒトである、請求項 1 2 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

20

【請求項 2 0】

前記急性冠状動脈症候群が、心筋梗塞または不安定狭心症である、請求項 1 2 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載のキット、免疫アッセイまたはデバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、とりわけ、哺乳動物被験体（例えば、ヒト）における、急性冠状動脈症候群（A C S）の診断のための方法に関する。特に、本発明は、サンプル中のウロテンシン I I（U T N）のレベルが測定されるような方法に関する。

30

【背景技術】

【0 0 0 2】

虚血性心疾患は、先進国における主要な健康上の負荷であり、その主要な病因論は、アテローム性動脈硬化症である。マクロファージおよび他の細胞を伴う、脂質（特に、酸化 L D L または修飾 L D L）の蓄積は、プラークの増大および不安定性につながる。これらのプラークの破裂は、血栓症につながり、そして、結果として生じる冠状動脈管腔の閉塞は、急性冠状動脈症候群（A C S）としての症状を招く。急性冠状動脈症候群としては、心筋梗塞（M I）および不安定狭心症が挙げられる。

【0 0 0 3】

急性冠状動脈症候群は、世界中で主要な健康上の問題であるが、現在のところ、患者の有効な診断およびリスク層化（*r i s k s t r a t i f i c a t i o n*）のための手段は限定されている。種々の血液分析物の測定を含む、生化学的技術が、これらの目的を達成するために現在利用されている。例えば、脳ナトリウム利尿ペプチド（B N P）またはその N 末端前駆体、N 末端脳ナトリウム利尿ペプチド前駆体（*N - t e r m i n a l p r o B r a i n n a t r i u r e t i c p e p t i d e*）（*N - B N P*）は、急性心虚血の間に分泌され、患者についての予後の情報を提供し得る（非特許文献 1；非特許文献 2）。

40

【非特許文献 1】O m l a n d ら、*C i r c u l a t i o n* 2 0 0 2 年，第 1 0 6 号：p . 2 9 1 3 - 8

50

【非特許文献2】Richardsら、Circulation 2003年、第107号：p. 2786 - 92

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0004】

第1の局面において、本発明は、哺乳動物被験体における急性冠状動脈症候群（ACS）のスクリーニング、診断もしくは予後のため、哺乳動物被験体においてACSのステージもしくは重篤度を決定するため、ACSを発症する危険のある哺乳動物被験体を同定するため、または、ACSを有する哺乳動物被験体に対して行なわれる治療の効果をモニターするための方法を提供し、上記方法は、

10

哺乳動物被験体由来する体液のサンプル中の第1のマーカのレベルを測定する工程を包含し、この前記第1のマーカは、ウロテンシンII（UTN）である。

【0005】

第2の局面において、本発明は、第1の局面の方法を実施するためのイムノアッセイ、キットまたはデバイスを提供する。

【0006】

第3の局面において、本発明は、哺乳動物被験体における急性冠状動脈症候群（ACS）のスクリーニング、診断もしくは予後のため、哺乳動物被験体においてACSのステージもしくは重篤度を決定するため、ACSを発症する危険のある哺乳動物被験体を同定するため、または、ACSを有する哺乳動物被験体に対して行なわれる治療の効果をモニターするための、キット、イムノアッセイ、またはデバイスを提供し、上記イムノアッセイ、キットまたはデバイスは、以下：

20

上記哺乳動物被験体から体液のサンプルを採取するための指示書；および

サンプル中の第1のマーカのレベルを測定するための1種以上の試薬を含み、上記第1のマーカは、ウロテンシンII（UTN）である。

【0007】

本発明は、体液サンプル中のウロテンシンIIのレベルを、単独で、または、別のマーカと組み合わせることで検出することによって、被験体（すなわち、ヒトまたは非ヒト哺乳動物）におけるACSの増加したリスクを検出するためのアッセイおよびキットを提供し、それによって、正常なレベルに対して上昇したウロテンシンIIのレベルが、ACSのリスクの増加を示す。

30

【0008】

用語「ウロテンシン」または「UTN」は、本明細書中で使用される場合、ウロテンシンII（GenBank登録番号NM\_021995およびNM\_006786を参照のこと）およびそのフラグメントおよび改変体（例えば、対立遺伝子改変体）を指す。ウロテンシンは、プロホルモン前駆体であるプロ-ウロテンシン（GenBank登録番号O95399）から誘導され、これは、成熟なウロテンシンおよびN末端ペプチドへとプロセッシングされる。用語「ウロテンシン」は、本明細書中で使用される場合、さらに、プロ-ウロテンシン、成熟なウロテンシン、そのN末端由来のペプチド、そのシグナルペプチド、およびC末端ペプチド（Glu-Thr-Pro-Asp-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val（Cys<sup>5</sup>とCys<sup>10</sup>との間にジスルフィド結合）

40

、ならびにそのフラグメントを含む。用語ウロテンシンはまた、ウロテンシン関連ペプチド（URP）（Ala-Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys-Val（Cys<sup>2</sup>とCys<sup>7</sup>との間にジスルフィド結合）、ならびにウロテンシン関連ペプチドのプレフォーム（preform）（GenBank登録番号NM\_198152）も指す。

【0009】

ウロテンシン-IIは、近年クローニングされた、硬骨類ホルモンの同族の心血管ペプチドである（Amesら、Nature 1999, 401: 282 - 286）。この環状のウンデカペプチドは、オーファン（orphan）Gタンパク質レセプター（GPR14）に対するリガンドであり、そして、ペプチドおよびレセプターの両方が、心血管内

50

および神経系内に分布している (Amesら、Nature 1999, 401: 282 - 286)。ラットおよびサルにおいては、特定の脈管床 (vascular bed) に対する強力な血管収縮薬 (vasoconstrictor) であり得る (Amesら、Nature 1999, 401: 282 - 286; Douglasら、J Cardiovasc Pharmacol 2000, 36: S163 - 6) が、これは、腸間膜抵抗性脈管 (mesenteric resistance vessel) においては血管拡張薬 (vasodilator) であり得る (Bottrillら、Br J Pharm 2000, 130: 1865 - 1870)。UTNに対する種々の脈管の反応性には、重要な種差が存在する。例えば、UTNは、サルの血管を収縮させるが、ヒトの肺脈管構造および腸間膜抵抗性脈管を拡張させ (Stirrattら、Am J Physiol 2001, 280: H925 - 928)、そして、ヒトの皮下抵抗性脈管には影響を与えない (Hillierら、Circulation 2001, 103: 1378 - 1381)。UTNはまた、脈管平滑筋肥大を生じる (Watanabeら、J Hypertens 2001, 19: 2191 - 2196)。サルの心筋に対する直接的な作用としては、心筋抑制 (Amesら、Nature 1999, 401: 282 - 286) が挙げられるが、ヒトの心筋においては、陽性変力作用がまた実証されている (Russellら、Br J Pharm 2001, 132: 5 - 9)。さらに、肥大効果および心室再構築において果たし得る役割が、記載されている (Zouら、FEBS Lett 2001, 508: 57 - 60; Tzanidisら、Eur Heart J 2000, 21: 72)。従って、その分泌は、心臓の減圧、再構築および肥大の 10 20 効果に起因して、心機能に対して有害であり得る。

#### 【0010】

UTNが、心不全についてのマーカーであるということが確立されている。近年の研究は、心不全患者の心筋におけるUTNの増加およびGPR14の発現を実証している (Douglasら、Lancet 2002, 359: 1990 - 1997)。心不全患者における、UTNの血漿中への分泌はまた、特に、初期疾患の軽度の場合でさえも、実証されている (Ngら、Circulation 2002, 106: 2877 - 2880)。

#### 【0011】

UTNは、ACSにおいて、結晶中に分泌され、そして、必要に応じて、急性冠状動脈症候群の他のマーカー (例えば、トロポニン、クレアチンキナーゼMBアイソフォーム、ミオグロビンまたはナトリウム利尿ペプチド (例えば、N-BNPおよびBNP)) と組み合わせ、急性冠状動脈症候群のマーカーとして使用され得る。UTNはまた、バルーン血管形成術後の心筋損傷のマーカーとして使用され得、そして、トロポニンのアッセイを補完し得る。 30

#### 【0012】

測定されたウロテンシンのレベルが、ACSの非存在を示すウロテンシンのレベルと比較され得る。このレベルは、ACSを有さない1以上の哺乳動物被験体からのウロテンシンのレベル、または、このようなACSを有さない哺乳動物被験体におけるウロテンシンについての以前に決定された参照範囲もしくは参照値であり得る。このようにして、診断または予後を提供するために、測定されたレベルが、問題となっている状態を有さない被験体の集団研究から決定された参照レベルと比較され得る。このような被験体は、年齢および/または性別についてマッチさせ得る。1つの実施形態において、ACSの非存在を示す、体液のサンプル中に代表的に見られるウロテンシンのレベルの参照値または正常値は、3 ~ 10 fmol/mlの範囲であり得る。ACSのリスクの増加を示すウロテンシンのレベルは、10 ~ 15 fmol/ml、15 ~ 20 fmol/ml、20 ~ 25 fmol/ml、25 ~ 30 fmol/ml、またはそれより多い範囲であり得る。本発明が、ACSを有する哺乳動物被験体に対して行われる治療の効果のモニタリングに関する場合、測定されたウロテンシンのレベルは、その被験体についてのベースレベルと比較され得る。ベースレベルは、治療の開始前に決定され得る。このベースレベルからの偏差が、 40 50

A C S の増加または減少が存在するかどうか、そして、それゆえ、その治療が効果的であるかどうかを示す。ウロテンシンのレベルの増加は、A C S を示し、その逆も同じである。

【0013】

本発明において、用語「体液」は、哺乳動物の身体から得られ得るあらゆる流体を含み、例えば、血液、血漿、尿、リンパ液、胃液、胆汁、血清、唾液、汗および脳脊髄液が挙げられる。さらに、体液は、処理されるか（例えば、血清）、または未処理であるかのいずれかであり得る。被験体から体液サンプルを得る方法は、当業者に公知である。

【0014】

A C S を示す第2のマーカ―またはさらなるマーカ―が測定され得る。これらのマーカ―は、脳ナトリウム利尿ペプチド、トロポニン、クレアチンキナーゼMBアイソフォームおよびミオグロビン、ならびに、そのフラグメントおよび前駆体のうち1種以上であり得る。

10

【0015】

本明細書中で使用される場合、用語「脳ナトリウム利尿ペプチド」は、ネイティブな脳ナトリウム利尿ペプチド（BNP）、N末端プロ-BNP（N-BNP）、ならびに、その部分、その改変体、およびそのキメラ体を含む。

【0016】

心筋の伸展（myocardial stretch）、心筋の張力、および心筋の傷害は、左心室の心筋細胞からのプロBNP産生の増加を誘発する。プロBNPは、2つの循環形態であるBNP（活性ペプチド）およびN末端プロBNP（N-BNP - 不活性ペプチド）に対するインタクトな前駆体である。N-BNPおよび/またはBNPのレベルが測定され得る。

20

【0017】

トロポニンは、心筋の損傷を反映し、そして、その上昇は、A C S のリスク層化において有用である。近年の報告において、N-BNP（ $> 669 \text{ ng/L}$ 、または約  $79 \text{ fmol/ml}$ ）およびトロポニンTレベル（ $> 0.01 \mu\text{g/L}$ ）は、死亡率の間接的な予測値であり、トロポニンTレベル（ $> 0.01 \mu\text{g/L}$ ）は、さらに、症状発症（presentation）の30日後の心筋梗塞事象を予測した（Jamesら、Circulation, 2003, 108: 275-81）。クレアチンキナーゼMBアイソフォーム（CKMB）およびミオグロビンは、両方ともトロポニンよりも迅速に上昇するので、現在、心筋梗塞の診断に使用されている。

30

【0018】

第2のマーカ―のレベルを測定する場合、診断の精度を高めるために、年齢および性別についての補正が必要であり得る。

【0019】

ウロテンシンは、急性冠状動脈症候群を有する患者の予後を評価する際に、脳ナトリウム利尿ペプチド（または任意の他の第2のマーカ―）と組み合わせて有用であり得；心筋梗塞後には、このペプチドの組み合わせは、死亡率に関しての患者のリスク層化に有用である。

40

【0020】

第1のマーカ―であるウロテンシンと類似の様式で、第2のマーカ―またはその各々のレベルは、A C S の非存在を示す第2のマーカ―またはその各々のレベルと比較され得る。このレベルは、A C S を有さない1以上の哺乳動物被験体からの第2のマーカ―またはその各々のレベル、または、A C S を有さない哺乳動物被験体における第2のマーカ―またはその各々についての、以前に決定された参照範囲と比較され得る。測定される場合、A C S の非存在を示すN-BNPの正常値は、 $10 \sim 50 \text{ fmol/ml}$ の範囲であり得る。A C S のリスクの増加を示すN-BNPのレベルは、 $100 \sim 300 \text{ fmol/ml}$ 、 $300 \sim 600 \text{ fmol/ml}$ 、 $600 \sim 1200 \text{ fmol/ml}$ 、 $1200 \sim 1800 \text{ fmol/ml}$ 、 $1800 \sim 2400 \text{ fmol/ml}$ 、 $2400 \sim 3000 \text{ fmol/ml}$

50

ml、3000~3600 fmol/ml、またはそれより多い範囲であり得る。ACSの非存在を示すミオグロビンの正常レベルは、そのレベルを測定するために使用されるデバイスによって変動し得る (Le Moigneら、Clin Biochem., 2002, 35(4): 255-62)。従って、この正常レベルは、Olympusによって測定される場合、男性について92 µg/Lまでおよび女性について76 µg/Lまでであり得るか、Vidasにより測定される場合、46 µg/Lまでであるか、または、Immulite Turboにより測定される場合、70 µg/Lまでであり得る。別の研究は、正常レベルが、男性について65 µg/Lまで、および女性について55 µg/Lまでであり得ると示唆する (Penttiläら、Clin Biochem. 2002, 35(8): 647-53)。上述のレベルを超えるミオグロビンのレベルは、ACSを示し得る。トロポニンTについて、AMIのためのカットオフは、0.05 µg/Lであり得る (Collinsonら、Heart. 2003 89(3): 280-6)。Jamesら、J Am Coll Cardiol. 2003, 41(6): 916-24の開示は、この点について援用される。トロポニンIについて、ACS (MIを含む) の診断のためのレベルは、0.6 µg/L以上であり得る (Appleら、Clin Chem. 2000, 46(4): 572-4)。CKMBについて、ACS (MIを含む) の診断のためのレベルは、5 µg/L以上であり得る (Falahatiら、Am Heart J. 1999, 137(2): 332-7)。これらのそれぞれの値より下の値は、ACSの非存在を示し得る。

10

#### 【0021】

20

マーカーのレベルは、濃度、質量、モル、容量、濃度、またはサンプル中に存在するマーカーの量を示す他の尺度の単位で提供され得る。

#### 【0022】

第1のマーカーおよび第2のマーカーのそれぞれのレベルは、イムノアッセイ (すなわち、マーカーに特異的に結合する抗体を利用するアッセイ) を用いて測定され得る。このようなアッセイは、競合的イムノアッセイまたは非競合的イムノアッセイであり得る。抗体、または一般に任意の分子は、抗体が、抗原に対して優先的に結合し、そして、例えば、任意の他の分子と約30%未満 (好ましくは、20%未満、10%未満、または1%未満) の交差反応性を有する場合に、抗原または他の分子に対して「特異的に結合する」。用語「抗体」は、本明細書中で使用される場合、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分 (すなわち、抗原に特異的に結合する抗原結合部位を含む分子) を指す。本発明において有用な免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意のクラス (例えば、IgG、IgE、IgM、IgDおよびIgA) またはサブクラスであり得る。抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、二重特異的 (bispecific) 抗体、ヒト化抗体およびキメラ抗体、単鎖抗体、FabフラグメントおよびF(ab')<sub>2</sub>フラグメント抗体、Fab発現ライブラリーにより産生されるフラグメント、抗イデオタイプ (抗Id) 抗体、ならびに上述のいずれかのエピトープ結合フラグメントが挙げられるがこれらに限定されない。抗体の部分としては、Fv部分およびFv'部分が挙げられる。抗体は、天然に存在する抗体 (例えば、KoehlerおよびMilsteinの方法により得られるモノクローナル抗体)、ならびに、例えば、動物への抗原の注射により得られるポリクローナル抗体であり得る。抗体はまた、部分的にヒト化されていても、完全にヒト化されていてもよい。

30

40

#### 【0023】

ウロテンシンに結合する抗体は、購入可能である。ウロテンシンに結合する市販の抗体の例としては、抗ウロテンシン (Phoenix Pharmaceuticals)、ウサギ抗ウロテンシン (Biodesign International)、ウサギ抗ヒトウロテンシン (Immundiagnostik) が挙げられる。

#### 【0024】

BNPに結合する抗体は、購入可能である。BNPに結合する市販の抗体の例は、ウサギ抗ヒトBNPポリクローナル抗体 (Biodesign International

50

)、ウサギ抗 - BNP アミノ酸 1 - 20 ポリクローナル抗体 ( B i o d e s i g n I n t e r n a t i o n a l )、抗ヒトBNPモノクローナル抗体 ( I m m u n d i a g n o s t i k )、およびウサギ抗ヒトBNPアミノ酸 1 - 10 ポリクローナル抗体 ( I m m u n d i a g n o s t i k ) である。

【 0 0 2 5 】

トロポニン、クレアチンキナーゼMBアイソフォーム、およびミオグロビンに結合する抗体は、例えば、 R e s e a r c h D i a g n o s t i c s I n c から入手可能である。

【 0 0 2 6 】

A C S を診断するために使用されるアッセイ ( 以下を参照のこと ) に依存して、A C S のマーカーに特異的な抗体は、さらに、標識 ( 例えば、蛍光標識または磁気標識、ラテックスまたは金粒子、蛍光部分、酵素、電気化学的に活性な種など ) を含み得る。標識が抗体に結合している実施形態において、抗体は、「直接標識されている」といわれる。抗体はまた、「間接的に標識」され得、すなわち、標識は、1種以上の他の分子 ( 例えば、ビオチン - ストレプトアビジン ) を介して抗体に結合される。あるいは、抗体は、標識されていないが、抗体が、A C S の特異的なマーカーに結合した後に、結合試薬と接触させられる。例えば、「一次抗体」および二次抗体が存在し得るか、または、一次抗体の F c 部分に結合する「二次抗体」が存在し得る。標識は、当該分野で公知の方法に従って、好ましくは共有結合的に、抗体に連結され得る。イムノアッセイにおいて、存在する分析物 ( またはマーカー ) の存在、または存在量は、標識の存在または濃度の検出によって決定される。

【 0 0 2 7 】

さらに、A C S を診断するために使用されるアッセイに依存して、抗体は、固体表面に連結され得る。固体表面は、プラスチックチューブ、ビーズ、マイクロタイタープレート、ラテックス粒子、磁気粒子、セルロースビーズ、アガロースビーズ、紙、ディップスティック ( d i p s t i c k ) などを含む、当該分野で公知も種々のものから選択され得る。細胞表面への抗体の直接的な化学カップリングのための方法は、当該分野で公知であり、そして、例えば、グルタルアルデヒド活性化抗体またはマレイミド活性化抗体を使用するカップリングが挙げられ得る。複数の段階手順を使用する化学カップリングのための方法としては、ビオチン化、トリニトロフェノール ( T N P ) のカップリング、または、例えば、これらの化合物のスクシンイミドエステルを使用するジゴキシゲニンが挙げられる。ビオチン化は、例えば、D - ビオチニル - N - ヒドロキシスクシンイミドの使用により達成され得る。スクシンイミド基は、約 7 を超える pH で、および、約 pH 8 . 0 と約 pH 8 . 5 との間で優先的にアミノ基と効率的に反応する。ビオチン化は、例えば、ビオチンマレイミドを添加した後に抗体をジチオスレイトールで処理することによって達成され得る。

【 0 0 2 8 】

本発明の特定の実施形態において、抗体は、少なくとも、A C S の診断に使用されるマーカーに、その抗体が結合するのに十分な時間、哺乳動物被験体から得た体液のサンプルに接触される。例えば、抗体は、少なくとも約 10 分間、約 30 分間、約 1 時間、約 3 時間、約 5 時間、約 7 時間、約 10 時間、約 15 時間、または約 1 日の間、体液のサンプルと接触され得る。

【 0 0 2 9 】

1 つの実施形態において、イムノアッセイは、試験される被験体からのサンプルを、マーカーが存在する場合に結合が生じ得るような条件下で、適切な抗体と接触させ、そして、抗体によるあらゆる免疫特異的な結合の量を検出または測定することによって行なわれる。任意の適切なイムノアッセイが使用され得、これらとしては、ウェスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、E L I S A ( 酵素連結免疫吸着アッセイ )、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降素反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ ( c o m p l e m e n t - f i x a t i o n a s s

ay)、免疫放射線アッセイ、蛍光イムノアッセイおよびプロテインAイムノアッセイのような技術を使用する、競合的および非競合的なアッセイ系が挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0030】

例えば、マーカーは、2段階サンドイッチアッセイによって、流体サンプル中で検出され得る。第1段階において、捕捉試薬(例えば、抗マーカー抗体)が、マーカーを捕捉するために使用される。この捕捉試薬は、必要に応じて固相上に固定化され得る。第2段階において、捕捉されたマーカーを検出するために、直接標識もしくは間接標識の検出試薬が使用される。1つの実施形態において、検出試薬は、抗体である。別の実施形態において、検出試薬は、レクチンである。

10

#### 【0031】

1つの実施形態において、側方流れイムノアッセイデバイス(lateral flow immunoassay device)は、「サンドイッチ」形式で使用され得、この形式では、体液サンプル中に十分なマーカーが存在すると、側方流れアッセイにおいて捕捉ゾーン(capture zone)の形成を生じる。本明細書中で使用される場合、捕捉ゾーンとは、抗体分子、抗原、核酸、レクチン、およびウロテンシンを捕捉するために適切な酵素、ならびに本明細書中に記載される他のマーカーのような捕捉試薬を含み得る。このデバイスはまた、捕捉ゾーン内の捕捉に適した1種以上の発光標識を組み込み得、捕捉の程度が、分析物の存在によって決定される。適切な標識としては、ポリスチレン(polystyrene)マイクロスフェア中で固定化された蛍光標識が挙げられる。マイクロスフェアは、捕捉ゾーン内での捕捉を可能にするために、免疫グロブリンでコーティングされ得る。このようなアッセイは、EP291194に記載される側方流れイムノアッセイを使用して実施され得る。

20

#### 【0032】

本発明の方法において使用され得る他のアッセイとしては、フロースルー(flow-through)デバイスが挙げられるがこれらに限定されない。フロースルーアッセイにおいて、1つの試薬(通常は抗体)は、膜表面上の規定された領域の固定化される。次いで、この膜が、デバイスを通してサンプルの容量を押し上げるための、レザバとして機能する吸着層上に重ねられる。固定化の後、膜上のタンパク質結合部位の残りは、非特異的な相互反応を最小限にするためにブロッキングされる。アッセイが使用されるとき、体液サンプルが膜およびマトリクスが通るフィルタに加えられ、サンプル中の抗体に特異的な任意のマーカーが、固定化した抗体に結合することを可能にする。任意の第2段階において(第1の反応物質が抗体である実施形態において)、タグ化した二次抗体(酵素結合体、有色ラテックス粒子に結合した抗体、または、有色コロイドに組み込まれた抗体)が、添加または解放され、これらが、捕捉されたマーカーと反応してサンドイッチを完成させる。あるいは、二次抗体は、1段階で、サンプルと混合され、添加され得る。マーカーが存在する場合、有色スポットが、膜の表面上で発色する。

30

#### 【0033】

本発明はまた、ウロテンシンの検出のためのイムノアッセイ、キットまたはデバイスを提供し、これらは、本発明の第1の局面の方法を組み込み得る。このようなイムノアッセイ、キットまたはデバイスは、ウロテンシンに特異的に結合する抗体、および、必要に応じて、二次マーカーに結合する抗体を含み得る。さらに、このようなイムノアッセイ、キット、またはデバイスは、必要に応じて、以下のうちの1つ以上を含み得る:(1)ACSの診断または予後のためにイムノアッセイ、キットまたはデバイスを使用するための指示書;(2)抗体に対する標識化された結合パートナー;(3)その抗体または各抗体が固定化される、固相(例えば、試薬ストリップ);および(4)診断的、予後的、もしくは治療的な用途、または、その組み合わせについての監督官庁の認可を示す、ラベルまたは挿入物。その抗体または各抗体に対する標識化された結合パートナーが提供されない場合、その抗体または各抗体自体が、検出可能なマーカー(例えば、化学発光部分、酵素部分、蛍光部分、または放射活性部分)で標識され得る。ACSの他のマーカーに対するさ

40

50

らなる抗体が、含められ得る。

【0034】

本明細書中で使用される場合、単数形「a」、「an」および「the」は、文脈が明確にそうでないと示さない限り、複数の参照を包含し、そして、「含む、包含する (comprise)」および「含むこと、包含すること (comprising)」は、包括的で、開いた意味で使用され、さらなる要素が含められ得ることを意味する。

【0035】

本発明の各局面の好ましい特徴は、必要な変更を加えて、他の局面の各々についても同様である。本明細書中で言及された先行技術文献は、法律が許す限り完全に援用される。

【実施例】

【0036】

本発明は、ここで、以下の非限定的な実施例においてさらに説明される。

【0037】

(実施例1)

(調査集団)

Leicester Royal Infirmaryに入院した、急性冠状動脈症候群を有する486人の患者を調査した。急性心筋梗塞(MI)を、3つの標準的な基準(すなわち、適切な症状、梗塞の急性的なECG変化(ST上昇、新LBBB)、および正常値の上限(すなわち、 $>400$  IU/L)の少なくとも2倍までのクレアチンキナーゼ(CK)の上昇)のうち少なくとも2つの提示として規定した。不安定狭心症(UA)患者を、そのECGにおいて急性のST上昇を有さないものとして規定し、CKは、正常値の上限の2倍よりも少なかった。372人の患者がMIを有し、114人がUAを有した。これらの患者を、同じ年齢および性別の、これまでに心臓の病歴のない130人の正常なコントロールと比較した。

【0038】

(心筋梗塞患者および不安定狭心症患者におけるエンドポイント(end point))

エンドポイントを、最初の入院(index hospitalization)からの退院後の、心血管の罹患率(心筋梗塞または不安定狭心症のさらなる発症による再入院)として規定した。

【0039】

(血液サンプリングおよび血漿抽出)

全ての被験体において、15分間ベッドの上で休ませた後、 $500$  IU/mlのアプロチニンを含む予め冷却したNa-EDTA( $1.5$  mg/ml血液)チューブ中に、 $20$  mlの末梢静脈血を引いた(draw)。MIおよびUAの患者において、症状の発症の72時間後と96時間後との間に、1回の血液サンプルを採取した。4にて15分間、 $3000$  rpmで遠心分離した後、血漿を分離し、アッセイまで $-70$  で保存した。アッセイ前に、血漿を $C_{18}$  Sep-Pak (Waters)カラム上で抽出し、そして、遠心エバポレーターにて乾燥させた。

【0040】

(UTNのアッセイ)

UTNのアッセイを、以前にNgら、Circulation 2002, 106: 2877-2880に記載されていたように行なった。簡単に述べると、UTNに特異的な抗体を、Peninsular Laboratories, CAから入手した。逆相HPLC上で精製したビオチン化UTNを、トレーサとして用いた。血漿の $C_{18}$ 抽出物を用いる競合アッセイを利用した。このアッセイは、 $NaH_2PO_4$   $1.5$  mmol/l、 $Na_2HPO_4$   $8$  mmol/l、 $NaCl$   $140$  mmol/l、EDTA  $1$  mmol/l、およびウシ血清アルブミン $1$  g/l、アジド $0.1$  g/lから構成されるイムノアッセイ緩衝液中で、抽出物または標準物質と共に $50$  ngの抗体をインキュベートする。4にて24時間のインキュベーション後、ビオチン化UTNトレーサを添加した(

10

20

30

40

50

250 fmol / ウェル)。抗ウサギ Ig G コーティングした ELISA プレートにて、免疫沈降を回収した。洗浄およびストレプトアビジン - MAE とのインキュベーションの後、Ngら、Circulation 2002, 106: 2877 - 2880 および Ngら、Clinical Science 2002, 102: 411 - 416 に記載されたように、化学発光を誘発させた。

#### 【0041】

(アッセイ BNP および N - BNP)

BNP に特異的な抗体を、Peninsular Laboratories, CA から入手した。逆相 HPLC 上で精製したピオチン化 BNP を、トレーサとして用いた。血漿の C<sub>18</sub> 抽出物を用いる競合アッセイを利用した。このアッセイは、UTN についてのアッセイについて詳述されたようなイムノアッセイ緩衝液中で、抽出物または標準物質と共に 25 ng の抗体をインキュベートする。N - BNP についてのアッセイは、Ngら、Circulation 2002, 106: 2877 - 2880 および Ommlandら、Circulation 2002, 106: 2913 - 8 に記載されるような、ヒト N - BNP の N 末端および C 末端に対する抗体を用いる、2 部位非競合アッセイであった。

10

#### 【0042】

(統計学的分析)

SPSS Version 11.0 (SPSS Inc, Chicago, MI) を用いて、統計学的分析を行なった。データは、非ガウス分布によるデータについての平均 ± SEM、または、メジアン (範囲) として表し、これらは、分析前に対数変換した。連続型変数について、分散の一方向分析 (ANOVA) を用いて、この後に、ボンフェローニ検定により比較を求めた。多重独立変数の相互関係を、一変量の General Linear Model 手順を用いて求めた (最小の有意差 P 値を報告する)。スピアマンの相関分析を行い (r<sub>s</sub> を報告する)、そして、メジアン、四分位範囲を表すボックス、および 2.5 番目 ~ 97.5 番目の 100 分位点を表す僅差 (whisker) から構成されるボックスプロットを構築した。受信者動作特性曲線 (ROC) を、正常な被験体と比較した ACS の検出について構築した。0.05 未満の P 値を、有意とみなした。

20

#### 【0043】

(結果および考察)

(正常な患者および ACS 患者の血漿中の UTN)

UTN は、ほぼ全ての被験体の血漿抽出物において検出可能であった。本発明者らのアッセイの検出限界を下回る (< 3.1 fmol / ml) 抽出物もあった。ACS 患者 (MI および UA の両方) の血漿中 UTN のレベルは、正常なコントロールのレベルよりも極めて有意に高かった (図 1、ANOVA P < 0.0005)。ボンフェローニ検定により確認した、UA (P < 0.0005) または MI (P < 0.0005) における UTN レベルは、正常なコントロールよりも有意に高かった。ACS 患者 (MI および UA の両方) の血漿中 N - BNP のレベルは、正常なコントロールのレベルよりも極めて有意に高かった (図 1、ANOVA P < 0.0005)。ボンフェローニ検定により確認した、UA (P < 0.0005) または MI (P < 0.0005) における N - BNP レベルは、正常なコントロールよりも有意に高かった。さらに、MI における N - BNP レベルは、UA における N - BNP レベルよりも高かった (P < 0.0005)。UTN のレベルおよび N - BNP のレベルは、相関した (r<sub>s</sub> = 0.354、P < 0.0005)。

30

40

#### 【0044】

図 2 は、血漿 UTN レベルを用いた、ACS (MI および UA) の診断についての受信者動作特性曲線を示す。曲線下の ROC 面積 (ROC AUC) は、UTN について 0.89 であり、これは、対角線 (0.50 の AUC) とは有意に異なる (P < 0.0005) が、N - BNP の曲線下の ROC 面積 (ROC AUC 0.93、図 2) と類似していた。従って、両方のマーカーは、ACS を有する患者の同定において有用性を有する。9.1 fmol / ml の UTN レベルにおいて、ACS の診断については、94% の感度

50

、74%の選択性があり、正の予測値が93%、そして負の予測値が77%であった。これらの図面は、ACSの診断の効率的な判定を可能にする。カットオフ値を適切に変更することにより、UTNの有用性を改善して、ACS事象を除外することもまた可能である。

#### 【0045】

(血漿UTNおよびACS事象の予後)

図3は、ACSによる最初の入院(index admission)を経験したが、その後、MIもしくはUAにより再入院した患者、または、良いままであって、再入院しなかった患者のいずれかにおけるUTNのレベルを示す。データは、447人の患者について有効であった。UTNは、併発症のない臨床経過を有した349人の患者と比較して、MIまたはUAで再入院した98人の患者において上昇した( $P < 0.005$ )。対照的に、その後MIまたはUAで再入院した患者の血漿N-BNPと比較して、併発症のない経過を有した患者の血漿N-BNPは差がなかった(図3)。UTNは、ACSにより入院した患者における将来的なACS事象についての効率的なマーカーであり得、そして、このことは、このようなより高いリスクがある患者についてのリスク層化および治療戦略の計画を補助し得る。

10

#### 【0046】

(実施例2)

(研究集団および血液サンプリング)

血液サンプルを、冠状動脈造影を受けた、23人の安定狭心症患者から得た。これらの患者のうち13人は、造影に加え、バルーン血管形成術を受けていた。

20

#### 【0047】

血液サンプルを、造影の前(基底)、造影(または血管形成術)の2時間後、6時間後および24時間後に採取した。サンプルを、 $C_{18}$ カラムにて抽出し、上記のように、UTNおよびBNPについてアッセイした。

#### 【0048】

(結果および考察)

図4は、血管形成術を伴ったか、または伴わない、造影中のUTNの血漿レベルを示す。レベルは、時間と共に有意に変化し( $P < 0.0005$ )、この手順の2時間後に最高に達し(全ての他の時点と比較して、 $P < 0.0005$ )、そして、血管形成術を伴わなかった場合と、血管形成術を伴った場合との間は差があった( $P < 0.011$ )。

30

#### 【0049】

BNPのレベルもまた、時間と共に有意に変化し( $P < 0.0005$ )、この手順の2時間後に最高に達し(全ての他の時点と比較して、 $P < 0.0005$ )、そしてまた、血管形成術を伴わなかった場合と、血管形成術を伴った場合との間は差があった( $P < 0.008$ )。

#### 【0050】

両方のマーカーの高いレベルが、血管形成術の2時間後に認められるが、より高いレベルが、2時間より前、または2時間と6時間との間、そして、血液サンプルが決定されるべき最適なタイミングに、認められ得る。このレベルは、手順の、10分後と6時間後の範囲に減少する可能性がある。

40

#### 【0051】

BNPは、心臓虚血の間に放出される、心臓損傷の確立されたマーカーである。しかし、心臓虚血の間(例えば、バルーン血管形成術の間)のUTNの急性的な分泌は、予想外である。心臓虚血は、この手順の間に、一過性かつ軽いものであり得るが、UTNのメジアンの上昇は、UTNが、心臓虚血の非常に敏感な指標であり得、かつ血管形成術の間に受けた心臓損傷の程度についての情報を提供し得ることを示唆する。このことは、他のペプチドアッセイ(例えば、トロポニンおよびBNP)から得られる情報を補完するはずである。

#### 【0052】

50

さらに、バルーン血管形成術に対するUTNの急性的な応答は、UTNが、急性冠状動脈症候群の早期診断のためのマーカーであり得ることを示唆する。なぜならば、このレベルは、2時間以内に最高に達するからである。ACS事象の間に心筋から急速に放出される、心筋虚血の現在のマーカー（例えば、ミオグロビン）は、心筋に対して非特異的であり得、そして、追加のマーカー（例えば、UTNおよびBNP）が、ミオグロビンの特異性を増加させ得る。

【図面の簡単な説明】

【0053】

添付の図面に対して参照がなされる。

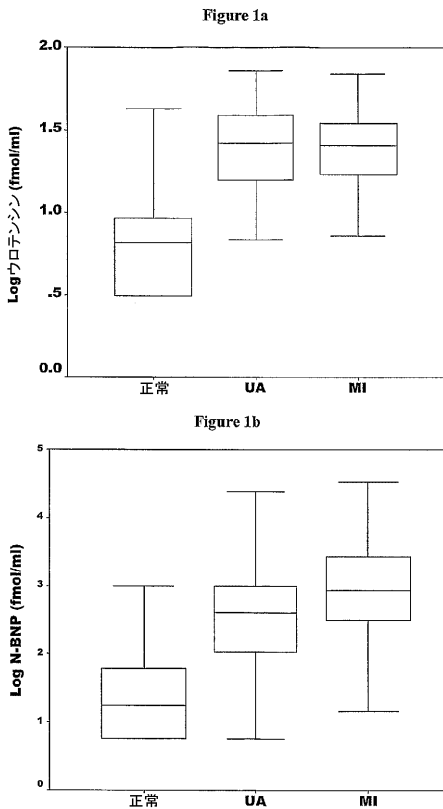
【図1】図1aおよび1bは、それぞれ、心筋梗塞[MI]または不安定狭心症[UA]を有する患者におけるウロテンシンおよびN-BNPの血漿レベルを、MIもUAも有さない正常な被験体と比較して示す。

【図2】図2aおよび2bは、それぞれ、血漿ウロテンシンおよび血漿N-BNPを使用した、急性冠状動脈症候群の診断のための受信者動作特性曲線(ROC曲線)を示す。

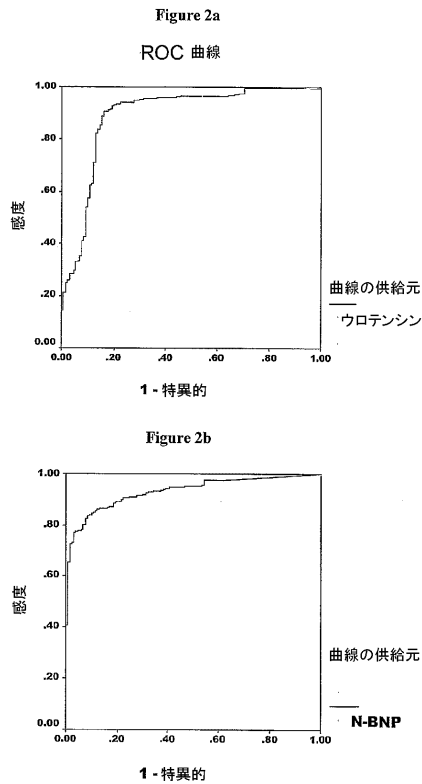
【図3】図3aおよび3bは、それぞれ、ACSを有する患者における、ウロテンシンおよびN-BNPの血漿レベルを示し、これらの患者は、合併症を伴わない臨床経過を有したか、または、さらなる事象(MIまたはUA)によりその後再入院したかのいずれかであった。

【図4】図4aおよび4bは、それぞれ、安定狭心症を有する患者における、ウロテンシンおよびN-BNPの血漿レベルを示し、これらの患者は、冠状動脈造影を受け、そして、その冠状動脈に対してバルーン血管形成術を受けたか、またはインターベンションを受けていないかのいずれかである。バルーン血管形成術の2時間後の、両方のマーカーのピークレベル。

【図1】



【図2】



10

20

【 図 3 】

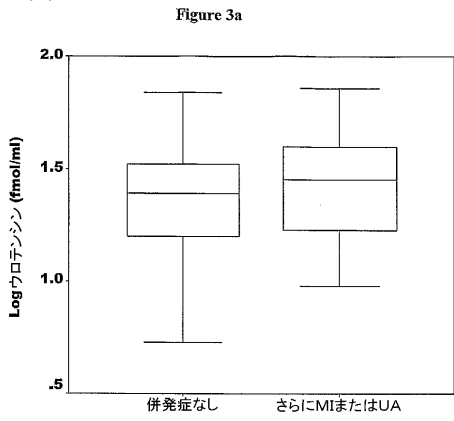
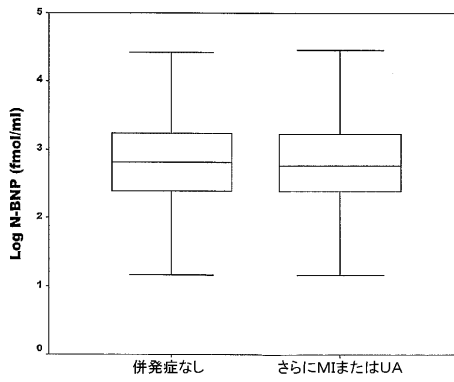


Figure 3b



【 図 4 】

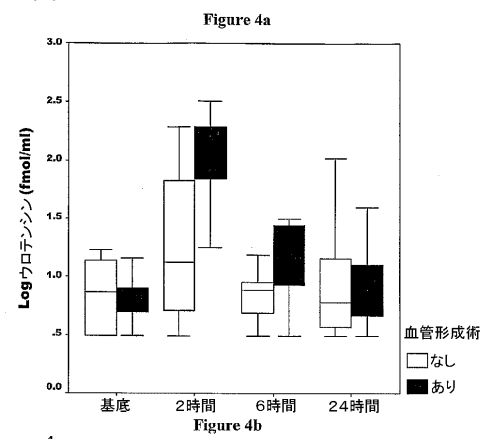
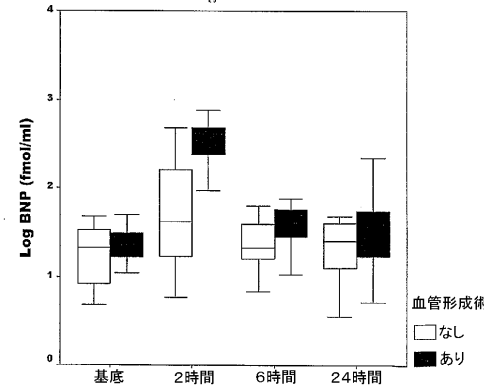


Figure 4b



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/GB2005/000182
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 G01N33/68		
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) IPC 7 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 practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ		
<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	NG LEONG L ET AL: "Plasma urotensin in human systolic heart failure." CIRCULATION, vol. 106, no. 23, 3 December 2002 (2002-12-03), pages 2877-2880, XP002334657 ISSN: 0009-7322 abstract page 2878, left-hand column, paragraph 2  ----- -/-	1-10, 12-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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. "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search  5 July 2005		Date of mailing of the international search report  25/07/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Luis Alves, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/GB2005/000182

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TZANIDIS ALEX ET AL: "Direct actions of urotensin II on the heart: Implications for cardiac fibrosis and hypertrophy." CIRCULATION RESEARCH, vol. 93, no. 3, 8 August 2003 (2003-08-08), pages 246-253, XP002334658 ISSN: 0009-7330 abstract	1-10
X	RUSSELL FRASER D ET AL: "Elevated plasma levels of human urotensin-II immunoreactivity in congestive heart failure." AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY, vol. 285, no. 4 Part 2, October 2003 (2003-10), pages H1576-H1581, XP002334659 ISSN: 0002-9513 abstract	1-10
X	DOUGLAS S A ET AL: "HUMAN UROTENSIN-II, THE MOST POTENT MAMMALIAN VASOCONSTRICTOR IDENTIFIED TO DATE, AS A THERAPEUTIC TARGET FOR THE MANAGEMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASE" TRENDS IN CARDIOVASCULAR MEDICINE, ELSEVIER SCIENCE, NEW YORK, NY, US, vol. 10, no. 6, August 2000 (2000-08), pages 229-237, XP001153538 ISSN: 1050-1738 abstract	1-10, 12-20
X	WO 02/32932 A (THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE EDUCATIONAL FUND; BIOMEASURE INCORPOR) 25 April 2002 (2002-04-25) abstract; claim 17 page 3, line 1 - line 7 page 4, line 4 - line 19	1-10, 12-20

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/GB2005/000182

**Box 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.: **11**  
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:  
**see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210**
  
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 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:

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 fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
  
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.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/GB2005/000182

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 11

Claim 11 concerns a product, however no characterising features of said product are defined in the claim. Claim 11 so lacks clarity (Article 6 PCT) that a meaningful search for said claim is not possible.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB2005/000182

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0232932	A	25-04-2002	
		AU 3290302 A	29-04-2002
		BR 0114737 A	07-06-2005
		CA 2425804 A1	25-04-2002
		CZ 20030900 A3	17-12-2003
		EP 1355940 A2	29-10-2003
		JP 2005500244 T	06-01-2005
		MX PA03003297 A	04-05-2004
		NO 20031699 A	18-06-2003
		PL 366327 A1	24-01-2005
		WO 0232932 A2	25-04-2002
		US 2005075480 A1	07-04-2005

## フロントページの続き

(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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 エヌジー, レオン

イギリス国 エルイー 2 7 エルエックス レイセスター, レイセスター ロイヤル インファ  
ーマリー, クリニカル サイエンス ビルディング, デパートメント オブ メディシン  
, レベル 4

Fターム(参考) 4H045 AA10 AA30 BA15 BA16 CA40 DA30 EA50

专利名称(译)	通过测量尿压素II诊断急性冠状动脉综合征的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2007518985A</a>	公开(公告)日	2007-07-12
申请号	JP2006548410	申请日	2005-01-19
[标]申请(专利权)人(译)	因弗内斯医疗扫描排汗旅游土地闸门的Em-基于硬		
申请(专利权)人(译)	因弗内斯医疗扫描排汗旅游地产有限公司		
[标]发明人	エヌジーレオン		
发明人	エヌジー, レオン		
IPC分类号	G01N33/53 C07K7/06 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2800/32 G01N2800/324		
FI分类号	G01N33/53.D C07K7/06.ZNA		
F-TERM分类号	4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/BA16 4H045/CA40 4H045/DA30 4H045/EA50		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	2004001085 2004-01-19 GB 10/835084 2004-04-29 US		
其他公开文献	JP2007518985A5		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种用于确定哺乳动物受试者中ACS的分期或严重程度的方法，用于在哺乳动物受试者中筛查，诊断或预测急性冠状动脉综合征（ACS），提供了一种用于鉴定动物受试者或用于监测治疗对患有ACS的哺乳动物受试者的影响的方法。该方法包括测量源自哺乳动物受试者的体液样品中的尿压素II（UTN）的水平。本发明还提供了用于实施上述方法的试剂盒，免疫测定或装置。

		特許庁 (P2007-51898)	
		(43) 公表日 平成19年7月12日(2007.7.)	
(5) Int. Cl.	F I	テーマコード(参考)	
<b>GO1N 33/53</b> C07K 7/06	<b>(2006.01)</b> <b>(2006.01)</b>	GO1N 33/53 C07K 7/06	D ZNA 4H045
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 20)			
(21) 出願番号	特願2006-548410 (P2006-548410)	(71) 出願人	506203903
(86) (22) 出願日	平成17年1月19日(2005.1.19)		インバーネス メディカル スウィツ
(85) 翻訳文提出日	平成18年6月27日(2006.6.27)		ーランド ゲーエムベーハー
(86) 国際出願番号	PCT/GB2005/000182		スイス国 ツーク 6300, プン
(87) 国際公開番号	W02005/071407		ブラツ 1
(87) 国際公開日	平成17年8月4日(2005.8.4)	(74) 代理人	100078282
(31) 優先権主張番号	0401085.6		弁理士 山本 秀敏
(32) 優先日	平成16年1月19日(2004.1.19)	(74) 代理人	100062409
(33) 優先権主張国	英国(GB)		弁理士 安村 高明
(31) 優先権主張番号	10/835,084	(74) 代理人	100113413
(32) 優先日	平成16年4月29日(2004.4.29)		弁理士 森下 夏樹
(33) 優先権主張国	米国(US)		