

(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2014-505256

(P2014-505256A)

(43) 公表日 平成26年2月27日(2014.2.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	2 G O 4 5
GO 1 N 33/52 (2006.01)	GO 1 N 33/52 A	4 H O 4 5
CO 7 K 14/47 (2006.01)	CO 7 K 14/47 Z N A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2013-551430 (P2013-551430)	(71) 出願人	506057638 ピージー メディシン, インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成24年1月31日 (2012.1.31)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02451, ウォルサム, リンカーン ストリート 610
(85) 翻訳文提出日	平成25年7月30日 (2013.7.30)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/023328	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 国際公開番号	W02012/106341	(74) 代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(87) 国際公開日	平成24年8月9日 (2012.8.9)	(74) 代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(31) 優先権主張番号	61/438, 245		
(32) 優先日	平成23年1月31日 (2011.1.31)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 急性冠動脈症候群後の心不全を検出し、予後を判定するためのガレクチン-3の使用

(57) 【要約】

本発明は、急性冠動脈症候群を有する被験体において、心不全のリスクを予測するための、ガレクチン-3の使用、材料および方法に関する。本発明は、さらに、急性冠動脈症候群を有する被験体において、心不全のための処置の有効性をモニタリングすることにおけるガレクチン-3の使用に関する。本発明は、被験体において、急性冠動脈症候群後の心不全の発症のリスクを診断する方法を提供し、上記方法は、(a)被験体からのサンプル中のガレクチン-3のレベルを測定するステップと、(b)ガレクチン-3のレベルを参照値と比較するステップと、(c)ガレクチン-3のレベルによって、該被験体が心不全を発症する尤度が同定されるか否かを決定するステップとを含む。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被験体において、急性冠動脈症候群後の心不全の発症のリスクを診断する方法であって、該方法は、

(a) 被験体からのサンプル中のガレクチン - 3 のレベルを測定するステップと、

(b) 該ガレクチン - 3 のレベルを参照値と比較するステップと、

(c) 該ガレクチン - 3 のレベルによって、該被験体が心不全を発症する尤度が同定されるか否かを決定するステップと

を含む、方法。

【請求項 2】

ガレクチン - 3 についての前記参照値は、約 10.0 ng/mL ~ 約 25.0 ng/mL の範囲である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

ガレクチン - 3 についての前記参照値は、約 13.0 ng/mL ~ 約 19.2 ng/mL の範囲である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記ガレクチン - 3 の値が参照値よりも大きい場合、前記被験体を、心不全を発症する尤度が増大していると同定するステップと、該ガレクチン - 3 の値が該参照値よりも小さい場合、該被験体を、心不全を発症する尤度が減少していると同定するステップとを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記被験体における心不全を発症する前記尤度に関する情報を、伝送するステップ、表示するステップ、記憶するステップ、もしくは印刷するステップ、またはユーザーインターフェイスデバイス、コンピューター読み取り可能な記録媒体、ローカルコンピューターシステム、もしくはリモートコンピューターシステムに出力するステップを含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

測定される前記ガレクチン - 3 のレベルは、免疫アッセイ、比色定量アッセイ、濁度測定アッセイ、およびフローサイトメトリーのうちの少なくとも 1 つによって決定される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記サンプルは、血液、血清、または血漿を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記被験体は、ヒト被験体である、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

心不全を発症するリスクについて、急性冠動脈症候群後に被験体を評価する方法であって、該方法は、該被験体からのサンプル中のガレクチン - 3 血中濃度を測定して、それにより、心不全を発症するリスクの指標となるガレクチン - 3 血中濃度の存在または非存在を決定するステップを含む、方法。

【請求項 10】

急性冠動脈症候群後の被験体において心不全の発症または進行をモニタリングする方法であって、該方法は、該被験体からのサンプル中のガレクチン - 3 血中濃度を測定して、それにより、心疾患の該発症または進行の指標となるガレクチン - 3 血中濃度の存在または非存在を決定するステップを含む、方法。

【請求項 11】

前記サンプルは、血液、血清、または血漿を含む、請求項 9 または請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

急性冠動脈症候群後に患者を処置する方法であって、該方法は、心不全のリスクの指標

10

20

30

40

50

となる決定されたガレクチン - 3 血中濃度を有する、急性冠動脈症候群を有する該患者において、心不全治療を開始するステップを含む、方法。

【請求項 13】

前記治療が開始された後に前記患者のガレクチン - 3 血中濃度をモニタリングするさらなるステップを含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記患者は、標的範囲内であることが決定されたガレクチン - 3 血中濃度を有する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 15】

前記患者は、最小閾値より大きいものであることが決定されたガレクチン - 3 血中濃度を有する、請求項 9 に記載の方法。

10

【請求項 16】

前記最小閾値は、10 ng/ml 超である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記最小閾値は、10 ng/ml と 15 ng/ml との間である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 18】

前記最小閾値は、15 ng/ml と 20 ng/ml との間である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 19】

前記最小閾値は、20 ng/ml と 25 ng/ml との間である、請求項 15 に記載の方法。

20

【請求項 20】

前記最小閾値は、25 ng/ml と 30 ng/ml との間である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 21】

前記最小閾値は、30 ng/ml 超である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 22】

前記患者は、最大閾値より小さいものであることが決定されたガレクチン - 3 血中濃度を有する、請求項 9 に記載の方法。

30

【請求項 23】

前記最大閾値は、70 ng/ml より小さい、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記最大閾値は、60 ng/ml より小さい、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 25】

前記最大閾値は、40 ng/ml より小さい、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 26】

前記最大閾値は、30 ng/ml と 40 ng/ml との間である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 27】

前記最大閾値は、25 ng/ml と 30 ng/ml との間である、請求項 22 に記載の方法。

40

【請求項 28】

前記最大閾値は、20 ng/ml と 25 ng/ml との間である、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 29】

前記最大閾値は、15 ng/ml と 20 ng/ml との間である、請求項 22 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【0001】

関連出願への相互参照

本願は、2011年1月31日に出願された、米国仮特許出願第61/438,245号の利益、および上記米国仮特許出願に対する優先権を主張し、その完全な開示は、本明細書中で参考として援用される。

【背景技術】

【0002】

背景

ガレクチン-3は、心臓の線維症およびリモデリングに關与する - ガラクトシド結合レクチンであり、不全を起こし易い肥大化した心臓のモデルにおいて上昇しており、心不全(HF)患者において予後上の価値を有する(例えば、特許文献1を参照のこと)。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献1】米国特許出願公開第2008/0193954号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0004】

発明の概要

急性冠動脈症候群(ACS)を有する患者において、疾患の進行または治療有効性を予測またはモニタリングするために、体液中のヒトタンパク質ガレクチン-3の濃度が使用され得ることが現在発見されている。ACS患者のガレクチン-3血中濃度は、心不全を発症するリスクを評価するために決定され得る。さらに、ACS患者のガレクチン-3血中濃度は、処置の有効性を決定するために、心不全のための処置の過程にわたって、モニタリングされ得る。

20

【0005】

1つの局面において、本発明は、被験体において、急性冠動脈症候群後の心不全の発症のリスクを診断する方法に関する。上記方法は、被験体からのサンプル中のガレクチン-3のレベルを測定することと、ガレクチン-3のレベルを参照値と比較することと、ガレクチン-3のレベルによって、被験体が心不全を発症する尤度が同定されるか否かを決定することとを含み得る。いくつかの実施形態において、ガレクチン-3についての参照値は、約10.0ng/mL~約25.0ng/mLの範囲である。他の実施形態において、ガレクチン-3についての参照値は、約13.0ng/mL~約19.2ng/mLの範囲である。いくつかの実施形態は、ガレクチン-3の値が参照値よりも大きい場合、被験体を、心不全を発症する尤度が増大していると同定することと、ガレクチン-3の値が参照値よりも小さい場合、被験体を、心不全を発症する尤度が減少していると同定することを含む。いくつかの実施形態において、被験体は、ヒト被験体である。

30

【0006】

上記方法は、被験体における心不全を発症する尤度に関する情報を、伝送するステップ、表示するステップ、記憶するステップ、もしくは印刷するステップ、またはユーザーインターフェイスデバイス、コンピューター読み取り可能な記録媒体、ローカルコンピューターシステム、もしくはリモートコンピューターシステムに出力するステップを含み得る。測定されるガレクチン-3のレベルは、免疫アッセイ、比色定量アッセイ、濁度測定アッセイ、およびフローサイトメトリーのうちの少なくとも1つによって決定され得る。

40

【0007】

別の局面において、本発明は、心不全を発症するリスクについて、急性冠動脈症候群後に被験体を評価する方法に関し、上記方法は、被験体からのサンプル中のガレクチン-3血中濃度を測定して、心不全を発症するリスクの指標となるガレクチン-3血中濃度の存在または非存在を決定することを含む。

【0008】

50

他の局面において、本発明は、急性冠動脈症候群後の被験体において心不全の発症または進行をモニタリングする方法に関し、上記方法は、被験体からのサンプル中のガレクチン - 3 血中濃度を測定して、心疾患の発症または進行の指標となるガレクチン - 3 血中濃度の存在または非存在を決定することを含む。

【0009】

いくつかの実施形態において、サンプルは、血液、血清、または血漿を含む。

【0010】

上記方法は、心不全のリスクの指標となる決定されたガレクチン - 3 血中濃度を有する患者において、心不全治療を開始することによって、急性冠動脈症候群の患者を処置することを含む。いくつかの実施形態は、治療が開始された後に患者のガレクチン - 3 血中濃度をモニタリングするさらなるステップを含む。

10

【0011】

選択または処置された患者において、ガレクチン - 3 の血中濃度は、最小閾値より大きいか、最大閾値より小さいか、または最小閾値および最大閾値によって規定される標的範囲内であることが決定され得る。最小閾値は、例えば、10 ng/ml 超；10 ng/ml と 15 ng/ml との間；15 ng/ml と 20 ng/ml との間；20 ng/ml と 25 ng/ml との間；25 ng/ml と 30 ng/ml との間；または 30 ng/ml 超であり得る。最大閾値は、例えば、70 ng/ml より小さい；60 ng/ml より小さい；40 ng/ml より小さい；30 ng/ml と 40 ng/ml との間；25 ng/ml と 30 ng/ml との間；20 ng/ml と 25 ng/ml との間；または 15 ng/ml と 20 ng/ml との間であり得る。

20

【発明を実施するための形態】

【0012】

発明の詳細な説明

用語「心不全」、「HF」、「うっ血性心不全」、または「CHF」は、本明細書中で用いられる場合、心室が血液でいっぱいになるかまたは心室が血液を排出する能力を損なう、複合的な臨床症候群を指す。任意の構造上または機能上の心臓障害が、HFを引き起こし得、HF患者の大部分は損なわれた左心室(LV)心筋機能を有する。HFの症状としては、呼吸困難(息切れ)、疲労、および体液貯留が挙げられる。The American Heart Association(AHA)は、HFの進行または発症において4つのステージを同定している。ステージAおよびBの患者は、明らかな危険因子を示すが、HFをまだ発症していない。ステージCおよびDの患者は、HFの症状を現在示しているか、または過去にHFの症状を示していた。例えば、ステージAの患者は、危険因子(例えば、冠状動脈疾患、高血圧症、または糖尿病)を有する患者であり、損なわれた左心室(LV)機能を示さない患者である。ステージBの患者は、無症候性であるが、心臓の構造上の異常、またはリモデリング(例えば、損なわれたLV機能、肥大、または幾何学的な心腔(chamber)のゆがみ)を有する。ステージCの患者は、心臓の異常を有し、症候性である。ステージDの患者は、最大限の医学処置にもかかわらず症状を示す難治性のHFを有する。彼らは、代表的に、繰り返し入院させられるか、または特別な介入なく退院できない。

30

40

【0013】

ガレクチン - 3 は、多機能 - ガラクトシド結合レクチンのファミリーの構造上独特なメンバーである(Gabius(2006) Crit. Rev. Immunol. 26: 43-79)。ガレクチン - 3 の発現は、上皮および炎症細胞(マクロファージ、好中球、および肥満細胞が挙げられる)に関連している。ガレクチン - 3 は、心不全において重要である多様な生物学的プロセス(筋線維芽細胞の増殖、線維形成、組織修復、心臓リモデリング、および炎症が挙げられる)に関与している(Liuら(2009) Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 296(2): H404-12; Papaspyridonosら(2008) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 28(3): 433-40; Hendersonら(200

50

6) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:5060-5065; S harmař (2004) Circulation 110:3121-3128; Sa noř (2000) J. Immunol. 165(4):2156-64; Ku wa ba ra ř (1996) J. Immunol. 156(10):3939-44)。

【0014】

本出願人は、循環ガレクチン-3タンパク質レベルの使用により、急性冠動脈症候群 (ACS)後に心不全を発症するリスクを予測することを可能にする方法を開発した。患者のガレクチン-3レベルの知識は、ACS後の患者の転帰の情報を提供する。さらに、心不全のリスクがある患者の同定のためのガレクチン-3の検出は、心不全の症状が出現する前に行われ得、それは、処置がより早く行われることを可能にし、より好都合な転帰をもたらし得る。

10

【0015】

ガレクチン-3の検出

本発明は、マーカー(例えば、ガレクチン-3)のレベルを、必要に応じて、1つ以上の他のマーカー(例えば、BNP、NT-proBNP)と組み合わせて測定することによって、急性冠動脈症候群(ACS)後に心不全を発症するリスクを予測するための方法を提供する。目的のタンパク質を検出するための、定量化を伴う、または伴わない、多くの方法は周知であり、本発明の実施において使用され得る。そのようなアッセイの例としては、下に記載され、例えば、免疫アッセイ、クロマトグラフィー法、および質量分析法が挙げられ得る。そのようなアッセイは、とりわけ、血液、血漿、および血清を含む任意の生物学的サンプルにおいて実施され得る。従って、複数のアッセイが、ガレクチン-3を検出するために使用され得、サンプルは、1つ以上の供給源から分析され得る。

20

【0016】

マーカーは、1つ以上の分離方法の助けを用いて、サンプルにおいて検出され得るか、または定量され得る。例えば、適切な分離方法としては、質量分析法(例えば、エレクトロスプレーイオン化質量分析法(ESI-MS)、ESI-MS/MS、ESI-MS/(MS)ⁿ(nは、ゼロよりも大きい整数)、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法(MALDI-TOF-MS)、表面エンハンス型レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析法(SELDI-TOF-MS)、シリコン上での脱離/イオン化(DIOS)、二次イオン質量分析法(SIMS)、四重極飛行時間型(Q-TOF)、大気圧化学イオン化質量分析法(APCI-MS)、APCI-MS/MS、APCI-(MS)ⁿ、または大気圧光イオン化質量分析法(APPI-MS)、APPI-MS/MS、およびAPPI-(MS)ⁿが挙げられ得る。他の質量分析法としては、とりわけ、四重極型、フーリエ変換質量分析法(FTMS)、およびイオントラップ型が挙げられ得る。また使用され得る分光技術としては、共鳴分光法、および光学分光法が挙げられる。

30

【0017】

他の適切な分離方法としては、化学的抽出分配、カラムクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性(逆相)液体クロマトグラフィー、等電点電気泳動、1次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)、2次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動(2D-PAGE)、もしくは他のクロマトグラフィー技術(例えば、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、または液体クロマトグラフィー)、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられる。1つの実施形態において、アッセイされるべき生物学的サンプルは、分離方法の適用前に分画され得る。

40

【0018】

マーカーは、マーカー自体の物理的な分離を必要としない方法によって、検出され得るか、または定量され得る。例えば、分子の複雑な混合物からマーカーのプロフィールを分解するために、核磁気共鳴(NMR)分光法が使用され得る。腫瘍を分類するためのNMRの類似した使用は、例えば、Hagberg(1998)NMR Biomed. 11:148-56に開示される。

50

【0019】

サンプル中のマーカーはまた、例えば、マーカーに特異的に結合することが可能な結合部分とマーカーを合わせることによって、検出され得るか、または定量され得る。結合部分としては、例えば、リガンド - 受容体の対（すなわち、特異的な結合相互作用を有することが可能な1対の分子）のメンバーが挙げられ得る。結合部分としては、例えば、特異的な結合対（例えば、抗体 - 抗原、酵素 - 基質、核酸 - 核酸、タンパク質 - 核酸、タンパク質 - タンパク質、または当該分野において公知である他の特異的な結合対）のメンバーも挙げられ得る。標的に対して高められた親和性を有する結合タンパク質が設計され得る。必要に応じて、結合部分は、検出可能な標識（例えば、酵素標識、蛍光標識、放射性標識、リン光標識、または着色粒子標識）と結合され得る。標識された複合体は、例えば、視覚的に、または分光光度計もしくは他の検出器の補助で検出され得るか、あるいは定量され得る。

10

【0020】

ガレクチン - 3 のレベルは、免疫アッセイを実施することによって定量され得る。ガレクチン - 3 免疫アッセイは、ガレクチン - 3 が存在する場合に免疫特異的な結合が起こり得るような条件下で、試験されるべき被験体からのサンプルを適切な抗体と接触させること、および抗体による任意の免疫特異的な結合の量を検出するか、または測定することを含む。任意の適切な免疫アッセイが使用され得、その免疫アッセイとしては、限定されることなく、ウエスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」免疫アッセイ、免疫沈降アッセイ、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、蛍光免疫アッセイ、およびプロテイン A 免疫アッセイのような技術を用いる競合または非競合アッセイシステムが挙げられる。

20

【0021】

「サンドイッチ」アッセイにおいて、2つの分子（「結合部分」）（例えば、ガレクチン - 3 上でオーバーラップしていない部位（エピトープ）に特異的に結合するモノクローナル抗体）が使用される。代表的に、1つの結合部分は、固体表面に固定され、ここで上記1つの結合部分は、ガレクチン - 3 と結合し、ガレクチン - 3 を捕捉する。この第1の結合部分は、従って、捕捉結合部分とも称される。第2の結合部分は、例えば、蛍光物質、酵素、または着色粒子を用いて検出可能に標識され、その結果、ガレクチン - 3 複合体に対する第2の結合部分の結合は、ガレクチン - 3 が捕捉されたことを示す。シグナルの強度は、サンプル中のガレクチン - 3 の濃度に比例する。第2の結合部分は、従って、検出結合部分または標識結合部分とも称される。結合部分は、ガレクチン - 3 のN末端の一部に特異的に結合する限り、任意のタイプの分子であり得る。好ましい実施形態において、使用される結合部分は、モノクローナル抗ガレクチン - 3 抗体、すなわち、ガレクチン - 3 の別個の部分に対して産生された、または他の方法でガレクチン - 3 の別個の部分に結合するよう選択されたモノクローナル抗体である。

30

【0022】

そのようなアッセイ手順は、2部位免疫測定アッセイ法（two-site immunometric assay method）、「サンドイッチ」法、または（抗体がバインダーである場合）「サンドイッチ免疫アッセイ」と称され得る。当該分野で公知であるように、捕捉抗体および検出抗体は、同時に、または逐次的に試験サンプルと接触させられ得る。逐次的方法は、捕捉抗体をサンプルとインキュベートし、その後、標識された検出抗体を所定の時間に加えることによって、達成され得る（時折、「フォワード」法と称される）。あるいは、標識された検出抗体は、最初にサンプルとインキュベートされ、次に、上記サンプルは、捕捉抗体に曝され得る（時折、「リバース」法と称される）。アッセイを完了するために、任意の必要なインキュベーション（複数可）（短い持続期間であり得る）後、標識が測定される。そのようなアッセイは、当業者に公知である多くの特定の形式において実行され得、その形式としては、様々な高スループットの臨床検査分析器の使用を通して、またはケアの地点もしくは家庭用の試験デバイスを用いるものが

40

50

挙げられる。

【0023】

1つの実施形態において、ラテラルフローデバイスは、サンドイッチ形式において使用され得、生物学的サンプル中の、ベースラインの感度レベルより上のガレクチン-3の存在は、ラテラルフローアッセイにおける捕捉ゾーンの上流またはラテラルフローアッセイにおける捕捉ゾーンにおいて、サンドイッチ相互作用の形成を可能にする。例えば、米国特許第6,485,982号を参照のこと。捕捉ゾーンは、ガレクチン-3を捕捉するために適した捕捉結合部分(例えば、抗体分子)、またはビオチン化複合体の捕捉のための固定化アビジンなどを含み得る。例えば、米国特許第6,319,676号を参照のこと。上記デバイスはまた、捕捉ゾーンにおける捕捉に適した発光標識を組み込み得、ガレクチン-3の濃度は、捕捉部位におけるシグナルの強度に比例する。適切な標識としては、ポリスチレンマイクロスフェアに固定された蛍光標識が挙げられる。着色粒子も使用され得る。

10

【0024】

本発明の方法で使用され得る他のアッセイ形式としては、フロースルーデバイスが挙げられるが、これに限定されない。例えば、米国特許第4,632,901号を参照のこと。フロースルーアッセイにおいて、1つの結合部分(例えば、抗体)は、膜表面上の規定された領域に固定される。この膜は、次に、デバイス全体にわたりサンプル体積をくみ上げるために、レザバーとして働く吸収層の上に重ねられる。固定後、膜上に残っているタンパク質結合部位は、非特異的相互作用を最小限にするためにブロックされる。作業中、生物学的サンプルは膜に加えられ、マトリックスに浸透し、サンプル中の、抗体に特異的な任意の検体が、固定された抗体に結合することを可能にする。第2のステップにおいて、捕捉されたマーカと反応する標識された二次抗体が、サンドイッチを完成するために加えられ得るか、または放出され得る。あるいは、二次抗体は、サンプルと混合され得、単一のステップで加えられ得る。ガレクチン-3が存在する場合、着色スポットが膜の表面上に現れる。

20

【0025】

最も一般的な酵素免疫アッセイは、「酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)」である。ELISAは、標識された(例えば、酵素結合)形態の抗体を用いて、抗原の濃度を検出し、測定するための技術である。異なる形態のELISAが存在し、それらは当業者に周知である。標準的なELISA技術は、「Methods in Immunodiagnosis」, 2nd Edition, Rose and Bigazzi, eds. John Wiley & Sons, 1980; Campbellら, 「Methods and Immunology」, W.A. Benjamin, Inc., 1964; および Oellerich, M. (1984), J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 22: 895-904に記載される。ガレクチン-3を検出するための好ましい酵素結合免疫吸着アッセイキット(ELISA)は、市販されている(BG Medicine, Waltham, MA)。

30

【0026】

「サンドイッチELISA」において、抗体(例えば、抗ガレクチン-3)は、固相(すなわち、マイクロタイタープレート)に結合され、抗原(例えば、ガレクチン-3)を含む生物学的サンプルに曝される。上記固相は、次に、未結合の抗原を除去するために洗浄される。標識された抗体(例えば、酵素結合)は、次に、結合した抗原(存在する場合)に結合させられ、抗体-抗原-抗体サンドイッチを形成する。抗体に結合させられ得る酵素の例は、アルカリホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、ウレアーゼ、および -ガラクトシダーゼである。酵素結合抗体は、基質と反応して着色反応産物を生成し、上記反応産物は測定され得る。本発明のキットおよび方法と一緒に使用するのに適した、本明細書中に記載される免疫アッセイのうちの任意のものも、抗体の代わりに任意の結合部分を使用し得る。

40

【0027】

50

免疫学的アッセイの設計、理論、およびプロトコルの詳細な概説は、当該分野における数多くのテキストにおいて見出され得、それには、Butt, W. R., *Practical Immunology*, ed. Marcel Dekker, New York (1984)、および Harlow & *Antibodies, A Laboratory Approach*, ed. Cold Spring Harbor Laboratory (1988) が挙げられる。

【0028】

一般に、免疫アッセイの設計の考慮すべきことは、非特異的相互作用の産物から確実に区別され得る複合体を形成するために、標的に対して十分に高い結合特異性を有する抗体（例えば、モノクローナル抗体、またはポリクローナル抗体）の調製を含む。本明細書中
10
で用いられる場合、用語「抗体」は、結合タンパク質（例えば、抗体）、または免疫グロブリン可変領域様結合ドメインを含み、標的に対する適切な結合親和性および特異性を有する他のタンパク質を意味することが理解される。抗体の結合特異性が高ければ高いほど、検出され得る標的濃度はより低い。本明細書中で用いられる場合、用語「特異的結合」、または「特異的に結合する」は、結合部分（例えば、結合タンパク質）が、約 10^5 M^{-1} よりも大きい、標的に対する結合親和性、より好ましくは、約 10^7 M^{-1} よりも大きい、標的に対する結合親和性を有することを意味することが理解される。

【0029】

個体における心不全を検出するためのアッセイにおいて有用である単離された標的マーカーに対する抗体は、当該分野において周知の、記載されている標準的免疫学的手順を用いて
20
産生され得る。例えば、上記 *Practical Immunology* を参照のこと。手短に言えば、単離されたマーカーは、異種の宿主（例えば、マウス、ヤギ、または他の適切な哺乳動物）において抗体を産生するために使用される。マーカーは、宿主における抗体産生を高めることが可能である適切なアジュバントと合わせられ、例えば、腹腔内投与によって宿主に注射される。宿主の免疫応答を刺激するために適した任意のアジュバントが使用され得る。一般的に使用されるアジュバントは、フロイント完全アジュバント（死滅かつ乾燥させられた微生物細胞を含むエマルジョンであり、例えば、Calbiochem Corp., San Diego、または Gibco, Grand Island, NY から入手可能である）である。複数の抗原注射が所望される場合、後の注射は、不完全アジュバント（例えば、細胞を含まないエマルジョン）と組み合わせた抗原を
30
含み得る。ポリクローナル抗体は、目的のタンパク質に対する抗体を含む血清を抽出することによって、抗体産生宿主から単離され得る。モノクローナル抗体は、所望の抗体を産生する宿主細胞を単離し、免疫学分野において公知である標準的な手順を用いて、これらの細胞を骨髄腫細胞と融合させ、標的と特異的に反応し、かつ所望の結合親和性を有するハイブリッド細胞（ハイブリドーマ）についてスクリーニングすることによって産生され得る。

【0030】

ガレクチン - 3 の N 末端由来の例示的なエピトープとしては、

【0031】

【化 1】

MADNFSLHDALS (配列番号 1); MADNFSLHDALSGS (配列番号 2);

WGNQPAGAGG (配列番号 3); YPGAPGAYPGAPAPGV (配列番号 4);

GNPNPQGWPGA (配列番号 5); YPSSGQPSATGA (配列番号 6);

YPGQAPPAYPGQAPPGA (配列番号 7); YPGAPAPGVYPPSPGPGA (配列番号 8);

および YPSSGQPSATGA (配列番号 9)

が挙げられるが、これらに限定されない。他のガレクチン - 3 エピトープ（非線状エピトープが挙げられる）も、抗ガレクチン - 3 抗体による検出のための標的として使用される。例示的な抗体は、米国特許出願公開第 2010/014954 号において議論され、
40
50

その内容全体は、本明細書中で参考として援用される。

【0032】

抗体結合ドメインはまた、生合成により生成され得、結合ドメインのアミノ酸配列は、標的上の好ましいエピトープとの結合親和性を高めるために操作され得る。特異的抗体の方法論は、よく理解されており、文献に記載されている。それらの調製のより詳細な記載は、例えば、Practical Immunology (上記)において見出され得る。

【0033】

さらに、当該分野においてBABSまたはsFvのものとしても公知である遺伝子操作された生合成の抗体結合部位は、サンプルがマーカーを含むか否かを決定するために使用され得る。(i)非共有結合的に結合した、またはジスルフィド結合した、合成V_HおよびV_L二量体、(ii)共有結合したV_H-V_L単鎖結合部位、(iii)個々のV_HもしくはV_Lドメイン、または(iv)単鎖抗体結合部位を含む、BABSを作製および使用する方法が、例えば、米国特許第5,091,513号;同第5,132,405号;同第4,704,692号;および同第4,946,778号に開示される。さらに、マーカーに対して必須な特異性を有するBABSは、ファージ抗体クローニングによってコンビナトリアル遺伝子ライブラリーに由来し得る(例えば、Clacksonら Nature 352:624-628(1991)を参照のこと)。手短に言えば、単離されたマーカーまたはその断片によって予め免疫されたマウスに由来する、可変領域遺伝子配列によりコードされた免疫グロブリン可変領域を有するBABSを、各々がそれらの外皮表面上で発現するファージが、固定されたマーカーに対する結合活性についてスクリーニングされる。固定されたマーカーに結合するファージは収集され、BABSをコードする遺伝子が、配列を決定される。目的のBABSをコードする得られた核酸配列は、次に、従来の発現システムにおいて発現させられて、BABSタンパク質を生成し得る。

【0034】

診断およびモニタリングの精度を改善するために、マルチマーカー分析が使用され得る。例えば、ガレクチン-3(Gal-3)およびB型ナトリウム利尿ペプチド(BNP)の血中濃度は、心不全を診断するため、および心不全の長期の転帰を予測するために使用され得る(van Kimmenadeら, J. Am. Coll. Cardiol., 48:1217-24(2006); Sharmaら, Circulation, 110:3121-28(2004); Lokら, Eur. Heart J., 28:141, Abstract 1035(2007)。BNPおよびその切断等価物であるアミノ末端proBNP(NT-proBNP)は、心腔の高い充填圧力および心筋線維の伸張の結果として、心不全の間、心筋および血液中で上昇し、ACSを有する患者における心不全の予測となることが、近年示されている(Sciricaら, (2006)「Intensive Statin Therapy and the Risk of Hospitalization for Heart Failure After an Acute Coronary Syndrome in the PROVE IT-TIMI 22 Study」, Journal of the American College of Cardiology, 47(11):2326-2331)。心不全を診断するために使用され得る他の二次的なマーカーとしては、非ポリペプチドの心臓マーカー(例えば、スフィンゴ脂質、スフィンゴシン、スフィンゴシン-1-ホスフェート、ジヒドロスフィンゴシン、およびスフィンゴシルホスホリルコリン)が挙げられ得る(米国特許第6,534,322号を参照のこと)。上記のマーカーのレベルを測定する場合、診断の精度を改善するために、年齢および性についての補正が組み込まれ得る。

【実施例】

【0035】

実施例1:ガレクチン-3は、ACS後に心不全を発症するリスクに関連する。

【0036】

The Pravastatin or Atorvastatin Evaluat

10

20

30

40

50

ion and Infection Trial - Thrombolysis In Myocardial Infarction 22 (PROVE IT - TIMI 2) 研究における、急性冠動脈症候群 (ACS) を有する患者の中でのコホート内症例 - 対照研究 (nested case-control study) において、新たな心不全または悪化した心不全のために入院を伴った100症例を同定した。対照 (1:1) を年齢、性別、ACSタイプ、および無作為化処置について対応させた。血清ガレクチン - 3 (BG Medicine, Inc., Waltham, MA) を、ベースラインにおいて測定した (ACS後7日目)。さらなる手順の詳細は、Cannonら, (2004) 「Intensive versus Moderate Lipid Lowering with Statins after Acute Coronary Syndromes」, N Engl J Med. 350 (15): 1495 - 1504、およびN Engl J Med. (2006); 354: 778において見出される補正において見出され、その各々は、全ての目的のために、本明細書中で参考として援用される。

10

20

30

40

50

【0037】

心不全を発症した患者は、より高いベースラインのガレクチン - 3を有した (メジアン 16.7 ng/mL (四分位数間範囲 (IQR): 14.0 ~ 20.6) 対 14.6 (IQR: 12.0 ~ 17.6)、p = 0.004)。メジアン (15.6 ng/mL) より上のベースラインガレクチン - 3を有する患者は、2倍程度HFを発症しやすかった (OR 2.1 (95%信頼区間 (CI): 1.2 ~ 3.6)、p = 0.01)。ガレクチン - 3は、心不全のリスクとの段階的な関係を示した (表1)。症例は、高血圧症 (HTN)、糖尿病 (DM)、および以前の心不全を有する可能性がより高かった; これらの因子について調整後、ガレクチン - 3四分位数と心不全とのこの段階的な関係は、有意な調整オッズ比 (adj - OR) 1.4 (95% CI 1.1 ~ 1.9; p = 0.02) のままであった。ガレクチン - 3における各標準偏差 (SD) の増加は、心不全の相対的な調整オッズにおける48%の増加に関連した (p = 0.04)。これらのデータは、ガレクチン - 3がACS後に心不全を発症するリスクに関連することを示す。

【0038】

表1は、急性冠動脈症候群後の患者において、心不全発症の相対的なオッズを示し、相対的なオッズは、ガレクチン - 3血清濃度の増加に従って増加する。

【0039】

表1. ガレクチン - 3濃度カテゴリーによる、心不全発症についてのオッズ比。

【0040】

【表1】

ガレクチン-3 カテゴリー	< 13.0 ng/mL	13.0-15.5 ng/mL	15.6-19.2 ng/mL	>19.2 ng/mL
オッズ比 (p-値)	1.0 (参照(referent))	2.0 (p=0.10)	2.6 (p=0.03)	3.9 (p=0.004)

最も低いガレクチン - 3カテゴリー (< 13.0 ng/mL) は、参照カテゴリーである。カテゴリーにわたって、オッズ比の傾向に関して P = 0.003。

【0041】

参考としての援用

本明細書中で参照された特許文書および科学論文の各々の開示全体は、全ての目的のために、参考として援用される。

【0042】

等価物

本発明は、その趣旨または本質的な特徴から外れることなく、他の特定の形態において具体化され得る。前述の実施形態は、従って、全ての局面において、本明細書中に記載された発明に限定するのではなく、例示的であると考えられる。本発明の範囲は、従って、前述の記載によってではなく、添付の特許請求の範囲によって示され、特許請求の範囲の等価の意味および範囲内に入れられる全ての変化は、その中に包含されることが意図される。

【配列表】

2014505256000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2012/023328

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/566 G01N33/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PROVE IT-TIMI 22 INVESTIGATORS ET AL: "Intensive Statin Therapy and the Risk of Hospitalization for Heart Failure After an Acute Coronary Syndrome in the PROVE IT-TIMI 22 Study", JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY, ELSEVIER, NEW YORK, NY, US, vol. 47, no. 11, 6 June 2006 (2006-06-06), pages 2326-2331, XP025147233, ISSN: 0735-1097, DOI: 10.1016/J.JACC.2006.03.034 [retrieved on 2006-06-06] cited in the application abstract page 2329, column 1, paragraph 2 figures 1-3 ----- -/--	1-17, 22-25
<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. "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 20 April 2012		Date of mailing of the international search report 27/04/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer van der Kooij, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/023328

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2010/096126 A1 (BG MEDICINE INC [US]; MUNTENDAM PIETER [US]) 26 August 2010 (2010-08-26) claims 8,15-21; examples 2D-2G -----	1-17, 22-25
T	GRANDIN E WILSON ET AL: "Galectin-3 and the Development of Heart Failure after Acute Coronary Syndrome: Pilot Experience from PROVE IT-TIMI 22", CLINICAL CHEMISTRY, vol. 58, no. 1, January 2012 (2012-01), pages 267-273, XP008151081, -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/023328

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010096126 A1	26-08-2010	AU 2009340423 A1	26-08-2010
		CA 2742265 A1	26-08-2010
		CN 102257390 A	23-11-2011
		EP 2359143 A1	24-08-2011
		KR 20110104930 A	23-09-2011
		US 2010143954 A1	10-06-2010
		WO 2010096126 A1	26-08-2010

フロントページの続き

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

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ムンテンダム, ピーター

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01921, ボックスフォード, メイン ストリート
642

Fターム(参考) 2G045 AA13 AA25 BA13 BB03 CA25 CA26 FB01 FB03 FB08 FB12

FB17 GC12 GC15

4H045 BA10 CA40 DA80 EA50

专利名称(译)	使用半乳糖凝集素-3检测急性冠状动脉综合征后的心力衰竭并确定预后		
公开(公告)号	JP2014505256A	公开(公告)日	2014-02-27
申请号	JP2013551430	申请日	2012-01-31
[标]申请(专利权)人(译)	BG医药		
申请(专利权)人(译)	维西医学网		
[标]发明人	ムンテングムピーター		
发明人	ムンテングム, ピーター		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/52 C07K14/47		
CPC分类号	G01N33/6887 G01N2333/4724 G01N2800/325 G01N2800/50 G01N2800/56		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/52.A C07K14/47.ZNA		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA25 2G045/BA13 2G045/BB03 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB08 2G045/FB12 2G045/FB17 2G045/GC12 2G045/GC15 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA80 4H045/EA50		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	61/438245 2011-01-31 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
 本发明涉及用于预测患有急性冠状动脉综合征的受试者的心力衰竭风险的材料和方法。本发明还涉及监测患有急性冠状动脉综合征的受试者的心力衰竭治疗的功效。

(19) 日本国特許庁 (JP)	(12) 公 報 特 許 公 報 (A)	(11) 特許出願公表番号 特表2014-5 (P2014-50 平成26年2月27日(2014
(61) Int. Cl. GO1N 33/53 (2006.01) GO1N 33/52 (2006.01) CO7K 14/47 (2006.01)	F I GO1N 33/53 D GO1N 33/52 A CO7K 14/47 ZNA	テームコード (参考) 2G045 4H045
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 1)		
(21) 出願番号 特願2013-551430 (P2013-551430) (22) 出願日 平成24年1月31日 (2012. 1. 31) (85) 翻訳文提出日 平成25年7月30日 (2013. 7. 30) (86) 国際出願番号 PCT/US2012/023328 (87) 国際公開番号 W02012/106341 (87) 国際公開日 平成24年8月9日 (2012. 8. 9) (31) 優先権主張番号 61/438, 245 (32) 優先日 平成23年1月31日 (2011. 1. 31) (33) 優先権主張国 米国 (US)	(71) 出願人 508057638 ビージー メディシン, インコーポ テッド アメリカ合衆国 マサチューセツ 4 5 1, ウォルサム, リンカー トリート 6 I O (74) 代理人 100078282 弁理士 山本 秀策 (74) 代理人 100113413 弁理士 森下 夏樹 (74) 代理人 100181674 弁理士 飯田 貴敬 (74) 代理人 100181641 弁理士 石川 大輔	