

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6820748号  
(P6820748)

(45) 発行日 令和3年1月27日(2021.1.27)

(24) 登録日 令和3年1月7日(2021.1.7)

(51) Int.Cl.

F 1

A 6 1 K 38/16 (2006.01)

A 6 1 K 38/16 ZMD

A 6 1 P 11/00 (2006.01)

A 6 1 P 11/00

G 0 1 N 33/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/68

請求項の数 8 (全 26 頁)

(21) 出願番号 特願2016-572697 (P2016-572697)  
 (86) (22) 出願日 平成27年6月10日 (2015.6.10)  
 (65) 公表番号 特表2017-519008 (P2017-519008A)  
 (43) 公表日 平成29年7月13日 (2017.7.13)  
 (86) 國際出願番号 PCT/IB2015/054399  
 (87) 國際公開番号 WO2015/189790  
 (87) 國際公開日 平成27年12月17日 (2015.12.17)  
 審査請求日 平成30年6月4日 (2018.6.4)  
 (31) 優先権主張番号 62/011,744  
 (32) 優先日 平成26年6月13日 (2014.6.13)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関  
 米国(US)

(73) 特許権者 504389991  
 ノバルティス アーゲー  
 スイス国 バーゼル リヒトシュトーレセ  
 35  
 (74) 代理人 100092783  
 弁理士 小林 浩  
 (74) 代理人 100095360  
 弁理士 片山 英二  
 (74) 代理人 100120134  
 弁理士 大森 規雄  
 (74) 代理人 100181168  
 弁理士 丸山 智裕  
 (74) 代理人 100104282  
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 GDF-15を減少させるためのセレラキシンの使用

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

急性心不全(AHF)の患者の肺毛細血管楔入圧(PCWP)、平均肺動脈圧(PAP)または肺血管抵抗(PVR)を選択的に減少させるための医薬製剤であって、セレラキシンを含み、

患者から生物試料を得ることと、

前記生物試料中のGDF-15の量を測定することと、

GDF-15の量がベースラインから増加した場合に、セレラキシンを投与することとを含む方法で用いられるものであり、セレラキシンは、前記患者において1ng/mlから100ng/mlの血清濃度を維持するために3μg/kg/日から150μg/kg/日の注入速度で皮下に投与される、前記医薬製剤。  
10

## 【請求項2】

前記患者でセレラキシンが10ng/mlの血清濃度を維持するために投与される、請求項1に記載の医薬製剤。

## 【請求項3】

セレラキシンが30μg/kg/日の注入速度で皮下に投与される、請求項1又は2に記載の医薬製剤。

## 【請求項4】

セレラキシンが少なくとも24時間連続的に投与される、請求項1から3のいずれかに記載の医薬製剤。

**【請求項 5】**

急性心不全患者（A H F）の死亡率の予後を決定する方法で用いられる医薬製剤であつて、セレラキシンを含み、

患者から第1の生物試料を得ることと、

前記第1の生物試料中のG D F - 1 5 レベルを検出することと、

治療有効量のセレラキシンを投与することと、

セレラキシン投与後に前記患者から第2の生物試料を得ることと、

前記第2の生物試料中のG D F - 1 5 レベルを検出することと、

前記第1の生物試料中のG D F - 1 5 レベルを前記第2の生物試料と比較することと、

生存の蓋然性を予測することであつて、前記第2の生物試料中のG D F - 1 5 レベルの低下によって生存の蓋然性の上昇を予測することと

を含む方法で用いられるものであり、セレラキシンは、前記患者において 1 n g / m l から 1 0 0 n g / m l の血清濃度を維持するために 3  $\mu$  g / k g / 日から 1 5 0  $\mu$  g / k g / 日の注入速度で皮下に投与される、医薬製剤。 10

**【請求項 6】**

セレラキシンの投与の2又は14日後に前記第2の生物試料を得る、請求項5に記載の医薬製剤。 20

**【請求項 7】**

セレラキシンが 3 0  $\mu$  g / k g / 日の注入速度で皮下に投与される、請求項5又は6に記載の医薬製剤。 20

**【請求項 8】**

セレラキシンが少なくとも 2 4 時間連続的に投与される、請求項5から7のいずれかに記載の医薬製剤。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は、心血管系疾患における治療的インターベンションの分野に関する。詳細には、炎症誘発性ペプチド、増殖分化因子15に関する。さらに、心不全の治療において、有効であることが最近示されたホルモン、セレラキシンに関する。 30

**【背景技術】****【0 0 0 2】**

心不全は、体の要求に応じるために十分な血液を、心臓が供給できない疾患である。65歳以上の人における入院の主要な原因であり、人口の高齢化および心筋梗塞後の生存率が良くなるにしたがって、罹患率が上昇することが予測される。心不全の兆候および症状が急激に発生または変化するため、急性心不全は、入院中および退院後の死亡率の高い危険性と関連する。

**【0 0 0 3】**

肺動脈高血圧症の患者には、肺動脈圧の持続的上昇および低い平均毛細血管楔入圧および左室拡張末期圧が存在する。肺動脈高血圧症は、特発性（一次）であるか、または他の障害に伴つて発症する可能性がある。主な血管の変化は、血管収縮、血栓形成、ならびに平滑筋および内皮細胞の増殖である。血管拡張および血管収縮の不均衡は、肺内皮細胞の機能障害または損傷の結果である。その結果、肺は血管内膜線維症、中膜厚の増加、肺細動脈閉塞および叢状病変を発症する。肺動脈高血圧症は、多くの場合、心不全、膠原血管病、門脈圧亢進症、およびH I Vを含む病態の末期の発現である。 40

**【0 0 0 4】**

増殖分化因子15（G D F - 1 5 ）は、T G F - ベータスープラーファミリーのメンバーである。T G F - ベータファミリーのメンバーは、細胞の運動性および接着、細胞周期、ならびに炎症に多面発現効果を持つ。G D F - 1 5 は、傷害組織および疾患の経過中ににおいて炎症性およびアポトーシス経路を制御し、ならびに一般的な抗炎症性特性および免疫 50

抑制特性を有する役割を持つことが知られているストレス応答サイトカインである。病理学的過程によって誘導された場合を除き、通常は大部分の組織で発現されない。G D F - 15 は、心臓、肝臓、腎臓、および肺への急性損傷の後で上方制御され、そのベースラインでの上昇が、慢性心不全における転帰の悪化と関連することが示され、一方、心不全患者における時間に伴う増加は、心エコー指標および有害転帰の悪化の両者と関連することが示された (Wang et al., Biomarkers 15:671 (2010))。上昇した G D F - 15 は、いくつかの予備研究において、N T p r o B N P、h s C R P、ガレクチン 3、または h s T n T などの他のバイオマーカーと同程度に長期死亡率を予測することが、最近示唆された。(Lok et al., Lancet 381:29-39 (2013))。しかし、今まで、急性心不全 (A H F) の患者における G D F - 15 を過去に評価した研究はなかった。

10

#### 【 0 0 0 5 】

G D F - 15 は、心不全の危険性のマーカーであると示唆されたが、心血管系疾患におけるその役割は依然として不明である。多くの薬剤は、多重経路を介して G D F - 15 の発現を誘導する。入手可能なデータは、心血管系疾患の診断、予後または治療における G D F - 15 の役割を確立することができない。

#### 【 0 0 0 6 】

現在の療法が、心血管系疾患において、上昇した G D F - 15 の危険性を減らし得るかどうか決定する努力がなされたにもかかわらず、G D F レベルを制御する因子は依然不明である。現在の療法が G D F - 1 を増加、減少および影響を及ぼさないことという研究結果は、すべて報告された。例えば、治療が侵襲性または非侵襲性にかかわらず、および所与のクロピドグレルまたはチカグレロルであるかどうかにかかわらず、非 S T 上昇型急性冠症候群の患者の治療は、患者の G D F - 15 レベルを低下させることを、P L A T O 試験は見出した (Wallentin et al., Circulation 129:293 (2014))。左室の体積および圧力除荷を提供するために、末期心不全患者に移植した左心補助循環装置も患者の G D F - 15 レベルを低下させた (Lok et al., Eur J Heart Failure 14:1249-1256 (2012))。また、ベータ - ブロッカー療法を最適化することは、収縮期慢性心不全患者において G D F - 15 を減少させた (Apostolovic et al., J Heart Failure 12:Suppl 1, S200 (2013))。

20

#### 【 0 0 0 7 】

反対に、ベータ - ブロッカー療法の最適化は、拡張期慢性心不全患者において G D F - 15 を増加することが観察され、収縮期慢性心不全患者には影響がないことが観察された (Eur J Heart Failure 11:Suppl 1, S45 (2012))。症候性心不全患者のバルサルタン治療は G D F - 15 には影響がないが、心不全バイオマーカー B 型ナトリウム利尿ペプチドを低下させることが観察された (Anand et al., Circulation 122:1387-1395 (2010))。同様に、アテローム動脈硬化性ブラークマクロファージおよび梗塞を起こした心筋層において G D F - 15 が検出されたにもかかわらず、スタチンは G D F - 15 レベルに影響を及ぼさなかった (Bonaca et al., Arterioscl Thromb Vasc Biol 31:203-210 (2011))。

30

#### 【 0 0 0 8 】

テゾセンタン、レボシメンダン、トルバブタンおよびロロフィリンを試験する最近の臨床試験は、急性心不全の治療における安全性および / または有効性を実証することができなかった。認可された薬物、例えば、ミルリノン、ネシリチドおよびレボシメンダンでさえ、持続する安全性についての懸念が提起された。急性心不全の治療に現在用いられる薬剤は、実質的に追加されず、または数十年改良されていない。さらに、認可されたまたは開発中の薬物で G D F - 15 レベルと関連するものはない。

40

#### 【 0 0 0 9 】

セレラキシンは、妊娠中に増加する天然に存在するペプチドホルモンであるヒトセレラキシン - 2 (H R - 2) の組換え型であり、母体の生理的な心臓血管および腎臓の適応を媒介し、臓器障害への潜在的な保護作用を持つ。セレラキシンは、腎臓および全身血管系中ならびに腎臓の上皮組織中の R X F P 1 受容体に結合し、動脈コンプライアンスの増加、心拍出量、および腎血流量を含む、急性心不全における多数の有益な効果を媒介する。

50

最近完了した第 I I I 相試験において、セレラキシンは呼吸困難の迅速な軽減を提供し、急性心不全患者の 6 カ月の死亡率を低下させた (Teerlink et al., Lancet 381:29-39 (2013))。

#### 【 0 0 1 0 】

本発明者らは驚くべきことに、セレラキシンの使用は、心血管系疾患患者の G D F - 1 5 レベルを低下させるために用いることができること、および特に急性心不全患者の G D F - 1 5 レベルを低下させる場合に有用であることを見出した。本発明者らは、肺うっ血患者において肺負荷を評価する方法も発見した。さらに、本発明者らは、G D F - 1 5 が肺血行動態を評価するためのバイオマーカーを提供すること、および心不全の診断、予後および治療の情報を与えること、を発見した。

10

#### 【 発明の概要 】

#### 【 課題を解決するための手段 】

#### 【 0 0 1 1 】

本発明は、肺うっ血患者において肺負荷を評価する方法を提供し、肺血行動態を評価するバイオマーカーを提供し、心不全の診断、予後および治療の情報を与える。G D F - 1 5 レベルを低下させるための第 1 の薬物療法であるセレラキシンで治療することによって、心血管系疾患患者の G D F - 1 5 レベルを低下させる方法を提供する。

#### 【 0 0 1 2 】

一実施形態では、本発明は、臨床試験患者を含む患者の選択方法を提供する。組入または除外基準を提供してもよい。治療に応答する可能性がより高いもので試験または患者集団を強化する方法を含んでもよい。反対に、治療に応答する可能性が低いものに対する除外基準を提供してもよい。

20

#### 【 0 0 1 3 】

別の実施形態では、本発明は、病状または予後を評価する方法を提供する。さらなる実施形態では、薬理学的な作用機構の機序、治療効果の機序、または毒性反応または副作用の機序を評価する方法を提供する。

#### 【 0 0 1 4 】

さらに別の実施形態では、本発明は、用量最適化の方法を提供する。有効な用量範囲、動物モデルにおいて観察されない有効レベル、または動物モデルにおいて観察されない有害作用レベルの決定を容易にしてもよい。さらなる実施形態では、本発明は、薬物有効性を表示または予測することによって、有効性最大化の方法を提供する。

30

#### 【 0 0 1 5 】

一実施形態では、本発明は、患者由来の生物試験試料を提供すること、試料中の G D F - 1 5 レベルを検出すること、およびそれを健康な対照被験者由来の生物試験試料と比較すること、によって、肺うっ血の治療を必要とする患者を確認する方法を提供し、G D F - 1 5 の増加したレベルは、肺負荷の増加を示す。関連する一実施形態では、本発明は、患者由来の生物試験試料中の G D F - 1 5 をアッセイすること、およびそれを健康な対照被験者由来の生物試験試料と比較すること、によって肺うっ血の治療を必要とする患者を確認する方法を提供し、G D F - 1 5 の増加したレベルは、肺負荷の増加を示す。

#### 【 0 0 1 6 】

40

一実施形態では、本発明は、患者由来の生物試験試料を提供すること、試料中の G D F - 1 5 レベルを検出すること、およびより早い時間に採取した患者由来の生物試験試料とそれを比較すること、によって、肺うっ血の治療を必要とする患者を確認する方法を提供し、G D F - 1 5 の減少率は、肺負荷の減少を示す。関連する一実施形態では、本発明は、患者由来の生物試験試料中の G D F - 1 5 をアッセイすること、およびそれを健康な対照被験者由来の生物試験試料と比較すること、によって、肺うっ血の治療を必要とする患者を確認する方法を提供し、G D F - 1 5 の減少率は、肺負荷の減少を示す。

#### 【 0 0 1 7 】

別の実施形態では、本発明は、患者由来の生物試験試料を提供すること、試料中の G D F - 1 5 レベルを検出すること、およびそれをセレラキシン治療後の患者由来の生物試験

50

試料と比較すること、によって、心不全患者の死亡率の予測を決定する方法を提供し、GDF-15の減少率は、生存の蓋然性を示す。関連する一実施形態では、本発明は、患者由来の生物試験試料中のGDF-15をアッセイすること、試料中のGDF-15レベルを検出すること、およびそれをセレラキシン治療後の患者由来の生物試験試料と比較すること、によって、心不全患者の死亡率の予測を決定する方法を提供し、GDF-15の減少率は、生存の蓋然性を示す。

【0018】

さらに別の実施形態では、本発明は、以前にGDF-15が上昇したことを決定した患者の肺負荷を選択的に減少させる方法を提供し、上昇したGDF-15に基づいて、患者に治療有効量のセレラキシンを選択的に投与することを含む。関連する一実施形態では、本発明は、以前にGDF-15が上昇したことを決定した患者の肺負荷を減少させる際に使用するセレラキシンを提供し、上昇したGDF-15に基づいて、患者に治療有効量のセレラキシンを選択的に投与することを含む。

10

【0019】

さらに別の実施形態では、本発明は、患者の肺負荷を選択的に減少させる方法を提供し、患者由来の生物試験試料中のGDF-15量を測定すること、および上昇したGDF-15に基づいて、患者に治療有効量のセレラキシンを投与することを含む。関連する一実施形態では、本発明は、患者の肺負荷を減少させる際に使用するセレラキシンを提供し、患者由来の生物試験試料中のGDF-15量を測定すること、および上昇したGDF-15に基づいて、患者に治療有効量のセレラキシンを選択的に投与することを含む。

20

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】プラセボと比較して、GDF-15レベルの幾何平均に及ぼすセレラキシンの影響を示す図である。

【図2】ベースライン（A）および20時間後（B）のGDF-15とPAPとの間の相関をそれぞれ示す図である。

【図3】ベースライン（A）および20時間後（B）のGDF-15とPVRとの間の相関をそれぞれ示す図である。

【図4】ベースライン（A）および20時間後（B）のGDF-15とNTproBNPとの間の相関をそれぞれ示す図である。

30

【発明を実施するための形態】

【0021】

最初に、アッセイに適した生物試料へのいかなる言及も、当技術分野で既知の任意の試料であることが理解されるべきであり、これらに限定されないが、血液、血漿、血清、軟膜、白血球、リンパ液、痰、尿、糞便、滑液、滑膜細胞、脳脊髄液、涙、唾液、毛球細胞、口腔スワブ、および組織試料を含む。当業者は、分画または精製手順後に、いくつかの試料はより容易に分析されることに気付くであろう。

【0022】

同様に、アッセイ方法は当技術分野で既知の任意のものである可能性があり、これらに限定されないが、任意のタイプのイムノアッセイ、例えば、電気化学発光イムノアッセイ、ELISAまたはウエスタンプロット、HPLC、フローサイトメトリー、サザンプロット、電気泳動およびポリメラーゼ連鎖反応を含む。

40

【0023】

「アッセイする」という用語は、確認する、スクリーニングする、調べる、または定量する行為を指し、その行為は、任意の従来の手段で実行してよい。例えば、薬剤が試料中に存在するか、または試料中の薬剤の量を定量するかどうか決定する目的で、イムノアッセイ、イメージング、ノーザンプロット、その他を用いることによって、特定の薬剤の存在または量を定量するために試料をアッセイしてよい。「アッセイする」および「定量する」という用語は、物質変換、例えば、物理試験に試料を供することによって、生物試料のある状態から他の状態への変換を企図する。

50

## 【0024】

さらに、本明細書で用いられる、「アッセイする」および「定量する」という用語は、試験するおよび／または測定するという意味で用いられる。「患者由来の生物試料を・・・のためにアッセイする」などのフレーズは、試料を、所与の薬剤（例えば、G D F - 15、遺伝子、S N P、タンパク質、その他）の有無、または特定の薬剤の量について、直接的または間接的に検定してよい、という意味で用いられる。ある薬剤の量が1つの蓋然性を示し、異なる量の薬剤が他の蓋然性を示す場合、薬剤の量を用いて、診断、予後または治療決定を導いてよい、ということが理解される。薬剤の存在が1つの蓋然性を示し、その薬剤の非存在が他の蓋然性を示す場合、次いで、その薬剤の存在または非存在を用いて、診断、予後または治療決定を導いてよい、ということが理解される。

10

## 【0025】

本明細書で用いられる、患者に関する「選択」「選択的に」「選択する」および「選択される」は、特定の患者は、あらかじめ定められた基準を有する患者に基づいて、患者のより大きな群から特異的に選択される、という意味で用いられる。同様に、「選択的に治療する」は、あらかじめ定められた基準を有する選ばれた患者に基づいて、患者のより大きな群から特異的に選択された患者を指す。「選択的に投与する」は、あらかじめ定められた基準を有する選ばれた患者に基づいて、患者のより大きな群から特異的に選択された患者に薬物を投与することを指す。「選択する」「選択的に治療する」および「選択的に投与する」によって、患者は、単に特定の疾患を有する患者に基づく標準治療レジメンを提供されるよりむしろ、患者の特定の生態に基づく個別治療を提供されることを意味する。選択するは、偶然の患者の診断、予後または治療を指さず、むしろ1つまたは複数のあらかじめ定められた基準に基づいて、患者に治療を行う慎重な選択を指す。

20

## 【0026】

本明細書で用いられる、「予測」という用語は、本明細書に記載の方法が、障害を有する個体がより正確な診断または予後を持ち、もしくは治療により好ましく応答するという可能性をヘルスケア提供者が決定できるように情報を提供する、ということを示す。100%の精度で応答を予測する能力を指してはいない。当業者は、蓋然性の増加を指すことを理解するだろう。

## 【0027】

本明細書で用いられる、「可能性 (l i k e l i h o o d )」および「可能性が高い (l i k e l y )」は、事象が起きるのはどのくらいの蓋然性があるか、についての記載を提供する。「蓋然性」と同じ意味で用いてよい。可能性は、推論以上、しかし確実未満の蓋然性を指す。したがって、もし、常識、訓練、または経験を用いる道理をわきまえた人が、こういう状況なので、その事象はほぼ確実であると結論づけるならば、事象は可能性が高い。いくつかの実施形態において、いったん可能性が確認されたら、患者を予後判断し、診断し、治療してよく、または治療を変更してよい。

30

## 【0028】

本明細書で用いられる、「薬学的に許容される」という用語は、活性成分の生物活性の効果を妨げない非毒性の材料を意味する。

## 【0029】

本明細書で用いられる、化合物、例えば、セレラキシンまたはセレラキシン受容体アゴニストに関する「投与する」という用語は、任意の経路によって患者へその化合物を送達することを指すために用いられる。

40

## 【0030】

本明細書で用いられる、「治療有効量」は、治療、予防、発症の予防、治癒、遅延、重症度の減少、障害の少なくとも1つの症状または再発性障害の改善、またはそのような治療をせずに期待された以上の患者の延命のために、患者（ヒトなど）への単回または反復投与で有効なセレラキシンまたはセレラキシンアゴニストの量を指す。個体に活性成分（例えば、セレラキシン）を与え、単独で投与する場合、用語は、成分単独を指す。組合せで与えた場合、組合せて、順次にまたは同時に投与したにかかわらず、用語は、治療効果

50

をもたらす活性成分の合計量を指す。

【0031】

本明細書で用いられる、「治療」および「治療する」という用語は、予防的または予防治療（場合によって）の両方、ならびに治癒的治療または疾患修飾性治療を指し、疾患にかかる危険性のあるまたは疾患にかかったと思われる患者、ならびに不健康なまたは疾患もしくは病状を患っていると診断された患者の治療を含み、および臨床的再発または悪化の抑制を含む。予防、治癒、発症の遅延、重症度の減少、または障害の1つまたは複数の症状または再発性障害の改善のため、またはそのような治療をせずに期待された以上の患者の延命のために、内科疾患を有する、または最終的に障害を受け入れてもよい患者に治療を施してよい。

10

【0032】

本明細書で用いられる、単数形の「1つの（a）」、「1つの（an）」、および「その（the）」は、内容が明らかに別の方法で指示しなければ、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「1つのタンパク質」への言及は、2つ以上のタンパク質の混合物を含み、「その薬剤」への言及は、当業者などに知られている1つまたは複数の薬剤およびその均等物への言及を含む。

【0033】

本発明は、前述の記載および例で特に記載された以外に行われてよいことは、疑う余地がないであろう。本発明の多くの修飾および変形は、上記の教示を考慮して可能であり、したがって添付の特許請求の範囲内である。

20

【0034】

前述の一般的な記載および以下の詳細な記載の両者は、例であり、説明的であるだけであり、主張されているように、本発明を制限するものではない、ということが理解される。さらに、本発明は、記載される特定の実施形態に限定されず、それ自体はもちろん変更してもよい、ということが理解されなければならない。さらに、本発明の範囲はその特許請求の範囲によってのみ限定されるので、特定の実施形態を記載するために用いられる専門用語は、限定されることを意図しない。

【0035】

他の方法で定義されない限り、本明細書で用いられるすべての技術的および科学的用語の意味は、本発明が属する当業者によって一般に理解されるものである。本明細書に記載のものと類似または同等な任意の方法および材料を使って、本発明を実施または試験することもできる、ということを当業者も十分理解するであろう。

30

【0036】

さらに、本明細書および特許請求の範囲で用いられる、成分量、反応条件、%純度、ポリペプチド長などを表す、すべての数は、別段の指示がない限り、「約」という用語によって修飾される。その結果、本明細書で示した数値パラメーターは、本発明の所望の特性によって変更してもよい近似である。少なくとも、および特許請求の範囲の均等物の原則の出願を限定しようとする試みほどではないが、各数値パラメーターは、通常の丸め技術を適用し、報告された有効数字の数を考慮して、少なくとも解釈されなければならない。

【0037】

40

アッセイ、診断方法の技術、および情報送信可能形式を生産する方法

開示する方法は、心不全、特に急性心不全の治療、予防、または改善、ならびにセレラキシンでの治療に対する心臓病患者の応答の可能性を予測することに有用である。これらの方法は、とりわけ、患者が患者由来の試料中にバイオマーカーとしてGDF-15を持つかどうかを決定する。

【0038】

患者由来の生物試料を、GDF-15の存在について、任意の適用可能な従来の手段によってアッセイしてよく、特定の生物試料の入手しやすさによって選択されるだろう。

【0039】

多くの生物試料を用いてGDF-15の存在を確認してよく、例えば、血液、滑液、軟

50

膜、血清、血漿、リンパ液、糞便、尿、涙、唾液、脳脊髄液、口腔スワブ、痰、または組織である。好ましくは、生物試料は、心臓発作の直後または心臓発作に関連する症状の直後の患者から採取した血液を含む。

#### 【0040】

本発明の1つの発明的発見は、GDF-15が特定の個体の肺負荷を予測するために有用な定量を含み、このことは、医療専門家が急性心不全などの潜在的心臓発作を積極的に治療できるようにする。

#### 【0041】

一般的に、一度AIRマーカーまたは多型の存在が決定されると、医師または患者または他の研究者は、結果を知らされてよい。特異的に結果を、他の研究者または医師または患者へ伝える、または送信することができる送信可能形式の情報に型変換することができる。そのような形式は変えることができ、有形または無形であることができる。個別に検定した結果を、記述文、図、写真、チャート、画像または任意の他の視覚形態に具体化することができる。例えば、GDF-15のレベルに関する記述は、試験結果の表示に有用である。これらの記述および視覚形態は、紙などの有形媒体、フロッピーディスク、コンパクトディスク、その他などのコンピュータ可読媒体、または無形媒体、例えば、電子メールまたはインターネットもしくはインターネット上の電子メールもしくはウェブサイトの形の電子媒体上に記録することができる。さらに、結果を音声の形で記録し、任意の適した媒体、例えば、アナログまたはデジタルケーブル回線、光ファイバーケーブル、その他を経由し、電話、ファクシミリ、ワイヤレス携帯電話、インターネット電話などを使って転送することができる。そのような形（有形および無形）のすべてが「情報送信可能形式」を構成する。したがって、試験結果の情報およびデータは、世界中のどこでも生産し、異なる場所へ転送することができる。

10

20

30

#### 【0042】

##### 治療方法

開示する方法は、臨床医が患者の肺負荷の治療のための個別治療を提供することができるようになり、すなわち、セレラキシンなどの組成で患者を選択的に治療するかどうか決定できるようになる。このように、臨床医は、利益を最大にし、潜在的、致命的な心臓発作の危険性を最小限にすることができる。セレラキシンは急性心不全の治療または改善に有用であることが理解されるだろう。

30

#### 【0043】

約1から1000μg/kg被験者体重、1日あたりの範囲の量の薬学的に活性なセレラキシン（例えば、合成、組換え、アナログ、アゴニスト、その他）を供給する皮下ポンプを使って、患者を治療する。一実施形態では、セレラキシンの用量は、10、30、100および250μg/kg/日である。これらの用量は、約1、3、10、30、75または100ng/mlのセレラキシンの血清濃度になる。好ましい一実施形態では、薬学的に有効なセレラキシンまたはそのアゴニストが約30μg/kg/日で投与される。他の好ましい実施形態では、薬学的に有効なセレラキシンまたはそのアゴニストが約10から約250μg/kg/日で投与される。別の実施形態では、約0.5から約500ng/mlのセレラキシンの血清濃度を維持するようにセレラキシンの投与が継続され、より好ましくは、約0.5から約300ng/ml、最も好ましくは、約1から約10ng/mlである。最も好ましくは、10ng/ml以上のセレラキシンの血清濃度を維持するようにセレラキシンの投与が継続される。これらのセレラキシン濃度は、過剰な希釈尿の产生および付随するNDIに関連する合併症を改善または減らすことができる。好ましい実施形態では、セレラキシンはセレラキシンである。

40

#### 【0044】

##### セレラキシン組成物および製剤

セレラキシン、セレラキシンアゴニスト、および/またはセレラキシンアナログは、本開示の方法で用いられる医薬品として製剤化される。生物学的もしくは薬学的に活性なセレラキシン（例えば、合成セレラキシン、組換えセレラキシン）、またはセレラキシンア

50

ゴニスト(例えば、セレラキシンアナログまたはセレラキシン様モジュレーター)のセレラキシン受容体への結合に関連する生物学的応答を促進することができる任意の組成または化合物を、本開示における医薬品として用いることができる。製剤および投与の技術に関する一般的な詳細は、科学文献( Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Easton Pa. を参照されたい)に十分に記載されている。薬学的に活性なセレラキシンを含む医薬品製剤を、医薬品製造のための当技術分野で知られている任意の方法に従って調製することができる。本開示の方法で用いられる薬学的に活性なセレラキシンまたはセレラキシンアゴニストを含む製剤は、これらに限定されないが、静脈内、皮下、筋肉内、舌下、鼻腔内、大脳内、脳室内、局所、経口、硝子体内、および吸入を含む従来の許容される任意の方法による投与のために製剤化される。説明に役立つ実例を以下に記載する。好ましい一実施形態では、セレラキシンは静脈内、または皮下に投与される。

#### 【0045】

セレラキシンが静脈内または皮下注射(例えば、注入、ボーラス、ポンプ)によって与えられた場合、薬学的に活性なセレラキシンまたは薬学的に有効なセレラキシンアゴニストを含む製剤は、滅菌注射用水溶性または油性懸濁液などの滅菌注射用製剤の形にすることができる。この懸濁液は、それらに適した分散剤または湿潤剤、および上記の懸濁化剤を用いた既知の技術に従って製剤化することができる。滅菌注射用製剤は、非毒性の非経口的に許容できる希釈剤または溶媒の、滅菌注射用溶液または懸濁液にすることもできる。許容できるビヒクルおよび溶媒中で用いることができるものは、水およびリンガー溶液、等張塩化ナトリウムである。さらに、滅菌固定化油は、従来通り溶媒または懸濁化剤として用いることができる。この目的のために、合成モノまたはジグリセリドを含む任意の無刺激固定化油を用いることができる。さらに、オレイン酸などの脂肪酸を注射用の調製に、同様に用いることができる。

#### 【0046】

本開示の水溶性懸濁液は、水溶性懸濁液の製造に適した賦形剤との混合剤中にセレラキシンを含む。そのような賦形剤は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴムおよびアカシアゴムなどの懸濁化剤、および天然に存在するリン脂質(例えば、レシチン)、アルキレンオキシドの脂肪酸との縮合物(例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン)、エチレンオキシドの長鎖脂肪族アルコールとの縮合物(例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール)、エチレンオキシドの脂肪酸およびヘキシトール由来の部分エステルとの縮合物(例えば、ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート(monooleate))、またはエチレンオキシドの脂肪酸およびヘキシトール無水物由来の部分エステルとの縮合物(例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート(monooleate))などの分散剤または湿潤剤を含む。水溶性懸濁液は、エチルまたはn-プロピルp-ヒドロキシ安息香酸などの1つまたは複数の防腐剤、1つまたは複数の着色剤、1つまたは複数の香味剤、およびスクロース、アスパルテームまたはサッカリンなどの1つまたは複数の甘味剤を含むこともできる。製剤は、浸透圧を調整することができる。

#### 【0047】

油懸濁液は、ラッカセイ油、オリーブ油、ゴマ油またはココナッツ油などの植物油、または液体パラフィンなどの鉱油中にセレラキシンを懸濁することによって製剤化することができる。油懸濁液は、蜜ろう、固体パラフィンまたはセチルアルコールなどの増粘剤を含むことができる。味の良い経口剤を提供するために、甘味剤を追加することができる。これらの製剤は、アスコルビン酸などの抗酸化物質の添加によって保存することができる。

#### 【0048】

水の添加による水溶性懸濁液の調製に適した本開示の分散性粉末および顆粒は、分散剤、懸濁剤および/または湿潤剤、および1つまたは複数の防腐剤との混合剤中のセレラキシンから製剤化することができる。適した分散剤または湿潤剤および懸濁化剤は、上記の

10

20

30

40

50

開示によって例示される。追加の賦形剤、例えば甘味剤、香味剤および着色剤も存在することができる

【0049】

本開示の医薬品製剤は、水中油型エマルションの形であることもできる。油性相は、オリーブ油またはラッカセイ油などの植物油、液体パラフィンなどの鉛油、またはこれらの混合物であることができる。適した乳化剤は、アカシアゴムおよびトラガカントゴムなどの天然に存在するゴム、ダイズレシチンなどの天然に存在するリン脂質、ソルビタンモノオレエート (mono-oleate) などの脂肪酸およびヘキシトール無水物由来のエステルまたは部分エステル、およびポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート (mono-oleate) などの、これらの部分エステルのエチレンオキシドとの縮合生成物を含む。

10

【0050】

セレラキシン製剤の投与および投与計画

本開示の方法で用いられる薬学的に活性なセレラキシンまたは薬学的に有効なセレラキシンアゴニストを含む製剤を、これらに限定されないが、静脈内、皮下、筋肉内、舌下、鼻腔内、大脳内、脳室内、局所、経口、硝子体内、および吸入を含む従来の許容される任意の方法で投与することができる。投与は、薬物の薬物動態および他の特性ならびに患者の健康状態で変わるだろう。一般的ガイドラインを以下に示す。

【0051】

当技術分野の状況は、個々の患者それぞれのためのセレラキシンの用量レジメンを臨床医が決定できるようにする。例示的例として、セレラキシンのために以下に提供されるガイドラインは、投薬計画、すなわち、本開示の方法を行う場合に投与される薬学的に活性なセレラキシンを含む製剤の投与計画および投与量レベル、を決定するための手引きとして用いることができる。一般的ガイドラインとして、薬学的に活性な H 1、H 2 および / または H 3 ヒトセレラキシン（例えば、合成、組換え、アナログ、アゴニスト、その他）の 1 日用量は、一般的に約 1 から 1 0 0 0  $\mu\text{g}$  / kg 被験者体重、1 日あたりの範囲の量であることが期待される。一実施形態では、セレラキシンの用量は、10、30、100 および 250  $\mu\text{g}$  / kg / 日である。別の実施形態では、これらの用量は、約 1、3、10、30、75 または 100 ng / ml のセレラキシンの血清濃度になる。好ましい一実施形態では、薬学的に有効なセレラキシンまたはそのアゴニストが約 30  $\mu\text{g}$  / kg / 日で投与される。別の好ましい実施形態では、薬学的に有効なセレラキシンまたはそのアゴニストが約 10 から約 250  $\mu\text{g}$  / kg / 日で投与される。別の実施形態では、約 0.5 から約 500 ng / ml のセレラキシンの血清濃度を維持するようにセレラキシンの投与が継続され、より好ましくは、約 0.5 から約 300 ng / ml、最も好ましくは、約 1 から約 10 ng / ml である。最も好ましくは、10 ng / ml 以上のセレラキシンの血清濃度を維持するようにセレラキシンの投与が継続される。したがって、本開示の方法は、セレラキシンのこれらの血清濃度になる投与を含む。これらのセレラキシン濃度は、これらに限定されないが、脳浮腫、眼浮腫、肺の、肺疾患の浮腫、腹水、遺伝性血管浮腫、末梢浮腫、および全身浮腫を含む浮腫に関連する体液貯留を改善または減らすことができる。さらに、これらのセレラキシン濃度は、NDI における希釈尿の慢性排出を改善または減らすことができる。被験者によって、セレラキシン投与は、一定期間または被験者で安定を達成するために必要な長さの間維持される。例えば、セレラキシン治療の時間は、好ましくは約 4 時間から約 96 時間の範囲に保たれ、より好ましくは患者によって 8 時間から約 72 時間、および必要に応じて 1 回または複数回の任意選択の反復治療である。

20

【0052】

浮腫および / または NDI を患う患者に必要とされかつ許容される用量および頻度に応じて、セレラキシン製剤の単回または反復投与を行ってよい。製剤は、状態を効率的に改善するために十分な量のセレラキシンを提供するべきである。セレラキシンの静脈内皮下投与のための典型的な医薬品製剤は、特異的な療法次第であるだろう。例えば、セレラキシンを、単独療法（すなわち、他の併用薬がない）または他の薬剤との併用療法によって

30

40

50

患者に投与してよい。一実施形態では、セレラキシンを単独療法で毎日患者に投与する。別の実施形態では、セレラキシンを別の薬物との併用療法で毎日患者に投与する。特に、患者に投与するセレラキシンの用量および頻度は、年齢、病気の程度、薬物耐性、ならびに併用薬および状態によって変えてよい。

【0053】

本開示の1つまたは複数の実施形態の詳細は、上記の付隨の記載で説明される。しかし本明細書に記載のものと類似または同等な任意の方法および材料を、本開示の実施または試験に使うことができ、好ましい方法および材料をここで記載する。本開示の他の特徴、目的、および長所は、記載および特許請求の範囲から明らかになるだろう。明細書および添付の特許請求の範囲において、単数形は、内容が明らかに別の方法で指示しなければ、複数の指示対象を含む。他の方法で定義されない限り、本明細書で用いられるすべての技術的および科学的用語は、本開示が属する当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を持つ。本開示におけるすべての数値範囲は、それらの間に特異的に示されたかどうか、端点ならびにすべての整数、小数、および分数を含める。本明細書に引用されるすべての特許および出版物は、参照により組み込むものとする。以下の実施例は、本開示の好ましい実施形態をより十分に説明するために示される。これらの例は、添付の特許請求の範囲によって定義されたように、開示された特許問題の範囲を限定するように決して解釈されるべきではない。

10

【実施例1】

【0054】

20

急性心不全患者のGDF-15レベルへ及ぼすセレラキシンの影響

国際的、二重盲検、プラセボ対照試験 (Teerlink et al., Lancet 381:29-39 (2013))において、その内容全体は、本明細書に参照により組み込むものとし、胸部X線検査で肺うっ血を示し、急性心不全で入院した患者を、プラセボまたは30 μg / kg / 日のセレラキシンの48時間静脈内注入に無作為に割り付ける。病院到着からセレラキシンの静脈内投与までの経過時間は9時間未満であった。セレラキシンは、視力スケール曲線下面積によって評価された主要呼吸困難有効性評価項目を有意に改良し (p = 0.007)、患者は一般的な健康の改善を報告した。平均入院日数は、セレラキシン治療群で、0.9日有意に減少し (p = 0.04)、集中治療または冠状疾患集中治療室での時間は、0.4日減少した (p = 0.03)。セレラキシンの48時間注入は、180日における心血管系死亡を減少させた (p = 0.28)。急性心不全患者の過去のインターベンション転帰試験は、退院後死亡率に有益な影響を示さなかった。

30

【0055】

セレラキシンまたはプラセボ (ベースライン) の開始前、および2、5、14、および60日目に、バイオマーカー分析用血液試料を血清分離試験管に回収した。血清試料を30から60分以内の収集で遠心分離し、血餅の可視化後、-20°で4週間まで凍結し、次いで分析を実行するまで-80°で保存するために、ドライアイス上で中央検査室へ送った。Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Germany) が提供した市販前の電気化学発光イムノアッセイを用いて試料中のGDF-15を測定した。同一患者由来のすべての試料を、認定された中央検査室で同時に、患者の治療および研究データを知らされていない職員が分析した。GDF-15を報告する範囲は、400から20,000 ng / Lであった。

40

【0056】

呼吸困難を報告した患者の変化を、5日目までの視覚アナログスケールスコアにおけるベースラインからの変化の面積として、5日目まで評価し、死亡または心不全の悪化 (呼吸困難VAS AUC) に続く、考え得る最悪のスコアを割り当てた。60日目までの再入院の理由および180日までの死亡原因を、盲検の評価項目委員会が中心的に判断した。

【0057】

ベースライン患者臨床所見および日常業務検査室測定を用いて、ベースラインから2日

50

目および14日目までのGDF-15レベルの変化のために、多変量線形回帰モデルを開発し、プラセボ群に、モデルの保持基準として $p < 0.10$ の変数減少法を用いた。欠けている予測を連続型変数の治療群特異的な中央値およびカテゴリー変数のモードに帰属した。GDF-15値を対数変換した。関連性の直線性を、制限3次スプラインを用いて評価し、有意の非直線性が見出された場合( $p < 0.10$ )、単変量赤池情報量規準に基づいて、二分された、三分された、直線状スプラインまたは二次もしくは三次の多項式変換を選択した。5重クロスバリデーション由来の調整済み $R^2$ を示す。バイオマーカー変化に及ぼすセレラキシンの影響を、プラセボ群におけるこれらの変化の予測を共変量について多変量調整し、すべての患者において、次いで見積もった。

【0058】

10

【表1】

表1. セレラキシンは急性心不全患者のGDF-15を低下させる

GDF-15 (ng/l)	中央値プラ セボ (n=546)	中央値セレ ラキシン (n=530)	幾何平均プ ラセボ	幾何平均変化 vs ベー スライン			治療間
				幾何平均 セレラキ シン	プラセボ	セレラキ シン	
ベースラ イン	3998.5	4115.5	4273.3	4380.3			
2日目	3617.0	3341.0	3855.6	3395.6	-9.6%*	-21.6%*	<0.0001
5日目	3616.0	3584.5	3902.8	3690.3	-8.3%*	-14.95*	0.0244
14日目	3505.0	3296.0	3622.9	3397.0	-15.7%*	-20.2%*	0.0534
60日目	3092.0	2981.5	3208.7	3114.0	-22.5%*	-26.4%*	0.3255

\* 95%信頼区間の幾何平均を用いた、 $P > 0.05$  vs ベースライン

20

30

【0059】

2日目および5日目に、標準治療に加えてプラセボで治療した患者より、標準治療に加えてセレラキシンで治療した急性心不全患者で、GDF-15レベルは有意に低下した。14日目に、GDF-15レベルは、統計学的有意に近づいた。

【0060】

セレラキシン治療のベースラインから2日目までのGDF-15レベルの変化に影響を及ぼす因子を表2に示す。GDF-15の増加は、加齢、末梢血管疾患、大動脈弁狭窄症およびベースラインでの低いNT-pro-BNPと関連した。

【0061】

40

【表2-1】

表2. セレラキシン治療の2日目のGDF-15レベルに影響を及ぼす因子

特性	平均変化 (95% CI)	p-値
年齢(y)	0.022 (0.012,0.031)	0.000
男性	-0.106 (-0.322,0.110)	0.334
US-様	-0.082 (-0.305,0.141)	0.469
最近の駆出率(%)	0.007 (-0.001,0.014)	0.086
1ヶ月前のCHF	-0.123 (-0.359,0.113)	0.305
30日前のNYHAクラス	.	0.264
.	-0.224 (-0.514,0.065)	
.	0.012 (-0.252,0.276)	
.	-0.194 (-0.547,0.158)	
体重(kg)	0 (-0.006,0.006)	0.947
身長(cm)	-0.009 (-0.021,0.002)	0.095
肥満度指数(kg/m <sup>2</sup> )	0.005 (-0.012,0.023)	0.550
収縮期BP(mmHg)	0.003 (-0.003,0.009)	0.317
拡張期BP(mmHg)	0 (-0.008,0.008)	0.970
脈圧(mmHg)	0.003 (-0.003,0.009)	0.339
心拍(数)(拍動/分)	0.006 (-0.001,0.013)	0.087
呼吸数(呼吸/分)	0.018 (-0.005,0.041)	0.119
体温(°C)	-0.125 (-0.404,0.155)	0.382
この1年のHF入院	-0.172 (-0.400,0.056)	0.140
この1年のHF入院回数	-0.103 (-0.221,0.014)	0.084
浮腫(0-3)	.	0.077
.	-0.263 (-0.564,0.037)	
.	-0.296 (-0.597,0.005)	
.	0.008 (-0.322,0.337)	
起座呼吸(0-3)	.	0.666
.	0.239 (-0.329,0.806)	
.	0.209 (-0.332,0.749)	
.	0.308 (-0.234,0.849)	
起座呼吸(0-3)(順序)	0.063 (-0.061,0.187)	0.318
ラ音(0-3)	.	0.015

【0062】

【表 2 - 2】

.	0.479 (-0.003,0.961)	
.	0.694 (0.215,1.173)	
.	0.731 (0.138,1.324)	
頸静脈圧(0-2)	.	0.289
.	0.054 (-0.207,0.315)	
.	-0.144 (-0.427,0.140)	
労作時呼吸困難(0-3)	.	0.227
.	-1.085 (-2.888,0.719)	
.	-1.224 (-2.973,0.525)	
.	-1.022 (-2.765,0.721)	
VAS による呼吸困難(mm)	0.005 (-0.001,0.010)	0.086
脂質異常症	-0.235 (-0.445,-0.025)	0.028
糖尿病	-0.074 (-0.284,0.137)	0.492
高血圧	-0.193 (-0.512,0.126)	0.236
脳卒中または他の脳血管イベント	-0.171 (-0.465,0.122)	0.253
喘息性気管支炎または COPD	0.047 (-0.247,0.341)	0.753
虚血性心疾患	-0.118 (-0.329,0.093)	0.272
心筋梗塞	0.011 (-0.209,0.231)	0.923
冠動脈バイパス移植	-0.199 (-0.461,0.064)	0.138
経皮的インターベンション	-0.146 (-0.390,0.097)	0.240
狭心症	0.008 (-0.322,0.339)	0.960
CCS クラス(I/II/III/IV)	.	0.562
.	0.066 (-0.354,0.485)	
.	0.06 (-0.951,1.072)	
.	-1.749 (-4.214,0.717)	
末梢血管疾患	-0.001 (-0.303,0.300)	0.993
薬物乱用	-0.902 (-1.566,-0.238)	0.008
喫煙	-0.451 (-0.764,-0.138)	0.005
鬱病	0.295 (-0.168,0.758)	0.211
甲状腺機能低下症	-0.173 (-0.583,0.237)	0.407
甲状腺機能亢進症	-0.324 (-0.900,0.251)	0.270
悪性腫瘍	-0.187 (-0.607,0.233)	0.382

【 0 0 6 3 】

【表2-3】

僧帽弁狭窄症	-0.218 (-1.231,0.795)	0.673
僧帽弁逆流症	-0.093 (-0.319,0.133)	0.421
大動脈弁狭窄症	-0.242 (-0.757,0.273)	0.357
大動脈弁逆流症	0.526 (0.013,1.039)	0.044
心房細動または粗動の病歴	-0.046 (-0.256,0.165)	0.672
スクリーニング時の心房細動/粗動	0.09 (-0.122,0.303)	0.405
ヘモグロビン(g/dL)	0.069 (0.010,0.128)	0.023
ヘマトクリット(%)	0.02 (0.001,0.040)	0.038
クレアチニン(μ mol/L)	0 (-0.003,0.003)	0.934
BUN(mmol/L)	-0.015 (-0.041,0.011)	0.271
eGFR	0 (-0.007,0.006)	0.886
尿酸(μ mol/L)	0 (-0.001,0.000)	0.366
総ビリルビン(μ mol/L)	-0.006 (-0.018,0.005)	0.254
アラニンアミノトランスフェラーゼ(U/L)	-0.032 (-0.153,0.090)	0.611
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ U/L	0.107 (-0.051,0.265)	0.183
アルカリホスファターゼ(U/L)	-0.002 (-0.004,0.001)	0.175
リン酸塩(mmol/L)	0.137 (-0.363,0.637)	0.591
ナトリウム(mmol/L)	0.001 (-0.028,0.031)	0.931
カリウム(mmol/L)	-0.058 (-0.245,0.128)	0.540
カルシウム(mmol/L)	-0.261 (-0.962,0.439)	0.465
総コレステロール(mmol/L)	0.093 (0.003,0.182)	0.043
グルコース(mmol/L)	0.024 (-0.002,0.050)	0.073
アルブミン(g/L)	0 (-0.024,0.024)	0.989
総タンパク質(g/L)	-0.007 (-0.025,0.010)	0.424
トロポニンT(μ g/L)	0.137 (0.051,0.223)	0.002
NT-proBNP(ng/L)	-0.036 (-0.116,0.044)	0.374

## 【0064】

2日目および14日目のGDF-15の変化は、急性心不全患者の有害転帰と関連した。表3に示すように、心不全または腎不全による再入院、60日目的心血管系死亡、および180日目的心血管系死亡は、セレラキシン治療後2日目および14日目のGDF-15レベルに観察された変化と強く、独立して関連していた。ベースラインから2日目および14日目までのGDF-15の増加は、これらの負の転帰の非常に有意な予測であった。

## 【0065】

10

20

30

40

【表3】

表3. 急性心不全患者における負の転帰と GDF-15 との関連性

呼吸困難								
バイオマーカー	未調整		セレラキシン無しで多変量調整した		セレラキシン無しで多変量調整した		セレラキシン無しで調整した多変量バイオマーカー	
GDF-15	平均変化	p-値	平均変化	p-値	平均変化	p-値	平均変化	p-値
ベースライ ン (n= 1088)	-200.0 (-375.7,- 24.33)	0.026	-79.85 (-236.4, 76.720)	0.318	-84.67 (-240.7, 71.381)	0.288	-88.91 (-246.1, 68.324)	0.268
2日目の変 化(BL に対 する D2 の 割合) (n= 1073)		0.000		0.002		0.005		0.193
	-222.0 (-316.5,- 127.5)	.	-135.0 (-212.9,- 56.96)	.	-123.0 (-201.5,- 44.42)	.	-59.36 (- 146.6,27.868)	.
再入院または 60 日目までの心血管系死亡								
バイオマーカー	未調整		セレラキシン無しで多変量調整した		セレラキシン無しで多変量調整した		セレラキシン無しで調整した多変量バイオマーカー	
GDF-15	HR (95% CI)	p-値	HR (95% CI)	p-値	HR (95% CI)	p-値	HR (95% CI)	p-値
	1.341 (1.143,1.573)	0.000	1.076 (0.901,1.285)	0.421	1.076 (0.901,1.285)	0.420	1.083 (0.904,1.296)	0.388
	1.473 (1.150,1.887)	0.002	1.493 (1.147,1.942)	0.003	1.505 (1.154,1.963)	0.003	1.442 (1.068,1.947)	0.017
	1.879 (1.471,2.401)	0.000	1.722 (1.346,2.204)	0.000	1.727 (1.349,2.212)	0.000	1.675 (1.299,2.160)	0.000
180 日目までの心血管系死亡								
バイオマーカー	未調整		セレラキシン無しで多変量調整した		セレラキシン無しで多変量調整した		セレラキシン無しで調整した多変量バイオマーカー	
	HR (95% CI)	p-値	HR (95% CI)	p-値	HR (95% CI)	p-値	HR (95% CI)	p-値
	1.597 (1.311,1.945)	0.000	1.120 (0.883,1.422)	0.350	1.121 (0.885,1.422)	0.344	1.143 (0.897,1.458)	0.280
	1.493 (1.090,2.044)	0.012	1.475 (1.037,2.100)	0.031	1.414 (0.989,2.021)	0.058	1.195 (0.805,1.774)	0.376
	1.986 (1.469,2.685)	0.000	1.953 (1.395,2.734)	0.000	1.943 (1.381,2.734)	0.000	1.876 (1.323,2.661)	0.000

【0066】

データの多変量分析は、GDF-15 のベースラインレベルが、心不全または腎不全による再入院の割合増加と関連しなかったこと、または、60日目または180日目までの心血管系死亡と関連しなかったことを実証した。ベースラインから2日目まで、および14日目までのGDF-15の変化は、これらの転帰の非常に有意な予測であった。セレラキシン治療は、14日目までのGDF-15の急速な減少および60日目にGDF-15が低下へ向かう傾向と関連した。両セレラキシン治療を取り入れた180日目の心血管系死亡率の多変量分析および2日目までのGDF-15の変化は、表4に示すように、GDF-15の減少は、セレラキシン治療が急性心不全患者の死亡率を減少させたという過去の所見の部分的な原因となるということを実証する。14日目までのGDF-15変化を180日目のCV死亡率の多変量モデルに含めることは、推定セレラキシン危険率を0.

10

20

30

40

50

753まで減少させ、一方GDF-15変化の影響は、非常に有意のままであり、GDF-15の変化は、セレラキシン治療の180日目の死亡率の減少との関連性を介在してもよいことが示唆される。

【0067】

【表4】

表4. 180日目の心血管系死亡率の多変量分析

共変量	HR	95% CI	p 値
US-様	0.465	(0.293,0.738)	0.001
収縮期 BP(mmHg)	0.981	(0.965,0.997)	0.018
起座呼吸(0-3)、順序	1.630	(1.212,2.191)	0.001
狭心症	1.735	(0.945,3.186)	0.076
甲状腺機能亢進症	2.222	(0.877,5.632)	0.092
僧帽弁逆流症	0.749	(0.459,1.221)	0.246
スクリーニング時の心房細動/粗動	1.513	(0.959,2.386)	0.075
BUN(mmol/L)	1.089	(1.041,1.139)	0.000
ナトリウム(mmol/L)	0.928	(0.882,0.977)	0.004
カリウム(mmol/L)	1.241	(0.892,1.728)	0.200
カルシウム(mmol/L)	0.215	(0.045,1.033)	0.055
総タンパク質(g/L)	1.039	(0.996,1.083)	0.074
トロポニン T( $\mu$ g/L)	1.396	(1.176,1.656)	0.000
NT-proBNP(ng/L)	1.352	(1.110,1.645)	0.003
ベースライン GDF-15	1.180	(0.900,1.546)	0.231
GDF-15 の変化(BLに対するD2の割合)	1.414	(0.989,2.021)	0.058
セレラキシン	0.763	(0.481,1.208)	0.248

【実施例2】

【0068】

急性心不全患者のGDF-15および肺血行動態に及ぼすセレラキシンの影響

別の研究で、セレラキシンの肺血行動態効果（例えば、肺負荷）を急性心不全で入院している患者において評価した（Ponikowski et al., Eur Heart J 35:431-441 (2014)）。患者をセレラキシンまたはプラセボに1:1に無作為に割り付け、最初に安定化させ、次いで30  $\mu$ g / kg / 日の用量で20時間、セレラキシンを注入した。提示期間の肺うっ血は、必要とされる選択基準であった。入院からセレラキシンの静脈内注入開始までの経過時間は29時間未満であった。セレラキシンは迅速な血行動態効果を発揮し、変化は、最初の注入の30分以内に検出され、治療期間を通して維持された。セレラキシンは、治

10

20

30

40

50

療の最初の 8 時間 (  $p = 0.0001$  ) 、ならびに 8 から 20 時間の間 (  $p = 0.03$  ) 、ベースラインからの時間加重平均肺毛細血管楔入圧を減少させた。セレラキシンは、全身血管抵抗および肺血管抵抗の同時減少と共に、収縮期および拡張期肺動脈圧 (  $p = 0.01$  、 4 時間ににおいて ) の両者を有意に低下させた。

#### 【 0069 】

血清分離試験管に回収した血液試料で GDF - 15 を測定した。血清試料を 2 時間以内で遠心分離し、血漿を -20 以下で保存し、続いて分析を実行するまで -80 で保存した。Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Germany) が提供した市販前の電気化学発光イムノアッセイを用いて試料中の GDF - 15 を測定した。同一患者由来のすべての試料を、認定された中央検査室で同時に、患者の治療および研究データを知らされていない職員が分析した。 10

#### 【 0070 】

肺毛細血管楔入圧 ( PCWP ) 、平均肺動脈圧 ( PAP ) 、および肺血管抵抗 ( PVR ) を NTProBNP および GDF - 15 と同様に測定した。 GDF - 15 および NTProBNP の、これらの血行動態指標との関連性について分析を行った。

#### 【 0071 】

上記、実施例 1 のように、 GDF - 15 レベルは、セレラキシン対プラセボ ( ベースライン中央値はそれぞれ 3262 および 3192 ng / ml 、図 1 に示す ) は、有意に減少した。図 1 に示すように、幾何平均はベースラインから 16 % 減少し、一方プラセボはベースラインから 3 % の増加を示した。このことは、セレラキシンに有利な 18 % の治療の違いの結果になった (  $p = 0.0204$  ) 。さらに、 20 時間の注入時間にわたって、肺毛細血管楔入圧 ( PCWP ) 、平均肺動脈圧 ( PAP ) 、および肺血管抵抗 ( PVR ) の改善を、 NTProBNP および GDF - 15 と同様に測定した。 GDF - 15 および NTProBNP の、これらの血行動態指標との関連性について分析を行った。 20

#### 【 0072 】

20 時間の注入時間にわたって、 PCWP 、 PAP および PVR の改善は、プラセボと比較して、セレラキシンに有利に働いた。 ( 全  $p$  値  $< 0.005$  ) 。 NTProBNP もセレラキシンによって有意に減少した (  $p = 0.037$  ) 。

#### 【 0073 】

ベースラインおよび 20 時間の GDF - 15 レベルは、 PAP ( 図 2A ~ B 、  $p < 0.025$  ) 、 PVR ( 図 3A ~ B 、  $p < 0.001$  ) および NTProBNP ( 図 4A ~ B 、  $p < 0.001$  ) と有意に関連した。 GDF - 15 レベルは、 20 時間の PCWP と有意に関連したが、ベースラインでは関連しなかった (  $p < 0.02$  、  $p = 0.7$  ) 。ベースラインおよび 20 時間の NTProBNP レベルの関連性は、 PAP 、 PVR 、または PCWP について統計的に有意ではなかった。 30

#### 【 0074 】

この例は、セレラキシンが GDF - 15 レベルを減少させただけでなく、追加のセレラキシンが肺血行動態に好ましい影響を及ぼし、 NTProBNP および GDF - 15 を有意に減少させたことを示す。ベースラインおよび 20 時間の GDF - 15 レベルは、 NTProBNP およびいくつかの肺血行動態指標と有意に関連していた。その一方、 NTProBNP は、ベースラインまたは 20 時間の肺指標と有意に関連しなかった。したがって、ベースラインの GDF - 15 ならびに GDF - 15 の時間に伴う減少は、肺負荷を予測するためには NTProBNP より有用である。 40

#### 【 0075 】

次いで全体的に見て、本発明者らは驚くべきことに、ベースライン、およびその後 14 日目までの間の GDF - 15 レベルを用いて患者の肺負荷を予測することができることを発見した。肺負荷の増加は心イベントを導く可能性があることはよく知られているので、このことは次に、潜在的心イベントを予測できるようになる。結果として、ヘルスケア提供者は、適切に行動し、セレラキシンなどの GDF - 15 を低下させる組成物を投与することができる。 50

## 【実施例3】

## 【0076】

## 統計的方法

ベースライン患者臨床特徴および日常業務検査室測定を用いて、ベースラインから2日目および14日目までのバイオマーカーレベルの変化のために、多変量線形回帰モデルを開発し、プラセボ群に、モデルの保持基準として  $p < 0.10$  の変数減少法を用いた。欠けている予測を連続型変数の治療群特異的な中央値およびカテゴリー変数のモードに帰属した。GDF-15値を対数変換した。バイオマーカー有無のモデルの一貫性および比較可能性を与えるために、後の測定が入手可能ではない場合、線形補間を用いてまたは最終観測値延長法として、欠けている追跡バイオマーカーレベルを帰属した。関連性の直線性を、制限3次スプラインを用いて評価し、有意の非直線性が見出された場合 ( $p < 0.10$ )、単変量赤池情報量規準に基づいて、二分された、三分された、直線状スプラインまたは二次もしくは三次の多項式変換を選択した。GDF-15変化に及ぼすセレラキシンの影響を、プラセボ群におけるこれらの変化の予測を共変量についての多変量調整し、次いで見積もった。結果は以下の表5および6に記載される。

## 【0077】

ベースラインバイオマーカー値および変化の臨床転帰との関連性は、呼吸困難VAS AUCの線形回帰および60日目的心不全もしくは腎不全による再入院、または心血管系死亡、および180日目的心血管系死亡率のコックス回帰モデルで見積もった。GDF-15値の転帰との関連性の直線性を上記のように評価した。バイオマーカーの時間に伴う平均変化を、欠測値補完をせずに、分散モデルの反復測定分析から見積もった。

## 【0078】

【表5】

表5. セレラキシンの残留効果および2日目までのベースラインからのGDF-15の変化が180日目までのCV死亡に及ぼす影響

共変量	変化のためのHR	HR	95% CI	p-値
セレラキシンおよびベースラインから2日目までのGDF-15の変化				
ベースライン GDF-15	2倍	1.720	(1.369, 2.162)	<0.001
GDF-15の変化(BLに対するD2の割合)	2倍	1.430	(1.042, 1.964)	0.027
セレラキシン		0.832	(0.664, 1.043)	0.111
セレラキシン、ベースラインから2日目までのGDF-15の変化、および転帰の多変量予測				
US-様		0.465	(0.293, 0.738)	0.001
収縮期BP、mmHg	1	0.981	(0.965, 0.997)	0.018
起座呼吸(0-3)、順序	1	1.630	(1.212, 2.191)	0.001
狭心症		1.735	(0.945, 3.186)	0.076
甲状腺機能亢進症		2.222	(0.877, 5.632)	0.092
僧帽弁逆流症		0.749	(0.459, 1.221)	0.246
スクリーニング時的心房細動/粗動		1.513	(0.959, 2.386)	0.075
BUN、mmol/L	1	1.089	(1.041, 1.139)	<0.001
ナトリウム、mmol/L	1	0.928	(0.882, 0.977)	0.004
カリウム、mmol/L	1	1.241	(0.892, 1.728)	0.200
カルシウム、mmol/L	1	0.215	(0.045, 1.033)	0.055
総タンパク質、g/L	1	1.039	(0.996, 1.083)	0.074
トロポニンT、 $\mu$ g/L	2倍	1.396	(1.176, 1.656)	<0.001
NT-proBNP、ng/L	2倍	1.352	(1.110, 1.645)	0.003
ベースライン GDF-15	2倍	1.180	(0.900, 1.546)	0.231
GDF-15の変化(BLに対するD2の割合)	2倍	1.414	(0.989, 2.021)	0.058
セレラキシン		0.763	(0.481, 1.208)	0.248
C-統計量 (95% CI)	全体的に見て観察された: 0.815 (0.773, 0.857) 交差検証された: 0.793 (0.700, 0.885)			

【0079】

セレラキシンの影響を追加した場合、ベースライン共変量の調整後でさえ ( $P = 0.058$ )、2日目までのGDF-15の変化は、180日目のCV死亡率を依然として有意に予測した ( $P = 0.027$ )。他のベースライン共変量を調整しないと、セレラキシン治療は、180日目のCV死亡率の0.619 (95% CI 0.403 ~ 0.950)

10

20

30

40

50

の危険率と関連し、2日目までのGDF-15変化の調整は、観察されたセレラキシン効果を減少させた(HR 0.832、95%CI 0.664～1.043)。類似する減少が、ベースライン共変量の多変量調整(それぞれ、HR 0.665、95%CI 0.430～1.028、および0.763、95%CI 0.481～1.208)の後に観察された。

【0080】

以下の表6に記載するように14日目までのGDF-15変化について、類似の結果が観察された。これらの結果は、GDF-15の変化が、セレラキシン治療の180日目の死亡率の減少との関連性を介在するということを示唆する。

【0081】

## 【表6】

表6. セレラキシンの残留効果および14日目までのベースラインからのGDF-15の変化が180日目までのCV死亡に及ぼす影響

共変量調整	変化のためのHR	HR	95% CI	p-値
セレラキシンおよびベースラインから14日目までのGDF-15の変化[1]				
ベースライン GDF-15	2倍	1.947	(1.496, 2.533)	<0.001
D14 での GDF-15 の変化(BL に対する D14 の割合)	2倍	1.960	(1.448, 2.655)	<0.001
セレラキシン		0.847	(0.659, 1.087)	0.192
セレラキシン、ベースラインから14日目までのGDF-15の変化、および転帰の多変量予測[1]				
US-様		0.414	(0.245, 0.702)	0.001
収縮期 BP、mmHg	1	0.980	(0.963, 0.998)	0.029
起座呼吸(0-3)、順序	1	1.652	(1.185, 2.302)	0.003
狭心症		1.587	(0.768, 3.281)	0.213
甲状腺機能亢進症		1.996	(0.608, 6.550)	0.254
僧帽弁逆流症		0.756	(0.439, 1.301)	0.312
スクリーニング時の心房細動/粗動		1.346	(0.805, 2.250)	0.257
BUN、mmol/L	1	1.108	(1.056, 1.162)	<0.001
ナトリウム、mmol/L	1	0.941	(0.886, 0.999)	0.045
カリウム、mmol/L	1	1.195	(0.819, 1.743)	0.356
カルシウム、mmol/L	1	0.348	(0.050, 2.408)	0.285
総タンパク質、g/L	1	1.032	(0.984, 1.081)	0.196
トロポニン T、 $\mu$ g/L	2倍	1.419	(1.169, 1.723)	<0.001
NT-proBNP、ng/L	2倍	1.332	(1.080, 1.643)	0.007
ベースライン GDF-15	2倍	1.348	(0.984, 1.848)	0.063
D14 での GDF-15 の変化(BL に対する D14 の割合)	2倍	1.943	(1.381, 2.734)	<0.001
セレラキシン		0.753	(0.454, 1.249)	0.272
C-統計量 (95% CI)	全体的に見て観察された: 0.835 (0.789, 0.880) 交差検証された: 0.779 (0.654, 0.903)			

[1]死亡した、または14日目以前に打ち切られた患者は除外した(N=1037)

## 【0082】

上に示すように、セレラキシンは、2日目および5日目に統計的に有意で、14日目に有意な差異の傾向がある (p = 0.0534) GDF-15 の大幅な減少と関連したが、このことはベースラインの特徴の調整後に減少した。セレラキシンの GDF-15 への影響は、特に重要であると思われる。しかし、GDF-15 レベルは、LVAD 移植および末期HF心臓除荷の後に減少したことが報告されており、セレラキシンは、心血管系疾患者の GDF-15 を減少させることを示す最初の薬物療法であると思われる。アンジオテンシン受容体ブロッカー療法は、CHF の GDF-15 を減少させず、集中スタチン療

10

20

30

40

50

法は、他の臨床試験の GDF - 15 に影響を及ぼさなかった。

本発明は次の実施態様を含む。

[ 1 ]

肺うっ血を有する患者を選択的に治療する方法であって、

肺うっ血患者において肺負荷を評価することと、

前記患者にセレラキシンの治療有効量をその後投与することとを含む方法。

[ 2 ]

前記評価することが、前記患者由来の生物試料の GDF - 15 の有無をアッセイすることを含む、上記 [ 1 ] に記載の方法。

10

[ 3 ]

前記患者で 1 ng / ml から 100 ng / ml の血清濃度を維持するためにセレラキシンが投与される、上記 [ 1 ] または [ 2 ] に記載の方法。

[ 4 ]

前記患者で 10 ng / ml の血清濃度を維持するためにセレラキシンが投与される、上記 [ 1 ] から [ 3 ] のいずれかに記載の方法。

[ 5 ]

セレラキシンが 3 µg / kg / 日から 150 µg / kg / 日の注入速度で皮下に投与される、上記 [ 1 ] から [ 4 ] のいずれかに記載の方法。

20

[ 6 ]

セレラキシンが 30 µg / kg / 日の注入速度で皮下に投与される、上記 [ 1 ] から [ 5 ] のいずれかに記載の方法。

[ 7 ]

セレラキシンが少なくとも 24 時間連続的に投与される、上記 [ 1 ] から [ 6 ] のいずれかに記載の方法。

[ 8 ]

患者の肺負荷を選択的に減少させる方法であって、

患者から生物試料を得ることと、

前記生物試料中の GDF - 15 の量を測定することと、

30

GDF - 15 の上昇レベルに応じて、治療有効量のセレラキシンをその後投与することとを含む方法。

[ 9 ]

前記患者で 1 ng / ml から 100 ng / ml の血清濃度を維持するためにセレラキシンが投与される、上記 [ 8 ] に記載の方法。

[ 10 ]

前記患者で 10 ng / ml の血清濃度を維持するためにセレラキシンが投与される、上記 [ 8 ] または [ 9 ] に記載の方法。

40

[ 11 ]

セレラキシンが 3 µg / kg / 日から 150 µg / kg / 日の注入速度で皮下に投与される、上記 [ 8 ] から [ 10 ] のいずれかに記載の方法。

[ 12 ]

セレラキシンが 30 µg / kg / 日の注入速度で皮下に投与される、上記 [ 8 ] から [ 11 ] のいずれかに記載の方法。

[ 13 ]

セレラキシンが少なくとも 24 時間連続的に投与される、上記 [ 8 ] から [ 12 ] のいずれかに記載の方法。

[ 14 ]

心不全患者の死亡率の予後を決定する方法であって、

50

患者から第1の生物試料を得ることと、  
前記第1の生物試料中のGDF-15レベルを検出することと、  
治療有効量のセレラキシンを投与することと、  
セレラキシン投与後に前記患者から第2の生物試料を得ることと、  
前記第2の生物試料中のGDF-15レベルを検出することと、  
前記第1の生物試料中のGDF-15レベルを前記第2の生物試料と比較することと、  
生存の蓋然性を予測することと  
を含む方法。

[15]

セレラキシンの投与の2、14、60または180日後に前記第2の生物試料を得る、  
上記[14]に記載の方法。

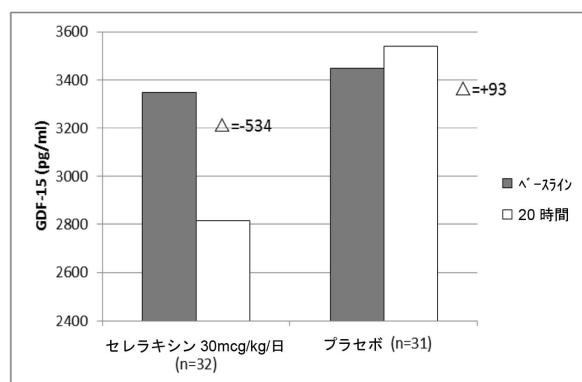
10

[16]

前記第2の生物試料中のGDF-15レベルの低下によって生存の蓋然性の上昇を予測する、  
上記[14]に記載の方法。

【図1】

図1



【図2】

図2A

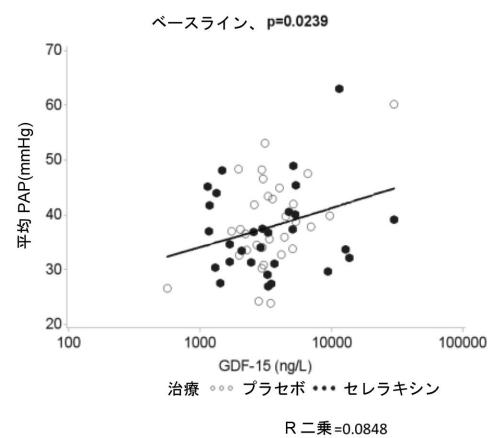
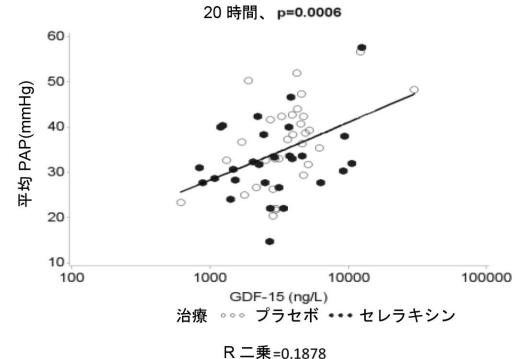


図2B



【図3】

図3A

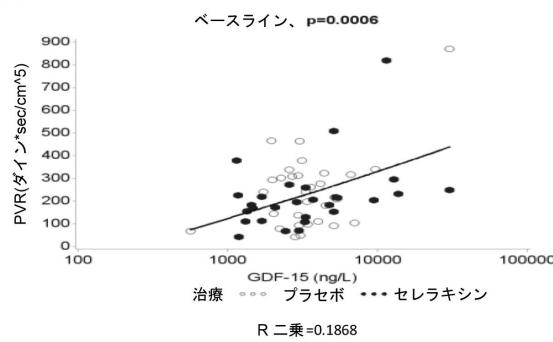
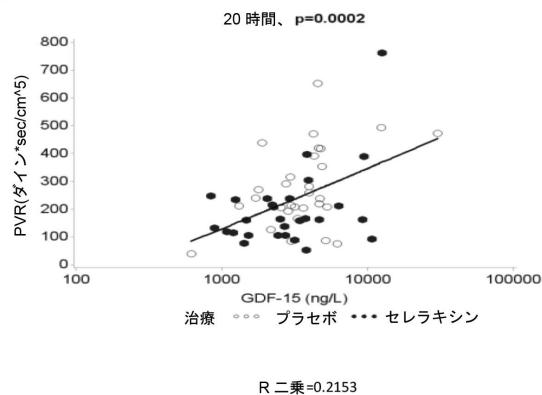


図3B



【図4】

図4A

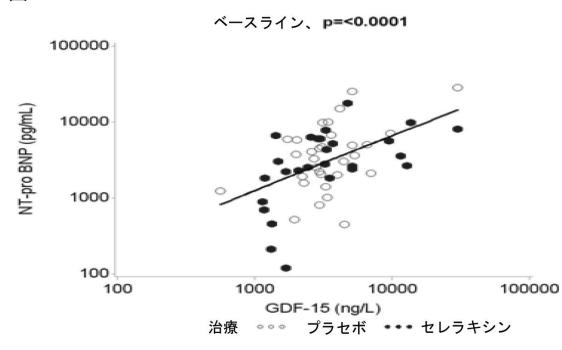
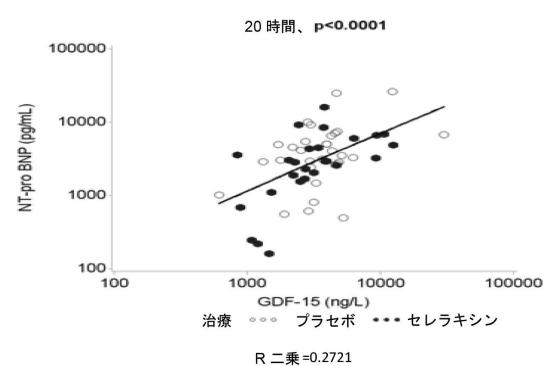


図4B



---

フロントページの続き

- (72)発明者 プリスコット, マーガレット フォーニー  
アメリカ合衆国 07936-1080 ニュージャージー州, イースト ハノーヴァー, ワン  
ヘルス プラザ, ノバルティス ファーマシューティカルズ コーポレイション内
- (72)発明者 ジャン, イーミン  
アメリカ合衆国 07936-1080 ニュージャージー州, イースト ハノーヴァー, ワン  
ヘルス プラザ, ノバルティス ファーマシューティカルズ コーポレイション内
- (72)発明者 ダールケ, マリオン  
スイス国 バーゼル ツェーハー-4056, ノバルティス キャンパス, ファブリークシュトラ  
ーセ 2, ノバルティス ファーマ アーゲー内
- (72)発明者 セヴェリン, トーマス  
スイス国 バーゼル 4056, ノバルティス キャンパス, フォーラム 1, ノバルティス フ  
ァーマ アーゲー

審査官 横田 倫子

- (56)参考文献 特表2011-520918 (JP, A)  
特表2010-528275 (JP, A)  
特開2013-040174 (JP, A)  
特表2009-545735 (JP, A)  
Curr Heart Fail Rep., 2012, Vol.9, p.337-345  
Lancet, 2013, Vol.381, p.29-39  
Eur Heart J., 2013, Vol.34, p.3128-3136

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 38/00  
A 61 P 11/00  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I )  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N )  
P u b M e d