

(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2017-523417

(P2017-523417A)

(43) 公表日 平成29年8月17日 (2017.8.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
G O 1 N 33/92 (2006.01)	G O 1 N 33/92	2 G O 4 5
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	E 4 B O 2 9
C 1 2 Q 1/44 (2006.01)	C 1 2 Q 1/44	4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/26 (2006.01)	C 1 2 Q 1/26	
C 1 2 Q 1/34 (2006.01)	C 1 2 Q 1/34	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 127 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-504379 (P2017-504379)	(71) 出願人	507030645
(86) (22) 出願日	平成27年7月28日 (2015.7.28)		メタノミクス ゲーエムペーハー
(85) 翻訳文提出日	平成29年3月15日 (2017.3.15)		ドイツ連邦共和国 10589 ベルリン
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/067301		, テゲラー ヴェーク 33
(87) 国際公開番号	W02016/016258	(71) 出願人	512127143
(87) 国際公開日	平成28年2月4日 (2016.2.4)		ルプレヒトーカールスーユニベルジテート
(31) 優先権主張番号	14178722.6		ハイデルベルク
(32) 優先日	平成26年7月28日 (2014.7.28)		ドイツ連邦共和国 69117 ハイデル
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		ベルク, グラーベンガッセ 1
(31) 優先権主張番号	62/128,554	(74) 代理人	100091096
(32) 優先日	平成27年3月5日 (2015.3.5)		弁理士 平木 祐輔
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100122389
			弁理士 新井 栄一
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 コレステロールパラメータ、スフィンゴミエリンおよび/またはトリアシルグリセロールに基づいて心不全を診断するための手段および方法

(57) 【要約】

本発明は、心不全のための診断手段および方法に関する。特に、本発明は、心不全に罹患すると疑われる被験体におけるそれを診断するための方法であって、前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンおよび/またはトリアシルグリセロールの量を決定すること、ならびにステップ(a)で決定された量と参照とを比較することによって、被験体が心不全に罹患しているかどうかを診断することを含む、前記方法に関する。さらに、本発明は、被験体が心不全に罹患しているか、またはいないかを診断するためのデバイス、ならびに一般に、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているかどうかを診断するための少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンおよび/またはトリアシルグリセロールのための酵素的検出剤の使用に関する。最後に、心不全に罹患すると疑われる被験体におけるそれを診断するためのキットが企図される。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

心不全に罹患することが疑われる被験体における心不全を診断するための方法であって、

(a)前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量を決定するステップ；ならびに

(b)ステップ(a)で決定された量を、参照と比較することによって、被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するステップを含む、前記方法。

【請求項 2】

前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量が酵素的に決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記参照が心不全に罹患することが知られる被験体または被験体群に由来するものである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量が同一である、もしくは減少することが、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較して試験試料中での量が増加することが、被験体が心不全に罹患していないことを示す、ならびに/または試験試料および参照中の総トリアシルグリセロールの量が同一である、もしくは増加することが、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較して試験試料中での量が減少することが、被験体が心不全に罹患していないことを示す、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記参照が心不全に罹患していないことが知られる被験体または被験体群に由来するものである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 6】

試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量が同一である、もしくは増加することが、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較して試験試料中での量が減少することが、被験体が心不全に罹患していることを示す、ならびに/または試験試料および参照中の総トリアシルグリセロールの量が同一である、もしくは減少することが、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較して試験試料中での量が増加することが、被験体が心不全に罹患していることを示す、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記方法が、被験体が心不全に罹患していると診断されるかどうかに基づいて被験体のための治療剤または患者健康管理手段を推奨するステップをさらに含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記試料が血液、血漿または血清試料である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記心不全が無症候性心不全である、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステリルエステルの量の前記酵素的決定が、

a)コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；

b) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを

含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c)生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップ

を含む、請求項 2～9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記方法が、

- レドックス等価物、好ましくは、 H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記レドックス等価物を中和するステップ

をさらに含む、請求項 1 0 に記載の方法。

10

【請求項 1 2】

前記 H_2O_2 の前記中和が、生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定することを含む、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記方法が、ステップa)の前に決定されたコレステロール由来 H_2O_2 およびステップc)で決定されたコレステリルエステル由来 H_2O_2 の量に基づく、総コレステリルエステルと総コレステロールとの比の生成をさらに含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記方法が、コレステリルエステルとコレステロールとの比を参照と比較することによって、被験体が心不全に罹患するか否かを診断するステップをさらに含む、請求項 1 3 に記載の方法。

20

【請求項 1 5】

少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステロールの量の前記酵素的決定が、

a) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

b)生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップ

を含む、請求項 2～9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

総スフィンゴミエリンの量の前記酵素的決定が、

30

a)ホスホリルコリンへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をスフィンゴミエリナーゼと接触させるステップ；

b)コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ホスホリルコリンを含む試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c)生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップ

を含む、請求項 2～9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記方法が、

- コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

40

- 前記 H_2O_2 を中和するステップ

をさらに含む、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

総トリアシルグリセロールの量の前記酵素的決定が、

a)グリセロールおよび遊離脂肪酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をリパーゼと接触させるステップ；

b)グリセロール-3-リン酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロールを含む試料をグリセロキナーゼと接触させるステップ；

50

c) ジヒドロキシアセトンリン酸および H_2O_2 への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロール-3-リン酸を含む試料を、グリセロリン酸オキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

d) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、請求項2～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

被験体が心不全に罹患するか否かを診断するためのデバイスであって、

a) 好ましくは、試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量を決定することができるような検出器と共に配置された、前記バイオマーカーの量のための酵素的検出剤を含む分析ユニット；ならびに

b) 分析ユニットから受信したバイオマーカーの決定された量と、保存された参照との請求項4または6に記載の比較を実行するアルゴリズムを明白に埋め込んだ、好ましくは請求項3または5で定義された、データプロセッサと、保存された参照を含むデータベースとを含む評価ユニットを含む、前記デバイス。

【請求項20】

被験体の試料中で、被験体が心不全に罹患するか否かを診断するための、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤の使用。

【請求項21】

少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤を含む、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患するか否かを診断するために適合化されたキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、心不全のための診断手段および方法に関する。特に、本発明は、心不全に罹患すると疑われる被験体におけるそれを診断するための方法であって、前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンおよび/または総トリアシルグリセロールの量を決定すること、ならびにステップ(a)で決定された量と参照とを比較することによって、被験体が心不全に罹患しているかどうかを診断することを含む、前記方法に関する。さらに、本発明は、被験体が心不全に罹患しているか、またはいないかを診断するためのデバイス、ならびに一般に、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているかどうかを診断するための少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンおよび/または総トリアシルグリセロールのための酵素的検出剤の使用に関する。最後に、心不全に罹患すると疑われる被験体におけるそれを診断するためのキットが企図される。

【0002】

心不全は近代医学において重篤な問題である。心臓の機能障害は、生命に関わる状態を生じ、心不全を患う患者にとって不快をもたらす。心不全は、右心又は左心のそれぞれに影響を及ぼす可能性があり、強度も異なりうる。ニューヨーク心臓協会(New York Heart association: NYHA)によって最初に分類システムが開発された。この分類システムによると、軽症の心不全はクラスIの症例として分類される。これらの患者は、過度の運動時にもみ症候を示す。中程度の症例は、より少ない運動時にさえより顕著な症候を示す(クラスII及びIII)が、クラスIVは、安静時にさえ症候を示す(New York Heart Association. Diseases of the heart and blood vessels. Nomenclature and criteria for diagnosis, 6th ed. Boston: Little, Brown and co, 1964;114)。

【0003】

心不全の有病率は、過去数年にわたって、欧米先進国の集団において着実に増加した。

この増加の理由の1つは、近代医学による平均余命の上昇にあるとみられている。しかしながら、心不全による死亡率は、診断及び治療方法の改善によってさらに低下しうる。いわゆる「フラミンガム(Framingham)」研究は、1950～1969年と1990～1999年の時間枠で比較した場合に、5年死亡率が男性では70%から59%に、女性では57%から45%に低下したことを報告した(Fox C.S. et al., *Circulation* 110, 522-527, 2004)。「メイヨー(Mayo)」研究は、1979～1984年と比較して1996～2000年の時間枠では、男性では65%から50%に、女性では51%から46%に低下したことを示している(Roger VL, Weston SA, Redfield MM, et al., *JAMA-J. Am. Med. Assoc.* 292, 344-350, 2004)。このような死亡率の低下にもかかわらず、心不全による全体的な死亡率は依然として主要な社会的負担である。ACE阻害剤治療を受けたNYHAクラスII～III患者の1年死亡率は依然として9～12%(SOLVD 研究; The SOLVD Investigators, *NEJM* 325, 293-302, 1991; The SOLVD Investigators, *New Engl. J. Med.* 327, 685-691, 1992)であり、ACE阻害剤治療を受けていないNYHAクラスIVの場合には52%(Consensus研究; The Consensus Trial Study Group, *New Engl. J. Med.* 316, 1429-1435, 1987)であり、ACE阻害剤治療を受けていないNYHAクラスIVの場合には52%(Consensus研究; The Consensus Trial Study Group, *New Engl. J. Med.* 316, 1429-1435, 1987)である。Zordokyは保存された駆出率を有する心不全患者の代謝解析を開示している(Zordoky et al. (2015) *Metabolomic Fingerprint of Heart Failure with Preserved Ejection Fraction*. *PLoS ONE* 10(5):e0124844. doi:10.1371/journal.pone.0124844)。

10

【0004】

20

心エコー検査などの診断技術は、個々の調査者の経験に依存し、かくして、常に確実であるわけではない。さらに、これらの技術は、早期の心不全を診断することができないことがある。アミノ末端プロ脳性ナトリウム利尿ペプチド(NT-proBNP)などの脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)などの心臓ホルモンに基づく生化学アッセイは、早期段階の心不全における感度の欠如によって制限され(Rodeheffer, R.J., *J. Am. Coll. Cardiol.* 44, 740-749, 2004を参照されたい)、また、腎不全などの他の疾患および障害によっても影響されるか、または患者の全身状態に依存する(Balion C.ら、2013. *AHRQ Comparative Effectiveness Reviews*. Agency for Healthcare Research and Quality (US), Rockville (MD))。多くの患者は明白な症候性疾患(心不全)の発症前に左心室収縮機能障害(ALVSD)の無症候期を通して進行するため、これは大きな医学的問題である。無症候性患者における薬物療法は臨床転帰に正に影響することが示されたため、処置可能な早期段階の確実な診断、結果として、ガイドラインに基づく処置は罹患率および死亡率を低下させると期待され、高い健康経済的影響を有する。それにも拘わらず、脳性ナトリウム利尿ペプチドは、心不全を生化学的に評価するための現在の至適基準である。無症候性患者群において、BNPに関する27の診断オッズ比は、心不全の検出において85%の感度および84%の特異度に匹敵する(Ewald 2008, *Intern Med J* 38 (2):101-13)。

30

【0005】

しかしながら、心不全を有する患者を確実に同定および処置する、特に、早期の心不全、すなわち、早期NYHAステージI～III、特に、NYHAステージIで患者を同定することが現代医学の目標である。したがって、心不全を確実に診断するための手段および方法は、非常に望ましいが、未だ利用可能ではない。

40

【発明の概要】

【0006】

本発明の基礎となる技術的問題は、上記の必要性に適合する手段および方法の提供と見ることができる。前記技術的問題は、特許請求の範囲および以下で特徴付けられる実施形態によって解決される。

【0007】

本発明は、心不全に罹患すると疑われる被験体における心不全を診断するための方法であって、

(a)前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総

50

スフィンゴミエリンおよび/または総トリアシルグリセロールの量を決定すること；ならびに

(b)ステップ(a)で決定された量と、参照とを比較することによって、被験体が心不全に罹患しているかどうかを診断することを含む、前記方法に関する。

【0008】

本発明により言及される方法は、本質的に上述のステップよりなる方法又はさらなるステップを含む方法を包含する。しかしながら、本方法は、好ましい実施形態では、*ex vivo*で行われる方法、すなわち、人体又は動物体に対して実施されない方法であると理解されなければならない。本方法は、好ましくは自動化により支援することができる。

10

【0009】

本明細書において用いられる「診断する」という用語は、被験体が心不全に罹患しているかどうかを評価することを指す。したがって、該疾患の不在、及び特に存在を診断することが想定される。当業者であれば理解するであろうが、そのような評価は、検査される被験体の100%に対して正しいことが好ましいが、通常はそうでない可能性がある。しかしながら、この用語は、統計学的に有意な一部の被験体を正確に評価でき、従って診断できることを必要とする。当業者であれば、労苦もなく、種々の周知の統計学的評価ツールを用いて、例えば、信頼区間の決定、p値の決定、スチューデントのt検定、マン・ホイットニー検定などを行って、その一部が統計学的に有意であるかどうかを判定することが可能である。詳細は、Dowdy and Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, New York 1983に見いだされる。好ましい信頼区間は、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、特に少なくとも90%、又は少なくとも95%である。さらに好ましい信頼区間は少なくとも99%又は99.9%である。p値は、好ましくは、0.2、0.1、又は0.05である。或いはp値は0.01であり得る。

20

【0010】

この用語は、心不全又はその症候の個々の診断、並びに患者の継続的なモニタリングを含む。モニタリング、すなわち種々の時点における心不全又はそれに付随する症候の存在又は不在の診断には、心不全に罹患していることがわかっている患者のモニタリング、並びに心不全、特に症候性心不全を発症するリスクを有することがわかっている被験体のモニタリングが含まれる。さらに、モニタリングは、患者の治療が成功したかどうか、又は少なくとも心不全の症候が特定の治療によって時間とともに改善しうるかどうかを判定するためにも用いられる。さらにこの用語は、心不全のためのニューヨーク心臓協会(NYHA)クラスに従って被験体を分類することも含む。この分類に従って、心不全を4つのクラスに細分類することができる。クラスIを示す被験体は、激しい運動時を除いて活動に制限がない。クラスIIを示す被験体は、活動にわずかで軽度の制限を示すが、安静時又は軽度の動作時には苦痛がない。クラスIIIを示す被験体は、どのような活動にも顕著な制限を示すが、安静時にのみ苦痛がない。クラスIVを示す被験体は、安静時にさえ苦痛があり、症候を示す。好ましくは、本発明に従って判定する心不全は、無症候性心不全、すなわちNYHAクラスIの心不全、又は症候性心不全、すなわち少なくともNYHAクラスII及び/若しくはIIIの心不全である。

30

【0011】

米国心臓協会(American Heart Association)によって別のステージ決定システムが提供されている。心不全の4つのステージが細分類されている。ステージA：将来的にHFを発症するリスクが高いが、機能的又は器質的心疾患がない患者。ステージB：器質的心疾患があるが、いずれのステージの症候もない患者。ステージC：原因となっている器質的心臓問題の関係で心不全の以前の又は現在の症候を示すが、治療により管理されている。ステージD：病院での支援、心臓移植又は緩和ケアが必要な進行疾患である。本発明の方法はまたこのシステムによる心不全のステージ決定のために用いることもでき、好ましくは、同定されたバイオマーカーによって、ステージA～Cの心不全を診断したり、無症候性のステージA及びBと、より重症なステージC、すなわち症候性心不全とを区別することが可能

40

となることが理解されよう。

【0012】

本明細書において用いられる「心不全」という用語は、心臓の機能障害に関する。好ましくは、本明細書で言及する心不全はうっ血性心不全である。この障害は、心臓からの血液の駆出率が有意に低下し、従って血流が低下する収縮機能障害でありうる。具体的には、収縮期心不全は、有意に低下した左心室駆出率(LVEF)、好ましくは55%未満、及び最も好ましくは40-35%未満の駆出率を特徴とする。あるいは、この障害は、拡張機能障害、すなわち心室が適切に弛緩できないことでありうる。後者は通常、心室壁の硬化を伴う。拡張機能障害は、心室の不十分な充満を引き起こし、それゆえ一般的には血流についての結果を生じる。従って、拡張機能障害はまた拡張終期圧の上昇を生じ、結末は収縮機能障害の場合と同等である(左心不全における肺水腫、右心不全における末梢浮腫)。従って、心不全は、右心(肺循環)、左心(体循環)、又は両方に影響を及ぼしうる。心機能の障害、すなわち心不全を測定するための技術は当技術分野で周知であり、心エコー検査、電気生理学、血管造影、及び血中のペプチドバイオマーカー(脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)又はそのプロペプチド(NT-proBNP)のN-末端断片など)の測定が含まれる。心臓の機能障害は、永続的に生じることもあるし、又は特定のストレス若しくは運動条件下でのみ生じることもあることが理解されよう。症候の強度に応じて、心不全は本明細書の他の箇所で記載したように分類することができる。心不全の典型的な症候としては、呼吸困難、胸痛、めまい、錯乱、肺及び/又は末梢浮腫が挙げられる。

10

【0013】

症候の発生及びその重度は、心不全の重度、心不全の特徴及び原因、収縮期又は拡張期又は限定した(すなわち右心若しくは左心に限局した)心不全に応じて異なることが理解されよう。心不全のさらなる症候は当技術分野で周知であり、医学の標準的なテキスト、例えばStedman又はBrunnwaldなどに記載されている。

20

【0014】

心不全は、好ましくは、多くの心血管疾患の最終的な共通の段階であり、最終段階にある患者が、心臓の構造または機能の異常の結果生じる運動不耐および/または体液鬱滞の典型的な兆候および症状を示す臨床症候群と定義される。本明細書の以下にさらに概略されるように、本発明の文脈における用語「心不全」は、症候性形態および無症候性形態の両方の心不全を包含する。したがって、例えば、無症候性左心室収縮機能障害または無症候性拡張機能障害を診断することができる。

30

【0015】

異なる病態生理を有する2つのサブセットの心不全が、各心拍と共に押し出される左心室中の血液の総量のパーセンテージである左心室駆出率(LVEF)の測定に基づいて記載されている：左心室駆出率が低下した心不全(HFrEF)および左心室駆出率が保持された心不全(HFpEF)。

【0016】

好ましくは、本明細書で用いられる心不全は、収縮期心不全または駆出率が低下した心不全(HFrEF)に関する。

【0017】

収縮期心不全としても知られる、HFrEFは、心筋収縮の低下および左心室の排出を特徴とする。「左心室駆出率の低下」という表現は、好ましくは、50%未満の左心室駆出率(LVEF)に関する。さらに、LVEFは40%未満、特に、35%未満であることが想定される。また、LVEFは軽度に低下してもよい。かくして、HFrEFはまた、50%未満であるが、35%よりは大きい左心室駆出率を有する心不全であってもよい。

40

【0018】

好ましくは、前記HFrEFは、虚血性心筋症(ICM)または拡張型心筋症(DCM)と関連する。ICMは、冠動脈疾患および/または以前の梗塞の結果生じ、狭窄した、または遮断された冠動脈が血流を心筋に制限して組織が損傷されるようになる場合に起こる。DCMは、感染(心筋炎)、高血圧、心臓弁疾患などの非虚血の原因または特発性の原因を有し、左心室の拡張

50

大、拡張または弱体化を特徴とする。

【0019】

ICMに罹患する被験体は、好ましくは、LVEFの低下および50%を超える冠動脈狭窄を示す。DCMに罹患する被験体は、好ましくは、LVEFの低下および50%未満の冠動脈狭窄を示す。特に、DCMに罹患する被験体は、好ましくは、LVEFの低下、50%未満の冠動脈狭窄および55mmを超える左心室の壁の厚さを示す。さらに、DCMに罹患する被験体は、LVEFの低下、50%未満の冠動脈狭窄および55mmより大きい左心室拡張終期直径を示してもよい。

【0020】

本発明の基礎となる試験の文脈においては、本明細書に記載のバイオマーカーおよびバイオマーカーの組合せが35%未満のLVEFを有する、HFrEF、特に、ICMを診断するために好ましく用いられることが示された。かくして、診断される心不全は、実施形態において、35%未満のLVEFを有するHFrEF、特に、ICMである。 10

【0021】

本発明の方法によるHFrEFは、症候性または無症候性であってもよい。したがって、本発明は、好ましくは、症候性または無症候性収縮機能障害の診断を可能にする。

【0022】

上記のように、診断される心不全は、拡張期心不全としても知られる、左心室駆出率が保持された心不全(HFpEF)であってもよい。用語「左心室駆出率が保持された」とは、好ましくは、50%より大きいLVEFを指す。また、60%より大きいLVEFが想定される。あるいは、用語「左心室駆出率が保持された」とは、好ましくは、55%より大きいLVEFを指す。HFpEFは、左心室の弛緩および拡張の攪乱を特徴とする。拡張期左心室機能障害は、LV肥大および心筋線維化の結果生じ、心筋硬直の増加をもたらす。筋肉が硬くなり、特に、拡張期に弛緩するその能力のいくらかを失う。結果として、罹患した心室は拡張期の血液による充填に問題があり、左心室充填圧の上昇をもたらす。本発明の方法によるHFpEFは、症候性または無症候性であってもよい。したがって、本発明は、好ましくは、症候性または無症候性拡張機能障害の診断を可能にする。 20

【0023】

好ましくは、HFpEFに罹患している被験体は、12mmより大きい心中隔の厚さを有してもよい。あるいは、被験体は、11mmより大きい心中隔の厚さを有してもよい。

【0024】

さらに、本明細書で用いられる心不全は、症候性または無症候性心不全に関する。したがって、本発明の方法は、症候性心不全、特に、無症候性心不全の診断を可能にする。かくして、本発明は、特に、症候性または無症候性CHF、HFrEF、DCM、ICMおよび/またはHFpEFの診断を可能にする。 30

【0025】

無症候性心不全は、好ましくは、NYHAクラスIによる心不全である。症候性心不全は、好ましくは、NYHAクラスII、IIIおよび/またはVIによる、特に、NYHAクラスIIおよび/またはIIIによる心不全である。

【0026】

本明細書で用いられる用語「試料」とは、体液、好ましくは、血液、血漿、血清、唾液もしくは尿に由来する試料、または例えば、細胞、組織もしくは臓器、特に、心臓からの生検により誘導される試料を指す。より好ましくは、試料は、血液、血漿または血清試料、最も好ましくは、血漿試料である。上記の試料は、本明細書に他の場所で特定される被験体に由来するものであってもよい。上記の様々な型の生物試料を取得するための技術は、当業界で周知である。例えば、血液試料は採血により取得することができるが、組織または臓器試料は、例えば、生検により取得される。 40

【0027】

本発明の実施形態において、試料は、絶食試料、特に、絶食血液、血漿または血清試料である。かくして、好ましくは、試料は、絶食被験体から得られる。絶食被験体は、特に、試験される試料を取得する前に、水以外の食物および飲料を控えた被験体である。好ま 50

しくは、絶食被験体は、試験される試料を取得する前に少なくとも8時間にわたって、水以外の食品および飲料を控えている。より好ましくは、試料は、一晩の絶食の後に被験体から得られたものである。好ましくは、前記絶食は、試料採取の前に少なくとも1時間、より好ましくは、試料採取の前に少なくとも30min、さらにより好ましくは、試料採取の前に少なくとも15min、最も好ましくは、試料が採取されるまで継続している。

【0028】

上記の試料を、好ましくは、それらを本発明の方法のために用いる前に予備処理する。以下により詳細に説明されるように、前記予備処理は、化合物を放出もしくは分離させる、または過剰の材料もしくは廃棄物を除去するのに必要とされる処理を含んでもよい。さらに、予備処理は、試料の滅菌および/または望ましくない細胞、細菌もしくはウイルスなどの夾雑物の除去を目的とするものであってもよい。好適な技術は、遠心分離、抽出、例えば、順相クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィーもしくは薄層クロマトグラフィーによる分画、限外濾過、タンパク質沈降、次いで、濾過および精製ならびに/または化合物の濃縮を含む。さらに、他の予備処理を実行して、化合物分析にとって好適な形態または濃度の化合物を提供する。例えば、本発明の方法においてガスクロマトグラフィー質量分析を用いる場合、前記ガスクロマトグラフィーの前に化合物を誘導体化することが必要である。酵素的決定のためには、本明細書の他の場所で考察されるか、または添付の実施例に記載されるようなさらなる試料予備処理が必要となり得る。別の種類の予備処理は、好適な保存条件下での試料の保存であってもよい。本明細書で言及される保存条件としては、保存温度、圧力、湿度、時間ならびに保存剤による保存試料の処理が挙げられる。好適かつ必要な予備処理はまた、本発明の方法を実行するために用いられる手段に依存し、当業者には周知である。以前に記載されたように予備処理された試料も、本発明にしたがって用いられる用語「試料」に含まれる。

【0029】

コレステロールパラメータ、総コレステロールおよび総コレステリルエステルの場合、血液の輸送リポタンパク質、例えば、高密度、低密度または超低密度リポタンパク質(HDL、LDLまたはVLDL)を形成するアポリポタンパク質から前記コレステロールおよびコレステリルエステルを遊離させることが必要であり得る。さらに、試料を、例えば、遠心分離および/または分画化により、HDL、LDLおよび/またはVLDLについて濃縮することができる。

【0030】

かくして、本発明にしたがって言及される試料は、総スフィンゴミエリンの量を表す上記の技術のいずれか1つによって得られるスフィンゴミエリンのサブ画分を含んでもよい。同様に、コレステロールパラメータまたは総トリアシルグリセロールのサブ画分を、試料として用いることができる。また、総コレステリルエステルのサブ画分を試料として用いることができる。さらに、本発明による試料はまた、前記総スフィンゴミエリンまたはコレステロールパラメータまたは総トリアシルグリセロールの量を表す、スフィンゴミエリンまたはコレステロールパラメータまたはトリアシルグリセロールに由来する誘導体を含んでもよい。またさらに、本発明による試料は、前記総コレステリルエステルの量を表す総コレステリルエステルに由来する誘導体を含んでもよい。特に、以下の実施例3に記載のように、スフィンゴミエリンの典型的な誘導体は、0-メチル-スフィンゴシン、トレオ-スフィンゴシン、エリスロ-スフィンゴシンおよび/または1-ヒドロキシ-2-アミノ(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンなどの、化学量論様式で全てのスフィンゴミエリンから取得することができる分子であってもよい。さらに、誘導体化の後に、超長鎖脂肪酸(好ましくは、飽和またはモノ不飽和)は、主にスフィンゴミエリンから生じ、かくして、決定される誘導体として用いることもできる。特に、以下の実施例5に記載のように、本発明によるコレステロールパラメータとしてのコレステロールを、コレステリルエステルの加水分解によって取得することができる。そのような加水分解を、エステラーゼ酵素もしくはコレステリルエステルを加水分解することができる代替的な酵素を用いて酵素的に、または非酵素的に実施することができる。そのような加水分解を実施した後、コレステリルエステルから遊離したコレステロールの量は、同じ試料中のコレステリルエステルの総量

を表す。

【0031】

本明細書において用いられる「被験体」という用語は、動物、好ましくは哺乳動物を指す。被験体は、より好ましくは霊長類であり、最も好ましくはヒトである。好ましくは、被験体は、心不全に罹患していることが疑われ、より好ましくは被験体は、該疾患に伴う症候の一部又はすべてを既に示しうるか、或いは他のバイオマーカー、例えばナトリウム利尿ペプチド、特にNT-proBNPにより心不全に罹患していると提案された被験体でありうる。しかし、心不全に罹患していることが疑われる被験体として、リスク群に属している被験体、又は疾患スクリーニングプロジェクト若しくは方策に含まれている被験体も包含される。したがって、検査される被験体は、好ましくは成人被験体であり、より好ましくは、35～100歳、40～90歳、45～80歳、45～75歳、40～70歳または50～70歳の年齢の被験体でありうる。より好ましくは、被験体は、NYHAクラスIの症候を示している無症候性の被験体であるか、又はNYHAクラスII及び/若しくはIIIの症候を示している症候性の被験体である。さらに、被験体はまた、好ましくは、拡張型または虚血性心筋症のような収縮機能不全による収縮期心不全を示す。しかしながら被験体は、好ましくは、上記疾患及び障害以外は見かけ上健康である。特に、被験体は、NYHAクラスIV患者の症候を示さないか、又はサンプル取得前の最近4ヶ月以内に卒中、心筋梗塞に罹患していないか、又は急性若しくは慢性炎症性疾患及び悪性腫瘍に罹患していないことが好ましい。さらに被験体は、サンプル取得前の最近4週間以内に安定した薬物治療を受けていることが好ましい。

10

【0032】

好ましい実施形態においては、被験体は女性である。別の好ましい実施形態においては、被験体は男性である。

20

【0033】

好ましくは、被験体は過体重であってもよい。過体重である被験体は、好ましくは、 28.0kg/m^2 より高い、特に、 30.0kg/m^2 より高い体格指数(BMI)を有する。

【0034】

また好ましくは、被験体は過体重ではない。過体重ではない被験体は、好ましくは、 28.0kg/m^2 未満、特に、 25.0kg/m^2 未満の体格指数(BMI)を有する。

【0035】

本発明にしたがって試験される被験体は、好ましくは、心不全の症状を示す。この場合、特に、被験体が症候性心不全(または例えば、症候性HFrEF、DCM、ICMもしくはHFpEF)に罹患するかどうか診断される。より好ましくは、被験体は心不全の症状を示さない。この場合、無症候性心不全が診断される。この場合、特に、被験体が無症候性心不全(または無症候性HFrEF、DCM、ICMもしくはHFpEF)に罹患するかどうか診断される。しかしながら、疾患の非存在を診断することも想定される。

30

【0036】

高齢および/または過体重の被験体においては、NT-proBNPおよびBNPは心不全に関する確実性の低いマーカーであると報告されている。したがって、被験体は高齢または過体重であってもよい。一実施形態においては、被験体は、60歳を超える、特に、70歳を超える年齢である。さらに別の実施形態においては、被験体は、 28.0kg/m^2 より高い、特に、 30.0kg/m^2 より高い体格指数(BMI)を有する。

40

【0037】

実施形態において、試験される被験体は、 $28\text{m}^2/\text{kg}$ より大きい、好ましくは、 $30\text{m}^2/\text{kg}$ より大きい体格指数を有する。さらにより好ましくは、被験体は男性でもある。有利には、本明細書で言及されるバイオマーカーの使用は、前記被験体における偽陰性の診断検査の比率の低下を可能にする。

【0038】

別の実施形態においては、試験される被験体は女性である。好ましくは、被験体はまた、 $30\text{m}^2/\text{kg}$ 未満、さらにより好ましくは、 $28\text{m}^2/\text{kg}$ 未満の体格指数を有する。有利には、本明細書で言及されるバイオマーカーの使用は、前記被験体における偽陽性の診断検査の比

50

率の低下を可能にする。

【0039】

用語「スフィンゴミエリンの総量」は、調査しようとする試料中に存在するスフィンゴミエリン全体の量を指す。スフィンゴミエリン全体またはその量は、本明細書ではバイオマーカーと呼ばれることもある。本明細書の他の場所に記載されるように、総スフィンゴミエリンの代表的なサブ画分または誘導体はまた、スフィンゴミエリンの総量を示すバイオマーカーとして役立ち得る。

【0040】

本発明にしたがって用いられる用語「コレステロールパラメータ」は、総コレステロール、総コレステリルエステルおよび総コレステロールと総コレステリルエステルの合計パラメータからなる群から選択されるパラメータを指す。

【0041】

用語「少なくとも1つのコレステロールパラメータ」の下で、本発明の方法によれば、上記コレステロールパラメータの1つ以上を決定することができることが理解される。例えば、総コレステリルエステルの量および総コレステロールの量を(別々に)決定することができる。同様に、総コレステロールの量および総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータを決定するか、または総コレステリルエステルの量および総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータを決定することができる。さらに、総コレステロール、総コレステリルエステルおよび総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータを決定することができる。かくして、本発明の意味における少なくとも1は、好ましくは、1、2または3であってもよい。したがって、少なくとも1つのコレステロールパラメータの決定は、2つの上記のパラメータのそれぞれの組合せの決定に関する。また好ましくは、上記の3つ全てのコレステロールパラメータを決定することができる。

【0042】

より好ましくは、本発明による少なくとも1つのコレステロールパラメータは、2つのコレステロールパラメータ、総コレステリルエステルおよび総コレステロールの決定に関する。また、より好ましくは、少なくとも1つのコレステロールパラメータは、総コレステロールまたは総コレステリルエステルのみであってもよい。別の実施形態においては、本発明による少なくとも1つのコレステロールパラメータは、2つのコレステロールパラメータ、総コレステロールおよび総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータの決定に関する。

【0043】

本発明にしたがって決定される本明細書に記載の他のバイオマーカーとコレステロールパラメータとの特定の組合せは、例えば、以下の表19、20または21に開示される。好ましくは、1つ以上の以下のバイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せが、本発明の方法において用いられる(例えば、実施例9、10及び11を参照されたい)：

- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、およびNT-proBNP(実施例のセクションに記載されるパネル1 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、および総コレステロール(パネル1など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、およびNT-proBNP(パネル2 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリンおよび総コレステリルエステル(パネル2など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、およびNT-proBNP(パネル3 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、および総コレステロール(パネル3など)；
- 総スフィンゴミエリン、およびNT-proBNP(パネル4 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン(パネル4など)；
- 総コレステリルエステル、総コレステロール、およびNT-proBNP(パネル5 + NT-proBNPなど)；

NPなど)；

- 総コレステリルエステル、および総コレステロール(パネル5など)；
- 総コレステリルエステル、およびNT-proBNP(パネル6 + NT-proBNPなど)；
- 総コレステリルエステル(パネル6など)；
- 総コレステロール、およびNT-proBNP(パネル7 + NT-proBNPなど)；
- 総コレステロール(パネル7など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル8 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、総トリアシルグリセロール(パネル8など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル9 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、および総トリアシルグリセロール(パネル9など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル10 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、および総トリアシルグリセロール(パネル10など)。

10

【0044】

さらに好ましい実施形態においては、以下の組合せのバイオマーカーを用いることが想定される：

- 総スフィンゴミエリンおよび総トリアシルグリセロール(パネル11など)；
- 総スフィンゴミエリン、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル11 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総コレステロール、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総コレステロール、総トリアシルグリセロール；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、および総トリアシルグリセロール。

20

30

【0045】

特に、以下の組合せが好ましい：

- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総トリアシルグリセロール(パネル9など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総トリアシルグリセロール；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル9 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、総トリアシルグリセロール(パネル10など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル10 + NT-proBNPなど)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、総トリアシルグリセロール(パネル8など)；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総コレステロール、総トリアシルグリセロール；

40

50

- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル8 + NT-proBNPなど) ;
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総コレステロール、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP ;
- 総スフィンゴミエリンおよび総トリアシルグリセロール(パネル11など) ;
- 総スフィンゴミエリン、総トリアシルグリセロール、およびNT-proBNP(パネル11 + NT-proBNPなど)。

【0046】

パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、最も高い正の尤度比(LR+)が、LVEFが重度に低下したCHFサブグループについて観察された(サブグループ「ICM LVEF<35%」、次いで、「HFrEF LVEF<35%」)。本発明はしたがって、特に、35%より低いLVEFを有するHFrEF、特に、ICMの診断のための、好ましくはBNPまたはNT-proBNPと組み合わせた、パネル8、9、10、または11のバイオマーカーの決定を想定する。好ましくは、試験される被験体は、心不全の症状を示す。これらの群におけるこれらのパネルの使用は、高い正の尤度比を可能にする。

【0047】

軽度または無症候性の形態のCHFに関しては、最も高いLR+は、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、軽度または無症候性の形態のICM(サブグループ「ICM無症候性」および「ICM LVEF 35%~50%」)、次いで、軽度または無症候性の形態のHFrEF(サブグループ「HFrEF無症候性」および「HFrEF LVEF 35%~50%」)について観察することができた。かくして、これらのパネルは、好ましくは、無症候性である、および/または35%より高いが、50%より低いLVEFを有する患者におけるICMの診断のために用いられる。これらの群におけるこれらのパネルの使用(特に、NT-proBNPと組み合わせた)は、高い正の尤度比を可能にする。

【0048】

実施例13に与えられる有病率見積もりに基づく最も高いPPVを、「一致感度」または「一致感度+5%」の方法の1つによって決定されるカットオフ値のいずれかと組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、CHFについて観察することができた。かくして、これらのマーカーの組合せが、好ましくは、一般的な心不全の診断のために用いられる。

【0049】

NT-proBNPのみと比較して、最も高い正味の再分類指数(NRI)を、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、および10 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、サブグループ「HFpEF無症候性」次いで、「ICM症候性」において観察することができた。かくして、これらのパネル(特に、NT-proBNPと組み合わせた)は、好ましくは、無症候性患者におけるHFpEFの診断のため、または心不全の症状を示す患者におけるICMの診断のために用いられる。これらのパネルの使用は、これらの群において高いNRIを可能にする。

【0050】

HFpEFに関しては、最も高いNRIを、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、サブグループ「HFpEF無症候性」、次いで、「HFpEF」について観察することができた。かくして、これらのパネル(特に、NT-proBNPと組み合わせた)は、好ましくは、無症候性患者におけるHFpEFの診断のために用いられる。これらのパネルの使用は、これらの群において高いNRIを可能にする。

【0051】

HFpEFサブグループ「HFpEF」、「HFpEF無症候性」および「HFpEF症候性」に関しては、最も高いNRIは、パネル9 + NT-proBNPについて観察された。かくして、パネル9(+ NT-proBNP)のマーカーの組合せは、好ましくは、HFpEF、特に無症候性または症候性HFpEFの診断のために用いられる。かくして、これらのパネル(特に、NT-proBNPと組み合わせた)を、無症候性および症候性HFpEFの確実な診断のために用いることができる。特に、これらの

パネルは、高いNRIを可能にする。

【0052】

NT-proBNPのみと比較して、LR+における最も高い改善を、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、サブグループ「ICM LVEF <35%」において観察することができた。また、サブグループ「HFrEF LVEF<35%」ならびに心不全の症状を示すサブグループ(「CHF症候性」、「HFrEF症候性」、「ICM症候性」、および「DCM症候性」)は、LR+の高い改善を示す。かくして、これらのパネル(特に、NT-proBNPと組み合わせた)を、35%より低いLVEFを有するHFrEFの診断のため、ならびに症候性被験体におけるCHF、HFrEF、ICMおよびDCMの診断のために有利に用いることができる。これらの群におけるこれらのパネルの使用は、高い正の尤度比を可能にする。

10

【0053】

無症候型のHFrEFに関して、LR+における最も高い改善を、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、サブグループ「HFpEF無症候性」、次いで、サブグループ「CHF無症候性」、「HFrEF無症候性」および「ICM無症候性」において観察することができた。かくして、これらのパネル(特に、NT-proBNPと組み合わせた)を、35%より低いLVEFを有するHFrEFの診断のため、ならびに無症候性被験体におけるCHF、HFpEFおよびICMの診断のために有利に用いることができる。これらの群におけるこれらのパネルの使用は、高い正の尤度比を可能にする。

20

【0054】

LR+における最も高い改善は、多くのCHFサブグループにおける「一致感度」の方法にしたがって決定されたカットオフ値と共にパネル9 + NT-proBNPまたはパネル11 + NT-proBNPについて観察された。これは、これらのパネル(特に、NT-proBNPと組み合わせた)を、「一致感度」の方法にしたがって決定されたカットオフ値を用いた場合にCHFの診断のために確実に用いることができることを示している。

【0055】

「一致感度+5%」の方法にしたがって決定されたカットオフ値と共に、LR+における最も高い改善は、多くのCHFサブグループにおいてパネル11 + NT-proBNPについて観察された。かくして、「一致感度+5%」の方法にしたがって決定されたカットオフ値と共にパネル11(特に、NT-proBNPと組み合わせた)を、心不全の診断のために確実に用いることができる。

30

【0056】

NT-proBNPのみと比較して、PPV(正の予測値)における最も高い改善は、パネル8 + NT-proBNP、9 + NT-proBNP、10 + NT-proBNP、および11 + NT-proBNPから選択される任意のパネルを用いて、サブグループ「HFrEF」について観察された。かくして、これらのパネルの使用(特に、NT-proBNPと組み合わせた)は、PPVを有利に改善する。

【0057】

ある特定の形態の心不全(ICM、DCMなど)の診断のために用いることができるさらに好ましいマーカーの組合せは、実施例13および14に記載される。

40

【0058】

本明細書で用いられる用語「総コレステロール」とは、調査しようとする試料中に存在する全てのコレステロールを指す。前記コレステロールは、好ましくは、遊離または分子コレステロールである、すなわち、それはコレステリルエステルの場合、コレステロールにエステル化される脂肪酸などの他の分子に共有的に連結されていない。しかしながら、総コレステロールは、リポタンパク質、例えば、HDL、LDLまたはVLDL中に存在するコレステロール分子を包含する。さらに、試料中の総コレステロールの一部であるコレステロール分子を、アルブミンなどの他のタンパク質と結合させることもできる。全てのコレステロールまたはその量もまた、本明細書ではバイオマーカーと呼ばれることもある。本明細書の他の場所に記載されるように、総コレステロールの代表的なサブ画分または誘導体は

50

、コレステロールの総量を示すバイオマーカーとしても役立ち得る。

【0059】

本明細書で用いられる用語「コレステリルエステルの総量」とは、調査しようとする試料中に存在する全てのコレステリルエステルの量を指す。全てのコレステリルエステルまたはその量もまた、本明細書ではバイオマーカーと呼ばれることもある。本明細書の他の場所に記載されるように、総コレステリルエステルの代表的なサブ画分または誘導体は、コレステリルエステルの総量を示すバイオマーカーとしても役立ち得る。

【0060】

本発明によるさらなるコレステロールパラメータは、総コレステロールの量と総コレステリルエステルの量との合計、すなわち、総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータである。総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータもまた、本明細書ではバイオマーカーと呼ばれることもある。

【0061】

実施例9、10および11においては、コレステリルエステルの総量と総コレステロールの量の合計(本明細書では総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータとも呼ばれる、以前の段落を参照)を、コレステリルエステルの量に関する近似として取った。本発明の実施形態においては、コレステリルエステルの総量と総コレステロールとの量の合計を決定することによって総コレステリルエステルの量を決定することが想定される。

【0062】

本明細書で用いられる用語「トリアシルグリセロールの総量」とは、調査しようとする試料中に存在する全てのトリアシルグリセロールの量を指す。全てのトリアシルグリセロールまたはその量もまた、本明細書ではバイオマーカーと呼ばれることもある。本明細書の他の場所に記載されるように、総トリアシルグリセロールの代表的な画分または誘導体は、トリアシルグリセロールの総量を示すバイオマーカーとしても役立ち得る。

【0063】

本発明によれば、上記のバイオマーカーの任意の組合せを、本発明の方法において用いる、すなわち、決定する、好ましくは一緒に評価することができることが理解される。好ましくは、少なくとも1つのコレステロールパラメータを、総スフィンゴミエリンと一緒に用いることができる。同様に、1つ以上のコレステロールパラメータを、総トリアシルグリセロールと一緒に用いることができる。さらに、総スフィンゴミエリンを、総トリアシルグリセロールと一緒に用いることができる。さらにより好ましくは、全てのバイオマーカー、すなわち、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総スフィンゴミエリンおよび総トリアシルグリセロールと一緒に用いることができる。

【0064】

本明細書において用いられる「量の測定」という用語は、サンプル中の本発明の方法によって測定すべきバイオマーカー、すなわち総スフィンゴミエリン、少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば総コレステリルエステル)又は総トリアシルグリセリド、の少なくとも1つの特徴的特性を測定することを指す。本発明において特徴的特性とは、バイオマーカーの物理的性質及び/又は化学的性質(生化学的性質を包含する)を特徴付ける特性のことである。そのような性質としては、例えば、分子量、粘度、密度、電荷、スピン、光学活性、色、蛍光、化学発光、元素組成、化学構造、キャプチャー物質(例えば抗体、アプタマー)に結合する能力、他の化合物と反応する能力、生物学的読取り系で応答を引き起こす能力(例えば、レポーター遺伝子の誘導)などが挙げられる。該性質の値は、特徴的特性として機能でき、当技術分野で周知の技術により測定可能である。さらに、特徴的特性は、標準的操作、例えば、乗算、除算、又は対数計算のような数学的計算により、バイオマーカーの物理的性質及び/又は化学的性質の値から導かれる任意の特性でありうる。最も好ましくは、少なくとも1つの特徴的特性は、該少なくとも1つのバイオマーカー及びその量の測定及び/又は化学的同定を可能にする。従って、特性値はまた、その特性値を導いたバイオマーカーの存在量に関する情報を含むことが好ましい。例えば、

バイオマーカーの特性値は、質量スペクトルのピークでありうる。かかるピークは、バイオマーカーの特徴的な情報、すなわち m/z 情報、並びにサンプル中のそのバイオマーカーの存在量(すなわちその量)に関連する強度値を含む。

【0065】

上述したように、サンプルに含まれる該バイオマーカーは、好ましくは、本発明に従って定量的又は半定量的に測定可能である。定量的測定では、本明細書において上で言及した特徴的特性(複数可)に関して測定される値に基づいて、バイオマーカー(複数可)の絶対量若しくは正確な量が測定されるか又はバイオマーカーの相対量が測定されるかのいずれかであろう。バイオマーカーの正確な量を測定できないか又は測定しない場合、相対量を測定しうる。この場合、バイオマーカーの存在量が、該バイオマーカーを第2の量で含む第2のサンプルと対比して増加又は減少しているかどうかを、決定することが可能である。好ましい実施形態では、該バイオマーカーを含む該第2のサンプルは、本明細書の他の箇所に記載されるように計算された参照である。従って、バイオマーカーの定量的分析は、バイオマーカーの半定量的分析と呼ばれることもある分析をも包含する。

【0066】

前記のトリアシルグリセロール若しくはスフィンゴミエリン又は少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、コレステリルエステル)の総量は、総量の具体的な決定を可能にする任意の適切な検出剤または検出装置によって決定することができる。適切な検出剤(検出物質)は、好ましくは、少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、コレステリルエステル)、総スフィンゴミエリン若しくは総トリアシルグリセリド又は本明細書の他の箇所に記載されるその誘導体に特異的に結合する薬剤を含む。このような薬剤は、抗体又はアプタマーであってもよく、該抗体又はアプタマーの前記少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、コレステリルエステル)、トリアシルグリセロール又はスフィンゴミエリンへの結合は当該分野で周知の手段、例えば、フルオロフォアまたは発色団等の検出可能な標識に連結された二次若しくはさらに高次の抗体、により決定されうる。特異的抗体は、例えば、バイオマーカーを抗原として用いて当該技術分野で周知の方法により取得可能である。本明細書中で言及される抗体は、ポリクロナール抗体及びモノクロナール抗体の両方、さらにはそれらのフラグメント、例えば、抗原又はハプテンに結合可能なFv、Fab、及びF(ab)₂フラグメントを包含する。本発明はまた、所望の抗原特異性を呈する非ヒトドナー抗体のアミノ酸配列とヒトアクセプター抗体の配列とが組み合わされたヒト化ハイブリッド抗体を包含する。さらに、一本鎖抗体も包含される。ドナー配列は、通常、ドナーの少なくとも抗原結合性アミノ酸残基を含むが、ドナー抗体の他の構造上及び/又は機能上関連するアミノ酸残基をも含むうる。アプタマーは、標準的な技術により製造することができる。本明細書中で使用されるアプタマーは、特定の標的分子に結合するオリゴ核酸又はペプチド分子である(Ellington 1990, Nature 346 (6287): 818-22). Bock 1992, Nature 355 (6360): 564-6)。オリゴ核酸アプタマーは、選択ラウンドの繰り返し又はいわゆる指数関数的富化によるリガンドのシステムティックな進化によって操作される(SELEX技術)。ペプチドアプタマーは、細胞内の分子相互作用を妨げるように設計されている。ペプチドアプタマーは、通常、タンパク質足場(スキャフォールド)に両端で結合した可変ペプチドループを含む。この二重の構造的制約は、ペプチドアプタマーの結合親和性をナノモル範囲へと増大させよう。前記可変ペプチドループ長は、好ましくは10~20アミノ酸から構成され、該足場は、チオレドキシニン-Aのような改善された可溶性及びコンパクトな特性を有する任意のタンパク質であり得る。前記の特定の検出剤に基づく適当な測定方法としては、RIA(ラジオイムノアッセイ)、ELISA(酵素結合免疫吸着アッセイ)、サンドイッチ酵素免疫検査、電気化学発光イムノアッセイ例えば電気化学発光サンドイッチイムノアッセイ(ECLIA)、解離増強ランタニド蛍光イムノアッセイ(DELFIA)、シンチレーション近接アッセイ(SPA)、比濁法(turbidimetry)、比濁法(nephelometry)、ラテックス増強比濁法、固相免疫試験またはアフィマー技術に基づく試験(Avacta, US)が挙げられる。当該分野で公知のさらなる方法、例えばゲル電気泳動、2次元ゲル電気泳動、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)、ウェスタンブロッ

10

20

30

40

50

ティング、表面プラズモン共鳴、IR分光法、および質量分析法を、単独で、または上記のような標識または他の検出方法と組み合わせて使用することができる。

【0067】

トリアシルグリセロール若しくはスフィンゴミエリン、又は前記少なくとも1つのコレステロールパラメータ（例えばコレステリルエステル）の総量は、しかしながら、前記バイオマーカーの個別の検出を可能とする検出装置により決定することもできる。バイオマーカーの測定は、好ましくは、質量分析(MS)を含みうる。本明細書において用いられる質量分析には、本発明に従って測定しようとする1以上の化合物、すなわちバイオマーカーに対応する分子量(すなわち質量)又は質量変数の測定を可能にするすべての技術が含まれる。本明細書において用いられる質量分析は、好ましくは、GC-MS、LC-MS、直接注入質量分析、FT-ICR-MS、CE-MS、HPLC-MS、四重極質量分析、逐次連結質量分析、例えばMS-MS若しくはMS-MS-MS、ICP-MS、Py-MS、TOF、MALDI-TOF、又は上記技術を用いた併用手法に関する。これらの技術を適用する方法は当業者に周知である。典型的には、検出されるべき化合物はMSにおいてイオン化され、電界中に入れる。さらに、好適なデバイスは市販されている。より好ましくは、本明細書において用いられる質量分析はLC-MS及び/又はGC-MS、すなわち、前のクロマトグラフィ分離ステップと動作可能に連結された質量分析に関する。より好ましくは、本明細書において用いられる質量分析には四重極MSが含まれる。最も好ましくは、前記四重極MSは以下のように実施する(a)質量分析器の最初の分析四重極におけるイオン化により生じるイオンの質量/電荷指数(m/z)の選択、(b)衝突ガスで満たされ、衝突室として機能する、さらに次の四重極に加速電圧を印加することによる、ステップ(a)で選択されたイオンのフラグメンテーション、(c)さらに次の四重極における、ステップ(b)のフラグメンテーションプロセスにより生じるイオンの質量/電荷指数の選択であって、それにより上記方法のステップ(a)~(c)は、イオン化プロセスの結果として物質の混合物中に存在するすべてのイオンの質量/電荷指数の分析を少なくとも1回行い、それにより四重極が衝突ガスで満たされるが、加速電圧は分析中には印加されない。ステップa)におけるイオン化手法は、好ましくはエレクトロスプレーイオン化(ESI)である。また、好ましくは、ステップa)におけるイオン化手法は、大気圧化学イオン化法である(APCI)。また好ましくは、ステップa)におけるイオン化手法は、好ましくはマトリックス支援レーザー脱着/イオン化(MALDI)である。本発明において用いるべき最も好ましい質量分析についての詳細はWO 2003/073464号に見出すことができる。前記手法のいずれかによって生成されたマススペクトルに基づいて、ある化合物群の全体、すなわち少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステリルエステル、総トリアシルグリセロールまたは総スフィンゴミエリン、の量を決定することができ、例えばマススペクトルにおいて決定された前記群に属する個別の化合物の量を合計することにより決定することができる。

【0068】

より好ましくは、本明細書において言及される前記質量分析は、液体クロマトグラフィ(LC)MS及び/又はガスクロマトグラフィ(GC)MSである。本明細書において用いられる液体クロマトグラフィは、液相又は超臨界相における化合物(すなわち代謝物質)の分離を可能にするすべての技術を指す。液体クロマトグラフィは、移動相中の化合物が固定相を通過することを特徴とする。化合物が異なる速度で固定相を通過する場合には、これらは、個々の化合物の各々がその特異的な保持時間(すなわち、化合物がシステムを通過するのに必要な時間)を有するため、所定時間で分離される。本明細書において用いられる液体クロマトグラフィにはHPLCも含まれる。液体クロマトグラフィ用のデバイスは市販されており、例えばAgilent Technologies, USAから入手可能である。本発明において使用されるガスクロマトグラフィは、原理として、液体クロマトグラフィと同等に動作する。しかし、固定相を通過する液体移動相中に化合物(すなわち代謝物質)を有するのではなく、化合物は気体体積中に存在する。化合物は、固定相として固体支持体材料を含みうるカラム、又は固定相として機能する若しくはそれでコーティングされた壁を含みうるカラムを通過する。同様に、各化合物は、カラムを通過するのに要する特異的な時間を有する。さらに

ガスクロマトグラフィの場合には、好ましくは、ガスクロマトグラフィの前に化合物を誘導体化することが想定される。誘導体化の好適な技術は当技術分野で周知である。好ましくは、本発明において誘導体化は、好ましくは極性化合物のメトキシ化(methoxymation)及びトリメチルシリル化、並びに、好ましくは非極性(すなわち親油性)化合物のメチル基転移、メトキシ化(methoxymation)及びトリメチルシリル化に関する。

【0069】

質量分析技術の代替として、またはそれに加えて、以下の技術を化合物決定のために用いることができる：核磁気共鳴(NMR)、磁気共鳴画像化(MRI)、フーリエ変換赤外分析(FT-IR)、紫外線(UV)分光分析、屈折率(RI)、蛍光検出、放射化学検出、電気化学検出、光散乱(LS)、分散Raman分光分析または炎イオン検出(FID)。これらの技術は、当業者には周知であり、造作なく適用することができる。上記技術のいずれかにより生成されるスペクトルに基づいて、全ての化合物クラス、すなわち、少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステリルエステル、総トリアシルグリセロールまたは総スフィンゴミエリンの量を、例えば、質量スペクトルにおいて決定された前記クラスに属する個々の化合物の量を合計することによって決定することができる。

【0070】

本発明によるバイオマーカーを、それらを決定するために適合させたバイオセンサーによって決定することもできる。バイオセンサーは、典型的には、組織、細胞もしくは微生物などの生物センサーエレメントまたは生物センサー分子、例えば、酵素、抗体、アプタマー、受容体、アフィマー、核酸を含む。さらに、それらは、典型的には、物理的、物理化学的、光学的、電気化学的または生物学的シグナルなどの検出可能なシグナルを産生する検出器エレメントも含む。次いで、バイオセンサー読取りシステムによって前記シグナルを検出することができる。通常、検出反応を実施することができるような方法で配置された本明細書の他の場所に記載の酵素を含むバイオセンサーを、バイオマーカーの決定のために本発明にしたがって適用することができる。

【0071】

さらなる代替として、本発明のバイオマーカーを、前記バイオマーカーの代表的なサブ画分または誘導体を決定することによって決定することができる。好ましい代表的なサブ画分または誘導体は、本明細書の他の場所に開示される。典型的には、サブ画分または誘導体中に存在する分子種を、上記の質量分析技術によって、または例えば、核磁気共鳴(NMR)、磁気共鳴画像化(MRI)、フーリエ変換赤外分析(FT-IR)、紫外線(UV)分光分析、屈折率(RI)、蛍光検出、放射化学検出、電気化学検出、光散乱(LS)、分散Raman分光分析もしくは炎イオン化検出(FID)によって決定することができる。次いで、前記サブ画分または誘導体の決定された量に基づいて、総スフィンゴミエリン、総トリアシルグリセロールまたは少なくとも1つのコレステロールパラメータの量を算出することができる。

【0072】

好ましくは、コレステリルエステルの前記総量、コレステロールの総量、トリアシルグリセロールの総量および/またはスフィンゴミエリンの総量を、酵素的に決定する。このために、基質としてコレステリルエステル、コレステロール、トリアシルグリセロールまたはスフィンゴミエリンを特異的に認識し、検出可能なシグナルを生成することができるように前記基質を変換する酵素を適用することが想定される。典型的には、酵素変換は、例えば、 H_2O_2 の形態の、例えば、レドックス等価物を生成する。次いで、前記レドックス等価物を、ペルオキシダーゼ(西洋わさびペルオキシダーゼ)と発色基質によるさらなる反応において検出することができる。この基質を、典型的には、酸化剤として H_2O_2 を用いてペルオキシダーゼによって酸化する。 H_2O_2 、ペルオキシダーゼ、および基質の存在下での触媒反応は、典型的には、分光測光法により検出可能である特徴の変化をもたらす。例えば、ペルオキシダーゼは、発色基質の着色生成物への変換を触媒し、化学発光基質に対して作用する時に光を産生する。例えば、DAOS(N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン)と4-アミノアンチピリンは、 H_2O_2 およびペルオキシダーゼの存在下で、DAOSと4-アミノアンチピリンとの酸化的カップリングをもたらす、青色の色

原体を形成する。この色原体を、例えば、約590nmでの光の吸収を測定することによって検出することができる。あるいは、10-アセチル-3,7-ジヒドロキシフェノキサジン、 H_2O_2 の検出を可能にするペルオキシダーゼのための基質として用いることができる。この非蛍光試薬は H_2O_2 と反応して、蛍光化合物であるレゾルフィンを生産する。別の代替手段においては、 H_2O_2 およびペルオキシダーゼの存在下の4-アミノフェナゾンと4-クロルフェノールは、赤色の生成物である4-(p-ベンゾキノン-モノイミノ)-フェナゾンの形成をもたらす、測光手段によって決定することができる。

【0073】

好ましい実施形態においては、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量の酵素的決定のために用いられる酵素は、非ヒト酵素である。

10

【0074】

好ましくは、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量の酵素的決定は、人工的な手段、特に、試験される試料中には天然に存在しない組合せに基づく。

【0075】

酵素的決定については、酵素が好適な方法で分析物へのアクセスを得ることができるためには、試料の予備処理が必要であり得る。典型的には、スフィンゴミエリン、コレステロール、トリアシルグリセロールまたはコレステリルエステルが溶液中に放出されるように、試料を物理的および/または化学的に処理する。物理的処理は、熱または物理的ホモジェナイゼーションプロセスの適用を含んでもよい。化学的処理は、界面活性剤、湿潤剤および有機溶媒、好ましくは無極性溶媒などの好適なバッファーおよび薬剤による可溶化および抽出処理を含んでもよい。かくして得られた分析物、すなわち、総スフィンゴミエリンまたは総コレステリルエステルを、最適な酵素活性を可能にする水性バッファー系中に希釈することができる。そのようなバッファーは通常、それぞれの検出酵素のためにpH最適化および塩最適化される。特に好ましい試料予備処理は、以下の添付の実施例、および示される検出アッセイに関するマニュアルに記載されるものである。

20

【0076】

総コレステリルエステルの量の酵素的決定は、好ましくは、

- a) コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；
- b) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに
- c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

30

【0077】

より好ましくは、前記方法は、

- H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；および
 - 前記 H_2O_2 を中和するステップ
- をさらに含んでもよい。

40

【0078】

別の好ましい実施形態においては、総コレステリルエステルの量の酵素的決定は、

- a) コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；
- b) レドックス等価物、好ましくは、NADHの生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップ；
- c) 生成されたレドックス等価物の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

50

【0079】

より好ましくは、前記方法は、

- レドックス等価物、好ましくは、NADHの生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップおよび

- 前記レドックス等価物を中和するステップをさらに含んでもよい。

【0080】

最も好ましくは、上記の決定方法を、血漿試料を用いて実行する。

【0081】

前記レドックス等価物および/または H_2O_2 の前記中和は、一般に、生成されたレドックス等価物および/または H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定することを含んでもよい。上記の追加ステップは、総コレステリルエステルに加えて、試料中に存在する総コレステロールの除去および/または決定を可能にする。コレステロールオキシダーゼによる試料の処理のため、試料中の総コレステロールは枯渇する。

【0082】

さらにより好ましくは、本発明の方法は、ステップa)の前に決定されたコレステロール由来レドックス等価物および/または H_2O_2 ならびにステップc)で決定されたコレステリルエステル由来レドックス等価物および/または H_2O_2 の量に基づく、総コレステリルエステルと総コレステロールの比の生成をさらに含む。最も好ましくは、前記方法は、総コレステリルエステルと総コレステロールの比を参照と比較するステップをさらに含み、それによって、被験体が心不全に罹患しているか否かを診断する。

【0083】

また好ましくは、本発明の方法は、ステップa)の省略時のステップc)におけるコレステロール由来レドックス等価物および/または H_2O_2 の量に基づいて、コレステロール(特に、総コレステロール)の量を決定することをさらに含む。最も好ましくは、前記方法は、コレステロール(特に、総コレステロール)の量を参照と比較することをさらに含み、それによって、被験体が心不全に罹患しているか否かを診断する。

【0084】

別の好ましい実施形態においては、総コレステリルエステルの量の酵素的決定を、試料中で、i)上記の総コレステリルエステルの量と総コレステロールの量の合計およびii)上記の総コレステロールの量を決定すること、ならびにその量の差異(すなわち、i)の量-ii)の量)を算出することによって実施することができる。好ましくは、i)とii)の量を、別々に決定する。

【0085】

本発明にしたがって適用することができる特に好ましいコレステロール/コレステリルエステルアッセイは、以下の添付の実施例に開示される。前記アッセイは、コレステロールエステラーゼによるコレステロールへのコレステリルエステルの変換およびコレステロールオキシダーゼによるケトンへのコレステロールのその後の変換に基づくものであり、それによって、例えば、 H_2O_2 の形態のレドックス等価物が生成される。後者のものは、アンプレックスレッド染料(10-アセチル-3,7-ジヒドロキシフェノキサジン)をレゾルフィンに変換し、その蛍光によって測定することができる。このアッセイはまた、Held 2005, Biospektrum 2/05: 242-243またはAmudson 1999, Biochem Biophys Methods 38: 43-52に詳細に記載されており、Cayman Chemical Company, Ann Arbor (US)から商業的に購入することができる。反応に関する詳細は、以下の図1にも見出される。さらに、総コレステリルエステルおよび総コレステロールを、好ましくは、4-(p-ベンゾキノン-モノイミノ)-フェナゾンへの4-アミノフェナゾンおよびフェノールの変換によりレドックス等価物を測定することにより決定することができる。そのようなアッセイを、例えば、Hitachi 704 Analyzer (Roche Diagnostics, US)上で実行することができる。

【0086】

総コレステロールの量の酵素的決定は、好ましくは、

a) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

b) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0087】

あるいは、総コレステロールの量の酵素的決定は、好ましくは、

a) レドックス等価物、好ましくは、NADHの生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップ；ならびに

b) 生成されたレドックス等価物の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0088】

あるいは、NADHの量を決定することができる。それによって、総コレステロールの量が決定される。

【0089】

総スフィンゴミエリンの量の酵素的決定は、好ましくは、

a) ホスホリルコリンへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をスフィンゴミエリナーゼと接触させるステップ；

b) コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ホスホリルコリンを含む試料を、アルカリホスファターゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0090】

より好ましくは、前記方法は、

- コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記 H_2O_2 を中和するステップをさらに含んでもよい。

【0091】

前記 H_2O_2 の前記中和は、生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定することを含んでもよい。上記の追加ステップは、スフィンゴミエリンに加えて、試料中に存在する総ホスホリルコリンの除去および/または決定を可能にする。アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼによる試料の処理のため、試料中の総ホスホリルコリンは枯渇する。

【0092】

NADHの決定を、周知のアッセイによって実行することができる。好ましくは、NADHの量は、分光測光的に決定される。

【0093】

本発明にしたがって適用することができる特に好ましいスフィンゴミエリンアッセイは、以下の添付の実施例に開示される。前記アッセイは、スフィンゴミエリナーゼによるセラミドへのスフィンゴミエリンの変換およびアルカリホスファターゼによるコリンへのホスホリルコリンのその後の変換、次いで、コリンオキシダーゼによるベタインアルデヒドへのコリンの変換に基づくものであり、それによって、 H_2O_2 が生成される。後者は、蛍光染料の変換をもたらし、これをその蛍光によって測定することができる。このアッセイを、例えば、ImmunoWay Biotechnology Company, Newark (US) または BioVision Incorporated, Milpitas (US) から商業的に購入することができる。反応に関する詳細は、以下の図2にも見出される。同様のアッセイはまた、他の供給業者から入手可能であり、当業者には

10

20

30

40

50

容易に入手可能である；例えば、レドックス等価物および/または H_2O_2 を決定する他の方法は、当業者には公知である。

【0094】

総トリアシルグリセロールの量の酵素的決定は、好ましくは、

a) グリセロールおよび遊離脂肪酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をリパーゼと接触させるステップ；

b) グリセロール-3-リン酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロールを含む試料を、グリセロキナーゼと接触させるステップ；

c) ジヒドロキシアセトンリン酸および H_2O_2 への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロール-3-リン酸を含む試料を、グリセロリン酸オキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

d) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0095】

好ましくは、総トリアシルグリセロールを、好ましくは、4-(p-ベンゾキノン-モノイミノ)-フェナゾンへの4-アミノフェナゾンおよび4-クロロフェノールの変換によりレドックス等価物を測定することによって決定することができる。そのようなアッセイを、例えば、Hitachi 704 Analyzer (Roche Diagnostics, US) 上で実行することができる。

【0096】

用語「参照」は、好ましくは、医学的状态、すなわち、疾患の存在もしくは非存在、疾患状態または本明細書に記載の効果と相関させることができる、それぞれのバイオマーカー、すなわち、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールまたは総スフィンゴミエリン(および必要に応じて、NT-proBNP)の特徴的な値を指す。好ましくは、参照は、バイオマーカーの閾値(例えば、量、比または量のスコア)であり、それによって、例えば、閾値よりも低いか、または閾値と本質的に同一である、調査される試料中に見出される値は、医学的状态の非存在を示す。これは、特に、少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および総スフィンゴミエリンについて適用される。また好ましくは、参照は、バイオマーカーの閾値(例えば、量、比または量のスコア)であり、それによって、例えば、閾値よりも高いか、または閾値と本質的に同一である、調査される試料中に見出される値は、医学的状态の存在を示すが、より低いものは医学的状态の非存在を示す。これは、特に、総トリアシルグリセロール(およびNT-proBNP)について適用される。

【0097】

そのような場合、閾値は、典型的には、医学的状态と関連する値を、それと関連しない値から分離する値にある。より典型的には、閾値は、疾患を有する被験体に見出されるバイオマーカーの上限であってもよい。さらに、逆に、閾値が健康な被験体に見出されるバイオマーカーの下限であってもよい場合、閾値より低い調査される試料中に見出される値は医学的状态の存在を示すが、閾値より高いか、または閾値と本質的に同一である値は医学的状态の非存在を示す。

【0098】

あるいは、参照は、それぞれのバイオマーカーの値の範囲であってもよい。

【0099】

参照に対して別々にそれぞれのバイオマーカーを比較する代わりに、数的閾値(特に、本明細書の他の場所に記載される参照スコア)に対してバイオマーカーの現実の値の数的関数(本明細書ではスコアとも呼ばれる)を比較することもできる。

【0100】

本発明の上記の方法によれば、参照は、好ましくは、心不全に罹患することが知られた被験体または被験体群に由来する試料から得られた参照である。そのような場合、本質的に同一であるか、または減少する、試験試料中に見出される少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンの値は、疾患の存在を示す。対照的

10

20

30

40

50

に、増加する、試験試料中に見出される少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および/または総スフィンゴミエリンの値は、疾患の非存在を示す。総トリアシルグリセロールに関して、本質的に同一であるか、または増加する、試験試料中に見出される総トリアシルグリセロールの値は、疾患の存在を示す。対照的に、減少する、試験試料中に見出される総トリアシルグリセロールの値は、疾患の存在を示す。

【0101】

実施形態において、心不全に罹患することが知られる被験体は、HfrEF、特に、ICMもしくはDCM、またはHFpEFに罹患することが知られる。診断される心不全の型に応じて、心不全は症候性または無症候性であってもよい。

10

【0102】

さらに、また好ましくは、参照は、好ましくは見かけ上健康な被験体である、心不全に罹患していないことが知られる被験体または被験体群に由来するものであってもよい。そのような場合、参照に対して減少する、試験試料中に見出される少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンの値は、疾患の存在を示す。対照的に、本質的に同一であるか、または増加する、試験試料中に見出される少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および/または総スフィンゴミエリンの値は、疾患の非存在を示す。総トリアシルグリセロールに関して、参照に対して増加する、試験試料中に見出される総トリアシルグリセロールの値は、疾患の存在を示す。対照的に、本質的に同一であるか、または減少する、試験試料中に見出される総トリアシルグリセロールの値は、疾患の非存在を示す。同じことは、調査される被験体を含む個体の集団中のバイオマーカーの相対値または絶対値について、算出された参照、最も好ましくは、平均値または中央値について変更すべきところは変更して適用される。被験体の集団または群の前記個体のバイオマーカーの絶対値または相対値を、本明細書の他の場所に特定されるように決定することができる。好適な参照値、好ましくは、平均値または中央値を算出する方法は、当業界で周知である。以前に記載された被験体の集団または群は、複数の被験体、好ましくは、少なくとも5、10、50、100、1,000または10,000人の被験体を含む。本発明の方法によって診断される被験体および前記複数の被験体の被験体は同じ種のものであることが理解される。

20

【0103】

実施形態において、心不全に罹患していないことが知られる被験体は、HfrEF、特に、ICMもしくはDCM、またはHFpEFに罹患していないことが知られる。診断される心不全の型に応じて、被験体は症候性または無症候性心不全に罹患していないことが知られる。

30

【0104】

上記のように、カットオフ値またはスコアリング系におけるスコアなどの、人工的に算出された値を、また好ましくは、参照として用いることができる。好ましくは、用語「カットオフ」および「閾値」は、本明細書では互換的に用いられる。

【0105】

心不全に罹患している被験体群と、心不全に罹患していない被験体とを区切るカットオフ値(または参照スコア)を、当業界で周知のアルゴリズムにより、例えば、いずれかの群に見出されるバイオマーカーの量に基づいて算出することができる。典型的には、カットオフ値を、好ましくは、調査される被験体のある特定の集団における疾患に関する感度、特異度および予想された、既知の(例えば、文献から)または見積もられた(例えば、前向きコホート研究に基づいて)有病率に基づいて決定することができる。好ましくは、受信者動作特性(ROC)を、カットオフ値の決定のために用いることができる(Zweig 1993, Clin. Chem. 39:561-577)。ROC技術を適用する方法は、当業者には周知であり、本発明の方法において好ましく用いられるカットオフ値は、前記コホートのいずれかのROCを確立し、それからカットオフ値を誘導することにより生成される、疾患に罹患している被験体と、疾患に罹患していない被験体との識別を可能にするカットオフ値である。さらに、ROC曲線の各点は、ある特定のカットオフ値(またはスコア)での感度と特異度の対である。リス

40

50

クが増大している被験体を効率的に排除するために偽陰性群が最小となるように感度および特異度が調整されるが(すなわち、ルールアウト)、リスクが増大していると効率的に評価される被験体については偽陽性群が最小となるように感度および特異度が最小となるように感度および特異度が調整される(すなわち、ルールイン)。さらに、曲線下面積(AUC)値をROCプロットから誘導し、カットオフとは無関係の、バイオマーカーの全体的な性能の示唆を得ることができる。

【0106】

本発明のステップb)の文脈においては、本発明の方法のステップa)に記載のバイオマーカー(および必要に応じて、NT-proBNP)の量を、参照または複数の参照と比較する。それにより、本明細書に記載の疾患の存在または非存在を診断する。実施形態において、個々の決定されたバイオマーカーの参照、すなわち、ステップa)に記載されたそれぞれのバイオマーカーの参照を適用する。しかしながら、本発明の方法のステップa)に記載のバイオマーカー(および必要に応じて、BNPまたはNT-proBNP)の量に基づくスコア(特に、単一のスコア)、すなわち、単一のスコアを算出すること、ならびにこのスコアを参照スコアと比較することも想定される。好ましくは、スコアは、試験被験体に由来する試料中のバイオマーカーの量に、およびNT-proBNPまたはBNP上の量を決定または提供する場合は、試験被験体に由来する試料中のバイオマーカーの量とNT-proBNPまたはBNPの量に基づく。例えば、総スフィンゴミエリンおよび総トリアシルグリセロールの量を決定する場合、算出されるスコアは、試験被験体に由来する試料中の総スフィンゴミエリンおよび/または総トリアシルグリセロールの量に基づく。さらにNT-proBNPを決定する場合、スコアは試験被験体の総スフィンゴミエリン、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNPの量に基づく。

【0107】

本発明による参照または試験値としてのスコアを、決定しようとするバイオマーカーの量の数的変換により取得することができる。変換の際に、スコアリング系において、特に、本明細書の他の場所に個々のバイオマーカーについて記載されるものと等価な方法で、疾患の存在または非存在と関連することが知られる参照(スコアまたはスコア範囲)と比較することができるスコア値を得る。

【0108】

実施形態において、スコアリングアルゴリズムを、本発明の方法のステップa)に記載のバイオマーカー、および必要に応じて、BNPまたはNT-proBNPと共に、エラスティックネットを用いて決定する(実施例のセクションも参照されたい)。

【0109】

別の実施形態においては、スコアリングアルゴリズムを、本発明の方法のステップa)に記載のバイオマーカー、および必要に応じて、BNPまたはNT-proBNPと共に、例えば、ランダムフォレスト、ニューラルネットなどの別の好適な分類アルゴリズムを用いて決定する。

【0110】

典型的には、エラスティックネット法を実装するものなどの分類アルゴリズムを、スコアリングのために用いることができる(Zou 2005, Journal of the Royal Statistical Society, Series B: 301-320, Friedman 2010, J. Stat. Softw. 33)。かくして、被験体に関するスコアを、好ましくは、例えば、Rパッケージのglmnetに実装されたものなどのエラスティックネットアルゴリズムを用いることによって適合化されたロジスティック回帰モデルを用いて算出することができる。より具体的には、スコアを、以下の式：

【0111】

【数1】

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(w_0 + \sum_{i=1}^n w_i x_i)}}$$

【0112】

10

20

30

40

50

または数学的に等価な式によって算出することができ、ここで、特徴

【0113】

【数2】

$\hat{x}_i$

【0114】

は、

【0115】

【数3】

$$\hat{x}_i = \frac{x_i - m_i}{s_i}$$

【0116】

(式中、 x_i は対数変換された測定値、例えば、吸収値および/または濃度値であり、 m_i 、 s_i は測定単位も考慮に入れた特徴特異的な倍率であり、 w_i はモデルの係数 [w_0 、切片； w_1 、第1のバイオマーカーの係数(特徴)； $w_2 \dots w_n$ 、さらなる特徴の係数； n 、パネル中の特徴の数]である)

である。

【0117】

参照スコアより大きいスコアは心不全に罹患する被験体を示すが、参照スコアより小さい(またはそれと等しい)スコアは心不全(HFrEF、特に、ICMもしくはDCM、またはHFpEFなど)に罹患していない被験体を示す。例えば、Youden指数を最大化するか、または心不全の検出のための特異度と感度の間の望ましい用途特異的(例えば、ルールイン)バランスを見出すために、参照スコアを決定することができる(上記参照)。スコアおよび参照スコアを算出するためのさらに好ましい方法は、実施例のセクションの実施例8に記載されている。

【0118】

算出されたスコアは、上記のバイオマーカーの量に関する情報を組み合わせる。さらに、スコアにおいて、バイオマーカーは、好ましくは、診断の確立のためにその有意性または関連性にしたがって加重される。本発明の方法において適用されるバイオマーカーの組合せに基づいて、個々のバイオマーカーの重量は異なってもよい。

【0119】

スコアを、心不全を診断するための分類子パラメータと見なすことができる。特に、当業者であれば、参照スコアとの比較に基づいて単一のスコアに基づく診断を提供することができる。参照スコアは、好ましくは、試験される被験体における心不全の存在と心不全の非存在とを区別することができる値、特に、カットオフ値である。好ましくは、参照は、単一の値である。かくして、ユーザーは、有利には、個々のバイオマーカーの量に関する全ての情報を解釈する必要はない。

【0120】

かくして、本発明の方法の好ましい実施形態において、バイオマーカーの量と、本発明の方法のステップb)に記載の参照との比較は、ステップa)に記載のバイオマーカーの決定された量に基づくスコアを算出するステップ(b1)、およびかくして算出されたスコアと、参照スコアまたは参照スコア範囲とを比較するステップ(b2)を包含する。より好ましくは、スコアを算出するためにロジスティック回帰法を使用し、最も好ましくは、前記ロジスティック回帰法はエラスティックネット正則化を含む。

【0121】

あるいは、バイオマーカーの量を参照と比較し、ここで、この比較の結果を、スコア、特に、単一のスコアの算出のために使用し、前記スコアを、参照スコアまたは参照スコア範囲と比較する。

【0122】

10

20

30

40

50

しかしながら、本発明の方法のステップ(a)に記載のバイオマーカーの量に基づいて、スコア、特に、単一のスコア、すなわち、単一のスコアを算出し、このスコアを、参照スコアまたは参照スコア範囲と比較することも想定される。好ましくは、スコアは、試験被験体に由来する試料中のバイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せの量に基づくものであり、BNP、例えば、NT-proBNPまたはBNP(もしくはANP、NT-proANP)を決定する場合、さらに試験被験体に由来する試料中のBNP(またはANP、NT-proANP)の量に基づくものである。

【0123】

本明細書に記載のスコアリング系を用いる場合、有利には、値はスケーリング後には無次元であるため、バイオマーカーに関する異なる次元または単位の値を用いることができる。したがって、以下の実施例9に記載のように、例えば、絶対濃度に関する値を、吸収値に関するスコアにおいて組み合わせることができる。

10

【0124】

特徴的特性の値、定量的測定の場合は強度値が本質的に同一であれば、試験サンプルのバイオマーカーの値と参照値とは本質的に同一である。本質的に同一とは、2つの値の差が、好ましくは、有意ではないことを意味し、強度の値が参照値の少なくとも1～99パーセンタイル、5～95パーセンタイル、10～90パーセンタイル、20～80パーセンタイル、30～70パーセンタイル、40～60パーセンタイルの範囲内、好ましくは参照値の50、60、70、80、90、若しくは95パーセンタイルであることを特徴とする。2つの量が本質的に同じであるかどうかを決定するための統計学的検定は当技術分野で周知であり、また本明細書の他の箇所において記載されている。

20

【0125】

一方、2つの値について観察される差は統計学的に有意である。相対値又は絶対値の差は、好ましくは、参照値の45～55パーセンタイル、40～60パーセンタイル、30～70パーセンタイル、20～80パーセンタイル、10～90パーセンタイル、5～95パーセンタイル、1～99パーセンタイルの著しい範囲外にある。好ましくは、参照、すなわちバイオマーカーの少なくとも1つの特徴的特性の値は、データベースのような好適なデータ記憶媒体中に記憶されて、従って、将来の評価にも利用可能となる。

【0126】

「比較」という用語は、バイオマーカーの測定値(或いはスコア)が、参照と本質的に同一であるか、又は参照と異なっているかを判定することを指す。好ましくは、バイオマーカーの値(又はスコア)は、例えば本明細書の他の箇所で言及する統計学的手法により決定することができる観察される差が統計学的に有意であるか又は統計学的に関連がある場合に、参照と異なるとみなされる。差が統計学的に有意ではないか又は統計学的に関連がない場合には、バイオマーカーの値及び参照は本質的に同一である。上に記載した比較に基づいて、被験体は、疾患に罹患しているか又は罹患していないと評価することができる。

30

【0127】

好ましくは、本発明に従って被験体のサンプルにおいて測定される値は、参照と比較される前に、年齢、BMI、性別又は他の既存の疾患について調整される。あるいは、参照は、年齢、BMI、性別又は他の疾患について同様に調整された値から導くことができる。個々の被験体が、検査対象の被験体とこれらのパラメーターに関して本質的に同一である、被験体の群から、参照及び基礎となる値を導くことによって、このような調整を行うことができる。あるいは、調整は、統計計算によって行いうる。

40

【0128】

さらに好ましくは、かかる調整は行われない。したがって交絡因子の修正は行われない。

【0129】

診断にスコアリングシステムが使用される場合、検査される被験体のサンプルから得られた値は(好ましくは数学的実数値関数により)スコアに変換され、その後該スコアリン

50

グシステム中の少なくとも1つの参照スコアと比較される、と理解される。

【0130】

比較は、好ましくは、自動化により支援される。例えば、2つの異なるデータセット(例えば、特徴的特性(複数可)の値を含むデータセット)を比較するためのアルゴリズムを含む好適なコンピュータプログラムを使用することが可能である。そのようなコンピュータプログラム及びアルゴリズムは、当技術分野で周知である。上に述べたとおりであるが、手動で比較を行うことも可能である。

【0131】

本明細書の他の場所に記載のように、本発明の方法は、ステップa)において、BNPまたはNT-proBNPの量の決定をさらに含んでもよい。BNPまたはNT-proBNPの量は、ステップb)で算出されるスコアに寄与し得る。したがって、前記方法は、以下のステップ：

a)前記被験体の試料中で、BNPまたはNT-proBNP(好ましくは、NT-proBNP)の量と、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量とを決定するステップ、ならびに

b1)ステップa)で決定された決定量に基づいてスコアを算出するステップ、および

b2)かくして算出されたスコアを、参照スコアと比較することによって、心不全を診断するステップ

を含む。

【0132】

本明細書の他の場所に記載のように、NT-proBNPまたはBNPの量を、試験される被験体の医療記録から誘導することもできる。この場合、ステップa)でこのマーカーの量を決定する必要はない。

【0133】

あるいは、BNPまたはNT-proBNPの量は、ステップb1)で算出されるスコアに寄与しなくてもよい。したがって、前記方法は、以下のステップ：

a)前記被験体の試料中で、BNPまたはNT-proBNP(好ましくは、NT-proBNP)の量と、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量とを決定するステップ、ならびに

b1)少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量に基づいてスコアを算出するステップ、および

b2)かくして算出されたスコアを、参照スコアと比較し、BNPまたはNT-proBNPの量を参照と比較することによって、心不全を診断するステップ

を含む。

【0134】

本明細書の他の場所に記載のように、BNPまたはNT-proBNPの量を、試験される被験体の医療記録から誘導することもできる。この場合、ステップa)でこのマーカーの量を決定する必要はない。

【0135】

有利には、総コレステリルエステルもしくは総コレステロールもしくはその両方の量、または総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、および/または総スフィンゴミエリンおよび/または総トリアシルグリセロール(好ましくは、NT-proBNPおよびBNPの量と組み合わせた)が心不全に関する指標であることが本発明の基礎となる研究において見出された。前記少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンの量は、健康なボランティアと比較して心不全に罹患しているか、または心不全を発症するリスクがある被験体において減少し、前記総トリアシルグリセロールの量は健康なボランティアと比較して心不全に罹患しているか、または心不全を発症するリスクがある被験体において増加することが見出された。したがって、試料中の前記バイオマーカーを、原理的には、被験体が心不全に罹患するか否かを評価するために用いることができる。これは、疾患の効率的な診断にとって、ならびに心不全の前臨床および臨床管理の改善ならびに患者の効率的なモニタリングにとって有益である。さらに、本発明の

基礎となる知見はまた、効率的な薬物療法の開発または以下に詳細に記載される心不全に対する栄養食などの他の介入も容易にする。さらに、本発明によれば、尿酸およびホスファチジルコリンも心不全を診断するためのバイオマーカーとしての資格があることもわかった。前記バイオマーカーの量の変化は、本明細書に記載のような心不全に罹患している患者と健康なボランティアとの間で見出すことができる。

【0136】

上記で行われた用語の定義および説明は、本明細書の以下で特徴付けられる全ての実施形態にも変更すべきところは変更して適用される。

【0137】

以下に、本発明の方法の特に好ましい実施形態を記載する。

10

【0138】

本発明の方法の好ましい実施形態においては、前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)ならびに/または総トリアシルグリセロールおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量を、酵素的に決定する。

【0139】

本発明の方法のさらなる実施形態においては、前記参照は、心不全に罹患することが知られる被験体または被験体群から誘導される。より好ましくは、参照と比較して試験試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および/または総スフィンゴミエリンの量が同一である(特に、本質的に同一である)、または減少することは、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較して試験試料中の量が増加することは、被験体が心不全に罹患していないことを示す。総トリアシルグリセロールに関しては、試験試料および参照中のこのバイオマーカーの量が同一であるか、または増加することは、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較して試験試料中の量が減少することは被験体が心不全に罹患していないことを示す。

20

【0140】

本発明の方法の別の好ましい実施形態においては、前記参照は、心不全に罹患していないことが知られる被験体または被験体群から誘導される。より好ましくは、試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および/または総スフィンゴミエリンの量が同一である(特に、本質的に同一である)、または増加することは、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較して試験試料中の量が減少することは、被験体が心不全に罹患していることを示す。総トリアシルグリセロールに関しては、試験試料および参照中のバイオマーカーの量が同一であるか、または減少することは、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較して試験試料中の量が増加することは被験体が心不全に罹患していることを示す。

30

【0141】

本発明の方法の好ましい実施形態においては、前記方法は、被験体が心不全に罹患していると診断されるかどうかに基づいて被験体のための治療剤または患者健康管理手段を推奨するステップを含む。被験体が心不全に罹患すると診断される場合、心不全療法を開始することが特に想定される。用語「心不全療法」は、他の場所で定義される。好ましくは、前記心不全療法は、薬物に基づく療法である。

40

【0142】

原則として、患者は、好ましくは、European Society of Cardiology (参照: European Heart Journal (2012), 33:1787-1847)の指針により推奨されるような薬剤で処置される。

【0143】

別の実施形態においては、患者は、2013 ACCF/AHAの指針(Circulation, 2013; 128: e240-e327を参照されたい)により推奨されるように処置される。

【0144】

好ましくは、被験体がHFrEFに罹患すると診断される場合、療法は、電解質コルチコイド/アルドステロンアンタゴニストおよび/またはACE阻害剤の投与を含む。さらに想定さ

50

れるのは、ベータ遮断薬を用いる処置である。

【0145】

さらに、被験体を、アンギオテンシン受容体遮断薬(ARB)、イバブラジン、ジゴキシンおよび他のジギタリスグリコシド、ヒドララジンおよび二硝酸イソソルビド(血管拡張剤)およびオメガ-3-ポリ不飽和脂肪酸で処置することができる。

【0146】

好ましくは、被験体がDCMPに罹患すると診断される場合、療法は、利尿薬、アルドステロンアンタゴニストおよび/またはACE阻害剤の投与を含む。

【0147】

好ましくは、被験体がICMPに罹患すると診断される場合、療法は、利尿薬、アルドステロンアンタゴニストおよび/またはACE阻害剤の投与を含む。また、ビタミンKアンタゴニストおよび抗血小板剤も好ましい。

【0148】

被験体がHFpEFに罹患する場合、療法は、好ましくは、利尿薬、ACE阻害剤、受容体遮断薬(ARB)および/またはベータ遮断薬の投与を含む。

【0149】

本発明の方法のさらに別の実施形態においては、前記試料は、血液、血漿または血清試料である。

【0150】

本発明の方法のさらなる実施形態においては、前記心不全は無症候性心不全である。

【0151】

本発明の方法の好ましい実施形態においては、前記心不全は、駆出率が低下した心不全(HFrEF)、好ましくは、駆出率が軽度低下した心不全、特に、35%より高いが、50%より低いLVEFを有するHFrEFである。

【0152】

本発明の方法の好ましい実施形態においては、少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステリルエステルの量の前記酵素的決定は、

a) コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；

b) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0153】

より好ましくは、前記方法は、

- H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記 H_2O_2 を中和するステップをさらに含む。

【0154】

さらに好ましくは、前記 H_2O_2 の前記中和は、生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定することを含む。さらにより好ましくは、前記方法は、ステップa)の前に決定されたコレステロール由来 H_2O_2 およびステップc)で決定されたコレステリルエステル由来 H_2O_2 の量に基づく、総コレステリルエステルと総コレステロールとの比の生成をさらに含む。最も好ましくは、前記方法は、コレステリルエステルとコレステロールとの比を参照と比較することによって、被験体が心不全に罹患するか否かを診断するステップをさらに含む。

【0155】

本発明の方法の好ましい実施形態においては、少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステロールの量の前記酵素的決定は、

10

20

30

40

50

a) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

b) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0156】

あるいは、少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステロールの量の酵素的決定は、好ましくは、

a) レドックス等価物および、好ましくは、NADHの生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップ、ならびに

b) 生成されたレドックス等価物の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0157】

あるいは、NADHの量を決定することができる。それによって、総コレステロールの量を決定する。

【0158】

本発明の方法の別の好ましい実施形態においては、総スフィンゴミエリンの量の前記酵素的決定は、

a) ホスホリルコリンへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をスフィンゴミエリナーゼと接触させるステップ；

b) コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ホスホリルコリンを含む試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0159】

より好ましくは、前記方法は、

- コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記 H_2O_2 を中和するステップをさらに含む。

【0160】

本発明の方法の好ましい実施形態においては、総トリアシルグリセロールの量の前記酵素的決定は、

a) グリセロールおよび遊離脂肪酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をリパーゼと接触させるステップ；

b) グリセロール-3-リン酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロールを含む試料をグリセロキナーゼと接触させるステップ；

c) ジヒドロキシアセトンリン酸および H_2O_2 への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロール-3-リン酸を含む試料を、グリセロリン酸オキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

d) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む。

【0161】

脳性ナトリウム利尿ペプチドのプロペプチドのN末端断片(NT-proBNP)および成熟脳性ナトリウム利尿ペプチド(BNP)などの脳性ナトリウム利尿ペプチドは、心臓バイオマーカーとして、特に、心不全のバイオマーカーとして当業界で周知である。BNPは、心筋細胞の過剰な伸長に応答して心室により分泌される32アミノ酸のポリペプチドである。NT-proBNPは、proBNPから切断されて脳性ナトリウム利尿ペプチドを遊離する76アミノ酸のN末端不

10

20

30

40

50

活性タンパク質である。BNPは活性ホルモンであり、それぞれの不活性対応物NT-proBNPよりも半減期が短い。ヒトBNPおよびNT-proBNPの構造は、先行技術において既に詳細に記載されており、例えば、WO2002/089657、WO2002/083913を参照されたい。

【0162】

したがって、本発明の方法のさらに好ましい実施形態においては、前記方法は、被験体に由来する試料中のBNPまたはNT-proBNPの量を決定すること、および好ましくは、かくして決定されたBNPまたはNT-proBNPの量を、好適な参照と比較することをさらに含む。前記比較に基づいて、心不全を診断することができる。あるいは、NT-proBNPまたはBNPの量を、試験される被験体の医療記録から誘導することができる。かくして、本発明の方法は、NT-proBNPまたはBNPの量に関する情報(すなわち、このマーカーの値)を提供する、および/または回収するステップを含む。また好ましくは、前記量を参照と比較する。さらに、好ましくは、その値を、本明細書の他の場所に記載されるスコアを算出するために用いる。好ましくは、前記スコアを、参照スコアと比較する。

【0163】

NT-proBNPもしくはBNPの代わりに、またはNT-proBNPもしくはBNPに加えて、本発明は、ANP(心房性ナトリウム利尿ペプチド)またはNT-proANP(プロホルモン脳性ナトリウム利尿ペプチドのN末端)の量の決定を想定する。あるいは、C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)またはNT-proCNP(C型ナトリウム利尿ペプチドのアミノ末端プロペプチド)の量を決定することができる。

【0164】

上記で特定されたBNPに基づく心不全の決定および診断を、本発明の他のバイオマーカーの決定の前に、それと同時に、またはその後に行うことができる。他のバイオマーカーの決定の前の決定を実行して、疑いのある被験体における心不全に対する初期診断または第1のヒントを得ることができる。前記初期診断または第1のヒントを、他のバイオマーカーを決定することによりさらに確認する。他のバイオマーカーとの同時的決定を実行して、単にBNPまたは他のバイオマーカーのいずれかに基づく診断と比較した場合、心不全のより確実な診断を得ることができる。その後の決定は、他のバイオマーカーを用いる診断に基づいて心不全の初期診断またはそれに対する第1のヒントをさらに強化する。

【0165】

好ましくは、NT-proBNPもしくはBNP(またはNT-proANP、ANP、NT-proCNPもしくはCNP)に特異的に結合する少なくとも1つの抗体を用いることにより、量を決定する。少なくとも1つの抗体は、決定されるマーカーと複合体を形成する。その後、形成された複合体の量を測定する。複合体は、マーカーと抗体(複合体の検出を可能にするために標識してもよい)を含む。

【0166】

さらに、本発明は、そのような療法を受ける被験体における心不全療法をモニタリングするための方法であって、

(a)前記被験体の第1および第2の試料中の、少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/または総スフィンゴミエリンおよび/または総トリアシルグリセロールの量、および必要に応じて、BNPまたはNT-proBNPの量を決定するステップ；ならびに

(b)第1の試料中のステップ(a)で決定された量と、第2の試料中のステップ(a)で決定された量とを比較することによって、被験体が心不全療法に応答するか否かを診断するステップ

を含む、前記方法にも関する。

【0167】

上記方法の好ましい実施形態においては、第1の試料を、心不全療法の開始前に取得し、第2の試料を、心不全療法の開始後に取得した。あるいは、両方の試料、すなわち、第1および第2の試料を、心不全療法の開始後に取得した。両試料を療法の開始後に取得した場合、第2の試料を、好ましくは第1の試料の後に取得する。好ましくは、第2の試料を、第1の試料の直後には取得しない(モニタリングを可能にするための十分に有意な変化を観

察するため)。より好ましくは、第2の試料を、前記第1の試料の少なくとも1ヶ月後、または少なくとも3ヶ月後に取得する。

【0168】

上記の方法の文脈において本明細書で用いられる用語「心不全療法のモニタリング」は、被験体が前記療法に応答するか否かを評価することに関する。

【0169】

したがって、被験体が前記療法から利益を得るか否かが評価される。好ましくは、第1の試料と比較した第2の試料中での少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および/または総スフィンゴミエリンの量の増加は、被験体が心不全療法に応答することを示す。対照的に、第1の試料と比較して第2の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ(例えば、総コレステリルエステル)および/または総スフィンゴミエリンの量が減少すること、または等しいこと、特に、減少すること、または本質的に等しいことは、被験体が心不全療法に応答しないことを示す。また好ましくは、第1の試料と比較した第2の試料中での総トリアシルグリセロール(および/またはNT-proBNPもしくはBNP)の量の減少は、被験体が心不全療法に応答することを示す。対照的に、第1の試料と比較して第2の試料中の総トリアシルグリセロール(および/またはNT-proBNPもしくはBNP)の量が増加すること、または等しいこと、特に、増加すること、または本質的に等しいことは、被験体が心不全療法に応答しないことを示す。

【0170】

好ましくは、上記方法を実行することにより、前記被験体における心不全療法を継続する、停止する、または修正するかどうかの決定を行うことができる。かくして、前記方法は、前記療法を継続する、停止する、または修正するさらなるステップを含んでもよい。好ましくは、前記療法が心不全に関する被験体のLVEFまたは症状などの状態、臨床パラメータを改善する場合、被験体は心不全療法に応答する。好ましくは、前記療法が心不全に関する被験体のLVEFまたは症状などの状態、臨床パラメータを改善しない場合、被験体が前記療法に応答しない。

【0171】

本明細書で用いられる用語「心不全療法」は、好ましくは、心不全の処置のための任意の療法を含む。好ましい療法は、薬物療法である。好ましくは、心不全の療法は、ACE阻害剤(ACEI)、ベータ遮断薬、AT1-阻害剤、アルドステロンアンタゴニスト、レニンアンタゴニスト、利尿薬、Ca増感剤、ジギタリスグリコシド、抗血小板剤、およびビタミンKアンタゴニストからなる群から選択される少なくとも1つの薬物の投与を含むか、またはそれからなる療法である。あるいは、療法は、補助人工心臓などの補助装置を用いる療法であってもよい。

【0172】

本発明はまた、被験体が心不全に罹患するか否かを診断するためのデバイスであって、

a)好ましくは、試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータの量、総トリアシルグリセロールの量および/または総スフィンゴミエリンの量を決定することができるような検出器と共に配置された、前記バイオマーカーの量のための酵素的検出剤を含む分析ユニット；ならびに

b)分析ユニットから受信したバイオマーカーの決定された量と、保存された参照との上記で定義された比較を実行するアルゴリズムを明白に埋め込んだ、好ましくは上記で定義された、データプロセッサと、保存された参照を含むデータベースとを含む評価ユニットを含む、前記デバイスにも関する。

【0173】

あるいは、前記評価ユニットは、分析ユニットから受信したバイオマーカーの決定された量に基づいて算出されたスコアと、保存された参照との上記で定義された比較を実行するアルゴリズムを明白に埋め込んだ、好ましくは、上記で定義された、データプロセッサと、保存された参照スコア(または保存された複数の参照スコア)を含むデータベースとを含む。

【0174】

実施形態において、前記デバイスは、少なくとも1つの検出剤によって検出されるBNPおよび/またはNT-proBNPの量を決定するために適量化された、NT-proBNPおよび/またはBNPのための少なくとも1つの検出剤(抗体など)を含む少なくとも1つのさらなる分析ユニットをさらに含む。

【0175】

本明細書で用いられる用語「デバイス」は、本発明の方法による診断またはモニタリングを可能にするために互いに機能し得る形で連結された上記のユニットを含むシステムに関する。分析ユニットのために用いることができる好ましい検出剤は、本明細書の他の場所に開示される。好ましくは、前記検出剤は、バイオマーカーの総量の酵素的決定にとって必要とされる薬剤である。分析ユニットは、好ましくは、決定しようとする量のバイオマーカーを含む試料に接触させようとする固相支持体上に固定された形態の前記検出剤を含む。あるいは、検出剤を、供給バイアル中で分析ユニットに保存し、反応バイアル中で試料と混合することができる。さらに、分析ユニットはまた、バイオマーカーに特異的に結合する検出剤の量を決定する検出器を含んでもよい。決定された量を、評価ユニットに伝送することができる。

【0176】

前記評価ユニットは、決定された量と好適な参照との比較を実行するためのアルゴリズムが実装されたコンピュータなどのデータプロセッシングエレメントを含む。好適な参照は、本発明の方法の文脈において上記で定義された被験体または被験体群から誘導される。結果を、好ましくは絶対量または相対量としての、パラメータ診断生データの出力として与えることができる。これらのデータは医師による解釈を必要とすることが理解されるべきである。しかしながら、出力が専門医を必要としない解釈のプロセッシングされた診断生データを含む専門的システムデバイスも想定される。

【0177】

上記から、本開示のいくつかの実施形態によれば、本明細書に開示および記載される方法のいくつかのステップの一部を、コンピュータデバイスによって実施することができるということになる。コンピュータデバイスは、例えば、一般的な目的のコンピュータまたは携帯型コンピュータデバイスであってもよい。また、本明細書に開示される方法の1つ以上のステップを実施するために、データを移動させるためのネットワークまたは他の方法などの上で、複数のコンピュータデバイスを一緒に用いることができることも理解されるべきである。例示的なコンピュータデバイスとしては、デスクトップコンピュータ、ラップトップコンピュータ、個人情報端末、セルラーデバイス、タブレット型コンピュータ、サーバーなどが挙げられる。一般に、コンピュータデバイスは、コンピュータプログラムなどの複数の命令を実行することができるデータプロセッサを含む。コンピュータデバイスは、メモリへのアクセスを有する。メモリは、コンピュータで読取り可能な媒体であり、例えば、コンピュータデバイスと共にローカルに位置する、またはネットワークを介してコンピュータデバイスにアクセス可能である、単一のストレージデバイスまたは複数のストレージデバイスを含んでもよい。コンピュータで読取り可能な媒体は、コンピュータデバイスによってアクセスできる任意の利用可能な媒体であってもよく、揮発性媒体と非揮発性媒体の両方を含む。さらに、コンピュータで読取り可能な媒体は、取り出し可能な媒体と取り出し不可能な媒体の一方または両方であってもよい。例えば、限定されるものではないが、コンピュータで読取り可能な媒体は、コンピュータストレージ媒体を含んでもよい。例示的なコンピュータストレージ媒体としては、限定されるものではないが、RAM、ROM、EEPROM、フラッシュメモリまたは任意の他のメモリ技術、CD-ROM、デジタル多用途ディスク(DVD)もしくは他の光学ディスクストレージ、磁気カセット、磁気テープ、磁気ディスクストレージもしくは他の磁気ストレージデバイス、またはコンピュータデバイスによってアクセスされ、コンピュータデバイスのデータプロセッサによって実行され得る複数の命令を保存するために用いることができる任意の他の媒体が挙げられる。

【0178】

本明細書に記載のコンピュータプログラムは、コンピュータデバイスのデータプロセッサによって実行された場合、本明細書に開示される方法の1つ以上のステップを実施することができる命令を含んでもよい。いくつかの命令を、他の機械の動作を制御するシグナルを生成し、かくして、これらの制御シグナルを介して動作して、コンピュータ自体から取り出される材料を変換することができるように適合させることができる。上記の命令はまた、所望の結果をもたらす、すなわち、本発明の方法またはその一部を実行するための自己矛盾のない一連のステップであると一般に着想されるアルゴリズムを含む。これらのステップは、物理量の物理的操作を必要とするものである。通常、必須ではないが、これらの量は、保存する、移動させる、変換する、組み合わせる、比較する、およびそうでなければ操作することができる電氣的または磁氣的なパルスまたはシグナルの形態を取る。時には、主に一般的な使用の理由から、これらのシグナルを、そのようなシグナルが具体化または表現される物理的な品物または具現化に対する参照として、値、文字、表示データ、数字などと呼ぶことが好都合である。

10

【0179】

コンピュータデバイスはまた、出力デバイスへのアクセスを有してもよい。例示的な出力デバイスとしては、例えば、ファックス装置、ディスプレイ、プリンター、およびファイルが挙げられる。本開示のいくつかの実施形態によれば、コンピュータデバイスは、本明細書に開示される方法の1つ以上のステップを実施し、その後、前記方法の結果、指示、比または他の因子に関する、出力デバイスを介する、出力を提供することができる。

20

【0180】

さらに、本発明は、一般に、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するための、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤の使用を提供する。

【0181】

また、本発明は、一般に、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているか否かを診断する診断組成物および/または医薬組成物の調製のための、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤の使用を提供する。

【0182】

最後に、本発明は、少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤を含む、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するために適合化される、または使用されるキットに関する。

30

【0183】

本明細書で用いられる用語「キット」は、好ましくは、別々に、または単一の容器内で提供される上記成分の収集物を指す。容器はまた、本発明の方法を実行するための指示書を含む。これらの指示書は、マニュアルの形態にあってもよいが、または本発明の方法に記載の比較を実行することができ、コンピュータもしくはデータプロセッシングデバイス上に実装された場合にそれにしたがって診断を確立するためのコンピュータによって提供してもよい。コンピュータプログラムを、光学ストレージ媒体(例えば、コンパクトディスク)などのデータストレージ媒体もしくはデバイス上に、またはコンピュータもしくはデータプロセッシングデバイス上に直接的に提供してもよい。さらに、キットは、上記で定義された参照のための少なくとも1つの標準、すなわち、参照量を表す予め定義された量の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、トリアシルグリセロールおよび/またはスフィンゴミエリンを含む溶液を含んでもよい。そのような標準は、例えば、心不全に罹患している被験体もしくは被験体群または臨床的には見かけ上健康な被験体もしくはその群に由来する少なくとも1つのコレステロールパラメータ、トリアシルグリセロールおよび/もしくはスフィンゴミエリンの量または本明細書で特定される任意の他の参照であってもよい。さらに、そのような溶液を、本発明の方法を実行する場合に、または上記の使用にしたがって、校正目的で用いることができる。

40

50

【0184】

キットの容器は、例えば、酵素などの検出剤、参照、バッファー、および試薬などの本明細書に開示される1つ以上の成分を包装する、および/または含有させるのに好適である任意の容器であってもよい。好適な材料としては、限定されるものではないが、ガラス、プラスチック、段ボールまたは他の紙製品、木材、金属、およびその任意の合金が挙げられる。

【0185】

本発明の好ましい実施形態

以下に、本発明の好ましい実施形態をまとめる。本明細書において上記で与えられた定義および説明は、好ましくは、以下の実施形態にも適用される。

10

【0186】

1. 心不全に罹患することが疑われる被験体における心不全を診断するための方法であって、

(a)前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量を決定するステップ；ならびに

(b)ステップ(a)で決定された量と参照とを比較することによって、被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するステップ

を含む、前記方法。

【0187】

2. 試料が体液である、実施形態1に記載の方法。

20

【0188】

3. 試料が血液、血清または血漿試料である、実施形態1または2に記載の方法。

【0189】

4. 血液、血清または血漿試料が絶食血液、血清または血漿試料である、実施形態1～3のいずれか1つに記載の方法。

【0190】

5. 被験体がヒトである、実施形態1～4のいずれか1つに記載の方法。

【0191】

6. 被験体が男性である、実施形態5に記載の方法。

【0192】

7. 被験体が女性である、実施形態5に記載の方法。

30

【0193】

8. 被験体が過体重である、実施形態5～7のいずれか1つに記載の方法。

【0194】

9. 被験体が過体重ではない、実施形態5～7のいずれか1つに記載の方法。

【0195】

10. 被験体が50～70歳の年齢であるか、または被験体が70歳より年上である、実施形態5～9のいずれか1つに記載の方法。

【0196】

11. 被験体が無症候性被験体である、実施形態5～10のいずれか1つに記載の方法。

40

【0197】

12. 無症候性被験体がNYHAクラスIによる症状を示す、実施形態11に記載の方法。

【0198】

13. 被験体が症候性被験体である、実施形態5～10のいずれか1つに記載の方法。

【0199】

14. 症候性被験体がNHYAクラスIIおよび/またはIIIによる症状を示す、実施形態13に記載の方法。

【0200】

15. 心不全がHFpEF(駆出率が保持された心不全)である、実施形態1～14のいずれか1つに記載の方法。

50

【0201】

16. 心不全がHFrEF(左心室駆出率が低下した心不全(LVEF))である、実施形態1~14のいずれか1つに記載の方法。

【0202】

17. 低下したLVEFが35%より低い、または低下したLVEFが50%より低い、35%より高い、実施形態15に記載の方法。

【0203】

18. HFrEFが虚血性心筋症(ICM)と関連する、実施形態16または17に記載の方法。

【0204】

19. HFrEFが拡張型心筋症(DCM)と関連する、実施形態16または17に記載の方法。

10

【0205】

20. 前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量が酵素的に決定される、実施形態1~19のいずれか1つに記載の方法。

【0206】

21. 前記参照が心不全に罹患することが知られる被験体または被験体群に由来する、実施形態1~20のいずれか1つに記載の方法。

【0207】

22. 試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量が同一である、もしくは減少することが、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較した試験試料中の量の増加が、被験体が心不全に罹患していないことを示す、ならびに/または試験試料および参照中の総トリアシルグリセロールの量が同一である、もしくは増加することが、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較した試験試料中の量の減少が、被験体が心不全に罹患していないことを示す、実施形態21に記載の方法。

20

【0208】

23. 前記参照が心不全に罹患していないことが知られる被験体または被験体群に由来する、実施形態1~20のいずれか1つに記載の方法。

【0209】

24. 試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量が同一である、もしくは増加することが、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較した試験試料中の量の減少が、被験体が心不全に罹患していることを示す、ならびに/または試験試料および参照中の総トリアシルグリセロールの量が同一である、もしくは減少することが、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較した試験試料中の量の増加が、被験体が心不全に罹患していることを示す、実施形態23に記載の方法。

30

【0210】

25. 以下のバイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せ：

- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、および総コレステロール；
- 総スフィンゴミエリンおよび総コレステリルエステル；
- 総スフィンゴミエリン、および総コレステロール；
- 総スフィンゴミエリン；
- 総コレステリルエステル、および総コレステロール；
- 総コレステリルエステル；
- 総コレステロール；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、および総トリアシルグリセロール；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、および総トリアシルグリセロール；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、および総トリアシルグリセロー

40

50

ル；

- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、および総トリアシルグリセロール；
- 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、および総トリアシルグリセロール、または

総スフィンゴミエリンおよび総トリアシルグリセロールの量が決定される、実施形態1~24のいずれか1つに記載の方法。

【0211】

26. 被験体に由来する試料中でのNT-proBNP、BNP、NT-proCNP、CNP、NT-proANPまたはANP、特に、NT-proBNPの量の決定をさらに含む、実施形態1~25のいずれか1つに記載の方法。 10

【0212】

27. 被験体に由来する試料中での、NT-proBNP、BNP、NT-proCNP、CNP、NT-proANPまたはANP、特に、NT-proBNPの量に関する情報を提供すること、および/または回収することをさらに含む、実施形態1~25のいずれか1つに記載の方法。

【0213】

28. 以下のバイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せ：

- 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロールおよびNT-proBNP；
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルおよびNT-proBNP； 20
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、およびNT-proBNP；
 - 総スフィンゴミエリンおよびNT-proBNP；
 - 総コレステリルエステル、総コレステロールおよびNT-proBNP；
 - 総コレステリルエステルおよびNT-proBNP；
 - 総コレステロールおよびNT-proBNP；
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総コレステロール、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNP；
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総コレステロール、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNP；
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステル、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNP； 30
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステリルエステルと総コレステロールの合計パラメータ、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNP；
 - 総スフィンゴミエリン、総コレステロール、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNP；または
 - 総スフィンゴミエリン、総トリアシルグリセロールおよびNT-proBNP
- の量が決定される、実施形態1~26のいずれか1つに記載の方法。

【0214】

29. ステップb)が、バイオマーカーの決定された量に基づくスコアを算出すること、およびかくして算出されたスコアを、参照スコアまたは参照スコア範囲と比較することを包含する、実施形態1~20および25~28のいずれか1つに記載の方法。 40

【0215】

30. 参照スコアが、心不全の存在と、心不全の非存在との識別を可能にする値、特に、カットオフ値である、実施形態30に記載の方法。

【0216】

31. スコアを算出するためにロジスティック回帰法が使用される、特に、前記ロジスティック回帰法がエラスティックネット規則を含む、実施形態29および30に記載の方法。

【0217】

32. 参照スコアよりも大きいスコアが、被験体が心不全に罹患することを示すが、参照スコアよりも小さい(またはそれと等しい)スコアが、被験体が心不全に罹患していないこ 50

とを示す、実施形態29～31のいずれか1つに記載の方法。

【0218】

33. 少なくとも1つのコレステロールパラメータが、総コレステロール、総コレステリルエステルおよび総コレステロールと総コレステリルエステルの合計パラメータからなる群から選択されるパラメータである、実施形態1～32のいずれか1つに記載の方法。

【0219】

34. 少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステリルエステルの量の前記酵素的決定が、

a) コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；

b) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、実施形態2～33のいずれか1つに記載の方法。

【0220】

35. 前記方法が、

- レドックス等価物、好ましくは H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記レドックス等価物を中和するステップをさらに含む、実施形態34に記載の方法。

【0221】

36. 前記 H_2O_2 の前記中和が、生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定することを含む、実施形態35に記載の方法。

【0222】

37. 前記方法が、ステップa)の前に決定されたコレステロール由来 H_2O_2 およびステップc)で決定されたコレステリルエステル由来 H_2O_2 の量に基づく、総コレステリルエステルと総コレステロールとの比の生成をさらに含む、実施形態36に記載の方法。

【0223】

38. 前記方法が、コレステリルエステルとコレステロールとの比を参照と比較することによって、被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するステップをさらに含む、実施形態37に記載の方法。

【0224】

39. 総コレステリルエステルの量の酵素的決定が、

a) コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；

b) レドックス等価物、好ましくはNADHの生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップ；

c) 生成されたレドックス等価物の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、実施形態2～33のいずれか1つに記載の方法。

【0225】

40. 前記方法が、

- レドックス等価物、好ましくはNADHの生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップならびに

- 前記レドックス等価物を中和するステップをさらに含む、実施形態39に記載の方法。

【0226】

41. 少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステロールの量の前記

酵素学的決定が、

a) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

b) 生成された H_2O_2 の量を酵素学的もしくは化学的に決定するステップ；

または

a) レドックス等価物、好ましくは NADH の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールデヒドロゲナーゼと接触させるステップ；

b) 生成されたレドックス等価物の量を酵素学的もしくは化学的に決定するステップを含む、実施形態 2～33 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【0227】

42. 総スフィンゴミエリンの量の前記酵素学的決定が、

a) ホスホリルコリンへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料を、スフィンゴミエリナーゼと接触させるステップ；

b) コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ホスホリルコリンを含む試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素学的または化学的に決定するステップを含む、実施形態 2～33 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【0228】

43. 前記方法が、

- コリンへの変換およびその後の H_2O_2 、好ましくは、 H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップ a) の前に試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記 H_2O_2 を中和するステップをさらに含む、実施形態 40 に記載の方法。

【0229】

44. 総トリアシルグリセロールの量の前記酵素学的決定が、

a) グリセロールおよび遊離脂肪酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をリパーゼと接触させるステップ；

b) グリセロール-3-リン酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロールを含む試料を、グリセロキナーゼと接触させるステップ；

c) ジヒドロキシアセトンリン酸および H_2O_2 への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロール-3-リン酸を含む試料を、グリセロリン酸オキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

d) 生成された H_2O_2 の量を酵素学的または化学的に決定するステップを含む、実施形態 2～33 のいずれか 1 つに記載の方法。

30

【0230】

45. NT-proBNP、BNP、NT-proCNP、CNP、NT-proANP または ANP の量が、NT-proBNP、BNP、NT-proCNP、CNP、NT-proANP または ANP に特異的に結合する少なくとも 1 つの抗体を用いることによって決定される、実施形態 26～44 のいずれか 1 つに記載の方法。

40

【0231】

46. 前記方法が、被験体が心不全に罹患していると診断されるかどうかに基づいて被験体のための治療剤または患者健康管理手段を推奨するステップをさらに含む、実施形態 26～45 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0232】

46. 被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するためのデバイスであって、

a) 試料中の少なくとも 1 つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量を決定することができるような検出器と共に配置された、前記バイオマーカーの量のための酵素学的検出剤を含む分析ユニット；ならびに

50

b)分析ユニットから受信したバイオマーカーの決定された量と、保存された参照との実施形態22または24に記載の比較を実行するアルゴリズムを明白に埋め込んだ、好ましくは、実施形態21または23で定義された、データプロセッサと、保存された参照を含むデータベースとを含む評価ユニットを含む、前記デバイス。

【0233】

47. 被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するための少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤の使用。

【0234】

48. 少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤を含む、前記被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するために適合化されたキット。

【0235】

本明細書を通して引用される全ての参考文献は、具体的に記載される開示の内容ならびにその開示に関して全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0236】

【図1】コレステリルエステルの関連する酵素的変換を示す図である。

【図2】スフィンゴミエリンの関連する酵素的変換を示す図である。

【図3】総スフィンゴミエリンの量を、3つの技術的反復物において4人のCHF患者および6人の健康な対照中で測定したところ、CHF患者群においてより低レベルで有意差が観察された(比:0.41および $p<0.001$; ANOVA)。

【実施例】

【0237】

以下の実施例は本発明を例証する。しかしながら、それらの実施例は、本発明の範囲を限定するものと解釈されてはならない。

【0238】

[実施例1]

CHFサブタイプDCMP(拡張型心筋症、本明細書において「DCM」とも標記することがある)、ICMP(虚血性心筋症、本明細書において「ICM」とも標記することがある)とHCMP(肥大型心筋症)の、健常対照からの識別のための研究デザイン

3つの臨床センターを有し、かつ合計843人の被験体における多中心性研究を行った。研究は、35~75歳の年齢範囲及び20~35 kg/m²のBMI範囲にある、194人の男性及び女性のDCMP-、183人の男性及び女性のICMP-、並びに210人の男性及び女性のHCMP患者に加えて、256人の男性及び女性の健常対照を含んだ。患者のNYHA(ニューヨーク心臓協会)スコアは、1~3の範囲であった。患者及び対照は、年齢、性別、及びBMIをマッチさせた。すべての患者及び対照について、血液サンプルを採取した。血漿を、遠心分離により調製し、測定が行われるまでサンプルを-80°Cで保存した。

【0239】

CHFの3つのサブグループ(DCMP、ICMP及びHCMP)は、心エコー検査及び血行動態基準に基づいて定義された:

(a)サブグループDCMPは、心肥大を有する収縮期ポンプ不全として血行動態的に定義される(左室拡張末期径の心エコーによる増大 >55 mm及び $<50\%$ の制限された左室駆出率-LVEF)。

【0240】

(b)サブグループICMPは、冠不全による収縮期ポンプ不全として血行動態的に定義される($>50\%$ の冠動脈狭窄及びストレス誘導性心内膜運動不全、並びに $<50\%$ のLVEF)。

【0241】

(c)サブグループHCMP: 求心性心肥大(心エコー検査-中隔 >11 mm、後壁心筋 >11 mm)及

10

20

30

40

50

び拡張期CHF(≥50%のLVEFを有する、ポンプ機能の障害なし又は軽度障害)。

【0242】

卒中に罹患している患者、検査前の最近4ヶ月以内に心筋梗塞を有した患者、試験前の最近4ヶ月以内に薬物治療を変更した患者、並びに急性若しくは慢性炎症性疾患及び悪性腫瘍に罹患した患者と同様に、NYHA IV患者を除外した。

【0243】

[実施例2]

代謝物質の測定

ヒト血漿サンプルを、以下に記載するように調製し、LC-MS/MS及びGC-MS分析に供した

。

【0244】

タンパク質を血漿から沈降により分離した。水、及びエタノールとジクロロメタンの混合物を加えた後、残留サンプルを極性の水相と親油性の有機相に分画した。

【0245】

脂質抽出物のトランスメタノリシスのために、140 µlのクロロホルム、37 µlの塩酸(37重量% HCl水溶液)、320 µlのメタノール及び20 µlのトルエンの混合物を、蒸発させた抽出物に加えた。その容器を密封し、100℃にて振とうしながら2時間加熱した。次いで溶液を蒸発乾固させた。残留物を完全に乾燥した。

【0246】

カルボニル基のメトキシ化を、密封した容器中でメトキシアミン塩酸塩(ピリジン中の20mg/ml、100 1、1.5時間、60℃にて)との反応によって行った。奇数炭素数の直鎖脂肪酸の溶液20 µl(3/7(v/v)ピリジン/トルエン中の、7~25個の炭素原子の脂肪酸それぞれ0.3mg/mLと27、29及び31個の炭素原子の脂肪酸それぞれ0.6mg/mLの溶液)を保持時間標準として加えた。最後に、100 µlのN-メチル-N-(トリメチルシリル)-2,2,2-トリフルオロアセトアミド(MSTFA)による誘導体化を60℃にて30分間、密封した容器中で再び行った。GC中への注入前の最終体積は220 µlであった。

【0247】

極性相については、次のように誘導体化を実施した。カルボニル基のメトキシ化を、密封した容器中でメトキシアミン塩酸塩(ピリジン中の20mg/ml、50 1、1.5時間、60℃にて)との反応によって行った。奇数炭素数の直鎖脂肪酸の溶液10 µl(3/7(v/v)ピリジン/トルエン中の、7~25個の炭素原子の脂肪酸それぞれ0.3mg/mLと27、29及び31個の炭素原子の脂肪酸それぞれ0.6mg/mLの溶液)を保持時間標準として加えた。最後に、50 µlのN-メチル-N-(トリメチルシリル)-2,2,2-トリフルオロアセトアミド(MSTFA)による誘導体化を60℃にて30分間、密封した容器中で再び行った。GC中への注入前の最終体積は110 µlであった。

【0248】

GC-MSシステムはAgilent 5973 MSDと連結したAgilent 6890 GCから成る。オートサンプラーはCTCからのCompiPal又はGCPalである。

【0249】

分析については、標準的な市販キャピラリー分離カラム(30m x 0.25mm x 0.25 µm)を使用し、このカラムは分析サンプル材料と相分離ステップからの画分に応じて0%~35%の芳香族部分を含有する異なるポリ-メチル-シロキサン固定相を備えた(例えば: DB-1ms、HP-5ms、DB-XLB、DB-35ms、Agilent Technologies)。1 µLまでの最終体積をスプリットレス注入し、オープン温度プログラムを70℃にてスタートし、十分なクロマトグラフィ分離と各アナライต์ピーク内の走査数を達成するために、サンプル材料と相分離ステップからの画分に応じて異なる昇温速度で340℃にて終了した。さらにRTL(Retention Time Locking)、Agilent Technologies)を分析に使用し、通常のGC-MS標準条件、例えば公称1~1.7ml/分の定常流、及び移動相ガスとしてヘリウムでイオン化を70eVの電子衝突で行い、m/z範囲15~600内で2.5~3走査/秒の走査速度及び標準チューン条件により走査した。

10

20

30

40

50

【0250】

HPLC-MSシステムは、API 4000質量分析計(Applied Biosystem/MDS SCIEX、Toronto、Canada)と連結したAgilent 1100 LCシステム(Agilent Technologies、Waldbronn、Germany)から構成された。HPLC分析は、C18固定相(例えば: GROM ODS 7 pH、Thermo Betasil C18)を備えた市販の逆相分離カラムで実施した。10 μ Lまでの最終サンプル体積の蒸発させかつ再構成した極性及び親油性相を注入し、分離はメタノール/水/ギ酸又はアセトニトリル/水/ギ酸勾配を用いて200 μ L/分の流量にて勾配溶出により実施した。

【0251】

質量分析は、エレクトロスプレーイオン化により非極性画分についてはポジティブモードで、そして極性画分についてはネガティブ若しくはポジティブモードで、多重反応モニタリング(MRM)モード及び100~1000amuのフルスキャンを用いて行った。

10

【0252】

血漿サンプル中の複合脂質の分析:

クロロホルム/メタノールを用いる液/液抽出によって、血漿から総脂質を抽出した。続いて、Christie(Journal of Lipid Research (26), 1985, 507-512)に従って、順相液体クロマトグラフィ(NPLC)によって脂質抽出物を11の異なる脂質群へと分画した。

【0253】

画分は、コレステロールエステル(CE)及びスフィンゴイメリン(SM)の特異的多重反応モニタリング(MRM)転移の検出を伴うエレクトロスプレーイオン化(ESI)および大気圧化学イオン化(APCI)を使用するLC-MS / MSにより分析した。以下の表1~13の、これらの画分の1つから誘導される代謝産物は、それぞれの略称をその名前に含む。

20

【0254】

[実施例3]

データ分析及び統計学的評価

血漿サンプルを、無作為化分析シーケンス設計で、各サンプルのアリコートから作製したプールサンプル(いわゆる「プール」)を用いて分析した。包括的分析ヴァリデーションステップの後、各アナライトの生ピークデータを、分析シーケンス毎のプールの中央値に対して正規化して、プロセスの変動性を説明した(いわゆる「プール正規化比」)。すべての場合に、プール正規化比を用いた。すべてのデータは、正規分布を達成するためにlog10変換した。

30

【0255】

実施例1に記載された試験のデータは、(1) 特定のスフィンゴミエリンと比較した全てのスフィンゴミエリンの合計パラメーターの、及び(2) 特定のコレステリルエステルと比較して全てのコレステリルエステルの合計パラメーターのコントロールと比較したときの、CHFサブグループの分類のための診断の力の評価に利用された。代謝物質データを交絡因子について補正するか、又は未補正の代謝物質データを使用した。交絡因子についての補正のためのANOVAモデルは、年齢、BMI、性別及びCHFサブグループの因子を含んだ(ANOVAモデル: CHF_サブグループ+(性別+年齢+BMI)²; 補正因子: 性別、年齢及びBMI)。CHF患者を、NYHAクラス(I又はII~III)及びCHFサブタイプ(DCMP、HCMP、ICMP又はHfrEFと名付けられる結合したDCMP+ICMP群(減少した駆出率を有する心不全))の組み合わせに基づき細分類した。しかしながら、その後の計算では、交絡因子での補正なしの直接読み出しが用いられた。

40

【0256】

表2~13および表15~18に関して、全てのスフィンゴミエリンの合計パラメータを、(1) 1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンおよび(2)全ての測定されたスフィンゴミエリンの算出された非加重和を用いて見積もった。1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンを、GC-MSを用いて決定した。この断片は、スフィンゴミエリン、スフィンゴイド塩基、スフィンゴシンおよびその1-リン酸塩、セラミド、グリコシルセラミド(グルコシルセラミド、ガラクトシルセラミド、スルファチド、他のヘキソシルセラミド、ラクトシルセラミド、グロボシド、ガングリオシド)ならびにセラミ

50

ド1-リン酸などの、d18:1塩基を含む全てのクラスのスフィンゴ脂質に由来していた。血漿中では、スフィンゴミエリンは、総スフィンゴ脂質の約87.7%を占め(Hammad 2010, J Lipid Res. 51(10): 3074-87)、d18:1は、主要なスフィンゴイド塩基であり、全ての遊離塩基の約76%である(Scherer 2011, Biochimica et Biophysica Acta. 1811: 68-75)。

【0257】

表2~18に関して、全てのコレステリルエステルの合計パラメータを、全ての測定されたコレステリルエステルの加重和を用いて見積もった(n=21)。特定のコレステリルエステルの重量を、血漿濃度により決定した(表1; HMDBに由来する濃度およびLindgren 1961, Am J Clin Nutr. 9:13-23)。

【0258】

特定のスフィンゴミエリンの重量を、Quehenbergerら(2010, J Lipid Res. 51: 3299-3305)に提供されたような血漿濃度により決定することができる。

【0259】

DCMPおよびICMPは、収縮機能障害および左心室駆出率低下を有する心不全を定義し、したがって、合わせた群を駆出率が低下した心不全(HFrEF)と呼び、分析に含有させた。対照的に、HCMPは、左心室の駆出率が保持された拡張機能障害を有する心不全を定義し、したがって、同様に、この群を駆出率が保持された心不全(HFpEF)と呼ぶことができる。

【0260】

特定のサブグループ中の代謝物のレベルを比較するために、実施例1に記載の試験を、年齢、BMI、性別(全ての二体相互作用を含む)および診断群の因子を含む分散分析(ANOVA)により分析した。診断群の因子のレベルは、CHFサブタイプ/等級(CHF NYHA I、CHF NYHA II-III、HFrEF NYHA I、HFrEF NYHA II-III、HFpEF NYHA I、HFpEF NYHA II-III)および対照(参照として設定)であった。ANOVAに由来する倍数変化の見積もりを、交絡因子である年齢、BMIおよび性別に関して補正して、および補正せずに算出した。対応する結果を、表2~5に列挙する。

【0261】

さらに、個々の代謝物ならびに合計パラメータの診断力を、受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)を用いて見積もった(表6~13)。性能計算を、代謝物のみ、およびNT-proBNPと組み合わせた代謝物を用いて実行した。代謝物レベルおよびNT-proBNPレベルを単一の分類子中で組み合わせるために、分類手法エラスティックネットを用いた。さらに、性能計算を、交絡因子である年齢、BMIおよび性別について予め補正して、または補正せずに実行した。

【0262】

以下の表において、AUC(曲線下面積)値は、相互検証されたROC(受信者操作特性)分析により見積もられる分類性能を示し、比およびp値(ANOVAからの)は群間の統計的有意差を示す。AUC値が高いほど、分類性能は良くなる。p値が低いほど、群間で観察される差は有意になる。結果として、AUC値が高いほど、群間の分離は良くなるが、p値が低いほど有意性が高くなる。

【0263】

表6~13および15~18に示されるAUC値の算出は、実施例1に記載のデータセットに基づくものである。

【0264】

[実施例4]

酵素アッセイを用いたスフィンゴミエリンの総量の決定

スフィンゴミエリンの総量を、BioVision incorporated, Milpitas(US)からのSphingomyelin Quantification Colorimetric Assay Kit(カタログ番号K600-100)を用いて測定した。血漿中のコリンのバックグラウンドレベルを決定するために、一方ではコリンを用いて、他方ではスフィンゴミエリン標準を用いて、希釈系列を調製した。両方の希釈系列を、スフィンゴミエリナーゼを含まないバックグラウンド対照ミックスを用いて測定した。血漿試料の測定を、スフィンゴミエリナーゼを含む標準反応キットを用いて実行し、総ス

10

20

30

40

50

フィンゴミエリンの量を、スフィンゴミエリン標準曲線を用いて算出した。スフィンゴミエリンの総量を、BioVision incorporated, Milpitas(US)からのSphingomyelin Quantification Colorimetric Assay Kit(カタログ番号K600-100)を用いて測定した。それぞれの試料について、25mg(試料の生体重、25 μ lの血漿と等価)を、0.5mlのSM Assay Buffer中でホモジェナイズした。4℃で5min、10,000xgで遠心分離した後、上清を分離チューブに移した。20 μ lのSM Assay Bufferを、20 μ lのホモジェネート(上清)のアリコートに添加した。2回、混合物を70℃で1~2minインキュベートした後、室温まで冷却した。その後、試料を室温で2min、10,000xgで遠心分離して、破片を除去した。1~5 μ lの上清を、平底の96ウェル透明プレートに移し、SM Assay Bufferを用いて容量を50 μ lに調整した。50 μ lの「反応ミックス」(以下の表を参照されたい)を各ウェルに添加し、よく混合した。プレートを37℃で1hインキュベートした後、吸光度を570nmで測定した。定量的ために、標準曲線を、スフィンゴミエリン標準の希釈系列を用いて調製した。さらに、血漿中のコリンの濃度を、コリンの希釈系列を用いて決定し、反応を、スフィンゴミエリナーゼを含まないバックグラウンド対照ミックスを用いて実施した。

成分	反応ミックス	バックグラウンド対照ミックス
SM Assay Buffer	34 μ l	36 μ l
スフィンゴミエリナーゼ	2 μ l	---
ALP 酵素*	10 μ l	10 μ l
SM 酵素ミックス	2 μ l	2 μ l
OxiRed Probe™**	2 μ l	2 μ l

*ALP=アルカリホスファターゼ

** DMSO 中の 10-アセチル-3,7-ジヒドロキシフェノキサジン

【0265】

総スフィンゴミエリンの量を、3つの技術的反復物における4人のCHF患者および6人の健康な被験体において測定した。図3に示されるように、CHF患者群においてより低レベルで有意差が観察された(比:0.41および $p<0.001$; ANOVA)。それぞれの濃度の総スフィンゴミエリンを、表14に示す。

【0266】

実施例9、10および11においてデータを報告する測定について、血漿中のコリンのバックグラウンドレベルの決定を省略した以外は、スフィンゴミエリンの総量を、50 μ lの反応容量中の7.5 μ lの最終量の血漿を用いて上記のように決定した。

【0267】

実施例9、10および11に報告される性能計算について、「吸光度値」と標識される列、570nmでの生の吸光度値を、スフィンゴミエリンの総量として取った。「絶対濃度」と標識される列に報告される性能計算について、試料中の絶対濃度を、式 $y=a_0+a_1 \cdot x$ (式中、 x はそれぞれの試料または標準中で測定される吸光度値であり、 y は同じ試料または標準中の絶対濃度であり、 a_0 および a_1 は吸光度値と標準中の既知の絶対濃度を用いて適合させた定数である)の線形回帰モデルを用いて算出した。

【0268】

[実施例5]

酵素アッセイを用いたコレステリルエステルの総量およびコレステロールの総量の決定

コレステリルエステルの総量およびコレステロールの総量を、BioVision Inc., Milpitas(US)からのCholesterol/Cholesteryl Ester Quantification Colorimetric Assay Kit II(カタログ番号K623-100)を用いて測定した。アッセイを、製造業者の指示書にしたがって実行した。CHF患者群において、より低レベルで差異が観察された。

【0269】

簡単に述べると、アッセイを、本質的には以下のように実行した。

【0270】

コレステロール標準を希釈することにより、標準曲線を調製した。試料を、コレステロールアッセイバッファー中で血清または血漿を10倍希釈することによって調製した。2~20 μ lのそれぞれの希釈された試料を、試験のために用いた。実施例9、10および11においてデータを報告する測定において、10 μ lの予め希釈した試料を、50 μ lの最終反応容量で用いた。総コレステリルエステルを検出するために、試料をコレステロールデヒドロゲナーゼで予備処理して、37℃で30min、遊離コレステロールの試料を枯渇させることができる。実施例9、10および11においてデータを報告する測定において、コレステロールデヒドロゲナーゼを用いる予備処理を省略した。2 μ lのコレステロールエステラーゼを、光から保護された、各標準および総コレステロール値が望まれる試料に添加することによって、エステル加水分解を、37℃で30min実行した。2回の測定を、実施例9、10および11においてデータを報告する試料について同時に実行した：一方の測定においては、コレステロールエステラーゼを用いる処理を記載のように実行し、かくして、コレステロールの総量とコレステリルエステルの総量との合計を決定した。他方の測定においては、エステラーゼを用いる処理を省略し、かくして、コレステロールの総量を決定した。450nmでの吸光度を、マイクロプレートリーダー中で決定した。

10

【0271】

実施例9、10および11で報告された性能計算について、「吸光度値」と標識される列、450nmでの生の吸光度値を、スフィンゴミエリンの総量として取った。「絶対濃度」と標識される列に報告される性能計算について、試料中の絶対濃度を、式 $y=a_0+a_1 \cdot x$ (式中、 x はそれぞれの試料または標準中で測定される吸光度値であり、 y は同じ試料または標準中の絶対濃度であり、 a_0 および a_1 は吸光度値と標準中の既知の絶対濃度を用いて適合させた定数である)の線形回帰モデルを用いて算出した。

20

【0272】

また、絶対濃度の計算を以下のように行うこともできる：全ての読取り値から0標準およびバックグラウンドを差し引く。標準曲線をプロットする。試料の読取り値を標準曲線に適用する。次いで、試料中のコレステロール濃度を算出することができる： $C = A/V \cdot X \cdot D$ (μ g/ μ l)(式中、 A = 標準曲線から決定されたコレステロールの量(μ g)であり、 V = 反応ウェルに添加される試料の容量(μ l)であり、 D = 試料の希釈係数である)。

【0273】

コレステリルエステル+コレステロールの総量を、実施例9、10および11におけるコレステリルエステルの量についての近似として取った。

30

【0274】

【表 1】

表 1: コレステリルエステルの加重和の算出のために用いられた特定のコレステリルエステル血漿濃度。平均濃度を、健康な被験体の血漿について全ての利用可能な HMDB エントリーから算出した。(°)で印を付けた代謝物の濃度を、Lindgren loc cit から保存的に見積もった。

コレステリルエステル	血漿濃度 [μM]
コレステリルエステル C12:0°	10
コレステリルエステル C14:0	80
コレステリルエステル C14:1	17
コレステリルエステル C15:0	30
コレステリルエステル C16:0	208
コレステリルエステル C16:1	115
コレステリルエステル C16:2	31
コレステリルエステル C16:3°	10
コレステリルエステル C18:0	48
コレステリルエステル C18:1	619
コレステリルエステル C18:2	1663
コレステリルエステル C18:3	85
コレステリルエステル C18:4°	10
コレステリルエステル C20:1	15
コレステリルエステル C20:2	19
コレステリルエステル C20:3	17
コレステリルエステル C20:4	216
コレステリルエステル C20:5	39
コレステリルエステル C22:4°	10
コレステリルエステル C22:5	3
コレステリルエステル C22:6	27

【 0 2 7 5 】

結果

表 2: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正した特定のコレステリルエステルおよびコレステリルエステルの加重とパラメータに関する ANOVA の

[illegible]

【表 3】

結果
表 3: 交絡因子である年齢、BMI および性別について補正しない特定のコレステリルエステルおよびコレステリルエステルの加重とパラメータに関する ANOVA の

CHF 群	CHF	CHF	CHF	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFtEF	HFtEF	HFtEF
NYHA クラス	I	I	II-III	II-III	I	I	I	II-III	II-III	I	I	II-III
代謝物	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値
合計コレステリルエステル	0.79	9.64E-19	0.74	1.84E-32	0.84	3.28E-08	0.85	7.92E-07	0.75	1.16E-20	0.70	4.82E-39
コレステリルエステル C12:0	0.86	0.008202	0.73	7.77E-09	0.94	0.351606	0.82	0.013929	0.79	0.000761	0.70	8.89E-10
コレステリルエステル C14:0	0.91	0.000557	0.84	6.84E-10	0.98	0.505008	0.94	0.122378	0.84	6.22E-07	0.81	7.45E-13
コレステリルエステル C14:1	0.92	0.111506	0.87	0.00234	1.00	0.958943	1.05	0.468423	0.86	0.010737	0.80	1.91E-05
コレステリルエステル C15:0	0.84	6.87E-09	0.80	1.96E-15	0.90	0.003817	0.93	0.062172	0.79	1.85E-11	0.76	1.26E-20
コレステリルエステル C16:1	0.99	0.752641	1.04	0.235247	1.05	0.29832	1.22	0.000175	0.93	0.123387	0.98	0.685727
コレステリルエステル C16:2	0.95	0.166695	0.93	0.030346	1.03	0.453043	1.13	0.008464	0.88	0.002436	0.87	3.2E-05
コレステリルエステル C16:3	1.05	0.121999	1.05	0.132881	1.14	0.00158	1.22	2.27E-05	0.98	0.563817	0.99	0.805261
コレステリルエステル C18:0	0.94	0.019977	0.89	8.3E-06	1.01	0.847645	0.97	0.45826	0.88	7.12E-05	0.87	8.12E-08
コレステリルエステル C18:3	0.96	0.092239	0.90	1.97E-05	1.02	0.559527	1.00	0.958817	0.90	0.000898	0.86	4.38E-08
コレステリルエステル C18:4	0.98	0.762124	0.89	0.034341	1.13	0.092746	1.11	0.173946	0.86	0.032479	0.82	0.000605
コレステリルエステル C20:1	0.88	5.65E-05	0.85	2.54E-08	0.95	0.200146	0.92	0.047013	0.82	1.34E-07	0.82	8.23E-10
コレステリルエステル C20:2	0.97	0.081445	0.96	0.01924	1.00	0.851478	1.01	0.635138	0.93	0.002623	0.94	0.001176
コレステリルエステル C20:3	1.02	0.373872	1.03	0.229353	1.07	0.033349	1.09	0.00927	0.98	0.52388	1.00	0.845825
コレステリルエステル C20:5	0.97	0.409276	0.93	0.066511	1.10	0.053925	1.15	0.010704	0.85	0.001174	0.86	0.000209
コレステリルエステル C22:4	0.97	0.203992	0.97	0.198815	0.99	0.704015	1.05	0.170593	0.95	0.089619	0.94	0.018482
コレステリルエステル C22:5	0.92	0.000993	0.91	1.28E-05	0.96	0.165515	1.02	0.608892	0.89	4.34E-05	0.87	3.26E-09
コレステリルエステル C22:6	0.97	0.314301	0.96	0.171376	1.04	0.279432	1.11	0.012992	0.90	0.006681	0.91	0.002314
コレステリルエステル C16:0	0.79	8.12E-09	0.76	5.49E-13	0.82	5.15E-05	0.88	0.015772	0.77	4.82E-08	0.72	1.08E-15
コレステリルエステル C18:1	0.71	2.46E-18	0.67	1.11E-26	0.78	4.5E-08	0.79	8.52E-06	0.66	2.27E-19	0.64	1.05E-30
コレステリルエステル C18:2	0.78	6.55E-21	0.70	5.55E-41	0.82	2.25E-09	0.79	3.31E-10	0.73	7.31E-22	0.67	1.67E-45
コレステリルエステル C20:4	0.89	4.46E-05	0.90	7.73E-05	0.92	0.015528	0.97	0.41097	0.87	2.17E-05	0.88	3.71E-06

【表 4】

表 4: 交絡因子である年齢、BMI および性別について補正した特定のスフィンゴミエリン、スフィンゴミエリンと 1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタダカジエンとの合計パラメータに関する ANOVA の結果

CHF 群	CHF	CHF	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFtEF	HFtEF
NYHA クラス	I	I	II-III	II-III	I	I	I	II-III	I	I	II-III
代謝物	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値	p.値
合計スフィンゴミエリン	0.883	1.26E-08	0.8443	8.32E-15	0.9265	0.003762	0.9063	0.001605	0.8483	1.29E-10	0.8291
1-ヒドロキシ-2-アミノノ(cis,trans)-3,5- オクタデカジエン	0.8143	1.08E-08	0.7427	1.15E-16	0.8797	0.003107	0.8141	6.09E-05	0.7628	1.36E-10	0.726
スフィンゴミエリン (d18:0,C16:0)	0.9077	5.06E-06	0.8982	2.88E-07	0.9299	0.004806	0.9238	0.008934	0.8889	2.52E-06	0.892
スフィンゴミエリン (d18:0,C18:0)	1.0379	0.341111	1.1038	0.010263	1.052	0.287788	1.0937	0.110693	1.0251	0.590967	1.1077
スフィンゴミエリン (d18:1,C14:0)	0.8208	1.37E-09	0.7544	3.87E-18	0.8769	0.000787	0.8309	5.91E-05	0.7758	3.02E-11	0.7359
スフィンゴミエリン (d18:1,C16:0)	0.9286	4.14E-06	0.9045	2.86E-10	0.9498	0.00802	0.9497	0.023844	0.9114	8.76E-07	0.8927
スフィンゴミエリン (d18:1,C18:0)	0.9746	0.31174	0.9849	0.544018	1.0075	0.808745	1.0224	0.543947	0.9471	0.069568	0.976
スフィンゴミエリン (d18:1,C18:1)	0.8936	2.02E-05	0.8827	1.62E-06	0.9185	0.008016	0.9145	0.017786	0.8727	1.21E-05	0.8749
スフィンゴミエリン (d18:1,C20:0)	0.8784	8.7E-06	0.8579	9.85E-08	0.9156	0.01224	0.937	0.116129	0.8486	1.6E-06	0.8377
スフィンゴミエリン (d18:1,C20:1)	0.9185	0.002233	0.9556	0.096184	0.9225	0.017358	0.9868	0.738407	0.9158	0.007302	0.9468
スフィンゴミエリン (d18:1,C21:0)	0.8692	4.28E-06	0.8553	2E-07	0.8981	0.003643	0.9118	0.03373	0.8457	3E-06	0.8408
スフィンゴミエリン (d18:1,C22:0)	0.8707	1.06E-07	0.8189	1.16E-14	0.9197	0.007402	0.8903	0.001613	0.8311	1.33E-09	0.8014
スフィンゴミエリン (d18:1,C22:1)	0.8525	4.48E-07	0.8585	9.33E-07	0.8885	0.001954	0.9416	0.179875	0.8238	1.75E-07	0.8373
スフィンゴミエリン (d18:1,C23:0)	0.8399	1.14E-08	0.7743	4.19E-17	0.9038	0.005796	0.8272	1.21E-05	0.7882	3.14E-11	0.7626
スフィンゴミエリン (d18:1,C23:1)	0.8878	9.84E-05	0.8796	2.02E-05	0.9226	0.029734	0.9217	0.061666	0.859	2.41E-05	0.8695
スフィンゴミエリン (d18:1,C24:0)	0.8354	1.5E-07	0.77	1.54E-14	0.9001	0.010564	0.8355	0.000217	0.7833	1.22E-09	0.7549
スフィンゴミエリン (d18:1,C24:1)	0.9506	0.019174	0.9406	0.004036	0.9752	0.337015	1.0084	0.786998	0.9311	0.004919	0.9227
スフィンゴミエリン (d18:1,C24:2)	0.8782	1.33E-05	0.8885	5.49E-05	0.898	0.002887	0.9703	0.476852	0.8633	2.64E-05	0.8667
スフィンゴミエリン (d18:2,C14:0)	0.8976	6.44E-05	0.8557	5.77E-09	0.945	0.082884	0.9273	0.049244	0.8592	1.7E-06	0.8381
スフィンゴミエリン (d18:2,C16:0)	0.9314	0.006619	0.9294	0.00449	0.9669	0.289627	0.9714	0.437566	0.9019	0.000805	0.9194
スフィンゴミエリン (d18:2,C18:1)	0.8821	1.59E-05	0.8719	1.68E-06	0.9038	0.004167	0.9088	0.021319	0.8643	2.04E-05	0.8625

スフィンゴセリン (d18:2,C20:0)	0.9414	0.015914	0.9307	0.003595	0.971	0.334214	0.9719	0.427189	0.9168	0.003242	0.9205	0.001331
スフィンゴセリン (d18:2,C20:1)	0.9153	0.001785	0.9252	0.005294	0.935	0.050869	0.9816	0.647476	0.8996	0.001523	0.9103	0.001277
スフィンゴセリン (d18:2,C21:0)	0.9156	0.000503	0.9013	3.17E-05	0.9426	0.05446	0.9466	0.129972	0.8934	0.000159	0.8898	7.95E-06
スフィンゴセリン (d18:2,C22:0)	0.8629	1.17E-06	0.8082	1.48E-12	0.9238	0.02954	0.8905	0.006903	0.8141	7.01E-09	0.7884	3.08E-14
スフィンゴセリン (d18:2,C22:1)	0.8955	2.16E-05	0.907	0.000132	0.9212	0.009175	0.9478	0.148281	0.8744	1.14E-05	0.8967	4.57E-05
スフィンゴセリン (d18:2,C23:0)	0.8626	8.04E-09	0.7913	6.38E-20	0.9257	0.011772	0.8351	6.96E-07	0.8111	3.16E-12	0.7821	2.35E-20
スフィンゴセリン (d18:2,C23:1)	0.8619	1E-05	0.8239	5.73E-09	0.9107	0.021473	0.8823	0.008972	0.8221	7.41E-07	0.81	1.33E-09
スフィンゴセリン (d18:2,C24:0)	0.833	1.13E-08	0.7604	8.53E-18	0.8997	0.005888	0.8211	1.38E-05	0.7793	3E-11	0.7466	1.26E-18
スフィンゴセリン (d18:2,C24:1)	0.9112	0.001392	0.8948	0.000106	0.9515	0.156827	0.9924	0.853319	0.8794	0.000161	0.87	3.13E-06
スフィンゴセリン (d18:2,C24:2)	0.9038	0.000107	0.8966	2.16E-05	0.9199	0.008323	0.96	0.272037	0.8916	0.000183	0.8795	1.82E-06
スフィンゴセリン (d16:1,C16:0)	0.8552	5.32E-06	0.798	3.5E-11	0.9044	0.01564	0.8554	0.001436	0.8151	4.2E-07	0.7843	8.82E-12
スフィンゴセリン (d16:1,C18:0)	0.943	0.05055	0.9049	0.00073	0.9862	0.702557	0.9594	0.333595	0.9076	0.006009	0.8917	0.00021
スフィンゴセリン (d16:1,C18:1)	0.8534	4.8E-06	0.7997	7.49E-11	0.8967	0.009307	0.8649	0.003312	0.8183	8.7E-07	0.7836	1.09E-11
スフィンゴセリン (d16:1,C20:0)	0.8784	5.97E-05	0.8222	9.11E-10	0.9368	0.093169	0.9036	0.027066	0.8317	1.12E-06	0.8025	3.97E-11
スフィンゴセリン (d16:1,C21:0)	0.8542	2E-06	0.7993	9.36E-12	0.8844	0.002235	0.8551	0.000944	0.8297	1.71E-06	0.785	2.03E-12
スフィンゴセリン (d16:1,C22:0)	0.7817	2.58E-10	0.6931	4.61E-21	0.8534	0.000659	0.797	3.57E-05	0.7257	1.88E-12	0.6885	2.38E-23
スフィンゴセリン (d16:1,C22:1)	0.8295	2.98E-07	0.7918	9.56E-11	0.8727	0.00197	0.8802	0.013657	0.7953	8.67E-08	0.7697	3.63E-12
スフィンゴセリン (d16:1,C23:0)	0.7785	1.04E-09	0.6701	2.02E-22	0.8582	0.001843	0.7546	1.24E-06	0.716	3.58E-12	0.6507	8.66E-24
スフィンゴセリン (d16:1,C24:0)	0.8253	1.21E-08	0.706	9.99E-25	0.9066	0.014387	0.8081	6.91E-06	0.7619	4.25E-12	0.682	1.15E-27
スフィンゴセリン (d16:1,C24:1)	0.8218	3.13E-08	0.7653	2.94E-14	0.8789	0.00239	0.8731	0.006683	0.777	1.16E-09	0.7389	1.44E-16
スフィンゴセリン (d17:1,C16:0)	0.8493	3.82E-08	0.7948	6.99E-15	0.8863	0.000749	0.8651	0.000589	0.8197	1.15E-08	0.777	2.71E-16
スフィンゴセリン (d17:1,C18:0)	0.928	0.007389	0.8951	5.63E-05	0.9604	0.23298	0.9392	0.116375	0.9012	0.001548	0.8841	1.93E-05
スフィンゴセリン (d17:1,C20:0)	0.8834	1.24E-05	0.832	6.11E-11	0.9125	0.007773	0.8843	0.002418	0.8596	5.86E-06	0.8186	1.05E-11
スフィンゴセリン (d17:1,C22:0)	0.7972	4.95E-10	0.7089	3.4E-21	0.8568	0.000408	0.7876	3.76E-06	0.7498	1.54E-11	0.69	1.39E-22
スフィンゴセリン (d17:1,C23:0)	0.8112	2.54E-09	0.7013	8.05E-24	0.885	0.003613	0.7789	4.99E-07	0.7528	4.88E-12	0.6833	2.67E-25
スフィンゴセリン (d17:1,C24:0)	0.7852	1.07E-11	0.6828	1.37E-26	0.8566	0.000268	0.7581	3.71E-08	0.7286	2.94E-14	0.6653	5.57E-28
スフィンゴセリン (d17:1,C24:1)	0.8522	9.8E-08	0.8011	9.15E-14	0.8885	0.001081	0.8784	0.002306	0.8233	3.26E-08	0.7814	2.1E-15
スフィンゴセリン (d18:2,C18:0)	1.0149	0.356941	1.036	0.026593	1.0156	0.432151	1.0169	0.471523	1.0137	0.473344	1.0418	0.014526

【表 5】

表5: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関する補正しない特異的のスフィンゴミエリンと1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンとの合計パラメータに関するANOVAの結果

CHF	群	CHF	CHF	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFtEF	HFtEF	HFtEF	HFtEF
	NYHA クラス	I	I	II-III	II-III	I	I	II-III	II-III	I	I	II-III	II-III
	代謝物	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値	比	p.値
	合計スフィンゴミエリン	0.8459	1.43E-12	0.8386	4.15E-15	0.9051	0.00041	0.9578	0.176406	0.7931	1.42E-16	0.7978	2.01E-21
	1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5- オクタデカジエン	0.7838	4.2E-11	0.7473	1.09E-16	0.8681	0.001467	0.8862	0.016028	0.7117	1.2E-14	0.7009	2E-21
	スフィンゴミエリン (d18:0,C16:0)	0.8822	1.5E-09	0.8858	5.77E-10	0.9133	0.000345	0.9315	0.012902	0.8535	2.47E-10	0.8695	2.71E-11
	スフィンゴミエリン (d18:0,C18:0)	1.1076	0.008223	1.24	4.76E-09	1.1553	0.002512	1.3111	5.84E-07	1.064	0.184408	1.2146	8.1E-07
	スフィンゴミエリン (d18:1,C14:0)	0.7521	1.71E-16	0.7194	1.41E-23	0.8221	2.09E-06	0.8531	0.00063	0.6907	2.62E-19	0.6754	3.3E-29
	スフィンゴミエリン (d18:1,C16:0)	0.9017	1.41E-10	0.8855	1.98E-15	0.9267	0.000101	0.9421	0.006915	0.8784	2.14E-11	0.8654	1.17E-18
	スフィンゴミエリン (d18:1,C18:0)	0.958	0.082239	0.9958	0.855589	1.0046	0.879375	1.0813	0.022258	0.9155	0.002966	0.9658	0.161611
	スフィンゴミエリン (d18:1,C18:1)	0.8282	1.32E-11	0.8427	6.89E-11	0.8654	1.93E-05	0.9336	0.071044	0.7941	5.53E-12	0.8114	1.03E-13
	スフィンゴミエリン (d18:1,C20:0)	0.8596	9.11E-08	0.8661	7.23E-08	0.908	0.004833	0.9892	0.778459	0.8156	1.72E-09	0.8246	1.2E-11
	スフィンゴミエリン (d18:1,C20:1)	0.8581	9.85E-08	0.9227	0.002813	0.8797	0.000264	1.0184	0.643805	0.8376	2.93E-07	0.8898	5.26E-05
	スフィンゴミエリン (d18:1,C21:0)	0.814	2.69E-10	0.8416	1.79E-08	0.8643	0.000211	0.9805	0.655976	0.7685	1.37E-11	0.7954	2.4E-12
	スフィンゴミエリン (d18:1,C22:0)	0.8639	3.42E-09	0.8258	4.48E-16	0.9141	0.002712	0.9114	0.006057	0.8186	1.51E-11	0.7962	1.25E-19
	スフィンゴミエリン (d18:1,C22:1)	0.8186	2.87E-10	0.8586	3.15E-07	0.8713	0.000317	1.0069	0.873184	0.7709	6.46E-12	0.8096	2.67E-11
	スフィンゴミエリン (d18:1,C23:0)	0.8022	3.27E-13	0.7632	7.17E-21	0.8756	0.000258	0.8579	0.000189	0.738	5.14E-17	0.7308	1.54E-24
	スフィンゴミエリン (d18:1,C23:1)	0.844	8.07E-08	0.8736	5.42E-06	0.8997	0.005827	0.9937	0.883096	0.794	1.15E-09	0.8329	8.2E-09
	スフィンゴミエリン (d18:1,C24:0)	0.8261	1.63E-09	0.7676	2.08E-18	0.8875	0.001936	0.8352	3.61E-05	0.7717	1.12E-11	0.7438	5.61E-20
	スフィンゴミエリン (d18:1,C24:1)	0.9404	0.00295	0.9442	0.003206	0.97	0.226562	1.0311	0.282109	0.9128	0.000233	0.9141	1.55E-05
	スフィンゴミエリン (d18:1,C24:2)	0.8137	7.27E-12	0.8451	2.64E-09	0.8432	2.92E-06	0.9706	0.465826	0.786	2.2E-11	0.8031	3.99E-13
	スフィンゴミエリン (d18:2,C14:0)	0.8275	2.94E-09	0.8374	3.62E-09	0.8999	0.00565	1.0077	0.857977	0.7635	9.9E-13	0.782	1.01E-14
	スフィンゴミエリン (d18:2,C16:0)	0.8878	9.75E-06	0.9201	0.001003	0.9399	0.057669	1.0286	0.444011	0.8407	7.47E-08	0.8829	3.9E-06
	スフィンゴミエリン (d18:2,C18:1)	0.8116	4.66E-11	0.8385	3.49E-09	0.8515	2.91E-05	0.9581	0.322197	0.775	2.1E-11	0.7982	1.59E-12

スフィンゴミエリン (d18:2,C20:0)	0.8839	1.92E-06	0.9018	2.31E-05	0.9269	0.016112	0.9995	0.989172	0.8445	5.61E-08	0.8682	5.96E-08
スフィンゴミエリン (d18:2,C20:1)	0.8366	1.11E-08	0.8825	2E-05	0.8756	0.00045	1.0214	0.618625	0.8005	2.61E-09	0.8361	1.06E-08
スフィンゴミエリン (d18:2,C21:0)	0.8412	1.62E-09	0.8644	6.51E-08	0.888	0.000608	0.9873	0.742635	0.7985	5.35E-11	0.8229	1.22E-11
スフィンゴミエリン (d18:2,C22:0)	0.7926	7.37E-14	0.7641	7.93E-20	0.8563	3.07E-05	0.8881	0.004624	0.7362	1.38E-16	0.7227	4.58E-25
スフィンゴミエリン (d18:2,C22:1)	0.84	6.1E-10	0.8875	6.23E-06	0.8852	0.00035	1.0056	0.884478	0.7988	2.71E-11	0.8474	4.21E-09
スフィンゴミエリン (d18:2,C23:0)	0.7836	6.72E-18	0.7411	1.78E-28	0.8538	2.84E-06	0.8346	2.11E-06	0.7221	5.61E-22	0.7091	6.04E-33
スフィンゴミエリン (d18:2,C23:1)	0.7899	1.52E-10	0.7981	8.44E-11	0.8612	0.000747	0.9518	0.32207	0.7272	4.33E-13	0.7477	3.61E-15
スフィンゴミエリン (d18:2,C24:0)	0.7634	1.79E-17	0.7078	6.97E-30	0.8272	6.68E-07	0.7908	5.41E-08	0.7072	9.08E-20	0.6792	1.02E-32
スフィンゴミエリン (d18:2,C24:1)	0.8473	2.37E-08	0.8575	3.9E-08	0.8959	0.002119	1.0058	0.886256	0.8029	5.38E-10	0.8085	8.69E-13
スフィンゴミエリン (d18:2,C24:2)	0.8259	7.33E-12	0.8445	1.23E-10	0.8547	3.39E-06	0.9623	0.310767	0.799	1.75E-11	0.8048	1.04E-14
スフィンゴミエリン (d16:1,C16:0)	0.8475	1.44E-06	0.8305	1.05E-08	0.9219	0.05018	0.9605	0.390234	0.7822	2.25E-09	0.787	4.1E-12
スフィンゴミエリン (d16:1,C18:0)	0.9658	0.259474	0.9786	0.457489	1.0417	0.276982	1.1194	0.007913	0.8985	0.003709	0.9311	0.020702
スフィンゴミエリン (d16:1,C18:1)	0.8071	5.91E-09	0.8017	2.09E-10	0.8761	0.002862	0.9634	0.455448	0.7461	2.59E-11	0.749	5.63E-15
スフィンゴミエリン (d16:1,C20:0)	0.8735	3.25E-05	0.8586	7.16E-07	0.9559	0.249915	1.0141	0.750837	0.8013	1.09E-08	0.8072	4.84E-11
スフィンゴミエリン (d16:1,C21:0)	0.8224	2.8E-08	0.8156	8.76E-10	0.8828	0.003382	0.9631	0.433102	0.7684	3.83E-10	0.7669	7E-14
スフィンゴミエリン (d16:1,C22:0)	0.7688	4.93E-12	0.7141	1.76E-20	0.8566	0.000653	0.8746	0.008921	0.6933	5.59E-16	0.6624	9.54E-27
スフィンゴミエリン (d16:1,C22:1)	0.8055	8.97E-09	0.8145	7.35E-09	0.876	0.003429	0.9941	0.907959	0.7431	3.45E-11	0.7567	1.34E-13
スフィンゴミエリン (d16:1,C23:0)	0.7372	3.8E-13	0.6706	2.4E-23	0.8376	0.000402	0.8254	0.000689	0.6526	1.33E-17	0.6209	3.93E-29
スフィンゴミエリン (d16:1,C24:0)	0.8166	4.24E-10	0.7183	3.54E-26	0.9056	0.010468	0.8472	0.000154	0.7398	5.58E-15	0.6756	2.23E-32
スフィンゴミエリン (d16:1,C24:1)	0.8101	2.68E-09	0.7937	5.21E-12	0.8886	0.005201	0.976	0.610411	0.7414	9.83E-13	0.7353	3.82E-18
スフィンゴミエリン (d17:1,C16:0)	0.8106	5.7E-12	0.7878	1.64E-16	0.8648	7.41E-05	0.9169	0.035427	0.7618	7.39E-14	0.7449	1.14E-21
スフィンゴミエリン (d17:1,C18:0)	0.9147	0.00194	0.9238	0.00344	0.9726	0.426229	1.0449	0.266118	0.8626	1.78E-05	0.8826	1.51E-05
スフィンゴミエリン (d17:1,C20:0)	0.8595	1.32E-07	0.8412	1.9E-10	0.9079	0.005472	0.9534	0.22395	0.8155	2.97E-09	0.8031	3.91E-14
スフィンゴミエリン (d17:1,C22:0)	0.7599	5.52E-14	0.7067	2.36E-23	0.8343	3.38E-05	0.8454	0.000654	0.6951	6.33E-17	0.6614	6.83E-29
スフィンゴミエリン (d17:1,C23:0)	0.769	2.87E-13	0.6944	4.36E-26	0.8576	0.000344	0.8298	0.000119	0.693	1.09E-17	0.65	5.55E-32
スフィンゴミエリン (d17:1,C24:0)	0.7524	3.14E-16	0.6756	1.35E-31	0.8322	1E-05	0.7889	4.71E-07	0.6835	5.49E-20	0.6378	1.62E-36
スフィンゴミエリン (d17:1,C24:1)	0.8132	1.97E-11	0.7959	5.21E-15	0.8671	0.000116	0.9374	0.120524	0.7647	2.6E-13	0.7492	1.38E-20
スフィンゴミエリン (d18:2,C18:0)	0.9952	0.76838	1.0389	0.013561	1.011	0.587775	1.0638	0.006977	0.9805	0.318169	1.0296	0.079171

【 0 2 8 1 】

10

20

30

40

【表 6】

表6: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正した特定のコレステリルエステルおよびコレステリルエステルの加重和に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrEF	HFrEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.798	0.889	0.647	0.746	0.914	0.939
合計コレステリルエステル	0.665	0.714	0.486	0.478	0.720	0.762
CE_コレステリルエステル C12:0	0.520	0.623	0.486	0.478	0.493	0.632
CE_コレステリルエステル C14:0	0.547	0.619	0.486	0.478	0.537	0.653
CE_コレステリルエステル C14:1	0.492	0.519	0.486	0.478	0.493	0.561
CE_コレステリルエステル C15:0	0.609	0.661	0.486	0.478	0.640	0.705
CE_コレステリルエステル C16:1	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C16:2	0.536	0.489	0.486	0.478	0.493	0.590
CE_コレステリルエステル C16:3	0.480	0.495	0.486	0.478	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C18:0	0.502	0.586	0.486	0.478	0.570	0.624
CE_コレステリルエステル C18:3	0.492	0.566	0.486	0.478	0.493	0.613
CE_コレステリルエステル C18:4	0.492	0.486	0.486	0.478	0.493	0.580
CE_コレステリルエステル C20:1	0.619	0.624	0.486	0.478	0.701	0.664
CE_コレステリルエステル C20:2	0.518	0.504	0.486	0.478	0.556	0.592
CE_コレステリルエステル C20:3	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C20:5	0.528	0.526	0.486	0.478	0.573	0.620
CE_コレステリルエステル C22:4	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C22:5	0.565	0.592	0.486	0.478	0.539	0.641
CE_コレステリルエステル C22:6	0.577	0.510	0.486	0.478	0.624	0.609
コレステリルエステル C16:0	0.603	0.629	0.486	0.478	0.537	0.661
コレステリルエステル C18:1	0.651	0.690	0.545	0.478	0.683	0.717
コレステリルエステル C18:2	0.684	0.748	0.530	0.558	0.746	0.801
コレステリルエステル C20:4	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.509

【 0 2 8 2 】

【表 7】

表 7: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正しない特定のコレステリルエステルおよびコレステリルエステルの加重和に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrEF	HFrEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
合計コレステリルエステル	0.723	0.763	0.653	0.548	0.780	0.813
CE_コレステリルエステル C12:0	0.555	0.632	0.486	0.478	0.493	0.644
CE_コレステリルエステル C14:0	0.569	0.625	0.486	0.478	0.570	0.664
CE_コレステリルエステル C14:1	0.492	0.526	0.486	0.478	0.493	0.596
CE_コレステリルエステル C15:0	0.638	0.673	0.517	0.478	0.677	0.728
CE_コレステリルエステル C16:1	0.492	0.495	0.486	0.512	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C16:2	0.535	0.495	0.486	0.478	0.464	0.588
CE_コレステリルエステル C16:3	0.488	0.495	0.511	0.599	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C18:0	0.511	0.584	0.486	0.478	0.557	0.628
CE_コレステリルエステル C18:3	0.518	0.574	0.486	0.478	0.469	0.630
CE_コレステリルエステル C18:4	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.578
CE_コレステリルエステル C20:1	0.605	0.608	0.486	0.478	0.691	0.652
CE_コレステリルエステル C20:2	0.516	0.495	0.486	0.478	0.552	0.588
CE_コレステリルエステル C20:3	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.497
CE_コレステリルエステル C20:5	0.495	0.495	0.486	0.478	0.531	0.563
CE_コレステリルエステル C22:4	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.509
CE_コレステリルエステル C22:5	0.560	0.579	0.486	0.478	0.535	0.646
CE_コレステリルエステル C22:6	0.510	0.495	0.486	0.478	0.567	0.534
コレステリルエステル C16:0	0.637	0.661	0.578	0.478	0.626	0.706
コレステリルエステル C18:1	0.714	0.739	0.643	0.543	0.748	0.770
コレステリルエステル C18:2	0.739	0.798	0.655	0.684	0.800	0.844
コレステリルエステル C20:4	0.597	0.549	0.486	0.478	0.555	0.585

【 0 2 8 3 】

【表 8】

表 8: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正した NT-proBNP と組み合わせた特定のコレステリルエステルおよびコレステリルエステルの加重和に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrfEF	HFrfEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.798	0.889	0.647	0.746	0.914	0.939
合計コレステリルエステル	0.824	0.906	0.679	0.751	0.929	0.955
CE_コレステリルエステル C12:0	0.801	0.892	0.654	0.729	0.914	0.942
CE_コレステリルエステル C14:0	0.800	0.890	0.654	0.730	0.912	0.941
CE_コレステリルエステル C14:1	0.802	0.888	0.656	0.733	0.912	0.938
CE_コレステリルエステル C15:0	0.807	0.894	0.655	0.729	0.917	0.948
CE_コレステリルエステル C16:1	0.801	0.888	0.655	0.732	0.912	0.937
CE_コレステリルエステル C16:2	0.802	0.888	0.654	0.732	0.911	0.936
CE_コレステリルエステル C16:3	0.802	0.893	0.666	0.754	0.912	0.937
CE_コレステリルエステル C18:0	0.801	0.888	0.657	0.733	0.914	0.937
CE_コレステリルエステル C18:3	0.801	0.888	0.651	0.728	0.912	0.937
CE_コレステリルエステル C18:4	0.801	0.888	0.656	0.732	0.912	0.937
CE_コレステリルエステル C20:1	0.810	0.891	0.639	0.703	0.932	0.943
CE_コレステリルエステル C20:2	0.800	0.888	0.652	0.728	0.916	0.936
CE_コレステリルエステル C20:3	0.801	0.893	0.650	0.734	0.913	0.938
CE_コレステリルエステル C20:5	0.800	0.888	0.653	0.731	0.916	0.937
CE_コレステリルエステル C22:4	0.802	0.889	0.656	0.733	0.912	0.937
CE_コレステリルエステル C22:5	0.801	0.888	0.653	0.734	0.914	0.937
CE_コレステリルエステル C22:6	0.801	0.888	0.656	0.731	0.919	0.937
コレステリルエステル C16:0	0.812	0.896	0.670	0.733	0.915	0.946
コレステリルエステル C18:1	0.821	0.903	0.694	0.759	0.924	0.950
コレステリルエステル C18:2	0.827	0.913	0.681	0.765	0.934	0.960
コレステリルエステル C20:4	0.801	0.888	0.658	0.733	0.911	0.937

【 0 2 8 4 】

【表 9】

表 9: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正しない NT-proBNP と組み合わせた特定のコレステリルエステルおよびコレステリルエステルの加重和に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFpEF	HFpEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
合計コレステリルエステル	0.845	0.929	0.750	0.778	0.933	0.965
CE_コレステリルエステル C12:0	0.793	0.900	0.710	0.739	0.893	0.940
CE_コレステリルエステル C14:0	0.794	0.899	0.709	0.740	0.895	0.941
CE_コレステリルエステル C14:1	0.794	0.896	0.708	0.741	0.890	0.936
CE_コレステリルエステル C15:0	0.811	0.906	0.707	0.740	0.908	0.952
CE_コレステリルエステル C16:1	0.794	0.897	0.708	0.764	0.890	0.935
CE_コレステリルエステル C16:2	0.794	0.896	0.711	0.752	0.889	0.935
CE_コレステリルエステル C16:3	0.793	0.905	0.718	0.776	0.891	0.937
CE_コレステリルエステル C18:0	0.794	0.896	0.710	0.741	0.892	0.935
CE_コレステリルエステル C18:3	0.794	0.896	0.710	0.739	0.889	0.936
CE_コレステリルエステル C18:4	0.795	0.896	0.710	0.739	0.890	0.936
CE_コレステリルエステル C20:1	0.802	0.899	0.706	0.719	0.913	0.941
CE_コレステリルエステル C20:2	0.793	0.896	0.710	0.738	0.897	0.935
CE_コレステリルエステル C20:3	0.794	0.906	0.709	0.755	0.891	0.939
CE_コレステリルエステル C20:5	0.793	0.896	0.710	0.740	0.897	0.934
CE_コレステリルエステル C22:4	0.794	0.895	0.711	0.741	0.891	0.935
CE_コレステリルエステル C22:5	0.795	0.896	0.709	0.741	0.893	0.935
CE_コレステリルエステル C22:6	0.793	0.896	0.709	0.741	0.901	0.935
コレステリルエステル C16:0	0.818	0.910	0.735	0.744	0.903	0.950
コレステリルエステル C18:1	0.843	0.923	0.754	0.783	0.924	0.959
コレステリルエステル C18:2	0.847	0.937	0.757	0.830	0.939	0.971
コレステリルエステル C20:4	0.804	0.899	0.709	0.743	0.897	0.937

【 0 2 8 5 】

【表 10】

表 10: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正しない特定のスフィンゴミエリン、スフィンゴミエリンと 1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンとの合計パラメータに関する受信者操作特性 (ROC) 分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrefEF	HFrefEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエン	0.663	0.682	0.496	0.478	0.699	0.727
合計スフィンゴミエリン	0.688	0.678	0.491	0.478	0.756	0.739
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C16:0)	0.659	0.639	0.479	0.478	0.722	0.650
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C18:0)	0.498	0.628	0.502	0.633	0.493	0.610
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C14:0)	0.711	0.725	0.576	0.478	0.772	0.774
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C16:0)	0.659	0.684	0.475	0.478	0.726	0.719
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:0)	0.514	0.495	0.486	0.478	0.543	0.497
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:1)	0.680	0.649	0.510	0.478	0.731	0.672
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:0)	0.651	0.617	0.473	0.478	0.705	0.669
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:1)	0.643	0.512	0.522	0.478	0.672	0.556
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C21:0)	0.673	0.620	0.534	0.478	0.707	0.678
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:0)	0.651	0.682	0.505	0.478	0.695	0.708
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:1)	0.673	0.612	0.486	0.478	0.741	0.661
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:0)	0.689	0.714	0.512	0.478	0.752	0.750
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:1)	0.640	0.578	0.486	0.478	0.698	0.636
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:0)	0.662	0.701	0.533	0.478	0.706	0.720
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:1)	0.559	0.539	0.486	0.478	0.627	0.603
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:2)	0.695	0.633	0.600	0.478	0.726	0.693
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C14:0)	0.651	0.622	0.486	0.478	0.716	0.687
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C16:0)	0.634	0.569	0.486	0.478	0.675	0.618
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C18:1)	0.672	0.632	0.521	0.478	0.713	0.667
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:0)	0.628	0.593	0.486	0.478	0.649	0.628
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:1)	0.646	0.578	0.506	0.478	0.693	0.628
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C21:0)	0.664	0.616	0.500	0.478	0.704	0.666
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:0)	0.697	0.709	0.566	0.478	0.751	0.763
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:1)	0.664	0.590	0.508	0.478	0.715	0.636
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:0)	0.712	0.751	0.612	0.571	0.766	0.792
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:1)	0.660	0.640	0.486	0.478	0.716	0.695
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:0)	0.718	0.763	0.653	0.652	0.763	0.794
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:1)	0.662	0.626	0.480	0.478	0.717	0.691
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:2)	0.683	0.640	0.607	0.478	0.712	0.692
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C16:0)	0.631	0.628	0.486	0.478	0.698	0.672
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:0)	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.510
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:1)	0.648	0.636	0.484	0.478	0.706	0.690
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C20:0)	0.607	0.609	0.486	0.478	0.683	0.663
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C21:0)	0.644	0.627	0.486	0.478	0.691	0.683

SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:0)	0.684	0.714	0.492	0.478	0.752	0.765
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:1)	0.649	0.623	0.486	0.478	0.713	0.685
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C23:0)	0.688	0.730	0.495	0.532	0.749	0.776
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:0)	0.661	0.746	0.493	0.559	0.727	0.783
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:1)	0.667	0.654	0.479	0.478	0.738	0.717
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C16:0)	0.681	0.687	0.510	0.478	0.727	0.740
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C18:0)	0.583	0.507	0.486	0.478	0.607	0.583
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C20:0)	0.642	0.637	0.486	0.478	0.672	0.681
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C22:0)	0.699	0.725	0.591	0.478	0.741	0.773
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C23:0)	0.684	0.735	0.504	0.551	0.742	0.779
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:0)	0.711	0.767	0.619	0.649	0.761	0.802
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:1)	0.685	0.671	0.522	0.478	0.735	0.731
スフィンゴミエリン (d18:2,C18:0)	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.497

【 0 2 8 7 】

【表 1 1】

表 11: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正した特定のスフィンゴミエリン、スフィンゴミエリンと 1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンとの合計パラメータに関する受信者操作特性 (ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFREF	HFREF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.798	0.889	0.647	0.746	0.914	0.939
1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエン	0.642	0.697	0.503	0.545	0.672	0.717
合計スフィンゴミエリン	0.662	0.705	0.505	0.513	0.721	0.734
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C16:0)	0.635	0.634	0.486	0.478	0.682	0.629
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C18:0)	0.492	0.510	0.486	0.478	0.493	0.541
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C14:0)	0.676	0.725	0.499	0.542	0.738	0.755
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C16:0)	0.617	0.665	0.486	0.478	0.683	0.687
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:0)	0.504	0.495	0.486	0.478	0.511	0.480
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:1)	0.628	0.628	0.486	0.478	0.677	0.624
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:0)	0.641	0.639	0.485	0.478	0.690	0.668
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:1)	0.580	0.495	0.486	0.478	0.583	0.497
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C21:0)	0.644	0.633	0.527	0.478	0.659	0.656
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:0)	0.643	0.686	0.513	0.478	0.693	0.702
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:1)	0.657	0.635	0.554	0.478	0.715	0.658
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:0)	0.662	0.712	0.506	0.627	0.724	0.728
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:1)	0.608	0.594	0.486	0.478	0.656	0.620
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:0)	0.655	0.696	0.525	0.478	0.704	0.710
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:1)	0.552	0.557	0.486	0.478	0.601	0.597
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:2)	0.654	0.610	0.538	0.478	0.673	0.650
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C14:0)	0.616	0.647	0.486	0.478	0.662	0.680
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C16:0)	0.608	0.586	0.486	0.478	0.632	0.614
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C18:1)	0.620	0.626	0.486	0.478	0.648	0.633
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:0)	0.561	0.558	0.486	0.478	0.550	0.584
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:1)	0.582	0.546	0.486	0.478	0.588	0.570
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C21:0)	0.606	0.604	0.486	0.478	0.633	0.622
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:0)	0.652	0.689	0.488	0.478	0.709	0.724
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:1)	0.625	0.592	0.486	0.478	0.666	0.616
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:0)	0.648	0.733	0.486	0.648	0.712	0.750
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:1)	0.608	0.648	0.486	0.478	0.652	0.675
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:0)	0.668	0.726	0.517	0.610	0.721	0.747
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:1)	0.618	0.620	0.486	0.478	0.673	0.654
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:2)	0.618	0.612	0.486	0.478	0.632	0.636
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C16:0)	0.637	0.677	0.502	0.505	0.688	0.696
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:0)	0.511	0.550	0.486	0.478	0.493	0.590
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:1)	0.620	0.661	0.493	0.478	0.663	0.684
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C20:0)	0.615	0.659	0.486	0.478	0.670	0.683
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C21:0)	0.626	0.664	0.531	0.534	0.649	0.680

SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:0)	0.684	0.743	0.532	0.578	0.742	0.769
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:1)	0.641	0.665	0.536	0.505	0.684	0.695
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C23:0)	0.669	0.747	0.508	0.622	0.721	0.770
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:0)	0.653	0.751	0.500	0.615	0.713	0.776
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:1)	0.674	0.699	0.516	0.516	0.729	0.734
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C16:0)	0.660	0.705	0.523	0.542	0.694	0.734
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C18:0)	0.546	0.574	0.486	0.478	0.532	0.606
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C20:0)	0.619	0.658	0.513	0.543	0.624	0.674
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C22:0)	0.677	0.740	0.568	0.629	0.712	0.761
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C23:0)	0.652	0.741	0.509	0.627	0.698	0.763
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:0)	0.690	0.767	0.592	0.682	0.736	0.784
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:1)	0.660	0.689	0.555	0.478	0.698	0.722
スフィンゴミエリン (d18:2,C18:0)	0.492	0.495	0.486	0.478	0.493	0.501

【 0 2 8 9 】

【表 1 2】

表 12: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正した NT-proBNP と組み合わせた特定のスフィンゴミエリン、スフィンゴミエリンと 1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンとの合計パラメータに関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrefEF	HFrefEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.798	0.889	0.647	0.746	0.914	0.939
1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエン	0.813	0.901	0.666	0.755	0.920	0.948
合計スフィンゴミエリン	0.817	0.897	0.665	0.748	0.925	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C16:0)	0.821	0.895	0.663	0.741	0.929	0.943
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C18:0)	0.801	0.892	0.657	0.729	0.913	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C14:0)	0.825	0.907	0.687	0.763	0.931	0.954
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C16:0)	0.818	0.897	0.651	0.735	0.932	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:0)	0.800	0.889	0.654	0.728	0.917	0.937
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:1)	0.817	0.895	0.664	0.750	0.928	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:0)	0.814	0.888	0.655	0.729	0.920	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:1)	0.813	0.888	0.662	0.734	0.919	0.939
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C21:0)	0.819	0.892	0.677	0.732	0.922	0.941
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:0)	0.810	0.891	0.648	0.730	0.919	0.937
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:1)	0.824	0.894	0.678	0.728	0.932	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:0)	0.812	0.895	0.659	0.760	0.920	0.941
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:1)	0.811	0.893	0.652	0.731	0.922	0.944
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:0)	0.809	0.892	0.659	0.739	0.918	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:1)	0.802	0.888	0.649	0.729	0.923	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:2)	0.829	0.891	0.686	0.728	0.932	0.941
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C14:0)	0.808	0.893	0.656	0.731	0.920	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C16:0)	0.812	0.890	0.658	0.727	0.923	0.937
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C18:1)	0.815	0.893	0.666	0.745	0.923	0.940
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:0)	0.803	0.888	0.655	0.735	0.912	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:1)	0.809	0.890	0.653	0.730	0.920	0.939
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C21:0)	0.813	0.891	0.656	0.736	0.921	0.940
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:0)	0.815	0.892	0.656	0.734	0.923	0.941
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:1)	0.817	0.893	0.664	0.732	0.925	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:0)	0.813	0.900	0.662	0.776	0.923	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:1)	0.813	0.897	0.654	0.736	0.922	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:0)	0.817	0.895	0.679	0.764	0.922	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:1)	0.816	0.891	0.653	0.733	0.930	0.941
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:2)	0.821	0.891	0.676	0.733	0.926	0.940
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C16:0)	0.811	0.898	0.662	0.746	0.919	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:0)	0.801	0.888	0.656	0.733	0.912	0.937
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:1)	0.809	0.896	0.656	0.742	0.918	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C20:0)	0.804	0.890	0.654	0.727	0.916	0.939
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C21:0)	0.810	0.895	0.661	0.735	0.915	0.942

SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:0)	0.815	0.897	0.657	0.746	0.920	0.944
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:1)	0.813	0.895	0.664	0.730	0.919	0.944
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C23:0)	0.812	0.901	0.650	0.760	0.919	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:0)	0.805	0.895	0.653	0.754	0.917	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:1)	0.819	0.897	0.670	0.732	0.925	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C16:0)	0.821	0.903	0.684	0.753	0.924	0.952
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C18:0)	0.800	0.889	0.652	0.735	0.913	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C20:0)	0.807	0.890	0.658	0.735	0.913	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C22:0)	0.815	0.898	0.669	0.760	0.918	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C23:0)	0.810	0.902	0.657	0.771	0.919	0.948
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:0)	0.815	0.900	0.672	0.779	0.918	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:1)	0.821	0.896	0.682	0.739	0.924	0.947
スフィンゴミエリン (d18:2,C18:0)	0.801	0.888	0.655	0.733	0.911	0.937

【 0 2 9 1 】

【表 1 3】

表 13: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正しない NT-proBNP と組み合わせた特定のスフィンゴミエリン、スフィンゴミエリンと 1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエンとの合計パラメータに関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFREF	HFREF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
1-ヒドロキシ-2-アミノ-(cis,trans)-3,5-オクタデカジエン	0.819	0.911	0.717	0.750	0.915	0.954
合計スフィンゴミエリン	0.827	0.905	0.718	0.743	0.924	0.950
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C16:0)	0.829	0.906	0.722	0.750	0.927	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d18:0,C18:0)	0.791	0.907	0.701	0.771	0.891	0.940
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C14:0)	0.841	0.919	0.730	0.756	0.935	0.962
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C16:0)	0.833	0.912	0.721	0.752	0.932	0.953
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:0)	0.795	0.896	0.710	0.741	0.902	0.935
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C18:1)	0.832	0.908	0.743	0.747	0.930	0.949
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:0)	0.814	0.896	0.721	0.740	0.908	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C20:1)	0.825	0.899	0.719	0.739	0.918	0.942
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C21:0)	0.828	0.901	0.730	0.741	0.921	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:0)	0.808	0.898	0.732	0.750	0.900	0.937
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C22:1)	0.829	0.902	0.722	0.741	0.929	0.949
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:0)	0.820	0.904	0.725	0.761	0.914	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C23:1)	0.819	0.902	0.711	0.742	0.919	0.948
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:0)	0.806	0.899	0.737	0.761	0.899	0.937
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:1)	0.801	0.896	0.708	0.739	0.910	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:1,C24:2)	0.843	0.903	0.751	0.740	0.931	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C14:0)	0.819	0.902	0.707	0.741	0.918	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C16:0)	0.816	0.898	0.709	0.739	0.916	0.940
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C18:1)	0.828	0.903	0.723	0.742	0.921	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:0)	0.809	0.896	0.710	0.742	0.902	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C20:1)	0.824	0.901	0.712	0.742	0.921	0.944
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C21:0)	0.829	0.902	0.716	0.742	0.923	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:0)	0.828	0.904	0.747	0.743	0.918	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C22:1)	0.828	0.903	0.713	0.740	0.925	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:0)	0.835	0.916	0.725	0.770	0.925	0.955
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C23:1)	0.826	0.907	0.710	0.742	0.923	0.952
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:0)	0.832	0.911	0.758	0.785	0.916	0.948
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:1)	0.828	0.901	0.711	0.740	0.928	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d18:2,C24:2)	0.842	0.905	0.741	0.744	0.927	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C16:0)	0.808	0.903	0.708	0.741	0.909	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:0)	0.795	0.896	0.708	0.740	0.892	0.935
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C18:1)	0.814	0.903	0.710	0.741	0.914	0.946
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C20:0)	0.801	0.896	0.710	0.740	0.903	0.939
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C21:0)	0.815	0.901	0.712	0.740	0.908	0.945

SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:0)	0.815	0.902	0.721	0.745	0.909	0.945
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C22:1)	0.815	0.901	0.712	0.740	0.914	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C23:0)	0.820	0.909	0.717	0.752	0.915	0.951
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:0)	0.806	0.903	0.708	0.767	0.903	0.943
SM_スフィンゴミエリン (d16:1,C24:1)	0.818	0.901	0.712	0.743	0.918	0.947
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C16:0)	0.829	0.912	0.745	0.746	0.923	0.958
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C18:0)	0.799	0.896	0.710	0.741	0.900	0.938
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C20:0)	0.809	0.898	0.715	0.741	0.902	0.939
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C22:0)	0.823	0.907	0.752	0.755	0.912	0.950
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C23:0)	0.820	0.913	0.717	0.765	0.915	0.953
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:0)	0.823	0.910	0.742	0.782	0.911	0.950
SM_スフィンゴミエリン (d17:1,C24:1)	0.830	0.905	0.726	0.742	0.924	0.953
スフィンゴミエリン (d18:2,C18:0)	0.795	0.896	0.709	0.738	0.891	0.935

10

【0293】

本質的には、コレステリルエステルの加重和パラメータが最良の性能のコレステリルエステルと同等に機能することが示された。さらに、NT-proBNPなどの他の心不全バイオマーカーと共に、増分値を最良のコレステリルエステルならびに加重和パラメータについて証明することができる。スフィンゴミエリンの合計パラメータは、関連する分類性能および高度に有意な群差を示す。

20

【0294】

【表14】

表 14: 4 人の CHF 患者および 6 人の健康な対照における 3 つの反復物中で測定されたスフィンゴミエリンの総量

	反復物 1 [μM]	反復物 2 [μM]	反復物 3 [μM]
CHF_1	122	128	119
CHF_2	24	52	58
CHF_3	56	80	77
CHF_4	106	120	105
対照_1	247	225	204
対照_2	151	150	180
対照_3	NA	210	188
対照_4	244	229	196
対照_5	256	256	213
対照_6	245	262	238

30

【0295】

40

【表 15】

表 15: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正しないスフィンゴミエリンの合計パラメータとコレステリルエステルの合計パラメータに関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrEF	HFrEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
合計スフィンゴミエリン & 合計コレステリルエステル	0.739	0.772	0.640	0.519	0.818	0.829

10

【0296】

【表 16】

表 16: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正したスフィンゴミエリンの合計パラメータとコレステリルエステルの合計パラメータに関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrEF	HFrEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
合計スフィンゴミエリン & 合計コレステリルエステル	0.698	0.749	0.569	0.504	0.775	0.798

20

【0297】

【表 17】

表 17: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正しない NT-proBNP と組み合わせたスフィンゴミエリンの合計パラメータとコレステリルエステルの合計パラメータに関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFrEF	HFrEF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
合計スフィンゴミエリン & 合計コレステリルエステル & NT proBNP	0.849	0.929	0.739	0.819	0.942	0.966

30

【0298】

【表 18】

表 18: 交絡因子である年齢、BMI および性別に関して補正した NT-proBNP と組み合わせたスフィンゴミエリンの合計パラメータとコレステリルエステルの合計パラメータに関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)値

CHF 群	CHF	CHF	HFpEF	HFpEF	HFREF	HFREF
NYHA クラス	I	II または III	I	II または III	I	II または III
NT-proBNP	0.790	0.896	0.663	0.786	0.891	0.937
合計スフィンゴミエリン & 合計コレステリルエステル & NT proBNP	0.827	0.910	0.681	0.756	0.936	0.956

10

【0299】

[実施例 6]

トリアシルグリセロールおよびコレステリルエステルの総量の代替的決定

トリアシルグリセロールの総量およびコレステリルエステルとコレステロールとの総量を、cobas(登録商標)8000システム(Roche Diagnostics Limited, Rotkreuz, Switzerland)を用いる比色酵素アッセイによってヒト血漿試料中で決定した。このアッセイは、Wahlefeldら(Wahlefeld AW, Bergmeyer HU(編)、Methods of Enzymatic Analysis, 2nd English ed. New York, NY: Academic Press Inc 1974; 1831)により公開された方法に基づくものであった。値を、絶対濃度(単位mg/dl)として報告した。コレステリルエステルとコレステロールの総量を、実施例 9 におけるコレステリルエステルの総量に関する近似として取った。

20

【0300】

[実施例 7]

酵素アッセイを用いて決定された代謝物を用いた健康な対照からの CHF およびそのサブタイプの識別のための試験設計

実施例 1 に記載の試験設計に対して以下の変更を加えた: 12 人の健康な対照および 8 人の CHF 患者を除外し、2 人のさらなる CHF 患者を ICM から DCM にその分類を変更した。かくして、得られる患者コホートは、190 人の男性および女性の DCM 患者、181 人の男性および女性の ICM 患者、ならびに 208 人の男性および女性の HCM 患者を含む 823 人の被験体ならびに 24 4 人の健康な対照を含んでいた。

30

【0301】

患者コホートから、534 人の無作為に選択された被験体(サブグループによって階層化する)を、訓練セットとして取った。残りの 289 人の被験体を、試験セットとして取った。

【0302】

適合化された試験設計を、実施例 9 および 10 において適用した。

【0303】

[実施例 8]

バイオマーカーパネルへの 1 つ以上のパラメータおよび(必要に応じて)NT-proBNP の組合せ

R パッケージ glmnet(Zou, H. および Hastie, T., J. Roy. Stat. Soc. B Met. 67, 301-320, 2003; Friedman, J., Hastie, T. および Tibshirani, R, J. Stat. Softw. 33, 2010) 中に実装されたエラスティックネットアルゴリズムを用いて適合させたロジスティック回帰モデルを用いることによって、1 つ以上の酵素的に決定されたパラメータおよび(場合により)NT-proBNP をバイオマーカー中で組み合わせた。適合を、それぞれの訓練セットから被験体上で実施した。L1 および L2 ペナルティを等しい重量に与えた。酵素的に決定されたパラメータおよび/または NT-proBNP の対数変換された値(絶対値または絶対濃度)を中心にし、分析の前に単位分散に対してスケール化した。予測確率を、

40

【0304】

50

【数 4】

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(w_0 + \sum_{i=1}^n w_i x_i)}}$$

【0305】

として算出したが、ここで、特徴

【0306】

【数 5】

 $\hat{x}_i$

10

【0307】

は、

【0308】

【数 6】

$$\hat{x}_i = \frac{x_i - m_i}{s_i}$$

【0309】

(式中、 x_i は対数変換された測定値、例えば、吸収値および/または濃度値(すなわち、酵素的に決定された量および必要に応じて、NT-proBNPの量)であり、 m_i 、 s_i は、測定単位も考慮に入れた特徴特異的な倍率であり、 w_i はモデルの係数 [w_0 、切片； w_1 、第1のバイオマーカーの係数(特徴)； $w_2 \dots w_n$ 、さらなる特徴の係数； n 、考慮に入れる場合、NT-proBNPを含むパネル中のパラメータの数]である)

20

である。

【0310】

バイオマーカー中に1つ以上のパラメータおよび(必要に応じて)NT-proBNPを組み合わせる方法を、実施例3、9および10において適用した。

【0311】

[実施例9]

30

酵素的に決定されたパラメータおよび必要に応じて、NT-proBNPを用いた健康な対照からのCHFおよびそのサブタイプの識別

実施例4、5および6に記載のように決定されたコレステリルエステル、コレステロール、およびスフィンゴミエリンの総量の診断力ならびにその様々な組合せの診断力を、受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)を用いて見積もった(表19)。必要に応じて、コレステリルエステルの総量、コレステロールの総量、および/またはスフィンゴミエリンの総量を、さらにNT-proBNPと組み合わせた。

【0312】

試験設計は実施例7に記載されており、AUC値は訓練セットおよび試験セットについて別々に算出する。コレステリルエステル、コレステロール、および/またはスフィンゴミエリンの総量を、実施例8に記載のように、互いに、および/またはNT-proBNPと組み合わせた。

40

【0313】

また、実施例4に記載のように決定されたスフィンゴミエリンの吸収値は、実施例5に記載のように決定されたコレステリルエステルおよび/もしくはコレステロールの絶対濃度と組み合わせるか、もしくはその逆も想定されるか、または実施例4に記載のように決定されたスフィンゴミエリンの吸収値もしくは絶対濃度のいずれかを、実施例6に記載のように決定されたコレステリルエステル(および必要に応じて、NT-proBNP)の絶対値と組み合わせることも想定される。

【0314】

50

【表 19】

表 19: 交絡因子である年齢、BMI、および性別に関して補正しない、必要に応じて NT-proBNP(抗体反応により決定された)と組み合わせた、コレステリルエステル、コレステロール、およびスフィンゴミエリンの酵素的に決定された総量ならびにそれらの様々な組合せ(実施例 4、5 および 6 を参照されたい)に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)。パネル 1、2、3 および 5 は、2 つまたは 3 つのパラメータの組合せであるが、パネル 4、6、および 7 はただ 1 つのパラメータを含有する。NT-proBNP のみを比較のために示す。

データセット										訓練		試験				
実施例に記載のように決定された、スフィンゴミエリン、コレステリルエステル およびまたはコレステロールの総量										4 およびまたは 5	6	4 およびまたは 5	6			
パネル番号	パラメータの数(NT-proBNP を含まない)	スフィンゴミエリンの総量	コレステリルエステルの総量	コレステロールの総量	NT-proBNP	CHF サブグループ	事例数	対照数	吸収値	感度	特異性	NT-proBNP のみ	吸収値	感度	特異性	NT-proBNP のみ
1	3	yes	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.896	0.897		0.858	0.869	0.869		0.849
1	3	yes	yes	yes	yes	HFpEF	74	84	0.773	0.776		0.739	0.748	0.746		0.708
1	3	yes	yes	yes	yes	HFrEF	131	84	0.961	0.961		0.924	0.941	0.941		0.927
1	3	yes	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.977	0.977		0.935	0.979	0.978		0.953
1	3	yes	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.945	0.945		0.912	0.900	0.901		0.903
1	3	yes	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.854	0.856		0.798	0.840	0.838		0.802
1	3	yes	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.742	0.745		0.690	0.752	0.744		0.672
1	3	yes	yes	yes	yes	HFrEF 無症候性	49	84	0.949	0.951		0.888	0.924	0.927		0.911
1	3	yes	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.975	0.977		0.907	0.986	0.986		0.970

1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.927	0.930		0.872	0.851	0.854		0.846
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.930	0.930		0.908	0.897	0.897		0.890
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.816	0.818		0.811	0.741	0.749		0.755
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	82	84	0.969	0.968		0.944	0.953	0.951		0.939
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.978	0.977		0.950	0.974	0.972		0.941
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.958	0.958		0.937	0.931	0.929		0.940
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.948	0.949		0.890	0.896	0.896		0.874
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.971	0.970		0.905	0.962	0.960		0.929
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.919	0.923		0.871	0.793	0.796		0.794
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.980	0.980		0.970	0.991	0.992		0.987
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.990	0.991		0.984	0.999	0.999		0.989
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.973	0.971		0.957	0.982	0.981		0.986
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	CHF	205	84	0.759	0.755		0.858	0.743	0.742		0.849
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF	74	84	0.650	0.649		0.739	0.619	0.616		0.708
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF	131	84	0.825	0.818		0.924	0.814	0.814		0.927
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	ICM	64	84	0.880	0.874		0.935	0.880	0.880		0.953
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	DCM	67	84	0.774	0.765		0.912	0.753	0.751		0.903
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	CHF 無症候性	93	84	0.741	0.741		0.798	0.723	0.723		0.802
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF 無症候性	44	84	0.650	0.650		0.690	0.669	0.658		0.672
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF 無症候性	49	84	0.826	0.825		0.888	0.767	0.777		0.911
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	ICM 無症候性	24	84	0.893	0.889		0.907	0.826	0.838		0.970
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	DCM 無症候性	25	84	0.764	0.765		0.872	0.712	0.718		0.846
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	CHF 症候性	112	84	0.774	0.766		0.908	0.759	0.757		0.890
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF 症候性	30	84	0.650	0.648		0.811	0.550	0.559		0.755
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF 症候性	82	84	0.825	0.814		0.944	0.843	0.836		0.939
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	ICM 症候性	40	84	0.871	0.865		0.950	0.911	0.904		0.941
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	DCM 症候性	42	84	0.779	0.765		0.937	0.778	0.771		0.940
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.822	0.817		0.890	0.763	0.763		0.874
1	3	yes	yes	yes	yes	yes	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.883	0.876		0.905	0.846	0.843		0.929

【 0 3 1 6 】

40

1	3	yes	yes	yes	yes	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.753	0.749	0.871	0.649	0.653	0.794
1	3	yes	yes	yes	yes	no	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.829	0.819	0.970	0.873	0.873	0.987
1	3	yes	yes	yes	yes	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.873	0.870	0.984	0.940	0.949	0.989
1	3	yes	yes	yes	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.796	0.782	0.957	0.832	0.825	0.986
2	2	yes	yes	yes	no	yes	CHF	205	84	0.896	0.897	0.858	0.869	0.869	0.849
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF	74	84	0.773	0.776	0.739	0.748	0.748	0.708
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF	131	84	0.961	0.961	0.924	0.941	0.942	0.927
2	2	yes	yes	yes	no	yes	ICM	64	84	0.977	0.977	0.935	0.979	0.978	0.953
2	2	yes	yes	yes	no	yes	DCM	67	84	0.945	0.945	0.912	0.900	0.901	0.903
2	2	yes	yes	yes	no	yes	CHF 無症候性	93	84	0.854	0.856	0.798	0.840	0.839	0.802
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.742	0.744	0.690	0.752	0.746	0.672
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF 無症候性	49	84	0.949	0.951	0.888	0.924	0.928	0.911
2	2	yes	yes	yes	no	yes	ICM 無症候性	24	84	0.975	0.977	0.907	0.986	0.987	0.970
2	2	yes	yes	yes	no	yes	DCM 無症候性	25	84	0.927	0.930	0.872	0.851	0.855	0.846
2	2	yes	yes	yes	no	yes	CHF 症候性	112	84	0.930	0.930	0.908	0.897	0.898	0.890
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.816	0.820	0.811	0.741	0.751	0.755
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF 症候性	82	84	0.969	0.968	0.944	0.953	0.952	0.939
2	2	yes	yes	yes	no	yes	ICM 症候性	40	84	0.978	0.977	0.950	0.974	0.972	0.941
2	2	yes	yes	yes	no	yes	DCM 症候性	42	84	0.958	0.958	0.937	0.931	0.930	0.940
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.948	0.949	0.890	0.896	0.896	0.874
2	2	yes	yes	yes	no	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.971	0.970	0.905	0.962	0.961	0.929
2	2	yes	yes	yes	no	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.919	0.922	0.871	0.793	0.797	0.794
2	2	yes	yes	yes	no	yes	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.980	0.980	0.970	0.991	0.992	0.987
2	2	yes	yes	yes	no	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.990	0.991	0.984	0.999	1.000	0.989
2	2	yes	yes	yes	no	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.973	0.971	0.957	0.982	0.982	0.986
2	2	yes	yes	yes	no	no	CHF	205	84	0.756	0.755	0.858	0.737	0.742	0.849
2	2	yes	yes	yes	no	no	HFpEF	74	84	0.647	0.649	0.739	0.611	0.616	0.708
2	2	yes	yes	yes	no	no	HFpEF	131	84	0.822	0.818	0.924	0.809	0.814	0.927
2	2	yes	yes	yes	no	no	ICM	64	84	0.878	0.874	0.935	0.877	0.880	0.953

【 0 3 1 7 】

10

20

30

40

2	2	yes	yes	no	no	DCM	67	84	0.769	0.765		0.912	0.746	0.751		0.903
2	2	yes	yes	no	no	CHF 無症候性	93	84	0.740	0.741		0.798	0.717	0.723		0.802
2	2	yes	yes	no	no	HFpEF 無症候性	44	84	0.650	0.650		0.690	0.662	0.658		0.672
2	2	yes	yes	no	no	HFpEF 無症候性	49	84	0.824	0.824		0.888	0.763	0.777		0.911
2	2	yes	yes	no	no	ICM 無症候性	24	84	0.893	0.889		0.907	0.823	0.837		0.970
2	2	yes	yes	no	no	DCM 無症候性	25	84	0.760	0.764		0.872	0.706	0.718		0.846
2	2	yes	yes	no	no	CHF 症候性	112	84	0.769	0.766		0.908	0.752	0.757		0.890
2	2	yes	yes	no	no	HFpEF 症候性	30	84	0.644	0.647		0.811	0.542	0.559		0.755
2	2	yes	yes	no	no	HFpEF 症候性	82	84	0.820	0.814		0.944	0.838	0.836		0.939
2	2	yes	yes	no	no	ICM 症候性	40	84	0.868	0.865		0.960	0.908	0.904		0.941
2	2	yes	yes	no	no	DCM 症候性	42	84	0.774	0.765		0.937	0.771	0.771		0.940
2	2	yes	yes	no	no	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.820	0.817		0.890	0.758	0.763		0.874
2	2	yes	yes	no	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.882	0.876		0.905	0.843	0.842		0.929
2	2	yes	yes	no	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.750	0.749		0.871	0.644	0.654		0.794
2	2	yes	yes	no	no	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.823	0.819		0.970	0.869	0.873		0.987
2	2	yes	yes	no	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.869	0.870		0.984	0.940	0.949		0.989
2	2	yes	yes	no	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.790	0.783		0.957	0.825	0.825		0.986
3	2	yes	no	yes	yes	CHF	205	84	0.896	0.896		0.858	0.872	0.868		0.849
3	2	yes	no	yes	yes	HFpEF	74	84	0.775	0.774		0.739	0.757	0.745		0.708
3	2	yes	no	yes	yes	HFpEF	131	84	0.961	0.961		0.924	0.943	0.941		0.927
3	2	yes	no	yes	yes	ICM	64	84	0.976	0.977		0.935	0.979	0.977		0.953
3	2	yes	no	yes	yes	DCM	67	84	0.945	0.945		0.912	0.904	0.901		0.903
3	2	yes	no	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.855	0.856		0.798	0.842	0.836		0.802
3	2	yes	no	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.744	0.745		0.690	0.758	0.742		0.672
3	2	yes	no	yes	yes	HFpEF 無症候性	49	84	0.949	0.949		0.888	0.925	0.924		0.911
3	2	yes	no	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.974	0.976		0.907	0.984	0.984		0.970
3	2	yes	no	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.927	0.928		0.872	0.854	0.853		0.846
3	2	yes	no	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.931	0.929		0.908	0.901	0.897		0.890
3	2	yes	no	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.818	0.813		0.811	0.754	0.749		0.755

【 0 3 1 8 】

10

20

30

40

3	2	yes	no	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	82	84	0.969	0.968	0.944	0.955	0.952	0.939
3	2	yes	no	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.977	0.977	0.950	0.975	0.972	0.941
3	2	yes	no	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.959	0.958	0.937	0.934	0.930	0.940
3	2	yes	no	yes	yes	yes	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.948	0.948	0.890	0.899	0.895	0.874
3	2	yes	no	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.970	0.970	0.905	0.963	0.959	0.929
3	2	yes	no	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.918	0.922	0.871	0.798	0.795	0.794
3	2	yes	no	yes	yes	yes	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.981	0.980	0.970	0.992	0.991	0.987
3	2	yes	no	yes	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.990	0.990	0.984	0.999	0.999	0.989
3	2	yes	no	yes	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.974	0.971	0.957	0.984	0.982	0.986
3	2	yes	no	yes	no	no	CHF	205	84	0.756	0.750	0.858	0.742	0.741	0.849
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF	74	84	0.647	0.643	0.739	0.621	0.619	0.708
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF	131	84	0.822	0.814	0.924	0.812	0.811	0.927
3	2	yes	no	yes	no	no	ICM	64	84	0.877	0.870	0.935	0.875	0.872	0.953
3	2	yes	no	yes	no	no	DCM	67	84	0.771	0.761	0.912	0.753	0.752	0.903
3	2	yes	no	yes	no	no	CHF 無症候性	93	84	0.739	0.735	0.798	0.721	0.720	0.802
3	2	yes	no	yes	yes	no	HFrEF 無症候性	44	84	0.649	0.646	0.690	0.669	0.661	0.672
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF 無症候性	49	84	0.823	0.816	0.888	0.765	0.768	0.911
3	2	yes	no	yes	no	no	ICM 無症候性	24	84	0.891	0.882	0.907	0.818	0.822	0.970
3	2	yes	no	yes	no	no	DCM 無症候性	25	84	0.760	0.754	0.872	0.714	0.716	0.846
3	2	yes	no	yes	no	no	CHF 症候性	112	84	0.769	0.762	0.908	0.759	0.758	0.890
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF 症候性	30	84	0.643	0.640	0.811	0.555	0.561	0.755
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF 症候性	82	84	0.822	0.813	0.944	0.841	0.836	0.939
3	2	yes	no	yes	no	no	ICM 症候性	40	84	0.867	0.862	0.950	0.909	0.901	0.941
3	2	yes	no	yes	no	no	DCM 症候性	42	84	0.777	0.765	0.937	0.777	0.774	0.940
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.820	0.811	0.890	0.762	0.761	0.874
3	2	yes	no	yes	no	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.881	0.873	0.905	0.844	0.837	0.929
3	2	yes	no	yes	no	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.750	0.740	0.871	0.653	0.656	0.794
3	2	yes	no	yes	no	no	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.825	0.818	0.970	0.869	0.868	0.987
3	2	yes	no	yes	no	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.867	0.863	0.984	0.934	0.937	0.989

【 0 3 1 9 】

10

20

30

40

3	2	yes	no	yes	no	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.795	0.785	0.957	0.830	0.825	0.986
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	CHF	205	84	0.896	0.894	0.858	0.873	0.872	0.849
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF	74	84	0.776	0.773	0.739	0.758	0.758	0.708
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF	131	84	0.961	0.959	0.924	0.943	0.942	0.927
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	ICM	64	84	0.976	0.975	0.935	0.979	0.976	0.953
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	DCM	67	84	0.945	0.943	0.912	0.904	0.905	0.903
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.855	0.850	0.798	0.843	0.842	0.802
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.744	0.739	0.690	0.760	0.755	0.672
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF 無症候性	49	84	0.949	0.944	0.888	0.925	0.925	0.911
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.974	0.971	0.907	0.984	0.983	0.970
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.927	0.921	0.872	0.854	0.857	0.846
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.931	0.930	0.908	0.902	0.901	0.890
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.819	0.819	0.811	0.756	0.762	0.755
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF 症候性	82	84	0.969	0.968	0.944	0.955	0.954	0.939
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.977	0.977	0.950	0.975	0.972	0.941
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.959	0.959	0.937	0.935	0.935	0.940
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.947	0.944	0.890	0.899	0.898	0.874
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.970	0.968	0.905	0.963	0.959	0.929
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.918	0.914	0.871	0.800	0.805	0.794
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.981	0.981	0.970	0.992	0.991	0.987
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.990	0.990	0.984	0.999	0.999	0.989
4	1	yes	no	no	no	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.974	0.974	0.957	0.984	0.983	0.986
4	1	yes	no	no	no	no	no	CHF	205	84	0.756	0.749	0.858	0.742	0.743	0.849
4	1	yes	no	no	no	no	no	HFpEF	74	84	0.647	0.642	0.739	0.621	0.624	0.708
4	1	yes	no	no	no	no	no	HFpEF	131	84	0.822	0.813	0.924	0.812	0.811	0.927
4	1	yes	no	no	no	no	no	ICM	64	84	0.877	0.868	0.935	0.875	0.868	0.953
4	1	yes	no	no	no	no	no	DCM	67	84	0.771	0.761	0.912	0.753	0.756	0.903
4	1	yes	no	no	no	no	no	CHF 無症候性	93	84	0.739	0.731	0.798	0.721	0.720	0.802
4	1	yes	no	no	no	no	no	HFpEF 無症候性	44	84	0.649	0.642	0.690	0.669	0.666	0.672

【 0 3 2 0 】

10

20

30

40

4	1	yes	no	no	no	no	HFrEF 無症候性	49	84	0.823	0.811	0.888	0.765	0.766	0.911
4	1	yes	no	no	no	no	ICM 無症候性	24	84	0.891	0.877	0.907	0.818	0.815	0.970
4	1	yes	no	no	no	no	DCM 無症候性	25	84	0.760	0.750	0.872	0.714	0.717	0.846
4	1	yes	no	no	no	no	CHF 症候性	112	84	0.769	0.763	0.908	0.759	0.761	0.890
4	1	yes	no	no	no	no	HFpEF 症候性	30	84	0.643	0.642	0.811	0.555	0.565	0.755
4	1	yes	no	no	no	no	HFrEF 症候性	82	84	0.822	0.813	0.944	0.841	0.838	0.939
4	1	yes	no	no	no	no	ICM 症候性	40	84	0.867	0.862	0.950	0.909	0.900	0.941
4	1	yes	no	no	no	no	DCM 症候性	42	84	0.777	0.767	0.937	0.777	0.779	0.940
4	1	yes	no	no	no	no	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.820	0.807	0.890	0.762	0.761	0.874
4	1	yes	no	no	no	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.881	0.870	0.905	0.844	0.835	0.929
4	1	yes	no	no	no	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.750	0.736	0.871	0.653	0.659	0.794
4	1	yes	no	no	no	no	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.825	0.820	0.970	0.869	0.867	0.987
4	1	yes	no	no	no	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.867	0.862	0.984	0.934	0.930	0.989
4	1	yes	no	no	no	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.795	0.789	0.957	0.830	0.829	0.986
5	2	no	yes	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.878	0.876	0.858	0.844	0.850	0.849
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFpEF	74	84	0.753	0.756	0.739	0.691	0.703	0.708
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF	131	84	0.945	0.941	0.924	0.927	0.931	0.927
5	2	no	yes	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.962	0.957	0.935	0.967	0.965	0.953
5	2	no	yes	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.929	0.926	0.912	0.887	0.896	0.903
5	2	no	yes	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.827	0.828	0.798	0.808	0.807	0.802
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.714	0.720	0.690	0.680	0.674	0.672
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 無症候性	49	84	0.924	0.921	0.888	0.917	0.920	0.911
5	2	no	yes	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.951	0.948	0.907	0.985	0.983	0.970
5	2	no	yes	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.903	0.899	0.872	0.838	0.846	0.846
5	2	no	yes	yes	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.918	0.914	0.908	0.877	0.886	0.890
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.806	0.806	0.811	0.704	0.740	0.755
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	82	84	0.958	0.953	0.944	0.938	0.939	0.939
5	2	no	yes	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.967	0.962	0.950	0.955	0.951	0.941
5	2	no	yes	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.948	0.943	0.937	0.921	0.927	0.940

【 0 3 2 1 】

10

20

30

40

5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.926	0.921	0.890	0.874	0.876	0.874
5	2	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.943	0.937	0.905	0.943	0.941	0.929
5	2	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.906	0.902	0.871	0.769	0.778	0.794
5	2	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.973	0.969	0.970	0.988	0.991	0.987
5	2	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.990	0.989	0.984	0.998	0.998	0.989
5	2	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.957	0.953	0.957	0.977	0.983	0.986
5	2	no	yes	yes	yes	no	CHF	205	84	0.690	0.661	0.858	0.641	0.639	0.849
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF	74	84	0.616	0.605	0.739	0.501	0.528	0.708
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF	131	84	0.731	0.692	0.924	0.718	0.702	0.927
5	2	no	yes	yes	yes	no	ICM	64	84	0.789	0.744	0.935	0.801	0.776	0.953
5	2	no	yes	yes	yes	no	DCM	67	84	0.674	0.640	0.912	0.640	0.628	0.903
5	2	no	yes	yes	yes	no	CHF 無症候性	93	84	0.680	0.670	0.798	0.623	0.637	0.802
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF 無症候性	44	84	0.614	0.612	0.690	0.552	0.541	0.672
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF 無症候性	49	84	0.741	0.719	0.888	0.679	0.712	0.911
5	2	no	yes	yes	yes	no	ICM 無症候性	24	84	0.807	0.772	0.907	0.771	0.790	0.970
5	2	no	yes	yes	yes	no	DCM 無症候性	25	84	0.676	0.664	0.872	0.587	0.631	0.846
5	2	no	yes	yes	yes	no	CHF 症候性	112	84	0.698	0.653	0.908	0.655	0.641	0.890
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF 症候性	30	84	0.618	0.594	0.811	0.439	0.511	0.755
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF 症候性	82	84	0.726	0.675	0.944	0.741	0.696	0.939
5	2	no	yes	yes	yes	no	ICM 症候性	40	84	0.778	0.727	0.950	0.817	0.767	0.941
5	2	no	yes	yes	yes	no	DCM 症候性	42	84	0.674	0.625	0.937	0.670	0.625	0.940
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.740	0.714	0.890	0.661	0.652	0.874
5	2	no	yes	yes	yes	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.785	0.749	0.905	0.748	0.718	0.929
5	2	no	yes	yes	yes	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.685	0.672	0.871	0.540	0.560	0.794
5	2	no	yes	yes	yes	no	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.718	0.657	0.970	0.784	0.758	0.987
5	2	no	yes	yes	yes	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.796	0.736	0.984	0.897	0.881	0.989
5	2	no	yes	yes	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.661	0.598	0.957	0.716	0.681	0.986
6	1	no	yes	no	yes	yes	CHF	205	84	0.878	0.876	0.858	0.845	0.852	0.849
6	1	no	yes	no	yes	yes	HFrEF	74	84	0.754	0.757	0.739	0.694	0.707	0.708

【 0 3 2 2 】

10

20

30

40

6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFrEF	131	84	0.945	0.941	0.941	0.924	0.928	0.933	0.926	0.927
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	ICM	64	84	0.962	0.957	0.959	0.935	0.967	0.966	0.966	0.953
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	DCM	67	84	0.929	0.926	0.922	0.912	0.888	0.898	0.886	0.903
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	CHF 無症候性	93	84	0.827	0.828	0.816	0.798	0.810	0.811	0.811	0.802
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.714	0.719	0.696	0.690	0.683	0.679	0.688	0.672
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFpEF 無症候性	49	84	0.924	0.921	0.917	0.888	0.918	0.923	0.916	0.911
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	ICM 無症候性	24	84	0.951	0.948	0.948	0.907	0.985	0.985	0.987	0.970
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	DCM 無症候性	25	84	0.902	0.899	0.892	0.872	0.839	0.849	0.833	0.846
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	CHF 症候性	112	84	0.919	0.915	0.915	0.908	0.878	0.888	0.878	0.890
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.809	0.810	0.805	0.811	0.707	0.744	0.712	0.755
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFpEF 症候性	82	84	0.958	0.953	0.954	0.944	0.938	0.940	0.937	0.939
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	ICM 症候性	40	84	0.967	0.962	0.965	0.950	0.955	0.952	0.953	0.941
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	DCM 症候性	42	84	0.948	0.944	0.942	0.937	0.922	0.929	0.922	0.940
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.926	0.921	0.921	0.890	0.875	0.878	0.874	0.874
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.943	0.936	0.940	0.905	0.944	0.943	0.945	0.929
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.906	0.902	0.898	0.871	0.772	0.782	0.768	0.794
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.973	0.970	0.969	0.970	0.988	0.991	0.987	0.987
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.990	0.989	0.989	0.984	0.998	0.998	0.997	0.989
6	1	no	yes	no	yes	no	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.957	0.954	0.950	0.957	0.978	0.984	0.977	0.986
6	1	no	yes	no	yes	no	no	CHF	205	84	0.690	0.661	0.663	0.858	0.641	0.639	0.638	0.849
6	1	no	yes	no	yes	no	no	HFpEF	74	84	0.616	0.605	0.574	0.739	0.501	0.528	0.498	0.708
6	1	no	yes	no	yes	no	no	HFrEF	131	84	0.731	0.692	0.710	0.924	0.718	0.702	0.715	0.927
6	1	no	yes	no	yes	no	no	ICM	64	84	0.789	0.744	0.773	0.935	0.801	0.776	0.801	0.953
6	1	no	yes	no	yes	no	no	DCM	67	84	0.674	0.640	0.647	0.912	0.640	0.628	0.634	0.903
6	1	no	yes	no	yes	no	no	CHF 無症候性	93	84	0.680	0.670	0.650	0.798	0.623	0.637	0.618	0.802
6	1	no	yes	no	yes	no	no	HFpEF 無症候性	44	84	0.614	0.612	0.562	0.690	0.552	0.541	0.549	0.672
6	1	no	yes	no	yes	no	no	HFpEF 無症候性	49	84	0.741	0.719	0.726	0.888	0.679	0.712	0.671	0.911
6	1	no	yes	no	yes	no	no	ICM 無症候性	24	84	0.807	0.772	0.802	0.907	0.771	0.790	0.781	0.970
6	1	no	yes	no	yes	no	no	DCM 無症候性	25	84	0.676	0.664	0.648	0.872	0.587	0.631	0.564	0.846

【 0 3 2 3 】

10

20

30

40

6	1	no	yes	no	no	CHF 症候性	112	84	0.698	0.653	0.672	0.908	0.655	0.641	0.653	0.890
6	1	no	yes	no	no	HFpEF 症候性	30	84	0.618	0.594	0.591	0.811	0.439	0.511	0.439	0.755
6	1	no	yes	no	no	HFpEF 症候性	82	84	0.726	0.675	0.701	0.944	0.741	0.696	0.741	0.939
6	1	no	yes	no	no	ICM 症候性	40	84	0.778	0.727	0.755	0.950	0.817	0.767	0.812	0.941
6	1	no	yes	no	no	DCM 症候性	42	84	0.674	0.625	0.647	0.937	0.670	0.625	0.674	0.940
6	1	no	yes	no	no	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.740	0.714	0.730	0.890	0.661	0.652	0.653	0.874
6	1	no	yes	no	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.785	0.749	0.775	0.905	0.748	0.718	0.748	0.929
6	1	no	yes	no	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.685	0.672	0.674	0.871	0.540	0.560	0.520	0.794
6	1	no	yes	no	no	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.718	0.657	0.681	0.970	0.784	0.758	0.786	0.987
6	1	no	yes	no	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.796	0.736	0.769	0.984	0.897	0.881	0.899	0.989
6	1	no	yes	no	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.661	0.598	0.618	0.957	0.716	0.681	0.718	0.986
7	1	no	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.871	0.873		0.858	0.839	0.846		0.849
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF	74	84	0.743	0.752		0.739	0.680	0.696		0.708
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF	131	84	0.940	0.939		0.924	0.924	0.928		0.927
7	1	no	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.956	0.955		0.935	0.962	0.961		0.953
7	1	no	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.924	0.923		0.912	0.887	0.895		0.903
7	1	no	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.821	0.826		0.798	0.795	0.799		0.802
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.711	0.719		0.690	0.657	0.662		0.672
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	49	84	0.915	0.916		0.888	0.909	0.913		0.911
7	1	no	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.941	0.944		0.907	0.977	0.977		0.970
7	1	no	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.896	0.895		0.872	0.832	0.841		0.846
7	1	no	yes	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.911	0.911		0.908	0.878	0.886		0.890
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.788	0.797		0.811	0.710	0.740		0.755
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF 症候性	82	84	0.954	0.951		0.944	0.937	0.938		0.939
7	1	no	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.963	0.960		0.950	0.952	0.948		0.941
7	1	no	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.944	0.942		0.937	0.923	0.928		0.940
7	1	no	yes	yes	yes	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.919	0.918		0.890	0.868	0.871		0.874
7	1	no	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.937	0.935		0.905	0.937	0.937		0.929
7	1	no	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.899	0.898		0.871	0.763	0.773		0.794

【 0 3 2 4 】

10

20

30

40

7	1	no	no	yes	yes	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.969	0.968	0.970	0.987	0.990	0.987	0.987
7	1	no	no	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.986	0.986	0.984	0.996	0.996	0.996	0.989
7	1	no	no	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.955	0.952	0.957	0.979	0.984	0.979	0.986
7	1	no	no	yes	no	CHF	205	84	0.632	0.627	0.858	0.569	0.591	0.569	0.849
7	1	no	no	yes	no	HFrEF	74	84	0.572	0.583	0.739	0.441	0.490	0.441	0.708
7	1	no	no	yes	no	HFrEF	131	84	0.667	0.652	0.924	0.643	0.647	0.643	0.927
7	1	no	no	yes	no	ICM	64	84	0.735	0.711	0.935	0.731	0.722	0.731	0.953
7	1	no	no	yes	no	DCM	67	84	0.600	0.591	0.912	0.562	0.568	0.562	0.903
7	1	no	no	yes	no	CHF 無症候性	93	84	0.654	0.658	0.798	0.548	0.590	0.548	0.802
7	1	no	no	yes	no	HFrEF 無症候性	44	84	0.603	0.615	0.690	0.474	0.494	0.474	0.672
7	1	no	no	yes	no	HFrEF 無症候性	49	84	0.700	0.693	0.888	0.606	0.663	0.606	0.911
7	1	no	no	yes	no	ICM 無症候性	24	84	0.792	0.764	0.907	0.683	0.736	0.683	0.970
7	1	no	no	yes	no	DCM 無症候性	25	84	0.614	0.621	0.872	0.529	0.583	0.529	0.846
7	1	no	no	yes	no	CHF 症候性	112	84	0.617	0.601	0.908	0.586	0.591	0.586	0.890
7	1	no	no	yes	no	HFrEF 症候性	30	84	0.532	0.534	0.811	0.405	0.486	0.405	0.755
7	1	no	no	yes	no	HFrEF 症候性	82	84	0.650	0.625	0.944	0.666	0.637	0.666	0.939
7	1	no	no	yes	no	ICM 症候性	40	84	0.706	0.678	0.950	0.761	0.713	0.761	0.941
7	1	no	no	yes	no	DCM 症候性	42	84	0.592	0.573	0.937	0.582	0.558	0.582	0.940
7	1	no	no	yes	no	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.693	0.687	0.890	0.600	0.606	0.600	0.874
7	1	no	no	yes	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.757	0.733	0.905	0.676	0.662	0.676	0.929
7	1	no	no	yes	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.617	0.631	0.871	0.496	0.525	0.496	0.794
7	1	no	no	yes	no	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.628	0.594	0.970	0.692	0.692	0.692	0.987
7	1	no	no	yes	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.693	0.666	0.984	0.833	0.826	0.833	0.989
7	1	no	no	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.579	0.541	0.957	0.613	0.602	0.613	0.986

【0325】

[実施例10]

コレステリルエステル、コレステロール、およびスフィンゴミエリンの総量とトリアシルグリセロールの総量との組合せを用いた健康な対照からのCHFおよびそのサブタイプの識別

10

20

30

40

50

トリアシルグリセロールの総量と組み合わせた、実施例 4 および 5 に記載のように決定されたコレステリルエステル、コレステロール、および/またはスフィンゴミエリンの総量の診断力を、受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)を用いて見積もった(表20)。トリアシルグリセロールの総量を、実施例 6 に記載のように決定した。必要に応じて、得られたパラメータの組合せを、NT-proBNP とさらに組み合わせた。

【0326】

試験設計は実施例 7 に記載されており、AUC 値は訓練セットと試験セットについて別々に算出する。パラメータを、実施例 8 に記載のように、互いに、および/または NT-proBNP と組み合わせた。

【0327】

あるいは、コレステリルエステルの総量を実施例 6 に記載のように決定することが想定される。

【0328】

【表 20】

表 20: 交絡因子である年齢、BMI、および性別について補正しない、必要に応じて、NT-proBNP(抗体反応により決定)とも組み合わせた、トリアシルグリセロールの総量(実施例 4、5 および 6 を参照)と組み合わせた、コレステリルエステル、コレステロール、コレステロール、およびまたはスフィンゴミエリンの酵素的に決定された総量に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)

データセット										訓練		試験			
実施例に記載のように決定されたスフィンゴミエリン、コレステリルエステルおよびまたはコレステロールの総量										4 およびまたは 5		4 およびまたは 5			
パネル番号	パラメータの数(NT-proBNP を含まない)	スフィンゴミエリンの総量	コレステリルエステルの総量	コレステロールの総量	トリアシルグリセロールの総量	NT-proBNP	CHF サブグループ	事例の数	対照の数	吸収値	感度	NT-proBNP のみ	吸収値	感度	NT-proBNP のみ
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.915	0.917	0.858	0.894	0.897	0.849
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	HFpEF	74	84	0.809	0.813	0.739	0.793	0.798	0.708
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	HFtEF	131	84	0.971	0.972	0.924	0.956	0.958	0.927
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.985	0.985	0.935	0.986	0.986	0.953
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.956	0.958	0.912	0.921	0.924	0.903
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.877	0.880	0.798	0.863	0.864	0.802
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.778	0.782	0.690	0.785	0.785	0.672
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	HFtEF 無症候性	49	84	0.961	0.963	0.888	0.938	0.942	0.911
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.985	0.985	0.907	0.989	0.989	0.970
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.939	0.943	0.872	0.875	0.881	0.846

【 0 3 3 0 】

40

8	4	yes	yes	yes	yes	yes	yes	no	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.892	0.889	0.970	0.893	0.897	0.987
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	yes	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.932	0.929	0.984	0.943	0.952	0.989
8	4	yes	yes	yes	yes	yes	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.861	0.860	0.957	0.863	0.864	0.986
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.915	0.916	0.858	0.895	0.898	0.849
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF	74	84	0.809	0.812	0.739	0.795	0.801	0.708
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF	131	84	0.971	0.971	0.924	0.957	0.959	0.927
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.985	0.984	0.935	0.986	0.986	0.953
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.956	0.957	0.912	0.921	0.925	0.903
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.877	0.878	0.798	0.865	0.866	0.802
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 無症候性	44	84	0.776	0.779	0.690	0.788	0.788	0.672
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 無症候性	49	84	0.961	0.962	0.888	0.939	0.943	0.911
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.985	0.985	0.907	0.989	0.990	0.970
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.939	0.941	0.872	0.875	0.882	0.846
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.946	0.946	0.908	0.923	0.926	0.890
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	30	84	0.854	0.858	0.811	0.804	0.817	0.755
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	82	84	0.977	0.977	0.944	0.968	0.968	0.939
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.985	0.984	0.950	0.984	0.984	0.941
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.969	0.969	0.937	0.948	0.950	0.940
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.958	0.958	0.890	0.921	0.924	0.874
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.980	0.979	0.905	0.975	0.975	0.929
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.928	0.932	0.871	0.833	0.842	0.794
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.989	0.989	0.970	0.995	0.996	0.987
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.996	0.996	0.984	1.000	1.000	0.989
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.984	0.984	0.967	0.988	0.989	0.986
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	no	CHF	205	84	0.810	0.809	0.858	0.792	0.801	0.849
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	no	HFrEF	74	84	0.709	0.710	0.739	0.697	0.710	0.708
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	no	HFrEF	131	84	0.869	0.866	0.924	0.847	0.854	0.927
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	no	ICM	64	84	0.917	0.911	0.935	0.892	0.897	0.953
9	3	yes	yes	no	yes	yes	yes	no	DCM	67	84	0.822	0.823	0.912	0.803	0.812	0.903

cc

【 0 3 3 1 】

10

20

30

40

9	3	yes	yes	no	yes	no	CHF 無症候性	93	84	0.787	0.787	0.798	0.769	0.780	0.802
9	3	yes	yes	no	yes	no	HFpEF 無症候性	44	84	0.702	0.702	0.690	0.725	0.729	0.672
9	3	yes	yes	no	yes	no	HFpEF 無症候性	49	84	0.864	0.864	0.888	0.807	0.825	0.911
9	3	yes	yes	no	yes	no	ICM 無症候性	24	84	0.925	0.919	0.907	0.851	0.865	0.970
9	3	yes	yes	no	yes	no	DCM 無症候性	25	84	0.807	0.813	0.872	0.764	0.783	0.846
9	3	yes	yes	no	yes	no	CHF 症候性	112	84	0.829	0.827	0.908	0.811	0.819	0.890
9	3	yes	yes	no	yes	no	HFpEF 症候性	30	84	0.718	0.720	0.811	0.655	0.680	0.755
9	3	yes	yes	no	yes	no	HFpEF 症候性	82	84	0.872	0.867	0.944	0.871	0.872	0.939
9	3	yes	yes	no	yes	no	ICM 症候性	40	84	0.913	0.906	0.950	0.915	0.915	0.941
9	3	yes	yes	no	yes	no	DCM 症候性	42	84	0.831	0.828	0.937	0.828	0.831	0.940
9	3	yes	yes	no	yes	no	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.853	0.850	0.890	0.807	0.817	0.874
9	3	yes	yes	no	yes	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.909	0.901	0.905	0.864	0.867	0.929
9	3	yes	yes	no	yes	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.788	0.791	0.871	0.724	0.742	0.794
9	3	yes	yes	no	yes	no	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.892	0.889	0.970	0.893	0.897	0.987
9	3	yes	yes	no	yes	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.932	0.929	0.984	0.943	0.952	0.989
9	3	yes	yes	no	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.861	0.860	0.957	0.863	0.864	0.986
10	3	yes	no	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.914	0.917	0.858	0.896	0.897	0.849
10	3	yes	no	yes	yes	yes	HFpEF	74	84	0.808	0.813	0.739	0.797	0.799	0.708
10	3	yes	no	yes	yes	yes	HFpEF	131	84	0.971	0.972	0.924	0.957	0.958	0.927
10	3	yes	no	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.985	0.985	0.935	0.986	0.986	0.953
10	3	yes	no	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.956	0.959	0.912	0.922	0.925	0.903
10	3	yes	no	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.877	0.880	0.798	0.863	0.864	0.802
10	3	yes	no	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.780	0.784	0.690	0.786	0.785	0.672
10	3	yes	no	yes	yes	yes	HFpEF 無症候性	49	84	0.961	0.963	0.888	0.938	0.941	0.911
10	3	yes	no	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.984	0.985	0.907	0.988	0.988	0.970
10	3	yes	no	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.940	0.943	0.872	0.876	0.881	0.846
10	3	yes	no	yes	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.945	0.946	0.908	0.924	0.926	0.890
10	3	yes	no	yes	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.848	0.853	0.811	0.809	0.817	0.755
10	3	yes	no	yes	yes	yes	HFpEF 症候性	82	84	0.978	0.978	0.944	0.968	0.968	0.939

【 0 3 3 2 】

10

20

30

40

10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.985	0.985	0.950	0.985	0.941
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.969	0.971	0.937	0.949	0.940
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.958	0.960	0.890	0.921	0.874
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.980	0.980	0.905	0.975	0.929
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.929	0.934	0.871	0.834	0.794
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.989	0.989	0.970	0.995	0.987
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.995	0.996	0.984	0.999	0.989
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.984	0.984	0.957	0.989	0.986
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	CHF	205	84	0.805	0.807	0.858	0.793	0.849
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF	74	84	0.704	0.708	0.739	0.704	0.708
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF	131	84	0.865	0.865	0.924	0.845	0.927
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM	64	84	0.912	0.911	0.935	0.887	0.953
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM	67	84	0.819	0.820	0.912	0.804	0.903
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.784	0.787	0.798	0.769	0.802
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 無症候性	44	84	0.701	0.704	0.690	0.728	0.672
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 無症候性	49	84	0.860	0.862	0.888	0.805	0.911
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.920	0.918	0.907	0.839	0.970
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.805	0.808	0.872	0.770	0.846
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.823	0.823	0.908	0.813	0.890
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	30	84	0.708	0.712	0.811	0.667	0.755
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF 症候性	82	84	0.868	0.867	0.944	0.870	0.939
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.907	0.906	0.950	0.913	0.941
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.828	0.827	0.937	0.827	0.940
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.848	0.848	0.890	0.808	0.874
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.902	0.900	0.905	0.861	0.929
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.785	0.786	0.871	0.732	0.794
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.889	0.890	0.970	0.887	0.987
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.928	0.930	0.984	0.934	0.989
10	3	yes	no	yes	yes	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.859	0.859	0.957	0.858	0.986

【0333】

[実施例11]

スフィンゴミエリンの総量とトリアシルグリセロールの総量との組合せを用いた健康な対照からのCHFおよびそのサブタイプの識別

トリアシルグリセロールの総量と組み合わせた実施例4に記載のように決定されたスフィンゴミエリンの総量の診断力を、受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)を用いて見積もった(表21)。トリアシルグリセロールの総量を、実施例6に記載のように決定した。必要に応じて、NT-proBNPも考慮に入れた。

【0334】

10

20

30

40

50

試験設計は実施例 7 に記載されており、AUC 値は訓練セットと試験セットについて別々に算出する。パラメータを、実施例 8 に記載のように、互いに、および/または NT-proBNP と組み合わせた。

【 0 3 3 5 】

【表 2 1】

表 21: 交絡因子である年齢、BMI、および性別について補正しない、必要に応じて、NT-proBNP(抗体反応により決定)とも組み合わせた、トリアシルグリセロールの酵素的に決定された総量と組み合わせた、スフィンゴエリンの酵素的に決定された総量に関する受信者操作特性(ROC)分析の曲線下面積(AUC)

データセット										訓練		試験	
実施例に記載のように決定されたスフィンゴエリンの総量										4		4	
パネル番号	パライメータの数(NT-proBNPを含めない)	スフィンゴエリンの総量	コレステロールの総量	コレステロールの総量	トリアシルグリセロールの総量	NT-proBNP	CHF サブグループ	事例数	対照数	吸収値	特異性	吸収値	特異性
11	2	yes	no	no	yes	yes	CHF	205	84	0.913	0.911	0.899	0.899
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFpEF	74	84	0.809	0.807	0.806	0.807
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFREF	131	84	0.969	0.968	0.958	0.957
11	2	yes	no	no	yes	yes	ICM	64	84	0.982	0.981	0.985	0.984
11	2	yes	no	no	yes	yes	DCM	67	84	0.955	0.953	0.925	0.926
11	2	yes	no	no	yes	yes	CHF 無症候性	93	84	0.875	0.871	0.866	0.866
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFpEF 無症候性	44	84	0.776	0.773	0.795	0.792
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFREF 無症候性	49	84	0.959	0.956	0.938	0.938
													NT-proBNPのみ
													0.849
													0.708
													0.927
													0.953
													0.903
													0.802
													0.672
													0.911

11	2	yes	no	no	yes	yes	ICM 無症候性	24	84	0.982	0.980	0.907	0.986	0.985	0.970
11	2	yes	no	no	yes	yes	DCM 無症候性	25	84	0.937	0.933	0.872	0.878	0.880	0.846
11	2	yes	no	no	yes	yes	CHF 症候性	112	84	0.945	0.944	0.908	0.928	0.928	0.890
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFpEF 症候性	30	84	0.854	0.856	0.811	0.820	0.827	0.755
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFpEF 症候性	82	84	0.976	0.975	0.944	0.970	0.968	0.939
11	2	yes	no	no	yes	yes	ICM 症候性	40	84	0.983	0.982	0.950	0.985	0.983	0.941
11	2	yes	no	no	yes	yes	DCM 症候性	42	84	0.968	0.967	0.937	0.952	0.952	0.940
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFpEF LVEF 35%~50%	71	84	0.955	0.952	0.890	0.923	0.923	0.874
11	2	yes	no	no	yes	yes	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.977	0.975	0.905	0.975	0.972	0.929
11	2	yes	no	no	yes	yes	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.925	0.921	0.871	0.840	0.845	0.794
11	2	yes	no	no	yes	yes	HFpEF LVEF < 35%	60	84	0.989	0.989	0.970	0.995	0.994	0.987
11	2	yes	no	no	yes	yes	ICM LVEF < 35%	22	84	0.995	0.995	0.984	0.999	0.999	0.989
11	2	yes	no	no	yes	yes	DCM LVEF < 35%	38	84	0.984	0.984	0.957	0.990	0.989	0.986
11	2	yes	no	no	yes	no	CHF	205	84	0.804	0.799	0.858	0.796	0.798	0.849
11	2	yes	no	no	yes	no	HFpEF	74	84	0.702	0.701	0.739	0.710	0.716	0.708
11	2	yes	no	no	yes	no	HFpEF	131	84	0.863	0.856	0.924	0.846	0.845	0.927
11	2	yes	no	no	yes	no	ICM	64	84	0.908	0.902	0.935	0.885	0.880	0.953
11	2	yes	no	no	yes	no	DCM	67	84	0.820	0.813	0.912	0.807	0.811	0.903
11	2	yes	no	no	yes	no	CHF 無症候性	93	84	0.782	0.776	0.798	0.771	0.772	0.802
11	2	yes	no	no	yes	no	HFpEF 無症候性	44	84	0.697	0.693	0.690	0.732	0.732	0.672
11	2	yes	no	no	yes	no	HFpEF 無症候性	49	84	0.859	0.850	0.888	0.805	0.806	0.911

【 0 3 3 7 】

11	2	yes	no	no	yes	no	ICM 無症候性	24	84	0.916	0.907	0.907	0.835	0.833	0.970
11	2	yes	no	no	yes	no	DCM 無症候性	25	84	0.805	0.797	0.872	0.773	0.778	0.846
11	2	yes	no	no	yes	no	CHF 症候性	112	84	0.822	0.818	0.908	0.818	0.820	0.890
11	2	yes	no	no	yes	no	HFrEF 症候性	30	84	0.709	0.711	0.811	0.676	0.690	0.755
11	2	yes	no	no	yes	no	HFrEF 症候性	82	84	0.866	0.860	0.944	0.872	0.869	0.939
11	2	yes	no	no	yes	no	ICM 症候性	40	84	0.903	0.899	0.950	0.914	0.906	0.941
11	2	yes	no	no	yes	no	DCM 症候性	42	84	0.829	0.822	0.937	0.831	0.833	0.940
11	2	yes	no	no	yes	no	HFrEF LVEF 35%~50%	71	84	0.845	0.835	0.890	0.810	0.810	0.874
11	2	yes	no	no	yes	no	ICM LVEF 35%~50%	42	84	0.897	0.889	0.905	0.860	0.855	0.929
11	2	yes	no	no	yes	no	DCM LVEF 35%~50%	29	84	0.785	0.774	0.871	0.736	0.743	0.794
11	2	yes	no	no	yes	no	HFrEF LVEF < 35%	60	84	0.888	0.886	0.970	0.887	0.885	0.987
11	2	yes	no	no	yes	no	ICM LVEF < 35%	22	84	0.925	0.924	0.984	0.930	0.925	0.989
11	2	yes	no	no	yes	no	DCM LVEF < 35%	38	84	0.861	0.858	0.957	0.861	0.861	0.986

【0338】

[実施例12]

様々なカットオフ値での感度および特異度

実施例8に記載のように算出された、予測確率 p に関するカットオフ値を、被験体を心不全に罹患しているか否かと分類するために定義した。カットオフ値と等しい、またはそれより大きい予測確率 p を有する被験体に、心不全に罹患しているとの診断を与えた。カットオフ値より小さい予測確率 p を有する被験体に、心不全に罹患していないとの診断を与えた。

【0339】

3つの方法を、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、およびパネル10 + NT-proBNP(表20に列挙されている)のそれぞれ、ならびにパネル11 + NT-proBNP(表21に列挙されている)に関するカットオフ値選択のために用いた。絶対濃度を、全てのパラメータについて用いた。絶対濃度の代わりに、吸収値を用いてもよい。パネル8、9、10および11を、

NT-proBNPを用いずに用いることもできる。

【0340】

NT-proBNPのみのために、125pg/mlの固定されたカットオフ値を用いた。パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、およびパネル10 + NT-proBNPのそれぞれに関する3つのカットオフ値を、以下の3つの異なる方法にしたがって選択した：1)それぞれのパネルが訓練セットにおけるサブグループ「HFrEF」(実施例7)に対する感度がNT-proBNPのみと同じとなるように、それぞれのパネル「パネル + NT-proBNP」に関するカットオフ値を選択する、2)それぞれのパネルが訓練セットにおけるサブグループ「HFrEF」(実施例7)に対する感度がNT-proBNPのみよりも5%高い感度となるように、それぞれのパネル「パネル + NT-proBNP」に関するカットオフ値を選択する、3)訓練セットにおけるサブグループ「HFrEF」(実施例7)に関するYouden指数を最大化するように、それぞれのパネル「パネル + NT-proBNP」に関するカットオフ値を選択する。

10

【0341】

感度および特異度を算出するための方法は、当業者には周知である。感度は、心不全に罹患すると診断される心不全に罹患している被験体の画分と定義される。特異度は、心不全に罹患していないと診断される心不全に罹患していない被験体の画分と定義される。Youden指数は、当業者には周知であり、感度 + 特異度 -1と定義される。

【0342】

それぞれのサブグループにおける、方法1)、2)および3)にしたがって選択されたカットオフ値ならびにそれぞれの感度および特異度を、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPならびにNT-proBNPのみについて表22に与える。方法1)は表22では「一致感度」と記載され、方法2)は「一致感度+5%」と記載され、方法3)は「Youden指数を最大化する」と記載される。表22に示される感度および特異度を、試験セット上で算出した。

20

【0343】

【表 2 2】

表 22: 交絡因子である年齢、BMI、および性別について補正しない、パネル 8 + NT-proBNP、パネル 9 + NT-proBNP、パネル 10 + NT-proBNP、およびパネル 11 + NT-proBNP に関する様々なカットオフ値での試験セットにおける感度および特異度。パネル組成、パネル中のパラメータ数、事例数および対照数、ならびに AUC 値は、パネル 8 + NT-proBNP、パネル 9 + NT-proBNP、およびパネル 10 + NT-proBNP については表 20 に、パネル 11 + NT-proBNP については表 21 に与えられている (「NT-proBNP」の列中の「yes」の行)。絶対濃度を、全てのパラメータについて用いた(濃度を、NT-proBNP については抗体反応により、他の全てについては酵素的に決定した)。NT-proBNP のみに関する感度および特異度を、比較のために示す。

心臓病のタイプ	NT-proBNP を含むバイオマーカーパネル	NT-proBNP のみ									
		一致感度			一致感度 + 5%			Youden's 指数を最大化する			特異度
		カットオフ	感度	特異度	カットオフ	感度	特異度	カットオフ	感度	特異度	
8 CHF		0.710	0.595	0.976	0.633	0.659	0.952	0.535	0.722	0.905	0.881
8 HFpEF		0.710	0.297	0.976	0.633	0.351	0.952	0.535	0.459	0.905	0.881
8 HFrEF		0.710	0.763	0.976	0.633	0.832	0.952	0.535	0.870	0.905	0.881
8 ICM		0.710	0.844	0.976	0.633	0.906	0.952	0.535	0.969	0.905	0.881
8 DCM		0.710	0.687	0.976	0.633	0.761	0.952	0.535	0.776	0.905	0.881
8 CHF 無症候性		0.710	0.473	0.976	0.633	0.538	0.952	0.535	0.613	0.905	0.881
8 HFpEF 無症候性		0.710	0.250	0.976	0.633	0.318	0.952	0.535	0.455	0.905	0.881
8 HFrEF 無症候性		0.710	0.673	0.976	0.633	0.735	0.952	0.535	0.755	0.905	0.881
8 ICM 無症候性		0.710	0.875	0.976	0.633	0.917	0.952	0.535	0.917	0.905	0.881
8 DCM 無症候性		0.710	0.480	0.976	0.633	0.560	0.952	0.535	0.600	0.905	0.881
8 CHF 症候性		0.710	0.696	0.976	0.633	0.759	0.952	0.535	0.813	0.905	0.881
8 HFpEF 症候性		0.710	0.367	0.976	0.633	0.400	0.952	0.535	0.467	0.905	0.881
8 HFrEF 症候性		0.710	0.817	0.976	0.633	0.890	0.952	0.535	0.939	0.905	0.881
8 ICM 症候性		0.710	0.825	0.976	0.633	0.900	0.952	0.535	1.000	0.905	0.881

8	DCM 症候性	0.710	0.810	0.976	0.633	0.881	0.952	0.535	0.881	0.905	0.810	0.881
8	HFrEF LVEF 35%~50%	0.710	0.620	0.976	0.633	0.718	0.952	0.535	0.775	0.905	0.676	0.881
8	ICM LVEF 35%~50%	0.710	0.762	0.976	0.633	0.857	0.952	0.535	0.952	0.905	0.833	0.881
8	DCM LVEF 35%~50%	0.710	0.414	0.976	0.633	0.517	0.952	0.535	0.517	0.905	0.448	0.881
8	HFrEF LVEF < 35%	0.710	0.933	0.976	0.633	0.967	0.952	0.535	0.983	0.905	0.983	0.881
8	ICM LVEF < 35%	0.710	1.000	0.976	0.633	1.000	0.952	0.535	1.000	0.905	1.000	0.881
8	DCM LVEF < 35%	0.710	0.895	0.976	0.633	0.947	0.952	0.535	0.974	0.905	0.974	0.881
9	CHF	0.702	0.595	0.988	0.625	0.659	0.952	0.494	0.741	0.893	0.649	0.881
9	HFpEF	0.702	0.297	0.988	0.625	0.351	0.952	0.494	0.500	0.893	0.351	0.881
9	HFrEF	0.702	0.763	0.988	0.625	0.832	0.952	0.494	0.878	0.893	0.817	0.881
9	ICM	0.702	0.844	0.988	0.625	0.906	0.952	0.494	0.969	0.893	0.891	0.881
9	DCM	0.702	0.687	0.988	0.625	0.761	0.952	0.494	0.791	0.893	0.746	0.881
9	CHF 無症候性	0.702	0.484	0.988	0.625	0.538	0.952	0.494	0.634	0.893	0.548	0.881
9	HFpEF 無症候性	0.702	0.250	0.988	0.625	0.318	0.952	0.494	0.477	0.893	0.273	0.881
9	HFrEF 無症候性	0.702	0.694	0.988	0.625	0.735	0.952	0.494	0.776	0.893	0.796	0.881
9	ICM 無症候性	0.702	0.875	0.988	0.625	0.917	0.952	0.494	0.917	0.893	0.958	0.881
9	DCM 無症候性	0.702	0.520	0.988	0.625	0.560	0.952	0.494	0.640	0.893	0.640	0.881
9	CHF 症候性	0.702	0.688	0.988	0.625	0.759	0.952	0.494	0.830	0.893	0.732	0.881
9	HFpEF 症候性	0.702	0.367	0.988	0.625	0.400	0.952	0.494	0.533	0.893	0.467	0.881
9	HFrEF 症候性	0.702	0.805	0.988	0.625	0.890	0.952	0.494	0.939	0.893	0.829	0.881
9	ICM 症候性	0.702	0.825	0.988	0.625	0.900	0.952	0.494	1.000	0.893	0.850	0.881
9	DCM 症候性	0.702	0.786	0.988	0.625	0.881	0.952	0.494	0.881	0.893	0.810	0.881
9	HFpEF LVEF 35%~50%	0.702	0.620	0.988	0.625	0.718	0.952	0.494	0.789	0.893	0.676	0.881
9	ICM LVEF 35%~50%	0.702	0.762	0.988	0.625	0.857	0.952	0.494	0.952	0.893	0.833	0.881

【 0 3 4 5 】

10

20

30

40

9	DCM LVEF 35%~50%	0.702	0.414	0.988	0.625	0.517	0.952	0.494	0.552	0.893	0.448	0.881
9	HFrEF LVEF < 35%	0.702	0.933	0.988	0.625	0.967	0.952	0.494	0.983	0.893	0.983	0.881
9	ICM LVEF < 35%	0.702	1.000	0.988	0.625	1.000	0.952	0.494	1.000	0.893	1.000	0.881
9	DCM LVEF < 35%	0.702	0.895	0.988	0.625	0.947	0.952	0.494	0.974	0.893	0.974	0.881
10	CHF	0.715	0.595	0.976	0.641	0.639	0.952	0.505	0.737	0.893	0.649	0.881
10	HFrEF	0.715	0.297	0.976	0.641	0.324	0.952	0.505	0.473	0.893	0.351	0.881
10	HFrEF	0.715	0.763	0.976	0.641	0.817	0.952	0.505	0.885	0.893	0.817	0.881
10	ICM	0.715	0.844	0.976	0.641	0.891	0.952	0.505	0.969	0.893	0.891	0.881
10	DCM	0.715	0.687	0.976	0.641	0.746	0.952	0.505	0.806	0.893	0.746	0.881
10	CHF 無症候性	0.715	0.473	0.976	0.641	0.505	0.952	0.505	0.634	0.893	0.548	0.881
10	HFrEF 無症候性	0.715	0.250	0.976	0.641	0.273	0.952	0.505	0.455	0.893	0.273	0.881
10	HFrEF 無症候性	0.715	0.673	0.976	0.641	0.714	0.952	0.505	0.796	0.893	0.796	0.881
10	ICM 無症候性	0.715	0.875	0.976	0.641	0.917	0.952	0.505	0.917	0.893	0.958	0.881
10	DCM 無症候性	0.715	0.480	0.976	0.641	0.520	0.952	0.505	0.680	0.893	0.640	0.881
10	CHF 症候性	0.715	0.696	0.976	0.641	0.750	0.952	0.505	0.821	0.893	0.732	0.881
10	HFrEF 症候性	0.715	0.367	0.976	0.641	0.400	0.952	0.505	0.500	0.893	0.467	0.881
10	HFrEF 症候性	0.715	0.817	0.976	0.641	0.878	0.952	0.505	0.939	0.893	0.829	0.881
10	ICM 症候性	0.715	0.825	0.976	0.641	0.875	0.952	0.505	1.000	0.893	0.850	0.881
10	DCM 症候性	0.715	0.810	0.976	0.641	0.881	0.952	0.505	0.881	0.893	0.810	0.881
10	HFrEF LVEF 35%~50%	0.715	0.620	0.976	0.641	0.690	0.952	0.505	0.803	0.893	0.676	0.881
10	ICM LVEF 35%~50%	0.715	0.762	0.976	0.641	0.833	0.952	0.505	0.952	0.893	0.833	0.881
10	DCM LVEF 35%~50%	0.715	0.414	0.976	0.641	0.483	0.952	0.505	0.586	0.893	0.448	0.881
10	HFrEF LVEF < 35%	0.715	0.933	0.976	0.641	0.967	0.952	0.505	0.983	0.893	0.983	0.881
10	ICM LVEF < 35%	0.715	1.000	0.976	0.641	1.000	0.952	0.505	1.000	0.893	1.000	0.881

【 0 3 4 6 】

10

20

30

40

10	DCM LVEF < 35%	0.715	0.895	0.976	0.641	0.947	0.952	0.505	0.974	0.893	0.974	0.881
11	CHF	0.708	0.566	0.988	0.612	0.644	0.964	0.548	0.698	0.893	0.649	0.881
11	HFpEF	0.708	0.257	0.988	0.612	0.324	0.964	0.548	0.432	0.893	0.351	0.881
11	HFrfEF	0.708	0.740	0.988	0.612	0.824	0.964	0.548	0.847	0.893	0.817	0.881
11	ICM	0.708	0.813	0.988	0.612	0.906	0.964	0.548	0.953	0.893	0.891	0.881
11	DCM	0.708	0.672	0.988	0.612	0.746	0.964	0.548	0.746	0.893	0.746	0.881
11	CHF 無症候性	0.708	0.484	0.988	0.612	0.505	0.964	0.548	0.570	0.893	0.548	0.881
11	HFpEF 無症候性	0.708	0.273	0.988	0.612	0.273	0.964	0.548	0.409	0.893	0.273	0.881
11	HFrfEF 無症候性	0.708	0.673	0.988	0.612	0.714	0.964	0.548	0.714	0.893	0.796	0.881
11	ICM 無症候性	0.708	0.875	0.988	0.612	0.875	0.964	0.548	0.875	0.893	0.958	0.881
11	DCM 無症候性	0.708	0.480	0.988	0.612	0.560	0.964	0.548	0.560	0.893	0.640	0.881
11	CHF 症候性	0.708	0.634	0.988	0.612	0.759	0.964	0.548	0.804	0.893	0.732	0.881
11	HFpEF 症候性	0.708	0.233	0.988	0.612	0.400	0.964	0.548	0.467	0.893	0.467	0.881
11	HFrfEF 症候性	0.708	0.780	0.988	0.612	0.890	0.964	0.548	0.927	0.893	0.829	0.881
11	ICM 症候性	0.708	0.775	0.988	0.612	0.925	0.964	0.548	1.000	0.893	0.850	0.881
11	DCM 症候性	0.708	0.786	0.988	0.612	0.857	0.964	0.548	0.857	0.893	0.810	0.881
11	HFrfEF LVEF 35%~50%	0.708	0.563	0.988	0.612	0.718	0.964	0.548	0.761	0.893	0.676	0.881
11	ICM LVEF 35%~50%	0.708	0.714	0.988	0.612	0.857	0.964	0.548	0.929	0.893	0.833	0.881
11	DCM LVEF 35%~50%	0.708	0.345	0.988	0.612	0.517	0.964	0.548	0.517	0.893	0.448	0.881
11	HFrfEF LVEF < 35%	0.708	0.950	0.988	0.612	0.950	0.964	0.548	0.950	0.893	0.983	0.881
11	ICM LVEF < 35%	0.708	1.000	0.988	0.612	1.000	0.964	0.548	1.000	0.893	1.000	0.881
11	DCM LVEF < 35%	0.708	0.921	0.988	0.612	0.921	0.964	0.548	0.921	0.893	0.974	0.881

【0347】

[実施例13]

さらなる性能統計

さらなる性能統計を、試験セット上でパネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPについて算出した。以下のさらなる性能統計値を表23に与える：正の尤度比(LR+)、負の尤度比(LR-)、正の予測値(PPV)、および負の予測値(NPV)。

【0348】

LR+およびLR-を算出する方法は、当業者には周知である。LR+は、真陽性の結果と偽陽

10

20

30

40

50

性の結果を得る尤度を比較する手段であるが、LR-は偽陰性の結果と真陰性の結果とを得る尤度を比較する手段である。特定のサブグループにおける特定のカットオフ値と組み合わせた特定のパネルに関するLR+およびLR-を、

【0349】

【数7】

$$LR+ = \frac{\text{感度}}{1-\text{特異度}}$$

$$LR- = \frac{1-\text{感度}}{\text{特異度}}$$

10

【0350】

として算出した。

【0351】

「一致感度」または「一致感度+5%」の方法の1つにより決定されたカットオフ値のいずれかと組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、LVEFが重度に低下したCHFサブグループ(サブグループ「ICM LVEF<35%」、次いで、「HFrEF LVEF<35%」)について、最も高いLR+が観察された。

【0352】

20

軽度または無症候型のCHFに関しては、「一致感度」または「一致感度+5%」の方法の1つにより決定されたカットオフ値のいずれかと組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、軽度または無症候型のICM(サブグループ「ICM無症候性」および「ICM LVEF 35%~50%」、次いで、軽度または無症候型HFrEF(サブグループ「HFrEF無症候性」および「HFrEF LVEF 35%~50%」)について最も高いLR+が観察された。

【0353】

PPVおよびNPVを算出する方法は、当業者には周知である。PPVおよびNPVは、それぞれ、陽性または陰性の診断が、特定のカットオフ値と組み合わせた特定のバイオマーカーパネルを用いた場合、特定のサブグループにおいて正確である確率を示す。PPVおよびNPVは集団における疾患の有病率に依存する。表23に示される性能統計について、サブグループ「CHF」の有病率は10%であると推定され、サブグループ「HFrEF」の有病率は5%であると推定された。これらの見積もり値は、米国におけるメディケアを受ける資格がある集団における心不全の有病率に基づくものであり、1994~2003年には9%~12%の範囲にあり(Curtisら、2008, Arch. Intern. Med. 168, 418-424)、心不全事例の約半分がHFrEFであるとの仮定に基づくものである(Yancyら、2013., J. Am. Coll. Cardiol. 62, e147-e239)。PPVおよびNPVを、

30

【0354】

【数8】

$$PPV = \frac{\text{感度} \cdot \text{有病率}}{\text{感度} \cdot \text{有病率} + (1-\text{特異度}) \cdot (1-\text{有病率})}$$

40

【0355】

【数9】

$$NPV = \frac{\text{特異度} \cdot (1-\text{有病率})}{\text{特異度} \cdot (1-\text{有病率}) + (1-\text{感度}) \cdot \text{有病率}}$$

【0356】

として算出した。

50

【0357】

「一致感度」または「一致感度+5%」の方法の1つにより決定されたカットオフ値のいずれかと組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、CHFについて最も高いPPVが観察された。

【0358】

【表 2 3】

表 23: 表 22 に示された様々なカットオフ値での感度および特異度に基づき、NT-proBNP のみ、ならびにパネル 8 + NT-proBNP、パネル 9 + NT-proBNP、パネル 10 + NT-proBNP、およびパネル 11 + NT-proBNP に関する試験セット上で算出されるさらなる性能統計

			NT-proBNP を含むバイオマーカーパネル						NT-proBNP のみ			
			方法	カットオフ	LR+	LR-	PPV	NPV	LR+	LR-	PPV	NPV
心臓病	CHF サブグループ	10%	一致感度	0.710	25.0	0.415	0.735	0.956	5.4	0.399	0.377	0.958
8	CHF		一致感度	0.710	12.5	0.720	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
8	HFpEF		一致感度	0.710	32.1	0.242	0.628	0.987	6.9	0.208	0.265	0.989
8	HFpEF	5%	一致感度	0.710	35.4	0.160	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
8	ICM		一致感度	0.710	28.8	0.321	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
8	DCM		一致感度	0.710	19.9	0.540	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
8	CHF 無症候性		一致感度	0.710	10.5	0.768	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
8	HFpEF 無症候性		一致感度	0.710	28.3	0.334	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
8	HFpEF 無症候性		一致感度	0.710	36.7	0.128	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
8	ICM 無症候性		一致感度	0.710	20.2	0.533	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
8	DCM 無症候性		一致感度	0.710	29.2	0.311	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
8	CHF 症候性		一致感度	0.710	15.4	0.649	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
8	HFpEF 症候性		一致感度	0.710	34.3	0.187	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
8	HFpEF 症候性		一致感度	0.710	34.6	0.179	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A
8	ICM 症候性		一致感度	0.710								

8	DCM 症候性		一致感度	0.710	34.0	0.195	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
8	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	0.710	26.0	0.390	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
8	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	0.710	32.0	0.244	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
8	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	0.710	17.4	0.601	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
8	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	0.710	39.2	0.068	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
8	ICM LVEF < 35%		一致感度	0.710	42.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
8	DCM LVEF < 35%		一致感度	0.710	37.6	0.108	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
9	CHF	10%	一致感度	0.702	50.0	0.410	0.847	0.956	5.4	0.399	0.377	0.958
9	HFpEF		一致感度	0.702	25.0	0.711	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
9	HFrEF	5%	一致感度	0.702	64.1	0.239	0.771	0.988	6.9	0.208	0.265	0.989
9	ICM		一致感度	0.702	70.9	0.158	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
9	DCM		一致感度	0.702	57.7	0.317	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
9	CHF 無症候性		一致感度	0.702	40.6	0.522	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
9	HFpEF 無症候性		一致感度	0.702	21.0	0.759	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
9	HFrEF 無症候性		一致感度	0.702	58.3	0.310	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
9	ICM 無症候性		一致感度	0.702	73.5	0.127	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
9	DCM 無症候性		一致感度	0.702	43.7	0.486	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
9	CHF 症候性		一致感度	0.702	57.7	0.316	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
9	HFpEF 症候性		一致感度	0.702	30.8	0.641	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
9	HFrEF 症候性		一致感度	0.702	67.6	0.197	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
9	ICM 症候性		一致感度	0.702	69.3	0.177	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 0 】

10

20

30

40

9	DCM 症候性		一致感度	7.02	66.0	0.217	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
9	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	7.02	52.1	0.385	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
9	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	7.02	64.0	0.241	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
9	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	7.02	34.8	0.593	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
9	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	7.02	78.4	0.067	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
9	ICM LVEF < 35%		一致感度	7.02	84.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
9	DCM LVEF < 35%		一致感度	7.02	75.2	0.107	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
10	CHF	10%	一致感度	7.15	25.0	0.415	0.735	0.956	5.4	0.399	0.377	0.958
10	HFpEF		一致感度	7.15	12.5	0.720	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
10	HFrEF	5%	一致感度	7.15	32.1	0.242	0.628	0.987	6.9	0.208	0.265	0.989
10	ICM		一致感度	7.15	35.4	0.160	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
10	DCM		一致感度	7.15	28.8	0.321	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
10	CHF 無症候性		一致感度	7.15	19.9	0.540	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
10	HFpEF 無症候性		一致感度	7.15	10.5	0.768	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
10	HFrEF 無症候性		一致感度	7.15	28.3	0.334	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
10	ICM 無症候性		一致感度	7.15	36.7	0.128	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
10	DCM 無症候性		一致感度	7.15	20.2	0.533	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
10	CHF 症候性		一致感度	7.15	29.2	0.311	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
10	HFpEF 症候性		一致感度	7.15	15.4	0.649	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
10	HFrEF 症候性		一致感度	7.15	34.3	0.187	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
10	ICM 症候性		一致感度	7.15	34.6	0.179	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 1 】

10

20

30

40

10	DCM 症候性		一致感度		0.715	34.0	0.195	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
10	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度		0.715	26.0	0.390	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
10	ICM LVEF 35%~50%		一致感度		0.715	32.0	0.244	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
10	DCM LVEF 35%~50%		一致感度		0.715	17.4	0.601	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
10	HFrEF LVEF < 35%		一致感度		0.715	39.2	0.068	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
10	ICM LVEF < 35%		一致感度		0.715	42.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
10	DCM LVEF < 35%		一致感度		0.715	37.6	0.108	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
11	CHF	10%	一致感度		0.708	47.5	0.439	0.841	0.953	5.4	0.399	0.377	0.958
11	HFpEF		一致感度		0.708	21.6	0.752	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
11	HFrEF	5%	一致感度		0.708	62.2	0.263	0.766	0.986	6.9	0.208	0.265	0.989
11	ICM		一致感度		0.708	68.2	0.190	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
11	DCM		一致感度		0.708	56.4	0.332	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
11	CHF 無症候性		一致感度		0.708	40.6	0.522	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
11	HFpEF 無症候性		一致感度		0.708	22.9	0.736	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
11	HFrEF 無症候性		一致感度		0.708	56.6	0.330	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
11	ICM 無症候性		一致感度		0.708	73.5	0.127	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
11	DCM 無症候性		一致感度		0.708	40.3	0.526	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
11	CHF 症候性		一致感度		0.708	53.2	0.370	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
11	HFpEF 症候性		一致感度		0.708	19.6	0.776	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
11	HFrEF 症候性		一致感度		0.708	65.6	0.222	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
11	ICM 症候性		一致感度		0.708	65.1	0.228	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 2 】

10

20

30

40

11	DCM 症候性		一致感度	0.708	66.0	0.217	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
11	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	0.708	47.3	0.442	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
11	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	0.708	60.0	0.289	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
11	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	0.708	29.0	0.663	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
11	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	0.708	79.8	0.051	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
11	ICM LVEF < 35%		一致感度	0.708	84.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
11	DCM LVEF < 35%		一致感度	0.708	77.4	0.080	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
8	CHF	10%	一致感度 + 5%	0.633	13.8	0.359	0.606	0.962	5.4	0.399	0.377	0.958
8	HFrEF		一致感度 + 5%	0.633	7.4	0.681	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
8	HFrEF	5%	一致感度 + 5%	0.633	17.5	0.176	0.479	0.991	6.9	0.208	0.265	0.989
8	ICM		一致感度 + 5%	0.633	19.0	0.098	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
8	DCM		一致感度 + 5%	0.633	16.0	0.251	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
8	CHF 無症候性		一致感度 + 5%	0.633	11.3	0.485	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
8	HFrEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.633	6.7	0.716	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
8	HFrEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.633	15.4	0.279	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
8	ICM 無症候性		一致感度 + 5%	0.633	19.2	0.087	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
8	DCM 無症候性		一致感度 + 5%	0.633	11.8	0.462	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
8	CHF 症候性		一致感度 + 5%	0.633	15.9	0.253	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
8	HFrEF 症候性		一致感度 + 5%	0.633	8.4	0.630	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
8	HFrEF 症候性		一致感度 + 5%	0.633	18.7	0.115	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
8	ICM 症候性		一致感度 + 5%	0.633	18.9	0.105	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 3 】

10

20

30

40

8	DCM 症候性		一致感度 + 5%	0.633	18.5	0.125	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
8	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.633	15.1	0.296	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
8	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.633	18.0	0.150	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
8	DCM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.633	10.9	0.507	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
8	HFrEF LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.633	20.3	0.035	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
8	ICM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.633	21.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
8	DCM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.633	19.9	0.055	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
9	CHF	10%	一致感度 + 5%	0.625	13.8	0.359	0.606	0.962	5.4	0.399	0.377	0.958
9	HFpEF		一致感度 + 5%	0.625	7.4	0.681	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
9	HFrEF	5%	一致感度 + 5%	0.625	17.5	0.176	0.479	0.991	6.9	0.208	0.265	0.989
9	ICM		一致感度 + 5%	0.625	19.0	0.098	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
9	DCM		一致感度 + 5%	0.625	16.0	0.251	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
9	CHF 無症候性		一致感度 + 5%	0.625	11.3	0.485	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
9	HFpEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.625	6.7	0.716	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
9	HFrEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.625	15.4	0.279	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
9	ICM 無症候性		一致感度 + 5%	0.625	19.2	0.087	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
9	DCM 無症候性		一致感度 + 5%	0.625	11.8	0.462	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
9	CHF 症候性		一致感度 + 5%	0.625	15.9	0.253	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
9	HFpEF 症候性		一致感度 + 5%	0.625	8.4	0.630	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
9	HFrEF 症候性		一致感度 + 5%	0.625	18.7	0.115	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
9	ICM 症候性		一致感度 + 5%	0.625	18.9	0.105	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 4 】

10

20

30

40

9	DCM 症候性			一致感度 + 5%	0.625	18.5	0.125	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
9	HFrEF LVEF 35%~50%			一致感度 + 5%	0.625	15.1	0.296	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
9	ICM LVEF 35%~50%			一致感度 + 5%	0.625	18.0	0.150	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
9	DCM LVEF 35%~50%			一致感度 + 5%	0.625	10.9	0.507	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
9	HFrEF LVEF < 35%			一致感度 + 5%	0.625	20.3	0.035	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
9	ICM LVEF < 35%			一致感度 + 5%	0.625	21.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
9	DCM LVEF < 35%			一致感度 + 5%	0.625	19.9	0.055	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
10	CHF	10%		一致感度 + 5%	0.641	13.4	0.379	0.599	0.960	5.4	0.399	0.377	0.958
10	HFpEF			一致感度 + 5%	0.641	6.8	0.709	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
10	HFrEF	5%		一致感度 + 5%	0.641	17.2	0.192	0.474	0.990	6.9	0.208	0.265	0.989
10	ICM			一致感度 + 5%	0.641	18.7	0.115	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
10	DCM			一致感度 + 5%	0.641	15.7	0.266	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
10	CHF 無症候性			一致感度 + 5%	0.641	10.6	0.519	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
10	HFpEF 無症候性			一致感度 + 5%	0.641	5.7	0.764	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
10	HFrEF 無症候性			一致感度 + 5%	0.641	15.0	0.300	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
10	ICM 無症候性			一致感度 + 5%	0.641	19.2	0.087	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
10	DCM 無症候性			一致感度 + 5%	0.641	10.9	0.504	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
10	CHF 症候性			一致感度 + 5%	0.641	15.7	0.263	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
10	HFpEF 症候性			一致感度 + 5%	0.641	8.4	0.630	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
10	HFrEF 症候性			一致感度 + 5%	0.641	18.4	0.128	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
10	ICM 症候性			一致感度 + 5%	0.641	18.4	0.131	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 5 】

10

20

30

40

10	DCM 症候性		一致感度 + 5%	0.641	18.5	0.125	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
10	HF _r EF LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.641	14.5	0.325	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
10	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.641	17.5	0.175	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
10	DCM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.641	10.1	0.543	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
10	HF _r EF LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.641	20.3	0.035	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
10	ICM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.641	21.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
10	DCM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.641	19.9	0.055	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
11	CHF	10%	一致感度 + 5%	0.612	18.0	0.369	0.667	0.961	5.4	0.399	0.377	0.958
11	HF _p EF		一致感度 + 5%	0.612	9.1	0.701	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
11	HF _r EF	5%	一致感度 + 5%	0.612	23.1	0.192	0.549	0.991	6.9	0.208	0.265	0.989
11	ICM		一致感度 + 5%	0.612	25.4	0.097	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
11	DCM		一致感度 + 5%	0.612	20.9	0.263	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
11	CHF 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	14.2	0.513	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
11	HF _p EF 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	7.6	0.754	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
11	HF _r EF 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	20.0	0.296	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
11	ICM 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	24.5	0.130	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
11	DCM 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	15.7	0.456	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
11	CHF 症候性		一致感度 + 5%	0.612	21.2	0.250	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
11	HF _p EF 症候性		一致感度 + 5%	0.612	11.2	0.622	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
11	HF _r EF 症候性		一致感度 + 5%	0.612	24.9	0.114	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
11	ICM 症候性		一致感度 + 5%	0.612	25.9	0.078	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 6 】

10

20

30

40

11	DCM 症候性		一致感度 + 5%	0.612	24.0	0.148	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
11	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.612	20.1	0.292	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
11	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.612	24.0	0.148	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
11	DCM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.612	14.5	0.501	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
11	HFrEF LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.612	26.6	0.052	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
11	ICM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.612	28.0	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
11	DCM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.612	25.8	0.082	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
8	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.535	7.6	0.307	0.457	0.967	5.4	0.399	0.377	0.958
8	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.535	4.8	0.597	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
8	HFrEF	5%	Youden 指数を最大化する	0.535	9.1	0.143	0.325	0.993	6.9	0.208	0.265	0.989
8	ICM		Youden 指数を最大化する	0.535	10.2	0.035	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
8	DCM		Youden 指数を最大化する	0.535	8.1	0.247	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
8	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	6.4	0.428	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
8	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	4.8	0.603	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
8	HFrEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	7.9	0.271	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
8	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	9.6	0.092	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
8	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	6.3	0.442	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
8	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	8.5	0.207	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
8	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	4.9	0.589	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
8	HFrEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	9.9	0.067	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
8	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	10.5	0.000	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 7 】

10

20

30

40

8	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	9.3	0.132	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
8	HFref LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.535	8.1	0.249	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
8	ICM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.535	10.0	0.053	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
8	DCM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.535	5.4	0.534	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
8	HFref LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.535	10.3	0.018	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
8	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.535	10.5	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
8	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.535	10.2	0.029	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
9	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.494	6.9	0.290	0.435	0.969	5.4	0.399	0.377	0.958
9	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.494	4.7	0.560	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
9	HFref	5%	Youden 指数を最大化する	0.494	8.2	0.137	0.301	0.993	6.9	0.208	0.265	0.989
9	ICM		Youden 指数を最大化する	0.494	9.0	0.035	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
9	DCM		Youden 指数を最大化する	0.494	7.4	0.234	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
9	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	5.9	0.409	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
9	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	4.5	0.585	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
9	HFref 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	7.2	0.251	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
9	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	8.6	0.093	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
9	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	6.0	0.403	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
9	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	7.8	0.190	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
9	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	5.0	0.523	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
9	HFref 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	8.8	0.068	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
9	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	9.3	0.000	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 8 】

10

20

30

40

9	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	8.2	0.133	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
9	HFrEF LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.494	7.4	0.237	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
9	ICM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.494	8.9	0.053	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
9	DCM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.494	5.1	0.502	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
9	HFrEF LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.494	9.2	0.019	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
9	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.494	9.3	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
9	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.494	9.1	0.029	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
10	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.505	6.9	0.295	0.433	0.968	5.4	0.399	0.377	0.958
10	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.505	4.4	0.590	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
10	HFrEF	5%	Youden 指数を最大化する	0.505	8.3	0.128	0.303	0.993	6.9	0.208	0.265	0.989
10	ICM		Youden 指数を最大化する	0.505	9.0	0.035	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
10	DCM		Youden 指数を最大化する	0.505	7.5	0.217	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
10	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	5.9	0.409	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
10	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	4.2	0.611	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
10	HFrEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	7.4	0.229	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
10	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	8.6	0.093	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
10	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	6.3	0.358	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
10	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	7.7	0.200	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
10	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	4.7	0.560	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
10	HFrEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	8.8	0.068	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
10	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	9.3	0.000	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 6 9 】

10

20

30

40

10	DCM 症候性			Youden 指数を最大化する	0.505	8.2	0.133	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
10	HFrEF LVEF 35%~50%			Youden 指数を最大化する	0.505	7.5	0.221	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
10	ICM LVEF 35%~50%			Youden 指数を最大化する	0.505	8.9	0.053	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
10	DCM LVEF 35%~50%			Youden 指数を最大化する	0.505	5.5	0.463	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
10	HFrEF LVEF < 35%			Youden 指数を最大化する	0.505	9.2	0.019	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
10	ICM LVEF < 35%			Youden 指数を最大化する	0.505	9.3	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
10	DCM LVEF < 35%			Youden 指数を最大化する	0.505	9.1	0.029	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A
11	CHF	10%		Youden 指数を最大化する	0.548	6.5	0.339	0.420	0.964	5.4	0.399	0.377	0.958
11	HFrEF			Youden 指数を最大化する	0.548	4.0	0.636	N/A	N/A	3.0	0.736	N/A	N/A
11	HFrEF	5%		Youden 指数を最大化する	0.548	7.9	0.171	0.294	0.991	6.9	0.208	0.265	0.989
11	ICM			Youden 指数を最大化する	0.548	8.9	0.053	N/A	N/A	7.5	0.124	N/A	N/A
11	DCM			Youden 指数を最大化する	0.548	7.0	0.284	N/A	N/A	6.3	0.288	N/A	N/A
11	CHF 無症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	5.3	0.482	N/A	N/A	4.6	0.513	N/A	N/A
11	HFrEF 無症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	3.8	0.662	N/A	N/A	2.3	0.826	N/A	N/A
11	HFrEF 無症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	6.7	0.320	N/A	N/A	6.7	0.232	N/A	N/A
11	ICM 無症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	8.2	0.140	N/A	N/A	8.1	0.047	N/A	N/A
11	DCM 無症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	5.2	0.493	N/A	N/A	5.4	0.409	N/A	N/A
11	CHF 症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	7.5	0.220	N/A	N/A	6.2	0.304	N/A	N/A
11	HFrEF 症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	4.4	0.597	N/A	N/A	3.9	0.605	N/A	N/A
11	HFrEF 症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	8.7	0.082	N/A	N/A	7.0	0.194	N/A	N/A
11	ICM 症候性			Youden 指数を最大化する	0.548	9.3	0.000	N/A	N/A	7.1	0.170	N/A	N/A

【 0 3 7 0 】

10

20

30

40

11	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	8.0	0.160	N/A	N/A	6.8	0.216	N/A	N/A
11	HFrEF LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.548	7.1	0.268	N/A	N/A	5.7	0.368	N/A	N/A
11	ICM LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.548	8.7	0.080	N/A	N/A	7.0	0.189	N/A	N/A
11	DCM LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.548	4.8	0.541	N/A	N/A	3.8	0.626	N/A	N/A
11	HFrEF LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.548	8.9	0.056	N/A	N/A	8.3	0.019	N/A	N/A
11	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.548	9.3	0.000	N/A	N/A	8.4	0.000	N/A	N/A
11	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.548	8.6	0.088	N/A	N/A	8.2	0.030	N/A	N/A

【 0 3 7 1 】

[実施例 1 4]

NT-proBNPのみと比較したパネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPの性能

パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPと性能を、 $LR^+_{\text{パネル}} / LR^+_{\text{NT-proBNPのみ}}$ の比、 $PPV_{\text{パネル}} - PPV_{\text{NT-proBNPのみ}}$ の差、およびNRIに基づいて、NT-proBNPのみの性能と比較した。試験セットに基づく性能統計の比較を、表24に示す。

【 0 3 7 2 】

NRIを算出する方法は、当業者には周知である。NRIは、特定のサブグループにおいて、バイオマーカーパネルの感度および特異度を、NT-proBNPのみの感度および特異度と比較する手段である。NRIを、

$$NRI = (\text{感度}_{\text{パネル}} - \text{感度}_{\text{NT-proBNPのみ}}) + (\text{特異度}_{\text{パネル}} - \text{特異度}_{\text{NT-proBNPのみ}})$$
として算出した。

【0373】

「Youden指数を最大化する」方法にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、およびパネル10 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、サブグループ「HFpEF無症候性」、次いで、「ICM症候性」において最も高いNRIが観察された。

10

【0374】

HFpEFに関して、「Youden指数を最大化する」方法にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、サブグループ「HFpEF無症候性」、次いで、「HFpEF」について、最も高いNRIが観察された。

【0375】

HFpEFサブグループ「HFpEF」、「HFpEF無症候性」および「HFpEF症候性」に関して、「Youden指数を最大化する」方法にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、パネル9 + NT-proBNPについて最も高いNRIが観察された。

20

【0376】

方法「一致感度」にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、およびパネル10 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、サブグループ「ICM LVEF <35%」においてLR+の最も高い改善が観察された。また、サブグループ「HFrEF LVEF <35%」ならびに心不全の症状を示すサブグループ(「CHF症候性」、「HFrEF症候性」、「ICM症候性」および「DCM症候性」)は、方法「一致感度」にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、これらのパネルのいずれかを用了場合、LR+の高い改善を示す。

【0377】

無症候型のHFrEFに関して、方法「一致感度」または「一致感度+5%」の1つにしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、サブグループ「HFpEF無症候性」、次いで、サブグループ「CHF無症候性」、「HFrEF無症候性」、および「ICM無症候性」において、LR+の最も高い改善が観察された。

30

【0378】

多くのCHFサブグループにおいて、方法「一致感度」にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせたパネル9 + NT-proBNPまたはパネル11 + NT-proBNPについてLR+の最も高い改善が観察された。

【0379】

多くのCHFサブグループにおいて、方法「一致感度+5%」にしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせたパネル11 + NT-proBNPについてLR+の最も高い改善が観察された。

40

【0380】

方法「一致感度」または「一致感度+5%」の1つにしたがって決定されたカットオフ値と組み合わせた、パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPから選択されるいずれかのパネルを用いた場合、サブグループ「HFrEF」についてPPVの最も高い改善が観察された。

【0381】

【表 2 4】

表 24: 表 22 に示された感度ならびに表 23 に示された LR+および PPV に基づくパネル 8 + NT-proBNP、パネル 9 + NT-proBNP、パネル 10 + NT-proBNP、およびパネル 11 + NT-proBNP に関する試験セット上で算出された選択された性能統計と NT-proBNP との比較。比較を、実施例 14 に記載のように算出した。

パネル番号	CHF サブグループ	検出率	方法	カットオフ	NRI	比 LR+	PPV 差
8	CHF	10%	一致感度	0.710	0.042	4.59	0.358
8	HFpEF		一致感度	0.710	0.041	4.23	N/A
8	HFrEF	5%	一致感度	0.710	0.042	4.67	0.363
8	ICM		一致感度	0.710	0.048	4.74	N/A
8	DCM		一致感度	0.710	0.036	4.60	N/A
8	CHF 無症候性		一致感度	0.710	0.020	4.31	N/A
8	HFpEF 無症候性		一致感度	0.710	0.073	4.58	N/A
8	HFrEF 無症候性		一致感度	0.710	-0.027	4.23	N/A
8	ICM 無症候性		一致感度	0.710	0.012	4.57	N/A
8	DCM 無症候性		一致感度	0.710	-0.065	3.75	N/A
8	CHF 症候性		一致感度	0.710	0.060	4.76	N/A
8	HFpEF 症候性		一致感度	0.710	-0.005	3.93	N/A
8	HFrEF 症候性		一致感度	0.710	0.083	4.93	N/A
8	ICM 症候性		一致感度	0.710	0.070	4.85	N/A
8	DCM 症候性		一致感度	0.710	0.095	5.00	N/A
8	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	0.710	0.039	4.58	N/A
8	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	0.710	0.024	4.57	N/A
8	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	0.710	0.061	4.62	N/A
8	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	0.710	0.045	4.75	N/A
8	ICM LVEF < 35%		一致感度	0.710	0.095	5.00	N/A
8	DCM LVEF < 35%		一致感度	0.710	0.016	4.59	N/A
9	CHF	10%	一致感度	0.702	0.053	9.17	0.470
9	HFpEF		一致感度	0.702	0.053	8.46	N/A
9	HFrEF	5%	一致感度	0.702	0.054	9.35	0.506
9	ICM		一致感度	0.702	0.060	9.47	N/A
9	DCM		一致感度	0.702	0.047	9.20	N/A

【0 3 8 2】

9	CHF 無症候性		一致感度	0.702	0.043	8.82	N/A
9	HFpEF 無症候性		一致感度	0.702	0.084	9.17	N/A
9	HFrEF 無症候性		一致感度	0.702	0.005	8.72	N/A
9	ICM 無症候性		一致感度	0.702	0.024	9.13	N/A
9	DCM 無症候性		一致感度	0.702	-0.013	8.12	N/A
9	CHF 症候性		一致感度	0.702	0.063	9.39	N/A
9	HFpEF 症候性		一致感度	0.702	0.007	7.86	N/A
9	HFrEF 症候性		一致感度	0.702	0.083	9.71	N/A
9	ICM 症候性		一致感度	0.702	0.082	9.71	N/A
9	DCM 症候性		一致感度	0.702	0.083	9.71	N/A
9	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	0.702	0.051	9.17	N/A
9	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	0.702	0.036	9.14	N/A
9	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	0.702	0.073	9.23	N/A
9	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	0.702	0.057	9.49	N/A
9	ICM LVEF < 35%		一致感度	0.702	0.107	10.00	N/A
9	DCM LVEF < 35%		一致感度	0.702	0.028	9.19	N/A
10	CHF	10%	一致感度	0.715	0.042	4.59	0.358
10	HFpEF		一致感度	0.715	0.041	4.23	N/A
10	HFrEF	5%	一致感度	0.715	0.042	4.67	0.363
10	ICM		一致感度	0.715	0.048	4.74	N/A
10	DCM		一致感度	0.715	0.036	4.60	N/A
10	CHF 無症候性		一致感度	0.715	0.020	4.31	N/A
10	HFpEF 無症候性		一致感度	0.715	0.073	4.58	N/A
10	HFrEF 無症候性		一致感度	0.715	-0.027	4.23	N/A
10	ICM 無症候性		一致感度	0.715	0.012	4.57	N/A
10	DCM 無症候性		一致感度	0.715	-0.065	3.75	N/A
10	CHF 症候性		一致感度	0.715	0.060	4.76	N/A
10	HFpEF 症候性		一致感度	0.715	-0.005	3.93	N/A
10	HFrEF 症候性		一致感度	0.715	0.083	4.93	N/A
10	ICM 症候性		一致感度	0.715	0.070	4.85	N/A
10	DCM 症候性		一致感度	0.715	0.095	5.00	N/A
10	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	0.715	0.039	4.58	N/A

10	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	0.715	0.024	4.57	N/A
10	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	0.715	0.061	4.62	N/A
10	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	0.715	0.045	4.75	N/A
10	ICM LVEF < 35%		一致感度	0.715	0.095	5.00	N/A
10	DCM LVEF < 35%		一致感度	0.715	0.016	4.59	N/A
11	CHF	10%	一致感度	0.708	0.024	8.72	0.464
11	HFpEF		一致感度	0.708	0.013	7.31	N/A
11	HFrEF	5%	一致感度	0.708	0.031	9.07	0.501
11	ICM		一致感度	0.708	0.029	9.12	N/A
11	DCM		一致感度	0.708	0.033	9.00	N/A
11	CHF 無症候性		一致感度	0.708	0.043	8.82	N/A
11	HFpEF 無症候性		一致感度	0.708	0.107	10.00	N/A
11	HFrEF 無症候性		一致感度	0.708	-0.015	8.46	N/A
11	ICM 無症候性		一致感度	0.708	0.024	9.13	N/A
11	DCM 無症候性		一致感度	0.708	-0.053	7.50	N/A
11	CHF 症候性		一致感度	0.708	0.009	8.66	N/A
11	HFpEF 症候性		一致感度	0.708	-0.126	5.00	N/A
11	HFrEF 症候性		一致感度	0.708	0.058	9.41	N/A
11	ICM 症候性		一致感度	0.708	0.032	9.12	N/A
11	DCM 症候性		一致感度	0.708	0.083	9.71	N/A
11	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度	0.708	-0.006	8.33	N/A
11	ICM LVEF 35%~50%		一致感度	0.708	-0.012	8.57	N/A
11	DCM LVEF 35%~50%		一致感度	0.708	0.004	7.69	N/A
11	HFrEF LVEF < 35%		一致感度	0.708	0.074	9.66	N/A
11	ICM LVEF < 35%		一致感度	0.708	0.107	10.00	N/A
11	DCM LVEF < 35%		一致感度	0.708	0.055	9.46	N/A
8	CHF	10%	一致感度 + 5%	0.633	0.081	2.54	0.229
8	HFpEF		一致感度 + 5%	0.633	0.071	2.50	N/A
8	HFrEF	5%	一致感度 + 5%	0.633	0.087	2.55	0.214
8	ICM		一致感度 + 5%	0.633	0.087	2.54	N/A
8	DCM		一致感度 + 5%	0.633	0.086	2.55	N/A
8	CHF 無症候性		一致感度 + 5%	0.633	0.061	2.45	N/A

8	HFpEF 無症候性		一致感度 +5%	0.633	0.117	2.92	N/A
8	HFrEF 無症候性		一致感度 +5%	0.633	0.010	2.31	N/A
8	ICM 無症候性		一致感度 +5%	0.633	0.030	2.39	N/A
8	DCM 無症候性		一致感度 +5%	0.633	-0.009	2.19	N/A
8	CHF 症候性		一致感度 +5%	0.633	0.098	2.59	N/A
8	HFpEF 症候性		一致感度 +5%	0.633	0.005	2.14	N/A
8	HFrEF 症候性		一致感度 +5%	0.633	0.132	2.68	N/A
8	ICM 症候性		一致感度 +5%	0.633	0.121	2.65	N/A
8	DCM 症候性		一致感度 +5%	0.633	0.143	2.72	N/A
8	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.633	0.114	2.66	N/A
8	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.633	0.095	2.57	N/A
8	DCM LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.633	0.140	2.88	N/A
8	HFrEF LVEF < 35%		一致感度 +5%	0.633	0.055	2.46	N/A
8	ICM LVEF < 35%		一致感度 +5%	0.633	0.071	2.50	N/A
8	DCM LVEF < 35%		一致感度 +5%	0.633	0.045	2.43	N/A
9	CHF	10%	一致感度 +5%	0.625	0.081	2.54	0.229
9	HFpEF		一致感度 +5%	0.625	0.071	2.50	N/A
9	HFrEF	5%	一致感度 +5%	0.625	0.087	2.55	0.214
9	ICM		一致感度 +5%	0.625	0.087	2.54	N/A
9	DCM		一致感度 +5%	0.625	0.086	2.55	N/A
9	CHF 無症候性		一致感度 +5%	0.625	0.061	2.45	N/A
9	HFpEF 無症候性		一致感度 +5%	0.625	0.117	2.92	N/A
9	HFrEF 無症候性		一致感度 +5%	0.625	0.010	2.31	N/A
9	ICM 無症候性		一致感度 +5%	0.625	0.030	2.39	N/A
9	DCM 無症候性		一致感度 +5%	0.625	-0.009	2.19	N/A
9	CHF 症候性		一致感度 +5%	0.625	0.098	2.59	N/A
9	HFpEF 症候性		一致感度 +5%	0.625	0.005	2.14	N/A
9	HFrEF 症候性		一致感度 +5%	0.625	0.132	2.68	N/A
9	ICM 症候性		一致感度 +5%	0.625	0.121	2.65	N/A
9	DCM 症候性		一致感度 +5%	0.625	0.143	2.72	N/A
9	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.625	0.114	2.66	N/A
9	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.625	0.095	2.57	N/A

10

20

30

40

9	DCM LVEF.35%~50%		一致感度 + 5%	0.625	0.140	2.88	N/A
9	HFrEF LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.625	0.055	2.46	N/A
9	ICM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.625	0.071	2.50	N/A
9	DCM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.625	0.045	2.43	N/A
10	CHF	10%	一致感度 + 5%	0.641	0.062	2.46	0.221
10	HFpEF		一致感度 + 5%	0.641	0.044	2.31	N/A
10	HFrEF	5%	一致感度 + 5%	0.641	0.071	2.50	0.209
10	ICM		一致感度 + 5%	0.641	0.071	2.50	N/A
10	DCM		一致感度 + 5%	0.641	0.071	2.50	N/A
10	CHF 無症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.028	2.30	N/A
10	HFpEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.071	2.50	N/A
10	HFrEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.641	-0.010	2.24	N/A
10	ICM 無症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.030	2.39	N/A
10	DCM 無症候性		一致感度 + 5%	0.641	-0.049	2.03	N/A
10	CHF 症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.089	2.56	N/A
10	HFpEF 症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.005	2.14	N/A
10	HFrEF 症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.120	2.65	N/A
10	ICM 症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.096	2.57	N/A
10	DCM 症候性		一致感度 + 5%	0.641	0.143	2.72	N/A
10	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.641	0.086	2.55	N/A
10	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.641	0.071	2.50	N/A
10	DCM LVEF 35%~50%		一致感度 + 5%	0.641	0.106	2.69	N/A
10	HFrEF LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.641	0.055	2.46	N/A
10	ICM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.641	0.071	2.50	N/A
10	DCM LVEF < 35%		一致感度 + 5%	0.641	0.045	2.43	N/A
11	CHF	10%	一致感度 + 5%	0.612	0.078	3.31	0.290
11	HFpEF		一致感度 + 5%	0.612	0.056	3.08	N/A
11	HFrEF	5%	一致感度 + 5%	0.612	0.091	3.36	0.283
11	ICM		一致感度 + 5%	0.612	0.099	3.39	N/A
11	DCM		一致感度 + 5%	0.612	0.083	3.33	N/A
11	CHF 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	0.040	3.07	N/A
11	HFpEF 無症候性		一致感度 + 5%	0.612	0.083	3.33	N/A

11	HFrEF 無症候性		一致感度 +5%	0.612	0.002	2.99	N/A
11	ICM 無症候性		一致感度 +5%	0.612	0.000	3.04	N/A
11	DCM 無症候性		一致感度 +5%	0.612	0.003	2.92	N/A
11	CHF 症候性		一致感度 +5%	0.612	0.110	3.46	N/A
11	HFpEF 症候性		一致感度 +5%	0.612	0.017	2.86	N/A
11	HFrEF 症候性		一致感度 +5%	0.612	0.144	3.58	N/A
11	ICM 症候性		一致感度 +5%	0.612	0.158	3.63	N/A
11	DCM 症候性		一致感度 +5%	0.612	0.131	3.53	N/A
11	HFrEF LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.612	0.126	3.54	N/A
11	ICM LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.612	0.107	3.43	N/A
11	DCM LVEF 35%~50%		一致感度 +5%	0.612	0.152	3.85	N/A
11	HFrEF LVEF < 35%		一致感度 +5%	0.612	0.050	3.22	N/A
11	ICM LVEF < 35%		一致感度 +5%	0.612	0.083	3.33	N/A
11	DCM LVEF < 35%		一致感度 +5%	0.612	0.031	3.15	N/A
8	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.535	0.097	1.39	0.080
8	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.535	0.132	1.63	N/A
8	HFrEF	5%	Youden 指数を最大化する	0.535	0.077	1.33	0.059
8	ICM		Youden 指数を最大化する	0.535	0.102	1.36	N/A
8	DCM		Youden 指数を最大化する	0.535	0.054	1.30	N/A
8	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.088	1.40	N/A
8	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.206	2.08	N/A
8	HFrEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	-0.017	1.19	N/A
8	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	-0.018	1.20	N/A
8	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	-0.016	1.17	N/A
8	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.104	1.39	N/A
8	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.024	1.25	N/A
8	HFrEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.134	1.42	N/A
8	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.174	1.47	N/A
8	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.535	0.095	1.36	N/A
8	HFrEF LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.535	0.122	1.43	N/A
8	ICM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.535	0.143	1.43	N/A
8	DCM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.535	0.093	1.44	N/A

8	HFrEF LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.535	0.024	1.25	N/A
8	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.535	0.024	1.25	N/A
8	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.535	0.024	1.25	N/A
9	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.494	0.105	1.27	0.058
9	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.494	0.161	1.58	N/A
9	HFrEF	5%	Youden 指数を最大化する	0.494	0.073	1.19	0.036
9	ICM		Youden 指数を最大化する	0.494	0.090	1.21	N/A
9	DCM		Youden 指数を最大化する	0.494	0.057	1.18	N/A
9	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.098	1.29	N/A
9	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.216	1.94	N/A
9	HFrEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	-0.009	1.08	N/A
9	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	-0.030	1.06	N/A
9	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.012	1.11	N/A
9	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.110	1.26	N/A
9	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.079	1.27	N/A
9	HFrEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.122	1.26	N/A
9	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.162	1.31	N/A
9	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.494	0.083	1.21	N/A
9	HFrEF LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.494	0.125	1.30	N/A
9	ICM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.494	0.131	1.27	N/A
9	DCM LVEF 35%~50%		Youden 指数を最大化する	0.494	0.115	1.37	N/A
9	HFrEF LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.494	0.012	1.11	N/A
9	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.494	0.012	1.11	N/A
9	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.494	0.012	1.11	N/A
10	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.505	0.100	1.26	0.056
10	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.505	0.134	1.50	N/A
10	HFrEF	5%	Youden 指数を最大化する	0.505	0.081	1.20	0.038
10	ICM		Youden 指数を最大化する	0.505	0.090	1.21	N/A
10	DCM		Youden 指数を最大化する	0.505	0.072	1.20	N/A
10	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.098	1.29	N/A
10	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.194	1.85	N/A
10	HFrEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.012	1.11	N/A

10	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	-0.030	1.06	N/A
10	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.052	1.18	N/A
10	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.101	1.25	N/A
10	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.045	1.19	N/A
10	HFrEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.122	1.26	N/A
10	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.162	1.31	N/A
10	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.505	0.083	1.21	N/A
10	HFrEF LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.505	0.139	1.32	N/A
10	ICM LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.505	0.131	1.27	N/A
10	DCM LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.505	0.150	1.45	N/A
10	HFrEF LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.505	0.012	1.11	N/A
10	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.505	0.012	1.11	N/A
10	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.505	0.012	1.11	N/A
11	CHF	10%	Youden 指数を最大化する	0.548	0.061	1.19	0.043
11	HFpEF		Youden 指数を最大化する	0.548	0.093	1.37	N/A
11	HFrEF	5%	Youden 指数を最大化する	0.548	0.042	1.15	0.029
11	ICM		Youden 指数を最大化する	0.548	0.074	1.19	N/A
11	DCM		Youden 指数を最大化する	0.548	0.012	1.11	N/A
11	CHF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.033	1.15	N/A
11	HFpEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.148	1.67	N/A
11	HFrEF 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	-0.070	1.00	N/A
11	ICM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	-0.071	1.01	N/A
11	DCM 無症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	-0.068	0.97	N/A
11	CHF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.083	1.22	N/A
11	HFpEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.012	1.11	N/A
11	HFrEF 症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.109	1.24	N/A
11	ICM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.162	1.31	N/A
11	DCM 症候性		Youden 指数を最大化する	0.548	0.060	1.18	N/A
11	HFrEF LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.548	0.096	1.25	N/A
11	ICM LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.548	0.107	1.24	N/A
11	DCM LVEF 35%～50%		Youden 指数を最大化する	0.548	0.081	1.28	N/A
11	HFrEF LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.548	-0.021	1.07	N/A

10

20

30

40

11	ICM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.548	0.012	1.11	N/A
11	DCM LVEF < 35%		Youden 指数を最大化する	0.548	-0.041	1.05	N/A

【0390】

[実施例15]

性別および/またはBMIを特徴とする被験体群におけるパネル8 + NT-proBNPを用いた単一事例評価

性別および/またはBMIを特徴とするある特定の被験体群(実施例7に記載の全親コホートから選択される)について、パネル8 + NT-proBNPを用いた診断転帰を、NT-proBNPのみを用いた診断転帰と比較した。

10

【0391】

方法「一致感度」にしたがって決定されたカットオフ値と共にパネル8 + NT-proBNPを用いた場合(実施例12を参照)、28を超えるBMIを有する被験体の分類は、4人の被験体においてNT-proBNPのみと比較して改善され、そのうちの1人は心不全に罹患しておらず、3人はHFrEFに罹患していた。これらの後者の3人の被験体のうち、2人は男性であり、1人は女性であった。

【0392】

方法「一致感度」にしたがって決定されたカットオフ値と共にパネル8 + NT-proBNPを用いた場合(実施例12を参照)、9人の女性の被験体の分類は、NT-proBNPのみと比較して改善され、そのうちの1人はHFrEFに罹患しており、8人は心不全に罹患していなかった。これらの後者の8人の被験体のうち、7人は28未満のBMIを有していた。

20

【0393】

[実施例16]

バイオマーカー予測スコアの算出に用いられる重量およびスケーリング係数

パネル8 + NT-proBNP、パネル9 + NT-proBNP、パネル10 + NT-proBNP、およびパネル11 + NT-proBNPについて、表25に示される係数 w_i ならびにスケーリング係数 m_i および s_i を、実施例8に記載の予測確率の算出のために用いた。

【0394】

30

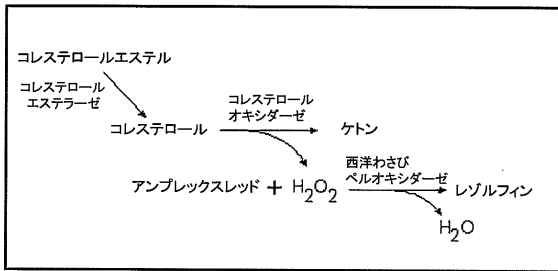
【表 2 5】

表 25: 全パラメータの絶対濃度(NT-proBNP の濃度は、抗体反応により決定されたものであり、他は全て酵素的な方法により決定されたものである; コレステリルエステルの決定のために、コレステリルエステル+ コレステロール中に含まれるコレステロールの総量の合計を、上記に、例えば、実施例 5 に記載される、コレステリルエステルの量に関する近似として取った)を用いた、パネル 8 + NT-proBNP、パネル 9 + NT-proBNP、パネル 10 + NT-proBNP、およびパネル 11 + NT-proBNP に関する係数 w_i ならびにスケーリング係数 m_i および s_i 。

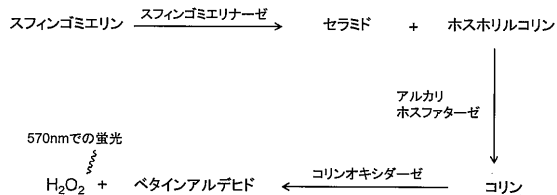
パネル	パラメータ	指数 i	単位	スケーリング係数		係数
				m_i	s_i	
8*	切片	0	N/A	N/A	N/A	0.7425838
8*	NT-proBNP	1	pg/ml	2.20815226	0.63538927	1.5498776
8*	トリアシルグリセロールの総量	3	mg/dl	2.04087703	0.21052875	0.5105663
8*	スフィンゴミエリンの総量	2	nmol/ μ l	-0.84133005	0.14546292	-0.6437630
8*	コレステリルエステルの総量	4	μ g/ μ l	0.59850929	0.12017917	-0.1575292
8*	コレステロールの総量	5	μ g/ μ l	0.03227242	0.14279049	-0.2374175
9*	切片	0	N/A	N/A	N/A	0.7194159
9*	NT-proBNP	1	pg/ml	2.20815226	0.63538927	1.4823448
9*	トリアシルグリセロールの総量	2	mg/dl	2.04087703	0.21052875	0.4670435
9*	スフィンゴミエリンの総量	3	nmol/ μ l	-0.84133005	0.14546292	-0.6428591
9*	コレステリルエステルの総量	4	μ g/ μ l	0.59850929	0.12017917	-0.3294130
10*	切片	0	N/A	N/A	N/A	0.7382621
10*	NT-proBNP	1	pg/ml	2.20815226	0.63538927	1.5551770
10*	トリアシルグリセロールの総量	2	mg/dl	2.04087703	0.21052875	0.5173727
10*	スフィンゴミエリンの総量	3	nmol/ μ l	-0.84133005	0.14546292	-0.6577244
10*	コレステロールの総量	4	μ g/ μ l	0.03227242	0.14279049	-0.3582858
11*	切片	0	N/A	N/A	N/A	0.6830203
11*	NT-proBNP	1	pg/ml	2.20815226	0.63538927	1.4350546
11*	トリアシルグリセロールの総量	2	mg/dl	2.04087703	0.21052875	0.4169432
11*	スフィンゴミエリンの総量	3	nmol/ μ l	-0.84133005	0.14546292	-0.7453965

* + NT-proBNP

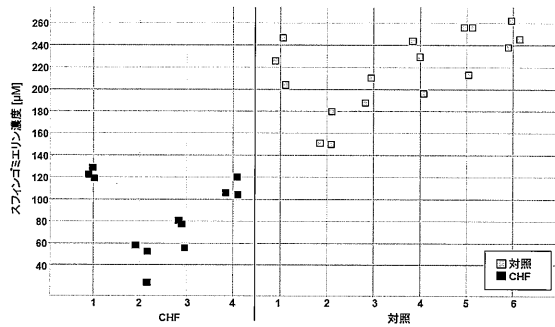
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【手続補正書】

【提出日】平成28年8月17日(2016.8.17)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

心不全に罹患することが疑われる被験体における心不全を診断するための方法であって、

(a) 前記被験体の試料中の総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量を決定するステップ；ならびに

(b) ステップ(a)で決定された量を、参照と比較することによって、被験体が心不全に罹患しているか否かを診断するステップを含む、前記方法。

【請求項 2】

総トリアシルグリセロールおよび総スフィンゴミエリンの量が決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記ステップ(a)がさらに、前記被験体の試料中の、総コレステロール、総コレステリルエステル、及び、総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータからなる群より選択される少なくとも1つのコレステロールパラメータを決定することを含む、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記被験体の試料中の少なくとも1つのコレステロールパラメータ、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量が酵素的に決定される、請求項 1～3のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 5】

前記参照が心不全に罹患することが知られる被験体または被験体群に由来するものである、請求項 1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 6】

試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量が同一である、もしくは減少することが、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較して試験試料中での量が増加することが、被験体が心不全に罹患していないことを示す、ならびに/または試験試料および参照中の総トリアシルグリセロールの量が同一である、もしくは増加することが、被験体が心不全に罹患していることを示すが、参照と比較して試験試料中での量が減少することが、被験体が心不全に罹患していないことを示す、請求項 5に記載の方法。

【請求項 7】

前記参照が心不全に罹患していないことが知られる被験体または被験体群に由来するものである、請求項 1～4のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 8】

試験試料および参照中の少なくとも1つのコレステロールパラメータおよび/もしくは総スフィンゴミエリンの量が同一である、もしくは増加することが、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較して試験試料中での量が減少することが、被験体が心不全に罹患していることを示す、ならびに/または試験試料および参照中の総トリアシルグリセロールの量が同一である、もしくは減少することが、被験体が心不全に罹患していないことを示すが、参照と比較して試験試料中での量が増加することが、被験体が心不全に罹患していることを示す、請求項 7に記載の方法。

【請求項 9】

前記方法が、被験体が心不全に罹患していると診断されるかどうかに基づいて被験体のための治療剤または患者健康管理手段を推奨するステップをさらに含む、請求項 1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記試料が血液、血漿または血清試料である、請求項 1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記心不全が無症候性心不全である、請求項 1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステリルエステルの量の前記酵素的決定が、

a) コレステロールへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をコレステロールエステラーゼと接触させるステップ；

b) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、請求項 4～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記方法が、

- レドックス等価物、好ましくは、 H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップa)の前の試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記レドックス等価物を中和するステップをさらに含む、請求項 12に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記 H_2O_2 の前記中和が、生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定することを含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記方法が、ステップ a) の前に決定されたコレステロール由来 H_2O_2 およびステップ c) で決定されたコレステリルエステル由来 H_2O_2 の量に基づく、総コレステリルエステルと総コレステロールとの比の生成をさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記方法が、コレステリルエステルとコレステロールとの比を参照と比較することによって、被験体が心不全に罹患するか否かを診断するステップをさらに含む、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

少なくとも1つのコレステロールパラメータとしての総コレステロールの量の前記酵素的決定が、

a) H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、コレステロールを含む試料を、コレステロールオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

b) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、請求項 4 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

総スフィンゴミエリンの量の前記酵素的決定が、

a) ホスホリルコリンへの変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をスフィンゴミエリナーゼと接触させるステップ；

b) コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ホスホリルコリンを含む試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

c) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、請求項 4 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記方法が、

- コリンへの変換およびその後の H_2O_2 の生成を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、ステップ a) の前の試料を、アルカリホスファターゼおよびコリンオキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

- 前記 H_2O_2 を中和するステップをさらに含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

総トリアシルグリセロールの量の前記酵素的決定が、

a) グリセロールおよび遊離脂肪酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、試料をリパーゼと接触させるステップ；

b) グリセロール-3-リン酸への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロールを含む試料をグリセロキナーゼと接触させるステップ；

c) ジヒドロキシアセトンリン酸および H_2O_2 への変換を可能にするのに十分な条件下および時間にわたって、グリセロール-3-リン酸を含む試料を、グリセロリン酸オキシダーゼと接触させるステップ；ならびに

d) 生成された H_2O_2 の量を酵素的または化学的に決定するステップを含む、請求項 4 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 1】

被験体が心不全に罹患するか否かを診断するためのデバイスであって、

a) 好ましくは、試料中の総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンの量を決定することができると共に配置された、前記バイオマーカーの量のための酵素的検出剤を含む分析ユニット；ならびに

b)分析ユニットから受信したバイオマーカーの決定された量と、保存された参照との請求項6または8に記載の比較を実行するアルゴリズムを明白に埋め込んだ、好ましくは請求項5または7で定義された、データプロセッサと、保存された参照を含むデータベースを含む評価ユニットを含む、前記デバイス。

【請求項22】

総コレステロール、総コレステリルエステル、及び、総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータからなる群より選択される少なくとも1つのコレステロールパラメータを決定する検出剤をさらに含む、請求項21に記載のデバイス。

【請求項23】

被験体の試料中で、被験体が心不全に罹患するか否かを診断するための、総トリアシルグリセロールおよび/または総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤の使用。

【請求項24】

総コレステロール、総コレステリルエステル、及び、総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータからなる群より選択される少なくとも1つのコレステロールパラメータのための酵素的検出剤の使用をさらに含む、請求項23に記載の使用。

【請求項25】

総トリアシルグリセロールおよび総スフィンゴミエリンのための酵素的検出剤を含む、被験体の試料中で、前記被験体が心不全に罹患するか否かを診断するために適合化されたキット。

【請求項26】

総コレステロール、総コレステリルエステル、及び、総コレステロールと総コレステリルエステルとの合計パラメータからなる群より選択される少なくとも1つのコレステロールパラメータのための酵素的検出剤をさらに含む、請求項25に記載のキット。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/067301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/50
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 practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/014286 A2 (METANOMICS GMBH [DE]; RUPRECHT KARLS UNIVERSITAET HEIDELBERG [DE]; RES) 31 January 2013 (2013-01-31)	1,3-9
Y	Tables, for example 5A.2; claims 1-16; whole document	1-21
X	WO 2011/092285 A2 (METANOMICS GMBH [DE]; UNIV RUPRECHT KARLS HEIDELBERG [DE]; FUHRMANN JE) 4 August 2011 (2011-08-04)	1,3-9
Y	the whole document table 1a	1-21
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ 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 application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 September 2015

Date of mailing of the international search report

22/09/2015

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

Schindler-Bauer, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/067301

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EVANS ET AL: "The use of three esterase kits to measure plasma cholesterol concentration in the rat and three other species", JOURNAL OF COMPARATIVE PATHOLOGY, ACADEMIC PRESS, LONDON, GB, vol. 96, no. 5, 1 September 1986 (1986-09-01), pages 551-556, XP022996704, ISSN: 0021-9975, DOI: 10.1016/0021-9975(86)90075-7 [retrieved on 1986-09-01]	19,21
Y	whole document; p. 552, l. 4ff -----	10-14,20
X	HE X ET AL: "An Enzymatic Assay for Quantifying Sphingomyelin in Tissues and Plasma from Humans and Mice with Niemann-Pick Disease", ANALYTICAL BIOCHEMISTRY, ACADEMIC PRESS INC, NEW YORK, vol. 293, no. 2, 15 June 2001 (2001-06-15), pages 204-211, XP027226815, ISSN: 0003-2697 [retrieved on 2001-06-15]	19,21
Y	the whole document -----	15,16
A	Geoffrey S Ginsburg ET AL: "PHYSICAL PROPERTIES OF CHOLESTERYL ESTERS AND MOLECULAR MOTIONS CRYSTAL AND SMECTIC MESOPHASE STRUCTURE OF CHOLESTERYL ESTERS FROM X-P, AY POWDER PATTERNS SUMMARY REFERENCES", Prog. Lipid Res., 1 January 1984 (1984-01-01), pages 135-167, XP055155142, Retrieved from the Internet: URL:http://ac.els-cdn.com/016378278490002X/1-s2.0-016378278490002X-main.pdf?_tid=57044d22-7552-11e4-9efa-00000aacb35f&acdnat=1416995903_730d8b46ddb1fb55dc9d16fdc532ec3c [retrieved on 2014-11-26]	1-21
Y,P	the whole document ----- WO 2015/028671 A1 (METANOMICS GMBH [DE]; RUPRECHT KARLS UNIVERSITÄT HEIDELBERG [DE]) 5 March 2015 (2015-03-05) the whole document -----	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/067301

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013014286 A2	31-01-2013	AU 2012288742 A1 CA 2841915 A1 EP 2737321 A2 JP 2014521949 A US 2015160238 A1 WO 2013014286 A2	30-01-2014 31-01-2013 04-06-2014 28-08-2014 11-06-2015 31-01-2013
WO 2011092285 A2	04-08-2011	AU 2011209431 A1 CA 2787297 A1 EP 2529235 A2 JP 2013518271 A US 2012286157 A1 WO 2011092285 A2	02-08-2012 04-08-2011 05-12-2012 20-05-2013 15-11-2012 04-08-2011
WO 2015028671 A1	05-03-2015	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q	1/42	(2006.01)	C 1 2 Q 1/42
C 1 2 Q	1/60	(2006.01)	C 1 2 Q 1/60
C 1 2 Q	1/61	(2006.01)	C 1 2 Q 1/61

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,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,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,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,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74)代理人 100111741
弁理士 田中 夏夫

(74)代理人 100169971
弁理士 菊田 尚子

(74)代理人 100182992
弁理士 江島 孝毅

(72)発明者 シャッツ, フィリップ
ドイツ連邦共和国 1 0 4 3 5 ベルリン, オーダーベルガーシュトラッセ 4 6

(72)発明者 ヴィット, ヘニング
ドイツ連邦共和国 1 0 4 3 5 ベルリン, グリーベノーシュトラッセ 2 3

(72)発明者 ペーター, エリック
ドイツ連邦共和国 1 4 4 7 3 ポツダム, フンボルトリング 1 3

(72)発明者 テルス, フィリップ
ドイツ連邦共和国 1 4 6 2 4 ダルゴウ, ルドルフ・フィルヒョウシュトラッセ 6 0

(72)発明者 マッペス, フィリップ
ドイツ連邦共和国 1 3 3 4 9 ベルリン, テュルケンシュトラッセ 2 5

(72)発明者 カトゥス, ヒューゴ, アー
ドイツ連邦共和国 6 9 1 2 0 ハイデルベルク, フィロゾーフエンヴェーク 1 7

(72)発明者 ヴァイス, タンヤ
ドイツ連邦共和国 6 9 2 5 7 ヴィーゼンバッハ, ランゲンツェル 3

(72)発明者 フライ, ノルベルト
ドイツ連邦共和国 2 4 1 1 9 クロンスハーゲン, フォルベールシュトラッセ 2 5アー

(72)発明者 デュンゲン, ハンス, ディルク
ドイツ連邦共和国 1 3 5 0 3 ベルリン, ザントハウザーシュトラッセ 1 4 3

(72)発明者 トリップル, トビアス, ダニエル
ドイツ連邦共和国 1 0 4 3 5 ベルリン, ホリナーシュトラッセ 4 0

(72)発明者 タヒロヴィッチ, エルヴィス
ドイツ連邦共和国 1 2 0 5 3 ベルリン, トーマスシュトラッセ 4 7

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA61 DA69 DA70 FB01 JA01

4B029 AA07 BB16 FA12

4B063 QA01 QA18 QA19 QQ03 QQ70 QQ73 QQ76 QQ89 QR02 QR03

QR10 QR12 QR13 QS10 QS28 QS39 QX01 QX02