

(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2017-532548
(P2017-532548A)

(43) 公表日 平成29年11月2日(2017.11.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/92 (2006.01)	GO 1 N 33/92	Z 2 GO 4 5
GO 1 R 33/465 (2006.01)	GO 1 N 24/08	5 1 O Q
GO 1 R 33/32 (2006.01)	GO 1 N 24/02	5 3 O G
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁)

(21) 出願番号 特願2017-513725 (P2017-513725)
 (86) (22) 出願日 平成27年9月11日 (2015. 9. 11)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年4月28日 (2017. 4. 28)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/049778
 (87) 国際公開番号 W02016/040859
 (87) 国際公開日 平成28年3月17日 (2016. 3. 17)
 (31) 優先権主張番号 62/049, 141
 (32) 優先日 平成26年9月11日 (2014. 9. 11)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 506140561
 リボサイエンス、インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国ノースカロライナ州276
 16, ローリー, サムナー・ブールヴァー
 ド 2500
 (74) 代理人 100107364
 弁理士 斉藤 達也
 (72) 発明者 オトボス, ジェームス ディー.
 アメリカ合衆国 27502 ノースカ
 ライナ州 アベックス, ウェルストーン
 サークル 1117
 (72) 発明者 シャラウロヴァ, イリナ ワイ.
 アメリカ合衆国 27519 ノースカ
 ライナ州 ケーリー, アンバーモア プレ
 イス 315

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 HDLおよび炎症性バイオマーカーインタラクションパラメータを含むリスクパラメータを用いた心血管リスク評価

(57) 【要約】

方法、システムおよび回路は、少なくとも1つのHDLおよび炎症性バイオマーカー相互作用パラメータを含むリスクパラメータを用いて被験体のCVDリスクを評価する。炎症性バイオマーカーは、被験体の少なくとも1つのバイオ試料からのGlycAのNMR誘導測定値を任意に含み得る。リスクパラメータは、性別に特有のものであってもよい。

【選択図】 図1

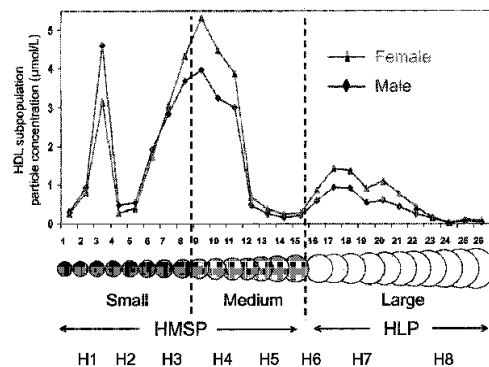


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

心臓血管疾患またはイベントのリスクパラメータを決定する方法であって、
被験体からのバイオサンプルにおけるHDL粒子および少なくとも1つの炎症性バイオマーカーの測定値を取得する取得ステップと、

前記測定値に基づいて、少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスおよび前記少なくとも1つの炎症性バイオマーカーの濃度を決定する決定ステップと、

HDL粒子の少なくとも1つのサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカーの濃度を少なくとも用いて、被験体のリスクパラメータ($(H \times I)_{CVD}$)をプログラムの計算ステップと、を含む、

方法。

【請求項 2】

($(H \times I)_{CVD}$) リスクパラメータ番号に少なくとも部分的に基づいてCVDを有するおよび/またはCVDを発症する被検体のリスクを決定することをさらに含む、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記バイオサンプルがインビトロ血漿または血清サンプルである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

HDL粒子サイズサブクラス $c_{H1} \sim c_{H8}$ について濃度が決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記決定ステップおよび/または前記計算ステップが、少なくとも1つのプロセッサを使用して実行される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスが、以下の少なくとも1つを含む、請求項 1 に記載の方法：

(i) $7.0 \sim 7.6$ nmの範囲の直径を有する c_{H1} ；

(ii) $11.5 \sim 13.5$ nmの範囲の直径を有する c_{H8} 。

【請求項 7】

($(H \times I)_{CVD}$) が、次のものである、請求項 6 に記載の方法：

$(H \times I)_{CVD} = c_1 (c_{H1}) + c_2 (INFLAM) + c_3 (INTER_{H1})$ ；
または

$(H \times I)_{CVD} = c_4 (c_{H8}) + c_5 (INFLAM) + c_6 (INTER_{H8})$

ここで、INFLAMは、少なくとも1つの炎症性バイオマーカーの濃度であり、 $INTER_{H1} = INFLAM * c_{H1}$ 、 $INTER_{H8} = INFLAM * c_{H8}$ であり、「 $c_1 - c_6$ 」は、関連するリスクパラメータの試験集団におけるCVD事象の数学的モデルからの係数を表す。

【請求項 8】

($(H \times I)_{CVD}$) が性別特異的である、

請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

$7.0 \sim 7.6$ nmの範囲の平均直径を有し、($(H \times I)_{CVD}$) を生成するための炎症性バイオマーカーとしてのGlycAを用いたHDL-Pサブクラス c_{H1} の濃度の利用により、男性特異的HDL炎症性マルチマーカーを提供する、

請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

$11.5 \sim 13.5$ nmの範囲の平均直径を有し、($(H \times I)_{CVD}$) を生成するための炎症性バイオマーカーとしてのGlycAを用いたHDL-Pサブクラス c_{H8} の濃度の利用により、女性特異的HDL炎症性マルチマーカーを提供する、

10

20

30

40

50

請求項 8 に記載の方法。

【請求項 1 1】

計算された $(H \times I)_{c v d}$ を医療専門家及び / 又は患者報告書に電子的に提供することをさらに含む、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記計算された $(H \times I)_{c v d}$ に少なくとも部分的に基づいて、前記被験体に対する治療を処方、推奨、または決定することをさらに含む、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記取得ステップは、HDL 粒子サブクラスおよび / または炎症性バイオマーカの NMR 由来濃度測定値を決定するために、バイオサンプルから NMR シグナルを得ることを含む、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記決定ステップは、少なくとも 8 つの HDL - P サブクラスを有する規定されたデコンポリューションモデルを使用して、被験体の血漿サンプルのフィッティング領域の複合 NMR スペクトルをデコンポリューションすることをさらに含む、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記炎症性バイオマーカが GlycA を含み、前記少なくとも 1 つの相互作用パラメータが、GlycA 濃度に少なくとも 1 つの HDL - P サブクラス濃度を乗じたものによって定義される 1 つの相互作用パラメータを含み、前記少なくとも 1 つの HDL - P サブクラスは、関連リスクパラメータについての研究集団における CVD 事象の性別特異性を実証する、

請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 6】

心臓血管疾患またはイベントのリスクパラメータを決定するためのシステムであって、被験体からのバイオサンプル中の HDL 粒子および少なくとも 1 つの炎症性バイオマーカの測定値を取得するための測定値取得手段、

前記測定値に基づいて、少なくとも 1 つの個々の HDL 粒子サイズサブクラスおよび少なくとも 1 つの炎症性バイオマーカの濃度を決定するための濃度決定手段、及び

少なくとも 1 つの HDL 粒子のサブクラスおよび少なくとも 1 つの炎症性バイオマーカの濃度を少なくとも用いて、対象のリスクパラメータ $(H \times I)_{c v d}$ をプログラマ的に計算するための計算手段、を備える、

システム。

【請求項 1 7】

前記測定値取得手段が NMR 分析器を含む、

請求項 1 6 に記載のシステム。

【請求項 1 8】

少なくとも 8 つの HDL - P サブクラスを有する定義されたデコンポリューションモデルを使用して、被験体の血漿サンプルのフィッティング領域の複合 NMR スペクトルをデコンポリューションする構成要素をさらに含む、

請求項 1 6 に記載のシステム。

【請求項 1 9】

前記濃度決定手段および / または計算手段は、少なくとも 1 つのプロセッサを含む、

請求項 1 6 に記載のシステム。

【請求項 2 0】

前記決定手段が、HDL - P サブクラス cH1 ~ cH8 の濃度を決定するように構成されている、

請求項 1 6 に記載のシステム。

10

20

30

40

50

【請求項 2 1】

前記決定手段は、以下の少なくとも1つの濃度を決定するように構成されている、請求項 1 6 に記載のシステム：

(i) 7 . 0 ~ 7 . 6 n m の範囲の直径を有する c H 1 ；

(i i) 1 1 . 5 ~ 1 3 . 5 n m の範囲の直径を有する c H 8 。

【請求項 2 2】

(H x I) c v d リスクパラメータを計算する、および/または (H x I) c v d リスクパラメータをモニタするように構成され、(a) H D L - P 値を上昇または低下させるか、または (b) 炎症を低下させるか、または (a) および (b) の両方を行う治療標的として使用することができる、

請求項 1 6 に記載のシステム。

10

【請求項 2 3】

高密度リポタンパク質粒子 (H D L - P) の所定の亜集団の濃度を掛けた G l y c A の測定値を計算するように構成されている、

請求項 1 6 に記載のシステム。

【請求項 2 4】

測定値取得手段及び濃度決定手段は、

インビトロ血漿または血清サンプルの少なくとも1つの N M R スペクトルを取得するための N M R 分光計、及び前記 N M R 分光器と通信するプロセッサを備えて構成され、前記プロセッサが、

20

(i) 血漿または血清試料中の高密度リポタンパク質粒子 (H D L - P) サブクラスの少なくとも8つの亜集団の濃度測定値を取得し、

(i i) (H x I) c v d リスクパラメータを以下を用いて計算するように構成される：

取得された H D L - P 濃度測定値の定義されたサブセット、および

少なくとも1つの定義された H D L - P サブクラスの濃度と少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度との産物を含む少なくとも1つの相互作用パラメータ、

請求項 1 6 に記載のシステム。

【請求項 2 5】

前記炎症性バイオマーカが G l y c A を含み、前記少なくとも1つの相互作用パラメータが、G l y c A 濃度に少なくとも1つの H D L - P サブクラス濃度を乗じたものによって定義される1つの相互作用パラメータを含み、前記少なくとも1つの H D L - P サブクラスは、関連リスクパラメータについての研究集団における C V D 事象の性別特異性を実証する、

30

請求項 1 6 に記載のシステム。

【請求項 2 6】

請求項 1 に記載の方法に従って、心血管疾患または事象のリスクパラメータを決定するためのコンピュータプログラム製品。

【請求項 2 7】

心血管疾患または事象のリスクパラメータを決定するためのコンピュータプログラム製品であって、当該コンピュータプログラム製品は、

40

前記媒体に埋め込まれたコンピュータ可読プログラムコードを有する非一時的なコンピュータ可読記憶媒体を備えて構成され、前記コンピュータ可読プログラムコードは、

血漿または血清サンプル中の H D L - P の少なくとも8つのサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカについての濃度測定値を得るコンピュータ可読プログラムコードと、

少なくとも1つの相互作用パラメータを含むリスクパラメータ ((H x I) c v d) を計算するコンピュータ可読プログラムコードを備えて構成される。

【請求項 2 8】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、被験体の血漿サンプルのフィッティング

50

領域の複合NMRスペクトルをデコンボリューションするためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに備え、前記コンピュータ可読プログラムコードは、少なくとも8つのHDL-Pサブクラスを有する定義されたデコンボリューションモデルを使用する複合NMRスペクトルをデコンボリューションする、

請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項29】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、HDL粒子サイズサブクラスcH1~cH8の濃度を決定するコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、

請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項30】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、以下の個々のHDL粒子サイズの少なくとも1つの濃度を決定するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

(i) 7.0~7.6nmの範囲の直径を有するcH1;

(ii) 11.5~13.5nmの範囲の直径を有するcH8。

【請求項31】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、以下の式の1つに従って $(H \times I)_{CVD}$ を計算するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

$(H \times I)_{CVD} = c_1 (cH1) + c_2 (INFLAM) + c_3 (INTER_{H1})$; または

$(H \times I)_{CVD} = c_4 (cH8) + c_5 (INFLAM) + c_6 (INTER_{H8})$

ここで、INFLAMは、少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度であり、 $INTER_{H1} = INFLAM * cH1$ 、 $INTER_{H8} = INFLAM * cH8$ であり、「 $c_1 - c_6$ 」は、関連するリスクパラメータの試験集団におけるCVD事象の数学的モデルからの係数を表す。

【請求項32】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、7.0~7.6nmの範囲内の平均直径を有するHDL-PサブクラスcH1の濃度を決定するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、 $(H \times I)_{CVD}$ を生成する炎症性バイオマーカとしてのGlycAと組み合わせて、男性特異的HDL炎症性マルチマーカを提供する、

請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項33】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、11.5~13.5nmの範囲の平均直径を有するHDL-PサブクラスcH8の濃度を決定するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、 $(H \times I)_{CVD}$ を生成するための炎症性バイオマーカとしてのGlycAと組み合わせて、雌特異的HDL炎症性マルチマーカを提供する、

請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項34】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、計算された $(H \times I)_{CVD}$ を医療専門家および/または患者報告書に電子的に提供するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、

請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項35】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、前記計算された $(H \times I)_{CVD}$ に少なくとも部分的に基づいて前記被験体の治療を処方または推奨するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、請求項27に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項36】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、前記生体試料から得られたNMR測定値を使用して、HDL粒子サブクラスおよび/または炎症性バイオマーカのNMR由来濃度を

10

20

30

40

50

決定するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含む、
請求項 27 に記載のコンピュータプログラム製品。

【請求項 37】

前記非一時的なコンピュータ可読記憶媒体は、前記炎症性バイオマーカー G l y c A の濃度を決定し、少なくとも 1 つの H D L - P サブクラス濃度と G l y c A 濃度との乗算によって決定される少なくとも 1 つの相互作用パラメータをプログラムで計算するためのコンピュータ可読プログラムコードをさらに含み、少なくとも 1 つの H D L - P サブクラスは、関連リスクパラメータについての研究集団における C V D 事象の性別特異性を示す、請求項 27 に記載のコンピュータプログラム製品。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、一般に、インビトロ生体試料の分析に関する。

【0002】

関連出願

本出願は、2014年9月11日に提出された米国仮特許出願第62/049,141号に対する優先権を主張する。米国仮特許出願第62/049,141号の開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

20

【0003】

リポタンパク質は、トリグリセリド、コレステロール、リン脂質、スフィンゴ脂質、およびタンパク質の様々なタイプおよび量を含む血漿、血清、全血、およびリンパ中に見出される多種多様な粒子を含む。これらの様々な粒子は、他の点では疎水性の脂質分子の血液中での可溶化を可能にし、腸、肝臓、筋肉組織および脂肪組織間の脂肪分解、脂質生成および脂質輸送に関連する様々な機能を果たす。炎症は、多くの異なる疾患状態に関連し得る。例えば、フォーゲルマン (Fogelman)、良質コレステロールが悪くなった時 (When Good Cholesterol Goes Bad)、ネイチャーメディスン (Nature Medicine) (2004) 10 (9) : 902 - 903、ヒマピンジュG (Hima Bindu G) ら、友人は敵になる (Friend Turns Foe) : 急性期応答における抗炎症性HDLの炎症性HDLへの変換 (Transformation of Anti-Inflammatory HDL to Proinflammatory HDL during Acute-Phase Response)、コレステロール (Cholesterol) (2011) 2011 : 記事ID 274629 (7ページ) に記載されており、その内容は参照により本明細書に完全に記載されているものとする。糖タンパク質の炭水化物成分は、タンパク質選別、免疫および受容体認識、炎症および他の細胞プロセスにおいて生物学的機能を果たし得る。炎症はHDL機能を調節すると考えられている。

30

【0004】

従来、LDLコレステロール (LDL-C) またはHDLコレステロール (LDLコレステロール) として示される患者のLDLおよびHDL粒子のコレステロール含有量の測定に基づいて、冠動脈性心疾患 (CHD) および/または心血管疾患 (CVD) の患者の全体的なリスクが評価されている。これらの2つのリスク因子は、患者のリスクを評価するためによく使用され、「悪い」コレステロール (LDL-C) を減らすか、「良い」コレステロール (HDL-C) を増やすように治療の決定を下すことがある。

40

【0005】

一方、進行したリポタンパク質試験パネルは、典型的には、全高密度リポタンパク質粒子 (HDL-P) 測定値 (例えば、HDL-P数) および全低密度リポタンパク質粒子 (LDL-P) 測定値 (例えば、LDL-P番号) を有する。粒子数は、nmol/Lのような濃度単位の濃度を表す。総HDL-P数は、HDL-Pサブクラスのサブグループの

50

それぞれの濃度値の合計、例えば、小、中および大であり得る。

【0006】

LDL-Pは、LDL-Cと比較して、CHDおよびCVDのLDL関連リスクのより良い指標である、および/または治療決定を導くと考えられている。しかし、HDLの様々な機能、および患者のHDLに関連するCVDおよび/またはCHDリスクを最良に評価する方法については依然として未解決の問題がある。例えば、シェールら(Khera et al)、コレステロール流出能力、高密度リポタンパク質機能、およびアテローム性動脈硬化症(Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Function, and Atherosclerosis)、ニューイングランドジャーナルオブメディシン(N Engl J. Med.) (2011) 364:127-135; ナワブ(Navab)ら、HDLおよび心臓血管疾患(HDL and cardiovascular disease):アテローム発生およびアテローム保護メカニズム(atherogenic and atheroprotective mechanisms)、ネイチャーレビュー心臓病学(Nat. Rev. Cardiol)、8、222-232(2011); フォーゲルマン A (Fogelman A)、良質コレステロールが悪くなった時(When Good Cholesterol Goes Bad)、ネイチャーメディシン(Nature Medicine)(2004) 10(9):902-903に記載されており、その内容は本明細書中に完全に記載されているように参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0007】

HDLが、アテローム性動脈硬化症または心疾患を発症する危険性に関して、保護的または非保護的であり得るメカニズムは、複雑で多因子である。ファーマー(Farmer)ら、熱硬化症からの保護における高密度リポタンパク質の役割の進化する概念(Evolving Concepts of the Role of High-Density Lipoprotein in Protection from Atherosclerosis)、近年アテローム硬化症報告(Curr Atheroscler Rep)(2011) 13:107-114、およびヒマビンジュ G (Hima Bindu G)ら、友人は敵になる(Friend Turns Foe):急性期反応における抗炎症性HDLの炎症性HDLへの変換(Transformation of Anti-Inflammatory HDL to Proinflammatory HDL during Acute-Phase Response)、コレステロール(Cholesterol)(2011) 2011:記事ID 274629、7ページ、その内容は参照により本明細書に完全に記載されているものとする。

30

【0008】

フレーミングハムの研究では、年齢、性別、血圧、喫煙習慣、コレステロール値など、多くの要因を考慮した比較的長いリスクモデルが提案されました。フレーミングハムの子孫研究で実施された研究では、研究対象者の規範的および危険度の高い集団値も定義された。ウィルソン(Wilson)ら、コレステロールリスクファクタースクリーニングのための全国ガイドラインの影響(Impact of National Guidelines for Cholesterol Risk Factor Screening. The Framingham Offspring Study)、米国医師会雑誌(JAMA)、1989; 262:41~44を参照のこと。

40

【0009】

人の心臓血管リスクをよりよく予測または評価し、および/またはHDL治療標的に用いることができるリスクパラメータを提供する評価が必要とされている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、背景技術の課題を解決するためのものである。

50

【課題を解決するための手段】

【0011】

本明細書中に記載される本発明は、対象からのバイオサンプル中のHDL粒子および少なくとも1種の炎症性バイオマーカの測定値を取得する取得工程、前記測定値に基づいて、少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスおよび前記少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を決定する決定工程と、少なくとも1つのHDL粒子のサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を少なくとも用いて、被験体のリスクパラメータ $(H \times I)_{CVD}$ をプログラマ的に計算する計算工程を含む、心臓血管疾患または事象のリスクパラメータの決定方法を含む。

【0012】

いくつかの実施形態において、前記測定値は、インビトロ血漿または血清患者サンプルのNMRシグナルを得て、HDL粒子サブクラスおよび/または炎症性バイオマーカのNMR由来濃度測定値を決定することによって得られる。

【0013】

いくつかの実施形態において、HDL粒子は、直径に基づいて8つの異なるサブクラスまたは亜集団で分析される。他の実施形態において、HDL粒子は、20以上の異なるサブクラスまたは他のサブグループにおいて分析される。

【0014】

いくつかの実施形態では、少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスは、以下の少なくとも1つを含む。(i)直径が7.0~7.6nmの範囲のcH1、または(ii)11.5~13.5nmの範囲の直径を有するcH8。

【0015】

いくつかの実施形態では、 $(H \times I)_{CVD}$ は、 $(H \times I)_{CVD} = c_1 (cH1) + c_2 (INFLAM) + c_3 (INTER_{H1})$ 、または $(H \times I)_{CVD} = c_4 (cH8) + c_5 (INFLAM) + c_6 (INTER_{H8})$ である。ここで、INFLAMは、少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度であり、 $INTER_{H1} = INFLAM * cH1$ 、 $INTER_{H8} = INFLAM * cH8$ であり、「 $c_1 - c_6$ 」は、関連するリスクパラメータの試験集団におけるCVD事象の数学的モデルからの係数を表す。

【0016】

いくつかの実施形態では、 $(H \times I)_{CVD}$ が性別特異的である。いくつかの実施形態では、7.0~7.6nmの範囲の平均直径を有し、 $(H \times I)_{CVD}$ を生成するための炎症性バイオマーカとしてのGlycAを用いたHDL-PサブクラスcH1の濃度の利用により、男性特異的HDL炎症性マルチマーカを提供する。他の実施形態では、11.5~13.5nmの範囲の平均直径を有し、 $(H \times I)_{CVD}$ を生成するための炎症性バイオマーカとしてのGlycAを用いたHDL-PサブクラスcH8の濃度の利用により、女性特異的HDL炎症性マルチマーカを提供する。

【0017】

いくつかの実施形態では、方法は、計算された $(H \times I)_{CVD}$ を医療専門家及び/又は患者報告書に電子的に提供することをさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、計算された $(H \times I)_{CVD}$ に少なくとも部分的に基づいて、前記被験体に対する治療を処方、推奨、または決定することをさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、対象の食事、運動、喫煙、または他の行動の改変をさらに含む。

【0018】

いくつかの実施形態は、本明細書に記載の方法を使用して人のCVDリスクを評価するシステム、コンピュータ可読媒体、回路、NMR分光計またはNMR分析器、オンライン半自動リスク計算器、およびプロセッサを含む。すなわち、システム、コンピュータ可読媒体、回路、NMRアナライザ、半自動リスク計算機、またはプロセッサは、インビトロ血漿または血清患者サンプルからの定義されたパラメータの測定値を取得および利用し、少なくとも1つのHDLおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカ相互作用パラメータを含む定義されたマルチコンポーネントリスク進行モデルを使用する。

10

20

30

40

50

【0019】

例えば、いくつかの実施形態は、被験体からのバイオサンプル中のHDL粒子および少なくとも1つの炎症性バイオマーカの測定値を取得するための測定値取得手段であり、前記測定値に基づいて、少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を決定するための濃度決定手段、及び、少なくとも1つのHDL粒子のサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を少なくとも用いて、対象のリスクパラメータ $(H \times I)_{CVD}$ をプログラムの的に計算するための計算手段を備える、システムを備えて構成される。

【0020】

いくつかの実施形態では、当該システムは、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを計算する、および/または $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータをモニタするように構成され、(a)HDL-P値を上昇または低下させるか、または(b)炎症を低下させるか、または(a)および(b)の両方を行う治療標的として使用することができる。いくつかの実施形態では、当該システムは、高密度リポタンパク質粒子(HDL-P)の所定の亜集団の濃度を掛けたGlycAの測定値を計算するように構成されている。いくつかの実施形態において、少なくとも1つの相互作用パラメータは、関連するリスクパラメータについての研究集団におけるCVD事象の性別特異性を示すHDL-Pサブクラスの濃度を掛けたGlycAである。

10

【0021】

いくつかの実施形態では、測定値取得手段は、NMR分析器を含む。いくつかの実施形態は、本明細書に記載の方法に従って心血管疾患または事象のリスクパラメータを決定するための非一時的コンピュータ可読媒体を含む。いくつかの実施形態は、本明細書に記載の方法を用いて被験者のCVDリスクを評価する半自動リスク計算機を含む。

20

【0022】

本発明のさらなる特徴、利点および詳細は、以下の好ましい実施形態の図面および詳細な説明を読むことにより当業者に理解されよう。そのような説明は本発明の単なる例示である。具体的には記載されていないが、一実施形態に関して説明された特徴は、一実施形態に関して説明された特徴は、他の実施形態と組み合わせることが可能である。すなわち、それに関して具体的に記載されていないが、一実施形態に関して説明された本発明の態様は、異なる実施形態に組み込まれてもよいことに留意されたい。すなわち、任意の実施形態のすべての実施形態および/または特徴は、任意の方法および/または組み合わせにより合わせることができる。また、本発明の方法の各実施形態は、本発明のシステムおよびコンピュータプログラム製品に組み込むことができ、逆もまた同様である。本発明の上記および他の態様は、以下に記載される明細書において詳細に説明される。

30

【0023】

本開示に照らして当業者には理解されるように、本発明の実施形態は、方法、システム、装置および/またはコンピュータプログラム製品またはそれらの組み合わせを含み得る。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】女性(三角形注釈された線)および男性(ダイヤモンド注釈された線)の被験者についての多肥性アテローム性動脈硬化症(MESA)におけるHDL-P亜集団の平均濃度($\mu\text{mol/L}$)のグラフである。粒子サイズは、例示的な小、中および大HDL-Pサブクラスとしてグループ化される直径、あるいはH1-H8としてグループ化される直径ごとに増分1~26で示される。

40

【図2】6つの異なるロジスティック回帰モデル(すべてのモデルは、MESA($n=274/5534$)における事象CVD事象の基本ロジスティック回帰モデルと同じパラメータを有し、年齢、性別、人種、喫煙、SBP、高血圧投薬、BMI、糖尿病、BMIおよびトリグリセリドに合わせて調整されている)のそれぞれについてのモデルの尤度比(LR)²統計量によって示されるCVDリスクアソシエーションを示すグラフであり、

50

本発明の実施の形態に関するモデルに含まれる $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを有する²の増加を示している。

【図3】本発明の実施形態に基づくMESA研究集団 ($n = 5542$) における $(H \times I)_{CVD}$ 値 (無単位) の分布のグラフである。

【図4】本発明のいくつかの実施形態に関する、個々のマーカと組み合わせて $(H \times I)_{CVD}$ リスクをもたらすことができる炎症性バイオマーカGlycAを有するHDL構成要素をそれぞれが含む2つの相互作用パラメータ ($HLP * GlycA$) および ($HMS P * GlycA$) を示すリスクパラメータのチャートである。

【図5】 $(H \times I)_{CVD}$ が少なくとも確立された主要なCVDリスク因子 (5年間の追跡調査の間におけるMESA参加者 ($n = 5534$) のCVD事象のロジスティック回帰モデル ($n = 274$) からの) と同じくらい強く、CVDリスクと関連していることを示すCVDリスクパラメータのチャートである。

【図6】本発明の実施形態における、年齢、性別/ジェンダー、人種、喫煙、BMI、糖尿病、SBP、高血圧薬物使用、およびLDL-Pに応じて調整される、MESAにおけるCVD事象 ($n = 274 / 5534$) のCox比例ハザード分析を $(H \times I)_{CVD}$ 四分位 (図4に示す $(H \times I)_{CVD}$ によって四分円に分割された被験者) で分割した4つのサブグループの5年間の追跡調査中の無再発生存期間を示すグラフである。

【図7】図7Aおよび7Bは、LDL-Pの低レベルおよび高レベルについての $(H \times I)_{CVD}$ の四分位法によるMESAにおける無再発生存期間を示すグラフであり、それぞれ、性別/ジェンダー、人種、喫煙、BMI、糖尿病、SBP、高血圧投薬の使用、およびトリグリセリドに応じて調整されたMESA ($n = 274 / 5534$) における偶発的CVD事象のCox比例ハザード解析から再び導出される。本発明の実施形態によれば、低および高LDL-P値はそれぞれ中央値 (1265 nmol/L) 以下および以上である。

【図8】年齢、性別/ジェンダー、人種、喫煙、BMI、糖尿病、SBP、高血圧薬物使用、およびトリグリセリドに応じて調整される、MESA ($n = 274 / 5534$) における事象CVD事象のCox比例ハザード分析から、低レベルおよび高レベルのLDL-Pに対するLDL-Pおよび $(H \times I)_{CVD}$ サブグループによるMESAにおける無再発生存期間のグラフである。本発明の実施形態によれば、低および高LDL-P値はそれぞれ中央値 (1265 nmol/L) 以下および以上である。

【図9】本発明の実施形態における、1つのHDLパラメータおよび1つの炎症パラメータ ($HMS P * GlycA$)、並びに小型および中程度のHDL-Pサブクラス (すなわち、HMS P) のみを含む、相互作用パラメータ ($H \times I$) を使用する場合のCVD事象の予測確率を計算するために使用されるロジスティック回帰モデルパラメータおよび値を示すチャートである。

【図10】炎症性バイオマーカのレベルの増加 (図に示すように、GlycA) ($SBP = 140 \text{ mmHg}$ 、 $BMI = 29 \text{ kg/m}^2$ 、 $LDL-P = 1500 \text{ nmol/L}$ 、トリグリセリド = 150 mg/dL) であり、高血圧治療薬を服用している60歳の非喫煙非糖尿病白人女性のロジスティック回帰からの5年間の追跡調査 ($n = 274 / 5534$) 中のMESAにおけるCVD事象の予測確率の百分率 (CVD PP%) の関数としての、小および中HDL-Pサブクラス (HMS P) の総和の低、中および高値に関連するCVDリスクを示すグラフである。この例では、低、中および高は、それぞれ 23.6 、 27.6 および $32.3 \text{ } \mu\text{mol/L}$ (20分の1、50分の1および80分の1) である。

【図11】本発明の実施形態における、1つのHDLおよび1つの炎症マーカ ($HLP * GlycA$)、炎症マーカ (GlycA)、および大きなHDL-Pサブクラス (すなわちHLP) のみを含む相互作用パラメータを使用する場合のCVD事象の予測確率を計算するために使用されるロジスティック回帰モデルパラメータおよび値を示すチャートである。

【図12】炎症性バイオマーカGlycA ($SBP = 140 \text{ mmHg}$ 、 $BMI = 29 \text{ kg}$

10

20

30

40

50

$/m^2$ 、LDL-P = 1500 $n/mol/L$ 、トリグリセリド = 150 mg/dL であり、高血圧治療薬を服用している60歳の非喫煙非糖尿病白人女性のロジスティック回帰からの5年間の追跡調査 ($n = 274 / 5534$) 中のMESAにおけるCVD事象の予測確率)のレベルの増加の関数としての、大HDL-Pサブクラス(HLP)の合計の低、中および高値に関連するCVDリスクを示すグラフである。この例では、低、中および高は、それぞれ、本発明の実施形態による3.0、5.1、および8.5 $\mu mol/L$ (20分の1、50分の1および80分の1)である。

【図13】健康な被験者 ($n = 5532$) において、26の亜集団ではなく、8つの亜集団(H1-H8のサイズ)にグループ分けされたHDL-Pの平均濃度 ($\mu mol/L$) のグラフである。

【図14】本発明のいくつかの実施形態における、(H8 x I)_{CVD} リスクパラメータを提供することができる炎症性バイオマーカ(GlycA)または(GlycA * H8)を有する相互作用パラメータ、HDL構成要素8(CH8またはH8)を示すリスクパラメータのチャートである。

【図15】本発明のいくつかの実施形態における、(H1 x I)_{CVD} リスクパラメータを提供することができる炎症性バイオマーカ(GlycA)または(GlycA * H1)を有する相互作用パラメータ、HDL構成要素1(CH1またはH1)を示すリスクパラメータのチャートである。

【図16】本発明のいくつかの実施形態における、図14および図15に示す相互作用パラメータ(H8 x I)_{CVD} および(H1 x I)_{CVD} ならびに残りのHDL構成要素(H2-7)を含むマルチマーカを例示するリスクパラメータのチャートであり、(H x I)_{CVD} リスクマルチマーカ。

【図17】本発明の実施形態に基づくMESA研究集団 ($n = 5682$) における(H8 x I)_{CVD}、(H1 x I)_{CVD}、および(H x I)_{CVD} 値(無単位)のグラフの分布を示す。

【図18】本発明の実施形態によるモデルに含まれる(H8 x I)_{CVD}、(H1 x I)_{CVD}、および(H x I)_{CVD} リスクパラメータの増加した²を示す、11の異なるロジスティック回帰モデル(すべてのモデルは、年齢、性別、人種、喫煙、高血圧、BMI、糖尿病、BMI、およびVLDL-Pのために調整されたMESA ($n = 458 / 5660$) における偶発的CVD事象の基本ロジスティック回帰モデルと同じパラメータを有する)のそれぞれについて、CVDリスク関連(モデルの尤度比²統計(LR²)によって示される)を示すチャートである。

【図19】炎症性バイオマーカ(GlycAに示す)(BMI = 29 kg/m^2 、LDL-P = 1500 $n/mol/L$ 、VLDL-P = 130 mg/dL 、60歳の非喫煙非糖尿病高血圧白人女性のロジスティック回帰からの9年間の追跡調査 ($n = 458 / 5660$) 中のMESAにおけるCVD事象の予測確率)のレベルの増加の関数としての、HDL-Pサブクラス1(「H1」)の低、中位および高値に関連するCVDリスクを示すグラフである。本発明の実施形態によれば、低、中位および高H1値は、それぞれ、4.1、5.7、および7.2 $\mu mol/L$ (20分の1、50分の1および80分の1)である。

【図20】炎症性バイオマーカ(GlycAに示す)(BMI = 29 kg/m^2 、LDL-P = 1500 $n/mol/L$ 、VLDL-P = 130 mg/dL 、60歳の非喫煙非糖尿病高血圧白人女性のロジスティック回帰からの9年間の追跡調査 ($n = 458 / 5660$) 中のMESAにおけるCVD事象の予測確率)のレベルの増加の関数としてのHDL-Pサブクラス8(「H8」)の低、中位および高値に関連するCVDリスクを示すグラフである。本発明の実施形態によれば、低、中位および高H1値は、それぞれ0.10、0.27および0.59 $\mu mol/L$ (20分の1、50分の1および80分の1)である。

【図21】本発明のいくつかの実施形態による、HDL構成成分8(H8)および炎症性バイオマーカGlycAを含む、女性特異的相互作用パラメータ、女性のための(H x I

10

20

30

40

50

)^W C V D マルチマーカを示すリスクパラメータのチャートである。

【図 2 2】本発明のいくつかの実施形態による、H D L 構成成分 1 (H 1) および炎症性バイオマーカ G l y c A を含む男性特異的相互作用パラメータ、男性のための (H x I)^M C V D マルチマーカを示すリスクパラメータのチャートである。

【図 2 3】本発明の実施の形態に基づく、男性の M E S A 研究集団 (n = 2 7 5 9) における (H x I)^M 値 (単位なし) の分布のグラフと、女性の M E S A 研究集団 (n = 2 9 0 1) における (H x I)^W 値の分布の第 2 のグラフを示す。

【図 2 4】炎症性バイオマーカ (G l y c A に示す) (B M I = 2 9 k g / m²、L D L - P = 1 5 0 0 n / m o l / L、V L D L - P = 1 3 0 m g / d L、6 0 歳 の 非 喫 煙 非 糖 尿 病 高 血 圧 白 人 男 性 の ロ ジ ス テ ィ ッ ク 回 帰 か ら の 9 年 間 の 追 跡 調 査 (n = 2 8 7 / 2 7 5 9) 中 の M E S A 男 性 に お け る C V D 事 象 の 予 測 確 率) の レ ベ ル の 増 加 の 関 数 と し て の、男性の H D L - P サ ブ ク ラ ス 1 (「 H 1 」) の 低、中位および高値に関連する C V D リスクを示すグラフであり、H D L - P = 1 9 . 4 μ m o l / L で あ っ た。本発明の実施形態によれば、低、中位および高 H 1 値は、それぞれ 4 . 7、6 . 1 および 7 . 5 μ m o l / L (2 0 分 の 1、5 0 分 の 1 および 8 0 分 の 1) である。

【図 2 5】炎症性バイオマーカ (G l y c A に示す) (B M I = 2 9 k g / m²、L D L - P = 1 5 0 0 n / m o l / L、V L D L - P = 1 3 0 m g / d L、6 0 歳 の 非 喫 煙 非 糖 尿 病 高 血 圧 白 人 男 性 の ロ ジ ス テ ィ ッ ク 回 帰 か ら の 9 年 間 の 追 跡 調 査 (n = 1 7 1 / 2 9 0 1) 中 の M E S A 女 性 に お け る C V D 事 象 の 予 測 確 率) の レ ベ ル の 増 加 の 関 数 と し て の、女性の H D L - P サ ブ ク ラ ス 8 (「 H 8 」) の 低、中位および高値に関連する C V D リスクを示すグラフであり、H D L - P = 2 2 . 0 μ m o l / L で あ っ た。本発明の実施形態によれば、低、中位および高 H 8 値は、それぞれ 0 . 1 2、0 . 3 2、および 0 . 7 7 μ m o l / L (2 0 分 の 1、5 0 分 の 1 および 8 0 分 の 1) である。

【図 2 6】本発明の実施形態における、モデル 7 および 8 を含む (H x I)^W リスクパラメータを有する²の増加を示す、8 つの異なるロジスティック回帰モデル (全てのモデルは、年齢、性別、人種、喫煙、高血圧、B M I、糖尿病、および V L D L - P のために調整された M E S A (n = 1 6 9 / 2 8 6 8) における女性の偶発的 C V D の基本ロジスティック回帰モデルと同じパラメータを有する) のそれぞれについての、(H x I)^W マルチマーカの女性における偶発的 C V D の予測への寄与を示すチャート (モデルの尤度比 (L R)² 統計量によって示される) である。

【図 2 7】本発明の実施形態における、モデル 7 および 8 を含む (H x I)^M リスクパラメータを有する²の増加を示す、8 つの異なるロジスティック回帰モデル (全てのモデルは、年齢、性別、人種、喫煙、高血圧、B M I、糖尿病、および V L D L - P のために調整された M E S A (n = 2 8 2 / 2 7 2 2) における男性の偶発的 C V D の基本ロジスティック回帰モデルと同じパラメータを有する) のそれぞれについての、(H x I)^M マルチマーカの男性における偶発的 C V D の予測への寄与を示すチャート (モデルの尤度比 (L R)² 統計量によって示される) である。

【図 2 8】伝統的な危険因子と比較した、(H x I)^W および (H x I)^M 性別特異的マルチマーカの C V D リスク予測への寄与を示すチャートである。

【図 2 9】図 2 9 A および 2 9 B は、本発明の実施形態による個人または臨床医によるインターネット上での使用のために電子的に提供され得る例示的なリスク計算機である。

【図 3 0】本発明の実施形態に従って使用する (H x I)^{C V D} リスクパラメータモジュールおよび / または回路を使用して患者の C V D リスクを分析するためのシステムの概略図である。

【図 3 1】本発明の実施形態による N M R 分光装置の概略図である。

【図 3 2】本発明の実施形態によるデータ処理システムの概略図である。

【図 3 3】本発明の実施形態による C V D リスクを評価するために使用され得る例示的な動作のフローチャートである。

【図 3 4】本発明の実施形態による (H x I)^{C V D} を含む C V D リスク評価を含む患者報告の例である。

10

20

30

40

50

【図35】本発明の実施形態による、患者のリスク状態、状態の変化、および/または療法の臨床効果を評価するための変化を監視するために使用することができ、または臨床試験に使用することさえでき、または計画された治療法に対する反論に使用される(H x I) c v D 値対時間のグラフの予言的例である。

【0025】

本発明の前述および他の目的および態様は、以下に記載される明細書において詳細に説明される。

【発明を実施するための形態】

【0026】

本発明は、本発明の実施形態が示されている添付の図面を参照して、以下により完全に説明される。しかし、本発明は、多くの異なる形態で実施することができ、本明細書に記載の実施形態に限定されるものと解釈すべきではない。むしろ、これらの実施形態は、本開示が十分かつ完全であり、本発明の範囲を当業者に十分に伝えるように提供される。

10

【0027】

同様の参照番号は同様の要素を参照する。図面において、特定の線、層、構成要素、要素または特徴の厚さは、明瞭化のために誇張されている場合がある。破線は、特に明記されていない限り、オプションの機能または操作を示す。

【0028】

本明細書で使用する用語は、特定の実施形態のみを説明するためのものであり、本発明を限定するものではない。本明細書で使用されるように、単数形「a」、「an」および「the」は、文脈がそうでないことを明確に示さない限り、複数形も含むことが意図される。本明細書で使用される場合、用語「含む(comprises)」および/または「含む(comprising)」は、記載された特徴、整数、ステップ、操作、要素および/または構成要素の存在を特定するが、ステップ、動作、要素、コンポーネント、および/またはそれらのグループのうちの1つまたは複数の追加、追加、または追加を含むことができる。本明細書で使用される場合、「および/または」という用語は、1つまたは複数の関連するリストされたアイテムの任意のおよびすべての組み合わせを含む。本明細書で使用されるように、「XとYとの間」および「約XとYとの間」などの語句は、XおよびYを含むと解釈されるべきである。本明細書中で使用される場合、「約XとYの間」などの語句は、「約Xと約Yとの間」を意味する。本明細書で使用する「約XからYまで」などの語句は、「約Xから約Yまで」を意味する。

20

30

【0029】

他に定義されない限り、本明細書で使用される全ての用語(技術用語および科学用語を含む)は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。一般的に使用される辞書に定義されているような用語は、明細書および関連技術の文脈における意味と一致する意味を有すると解釈されるべきであり、明示的に定義されている場合を除いて、理想化された又は過度に形式的な意味で解釈されるべきではない。簡潔さおよび/または明瞭さのために、周知の機能または構造を詳細に説明はしない。

【0030】

第1、第2などの用語は、様々な要素、構成要素、領域、層および/またはセクションを記述するために本明細書で使用されるが、これらの要素、構成要素、領域、層および/またはセクションは、これらの用語によって限定されてはならない。これらの用語は、1つの要素、構成要素、領域、層またはセクションを他の領域、層またはセクションと区別するためにのみ使用される。したがって、以下に説明する第1の要素、構成要素、領域、層またはセクションは、本発明の教示から逸脱することなく、第2の要素、構成要素、領域、層またはセクションと呼ぶことができる。動作(またはステップ)のシーケンスは、特に断らない限り、請求項または図に示される順序に限定されない。

40

【0031】

「プログラムの」 という用語は、コンピュータプログラムおよび/またはソフトウェア、プロセッサ、またはASIC指示操作を用いて実行されることを意味する。「電子」

50

という用語およびその派生語は、精神的ステップではなく電気回路および/またはモジュールを有するデバイスを使用して実行される自動または半自動操作を指し、典型的にはプログラムによって実行される操作を指す。「自動化された」および「自動の」という用語は、手作業または入力なしで操作を実行できることを意味します。用語「半自動化された」は、オペレータまたはユーザに何らかの入力または活性化を許可することを指すが、計算および信号の取得ならびに濃度または数値出力の計算は、手動入力を必要とせず、典型的にはプログラムの電子的に行われる。

【0032】

用語「約」は、特定の値または数の $\pm 10\%$ （平均（mean）または平均（average））を意味する。

10

【0033】

用語「患者」は、広く使用され、試験または分析のためのバイオサンプルを提供する個体または動物の被験体を指す。

【0034】

用語「バイオサンプル」は、ヒトまたは動物のインビトロ血液、血漿または血清サンプルを指す。あるいは、それは生きている被験体からの他のタイプのサンプルを指してもよい。本発明の実施形態は、ヒト血漿または血清試料を評価するのに特に適している。血漿または血清サンプルは、絶食または非絶食であり得る。

【0035】

「人口規範」および「標準」という用語は、大規模な研究、またはフラミンガム子孫研究やアテローム性動脈硬化症の多民族研究（MESA）などの研究、または一般的な人口を表すのに十分多数のサンプルを有する研究によって定義された値を指す。しかしながら、本発明は、現在定義されている正常およびリスクのある集団の値またはレベルが経時的に変化し得るので、MESAまたはフラミンガムにおける集団値に限定されない。したがって、この文献の例として提供される参照範囲または統計的係数は、異なる研究集団に基づいて当業者に周知であるように変化し得る。「心臓血管疾患」という用語は、一般に、心臓発作、胸痛（狭心症）、脳卒中、または死亡につながる狭窄または閉塞血管を伴う状態を指す。

20

【0036】

「数学モデル」および「モデル」という用語は同じ意味で使用され、「CVD」リスクとともに使用される場合、将来（通常2～10年以内）の、被験者のCVDリスクを評価するために使用されるリスクの統計的モデルを指す。リスクモデルは、ロジスティックモデル、比例ハザード（Cox）モデル、混合モデルまたは階層的線形モデルの1つまたは複数を含むモデルを含む任意の適切なモデルであってもよいし、これらを含んでもよいが、これらに限定されない。リスクモデルは、尤度比（LR）²値またはc統計値（AUC値とも呼ばれる）などのモデル識別統計に基づいて評価することができる。モデルの全体的な予測に対するモデルの所与の変数の相対的な寄与は、典型的にWald²値および/またはp値（十分に代表的な研究集団を有する後者）によって推定される。

30

【0037】

本明細書で使用される「相互作用パラメータ」という用語は、2つの変数間の相互作用を表す用語を指し、ここで、第3の変数、例えば、CVD事象に関するHDL亜集団と炎症性バイオマーカーとの間の相互作用、または $(H \times I)_{CVD}$ に関して、一方は他方を調節する。この用語は、相互作用する変数の組み合わせ（例えば、乗算された積または比率）を含むことができる。

40

【0038】

本明細書で使用される「マルチマーカー」という用語は、2つ又はそれ以上のバイオマーカーパラメータの組み合わせ（例えば、乗算された積または比率）を含む用語を示す。

【0039】

A. NMRによるHDL粒子亜集団および炎症マーカーの検出

HDLの役割は複雑であり、HDLコレステロール（HDL-C）は比較的粗製のバイ

50

オマーカであると考えられている。一般に認められているように、従来の脂質パネルによって提供されるHDL - コレステロールおよび/またはLDL - コレステロールレベルは、CHDまたはCVDのリスクの上昇の有無にかかわらず、集団を十分に区別することができない。

【0040】

本発明の実施形態は、1つまたは複数のHDLおよび炎症性バイオマーカ相互作用パラメータを計算することを含む、対象の心臓血管(CVD)リスクのリスク評価を提供する。

【0041】

血液および/または血漿において、HDLは、一般に、密度または電気泳動移動度などの物理的特性またはHDLの主要タンパク質であるアポリタンパク質A-1(ApoA-1)の測定値に基づいて、多くの方法で分類されている。

【0042】

本発明の実施形態は、図1の例に示すように、脂質および代謝変数との相関によって評価されるように、機能/代謝関連性に基づいてサイズ範囲によってグループ化されたサブクラスにリポタンパク質粒子を分類する。

【0043】

バイオサンプルは、リポタンパク質粒子の20以上の別個の亜集団(サイズ)、典型的には約30から80(またはそれ以上)の間の異なるサイズの亜集団の測定を評価することができる。これらの個別のサブ集団は、定義されたサブクラスにグループ化できる。定義されたサブクラスは、VLDLおよびHDLについてはそれぞれ3つ、LDLについては2つまたは3つを含む複数の異なるサブクラスを含むことができる(後者の場合、3つのうちの1つは、大きなLDLと小さなVLDLの間のサイズ範囲のIDLとして識別される)。異なるサブクラスは、典型的には、異なる数のサブ集団またはサブクラスグループ内の異なる粒径の成分を含む。大きなHDLサブクラスには、中程度または小さなHDLサブクラスよりも個別のサブ集団測定値を含めることができる。中程度のHDLサブクラスは、大きなHDLサブクラスまたは小さなHDLサブクラスのいずれよりも少ないサブ母集団コンポーネントまたは測定値を含むことができる。各HDLサブクラスグループは、5つ以上の個別サブ集団測定値を含むことができる。VLDL、LDLおよびHDLサブクラスには9つの異なるサブクラス(小、中、大)があるが、他のグループも使用できる。

【0044】

いくつかの実施形態では、図1に示すように、リポタンパク質測定値は、HDL - Pについて26のサイズの亜集団を含むことができる。あるいは、リポタンパク質の測定値は、図1に示され、本明細書において部分Cにさらに記載されている、HDL - Pの8つのサイズの亜集団を含むことができる。しかし、他のグループ分け、グループ分けのためのサイズ範囲、および/または個別の小集団測定の数を使用してもよい。図1に示す実施形態では、HDL - Pの異なる亜集団は、最小サイズのHDL亜集団を表す「1」および最大サイズのHDL亜集団である「26」を有する1~26の数によって定義することができる。または、HDL - Pの異なる亜集団は、最小サイズのHDL亜集団を表す「H1」および最大サイズのHDL亜集団である「H8」を用いて、H1 - H8からの数によって定義することができる。図1は、MESAの男性被検体および女性被検体におけるHDL - Pサブクラスの平均濃度を示す。以下で詳細に説明するように、いくつかの実施形態では、HDL粒子は、26個ではなく8個の亜集団またはサブクラスとして定義される。サブクラスH1~H8の使用は、以下のパートCでさらに説明される。あるいは、HDL粒子は、サイズ(または他の特徴または特性)によって異なるようにグループ分けされてもよい。

【0045】

いくつかの実施形態では、HDLリポタンパク質粒子の成分(亜集団またはサブクラス)の総数は約26であり、小HDL成分は1~8、中HDL成分は9~15、および大H

10

20

30

40

50

D L成分は16～26である。しかし、1つのグループの上端は、隣接するグループの下端に含まれてもよく、その逆も可能である。また、特定のグループ内の1つまたは複数のサブクラスを計算のために省略することができる。たとえば、大規模なHDL-Pグループから26を省略したり、小規模または中規模のHDL-Pグループから8を省略したりできる。それぞれのHDL-Pサブクラス濃度は、典型的には、そのHDL-Pサブクラスのそれぞれのサブグループの粒子濃度の合計であり、例えば、小さなHDL-Pはサブクラス1～8の大部分または全てを含み得、中程度のHDL-Pは9から15の大部分または全てを含み得、大きなHDL-Pは16～26の大部分またはすべてを含み得る。

【0046】

図1は、26の異なる亜集団またはサブクラス、または8つの異なる亜集団またはサブクラスにグループ分けされたHDL-Pの分布を示す。26の異なる亜集団または成分(1～26)の推定直径を表1に示す。

【0047】

表1、NMR分析によって測定した26のHDLサブクラスの推定直径

【表1】

HDLサブクラス	推定直径 (nm)
26	13.5
25	13.0
24	12.5
23	12.0
22	11.5
21	11.0
20	10.8
19	10.6
18	10.5
17	10.0
16	9.7
15	9.4
14	9.2
13	9.0
12	8.6
11	8.5
10	8.4
9	8.3
8	8.2
7	8.1
6	8.0
5	7.9
4	7.8
3	7.6
2	7.5
1	7.4

10

20

30

40

50

【0048】

異なるサイズのHDLサブクラスは、それらの分光学的に異なる脂質メチル基NMRシグナルの振幅から定量することができる。ジェラヤジャ(Jeyarajah)ら、核磁気共鳴分光法によるリポタンパク質粒子分析、臨床検査医学(Clin Lab Med)(2006)26:847-870に記載されており、その内容は本明細書中に完全に記載されているように参照により本明細書に組み込まれる。NMR分光法は、VLDL、LDLおよびHDL粒子サブクラスとして、インビトロ血漿または血清サンプルから超低密度リポタンパク質(VLDL)、低密度リポタンパク質(LDL)および高密度リポタンパク質(HDL)を同時に測定するために使用されている。本明細書中に完全に記載されているように、参照により本明細書にその内容が組み込まれる米国特許第4,933,844号および第6,617,167号を参照されたい。一般に述べられているように、血漿および/または血清サンプル中のリポタンパク質を評価するために、NMRスペクトルの化学シフト領域内の複数のNMR分光法誘導シグナルの振幅は、複合メチルシグナルエンベロープまたはスペクトルのデコンボリューションサブクラス濃度を得る。

10

【0049】

少なくとも1つの炎症性バイオマーカーは、急性および慢性刺激にตอบสนองして上昇または低下する急性期タンパク質を含み得る。例えば、カベイ(Gabay)ら、急性期タンパク質および炎症に対する他の全身応答、ニューイングランドジャーナル(New Engl J Med)(1999)340:448-454;ゴルニク(Gornik)ら、炎症性疾患における血清タンパク質のグリコシル化、病気マーカー(Disease Markers)(2008)25:267-278を参照されたく、その内容は、本明細書中に完全に記載されているように参照により本明細書に組み込まれる。炎症性バイオマーカーは、例えば、GlycA、CRP(C-反応性タンパク質)、高感受性(hs)-CRP、IL-6、フィブリノーゲン、白血球数などを含み得る。使用され得るさらなる潜在的炎症性バイオマーカーには、以下に記載の炎症性バイオマーカーの1つ以上が含まれる。例えば、マイヤーズ(Myers)ら、国立生化学研究所臨床検査医学プラクティスガイドライン:心血管疾患の一次予防のための新興バイオマーカー、クリニカルケミストリー(Clin Chem)(2009)55:2, pp. 378-384に記載されており、その内容は参照により本明細書に完全に援用される。しかし、他の炎症性バイオマーカーを使用し、任意の適切な手段によって測定してもよい。

20

30

【0050】

炎症のマーカー
 サイトカイン/炎症
 血清アミロイドA
 沈降速度
 インターロイキン-6
 インターロイキン-8
 インターロイキン-18
 腫瘍壊死性 受容体1および2
 腫瘍壊死 粘度
 hsCRP
 白血球/血小板/内皮
 細胞間接着分子-1(ICAM-1)
 血管細胞接着分子-1(VCAM-1)
 P-セレクチン
 E-セレクチン
 ミエロペルオキシダーゼ(MPO)
 リポタンパク質関連ホスホリパーゼA2(Lp-PLA2)
 単球走化性タンパク質-1
 CD40リガンド

40

50

白血球数

凝固 / 線維素溶解

第VII因子

フォン・ビルブランド因子

プラスミノゲンアクチベーター阻害剤 - 1

組織プラスミノゲン活性化因子

Dダイマー

フィブリノーゲン

【0051】

用語「GlycA」は、N - アセチルグルコサミンおよび / または N - アセチルガラクトサミン部分を含む急性期反応性糖タンパク質の炭水化物部分からの複合 NMR シグナルの測定値に由来する炎症性バイオマーカーを指し、より詳細には、2 - NAcGlc および 2 - NAcGal メチル基のプロトンに由来する。GlycA は、主に 1 - 酸性糖タンパク質、ハプトグロビン、1 - 抗トリプシン、抗キモトリプシンおよびトランスフェリンに起因すると考えられている。オトボス JD (Otvos JD) ら、GlycA : 全身性炎症の複合核磁気共鳴バイオマーカー、クリニカルケミストリー (Clin Chem) (2015) 61 (5) : 714 - 23 を参照されたく、その内容は、本明細書中に完全に記載されているように参照により本明細書に組み込まれる。GlycA シグナルは、約 47 (+ / - 0.5) での血漿 NMR スペクトルにおいて約 2.00 ppm に中心がある。ピークの位置は分光器の場とは無関係であるが、バイオサンプルの分析温度に応じて変化する可能性があり、尿のバイオサンプルでは検出されない。したがって、試験試料の温度が変化すると、GlycA ピーク領域が変化する可能性がある。GlycA NMR シグナルは、臨床的に関連するシグナル寄与のみを含むように、規定されたピーク領域に NMR シグナルのサブセットを含み得、以下でさらに議論されるように、この領域におけるシグナルへのタンパク質寄与を排除し得る。GlycA の記載およびその計算方法については、米国特許出願公開第 2013 / 0328561 号を参照されたく、その内容は、本明細書中に完全に記載されているように、参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

【0052】

リポタンパク質粒子および炎症バイオマーカーの NMR 測定は NMR 分析に特に適していると考えられているが、これらのパラメータを測定するために他の技術を用いてもよいことも考えられ、現在または将来において、本発明の実施形態は、この測定方法に限定されない。

30

【0053】

また、デコンボリューション NMR 法に関して主に記載されているが、本明細書に記載のデコンボリューションプロトコルの代わりに、異なるデコンボリューションプロトコルまたは他の NMR ベースのプロトコルを含む他の NMR 法も使用することができる。例えば、ケイス (Kaess) ら、「リポタンパク質サブトラクションプロファイル : 定量的形質遺伝子座の遺伝および同定」、ジャーナルオブリキッドリサーチ (J Lipid Res)、Vol. 49、pp. 715 - 723 (2008) ; およびスナ (Sun) ら、血漿リポタンパク質サブクラスの ^1H NMR 代謝 : 自己組織化マップによる代謝クラスタリングの解明、NMR 生物医学ジャーナル (NMR Biomed)、2007 ; 20 : 658 - 672。非 NMR 法の例には、例えば、浮遊および超遠心分離が含まれ、リポタンパク質粒子を評価するための密度に基づく分離技術が用いられる。イオン移動度分析は、リポタンパク質サブクラスを測定するための別の技術である。異なる炎症性バイオマーカーは、例えば、NMR を必要としない適切な分析技術を用いて測定することができる。

40

【0054】

B. HDL - 炎症性バイオマーカー相互作用パラメータによる CVD 予測の改善。

HDL - P 単独では必ずしも抗アテローム発生性ではない。したがって、上記のように、HDL および炎症リスクパラメータ (HxI)_{CVD} は、共に、HDL - P 測定のみを

50

使用して容易に同定できない被験体のリスクを層別化することができる可能性がある。

【0055】

本明細書に記載の新しい相互作用パラメータには、少なくとも1つのHDLバイオマーカおよび少なくとも1つの炎症バイオマーカが含まれる。このような相互作用パラメータは、CVDリスクの改善された評価のために使用され得る。

【0056】

CVDリスクを評価するため、および/または創薬、臨床試験、患者に個別化された最も適切な療法を選択すること、治療に対する反応をモニタリングすることなどに、臨床検査のための新しいHDLおよび炎症バイオマーカリスクパラメータ（ $(H \times I)_{CVD}$ ）は使用可能である。

10

【0057】

$(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータは、定義されたバイオマーカ炎症マーカにより乗算された少なくとも1つのHDLサブクラスパラメータを含むことができる。

【0058】

$(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータは、相互作用パラメータとして、GlycAの測定値に高密度リポタンパク質粒子（HDL-P）の所定の亜集団の濃度を乗じたものを含むことができる。 $(H \times I)_{CVD}$ 危険性パラメータは、追加的または代替的に、GlycAの相互作用パラメータにHDL-Pの第2の（異なる）規定亜集団の濃度を乗じたものを含むことができる。

20

【0059】

例えば、リスクパラメータは、以下の式によって計算することができる。

$(H \times I)_{CVD} = c_1 (c_{H1}) + c_2 (INFLAM) + c_3 (INTER_{H1})$;
または

$(H \times I)_{CVD} = c_4 (c_{H8}) + c_5 (INFLAM) + c_6 (INTER_{H8})$

INFLAMは、少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度であり、 $INTER_{H8} = INFLAM * c_{H8}$ であり、「 $c_1 - c_6$ 」は、関連するリスクパラメータについての研究集団におけるCVD事象の数学的モデルからのそれぞれの定義された係数を表す。

【0060】

驚くべきことに、本発明者らは、少なくとも1つのHDLおよび炎症相互作用パラメータを含む新たな「複合」HDLおよび炎症リスクパラメータ（「 $(H \times I)_{CVD}$ 」）の使用がCVDリスク予測モデルを統計的に改善できると共に、患者にとって異なるCVDリスクの階層化するために、および/またはCVDリスクを低減または変化させるための療法の有効性および/または非有効性をより正確に反映し得る治療ツールの提供するために有用であり得ることを見出した。「相互作用パラメータ」という用語は、積および/または比率として組み合わされた（乗算された）少なくとも2つの異なる定義されたパラメータを指す。相互作用は、1つの変数が第2の変数とCVDなどの結果との関係に影響を及ぼすため、「効果変更」とも呼ばれる。少なくとも1つのHDLおよび少なくとも1つの炎症相互作用パラメータは、積および/または比として数学的に組み合わされた、規定されたHDL-Pパラメータおよび少なくとも1つの定義された炎症バイオマーカパラメータを含み得る。 $(H \times I)_{CVD}$ に関する「複合材料」という用語は、複数の異なる定義されたパラメータが、少なくとも1つのHDLおよび炎症相互作用パラメータに数学的に結合（加算または減算）されることを意味する。

30

40

【0061】

相互作用パラメータの例には、1つ以上の炎症性バイオマーカの濃度測定値を乗じたHDL-P亜集団の濃度が含まれるが、これに限定されない。さらに、または代替的に、例示的なパラメータは、1つまたは複数の炎症性バイオマーカ（典型的には、2つ以上の炎症性バイオマーカが使用される場合に合計される）の濃度を掛けた2つ以上のHDL-Pサブクラス濃度の合計を含むことができる。または、個々のHDL-Pサブクラス濃度を用いて相互作用パラメータを生成することができる。2つ以上のHDL-Pおよび炎症相

50

相互作用パラメータが使用される場合、それぞれについて同じ炎症性バイオマーカを使用することができ、または異なる炎症バイオマーカを各相互作用パラメータに使用することができる。

【0062】

いくつかの実施形態では、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータは、同じ炎症性バイオマーカを使用する少なくとも2つの（いくつかの実施形態では、たった2つの）相互作用パラメータを含む。炎症性バイオマーカは、単一のバイオマーカであってもよいが、複数であってもよく、その場合、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータに使用するために異なるバイオマーカ濃度を合計してもよい。いくつかの実施形態において、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータは、2つのHDL - Pおよび炎症性相互作用パラメータを含み、各相互作用パラメータは、同じ炎症性バイオマーカを含み得る。

10

【0063】

一例として、 $(H \times I)_{CVD}$ は、典型的には、少なくとも1つのHDLサブクラスおよび少なくとも1つの炎症マーカ、例えば $(H1 \times GlycA)$ または $(H8 \times GlycA)$ を含む。複数のパラメータを合計してもよい（または、たとえば、モデル係数が負の場合、負の相関を示す場合は減算してもよい）。

【0064】

したがって、 $(H \times I)_{CVD}$ は、本明細書の下にC部に記載されているように、「H1」または「H8」などのHDL - Pの特定のサブクラスを含むことができる。 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータはまた、（例えば、NMRによって測定された場合に）無単位であっても、または濃度単位で提供されてもよい少なくとも1つの炎症性バイオマーカの（濃度）測定値を含んでもよい（集中係数がNMR測定に適用される場合、または異なる測定技術が使用される場合）。

20

【0065】

$(H \times I)_{CVD}$ は、典型的には、研究集団からのCVDリスクの数学的モデルからのそれぞれの定義された係数によって調整される他の離散HDL - Pサブクラス成分も含むことができる。 $(H \times I)_{CVD}$ は、例えばH1、H8、HLPおよび/またはHMSPの1つまたは複数を含むことができる。

【0066】

図2は、MESA ($n = 274 / 5534$)における事象CVD事象の「基本」ロジスティック回帰モデルにどの変数が追加されたかによって異なる、異なる予測モデルに対するモデル²値を示しており、年齢、ジェンダー/性別、SBP、高血圧薬の使用、喫煙、糖尿病、BMIおよびトリグリセリドを含む。LDL - Pおよび $(H \times I)_{CVD}$ の両方を使用する場合のモデル²の増加は、LDL - CおよびHDL - Cを使用する「標準的」または従来リスク評価より2.2ポイント高い。AUC値もこの改善を示している（AUC = 0.776対0.768）。LDL - P、HDL - Pおよび炎症性バイオマーカ（GlycA）のパラメータを別々に検討した場合よりも、 $(H \times I)_{CVD}$ による増加が良好であることがわかる（図2）。

30

【0067】

図3は、MESA参加者 ($n = 5542$)における $(H \times I)_{CVD}$ の分布を示し、約-4.85と約-0.718の間のベル形分布を示し、平均は約-3.256であり、標準偏差は約0.322である。特に、分布は正常であるか、または歪まず、マーカ分布がコレステロールまたは他のCVDバイオマーカのようにほぼ正常であることを示している。

40

【0068】

図4は、本発明のいくつかの特定の形態による5つのNMR由来HDLおよび炎症パラメータが組み合わされて $(H \times I)_{CVD}$ を生成する例を示すチャートである。これらは、HLP（直径約10.0 - 13.5 nmのHDL - P）およびHMSP（約7.4 - 9.7 nmの直径のHDL - P）、GlycA、および相互作用項HLP * GlycAおよびHMSP * GlycAを含む。組み合わせられた場合、統計的関連性は、示された

50

ようにこれらのパラメータの個別使用と比較して改善する。

【0069】

構成要素のそれぞれについての複合計算のための異なる係数（「c」）または重み付けは、ロジスティック回帰モデルによって定義することができる（しかし、上記の他の研究集団と同様に他の数学モデルも使用することができる）。方程式1～3は、数字の下付き文字で同じ係数文字を使用するものとして、以下に示す各係数を用いた例である。したがって、「c」係数は、各パラメータについて異なる値を表すことができる。以下に、2つの相互作用パラメータ（INTERAおよびINTERB）を使用する3つの例示的な式を示しており、これらはいくつかの実施形態に従って新しいリスクパラメータを計算するために使用することができる。第2の式は、INTERAがGlycA*HLPであり、INTERBがGlycA*HMSPであることを2つの相互作用パラメータとして示す。したがって、第1の方程式は、特に他の炎症バイオマーカ（式（1）および式（3）に用語「INFLAMB」として示されている）を使用して、他の相互作用パラメータを使用できることを認めるより一般的な形式で提示される。第3の式は第1の式であるが、係数のそれぞれの負または正の符号を用いて係数を記載し、モデルからの数「c」が正の数として方程式に挿入される（関連付けられた負の符号が既にこのバージョンの方程式に挿入されている）。第2の式はまた、それぞれの係数の符号（負または正）の極性も提供する。式2および式3は、本発明の実施形態による注目パラメータの負の相関および正の相関を示すために、この形式で提供される。

10

$$(H \times I)_{CVD} = c_1 HLP + (c_2 HMSP) + (c_3 INFLAMB) + (c_4 INTERA) + c_5 INTERB \quad \text{式(1)}$$

20

$$(H \times I)_{CVD} = c_1 HLP + (-c_2 HMSP) + (-c_3 GlycA) + (-c_4 HLP \times GlycA) + c_5 HMSP \times GlycA \quad \text{式(2)}$$

$$(H \times I)_{CVD} = c_1 HLP + (-c_2 HMSP) + (-c_3 INFLAMB) + (-c_4 INTERA) + c_5 INTERB \quad \text{式(3)}$$

【0070】

図5に示す例では、注目のMESA研究集団および例示的な炎症バイオマーカGlycAを用いて、係数を以下の表2に示す。しかしながら、他の炎症性バイオマーカおよび他のHDL相互作用パラメータを使用し、および/または単一のHDLおよび炎症バイオマーカ相互作用パラメータのみを使用することができ、議論された例示的な係数および式は単なる例示である。

30

【0071】

【表2】

パラメータ		係数值 "c"
HLP	c ₁	0.2328
HMSP	c ₂	-0.2024
INFLAMB	c ₃	-0.0063
INTERA	c ₄	-0.00079
INTERB	c ₅	0.000499

40

【0072】

図5は、変数のパラメータ推定値を列挙したチャートであり、5年間の追跡調査中のMESA参加者（n = 5534）におけるCVD事象（n = 274）のロジスティック回帰リスク予測モデルにおいて、図4に示される(HxI)_{CVD}を含む。(HxI)_{CVD}は、ヴァルドカイ二乗（²）統計値によって、確立されたCVDリスク因子（例えば、年齢、性別、SBP、喫煙および糖尿病）と少なくとも同程度にCVDリスクと関連することが示される。

50

【0073】

図6は、MESAにおける4つのサブグループの5年間の追跡調査中の無再発生存期間を示すグラフである。本発明の実施形態において、被験者は、MESA ($n = 274 / 5534$)における事象CVD事象のCox比例ハザード分析から、図4に示された($H \times I$)_{CVD}によって四分円(「Q」)に分類されており、年齢、性別/ジェンダー、人種、喫煙、BMI、糖尿病、SBP、高血圧薬物使用、およびLDL-Pのために調整される。最も高い四分位数(Q4)の($H \times I$)_{CVD}を有する患者は、3つのより低い四分位数の患者と比較して、かなり増加したリスクを有する。

【0074】

図7Aおよび7Bは、低および高レベルのLDL-Pに対する($H \times I$)_{CVD}の四分位(「Q」)によるMESAにおける無再発生存期間を示すグラフであり、それぞれ性別/ジェンダー、人種、喫煙、BMI、糖尿病、SBP、高血圧投薬の使用、およびトリグリセリドのために調整されたMESA ($n = 274 / 5534$)における事象CVD事象のCox比例ハザード解析から再び導出されている。本発明の実施形態によれば、低および高LDL-P値はそれぞれ中央値(1265 nmol/L)以下および以上である。低LDL-Pおよび高($H \times I$)_{CVD}(Q4)を有する患者は、低LDL-PおよびQ1-Q3($H \times I$)_{CVD}を有する患者と比較して、有意に増加したリスクを有する。高LDL-Pは、($H \times I$)_{CVD}のすべての値について増加したリスクを示すが、Q1($H \times I$)_{CVD}および高LDL-Pは相対リスクがより低い。

10

【0075】

図8は、年齢、性別/ジェンダー、人種、喫煙、BMI、糖尿病、SBP、高血圧薬物使用、およびトリグリセリドに応じて調整される、MESA ($n = 274 / 5534$)における事象CVD事象のCox比例ハザード分析から、低レベルおよび高レベルのLDL-Pに対するLDL-Pおよび($H \times I$)_{CVD}サブグループによるMESAにおける無再発生存期間のグラフである。本発明の実施形態によれば、低および高LDL-P値はそれぞれ中央値(1265 nmol/L)以下および以上である。このグラフは、低LDL-Pおよび高LDL-Pのより直接的な比較によって図7Aおよび7Bに示される情報を提示し、中間($H \times I$)_{CVD}値(Q2およびQ3)を組み合わせるので、従って、($H \times I$)_{CVD}の3つの範囲、Q1、Q4およびQ2+Q3を示す。

20

【0076】

図9は、本発明の実施形態における、1つのHDLおよび炎症相互作用パラメータ(HMSP*GlycA)および中および小型のHDL-Pサブクラス(パラメータとしての小さなサブクラスおよび中位のサブクラスの濃度)のみを使用した場合のCVD事象の予測確率を計算するために使用されるロジスティック回帰モデルパラメータおよび関連する統計学的関連値(および係数)を示すチャートである。

30

【0077】

図10は、炎症性バイオマーカのレベルの増加(図に示すように、GlycA)(SBP = 140 mmHg、BMI = 29 kg/m²、LDL-P = 1500 nmol/L、トリグリセリド = 150 mg/dLであり、高血圧治療薬を服用している60歳の非喫煙非糖尿病白人女性のロジスティック回帰からの5年間の追跡調査($n = 274 / 5534$)中のMESAにおけるCVD事象の予測確率の百分率(CVD PP%)の関数としての、小および中HDL-Pサブクラス(HMSP)の総和の低、中および高値に関連するCVDリスクを示すグラフである。この例では、低、中および高は、それぞれ23.6、27.6および32.3 μmol/L(20分の1、50分の1および80分の1)である。示されているように、HMSPの高い値は、炎症バイオマーカのより低い濃度範囲で低い値および中間値と比較してより低いCVDパーセント確率から、約425 μmol/Lで同じリスクに移行し、実際に約HMSPの低濃度および中濃度に対して425 μmol/Lであった。

40

【0078】

図11は、本発明の実施形態における、1つのHDLおよび1つの炎症マーカ(HLP

50

* G l y c A)、炎症マーカ (G l y c A)、および大きな H D L - P サブクラス (すなわち H L P) のみを含む相互作用パラメータを使用する場合の C V D 事象の予測確率を計算するために使用されるロジスティック回帰モデルパラメータおよび値を示すチャートである。

【 0 0 7 9 】

図 1 2 は、炎症性バイオマーカ (G l y c A で示される) (S B P = 1 4 0 m m H g 、 B M I = 2 9 k g / m ² 、 L D L - P = 1 5 0 0 n / m o l / L 、トリグリセリド = 1 5 0 m g / d L であり、高血圧治療薬を服用している 6 0 歳の非喫煙非糖尿病白人女性のロジスティック回帰からの 5 年間の追跡調査 (n = 2 7 4 / 5 5 3 4) 中の M E S A における C V D 事象の予測確率)のレベルの増加に対する大型 H D L - P サブクラス (「 H L P 」、図 1 に示すサブクラス 1 6 ~ 2 6 に対応する)の合計の低、中および高値を示すグラフである。この例では、低、中および高は、それぞれ、本発明の実施形態による 3 . 0 、 5 . 1 、および 8 . 5 μ m o l / L (2 0 分の 1 、 5 0 分の 1 および 8 0 分の 1) である。示されているように、高い H L P 値は、示された炎症性バイオマーカの範囲にわたって実質的に一定の割合の確率に対応し、一方、低い値および中間の値は、炎症性バイオマーカの濃度が約 3 0 0 μ m o l / L を超えて増加するにつれ、リスクの増加を示している。

10

【 0 0 8 0 】

C V D リスクを評価するための数学的モデルは、例えば、性別、年齢、収縮期血圧、喫煙および高血圧症薬の有無などの他の臨床統計的に関連するパラメータを含むことができる。場合により、人種、2 型糖尿病、B M I およびトリグリセリドまたは他のパラメータ

20

【 0 0 8 1 】

同量で H D L - C を増加させる異なる療法は、比例的に H D L サブクラスを増加させないことがあることが知られている。例えば、いくつかの薬物は、主に小さな H D L 粒子 (フィブラートクラスのものなど) の数を増やすことによって H D L - C を増加させる。他のものは主に大型の H D L - P を増加させる。H D L 粒子のサブクラス濃度は、異なる治療法によって示差的に変化し、潜在的により大きいまたはより小さい臨床的利益を示し、治療効果を評価するための上昇プロトコルを提供し得る。例えば、ラシシ N 、プレナ N D 、カステイン J J 、ニッセン S E 、ニコルズ S 、 2 0 1 1 欧州アテローム性動脈硬化症学会の発表会などを参照されたい。(H x I) _{C V D} リスクパラメータは、単独で、または

30

【 0 0 8 2 】

(H x I) _{C V D} リスクパラメータは、C V D および / または C H D を低減することを目的とする薬物の潜在的な性能についての治療、臨床試験などに関するより信頼性の高いデータを提供し得る。すなわち、薬物が H D L - C を増加させることができるかどうかを単に決定するのではなく、薬物が、特定の (H x I) _{C V D} リスクパラメータを低下させるかどうかを評価することが望ましい場合があり、潜在的に L D L - P への変化、例えば高濃度から低濃度への変化も伴う。

【 0 0 8 3 】

したがって、本明細書に示されるように、H D L - 炎症相互作用パラメータを含む (H x I) _{C V D} リスクパラメータは、実行可能な情報を提供することができる。すなわち、(H x I) _{C V D} リスクパラメータは、被験者が、計算された (H x I) _{C V D} に少なくとも部分的に基づいて、自分の食事、運動、喫煙または他の行動を変更し得るように、被験者またはその医療提供者に報告書として提供されてもよい。代替的または追加的に、医療提供者は、計算された (H x I) _{C V D} に少なくとも部分的に基づいて、被験者の治療若しくは療法、または治療若しくは療法の変更を、処方、推奨、または決定することができる。したがって、(H x I) _{C V D} リスクパラメータまたはマルチマーカは、被験体またはその医療提供者が、治療、治療、または行動変更の結果として (H x I) _{C V D} リスクパラメータまたはマルチマーカが増加または減少したかどうかを決定できるように、経

40

50

時的に監視（すなわち、1つまたは複数のその後の生体試料を採取することによって）されてもよい。

【0084】

C. より少ないHDL-Pサブクラス分析によるCVD予測の改善

より多くの数のリポタンパク質サブクラス分析は、全体的により高い測定精度の不正確さを生じる可能性があるため、代替の実施形態は、この不正確さを低減するために、より少ない数のHDLサブクラスを利用する。例えば、デコンポリューションモデルは、図1に示すように、上記のように26種類のサブクラスではなく、粒子サイズによって8つの異なるサブクラスに分けられたHDL粒子を分析するように調整してもよい。サブクラスの数が増えると、精度が向上する可能性があります。例えば、特定の実施形態では、H1は約7.0~7.6nmの直径範囲を表し、H8は約1.5~13.5nmの直径範囲を表すことができる。

10

【0085】

図13に示す実施形態では、HDL-Pの異なる亜集団は、H1-H8からの数によって同定することができ、「H1」は最小サイズのHDL亜集団（直径平均7.4nm）を表し、「H8」は最大サイズのHDL亜集団（直径平均12.0nm）である。図13は、オランダ人の健康なコホート（n=5532）におけるHDL-Pの8つの異なる亜集団の濃度の分布を示す。各サブクラスの前の小さな「c」（すなわち、cH1-cH8）は、ここに示される平均粒子濃度が、リポタンパク質分析方法間の実質的な相違を説明するために較正されるという事実を指し、これはハッチンズ（Hutchins）、クリニカルケミストリー（Clin. Chem.）、（2014）60:1393-401に記載されており、その内容は参照により本明細書に完全に記載されているように本明細書に組み込まれる。NMRベースのリポタンパク質濃度測定の開発が乳児期にあった場合、NMR由来の濃度を較正する他の測定方法は利用できなかった。その結果、過去に報告されたNMR由来のHDL-P濃度は、実際の絶対濃度より約50%高い可能性が高い。従って、本較正は、リポタンパク質測定方法論問の調和化への一歩である。

20

【0086】

8種類のHDL亜集団または成分（H1-H8）の推定直径を表3に示し、図1の26のサブクラス分析からの近似対応サブクラスを示した。各用語の前の小さな「c」（例えば、「cH1」）は、本明細書に記載されているように、関連リスクパラメータについての研究集団におけるCVD事象の数学的モデルからの係数を表す。

30

【0087】

驚くべきことに、HDL粒子を表3に示す8つのサブクラスで分析すると、最大径（H8）および最小径（H1）のサブクラスを用いてHDLおよび炎症リスクパラメータ（ $H \times I$ ） c_{VD} を生成することにより、以前は炎症状態のHDL情報を用いて区別できなかった被験者のリスク階層化を改善することができた。表に報告される平均粒子直径は近似値であり、各サブクラスの直径範囲により正確に表すことができる（例えば、H1は約7.0~7.6nmであり、H8は約11.5~13.5nmであり得る）。

【0088】

表3：NMR分析によって測定した8つのHDLサブクラスの推定直径

40

【表 3】

HDLサブクラス	推定直径 (nm)	対応サブクラス 1-26	代替サブクラス	
cH8	12.0	22-26	大	HLP
cH7	10.6	17-21		
cH6	9.7	15-16	中	HMSP
cH5	9.0	12-14		
cH4	8.4	9-11		
cH3	8.1	6-8	小	
cH2	7.8	4-5		
cH1	7.4	1-3		

10

【0089】

本発明のいくつかの特定の実施形態によれば、図14は、表3においてH8と命名された最大HDL-PサブクラスのNMR由来HDLパラメータがNMR由来炎症パラメータGlycAと組み合わせられて $(H8 \times I)_{CVD}$ マルチマーカを生成する例を示すチャートである。このデータは、9年間の追跡調査の間の、MESA参加者($n = 5660$)における偶発的CVD事象のロジスティック回帰モデルに基づいている。この式は、すべての値が確実に正であることを保証するために、 $(H8 \times I)_{CVD}$ マルチマーカに5を数値で加えることを含む。

20

【0090】

図15は、本発明のいくつかの特定の実施形態において、表3においてH1で示される最小のHDL-PサブクラスのNMR由来HDLパラメータが、NMR由来のGlycA炎症パラメータと組み合わせられて $(H1 \times I)_{CVD}$ マルチマーカを生成する例を示すチャートである。このデータは、MESA参加者の事故CVDイベントのロジスティック回帰モデルに基づいている。

30

【0091】

図16は、本発明のいくつかの特定の実施形態において、3つのNMR由来のHDLおよび炎症パラメータを組み合わせ、複合 $(H \times I)_{CVD}$ マルチマーカを生成する例を示すチャートである。これらは、チャートの下の方程式に示すように、 $(H1 * GlycA)$ および $(H8 * GlycA)$ マルチマーカならびにH2-7を組み合わせるものを含む。これらを組み合わせると、統計的関連性はこれらのパラメータを個別に使用する場合よりも向上する。

【0092】

図17は、MESA参加者($n = 5682$)における計算されたマルチマーカパラメータの分布を示し、それぞれにほぼベル形の分布を示している。パネルAは $(H8 \times I)_{CVD}$ を示し、パネルBは $(H1 \times I)_{CVD}$ を示し、パネルCは $(H \times I)_{CVD}$ を示し、ここで $(H \times I)$ は図16に示すように計算される。特に、分布は著しく歪曲されず、通常、コレステロールおよび他のCVDバイオマーカのように分布している。

40

【0093】

図18は、MESA($n = 458 / 5660$)における事象CVD事象の「基本」ロジスティック回帰モデルにどの変数を加えるかによって異なる11の異なる予測モデルのそれぞれのモデル²値を示しており、年齢、性別、人種、高血圧、喫煙、糖尿病、BMIおよびVLDL-Pが含まれる。LDL-Pおよび $(H \times I)_{CVD}$ (例えば、モデル11)またはLDL-P、 $(H8 \times I)_{CVD}$ 、 $(H1 \times I)_{CVD}$ およびH2-7(例えばモデル10の場合)を使用する場合のモデル²の増加は、「標準」又は従来のリスク評価より約36ポイント高い。これは、モデル10および11の改善された予測(すなわ

50

ち、改善されたリスク評価)に対応する。

【0094】

図10および12によって示唆されるように、HDL-Pの任意の特定のサブクラスの高レベルを有する効果は、少なくとも部分的に、共存する炎症状態に依存し得る。すなわち、炎症はHDL機能を調節し得る。

【0095】

図19は、BMI = 29 kg/m²、LDL-P = 1500 nmol/L、VLDL-P = 130 mg/dL、60歳の新喫煙非糖尿病高血圧白人女性の、ロジスティック回帰から9年間の追跡調査(n = 458 / 5660)の間のMESAにおけるCVD事象の予測確率に基づく、炎症性バイオマーカー(図に示すように、GlycA)のレベルの増加に対する小径HDL-Pサブクラス(「H1」)の低、中位、および高値の意義を示す。本発明の実施形態によれば、低、中位および高H1値は、それぞれ、4.1、5.7、および7.2 μmol/L(20分の1、50分の1および80分の1)である。示されるように、H1の高い値は、炎症性バイオマーカーのより低い濃度範囲での低い値および中央値と比較して、より低いCVDパーセント確率から約350 μmol/L GlycAの同じリスクへ移行する。高レベルのH1は、低および中濃度のH1と比較して、約350 μmol/Lを超えるGlycAのCVDリスクの増加と関連している。言い換えれば、高いH1値は、炎症が低い(< ~ 350 μmol/L)場合には「良好」(保護)であり、全身性炎症レベルが高い場合(> 350 μmol/L)には「悪い」(アテローム形成性)になる。

10

20

【0096】

図20は、BMI = 29 kg/m²、LDL-P = 1500 nmol/L、VLDL-P = 130 mg/dL、60歳の新喫煙非糖尿病高血圧白人女性の、ロジスティック回帰から9年間の追跡調査(n = 458 / 5660)の間のMESAにおけるCVD事象の予測確率に基づく、炎症性バイオマーカー(図に示すように、GlycA)のレベルの増加に対する小径HDL-Pサブクラス(「H8」)の低、中位、および高値の意義を示す。本発明の実施形態によれば、低、中位および高H1値は、それぞれ0.10、0.27および0.59 μmol/L(20分の1、50分の1および80分の1)である。示されているように、H8の低い値は、炎症バイオマーカーのより低い濃度範囲で中央値および高いH8値に対してわずかに低いCVDパーセント確率から、約300 μmol/L GlycAまたはそれ以上の同じリスクへ移行する。従って、低レベルのH8は、中央値および高濃度のH8と比較して、約300 μmol/Lを超えるGlycAのCVDリスクの増加と関連する。

30

【0097】

D. ジェンダー特有のマルチマーカーによるCVD予測の改善

女性は一般に男性よりCVDリスクが低い。この現象は、HDLコレステロールの違いによっては十分に説明されていない。非常に驚くべきことに、大小のHDLサブクラスであるH1およびH8とのGlycA相互作用を性別で分析したところ、CVDリスクとの関係は性別が非常に高いようである。すなわち、H1およびGlycAによって評価される炎症とのその相互作用は、男性におけるCVD事象の予測因子であり、H8およびそのGlycA相互作用は、女性のCVD事象に特異的である。したがって、H1(男性の場合)およびH8(女性の場合)に少なくとも部分的に基づくジェンダー特異的マルチマーカーの開発が適切かもしれない。CVDリスクの性差を考慮したテストまたはテストシステムが特に望ましい。

40

【0098】

図21は、本発明のいくつかの特定の実施の形態に係る、女性MESA参加者(n = 2901)における偶発的CVD事象(n = 171)について(Hx1)^wを生成するためのH8、GlycA、H8 * GlycA相互作用パラメータの組み合わせを図示するチャートである。これらを組み合わせると、統計的関連性はこれらのパラメータを個別に使用する場合よりも向上する。GlycA * H8相互作用パラメータは、ヴァルドカイ二乗(

50

²) 統計量によって示され、例えば、糖尿病、BMI、LDL-P、VLDL-P、およびHDL-Pなどのいくつかの他のCVDリスク因子と少なくとも同じくらい強く、女性のCVDリスクと関連することを示す。

【0099】

図22は、本発明のいくつかの特定の実施の形態に係る、男性MESA参加者(n=2759)における偶発的CVD事象(n=287)について $(H \times I)^M$ を生成するためのH8、GlycA、H8 * GlycA相互作用パラメータの組み合わせを図示するチャートである。GlycA * H1相互作用パラメータは、ヴァルドカイ二乗(²)統計量によって示され、例えば、糖尿病、BMI、LDL-P、VLDL-P、およびHDL-Pなどのいくつかの他のCVDリスク因子と少なくとも同じくらい強く、男性のCVDリスクと関連することを示す。

10

【0100】

図23は、MESA参加者(男性、n=2770、および女性、n=2913)における性別特異的マルチマーカの分布を示し、それぞれのベル型分布を示している。パネルAは $(H \times I)^M$ の分布を示し、パネルBは $(H \times I)^W$ の分布を示す。男性のマルチマーカは、平均約1.7408および標準偏差約0.2659の約0.7564~約3.5430の範囲のベル形分布を示す。女性のマルチマーカは、約3.9493~約12.3421の範囲のベル型分布を示し、平均は約6.0693であり、標準偏差は約0.3131である。特に、コレステロールまたは他のCVDバイオマーカのように、分布は正常またはほぼ正常である。

20

【0101】

図24は、BMI = 29 kg/m²、LDL-P = 1500 n/mol/L、VLDL-P = 130 mg/dL、60歳の非喫煙非糖尿病高血圧白人男性の、9年間の追跡調査(n=458/5660)の間のMESA男性におけるCVD事象の予測確率に基づく、炎症性バイオマーカGlycAのレベルの増加に対するH1の低、中位、および高値の意義を示す。確率は、H1 * GlycA相互作用項を含む男性特異的マルチマーカ $(H \times I)^M$ のMESA男性におけるCVD事象のロジスティック回帰モデルからの係数に基づく。本発明の実施形態によれば、低、中位および高H1値は、それぞれ4.7、6.1および7.5 μmol/L(20分の1、50分の1および80分の1)である。示されているように、H1の高い値は、炎症性バイオマーカのより低い濃度範囲での低いおよび中央値のH1値と比較してより低いCVDパーセント確率から、約350 μmol/Lで同じリスクへの遷移になる。高レベルのH1は、低および中濃度のH1と比較して、約350 μmol/Lを超えるGlycAのCVDリスクの劇的な増加と関連する。従って、H1値(レベル)の意味は、炎症状態に依存する。高レベルのH1を有する炎症の増加は、よりアテローム発生性である。

30

【0102】

図25は、BMI = 29 kg/m²、LDL-P = 1500 n/mol/L、VLDL-P = 130 mg/dL、60歳の非喫煙非糖尿病高血圧白人女性の、9年間の追跡調査(n=171/2901)の間のMESA女性におけるCVD事象の予測確率に基づく、炎症性バイオマーカGlycAのレベルの増加に対するH8の低、中位、および高値の意義を示す。確率は、H8 * GlycA相互作用の項を含む女性特異的マルチマーカ $(H \times I)^W$ のMESA女性におけるCVD事象のロジスティック回帰モデルからの係数に基づく。本発明の実施形態によれば、低、中位および高H8値は、それぞれ0.12、0.32および0.77 μmol/L(20分の1、50分の1および80分の1)である。示されているように、H8の低い値は、炎症バイオマーカの低い濃度範囲では中央値および高いH8値と比較して低いCVDパーセント確率で移行し、約300 μmol/L以上では同じリスクへの移行になる。H8の低レベルは、H8の中央値および高濃度と比較して、約300 μmol/Lを超えるGlycAの顕著に増加したCVDリスクと関連する。従って、H8値(レベル)の重要性も炎症状態に依存する。低レベルのH8を有する炎症の増加は、よりアテローム発生性である。グラフの曲線によって示されるように、H8が

40

50

低い人のリスクは、H 8が高いことと比較して、G l y c Aレベルに対して過敏である（すなわち、G l y c Aの関数としてのリスクカーブの傾きは、低H 8に対してはるかに大きい）。

【0103】

図26は、M E S A女性（ $n = 169 / 2868$ ）における事象C V D事象の「基本」ロジスティック回帰モデルにどの変数を加えるかによって異なる8つの異なる予測モデルのモデル²値を示しており、年齢、性別、レース、高血圧、喫煙、糖尿病、B M IおよびV L D L - Pが含まれる。モデル7で $(H \times I)^W$ を使用した場合のモデル²の増加は、L D L - CおよびH D L - C（モデル2）を用いた「標準的」または従来リスク評価より約13ポイント高い。これは、例えば、モデル7における女性の改善された予測（すなわち、改善されたリスク評価）に対応する。

10

【0104】

図27は、M E S A男性（ $n = 282 / 2722$ ）における事象C V D事象の「基本」ロジスティック回帰モデルにどの変数を追加したかによって異なる8つの異なる予測モデルのモデル²値を示しており、年齢、性別、レース、高血圧、喫煙、糖尿病、B M IおよびV L D L - Pが含まれる。モデル7で $(H \times I)^M$ を使用した場合のモデル²の増加は、L D L - CおよびH D L - C（モデル2）を使用する「標準」または従来リスク評価より約16ポイント高い。これは、例えば、モデル7の男性の改善された予測（すなわち、改善されたリスク評価）に対応する。

20

【0105】

図28は、伝統的なリスク要因と比較した、女性および男性におけるC V Dリスク予測に対するマルチマーカ $(H \times I)^W$ および $(H \times I)^M$ の寄与を示す。データは、それぞれ、M E S A女性（169事象 / 2868被験者）および男性（282事象 / 2722被験者）における偶発的C V D事象の比例ハザード回帰モデルから計算される。²値が高いほど、C V Dリスク予測に対する所与のパラメータの寄与が大きいことを示す。女性の場合、ジェンダー特有のマルチマーカは、予測パラメータとして年齢に次ぐ第2位である。男性の場合、年齢および高血圧のみがより予測的である。両方の性別について、それぞれの性別特異的マルチマーカは、喫煙、糖尿病、またはB M Iよりも強力な寄与因子である。

30

【0106】

したがって、H 1は、26のH D Lサブクラスを有するデコンポリューションモデルにおいて観察されるH M S P \times G l y c A相互作用の原因である可能性があり、H 8は、観察されるH L P \times G l y c A相互作用の原因である可能性が高い。「ジェンダーレス」 $(H \times I)_{C V D}$ マルチマーカは、その1つは男性（H 8）のリスクとは無関係で、もう1つは女性（H 1）とは無関係である2成分マルチマーカ（H 1及びH 8）を含めることによって弱くなった。性別に特異的なリスク予測パラメータを適用することにより、 $(H \times I)^W$ および $(H \times I)^M$ などの性別特異的マルチマーカを使用して、女性および男性のより良いリスク予測を達成することができる。

【0107】

E . システム

本発明の実施形態は、少なくとも1つのH D Lおよび炎症バイオマーカ相互作用パラメータを含む定義された多成分リスク予測モデルを使用して、インビトロ血漿または血清患者サンプルから収集された定義されたパラメータの測定値を使用して、ヒトのC V Dリスクを評価する方法、回路、N M R分光計またはN M R分析器、非一時的コンピュータ可読媒体、オンライン半自動リスク計算器、およびプロセッサである。

40

【0108】

図29Aおよび図29Bは、本発明の実施形態が、インターネットを介してアクセス可能であり、コンピュータ、スマートフォン、電子手帳のディスプレイ100d上に提示されるオンラインリスク計算機100（臨床家またはインターネット上の患者 / 人々にアクセス可能）を提供することを図示している。リスク計算機100は、測定値によって自動

50

的に入力されるフィールドを含み、及び/または (H x I) _{CVD}、収縮期血圧 (“BP”)、性別および年齢などの関連するパラメータをユーザが入力することを可能にするフィールドを有し、フレーミングハムと米国心臓病学会が現在提供しているリスク計算機に似ている。リスク計算機 100 は、CVD リスク出力 100R を提供することができる。
【0109】

ここで図30を参照すると、CVD リスク分析は、例えば、HDL - P および/または LDL - P の (サブクラス) の測定のための少なくとも1つの炎症バイオマーカーおよび/またはリポタンパク質の臨床測定値を生成するためにバイオサンプルを評価する臨床検査室 120 と通信するシステム 10 を使用して実行され得ることが企図される。システム 10 は、(H x I) _{CVD} リスクパラメータを計算する CVD 分析回路 20 を含むことができる。分析モジュールまたは回路 20 は、1つまたは複数のサーバ 150 に全体的または部分的に存在することができる。モジュールまたは回路 20 は、それぞれのラボ 120 でプロセッサ 120p 上に搭載することができ、または、ラボでプロセッサから離れて、サーバ 150 を介してアクセスすることができる。プロセッサ 120p は、典型的に HIPAA 要件に準拠するサーバまたは他の電子通信デバイス上に保持することができる。プロセッサ 120p は、実験室 (例えば、LIS システム) において、電子カルテシステムまたは任意の電子通信プロトコルの一部を形成することができる。

【0110】

いくつかの実施形態では、ラボラトリー 120 は、(H x I) _{CVD} リスクパラメータの測定値のすべてまたは一部を生成するように構成された NMR アナライザ 22 を含む。分析モジュールまたは回路 20 は、全体的に若しくは部分的に NMR 分析器 22 上に、部分的に若しくは全体的にプロセッサ 120p 若しくは分析器 22 に、全体的に若しくは部分的にサーバ 150 に、又は分析器 22 に配置され、又は、分析器 22、様々なプロセッサおよび/またはサーバの間で分散されてもよい。NMR 分析器 22 は、実験室 120 に対して局所的または遠隔的であり得るプロセッサ 120p と通信することができる。プロセッサ 120p は、バイオサンプル分析から得られた NMR 信号またはスペクトルのデコンポリューションを行うことができる。回路 20 は、CVD リスクおよび/または (H x I) _{CVD} リスクパラメータを計算するために使用される入力の測定のための様々なソースからの入力を収集することができる。例えば、炎症マーカー測定値は、研究所内の1つの実験室または機械によって提供されてもよく、また、リポタンパク測定値は、別の実験室または同じ実験室の装置によって提供されてもよく、また、測定値は、(H x I) _{CVD} リスクパラメータの計算のために回路 20 に送信することができる。回路 20 は、患者レポート 190 を生成するように構成することもできる (図34, 35)。図35は、より良い治療決定を可能にし得る患者レポート (図35) の経時的な (H x I) _{CVD} リスクパラメータのグラフ 190g をレポート 190 が含むことができることを示す。

【0111】

サーバ 150 は、コンピュータネットワークを介してオンデマンドで計算資源を提供することを含むクラウドコンピューティングを使用して提供することができる。伝統的なコンピューティングモデルでは、データとソフトウェアの両方が通常、ユーザのコンピュータに完全に含まれており、クラウドコンピューティングでは、ユーザのコンピュータは、わずかなソフトウェアまたはデータ (おそらくオペレーティングシステムおよび/またはウェブブラウザ) を含んでいてもよく、外部コンピュータのネットワーク上で発生するプロセスの表示端末としての役割を果たすこともできる。クラウドコンピューティングサービス (または複数のクラウドリソースの集約) は、一般に「クラウド」と呼ばれることがある。クラウドストレージには、1つ以上の専用サーバでホストされるのではなく、複数の仮想サーバにデータが格納される、ネットワーク化されたコンピュータデータストレージのモデルが含まれる。データ転送は、暗号化することができ、また、HIPAA などの業界標準または規制基準に準拠するために適切なファイアウォールを使用してインターネット経由で行うことができる。「HIPAA」という用語は、健康保険の携帯性および説明責任法によって定義された米国の法律を指す。患者データは、受託番号または識別子、

10

20

30

40

50

性別、年齢および試験データを含むことができる。

【0112】

分析の結果は、インターネットなどのコンピュータネットワーク、電子メール、その他を介して、臨床医のサイト50、健康保険代理店52または薬局51または他のユーザ53に送信することができる。結果は分析サイトから直接送信することも、間接的に送信することもできる。結果を印刷して従来の郵便で送ることができます。この情報は、薬局および/または医療保険会社、あるいは有害事象のリスクが増大する可能性のある処方薬または薬物使用を監視する患者にも送信することができる。結果は、「家庭」コンピュータ、またはスマートフォンまたはノートパッドなどの広範囲のコンピューティングデバイスに、電子メールを介して患者に送信することができる。結果は、レポート全体の電子メール添付ファイルやテキストメッセージアラートなどの結果になる。ユーザは、オンラインリスク計算機にアクセスすることによって、インターネットポータルを使用して情報にアクセスできる。

10

【0113】

ここで図31を参照すると、バイオサンプルの線形を取得して計算するためのNMR分析器22Aを備えたシステム207が示されている。例示的なNMR分析器22Aの更なる詳細は、米国特許第8,013,602号に記載されており、その内容は、本明細書に完全に記載されているように、参照により本明細書に組み込まれる。

【0114】

システム207は、サンプルのNMR測定を行うNMR分光計22と、典型的にはフローNMRを可能にするインタラクティブなサンプルハンドラであるサンプルハンドラ20Hとを含むが、容器も分光計のボア内にサンプルを保持するために使用することができる。一実施形態において、分光計22は、NMR測定がプロトン信号について400MHzで行われるように構成されており、他の実施形態では、測定は、360MHzまたは他の適切な周波数で実行されてもよい。所望の動作磁界強度に対応する他の周波数、典型的には約200MHz~900MHzの間で使用することもできる。典型的には、サンプル温度を 47 ± 0.5 に維持するための温度コントローラと同様に、プロトンフロープローブが設置される。分光計22は、デジタルコンピュータ214または他の信号処理ユニットによって制御される。コンピュータ211は、高速フーリエ変換を行うことができるべきである。また、別のプロセッサまたはコンピュータ213へのデータリンク212と、ハードメモリ記憶装置215に接続することができる直接メモリアクセスチャネル214とを含むこともできる。プロセッサまたはコンピュータ213はNMRスペクトルをデコンボリューションすることができる。

20

30

【0115】

デジタルコンピュータ211はまた、パルス制御およびインタフェース回路216を介して分光計の動作要素に接続する1組のアナログ/デジタル変換器、デジタル/アナログ変換器および低速デバイスI/Oポートを含むことができる。これらの要素は、デジタルコンピュータ211によって指示された持続時間、周波数および大きさのRF励起パルスを生成するRF送信器217と、パルスを増幅し、サンプルセル220を取り囲むRF送信コイル219に結合するRF電力増幅器218とを含む。超伝導磁石221によって生成された9.4テスラ分極磁場の存在下で励起されたサンプルによって生成されたNMR信号は、コイル222によって受信され、RF受信器223に印加される。増幅されフィルタリングされたNMR信号は224で復調され、得られた直交信号はインタフェース回路216に印加され、デジタル回路211を介してデジタル化され入力される。リポタンパク質測定値、炎症性バイオマーカー測定値および $(H \times I)_{c \ v \ d}$ 分析回路20またはモジュール350(図32)は、デジタルコンピュータ211に関連する1つまたは複数のプロセッサ、および/またはインターネット227などの世界的なネットワークを介してアクセス可能なオンサイトまたはリモートのいずれかである2次コンピュータ213または他のコンピュータの中に設置される。

40

【0116】

50

測定セル 220 内のサンプルから NMR データが取得された後、コンピュータ 211 による処理は、所望に応じて記憶装置 215 に記憶されることが出来る別のファイルを生
成する。この第 2 のファイルは、化学シフトスペクトルのデジタル表現であり、その後、
その記憶装置 225 または 1 つまたは複数のサーバに関連するデータベースに格納するた
めにコンピュータ 213 に読み出される。パーソナル、ラップトップ、デスクトップ、ワー
クステーション、電子ノートパッド、スマートフォンまたは他のコンピュータであって
もよいコンピュータ 213 は、そのメモリに記憶されたプログラムの指示の下で、本発明
の教示に従って化学シフトスペクトルを処理し、プリンタ 226 に出力されるか、電子的
に格納され、所望の電子メールアドレスまたは URL に中継されるレポートを生成する
ことができる。当業者であれば、コンピュータ表示画面、ノートパッド、スマートフォン
などの他の出力装置を結果の表示に使用することもできることを認識するであろう。

10

【0117】

コンピュータ 213 およびその別個の記憶装置 225 によって実行される機能もまた、
分光計のデジタルコンピュータ 211 によって実行される機能に組み込むことができ
ることは、当業者には明らかである。そのような場合、プリンタ 226 は、デジタルコン
ピュータ 211 に直接接続されてもよい。当業者によく知られているように、他のインタ
フェースおよび出力装置を使用することもできる。

【0118】

本発明の特定の実施形態は、インビトロバイオサンプルの CVD のスクリーニングおよ
び/またはリスク評価において特に有用であり得る (HxI)_{CVD} リスクパラメータ番
号を生成または使用方法、システムおよび/またはコンピュータプログラム製品を提
供することに関する。

20

【0119】

当業者によって理解されるように、本発明は、装置、方法、データまたは信号処理シ
ステム、またはコンピュータプログラム製品として具体化されてもよい。したがって、本
発明は、完全にソフトウェアの実施形態、またはソフトウェアとハードウェアの態様を組
み合わせた実施形態の形態を取ることができる。さらに、本発明の特定の実施形態は、
媒体に組み込まれたコンピュータ使用可能プログラムコード手段を有するコンピュータ使
用可能記憶媒体上のコンピュータプログラム製品の形態を取ることができる。ハード
ディスク、CD-ROM、光記憶装置、または磁気記憶装置を含む、任意の適切なコン
ピュータ可読媒体を利用することができる。

30

【0120】

コンピュータ使用可能またはコンピュータ可読媒体は、電子、磁気、光学、電磁気、赤
外線、または半導体システム、装置、デバイス、または伝搬媒体であってもよいが、こ
れらに限定されない。コンピュータ可読媒体のより具体的な例 (非限定的なリスト) には、
1 つ以上のワイヤを有する電氣的接続、ポータブルコンピュータディスクレット、ラン
ダムアクセスメモリ (RAM)、読み出し専用メモリ)、消去可能プログラマブル読み出し
専用メモリ (EPROM またはフラッシュメモリ)、光ファイバ、および携帯型コンパクト
ディスク読み出し専用メモリ (CD-ROM) を含む。コンピュータ使用可能またはコン
ピュータ可読媒体は、紙または他の適切な媒体であってもよく、プログラムが電子的に
キャプチャされ、例えば紙または他の媒体の光学走査を介してプログラムが印刷され、
次いで必要に応じてコンパイルされ、解釈され、あるいは適切な方法で処理され、次
いでコンピュータメモリに記憶されてもよい。

40

【0121】

本発明の動作を実行するためのコンピュータプログラムコードは、Java (登録商標)
7、Smalltalk、Python、Labview、C++、または Visual Basic などのオブジェクト指向
プログラミング言語で記述することができる。しかし、本発明の動作を実行するた
めのコンピュータプログラムコードは、「C」プログラミング言語またはアセンブリ言語
などの従来の手続き型プログラミング言語でも書き込むことができる。プログラム
コードは、部分的にはユーザのコンピュータ上、一部はユーザの

50

コンピュータ上、スタンドアロンのソフトウェアパッケージとして、一部はユーザコンピュータ上、一部はリモートコンピュータ上、または完全にリモートコンピュータ上で実行されてもよい。後者のシナリオでは、リモートコンピュータは、ローカルエリアネットワーク(LAN)またはワイドエリアネットワーク(WAN)を介してユーザのコンピュータに接続されてもよく、または外部コンピュータ(例えば、インターネットを介してインターネットサービスプロバイダ)。

【0122】

本明細書の特定の図のフローチャートおよびブロック図は、本発明による解析モデルおよび評価システムおよび/またはプログラムの可能な実施形態のアーキテクチャ、機能性、および動作を示す。これに関して、フローチャートまたはブロック図の各ブロックは、指定された論理機能を実施するための1つまたは複数の実行可能命令を含む、モジュール、セグメント、操作、またはコードの一部を表す。また、いくつかの代替の実施形態では、ブロックに記載されている機能は、図に示された順序から外れることがあることにも留意すべきである。例えば、連続して示された2つのブロックは、実際には実質的に同時に実行されてもよく、またはブロックは時には、関連する機能に応じて逆の順序で実行されてもよい。

10

【0123】

図32は、本発明の実施形態によるシステム、方法、およびコンピュータプログラム製品を示すデータ処理システムの例示的な実施形態のブロック図である。プロセッサ310は、アドレス/データバス348を介してメモリ314と通信する。プロセッサ310は、市販されているかカスタムのマイクロプロセッサであってもよい。メモリ314は、データ処理システム305の機能を実装するために使用されるソフトウェアおよびデータを含むメモリデバイスの全体的な階層を表す。メモリ314は、以下のタイプのデバイスを含むことができるが、これに限定されない: キャッシュ、ROM、PROM、EPROM、EEPROM、フラッシュメモリ、SRAM、およびDRAM。

20

【0124】

図32に示すように、メモリ314は、データ処理システム305、オペレーティングシステム352、アプリケーションプログラム354、入出力(I/O)デバイスドライバ358と、 $(HXI)_{cvD}$ リスクパラメータ計算モジュール350、およびデータ356で使用されるソフトウェアおよびデータのいくつかのカテゴリを含むことができる。モジュール350は、定義されたHDL亜集団の濃度を合計し、1つ以上のHDL-パラメータに対する炎症性バイオマーカー濃度を数学的に倍数化し、統計係数を適用し、複合 $(HXI)_{cvD}$ リスクパラメータを計算することができる。

30

【0125】

データ356は、データまたは信号取得システム320から得られる信号(構成スペクトルおよび/または複合スペクトル線形)データ362を含むことができる。当業者には理解されるように、オペレーティングシステム352は、ニューヨーク州アーモニックのInternational Business Machines CorporationのOS/2、AIXまたはOS/390、ワシントン州レッドモントのMicrosoft CorporationのWindows CE、Windows NT、Windows 95、Windows 98、Windows 2000またはWindows XP、Palm, Inc.のPalmOS、Apple ComputerのMac OS、UNIX(登録商標)、FreeBSD、Linux(登録商標)、独自のオペレーティングシステム、または組み込みデータ処理システムなどの専用オペレーティングシステムなどがある。

40

【0126】

I/Oデバイスドライバ358は、通常、アプリケーションプログラム354によってオペレーティングシステム352を介してアクセスされ、I/Oデータポート、データストレージ356、および特定のメモリ314のコンポーネントおよび/またはイメージ取得システム320などのデバイスと通信するソフトウェアルーチンを含む。アプリケーシ

50

ョンプログラム354は、データ処理システム305の様々な機能を実装するプログラムの例示であり、本発明の実施形態による動作をサポートする少なくとも1つのアプリケーションを含むことができる。最後に、データ356は、アプリケーションプログラム354、オペレーティングシステム352、I/Oデバイスドライバ358、およびメモリ314に存在し得る他のソフトウェアプログラムによって使用される静的および動的データを表す。

【0127】

本発明は、例えば、図32のアプリケーションプログラムであるモジュール350を参照して説明されているが、当業者には理解されるように、本発明の教示から依然として恩恵を受けながら、他の構成を利用することもできる。例えば、モジュール350は、オペレーティングシステム352、I/Oデバイスドライバ358、またはデータ処理システム305の他のそのような論理分割に組み込むこともできる。したがって、本発明は、図32の構成に限定されるものと解釈すべきではなく、本明細書に記載された動作を実行することができる任意の構成を包含するものとする。

【0128】

特定の実施形態では、モジュール350は、LDL-Pの測定値および $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを提供するためのコンピュータプログラムコードを含み、これは、経時的に測定された一連の測定値であって、治療介入が望ましいかどうかを示すために、および/または治療の有効性を追跡するために使用される測定値を含む。 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータは、保護HDL-Pの増加および炎症の低下などの少なくとも2つの異なる治療決定に使用して、CVDリスクを低減することができると考えられる。

【0129】

図33は、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータ番号を決定するための本発明の実施形態を実施するために使用され得る例示的な動作のフローチャートである。HDL-Pの26個の亜集団を用いた分析例では、中および小型のHDL-Pサブクラス濃度測定値を得て、合計し、および/または大きなHDL-Pサブクラス濃度を得ることができる。少なくとも1つの炎症バイオマーカー(INFLAMB)の濃度を得ることができる。少なくとも1つのHDLおよび炎症性相互作用パラメータを計算することができる(INTERAまたはINTERB)。 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータは、少なくとも1つのHDLおよび炎症性相互作用パラメータ(ブロック500)を使用して生成することができる。いくつかの実施形態では、HDL-P濃度測定のために、血漿または血清試料中のHDL-Pサブクラスの少なくとも20の亜集団の測定値を得ることができる(ブロック505)。いくつかの実施形態では、HDL-Pサブクラスの亜集団濃度H1~H26が得られ、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータ計算は、得られたHDL-Pおよび炎症性バイオマーカー濃度測定値を使用して、 $cHMS P * G l y c A + H L P * G l y c A$ を任意に含むことができる2つの相互作用パラメータを使用して実行される(ブロック508)。図33は、26個のサブ集団を有する例を示しているが、システムは、HDL-Pまたは他のサブ分類の8つのサブ集団に容易に適合させることができる。関連する亜集団濃度を合計して、関心のあるサブグループについて合計濃度を生成することができる(ブロック510)。

【0130】

図34は、LDL-P、VLDLおよび $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータなどの様々なリポタンパク質パラメータを含むことができる例示的な患者試験報告190の概略図である。保護HDL-P番号には、母集団基準、典型的な範囲、および/またはリスクの程度に相関するリスク評価データを提示することができる。

【0131】

図35は、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータのグラフ190gが、いくつかの実施形態による年齢、医学的介入または療法に起因する経時的な患者代謝HDL機能の変化を示すために提供され得ることを示す。このパラメータを追跡することは、患者のためのCHDの治療の有効性および/またはより良いリスク予測子のより良い臨床指標を提供するこ

10

20

30

40

50

とができる。

【0132】

図35に示すように、患者を経時的にモニタするために $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを使用し、薬物または他の療法の既知の開始または使用を相関させて、HDL機能が変化しているかどうか、および/またはそのような療法を用いてCVDリスクが増減しているかどうかを評価した。

【0133】

将来の薬物または既知の薬物の使用は、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを用いて定義された患者において定義、スクリーニングまたは試験することができる。

【0134】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、心臓血管疾患または事象のリスクパラメータを決定するためのシステムは、被験体からのバイオサンプル中のHDL粒子および少なくとも1つの炎症性バイオマーカの測定値を取得するための測定値取得手段、前記測定値に基づいて、少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を決定するための濃度決定手段、及び少なくとも1つのHDL粒子のサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を少なくとも1つ用いて、対象のリスクパラメータ $(H \times I)_{CVD}$ をプログラムの的に計算するための計算手段を含む。

【0135】

いくつかの実施形態では、測定を得るための構成要素は、NMR分析器を含む。いくつかの実施形態では、システムは、少なくとも8つのHDL-Pサブクラスを有する定義されたデコンボリューションモデルを使用して、被験体の血漿サンプルのフィッティング領域の複合NMRスペクトルをデコンボリューションする構成要素をさらに含む。いくつかの実施形態では、濃度決定手段および/または計算手段は、少なくとも1つのプロセッサを含む。

【0136】

いくつかの実施形態において、決定手段が、HDL-Pサブクラス $c_{H1} \sim c_{H8}$ の濃度を決定するように構成されている。決定手段は、 $(i)_{7.0 \sim 7.6 \text{ nm}}$ の範囲の直径を有する c_{H1} ；または $(ii)_{11.5 \sim 13.5 \text{ nm}}$ の範囲の直径を有する c_{H8} 、の少なくとも1つの濃度を決定するように構成されている。

【0137】

いくつかの実施形態において、システムは、(a)HDL-P値を上昇または低下させるか、または(b)炎症を低下させるか、または(a)および(b)の両方を行う治療標的として、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを計算し、および/または $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータをモニタするように構成される。いくつかの実施形態では、システムは、高密度リポタンパク質粒子(HDL-P)の所定の亜集団の濃度を掛けたGlycAの測定値を計算するように構成されている。

【0138】

いくつかの実施形態において、システムは、測定値取得手段及び濃度決定手段は、インビトロ血漿または血清サンプルの少なくとも1つのNMRスペクトルを取得するためのNMR分光計、及び前記NMR分光器と通信するプロセッサを備えて構成され、前記プロセッサが、(i)血漿または血清試料中の高密度リポタンパク質粒子(HDL-P)サブクラスの少なくとも8つの亜集団の濃度測定値を取得し、(ii)取得されたHDL-P濃度測定値の定義されたサブセット、および少なくとも1つの定義されたHDL-Pサブクラスの濃度と少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度との産物を含む少なくとも1つの相互作用パラメータを用いて $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを

【0139】

いくつかの実施形態では、炎症性バイオマーカがGlycAを含み、前記少なくとも1つの相互作用パラメータが、GlycA濃度に少なくとも1つのHDL-Pサブクラス濃度を乗じたものによって定義される1つの相互作用パラメータを含み、前記少なくとも1

10

20

30

40

50

つのHDL-Pサブクラスは、関連リスクパラメータについての研究集団におけるCVD事象の性別特異性を実証する。

【0140】

本発明の実施形態は、1つまたは複数の相互作用パラメータを使用して心血管疾患を有するかまたは発症する患者のリスクを評価するために使用することができる。本発明の実施形態は、治療標的としての全体的なリスクとは無関係にモニタリングされ得る新しいバイオマーカ、 $(H \times I)_{CVD}$ リスクパラメータを提供する。いくつかの実施形態では、リスクは、複数の定義されたリスクモデルパラメータを使用して、2~10年の時間枠および/または5~10年の時間枠である。しかしながら、リスクモデルは、他の時間枠に基づくことができる。

10

【0141】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、被験体からのバイオサンプルにおけるHDL粒子および少なくとも1つの炎症性バイオマーカの測定値を取得する取得ステップと、前記測定値に基づいて、少なくとも1つの個々のHDL粒子サイズサブクラスおよび前記少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を決定する決定ステップと、HDL粒子の少なくとも1つのサブクラスおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカの濃度を少なくとも用いて、被験体のリスクパラメータ $(H \times I)_{CVD}$ をプログラムの的に計算する計算ステップと、を含む。

【0142】

他の実施形態では、本発明は、少なくとも1つのHDLおよび少なくとも1つの炎症性バイオマーカ相互作用パラメータを含む規定された多成分リスク進行モデルを使用する、インビトロ血漿または血清患者サンプルからの規定されたパラメータの測定値を使用して、ヒトのCVDリスクを評価する方法、回路、NMR分光計またはNMR分析器、オンラインの半自動リスク計算機およびプロセッサを含む。

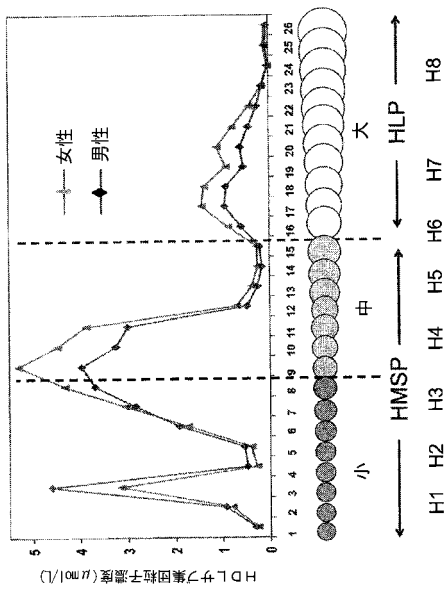
20

【0143】

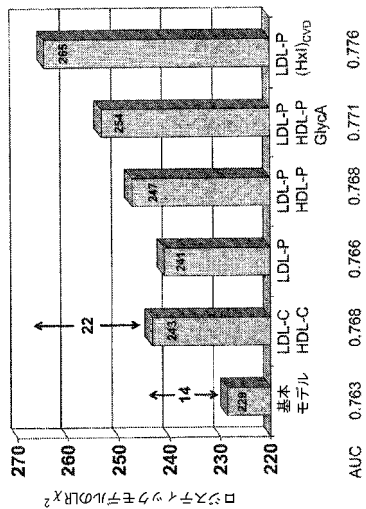
上記は本発明の例示であり、本発明を限定するものと解釈されるべきではない。本発明のいくつかの例示的な実施形態について説明したが、当業者は、本発明の新規な教示および利点から実質的に逸脱することなく、例示的な実施形態において多くの変更が可能であることを容易に理解するであろう。したがって、そのような変更のすべては、特許請求の範囲に規定される本発明の範囲内に含まれることが意図される。特許請求の範囲において、使用される場合、手段プラス機能句は、列挙された機能を実行するものとして本明細書に記載された構造をカバーすることを意図している。したがって、前述は本発明の例示であり、開示された特定の実施形態に限定されるものと解釈されるべきではなく、開示された実施形態に対する変更、ならびに他の実施形態が、添付の特許請求の範囲の範囲内である。本発明は、添付の特許請求の範囲によって定義され、その中に含まれる特許請求の範囲の等価物によって定義される。

30

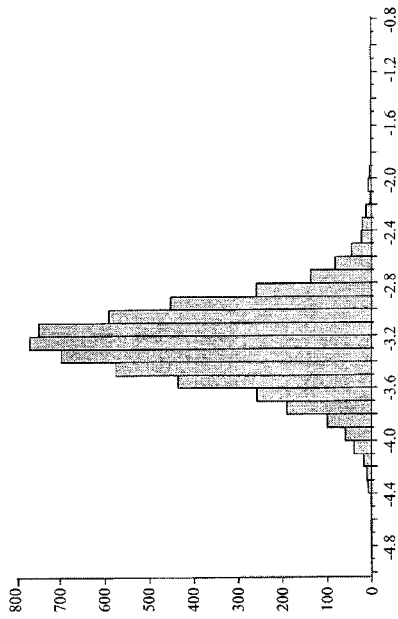
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】

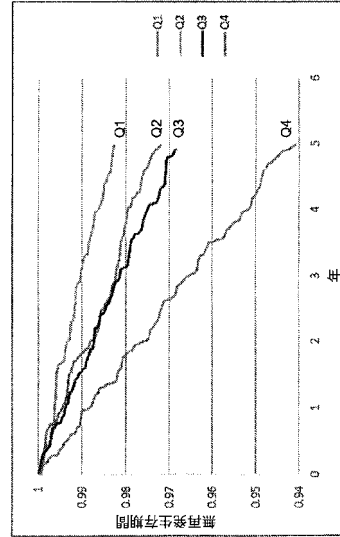
パラメータ	DF	推定	標準エラー	カイ二乗	PR > カイ二乗
インターセプト	1	-6.8359	2.1910	9.7354	0.0018
ジェンダー	1	0.0351	0.00752	49.8925	<.0001
入居 1	1	0.7403	0.1586	21.7789	<.0001
入居 2	1	-0.2931	0.1070	7.4957	0.0062
入居 3	1	-0.0843	0.1836	3.1442	0.0762
年齢	1	0.0647	0.1288	0.4278	0.5131
高血圧薬の使用	1	0.0947	0.1330	22.6947	<.0001
喫煙	1	0.4481	0.1900	5.5101	0.0189
BMI	1	0.00174	0.0143	0.0147	0.9034
糖尿病	1	0.6576	0.1595	16.9919	<.0001
HDL-C	1	0.000507	0.000176	8.2685	0.0040
LDL-C	1	0.007338	0.000859	0.7749	0.3787
HxI	1	0.1644	0.0146	12.8444	<.0001
HxI*Glyca	1	-0.2024	0.0671	9.1919	0.0026
HxI*Glyca	1	-0.00632	0.00571	1.2240	0.2684
HxI*Glyca	1	-0.00079	0.000380	4.3451	0.0371
HxI*Glyca	1	0.000499	0.000188	7.0604	0.0079

$(HxI)_{cvd} = (0.2328 \times HLP) - (0.2024 \times HxI) - (0.0063 \times Glyca) - (0.000499 \times HLP \times Glyca) + (0.000499 \times HxI \times Glyca)$

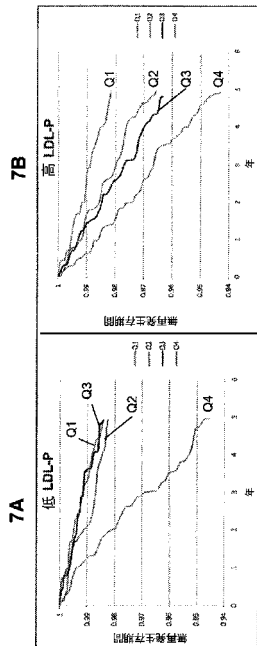
【 図 5 】

パラメータ	DF	推定	標準 エラー	グローバル カイニ乗	PR > カイニ乗
インターセプト	1	-16.8484	1.5487	118.3535	<.0001
年齢	1	0.0531	0.00751	49.9748	<.0001
ジェンダー	1	.7426	0.1356	30.0057	<.0001
人種 1	1	0.2930	0.1061	7.6336	0.0057
人種 2	1	-0.3253	0.1823	3.1846	0.0743
人種 3	1	-0.0846	0.1282	0.4349	0.5096
SBP	1	0.0141	0.00299	22.2257	<.0001
高血圧薬の使用	1	0.4947	0.1384	12.7714	0.0004
喫煙	1	0.4481	0.1900	5.5628	0.0183
糖尿病	1	0.00180	0.0140	0.0166	0.8975
LDL-P	1	0.6577	0.1590	17.1038	<.0001
トリグリセリド	1	0.000508	0.000169	9.0341	0.0026
HxLDL _{apo}	1	0.000741	0.000784	0.8944	0.3443
HxLDL _{apo}	1	1.0005	0.2055	23.7081	<.0001

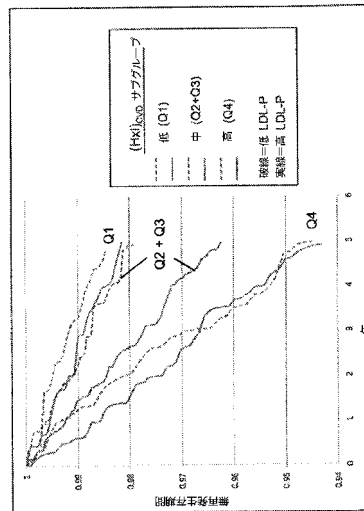
【 図 6 】



【 図 7 】



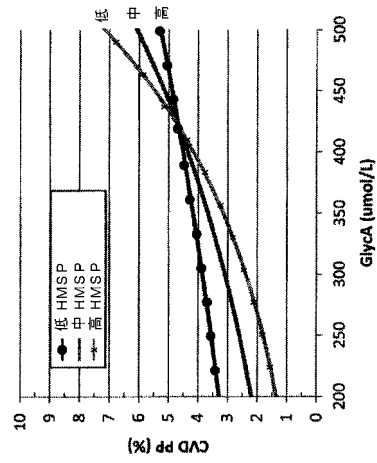
【 図 8 】



【 図 9 】

パラメータ	DF	推定	標準 エラー	ワールド カイニ乗	PR > カイニ乗
インターセプト	1	-5.9394	1.9795	9.40030	0.0027
年齢	1	0.0530	0.00752	49.5509	<.0001
ジェンダー	1	0.8092	0.1451	31.0886	<.0001
入換 1	1	0.2940	0.1070	7.5430	0.0060
入換 2	1	-0.3078	0.1835	2.8145	0.0934
入換 3	1	-0.0971	0.1285	.5712	0.4498
SBP	1	0.0137	0.00299	20.9928	<.0001
高血圧薬の使用	1	0.4897	0.1386	12.4905	0.0004
喫煙	1	0.4593	0.1905	5.8115	0.0159
DM	1	0.00459	0.0139	0.1082	0.7422
糖尿病	1	0.8913	0.1586	19.0090	<.0001
LDL-P	1	0.000552	0.000169	10.6461	0.0011
トリグリセリド	1	0.00108	0.000809	1.7695	0.1834
HMSp	1	-0.1989	0.0672	8.7691	0.0031
GlycA	1	-0.00950	0.00529	1.2324	0.0722
HMSp*GlycA	1	0.000472	0.000187	5.3951	0.0114

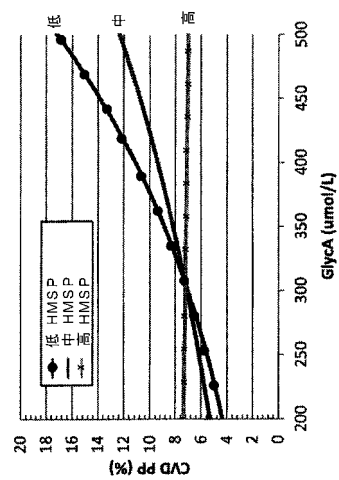
【 図 10 】



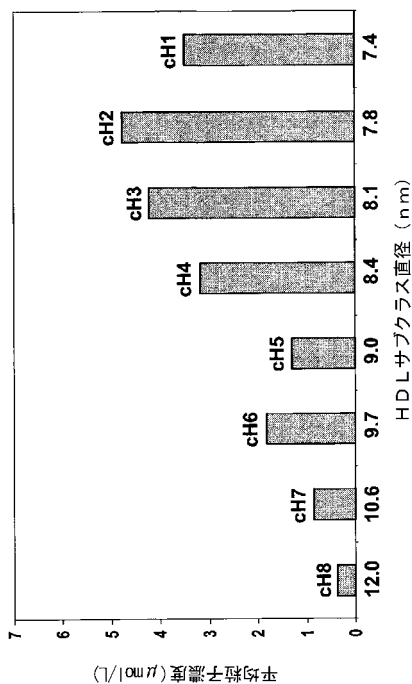
【 図 11 】

パラメータ	DF	推定	標準 エラー	ワールド カイニ乗	PR > カイニ乗
インターセプト	1	-12.6241	1.1854	119.3820	<.0001
年齢	1	0.0532	0.00754	49.8621	<.0001
ジェンダー	1	0.7904	0.1549	25.3752	<.0001
入換 1	1	-0.3066	0.1830	2.8552	0.0904
入換 2	1	-0.0717	0.1287	0.3102	0.5776
入換 3	1	0.0137	0.00301	20.8143	<.0001
SBP	1	0.4880	0.1385	12.4050	0.0004
高血圧薬の使用	1	0.4670	0.1905	6.0097	0.0142
HMI	1	0.00448	0.0143	0.0985	0.7536
喫煙	1	0.6660	0.1589	17.5591	<.0001
糖尿病	1	0.000526	0.000177	8.8930	0.0029
LDL-P	1	0.000616	0.000826	0.5536	0.4561
トリグリセリド	1	0.2905	0.1315	4.8826	0.0271
ELP	1	0.00788	0.00239	10.8890	0.0010
GlycA	1	-0.00095	0.000394	5.7889	0.0161
HMSp*GlycA	1				

【 図 12 】



【図 1 3】



【図 1 4】

パラメータ	DF	推定	標準エラー	ワルドカイ二乗	PE > カイ二乗
インターセプト	1	-9.7485	0.6950	196.7481	<.0001
年齢	1	0.0956	0.00573	94.2281	<.0001
人種 1	1	0.3668	0.0844	18.9906	<.0001
人種 2	1	-0.3644	0.1497	5.9252	0.0149
人種 3	1	-0.0491	0.1001	0.2412	0.6234
ジェンダー	1	0.7506	0.1117	45.1518	<.0001
喫煙	1	0.5702	0.1489	14.5702	0.0001
高血圧薬の使用	1	0.7895	0.1143	47.7042	<.0001
糖尿病	1	0.5782	0.1305	19.6436	0.0001
BMI	1	0.00742	0.0110	0.4592	0.4980
LDL-P	1	0.000398	0.000139	8.2148	0.0042
VLDL-P	1	0.000485	0.000104	10.5170	0.0011
GlycA	1	0.00489	0.00124	15.5077	<.0001
HR	1	1.5270	0.5269	8.3974	0.0038
GlycA*HR	1	-0.00512	0.00172	8.8146	0.0030

$(HBxI)_{CVD} = (GlycA*0.00489) + (HR*1.527) - (GlycA*HR*0.00512) + 5$

【図 1 5】

パラメータ	DF	推定	標準エラー	ワルドカイ二乗	PE > カイ二乗
インターセプト	1	-6.2667	1.0297	37.0413	<.0001
年齢	1	0.0547	0.00575	90.4737	<.0001
人種 1	1	0.3727	0.0846	19.4112	<.0001
人種 2	1	-0.3433	0.1497	5.2566	0.0219
人種 3	1	-0.0356	0.1009	0.1245	0.7242
ジェンダー	1	0.7502	0.1117	45.0668	<.0001
喫煙	1	0.5702	0.1499	14.5105	0.0002
高血圧薬の使用	1	0.7912	0.1150	49.9416	<.0001
糖尿病	1	0.5787	0.1305	19.9619	0.0001
BMI	1	0.0109	0.0107	1.0245	0.3115
LDL-P	1	0.000448	0.000136	10.9089	0.0010
VLDL-P	1	0.00114	0.00102	1.2524	0.2631
GlycA	1	-0.00568	0.00251	5.1100	0.0238
HR	1	-0.5255	0.1460	12.9655	0.0003
GlycA*HR	1	0.00148	0.000409	13.1383	0.0003

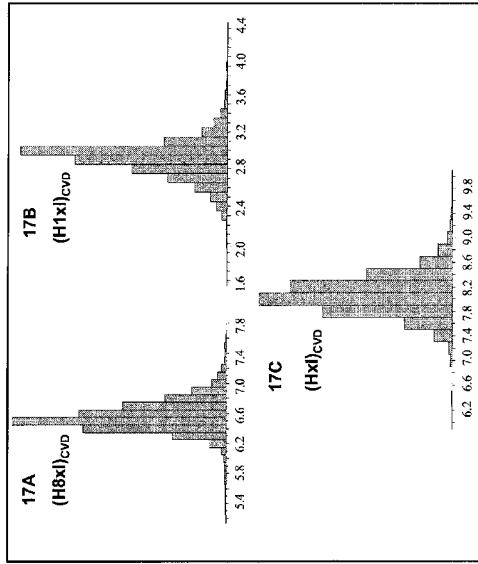
$(H1xI)_{CVD} = - (GlycA*0.00568) - (HR*0.5255) + (GlycA*HR*0.00148) + 5$

【図 1 6】

パラメータ	DF	推定	標準エラー	ワルドカイ二乗	PE > カイ二乗
インターセプト	1	-15.5687	2.1170	54.0919	<.0001
年齢	1	0.0555	0.00574	91.4865	<.0001
人種 1	1	0.3786	0.0847	19.9906	0.0001
人種 2	1	-0.3362	0.1497	5.0423	0.0247
人種 3	1	-0.0563	0.1008	0.3116	0.5767
ジェンダー	1	0.6788	0.1199	32.1579	<.0001
喫煙	1	0.5570	0.1493	13.9077	0.0002
高血圧薬の使用	1	0.7904	0.1148	47.3642	<.0001
糖尿病	1	0.5612	0.1310	18.3442	0.0001
BMI	1	0.00699	0.0108	0.4184	0.5177
LDL-P	1	0.000397	0.000137	8.4017	0.0037
VLDL-P	1	0.000710	0.000104	4.4575	0.0341
GlycA	1	-0.00182	0.00152	1.6048	0.2052
HR	1	-0.8782	0.3157	2.8618	0.1041
(HBxI) _{CVD}	1	0.3414	0.0920	13.9620	0.0001
(H1xI) _{CVD}	1	0.9224	0.2749	11.2625	0.0008

$(HxI)_{CVD} = ((HBxI)_{CVD}*0.8782) + ((H1xI)_{CVD}*0.9224) - (H2*7*0.0255)$

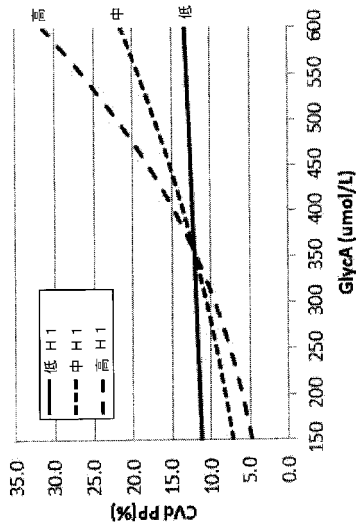
【 図 17 】



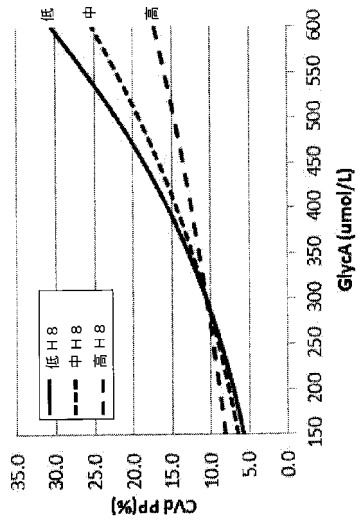
【 図 18 】

モデル	ハラスメータ		モデル		ハラスメータ	
	LR ²	ΔLR ²	LR ²	ΔLR ²	χ ²	p
1	351.0	---	---	---	---	---
2	359.4	8.4	---	---	12.1	0.0005
3	367.3	16.3	---	---	5.3	0.02
4	359.7	8.7	---	---	11.8	0.0006
5	365.4	14.4	---	---	8.4	0.02
6	375.7	24.7	---	---	8.8	0.003
7	381.7	30.7	---	---	7.2	0.007
8	382.1	31.1	---	---	5.6	0.02
9	392.2	41.2	---	---	7.0	0.008
10	395.6	44.6	---	---	6.8	0.009
11	395.2	44.2	---	---	10.7	0.001

【 図 19 】



【 図 20 】



【 図 2 1 】

パラメータ	DP	推定	標準 エラー	ワルド カイ二乗	P > カイ二乗
インターセプト	1	-10.1677	1.2578	65.3485	<.0001
年齢	1	0.0741	0.00952	60.5995	<.0001
人種 1	1	0.4455	0.1376	10.4867	0.0012
人種 2	1	-0.2088	0.2385	0.7662	0.3814
人種 3	1	-0.0617	0.1625	0.1440	0.7043
喫煙	1	0.6974	0.2518	7.6709	0.0055
高血圧薬の使用	1	0.7384	0.1911	14.9260	0.0001
糖尿病	1	0.4460	0.2223	4.0263	0.0448
BMI	1	0.0122	0.0158	0.6026	0.4376
LDL-P	1	0.00172	0.000220	0.6091	0.4351
VLDL-P	1	0.00362	0.00169	8.091	0.0045
GLYCA	1	0.0958	0.0339	6.9482	0.0084
H1	1	-0.0851	0.00211	6.7851	0.0092
GLYCA*H8	1	0.00211	0.00211	6.7851	0.0092
HDL-P	1	-0.0350	0.0258	1.6973	0.1926

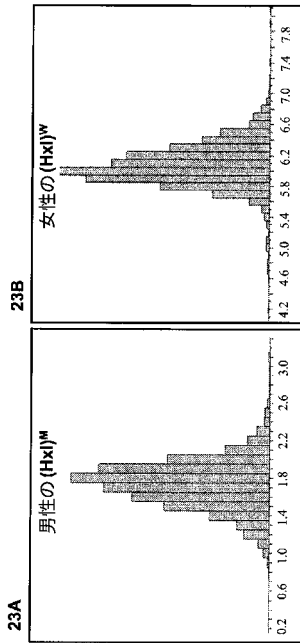
$$(HxI)^W = (GlycA*0.00558) + (H8*1.6708) - (GlycA*H8*0.00551) - (HDL-P*0.035) + 5$$

【 図 2 2 】

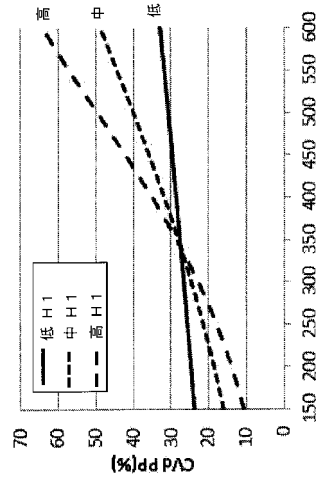
パラメータ	DP	推定	標準 エラー	ワルド カイ二乗	P > カイ二乗
インターセプト	1	-3.5106	1.5026	5.4585	0.0195
年齢	1	0.0648	0.00727	37.9647	<.0001
人種 1	1	0.3305	0.1090	9.1939	0.0024
人種 2	1	-0.4332	0.1948	4.9440	0.0262
人種 3	1	-0.0222	0.1295	0.0295	0.8636
喫煙	1	0.4323	0.1893	5.2167	0.0224
高血圧薬の使用	1	0.8111	0.1449	31.3385	<.0001
糖尿病	1	0.6150	0.1644	14.1828	0.0002
BMI	1	0.00240	0.0159	0.0229	0.8796
LDL-P	1	0.000506	0.000179	7.9941	0.0047
VLDL-P	1	0.000479	0.00134	0.1280	0.7205
GLYCA	1	-0.00704	0.00347	4.1291	0.0422
H1	1	-0.5898	0.1881	9.8351	0.0017
GLYCA*H1	1	0.00173	0.000546	10.0018	0.0016
HDL-P	1	-0.0403	0.0237	2.8790	0.0897

$$(HxI)^W = - (GlycA*0.00704) - (H1*0.5898) + (GlycA*H1*0.00173) - (HDL-P*0.0403) + 5$$

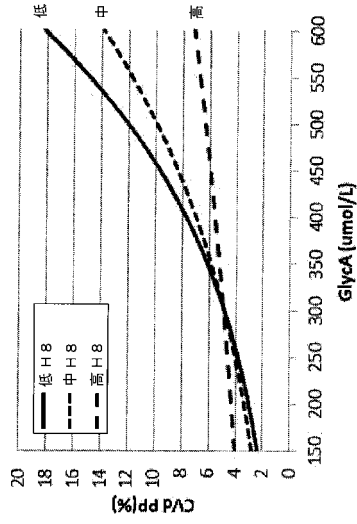
【 図 2 3 】



【 図 2 4 】



【図 2 5】



【図 2 6】

モデル	ハラメータ		モデル		ハラメータ	
	ハラメータ	LR χ^2	ハラメータ	$\Delta \chi^2$	ハラメータ	p
1	標準モデル	145.4	標準モデル	---	標準モデル	---
2	LDL-C	149.3	LDL-C	3.9	+	2.7
	HDL-C		-		1.4	
3	HDL-C	151.5	HDL-C	6.1	+	2.8
	Hs-CRP		-		1.6	
	Hs-CRP		+		1.2	
4	LDL-P	145.7	LDL-P	0.3	+	0.3
	HDL-P		+		0.2	
5	HDL-P	149.1	HDL-P	3.7	-	3.3
	HDL-P		+		0.1	
6	HDL-P	151.7	HDL-P	6.3	-	4.2
	GlycA		+		2.8	
	GlycA		+		0.1	
7	(Hx)w	162.0	(Hx)w	16.6	+	32.8
	LDL-P		+		0.04	
	LDL-P		+		0.84	
8	(Hx)w	164.2	(Hx)w	18.8	+	16.4
	(Hx)w		+		2.3	

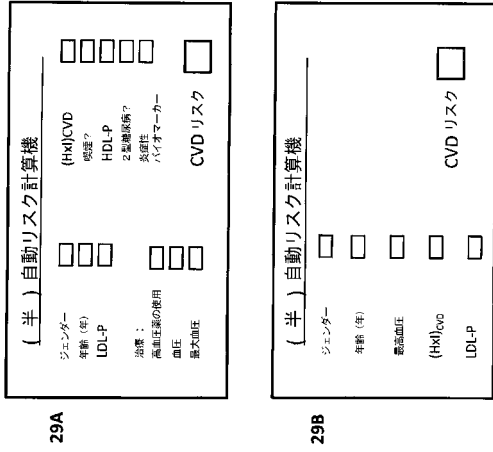
【図 2 7】

モデル	ハラメータ		モデル		ハラメータ	
	ハラメータ	LR χ^2	ハラメータ	$\Delta \chi^2$	ハラメータ	p
1	標準モデル	168.1	標準モデル	---	標準モデル	---
2	LDL-C	181.7	LDL-C	13.6	+	10.7
	HDL-C		-		4.8	
3	HDL-C	186.4	HDL-C	18.3	+	10.0
	HDL-C		-		4.4	
	Hs-CRP		+		4.2	
4	LDL-P	175.4	LDL-P	7.3	+	7.4
	LDL-P		+		6.5	
5	HDL-P	178.1	HDL-P	10.0	-	2.7
	HDL-P		+		6.6	
6	HDL-P	186.7	HDL-P	18.6	-	2.8
	GlycA		+		9.0	
	GlycA		+		5.7	
7	(Hx)w	198.0	(Hx)w	29.9	+	25.2
	(Hx)w		+		5.4	
8	LDL-P	198.4	LDL-P	30.3	+	12.6
	(Hx)w		+		0.4	

【図 2 8】

ハラメータ	女性		男性	
	χ^2	p	χ^2	p
年齢	63.2	<0.0001	45.8	<0.0001
喫煙	10.3	0.001	6.6	0.01
高血圧薬の使用	16.6	<0.0001	30.2	<0.0001
糖尿病	4.7	0.03	15.1	0.0001
BMI	0.4	0.73	0.0	0.96
(Hx)w	32.7	<0.0001	---	---
(Hx)w	---	---	25.2	<0.0001

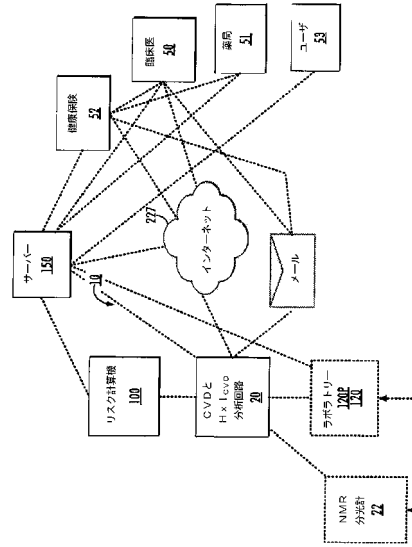
【図 29】



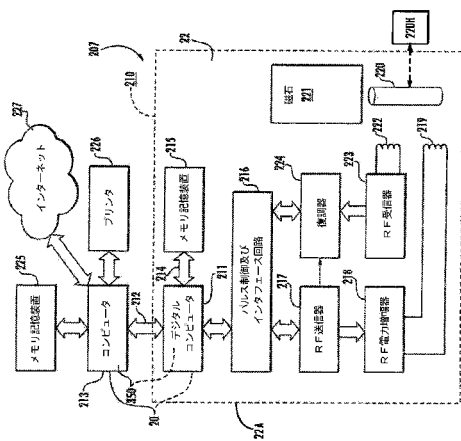
29A

29B

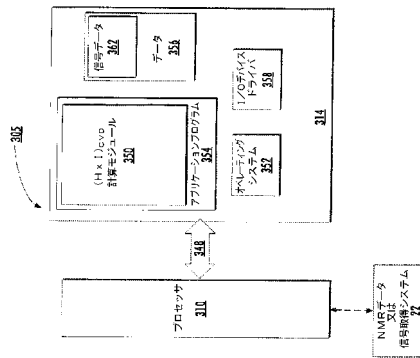
【図 30】



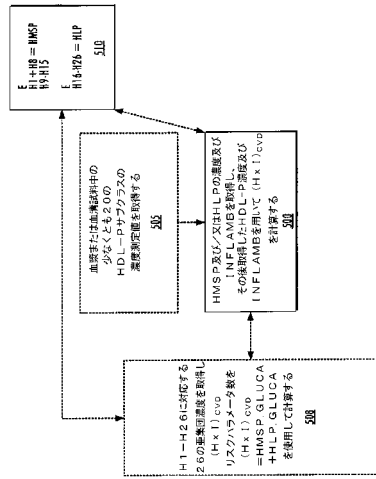
【図 31】



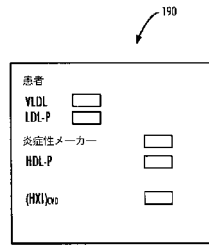
【図 32】



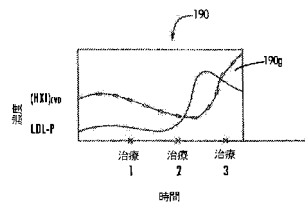
【 図 3 3 】



【 図 3 4 】



【 図 3 5 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/049778

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01R33/465 G06F19/00 A61B5/00 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) A61B G01R G06F 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, 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 2013/184483 A1 (LIPOSCIENCE INC [US]) 12 December 2013 (2013-12-12) the whole document paragraphs [0009] - [0043], [0099] - [0108], [0155] - [0158]; claims 5-15, 20-28, 37-39, 47-54 paragraphs [0011], [0104] - [0107], [0156], [0174], [0186] - [0199], [0218] - [0232]; figures 1-25 -----	1-37
X	US 2014/088072 A1 (ASZTALOS BELA F [US] ET AL) 27 March 2014 (2014-03-27) paragraphs [0013] - [0043], [0053] - [0058], [0078] - [0080], [0098] - [0148], [0156] - [0161], [0170] - [0002]; figures 4A, 4B ----- -/--	1-37
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
25 November 2015		17/12/2015
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 Boiangiu, Clara

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/049778

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2010/100334 A1 (OTVOS JAMES D [US]) 22 April 2010 (2010-04-22) the whole document	1-37
Y	US 2003/235918 A1 (SHEWMAKE DAVID [US] ET AL) 25 December 2003 (2003-12-25) the whole document	1-37
Y	WO 2007/133593 A2 (LIPOSCIENCE INC [US]; OTVOS JAMES D [US]) 22 November 2007 (2007-11-22) the whole document	1-37
Y	US 2013/289884 A1 (OTVOS JAMES D [US] ET AL) 31 October 2013 (2013-10-31) the whole document	1-37
Y	EP 2 592 423 A1 (ZORA BIOSCIENCES OY [FI]) 15 May 2013 (2013-05-15) paragraphs [0016] - [0117]; claims 1-33 the whole document	1-37
Y	CHIYAN ZHOU ET AL: "Reduced Paraoxonase 1 Activity as a Marker for Severe Coronary Artery Disease", DISEASE MARKERS., vol. 28, no. 6, 1 January 2013 (2013-01-01), pages 333-103, XP055230749, GB ISSN: 0278-0240, DOI: 10.1172/JC142946 the whole document	1-37
Y	WO 2011/153271 A1 (BOSTON HEART LAB [US]; SCHAEFER ERNST J [US]; ASZTALOS BELA F [US]) 8 December 2011 (2011-12-08) the whole document	1-37
Y	JEYARAJAH ELIAS J ET AL: "Lipoprotein particle analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy", CLINICS IN LABORATORY MEDICINE, ELSEVIER, US, vol. 26, no. 4, 1 December 2006 (2006-12-01), pages 847-870, XP009177104, ISSN: 0272-2712 the whole document	1-37

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/049778

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013184483 A1	12-12-2013	AU 2013272014 A1	18-12-2014
		CA 2874550 A1	12-12-2013
		CN 104508471 A	08-04-2015
		EP 2859339 A1	15-04-2015
		JP 2015522806 A	06-08-2015
		SG 11201407803T A	30-12-2014
		US 2013328561 A1	12-12-2013
		WO 2013184483 A1	12-12-2013
US 2014088072 A1	27-03-2014	NONE	
US 2010100334 A1	22-04-2010	AU 2009308124 A1	29-04-2010
		CA 2741034 A1	29-04-2010
		EP 2344890 A2	20-07-2011
		JP 5393798 B2	22-01-2014
		JP 2012506051 A	08-03-2012
		KR 20110086074 A	27-07-2011
		US 2010100334 A1	22-04-2010
		WO 2010047767 A2	29-04-2010
US 2003235918 A1	25-12-2003	US 2003235918 A1	25-12-2003
		US 2009188796 A1	30-07-2009
WO 2007133593 A2	22-11-2007	US 2007264677 A1	15-11-2007
		WO 2007133593 A2	22-11-2007
US 2013289884 A1	31-10-2013	US 2013289884 A1	31-10-2013
		US 2013289885 A1	31-10-2013
EP 2592423 A1	15-05-2013	CA 2853220 A1	16-05-2013
		CN 103917876 A	09-07-2014
		EP 2592423 A1	15-05-2013
		EP 2776841 A2	17-09-2014
		HK 1202157 A1	18-09-2015
		JP 2014532885 A	08-12-2014
		US 2014295467 A1	02-10-2014
		US 2015260737 A1	17-09-2015
		WO 2013068373 A2	16-05-2013
WO 2011153271 A1	08-12-2011	AU 2011261480 A1	20-12-2012
		CA 2816532 A1	08-12-2011
		EP 2577312 A1	10-04-2013
		WO 2011153271 A1	08-12-2011

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, 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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . S M A L L T A L K

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA36 DA63 FA36