

(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2018-517892

(P2018-517892A)

(43) 公表日 平成30年7月5日(2018.7.5)

(51) Int.Cl.

**G01N 33/68** (2006.01)  
**G01N 33/574** (2006.01)  
**G01N 33/53** (2006.01)  
**C12Q 1/68** (2018.01)

F 1

GO1N 33/68  
GO1N 33/574  
GO1N 33/53  
C12Q 1/68

Z N/A  
A  
D  
A

テーマコード(参考)

2 G045  
4 B063

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 131 頁)

(21) 出願番号 特願2017-552968 (P2017-552968)  
(86) (22) 出願日 平成28年4月8日 (2016.4.8)  
(85) 翻訳文提出日 平成29年11月29日 (2017.11.29)  
(86) 國際出願番号 PCT/US2016/026773  
(87) 國際公開番号 WO2016/164815  
(87) 國際公開日 平成28年10月13日 (2016.10.13)  
(31) 優先権主張番号 62/146,158  
(32) 優先日 平成27年4月10日 (2015.4.10)  
(33) 優先権主張国 米国(US)  
(31) 優先権主張番号 62/160,560  
(32) 優先日 平成27年5月12日 (2015.5.12)  
(33) 優先権主張国 米国(US)  
(31) 優先権主張番号 62/165,846  
(32) 優先日 平成27年5月22日 (2015.5.22)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 516290829  
アプライド プロテオミクス、インク。  
アメリカ合衆国 92121 カリフォルニア州 サンディエゴ ジョン・ホブキンズ・コート 3545 スイート 150  
(74) 代理人 100082072  
弁理士 清原 義博  
(72) 発明者 ブルーム、ジョン  
アメリカ合衆国 98229 ワシントン州 ベリンハム レイク・ワットクーム・ブルバード 2560  
(72) 発明者 ジョーンズ、ジェフリー  
アメリカ合衆国 91208 カリフォルニア州 グレンデール ロッカービー・レーン 3755

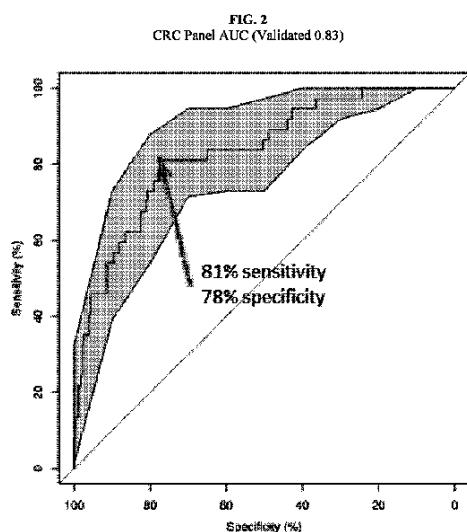
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】結腸直腸癌と進行腺腫を検知するためのタンパク質バイオマーカーパネル

## (57) 【要約】

本明細書では、被験体の結腸癌あるいは結腸直腸癌の診断あるいは認識に関するパネルが本明細書で開示される。開示されるパネルと関連する方法を用いて、患者の結腸腫瘍状態が予測あるいは評価される。当該パネルと方法は用いて、腫瘍の性質、再発、あるいは処置に対する反応が判定される。方法の実施形態のなかには、臨床的な管理のための報告書の生成を含むものもある。

【選択図】図2



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

個体における結腸直腸癌のリスク状態を評価する方法であって、

個体から循環血液サンプルを得る工程と、

前記個体からのパネル情報を含むために、A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、 および P S G L を含むサンプル中のタンパク質のリストを含むバイオマーカーパネルについてバイオマーカーパネルレベルを得る工程と、

前記個体からの前記パネル情報を、既知の結腸直腸癌状態に対応する基準パネル情報セットと比較する工程と、

前記個体の基準パネル情報が前記基準パネル情報セットと著しく異なる場合に、前記個体を、前記結腸直腸癌状態を有していると分類する工程と、を含む、方法。 10

**【請求項 2】**

循環血液サンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

パネル情報は個体の年齢情報を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 4】**

タンパク質のリストは A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、 P S G L 、 C A T D 、 C E A 、 および S E P R を含む、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

タンパク質のリストはわずか 1 5 のタンパク質しか含まない、請求項 4 に記載の方法。

**【請求項 6】**

タンパク質のリストはわずか 8 のタンパク質しか含まない、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

タンパク質のリストは A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、 P S G L 、 C A T D 、 C E A 、 および S E P R を含む、請求項 6 に記載の方法。

**【請求項 8】**

分類する工程は、少なくとも 8 1 % の感度と少なくとも 7 8 % の特異度を有する、請求項 1 - 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

**【請求項 9】**

分類する工程の結果の報告書を医療従事者に送信する工程を含む、請求項 1 に記載の方法。 30

**【請求項 10】**

報告書は、少なくとも 8 1 % の感度を示す、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

報告書は、少なくとも 7 8 % の特異度を示す、請求項 9 または 1 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

**【請求項 12】**

報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 13】**

報告書は独立した外科的介入を推奨する、請求項 9 に記載の方法。 40

**【請求項 14】**

報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 15】**

報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 16】**

便の癌アッセイを行う工程を含む、請求項 1 5 に記載の方法。

**【請求項 17】**

報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 18】**

10

20

30

40

50

報告書は継続的なモニタリングを推奨する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 19】

前記個体のパネル情報の少なくとも 1 つのバイオマーカーレベルは、前記基準パネルからの対応する値とは著しく異なり、前記個体のパネルレベルは全体として前記基準パネルレベルとは著しく異なる場合、請求項 1 - 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 20】

前記個体の基準パネル情報のいかなるパラメータも独立して 65 % を越える感度あるいは 65 % を越える特異度で前記個体の前記結腸直腸癌状態を示さない、請求項 1 - 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 21】

タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を抗体のセットに接触させる工程を含み、ここで抗体のセットは AACT、CO3、CO9、MIF、および PSGL に特異的な抗体を含む、請求項 1 - 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 22】

タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらす工程を含む、請求項 1 - 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 23】

前記比較する工程と前記分類する工程の少なくとも 1 つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる、請求項 1 - 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【請求項 24】

既知の結腸直腸癌状態に対応する前記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも 100 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

個体における結腸直腸の健康リスク状態を評価する方法であって、  
個体から循環血液サンプルを得る工程と、

AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、SEPR、CEA、CATD、CLUS、GDF15、および SAA1 を含むサンプル中のタンパク質のリストを含むバイオマーカーパネルに関するバイオマーカーパネルレベルを得て、個体の年齢を得る工程であって、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、SEPR、CEA、CATD、および年齢が前記個体からの結腸直腸癌パネル情報を含み、ならびに、CATD、CLUS、GDF15、および SAA1 が前記個体からの進行腺腫パネル情報を含む、工程と、

前記個体からの前記結腸直腸癌パネル情報を、既知の結腸直腸癌状態に対応する基準結腸直腸癌パネル情報セットと比較する工程と、

前記個体からの前記進行腺腫パネル情報を、既知の進行腺腫状態に対応する基準進行腺腫パネル情報セットと比較する工程と、

前記結腸直腸癌パネルまたは前記進行腺腫パネルのいずれかが結腸直腸の健康のリスクに対して陽性である基準パネルとは著しく異なる場合に、前記個体を結腸直腸の健康のリスクを有すると分類する工程とを含む、方法。

【請求項 27】

循環血液サンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含む、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

タンパク質のリストはわずか 20 のタンパク質しか含まない、請求項 26 に記載の方法。  
。

【請求項 29】

タンパク質のリストはわずか 11 のタンパク質しか含まない、請求項 26 に記載の方法

10

20

30

40

50

。

【請求項 3 0】

分類する工程は少なくとも 80 % の感度と少なくとも 47 % の特異度を有する、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 3 1】

分類する工程は少なくとも 80 % の感度と少なくとも 50 % の特異度を有する、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 3 2】

医療従事者に前記分類する工程の結果の報告書を送信する工程を含む、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 3 3】

報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

報告書は独立した外科的介入を推奨する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 5】

報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 6】

独立した癌アッセイが行われる、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 8】

便の癌アッセイが行われる、請求項 3 7 に記載の方法。

【請求項 3 9】

報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 0】

個体は抗癌組成物を与えられる、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

報告書は継続的なモニタリングを推奨する、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記個体のパネル情報の少なくとも 1 つのバイオマーカーレベルが前記基準パネルセットの少なくとも 1 つからの対応する値とは著しく異なり、および、前記個体のパネルレベルが全体として前記基準パネルレベルとは著しく異なる、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記個体の基準パネル情報のいかなるパラメータも独立して 65 % を越える感度あるいは 65 % を越える特異度で前記個体の前記進行腺腫状態を示さない、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

タンパク質レベルを得る工程は、抗体のセットへ循環血液サンプルの画分を接触させる工程を含み、ここで抗体のセットは AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、SEPR、CEA、CATD、CLUS、GDF15、および SAA1 に特異的な抗体を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらす工程を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 6】

タンパク質レベルを得る工程はタンパク結合 DNA アプタマーへサンプルを接触させる工程を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 4 7】

タンパク質レベルを得る工程は抗体アレイへサンプルを接触させる工程を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 4 8】**

タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらす工程を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

**【請求項 4 9】**

前記比較する工程と前記分類する工程の少なくとも 1 つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる、請求項 3 2 に記載の方法。

**【請求項 5 0】**

既知の進行腺腫状態に対応する前記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む、請求項 3 2 に記載の方法。

**【請求項 5 1】**

機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも 100 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、請求項 5 0 に記載の方法。

10

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】**

<関連出願>

**【0 0 0 2】**

本出願は、2015年4月10日に出願された米国仮出願第62/146,158号の利益を主張するものであり、当該文献は全体として参照により本明細書に組み込まれ、本出願は、2015年5月12日に出願された米国仮出願第62/160,560号の利益を主張するものであり、当該文献は全体として参照により本明細書に組み込まれ、本出願は、2015年5月22日に出願された米国仮出願第62/165,846号の利益を主張するものであり、当該文献は全体として参照により本明細書に組み込まれ、本出願は、2015年7月24日に出願された米国仮出願第62/196,889号の利益を主張するものであり、当該文献は全体として参照により本明細書に組み込まれ、および、本出願は、2015年10月9日に出願された米国仮出願第62/239,771号の利益を主張するものであり、当該文献は全体として参照により本明細書に組み込まれる。

20

**【背景技術】****【0 0 0 3】**

結腸直腸癌（CRC）は、結腸または直腸（大腸の部分）、あるいは虫垂における、制御されていない細胞増殖から結果として生じ得る。CRCは結腸ポリープから進行し得る。結腸ポリープは典型的に、大腸または直腸の内膜に生じる良性細胞の集まりを含む。多くの結腸ポリープが悪性でない一方で、ポリープは腺腫へと進行し得る。その後、結腸直腸腺腫は、進行型結腸直腸腺腫に成長し、そしてCRCに進行し得る。

30

**【0 0 0 4】**

CRCは、2013年において、米国で142以上の癌関連死、820の診断ケース、および50,000以上の死亡の主要な原因である。2011年の研究によれば、1年あたり120万の診断例があり、世界中で600,000人が死亡していると予想される。CRCは、その初期段階から転移性疾患となるまでの典型的な進行の遅さと診断用の入手可能なツールを考慮すれば、最も予防可能な癌のうちの1つであるが、最も防ぎにくい癌の1つである。これは、少なくとも一部には、最新のスクリーニング試験の侵襲性あるいは不快な性質が原因の患者によって利用可能なスクリーニングに対するコンプライアンスの低さに起因する。

40

**【0 0 0 5】**

年を重ねるとともにCRCを発症させるリスクは増す。新しいケースの90パーセントと死亡の93%は50歳以上の人で生じる。60代になると、男性では、40歳代と比較してCRCを発症させるリスクが10倍増大する。規則的なスクリーニングにより、進行性の結腸直腸腺腫あるいは前癌性のポリープの除去と、初期段階癌の検出が可能となり、このことはこの疾患の効果的な処置における重要な因子である。

**【0 0 0 6】**

50

C R C と診断された患者の生存率はそれがいつ分かるかに大きく依存する。C R C は通常、ステージ I からステージ IV と定義される 4 つの段階で進行する。ステージ I と II は、異常な細胞成長が結腸または直腸に制限される局地的な段階である。ステージ III は局所的なステージであり、癌が周囲の組織に広がっているが局地的なままであることを意味する。ステージ IV は遠位性であり、癌が身体の他の臓器、もっとも一般的な例では肝臓あるいは肺の全体にわたって広がっていることを示す。ステージ I の C R C と診断された患者では、5 年生存率が、ステージ IV の診断の 13 % と比較して、90 % 以上であると推測される。初期に見つかれば、C R C は典型的には癌の外科的除去によって処置される。癌が広がった後、癌の外科的除去はその後に化学療法を伴う。

#### 【0007】

結腸内視鏡検査と S 状結腸鏡検査は、以前として結腸癌を検知するための代表的な存在である。しかし、この検査の非常に侵略的な性質と費用のせいで、人々にあまり受け入れられていない。さらに、こうした非常に侵襲的な手順は被験体感染症などの合併症のリスクに晒すものである。

#### 【0008】

結腸直腸癌のための最も一般的な非侵襲的検査は便潜血検査（「F O B T」）である。あいにく、その高い無病誤診率に加えて、F O B T の感度は約 50 % に留まり、初期段階の C R C の検出に関する感度に満たないこともある。癌胎児性抗原（「C E A」）、糖鎖抗原 19 - 9、および脂質関連シアル酸などの多くの血清マーカーが結腸直腸癌において調査されてきた。しかしながら、これらの感度が低いことから、全米臨床腫瘍学会は、スクリーニングと診断にはこれらのいずれも推奨できないこと、および、使用する場合には手術後の監視に限定すべきであるという声明を出した。

#### 【0009】

生存率の著しい上昇のために、C R C が疾患進行において初期に検知される場合、C R C は、米国癌協会（すなわち A C S ）が日常的なスクリーニングを推奨する 3 つの癌のうちの 1 つである（乳房と子宮頸部癌は別のものである）。米国では、C R C のスクリーニングは現在、糞便の検査である便潜血検査（すなわち F O B T ）を用いて、あるいは 2 つの手順：結腸内視鏡検査または S 状結腸鏡検査の 1 つを使用して、A C S と米国予防医学専門委員会（すなわち U S P S T F ）によって 50 - 75 歳のすべての男女に推奨されている。C R C が初期に診断された場合、5 年生存率の改善に対する日常的なスクリーニングの利点があるにもかかわらず、スクリーニングの受診率のコンプライアンスは、一部には既存の解決策が限定的であることが理由で低い。

#### 【発明の概要】

#### 【0010】

個体における結腸直腸癌状態を評価する方法が本明細書で提供される。さらに、個体の血液サンプル中の結腸直腸癌のリスク状態を評価する方法も本明細書で提供される。こうしたいくつかの方法は、個体から循環血液サンプルを得る工程；上記個体からのパネル情報を含むために、A A C T 、C O 3 、C O 9 、M I F 、および P S G L を含むサンプル中のタンパク質のリストを含むバイオマーカーパネルについてバイオマーカーパネルレベルを得る工程；上記個体からの上記パネル情報を、既知の結腸直腸癌状態に対応する基準パネル情報セットと比較する工程；および、上記個々の基準パネル情報が上記基準パネル情報セットと著しく異なる場合に、上記個体を上記結腸直腸癌状態を有していると分類する工程、を含む。こうした方法の様々な態様は以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせて企図される。方法は、循環血液サンプルを得る工程が個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含んでいる方法を含むように企図される。方法は、パネル情報が個体の年齢情報を含んでいる方法を含むように企図される。随意に、タンパク質のリストは A A C T 、C O 3 、C O 9 、M I F 、P S G L 、C A T D 、C E A 、および S E P R を含む。随意に、タンパク質のリストはわずか 15 のタンパク質しか含まない。場合によっては、リストは 8 つを超えるタンパク質を含み、C R C では、シグナルは A A C T 、C O 3 、C O 9 、M I F 、P S G L 、C A T D 、C E A 、および S E P R を含むタ

ンパク質のリストに由来する。随意に、タンパク質のリストはわずか 8 つのタンパク質しか含まない。場合によっては、タンパク質のリストは A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、 P S G L 、 C A T D 、 C E A 、および S E P R を含む。随意に、分類する工程は、少なくとも 8 1 % の感度と少なくとも 7 8 % の特異度を有する。方法は、分類する工程の結果の報告書を医療従事者に送信する工程を含むように企図される。随意に、報告書は、少なくとも 8 1 % の感度を示す。随意に、報告書は、少なくとも 7 8 % の特異度を示す。随意に、報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する。随意に、個体は結腸内視鏡検査を受ける。随意に、報告書は独立した外科的介入を推奨する。随意に、個体は独立した外科的介入を受ける。随意に、報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、個体は独立した癌アッセイを受ける。随意に、報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、個体は便の癌アッセイを受ける。随意に、報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する。随意に、抗癌組成物は個体に投与される。随意に、報告書は継続的なモニタリングを推奨する。随意に、上記個々のパネル情報の少なくとも 1 つのバイオマーカーレベルは、上記基準パネルからの対応する値とは著しく異なり、上記個々のパネルレベルは全体として上記基準パネルレベルとは著しく異なる。さらに、本明細書では、上記個々の基準パネル情報のいかなるパラメータも独立して 6 5 % を越える感度あるいは 6 5 % を越える特異度で上記個体の上記結腸直腸癌状態を示さない方法が同様に提供される。随意に、タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を抗体のセットに接触させる工程を含み、ここで抗体のセットは A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、および P S G L に特異的な抗体を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらす工程を含む。随意に、上記比較する工程と上記分類する工程の少なくとも 1 つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる。随意に、既知の結腸直腸癌状態に対応する上記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む。随意に、機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも 1 0 0 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される。図 4 に示されるように、本明細書で開示されたパネルは、健康な個体からのサンプルだけでなく、他のタイプの癌あるいは他の細胞周期あるいは細胞増殖食物を有する個体からのサンプルからも C R C シグナルを有するサンプルを同定する。

#### 【 0 0 1 1 】

さらに、個体における結腸直腸癌治療レジメンの有効性をモニタリングする方法が本明細書で提供される。いくつかのこうした方法は、第 1 の時点で個体からの血液を循環させる工程を含む、第 1 のサンプルを得る工程と、個体へ治療レジメンを施す工程と、第 2 の時点で個体からの血液を循環させる工程を含む第 2 のサンプルを得る工程と、第 1 のサンプル中のタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを含む第 1 のパネルレベルと、第 2 のサンプル中のタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを含む第 2 のパネルレベルを得る工程であって、上記リストが上記第 1 のサンプルと上記第 2 のサンプルに関するパネル情報を含めるために A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、および P S G L を含む、工程とを含み、タンパク質レベルの変動は結腸直腸癌治療の有効性を示す。さらに、個体における結腸直腸癌治療の有効性をモニタリングするエクスピボの方法が本明細書で提供される。いくつかのこうした方法は、第 1 の時点で個体からの血液を循環させる工程を含む、第 1 のサンプルを得る工程と、第 2 の時点で結腸直腸癌治療を受ける同じ個体からの血液を循環させる工程を含む、第 2 のサンプルを得る工程と、第 1 のサンプル中のタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを含む第 1 のパネルレベルと、第 2 のサンプル中のタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを含む第 2 のパネルレベルを得る工程であって、上記リストが上記第 1 のサンプルと上記第 2 のサンプルに関するパネル情報を含めるために A A C T 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、および P S G L を含む、工程とを含み、タンパク質レベルの変動は結腸直腸癌治療の有効性を示す。こうした方法の様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせて企図される。方法は個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含む、第 1 のサンプルを得る工程を含めるように企図される。随意に、結腸直腸癌治療または治療レジメンは、医薬組成物の投与を含む

10

20

30

40

50

。隨意に、結腸直腸癌治療または治療レジメンは、化学療法剤の投与を含む。隨意に、結腸直腸癌治療または治療レジメンは、結腸内視鏡検査を含む。隨意に、結腸直腸癌治療または治療レジメンは、ポリープ切除を含む。隨意に、結腸直腸癌治療または治療レジメンは、放射線療法を含む。方法は、上記第1のサンプルパネルレベルと上記第2のパネルレベルを、健全な基準の少なくとも1つのパネルレベルと比較する工程を含む方法を含めるようにも企図され、健全な基準のパネルレベルにより類似する第2のサンプルパネルレベルは、結腸直腸癌治療の有効性を示す。隨意に、方法は含む、第1のサンプルパネルレベルは言い、少なくとも1つのパネルレベルの健全な基準に第2のパネルレベルを言った。そこでは結腸直腸癌基準のパネルレベルに、より類似する第1のサンプルパネルレベルは、結腸直腸癌治療の有効性を示す。隨意に、タンパク質のリストはAACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む。隨意に、タンパク質のリストはわずか15のタンパク質しか含まない。隨意に、タンパク質のリストはわずか8つのタンパク質しか含まない。隨意に、タンパク質のリストはAACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む。隨意に、方法は、有効性が示されない場合に結腸直腸癌治療または治療レジメンを変更する工程を含む。隨意に、方法は、有効性が示されない場合に結腸直腸癌治療あるいは治療レジメンを繰り返す工程を含む。隨意に、方法は、有効性が示されない場合に結腸直腸癌治療または治療レジメンを継続する工程を含む。隨意に、方法は、有効性が示される場合に結腸直腸癌治療または治療レジメンを中止する工程を含む。

10

20

30

40

【0012】  
さらに、個体の結腸直腸癌状態を示すタンパク質のパネルが本明細書で提供される。いくつかのそのようなパネルは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRからなるリストから選択された少なくとも5つのタンパク質を含み、ここで、個体の循環血液からの基準パネルとは著しく異なるレベルのパネルの測定値は、少なくとも81%の感度と少なくとも78%の特異度の基準パネル結腸直腸癌状態に対応するその個体の結腸直腸癌状態を示し、および、ここで、上記パネルのいかなる構成タンパク質レベルも、65%を越える感度と65%を越える特異度の個体の結腸直腸癌状態を示さない。これらのパネルの様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせで企図される。パネルはAACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRからなるリストから選択された少なくとも6つのタンパク質を含めるように企図される。隨意に、パネルはわずか12のタンパク質しかふくまず、その少なくとも4つは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRからなるリストから選択される。隨意に、パネルはわずか12のタンパク質しか含まず、タンパク質のパネルはAACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む。隨意に、パネルは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRからなる。さらに、上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌状態を評価する際に、あるいは上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌治療の有効性をモニタリングする際に使用されるタンパク質の上述のパネルのいずれかも本明細書で企図される。

50

【0013】  
さらに抗体パネルを含むキットも本明細書で提供され、上記抗体パネルは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRからなるリストから選択された少なくとも5つのタンパク質を同定する抗体を含む。これらのキットの様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせで企図される。キットは制御タンパク質に結合する抗体を含むように企図される。隨意に、キットはわずか15の抗体しか含まない。隨意に、キットはわずか12の抗体しか含まない。隨意に、上記抗体パネルは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRのすべてを同定する抗体を含む。隨意に、キットは、患者の結腸直腸癌状態を評価するためにキットの使用と機能的に関連する説明書を含む。さらに、上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌状態を評価する際に、あるいは上記の方法のいずれかに従つ

て結腸直腸癌治療の有効性をモニタリングする際に使用される上述のキットのいずれも本明細書で企図される。

#### 【0014】

さらに、個体における結腸直腸癌のリスクを評価するように構成されたコンピュータシステムが本明細書で企図される。いくつかのそのようなコンピューターシステムは、循環血液を含む生体サンプルからのA A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、C A T D、C E A、およびS E P Rからなるリストから選択された少なくとも5つのタンパク質を含むタンパク質のパネルの測定値を含むデータを受信するための記憶装置と、タンパク質の上記パネルの上記測定値に関連する結腸直腸癌のリスクを評価するためのコンピューターで実行可能な命令と、タンパク質の上記パネルの上記測定値に関連する上記結腸直腸癌のリスクを評価する報告書を伝えるための出力装置とを含む。随意に、上記パネルは、A A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、C A T D、C E A、およびS E P Rからなるリストから選択された少なくとも6つのタンパク質を含む。随意に、上記パネルは、わずか12のタンパク質しか含まず、その少なくとも5つのタンパク質は、A A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、C A T D、C E A、およびS E P Rからなるリストから選択される。随意に、上記パネルはわずか12のタンパク質しか含まず、タンパク質のパネルはA A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、C A T D、C E A、およびS E P Rを含む。随意に、上記パネルは、A A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、C A T D、C E A、およびS E P Rからなる。随意に、記憶装置は、タンパク質の第2のパネルの測定値を含むデータを受け取るために構成される。随意に、タンパク質のパネルの測定値を含む上記データはE L I S Aデータを含む。随意に、タンパク質のパネルの測定値を含む上記データは質量分析法データを含む。随意に、結腸直腸癌のリスクを評価する工程は、上記データを既知の結腸直腸癌状態に関連する基準パネルと比較する工程を含む。随意に、上記データが上記基準パネルとは著しく異なる場合、上記個体は、既知の結腸直腸癌状態を割り当てられる。随意に、上記基準パネルは、結腸直腸癌の存在を示す。随意に、上記基準パネルは、結腸直腸癌の欠如を示す。随意に、結腸直腸癌のリスクを評価する工程は、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる。随意に、上記記憶装置は既知の結腸直腸癌状態に対応する少なくとも1つの基準パネル情報セットを含む。随意に、少なくとも1つの基準パネル情報セットは機械学習モデルを含む。機械学習モデルが既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも100のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、コンピューターシステムも企図される。随意に、上記報告書は、少なくとも81%の感度と少なくとも78%の特異度を示す。随意に、上記報告書は、少なくとも81%の感度を示す。随意に、上記報告書は、少なくとも78%の特異度を示す。随意に、上記報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する。随意に、上記報告書は独立した外科的介入を推奨する。随意に、上記報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、上記報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、上記報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する。随意に、上記報告書は継続的なモニタリングを推奨する。上記個々の基準パネル情報の少なくとも1つのパラメータが、上記基準パネル情報セットからの対応する値と著しく異なり、上記個々の基準パネル情報が上記基準パネル情報セットとは著しく異なる、本明細書に記載されるコンピューターシステムもさらに企図される。随意に、上記パネルのいかなる単一のタンパク質も、65%を越える特異度あるいは65%を越える感度の個体の結腸直腸癌状態を示さない。随意に、記憶装置は上記個体から年齢情報を受け取るように構成される。随意に、タンパク質の上記パネルの上記測定値と関連して上記結腸直腸癌のリスクを評価する場合、コンピューターで実行可能な命令は個体の年齢を計算に入れる。

#### 【0015】

さらに、個体における進行腺腫リスク状態を評価する方法が本明細書で提供される。さらに、個体の血液サンプル中で進行腺腫リスク状態を評価する方法が本明細書で提供される。いくつかのそのような方法は個体から循環血液サンプルを得る工程と、上記個体からのバイオマーカーパネル情報を含めるために、C A T D、C L U S、G D F 1 5、および

10

20

30

40

50

S A A 1 の少なくとも 3 つを含むサンプル中の進行腺腫に関連するタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを得る工程と、上記個体からの上記パネル情報を、既知の進行腺腫状態に対応する基準パネル情報セットと比較する工程と、および、上記個々の基準パネル情報が上記基準パネル情報セットとは著しく異なる場合、上記個体を上記進行腺腫リスク状態を有していないと分類する工程とを含む。こうした方法の様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせて企図される。本明細書に記載される方法は、個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含む、循環血液サンプルを得る工程を含むように企図される。随意に、パネル情報は、個体の年齢情報を含む。随意に、タンパク質のリストはわずか 15 のタンパク質しか含まない。随意に、タンパク質のリストはわずか 5 つのタンパク質しか含まない。随意に、タンパク質のリストは C A T D 、 C L U S 、 G D F 15 、および S A A 1 を含む。随意に、分類する工程は少なくとも 50 % の感度と少なくとも 80 % の特異度を有する。随意に、分類する工程は少なくとも 47 % の感度と少なくとも 83 % の特異度を有する。随意に、分類する工程は少なくとも 47 % の感度と少なくとも 80 % の特異度を有する。随意に、本明細書に記載される方法は、医療従事者に上記分類する工程の結果の報告書を送信する工程を含む。随意に、報告書は、少なくとも 47 % の感度を示す。随意に、報告書は、少なくとも 50 % の感度を示す。随意に、報告書は、少なくとも 80 % の特異度を示す。随意に、報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する。随意に、個体は結腸内視鏡検査を受ける。随意に、報告書は独立した外科的介入を推奨する。随意に、個体は独立した外科的介入を受ける。随意に、報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、個体は独立した癌アッセイを受ける。随意に、報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、個体は便の癌アッセイを受ける。随意に、報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する。随意に、抗癌組成物は個体に投与される。随意に、報告書は継続的なモニタリングを推奨する。上記個々の基準パネルの少なくとも 1 つのパラメータが上記基準パネルセットからの対応する値と著しく異なり、および、上記個々の基準パネル情報が全体として上記基準パネル情報セットとは著しく異なる、方法も企図される。随意に、上記個々の基準パネル情報のいかなるパラメータも独立して 65 % を越える感度あるいは 65 % を越える特異度で上記個体の上記進行腺腫状態を示さない方法が企図される。随意に、タンパク質レベルを得る工程は、抗体のセットに循環血液サンプルの画分を接触させる工程を含み、ここで抗体のセットは C A T D 、 C L U S 、 G D F 15 、および S A A 1 に特異的な抗体を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらす工程を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程はタンパク結合 D N A アプタマーへサンプルを接触させる工程を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程は抗体アレイへサンプルを接触させる工程を含む。随意に、上記比較する工程と上記分類する工程の少なくとも 1 つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる。随意に、既知の進行腺腫状態に対応する上記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む。随意に、機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも 100 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される。

#### 【 0016 】

さらに、個体における進行腺腫治療レジメンの有効性をモニタリングする方法が本明細書で提供される。いくつかのこうした方法は、第 1 の時点で個体からの血液を循環させる工程を含む、第 1 のサンプルを得る工程と、個体へ治療レジメンを施す工程と、第 2 の時点で個体からの血液を循環させる工程を含む第 2 のサンプルを得る工程と、第 1 のサンプル中の進行腺腫評価に関するタンパク質のリストに関する第 1 のパネルレベルタンパク質レベルと、第 2 のサンプル中の進行腺腫評価に関するタンパク質のリストに関する第 2 のパネルレベルタンパク質レベルを得る工程であって、上記リストが、上記第 1 のサンプルと上記第 2 のサンプルに関するパネル情報を含めるために C A T D 、 C L U S 、 G D F 15 、および S A A 1 を含む工程を含み、タンパク質レベルの変動は、進行腺腫治療の有効性を示す。さらに、個体における進行腺腫治療の有効性をモニタリングするエクスピボの方法が本明細書で提供される。いくつかのこうした方法は、第 1 の時点で個体からの

10

20

30

40

50

血液を循環させる工程を含む、第1のサンプルを得る工程と、第2の時点で進行腺腫治療を受ける同じ個体からの循環血液を含む第2のサンプルを得る工程と、第1のサンプル中のタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを含む第1のパネルレベルと、第2のサンプル中のタンパク質のリストに関するタンパク質レベルを含む第2のパネルレベルを得る工程であって、上記リストが上記第1のサンプルと上記第2のサンプルに関するパネル情報を含めるためにCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含む、工程とを含み、タンパク質レベルの変動は結腸直腸癌治療の有効性を示す。こうした方法の様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせで企図される。第1のサンプルを得る工程が個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含む方法も含まれている。随意に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンは、医薬組成物の投与を含む。随意に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンは、化学療法剤の投与を含む。随意に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンは結腸内視鏡検査を含む。随意に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンはポリープ切除を含む。随意に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンは放射線療法を含む。上記第1のサンプルタンパク質レベルと上記第2のパネルタンパク質レベルを、健全な基準のタンパク質レベルと比較する工程を含む方法も企図され、健全な基準のタンパク質レベルにより類似する第2のサンプルレベルは、進行腺腫治療の有効性を示す。随意に、上記第1のサンプルタンパク質レベルと上記第2のパネルタンパク質レベルを、進行腺腫基準のタンパク質レベルと比較し、進行腺腫基準のタンパク質レベルにより類似する第1のサンプルレベルは、進行腺腫治療の有効性を示す。随意に、進行腺腫評価に関連するタンパク質のリストはCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含む。随意に、進行腺腫評価に関連するタンパク質のリストはわずか12のタンパク質しか含まない。随意に、進行腺腫評価に関連するタンパク質のリストはわずか8つのタンパク質しか含まない。随意に、進行腺腫評価に関連するタンパク質のリストはCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1からなる。随意に、本明細書に記載される方法は、いかなる有効性も示されない場合に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンを変更する工程を含む。さらに、いかなる有効性も示されない場合に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンを繰り返す工程を含む方法も本明細書で企図される。随意に、方法は、いかなる有効性も示されない場合に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンを継続する工程を含むように企図される。随意に、方法は、有効性が示される場合に、進行腺腫治療あるいは治療レジメンを中止する工程を含むように企図される。

#### 【0017】

さらに、個体の進行腺腫状態を示すタンパク質のパネルも本明細書で提供される。いくつかのそのようなパネルは、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1からなるリストから選択された進行腺腫評価に関連する少なくとも3つのタンパク質を含むように企図され、ここで、個体の循環血液からの基準パネルとは著しく異なるレベルのパネルの測定値は、少なくとも50%の感度と少なくとも80%の特異度の基準パネル進行腺腫状態に対応するその個体の進行腺腫状態を示し、ここで、上記パネルのいかなる構成タンパク質レベルも、65%を越える感度と65%を越える特異度の個体の進行腺腫状態を示さない。パネルは進行腺腫評価CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1に関連するタンパク質を含むように企図される。

#### 【0018】

さらに、抗体パネルを含むキットが本明細書で提供され、上記抗体は、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1からなるリストから選択された進行腺腫評価のための少なくとも3つのタンパク質を同定する抗体を含む。これらのキットの様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせで企図される。キットは制御タンパク質に結合する抗体を含むように企図される。随意に、キットはわずか15の抗体しか含まない。随意に、キットはわずか12の抗体しか含まない。随意に、上記抗体パネルは、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1のすべてを同定する抗体を含む。随意に、キットは、患者の進行腺腫状態を評価するためのキットの使用に機能的に関連する説明書を含む。さらに、上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌状態を評価する際に、

10

20

30

40

50

あるいは上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌治療の有効性をモニタリングする際に使用されるタンパク質の上述のパネルのいずれかも本明細書で企図される。さらに、上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌状態を評価する際に、あるいは上記の方法のいずれかに従って結腸直腸癌治療の有効性をモニタリングする際に使用される上述のキットのいずれも本明細書で企図される。

#### 【0019】

さらに本明細書では、個体における進行腺腫のリスクを評価するように構成されたコンピューターシステムも企図される。いくつかのそのようなコンピューターシステムは、循環血液を含む生体サンプルからのCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1からなるリストから選択された少なくとも3つのタンパク質を含むタンパク質のパネルの測定値を含むデータを受信するための記憶装置と、タンパク質の上記パネルの上記測定値に関連する進行腺腫のリスクを評価するためのコンピューターで実行可能な命令と、タンパク質の上記パネルの上記測定値に関連する上記進行腺腫のリスクを評価する報告書を伝えるための出力装置とを含む。<sup>10</sup> 隨意に、上記パネルはCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含む。随意に、上記パネルは、わずか12のタンパク質しか含まず、その少なくとも5つのタンパク質は、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRからなるリストから選択される。<sup>20</sup> 隨意に、パネルがわずか12のタンパク質しか含まず、ここでタンパク質のパネルはCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含む。随意に、上記パネルは、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1からなる。<sup>30</sup> 隨意に、記憶装置は、タンパク質の第2のパネルの測定値を含むデータを受け取るために構成される。随意に、タンパク質のパネルの測定値を含む上記データはELISAデータを含む。随意に、進行腺腫のリスクを評価する工程は、上記データを、既知の進行腺腫状態に関連した基準パネルと比較する工程を含む。随意に、上記データが上記基準パネルとは著しく異なる場合、上記個体は、既知の進行腺腫状態を割り当てられる。随意に、上記基準パネルは進行腺腫の存在を示す。随意に、上記基準パネルは進行腺腫の欠如を示す。随意に、進行腺腫のリスクを評価する工程は基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる。<sup>40</sup> 随意に、上記記憶装置は、既知の進行腺腫状態に対応する少なくとも1つの基準パネル情報セットを含む。随意に、少なくとも1つの基準パネル情報セットは機械学習モデルを含む。機械学習モデルが既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも100のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、コンピューターシステムも企図される。随意に、上記報告書は、少なくとも50%の感度と少なくとも80%の特異度を示す。随意に、上記報告書は、少なくとも50%の感度を示す。随意に、上記報告書は、少なくとも80%の特異度を示す。随意に、上記報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する。随意に、上記報告書は独立した外科的介入を推奨する。随意に、上記報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、上記報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、上記報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する。随意に、上記報告書は継続的なモニタリングを推奨する。上記個々の基準パネル情報の少なくとも1つのパラメータが、上記基準パネル情報セットからの対応する値と著しく異なり、上記個々の基準パネル情報が上記基準パネル情報セットとは著しく異なる、本明細書に記載されるコンピューターシステムもさらに企図される。随意に、上記パネルのいかなる単一のタンパク質も、65%を越える特異度あるいは65%を越える感度で個体の進行腺腫状態を示さない。随意に、記憶装置は上記個体から年齢情報を受け取るように構成される。随意に、タンパク質の上記パネルの上記測定値と関連して上記進行腺腫のリスクを評価する場合、コンピューターで実行可能な命令は個体の年齢を計算に入れる。

#### 【0020】

さらに、個体における結腸直腸の健康リスク状態を評価する方法が本明細書で提供される。さらに、個体の血液サンプル中の結腸直腸の健康リスク状態を評価するエクスピボの方法が本明細書で提供される。こうしたいくつかの方法は、個体から循環血液サンプルを

10

20

30

40

50

得る工程；A A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、C E A、C A T D、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1を含むサンプル中のタンパク質のリストを含むバイオマーカーパネルに関するバイオマーカーパネルレベルを得る工程であって、A A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、C E A、C A T D、および年齢が上記個体からの結腸直腸癌パネル情報を含み、ならびに、C A T D、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1が上記個体からの進行腺腫パネル情報を含む、工程と、上記個体からの上記結腸直腸癌パネル情報を、既知の結腸直腸癌状態に対応する基準結腸直腸癌パネル情報セットと比較する工程と、上記個体からの上記進行腺腫パネル情報を、既知の進行腺腫状態に対応する基準進行腺腫パネル情報セットと比較する工程と、上記結腸直腸癌パネルまたは上記進行腺腫パネルのいずれかが結腸直腸の健康のリスクに対して陽性である基準パネルとは著しく異なる場合に、上記個体を結腸直腸の健康のリスクを有すると分類する工程とを含む。こうした方法の様々な態様が以下に詳述され、特徴的なものとして、あるいは組み合わせて企図される。本明細書に記載される方法は、個体の静脈または動脈から血液を採取する工程を含む、循環血液サンプルを得る工程を含むように企図される。随意に、パネル情報は、個体の年齢情報を含む。随意に、タンパク質のリストはわずか20のタンパク質しか含まない。随意に、タンパク質のリストはわずか11のタンパク質しか含まない。随意に、分類する工程は少なくとも80%の感度と少なくとも50%の特異度を有する。随意に、分類する工程は少なくとも80%の感度と少なくとも47%の特異度を有する。随意に、分類する工程は少なくとも83%の感度と少なくとも47%の特異度を有する。随意に、本明細書に記載される方法は、医療従事者に上記分類する工程の結果の報告書を送信する工程を含む。随意に、報告書は、少なくとも8%の感度を示す。随意に、報告書は、少なくとも50%の特異度を示す。随意に、報告書は、結腸内視鏡検査を行うことを推奨する。随意に、個体は結腸内視鏡検査を受ける。随意に、報告書は独立した外科的介入を推奨する。随意に、個体は独立した外科的介入を受ける。随意に、報告書は独立した癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、個体は独立した癌アッセイを受ける。随意に、報告書は便の癌アッセイを受けることを推奨する。随意に、個体は便の癌アッセイを受ける。随意に、報告書は抗癌組成物を投与することを推奨する。随意に、抗癌組成物は個体に投与される。随意に、報告書は継続的なモニタリングを推奨する。上記個々の基準パネルの少なくとも1つのパラメータが上記基準パネルセットからの対応する値と著しく異なり、および、上記個々の基準パネル情報が全体として上記基準パネル情報セットとは著しく異なる、方法も企図される。随意に、上記個々の基準パネル情報のいかなるパラメータも独立して65%を越える感度あるいは65%を越える特異度で上記個体の上記進行腺腫状態を示さない方法が企図される。随意に、タンパク質レベルを得る工程は、抗体のセットへ循環血液サンプルの画分を接触させる工程を含み、ここで抗体のセットはA A C T、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、C E A、C A T D、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1に特異的な抗体を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらす工程を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程はタンパク結合D N A アプタマーへサンプルを接触させる工程を含む。随意に、タンパク質レベルを得る工程は抗体アレイへサンプルを接触させる工程を含む。随意に、上記比較する工程と上記分類する工程の少なくとも1つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で行われる。随意に、既知の進行腺腫状態に対応する上記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む。随意に、機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に対応する少なくとも100のバイオマーカーパネルを使用して訓練される。

#### 【0021】

進行性の結腸直腸腺腫と結腸直腸癌の少なくとも1つの診断および/または処置のための方法、組成物、キット、コンピューターで読み取り可能な媒体、およびシステムが本明細書で提供される。本明細書で提供される方法と組成物を介して、サンプルは進行性の結腸直腸腺腫あるいは結腸直腸癌のリスクのある個体などの個体から採取される。サンプルはタンパク質などのマーカーのパネル（例えば、本明細書で開示されたパネル中のマーカー

10

20

30

40

50

を含む、あるいは該マークーからなるマークーのパネル)の蓄積レベルを決定するために分析される。多くの場合、パネルは、進行性の結腸直腸腺腫あるいは結腸直腸癌の存在を示す際に個々に役割を果たすと知られているタンパク質を含むが、他の場合では、パネルは進行性の結腸直腸腺腫あるいは結腸直腸癌と相關することが知られていないタンパク質(複数可)を含む。しかしながら、すべての場合で、マークーを同定してパネルへ蓄積すると、個体マークー、あるいは少ないセットまたは精度の低いセットのマークーの特異度、感度、あるいは特異度と感度をかなり上回る特異度、感度、あるいは特異度と感度のレベルをもたらす。

#### 【0022】

さらに、本明細書で開示される方法、パネル、および他の試験は、現在利用可能な血液ベースの試験などの現在利用可能な試験の感度、特異度、あるいは感度と特異度を著しく上回る。パネル蓄積レベルは、例えば、ELISAアッセイによって、質量分光法分析によって、あるいはタンパク質蓄積レベル定量化に変わる代替的な手法によって、様々な実施形態において多くの方法で測定される。

10

#### 【0023】

分析された個体の健康状態に関する予測が立てられるように、パネル蓄積レベルは、陽性対照または陰性対照の基準、あるいは進行性の結腸直腸腺腫または結腸直腸癌の蓄積レベルまたは健康な蓄積レベルのモデルと比較される。場合によっては、パネルアッセイ結果は、介入あるいはパネルアッセイ結果の代替的な立証に関する推薦を伴う。

20

#### 【0024】

本明細書では、進行性の結腸直腸腺腫と結腸直腸癌の少なくとも1つの診断および/または処置に役立つバイオマークーパネルとアッセイが提供される。

#### 【0025】

本明細書では、本明細書に記載されるコンピューターで読み取り可能な媒体と、コンピューターで読み取り可能な媒体を使用するための説明書とを含むキットも提供される。

#### 【0026】

化学療法、生物学的な治療薬の投与、および低位前方切術または腹会陰切開などの外科的介入、あるいはオストミーなどの多くの治療レジメンが本明細書で企図され、当業者に知られている。

30

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0027】

【図1】バイオマークーパネル開発パイプラインを描く。

【図2】リードCRCパネルのAUC曲線を例証する。

【図3】リードAAパネルのAUC曲線を例証する。

【図4】リードCRCパネルの検証データを提示する。

【図5】CRCと健康な対象サンプルにおけるバイオマークータンパク質からのタンパク質レベルを提示する。

【図6】AAと健康な対象サンプルにおけるバイオマークータンパク質からのタンパク質レベルを提示する。

40

【図7A】CRCモデル1の発見ROC AUCプロットを例証する。

【図7B】CRCモデル1の検証ROC AUCプロットを例証する。

【図8A】CRCモデル2の発見ROC AUCプロットを例証する。

【図8B】CRCモデル2の検証ROC AUCプロットを例証する。

【図9A】CRCモデル3の発見ROC AUCプロットを例証する。

【図9B】CRCモデル3の検証ROC AUCプロットを例証する。

【図10A】CRCモデル4の発見ROC AUCプロットを例証する。

【図10B】CRCモデル4の検証ROC AUCプロットを例証する。

【図11A】CRCモデル5の発見ROC AUCプロットを例証する。

【図11B】CRCモデル5の検証ROC AUCプロットを例証する。

50

【図12A】CRCモデル6の発見ROC AUCプロットを例証する。

【図12B】CRCモデル6の検証ROC AUCプロットを例証する。  
 【図13A】CRCモデル7の発見ROC AUCプロットを例証する。  
 【図13B】CRCモデル7の検証ROC AUCプロットを例証する。  
 【図14A】CRCモデル8の発見ROC AUCプロットを例証する。  
 【図14B】CRCモデル8の検証ROC AUCプロットを例証する。  
 【図15A】CRCモデル9の発見ROC AUCプロットを例証する。  
 【図15B】CRCモデル9の検証ROC AUCプロットを例証する。  
 【図16A】CRCモデル10の発見ROC AUCプロットを例証する。  
 【図16B】CRCモデル10の検証ROC AUCプロットを例証する。

【図17A】CRCモデル5の発見ROC AUCプロットをNOCで例証する。 10

【図17B】CRCモデル5の検証ROC AUCプロットをNOCで例証する。

【図18】CRCモデル1-10の最大精度プロットを例証する。

【図19】本明細書で開示される方法、組成物、キット、およびシステムと一致するコンピュータシステムアーキテクチャを描く。

【図20】標的とされたMS濃縮バイオマーカー母集団から任意に生成されたCRCパネルに対するAUC値を提示する。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0028】

本明細書では、例えば、進行性の結腸直腸腺腫（「AA」）と結腸直腸癌（「CRC」）の少なくとも1つの検出によって、結腸直腸の健康の非侵襲的評価のためのバイオマーカーパネル、方法、組成物、キット、およびシステムが記載されている。本明細書に記載されるバイオマーカーパネル、方法、組成物、キット、およびシステムは、被験体が、循環血液から得られたサンプルの非侵襲的アッセイによって進行性の結腸直腸腺腫とCRCの少なくとも1つなどの結腸直腸状態を抱えている可能性を判定するために使用される。いくつかのこうしたバイオマーカーパネルは81%以上もの感度と78%以上の特異度で結腸直腸癌などの結腸直腸の健康問題とを検知するために非侵襲的に使用される。典型的なCRCバイオマーカーパネルは、マーカーAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRと、サンプルを提供する個体の年齢の非タンパク質バイオマーカーを含む。いくつかのそのようなバイオマーカーパネルは、50%以上もの感度と80%以上の特異度で進行腺腫などの結腸直腸の健康問題を検知するために非侵襲的に使用される。進行腺腫評価に関連する典型的なバイオマーカーパネルは、マーカーCATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含む。 20

##### 【0029】

本明細書で開示されるようなバイオマーカーパネルは、循環血液に由来するタンパク質レベル情報を単独で、あるいは、個体の年齢、性別、健康履歴、あるいは他の特徴などの他の情報と組み合わせて用いて、個体の結腸直腸の健康に関する感度の高い特異的な結論が下されるという特性を共有する。本タンパク質パネルの利点は、都合よく非侵襲的に得られたサンプルを用いて、パネルが感度の高い特異的な結腸直腸の健康状態評価を提供するということである。結腸内視鏡検査またはS状結腸鏡検査などの侵入的な腹部アッセイから、あるいは糞便サンプル材料から得られたデータに頼る必要はない。結果として、コンプライアンス率は著しく高まり、結腸直腸の健康問題は進行初期でより容易に認識され、その結果、当該問題がより効率的に処置される。結局、この利点の効果は救済された生命で測られ、実質的である。 30

##### 【0030】

本明細書で開示されるようなバイオマーカーパネルは、パネルとしてのその予測値が、その個々のメンバーの予測値よりも実質的に大きくなるように選択される。パネルメンバーは、パネルの全体的な健康シグナルに独立して貢献するように、一般に互いに共変動しない。これに応じて、商業上および医学的に関連する信頼度（感度、特異度、あるいは感度と特異度など）が得られるように、パネルは、個体の結腸直腸の健康状態を示す任意の個々の構成要素のパフォーマンスを大幅に上回ることができる。したがって、本明細書で 40

10

20

30

40

50

開示されるようなパネルでは、健康問題を示す複数のパネルメンバーは、例えば、派生するシグナルが効果的な単一のシグナルで2度繰り返されるように2つ以上のメンバーが正確に一致して上昇または下降するパネルにおいて、見られるよりもはるかに強力なシグナルを提供する。これに応じて、本明細書で開示されるようなパネルは単一の構成要素測定値の変動に対して頑強である。例えば、パネルメンバーが互いとは無関係に変わるために、本明細書に記載されるパネルは、パネルの1以上の個々のメンバーは単独で測定される場合には健康リスクが存在するとは示さないという事実にもかかわらず、しばしば健康のリスクを示す。場合によっては、本明細書に記載されるパネルは、いかなる個々のパネルメンバーもそれ自体では有意なレベルの信頼度で健康のリスクを示さないという事実にもかかわらず、有意なレベルの信頼度で健康のリスクを示す。場合によっては、本明細書に記載されるパネルは、少なくとも1つの個々のメンバーが健康のリスクが存在しないことを有意なレベルの信頼度で示すという事実にもかかわらず、有意なレベルの信頼度で健康のリスクを示す。

10

#### 【0031】

本明細書に記載されるパネルと一致するバイオマーカーは、タンパク質などの個体の血流中で循環する生体分子を含む。さらに、個体の年齢、性別、体重、伸張、肥満度指数、あるいは他の容易に測定されるか得られる情報などの容易に入手可能な情報は、場合によって、マーカーとしても適格である。とりわけ、本明細書に記載されるパネルの一部は、バイオマーカーとして年齢、性別、あるいは年齢と性別を頼りにする。

20

#### 【0032】

本明細書に記載される多くのバイオマーカーに共通することは、それらが個体で容易に分析されることである。本明細書に記載されるバイオマーカーは、個体の動脈または静脈から採血によって容易に得られるか、あるいは問診によって、あるいは簡単な生体分析によって得られる。本明細書に記載されるバイオマーカーを容易に得る利点は、結腸内視鏡検査またはS状結腸鏡検査などの侵襲的アッセイがバイオマーカー測定に必要ではないということである。同様に、糞便サンプルもバイオマーカー測定には不要である。その結果、本明細書で開示されるようなパネル情報はしばしば診療室への訪問と組み合わせて採血によって容易に得られる。従って、コンプライアンス率は糞便サンプルまたは侵襲的処置を含む結腸直腸の健康アッセイのコンプライアンス率よりもかなり高い。

30

#### 【0033】

本明細書で開示される典型的なパネルは、その親タンパク質に認識可能にあるいは一意にマッピングされる循環タンパク質あるいはそのフラグメントを含み、場合によっては、個体の年齢などの容易に得られるバイオマーカーを含む。

#### 【0034】

他のバイオマーカーパネルに関連する本明細書で開示されるパネルの特徴

本明細書で開示されるパネルは個体マーカーあるいは任意に生成されたパネルよりも大幅に優れている。本明細書に記載されるパネルの少なくとも一部のメンバーは癌に関与するが、本明細書に記載されるパネルは任意の当該技術から無作為に由来するパネルよりもはるかに優れている。このことは、個々のメンバー、無作為に生成されたパネルと比較して、および任意の個々の健康状態評価のための個体マーカーの予測不可能性を考慮して、パネルパフォーマンスの調査によって任意に例証される。

40

#### 【0035】

パネルは、文献から選択された187の潜在的なバイオマーカーの元々の候補プールから構築された。図1を参照する。274人のメンバーの年齢と性別の一致した発見サンプルセットを使用して、標的とされた質量分光法を用いて、発見サンプルセットの274人のメンバーの健康状態とともに共変動する元々のセットから28のバイオマーカーを同定する。この28のメンバーは187のメンバーの元々の候補プールの無作為選択ではなく、28のメンバーは当該技術分野の任意の教示に基づいて、元々の187のメンバー候補プールから選択されなかった。

#### 【0036】

50

28のメンバーセットは別の年齢と性別の一一致した300のメンバーサンプルセットに対してテストされ、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む8つのメンバーパネルなどの本明細書で開示されるようなCRCパネルにたどり着いた。このパネルや同様のパネルは元々の187のメンバー候補プールから選択されたが、他の候補プール構成要素の排除と組み合わせると特に効果的であるとは教示されていない。むしろ、発明者自身のパネル構築と健康状態予測に対する洞察力と組み合わせて、独立して派生したサンプルを繰り返し分析してパネルに到達する。

#### 【0037】

図2は、本明細書に由来するリードCRCパネルのAUCプロットを描く。AUCプロットは、この図の対角線によって描かれるように、CRCパネルが無作為の偶然よりもはるかによく機能していることを明白に例証する。図3は、本明細書に由来するリードAAパネルのAUCプロットを描く。AUCプロットは、この図の対角線によって描かれるように、AAパネルが無作為の偶然よりもはるかによく機能していることを明白に例証する。

10

#### 【0038】

本明細書に記載されるバイオマーカーパネルは、187のメンバー候補プールのように、一般に癌に個々に関与するバイオマーカーの任意の無作為選択よりもはるかに良く機能する。すなわち、当業者が文献で入手可能なバイオマーカーのリストから始めて、個体における結腸直腸癌あるいは進行腺腫などの結腸直腸の健康問題を分析するために使用するバイオマーカーパネルを無作為に集める場合、あるいは当業者に入手可能な教示を考慮して集める場合ですら、当業者は本明細書で開示されるようなバイオマーカーにたどり着くことはない。本明細書で開示されるバイオマーカーパネルは、無作為に選択されたパネルや当該技術を考慮して選択されたパネルよりもはるかに優れている。

20

#### 【0039】

本明細書に記載されるバイオマーカーパネルは、187のメンバー候補プールなどの、一般に癌に個々に関与する任意の個々の構成要素マーカーよりもはるかに良く機能する。いくつかの個体バイオマーカーはCRCあるいは進行腺腫を示すが、本明細書で開示されるようなバイオマーカーパネルをはるかに下回る感度と特異度である。列挙されていない、あるいは本明細書の開示から当業者には容易に明白ではない個体バイオマーカーあるいはバイオマーカーの組み合わせを使用することは、本開示に準じて企図されていない。

30

#### 【0040】

図5と6を参照する。これらの図では、個々のタンパク質レベルは、CRC(図5)あるいはAA(図6)で陽性あるいは陰性のサンプル間で比較される。これらの図で提示されたタンパク質は無作為に選択されておらず、むしろ、これらのタンパク質は、癌健康状態の評価に関連する潜在性があるとして当該技術分野で同定された187のタンパク質リストの中から同定された28のタンパク質のMS濃縮セットから選択される。それぞれの対のボックスプロットについては、健康なサンプルレベルは左または上にあり、CRCまたはAAの陽性のタンパク質レベルは、「横方向」から見ると右または下に描かれている。個々のタンパク質マーカーの大部分については、陽性状態と陰性状態のタンパク質レベルの間に差はほとんどない。レベルは同一ではないが、その差は、最も大きい場合でも、とりわけ当業者が結腸直腸の健康状態の評価の基にするレベルでは有意であるように当業者には見えない。図5のCEA、CRP、あるいはGARSのレベルなどの少数の例外はあるが、列挙されたタンパク質レベルは、疾患と非疾患のサンプルの間で非常に類似している。とりわけ、代表的な例として、図5のA1AG1、A1AT、AACT、ANAX1、APOA1、CAH1、CO9、GELS、HTP、OSTP、あるいはPSGLを参照する。図6の状況は非常に類似しており、個々のタンパク質レベルは陽性状態と陰性状態の個体の間でまれにしか非常に著しく異なっていない。

40

#### 【0041】

この標的とされたMS濃縮セットからでさえ、いかなる個体マーカーも本明細書で提示されるパネルと同様に機能するとは予想されることは図5と図6から明らかである。さ

50

らに、タンパク質レベルの組み合わせが本明細書で開示されるようなパネルのパフォーマンスに到達するように相乗効果を有し得るということは図5あるいは図6に提示されたタンパク質レベルからはほとんど提案されていない。

#### 【0042】

タンパク質マーカーの凝集だけでは、本明細書で開示されるパネルのパフォーマンスのレベルは達成されない。以下の実施例21を参照する。無作為のパネルは28のマーカーの標的とされたMS濃縮セットから生成され、そのパフォーマンスは、本明細書に記載されるパネルのパフォーマンスと比較される。濃縮された28のメンバーは、濃縮されていない親の187マーカーセットから生成されたものよりもはるかによく機能するパネルをもたらすことは既に予想されている。本明細書に記載されるパネル、特に、8-10のメンバーのパネルは、示されるように、タンパク質マーカーの既に濃縮されたセットから無作為に生成されたパネルよりもはるかに優れていることが分かる。こうした無作為なパネルは、癌検出に関連するとして当該技術分野で言及されるような187のメンバーリストから既に濃縮されているため、当業者が当該技術分野から到達することになるパネルを表していない。したがって、28のマーカーセットから無作為に生成されたパネルで見られるレベルに匹敵するパフォーマンスでも、より一般に明白なパネルをはるかに上回る改良を表す。しかしながら、本明細書に記載されるパネルは一般に(AAリードパネル)に一致し、あるいは28のマーカーの濃縮されたセットからの任意に生成されたパネルの最大でほぼ100%よりもはるかによく機能することが頻繁にある。再度、実施例21を参照する。

10

20

30

#### 【0043】

本明細書に記載されるバイオマーカーパネルは、単にその個々の構成要素の収集よりもっと信頼でき、感度が高く、より特異的な結果をもたらす。すなわち、場合によっては、個体バイオマーカーは、医学的に関連する感度と特異度の程度で個々に有益でないレベルで検知されるが、バイオマーカーパネルのレベルは、それにもかかわらず、医学的にすぐに使用可能な信頼度で結腸直腸の健康状態評価を与える。場合によっては、いかなるパネルの個体バイオマーカーも、経過観察を正当化する健康問題を個々に示すレベルでは存在しないが、本明細書で示されるように評価されたバイオマーカーパネルは、全体として、経過観察を正当化する健康問題を示す評価を与える。

#### 【0044】

本明細書に記載されるバイオマーカーは、場合によっては、その構成バイオマーカーのものとは質的に異なる結果をもたらす。すなわち、場合によっては、パネルの1つ以上の個体バイオマーカーは、矛盾するバイオマーカーを含む、パネルのレベルによって全体として示された健康状態に矛盾する結腸直腸の健康状態を個々に示すレベルで存在する。そのような場合、例えば、結腸内視鏡検査による、あるいは糞便サンプル分析による独立した健康状態評価は、矛盾する個体マーカーによって提供される健康状態評価よりもむしろ、パネル評価を支持するということがしばしば見られる。

#### 【0045】

以下の実施例22を参照する。この実施例において、CRCバイオマーカーパネルは、構成するバイオマーカーレベルを独立して見ることに起因する予測とは一致しない予測を提供する。とりわけ、タンパク質CO3は、2つのCRC陰性個体で観察されたCO3レベル間で中間にあるCRC陽性の個体(患者1)におけるレベルで測定される。もしパネルの一部としてではなくこれらのバイオマーカーを個々に記録している場合、当業者は、患者2と患者3のCO3レベルの間に含まれる患者1のCO3レベルを考慮して、患者1をCRC陽性、患者2と患者3をCRC陰性として記録することはないだろう。

40

#### 【0046】

しかしながら、本明細書で開示されるようなパネル分析を使用して、当業者は個々のパネルバイオマーカーの独立した検査により予想される結果とは質的に異なる結果に到達する。以下の実施例22で提示されるようなこのデータは、本明細書に記載されるパネルが単に定量的に優れているわけではないが、場合によっては、さらにその個体バイオマーカ

50

－構成要素と質的に異なることもあるという事実を強調する。

【0047】

これに応じて、本明細書で開示されたバイオマーカーパネルは、文献によって教示されるような候補マーカーの無作為の収集よりも優れて機能すると理解される。本明細書で開示されるバイオマーカーパネルはさらに統計的によりよく機能するものと理解され、場合によっては、その個体バイオマーカー構成要素が機能するよりも質的に異なるように機能し、バイオマーカーパネルからの健康状態の評価は全体としてより正確であるか、あるいは、場合によっては、1以上の個体バイオマーカー構成要素とは質的に異なる結果を提供する。

【0048】

パネル要素

いくつかのバイオマーカーパネルは、本明細書で列挙されるタンパク質マーカーの一部またはすべて、そのサブセット、あるいは列挙されたマーカーを、追加のマーカーあるいは生物学的パラメータと組み合わせて含む。結腸直腸癌評価に関連するリードバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、およびバイオマーカーとして年齢をさらに含む。進行腺腫評価に関連するリードバイオマーカーパネルは、以下から選択されたマーカーを含む：C A T D、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1。リードバイオマーカーパネル、あるいは結腸直腸癌と進行腺腫評価を兼ね備えた能力を有するバイオマーカーパネルの組み合わせは、A A C T、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、C A T D、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1などのバイオマーカーと、非タンパク質バイオマーカーとしての年齢、あるいは1つ以上のマーカーとともに排除されるか、または1つ以上のマーカーと取り換える少なくとも1つの個体マーカーを随意に有するそのサブセットを含んでいる。

【0049】

しばしば、結腸直腸癌バイオマーカーパネルと進行腺腫パネルを組み合わせて单一のキットあるいは単一のバイオマーカーパネルにすることが好都合または効率的である。こうした場合、当業者は、A A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1を含む11のバイオマーカー、あるいはそのサブセットまたは大きなセットを含むをキットを理解し、A A C T、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、およびS E P R、あるいはこれらのマーカーを含むサブセットまたはより大きなグループは、結腸直腸癌状態に関して有益であり、C L U S、G D F 1 5、およびS A A 1、あるいはこれらのマーカーを含むサブセットまたはより大きなグループは、進行腺腫状態に関して有益であり、C A T Dは、含まれる場合には、結腸直腸癌状態と進行腺腫状態の両方に関して有益である。

【0050】

代替的な結腸直腸癌バイオマーカーパネルが以下に列挙される。上で議論されたパネルに良く似て、これらのパネル、あるいはサブセットまたは追加物は、進行腺腫および結腸直腸癌を示すために、C A T D、C L U S、G D F 1 5、あるいはS A A 1などのマーカーを随意に使用して、単独で、あるいは前述の進行腺腫パネルと組み合わせて用いられる。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A G 1、A 1 A T、C A T D、C E A、C O 9、O S T P × A g e、S E P R；O S T P × A g eは個々の年齢と組み合わせて見たときのO S T Pを示す。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A G 1、A 1 A T、A P O A 1、C A T D、C E A、C L U、C O 3、C O 9、F G B、F I B G、G A R S、G E L S、M I F、P R D X 1、P S G L、S B P 1、S E P R。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、

10

20

30

40

50

あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A G 1、A 1 A T、C A T D、C E A、C O 9、G A R S、S E P R。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A G 1、A 1 A T、A A C T、C A T D、C E A、C O 9、C R P、A A C T、C O 9、C R P、C R P、C R P、C R P、G E L S、S 1 0 A 8、S 1 0 A 9、S 1 0 A 9、G A R S、S A A 1、S E P R。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：C A T D、C E A、C O 3、C O 9、G A R S、G E L S、S E P R、T F R C。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：C A T D、C E A、A A C T、C O 9、S E P R。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A T、C 3 2 1 8 6 0 0、C 3 8 7 7 9 6、C 5 9 7 6 1 2、C 9 7 9 2 7 6、C A T D、C E A、G A R S、G E L S、S E P R。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A G 1、A 1 A T、C A T D、C E A、C O 9、S E P R、C A T D / S E P R、C A T D / G E L S、C O 9 / S E P R、A 1 A T / F I B G；「/」はバイオマーカーが1つのタンパク質あるいは他のバイオマーカーレベルの第2のタンパク質あるいは他のバイオマーカーレベルに対する比率を含むことを示す。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：C A T D、C E A、C O 3、C O 9、S 1 0 A 8、G E L S、S E P R、T F R C。典型的なバイオマーカーパネルは、少なくとも4つのマーカー、最大でリストのすべてを、単独で、あるいは追加のマーカーと組み合わせて含み、リストは以下から選択される：A 1 A G 1、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、G E L S、S E P R。本明細書で開示されるバイオマーカーパネルについて、追加のバイオマーカーまたは対照マーカーを含むパネルがそうであるように、1、2、3、あるいは約90%、80%、70%、60%、あるいは50%の詳述されたバイオマーカーを除くすべてを有する変異体も企図される。

#### 【0051】

バイオマーカーは、本明細書に記載される開示と一致する多くの手法によって測定される。多くの場合、バイオマーカーは、個体からの血液サンプル中のタンパク質あるいはタンパク質フラグメントが特異抗体に結合するE L I S Aアッセイで生じる相互作用などの免疫学的相互作用によって測定され、結合の程度はサンプル中のタンパク質存在量の尺度として定量化される。本明細書で開示されるようなバイオマーカーパネルを測定することができるE L I S Aアッセイは、キットとしての本開示の実施形態として企図される。

#### 【0052】

交互に、あるいは組み合わせて、バイオマーカーは必要に応じて、M S、M S / M S、M A L D I - T O F、あるいは他の質量分析アプローチなどの質量分析方法によって測定される。しばしば、M Sの手法は完全長のタンパク質よりもむしろバイオマーカーのフラグメントを定量化する。しかしながら、こうした手法は、本明細書で開示されるような結腸直腸の健康状態の評価に十分な精度でバイオマーカーのタンパク質レベルを判定するのに十分である。

#### 【0053】

パネルパフォーマンスの詳細の一部はアッセイ手法に依存しており、パネルの中には免疫学的あるいは質量分析アプローチを用いてわずかにより良く機能するものもある。しかしながら、多くの場合、パネルパフォーマンスがアッセイ方法にたいして依存しないことが観察され、免疫学的アッセイを用いてわずかにより良く機能するパネルはそれにもかか

10

20

30

40

50

わらず、質量分光分析を使用して分析されるとき、個体の結腸直腸の健康状態について有益であり、その逆もしかりである。

#### 【0054】

いったんバイオマーカーパネルの発現レベルが決定されると、結腸直腸の健康状態の評価は、サンプルを得る個体について入手可能である。個体のバイオマーカーパネル発現レベルから結腸直腸の健康状態の評価を生成するか該評価に到達するために、当業者は多くの手法を利用可能である。

#### 【0055】

一部の評価は、結腸直腸癌あるいは少なくとも1つの進行腺腫を抱える個体でそうであるように、良好な結腸直腸の健康状態にあると知られているか独立して証明された個体から、あるいは酷い結腸直腸の健康状態にあると知られているか独立して証明された個体からの基準バイオマーカーパネルレベルなどの基準レベルとの、個体のバイオマーカーパネルレベルの比較に依存する。交互にあるいは組み合わせて、個体のバイオマーカーパネルレベルは、共通の既知の結腸直腸の健康状態の複数の個体から構築された基準レベルと比較される。場合によっては、基準は複数の個体からの既知のパネルレベルの平均であるか、あるいは代替的に、基準個体で観察されたパネルレベルの範囲によって定義された範囲である。場合によっては、一般的な結腸直腸の健康状態を有している個体の間の異常値が、複数の、大部分の、またはすべてのパネルレベルに共通しているパネルレベルよりも予測値の低い値が与えられるように、範囲基準パネルレベルは重み付け範囲である。

10

#### 【0056】

より複雑な評価手法では、個体のバイオマーカーパネルレベルは、少なくとも10、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも500、あるいは少なくとも1000以上の個体などの、一般に知られている結腸直腸健康状態の多くの個体から構築された基準レベルと比較される。しばしば、基準個体は、結腸直腸癌で陽性および陰性、進行腺腫で陽性および陰性など、結腸直腸の健康状態で陽性および陰性の間の健康状態で均一に分布する。評価は、場合によっては、既知の健康状態の複数の基準と、個体のバイオマーカーパネルレベルの反復または同時の比較を含む。

20

#### 【0057】

交互にあるいは組み合わせて、個体のバイオマーカーパネルレベルと基準との間の単一の比較が、少なくとも10、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも500、あるいは少なくとも1000以上の個体などの一般に知られている結腸直腸の健康状態の非常に多くの個体からの情報を統合するか集める結果をもたらすように、複数の既知の基準バイオマーカーパネルレベルは、機械学習モデルなどの計算評価アルゴリズムを訓練するために使用される。そのような基準を作ることで、しばしば個体の結腸直腸の健康状態をはるかに速く評価できるか、あるいは少ない計算能力で評価することができる。

30

#### 【0058】

基準は、当業者に知られている多くの計算手法のいずれかによって複数の基準個体バイオマーカーレベルから生成される。機械学習モデルは、例えば、Rなどの任意の数の統計プログラミング言語、Pythonなどのスクリプト言語、関連する機械学習パッケージ、WekaまたはJava(登録商標)、Mathematica、Matlab、あるいはSASなどのデータマイニングソフトウェアを使用して容易に構築される。

40

#### 【0059】

個体のバイオマーカーパネルレベルは、上に生成されるような基準と、あるいは他の方法で当業者によって比較され、出力評価が生成される。多くの出力評価は、本明細書の開示と一致している。出力評価は、感度、特異度、あるいは感度と特異度のパラメータによってしばしば狭められる単一の評価を含み、これは結腸直腸の健康状態評価を示す。交互にあるいは組み合わせて、個体のバイオマーカーパネルレベルあるいはバイオマーカーパネルレベル評価を考慮して、結腸直腸の健康問題に苦しむ可能性の相対的な増加を示すオッズ比などの追加のパラメータが提供される。

#### 【0060】

50

結果は、個体に、健康管理の専門家あるいは他の専門家に種々に提供される。結果には、随意に、例えば、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、あるいは結腸直腸の健康のための他の補足アッセイなどの侵襲性の手法あるいは糞便サンプルアッセイを使用して、結腸直腸の健康状態評価を確認するか独立して評価する推薦などの健康上の推薦が伴う。

#### 【0061】

推薦は、情報を示すように、ポリープ切除、放射線療法、化学療法、抗体療法、バイオシミラー治療、あるいは他の治療レジメンなどの治療レジメンを示す情報、例えば、治療レジメンの成功または有効性を示す情報といった治療レジメンに関連する情報を随意に含んでいる。レジメンの有効性は、場合によっては、第1の時点で、随意に処置と後の第2の時点の前に、随意に処置例の後に、個体のバイオマーカーパネルレベルの比較によって評価される。バイオマーカーパネルレベルは互いに、基準に対して各々比較され、あるいは、さもなければ、治療レジメンを継続し、増やし、代替的なレジメンと交換し、あるいは結腸直腸癌あるいは進行腺腫などの結腸直腸の健康問題に対処することに成功したので中止しなければならないというように、治療レジメンが有効性を実証するかどうかを判定するために評価される。一部の評価は、処置の前の少なくとも1つの時点と、処置の後の少なくとも1つの時点などの複数の時点での個体のバイオマーカーパネルレベルの比較に依存する。バイオマーカーパネルレベルは、あるもの～別のもの、あるいは少なくとも1つの基準バイオマーカーパネルレベルに、あるいは両方～少なくとも1基準バイオマーカーパネルレベルに比較される。

10

#### 【0062】

20

#### 健康状態評価分析

本明細書に記載されるバイオマーカーパネル、方法、組成物、およびキットは、被験体から得られた生体サンプル中のバイオマーカーの検出あるいは測定に基づいた、進行性の結腸直腸腺腫とCRCの少なくとも1つ向けのアッセイを提供する。生体サンプルは、好みしくは個体の動脈または静脈から採取された血液サンプルである。血液サンプルは、全血サンプル、血漿サンプル、または血清サンプルであり得る。本明細書で提供される開示は、医学的にすぐに使用可能なほど信頼できる試験の結果を与える感度と特異度を備えた血液サンプルなどのサンプルからの進行性の結腸直腸腺腫とCRCの少なくとも1つを検知する。本明細書に記載される健康評価方法、システム、キット、およびパネルは、少なくとも70%の感度と少なくとも70%の特異度の少なくとも1つを有する。こうした方法は、生体サンプル中の15以下のバイオマーカーの測定に基づいて70%以上の感度と少なくとも70%の特異度の少なくとも1つを有することができる。場合によっては、本明細書で提供される方法は進行性の結腸直腸腺腫とCRCの少なくとも1つを検知する。そのような方法は、たった4つのバイオマーカー、5つのバイオマーカー、6つのバイオマーカー、7つのバイオマーカー、8つのバイオマーカー、9つのバイオマーカー、10のバイオマーカー、11のバイオマーカー、12のバイオマーカー、13のバイオマーカー、14のバイオマーカー、あるいは15のバイオマーカーの測定に基づいて、少なくとも70%の感度と少なくとも70%の特異度の少なくとも1つを有することができる。いくつかの好みしい実施形態では、当業者は8つのマーカーのバイオマーカーパネルを使用して、結腸直腸癌を評価することができる。いくつかの好みしい実施形態では、当業者は4つのバイオマーカーのパネルを使用して、進行腺腫を評価することができる。いくつかのバイオマーカーパネルでは、当業者は11のバイオマーカーの組み合わせたパネルを使用して結腸直腸癌と進行腺腫の両方を評価することができる。

30

#### 【0063】

40

場合によっては、本明細書に記載されるバイオマーカーパネル、方法、組成物、およびキットは、CRCあるいは進行腺腫のリスクの高い個体を選別するのに有益である。場合によっては、本明細書に記載される方法に基づいて進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの陽性の検出は、追加の診断方法を推奨すべき患者を同定するために使用される。例えば、本明細書に記載される方法が陽性の結果をもたらす場合には、そのような方法は結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、独立した癌アッセイ、あるいは便の癌アッセ

50

イなどの追加の検査を行うように介護者に警告するために使用される。

**【0064】**

さらに、本明細書に記載されるバイオマーカーパネル、方法、組成物、およびキットは、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、あるいは結腸組織生検の品質管理測定基準として有用である。例えば、本明細書に記載される方法に基づく、進行結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの陽性の検出は、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、または結腸組織生検の結果を検証するために使用され得る。例えば、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、あるいは結腸組織生検が陰性結果をもたらすが、本明細書に記載される方法が陽性の結果を出す場合には、そのような方法は別の結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、あるいは結腸組織生検を行なうか、あるいは医薬組成物の投与などの治療レジメンを始めるように介護者に警告するために使用可能である。

10

**【0065】**

本明細書に記載されるいくつかの方法は、(a)被験体から生体サンプルを得る工程；(b)被験体の生体サンプル中のバイオマーカーのパネルを測定する工程；(c)測定に基づいて被験体の進行結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在の有無を検出する工程；および(d)(i)検出に基づいて被験体の進行結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つを処置する工程、または(ii)検出の結果に基づいて結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、または結腸直腸の組織生検を被験体に推奨する工程を含む。本明細書に記載される1以上 の方法に関して、「処置する工程」は、CRCの処置の開始の推奨を含む報告書を、被験体またはその世話人に提供する工程を含む。本明細書に記載される1以上 の方法に関して、「被験体に結腸内視鏡検査を推奨する」とは、CRCの評価を確認するために、被験体が結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、あるいは組織生検を受けるべきであるという推薦を含む報告書を、被験体あるいは被験体の世話人に提供する工程を含む。場合によっては、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、または組織生検は、進行結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つを除去し、それにより進行結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つを処置するために使用され得る。

20

**【0066】**

典型的な方法は、(a)被験体から得られた生体サンプル中のバイオマーカーパネルの測定値を含むデータを得る工程、(b)測定データに基づいてバイオマーカーパネルの被験体に特有のプロファイルを生成する工程、(c)バイオマーカーパネルの被験体に特有のプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較する工程、および(d)上記(c)に基づいて進行結腸直腸腺腫および結腸直腸癌の少なくとも1つの可能性を判定する工程、を随意に含む。

30

**【0067】**

典型的な方法は、(a)被験体から得られた生体サンプル中でバイオマーカーパネルを測定する工程；(b)測定に基づいて被験体の結腸直腸癌および/または結腸直腸腺腫の存在の有無を検出する工程；および(c)検出に基づいて被験体の結腸直腸癌を処置する工程、を随意に含む。

**【0068】**

典型的な方法は、(a)被験体から得られた生体サンプル中のバイオマーカーパネルの測定値を含むデータを得る工程、(b)測定データに基づいてバイオマーカーパネルの被験体に特有のプロファイルを生成する工程、(c)バイオマーカーパネルの被験体に特有のプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較する工程、および(d)上記(c)に基づいて進行結腸直腸腺腫および結腸直腸癌の少なくとも1つの可能性を判定する工程。本明細書で提供されるいくつかの方法は、(a)被験体から得られた生体サンプル中でバイオマーカーパネルを測定する工程；(b)測定に基づいて被験体の結腸直腸癌および/または結腸直腸腺腫の存在の有無を検出する工程；および(c)検出に基づいて、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、並びに被験体の組織生検の少なくとも1つを被験体に推奨する工程。典型的な方法は随意に、被験体の予後を確立するために、結腸直腸癌または監視結腸直腸癌の診断を含む。列挙されたタンパク質の1つあるいは組み合わ

40

50

せのレベルは、選択された治療に潜在的に依存して、癌患者の差異的な結果に経時的にリンクさせることが可能である。典型的な方法は随意に、被験体からのサンプル中の1つ以上のバイオマーカーの蓄積レベルを、その後の時点で被験体から得られたサンプル中の1つ以上のバイオマーカーの蓄積レベルと比較することにより、被験体の癌の進行をモニタリングする工程を含み、1つ以上のバイオマーカーの発現の差は、被験体の癌の進行を診断するか、あるいはその診断を助ける。いくつかの典型的な方法は処置の有効性をモニタリングする工程を含む。場合によっては、処置の有効性をモニタリングする方法は、処置の少なくとも一部を与える前に被験体からのサンプル中の1つ以上のバイオマーカーの蓄積レベルを、被験体が処置の少なくとも一部を受け取った後に被験体から得られたサンプル中の1つ以上のバイオマーカーの蓄積レベルと比較する工程を含み、1つ以上のバイオマーカーの蓄積レベルの差は、処置の有効性を診断するか、あるいはその診断を助ける。

10

#### 【0069】

##### バイオマーカー

場合によっては、本明細書に記載されるバイオマーカーパネルは少なくとも2つのバイオマーカーを含む。バイオマーカーは、A1AG1、A1AT、AACT、APOA1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、CRP、FGB、FIBG、GARS、GELS、HPT、MIF、OSTP、PRDX1、PSGL、S10A8、S10A9、SAA1、SBP1、SEPR、およびTFR、あるいはそのフラグメントを含むグループから選択可能である。本明細書に記載されるバイオマーカーの何れかはタンパク質バイオマーカーであり得る。さらに、この例におけるバイオマーカーのグループは、場合によっては、表1で見られる特性を備えたポリペプチドを含むことができる。

20

#### 【0070】

典型的なタンパク質バイオマーカーと、利用可能な場合のそのヒトアミノ酸配列が表1で列挙される。タンパク質バイオマーカーは、表1のポリペプチド配列の一意的に同定可能なフラグメントと同様に、表1のポリペプチド配列の完全長の分子を含む。マーカーは有益であるためには完全長であってもよいが、必ずしもそうである必要はない。多くの場合、フラグメントが表1のポリペプチドに由来するか、表1のポリペプチドを表していると一意的に同定可能な限り、それは本明細書に記載される目的には有益である。

20

#### 【0071】

バイオマーカーのパネルがタンパク質のパネルを含んでもよいいいくつかの実施形態では、CRCまたはAA検出に適したタンパク質のパネルが本明細書で開示される。場合によっては、本明細書に記載されるタンパク質のパネルは少なくとも2つのタンパク質を含む。場合によっては、タンパク質は、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、SEPR、CLUS、GDF15、およびSAA1、あるいはそのフラグメントからなるグループから選択される。場合によっては、パネルはCRCパネルであり、検査されたタンパク質はAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含む。場合によっては、バイオマーカーパネルはAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに、被験体の年齢を含む。場合によっては、1以上の対のタンパク質蓄積レベルの比率は、患者のCRC状態を分類するために使用される。例えば、場合によっては、分類する工程は、CATD/SEPR、CATD/CO3、CO9/SEPR、および/またはA.1AT/GDF15の比率を比較する工程を含む。場合によっては、被験体の年齢はタンパク質蓄積レベルに加えて評価のために含まれる。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、CRC検出の感度は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは約100%である。

40

#### 【0072】

場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO

50

9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、CRC検出の感度は少なくとも81%である。場合によっては、タンパク質パネルはAACT、LA'I'D、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、CRC検出の特異度は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは約100%である。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、CRC検出の特異度は少なくとも78%である。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、CRC検出の感度は少なくとも81%であり、特異度は78%である。さらに、場合によっては、これらの例におけるタンパク質のパネルは、表1で見られる特徴を備えたポリペプチドをさらに含む。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CRC検出の感度は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは約100%である。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CRC検出の感度は少なくとも81%である。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CRC検出の特異度は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは約100%である。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CR.0検出の特異度は少なくとも78%である。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CRC検出の感度は少なくとも81%であり、特異度は78%である。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、CRC検出の陽性的中率は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは約100%である。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含み、陽性的中率は31%である。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CR.0検出の陽性的中率は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、あるいは約100%である。場合によっては、タンパク質パネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、陽性的中率は31%である。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR、ならびに被験体の年齢を含み、CRC検出の感度は、少なくとも81%である、特異度は78%であり、陽性的中率は31%である。場合によっては、バイオマーカーパネルは、AACT、LA'I'D、CEA、CO3、CO9、mW、PSGL、およびSEPRを含み、C

10

20

30

40

50

R C 検出の感度は少なくとも 8 1 % であり、特異度は 7 8 % であり、陽性的中率は 3 1 % である。さらに、場合によっては、これらの例におけるタンパク質のパネルは、表 1 で見られる特徴を備えたポリペプチドをさらに含む。

【 0 0 7 3 】

## 【表1-1】

表1:バイオマーカーと対応するタンパク質配列

タンパク質名	符号	配列
アルファ-1-酸糖タンパク質1	A1AG1	MALSWVLTVLSSLPLLEAQIPLCANLVPVPITNATLDQITGKWFYIASAFRN EEYNKSVQEIQATFFYFTPNTKTEDTIFLREYQTRQDQCYNTTYLNVQREN GTISRYVGGQEHFAHLLILRDTKTYMLAFDVNDEKNWGLSVYADKPETTK EQLGEFYEAELDCLRIPKSVDVYTDWKKDKCEPLEKQHEKERKQEEGES (SEQ ID NO: 1)
アルファ-1 アンチトリプシン	A1AT	MPSSVSWGILLLAGLCCLVPVSLAEDPQGAAQKTDTSHHDDQHPTFNKI TPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTAKADTHDEILE GLNFNLTEIPEAQIHEGFQELLRTLNQPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDKF LEDVKKLYHSEAFTVNFGDTEEAKKQINDYVEKGQTQGKIVDLVKELDRDT VFALVNYIFFKGKWERPFEVKDTEEEEDHVQTVKVPMMKRLGMFNI QHCKKLSSWVLLMKYLGNAATAIFFLPDEGKLQHLENELTHDIITKFLINED RRSASLHPKLSITGYDLKSVLGQLGITKVFSNGADLSGVTEEAPLKSKA VHKAVLTIDEKTEAAGAMFLEAPIPMSPPEVFKNPVFVFLMIEQNTKSPLF MGKVNPTQK (SEQ ID NO: 2)
アルファ-1-アンチキモトリプシン	AACT	MERMLPLLALGLLAAGFCPAVLCHPNPLDEENLTQENQDRGTHVDLGLA SANVDFAFSLYKQLVLKAPDKNVIFSPLSISTALAFSLGAHNTTLTEILKG LKFNLTETSEAEIHQSFWHLLRTLNQSSDELQLSMGNAMFVKEQLSLLDRF TEDAKRLYGSEAFATDFQDSAAKKLINDYVKNGTRGKITDLIKLDSQT MMVLVNYIFFKAKWEMPFDQDTHQSRFYLSKKWVMVPMMMSLHHLTI PYFRDEELSCTVVELKYTGNASALFILPDQDKMEEVEAMLLPETLKRWRD SLEFREIGELYLPKFSISRDYNLNDILLQLGIEEAFTSKADLSGITGARNLAV SQVVKHAVLDVFEETEASAATAVKITLLSALVETRTIVRFNRFLMIIVPT DTQNIFFMSKVTPNKQA (SEQ ID NO: 3)
アボリポタンパク質 A-I	APOA1	MKAAVLTLAVLFLTGSQARHFWWQQDEPPQSPWDRVKDLATVYVVDVLKD SGRDYVSQFEGSALGKQLNLKLLDNWDSVTFSKLREQLGPTQEFWDN LEKETEGLRQEMSKDLEEVAKVQPYLDDFQKKWQEEMELYRQKVEPLR AELQEGARQLKHELQEKPLSPLGEEMRDRARAHVDALRTHLAPYSDELQR RLAARLEALKENGGRALARAYHAKATEHLSTLSEKAKPAEDLRQGLPVL ESFKVSFLSALEYTKKLNTQ (SEQ ID NO: 4)
カテプシン D	CATD	MQPSSLPLALCLLAAPASALVRIPHLKFTSIRRTMSEVGGSVEDLIAGPV SKYSQAVPAVTEGPIPEVLKNYMDAQYYGEIGIGTPPQCFVVFDTGSSNL WVPSIHCKLLDIACWIHHKYNNSDKSSTYVKNGTSFDIHYGSGSLSGYLSQD TVSVPQSASSASALGGVAKERQVFGEATKQPGITFIAAKFDGILGMAYPR ISVNNLPVFDNLQQKLVDQNIFSYLSRDPDAQPGGELMLGGTDSKY KGSLSYLNVTRKAYWQVHLDQVEVASGLTLCLEGCEAIVDTGTSLMVGP VDEVRELQKAIGAVPLIQGEYMIPCEKVSTLPAITLKLGKGYKLSPEDYT LKVSQAGKTLCLSGFMGMDIPPSGPLWILGDVFIGRYYTVFDRDNNRVC FAEAARL (SEQ ID NO: 5)
癌胎児抗原関連細胞接着分子3	CEA	MGPPSASPHERCIPWQGLLTASLLNFWNPPTTAKLTIESMPLSVAEGKEV LLLVHNLPQHLFGYSWYKGERVDGNSLIVGYVIGTQQATPGAAYSGRETI YTNAASLIQNVQTQNDIGFYTLQVIKSDLVNEEATGQFHVYQENAPGLPVGA VAGIVTVLGVVALVAALVCFLLAKTGRTSIQRDLKEQQPQALAPGRGP SHSSAFSMSPLSTAQAPLPNPRTAASIYEELLKHDTNIYCRMDHKAEVAS (SEQ ID NO: 6)
クラステリン	CLUS	MMKTLFFFVGLLLTWESGQVLGDDQTVSDNELQEMSNQGSKYVNKEIQNA VNGVKQIKTLIEKTNEERKTLISNLEEAKKKEDALNETRESETKLKELPG VCNETMMALWEEKPKPLKQTCMKFYARVCRSGSGLVGRQLEEFLNQSSP FYFWMNGDRIDSLLENDRQQTQTHMLDVMQDHFSRASSIIDELFQDRFFTREP QDTYHYLPFSLPHRRPHFFFFPKSRIVRSMPFSPYEPLNFHAMFQPFLEMIH EAQQAMDIHFHSPAFOQHPTEFIREGDDRTVCREIRHNSTGCLRMKDQCD KCREILSVDCSTNNPSQAKLRRRELDESQVAERLTRKYNELLKSYQWKML NTSSLLQLNEQFNWVSRANLTQGEDQYYLRVTTVASHTSDSDVPSGVT

10

20

30

40

【表1-2】

		EVVVKLFSDSDPITVTPVEVSRKNPKFMETVAEKALQEYRKKHREE (SEQ ID NO: 7)
補体 C3	CO3	<p>MGPTSGPSLLLLLTHLPLALGSPMYSIITPNILRLESEETMVLEAHDAQGD VPVTVTVHDFPGKKLVLSSKEKTVLTPATNHMGNVFTFTIPANREFKSEKGR NKFVTVQATFGTQVVEKVVLVSLQSGYLFIQTDKTIYTPGSTVLYRIFTVN HKLLPVGRTVMVNENPEGIPVKQDSLSSQNQLGVPLSWDIPLEVNMGQ WKIRAYYENSPQQVFSTEFEVKEYVLPSPFEVIVEPTEKFYIYNEKGLEVTI TARFLYGKVEGTAFVIFGIQDGEQRISLPESLKRIPIEDGSGEVVLRSRKVLL DGVQNPRRAEDLVGKSLYVSATVILHSGSMVQAERSGIPIVTSPYQIHFTK TPKYFKPGMPFDLMVFVTPDGSPAYRVPVAVQGEDTVQSLTQGDGVAK LSINTHPSQKPLSITVRTKKQELSEAEQATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLS VLRTELRPCETLNVNFLRLMDRAHEAKIRYYTYLIMNKGRLLKAGRQVRE PGQDLVVLPLSITTDIFPSFRLVAYTLIGASQREVVADSVWVDVKDSCV GSLVVKSGQSEDQPVPGQQMTLKIEGDHGARVVLVAVDKGVFVLNKKN KLTQSKIWDVVEKADIGCTPGSGKDYAGVFSDAGLTFTSSSGQQTAQRAE LQCQPQAAARRRSVQLTEKRMKDVKYKYPKELRKCCEDGMRENPMRFSCQ RRTRFISLGEACKKVFLDCNYITELRRQHARASHLGLARSNLDEDIIAEEN IVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKSITTWEILAVMSDK KGICVADPFEVTVMQDFIDLRPLPVSVRNEQVEIRA VLYNYRQNQELKV RVELLHNPAFCSLATTKRRHQQTVTIPPKSSLSPVYIVPLKTGLQEVEVKA AVYHHFISDGVRKSLKVPEGIRMNKTVAVRTLDPERLGREGVQKEDIPP ADLSDQVPDTESETTRILLQGTPVAQMTEDAVDAERLKHLIVTPSGCGEQN MIGMTPTVIAVHYLDTEQWEKFGLEKRQGALELIKKGYTQQLAFRQPSS AFAAFVKRAPSTWLTAYVVVKVFLAVNLIAIDSQVLCAVKWLILEKQKP DGFQEDAPVIHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFVULSLQEAQDICEEQVNSL PGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVAIAGYALAQMGRKLGPLNKFLTTAK DKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALLQLKDFDFVPPVVRWLNEQRYYG GGYGSTQATFMVFQALAQYQKDAPDHQUELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHW ESASLLRSEETKENEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDL KVTIKPAPETEKRQDAKNTMLEICTRYRGDQDATMSILDISMINTGFAPD TDDLKQLANGVDRYISKYELDKAFSDRNTLIIYLDKVSHSEDDCLAFKVH QYFNVELIQPGAVKVYAYYNLEESTRFYHPEKEDGKLNKLCRDELCRCA EENCFIQKSDDKVTLEERLDKACEPGVDYVYKTRLVKVQLSNDFDEYIMA IEQTIKSGSDEVQVGQQRTFISPICKCREALKLEEKHHYLMWGLSSDFWGEK PNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECQDEENQKCQDLAGFATESMVVFGCPN (SEQ ID NO: 8)</p>
補体 C9	CO9	<p>MSACRSFAVAICILEISILTAQYTTSYDPELTTESSGSASHIDCRMSPWSEWSQ CDPCLRQMFRSRSIEVFGQFNGKRCTDAVGDRRCVPTEPCEDAEDDCGN DFQCSTGRCIKMRLRCNGDNDGDFSDDEDCSEPRPPCRDRVVEESEL RTAGYGINILGMDPLSTPFNEFYNGLCNRDRDGNTLYYRRPNVASLI YETKGEKNFRTEHYEEQIEAFKSIQEKTSNFNAIASLKFTPTETNKAEQCCE ETASSISLHGKGGSFRFSYSKNETYQLFLSYSSKKEKMFLHVKGIEHLGRFV MRNRDVVLTTTFVDDIKALPTTYEKGEYFAFLETYGHYSSSGSLGGLYEL IYVLDKASMKRKGVELKDIKRCGYHLDVSLAFSEISVGAEFNKDDCVKR GEGRAVNITSENLIIDDVSVLIRGGTRKYAFELKEKLLRGTVIDVTDFVNWA SSINDAPVLISQKLSPINYLVPVKMNAHLKKQNLERAIEDYINEFSVRKCH TCQNGGTVILMDGKCLCACPFKFEGIACEISKQKISEGLPALEFPNEK (SEQ ID NO: 9)</p>
C-反応性タンパク質	CRP	<p>MEKLLCFLVLTSLSHAFGQTDMSRKAFVFPKESDTSYVSLKAPLTPLKAF TVCLHFYTELSSTRGYSIFSYATKRQDNEILIFWSKDIGYSFTVGGSEILFEV PEVTVAPVHICITSWESASGIVEFWVDGKPRVRKSLKKGYTVGAESIILGQ EQDSFGGNFEGSQSLVGDIGNVNMWDFVLPSPDEINTIYLGGFSPNVLNWR ALKYEVQGEVFTKPQLWP (SEQ ID NO: 10)</p>
フィブリノゲンベータ鎖	FGB	<p>MKRMVWSFHKLKTMKHLLLLLCVFLVKSQGVNDNEEGFFSARGHRPL DKKREEAPSLRPAPPISGGYRARPAKAAATQKKVERKAPDAGGCLHAD PDLGVLCPTGCQLQEALLQQERPIRNSVDELNNNVEAVSQTSSSFQYMYL LKDLWQKRQKQVKDNENVVNEYSELEKHQLYIDETVNSNIPTNLRVLR ILENLRSKIQKLESDVSAQMEYCRTPCTVSCNIPVVGKECEEEIRKGGETSE</p>

10

20

30

40

【0075】

【表1-3】

		MYLIQPDSSVKPYRVYCDMNTENGWTVIQNRQDGSDFGRKWDPYKQ GFGNVATNTDGKNYCLPGEYWLGNDKISQLTRMGPTELLIEMEDWKGD KVKAHYGGFTVQNEANKYQISVNKYRGTAGNALMDGASQLMGENRTMT IHNGMFFSTYDRDNDGWLTSDPRKQCSKEDGGGWYNRCHAANPNGRY YWGGQYTWDMAKHGTDDGVVWMNKGWSYMSRKMSMKIRPFFPQQ (SEQ ID NO: 11)
フィブリノゲン ガンマ鎖	FIBG	MSWSLHPRNLILYFYALLFLSSTCVAYVATRDNCILDERFGSYCPTTCGIA DFLSTYQTKVDKDLQSLEDILHQVENKTSEVKQLIKAIQLTYNPDESSKPN MIDAATLKSRSRKMLEEIMKYEASILTHDSSIRYLQEYNSNNQKIVNLKEKV AQLEAQCCQEPCKDTVQIHDITGKDCQDIANKGAKQSGLYFIKPLKANQQF LVYCEIDGSGNGWTVFQKRLDGSVDFKKNWIQYKEFGHLSPTGTTEFWL GNEKIHLISTQSAIPYALRVELEDWNGRTSTADYAMFKVGPEADKYRLTY AYFAGGDAGDAFDGFDFGDDPSDKFTSHNGMFSTWDNDNDKFEGNC AEQDGSGWWMNKCHAGHNGVYYQGGTYSKASTPNGYDNGIIWATWK TRWYSMKTMMKIIPFNRLTIGEGQQHHLGGAKQVRPEHPAETEYDSLYP EDDL (SEQ ID NO: 12)
グリシン-tRNA リガーゼ	GARS	MPSPRPVLLRGARAALLLLPPRLLARPSLLLRRSLAASCPPISLPAAASRS SMDGAGAEEVLAPLRLAVRQQGDLVRKLKEDKAPQVDVDKAVAELKAR KRVLEAKELALQPKDDIVDRAKMEDTLKRRFFYDQAFAIYGGVSGLYDFG PVGCALKNNIQTWRQHFQIEEQILEIDCTMLTPEPVLKTSGHVDFKADFM VKDVKNGECCRADHLLKAHLQKLMSDKCSVEKKSEMESVLAQLDNYG QQELADLFVNVNPKSPITGNDSLSPVSFNLMFKTFIGPGGNMPGYLRPETA QGIFLNFKRLLEFNQGKLPFAAAQIGNSFRNEIPRSGLIRVREFTMAIEHF VDPSEKDHPFKFQNVALHLYLYSAKAQVSGQSARKMRLGDAVEQGVINN TVLGYFIGRIYLYLTKVGISPDKLRFQHMENEMAHYACDCWDAESKTSY GWIEIVGCADRSCYDLSCHARATKVPVAEKPLKEPKTVNVVQFEPSKGAI GKAYKKDAKLVMEYLAICDECYITEMEMLLNEKEFTIETEGKTFQLTKD MINVKRFQKTLVYEEVVPNIEPSFGLGRIMYTVFEHTFHVREGDEQRFFF SPPAVVAPFKCSVPLSQNQEFPVKELSEALTRHGVSCHKVDDSSGSIGR RYARTDEIGVAFGVTDFDTVNKTPHTATLRDRDSMRQIRAEISELPSIVQD LANGNITWADVEARYPLFEGQETGKETIEE (SEQ ID NO: 13)
ゲルゾリン	GELS	MAPHRPAPALLCALSLALCALSLPVRAATASRGASQAGAPQGRVPEARPN SMVVEHPEFLKAGKEPGLQIWRVEKFDLVPVPTNLYGDFFTGDAYVILKT VQLRNGNLQYDLHYWLGNECSQDESGAAAIFTVQLDDYLNGRAVQHRE VQGFESATFLGYFKSGLKYKKGGVASGFKHVVVPNEVVVQRLFQVKGRVV VRATEVPVSWEFNNGDCFILDLGNNIHQWCNSNSRYERLKATQVSKGI RDNERSGRARHVSEEGTEPEAMQLVQVLPKPALPAGTEDTAKEDAANRK LAKLYKVSNAGTMSVSLVADENPFAQGALKSEDCFILDHGKDGFKIVWW KGKQANTEERKAALKTASDFITKMDYPKQTQSVLPEGGETPLFKQFFKN WRDPDQTDGLGLSYLSSHIANVERVPFDAATLHTSTAMAAQHGMDDDT GQKQIWRIEGSNKVPVDPATYQFYGGDSYIILYNYRHGGGRQGQIYNWQ GAQSTQDEVAASAILTAQLDEELGGTPVQSRVVQGKEPAHMLSLFGGKPM IIYKGGTSREGGQTAPASTRLFQVRANSAGATRAVEVLPKAGALNSNDAF VLKTPSAAYLWVGTGASEAEKTGAQELLRVLRAQPVQVAEGSEPDGFWE ALGGKAAYRTSPRLDKKMDAHPPRLFACSNKIGRFVIEVPGELMQEDL ATDDVMLLDTWDQVFVWVGKDSQEEKTEALTSAKRYIETDPANRDRRT PITVVKQGFEPPEPSFVGWFLGWDDDYWSVDPLDRAMAEAA (SEQ ID NO: 14)
ハプトグロビン	HPT	MSALGAVIALLLWGQLFAVDGNDVTIDIADDGCPKPPEIAHGYVEHSVRY QCKNYYKLRTEGDGVYTLNDKKQWINKAVGDKLPECEADDGCPKPPEIA HGYVEHSVRYQCKNYYKLRTEGDGVYTLNNEKQWINKAVGDKLPECEA VCGKPKNPANPVQRILGGHLDAGSFQWAKMVSHNLTTGATLINEQW LLTTAKNLFNHSENATAKDIAPTLTLYVGKKQLVEIEKVVLHPNYSQVDI GLIKLKQKVSVNERVMPICLPSKDYAEVGRVGYVSGWGRNANFKFTDHL KYVMLPVAQDQCIRHYEGSTVPEKKTPKSPVGVQPILNNEHTFCAGMSKY QEDTCYGDAGSAFAVHDLEEDTWYATGILSFDKSCAVAEGYGVVKVTSIQ DWVQKTIEN

10

20

30

40

【表1-4】

(SEQ ID NO: 15)		
マクロファージ遊走阻止因子	MIF	MPMFIVNTNVPRASVPDGFLSELTQQLAQATGKPPQYIAVHVVPDQLMAFGGSSEPCALCSLHSIGGAQNRSYSKLLCGLLAERLRISPDRVYINYDMNAANVGWNNSTFA (SEQ ID NO: 16)
オステオポンチン	OSTP	MRIAVICFCLLGITCAIPVKQADSGSSEEKQLYNKPDAVATWLNPDPSSQKQNLLAPQNAVSSEETNDFKQETLPSKSNESHDHMDMDDDEDDDHVDSQDSIDSNDSDDVDDTDSHQSDESHSDSDELVTDFPTDLPATEVFTPVVP TVDTYDGRGDSVYGLRSKSKFRRPDIQYPDATDEDITSHMESEELNGAYKAIPVAQDLNAPSDWDSRGKDSYETSQLDDQSAETHSHKQSRLYKRKNDESNEHSDVIDSQELSKEFHSHEFHSHEDMLVVDPKSKEEDKHLKFRISHELDSSASSEVN (SEQ ID NO: 17)
ペルオキシドキシン-1	PRDX1	MSSGNAKIGHPAPNFKATAVMPDGQFKDISLSDYKGKYVVFFFYPLDFTFVCPTEIFAFSDRAEEFKLNCQVIGASVDSHFCHLAWVNTPKKQGGLGPMNIPLVSDPKRTIAQDYGVLKADEGISFRGLFIIDDKGILRQITVNDLPVGRSVDETLRLVQAFQFTDKHGEVCPAGWKPGSDTIKPDVQKSKEYFSKQK (SEQ ID NO: 18)
P-セレクチン糖タンパク質リガンド1	PSGL	MPLQLLLLLLGPGLNSLQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEYLDYDFLPETEPPEMLRNSTDITPLTGPCTPESTTVEPAARRSTGLDAGGAUTTTELANMGNLSTDASAAMEIQTTPAATEAQTTQPVTEAQTTPAATEAQTTPLAATEAQTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPLAATEAQTTQPTGLEAQTTPLAATEAQTTPLAAMEALSTEPSATEALSMETTKRGLFIPFSVSSVTHKGIPMAASNLSVNPVGAPDHISVKQCLLAILILALVATIFFVCTVVLAVRLSRKGHMYPVRNYSPTEMVCISLLPDGGEGPSATANGGLSKAKSPGLTPEPREDREGDDLTLSFLP (SEQ ID NO: 19)
S100A8	S10A8	MLTELEKALNSIIDVYHKYSLIKGNFHAVYRDDLKLLETECPQYIRKKGADVWFKELEINTDGAVNQFELFLVIKMGVAHKKSHEESHKE (SEQ ID NO: 20)
S100A9	S10A9	MTCKMSQLERNIETIINTFHQYSVKGHPDTLNQGEFKELVRKDLQNFLKKENKNEKVIEHIMEDLDTNADKQLSFEFIMLMARLTWASHEKMHEGDEGPGHHHKPGLGEGT (SEQ ID NO: 21)
血清アミロイドA-1タンパク質	SAA1	MKLLTGLVFCSLVLGVSSRSFFSLGEAFDGARDMWRAYSDMREANYIGSDKYFHARGNYDAAKRGPGGVWAAEAISDARENQRFQHGGAEDSLADQAANEWGRSGKDNPNHFRPAGLPEKY (SEQ ID NO: 22)
セレン結合タンパク質1	SBP1	MATKCGNCGPGYSTPLEAMKGPREEIVYLPCIFYRNTGTEAPDYLATVDVDPKSPQYCQVIHRLPMPNLKDELHHSWNTCSSCFGDSTSRTKLVLPSLISSRIYVVDVGSEPRAPKLHKVIEPKDIHAKCELAFLHTSHCLASGEVMISSLDVKNGKGGFVLLDGETFEVKGTWERPGGAAPLYGSHLYVWDWQRHEIVQTLSSLKDGLIPLEIWAAPNVLRDGFNPADVEAGLYGSHLYVWDWQRHEIVQTLSSLKDGLIPLEIRFLHPDAAQGFVGICALSSTIQRFYKNEGGETWSVEKVIQVPPKKVKGWLLPEMPGLTDILLSLDDRFYFSNWHLGDLRQYDISDPQRPLTGQLFLGGSIVKGGPVQVLEDEELKSQPEPLVVKGKRVAGGPQMIQLSLDGKRLYITSSLYSAWDKQFYPDLLIREGSVMLQVDVTKGGLKLNPNFLVDFGKEPLGPA LAHELRYPGGDCSSDIWI (SEQ ID NO: 23)
セプラーゼ	SEPR	MKTWVKIVFGVATSAVLALLVMCIVLPRSRVHNSEENTMRALTLDILNGTFSYKTFPNWISGQEYLHQSAADNNIVLYNIETGQSYTILSNRTMKSVNASNYGLSPDRQFVYLESDYSKLWRYSYTATYYIYDLSNGEFVRGNELPRPIQYLCWSPVGSKLAYVYQNNIYLKQRPGDPPFQITFNGRENKIFNGIPDWVYEE EMLATKYLWWSPNGKFLAYAEFNDTIDPVIAYSSYYGDEQYPRTINIPYPKAGAKNPVVRIFIIDTTYPAYVGPQEVPPAMIASSDYYFSWLTWVTDERVC LQWLKRVQNVSVLSICDFREDWQTWDCPKTQEHIESTGWAGGFFVSTPVFSYDAISYYKIFSDKDGYKHIHYIKDTVENAIQITSGKWEAINIFRVTQDSL FYSSNEFEEYPGRRNIYRISIGSYPPSKKCVTCLRKERCQYYTASFSDYAK 10 20 30 40

【表1-5】

		YYALVCYGPPISTLHDGRTDQEIKILEENKELENALKNIQLPKEEIKKLEV DEITLWYKMLPPQFDRSKKYPLLQVYGGPCSQSVRSVFAVNWISYLASK EGMVIALLVDGRGTAFQGDKLLYAVYRKLGVYEVEDQITAVRKFIEMGFID EKRIAIWGWSYGGVSSLALASGTGLFKCGIAVAPVSSWEYYASVYTERF MGLPTKDDNLEHYKNSTVMARAEYFRNVDYLLIHTADDNVHFQNSAQI AKALVNAQVDFQAMWYSDQNHGLSGLSTNHLYTHMTHFLKQCFSLSD (SEQ ID NO: 24)
トランスフェリン受容体タンパク質1	TFRC	MMDQARSASFNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKLA VDEEEENADNNTKANVTKPCKRCGSICYG TIAVIVFFLIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERL AGTESPVREEPGEDFPAARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFTG TIKLNENS V VPREAGSQKD ENLALYVENQFREFKLSK VWRDQHFVKIQV KDSAQN SVII VDKNGRLV YLV ENPGGYV AYS KAAT VTG KLV HAN FGT KKD FED LYTPV NGSIV IVR AG KIT FA EV K V A E S L N A I G V L I Y M D Q T K F P I V N A E L S F F G H A H L G T G D P Y T P G F P S F N H T Q F P S R S G L P N I P V Q T I S R A A A E K L F G N M E G D C P S D W K T D S T C R M V T S E S K N V K L T V S N V L K E I K L N I F G V I K G F V E P D H Y V V V G A Q R D A W G P G A K S G V G T A L L K L A Q M F S D M V L K D G F Q P R S I I F A S W S A G D F G S V G A T E W L E G Y L S L H L K A F T Y I N L D K A V L G T S N F K V S A S P L L Y T I E K T M Q N V K H P V T G Q F L Y Q D S N W A S K V E K L T L D N A A F P F L A Y S G I P A V S F C F C E D T D Y P Y L G T T M D T Y K E L I E R I P E L N K V A R A A A E V A G Q F V I K L T H D V E L N L D Y E R Y N S Q L L S F V R D L N Q Y R A D I K E M G L S L Q W L Y S A R G D F F R A T S R L T T D F G N A E K T D R F V M K K L N D R V M R E Y H F L S P Y V S P K E S P F R H V F W G S G S H T L P A L L E N L K L R K Q N N G A F N E T L F R N Q L A L A T W T I Q G A A N A L S G D V W D I D N E F (SEQ ID NO: 25)
成長/分化因子15	GDF15	MPGQELRTVNGSQMLLVLLVLSLPHGGALSLAEASRASFPGPSELHSED SRFRELRKRYEDLLTRLRANQSWE DSNTDLVPAPAVRILTPEVRLGSGCHL HLRISRAALPEGLPEASRLHRA LFR LSP TAS RS W D V T R P L R Q L S L A R P Q A P A L H L R L S P P S Q S D Q L L A E S S S A R P Q L E L H L R P Q A A R G R R R A R A R N G D H C P L G P R C C R L H T V R A S L E D L G W A D W V L S P R E V Q V T M C I G A C P S Q F R A A N M H A Q I K T S L H R L K P D T V P A P C C V P A S Y N P M V L I Q K T D T G V S L Q T Y D D L L A K D C H C I (SEQ ID NO: 26)

10

20

30

40

## 【0078】

## バイオマーカーと対応するタンパク質配列

本明細書で企図されるバイオマーカーは、バイオマーカーの配列の8つの残基、9つの残基、10の残基、20の残基、50の残基、あるいは代替的に5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、あるいは95%以上のスパンにわたって、表1の列挙されたマーカーと同一のアミノ酸配列を有するポリペプチドをさらに含む。バイオマーカーの変異体あるいは代替的な形態は、例えば、開示されたバイオマーカーをコード化する転写物の任意のスプライス変異体によってコード化されたポリペプチドを含む。特定のケースでは、修飾された形態、フラグメント、あるいはそれらの対応RNAまたはDNAは、完全長のタンパク質よりも診断時に優れた差別力を示すことがある。

## 【0079】

本明細書で企図されるバイオマーカーは、本明細書に記載されるタンパク質のいずれか

50

の切断形態またはポリペプチドフラグメントをさらに含む。タンパク質の切断型またはポリペプチドフラグメントは、N - 末端除去または切断型、およびC - 末端除去または切断型を含み得る。タンパク質の切断型またはフラグメントは、限定されないが、代替的な翻訳、体外 (e x o - ) および / または体内 (e n d o - ) タンパク質分解および / または分解、例えば、物理的、化学的、および / または酵素的なタンパク質分解によるなどの任意のメカニズムによって発生するフラグメントを含み得る。限定なしで、バイオマーカーは、タンパク質のアミノ酸配列の約 1 %、2 %、3 %、4 %、5 %、6 %、7 %、8 %、9 %、10 %、11 %、12 %、13 %、14 %、15 %、16 %、17 %、18 %、19 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、あるいは 100 % を表し得るタンパク質、ポリペプチド、あるいはペプチドのフラグメントの切断型またはフラグメントを含み得る。  
10

#### 【0080】

限定なしで、タンパク質の切断型またはフラグメントは、対応する完全長のタンパク質の約 5 - 20 の連続するアミノ酸配列、約 10 - 50 の連続するアミノ酸、あるいは約 20 - 100 の連続するアミノ酸、あるいは約 30 - 150 の連続するアミノ酸、あるいは約 50 - 500 の連続するアミノ酸残基を含み得る。

#### 【0081】

いくつかの例では、フラグメントは、対応する成熟した完全長のタンパク質あるいはその溶解可能または血漿循環形態と比較して、例えば、1 - 約 15 のアミノ酸、あるいは 1 - 約 10 のアミノ酸、あるいは 1 - 約 5 のアミノ酸などの 1 - 約 20 のアミノ酸によって、N - 末端または C - 末端で切断される。  
20

#### 【0082】

ペプチド、ポリペプチド、あるいはタンパク質、およびそのフラグメントなどの本開示の任意のタンパク質バイオマーカーは、限定されないが、リン酸化、グリコシル化、脂質化、メチル化、セレノ시스チン修飾、システイニル化 (c y s t e i n y l a t i o n) 、スルホン化、グルタチオン付加、アセチル化、メチオニンスルホキシドあるいはメチオニンスルホンへのメチオニンの酸化などの修飾を含む発現後修飾を有するなど、上記マークー、ペプチド、ポリペプチド、あるいはタンパク質、およびフラグメントの修飾された形態を包含してもよい。  
30

#### 【0083】

いくつかの例では、断片化したタンパク質は N - 末端および / または C - 末端で切断される。そのような断片化したタンパク質は、N - 末端 (a、b、c - イオン) および / または C - 末端 (x、y、z - イオン) 切断されたタンパク質またはペプチドの 1 つ以上またはすべての移行型イオンを含み得る。本明細書で教示されるような典型的なヒトマークー、核酸、タンパク質、あるいはポリペプチドは、N C B I G e n b a n k (ウェブサイト n c b i . n l m . n i h . g o v にアクセス可能) あるいは S w i s s p r o t / U n i p r o t (ウェブサイト u n i p r o t . o r g にアクセス可能) の受入番号下で注釈される通りである。いくつかの例では、上記配列は、本明細書で教示されるようなマークー、核酸、タンパク質、あるいはポリペプチドの前駆体 (例えばプレタンパク質) であり、成熟した分子から遠ざけて処理される部分を含むことがある。いくつかの例では、1 つ以上のアイソフォームしか開示されていないが、配列のすべてのアイソフォームが意図されている。  
40

#### 【0084】

本明細書に列挙されたバイオマーカーの検出用の抗体は市販で入手可能である。本明細書に記載されるバイオマーカーのアッセイに役立つ試薬の供給源の一部のリストが以下の表 2 で提示される。

#### 【0085】

【表2】

表2-試薬供給源

省略型のELISAキット供給業者	アッセイ基準	参照供給源	血漿稀釈
A1AT	Genway Biotech, San Diego, CA	天然タンパク質	1:240,000
A1AG1	R&D Systems, Minneapolis, MN	天然タンパク質	1:20,000
AACT	Genway Biotech, San Diego, CA	天然タンパク質	1:10,000
ANXA1	Cloud Clone, Wuhan, PRC	組換えタンパク質	1:8,000
APOA1	Cusabio, Wuhan, PRC	天然タンパク質	1:800
CRP	BioVendor, Asheville, NC	組換えタンパク質	1:1,000
CAH1	Cloud Clone, Wuhan, PRC	天然タンパク質	1:32
CEA	BL International, Toronto, ON	組換えタンパク質	
CATD	AbCam, Cambridge, MA	天然タンパク質	1:250
CLUS	BioVendor, Asheville, NC	天然タンパク質	1:3,000
CO3	Abnova, Taipei, Taiwan	天然タンパク質	1:250
CO9	AssayPro, St. Charles, MO	天然タンパク質	1:20,000
DPP4	Cloud Clone, Wuhan, PRC	天然タンパク質	1:2,000
FGB	Cloud Clone, Wuhan, PRC	組換えタンパク質	
FIBG	Cloud Clone, Wuhan, PRC	天然タンパク質	1:8,000
GELS	Cloud Clone, Wuhan, PRC	組換えタンパク質	1:8,000
GARS	Cloud Clone, Wuhan, PRC	天然タンパク質	1:100
GDF15	R&D Systems, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:40
HPT	AssayPro, St. Charles, MO	天然タンパク質	1:8
MIF	R&D Systems, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:2,000
OSTP	R&D Systems, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:10
PSGL	BL America, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:20
PRDX1	Cloud Clone, Wuhan, PRC	組換えタンパク質	1:30
SBP1	Cloud Clone, Wuhan, PRC	組換えタンパク質	1:100
SEPR	R&D Systems, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:16
SAA1	Life Technologies, Camarillo, CA	組換えタンパク質	1:40
TIMP1	R&D Systems, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:240
TFRC	Cloud Clone, Wuhan, PRC	天然タンパク質	1:100
TFF3	R&D Systems, Minneapolis, MN	組換えタンパク質	1:250
PKM2	Schleicher & Schuell, Giessen, GER	組換えタンパク質	1:50

## 【0086】

本明細書で詳述される任意のバイオマーカーパネルについて、1つ以上の構成要素で異なる変異体バイオマーカーパネルも企図されている。したがって、一例としてリードC R CパネルA A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、およびS E P Rに目を向けると、多くの関連するパネルが開示される。これと本明細書で開示される他のパネルについて、詳述されたバイオマーカーパネルのバイオマーカー構成要素の少なくとも8、少なくとも7、少なくとも6、少なくとも5、少なくとも4、少なくとも3、

あるいは少なくとも 2 を含む変異体が企図される。したがって、リードバイオマーカーパネル A A C T 、 C A T D 、 C E A 、 C O 3 、 C O 9 、 M I F 、 P S G L 、および S E P R に目を向けると、当業者は表 3 に列挙されるような変異体パネルを認識する。年齢は、本明細書で列挙されるパネル変異体のいずれかに関する非タンパク質の特徴として随意に含まれる。

【 0 0 8 7 】

【表3-1】

表3: CRC パネル実施形態

No.	タンパク質特性	パネル	非タンパク質特性
1	8	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
2	7	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/- 年齢
3	7	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/- 年齢
4	7	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/- 年齢
5	7	AACT, CATD, CEA, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
6	7	AACT, CATD, CEA, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
7	7	AACT, CATD, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
8	7	AACT, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
9	7	CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
10	6	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, MIF	+/- 年齢
11	6	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, PSGL	+/- 年齢
12	6	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, SEPR	+/- 年齢
13	6	AACT, CATD, CEA, CO3, MIF, PSGL	+/- 年齢
14	6	AACT, CATD, CEA, CO3, MIF, SEPR	+/- 年齢
15	6	AACT, CATD, CEA, CO3, PSGL, SEPR	+/- 年齢
16	6	AACT, CATD, CEA, CO9, MIF, PSGL	+/- 年齢
17	6	AACT, CATD, CEA, CO9, MIF, SEPR	+/- 年齢
18	6	AACT, CATD, CEA, CO9, PSGL, SEPR	+/- 年齢
19	6	AACT, CATD, CEA, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
20	6	AACT, CATD, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/- 年齢
21	6	AACT, CATD, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/- 年齢
22	6	AACT, CATD, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/- 年齢
23	6	AACT, CATD, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
24	6	AACT, CATD, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
25	6	AACT, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/- 年齢
26	6	AACT, CEA, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/- 年齢
27	6	AACT, CEA, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/- 年齢
28	6	AACT, CEA, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
29	6	AACT, CEA, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
30	6	AACT, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
31	6	CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/- 年齢
32	6	CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/- 年齢
33	6	CATD, CEA, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/- 年齢
34	6	CATD, CEA, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
35	6	CATD, CEA, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
36	6	CATD, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
37	6	CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/- 年齢
38	5	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9	+/- 年齢
39	5	AACT, CATD, CEA, CO3, MIF	+/- 年齢
40	5	AACT, CATD, CEA, CO3, PSGL	+/- 年齢
41	5	AACT, CATD, CEA, CO3, SEPR	+/- 年齢
42	5	AACT, CATD, CEA, CO9, MIF	+/- 年齢
43	5	AACT, CATD, CEA, CO9, PSGL	+/- 年齢

10

20

30

40

【0088】

50

【表3-2】

44	5	AACT, CATD, CEA, CO9, SEPR	+/-年齢
45	5	AACT, CATD, CEA, MIF, PSGL	+/-年齢
46	5	AACT, CATD, CEA, MIF, SEPR	+/-年齢
47	5	AACT, CATD, CEA, PSGL, SEPR	+/-年齢
48	5	AACT, CATD, CO3, CO9, MIF	+/-年齢
49	5	AACT, CATD, CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
50	5	AACT, CATD, CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
51	5	AACT, CATD, CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
52	5	AACT, CATD, CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
53	5	AACT, CATD, CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
54	5	AACT, CATD, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
55	5	AACT, CATD, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
56	5	AACT, CATD, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
57	5	AACT, CATD, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
58	5	AACT, CEA, CO3, CO9, MIF	+/-年齢
59	5	AACT, CEA, CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
60	5	AACT, CEA, CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
61	5	AACT, CEA, CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
62	5	AACT, CEA, CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
63	5	AACT, CEA, CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
64	5	AACT, CEA, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
65	5	AACT, CEA, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
66	5	AACT, CEA, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
67	5	AACT, CEA, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
68	5	AACT, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
69	5	AACT, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
70	5	AACT, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
71	5	AACT, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
72	5	AACT, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
73	5	CATD, CEA, CO3, CO9, MIF	+/-年齢
74	5	CATD, CEA, CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
75	5	CATD, CEA, CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
76	5	CATD, CEA, CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
77	5	CATD, CEA, CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
78	5	CATD, CEA, CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
79	5	CATD, CEA, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
80	5	CATD, CEA, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
81	5	CATD, CEA, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
82	5	CATD, CEA, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
83	5	CATD, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
84	5	CATD, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
85	5	CATD, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
86	5	CATD, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
87	5	CATD, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
88	5	CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
89	5	CEA, CO3, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢

【表3-3】

90	5	CEA, CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
91	5	CEA, CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
92	5	CEA, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
93	5	CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
94	4	AACT, CATD, CEA, CO3	+/-年齢
95	4	AACT, CATD, CEA, CO9	+/-年齢
96	4	AACT, CATD, CEA, MIF	+/-年齢
97	4	AACT, CATD, CEA, PSGL	+/-年齢
98	4	AACT, CATD, CEA, SEPR	+/-年齢
99	4	AACT, CATD, CO3, CO9	+/-年齢
100	4	AACT, CATD, CO3, MIF	+/-年齢
101	4	AACT, CATD, CO3, PSGL	+/-年齢
102	4	AACT, CATD, CO3, SEPR	+/-年齢
103	4	AACT, CATD, CO9, MIF	+/-年齢
104	4	AACT, CATD, CO9, PSGL	+/-年齢
105	4	AACT, CATD, CO9, SEPR	+/-年齢
106	4	AACT, CATD, MIF, PSGL	+/-年齢
107	4	AACT, CATD, MIF, SEPR	+/-年齢
108	4	AACT, CATD, PSGL, SEPR	+/-年齢
109	4	AACT, CEA, CO3, CO9	+/-年齢
110	4	AACT, CEA, CO3, MIF	+/-年齢
111	4	AACT, CEA, CO3, PSGL	+/-年齢
112	4	AACT, CEA, CO3, SEPR	+/-年齢
113	4	AACT, CEA, CO9, MIF	+/-年齢
114	4	AACT, CEA, CO9, PSGL	+/-年齢
115	4	AACT, CEA, CO9, SEPR	+/-年齢
116	4	AACT, CEA, MIF, PSGL	+/-年齢
117	4	AACT, CEA, MIF, SEPR	+/-年齢
118	4	AACT, CEA, PSGL, SEPR	+/-年齢
119	4	AACT, CO3, CO9, MIF	+/-年齢
120	4	AACT, CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
121	4	AACT, CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
122	4	AACT, CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
123	4	AACT, CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
124	4	AACT, CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
125	4	AACT, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
126	4	AACT, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
127	4	AACT, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
128	4	AACT, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
129	4	CATD, CEA, CO3, CO9	+/-年齢
130	4	CATD, CEA, CO3, MIF	+/-年齢
131	4	CATD, CEA, CO3, PSGL	+/-年齢
132	4	CATD, CEA, CO3, SEPR	+/-年齢
133	4	CATD, CEA, CO9, MIF	+/-年齢
134	4	CATD, CEA, CO9, PSGL	+/-年齢
135	4	CATD, CEA, CO9, SEPR	+/-年齢

【表3-4】

136	4	CATD, CEA, MIF, PSGL	+/-年齢
137	4	CATD, CEA, MIF, SEPR	+/-年齢
138	4	CATD, CEA, PSGL, SEPR	+/-年齢
139	4	CATD, CO3, CO9, MIF	+/-年齢
140	4	CATD, CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
141	4	CATD, CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
142	4	CATD, CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
143	4	CATD, CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
144	4	CATD, CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
145	4	CATD, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
146	4	CATD, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
147	4	CATD, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
148	4	CATD, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
149	4	CEA, CO3, CO9, MIF	+/-年齢
150	4	CEA, CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
151	4	CEA, CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
152	4	CEA, CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
153	4	CEA, CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
154	4	CEA, CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
155	4	CEA, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
156	4	CEA, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
157	4	CEA, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
158	4	CEA, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
159	4	CO3, CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
160	4	CO3, CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
161	4	CO3, CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
162	4	CO3, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
163	4	CO9, MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
164	3	AACT, CATD, CEA	+/-年齢
165	3	AACT, CATD, CO3	+/-年齢
166	3	AACT, CATD, CO9	+/-年齢
167	3	AACT, CATD, MIF	+/-年齢
168	3	AACT, CATD, PSGL	+/-年齢
169	3	AACT, CATD, SEPR	+/-年齢
170	3	AACT, CEA, CO3	+/-年齢
171	3	AACT, CEA, CO9	+/-年齢
172	3	AACT, CEA, MIF	+/-年齢
173	3	AACT, CEA, PSGL	+/-年齢
174	3	AACT, CEA, SEPR	+/-年齢
175	3	AACT, CO3, CO9	+/-年齢
176	3	AACT, CO3, MIF	+/-年齢
177	3	AACT, CO3, PSGL	+/-年齢
178	3	AACT, CO3, SEPR	+/-年齢
179	3	AACT, CO9, MIF	+/-年齢
180	3	AACT, CO9, PSGL	+/-年齢
181	3	AACT, CO9, SEPR	+/-年齢

10

20

30

40

【表3-5】

182	3	AACT, MIF, PSGL	+/-年齢
183	3	AACT, MIF, SEPR	+/-年齢
184	3	AACT, PSGL, SEPR	+/-年齢
185	3	CATD, CEA, CO3	+/-年齢
186	3	CATD, CEA, CO9	+/-年齢
187	3	CATD, CEA, MIF	+/-年齢
188	3	CATD, CEA, PSGL	+/-年齢
189	3	CATD, CEA, SEPR	+/-年齢
190	3	CATD, CO3, CO9	+/-年齢
191	3	CATD, CO3, MIF	+/-年齢
192	3	CATD, CO3, PSGL	+/-年齢
193	3	CATD, CO3, SEPR	+/-年齢
194	3	CATD, CO9, MIF	+/-年齢
195	3	CATD, CO9, PSGL	+/-年齢
196	3	CATD, CO9, SEPR	+/-年齢
197	3	CATD, MIF, PSGL	+/-年齢
198	3	CATD, MIF, SEPR	+/-年齢
199	3	CATD, PSGL, SEPR	+/-年齢
200	3	CEA, CO3, CO9	+/-年齢
201	3	CEA, CO3, MIF	+/-年齢
202	3	CEA, CO3, PSGL	+/-年齢
203	3	CEA, CO3, SEPR	+/-年齢
204	3	CEA, CO9, MIF	+/-年齢
205	3	CEA, CO9, PSGL	+/-年齢
206	3	CEA, CO9, SEPR	+/-年齢
207	3	CEA, MIF, PSGL	+/-年齢
208	3	CEA, MIF, SEPR	+/-年齢
209	3	CEA, PSGL, SEPR	+/-年齢
210	3	CO3, CO9, MIF	+/-年齢
211	3	CO3, CO9, PSGL	+/-年齢
212	3	CO3, CO9, SEPR	+/-年齢
213	3	CO3, MIF, PSGL	+/-年齢
214	3	CO3, MIF, SEPR	+/-年齢
215	3	CO3, PSGL, SEPR	+/-年齢
216	3	CO9, MIF, PSGL	+/-年齢
217	3	CO9, MIF, SEPR	+/-年齢
218	3	CO9, PSGL, SEPR	+/-年齢
219	3	MIF, PSGL, SEPR	+/-年齢
220	2	AACT, CATD	+/-年齢
221	2	AACT, CEA	+/-年齢
222	2	AACT, CO3	+/-年齢
223	2	AACT, CO9	+/-年齢
224	2	AACT, MIF	+/-年齢
225	2	AACT, PSGL	+/-年齢
226	2	AACT, SEPR	+/-年齢
227	2	CATD, CEA	+/-年齢

10

20

30

40

【表3-6】

228	2	CATD, CO3	+/- 年齢
229	2	CATD, CO9	+/- 年齢
230	2	CATD, MIF	+/- 年齢
231	2	CATD, PSGL	+/- 年齢
232	2	CATD, SEPR	+/- 年齢
233	2	CEA, CO3	+/- 年齢
234	2	CEA, CO9	+/- 年齢
235	2	CEA, MIF	+/- 年齢
236	2	CEA, PSGL	+/- 年齢
237	2	CEA, SEPR	+/- 年齢
238	2	CO3, CO9	+/- 年齢
239	2	CO3, MIF	+/- 年齢
240	2	CO3, PSGL	+/- 年齢
241	2	CO3, SEPR	+/- 年齢
242	2	CO9, MIF	+/- 年齢
243	2	CO9, PSGL	+/- 年齢
244	2	CO9, SEPR	+/- 年齢
245	2	MIF, PSGL	+/- 年齢
246	2	MIF, SEPR	+/- 年齢
247	2	PSGL, SEPR	+/- 年齢

10

20

30

40

50

## 【0093】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーは8以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質の8以上は以下を含む：A A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F およびP S G L を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 3、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C E A、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。

質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C A T D、C O 3、C O 9、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはA A C T、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは7以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの7つはC A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。

【 0 0 9 4 】

10

20

30

40

50

C O 3、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F およびP S G L を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C A T D、C E A、C O 3、C O 9、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C A T D、C E A、C O 3、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C A T D、C E A、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C A T D、C O 3、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは 6 以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの 6 つは C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含む。

[ 0 0 9 5 ]



ーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC A T D、C E A、C O 9、M I FおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC A T D、C E A、C O 9、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC A T D、C E A、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC A T D、C O 3、C O 9、M I FおよびP S G Lを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC A T D、C O 3、C O 9、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC A T D、C O 3、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC E A、C O 3、C O 9、M I FおよびP S G Lを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC E A、C O 3、C O 9、M I FおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC E A、C O 3、C O 9、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC E A、C O 3、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC E A、C O 3、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは5以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの5つはC O 3、C O 9、M I F、P S G LおよびS E P Rを含む。

#### 【0096】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは4以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの4つは以下を含む：A A C T、C A T D、C E A、C O 3；A A C T、C A T D、C E A、C O 9；A A C T、C A T D、C E A、M I F；A A C T、C A T D、C E A、P S G L；A A C T、C A T D、C E A、S E P R；A A C T、C A T D、C O 3、C O 9；A A C T、C A T D、C O 3、M I F；A A C T、C A T D、C O 3、P S G L；A A C T、C A T D、C O 3、S E P R；A A C T、C A T D、C O 9、M I F；A A C T、C A T D、C O 9、P S G L；A A C T、C A T D、C O 9、S E P R；A A C T、C A T D、C O 9、S E P R；A A C T、C A T D、M I F、P S G L；A A C T、C A T D、M I F、S E P R；A A C T、C A T D、P S G L、S E P R；A A C T、C E A、C O 3、C O 9；A A C T、C E A、C O 3、M I F；A A C T、C E A、C O 3、P S G L；A A C T、C E A、C O 9、M I F；A A C T、C E A、C O 9、P S G L；A A C T、C E A、C O 9、S E P R；A A C T、C E A、M I F、P S G L；A A C T、C E A、M I F、S E P R；A A C T、C E A、P S G L、S E P R；A A C T、C O 3、C O 9、M I F；A A C T、C O 3、C O 9、P S G L；A A C T、C O 3、S E P R；A A C T、C O 3、M I F、P S G L；A A C T、C O 3、M I F、S E P R；A A C T、C O 9、M I F、P S G L；A A C T、C O 9、M I F、S E P R；A A C T、C O 9、P S G L、S E P R；A A C T、M I F、P S G L、S E P R；C A T D、C E A、C O 3、C O 9；C A T D、C E A、C O 3、M I F；C A T D、C E A、C O 3、P S G L；C A T D、C E A、C O 3、S E P R；C A T D、C E A、C O 9、M I F；C A T D、C E A、C O 9、P S G L；C A T D、C E A、C O 9、S E P R；C A T D、C E A、M I F、P S G L；C A T D、C E A、M I F、S E P R；C A T D、C E A、P S G L、S E P R；C A T D

10

20

30

40

50

、CO3、CO9、MIF；CATD、CO3、CO9、PSGL；CATD、CO3、CO9、SEPR；CATD、CO3、MIF、PSGL；CATD、CO3、MIF、SEPR；CATD、CO3、PSGL、SEPR；CATD、CO9、MIF、PSGL；CATD、CO3、MIF、SEPR；CATD、CO3、PSGL、SEPR；CATD、CO9、MIF、PSGL；CEA、CO3、CO9、MIF；CEA、CO3、CO9、PSGL；CEA、CO3、MIF、PSGL；CEA、CO3、MIF、SEPR；CEA、CO3、PSGL、SEPR；CEA、CO9、MIF、PSGL；CEA、CO9、MIF、SEPR；CEA、CO9、PSGL、SEPR；CEA、MIF、PSGL、SEPR；CO3、CO9、MIF、PSGL；CO3、CO9、MIF、SEPR；CO3、CO9、PSGL、SEPR；CO3、MIF、PSGL、SEPR；CO9、MIF、PSGL、SEPR。

#### 【0097】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは3以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの3つは以下を含む：AACT、CATD、CEA；AACT、CATD、CO3；AACT、CATD、CO9；AACT、CATD、MIF；AACT、CATD、PSGL；AACT、CATD、SEPR；AACT、CEA、CO3；AACT、CEA、CO9；AACT、CEA、MIF；AACT、CEA、PSGL；AACT、CEA、SEPR；AACT、CO3、CO9；AACT、CO3、MIF；AACT、CO3、PSGL；AACT、CO3、SEPR；AACT、CO9、MIF；AACT、CO9、PSGL；AACT、CO9、SEPR；AACT、MIF、PSGL；AACT、MIF、SEPR；AACT、PSGL、SEPR；CATD、CEA、CO3；CATD、CEA、CO9；CATD、CEA、MIF；CATD、CEA、PSGL；CATD、CEA、SEPR；CATD、CO3、CO9；CATD、CO3、MIF；CATD、CO3、PSGL；CATD、CO3、SEPR；CATD、CO9、MIF；CATD、CO9、PSGL；CATD、CO9、SEPR；CATD、MIF、PSGL；CATD、MIF、SEPR；CATD、PSGL、SEPR；CEA、CO3、CO9；CEA、CO3、MIF；CEA、CO3、PSGL；CEA、CO3、SEPR；CEA、CO9、MIF；CEA、CO9、PSGL；CEA、MIF、PSGL；CEA、MIF、SEPR；CEA、PSGL、SEPR；CO3、CO9、MIF；CO3、CO9、PSGL；CO3、CO9、SEPR；CO3、MIF、PSGL；CO3、MIF、SEPR；CO3、PSGL、SEPR；CO9、MIF、PSGL；CO9、MIF、SEPR；CO9、PSGL、SEPR；MIF、PSGL、SEPR。

#### 【0098】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは2以上のタンパク質を含み、ここでタンパク質のうちの2つは以下を含む：AACT、CATD；AACT、CEA；AACT、CO3；AACT、CO9；AACT、MIF；AACT、PSGL；AACT、SEPR；CATD、CEA；CATD、CO3；CATD、CO9；CATD、MIF；CATD、PSGL；CATD、SEPR；CEA、CO3；CEA、CO9；CEA、MIF；CEA、PSGL；CEA、SEPR；CO3、CO9；CO3、MIF；CO3、PSGL；CO3、SEPR；CO9、MIF；CO9、PSGL；CO9、SEPR；MIF、PSGL；MIF、SEPR；PSGL、SEPR。

#### 【0099】

下に列挙されるように、表3のバイオマーカーパネルはリードパネルの多くの実施形態に対応する。本開示における他のリードパネルの類似したバリエントが熟考され、当業者に明白であり、その結果、それらは冗長な列挙(redundant recitation)を必要としない。

#### 【0100】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも7つ、少なくとも6つ、少なくとも5つ、少なくとも4つ、少なくとも3

10

20

30

40

50

つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、A 1 A T、C A T D、C E A、C O 9、O S T P およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 17、少なくとも 16、少なくとも 15、少なくとも 14、少なくとも 13、少なくとも 12、少なくとも 11、少なくとも 10、少なくとも 9 つ、少なくとも 8 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、A 1 A T、A P O A 1、C A T D、C E A、C L U S、C O 3、C O 9、F G B、F I B G、G A R S、G E L S、M I F、P R D X 1、P S G L、S B P 1 およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、A 1 A T、C A T D、C E A、C O 9、G A R S およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 13、少なくとも 12、少なくとも 11、少なくとも 10、少なくとも 9 つ、少なくとも 8 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、A 1 A T、A A C T、C A T D、C E A、C O 9、C R P、G A R S、G E L S、S 1 0 A 8、S 1 0 A 9、S A A 1 およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 8 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：C A T D、C E A、C O 3、C O 9、G A R S、G E L S、S E P R およびT F R C。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：C A T D、C E A、A A C T、C O 9 およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A T、C A T D、C E A、G A R S、G E L S およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 18、少なくとも 17、少なくとも 16、少なくとも 15、少なくとも 14、少なくとも 13、少なくとも 12、少なくとも 11、少なくとも 10、少なくとも 9 つ、少なくとも 8 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、A 1 A T、A P O A 1、C A T D、C E A、C L U S、C O 3、C O 9、F G B、F I B G、G A R S、G E L S、H P T、M I F、P R D X 1、P S G L、S B P 1 およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 8 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、A 1 A T、C A T D、C E A、C O 9、F I B G、G E L S およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：C A T D、C E A およびS E P R。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 8 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R およびT F R C。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、以下の少なくとも 7 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 3 つ、または少なくとも 2 つを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む：A 1 A G 1、C A T D、C

10

20

30

40

50

E A、C O 3、C O 9、G E L S およびS E P R。さらに、本実施例におけるバイオマーカーのグループは、いくつかの場合では、表1に見られる特性を有するポリペプチドをさらに含むことができる。

#### 【0101】

いくつかの実施形態では、バイオマーカーパネルは、C A T D、C L A U S、G D F 1 5 およびS A A 1 の少なくとも3つまたは少なくとも2つを含む。いくつかの実施形態では、C A T D、C L A U S、G D F 1 5 およびS A A 1 を含むパネルは、高度な腺腫検出のために設計される。いくつかの実施形態では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて、A 1 A G 1、A 1 A T、A P O A 1、C A T D、C E A、C L U S、C O 3、C O 9、F G B、F I B G、G A R S、G E L S、M I F、P R D X 1、P S G L 10、S B P 1 およびS E P R を含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含む。

#### 【0102】

##### <バイオマーカーパネル評価>

本明細書に記載されるいくつかの方法は、生体サンプルにおける少なくとも2つのバイオマーカーの各々の量を少なくとも2つのバイオマーカーの各々の基準量と比較する工程を含む。本明細書のいくつかの方法は、被験体におけるバイオマーカーパネルのプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較する工程を含む。基準量は、いくつかの場合では、対照被験体におけるバイオマーカーの量である。バイオマーカーパネルの基準プロファイルは、いくつかの場合では、対照被験体のバイオマーカープロファイルである。対照被験体は、いくつかの場合では、既知の診断を有している被験体である。例えば、対照被験体は陰性対照被験体であり得る。陰性対照被験体は、進行性の結腸直腸腺腫を有していない被験体であり得る。陰性対照被験体は、C R C を有していない被験体であり得る。陰性対照被験体は、結腸ポリープを有していない被験体であり得る。他の例に関して、対照被験体は陽性対照被験体であり得る。陽性対照被験体は、進行性の結腸直腸腺腫の確定診断を有している被験体であり得る。陽性対照被験体は、C R C の確定診断を有している被験体であり得る。陽性対照被験体は、C R C のあらゆるステージ(例えば、ステージ0、ステージI、ステージII、ステージII A、ステージII B、ステージII C、ステージII I I、ステージII I A、ステージII I B、ステージII I C、ステージII V、ステージII V A、あるいはステージII V B)の確定診断を有している被験体であり得る。基準量はバイオマーカーの予め決められたレベルであり得、ここで予め決められたレベルは、対照被験体におけるバイオマーカーの測定された量に基づいて設定される。

#### 【0103】

いくつかの基準バイオマーカーパネルのレベルは、C R C またはA A を有していない10の個体、またはC R C の既知のステージまたは既知のA A 状態にある10の個体などの、共通の疾病状態を有している多くの個体に対する平均値を含む。代替的に、いくつかの場合では、基準は、既知のC R C またはA A 状態の個体のセットに対応する、タンパク質蓄積レベルのセット、およびいくつかの実施形態では年齢を含む。これらの場合において、レベルは平均化されず、むしろ、患者のレベルは、セットにおける各々の標準または基準の個体の蓄積レベルの各セットと比較され、患者の蓄積レベルが少なくとも基準セットの蓄積レベルと大きくは異なる場合に判定がなされる。いくつかの場合では、基準セットは既知の癌のない状態の個体を含むが、いくつかの場合では、基準セットは、ステージ0、ステージI、ステージII、ステージII A、ステージII B、ステージII C、ステージII I I、ステージII I A、ステージII I B、ステージII I C、ステージII V、ステージII V A、またはステージII V Bなどの、既知のC R C またはA A のステージ状態の個体を含む。いくつかの場合では、患者のパネル蓄積レベルが、基準の蓄積レベルと一致するか、または大きくは異なる場合、患者は疾患有していると分類される。いくつかの場合では、患者のパネル蓄積レベルが基準の蓄積レベルと大きく異なる場合、患者は疾患有していないと分類される。

#### 【0104】

10

20

30

40

50

いくつかの場合では、比較は、被験体から得られた生体サンプルにおけるバイオマーカーの量とバイオマーカーの基準量との間の差を判定する工程を含む。方法は、いくつかの場合では、少なくとも1つの測定されたバイオマーカーの基準量と比較した、被験体から得られた生体サンプルにおける測定されたバイオマーカーの少なくとも1つの量の偏差（例えば測定された差）に基づいて、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如を検出する工程を含む。いくつかの場合では、方法は、正の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルからの少なくとも1つの測定されたバイオマーカーの量（例えば、陽性対照被験体から測定されたバイオマーカーの量）の偏差が小さい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在を検出する工程を含む。他の場合では、方法は、（例えば、陰性対照被験体から測定された）負の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルからの少なくとも1つの測定されたバイオマーカーの量の偏差が大きい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在を検出する工程を含む。いくつかの場合では、方法は、（例えば、陽性対照被験体から測定された）正の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルからの少なくとも1つの測定されたバイオマーカーの量の偏差が大きい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの欠如を検出する工程を含む。いくつかの例では、方法は、（例えば、陰性対照被験体から測定された）負の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルからの少なくとも1つの測定されたバイオマーカーの量の偏差が小さい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの欠如を検出する工程を含む。いくつかの場合では、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如の検出は、本明細書に記載されたアルゴリズムによって作成された臨床転帰スコアに基づき得る。いくつかの場合では、方法は、特徴空間を、結腸直腸癌の存在を予測する特徴値と結腸直腸癌の欠如を予測する特徴値に分割する分類子に基づいた、結腸直腸癌の存在または欠如の検出を含む。いくつかの場合では、方法は、偽陽性および/または偽陰性を減少させるために、被験体の結腸直腸癌の状態を「未確定（undetermined）」（例えば、「コール（call）なし」）として分類する工程を含む。いくつかの場合では、未確定の結腸直腸癌の状態の患者は、後の時点で再試験される。アルゴリズムは、被験体から得られた生体サンプルにおける測定されたバイオマーカーの量とバイオマーカーの基準量との間の偏差の評価に使用することができる。

## 【0105】

いくつかの場合では、分類子は、被験体の結腸直腸癌の状態を判定するために使用される。例えば、N測定値を分類子（例えば、タンパク質および被験体の年齢を含むバイオマーカー）への入力として与えると、被験体はn次元空間における時点として表わされ得、ここで各軸は測定値である。いくつかの場合では、分類子は、n次元空間を2以上のカテゴリーに分類するN-1) - 次元形状を定義する。いくつかの場合では、2つのカテゴリーは、癌の被験体および癌のない被験体である。いくつかの場合では、3つのカテゴリーがある。いくつかの場合では、3つのカテゴリーは、癌の被験体、癌のない被験体、および被験体の癌状態を確実に判定することができない、コールなしの領域である。いくつかの場合では、分類子は、特定のタンパク質に対するカットオフの（cutoff's）「シフト（shift）」を可能にする。例えば、xおよびyが両方とも0を超える、および2つの軸の各々が癌状態を暗示するタンパク質の蓄積レベルである、境界y=1/xによって定義された分類子を考慮されたい。そのような場合では、タンパク質蓄積レベルが境界より下に低下する（例えば、[0, 0]、[2, 0.3]など）被験体はすべて、疾病を有していない被験体として分類され、一方でタンパク質蓄積レベルが境界を超えている被験体は、疾病を有している被験体として分類される。x軸タンパク質が1の値を有している場合、本例では、y軸タンパク質は、結果として癌診断につながる1を超えた値であるに違いない。しかしながら、x軸タンパク質が10の値を有している場合、y軸タンパク質は、結果として癌診断につながる0.1を超える値を有している必要がある。本例は、分類子として（N-1) - 次元形状を使用してn次元形状に外挿され得る。

## 【0106】

10

20

30

40

50

特定の分類モデルの固有のパフォーマンスは、2つのクラスに対するモデルスコアの分布および分離に依存する。完全なクラス分離はまれな例外であるが、ほとんどの分類モデルは、分類子スコアの範囲にわたるクラス重複が原因でミスを犯す。例えば、そのような重複は、1つのクラスまたは他のクラスにある確率が50%に近いスコア範囲の中間近くで生じ得る。

#### 【0107】

そのような重複領域内では、第3のクラスを分類コールの最終的なセットに加えることは時に利点がある。第3のクラスは、随意に、このスコア領域におけるコールの不確実性を示している。これは、例えば、分類スコアの不確定領域を定義することによって実施される。この領域でのスコアを有するサンプルは、「不確定」または「コールなし」の試験結果を与えられる。この領域を超えるまたは下回るスコアを有するサンプルは、試験カットオフに対するそれらの位置によって標準の陽性または陰性の試験結果を与えられる。いくつかの場合では、「コールなし」の割合、またはサンプルが「コールなし」領域に当たる頻度は、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約10%、約15%、または約20%である。特に、「コールなし」の割合は約10%である。不確定領域を分類モデルに加える利点は、分類パフォーマンスが不確定領域の外のサンプルに対して改善され得ることであり、つまり、残りの陽性および陰性の試験に対するミスはより少なくなる。しかしながら、不確定範囲が大きすぎる場合、あまりにも多くの不確定結果があり得、試験の値は疑問視され得る。

10

#### 【0108】

20

##### <分類子の構築>

基準分類子は、任意数の利用可能な技術を使用して当業者によって容易に構築される。基準分類子は、例えば、既知の結腸直腸の健康状態の個体から得られた、血液サンプルなどの複数のサンプルに対するパネルレベルを分析することによって作成される。結腸直腸癌を有すると知られているまたは後に確認された個体または結腸直腸癌を有していないと知られているまたは後に確認された個体から得られたサンプルを含む、1000以上ものサンプルが、それらのバイオマーカーパネルのレベルに関して分析された。いくつかのパネルの非タンパク質のバイオマーカー構成要素である年齢も、サンプル収集時に各個体に対して記録される。

30

#### 【0109】

いくつかの場合では、各サンプルに対するバイオマーカーパネルのレベルは、健全な結腸直腸の健康状態またはさらなる研究を保証する結腸直腸の健康問題を暗示するものとして個体のバイオマーカーパネルのレベルを分類するように、比較のための基準パネルレベルとして個々に使用される。分類されるパネルのレベルは、陽性および陰性のバイオマーカーパネルのレベル、および例えば、試験する個体のパネルのレベルが大きくは異なる各カテゴリーの数字サンプル(number samples)によって判断された転帰と比較される。

40

#### 【0110】

代替的に、分類子は、バイオマーカーパネルのレベルの収集から構築される。分類子の構築は当業者に周知である。機械学習モデルは、特に、分類子を既知の結腸直腸の健康状態のサンプルから得られたパネルレベルのセットから構築するのに有用である。例えば、機械学習モデルは、任意数の、Rなどの統計プログラミング言語、Pythonおよび関連する機械学習パッケージなどのスクリプト言語、WekaまたはJava(登録商標)などのデータマイニングソフトウェア、Mathematica、MatlabまたはSASを使用して容易に構築される。

#### 【0111】

50

##### <結腸直腸の健康状態の評価における分類子の実施>

本明細書に記載される方法のいずれかを実施する際に、比較は、随意に、被験体のバイオマーカープロファイルと基準バイオマーカープロファイルとの間の差を判定する工程を含む。該方法は、例えば、基準バイオマーカープロファイルと比較した、被験体のバイオ

50

マーカープロファイルの偏差（例えば測定された差）に基づいて、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如を検出する工程を含む。例えば、いくつかの方法は、陽性の基準バイオマーカープロファイル（例えば、陽性対照被験体からのパネルバイオマーカーの測定値に基づいたバイオマーカープロファイル）と比較した被験体のバイオマーカープロファイルの偏差が小さい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在を検出する工程を含む。追加の例として、いくつかの方法は、陰性の基準バイオマーカープロファイル（例えば、陰性対照被験体からのパネルバイオマーカーの測定値に基づいたバイオマーカープロファイル）と比較した被験体のバイオマーカープロファイルの偏差が大きい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在を検出する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、陽性の基準バイオマーカープロファイルと比較した被験体のバイオマーカープロファイルの偏差が大きい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの欠如を検出する工程を含む。いくつかの例では、該方法は、陰性の基準バイオマーカープロファイルと比較した被験体のバイオマーカープロファイルの偏差が小さい場合に、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの欠如を検出する工程を含む。いくつかの場合では、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如の検出は、本明細書に記載されたアルゴリズムによって作成された臨床転帰スコアに基づき得る。アルゴリズムは、被験体のバイオマーカープロファイルと基準バイオマーカープロファイルとの間の偏差の評価に使用することができる。

10

20

30

40

50

#### 【0112】

いくつかの方法は、いくつかの場合において被験体における進行性の結腸直腸腺腫の存在または欠如を検出する工程を含む。進行性の結腸直腸腺腫は、結腸直腸の進行性の結腸直腸腺腫であり得る。本明細書に記載される方法は、1cmを超える寸法を有している進行腺腫などの、あらゆるサイズの進行性の結腸直腸腺腫の存在または欠如を検出するために使用される。本明細書に記載される方法は、絨毛状、鋸歯状、無茎性、または非有茎性の進行腺腫の存在または欠如を検出するために使用される。

#### 【0113】

いくつかの場合では、本明細書に提供される診断法は、生体サンプルにおいて少なくとも5つのバイオマーカーを含むバイオマーカーパネルを測定する工程を含み、ここで少なくとも3つのバイオマーカーはAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRを含む。いくつかの場合では、該方法は、正の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおけるAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRを含むパネルのパネルレベルの偏差が小さい場合に、進行性の結腸直腸腺腫の陽性診断を提供する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、負の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおけるAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRを含むパネルのパネルレベルの偏差が大きい場合に、進行性の結腸直腸腺腫の陽性診断を提供する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、正の参照値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおけるAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRを含むパネルのパネルレベルにおける偏差が大きい場合に進行性の結腸直腸腺腫の肯定的な診断を提供する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、負の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおけるAACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRを含むパネルのパネルレベルの偏差が小さい場合に、進行性の結腸直腸腺腫の陽性診断を提供する工程を含む。

#### 【0114】

本明細書に開示される方法、組成物、キットおよびシステムは、70%を超える、75%を超える、80%を超える、85%を超える、90%を超える、95%を超える、96%を超える、97%を超える、98%を超える、99%を超える、または約100%の感度を有する進行性の結腸直腸腺腫を検出する。そのような診断法は、約50% - 100%の間、約60% - 100%の間、約70% - 100%の間、約80% - 100%の間、ま

たは約 90 - 100 % の間の感度を有する進行性の結腸直腸腺腫を検出する。そのような診断法は、少なくとも 70 %、少なくとも 75 %、少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または約 100 % の感度を有する進行性の結腸直腸腺腫を検出する。そのような診断法は、約 50 % - 100 % の間、約 60 % - 100 % の間、約 70 % - 100 % の間、約 80 % - 100 % の間、または約 90 - 100 % の間の特異度を有する進行性の結腸直腸腺腫を検出する。特定の場合では、そのような診断法は、50 % 以上、60 % 以上、70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上の感度および特異度を有する進行性の結腸直腸腺腫を検出する。特定の場合では、そのような診断法は、約 50 % - 100 % の間、約 60 % - 100 % の間、約 70 % - 100 % の間、約 80 % - 100 % の間、または約 90 - 100 % の間の感度および特異度を有する進行性の結腸直腸腺腫を検出する。

10

#### 【0115】

いくつかの場合では、パネルは、第 2 のバイオマーカーのレベルに対する第 1 のバイオマーカーのレベルの比率を含む。したがって、いくつかの場合では、本明細書に提供される診断法は、被験体から得られた生体サンプルにおける第 2 のバイオマーカーのレベルに対する第 1 バイオマーカーのレベルの比率を判定する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、正の参照値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおける第 2 のバイオマーカーに対する第 1 バイオマーカーの比率の偏差が小さい場合に、CRC の陽性診断を提供する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、負の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおける第 2 のバイオマーカーに対する第 1 バイオマーカーの比率の偏差が大きい場合に、CRC の陽性診断を提供する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、第 1 バイオマーカーと、陽性の参照値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおける第 2 のバイオマーカーの比率における偏差が高度かどうかの肯定的な診断を提供する工程を含む。いくつかの場合では、該方法は、負の基準値と比較した被験体から得られた生体サンプルにおける第 2 のバイオマーカーに対する第 1 バイオマーカーの比率の偏差が小さい場合に、CRC の陽性診断を提供する工程を含む。

20

#### 【0116】

被験体における CRC の検出のための本明細書に記載される診断法は、75 % を超える、80 % を超える、85 % を超える、90 % を超える、95 % を超える、96 % を超える、97 % を超える、98 % を超える、99 % を超える、または約 100 % の感度を有する CRC を検出する。そのような診断法は、約 70 % - 100 % の間、約 80 % - 100 % の間、または約 90 - 100 % の間の感度を有する CRC を検出する。そのような診断法は、70 % を超える、75 % を超える、80 % を超える、85 % を超える、90 % を超える、95 % を超える、96 % を超える、97 % を超える、98 % を超える、99 % を超える、または約 100 % の特異度を有する CRC を検出する。そのような診断法は、約 50 % - 100 % の間、約 60 % - 100 % の間、約 70 % - 100 % の間、約 80 % - 100 % の間、または約 90 - 100 % の間の特異度を有する CRC を検出する。特定の実施形態では、そのような診断法は、50 % 以上、60 % 以上、70 % 以上、75 % 以上、80 % 以上、85 % 以上、90 % 以上の感度および特異度を有する CRC を検出する。特定の実施形態では、そのような診断法は、約 50 % - 100 % の間、約 60 % - 100 % の間、約 70 % - 100 % の間、約 80 % - 100 % の間、または約 90 - 100 % の間の感度および特異度を有する CRC を検出する。

30

#### 【0117】

分類子の全体的パフォーマンスは、いくつかの場合において、本明細書に報告されるような ROC の AUC によって評価される。ROC は、すべての考えられるモデルスコアのカットオフポイントで分類子のパフォーマンスを考慮する。しかしながら、分類決定がなされる必要があるときに（例えば、この患者は病気を患っているか健康であるか）、カットオフポイントは 2 つのグループを定義するために使用される。様々な実施形態において、カットオフポイント以上の分類スコアは陽性（または病気）として評価され、一方でカ

40

50

ットオフポイント未満であれば陰性（または健康）として評価される。

【0118】

本明細書に開示されたいくつかの分類モデルに関して、分類スコアのカットオフポイントは、検証ROC上の最大精度のポイントを選択することによって確立される。ROC上の最大精度のポイントは、カットオフポイントまたは正しい分類コールの総数が最大限にされるポイントである。本明細書には、陽性および陰性の分類コールが等しく重みづけされる。複数の最大精度のポイントが、与えられたROC上に存在する場合では、関連する最大感度を有するポインが、いくつかの場合において選択される。

【0119】

<アルゴリズムベースの方法>

本明細書に記載される方法、組成物、キット、およびシステムは、被験体における進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如を予測するためのアルゴリズムベースの診断アッセイを利用する。1つ以上のタンパク質バイオマーカー、および随意に、例えば、年齢、体重、性別、病歴、危険因子、または家族歴などの、1つ以上の被験体の特性の発現レベルは、単独で使用されるか、または進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如の可能性を予測するために使用される定量的スコアを計算するために機能サブセットへと配される（arranged）。本明細書のリードの実施形態は、主にタンパク質またはポリペプチドのパネルであるバイオマーカーパネルに集中しているが、バイオマーカーパネルのいずれかの測定は、RNA、DNA、有機代謝産物、あるいは無機の分子または代謝産物（例えば、鉄、マグネシウム、セレンium、カルシウム、または他のもの）などの、タンパク質および非タンパク質の成分を含み得る。

10

20

30

40

【0120】

アルゴリズムベースのアッセイおよび本明細書に記載される方法のいずれかの慣行によって提供される関連情報は、被験体における最適な処置の意志決定を促進することができる。例えば、臨床的ツールなどによって、医師または介護者は、進行性の結腸直腸腺腫または癌腫を有している可能性が低く、それ故、処置または進行性の結腸直腸腺腫またはCRCに対するモニタリングの増加を必要としないだろう患者、または進行性の結腸直腸腺腫または癌腫を有している可能性が高く、それ故、処置または進行性の結腸直腸腺腫またはCRCに対するモニタリングの増加を必要とするであろう患者を識別することができる。

【0121】

定量的スコアは、いくつかの場合において特定のアルゴリズムの適用によって判定される。本明細書に開示された方法における定量的スコアを計算するために使用されるアルゴリズムは、バイオマーカーまたはバイオマーカーのグループの発現レベル値をグループ化し得る。バイオマーカーの特定のグループの形成はさらに、定量的スコアに対するバイオマーカーまたはバイオマーカーのサブセット（例えば分類子）の様々な発現レベルの寄与の数学的な重みづけ（mathematical weighting）を促進することができる。本明細書には、定量的スコアを計算するための典型的なアルゴリズムが記載される。

【0122】

典型的なバイオマーカー、および適用可能であるときに、それらのヒトアミノ酸配列は、表1および3におけるリストされる。バイオマーカーは、表3のポリペプチド配列の全長分子の他に、表1のポリペプチド配列の一意に同定可能なフラグメントも含み得る。マーカーは、有益であるために全長であり得るが、そうである必要はない。多くの場合では、フラグメントは、表3のポリペプチドに由来するまたはそれを表わしているものとして一意に同定可能である限り、本明細書の目的に有益である。

【0123】

<典型的な被験体>

進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つを有している可能性を判定したい

50

被験体などの、多くの適格な被験体から、生体サンプルが収集される。被験体は、いくつ  
かの場合において、健康且つ無症候性である。被験体の年齢は制限されない。例えば、被  
験体は、0歳から約30歳の間、約20歳から約50歳の間、または約40歳またはそれ  
以上である。様々な場合では、被験体は、健康且つ無症候性であり、0-30歳、20-  
50歳、または約40歳またはそれ以上である。被験体は、少なくとも30歳、少なくとも  
40歳、または少なくとも50歳である。被験体は、50歳未満、40歳未満、または  
30歳未満である。様々な例では、被験体は健康且つ無症候性である。様々な例では、被  
験体は、C R C、腺腫およびポリープの少なくとも1つの家族歴を有していない。様々な例  
では、被験体は、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、または結腸組織生検を受けなかっ  
た。様々な例では、被験体は、健康且つ無症候性であり、結腸内視鏡検査、S状結腸鏡検査、  
または結腸組織生検を受けていない。いくつかの場合では、被験体は、結腸内視鏡検査、  
S状結腸鏡検査、または結腸組織生検を受けておらず、C R Cの症状、C R Cの家族歴、  
およびC R Cに対する危険因子の1つ以上を有している。いくつかの場合では、生体サン  
プルは、定期健診の間に、またはバイオマーカーのベースラインレベルを確立するため  
に、被験体から得ることができる。いくつかの場合では、被験体は、結腸直腸癌腫に対する  
症状を有しておらず、結腸直腸癌腫に対する家族歴を有しておらず、結腸直腸癌腫に対する  
認識された危険因子を有していない。

10

#### 【0124】

いくつかの場合では、被験体は、結腸直腸癌腫に対する症状、結腸直腸癌腫に対する家  
族歴、および結腸直腸癌腫に対する認識された危険因子の少なくとも1つを示す。いくつ  
かの場合では、被験体は、スクリーニングアッセイ（例えば、糞便潜血検査またはS状結  
腸鏡検査）または直腸指診または厳格または柔軟な結腸内視鏡検査またはCTスキャンまた  
はC R Cの高いリスクのあるまたはそれを有している他のX線技術によって識別される  
。例えば、本明細書に記載される1つ以上の方法は、C R Cに対する処置を受けている被  
験体に対して、被験体が受けている治療または処置の有効性を判定するために適用される  
。

20

#### 【0125】

##### <典型的な生体サンプル>

いくつかの典型的な実施形態における生体サンプルは、循環血液サンプルであるか、また  
は個体の静脈または動脈から得られたサンプルである。サンプルは、随意に、血液サン  
プルから、血漿、血中遊離タンパク質、または総タンパク質画分を分離するように処理さ  
れる。サンプルは、しばしば、保存を促進するためにまたは室温での出荷を可能にするた  
めに処理されるが、好ましい実施形態では、サンプルは、例えばドライアイスとともにまた  
はその上で冷凍で出荷され、鷗血専門医のオフィスとは別の処理センターでの分析のた  
めにサンプルを貯蔵する。

30

#### 【0126】

代表的なサンプル収集プロトコルとして、血清、E D T A 血漿、クエン酸血漿およびバ  
フィーコートに対する血液サンプルが、B e c t o n - D i c k i n s o n , F r a n  
k l i n L a k e s , N e w J e r s e y , U S A a n d A l m e c o A / S ,  
E s b j e r g , D e n m a r k からの、エンドトキシン、デオキシリボヌクレアーゼ  
(D N A s e - ) およびリボヌクレアーゼ (R N A s e - ) を自由に収集する (f r e e  
c o l l e c t i o n ) および取り扱う設備、収集チューブおよび保存バイアルを使用  
して、前肘静脈からの軽い止血帯を用いて収集される。血液サンプルは、21で10分  
間3,000×Gで遠心分離にかけられ、血清および血漿は、赤血球およびバフィーコー  
ト層からすぐに分離される。白血球および血小板による汚染は、バフィーコート上に0.  
5 cmの触れられていない血清または血漿を残すことによって減少され、これは冷凍用に  
別に移される。分離されたサンプルはすべて、保存識別用に特有のバーコードで印をつけ  
られ、これは、F r e e z e r W o r k s (登録商標) , S e a t t l e , W A , U  
S A の追跡システムを使用して実行される。分離されたサンプルは、継続的な電子監視下  
で-80で冷凍される。全手順は、最初のサンプル採取から2時間以内に完了する。

40

50

## 【0127】

追加の生体サンプルは、限定されないが、以下の1つ以上を含む：尿、便、涙、全血、血清、血漿、血液成分、骨髄、組織、細胞、臓器、唾液、頬スワップ(cheek swab)、リンパ液、脳脊髄液、病変の滲出液(lesion exudates)および身体によって生成された他の流体。生体サンプルは、いくつかの場合において、固体の生体サンプル、例えば組織生検である。生検は、固定することができる、パラフィン包埋することができる、または新鮮であり得る。本明細書の多くの実施形態では、好ましいサンプルは、個体の静脈または動脈から採取された血液サンプル、またはそれらの加工品である。

## 【0128】

生体サンプルは、随意に、本明細書に記載されるような1つ以上のバイオマーカーの測定を促進するように、当該技術分野で既知のまたはそうでなければ本明細書に記載される手段を使用して処理される。サンプル調製の操作は、例えば、核酸、タンパク質、または他の巨大分子の抽出などの、細胞または組織からの細胞内物質の抽出および／または分離を含む。本開示の方法とともに使用することができるサンプル調製は、限定されないが、遠心分離、親和性クロマトグラフィー、磁気分離、イムノアッセイ、核酸アッセイ、受容体ベースのアッセイ、細胞数測定アッセイ、比色アッセイ、酵素アッセイ、電気泳動アッセイ、電気化学アッセイ、分光学的アッセイ、クロマトグラフィーアッセイ、顕微鏡アッセイ、組織分布的アッセイ、熱量測定アッセイ、放射性同位体アッセイ、タンパク質合成アッセイ、組織学的アッセイ、培養アッセイ、およびそれらの組み合わせ含む。

10

## 【0129】

サンプル調製は、随意に、適切な溶媒、および濃度レベルの適正範囲が、与えられたアッセイによって検出されることを保証する量による希釈を含む。

20

## 【0130】

サンプルの細胞間隙から核酸および巨大分子へのアクセスは、物理的手法、化学的手法のいずれか、またはその両方の組み合わせによって実行される。これらの方法のいくつかの適用において、粗抽出液の分離に続いて、多くの場合、核酸、タンパク質、細胞膜粒子などを分離することが望ましい。これらの方のいくつかの適用において、核酸をそのタンパク質および細胞膜粒子とともに維持することが望ましい。

30

## 【0131】

本明細書に提供される方法のいくつかの適用において、核酸およびタンパク質は、本開示の方法を使用して分析前に生体サンプルから抽出される。抽出は、例えば、洗剤溶解産物の使用、超音波処理、またはガラスピーブを使用するボルテックスによって達成される。

30

## 【0132】

いくつかの適用において、分子は、限定されないが、勾配遠心分離(例えば、塩化セシウム勾配、蔗糖勾配、グルコース勾配、または他の勾配)技術、遠心分離プロトコル、煮沸、精製キット、およびTrizolまたはDNAzolを使用する方法などの薬剤抽出法(agent extraction method)を用いる液体抽出の使用を含む、当該技術分野において適切な技術を使用して分離され得る。

40

## 【0133】

いくつかの場合では、サンプルは、分析のために送られる前に別の場所で部分的に調製される。例えば、鴻血専門医は、クリニックまたは病院で血液サンプルを採取する。サンプルは、血漿を生成するために、例えば、抗凝血薬処置のチューブに入れられ、遠心分離機にかけることによって部分的に処理され得る。血漿などの部分的に処理されたサンプルは、その後、別の施設に送られ(例えば、アイスとともにまたは室温で保存して郵送される)、そこで、バイオマーカーパネルのレベルおよび／またはCRCまたは進行腺腫健康状態を判定するために、本開示の方法のいずれかが実行され得る。

## 【0134】

サンプルは、望ましい検出方法に依存して標準の生体サンプル調製に従って調製される

50

。例えば、質量分析による検出のために、患者から得られた生体サンプルは、遠心分離にかけられ、濾過され、免疫親和性カラムにより処理され、画分へと分離され、部分的に消化され得る、およびそれらの組み合わせが行われ得る。様々な画分は、バッファー、またはLCMSローディングバッファーを含む、検出および分析のための他のタイプの添加液などの、適切な担体中で再懸濁され得る。

**【0135】**

<バイオマーカー評価>

本開示は、生体サンプルにおいて1つ以上のバイオマーカーパネルを測定する方法を提供する。本明細書に記載されたパネルのいずれかのバイオマーカーの1つ以上を検出するために、適切な方法が使用され得る。

10

**【0136】**

いくつかの場合では、特定範囲内にある値のみが報告される。例えば、いくつかの場合では、与えられたカットオフ値より下の分析されたタンパク濃度は、アッセイの失敗を示している。特定のバイオマーカーに対する典型的な許容可能な範囲は、表4に開示される。

**【0137】**

**【表4】**

表4. 対象のバイオマーカーに対する典型的な許容可能な範囲。

タンパク質	低	高	単位
AACT	62.5	4000	μg/ml
CATD	62.5	1000	ng/ml
CEA	3	120	ng/ml
CLUS	30	480	μg/ml
CO3	117.25	7500	μg/ml
CO9	4.68	300	μg/ml
GDF15	187.2	12000	pg/ml
MIF	3.13	100	ng/ml
PSGL	93.75	1500	U/ml
SAA1	18	144	μg/ml
SEPR	10	160	ng/ml

20

30

40

**【0138】**

本明細書に記載される方法に実際に使用される有用な分析物捕捉剤は、限定されないが、粗血清含有抗体、精製された抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、合成抗体、抗体フラグメント（例えばFabフラグメント）などの抗体；プロテインA、炭水化物結合タンパク質、および他の反応体などの、抗体相互作用の薬剤（antibody interacting agent）；タンパク質反応体（例えば、アビジンおよびその誘導体）；ペプチド；および酵素基質、補助因子、金属イオン／キレート、アプタマー、およびハプテンなどの、小さな化学物質。標的または固体表面（例えば、バイオチップおよびカラム）への結合を最適化するために、抗体は修飾され得るか、または化学的に処理され得る。

50

## 【0139】

バイオマーカーは、いくつかの場合において、イムノアッセイを使用して生体サンプルにおいて測定される。いくつかのイムノアッセイは、抗原に特異的または有益に結合するかまたはそれを認識する抗体を使用する（例えば、タンパク質またはペプチド上の部位、バイオマークー標的）。いくつかのイムノアッセイは、抗体を使用して生体サンプルを接触させ、抗体がサンプルにおいて抗原と複合体を形成することを可能にする工程、サンプルを洗浄する工程、検出試薬との抗体・抗原複合体を検出する工程を含む。バイオマークーを認識する抗体は、市販で入手可能であり得る。バイオマークーを認識する抗体は、抗体産生の既知の方法によって生成され得る。

## 【0140】

10

イムノアッセイは、間接測定法を含み、ここで、例えば、第2の標識抗体は、結合されたマークー特異抗体を検出するために使用され得る。典型的な検出可能な標識は、磁気ビーズ（例えば、DYNABEADS（商標））、蛍光染料、放射標識、酵素（例えば、ホースラディッシュペルオキシド、アルカリフェオヌファターゼ、および一般に使用される他のもの）、およびコロイド金または色ガラスなどの熱量測定標識（calorimetric labels）、またはプラスチックビーズを含む。サンプルにおけるバイオマークーは、競合または阻害アッセイを使用して測定され得、ここで、例えば、マークーの別のエピトープに結合するモノクローナル抗体は、混合物と同時にインキュベートされる。

## 【0141】

20

イムノアッセイを使用して抗原を検出する条件は、使用される特定の抗体に依存する。また、インキュベーション時間は、アッセイフォーマット、マークー、溶液の量、濃度などに左右され得る。イムノアッセイは室温で実行することができるが、使用される抗体に応じて摂氏約0度から約40度などの、温度範囲で行うことができる。

## 【0142】

30

開始基準としてアッセイを本開示のバイオマークーの検出に合わせるために使用され得る様々なタイプの当該技術分野では既知のイムノアッセイがある。有用なアッセイは、例えば、酵素結合抗体免疫吸着アッセイ（ELISA）などの、酵素免疫アッセイ（EIA）を含むことができる。例えば、抗原は、固体担体または表面に結合される場合、特異抗体との反応によって検出され得、抗体は、抗原を二次抗体と反応させることによって、または標識を一次抗体に直接組み込むことによって定量化され得る。代替的に、抗体は、固体表面に結合され得、抗原が加えられる。その後、抗原上で別のエピトープを認識する二次抗体が加えられ、検出され得る。そのようなアッセイは、「サンドイッチアッセイ」と呼ばれ得、高いバックグラウンド反応または非特異的反応の問題を回避するために使用され得る。これらのタイプのアッセイは、生体サンプルにおいて低濃度の抗原を測定するのに十分に感知可能である且つ再現可能であり得る。

## 【0143】

40

イムノアッセイは、サンプルにおけるマークーの存在または欠如の他に、サンプルにおけるマークーの量を判定するために使用される。抗体マークー複合体の量、または存在を測定する方法は、限定されないが、蛍光、発光、化学発光、吸光度、反射率、透過率、複屈折率または屈折率（例えば、表面プラズモン共鳴、橢円偏光法、共振ミラー方法（resonant mirror method）、グレーティングカプラ導波管法（grating coupler waveguide method）またはインターフェロメトリーを含む。そのような試薬は、顕微鏡検査、画像化法および非画像化法の様々な形態などの、光検出方法を用いて使用することができる。電気化学的方法は、ボルタンメトリーおよびアンペロメトリー法を含むことができる。無線周波数法は多極共鳴分光法を含むことができる。

## 【0144】

50

バイオマークーの測定は、随意に、抗体の使用を伴う。本明細書に記載されたバイオマークーのいずれかに特異的に結合する抗体は、当該技術分野で既知の標準方法を使用して調製することができる。例えば、ポリクローナル抗体は、大量の抗体のためにマウス、ラ

ット、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、またはウマなどの哺乳動物に抗原を注入することによって生成され得る。これらの動物から分離された血液は、同じ抗原に結合するポリクローナル抗体の複数の抗体を含有することができる。代替的に、ポリクローナル抗体は、卵黄におけるポリクローナル抗体の生成のためにニワトリに抗原を注入することによって生成され得る。さらに、抗体は、バイオマーカーのリン酸化形態などの、バイオマーカーのための修飾形態を特異的に認識するために作られ得、例えば、それらは、リン酸化後にチロシンまたはセリンを認識することができるが、リン酸塩の欠如下ではそうではない。このように、抗体は、特定のバイオマーカーのリン酸化状態を判定するために使用することができる。

## 【0145】

10

抗体は、市販で得られるか、または十分に確立された方法を使用して生成され得る。抗原の単一のエピトープに特異的な抗体を得るために、抗体を分泌するリンパ球が、動物から分離され、それらを癌細胞株と融合させることによって不死化される。融合細胞は、ハイブリドーマと呼ばれ、絶えず成長することができ、培養中に抗体を分泌することができる。単一のハイブリドーマ細胞は希釈クローニングによって分離され、すべてが同じ抗体を生成する細胞クローンを生成し、これらの抗体はモノクローナル抗体と呼ばれ得る。

## 【0146】

20

ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体は、いくつかの方法で精製することができる。例えば、抗原親和性クロマトグラフィーを使用して抗体を分離することができ、これは、プロテインA、プロテインG、タンパク質Lまたは組み換え融合タンパク質、プロテインA/Gなどの、細菌タンパク質に結合され得、その後、どの画分が抗体を含有するかを判定するために溶出液画分の280 nmでのUV光を介する吸光度の検出が行われる。プロテインA/Gは、ヒトIgGのすべてのサブクラスに結合することができ、それによって、サブクラスが判定されていないかポリクローナルかモノクローナルのIgG抗体を精製することが有用となる。さらに、プロテインA/Gは、IgA、IgE、IgMおよび(いくつかの場合ではより小さな程度まで)IgDに結合することができる。プロテインA/Gは、マウスIgGのすべてのサブクラスに結合することができるが、いくつかの場合では、マウスIgA、IgMまたは血清アルブミンに結合しない。この特徴によって、IgA、IgMおよび血清アルブミンからの干渉なしで、プロテインA/GをマウスモノクローナルIgG抗体の精製および検出に使用することができる。

30

## 【0147】

抗体は、例えば、IgA、IgA—IgD、IgE、IgMおよびIgGなどの、異なるクラスまたはアイソタイプの分子に由来する。IgAは体液中の分泌のために設計され、一方で、IgMなどの他のものは、細胞表面上で発現するように設計されている。

抗体はIgG抗体であり得る。いくつかの場合では、IgGは、2つの「重」鎖および2つの「軽」鎖を含む2つのサブユニットを含む。これらは、対称構造において構築され得、IgGはそれぞれ、2つの同一の抗原認識ドメインが有することができる。抗原認識ドメインは、重鎖および軽鎖両方からのアミノ酸の組み合わせであり得る。分子は「Y」状におおざっぱに形作られ得、分子のアーム/先端は、抗原を認識する領域またはFab(フラグメント、抗原結合)領域を含み、一方でFc(結晶化可能なフラグメント)領域のシステムは、必ずしも認識に関係せず、かなり一定であり得る。定常領域は、同じアイソタイプのすべての抗体中で同一であるが、異なるアイソタイプの抗体中では異なり得る。

40

## 【0148】

ウェスタンプロットによる分画後にタンパク質を検出するために抗体を使用すること也可能である。ウェスタンプロットは、いくつかの場合において、タンパク質またはポリペプチドのバイオマーカーの検出および/または測定に使用される。

## 【0149】

50

いくつかの検出方法はフローサイトメトリーを利用することができる。フローサイトメトリーは、バイオマーカーの検出、定量化(細胞カウント)および細胞分離に使用することができる、レーザーベースの、生物物理学的技術であり得る。この技術は、健康障害、

特に血液癌の診断に使用することができる。一般に、フローサイトメトリーは、流体の流れにおいて単細胞を懸濁する工程を含むことができる。単一波長の光線（通常はレーザー光）は、液体の流上へと向けられ得、通過細胞（passing cell）によって引き起こされた散乱光は、電子的検出装置によって検出され得る。本明細書に記載された1つ以上の方法に有用なフローサイトメトリーの方法論は、蛍光活性化細胞分類（FACS）を含むことができる。FACSは、対象の細胞上の抗原を検出するために蛍光標識抗体を使用することができる。FACSにおける抗体標識の使用のこの追加の特徴によって、具体的な光散乱および各細胞の蛍光標識細胞の蛍光特性に基づいた同時の多パラメータの分析（multiparametric analysis）および定量化が可能となり、対象の細胞の集団の物理的分離が提供されるが、従来のフローサイトメトリーも同様に提供する。

10

#### 【0150】

広範囲のフルオロフォアをフローサイトメトリーにおいて標識として使用することができる。フルオロフォアは、典型的に、細胞上またはその中で標的機能を認識する抗体に結合することができる。適切な蛍光標識の例としては、限定されないが、フルオレセイン（FITC）、5,6-カルボキシメチルフルオレセイン、テキサスレッド、ニトロベンズ-2-オキサ-1,3-ジアゾール-4-イル（NBD）、およびシアニン色素Cy3、Cy3.5、Cy5、Cy5.5およびCy7が挙げられる。Alexa Fluor（登録商標）染料、DAPIなどのDNA含有染料（DNA content dye）、およびヘキスト染料などの他の蛍光標識が、当該技術分野で周知であり、様々な商用源から容易に得ることができる。フルオロフォアはそれぞれ、特徴的なピーク励起および発光波長を有することができ、発光スペクトルはしばしば重複する。これらの蛍光に対する、吸収および発光の最大値はそれぞれ、以下であり得る：FITC（490 nm；520 nm）、Cy3（554 nm；568 nm）、Cy3.5（581 nm；588 nm）、Cy5（652 nm；672 nm）、Cy5.5（682 nm；703 nm）およびCy7（755 nm；778 nm）。蛍光標識は様々な商用源から得ることができる。量子ドットを従来のフルオロフォアの代わりに使用することができる。検出に使用することができる他の方法は、ランタニド同位体などの同位体標識抗体を含む。

20

#### 【0151】

イムノアッセイは随意に免疫組織化学的検査を含む。免疫組織化学的検査は、組織サンプルにおいて請求されたバイオマーカーの発現を検出するために使用される。抗体は、例えば、放射性標識、蛍光標識、ビオチンなどのハプテン性標識、またはホースラディッシュペルオキシダーゼまたはアルカリリフォスファターゼなどの酵素での、抗体自体の直接的な標識化によって検出することができる。代替的に、非標識一次抗体は、抗血清、ポリクローナル抗血清または一次抗体に特異的なモノクローナル抗体を含む、標識二次抗体とともに使用することができる。免疫組織化学的検査のプロトコルは、当該技術分野に周知であり、プロトコルおよび抗体は市販で入手可能である。代替的に、本明細書に開示されるようなバイオマーカーまたはバイオマーカーの修正バージョンまたは結合パートナーに対する抗体を產生し、これは、組織サンプルにおけるタンパク質の発現レベルを判定するのに有用となる。

30

#### 【0152】

バイオマーカーのいくつかの測定は、バイオチップの使用を含む。バイオチップは、多くの巨大分子をスクリーニングするために使用することができる。バイオチップは、固定化された核酸分子、全長タンパク質、抗体、アフィボディ（affibodies）（モノクローナル抗体を模倣するように操作された小分子）、アプタマー（核酸ベースのリガンド）または化学化合物を用いて設計することができる。チップは、1つのチップ上の複数の巨大分子タイプを検出するように設計され得る。例えば、チップは、1つのチップ上の核酸分子、タンパク質および代謝産物を検出するように設計され得る。バイオチップは、单一のサンプルにおいてパネルバイオマーカーを同時に分析し、これらのバイオマーカーに対する被験体プロファイルを生成するように使用且つ設計され得る。バイオチップの

40

50

使用によって、複数の分析を実行して、全体的な処理時間および必要とされるサンプルの量を減少させることができる。

#### 【0153】

タンパク質のマイクロアレイは、本開示とともに使用することができるバイオチップの特定タイプであり得る。いくつかの場合では、チップは、スライドガラス、ニトロセルロース膜、ビーズ、またはマイクロタイタープレートなどの、支持体表面を含む、それに一連の捕捉タンパク質のアレイが、固体表面上へと配置されたフォーマットで結合され得る。プロテインアレイの検出方法は、高度なシグナルおよび低バックグラウンドを提供することができる。典型的に蛍光染料で標識された検出プローブ分子は、アレイに加えることができる。プローブと固定化タンパク質との間の反応は、結果として検出可能なシグナルの発光につながり得る。そのようなタンパク質のマイクロアレイは、急速なもので、自動化され、診断検査に対する高感度のタンパク質バイオマーカーの読み出しを提供することができる。しかしながら、この技術を用いて使用することができる様々な検出方法があることは、当業者にすぐに認識されるだろう。典型的なマイクロアレイは、分析用マイクロアレイ（捕捉アレイ（capture arrays）としても知られている）、機能タンパク質マイクロアレイ（標的タンパク質アレイとしても知られている）および逆相タンパク質マイクロアレイ（RPA）を含む。

10

#### 【0154】

分析用タンパク質マイクロアレイは、抗体、アプタマーまたはアフィボディのライブライを使用して構築することができる。アレイは、血液、血清または細胞溶解物などの複合タンパク質溶液で探索する（probed）ことができ、それらは、それらが特異的に結合するタンパク質分子を捕捉することによって機能する。様々な検出システムを使用する、結果として生じる結合反応の分析は、サンプルにおける特定のタンパク質の発現レベルに関する情報の他に、結合親和性および特異性の測定値も提供することができる。このタイプのタンパク質のマイクロアレイは、異なるサンプルにおいてタンパク質発現を比較することに特に有用であり得る。機能タンパク質のマイクロアレイは、大多数の精製された全長機能タンパク質またはタンパク質ドメインを固定化することによって構築することができ、タンパク質 - タンパク質、タンパク質 - DNA、タンパク質 - RNA、タンパク質 - リン脂質、およびタンパク質 - 小分子の相互作用を特定する、酵素活性を分析する、抗体を検出する、およびそれらの特異性を実証するために使用することができる。これらのタンパク質のマイクロアレイのバイオチップは、サンプルにおいて全プロテオームの生物化学的活性を試験するために使用することができる。

20

#### 【0155】

1つ以上のバイオマーカーは、逆相タンパク質マイクロアレイ（RPA）を使用して測定することができる。逆相タンパク質マイクロアレイは、マイクロアレイ上に配置され、対象の標的タンパク質に対する抗体で探索され得る組織および細胞の溶解物から構築することができる。これらの抗体は、化学発光、蛍光または比色アッセイで検出することができる。溶解物中のタンパク質に加えて、基準対照ペプチドが、スライドガラス上に印刷されて、タンパク質の定量化が可能となる。RPAによって、変更されたタンパク質、または疾患の結果であり得るおよび病気になった細胞中に存在し得る他の薬剤の存在の判定が可能にする。

30

#### 【0156】

1つ以上のバイオマーカーは、質量分光法（代替的に質量分析法と呼ばれる）を使用して測定することができる。質量分析法（MS）は、荷電粒子の質量電荷比を測定する分析技術を指し得る。それは主として、サンプルまたは分子の元素組成の判定、およびペプチドおよび他の化学化合物などの分子の化学構造の解明に使用することができる。MSは、化学化合物をイオン化し、電荷した分子または分子フラグメントを生成すること、および質量電荷比を測定することによって作用する。MS用の機器は、典型的に、3つのモジュール（1）気相サンプル分子をイオンへと変換することができる（またはエレクトロスプレーイオン化の場合には、溶液中に存在するイオンを気相への移動させる）、イオン源（

40

50

2) 電磁場を適用することによってイオンを質量で選別する、質量分析器、および(3)指標量(indicator quantity)の値を測定し、それ故、存在する各イオンの存在量(abundances)を計算するためのデータを提供する、検出器から成る。

#### 【0157】

本開示とともに使用される適切な質量分析法は、限定されないが、エレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)、ESI-MS/MS、ESI-MS/(MS)<sub>n</sub>、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析(MALDI-TOF-MS)、表面増強レーザー脱離/イオン化飛行時間型質量分析(SELDI-TOF-MS)、タンデム液体クロマトグラフィー-質量分析(LC-MS/MS)質量分析、シリコン上の脱離/イオン化(DIOS)、二次イオン質量分析(SIMS)、四重極飛行時間型(Q-TOF)、大気圧化学イオン化質量分析(APCI-MS)、APCI-MS/MS、APCI-(MS)、大気圧光イオン化質量分析(APPI-MS)、APPI-MS/MS、およびAPPI-(MS)<sub>n</sub>、四重極質量分析、フーリエ変換質量分析(FTMS)、およびイオントラップ質量分析の1つ以上を含み、ここでnは0を超える整数であり得る。10

#### 【0158】

LC-MSは、一般に、複合混合物の成分を分解するために使用され得る。LC-MS法は、一般に、プロテアーゼの消化および変性(通常、トリプシンなどのプロテアーゼおよび三次構造を変性させる尿素などの変性剤、およびシスティン残基をキャップする(cap)ヨードアセトアミドを伴う)に関係し、ペプチド質量のフィンガープリンティングでのLC-MSまたは個々のペプチドの配列を引き出すLC-MS/MS(タンデムMS)が後続する。LC-MS/MSは、複合サンプルのプロテオミクス解析に使用することができ、ここでペプチド質量は高分解能質量分析計でさえも重複し得る。ヒト血清のような複合生体液のサンプルは、最初にSDS-PAGEゲルまたはHPLC-SCX上で分離され、その後、LC-MS/MSが実行されて、1000を超えるタンパク質の識別が可能となり得る。20

#### 【0159】

複数の質量分析の手段が、本明細書に提供されるような開示の方法と適合性があるが、いくつかの適用において、選択された対象のタンパク質のサブセットからの生体サンプルにおいてタンパク質を定量化することが望まれる。本開示と適合性のある1つのそのようなMS技術は、多重反応モニタリング質量分析(MRM-MS)であるか、または代替的に選択的反応モニタリング質量分析(SRM-MS)と呼ばれる。30

#### 【0160】

MRM-MS技術には、対象のペプチドから正電荷イオンを選択し、正電荷イオンを断片化し、その後、選択された正電荷断片イオンの存在量を測定するための、三連四重極型(QQQ)質量分析計が含まれる。この測定は、一般に、遷移および/または遷移イオンと呼ばれる。例示的な例のみとして、アミノ酸配列IAELLSPGSVDPLTRを含むペプチド断片は、以下の表5に提供される典型的な遷移イオンのバイオマーカーの1つ以上を下に含むことができる。40

#### 【0161】

## 【表5-1】

表5. ペプチド配列 I A E L L S P G S V D P L T Rに対する典型的な遷移イオン

遷移イオン	アミノ酸配列	
b1	I	
b2	IA	
b3	IAE	
b4	IAEL	10
b5	IAELL	
b6	IAELLS	
b7	IAELLSP	
b8	IAELLSPG	
b9	IAELLSPGS	
b10	IAELLSPGSV	
b11	IAELLSPGSVD	
b12	IAELLSPGSVDP	20
b13	IAELLSPGSVDPL	
b14	IAELLSPGSVDPLT	
y14	AELLSPGSVDPLTR	
y13	ELLSPGSVDPLTR	
y12	LLSPGSVDPLTR	
y11	LSPGSVDPLTR	
y10	SPGSVDPLTR	
y9	PGSVDPLTR	30
y8	GSVDPLTR	
y7	SVDPLTR	
y6	VDPLTR	
y5	DPLTR	

## 【0 1 6 2】

## 【表5-2】

y4	PLTR	
y3	LTR	
y2	TR	
y1	R	40

## 【0 1 6 3】

いくつかの適用において、M R M - M S は、高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）、およびより最近では超高压液体クロマトグラフィー（UHPLC）と関連付けられる。他の適用において、対象のペプチドおよびタンパク質のすべてに対して望ましいLC-M

S 転移測定を行うために、M R M - M S は Q Q Q 質量分析計を有する U H P L C と関連付けられ得る。

#### 【 0 1 6 4 】

いくつかの適用において、四重極飛行時間型 ( q T O F ) 質量分析計、飛行時間 - 飛行時間型 ( T O F - T O F ) 質量分析計、Or b i t r a p 質量分析計、四重極Or b i t r a p 質量分析計またはあらゆる四重極イオントラップ質量分析計が、1つ以上の対象のペプチドから正電荷イオンを選択するために利用され得る。断片化された、正電荷イオンは、その後、対象のペプチドまたはタンパク質の定量化に対する正電荷イオンの存在量を判定するために測定され得る。

#### 【 0 1 6 5 】

いくつかの適用において、飛行時間型 ( T O F ) 、四重極時間型 ( q T O F ) 質量分析計、飛行時間 - 飛行時間型 ( T O F - T O F ) 質量分析計、Or b i t r a p 質量分析計または四重極Or b i t r a p 質量分析計が、定量化のための断片化なしで対象のタンパク質から正電荷ペプチドイオンの質量および存在量を測定するために利用される。この適用において、分析物質量測定の精度は、アッセイの選択基準として使用することができる。既知の組成および濃度の同位体標識された内部標準は、質量分析定量化的方法の一部として使用することができる。

10

#### 【 0 1 6 6 】

いくつかの適用において、飛行時間型 ( T O F ) 、四重極飛行時間型 ( q T O F ) 質量分析計、飛行時間 - 飛行時間型 ( T O F - T O F ) 質量分析計、Or b i t r a p 質量分析計または四重極Or b i t r a p 質量分析計が、定量化のためのタンパク質の質量および存在量を測定するために使用される。この適用において、分析物質量測定の精度は、アッセイの選択基準として使用することができる。随意に、この適用は、質量分析による分析前にタンパク質のタンパク質消化を使用することができる。既知の組成および濃度の同位体標識された内部標準は、質量分析定量化的方法の一部として使用することができる。

20

#### 【 0 1 6 7 】

いくつかの適用において、様々なイオン化技術が、望ましい情報をもたらすために本明細書に提供される質量分析計に関連付けられ得る。本開示とともに使用される限定しない典型的なイオン化技術は、限定されないが、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 ( M A L D I ) 、脱離エレクトロスプレーイオン化 ( D E S I ) 、直接支援リアルタイム ( D i r e c t A s s i s t e d R e a l T i m e ) ( D A R T ) 、表面支援レーザー脱離イオン化 ( S u r f a c e A s s i s t e d L a s e r D e s o r p t i o n I o n i z a t i o n ) ( S A L D I ) 、またはエレクトロスプレーイオン化 ( E S I ) を含む。

30

#### 【 0 1 6 8 】

いくつかの適用において、H P L C およびU H P L C は、多くの他のペプチドおよびタンパク質の分離技術が質量分光分析前に実行され得る質量分析計に関連付けられ得る。マトリックスバックグラウンドからの望ましい分析物（例えばペプチドまたはタンパク質）の分離に使用することができるいくつかの典型的な分離技術は、限定されないが、タンパク質またはペプチドの逆相液体クロマトグラフィー ( R P - L C ) 、M A L D I 前のオフライン液体クロマトグラフィー ( L C ) 、一次元ゲル分離、二次元ゲル分離、強力な陽イオン交換 ( S C X ) クロマトグラフィー、強力な陰イオン交換 ( S A X ) クロマトグラフィー、弱い陽イオン交換 ( W C X ) 、および弱い陰イオン交換 ( W A X ) を含む。上記の技術の1つ以上は、質量分光分析前に使用することができる。

40

#### 【 0 1 6 9 】

1つ以上のバイオマーカーは、マイクロアレイを使用して測定することができる。差次の遺伝子発現も特定されるかれ、またはマイクロアレイ技術を使用して確認され得る。したがって、発現プロファイルのバイオマーカーは、マイクロアレイ技術を使用して、新しいまたは固定された組織において測定することができる。この方法では、対象のポリヌクレオチド配列 ( c D N A およびオリゴヌクレオチドを含む) は、マイクロチップ基板上に時

50

かれるか、または配される。その後、配された配列は、対象の細胞または組織から特異的なDNAプローブでハイブリダイズすることができる。mRNAのソースは、生体サンプルから単離された総RNAであり得、対応する正常な組織または細胞株が差次的発現を判定するために使用され得る。

#### 【0170】

1つ以上のバイオマーカーは、配列決定によって測定することができる。差次的遺伝子発現も特定されるか、または配列決定技術を使用して確認され得る。したがって、発現プロファイルのバイオマーカーは、配列決定技術を使用して、新しいまたは固定されたサンプルにおいて測定することができる。この方法では、対象のポリヌクレオチド配列(cDNAおよびオリゴヌクレオチドを含む)は、順番に配列決定ライプラリを合成するためのテンプレートとして使用することができる。ライプラリは配列決定され得、読み取り値が適切な基準にマッピングされ得る。mRNAのソースは、生体サンプルから単離された総RNAであり得、対応する正常な組織または細胞株が差次的発現を判定するために使用され得る。典型的な配列決定技術は、例えば、エマルジョンPCR(Roche 454からのピロシーケンス、Ion Torrentからの半導体シーケンシング、Life TechnologiesからのライゲーションによるSOLIDシーケンシング、Intelligent Biosystemsからの合成による配列決定、フローセル上の架橋増幅(bridge amplification)(例えばSolexa/111umina)、Wildfire technology(Life Technologies)による等温増幅、またはローリングサークル増幅によって生成されたローリー(rolonies)/ナノボール(Complete Genomics, Intelligent Biosystems, Polonator)を含むことができる。Heliscope(Helicos)、SMRT技術(Pacific Biosciences)またはナノポアシーケンシング(Oxford Nanopore)などの配列決定技術は、適切な配列決定プラットフォームであり得る、事前のクローン増幅なしでの单一の分子の直接的な配列決定を可能にする。配列決定は、標的濃縮を用いてまたはそれなしで実行され得る。いくつかの場合では、サンプルからのポリヌクレオチドは、配列決定前における/またはその間に適切な手段によって増幅される。

#### 【0171】

cDNAクローンのPCR増幅されたインサートは、濃密アレイ(dense array)において基板に適用することができる。好ましくは、少なくとも10,000のヌクレオチド配列が基板に適用され得る。それぞれ10,000の要素でマイクロチップ上に固定化された、マイクロアレイ遺伝子は、ストリンジエントな条件下でハイブリダイゼーションに適し得る。蛍光標識cDNAプローブは、対象の組織から抽出されたRNAの逆転写による蛍光ヌクレオチドの取り込みによって生成され得る。チップに適用された標識cDNAプローブは、アレイ上のDNAの各スポットに特異性を有してハイブリダイズする。非特異的に結合されたプローブを除去するためのストリンジエントな洗浄後に、マイクロアレイチップは、共焦点レーザー顕微鏡などのデバイスによって、またはCCDカメラなどの別の検出方法によってスキャンされ得る。各々の配された要素のハイブリダイゼーションの定量化は、対応するmRNAの存在量の評価を可能にする。二色蛍光を用いて、RNAの2つのソースから生成された別々に標識されたcDNAプローブは、アレイに対応してハイブリダイズすることができる。各々の指定された遺伝子に対応する2つのソースからの転写物の相対存在量は、それ故、同時に判定することができる。マイクロアレイ分析は、製造業者のプロトコルに従って、市販の機器によって実行することができる。

#### 【0172】

遺伝子発現のパターンを特徴づけ、密接に関連するmRNAを区別し、およびRNA構造を分析するために、薬物処置とともにまたはそれなしで、正常な腫瘍組織において、異なるサンプル集団においてmRNAレベルを比較するために使用され得るqRT-PCRを使用して、1つ以上のバイオマーカーが測定され得る。RT-PCRによる遺伝子発現プロファイルにおける第一の工程は、生体サンプルからRNAを抽出する工程であり得、

10

20

30

40

50

その後、cDNAへのRNAテンプレートの逆転写およびPCR反応による増幅が後続する。逆転写反応は、一般に、発現プロファイリングの目標に依存して、特異的なプライマー、ランダムヘキサマー、またはオリゴ-dTプライマーを使用してプライミングされ得る。逆転写酵素は、トリ骨髄芽球症ウイルス(*avilomyleloblastosis virus*)逆転写酵素(AMV-RT)および/またはモロニーマウス白血病ウイルス逆転写酵素(MLV-RT)であり得る。

#### 【0173】

PCR工程は、様々な耐熱性のDNA依存性DNAポリメラーゼを使用することができるが、典型的に、5'-3'ヌクレアーゼ活性を有するが、3'-5'プルーフリーディングエンドヌクレアーゼ活性を欠く、*Taq* DNAポリメラーゼを利用する。したがって、*TaqMan*(商標)PCRは、典型的に、*Taq*または*Tth*ポリメラーゼの5'-ヌクレアーゼ活性を利用し、その標的アンプリコンに結合されたハイブリダイゼーションプローブを加水分解するが、同等な5'ヌクレアーゼ活性を有する酵素も使用することができる。PCR反応に典型的なアンプリコンを生成するために、2つのオリゴヌクレオチドプライマーが使用され得る。第3のオリゴヌクレオチド、すなわちプローブは、2つのPCRプライマー間に位置するヌクレオチド配列を検出するように設計され得る。プローブは、*Taq* DNAポリメラーゼ酵素によって非伸長可能(*non-extensible*)であり得、レポーター蛍光染料および消光蛍光染料で標識され得る。2つの染料がプローブ上にあるときに近くにともに位置付けられる場合、レポーター色素からのあらゆるレーザー誘起発光が消光色素によって消光され得る。増幅反応中に、*Taq* DNAポリメラーゼ酵素は、テンプレート依存的な方法でプローブを切断することができる。結果として生じたプローブ断片は、溶液中に切り離され(*disassociate*)、放出されたレポーター染料からのシグナルは、第2のフルオロフォアの消光効果から解放され得る。レポーター染料の1つの分子は、合成された各々の新しい分子のために自由にされ(*liberated*)、消光されていないレポーター染料の検出は、データの定量的解釈のための基準を提供することができる。

#### 【0174】

*TaqMan*(商標)RT-PCRは、例えば、ABI PRISM 7700(商標)Sequence Detection System(商標)(Perkin-Elmer-Applied Biosystems, Foster City, Calif., USA)、またはLightcycler(Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)などの、市販の機器を使用して実行することができる。好ましい実施形態では、5'ヌクレアーゼ手順は、ABI PRISM 7700(商標)Sequence Detection System(商標)などの、リアルタイム定量的PCRデバイス上で実行される。システムは、サーモサイクラー、レーザー、電荷結合素子(CCD)、カメラおよびコンピューターを含む。システムは、機器を実行するためのおよびデータを分析するためのソフトウェアを含む。5'-ヌクレアーゼのアッセイデータは、最初に、Ctすなわち閾値サイクルとして表わされる。上に議論されるように、蛍光値は、すべてのサイクル中に記録され、増幅反応におけるその時点(point)まで増幅された産物の量を表わす。蛍光シグナルが統計的に有意なものとして最初に記録される時点が、閾値サイクル(Ct)であり得る。

#### 【0175】

誤差およびサンプル間の変動の影響を最小限にするために、RT-PCRが内部標準を使用して実行され得る。内部標準は、異なる組織において一定レベルで表わされ得、実験的な治療による影響を受けない。遺伝子発現のパターンを正規化するために最も頻繁に使用されるRNAは、ハウスキーピング遺伝子グリセルアルデヒド-3リン酸塩-デヒドロゲナーゼ(GAPDH)およびベータアクチンに対するmRNAである。

#### 【0176】

RT-PCR技術のより最近の変更は、二重標識の蛍光発生プローブ(即ち*TaqMan*(商標)プローブ)によってPCR産物蓄積を測定することができる、リアルタイム定

10

20

30

40

50

量的PCRを含み得る。リアルタイムPCRは、各標的配列に対する内部競争相手が正規化に使用され得る定量的競合PCRと、サンプル内に含有された正規化遺伝子またはRT-PCRに対するハウスキーピング遺伝子を使用する定量的比較PCRとの両方に適合性があり得る。さらなる詳細は、例えば、Held et al., Genome Research 6: 986-994 (1996)を参照されたい。

#### 【0177】

##### <データの正規化>

本明細書に開示される方法、システム、キット、および組成物において使用される測定データは、随意に正規化される。正規化は、遺伝子またはタンパク質の発現の処理および検出に関する系統的変動測定の望まれないソースを除去するべく、例えば、分析された遺伝子またはタンパク質レベルの差および使用されるテンプレートの質の変動を補正するプロセスを指す。系統的変動の他のソースは、研究室の処理条件に起因する。

10

#### 【0178】

いくつかの例において、正規化方法は、研究室の処理条件の正規化に使用される。本開示の方法とともに使用され得る研究室の処理の正規化の限定しない例は、限定されないが、以下を含む：データ生成プロセスの間に使用される機器、試薬、および設備の間の系統的差の考慮 (accounting for)、および／またはデータ収集の日時または時間の経過。

20

#### 【0179】

アッセイは、著しく関連条件下で発現レベルが大きく異なる、すなわち、その特定のサンプルタイプにおいて安定した且つ一貫した発現レベルを有すると知られている、特定の正規化する標準の遺伝子またはタンパク質の発現を組み込むことによって正規化を提供することができる。本開示とともに使用することができる適切な正規化の遺伝子およびタンパク質は、ハウスキーピング遺伝子を含む。例えば、E. Eisenberg, et al., Trends in Genetics 19(7): 362-365 (2003)を参照。いくつかの適用において、基準遺伝子としても言及される、正規化するバイオマーカー（遺伝子およびタンパク質）はまた、進行性の結腸直腸腺腫またはCRCのない対照被験体と比較して、進行性の結腸直腸腺腫またはCRCの被験体において有意義に異なる発現レベルを示さないと知られている。いくつかの適用において、使用され得るおよびデータ正規化での使用のための既知の特性を有する物質を表わし得る安定同位体標識の標準を加えることは有用であり得る。他の適用において、標準の固定サンプルは、機器および日々の測定変動性を考慮するために各分析バッチを用いて測定することができる。

30

#### 【0180】

##### <臨床転帰スコア>

識別するバイオマーカーおよび随意に被験体特性をサブ選択する (sub-selecting)、ための、および分類モデルを構築するための機械学習アルゴリズムが、臨床転帰スコアを判定するために本明細書のいくつかの方法およびシステムにおいて使用される。これらのアルゴリズムは、限定されないが、弾性ネットワーク (elastic networks)、無作為フォレスト (random forests)、サポートベクトルマシン、およびロジスティック回帰を含む。これらのアルゴリズムは、重要なバイオマーカー特徴の選択を助け、基礎的な測定値を、例えば、臨床転帰、疾患リスク、疾患可能性、疾患の存在または欠如、処置反応、および／または疾患状態の分類状態に関するスコアまたは確率はと変換することができる。

40

#### 【0181】

臨床転帰スコアは、被験体から得られた生体サンプルにおける少なくとも2つのバイオマーカーのレベルを少なくとも2つのバイオマーカーの基準レベルを比較することによって判定される。代替的にまたは組み合わせて、臨床転帰スコアは、バイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較することによって判定される。いくつかの場合では、基準レベルまたは基準プロファイルは、

50

既知の診断を表わす。例えば、基準レベルまたは基準プロファイルは、進行性の結腸直腸腺腫の陽性診断を表わす。基準レベルまたは基準プロファイルは、CRCの陽性診断を表わすことができる。別の例として、基準レベルまたは基準プロファイルは、進行性の結腸直腸腺腫の陰性診断を表わす。同様に、基準レベルまたは基準プロファイルは、CRCの陰性診断を表わすことができる。

#### 【0182】

いくつかの場合では、スコアの増加は、以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。いくつかの場合では、定量的スコアの減少は、以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。

10

#### 【0183】

基準プロファイルに対する患者からの類似したバイオマーカープロファイルは、しばしば以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。いくつかの適用において、基準プロファイルに対する患者からの類似していないバイオマーカープロファイルは、以下の1つ以上を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の可能性の増加。

20

#### 【0184】

1つ以上のバイオマーカー閾値の増加は、しばしば以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。いくつかの適用において、1つ以上のバイオマーカー閾値の減少は、以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。

20

#### 【0185】

定量的スコア、1つ以上のバイオマーカー閾値、類似したバイオマーカープロファイル値の少なくとも1つの増加は、以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。同様に定量的スコア、1つ以上のバイオマーカー閾値、類似したバイオマーカープロファイル値の少なくとも1つ、またはそれらの組み合わせの減少は、以下の1つ以上の可能性の増加を示す：乏しい臨床転帰、良好な臨床転帰、高リスクの疾患、低リスクの疾患、完全寛解、部分寛解、安定した疾患、無反応、および疾患管理に対する処置の推奨。

30

#### 【0186】

臨床転帰スコアは、随意に、処置中に引き出された追加情報に基づいて更新される。そのような更新は、しばしば他のバイオマーカーの追加を含む。そのようなバイオマーカーは、追加のタンパク質、代謝産物蓄積レベル、被験体の物理的特性（例えば、年齢、人種、体重、人口統計学的履歴）、被験体の病歴（例えば、進行性の結腸直腸腺腫の家族歴、タンパク質パネルの先の定量的スコア）を含む。そのような更新は、試験感度の調整を含むことができる。そのような更新は、試験感度の調整を含むことができる。そのような更新は、試験閾値の調整を含むことができる。そのような更新は、予測された臨床転帰の調整を含むことができる。

40

#### 【0187】

例えば、いくつかの場合では、進行性の結腸直腸腺腫のリスクのある患者は、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験される。患者は、結腸直腸腺腫を有するものとしてまたは有する傾向があるものとして分類され得る。いくつかの場合では、本明細書に開示されたタンパク質パネルの閾値は、患者の年齢などの、追加のバイオマーカーに基づ

50

いて更新される。例えば、60歳以上の患者は、60歳未満の患者より、進行性の結腸直腸腺腫を有する傾向がよりある。それ故、タンパク質パネルの陽性的中率は、60歳未満の集団よりも60歳以上の集団における方がより高くなり得る。いくつかの場合では、タンパク質パネルにおけるタンパク質に対する閾値は、例えば、60歳未満の集団よりも60歳以上の集団において閾値を低下させることによって、これを反映させるために追加のバイオマーカー（例えば年齢）に基づいて変更され得る。患者の個人の閾値は、前の試験結果に基づいて更新され得る。例えば、患者は、不確定または陽性の臨床転帰スコアを有し得る。そのような患者は追加の試験を推奨され得る。そのような患者は結腸内視鏡検査を推奨され得る。そのような追加の試験および結腸内視鏡検査は、陰性に戻り得（c o m e b a c k）、不確定または陽性の臨床転帰スコアの持続によって、患者の閾値はそれらの持続する不確定または陽性の臨床転帰スコアを反映するために更新され得る。

10

#### 【0188】

いくつかの場合では、試験の特異度および感度は追加のバイオマーカーに基づいて調節される。例えば、本明細書に開示されたタンパク質パネルは、与えられた遺伝的または人種的なバックグラウンドを有する個体の集団において異なる感度または特異度を有し得る。いくつかの場合では、追加のバイオマーカーに基づいて、臨床転帰スコアは、試験の変化する感度または特異度を反映するために調節され得る。

#### 【0189】

##### <処置および診断のレジメン>

本明細書には、進行性の結腸直腸腺腫の存在または欠如の検出、およびその処置のための本明細書に記載される方法のいずれかを実施するための処置および診断のレジメンが提供される。

20

#### 【0190】

本明細書には、結腸直腸癌の存在または欠如を検出する方法が提供される。本明細書に開示された方法は、結腸直腸癌のための試験を実施する工程、結腸内視鏡検査を実施する工程であって、その間に、検出された結腸直腸癌を外科的に切除するか、そうでなければ除去する工程、および後日2回目の結腸直腸癌のための試験を実施する工程を含むことができる。第2の試験は陽性であり得、第2の結腸内視鏡検査が実行され得る。いくつかの場合では、第2の結腸内視鏡検査は、無茎性の結腸直腸癌を探索し、モニタリングすることを含むことができる。いくつかの場合では、第2の結腸内視鏡検査は、無茎性の結腸直腸癌を探索し、外科的に除去することを含むことができる。いくつかの場合では、結腸直腸癌のための第2の試験は陽性であり得、追加の処置レジメンが推奨され得る。いくつかの場合では、結腸直腸癌のための第2の試験は陰性であり得、追加の試験が推奨され得る。いくつかの場合では、進行性の結腸直腸腺腫のための第2の試験は陰性であり得、与えられた期間の間のより頻繁な試験が推奨され得る。

30

#### 【0191】

いくつかの場合では、陽性の臨床転帰スコアは、薬物治療レジメンの推奨につながり得る。例えば、陽性の臨床転帰スコアは、Wnt経路阻害剤が被験体に投与されるべきであるという推奨につながり得る。Wnt経路阻害剤が投与された後、進行性の結腸直腸腺腫に対する第2の試験が被験体に施され得る。陰性のまたはそれほど重度ではない臨床転帰スコアは、処置が有効であることを示すことができる。第2の陽性のまたはより重度の臨床転帰スコアは、処置が有効ではないことを示すことができる。

40

#### 【0192】

##### <コンピューターシステム>

本明細書には、進行性の結腸直腸腺腫およびCRCの少なくとも1つの存在または欠如を検出するための本明細書に記載された方法のいずれかを実施するためのコンピューターシステムが提供される。本明細書にはまた、CRCの存在または欠如を検出するためのコンピューターステムが提供される。本明細書に開示されたコンピューターステムは、記憶装置を含む。記憶装置は、被験体の生体サンプルからのバイオマーカーパネルの測定を含むデータを受信するように構成され得る。バイオマーカーパネルは、本明細書に記載され

50

たあらゆるバイオマーカーパネルであり得る。例えば、バイオマーカーパネルは、A A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L およびS E P R を含むグループから選択された、少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むことができ、いくつかの場合では、追加のバイオマーカーとして年齢を含む。随意に、バイオマーカーパネルは、C A T D、C L U S、G D F 1 5 およびS A A 1 を含み、いくつかの場合では、追加のバイオマーカーとして年齢を含む。

#### 【 0 1 9 3 】

本明細書に開示されたコンピューターステムは、測定データに基づいて、本明細書に記載されたバイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルを作成すること、バイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較すること、および被験体における進行性の結腸直腸腺腫の可能性を判定することの少なくとも 1 つを実行するためのコンピューター実行可能コードを含む。本明細書に開示されたコンピューターステムは、測定データに基づいて、本明細書に記載されたバイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルを作成すること、バイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較すること、および被験体におけるC R C の可能性を判定することの少なくとも 1 つを実行するためのコンピューター実行可能コードを含む。

10

#### 【 0 1 9 4 】

さらに、本明細書には、進行性の結腸直腸腺腫およびC R C の少なくとも 1 つの存在または欠如を検出するための本明細書に記載された方法のいずれかを実施するためのコンピューターシステムが提供される。例えば、本明細書には、進行性の結腸直腸腺腫の存在または欠如を検出するためのコンピューターステムが提供される。本明細書にはまた、C R C の存在または欠如を検出するためのコンピューターステムが提供される。本明細書に開示されたコンピューターステムは、記憶装置を含む。記憶装置は、被験体の生体サンプルからのバイオマーカーパネルの測定を含むデータを受信するように構成され得る。バイオマーカーパネルは、本明細書に記載されたあらゆるバイオマーカーパネルであり得る。例えば、バイオマーカーパネルは、A A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、S E P R、C A T D、C L U S、G D F 1 5 およびS A A 1 を含むグループから選択された、少なくとも 2 つのバイオマーカーを含むことができる。

20

#### 【 0 1 9 5 】

本明細書に開示されたコンピューターステムは、随意に、測定データに基づいて、本明細書に記載されたバイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルを作成すること、バイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較すること、および被験体における進行性の結腸直腸腺腫の可能性を判定することの少なくとも 1 つを実行するためのコンピューター実行可能コードを含む。本明細書に開示されたコンピューターステムは、随意に、測定データに基づいて、本明細書に記載されたバイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルを作成すること、バイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルをバイオマーカーパネルの基準プロファイルと比較すること、および被験体におけるC R C の可能性を判定することの少なくとも 1 つを実行するためのコンピューター実行可能コードを含む。

30

#### 【 0 1 9 6 】

本明細書に記載されたコンピューターステムは、随意に、本明細書に記載されたアルゴリズムのいずれかを実行するためのコンピューター実行可能コードを含む。コンピューターシステムはさらに、結腸内視鏡検査、S 状結腸鏡検査、または結腸直腸組織生検を推奨するための、および / または処置を推奨するための、進行性の結腸直腸腺腫およびC R C の少なくとも 1 つの存在または欠如を通信する報告書を提供するためのコンピューター実行可能コードを含むことができる。いくつかの実施形態では、コンピューターシステムは、コンピューター可読媒体に含まれた命令を実行する。

40

#### 【 0 1 9 7 】

いくつかの実施形態では、プロセッサーは、1 つ以上の制御装置、計算ユニット、およ

50

び／またはコンピューターシステムの他のユニットに関連付けられるか、またはファームウェアに埋め込まれる。いくつかの実施形態では、方法の1つ以上の工程は、ハードウェアで実施される。いくつかの実施形態では、方法の1つ以上の工程は、ソフトウェアで実施される。ソフトウェアルーチンは、フラッシュメモリ、RAM、ROM、磁気ディスク、レザーディスク（登録商標）、あるいは本明細書に記載されるまたは当該技術分野で既知の他の記憶媒体などの、コンピューター可読メモリユニットに保存され得る。ソフトウェアは、例えば、電話回線、インターネット、ワイヤレス接続などの通信チャネルを含む、あらゆる既知の通信方式によって、またはコンピューター可読ディスク、フラッシュドライブなどの移送可能媒体によってコンピューティングデバイスに通信され得る。本明細書に記載された方法の1つ以上の工程は、ファームウェア、装置、ソフトウェア、またはファームウェア、装置、およびソフトウェアの任意の組み合わせで順に実行され得る、様々な操作、ツール、ロック、モジュールおよび技術として実施され得る。ハードウェアで実施されるときに、ロック、操作、技術などのいくつかまたはすべては、例えば、特定用途向け蓄積回路（ASIC）、カスタム集積回路（IC）、フィールドプログラマブルロジックアレイ（FPGA）、またはプログラマブルロジックアレイ（PLA）において実施され得る。

#### 【0198】

図19は、本明細書に記載された方法を実施するのに適した典型的なコンピューターシステム（1900）を描写する。コンピューターシステム（1900）は、本明細書に記載された典型的な方法を実施するようにプログラムされているセントラルコンピューターサーバー（1901）を含む。セントラルコンピューターサーバー（1901）は、シングルコアプロセッサー、マルチコアプロセッサー、または並行処理用の複数のプロセッサーであり得る、中央処理装置（CPU、「プロセッサー」とも）（1905）を含む。セントラルコンピューターサーバー（1901）はまた、メモリ（1910）（例えば、ランダムアクセスメモリ、読み取り専用メモリ、フラッシュメモリ）；電子記憶装置（1915）（例えばハードディスク）；1つ以上の他のシステムと通信するための通信用インターフェース（1920）（例えばネットワークアダプター）；およびキャッシュ、他のメモリ、データ記憶装置、および／または電子表示アダプターを含み得る、周辺機器（1925）を含む。メモリ（1910）、記憶装置（1915）、インターフェース（1920）、および周辺機器（1925）は、マザーボードなどの通信バス（実線）を介してプロセッサー（1905）と通信している。記憶装置（1915）は、データを保存するためのデータ記憶装置であり得る。セントラルコンピューターサーバー（1901）は、通信用インターフェース（1920）の助けによってコンピューターネットワーク（「ネットワーク」）（1930）に動作可能に接続される。ネットワーク（1930）は、インターネット、インターネットおよび／またはエクストラネット、インターネットと通信しているインターネットおよび／またはエクストラネット、テレコミュニケーションまたはデータネットワークであり得る。いくつかの場合におけるネットワーク（1930）は、セントラルコンピューターサーバー（1901）の援助で、ピアツーピア・ネットワークを実施することができ、これによって、セントラルコンピューターサーバー（1901）に接続されたデバイスは、クライアントまたはサーバーとして働くことが可能であり得る。

#### 【0199】

記憶装置（1915）は、被験体の報告書などのファイル、および／または介護者との通信、シーケンシングデータ、個体に関するデータ、または本発明に関連付けたデータのあらゆる態様を保存することができる。

#### 【0200】

セントラルコンピューターサーバーは、ネットワーク（1930）を介して1つ以上の遠隔コンピューターシステムと通信することができる。1つ以上の遠隔コンピューターシステムは、例えば、パーソナルコンピューター、ラップトップ、タブレット、電話、スマートフォン、または携帯情報端末であり得る。

10

20

30

40

50

**【0201】**

いくつかの状況において、コンピューターシステム(1900)は単一のサーバー(1901)を含む。他の状況において、コンピューターシステムは、インターネット、エクストラネットおよび／またはインターネットを介して互いに通信している複数のサーバーを含む。

**【0202】**

セントラルコンピューターサーバー(1901)は、例えば、多型、変異、病歴、家族歴、人口統計データおよび／または潜在的に関連する他の情報などの、被験体からの患者情報である、測定データを保存するのに適している。そのような情報は、記憶装置(1915)またはセントラルコンピューターサーバー(1901)上に保存することができ、そのようなデータはネットワークを通して送信することができる。10

**【0203】**

本明細書に記載されるような方法は、いくつかの場合において、例えば、メモリ(1910)などの、セントラルコンピューターサーバー(1901)の電子記憶位置、または電子記憶装置(1915)上に保存された、マシン(またはコンピューターのプロセッサー)実行可能コード(またはソフトウェア)によって実施される。使用中に、コードはプロセッサー(1905)によって実行され得る。いくつかの場合では、コードは、記憶装置(1915)から取得され、プロセッサー(1905)による容易なアクセスのためのメモリ(1910)上に保存することができる。いくつかの状況において、電子記憶装置(115)は除外することができ、マシン実行可能命令がメモリ(1910)上に保存される。代替的に、コードは、第2のコンピューターシステム(1940)上で実行することができる。20

**【0204】**

セントラルコンピューターサーバー(1901)などの本明細書に提供されるシステムおよび方法の態様は、プログラミングにおいて具体化され得る。技術の様々な態様は、典型的にマシン(またはプロセッサー)実行可能コードおよび／または一種のマシン可読媒体において具体化される関連データの形態で「産物」または「製品」として考えられ得る。マシン実行可能コードは、電子記憶装置、そのようなメモリ(例えば、読み取り専用メモリ、ランダムアクセスメモリ、フラッシュメモリ)またはハードディスク上に保存することができる。「保存」型の媒体は、ソフトウェアプログラミングに関するいかなる時にも非一時的な保存を提供し得る、様々な半導体メモリ、テープドライブ、ディスクドライブなどの、コンピューター、プロセッサーなどの有形メモリ、またはそれらの関連するモジュールのいずれかまたはすべてを含むことができる。ソフトウェアのすべてまたは一部は、インターネットまたは様々な他の通信ネットワークを介して時々通信される。そのような通信は、例えば、1つのコンピューターまたはプロセッサーから別のコンピューターまたはプロセッサーへの、例えば、管理サーバーまたはホストコンピューターからアプリケーションサーバーのコンピュータープラットフォームへのソフトウェアのロードを可能にし得る。したがって、ソフトウェア要素を有する別のタイプの媒体は、有線および光地上通信のネットワークおよび様々なエアリンクを介した、ローカル装置間の物理インターフェースにわたって使用されるものなどの含む、光波、電波、および電磁波を含む。有線または無線のリンク、光リンクなどの、そのような波を運ぶ物理要素は、ソフトウェアを有する媒体としても考えられ得る。本明細書で使用されるように、非一時的な、有形の「保存」媒体に制限されない限り、コンピューターまたはマシン「可読媒体」などの用語、実行のためにプロセッサーに命令を提供することに關与する媒体を指すことができる。30

**【0205】**

したがって、コンピューター実行可能コードなどのマシン可読媒体は、限定されないが、有形記憶媒体、搬送波媒体、または物理的な送信媒体を含む、多くの形態をとり得る。不揮発性記憶装置媒体は、例えば、システムを実施するために使用され得るものなどの、コンピューターなどにおける記憶デバイスのいずれかなどの、光ディスクまたは磁気ディスクを含むことができる。有形送信媒体は以下を含むことができる：同軸ケーブル、銅線40

10

20

30

40

50

、およびファイバーオプティクス（コンピューターシステム内にバスを含むワイヤーを含む）。搬送波送信媒体は、無線周波（R F）および赤外線（I R）データ通信中に生成されたものなどの、電気信号または電磁気信号、あるいは音波または光波の形態をとり得る。それ故、コンピューター可読媒体の共通の形態は、例えば、以下を含む：フロッピーディスク、フレキシブルディスク、ハードディスク、磁気テープ、他の磁気媒体、C D - R O M、D V D、D V D - R O M、他の光学媒体、パンチカード、紙テープ（paper tape）、穴のパターンを有する他の物理的な記憶媒体、R A M、R O M、P R O MおよびE P R O M、F L A S H - E P R O M、他のメモリチップまたはカートリッジ、データまたは命令を輸送する搬送波、ケーブル、またはそのような搬送波を輸送するリンク、あるいはコンピューターがプログラミングコードおよび／またはデータを読み取り得る他の媒体。コンピューター可読媒体のこれらの形態の多くは、実行のためにプロセッサーに1つ以上の命令の1つ以上のシーケンスを運ぶことに関係し得る。

10

#### 【0206】

進行性の結腸直腸腺腫およびC R Cの少なくとも1つの存在または欠如の検出、被験体報告書の作成、および／または介護者への報告書の通信の結果は、グラフィカルユーザーインターフェースなどのユーザーインターフェースの助けでユーザーに提示され得る。

20

#### 【0207】

コンピューターシステムは、例えば、サンプル収集、サンプル処理、測定データを生成するために本明細書に記載される1つ以上のタンパク質の量の測定、測定データを生成するためのタンパク質の別のタンパク質に対する比率の判定、測定データと基準量との比較、バイオマーカーパネルの被験体に特異的なプロファイルの作成、被験体に特異的なプロファイルと基準プロファイルとの比較、病歴の受信、医療記録の受信、本明細書に記載される1つ以上的方法によって得られた測定データの受信および保存、（例えば、本明細書に記載されるアルゴリズムの実行による）進行性の結腸直腸腺腫およびC R Cの少なくとも1つの存在または欠如を判定するための前記測定データの分析、報告書の作成、および受信者への結果の報告を含む、本明細書に記載される方法の1つ以上の工程を実施するために使用され得る。

30

#### 【0208】

クライアントサーバーおよび／またはリレーショナルデータベースのアーキテクチャーは、本明細書に記載された方法のいずれかにおいて使用することができる。一般に、クライアントサーバーアーキテクチャーは、ネットワーク上のコンピューターまたはプロセスがそれぞれクライアントまたはサーバーのいずれかであるネットワークアーキテクチャーである。サーバーコンピューターは、ディスクドライブ（ファイルサーバー）、プリンター（プリントサーバー）、またはネットワークトラフィック（ネットワークサーバー）の管理のための専用の高性能コンピューターであり得る。クライアントコンピューターは、P C（パーソナルコンピューター）またはユーザーがアプリケーションを実行するワークステーションの他に、本明細書に開示されるような典型的な出力デバイスを含むことができる。クライアントコンピューターは、ファイル、デバイス、およびさらに処理パワーなどのリソースのためのサーバーコンピューターに依存し得る。サーバーコンピューターは、データベース機能性のすべてを処理する。クライアントコンピューターは、フロントエンドのデータ管理を処理するソフトウェアを有することができ、ユーザーからデータ入力を受信することができる。

40

#### 【0209】

計算を実行した後に、プロセッサーは、出力を、計算などから、例えば、入力デバイスまたは記憶装置に、同じまたは異なるコンピューターシステムの別の記憶装置に、または出力デバイスに戻すことができる。プロセッサーからの出力は、データディスプレイ、例えば、ディスプレイスクリーン（例えば、デジタルデバイス上のモニターまたはスクリーン）に、プリントアウト、データ信号（例えばパケット）、グラフィカルユーザーインターフェース（例えばウェブページ）、アラーム（例えば、フラッシングライトまたはサウンド）、または上記のもののいずれかの組み合わせによって表示することができる。一実

50

施形態では、出力は、ネットワーク（例えば無線ネットワーク）を通して出力デバイスに伝送される。出力デバイスは、ユーザーによってデータ処理コンピューターシステムから出力を受信するために使用され得る。出力がユーザーによって受信された後、ユーザーは、ユーザーが医療関係者である場合の医学的処置などの、行動指針を判定することができるか、または行動指針を実行することができる。いくつかの実施形態では、出力デバイスは入力デバイスと同じデバイスである。典型的な出力デバイスは、限定されないが、電話、無線電話、携帯電話、PDA、フラッシュメモリドライブ、光源、音波発生装置、ファックス、コンピューター、コンピューターモニター、プリンター、iPod（登録商標）、およびウェブページ含む。ユーザーステーションは、サーバーによって処理された情報を出力するためにプリンターまたはディスプレイモニターと通信し得る。そのようなディスプレイ、出力デバイス、およびユーザーステーションは、被験体またはその介護者に警告を送信するために使用することができる。

10

#### 【0210】

本開示に関するデータは、受信者による受信および／またはレビューのためにネットワークまたは接続を介して送信することができる。受信者は、限定されないが、報告書が属する被験体；またはその介護者、例えば、医療従事者、管理者、他の医療専門家、または他の介護人；および／または遺伝子型決定分析を実行したまたは命令した人または実体；遺伝子カウンセラーであり得る。受信者はまた、そのような報告書を保存するためのローカルシステムまたはリモートシステム（例えば、サーバーまたは「クラウドコンピューティング」アーキテクチャーの他のシステム）であり得る。一実施形態では、コンピューター可読媒体は、生体サンプルの分析の結果の送信に適している媒体を含む。

20

#### 【0211】

##### <キット>

本開示はまたキットを提供する。いくつかの場合では、本明細書に記載されたキットは、1つ以上の組成物、試薬、および／または本明細書に記載された1つ以上のバイオマーカーを測定および／または検出するためのデバイスコンポーネントを含む。本明細書に記載されるようなキットは、本明細書に提供される方法のいずれかを実施するための説明書をさらに含むことができる。キットはさらに、ELISAアッセイ、イムノアッセイ、タンパク質チップまたはマイクロアレイ、質量分析、免疫組織化学的検査、フローサイトメトリー、またはハイコンテンツな細胞スクリーニングなどの様々なアッセイタイプによってバイオマーカーの検出を可能にする試薬を含むことができる。キットはまた、本明細書に記載された方法を実施するためのコンピューター実行可能コードを含むコンピューター可読媒体を含むことができる。

30

#### 【0212】

いくつかの実施形態では、本明細書に提供されるキットは、本開示において別記されるバイオマーカーに対する抗体を含む。キットは、CATD、CLUS、GDF15、SAA1、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRから成るグループから選択されるバイオマーカーに対して各々が反応性である、少なくとも2つの抗体を含み得る。いくつかの場合では、本明細書に提供されるキットは、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGLおよびSEPRに対する抗体を含む。他の場合において、本明細書に提供されるキットは、CATD、CLUS、GDF15およびSAA1に対する抗体を含む。

40

#### 【0213】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されたキットは、パッケージング材を含む。本明細書で使用されるように、用語「パッケージング材」は、キットのコンポーネントを収容する物理構造を指すことができる。パッケージング材は、キットコンポーネントの無菌性を維持することができ、そのような目的に一般に使用される材料（例えば紙、コルゲートファイバー（corrugated fiber）、ガラス、プラスチック、箔、アンプルなど）で作ることができる。キットはまた、緩衝剤、防腐剤、またはタンパク質／核酸安定化剤を含む。キットは、患者から生体サンプルを得るためにコンポーネントを含

50

む。そのようなコンポーネントの限定しない例は、グローブ、皮下注射針またはシリンジ、管、生体サンプルを保持するためのチューブまたは容器、殺菌成分（例えば、イソプロピルアルコールの拭き取り纖維（w i p e s）、または滅菌ガーゼ）、および／または冷却材料（例えば、フリーザーパック、ドライアイス、または氷）であり得る。

#### 【0214】

いくつかの場合では、本明細書に開示されたキットは、開示された方法のいずれかに従って使用される。

#### 【0215】

<パネル開発>

<試験設計および患者サンプル収集>

デンマークのHvidovre Hospitalで実施された内視鏡検査II試験から得られた、合計で300のサンプルを分析のために選択した。この試験において、45 mLの血液サンプルを、結腸内視鏡検査を実行する前に7つの異なるセンターにわたって登録された参加者から収集した。血液サンプルを、一定のモニタリングで - 80 で保存した。ICDコードによって併存疾患を記録し、病状、疾患、および死亡の報告書を、ファイルに保存した。参加者は、さらなる医学的なフォローアップを示唆した、疼痛、出血、および貧血症などの観察された症状に基づいた試験に参加した。参加者は、悪性腫瘍の先の病歴を有していないかった。参加者は、前に腸腫瘍形成を有していないかった。参加者は、FAPまたはHNPPCCのファミリーのメンバーではなかった。参加者は、過去3か月で大手術を受けていなかった。参加者は、前に腸内視鏡検査を受けていなかった。

10

20

30

40

50

#### 【0216】

#### 【表6】

表6. 試験に登録された患者の特性

群	カウント
CRC	512
結腸／直腸	320/192
他の一次悪性腫瘍	177
腺腫	699
高／低リスク	198/501
結腸／直腸	498/201
良性腸病変	1,176
併存疾患有する陰性結果	1,014
併存疾患のない陰性結果	1,113
合計	<b>4,698</b>

#### 【0217】

登録された患者は、結腸および直腸に関連するあらゆる問題を診断する結腸内視鏡検査を受け、その結果は、結腸直腸癌および／またはポリープの存在または欠如を確認するために使用された。本明細書で実施されたバイオマーカーの発見試験のために、分析に選択された302の血漿サンプルは、結腸内視鏡検査からの併存疾患および有害な結果のない

150の対照サンプル、および進行したステージで結腸直腸癌または進行腺腫病変を確認した150の疾患サンプルを含んだ。この試験のために、進行性の結腸直腸腺腫を、以下の少なくとも1つを有しているものとして定義した：

腺腫 > = 1 cm、無茎性の鋸歯状ポリープ > = 1 cm、高度異形成を有する腺腫、または絨毛状の組織学的特徴を有する腺腫。対照および疾患のサンプルを、年齢、性別、および登録の部位に対して対で一致させた（図17A - 17Bを参照）。300のサンプルを、発見および検証のセットにさらに分割し、それぞれが75の対照サンプルおよび75の疾患サンプルを有していた。検証セットにおいて調査されたバイオマーカーパネルの一般化パフォーマンスをより厳格に試験するために、発見および検証のセットは、重複しない部位からの特許サンプルから構成された。サンプルおよびそれらの特性の概要の表は、表7に提供される。

【0218】

## 【表7-1】

表7. CRC診断に対するタンパク質バイオマーカーパネルを開発するための発見  
および訓練のセット。

	発見(n=150)		検証(n=150)		
	対照	CRC	対照	CRC	
合計	75	75	75	75	10
部位ごと					
31	23	23			
32			7	7	
33	30	30			
34			5	5	
35			36	36	20
36	22	22			
37			27	27	
男性	35	35	40	40	
女性	40	40	35	35	
平均年齢	63.8	64.5	64.8	65.6	30
CRCステージ					
I		17		17	
II		30		21	
III		16		18	
IV		12		19	40
CRC病変					
位置					

【表7-2】

結腸	43		47
直腸	32		28
併存疾患なし			
発見なし	75	75	

10

## 【0220】

## &lt;データ準備&gt;

合計300のサンプルを、30の異なるタンパク質に対してELISAを使用して分析し、結果として302のサンプルにわたる30のタンパク質の各々に対する濃度測定（例えば蓄積レベル）に帰着した。合計300のサンプルを、226の全タンパク質に対して、ELISA、標的プロテオミクス（TP）、およびタンパク質レベルを定量化するSATプラットフォームを使用して（ELISA：30、SAT：9、TP：187）分析した。非標識の液体クロマトグラフィー／質量分析（LCMS）測定を含む、データ収集の追加のモードを使用した。LCMSデータ収集のために、測定されたシグナルのタンパク質同一性は、前に知られてはおらず、そのため、結果として生じる測定値は、恣意的なIDナンバーおよびそれらのm/zおよびLC時間位置で単に言及された、無名のマーカー値として処理される。これらの4つのアッセイプラットフォームからのデータを、発見セット内の最大のパフォーマンスを発揮するバイオマーカーパネルを発見するために、個々におよび互いに組み合わせて分析した。マーカーパネルに存在する非標識のLCMS特徴は、1465.78のm/z、14.3分のLC時間および荷電状態1を有する、C3218600；m/z 1051.55、3.1分のLC、および荷電状態1を有する、C387796；845.44のm/z、2.8分のLC、および1の荷電状態を有する、C597612；m/z 752.91、20.6分および2の荷電状態を有する、C979276を含んだ。

20

## 【0221】

30

データ収集後、濃度値を様々な方法で準備した。いくつかの分析のために、濃度測定値をlog2変換し、一方で他の分析のために、濃度値を変換しないままにした。標準化（ゼロ平均、単位分散（unit variance））且つ非標準化（即ち、元の測定値）された測定についての分析も実施した。いくつかの分析のために、年齢相互作用条件を標準のマーカー濃度値に加えた。ここで、すべての年齢の産物およびマーカー対を計算し、分析のためにマーカーの合計セットへと加えた。他の分析において、マーカー対の比率を計算し、分類構造に対する新しいマーカー値として使用した。

## 【0222】

40

## &lt;分類分析&gt;

分類分析の目的は、結腸直腸癌を有するおよび有さないサンプルを区別する最大のパフォーマンスを発揮するマーカーパネルおよび分類モデルを判定することであった。分類モデルおよびその関連する分類パフォーマンスを、 $10 \times 10$ -分割交差検証（10-fold cross validation）手順を使用して評価した。 $10 \times 10$ -分割交差検証を、発見セットのみを使用して実行し、特徴選択および分類モデルアセンブリを組み込んだ。交差検証手順において、使用される特徴の数を減少させるために、特徴選択を最初に適用し、その後、分類子モデルの開発および続く分類パフォーマンスの評価を行った。 $10$ -分割交差検証の各々に対して、データを $10$ に分割し、その各々が、訓練セットとして $90\%$ のサンプルおよび試験セットとして残りの $10\%$ のサンプルを各々含有していた。このプロセスにおいて、サンプルはそれぞれ、試験セットにおいて1回評価された。特徴選択およびモデルアセンブリを、訓練セットのみを使用して実行

50

し、その後、これらのモデルを、典型的に受信者動作特性（R O C）プロットからの曲線下面積（A U C）経由で、分類子パフォーマンスを評価するために試験セットに適用した。ここで、 $10 \times 10$ -分割交差検証手順の各々から得られた平均または中間のA U C値を使用して、全体的なマーカーパネルおよび分類モデルのパフォーマンスを評価した。

#### 【0223】

異なるサイズのマーカーパネルのパフォーマンスを調査するために、E l a s t i c N e t w o r kの特徴選択、無作為フォレストでの特徴の重要度の順位付け、t検定でのp値の順位付け、階層的構造形成、および徹底的な組み合わせ検索を含む、様々な特徴選択および還元法を使用した。徹底的な組み合わせ検索を例外として、マーカー選択の変動性を与えた分類子モデル構造のための最終的なパフォーマンス評価に組み込むために、特徴選択方法を交差検証手順の個々の倍率（f o l d s）に埋め込んだ。徹底的な組み合わせ検索のために、特徴のn - c h o o s e - rの組み合わせをすべて評価し、ここで、モデル構成前に、特定の組み合わせを選択し、すべての交差検証の分割にわたって使用した。両方の計算上の実現可能性の理由のために、および過剰適合の可能性を限定するために、比較的小さな値を有するnおよびrを選択し、nは典型的に $< =$ 合計30のマーカー、およびrは典型的に2から10の間であった。

#### 【0224】

$10 \times 10$ -分割交差検証の分割内で特徴選択の工程後に、例えば、サポートベクトルマシン（S V M）アルゴリズム、無作為フォレストアルゴリズム、ブースティングを有するおよび有さないE l a s t i c N e t w o r k（E N e t）回帰モデル、k近傍法（k N N）、およびアンサンブル（e n s e m b l e）において適用されたこれらのモデルの組み合わせを含む、いくつかの分類アルゴリズムの1つを使用して、分類子モデルを構築した。分類モデルを、R統計プログラミング言語で実施された確立された分類モーデリングパッケージを使用して構築した。アンサンブルモデルの場合には、記載されたアルゴリズムの2つ以上を使用して、個々の分類モデルを構築し、結果として生じる分類スコアを、最終の分類スコアを得るために線形結合で組み合わせた。本明細書で一変量の状態（S t a t u s o f U n i v a r i a t e s）（S u n）と呼ばれる、別の分類モデル手段もいくつかの分析に使用した。S u n手段において、サンプルはすべて、最初に、上に記載されるような標準の多変量モデルを使用して評価される。次に、多変量の予測スコアを潜在的に調節するために、単一のマーカーからの一変量の分類パフォーマンスが使用される。与えられた単一のマーカーに対する特定のサンプルの値が、とりわけ高いまたは低い場合（即ち、訓練セットにおいて評価されるような100%陽性または陰性の的中率のスコア領域において）、サンプルの確率スコアは、それに応じて0または1に変更される。全体的に、この手段は、個々のマーカーに基づいた単純な高い信頼性の分類コールを有する複合の多変量モデルの増大を可能にする。

#### 【0225】

訓練セット上の分類子モデルの構築後、それを、修正することなく、提供された（h e l d - o u t）試験セットのサンプルに対する分類スコアに帰着する試験セットに直接適用した。完全な $10$ -分割交差検証の繰り返しの完了後、すべてのサンプルからの試験セットの分類スコアを、単一のデータセットまたは値のセットに融合し、その関連する受信者動作特性（R O C）曲線を作成した。このR O Cから、曲線下面積（A U C）を計算し、 $10$ -分割交差検証の10回の繰り返しの各々に対して1つのA U C値を有した。その後、10回の繰り返しにわたる平均および中間のA U Cを用いて、特定の分類子アセンブリのプロセスのパフォーマンスを評価し、発見データのみを利用する予期された提供されたセット検証パフォーマンスの推定値を表わした。

#### 【0226】

異なるサイズのマーカーパネルのパフォーマンスを調査するために、E l a s t i c N e t w o r kの特徴選択、無作為フォレストでの特徴の重要度の順位付け、t検定でのp値の順位付け、階層的構造形成、および徹底的な組み合わせ検索を含む、様々な特徴選択および還元法を使用した。徹底的な組み合わせ検索を例外として、マーカー選択の変動性を与えた分類子モデル構造のための最終的なパフォーマンス評価に組み込むために、特徴選択方法を交差検証手順の個々の倍率（f o l d s）に埋め込んだ。徹底的な組み合わせ検索のために、特徴のn - c h o o s e - rの組み合わせをすべて評価し、ここで、モデル構成前に、特定の組み合わせを選択し、すべての交差検証の分割にわたって使用した。両方の計算上の実現可能性の理由のために、および過剰適合の可能性を限定するために、比較的小さな値を有するnおよびrを選択し、nは典型的に $< =$ 合計30のマーカー、およびrは典型的に2から10の間であった。

10

20

30

40

50

性を与えられた分類子モデル構造のための最終的なパフォーマンス評価に組み込むために、特徴選択方法を交差検証手順の個々の分割に埋め込んだ。徹底的な組み合わせ検索のために、特徴の  $n$  - 選択 -  $r$  の組み合わせをすべて評価し、ここで、モデル構成前に、特定の組み合わせを選択し、すべての交差検証の分割にわたって使用した。両方の計算上の実現可能性の理由のために、および過剰適合の可能性を限定するために、比較的小さな値を有する  $n$  および  $r$  を選択し、 $n$  は典型的に  $<=$  合計 30 のマーカー、および  $r$  は典型的に 2 から 10 の間であった。

#### 【0227】

10 × 10 - 分割交差検証の分割内で特徴選択の工程後に、例えば、サポートベクトルマシン (SVM) アルゴリズム、無作為フォレストアルゴリズム、ブースティングを有するおよび有さない Elastic Network (ENet) 回帰モデル、および k 近傍法 (kNN) を含む、いくつかの分類アルゴリズムの 1 つを使用して、分類子モデルを構築した。分類モデルを、R 統計プログラミング言語で実施された確立された分類モデリングパッケージを使用して構築した。

10

#### 【0228】

訓練セット上の分類子モデルの構築後、それを、修正することなく、提供された試験セットのサンプルに対する分類スコアに帰着する試験セットに直接適用した。完全な 10 - 分割交差検証の繰り返しの完了後、すべてのサンプルからの試験セットの分類スコアを、値の単一のセットに融合し、その関連する受信者動作特性 (ROC) 曲線を作成した。この ROC から、曲線下面積 (AUC) を計算し、10 - 分割交差検証の 10 回の繰り返しの各々に対して 1 つの AUC 値を有した。その後、10 回の繰り返しにわたる平均および中間の AUC を用いて、特定の分類子アセンブリのプロセスのパフォーマンスを評価し、発見データのみを利用する予期された提供されたセット検証パフォーマンスの推定値を表わした。

20

#### 【0229】

##### < 分類モデル結果 >

上に記載された 10 × 10 - 分割交差検証手順を利用して、多数の分類子アセンブリ方法を評価した。これらの方法のうち、10 の方法を、異なる特徴選択および分類モデル法の範囲にわたる最も高い分類パフォーマンスを提供した検証のために選択した。特定の分類子モデルを検証するために、発見データおよび関連する 10 × 10 - 分割交差検証手順に使用される同じ特徴選択および分類子モデル法のすべてを使用して、最終モデルを構築した。最終モデルはそれぞれ、1 セットのマーカーおよび関連するモデルパラメーターを有する分類モデルから構成された。このモデルを検証前にロックし、追加の調整なしで検証セットに直接適用した。検証セットの分類スコアから最終的な ROC を作成し、最終的な検証のパフォーマンスを、ブートストラップサンプリングの手順から計算された ROC / AUC 上の 95 % の信頼区間に有して AUC を介して測定した。

30

#### 【0230】

表 7 は、検証された 10 の分類モデルの概要を提供する。モデルにわたって、発見セット AUC は 0.81 から 0.86 の間の範囲であり、検証 AUC は 0.75 から 0.82 の間の範囲である。モデル 10 以外のすべてのモデルにおいて、発見 AUC は検証 AUC の 95 % の信頼区間にあり、これは、選択されたモデルで優れた検証が達成されたことを示している。

40

#### 【0231】

関連する発見および検証の ROC 曲線は、図 7A - 18 に示される。表 8 は、検証された 10 の分類モデルの概要を示す。モデルにわたって、発見セット AUC は 0.81 から 0.86 の間の範囲であり、検証 AUC は 0.75 から 0.82 の間の範囲である。モデル 10 以外のすべてのモデルにおいて、発見 AUC は検証 AUC の 95 % の信頼区間にあり、これは、選択されたモデルで優れた検証が達成されたことを示している。

#### 【0232】

【表8】

表8：CRC評価に関する13の最大のパフォーマンスを発揮するモデルの概要

モデル	入力データ	特徴の選択	分類子	特徴のNo.	タンパク質	発見 AUC	検証 検証 AUC (95% CI)
1	ELISA-28 + 年齢 相互作用	Random Forest	Random Forest	7	A1AG1, A1AT, CATD, CEA, CO9, OSTPxAge, SEPR	0.84	0.80 (0.73 - 0.86)
2	ELISA-28	GLMNet	SVM	17	A1AG1, A1AT, APOA1, CATD, CEA, CLUS, CO3, CO9, FGB, FIBG, GARS, GELS, MIF, PRDX1, PSGL, SBP1, SEPR	0.83	0.81 (0.74 - 0.88)
3	ELISA-28 + TP	GLMNet	GLMNet	7	A1AG1, A1AT, CATD, CEA, CO9, GARS, SEPR	0.82	0.82 (0.75 - 0.88)
4	ELISA-28 + TP	GLMNet	GLMBoost	25	A1AG1, A1AT, AACT, CATD, CEA, CO9, CRP,	0.81	0.81 (0.74 - 0.88)

10

20

30

40

【0 2 3 3】

【表9】

					AACT, CO9, CRP, CRP, CRP, CRP, CRP, CRP, GELS, S10A8, S10A8, S10A8, S10A8, S10A9, S10A9, GARS, SAA1, SEPR			10
5	ELISA-28	Brute Force	SVM	8	CATD, CEA, CO3, CO9, GARS, GELS, SEPR, TFRC	0.86	0.82 (0.75 - 0.88)	20
6	ELISA-28 + TP (フ ィルタ処 理した追 跡分類 (Trace Classificat ion Filtered))	Brute Force	SVM	5	CATD, CEA, AACT, CO9, SEPR	0.86	0.80 (0.72 - 0.86)	30
7	ELISA-28 + 未標識 化 LCMS	p-値によ る GLMNet + Top	SVM	10	A1AT, C3218600, C387796, C597612,	0.83	0.81 (0.74 - 0.88)	40

【0 2 3 4】

【表10】

					C979276, CATD, CEA, GARS, GELS, SEPR		
8	ELISA-28	GLMNet	SVM + SUn	18	A1AG1, A1AT, APOA1, CATD, CEA, CLUS, CO3, CO9, FGB, FIBG, GARS, GELS, HPT, MIF, PRDX1, PSGL, SBP1, SEPR	0.84	0.78 (0.71 - 0.85)
9	ELISA-28 (個々の特 徴及び対 の比率)	Random Forest	2 SVM モデル	11	A1AG1, A1AT, CATD, CEA, CO9, SEPR, CATD/SEPR, CATD/GELS, CO9/SEPR, A1AT/FIBG	0.85	0.80 (0.73 - 0.87)
10	ELISA-28 + TP (フ ィルタ処 理した追 跡分類) + SAT-29	H-クラス タリング + GLMNet	GLMNet	41	H-クラスタリン グされた凝集し た特徴	0.85	0.75 (0.67 - 0.82)

【0 2 3 5】

【表 1 1】

11	ELISA-28 + TP (GARS 特 徴 swap を 持つモデ ル 5)	Brute Force, 相関によ る GARS Swap	SVM	8	CATD, CEA, CO3, CO9, S10A8, GELS, SEPR, TFRC	0.85	0.815 (0.75-0.88)
12	ELISA-28	Brute Force, タンパク 質のサブ セット 1	SVM	8	AACT, CATD, CEA, CO3, CO9, MIF, PSGL, SEPR	0.85	0.815 (0.75-0.88)
13	ELISA-28	Brute Force, タンパク 質のサブ セット 2	SVM	7	A1AG, CATD, CEA, CO3, CO9, GELS, SEPR	0.86	0.80 (0.73-0.87)

10

20

30

## 【0 2 3 6】

モデル 1 は、表 8 に参照されるように、A1AG1、A1AT、CATD、CEA、CO9、OSTP、およびSEPR である、7つのタンパク質を含んでいた。モデル 1 に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図 7A と 7B それぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.84であり、検証セットのAUCは0.80であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。

## 【0 2 3 7】

モデル 2 は、表 8 に参照されるように、A1AG1、A1AT、APOA1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、FGB、FIGBG、GARS、GELS、MIF、PRDX1、PSGL、SBP1、およびSEPR である、7つのタンパク質を含んでいた。モデル 2 に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図 8A と 8B それぞれに表される。結果として生じる発見セットにAUCは0.83であり、検証セットのAUCは0.81であった。90%の確認ROC特異度では、感度は約50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。

## 【0 2 3 8】

モデル 3 は、表 8 に参照されるように、A1AG1、A1AT、CATD、CEA、CO9、GARS、およびSEPR である、7つのタンパク質を含んでいた。モデル 3 に關

40

50

する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図9Aと9Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.82であり、検証セットのAUCは0.82であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>70%であり、50%の特異度では、感度は約80%である。

#### 【0239】

モデル4は、表8に参照されるように、A1AG1、A1AT、AACT、CATD、CEA、CO9、CRP、GARS、GELS、S10A8、S10A9、SAA1、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル4に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図10Aと10Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.81であり、検証セットのAUCは0.81であった。90%の確認ROC特異度では、感度は約60%であり、75%の特異度では、感度は>70%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。10

#### 【0240】

モデル5は、表8に参照されるように、CATD、CEA、CO3、CO9、GARS、GELS、SEPR、およびTFRCである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル5に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図11Aと11Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.86であり、検証セットのAUCは0.82であった。90%の確認ROC特異度では、感度は約50%であり、75%の特異度では、感度は>70%であり、50%の特異度では、感度は約90%である。20

#### 【0241】

モデル6は、表8に参照されるように、CATD、CEA、AACT、CO9、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル6に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図12Aと12Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.86であり、検証セットのAUCは0.80であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>40%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。

#### 【0242】

モデル7は、表8に参照されるように、A1AT、CATD、CEA、GARS、GELS、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル7に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図13Aと13Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.83であり、検証セットのAUCは0.81であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。30

#### 【0243】

モデル8は、表8に参照されるように、A1AG1、A1AT、APOA1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、FGB、FIGB、GARS、GELS、HPT、MIF、PRDX1、PSGL、SBP1、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル8に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図14Aと14Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.84であり、検証セットのAUCは0.78であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>30%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。40

#### 【0244】

モデル9は、表8に参照されるように、A1AG1、A1AT、CATD、CEA、CO9、FIGB、GELS、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル9に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図15Aと15Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.85であり、検証セットのAUCは0.80であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%である。

10

20

30

40

50

0 % であり、75 % の特異度では、感度は > 60 % であり、50 % の特異度では、感度は約 80 % である。

【 0 2 4 5 】

モデル 11 は、表 8 に参照されるように、CATD、CEA、CO3、CO9、S10A8、GELS、SEPR、TFRc である、7 つのタンパク質を含んでいた。結果として生じる発見セットの AUC は 0.85 であり、検証セットの AUC は 0.82 であった。

【 0 2 4 6 】

モデル 12 は、表 8 に参照されるように、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、SEPR である、7 つのタンパク質を含んでいた。結果として生じる発見セットの AUC は 0.85 であり、検証セットの AUC は 0.82 であった。

10

【 0 2 4 7 】

モデル 13 は、表 8 に参照されるように、A1AG、CATD、CEA、CO3、CO9、GELS、SEPR である、7 つのタンパク質を含んでいた。結果として生じる発見セットの AUC は 0.86 であり、検証セットの AUC は 0.80 であった。

【 0 2 4 8 】

モデル 4 と 6 は、標的とされたプロテオミクスプラットフォームからデータを組み込み、それ故、基礎をなすタンパク質の測定値から、特異的なペプチドからの遷移イオンの測定値を含んでいた。このようなモデルに使用される遷移は、表 9 で与えられる。

【 0 2 4 9 】

20

## 【表12】

表9：特異的なペプチドの遷移イオン

タンパク

モデルの数 ク質 ペプチド 遷移

4	AACT	ADLSGITGAR	b3
4	CO9	TEHYEEQIEAFK	y2
4	CRP	ESDTSYVSLK	y3
4	CRP	ESDTSYVSLK	y5
4	CRP	GYSIFSYATK	y7
4	CRP	GYSIFSYATK	y8
4	CRP	KAFVFPK	y5
4	CRP	KAFVFPK	y6
4	GELS	AGALNSNDAFVLK	b4
4	S10A8	ALNSIIDVYHK	y6
4	S10A8	ALNSIIDVYHK	y7
4	S10A8	GADVWFK	b3
4	S10A8	GADVWFK	y5
4	S10A9	DLQNFLK	y5
4	S10A9	LGHPDTLNQGEFK	y10
6	AACT	GKITDLIK	y5
6	CO9	TEHYEEQIEAFK	y2

10

20

30

40

## 【0250】

10のモデルのうち、モデル5は、0.86の高い発見AUC、および0.82の関連する高い確認AUCにより、顕著なものである。このモデルは、1つのアッセイプラットフォーム（ELISA）から8つの個々のタンパク質を全て含んでおり、臨床応用のためのこのマーカーパネルの測定を促進させる。

## 【0251】

モデル3も、0.82の高い確認AUCにより興味を引くものであるが、発見AUCは僅かに低く、0.82であった。標的とされたプロテオミクスマーカーが、このモデルへの入力として含まれていたが、ELISAマーカーのみが最終モデルにおいて選択された

50

。このパネルも僅かに小さなものであり、5つのタンパク質を含んでいる。

【0252】

本発明の好ましい実施形態が、本明細書に示され且つ記載されてきた一方で、このような実施形態がほんの一例として提供されることは、当業者に明白であろう。多数の変形、変化、および置換は、本発明から逸脱することなく、当業者によって現在想到されるものである。本明細書に記載される本発明の実施形態の様々な代案が、本発明の実施において利用されるかもしれないことを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本発明の範囲を定義するものであり、この特許請求の範囲およびその同等物の範囲内の方法および構造は、それにより包含されることが、意図されている。

【0253】

不確定分類コール（N o C 方法）の組み込み

特定の分類モデルの本来の性能は、2つのクラスに関するモデルスコアの分布および分離に依存する。完全なクラス分離の珍しい例外として、大抵の分類モデルは、分類子スコアの範囲にわたるクラスの重複により誤りを犯す。例えば、そのような重複は、1つのクラスまたはその他にある可能性が50%近くであるスコア範囲の中央付近で生じることもある。

【0254】

そのような重複領域内では、分類コールの最終セットに第3のクラスを加えることが都合の良い場合もあり、第3のクラスは、このスコア領域におけるコールの不確実性を示す。これは、例えば分類スコアの不確定領域を定めることにより実施することができる。この領域におけるスコアを持つサンプルは、「不確定」または「ノーコール」の試験結果を与えられる。この領域より上、または下のスコアを持つサンプルは、試験カットオフに対するそれらの位置に依存して、標準の陽性または陰性の試験結果を与えられる。分類モデルに不確定領域を加えることの利益は、分類パフォーマンスが、不確定領域の外部でサンプルを改善することができる、即ち、誤りは残りの陽性および陰性試験にはあまり生じそうにないということである。しかし、不確定領域が大きすぎる場合、あまりにも多くの不確定結果が存在し、且つ試験の値が問題となる場合もある。

【0255】

別の分析において、本明細書でN o C（「ノーコール」）と称されると、分類モデルによる不確定領域を使用する効果が調査された。この分析において、「ノーコール」を受け取るように標的とされたサンプルのパーセンテージを、10%に設定した。サンプルが10%である不確定領域（N o C 領域）について最適なスコア範囲を判定するために、以下のように $> = 90\%$ の感度で特異度を最大限にした：10%のサンプルの可能な連続するセットを全て、分類子スコア範囲にわたって判定した。各セットについて、10%のサンプルの関連するセットを、ノーコールとして印を付けた。このようなサンプルを分析セットから取り除き、ROC曲線をサンプルの残り90%から生成した。次いで $> = 90\%$ の感度での最大の特異度を判定し、これを問題におけるN o C 領域に関する評価スコアとして使用した。この様式で全てのN o C 領域を評価した後、最高の特異度スコアを持つ領域を最適なN o C 領域として選択した。このN o C 領域を定めるスコア範囲を、10%の関連するノーコールのスコアの上方および下方の分類スコアから得た。

【0256】

提供された（hold-out）検証セットにおける分類パフォーマンスにN o C手順がどのようにして影響を及ぼすのかを予測するために、上述のモデル5の $10 \times 10$ -分割交差検証の評価内で分析を行った。先述のモデルの構造全てと同様、発見セットのみをこの評価において使用した。この $10 \times 10$ -分割検証手順から判定された中間AUCの結果は0.87であり、これはN o Cの適用無しで0.86の元の発見AUCよりも僅かに高く、N o C手順は実際に利用するのに有益であり得ることを示唆している。

【0257】

最終N o C 領域を、発見サンプルの全てに対し上述された同じN o C手順を使用することにより判定した。これにより、0.298と0.396の間のスコアを包含するN o C

10

20

30

40

50

領域がもたらされた。このN o C領域を、領域内にある20のサンプル(13.3%)(10の疾患、10の対照)を伴う検証セットに直接適用した。残存する確認サンプルから判定されたR O Cは、0.85のA U C(95%のC I's: 0.78 - 0.91)、即ちN o Cの適用することなく確認R O C上での0.03の改善をもたらした。N o C分析の結果を表10に、発見および確認のR O Cデータを図17A - 17Bに与える。

【0258】

【表13】

表10. 不確定と分類されたサンプルのサブセットを伴うモデル5の概要

10

モデル 領域	NoC 領域 発見			NoC 領域 発見			検証 AUC w/ NoC
	スコア 領域	におけるサン プルの#	発見 AUC w/o NoC	AUC w/ NoC	におけるサン プルの#	AUC w/o NoC	
	5	0.298 - 0.396	15	0.86	0.87	20	
							0.85

【0259】

N O Cが適用される、および適用されないR O C曲線を比較すると、N o Cは、約60 - 80%の特異度の領域で最もパフォーマンスを改善させた。N O Cにより、感度の明らかな改善が明白となる。特に、85%の感度と78%の特異度での点は、感度と特異度両方に優れた全体的なパフォーマンスにより興味深いものである。

20

【0260】

#### 分類子のカットオフポイントの選択

分類子の全体的なパフォーマンスを、上記で報告されるようなR O CのA U Cを介して評価することができる。R O Cは、全ての可能なモデルスコアのカットオフポイントでの分類子のパフォーマンスを考慮する。しかし、分類決定を行う必要がある時(即ち、この患者は病気かまたは健康か?)、カットオフポイントを使用して2つのグループを画定しなければならない。カットオフポイントにある、またはそれより上の分類スコアを陽性(または病気)として評価し、カットオフポイントより下の点を陰性(または健康)として評価する。

30

【0261】

上記に要約される、N o Cが適用される10の分類モデルおよび単一のモデルについて、分類スコアのカットオフポイントを、確認R O Cのものの上での最大精度の点を選択することにより確立した。R O C上での最大精度の点は、正確な分類コールの総数が最大化されるカットオフポイント(複数可)である。ここで、陽性および陰性の分類コールに等しく重み付けした。複数の最大精度点が与えられたR O C上に存在した場合、関連する最大感度を持つ点を選択した。

30

【0262】

カットオフポイントの選択プロセスに関する結果を、表11と図13に要約する。選択されたカットオフスコアは、関連するモデルにより出力されるスコアのタイプを表す。幾つかのモデルについて、結果として生じる分類スコアは確率を表わし、スコアは0 - 1に及ぶ。他のモデル(例えば、モデル10)について、分類スコアは単なる1つのスコアであり、スコアが大きくなるほど、C R C患者を表わす可能性がより高くなる。このような場合、カットオフスコアは1より上であり得る。

40

【0263】

## 【表14】

表11. 結腸直腸癌のバイオマーカーパネルに関する被験体の分類のカットオフポイント

モデル #	感度	特異度	精度	カットオフ
1	0.63	0.87	0.75	0.60
2	0.68	0.83	0.75	0.56
3	0.72	0.84	0.78	0.54
4	0.69	0.85	0.77	0.51
5	0.73	0.81	0.77	0.62
5 w/ NoC	0.85	0.78	0.82	0.62
6	0.80	0.65	0.73	0.41
7	0.61	0.88	0.75	0.66
8	0.77	0.69	0.73	0.44
9	0.65	0.83	0.74	1.07
10	0.65	0.76	0.71	8.69

10

20

30

40

## 【0264】

## 進行腺腫のパネルの組み合わせ

進行性結腸直腸腺腫およびCRCを、本明細書に記載されるように場合によっては平行してアッセイする。例えば、CATDにて単一のバイオマーカーが重複している、結腸直腸癌に関するパネルおよび進行腺腫に関するパネルを、組み合わせて測定する。このような実施形態において、進行腺腫を診断するためのパネルは、以前に開示した方法を用いて導き出される場合もある。進行腺腫のリスク、および本明細書に開示されるようなバリアントを評価するための1枚のパネルを、内視鏡検査II研究から得たサンプル上での分類分析を含む以前の研究から分類分析の工程を使用して導き出した。

## 【0265】

内視鏡検査II研究による進行腺腫バイオマーカーの発見のために、分析用に選択された302のサンプルには、結腸内視鏡検査から並存疾患も有害なものも見つからなかった151の対照サンプルと、進行期において結腸または直腸腺腫の病変が確認された151の疾患サンプルとが含まれていた。この研究のために、進行した結腸直腸の腺腫は、以下の少なくとも1つを持つと定められたた：任意の腺腫 $\geq 1\text{ cm}$ 、無茎性鋸歯状ポリープ $\geq 1\text{ cm}$ 、異形成が高級である腺腫、または絨毛状の組織学的特徴を持つ腺腫。対照および疾患のサンプルは、年齢、性別、および登録部位について対となって一致していた。302のサンプルを更に、発見セットと確認のセットに分け、発見セットには75の対照と75の進行性結腸直腸腺腫サンプルを、検証セットには76の対照と76の進行性結腸直腸腺腫サンプルを分けた。検証セットの調査されたバイオマーカーパネルの一般化パフォーマンスをより厳格に試験するために、発見セットと検証セットは、重複しない部位からの患者サンプルで構成されていた。サンプルとその特徴の要約表を表12に提供する。

## 【0266】

## 【表15】

表12：研究設計及び患者サンプルの概要

	発見 (n=150)		検証 (n=151)		
	対照	AA	対照	AA	
合計	75	75	76	76	10
部位ごと (By Site)					
31	15	15			
32			9	9	
33	28	28			
34			14	14	
35			24	24	20
36	32	32			
37			29	29	
性別					
男性	38	38	38	38	
女性	37	37	38	38	30
平均年齢	62.7	63.1	62.5	62.9	
診断					
結腸の腺腫		53		52	
直腸の腺腫		22		24	
並存疾患無し / 発見無し					40
	75		76		

## 【0267】

データの準備のために、合計302のサンプルを、30の異なるタンパク質についてELISAアッセイを使用して分析し、その結果、302のサンプルにわたり30のタンパク質の各々についての濃度測定（例えば、蓄積レベル）がもたらされた。データ収集後、濃度値を様々な方法で調製した。幾つかの分析について、濃度測定をlog2変換し、一

方で他の分析については、濃度値は形質転換されないままであった。標準化され（ゼロ平均、単位分散）、且つ標準化されなかった（即ち、元の測定値）測定値に対しても、分析を行った。

#### 【0268】

分類分析も行った。分類分析の目的は、進行腺腫を持つおよび持たないサンプルを区別する、上部パフォーミングマーカーのパネルおよび分類モデルを判定することであった。分類子モデルと関連する分類パフォーマンスを、 $10 \times 10$ -分割交差検証手順により評価した。 $10 \times 10$ -分割交差検証を、発見セットのみを使用して実行し、特徴選択および分類モデルアセンブリを組み込んだ。交差検証手順において、使用される特徴の数を減少させるために、特徴選択を最初に適用し、その後、分類子モデルの開発および続く分類パフォーマンスの評価を行った。 $10$ -分割交差検証の各々のために、データを $10$ -分割し、その各々はトレーニングセットとして $90\%$ サンプル、および試験セットとして残りの $10\%$ のサンプルを含んでいる。このプロセスにおいて、各サンプルを試験セットにおいて一度評価した。特徴選択およびモデル構築を、トレーニングセットのみを使用して行い、次いでこれらのモデルを試験セットに適用して、典型的には受信者動作特性（ROC）プロットからの曲線下面積（AUC）を介して分類子パフォーマンスを評価した。ここで、 $10 \times 10$ -分割交差検証手順の各々から得た平均または中間のAUC値を使用して、全体的なマーカーパネルと分類モデルパフォーマンスを評価した。

10

#### 【0269】

異なる大きさのマーカーパネルのパフォーマンスを調べるために、様々な特徴選択および還元法（reduction methods）を使用し、これは、Elastic Networkの特徴選択、無作為フォレストでの特徴の重要度の順位付け、t検定でのp値の順位付け、階層的構造形成、および完全な組み合わせの調査を含む。完全な組み合わせの調査の例外として、特徴選択方法は、与えられた分類子モデル構造の最終的パフォーマンスの評価にマーカー選択の可変性を組み込むために、交差検証手順の個々の分割内にはめ込まれた。完全な組み合わせの調査のために、特徴の全てのn-choose-rの組み合わせを評価し、そこでは、特定の組み合わせがモデルの構築前に選択され、全ての交差検証の分割にわたって使用された。両方の計算上の実現可能性の理由のために、および過剰適合の可能性を限定するために、比較的小さな値を有するnおよびrを選択し、nは典型的に $<=$ 合計30のマーカー、およびrは典型的に2から10の間であった。

20

30

#### 【0270】

$10 \times 10$ -分割交差検証の分割内で、および特徴選択工程の後、分類子モデルを、様々な分類アルゴリズムの1つを使用して構築し、これは例として、サポートベクターマシン（SVM）アルゴリズム、無作為フォレストアルゴリズム、ブースティングを伴うおよび伴わないElastic Network（Ent）回帰モデル、およびk-近傍（kNN）が挙げられる。分類モデルは、R統計的プログラミング言語で実施される、確立された分類モデリングパッケージを使用して構築された。

40

#### 【0271】

トレーニングセット上の分類子モデルの構築後、これは、提供された試験セットサンプルの分類スコアを結果としてもたらす試験セットへの修飾を行うことなく、直接適用された。完全な $10$ 分類スコアを交差検証の反復の完了後、全てのサンプルからの試験セット分類スコアを单一のセットの値に融合させて、関連する受信者動作特性（ROC）曲線を生成した。このROCから、曲線下面積（AUC）を計算し、1つのAUC値は $10$ -分割交差検証の $10$ の反復の各々に関するものである。次いで、 $10$ の反復にわたる平均および中間のAUC値を用いて、特定の分類子構築プロセスのパフォーマンスを評価して、発見データのみを利用する提供されたセットの確認パフォーマンスの予想の推定値を表わした。

#### 【0272】

分類モデル結果を分析した。上述の $10 \times 10$ -分割交差検証手順を用いて、多くの分類子構築方法を評価した。このような方法のうち1つが、異なる特徴選択と分類モデルの

50

方法の範囲にわたって最高の分類パフォーマンスをもたらした確認のために選択された。この分類子モデルを確認するために、最終モデルを、関連する  $10 \times 10$  - 分割交差検証手順に使用される発見データ、同じ特徴選択、および分類子モデル方法の全てを使用して構築した。最終モデルは、1セットのマーカーおよび関連するモデルパラメータを伴う分類モデルで構成されていた。このモデルを確認前にロックし（locked）、付加的なチューニング無しで検証セットに直接適用する。検証セット分類スコアから最終ROCを生成し、AUCを介してブートストラップサンプリング手順から計算したROC/AUC上での95%の信頼区間を持つAUCを介して、最終確認パフォーマンスを測定した。

#### 【0273】

要するに、AAモデルは以下のパラメータを実証した。このモデルは、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1からの4つのタンパク質測定値で構成されていた。中間の発見AUCは0.77であり、検証セットにおけるAUCパフォーマンスは0.65であった。発見から確認までのAUCの落ち込みにもかかわらず、ROC上での95%の信頼区間は0.56～0.74であり、これは、モデルがランダムなパフォーマンス上に分類弁別を著しく提供することを示していた。入力データはELISA-30の入力であり、使用される分類子はKNNであった。

10

#### 【0274】

分類子の全体的なパフォーマンスを、場合によっては本明細書で報告されるようなROCのAUCを介して評価する。ROCは、全ての可能なモデルスコアのカットオフポイントでの分類子のパフォーマンスを考慮する。しかし、分類決定を行う必要がある時（例えば、この患者は病気かまたは健康か？）、カットオフポイントを使用して2つのグループを画定する。様々な実施形態において、カットオフポイントにある、またはそれより上の分類スコアを陽性（または病気）として評価し、カットオフポイントより下の点を陰性（または健康）として評価する。

20

#### 【0275】

本明細書に開示される幾つかの分類のために、分類スコアのカットオフポイントを、確認ROC上での最大精度の点を選択することにより確立する。ROC上での最大精度の点は、正確な分類コールの総数が最大化されるカットオフポイント（複数可）である。ここで、陽性および陰性の分類コールに等しく重みを付ける。複数の最大精度点が与えられたROC上に存在する場合、場合によっては関連する最大感度を持つ点を選択する。本明細書中の幾つかのAAパネルについて、以下のパラメータを観察した：0.83の感度、0.45の特異度、0.64の精度、および0.25のカットオフ。本明細書中の幾つかのAAパネルについて、以下のパラメータを観察した：0.80の感度および0.50の特異度。

30

#### 【0276】

##### 図面の付加的な参照

本明細書中の開示は、明細書および添付の特許請求の全体にわたり描かれ、図面によって支持されている。より詳細に図面を参照すると、以下が観察される。

#### 【0277】

図1は、リードCRCバイオマーカーパネルの開発に関するワークフローのパイプラインを表す。ボックス1において、上部では、28の最良のタンパク質が、文学から編集された187の候補から標的とされた質量分析プラットフォームを使用して同定される。ボックス2において、8つのタンパク質のCRC試験パネルが、ELISAを使用した不偏のケースコントロール研究における機械学習を介して同定される。ボックス3において、バイオマーカーとしての年齢が、CRC対併発疾患無し・発見無しのケースコントロールのサブセットを使用して、パラメータとしてモデルに加えられる。ボックス4において、不確定コール境界が、試験される予定の患者のサブセットを用いてモデルに加えられる。ボックス5において、年齢の分類子に加えて8つのタンパク質が、試験される予定の患者のサブセットを使用して確認される。

40

#### 【0278】

50

図2は、CRCパネルのAUCを表す。X軸は、100%から0%まで、20%の間隔で特異度を示す。Y軸は、0%から100%まで、20%の間隔で感度を示す。対角線に沿った傾斜は、50%の感度と50%の特異度を示す。斜線部分は、グラフに関する95%の信頼区間を示す。暗色の曲線は、タンパク質AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、9員のCRCパネルに関するパフォーマンス、および年齢の非タンパク質バイオマーカーを示す。81%の感度および78%の特異度に相当するAUCの位置が示される。このパフォーマンスは、発見における20%の標的とされた不確定割合と15%の確認された不確定割合を使用して評価される。

#### 【0279】

我々の研究は、初期対後期のCRCパフォーマンスには有意差が無いことを示した。CRCのステージI-I<sub>1</sub>について、15の真値対5の偽値が存在し、感度は0.75であった。CRCのステージII<sub>1</sub>-IVについて、15の真値対2の偽値が存在し、感度は0.88であった。CRCのステージI-I<sub>1</sub>の結果およびCRCのステージII<sub>1</sub>-IVの結果両方の平均は、15の真値および7の偽値であり、感度は0.81であった。このCRCのステージアッセイのためのFisher検定のp値は0.415であり、カイ二乗検定のp値は0.546であった。サンプルの優先的な分類は、不確定コールグループにおいて除外されなかった。我々の研究結果は、ノーコールのグループ(NoC)について、CRC分類は5の真対37の偽を有することを示した。非CRC分類は、51の真対280の偽を有していた。CRC分類と非CRC分類のNoCグループの平均は、56の真対317の偽であった。NoCグループについて、このアッセイのためのFisher検定のp値は0.652であり、カイ二乗検定のp値は0.712であった。

10

20

30

#### 【0280】

図3は、AAパネルのAUCを表す。X軸は、0.0から1.0まで、0.2の間隔で1-特異度を示す。Y軸は、0.0から1.0まで、0.2の間隔で感度を示す。 $x = y$ での傾斜は、50%の感度と50%の1-特異度をy示す。斜線部分は、グラフに関する95%の信頼区間を示す。暗色の曲線は4員のパネルについてのパフォーマンスを示し、一方でライトグレーの線は構成要素のパフォーマンスを示している。

#### 【0281】

図4は、図2のCRCパネルに関する検証データを提示している。CRCパネルは、「a」と標識化した「発見1」サンプル収集上で開発された。その後、CRCパネルは、第2のサンプルセット上で再び導き出され且つ確認され、「b」と標識化した「発見2」、および「c」と標識化した「検証」集団に分けた。図4に見られるように、カラムbとcの数は、所定のカテゴリーについて著しく異なるものではない。このことは、CRCパネルが、発見1セットにおいて生成され且つ発見2セットにおいて回収されると、与えられたカテゴリーに関して確実に検証されたことを示している。発見2と検証結果との間の密接な相関性は、試験の繰り返し精度の指標である。カラムは、左から右まで以下のように標識化される：結腸癌、直腸癌、併発疾患無し - 発見無し、腺腫 - 結腸、腺腫 - 直腸、併発疾患 - 発見無し、他の指標、および他の癌。

40

#### 【0282】

図4は、試験されたCRCパネルが、通常はCRCと健康なサンプルだけでなく、CRCと非CRCサンプル、更には他のタイプの癌を持つサンプルを区別することを実証している。従って、図4は、本明細書に開示されるCRCパネルが、他の癌に悩む個体からのサンプルにおいてさえも、循環血液サンプルにおいて示されるようにCRCと非CRCを区別することを実証している。

50

#### 【0283】

図5は、本明細書中のパネルに関連するタンパク質マーカーのためのCRCおよび健康な対照のサンプルについてのタンパク質レベルを表す。各タンパク質について、左または上部のボックスプロットの範囲は対照サンプル集団のタンパク質レベルを示し、右または下部のボックスプロットはCRC陽性サンプル集団のタンパク質レベルを示している。Log<sub>2</sub>(濃度)は、画像の上部にわたり2-20まで変動する。本明細書で議論されたタ

50

ンパク質を、画像の左側に列挙する。タンパク質の順序は、A1AG1、A1AT、AACT、ANAX1、APOA1、CAH1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、CRP、DPP4、FGB、FIBG、GARS、GDF15、GELS、HPT、MIF、OSTP、PKM、PRDX1、PSGL、SAA1、SBP1、SEPR、TFF3、TFRC、およびTIMP1である。図5は、個々のマーカーが頻繁に、CRCと健康な対照サンプルとの間で実質的に変動しないことを実証しており、それらの個々のバイオマーカーの構成要素に対する、本明細書で提示されるようなバイオマーカーパネルの相乗的な改善を強調している。

#### 【0284】

図6は、本明細書中のパネルに関するタンパク質マーカーのためのAAおよび健康な対照のサンプルについてのタンパク質レベルを表す。各タンパク質について、左または上部のボックスプロットの範囲は対照サンプル集団のタンパク質レベルを示し、右または下部のボックスプロットはCRC陽性サンプル集団のタンパク質レベルを示している。Log2（濃度）は、画像の上部にわたり2-20まで変動する。本明細書で議論されたタンパク質を、画像の左側に列挙する。タンパク質の順序は、A1AG1、A1AT、AACT、ANAX1、APOA1、CAH1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、CRP、DPP4、FGB、FIBG、GARS、GDF15、GELS、HPT、MIF、OSTP、PKM、PRDX1、PSGL、SAA1、SBP1、SEPR、TFF3、TFRC、およびTIMP1である。図5は、個々のマーカーが頻繁に、AAと健康な対照サンプルとの間で実質的に変動しないことを実証しており、それらの個々のバイオマーカーの構成要素に対する、本明細書で提示されるようなバイオマーカーパネルの相乗的な改善を強調している。

10

20

30

40

50

#### 【0285】

図7A-16Bは、本明細書に提示されるようなパネルモデル1-10に関する発見および確認のAUCプロットを提示する。各図について、X軸は0%から100%まで20%の間隔で特異度を示し、または代替的に、0.0~1.0まで0.2の間隔で1-特異度を示す。Y軸は、0%から100%まで、20%の間隔で感度を示す。対角線に沿った傾斜は、50%の感度と50%の特異度を示す。ボックスプロットは、グラフに関する95%の信頼区間を示している。

#### 【0286】

モデル1は、A1AG1、A1AT、CATD、CEA、CO9、OSTP、およびSEPRを含んでいた。モデル1に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図7Aと7Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.84であり、検証セットのAUCは0.80であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。モデル2は、A1AG1、A1AT、APOA1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、FGB、FIBG、GARS、GELS、MIF、PRDX1、PSGL、SBP1、およびSEPRを含んでいた。モデル2に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図8Aと8Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.83であり、検証セットのAUCは0.81であった。90%の確認ROC特異度では、感度は約50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。モデル3は、A1AG1、A1AT、CATD、CEA、CO9、GARS、およびSEPRを含んでいた。モデル3に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図9Aと9Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.82であり、検証セットのAUCは0.82であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>70%であり、50%の特異度では、感度は約80%である。モデル4は、A1AG1、A1AT、AACT、CATD、CEA、CO9、CRP、GARS、GELS、510A8、510A9、SAM、およびSEPRを含んでいた。モデル4に関する発見セットおよび検証セットから

結果として生じるROC曲線は、図10Aと10Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.81であり、検証セットのAUCは0.81であった。90%の確認ROC特異度では、感度は約60%であり、75%の特異度では、感度は>70%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。モデル5は、CATD、CEA、CO3、CO9、GARS、GELS、SEPR、およびTFRを含んでいた。モデル5に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図11Aと11Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.86であり、検証セットのAUCは0.82であった。90%の確認ROC特異度では、感度は約50%であり、75%の特異度では、感度は>70%であり、50%の特異度では、感度は約90%である。モデル6は、CATD、CEA、AACT、CO9、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル6に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図12Aと12Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.86であり、検証セットのAUCは0.80であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>40%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。モデル7は、表5に参照されるように、A1AT、CATD、CEA、GARS、GELS、およびSEPRである、7つのタンパク質を含んでいた。モデル7に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図13Aと13Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.83であり、検証セットのAUCは0.81であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。モデル8は、表5に参照されるように、A1AG1、A1AT、APOA1、CATD、CEA、CLUS、CO3、CO9、FGB、FIGBG、GARS、GELS、HPT、MIF、PRDX1、PSGL、SBP1、およびSEPRを含んでいた。モデル8に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図14Aと14Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.84であり、検証セットのAUCは0.78であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>30%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は>80%である。モデル9は、A1AG1、A1AT、CATD、CEA、CO9、FIGBG、GELS、およびSEPRを含んでいた。モデル9に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるROC曲線は、図15Aと15Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.85であり、検証セットのAUCは0.80であった。90%の確認ROC特異度では、感度は>50%であり、75%の特異度では、感度は>60%であり、50%の特異度では、感度は約80%である。モデル10に関する発見セットおよび検証セットから結果として生じるモデル10の曲線は、図16Aと16Bそれぞれに表される。結果として生じる発見セットのAUCは0.85であり、検証セットのAUCは0.75であった。

#### 【0287】

図17A - 17Bは、「NOC」分析を使用したモデル5の代替的な分析を表す。X軸は、100%から0%まで、20%の間隔で特異度を示す。Y軸は、0%から100%まで、20%の間隔で感度を示す。対角線に沿った傾斜は、50%の感度と50%の特異度を示す。ボックスプロットは、グラフに関する95%の信頼区間を示している。

#### 【0288】

この分析において、本明細書でNoC（「ノーコール」）と称されると、分類モデルによる不確定領域を使用する効果が調査された。この分析において、「ノーコール」を受け取るように標的とされたサンプルのパーセンテージを、10%に設定した。サンプルが10%である不確定領域（NoC領域）について最適なスコア範囲を判定するために、以下のように $>= 90\%$ の感度で特異度を最大限にした：10%のサンプルの可能な連続するセットを全て、分類子スコア範囲にわたって判定した。各セットについて、10%のサンプルの関連するセットを、ノーコールとして印を付けた。このようなサンプルを分析セットから取り除き、ROC曲線をサンプルの残り90%から生成した。次いで $>= 90\%$ の

10

20

30

40

50

感度での最大の特異度を判定し、これを問題におけるN o C領域に関する評価スコアとして使用した。この様式で全てのN o C領域を評価した後、最高の特異度スコアを持つ領域を最適なN o C領域として選択した。このN O C領域を定めるスコア範囲を、10%の関連するノーコールのスコアの上方および下方の分類スコアから得た。提供された検証セットにおける分類性能にN o C手順がどのようにして影響を及ぼすのかを予測するために、上述のモデル5の $10 \times 10$ -分割交差検証の評価内で分析を行った。先述のモデルの構造全てと同様、発見セットのみをこの評価において使用した。この $10 \times 10$ -分割検証手順から判定された中間A U Cの結果は0.87であり、これはN o Cの適用無しで0.86の元の発見A U Cよりも僅かに高く、N o C手順は実際に利用するのに有益であることを示唆している。

10

## 【0289】

最終N o C領域を、発見サンプルの全てに対し上述された同じN o C手順を使用することにより判定した。これにより、0.298と0.396の間のスコアを包含するN o C領域がもたらされた。このN o C領域を、領域内にある20のサンプル(13.3%) (10の疾患、10の対照)を伴う検証セットに直接適用した。残存する確認サンプルから判定されたR O Cは、0.85のA U C (95%のC I's: 0.78 - 0.91)、即ちN o Cの適用することなく確認R O C上での0.03の改善をもたらした。

## 【0290】

N O Cが適用される、および適用されないR O C曲線を比較すると、N o Cは、約80-60%の特異度の領域で最もパフォーマンスを改善させた。N O Cにより、感度の明らかな改善が明白となる。特に、85%の感度と78%の特異度での点は、感度と特異度両方に優れた全体的なパフォーマンスにより興味深いものである。

20

## 【0291】

図17Bは、更なるN O C分析結果を表す。X軸は、0.0から1.0まで、0.2の間隔で1-特異度を示す。Y軸は、0.0から1.0まで、0.2の間隔で感度を示す。 $x = y$ での傾斜は、50%の感度と50%の1-特異度をy示す。斜線部分は、グラフに関する95%の信頼区間を示す。暗色の曲線は4員のパネルについてのパフォーマンスを示し、一方でライトグレーの線は構成要素のパフォーマンスを示している。

## 【0292】

図18は、最大精度に相当するA U Cの点におけるモデル1-10の感度および特異度を表す。感度は、Y軸上で、0.25の間隔で0-1に及ぶ。X軸は、0.25の間隔で、0~1に及ぶ1-特異度を表す。モデル1-10はそれぞれa-kを標識化される。

30

## 【0293】

図19は、本明細書に開示される方法、システム、キット、および組成物と調和するコンピューターシステムを表す。

## 【0294】

図20は、C R Cの予測のために豊富化された(enriched)バイオマーカーセットから無作為に生成されたパネルのA U C値を表す。平均および中間のA U C値は、本明細書に開示されたC R Cパネルの値よりもかなり下である。

40

## 【0295】

## 番号付けした実施形態

本開示は更に、本明細書に列挙される番号付けした実施形態の検討を介して理解される。1. 個体の血液サンプルにおける結腸直腸癌のリスク状態を評価するエキソビオの方法であって、個体から循環血液サンプルを得る工程；前記個体からのパネル情報を含むために、A A C T、C O 3、C O 9、M I F、およびP S G Lを含んでいるサンプルのタンパク質のリストを含む、バイオマーカーパネルのバイオマーカーパネルレベルを得る工程；前記個体の前記パネル情報を、既知の結腸直腸癌状態に相当する基準パネル情報セットと比較する工程；および、前記個体の基準パネル情報が前記基準パネル情報セットと著しく異なるものでない場合に、結腸直腸癌のリスク状態を持つものとして前記個体を分類する工程を含む。2. 循環血液サンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から採血するこ

50

とを含む、実施形態1の方法。3.パネル情報は個体の年齢情報を含む、実施形態1または2の方法。4.タンパク質のリストは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、実施形態1乃至3の何れか1つの方法。5.タンパク質のリストはわずか15のタンパク質しか含まない、実施形態1乃至4の何れか1つの方法。6.タンパク質のリストはわずか8のタンパク質しか含まない、実施形態1乃至5の何れか1つの方法。7.タンパク質のリストは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、実施形態1乃至6の何れか1つの方法。8.前記分類する工程は、少なくとも81%の感度、および少なくとも78%の特異度を持つ、実施形態1乃至7の何れか1つの方法。9.医療従事者に前記分類する工程の結果の報告書を送信する工程を含む、実施形態1乃至8の何れか1つの方法。10.報告書は少なくとも81%の感度を示す、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。11.報告書は少なくとも78%の特異度を示す、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。12.報告書は結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。13.個体の結腸内視鏡検査を行う工程を含む、実施形態1乃至12の何れか1つの方法。14.報告書は、独立的な外科的介入を推奨する、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。15.個体に独立的な外科的介入を行う工程を含む、実施形態1乃至14の何れか1つの方法。16.報告書は、独立的な癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。17.個体に独立的な癌アッセイを行う工程を含む、実施形態1乃至16の何れか1つの方法。18.報告書は、便の癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。19.便の癌アッセイを行う工程を含む、実施形態1乃至18の何れか1つの方法。20.報告書は、抗癌組成物を投与することを推奨する、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。21.抗癌組成物を投与する工程を含む、実施形態1乃至18の何れか1つの方法。22.報告書は、継続的なモニタリングを推奨する、実施形態1乃至9の何れか1つの方法。23.前記個体のパネル情報の少なくとも1つのバイオマーカーレベルは前記基準パネルからの対応する値とは著しく異なり、前記個体の全体としてのパネルレベルは前記基準パネルレベルと著しく異なるものではない、実施形態1乃至22の何れか1つの方法。24.独立して前記個体の基準パネル情報のパラメータは、65%を超える感度または65%を超える特異度では前記個体の前記結腸直腸癌の状態を示さない、実施形態1乃至23の何れか1つの方法。25.タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を抗体のセットに接触させることを含み、抗体のセットはAACT、CO3、CO9、MIF、およびPSGLに特異的な抗体を含む、実施形態1乃至24の何れか1つの方法。26.タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらすことを含む、実施形態1乃至25の何れか1つの方法。27.前記比較する工程および前記分類する工程の少なくとも1つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で実行される、実施形態1乃至26の何れか1つの方法。28.既知の結腸直腸癌状態に相当する前記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む、実施形態1乃至27の何れか1つの方法。29.機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に相当する少なくとも100のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、実施形態1乃至28の何れか1つの方法。30.個体における結腸直腸癌処置の効果をモニタリングするエキソビオの方法であって、第1の時点で個体から循環血液を含む第1のサンプルを得る工程；第2の時点で結腸直腸癌処置を受ける同個体から循環血液を含む第2のサンプルを得る工程；第1のサンプルにおけるタンパク質のリストのタンパク質レベルを含む第1のパネルレベル、および、第2のサンプルにおけるタンパク質のリストのタンパク質レベルを含む第2のパネルレベルを得る工程を含み、前記リストは、前記第1のサンプルおよび前記第2のサンプルに関するパネル情報を含むようにAACT、CO3、CO9、MIF、およびPSGLを含み；ここで、タンパク質レベルの変化は、結腸直腸癌処置の効果を示す。31.第1のサンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から採血することを含む、実施形態30の方法。32.結腸直腸癌処置は医薬組成物の投与を含む、実施形態30または31の方法。33.結腸直腸癌処置は化学療法剤の投与を含む、実施形態30乃至32の何れか1つの方法。

10

20

30

40

50

34. 結腸直腸癌処置は結腸内視鏡検査を含む、実施形態30乃至33の何れか1つの方法。35. 結腸直腸癌処置はポリープ切除を含む、実施形態30乃至34の何れか1つの方法。36. 結腸直腸癌処置は放射線治療を含む、実施形態30乃至35の何れか1つの方法。37. 前記第1のサンプルのパネルレベルおよび前記第2のパネルレベルを、健康な基準の少なくとも1つのパネルレベルと比較する工程を含み、ここで、健康な基準のパネルレベルにかなり類似する第2のサンプルのパネルレベルは、結腸直腸癌処置の効果を示す、実施形態30乃至36の何れか1つの方法。38. 前記第1のサンプルのパネルレベルおよび前記第2のパネルレベルを、健康な基準の少なくとも1つのパネルレベルと比較する工程を含み、ここで、結腸直腸癌のパネルレベルにかなり類似する第1のサンプルのパネルレベルは、結腸直腸癌処置の効果を示す、実施形態30乃至37の何れか1つの方法。39. タンパク質のリストは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、実施形態30乃至38の何れか1つの方法。40. タンパク質のリストはわずか15のタンパク質しか含まない、実施形態30乃至39の何れか1つの方法。41. タンパク質のリストはわずか8のタンパク質しか含まない、実施形態30乃至40の何れか1つの方法。42. タンパク質のリストは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、実施形態30乃至41の何れか1つの方法。43. 効果が示されない場合に結腸直腸癌処置を変更する工程を含む、実施形態30乃至42の何れか1つの方法。44. 効果が示されない場合に結腸直腸癌処置を繰り返す工程を含む、実施形態30乃至42の何れか1つの方法。45. 効果が示されない場合に結腸直腸癌処置を継続する工程を含む、実施形態30乃至42の何れか1つの方法。46. 効果が示されない場合に結腸直腸癌処置を中止する工程を含む、実施形態30乃至42の何れか1つの方法。47. 個々の結腸直腸癌状態を示すタンパク質のパネルであって、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される少なくとも5つのタンパク質を含み、ここで、個体の循環血液からの基準パネルとは著しく異なるものではないレベルでのパネルの測定は、少なくとも81%の感度および少なくとも78%の特異度で、基準パネルの結腸直腸癌状態に相当する個体の結腸直腸癌状態を示し；および、前記パネルの構成物のタンパク質レベルは、65%を超える感度および65%を超える特異度では個体の結腸直腸癌状態を示さない。48. AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される少なくとも6つのタンパク質を含む、実施形態47のパネル。49. わずか12のタンパク質しか含まず、その内少なくとも4つのタンパク質が、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される、実施形態47または48のパネル。50. わずか12のタンパク質しか含まず、タンパク質のパネルは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、実施形態47乃至49の何れか1つのパネル。51. AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成る、実施形態47乃至50の何れか1つのパネル。52. 実施形態1乃至29の何れか1つに従い結腸直腸癌状態を評価する方法に使用するための、または、実施形態30乃至46の何れか1つに従い結腸直腸癌処置の効果をモニタリングする方法に使用するための、実施形態47乃至51の何れか1つに係るタンパク質のパネル。53. 抗体パネルを含むキットであって、前記抗体パネルはAACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される少なくとも5つのタンパク質を同定する抗体を含む。54. 制御タンパク質に結合する抗体を含む、実施形態53のキット。55. 前記抗体パネルはわずか15の抗体しか含まない、実施形態53または54のキット。56. 前記抗体パネルはわずか12の抗体しか含まない、実施形態53乃至55の何れか1つのキット。57. 前記抗体パネルは、AACT、CO3、CO9、MIF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRの全てを同定する抗体を含む、実施形態53乃至56の何れか1つのキット。58. 患者の結腸直腸癌状態を評価するためのキットの使用と機能的に関連した指示書を含む、実施形態53乃至57の何れか1つのキット。59. 実施形態1乃至29の何れか1

10

20

30

40

50

つに従い結腸直腸癌状態を評価する方法に使用するための、または、実施形態30乃至46の何れか1つに従い結腸直腸癌処置の効果をモニタリングする方法に使用するための、実施形態47乃至52の何れか1つに係る抗体パネルを含むキット。60. 個体における結腸直腸癌のリスクを評価するように構成されたコンピューターシステムであって、当該コンピューターシステムは、循環血液を含む生体サンプルからのA ACT、CO3、CO9、M IF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される少なくとも5つのタンパク質を含むタンパク質のパネルの測定値を含むデータを受け取るための記憶装置、前記タンパク質のパネルの前記測定値に関連した結腸直腸癌のリスクを評価するためのコンピューター実行可能命令、および前記タンパク質のパネルの前記測定値に関連した前記結腸直腸癌のリスクを評価する報告書を送達するための出力ユニットを含む。61. 前記パネルは、A ACT、CO3、CO9、M IF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される少なくとも6つのタンパク質を含む、実施形態60のコンピューターシステム。62. 前記パネルはわずか12のタンパク質しか含まず、その内少なくとも5つのタンパク質が、A ACT、CO3、CO9、M IF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRから成るリストから選択される、実施形態60または61のコンピューターシステム。63. 前記パネルはわずか12のタンパク質しか含まず、タンパク質のパネルは、A ACT、CO3、CO9、M IF、PSGL、CATD、CEA、およびSEPRを含む、実施形態60乃至62の何れか1つのコンピューターシステム。64. 前記パネルは、A ACT、CO3、CO9、M IF、PSG  
G

L、CATD、CEA、およびSEPRから成る、実施形態60乃至63の何れか1つのコンピューターシステム。65. 記憶装置は、タンパク質の第2のパネルの測定値を含むデータを受け取るように構成される、実施形態60乃至64の何れか1つのコンピューターシステム。66. タンパク質のパネルの測定値を含む前記データはELISAデータを含む、実施形態60乃至65の何れか1つのコンピューターシステム。67. タンパク質のパネルの測定値を含む前記データは質量分析データを含む、実施形態60乃至66の何れか1つのコンピューターシステム。68. 結腸直腸癌のリスクの評価は、前記データを、既知の結腸直腸癌状態に関連した基準パネルと比較することを含む、実施形態60乃至67の何れか1つのコンピューターシステム。69. 前記個体は、前記データが前記基準パネルとは著しく異なるものでない時に、前記既知の結腸直腸癌状態に割り当てられる、実施形態60乃至68の何れか1つのコンピューターシステム。70. 前記基準パネルは結腸直腸癌の存在を示す、実施形態60乃至68の何れか1つのコンピューターシステム。71. 前記基準パネルは結腸直腸癌の不在を示す、実施形態60乃至68の何れか1つのコンピューターシステム。72. 結腸直腸癌のリスクの評価は、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で実行される、実施形態60乃至71の何れか1つのコンピューターシステム。73. 前記記憶装置は、既知の結腸直腸癌状態に相当する少なくとも1つの基準パネル情報セットを含む、実施形態60乃至72の何れか1つのコンピューターシステム。74. 少なくとも1つの基準パネル情報セットは機械学習モデルを含む、実施形態60乃至73の何れか1つのコンピューターシステム。75. 機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に相当する少なくとも100のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、実施形態60乃至74の何れか1つのコンピューターシステム。76. 前記報告書は、少なくとも81%の感度、および少なくとも78%の特異度を示す、実施形態60乃至75の何れか1つのコンピューターシステム。77. 前記報告書は少なくとも81%の感度を示す、実施形態60乃至76の何れか1つのコンピューターシステム。78. 前記報告書は少なくとも78%の特異度を示す、実施形態60乃至77の何れか1つのコンピューターシステム。79. 前記報告書は結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、実施形態60乃至78の何れか1つのコンピューターシステム。80. 前記報告書は、独立的な外科的介入を推奨する、実施形態60乃至79の何れか1つのコンピューターシステム。81. 前記報告書は、独立的な癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態60乃至80の何れか1つのコンピューターシステム。82. 前記報告書は、便の

10

20

30

40

50

癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 6 0 乃至 8 1 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 3 . 前記報告書は、抗癌組成物を投与することを推奨する、実施形態 6 0 乃至 8 2 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 4 . 前記報告書は、継続的なモニタリングを推奨する、実施形態 6 0 乃至 8 3 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 5 . 前記個体の基準のパネル情報の少なくとも 1 つのパラメータは前記基準パネル情報セットからの対応する値とは著しく異なり、前記個体の基準パネル情報は前記基準パネル情報セットと著しく異なるものではない、実施形態 6 0 乃至 8 4 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 6 . 前記パネルの單一タンパク質は、6 5 % を超える特異度または 6 5 % を超える感度で個体の結腸直腸癌状態を示さない、実施形態 6 0 乃至 8 5 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 7 . 記憶装置は、前記個体の年齢情報を受け取るように構成される、実施形態 6 0 乃至 8 6 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 8 . コンピューター実行可能命令は、前記結腸直腸癌のリスクの評価が前記タンパク質のパネルの前記測定値に関連する時に、個体の年齢を計算に入れる ( factor in ) 、実施形態 6 0 乃至 8 7 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 8 9 . 個体の血液サンプルにおける進行腺腫のリスク状態を評価するエキソビオの方法であって、個体から循環血液サンプルを得る工程；前記個体からのバイオマーカーパネル情報を含むように、C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 の少なくとも 3 つを含むサンプルにおける進行腺腫に関連するタンパク質のリストのタンパク質レベルを得る工程；前記個体の前記パネル情報を、既知の進行腺腫状態に相当する基準パネル情報セットと比較する工程；および、前記個体の基準パネル情報が前記基準パネル情報セットと著しく異なるものでない場合に、進行腺腫のリスク状態を持つものとして前記個体を分類する工程を含む。 9 0 . 循環血液サンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から採血することを含む、実施形態 8 9 の方法。 9 1 . パネル情報は個体の年齢情報を含む、実施形態 8 9 または 9 0 の方法。 9 2 . タンパク質のリストはわずか 1 5 のタンパク質しか含まない、実施形態 8 9 乃至 9 1 の何れか 1 つの方法。 9 3 . タンパク質のリストはわずか 5 のタンパク質しか含まない、実施形態 8 9 乃至 9 2 の何れか 1 つの方法。 9 4 . タンパク質のリストは C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 を含む、実施形態 8 9 乃至 9 3 の何れか 1 つの方法。 9 5 . 前記分類する工程は、少なくとも 5 0 % の感度、および少なくとも 8 0 % の特異度を持つ、実施形態 8 9 乃至 9 4 の何れか 1 つの方法。 9 6 . 医療従事者に前記分類する工程の結果の報告書を送信する工程を含む、実施形態 9 8 乃至 9 5 の何れか 1 つの方法。 9 7 . 報告書は少なくとも 5 0 % の感度を示す、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 9 8 . 報告書は少なくとも 8 0 % の特異度を示す、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 9 9 . 報告書は結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 1 0 0 . 個体は結腸内視鏡検査を受ける、実施形態 8 9 乃至 9 9 の何れか 1 つの方法。 1 0 1 . 報告書は、独立的な外科的介入を推奨する、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 1 0 2 . 個体は独立的な外科的介入を受ける、実施形態 8 9 乃至 1 0 1 の何れか 1 つの方法。 1 0 3 . 報告書は、独立的な癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 1 乃至 9 の何れか 1 つの方法。 1 0 4 . 個体は独立的な癌アッセイを受ける、実施形態 8 9 乃至 1 0 3 の何れか 1 つの方法。 1 0 5 . 報告書は、便の癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 1 0 6 . 個体は便の癌アッセイを受ける、実施形態 8 9 乃至 1 0 5 の何れか 1 つの方法。 1 0 7 . 報告書は、抗癌組成物を投与することを推奨する、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 1 0 8 . 抗癌組成物は個体に投与される、実施形態 8 9 乃至 1 0 7 の何れか 1 つの方法。 1 0 9 . 報告書は、継続的なモニタリングを推奨する、実施形態 8 9 乃至 9 6 の何れか 1 つの方法。 1 1 0 . 前記個体の基準パネルの少なくとも 1 つのパラメータは前記基準パネルセットからの対応する値とは著しく異なり、前記個体の基準パネル情報は全体として、前記基準パネル情報セットと著しく異なるものではない、実施形態 8 9 乃至 1 0 9 の何れか 1 つの方法。 1 1 1 . 独立して前記個体の基準パネル情報のパラメータは、6 5 % を超える感度または 6 5 % を超える特異度では前記個体の前記進行腺腫の状態を示さない、実施形態 8 9 乃至 1 1 0 の何れか 1 つの方法。 1 1 2 . タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サン

10

20

30

40

50

プルの画分を抗体のセットに接触させることを含み、抗体のセットは C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 に特異的な抗体を含む、実施形態 8 9 乃至 1 1 1 の何れか 1 つの方法。 1 1 3 . タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらすことを含む、実施形態 8 9 乃至 1 1 2 の何れか 1 つの方法。 1 1 4 . タンパク質レベルを得る工程は、サンプルをタンパク質結合 D N A アプタマーに接触させることを含む、実施形態 8 9 乃至 1 1 3 の何れか 1 つの方法。 1 1 5 . タンパク質レベルを得る工程は、サンプルを抗体アレイに接触させることを含む、実施形態 8 9 乃至 1 1 4 の何れか 1 つの方法。 1 1 6 . 前記比較する工程および前記分類する工程の少なくとも 1 つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で実行される、実施形態 8 9 乃至 1 1 5 の何れか 1 つの方法。 1 1 7 . 既知の進行腺腫状態に相当する前記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物である、実施形態 8 9 乃至 1 1 6 の何れか 1 つの方法。 1 1 8 . 機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に相当する少なくとも 1 0 0 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、実施形態 8 9 乃至 1 1 7 の何れか 1 つの方法。 1 1 8 . 個体における進行腺腫の処置の効果をモニタリングするエキソビボの方法であって、第 1 の時点で個体から循環血液を含む第 1 のサンプルを得る工程；第 2 の時点で進行腺腫の処置を受ける同個体から循環血液を含む第 2 のサンプルを得る工程；第 1 のサンプルにおける進行腺腫の評価に関連するタンパク質のリストのタンパク質レベルを第 1 のパネルレベル、および、第 2 のサンプルにおける進行腺腫の評価に関連するタンパク質のリストのタンパク質レベルを第 2 のパネルレベルを得る工程を含み、前記リストは、前記第 1 のサンプルおよび前記第 2 のサンプルに関するパネル情報を含むように C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 を含み；ここで、タンパク質レベルの変化は、進行腺腫の処置の効果を示す。 1 2 0 . 第 1 のサンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から採血することを含む、実施形態 1 1 9 の方法。 1 2 1 . 進行腺腫の処置は医薬組成物の投与を含む、実施形態 1 1 9 または 1 2 0 の方法。 1 2 2 . 進行腺腫の処置は化学療法剤の投与を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 1 の何れか 1 つの方法。 1 2 3 . 進行腺腫の処置は結腸内視鏡検査を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 2 の何れか 1 つの方法。 1 2 4 . 進行腺腫の処置はポリープ切除を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 3 の何れか 1 つの方法。 1 2 5 . 進行腺腫の処置は放射線治療を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 4 の何れか 1 つの方法。 1 2 6 . 前記第 1 のサンプルのタンパク質レベルおよび前記第 2 のパネルのタンパク質レベルを、健康な基準のタンパク質レベルと比較する工程を含み、ここで、健康な基準のタンパク質レベルにかなり類似する第 2 のサンプルのレベルは、進行腺腫の処置の効果を示す、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 5 の何れか 1 つの方法。 1 2 7 . 前記第 1 のサンプルのタンパク質レベルおよび前記第 2 のパネルのタンパク質レベルを、進行腺腫の基準のタンパク質レベルと比較する工程を含み、ここで、進行腺腫の基準のタンパク質レベルにかなり類似する第 1 のサンプルのレベルは、進行腺腫の処置の効果を示す、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 6 の何れか 1 つの方法。 1 2 8 . 進行腺腫の評価に関連するタンパク質のリストは C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 7 の何れか 1 つの方法。 1 2 9 . 進行腺腫の評価に関連するタンパク質のリストはわずか 1 2 のタンパク質しか含まない、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 8 の何れか 1 つの方法。 1 3 0 . 進行腺腫の評価に関連するタンパク質のリストはわずか 8 のタンパク質しか含まない、実施形態 1 1 9 乃至 1 2 9 の何れか 1 つの方法。 1 3 1 . 進行腺腫の評価に関連するタンパク質のリストは C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 から成る、実施形態 1 1 9 乃至 1 3 0 の何れか 1 つの方法。 1 3 2 . 効果が示されない場合に進行腺腫の処置を変更する工程を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 3 1 の何れか 1 つの方法。 1 3 3 . 効果が示されない場合に進行腺腫の処置を繰り返す工程を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 3 1 の何れか 1 つの方法。 1 3 4 . 効果が示されない場合に進行腺腫の処置を継続する工程を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 3 1 の何れか 1 つの方法。 1 3 5 . 効果が示されない場合に進行腺腫の処置を中止する工程を含む、実施形態 1 1 9 乃至 1 3 1 の何れか 1 つの方法。  
1 3 6 . 個体の進行腺腫状態を示すタンパク質のパネルであって、 C A T D 、 C L U S 、

10

20

30

40

50

G D F 1 5 、および S A A 1 から成るリストから選択される進行腺腫の評価に関連する少なくとも 3 つのタンパク質を含み、ここで、個体の循環血液からの基準パネルとは著しく異なるものではないレベルでのパネルの測定は、少なくとも 5 0 % の感度および少なくとも 8 0 % の特異度で、基準パネルの進行腺腫状態に相当する個体の進行腺腫状態を示す；および、前記パネルの構成物のタンパク質レベルは、6 5 % を超える感度および 6 5 % を超える特異度では個体の進行腺腫状態を示さない。 1 3 7 . 進行腺腫の評価に関連するタンパク質として C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A を含む、実施形態 1 3 6 のパネル。 1 3 8 . 実施形態 8 9 乃至 1 1 9 の何れか 1 つに従い進行腺腫状態を評価する方法に使用するための、または、実施形態 1 2 0 乃至 1 3 6 の何れか 1 つに従い進行腺腫の処置の効果をモニタリングする方法に使用するための、実施形態 1 3 6 または 1 3 7 に係るタンパク質のパネル。 1 3 9 . 抗体パネルを含むキットであって、前記抗体パネルは、 C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 から成るリストから選択される進行腺腫の評価に関連する少なくとも 3 つのタンパク質を同定する抗体を含む。 1 4 0 . 制御タンパク質に結合する抗体を含む、実施形態 1 3 9 のキット。 1 4 1 . 前記抗体パネルはわずか 1 5 の抗体しか含まない、実施形態 1 3 9 または 1 4 0 のキット。 1 4 2 . 前記抗体パネルはわずか 1 2 の抗体しか含まない、実施形態 1 3 9 乃至 1 4 1 の何れか 1 つのキット。 1 4 3 . 前記抗体パネルは、 C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 の全てを同定する抗体を含む、実施形態 1 3 9 乃至 1 4 2 の何れか 1 つのキット。 1 4 4 . 患者の進行腺腫状態を評価するためのキットの使用と機能的に関連した指示書を含む、実施形態 1 3 9 乃至 1 4 3 の何れか 1 つのキット。 1 4 5 . 実施形態 8 9 乃至 1 1 9 の何れか 1 つに従い進行腺腫状態を評価する方法に使用するための、または、実施形態 1 2 0 乃至 1 3 6 の何れか 1 つに従い進行腺腫の処置の効果をモニタリングする方法に使用するための、実施形態 1 3 6 乃至 1 3 8 の何れか 1 つに係る抗体パネルを含むキット。 1 4 6 . 個体における進行腺腫のリスクを評価するように構成されたコンピューターシステムであって、当該コンピューターシステムは、循環血液を含む生体サンプルからの、 C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A 1 から成るリストから選択される、個体の進行腺腫状態を示す少なくとも 3 つのタンパク質を含むタンパク質のパネルの測定値を含むデータを受け取るための記憶装置、前記タンパク質のパネルの前記測定値に関連した進行腺腫のリスクを評価するためのコンピューター実行可能命令、および前記タンパク質のパネルの前記測定値に関連した前記進行腺腫のリスクを評価する報告書を送達するための出力ユニットを含む。 1 4 7 . 前記パネルは、 C A T D 、 C L U S 、 G D F 1 5 、および S A A を含む、実施形態 1 4 6 のコンピューターシステム。 1 4 8 . 前記パネルはわずか 1 2 のタンパク質しか含まない、実施形態 1 4 6 または 1 4 7 のコンピューターシステム。 1 4 9 . 記憶装置は、タンパク質の第 2 のパネルの測定値を含むデータを受け取るように構成される、実施形態 1 4 6 乃至 1 4 8 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 0 . タンパク質のパネルの測定値を含む前記データは E L I S A データを含む、実施形態 1 4 6 乃至 1 4 9 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 1 . タンパク質のパネルの測定値を含む前記データは質量分析データを含む、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 0 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 2 . 進行腺腫のリスクの評価は、前記データを、既知の進行腺腫状態に関連した基準パネルと比較することを含む、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 1 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 3 . 前記個体は、前記データが前記基準パネルとは著しく異なるものでない時に、前記既知の進行腺腫状態に割り当てられる、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 2 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 4 . 前記基準パネルは結腸直腸癌の存在を示す、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 2 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 5 . 前記基準パネルは結腸直腸癌の不在を示す、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 2 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 6 . 進行腺腫のリスクの評価は、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で実行される、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 5 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 1 5 7 . 前記記憶装置は、既知の進行腺腫状態に相当する少なくとも 1 つの基準パネル情報セットを含む、実施形態 1 4 6 乃至 1 5 6 の何れか 1 つの方法。 1 5 8 . 少なくとも 1 つの基準パネル情報セットは機械学習モデルを

10

20

30

40

50

含む、実施形態 146 乃至 157 の何れか 1 つの方法。 159 . 機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に相当する少なくとも 100 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、実施形態 146 乃至 158 の何れか 1 つの方法。 160 . 前記報告書は、少なくとも 50 % の感度、および少なくとも 80 % の特異度を示す、実施形態 146 乃至 159 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 161 . 前記報告書は少なくとも 50 % の感度を示す、実施形態 146 乃至 160 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 162 . 前記報告書は少なくとも 80 % の特異度を示す、実施形態 146 乃至 161 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 163 . 前記報告書は結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、実施形態 146 乃至 162 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 164 . 前記報告書は、独立的な外科的介入を推奨する、実施形態 146 乃至 163 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 165 . 前記報告書は、独立的な癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 146 乃至 164 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 166 . 前記報告書は、便の癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 146 乃至 165 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 167 . 前記報告書は、抗癌組成物を投与することを推奨する、実施形態 146 乃至 166 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 168 . 前記報告書は、継続的なモニタリングを推奨する、実施形態 146 乃至 167 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 169 . 前記個体の基準のパネル情報の少なくとも 1 つのパラメータは前記基準パネル情報セットからの対応する値とは著しく異なり、前記個体の基準パネル情報は前記基準パネル情報セットと著しく異なるものではない、実施形態 146 乃至 168 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 170 . 前記パネルの単一タンパク質は、65 % を超える特異度または 65 % を超える感度で個体の進行腺腫状態を示さない、実施形態 146 乃至 169 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 171 . 記憶装置は、前記個体の年齢情報を受け取るように構成される、実施形態 146 乃至 170 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 172 . コンピューター実行可能命令は、前記進行腺腫のリスクの評価が前記タンパク質のパネルの前記測定値に関連する時に、個体の年齢を計算に入れる、実施形態 146 乃至 171 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 173 . 個体の血液サンプルにおける結腸直腸の健康のリスク状態を評価するエキソビボの方法であって、個体から循環血液サンプルを得る工程； AACT 、 CO3 、 CO9 、 MIF 、 PSGL 、 SEPR 、 CEA 、 CATD 、 CLUS 、 GDF15 、および SAA1 を含むサンプルにおけるタンパク質のリストを含むバイオマーカーパネルのバイオマーカーパネルレベルを得る工程、および個体の年齢を得る工程であって、ここで、 AACT 、 CO3 、 CO9 、 MIF 、 PSGL 、 SEPR 、 CEA 、 CATD 、および年齢は、前記個体からの結腸直腸癌パネル情報を含み； CATD 、 CLUS 、 GDF15 、および SAA1 は、前記個体の進行腺腫のパネル情報を含む、工程；前記個体の前記結腸直腸癌のパネル情報を、既知の結腸直腸癌状態に相当する基準の結腸直腸癌のパネル情報セットと比較する工程；前記個体の前記進行腺腫のパネル情報を、既知の進行腺腫状態に相当する基準の進行腺腫のパネル情報セットと比較する工程；および、前記結腸直腸癌のパネルまたは前記進行腺腫のパネルの何れかが、結腸直腸の健康のリスクに対して陽性の基準パネルとは著しく異なるものではない場合に、結腸直腸の健康のリスクがあるものとして前記個体を分類する工程を含む。 174 . 循環血液サンプルを得る工程は、個体の静脈または動脈から採血することを含む、実施形態 173 の方法。 175 . タンパク質のリストはわずか 20 のタンパク質しか含まない、実施形態 173 乃至 174 の何れか 1 つの方法。 176 . タンパク質のリストはわずか 11 のタンパク質しか含まない、実施形態 173 乃至 175 の何れか 1 つの方法。 177 . 前記分類する工程は、少なくとも 8 % の感度、および少なくとも 50 % の特異度を持つ、実施形態 173 乃至 176 の何れか 1 つの方法。 178 . 医療従事者に前記分類する工程の結果の報告書を送信する工程を含む、実施形態 173 乃至 177 の何れか 1 つの方法。 179 . 報告書は結腸内視鏡検査を行うことを推奨する、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 180 . 個体は結腸内視鏡検査を受ける、実施形態 173 乃至 179 の何れか 1 つの方法。 181 . 報告書は、独立的な外科的介入を推奨する、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 182 . 個体は独立的な外科

10

20

30

40

50

的介入を受ける、実施形態 173 乃至 181 の何れか 1 つの方法。 183 . 報告書は、独立的な癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 178 乃至 182 の何れか 1 つの方法。 184 . 個体は独立的な癌アッセイを受ける、実施形態 173 乃至 183 の何れか 1 つの方法。 185 . 報告書は、便の癌アッセイを受けることを推奨する、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 186 . 個体は便の癌アッセイを受ける、実施形態 173 乃至 185 の何れか 1 つの方法。 187 . 報告書は、抗癌組成物を投与することを推奨する、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 188 . 個体は抗癌組成物を投与される、実施形態 173 乃至 187 の何れか 1 つの方法。 189 . 報告書は、継続的なモニタリングを推奨する、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 190 . 前記個体のパネル情報の少なくとも 1 つのバイオマーカーレベルは前記基準パネルの少なくとも 1 つからの対応する値とは著しく異なり、前記個体の全体としてのパネルレベルは前記基準パネルレベルと著しく異なるものではない、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 191 . 独立して前記個体の基準パネル情報のパラメータは、65 % を超える感度または 65 % を超える特異度では前記個体の前記結腸直腸癌の状態を示さない、実施形態 178 乃至 190 の何れか 1 つの方法。 192 . タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を抗体のセットに接触させることを含み、抗体のセットは AACT 、 CO3 、 CO9 、 MIF 、 PSGL 、 SEPR 、 CEA 、 CATD 、 CLUS 、 GDF15 、および SAA1 に特異的な抗体を含む、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 193 . タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらすことを含む、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 194 . タンパク質レベルを得る工程は、サンプルをタンパク質結合 DNA アプタマーに接触させることを含む、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 195 . タンパク質レベルを得る工程は、サンプルを抗体アレイに接触させることを含む、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 196 . タンパク質レベルを得る工程は、循環血液サンプルの画分を質量分光分析にさらすことを含む、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 197 . 前記比較する工程および前記分類する工程の少なくとも 1 つは、基準パネル情報を分析するように構成されたコンピューター上で実行される、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つ

の方法。 198 . 既知の結腸直腸癌状態に相当する前記基準パネル情報セットは、機械学習モデルの生成物を含む、実施形態 173 乃至 178 の何れか 1 つの方法。 199 . 機械学習モデルは、既知の結腸直腸の健康状態に相当する少なくとも 100 のバイオマーカーパネルを使用して訓練される、実施形態 173 乃至 198 の何れか 1 つのコンピューターシステム。 200 . 前記パネルは、列挙されたものより多くのバイオマーカーを含むが、列挙されたバイオマーカーから、単独でまたは年齢と組み合わせて、著しい結腸直腸の健康状態の評価が行われる、1 乃至 199 の何れか 1 つの実施形態。 201 . パネルは、CRC サンプルを、少なくとも 1 つの非 CRC 癌に陽性である CRC 陰性の個体に由来するサンプルからの CRC サンプルと区別する、1 乃至 200 の何れか 1 つの実施形態。

#### 【 0296 】

##### 参照分野および定義

本出願の全体にわたり、本発明の様々な実施形態は、範囲の形式 (range format) で提示されてもよい。範囲の形式における記載は単に利便性と簡潔さのためのものであり、本発明の範囲に対する確固たる制限として解釈されるべきでないことを、理解されたい。従って、範囲の記載は、全ての可能なサブ範囲、同様にその範囲内の個々の数値を具体的に開示したものと考慮されねばならない。例えば、1 ~ 6 などの範囲の記載は、1 ~ 3 、 1 ~ 4 、 1 ~ 5 、 2 ~ 4 、 2 ~ 6 、 3 ~ 6 といった、具体的に開示されたサブ範囲、同様に、例えば 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、および 6 といった範囲内にある個々の数字を有すると、考慮されねばならない。これは、範囲の広さにかかわらず適用される。

#### 【 0297 】

本発明の実施は、他に示されない限り、当業者の考え得る範囲内にある、免疫学、生化学、化学、分子生物学、微生物学、細胞生物学、ゲノミクス、および組み換え DNA の從

10

20

30

40

50

来技術を利用することができる。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Sambrook, Fritsch and Maniatis, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 4th edition (2012); CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, et al. eds., (1987)); the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.); PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), CULTURE OF ANIMAL CELLS: A MANUAL OF BASIC TECHNIQUE AND SPECIALIZED APPLICATIONS, 6th Edition (R. I. Freshney, ed. (2010)), および Lange, et. al., Molecular Systems Biology Vol. 4: Article 222 (2008)を参照。

## 【0298】

## &lt;定義&gt;

本明細書および特許請求の範囲で使用されるように、「a」、「an」、および「the」は、内容が他に明確に示していない限り、複数の参照を含む。例えば、用語「サンプル」は複数のサンプルを含み、その混合物も含む。

## 【0299】

用語「判定すること(determining)」、「測定すること(measuring)」、「評価すること(evaluating)」、「評価すること(assessing)」、「分析すること(assaying)」、および「分析すること(analyzing)」は頻繁に、測定の形態を指し、且つ1つの要素の存在の有無を判定すること(例えば、検出)を含むように、本明細書で互換的に使用され得る。このような用語は、定量的、質的、または定量的且つ質的な判定を含み得る。評価は代替的に、相対的または絶対的である。「～の存在を検出すること」は、存在するものの量を判定すること、同様に、その存在の有無を判定することを含む。

## 【0300】

用語「パネル」、「バイオマーカーパネル」、「タンパク質パネル」、「分類子モデル」、および「モデル」は、バイオマーカーのセットを指すよう本明細書で互換的に使用され、ここで、バイオマーカーのセットは少なくとも2つのバイオマーカーを含む。典型的なバイオマーカーは、タンパク質、または特定のタンパク質へと一意的または確信的にマッピングされるタンパク質のポリペプチドフラグメントである。しかし、例えばサンプルを提供する個体の年齢または性別といった、付加的なバイオマーカーも熟考される。バイオマーカーパネルは頻繁に、被験体の健康状態、疾患、または疾病を予測し、および／またはそれらの情報を与える。

## 【0301】

バイオマーカーパネルの「レベル」は、パネルの構成要素のマーカーの絶対的且つ相対的レベル、およびパネルの構成要素のバイオマーカーの相対的パターンを指す。

## 【0302】

用語「結腸直腸癌」および「CRC」は、互換的に使用される。用語「結腸直腸癌状態」、「CRC状態」は、被験体の疾患の状態を指し得る。CRC状態のタイプの例は、限定されないが、結腸直腸癌種、疾患(例えばポリープまたは腺癌)の存在の有無、患者の疾患(例えば癌腫)の段階、および疾患の処置の効果を含む、被験体の癌のリスクを含む。

## 【0303】

用語「質量分析計」は、気相イオンの質量-対-電荷(m/z)の比率へと翻訳され得るパラメータを測定する、気相イオン分光計を指し得る。質量分析計は通常、イオンソースおよび質量分析器を含む。質量分析計の例は、飛行時間、磁場セクター、四重極フィル

10

20

30

40

50

ター、イオントラップ、イオンサイクロトロン共鳴、静電気セクター分析器、およびこれらの混成物である。「質量分析」は、気相イオンを検出するための質量分析計の使用を指し得る。

#### 【0304】

用語「タンデム質量分析計」は、イオン混合物中にイオンを含む、イオンの  $m/z$  に基づく弁別または測定の 2 つの連続段階を実行できる、任意の質量分析計を指し得る。この句は、タンデムインスペースのイオンの  $m/z$  に基づく弁別または測定の 2 つの連続段階を実行できる、2 つの質量分析器を持つ質量分析計を含む。前記句は更に、タンデムインタイム (tandem-in-time) のイオンの  $m/z$  に基づく弁別または測定の 2 つの連続段階を実行できる、1 つの質量分析器を持つ質量分析計を含む。前記句は故に、Qq-TOF 質量分析計、イオントラップ質量分析装置、イオントラップ-TOF 質量分析計、TOF-TOF 質量分析計、フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計、静電気セクター-磁場セクター質量分析計、およびそれらの組み合わせを明確に含む。10

#### 【0305】

用語「バイオチップ」は、吸着体が付けられる略水平な表面を持つ固体基板を指し得る。場合によっては、バイオチップの表面は、複数のアドレス可能な位置を含み、その位置の各々は、そこに吸着体を結合する場合もある。バイオチップは、プローブインターフェースに係合し、および故にプローブとして機能するように適合され得る。タンパク質バイオチップは、ポリペプチドの捕捉に適しており、アドレス可能な位置に、クロマトグラフィーまたは生体特異度の吸着体が付く表面を含み得る。マイクロアレイチップは通常、DNA および RNA 遺伝子発現の検出に使用される。20

#### 【0306】

用語「バイオマーカー」および「マーカー」は本明細書で互換的に使用され、ポリペプチド、遺伝子、核酸（例えば、DNA および / または RNA）を指し、それらは、疾患を患っていない对照被験体から得た比較可能なサンプル（例えば、陰性診断または検出できない CRC を有する人、正常または健康な被験体、または例えば、異なる時点で同じ個体からのもの）と比較して、診断が所望される疾患（例えば、CRC）を患う被験体から得たサンプルにおいて異なるように存在する。本明細書中の一般的なバイオマーカーは、タンパク質、または、特定のタンパク質へと一意的または確信的にマッピングされるタンパク質フラグメント、アミノ酸配列の遷移イオン、リン酸化、グリコシル化、または他の翻訳後或いは共翻訳の修飾といったタンパク質の 1 以上の修飾を含む。加えて、タンパク質バイオマーカーは、タンパク質、タンパク質フラグメント、またはアミノ酸配列の転移イオンの結合パートナーであり得る。30

#### 【0307】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は、アミノ酸残基のポリマーへの参照において本明細書にて互換的に使用される。タンパク質は通常、コーディングオープンリーディングフレームから翻訳されるような、または、その成熟形態へと処理されるような完全長ポリペプチドを指す一方で、ポリペプチドまたはペプチドは非公式に、それでもなお特定のタンパク質へと一意的または確認可能にマッピングされるタンパク質の分解フラグメントまたは処理フラグメントを指す。ポリペプチドは、隣接したアミノ酸残基のカルボキシル基とアミノ基との間のペプチド結合により共に結合される、アミノ酸の单一の線状ポリマー鎖であり得る。ポリペプチドは、例えば、炭水化物の追加やリン酸化などにより修飾され得る。タンパク質は 1 以上のポリペプチドを含み得る。40

#### 【0308】

「イムノアッセイ」は、抗原（例えばマーカー）に特異的に結合するために抗体を使用するアッセイであり得る。イムノアッセイは、抗原を単離、標的化、および / または定量化するために特定の抗体の特異的な結合特性を使用することにより特徴化され得る。

#### 【0309】

用語「抗体」は、免疫グロブリン遺伝子（複数可）により実質的にコードされたポリペプチドリガンド、またはそのフラグメントを指し、これはエピトープに特異的に結合し且50

つエピトープを認識するものである。抗体は、例えば、無傷の免疫グロブリン、または、様々なペプチダーゼによる消化により生成された多数の十分に特徴付けられたフラグメントとして存在する。これは例えば、 $Fab'$ 、および $F(ab)'$ 、2のフラグメントを含む。本明細書で使用されるように、用語「抗体」はまた、全体の抗体の修飾により生成された抗体フラグメント、または組み換えDNA方法を使用して新たに合成された抗体フラグメントの何れかを含む。「抗体」はまた、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または単鎖抗体も含む。抗体の「Fc」部分は、1以上の重鎖定常領域ドメインを含むが重鎖可変領域を含まない、免疫グロブリン重鎖遺伝子の部分を指し得る。

## 【0310】

10

用語「腫瘍」は、癌細胞または非癌細胞により形成され得る、固体または流体で満たされた病変または構造を指し得、異常な細胞増殖または細胞分割を提示する細胞などが挙げられる。用語「質量」および「小節」は頻繁に、「腫瘍」と共に同義的に使用される。腫瘍は悪性腫瘍または良性腫瘍を含む。悪性腫瘍の一例は、形質転換細胞を含むと知られる癌腫であり得る。

## 【0311】

20

用語「結合パートナー」は、一対の分子、典型的には特異的結合を提示する一対の生体分子を指し得る。タンパク質間相互作用は、2つ以上のタンパク質が頻繁にそれ自体の生体機能を行うために一緒に結合される時、これらの間に生じ得るものである。タンパク質間の相互作用は、大多数の生物学的機能に重要なものである。例えば、細胞の外部からシグナルは、リガンド受容体タンパク質を介して、シグナル伝達分子のタンパク質間相互作用により細胞の内部へと媒介される。例えば、分子結合パートナーは、限定されないが、受容体およびリガンド、抗体および抗原、ビオチンおよびアビジン、並びにその他を含む。

## 【0312】

30

用語「对照基準」は、未知の条件に関連したバイオマーカーの量に匹敵するように使用され得る既知の条件に関連した、バイオマーカーの既知のまたは決定された量を指し得る。対照基準はまた、非定常状態分子の値を較正または標準化するために使用され得る、定常状態分子を指し得る。対照基準値は、バイオマーカー濃度の組み合わせ、または濃度の範囲の組み合わせなどの、因子の組み合わせまたは因子の範囲の組み合わせから計算され得る。

## 【0313】

40

用語「被験体」、「個体」、または「患者」は頻繁に、本明細書で互換的に使用される。「被験体」は、発現された遺伝物質を含む生物学的実体であり得る。生物学的実体は、例えば、細菌、ウイルス、真菌類、および原生動物を含む、植物、動物、または微生物であり得る。被験体は、インビボで得られる、またはインビトロで培養される生物学的実体の組織、細胞、およびそれらの子孫であり得る。被験体は哺乳動物で有り得る。哺乳動物はヒトで有り得る。被験体は、疾患について高いリスクがあると診断されるか、またはそうであると疑われることもある。疾患は癌であり得る。癌はCRC(CRC)であり得る。場合によっては、被験体は必ずしも、疾患について高いリスクがあると診断されるか、またはそうであると疑われることはない。

## 【0314】

用語「インビボ」は、被験体の身体に生じる事象を説明するために使用される。

## 【0315】

用語「インビトロ」は、被験体の身体の外部に生じる事象を説明するために使用される。「エキソビボ」アッセイは、被験体に対して行なわれない。むしろ、これは被験体とは別のサンプルに行われる。サンプルに対し行われる「エキソビボ」アッセイの例は、「インビトロ」アッセイである。

## 【0316】

50

用語「インビトロ」は、物質が獲得される生物源の生体から実験用試薬が分離されるよ

うに実験用試薬を保持するための容器に生じる事象を説明するために使用される。インビトロアッセイは、生きているまたは死んでいる細胞が利用される、細胞ベースのアッセイを包含し得る。インビトロアッセイはまた、無傷の細胞が利用されない無細胞のアッセイを包含し得る。

#### 【0317】

用語「特異度」または「真の陰性率」は、疾患を正確に除外する試験の性能を指し得る。例えば、診断試験において、試験の特異度は、疾患を患っていないと分かっている患者の比率であり、この患者の疾患に関する試験結果は陰性である。場合によっては、これは、集団における健康な個体の総数（即ち、試験結果が陰性であり疾患を患っていない患者と、試験結果が陽性であり疾患を患っていない患者との合計）に対する、真の陰性（即ち、疾患を患っていない、試験結果が陰性である患者）の比率を判定することにより、計算される。

10

#### 【0318】

用語「感度」または「真の陽性率」は、疾患を正確に識別する試験の性能を指し得る。例えば、診断試験において、試験の感度は、疾患を患っていると分かっている患者の比率であり、この患者の疾患に関する試験結果は陽性である。場合によっては、これは、疾患を患う集団における個体の総数（即ち、試験結果が陽性であり疾患を患う患者と、試験結果が陰性であり疾患を患う患者との合計）に対する、真の陽性（即ち、疾患を患う、試験結果が陽性である患者）の比率を判定することにより、計算される。

20

#### 【0319】

感度と特異度の定量的関係は、異なる診断上のカットオフが選択されると変わる場合がある。この変動はROC曲線を使用して表わすことができる。ROC曲線のX軸は、（1 - 特異度）として計算され得る、アッセイの偽の陽性率を示す。ROC曲線のY軸は、アッセイの感度を報告書する。これにより、与えられた特異度に関するアッセイの感度を容易に判定することができ、その逆も然りである。

#### 【0320】

本明細書で使用されるように、用語「約」の付く数字は、その数字のプラスまたはマイナス10%の数字を指す。用語「約」の付く範囲は、最低値のマイナス10%、および最大値のプラス10%の範囲を指す。

30

#### 【0321】

本明細書で使用されるように、「処置（treatment）」または「処置すること（treating）」という用語は、レシピエントにおける有益または所望の結果を得るために医薬的またはその他の介入レジメンに関して使用されるものである。有益または所望の結果は、限定されないが治療利点および/または予防利点を含む。治療利点は、処置されている症状または根本的な障害の根絶または寛解を指し得る。また、治療利点は、被験体が未だに根本的な障害による影響を受けるかもしれないことにもかかわらず、被験体の改善が観察されるような、根本的な障害に関連した生理学的症状の1以上の根絶または寛解により達成され得る。予防効果は、疾患または疾病的出現を遅延、予防、または排除すること、疾患または疾病的症状の発症を遅延または排除すること、疾患または疾病的進行を遅くする、止める、または逆転させること、或いはそれらの任意の組み合わせを含む。予防利点に関して、特定の疾患を進行させる危険のある被験体、または、疾患の生理学的症状の1以上を報告書する被験体は、たとえこの疾患の診断が行われなかつたとしても、処置を受ける場合もある。

40

#### 【実施例】

#### 【0322】

#### <実施例1>

結腸直腸癌のリスクのある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、（時間単位での）年齢は、他のマーカーの

50

のようなパネルのバイオマーカーとして処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。

【0323】

結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

【0324】

<実施例2>

実施例1の患者に、外科的介入を含む処置レジメンを処方する。外科的介入の前に血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。

10

【0325】

外科的介入の後に血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、これ以上結腸癌を有していないものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。

20

【0326】

実施例3

実施例1の患者に、5-FUの投与を含む化学療法介入を含む処置レジメンを処方する。化学療法介入の前に血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。

30

【0327】

化学療法処置中に毎週の間隔で血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較する。経時的な患者のパネルの結果は、癌が化学療法処置に反応したこと、および結腸直腸癌が処置レジメンの完了によりこれ以上検出できることを示す。

30

【0328】

実施例4

実施例1の患者に、経口のカペシタビンの投与を含む化学療法介入を含む処置レジメンを処方する。化学療法介入の前に血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。

40

【0329】

化学療法処置中に毎週の間隔で血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPR

50

を含むパネルについて測定する。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較する。経時的な患者のパネルの結果は、癌が化学療法処置に反応したこと、および結腸直腸癌が処置レジメンの完了によりこれ以上検出できないことを示す。

#### 【0330】

##### 実施例5

実施例1の患者に、経口のオキサリプラチンの投与を含む化学療法介入を含む処置レジメンを処方する。化学療法介入の前に血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。

10

#### 【0331】

化学療法処置中に毎週の間隔で血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較する。経時的な患者のパネルの結果は、癌が化学療法処置に反応したこと、および結腸直腸癌が処置レジメンの完了によりこれ以上検出できないことを示す。

20

#### 【0332】

##### 実施例6

実施例1の患者に、ベバシズマブを組み合わせた経口のオキサリプラチンの投与を含む化学療法介入を含む処置レジメンを処方する。化学療法介入の前に血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。化学療法処置中に毎週の間隔で血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルについて測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較する。経時的な患者のパネルの結果は、癌が化学療法処置に反応したこと、および結腸直腸癌が処置レジメンの完了によりこれ以上検出できないことを示す。

30

#### 【0333】

##### 実施例7

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検出するためにELISAキット中の試薬を使用して測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

40

#### 【0334】

##### 実施例8

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検

50

出するために質量分析を使用して測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出す。

#### 【0335】

##### 実施例9

結腸直腸癌の危険のある1000人の患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、CACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検出するために測定する。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌のカテゴリーへと、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を、陽性として分類された患者に推奨する。結腸癌を有すると分類された患者のうち80%が、結腸癌を有していると独立的に確認された。結腸癌を有していないと分類された患者のうち20%が後に、結腸内視鏡検査を介して確認される、独立的な追跡試験を介して結腸癌を有することが分かった。

10

#### 【0336】

##### 実施例10

20

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含むパネルについて測定する。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、進行性結腸直腸腺腫を有するものとして、50%の感度および80%の特異度で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、進行性結腸直腸腺腫の証拠を個体において検出す。

20

#### 【0337】

##### 実施例11

30

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、CACT、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含むパネルについて測定する。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、進行性結腸直腸腺腫を有するものとして、45%の感度および80%の特異度で分類する。更なるモニタリングを推奨し、保健専門家は、結腸直腸癌および/または進行腺腫について後の血液試験または検便を得る。

30

#### 【0338】

##### 実施例12

40

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、CACT、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含むパネルのメンバーを検出するためにELISAキット中の試薬を使用して測定する。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、進行性結腸直腸腺腫を有するものとして、45%の感度および80%の特異度で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、進行性結腸直腸腺腫の証拠を個体において検出する。

#### 【0339】

##### 実施例13

40

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取し、タンパク質蓄積レベルを、CACT、CATD、CLUS、GDF15、およびSAA1を含むパネルのメンバーを検出するために質量分析を使用して測定する。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、進行性結腸直腸腺腫を有するものとして、45%の感度および80%の特異度で分類する。結腸内

50

視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

【0340】

実施例14

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取する。血液サンプルを施設に送り、そこでは、タンパク質蓄積レベルが、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検出するために質量分析を使用して測定される。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

10

【0341】

実施例15

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取する。血液サンプルを施設に送り、そこでは、タンパク質蓄積レベルが、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検出するためにELISAを使用して測定される。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

20

【0342】

実施例16

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取する。血液サンプルを施設に送り、そこでは、血漿が調製され、タンパク質蓄積レベルが、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検出するためにELISAを使用して測定される。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

30

【0343】

実施例17

結腸直腸癌の危険のある患者を、本明細書に開示されるようなパネルを使用して試験する。血液サンプルを患者から採取する。血液サンプルを施設に送り、そこでは、血漿が調製され、タンパク質蓄積レベルが、AACT、CATD、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、およびSEPRを含むパネルのメンバーを検出するために質量分析を使用して測定される。患者の年齢も評価のために計算に入れ、年齢は、タンパク質ではなく時間の「蓄積レベル」として処理される。患者のパネルの結果を既知の状態のパネルの結果と比較し、患者を、結腸癌を有するものとして、81%の感度、78%の特異度、および31%の陽性的中率で分類する。結腸内視鏡検査を推奨し、結腸直腸癌の証拠を個体において検出する。

40

【0344】

実施例18

潜在的なタンパク質バイオマーカーを、平均以上のリスクの集団（例えば、並存症、他のGI病理、年齢）に存在する要因を含んでいた、試験しようとする（intent-to-test）研究設計で試験した。1,045のサンプルをELISAにより評価した。年齢を、309人の患者のケースコントロール発見区分におけるモデルパラメータとして加えた（図1を参照）。不確定コールの境界を、373人の患者の試験しようとする発

50

見セグメントにおいて加えた。A A C T、C A T D、C E A、C O 3、C O 9、M I F、P S G L、およびS E P Rを含む最終のタンパク質バイオマーカーパネル、および被験体の年齢を、15%の不確定コール率により81%の感度と78%の特異度を有する373人の患者において確認した。統計的な差は、初期と後期のC R Cパフォーマンスの間で検出されなかった。

#### 【0345】

##### 実施例19

C R Cタンパク質マーカーパネルの発見および確認の研究のために、3つの異なる商用サンプルの生体バンクからの、137のC R C患者の血漿サンプル、および137の年齢と性別が一致した対照を獲得して、ケースコントロール設計で研究を行なった。C R Cスクリーニングガイドラインの関連する年齢層、C R Cの段階（I - I V）、および、癌の部位（結腸対直腸）にわたって、サンプルを選択した。患者を、138の対のサンプルの発見区分と、136の対のサンプルの確認区分とに分けた。187のタンパク質標的化M Sアッセイを使用して、この確認研究のために選択された274人の患者全てからデータを収集し、且つ、発見区分における138の対の患者サンプルを使用して、様々な特徴選択および分類子構築のワークフローにおいて評価されるタンパク質の存在量レベルを判定した。

#### 【0346】

この分析に基づいて、12のモデルを構築し、元の187のタンパク質の30の確認のために選択した。このような12のモデルには、約0.77 ~ 0.83に及ぶA U Cがあった。その後、分類子モデルを選択し、それらのタンパク質成分とアルゴリズムをロックして、提供された確認区分から集めたデータを使用してそれらを評価した。サンプルを研究室と分析のスタッフに対して盲検した（b l i n d e d）。12のモデルを全て成功裡に確認し、それらのA U Cは、発見区分から予測されたものとは著しく異なるものではなかった。13の成分タンパク質を伴う1つの分類子は、最大精度の点で0.91の確認A U C、および87%の感度と81%の特異度の試験パフォーマンスを有していた。初期のC R Cでのこの分類子のパフォーマンスは、90%の感度であった（51のうち41の段階I / I I の癌を正確に分類した）。

#### 【0347】

臨床的妥当性を確認するために、選択されたタンパク質を、サンプルの新たなコホートにおいて、および別の検出技術（E L I S A）を用いて評価した。この手法によって、最初の研究で達成された結果が技術的または研究設計の偏りの結果ではなかつことが確実となる。第2の確認サンプルセットについて、患者の血漿サンプルを、H v i d o v r e Hospital / University of CopenhagenのDr. H a n s N i e l s e nにより行われたD a n i s h s t u d y , E n d o s c o p y I I から得た。この研究では、腸の新生物の少なくとも1つの症状に基づく診断上の結腸内視鏡検査のために紹介された4698人の患者から、サンプルを集めた。血漿を結腸内視鏡検査前に集め、血漿へと処理し確認された標準作業手順を使用して保管した。患者のサンプルのこのコホートを使用して、150のC R C血漿サンプル、150の年齢と性別が一致した対照を、第2の発見および確認の研究のために選択した。集めたサンプルでは、4つ全てのC E C段階、および結腸と直腸にわたって、患者の年齢が50歳~75歳に及んでいた。対照は、予期された試験しようとする集団（即ち、平均以上のリスクはあるが結腸内視鏡検査について以前に明らかな指標が無かった患者）を最も密接に模倣するために、結腸内視鏡検査時に併発症と発見物を有していなかった患者のサブセットから設計された。市販で入手可能なE L I S A試薬を、最初の研究から12の分類子を含んでいた30のタンパク質のうちの28について使用した。

#### 【0348】

以前に確認されたタンパク質のために内視鏡検査I I 研究および28のE L I S Aから選択された300人の患者の血漿サンプルを使用して、タンパク質存在量のデータを集め、標的とした。150のサンプル発見区分における28のタンパク質に関する新たなE L

10

20

30

40

50

I S A データに基づいて、機械学習方法を、10 - 分割交差検証の10回の繰返しに使用して、評価のために5つのモデルを構築した。モデルの大きさは7 ~ 18のタンパク質および、受信者動作特性（またはR O C）、曲線下面積（またはA U C）に基づいて、0 . 8 3 ~ 0 . 8 6 の発見パフォーマンスの範囲を生成した。理想的な試験は、100%の感度と100%の特異度を伴って、左下角で始まり、左上角、次いで右上角へと進み、A U C は1 . 0 0 になる。他方、予測値の無い試験は、0 . 5 0 のA U C を伴い、左下角から右上角までの真っすぐな対角線になる。一旦モデルを選択し、それらの構成要素とアルゴリズムをロックしたら、確認区分からのデータを使用してモデルを評価した。

#### 【 0 3 4 9 】

C R C マーカータンパク質を更に、進行腺腫、即ちC R Cへの前駆病変のための著しい検出パフォーマンスを持つパネルを含むそれらの能力について確認した。C R C 進行の自然歴において、全てのC R C が進行腺腫から由来するが、進行腺腫全てがC R C になるものではないことが、通常認められている。それにもかかわらず、様々な研究が、結腸内視鏡検査のスクリーニング中の進行腺腫の除去によって、その後の結腸直腸癌の発生率が著しく低減されることを実証している。10

#### 【 0 3 5 0 】

D a n i s h E n d o s c o p y I I 研究を使用して、新たな302人の患者、即ちサンプルの年齢と性別が一致し、部位を層別化したサブセットを、他の近年の外部研究に一般的に使用される進行腺腫に関する定義を用いることで選択した。以前のC R C 確認研究におけるように同じE L I S A を28のタンパク質について使用して、302のサンプルの各々からデータを集め、150のサンプル発見区分と152のサンプル確認区分に分けた。上述のような交差検証と最終確認における分類子構築のための同じ方法を使用して、進行腺腫の分類子を、28のタンパク質のうち4つを含み、且つ45%の感度と80%の特異度（R O C A U C 0 . 6 5 ）を持つものと同定した。20

#### 【 0 3 5 1 】

#### 実施例 2 0

合計6つのバイオマーカーを、A A C T 、C A T D 、C E A 、C O 3 、C O 9 、M I F 、P S G L 、およびS E P R を含むパネルから無作為に選択した。合計6つのバイオマーカーを、187のタンパク質を含む質量スペクトル（m a s s s p e c t r u m ）分析を行った確認研究からも無作為に選択した。A A C T 、C A T D 、C E A 、C O 3 、C O 9 、M I F 、P S G L 、およびS E P R を含むバイオマーカーパネルから選択された6つのタンパク質を含むパネルを373人の患者において確認し、187のタンパク質を含む質量スペクトル分析を行った確認研究から無作為に選択された6つのバイオマーカーよりも95%優れていることを確認した（p e r f o r m e d ）。30

#### 【 0 3 5 2 】

#### 実施例 2 1 - パネル比較

本明細書に開示されるパネルを、豊富なバイオマーカーリストに由来する無作為に判定されたパネルと比較して、バックグラウンドチャンス（b a c k g r o u n d c h a n c e ）に対するそれらのパフォーマンスを評価した。

#### 【 0 3 5 3 】

上記で議論されるように、且つ図1で実証されるように、本明細書に開示されるパネルを、癌検出に対する潜在的な関連性のあるものとして文献中で同定されたマーカーの187のメンバーリストを生成することにより、導き出した。その後、このリスト中のバイオマーカーを、既知の結腸直腸の健康状態の個体に由来するサンプルセットにおいて分析し、サンプルの結腸直腸の健康状態と強く関連付けられた28のバイオマーカーを同定した。これら28のマーカーを、既知の結腸直腸の健康状態の個体の第2のセットに由来するサンプルの第2のセット上でE L I S A ベースの手法により分析し、本明細書に開示されるパネルを生成した。40

#### 【 0 3 5 4 】

故に、MSを同定した28のマーカーセットは既に、当業者に分かるような最初の18

50

7のメンバー上で、実質的に豊富になっていた。それにもかかわらず、MSを豊富にしたバイオマーカーのデータセットに対する、本明細書に開示されるパネルのパフォーマンスの調査を行なった。

#### 【0355】

様々な大きさのパネルを、28のメンバーのMSを豊富にしたセットから生成し、これらのパネルを、既知の結腸直腸の健康状態の個体に由来するマーカーを定量化したサンプルセット上でのそれらの予測値に関して評価した。無作為フォレストモデルとSVMモデルを使用して、ランダムなパネルを生成した。AUC値を、ランダムなパネル各々について測定した。与えられた大きさのパネルに関するAUC分布曲線を生成した。

#### 【0356】

AUC分布曲線を図20に提示する。3つの上部のグラフは、SVMを通じて生成されたパネルを表わし、一方で3つの下部のグラフは、無作為フォレストモデリングを通じて生成されたパネルを表している。各プロットについて、パネルの大きさを、灰色で後部に陰影を付けた上部に列挙する。Y軸はパネルの数を示し、一方でX軸は示されたパネルカラムに関するAUC値を示している。点線は、MSを豊富にしたデータセットから無作為に生成されたパネルの95%が低下する、AUC値を示す。

#### 【0357】

結果を表13と14に要約する。

#### 【0358】

#### 【表16】

10

20

**表13. SVM MS-豊富化パネルの特徴**

パネルのサイズ	組み合わせの数	最小 AUC	最大 AUC	平均 AUC	Stdev AUC	中間 AUC	95% AUC
2	378	0.380	0.741	0.544	0.074	0.545	0.667
3	3276	0.389	0.806	0.594	0.079	0.600	0.714
4	10000	0.387	0.822	0.637	0.076	0.644	0.748
5	10000	0.401	0.834	0.669	0.068	0.676	0.769
6	10000	0.406	0.837	0.694	0.061	0.701	0.782
7	10000	0.416	0.843	0.711	0.055	0.716	0.792
8	10000	0.416	0.851	0.725	0.049	0.730	0.797
9	10000	0.409	0.848	0.734	0.045	0.737	0.800
10	10000	0.427	0.848	0.743	0.041	0.746	0.803

30

#### 【0359】

#### 【表17】

**表14. Random forest-豊富化パネルの特徴**

パネルのサイズ	組み合わせの数	最小 AUC	最大 AUC	平均 AUC	Stdev AUC	中間 AUC	95% AUC
2	378	0.410	0.799	0.610	0.083	0.616	0.746
3	3276	0.391	0.832	0.644	0.077	0.654	0.755
4	10000	0.388	0.840	0.668	0.070	0.678	0.765
5	10000	0.395	0.835	0.685	0.062	0.693	0.774
6	10000	0.397	0.834	0.697	0.059	0.703	0.781
7	10000	0.439	0.836	0.708	0.054	0.713	0.789
8	10000	0.443	0.839	0.718	0.049	0.722	0.791
9	10000	0.448	0.835	0.723	0.046	0.725	0.794
10	10000	0.483	0.833	0.730	0.043	0.732	0.796

40

#### 【0360】

グラフとモデルに示されるように、8-10のメンバーのパネルは、約0.71-0.73の平均および中間のAUC値を実証している。曲線の95%は、0.80以下のAUCを表示する。

50

## 【0361】

図2を参照すると、結腸直腸の健康の評価に関する、本明細書に開示される主な9のメンバーのパネルは、0.83の確認されたAUC値を有していることが、理解される。この値は、同等の9、更には10のメンバーのパネルの95%の閾値AUCよりも大きく、全体のデータセットに観察された最大AUC値に匹敵する。

## 【0362】

表8も参照すると、同等のAUC値は、無作為に生成されたパネルのものよりはるかに優れており、モデル1-13について獲得されることが理解される。これが観察されるモデル12は、年齢がバイオマーカーとして除外されるという点で図2のパネルとは異なる。

10

## 【0363】

この分析により、本明細書中のパネルが、無作為に生成されたパネル、更には、当該技術分野で同定される187のメンバーのセットからの28の最良の標的とされたMSを同定したマーカーへと既に実験的に豊富化されているバイオマーカーから選択される無作為に導き出されたパネルよりも、性能が優れていることが明らかになった。即ち、当該技術分野で教示されるセットを超えるマーカーの6倍の豊富化の後でさえも、本明細書中のパネルは、そこから導き出される無作為に生成されたパネルの100%よりも実質的に性能が優れている。

## 【0364】

## 実施例22-CRCおよびAAの試験の実施

20

この実施例の全体にわたって、患者1、2、および3は、本明細書中の方法、キット、システム、および組成物を通じて生成された患者データを表わすが、患者の守秘義務のために、患者1、2、および3は何れも、自身の実際のデータを表わさない。

## 【0365】

例となる第1の患者、第2の患者、および第3の患者は各々、分析のために血液サンプルを提供する。サンプルを処理センターに送り、ELISA試薬を使用し、試薬を用いてCRCとAAのパネルレベルを判定して、AACT、CEA、CO3、CO9、MIF、PSGL、SEPR、CATD、CLUS、GDF15、SAA1のレベルを判定する。患者の年齢も提供する。

30

## 【0366】

バイオマーカーを測定し、結果を表15に提示する。

## 【0367】

## 【表18】

表15. CRC / AA の試験入力測定値

パネル	CRC								CRC/AA	AA		
	患者	AACT	CEA	CO9	SEPR	CO3	MIF	PSGL		CATD	CLUS	GDF15
1	246600	19	161800	105500	820	8	500	46	37100	5440	119	4537
2	171300	7	20800	108100	270	90	290	68	6190	8450	179	2290
3	215000	7	54100	16600	490	85	500	79	45100	5310	24	4178

40

## 【0368】

3人の患者の各々に関するバイオマーカーパネルのレベルに、図1に表されるような既知の結腸直腸の健康状態の基準個体からのサンプルのパネルレベルから構築した機械学習モデルに従って、モデルスコアを割り当てた。機械学習モデルから、2.9のカットオフスコアを、陽性のCRCスコアの下限として計算する。このカットオフより下のスコアを

50

、結腸直腸癌に対し陰性と称する。「不確定範囲」を陰性スコアの中で同定し、それにより、不確定範囲内で低下する患者スコアを、更なる分析のために採点する(marked)。不確定範囲は1.24 - 2.46のスコアに及ぶ。中間範囲を超えるが陽性カットオフより下のスコアを、場合によっては更に詳しく調べる。同様の手法を通じて、0.25のカットオフスコアを、陽性のAAスコアの下限として計算する。

#### 【0369】

患者のパネルレベルを評価し、CRCとAAについてスコアを各パネルに割り当てる。スコアによっては、追跡アッセイが推奨され、診断はこの追跡アッセイに従って生成される。結果を表16に示す。

#### 【0370】

#### 【表19】

10

表16. CRC / AA の試験結果のスコアと測定値

患者	CRC スコア	CRC コール	CRC 診断	AA スコ ア	AA コール	AA 診断
1	1.7	不確定	腺腫	1.0	陽性	進行腺腫
2	0.7	陰性	発見無し	0.3	陰性	発見無し
3	5.9	陽性	結腸癌	0.9	陽性	発見無し

20

#### 【0371】

患者1に、1.7のCRCモデルスコアを割り当てる。スコアは、陽性のコールに関する2.9のカットオフスコアより下ではあるが、不確定として採点される。患者1に、1.0のAAスコアを割り当て、これを進行腺腫に対し陽性として称する。報告書を作成し、患者に提供する。

30

#### 【0372】

患者は結腸内視鏡検査を受ける。結腸直腸癌は検出されないが、非癌性の腺腫が検出される。この腺腫を除去し、患者は後に、追跡試験により結腸癌と腺腫が無いと確認される。患者を5年間観察し、症状または結腸直腸癌状態の変化は観察されず、このことは、試験が正確に、患者の状態を結腸癌に対し陰性であると同定したことを見ている。

30

#### 【0373】

患者2に、0.72のCRCモデルスコアを割り当てる、これを結腸直腸癌に対し陰性と称する。患者2に、0.29のAAモデルスコアを割り当てる、これを進行腺腫に対し陰性として称する。報告書を作成し、患者に提供する。

40

#### 【0374】

患者は便サンプル試験に追従し、結果は同様に陰性である。患者を5年観察し、症状または結腸直腸の健康状態の変化は観察されず、このことは、試験が正確に、個体に結腸直腸癌および進行腺腫が無いことを予測したことを見ている。

#### 【0375】

患者3に、5.9のCRCモデルスコアを割り当てる、これを結腸直腸癌に対し陽性と称する。患者3に、0.9のAAスコアを割り当てる、これをしたAAに対し陽性と称する。報告書を作成し、患者に提供する。

#### 【0376】

患者は結腸内視鏡検査を受ける。早期の結腸直腸癌は検出されるが、腺腫は検出されな

50

い。

#### 【0377】

患者は結腸癌処置を受け、症状が緩和される。第2の血液サンプルを処置後の患者から得て、2.9より下のCRCスコアを割り当てる。結腸内視鏡検査により、結腸直腸癌が個体にこれ以上存在していないことを確認する。

#### 【0378】

この実施例は、本明細書中のパネルの様々な機能を実証する。CRCとAAのパネルを組み合わせて使用し、共通マーカーを共有させる。パネルは血液に由来するものであり、これを運び他の場所で試験する。報告書を作成し、患者に提供する。結腸内視鏡検査などの侵襲的手法、または検便などの非侵襲的手法を使用して、結果を独立的に確認する。試験結果を、独立したアッセイにより主に確認する。

10

#### 【0379】

##### 実施例23-CRCおよびAAのスコアの分析

表15中のデータにより、CRCとAAのパネルのパフォーマンスの更なる分析が可能になる。

#### 【0380】

例えば、表15の検査は、その個々のマーカーの予測値に対するパネルのパフォーマンスの関連する様子を示す。

#### 【0381】

幾つかのマーカーについて、個々のマーカーレベルが全体的なパネルの結果に一致することが、理解される。例えば、患者1と患者2に関するSEPRレベルは、約10,000にて同様であり、一方で患者3のスコアは1,600と実質的に低いものである。このグループ分けは、CRCに対し陰性または不確定としての患者1と患者2の全体的なスコア付けに一致しており、一方で患者3は陽性として採点される。

20

#### 【0382】

しかし、多くの場合において、個々のマーカーレベルは、全体としてのパネルレベルを分析する際に見出される結果を予測するものではない。バイオマーカーAACT、CO9、およびCO3について、患者3のレベルは、患者1と患者2のレベルの中間である。バイオマーカーCEAMIFとPSGLについて、患者3のレベルは、患者1または患者2どちらかのレベルにほぼ一致する。

30

#### 【0383】

故に、このようなバイオマーカーそれを確認すると、患者1または患者2ではなく患者3が、CRCに対し恐らく陽性であるという指標は、見出されない。

#### 【0384】

このような測定は、CRCパネルが全体として、その構成要素のバイオマーカーメンバーを上回る予測値を有することを示している。更に、CRCバイオマーカーパネルは全体として、場合によってはその個々のメンバーの予測と矛盾する予測値を提供する。従って、CRCバイオマーカーパネルは全体として、その構成要素よりもすぐれており、且つその個々のマーカーの結果の単純な収集を越えるものである、予測値を提供する。

40

#### 【0385】

##### 実施例24-非侵襲的な、正確な結腸直腸健康アッセイの臨床的有用性

反抗的な患者は、CRCの症状を実証したが、結腸内視鏡検査を拒絶した。患者の係りつけの医師は、SimpliProの結腸直腸健康状態評価試験を命じた。結果は、患者がCRCおよびAAに対し高いリスクがあることを示した。患者は家族と相談し、結腸内視鏡検査の予定を組むように説得された。結腸内視鏡検査はポリープと早期の癌の塊を明らかにし、その全てを手順中に除去した。続いての結腸直腸の健康状態の評価は、患者に癌は無いことを示した。患者の早期の癌の塊は恐らく、結腸内視鏡検査および同時に行われるポリープ切除を行うことなく、死亡の確率が高い進行疾患へと進行した。

#### 【0386】

この実施例は、感度がよく且つ特異的であり、容易に従われる非侵襲的な結腸直腸の健

50

康アッセイを提供する公衆への利益を実証する。以下の実施例 25 と組み合わせて、この実施例は、結腸内視鏡検査を受けることに不本意であることが一般的であり、および、比較的容易に処置される時に検出されていない早期の癌を結果としてもたらす場合に、重度の健康結果を有し得ることを、実証する。

#### 【0387】

##### 実施例 25 - 非侵襲的な、正確な結腸直腸健康アッセイの臨床的有用性

反抗的な患者は、CRC の症状を実証したが、結腸内視鏡検査を 6か月以上の間遅らせた。患者の係りつけの医師は、SimpliPro の結腸直腸健康状態評価試験を命じた。結果は、患者が CRC および AA に対し高いリスクがあることを示した。患者は結腸内視鏡検査の予定を立てた。手順中に、6 cm の悪性の塊を同定し、除去した。続いての結腸直腸の健康状態の評価は、患者に癌は無いことを示した。患者の早期の癌の塊は恐らく、結腸内視鏡検査および同時に行われるポリープ切除を行うことなく、死亡の確率が高い進行疾患へと進行した。

10

#### 【0388】

この実施例は、感度がよく且つ特異的であり、容易に従われる非侵襲的な結腸直腸の健康アッセイを提供する公衆への利益を実証する。上の実施例 24 と組み合わせて、この実施例は、結腸内視鏡検査を受けることに不本意であることが一般的であり、および、それが比較的容易に処置される時に検出されていない早期の癌を結果としてもたらす場合に、重度の健康結果を有し得ることを、実証する。

20

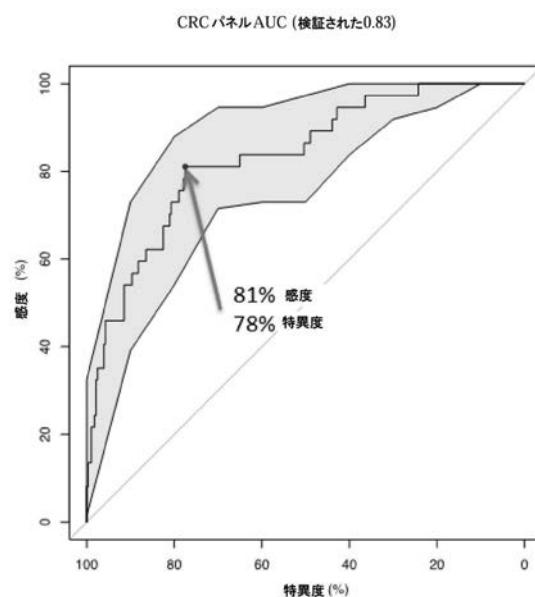
#### 【0389】

本開示の好ましい実施形態が、本明細書に示され且つ記載されている一方で、このような実施形態が、ほんの一例として提供されることは当業者に明白であろう。多数の変形、変化、および置換は、本開示から逸脱することなく、当業者によって現在想到されるものである。本明細書に記載される開示の実施形態の様々な代案が、本開示の実施において利用されるかもしれないことを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定義するものであり、この特許請求の範囲およびそれらの同等物の範囲内の方法および構成は、それによって包含されることが、意図される。

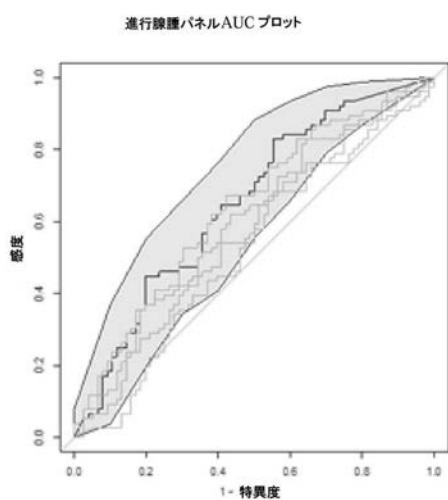
【図1】



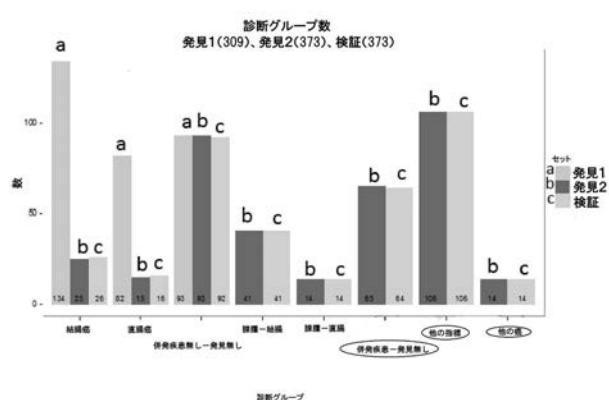
【図2】



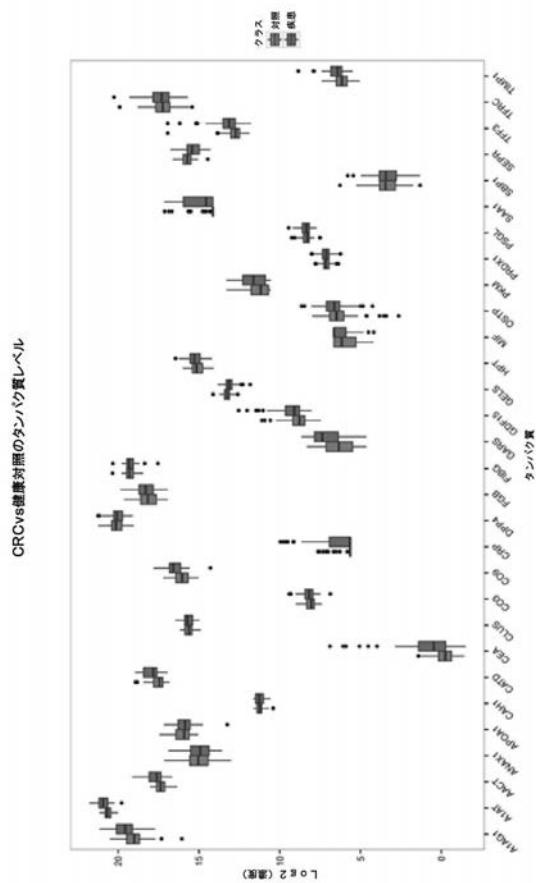
【図3】



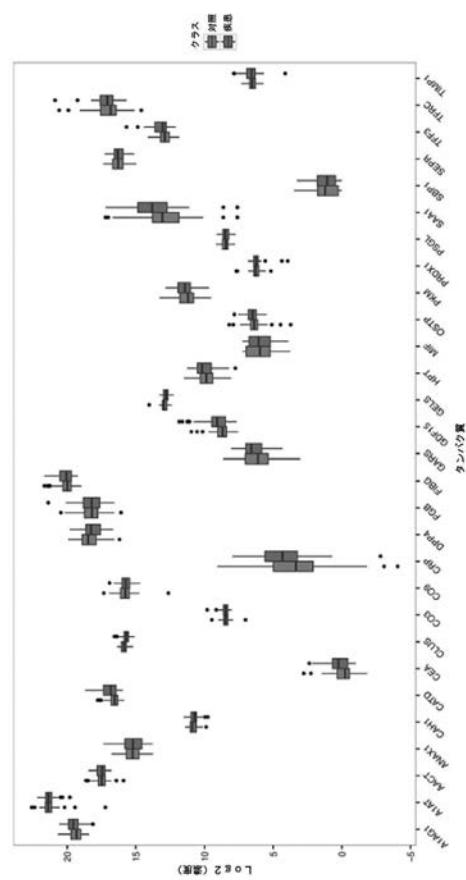
【図4】



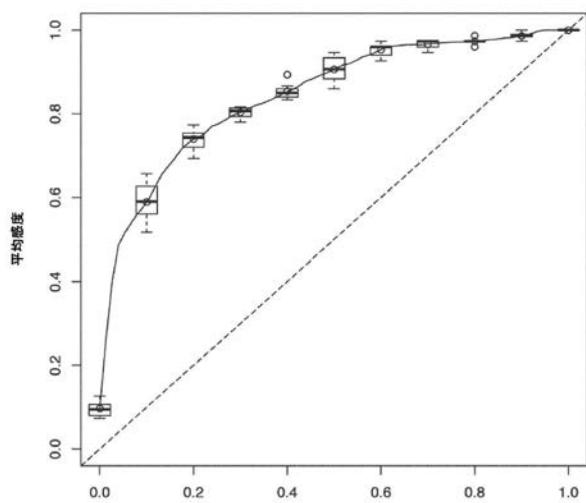
【図5】



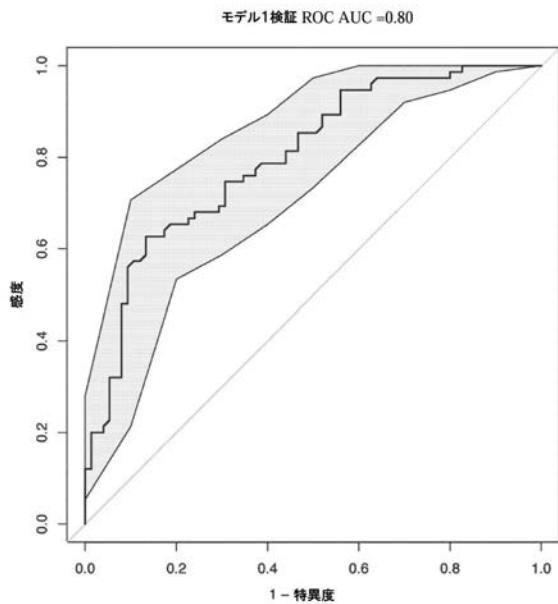
【 図 6 】



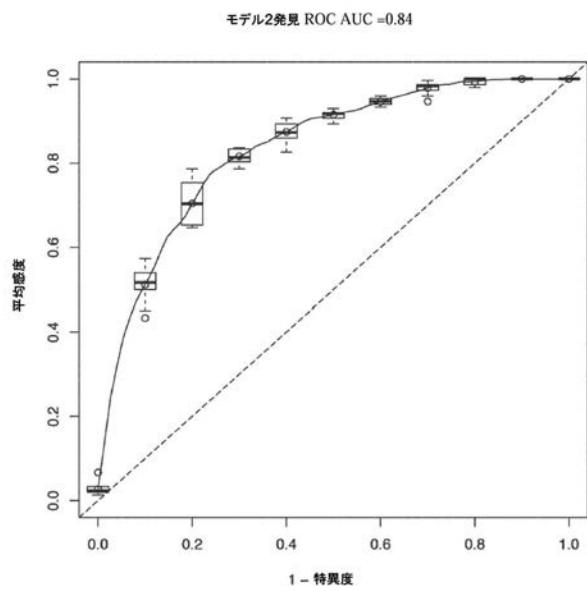
【 図 7 A 】



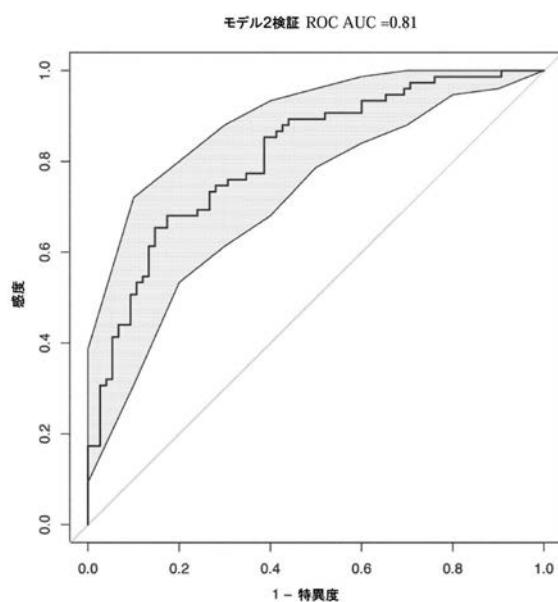
【 図 7 B 】



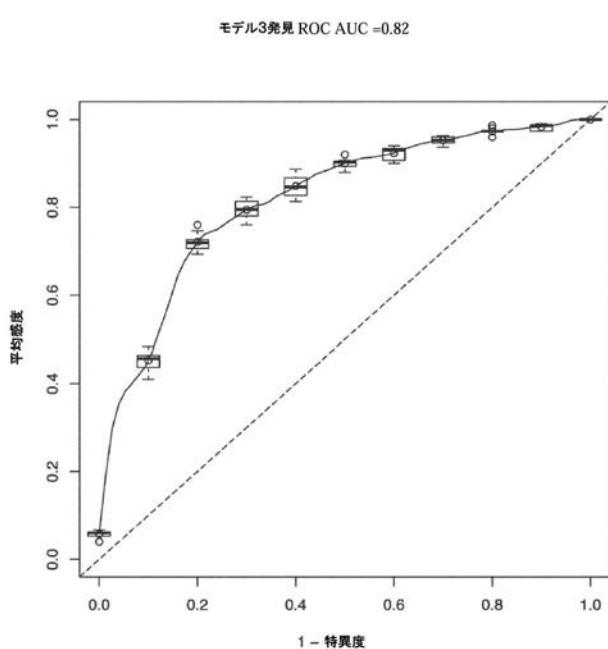
【図 8 A】



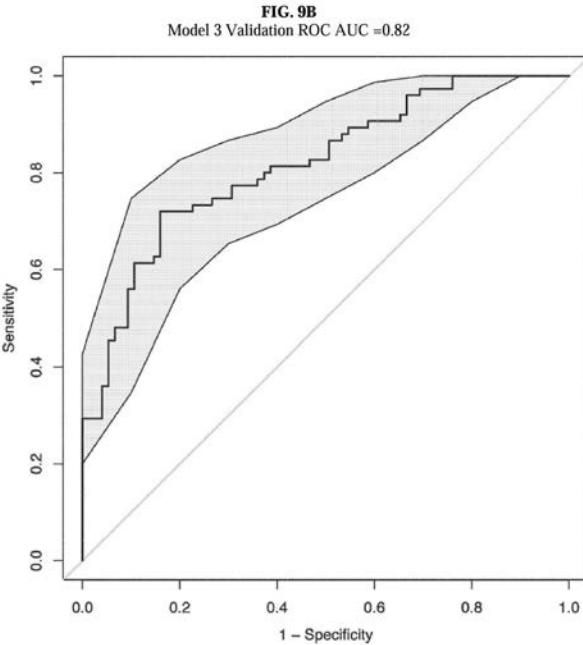
【図 8 B】



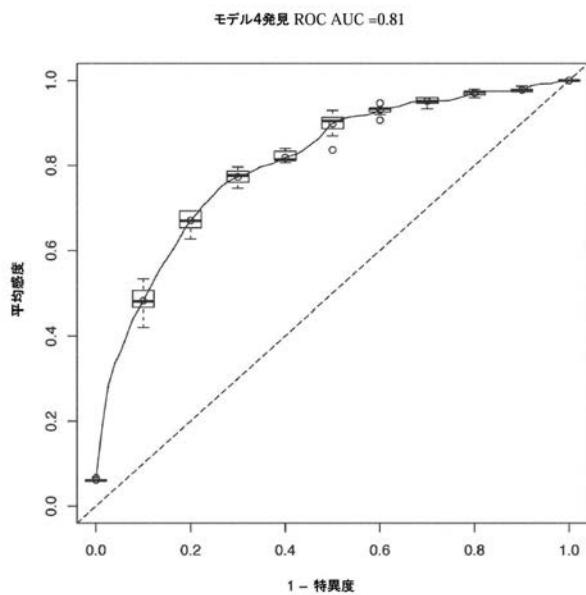
【図 9 A】



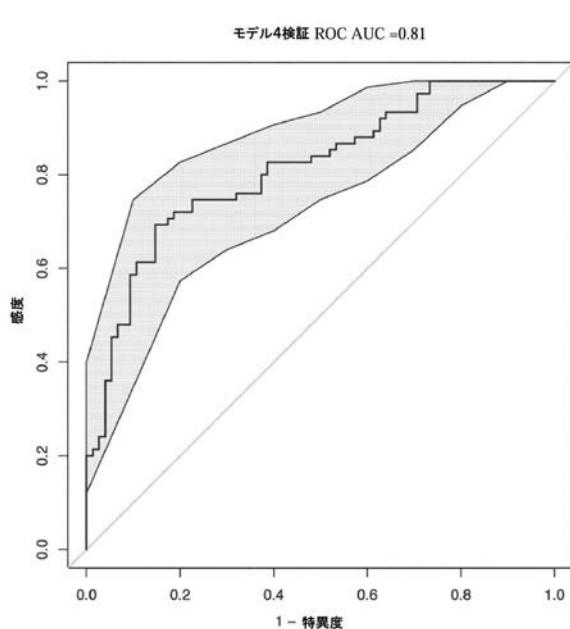
【図 9 B】



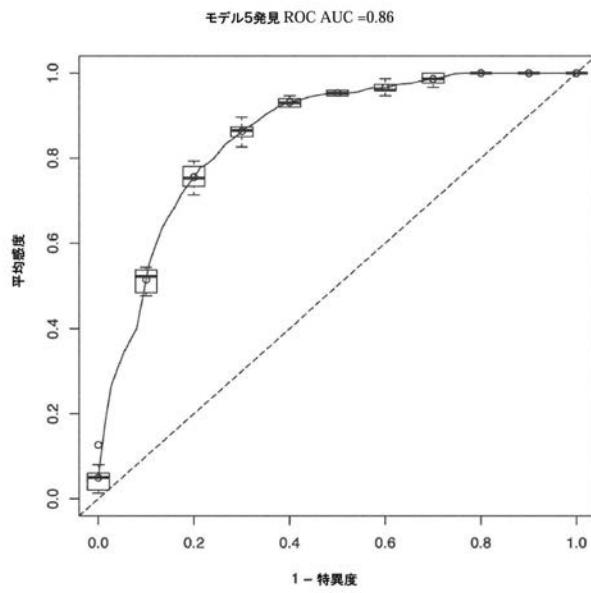
【図 10 A】



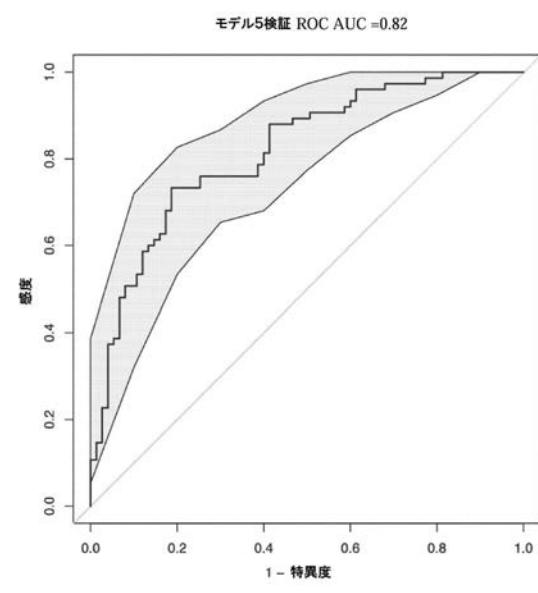
【図 10 B】



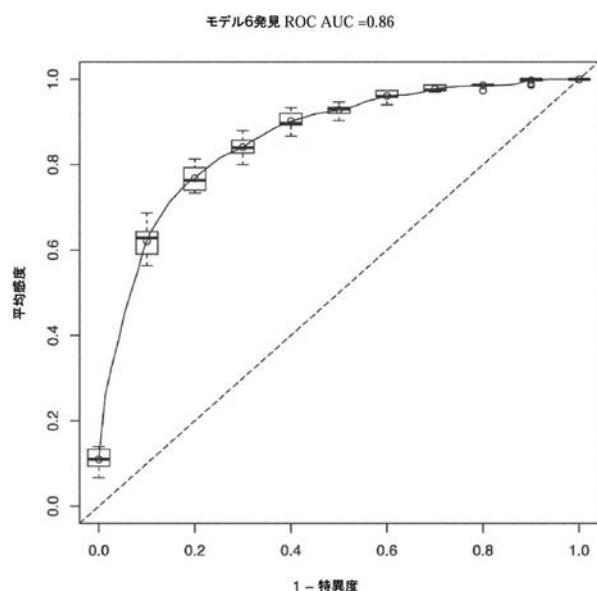
【図 11 A】



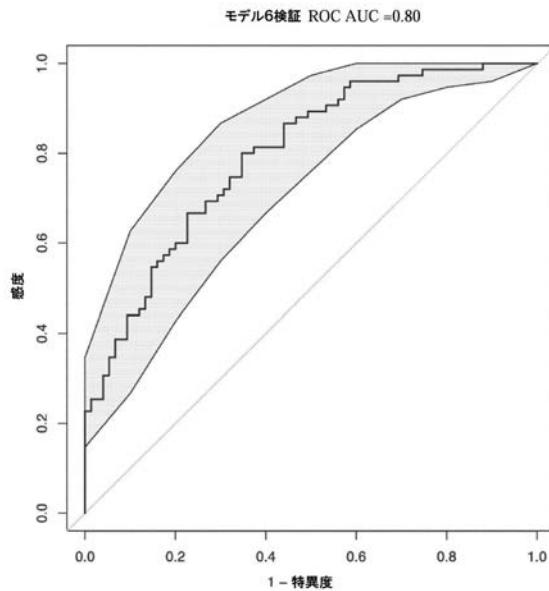
【図 11 B】



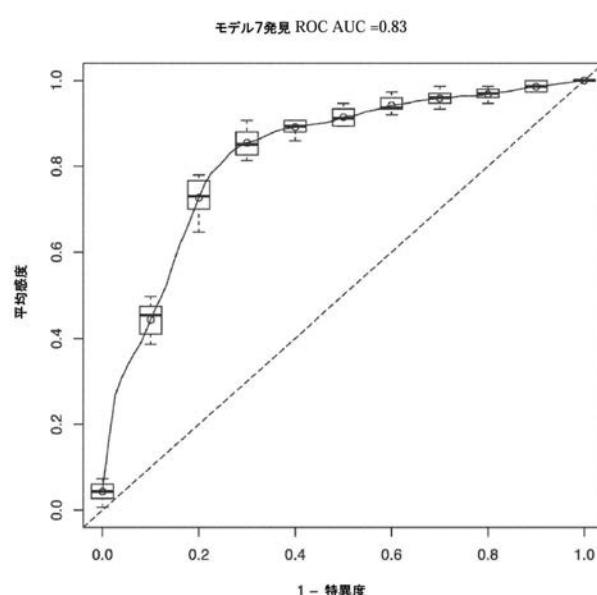
【図 1 2 A】



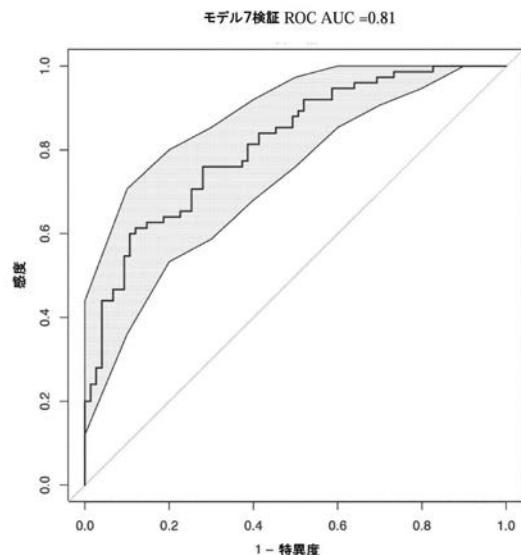
【図 1 2 B】



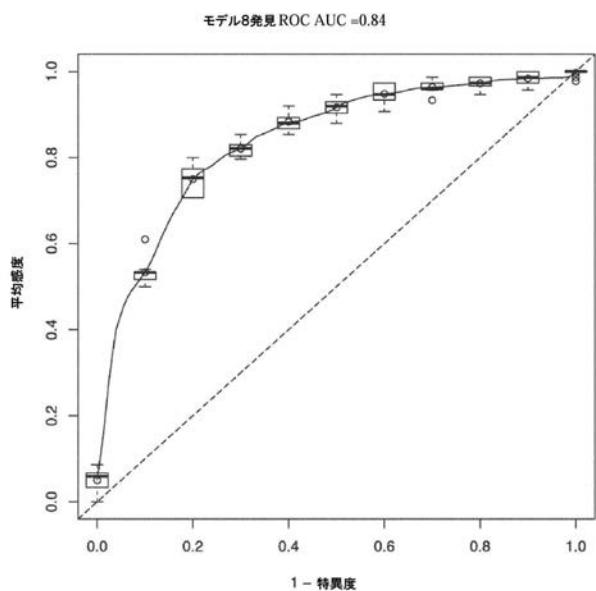
【図 1 3 A】



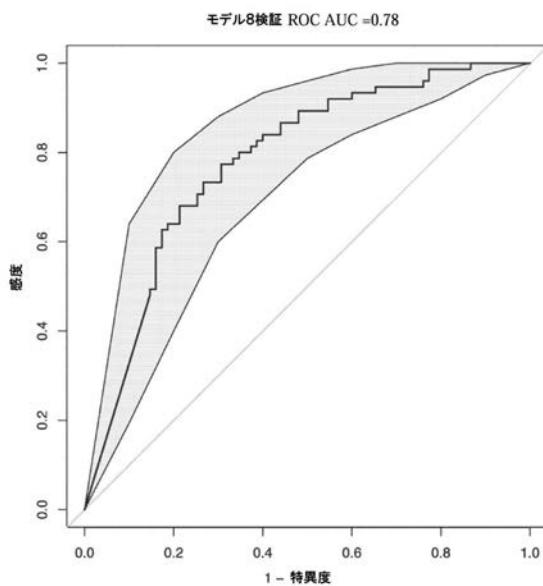
【図 1 3 B】



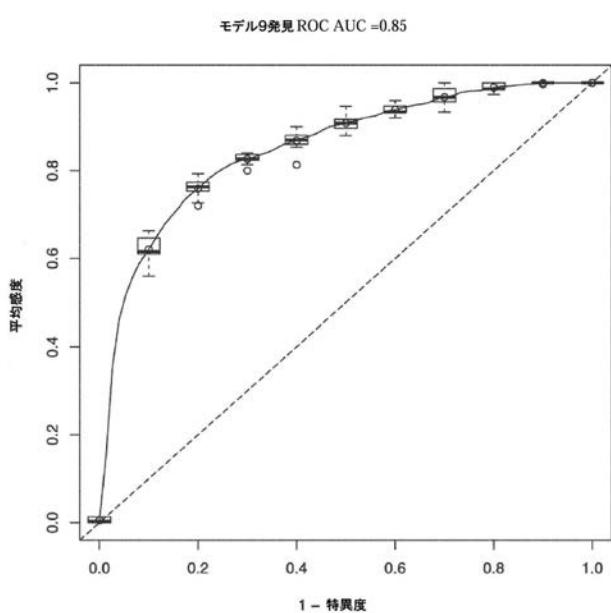
【図 1 4 A】



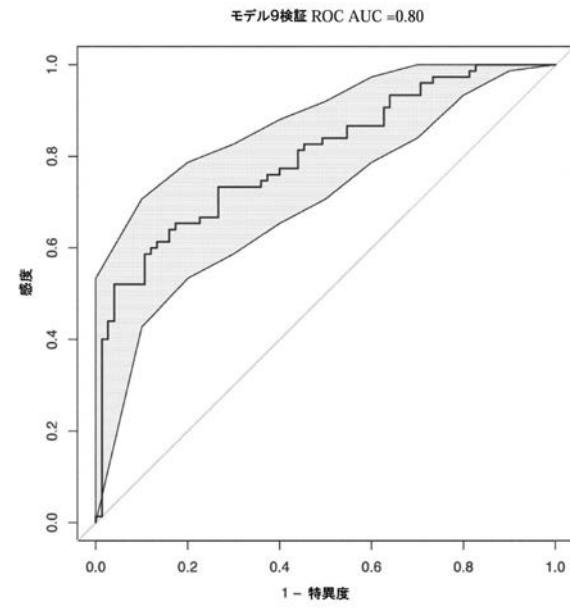
【図 1 4 B】



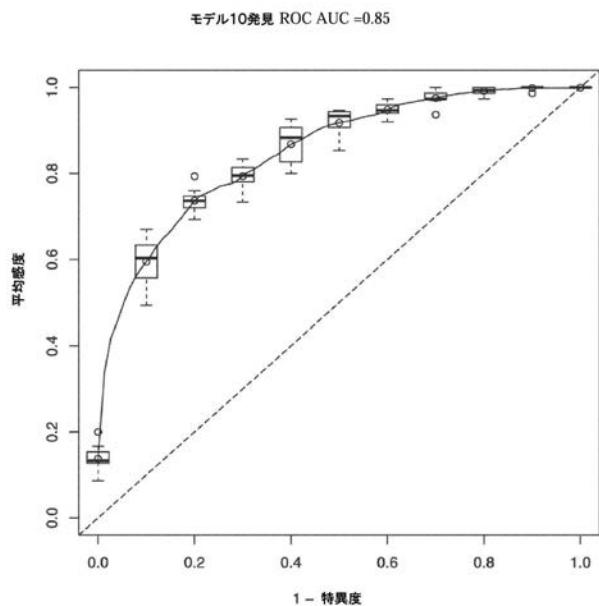
【図 1 5 A】



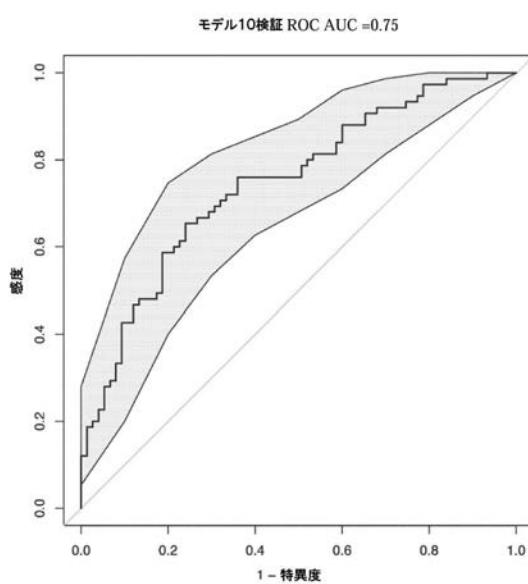
【図 1 5 B】



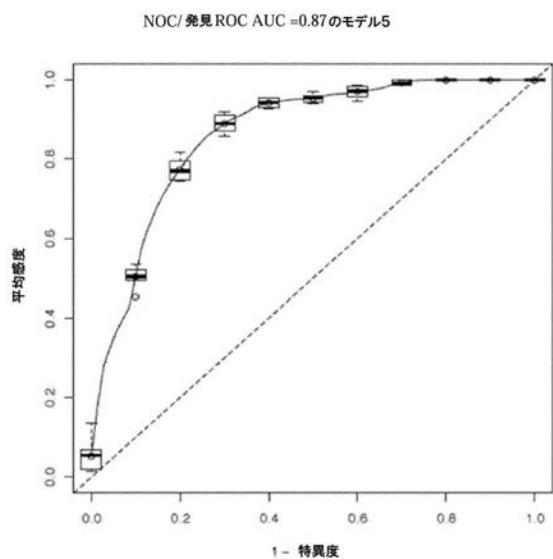
【図 16 A】



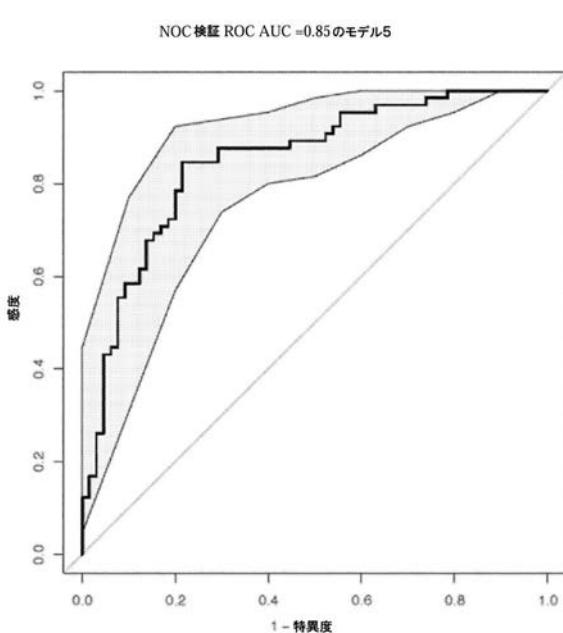
【図 16 B】



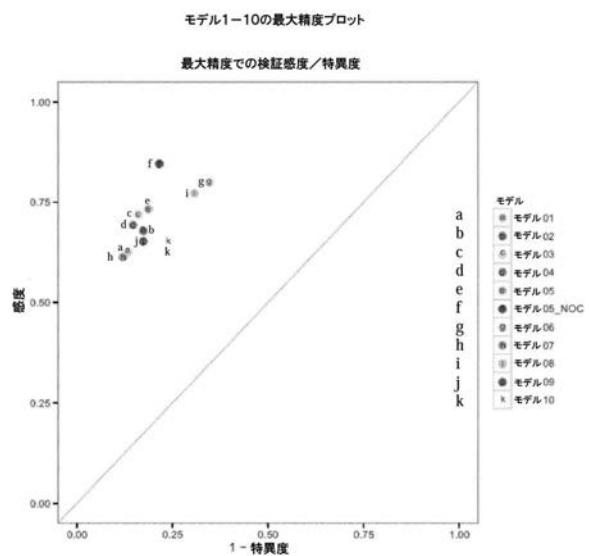
【図 17 A】



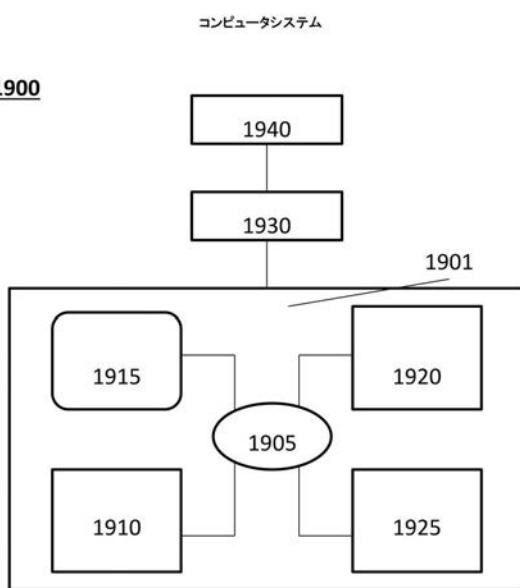
【図 17 B】



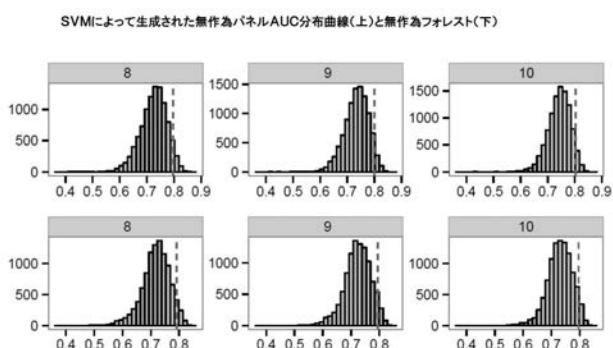
【図18】



【図19】



【図20】



【配列表】

2018517892000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2016/026773

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. G01N33/574  
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, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/085826 A2 (APPLIED PROTEOMICS INC [US]) 5 June 2014 (2014-06-05) paragraphs [0012], [0056], [0057], [0223] -----	1-51
A	WO 2010/096154 A2 (ONCONOME INC [US]; AW EVA I-WEI [US]) 26 August 2010 (2010-08-26) claims 1-20 -----	1-51
A	WO 2013/162368 A1 (STICHTING VU VUMC [NL]) 31 October 2013 (2013-10-31) page 22, line 29 - page 25, line 3; claims 1-57 -----	1-51



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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

5 July 2016

19/07/2016

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

Wiesner, Martina

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/US2016/026773

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed:  
 in the form of an Annex C/ST.25 text file.  
 on paper or in the form of an image file.
  - b.  furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
  - c.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:  
 in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).  
 on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No
PCT/US2016/026773

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2014085826 A2	05-06-2014	AU	2013351947 A1	18-06-2015
		CA	2893158 A1	05-06-2014
		CN	104969071 A	07-10-2015
		EP	2926138 A2	07-10-2015
		JP	2016507723 A	10-03-2016
		KR	20150090240 A	05-08-2015
		SG	11201504241Q A	29-06-2015
		US	2014234854 A1	21-08-2014
		US	2015111220 A1	23-04-2015
		US	2015111221 A1	23-04-2015
		US	2015111223 A1	23-04-2015
		US	2015111230 A1	23-04-2015
		WO	2014085826 A2	05-06-2014
<hr/>				
WO 2010096154 A2	26-08-2010	EP	2398918 A2	28-12-2011
		JP	2012517607 A	02-08-2012
		JP	2014197011 A	16-10-2014
		US	2012149022 A1	14-06-2012
		WO	2010096154 A2	26-08-2010
<hr/>				
WO 2013162368 A1	31-10-2013	EP	2841947 A1	04-03-2015
		US	2015141273 A1	21-05-2015
		WO	2013162368 A1	31-10-2013
<hr/>				

---

フロントページの続き

(31) 優先権主張番号 62/196,889  
 (32) 優先日 平成27年7月24日(2015.7.24)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)  
 (31) 優先権主張番号 62/239,771  
 (32) 優先日 平成27年10月9日(2015.10.9)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(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,R0,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,D0,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

(特許序注：以下のものは登録商標)

1. Mathematica  
2. MATLAB

(72) 発明者 ベンズ，ライアン  
アメリカ合衆国 92648 カリフォルニア州 ハンティントン・ビーチ アンブローズ・レン  
ン 18797  
 (72) 発明者 カオ，アティット  
アメリカ合衆国 92069 カリフォルニア州 サンマルコス ビア・ラ・ランチータ 122  
3  
 (72) 発明者 クロナー，リサ  
アメリカ合衆国 92131 カリフォルニア州 サンディエゴ ラムズデール・コート 117  
04  
 (72) 発明者 ディロン，ロスリン  
アメリカ合衆国 92007 カリフォルニア州 カーディフ ウィンザー・ロード 1243  
 (72) 発明者 ヨウ，ジア  
アメリカ合衆国 92126 カリフォルニア州 サンディエゴ ロック・キャニオン・ドライブ  
7286  
 (72) 発明者 ウィルコックス，ブルース  
アメリカ合衆国 22801 バージニア州 ハリソンバーグ オハイオ・アベニュー 430  
 F ターム(参考) 2G045 AA13 AA22 AA26 CA25 CB04 DA36 FB03 FB20 JA01  
4B063 QA19 QQ03 QQ08 QQ79 QR08 QR56 QR62 QS25 QX02