

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成27年8月6日(2015.8.6)

【公表番号】特表2013-544098(P2013-544098A)

【公表日】平成25年12月12日(2013.12.12)

【年通号数】公開・登録公報2013-067

【出願番号】特願2013-540026(P2013-540026)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/68	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)
C 1 2 M	1/00	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	33/543	(2006.01)
G 0 1 N	33/552	(2006.01)
G 0 1 N	33/553	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/68	A
C 1 2 N	15/00	A
C 1 2 M	1/00	A
G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/543	5 0 1 A
G 0 1 N	33/552	
G 0 1 N	33/553	

【手続補正書】

【提出日】平成27年6月18日(2015.6.18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象由来の甲状腺試料において少なくともmiR-375の発現レベルを測定する工程を含む、対象における甲状腺癌または甲状腺癌の型の検査方法であって、

基準レベルと比較した試料中のmiR-375発現レベルの発現の差異が、甲状腺癌または甲状腺癌の型を示す、方法。

【請求項2】

甲状腺癌が、甲状腺乳頭癌(PTC)、甲状腺濾胞癌(FTC)、甲状腺髓様癌(MTC)、退形成性甲状腺癌(ATC)、または甲状腺乳頭癌濾胞亜型(FVPTC)である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

(a) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、FTCまたはPTCを示す；

(b) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、MTCを示す；

(c) 過形成甲状腺結節組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、PTCまたはMTCを示す；

(d) 濾胞腺腫(FA)組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発

現の低下が、PTCを示す；

(e) 濾胞腺腫組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、FVPTCを示す；

(f) MTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、ATC、FTC、またはFVPTCを示す；

(g) PTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、FTCを示す；

(h) FVPTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、FTCおよびATCを示す；

(i) ATC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の低下が、PTCを示す；または

(j) MTC組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-375の発現の増加が、PTCを示す、

請求項1に記載の方法。

**【請求項4】**

甲状腺試料において少なくともmiR-146b-5pの発現レベルを測定する工程をさらに含み、基準レベルと比較した試料中のmiR-146b-5p発現レベルの発現の差異が、甲状腺癌または甲状腺癌の型を示す、請求項1に記載の方法。

**【請求項5】**

(a) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCまたはFVPTCを示す；

(b) 過形成結節（NOD）から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTC、FTC、またはFVPTCを示す；

(c) FAまたはMTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、FVPTCを示す；

(d) FTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCまたはFVPTCを示す；

(e) ATCまたはMTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、PTCを示す；または

(f) ATCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-146b-5pの発現の増加が、FVPTCを示す、

請求項4に記載の方法。

**【請求項6】**

甲状腺試料において少なくともmiR-204の発現レベルを測定する工程をさらに含み、基準レベルと比較した試料中のmiR-204発現レベルの発現の差異が、甲状腺癌または甲状腺癌の型を示す、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項7】**

(a) NODから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-204の発現の低下が、悪性甲状腺癌を示す；

(b) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-204の発現の低下が、PTCまたはFVPTCを示す；

(c) 健常またはNODから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-204の発現の低下が、MTCまたはFVPTCを示す；または

(d) PTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-204の発現の低下が、ATCを示す、

請求項6に記載の方法。

**【請求項8】**

甲状腺試料において少なくともmiR-155の発現レベルを測定する工程をさらに含み、基準レベルと比較した試料中のmiR-155発現レベルの発現の差異が、甲状腺癌または甲状腺癌の型を示す、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 9】**

- (a) 健常組織から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、PTCを示す；  
(b) 過形成結節（NOD）から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、ATCまたはFVPTCを示す；  
(c) MTCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、ATCまたはPTCを示す；  
(d) ATCから得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、FVPTCを示す；または  
(e) 過形成結節（NOD）から得られた基準レベルと比較した甲状腺試料中のmiR-155の発現の増加が、悪性甲状腺癌を示す、

請求項8に記載の方法。

**【請求項 10】**

試料が、甲状腺結節由来の、単離されたRNA、新鮮な組織もしくは細胞、凍結された組織もしくは細胞、固定された組織もしくは細胞、または包埋された組織もしくは細胞である、請求項1に記載の方法。

**【請求項 11】**

試料が生検である、請求項1に記載の方法。

**【請求項 12】**

生検が外科的切除または微細針吸引である、請求項11に記載の方法。

**【請求項 13】**

miRNAの発現を、增幅アッセイ法またはハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定する、請求項1に記載の方法。

**【請求項 14】**

以下の工程を含む、未分類の甲状腺試料を甲状腺乳頭癌として同定する方法であって、対象由来の甲状腺試料を組織学的に解析して、該試料を良性、悪性、または未分類として分類する工程；

対象由来の未分類の甲状腺試料に由来するmiR-375、miR-146b-5p、mir-138-1\*、およびmiR-204のマイクロRNAの発現レベルを測定して、マイクロRNAプロファイルを作製する工程；

対象由来の未分類の甲状腺試料に由来するプロファイルにおけるマイクロRNAの発現レベルを、各miRNAに対する正常の甲状腺の基準レベルと比較する工程；ならびにmiR-375、miR-146b-5pのプロファイル発現レベルが、正常の基準レベルと比較して増加し、且つmir-138-1\*およびmiR-204が、正常の基準レベルと比較して低下している場合に、未分類の甲状腺試料を甲状腺乳頭癌として同定する工程を含む、方法。

**【請求項 15】**

基準レベルが、正常の甲状腺試料中の測定されたmiRNAの平均発現レベルである、請求項14に記載の方法。

**【請求項 16】**

試料が生検である、請求項14に記載の方法。

**【請求項 17】**

生検が外科的切除または微細針吸引である、請求項16に記載の方法。

**【請求項 18】**

miRNAの発現を、增幅アッセイ法またはハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定する、請求項14に記載の方法。

**【請求項 19】**

miR-146b-5pが、正常の基準レベルと比較して甲状腺試料において40倍を上回って増加する、請求項14に記載の方法。

**【手続補正2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0050

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0050】

[本発明1001]

対象において前悪性甲状腺結節又は悪性甲状腺結節を検出するための方法であって、該対象に由来する甲状腺試料中の、m i R - 1274 a、m i R - 1274 b、m i R - 720、m i R - 1260、m i R - 206、m i R - 92 b \*、m i R - 1202、m i R - 1300、m i R - 663、m i R - 149 \*、m i R - 631、m i R - 936、m i R - 187 \*、m i R - 1182、m i R - 198、m i R - 765、m i R - 648、m i R - 934、m i R - 142 - 5 p、m i R - 146 b - 3 p、m i R - 146 b - 5 p、m i R - 181 a - 2 \*、m i R - 7、m i R - 204、m i R - 135 b \*、m i R - 1322、m i R - 145、m i R - 1470、m i R - 1227、m i R - 182 \*、m i R - 372、m i R - 491 - 3 p、m i R - 554、m i R - 1228、m i R - 1258、m i R - 130 a、m i R - 1912、m i R - 200 a \*、m i R - 376 a 又はm i R - 379から選択される1種類以上のm i R N A の発現レベルを測定する工程を含み、基準レベルに対する該試料中のm i R N A 発現レベルの変化が、前悪性甲状腺結節又は悪性甲状腺結節であることを示す、方法。

[本発明1002]

基準レベルに対する前記試料中のm i R - 1274 a、m i R - 1274 b、m i R - 720、m i R - 1260レベルの増加、又は基準レベルに対するm i R - 206、m i R - 92 b \*、m i R - 1202、m i R - 1300、m i R - 663、m i R - 149 \*、m i R - 631、m i R - 936、m i R - 187 \*、m i R - 1182、m i R - 198、m i R - 765、m i R - 648、若しくはm i R - 934レベルの低下、又はそれらの組み合わせが、前悪性甲状腺結節又は悪性甲状腺結節であることを示す、本発明1001の方法。

[本発明1003]

m i R - 1274 a、m i R - 1274 b、m i R - 720、m i R - 1260、m i R - 206、m i R - 92 b \*、m i R - 1202、m i R - 1300、m i R - 663、m i R - 149 \*、m i R - 631、m i R - 936、m i R - 187 \*、m i R - 1182、m i R - 198、m i R - 765、m i R - 648、及びm i R - 934のレベルを測定する、本発明1002の方法。

[本発明1004]

前記悪性甲状腺結節が、甲状腺乳頭癌（PTC）、甲状腺濾胞癌（FTC）、又は甲状腺乳頭癌濾胞亜型（FVPTC）である、本発明1001の方法。

[本発明1005]

基準レベルに対する前記試料中のm i R - 142 - 5 p、m i R - 146 b - 3 p、m i R - 146 b - 5 p、若しくはm i R - 181 a - 2 \* レベルの増加、又は基準レベルに対する該試料中のm i R - 7、m i R - 204、m i R - 135 b \*、m i R - 1322、m i R - 145、若しくはm i R - 1470レベルの低下、又はそれらの組み合わせが、悪性甲状腺結節であることを示す、本発明1004の方法。

[本発明1006]

m i R - 142 - 5 p、m i R - 146 b - 3 p、m i R - 146 b - 5 p、m i R - 181 a - 2 \*、m i R - 7、m i R - 204、m i R - 135 b \*、m i R - 1322、m i R - 145、及びm i R - 1470のレベルを測定する、本発明1005の方法。

[本発明1007]

前悪性甲状腺結節が濾胞腺腫（FA）である、本発明1001の方法。

[本発明1008]

基準レベルに対する前記試料中のm i R - 1227、m i R - 182 \*、m i R - 372、m i R - 491 - 3 p、若しくはm i R - 554レベルの増加、又は基準レベルに対する該試料中のm i R - 1228、m i R - 1258、m i R - 130 a、m i R - 1912、m i R - 200 a \*、m i R - 376 a 若しくはm i R - 379レベルの低下、又はそれらの組み合わせが、前悪性甲状腺結節

であることを示す、本発明1007の方法。

[本発明1009]

m i R - 1227、m i R - 182 \*、m i R - 372、m i R - 491 - 3 p、m i R - 554、m i R - 1228、m i R - 1258、m i R - 130 a、m i R - 1912、m i R - 200 a \*、m i R - 376 a 及び m i R - 379 のレベルを測定する、本発明1001の方法。

[本発明1010]

前記基準レベルが、過形成結節（NOD）基準試料中の測定した前記m i R N A の発現レベルの平均である、本発明1001の方法。

[本発明1011]

前記基準レベルが、濾胞腺腫（FA）基準試料中の測定した前記m i R N A の発現レベルの平均である、本発明1001の方法。

[本発明1012]

m i R N A 発現の増加が、基準レベルの少なくとも4、6、8、10、20、又は40倍である、本発明1001の方法。

[本発明1013]

前記試料が、甲状腺結節由来の、単離したRNA、新鮮な組織若しくは新鮮な細胞、凍結した組織若しくは凍結した細胞、固定した組織若しくは固定した細胞、又は包埋した組織若しくは包埋した細胞である、本発明1001の方法。

[本発明1014]

前記試料が生検材料である、本発明1001の方法。

[本発明1015]

前記生検が外科的切除又は微細針吸引である、本発明1014の方法。

[本発明1016]

前記対象から試料を得る工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1017]

前記試料由来のm i R N A を標識する工程をさらに含む、本発明1016の方法。

[本発明1018]

標識した前記m i R N A を1種類以上のm i R N A プローブにハイブリダイズさせる工程をさらに含む、本発明1017の方法。

[本発明1019]

前記m i R N A プローブが支持体に結合している、本発明1018の方法。

[本発明1020]

前記支持体が、ガラス、プラスチック、金属、又はラテックスである、本発明1019の方法。

[本発明1021]

前記支持体が平面である、本発明1020の方法。

[本発明1022]

前記支持体がビーズである、本発明1020の方法。

[本発明1023]

前記m i R N A レベルのプロファイルが悪性甲状腺結節であることを示す場合に、対象が甲状腺癌であると診断する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1024]

予後予測を提供する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1025]

前記m i R N A レベルの報告を提供する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1026]

測定した前記m i R N A レベルに基づいて悪性甲状腺結節を分類する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1027]

治療に対する甲状腺結節の応答性を評価する工程をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1028]

前記m i R N Aの発現を、増幅アッセイ法又はハイブリダイゼーションアッセイ法によって測定する、本発明1001の方法。

[本発明1029]

増幅アッセイ法が定量的増幅アッセイ法である、本発明1028の方法。

[本発明1030]

前記定量的増幅アッセイ法が、定量的R T - P C Rである、本発明1029の方法。

[本発明1031]

前記ハイブリダイゼーションアッセイ法が、アレイハイブリダイゼーションアッセイ法又は溶液ハイブリダイゼーションアッセイ法である、本発明1028の方法。

[本発明1032]

試料に関するm i R N Aプロファイルを評価することによって甲状腺試料を解析するためのキットであって、本発明1001のm i R N Aのうちの1種類以上を含む2つ以上のm i R N Aハイブリダイゼーション試薬又はm i R N A増幅試薬を好適な容器中に含む、キット。

[本発明1033]

m i R N Aハイブリダイゼーション試薬が、本発明1001のm i R N Aに結合するハイブリダイゼーションプローブを含む、本発明1032のキット。

[本発明1034]

m i R N A増幅試薬が、本発明1001のm i R N Aのための増幅用プライマーを含む、本発明1032のキット。

本発明の他の目的、特徴及び利点は、以下の詳細な説明から明らかになる。しかし当然のことながら、詳細な説明及び特定の実施例では本発明の特定の態様を記載してはいるが、これらは説明する目的のためだけに示されており、この詳細な説明から、本発明の精神及び範囲内での様々な変更及び修正が当業者には明らかである。