

【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6部門第1区分

【発行日】平成27年9月3日(2015.9.3)

【公表番号】特表2014-521958(P2014-521958A)

【公表日】平成26年8月28日(2014.8.28)

【年通号数】公開・登録公報2014-046

【出願番号】特願2014-523039(P2014-523039)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/574 D

G 0 1 N 33/543 5 4 1 A

C 1 2 Q 1/04

C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成27年7月14日(2015.7.14)

【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】

哺乳動物被験体の胸腔内液若しくは漿液中の癌細胞の存在によって特徴付けられる、癌の検出方法であって、該方法が

a) 被験体の胸腔内液若しくは漿液のサンプルを、癌細胞上の決定子に結合するがしかし胸腔内液若しくは漿液中の他の細胞および細胞以外の成分にベースライン閾値より上で結合しない第一のリガンドに結合されたコロイド状磁性粒子、と接触させること；ならびに

b) 胸腔内液と磁性粒子の混合物若しくは漿液と磁性粒子の混合物を磁場に曝し、該胸腔内液若しくは漿液中に存在する場合はリガンドに結合された磁性粒子が結合された細胞が濃縮された細胞画分を生じること
を含んでなる、上記方法。

【請求項2】

c) 胸腔内液若しくは漿液中のリガンドに結合された磁性粒子が結合された細胞の数について濃縮された画分を分析すること；および

d) 胸腔内液若しくは漿液中のベースライン閾値より大きいリガンドに結合された磁性粒子が結合された細胞の数を同定することにより癌の検出を提供すること
をさらに含んでなる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

胸腔内液が胸水である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

接触段階、曝す段階および分析段階により胸腔内液若しくは漿液を分析する前若しくは後に異常細胞の存在について胸腔内液若しくは漿液の細胞学的若しくは免疫細胞学的検査を実施することをさらに含んでなる、請求項1若しくは2に記載の方法。

【請求項 5】

胸腔内液若しくは漿液を前記接触段階の前に希釈することをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の方法。

【請求項 6】

胸腔内液若しくは漿液が希釈液で 1 : 10 の比で希釈される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

接触段階が、被験体から胸腔内液サンプル若しくは漿液サンプルを抜き出すことの 24 時間以内に起こる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

胸腔内液若しくは漿液と磁性粒子の混合物に、癌細胞若しくは非癌細胞で発現される抗原に特異的な第二のリガンドか、または濃縮された画分中の他の細胞若しくは細胞破片から非癌細胞を識別することが可能である試薬、を添加すること；

胸腔内液若しくは漿液と磁性粒子の混合物に、癌細胞の第二の細胞決定子を結合する標識試薬を添加すること；

胸腔内液若しくは漿液と磁性粒子の混合物に、細胞破片から生存細胞を識別する細胞特異的色素を添加すること；あるいは

濃縮された画分から非癌細胞、無核細胞、細胞破片および結合されない物質を分析前に精製すること

を含んでなる 1 若しくはそれ以上の付加的な段階をさらに含んでなる、請求項 1 若しくは 2 に記載の方法。

【請求項 9】

第一のリガンドが最低 1 種の癌細胞決定子に特異的なモノクローナル抗体若しくはそのフラグメントである、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

さらに、第二のリガンドが、胸腔内液中の白血球に特異的に結合するか、若しくは癌細胞上の特異的腫瘍マーカーに結合して、胸腔内液若しくは漿液中に存在する癌細胞の特異性を高める若しくはそれらを同定する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

第一のリガンド、第二のリガンド若しくは標識試薬の最低 1 種が肺癌細胞若しくは乳癌細胞に特異的に結合する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

癌が、肺癌、リンパ腫、中皮腫、転移性乳癌、転移性卵巣癌および転移性前立腺癌よりなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

第一のリガンドが上皮細胞接着分子 (E p C A M) に特異的に結合する、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

第一のリガンドが L 1 細胞接着分子 (L 1 C A M) に特異的に結合する、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

第一のリガンドがクローディン 4 に特異的に結合する、請求項 1 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

第一のリガンドが E p C A M 若しくは L 1 C A M に特異的に結合し、かつ、第二のリガンドがクローディン 4 に特異的に結合する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 17】

ベースライン閾値が 3 . 5 m l の胸腔内液あたり約 1 1 0 0 E p C A M + 細胞である、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 18】

E P C A M + 細胞が 1 種若しくはそれ以上の付加的な特異的腫瘍マーカーについて染色

される、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 9】

付加的な特異的腫瘍マーカーがサイトケラチン、クローディン 4、サバイピン若しくはテロメラゼの 1 種である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

胸痛、席、呼吸困難、疲労および炎症よりなる群から選択される臨床症状について哺乳動物被験体の臨床評価を実施すること；

被験体からの胸腔内液若しくは漿液サンプルを、前記サンプル中のタンパク質若しくはアルブミンの濃度を測定する試薬と接触させること；ならびに

被験体の疾患の間かまたは被験体の癌の処置の前若しくは後の異なる時点で、胸腔内液若しくは漿液中の癌細胞の数を分析するために、請求項 1 の前記段階 (a) および (b) を反復すること

を含んでなる 1 若しくはそれ以上の段階をさらに含んでなる、請求項 1 若しくは 2 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記被験体が癌に対し処置されておりかつ該方法が処置の有効性若しくは予後の決定を可能にする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記胸水が、接触段階前の被験体からの胸腔内液のサンプルの決定的でない細胞学的若しくは免疫細胞化学的検査後に未知の病因のものであると決定された、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

漿液若しくは胸腔内液のサンプルを、接触段階の前に本質的に均質な大きさの孔を含んでなるフィルターを通して濾過すること；

予後および予測マーカーを使用して、濃縮された細胞画分を分析すること；

遺伝子の変異解析を使用して、濃縮された細胞画分を分析すること；ならびに

濃縮された細胞画分の蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを実施すること、を含んでなる 1 若しくはそれ以上の段階を含んでなる、請求項 1 若しくは 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

予後および予測マーカーが、EGFR、ER、Ki67、PR、Her2/nu、BCL2、M30、Cox-2、PTEN、IGF-1R、AKT、PARP、CMET、P53、P27、CEA、AR、PSMA および PSA よりなる群から選択される、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

遺伝子が EGFR、BRAF、ARAF、K-ras および P53 よりなる群から選択される、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

細胞学的若しくは分子マーカーを使用して、濃縮された細胞画分を特徴づけること；

濃縮された細胞画分を培養すること；および

細胞学的若しくは分子いずれかのマーカーを使用して、濃縮された細胞画分を特徴づけること

を含んでなる 1 若しくはそれ以上の付加的な段階を実施することをさらに含んでなる、請求項 1 若しくは 2 に記載の方法。

【請求項 2 7】

培養された濃縮された画分を分析すること；および

培養された濃縮された画分で薬物動態研究を実施すること

を含んでなる 1 若しくはそれ以上の段階をさらに含んでなる、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

哺乳動物被験体の胸腔内液若しくは漿液中の癌細胞の存在を特徴とする癌の検出方法で

あって、該方法が

a) 既知の本質的に均一の孔径の孔を含んでなるフィルターで被験体の胸腔内液若しくは漿液のサンプルを濾過して胸水腫瘍細胞 (PETC) を濃縮すること；

b) 濾過されたPETCの数を分析すること；および

c) 胸腔内液若しくは漿液中のベースライン閾値より大きい濾過されたPETCの数を同定することにより癌の検出を提供すること

を含んでなる、上記方法。

【請求項29】

予後および予測マーカーを使用して、濃縮された細胞画分を分析すること；

遺伝子の変異解析を使用して、濃縮された細胞画分を分析すること；および

濃縮された細胞画分の蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションを実施すること

を含んでなる1若しくはそれ以上の段階を含んでなる、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

予後および予測マーカーが、EGFR、ER、Ki67、PR、Her2/nu、BCL2、M30、Cox-2、PTEN、IGF-1R、AKT、PARP、CMET、P53、P27、CEA、AR、PSMAおよびPSAよりなる群から選択される、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

遺伝子がEGFR、BRAF、ARAF、K-rasおよびP53よりなる群から選択される、請求項29に記載の方法。