

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6750140号  
(P6750140)

(45) 発行日 令和2年9月2日(2020.9.2)

(24) 登録日 令和2年8月17日(2020.8.17)

(51) Int.Cl.	F 1
GO 1 N 33/574	(2006.01)
C 12 M 1/34	(2006.01)
C 12 Q 1/34	(2006.01)
GO 1 N	33/574
C 12 M	1/34
C 12 Q	1/34

請求項の数 14 (全 120 頁)

(21) 出願番号	特願2017-529971 (P2017-529971)
(86) (22) 出願日	平成27年8月21日 (2015.8.21)
(65) 公表番号	特表2017-532577 (P2017-532577A)
(43) 公表日	平成29年11月2日 (2017.11.2)
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/046301
(87) 国際公開番号	W02016/029117
(87) 国際公開日	平成28年2月25日 (2016.2.25)
審査請求日	平成30年8月21日 (2018.8.21)
(31) 優先権主張番号	62/040,874
(32) 優先日	平成26年8月22日 (2014.8.22)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者	391008788 アボット・ラボラトリーズ A B B O T T   L A B O R A T O R I E S アメリカ合衆国 イリノイ州 アボット パーク アボット パーク ロード 10 O
(73) 特許権者	517060281 ビズオウア・ホスピタル デンマーク国、2650・ビズオウア、ケ ッテガード・アレ・30
(73) 特許権者	508335820 ユニバーシティ オブ コペンハーゲン デンマーク国、デーコーー1017 コペ ンハーゲン コー, ノーレガーデ 10

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】直腸結腸がんを早期検出するための方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

対象が、高リスク腺腫または直腸結腸がん(CRC)に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定するための方法であって、

(a) 対象から生物学的試料を得るステップ、

(b) 対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原(CEA)、サイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)およびフェリチンのレベルを決定するステップ、

(c) 生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、

(i) 対象のCEAスコアを提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルと等しいまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

(ii) 対象のCYFRAスコアを提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しいまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

(iii) 対象のCRPスコアを提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPの基準レベルと等しいまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

10

20

C R P のレベルが C R P の基準レベルと等しいまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、および

( i v ) 対象のフェリチンスコアを提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しいまたはより高い場合、0 のスコアを得るステップ、

( d ) ステップ ( c ) からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに

( e ) 合計スコアが基準スコアより高い場合、高リスク腺腫もしくは C R C に罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアと等しいもしくはより低い場合、高リスク腺腫もしくは C R C に罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップ

を含む方法。

【請求項 2】

ステップ ( b ) において対象の年齢を決定するステップ、ステップ ( c ) において対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および

( v ) 対象の年齢スコアを提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢と等しいまたはより高い場合、対象は1のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、0 のスコアを得るステップ

をさらに含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

対象が男性または女性である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

( a ) 男性対象において、C E A の基準レベルが少なくとも約 6 . 5 n g / m L であり、C Y F R A の基準レベルが少なくとも約 1 . 9 8 n g / m L であり、C R P の基準レベルが少なくとも約 1 . 8 m g / m L であり、フェリチンの基準レベルが少なくとも約 1 0 9 n g / m L である、および

( b ) 女性対象において、C E A の基準レベルが少なくとも約 4 . 8 n g / m L であり、C Y F R A の基準レベルが少なくとも約 1 . 7 2 n g / m L であり、C R P の基準レベルが少なくとも約 5 . 5 m g / m L であり、フェリチンの基準レベルが少なくとも約 3 8 n g / m L である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

男性対象に対する基準年齢が 5 4 歳であり、女性対象に対する基準年齢が 6 3 歳である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 6】

基準スコアが 0 、 1 、 2 、 3 、 4 または 5 である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

男性対象に対する基準スコアが 2 または 3 であり、女性対象に対する基準スコアが 2 である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

男性対象または女性対象に対する 2 より高い合計スコアは、対象が高リスク腺腫または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあることを示す、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 9】

C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップが、C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、フェリチンまたはこれらの組合せに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体での免疫学的方法を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

免疫学的方法が、

10

20

30

40

50

( a ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C E A または C E A のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C E A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C E A レベルを、( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C E A のレベルを測定するステップ、

( b ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、( b ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C Y F R A のレベルを測定するステップ、

( c ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C R P のレベルを測定するステップ、ならびに

( d ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は フェリチン または フェリチン のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - フェリチン 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない フェリチン 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の フェリチン レベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - フェリチン 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって フェリチン のレベルを測定するステップ

を含む、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、補体成分 3 ( C 3 a ) 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、またはこれらの組合せから選択される、生物学的試料中

10

20

30

40

50

の C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 2】

生物学的試料が、組織試料、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液または細胞培養懸濁液、またはこれらの分画である、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ジスルフィド連結されている F v、親和性成熟抗体、s c F v、キメラ抗体、單一ドメイン抗体、C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、F a b、二重可変ドメイン ( D V D ) 免疫グロブリン、F a b'、二特異的抗体、F ( a b' ) 2 および F v から選択される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 1 4】

( a ) 対象の生物学的試料中の C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンのレベルを定量するための、C E A に特異的に結合することができる試薬、C Y F R A に特異的に結合することができる試薬、C R P に特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、

( b ) C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンの基準レベルを指示する参考標準、および、任意に、

( c ) メチルセプチン 9 ( m S 9 )、ガレクチン - 3 ( G a l 3 )、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c )、補体成分 3 ( C 3 a )、カテプシン X ( C a t X )、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) )、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 )、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) またはこれらの組合せから選択される、少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの付加的な試薬、および

( d ) メチルセプチン 9 ( m S 9 )、ガレクチン - 3 ( G a l 3 )、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c )、補体成分 3 ( C 3 a )、カテプシン X ( C a t X )、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) )、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 )、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示する参考標準

を含む、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の方法を行うためのキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本出願は、2014年8月22日に出願した米国仮特許出願第 6 2 / 0 4 0 , 8 7 4 号の利益を主張するものであり、その内容を参照により本明細書に完全に組み込む。

【0 0 0 2】

本発明は、患者においてバイオマーカーを検出することによって、患者における高リスク腺腫および直腸結腸がんの予後、診断またはリスク同定を決定するための、または決定するのを助けるための方法およびイムノアッセイプラットホームに関する。バイオマーカーは、直腸結腸がん ( C R C ) を有する患者を同定し、診断し、または同定もしくは診断するのを助けるために、患者が C R C または高リスク腺腫に罹患しているか否かを同定し、または同定するのを助けるために、C R C 構造スクリーニングレジメンおよび / または C R C 処置レジメンに対する候補として患者を同定するために、または同定するのを助けるために、患者が C R C を発症するリスクを分類するために、ならびに診断、予後、もしくは処置レジメンを決定するために、または決定するのを助けるために、使用され得る。

【背景技術】

【0 0 0 3】

直腸結腸がん ( C R C ) は、デンマークで 3 番目に頻度の高いがん疾患であり、毎年 4

10

20

30

40

50

200件の新症例を数える。患者の80%が計画的な治癒的切除を受けるのに関わらず、これらの患者の半数が、その後5年以内に再発性または転移性の疾患と診断される。世界保健機関は、全世界で100万症例を超えるCRCを報告している。先進国が、症例のうち約3分の2を占める。CRCの55-60%は進行期に診断され、これが高死亡率および医療費の増大をもたらす。CRCは早期に診断されれば、極めて処置可能である。治癒的手術が可能である個々の段階の5年生存率を比べると、ステージI: 90%、ステージII: 70%、ステージIII: 35-40%であり、これらの事実は、手術時に臨床上および/または検査上の所見が非存在であっても、大部分の患者は、外科的介入時に潜在性の播種性疾患を有するに違いないということを指し示している。確証された播種性疾患であるステージIVを有する患者に対する予後は落胆的であり、長期の生存は殆ど実現されない。CRCと診断された患者のおよそ50%は、その後5年を生存しない。したがって、CRCを有する患者に対する全体的な処置戦略を改善するのは急を要する。

#### 【0004】

CRCを有する患者の段階依存的分布は、ステージI: 10%、ステージII: 38%、ステージIII: 33%およびステージIV: 19%である。より多くの患者が、疾患の初期（ステージIまたはII）に同定され得れば、生存率は大幅に改善される。これらの患者群内では、唯一の介入として外科手術が、全患者集団のはるかに大きな集団を治癒する。現在まで、「便潜血」検査（FOBT）と、引き続き内視鏡を使用するだけで、初期の疾患を有する患者の割当てを、それによって全生存率を増大することが可能であった。FOBTは特異性が高い（85%）が、感度はあまり好ましくない（40-65%）。しかし、コンプライアンス率はかなり限られている。最近、FOBTを受けるよう郵便で案内する、デンマークの2つの実現可能性のスクリーニング試験が、50%未満のコンプライアンスを示した。これは、試験の感度にはコンプライアンスを乗じなければならないため、臨床上の感度が20-33%に制限されることを意味する。

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0005】

バイオマーカー分析は、潜在的に、このような診断戦略の1エレメントであるが、腫瘍特異的マーカーの発見および確証は困難であった。したがって、患者における直腸結腸がんを検出およびスクリーニングするのにより正確で精密なマーカーが、依然として大いに必要とされている。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0006】

#### （発明の要旨）

本発明は、対象が、高リスク腺腫または直腸結腸がん（CRC）に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法を対象とする。方法は、（a）対象から生物学的試料を得るステップ、（b）対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原（CEA）、サイトケラチン19フラグメント（CYFRA）、C反応性タンパク質（CRP）およびフェリチンのレベルを決定するステップ、（c）生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに（d）生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより高い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、高リスク腺腫もしくはCRCに罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルがCEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルと等しくもしくはより低い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくもしくはより高い場合、高リスク腺腫もしくはCRCに罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む。CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるC

10

20

30

40

50

E A、CYFRA、CRPおよびフェリチンのカットオフ値であってよい。CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのカットオフ値であってよい。基準群は、対照群またはがん群からなる群から選択されてもよい。対象は男性であってよい。CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルは、CEAについて血清中5.0ng/mL、5.5ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.5ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCYFRAについて血清中1.80ng/mL、1.85ng/mL、1.90ng/mL、1.95ng/mL、1.96ng/mL、1.97ng/mL、1.98ng/mL、1.99ng/mL、2.00ng/mL、2.01ng/mL、2.02ng/mL、2.03ng/mL、2.04ng/mL、2.05ng/mL、2.10ng/mL、2.15ng/mLまたは2.20ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CRPについて血清中1.0mg/mL、1.5mg/mL、1.6mg/mL、1.7mg/mL、1.8mg/mL、1.9mg/mL、2.0mg/mLまたは2.5mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中120ng/mL、115ng/mL、114ng/mL、113ng/mL、112ng/mL、111ng/mL、110ng/mL、109ng/mL、108ng/mL、107ng/mL、106ng/mL、105ng/mLまたは100ng/mLに等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEAの基準レベルは少なくとも約6.5ng/mLであってよく、CYFRAの基準レベルは少なくとも約1.98ng/mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約1.8mg/mLであってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約109ng/mLであってよい。対象は女性であってよい。CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルは、CEAについて血清中3.5ng/mL、4.0ng/mL、4.3ng/mL、4.4ng/mL、4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、4.8ng/mL、4.9ng/mL、5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.5ng/mL、6.0ng/mLまたは7.0ng/mLに等しくまたはそれより高くてよく、それに組み合わせてCYFRAについて血清中1.55ng/mL、1.60ng/mL、1.65ng/mL、1.67ng/mL、1.68ng/mL、1.69ng/mL、1.70ng/mL、1.71ng/mL、1.72ng/mL、1.73ng/mL、1.74ng/mL、1.75ng/mL、1.76ng/mL、1.77ng/mL、1.80ng/mL、1.85ng/mLまたは1.90ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CRPについて血清中4.0mg/mL、4.5mg/mL、5.0mg/mL、5.1mg/mL、5.2mg/mL、5.3mg/mL、5.4mg/mL、5.5mg/mL、5.6mg/mL、5.7mg/mL、5.8mg/mL、5.9mg/mL、6.0mg/mL、6.5mg/mLまたは7.0mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中50ng/mL、45ng/mL、44ng/mL、43ng/mL、42ng/mL、41ng/mL、40ng/mL、39ng/mL、38ng/mL、37ng/mL、36ng/mL、35ng/mL、34ng/mL、33ng/mL、32ng/mL、31ng/mLまたは30ng/mLに等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEAの基準レベルは少なくとも約4.8ng/mLであってよく、CYFRAの基準レベルは少なくとも約1.72ng/mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約5.5mg/mLであってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約38ng/mLであってよい。方法は、CRC処置レジメン、CRC構造スクリーニングレジメン、またはCRCモニタリングレジメンを、高腺腫またはCRCに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。CRC処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれら

の組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含むことができる。CRC 構造スクリーニングレジメンは結腸鏡検査または S 状結腸鏡検査であってよい。結腸鏡検査は対象の診断を確定し得る。CRC モニタリングレジメンは、定期的な間隔で CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを決定するステップを含むことができる。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを決定するステップは、CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンに特異的に結合する分子は、CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含むことができる。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを決定するステップは、生物学的試料を、CEA に特異的に結合する抗体、CYFRA に特異的に結合する抗体、CRP に特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体および検出可能な標識で標識された抗体は、(a) CEA に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(b) CYFRA に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(c) CRP に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに (d) フェリチンに特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は CEA または CEA のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を形成するステップ、(i) 捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない CEA 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - CEA 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および (ii) 試験試料中の CEA レベルを、(a) (i) において形成された捕捉抗体 - CEA 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって CEA のレベルを測定するステップ、(b) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は CYFRA または CYFRA のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - CYFRA 抗原複合体を形成するステップ、(ii) 捕捉抗体 - CYFRA 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない CYFRA 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - CYFRA 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および (iii) 試験試料中の CYFRA レベルを、(b) (i) において形成された捕捉抗体 - CYFRA 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって CYFRA のレベルを測定するステップ、(c) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は CRP または CRP のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - CRP 抗原複合体を形成するステップ、(ii) 捕捉抗体 - CRP 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない CRP 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - CRP 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および (iii) 試験試料中の CRP レベルを、(c) (i) において形成された捕捉抗体 - CRP 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって CRP のレベルを測定するステップ、ならびに (d) (i) 試験試料を少な

くとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中のフェリチンレベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってフェリチンのレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、s c F v 、キメラ抗体、単ードメイン抗体、CDR グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、F ab 、二重特異性抗体、DVD 、F ab' 、二特異的抗体、F ( ab' ) 2 および F v からなる群から選択されてよい。方法は、メチルセプチン ( Methyl Septin ) 9 ( mS9 ) 、ガレクチン - 3 ( Ga13 ) 、糖化ヘモグロビン ( HbA1c ) 、C3a 、カテプシン X ( CatX ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( PAI - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( ENO2 ) およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の CRC の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに CRC の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、CRC がんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であつてよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、( a ) 対象の生物学的試料中の CEA 、 CYFRA 、 CRP およびフェリチンのレベルを定量するための、 CEA に特異的に結合することができる試薬、 CYFRA に特異的に結合することができる試薬、 CRP に特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに( b ) CEA 、 CYFRA 、 CRP およびフェリチンの基準レベルを指し示す参照標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン 9 ( mS9 ) 、ガレクチン - 3 ( Ga13 ) 、糖化ヘモグロビン ( HbA1c ) 、 C3a 、カテプシン X ( CatX ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( PAI - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( ENO2 ) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも 1 つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン 9 ( mS9 ) 、ガレクチン - 3 ( Ga13 ) 、糖化ヘモグロビン ( HbA1c ) 、 C3a 、カテプシン X ( CatX ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( PAI - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( ENO2 ) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指し示す参照標準をさらに含むことができる。

#### 【 0007 】

本発明は、対象が、高リスク腺腫または直腸結腸がん ( CRC ) に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法を対象とする。方法は、( a ) 対象から生物学的試料を得るステップ、( b ) 対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原 ( CEA ) 、サイトケラチン 19 フラグメント ( CYFRA ) 、 C 反応性タンパク質 ( CRP ) およびフェリチンのレベルを決定するステップ、( c ) 生物学的試料中の CEA 、 CYFRA 、 CRP およびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、( i ) CEA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルより高い場合、対象は 10

のスコアを得、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(i i) CYFRA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(i i i) CRP スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、および(i v) フェリチンスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0 のスコアを得るステップ、(d) ステップ(c) からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(e) 合計スコアが基準スコアより高い場合、高リスク腺腫または CRC に罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアと等しくもしくはより低い場合、高リスク腺腫もしくは CRC に罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む。  
CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定される CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのカットオフ値であってよい。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定される CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのカットオフ値であってよい。基準群は、対照群またはがん群からなる群から選択されてもよい。対象は男性であってよい。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの基準レベルは、CEA について血清中 5.0 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mL または 8.0 ng/mL に等しくまたはそれより高く、それに組み合わせて CYFRA について血清中 1.80 ng/mL、1.85 ng/mL、1.90 ng/mL、1.95 ng/mL、1.96 ng/mL、1.97 ng/mL、1.98 ng/mL、1.99 ng/mL、2.00 ng/mL、2.01 ng/mL、2.02 ng/mL、2.03 ng/mL、2.04 ng/mL、2.05 ng/mL、2.10 ng/mL、2.15 ng/mL または 2.20 ng/mL に等しくまたはそれより高いレベル、CRP について血清中 1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、1.6 mg/mL、1.7 mg/mL、1.8 mg/mL、1.9 mg/mL、2.0 mg/mL または 2.5 mg/mL に等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中 120 ng/mL、115 ng/mL、114 ng/mL、113 ng/mL、112 ng/mL、111 ng/mL、110 ng/mL、109 ng/mL、108 ng/mL、107 ng/mL、106 ng/mL、105 ng/mL または 100 ng/mL に等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEA の基準レベルは少なくとも約 6.5 ng/mL であってよく、CYFRA の基準レベルは少なくとも約 1.98 ng/mL であってよく、CRP の基準レベルは少なくとも約 1.8 mg/mL であってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約 109 ng/mL であってよい。対象は女性であってよい。CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの基準レベルは、CEA について血清中 3.5 ng/mL、4.0 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.5 ng/mL、6.0 ng/mL または 7.0 ng/mL に等しくまたはそれより高くてよく、それに組み合わせて CYFRA について血清中 1.55 ng/mL、1.60 ng/mL、1.65 ng/mL、1.67 ng/mL、1.68 ng/mL、1.69 ng/mL、1.70 ng/mL、1.71 ng/mL、1.72 ng/mL、1.73 ng/mL、1.74 ng/mL 50

g / mL、1.75 ng / mL、1.76 ng / mL、1.77 ng / mL、1.80 ng / mL、1.85 ng / mL または 1.90 ng / mL に等しくまたはそれより高いレベル、C R P について血清中 4.0 mg / mL、4.5 mg / mL、5.0 mg / mL、5.1 mg / mL、5.2 mg / mL、5.3 mg / mL、5.4 mg / mL、5.5 mg / mL、5.6 mg / mL、5.7 mg / mL、5.8 mg / mL、5.9 mg / mL、6.0 mg / mL、6.5 mg / mL または 7.0 mg / mL に等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中 50 ng / mL、45 ng / mL、44 ng / mL、43 ng / mL、42 ng / mL、41 ng / mL、40 ng / mL、39 ng / mL、38 ng / mL、37 ng / mL、36 ng / mL、35 ng / mL、34 ng / mL、33 ng / mL、32 ng / mL、31 ng / mL または 30 ng / mL に等しくまたはそれより低いレベルであってよい。C E A の基準レベルは少なくとも約 4.8 ng / mL であってよく、C Y F R A の基準レベルは少なくとも約 1.72 ng / mL であってよく、C R P の基準レベルは少なくとも約 5.5 mg / mL であってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約 38 ng / mL であってよい。基準スコアは 0、1、2、3 または 4 であってよい。対象が男性である場合、基準年齢は 54 歳であってよい。対象が女性である場合、基準年齢は 63 歳であってよい。基準スコアは 0、1、2、3、4 または 5 であってよい。対象が男性である場合、基準スコアは 2 または 3 であってよい。対象が男性であり、合計スコアが 2 より高い場合、対象は高リスク腺腫または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。対象が男性であり、合計スコアが 3 より高い場合、対象は高リスク腺腫または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。対象が女性であり、合計スコアが 2 より高い場合、対象は高リスク腺腫または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。方法は、C R C 処置レジメン、C R C 構造スクリーニングレジメン、または C R C モニタリングレジメンを、高腺腫または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。C R C 処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含むことができる。C R C 構造スクリーニングレジメンは結腸鏡検査または S 状結腸鏡検査であってよい。結腸鏡検査は対象の診断を確定し得る。C R C モニタリングレジメンは、定期的な間隔で C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップを含むことができる。C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップは、C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンに特異的に結合する分子は、C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含むことができる。C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップは、生物的試料を、C E A に特異的に結合する抗体、C Y F R A に特異的に結合する抗体、C R P に特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体および検出可能な標識で標識された抗体は、( a ) C E A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、( b ) C Y F R A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、( c ) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに( d ) フェリチンに特異的に結合する少なくと 10

20

30

40

50

も1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCEAまたはCEAのフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体-CEA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CEA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCEA上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CEA抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のCEAレベルを、(a)(ii)において形成された捕捉抗体-CEA抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCEAのレベルを測定するステップ、(b)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCYFRAまたはCYFRAのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCYFRA上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CYFRA抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のCYFRAレベルを、(b)(ii)において形成された捕捉抗体-CYFRA抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCYFRAのレベルを測定するステップ、(c)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCRPまたはCRPのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CRP抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CRP抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCRP上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CRP抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のCRPレベルを、(c)(ii)において形成された捕捉抗体-CRP抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCRPのレベルを測定するステップ、ならびに(d)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-フェリチン抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体-フェリチン抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のフェリチンレベルを、(d)(ii)において形成された捕捉抗体-フェリチン抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってフェリチンのレベルを測定するステップを含むことができる。

抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されているFv、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、scFv、キメラ抗体、單一ドメイン抗体、CDRグラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Fab、二重特異性抗体、DVD、Fab'、二特異的抗体、F(ab')2およびFvからなる群から選択されてよい。方法は、メチルセプチン(Methyl Septin)9(mS9)、ガレクチン-3(Gal3)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中のCRCの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびにCRCの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを、CRCがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい

10

20

30

40

50

。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、(a)対象の生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを定量するための、CEAに特異的に結合することができる試薬、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CRPに特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに(b)CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルを指示する参考標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも1つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示する参考標準をさらに含むことができる。  
10

#### 【0008】

本発明は、対象が、高リスク腺腫または直腸結腸がん(CRC)に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法を対象とする。方法は、(a)対象から生物学的試料を得るステップ、(b)対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原(CEA)、サイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(c)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i)CEAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(ii)CYFRAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(iii)CRPスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、および(iv)フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(d)ステップ(c)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(e)合計スコアが基準スコアより高い場合、高リスク腺腫またはCRCに罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアと等しくもしくはより低い場合、高リスク腺腫もしくはCRCに罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む。方法は、ステップ(b)において対象の年齢を決定するステップ、ステップ(c)において、対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および(v)年齢スコアを対象に提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢と等しくまたはより高い場合、対象は1のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、0のスコアを得るステップをさらに含む。CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのカットオフ値であってよい。CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定され  
20  
30  
40  
50

る C E A、 C Y F R A、 C R P およびフェリチンのカットオフ値であってよい。基準群は、対照群またはがん群からなる群から選択されてもよい。対象は男性であってよい。 C E A、 C Y F R A、 C R P およびフェリチンの基準レベルは、 C E A について血清中 5 . 0 n g / m L、 5 . 5 n g / m L、 6 . 0 n g / m L、 6 . 1 n g / m L、 6 . 2 n g / m L、 6 . 3 n g / m L、 6 . 4 n g / m L、 6 . 5 n g / m L、 6 . 6 n g / m L、 6 . 7 n g / m L、 6 . 8 n g / m L、 6 . 9 n g / m L、 7 . 0 n g / m L、 7 . 5 n g / m L または 8 . 0 n g / m L に等しくまたはそれより高く、それに組み合わせて C Y F R A について血清中 1 . 8 0 n g / m L、 1 . 8 5 n g / m L、 1 . 9 0 n g / m L、 1 . 9 5 n g / m L、 1 . 9 6 n g / m L、 1 . 9 7 n g / m L、 1 . 9 8 n g / m L、 1 . 9 9 n g / m L、 2 . 0 0 n g / m L、 2 . 0 1 n g / m L、 2 . 0 2 n g / m L、 2 . 0 3 n g / m L、 2 . 0 4 n g / m L、 2 . 0 5 n g / m L、 2 . 1 0 n g / m L、 2 . 1 5 n g / m L または 2 . 2 0 n g / m L に等しくまたはそれより高いレベル、 C R P について血清中 1 . 0 m g / m L、 1 . 5 m g / m L、 1 . 6 m g / m L、 1 . 7 m g / m L、 1 . 8 m g / m L、 1 . 9 m g / m L、 2 . 0 m g / m L または 2 . 5 m g / m L に等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中 1 2 0 n g / m L、 1 1 5 n g / m L、 1 1 4 n g / m L、 1 1 3 n g / m L、 1 1 2 n g / m L、 1 1 1 n g / m L、 1 1 0 n g / m L、 1 0 9 n g / m L、 1 0 8 n g / m L、 1 0 7 n g / m L、 1 0 6 n g / m L、 1 0 5 n g / m L または 1 0 0 n g / m L に等しくまたはそれより低いレベルであってよい。 C E A の基準レベルは少なくとも約 6 . 5 n g / m L であってよく、 C Y F R A の基準レベルは少なくとも約 1 . 9 8 n g / m L であってよく、 C R P の基準レベルは少なくとも約 1 . 8 m g / m L であってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約 1 0 9 n g / m L であってよい。対象は女性であってもよい。 C E A、 C Y F R A、 C R P およびフェリチンの基準レベルは、 C E A について血清中 3 . 5 n g / m L、 4 . 0 n g / m L、 4 . 3 n g / m L、 4 . 4 n g / m L、 4 . 5 n g / m L、 4 . 6 n g / m L、 4 . 7 n g / m L、 4 . 8 n g / m L、 4 . 9 n g / m L、 5 . 0 n g / m L、 5 . 1 n g / m L、 5 . 2 n g / m L、 5 . 3 n g / m L、 5 . 5 n g / m L、 6 . 0 n g / m L または 7 . 0 n g / m L に等しくまたはそれより高くてよく、それに組み合わせて C Y F R A について血清中 1 . 5 5 n g / m L、 1 . 6 0 n g / m L、 1 . 6 5 n g / m L、 1 . 6 7 n g / m L、 1 . 6 8 n g / m L、 1 . 6 9 n g / m L、 1 . 7 0 n g / m L、 1 . 7 1 n g / m L、 1 . 7 2 n g / m L、 1 . 7 3 n g / m L、 1 . 7 4 n g / m L、 1 . 7 5 n g / m L、 1 . 7 6 n g / m L、 1 . 7 7 n g / m L、 1 . 8 0 n g / m L、 1 . 8 5 n g / m L または 1 . 9 0 n g / m L に等しくまたはそれより高いレベル、 C R P について血清中 4 . 0 m g / m L、 4 . 5 m g / m L、 5 . 0 m g / m L、 5 . 1 m g / m L、 5 . 2 m g / m L、 5 . 3 m g / m L、 5 . 4 m g / m L、 5 . 5 m g / m L、 5 . 6 m g / m L、 5 . 7 m g / m L、 5 . 8 m g / m L、 5 . 9 m g / m L、 6 . 0 m g / m L、 6 . 5 m g / m L または 7 . 0 m g / m L に等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中 5 0 n g / m L、 4 5 n g / m L、 4 4 n g / m L、 4 3 n g / m L、 4 2 n g / m L、 4 1 n g / m L、 4 0 n g / m L、 3 9 n g / m L、 3 8 n g / m L、 3 7 n g / m L、 3 6 n g / m L、 3 5 n g / m L、 3 4 n g / m L、 3 3 n g / m L、 3 2 n g / m L、 3 1 n g / m L または 3 0 n g / m L に等しくまたはそれより低いレベルであってよい。 C E A の基準レベルは少なくとも約 4 . 8 n g / m L であってよく、 C Y F R A の基準レベルは少なくとも約 1 . 7 2 n g / m L であってよく、 C R P の基準レベルは少なくとも約 5 . 5 m g / m L であってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約 3 8 n g / m L であってよい。基準スコアは 0、 1、 2、 3 または 4 であってよい。対象が男性である場合、基準年齢は 5 4 歳であってよい。対象が女性である場合、基準年齢は 6 3 歳であってよい。基準スコアは 0、 1、 2、 3、 4 または 5 であってよい。対象が男性である場合、基準スコアは 2 または 3 であってよい。対象が男性であり、合計スコアが 2 より高い場合、対象は高リスク腺腫または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。対象が男性であり、合計スコアが 3 より高い場合、対象は高リスク腺腫または C R C に罹患している、または罹患す

10

20

30

40

50

るリスクがあると診断され得る。対象が女性である場合、基準スコアは2であってよい。対象が女性であり、合計スコアが2より高い場合、対象は高リスク腺腫またはC R Cに罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。方法は、C R C処置レジメン、C R C構造スクリーニングレジメン、またはC R Cモニタリングレジメンを、高腺腫またはC R Cに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。C R C処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも1つを対象に施すステップを含むことができる。C R C構造スクリーニングレジメンは結腸鏡検査またはS状結腸鏡検査であってよい。結腸鏡検査は対象の診断を確定し得る。C R Cモニタリングレジメンは、定期的な間隔でC E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンのレベルを決定するステップを含むことができる。C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンのレベルを決定するステップは、C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンに特異的に結合する分子は、C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも1つの抗体を含むことができる。C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンのレベルを決定するステップは、生物学的試料を、C E Aに特異的に結合する抗体、C Y F R Aに特異的に結合する抗体、C R Pに特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンのレベルを決定するステップは、少なくとも1つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を使用するイムノアッセイによって、C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中のC E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体および検出可能な標識で標識された抗体は、(a) C E Aに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(b) C Y F R Aに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(c) C R Pに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、ならびに(d) フェリチンに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a)(i) 試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はC E AまたはC E Aのフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体-C E A抗原複合体を形成するステップ、(i i) 捕捉抗体-C E A抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないC E A上のエピトープに結合し、捕捉抗体-C E A抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(i i i) 試験試料中のC E Aレベルを、(a)(i i)において形成された捕捉抗体-C E A抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってC E Aのレベルを測定するステップ、(b)(i) 試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はC Y F R AまたはC Y F R Aのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-C Y F R A抗原複合体を形成するステップ、(i i) 捕捉抗体-C Y F R A抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないC Y F R A上のエピトープに結合し、捕捉抗体-C Y F R A抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(i i i) 試験試料中のC Y F R Aレベルを、(b)(i i)において形成された捕捉抗体-C Y F R A抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってC Y F R Aのレベルを測定するステップ、(c)(i) 試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体

は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C R P のレベルを測定するステップ、ならびに( d ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中のフェリチンレベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってフェリチンのレベルを測定するステップを含むことができる。  
抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、 s c F v 、キメラ抗体、單一ドメイン抗体、 C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、 F a b 、二重特異性抗体、 D V D 、 F a b ' 、二特異的抗体、 F ( a b ' ) 2 10 および F v からなる群から選択されてよい。方法は、メチルセプチン ( M e t h y l S e p t i n ) 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C がんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。  
対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、( a ) 対象の生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを定量するための、 C E A に特異的に結合することができる試薬、 C Y F R A に特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに( b ) C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンの基準レベルを指示する参考標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも 1 つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示する参考標準をさらに含むことができる。  
【 0 0 0 9 】

本発明は、対象が、直腸結腸がん ( C R C ) に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法を対象とする。方法は、( a ) 対象から生物学的試料を得るステッ 50

プ、(b)対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原(CEA)、サイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)、糖鎖抗原19-9(CA19-9)およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(c)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CA19-9およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(d)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびCA19-9のレベルがCEA、CYFRA、CRPおよびCA19-9の基準レベルより高い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、CRCに罹患している、または罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または生物学的試料中のCEA、CYFRA、およびCA19-9のレベルがCEA、CYFRA、およびCA19-9の基準レベルと等しくまたはより低い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、罹患していない、または罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンのカットオフ値であつてよい。基準群は対照群およびがん群からなる群から選択されてよい。対象は男性であつてよい。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルは、CEAについて血清中4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、4.8ng/mL、4.9ng/mL、5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.4ng/mL、5.5ng/mL、5.6ng/mL、5.7ng/mL、5.8ng/mL、5.9ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.1ng/mL、7.2ng/mL、7.3ng/mL、7.4ng/mL、7.5ng/mL、7.6ng/mL、7.7ng/mL、7.8ng/mL、7.9ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCYFRAについて血清中1.50ng/mL、1.60ng/mL、1.70ng/mL、1.80ng/mL、1.90ng/mL、2.00ng/mL、2.01ng/mL、2.02ng/mL、2.03ng/mL、2.04ng/mL、2.05ng/mL、2.06ng/mL、2.07ng/mL、2.08ng/mL、2.09ng/mL、2.10ng/mL、2.11ng/mL、2.12ng/mL、2.13ng/mL、2.14ng/mL、2.15ng/mL、2.16ng/mL、2.17ng/mL、2.18ng/mL、2.19ng/mL、2.20ng/mL、2.21ng/mL、2.22ng/mL、2.23ng/mL、2.24ng/mL、2.25ng/mL、2.50ng/mLまたは3.00ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CRPについて血清中17.0mg/mL、17.1mg/mL、17.2mg/mL、17.3mg/mL、17.4mg/mL、17.5mg/mL、17.6mg/mL、17.7mg/mL、17.8mg/mL、17.9mg/mL、18.0mg/mL、18.1mg/mL、18.2mg/mL、18.3mg/mL、18.4mg/mL、18.5mg/mL、18.6mg/mL、18.7mg/mL、18.8mg/mL、18.9mg/mL、19.0mg/mL、19.5mg/mLまたは20.0mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、1026.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、2026.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、3026.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、4026.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、5026.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、50

26.5 U / mL、26.6 U / mL、26.7 U / mL、26.8 U / mL、26.9 U / mL、27.0 U / mL、27.1 U / mL、27.2 U / mL、27.3 U / mL、27.4 U / mL、27.5 U / mL、27.6 U / mL、27.7 U / mL、27.8 U / mL、27.9 U / mL、28.0 U / mL、28.5 U / mLまたは29.0 U / mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中105.0 ng / mL、104.0 ng / mL、103.0 ng / mL、102.0 ng / mL、101.0 ng / mL、100.0 ng / mL、99.0 ng / mL、98.0 ng / mL、97.0 ng / mL、96.0 ng / mL、95.0 ng / mL、94.0 ng / mL、93.0 ng / mL、92.0 ng / mL、91.0 ng / mL、90.0 ng / mL、89.0 ng / mL、88.0 ng / mL、87.0 ng / mL、86.0 ng / mLまたは85.0 ng / mLに等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEAの基準レベルは少なくとも約6.9 ng / mLであってよく、CYFRAの基準レベルは少なくとも約2.17 ng / mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約18.3 mg / mLであってよく、CA19-9の基準レベルは少なくとも約26.8 U / mLであってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約97 ng / mLであってよい。対象は女性であってよい。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルは、CEAについて血清中4.5 ng / mL、4.6 ng / mL、4.7 ng / mL、4.8 ng / mL、4.9 ng / mL、5.0 ng / mL、5.1 ng / mL、5.2 ng / mL、5.3 ng / mL、5.4 ng / mL、5.5 ng / mL、5.6 ng / mL、5.7 ng / mL、5.8 ng / mL、5.9 ng / mL、6.0 ng / mL、6.1 ng / mL、6.2 ng / mL、6.3 ng / mL、6.4 ng / mL、6.5 ng / mL、6.6 ng / mL、6.7 ng / mL、6.8 ng / mL、6.9 ng / mL、7.0 ng / mL、7.1 ng / mL、7.2 ng / mL、7.3 ng / mL、7.4 ng / mL、7.5 ng / mL、7.6 ng / mL、7.7 ng / mL、7.8 ng / mL、7.9 ng / mLまたは8.0 ng / mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCYFRAについて血清中1.50 ng / mL、1.60 ng / mL、1.70 ng / mL、1.80 ng / mL、1.90 ng / mL、2.00 ng / mL、2.01 ng / mL、2.02 ng / mL、2.03 ng / mL、2.04 ng / mL、2.05 ng / mL、2.06 ng / mL、2.07 ng / mL、2.08 ng / mL、2.09 ng / mL、2.10 ng / mL、2.11 ng / mL、2.12 ng / mL、2.13 ng / mL、2.14 ng / mL、2.15 ng / mL、2.16 ng / mL、2.17 ng / mL、2.18 ng / mL、2.19 ng / mL、2.20 ng / mL、2.21 ng / mL、2.22 ng / mL、2.23 ng / mL、2.24 ng / mL、2.25 ng / mL、2.50 ng / mLまたは3.00 ng / mLに等しくまたはそれより高いレベル、CRPについて血清中6.5 mg / mL、6.6 mg / mL、6.7 mg / mL、6.8 mg / mL、6.9 mg / mL、7.0 mg / mL、7.1 mg / mL、7.2 mg / mL、7.3 mg / mL、7.4 mg / mL、7.5 mg / mL、7.6 mg / mL、7.7 mg / mL、7.8 mg / mL、7.9 mg / mL、8.0 mg / mL、8.1 mg / mL、8.2 mg / mL、8.3 mg / mL、8.4 mg / mL、8.5 mg / mL、8.6 mg / mL、8.7 mg / mL、8.8 mg / mL、8.9 mg / mL、9.0 mg / mL、9.5 mg / mLまたは10.0 mg / mLに等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9について血清中23.0 U / mL、23.1 U / mL、23.2 U / mL、23.3 U / mL、23.4 U / mL、23.5 U / mL、23.6 U / mL、23.7 U / mL、23.8 U / mL、23.9 U / mL、24.0 U / mL、24.1 U / mL、24.2 U / mL、24.3 U / mL、24.4 U / mL、24.5 U / mL、24.6 U / mL、24.7 U / mL、24.8 U / mL、24.9 U / mL、25.0 U / mL、25.1 U / mL、25.2 U / mL、25.3 U / mL、25.4 U / mL、25.5 U / mL、25.6 U / mL、25.7 U / mL、25.8 U / mL、25.9 U / mL、26.0 U / mL、26.1 U / mL、26.2 U / mL、26.3 U / mL、26.4 U / mL、26.5 U / mL、26.6 U / mL、26.7 U / mL、10  
20  
30  
40  
50

26.8 U / mL、26.9 U / mL、27.0 U / mL、27.1 U / mL、27.2 U / mL、27.3 U / mL、27.4 U / mL、27.5 U / mL、27.6 U / mL、27.7 U / mL、27.8 U / mL、27.9 U / mL、28.0 U / mL、28.5 U / mL または 29.0 U / mL に等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中 45 ng / mL、44 ng / mL、43 ng / mL、42 ng / mL、41 ng / mL、40 ng / mL、39 ng / mL、38 ng / mL、36 ng / mL、35 ng / mL、34 ng / mL、33 ng / mL、32 ng / mL、31 ng / mL、30 ng / mL または 25 ng / mL に等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEA の基準レベルは少なくとも約 5.9 ng / mL であってよく、CYFRA の基準レベルは少なくとも約 2.01 ng / mL であってよく、CRP の基準レベルは少なくとも約 7.8 mg / mL であってよく、CA19-9 の基準レベルは少なくとも約 24.0 U / mL であってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約 36 ng / mL であってよい。方法は、CRC 構造スクリーニングレジメン、CRC 処置レジメン、または CRC モニタリングレジメンを、CRC に罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。CRC 処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含むことができる。CRC 構造スクリーニングレジメンは結腸鏡検査または S 状結腸鏡検査であってよい。結腸鏡検査は対象の診断を確定し得る。CRC モニタリングレジメンは、定期的な間隔で CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップを含むことができる。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップは、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンに特異的に結合する分子は、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含むことができる。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、(a) CEA に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(b) CYFRA に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(c) CRP に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(d) CA19-9 に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに (e) フェリチンに特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は CEA または CEA のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を形成するステップ、(ii) 捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない CEA 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - CEA 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、(iii) 検出抗体を検出するステップであって、検出抗体は、捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を検出する。

生物学的試料を、CEA に特異的に結合する抗体、CYFRA に特異的に結合する抗体、CRP に特異的に結合する抗体、CA19-9 に特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、(a) CEA に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(b) CYFRA に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(c) CRP に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(d) CA19-9 に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、(e) フェリチンに特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は CEA または CEA のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を形成するステップ、(ii) 捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない CEA 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - CEA 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、(iii) 検出抗体を検出するステップであって、検出抗体は、捕捉抗体 - CEA 抗原複合体を検出する。

合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中の C E A レベルを、( a ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によつて発生したシグナルに基づいて決定するステップによつて C E A のレベルを測定するステップ、( b ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであつて、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであつて、検出抗体は、捕捉抗体によつて結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中の C Y F R A レベルを、( b ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によつて発生したシグナルに基づいて決定するステップによつて C Y F R A のレベルを測定するステップ、( c ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであつて、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであつて、検出抗体は、捕捉抗体によつて結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中の C R P レベルを、( c ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によつて発生したシグナルに基づいて決定するステップによつて C R P のレベルを測定するステップ、( d ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであつて、捕捉抗体は C A 1 9 - 9 または C A 1 9 - 9 のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであつて、検出抗体は、捕捉抗体によつて結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( d ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によつて発生したシグナルに基づいて決定するステップによつて C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、ならびに( e ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであつて、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであつて、検出抗体は、捕捉抗体によつて結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中のフェリチンレベルを、( e ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によつて発生したシグナルに基づいて決定するステップによつてフェリチンのレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、 s c F v 、キメラ抗体、單ードメイン抗体、 C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、 F a b 、二重特異性抗体、 D V D 、 F a b ' 、二特異的抗体、 F ( a b ' ) 2 および F v からなる群から選択され得る。方法は、メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテーテシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C がんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。対象はヒトであつてよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、

血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、(a) 対象の生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンのレベルを定量するための、CEAに特異的に結合することができる試薬、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CRPに特異的に結合することができる試薬、CA19-9に特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに(b) CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルを指示する参考標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも1つの付加的な試薬、およびメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)、またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示する参考標準をさらに含むことができる。  
10

## 【0010】

20

本発明は、対象が、直腸結腸がん(CRC)に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法を対象とする。方法は、(a) 対象から生物学的試料を得るステップ、(b) 対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原(CEA)、サイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)、糖鎖抗原19-9(CA19-9)およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(c) 生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、(d) CEAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(e) CYFRAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(f) CRPスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(g) CA19-9スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCA19-9のレベルがCA19-9の基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCA19-9のレベルがCA19-9の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(h) フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(i) CEAスコア、CYFRAスコア、CRPスコア、CA19-9スコアおよびフェリチニスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(j) 合計スコアが基準スコアより高い場合、CRCに罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、CRCに罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCEA、CYFRA、CR  
30  
40  
50

P、CA19-9およびフェリチンのカットオフ値であってよい。基準群は対照群およびがん群からなる群から選択されてよい。対象は男性であってよい。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルは、CEAについて血清中4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、4.8ng/mL、4.9ng/mL、5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.4ng/mL、5.5ng/mL、5.6ng/mL、5.7ng/mL、5.8ng/mL、5.9ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.1ng/mL、7.2ng/mL、7.3ng/mL、7.4ng/mL、7.5ng/mL、7.6ng/mL、7.7ng/mL、7.8ng/mL、7.9ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCYFRAについて血清中1.50ng/mL、1.60ng/mL、1.70ng/mL、1.80ng/mL、1.90ng/mL、2.00ng/mL、2.01ng/mL、2.02ng/mL、2.03ng/mL、2.04ng/mL、2.05ng/mL、2.06ng/mL、2.07ng/mL、2.08ng/mL、2.09ng/mL、2.10ng/mL、2.11ng/mL、2.12ng/mL、2.13ng/mL、2.14ng/mL、2.15ng/mL、2.16ng/mL、2.17ng/mL、2.18ng/mL、2.19ng/mL、2.20ng/mL、2.21ng/mL、2.22ng/mL、2.23ng/mL、2.24ng/mL、2.25ng/mL、2.50ng/mLまたは3.00ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CRPについて血清中17.0mg/mL、17.1mg/mL、17.2mg/mL、17.3mg/mL、17.4mg/mL、17.5mg/mL、17.6mg/mL、17.7mg/mL、17.8mg/mL、17.9mg/mL、18.0mg/mL、18.1mg/mL、18.2mg/mL、18.3mg/mL、18.4mg/mL、18.5mg/mL、18.6mg/mL、18.7mg/mL、18.8mg/mL、18.9mg/mL、19.0mg/mL、19.5mg/mLまたは20.0mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、26.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、27.0U/mL、27.1U/mL、27.2U/mL、27.3U/mL、27.4U/mL、27.5U/mL、27.6U/mL、27.7U/mL、27.8U/mL、27.9U/mL、28.0U/mL、28.5U/mLまたは29.0U/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中105.0ng/mL、104.0ng/mL、103.0ng/mL、102.0ng/mL、101.0ng/mL、100.0ng/mL、99.0ng/mL、98.0ng/mL、97.0ng/mL、96.0ng/mL、95.0ng/mL、94.0ng/mL、93.0ng/mL、92.0ng/mL、91.0ng/mL、90.0ng/mL、89.0ng/mL、88.0ng/mL、87.0ng/mL、86.0ng/mLまたは85.0ng/mLに等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEAの基準レベルは少なくとも約6.9ng/mLであってよく、CYFRAの基準レベルは少なくとも約2.17ng/mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約18.3mg/mLであってよく、CA19-9の基準レベルは少なくとも約26.8U/mLであってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約97ng/mL 10 20 30 40 50

L であってよい。対象は女性であってよい。CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの基準レベルは、CEAについて血清中4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、4.8ng/mL、4.9ng/mL、5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.4ng/mL、5.5ng/mL、5.6ng/mL、5.7ng/mL、5.8ng/mL、5.9ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.1ng/mL、7.2ng/mL、7.3ng/mL、7.4ng/mL、7.5ng/mL、7.6ng/mL、7.7ng/mL、7.8ng/mL、7.9ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはそれ 10 より高く、それに組み合わせてCYFRAについて血清中1.50ng/mL、1.60ng/mL、1.70ng/mL、1.80ng/mL、1.90ng/mL、2.00ng/mL、2.01ng/mL、2.02ng/mL、2.03ng/mL、2.04ng/mL、2.05ng/mL、2.06ng/mL、2.07ng/mL、2.08ng/mL、2.09ng/mL、2.10ng/mL、2.11ng/mL、2.12ng/mL、2.13ng/mL、2.14ng/mL、2.15ng/mL、2.16ng/mL、2.17ng/mL、2.18ng/mL、2.19ng/mL、2.20ng/mL、2.21ng/mL、2.22ng/mL、2.23ng/mL、2.24ng/mL、2.25ng/mL、2.50ng/mLまたは3.00ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CRPについて血清中6.5mg/mL、6.6mg/mL、6.7mg/mL、6.8mg/mL、6.9mg/mL、7.0mg/mL、7.1mg/mL、7.2mg/mL、7.3mg/mL、7.4mg/mL、7.5mg/mL、7.6mg/mL、7.7mg/mL、7.8mg/mL、7.9mg/mL、8.0mg/mL、8.1mg/mL、8.2mg/mL、8.3mg/mL、8.4mg/mL、8.5mg/mL、8.6mg/mL、8.7mg/mL、8.8mg/mL、8.9mg/mL、9.0mg/mL、9.5mg/mLまたは10.0mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、26.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、27.0U/mL、27.1U/mL、27.2U/mL、27.3U/mL、27.4U/mL、27.5U/mL、27.6U/mL、27.7U/mL、27.8U/mL、27.9U/mL、28.0U/mL、28.5U/mLまたは29.0U/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中45ng/mL、44ng/mL、43ng/mL、42ng/mL、41ng/mL、40ng/mL、39ng/mL、38ng/mL、36ng/mL、35ng/mL、34ng/mL、33ng/mL、32ng/mL、31ng/mL、30ng/mLまたは25ng/mLに等しくまたはそれより低いレベルであってよい。CEAの基準レベルは少なくとも約5.9ng/mLであってよく、CYFRAの基準レベルは少なくとも約2.01ng/mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約7.8mg/mLであってよく、CA19-9の基準レベルは少なくとも約24.0U/mLであってよく、フェリチンの基準レベルは少なくとも約36ng/mLであってよい。基準スコアは0、1、2、3、4または5であってよい。対象が 40

男性である場合、基準スコアは1であってよい。対象が男性であり、合計スコアが1より 50

高い場合、対象は C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。対象が女性である場合、基準スコアは 1 または 2 であってよい。対象が女性であり、合計スコアが 1 より高い場合、対象は C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。対象が女性であり、合計スコアが 2 より高い場合、対象は C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。方法は、C R C 構造スクリーニングレジメン、C R C 処置レジメン、または C R C モニタリングレジメンを、C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。C R C 処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含むことができる。C R C 構造スクリーニングレジメンは結腸鏡検査または S 状結腸鏡検査であってよい。結腸鏡検査は対象の診断を確定し得る。C R C モニタリングレジメンは、定期的な間隔で C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップを含むことができる。C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップは、C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンに特異的に結合する分子は、C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含むことができる。C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップは、生物学的試料を、C E A に特異的に結合する抗体、C Y F R A に特異的に結合する抗体、C R P に特異的に結合する抗体、C A 19 - 9 に特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19 - 9 およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、( a ) C E A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、( b ) C Y F R A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、( c ) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、( d ) C A 19 - 9 に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに( e ) フェリチンに特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む。免疫学的方法は、( a ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C E A または C E A のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C E A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の C E A レベルを、( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C E A のレベルを測定するステップ、( b ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗 10  
20  
30  
40  
50

体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中の C Y F R A レベルを、( b ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C Y F R A のレベルを測定するステップ、( c ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C R P のレベルを測定するステップ、( d ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C A 1 9 - 9 または C A 1 9 - 9 のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( d ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、ならびに( e ) ( i )試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を形成するステップ、( i i )捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i )試験試料中のフェリチンレベルを、( e ) ( i i )において形成された捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってフェリチンのレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、 s c F v 、キメラ抗体、単一ドメイン抗体、 C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、 F a b 、二重特異性抗体、 D V D 、 F a b ' 、二特異的抗体、 F ( a b ' ) 2 および F v からなる群から選択され得る。方法は、メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C がんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、( a )対象の生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンのレベルを定量するための、 C E A に特異的に結合することができる試薬、 C Y F R A に特異的に結合することができる試薬、 C R P に特異的に結合することができる試薬、 C A 1 9 - 9 に特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに( b ) C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンの基準レベルを指し示す参照標準を含む。キットは、生物学的試料中

の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン 9 (mS9)、ガレクチン - 3 (Gal3)、糖化ヘモグロビン (HbA1c)、C3a、カテプシンX (CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体 (sUPAR (I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 (PAI-1)、エノラーゼ2 (ENO2) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも 1 つの付加的な試薬、およびメチルセプチン 9 (mS9)、ガレクチン - 3 (Gal3)、糖化ヘモグロビン (HbA1c)、C3a、カテプシンX (CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体 (sUPAR (I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 (PAI-1)、エノラーゼ2 (ENO2)、またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示する 10 参照標準をさらに含むことができる。

#### 【0011】

本発明は、男性対象が、直腸結腸がん (CRC) がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法に対するものであって、男性対象は結腸鏡検査によって CRC を有さないことが確定されており、(a) 男性対象から生物学的試料を得るステップ、(b) 男性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン 19 フラグメント (CYFRA)、C 反応性タンパク質 (CRP)、メタロプロテイナーゼの組織インヒビタ - 1 (TIMP-1)、糖鎖抗原 19-9 (CA19-9) およびアルファ - フェトプロテイン (AFP) のレベルを決定するステップ、(c) 生物学的試料中の CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP のレベルを、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP の基準レベルと比較するステップ、ならびに (d) 20 生物学的試料中の CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP のレベルが CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP の基準レベルより高い場合、CRC 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという男性対象の診断を提供するステップを含む。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP の基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定される CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP のカットオフ値であってよい。基準群は、対照群またはがん群からなる群から選択され得る。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9 および AFP の基準レベルは、CYFRA について血清中 1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mL または 3.5 ng/mL に等しくまたはそれより高く、それに組み合わせて CRP について血清中 14.0 mg/mL、14.1 mg/mL、14.2 mg/mL、14.3 mg/mL、14.4 mg/mL、14.5 mg/mL、14.6 mg/mL、14.7 mg/mL、14.8 mg/mL、14.9 mg/mL、15.0 mg/mL、15.1 mg/mL、15.2 mg/mL、15.3 mg/mL、15.4 mg/mL、15.5 mg/mL、15.6 mg/mL、15.7 mg/mL、15.8 mg/mL、15.9 mg/mL、16.0 mg/mL、16.1 mg/mL、16.2 mg/mL、16.3 mg/mL、16.4 mg/mL、16.5 mg/mL、17.0 mg/mL または 17.5 mg/mL に等しくまたはそれより高いレベル、TIMP-1 について血清中 140 ng/mL、141 ng/mL、142 ng/mL、143 ng/mL、144 ng/mL、145 ng/mL、146 ng/mL、147 ng/mL、148 ng/mL、149 ng/mL、150 ng/mL、151 ng/mL、152 ng/mL、153 ng/mL、154 ng/mL、155 ng/mL、156 ng/mL、157 ng/mL、158 ng/mL、159 ng/mL または 160 ng/mL に等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9 について血清中 24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL 30 40 50

、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mLまたは26.5 U/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびAFPについて血清中5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mL、7.5 ng/mLまたは8.0 ng/mLに等しくまたはそれより高いレベルであってもよい。CYFRAの基準レベルは少なくとも約2.13 ng/mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約15.4 mg/mLであってよく、TIMP-1の基準レベルは少なくとも約148 ng/mLであってよく、CA19-9の基準レベルは少なくとも約25.0 U/mLであってよく、AFPの基準レベルは少なくとも約6.7 ng/mLであってよい。方法は、がん処置レジメンまたはがんモニタリングレジメンを、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。がん処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも1つを対象に施すステップを含むことができる。がんモニタリングレジメンは、定期的な間隔でCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップを含むことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合する分子は、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合することができる少なくとも1つの抗体を含むことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップは、生物学的試料を、CYFRAに特異的に結合する抗体、CRPに特異的に結合する抗体、TIMP-1に特異的に結合する抗体、CA19-9に特異的に結合する抗体、 AFPに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップは、少なくとも1つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができる、生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、(a) CYFRAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(b) CRPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(c) TIMP-1に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(d) CA19-9に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(e) AFPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a) (i) 試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCYFRAまたはCYFRAのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を形成するステップ、(ii) 捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCYFRA上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CYFRA抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii) 試験試料中のCYFRAレベルを、(a) (ii)において形成された捕捉

10

20

30

40

50

抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C Y F R A のレベルを測定するステップ、( b ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( b ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C R P のレベルを測定するステップ 10  
( c ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は T I M P - 1 または T I M P - 1 のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない T I M P - 1 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の T I M P - 1 レベルを、( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって T I M P - 1 のレベルを測定するステップ、( d ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C A 1 20  
9 - 9 または C A 1 9 - 9 のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、ならびに( e ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は A F P または A F P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - A F P 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - A F P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない A F P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - A F P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の A F P レベルを、( e ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - A F P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって A F P のレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、 s c F v 、キメラ抗体、單一ドメイン抗体、 C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、 F a b 、二重特異性抗体、 D V D 、 F a b ' 、二特異的抗体、 F ( a 40  
b ' ) 2 および F v からなる群から選択され得る。方法は、メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクトベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、およびこれらの組合せからなる群から選択される生物学的試料中の C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。がんは、肺、卵巣、乳房、腎臓、肛門管、原発不明、 B 細胞リンパ腫、子宮、前立腺、胆 50

囊、喉頭、悪性メラノーマ、膵臓、C L L、悪性ミエローマ、精巣、小腸、膀胱、胃、中皮腫、副腎、神経内分泌または食道のがんであってよい。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、(a) 対象の生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを定量するための、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CRPに特異的に結合することができる試薬、TIMP-1に特異的に結合することができる試薬、CA19-9に特異的に結合することができる試薬、およびAFPに特異的に結合することができる試薬、ならびに(b) CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルを指示示す参照標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)、またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも1つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)、またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示示す参照標準をさらに含むことができる。  
10

#### 【0012】

本発明は、男性対象が、直腸結腸がん(CRC)がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法に対するものであって、男性対象は、CRCを有さないと結腸鏡検査によって確定された。方法は、(a) 男性対象から生物学的試料を得るステップ、(b) 男性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)、メタロプロテイナーゼの組織インヒビター-1(TIMP-1)、糖鎖抗原19-9(CA19-9)およびアルファ-フェトプロテイン(AFP)のレベルを決定するステップ、(c) 生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルをCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルと比較するステップ、(d) CYFRAスコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(e) CRPスコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(f) TIMP-1スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のTIMP-1のレベルがTIMP-1の基準レベルより高い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のTIMP-1のレベルがTIMP-1の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(g) CA19-9スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCA19-9のレベルがCA19-9の基準レベルより低い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCA19-9のレベルがCA19-9の基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(h) AFPスコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のAFPのレベルがAFPの基準レベルより低い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のAFPのレベルがAFPの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(i) CYFRAスコア、CRPスコア、TIMP-1スコア、CA19-9スコアおよびAFPスコアを加算して合計スコアを得るステップ、  
20  
30  
40  
50

ップ、ならびに( j )合計スコアが基準スコアより高い場合、C R C以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという男性対象の診断を提供するステップを含む。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのカットオフ値であってよい。基準群は、対照群またはがん群からなる群から選択され得る。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルは、CYFRAについて血清中1.0ng/mL、1.1ng/mL、1.2ng/mL、1.3ng/mL、1.4ng/mL、1.5ng/mL、1.6ng/mL、1.7ng/mL、1.8ng/mL、1.9ng/mL、2.0ng/mL、2.1ng/mL、2.2ng/mL、2.3ng/mL、2.4ng/mL、2.5ng/mL、3.0ng/mLまたは3.5ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCRPについて血清中14.0mg/mL、14.1mg/mL、14.2mg/mL、14.3mg/mL、14.4mg/mL、14.5mg/mL、14.6mg/mL、14.7mg/mL、14.8mg/mL、14.9mg/mL、15.0mg/mL、15.1mg/mL、15.2mg/mL、15.3mg/mL、15.4mg/mL、15.5mg/mL、15.6mg/mL、15.7mg/mL、15.8mg/mL、15.9mg/mL、16.0mg/mL、16.1mg/mL、16.2mg/mL、16.3mg/mL、16.4mg/mL、16.5mg/mL、17.0mg/mLまたは17.5mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、TIMP-1について血清中140ng/mL、141ng/mL、142ng/mL、143ng/mL、144ng/mL、145ng/mL、146ng/mL、147ng/mL、148ng/mL、149ng/mL、150ng/mL、151ng/mL、152ng/mL、153ng/mL、154ng/mL、155ng/mL、156ng/mL、157ng/mL、158ng/mL、159ng/mLまたは160ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9について血清中24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mLまたは26.5U/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびAFPについて血清中5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.4ng/mL、5.5ng/mL、5.6ng/mL、5.7ng/mL、5.8ng/mL、5.9ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.5ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはそれより高いレベルであってよい。CYFRAの基準レベルは少なくとも約2.13ng/mLであってよく、CRPの基準レベルは少なくとも約15.4mg/mLであってよく、TIMP-1の基準レベルは少なくとも約148ng/mLであってよく、CA19-9の基準レベルは少なくとも約25.0U/mLであってよく、AFPの基準レベルは少なくとも約6.7ng/mLであってよい。基準スコアは0、1、2、3、4または5であってよい。合計スコアが1より高い場合、対象はC R C以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。方法は、がん処置レジメンまたはがんモニタリングレジメンを、C R C以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。がん処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも1つを対象に施すステップを含むことができる。がんモニタリングレジメンは、定期的な間隔でCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップを含むことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップは、CYFRA、CRP、TIMP-10

20

30

40

50

1、CA19-9およびAFPに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合する分子は、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合することができる少なくとも1つの抗体を含むことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップは、生物学的試料を、CYFRAに特異的に結合する抗体、CRPに特異的に結合する抗体、TIMP-1に特異的に結合する抗体、CA19-9に特異的に結合する抗体、AFPに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップは、少なくとも1つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPについて生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、(a) CYFRAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(b) CRPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(c) TIMP-1に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、(d) CA19-9に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、ならびに(e) AFPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を含む。免疫学的方法は、(a)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCYFRAまたはCYFRAのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCYFRA上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CYFRA抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(ii)試験試料中のCYFRAレベルを、(a)(ii)において形成された捕捉抗体-CYFRA抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCYFRAのレベルを測定するステップ、(b)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCRPまたはCRPのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CRPA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CRPA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCRP上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CRPA抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(ii)試験試料中のCRPレベルを、(b)(ii)において形成された捕捉抗体-CRPA抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCRPのレベルを測定するステップ、(c)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はTIMP-1またはTIMP-1のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-TIMP-1抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-TIMP-1抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないTIMP-1上のエピトープに結合し、捕捉抗体-TIMP-1抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(ii)試験試料中のTIMP-1レベルを、(c)(ii)において形成された捕捉抗体-TIMP-1抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってTIMP-1のレベルを測定するステップ、(d)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCA19-9またはCA19-9のフラグ

メント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、ならびに ( e ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は A F P または A F P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - A F P 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - A F P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない A F P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - A F P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の A F P レベルを、( e ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - A F P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって A F P のレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、 s c F v 、キメラ抗体、單一ドメイン抗体、 C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、 F a b 、二重特異性抗体、 D V D 、 F a b ' 、二特異的抗体、 F ( a b ' ) 2 および F v からなる群から選択され得る。方法は、メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、およびこれらの組合せからなる群から選択される生物学的試料中の C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。がんは、肺、卵巣、乳房、腎臓、肛門管、原発不明、 B 細胞リンパ腫、子宮、前立腺、胆嚢、喉頭、悪性メラノーマ、肺臓、 C L L 、悪性ミエローマ、精巣、小腸、膀胱、胃、中皮腫、副腎、神経内分泌または食道のがんであってよい。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットを対象とする。キットは、( a ) 対象の生物学的試料中の C Y F R A 、 C R P 、 T I M P - 1 、 C A 1 9 - 9 および A F P のレベルを定量するための、 C Y F R A に特異的に結合することができる試薬、 C R P に特異的に結合することができる試薬、 T I M P - 1 に特異的に結合することができる試薬、 C A 1 9 - 9 に特異的に結合することができる試薬、および A F P に特異的に結合することができる試薬、ならびに ( b ) C Y F R A 、 C R P 、 T I M P - 1 、 C A 1 9 - 9 および A F P の基準レベルを指示する参照標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる、少なくとも 1 つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、またはこれらの組合せ

10

20

30

40

50

の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指し示す参照標準をさらに含むことができる。

【 0 0 1 3 】

本発明は、女性対象が、直腸結腸がん ( C R C ) がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法に対するものであって、女性対象は、結腸鏡検査によって C R C を有さないと確定された。方法は、( a ) 女性対象から生物学的試料を得るステップ、( b ) 女性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン 19 フラグメント ( C Y F R A ) 、がん胎児性抗原 ( C E A ) および C 反応性タンパク質 ( C R P ) のレベルを決定するステップ、( c ) 生物学的試料中の C Y F R A 、 C E A および C R P のレベルを、 C Y F R A 、 C E A および C R P の基準レベルと比較するステップ、ならびに( d ) 生物学的試料中の C Y F R A 、 C E A および C R P のレベルが C Y F R A 、 C E A および C R P の基準レベルより高い場合、 C R C 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという女性対象の診断を提供するステップを含む。 C Y F R A 、 C E A および C R P の基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定される C Y F R A 、 C E A および C R P のカットオフ値であってよい。基準群は対照群およびがん群からなる群から選択されてよい。 C Y F R A 、 C E A および C R P の基準レベルは、 C Y F R A について血清中 1.0 ng / mL 、 1.1 ng / mL 、 1.2 ng / mL 、 1.3 ng / mL 、 1.4 ng / mL 、 1.5 ng / mL 、 1.6 ng / mL 、 1.7 ng / mL 、 1.8 ng / mL 、 1.9 ng / mL 、 2.0 ng / mL 、 2.1 ng / mL 、 2.2 ng / mL 、 2.3 ng / mL 、 2.4 ng / mL 、 2.5 ng / mL 、 3.0 ng / mL または 3.5 ng / mL に等しくまたはそれより高く、それに組み合わせて C E A について血清中 4.0 ng / mL 、 4.1 ng / mL 、 4.2 ng / mL 、 4.3 ng / mL 、 4.4 ng / mL 、 4.5 ng / mL 、 4.6 ng / mL 、 4.7 ng / mL 、 4.8 ng / mL 、 4.9 ng / mL 、 5.0 ng / mL 、 5.1 ng / mL 、 5.2 ng / mL 、 5.3 ng / mL 、 5.4 ng / mL 、 5.5 ng / mL 、 5.6 ng / mL 、 5.7 ng / mL 、 5.8 ng / mL 、 5.9 ng / mL 、 6.0 ng / mL 、 6.1 ng / mL 、 6.2 ng / mL 、 6.3 ng / mL 、 6.4 ng / mL 、 6.5 ng / mL 、 6.6 ng / mL 、 6.7 ng / mL 、 6.8 ng / mL 、 6.9 ng / mL 、 7.0 ng / mL または 7.5 ng / mL に等しくまたはそれより高いレベル、および C R P について血清中 9.0 mg / mL 、 9.1 mg / mL 、 9.2 mg / mL 、 9.3 mg / mL 、 9.4 mg / mL 、 9.5 mg / mL 、 9.6 mg / mL 、 9.7 mg / mL 、 9.8 mg / mL 、 9.9 mg / mL 、 10.0 mg / mL 、 10.1 mg / mL 、 10.2 mg / mL 、 10.3 mg / mL 、 10.4 mg / mL 、 10.5 mg / mL 、 10.6 mg / mL 、 10.7 mg / mL 、 10.8 mg / mL 、 10.9 mg / mL 、 11.0 mg / mL 、 11.5 mg / mL または 12.0 mg / mL に等しくまたはそれより高いレベルであってよい。 C Y F R A の基準レベルは少なくとも約 2.06 ng / mL であってよく、 C E A の基準レベルは少なくとも約 5.7 ng / mL であってよく、 C R P の基準レベルは少なくとも約 10.4 mg / mL であってよい。基準スコアは 0 、 1 、 2 または 3 であってよい。合計スコアが 1 より高い場合、対象は C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。方法は、がん処置レジメンまたはがんモニタリングレジメンを、 C R C 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。がん処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含むことができる。がんモニタリングレジメンは、定期的な間隔で C Y F R A 、 C E A および C R P のレベルを決定するステップを含むことができる。 C Y F R A 、 C E A および C R P のレベルを決定するステップは、 C Y F R A 、 C E A および C R P に特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。 C Y F R A 、 C E A および C R P に特異的に結合する分子は、 C Y F R A 、 C E A および C R P に特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含むことができる。 C Y F R A 、 C E A および C R P のレベルを決定するステップは、生物学的試料を、 C Y

10

20

30

40

50

F R A に特異的に結合する抗体、 C E A に特異的に結合する抗体、 C R P に特異的に結合する抗体、 およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。 C Y F R A 、 C E A および C R P のレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、 およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、 C Y F R A 、 C E A および C R P に対して生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の C Y F R A 、 C E A および C R P の量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、 および検出可能な標識で標識された抗体は、 ( a ) C Y F R A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、 および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、 ( b ) C E A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、 および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに ( c ) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、 および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む。免疫学的方法は、 ( a ) ( i ) 試験試料を、少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、 ( i i ) 捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、 および ( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、 ( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C Y F R A のレベルを測定するステップ、 ( b ) ( i ) 試験試料を、少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C E A または C E A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を形成するステップ、 ( i i ) 捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C E A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、 および ( i i i ) 試験試料中の C E A レベルを、 ( b ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C E A のレベルを測定するステップ、 ( c ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、 ( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、 および ( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、 ( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C R P のレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されている F v 、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、 s c F v 、キメラ抗体、單ードメイン抗体、 C D R グラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、 F a b 、二重特異性抗体、 D V D 、 F a b ' 、二特異的抗体、 F ( a b ' ) 2 および F v からなる群から選択されてよい。方法は、メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、 およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。

きる。がんは、肺、卵巣、乳房、腎臓、肛門管、原発不明、B細胞リンパ腫、子宮、前立腺、胆嚢、喉頭、悪性メラノーマ、臍臓、C LL、悪性ミエローマ、精巣、小腸、膀胱、胃、中皮腫、副腎、神経内分泌または食道のがんであってよい。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットにも対する。キットは、(a) 対象の生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを定量するための、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CEAに特異的に結合することができる試薬、およびCRPに特異的に結合することができる試薬、ならびに(b) CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルを指し示す参照標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる少なくとも1つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指し示す参照標準をさらに含むことができる。  
10

#### 【0014】

本発明は、女性対象が、直腸結腸がん(CRC)がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法に対するものであって、女性対象は結腸鏡検査によってCRCを有さないと確定された。方法は、(a)女性対象から生物学的試料を得るステップ、(b)女性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、がん胎児性抗原(CEA)およびC反応性タンパク質(CRP)のレベルを決定するステップ、(c)生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを、CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルと比較するステップ、(d)CYFRAスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(e)CEAスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(f)CRPスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(g)CYFRAスコア、CEAスコアおよびCRPスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(h)合計スコアが基準スコアより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという女性対象の診断を提供するステップを含む。CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルは、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCYFRA、CEAおよびCRPのカットオフ値であってよい。基準群は対照群およびがん群からなる群から選択されてよい。CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルは、CYFRAについて血清中1.0ng/mL、1.1ng/mL、1.2ng/mL、1.3ng/mL、1.4ng/mL、1.5ng/mL、1.6ng/mL、1.7ng/mL、1.8ng/mL、1.9ng/mL、2.0ng/mL、2.1ng/mL、2.2ng/mL、2.3ng/mL、2.4ng/mL、2.5ng/mL、3.0ng/mLまたは3.5ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCEAについ  
20  
30  
40  
50

て血清中 4.0 ng / mL、4.1 ng / mL、4.2 ng / mL、4.3 ng / mL、4.4 ng / mL、4.5 ng / mL、4.6 ng / mL、4.7 ng / mL、4.8 ng / mL、4.9 ng / mL、5.0 ng / mL、5.1 ng / mL、5.2 ng / mL、5.3 ng / mL、5.4 ng / mL、5.5 ng / mL、5.6 ng / mL、5.7 ng / mL、5.8 ng / mL、5.9 ng / mL、6.0 ng / mL、6.1 ng / mL、6.2 ng / mL、6.3 ng / mL、6.4 ng / mL、6.5 ng / mL、6.6 ng / mL、6.7 ng / mL、6.8 ng / mL、6.9 ng / mL、7.0 ng / mL または 7.5 ng / mL に等しくまたはそれより高いレベル、および C R P について 10 血清中 9.0 mg / mL、9.1 mg / mL、9.2 mg / mL、9.3 mg / mL、9.4 mg / mL、9.5 mg / mL、9.6 mg / mL、9.7 mg / mL、9.8 mg / mL、9.9 mg / mL、10.0 mg / mL、10.1 mg / mL、10.2 mg / mL、10.3 mg / mL、10.4 mg / mL、10.5 mg / mL、10.6 mg / mL、10.7 mg / mL、10.8 mg / mL、10.9 mg / mL、11.0 mg / mL、11.5 mg / mL または 12.0 mg / mL に等しくまたはそれより高いレベル 20 であってよい。C Y F R A の基準レベルは少なくとも約 2.06 ng / mL であってよく、C E A の基準レベルは少なくとも約 5.7 ng / mL であってよく、C R P の基準レベルは少なくとも約 10.4 mg / mL であってよい。基準スコアは 0、1、2 または 3 であってよい。合計スコアが 1 より高い場合、対象は C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断され得る。方法は、がん処置レジメンまたはがんモニタリングレジメンを、C R C 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含むことができる。がん処置レジメンは、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含むことができる。がんモニタリングレジメンは、定期的な間隔で C Y F R A、C E A および C R P のレベルを決定するステップを含むことができる。C Y F R A、C E A および C R P のレベルを決定するステップは、C Y F R A、C E A および C R P に特異的に結合する分子での免疫学的方法を含むことができる。C Y F R A、C E A および C R P に特異的に結合する分子は、C Y F R A、C E A および C R P に特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含むことができる。C Y F R A、C E A および C R P のレベルを決定するステップは、生物学的試料を、C Y F R A に特異的に結合する抗体、C E A に特異的に結合する抗体、C R P に特異的に結合する抗体、およびこれら 30 の組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴うことができる。C Y F R A、C E A および C R P のレベルを決定するステップは、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、C Y F R A、C E A および C R P に 40 対して生物学的試料をアッセイするステップを伴うことができ、生物学的試料中の C Y F R A、C E A および C R P の量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、( a ) C Y F R A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、( b ) C E A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および 40 検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、( c ) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに( c ) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む。免疫学的方法は、( a ) ( i ) 試験試料を、少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C Y F R A 50

のレベルを測定するステップ、(b)(i)試験試料を、少なくとも1つの捕捉抗体と接觸させるステップであって、捕捉抗体はCEAまたはCEAのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CEA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CEA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接觸させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCEA上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CEA抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のCEAレベルを、(b)(i)において形成された捕捉抗体-CEA抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCEAのレベルを測定するステップ、(c)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接觸させるステップであって、捕捉抗体はCRPまたはCRPのフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体-CRP抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体-CRP抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接觸させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCRP上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CRP抗原-検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のCRPレベルを、(c)(i)において形成された捕捉抗体-CRP抗原-検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってCRPのレベルを測定するステップを含むことができる。抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフイド連結されているFv、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、scFv、キメラ抗体、単一ドメイン抗体、CDRグラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Fab、二重特異性抗体、DVD、Fab'、二特異的抗体、F(ab')2およびFvからなる群から選択されてよい。方法は、メチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Gal3)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)、およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中のCRC以外のがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびにCRC以外のがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを、CRC以外のがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。がんは、肺、卵巣、乳房、腎臓、肛門管、原発不明、B細胞リンパ腫、子宮、前立腺、胆嚢、喉頭、悪性メラノーマ、脾臓、CLL、悪性ミエローマ、精巣、小腸、膀胱、胃、中皮腫、副腎、神経内分泌または食道のがんであってよい。対象はヒトであってよい。対象の生物学的試料は、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択されてよい。対象の生物学的試料は血漿または血清であってよい。本発明は、前記方法を行うためのキットにも対する。キットは、(a)対象の生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを定量するための、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CEAに特異的に結合することができる試薬、およびCRPに特異的に結合することができる試薬、ならびに(b)CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルを指示する参照標準を含む。キットは、生物学的試料中の少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Gal3)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる少なくとも1つの付加的な試薬、ならびに生物学的試料中のメチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Gal3)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)またはこれらの組合せの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指示する参照標準をさらに含むことができる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0015】

【図1】アウトカム1の試験の分布および男性対象を示す図である。

【図2】アウトカム5の試験の分布および男性対象を示す図である。

【図3】アウトカム12の試験の分布および男性対象を示す図である。

【図4】アウトカム1の試験の分布および女性対象を示す図である。

【図5】アウトカム5の試験の分布および女性対象を示す図である。

【図6】アウトカム12の試験の分布および女性対象を示す図である。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0016】

10

本発明は、直腸結腸がんを同定し、診断し、処置することを必要とする対象において、直腸結腸がんを同定し、診断し、処置するために、アルファ-フェトプロテイン ( AFP ) 、がん胎児性抗原 ( CEA ) 、フェリチン、 CYFRA 21-1 ( CYFRA ) 、糖鎖抗原 19-9 ( CA 19-9 ) 、メタロプロテイナーゼの組織インヒビター-1 ( TIMP-1 ) 、ガレクチン-3 ( Ga13 ) および C 反応性タンパク質 ( CRP ) のレベルを分析することに対するものである。バイオマーカーは、直腸結腸がんを有する患者を同定または診断するのを助けることを含む、同定または診断のために、患者が直腸結腸がんまたは高リスク腺腫に罹患しているか否かを同定し、または同定するのを助けるために、 CRC 構造スクリーニングレジメンまたは CRC 処置レジメンに対する候補として患者を同定し、または同定するのを助けるために、直腸結腸がんを発症する患者のリスクを分類するために、および診断、予後診断もしくは処置レジメンを決定し、または決定するのを助けるために使用され得る。本明細書に記載する方法は、同定および診断のために、他のバイオマーカー、ならびに年齢および / または他の疾患との同時罹患率のような他の因子と組み合わせて使用され得、高リスク腺腫および / または CRC に罹患している患者を同定または診断するのを助けるステップを含む。本明細書に記載する方法は、自動化システムまたは半自動化システムにおいて使用するように適用され得る。本発明の方法は、同定および診断するために AFP 、 CEA 、フェリチン、 CYFRA 、 CA 19-9 、 TIMP-1 、 Ga13 および CRP のバイオマーカーの独特的な組合せを使用することによって、以前の直腸結腸がんの診断方法を凌いで異なり、直腸結腸がんに罹患している患者を同定または診断するまでの助けを含む。これらの方法は、対象における直腸結腸がんのリスクを正確に予想し、決定することができる。これらの方法は、確定のために結腸鏡検査に照会されるべき高リスク患者に対してスクリーニングするために、および結腸鏡検査を必要としない低リスク患者に対してもスクリーニングするためにも使用され得る。結腸鏡検査を、 CRC を有するリスクのある個体に制限することは、全体のスクリーニング手順の対費用効果を改善する。

20

## 【0017】

本セクションにおいて使用されるセクションの表題および本明細書の全体的な開示は、単に編成上の目的にすぎず、限定的なものを意図するものではない。

## 【0018】

30

## 1. 定義

40

別段の規定がなければ、本明細書で使用される技術用語および科学用語は全て、当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。抵触の場合には、定義を含めて、本明細書が規制する。好ましい方法および材料は以下に記載されるものであるが、本明細書に記載する方法および材料と同様または等価の方法および材料が、本発明の実践または試験において使用され得る。本明細書に言及される全ての出版物、特許出願、特許および他の参考文献は全文が参照により組み込まれる。本明細書に開示される材料、方法および例は例示にすぎず、限定的なものを意図するものではない。

## 【0019】

本明細書で使用される、単数形の「一つの ( a ) 」、「一つの ( an ) 」および「その ( the ) 」は、文脈が他の点で明らかに指示しなければ、複数の指示対象を含む。本明

50

細書における数値範囲の列挙に対して、その間に介在する各数が、同程度の正確さで明らかに企図される。例えば、6 - 9という範囲に対して、6および9に加えて7および8という数が企図され、6.0 - 7.0という範囲に対して、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9および7.0という数が明らかに企図される。

【0020】

「または」の使用は、別段の記載がなければ「および／または」を意味する。さらに、「含めた (including)」および「有する (having)」の語の使用は、「含む (includes)」、「含まれる (included)」、「有する (has)」および「有する (have)」のようなこれらの語の他の形態同様、限定的ではない。

10

【0021】

本明細書および特許請求の範囲を通して使用される以下の語は、以下の意味を有する：

「腺腫」の語は、良性でも、または悪性でもよい、腺を起源とする上皮細胞の成長を意味する。これらは腺腫性ポリープとも呼ばれる。腺腫は有茎 (pedunculated) (細い柄を有する大型の頭部) でも、または無茎 (幅広い基部) でもよい。腺腫は、管状腺腫、腺管絨毛腺腫、絨毛腺腫および扁平腺腫と分類され得る。腺腫は腺癌腫でもよい。腺腫は、ヒト患者からの腺腫であってよく、10 cmを超える大型腺腫でも、5 cm未満の小型腺腫でも、または長さ 0.5 cm から 1.5 cm の間の腺腫でもよい。腺腫は、腺上皮から生じ、形成異常の形態を有する。これら腺腫のうちいくつかは大型のポリープに成熟し、異常な成長および発生を経験し、最終的にCRCに進行する。

20

【0022】

「結腸の腺腫」は腺腫様ポリープまたは管状腺腫とも呼ばれ、極めて蔓延しており、通常結腸鏡検査で見出される。切除されるポリープのうち約70%がこのタイプである。腺腫は、がんのリスクを有し、リスクはポリープがより大きく成長するに従って生じる。腺腫様ポリープは通常、症状を引き起こさないが、早期検出された場合、いかなるがん細胞が形成する前に結腸鏡検査の間に除去され得る。これらのポリープは徐々に成長し、がんに変わるために数年かかることがある。これらは悪性になり、おそらく結腸がんをまねく傾向があるため、除去される。

【0023】

絨毛腺腫および腺管絨毛腺腫は、除去されるポリープのうち約15%を占める。これらは最も重症なタイプのポリープであり、より大型に成長するためがんのリスクは非常に高い。しばしば、これらは無茎であり（柄がない）、そのため除去がより困難になる。より小型のものは、ときに数回の結腸鏡検査にわたって、小片において除去され得る。大型の無茎の絨毛腺腫は、完全に除去するのに外科手術を必要とし得る。

30

【0024】

本明細書において交換可能に使用される、「アルファ - フェトプロテイン」または「AFP」は、ヒトの AFP 遺伝子によってコードされるタンパク質を意味する。AFP はときに、- フェトプロテイン、アルファ - 1 - フェトプロテイン、アルファ - フェトグロブリンおよびアルファ胎児性タンパクとして知られる。AFP 遺伝子は、第 4 染色体の q アーム上に位置する。AFP は、胎児発生の間、卵黄嚢および肝臓によって生成される主要な血漿タンパク質である。これは胎児型の血清アルブミンであると考えられている。AFP は、銅、ニッケル、脂肪酸およびビリルビンに結合し、单量体、二量体および三量体の形態で見出される。AFP はアミノ酸 591 個および炭水化物モイエティの糖タンパク質である。AFP は、Abbott ARCHITECT (登録商標) AFP を使用して検出および定量され得る。

40

【0025】

「曲線下面積」または「AUC」は ROC 曲線下の面積を意味する。ROC 曲線下の AUC は、正確さの尺度である。面積が 1 であれば試験が完璧であることを表し、面積が 0.5 であれば試験は意味がないことを表す。好ましい AUC は、少なくともおよそ 0.700、少なくともおよそ 0.750、少なくともおよそ 0.800、少なくともおよそ 0

50

. 850、少なくともおよそ0.900、少なくともおよそ0.910、少なくともおよそ0.920、少なくともおよそ0.930、少なくともおよそ0.940、少なくともおよそ0.950、少なくともおよそ0.960、少なくともおよそ0.970、少なくともおよそ0.980、少なくともおよそ0.990、または少なくともおよそ0.995であってよい。

#### 【0026】

本明細書で使用される、「C3a」は、補体成分3の切断によって形成されるタンパク質のうちの1つを意味し、その他はC3bである。C3aは、肥満細胞の脱顆粒を刺激し、よって免疫応答を引き起す。C3aは化学走性において重要な役割を果たす。C3aはアナフィラトキシンでもあり、カルボキシペプチダーゼBとの相互作用を介した重要なサイトカイン（アディポカイン）であるASPの前駆物質である。

#### 【0027】

本明細書で使用される、「がん」は、身体における異常な細胞の非制御および非調節性の成長を意味する。がん性細胞は悪性細胞とも呼ばれる。がんは、身体の近傍部分に浸潤し得、リンパ系または血流を介して身体のより遠位部分にやはり広がり得る。がんは、副腎皮質癌腫、肛門がん、膀胱がん、脳腫瘍、乳がん、カルチノイド腫瘍、消化管、原発不明の癌腫、頸部がん、結腸がん、子宮内膜がん、食道がん、肝外胆管がん、ユーイングファミリーの腫瘍（PNET）、頭蓋外胚細胞腫瘍、眼内メラノーマ、眼がん、胆嚢がん、胃がん（胃）、性腺外生殖細胞腫瘍、妊娠性絨毛性腫瘍、頭部および頸部のがん、下咽頭がん、島細胞癌腫、腎臓がん（腎細胞がん）、喉頭がん、急性リンパ性白血病、白血病、急性骨髓性、慢性リンパ性白血病、慢性骨髓性白血病、ヘアリー細胞白血病、舌および口腔のがん、肝臓がん、非小細胞肺がん、小細胞肺がん、AIDS関連リンパ腫、中枢神経系（原発）リンパ腫、皮膚T細胞リンパ腫、ホジキン病リンパ腫、非ホジキン病リンパ腫、悪性中皮腫、メラノーマ、メルケル細胞癌腫、原発不明の転移性扁平上皮頸部がん（Metastatic Squamous Neck Cancer with Occult Primary）、多発性骨髓腫および他の形質細胞新生物、菌状息肉腫、骨髓異形成症候群、骨髓増殖性障害、鼻咽腔がん、神経芽細胞腫（euroblastoma）、口腔がん、中咽頭がん、骨肉腫、卵巣上皮がん、卵巣胚細胞腫瘍、膵臓がん、外分泌、膵臓がん、島細胞癌腫、副鼻腔および鼻腔のがん、副甲状腺がん、陰茎がん、下垂体がん、形質細胞新生物、前立腺がん、横紋筋肉腫、直腸がん、腎細胞がん（腎臓のがん）、移行細胞腎孟および尿管、唾液腺がん、セザリー症候群、皮膚がん、小腸がん、軟部組織肉腫、精巣がん、悪性胸腺腫、甲状腺がん、尿道がん、子宮がん、小児期の異常ながん、腫がん、外陰がんおよびウィルムス腫瘍を含む。

#### 【0028】

本明細書で使用される、「がん対象」の語は、CRC、高リスク腺腫、および/またはCRC以外のがんの臨床的な徴候もしくは症状を有する対象を意味する。がん対象は、CRC、高リスク腺腫、および/またはCRC以外のがんの徴候または症状に対して臨床的に評価され、この評価は、ルーチンの身体検査および/または臨床検査を含むことができる。本明細書で使用される、「がん群」は、がん対象、またはCRC、高リスク腺腫、および/もしくはCRC以外のがんの臨床的な徴候もしくは症状を有する対象の群を意味する。

#### 【0029】

本明細書で交換可能に使用される、「糖鎖抗原19-9」、「CA19-9」または「CA19-9」は、ヒト直腸結腸がん細胞系に由来するムチン-糖タンパク質を意味する。これは、ルイス血液型タンパク質に関連し、胃、胆嚢、膵臓および前立腺の上皮組織に存在する。CA19-9は、膵臓がんのマネージメントにおける助けとして使用するのにFDAに認可されており、CTおよびMRIの画像化手順のような他の診断情報と組み合わせて使用されることが意図される。CA19-9は、シアル酸付加されたルイス血液型抗原に属する。ある個体はルイス抗原陰性であるため、CA19-9が検出不可能であることがある。血清CA19-9の増大は、膵炎および他の消化器障害のような非悪性状態

10

20

30

40

50

を有する患者においてやはり上昇し得る (Abbott ARCHITECT CA19-9 XR添付文書015-550 11/05)。CA19-9レベルの上昇は、いくつかのCRCがんに対して参考になり得る。CA19-9は、Abbott ARCHITECT (登録商標) CA19-9 XRを使用して検出および定量され得る。

#### 【0030】

本明細書で交換可能に使用される、「がん胎児性抗原」または「CEA」は、グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) - 細胞表面係留糖タンパク質を意味し、この糖タンパク質の特化されたシアロフコシル化糖型が、機能的な結腸癌腫のL-セクレチンおよびE-セクレチンのリガンドとして働く。CEAは細胞接着に関与する。CEAは、サイズおよそ200kDaである糖タンパク質によって特徴付けられる腫瘍関連抗原である。CEAはFDAに認可されており、CEAの濃度が変化する患者における、がん患者の予後およびマネージメントにおける助けとして使用されることが意図される。CEAは、CRCに関連するマーカーであり、CRCを含めたGIがんのモニタリングに臨床的に認可されている。CEAがいくつかのCRCを検出する性能は特徴付けられている。臨床上の関連性は、直腸結腸がん、胃がん、肺がん、前立腺がん、膵臓がんおよび卵巣がんにおいて示されている (Abbott ARCHITECT CEA添付文書34-4067/R4)。CEAは、Abbott ARCHITECT (登録商標) CEAを使用して、検出および定量され得る。

#### 【0031】

本明細書で交換可能に使用される、「心血管疾患」、「心血管障害」または「CVD」の語は、心臓および循環器系に影響を及ぼす数々の疾患を意味する。心血管疾患は、それだけには限定されないが、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、急性冠動脈症候群、狭心症、うっ血性心不全、大動脈瘤、大動脈解離、腸骨または大腿動脈瘤、肺塞栓症、本態性高血圧、心房細動、発作、一過性虚血発作、収縮不全、拡張不全、心筋炎、心房性頻脈、心室細動、心内膜炎、動脈症、血管炎、動脈硬化性plaque、不安定plaque、急性冠動脈症候群、急性虚血性発作、突然心臓死、末梢血管疾患、冠動脈疾患 (CAD)、末梢動脈疾患 (PAD) および脳血管疾患を含めた疾患および状態を包含する。

#### 【0032】

本明細書で交換可能に使用される、「カテプシンX」または「CatX」は、悪性進行のメカニズムに関与する、リソソームのシステインプロテアーゼを意味し、免疫系の障害および神経変性疾患に関連する。CatXは、カテプシンB2、システイン型カルボキシペプチダーゼ、カテプシンIV、カテプシンZ、酸カルボキシペプチダーゼ、およびリソソームのカルボキシペプチダーゼBとしても知られる。CatXは、腫瘍細胞から酵素前駆体として分泌され、がん患者に対する疾患状態および死亡のリスクを予想するように、ならびに特定の処置の応答性を予想するように働き得る。CatXが高血清レベルであることは、直腸結腸患者の全生存がより短いことに相關する。

#### 【0033】

本明細書で交換可能に使用される、「直腸結腸がん」または「CRC」は、大腸 (結腸) または直腸 (結腸の終端) に生じるがんを意味する。ほぼ全てのCRCが、非がん性 (良性) のポリープとして始まり、徐々にがんに発達する。本明細書で使用される、「結腸がん」は、大腸 (結腸) のがんを意味する。本明細書で使用される、「直腸がん」は、肛門につながる結腸の最後の数インチのがんを意味する。

#### 【0034】

本明細書で使用される、「対照の対象」の語は、健常対象、すなわち、CRC、高リスク腺腫、またはCRC以外のがんの臨床上の徵候または症状のない対象を意味する。対照の対象は、低リスク腺腫を有し得るが、CRCを含めたあらゆるがん、または高リスク腺腫を有さない。対照の対象は、CRC、高リスク腺腫、またはCRC以外のがんの、他の方法では非検出の徵候または症状に対して臨床的に評価されており、この評価は、ルーチンの身体検査および/または臨床検査を含むことができる。本明細書で使用される、「対照群」は、対照の対象または健常対象の群、すなわち、CRC、高リスク腺腫、またはC

10

20

30

40

50

R C 以外のがんの臨床上の徵候または症状を有さない対象の群を意味する。

【 0 0 3 5 】

本明細書で交換可能に使用される、「C 反応性タンパク質」または「C R P」は、血漿中に見出される環状五量体タンパク質を意味する。C R Pは、そのレベルが炎症に応答して上昇する、急性期タンパク質である。C R Pは、C 1 Q 複合体によって補体系を活性化するために、死滅した細胞または死滅しつつある細胞（およびいくつかのタイプの細菌）の表面上に発現されるホスホコリンに結合する。C R Pは、マクロファージおよび脂肪細胞（アディポサイト）によって遊離される因子に応答して、肝臓によって合成される。C R Pはアミノ酸 2 2 4 個を有し、単量体分子量 2 5 1 0 6 D a を有し、環状五量体の円盤形状を有する。レーザー比濁分析計を使用して低レベルのC R Pを測定するのに、高感度C R P ( h s - C R P ) 検査が使用され得る。検査は、2 5 分で結果を生じ、感度は 0 . 0 4 m g / L である。炎症は、がん発生における初期の特質であり、C R P測定は、がんに対する患者のリスクを評価する上で助けとなり得る。

【 0 0 3 6 】

本明細書で交換可能に使用される、「C Y F R A 2 1 - 1」または「C Y F R A」は、血清中に可溶であり、有用な循環性の腫瘍マーカーであり得る、サイトケラチン 1 9 フラグメントを意味する。サイトケラチンは、その発現が悪性転換の間に失われない、上皮性タンパク質である。全ての体液中で発現されるが、C Y F R A の主な出現は肺中である。上皮細胞に関連する癌腫を有する患者においてレベルが顕著に上昇する。C Y F R A および他のサイトケラチンフラグメントは、多くのC R C 患者において上昇し得る。C Y F R A は、A b b o t t A R C H I T E C T (登録商標) C Y F R A 2 1 - 1 を使用して検出および定量され得る。

【 0 0 3 7 】

本明細書で交換可能に使用される、「糖尿病」または「糖尿病状態」は、身体がインスリンを正しく生成または使用しない疾患を意味する。糖尿病状態は、自己免疫性および特発性 1 型糖尿病および 2 型糖尿病を含めた様々なタイプの糖尿病を含む。糖尿病は、世界保健機構によって、空腹時血漿グルコース濃度が 7 . 0 m m o l / l ( 1 2 6 m g / d l ) に等しくもしくはそれより高く、または 2 時間グルコースレベルが 1 1 . 1 m m o l / l ( 2 0 0 m g / d l ) に等しくもしくはそれより高いと定義される。1 型糖尿病は、身体が実際にいかなるインスリンも生成することができない、自己免疫疾患である。1 型糖尿病はベータ細胞の完全な喪失によって特徴付けられ、そのため患者は注射によるインスリンを必要とする。1 型糖尿病は、全糖尿病の 1 0 - 1 5 % を占める。1 型糖尿病は自己抗体に強く関連付けられ、この関連が 1 型糖尿病の定義 / 分類の一部となっている。2 型糖尿病は、身体が十分なインスリンを作ることができず、または適切に使用することができないことに起因する代謝障害である。2 型糖尿病は、最も一般的な形態の疾患であり、糖尿病の 8 5 - 9 0 % を占める。糖尿病状態は糖尿病前症も含むことができ、糖尿病前症は、患者のグルコースレベルが正常を超えるが、未だ糖尿病に確立されるレベルではない生理学的状態を意味する。最終的に 2 型糖尿病を発症する、糖尿病前症と診断される個体はいくらか存在するが、糖尿病前症状態を有する多くの個体は転換しない。

【 0 0 3 8 】

本明細書で使用される、「有効量」の語は、所望の治療結果を実現するのに必要な期間の間、有効である薬物の用量を意味する。有効量は、当業者によって決定されてもよく、個体の疾患状態、年齢、性別および体重のような因子、ならびに個体において所望の応答を誘発する薬物の能力に従って変動し得る。

【 0 0 3 9 】

本明細書で交換可能に使用される、「エノラーゼ 2 」、「ガンマ - エノラーゼ」または「E N O 2 」は、ヒトにおいてE N O 2 遺伝子によってコードされる酵素を意味する。E N O 2 は、ニューロン特異的エノラーゼとしても知られ、成熟ニューロン、およびニューロン起源の細胞において見出される、ホスホピルベートヒドラターゼである。アルファエノラーゼからガンマエノラーゼへの切り替えは、ラットおよび靈長動物における発達の間

、神経組織において生じる。ENO2の抗体での検出は、神経細胞、および神経内分泌分化を有する細胞を同定するのに使用され得る。ENO2は、起源が神経内分泌である小細胞癌腫によって生成される。ENO2は、肺がん患者に有用な腫瘍マーカーである。

#### 【0040】

本明細書で使用される、「フェリチン」は、鉄を貯蔵し、それを制御された様式で遊離する、広範に分布する細胞内タンパク質を意味する。このタンパク質は、藻類、細菌、高等植物および動物を含めた殆ど全ての生存する生物体によって生成される。ヒトでは、フェリチンは、鉄欠乏症および鉄過剰症に対するバッファーとして作用する。フェリチンは、殆どの組織中でサイトゾルタンパク質として見出されるが、少量が血清中に分泌され、そこで鉄の担体として機能する。血漿フェリチンは、身体中に貯蔵される鉄の合計量の間接的なマーカーでもあり、ゆえに血清フェリチンは、鉄欠乏性貧血に対する診断試験として使用される。フェリチンは、タンパク質24個のサブユニットからなる、球状のタンパク質複合体であり、鉄を可溶性で非毒性の形態において維持する、原核生物および真核生物の両方における主要な細胞内鉄貯蔵タンパク質である。鉄と結びついていないフェリチンはアポフェリチンと呼ばれる。フェリチンはCRP同様、急性期反応物と考えられ、感染症およびがんを含めた様々な臨床状態においてレベルが上昇する。脊椎動物におけるいくつかのフェリチン複合体は、物理学的特徴がわずかに異なる、高度に関連する2つの遺伝子生成物のヘテロオリゴマーである。複合体中の2つの相同的タンパク質の比率は、2つの遺伝子の相対的発現レベルに依存する。フェリチンは、Abbott ARCHITECT（登録商標）フェリチンを使用して検出および定量され得る。

10

#### 【0041】

本明細書で交換可能に使用される、「ガレクチン-3」または「Gal3」は、腫瘍の進行および転移に関する、多機能性-ガラクトシド結合性タンパク質を意味する。Gal3はがんにおいて増大し、Gal3の結合パートナーであるガレクチン-3リガンドは直腸結腸がんにおいて上昇する。Gal3は、タンパク質のファミリー、すなわちガレクチンファミリーのメンバーであり、ガレクチンファミリーは、N-アセチルラクトサミン（Gal 1-1-3GalcNAcまたはGal 1-1-4GalcNAc）のような-ガラクトシド糖に対する結合特異性によって定義されるが、この糖はN連結またはO連結されたいずれかのグリコシル化によってタンパク質に結合され得る。大半のレクチンと異なり、ガレクチンは膜に結合していないが、細胞内および細胞外両方の機能を有する可溶性タンパク質である。ガレクチンは、固有であるが重複性の分布を有するが、サイトゾル、核、細胞外マトリクス中に、または循環中に主に見出される。Gal3は、Abbott ARCHITECT（登録商標）ガレクチン-3を使用して検出および定量され得る。

20

#### 【0042】

本明細書で交換可能に使用される、「糖化ヘモグロビン」または「HbA1c」は、主に長期間にわたって平均血漿グルコース濃度を同定するために測定されるヘモグロビンの形態を意味する。HbA1cは、ヘモグロビンを血漿グルコースに暴露することにより、非酵素性の糖化経路において形成される。正常レベルのグルコースは正常量の糖化ヘモグロビンを生成する。血漿グルコースの平均量が増大すると、糖化ヘモグロビンの分画が、予想可能に増大する。これが、測定前の数か月にわたる平均血中グルコースレベルに対するマーカーとして働く。

30

#### 【0043】

本明細書で使用される、「高リスク腺腫」は、1cmを超える管状腺腫、3個以上の腺腫、絨毛要素、または高悪性度の新形成（病理学による）を有する患者を意味する。高リスク腺腫は、前がん性病変とみなされ得る。

40

#### 【0044】

本明細書で使用される、「正常対照」または「健常対照」の語は、対象から、またはCRCもしくはいかなるがんも有さない、もしくはがんを発症するリスクのない実際の対象から採取した試料もしくは検体を意味する。

#### 【0045】

50

本明細書で使用される、「低リスク腺腫」は、直径1cm未満の環状腺腫を1-2個有し、高悪性度の異形成のない患者を意味する。

【0046】

本明細書で交換可能に使用される、「メチルセプチン9」または「mS9」は、CRCの早期検出における手助けに関連する臨床徵候を有するマーカーを意味する。セプチン9のプロモーター領域のメチル化はエピジェネティック修飾とも呼ばれ、直腸結腸がんに関連している。異常DNAのメチル化による遺伝子発現の制御は、腫瘍生物学において十分に特徴付けられているイベントであり、CRCに対して広範に記載されているため、エピジェネティックなイベントの決定は、疾患の早期検出に有用なツールである。健常対照に比べた、がん患者の血中の細胞フリーの循環性メチル化DNAのレベルの上昇は報告されており、CRC検出に対する標的として使用され得る。Abbott Real Time mS9直腸結腸がんアッセイは、血漿中のメチル化セプチン9の存在を定量的に検出するための、インピトロのポリメラーゼ連鎖反応(PCR)試験である。

10

【0047】

本明細書で使用される、「新生物」は、組織の異常な成長を意味する。新生物は通常、腫瘍と呼ばれる。異常な成長は、必ずではないが通常、塊を形成する。本明細書で使用される、「直腸結腸の新生物」は、結腸または直腸における異常な成長を意味する。

【0048】

本明細書で交換可能に使用される、「非CRC悪性腫瘍」または「非CRCがん」は、CRCではないがんを意味する。

20

【0049】

本明細書で交換可能に使用される、「プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1」または「PAI-1」は、ヒトにおいてSERPINE1遺伝子によってコードされるタンパク質を意味する。PAI-1は、内皮プラスミノーゲンアクチベータインヒビターまたはセルピンE1としても知られる。PAI-1は、組織プラスミノーゲンアクチベータ(tPA)およびウロキナーゼ(uPA)の主要なインヒビター、プラスミノーゲン、よって纖維素溶解(血液凝固の生理学的分解)のアクチベータとして機能する、セリンプロテアーゼインヒビター(セルピン)である。PAI-1は、プラスミノーゲンアクチベータの主要なインヒビターである。

30

【0050】

本明細書で使用される、「予め決定されたカットオフ」、「カットオフ」、「予め決定されたレベル」および「基準レベル」は、予め決定されたカットオフ/レベルがすでに、様々な臨床上のパラメータ(例えば、疾患の存在、疾患の状態、疾患の重症度、進行、非進行もしくは疾患の改善など)にリンクし、または関連していた場合、アッセイ結果を予め決定されたカットオフ/レベルに対して比較することによって、診断、予後または治療有効性の結果を評価するのに使用されるアッセイカットオフ値を意味する。本開示は、例示的な、予め決定されたレベルおよび基準レベルを提供する。しかし、カットオフ値が、イムノアッセイの性質(例えば、使用される抗体、反応条件、試料の純度など)に応じて変動し得ることはよく知られている。さらに、本開示によって提供される記載に基づいて、本明細書の開示を他のイムノアッセイに適用して、これら他のイムノアッセイに対するイムノアッセイ特異的なカットオフ値を得ることは、当業者の範囲内に十分ある。予め決定されたカットオフ/レベルの正確な値はアッセイ間で変動し得るが、本明細書に記載する相関が一般的に適用可能でなければならない。

40

【0051】

本明細書で使用される、対象(例えば、患者)の「リスク評価」、「リスク分類」、「リスク同定」または「リスク層別化」は、対象に関する処置の決定が、より多くの情報に基づいてなされ得るように、疾患の開始または疾患の進行を含めた将来のイベントの発生のリスクを予想するための、バイオマーカーを含めた因子の評価を意味する。

【0052】

本明細書で使用される、「試料」、「生物学的試料」、「試験試料」、「検体」、「対

50

象からの試料」および「患者試料」は交換可能に使用されてよく、血液、組織、尿、血清、血漿、羊水、脳脊髄液、胎盤の細胞もしくは組織、内皮細胞、白血球または単球の試料であってよい。試料は、患者から得て直接使用されてもよく、または本明細書で論じたいくつかの様式において、もしくは当技術分野において公知である他の方法で、試料の特徴を修飾するために、濾過、蒸留、抽出、濃縮、遠心分離、妨害成分の不活性化、試薬の添加などの前処理をされてもよい。

#### 【0053】

あらゆる細胞型、組織または体液が、試料を得るために利用されてよい。このような細胞型、組織および液体は、生検および剖検試料のような組織の切片、組織学的目的で採取された凍結切片、血液（例えば、全血）、血漿、血清、痰、糞便、涙液、粘液、唾液、気管支肺胞洗浄（BAL）液、毛髪、皮膚、赤血球、血小板、間質液、眼のレンズの液（ocular lens fluid）、脳脊髄液、汗、鼻汁（nasal fluid）、滑液、月経、羊水、精液などを含み得る。細胞型および組織は、リンパ液、腹水（ascetic fluid）、婦人科液、尿、腹水、脳脊髄液、腔をすすぐことによって採集した液体、または腔を流すことによって採集した液体も含むことができる。組織または細胞型は、細胞の試料を動物から除去することによって提供され得るが、以前に単離された細胞（例えば、別の者により、別の時間に、および／または別の目的で単離された）を使用することによって、やはり達成され得る。処置またはアウトカムの履歴のあるもののような、長期保存の組織も使用され得る。タンパク質またはヌクレオチドの単離および／または精製は、必要でないこともある。

10

#### 【0054】

尿、血液、血清および血漿、ならびに他の体液を採集し、取り扱い、処理加工するための当技術分野では周知の技術が、本開示の実践において使用される。試験試料は、抗体、抗原、ハプテン、ホルモン、薬物、酵素、受容体、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドのような目的の分析物に加えて、さらなるマイエティを含むことができる。例えば、試料は、対象から得た全血試料であってよい。試験試料、特に全血は、本明細書に記載するイムノアッセイの前に、例えば、前処理試薬で処理されるのが必要であり得、または望ましくあり得る。前処理が必要でない場合でも（例えば、殆どの尿試料、予め処理加工された長期保存の試料など）、試料の前処理は、単なる便宜上（例えば、市販のプラットホーム上のプロトコールの一部として）行われ得る選択肢である。試料は、対象から得て直接使用されてもよく、または試料の特徴を修飾する前に前処理後に使用されてもよい。前処理は、抽出、濃縮、妨害化合物の不活性化、および／または試薬の添加を含むことができる。

20

#### 【0055】

本明細書で使用される、「感度」の語は、真陽性の数を、真陽性の数プラス偽陰性の数によって除したものを意味し、感度（「sens」）は、 $0 < \text{sens} < 1$  の範囲内であってよい。本明細書の方法の実施形態が、対象が実際に腺腫を有する場合に腺腫を有さないと誤って同定されないように、ゼロに等しくまたはゼロに等しいに近い偽陰性の数を有するのが理想的である。その反対に、感度に相補的な測定値である、陰性を正しく分類するための予想アルゴリズムの能力の評価がしばしばなされる。

30

#### 【0056】

本明細書で使用される、「特異性」の語は、真陰性の数を、真陰性の数プラス偽陽性の数によって除したものを意味し、特異性（「spec」）は、 $0 < \text{spec} < 1$  の範囲内であってよい。本明細書に記載する方法が、対象が実際に腺腫を有さない場合に腺腫を有すると誤って同定されないように、ゼロに等しくまたはゼロに等しいに近い偽陽性の数を有するのが理想的である。それゆえ、感度および特異性の両方が 1、または 100% に等しい方法が好ましい。

40

#### 【0057】

本明細書で交換可能に使用される、「対象」、「患者」または「方法における対象」の語は、それだけには限定されないが、哺乳動物（例えば、ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、ウ

50

マ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラットおよびマウス)、非ヒト靈長動物(例えば、カニクイザルまたはアカゲザルのようなサル、チンパンジーなど)、ならびにヒトを含めた、あらゆる脊椎動物を意味する。一部の実施形態において、対象または対象は、ヒトまたは非ヒトであってよい。一部の実施形態において、対象は、高リスク腺腫、C R C および/もしくはC R C以外のがんのリスクがあり、または発症するリスクがあることが疑われ、またはすでに有するヒト対象であってよい。一部の実施形態において、対象は、心血管疾患および/もしくは糖尿病を有し得、高リスク腺腫、C R C および/もしくはC R C以外のがんを発症するリスクがあり得、またはすでに有し得る、ヒト対象であってよい。

## 【0058】

10

本明細書で交換可能に使用される、「可溶性ウロキナーゼ受容体」または「s u P A R (I)」は、ウロキナーゼ(u P A)に対する膜結合型受容体である、可溶型のu P A Rを意味する。s u P A R (I)は、s u P A R、および可溶性ウロキナーゼ型プラスミノーゲンアクチベータ受容体としても知られる。s u P A Rは、膜結合型u P A Rの切断および遊離に起因する。s u P A R濃度は、免疫系の活性化レベルに正に相関し、血漿、尿、血液、血清および脳脊髄液中に存在する。s u P A Rは、炎症および免疫系の活性化に対するバイオマーカーである。s u P A Rレベルは、腫瘍壞死因子、白血球数およびC反応性タンパク質のような炎症誘発性バイオマーカーと正に相関する。s u P A Rレベルの上昇は、全身性炎症反応症候群(S I R S)、がん、巣状分節性糸球体硬化症、心血管疾患、2型糖尿病、感染性疾患、H I Vおよび死亡率のリスクの増大に関連する。s u P A R n o s t i cは、血漿中のs u P A Rレベルを検出するのに使用される予後検査である。

20

## 【0059】

本明細書で交換可能に使用される、「メタロプロテイナーゼの組織インヒビター-1」または「T I M P - 1」は、T I M P ファミリーのメンバーであり、生物体のいくつかの組織から発現される糖タンパク質を意味する。T I M P - 1は、成長、浸潤および播種の過程内で機能を有する分子である。T I M P - 1は、細胞外マトリクスの変性に関与する一群のペプチダーゼである、マトリクスメタロプロテイナーゼ(M M P)の天然のインヒビターである。加えて、コードされるタンパク質は、広範囲の細胞型において細胞の増殖を促進することができ、抗アポトーシス機能も有し得る。T I M P - 1は、他の悪性疾患または炎症性疾患に比べて、および疾患のない個体に比べて、C R Cに対する外科手術を受ける予定である患者の85%を超えて上昇することが見出された。T I M P - 1は、多くのC R C患者の血清中で上昇し得る。T I M P - 1は、A b b o t t A R C H I T E C T(登録商標)メタロプロテイナーゼの組織インヒビター-1(T I M P - 1)を使用して検出および定量され得る。

30

## 【0060】

本明細書で使用される、「処置」、「処置される」または「処置する」の語は、その目的が、望ましくない生理学的状態、障害もしくは疾患を減速する(減らす)ことであり、または有益なもしくは所望の臨床結果を得ることである治療を意味する。本発明の目的では、有益な、または所望の臨床結果は、それだけには限定されないが、検出できても、もしくは検出できなくても、または状態、障害もしくは疾患の増強でも、もしくは改善でも、症状の緩和;状態、障害もしくは疾患の程度の減少;状態、障害もしくは疾患の状態の安定化(すなわち、悪化ではない);状態、障害もしくは疾患の発症の遅延もしくは進行の緩徐化;状態、障害もしくは疾患状態の緩和;ならびに寛解(部分的でも、もしくは全体的でも)を含む。処置は、処置を受けていない場合に予想される生存に比べた、生存の延長も含む。

40

## 【0061】

本明細書において別段の規定がなければ、本開示に関連して使用される科学用語および技術用語は、当業者によって通常理解される意味を有する。例えば、本明細書に記載する、細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、ならびにタンパク質お

50

および核酸の化学、ならびにハイブリダイゼーションに関連して使用されるあらゆる命名法、およびこれらの技術は、当技術分野では周知であり、通常使用されるものである。用語の意味および範囲は明確でなければならないが、いかなる不明確さが潜在する場合には、本明細書に提供される定義が、あらゆる辞書上または非本質的な定義より優先される。さらに、文脈による別段の要求がなければ、単数形の語は複数形を含み、複数形の語は単数形を含む。

### 【0062】

#### 2. バイオマーカーの組合せ

本発明は、結腸および直腸の新生物（例えば、高悪性度の腺腫）ならびに初期段階の直腸結腸がん（CRC）を検出するためのバイオマーカーの組合せを使用する方法に対するものである。これらのバイオマーカー、すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13およびCRPのバイオマーカーは、相互に、および/または他の因子と組み合わされて、（1）対象が高リスク腺腫および/もしくはCRCに罹患している、または罹患するリスクがあるか否かを同定および決定し、（2）男性対象または女性対象がCRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるか否かを同定および決定し、（3）対象における高リスク腺腫および/またはCRCの診断または診断する助けを提供し、（4）高リスク腺腫および/またはCRCを有し、または疑われる対象において、高リスク腺腫および/またはCRCの診断、予後診断および/またはリスク層別化を提供し、または提供するのを助け、（5）高リスク腺腫および/またはCRCを有する対象と、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さない対象との間を鑑別し、（6）CRCを有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別し、ならびに（7）対象におけるCRCの進行をモニタリングするための本発明の方法において使用されてよい。

### 【0063】

例えば、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13およびCRPのバイオマーカーの群から選択される、少なくとも2つのバイオマーカー、少なくとも3つのバイオマーカー、少なくとも4つのバイオマーカー、少なくとも5つのバイオマーカー、少なくとも6つのバイオマーカー、少なくとも7つのバイオマーカー、または少なくとも8つのバイオマーカーが、以下に記載する方法において使用されてよい。例えば、バイオマーカーの組合せは、AFP、およびCEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13もしくはCRPの少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つもしくは少なくとも7つ；CEA、およびAFP、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13もしくはCRPの少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つもしくは少なくとも7つ；CYFRA、およびAFP、CEA、フェリチン、CA19-9、TIMP-1、Ga13もしくはCRPの少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つもしくは少なくとも7つ；CA19-9、およびAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、TIMP-1、Ga13もしくはCRPの少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つもしくは少なくとも7つ；TIMP-1、およびAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、Ga13もしくはCRPの少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つもしくは少なくとも7つ；Ga13、およびAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、もしくはCRPの少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つもしくは少なくとも7つ；またはCRP、およびAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、Ga13もしくはTIMP-1の少なくとも1つ、少

10

20

30

40

50

なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つもしくは少なくとも 7 つを含むことができる。

#### 【 0 0 6 4 】

方法は、対象から生物学的試料を得るステップ、生物学的試料中の選択されたバイオマークターの組合せのレベルを決定するステップ、および生物学的試料中の選択されたバイオマークターのレベルを選択されたバイオマークターの基準レベルと比較するステップを含む。生物学的試料中の選択されたバイオマークターと基準レベルとの間のレベルの差が、対象の診断を提供するのに使用され得る。

#### 【 0 0 6 5 】

方法は、対象から生物学的試料を得るステップ、生物学的試料中の選択されたバイオマークターの組合せのレベルを決定するステップ、および生物学的試料中の選択されたバイオマークターのレベルを選択されたバイオマークターの基準レベルと比較するステップを含む。10  
生物学的試料中の選択されたバイオマークターと基準レベルとの間のレベルの差が、スコアを得るのに使用され得、このスコアが対象の診断を提供するのに使用される。特定のバイオマークターに対して、生物学的試料中のバイオマークターのレベルがバイオマークターの基準レベルより高い、または低い場合、1 または 0 のスコアが与えられる。各々のバイオマークターに対して産生されたスコアを一緒に加算して合計スコアを得る。合計スコアが基準スコアと比較され、対象の診断は、合計スコアが基準スコアより高いか否かに基づく。基準スコアは、0 と、バイオマークターの特定の組合せに可能な最大の合計スコアとの間の数であってよい。バイオマークターの特定の組合せに対する最大合計スコアは、方法において使用されるバイオマークターの数である。例えば、2 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1 または 2 であってよく、3 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2 または 3 であってよく、4 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3 または 4 であってよく、5 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3、4 または 5 であってよく、6 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3、4、5 または 6 であってよく、7 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3、4、5、6 または 7 であってよく、8 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3、4、5、6、7 または 8 であってよく、9 つのバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3、4、5、6、7、8 または 9 であってよく、または 10 個のバイオマークターの組合せに対して基準スコアは 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であってよい。20  
バイオマークターの組合せは、合計スコアに含まれるスコアを各々産生し得る、他のバイオマークターおよび / または因子と使用され得る。

#### 【 0 0 6 6 】

対象の性別が、バイオマークターの組合せ、バイオマークターの基準レベル、および / または対象の診断に使用される基準スコアを決定し得る。バイオマークターに対する基準レベルを有するバイオマークターの組合せが、男性対象を診断するのに使用されてもよい。バイオマークターの同じ組合せおよびバイオマークターに対する同じ基準レベルが、女性対象を診断するのに使用されてもよい。バイオマークターの同じ組合せおよびバイオマークターに対する異なる基準レベルが、女性対象を診断するのに使用されてもよい。バイオマークターの異なる組合せおよび基準レベルが、女性対象を診断するのに使用されてもよい。男性対象を診断するのに使用される基準スコアは、女性対象を診断するのに使用される基準スコアと同じでも、または異なっていてもよい。40

#### 【 0 0 6 7 】

バイオマークターの組合せが、全てのステージの C R C を診断するのに使用されてもよい。Dukes のシステム、およびより詳細な、がんに対する国際連合 - T N M 段階づけシステムに対するアメリカ合同委員会 ( International Union against Cancer - American Joint Committee on Cancer T N M staging system ) を含めた、いくつかの分類システムが、C R C の程度を段階づけるのに考案されている。T N M システムは、臨床ま50

たは病理学上いずれかの段階づけに使用されており、4つの段階に分割され、その各段階が、原発腫瘍（T）、局所リンパ節（N）、および遠隔転移（M）に関してがんの成長の程度を評価する。このシステムは、腫瘍の腸壁中への浸潤の程度、隣接構造の浸潤、冒されている局所リンパ節の数、および遠隔転移が生じているか否かに注目する。

#### 【0068】

ステージ0はインサイチュー癌腫（Tis）によって特徴付けられ、インサイチュー癌腫では、がん細胞が腺性の基底膜の内側（上皮内）または固有層の内側（粘膜内）に位置する。このステージでは、がんは局所リンパ節に広がっておらず（N0）、遠隔転移は存在しない（M0）。ステージIでは、がんの局所リンパ節への広がり、および遠隔転移はまだ存在しないが、腫瘍は、粘膜下に浸潤し（T1）、またはさらに進行して固有筋に浸潤している（T2）。ステージIIも、がんの局所リンパ節への広がり、および遠隔転移を伴わないが、腫瘍は漿膜下、もしくは腹膜に覆われていない結腸周囲もしくは直腸周囲の組織に浸潤しており（T3）、または進行して他の器官もしくは構造に浸潤し、および/または臓側腹膜に穿孔している（T4）。ステージIIIは、あらゆるTのサブステージ、遠隔転移なし、および1から3つの局所リンパ節への拡大（N1）または4つ以上の局所リンパ節への拡大（N2）によって特徴付けられる。最後に、ステージIVは、あらゆるTまたはNのサブステージ、および遠隔転移を伴う（M1aもしくはM1b）。内科医はやはりグレードを割り当て、すなわち、G1（十分に分化している、殆ど正常）からG4（非分化、非常に異常）までの範囲の細胞の外観に基づいてCRCを特徴付け、高悪性度は予後不良を指し示す。

10

20

#### 【0069】

##### 3. さらなる因子

本明細書に記載する方法は、上記に論じた特定のバイオマーカーの組合せ（すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gα13および/またはCRPの組合せ）と組み合わせて使用するために、付加的な因子を定量または決定するステップをさらに含むことができる。これらの付加的な因子は、CRCの付加的なバイオマーカー、分析物、年齢、疾患の同時罹患率、および/またはCRCの他のスクリーニング方法を含むことができる。これらの付加的な因子は、（1）対象が高リスク腺腫および/またはCRCに罹患している、または罹患するリスクがあるか否かを同定および決定し、（2）男性対象または女性対象がCRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるか否かを同定および決定し、（3）対象における高リスク腺腫および/またはCRCを診断または診断する助けを提供し、（4）高リスク腺腫および/またはCRCを有し、または疑われる対象において高リスク腺腫および/またはCRCの診断、予後診断および/またはリスク層別化を提供し、または提供するのを助け、（5）高リスク腺腫および/またはCRCを有する対象と、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さない対象との間を鑑別し、（6）CRCを有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別し、（7）対象におけるCRCの進行をモニタリングするための、本発明の方法において使用されてよい。これら付加的な因子は、合計スコアを決定するのに使用され得る。

30

40

#### 【0070】

##### a. CRCの付加的なバイオマーカー

本明細書に記載する方法は、上記に論じた特定のバイオマーカーの組合せ（すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gα13および/またはCRPの組合せ）と組み合わせて使用するための、CRCの付加的なバイオマーカーを定量または決定するステップをさらに含むことができる。一部の実施形態において、方法は、生物学的試料中のCRCの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを定量または決定するステップ、ならびにCRCの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを生物学的試料中のCRCの少なくとも1つのバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含むことができる。CRCの付加的なバイオマーカーは、mS9、HbA1c、C3a、CatX、s u P A R (I)、P A I - 1、E N O

50

2 またはこれらのあらゆる組合せであってよい。mS9、HbA1c、C3a、CatX、s u P A R (I)、P A I - 1、E N O 2 およびこれらの組合せの少なくとも1つの基準レベルに等しく、またはより高いレベルが、本発明の方法において使用されてよい。C R C レベルの付加的なバイオマーカーまたは分析物が、合計スコアを決定するのに使用されてよい。

【0071】

b . 年齢

本明細書に記載する方法は、対象の年齢を決定するステップをさらに含むことができる。高齢の個体ほど、高リスク腺腫および/またはC R C を有するリスクがより高くなり得る。対象の年齢が、合計スコアを決定するために使用されてよい。対象が男性である場合、基準年齢は、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69または70歳であってよい。例えば、対象が男性である場合、基準年齢は54歳であってよい。対象が女性である場合、基準年齢は、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69または70歳であってよい。例えば、対象が女性である場合、基準年齢は63歳であってよい。

【0072】

c . 同時罹患率

本明細書に記載する方法は、対象における疾患の同時罹患率を決定するステップをさらに含むことができる。バイオマーカーを有する疾患の同時罹患率が、合計スコアを決定するのに使用されてよい。心疾患、すなわち心臓血管疾患 (C V D ) を有する個体は、直腸結腸がんを有するより高い確率を有し得る。心臓血管疾患 (C V D ) の同時罹患率が、合計スコアを決定するのに使用されてよい。2型糖尿病は結腸がんにつながっている。糖尿病 (I または I I ) を有する患者は、結腸の新生物のリスクが高いことがある。糖尿病の同時罹患率が、合計スコアを決定するのに使用されてよい。カテゴリー変数としての同時罹患率総数 (0、1または2+) が、合計スコアを決定するのに使用されてよい。例えば、I型糖尿病、I I型糖尿病、心虚血、肺塞栓症、くも膜下出血、脳出血、脳梗塞、卒中、前大脳 (p r e - c e r e b r a l ) 動脈における血栓、および/または破裂のない脳動脈瘤との同時罹患率が、合計スコアを決定するのに使用されてよい。

【0073】

d . 他の分析物

本明細書に記載する方法は、循環性の腫瘍細胞、循環性のフリーD N A、血漿m i R N A、血漿S N P、ヌクレオソーム、メチルビメンチン、および他のメチル化された遺伝子生成物を定量または決定するステップをさらに含むことができる。分析物を測定するためのアッセイは、C e l l D e a t h D e t e c t i o n p l u s - E L I S A (R o c h e D i a g n o s t i c s ) およびC o l o g u a r d (商標) s D N A - ベース C R C スクリーニング試験 (E x a c t S c i e n c e s C o r p o r a t i o n ) を含む。

【0074】

e . スクリーニング方法

本明細書に記載する方法は、対象に対してC R C スクリーニング方法またはレジメンを行うステップをさらに含むことができる。対象は、糞便検査および/またはC R C 構造スクリーニングレジメン、すなわち構造試験検査によってスクリーニングされてもよい。糞便検査の例は、(i) 便潜血検査 (「F O B T」)、(i i) 便免疫化学検査 (「F I T」)、および(i i i) 粪便D N A (「s D N A」) 検査である。構造試験検査は、(i) 結腸鏡検査、(i i) 軟性 (f l e x i b l e ) S 状結腸鏡検査、(i i i) 二重造影バリウム注腸 (「D C B E」)、(i v) C Tコロノグラフィー (仮想結腸鏡検査) および(v) カプセル内視鏡検査である。現在の便試験は、正確さ、精密さ、個体間および個体内変動、ならびに患者が試料採取に不快であることによるコンプライアンスの問題に悩んでいる。便検査が陽性であれば、患者は、適宜、徹底的な試験および介入 (腺腫の除去

10

20

30

40

50

)のために結腸鏡検査に照会されるのが典型的である。構造試験検査は、患者の腸を一掃すること、および結腸中に空気を組み入れて視覚化を助けることの両方を必要とする。C R Cスクリーニング方法の結果は、合計スコアを決定するのに使用され得る。

#### 【0075】

##### (1) 便血液検査

F O B TおよびF I Tの両方とも、糞便中の血液の量を検出することにより、C R Cに10 対してスクリーニングするものである。試験は、新生物組織、特に悪性組織が、典型的な粘膜よりも多く出血し、出血量は、ポリープのサイズおよびがんのステージとともに増大するという前提に基づくものである。出血は間欠的であるため、複数の試験が推奨される。便血液検査は、下部結腸における早期の腫瘍をいくつか検出し得るが、(i) あらゆる血液が代謝されるため、上部結腸におけるC R C、および/または(ii) より小さい腺腫様ポリープを検出することができず、よって偽陽性を作り出す。痔核、裂肛、炎症性障害(潰瘍性大腸炎、クローン病)、感染性疾患、さらに長距離の漏出による胃腸管のあらゆる出血が偽陽性を作り出す。

#### 【0076】

##### (2) 便潜血検査(「F O B T」)

F O B Tはグアヤクをベースとし、ヘムまたはヘモグロビンのペルオキシダーゼ活性を測定するものである。F O B Tは安価であり、管理が比較的容易である。市販製品として、Heme Occult(登録商標) II、およびHeme Occult(登録商標) S ensa(登録商標)(Beckman-Coulter Inc.、Los Angeles、Calif)がある。上記に言及した偽陽性および偽陰性に加えて、ペルオキシダーゼ活性を有するある種の食物(非調理の果物および野菜、赤身の肉)も偽陽性を作り出す。

#### 【0077】

##### (3) 便免疫化学検査(「F I T」)

F I Tは全般的にF O B Tより正確である。血液からヘムを検出するF O B Tの化学反応よりむしろ、F I Tは抗体を使用してヘモグロビンのような血液関連のタンパク質を検出する。市販製品として、In Sure(登録商標)(Enterix Inc.、Quest Diagnostics company、Lyndhurst, N. J.)、Hemoccult(登録商標)-ICT(Beckman Coulter, Inc.)、MonoHaem(Chemicon International, Inc.、Temecula, Calif)、OC Auto Micro 80(Polymedco、Cortland Manor, NY)およびMagstream 1000/Hem SP(富士レビオ株式会社、東京、日本)がある。糞便中の血液および/または代謝に30 関連する偽陽性または偽陰性からの問題に加えて、グロブリンタンパク質のあらゆる代謝上の変性もしくは消化、またはグロブリンのエピトープを変性する採集後の試料の取り扱いが、F I Tに対する偽陰性を作り出す。

#### 【0078】

##### (4) 粪便DNA(「sDNA」)試験

sDNA試験は、患者によって採集された糞便試料から、試験室において測定される様々なDNAマーカーを測定するものである。Exact Sciences Corp.(Madison, Wis.)から入手できる1つのsDNA試験は、K-ras、APC、P53遺伝子における変異; BAT-26(MSIマーカー)、DNA一體性に対するマーカー、およびビメンチン遺伝子のメチル化を測定する。いくつかの指針がsDNA試験を推奨しているが、他の指針はより保守的でありsDNA試験を推奨しない。sDNA試験のあるバージョンはF O B Tより優れている可能性があるが、それでも進行型腺腫の15%しか検出しなかった。

#### 【0079】

##### (5) 結腸鏡検査およびS状結腸鏡検査

結腸鏡検査は結腸の直接的な視覚化を可能にし、腺腫様ポリープを検出し、生検し、除50

去することができるようになる。結腸鏡検査は、結腸がんに対する「黄金律」の診断である。これらの利点に関わらず、マイナス面が存在する。上記に論じた患者の不快感に加えて、結腸鏡検査は比較的高価な手順であり、可能な腸の穿孔および出血のリスクが存在する。さらに、医師の技術および経験は変動し、いくつかの研究は、大型の腺腫(=10mm)の6-12%が行方不明になり、症例の5%ではがんを検出することができなかつたことを報告している。

#### 【0080】

軟性S状結腸鏡検査は、定義上、S状結腸に限定される。S状結腸鏡は長さ約60cm(およそ2フィート)である。よって、医師は、直腸、および結腸の下部半分しか検査できない。S状結腸鏡検査は、結腸鏡検査と同じ準備および浸潤性を必要とし、これらの欠点がある。試験されるポーションにとって、軟性S状結腸鏡検査には結腸鏡検査の利点がある。しかし、軟性S状結腸鏡検査は半分の仕事しかしない。

10

#### 【0081】

##### (6)二重造影バリウム注腸およびCTコロノグラフィー

二重造影バリウム注腸(「DCBE」)は、二重造影注腸(air-contrast enema)とも呼ばれる。これは、患者の結腸を一掃するために結腸鏡検査と同じ準備を必要とし、患者の結腸はバリウム造影剤とエックス線を使用して画像化される。DCBEは殆どの指針によって推奨されるが、準備および試験の間の患者の不快感に悩み、何か疑わしいものが見られた場合に生検またはポリープ切除に対する機会を提供するものではない。よって、陽性の試験結果が存在した場合、患者は結腸鏡検査のフォローアップを必要とする。CTコロノグラフィーは、仮想結腸鏡検査としても知られ、コンピュータ断層撮影法(CTまたはCAT)スキャンを使用して直腸および結腸を画像化するものである。これは結腸の準備を必要とするが、浸潤性は最小であり、受容性を得ている。残念なことに、DCBE同様、試験陽性は、適宜、調査および介入のために結腸鏡検査を必要とする。

20

#### 【0082】

##### (7)カプセル内視鏡

カプセル内視鏡は、各終端にビデオカメラを有する小型カプセルの経口摂取を伴う。このカプセルが結腸を通過するとき、画像が送信され、記録される。いくつかの研究は、進行型腺腫の73%の検出およびCRC症例の74%の検出を報告した。同様の患者の準備を必要とし、陽性の結果は引き続き結腸鏡検査を必要とするため、欠点はDCBEまたはCTコロノグラフィーに同様である。加えて、バッテリーの寿命が不十分であり、速やかな運動の期間の画像が不十分であることが、現世代のカプセル内視鏡製品に対する短所である。

30

#### 【0083】

4. 高リスク腺腫および/または直腸結腸がんに罹患している、または罹患するリスクがある対象を同定および決定する方法

一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ:CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、高リスク腺腫および/またはCRCに罹患している、または罹患するリスクがある対象を同定することを対象とする。本明細書に記載する通り、対象が好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は以下のステップを含むことができる:(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルがCEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、対象が高リスク腺腫および/またはCRC

40

50

Cに罹患している、または罹患するリスクがあることを決定または同定するステップ。生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルがCEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象はCRCに罹患していない、または罹患するリスクがないと決定または同定される。

【0084】

対象が、他のバイオマーカーおよび/または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i)CEAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(ii)CYFRAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(iii)CRPスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、および(iv)フェリチンスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(4)ステップ(3)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(5)合計スコアが基準スコアより高い場合、高リスク腺腫および/またはCRCに罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアと等しくもしくはより低い場合、高リスク腺腫および/もしくはCRCに罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含むことができる。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは0、1、2、3または4であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。方法は、対象の年齢を決定するステップ、対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および対象に年齢スコアを提供するステップをさらに含むことができ、対象の年齢が基準年齢に等しくまたはより高い場合、対象は1のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、0のスコアを得る。基準年齢は、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは0、1、2、3、4または5であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。

【0085】

方法は、CRC構造スクリーニングレジメンによって、高リスク腺腫および/またはCRCの診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC処置および/またはCRCモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

【0086】

5. CRCに罹患している、または罹患するリスクがある対象を同定および決定する方法  
一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ：CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、CRC

10

20

30

40

50

に罹患している、または罹患するリスクがある対象を同定することにも対する。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、以下のステップを含むことができる：(1) 対象から生物学的試料を得るステップ、(2) 対象からの生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3) 生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4) 生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP および CA19-9 の基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、CRC に罹患している、または罹患するリスクがある診断を対象に提供するステップ。生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP および CA19-9 の基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象は CRC に罹患していない、または罹患するリスクがないと決定される。

#### 【0087】

対象が、他のバイオマーカーおよび／または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、(1) 対象から生物学的試料を得るステップ、(2) 対象からの生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3) 生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、(4) CEA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(5) CYFRA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(6) CRP スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(7) CA19-9 スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CA19-9 のレベルが CA19-9 の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CA19-9 のレベルが CA19-9 の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(8) フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0 のスコアを得るステップ、(9) ステップ(4) - (8) からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(10) 合計スコアが基準スコアより高い場合、CRC に罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、CRC に罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは 0、1、2、3、4 または 5 であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。

#### 【0088】

10

20

30

40

50

方法は、CRC構造スクリーニングレジメンによって、CRCの診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC処置および/またはCRCモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

#### 【0089】

6. CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがある男性対象を同定および決定する方法

一実施形態において、本発明は、男性対象が、直腸結腸がん(CRC)がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定することにも対し、男性対象は結腸鏡検査によってCRCを有さないと確定された。方法は、以下のマーカーの組合せ：CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを定量または決定するステップを含む。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、以下を含むことができる：(1)男性対象から生物学的試料を得るステップ、(2)男性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)、メタロプロテイナーゼの組織インヒビター-1(TIMP-1)、糖鎖抗原19-9(CA19-9)およびアルファ-フェトプロテイン(AFP)のレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという男性対象の診断を提供するステップ。

#### 【0090】

対象が、他のバイオマーカーおよび/または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、以下を含むことができる：男性対象から生物学的試料を得るステップ、(1)男性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、C反応性タンパク質(CRP)、メタロプロテイナーゼの組織インヒビター-1(TIMP-1)、糖鎖抗原19-9(CA19-9)およびアルファ-フェトプロテイン(AFP)のレベルを決定するステップ、(2)生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルをCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルと比較するステップ、(3)CYFRAスコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(4)CRPスコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(5)TIMP-1スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のTIMP-1のレベルがTIMP-1の基準レベルより高い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のTIMP-1のレベルがTIMP-1の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(6)CA19-9スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCA19-9のレベルがCA19-9の基準レベルより低い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCA19-9のレベルがCA19-9の基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(7)AFPスコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のAFPのレベルがAFPの基準レベルより低い場合、男性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のAFPのレベルがAFPの基準レベルと等しくまたはより高い場

10

20

30

40

50

合、0のスコアを得るステップ、(8) CYFRAスコア、CRPスコア、TIMP-1スコア、CA19-9スコアおよびAFPスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(9)合計スコアが基準スコアより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという男性対象の診断を提供するステップ。基準スコアは0、1、2、3、4または5であってよい。

#### 【0091】

方法は、がん処置および/またはがんモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

#### 【0092】

7. CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがある女性対象を同定および決定する方法

一実施形態において、本発明は、女性対象が、直腸結腸がん(CRC)がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定することにも対し、女性対象は結腸鏡検査によってCRCを有さないと確定された。方法は、以下のマーカーの組合せ: CYFRA、CEAおよびCRPのレベルを定量または決定するステップを含む。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量のCYFRA、CEAおよびCRPを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、以下を含むことができる:(1)女性対象から生物学的試料を得るステップ、(2)女性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、がん胎児性抗原(CEA)およびC反応性タンパク質(CRP)のレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを、CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルがCYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという女性対象の診断を提供するステップ。

#### 【0093】

対象が、他のバイオマーカーおよび/または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量のCYFRA、CEAおよびCRPによって決定されるようになり、好ましくないスコアを実証する場合、対象は高リスクの個体であり得る。方法は、以下を含むことができる:女性対象から生物学的試料を得るステップ、(1)女性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、がん胎児性抗原(CEA)およびC反応性タンパク質(CRP)のレベルを決定するステップ、(2)生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを、CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルと比較するステップ、(3)CYFRAスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(4)CEAスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(5)CRPスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(6)CYFRAスコア、CEAスコアおよびCRPスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(7)合計スコアが基準スコアより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという女性対象の診断を提供するステップ。基準スコアは0、1、2または3であってよい。

#### 【0094】

方法は、がん処置および/またはがんモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

10

20

30

40

50

## 【0095】

## 8. CRCの診断、予後診断および/またはリスク層別化のための方法

一実施形態において、本発明は、(1)対象からの生物学的試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つのレベルを定量または決定することにより、CRCを有し、または有することが疑われる対象において、高リスク腺腫および/またはCRC、特にCRCの、診断、予後診断および/またはリスク層別化を提供することにも対する。AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つのレベルを測定することによって、方法は、他の市販のアッセイに比べて、CRCの早期検出がより正確に診断され、引き続きより上首尾に処置されるのを可能にする。

10

## 【0096】

方法は、対象から生物学的試料を得るステップ、生物学的試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つのレベルを決定するステップ、低リスク腺腫を有する、もしくはがんを有さない対象、または代替的に高リスク腺腫および/またはCRCを有する対象における、生物学的試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つのレベルを、それぞれのマーカーの組合せのレベルと比較するステップ(すなわち、生物学的試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つを、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つの基準レベルと比較する)ステップ、ならびに生物学的試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つのレベルが、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの少なくとも2つの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、対象におけるCRCの診断、予後診断および/またはリスク層別化を提供するステップを含む。方法は、CRC(特に早期CRC)の診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC処置および/またはCRCモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

20

## 【0097】

## 9. 高リスク腺腫および/またはCRCを有する対象と、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さない対象との間を鑑別する方法

一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ：CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、高リスク腺腫および/またはCRCを有する対象と、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さない対象との間を鑑別する方法を対象とする。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンを実証する場合、対象は高リスク腺腫および/またはCRCを有し得る。方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルが、CEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、高リスク腺腫および/またはCRCを有する、または有するリスクがある対象を決定または同定するステップを含むことができる。生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルが、CEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルよ

40

50

り高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象は、低リスク腺腫を有する、および／またはがんを有さないと決定または同定される。

【0098】

対象が、他のバイオマーカーおよび／または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量の CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象は高リスク腺腫および／または CRC を有し得る。方法は、(1) 対象から生物学的試料を得るステップ、(2) 対象からの生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3) 生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i) CEA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルに等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(ii) CYFRA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルに等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(iii) CRP スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルに等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、および(iv) フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルに等しくまたはより高い場合、0 のスコアを得るステップ、(4) ステップ(3)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(5) 合計スコアが基準スコアより高い場合、対象は高リスク腺腫および／もしくは CRC を有し、もしくは有するリスクが高い診断を、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、対象は低リスク腺腫を有する、および／もしくはがんを有さない診断を提供するステップを含むことができる。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは 0、1、2、3 または 4 であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。方法は、対象の年齢を決定するステップ、および対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および対象に対する年齢スコアを提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢に等しくまたはより高い場合、対象は 1 のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、0 のスコアを得るステップをさらに含むことができる。基準年齢は、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは 0、1、2、3、4 または 5 であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。

【0099】

方法は、CRC 構造スクリーニングレジメンによって、高リスク腺腫および／または CRC の診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC 処置および／または CRC モニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

【0100】

10. CRC を有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別する方法

一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ：CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、対象が、CRC を有するか、もしくは罹患しているか、またはがんを有さないかを鑑別することにも対象とする。

【0101】

方法は、(1) 対象から生物学的試料を得るステップ、(2) 対象からの生物学的試料

10

20

30

40

50

中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP および CA19-9 の基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、CRC を有するという対象の診断を提供するステップを含むことができる。生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP および CA19-9 のレベルが、CEA、CYFRA、CRP および CA19-9 の基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象はがんを有さないと決定される。  
10

#### 【0102】

方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP、CA19-9 およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、(4)CEA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CEA のレベルが CEA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(5)CYFRA スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(6)CRP スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(7)CA19-9 スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CA19-9 のレベルが CA19-9 の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CA19-9 のレベルが CA19-9 の基準レベルと等しくまたはより低い場合、0 のスコアを得るステップ、(8)フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0 のスコアを得るステップ、(9)ステップ(4) - (8)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(10)合計スコアが基準スコアより高い場合、対象は CRC を有する診断を、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、対象はがんを有さない診断を提供するステップを含むことができる。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは 0、1、2、3、4 または 5 であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。  
20  
30  
40

#### 【0103】

方法は、CRC 構造スクリーニングレジメンによって、CRC の診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC 処置および / または CRC モニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

#### 【0104】

11. ステージ I または II の CRC を有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別する方法

一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ：CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、ステージ I または II

の C R C を有する対象と、低リスク腺腫を有する、および / またはがんを有さない対象との間を鑑別する方法を対象とする。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンを実証する場合、対象はステージ I または I I の C R C を有し得る。方法は、(1) 対象から生物学的試料を得るステップ、(2) 対象からの生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3) 生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4) 生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A および C R P のレベルが、 C E A 、 C Y F R A および C R P の基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ステージ I または I I の C R C を有する、または有するリスクがある対象を決定または同定するステップを含むことができる。生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A および C R P のレベルが、 C E A 、 C Y F R A および C R P の基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象は、低リスク腺腫を有する、および / またはがんを有さないと決定または同定される。  
10

#### 【 0105 】

対象が、他のバイオマーカーおよび / または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象はステージ I または I I の C R C を有し得る。方法は、(1) 対象から生物学的試料を得るステップ、(2) 対象からの生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3) 生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i) C E A スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C E A のレベルが C E A の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C E A のレベルが C E A の基準レベルに等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、(ii) C Y F R A スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C Y F R A のレベルが C Y F R A の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C Y F R A のレベルが C Y F R A の基準レベルに等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、(iii) C R P スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C R P のレベルが C R P の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C R P のレベルが C R P の基準レベルに等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、および(iv) フェリチンスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルに等しくまたはより高い場合、 0 のスコアを得るステップ、(4) ステップ(3)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(5) 合計スコアが基準スコアより高い場合、対象はステージ I または I I の C R C を有し、もしくは有するリスクが高い診断を、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、対象は低リスク腺腫を有する、および / もしくはがんを有さない診断を提供するステップを含むことができる。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは 0 、 1 、 2 、 3 または 4 であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。方法は、対象の年齢を決定するステップ、および対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および対象に対する年齢スコアを提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢に等しくまたはより高い場合、対象は 1 のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、 0 のスコアを得るステップをさらに含むことができる。基準年齢は、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは 0 、 1  
20  
30  
40  
50

、2、3、4または5であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。

【0106】

方法は、CRC構造スクリーニングレジメンによって、ステージIまたはIIのCRCの診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC処置および/またはCRCモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

【0107】

12.ステージIIIまたはIVのCRCを有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別する方法

一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ：CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、ステージIIIまたはIVのCRCを有する対象と、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さない対象との間を鑑別する方法を対象とする。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンを実証する場合、対象はステージIIIまたはIVのCRCを有し得る。方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルが、CEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ステージIIIまたはIVのCRCを有する、または有するリスクがある対象を決定または同定するステップを含むことができる。生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルが、CEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象は、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さないと決定または同定される。

【0108】

対象が、他のバイオマーカーおよび/または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象はステージIIIまたはIVのCRCを有し得る。方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i)CEAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルに等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(ii)CYFRAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルに等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(iii)CRPスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルに等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、および(iv)フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルに等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(4)ステ

10

20

30

40

50

ップ(3)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(5)合計スコアが基準スコアより高い場合、対象はステージⅡⅡまたはⅣのCRCを有し、もしくは有するリスクが高い診断を、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、対象は低リスク腺腫を有する、および/もしくはがんを有さない診断を提供するステップを含むことができる。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは0、1、2、3または4であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。方法は、対象の年齢を決定するステップ、および対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および対象に対する年齢スコアを提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢に等しくまたはより高い場合、対象は1のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、0のスコアを得るステップをさらに含むことができる。基準年齢は、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは0、1、2、3、4または5であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。

#### 【0109】

方法は、CRC構造スクリーニングレジメンによって、ステージⅡⅡまたはⅣのCRCの診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC処置および/またはCRCモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

#### 【0110】

##### 13. 非CRCがんを有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別する方法

一実施形態において、本発明は、以下のマーカーの組合せ：CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを定量または決定することによって、非CRCを有する、もしくは非CRCを有するリスクのある対象と、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さない対象との間を鑑別する方法を対象とする。本明細書に記載する通り、対象が、好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンを実証する場合、対象は非CRCを有し得る。方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに(4)生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルが、CEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましくない場合、非CRCを有する、または有するリスクがある対象を決定または同定するステップを含むことができる。生物学的試料中のCEA、CYFRAおよびCRPのレベルが、CEA、CYFRAおよびCRPの基準レベルより低いまたは基準レベルに関して好ましい場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルが、フェリチンの基準レベルより高いまたは基準レベルに関して好ましい場合、対象は、低リスク腺腫を有する、および/またはがんを有さないと決定または同定される。

#### 【0111】

対象が、他のバイオマーカーおよび/または因子とともに、本明細書に記載する通り、好ましくない濃度または量のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンによって決定されるように、好ましくないスコアを実証する場合、対象は非CRCを有し得る。方法は、(1)対象から生物学的試料を得るステップ、(2)対象からの生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを決定するステップ、(3)生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i)CEAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEA

10

20

30

40

50

の基準レベルに等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(i i) CYFRAスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルに等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、(i i i) CRPスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルに等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、および(iv)フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルに等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、(4)ステップ(3)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに(5)合計スコアが基準スコアより高い場合、対象は非CRCを有し、もしくは有するリスクが高い診断を、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、対象は低リスク腺腫を有する、および/もしくはがんを有さない診断を提供するステップを含むことができる。バイオマーカーに対する基準レベルは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは0、1、2、3または4であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。方法は、対象の年齢を決定するステップ、および対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および対象に対する年齢スコアを提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢に等しくまたはより高い場合、対象は1のスコアを得、対象の年齢が基準年齢より低い場合、0のスコアを得るステップをさらに含むことができる。基準年齢は、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。基準スコアは0、1、2、3、4または5であってよい。基準スコアは、男性対象および女性対象に対して同じでも、または異なっていてもよい。

#### 【0112】

方法は、CRC構造スクリーニングレジメンによって、非CRCの診断またはリスクを確定するステップをさらに含むことができる。方法は、CRC処置および/またはCRCモニタリングレジメンのステップをいっそうさらに含むことができる。

#### 【0113】

##### 14. 対象におけるCRCの進行をモニタリングする方法

本明細書に記載する方法は、対象におけるAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPのレベルを決定することによって、対象におけるCRC、特に早期CRCの進行をモニタリングするのに使用され得る。方法は、(a)対象からの試験試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量を決定するステップ、(b)対象からの最近の試験試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量を決定するステップ、ならびに(c)ステップ(b)において決定されたAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量を、ステップ(a)において決定されたAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量と比較するステップであって、ステップ(b)において決定された濃度または量が、ステップ(a)において決定されたAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量と比較した場合、より高い、非変化、または好ましくない場合、対象における疾患は、継続し、進行し、または悪化していると決定されるステップを含むことができる。比較すると、ステップ(b)において決定されたAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量が、ステップ(a)において決定されたAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度または量と比較した場合、より低い、または好ましい場合、対象にお

けるC R Cが、中断し、退行し、または改善していると決定される。一部の実施形態において、バイオマーカーのスコアは、バイオマーカーの基準レベルと比較した試料中のバイオマーカーのレベル間の差に基づいて各バイオマーカーに対して産生され、合計スコアはこれらのバイオマーカーのスコアから産生される。合計スコアは基準スコアに対して比較され、診断はこの比較に基づく。

【0114】

任意選択的に、方法は、ステップ( b )において決定された、A F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量を、例えば、予め決定されたレベルと比較するステップをさらに含む。さらに、任意選択的に、方法は、比較が、ステップ( b )において決定されたA F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が、例えば、予め決定されたレベルに関してより高い、または好ましくなく改変されていることを示す場合、ある期間、対象を、1つ以上の処置レジメン( すなわち、外科手術、化学療法、放射線医学治療、放射線医学処置、標的化治療またはこれらの組合せ )で処置するステップを含む。

【0115】

いっそうさらに、方法は、外科手術、化学療法、放射線医学治療、放射線医学処置、標的化治療またはこれらの組合せ( 集合的に「処置レジメン」 )の1つ以上での処置を受けている対象をモニタリングするのに使用され得る。具体的に、このような方法は、対象が1つ以上の処置レジメンを施されていた前、対象からの第1の試験試料を提供するステップを伴う。次に、対象からの第1の試験試料中のA F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が決定される( 例えば、当技術分野では公知の方法を使用して )。A F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が決定された後、任意選択的に、A F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が、次いで、予め決定されたレベルと比較される。第1の試験試料中の決定されたA F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が、予め決定されたレベルより低いまたはレベルに関して好ましい場合、対象は1つ以上の処置レジメンで処置されず、または代替的に対象は1つ以上の処置レジメンで処置されてもよい。第1の試験試料中の決定されたA F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が、予め決定されたレベルより高いまたはレベルに関して好ましくない場合、対象は、ある期間、1つ以上の処置レジメンで処置され、または代替的に、対象は1つ以上の処置レジメンで処置されない。対象が1つ以上の処置レジメンで処置される期間は、当業者によって決定されてよい( 例えば、期間は、約7日から約2年、好ましくは約14日から約1年であってよい。 )。

【0116】

1つ以上の処置レジメンでの処置の経過の間、第2および後続の試験試料が、次いで対象から得られる。試験試料の数、および前記試験試料が対象から得られる時間は、重要ではない。例えば、第2の試験試料は、対象が1つ以上の処置レジメンを最初に施された7日後に得られてもよく、第3の試験試料は、対象が1つ以上の処置レジメンを最初に施された2週間後に得られてもよく、第4の試験試料は、対象が1つ以上の処置レジメンを最初に施された3週間後に得られてもよく、第5の試験試料は、対象が1つ以上の処置レジメンを最初に施された4週間後に得られてもよい、などである。

【0117】

第2または後続の各試験試料が対象から得られた後、A F P、C E A、フェリチニン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および／またはC R Pの濃度または量が、第2または後続の試験試料中で決定される( 例えば、当技術分野では公知の方法を使用して )。第2または後続の各試験試料中で決定されたA F P、C E A、フェリチニン、C

Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P の濃度または量が、次いで、第 1 の試験試料中（例えば、もともと、予め決定されたレベルと任意選択的に比較した試験試料）で決定された A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P の濃度または量と比較される。ステップ（c）において決定された A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P の濃度または量が、ステップ（a）において決定された A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P の濃度または量と比較した場合、より低いまたは好ましい場合、対象における疾患は、中断し、退行し、または改善していると決定され、対象は、1つまたはステップ（b）の処置レジメンを引き続き施されるべきである。しかし、ステップ（c）において決定された濃度または量が、ステップ（a）において決定された A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P の濃度または量に比べた場合、より高い、非変化、または好ましくない場合、対象における疾患は、持続し、進行し、または悪化していると決定され、対象は、ステップ（b）において対象に投与されるより高濃度の1つ以上の処置レジメンで処置されるべきであり、または対象はステップ（b）において対象に投与される1つ以上の処置レジメンと異なる1つ以上の処置レジメンで処置されるべきである。具体的に、対象は、前記対象の A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P のレベルを低減し、または低下させるために対象が以前に受けた1つ以上の処置レジメンと異なる1つ以上の処置レジメンで処置されてもよい。 10

#### 【 0 1 1 8 】

さらに、上記のアッセイは、第 1 の試験試料が、尿、血清または血漿のような1つの供給源から得られる場合、対象から得た第 1 の試験試料を使用して行われてもよい。任意選択的に、上記のアッセイは、次いで、第 2 の試験試料が別の供給源から得られる場合、対象から得た第 2 の試験試料を使用して繰り返されてもよい。例えば、第 1 の試験試料が尿から得られた場合、第 2 の試験試料は血清または血漿から得られてもよい。第 1 の試験試料および第 2 の試験試料を使用してアッセイから得た結果は、比較されてよい。比較は、対象における疾患または状態の状況を評価するために使用されてよい。 20

#### 【 0 1 1 9 】

##### 1 5 . 基準レベル

本明細書に記載する方法は、（1）対象が、高リスク腺腫および / または C R C に罹患している、または罹患するリスクがあるか否かを同定および決定し、（2）男性対象または女性対象が、C R C 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるか否かを同定および決定し、（3）対象における高リスク腺腫および / または C R C の診断を提供し、（4）高リスク腺腫および / または C R C を有する、または疑われる対象における、高リスク腺腫および / または C R C の診断、予後診断および / またはリスク層別化を提供し、または提供するのを助け、（5）高リスク腺腫および / または C R C を有する対象と、低リスク腺腫を有する、および / またはがんを有さない対象との間を鑑別し、（6）C R C を有する対象とがんを有さない対象との間を鑑別し、ならびに（7）対象における C R C の進行をモニタリングするために、対象の A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / または C R P の基準レベルを使用する。A F P、C E A、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / もしくは C R P の基準レベルと等しくもしくはより高いレベル、ならびに / またはフェリチンの基準レベルと等しくもしくはより低いレベルは、患者が高リスク腺腫および / もしくは C R C を有する、または高リスク腺腫および / もしくは C R C を有し、もしくは発症するリスクがあると同定する。A F P、C E A、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / もしくは C R P の基準レベルより低いレベル、ならびに / またはフェリチンの基準レベルより高いレベルは、患者が、低リスク腺腫を有する、および / またはがんを有さないと同定する。A F P、C E A、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および / もしくは C R P の基準レベルと等しくもしくはより高いレベル、ならびに 40

30

40

50

/またはフェリチンの基準レベルと等しくもしくはより低いレベルも、C R C 以外のがんを有する、またはC R C 以外のがんを有する、もしくは発症するリスクがあると患者を同定し得る。A F P、C E A、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/もしくはC R P の基準レベルより低いレベル、ならびに/またはフェリチンの基準レベルより高いレベルも、がんを有さないと患者を同定し得る。

#### 【0120】

a. A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/またはC R P のマーカーに対する基準レベル

一般的に、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/またはC R P に対して試験試料をアッセイする際に得られた結果を評価するための指標として、予め決定されたレベルまたは基準レベルが使用されてよい。一般的に、このような比較を行う上で、存在する分析物、量もしくは濃度の特定の段階とのつながりもしくは関連、またはC R C のエンドポイントの特定の兆候 (i n d i c i a ) とのつながりもしくは関連がつくられ得るように、十分な回数、および好適な条件下で特定のアッセイを行うことによって、予め決定されたレベルが得られる。予め決定されたレベルが、基準対象 (または対象の集団) のアッセイで得られるのが典型的である。基準対象は、対照の対象またはがん対象であってよい。基準集団または基準群は、対照群またはがん群であってよい。測定されたA F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/またはC R P は、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/またはC R P 、これらのフラグメント、これらの分解生成物、および/またはこれらの酵素切斷生成物を含むことができる。

10

#### 【0121】

特に、疾患の進行および/または処置のモニタリングに使用される予め決定されたレベルに関して、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/もしくはC R P 、またはA F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/もしくはC R P フラグメントの量または濃度は、「非変化」、「好ましい」(もしくは「好ましく変化されている」)、または「好ましくない」(もしくは「好ましくなく変化されている」)であってよい。「上昇」または「増大」は、対照群もしくはがん群に見出される典型的な、もしくは正常なレベルのような、典型的な、もしくは正常なレベルもしくは範囲 (例えば、予め決定されたレベル) より高い、もしくはそれを超える試験試料中の量もしくは濃度を意味し、または別の基準レベルもしくは範囲 (例えば、より早期の、もしくはベースラインの試料) より高い、もしくはそれを超える。「低下」または「低減」の語は、対照群もしくはがん群に見出される典型的もしくは正常なレベルのような、典型的もしくは正常なレベルもしくは範囲 (例えば、予め決定されたレベル) より低い、もしくはそれ未満である試験試料中の量もしくは濃度を意味し、または別の基準レベルもしくは範囲 (例えば、より早期の、もしくはベースラインの試料) より低い、もしくはそれ未満である。「変化」の語は、対照群もしくはがん群において、または別の基準レベルもしくは範囲 (例えば、より早期の、もしくはベースラインの試料) にわたって見出される典型的または正常なレベルのような、典型的または正常なレベルまたは範囲 (例えば、予め決定されたレベル) にわたって変化している (増大もしくは低減されている) 試料中の量または濃度を意味する。

20

#### 【0122】

A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/またはC R P に対する典型的または正常なレベルまたは範囲は、標準実施法 (s t a n d a r d p r a c t i c e) に従って規定される。いわゆる変化されたレベルまたは変化は、典型的もしくは正常なレベルもしくは範囲、または実験誤差もしくは試料の変動によって説明され得ない基準のレベルもしくは範囲に比べて、あらゆる正味の変化が存在する場合に生じているとみなされ得る。一部の実施形態において、特定の試料中で測定されるレベルが、いわゆる正常対象、すなわち対照の対象からの同様の試料中で決定され

30

40

50

るレベルまたはレベルの範囲と比較される。この文脈において、例えば、「正常」(ときに「対照の」または「健常」と呼ばれる)対象は、検知できるがんがない個体であり、「正常」患者または集団は、検知できるがんを表さない個体である。「見かけ上の正常対象」は、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a l 3 および/またはC R Pが評価されておらず、または評価中であるものである。分析物が、通常検知不可能であるが(例えば、正常レベルがゼロであり、または正常集団の約25から約75パーセンタイルまでの範囲内である)試験試料中で検出される場合、および試験試料中に正常レベルより高い分析物が存在する場合、分析物のレベルは「上昇」していると言われる。一部の実施形態において、特定の試料中で測定されたレベルが、がん対象から同様の試料中で決定されたレベルまたはレベルの範囲と比較される。

10

### 【0123】

例えば、一態様において、C E Aについて血清中3.5ng/mL、4.0ng/mL、4.3ng/mL、4.4ng/mL、4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、4.8ng/mL、4.9ng/mL、5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.4ng/mL、5.5ng/mL、5.6ng/mL、5.7ng/mL、5.8ng/mL、5.9ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.1ng/mL、7.2ng/mL、7.3ng/mL、7.4ng/mL、7.5ng/mL、7.6ng/mL、7.7ng/mL、7.8ng/mL、7.9ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはより高い(もしくは超える)基準レベル、C Y F R Aについて血清中1.50ng/mL、1.55ng/mL、1.60ng/mL、1.65ng/mL、1.67ng/mL、1.68ng/mL、1.69ng/mL、1.70ng/mL、1.71ng/mL、1.72ng/mL、1.73ng/mL、1.74ng/mL、1.75ng/mL、1.76ng/mL、1.77ng/mL、1.80ng/mL、1.85ng/mL、1.90ng/mL、1.95ng/mL、1.96ng/mL、1.97ng/mL、1.98ng/mL、1.99ng/mL、2.00ng/mL、2.01ng/mL、2.02ng/mL、2.03ng/mL、2.04ng/mL、2.05ng/mL、2.06ng/mL、2.07ng/mL、2.08ng/mL、2.09ng/mL、2.10ng/mL、2.11ng/mL、2.12ng/mL、2.13ng/mL、2.14ng/mL、2.15ng/mL、2.16ng/mL、2.17ng/mL、2.18ng/mL、2.19ng/mL、2.20ng/mL、2.21ng/mL、2.22ng/mL、2.23ng/mL、2.24ng/mL、2.25ng/mL、2.50ng/mLまたは3.00ng/mLに等しくまたはより高い基準レベル、C R Pについて血清中1.0mg/mL、1.5mg/mL、1.6mg/mL、1.7mg/mL、1.8mg/mL、1.9mg/mL、2.0mg/mL、2.5mg/mL、4.0mg/mL、4.5mg/mL、5.0mg/mL、5.1mg/mL、5.2mg/mL、5.3mg/mL、5.4mg/mL、5.5mg/mL、5.6mg/mL、5.7mg/mL、5.8mg/mL、5.9mg/mL、6.0mg/mL、6.5mg/mL、6.6mg/mL、6.7mg/mL、6.8mg/mL、6.9mg/mL、7.0mg/mL、7.1mg/mL、7.2mg/mL、7.3mg/mL、7.4mg/mL、7.5mg/mL、7.6mg/mL、7.7mg/mL、7.8mg/mL、7.9mg/mL、8.0mg/mL、8.1mg/mL、8.2mg/mL、8.3mg/mL、8.4mg/mL、8.5mg/mL、8.6mg/mL、8.7mg/mL、8.8mg/mL、8.9mg/mL、9.0mg/mL、9.5mg/mL、10.0mg/mL、15.0mg/mL、17.0mg/mL、17.1mg/mL、17.2mg/mL、17.3mg/mL、17.4mg/mL、17.5mg/mL、17.6mg/mL、17.7mg/mL、17.8mg/mL、17.9mg/mL、18.0mg/mL、18.1mg/mL、18.2mg/mL、18.3mg/mL、18.4mg/mL

20

30

40

50

L、18.5 mg/mL、18.6 mg/mL、18.7 mg/mL、18.8 mg/mL、18.9 mg/mL、19.0 mg/mL、19.5 mg/mLまたは20.0 mg/mLに等しくまたはより高い基準レベル、フェリチンについて血清中120.0 ng/mL、115.0 ng/mL、114.0 ng/mL、113.0 ng/mL、112.0 ng/mL、111.0 ng/mL、110.0 ng/mL、109.0 ng/mL、108.0 ng/mL、107.0 ng/mL、106.0 ng/mL、105.0 ng/mL、104.0 ng/mL、103.0 ng/mL、102.0 ng/mL、101.0 ng/mL、100.0 ng/mL、99.0 ng/mL、98.0 ng/mL、97.0 ng/mL、96.0 ng/mL、95.0 ng/mL、94.0 ng/mL、93.0 ng/mL、92.0 ng/mL、91.0 ng/mL、90.0 ng/mL、89.0 ng/mL、88.0 ng/mL、87.0 ng/mL、86.0 ng/mL、85.0 ng/mL、80.0 ng/mL、75.0 ng/mL、70.0 ng/mL、65.0 ng/mL、60.0 ng/mL、55.0 ng/mL、50.0 ng/mL、45.0 ng/mL、44.0 ng/mL、43.0 ng/mL、42.0 ng/mL、41.0 ng/mL、40.0 ng/mL、39.0 ng/mL、38.0 ng/mL、37.0 ng/mL、36.0 ng/mL、35.0 ng/mL、34.0 ng/mL、33.0 ng/mL、32.0 ng/mL、31.0 ng/mL、30.0 ng/mLまたは25.0 ng/mLに等しくまたはより低い基準レベル、CA19-9について血清中23.0 U/mL、23.1 U/mL、23.2 U/mL、23.3 U/mL、23.4 U/mL、23.5 U/mL、23.6 U/mL、23.7 U/mL、23.8 U/mL、23.9 U/mL、24.0 U/mL、24.1 U/mL、24.2 U/mL、24.3 U/mL、24.4 U/mL、24.5 U/mL、24.6 U/mL、24.7 U/mL、24.8 U/mL、24.9 U/mL、25.0 U/mL、25.1 U/mL、25.2 U/mL、25.3 U/mL、25.4 U/mL、25.5 U/mL、25.6 U/mL、25.7 U/mL、25.8 U/mL、25.9 U/mL、26.0 U/mL、26.1 U/mL、26.2 U/mL、26.3 U/mL、26.4 U/mL、26.5 U/mL、26.6 U/mL、26.7 U/mL、26.8 U/mL、26.9 U/mL、27.0 U/mL、27.1 U/mL、27.2 U/mL、27.3 U/mL、27.4 U/mL、27.5 U/mL、27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mLまたは29.0 U/mLに等しくまたはより高い基準レベル、またはこれらの組合せは、対象が、高リスク腺腫および/またはCRCを有すると同定する。別の態様において、CEAについて血清中3.5から8.0 ng/mLに等しくまたはより高い（もしくは超える）基準レベル、CYFRAについて血清中1.50から3.00 ng/mLに等しくまたはより高い基準レベル、CRPについて血清中1.0から20.0 mg/mLに等しくまたはより高い基準レベル、フェリチンについて血清中120.0から25.0 ng/mLに等しくまたはより低い基準レベル、CA19-9について血清中23.0から29.0 U/mLに等しくまたはより高い基準レベル、またはこれらの組合せは、対象が、高リスク腺腫および/またはCRCを有すると同定する。

#### 【0124】

例えば、一態様において、CYFRAについて血清中1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mLまたは3.5 ng/mLに等しくまたはより高い基準レベル、CRPについて血清中9.0 mg/mL、9.1 mg/mL、9.2 mg/mL、9.3 mg/mL、9.4 mg/mL、9.5 mg/mL、9.6 mg/mL、9.7 mg/mL、9.8 mg/mL、9.9 mg/mL、10.0 mg/mL、10.1 mg/mL、10.2 mg/mL、10.3 mg/mL、10.4 mg/mL、10.5 mg/mL、10.6 mg/mL、10.7 mg/mL、10.8 mg/mL、10.9 mg/mLに等しくまたはより高い基準レベル、

g / mL、11.0 mg / mL、11.5 mg / mL、12.0 mg / mL、14.0 mg / mL、14.1 mg / mL、14.2 mg / mL、14.3 mg / mL、14.4 mg / mL、14.5 mg / mL、14.6 mg / mL、14.7 mg / mL、14.8 mg / mL、14.9 mg / mL、15.0 mg / mL、15.1 mg / mL、15.2 mg / mL、15.3 mg / mL、15.4 mg / mL、15.5 mg / mL、15.6 mg / mL、15.7 mg / mL、15.8 mg / mL、15.9 mg / mL、16.0 mg / mL、16.1 mg / mL、16.2 mg / mL、16.3 mg / mL、16.4 mg / mL、16.5 mg / mL、17.0 mg / mL または 17.5 mg / mL に等しくまたはより高い基準レベル、TIMP-1 について血清中 140 ng / mL、141 ng / mL、142 ng / mL、143 ng / mL、144 ng / mL、145 ng / mL、146 ng / mL、147 ng / mL、148 ng / mL、149 ng / mL、150 ng / mL、151 ng / mL、152 ng / mL、153 ng / mL、154 ng / mL、155 ng / mL、156 ng / mL、157 ng / mL、158 ng / mL、159 ng / mL または 160 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、CA19-9 について血清中 24.0 U / mL、24.1 U / mL、24.2 U / mL、24.3 U / mL、24.4 U / mL、24.5 U / mL、24.6 U / mL、24.7 U / mL、24.8 U / mL、24.9 U / mL、25.0 U / mL、25.1 U / mL、25.2 U / mL、25.3 U / mL、25.4 U / mL、25.5 U / mL、25.6 U / mL、25.7 U / mL、25.8 U / mL、25.9 U / mL、26.0 U / mL または 26.5 U / mL に等しくまたはより高い基準レベル、AFP について血清中 5.0 ng / mL、5.1 ng / mL、5.2 ng / mL、5.3 ng / mL、5.4 ng / mL、5.5 ng / mL、5.6 ng / mL、5.7 ng / mL、5.8 ng / mL、5.9 ng / mL、6.0 ng / mL、6.1 ng / mL、6.2 ng / mL、6.3 ng / mL、6.4 ng / mL、6.5 ng / mL、6.6 ng / mL、6.7 ng / mL、6.8 ng / mL、6.9 ng / mL、7.0 ng / mL、7.5 ng / mL または 8.0 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、CEA について血清中 4.0 ng / mL、4.1 ng / mL、4.2 ng / mL、4.3 ng / mL、4.4 ng / mL、4.5 ng / mL、4.6 ng / mL、4.7 ng / mL、4.8 ng / mL、4.9 ng / mL、5.0 ng / mL、5.1 ng / mL、5.2 ng / mL、5.3 ng / mL、5.4 ng / mL、5.5 ng / mL、5.6 ng / mL、5.7 ng / mL、5.8 ng / mL、5.9 ng / mL、6.0 ng / mL、6.1 ng / mL、6.2 ng / mL、6.3 ng / mL、6.4 ng / mL、6.5 ng / mL、6.6 ng / mL、6.7 ng / mL、6.8 ng / mL、6.9 ng / mL、7.0 ng / mL または 7.5 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、またはこれらの組合せは、対象が、CRC 以外のがんを有すると同定する。別の態様において、CYFRA について血清中 1.0 から 3.5 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、CRP について血清中 9.0 から 17.5 mg / mL に等しくまたはより高い基準レベル、TIMP-1 について血清中 140.0 から 160 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、CA19-9 について血清中 24.0 から 26.5 U / mL に等しくまたはより高い基準レベル、AFP について血清中 5.0 から 8.0 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、CEA について血清中 4.0 から 7.5 ng / mL に等しくまたはより高い基準レベル、またはこれらの組合せは、対象が、CRC 以外のがんを有すると同定する。

#### 【0125】

カットオフ値（または予め決定されたカットオフ値）は、適応インデックスモデル（AIM）法によって決定され得る。カットオフ値（または予め決定されたカットオフ値）は、患者群の生物学的試料から受診者動作曲線（receiver operating curve）（ROC）分析によって決定され得る。ROC分析は、生物学の技術分野では一般的に公知である通り、例えば、CRC を有する患者を同定する上で各マーカーの性能を決定するために、一条件を別の一条件と鑑別する試験の能力の決定である。本開示に従って適用されるROC分析の記述は、その全文を参照により本明細書に組み込む、P. 50

J. Heagertyら、Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker、*Biometrics*、56:337-44(2000)に提供される。代替的に、カットオフ値は、患者群の生物学的試料を四分位値分析することによって決定され得る。例えば、カットオフ値は、第25-第75パーセンタイル範囲におけるあらゆる値に対応する値、好ましくは、第25パーセンタイル、第50パーセンタイルまたは第75パーセンタイル、より好ましくは第75パーセンタイルに対応する値を選択することによって決定され得る。

【0126】

このような統計学的分析は、当技術分野では公知のあらゆる方法を使用して行われてよく、あらゆる数の市販のソフトウェアパッケージ(例えば、Analyse-it Software Ltd.、Leeds、UK; StataCorp LP、College Station、TX; SAS Institute Inc.、Cary、NCから)によって実行され得る。

10

【0127】

b. 付加的なバイオマーカーに対する基準レベル

一般的に、予め決定されたレベルまたは基準レベルは、それに対してmS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1、ENO2、またはこれらのあらゆる組合せに対して試験試料をアッセイする際に得られる結果を評価するための指標として使用され得る。一般的に、このような比較を行う上で、存在する分析物、量もしくは濃度の特定の段階とのつながりもしくは関連、またはCRCのエンドポイントの特定の兆候(indicia)とのつながりもしくは関連がつくられ得るように、十分な回数、および好適な条件下で特定のアッセイを行うことによって、予め決定されたレベルが得られる。予め決定されたレベルが、基準対象(または対象の集団)のアッセイで得られるのが典型的である。基準対象は、対照の対象またはがん対象であってよい。基準集団または基準群は、対照群またはがん群であってよい。測定されたmS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1および/またはENO2は、mS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1および/またはENO2、これらのフラグメント、これらの分解生成物、および/またはこれらの酵素切斷生成物を含むことができる。

20

【0128】

特に、疾患の進行および/または処置のモニタリングに使用される予め決定されたレベルに関して、mS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1および/またはENO2、またはmS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1および/またはENO2フラグメントの量または濃度は、「非変化」、「好ましい」(もしくは「好ましく変化されている」)、または「好ましくない」(もしくは「好ましくなく変化している」)であってよい。「上昇」または「増大」は、対照群もしくはがん群に見出される典型的な、もしくは正常なレベルのような、典型的な、もしくは正常なレベルもしくは範囲(例えば、予め決定されたレベル)より高い、もしくはそれを超える試験試料中の量もしくは濃度を意味し、または別の基準レベルもしくは範囲(例えば、より早期の、もしくはベースラインの試料)より高い、もしくはそれを超える。「低下」または「低減」の語は、対照群もしくはがん群に見出される典型的もしくは正常なレベルのような、典型的もしくは正常なレベルもしくは範囲(例えば、予め決定されたレベル)より低い、もしくはそれ未満である試験試料中の量もしくは濃度を意味し、または別の基準レベルもしくは範囲(例えば、より早期の、もしくはベースラインの試料)より低い、もしくはそれ未満である。「変化」の語は、対照群もしくはがん群において、または別の基準レベルもしくは範囲(例えば、より早期の、もしくはベースラインの試料)にわたって見出される典型的または正常なレベルのような、典型的または正常なレベルまたは範囲(例えば、予め決定されたレベル)にわたって変化されている(増大もしくは低減されている)試料中の量または濃度を意味する。

30

40

40

50

## 【0129】

mS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1および/またはENO2に対する典型的または正常なレベルまたは範囲は、標準実施法に従って規定される。いわゆる改変されたレベルまたは改変は、典型的もしくは正常なレベルもしくは範囲、または実験誤差もしくは試料の変動によって説明され得ない基準のレベルもしくは範囲に比べて、あらゆる正味の変化が存在する場合に生じているとみなされ得る。よって、特定の試料中で測定されるレベルが、いわゆる正常対象からの同様の試料中で決定されるレベルまたはレベルの範囲と比較される。この文脈において、例えば、「正常」(ときに「対照の」または「健常」と呼ばれる)対象は、検知できるがんがない個体であり、「正常」患者または集団は、検知できるがんを表さない個体である。「見かけ上の正常対象」は、mS9、HbA1c、C3a、CatX、suPAR(I)、PAI-1および/またはENO2が評価されておらず、または評価中であるものである。分析物が、通常検知不可能であるが(例えば、正常レベルがゼロであり、または正常集団の約25から約75パーセンタイルまでの範囲内である)試験試料中で検出される場合、および試験試料中に正常レベルより高い分析物が存在する場合、分析物のレベルは「上昇」していると言われる。一部の実施形態において、特定の試料中で測定されたレベルが、がん対象から同様の試料中で決定されたレベルまたはレベルの範囲と比較される。

10

## 【0130】

カットオフ値(または予め決定されたカットオフ値)は、適応インデックスモデル(AIM)法によって決定され得る。カットオフ値(または予め決定されたカットオフ値)は、患者群の生物学的試料から受診者動作曲線(receiver operating curve)(ROC)分析によって決定され得る。ROC分析は、生物学の技術分野では一般的に公知である通り、例えば、CRCを有する患者を同定する上で各マーカーの性能を決定するために、一条件を別の一条件と鑑別する試験の能力の決定である。本開示に従って適用されるROC分析の記述は、その全文を参照により本明細書に組み込む、P.J. Heagertyら、Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker、Biometrics、56:337-44(2000)に提供される。

20

## 【0131】

30

代替的に、カットオフ値は、患者群の生物学的試料を四分位値分析することによって決定され得る。例えば、カットオフ値は、第25-第75パーセンタイル範囲におけるあらゆる値に対応する値、好ましくは、第25パーセンタイル、第50パーセンタイルまたは第75パーセンタイル、より好ましくは第75パーセンタイルに対応する値を選択することによって決定され得る。

## 【0132】

30

このような統計学的分析は、当技術分野では公知のあらゆる方法を使用して行われてよく、あらゆる数の市販のソフトウェアパッケージ(例えば、Analyse-it Software Ltd.、Leeds、UK; StataCorp LP、College Station、TX; SAS Institute Inc.、Cary、NCから)によって実行され得る。

40

## 【0133】

## 16. 対象のCRCの状況を確認するための手段

上記に論じた値より高いAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、GAL3および/またはCRPのレベルを有すると、上記に記載した方法において同定された対象は、高リスク腺腫および/またはCRCに罹患している患者と同定される。次いで、対象は、CRCの状況を確認するための手段を施され得る。CRCの状況を確認するための手段は、上記に論じた通り、便検査およびCRC構造スクリーニング試験のようなCRCスクリーニング方法を行うことを含むことができる。CRCの段階は、切除した結腸の病理学的試験、S状結腸鏡検査、結腸鏡検査、および様々な画像化技術

50

、ならびに近位リンパ節評価、センチネルリンパ節評価、胸部／腹部／骨盤CT、MRIスキャン、ポジトロン放出断層撮影（「PET」）スキャン、肝機能検査（肝臓転移に対して）、および血液検査（全血球計算値（「CBC」）、がん胎児性抗原（「CEA」）、CA19-9）によって確認され得る。

【0134】

17. 対象のCRCの状況をモニタリングするための手段

上記に記載した方法において、論じた値より高い AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および／またはCRPのレベルを有すると同定された対象は、CRCまたはCRC以外のがんに罹患している患者と同定される。多くの患者が、外科切除後、特に最初の2年または3年に、CRCの再発を発症し得る。したがって、CRC患者は、治療に対する応答を決定するために、ならびに持続的な、または再発性の疾患および転移を検出するために、詳細にモニタリングされなければならない。

10

【0135】

対象は、次いで、CRCまたはがんのモニタリングレジメン上に置かれてよい。具体的に、対象は、がんを処置するため、および疾患の進行（または欠如）を評価するために使用されている、あらゆる処置レジメン（外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せのような）の有効性をモニタリングするための手段を施され得る。CRCまたはがんのモニタリングレジメンは、周期的な間隔で（週1回、月1回、2か月毎に1回、3か月毎に1回、4か月毎に1回、5か月毎に1回、6か月毎に1回、7か月毎に1回、8か月毎に1回、9か月毎に1回、10か月毎に1回、11か月毎に1回および1年に1回であるような周期的に）またはこれらのあらゆる組合せで、 AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および／またはCRPの決定を行うことを伴い得る。

20

【0136】

18. 処置レジメン

上記に記載した方法において、論じた値より高い AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および／またはCRPのレベルを有すると同定された対象は、高リスク腺腫、CRC、および／またはCRC以外のがんに罹患している患者と同定される。対象は、次いで、高リスク腺腫、CRCおよび／またはがんに対して処置される。あらゆる数々の、または様々な処置レジメンが使用され得る。例えば、このような処置レジメンは、外科手術、化学療法、放射線医学治療、放射線医学処置、標的化治療またはこれらの組合せの1つ以上を含むことができる。

30

【0137】

a. がんの処置

化学療法は、1つ以上の化学療法剤の使用を伴う。本明細書で使用される、「化学療法剤」の句は、がんの処置または緩和に有効であることが当業者には公知のあらゆる化学療法剤を意味するものとされる。化学療法剤は、それだけには限定されないが、小分子、合成薬物、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、核酸（例えば、それだけには限定されないが、アンチセンスヌクレオチド配列、三重らせん、および生物学的に活性なタンパク質、ポリペプチドもしくはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含めた、DNAおよびRNAヌクレオチド）、抗体、合成または天然の無機分子、偽薬剤（mimetic agent）、ならびに合成または天然の有機分子を含む。有用であることが知られている、またはがんの処置もしくは緩和に使用されていた、もしくは現在使用されているあらゆる薬剤が、本明細書に記載する本発明にしたがって、活性ビタミンD化合物と併用して使用され得る。例えば、がんの処置または緩和に使用されていた、または現在使用されている治療薬剤に関する情報には、Hardmanら編集、1996、Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Basics of Therapeutics、第9版、McGraw-Hill、New York、N.Y.を参照されたい。

40

50

## 【0138】

化学療法剤は、アルキル化剤、代謝拮抗物質、有糸分裂阻害剤、エピポドフィロトキシン、抗生物質、ホルモンおよびホルモンアンタゴニスト、酵素、白金配位錯体、アントラセンジオン、置換されている尿素、メチルヒドラジン誘導体、イミダゾテトラジン誘導体、細胞保護剤、DNAトポイソメラーゼインヒビター、生物学的応答修飾物質、レチノイド、治療用抗体、分化誘導剤、免疫調節剤ならびに血管新生阻害剤を含むことができる。

## 【0139】

使用され得る化学療法剤の例は、CRCの処置または緩和に、使用されていた薬剤、現在使用されている薬剤、または有用であることが知られている薬剤を含む。好ましい薬剤は、それだけには限定されないが、シスプラチニン、カルボプラチニン、パクリタキセル、ドセタキセル、エトポシド、ピンクリスチニン、ピンプラスチニン、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビノレルビン、トポテカン、ゲムシタビン、イリノテカン、ゲフィチニブ、イホスファミド、タルセバ、オブリメルセンおよびTLK286を含む。

## 【0140】

使用され得る他の化学療法剤は、アバレリクス、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロブリノール、アルトレタミン、アミホスチニン、アナストロゾール、アナストロゾール、三酸化二砒素、アスパラギナーゼ、アザシチジン、BCG生、ベバシズマブ (bevacizumab)、ベキサロテン、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カルステロン、カンプトテシン、カペシタビン、カルボプラチニン、カルムスチニン、セレコキシブ、セツキシマブ、クロラムブシル、シナカルセト、シスプラチニン、クラドリビン、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダーベポエチンアルファ、ダウノルビシン、デニロイキン ディフィティトックス、デキストラゾキサン、ドセタキセル、ドキソルビシン、ドロモスタノロン、E11iotのB溶液、エピルビシン、エポエチンアルファ、エストラムスチニン、エトポシド、エキセメスタン、フィルグラスチム、フロクスウリジン、フルダラビン、フルオロウラシル、フルベストラント、ゲムシタビン、ゲムツズマブ オゾガマイシン、ゲフィチニブ、ゴセレリン、ヒドロキシ尿素、イブリツモマブ チウキセタン、イダルビシン、イホスファミド、イマチニブ、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、イリノテカン、レトロゾール、ロイコボリン、レバミソール、ロムスチニン、メクロレタミン、メゲストロール、メルファラン、メルカブトブリニン、メスナ、メトトレキセート、メトキサレン、メチルプレドニゾロン、マイトマイシンC、ミトタン、ミトキサントロン、ナンドロロン、ノフェツモマブ、オブリメルセン、オブレルベキン、オキサリプラチニン、パクリタキセル、パミドロネート、ペガデマーゼ、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド、ペントスタチニン、ピポブロマン、ブリカマイシン、ポリフェプロサン、ポルフィマー、プロカルバジン、キナクリン、ラスブリカーゼ、リツキシマブ、サルグラモスチム、SN-38、ストレプトゾシン、タルク、タモキシフェン、タルセバ、テモゾロミド、テニポシド、テストラクトン、チオグアニン、チオテバ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツズマブ、トレチノイン、ウラシルマスター、バルルビシン、ピンプラスチニン、ピンクリスチニン、ビノレルビンおよびゾレドロネートを含む。

## 【0141】

化学療法剤は、炎症を緩和するのに有用であることが知られている抗炎症薬も含む。適切な抗炎症薬は、それだけには限定されないが、サリチレート (アスピリン、コリンマグネシウムトリサリチレートサリチル酸メチル、サルサレートおよびジフルニサルのような)、酢酸 (インドメタシン、スリングダク、トルメチニン、アセクロフェナクおよびジクロフェナクのような)、2-アリールプロピオニ酸またはプロフェン (イブプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセン、フェノプロフェン、フルルビプロフェンおよびオキサプロジンのような)、N-アリールアントラニル酸またはフェナム酸 (メフェナム酸、フルフェナム酸およびメクロフェナメートのような)、エノール酸 (enolic acid) またはオキシカム (ピロキシカムおよびメロキシカムのような)、coxインヒビター (セレコキシブ、ロフェコキシブ (市場から撤回された)、バルデコキシブ、パレコキシブお

10

20

30

40

50

およびエトリコキシブのような)、ニメスリドのようなスルホンアニリド、ナフチルアルカノン(ナブメトンのような)、ピラノカルボン酸(エトドラクのような)およびピロール(ケトロラクのような)を含む。

【0142】

化学療法剤は免疫調節剤をさらに含む。本明細書で使用される、「免疫調節剤」の句、およびそれだけには限定されないが、免疫調節剤、イムノモジュラント(immunomodulant)、免疫調節物質または免疫調節薬を含めたこれらの変形は、宿主の免疫系を調節する薬剤を意味する。特に、免疫調節剤は、1つ以上の外来の抗原に応答する対象の免疫系の能力を改変する薬剤である。一態様において、免疫調節剤は、対象の免疫応答の一側面を、例えば、Th1からTh2の応答までの免疫応答に移行する薬剤である。別の態様において、免疫調節剤は、対象の免疫系を阻害または低減する薬剤(すなわち、免疫抑制剤)である。いっそある特定の他の態様において、免疫調節剤は、対象の免疫系を活性化または増大する薬剤(すなわち、免疫賦活剤)である。

10

【0143】

使用され得る免疫調節剤は、小分子、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、核酸(例えば、それだけには限定されないが、アンチセンスヌクレオチド配列、三重らせん、および生物学的に活性なタンパク質、ポリペプチドもしくはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含めた、DNAおよびRNAヌクレオチド)、抗体、合成または天然の無機分子、偽薬剤、ならびに合成または天然の有機分子を含む。特に有用な免疫調節剤はサリドマイドである。

20

【0144】

本発明の方法において使用され得る免疫調節剤の例は、グルココルチコイド受容体アゴニスト(例えば、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、ベタメタゾン)、カルシニュリンインヒビター(例えば、タクロリムスおよびピメクロリムスのようなマクロライド)、イムノフィリン(例えば、シクロスボリンA)ならびにmTORインヒビター(例えば、WylethによってRAPAMUNE(登録商標)として市販されているシリムス)を含む。本発明に有用な免疫賦活剤は、インターフェロンおよびジドブジン(АЗT)を含む。

【0145】

化学療法剤は、当業者によってCCRの処置に有効であると認められる用量が投与され得る。

30

【0146】

放射線医学治療は、1つ以上の放射線治療剤の使用を伴う。本明細書で使用される、「放射線治療剤」の句は、制限なく、がんの処置または緩和に有効であることが当業者には公知である、あらゆる放射線治療剤を意味するものとされる。例えば、放射線治療剤は、放射線核種治療において投与されるもののような薬剤であってよい。

【0147】

放射線核種治療は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施され得る。一般的に、放射線核種治療は、がん性細胞の表面に優先的に蓄積し、または表面に結合する放射性同位元素の全身投与を含む。放射性核種の優先的な蓄積は、それだけには限定されないが、速やかに増殖する細胞中への放射性核種の取り込み、特殊な標的化のないがん性組織による放射性核種の特異的な蓄積、または新生物に特異的な生体分子に対する放射性核種のコンジュゲーションを含めた、数々のメカニズムによって媒介され得る。

40

【0148】

放射性核種治療において施され得る代表的な放射性核種は、それだけには限定されないが、リン32、イットリウム90、ジスプロシウム165、インジウム111、ストロンチウム89、サマリウム153、レニウム186、ヨウ素131、ヨウ素125、ルテチウム177およびビスマス213を含む。これらの放射性同位元素は全て、標的化の特異性を提供する生体分子に連結され得るが、ヨウ素131、インジウム111、リン32、

50

サマリウム 153 およびレニウム 186 は、このようなコンジュゲーションなしで全身投与され得る。当業者であれば、その新生物上に存在する細胞表面分子に基づいて、放射性核種療法に対して特定の新生物を標的化する上で使用するのに特異的な生体分子を選択することができる。特定の細胞に特異性を提供する生体分子の例は、その全文を参照により本明細書に組み込む、Thomas, Cancer Biother. Radiopharm., 17: 71-82 (2002) による文献に概説されている。さらに、放射性核種療法に有用な投与方法および組成物は、各々その全文を参照により本明細書に組み込む、米国特許第 6,426,400 号、第 6,358,194 号、第 5,766,571 号および第 5,563,250 号において見出され得る。

## 【0149】

10

本明細書で使用される、「放射線医学処置」は、制限なく、がんの処置または緩和に有効であることが当業者に公知である、あらゆる放射線医学処置を意味するものとされる。例えば、放射線医学処置は、外照射療法、温熱療法、放射線手術、荷電粒子線治療、中性子線治療または光線力学的治療であってよい。

## 【0150】

外照射療法は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施されてよい。一般的に、外照射療法は、対象内の規定された体積を高エネルギービームで照射し、それによってその体積内に細胞死を引き起こすことを含む。照射された体積が、処置しようとするがん全体を含むのが好ましく、できるだけ少ない健常組織を含むのが好ましい。外照射療法に有用な、投与方法および装置および組成物は、各々その全文を参照により本明細書に組み込む、米国特許第 6,449,336 号、第 6,398,710 号、第 6,393,096 号、第 6,335,961 号、第 6,307,914 号、第 6,256,591 号、第 6,245,005 号、第 6,038,283 号、第 6,001,054 号、第 5,802,136 号、第 5,596,619 号および第 5,528,652 に見出すことができる。

20

## 【0151】

温熱療法は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施されてよい。ある特定の実施形態において、温熱療法は冷凍アブレーション療法であってよい。他の実施形態において、温熱療法は高体温 (hyperthermic) 療法であってよい。いっそ他の実施形態において、温熱療法は、腫瘍の温度を、高体温療法におけるより高く上昇させる治療法であってよい。

30

## 【0152】

冷凍アブレーション療法は、新生物の塊の凍結を伴い、細胞内および細胞外の水晶の堆積、細胞膜、タンパク質およびオルガネラの破壊、ならびに高浸透圧性の環境の誘導をまねき、それによって細胞死を引き起こす。冷凍アブレーション療法のための方法および有用な装置は、各々その全文を参照により本明細書に組み込む、Murphyら、Sem. Urol. Oncol., 19: 133-140 (2001) および米国特許第 6,383,181 号、第 6,383,180 号、第 5,993,444 号、第 5,654,279 号、第 5,437,673 号および第 5,147,355 号に記載されている。

40

## 【0153】

高体温療法は、新生物塊の温度を約 42 から約 44 までの範囲に上昇させることを伴うのが典型的である。がんの温度はこの温度を超えてさらに上昇され得る；しかし、このような温度は、周囲の健常組織に対する傷害を増大し得る一方で、処置しようとする腫瘍内の細胞死の増大は引き起こさない。腫瘍は、高体温療法において、制限なく、当業者には公知のあらゆる手段によって加熱されてよい。例えば、限定的ではなく、腫瘍は、マイクロ波、高密度焦点式超音波、強磁性熱シード、局在性電流場 (localized current field)、赤外線照射、湿潤または乾燥高周波アブレーション、レーザー光凝固、レーザー間質温熱療法および電気焼灼器によって加熱されてよい。マイク

50

口波および高周波は、導波管アプリケーター、ホーン、スパイラル、電流シートおよびコンパクトアプリケーターによって產生され得る。

#### 【0154】

腫瘍の温度を上昇させるための、他の方法および装置および組成物は、各々その全文を参照により本明細書に組み込む、Wu stら、Lancet Oncol.、3:487-97(2002)による文献に概説されており、米国特許第6,470,217号、第6,379,347号、第6,165,440号、第6,163,726号、第6,099,554号、第6,009,351号、第5,776,175号、第5,707,401号、第5,658,234号、第5,620,479号、第5,549,639号および第5,523,058号に記載されている。

10

#### 【0155】

放射線手術は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施されてよい。一般的に、放射線手術は、対象内の規定された体積を、手操作で指示される放射性源に暴露し、それによってその体積内に細胞死を引き起こすことを含む。照射される体積が、処置しようとするがん全体を含むのが好ましく、できるだけ少ない健常組織を含むのが好ましい。処置しようとする組織が従来の外科技術を使用して最初に暴露され、次いで放射性源がその領域に外科医によって手操作で指示されるのが典型的である。代替的に、放射性源は、例えば腹腔鏡を使用して、照射しようとする組織の付近に配置されてよい。放射線手術に有用な方法および装置は、各々その全文を参照により本明細書に組み込む、Valentiniら、Eur. J. Surg. Oncol.、28:180-185(2002)、ならびに米国特許第6,421,416号、第6,248,056号および第5,547,454号にさらに記載されている。

20

#### 【0156】

荷電粒子線治療は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施されてよい。ある特定の実施形態において、荷電粒子線治療は、陽子線放射線治療であってよい。他の実施形態において、荷電粒子線治療は、ヘリウムイオン放射線治療であってよい。一般的に、荷電粒子線治療は、対象内の規定された体積を荷電粒子線で照射し、それによってその体積内に細胞死を引き起こすことを含む。照射される体積が、処置しようとするがん全体を含むのが好ましく、できるだけ少ない健常組織を含むのが好ましい。荷電粒子線治療を投与するための方法は、その全文を参照により本明細書に組み込む、米国特許第5,668,371号に記載されている。

30

#### 【0157】

中性子線治療は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施されてよい。ある特定の実施形態において、中性子線治療は中性子捕捉治療であってよい。このような実施形態において、中性子で衝撃されると放射線を放射し、新生物塊に優先的に蓄積する化合物が、対象に投与される。引き続き、腫瘍が低エネルギー中性子線で照射され、化合物を活性化し、がん性細胞を死滅させる崩壊生成物を化合物に放射させる。活性化しようとする化合物は、上記に記載する通り、または各々その全文を参照により本明細書に組み込む、Laramore、Semin. Oncol. 24:672-685(1997)ならびに米国特許第6,400,796号、第5,877,165号、第5,872,107号および第5,653,957号に記載される方法において、放射性核種の標的化に有用なあらゆる方法に従って、標的組織における優先的な蓄積を引き起こし得る。

40

#### 【0158】

他の実施形態において、中性子照射療法は速中性子療法であってよい。一般的に、速中性子療法は、対象内の規定された体積を中性子線で照射し、それによってその体積内に細胞死を引き起こすことを含む。

#### 【0159】

50

光線力学的治療は、制限なく、がんの処置または緩和において有効であることが当業者には公知である、あらゆるスケジュール、用量または方法に従って施されてよい。一般的に、光線力学的治療は、新生物塊に優先的に蓄積し、新生物を光に感作する感光剤を投与し、次いで腫瘍を好適な波長の光に暴露することを含む。このような曝露の際、感光剤は、例えは一重項酸素のような、がん細胞を死滅させる細胞毒性剤の生成を触媒する。光線力学的治療に有用な投与方法および装置および組成物は、各々その全文を参照により本明細書に組み込む、*Hopper, Lancet Oncol.*、1:212-219(2000)、ならびに米国特許第6,283,957号、第6,071,908号、第6,011,563号、第5,855,595号、第5,716,595号および第5,707,401号に開示されている。

10

#### 【0160】

放射線治療は、外科手術の前または後、化学療法の前または後、およびときには化学療法の間に、腫瘍細胞を破壊するために施されてもよい。放射線治療は、がんの症状を軽減するための対症の理由で、例えは、痛みを軽くするために施されてもよい。放射線治療を使用して処置され得る腫瘍のタイプの中には、完全に切除され得ず、転移する限局性腫瘍、およびその完全な切除が許容できない機能上もしくは美容上の欠損を引き起こし、または許容できない外科的なリスクに関連する腫瘍がある。

#### 【0161】

CRCの処置において利用しようとする特定の放射線量、および施す方法は両方とも、様々な因子に依存することが理解されよう。よって、本発明の方法に従って使用され得る放射線の線量は、各状況の特定の要件によって決定される。線量は、腫瘍のサイズ、腫瘍の位置、患者の年齢および性別、線量の頻度、他の腫瘍の存在、可能な転位などのような因子に依存する。放射線治療の技術者であれば、各々参照により本明細書に組み込む、*Hall, E. J., Radiobiology for the Radiobiologist*、第5版、*Lippincott Williams & Wilkins Publishers*、Philadelphia, Pa.、2000; *Gunderson, L. L.* および *Tepper J. E.* 編集、*Clinical Radiation Oncology*、*Churchill Livingstone*、London, England、2000; および *Grosch, D. S.*、*Biological Effects of Radiation*、第2版、*Academic Press*、San Francisco, Calif.、1980を参照することによって、あらゆる特定の腫瘍に対する線量および施す方法を容易に確認することができる。

20

#### 【0162】

##### b. CRC処置

CRCの処置に対して、外科的切除は、およそ50%の患者における治癒をもたらす。直腸結腸がんに対する外科手術方法は、開腹結腸切除術（結腸半切除、部分的結腸切除または区域切除としても知られる）、腹腔鏡補助下大腸切除術、ならびにポリープ切除および局所切除を含めた結腸手術、ならびにポリープ切除および局所切除、局所経肛門切除（全層切除）、経肛門内視鏡小手術（TEM）、低位前方切除、結腸直腸吻合術を有する直腸切除、腹会陰式切除術（APR）および骨盤内容除去を含めた直腸手術を含む。他の処置は、高周波アブレーション、エタノール（アルコール）アブレーション（経皮的エタノール注射（PEI）としても知られる）、冷凍外科手術（寒冷療法）および総肝動脈塞栓術を含む。

30

#### 【0163】

化学療法および照射は、CRCの処置において、手術前（ネオアジュvant）および手術後（アジュvant）の両方に使用され得る。化学療法剤、特に5-フルオロウラシル（5-FU）は、CRCを処置する上で強力な武器である。他の薬剤は、オキサリプラチン（Oxaliplatin（登録商標））、イリノテカン（Camptosar（登録商標））、ロイコボリン、カペシタビン（Xeloda（登録商標））、ベバシズマブ（Avastin（登録商標））、セツキシマブ（Erbitux（登録商標））およびパニツムマ

40

50

ブ( Vectibix (登録商標) )を含む。これらの薬物は頻繁に組み合わされる。よくある組合せは、FOLFOX (5-FU、ロイコボリン、オキサリプラチン)；FOLFIRI (5-FU、ロイコボリン、イリノテカン)；およびFOLFOXIRI (5-FU、ロイコボリン、イリノテカン、オキサリプラチン)である。ベバシズマブは、標的化治療であり、具体的に、血管内皮成長因子(VEGF)に結合して腫瘍の周囲の血管の形成を妨げるモノクローナル抗体である。セツキシマブおよびパニツムマブは、上皮成長因子受容体(EGFR)を標的化するモノクローナル抗体である。

【0164】

19. マーカーを測定するためのイムノアッセイ

上記に記載した方法は、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPからなる群から選択される以下のマーカーの組合せのレベルを定量する。バイオマーカー、すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPは、イムノアッセイを使用して、上記に記載した方法に対して分析されてもよい。マーカーの存在または量は、各マーカー(すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRP、ならびにこのような付加的な分析物が使用される場合は、あらゆる付加的な分析物)に特異的に結合する抗体を使用して決定され得る。使用され得る抗体の例は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結したFv、モノクローナル抗体、親和性成熟した、scFv、キメラ抗体、単一ドメイン抗体、CDRグラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Fab、二重特異性抗体、DVD、Fab'、二特異的抗体、F(ab')2、Fvおよびこれらの組合せを含む。例えば、免疫学的方法は、(a)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はAFPまたはAFPのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体- AFP抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体- AFP抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないAFP上のエピトープに結合し、捕捉抗体- AFP抗原- 検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のAFPレベルを、(a)(ii)において形成された捕捉抗体- AFP抗原- 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって AFPのレベルを測定するステップ、(b)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCEAまたはCEAのフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体- CEA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体- CEA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCEA上のエピトープに結合し、捕捉抗体- CEA抗原- 検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のCEAレベルを、(b)(ii)において形成された捕捉抗体- CEA抗原- 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって CEAのレベルを測定するステップ、(c)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は、フェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体- フェリチン抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体- フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体- フェリチン抗原- 検出抗体複合体を形成するステップ、および(iii)試験試料中のフェリチンレベルを、(c)(ii)において形成した捕捉抗体- フェリチン抗原- 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによってフェリチンのレベルを測定するステップ、(d)(i)試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCYFRAまたはCYFRAのフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体- CYFRA抗原複合体を形成するステップ、(ii)捕捉抗体- CYFRA抗原複合体を、検出可

10

20

30

40

50

能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C Y F R A のレベルを測定するステップ、( e ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C A 1 9 - 9 または C A 1 9 - 9 のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( e ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、( f ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は T I M P - 1 または T I M P - 1 のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない T I M P - 1 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の T I M P - 1 レベルを、( f ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって T I M P - 1 のレベルを測定するステップ、( g ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は G A L 3 または G A L 3 のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - G A L 3 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - G A L 3 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない G A L 3 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - G A L 3 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の G A L 3 レベルを、( g ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - G A L 3 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって G A L 3 のレベルを測定するステップ、ならびに / または ( h ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および ( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( h ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C R P のレベルを測定するステップを含むことができる。

#### 【 0 1 6 5 】

あらゆるイムノアッセイが利用され得る。イムノアッセイは、例えば、酵素結合免疫吸着検定法 ( E L I S A ) 、ラジオイムノアッセイ ( R I A ) 、フォワードもしくはリバース競合的阻害アッセイのような競合的阻害アッセイ、蛍光偏光アッセイまたは競合的結合アッセイであってよい。 E L I S A は、サンドイッチ E L I S A であってよい。抗体の、マーカーに対する特異的な免疫学的結合は、蛍光もしくは発光タグのような直接標識、抗体に付着している金属および放射性核種、またはアルカリホスファターゼもしくはセイヨウウワサビのペルオキシダーゼのような間接的な標識によって検出され得る。

#### 【 0 1 6 6 】

10

20

30

40

50

固定化された抗体またはそのフラグメントの使用がイムノアッセイに組み入れられてもよい。抗体は、磁性またはクロマトグラフィーのマトリクス粒子のような様々な支持体、アッセイプレート（マイクロタイターウエルのような）の表面、固体基質材料の片などの上に固定されてよい。アッセイストリップは、固体支持体上に一ならびの抗体または複数の抗体をコーティングすることによって調製されてもよい。このストリップは、次いで生物学的試験試料中に浸漬され、次いで、着色されたスポットのような測定可能なシグナルを発生させるための洗浄および検出のステップを介して速やかに処理加工されてもよい。

#### 【 0 1 6 7 】

サンドイッチELISAは、2層の抗体（すなわち、捕捉抗体と検出抗体と（これらは検出可能な標識で標識されていてよい））の間の抗原の量を測定する。測定しようとするマークー、すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、GAL3および/またはCRPは、抗体に結合することができる少なくとも2つの抗原性部位を含むことができる。サンドイッチELISAにおけるモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体のいずれかが、捕捉抗体および検出抗体として使用されてよい。

#### 【 0 1 6 8 】

一般的に、試験試料または生物学的試料中のマークー、すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、GAL3および/またはCRP（およびあらゆる付加的な分析物）を分離および定量するのに、少なくとも2つの抗体が使用される。より具体的に、少なくとも2つの抗体がマークーの、あるエピトープに結合し、「サンドイッチ」と呼ばれる免疫複合体を形成する。試験試料中のマークーを捕捉するのに、1つ以上の抗体が使用され得（これらの抗体は頻繁に「捕捉」抗体と呼ばれる）、検出可能な（すなわち、定量可能な）標識をサンドイッチに結合するのに1つ以上の抗体が使用される（これらの抗体は頻繁に「検出」抗体と呼ばれる）。サンドイッチアッセイにおいて、両方の抗体のそれらのエピトープに対する結合は、アッセイにおけるあらゆる他の抗体をそれぞれのエピトープに結合することによって低減され得ない。換言すると、抗体は、マークーを含むことが疑われる試験試料と接触させられた1つ以上の第1の抗体が、第2または後続の抗体によって認識されるエピトープの全てまたは一部に結合せず、それによって1つ以上の第2の検出抗体がマークーに結合する能力を妨害しないように選択され得る。

#### 【 0 1 6 9 】

好ましい実施形態において、マークー、すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、GAL3および/またはCRPを含むことが疑われる試験試料または生物学的試料は、少なくとも1つの第1の捕捉抗体および少なくとも1つの第2の検出抗体と、同時にまたは逐次的のいずれかで接触され得る。サンドイッチアッセイのフォーマットにおいて、マークーを含むことが疑われる試験試料は最初に、第1の抗体-マークー複合体の形成を許す条件下、特定のエピトープに特異的に結合する少なくとも1つの第1の捕捉と接触させられる。1つを超える捕捉抗体が使用される場合、第1の複数の捕捉抗体-マークー複合体が形成される。サンドイッチアッセイでは、抗体、好ましくは少なくとも1つの捕捉抗体が、試験試料中に予想される最大量のマークーのモル過剰量において使用される。

#### 【 0 1 7 0 】

任意選択的に、試験試料を少なくとも1つの第1の捕捉抗体と接触させる前、少なくとも1つの第1の捕捉抗体が、第1の抗体-マークー複合体が試験試料から分離するのを促進する固体支持体に結合していてよい。それだけには限定されないが、ウェル、チューブまたはビーズの形態のポリマー材料から作られた固体支持体を含めた、当技術分野では公知のあらゆる固体支持体が使用されてよい。このような結合が、マークーに結合する抗体の能力を妨害しないのであれば、抗体（または抗原）は、吸着によって、化学カップリング剤を使用して共有結合によって、または当技術分野では公知の他の手段によって、固体支持体に結合していてよい。さらに、適宜、固体支持体は、抗体上の様々な官能基との反

10

20

30

40

50

応性を許すように誘導体化されてもよい。このような誘導体化は、それだけには限定されないが、無水マレイン酸、N-ヒドロキシスクシンイミドおよび1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドのようなある種のカップリング剤の使用を必要とする。

#### 【0171】

マーカーを含むことが疑われる試験試料が、少なくとも1つの第1の捕捉抗体と接触させられた後、第1の捕捉抗体(または複数の抗体)-マーカー複合体の形成を許すために、試験試料がインキュベートされる。インキュベートは、約4.5から約10.0までのpHで、約2から約4.5までの温度で、少なくとも約1分から約18時間、約2-6分、または約3-4分の期間行われてよい。

10

#### 【0172】

第1の/複数の捕捉抗体-マーカー複合体の形成後、複合体は、次いで、少なくとも1つの第2の検出抗体と接触させられる(第1の/複数の抗体-マーカー第2の抗体複合体の形成を許す条件下)。第1の抗体-マーカー複合体が、1つを超える検出抗体と接触させられた場合、第1の/複数の捕捉抗体-マーカー-複数の抗体検出複合体が形成される。第1の抗体同様、少なくとも第2の(および後続の)抗体が第1の抗体-マーカー複合体と接触させられる場合、上記に記載した条件と同様の条件下のインキュベートの期間が、第1の/複数の抗体-マーカー-第2の/複数の抗体複合体の形成に必要とされる。少なくとも1つの第2の抗体が、検出可能な抗体を含むのが好ましい。検出可能な標識は、第1の/複数の抗体-マーカー-第2の/複数の抗体複合体の形成前、形成と同時に、または形成後、少なくとも1つの第2の抗体に結合していてよい。当技術分野では公知のあらゆる検出可能な標識が使用され得る。

20

#### 【0173】

##### 2.0. 方法を行うためのキット

本明細書に、上記に記載した方法を行うのに使用され得るキットが提供される。キットは、(1)対象から単離された生物学的試料中のAFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および/またはCRPのマーカーのレベルを定量するための、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および/またはCRPの各々のマーカーに特異的に結合することができる試薬、ならびに(2) AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および/またはCRPの各々のマーカーの基準レベルを指示する参考標準を提供することができ、少なくとも1つの試薬は、好適なマーカーに特異的に結合することができる少なくとも1つの抗体を含む。キットは、生物学的試料中の各バイオマーカーの濃度を定量するための、AFPに特異的に結合することができる試薬、CEAに特異的に結合することができる試薬、フェリチンに特異的に結合することができる試薬、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CA19-9に特異的に結合することができる試薬、TIMP-1に特異的に結合することができる試薬、Ga13に特異的に結合することができる試薬、および/またはCRPに特異的に結合することができる試薬、ならびに生物学的試料中の各々のバイオマーカー(すなわち、AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Ga13および/またはCRP)の基準レベルを指示する参考標準を含むことができる。キットは、mS9、HbA1c、C3a、CatX、supPAR(I)、PAI-1および/もしくはENO2の少なくとも1つの附加的なバイオマーカー、またはこれらのあらゆる組合せに特異的に結合することができる少なくとも1つの試薬(すなわち、抗体)、ならびに存在する場合、少なくとも1つの附加的なCRCのバイオマーカーの基準レベルを指示する参考標準をさらに含むことができる。

30

#### 【0174】

キットは、抗体、および抗体を投与するための手段を含むことができる。キットは、キットを使用し、分析を行い、モニタリングし、または処置するための指示書をさらに含むことができる。

40

50

## 【0175】

キットは、バイアルまたは瓶のような1つ以上の容器も含むことができ、各容器は別々の試薬を含む。キットは、分析を行いもしくは解釈し、モニタリングし、処置する方法、または本明細書に記載する方法を記載し得る書面の指示書をさらに含むことができる。

## 【0176】

例えば、キットは、イムノアッセイ、例えば、化学発光微粒子イムノアッセイによって、 AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPに対して試験試料をアッセイするための指示書を含むことができる。指示書は、紙の形態であっても、またはディスク、CD、DVDなどのコンピュータで読むことができる形態であってもよい。抗体は、 AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/もしくはCRPの捕捉抗体でも、ならびに/または AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/もしくはCRPの検出抗体（検出可能な標識で標識された抗体を意味する。）でもよい。例えば、キットは、 AFPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、CEAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、フェリチンに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、CYFRAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、CA19-9に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、TIMP-1に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、Gal3に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および/またはCRPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体を含むことができる。キットは、各捕捉抗体に対するコンジュゲート抗体（検出可能な標識で標識された抗体のような）（すなわち、 AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPそれぞれに特異的に結合する各々の捕捉抗体に対するコンジュゲート抗体）も含むことができる。代替的に、または加えて、キットは、例えば、精製され、任意選択的に凍結乾燥されたキャリブレータまたは対照（例えば、 AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/もしくはCRP）、ならびに/またはアッセイを行うための少なくとも1つの容器（例えば、抗-AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/もしくはCRPのモノクローナル抗体すでにコーティングされていてもよい、チューブ、マイクロタイタープレートもしくはストリップ）、ならびに/またはアッセイバッファーもしくは洗浄バッファーのようなバッファー（これらのうちいずれか1つは濃縮溶液、検出可能な標識（例えば、酵素標識）に対する基質溶液、もしくは停止溶液として供給されてもよい。）を含むことができる。キットが、全ての構成成分、すなわち、アッセイを行うのに必要である、試薬、標準、バッファー、希釈液などを含むのが好ましい。指示書は、標準曲線を產生するための指示書、または AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/もしくはCRPを定量する目的で参考標準も含むことができる。

## 【0177】

上記に暗示した通り、 AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPに特異的な組換え抗体のような、キット中に提供されるあらゆる抗体は、フルオロフォア、放射性モイエティ、酵素、ビオチン/アビジン標識、発色団、化学発光標識などの検出可能な標識を組み入れることができ、またはキットは、抗体を標識するための試薬、もしくは抗体を検出するための試薬（例えば、検出抗体）、および/もしくは分析物を標識するための試薬、もしくは分析物を検出するための試薬を含むことができる。抗体、キャリブレータおよび/または対照は、別々の容器において提供されてもよく、または好適なアッセイフォーマット中、例えばマイクロタイタープレート中に予め分配されてもよい。

## 【0178】

任意選択的に、キットは、精度管理の構成成分（例えば、感受性パネル、キャリブレータおよび陽性対照）を含む。精度管理試薬の調製は、当技術分野では周知であり、様々な免疫診断生成物用の挿入シート上に記載されている。感受性パネルのメンバーが、任意選

10

20

30

40

50

択的に、アッセイ性能の特徴を確立するために使用され、さらに任意選択的に、イムノアッセイキット試薬の一体性およびアッセイの標準化の有用な指標である。

【0179】

キットは、診断アッセイを行い、またはバッファー、塩、酵素、酵素の補助因子、基質、検出試薬などのような精度管理の評価を促進するのに必要とされる他の試薬も任意選択的に含むことができる。バッファー、ならびに試験試料を単離および／または処理するための溶液（例えば、前処理試薬）のような他の構成成分も、キットに含まれてよい。キットは、1つ以上の他の対照を附加的に含むことができる。キットの1つ以上の構成成分は凍結乾燥されていてよく、この場合、キットは、凍結乾燥されている構成成分の再構成に適する試薬をさらに含むことができる。

10

【0180】

キットの様々な構成成分は、適宜、適切な容器、例えばマイクロタイタープレートにおいて任意選択的に提供される。キットは、試料を保持または貯蔵するための容器（例えば、血液試料用の容器またはカートリッジ）をさらに含むことができる。必要に応じて、キットは、反応容器、混合容器、および試薬または試験試料の調製を促進する他の構成成分も任意選択的に含むことができる。キットは、シリンジ、ピペット、ピンセット、計測スプーンなどのような、試験試料を得るのを助けるための1つ以上の器具も含むことができる。

【0181】

検出可能な標識が少なくとも1つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、少なくとも1つのアクリジニウム-9-カルボキシレート、少なくとも1つのアクリジニウム-9-カルボキシレートアリールエステル、またはこれらのあらゆる組合せを含むことができる。検出可能な標識が少なくとも1つのアクリジニウム化合物である場合、キットは、バッファー、溶液、および／または少なくとも1つの塩基溶液のような、過酸化水素の供給源も含むことができる。

20

【0182】

所望により、キットは、磁性粒子、ビーズ、試験管、マイクロタイタープレート、キュベット、膜、骨格分子、フィルム、濾紙、水晶、ディスクまたはチップのような固相を含むことができる。キットはまた、検出抗体として機能する抗体のような、抗体であってよく、または抗体にコンジュゲートしている、検出可能な標識も含むことができる。検出可能な標識は、例えば、直接標識であってよく、直接標識は、酵素、オリゴヌクレオチド、ナノ粒子、ケミルミノフォア、フルオロフォア、蛍光クエンチャ、化学発光クエンチャまたはビオチンであってよい。キットは、任意選択的に、標識を検出するのに必要とされる、あらゆる付加的な試薬を含むことができる。

30

【0183】

所望により、キットは、試験試料を別の分析物に対してアッセイするために、1つ以上の構成成分を、単独で、または指示書とのさらなる組合せにおいてさらに含むことができ、別の分析物は、がんのバイオマーカーのようなバイオマーカーであってよい。分析物の例は、それだけには限定されないが、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R P、ならびにA F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pのフラグメント、ならびに本明細書で論じる、または当技術分野において別の方法で知られている、他の分析物およびバイオマーカーを含む。一部の実施形態において、試験試料をA F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pに対してアッセイするための1つ以上の構成成分は、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pの存在、量または濃度の決定を可能にする。血清試料のような試料が、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pに対して、T O F - M S および内部標準を使用してやはりアッセイされ得る。

40

【0184】

50

キット（またはその構成成分）、ならびに本明細書に記載するイムノアッセイによって試験試料中の AFP、CEA、フェリチン、CYFRA、CA19-9、TIMP-1、Gal3および/またはCRPの濃度を決定する方法は、例えば、米国特許第5,089,424号および第5,006,309号に記載される通り、ならびに例えば、Abbott Laboratories (Abbott Park, IL.) によりARCHITECT (登録商標) として市販される、様々な自動化および半自動化のシステム（固相が微粒子を含むものを含めて）において使用するために適用され得る。

【0185】

自動化または半自動化のシステムを、非自動化システム（例えば、ELISA）と比べた間の違いのいくつかは、それに対して第1の特異的な結合パートナー（例えば、分析物の抗体または捕捉抗体）が付着している（これがサンドイッチの形成および分析物の反応性に影響を及ぼし得る。）基質、ならびに捕捉、検出、および/またはあらゆる任意選択的な洗浄ステップの長さおよびタイミングを含む。ELISAのような非自動化のフォーマットは、試料および捕捉試料との比較的長いインキュベーション時間を必要とし得る（例えば、約2時間）が、自動化または半自動化のフォーマット（例えば、ARCHITECT (登録商標) およびあらゆる後続のプラットホーム、Abbott Laboratories）は比較的短いインキュベーション時間を有し得る（例えば、ARCHITECT (登録商標) ではおよそ18分）。同様に、ELISAのような非自動化のフォーマットは、コンジュゲート試薬のような検出抗体を、比較的長いインキュベーション時間（例えば、約2時間）の間インキュベートし得るが、自動化または半自動化のフォーマット（例えば、ARCHITECT (登録商標) およびあらゆる後続のプラットホーム）は比較的短いインキュベーション時間を有し得る（例えば、ARCHITECT (登録商標) およびあらゆる後続のプラットホームではおよそ4分）。

【0186】

Abbott Laboratories から入手できる他のプラットホームは、それだけには限定されないが、ASYM (登録商標)、IMx (登録商標)（例えば、その全文を参照により本明細書に組み込む、米国特許第5,294,404号を参照されたい。）、PRISM (登録商標)、EIA (ビーズ)、およびQuantum (商標) II、および他のプラットホームを含む。加えて、アッセイ、キット、およびキットの構成成分は、他のフォーマットにおいて、例えば、電気化学的または他のハンドヘルドまたはポイントオブケアのアッセイシステム上で使用され得る。本開示は、例えば、サンドイッチイムノアッセイを行う、市販のAbbott Point of Care (i-STAT (登録商標)、Abbott Laboratories) 電気化学的イムノアッセイシステムに適用できる。イムノセンサ、および単回使用 (single-use) の試験装置におけるこれらの製造方法および操作方法は、例えば、その全文を参照により、それに関するこれらの教示に対して組み込む、米国特許第5,063,081号、米国特許出願公開第2003/0170881号、米国特許出願公開第2004/0018577号、米国特許出願公開第2005/0054078号および米国特許出願公開第2006/0160164号に記載されている。

【0187】

特に、アッセイのi-STAT (登録商標) システムへの適用に関して、以下の立体配置が好ましい。微細加工されたシリコンチップが、1対の金電流測定作用電極および銀-塩化銀基準電極で製造される。一方の作用電極上で、捕捉抗体を固定化したポリスチレンビーズ（直径0.2mm）が、電極にわたって形作られたポリビニルアルコールのポリマーコーティングに付着している。このチップを、イムノアッセイに適する流体力学のフォーマットで、i-STAT (登録商標) カートリッジに組み立てる。カートリッジの試料保持チャンバーの壁のポーション上に、アルカリホスファターゼ（または他の標識）で標識された検出抗体を含む層が存在する。カートリッジの液体パウチ内に、p-アミノフェノールホスフェートを含む水性試薬がある。

【0188】

10

20

30

40

50

操作において、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pを含むことが疑われる試料が、試験カートリッジの保持チャンバーに添加され、カートリッジがI - S T A T (登録商標)リーダー中に挿入される。第2の抗体(検出抗体)が試料中に溶解された後、カートリッジ内のポンプエレメントが、試料を、チップを含む導管中に強制的に入れる。ここで、これが振動して、第1の捕捉抗体、A F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pと、標識された第2の検出抗体との間にサンドイッチの形成を促進する。アッセイの最後から2番目のステップにおいて、液体がパウチから強制的に出され導管に入れられて、試料をチップから洗浄し、廃棄チャンバー中に入れる。アッセイの最終ステップにおいて、アルカリホスファターゼ標識がp - アミノフェノールホスフェートと反応してホスフェート基を切断し、遊離したp - アミノフェノールを、作用電極で電気化学的に酸化させる。測定された電流に基づいて、リーダーは、埋め込まれているアルゴリズムおよび製造所で決定された検量線によって、試料中のA F P、C E A、フェリチン、C Y F R A、C A 1 9 - 9、T I M P - 1、G a 1 3 および／またはC R Pの量を計算することができる。

#### 【0189】

当業者には、本明細書に記載する本開示の他の適切な修飾および方法の適応が、容易に適用可能であり、理解でき、本開示、または本明細書に開示する態様および実施形態の範囲から逸脱せずに、適切な同等物を使用して行われ得ることが容易に明らかである。ここに本開示を詳しく記載してきたが、本開示は、以下の実施例を参照することによってより明らかに理解されるが、以下の実施例は、本開示のいくつかの態様および実施形態を説明することだけを単に意図するものであり、本開示の範囲を限定するものとみなしてはならない。本明細書において言及される全ての雑誌の参考文献、米国特許および出版物は、その全文が参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0190】

本発明は、以下の非限定的な実施例によって説明される、複数の態様を有する。

#### 【実施例】

#### 【0191】

#### 【実施例1】

#### 材料と方法

Hvidovre Hospital内視鏡検査II相臨床試験の患者の血漿検体からの、臨床母集団(患者合計4698人中4521人に対して一次分析)を使用した。1群(3610人)：低リスク腺腫290人および他の非がん集団3320人；2群(911人)：高リスク腺腫399人、C R C(初期段階およそ50%)512人 - ステージ分け情報：S 1(107人)、S 2(163人)、S 3(139人)、S 4(108人)、およびステージ欠落1人。3群(177人)：他の非C R C悪性病変：合計176人(C R Cではない)(表1を参照されたい。)、3群は一次分析に対して排除された。臨床上の系統：デンマーク国家登録およびデータを「監査する」能力。客観的な／信用されるパラメータに注目して、110の臨床パラメータを採集した。

#### 【0192】

10

20

30

40

## 【表1】

表1

がん	対象数	
肺	33	
卵巣	16	
乳房	4	
腎臓	7	
肛門管	6	
原発不明	16	10
B細胞リンパ腫	17	
子宮	1	
前立腺	10	
胆嚢	8	
喉頭	3	
悪性メラノーマ	2	
脾臓	22	
CLL	3	
悪性ミエローマ	5	
精巣	1	20
小腸	3	
膀胱	1	
胃	9	
中皮腫	3	
副腎	1	
神経内分泌	2	
食道	3	

## 【0193】

参加したデンマークの病院 6 所のうちの 1 所で S 字結腸鏡検査および / または結腸鏡検査に照会された、 C R C の症状を有する個体が、試験に含まれた（全員が試験参加の一部として結腸鏡検査を受けた。）。リクルートの間、データが記録され、ベースライン時の試料が採集された。ベースラインデータが集計された（平均値  $\pm$  標準偏差、または連続的なデータに対する中央値および 4 分位間範囲、ならびにカテゴリーデータに対する比率）。適宜、独立 t 検定、マンホイットニー U 検定、カイ二乗 ( $\chi^2$ ) 検定、またはフィッシャー直接確率法を使用した統計上の差を使用して、群間の統計上の差を検定した。組入れ基準および除外基準を表 2 に示す。

## 【0194】

## 【表2】

表2

組入れ基準:	除外基準:
年齢 > 18 歳	以前の CRC、腺腫、または HNPPC もしくは FAP 家族のメンバー
直腸結腸がんを指し示す症状	デンマーク語を理解することができない
以前に結腸鏡検査 (colonoscopy) を受けたことがない	配布された患者情報を読み、および / または理解することができない。

30

40

50

## 【0195】

スクリーニング関連の新生物およびがんを、スクリーニングされた患者におけるこれらの所見と定義した：

- a . 高悪性度の形成異常を有する腺腫（病理学者の評価） - デンマーク悪性転換グレードによって規定された（高悪性度のみ）
- b . 1 cmに等しくまたはより大きい腺腫
- c . 腸におけるポリープ数（3個に等しくまたはそれより多い）
- d . 全ステージのCRC

血液54mlを末梢肘正中静脈から採取した、実施例2を参照されたい。血液試料は全て、結腸鏡検査の前に採取した。採取した血液試料中のバイオマーカーのレベルを決定した。残りの試料は、Hvidobre Hospitalのバイオバンク（biobank）において-80で貯蔵し、-80の冷凍庫は全て、週7日あたり24時間、電子的な監視下におかれた。

## 【0196】

## [実施例2]

血液試料 - 採血および取扱い

採血用装置、採血管、ピペット、貯蔵用バイアルなどは全て、プロトコール管理によって送達された。装置および管は全て、内毒素、DNA'seおよびRNA'seフリーであった。

## 【0197】

試料を、軽量止血帯を使用して室温で採取し、遠心分離前は室温で貯蔵し、2時間以内に3200×Gで10分間遠心分離し、バフィーコート（試験の序文に示す、白色帯）上0.5cmの血漿／血清を乱さずに注意深く分離した。遠心分離終了直後に試料を分離した。

## 【0198】

1 . 末梢前腕静脈から血液30mlをEDTA管各10ml（紫色）3本。管1からの上清を、CM-1abバイアル4本に各管中およそ1ml移し、バーコード1-4で印をつけた。管2プラス管3からの上清を、CM-1ab管に各管中およそ2ml移し、バーコード5-8で印をつけた。

2 . 血液20mlを各10ml2本 - 添加剤なし（赤色）。2本の管からの上清を、CM-1abバイアル6本に各管中およそ1.5ml移し、バーコード9-14で印をつけた。

3 . 血液9mlをクエン酸添加剤入り2本 - 各管4.5ml（淡青色）。2本の管からの上清を、CM-1abバイアル4本に各管中およそ1.2ml移し、バーコード15-18で印をつけた。

4 . EDTA管3本からのバフィーコート。各管からのバフィーコートを、各々CM-1abバイアル1本に移した（合計3本）。滅菌の等張NaClを、1:1の希釈比で加え、8-10回転倒混和し、バーコード19-21で印をつけた。

## 【0199】

全てのバイアルを直ちに、プロトコールにおける-80の冷凍庫中、配布された貯蔵箱（5.5×5.5×13cm）を使用して貯蔵した。貯蔵したバイアルは、-80の長期貯蔵用に、24/7電子的監視下、Hvidobre Hospitalの貯蔵所に頻繁に移送された。

## 【0200】

## [実施例3]

統計学的評価

分析は、SAS v9.2、R v3.0.3またはJMP Pro v11を使用して行われた。変数の、多変数の統計学的評価が、AIM（適応インデックスモデル）を使用して行われた（Tian Lu, Tibshirani Robert., Adaptive Index models for marker-based risk

10

20

30

40

50

stratification.、Biostatistics(2011)、12、1  
、68-86頁)。

#### 【0201】

##### [実施例4]

###### バイオマーカーの選択

バイオマーカーの組合せが、結腸および直腸の新生物(例えば、高悪性度腺腫)ならびに早期の直腸結腸がん(CRC)の検出における手助けとして、新たな臨床上の有用性のために調査された。試験母集団は合計4698人の対象を含んでいた。

#### 【0202】

アルゴリズムの開発。適応インデックスモデル(AIM)法が、変数およびそのカットオフの最適なサブセットを同定するために選択されたが、カットオフは、アルゴリズム(「インデックス」として組み合わせると、評価中のアウトカムに対する高リスクの者を選択することができた。表7はアウトカム番号を記載する。この手順において、二進法ルールの特定された最大数まで一連の適応インデックスモデルを連続的に推定するのに、ロジスティック回帰分析モデルが使用された。この手順は、変数の順方向選択(forward selection)およびそれらのカットオフを使用して、二進法ルールの増大数で、この連続するセットのインデックスを構築するものであった。インデックスに含まれるべき二進法ルールの最適数または変数が、k倍交差検証によって選択された。k倍交差検証は、データをランダムに選ばれたk個のセグメントに分解する、サンプル再利用方法である。各反復に対して、k個のセグメントのうち1個が「テスト」データセットとして使用され、組み合わされた他のk-1個のセグメントが「トレーニング」データセットとして使用された。その結果、手順がk回繰り返された。手順の各反復に対して、スコアテストの統計が、アウトカムと、トレーニングデータを使用して構築されたインデックスとの間の関連を試験するためのテストデータセットにおいて推定された。インデックスに含まれるべき、許容される二進法ルールの最適数、または変数が、交差検証された(最大平均)スコア統計値によって決定された。

#### 【0203】

データは、上記に記載した手順を使用したアルゴリズム開発に使用されるべき内部データセットと、アルゴリズム開発において全く使用されないが、各アウトカムに対するアルゴリズム性能の独立的な評価として働く外部データセットとにランダムに分割された。内部データセットおよび外部データセットのこの方法は、実世界の筋書きを模倣するのに好みしかった。内部データセットからの各アウトカムに評価可能なデータを全て使用して、交差検証によってモデル1-モデル6が構築され、変数の最適数、および性別によるそれらのカットオフが同定された。アウトカム1、アウトカム5およびアウトカム12が評価された。評価下のパラメータは以下を含んでいた:マーカーAFP、CEA、フェリチン、ガレクチン-3、CYFRA21-1、CA19-9XR、TIMP-1およびhscRP;年齢、カテゴリー変数としての同時罹患率総数(0、1または2+)、ならびにデンマークコードによって計測したCVDおよび糖尿病の同時罹患率。表3は、各モデルに対する判定基準を示す。

#### 【0204】

10

20

30

40

## 【表3】

表3

アウトカム	アウトカム1、アウトカム5またはアウトカム12
データセット	内部データセットからのトレーニングデータセット
性別	男性または女性
N	モデルを構築するのに使用された試料数
変数	アルゴリズムに考慮された変数
Nステップ	許容される二進法ルールの最大数(すなわち、モデルにおいて許容されるべき変数の最大数)
K倍	10倍交差検証
Kmax	AIM手順から戻された変数の最適数
インデックス	AIM手順から戻された最適の変数およびそれらのカットオフ

10

## 【0205】

加えて、内部データセットおよび外部データセット両方において、同定されたインデックスからAIMスコアが、対象に対して算出された。AIMスコアは、カットオフ判定基準が満たされるインデックスからの変数の数である。このAIMスコアは、0からJまで別個の値をとる( Jは、インデックスにおいて同定される変数の最適数の数である。)。スコア0は、その者が、インデックスにおけるあらゆる変数に対してカットオフ判定基準を満たさないことを指し示す。スコア1は、その者が、インデックスにおける1つの変数のみに対してカットオフ判定基準を満たすことを指し示す。Jのカットオフ判定基準のうちどれが満たされるかは問題ではない。スコアJは、その者が、インデックスにおけるあらゆる変数に対してカットオフ判定基準を満たすことを指し示す。次いで、1からJまでのAIMスコアの各値に対して、そのスコア値を閾値として使用して、混同行列(誤分類率、正確さ、感度、特異性、負の予測値および正の予測値)が算出され得る。その閾値に等しい、またはより高いスコアを有する対象を、目的のアウトカムに対する「陽性」とみなした。その推定される混同行列パラメータに関して臨床上有用である閾値が選択された。内部データセットおよび外部データセットに対して混同行列を算出することによって、過剰適合に起因する楽観性の程度(degree of optimism)が、内部データセットと外部データセットとの間の測定の差において見られた。

20

## 【0206】

表4は、AIM法を示し、リストは：マーカーAFP、CEA、フェリチン、ガレクチン-3、CYFRA21-1、CA19-9XR、TIMP-1およびhsCRP；年齢、CVD同時罹患率、糖尿病の同時罹患率、ならびにカテゴリー変数として同時罹患率総数(0、1または2+)である。

30

## 【0207】

【表4】

表4 AIM法

	モデル1	モデル2	モデル3	モデル4	モデル5	モデル6
アウトカム	1	1	5	5	12	12
データセット	内部	内部	内部	内部	内部	内部
性別	男性	女性	男性	女性	男性	女性
N	1373	1526	1236	1409	1101	1328
変数	マーカーリスト	マーカーリスト	マーカーリスト	マーカーリスト	マーカーリスト	マーカーリスト
Nステップ <sup>°</sup>	12	11	12	11	12	11
K倍	10	10	10	10	10	10
Kmax	5	5	5	5	5	3
インデックス	cea>6.5 年齢>54 cyfra>1.98 crp>1.8 フェリチン<109	cyfra>1.72 cea>4.8 crp>5.5 フェリチン<38 年齢>63	cea>6.9 cyfra>2.17 crp>18.3 フェリチン<97 CA19-9>26.9	cea>5.9 cyfra>2.01 crp>24 フェリチン<36 crp>7.8	cyfra>2.13 crp>15.4 TIMP-1>148 CA19-9>25.0 afp>6.7	cyfra>2.06 cea>5.7 crp>10.4

## 【0208】

モデル性能：定義

閾値：「スコア」の潜在的なレベル

誤分類%：アルゴリズムが、真の分類先と反対に分類した人々の比率

感度（S E）：試験時に陽性である、疾患有する人々の比率

特異性（S P）：試験時に陰性である、疾患有しない人々の比率

正の予測値（P P V）：試験陽性の者が疾患有する確率

負の予測値（N P V）：試験陰性の者が疾患有さない確率

正確さ：診断が正しい比率

陽性尤度比（L R +）：疾患有する者における試験結果陽性の確率の、疾患有さない者における試験結果陽性の確率に対する比率

陰性尤度比（L R -）：疾患有する者における試験結果陰性の確率の、疾患有さない者における試験結果陰性の確率に対する比率

試験後確率（事後P R +）：疾患有率および試験陽性の尤度を考慮した、疾患有する確率

## 【0209】

## [実施例5]

結果 - 男性

男性に対する混同行列を表5に示す。アウトカム1 試料数：内部 = 1373、外部 = 769（陽性178）；アウトカム5 試料数：内部 = 1236、外部 = 690（陽性38、小）；アウトカム12 試料数：内部 = 1101、外部 = 618（陽性33、小）。影付きは、特異性60%および/または感度60%に近い閾値を指示する。

混同行列の解釈。例として表5から、アウトカム1、外部データセット、閾値 3を使用：

誤分類%：対象の25%が誤分類される（がんを有さない場合にがんを有すると予想され、またはがんを有する場合にがんを有さないと予想される、いずれか）；全体の誤り率。正確さ：全体の正しい診断の75%。

S E：疾患有する人々の55%が、このアルゴリズムにおける変数のカットオフの少なくとも3つを満たす（スコア少なくとも3）。

S P：疾患有さない人々の81%が3未満のスコアを有する。

P P V：少なくとも3のスコアを有する人々の47%が実際に疾患有する。

N P V：3未満のスコアを有する人々の86%が疾患有さない。

L R +：2.96 > 1は、少なくとも3のスコアを有する者は、疾患有する確率が増大

10

20

30

40

50

することを示す。

L R - : 0 . 5 5 < 1 は、 3 未満のスコアを有する者は、疾患を有する確率が低減することを示す。

事後 P R + : 少なくとも 3 のスコアを有すると、疾患を有する確率が 2 0 % ( 有病率 <sup>\*</sup> ) から 4 3 % に増大する。

<sup>\*</sup> この試験において見られた実際の比率に基づいて、有病率 2 0 % がアウトカム 1 に使用され、 1 2 % がアウトカム 5 に使用され、 5 % がアウトカム 1 2 に使用された。

【 0 2 1 0 】

【表 5】

アウトカム	データセット	閾値	#	誤分類	正確さ		SP	PPV	NPV	LR+	LR-	事後オッズ+	事後PR+
					SE	SP							
1	内部	>1	0.67	0.33	98.84	11.27	27.13	96.67	1.11	0.10	0.28	0.22	
		>2	0.46	0.54	86.34	43.05	33.64	90.41	1.52	0.32	0.38	0.27	
		>3	0.25	0.75	57.85	80.27	49.50	85.07	2.93	0.53	0.73	0.42	
		>4	0.21	0.79	27.62	96.02	69.85	79.87	6.93	0.75	1.73	0.63	
		>5	0.24	0.76	5.81	99.61	83.33	75.98	14.96	0.95	3.74	0.79	
	外部	>1	0.67	0.33	98.31	12.86	25.36	96.20	1.13	0.13	0.28	0.22	
		>2	0.46	0.54	81.39	43.96	31.47	90.91	1.52	0.33	0.38	0.28	
		>3	0.25	0.75	55.06	81.39	47.12	85.74	2.96	0.55	0.74	0.43	
		>4	0.20	0.80	23.03	96.79	68.33	80.68	7.16	0.80	1.79	0.64	
		>5	0.23	0.77	4.49	99.32	66.67	77.54	6.64	0.96	1.66	0.62	
5	内部	>1	0.38	0.62	87.94	56.99	28.18	96.10	2.04	0.21	0.28	0.22	
		>2	0.15	0.85	57.29	90.65	54.03	91.71	6.12	0.47	0.84	0.46	
		>3	0.12	0.88	34.67	98.46	81.18	88.71	22.47	0.66	3.06	0.75	
		>4	0.13	0.87	18.09	99.81	94.74	86.39	93.80	0.82	12.79	0.93	
		>5	0.15	0.85	4.02	100.00	100.00	84.45	0	0.96	0	0	
	外部	>1	0.39	0.61	76.64	57.63	24.92	93.07	1.81	0.41	0.25	0.20	
		>2	0.17	0.83	41.12	90.57	44.44	89.34	4.36	0.65	0.59	0.37	
		>3	0.13	0.87	23.36	98.63	75.76	87.52	17.03	0.78	2.32	0.70	
		>4	0.13	0.87	15.89	99.83	94.44	86.61	92.63	0.84	12.63	0.93	
		>5	0.15	0.85	1.87	100.00	100.00	84.74	0	0.98	0	0	
12	内部	>1	0.33	0.67	81.82	66.09	13.33	98.28	2.41	0.28	0.13	0.11	
		>2	0.12	0.88	57.58	90.24	27.34	97.09	5.90	0.47	0.31	0.24	
		>3	0.06	0.94	40.91	97.39	50.00	96.28	15.68	0.61	0.83	0.45	
		>4	0.05	0.95	19.70	99.52	72.22	95.11	40.77	0.81	2.15	0.68	
		>5	0.06	0.94	1.52	100.00	100.00	94.09	0	0.98	0	0	
	外部	>1	0.32	0.68	87.88	66.67	12.95	98.98	2.64	0.18	0.14	0.12	
		>2	0.10	0.90	39.39	93.33	25.00	96.47	5.91	0.65	0.31	0.24	
		>3	0.06	0.94	21.21	98.12	38.89	95.67	11.28	0.80	0.59	0.37	
		>4	0.06	0.94	6.06	99.49	40.00	94.94	11.82	0.94	0.62	0.38	
		>5	0.05	0.95	6.06	100.00	100.00	94.97	0	0.94	0	0	

【0 2 1 1】

[実施例 6]

結果 - 女性

女性に対する混同行列を表 6 に示す。アウトカム 1 試料数：内部 = 1 5 2 6 、外部 = 8 5 1 (陽性 1 3 3) ; アウトカム 5 試料数：内部 = 1 4 0 9 、外部 = 7 8 5 (陽性 7 3) ; アウトカム 12 試料数：内部 = 1 3 2 8 、外部 = 7 3 8 (陽性 3 2 、小)。影付

きは、特異性 60 % および / または感度 60 % に近い閾値を指示す。

混同行列の解釈。例として表 6 から、アウトカム 1、外部データセット、閾値 3 を使用：

誤分類 %：対象の 20 % が誤分類される（がんを有さない場合にがんを有すると予想され、またはがんを有する場合にがんを有さないと予想される、いずれか）；全体の誤り率。正確さ：全体の正しい診断の 80 %。

S E：疾患を有する人々の 28 % が、このアルゴリズムにおける変数のカットオフの少なくとも 3 つを満たす（少なくとも 3 のスコア）。

S P：疾患を有さない人々の 90 % が 3 未満のスコアを有する。

P P V：少なくとも 3 のスコアを有する人々の 34 % が実際に疾患を有する。 10

N P V：3 未満のスコアを有する人々の 87 % が、疾患を有さない。

L R +： $2.77 > 1$  は、少なくとも 3 のスコアを有する者は、疾患を有する確率が増大することを示す。

L R -： $0.80 < 1$  は、3 未満のスコアを有する者は、疾患を有する確率が低減することを示す。

事後 P R +：少なくとも 3 のスコアを有すると、疾患を有する確率が 20 %（有病率 \*）から 41 % に増大する。

\* この試験において見られた実際の比率に基づいて、有病率 20 % がアウトカム 1 に使用され、12 % がアウトカム 5 に使用され、5 % がアウトカム 12 に使用された。

【0212】

20

【表6】

アウトカム	τ'-タセツト	閾値	#誤分類	正確さ		PPV	NPV	LR+	LR-	事後 オツク <sup>+</sup>	
				SE	SP					事後 PR+	
1	内部	≥1	0.62	0.38	89.84	27.87	20.07	93.16	1.25	0.36	0.31
		≥2	0.33	0.67	65.63	67.72	29.07	90.72	2.03	0.51	0.51
		≥3	0.18	0.82	35.55	91.89	46.91	87.61	4.38	0.70	1.10
		≥4	0.15	0.85	17.97	98.82	75.41	85.67	15.21	0.83	3.80
		≥5	0.16	0.84	3.52	99.92	90.00	83.71	44.65	0.97	11.16
	外部	≥1	0.63	0.37	89.47	26.74	18.45	93.20	1.22	0.39	0.31
		≥2	0.33	0.67	62.41	67.41	26.18	90.64	1.91	0.56	0.48
		≥3	0.20	0.80	27.82	89.97	33.94	87.06	2.77	0.80	0.69
		≥4	0.15	0.85	9.77	98.61	56.52	85.51	7.02	0.91	1.75
		≥5	0.16	0.84	0.75	99.72	33.33	84.43	2.70	1.00	0.67
5	内部	≥1	0.45	0.55	81.95	52.51	15.24	96.54	1.73	0.34	0.24
		≥2	0.15	0.85	50.38	88.71	31.75	94.49	4.46	0.56	0.61
		≥3	0.08	0.92	27.07	98.59	66.67	92.84	19.19	0.74	2.62
		≥4	0.08	0.92	14.29	99.69	82.61	91.77	45.57	0.86	6.21
		≥5	0.09	0.91	0.75	99.92	50.00	90.62	9.59	0.99	1.31
	外部	≥1	0.42	0.58	82.19	55.06	15.79	96.79	1.83	0.32	0.25
		≥2	0.15	0.85	50.68	88.62	31.36	94.60	4.46	0.56	0.61
		≥3	0.08	0.92	30.14	98.17	62.86	93.20	16.51	0.71	2.25
		≥4	0.08	0.92	17.81	99.58	81.25	92.20	42.26	0.83	5.76
		≥5	0.09	0.91	5.48	100.00	100.00	91.17	0	0.95	0
12	内部	≥1	0.24	0.76	80.43	75.82	10.66	99.08	3.33	0.26	0.18
		≥2	0.05	0.95	47.83	96.72	34.38	98.10	14.60	0.54	0.77
		≥3	0.03	0.97	17.39	99.61	61.54	97.11	44.59	0.83	2.35
	外部	≥1	0.23	0.77	81.25	76.49	13.54	98.90	3.46	0.25	0.18
		≥2	0.06	0.94	43.75	96.74	37.84	97.43	13.43	0.58	0.71
		≥3	0.04	0.96	12.50	99.72	66.67	96.17	44.12	0.88	2.32

【0 2 1 3】

[実施例7]

ステージおよび年齢の評価

表7は、アウトカム番号を記載する。アウトカム1（高リスク腺腫 + 全CRC対全非が

ん)のアルゴリズムを使用して、表8に示す「疾患群」対「対照群」を評価し、予想した。表8は、主要評価項目(他のがんのないその他全て対高リスク腺腫+全CRC)のアルゴリズムを使用したサブ評価を示す。加えて、アウトカム1のアルゴリズムは、全高リスク腺腫対低リスク腺腫の比較群においてやはり使用された。

【0214】

【表7】

表7

アウトカム番号	主要評価項目:
1	・ CRC(全ステージ)および高悪性度腺腫対その他全て(低悪性度腺腫、他の所見および所見なしを含み、「他の非CRCがん」を除く)
2	・ 高悪性度腺腫対その他全て(低悪性度腺腫、他の所見および所見なしを含み、全CRCおよび「他の非CTCがん」を除く)
3	・ CRC(全ステージ)対その他全て(全腺腫、他の所見および所見なしを含み、「他の非CRCがん」を除く)
	副次評価項目:
4	・ 全ステージのCRCおよび他の全ての非CRCがん対その他全て(全腺腫、他の所見および所見なしを含む)
5	・ 全ステージのCRC対その他全て(低悪性度腺腫、他の所見および所見なしを含む)
6	・ ステージIおよびIIのCRC対その他全て(低悪性度腺腫、他の所見および所見なしを含む)
7	・ 全ステージのCRC対腺腫
8	・ ステージIおよびIIのCRC対腺腫
9	・ 全ステージのCRC対所見なし
10	・ ステージIおよびIIのCRC対所見なし
11	・ 高悪性度腺腫対低悪性度腺腫
12	・ 非直腸結腸がん(-CRCおよび-高悪性度腺腫)対その他全て

10

20

【0215】

30

【表8】

表8

男性		疾患群		$\geq 1$		$\geq 2$		$\geq 3$		$\geq 4$		$\geq 5$		
対照群	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%
全非がん*	全高リスク腺腫およびCRC	769	98.31	85.39	55.06	23.03	4.49							
全非がん*	全高リスク腺腫	1838	99.54	77.78	40.28	9.26	1.39							
全非がん*	ステージ1/2のCRC	1778	100.00	95.51	62.82	28.21	7.69							
全非がん*	ステージ3/4のCRC	1772	98.67	94.67	78.00	51.33	10.67							
全非がん*	全高リスク腺腫およびCRC	1105	96.43	73.81	44.05	15.48	1.79							
全非がん*	全高リスク腺腫およびCRC $\geq 65$ yrs	1039	100.00	93.79	63.56	31.64	7.06							
全非がん*	他のがん	1721	100.00	91.92	62.63	29.29	3.03							
全非がん*	全CRC+全ての他のがん	2027	99.51	94.32	68.40	37.04	7.65							
低リスク腺腫		384	98.15	76.39	38.89	7.87	0.00							
女性		$\geq 1$		$\geq 2$		$\geq 3$		$\geq 4$		$\geq 5$				
対照群	疾患群	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	n	陽性%	
全非がん*	全高リスク腺腫およびCRC	851	89.47	62.41	27.82	9.77	0.75							
全非がん*	全高リスク腺腫	2171	86.89	49.73	18.03	2.19	0.00							
全非がん*	ステージ1/2のCRC	2096	92.59	76.85	49.07	25.93	7.41							
全非がん*	ステージ3/4のCRC	2085	94.85	79.38	46.39	27.84	3.09							
全非がん*	全高リスク腺腫およびCRC $\geq 65$ yrs	1231	71.75	34.35	12.98	1.53	0.00							
全非がん*	全高リスク腺腫およびCRC $\geq 65$ yrs	1146	100.00	80.23	44.57	22.48	4.26							
全非がん*	他のがん	2066	94.87	80.77	56.41	17.95	0.00							
全非がん*	全CRC+全ての他のがん	2272	94.01	78.87	50.35	24.65	3.87							
低リスク腺腫	全高リスク腺腫	305	86.89	49.73	18.03	2.19	0.00							

\* は、低リスク腺腫を含めた良性の状態全てを含み、全てのがんを除く

場合、それぞれ陽性 85.39% および 62.41% を予想した。男性および女性における、ステージ I および II の CRC 対非がん群（「全ての非がん」）を比較するのに使用されたアウトカム 1 のアルゴリズムは、2 を超えるスコアを使用した場合、それぞれ陽性 95.51% および 76.85% を予想した。男性および女性におけるステージ III および IV の CRC 対非がん群（「全ての非がん」）を比較するのに使用されたアウトカム 1 のアルゴリズムは、2 を超えるスコアを使用した場合、それぞれ陽性 94.67% および 79.38% を予想した。男性および女性における他のがん（表 1 に列挙したがんを含む）対非がん群（「全ての非がん」）を比較するのに使用されたアウトカム 1 のアルゴリズムは、2 を超えるスコアを使用した場合、それぞれ陽性 91.92% および 80.77% を予想し、アウトカム 1 のアルゴリズムが、直腸結腸がん以外の他のがんを検出するのに用いられ得ることを指し示した。 10

#### 【0217】

前述の発明を実施するための形態および添付の実施例は説明にすぎず、本発明の範囲に対する制限と解釈してはならず、本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲およびその同等物によってのみ規定されることが理解される。

#### 【0218】

開示する実施形態に対する様々な変更および修飾は、当業者には明らかである。制限なく、化学構造、置換基、誘導体、中間体、合成、組成物、製剤または本発明を使用する方法を含めた、このような変更および修飾は、その精神および範囲から逸脱せずに行うことができる。 20

#### 【0219】

完璧さの理由から、本発明の様々な態様を、以下の番号を付けた項において記載する。

#### 【0220】

##### 項 1.

対象が、高リスク腺腫または直腸結腸がん（CRC）に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、

（a）対象から生物学的試料を得るステップ、

（b）対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原（CEA）、サイトケラチン 19 フラグメント（CYFRA）、C 反応性タンパク質（CRP）およびフェリチンのレベルを決定するステップ、 30

（c）生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを、CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに

（d）生物学的試料中の CEA、CYFRA および CRP のレベルが、CEA、CYFRA および CRP の基準レベルより高い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、高リスク腺腫もしくは CRC に罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または生物学的試料中の CEA、CYFRA および CRP のレベルが CEA、CYFRA および CRP の基準レベルと等しくもしくはより低い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくもしくはより高い場合、高リスク腺腫もしくは CRC に罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップ 40 を含む方法。

#### 【0221】

##### 項 2.

対象が、高リスク腺腫または直腸結腸がん（CRC）に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、

（a）対象から生物学的試料を得るステップ、

（b）対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原（CEA）、サイトケラチン 19 フラグメント（CYFRA）、C 反応性タンパク質（CRP）およびフェリチンのレベルを決定するステップ、

（c）生物学的試料中の CEA、CYFRA、CRP およびフェリチンのレベルを、CE 50

A、C Y F R A、C R P およびフェリチンの基準レベルと比較するステップであって、(i) C E Aスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のC E AのレベルがC E Aの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のC E AのレベルがC E Aの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

(ii) C Y F R Aスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のC Y F R AのレベルがC Y F R Aの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のC Y F R AのレベルがC Y F R Aの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

(iii) C R Pスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のC R PのレベルがC R Pの基準レベルより高い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のC R PのレベルがC R Pの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、および

(iv) フェリチニスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は1のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、0のスコアを得るステップ、

(d) ステップ(c)からのスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに  
(e) 合計スコアが基準スコアより高い場合、高リスク腺腫もしくはC R Cに罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアと等しくもしくはより低い場合、高リスク腺腫もしくはC R Cに罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップ  
を含む方法。

#### 【0222】

項3.

ステップ(b)において対象の年齢を決定するステップ、ステップ(c)において対象の年齢を基準年齢と比較するステップ、および

(v) 年齢スコアを対象に提供するステップであって、対象の年齢が基準年齢と等しくまたはより高い場合、対象は1のスコアを得、対象の年齢のレベルが基準年齢より低い場合、0のスコアを得るステップ

をさらに含む、項2に記載の方法。

#### 【0223】

項4.

C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンの基準レベルが、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるC E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンのカットオフ値である、項1または2に記載の方法。

#### 【0224】

項5.

基準群が対照群またはがん群からなる群から選択される、項4に記載の方法。

#### 【0225】

項6.

対象が男性である、項1から5のいずれか一項に記載の方法。

#### 【0226】

項7.

C E A、C Y F R A、C R P およびフェリチンの基準レベルが、C E Aについて血清中5.0ng/mL、5.5ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.5ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはより高く、それに組み合わせてC Y F R Aについて血清中1.80ng/mL、1.85ng/mL、1.90ng/mL、1

10

20

30

40

50

. 9 5 n g / m L、1 . 9 6 n g / m L、1 . 9 7 n g / m L、1 . 9 8 n g / m L、1 . 9 9 n g / m L、2 . 0 0 n g / m L、2 . 0 1 n g / m L、2 . 0 2 n g / m L、2 . 0 3 n g / m L、2 . 0 4 n g / m L、2 . 0 5 n g / m L、2 . 1 0 n g / m L、2 . 1 5 n g / m Lまたは2 . 2 0 n g / m Lに等しくまたはそれより高いレベル、C R Pについて血清中1 . 0 m g / m L、1 . 5 m g / m L、1 . 6 m g / m L、1 . 7 m g / m L、1 . 8 m g / m L、1 . 9 m g / m L、2 . 0 m g / m Lまたは2 . 5 m g / m Lに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中1 2 0 n g / m L、1 1 5 n g / m L、1 1 4 n g / m L、1 1 3 n g / m L、1 1 2 n g / m L、1 1 1 n g / m L、1 1 0 n g / m L、1 0 9 n g / m L、1 0 8 n g / m L、1 0 7 n g / m L、1 0 6 n g / m L、1 0 5 n g / m Lまたは1 0 0 n g / m Lに等しくまたはそれより低いレベルである、項1から6のいずれか一項に記載の方法。 10

## 【0227】

項8.

C E Aの基準レベルが少なくとも約6 . 5 n g / m Lであり、C Y F R Aの基準レベルが少なくとも約1 . 9 8 n g / m Lであり、C R Pの基準レベルが少なくとも約1 . 8 m g / m Lであり、フェリチンの基準レベルが少なくとも約1 0 9 n g / m Lである、項1から7のいずれか一項に記載の方法。 20

## 【0228】

項9.

対象が女性である、項1から5のいずれか一項に記載の方法。 20

## 【0229】

項10.

C E A、C Y F R A、C R Pおよびフェリチンの基準レベルが、C E Aについて血清中3 . 5 n g / m L、4 . 0 n g / m L、4 . 3 n g / m L、4 . 4 n g / m L、4 . 5 n g / m L、4 . 6 n g / m L、4 . 7 n g / m L、4 . 8 n g / m L、4 . 9 n g / m L、5 . 0 n g / m L、5 . 1 n g / m L、5 . 2 n g / m L、5 . 3 n g / m L、5 . 5 n g / m L、6 . 0 n g / m Lまたは7 . 0 n g / m Lに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてC Y F R Aについて血清中1 . 5 5 n g / m L、1 . 6 0 n g / m L、1 . 6 5 n g / m L、1 . 6 7 n g / m L、1 . 6 8 n g / m L、1 . 6 9 n g / m L、1 . 7 0 n g / m L、1 . 7 1 n g / m L、1 . 7 2 n g / m L、1 . 7 3 n g / m L、1 . 7 4 n g / m L、1 . 7 5 n g / m L、1 . 7 6 n g / m L、1 . 7 7 n g / m L、1 . 8 0 n g / m L、1 . 8 5 n g / m Lまたは1 . 9 0 n g / m Lに等しくまたはそれより高いレベル、C R Pについて血清中4 . 0 m g / m L、4 . 5 m g / m L、5 . 0 m g / m L、5 . 1 m g / m L、5 . 2 m g / m L、5 . 3 m g / m L、5 . 4 m g / m L、5 . 5 m g / m L、5 . 6 m g / m L、5 . 7 m g / m L、5 . 8 m g / m L、5 . 9 m g / m L、6 . 0 m g / m L、6 . 5 m g / m Lまたは7 . 0 m g / m Lに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中5 0 n g / m L、4 5 n g / m L、4 4 n g / m L、4 3 n g / m L、4 2 n g / m L、4 1 n g / m L、4 0 n g / m L、3 9 n g / m L、3 8 n g / m L、3 7 n g / m L、3 6 n g / m L、3 5 n g / m L、3 4 n g / m L、3 3 n g / m L、3 2 n g / m L、3 1 n g / m Lまたは3 0 n g / m Lに等しくまたはそれより低いレベルである、項1から5、および9のいずれか一項に記載の方法。 30 40

## 【0230】

項11.

C E Aの基準レベルが少なくとも約4 . 8 n g / m Lであり、C Y F R Aの基準レベルが少なくとも約1 . 7 2 n g / m Lであり、C R Pの基準レベルが少なくとも約5 . 5 m g / m Lであり、フェリチンの基準レベルが少なくとも約3 8 n g / m Lである、項1から5、9、および10のいずれか一項に記載の方法。 50

## 【0231】

項12.

基準スコアが 0、1、2、3 または 4 である、項 2 および 4 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

【0232】

項 13.

対象が男性である場合、基準年齢が 54 歳である、項 3 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【0233】

項 14.

対象が女性である場合、基準年齢が 63 歳である、項 3 から 5 および 9 から 11 のいずれか一項に記載の方法。

10

【0234】

項 15.

基準スコアが 0、1、2、3、4 または 5 である、項 13 または 14 に記載の方法。

【0235】

項 16.

対象が男性である場合、基準スコアが 2 または 3 である、項 13 または 15 に記載の方法。

【0236】

項 17.

対象が男性であり、合計スコアが 2 より高い場合、対象は高リスク腺腫または CRC に罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項 13、15 または 16 に記載の方法。

20

【0237】

項 18.

対象が男性であり、合計スコアが 3 より高い場合、対象は高リスク腺腫または CRC に罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項 13、15 または 16 に記載の方法。

【0238】

項 19.

対象が女性である場合、基準スコアが 2 である、項 14 または 15 に記載の方法。

30

【0239】

項 20.

対象が女性であり、合計スコアが 2 より高い場合、対象は高リスク腺腫または CRC に罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項 14、15 または 19 に記載の方法。

【0240】

項 21.

CRC 処置レジメン、CRC 構造スクリーニングレジメン、または CRC モニタリングレジメンを、高腺腫または CRC に罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含む、項 1 から 20 のいずれか一項に記載の方法。

40

【0241】

項 22.

CRC 処置レジメンが、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含む、項 21 に記載の方法。

【0242】

項 23.

CRC 構造スクリーニングレジメンが結腸鏡検査または S 状結腸鏡検査である、項 21 に記載の方法。

【0243】

50

## 項 2 4 .

結腸鏡検査が対象の診断を確定する、項 2 3 に記載の方法。

## 【 0 2 4 4 】

## 項 2 5 .

C R C モニタリングレジメンが、定期的な間隔で C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップを含む、項 2 1 に記載の方法。

## 【 0 2 4 5 】

## 項 2 6 .

C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップが、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含む、項 1 から 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【 0 2 4 6 】

## 項 2 7 .

C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンに特異的に結合する分子が、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含む、項 2 6 に記載の方法。

## 【 0 2 4 7 】

## 項 2 8 .

C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップが、生物学的試料を、 C E A に特異的に結合する抗体、 C Y F R A に特異的に結合する抗体、 C R P に特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴う、項 1 から 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【 0 2 4 8 】

## 項 2 9 .

C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンのレベルを決定するステップが、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴い、生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として、検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、

30

( a ) C E A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、

( b ) C Y F R A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、

( c ) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに

( d ) フェリチンに特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を含む、項 1 から 2 5 のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【 0 2 4 9 】

## 項 3 0 .

免疫学的方法が、

( a ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C E A または C E A のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C E A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

50

( i i i ) 試験試料中の C E A レベルを、( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C E A のレベルを測定するステップ、

( b ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、( b ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C Y F R A のレベルを測定するステップ、

( c ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップによって C R P のレベルを測定するステップ、ならびに

( d ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない フェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中のフェリチンレベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によってフェリチンのレベルを測定するステップ

を含む、項 29 に記載の方法。

#### 【 0 2 5 0 】

項 31 .

メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) 、およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C がんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含む、項 1 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

#### 【 0 2 5 1 】

項 32 .

対象が、直腸結腸がん ( C R C ) に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、

( a ) 対象から生物学的試料を得るステップ、

10

20

30

40

50

( b ) 対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原 ( C E A ) 、サイトケラチン 19 フラグメント ( C Y F R A ) 、 C 反応性タンパク質 ( C R P ) 、糖鎖抗原 19-9 ( C A 19-9 ) およびフェリチンのレベルを決定するステップ、

( c ) 生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19-9 およびフェリチンのレベルを、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19-9 およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、ならびに

( d ) 生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P および C A 19-9 のレベルが C E A 、 C Y F R A 、 C R P および C A 19-9 の基準レベルより高い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、 C R C に罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A および C A 19-9 のレベルが C E A 、 C Y F R A および C A 19-9 の基準レベルと等しくもしくはより低い場合、ならびに生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくもしくはより高い場合、罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップを含む方法。  
10

【 0252 】

項 33.

対象が、直腸結腸がん ( C R C ) に罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、

( a ) 対象から生物学的試料を得るステップ、

( b ) 対象からの生物学的試料中のがん胎児性抗原 ( C E A ) 、サイトケラチン 19 フラグメント ( C Y F R A ) 、 C 反応性タンパク質 ( C R P ) 、糖鎖抗原 19-9 ( C A 19-9 ) およびフェリチンのレベルを決定するステップ、

( c ) 生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19-9 およびフェリチンのレベルを、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 19-9 およびフェリチンの基準レベルと比較するステップ、

( d ) C E A スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C E A のレベルが C E A の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C E A のレベルが C E A の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、 ( e ) C Y F R A スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C Y F R A のレベルが C Y F R A の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C Y F R A のレベルが C Y F R A の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、  
30

( f ) C R P スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C R P のレベルが C R P の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C R P のレベルが C R P の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、 ( g ) C A 19-9 スコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中の C A 19-9 のレベルが C A 19-9 の基準レベルより高い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の C A 19-9 のレベルが C A 19-9 の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、  
40

( h ) フェリチンスコアを対象に提供するステップであって、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルより低い場合、対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中のフェリチンのレベルがフェリチンの基準レベルと等しくまたはより高い場合、対象は 0 のスコアを得るステップ、

( i ) C E A スコア、 C Y F R A スコア、 C R P スコア、 C A 19-9 スコアおよびフェリチンスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに

( j ) 合計スコアが基準スコアより高い場合、 C R C に罹患している、もしくは罹患するリスクがあるという対象の診断を提供し、または合計スコアが基準スコアに等しくもしくはより低い場合、 C R C に罹患していない、もしくは罹患するリスクがないという対象の診断を提供するステップ  
50

を含む方法。

【0253】

項34.

C E A、C Y F R A、C R P、C A 1 9 - 9 およびフェリチンの基準レベルが、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるC E A、C Y F R A、C R P、C A 1 9 - 9 およびフェリチンのカットオフ値である、項32または33に記載の方法。

【0254】

項35.

基準群が対照群およびがん群からなる群から選択される、項34に記載の方法。

10

【0255】

項36. 対象が男性である、項32から35のいずれか一項に記載の方法。

【0256】

項37.

C E A、C Y F R A、C R P、C A 1 9 - 9 およびフェリチンの基準レベルが、C E Aについて血清中4.5ng/mL、4.6ng/mL、4.7ng/mL、4.8ng/mL、4.9ng/mL、5.0ng/mL、5.1ng/mL、5.2ng/mL、5.3ng/mL、5.4ng/mL、5.5ng/mL、5.6ng/mL、5.7ng/mL、5.8ng/mL、5.9ng/mL、6.0ng/mL、6.1ng/mL、6.2ng/mL、6.3ng/mL、6.4ng/mL、6.5ng/mL、6.6ng/mL、6.7ng/mL、6.8ng/mL、6.9ng/mL、7.0ng/mL、7.1ng/mL、7.2ng/mL、7.3ng/mL、7.4ng/mL、7.5ng/mL、7.6ng/mL、7.7ng/mL、7.8ng/mL、7.9ng/mLまたは8.0ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてC Y F R Aについて血清中1.50ng/mL、1.60ng/mL、1.70ng/mL、1.80ng/mL、1.90ng/mL、2.00ng/mL、2.01ng/mL、2.02ng/mL、2.03ng/mL、2.04ng/mL、2.05ng/mL、2.06ng/mL、2.07ng/mL、2.08ng/mL、2.09ng/mL、2.10ng/mL、2.11ng/mL、2.12ng/mL、2.13ng/mL、2.14ng/mL、2.15ng/mL、2.16ng/mL、2.17ng/mL、2.18ng/mL、2.19ng/mL、2.20ng/mL、2.21ng/mL、2.22ng/mL、2.23ng/mL、2.24ng/mL、2.25ng/mL、2.26ng/mLまたは3.00ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、C R Pについて血清中17.0mg/mL、17.1mg/mL、17.2mg/mL、17.3mg/mL、17.4mg/mL、17.5mg/mL、17.6mg/mL、17.7mg/mL、17.8mg/mL、17.9mg/mL、18.0mg/mL、18.1mg/mL、18.2mg/mL、18.3mg/mL、18.4mg/mL、18.5mg/mL、18.6mg/mL、18.7mg/mL、18.8mg/mL、18.9mg/mL、19.0mg/mL、19.5mg/mLまたは20.0mg/mLに等しくまたはそれより高いレベル、C A 1 9 - 9 について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、26.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、27.0U/mL、27.1U/mL、27.2U/mL、27.3U/mL、27.4U/mL、27.5U/mL、

20

またはそれより高いレベル、C A 1 9 - 9 について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、26.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、27.0U/mL、27.1U/mL、27.2U/mL、27.3U/mL、27.4U/mL、27.5U/mL、

30

またはそれより高いレベル、C A 1 9 - 9 について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、26.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、27.0U/mL、27.1U/mL、27.2U/mL、27.3U/mL、27.4U/mL、27.5U/mL、

40

またはそれより高いレベル、C A 1 9 - 9 について血清中23.0U/mL、23.1U/mL、23.2U/mL、23.3U/mL、23.4U/mL、23.5U/mL、23.6U/mL、23.7U/mL、23.8U/mL、23.9U/mL、24.0U/mL、24.1U/mL、24.2U/mL、24.3U/mL、24.4U/mL、24.5U/mL、24.6U/mL、24.7U/mL、24.8U/mL、24.9U/mL、25.0U/mL、25.1U/mL、25.2U/mL、25.3U/mL、25.4U/mL、25.5U/mL、25.6U/mL、25.7U/mL、25.8U/mL、25.9U/mL、26.0U/mL、26.1U/mL、26.2U/mL、26.3U/mL、26.4U/mL、26.5U/mL、26.6U/mL、26.7U/mL、26.8U/mL、26.9U/mL、27.0U/mL、27.1U/mL、27.2U/mL、27.3U/mL、27.4U/mL、27.5U/mL、

50

27.6 U/mL、27.7 U/mL、27.8 U/mL、27.9 U/mL、28.0 U/mL、28.5 U/mL または 29.0 U/mL に等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中 105.0 ng/mL、104.0 ng/mL、103.0 ng/mL、102.0 ng/mL、101.0 ng/mL、100.0 ng/mL、99.0 ng/mL、98.0 ng/mL、97.0 ng/mL、96.0 ng/mL、95.0 ng/mL、94.0 ng/mL、93.0 ng/mL、92.0 ng/mL、91.0 ng/mL、90.0 ng/mL、89.0 ng/mL、88.0 ng/mL、87.0 ng/mL、86.0 ng/mL または 85.0 ng/mL に等しくまたはそれより低いレベルである、項 32 から 36 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 2 5 7 】

10

項 3 8 .

C E A の基準レベルが少なくとも約 6 . 9 n g / m L であり、C Y F R A の基準レベルが少なくとも約 2 . 1 7 n g / m L であり、C R P の基準レベルが少なくとも約 1 8 . 3 m g / m L であり、C A 1 9 - 9 の基準レベルが少なくとも約 2 6 . 8 U / m L であり、フェリチンの基準レベルが少なくとも約 9 7 n g / m L である、項 3 2 から 3 7 のいずれか一項に記載の方法。

〔 0 2 5 8 〕

項 3 9 .

対象が女性である、項32から35のいずれか一項に記載の方法。

【 0 2 5 9 】

20

項 4 0 .

2 U / mL、24.3 U / mL、24.4 U / mL、24.5 U / mL、24.6 U / mL、24.7 U / mL、24.8 U / mL、24.9 U / mL、25.0 U / mL、25.1 U / mL、25.2 U / mL、25.3 U / mL、25.4 U / mL、25.5 U / mL、25.6 U / mL、25.7 U / mL、25.8 U / mL、25.9 U / mL、26.0 U / mL、26.1 U / mL、26.2 U / mL、26.3 U / mL、26.4 U / mL、26.5 U / mL、26.6 U / mL、26.7 U / mL、26.8 U / mL、26.9 U / mL、27.0 U / mL、27.1 U / mL、27.2 U / mL、27.3 U / mL、27.4 U / mL、27.5 U / mL、27.6 U / mL、27.7 U / mL、27.8 U / mL、27.9 U / mL、28.0 U / mL、28.5 U / mLまたは29.0 U / mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびフェリチンについて血清中45 ng / mL、44 ng / mL、43 ng / mL、42 ng / mL、41 ng / mL、40 ng / mL、39 ng / mL、38 ng / mL、36 ng / mL、35 ng / mL、34 ng / mL、33 ng / mL、32 ng / mL、31 ng / mL、30 ng / mLまたは25 ng / mLに等しくまたはそれより低いレベルである、項32から35および39のいずれか一項に記載の方法。 10

#### 【0260】

項41.

C EAの基準レベルが少なくとも約5.9 ng / mLであり、CYFRAの基準レベルが少なくとも約2.01 ng / mLであり、CRPの基準レベルが少なくとも約7.8 mg / mLであり、CA19-9の基準レベルが少なくとも約24.0 U / mLであり、フェリチンの基準レベルが少なくとも約36 ng / mLである、項32から35、39および40のいずれか一項に記載の方法。 20

#### 【0261】

項42.

基準スコアが0、1、2、3、4または5である、項33から41のいずれか一項に記載の方法。 30

#### 【0262】

項43.

対象が男性である場合、基準スコアが1である、項33から38および42のいずれか一項に記載の方法。 30

#### 【0263】

項44.

対象が男性であり、合計スコアが1より高い場合、対象はCRCに罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項33から38、42および43のいずれか一項に記載の方法。 40

#### 【0264】

項45.

対象が女性である場合、基準スコアが1または2である、項33から35および39から42のいずれか一項に記載の方法。 40

#### 【0265】

項46.

対象が女性であり、合計スコアが1より高い場合、対象はCRCに罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項33から35、39から42および45のいずれか一項に記載の方法。 50

#### 【0266】

項47.

対象が女性であり、合計スコアが2より高い場合、対象はCRCに罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項33から35、39から42および45のいずれか一項に記載の方法。 50

#### 【0267】

## 項 4 8 .

C R C 構造スクリーニングレジメン、C R C 処置レジメン、またはC R C モニタリングレジメンを、C R C に罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含む、項 3 2 から 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【 0 2 6 8 】

項 4 9 . C R C 処置レジメンが、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも 1 つを対象に施すステップを含む、項 4 8 に記載の方法。

## 【 0 2 6 9 】

## 項 5 0 .

10

C R C 構造スクリーニングレジメンが結腸鏡検査または S 状結腸鏡検査である、項 4 8 に記載の方法。

## 【 0 2 7 0 】

## 項 5 1 .

結腸鏡検査が対象の診断を確定する、項 5 0 に記載の方法。

## 【 0 2 7 1 】

## 項 5 2 .

C R C モニタリングレジメンが、定期的な間隔で C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップを含む、項 4 8 に記載の方法。

## 【 0 2 7 2 】

## 項 5 3 .

20

C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップが、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含む、項 3 2 から 5 2 のいずれか一項に記載の方法。

## 【 0 2 7 3 】

## 項 5 4 .

C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンに特異的に結合する分子が、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの抗体を含む、項 5 3 に記載の方法。

## 【 0 2 7 4 】

## 項 5 5 .

30

C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップが、生物学的試料を、 C E A に特異的に結合する抗体、 C Y F R A に特異的に結合する抗体、 C R P に特異的に結合する抗体、 C A 1 9 - 9 に特異的に結合する抗体、フェリチンに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも 1 つの抗体と接触させるステップを伴う、項 3 2 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

。

## 【 0 2 7 5 】

## 項 5 6 .

C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンのレベルを決定するステップが、少なくとも 1 つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体を使用するイムノアッセイによって、 C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンについて生物学的試料をアッセイするステップを伴い、生物学的試料中の C E A 、 C Y F R A 、 C R P 、 C A 1 9 - 9 およびフェリチンの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、

( a ) C E A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、

( b ) C Y F R A に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、

40

50

(c) C R P に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、

(d) C A 1 9 - 9 に特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体、ならびに

(e) フェリチンに特異的に結合する少なくとも 1 つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも 1 つの抗体

を含む、項 32 から 52 のいずれか一項に記載の方法。

【0276】

項 57.

免疫学的方法が、

(a) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C E A または C E A のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を形成するステップ、

(ii) 捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C E A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

(iii) 試験試料中の C E A レベルを、(a) (ii) において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C E A のレベルを測定するステップ、

(b) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C Y F R A または C Y F R A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を形成するステップ、

(ii) 捕捉抗体 - C Y F R A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

(iii) 試験試料中の C Y F R A レベルを、(b) (ii) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C Y F R A のレベルを測定するステップ、

(c) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、

(ii) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

(iii) 試験試料中の C R P レベルを、(c) (ii) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C R P のレベルを測定するステップ、

(d) (i) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C A 1 9 - 9 または C A 1 9 - 9 のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、

(ii) 捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

10

20

30

40

50

( i i i ) 試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、ならびに

( e ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はフェリチンまたはフェリチンのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - フェリチン抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないフェリチン上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中のフェリチンレベルを、( e ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - フェリチン抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によってフェリチンのレベルを測定するステップを含む、

項 5 6 に記載の方法。

【 0 2 7 7 】

項 5 8 .

メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、少なくとも 1 つの付加的な C R C がんのバイオマーカーに対する基準レベルと比較するステップをさらに含む、項 3 2 から 5 7 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 2 7 8 】

項 5 9 .

男性対象が、直腸結腸がん ( C R C ) がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、男性対象は、 C R C を有さないことが結腸鏡検査によって確定されており、

( a ) 男性対象から生物学的試料を得るステップ、

( b ) 男性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン 1 9 フラグメント ( C Y F R A ) 、 C 反応性タンパク質 ( C R P ) 、メタロプロテイナーゼの組織インヒビター 1 ( T I M P - 1 ) 、糖鎖抗原 1 9 - 9 ( C A 1 9 - 9 ) およびアルファ - フェトプロテイン ( A F P ) のレベルを決定するステップ、

( c ) 生物学的試料中の C Y F R A 、 C R P 、 T I M P - 1 、 C A 1 9 - 9 および A F P のレベルを、 C Y F R A 、 C R P 、 T I M P - 1 、 C A 1 9 - 9 および A F P の基準レベルと比較するステップ、ならびに

( d ) 生物学的試料中の C Y F R A 、 C R P 、 T I M P - 1 、 C A 1 9 - 9 および A F P のレベルが、 C Y F R A 、 C R P 、 T I M P - 1 、 C A 1 9 - 9 および A F P の基準レベルより高い場合、 C R C 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという男性対象の診断を提供するステップ

を含む方法。

【 0 2 7 9 】

項 6 0 .

男性対象が、直腸結腸がん ( C R C ) がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、男性対象は、 C R C を有さないことが結腸鏡検査によって確定されており、

( a ) 男性対象から生物学的試料を得るステップ、

10

20

30

40

50

( b ) 男性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン 19 フラグメント ( CYFRA ) 、 C 反応性タンパク質 ( CRP ) 、メタロプロテイナーゼの組織インヒビター 1 ( TIMP - 1 ) 、糖鎖抗原 19 - 9 ( CA19 - 9 ) およびアルファ - フェトプロテイン ( AFP ) のレベルを決定するステップ、

( c ) 生物学的試料中の CYFRA 、 CRP 、 TIMP - 1 、 CA19 - 9 および AFP のレベルを、 CYFRA 、 CRP 、 TIMP - 1 、 CA19 - 9 および AFP の基準レベルと比較するステップ、

( d ) CYFRA スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルより高い場合、男性対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CYFRA のレベルが CYFRA の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、

( e ) CRP スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルより高い場合、男性対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CRP のレベルが CRP の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、

( f ) TIMP - 1 スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中の TIMP - 1 のレベルが TIMP - 1 の基準レベルより高い場合、男性対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の TIMP - 1 のレベルが TIMP - 1 の基準レベルと等しくまたはより低い場合、 0 のスコアを得るステップ、

( g ) CA19 - 9 スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中の CA19 - 9 のレベルが CA19 - 9 の基準レベルより低い場合、男性対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の CA19 - 9 のレベルが CA19 - 9 の基準レベルと等しくまたはより高い場合、 0 のスコアを得るステップ、

( h ) AFP スコアを男性対象に提供するステップであって、生物学的試料中の AFP のレベルが AFP の基準レベルより低い場合、男性対象は 1 のスコアを得、生物学的試料中の AFP のレベルが AFP の基準レベルと等しくまたはより高い場合、 0 のスコアを得るステップ、

( i ) CYFRA スコア、 CRP スコア、 TIMP - 1 スコア、 CA19 - 9 スコアおよび AFP スコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに

( j ) 合計スコアが基準スコアより高い場合、 CRC 以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという男性対象の診断を提供するステップを含む方法。

#### 【 0280 】

項 6 1 .

CYFRA 、 CRP 、 TIMP - 1 、 CA19 - 9 および AFP の基準レベルが、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定される CYFRA 、 CRP 、 TIMP - 1 、 CA19 - 9 および AFP のカットオフ値である、項 59 または 60 に記載の方法。

#### 【 0281 】

項 6 2 .

基準群が対照群およびがん群からなる群から選択される、項 6 1 に記載の方法。

#### 【 0282 】

項 6 3 .

CYFRA 、 CRP 、 TIMP - 1 、 CA19 - 9 および AFP の基準レベルが、 CYFRA について血清中 1.0 ng / mL 、 1.1 ng / mL 、 1.2 ng / mL 、 1.3 ng / mL 、 1.4 ng / mL 、 1.5 ng / mL 、 1.6 ng / mL 、 1.7 ng / mL 、 1.8 ng / mL 、 1.9 ng / mL 、 2.0 ng / mL 、 2.1 ng / mL 、 2.2 ng / mL 、 2.3 ng / mL 、 2.4 ng / mL 、 2.5 ng / mL 、 3.0 ng / mL または 3.5 ng / mL に等しくまたはそれより高く、それに組み合わせて CRP について血清中 14.0 mg / mL 、 14.1 mg / mL 、 14.2 mg / mL 、 14.3

10

20

30

40

50

mg / mL、14.4 mg / mL、14.5 mg / mL、14.6 mg / mL、14.7 mg / mL、14.8 mg / mL、14.9 mg / mL、15.0 mg / mL、15.1 mg / mL、15.2 mg / mL、15.3 mg / mL、15.4 mg / mL、15.5 mg / mL、15.6 mg / mL、15.7 mg / mL、15.8 mg / mL、15.9 mg / mL、16.0 mg / mL、16.1 mg / mL、16.2 mg / mL、16.3 mg / mL、16.4 mg / mL、16.5 mg / mL、17.0 mg / mLまたは17.5 mg / mLに等しくまたはそれより高いレベル、TIMP-1について血清中140 ng / mL、141 ng / mL、142 ng / mL、143 ng / mL、144 ng / mL、145 ng / mL、146 ng / mL、147 ng / mL、148 ng / mL、149 ng / mL、150 ng / mL、151 ng / mL、152 ng / mL、153 ng / mL、154 ng / mL、155 ng / mL、156 ng / mL、157 ng / mL、158 ng / mL、159 ng / mLまたは160 ng / mLに等しくまたはそれより高いレベル、CA19-9について血清中24.0 U / mL、24.1 U / mL、24.2 U / mL、24.3 U / mL、24.4 U / mL、24.5 U / mL、24.6 U / mL、24.7 U / mL、24.8 U / mL、24.9 U / mL、25.0 U / mL、25.1 U / mL、25.2 U / mL、25.3 U / mL、25.4 U / mL、25.5 U / mL、25.6 U / mL、25.7 U / mL、25.8 U / mL、25.9 U / mL、26.0 U / mLまたは26.5 U / mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびAFPについて血清中5.0 ng / mL、5.1 ng / mL、5.2 ng / mL、5.3 ng / mL、5.4 ng / mL、5.5 ng / mL、5.6 ng / mL、5.7 ng / mL、5.8 ng / mL、5.9 ng / mL、6.0 ng / mL、6.1 ng / mL、6.2 ng / mL、6.3 ng / mL、6.4 ng / mL、6.5 ng / mL、6.6 ng / mL、6.7 ng / mL、6.8 ng / mL、6.9 ng / mL、7.0 ng / mL、7.5 ng / mLまたは8.0 ng / mLに等しくまたはそれより高いレベルである、項59から62のいずれか一項に記載の方法。

## 【0283】

項64.

CYFRAの基準レベルが少なくとも約2.13 ng / mLであり、CRPの基準レベルが少なくとも約15.4 mg / mLであり、TIMP-1の基準レベルが少なくとも約148 ng / mLであり、CA19-9の基準レベルが少なくとも約25.0 U / mLであり、AFPの基準レベルが少なくとも約6.7 ng / mLである、項59から63のいずれか一項に記載の方法。

## 【0284】

項65.

基準スコアが0、1、2、3、4または5である、項60から64のいずれか一項に記載の方法。

## 【0285】

項66.

合計スコアが1より高い場合、対象はCRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項60から65のいずれか一項に記載の方法。

## 【0286】

項67.

がん処置レジメンまたはがんモニタリングレジメンを、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含む、項59から66のいずれか一項に記載の方法。

## 【0287】

項68.

がん処置レジメンが、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも1つを対象に施すステップを含む、項67に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【0288】

項69.

がんモニタリングレジメンが、定期的な間隔でCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップを含む、項67に記載の方法。

## 【0289】

項70.

CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップが、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含む、項60から69のいずれか一項に記載の方法。

## 【0290】

10

項71.

CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合する分子が、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPに特異的に結合することができる少なくとも1つの抗体を含む、項70に記載の方法。

## 【0291】

項72.

CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップが、生物学的試料を、CYFRAに特異的に結合する抗体、CRPに特異的に結合する抗体、TIMP-1に特異的に結合する抗体、CA19-9に特異的に結合する抗体、AFPに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つの抗体と接触させるステップを伴う、項60から71のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【0292】

項73.

CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを決定するステップが、少なくとも1つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPについて生物学的試料をアッセイするステップを伴い、生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、

30

(a) CYFRAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、

(b) CRPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、

(c) TIMP-1に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、

(d) CA19-9に特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、ならびに

(e) AFPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体

40

を含む、項60から69のいずれか一項に記載の方法。

## 【0293】

項74.

免疫学的方法が、

(a) (i) 試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCYFRAまたはCYFRAのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を形成するステップ、

(ii) 捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていな

50

い C Y F R A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C Y F R A のレベルを測定するステップ、

( b ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( b ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C R P のレベルを測定するステップ、

( c ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は T I M P - 1 または T I M P - 1 のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない T I M P - 1 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の T I M P - 1 レベルを、( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - T I M P - 1 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって T I M P - 1 のレベルを測定するステップ、

( d ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C A 1 9 - 9 または C A 1 9 - 9 のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C A 1 9 - 9 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C A 1 9 - 9 レベルを、( d ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C A 1 9 - 9 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C A 1 9 - 9 のレベルを測定するステップ、ならびに

( e ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は A F P または A F P のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - A F P 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - A F P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない A F P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - A F P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の A F P レベルを、( e ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - A F P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって A F P のレベルを測定するステップを含む、項 7 3 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【0294】

## 項75.

メチルセプチン9(mS9)、ガレクチン-3(Ga13)、糖化ヘモグロビン(HbA1c)、C3a、カテプシンX(CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体(suPAR(I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター-1(PAI-1)、エノラーゼ2(ENO2)およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中のCRC以外のがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびにCRC以外のがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーのレベルを、CRC以外のがんの少なくとも1つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含む、項59から74のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【0295】

## 項76.

女性対象が、直腸結腸がん(CRC)がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、女性対象は、CRCを有さないことが結腸鏡検査によって確定されており、

(a) 女性対象から生物学的試料を得るステップ、  
(b) 女性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、がん胎児性抗原(CEA)およびC反応性タンパク質(CRP)のレベルを決定するステップ、

(c) 生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを、CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルと比較するステップ、ならびに

(d) 生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルがCYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという女性対象の診断を提供するステップを含む方法。

20

## 【0296】

## 項77.

女性対象が、直腸結腸がん(CRC)がん以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるかを決定する方法であって、女性対象は、CRCを有さないことが結腸鏡検査によって確定されており、

30

(a) 女性対象から生物学的試料を得るステップ、  
(b) 女性対象からの生物学的試料中のサイトケラチン19フラグメント(CYFRA)、がん胎児性抗原(CEA)およびC反応性タンパク質(CRP)のレベルを決定するステップ、

(c) 生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルをCYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルと比較するステップ、

(d) CYFRAスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCYFRAのレベルがCYFRAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

40

(e) CEAスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCEAのレベルがCEAの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

(f) CRPスコアを女性対象に提供するステップであって、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルより高い場合、女性対象は1のスコアを得、生物学的試料中のCRPのレベルがCRPの基準レベルと等しくまたはより低い場合、0のスコアを得るステップ、

(g) CYFRAスコア、CEAスコアおよびCRPスコアを加算して合計スコアを得るステップ、ならびに

50

(h) 合計スコアが基準スコアより高い場合、CRC以外のがんに罹患している、または罹患するリスクがあるという女性対象の診断を提供するステップを含む方法。

## 【0297】

項78.

CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルが、基準群の生物学的試料から適応インデックスモデル法によって決定されるCYFRA、CEAおよびCRPのカットオフ値である、項76または77に記載の方法。

## 【0298】

項79.

基準群が対照群およびがん群からなる群から選択される、項78に記載の方法。

10

## 【0299】

項80.

CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルが、CYFRAについて血清中1.0 ng/mL、1.1 ng/mL、1.2 ng/mL、1.3 ng/mL、1.4 ng/mL、1.5 ng/mL、1.6 ng/mL、1.7 ng/mL、1.8 ng/mL、1.9 ng/mL、2.0 ng/mL、2.1 ng/mL、2.2 ng/mL、2.3 ng/mL、2.4 ng/mL、2.5 ng/mL、3.0 ng/mLまたは3.5 ng/mLに等しくまたはそれより高く、それに組み合わせてCEAについて血清中4.0 ng/mL、4.1 ng/mL、4.2 ng/mL、4.3 ng/mL、4.4 ng/mL、4.5 ng/mL、4.6 ng/mL、4.7 ng/mL、4.8 ng/mL、4.9 ng/mL、5.0 ng/mL、5.1 ng/mL、5.2 ng/mL、5.3 ng/mL、5.4 ng/mL、5.5 ng/mL、5.6 ng/mL、5.7 ng/mL、5.8 ng/mL、5.9 ng/mL、6.0 ng/mL、6.1 ng/mL、6.2 ng/mL、6.3 ng/mL、6.4 ng/mL、6.5 ng/mL、6.6 ng/mL、6.7 ng/mL、6.8 ng/mL、6.9 ng/mL、7.0 ng/mLまたは7.5 ng/mLに等しくまたはそれより高いレベル、およびCRPについて血清中9.0 mg/mL、9.1 mg/mL、9.2 mg/mL、9.3 mg/mL、9.4 mg/mL、9.5 mg/mL、9.6 mg/mL、9.7 mg/mL、9.8 mg/mL、9.9 mg/mL、10.0 mg/mL、10.1 mg/mL、10.2 mg/mL、10.3 mg/mL、10.4 mg/mL、10.5 mg/mL、10.6 mg/mL、10.7 mg/mL、10.8 mg/mL、10.9 mg/mL、11.0 mg/mL、11.5 mg/mLまたは12.0 mg/mLに等しくまたはそれより高いレベルである、項76から79のいずれか一項に記載の方法。

20

30

## 【0300】

項81.

CYFRAの基準レベルが少なくとも約2.06 ng/mLであり、CEAの基準レベルが少なくとも約5.7 ng/mLであり、CRPの基準レベルが少なくとも約10.4 mg/mLである、項76から80のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【0301】

項82.

基準スコアが0、1、2または3である、項77から81のいずれか一項に記載の方法。

## 【0302】

項83.

合計スコアが1より高い場合、対象はCRCに罹患している、または罹患するリスクがあると診断される、項77から82のいずれか一項に記載の方法。

## 【0303】

項84.

がん処置レジメンまたはがんモニタリングレジメンを、CRC以外のがんに罹患してい

50

る、または罹患するリスクがあると診断された対象に施すステップをさらに含む、項76から83のいずれか一項に記載の方法。

【0304】

項85.

がん処置レジメンが、外科手術、放射線医学治療、放射線医学処置、化学療法、標的化治療またはこれらの組合せの少なくとも1つを対象に施すステップを含む、項84に記載の方法。

【0305】

項86.

がんモニタリングレジメンが、定期的な間隔でCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを決定するステップを含む、項84に記載の方法。 10

【0306】

項87.

CYFRA、CEAおよびCRPのレベルを決定するステップが、CYFRA、CEAおよびCRPに特異的に結合する分子での免疫学的方法を含む、項76から86のいずれか一項に記載の方法。

【0307】

項88.

CYFRA、CEAおよびCRPに特異的に結合する分子が、CYFRA、CEAおよびCRPに特異的に結合することができる少なくとも1つの抗体を含む、項87に記載の方法。 20

【0308】

項89.

CYFRA、CEAおよびCRPのレベルを決定するステップが、生物学的試料を、CYFRAに特異的に結合する抗体、CEAに特異的に結合する抗体、CRPに特異的に結合する抗体、およびこれらの組合せからなる群から選択される少なくとも1つの抗体と接触させるステップを伴う、項76から88のいずれか一項に記載の方法。

【0309】

項90.

CYFRA、CEAおよびCRPのレベルを決定するステップが、少なくとも1つの捕捉抗体、およびシグナルを発生させる検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を使用するイムノアッセイによって、CYFRA、CEAおよびCRPに対して生物学的試料をアッセイするステップを伴い、生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPの量の直接的または間接的な指標として検出可能な標識によって発生したシグナルを比較するステップを含み、捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された抗体は、

(a) CYFRAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、

(b) CEAに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体、ならびに

(c) CRPに特異的に結合する少なくとも1つの捕捉抗体、および検出可能な標識で標識された少なくとも1つの抗体を含む、項76から86のいずれか一項に記載の方法。 40

【0310】

項91.

免疫学的方法が、

(a) (i) 試験試料を少なくとも1つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体はCYFRAまたはCYFRAのフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を形成するステップ、

(ii) 捕捉抗体-CYFRA抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも1つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていないCYFRA上のエピトープに結合し、捕捉抗体-CYFRA抗原-検出抗体複合体を形 50

成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C Y F R A レベルを、( a ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C Y F R A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C Y F R A のレベルを測定するステップ、

( b ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C E A または C E A のフラグメント上のエピトープに結合して捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C E A 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C E A 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C E A レベルを、( b ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C E A 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C E A のレベルを測定するステップ、ならびに

( c ) ( i ) 試験試料を少なくとも 1 つの捕捉抗体と接触させるステップであって、捕捉抗体は C R P または C R P のフラグメント上のエピトープに結合して、捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を形成するステップ、

( i i ) 捕捉抗体 - C R P 抗原複合体を、検出可能な標識を含む少なくとも 1 つの検出抗体と接触させるステップであって、検出抗体は、捕捉抗体によって結合されていない C R P 上のエピトープに結合し、捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体を形成するステップ、および

( i i i ) 試験試料中の C R P レベルを、( c ) ( i i ) において形成された捕捉抗体 - C R P 抗原 - 検出抗体複合体中の検出可能な標識によって発生したシグナルに基づいて決定するステップ

によって C R P のレベルを測定するステップを含む、項 9 0 に記載の方法。

【 0 3 1 1 】

項 9 2 .

メチルセプチン 9 ( m S 9 ) 、ガレクチン - 3 ( G a l 3 ) 、糖化ヘモグロビン ( H b A 1 c ) 、 C 3 a 、カテプシン X ( C a t X ) 、可溶性ウロキナーゼ受容体 ( s u P A R ( I ) ) 、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 ( P A I - 1 ) 、エノラーゼ 2 ( E N O 2 ) およびこれらの組合せからなる群から選択される、生物学的試料中の C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを決定するステップ、ならびに C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーのレベルを、 C R C 以外のがんの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルと比較するステップをさらに含む、項 7 6 から 9 1 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 3 1 2 】

項 9 3 .

がんが、肺、卵巣、乳房、腎臓、肛門管、原発不明、B 細胞リンパ腫、子宮、前立腺、胆嚢、喉頭、悪性メラノーマ、臍臓、C L L 、悪性ミエローマ、精巣、小腸、膀胱、胃、中皮腫、副腎、神経内分泌または食道のがんである、項 5 9 から 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 3 1 3 】

項 9 4 .

対象がヒトである、項 1 から 9 3 のいずれか一項に記載の方法。

【 0 3 1 4 】

項 9 5 .

対象の生物学的試料が、組織試料、体液、全血、血漿、血清、尿、気管支肺胞洗浄液および細胞培養懸濁液、またはこれらの分画から選択される、項 1 から 9 4 のいずれか一項

10

20

30

40

50

に記載の方法。

【0315】

項96.

対象の生物学的試料が血漿または血清である、項1から95のいずれか一項に記載の方法。

【0316】

項97.

抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結されているFv、モノクローナル抗体、親和性成熟抗体、scFv、キメラ抗体、單一ドメイン抗体、CDRグラフト化抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Fab、二重特異性抗体、DVD、Fab'、二特異的抗体、F(ab')2およびFvからなる群から選択される、項27から30、54から57、71から74および88から91に記載の方法。

【0317】

項98.

(a) 対象の生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンのレベルを定量するための、CEAに特異的に結合することができる試薬、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CRPに特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに

(b) CEA、CYFRA、CRPおよびフェリチンの基準レベルを指し示す参照標準を含む、項1から31および94から97のいずれか一項に記載の方法を行うためのキット。

【0318】

項99.

(a) 対象の生物学的試料中のCEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンのレベルを定量するための、CEAに特異的に結合することができる試薬、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CRPに特異的に結合することができる試薬、CA19-9に特異的に結合することができる試薬、およびフェリチンに特異的に結合することができる試薬、ならびに

(b) CEA、CYFRA、CRP、CA19-9およびフェリチンの基準レベルを指し示す参照標準を含む、項32から58および94から97のいずれか一項に記載の方法を行うためのキット。

【0319】

項100.

(a) 対象の生物学的試料中のCYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPのレベルを定量するための、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CRPに特異的に結合することができる試薬、TIMP-1に特異的に結合することができる試薬、CA19-9に特異的に結合することができる試薬、およびAFPに特異的に結合することができる試薬、ならびに

(b) CYFRA、CRP、TIMP-1、CA19-9およびAFPの基準レベルを指し示す参照標準を含む、項59から75および93から97のいずれか一項に記載の方法を行うためのキット。

【0320】

項101.

(a) 対象の生物学的試料中のCYFRA、CEAおよびCRPのレベルを定量するための、CYFRAに特異的に結合することができる試薬、CEAに特異的に結合することができる試薬、およびCRPに特異的に結合することができる試薬、ならびに

(b) CYFRA、CEAおよびCRPの基準レベルを指し示す参照標準

を含む、項 7 6 から 9 7 のいずれか一項に記載の方法を行うためのキット。

【0321】

項 102.

生物学的試料中の少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの濃度を定量するための、生物学的試料中のメチルセプチン 9 (mS9)、ガレクチン - 3 (Gal3)、糖化ヘモグロビン (HbA1c)、C3a、カテプシン X (CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体 (s u P A R (I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 (PAI-1)、エノラーゼ 2 (ENO2) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーに特異的に結合することができる少なくとも 1 つの付加的な試薬、および生物学的試料中のメチルセプチン 9 (mS9)、ガレクチン - 3 (Gal3)、糖化ヘモグロビン (HbA1c)、C3a、カテプシン X (CatX)、可溶性ウロキナーゼ受容体 (s u P A R (I))、プラスミノーゲンアクチベータインヒビター - 1 (PAI-1)、エノラーゼ 2 (ENO2) またはこれらの組合せの少なくとも 1 つの付加的なバイオマーカーの基準レベルを指し示す参照標準をさらに含む、項 98 から 101 のいずれか一項に記載のキット。

10

【図 1】

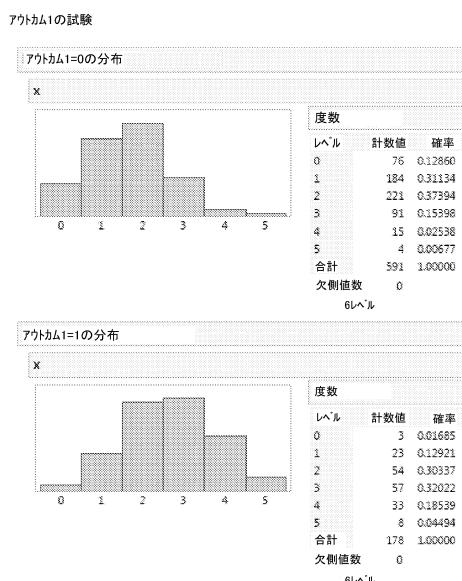


FIG. 1

【図 2】

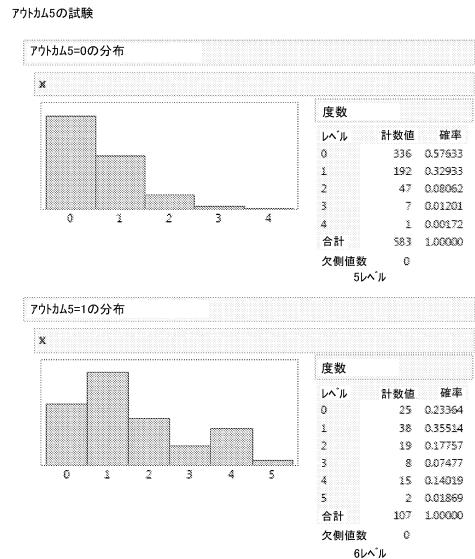


FIG. 2

【図3】

アウトカム12の試験

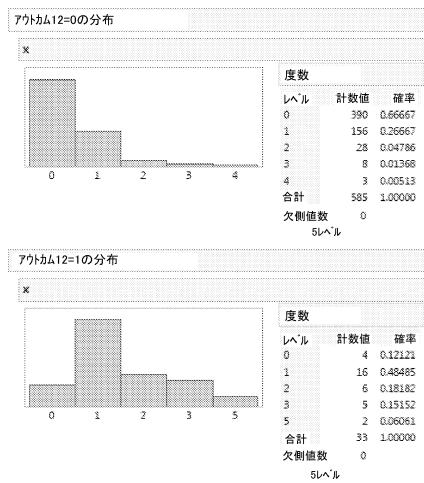


FIG.3

【図4】

アウトカム1の試験

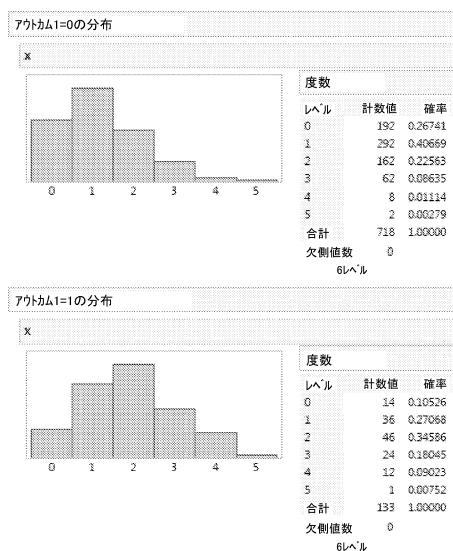


FIG.4

【図5】

アウトカム5の試験

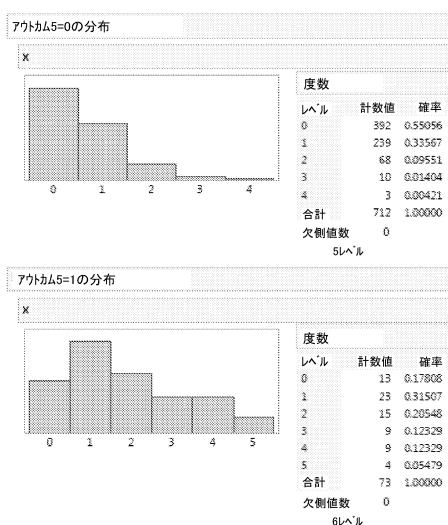


FIG.5

【図6】

アウトカム12の試験

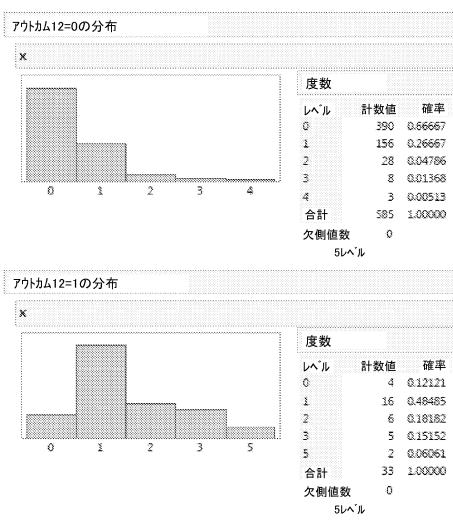


FIG.6

---

フロントページの続き

(73)特許権者 520085095

リギスホスピタレット

デンマーク国、デー・コー・2100・コペンハーゲン・オー、ブレギダムスペイ・9

(74)代理人 110001173

特許業務法人川口國際特許事務所

(72)発明者 デイビス, ジェラード・ジェイ

アメリカ合衆国、イリノイ・60084、ワウコンダ、ジェシカ・ドライブ・1090

(72)発明者 ガウェル, スザン・エイチ

アメリカ合衆国、イリノイ・60526、ラグレンジ・パーク、ニューベリー・アベニュー・82  
1

(72)発明者 ヤン, シャオチン

アメリカ合衆国、イリノイ・60089、バッファロー・グローブ、オーバービュー・ドライブ・  
2481

(72)発明者 ニルスン, ハンス・ヨーエン

デンマーク国、2800・リュンビュー、ウエズ・ヨーテケアイト・17

(72)発明者 クリストンセン, イブ・ヤーレ

デンマーク国、3400・ヒレレス、リタースティイン・8

審査官 西浦 昌哉

(56)参考文献 特表2008-522172(JP, A)

特開2013-130477(JP, A)

米国特許出願公開第2013/0231869(US, A1)

米国特許出願公開第2007/0184498(US, A1)

WILD, N. et al., A combination of serum markers for the early detection of colorectal cancer, Clinical Cancer Research, 米国, 2010年 8月26日, Vol.16/No.24, pp.6111-6121

GROBLEWSKA, M. et al., Serum interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) levels in colorectal adenoma and cancer patients, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 米国, 2008年, Vol.46/No.10, pp.1423-1428

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48 - 33/98