

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成29年3月9日(2017.3.9)

【公表番号】特表2016-507233(P2016-507233A)

【公表日】平成28年3月10日(2016.3.10)

【年通号数】公開・登録公報2016-015

【出願番号】特願2015-555726(P2015-555726)

【国際特許分類】

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 N 15/09 (2006.01)

G 01 N 33/53 (2006.01)

G 01 N 33/574 (2006.01)

【F I】

C 12 Q 1/68 A

C 12 N 15/00 A

G 01 N 33/53 D

G 01 N 33/574 A

G 01 N 33/53 M

【手続補正書】

【提出日】平成29年1月31日(2017.1.31)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象が膀胱癌に罹患しているか否かを診断するための *in vitro* 法であって、  
a) 前記対象由来のサンプルにおいて、IGF2 遺伝子の発現レベルと、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLRF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH および MMP12 遺伝子からなる群から選択される第2の遺伝子の発現レベルとを決定すること；ならびに

b) 前記サンプルにおける前記遺伝子の発現レベルをそれらの参照値と比較することを含んでなり、

前記遺伝子の参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおける IGF2 遺伝子の発現レベル；および

前記遺伝子の参照値と比較した場合の、前記対象由来のサンプルにおける前記第2の遺伝子の発現レベルの変化であって、

・ MAGEA3、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10 もしくは MMP12 遺伝子の発現レベルの増加、または

・ KLRF9、AHNAK2、EBF1 もしくは CFH 遺伝子の発現レベルの低下である前記発現レベルの変化

が、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す、方法。

【請求項2】

前記第2の遺伝子が CRH、KLRF9、SLC1A6、MAGEA3、ANXA10 および KRT20 遺伝子からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

**【請求項3】**

対象が膀胱癌に罹患しているか否かを診断するための *in vitro* 法であって、

a) 前記対象由来のサンプルにおいて、IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH、MMP12遺伝子およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも2種の遺伝子(ただし、前記遺伝子の組合せは、以下の組合せ：

- ・ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAMおよびMCM10；
- ・ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6およびTERT；
- ・ANXA10、CRH、KRT20、MAGEA3、POSTN、SLC1A6およびTERT；
- ・ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6、TERTおよびMCM10；または
- ・ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6およびTERT

のいずれでもない)

とを含んでなる遺伝子の組合せ中に存在する各遺伝子の発現レベルを決定すること；ならびに

b) 前記サンプルにおける前記遺伝子のレベルをそれらの参考値と比較することを含んでなり、

・前記の各遺伝子の参考値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2、MAGEA3、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10およびMMP12遺伝子の発現レベル、および

・前記の各遺伝子の参考値よりも小さい、前記対象由来のサンプルにおけるKLF9、AHNAK2、EBF1およびCFH遺伝子の発現レベルが、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す、方法。

**【請求項4】**

FOXM1、KIF20A、MELKおよびCDK1遺伝子ならびにそれらの任意の組合せからなる群から選択される1種以上の遺伝子の発現レベルを決定することをさらに含んでなる、請求項3に記載の方法。

**【請求項5】**

IGF2遺伝子の発現レベルと、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される2種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される3種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される4種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される5種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される6種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される7種の遺伝子の発現レベル（ただし、前記7種の遺伝子の組合せは、ANXA10、CRH、KRT20、MAGEA3、POSTN、SLC1A6およびTERTの組合せまたはANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6およびTERTの組合せではない）、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される8種の遺伝子の発現レベル（ただし、前記8種の遺伝子の組合せは、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6、TERTおよびMCM10の組合せではない）

、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される9種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される10種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される11種の遺伝子の発現レベル（ただし、前記11の遺伝子の組合せは、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6およびTERTの組合せではない）、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される12種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される13種の遺伝子の発現レベル（ただし、前記13種の遺伝子の組合せは、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAMおよびMCM10の組合せではない）、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される14種の遺伝子の発現レベル、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10

、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される15種の遺伝子の

発現レベル、または、

・MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される16種の遺伝子の発現レベル

とを決定することを含んでなる、請求項3または4に記載の方法。

**【請求項6】**

IGF2、MAGEA3およびKLF9遺伝子の発現レベルを決定すること、または、

・IGF2、MAGEA3およびKLF9遺伝子；  
 ・IGF2、MAGEA3およびSLC1A6遺伝子；  
 ・IGF2、MAGEA3およびCRH遺伝子；  
 ・IGF2、KLF9およびSLC1A6遺伝子；  
 ・IGF2、CRHおよびSLC1A6遺伝子；  
 ・IGF2、CRHおよびKLF9遺伝子；  
 ・IGF2、CRHおよびKRT20；  
 ・IGF2、CRHおよびANXA10遺伝子；  
 ・IGF2、ANXA10およびKRT20遺伝子；  
 ・IGF2、MAGEA3、CRH、KLF9およびSLC1A6遺伝子；ならびに  
 ・IGF2、MAGEA3、CRH、KLF9、SLC1A6、POSTN、EBF1  
 、CFH、MCM10およびMMP12遺伝子

からなる群から選択される遺伝子の組合せの発現レベルを決定すること

を含んでなる、請求項3に記載の方法。

**【請求項7】**

対象が膀胱癌に罹患しているか否かを診断するための方法であって、

a) 前記対象由来のサンプルにおいてIGF2遺伝子の発現レベルを決定すること；  
 b) 前記サンプルにおける前記IGF2遺伝子の発現レベルをその参照値と比較すること、ここで、前記遺伝子の前記参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2遺伝子の発現レベルは、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す；および  
 c) 前記遺伝子の発現レベルに従って前記対象が膀胱癌に罹患しているならば、前記対象に内視鏡処置を施すこと

を含んでなる、方法。

**【請求項8】**

膀胱癌に罹患している対象を診断するための方法であって、

a) 前記対象由来の尿サンプルにおいて、IGF2遺伝子の発現レベルと、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される第2の遺伝子の発現レベルとを決定すること；

b) 前記サンプルにおける前記遺伝子の発現レベルをそれらの参照値と比較すること、ここで、

前記遺伝子の参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2遺伝子の発現レベル；および

前記遺伝子の参照値と比較した場合の、前記対象由来のサンプルにおける前記第2の遺伝子の発現レベルの変化であって、

・MAGEA3、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10もしくはMMP12遺伝子の発現レベルの増加、または

・KLF9、AHNAK2、EBF1もしくはCFH遺伝子の発現レベルの低下  
 である前記発現レベルの変化

は、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す；ならびに

c ) 遺伝子の発現レベルに従って前記対象が前記膀胱癌に罹患しているならば、前記対象に内視鏡処置を施すことを含んでなる、方法。

【請求項 9】

膀胱癌に罹患している対象を診断するための方法であって、

a ) 前記対象由来のサンプルにおいて、IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH、MMMP12遺伝子およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも2種の遺伝子とを含んでなる遺伝子の組合せ中に存在する各遺伝子の発現レベルを決定すること；

b ) 前記サンプルにおける前記遺伝子のレベルをそれらの参照値と比較すること、ここで、

・前記の各遺伝子の参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2、MAGEA3、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10およびMMMP12遺伝子の発現レベル、および

・前記の各遺伝子の参照値よりも小さい、前記対象由来のサンプルにおけるKLF9、AHNAK2、EBF1およびCFH遺伝子の発現レベルは、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す；ならびに

c ) 前記遺伝子の発現レベルに従って前記対象が膀胱癌に罹患しているならば、前記対象に内視鏡処置を施すことを含んでなる、方法。

【請求項 10】

膀胱癌に罹患している対象を治療するための方法であって、

a ) 前記対象由来のサンプルにおいてIGF2遺伝子の発現レベルを決定すること；  
b ) 前記サンプルにおける前記IGF2遺伝子の発現レベルをその参照値と比較すること、ここで、前記遺伝子の前記参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2遺伝子の発現レベルは、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す；および

c ) 前記対象が膀胱癌に罹患していると診断され、かつ、前記対象が経尿道的切除（TUR）の投与から利益を受けると思われる場合に、前記対象に前記療法を施すことを含んでなる、方法。

【請求項 11】

膀胱癌に罹患している対象を治療するための方法であって、

a ) 前記対象由来の尿サンプルにおいて、IGF2遺伝子の発現レベルと、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMMP12遺伝子からなる群から選択される第2の遺伝子の発現レベルとを決定すること；

b ) 前記サンプルにおける前記遺伝子の発現レベルをそれらの参照値と比較すること、ここで、

前記遺伝子の参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2遺伝子の発現レベル；および

前記遺伝子の参照値と比較した場合の、前記対象由来のサンプルにおける前記第2の遺伝子の発現レベルの変化であって、

・MAGEA3、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10もしくはMMMP12遺伝子の発現レベルの増加、または

・KLF9、AHNAK2、EBF1もしくはCFH遺伝子の発現レベルの低下である前記発現レベルの変化

は、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す；ならびに

c ) 前記対象が膀胱癌に罹患していると診断され、かつ、前記対象が経尿道的切除（TUR）の投与から利益を受けると思われる場合に、前記対象に前記療法を施すことを含んでなる、方法。

【請求項12】

膀胱癌に罹患している対象を治療するための方法であって、

a ) 前記対象由来のサンプルにおいて、IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH、MMP12遺伝子およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも2種の遺伝子とを含んでなる遺伝子の組合せ中に存在する各遺伝子の発現レベルを決定すること；

b ) 前記サンプルにおける前記遺伝子のレベルをそれらの参照値と比較すること、ここで、

・前記の各遺伝子の参照値よりも大きい、前記対象由来のサンプルにおけるIGF2、MAGEA3、ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1およびMMP12遺伝子の発現レベル、および

・前記の各遺伝子の参照値よりも小さい、前記対象由来のサンプルにおけるKLF9、AHNAK2、EBF1およびCFH遺伝子の発現レベル  
は、前記対象が膀胱癌に罹患していることを示す：ならびに

c ) 前記対象が膀胱癌に罹患していると診断され、かつ、前記対象が経尿道的切除（TUR）の投与から利益を受けると思われる場合に、前記対象に前記療法を施すことを含んでなる、方法。

【請求項13】

膀胱癌の診断におけるまたは膀胱癌のモニタリングのためのマーカーとしての、

1 ) IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される第2の遺伝子とを含んでなる遺伝子の組合せ；または

2 ) IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH、MMP12遺伝子およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも2種の遺伝子（ただし、前記組合せは、以下の組合せ：

・ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAMおよびMCM10；

・ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6およびTERT；

・ANXA10、CRH、KRT20、MAGEA3、POSTN、SLC1A6およびTERT；

・ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6、TERTおよびMCM10；または

・ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6およびTERT

のいずれでもない）とを含んでなる遺伝子の組合せの使用。

【請求項14】

前記第2の遺伝子がCRH、KLF9、SLC1A6、MAGEA3、ANXA10およびKRT20遺伝子からなる群から選択される、請求項13に記載の使用。

【請求項15】

a ) IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH

H、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される第2の遺伝子とを含んでなる遺伝子の組合せの発現レベルを検出および／または定量するための試薬を含んでなるキット；ならびに

b) IGF2遺伝子と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH、MMP12遺伝子およびそれらの任意の組合せからなる群から選択される少なくとも2種の遺伝子（ただし、前記組合せは、以下の組合せ）：

- ・ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAMおよびMCM10；
- ・ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、MAGEA3、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6およびTERT；
- ・ANXA10、CRH、KRT20、MAGEA3、POSTN、SLC1A6およびTERT；
- ・ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6、TERTおよびMCM10；または
- ・ANXA10、CTSE、CRH、KRT20、MAGEA3、SLC1A6およびTERT

のいずれでもない）とを含んでなる遺伝子の組合せの発現レベルを検出および／または定量するための試薬を含んでなるキット

から選択されるキット。

#### 【請求項16】

FOXM1、KIF20A、MELKおよびCDK1遺伝子ならびにそれらの任意の組合せからなる群から選択される1種以上の遺伝子の発現レベルを検出および／または定量するための試薬をさらに含んでなる、請求項15に記載のキット。

#### 【請求項17】

・IGF2遺伝子のmRNAを検出および／または定量するための試薬と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される第2の遺伝子のmRNAを検出および／または定量するための試薬；あるいはIGF2遺伝子によりコードされるタンパク質を検出および／または定量するための試薬と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFHおよびMMP12遺伝子からなる群から選択される前記第2の遺伝子によりコードされるタンパク質を検出および／または定量するための試薬、

・前記IGF2のmRNAに対するcDNAとハイブリダイズするプローブまたは前記IGF2のmRNAもしくは前記IGF2のmRNAに対するcDNAとハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプライマー対と、前記第2の遺伝子のmRNAに対するcDNAとハイブリダイズするプローブまたは前記第2の遺伝子のmRNAもしくは前記第2の遺伝子のmRNAに対するcDNAとハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプライマー対；あるいはIGF2を認識する抗体と、前記第2の遺伝子によりコードされるタンパク質を認識する抗体、あるいは、

・前記IGF2のmRNAに対するcDNAとハイブリダイズするプローブまたは前記IGF2のmRNAもしくは前記IGF2のmRNAに対するcDNAとハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプライマー対と、MAGEA3、ANXA10、AHNAK2、CTSE、CRH、KLF9、KRT20、POSTN、PPP1R14D、SLC1A6、TERT、ASAM、MCM10、EBF1、CFH、MMP12遺伝子およびそれ

らの組み合わせのうちの 2 種以上の m R N A に対する c D N A とハイブリダイズするプローブまたは前記遺伝子の m R N A もしくは前記遺伝子の m R N A に対する c D N A とハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプライマー対；あるいは I G F 2 遺伝子によりコードされるタンパク質を認識する抗体と、M A G E A 3、A N X A 1 0、A H N A K 2、C T S E、C R H、K L F 9、K R T 2 0、P O S T N、P P P 1 R 1 4 D、S L C 1 A 6、T E R T、A S A M、M C M 1 0、E B F 1、C F H、M M P 1 2 遺伝子およびそれらの組合せによりコードされるタンパク質を認識する抗体を含んでなる、請求項 1 5 または 1 6 に記載のキット。

【請求項 1 8】

膀胱癌の診断または膀胱癌のモニタリングのための、請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれか一項に記載のキットの使用。