

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 9 月 7 日(07.09.2012)



(10) 国際公開番号

WO 2012/118088 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 15/09 (2006.01) G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/054962
- (22) 国際出願日: 2012 年 2 月 28 日(28.02.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2011-042967 2011 年 2 月 28 日(28.02.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 学校法人創価大学(Soka University) [JP/JP]; 〒1928577 東京都八王子市丹木町 1-2-36 Tokyo (JP). 独立行政法人産業技術総合研究所(National Institute of Advanced Industrial Science and Technology) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 西原 祥子(NISHIHARA, Shoko) [JP/JP]; 〒1928577 東京都八王子市丹木町 1-2-36 創価大学工学部内 Tokyo (JP). 佐々木 正雄(SASAKI, Masao) [JP/JP]; 〒1928577 東京都八王子市丹木町 1-2-36 創価大学工学部内 Tokyo (JP). 成松 久(NARIMATSU, Hisashi) [JP/JP]; 〒3058568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 中央第 2 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 池原 譲(IKEHARA, Yuzuru) [JP/JP]; 〒3058568 茨城県つくば市梅園 1-1-1 中央第 2 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP).
- (74) 代理人: 飯田 敏三, 外(IIDA, Toshizo et al.); 〒1050004 東京都港区新橋 3 丁目 1 番 10 号 石井ビル 3 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロシヤ (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))

(54) Title: METHOD FOR DETECTING RECURRENT PROSTATE CANCER

(54) 発明の名称: 再燃性前立腺癌の検出方法

(57) Abstract: Provided is a method that is for detecting recurrent prostate cancer and that includes measuring the amount of expression of a specific gene that can be expressed by prostate cancer cells.

(57) 要約: 前立腺癌細胞で発現しうる特定の遺伝子の発現量を測定することを含む、再燃性前立腺癌の検出方法。



WO 2012/118088 A1

明 細 書

発明の名称：再燃性前立腺癌の検出方法

技術分野

[0001] 本発明は、再燃性前立腺癌の検出方法に関する。

背景技術

[0002] 前立腺癌は、男性ホルモンであるアンドロゲンに依存して増殖するため、アンドロゲンの分泌や働きを抑制するホルモン療法が有効な治療法として用いられている。しかし、このホルモン療法によっても少なからず癌細胞が生き残る。生き残った癌細胞は、その後増殖を繰返し、ホルモン療法に耐性をもったホルモン抵抗性前立腺癌を引き起こす。ホルモン抵抗性前立腺癌は、ホルモン療法により一度抑制された前立腺癌の増殖が再び活発化したものであり、再燃性前立腺癌とも呼ばれる。

発明の概要

[0003] 本発明者らは、再燃性前立腺癌特異的なマーカーを開発することができれば、当該マーカーを検出することにより再燃性前立腺癌を特異的に検出することができ、これにより再燃性前立腺癌に適した治療、すなわち非ホルモン療法をスムーズに実施できるため、患者の負担軽減及び医療経済の観点から有益であると考えた。

本発明は、再燃性前立腺癌に特異的なマーカーを見出し、このマーカーを用いて再燃性前立腺癌を特異的に検出する方法を提供することを課題とする。

[0004] 本発明者らは、これまで発現量が少ないが故に発現量の検出が困難であった特定の糖鎖関連遺伝子に着目し、これらを含む遺伝子群の中から、再燃性前立腺癌細胞においてより高い又はより低い発現量を示す遺伝子を特定することに成功した。本発明はこの知見に基づき完成するに至ったものである。

[0005] 本発明の課題は下記の手段により達成された。

<1>下記（a）～（d）のいずれかのDNAからなる少なくとも1種の遺

伝子の発現量を測定することを含む、再燃性前立腺癌の検出方法：

(a) 配列番号 1 の塩基配列、配列番号 3 の塩基配列、配列番号 5 の塩基配列、配列番号 7 の塩基配列、配列番号 9 の塩基配列、配列番号 11 の塩基配列、配列番号 15 の塩基配列、配列番号 17 の塩基配列、配列番号 19 の塩基配列、配列番号 21 の塩基配列、配列番号 23 の塩基配列、配列番号 25 の塩基配列、配列番号 27 の塩基配列、配列番号 31 の塩基配列、配列番号 33 の塩基配列、配列番号 35 の塩基配列、配列番号 37 の塩基配列、配列番号 39 の塩基配列、配列番号 41 の塩基配列、配列番号 43 の塩基配列、配列番号 45 の塩基配列、配列番号 47 の塩基配列、配列番号 51 の塩基配列、配列番号 53 の塩基配列、配列番号 55 の塩基配列、配列番号 57 の塩基配列、配列番号 59 の塩基配列及び配列番号 61 の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列からなる DNA、

(b) 上記 (a) の DNA の塩基配列と 80%以上の同一性を有する塩基配列からなる DNA であって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在する DNA、

(c) 上記 (a) の DNA の塩基配列において、1 又は数個の塩基が欠失、置換、挿入又は付加された塩基配列からなる DNA であって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在する DNA、

(d) 上記 (a) の DNA の塩基配列と相補的な塩基配列からなる DNA にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする DNA であって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在する DNA。

<2> 遺伝子の発現量の測定が、該遺伝子の転写産物の量の測定である、<1>に記載の検出方法。

<3> 下記 (A a) ~ (B b) からなる群から選ばれる少なくとも 1 種のプライマーセットを用いて少なくとも 1 種の遺伝子の発現量を測定する、<2>に記載の検出方法：

(A a) 配列番号 63 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 64 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A b) 配列番号 65 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号

66の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A c) 配列番号67の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
68の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A d) 配列番号69の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
70の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A e) 配列番号71の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
72の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A f) 配列番号73の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
74の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A g) 配列番号77の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
78の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A h) 配列番号79の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
80の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A i) 配列番号81の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
82の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A j) 配列番号83の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
84の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A k) 配列番号85の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
86の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A l) 配列番号87の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
88の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A m) 配列番号89の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
90の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A n) 配列番号93の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
94の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A o) 配列番号95の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号
96の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
(A p) 配列番号97の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号

98の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A q) 配列番号99の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号100の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A r) 配列番号101の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号102の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A s) 配列番号103の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号104の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A t) 配列番号105の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号106の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A u) 配列番号107の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号108の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A v) 配列番号109の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号110の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、及び

(A w) 配列番号113の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号114の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(A x) 配列番号115の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号116の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(A y) 配列番号117の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号118の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(A z) 配列番号119の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号

号 1 2 0 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(B a) 配列番号 1 2 1 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 2 2 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(B b) 配列番号 1 2 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 2 4 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

< 4 > 遺伝子の発現量の測定が、該遺伝子の発現産物であるタンパク質の量の測定である、< 1 > に記載の検出方法。

< 5 > 測定されるタンパク質の量が、下記 (e) ~ (g) のいずれかのアミノ酸配列からなる少なくとも 1 種のタンパク質の量である、< 4 > に記載の検出方法：

(e) 配列番号 2 のアミノ酸配列、配列番号 4 のアミノ酸配列、配列番号 6 のアミノ酸配列、配列番号 8 のアミノ酸配列、配列番号 1 0 のアミノ酸配列、配列番号 1 2 のアミノ酸配列、配列番号 1 6 のアミノ酸配列、配列番号 1 8 のアミノ酸配列、配列番号 2 0 のアミノ酸配列、配列番号 2 2 のアミノ酸配列、配列番号 2 4 のアミノ酸配列、配列番号 2 6 のアミノ酸配列、配列番号 2 8 のアミノ酸配列、配列番号 3 2 のアミノ酸配列、配列番号 3 4 のアミノ酸配列、配列番号 3 6 のアミノ酸配列、配列番号 3 8 のアミノ酸配列、配列番号 4 0 のアミノ酸配列、配列番号 4 2 のアミノ酸配列、配列番号 4 4 のアミノ酸配列、配列番号 4 6 のアミノ酸配列、配列番号 4 8 のアミノ酸配列、配列番号 5 2 のアミノ酸配列、配列番号 5 4 のアミノ酸配列、配列番号 5 6 のアミノ酸配列、配列番号 5 8 のアミノ酸配列、配列番号 6 0 のアミノ酸配列及び配列番号 6 2 のアミノ酸配列からなる群から選ばれるアミノ酸配列、

(f) 上記 (e) のアミノ酸配列と 8 0 % 以上の同一性を有し、かつ前立腺癌細胞のゲノム中に存在する DNA にコードされるアミノ酸配列、

(g) 上記(e)のアミノ酸配列において、1又は数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入又は付加されたアミノ酸配列であって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNAにコードされるアミノ酸配列。

<6>単離した前立腺癌細胞中における遺伝子の発現量を測定する、<1>～<5>のいずれかに記載の検出方法。

[0006] 本発明によれば、再燃性前立腺癌を、ホルモン感受性前立腺癌と区別して特異的に検出することができる。

[0007] 本発明の上記及び他の特徴及び利点は、適宜添付の図面を参照して、下記の記載からより明らかになるであろう。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]実施例1に記載のRT-PCRの結果を示す電気泳動の写真である。レーン1はPrE細胞の結果を、レーン2はLNCaP細胞の結果を、レーン3はDu145細胞の結果を、レーン4はPC-3細胞の結果を示す。

[図2]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図3]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図4]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図5]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図6]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図7]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図8]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図9]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

。

[図10]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図11]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図12]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図13]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図14]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図15]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図16]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図17]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図18]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図19]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図20]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図21]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図22]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図23]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフであ

る。

[図24]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図25]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

[図26]実施例2に記載のリアルタイムRT-PCRの結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0009] 以下、本発明について、その好ましい実施態様に基づき詳細に説明する。

[0010] 本発明の再燃性前立腺癌の検出方法（以下、単に本発明の検出方法と呼ぶ。）は、特定の遺伝子の発現量を測定し、当該測定結果に基づき再燃性前立腺癌を特異的に検出する方法である。

本発明において「再燃性前立腺癌」とは、「ホルモン低感受性前立腺癌」、「ホルモン抵抗性前立腺癌」及び「ホルモン非依存性前立腺癌」と同義であり、アンドロゲン等のホルモンを遮断するホルモン療法により増殖が抑制されていた癌細胞が再び増殖を開始したホルモン抵抗性の前立腺癌のみならず、癌発生当初からホルモン療法に対する抵抗性を有するホルモン抵抗性の前立腺癌細胞をも含む意味で用いられる。

[0011] 本発明の検出方法により発現量が測定される遺伝子は、配列番号1の塩基配列、配列番号3の塩基配列、配列番号5の塩基配列、配列番号7の塩基配列、配列番号9の塩基配列、配列番号11の塩基配列、配列番号15の塩基配列、配列番号17の塩基配列、配列番号19の塩基配列、配列番号21の塩基配列、配列番号23の塩基配列、配列番号25の塩基配列、配列番号27の塩基配列、配列番号31の塩基配列、配列番号33の塩基配列、配列番号35の塩基配列、配列番号37の塩基配列、配列番号39の塩基配列、配列番号41の塩基配列、配列番号43の塩基配列、配列番号45の塩基配列、配列番号47の塩基配列、配列番号51の塩基配列、配列番号53の塩基配列、配列番号55の塩基配列、配列番号57の塩基配列、配列番号59の

塩基配列及び配列番号 61 の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列からなる DNA、又は当該塩基酸配列と 70%以上、好ましくは 80%以上、より好ましくは 90%以上、さらに好ましくは 95%以上、特に好ましくは 97%以上の同一性 (identity) を有する DNA からなることが好ましい。

本明細書において「塩基配列の同一性 (%)」とは、比較する 2 つの塩基配列を必要に応じて間隙を導入して整列 (アラインメント) させ、得られる最大の塩基配列の同一性 (%) をいう。塩基配列の同一性を決定する目的のためのアラインメントは、通常の方法を用いて行うことができ、例えば BLAST のような公に入手可能なコンピュータソフトウェアや、DNASIS Pro (日立ソフトウェアエンジニアリング社製) 並びに GENETYX (ゼネティックス社製) 等の市販のソフトウェアを使用することもできる。

[0012] また、本発明の検出方法により発現量が測定される遺伝子は、配列番号 1 の塩基配列、配列番号 3 の塩基配列、配列番号 5 の塩基配列、配列番号 7 の塩基配列、配列番号 9 の塩基配列、配列番号 11 の塩基配列、配列番号 15 の塩基配列、配列番号 17 の塩基配列、配列番号 19 の塩基配列、配列番号 21 の塩基配列、配列番号 23 の塩基配列、配列番号 25 の塩基配列、配列番号 27 の塩基配列、配列番号 31 の塩基配列、配列番号 33 の塩基配列、配列番号 35 の塩基配列、配列番号 37 の塩基配列、配列番号 39 の塩基配列、配列番号 41 の塩基配列、配列番号 43 の塩基配列、配列番号 45 の塩基配列、配列番号 47 の塩基配列、配列番号 51 の塩基配列、配列番号 53 の塩基配列、配列番号 55 の塩基配列、配列番号 57 の塩基配列、配列番号 59 の塩基配列及び配列番号 61 の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列において 1 又は数個の塩基が置換、欠失、挿入又は付加された塩基配列からなる DNA からなるものであってもよい。

本明細書において「1 又は (もしくは) 数個」とは、1~50 の整数であることが好ましく、1~30 の整数であることがより好ましく、1~20 の整数であることがさらに好ましく、1~15 の整数であることが特に好まし

く、1～10の整数であることが殊更好ましい。

[0013] また、本発明の検出方法により発現量が測定される遺伝子は、配列番号1の塩基配列、配列番号3の塩基配列、配列番号5の塩基配列、配列番号7の塩基配列、配列番号9の塩基配列、配列番号11の塩基配列、配列番号15の塩基配列、配列番号17の塩基配列、配列番号19の塩基配列、配列番号21の塩基配列、配列番号23の塩基配列、配列番号25の塩基配列、配列番号27の塩基配列、配列番号31の塩基配列、配列番号33の塩基配列、配列番号35の塩基配列、配列番号37の塩基配列、配列番号39の塩基配列、配列番号41の塩基配列、配列番号43の塩基配列、配列番号45の塩基配列、配列番号47の塩基配列、配列番号51の塩基配列、配列番号53の塩基配列、配列番号55の塩基配列、配列番号57の塩基配列、配列番号59の塩基配列及び配列番号61の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列と相補的な塩基配列からなるDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAからなるものでもよい。

本明細書において「ストリンジェントな条件」とは、塩基配列の同一性が高いDNA同士、例えば70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは97%以上の同一性を有するDNA同士がハイブリダイズし、それより同一性が低いDNA同士がハイブリダイズしない条件、あるいは通常のサザンハイブリダイゼーションの洗浄条件である60℃、1×SSC、0.1%SDS、好ましくは、60℃、0.1×SSC、0.1%SDS、より好ましくは、65℃、0.1×SSC、0.1%SDS、さらに好ましくは68℃、0.1×SSC、0.1%SDSに相当する温度及び塩濃度で、1回、より好ましくは2～3回洗浄する条件が挙げられる。上記ハイブリダイゼーションは、J. Sambrook et al. Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory (1989)に記載されている方法等、通常の方法で行うことができる。

[0014] 本発明の検出方法により発現量が測定される上記遺伝子は、少なくともヒト前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNAからなる遺伝子であって、ホルモン感受性前立腺癌と再燃性前立腺癌との間で発現量に差がある遺伝子である。配列番号1、3、5、7、9、11、15、17、19、21、23、25、27、31、33、35、37、39、41、43、45、47、51、53、55、57、59及び61の塩基配列からなる各遺伝子の半数以上は、発現量が少ないが故に、これまでDNAマイクロアレイ等の網羅的解析手段によっては発現量の解析が困難であった糖鎖関連遺伝子である。ここで、糖鎖関連遺伝子とは、糖鎖の合成、代謝、修飾等に関与しうる遺伝子を意味する。

[0015] 本明細書に記載される塩基配列の配列番号と当該塩基配列にコードされる遺伝子名との対応を下記表1に示す。

[0016] [表1]

表 1

配列番号	遺伝子名	配列番号	遺伝子名	配列番号	遺伝子名
1	<i>GALNAC4S-6ST</i>	2 3	<i>ST3GAL4</i>	4 3	<i>BACE2</i>
3	<i>B3GNT5</i>	2 5	<i>HAS3</i>	4 5	<i>CD44</i>
5	<i>LGALS1</i>	2 7	<i>ST6GALNAC1</i>	4 7	<i>NPR3</i>
7	<i>CAV1</i>	2 9	<i>ACTB</i>	4 9	<i>AR</i>
9	<i>CD18/ITGB2</i>	3 1	<i>LCN2</i>	5 1	<i>BMP15</i>
1 1	<i>ITGA3</i>	3 3	<i>CHST7</i>	5 3	<i>TECK/CCL25</i>
1 3	<i>PSA</i>	3 5	<i>UST</i>	5 5	<i>GALNT14</i>
1 5	<i>CHST11</i>	3 7	<i>EXT1</i>	5 7	<i>ST8SIA5</i>
1 7	<i>CHST10</i>	3 9	<i>GALNT4</i>	5 9	<i>GAL3ST2</i>
1 9	<i>HS3ST1</i>	4 1	<i>HXB/TNC</i>	6 1	<i>LARGE</i>
2 1	<i>FUT8</i>				

[0017] 本発明の検出方法により発現量が測定される遺伝子は、配列番号1の塩基配列、配列番号3の塩基配列、配列番号5の塩基配列、配列番号7の塩基配列、配列番号9の塩基配列、配列番号11の塩基配列及び配列番号27の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列からなるDNA、又は、

配列番号1の塩基配列、配列番号3の塩基配列、配列番号5の塩基配列、配列番号7の塩基配列、配列番号9の塩基配列、配列番号11の塩基配列及

び配列番号 27 の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列と 70%以上、好ましくは 80%以上、より好ましくは 90%以上、さらに好ましくは 95%以上、特に好ましくは 97%以上の同一性 (identity) を有する DNA、又は、

配列番号 1 の塩基配列、配列番号 3 の塩基配列、配列番号 5 の塩基配列、配列番号 7 の塩基配列、配列番号 9 の塩基配列、配列番号 11 の塩基配列及び配列番号 27 の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列において 1 もしくは数個の塩基が置換、欠失、挿入もしくは付加された塩基配列からなる DNA、又は、

配列番号 1 の塩基配列、配列番号 3 の塩基配列、配列番号 5 の塩基配列、配列番号 7 の塩基配列、配列番号 9 の塩基配列、配列番号 11 の塩基配列及び配列番号 27 の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列と相補的な塩基配列からなる DNA にストリンジントな条件下でハイブリダイズする DNA からなることが好ましい。

[0018] 本発明の検出方法においては、上記表 1 に示す遺伝子（又はそのバリエーション）の少なくとも 1 種の発現量を測定する（但し、PSA、ACTB、AR を除く。）。すなわち、本発明の検出方法では、上記表 1 に示す遺伝子（又はそのバリエーション）のうち 1 種の発現量を測定して再燃性前立腺癌の検出を行ってもよいし、上記遺伝子のうち 2 種以上の発現量を測定して再燃性前立腺癌の検出を行ってもよい。本発明において「測定」には、定量及び定性の両概念が含まれる。

[0019] 本発明の検出方法において、発現量が測定される遺伝子が 2 種以上である場合において、その好ましい遺伝子の組み合わせの例として、下記 (h) ~ (m) の組み合わせが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

(h) 配列番号 1 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子と、

配列番号 3 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 5 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 7 の塩基配列からなる DNA

を有する遺伝子、配列番号 9 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子及び配列番号 27 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子からなる群から選ばれる 1 種又は 2 種以上の遺伝子

との組み合わせ、

(i) 配列番号 3 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子と、

配列番号 5 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 7 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 9 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子及び配列番号 27 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子からなる群から選ばれる 1 種又は 2 種以上の遺伝子

との組み合わせ、

(j) 配列番号 5 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子と、

配列番号 7 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 9 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子及び配列番号 27 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子からなる群から選ばれる 1 種又は 2 種以上の遺伝子

との組み合わせ、

(k) 配列番号 7 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子と、

配列番号 9 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子、配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子及び配列番号 27 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子からなる群から選ばれる 1 種又は 2 種以上の遺伝子

との組み合わせ、

(l) 配列番号 9 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子と、

配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又は配列番号 27 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子

との組み合わせ、

(m) 配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子と、

配列番号 27 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子との組み合わせ。

[0020] 本発明において、遺伝子の発現量の測定は、当該遺伝子の転写産物の量、すなわち mRNA の発現量を測定することで行うことができる。mRNA の発現量は、RT-PCR、リアルタイム RT-PCR 等の通常の方法で行うことができるが、迅速な測定の観点からリアルタイム RT-PCR により測定することが好ましい。リアルタイム RT-PCR 法は、例えば、後述する実施例に記載の方法のような通常の方法で行うことができる。

[0021] 上記 mRNA の発現量の測定に用いる遺伝子増幅用プライマーに特に制限はなく、目的とする遺伝子の塩基配列に基づき通常の方法で設計することができる。例えば、下記 (Aa) ~ (Bb) から選ばれる 1 種又は 2 種以上のプライマーセットを用いることで、上記 mRNA から合成した cDNA を鋳型として核酸増幅反応を行うことができ、これにより上記 mRNA の発現量を測定することができる。

(Aa) 配列番号 63 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 64 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(Ab) 配列番号 65 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 66 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(Ac) 配列番号 67 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 68 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(Ad) 配列番号 69 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 70 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(Ae) 配列番号 71 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 72 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(Af) 配列番号 73 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 74 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(Ag) 配列番号 77 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 78 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

- (A h) 配列番号 79 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 80 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A i) 配列番号 81 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 82 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A j) 配列番号 83 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 84 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A k) 配列番号 85 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 86 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A l) 配列番号 87 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 88 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A m) 配列番号 89 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 90 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A n) 配列番号 93 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 94 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A o) 配列番号 95 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 96 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A p) 配列番号 97 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 98 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A q) 配列番号 99 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 100 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- (A r) 配列番号 101 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 102 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- 、
- (A s) 配列番号 103 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 104 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、
- 、
- (A t) 配列番号 105 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 106 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

、
(A u) 配列番号 1 0 7 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 0 8 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

、
(A v) 配列番号 1 0 9 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 1 0 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

、及び

(A w) 配列番号 1 1 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 1 4 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

。

(A x) 配列番号 1 1 5 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 1 6 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

。

(A y) 配列番号 1 1 7 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 1 8 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

。

(A z) 配列番号 1 1 9 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 2 0 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

。

(B a) 配列番号 1 2 1 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 2 2 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

。

(B b) 配列番号 1 2 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 1 2 4 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット

。

[0022] 上記 (A a) のプライマーセットを用いることにより、配列番号 1 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A b）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 3 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A c）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 5 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A d）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 7 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A e）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 9 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A f）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 11 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A g）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 15 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A h）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 17 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A i）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 19 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A j）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 21 の塩基配列からなる DNA を有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A k）のプライマーセットを用いることにより、配列番号 23 の塩

基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A l）のプライマーセットを用いることにより、配列番号25の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A m）のプライマーセットを用いることにより、配列番号27の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A n）のプライマーセットを用いることにより、配列番号31の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A o）のプライマーセットを用いることにより、配列番号33の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A p）のプライマーセットを用いることにより、配列番号35の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A q）のプライマーセットを用いることにより、配列番号37の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A r）のプライマーセットを用いることにより、配列番号39の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A s）のプライマーセットを用いることにより、配列番号41の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A t）のプライマーセットを用いることにより、配列番号43の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定す

ることができる。

上記（A u）のプライマーセットを用いることにより、配列番号45の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A v）のプライマーセットを用いることにより、配列番号47の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A w）のプライマーセットを用いることにより、配列番号51の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A x）のプライマーセットを用いることにより、配列番号53の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A y）のプライマーセットを用いることにより、配列番号55の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（A z）のプライマーセットを用いることにより、配列番号57の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（B a）のプライマーセットを用いることにより、配列番号59の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

上記（B b）のプライマーセットを用いることにより、配列番号61の塩基配列からなるDNAを有する遺伝子又はそのバリエーションの発現量を測定することができる。

[0023] 本発明において、遺伝子の発現量の測定は、当該遺伝子の発現産物であるタンパク質の量を測定することで行うこともできる。

[0024] 本発明において量が測定されるタンパク質は、配列番号2のアミノ酸配列

、配列番号4のアミノ酸配列、配列番号6のアミノ酸配列、配列番号8のアミノ酸配列、配列番号10のアミノ酸配列、配列番号12のアミノ酸配列、配列番号16のアミノ酸配列、配列番号18のアミノ酸配列、配列番号20のアミノ酸配列、配列番号22のアミノ酸配列、配列番号24のアミノ酸配列、配列番号26のアミノ酸配列、配列番号28のアミノ酸配列、配列番号32のアミノ酸配列、配列番号34のアミノ酸配列、配列番号36のアミノ酸配列、配列番号38のアミノ酸配列、配列番号40のアミノ酸配列、配列番号42のアミノ酸配列、配列番号44のアミノ酸配列、配列番号46のアミノ酸配列、配列番号48のアミノ酸配列、配列番号52のアミノ酸配列、配列番号54のアミノ酸配列、配列番号56のアミノ酸配列、配列番号58のアミノ酸配列、配列番号60のアミノ酸配列及び配列番号62のアミノ酸配列からなる群から選ばれるアミノ酸配列、又は

配列番号2のアミノ酸配列、配列番号4のアミノ酸配列、配列番号6のアミノ酸配列、配列番号8のアミノ酸配列、配列番号10のアミノ酸配列、配列番号12のアミノ酸配列、配列番号16のアミノ酸配列、配列番号18のアミノ酸配列、配列番号20のアミノ酸配列、配列番号22のアミノ酸配列、配列番号24のアミノ酸配列、配列番号26のアミノ酸配列、配列番号28のアミノ酸配列、配列番号32のアミノ酸配列、配列番号34のアミノ酸配列、配列番号36のアミノ酸配列、配列番号38のアミノ酸配列、配列番号40のアミノ酸配列、配列番号42のアミノ酸配列、配列番号44のアミノ酸配列、配列番号46のアミノ酸配列、配列番号48のアミノ酸配列、配列番号52のアミノ酸配列、配列番号54のアミノ酸配列、配列番号56のアミノ酸配列、配列番号58のアミノ酸配列、配列番号60のアミノ酸配列及び配列番号62のアミノ酸配列からなる群から選ばれるアミノ酸配列と70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは97%以上の同一性 (i d e n t i t y) を有するアミノ酸配列、又は

配列番号2のアミノ酸配列、配列番号4のアミノ酸配列、配列番号6のア

ミノ酸配列、配列番号 8 のアミノ酸配列、配列番号 10 のアミノ酸配列、配列番号 12 のアミノ酸配列、配列番号 16 のアミノ酸配列、配列番号 18 のアミノ酸配列、配列番号 20 のアミノ酸配列、配列番号 22 のアミノ酸配列、配列番号 24 のアミノ酸配列、配列番号 26 のアミノ酸配列、配列番号 28 のアミノ酸配列、配列番号 32 のアミノ酸配列、配列番号 34 のアミノ酸配列、配列番号 36 のアミノ酸配列、配列番号 38 のアミノ酸配列、配列番号 40 のアミノ酸配列、配列番号 42 のアミノ酸配列、配列番号 44 のアミノ酸配列、配列番号 46 のアミノ酸配列、配列番号 48 のアミノ酸配列、配列番号 52 のアミノ酸配列、配列番号 54 のアミノ酸配列、配列番号 56 のアミノ酸配列、配列番号 58 のアミノ酸配列、配列番号 60 のアミノ酸配列及び配列番号 62 のアミノ酸配列からなる群から選ばれるアミノ酸配列において、1 又は数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入又は付加されたアミノ酸配列

からなることが好ましい。

[0025] 本発明において「アミノ酸配列の同一性 (%)」とは、比較する 2 つのアミノ酸配列を必要に応じて間隙を導入して整列 (アラインメント) させ、得られる最大のアミノ酸配列の同一性 (%) をいう。アミノ酸配列の同一性を決定する目的のためのアラインメントは、通常の方法を用いて行うことができ、例えば BLAST のような公に入手可能なコンピュータソフトウェアや、DNASIS Pro (日立ソフトウェアエンジニアリング社製) 並びに GENETYX (ゼネティックス社製) 等の市販のソフトウェアを使用することもできる。

また、上記「1 又は数個」とは上述したとおりである。

[0026] 上記タンパク質は、少なくともヒト前立腺癌細胞のゲノム中に存在する DNA にコードされるアミノ酸配列からなるタンパク質であって、ホルモン感受性前立腺癌と再燃性前立腺癌との間で存在量に差がある遺伝子である。

[0027] 本発明の検出方法において、遺伝子の発現量として測定されるタンパク質は、上記タンパク質の少なくとも 1 種である。すなわち、2 種以上のタンパ

ク質の量を測定してもよい。2種以上のタンパク質の量を測定する際の、測定されるタンパク質の好ましい組み合わせの例として、下記（n）～（s）の組み合わせが挙げられるが、本発明はこれに限定されるものではない。

[0028] （n）配列番号2のアミノ酸配列からなるタンパク質と、

配列番号4のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号6のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号8のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号10のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号12のアミノ酸配列からなるタンパク質及び配列番号28のアミノ酸配列からなるタンパク質からなる群から選ばれる1種又は2種以上のタンパク質との組み合わせ、

（o）配列番号4のアミノ酸配列からなるタンパク質と、

配列番号6のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号8のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号10のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号12のアミノ酸配列からなるタンパク質及び配列番号28のアミノ酸配列からなるタンパク質からなる群から選ばれる1種又は2種以上のタンパク質との組み合わせ、

（p）配列番号6のアミノ酸配列からなるタンパク質と、

配列番号8のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号10のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号12のアミノ酸配列からなるタンパク質及び配列番号28のアミノ酸配列からなるタンパク質からなる群から選ばれる1種又は2種以上のタンパク質との組み合わせ、

（q）配列番号8のアミノ酸配列からなるタンパク質と、

配列番号10のアミノ酸配列からなるタンパク質、配列番号12のアミノ酸配列からなるタンパク質及び配列番号28のアミノ酸配列からなるタンパク質からなる群から選ばれる1種又は2種以上のタンパク質との組み合わせ、

(r) 配列番号 10 のアミノ酸配列からなるタンパク質と、
配列番号 12 のアミノ酸配列からなるタンパク質又は配列番号 28 のアミノ酸配列からなるタンパク質

との組み合わせ、

(s) 配列番号 12 のアミノ酸配列からなるタンパク質と、
配列番号 28 のアミノ酸配列からなるタンパク質
との組み合わせ。

[0029] 上記タンパク質の量の測定は、上記タンパク質に特異的に結合する分子を用いて行うことが好ましい。本発明のタンパク質に特異的に結合する分子としては、本発明のタンパク質に対する抗体やアプタマー等が挙げられるが、本発明のタンパク質に対する抗体を用いることが好ましい。上記抗体やアプタマーは、目的に応じて、放射性物質、酵素、蛍光物質、発光物質等で標識して用いることができる。

抗体を用いた測定は、イムノアッセイの分野において通常用いられる手段を採用することができ、例えば、イムノブロット法、酵素免疫測定法（ELISA法）、イムノクロマト法などにより検出することができる。

[0030] 上記タンパク質の検出に用いる抗体は、通常の方法で取得することができる。例えば、上記タンパク質を免疫原として用い、動物に免疫して、該動物から上記タンパク質に選択的に反応する抗体を取得することができる。また、上記タンパク質のアミノ酸配列から上記タンパク質に特徴的なアミノ酸配列を選択し、該アミノ酸配列からなるペプチドを化学的に合成して、これを動物に免疫して、該動物から上記タンパク質に選択的に反応する抗体を取得することができる。

[0031] 上記タンパク質の測定は、上記タンパク質におけるエピトープの異なる 2 種類の抗体を用いて、サンドイッチイムノアッセイの原理により行うことが好ましい。この場合において、一方の抗体は捕捉抗体として固相に固定化され、もう一方の抗体は、標識され、検出用抗体として機能する。

[0032] サンドイッチ ELISA 法では、上記タンパク質に対する抗体が固定化さ

れたウェルを用意し、非特異的な吸着を防ぐために、BSAやカゼイン等により当該ウェルをブロッキングしておく。ここに前立腺癌細胞等から調製したタンパク質溶液を入れ、抗体が失活しにくい温度（例えば4～40℃）で数分～数日インキュベートする。続いてタンパク質溶液を捨て、リン酸緩衝液等でウェルを洗浄後、固定化抗体が結合するエピトープとは異なるエピトープに結合する標識された抗体を加え、再び数分～数日インキュベートし、ウェルを洗浄後、ウェル内に存在する標識を検出する。上記タンパク質溶液中に目的のタンパク質が存在する場合には、標識のシグナルが高くなるため、これにより、再燃性前立腺癌の検出を行うことができる。

[0033] また、イムノクロマト法においては、上記サンドイッチELISAにおける固定化抗体をメンブレンのテストライン上に固定化しておき、上記サンドイッチELISAにおける標識抗体をコンジュゲートパッドに保持した状態のテストストリップを調製する。前立腺癌細胞等から調製したタンパク質溶液をコンジュゲートパッドに直接又は間接的に添加すると、毛細管現象により、当該溶液が標識抗体と液相中で反応しながらコンジュゲートパッドからメンブレンへと進んでいく。タンパク質溶液中に目的のタンパク質が存在する場合には、メンブレンのテストライン上に標識抗体と目的のタンパク質とからなる複合体がトラップされる。したがって、テストライン上に存在する標識を検出することにより、再燃性前立腺癌の検出を行うことができる。

[0034] 本発明において、遺伝子の発現量の測定が行われる試料に特に制限はなく、例えば、血液、血漿、血清、リンパ液、尿、唾液等の体液、前立腺癌組織、前立腺癌細胞等が挙げられるが、前立腺癌組織や前立腺癌細胞を使用することが好ましい。本発明において「単離した前立腺癌細胞」には、生体（前立腺癌患者）から摘出した前立腺癌組織、当該組織をレーザーダイセクション等により切り出したサンプル等が含まれる。

[0035] 上記試料の由来に特に制限はないが、ヒト由来であることが好ましい。すなわち、本発明の検出方法は、ヒトの再燃性前立腺癌の検出に好適に用いられる。

[0036] 本発明の検出方法を用いることで、前立腺癌のホルモン感受性を、簡便に、しかも精度よく判定することができ、これにより再燃性前立腺癌を特異的に検出することができる。したがって、本発明の検出方法は、再燃性前立腺癌の診断に有用である。

[0037] 以下、本発明を実施例に基づきさらに詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

実施例

[0038] 下記のヒト前立腺癌細胞株を用いて、下記のDNAマイクロアレイ解析及び定量的PCRアレイ解析を中心に解析を行い、ホルモン感受性前立腺癌とホルモン抵抗性前立腺癌とを区別しうるマーカー候補遺伝子の選抜を行った。

[0039] [ヒト前立腺癌細胞株の培養]

前立腺癌細胞株LNCaP（ホルモン感受性（依存性））とDu145（ホルモン抵抗性（非依存性））は独立行政法人理化学研究所バイオリソース研究センター理研セルバンクより入手した。PC-3（ホルモン非依存性）は財団法人ヒューマンサイエンス振興財団JCRB細胞バンクより入手した。正常ヒト前立腺上皮細胞株PrEは、DSファーマバイオメディカル社より購入した。前立腺癌細胞株はすべて、RPMI 1640培地(GIBCO社製)に10% FBS(Hyclone社製)、1% ペニシリン/ストレプトマイシン(GIBCO社製)を添加したものをを用いて培養した。正常ヒト前立腺上皮細胞株は、CS-C培地キットR（DSファーマバイオメディカル社製）を用い培養した。すべての細胞は、RNAおよびタンパク質を抽出する1日前にRPMI 1640に10% FBSを加えた培地に置換して培養した。

[0040] [DNAマイクロアレイ解析]

糖鎖関連遺伝子網羅解析のDNAマイクロアレイは、独立行政法人理化学研究所 疾患糖鎖研究チームが開発したツールを用いた。本ツールの詳細は文献(Molecular And Cellular Biology, Apr.2007, p.3008-3022)に記載されている。簡潔に言えば、まず対数増殖期の細胞のmRNAをmTRA

P m i d i k i t (アクティブモチーフ社製)を用いて調製し、A g i l e n t T e c h n o l o g i e s 社製のバイオアナライザー2100でクオリティーチェック後、C y S c r i b e P o s t - L a b e l l i n g K i t (GEヘルスケアバイオサイエンス社製)で蛍光標識した。蛍光標識したサンプルを約1200の糖鎖関連遺伝子を搭載したマイクロアレイにハイブリダイズし、A f f y m e t r i x 428 A r r a y S c a n n e r でスキャンした。各スポットのシグナル強度を定量(I m a G e n e ; B i o D i s c o v e r y 社製)し、補正後にクラスタリング作成ソフト M u l t i E x p e r i m e n t V i e w e r (M e V) (Opensource software tool, <http://www.tm4.org/>) で解析した。

[0041] [定量的PCRアレイ解析]

糖鎖合成酵素に特化した遺伝子網羅解析のツールであるqPCRアレイは、独立行政法人産業技術総合研究所 糖鎖医工学センターが開発したツールを用いた。本ツールの詳細は文献(Jornal of Proteome Reserch, Vol.8, No.3, 2009, p.1358-1367)に記載されている。簡潔に言えば、まず対数増殖期の細胞のtotal RNAを、RNeasy plus mini kit (Q I A G E N 社製)を用いて調製し、QuantiTect Rev. Transcription kit (Q I A G E N 社)を用いてFirst strand cDNAを合成した。PCRプライマーは、ProbeFinder(<https://www.roche-applied-science.com/>)を用いて選択し、インビトロジェン社にて作成、購入した。加水分解プローブは、Universal ProbeLibrary(ロシュ社)より選択した。全189遺伝子のアッセイをduplicateで384プレートにフォーマットし、qPCR Quick GoldStar Mastermix Plus (Eurogentec社製)を用いて、LightCycler 480(ロシュ社製)にて増幅、測定した。各コピー数を算出後、補正後にクラスタリング作成ソフトM u l t i E x p e r i m e n t V i e w e r (M e V) (Opensource software tool, <http://www.tm4.org/>) で解析した。

[0042] 実施例１　ＲＴ－ＰＣＲによる再燃性前立腺癌の検出

正常ヒト前立腺上皮細胞株 P r E 並びに前立腺癌細胞株 L N C a P（ホルモン感受性株）、D u 1 4 5（ホルモン抵抗性株）及び P C－3（ホルモン抵抗性株）の各細胞株を用いて、ＲＴ－ＰＣＲにより、前記表１に示す３１種類の遺伝子の転写産物の量を測定した。

具体的には、P r E、L N C a P、D u 1 4 5 及び P C－3 の各前立腺癌細胞から上記と同様に合成した c D N A を鋳型とし、D N A ポリメラーゼ（商品名：G o T a q（登録商標）H o t S t a r t P o l y m e r a s e、プロメガ社）と、上述した（A a）～（B b）で表されるプライマーセット、配列番号 7 5 及び 7 6 の塩基配列を有する各オリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、配列番号 9 1 及び 9 2 の塩基配列を有する各オリゴヌクレオチドからなるプライマーセット並びに配列番号 1 1 1 及び 1 1 2 の塩基配列を有する各オリゴヌクレオチドからなるプライマーセットとを用い、サーマルサイクラー（商品名：G e n e A m p（登録商標）P C R S y s t e m 9 7 0 0（アプライドバイオシステムズ社製）により各 D N A の増幅反応を行った。2 % アガロースゲルにて電気泳動をおこなった後、エチジウムブロミド染色して U V トランスイルミネーターで発光させ、写真を撮った（ポラロイド社製）。なお、上記プライマーセットを構成するプライマーは、P r o b e F i n d e r（<https://www. Roche-Applied-Science.com/>）を用いて選択し、インビトロジェン社にて作成、購入したものである。

結果を図 1 に示す。なお、図 1 における P S A、A C T B、A R 及び G A P D H の測定結果は参考として載せたものであり、本発明の効果を示すものではない。

[0043] 図 1 の結果から、ホルモン抵抗性前立腺癌細胞株である D u 1 4 5 及び P C－3 では、ホルモン感受性前立腺細胞株である L N C a P に比べて、G A L N A C 4 S－6 S T（配列番号 1）、B 3 G N T 5（配列番号 3）、L G A L S 1（配列番号 5）、C A V 1（配列番号 7）、C D 1 8／I T G B 2（配列番号 9）、I T G A 3（配列番号 1 1）、C H S T 1 1（配列番号 1 5

）、CHST10（配列番号17）、FUT8（配列番号21）、HAS3（配列番号25）、LCN2（配列番号31）、CHST7（配列番号33）、UST（配列番号35）、EXT1（配列番号37）、GALNT4（配列番号39）、HXB/TNC（配列番号41）、BACE2（配列番号43）、CD44（配列番号45）、NPR3（配列番号47）、BMP15（配列番号51）、TECK/CCL25（配列番号53）、GALNT14（配列番号55）及びST8SIA5（配列番号57）のmRNA発現量が明らかに増加していることがわかる。したがって、前立腺癌患者から採取した試料におけるこれらの遺伝子の少なくとも1つの発現量を測定し、その発現量が所定のレベルより高い場合には、ホルモン抵抗性の前立腺癌細胞が存在すると判定することができ、これによりホルモン抵抗性前立腺癌（再燃性前立腺癌）を検出することができる。

[0044] また、図1の結果から、ホルモン抵抗性前立腺癌細胞株であるDu145及びPC-3では、ホルモン感受性前立腺細胞株であるLNCaPに比べて、ST6GALNAC1（配列番号27）、GAL3ST2（配列番号59）及びLARGE（配列番号61）のmRNAの発現量が明らかに抑えられていることがわかる。したがって、前立腺癌患者から採取した試料におけるこれらの遺伝子の少なくとも1つの発現量を測定し、その発現量が所定のレベルより低い場合には、ホルモン抵抗性の前立腺癌細胞が存在すると判定することができ、これによりホルモン抵抗性前立腺癌（再燃性前立腺癌）を検出することができる。

[0045] 実施例2 リアルタイムRT-PCRによる再燃性前立腺癌の検出

下記のヒト前立腺癌の組織サンプルを用いて、下記のリアルタイムRT-PCRにより、前記表1に示す遺伝子のうち25種類の遺伝子の転写産物の量を測定した。

[0046] [ヒト前立腺癌組織サンプル]

前立腺癌臨床組織サンプルは、愛知県がんセンターより供与された。総てのサンプルは、インフォームドコンセントが取れた患者より供与されたもの

である。ホルモン療法を処置していない前立腺癌患者より摘出した前立腺組織を8例と、前立腺摘出手術を受ける前に3ヶ月以上のホルモン療法（ネオアジュバント療法：Leuteining hormone-releasing hormone analogue(LH-RHa)と非ステロイド性抗アンドロゲン剤のBicalutamideの併用）を受けた前立腺癌患者であって、当該治療に対して低感受性（治療効果が薄い）患者より摘出した組織8例を本実施例にて用いた。

[0047] 一般に前立腺癌では、癌細胞はアンドロゲン等の雄性ホルモンに依存して増殖し、ホルモンの働きを抑えることにより癌細胞の増殖は効果的に抑制されることが多い。一方、ホルモン抵抗性の前立腺癌は、ホルモン療法を受けたのち、一度増殖が抑制されたにもかかわらず、生き残った癌細胞が再び増殖してきたものであることが多く、ホルモン療法を受けていない前立腺癌患者における発症率は比較的低い。そこで、ホルモン療法を受けていない前立腺癌患者をホルモン感受性前立腺癌患者であるものと仮定し、下記の試験を行った。ホルモン療法を受けていない前立腺癌患者から採取した癌細胞と、ホルモン療法に対する低感受性の前立腺癌患者から採取した癌細胞との間でもなお、発現量に有意な差が認められる遺伝子は、再燃性前立腺癌マーカーとしても非常に有用であると判断できると考えられる。

[0048] [リアルタイムRT-PCR解析]

インフォームドコンセントが取れている前立腺癌患者より摘出した前立腺臨床組織サンプルの薄切より、癌部をレーザーマイクロダイセクション(LMD6000;ライカ社製)により切り出し、RNA抽出キット(商品名: RecoverAll(商標) Total Nucleic Acid Isolation Kit、Ambion社製)にてRNAを抽出した。High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(アプライドバイオシステムズ社製)を用いてcDNAを調製後、TaqMan(登録商標) PreAmp Master Mix Kit(アプライドバイオシステムズ社製)で前増幅し、qPCR Quick GoldStar Mastermix Plus(Eurogentec

c社製)を用いて、ABI PRISM (登録商標) 7700 Sequence detection Systemで増幅、測定した。なお、使用したプライマーセットは実施例1と同様である。各コピー数を算出後、コントロールとして用いたglyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNAの発現量で標準化した。統計解析はヒューリンクス社の「KaleidaGraph」を用い、t-検定をおこなった。

結果をグラフ化したものを図2～26に示す。また、t-検定の結果(P値)を下記表2に示す。なお、図8のPSA、図16のACTB及び図26のARの結果は参考として載せたものであり、本発明の効果を示すものではない。

[0049] [表2]

表 2

	<i>GALNAC4S-6ST</i>	<i>B3GNT5</i>	<i>LGALS1</i>	<i>CAV1</i>	<i>ITGB2</i>	<i>ITGA3</i>	<i>PSA</i>
8 v s 8	0.0201※	0.0239※	0.0119※	0.0158※	0.0172※	0.0120※	0.0030※
6 v s 8	0.0011※	0.0339※	0.0076※	0.0017※	0.0080※	0.0050※	0.0089※
	<i>CHST11</i>	<i>CHST10</i>	<i>HS3ST1</i>	<i>FUT8</i>	<i>ST3GAL4</i>	<i>HAS3</i>	<i>ST6GALNAC1</i>
8 v s 8	0.1085	0.2589	0.4644	0.2246	0.2676	0.0706	0.0468※
6 v s 8	0.0659	0.0700	0.0712	0.0946	0.0929	0.0168※	0.0634
	<i>ACTB</i>	<i>LCN2</i>	<i>CHST7</i>	<i>UST</i>	<i>EXT1</i>	<i>GALNT4</i>	<i>TNC</i>
8 v s 8	0.0536	0.0758	0.3963	0.0599	0.0869	0.2096	0.2727
6 v s 8	0.0269※	0.1755	0.2361	0.0315※	0.0319※	0.3104	0.2056
	<i>BACE2</i>	<i>CD44</i>	<i>NPR3</i>	<i>AR</i>			
8 v s 8	0.9702	0.6734	0.3495	0.3310			
6 v s 8	0.7641	0.7089	0.3864	0.2181			

※ P < 0.05

[0050] 図2及び表2の結果から、GALNAC4S-6ST (配列番号1)、B3GNT5 (配列番号3)、LGALS1 (配列番号5)、CAV1 (配列番号7)、ITGB2 (配列番号9)、ITGA3 (配列番号11) 及びST6GALNAC1 (配列番号27) において、ホルモン療法を受けていない前立腺癌患者8名から採取した癌細胞と、ホルモン療法に対する低感受性の前立腺癌患者8名から採取した癌細胞との間で、mRNAの発現量に明ら

かな有意差 ($P < 0.05$) が認められた (表 2 中、8 v s 8 の欄参照)。
なお既存マーカーである P S A の発現量は、ホルモン療法に対する低感受性の前立腺癌患者 8 名から採取した癌細胞において有意に低下しているが、これは、アンドロゲンが遮断された結果引き起こされたものであり、ホルモン抵抗性との直接の関連性は低い。

また、ホルモン療法を受けていない未治療群の中にも、ホルモン療法に低感受性の患者が存在する可能性がある。したがって、参考のために、ホルモン療法を受けていない前立腺癌患者 8 名から採取した検体のうち、m R N A の発現量が高い患者検体 2 つを除き、ホルモン療法を受けていない前立腺癌患者 6 名から採取した癌細胞と、ホルモン療法に対する低感受性の前立腺癌患者 8 名から採取した癌細胞との間の有意差を調べた。その結果、H A S 3 (配列番号 25)、U S T (配列番号 35) 及び E X T 1 (配列番号 37) でも有意差 ($P < 0.05$) を認めた (表 2 中、6 v s 8 の欄参照)。

[0051] なお、上記で有意差が認められなかった遺伝子に関しても、実施例 1 で示すように前立腺癌のセルラインを用いた試験では、ホルモン感受性前立腺癌細胞とホルモン抵抗性の前立腺癌細胞とを区別しうることが示されている。したがって、現状では困難であるが、ホルモン感受性患者として特定された患者検体を用いることができれば、ホルモン療法に対する低感受性の前立腺癌患者検体との間で発現量の有意差が認められうるものと考えられる。

[0052] 以上の結果、本発明の検出方法は、再燃性前立腺癌を特異的に検出できる方法であることが示された。

[0053] 本発明をその実施態様とともに説明したが、我々は特に指定しない限り我々の発明を説明のどの細部においても限定しようとするものではなく、添付の請求の範囲に示した発明の精神と範囲に反することなく幅広く解釈されるべきであるとする。

[0054] 本願は、2011年2月28日に日本国で特許出願された特願2011-042967に基づく優先権を主張するものであり、これらはここに参照してその内容を本明細書の記載の一部として取り込む。

請求の範囲

- [請求項1] 下記（a）～（d）のいずれかのDNAからなる少なくとも1種の遺伝子の発現量を測定することを含む、再燃性前立腺癌の検出方法：
- （a）配列番号1の塩基配列、配列番号3の塩基配列、配列番号5の塩基配列、配列番号7の塩基配列、配列番号9の塩基配列、配列番号11の塩基配列、配列番号15の塩基配列、配列番号17の塩基配列、配列番号19の塩基配列、配列番号21の塩基配列、配列番号23の塩基配列、配列番号25の塩基配列、配列番号27の塩基配列、配列番号31の塩基配列、配列番号33の塩基配列、配列番号35の塩基配列、配列番号37の塩基配列、配列番号39の塩基配列、配列番号41の塩基配列、配列番号43の塩基配列、配列番号45の塩基配列、配列番号47の塩基配列、配列番号51の塩基配列、配列番号53の塩基配列、配列番号55の塩基配列、配列番号57の塩基配列、配列番号59の塩基配列及び配列番号61の塩基配列からなる群から選ばれる塩基配列からなるDNA、
- （b）上記（a）のDNAの塩基配列と80%以上の同一性を有する塩基配列からなるDNAであって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNA、
- （c）上記（a）のDNAの塩基配列において、1又は数個の塩基が欠失、置換、挿入又は付加された塩基配列からなるDNAであって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNA、
- （d）上記（a）のDNAの塩基配列と相補的な塩基配列からなるDNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAであって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNA。
- [請求項2] 遺伝子の発現量の測定が、該遺伝子の転写産物の量の測定である、請求項1に記載の検出方法。
- [請求項3] 下記（Aa）～（Bb）からなる群から選ばれる少なくとも1種のプライマーセットを用いて少なくとも1種の遺伝子の発現量を測定す

る、請求項 2 に記載の検出方法：

(A a) 配列番号 6 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 6 4 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A b) 配列番号 6 5 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 6 6 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A c) 配列番号 6 7 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 6 8 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A d) 配列番号 6 9 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 7 0 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A e) 配列番号 7 1 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 7 2 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A f) 配列番号 7 3 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 7 4 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A g) 配列番号 7 7 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 7 8 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A h) 配列番号 7 9 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 8 0 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A i) 配列番号 8 1 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 8 2 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A j) 配列番号 83 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 84 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A k) 配列番号 85 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 86 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A l) 配列番号 87 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 88 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A m) 配列番号 89 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 90 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A n) 配列番号 93 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 94 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A o) 配列番号 95 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 96 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A p) 配列番号 97 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 98 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A q) 配列番号 99 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 100 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A r) 配列番号 101 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 102 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A s) 配列番号 103 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び

配列番号 104 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A t) 配列番号 105 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 106 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A u) 配列番号 107 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 108 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、

(A v) 配列番号 109 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 110 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット、及び

(A w) 配列番号 113 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 114 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(A x) 配列番号 115 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 116 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(A y) 配列番号 117 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 118 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(A z) 配列番号 119 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 120 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(B a) 配列番号 121 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 122 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプライマーセット。

(B b) 配列番号 123 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチド及び配列番号 124 の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドからなるプラ

イマーセット。

[請求項4] 遺伝子の発現量の測定が、該遺伝子の発現産物であるタンパク質の量の測定である、請求項1に記載の検出方法。

[請求項5] 測定されるタンパク質の量が、下記(e)～(g)のいずれかのアミノ酸配列からなる少なくとも1種のタンパク質の量である、請求項4に記載の検出方法：

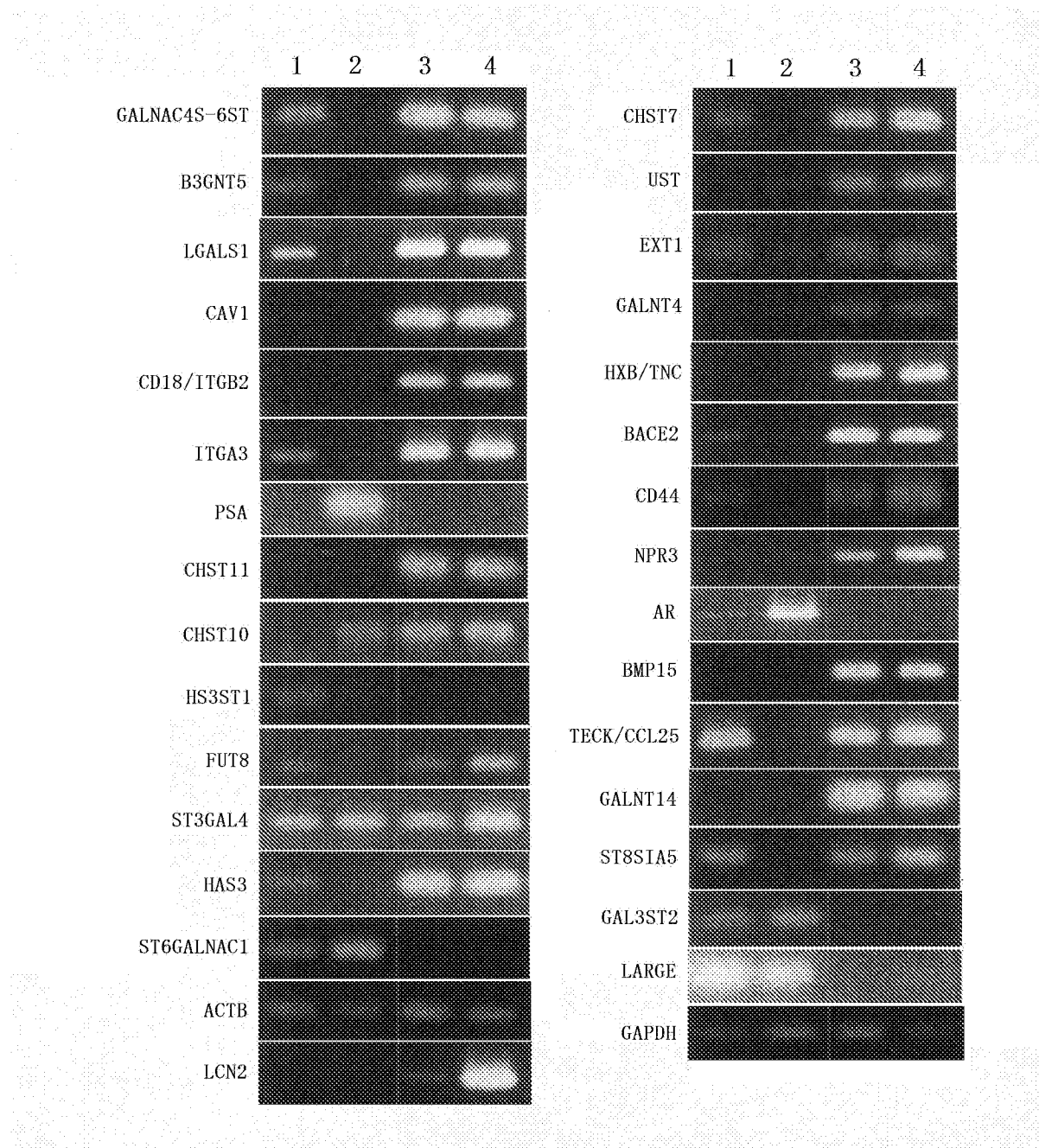
(e) 配列番号2のアミノ酸配列、配列番号4のアミノ酸配列、配列番号6のアミノ酸配列、配列番号8のアミノ酸配列、配列番号10のアミノ酸配列、配列番号12のアミノ酸配列、配列番号16のアミノ酸配列、配列番号18のアミノ酸配列、配列番号20のアミノ酸配列、配列番号22のアミノ酸配列、配列番号24のアミノ酸配列、配列番号26のアミノ酸配列、配列番号28のアミノ酸配列、配列番号32のアミノ酸配列、配列番号34のアミノ酸配列、配列番号36のアミノ酸配列、配列番号38のアミノ酸配列、配列番号40のアミノ酸配列、配列番号42のアミノ酸配列、配列番号44のアミノ酸配列、配列番号46のアミノ酸配列、配列番号48のアミノ酸配列、配列番号52のアミノ酸配列、配列番号54のアミノ酸配列、配列番号56のアミノ酸配列、配列番号58のアミノ酸配列、配列番号60のアミノ酸配列及び配列番号62のアミノ酸配列からなる群から選ばれるアミノ酸配列、

(f) 上記(e)のアミノ酸配列と80%以上の同一性を有し、かつ前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNAにコードされるアミノ酸配列、

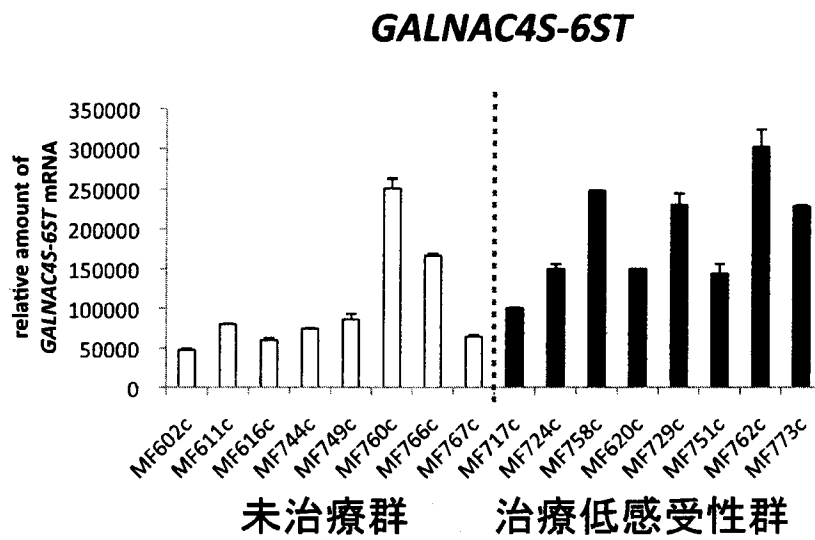
(g) 上記(e)のアミノ酸配列において、1又は数個のアミノ酸が欠失、置換、挿入又は付加されたアミノ酸配列であって、前立腺癌細胞のゲノム中に存在するDNAにコードされるアミノ酸配列。

[請求項6] 単離した前立腺癌細胞中における遺伝子の発現量を測定する、請求項1～5のいずれか1項に記載の検出方法。

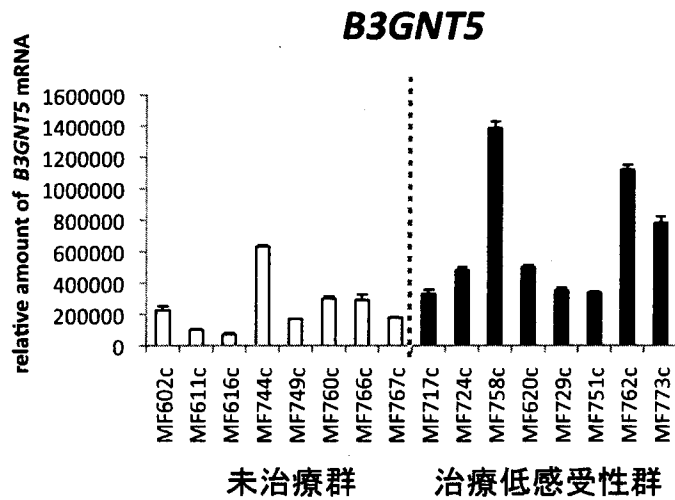
[図1]



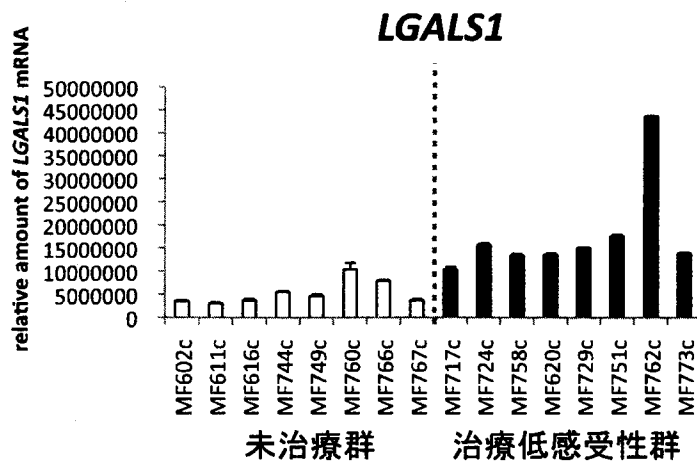
[図2]



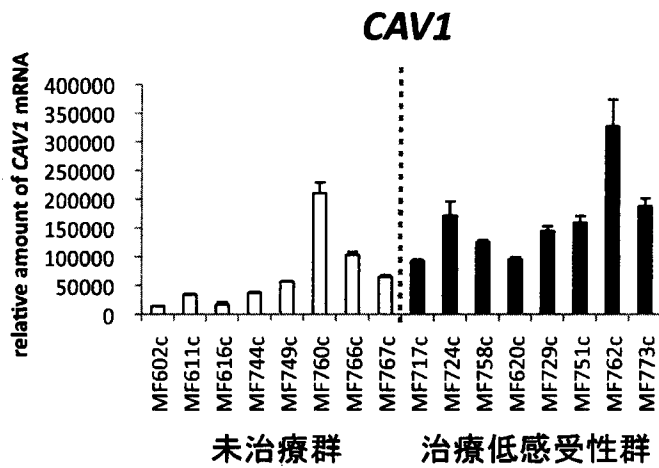
[図3]



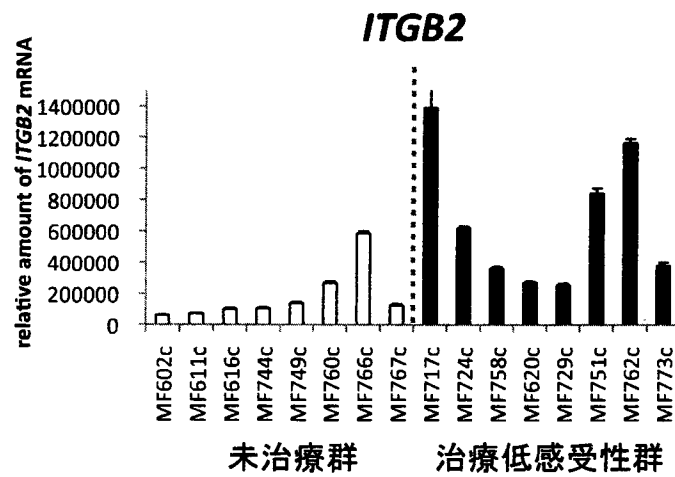
[図4]



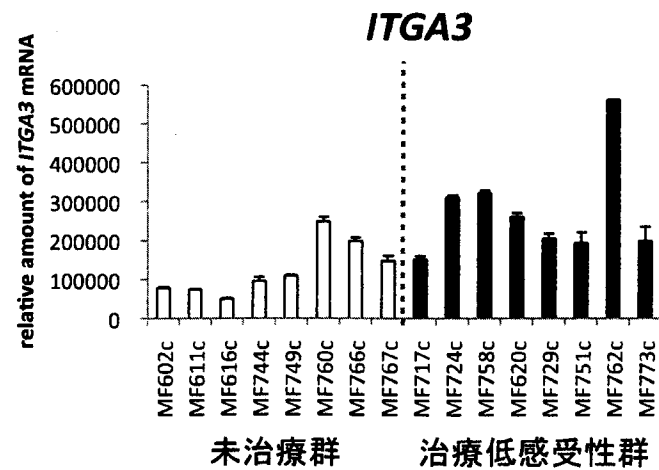
[図5]



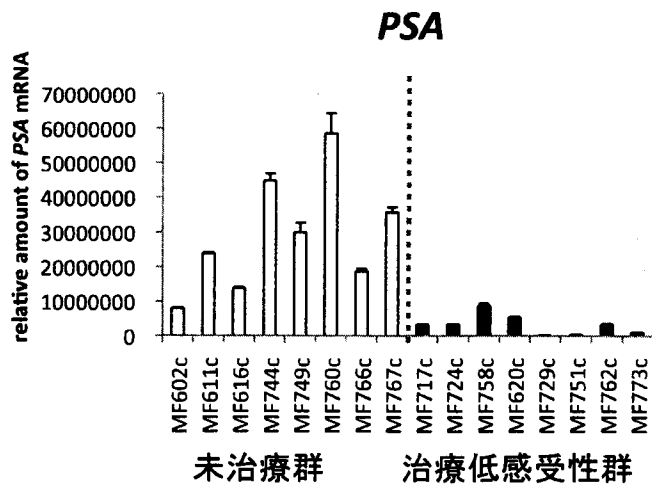
[図6]



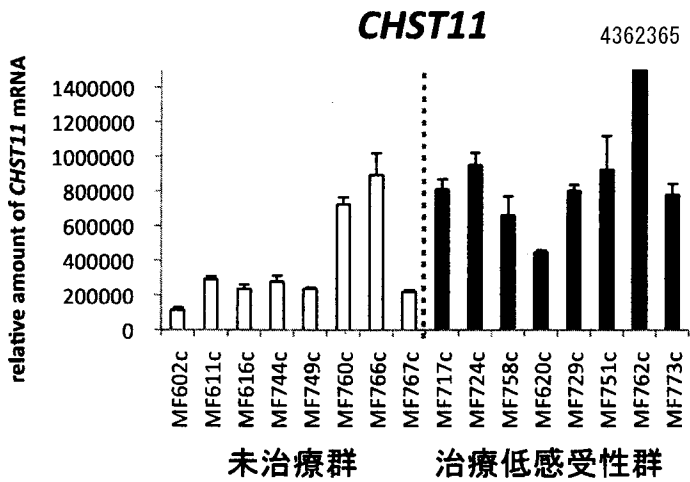
[図7]



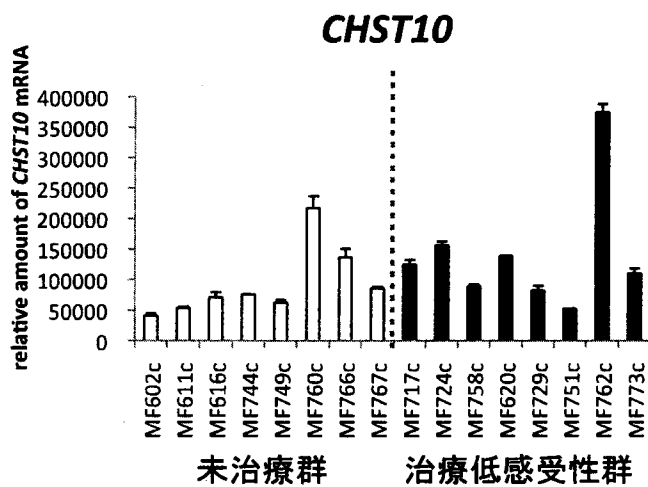
[図8]



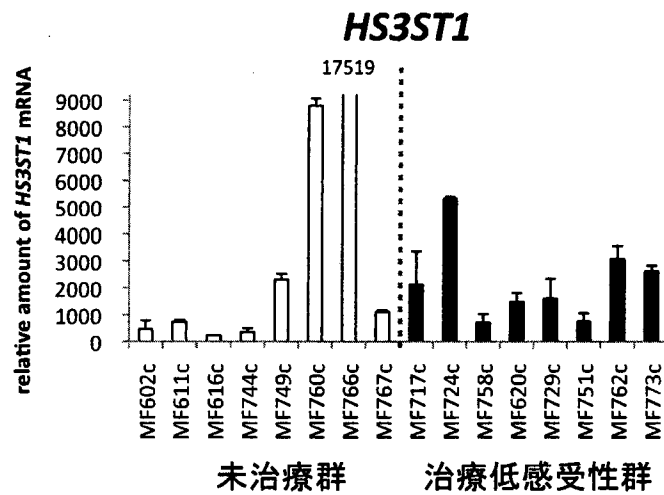
[図9]



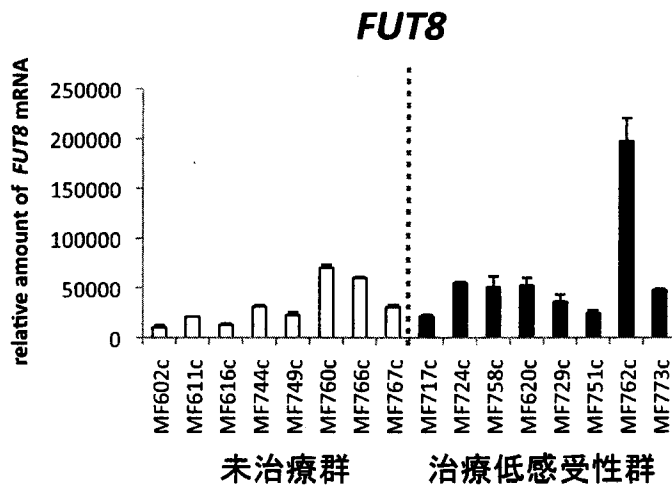
[図10]



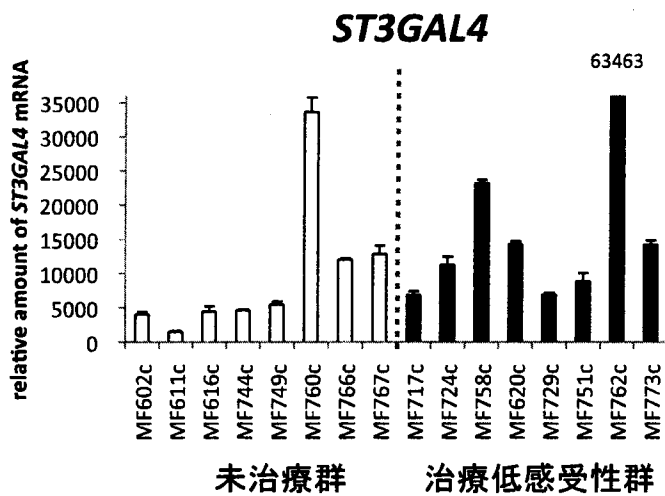
[図11]



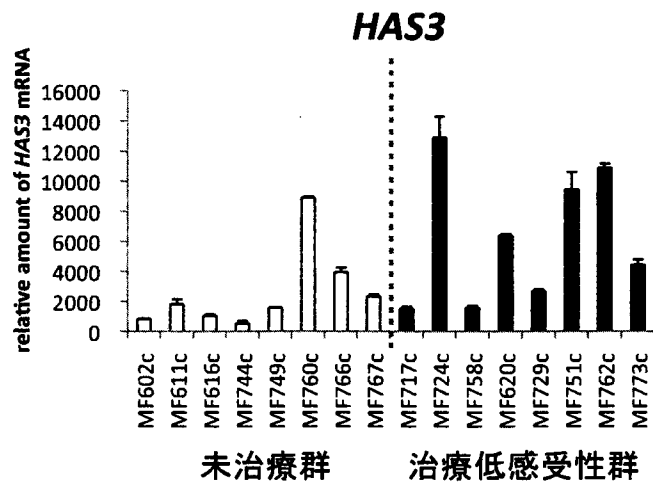
[図12]



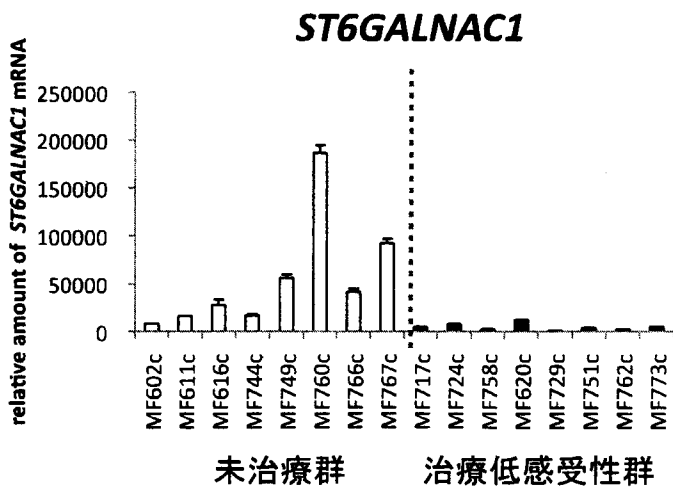
[図13]



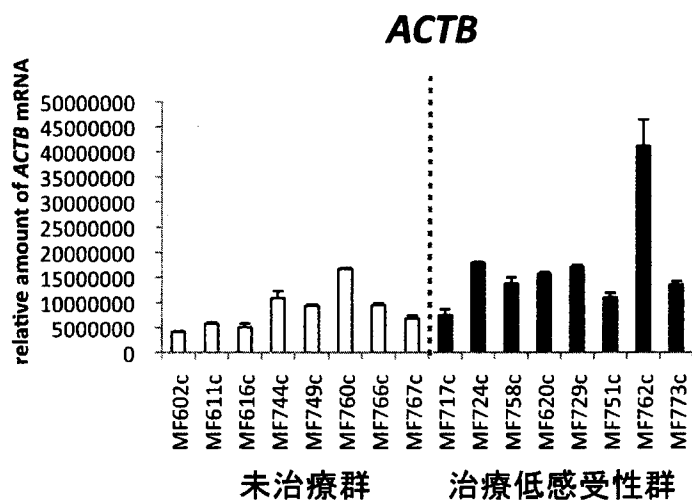
[図14]



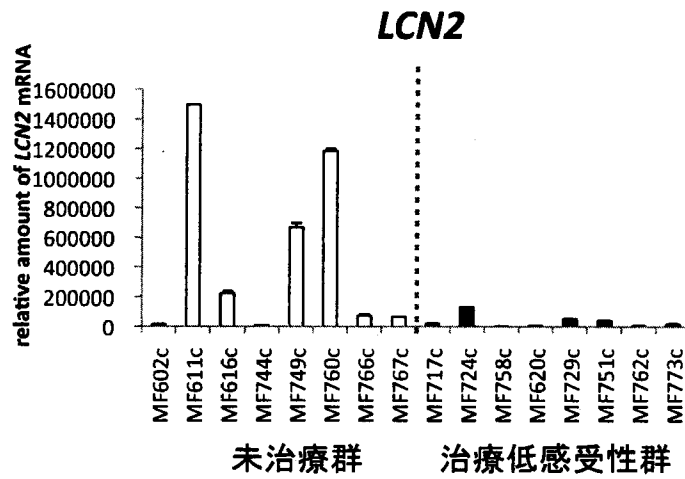
[図15]



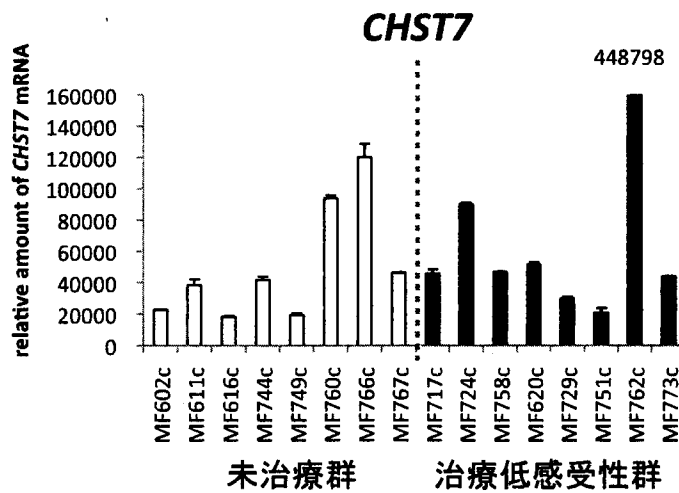
[図16]



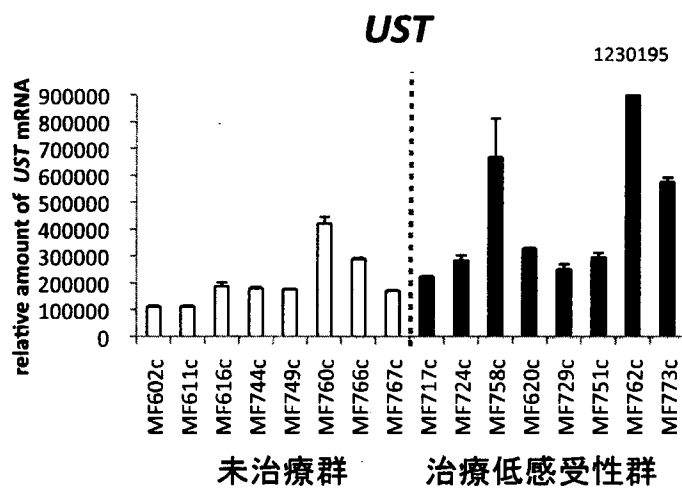
[図17]



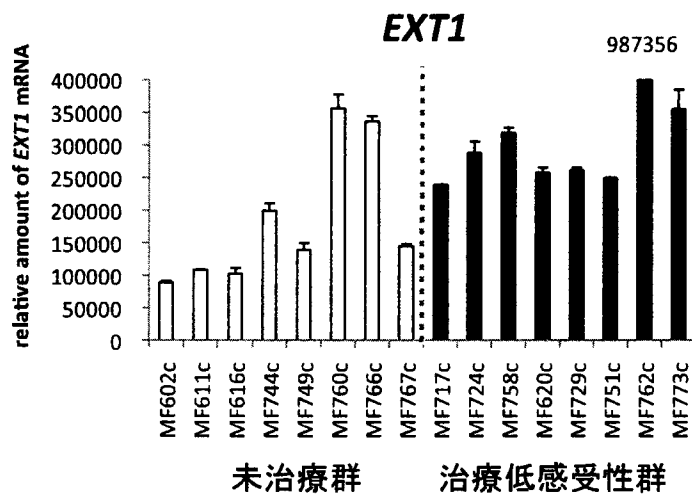
[図18]



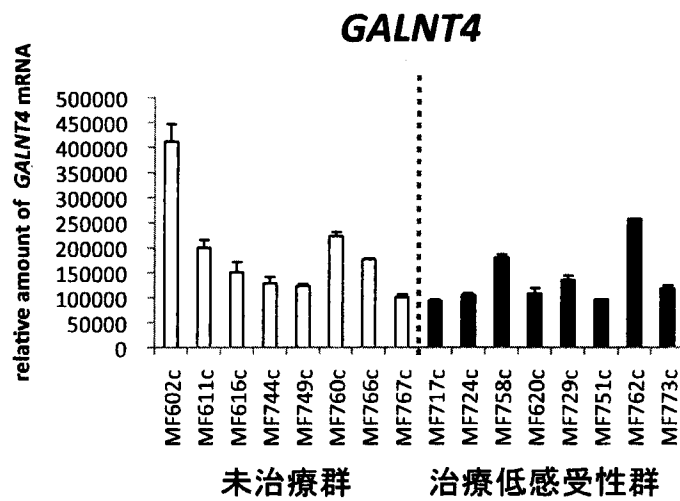
[図19]



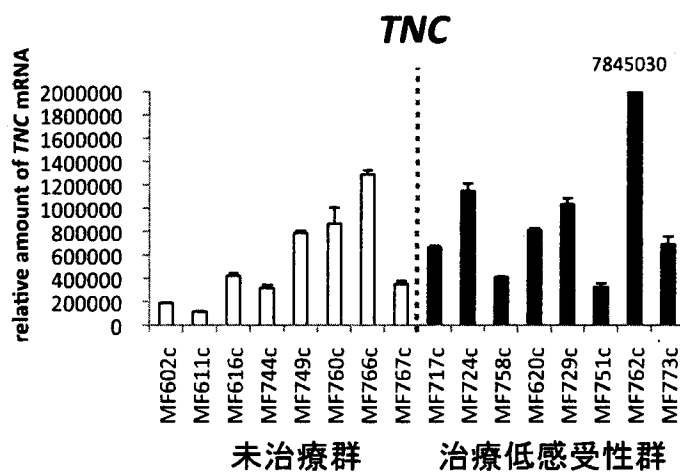
[図20]



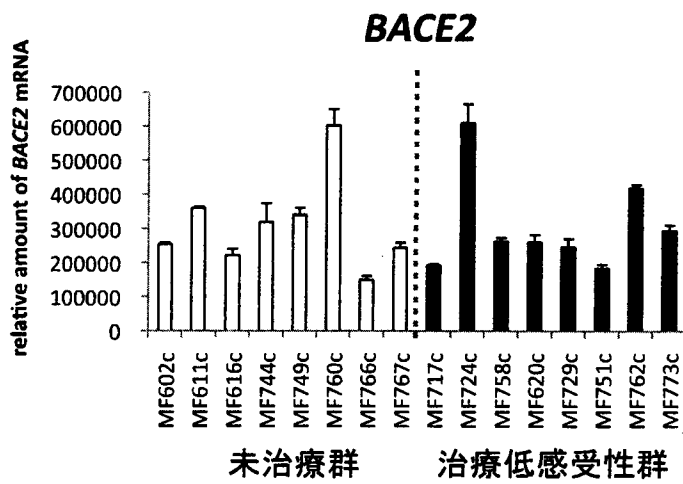
[図21]



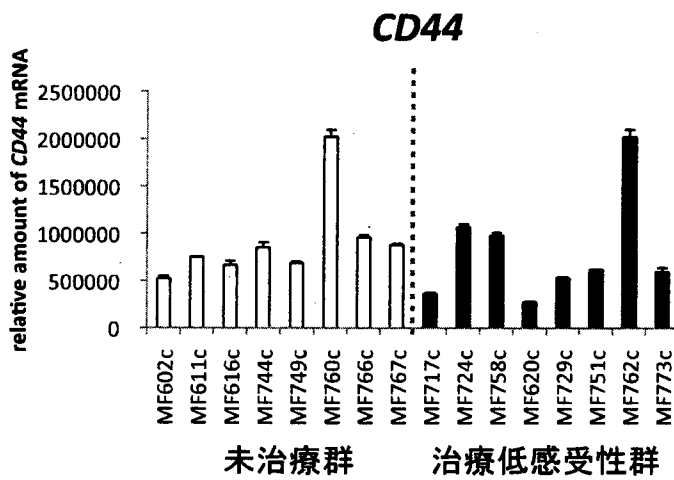
[図22]



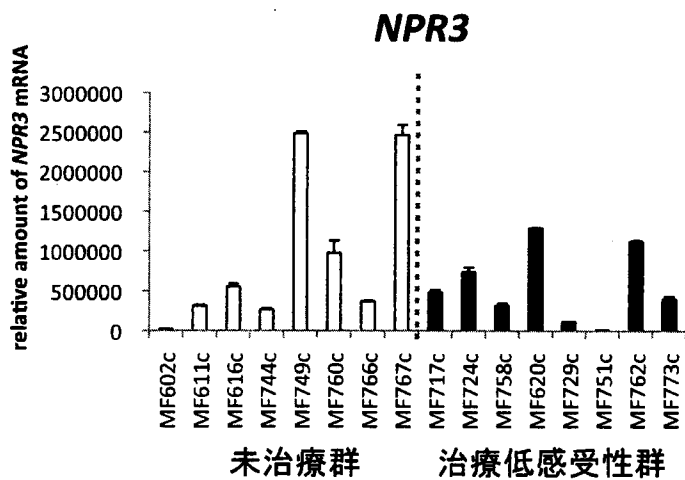
[図23]



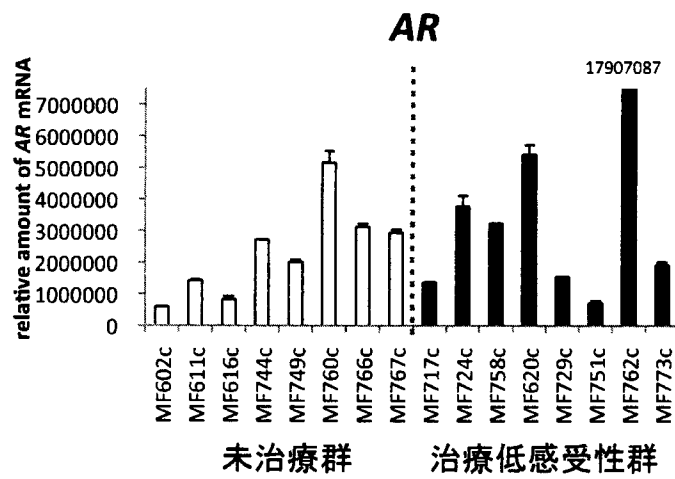
[図24]



[図25]



[図26]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/054962

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/09(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/50(2006.01)i, G01N33/68(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N15/09, C12Q1/68, G01N33/50, G01N33/68

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2002/031209 A2 (THE GOVERNMENT OF UNITED STATES OF AMERICA), 18 April 2002 (18.04.2002), abstract; examples & AU 1457602 A	1-6
Y	WO 2008/102906 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.), 28 August 2008 (28.08.2008), abstract; examples (Family: none)	1-6
Y	WO 2004/046358 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 03 June 2004 (03.06.2004), particularly, technical field; examples 2, 3 & JP 4614769 B & US 2006/0275302 A1 & EP 1568775 A1 & AU 2003302040 A	1-6



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
26 March, 2012 (26.03.12)

Date of mailing of the international search report
03 April, 2012 (03.04.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/054962

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Yuko NAITO et al., Germinal Center Marker GL7 Probes Activation-Dependent Repression of N-Glycolylneuraminic Acid, a Sialic Acid Species Involved in the Negative Modulation of B-Cell Activation, Mol Cell Biol., 2007, Vol.27, No.8, p.3008-3022	1-6
A	Hitoshi ISHIGURO, "Zenritsusengan no Shinten ni Okeru aPKC λ /1 no Hatsugen Oyobi Kino Kaiseki", Yokohama Medical Journal, 2010, vol.61, pages 591 to 597	1-6
A	Hidewaki NAKAGAWA, "Zenritsusengan no Genomikkusu: Genome Kaiseki karano Zenritsusengan no Rikai", The Japanese Journal of Urology, 20 February 2010 (20.02.2010), vol. 101, no.2, page 76	1-6

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C12N15/09(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/50(2006.01)i, G01N33/68(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C12N15/09, C12Q1/68, G01N33/50, G01N33/68

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 2002/031209 A2 (THE GOVERNMENT OF UNITED STATES OF AMERICA) 2002.04.18, Abstract, Examples & AU 1457602 A	1 - 6
Y	WO 2008/102906 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.) 2008.08.28, Abstract, Examples (ファミリーなし)	1 - 6
Y	WO 2004/046358 A1 (中外製薬株式会社) 2004.06.03, 特に、技術分野の項、実施例 2、3 & JP 4614769 B & US 2006/0275302 A1 & EP 1568775 A1 & AU 2003302040 A	1 - 6

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 6 . 0 3 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

0 3 . 0 4 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田中 晴絵

4 N

9 7 3 9

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 8 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	Yuko NAITO et al., Germinal Center Marker GL7 Probes Activation-Dependent Repression of N-Glycolylneuraminic Acid, a Sialic Acid Species Involved in the Negative Modulation of B-Cell Activation, Mol Cell Biol., 2007, Vol.27, No.8, p.3008-3022	1 - 6
A	石黒 齊, 前立腺癌の進展における α PKC $\lambda/1$ の発現及び機能解析, 横浜医学, 2010, Vol.61, p.591-597	1 - 6
A	中川英刀, 前立腺癌のゲノミックス: ゲノム解析からの前立腺癌の理解, 日本泌尿器科学会雑誌, 2010.02.20, Vol.101, No.2, p.76	1 - 6