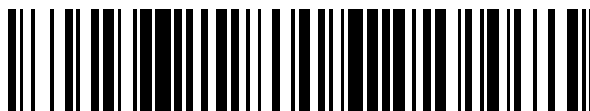


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 738 285**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6886 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014** **PCT/US2014/027912**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014** **WO14143794**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014** **E 14724567 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019** **EP 2971107**

54 Título: **Marcador de diagnóstico y pronóstico para cáncer de próstata**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361793413 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:

21.01.2020

73 Titular/es:

ONCONOSTIC TECHNOLOGIES, INC. (100.0%)
5285 Foxhound Way
San Diego, California 92130, US

72 Inventor/es:

RAY, PARTHA S.

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 738 285 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Marcador de diagnóstico y pronóstico para cáncer de próstata

5 **Campo técnico**

La presente divulgación se refiere en general a métodos para determinar un diagnóstico y/o pronóstico para cáncer de próstata.

10 **Antecedentes técnicos**

Van der Heul-Nieuwenhuijsen *et al.* (2009), BJU International, Vol. 103(11), páginas 1574-1580, da a conocer un análisis del patrón de expresión de 12 genes de FOX diferentes en líneas celulares de próstata normales y enfermas. Sin embargo, Van der Heul-Nieuwenhuijsen *et al.* no se pronuncian en absoluto sobre la monitorización del pronóstico de cáncer de próstata y la correlación del pronóstico con la razón de FOXC1:FOXA1, mucho menos sobre cualquier divulgación de un valor de punto de corte particular para la razón. Thorat *et al.* (2008), Journal of Clinical Pathology, Vol 61(3), páginas 327-332, da a conocer el pronóstico de pacientes con cáncer de mama pero no da a conocer que la razón de FOXC1:FOXA1 se correlaciona con el pronóstico de cáncer de próstata.

20 **Sumario de la invención**

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la razón de FOXC1:FOXA1 es predictiva de un desenlace a largo plazo en pacientes que se ha diagnosticado que tienen un cáncer de próstata. Por consiguiente, la razón de FOXC1:FOXA1 puede utilizarse para diagnosticar un cáncer de próstata, distinguir un cáncer de próstata de hiperplasia prostática benigna (BPH), determinar un pronóstico para un cáncer de próstata, y/o desarrollar e implementar un plan de tratamiento para un paciente que se ha diagnosticado que tiene un cáncer de próstata.

En un aspecto, la invención proporciona un método para determinar el pronóstico de un cáncer de próstata en un sujeto que se ha diagnosticado que tiene cáncer de próstata, que comprende:

(i) determinar en una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto, en el que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata, el nivel de proteína o ácido nucleico FOXA1, en el que el ácido nucleico FOXA1 es opcionalmente ARNm FOXA1;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido, en el que el ácido nucleico FOXC1 es opcionalmente ARNm FOXC1,

(iii) calcular la razón de dicha proteína o ácido nucleico FOXC1 con respecto a dicha proteína o ácido nucleico FOXA1;

(iv) comparar dicha razón con una razón de FOXC1:FOXA1 comparable en una población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata en la que un desenlace de pronóstico está asociado con cada una de las muestras de la población de referencia; e

(v) identificar que dicho sujeto tiene un mal pronóstico en relación con el desenlace de pronóstico cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es igual a o mayor que una razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, e identificar que dicho sujeto tiene un buen pronóstico en relación con el desenlace de pronóstico cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es menor que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, en el que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 se corresponde con al menos el percentil 50 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia.

En algunas realizaciones de este aspecto, la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 utilizada para determinar el pronóstico se corresponde con el valor asociado con el percentil 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95, o incluso 99 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata.

En algunas realizaciones de este aspecto, el método comprende además: (vi) desarrollar, implementar y/o modificar un plan de tratamiento basado en la identificación de pronóstico de la etapa (v). Opcionalmente, el plan de tratamiento incluye interrumpir, mantener, iniciar o modificar al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un buen pronóstico o para un sujeto que tiene un mal pronóstico. Las modificaciones para una terapia anticancerosa puede incluir alterar (es decir, aumentar o disminuir) la frecuencia, duración o dosis de esa terapia anticancerosa. El inicio de una terapia anticancerosa puede incluir añadir un agente quimioterápico previamente no utilizado a la pauta de tratamiento y/o realizar una resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos distantes en que se espera metástasis o está confirmada.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para diagnosticar un cáncer de próstata en un sujeto, que

comprende:

(i) determinar en una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto, en el que se sospecha que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata, el nivel de proteína o ácido nucleico FOXA1, en el que el ácido nucleico FOXA1 es opcionalmente ARNm FOXA1;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido, en el que el ácido nucleico FOXC1 es opcionalmente ARNm FOXC1,

(iii) calcular la razón de dicha proteína o ácido nucleico FOXC1 con respecto a dicha proteína o ácido nucleico FOXA1;

(iv) comparar dicha razón con una razón de FOXC1:FOXA1 comparable en una población de referencia de muestras que se sabe que comprenden células de cáncer de próstata; e

(v) identificar que dicho sujeto tiene un cáncer de próstata cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es igual a o mayor que una razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, e identificar que dicho sujeto no tiene un cáncer de próstata cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es menor que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, en el que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 se corresponde con al menos el percentil 20 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia.

En algunas realizaciones de este aspecto, la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 utilizada para determinar un diagnóstico se corresponde con el valor asociado con el percentil 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95 o incluso 99 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata, carecen de células de cáncer de próstata o una población mixta en la que algunas muestras comprenden células de cáncer de próstata y otras muestras carecen de células de cáncer de próstata.

En algunas realizaciones de este aspecto, el método comprende además: (vi) desarrollar e implementar un plan de tratamiento basado en la identificación de diagnóstico de la etapa (v). Opcionalmente, el plan de tratamiento incluye iniciar al menos una terapia anticancerosa que incluye, pero no se limita a, iniciar una quimioterapia, iniciar una radioterapia y resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos distantes en que se espera metástasis o está confirmada.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para determinar e implementar un plan de tratamiento en un sujeto que se ha diagnosticado que tiene un cáncer de próstata, comprendiendo dicho método:

(i) obtener una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto, en el que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXA1 en dicha muestra de tejido,

(iii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido,

(iv) calcular la razón de dicha proteína o ácido nucleico FOXC1 con respecto a dicha proteína o ácido nucleico FOXA1;

(v) comparar dicha razón con una razón de FOXC1:FOXA1 comparable en una población de referencia de muestras que se sabe que comprenden células de cáncer de próstata; y

(vi) desarrollar e implementar un plan de tratamiento basado en la comparación de la etapa (v).

El plan de tratamiento puede incluir uno cualquiera o más de los siguientes: interrumpir, mantener, iniciar o modificar al menos una terapia anticancerosa para el sujeto. Las modificaciones para una terapia anticancerosa pueden incluir alterar (es decir, aumentar o disminuir) la frecuencia, duración o dosis de esa terapia anticancerosa. El inicio de una terapia anticancerosa puede incluir añadir un agente quimioterápico previamente no utilizado a la pauta de tratamiento y/o realizar una resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos distantes en que se espera metástasis o está confirmada.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para distinguir entre un cáncer de próstata e hiperplasia prostática benigna (BPH) en un sujeto, que comprende:

(i) obtener una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXA1 en dicha muestra de tejido,

(iii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido,

(iv) calcular la razón de dicha proteína o ácido nucleico FOXC1 con respecto a dicha proteína o ácido nucleico FOXA1;

5 (v) comparar dicha razón con una razón de FOXC1:FOXA1 comparable en una población de referencia de muestras que comprenden la razón de FOXC1:FOXA1 de muestras que se sabe que se han obtenido de sujetos que tienen un cáncer de próstata y/o muestras que se sabe que se han obtenido de sujetos que tienen BPH; e

10 (vi) identificar que dicho sujeto tiene un cáncer de próstata cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es igual a o mayor que una razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 que es indicativa de cáncer de próstata, o identificar que dicho sujeto no tiene BPH cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es menor que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 que es indicativa de cáncer de próstata.

15 En algunas realizaciones de este aspecto, la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 utilizada para determinar un diagnóstico se corresponde con el valor asociado con el percentil 1, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95, o incluso 99 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata, carecen de células de cáncer de próstata, una población mixta en la que algunas muestras comprenden células de cáncer de próstata y otras muestras carecen de células de cáncer de próstata, y/o se obtuvieron de sujetos que se sabe que tienen BPH pero no cáncer de próstata.

20 En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, se evalúa cualquiera de los dos de los ácidos nucleicos FOXA1 y FOXC1 en la muestra y el ácido nucleico es ARN (por ejemplo, ARNm). Opcionalmente, el ARN se evalúa directamente o en forma de ADNc que puede amplificarse opcionalmente (por ejemplo, mediante PCR con transcriptasa inversa).

25 En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el sujeto puede también evaluarse para determinar marcadores o indicadores de cáncer de próstata adicionales que incluyen, por ejemplo, (i) la presencia de una translocación TMRPSS2:ERG en células de cáncer de próstata, (ii) la presencia, ausencia o cantidad de un receptor de estrógenos (ER) o subtipo de ER (por ejemplo, ER α y/o ER β) en células de cáncer de próstata, (iii) la presencia, ausencia o cantidad de un receptor de andrógenos o subtipo de receptor de andrógenos en las células de cáncer de próstata, y (iv) la presencia, ausencia o cantidad (absoluta o relativa) de antígeno prostático específico (PSA). Una evaluación de este tipo puede utilizarse opcionalmente para determinar la acción apropiada (por ejemplo, determinar un diagnóstico, pronóstico o plan de tratamiento).

35 En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, puede utilizarse cualquier población de referencia adecuada para la comparación de la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto. Poblaciones de referencia útiles incluyen poblaciones que comprenden o se limitan a (i) muestras del subtipo de cáncer de próstata específico tal como se identificó en el sujeto (por ejemplo, adenocarcinoma), (ii) muestras que tienen el mismo estado de translocación TMRPSS2:ERG (por ejemplo, presencia o ausencia) que el sujeto, y (iii) muestras que tienen estado de ER (por ejemplo, positivo o negativo para ER generalmente, o para cualquier subtipo de ER específico).

40 Cuando se compara la razón de FOXC1:FOXA1 con la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 determinada a partir de la población de referencia, una razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es mayor que o menor que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 e indica la acción particular (diagnóstico, pronóstico, plan de tratamiento) dependiendo de qué acción específica está considerándose y de cómo está constituida de la población de referencia con la que está comparándose la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto. Por ejemplo, cuando se determina un pronóstico para un sujeto y se compara la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto con una población de referencia de muestras de cáncer de próstata, razones de FOXC1:FOXA1 menores que la razón de punto de corte elegida son indicativas de un mejor pronóstico en relación con razones de FOXC1:FOXA1 que son mayores que la razón de punto de corte elegida.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para determinar el pronóstico de un cáncer de próstata en un sujeto que se ha diagnosticado que tiene cáncer de próstata, que comprende:

55 (i) obtener una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto, en el que dicha muestra de tejido comprende, o se sospecha que comprende, células de cáncer de próstata;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido,

60 (iii) comparar dicho nivel de FOXC1 con el nivel del nivel de punto de corte de FOXC1 en una población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata en las que un desenlace de pronóstico está asociado con cada una de las muestras de la población de referencia; e

65 (vi) identificar que dicho sujeto tiene un mal pronóstico en relación con el desenlace de pronóstico cuando el nivel de FOXC1 del sujeto es igual a o mayor que un nivel de punto de corte de FOXC1, e identificar que dicho sujeto tiene un buen pronóstico en relación con el desenlace de pronóstico cuando el nivel de FOXC1 del sujeto es menor

que el nivel de punto de corte de FOXC1, en el que el nivel de punto de corte de FOXC1 se corresponde con al menos el percentil 50 de niveles de FOXC1 de la población de referencia.

5 En algunas realizaciones de este aspecto, el nivel de punto de corte de FOXC1 utilizado para determinar el pronóstico se corresponde con el valor asociado con el percentil 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95 o incluso 99 de niveles de FOXC1 de la población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata.

10 En algunas realizaciones de este aspecto, el método comprende además: (vii) desarrollar, implementar y/o modificar un plan de tratamiento basado en la identificación de pronóstico de la etapa (iv). Opcionalmente, el plan de tratamiento incluye interrumpir, mantener, iniciar o modificar al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un buen pronóstico o para un sujeto que tiene un mal pronóstico. Las modificaciones para una terapia anticancerosa pueden incluir alterar (es decir, aumentar o disminuir) la frecuencia, duración o dosis de esa terapia anticancerosa. El inicio de una terapia anticancerosa puede incluir añadir un agente quimioterápico previamente no utilizado a la pauta de tratamiento y/o realizar una resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos
15 distantes en que se espera metástasis o está confirmada.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para diagnosticar un cáncer de próstata en un sujeto, que comprende:

20 (i) obtener una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto, en el que se sospecha que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido,

25 (iii) comparar dicho nivel de FOXC1 con un nivel de punto de corte de FOXC1 comparable en una población de referencia de muestras que se sabe que comprenden células de cáncer de próstata; e

(vi) identificar que dicho sujeto tiene un cáncer de próstata cuando el nivel de FOXC1 del sujeto es igual a o mayor que un nivel de punto de corte de FOXC1, e identificar que dicho sujeto no tiene un cáncer de próstata cuando el
30 nivel de FOXC1 del sujeto es menor que el nivel de punto de corte de FOXC1, en el que el nivel de punto de corte de FOXC1 se corresponde con al menos el percentil 20 de niveles de FOXC1 de la población de referencia.

35 En algunas realizaciones de este aspecto, el nivel de punto de corte de FOXC1 se utiliza para determinar un diagnóstico que se corresponde con el valor asociado con el percentil 1, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95, o incluso 99 de niveles de FOXC1 de la población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata, carecen de células de cáncer de próstata, o una población mixta en la que algunas muestras comprenden células de cáncer de próstata y otras muestras carecen de células de cáncer de próstata.

40 En algunas realizaciones de este aspecto, el método comprende además: (vii) desarrollar e implementar un plan de tratamiento basado en la identificación de diagnóstico de la etapa (iv). Opcionalmente, el plan de tratamiento incluye iniciar al menos una terapia anticancerosa que incluye, pero no se limita a, iniciar una quimioterapia, iniciar una radioterapia y resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos distantes en que se espera metástasis o está confirmada.

45 En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para determinar e implementar un plan de tratamiento en un sujeto que se ha diagnosticado que tiene un cáncer de próstata, comprendiendo dicho método:

(i) obtener una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto, en el que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata;

50 (ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido,

(iii) comparar dicho nivel de FOXC1 en el sujeto con un nivel de punto de corte de FOXC1 comparable en una población de referencia de muestras que se sabe que comprenden células de cáncer de próstata; y

55 (iv) desarrollar e implementar un plan de tratamiento basado en la comparación de la etapa (iii).

60 El plan de tratamiento puede incluir uno cualquiera o más de los siguientes: interrumpir, mantener, iniciar o modificar al menos una terapia anticancerosa para el sujeto. Las modificaciones para una terapia anticancerosa pueden incluir alterar (es decir, aumentar o disminuir) la frecuencia, duración o dosis de esa terapia anticancerosa. El inicio de una terapia anticancerosa puede incluir añadir un agente quimioterápico previamente no utilizado a la pauta de tratamiento y/o realizar una resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos distantes en que se espera metástasis o está confirmada.

65 En otro aspecto, la divulgación proporciona un método para distinguir entre un cáncer de próstata e hiperplasia prostática benigna (BPH) en un sujeto, que comprende:

(i) obtener una muestra de tejido (por ejemplo, tejido prostático) de dicho sujeto;

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido,

(iii) comparar dicho nivel de FOXC1 con un nivel de punto de corte de FOXC1 comparable en una población de referencia de muestras que comprenden el nivel de FOXC1 de muestras que se sabe que se han obtenido de sujetos que tienen un cáncer de próstata y/o muestras que se sabe que se han obtenido de sujetos que tienen BPH; e

(iv) identificar que dicho sujeto tiene un cáncer de próstata cuando el nivel de FOXC1 del sujeto es igual a o mayor que un nivel de punto de corte de FOXC1 que es indicativo de cáncer de próstata, o identificar que dicho sujeto tiene BPH cuando el nivel de FOXC1 del sujeto es menor que el nivel de punto de corte de FOXC1 que es indicativo de cáncer de próstata.

En algunas realizaciones de este aspecto, el nivel de punto de corte de FOXC1 utilizado para determinar un diagnóstico se corresponde con el valor asociado con el percentil 1, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95 o incluso 99 de niveles de FOXC1 de la población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata, carecen de células de cáncer de próstata, una población mixta en la que algunas muestras comprenden células de cáncer de próstata y otras muestras carecen de células de cáncer de próstata, y/o se obtuvieron de sujetos que se sabe que tienen BPH pero no cáncer de próstata.

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, se evalúa cualquiera de los dos de los ácidos nucleicos FOXA1 y FOXC1 en la muestra y el ácido nucleico es ARN (por ejemplo, ARNm). Opcionalmente, el ARN se evalúa directamente o en forma de ADNc que puede amplificarse opcionalmente (por ejemplo, mediante PCR con transcriptasa inversa).

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el cáncer de próstata es un adenocarcinoma, un carcinoma de células pequeñas o un sarcoma prostático.

Cuando se evalúan múltiples marcadores en un único sujeto, pueden evaluarse en las mismas o diferentes muestras o tipos de muestra. Por ejemplo, FOXA1, FOXC1 y ER pueden evaluarse en muestras de tejido de próstata mientras que PSA puede evaluarse en una muestra de sangre.

Mediante "cáncer de próstata" quiere decirse cualquier cáncer de la próstata de cualquier tipo de célula incluyendo, pero sin limitarse a, adenocarcinoma, carcinoma de células pequeñas y sarcoma prostático.

Mediante "FOXA1" quiere decirse cualquier proteína o ácido nucleico, según demande el contexto, que se conoce normalmente como FOXA1 o la proteína forkhead box A1, tal como se describe en el presente documento. Se reconoce que hay una determinada cantidad de variabilidad en las secuencias de FOXA1 humana conocidas. Por tanto, sin limitación, las secuencias de la proteína FOXA1 a modo de ejemplo incluyen las encontradas en los números de registro de GenBank: EAW65844.1 GI: 119586248; y AAH33890.1 GI: 119586248. Secuencias de ácidos nucleicos FOXA1 a modo de ejemplo pueden encontrarse en RefSeqGene de FOXA1 en el cromosoma 14 (NG_033028.1 GI: 429836885). Secuencias de ARNm a modo de ejemplo incluyen los números de registro: NM_004496.3 GI: 385298683; BC033890.1 GI: 21707516; y AK313785.1 GI: 164695568.

Mediante "FOXC1" quiere decirse cualquier proteína o ácido nucleico, según demande el contexto, que se conoce normalmente como FOXC1 o la proteína forkhead box C1, tal como se describe en el presente documento. Se reconoce que hay una determinada cantidad de variabilidad en las secuencias de FOXC1 humana conocidas. Por tanto, sin limitación, las secuencias de la proteína FOXC1 a modo de ejemplo incluyen las encontradas en los números de registro de GenBank: AAI34422.1 GI: 126632009; y NP_001444.2 GI: 119395716. Secuencias de ácidos nucleicos FOXC1 a modo de ejemplo pueden encontrarse en RefSeqGene de FOXC1 en el cromosoma 6 (NG_009368.1 GI: 221139902); y AY228704.1 GI: 30143279; AY228705.1 GI: 30143281; y KF855955.1 GI: 584292399. Secuencias de ARNm a modo de ejemplo incluyen los números de registro: NM_001453.2 GI: 119395715.

Un "desenlace de pronóstico" se refiere a cualquier criterio de valoración que está directa o indirectamente relacionado con cáncer de próstata y sus estados asociados que es útil para medir, por ejemplo, la eficacia de la terapia, la progresión de la enfermedad u otro desenlace clínico. Los desenlaces de pronóstico útiles incluyen duración de supervivencia (es decir, mortalidad) que puede medirse o bien como un acontecimiento binario en cualquier punto de tiempo dado (por ejemplo, supervivencia a los 5 años) o bien como una función del tiempo (por ejemplo, expresada como una curva de supervivencia a lo largo del tiempo), supervivencia libre de acontecimiento y supervivencia libre de recidiva (por ejemplo, tasa de recidiva).

Un "buen pronóstico," con referencia a un desenlace de pronóstico particular y una razón de FOXC1:FOXA1 específica, se refiere a una predicción de que el desenlace en ese sujeto será más favorable que el desenlace

esperado para individuos que tienen una razón de FOXC1:FOXA1 diferente (menos favorable) o que el desenlace promedio para todos los pacientes que se ha diagnosticado que tienen ese tipo o subtipo de cáncer de próstata, independientemente de la razón de FOXC1:FOXA1. Del mismo modo, un “mal pronóstico” se refiere a que una predicción de ese desenlace en ese sujeto será menos favorable que el desenlace esperado para individuos que

- 5 tienen una razón de FOXC1:FOXA1 diferente (más favorable) o que el desenlace promedio para todos los pacientes que se ha diagnosticado que tienen ese tipo o subtipo de cáncer de próstata, independientemente de la razón de FOXC1:FOXA1. Los desenlaces específicos son, por supuesto, dependientes del desenlace de pronóstico específico que está considerándose.
- 10 “Desarrollar un plan de tratamiento” se refiere al proceso abordado por un médico en la determinación del curso apropiado de terapia (o ausencia de terapia) para un sujeto en particular. El desarrollo de un plan de tratamiento puede basarse únicamente en la razón de FOXC1:FOXA1 medida en ese sujeto o puede incluir otra información demográfica (por ejemplo, edad, etnia, etc.) y/o historia clínica (por ejemplo, antecedentes de terapia anterior). Desarrollar un plan de tratamiento puede incluir iniciar una nueva terapia, interrumpir una terapia o modificar una
- 15 pauta terapéutica existente. Tales modificaciones pueden incluir alterar la frecuencia, duración, dosis y/o vía de administración de una terapia existente.

- “Determinar el nivel,” con referencia a una evaluación de cualquier marcador biológico relevante incluyendo FOXA1 y FOXC1, significa obtener una evaluación informativa de ese marcador en el sujeto o cualquier muestra biológica relevante obtenida del sujeto. La evaluación puede limitarse a determinar la presencia o ausencia de un marcador, evaluaciones cualitativas (por ejemplo, evaluaciones patológicas tales como determinar la localización celular o subcelular del marcador), o puede incluir evaluaciones semicuantitativas y/o evaluaciones cuantitativas.
- 20

- “Terapia anticancerosa,” con referencia a cáncer de próstata, significa cualquier pauta o procedimiento de tratamiento útil o experimental designado para reducir o eliminar el cáncer y/o proporcionar un efecto paliativo. La terapia anticancerosa incluye quimioterapia, radioterapia y cirugía (por ejemplo, resección del tumor). La resección quirúrgica (completa o parcial) puede incluir resección de tejido prostático, tejido circundante y/o tejidos distantes en que se sospecha o está confirmada metástasis (por ejemplo, ganglios linfáticos).
- 25

- “Muestra de tejido” se refiere a cualquier muestra biológica líquida, sólida o mixta obtenida de un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, cáncer de próstata que es útil para la evaluación de FOXA1, FOXC1, o cualquier otro marcador relevante para cáncer de próstata. Las muestras de tejido adecuadas incluyen muestras de sangre y fluidos sanguíneos (por ejemplo, suero y plasma), y muestras de tejido de próstata incluyendo los que pueden obtenerse mediante una biopsia o tras resección quirúrgica de la próstata, tejidos circundantes y/o tejidos distantes en que se sospecha o está confirmada metástasis.
- 30
- 35

Breve descripción de los dibujos

- Aspectos adicionales de la presente divulgación se apreciarán más fácilmente al revisar la descripción detallada de sus diversas realizaciones, descritas a continuación, cuando se tomen conjuntamente con los dibujos adjuntos.
- 40

La figura 1 es un gráfico lineal que muestra la supervivencia de pacientes que se ha diagnosticado que tienen cáncer de próstata, estratificados basándose en si su razón de FOXC1/FOXA1 es mayor que la razón de FOXC1/FOXA1 que demarca el percentil 50 dentro de la población del estudio, tal como se describe en el ejemplo 1.

45

Descripción detallada

- Cáncer de próstata:** El cáncer de próstata supone un gran desafío para la salud pública, con aproximadamente 219.000 nuevos casos diagnosticados y aproximadamente 27.000 muertes anuales en los Estados Unidos. Aproximadamente el 40-70% de los cánceres de próstata albergan una translocación cromosómica adquirida que tiene como resultado la fusión de la región promotora del gen de la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2) con la región codificante de miembros de la familia de factores de transcripción específica de transformación eritroblástica (ETS). El miembro de la familia de ETS más común en que se observa una translocación en el gen de TMPRSS2 es el homólogo del oncogén E26 del virus de eritroblastosis v-ets (avian) (ERG) que generalmente confiere un fenotipo más agresivo que los cánceres de próstata de otras etiologías.
- 50
- 55

- Genes FOX:** Los genes FOX codifican para un subgrupo de la clase de proteínas de hélice-giro-hélice. La disposición de los bucles que conectan las hebras β que flanquean una de las tres hélices α , da lugar a un aspecto similar a una mariposa, de ahí el nombre factores de transcripción en “hélice alada”. Es una estructura relativamente invariable, estando la mayoría de los aminoácidos conservados entre miembros de la familia. Todos los genes FOX pueden unir ADN y el efecto funcional de esto puede ser o bien la activación o bien la inhibición de la transcripción genética. A diferencia de los dominios de unión a ADN, casi no hay homología de secuencias entre los dominios de transactivación o represión de miembros de la familia FOX, y se sabe poco sobre sus interacciones con la maquinaria de transcripción. La familia FOX se ha implicado en diversos procesos celulares y son importantes en el desarrollo y la enfermedad embrionarios. Se sabe poco sobre el papel de la familia FOX en la próstata en desarrollo y adulta. La localización inmunohistoquímica de FOXA1 revela tinción nuclear epitelial de ambos miembros en la
- 60
- 65

próstata de ratón en desarrollo, pero sólo FOXA1 en la próstata de ratón adulta. FOXA1 es esencial para la morfogénesis ductal prostática completa tal como se mostró usando ratones deficientes en FOXA1.

El papel de diversos genes FOX en la progresión de cáncer de próstata podría explicarse por su interacción con la ruta del receptor de andrógenos (AR). EL AR es un receptor nuclear que se activa con la unión de testosterona o dihidrotestosterona y generalmente señala el crecimiento de células de cáncer de próstata [11]. Además de FOXA1 y FOXA2 mencionados anteriormente, también FOXG1, FOXH1, FOXO1 y FOXO3 afectan a la cascada de AR. El tema general es que estas proteínas FOX (todas excepto FOXO3) reprimen la actividad de AR uniéndose directamente con la proteína AR. Takayama *et al.* [12] apoyaron esta idea y mostraron que FOXO1 es un factor de transcripción que responde a andrógenos que regula negativamente la señalización de AR en células de cáncer de próstata.

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la razón de FOXC1:FOXA1 es un indicador de pronóstico en pacientes a los que se ha diagnosticado cáncer de próstata. En particular, una razón de FOXC1:FOXA1 alta indica un mal pronóstico para al menos un desenlace de pronóstico. La razón de FOXC1:FOXA1 también puede usarse para diagnosticar un cáncer de próstata y/o diferenciar un cáncer de próstata de hiperplasia prostática benigna (BPH).

Ejemplo 1: Identificación de la razón de FOXC1:FOXA1 como indicador de pronóstico

Población de pacientes

Con el fin de obtener un número suficiente de muestras de cáncer de próstata, se combinaron muestras de biopsia de dos cohortes en este estudio (véase, Setlur *et al.*, J. Natl. Cancer Inst. 100: 815-825, 2008).

Cohorte sueca: La cohorte sueca de conducta expectante basada en la población consiste en 1256 hombres con cáncer de próstata localizado. Estos hombres tenían síntomas de hiperplasia prostática benigna (síntomas de las vías urinarias bajas) y se les diagnosticó subsiguientemente cáncer de próstata. A todos los hombres en este estudio se les determinó en el momento del diagnóstico que tenían estadio clínico T1-T2, Mx, N0, según el sistema de estadificación de tumor-ganglios linfáticos-metástasis del American Joint Commission Committee de 2002 (Andren *et al.*, Sweden J. Urol. 175: 1337-1340, 2006; Varenhorst *et al.*, Scand. J. Urol. Nephrol. 39: 117-123, 2005). El tiempo de seguimiento prospectivo fue de hasta 30 años. La cohorte regional incluye hombres a los que se les diagnosticó en el Hospital Universitario en Örebro (1977-1991) y en cuatro centros en la región sudeste de Suecia: Kalmar, Norrköping, Linköping y Jönköping (1987-1999). Se incluyó un subconjunto de hombres de estas cohortes (n = 388) en el presente estudio. Los criterios de inclusión requerían la disponibilidad de más del 90% de células tumorales en comparación con el estroma o tejido benigno circundantes en la muestra de biopsia de prostatectomía radical transuretral (TURP) diagnóstica. Las muestras incluidas se derivaron de una proporción igual de hombres que murieron de cáncer de próstata o desarrollaron metástasis y hombres que vivieron un mínimo de 10 años libres de recidiva clínica de su enfermedad. De estos 388 pacientes, sólo se incluyeron en los análisis los 354 con resultados de fusión de TMPRSS2-ERG fiables.

Cohorte de confirmación de prostatectomía mediante el estudio de salud física (PHS): Esta cohorte incluyó 116 hombres de los EE.UU. a los que se les diagnosticó cáncer de próstata entre 1983 y 2003, y se les trató mediante prostatectomía radical como terapia primaria. Los hombres eran participantes de un ensayo aleatorizado en curso en la prevención primaria de cáncer y enfermedad cardiovascular. Sólo se incluyeron en los análisis los 101 pacientes con resultados de fusión de TMPRSS2-ERG fiables.

Procesamiento de las muestras y apareamiento, selección, ligamiento y extensión mediados por ADNc

Los patólogos del estudio identificaron mediante examen microscópico focos altamente enriquecidos para cáncer de próstata (>90%) de los cortes de tejido por. Se tomaron tres cilindros tisulares obtenidos por biopsia de 0,6 µm por paciente de estas áreas enriquecidas y se colocaron en un pocillo de una placa de 96 pocillos para extracción de ARN de alto rendimiento. Se utilizó el sistema de manejo de líquidos CyBi-Well (CyBio AG, Jenna, Alemania) para extracción de alto rendimiento. En primer lugar se desparafinaron los cilindros mediante incubación con 800 µl de Citrisolv (Fisher Scientific, EE.UU.) a 60°C durante 20 minutos y luego con 1,2 ml de Citrisolv:alcohol absoluto (2:1) a temperatura ambiente durante 10 minutos. Entonces se lavaron los cilindros con alcohol absoluto, se secaron a 55°C y se incubaron durante la noche a 45°C en 300 µl de tampón de lisis (NaCl 10 mM, Tris 500 mM, pH 7,6, EDTA 20 mM, SDS al 1%) que contenía 1 mg/ml de proteinasa K (Ambion, Austin, TX). Se extrajo el ARN del lisado usando el reactivo TRIzol LS (Invitrogen, Carlsbad, CA). Se añadió el reactivo TRIzol LS (900 µl) al lisado celular, seguido por 240 µl de cloroformo (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Se mezclaron las muestras completamente y se centrifugaron a 4°C, 5600g durante 40 minutos (se usaron los mismos ajustes de centrifugación para el resto del protocolo). Después de la centrifugación, se transfirió a una nueva placa la fase acuosa, y se precipitó el ARN mediante incubación con 620 µL de isopropanol (Sigma-Aldrich) a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió glucógeno (20 µg; Invitrogen) como portador. Se centrifugaron las muestras como anteriormente, y se lavó el sedimento con etanol al 80% (Sigma-Aldrich), se secó al aire, y se disolvió en agua libre de ARNasa. Se cuantificó el

ARN usando un espectrofotómetro NanoDrop (NanoDrop technologies, Wilmington, DE).

Se usó un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) con SYBR Green (QIAGEN Inc., Valencia, CA) para un gen de mantenimiento, la proteína ribosómica L13a (RPL13A), para estimar la calidad del ARN (se consideró que era buena calidad ARN con un umbral de cruzamiento, Ct, de menos de 30 ciclos). Las secuencias de cebador para RPL13A fueron tal como sigue: RPL13A-FWD, GTACGCTGTGAAGGCATCAA (SEQ ID NO: 1), y RPL13A-REV, GTTGGTGTTCATCCGCTT (SEQ ID NO: 2) (registro de GenBank NM_012423.2). Se realizó un ensayo de expresión DASL (Illumina Inc., San Diego, CA) usando 50 ng de ADNc según las instrucciones del fabricante.

Determinación del estado de fusión de TMPRSS2-ERG en muestras de biopsia

Se determinó el estado de fusión de TMPRSS2-ERG mediante ensayo de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) de ERG truncada y qPCR para casos no evaluables mediante FISH. Se utilizó una alícuota del ARN utilizado para DASL para la qPCR. Se sintetizó ADNc como anteriormente utilizando el kit Illumina (Illumina Inc., San Diego, CA). Se detectó el producto de fusión de TMPRSS2-ERG utilizando el ensayo con SYBR Green (QIAGEN) con cebadores dirigidos a la secuencia de fusión proporcionada en el código de registro de GenBank NM_DQ204772.1 (fusión del exón 1 de TMPRSS2 con el exón 4 de ERG). Se utilizó RPL13A como control positivo y un calibrador para la cuantificación. Se llevó a cabo cuantificación relativa usando el método comparativo $\Delta\Delta Ct$.

Se realizó FISH en los 472 cánceres de próstata de los que había tejido disponible. Para muestras con resultados de FISH no concluyentes, se utilizó qPCR para determinar el estado de fusión de TMPRSS2-ERG (se anotaron satisfactoriamente 455 cánceres, 354 de la cohorte sueca y 101 de la cohorte PHS). Estos experimentos indicaron que 62 (17,5%) de los tumores de próstata de pacientes en la cohorte sueca de conducta expectante (diagnosticados después de resecciones de próstata transuretrales por hiperplasia prostática benigna) fueron positivos para la fusión de TMPRSS2-ERG. Dentro de la cohorte PHS, se diagnosticaron la mayoría de cánceres (n=83 [82%]) a través de detección de antígeno prostático específico (PSA), y (n=41, [41%]) de los cánceres fueron positivos para fusión de TMPRSS2-ERG.

Determinación de la expresión del receptor de estrógenos en muestras de cáncer de próstata

Los receptores de estrógenos alfa ($ER\alpha$) y beta ($ER\beta$) pueden determinarse en muestras de tejido de cáncer de próstata utilizando reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), inmunotransferencia de tipo Western y/o cualquier otra técnica cuantitativa, semicuantitativa o cualitativa adecuada.

qPCR: Se extrae el ARN total de las muestras de cáncer de próstata y se somete a transcripción inversa (RT), sometiéndose aproximadamente 50 μ g de los ADNc resultantes a análisis de PCR. Puede llevarse a cabo RT-PCR usando cebadores para $ER\alpha$ y/o $ER\beta$ (por ejemplo, usando cebadores específicos para las secuencias diana provistas en los códigos de registro de GenBank NM_000125.2 y NM_001437.2, respectivamente). El ADNc puede sintetizarse usando el kit Omniscript RT (QIAGEN Inc.) y puede usarse cualquier gen de mantenimiento adecuado para normalización.

Inmunotransferencia de tipo Western: La expresión de $ER\alpha$ y $ER\beta$ puede evaluarse en muestras de tejido de cáncer de próstata. Pueden prepararse extractos de proteína en tampón RIPA (Tris 50 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, ortovanadato de sodio 2 mM, Nonidet P-40 al 0,1%, Tween 20 al 0,1%) con 1x cóctel de inhibidor de la proteasa Complete (Roche, Indianápolis, IN). La concentración de proteína puede determinarse usando el ensayo de proteína DC de Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). En un ejemplo, se cargan cantidades iguales (por ejemplo, 20 μ g) de proteína total en geles NuPAGE Tris-Bis al 4-12% (Invitrogen) y se transfieren a membranas de poli(fluoruro de vinilideno) Immobilon-P (Millipore, Billerica, MA). Entonces pueden incubarse las inmunotransferencias con anticuerpos primarios (por ejemplo, anticuerpo monoclonal anti- $ER\alpha$ de ratón [1:100, NeoMarkers, Labvision Corporation, Fremont, CA] o anticuerpo monoclonal anti- $ER\beta$ de ratón [1:200, clon 14C8, GeneTex Inc., San Antonio, TX]), lavarse tres veces con PBS que contiene Triton X-100 al 0,1% y detectarse usando cualquier metodología de detección adecuada (por ejemplo, incubarse con anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con peroxidasa (1:8000, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ), durante 1 hora). Puede usarse β -actina o cualquier otra proteína de mantenimiento adecuada como control para carga y transferencia de proteínas. Los complejos anticuerpo-proteína pueden detectarse usando cualquier medio adecuado incluyendo, por ejemplo, el sistema de análisis de inmunotransferencia de tipo Western ECL (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ).

Diseño de alineamiento de apareamiento, selección, ligamiento y extensión mediados por ADNc

Se desarrolló un conjunto de cuatro paneles de ensayo (DAP) de apareamiento, selección, ligamiento y extensión mediados por ADNc (DASL) para el descubrimiento de firmas moleculares relevantes para cáncer de próstata. Se priorizaron los genes informativos, es decir, genes que muestran expresión diferencial a través de muestras en conjuntos de datos de microalineamiento generados previamente (los conjuntos de datos están en <http://www.broad.mit.edu/cancer/pub/HCC>) que incluían 24 estudios, 2149 muestras y 15 tipos de tejido. Los genes

transcripcionalmente informativos en lo alto de la clasificación que mostraron la variación más grande en la expresión a través de los diferentes conjuntos de datos comprendían genes en la mayoría de las rutas biológicas conocidas. Para garantizar que se incluían los genes relacionados con cáncer de próstata en los DAP, se realizó un metanálisis de conjuntos de datos de microalineamiento anteriores de la base de datos Oncomine y se incluyó a partir de eso una lista de genes que se regulaban transcripcionalmente en cáncer de próstata. El alineamiento final consistió en 6144 genes (6K DAP).

Por tanto, se desarrolló un método de alto rendimiento para perfilar la expresión de 6144 genes en muestras de tejido archivadas. Se obtuvieron datos de expresión de alta calidad a partir de 472 de 504 (93,65%) de las muestras de cáncer de próstata (363 de la cohorte sueca y 109 de la cohorte PHS). Los datos se han depositado en el Gene Expression Omnibus de NCBI (GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) y son accesibles a través del número de serie de registro de GEO, GSE8402.

Se identificaron los niveles de expresión de FOXA1 y FOXC1 y se determinaron en 363 muestras y se determinó la mediana de la razón para la población (es decir, punto de corte para el percentil 50). Se generó una curva de supervivencia para la población que tenía una razón de FOXC1:FOXA1 por debajo de la mediana y se representó contra la curva de supervivencia para la población que tenía una razón de FOXC1:FOXA1 por encima de la mediana. Tal como se muestra en la figura 1, los pacientes con cáncer de próstata en el grupo de razón de FOXC1:FOXA1 inferior tenían un pronóstico significativamente mejor, en lo que se refiere a la duración de supervivencia global, en comparación con pacientes en el grupo razón de FOXC1:FOXA1 superior ($p=0,0005$). Esto demuestra que la razón de FOXC1:FOXA1 es un indicador de pronóstico útil para pacientes que se ha diagnosticado que tienen cáncer de próstata.

REIVINDICACIONES

1. Método para determinar el pronóstico de un cáncer de próstata en un sujeto que se ha diagnosticado que tiene cáncer de próstata, que comprende:

(i) determinar en una muestra de tejido de dicho sujeto, en el que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata, el nivel de proteína o ácido nucleico FOXA1, en el que el ácido nucleico FOXA1 es opcionalmente ARNm FOXA1,

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido, en el que el ácido nucleico FOXC1 es opcionalmente ARNm FOXC1,

(iii) calcular la razón de dicha proteína o ácido nucleico FOXC1 con respecto a dicha proteína o ácido nucleico FOXA1;

(iv) comparar dicha razón con una razón de FOXC1:FOXA1 comparable en una población de referencia de muestras que comprenden células de cáncer de próstata en las que está asociado un desenlace de pronóstico con cada una de las muestras de la población de referencia; e

(v) identificar que dicho sujeto tiene un mal pronóstico en relación con el desenlace de pronóstico cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es igual a o mayor que una razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, e identificar que dicho sujeto tiene un buen pronóstico en relación con el desenlace de pronóstico cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es menor que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, en el que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 se corresponde con al menos el percentil 50 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia.

2. Método según la reivindicación 1, en el que el cáncer de próstata comprende un cáncer seleccionado del grupo que consiste en un adenocarcinoma, un carcinoma de células pequeñas y un sarcoma prostático.

3. Método según la reivindicación 1 ó 2, en el que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 se corresponde con al menos el percentil 90 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia.

4. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el desenlace de pronóstico se selecciona del grupo que consiste en duración de supervivencia, supervivencia libre de acontecimiento y supervivencia libre de recidiva.

5. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que dicho método comprende además:

(vi) desarrollar un plan de tratamiento basado en la identificación de pronóstico de la etapa (v).

6. Método según la reivindicación 5, en el que el plan de tratamiento comprende (a) interrumpir al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un buen pronóstico, (b) mantener al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un buen pronóstico, (c) iniciar al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un buen pronóstico, (d) interrumpir al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un mal pronóstico, o (e) iniciar al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un mal pronóstico.

7. Método según la reivindicación 5, en el que el plan de tratamiento comprende aumentar la frecuencia, duración o dosis de al menos una terapia anticancerosa para un sujeto que tiene un mal pronóstico.

8. Método para diagnosticar un cáncer de próstata en un sujeto, que comprende:

(i) determinar en muestra de tejido de dicho sujeto, en el que se sospecha que dicha muestra de tejido comprende células de cáncer de próstata, el nivel de proteína o ácido nucleico FOXA1, en el que el ácido nucleico FOXA1 es opcionalmente ARNm FOXA1,

(ii) determinar el nivel de proteína o ácido nucleico FOXC1 en dicha muestra de tejido, en el que el ácido nucleico FOXC1 es opcionalmente ARNm FOXC1,

(iii) calcular la razón de dicha proteína o ácido nucleico FOXC1 con respecto a dicha proteína o ácido nucleico FOXA1;

(iv) comparar dicha razón con una razón de FOXC1:FOXA1 comparable en una población de referencia de muestras que se sabe que comprenden células de cáncer de próstata; e

- 5 (v) identificar que dicho sujeto tiene un cáncer de próstata cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es igual a o mayor que una razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, e identificar que dicho sujeto no tiene un cáncer de próstata cuando la razón de FOXC1:FOXA1 del sujeto es menor que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1, en el que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 se corresponde al menos con el percentil 20 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia.
9. Método según la reivindicación 8, en el que el cáncer de próstata comprende un cáncer seleccionado del grupo que consiste en un adenocarcinoma, un carcinoma de células pequeñas y un sarcoma prostático.
- 10 10. Método según la reivindicación 9, en el que la razón de punto de corte de FOXC1:FOXA1 se corresponde con al menos el percentil 75 de las razones de FOXC1:FOXA1 de la población de referencia.
- 15 11. Método según la reivindicación 9 ó 10, en el que dicho método comprende además:
(vi) desarrollar un plan de tratamiento basado en la identificación de diagnóstico de la etapa (v).
- 20 12. Método según la reivindicación 11, en el que el plan de tratamiento comprende (a) iniciar radioterapia, (b) iniciar quimioterapia o (c) una resección quirúrgica parcial del cáncer de próstata.

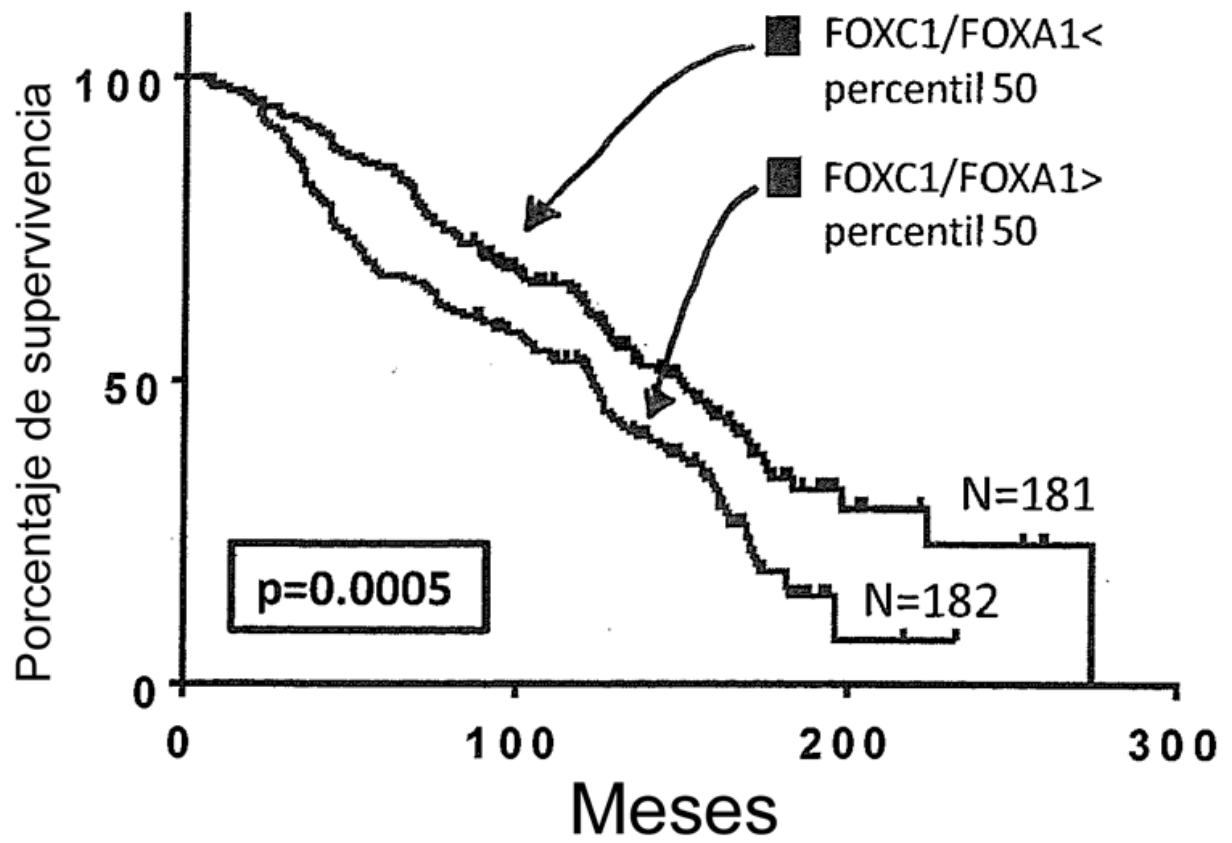


FIG. 1