

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-506310

(P2009-506310A)

(43) 公表日 平成21年2月12日 (2009.2.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 G O 4 1
GO 1 N 27/62 (2006.01)	GO 1 N 27/62 Z N A V	2 G O 4 5
GO 1 N 27/447 (2006.01)	GO 1 N 27/26 3 O 1 A	4 H O 4 5
CO 7 K 2/00 (2006.01)	GO 1 N 27/26 3 3 1 E	
	CO 7 K 2/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁)		

(21) 出願番号	特願2008-527477 (P2008-527477)	(71) 出願人	507067984
(86) (22) 出願日	平成18年8月28日 (2006.8.28)		モザイク・ダイアグノスティックス・アンド・セラピューティックス・アー・ゲー
(85) 翻訳文提出日	平成20年4月22日 (2008.4.22)		ドイツ国、3 O 6 2 5・ハノーファー、メ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2006/065742		レンドルフアー・シュトラッセ・7-9
(87) 国際公開番号	W02007/023191	(74) 代理人	100062007
(87) 国際公開日	平成19年3月1日 (2007.3.1)		弁理士 川口 義雄
(31) 優先権主張番号	05107840.0	(74) 代理人	100114188
(32) 優先日	平成17年8月26日 (2005.8.26)		弁理士 小野 誠
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100140523
			弁理士 渡邊 千尋
		(74) 代理人	100119253
			弁理士 金山 賢教
		(74) 代理人	100103920
			弁理士 大崎 勝真
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 膀胱癌の診断用ポリペプチドマーカー

(57) 【要約】

本発明は、膀胱癌（BC）の診断及び／又は膀胱癌の腫瘍段階を決定するための方法に関し、前記方法は、試料中の少なくとも6個のポリペプチドマーカーの存在もしくは不存在又は多さを決定する段階を含み、このポリペプチドマーカーは、マーカー1から836から選択され、分子量及び泳動時間（CE時間）により特徴づけされる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料中の少なくとも 6 個のポリペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さを決定する段階を含み、前記ポリペプチドマーカはマーカ 1 から 836 から選択され、次の分子量及び泳動時間（CE 時間）の値により特徴づけられる、膀胱癌（BC）の診断及び／又は膀胱癌の腫瘍段階を決定するための方法。

【表 1】

番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間
1	4933.97	17.2	60	1844.58	31.4	119	1935.96	13.6	178	1950.87	33.9	237	1073.36	35.39
2	4712.25	14.3	61	2130.97	29.6	120	2062.81	22.9	179	1649.76	17.9	238	1078.69	19.67
3	1071.54	16.3	62	2359.35	31.0	121	13372.32	25.9	180	1312.55	26.3	239	1082.55	24.37
4	3273.42	17.7	63	3343.58	28.5	122	1495.68	18.9	181	1438.47	35.2	240	1083.56	21.65
5	1130.37	33.3	64	3501.62	28.4	123	1513.49	35.4	182	3248.51	26.8	241	1096.41	35.91
6	1180.53	33.7	65	5675.31	19.0	124	1900.90	28.6	183	2742.26	25.3	242	1096.53	26.12
7	980.36	34.0	66	1312.64	17.6	125	3108.94	33.8	184	981.60	20.7	243	1098.56	21.42
8	11721.36	13.4	67	1867.68	30.4	126	1860.87	16.2	185	1679.97	19.3	244	1099.56	21.56
9	2077.12	16.8	68	2186.85	31.9	127	2194.68	14.3	186	801.43	22.7	245	1100.59	21.62
10	840.42	19.3	69	2414.51	33.6	128	3956.81	21.3	187	816.41	21.05	246	1101.54	22.21
11	2115.04	22.8	70	2739.24	24.8	129	1496.70	26.5	188	818.48	21.95	247	1106.52	26.02
12	3385.43	21.1	71	2907.36	33.9	130	3659.17	21.3	189	838.36	25.12	248	1109.68	21.06
13	4053.18	13.6	72	3031.42	34.0	131	13169.24	25.6	190	838.44	35.05	249	1114.54	25.52
14	4240.13	14.2	73	4345.89	30.6	132	1608.75	27.5	191	840.47	19.68	250	1114.57	21.27
15	1387.04	9.5	74	6211.67	14.6	133	1707.73	11.1	192	852.47	20.42	251	1124.58	21.04
16	2597.47	18.6	75	1080.52	22.9	134	1592.72	17.3	193	868.45	23.35	252	1125.55	24.9
17	2920.21	15.9	76	1142.80	10.9	135	2029.80	15.0	194	871.48	21.11	253	1125.58	21.77
18	4509.09	25.1	77	1321.74	10.6	136	13007.18	25.1	195	875.51	21.83	254	1126.52	21.2
19	8763.45	12.1	78	1750.77	19.5	137	2117.77	29.9	196	876.43	35.13	255	1126.57	25.61
20	1535.72	26.3	79	1989.90	29.3	138	2168.87	31.0	197	883.45	23.27	256	1134.63	23.68
21	911.28	31.9	80	2946.38	32.8	139	1916.86	31.3	198	884.36	24.91	257	1135.53	27.51
22	1191.54	34.5	81	4942.34	21.4	140	2802.78	34.7	199	892.32	35.22	258	1136.59	20.27
23	3759.90	12.8	82	1668.76	17.5	141	1111.77	10.8	200	906.34	34.93	259	1137.65	24.08
24	2973.43	20.0	83	1688.71	14.5	142	1806.84	18.5	201	906.51	21.89	260	1138.64	19.55
25	3325.67	15.4	84	1731.79	17.7	143	1594.71	26.1	202	912.55	20.04	261	1139.54	21.01
26	10042.81	12.2	85	1822.74	27.4	144	1778.76	27.0	203	914.49	23.75	262	1140.53	21.14
27	1380.67	19.3	86	3870.83	30.4	145	2582.95	19.0	204	915.28	35.24	263	1141.57	25.2
28	3502.70	12.5	87	4275.48	20.6	146	3605.63	21.22	205	931.51	19.99	264	1142.61	21.8
29	3632.63	15.9	88	1025.48	21.7	147	3765.31	42.77	206	935.49	23.76	265	1143.56	36.95
30	8559.22	13.2	89	1353.67	22.1	148	4067.63	31.22	207	936.49	21.43	266	1144.43	35.57
31	4960.86	15.6	90	1466.67	25.2	149	10640.4	19.68	208	939.51	23.79	267	1144.6	26.25
32	858.41	18.9	91	1588.73	26.7	150	2577.35	20.9	209	941.46	24.85	268	1150.61	22.42
33	847.40	20.0	92	1878.72	27.6	151	3292.55	37.5	210	944.55	21.35	269	1153.38	35.68
34	980.51	18.7	93	2933.31	24.1	152	2058.90	18.8	211	945.46	25.7	270	1153.57	26.34
35	1128.52	22.4	94	3338.45	19.3	153	3001.36	33.2	212	947.5	24.75	271	1154.57	36.72
36	1407.68	35.6	95	6055.63	15.6	154	2157.04	17.0	213	951.55	20.32	272	1155.55	20.77
37	2093.92	31.0	96	2266.00	17.2	155	2854.36	32.6	214	956.48	20.38	273	1157.58	37.41
38	2421.04	32.5	97	2939.05	31.1	156	1653.90	26.9	215	958.51	20.76	274	1159.63	20.75
39	1250.66	14.8	98	3021.39	18.9	157	2658.32	13.1	216	963.54	21.65	275	1159.64	26.09
40	3242.20	18.0	99	1299.60	17.6	158	3657.65	38.7	217	973.28	35.58	276	1160.6	26.14
41	1040.50	21.2	100	1405.68	14.3	159	1754.92	27.8	218	984.49	24.43	277	1162.59	20.26
42	3176.40	11.9	101	1526.72	19.3	160	1467.82	19.8	219	988.55	35.81	278	1165.55	37.15
43	2778.55	32.5	102	1630.78	15.4	161	1580.91	20.1	220	988.55	21.83	279	1166.62	22.8
44	1422.58	35.8	103	1865.83	30.0	162	2563.89	17.6	221	994.49	25.17	280	1168.58	26.23
45	3524.42	28.9	104	2687.24	25.4	163	2355.15	17.9	222	995.44	25.15	281	1169.61	23.85
46	3831.74	24.8	105	2756.27	32.8	164	3891.40	20.2	223	996.51	24.63	282	1170.64	21.61
47	2488.79	32.2	106	1200.84	10.7	165	1561.49	35.6	224	1009.47	20.96	283	1171.62	23.34
48	1099.51	24.9	107	1391.81	10.7	166	1576.63	23.1	225	1012.53	35.08	284	1173.58	37.51
49	1936.82	29.2	108	1487.68	26.1	167	1911.07	20.8	226	1016.31	35.67	285	1179.65	20.06
50	1265.61	23.4	109	1919.87	23.3	168	3265.47	19.8	227	1016.49	25.81	286	1181.62	26.06
51	3081.61	26.4	110	2063.48	14.1	169	2344.91	32.3	228	1027.55	24.6	287	1190.64	22.02
52	3266.48	26.5	111	2753.47	34.2	170	2743.98	32.8	229	1031.5	25.66	288	1196.37	36.14
53	3821.95	20.4	112	2864.16	28.5	171	3401.75	18.1	230	1037.57	21.98	289	1196.59	21.07
54	2407.10	24.0	113	3858.65	21.9	172	3425.87	26.1	231	1038.61	20.84	290	1198.6	26.05
55	1596.75	19.0	114	4015.96	24.4	173	5510.18	23.1	232	1042.54	25.13	291	1199.63	21.92
56	10341.75	18.1	115	1324.60	16.3	174	2356.70	33.5	233	1053.53	25.08	292	1200.59	24.21
57	4306.66	28.9	116	1793.60	15.4	175	3256.25	29.3	234	1056.57	25.49	293	1201.59	24.85
58	900.43	19.8	117	2215.79	30.7	176	12716.23	23.1	235	1066.52	25.96	294	1204.65	21.93
59	1645.74	15.9	118	1934.82	14.2	177	1050.49	23.3	236	1068.56	21.69	295	1209.58	26.26

10

20

30

40

番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間
296	1210.45	36.58	355	1396.68	28.05	414	1632.79	38.03	473	1863.95	44.05	532	2138.03	21.78
297	1210.61	20.92	356	1413.62	25.78	415	1633.83	19.58	474	1880.97	44.03	533	2146	52.45
298	1213.62	27.75	357	1417.69	20.01	416	1635.83	30.38	475	1885.96	21.26	534	2188.03	39.71
299	1215.49	27.61	358	1421.58	37.51	417	1636.79	20.1	476	1889.94	33.12	535	2192.08	22.16
300	1216.59	24.27	359	1423.68	21.47	418	1636.81	30.33	477	1891.65	54.28	536	2195.49	33.36
301	1217.58	35.91	360	1425.65	22.34	419	1638.8	20.24	478	1892.95	22.4	537	2197.94	34.23
302	1218.42	36.88	361	1436.79	22.82	420	1640.75	28.28	479	1893.06	24.64	538	2199.08	22.31
303	1219.62	26.92	362	1438.72	21.98	421	1658.68	21.55	480	1899.93	21.64	539	2207.16	43.61
304	1220.63	22.11	363	1439.72	29.7	422	1658.79	30.04	481	1911.05	30.74	540	2208	32.37
305	1221.63	26.86	364	1440.72	39.19	423	1660.76	37.7	482	1912.74	32.7	541	2208.97	31.75
306	1223.6	27.47	365	1440.75	21.63	424	1664.82	29.87	483	1916.85	20.35	542	2211.11	20.28
307	1226.58	21	366	1442.68	27.76	425	1668.87	40.47	484	1926.91	30.99	543	2212.06	33.53
308	1226.63	23.47	367	1444.49	36.69	426	1673.82	29.4	485	1927.99	19.53	544	2219.56	33.59
309	1230.6	21.74	368	1448.83	20.53	427	1674.83	20.71	486	1932.98	21.65	545	2227.05	33.42
310	1234.42	36.16	369	1449.7	21.84	428	1680.82	30.02	487	1933.95	21.63	546	2233.1	22.49
311	1234.61	27.41	370	1451.71	29.19	429	1684.74	31.42	488	1936.11	20.51	547	2237.06	27.1
312	1238.55	36.74	371	1452.72	23.55	430	1684.81	39.43	489	1938.96	21.33	548	2244.17	19.48
313	1238.63	21.86	372	1456.75	22.48	431	1689.86	27.62	490	1942.77	36.19	549	2248.75	22.52
314	1239.52	34.91	373	1457.68	22	432	1693.83	20.48	491	1945.07	33.71	550	2251.77	33.11
315	1241.6	26.68	374	1458.69	28.03	433	1693.84	23.48	492	1946.95	31.75	551	2264.12	22.67
316	1245.6	21.63	375	1460.71	20.31	434	1697.81	30.86	493	1949.97	21.66	552	2269.29	38.14
317	1247.58	22.02	376	1473.7	22.3	435	1698.67	37.53	494	1952.42	25.65	553	2279.57	23.77
318	1250.52	35.35	377	1474.75	19.94	436	1705.78	46.77	495	1955.04	25.29	554	2282.13	22.29
319	1257.63	26.86	378	1483.72	22.59	437	1708.85	31.08	496	1955.94	28.14	555	2283.12	26.51
320	1260.61	21.84	379	1487.71	29.58	438	1725.66	38.3	497	1969.43	32.31	556	2292.21	21.29
321	1263.6	22.72	380	1491.8	39.86	439	1728.84	36.74	498	1976.96	32.36	557	2302.38	26.16
322	1267.64	21.55	381	1493.74	22.11	440	1729.6	53.46	499	1977.99	32.21	558	2305.7	34.8
323	1281.64	27.16	382	1507.8	39.98	441	1737.85	31.04	500	1989.02	24.75	559	2310.15	41.24
324	1284.62	28.22	383	1508.77	23.17	442	1746.95	19.75	501	1992.02	22.05	560	2315.22	19.45
325	1284.69	21.88	384	1509.59	37.07	443	1749.88	30.61	502	1993.02	27.07	561	2318.29	26.28
326	1287.65	21.85	385	1510.72	28.39	444	1761.91	21.61	503	1993.96	32.2	562	2319.19	33.87
327	1296.65	19.37	386	1510.75	20.11	445	1764.86	29.97	504	1997.99	25.13	563	2320.79	22.48
328	1300.65	23.07	387	1522.78	22.81	446	1767.07	24.12	505	2004.02	24.63	564	2322.17	22.28
329	1304.66	21.85	388	1523.89	29.75	447	1768.9	20.78	506	2006.93	33	565	2323.14	22.39
330	1309.74	21.97	389	1524.72	20.02	448	1769.78	28.25	507	2008.03	22.13	566	2328.06	20.83
331	1310.64	27.14	390	1535.75	22.03	449	1773.87	34.89	508	2021.06	21.98	567	2332.08	50.2
332	1321.63	37.98	391	1540.81	39.97	450	1782.91	25.93	509	2022.97	33.39	568	2335.75	26.61
333	1321.65	28.4	392	1549.76	39.5	451	1783.86	39.94	510	2023.99	21.47	569	2339.08	34.01
334	1328.64	26.87	393	1552.57	37.35	452	1784.88	40.04	511	2026.1	25.66	570	2339.17	22.63
335	1338.66	23.99	394	1556.8	40.03	453	1786.66	38.34	512	2031	21.8	571	2343.49	20.08
336	1340.65	28.33	395	1560.69	22.08	454	1788.89	30.26	513	2035.07	40.19	572	2361.19	20.78
337	1349.48	36.47	396	1562.76	22.48	455	1794.84	30.49	514	2040.02	32.87	573	2367.48	34.22
338	1349.77	20.22	397	1563.77	29.56	456	1796.85	30.86	515	2042.14	25.21	574	2371.18	22.77
339	1350.65	21.56	398	1564.78	28.53	457	1798.79	37.33	516	2057.04	24.85	575	2377.19	20.79
340	1352.62	29.68	399	1567.77	20.2	458	1807.91	20.7	517	2065	24.48	576	2380.16	36.49
341	1352.83	24.47	400	1576.74	46.02	459	1813.78	31.79	518	2076.61	32.44	577	2389.33	22.4
342	1353.65	21.48	401	1577.75	40.06	460	1818.9	31.1	519	2078.05	22.47	578	2392.8	35.28
343	1358.44	36.46	402	1579.75	20.05	461	1821.88	30.43	520	2081.03	20.17	579	2394	23.93
344	1361.69	21.95	403	1579.78	29.83	462	1823.99	24.61	521	2087.96	19.46	580	2405.6	22.19
345	1362.72	22.13	404	1609.81	30.25	463	1825.87	31.81	522	2088.04	32.92	581	2410.16	23.45
346	1366.68	27.48	405	1610.91	30.12	464	1829.03	21.24	523	2088.95	23.68	582	2414.26	19.58
347	1368.68	21.7	406	1611.83	40.12	465	1834.9	31.15	524	2090.04	39.48	583	2430.19	28.28
348	1375.67	23.28	407	1611.89	23.27	466	1835.92	24.04	525	2095.53	24.83	584	2430.72	35.39
349	1378.67	28.85	408	1613.89	23.98	467	1838.89	27.03	526	2100.12	19.6	585	2436.15	22.8
350	1383.69	39.02	409	1619.78	22.6	468	1846.93	32.08	527	2110	24.11	586	2437.22	22.86
351	1390.5	37.05	410	1620.74	29.58	469	1852.96	25.14	528	2114.07	31.61	587	2445.8	28.15
352	1392.68	21.75	411	1620.79	22.71	470	1858.91	24.21	529	2118.04	27.72	588	2451.59	24.02
353	1395.71	22.59	412	1624.61	37.73	471	1859.9	24.38	530	2129.06	26.97	589	2471.25	34.76
354	1396.5	37.63	413	1631.78	47.02	472	1860.42	33.82	531	2134.04	27.78	590	2478.22	22.45

10

20

30

40

番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間	番号	質量	CE時間
591	2479.15	48.79	650	2989.4	24.42	709	3333.28	19.42	768	4083.75	31.32	827	8853.9	21.1
592	2485.16	34.39	651	2999.23	22.22	710	3333.8	23.85	769	4097.98	24.6	828	8917.52	22.55
593	2501.21	34.37	652	3002.47	23.95	711	3334.27	31	770	4113.77	24.46	829	10199.94	21.11
594	2502.73	22.84	653	3011.46	29.72	712	3336.48	39.43	771	4122.1	24.06	830	10753.72	19.71
595	2507.21	22.78	654	3013.27	22.28	713	3341.91	21.05	772	4124.05	21.49	831	10770.19	19.64
596	2518.4	22.8	655	3017.95	49.05	714	3356.38	25.56	773	4143.81	26.55	832	11041.95	21.98
597	2525.21	27.72	656	3023.33	24.55	715	3359.67	31.88	774	4196.47	20.96	833	11738.36	19.6
598	2534.56	22.81	657	3025.69	29.85	716	3363.69	30.21	775	4215.52	26.95	834	11967.98	20.48
599	2548.38	35.1	658	3035	42.23	717	3375.69	31.9	776	4217.98	26	835	14111.34	21.97
600	2551.32	34.75	659	3035.17	47.18	718	3386.16	22.7	777	4229.11	29.06	836	3266.45	22.73
601	2553.52	34.27	660	3038.11	22.42	719	3400.07	42.03	778	4278.77	23.34			
602	2557.15	28.17	661	3041.47	29.95	720	3416.82	36.78	779	4306	25.13			
603	2559.25	19.44	662	3044.98	34.34	721	3435.94	22.7	780	4322.14	25.18			
604	2565.18	23.74	663	3047.64	26.68	722	3457.46	35.83	781	4339	25.4			
605	2567.28	28.17	664	3056.94	45.28	723	3457.73	31.51	782	4352.98	20.17			
606	2570.28	42.66	665	3064.36	20.55	724	3472.36	21.75	783	4363.14	23.05			
607	2574.08	32.92	666	3076.33	19.64	725	3510.65	40.23	784	4369.07	20.21			
608	2580.19	23	667	3080.99	29.92	726	3521.07	30.74	785	4378.88	23.14			
609	2587.39	21.17	668	3091.41	28.33	727	3530.63	26.11	786	4381.08	34.13			
610	2599.26	28.18	669	3092.45	30.97	728	3531.46	30.16	787	4395.06	23.09			
611	2607.6	34.4	670	3092.51	36.23	729	3546.82	26.7	788	4415.72	22.53			
612	2616	28.34	671	3098.49	30.07	730	3559.71	24.89	789	4426.27	20.09			
613	2627.08	23.44	672	3112.42	22.44	731	3571.61	31.03	790	4436.04	26.25			
614	2632.18	24.96	673	3113.81	20.39	732	3582.7	19.47	791	4441.22	22.43			
615	2639.41	20.98	674	3114.66	30.3	733	3583.5	41.45	792	4483.33	25.4			
616	2668.46	42.02	675	3121.31	30.23	734	3590.72	29.01	793	4491.91	26.23			
617	2682.22	22.49	676	3129.86	35.93	735	3596.51	21.57	794	4538.61	26.35			
618	2702.1	38.01	677	3136.55	24.5	736	3603.92	20.21	795	4548.93	26.45			
619	2710.58	35.15	678	3139.44	29.48	737	3633.02	33.15	796	4550.95	23.31			
620	2723.92	23.81	679	3143.51	32.87	738	3633.71	27.02	797	4567.27	23.29			
621	2726.32	28.87	680	3145.49	38.8	739	3635.47	31.87	798	4583.7	35.76			
622	2726.37	42.94	681	3152.23	24.54	740	3669.71	24.13	799	4619.43	25.07			
623	2733.84	34.18	682	3158.6	29.69	741	3686.04	22.21	800	4637.97	25.75			
624	2742.36	42.12	683	3168.38	24.69	742	3696.88	26.94	801	4805.62	26.47			
625	2748.87	36.35	684	3178.26	30.25	743	3702.45	32.45	802	4817.33	23.86			
626	2754.36	29.64	685	3184.67	24.91	744	3703.85	22.51	803	4833.29	23.89			
627	2761.4	21.49	686	3193.27	22.63	745	3706.68	22	804	4849.07	23.86			
628	2777.61	21.54	687	3195.2	20.64	746	3710.86	19.6	805	4863.23	26.67			
629	2796.02	21	688	3202.2	30.52	747	3737.71	37.15	806	4864.81	23.88			
630	2810.46	36.66	689	3204.32	35.31	748	3738.58	24.74	807	4933.46	20.58			
631	2816.5	28.41	690	3219.43	35.05	749	3765.51	20.21	808	4976.46	20.62			
632	2821.19	23.73	691	3223.42	24.74	750	3774.84	22.9	809	5027.18	26.53			
633	2837.91	23.99	692	3240.47	25.2	751	3775.25	27	810	5039.24	25.56			
634	2839.42	24.17	693	3249.16	22.61	752	3775.9	25.28	811	5043.12	26.54			
635	2853.32	23.8	694	3258.51	22.89	753	3790.98	32.88	812	5090.45	20.1			
636	2861.32	50.73	695	3260.4	41.55	754	3816.45	21.94	813	5160.13	21.74			
637	2887.42	35.66	696	3261.35	22.17	755	3839.91	19.7	814	5229.59	25.1			
638	2889.19	24.09	697	3265.33	36.02	756	3864.66	33.71	815	5276.59	20.04			
639	2889.65	28.73	698	3271.39	30.75	757	3906.75	24.13	816	5495.5	19.52			
640	2903.72	35.61	699	3276.25	33.59	758	3935.56	34.14	817	5574.44	23.22			
641	2911	21.68	700	3282.79	30.09	759	3948.83	45.72	818	6186.07	24.91			
642	2914.57	24.28	701	3287.39	30.84	760	3968.68	21.11	819	6237.1	21.07			
643	2917.41	29.03	702	3290.39	24.1	761	4002.73	20.66	820	6491.14	19.44			
644	2924.58	22.97	703	3295.51	25.38	762	4008.95	23.57	821	6650.84	25.52			
645	2926.2	22.16	704	3298.48	36.06	763	4025.43	33.23	822	7907.23	19.59			
646	2932.36	34.11	705	3310.26	36.5	764	4042.93	33.13	823	7958.72	34.38			
647	2942.4	22.22	706	3314.41	20.12	765	4044.98	26.39	824	8289.54	19.54			
648	2977.61	29.14	707	3318.68	30.98	766	4069.65	25.2	825	8445.41	19.52			
649	2982.9	22.24	708	3325.9	54.11	767	4081.58	24.53	826	8837.64	21.06			

10

20

30

40

【請求項2】

決定されたマーカー1から149の存在又は不在の評価が、次の基準値を用いることにより行われる、請求項1記載の方法。

50

【表 2】

番号	BC群における発生率	対照における発生率	番号	BC群における発生率	対照における発生率	番号	BC群における発生率	対照における発生率
1	0.86	0.13	60	0	0.5	119	0.29	0.88
2	0.71	0	61	0	0.5	120	0.29	0.88
3	0.73	0.03	62	0	0.5	121	0.36	0.95
4	0.71	0.07	63	0	0.5	122	0	0.6
5	0.64	0.03	64	0	0.5	123	0	0.6
6	0.64	0.03	65	0	0.5	124	0	0.6
7	0.71	0.13	66	0.29	0.8	125	0	0.6
8	0.71	0.13	67	0.14	0.65	126	0.29	0.9
9	0.73	0.16	68	0.14	0.65	127	0.14	0.75
10	0.67	0.09	69	0.14	0.65	128	0.29	0.9
11	0.57	0	70	0.29	0.8	129	0.18	0.8
12	0.92	0.35	71	0.29	0.8	130	0.13	0.75
13	0.57	0	72	0.14	0.65	131	0.31	0.93
14	0.57	0	73	0.14	0.65	132	0.14	0.78
15	0.57	0.03	74	0.29	0.8	133	0	0.63
16	0.57	0.03	75	0.18	0.7	134	0.28	0.93
17	0.57	0.03	76	0.33	0.85	135	0	0.65
18	0.57	0.03	77	0.08	0.6	136	0.18	0.82
19	0.57	0.03	78	0.43	0.95	137	0.14	0.8
20	0.67	0.13	79	0.43	0.95	138	0.14	0.8
21	0.78	0.25	80	0.31	0.82	139	0	0.68
22	0.69	0.16	81	0.2	0.72	140	0	0.68
23	0.78	0.25	82	0.14	0.68	141	0	0.7
24	0.69	0.17	83	0.14	0.68	142	0	0.7
25	0.56	0.03	84	0.14	0.68	143	0	0.75
26	0.57	0.05	85	0.14	0.68	144	0	0.75
27	0.67	0.16	86	0	0.53	145	0.14	0.95
28	0.6	0.09	87	0	0.53	146	0.15	0.55
29	0.51	0	88	0.29	0.82	147	0.15	0.6
30	0.86	0.35	89	0.29	0.82	148	0.15	0.57
31	0.91	0.41	90	0.29	0.82	149	0.15	0.56
32	0.71	0.22	91	0.29	0.82			
33	0.51	0.03	92	0.29	0.82			
34	0.58	0.09	93	0.29	0.82			
35	0.89	0.41	94	0.29	0.82			
36	0.51	0.03	95	0.26	0.8			
37	0.73	0.25	96	0.43	0.97			
38	0.51	0.03	97	0.43	0.97			
39	0.62	0.16	98	0.43	0.97			
40	0.69	0.22	99	0.29	0.85			
41	0.58	0.13	100	0.14	0.7			
42	0.58	0.13	101	0.29	0.85			
43	0.73	0.38	102	0.14	0.7			
44	0.8	0.5	103	0.29	0.85			
45	0.42	0.72	104	0.29	0.85			
46	0.51	0.81	105	0.29	0.85			
47	0.44	0.75	106	0.26	0.82			
48	0.62	0.95	107	0	0.57			
49	0.57	0.9	108	0.26	0.82			
50	0.57	0.93	109	0	0.57			
51	0.29	0.65	110	0	0.57			
52	0.29	0.68	111	0	0.57			
53	0.42	0.81	112	0	0.57			
54	0.57	0.97	113	0.43	1			
55	0.14	0.55	114	0.24	0.81			
56	0.31	0.78	115	0.14	0.72			
57	0.33	0.81	116	0.14	0.72			
58	0	0.5	117	0.14	0.72			
59	0	0.5	118	0.29	0.88			

【請求項 3】

マーカー 150 から 185 の多さの評価が、次の基準値を用いることにより行われる、

10

20

30

40

50

請求項 1 記載の方法。

【表 3】

番号	BC群における平均 多さ [ppm]	対照試料における 平均多さ [ppm]	番号	BC群における平均 多さ [ppm]	対照試料における 平均多さ [ppm]
150	512	234	168	2602	981
151	4341	11833	169	321	745
152	320	107	170	106	308
153	4943	19582	171	596	1337
154	831	404	172	4128	10960
155	1615	4183	173	761	1961
156	882	2816	174	200	428
157	532	573	175	2150	4372
158	922	2703	176	995	2026
159	3070	7231	177	215	654
160	1863	3755	178	215	449
161	2322	5187	179	281	574
162	6370	1431	180	691	1578
163	1394	580	181	1860	4502
164	1039	428	182	1078	6650
165	225	542	183	406	846
166	769	1578	184	342	1360
167	42329	112162	185	1425	10166

【請求項 4】

マーカー 1 8 6 から 8 3 6 の多さの評価が、次の基準値を用いることにより行われる、請求項 1 記載の方法。

10

20

【表 4】

番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ
186	119.63	80.79	245	224.51	141.51	304	173.39	55.41	363	430	232.16
187	77.4	56.61	246	183.13	124.78	305	148.48	73.15	364	550.02	691.79
188	44.83	19.49	247	106.82	88.51	306	156.84	179.86	365	1968.51	197.72
189	75.44	45.2	248	3078.26	140.75	307	469.03	595.19	366	350.92	381.91
190	118.21	235.42	249	3190.15	3178.22	308	133.11	102.43	367	706.87	835.85
191	74.62	33.56	250	368.81	72.76	309	792.94	497.12	368	2384.33	175.16
192	374.91	44.29	251	256.09	245.38	310	1537.92	2939.46	369	3854.98	5258.01
193	157.08	123.78	252	130.05	134.05	311	1580.14	1795.44	370	14948.2	21376.3
194	453.57	10.31	253	448.49	239.5	312	193.48	190.55	371	728.16	250.02
195	88	45.2	254	232.48	315.01	313	794.93	201.72	372	552.5	144.36
196	90.46	720.98	255	205.39	158.14	314	928.42	699.24	373	210.05	246.6
197	111.95	85.68	256	404.85	342.62	315	143.26	115.01	374	347.41	249.22
198	410.43	469.76	257	249.07	176.66	316	303.03	129.16	375	207.87	315.21
199	427.05	319.41	258	94.05	45.1	317	1342.16	932.91	376	357.91	878.46
200	83.12	93.94	259	175.28	119.61	318	1790.3	3379.16	377	274.83	200.69
201	102.07	57.89	260	202.45	124.75	319	746.14	204.66	378	852.25	552.92
202	238.89	119.03	261	853.59	1140.19	320	706.29	396.08	379	427.78	628.41
203	111.31	90.37	262	1327.35	1993.54	321	609.39	342.54	380	344.12	480.68
204	195.66	197.97	263	356.82	284.59	322	201.07	279.53	381	10371.5	253.26
205	223.5	223.37	264	265.05	150.92	323	440.59	252.99	382	1974.82	2562.08
206	149.65	149.75	265	558.75	451.29	324	1500.12	166.99	383	869.39	408.55
207	159.86	56.01	266	221.77	143.72	325	231.13	194.08	384	72.76	94.63
208	353.83	70.68	267	1128.53	72.92	326	690.08	362.46	385	441.96	297.83
209	79.65	40.47	268	331.84	200.42	327	239.27	204.76	386	401.89	356.62
210	669.1	617.85	269	505.65	421.74	328	312.93	156.8	387	1259.94	1584.04
211	153.61	135.8	270	261.75	225.98	329	325.22	238	388	1178.53	2616.54
212	163.45	287.56	271	169.57	130.21	330	8160.78	334.35	389	358.67	507.39
213	1141.91	27.72	272	266.62	223.68	331	271	198.75	390	482.45	537.75
214	216.39	127.03	273	1362.12	1707.78	332	543.53	962.52	391	1542.53	2790.5
215	833.58	39.12	274	294.36	402.59	333	10101.8	12695.3	392	503.57	330.15
216	139	88.24	275	221.55	166.84	334	459.58	129.16	393	2430.83	3353.77
217	397.21	292.45	276	335.58	44.14	335	648.02	415.43	394	523.9	843.44
218	126.14	93.76	277	259.95	223.47	336	163.79	121.63	395	478.99	596.56
219	421.86	309.18	278	768.74	684.34	337	205.35	258.72	396	1207.17	1548.95
220	136.07	221.65	279	251.7	214.42	338	4607.6	550.93	397	248.65	483.71
221	152.19	120.89	280	169.01	89.8	339	112.46	181.81	398	166.63	140.29
222	219.55	145.69	281	206.44	145.14	340	1168.83	221.78	399	1049.78	696.02
223	125.21	31.02	282	3791.23	83.4	341	407.83	425.82	400	3862.62	4198.48
224	84.53	308.11	283	147.66	91.52	342	429.65	329.69	401	733.5	999.31
225	83.05	172.95	284	257.97	474.54	343	1760.83	2575.03	402	5193.79	7951.13
226	1842.39	1141.1	285	2312.84	72.28	344	514.01	309.71	403	2139.76	2730.17
227	1324.02	1031.5	286	2355.55	150.4	345	2515.14	115.68	404	916.36	816.75
228	350.65	89.47	287	1856.18	0	346	565.18	631.08	405	1684.49	1580.08
229	170.43	64.39	288	22744.1	27845.6	347	348.79	312.62	406	237.78	343.53
230	190.08	78.16	289	579.96	1024.9	348	184.84	126.88	407	2026.66	464.44
231	489.23	26.8	290	181	79.4	349	1992.63	2743.26	408	196.63	264.47
232	1996.47	72.63	291	449.65	287.08	350	4620.61	341.71	409	304.49	439.85
233	188.24	95.18	292	8039.6	6153.2	351	21183.3	33275.8	410	337.51	477.51
234	161.17	119.99	293	400.81	327.89	352	3541.13	4832.9	411	255.82	416.12
235	103.9	97.75	294	310.29	151	353	267.96	178.61	412	1221.53	1619.64
236	480.36	237.07	295	1031.54	860.46	354	260.72	600.85	413	9331.13	14100.7
237	5707.2	7336.8	296	633.16	564.48	355	598.13	660.69	414	197.33	300.63
238	379.06	56.43	297	218.71	298.42	356	318.88	381.49	415	212	165.73
239	308.98	301.08	298	687.69	58.53	357	784.39	610.28	416	1346.36	1460.35
240	462.23	78.2	299	462.1	597.81	358	394.52	233.81	417	820.34	1192.4
241	194.93	151.59	300	1581.02	1215.02	359	2575.84	1071.44	418	1548.36	1967.46
242	5055.93	4175.1	301	2630.29	3679.53	360	2460.15	3145.77	419	1218.82	1006.41
243	366.14	189.83	302	979.29	1913.27	361	1463.89	405.51	420	218.44	251.93
244	367.44	170.6	303	243.92	96.75	362	330.7	296.81	421	667.59	467.84

10

20

30

40

番号	BC群における平均 多さ	対照にお ける平均 多さ	番号	BC群にお ける平均 多さ	対照にお ける平均 多さ	番号	BC群にお ける平均 多さ	対照にお ける平均 多さ	番号	BC群にお ける平均 多さ	対照にお ける平均 多さ
422	630.62	817.36	481	16250.01	1560.5	540	116.27	110.6	599	411.12	893.15
423	1128.79	1580.15	482	945.07	559.31	541	286.2	368.78	600	297.54	266.17
424	584.6	641.55	483	1339.21	1514.58	542	355.35	522.74	601	1122.23	1242.63
425	923.66	1154.89	484	358.02	192.21	543	3635.8	755.11	602	140.12	176.5
426	245.2	209.04	485	232.09	187.49	544	282.24	163.79	603	2821	1369.9
427	208.86	122.78	486	684.31	479.07	545	258.35	676.03	604	894.97	169.59
428	2141.81	2794.73	487	728.45	407.72	546	336.29	179.19	605	342.43	207.05
429	2673.32	3482.39	488	196.89	476.3	547	411.08	341.22	606	5208.16	8436.04
430	194.01	349.03	489	633.98	149.83	548	288.6	126.04	607	109.36	126.02
431	244.32	190.7	490	91.61	147.08	549	433.38	207.91	608	5005.47	886.26
432	171.13	269.09	491	502.32	282.04	550	468.04	764.16	609	385.8	404.35
433	389.06	220.01	492	441.16	507.47	551	514.82	290.72	610	384.35	2017.29
434	950.01	1103.05	493	714.01	210.4	552	309.49	252.04	611	1447.69	90.16
435	737.26	1145.11	494	349.59	153.45	553	352.9	63.73	612	189.43	158.12
436	698.31	1006.16	495	269.05	450.84	554	832.83	559.35	613	886.48	201.67
437	1034.44	1328.66	496	403.2	515.62	555	213.46	131.69	614	171.69	342.56
438	1549.89	2565.32	497	513.8	133.24	556	2691.55	211.72	615	712.07	723.54
439	242.37	346.97	498	295.46	431.46	557	5649.48	1095.48	616	604.67	979.18
440	4225.33	7163.11	499	790.03	915.09	558	267.74	274.93	617	645.45	1001.2
441	2026.98	2749.89	500	411.21	61.58	559	197.06	351.22	618	367.72	477.68
442	1669.33	64.04	501	1600.21	707.59	560	322.71	181.52	619	188.76	457.6
443	453.3	412.54	502	185.12	169.93	561	1774.17	965.1	620	612.89	94.01
444	284.09	110.58	503	211.53	252.44	562	674.15	1019.16	621	225.78	223.31
445	452.02	464.12	504	202.48	131.9	563	514.89	202.92	622	3910.57	6523.87
446	10928.25	6009.48	505	106.45	139.9	564	280.12	231.27	623	258.4	256.33
447	248.66	244.14	506	172.8	123.01	565	612.61	484.55	624	693.23	913.29
448	544.89	495.75	507	2238.19	1347.32	566	305.8	281.04	625	92.22	168.82
449	91.29	220.69	508	4881.51	210.22	567	6126.15	6394.03	626	338.07	497.04
450	690.87	378.52	509	386.33	241.64	568	564.34	127.81	627	1743.21	858.44
451	372.26	469.99	510	389.85	197.63	569	895.57	671.47	628	1934.06	274.04
452	695.43	437.27	511	1044.25	1860.09	570	234.83	74.14	629	3254.92	22.36
453	197.46	344.87	512	911.8	213.78	571	918.01	306.21	630	173.04	158.48
454	636.99	851.23	513	165.39	235.62	572	490.15	215.39	631	375.54	200.28
455	109.04	132.39	514	366.71	78.89	573	340.36	561.18	632	317.73	93
456	114.34	159.23	515	3952.23	943.15	574	293.37	165.07	633	2739.3	1120.66
457	247.87	278.24	516	394.1	154.31	575	1457.87	1267	634	563.71	786.49
458	1565.61	2420.43	517	721.07	344.83	576	186.86	193.04	635	1199.43	277.21
459	2149.51	2722.27	518	866.53	120.51	577	15200.82	840.95	636	744.12	919.2
460	1761.85	1313.47	519	384.56	159.41	578	445	510.51	637	346.57	197.87
461	458.34	487.39	520	1491.26	589.3	579	503.8	219.86	638	1090.93	283.03
462	1518.75	1405.34	521	969.57	410.04	580	3363.04	542.25	639	290.46	140.43
463	339.47	310.42	522	1522.66	1334.42	581	399.54	283.96	640	111.85	66.25
464	9070.76	1838.11	523	145.86	141.48	582	1073.6	416.48	641	455.21	420.21
465	3861.14	2831.77	524	189.68	287.18	583	344.17	359.53	642	345.83	199.62
466	423.42	203.85	525	1514.05	111.26	584	679.11	618.79	643	1651.16	1011.11
467	283.34	170.89	526	270.67	55.86	585	657.73	217.1	644	4741.83	614.65
468	367.72	315.21	527	223.41	313.99	586	3920.85	58.99	645	697.29	334.7
469	1424.84	339.86	528	220.43	162.9	587	192.77	218.19	646	277.24	288.32
470	1243.61	366.74	529	775.4	654.44	588	417.28	103.5	647	4690.58	3358.31
471	519.88	332.05	530	115.96	136.71	589	331.42	405.5	648	240.79	294.91
472	457.11	528.19	531	2682.19	2753.18	590	2854	126.77	649	641.99	200.78
473	1906.66	2592.95	532	1004.59	725.68	591	809.25	1010.64	650	371.35	238.75
474	840.95	1804.57	533	24215.6	23635.89	592	262.72	539.84	651	2349.83	1291.14
475	285.04	113.11	534	1380.23	1722.54	593	146.88	411.88	652	193.38	143.66
476	232.38	117.03	535	635.5	466.98	594	8079.35	1105.07	653	1226.05	1935.03
477	4444.41	11160.44	536	590.85	530.1	595	488.35	132.06	654	5138.39	3725.55
478	698.61	390.57	537	205.17	252.33	596	3335	859.68	655	3230.3	7444.98
479	648.4	507.64	538	262.07	133.39	597	516.5	679.53	656	746.95	386.71
480	442.16	240.49	539	236.94	716.14	598	1181.54	168.71	657	239.61	201.28

10

20

30

40

番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ
658	464.77	869.33	717	869.93	987.76	776	5071.3	7395.4	835	900.1	189.35
659	210.32	980.59	718	35304.9	419.08	777	271.15	292.43	836	4098.86	2173.05
660	3851.92	329.08	719	295.28	457.92	778	502.9	356.61			
661	2485.76	2717	720	97.18	91.86	779	4550.74	733.37			
662	347.83	623.37	721	5238.18	742.94	780	811.84	153.69			
663	145.28	189.73	722	1105.15	2446.05	781	5268.58	6177			
664	479.37	1413.9	723	15994.6	18395.9	782	964.7	441.9			
665	690.96	407.33	724	25574.2	56.87	783	1288.41	1241.8			
666	440.32	770.9	725	223.22	334.29	784	761.9	106.33			
667	348.99	416.59	726	390.33	591.38	785	302.57	220.29			
668	321.33	612.28	727	874.08	1016.73	786	441.39	34.69			
669	330.69	333.64	728	129.08	109.04	787	4805.19	408.09			
670	465.29	768.38	729	287.17	386.91	788	724.85	750.37			
671	804.23	897.03	730	938.84	1689.36	789	2797.11	4381.9			
672	331.26	117.39	731	249.13	373.29	790	1660.28	627.22			
673	18864.8	34.43	732	2681.59	934.95	791	82.16	51.86			
674	222.74	256.29	733	518.6	570.92	792	1500.15	777.08			
675	777.58	927.95	734	304.49	410.25	793	131.83	184.79			
676	218.75	161.04	735	515.18	321.95	794	1950.66	1314.3			
677	675.28	307.55	736	719.9	389.6	795	445.08	140.52			
678	1427.9	1826.7	737	162.63	213.43	796	421.99	182.5			
679	1500.77	1729	738	202.87	327.64	797	426.27	390.57			
680	1179.77	1493.4	739	310.7	366.38	798	498.29	564.91			
681	1035.25	621.15	740	1057.06	967.69	799	483.58	288.48			
682	827.45	539.76	741	1305.72	1525.5	800	177.85	148.57			
683	928.3	504.81	742	406.27	251.43	801	1927.19	290.82			
684	379.72	200.01	743	209.98	332.04	802	1908.71	378.98			
685	454.16	274.58	744	779.02	507.03	803	1356.99	309.29			
686	1247.87	797.98	745	509.21	780.22	804	590.4	454.65			
687	21125.9	178.01	746	550.52	205.81	805	479.33	263.09			
688	131	156.14	747	303.67	178.71	806	1688.17	334.94			
689	86.47	120.23	748	391.6	345.85	807	2524.15	1194			
690	184.62	196.27	749	161.04	486.26	808	613.82	295.85			
691	326.21	74.96	750	1633.21	1883.97	809	1847.5	1489			
692	467.89	307.96	751	1948.88	819.34	810	551.98	311.34			
693	796.96	485.58	752	947.01	1410.71	811	908.48	388.74			
694	2248.11	1306	753	88.29	103.94	812	124.16	66.69			
695	492.82	227.88	754	748.98	398.24	813	1567.12	859.71			
696	443.67	725.02	755	5654.78	2358.14	814	537.13	331.57			
697	810.12	535.52	756	176.88	284.44	815	1081.92	743.86			
698	998.77	1170	757	641.35	134.74	816	1288.32	753.52			
699	192.96	140.39	758	193.83	250.67	817	1522.33	1216.1			
700	115	132.51	759	265.87	443.61	818	3743.12	844.55			
701	2241.77	2710.4	760	1611.2	2134.8	819	211.47	155.57			
702	770.19	988.21	761	895	953.08	820	232.71	324.57			
703	401.99	247.99	762	4307.33	1318.11	821	311.5	454.92			
704	360.05	552.79	763	425.51	320.2	822	433.81	689.88			
705	107.75	98.14	764	157.27	248.54	823	2674.9	1470.8			
706	998.83	1032.7	765	2159.53	4308.89	824	2022.24	1507.3			
707	164.07	209.94	766	601.24	540.73	825	4346.69	2618.9			
708	1627.4	1118.7	767	259.57	190.8	826	2344.92	1552.8			
709	763.49	250.07	768	268.04	788.11	827	898.51	575.57			
710	773.85	675.53	769	1124.91	947.92	828	901.65	505.99			
711	155.22	286.79	770	345.81	258.56	829	1946.95	9898.6			
712	1272.34	2512.1	771	4076.84	585.19	830	961.96	4337.1			
713	27791.3	1191.1	772	1545.75	627.71	831	1561.13	2095.7			
714	459.25	281.17	773	635.06	927.49	832	5309.3	1583.6			
715	941.28	1159	774	1015.92	550.41	833	532.67	313.23			
716	341.85	213.77	775	475.86	490.03	834	855.38	600.48			

【請求項 5】

請求項 1 に記載の少なくとも 10 又は 20 又は 100 又は全部のポリペプチドマーカ
 が使用される、請求項 1 から 4 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 6】

10

20

30

40

50

被験者から得られる前記試料が尿試料又は血液試料（血清又は血漿試料）である、請求項 1 から 5 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 7】

キャピラリー電気泳動、H P L C、気相イオン分光分析及び／又は質量分析が、ポリペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さを検出するために用いられる、請求項 1 から 6 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 8】

キャピラリー電気泳動を、前記ポリペプチドマーカの分子量を測定する前に実施する、請求項 1 から 7 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記ポリペプチドマーカ（一つ又は複数）の存在又は不在を検出するために質量分析法を使用する、請求項 1 から 8 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記方法が膀胱癌の診断に用いられる、請求項 1 から 9 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記方法が膀胱癌の腫瘍段階を決定するために用いられる、請求項 1 から 9 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 12】

前記方法が膀胱癌の診断及び同時に膀胱癌の腫瘍段階を決定するために用いられる、請求項 1 から 9 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 13】

膀胱癌の診断及び／又は腫瘍段階の決定のための、分子量及び泳動時間について請求項 1 に記載の値により特徴づけられる、マーカー No. 1 から 836 から選択される少なくとも 1 つのペプチドマーカの使用。

【請求項 14】

a) 試料を少なくとも 3 個、好ましくは 10 個の二次試料に分ける段階；

b) 少なくとも 2 つの二次試料を、試料中の少なくとも 1 つのポリペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さを決定するために分析する段階（ここで、前記ポリペプチドマーカはマーカー 1 から 836 から選択され、分子量及び泳動時間（C E）時間により特徴づけられる。）

を含む、膀胱癌（B C）の診断法。

【請求項 15】

a) 試料を少なくとも 3 個、好ましくは 10 個の二次試料に分ける段階；

b) 少なくとも 2 つの二次試料を、試料中の少なくとも 1 つのポリペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さを決定するために分析する段階（ここで、前記ポリペプチドマーカはマーカー 1 から 836 から選択され、請求項 1 に記載の分子量及び泳動時間（C E）時間により特徴づけられる。）

を含む、膀胱癌の腫瘍段階を決定する方法。

【請求項 16】

少なくとも 10 個の二次試料が測定される、請求項 14 又は 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

前記 C E 時間が、25 k V の印加電圧における、長さ 90 c m および 50 μ m の内径（I D）のガラスキャピラリーに基づいており、20 % のアセトニトリル、水中 0.25 % ギ酸が移動溶媒として使用される、請求項 1 から 16 の少なくとも一項に記載の方法。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の分子量及び泳動時間（C E 時間）により特徴づけられる、マーカー 1 から 836 から選択される少なくとも 10 個のマーカーを含む、マーカーの組み合わせ。

【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、膀胱癌の（分別的）診断のための、被験者からの試料における一つ以上のペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さの使用に関し、及び一つ以上のペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さが膀胱癌の存在及び腫瘍段階を示す、膀胱癌の診断のための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

膀胱癌は膀胱の粘膜上の悪性腫瘍である。膀胱癌は最も一般的な悪性疾患の1つである。泌尿器の分野においては、前立腺癌に次いで2番目に多い悪性疾患である。ドイツ語圏においては、年間100,000人のうち約22人の発生率である。男性において、膀胱癌は女性の約2倍から3倍の頻度で起こる。ドイツ連邦共和国において、毎年、推定13,000人の男性及び5,000人の女性がこの疾患にかかっている。膀胱癌は高齢者の疾患である。疾病リスクは、40才から加齢に伴って増加する。

【0003】

膀胱癌の診断：

真の早期発見は膀胱癌に関しては存在しない。尿中に血液があるか、又は排尿に問題がある場合、早急に医師の診断を受けることが緊急に推奨される。場合によっては、これにより膀胱癌を早期に検出することができる。膀胱において腫瘍の恐れがあるならば、例えば、尿中に血液が観察されるならば、又は膀胱刺激の症状が継続しているならば、膀胱鏡検査法が行われる。検査員が膀胱壁における腫瘍を検査すると、どの壁層に腫瘍が達しているかを評価することができ、さらに試料を採取し、これを次に顕微鏡で検査することができる。腫瘍増殖に応じて、表面のおよび浸潤の（組織に侵入している）癌が区別される。後者はすでに膀胱の筋肉中に増殖し、隣接する器官（例えば、男性における前立腺又は女性における子宮）中に広がり得る。粘膜腫瘍の組織学的病理学的分類はTNMシステムに従って行われる。

【0004】

表面癌腫：

p T a = 粘膜（尿路上皮）の非侵襲乳頭状癌腫

p T c i s = インサイチュー内癌腫

p T 1 = 粘膜下（上皮下の結合組織）への浸潤、下位分類 p T 1 a - c

浸潤癌腫：

p T 2 = 筋肉層（筋固有層）の浸潤、下位分類 p T 2 a - b

p T 3 = 筋肉層を超えて増殖、下位分類 p T 3 a - b

p T 4 = 隣接器官、例えば、前立腺、子宮、膣、骨盤壁の浸潤

【0005】

加えて、全尿路の放射線検査（尿路造影）を行うことができる。補足的に、尿を顕微鏡下で悪性細胞について試験する。段階に分類するために、さらなる診断法、例えば、超音波検査、C T（コンピュータ断層撮影法）又はM R T（磁気共鳴断層撮影）が用いられる。腹部の超音波検査により、腫瘍の位置及びサイズを明らかにすることができる。加えて、尿の蓄積について腎臓を調べるためにこのような検査が用いられ、リンパ節及び肝臓が転移について調べられる。

【0006】

前述のように、膀胱癌の実用的な早期検出はない。今日まで、明らかな診断は侵襲性の介入、例えば膀胱鏡検査及び組織バイオプシーを伴う。従って、できるだけ侵襲性が少なく、迅速で低コストの膀胱癌の診断及び腫瘍段階を決定するプロセス及び方法を提供する目的があった。

【0007】

V l a h o u e t a l . , A m e r i c a n J o u r n a l o f P a t h o l o g y 1 5 8 (2 0 0 1) , 1 4 9 1 - 1 5 0 1 は、S E L D I を用いた「移行細胞癌

10

20

30

40

50

」(TCC)の患者からの尿試料の分析を記載している。SELDI技術の低い分解能のために、平行してごくわずかのマーカーしか検出できない。この結果、診断の感度及び特異性が低くなり、ブラインドテストにおいて認証できなかった。

【0008】

W. Liu et al., European Urology 47 (2005), 456-462も、尿試料のSELDI分析を記載している。見出された少数のマーカーは分析の特異性が不十分である。

【0009】

Vlahouら及びLiuらにより同じ技術が採用されているにもかかわらず、2つの研究において異なるマーカーが見出され、このことにより、この手順の妥当性は存在しないことが明らかになる。さらに、マーカーについて記載された質量値は非常に不明確であるので、対応する測定は再現不能である又は質量は個々の物質について明確に帰属できない。

10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

先行技術の記載された欠点を克服し、特に個々のペプチドに明確に帰属でき、膀胱癌の診断及び／又は腫瘍段階の決定に適したポリペプチドマーカーを定義することが本発明の目的であった。

【課題を解決するための手段】

20

【0011】

意外にも、今や、被験者からの試料中の特定ペプチドマーカーが膀胱癌の診断のため、及び膀胱癌腫の腫瘍段階を評価するための両方に使用できることが見出された。

【0012】

したがって本発明は、膀胱癌の診断のための、被験者からの試料における少なくとも1個のポリペプチドマーカーの存在もしくは不在又は多さ(amplitude)の使用に関し、前記ポリペプチドマーカーは、表1に示す分子量についての数値によって特徴付けられる、ポリペプチドマーカーNo. 1から836から選択される。

【0013】

【表 5】

表 1 : 膀胱癌の診断のためのポリペプチドマーカー及びこれらの分子量並びに泳動時間 (CE時間)

番号	質量	CE 時間	番号	質量	CE 時間	番号	質量	CE 時間	番号	質量	CE 時間	番号	質量	CE 時間
1	4933.97	17.2	60	1844.58	31.4	119	1935.96	13.6	178	1950.87	33.9	237	1073.36	35.39
2	4712.25	14.3	61	2130.97	29.6	120	2062.81	22.9	179	1649.76	17.9	238	1078.69	19.67
3	1071.54	16.3	62	2359.35	31.0	121	13372.32	25.9	180	1312.55	26.3	239	1082.55	24.37
4	3273.42	17.7	63	3343.58	28.5	122	1495.68	18.9	181	1438.47	35.2	240	1083.56	21.65
5	1130.37	33.3	64	3501.62	28.4	123	1513.49	35.4	182	3248.51	26.8	241	1096.41	35.91
6	1180.53	33.7	65	5675.31	19.0	124	1900.90	28.6	183	2742.26	25.3	242	1096.53	26.12
7	980.36	34.0	66	1312.64	17.6	125	3108.94	33.8	184	981.60	20.7	243	1098.56	21.42
8	11721.36	13.4	67	1867.68	30.4	126	1860.87	16.2	185	1679.97	19.3	244	1099.56	21.56
9	2077.12	16.8	68	2186.85	31.9	127	2194.68	14.3	186	801.43	22.7	245	1100.59	21.62
10	840.42	19.3	69	2414.51	33.6	128	3956.81	21.3	187	816.41	21.05	246	1101.54	22.21
11	2115.04	22.8	70	2739.24	24.8	129	1496.70	26.5	188	818.48	21.95	247	1106.52	26.02
12	3385.43	21.1	71	2907.36	33.9	130	3659.17	21.3	189	838.36	25.12	248	1109.68	21.06
13	4053.18	13.6	72	3031.42	34.0	131	13169.24	25.6	190	838.44	35.05	249	1114.54	25.52
14	4240.13	14.2	73	4345.89	30.6	132	1608.75	27.5	191	840.47	19.68	250	1114.57	21.27
15	1387.04	9.5	74	6211.67	14.6	133	1707.73	11.1	192	852.47	20.42	251	1124.58	21.04
16	2597.47	18.6	75	1080.52	22.9	134	1592.72	17.3	193	868.45	23.35	252	1125.55	24.9
17	2920.21	15.9	76	1142.80	10.9	135	2029.80	15.0	194	871.48	21.11	253	1125.58	21.77
18	4509.09	25.1	77	1321.74	10.6	136	13007.18	25.1	195	875.51	21.83	254	1126.52	21.2
19	8763.45	12.1	78	1750.77	19.5	137	2117.77	29.9	196	876.43	35.13	255	1126.57	25.61
20	1535.72	26.3	79	1989.90	29.3	138	2168.87	31.0	197	883.45	23.27	256	1134.63	23.68
21	911.28	31.9	80	2946.38	32.8	139	1916.86	31.3	198	884.36	24.91	257	1135.53	27.51
22	1191.54	34.5	81	4942.34	21.4	140	2802.78	34.7	199	892.32	35.22	258	1136.59	20.27
23	3759.90	12.8	82	1668.76	17.5	141	1111.77	10.8	200	906.34	34.93	259	1137.65	24.08
24	2973.43	20.0	83	1688.71	14.5	142	1806.84	18.5	201	906.51	21.89	260	1138.64	19.55
25	3325.67	15.4	84	1731.79	17.7	143	1594.71	26.1	202	912.55	20.04	261	1139.54	21.01
26	10042.81	12.2	85	1822.74	27.4	144	1778.76	27.0	203	914.49	23.75	262	1140.53	21.14
27	1380.67	19.3	86	3870.83	30.4	145	2582.95	19.0	204	915.28	35.24	263	1141.57	25.2
28	3502.70	12.5	87	4275.48	20.6	146	3605.63	21.22	205	931.51	19.99	264	1142.61	21.8
29	3632.63	15.9	88	1025.48	21.7	147	3765.31	42.77	206	935.49	23.76	265	1143.56	36.95
30	8559.22	13.2	89	1353.67	22.1	148	4067.63	31.22	207	936.49	21.43	266	1144.43	35.57
31	4960.86	15.6	90	1466.67	25.2	149	10640.4	19.68	208	939.51	23.79	267	1144.6	26.25
32	858.41	18.9	91	1588.73	26.7	150	2577.35	20.9	209	941.46	24.85	268	1150.61	22.42
33	847.40	20.0	92	1878.72	27.6	151	3292.55	37.5	210	944.55	21.35	269	1153.38	35.68
34	980.51	18.7	93	2933.31	24.1	152	2058.90	18.8	211	945.46	25.7	270	1153.57	26.34
35	1128.52	22.4	94	3338.45	19.3	153	3001.36	33.2	212	947.5	24.75	271	1154.57	36.72
36	1407.68	35.6	95	6055.63	15.6	154	2157.04	17.0	213	951.55	20.32	272	1155.55	20.77
37	2093.92	31.0	96	2266.00	17.2	155	2854.36	32.6	214	956.48	20.38	273	1157.58	37.41
38	2421.04	32.5	97	2939.05	31.1	156	1653.90	26.9	215	958.51	20.76	274	1159.63	20.75
39	1250.66	14.8	98	3021.39	18.9	157	2658.32	13.1	216	963.54	21.65	275	1159.64	26.09
40	3242.20	18.0	99	1299.60	17.6	158	3657.65	38.7	217	973.28	35.58	276	1160.6	26.14
41	1040.50	21.2	100	1405.68	14.3	159	1754.92	27.8	218	984.49	24.43	277	1162.59	20.26
42	3176.40	11.9	101	1526.72	19.3	160	1467.82	19.8	219	988.55	35.81	278	1165.55	37.15
43	2778.55	32.5	102	1630.78	15.4	161	1580.91	20.1	220	988.55	21.83	279	1166.62	22.8
44	1422.58	35.8	103	1865.83	30.0	162	2563.89	17.6	221	994.49	25.17	280	1168.58	26.23
45	3524.42	28.9	104	2687.24	25.4	163	2355.15	17.9	222	995.44	25.15	281	1169.61	23.85
46	3831.74	24.8	105	2756.27	32.8	164	3891.40	20.2	223	996.51	24.63	282	1170.64	21.61
47	2488.79	32.2	106	1200.84	10.7	165	1561.49	35.6	224	1009.47	20.96	283	1171.62	23.34
48	1099.51	24.9	107	1391.81	10.7	166	1576.63	23.1	225	1012.53	35.08	284	1173.58	37.51
49	1936.82	29.2	108	1487.68	26.1	167	1911.07	20.8	226	1016.31	35.67	285	1179.65	20.06
50	1265.61	23.4	109	1919.87	23.3	168	3265.47	19.8	227	1016.49	25.81	286	1181.62	26.06
51	3081.61	26.4	110	2063.48	14.1	169	2344.91	32.3	228	1027.55	24.6	287	1190.64	22.02
52	3266.48	26.5	111	2753.47	34.2	170	2743.98	32.8	229	1031.5	25.66	288	1196.37	36.14
53	3821.95	20.4	112	2864.16	28.5	171	3401.75	18.1	230	1037.57	21.98	289	1196.59	21.07
54	2407.10	24.0	113	3858.65	21.9	172	3425.87	26.1	231	1038.61	20.84	290	1198.6	26.05
55	1596.75	19.0	114	4015.96	24.4	173	5510.18	23.1	232	1042.54	25.13	291	1199.63	21.92
56	10341.75	18.1	115	1324.60	16.3	174	2356.70	33.5	233	1053.53	25.08	292	1200.59	24.21
57	4306.66	28.9	116	1793.60	15.4	175	3256.25	29.3	234	1056.57	25.49	293	1201.59	24.85
58	900.43	19.8	117	2215.79	30.7	176	12716.23	23.1	235	1066.52	25.96	294	1204.65	21.93
59	1645.74	15.9	118	1934.82	14.2	177	1050.49	23.3	236	1068.56	21.69	295	1209.58	26.26

10

20

30

40

296	1210.45	36.58	355	1396.68	28.05	414	1632.79	38.03	473	1863.95	44.05	532	2138.03	21.78
297	1210.61	20.92	356	1413.62	25.78	415	1633.83	19.58	474	1880.97	44.03	533	2146	52.45
298	1213.62	27.75	357	1417.69	20.01	416	1635.83	30.38	475	1885.96	21.26	534	2188.03	39.71
299	1215.49	27.61	358	1421.58	37.51	417	1636.79	20.1	476	1889.94	33.12	535	2192.08	22.16
300	1216.59	24.27	359	1423.68	21.47	418	1636.81	30.33	477	1891.65	54.28	536	2195.49	33.36
301	1217.58	35.91	360	1425.65	22.34	419	1638.8	20.24	478	1892.95	22.4	537	2197.94	34.23
302	1218.42	36.88	361	1436.79	22.82	420	1640.75	28.28	479	1893.06	24.64	538	2199.08	22.31
303	1219.62	26.92	362	1438.72	21.98	421	1658.68	21.55	480	1899.93	21.64	539	2207.16	43.61
304	1220.63	22.11	363	1439.72	29.7	422	1658.79	30.04	481	1911.05	30.74	540	2208	32.37
305	1221.63	26.86	364	1440.72	39.19	423	1660.76	37.7	482	1912.74	32.7	541	2208.97	31.75
306	1223.6	27.47	365	1440.75	21.63	424	1664.82	29.87	483	1916.85	20.35	542	2211.11	20.28
307	1226.58	21	366	1442.68	27.76	425	1668.87	40.47	484	1926.91	30.99	543	2212.06	33.53
308	1226.63	23.47	367	1444.49	36.69	426	1673.82	29.4	485	1927.99	19.53	544	2219.56	33.59
309	1230.6	21.74	368	1448.83	20.53	427	1674.83	20.71	486	1932.98	21.65	545	2227.05	33.42
310	1234.42	36.16	369	1449.7	21.84	428	1680.82	30.02	487	1933.95	21.63	546	2233.1	22.49
311	1234.61	27.41	370	1451.71	29.19	429	1684.74	31.42	488	1936.11	20.51	547	2237.06	27.1
312	1238.55	36.74	371	1452.72	23.55	430	1684.81	39.43	489	1938.96	21.33	548	2244.17	19.48
313	1238.63	21.86	372	1456.75	22.48	431	1689.86	27.62	490	1942.77	36.19	549	2248.75	22.52
314	1239.52	34.91	373	1457.68	22	432	1693.83	20.48	491	1945.07	33.71	550	2251.77	33.11
315	1241.6	26.68	374	1458.69	28.03	433	1693.84	23.48	492	1946.95	31.75	551	2264.12	22.67
316	1245.6	21.63	375	1460.71	20.31	434	1697.81	30.86	493	1949.97	21.66	552	2269.29	38.14
317	1247.58	22.02	376	1473.7	22.3	435	1698.67	37.53	494	1952.42	25.65	553	2279.57	23.77
318	1250.52	35.35	377	1474.75	19.94	436	1705.78	46.77	495	1955.04	25.29	554	2282.13	22.29
319	1257.63	26.86	378	1483.72	22.59	437	1708.85	31.08	496	1955.94	28.14	555	2283.12	26.51
320	1260.61	21.84	379	1487.71	29.58	438	1725.66	38.3	497	1969.43	32.31	556	2292.21	21.29
321	1263.6	22.72	380	1491.8	39.86	439	1728.84	36.74	498	1976.96	32.36	557	2302.38	26.16
322	1267.64	21.55	381	1493.74	22.11	440	1729.6	53.46	499	1977.99	32.21	558	2305.7	34.8
323	1281.64	27.16	382	1507.8	39.98	441	1737.85	31.04	500	1989.02	24.75	559	2310.15	41.24
324	1284.62	28.22	383	1508.77	23.17	442	1746.95	19.75	501	1992.02	22.05	560	2315.22	19.45
325	1284.69	21.88	384	1509.59	37.07	443	1749.88	30.61	502	1993.02	27.07	561	2318.29	26.28
326	1287.65	21.85	385	1510.72	28.39	444	1761.91	21.61	503	1993.96	32.2	562	2319.19	33.87
327	1296.65	19.37	386	1510.75	20.11	445	1764.86	29.97	504	1997.99	25.13	563	2320.79	22.48
328	1300.65	23.07	387	1522.78	22.81	446	1767.07	24.12	505	2004.02	24.63	564	2322.17	22.28
329	1304.66	21.85	388	1523.89	29.75	447	1768.9	20.78	506	2006.93	33	565	2323.14	22.39
330	1309.74	21.97	389	1524.72	20.02	448	1769.78	28.25	507	2008.03	22.13	566	2328.06	20.83
331	1310.64	27.14	390	1535.75	22.03	449	1773.87	34.89	508	2021.06	21.98	567	2332.08	50.2
332	1321.63	37.98	391	1540.81	39.97	450	1782.91	25.93	509	2022.97	33.39	568	2335.75	26.61
333	1321.65	28.4	392	1549.76	39.5	451	1783.86	39.94	510	2023.99	21.47	569	2339.08	34.01
334	1328.64	26.87	393	1552.57	37.35	452	1784.88	40.04	511	2026.1	25.66	570	2339.17	22.63
335	1338.66	23.99	394	1556.8	40.03	453	1786.66	38.34	512	2031	21.8	571	2343.49	20.08
336	1340.65	28.33	395	1560.69	22.08	454	1788.89	30.26	513	2035.07	40.19	572	2361.19	20.78
337	1349.48	36.47	396	1562.76	22.48	455	1794.84	30.49	514	2040.02	32.87	573	2367.48	34.22
338	1349.77	20.22	397	1563.77	29.56	456	1796.85	30.86	515	2042.14	25.21	574	2371.18	22.77
339	1350.65	21.56	398	1564.78	28.53	457	1798.79	37.33	516	2057.04	24.85	575	2377.19	20.79
340	1352.62	29.68	399	1567.77	20.2	458	1807.91	20.7	517	2065	24.48	576	2380.16	36.49
341	1352.83	24.47	400	1576.74	46.02	459	1813.78	31.79	518	2076.61	32.44	577	2389.33	22.4
342	1353.65	21.48	401	1577.75	40.06	460	1818.9	31.1	519	2078.05	22.47	578	2392.8	35.28
343	1358.44	36.46	402	1579.75	20.05	461	1821.88	30.43	520	2081.03	20.17	579	2394	23.93
344	1361.69	21.95	403	1579.78	29.83	462	1823.99	24.61	521	2087.96	19.46	580	2405.6	22.19
345	1362.72	22.13	404	1609.81	30.25	463	1825.87	31.81	522	2088.04	32.92	581	2410.16	23.45
346	1366.68	27.48	405	1610.91	30.12	464	1829.03	21.24	523	2088.95	23.68	582	2414.26	19.58
347	1368.68	21.7	406	1611.83	40.12	465	1834.9	31.15	524	2090.04	39.48	583	2430.19	28.28
348	1375.67	23.28	407	1611.89	23.27	466	1835.92	24.04	525	2095.53	24.83	584	2430.72	35.39
349	1378.67	28.85	408	1613.89	23.98	467	1838.89	27.03	526	2100.12	19.6	585	2436.15	22.8
350	1383.69	39.02	409	1619.78	22.6	468	1846.93	32.08	527	2110	24.11	586	2437.22	22.86
351	1390.5	37.05	410	1620.74	29.58	469	1852.96	25.14	528	2114.07	31.61	587	2445.8	28.15
352	1392.68	21.75	411	1620.79	22.71	470	1858.91	24.21	529	2118.04	27.72	588	2451.59	24.02
353	1395.71	22.59	412	1624.61	37.73	471	1859.9	24.38	530	2129.06	26.97	589	2471.25	34.76
354	1396.5	37.63	413	1631.78	47.02	472	1860.42	33.82	531	2134.04	27.78	590	2478.22	22.45

10

20

30

40

591	2479.15	48.79	650	2989.4	24.42	709	3333.28	19.42	768	4083.75	31.32	827	8853.9	21.1
592	2485.16	34.39	651	2999.23	22.22	710	3333.8	23.85	769	4097.98	24.6	828	8917.52	22.55
593	2501.21	34.37	652	3002.47	23.95	711	3334.27	31	770	4113.77	24.46	829	10199.94	21.11
594	2502.73	22.84	653	3011.46	29.72	712	3336.48	39.43	771	4122.1	24.06	830	10753.72	19.71
595	2507.21	22.78	654	3013.27	22.28	713	3341.91	21.05	772	4124.05	21.49	831	10770.19	19.64
596	2518.4	22.8	655	3017.95	49.05	714	3356.38	25.56	773	4143.81	26.55	832	11041.95	21.98
597	2525.21	27.72	656	3023.33	24.55	715	3359.67	31.88	774	4196.47	20.96	833	11738.36	19.6
598	2534.56	22.81	657	3025.69	29.85	716	3363.69	30.21	775	4215.52	26.95	834	11967.98	20.48
599	2548.38	35.1	658	3035	42.23	717	3375.69	31.9	776	4217.98	26	835	14111.34	21.97
600	2551.32	34.75	659	3035.17	47.18	718	3386.16	22.7	777	4229.11	29.06	836	3266.45	22.73
601	2553.52	34.27	660	3038.11	22.42	719	3400.07	42.03	778	4278.77	23.34			
602	2557.15	28.17	661	3041.47	29.95	720	3416.82	36.78	779	4306	25.13			
603	2559.25	19.44	662	3044.98	34.34	721	3435.94	22.7	780	4322.14	25.18			
604	2565.18	23.74	663	3047.64	26.68	722	3457.46	35.83	781	4339	25.4			
605	2567.28	28.17	664	3056.94	45.28	723	3457.73	31.51	782	4352.98	20.17			
606	2570.28	42.66	665	3064.36	20.55	724	3472.36	21.75	783	4363.14	23.05			
607	2574.08	32.92	666	3076.33	19.64	725	3510.65	40.23	784	4369.07	20.21			
608	2580.19	23	667	3080.99	29.92	726	3521.07	30.74	785	4378.88	23.14			
609	2587.39	21.17	668	3091.41	28.33	727	3530.63	26.11	786	4381.08	34.13			
610	2599.26	28.18	669	3092.45	30.97	728	3531.46	30.16	787	4395.06	23.09			
611	2607.6	34.4	670	3092.51	36.23	729	3546.82	26.7	788	4415.72	22.53			
612	2616	28.34	671	3098.49	30.07	730	3559.71	24.89	789	4426.27	20.09			
613	2627.08	23.44	672	3112.42	22.44	731	3571.61	31.03	790	4436.04	26.25			
614	2632.18	24.96	673	3113.81	20.39	732	3582.7	19.47	791	4441.22	22.43			
615	2639.41	20.98	674	3114.66	30.3	733	3583.5	41.45	792	4483.33	25.4			
616	2668.46	42.02	675	3121.31	30.23	734	3590.72	29.01	793	4491.91	26.23			
617	2682.22	22.49	676	3129.86	35.93	735	3596.51	21.57	794	4538.61	26.35			
618	2702.1	38.01	677	3136.55	24.5	736	3603.92	20.21	795	4548.93	26.45			
619	2710.58	35.15	678	3139.44	29.48	737	3633.02	33.15	796	4550.95	23.31			
620	2723.92	23.81	679	3143.51	32.87	738	3633.71	27.02	797	4567.27	23.29			
621	2726.32	28.87	680	3145.49	38.8	739	3635.47	31.87	798	4583.7	35.76			
622	2726.37	42.94	681	3152.23	24.54	740	3669.71	24.13	799	4619.43	25.07			
623	2733.84	34.18	682	3158.6	29.69	741	3686.04	22.21	800	4637.97	25.75			
624	2742.36	42.12	683	3168.38	24.69	742	3696.88	26.94	801	4805.62	26.47			
625	2748.87	36.35	684	3178.26	30.25	743	3702.45	32.45	802	4817.33	23.86			
626	2754.36	29.64	685	3184.67	24.91	744	3703.85	22.51	803	4833.29	23.89			
627	2761.4	21.49	686	3193.27	22.63	745	3706.68	22	804	4849.07	23.86			
628	2777.61	21.54	687	3195.2	20.64	746	3710.86	19.6	805	4863.23	26.67			
629	2796.02	21	688	3202.2	30.52	747	3737.71	37.15	806	4864.81	23.88			
630	2810.46	36.66	689	3204.32	35.31	748	3738.58	24.74	807	4933.46	20.58			
631	2816.5	28.41	690	3219.43	35.05	749	3765.51	20.21	808	4976.46	20.62			
632	2821.19	23.73	691	3223.42	24.74	750	3774.84	22.9	809	5027.18	26.53			
633	2837.91	23.99	692	3240.47	25.2	751	3775.25	27	810	5039.24	25.56			
634	2839.42	24.17	693	3249.16	22.61	752	3775.9	25.28	811	5043.12	26.54			
635	2853.32	23.8	694	3258.51	22.89	753	3790.98	32.88	812	5090.45	20.1			
636	2861.32	50.73	695	3260.4	41.55	754	3816.45	21.94	813	5160.13	21.74			
637	2887.42	35.66	696	3261.35	22.17	755	3839.91	19.7	814	5229.59	25.1			
638	2889.19	24.09	697	3265.33	36.02	756	3864.66	33.71	815	5276.59	20.04			
639	2889.65	28.73	698	3271.39	30.75	757	3906.75	24.13	816	5495.5	19.52			
640	2903.72	35.61	699	3276.25	33.59	758	3935.56	34.14	817	5574.44	23.22			
641	2911	21.68	700	3282.79	30.09	759	3948.83	45.72	818	6186.07	24.91			
642	2914.57	24.28	701	3287.39	30.84	760	3968.68	21.11	819	6237.1	21.07			
643	2917.41	29.03	702	3290.39	24.1	761	4002.73	20.66	820	6491.14	19.44			
644	2924.58	22.97	703	3295.51	25.38	762	4008.95	23.57	821	6650.84	25.52			
645	2926.2	22.16	704	3298.48	36.06	763	4025.43	33.23	822	7907.23	19.59			
646	2932.36	34.11	705	3310.26	36.5	764	4042.93	33.13	823	7958.72	34.38			
647	2942.4	22.22	706	3314.41	20.12	765	4044.98	26.39	824	8289.54	19.54			
648	2977.61	29.14	707	3318.68	30.98	766	4069.65	25.2	825	8445.41	19.52			
649	2982.9	22.24	708	3325.9	54.11	767	4081.58	24.53	826	8837.64	21.06			

10

20

30

40

【 0 0 1 4 】

本発明により、非常に早期の段階で膀胱癌を診断することが可能である。このため、初期段階での公知の方法によって疾患を治療することができる。本発明はさらに、ある程度非侵襲性の又は最小限の侵襲性の処置のみで、安価で迅速な及び信頼し得る腫瘍段階の評

50

価及び診断を可能にする。

【0015】

泳動時間は、キャピラリー電気泳動（CE）によって、例えば実施例の項目2で述べるように測定される。この実施例では、長さ90cm、内径（ID）50 μ m、外径（OD）360 μ mのガラス細管を30kVの印加電圧で操作する。試料のための移動溶媒として、例えば水中30%メタノール、0.5%ギ酸を使用する。

【0016】

CE泳動時間が変動し得ることが公知である。それにもかかわらず、ポリペプチドマーカが溶出する順序は、一定の条件下で使用するいずれのCEシステムに関しても通常同じである。あり得る泳動時間の違いのいずれをもを安定にするために、泳動時間がまさに公知である標準物質を用いてシステムを基準化し得る。これらの標準物質は、例えば実施例で述べるポリペプチドであり得る（実施例、項目3参照）。

【0017】

表1から8に示すポリペプチドマーカ特性決定を、例えばNeuhoffら（Rapid Communications in mass spectrometry、2004、Vol. 20、pages 149-156）によって詳細に説明されている方法、キャピラリー電気泳動-質量分析法（CE-MS）によって実施した。較正が正確であるとき、個々の測定間又は異なる質量分析計の間での分子量の変動は比較的小さく、通常 $\pm 0.1\%$ の範囲内、好ましくは $\pm 0.05\%$ の範囲内、より好ましくは $\pm 0.03\%$ である。

【0018】

本発明に従ったポリペプチドマーカは、タンパク質もしくはペプチド、またはタンパク質もしくはペプチドの分解産物である。これらは、分解の範囲内で、例えばグリコシル化、リン酸化、アルキル化又はジスルフィド架橋などの翻訳後修飾によって又は他の反応によって、化学修飾され得る。加えて、ポリペプチドマーカはまた、試料の精製中に、化学変性され得、例えば酸化され得る。

【0019】

ポリペプチドマーカを決定するパラメータ（分子量及び泳動時間）から続けて、先行技術において公知の方法によって対応するポリペプチドの配列を特定することが可能である。

【0020】

本発明のポリペプチド（表1から8参照）は、一方では膀胱癌を診断し、同時に異なる腫瘍段階を区別可能にするために使用される。「診断」とは、症状又は現象を疾患又は損傷に帰属させることにより知見を得るプロセスを意味する。この場合、膀胱癌の存在及び膀胱癌腫の腫瘍段階は、特定のポリペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さから推断される。従って、本発明のポリペプチドマーカは、被験者からの試料において決定され、これらマーカの存在もしくは不在が頻度マーカの場合においては膀胱癌の存在を推断することを可能にし又は多さマーカの場合においてはシグナル強度における差が膀胱癌の存在を推断することを可能にする。ポリペプチドマーカの存在もしくは不在又は多さは、当該分野において公知の任意の方法により測定することができる。使用できる方法を以下で説明する。

【0021】

ポリペプチドマーカは、その測定値が少なくともその閾値と同程度の高さである場合、存在するとみなされる。この測定値がより低い場合は、ポリペプチドマーカは存在しないとみなされる。この閾値は、測定方法の感受性（検出限界）によって又は経験から決定され、又は経験から定義され得る。

【0022】

本発明に関して、好ましくはある分子量についての試料の測定値がブランク試料（例えば緩衝液又は溶媒のみ）の測定値の少なくとも2倍の高さである場合、閾値を超えているとみなされる。

10

20

30

40

50

【0023】

一つまたはそれ以上のポリペプチドマーカ―は、その存在又は不在が測定され、この存在又は不在は膀胱癌（頻度マーカ―）の指標であるように、使用される。例えば、ポリペプチドマーカ―No. 1から44のように、膀胱癌（疾患）を有する患者において通常存在するが、膀胱癌がない（対照）被験者では存在しない又は極めてまれなポリペプチドマーカ―がある。加えて、膀胱癌のない（対照）被験者では存在するが、膀胱癌を有する被験者ではより頻度が低い又は全く存在しないポリペプチドマーカ―、例えばNo. 45から149（表2）、がある。

【0024】

頻度マーカ―は、いくつかの試料において多さが低い多さマーカ―の変異形である。マーカ―が見出されない対応する試料を、検出限界のオーダーの非常に小さな多さを有する多さの計算に組み入れることにより、このような頻度マーカ―を多さマーカ―に換算することが可能である。

10

【0025】

【表 6】

表 2：膀胱癌の診断のためのポリペプチドマーカー（頻度マーカー）、これらマーカーの分子量及び泳動時間、並びに膀胱癌（BC）にかかっている患者の群及び対照群におけるファクター（1 = 100%、0 = 0%；実施例において記載されているような試料処理及び測定）としての存在及び不在（発生率）

番号	BC群における発生率	対照における発生率	番号	BC群における発生率	対照における発生率	番号	BC群における発生率	対照における発生率
1	0.86	0.13	60	0	0.5	119	0.29	0.88
2	0.71	0	61	0	0.5	120	0.29	0.88
3	0.73	0.03	62	0	0.5	121	0.36	0.95
4	0.71	0.07	63	0	0.5	122	0	0.6
5	0.64	0.03	64	0	0.5	123	0	0.6
6	0.64	0.03	65	0	0.5	124	0	0.6
7	0.71	0.13	66	0.29	0.8	125	0	0.6
8	0.71	0.13	67	0.14	0.65	126	0.29	0.9
9	0.73	0.16	68	0.14	0.65	127	0.14	0.75
10	0.67	0.09	69	0.14	0.65	128	0.29	0.9
11	0.57	0	70	0.29	0.8	129	0.18	0.8
12	0.92	0.35	71	0.29	0.8	130	0.13	0.75
13	0.57	0	72	0.14	0.65	131	0.31	0.93
14	0.57	0	73	0.14	0.65	132	0.14	0.78
15	0.57	0.03	74	0.29	0.8	133	0	0.63
16	0.57	0.03	75	0.18	0.7	134	0.28	0.93
17	0.57	0.03	76	0.33	0.85	135	0	0.65
18	0.57	0.03	77	0.08	0.6	136	0.18	0.82
19	0.57	0.03	78	0.43	0.95	137	0.14	0.8
20	0.67	0.13	79	0.43	0.95	138	0.14	0.8
21	0.78	0.25	80	0.31	0.82	139	0	0.68
22	0.69	0.16	81	0.2	0.72	140	0	0.68
23	0.78	0.25	82	0.14	0.68	141	0	0.7
24	0.69	0.17	83	0.14	0.68	142	0	0.7
25	0.56	0.03	84	0.14	0.68	143	0	0.75
26	0.57	0.05	85	0.14	0.68	144	0	0.75
27	0.67	0.16	86	0	0.53	145	0.14	0.95
28	0.6	0.09	87	0	0.53	146	0.15	0.55
29	0.51	0	88	0.29	0.82	147	0.15	0.6
30	0.86	0.35	89	0.29	0.82	148	0.15	0.57
31	0.91	0.41	90	0.29	0.82	149	0.15	0.56
32	0.71	0.22	91	0.29	0.82			
33	0.51	0.03	92	0.29	0.82			
34	0.58	0.09	93	0.29	0.82			
35	0.89	0.41	94	0.29	0.82			
36	0.51	0.03	95	0.26	0.8			
37	0.73	0.25	96	0.43	0.97			
38	0.51	0.03	97	0.43	0.97			
39	0.62	0.16	98	0.43	0.97			
40	0.69	0.22	99	0.29	0.85			
41	0.58	0.13	100	0.14	0.7			
42	0.58	0.13	101	0.29	0.85			
43	0.73	0.38	102	0.14	0.7			
44	0.8	0.5	103	0.29	0.85			
45	0.42	0.72	104	0.29	0.85			
46	0.51	0.81	105	0.29	0.85			
47	0.44	0.75	106	0.26	0.82			
48	0.62	0.95	107	0	0.57			
49	0.57	0.9	108	0.26	0.82			
50	0.57	0.93	109	0	0.57			
51	0.29	0.65	110	0	0.57			
52	0.29	0.68	111	0	0.57			
53	0.42	0.81	112	0	0.57			
54	0.57	0.97	113	0.43	1			
55	0.14	0.55	114	0.24	0.81			
56	0.31	0.78	115	0.14	0.72			
57	0.33	0.81	116	0.14	0.72			
58	0	0.5	117	0.14	0.72			
59	0	0.5	118	0.29	0.88			

【0026】

マーカー 1 から 146 の使用が特に好ましい。

【0027】

頻度マーカー（存在又は不在の決定）に加えて又はその代わりに、表3及び4において記載される多さマーカーも膀胱癌の診断に使用できる（No. 150から836）。多さマーカーは、存在又は不在が重要でなく、シグナルが両群において存在するとき、シグナルの高さ（多さ）を決定するように使用される。表3及び4において、測定された全ての試料にわたって平均された、対応するシグナルの平均正規化多さ（質量及び泳動時間により特徴づけられる）が記載されている。2つの正規化法は、異なる濃縮された試料間の又は異なる測定法間の比較を達成することが可能である。

【0028】

第一の方法において、試料の全てのペプチドシグナルを合計多さ1000000カウントに正規化する。従って、個々のマーカーのそれぞれの平均多さは百万分率（ppm）として記載される。この方法により得られる多さマーカーを表3に示す（No. 150から185）。

10

【0029】

加えて、別の正規化法によりさらなる多さマーカーを定義することが可能である。この場合、1つの試料の全てのペプチドシグナルが通常の規格化因子により比べられる。従って、線形回帰が個々の試料のペプチド多さと全ての公知ポリペプチドの参照値間で形成される。回帰線の勾配は相対濃度にまさに対応し、この試料の規格化因子として使用される。この正規化法により得られるバイオマーカーを表4に示す（No. 186から836）。

【0030】

20

マーカー150から185の使用が特に好ましい。

【0031】

信頼できる平均多さを得るために、用いられる全ての群は少なくとも40の患者又は対照試料からなる。診断の決定（膀胱癌かどうか）は、対照群又は膀胱癌群における平均多さと比較して、患者試料における個々のポリペプチドマーカーの多さがどれくらい高いかの関数としてなされる。多さが膀胱癌群の平均多さに相当するならば、膀胱癌が存在すると考えられ、対照群の平均多さに相当するならば、膀胱癌はないと考えられる。測定値と平均多さとの間の差は、この試料がある群に所属する可能性があると考えられることができる。

【0032】

30

方法1に従った手順についてのさらに正確な定義は、マーカーNo. 162により得られる（表3）。マーカーの平均多さは、膀胱癌において有意に増加する（対照群の1431ppmに対して6370ppm）。患者試料におけるこのマーカーについての値が0から1431ppmであるならば又はこの範囲を最大20%超えるならば、すなわち、0から1717ppmであるならば、この試料は対照群に属する。値が6370ppmもしくは20%までこれより低い又は高いならば、すなわち、5096と非常に高い値との間であるならば、膀胱癌が存在すると考えられる。

【0033】

方法2に関して、手順の事例的説明をマーカーNo. 192により示す（表4）。マーカーの平均多さは膀胱癌において有意に増加する（対照群における44.29カウントに対して374.91カウント）。患者からの試料におけるこのマーカーに対する値が0から44.29カウントである又はこの範囲を最大20%超えるならば、すなわち0から53.15カウントであるならば、この試料は対照群に属する。値が374.91カウントもしくはこれより20%低い又は高いならば、すなわち300カウントと非常に高い値との間であるならば、膀胱癌の存在が考えられる。又は、測定値と平均多さの差は、この試料がある群に属する可能性があると考えられることができる。

40

【0034】

【表 7】

表 3 : p p m 正規化からの多さマーカ (方法 1)

番号	BC群における平均 多さ [ppm]	対照試料における 平均多さ [ppm]	番号	BC群における平均 多さ [ppm]	対照試料における 平均多さ [ppm]
150	512	234	168	2602	981
151	4341	11833	169	321	745
152	320	107	170	106	308
153	4943	19582	171	596	1337
154	831	404	172	4128	10960
155	1615	4183	173	761	1961
156	882	2816	174	200	428
157	532	573	175	2150	4372
158	922	2703	176	995	2026
159	3070	7231	177	215	654
160	1863	3755	178	215	449
161	2322	5187	179	281	574
162	6370	1431	180	691	1578
163	1394	580	181	1860	4502
164	1039	428	182	1078	6650
165	225	542	183	406	846
166	769	1578	184	342	1360
167	42329	112162	185	1425	10166

【 0 0 3 5 】

【表 8】

表 4 : 規格化因子を用いた正規化からの多さマーカー (方法 2)

番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	BC群における平均多さ	対照における平均多さ
186	119.63	80.79	245	224.51	141.51	304	173.39	55.41	363	430	232.16
187	77.4	56.61	246	183.13	124.78	305	148.48	73.15	364	550.02	691.79
188	44.83	19.49	247	106.82	88.51	306	156.84	179.86	365	1968.51	197.72
189	75.44	45.2	248	3078.26	140.75	307	469.03	595.19	366	350.92	381.91
190	118.21	235.42	249	3190.15	3178.22	308	133.11	102.43	367	706.87	835.85
191	74.62	33.56	250	368.81	72.76	309	792.94	497.12	368	2384.33	175.16
192	374.91	44.29	251	256.09	245.38	310	1537.92	2939.46	369	3854.98	5258.01
193	157.08	123.78	252	130.05	134.05	311	1580.14	1795.44	370	14948.2	21376.3
194	453.57	10.31	253	448.49	239.5	312	193.48	190.55	371	728.16	250.02
195	88	45.2	254	232.48	315.01	313	794.93	201.72	372	552.5	144.36
196	90.46	720.98	255	205.39	158.14	314	928.42	699.24	373	210.05	246.6
197	111.95	85.68	256	404.85	342.62	315	143.26	115.01	374	347.41	249.22
198	410.43	469.76	257	249.07	176.66	316	303.03	129.16	375	207.87	315.21
199	427.05	319.41	258	94.05	45.1	317	1342.16	932.91	376	357.91	878.46
200	83.12	93.94	259	175.28	119.61	318	1790.3	3379.16	377	274.83	200.69
201	102.07	57.89	260	202.45	124.75	319	746.14	204.66	378	852.25	552.92
202	238.89	119.03	261	853.59	1140.19	320	706.29	396.08	379	427.78	628.41
203	111.31	90.37	262	1327.35	1993.54	321	609.39	342.54	380	344.12	480.68
204	195.66	197.97	263	356.82	284.59	322	201.07	279.53	381	10371.5	253.26
205	223.5	223.37	264	265.05	150.92	323	440.59	252.99	382	1974.82	2562.08
206	149.65	149.75	265	558.75	451.29	324	1500.12	166.99	383	869.39	408.55
207	159.86	56.01	266	221.77	143.72	325	231.13	194.08	384	72.76	94.63
208	353.83	70.68	267	1128.53	72.92	326	690.08	362.46	385	441.96	297.83
209	79.65	40.47	268	331.84	200.42	327	239.27	204.76	386	401.89	356.62
210	669.1	617.85	269	505.65	421.74	328	312.93	156.8	387	1259.94	1584.04
211	153.61	135.8	270	261.75	225.98	329	325.22	238	388	1178.53	2616.54
212	163.45	287.56	271	169.57	130.21	330	8160.78	334.35	389	358.67	507.39
213	1141.91	27.72	272	266.62	223.68	331	271	198.75	390	482.45	537.75
214	216.39	127.03	273	1362.12	1707.78	332	543.53	962.52	391	1542.53	2790.5
215	833.58	39.12	274	294.36	402.59	333	10101.8	12695.3	392	503.57	330.15
216	139	88.24	275	221.55	166.84	334	459.58	129.16	393	2430.83	3353.77
217	397.21	292.45	276	335.58	44.14	335	648.02	415.43	394	523.9	843.44
218	126.14	93.76	277	259.95	223.47	336	163.79	121.63	395	478.99	596.56
219	421.86	309.18	278	768.74	684.34	337	205.35	258.72	396	1207.17	1548.95
220	136.07	221.65	279	251.7	214.42	338	4607.6	550.93	397	248.65	483.71
221	152.19	120.89	280	169.01	89.8	339	112.46	181.81	398	166.63	140.29
222	219.55	145.69	281	206.44	145.14	340	1168.83	221.78	399	1049.78	696.02
223	125.21	31.02	282	3791.23	83.4	341	407.83	425.82	400	3862.62	4198.48
224	84.53	308.11	283	147.66	91.52	342	429.65	329.69	401	733.5	999.31
225	83.05	172.95	284	257.97	474.54	343	1760.83	2575.03	402	5193.79	7951.13
226	1842.39	1141.1	285	2312.84	72.28	344	514.01	309.71	403	2139.76	2730.17
227	1324.02	1031.5	286	2355.55	150.4	345	2515.14	115.68	404	916.36	816.75
228	350.65	89.47	287	1856.18	0	346	565.18	631.08	405	1684.49	1580.08
229	170.43	64.39	288	22744.1	27845.6	347	348.79	312.62	406	237.78	343.53
230	190.08	78.16	289	579.96	1024.9	348	184.84	126.88	407	2026.66	464.44
231	489.23	26.8	290	181	79.4	349	1992.63	2743.26	408	196.63	264.47
232	1996.47	72.63	291	449.65	287.08	350	4620.61	341.71	409	304.49	439.85
233	188.24	95.18	292	8039.6	6153.2	351	21183.3	33275.8	410	337.51	477.51
234	161.17	119.99	293	400.81	327.89	352	3541.13	4832.9	411	255.82	416.12
235	103.9	97.75	294	310.29	151	353	267.96	178.61	412	1221.53	1619.64
236	480.36	237.07	295	1031.54	860.46	354	260.72	600.85	413	9331.13	14100.7
237	5707.2	7336.8	296	633.16	564.48	355	598.13	660.69	414	197.33	300.63
238	379.06	56.43	297	218.71	298.42	356	318.88	381.49	415	212	165.73
239	308.98	301.08	298	687.69	58.53	357	784.39	610.28	416	1346.36	1460.35
240	462.23	78.2	299	462.1	597.81	358	394.52	233.81	417	820.34	1192.4
241	194.93	151.59	300	1581.02	1215.02	359	2575.84	1071.44	418	1548.36	1967.46
242	5055.93	4175.1	301	2630.29	3679.53	360	2460.15	3145.77	419	1218.82	1006.41
243	366.14	189.83	302	979.29	1913.27	361	1463.89	405.51	420	218.44	251.93
244	367.44	170.6	303	243.92	96.75	362	330.7	296.81	421	667.59	467.84

10

20

30

40

422	630.62	817.36	481	16250.01	1560.5	540	116.27	110.6	599	411.12	893.15
423	1128.79	1580.15	482	945.07	559.31	541	286.2	368.78	600	297.54	266.17
424	584.6	641.55	483	1339.21	1514.58	542	355.35	522.74	601	1122.23	1242.63
425	923.66	1154.89	484	358.02	192.21	543	3635.8	755.11	602	140.12	176.5
426	245.2	209.04	485	232.09	187.49	544	282.24	163.79	603	2821	1369.9
427	208.86	122.78	486	684.31	479.07	545	258.35	676.03	604	894.97	169.59
428	2141.81	2794.73	487	728.45	407.72	546	336.29	179.19	605	342.43	207.05
429	2673.32	3482.39	488	196.89	476.3	547	411.08	341.22	606	5208.16	8436.04
430	194.01	349.03	489	633.98	149.83	548	288.6	126.04	607	109.36	126.02
431	244.32	190.7	490	91.61	147.08	549	433.38	207.91	608	5005.47	886.26
432	171.13	269.09	491	502.32	282.04	550	468.04	764.16	609	385.8	404.35
433	389.06	220.01	492	441.16	507.47	551	514.82	290.72	610	384.35	2017.29
434	950.01	1103.05	493	714.01	210.4	552	309.49	252.04	611	1447.69	90.16
435	737.26	1145.11	494	349.59	153.45	553	352.9	63.73	612	189.43	158.12
436	698.31	1006.16	495	269.05	450.84	554	832.83	559.35	613	886.48	201.67
437	1034.44	1328.66	496	403.2	515.62	555	213.46	131.69	614	171.69	342.56
438	1549.89	2565.32	497	513.8	133.24	556	2691.55	211.72	615	712.07	723.54
439	242.37	346.97	498	295.46	431.46	557	5649.48	1095.48	616	604.67	979.18
440	4225.33	7163.11	499	790.03	915.09	558	267.74	274.93	617	645.45	1001.2
441	2026.98	2749.89	500	411.21	61.58	559	197.06	351.22	618	367.72	477.68
442	1669.33	64.04	501	1600.21	707.59	560	322.71	181.52	619	188.76	457.6
443	453.3	412.54	502	185.12	169.93	561	1774.17	965.1	620	612.89	94.01
444	284.09	110.58	503	211.53	252.44	562	674.15	1019.16	621	225.78	223.31
445	452.02	464.12	504	202.48	131.9	563	514.89	202.92	622	3910.57	6523.87
446	10928.25	6009.48	505	106.45	139.9	564	280.12	231.27	623	258.4	256.33
447	248.66	244.14	506	172.8	123.01	565	612.61	484.55	624	693.23	913.29
448	544.89	495.75	507	2238.19	1347.32	566	305.8	281.04	625	92.22	168.82
449	91.29	220.69	508	4881.51	210.22	567	6126.15	6394.03	626	338.07	497.04
450	690.87	378.52	509	386.33	241.64	568	564.34	127.81	627	1743.21	858.44
451	372.26	469.99	510	389.85	197.63	569	895.57	671.47	628	1934.06	274.04
452	695.43	437.27	511	1044.25	1860.09	570	234.83	74.14	629	3254.92	22.36
453	197.46	344.87	512	911.8	213.78	571	918.01	306.21	630	173.04	158.48
454	636.99	851.23	513	165.39	235.62	572	490.15	215.39	631	375.54	200.28
455	109.04	132.39	514	366.71	78.89	573	340.36	561.18	632	317.73	93
456	114.34	159.23	515	3952.23	943.15	574	293.37	165.07	633	2739.3	1120.66
457	247.87	278.24	516	394.1	154.31	575	1457.87	1267	634	563.71	786.49
458	1565.61	2420.43	517	721.07	344.83	576	186.86	193.04	635	1199.43	277.21
459	2149.51	2722.27	518	866.53	120.51	577	15200.82	840.95	636	744.12	919.2
460	1761.85	1313.47	519	384.56	159.41	578	445	510.51	637	346.57	197.87
461	458.34	487.39	520	1491.26	589.3	579	503.8	219.86	638	1090.93	283.03
462	1518.75	1405.34	521	969.57	410.04	580	3363.04	542.25	639	290.46	140.43
463	339.47	310.42	522	1522.66	1334.42	581	399.54	283.96	640	111.85	66.25
464	9070.76	1838.11	523	145.86	141.48	582	1073.6	416.48	641	455.21	420.21
465	3861.14	2831.77	524	189.68	287.18	583	344.17	359.53	642	345.83	199.62
466	423.42	203.85	525	1514.05	111.26	584	679.11	618.79	643	1651.16	1011.11
467	283.34	170.89	526	270.67	55.86	585	657.73	217.1	644	4741.83	614.65
468	367.72	315.21	527	223.41	313.99	586	3920.85	58.99	645	697.29	334.7
469	1424.84	339.86	528	220.43	162.9	587	192.77	218.19	646	277.24	288.32
470	1243.61	366.74	529	775.4	654.44	588	417.28	103.5	647	4690.58	3358.31
471	519.88	332.05	530	115.96	136.71	589	331.42	405.5	648	240.79	294.91
472	457.11	528.19	531	2682.19	2753.18	590	2854	126.77	649	641.99	200.78
473	1906.66	2592.95	532	1004.59	725.68	591	809.25	1010.64	650	371.35	238.75
474	840.95	1804.57	533	24215.6	23635.89	592	262.72	539.84	651	2349.83	1291.14
475	285.04	113.11	534	1380.23	1722.54	593	146.88	411.88	652	193.38	143.66
476	232.38	117.03	535	635.5	466.98	594	8079.35	1105.07	653	1226.05	1935.03
477	4444.41	11160.44	536	590.85	530.1	595	488.35	132.06	654	5138.39	3725.55
478	698.61	390.57	537	205.17	252.33	596	3335	859.68	655	3230.3	7444.98
479	648.4	507.64	538	262.07	133.39	597	516.5	679.53	656	746.95	386.71
480	442.16	240.49	539	236.94	716.14	598	1181.54	168.71	657	239.61	201.28

10

20

30

40

658	464.77	869.33	717	869.93	987.76	776	5071.3	7395.4	835	900.1	189.35
659	210.32	980.59	718	35304.9	419.08	777	271.15	292.43	836	4098.86	2173.05
660	3851.92	329.08	719	295.28	457.92	778	502.9	356.61			
661	2485.76	2717	720	97.18	91.86	779	4550.74	733.37			
662	347.83	623.37	721	5238.18	742.94	780	811.84	153.69			
663	145.28	189.73	722	1105.15	2446.05	781	5268.58	6177			
664	479.37	1413.9	723	15994.6	18395.9	782	964.7	441.9			
665	690.96	407.33	724	25574.2	56.87	783	1288.41	1241.8			
666	440.32	770.9	725	223.22	334.29	784	761.9	106.33			
667	348.99	416.59	726	390.33	591.38	785	302.57	220.29			
668	321.33	612.28	727	874.08	1016.73	786	441.39	34.69			
669	330.69	333.64	728	129.08	109.04	787	4805.19	408.09			
670	465.29	768.38	729	287.17	386.91	788	724.85	750.37			
671	804.23	897.03	730	938.84	1689.36	789	2797.11	4381.9			
672	331.26	117.39	731	249.13	373.29	790	1660.28	627.22			
673	18864.8	34.43	732	2681.59	934.95	791	82.16	51.86			
674	222.74	256.29	733	518.6	570.92	792	1500.15	777.08			
675	777.58	927.95	734	304.49	410.25	793	131.83	184.79			
676	218.75	161.04	735	515.18	321.95	794	1950.66	1314.3			
677	675.28	307.55	736	719.9	389.6	795	445.08	140.52			
678	1427.9	1826.7	737	162.63	213.43	796	421.99	182.5			
679	1500.77	1729	738	202.87	327.64	797	426.27	390.57			
680	1179.77	1493.4	739	310.7	366.38	798	498.29	564.91			
681	1035.25	621.15	740	1057.06	967.69	799	483.58	288.48			
682	827.45	539.76	741	1305.72	1525.5	800	177.85	148.57			
683	928.3	504.81	742	406.27	251.43	801	1927.19	290.82			
684	379.72	200.01	743	209.98	332.04	802	1908.71	378.98			
685	454.16	274.58	744	779.02	507.03	803	1356.99	309.29			
686	1247.87	797.98	745	509.21	780.22	804	590.4	454.65			
687	21125.9	178.01	746	550.52	205.81	805	479.33	263.09			
688	131	156.14	747	303.67	178.71	806	1688.17	334.94			
689	86.47	120.23	748	391.6	345.85	807	2524.15	1194			
690	184.62	196.27	749	161.04	486.26	808	613.82	295.85			
691	326.21	74.96	750	1633.21	1883.97	809	1847.5	1489			
692	467.89	307.96	751	1948.88	819.34	810	551.98	311.34			
693	796.96	485.58	752	947.01	1410.71	811	908.48	388.74			
694	2248.11	1306	753	88.29	103.94	812	124.16	66.69			
695	492.82	227.88	754	748.98	398.24	813	1567.12	859.71			
696	443.67	725.02	755	5654.78	2358.14	814	537.13	331.57			
697	810.12	535.52	756	176.88	284.44	815	1081.92	743.86			
698	998.77	1170	757	641.35	134.74	816	1288.32	753.52			
699	192.96	140.39	758	193.83	250.67	817	1522.33	1216.1			
700	115	132.51	759	265.87	443.61	818	3743.12	844.55			
701	2241.77	2710.4	760	1611.2	2134.8	819	211.47	155.57			
702	770.19	988.21	761	895	953.08	820	232.71	324.57			
703	401.99	247.99	762	4307.33	1318.11	821	311.5	454.92			
704	360.05	552.79	763	425.51	320.2	822	433.81	689.88			
705	107.75	98.14	764	157.27	248.54	823	2674.9	1470.8			
706	998.83	1032.7	765	2159.53	4308.89	824	2022.24	1507.3			
707	164.07	209.94	766	601.24	540.73	825	4346.69	2618.9			
708	1627.4	1118.7	767	259.57	190.8	826	2344.92	1552.8			
709	763.49	250.07	768	268.04	788.11	827	898.51	575.57			
710	773.85	675.53	769	1124.91	947.92	828	901.65	505.99			
711	155.22	286.79	770	345.81	258.56	829	1946.95	9898.6			
712	1272.34	2512.1	771	4076.84	585.19	830	961.96	4337.1			
713	27791.3	1191.1	772	1545.75	627.71	831	1561.13	2095.7			
714	459.25	281.17	773	635.06	927.49	832	5309.3	1583.6			
715	941.28	1159	774	1015.92	550.41	833	532.67	313.23			
716	341.85	213.77	775	475.86	490.03	834	855.38	600.48			

10

20

30

40

【0036】

ポリペプチドマーカ-はまた、腫瘍段階の決定にも適している。BCのない患者と表面BCの患者間の鑑別診断のために、表5の頻度マーカ-及び表6の多さマーカ-が適している。

50

【 0 0 3 7 】

【 表 9 】

表 5 : 表面 B C と B C のない患者間の鑑別のための頻度マーカー

番号	表面BC群における発生率	対照における発生率
146	0.13	0.55
147	0.15	0.6
148	0.17	0.57

【 0 0 3 8 】

【表 10】

表 6 : 表面BCとBCのない患者間を区別するための多さマーカー

番号	表面BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	表面BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	表面BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	表面BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	表面BC群における平均多さ	対照における平均多さ
7	116.31	171.88	306	114.63	179.86	477	5333.72	11160.44	650	445.12	238.75	826	2857.72	2618.94
8	3346.12	1718.08	307	423.6	595.19	478	665	390.57	655	3310.08	7444.98	830	1733.28	9898.6
20	1414.75	204.11	311	1632.87	1795.44	480	182.45	240.49	656	582.62	386.71	831	451.53	4337.06
23	1152.72	758.3	312	244.52	190.55	481	30800.29	1560.5	657	293.05	201.28	836	2928.46	2173.05
31	13833.1	1997.34	313	147.27	201.72	482	1149.59	559.31	658	369.66	869.33			
37	404.73	159.1	318	1130.23	3379.16	483	1217.27	1514.58	659	288.42	980.59			
40	451.06	159.59	332	668.14	962.52	487	659.74	407.72	664	803.94	1413.92			
43	203.42	135.13	334	124.59	129.16	488	184.56	476.3	665	587.16	407.33			
44	619.98	943.28	340	135.75	221.78	491	780.25	282.04	666	469.6	770.9			
58	1631.78	2420.43	341	213.78	425.82	499	549.66	915.09	668	454.53	612.28			
61	109.9	106.43	343	1942.45	2575.03	502	230.68	169.93	670	421.48	333.64			
63	399.18	318.87	347	403.35	312.62	507	2145.46	1347.32	676	284.62	161.04			
70	255.14	168.72	350	406.28	341.71	510	329.78	197.63	681	891.35	621.15			
71	505.84	220.23	351	24046.12	33275.83	511	1149.81	1860.09	682	1299.73	539.76			
81	1457.02	1083.72	354	288.33	600.85	517	597.1	344.83	684	540.83	200.01			
89	287.82	410.5	359	1679.91	1071.44	519	214.5	159.41	693	695.98	485.58			
90	387.02	395.23	360	2442.99	3145.77	522	2040.96	1334.42	695	449.35	725.02			
92	971.64	1464.36	366	428.94	381.91	523	188.34	141.48	696	335.66	227.88			
97	147.12	266.31	367	1048.83	835.85	528	283.36	162.9	697	1024.07	535.52			
101	272.02	206.42	371	737.87	250.02	531	3574.56	2753.18	699	141.11	140.39			
115	203.74	303.62	373	158.25	246.6	535	704.86	466.98	704	195.53	552.79			
126	707.92	764.74	374	416.91	249.22	536	800.65	530.1	705	132.97	98.14			
129	114.31	208.29	375	200.86	315.21	539	123.56	716.14	706	659.99	1032.67			
132	397.6	591.14	376	431.93	878.46	540	119.18	110.6	710	933.34	675.53			
135	449.32	298.56	381	3618.42	253.26	543	536.82	522.74	712	1576.36	2512.12			
137	216.96	149.67	384	70.76	94.63	544	228.52	163.79	716	418.32	213.77			
152	325.5	272.96	385	502.72	297.83	545	304.3	676.03	719	179.81	457.92			
156	3756	2810.21	386	241.72	356.62	547	510.33	341.22	726	379.78	591.38			
158	1109.21	1996.73	387	1388.15	1584.04	551	518.82	290.72	728	206.19	109.04			
170	110.86	224.3	389	324.34	507.39	552	322.61	252.04	729	207.95	386.91			
173	521.41	717.77	390	284.78	537.75	564	316.34	231.27	733	466.68	570.92			
176	712.45	869.56	391	1787.19	2790.5	566	256.99	281.04	738	227.37	327.64			
180	1377.28	2012.33	393	2600.66	3353.77	568	213.06	127.81	740	1593.31	967.69			
184	453.72	946.92	395	398.9	596.56	569	981	671.47	741	1317.94	1525.5			
185	10671.27	12125.03	398	187.41	140.29	574	256.67	165.07	742	396.52	251.43			
190	118.18	235.42	404	631.32	816.75	591	883.27	1010.64	745	366.95	780.22			
198	250.7	469.76	409	255.99	439.85	595	204.98	132.06	749	170.59	486.26			
210	446.64	617.85	412	1364.55	1619.64	599	349	893.15	752	852.35	1410.71			
212	112.84	287.56	414	216.1	300.63	600	410.22	266.17	753	69.09	103.94			
219	144	221.65	419	537.72	1006.41	601	1685.83	1242.63	759	198.1	443.61			
225	95.25	172.95	423	1441.12	1580.15	602	130.05	176.5	761	430.84	953.08			
226	785.46	1141.14	430	171.47	349.03	605	458.37	207.05	765	2889.47	4308.89			
237	4373.54	7336.84	432	194.68	269.09	609	409.71	404.35	766	883.73	540.73			
239	273.08	301.08	435	713.74	1145.11	610	621.93	2017.29	768	232.2	788.11			
249	2176.11	3178.22	438	1960.48	2565.32	614	192.26	342.56	769	728.06	947.92			
261	1093.03	1140.19	440	5360.16	7163.11	615	316.08	723.54	770	166.59	258.56			
262	1453.44	1993.54	445	594.8	464.12	618	342.45	477.68	778	783.21	356.61			
266	82.68	143.72	446	10467.64	6009.48	619	197.75	457.6	780	2863.23	733.37			
269	272.05	421.74	448	660.96	495.75	621	4385.63	6523.87	781	370.95	153.69			
271	115.76	130.21	449	105.44	220.69	625	129.34	168.82	798	465.94	390.57			
272	133.52	223.68	450	585.27	378.52	630	254.47	158.48	802	1483.13	290.82			
275	195.93	402.59	452	586.56	437.27	631	326.82	200.28	803	1420.86	378.98			
284	155.65	474.54	453	246.69	344.87	633	2257.95	1120.66	809	490.19	295.85			
288	18118.22	27845.62	460	2511.6	1313.47	636	730.41	919.2	810	1868.52	1489			
289	705.44	1024.9	461	753.53	487.39	638	373.94	283.03	811	421.44	311.34			
296	369.58	564.48	464	20601.57	1838.11	639	305.66	140.43	819	1952.07	844.55			
299	418.65	597.81	470	590.47	366.74	643	1759.51	1011.11	821	232.74	324.57			
301	2355.61	3679.53	471	544.61	332.05	645	584.26	334.7	822	291.21	454.92			
303	255.32	96.75	474	879.35	1804.57	646	351.46	288.32	824	1711.53	1470.8			

【0039】

さらに、鑑別診断により浸潤BCを認識できる。BCのない患者と浸潤BCの患者間の鑑別診断のために、表7の頻度マーカー及び表8の多さマーカーが適している。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 0 】

【 表 1 1 】

表 7 : 浸潤BCとBCのない患者を区別するための頻度マーカー

番号	浸潤BC群における 平均発生率	対照における 発生率	番号	浸潤BC群における 平均発生率	対照における 発生率	番号	浸潤BC群における 平均発生率	対照における 発生率
1	0.44	0.04	330	0.51	0.02	708	0.75	0.07
3	0.89	0.34	338	0.44	0.02	709	0.69	0.28
4	0.76	0.14	345	0.55	0.06	712	0.33	0.76
7	0.95	0.37	361	0.47	0.02	713	0.58	0.02
11	0.58	0.17	365	0.58	0.07	718	0.47	0.02
16	0.44	0.01	368	0.51	0.01	721	0.42	0.02
23	0.84	0.14	372	0.53	0.02	724	0.49	0.07
27	0.89	0.3	377	0.62	0.13	736	0.53	0.06
28	0.56	0.02	383	0.71	0.12	746	0.78	0.22
29	0.53	0.07	390	0.69	0.2	750	0.6	0.14
30	0.76	0.16	394	0.2	0.61	757	0.56	0.16
31	0.93	0.46	400	0.27	0.75	759	0.16	0.6
34	0.6	0.13	407	0.55	0.12	762	0.6	0.2
39	0.76	0.24	413	0.33	0.88	771	0.73	0.22
91	0.4	0.88	415	0.6	0.19	779	0.47	0.04
112	0.75	0.34	425	0.24	0.69	780	0.78	0.33
132	0.25	0.86	426	0.04	0.47	788	0.53	0.04
134	0.27	0.8	433	0.67	0.19	791	0.49	0.04
179	0.71	0.24	436	0.07	0.48	802	0.67	0.27
180	0.64	0.18	440	0.2	0.68	803	0.71	0.28
186	0.62	0.16	442	0.53	0.02	804	0.71	0.14
187	0.73	0.19	451	0.13	0.62	806	0.51	0.07
189	0.53	0.06	466	0.71	0.27	807	0.53	0.06
192	0.42	0.01	469	0.56	0.04	808	0.73	0.18
194	0.44	0.02	474	0.2	0.66	825	0.55	0.07
200	0.62	0.14	477	0.24	0.71			
204	0.71	0.2	485	0.58	0.15			
205	0.76	0.3	494	0.56	0.07			
206	0.73	0.3	496	0.24	0.67			
207	0.6	0.11	497	0.67	0.16			
209	0.53	0.04	508	0.56	0.08			
211	0.84	0.28	525	0.47	0.06			
213	0.51	0.02	526	0.49	0.03			
215	0.58	0.07	533	0.16	0.59			
216	0.71	0.21	539	0.05	0.46			
228	0.49	0.06	542	0.45	0.06			
229	0.55	0.07	557	0.58	0.15			
230	0.51	0.08	560	0.51	0.06			
231	0.45	0.02	561	0.53	0.07			
232	0.78	0.24	567	0.29	0.73			
233	0.73	0.23	576	0.15	0.57			
234	0.45	0.05	580	0.78	0.24			
235	0.69	0.25	581	0.55	0.14			
240	0.71	0.1	582	0.64	0.2			
248	0.49	0.09	583	0.47	0.92			
255	0.85	0.38	591	0.25	0.7			
259	0.6	0.19	594	0.67	0.22			
260	0.71	0.21	596	0.55	0.07			
264	0.73	0.24	613	0.45	0.06			
267	0.53	0.02	620	0.64	0.07			
270	0.56	0.11	629	0.49	0.01			
277	0.84	0.39	635	0.73	0.22			
279	0.71	0.18	644	0.44	0.04			
280	0.69	0.17	655	0.27	0.73			
282	0.8	0.12	685	0.87	0.34			
287	0.4	0	687	0.55	0.07			
316	0.58	0.13	691	0.67	0.16			
325	0.47	0.04	692	0.75	0.2			
327	0.62	0.2	695	0.4	0.81			

【 0 0 4 1 】

【表 1 2】

表 8 : 浸潤BCとBCのない患者を区別するための多さマーカー

番号	浸潤BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	浸潤BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	浸潤BC群における平均多さ	対照における平均多さ	番号	浸潤BC群における平均多さ	対照における平均多さ
5	681.6	915.74	173	355.05	717.77	281	243.62	145.14	363	632.9	232.16
6	815.21	734.8	174	336.82	673.1	283	160.68	91.52	364	639.09	691.79
9	1243.87	782.89	175	1222.79	2369.24	284	337.03	474.54	369	3411.18	5258.01
10	141.18	124.95	176	845.59	869.56	285	2505.38	72.28	370	11667.49	21376.25
21	1635.84	1958.08	178	324.58	744.72	286	2549.36	150.4	371	725.25	250.02
32	397.54	254.21	179	439.74	900.41	289	467.03	1024.9	376	283.9	878.46
37	446.42	159.1	180	1096.91	2012.33	290	186.3	79.4	378	728.83	552.92
40	1989.31	159.59	182	832.52	1599.5	291	558.3	287.08	379	411.32	628.41
41	392	216.08	183	968.19	1591.47	292	9841.21	6153.2	380	276.41	480.68
43	222.66	135.13	188	47.58	19.49	293	414.98	327.89	381	13594.59	253.26
44	580.55	943.28	190	118.25	235.42	294	348.42	151	382	1797.04	2562.08
46	512.02	1158.64	191	79.98	33.56	295	1234.05	860.46	384	74.02	94.63
48	425.9	664.52	193	192.29	123.78	296	783.79	564.48	386	459.1	356.62
52	4960.1	2173.05	195	95.67	45.2	297	213.75	298.42	388	649.43	2616.54
53	433.44	537.27	196	90.6	720.98	298	840.15	58.53	391	1297.86	2790.5
56	1116.75	2641.97	197	127.3	85.68	300	1990.34	1215.02	392	538.4	330.15
57	366.09	577.01	199	583.69	319.41	302	671.08	1913.27	396	1118.64	1548.95
63	189.75	318.87	201	107.79	57.89	304	194.42	55.41	397	255.21	483.71
66	1298.04	761.77	202	277.13	119.03	305	172.63	73.15	398	122.48	140.29
69	413.77	604.54	203	135.81	90.37	308	147.74	102.43	399	1368.03	696.02
72	275.44	190.05	208	374.07	70.68	309	867.46	497.12	401	368.33	999.31
78	1447.52	957.12	210	815.93	617.85	310	1133.99	2939.46	402	4724.92	7951.13
80	117.88	139.63	212	197.69	287.56	313	1096.17	201.72	403	1526.84	2730.17
81	716.39	1083.72	214	286.24	127.03	314	1191.03	699.24	405	702.99	1580.08
85	327.7	495.82	217	495.39	292.45	315	162.8	115.01	406	167.28	343.53
88	429.34	216.08	218	149.46	93.76	317	1710.2	932.91	408	142.98	264.47
92	373.18	1464.36	220	542.41	309.18	319	818.29	204.66	410	250.12	477.51
93	380.46	315.1	221	175.55	120.89	320	874.9	396.08	411	241.86	416.12
101	239.84	206.42	222	178.86	145.69	321	699.24	342.54	412	1103.38	1619.64
111	99.21	241.12	223	134.7	31.02	322	135.37	279.53	414	141.03	300.63
113	695.63	1862.59	224	90.56	308.11	323	487.82	252.99	416	999.69	1460.35
114	377.09	503.56	226	2547.02	1141.14	324	2230.59	166.99	417	800.56	1192.4
115	179.69	303.62	227	1599.83	1031.48	326	857.23	362.46	418	1088.84	1967.46
117	192.12	324.63	236	619.61	237.07	328	377.72	156.8	419	1559.36	1006.41
118	480.66	608.18	238	409.42	56.43	329	387.05	238	420	153.22	251.93
126	1277.47	764.74	241	226.47	151.59	331	343.69	198.75	421	686.69	467.84
130	126.13	352.84	242	5691.93	4175.12	333	8726.36	12695.31	422	400.49	817.36
140	188.41	276.45	243	436.57	189.83	335	798.51	415.43	423	878.93	1580.15
145	353.26	183.44	244	415.21	170.6	336	205.47	121.63	424	443.24	641.55
148	118.89	351.18	245	260.16	141.51	337	221.04	258.72	427	230.97	122.78
149	1146.83	1740.05	246	200.04	124.78	339	97.95	181.81	428	1576.37	2794.73
151	5196.35	10498.07	247	96.98	88.51	342	432.51	329.69	429	2145.42	3482.39
152	433.72	272.96	250	477.46	72.76	343	1621.95	2575.03	431	252.94	190.7
153	9705.5	20785.64	251	330.58	245.38	344	614.12	309.71	432	151.34	269.09
154	1117.92	807.4	252	141.41	134.05	346	441.7	631.08	434	773.88	1103.05
155	2216.16	4792.75	253	608.95	239.5	348	194.86	126.88	437	788.23	1328.66
156	1782.53	2810.21	254	242.32	315.01	349	1762.38	2743.26	438	1217.92	2565.32
157	13518.15	5970.9	256	510.44	342.62	350	7179.32	341.71	439	200.2	346.97
158	931.68	1996.73	257	283	176.66	351	18950.35	33275.83	441	1957.36	2749.89
159	4992.07	13360.51	258	103.68	45.1	352	3233.23	4832.9	443	465.87	412.54
160	3493.09	2426.25	262	1237.68	1993.54	353	280.53	178.61	444	272.39	110.58
161	4055.4	3023.97	263	437.43	284.59	354	205.51	600.85	445	245.78	464.12
162	8398.05	5176.62	265	682	451.29	355	489.54	660.69	447	281.31	244.14
163	2593.57	863.5	268	374.36	200.42	356	212.11	381.49	449	76.2	220.69
164	2038.97	484.44	269	675.02	421.74	357	945.98	610.28	450	750.55	378.52
165	357.58	558.57	273	1603.17	1707.78	358	294.04	233.81	453	139.55	344.87
166	1145.96	2233.02	274	253.2	166.84	359	3084.9	1071.44	454	369.2	851.23
169	352.85	86.39	276	371.26	44.14	360	2474.74	3145.77	455	85.25	132.39
170	105.05	224.3	278	1001.65	684.34	362	138.38	296.81	456	106.58	159.23

10

20

30

40

番号	浸潤BC群 における 平均多さ	対照に おける 平均多さ	番号	浸潤BC群 における 平均多さ	対照に おける 平均多さ	番号	浸潤BC群 における 平均多さ	対照に おける 平均多さ	番号	浸潤BC群 における 平均多さ	対照に おける 平均多さ	番号	浸潤BC群 における 平均多さ	対照に おける 平均多さ
457	212.57	278.24	548	296.88	126.04	633	3020.85	1120.7	722	447.59	2446.05	805	634.21	454.65
458	1516.3	2420.4	549	550.37	207.91	634	329.03	786.49	723	13940.67	18395.9	809	679.06	295.85
459	1588.11	2722.3	550	228.52	764.16	637	364.89	197.87	725	187.68	334.29	811	618.77	311.34
461	287.43	487.39	551	512.6	290.72	639	275.25	140.43	726	397.81	591.38	812	1119.36	388.74
462	1790.75	1405.3	552	297.73	252.04	640	115.65	66.25	727	637.1	1016.73	813	145.77	66.69
463	432.2	310.42	553	107.65	63.73	641	498.77	420.21	728	65.58	109.04	814	864.31	859.71
465	2273.09	2831.8	554	925.07	559.35	642	414.68	199.62	730	671.33	1689.36	815	638.46	331.57
467	300.32	170.89	555	226.74	131.69	645	779.48	334.7	731	110.46	373.29	816	1143.81	743.86
468	277.28	315.21	556	3423.44	211.72	647	5050.96	3358.3	732	3464.04	934.95	817	1557.62	753.52
470	1748.3	366.74	558	281.61	274.93	648	175.97	294.91	733	556.67	570.92	818	1908.62	1216.1
472	234.2	528.19	559	145.28	351.22	649	699.27	200.78	734	215.66	410.25	819	4979.79	844.55
473	1735.46	2593	562	648.04	1019.2	651	2586.25	1291.1	735	622.74	321.95	820	217.82	155.57
475	345.34	113.11	563	670.49	202.92	652	231.51	143.66	737	130	213.43	823	336.34	689.88
476	250.43	117.03	565	758.68	484.55	653	915.81	1935	738	190.04	327.64	824	3252.92	1470.8
478	719.07	390.57	568	779.64	127.81	654	5467.07	3725.6	739	293.28	366.38	826	5471.02	2618.9
479	849.79	507.64	569	836.94	671.47	656	819.99	386.71	743	185.63	332.04	827	2845.32	1552.8
480	568.31	240.49	570	258.18	74.14	659	141.99	980.59	744	819.18	507.03	828	1179.08	575.57
484	488.92	192.21	571	944.81	306.21	660	3289.37	329.08	745	602.42	780.22	829	1035.75	505.99
486	714.64	479.07	572	526.09	215.39	661	1919.62	2717	747	347.49	178.71	830	2085.83	9898.6
487	779.62	407.72	573	265.12	561.18	662	250.8	623.37	748	410.63	345.85	832	1003.08	2095.7
489	862.45	149.83	574	318.19	165.07	663	81.8	189.73	749	137.85	486.26	833	6617.56	1583.6
490	69.53	147.08	575	1531.87	1267	664	122.34	1413.9	751	1303.86	1883.97	834	670.25	313.23
491	254.43	282.04	577	18967.25	840.95	665	737.4	407.33	754	822.75	398.24	835	1014.66	600.48
492	402.39	507.47	578	210.08	510.51	666	426.8	770.9	755	6713.94	2358.14			
493	941.73	210.4	579	509.75	219.86	667	299.35	416.59	756	166.21	284.44			
495	257.49	450.84	584	181.19	618.79	668	188.12	612.28	758	200.24	250.67			
498	257.46	431.46	585	759.09	217.1	669	387.84	768.38	760	1216.67	2134.8			
500	502.69	61.58	586	4565.75	58.99	671	587.68	897.03	763	399.33	320.2			
501	1854.99	707.59	587	191.97	218.19	672	368.29	117.39	764	128.33	248.54			
502	137.49	169.93	588	192.37	103.5	673	21397.52	34.43	765	1514.46	4308.89			
503	140.4	252.44	589	263	405.5	674	187.19	256.29	767	293.5	190.8			
504	203.04	131.9	590	3057.26	126.77	675	665.34	927.95	768	283.27	788.11			
505	84.63	139.9	592	184.87	539.84	677	892.27	307.55	769	1403.56	947.92			
506	184.34	123.01	593	135.07	411.88	678	989.87	1826.7	770	418.46	258.56			
507	2296.38	1347.3	595	674.57	132.06	679	1128.17	1729	772	1313.89	627.71			
509	477.71	241.64	597	309.64	679.53	680	851.56	1493.4	773	211.83	927.49			
510	425.28	197.63	598	1239.18	168.71	681	1136.29	621.15	774	1337.79	550.41			
511	995.99	1860.1	603	3414.12	1369.9	683	1148.54	504.81	775	244.98	490.03			
512	1078.39	213.78	604	962.06	169.59	686	1363.26	797.98	776	3574.99	7395.44			
513	66.83	235.62	606	3896.53	8436	688	98.69	156.14	777	164.47	292.43			
514	358.26	78.89	607	111.01	126.02	689	53.97	120.23	778	387.48	356.61			
515	4934.49	943.15	608	7801.67	886.26	690	132.93	196.27	781	1038.97	153.69			
516	510.22	154.31	610	200.22	2017.3	693	843.36	485.58	782	4315.89	6177.03			
517	790.5	344.83	611	1670.86	90.16	694	2694.55	1306	783	916.46	441.9			
518	862.14	120.51	612	207.94	158.12	696	586.14	227.88	784	1412.71	1241.77			
520	976.83	589.3	614	152.15	342.56	698	960.67	1170	785	634.19	106.33			
521	1091.43	410.04	616	627.87	979.18	699	218.88	140.39	786	78.13	220.29			
524	124.24	287.18	617	549.7	1001.2	700	68.12	132.51	787	413.79	34.69			
527	127.3	313.99	619	183.49	457.6	701	1882.74	2710.4	789	814.07	750.37			
528	122.54	162.9	621	191.66	223.31	702	709.66	988.21	790	1584	4381.9			
529	543.24	654.44	622	3449.9	6523.9	703	465.93	247.99	792	92.04	51.86			
530	87.72	136.71	623	182	256.33	704	452.19	552.79	793	1306.38	777.08			
532	1066.35	725.68	624	577.49	913.29	707	157.49	209.94	794	125.55	184.79			
534	1202.07	1722.5	625	62.18	168.82	708	157.54	1118.7	795	825.81	1314.25			
537	258.42	252.33	626	244.08	497.04	711	132.71	286.79	796	456.95	140.52			
538	305.95	133.39	627	2052.37	858.44	714	543.08	281.17	797	461.61	182.5			
541	294.45	368.78	628	2563.18	274.04	715	644.42	1159	799	437.29	564.91			
543	139.85	522.74	630	103.25	158.48	717	612.86	987.76	800	448.25	288.48			
546	410.38	179.19	632	317.32	93	720	116.14	91.86	801	165.93	148.57			

【0042】

本発明のマーカ-は、個々の段階 p T a から p T 4 の鑑別診断のためにも用いることができる。

【0043】

1 以上のポリペプチドマーカ-の存在もしくは不在又は多さが決定される試料が得られ

10

20

30

40

50

る被験者は、膀胱癌にかかり得る任意の被験者、例えば、動物又はヒトである。好ましくは、被験者は哺乳動物であり、最も好ましくはヒトである。

【0044】

本発明の好ましい実施形態において、1つのポリペプチドマーカーだけでなく、膀胱癌を診断するためにマーカーの組み合わせが使用され、ここで、膀胱癌の存在は、これらマーカー多さの存在又は不在及び／又は多さの高さから結論づけられる。複数のポリペプチドマーカーを比較することにより、病気又は対照個体における通常存在する可能性からのわずかな個々の偏差から生じる全体における偏差を減少させ又は回避することができる。

【0045】

本発明に従った一つ以上のポリペプチドマーカーの存在もしくは不在又は多さを測定する試料は、被験者の身体から得られるいかなる試料であってもよい。この試料は、被験者の状態（膀胱癌かどうか）についての情報を提供するのに適するポリペプチド組成物を有する試料である。例えば血液、尿、滑液、組織液、体分泌物、汗、脳脊髄液、リンパ、腸液、胃液又は腓液、胆汁、涙液、組織試料、精液、腔液又は便試料であり得る。好ましくは液体試料である。

【0046】

好ましい実施形態において、試料は尿試料又は血液試料である。

【0047】

好ましい実施形態において、試料は尿試料又は血液試料であり、前記血液試料は血清又は血漿試料である。

【0048】

尿試料は、先行技術において公知の方法で採取することができる。好ましくは、本発明に関しては中流尿試料を前記尿試料として使用する。例えば尿試料はまた、カテーテル、又はW001/74275に述べられている排尿装置によっても採取し得る。

【0049】

血液試料は、先行技術において公知の方法によって、例えば静脈、動脈又は毛細血管から採取することができる。通常、血液試料は、例えば被験者の腕から注射器を用いて静脈血を採取することによって得られる。「血液試料」という用語は、血漿又は血清などの、さらなる精製及び分離方法によって血液から得られる試料を包含する。

【0050】

試料中のポリペプチドマーカーの存在又は不在は、ポリペプチドマーカーを測定するのに適した先行技術で公知の何らかの方法によって判定し得る。このような方法は当業者に公知である。原則として、ポリペプチドマーカーの存在又は不在は、質量分析法などの直接法によって、又は例えばリガンドによる、間接法によって判定することができる。

【0051】

必要に応じて又は所望する場合は、被験者からの試料、例えば尿又は血液試料を、何らかの適切な手段によって前処理してもよく、例えば一つ以上のポリペプチドマーカーの存在又は不在を測定する前に精製又は分離し得る。この処理は、例えば精製、分離、希釈又は濃縮を含み得る。この方法は、例えば遠心分離、ろ過、限外ろ過、透析、沈殿、又は、アフィニティー分離又はイオン交換クロマトグラフィーによる分離、電気泳動分離などの、クロマトグラフィー法であり得る。この特定例は、ゲル電気泳動、二次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動（2D-PAGE）、キャピラリー電気泳動、金属アフィニティークロマトグラフィー、固定化金属アフィニティークロマトグラフィー（IMAC）、レクチン系アフィニティークロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、順相及び逆相HPLC、陽イオン交換クロマトグラフィー及び表面への選択結合である。これらの方法は全て当業者に周知であり、当業者は、使用する試料及び一つ以上のポリペプチドマーカーの存在又は不在を判定するための方法に応じて方法を選択することができる。

【0052】

本発明の1つの実施形態において、キャピラリー電気泳動によって測定する前に分離さ

10

20

30

40

50

れ、試料を超遠心分離法によって精製する及び／又は限外ろ過によって特定分子サイズのポリペプチドマーカを含む分画に分割する。

【0053】

好ましくは、ポリペプチドマーカの存在又は不在を判定するために質量分析法を使用し、試料の精製又は分離はこのような方法の上流で実施し得る。現在使用されている方法と比較して、質量分析法は、試料の多くの (>100) ポリペプチドの濃度を1つの分析によって測定できるという利点を有する。いかなる種類の質量分析計も使用し得る。質量分析法によって、複雑な混合物において約 $\pm 0.01\%$ の測定精度で慣例的に、 10^6 mol のポリペプチドマーカ、すなわち 10^4 Da タンパク質 0.1 ng を測定することが可能である。質量分析計では、イオン形成ユニットが適切な分析装置に連結されている。例えば、エレクトロスプレー・イオン化 (ESI) 界面は、液体試料におけるイオンを測定するために殆んど使用され、一方、マトリックス支援レーザー脱離／イオン化 (MALDI) 技術はマトリックスで結晶化した試料からのイオンを測定するために使用される。形成されたイオンを分析するために、四重極、イオントラップ又は飛行時間 (TOF) 分析器を用いることができる。

10

【0054】

エレクトロスプレー・イオン化法 (ESI) では、溶液中に存在する分子を、特に高電圧 (例えば 1 から 8 kV) の影響下で、噴霧し、これが最初は荷電した小滴を形成して、溶媒の蒸発によってより小さくなる。最終的に、いわゆるクローン爆発が遊離イオンの形成が起こし、次いで分析され、検出され得る。

20

【0055】

TOF によるイオンの分析において、特定の加速電圧が加えられ、これは等量の運動エネルギーをイオンに付与する。その後、フライングチューブを通して個々のイオンが特定の浮遊距離を移動する時間を非常に正確に測定する。等量の運動エネルギーでは、イオンの速度はこの質量に依存するので、後者はこのようにして決定することができる。TOF 分析器は非常に高いスキャン速度を有し、従って、非常に高い分解能を達成する。

【0056】

ポリペプチドマーカの存在及び不在を決定するための好ましい方法は、気相イオン分光分析、例えば、レーザー脱離／イオン化質量分析、MALDI-TOF MS、SELDI-TOF MS (表面増強レーザー脱離／イオン化)、LC-MS (液体クロマトグラフィー／質量分析)、2D-PAGE/MS 及びキャピラリー電気泳動-質量分析 (CE-MS) を含む。記載されるすべての方法は当業者に公知である。

30

【0057】

特に好ましい方法は、キャピラリー電気泳動を質量分析法と組み合わせる CE-MS である。この方法は、例えばドイツ特許出願 DE 10021737、Kaiser ら (J Chromatogr A、2003、Vol. 1013: 157-171 及び Electrophoresis、2004、25: 2044-2055) 及び Wittke ら (Journal of Chromatography A、2003、1013: 173-181) にある程度詳しく述べられている。CE-MS 技術は、短い時間内に小容量で、試料の数百のポリペプチドマーカの存在を同時に高い感受性で測定することを可能にする。試料を測定した後、測定したポリペプチドマーカのパターンを作成する。このパターンを疾患又は健常ヒトのパターンと比較することができる。ほとんどの場合において、膀胱癌の診断及び膀胱癌の異なる段階間の鑑別診断のために限定された数のポリペプチドマーカ、例えば、少なくとも 6 、 8 、 10 、 20 、 50 又は 100 のマーカを使用することで十分である。

40

【0058】

ESI-TOF MS 装置とオンラインで連結した CE を含む CE-MS 法がさらに好ましい。

【0059】

CE-MS のためには、揮発性溶媒の使用が好ましく、基本的に塩分を含まない条件下

50

で作業することが最も適切である。このような適切な溶媒の例は、アセトニトリル、メタノール等を含む。この溶媒は、分析物、好ましくはポリペプチドをプロトン化するために水又は混合された弱酸（例えば0.1%から1%ギ酸）にて希釈されることができる。

【0060】

キャピラリー電気泳動により、分子をこれらの電荷と大きさによって分離することが可能である。中性粒子は電流の適用時に電気浸透流の速度で泳動し、一方陽イオンは陰極に向かって加速され、陰イオンは遅延する。電気泳動における細管の利点は、電流フローの間に生じるジュール熱の良好な散逸を可能にする、表面对容積の良好な比率にある。これが次に、高電圧（通常は30 kV）の適用を可能にし、このため高い分離性能と短い分析時間を可能にする。

10

【0061】

キャピラリー電気泳動において、典型的には50から75 μm の内径を有するシリカガラスキャピラリーが通常用いられる。用いられる長さは30から100 cmである。加えて、キャピラリーは通常プラスチックコートされたシリカから作られている。キャピラリーはどちらも未処理であり、すなわち、内部表面上のこの親水性基が露出している又はこの内部表面上で被覆されている。疎水性被覆（被覆：例えば、シリカの負極化表面を覆い隠す方法）を用いて、分解能を改善することができる。電圧に加えて、圧力も加えることができ、これは典型的には0から1 psiの範囲である。圧力は実行中又は変更された間のみ加えることができる。

【0062】

20

ポリペプチドマーカを測定するための好ましい方法において、試料のマーカをキャピラリー電気泳動により分離し、次いで直接イオン化し、検出のためにこれが連結された質量分析計へオンラインで移す。

【0063】

本発明に従った方法では、膀胱癌の診断のためにいくつかのポリペプチドマーカを使用することが好都合である。特に、少なくとも3個のポリペプチドマーカは、例えばマーカ1、2及び3；1、2及び4などを使用し得る。

【0064】

より好ましいのは、少なくとも4個、5個又は6個のマーカの使用である。

【0065】

30

なおいっそう好ましいのは、少なくとも15個のマーカ、例えば、マーカ1個から15個の使用である。

【0066】

最も好ましいのは表1又は4に記載される全てのマーカの使用である。

【0067】

いくつかのマーカが使用される場合に、膀胱癌の存在の可能性を決定するために、当業者に公知の統計的方法を使用できる。例えば、Weissingerらにより記載されているRandom Forests法（Kidney Int.、2004、65：2426-2434）は、コンピュータプログラム、例えば、同じ刊行物に記載されているS-Plus又はサポートベクターマシンを用いることにより使用できる。

40

【実施例】

【0068】

1. 試料の作製

膀胱癌のポリペプチドマーカを検出するために、尿を用いた。尿を健常ドナー（対照群）から並びに膀胱癌に罹患している患者から採取した。

【0069】

その後のCE-MS測定のために、アルブミン及び免疫グロブリンなどの高濃度で患者の尿中にも含まれるタンパク質を限外ろ過によって分離除去しなければならなかった。ここで、尿700 μl を取り、ろ過緩衝液（2 M尿素、10 mMアンモニア、0.02% SDS）700 μl と混合した。この1.4 mlの試料容量を限外ろ過した（20 kDa、

50

Sartorius、Goettingen、Germany)。限外ろ過は、限外ろ液 1. 1 ml が得られるまで遠心分離機において 3000 rpm で実施した。

【0070】

得られたろ液 1. 1 ml を、次に、PD10 カラム (Amersham Bioscience、Uppsala、Sweden) に適用し、0. 01 % NH_4OH 2. 5 ml で溶出し、凍結乾燥した。CE-MS 測定のために、ポリペプチドを水 20 μl (HPLC グレード、Merck) に再懸濁した。

【0071】

2. CE-MS 測定

CE-MS 測定を、Beckman Coulter (PACE MDQ System; Beckman Coulter Inc.、Fullerton、USA) からのキャピラリー電気泳動システム及び Bruker (micro-TOF MS、Bruker Daltonik、Bremen、Germany) からの ESI-TOF 質量分析計で実施した。

【0072】

CE 細管は Beckman Coulter より供給され、内径/外径 50/360 μm 、長さ 90 cm であった。CE 分離のための移動相は、水中 20 % アセトニトリル及び 0. 25 % ギ酸から成る。0. 5 % ギ酸との 30 % イソプロパノールを MS での「シースフロー」のために 2 μl /分の流量で使用した。CE と MS の連結は、CE-ESI-MS Sprayer Kit (Agilent Technologies、Waldbronn、Germany) によって実現した。

【0073】

試料を注入するために 1 から 6 psi の最大値の圧力を適用し、注入期間は 99 秒間であった。これらのパラメータで、細管容積の約 10 % から 50 % に相当する、約 150 から 900 nl の試料を毛細管に注入した。細管内で試料を濃縮するために積層手法を用いた。このため、試料を注入する前に 1 M NH_3 溶液を 7 秒間注入し (1 psi で)、試料を注入した後、2 M ギ酸溶液を 5 秒間注入した。分離電圧 (30 kV) を適用した後、分析物はこれらの溶液の間で自動的に濃縮された。

【0074】

この後の CE 分離は圧法で実施した：0 psi で 40 分間、次に 0. 1 psi を 2 分、0. 2 psi を 2 分、0. 3 psi を 2 分、0. 4 psi を 2 分、及び最後に 0. 5 psi を 32 分間。分離操作の合計期間は、このため、80 分間であった。

【0075】

MS の側でできる限り良好なシグナル強度を得るために、ネブライザガスを可能な限り低い値に設定した。エレクトロスプレーを生成するためにスプレー針に適用した電圧は 3700 から 4100 V である。質量分析計の他の設定条件は、製造者のプロトコールに従ってペプチド検出のために最適化した。m/z 400 から m/z 3000 までの質量範囲にわたってスペクトルを記録し、3 秒ごとに累積した。

【0076】

3. CE 測定のための標準

CE 測定を確認し、校正するために、選択された条件下で、示されている CE 泳動時間によって特徴付けられる以下のタンパク質及びポリペプチドを使用した。

【0077】

10

20

30

40

【表 1 3】

タンパク質/ペプチド	泳動時間
77' 呼ニ (SIGMA、Taufkirchen、DE、カタログ 番号A1 153)	9.2分
15' スルア-セ (SIGMA、Taufkirchen、DE、カタログ 番号R4875)	10.9分
リッ チム (SIGMA、Taufkirchen、DE、カタログ 番号L7651)	8.9分
「REV」、配列:REVQSKIGYGRQIIS	15.6分
「ELM」、配列:ELMTGELPYSHINNRDQIIFMVGR	23.4分
「KINCON」、配列:TGSLPYSHIGSRDQIIFMVGR	20.0分
「GIVLY」、配列:GIVLYELMTGELPYSHIN	36.8分

10

【0078】

タンパク質／ポリペプチドは、各々、水中10 pmol / μ l の濃度で使用した。「REV」、「ELM」、「KINCON」及び「GIVLY」は合成ペプチドである。

【0079】

ペプチドの分子量及びMSで目に見える個々の電荷状態のm/z比は以下の表に列挙される。

【0080】

【表 1 4】

H (モノ)	1.0079	1.0079	1.0079	1.0079	1.0079	1.0079	1.0079
m/z	77' 呼ニ	15' スルア-セ	リッ チム	REV	KINCON	ELM	GIVLY
	モノ質量	モノ質量	モノ質量	モノ質量	モノ質量	モノ質量	モノ質量
0	6513.09	13681.32	14303.88	1732.96	2333.19	2832.41	2048.03
1	6514.0979	13682.328	14304.888	1733.9679	2334.1979	2833.4179	2049.0379
2	3257.5529	6841.6679	7152.9479	867.4879	1167.6029	1417.2129	1025.0229
3	2172.0379	4561.4479	4768.9679	578.6612	778.7379	945.1446	683.6846
4	1629.2804	3421.3379	3576.9779	434.2479	584.3054	709.1104	513.0154
5	1303.6259	2737.2719	2861.7839	347.5999	467.6459	567.4899	410.6139
6	1086.5229	2281.2279	2384.9879	289.8346	389.8729	473.0762	342.3462
7	931.4494	1955.4822	2044.4193	248.5736	334.3208	405.6379	293.5836
8	815.1442	1711.1729	1788.9929	217.6279	292.6567	355.0592	257.0117
9	724.6846	1521.1546	1590.3279	193.559	260.2512	315.7201	228.5668
10	652.3169	1369.1399	1431.3959	174.3039	234.3269	284.2489	205.8109
11	593.107	1244.7643	1301.3606	158.5497	213.1161	258.4997	187.1924
12	543.7654	1141.1179	1192.9979	145.4212	195.4404	237.0421	171.6771
13	502.0148	1053.4171	1101.3063	134.3125	180.4841	218.8856	158.5486

20

30

40

【配列表】

[2009506310000001.app](#)

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/065742

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. G01N33/574 G01N33/68

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)

G01N

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

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

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	VLAHOU A ET AL: "Development of a novel proteomic approach for the detection of transitional cell carcinoma of the bladder in urine" AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY, PHILADELPHIA, PA, US, vol. 158, no. 4, April 2001 (2001-04), pages 1491-1502, XP002229719 ISSN: 0002-9440 cited in the application abstract page 1495, paragraph RESULTS - page 1498 ----- -/-	1-17



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 document 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.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 June 2007

Date of mailing of the international search report

22/06/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

VON EGELKRAUT, R

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/065742

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LIU W ET AL: "Using Tree Analysis Pattern and SELDI-TOF-MS to Discriminate Transitional Cell Carcinoma of the Bladder Cancer from Noncancer Patients" EUROPEAN UROLOGY, S. KARGER AG., BASEL, CH, vol. 47, no. 4, April 2005 (2005-04), pages 456-462, XP004784698 ISSN: 0302-2838 cited in the application abstract page 458, paragraph 3 - page 460	1-17
A	MUELLER J ET AL: "ProteinChip Technology Reveals Distinctive Protein Expression Profiles in the Urine of Bladder Cancer Patients" EUROPEAN UROLOGY, S. KARGER AG., BASEL, CH, vol. 47, no. 6, March 2005 (2005-03), pages 885-894, XP004941482 ISSN: 0302-2838 page 886, paragraphs 2,3 - page 889	1-17
A	WITKE S ET AL: "Discovery of biomarkers in human urine and cerebrospinal fluid by capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry: Towards new diagnostic and therapeutic approaches" ELECTROPHORESIS, WEINHEIM, DE, vol. 26, 14 March 2005 (2005-03-14), pages 1476-1487, XP002344807 ISSN: 0173-0835 page 1480, paragraph 3.2	1-17
A	SCHRADER M ET AL: "Peptidomics technologies for human body fluids" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, vol. 19, no. 10, 1 October 2001 (2001-10-01), pages S55-S60, XP004310379 ISSN: 0167-7799 page S58; figure 1	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2006/065742

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: **18**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see extra sheet PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

1-17 (in part)
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☒ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2006/065742

Continuation of Box II.2**Claim 18**

Claim 18 relates to a marker combination comprising at least 10 markers selected from markers 1 to 836 (see table of claim 1). The individual markers are characterized only by their molecular weight and migration time (CE time), without defining the amino acid sequence. The latter is, however, an essential feature that has to be provided in order to allow the person skilled in the art the isolation thereof for producing said markers. An obvious and complete disclosure of the invention (PCT Article 5) is thus not fulfilled. Moreover, claim 18 is not sufficiently supported by the description (PCT Article 6) within the meaning of the PCT Guidelines, paragraphs 5.43 to 5.44. The claim likewise is not clear within the meaning of PCT Article 6, because the scope of the claim is not clearly defined. The same molecular weight could comprise different markers. The migration time cannot be considered an obvious characterizing technical feature because it can vary as a function of the measuring system. Due to the aforementioned objections, no search was carried out on the subject matter of claim 18.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subject matter that has not been searched. This also applies in cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. However, after entry into the regional phase before the EPO an additional search may be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, C-VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been corrected.

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2006/065742

Invention 1: Claims 1-17 (in part)

Use of the polypeptide marker No. 1 characterized by the molecular weight (MG) of 4933.97 Da and a CE time of 17.2 min, in a method for the diagnosis of bladder cancer in (patient' s) samples.

Inventions 2-836: Claims 1-17 (in part)

Use of the polypeptide markers Nos. 2-836 respectively (see table of claim 1), characterized by their molecular weight (MG) and a CE time, in a method for the diagnosis of bladder cancer in (patient' s) samples.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/065742

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G01N33/574 G01N33/68		
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RESEARCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) G01N		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	VLAHOU A ET AL: "Development of a novel proteomic approach for the detection of transitional cell carcinoma of the bladder in urine" AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY, PHILADELPHIA, PA, US, Bd. 158, Nr. 4, April 2001 (2001-04), Seiten 1491-1502, XP002229719 ISSN: 0002-9440 in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Seite 1495, Absatz RESULTS - Seite 1498 ----- -/--	1-17
☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☐ Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benützung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 5. Juni 2007		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts 22/06/2007
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter VON EGGELKRAUT, R

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2006/065742

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
A	LIU W ET AL: "Using Tree Analysis Pattern and SELDI-TOF-MS to Discriminate Transitional Cell Carcinoma of the Bladder Cancer from Noncancer Patients" EUROPEAN UROLOGY, S. KARGER AG., BASEL, CH, Bd. 47, Nr. 4, April 2005 (2005-04), Seiten 456-462, XP004784698 ISSN: 0302-2838 in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Seite 458, Absatz 3 - Seite 460	1-17
A	MUELLER J ET AL: "ProteinChip Technology Reveals Distinctive Protein Expression Profiles in the Urine of Bladder Cancer Patients" EUROPEAN UROLOGY, S. KARGER AG., BASEL, CH, Bd. 47, Nr. 6, März 2005 (2005-03), Seiten 885-894, XP004941482 ISSN: 0302-2838 Seite 886, Absätze 2,3 - Seite 889	1-17
A	WITTKES ET AL: "Discovery of biomarkers in human urine and cerebrospinal fluid by capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry: Towards new diagnostic and therapeutic approaches" ELECTROPHORESIS, WEINHEIM, DE, Bd. 26, 14. März 2005 (2005-03-14), Seiten 1476-1487, XP002344807 ISSN: 0173-0835 Seite 1480, Absatz 3.2	1-17
A	SCHRADER M ET AL: "Peptidomics technologies for human body fluids" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, Bd. 19, Nr. 10, 1. Oktober 2001 (2001-10-01), Seiten S55-S60, XP004310379 ISSN: 0167-7799 Seite S58; Abbildung 1	1-17

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2006/065742

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 18
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☒ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. 1-17 [partially]
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☒ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.: 18

Anspruch 18 bezieht sich auf eine Markerkombination, umfassend mindestens 10 Marker ausgewählt aus den Markern 1 bis 836 (siehe Tabelle Anspruch 1). Die einzelnen Marker sind dabei allein anhand ihres Molekulargewichts und ihrer Migrationszeit (CE-Zeit) charakterisiert, ohne die Aminosäuresequenz zu definieren. Diese ist jedoch ein essentielles technisches Merkmal, das gegeben sein muss, um dem Fachmann die Isolierung für die Herstellung dieser Marker zu ermöglichen. Eine deutliche und vollständige Offenbarung der Erfindung im Sinne von Artikel 5 PCT ist somit nicht erfüllt. Darüberhinaus wird Anspruch 18 als nicht ausreichend durch die Beschreibung gestützt (Artikel 6 PCT) im Sinne der PCT Richtlinien, Paragraphen 5.43-5.44, angesehen. Der Anspruch ist auch nicht klar gemäß Artikel 6 PCT, da der Umfang des Anspruchs nicht klar definiert ist. Dasselbe Molekulargewicht könnte verschiedene Marker umfassen. Die Migrationszeit kann dabei nicht als eindeutig charakterisierendes technisches Merkmal angesehen werden, da sie je nach Messsystem variieren kann. Aufgrund der angeführten Einwände ist keine Recherche des Gegenstands des Anspruchs 18 durchgeführt worden.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

Erfindung 1: Ansprüche 1-17 (teilweise)

Verwendung des Polypeptidmarkers Nr. 1, charakterisiert durch das Molekulargewicht (MG) von 4933.97 Da und einer CE-Zeit von 17.2 min, in einem Verfahren zur Diagnose von Blasenkrebs in (Patienten-)Proben.

Erfindung 2-836: Ansprüche 1-17 (teilweise)

Verwendung jeweils der Polypeptidmarker Nr. 2-836 (siehe Tabelle Anspruch 1), charakterisiert durch ihr Molekulargewicht (MG) und eine CE-Zeit, in einem Verfahren zur Diagnose von Blasenkrebs in (Patienten-)Proben.

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100124855

弁理士 坪倉 道明

(72)発明者 ミシヤーク, ハラルト

ドイツ国、3 1 3 1 9・ミューリングエン、シュトルヒエンシュトラッセ・6

(72)発明者 ビットケ, シュテファン

ドイツ国、3 0 1 6 1・ハノーファー、イヒシュトラッセ・6 1

Fターム(参考) 2G041 CA01 DA04 DA05 FA12 HA02

2G045 AA26 CA25 DA36 FA12 FB05

4H045 AA10 AA20 AA30 CA42 CA44 EA51 GA25 GA30