

(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2016-508026

(P2016-508026A)

(43) 公表日 平成28年3月17日(2016.3.17)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>C 12 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 12 Q 1/68	A 2 G 04 1
<b>C 12 M 1/00 (2006.01)</b>	C 12 M 1/00	A 2 G 04 5
<b>G 01 N 33/68 (2006.01)</b>	G 01 N 33/68	4 B 02 4
<b>G 01 N 33/53 (2006.01)</b>	G 01 N 33/53	4 B 02 9
<b>G 01 N 27/62 (2006.01)</b>	G 01 N 27/62	4 B 06 3

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 34 頁) 最終頁に続く

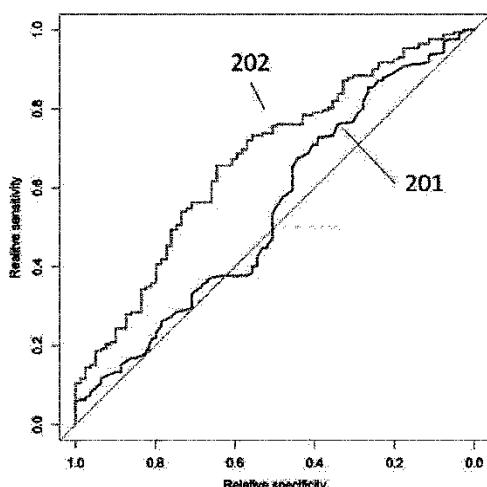
(21) 出願番号	特願2015-542310 (P2015-542310)	(71) 出願人	500139981 ファディア・アクチボラゲット Phadia AB スウェーデン751 37ウプサラ、ボックス6460
(86) (22) 出願日	平成25年11月20日 (2013.11.20)	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 阜二
(85) 翻訳文提出日	平成27年7月8日 (2015.7.8)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 葉
(86) 國際出願番号	PCT/EP2013/074270	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(87) 國際公開番号	W02014/079874	(72) 発明者	ヘンリク・グレンバリ スウェーデン、エス-112 18ストックホルム、リンドハーゲンステラッセン9番
(87) 國際公開日	平成26年5月30日 (2014.5.30)		
(31) 優先権主張番号	1251310-7		
(32) 優先日	平成24年11月20日 (2012.11.20)		
(33) 優先権主張国	スウェーデン(SE)		
(31) 優先権主張番号	1350602-7		
(32) 優先日	平成25年5月16日 (2013.5.16)		
(33) 優先権主張国	スウェーデン(SE)		

(54) 【発明の名称】前立腺癌を有する個体の予後診断方法

## (57) 【要約】

本発明は全般に、診断マーカーとしての潜在的有用性を有する、さまざまな形態の遺伝子マーカーおよびさまざまな形態のタンパク質の検出および同定に関する。患者の試料中の複数のバイオマーカーおよび遺伝子マーカーのレベルを測定し、得られた値を予め定められた式にしたがって組み合わせることにより、前立腺癌患者が放射線治療または手術のような積極的治療を必要とする可能性を予測することができる。前立腺癌が侵攻性であるか緩慢性であるかを推定する、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法を開示する。前記方法においては SNP データを組み合わせて複合値を形成し、ここで SNP の少なくとも 5 %を無視することができる。

FIGURE 2



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

前立腺癌と診断された個体が積極的治療を必要としうるかを推定するための、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法であって、下記ステップを含んでなる方法：

1. 前記個体からの少なくとも 1 つの生物学的サンプルを用意し；
2. 前記生物学的サンプルにおいて、P C a に関する S N P ( S N P p c ) のカテゴリーを、複数の S N P p c のそれぞれの存在または不存在を測定することにより解析し；
3. 前記 S N P p c カテゴリーに関するデータを組み合わせて、S N P p c 複合値を形成し、ここで、該方法は、S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c カテゴリーの S N P p c の少なくとも 5 % のサブセットの無視を許容し；
4. 前記 S N P p c 複合値を、コントロールサンプルを用いて確立された、予め定められたカットオフ値と比較することにより、前記個体が積極的治療を必要とする可能性に関連付け、ここで、前記コントロールサンプルを提供した個体は、積極的治療を要したか要しなかったかがわかっている。

## 【請求項 2】

S N P p c が、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771 10 570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs193348, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117, および rs138213197 の少なくとも 2 つを含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記生物学的サンプルにおいて、P C a バイオマーカーのカテゴリーの複数の P C a バイオマーカーのそれぞれの存在または濃度を測定することにより、P C a バイオマーカーカテゴリーを解析し；前記 P C a バイオマーカーカテゴリーに関するデータを組み合わせてバイオマーカー複合値を形成し；前記バイオマーカー複合値および前記 S N P p c 複合値を組み合わせて総複合値を形成し；前記総複合値を、コントロールサンプルを用いて確立された、予め定められた値と比較することにより、前記個体が積極的治療を必要とする可能性に関連付けることをさらに含み、ここで、前記コントロールサンプルを提供した個体は、積極的治療を要したか要しなかったかがわかっている、請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

少なくとも部分的に冗長な P C a バイオマーカーの存在または濃度を測定することを含み、ここで、P C a バイオマーカーの少なくとも 1 つ、例えば 2 つが、(i) P S A、(ii) 総 P S A ( t P S A )、(iii) インタクト P S A ( i P S A )、(iv) 遊離 P S A ( f P S A )、および(v) h K 2 からなる群から選択される、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記バイオマーカー複合値の形成の際、P C a バイオマーカーカテゴリーの前記 P C a バイオマーカー (i) ~ (v) の少なくとも 1 つのサブセット、例えば前記 P C a バイオマーカー (i) ~ (v) の 1 つ、2 つ、3 つまたは 4 つのサブセットの無視を許容する、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記 S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c カテゴリーの S N P p c の少なくとも 1 0 %、例えば 1 5 %、例えば 2 0 %、例えば 3 0 % の無視を許容する、請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 7】

前記 S N P p c カテゴリーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせて、前記 S N P p c 複合値を形成する、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 8】

10

20

30

40

50

前記 P C a バイオマーカーカテゴリーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせて、前記バイオマーカー複合値を形成する、請求項 3 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

前記バイオマーカー複合値および前記 S N P p c 複合値を、予め定められた式にしたがって組み合わせて、前記総複合値を形成する、請求項 3 ~ 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

前記 S N P p c 複合値または前記総複合値がカットオフ値を上回る場合に、個体に積極的治療を勧めるステップをさらに含む、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 11】

前記生物学的サンプルにおいて、P C a バイオマーカー濃度に関連する S N P ( S N P b m ) のカテゴリーを、少なくとも 1 つの S N P b m の存在または不存在を測定することにより解析し；前記 S N P b m に関するデータを組み合わせて S N P b m 複合値を形成し；前記 S N P b m 複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む、請求項 3 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

S N P b m が、rs3213764, rs1354774, rs1227732, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564 の少なくとも 1 つを含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記生物学的サンプルにおいて、前記個体の肥満度指数に関連する S N P ( S N P b m i ) のカテゴリーを、少なくとも 1 つの S N P b m i の存在または不存在を測定することにより解析し；前記 S N P b m i カテゴリーに関するデータを組み合わせて S N P b m i 複合値を形成し；前記 S N P b m i 複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む、請求項 3 ~ 12 のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

S N P b m i が、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902 の少なくとも 1 つを含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

P C a に関する家族歴、治療歴、および身体データを前記個体から収集することをさらに含み、ここで、前記家族歴、治療歴、および / または身体データは、前記総複合値に組み込まれる、請求項 1 ~ 14 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

付加的な P C a バイオマーカーカテゴリーを、該付加的バイオマーカーカテゴリーの複数の P C a バイオマーカーの 1 つまたはそれぞれの存在または濃度を測定することにより解析し；前記付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーに関するデータを組み合わせて前記付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーの付加的バイオマーカー複合値を形成し；前記付加的バイオマーカー複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含み；ここで、前記付加的バイオマーカー複合値を形成するデータの組み合わせは冗長的に設計され、前記付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーは 1 つを超える P C a バイオマーカーを含む、請求項 3 ~ 15 のいずれかに記載の方法。

【請求項 17】

前記付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーが、バイオマーカー M I C - 1 および場合により他の M I C - 1 関連バイオマーカー、またはバイオマーカー M S M B および場合により他の M S M B 関連バイオマーカーを含む、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

生物学的サンプルが血液サンプルである、請求項 1 ~ 17 のいずれかに記載の方法。

【請求項 19】

前記総複合値が、S N P b m および対応する P C a バイオマーカー濃度の非加算的効果

10

20

30

40

50

を利用する方法を用いて計算される、請求項 11～18 のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

前記 S N P の存在または不存在の測定を、M A L D I 質量分析を用いて行う、請求項 1～19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

前記 P C a バイオマーカーの存在または濃度の測定を、マイクロアレイ技術を用いて行う、請求項 1～20 のいずれかに記載の方法。

【請求項 22】

S N P の存在または不存在の測定が、該 S N P の対立遺伝子の数を測定することを含んでなる、請求項 1～21 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 23】

請求項 1 に記載されるステップ 2 を行うためのアッセイ装置であって、複数の S N P p c、例えば rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs1135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197 の少なくとも 1 つ、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、S N P p c に特異的に結合するリガンドカテゴリーが固定された固相を含んでなるアッセイ装置。

20

【請求項 24】

固相に、複数の P C a バイオマーカー、例えば P S A、i P S A、t P S A、f P S A および h K 2 の少なくとも 1 つ、および場合により M S M B および / または M I C - 1、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、P C a バイオマーカーに特異的に結合する第 2 のリガンドカテゴリーがさらに固定される、請求項 3 に記載の方法を行うための請求項 23 に記載のアッセイ装置。

【請求項 25】

固相に、S N P b m、例えば rs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663、および rs1054564 の少なくとも 1 つに特異的に結合する第 3 のリガンドカテゴリーがさらに固定される、請求項 11 に記載の方法を行うための請求項 23 または 24 に記載のアッセイ装置。

30

【請求項 26】

固相に、S N P b m i、例えば rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397、および rs1558902 の少なくとも 1 つに特異的に結合する第 4 のリガンドカテゴリーがさらに固定される、請求項 13 に記載の方法を行うための請求項 23～25 のいずれかに記載のアッセイ装置。

【請求項 27】

請求項 1 に記載されるステップ 2 を行うための試験キットであって、請求項 23 に記載のアッセイ装置、および S N P p c、例えば rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449、または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197 の少なくとも 1 つを検出することができる検出分子カテゴリーを含む試験キット。

40

【請求項 28】

請求項 24 に記載のアッセイ装置、および P C a バイオマーカー、例えば P S A、i P S A、t P S A、f P S A および h K 2 の少なくとも 1 つ、および場合により M S M B お

50

および / または M I C - 1 を検出することができる第 2 の検出分子カテゴリーを含む、請求項 2 7 に記載の試験キット。

【請求項 2 9】

請求項 2 5 に記載のアッセイ装置、および S N P b m、例えば rs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663、および rs1054564 の少なくとも 1 つを検出することができる第 3 の検出分子カテゴリーを含む、請求項 2 7 または 2 8 に記載の試験キット。

【請求項 3 0】

請求項 2 6 に記載のアッセイ装置、および S N P b m i、例えば rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397、および rs1558902 の少なくとも 1 つを検出することができる第 4 の検出分子カテゴリーを含む、請求項 2 7 ~ 2 9 のいずれかに記載の試験キット。

【請求項 3 1】

rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449、または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197 の少なくとも 1 つから選択される複数の異なる S N P p c のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、S N P p c に特異的に結合するリガンドカテゴリーが固定された固相を含んでなるアッセイ装置。

【請求項 3 2】

固相に、P S A、i P S A、t P S A、f P S A および h K 2 の少なくとも 1 つ、および場合により M S M B および / または M I C - 1 から選択される複数の異なる P C a バイオマーカーのそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、P C a バイオマーカーに特異的に結合する第 2 のリガンドカテゴリーがさらに固定される、請求項 3 1 に記載のアッセイ装置。

【請求項 3 3】

固相に、rs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663、および rs1054564 の少なくとも 1 つから選択される複数の S N P b m の 1 つまたはそれぞれに特異的に結合する 1 つまたは複数の異なるリガンドを含む、S N P b m に特異的に結合する第 3 のリガンドカテゴリーがさらに固定される、請求項 3 1 または 3 2 に記載のアッセイ装置。

【請求項 3 4】

固相に、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397、および rs1558902 の少なくとも 1 つから選択される複数の異なる S N P b m i の 1 つまたはそれぞれに特異的に結合する 1 つまたは複数の異なるリガンドを含む、S N P b m i に特異的に結合する第 4 のリガンドカテゴリーがさらに固定される、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれかに記載のアッセイ装置。

【請求項 3 5】

少なくとも請求項 1 に記載されるステップ 3 および 4、例えば請求項 1 に記載されるステップ 1 ~ 4 を行うためのソフトウェアコード手段を含んでなる、デジタルコンピューターの内部メモリに直接ロード可能なコンピュータープログラム。

【請求項 3 6】

請求項 3 に記載の方法を行うためのソフトウェアコード手段をさらに含む、請求項 3 5 に記載のコンピュータープログラム。

【請求項 3 7】

10

20

30

40

50

請求項 1 1 に記載の方法を行うためのソフトウェアコード手段をさらに含む、請求項 3 5 または 3 6 に記載のコンピュータープログラム。

【請求項 3 8】

請求項 1 3 に記載の方法を行うためのソフトウェアコード手段をさらに含む、請求項 3 5 ~ 3 7 のいずれかに記載のコンピュータープログラム。

【請求項 3 9】

請求項 3 1 に記載のアッセイ装置および請求項 3 5 に記載のコンピュータープログラム、または請求項 3 2 に記載のアッセイ装置および請求項 3 6 に記載のコンピュータープログラム、または請求項 3 3 に記載のアッセイ装置および請求項 3 7 に記載のコンピュータープログラム、または請求項 3 4 に記載のアッセイ装置および請求項 3 8 に記載のコンピュータープログラムを含んでなる装置。 10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は全般に、予後マーカーとしての潜在的有用性を有する、さまざまな形態の遺伝子マーカーおよびさまざまな形態のタンパク質の検出および同定に関する。本発明はとりわけ、前立腺癌を有する個体が将来前立腺癌治療を必要としうるかの改善された推定のために、複数の予後マーカーを同時使用することに関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

前立腺癌 (P Ca) のスクリーニングおよび早期発見のために、血清前立腺特異抗原 (PSA) の測定が広く用いられている。EUROPEAN UROLOGY 60(2011)21-28に発表された Markus Alyおよび共著者による公開報文 “Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study” (引用により本書の一部とする) に記載されるように、現在の臨床免疫アッセイにより測定可能な血清 PSA は、遊離「非複合体化」形態 (遊離 PSA) または 1 - 抗キモトリプシン (ACT) との複合体のいずれかとして主に存在する。血清中の遊離 PSA と総 PSAとの比が、P Ca の発見を有意に改善することが示されている。年齢および確認された家族歴のような他のファクターも、P Ca の発見をさらに改善し得る。P Ca に関連する遺伝子マーカー、とりわけ一塩基多型 (SNP) の測定は、前立腺癌のスクリーニングおよび早期発見のための新たな手段である。PSA のようなバイオマーカーおよび患者についての全体的情報との組み合わせにおいて、複数の P Ca 関連 SNP を解析することにより、複数の SNP の遺伝スコアへの組み込みによってリスク評価を改善することができる。 30

【0 0 0 3】

本発明とは異なるエンドポイントである P Ca リスクの予測のために、複数の情報源からの情報を 1 つのアルゴリズムモデルに組み合わせる試みが、これまでに開示されている。Cancer Prev Res (2010), 3(5):611-619に発表された Robert Klein および共著者による公開報文 “Blood Biomarker Levels to Aid Discovery of Cancer-Related Single-Nucleotide Polymorphisms: Kallikreins and Prostate Cancer” (引用により本書の一部とする)において、著者は、血中バイオマーカーがどのように新規 SNP の発見に役立つかを論じ、また、P Ca リスクを推定する予測モデルに遺伝子型およびバイオマーカーレベルの両方を組み込むことに潜在的役割があることを示唆している。さらに、この報文は、遺伝子マーカーおよびバイオマーカーの両方の非加算的組み合わせが、P Ca リスク推定の予測に役立ちうることの証拠を示している。後に、特許出願 WO 2012/031207A2 (引用により本書の一部とする)において、Xu および共同発明者が、対象が P Ca を有するリスクを評価する方法を開示した。この開示は、個体に前立腺癌を有するリスクがあるかを、規定された 3 3 の SNP の遺伝情報を用いることにより予測する方法を記載しており、これは、被検個体が化学予防療法に適するかを予測するのに使用できる可能性がある。化学予防療法は、癌発症の可能性を低下する目的で癌の診断に先立って行われるプロアクティブ療法である。 40 50

**【 0 0 0 4 】**

P S A は主として P C a の診断に用いられるが、 P C a と診断される個体の予後マーカーとしても報告されている。個体における P C a 予後の 1 つの可能な評価方法は、 Eur Urol. 2003 Aug;44(2):182-9; discussion 189 に発表された Collette および共著者の公開報文 “Prostate specific antigen: a prognostic marker of survival in good prognosis metastatic prostate cancer?” (引用により本書の一部とする) に記載されるように、 P S A 値の推移を追跡することである。

**【 0 0 0 5 】**

Ann Intern Med. 5 May 2009;150(9):647-649 に発表された EP Gelmann および SM Henshaw の公開報文 “Clinically Relevant Prognostic Markers for Prostate Cancer: The Search Goes On” (引用により本書の一部とする) に記載されるように、 P C a 診断の予後を評価するために適当なマーカーは他にもある。この報文においては、組織学的グレード (グリソンスコア) 、 P 5 3 発現、 B C L 2 発現および微小血管密度が、いずれもこの目的のためには大きな短所を有するものの、有用でありうる予後マーカーとしてとして論じられている。

10

**【 0 0 0 6 】**

現在の臨床診療 (スウェーデンにおける) は、前立腺に限られる前立腺癌に積極的治療 (手術または放射線治療) を行うべきかを決定するための主要な 1 つのインプットとして、グリソンスコアを用いる。年齢、関連のない疾患、推定される腫瘍の程度、および患者の意見のような他のファクターもまた、この決定のために重要である。大雑把に言えばグリソン 8+ の腫瘍を有する患者の大部分が積極的に治療される。グリソン 6 の腫瘍の患者については、積極的治療を受ける割合はより少なく、多くは積極的観察に留められる。この決定プロセスに患者が影響力を及ぼすので、決定は主観的性質のものであることが認知されている。患者を積極的に治療するかを決定する当分野における予後診断方法には、ボーダーラインのケース、すなわちグリソン 6 ~ 7 の腫瘍を有する患者のための決定サポートが提供されれば非常に有益であろう。

20

**【 0 0 0 7 】**

したがって、予後の推定は困難なタスクであるが、現在の技術の改善が社会における大きな節約をもたらし得る。特に重要なのは、 P C a と診断された個体が高度な治療 (手術または放射線) を必要としうるか、または、該疾患を積極的サーベイランスによりモニターリングするかを推定することである。高度な治療には、インポテンツ (手術の場合に多い) 、失禁および胃腸障害 (後二者は放射線治療の場合に多い) を含む多くの重篤な副作用が伴う。しかしながら本発明は、 P C a と診断された個体のバイオマーカーおよび遺伝子プロファイルの解析による P C a 予後の予測モデルを提供する。

30

**【 発明の概要 】****【 0 0 0 8 】**

本発明は、異なる由来の予後マーカーの組み合わせが、 P C a と診断された個体が積極的治療または高度な治療を必要としうるかを決定する能力を改善しうるという発見に基づく。とりわけ、これにより、早期に明らかになった高悪性度の癌がより容易に治療可能となるから、社会にとっての大きな節約となりうる。

40

**【 0 0 0 9 】**

上記特許出願 WO 2012/031207A2 において、 S N P データが 33 の S N P のサブセットのものしか利用可能でない場合、とりわけ 5 % を超える、または 10 % を超える、または 20 % を超える S N P のデータが欠けている場合に、記載される方法がどのように適用されるのかは開示されていない。このことは、 WO 2012/031207A2 の方法では、初回の試験の結果が部分的であった場合、初回の試験で得られなかつた遺伝学的情報を再試験するために被検個体に第 2 の試料の提供を求める必要がありうることを意味する。

**【 0 0 1 0 】**

本発明の一側面は、前立腺癌と診断された個体が積極的治療を必要としうるかを推定するための、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法であって、下記ステップを

50

含んでなる方法を提供する：

1. 前記個体からの少なくとも 1 つの生物学的サンプルを用意し；
2. 前記生物学的サンプルにおいて、P C a に関する S N P ( S N P p c ) のカテゴリーを、複数の S N P p c のそれぞれの存在または不存在を測定することにより解析し；
3. 前記 S N P p c カテゴリーに関するデータを組み合わせて、S N P p c 複合値を形成し、ここで、本方法は、S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c カテゴリーの S N P p c の少なくとも 5 % のサブセットの無視を許容し；
4. 前記 S N P p c 複合値を、コントロールサンプルを用いて確立された、予め定められたカットオフ値と比較することにより、前記個体が積極的治療を必要とする可能性に関連付け、ここで、前記コントロールサンプルを提供した個体は、積極的治療を要したか要しなかったかがわかっている。

【 0 0 1 1 】

本発明の一側面によると、前記方法の 1 つまたはそれ以上のステップ、通常ステップ 3 および 4 は、プロセッサおよびメモリを含むコンピューターにおいて実行されるコンピュータープログラムによってなされる。

【 0 0 1 2 】

一態様においては、前記方法のステップ 3 は、ステップ 2 のデータから S N P p c 複合値を形成または計算するようプログラムされたコンピューターで行われ；および / またはステップ 4 は、S N P p c 複合値を、コントロールサンプル（ここで、該コントロールサンプルを提供した個体は、積極的治療を要したか要しなかったかがわかっている）を用いて確立された、予め定められたカットオフ値との比較により、前記個体が積極的治療を必要とする可能性と関連付けるようプログラムされたコンピューターで行われる。さらに、本発明は、そのような計算を行い、またはそのような複合値を形成し、および / または前記のような関連付けステップを行う実行可能命令を有する、一時的でない有形の、コンピューターに読み取り可能な記憶媒体に関する。

【 0 0 1 3 】

カットオフ値（またはカットオフレベル）の選択は、疾患リスクそのもの、および疾患を有さない個体を陽性と不正確に診断すること（偽陽性）に関連するリスクを含むがそれに限定されない、多くのファクターに依存する。カットオフ値の選択についてはより詳細に後述する。

【 0 0 1 4 】

本発明の一態様においては、P C a に関する S N P ( S N P p c ) は、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117, および rs138213197 の少なくとも 2 つを含む。

【 0 0 1 5 】

一態様において、本発明の方法は、前記生物学的サンプルにおいて、P C a バイオマーカーのカテゴリーの複数の P C a バイオマーカーのそれぞれの存在または濃度を測定することにより、P C a バイオマーカー カテゴリーを解析し；前記 P C a バイオマーカー カテゴリーに関するデータを組み合わせてバイオマーカー複合値を形成し；前記バイオマーカー複合値および前記 S N P p c 複合値を組み合わせて総複合値を形成し；前記総複合値を、コントロールサンプル（ここで、該コントロールサンプルを提供した個体は、積極的治療を要したか要しなかったかがわかっている）を用いて確立された、予め定められた値と比較することにより、前記個体が積極的治療を必要とする可能性に関連付けることをさらに含む。

【 0 0 1 6 】

好ましくは、本発明の方法は、少なくとも部分的に冗長な P C a バイオマーカーの存在

10

20

30

40

50

または濃度を測定することを含んでなり、ここで、P C a バイオマーカーの少なくとも 1 つ、例えば 2 つは、(i) P S A、(ii) 総 P S A ( t P S A )、(iii) インタクト P S A ( i P S A )、(iv) 遊離 P S A ( f P S A )、および(v) h K 2 からなる群から選択される。

## 【 0 0 1 7 】

とりわけ、本発明の方法は、前記バイオマーカー複合値の形成の際、P C a バイオマーカーカテゴリーの前記 P C a バイオマーカー (i) ~ (v) の少なくとも 1 つのサブセット、例えば前記 P C a バイオマーカー (i) ~ (v) の 1 つ、2 つ、3 つまたは 4 つのサブセットの無視を許容する。

## 【 0 0 1 8 】

さらに、一態様において、本発明の方法は、S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c カテゴリーの S N P p c の少なくとも 10 %、例えば 15 %、例えば 20 %、例えば 30 % の無視を許容する。

## 【 0 0 1 9 】

好ましくは、P C a バイオマーカーカテゴリーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせて、前記バイオマーカー複合値を形成し、および / または S N P p c カテゴリーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせて、前記 S N P p c 複合値を形成する。また、前記バイオマーカー複合値および S N P p c 複合値を、好ましくは、予め定められた式にしたがって組み合わせて、前記総複合値を形成する。

## 【 0 0 2 0 】

一態様において、前記方法は、総複合値がカットオフ値を上回る場合に、個体に積極的治療を勧めるステップをさらに含む。

## 【 0 0 2 1 】

一態様において、本発明の方法は、前記生物学的サンプルにおいて、P C a バイオマーカー濃度に関連する S N P ( S N P b m ) のカテゴリーを、少なくとも 1 つの S N P b m の存在または不存在を測定することにより解析し；前記 S N P b m に関するデータを組み合わせて S N P b m 複合値を形成し；前記 S N P b m 複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む。

## 【 0 0 2 2 】

一態様において、S N P b m は、rs3213764, rs1354774, rs1227732, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564 の少なくとも 1 つを含む。

## 【 0 0 2 3 】

一態様において、本発明の方法は、前記生物学的サンプルにおいて、前記個体の肥満度指数 (Body Mass Index) に関連する S N P ( S N P b m i ) のカテゴリーを、少なくとも 1 つの S N P b m i の存在または不存在を測定することにより解析し；前記 S N P b m i カテゴリーに関するデータを組み合わせて S N P b m i 複合値を形成し；前記 S N P b m i 複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む。

## 【 0 0 2 4 】

一態様において、S N P b m i は、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902 の少なくとも 1 つを含む。

## 【 0 0 2 5 】

他の一態様において、本発明の方法は、P C a に関する家族歴、治療歴、および身体データを前記個体から収集することをさらに含み、ここで、前記家族歴、治療歴、および / または身体データは、前記総複合値に組み込まれる。

## 【 0 0 2 6 】

さらに別の一態様において、本発明の方法は、付加的な P C a バイオマーカーカテゴリーを、該付加的バイオマーカーカテゴリーの複数の P C a バイオマーカーの 1 つまたはそれぞれの存在または濃度を測定することにより解析し；前記付加的 P C a バイオマーカー

10

20

30

40

50

カテゴリーに関するデータを組み合わせて前記付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーの付加的バイオマーカー複合値を形成し；前記付加的バイオマーカー複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含み；ここで、付加的バイオマーカー複合値を形成するデータの組み合わせは冗長的に設計され、付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーは 1 つを超える P C a バイオマーカーを含む。

【 0 0 2 7 】

好ましい態様において、付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーは、バイオマーカー M I C - 1 および場合により他の M I C - 1 関連バイオマーカー、またはバイオマーカー M S M B および場合により他の M S M B 関連バイオマーカーを含む。

【 0 0 2 8 】

他の一態様において、本発明の方法は、上記手順にしたがって、複数の付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーのそれぞれを解析し、各 P C a バイオマーカーカテゴリーについて付加的バイオマーカー複合値を形成することを含んでなる。好ましくは、少なくとも 2 つの付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーを解析し、ここで、1 つの付加的 P C a バイオマーカーカテゴリーはバイオマーカー M I C - 1 および場合により他の M I C - 1 関連バイオマーカーを含み、他の 1 つの付加的カテゴリーはバイオマーカー M S M B および場合により他の M S M B 関連バイオマーカーを含む。

【 0 0 2 9 】

一態様において、生物学的サンプルは血液サンプルである。

【 0 0 3 0 】

本発明の一態様において、総複合値は、 S N P b m および対応する P C a バイオマーカー濃度の非加算的効果 (non-additive effect) を利用する方法を用いて計算される。

【 0 0 3 1 】

本発明の方法の一態様において、 S N P の存在または不存在の測定は、 M A L D I 質量分析を用いて行われる。

【 0 0 3 2 】

本発明の方法の一態様において、 P C a バイオマーカーの存在または不存在の測定は、マイクロアレイ技術を用いて行われる。

【 0 0 3 3 】

本発明の方法の好ましい一態様において、 S N P ( いずれかの S N P カテゴリーに属するもの ) の存在または不存在の測定は、該 S N P の対立遺伝子の数を測定することを含んでなる。一態様において、前記個体において、1 個または 2 個の対立遺伝子は、該 S N P の存在に対応し、0 個の対立遺伝子は、該 S N P の不存在に対応し；ここで、該 S N P に關し、0 個の対立遺伝子は同型接合陰性に対応し、1 個の対立遺伝子は異型接合陽性に対応し、2 個の対立遺伝子は同型接合陽性に対応する。

【 0 0 3 4 】

一態様において、前記方法は、 P C a バイオマーカーの存在または濃度の測定に、 E L I Z A アッセイ装置、マイクロアレイアッセイ装置、免疫沈降アッセイ装置、免疫蛍光アッセイ装置、放射免疫アッセイ装置、またはマトリックス支援レーザー脱離イオン化 ( M A L D I ) を用いる質量分析装置を使用することを含んでなる。

【 0 0 3 5 】

前記態様と組み合わせうる一態様において、前記方法は、 S N P の存在または不存在の測定に、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 ( M A L D I ) を用いる質量分析装置を使用することを含んでなる。

【 0 0 3 6 】

本発明の他の一側面は、前立腺癌と診断された個体が積極的治療を要しうるかを推定する前記方法のステップ 2 ( すなわち、複数の S N P p c のそれぞれの存在または不存在の測定 ) を行うためのアッセイ装置であって、複数の S N P p c 、例えば rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs1156

10

20

30

40

50

8818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, またはrs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 およびrs138213197の少なくとも1つ、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、S N P p c に特異的に結合するリガンドカテゴリーが固定された固相を含んでなるアッセイ装置を提供する。

【0037】

一態様において、本発明のアッセイ装置は、少なくとも1つのP C aバイオマーカーの存在または濃度の測定にさらに適合し、ここで、固相には、複数のP C aバイオマーカー、例えばP S A、i P S A、t P S A、f P S A およびh K 2 の少なくとも1つ、および場合によりM S M B および/またはM I C - 1、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、P C aバイオマーカーに特異的に結合する第2のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

10

【0038】

一態様において、本発明のアッセイ装置は、S N P b m の存在または不存在の測定にさらに適合し、この場合、固相には、S N P b m 、例えばrs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, およびrs1054564の少なくとも1つに特異的に結合する第3のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

20

【0039】

一態様において、本発明のアッセイ装置は、S N P b m i の存在または不存在の測定にも適合し、この場合、固相には、S N P b m i 、例えばrs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, およびrs1558902の少なくとも1つに特異的に結合する第4のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

20

【0040】

一態様において、前記アッセイ装置は、P C aバイオマーカーの存在または濃度の測定のために、E L I Z Aアッセイ装置、マイクロアレイアッセイ装置、免疫沈降アッセイ装置、免疫蛍光アッセイ装置、放射免疫アッセイ装置、またはマトリックス支援レーザー脱離イオン化(M A L D I )を用いる質量分析装置を含んでなる。

30

【0041】

前記態様と組み合わせうる一態様において、前記アッセイ装置は、S N P の存在または不存在の測定のために、マトリックス支援レーザー脱離イオン化(M A L D I )を用いる質量分析装置を含んでなる。

【0042】

本発明の他の一側面によると、前立腺癌と診断された個体が積極的治療を必要としうるかを推定する前記方法のステップ2(すなわち、複数のS N P p c のそれぞれの存在の測定)を行うための試験キットであって、前記の対応するアッセイ装置、およびS N P p c 、例えばrs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs1135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, またはrs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 およびrs138213197の少なくとも1つを検出することができる検出分子カテゴリーを含む試験キットが提供される。

40

【0043】

一態様において、本発明の試験キットは、少なくとも1つのP C aバイオマーカーの存在または濃度の測定にさらに適合したアッセイ装置、およびP C aバイオマーカー、例えばP S A、i P S A、t P S A、f P S A およびh K 2 の少なくとも1つ、および場合によりM S M B および/またはM I C - 1を検出することができる第2の検出分子カテゴリー

50

ーを含む。

【0044】

一態様において、本発明の試験キットは、少なくとも1つのS N P b mの存在または不存在の測定にさらに適合したアッセイ装置、およびS N P b m、例えばrs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, およびrs1054564の少なくとも1つを検出することができる第3の検出分子カテゴリーを含む。

【0045】

一態様において、本発明の試験キットは、S N P b m iの存在または不存在の測定にも適合したアッセイ装置、およびS N P b m i、例えばrs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, およびrs1558902の少なくとも1つを検出することができる第4の検出分子カテゴリーを含む。

10

【0046】

本発明のさらに別の側面は、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, またはrs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 およびrs138213197の少なくとも1つから選択される複数の異なるS N P p cのそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、S N P p cに特異的に結合するリガンドカテゴリーが固定された固相を含んでなるアッセイ装置を提供する。

20

【0047】

本発明のアッセイ装置の一態様において、固相には、P S A、i P S A、t P S A、f P S Aおよびh K 2の少なくとも1つから選択される複数の異なるP C aバイオマーカー、および場合によりM S M Bおよび/またはM I C - 1のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、P C aバイオマーカーに特異的に結合する第2のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

30

【0048】

本発明のアッセイ装置のさらなる一態様において、固相には、rs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, およびrs1054564の少なくとも1つから選択される複数のS N P b mの1つまたはそれぞれに特異的に結合する1つまたは複数の異なるリガンドを含む、S N P b mに特異的に結合する第3のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

40

【0049】

本発明のアッセイ装置のさらなる一態様において、固相には、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, およびrs1558902の少なくとも1つから選択される複数の異なるS N P b m iの1つまたはそれぞれに特異的に結合する1つまたは複数の異なるリガンドを含む、S N P b m iに特異的に結合する第4のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

50

【0050】

本発明のさらに別の側面は、前立腺癌と診断された個体が積極的治療を必要としうるかを推定する前記方法の、少なくともステップ3(すなわち、前記S N P p cカテゴリーに関するデータを組み合わせてS N P p c複合値を形成すること)、およびステップ4(すなわち、前記S N P p c複合値を、コントロールサンプル(ここで、該コントロールサンプルを提供した個体は、積極的治療を要したか要しなかったかがわかっている)を用いて確立された、予め定められたカットオフ値と比較することにより、前記個体が積極的治療を必要とする可能性に関連付けること) ; 例えば前記方法のステップ1(すなわち、前

50

記個体からの少なくとも 1 つの生物学的サンプルを用意すること)、ステップ 2 (すなわち、前記生物学的サンプルにおいて、複数の S N P p c のそれぞれの存在または不存在を測定することにより、S N P p c カテゴリーを解析すること)、ステップ 3 およびステップ 4 を行うためのソフトウェアコード手段を含んでなる、デジタルコンピューターの内部メモリに直接コード可能なコンピュータープログラムを提供する。

【0051】

一態様において、本発明のコンピュータープログラムは、少なくとも 1 つの P C a バイオマーカーの存在または濃度を決定するためのソフトウェアコード手段をさらに含む。

【0052】

一態様において、本発明のコンピュータープログラムは、少なくとも 1 つの S N P b m の存在または不存在の測定により S N P b m カテゴリーを解析するためのソフトウェアコード手段をさらに含む。 10

【0053】

他の一態様において、本発明のコンピュータープログラムは、少なくとも 1 つの S N P b m i の存在または不存在の測定により S N P b m i カテゴリーを解析するためのソフトウェアコード手段をさらに含む。

【0054】

本発明のさらなる側面は、前記アッセイ装置および前記の対応するコンピュータープログラムを含んでなる装置を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0055】

【図 1】図 1 は、実施例 1 の線形モデルの R O C 曲線を示し、積極的治療が必要かの予測における P S A (101) と遺伝スコアモデル (102) とのパフォーマンスの相異を説明するものである。

【図 2】図 2 は、実施例 1 の線形モデルの R O C 曲線を示し、積極的治療が必要かの予測における P S A (201) と多重パラメータモデル (202) とのパフォーマンスの相異を説明するものである。 20

【発明を実施するための形態】

【0056】

本願の目的のため、および明確化のために、下記の定義を行う：

用語「P S A」は、血清前立腺特異抗原全般をさす。P S A はさまざまな形態で存在し、用語「遊離 P S A」は、別の分子に未結合または別の分子に結合していない P S A をさし、用語「結合 P S A」は、別の分子に結合または別の分子と複合体形成している P S A をさし、用語「総 P S A」は、遊離 P S A および結合（複合体化）P S A の総体をさす。用語「F / T P S A」は、未結合の P S A と総 P S A との比である。P S A の分子誘導体も存在し、用語「プロ P S A」は、P S A の前駆不活性形態をさし、「インタクト P S A」は、インタクトおよび不活性で見られるプロ P S A のさらなる形態をさす。 30

【0057】

用語「診断アッセイ」は、病的状態の存在または性質の検出をさす。これは、「診断方法」と互換的に用いられる。診断アッセイによって感度および特異度が異なる。

【0058】

用語「予後アッセイ」は、既存の病的状態の進展の予測をさす。これは、「予後診断方法」と互換的に用いられる。予後アッセイは、ある特定の事象が生じうるかの予測を提供する場合、診断アッセイと同様であり、そのような場合、アッセイによって感度および特異度が異なりうる。そのような例の 1 つは、積極的治療が必要かを予測する予後アッセイである。

【0059】

用語「積極的治療」は、P C a 患者を、手術、外部放射線治療、標的化放射線治療、化学療法、低温療法、高温療法、または P C a を治療する目的で行われる他の医学的手段により治療することを意味する。 50

## 【0060】

診断ツールの有用性の1つの評価基準は、「受信者動作特性曲線下面積」で、これは一般にROC-AUC統計学として知られる。この広く受け入れられている評価基準は、該ツールの感度および特異度の両方を考慮する。ROC-AUC評価基準の値は、通常、0.5~1.0の範囲であり、ここで、0.5の値はツールに診断価値が無いことを意味し、1.0の値はツールが100%の感度および100%の特異度を有することを意味する。

## 【0061】

用語「感度」は、積極的治療を必要とする全ての対象の、そのように正しく判定される割合を意味する（真陽性数を真陽性および偽陰性の合計数で除したものに等しい）。

10

## 【0062】

用語「特異度」は、積極的治療を必要としない（すなわち経過観察が適当な）全ての対象の、そのように正しく判定される割合を意味する（真陰性数を真陰性および偽陽性の合計数で除したものに等しい）。

## 【0063】

用語「バイオマーカー」は、例えば診断目的で、生物学的マーカーとして用いられるタンパク質、タンパク質の一部、ペプチドまたはポリペプチドを意味する。

## 【0064】

用語「カリクレイン様バイオマーカー」は、カリクレインファミリーのタンパク質に属するかまたはそれに関連するタンパク質バイオマーカーを意味し、それには、遊離形態または複合体化形態の前立腺特異抗原（PSA）、プロPSA（一群のPSAアイソフォーム）、特に欠失型（-2）プロPSA、インタクトPSA、ヒトプロスタン酸ホスファターゼ（PAP）、およびヒトカリクレイン2（本願において、hK2またはHK2またはhK2と略される）が包含されるが、それに限定されない。

20

## 【0065】

用語「一塩基多型」（SNP）は、個体の遺伝コードにおける定められた遺伝子座の遺伝的特性を意味する。SNPは、PCaの増大したリスクに関連付けることができ、したがって、個体の診断評価または予後評価のために用いることができる。一塩基多型データベース（dbSNP）は、いずれも米国にある全米バイオテクノロジー情報センター（NCBI）と米国国立ヒトゲノム研究所（NHGR）とが共同で開発および提供する、異なる種内および種間の遺伝的多様性のアーカイブである。このデータベースの名称は1つのクラスの多形のみ（すなわち一塩基多型（SNP））のコレクションを意味するが、実際には、ある範囲の分子変異を含んでいる。それぞれ唯一の提示SNP記録毎に、参照SNP ID番号（「rs#」；「refSNPクラスター」）が付与される。本願においては、SNPは主にrs#番号を用いて特定される。したがって、本願においては、SNPは、一塩基多型だけではなく、dbSNPに含まれる範囲の分子変異をさす用語として用いられる。本願の目的のために、用語「SNP」および「SNPs」は、互換的に使用し得、単数および/または複数の「一塩基多型」を記載するために使用しうる。

30

## 【0066】

用語「肥満度指数」（BMI）は、式：BMI = 体重 / (身長 \* 身長) [式中、体重はキログラムで表される個体の体重であり、身長はメートルで表される個体の身長である]に従う、個体の体重および身長に基づくヒト体脂肪のヒューリスティックな代用値を意味する。正常な健康的BMI値は通常、18.5~25の範囲内にあると考えられ、BMI > 30の個体は通常、肥満とみなされる。

40

## 【0067】

用語「病歴」は、何らかの癌疾患のための過去の検査、診断および/または治療に関する情報を意味する。病歴の一例は、対象が過去に前立腺生検によるPCa存在の検査を受けたことがあるか、であるが、これに限定されない。

## 【0068】

用語「パラメータカテゴリー」は、関連パラメータの群またはファミリー、例えば関連

50

バイオマーカーまたは関連 S N P の群またはファミリー（予測パフォーマンスについて部分的にまたは全体的に冗長である）を意味する。パラメータカテゴリーの一例は、「カリクレイン様バイオマーカー」であり、これは、例えば P S A 、総 P S A ( t P S A ) 、インタクト P S A ( i P S A ) 、遊離 P S A ( f P S A ) および h k 2 を含むカテゴリーである。パラメータカテゴリーの他の例は、「 B M I に関連する S N P 」であり、これは、個体の B M I に関連する S N P を含むカテゴリーである。本発明の予測モデルにおいては、各カテゴリーが、そのメンバーのサブセットしか用いられなくても予測モデルにおいて意味を持つように、各カテゴリーのメンバーのサブセットについての測定結果（データ）を持つことが十分でありうる。本願において用語「パラメータカテゴリー」はしばしば、単に「カテゴリー」と称される。

10

## 【 0 0 6 9 】

用語「複合値」は、パラメータカテゴリーに関するデータの、該パラメータカテゴリーの代表値への組み合わせを意味する。データの組み合わせは典型的には、1つまたはそれ以上の予め定められた式にしたがって行うことができる。複合値は、1つまたはそれ以上の予め定められた式にしたがうデータ組み合わせのアウトプットである。パラメータカテゴリーのメンバーのどのサブセットについてデータが利用可能であるかに応じて、異なる測定結果（すなわち、データ）に異なる式を適用できる。あるパラメータカテゴリーの複合値を形成する方法の一例は、そのカテゴリーのメンバーについて利用可能な結果の平均を用いることであるが、それに限定されない。本願において、用語「複合値」はしばしば、「スコア」と称される。複合値の一例は、「バイオマーカー複合値」であるが、それに限定されない。複合値の他の非限定的な例は、「遺伝複合値」（または「遺伝スコア」）、より具体的には「 S N P 複合値」である。

20

## 【 0 0 7 0 】

用語「冗長的に設計されたデータ組み合わせ」は、1つまたはそれ以上のパラメータカテゴリーまたはそのサブセットについて複合値を形成するのに、複数の測定により得られたデータを組み合わせることであって、データの組み合わせが、1つのパラメータカテゴリーを代表する複合値がデータのサブセット（例えばいくつかのデータが欠けているかまたは誤っている場合）またはデータのフルセットのいずれかに基づいて得られるように行われることを意味する。

30

## 【 0 0 7 1 】

本願において用いられる用語「複数」は、「2またはそれ以上」を意味する。

## 【 0 0 7 2 】

本発明は、個体に P C a の積極的治療を勧告するかを判定、推定、発見および／または決定するのに役立つ予後診断方法を提供する。本発明は所望により、定められた部分母集団内における本発明のパフォーマンスおよび有用性を高めるために、その部分母集団に合わせて調整することができる。本発明は、男性個体の母集団に適用しうるが、定められた部分母集団 [ P S A 値が約 7 n g / m l よりも低い個体群（すなわち、1 n g / m l ~ 3 0 n g / m l の間の予め定められた値よりも低い）、または遊離 P S A 濃度が約 0 . 9 1 n g / m l よりも低い個体群（すなわち、0 . 1 n g / m l ~ 3 n g / m l の間の予め定められた値よりも低い）を包含するが、それに限定されない] に対し、高められたパフォーマンスで、個体に P C a の積極的治療を勧告するかを判定、推定、発見または決定する方法を構成することが可能である。

40

## 【 0 0 7 3 】

本発明の基本原理は、個体について評価された情報の組み合わせ使用が予後診断の質を改善するような方法で、バイオマーカーおよび遺伝情報の組み合わせを用いることである。

## 【 0 0 7 4 】

- ・前記患者から P C a に関する家族歴（カテゴリー H I S T ）を収集すること。
- ・体重、 B M I 、年齢などの患者身体データ（カテゴリー P P D ）を収集すること。
- ・前記患者からいくつかの生物学的サンプルを入手すること。

50

・前記生物学的サンプルにおいて、複数の定められたバイオマーカー（カテゴリー バイオマーカー）の存在または濃度を測定または定量し、次いで、該バイオマーカーに関するデータを組み合わせてバイオマーカー複合値を形成すること。

・前記生物学的サンプルにおいて、P C a に関する複数の定められた S N P ( S N P p c ) の存在または不存在を測定または定量することにより、P C a に関する複数の定められた S N P に関する前記患者の遺伝状態（カテゴリー S N P p c ）を測定または定量し、次いで、P C a に関する S N P に関して得られたデータを組み合わせて S N P p c 複合値を形成すること。

・前記生物学的サンプルにおいて、バイオマーカー発現レベルまたはバイオマーカー濃度に関する複数の定められた S N P ( S N P b m ) の存在または不存在を測定または定量することにより、バイオマーカー発現レベルまたはバイオマーカー濃度に関する複数の定められた S N P に関する前記患者の遺伝状態（カテゴリー S N P b m ）を測定または定量し、S N P b m 複合値を形成すること。

・前記カテゴリーの少なくとも 1 つの複合値を、前立腺癌の予後推定に使用する。通常、前記カテゴリーの少なくとも 2 つの複合値を組み合わせて、前立腺癌の予後推定に使用するための総複合値を形成する。

・前記カテゴリー複合値または総複合値を、単独で、またはさらなるデータと組み合わせて用いることにより、患者が P C a の高度な治療を必要とする可能性があるかを決定すること。

#### 【 0 0 7 5 】

より詳細には、家族歴の収集を含むステップは、P C a に罹患するかまたは罹患したことのある近親男性（例えば患者の父親、兄弟または息子）がいるかの特定を包含するが、それに限定されない。

#### 【 0 0 7 6 】

患者に関する身体情報は通常、年齢、体重、身長、B M I 等の身体データを収集する標準的な身体検査により得られる。

#### 【 0 0 7 7 】

患者から採取される生物学的サンプルは、血漿、血清、末梢血白血球からの D N A 、および尿を包含するが、それに限定されない。

#### 【 0 0 7 8 】

生物学的サンプル中のバイオマーカーの存在または濃度の定量は、さまざまな方法で行うことができる。一般的な方法の 1 つは、選択されたバイオマーカーの存在および濃度（可能な場合）を調べるのに抗体および検量線を用いる、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A ）の使用である。E L I S A アッセイは、Biomarkers. 2011 Sep;16(6):498-503 に発表された Shiiki N および共著者による “Association between saliva PSA and serum PSA in conditions with prostate adenocarcinoma.” (引用により本書の一部とする) に記載されるように、当分野で一般的であり知られている。別の一般的な方法は、生物学的サンプル中のバイオマーカーの存在または濃度の定量のためのマイクロアレイアッセイの使用である。マイクロアレイアッセイは通常、それぞれが 1 種のバイオマーカーを特異的に捕捉するように選択された複数の異なる捕捉試薬（通常は抗体）が、片面の重ならない領域に固定された平らなスライドグラスを含む。生物学的サンプルを、前記捕捉試薬が配置された領域に、定められた時間にわたり接触させた後、捕捉試薬領域を洗浄する。この時点で、検出しようとするバイオマーカーが生物学的サンプル中に存在した場合には、対応する捕捉試薬はそのバイオマーカーのフラクションを捕捉しており、洗浄後もスライドグラス上に固定維持するであろう。その後、一連の検出試薬を捕捉試薬領域（すでにバイオマーカーを潜在的に結合している）に添加する。検出試薬は、( i ) スライドグラス上に存在するバイオマーカーに結合すること、および ( i i ) (通常、蛍光色素との結合によって) 検出可能なシグナルを発することができる。通常、バイオマーカー毎に 1 つの検出試薬をスライドグラスに添加する必要がある。バイオマーカーの存在または濃度を定量することのできる方法は他にも多数あり、例としては免疫沈降アッセイ、免疫蛍光アッセイ

10

20

30

40

50

イ、放射免疫アッセイ、およびマトリックス支援レーザー脱離イオン化（M A L D I）を用いる質量分析法が挙げられるが、それに限定されない。

【 0 0 7 9 】

生物学的サンプルの分析によるS N P 存在の定量には、通常、対立遺伝子特異的プライマー伸長に基づくM A L D I 質量分析を用いるが、他の方法も同等に適用できる。これは、いずれのタイプのS N P にも適用され、すなわち、P C a に関連するS N P ( S N P p c ) 、B M I に関連するS N P ( S N P b m i ) およびバイオマーカー発現 / 濃度に関連するS N P ( S N P b m ) のいずれにも適用される。

【 0 0 8 0 】

データの組み合わせは、結果の何らかの種類のアルゴリズム的組み合わせ、例えばデータの線形結合であり得、ここで、該線形結合は診断パフォーマンスを改善する（例えばR O C - A U C を用いて評価される）。診断推定をもたらし得るモデルへの他の可能な組み合わせ方法は、非線形多項式、サポートベクターマシン、ニューラルネットワーク分類器、判別分析、ランダムフォレスト、勾配ブースティング、部分最小二乗法、リッジ回帰、ラッソ（lasso）、エラスティックネット（elastic net）、k 近傍法を包含する（それに限定されない）。さらに、Springer Series in Statisticsで刊行されたT Hastie、R Tibshirani および J Friedmanによる書籍“*The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction, Second Edition*”，ISBN 978-0387848570（引用により本書の一部とする）には、ある特定のアウトカムを予測または分類するためにデータを組み合わせるのに適当な方法が多数記載されている。

10

20

30

【 0 0 8 1 】

P C a 予後診断に適当なバイオマーカーは、遊離形態または複合体化形態の前立腺特異抗原（P S A）、プロP S A（一群のP S A アイソフォーム）、特に欠失型（- 2）プロP S A、インタクトP S A、ヒトプロスタン酸ホスファターゼ（P A P）、ヒトカリクレイン2（h K 2）、早期前立腺癌抗原（early prostate cancer antigen（E P C A））、前立腺分泌タンパク質（P S P 9 4；beta-microseminoproteinおよびM S M B としても知られる）、グルタチオンS - トランスフェラーゼ（G S T P 1）、および - - メチルアシルC o A ラセマーゼ（A M A C R）を包含するが、それに限定されない。本発明の方法の診断精度を向上するのに有用でありうる関連バイオマーカーには、マクロファージ抑制サイトカイン1（Macrophage Inhibitory Cytokine 1）（M I C - 1；G D F - 1 5 としても知られる）がある。

30

【 0 0 8 2 】

P C a に関連する適当なS N P は、rs12621278（2番染色体、遺伝子座 2q31.1）、rs9364554（6番染色体、遺伝子座 6q25.3）、rs10486567（7番染色体、遺伝子座 7p15.2）、rs465657（7番染色体、遺伝子座 7q21.3）、rs2928679（8番染色体、遺伝子座 8p21）、rs6983561（8番染色体、遺伝子座 8q24.21）、rs16901979（8番染色体、遺伝子座 8q24.21）、rs16902094（8番染色体、遺伝子座 8q24.21）、rs12418451（11番染色体、遺伝子座 11q13.2）、rs4430796（17番染色体、遺伝子座 17q12）、rs11649743（17番染色体、遺伝子座 17q12）、rs2735839（19番染色体、遺伝子座 19q13.33）、rs9623117（22番染色体、遺伝子座 22q13.1）、およびrs138213197（17番染色体、遺伝子座 17q21）を包含するが、それに限定されない。

40

【 0 0 8 3 】

P C a に関連する適当なS N P は、さらに、rs11672691、rs11704416、rs3863641、rs2130132、rs4245739、rs3771570、rs7611694、rs1894292、rs6869841、rs2018334、rs16896742、rs2273669、rs1933488、rs11135910、rs3850699、rs11568818、rs1270884、rs8008270、rs4643253、rs684232、rs11650494、rs7241993、rs6062509、rs1041449、およびrs2405942を包含するが、それに限定されない。

40

【 0 0 8 4 】

P C a に関連する適当なS N P は、さらに、N Engl J Med. 2012 Jan 12;366(2):141-9 に発表されたEwing CM および共著者による報文“Germline mutations in HOXB13 and pr

50

ostate-cancer risk.”（引用により本書の一部とする）に記載されるrs138213197、Cancer Res. 2004 Apr 15;64(8):2677-9に発表されたCybulski C および共著者による報文“A novel founder CHEK2 mutation is associated with increased prostate cancer risk.”（引用により本書の一部とする）に記載される1100delC (22q12.1) および 1157T (22q12.1)、ならびにCancer Res. 2004 Feb 15;64(4):1215-9に発表されたCybulski C および共著者による報文“NBS1 is a prostate cancer susceptibility gene”（引用により本書の一部とする）に記載される657del5 (8q21)を包含するが、それに限定されない。

#### 【0085】

P Ca に関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを「P Ca に関連する SNP 」と定義することが可能である。適当なメンバーは、上記に挙げた SNP を包含する（ただし、それに限定されない）。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

10

#### 【0086】

P Ca 以外のプロセスに関連する適当な SNP はさらに、いずれも PSA の発現レベルに関連するrs3213764、rs1354774、rs2736098、rs401681、rs10788160、rs11067228を包含するが、それに限定されない。PSA の濃度または発現レベルに関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを、「PSA 濃度に関連する SNP 」または「PSA 発現レベルに関連する SNP 」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。SNP rs3213764およびrs1354774は、遊離 PSA の発現レベルに特に関連する。

20

#### 【0087】

P Ca 以外のプロセスに関連する適当な SNP は、いずれも炎症性サイトカインバイオマーカー-MIC1 の発現レベルに関連するrs1363120、rs888663、rs1227732、rs1054564を包含するが、それに限定されない。MIC1 の濃度または発現レベルに関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを、「MIC1 濃度に関連する SNP 」または「MIC1 発現レベルに関連する SNP 」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

20

#### 【0088】

P Ca 関連のバイオマーカー、例えば遊離形態または複合体化形態の前立腺特異抗原 (PSA)、プロPSA (一群の PSA アイソフォーム)、特に欠失型 (-2) プロPSA、インタクトPSA、ヒトプロスタン酸ホスファターゼ (PAP)、ヒトカリクレイン2 (hK2)、早期前立腺癌抗原 (early prostate cancer antigen (EPCA))、前立腺分泌タンパク質 (PSP94 ; beta-microseminoprotein および MSMB としても知られる)、グルタチオンS-トランスフェラーゼ (GSTP1)、-メチルアシルCoAラセマーゼ (AMACR)、およびマクロファージ抑制サイトカイン1 (Macrophage Inhibitory Cytokine 1) (MIC-1 ; GDF-15 としても知られる) の濃度または発現レベルに関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを、「P Ca バイオマーカー濃度に関連する SNP 」または「P Ca バイオマーカー発現レベルに関連する SNP 」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

30

#### 【0089】

P Ca 以外のプロセスに関連する適当な SNP は、いずれも個体の BMI に関連するrs3817334、rs10767664、rs2241423、rs7359397、rs7190603、rs571312、rs29941、rs2287019、rs2815752、rs713586、rs2867125、rs9816226、rs10938397 および rs1558902 をさらに包含するが、それに限定されない。BMI に関連する他の適当な SNP は、PLoS One. 2013 Aug 7;8(8):e70735に発表されたMaegi および共著者による報文“Contribution of 32 GWAS-identified common variants to severe obesity in European adults referred for bariatric surgery”（引用により本書の一部とする）に開示されている。個体の BMI に関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを、「BMI に関連する SNP 」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて

40

50

、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

【0090】

対象における侵攻性前立腺癌の存在または不存在の評価において使用するのに好ましい SNP のコレクションは、rs582598, rs439378, rs2207790, rs1046011, rs10458360, rs7525167, rs10489871, rs7529518, rs4245739, rs4512641, rs10178804, rs11900952, rs1873555, rs10191478, rs6755901, rs6545962, rs721048, rs2710647, rs12612891, rs2028900, rs1009, rs12233245, rs6760417, rs10496470, rs10199796, rs12475433, rs16860513, rs12151618, rs3765065, rs13017302, rs12988652, rs871688, rs749264, rs3771570, rs4346531, rs6770955, rs12637074, rs2660753, rs13319878, rs6437715, rs2162185, rs1515542, rs2270785, rs9830294, rs1439024, rs6762443, rs888507, rs6794467, rs12490248, rs1477886, rs4833103, rs3796547, rs17779822, rs2366711, rs16849146, rs1894292, rs12640320, rs3805284, rs12500426, rs4699312, rs17021918, rs7679673, rs2047408, rs2647262, rs12506850, rs7658048, rs2078277, rs12505546, rs13113975, rs4246742, rs2736098, rs401681, rs11134144, rs10060513, rs40485, rs2087724, rs1482679, rs16901841, rs1295683, rs2070874, rs7752029, rs2018334, rs9358913, rs1140809, rs409558, rs3096702, rs9267911, rs2025645, rs9359428, rs6569371, rs2813532, rs1933488, rs712242, rs6934898, rs9456490, rs651164, rs3120137, rs9364554, rs9457937, rs10486562, rs10807843, rs7801918, rs6962297, rs2465796, rs6957416, rs7777631, rs2272316, rs6961773, rs2132276, rs13265330, rs16887736, rs2911756, rs2272668, rs2339654, rs1380862, rs9297746, rs12543663, rs10086908, rs16901922, rs1016343, rs17832285, rs16901979, rs4871779, rs10107982, rs16902094, rs620861, rs17467139, rs6983267, rs9297756, rs10094059, rs7818556, rs1992833, rs986472, rs12552397, rs4273907, rs4237185, rs753032, rs11253002, rs2386841, rs10795841, rs10508422, rs7075945, rs10508678, rs539357, rs10826398, rs3818714, rs7090755, rs10993994, rs4382847, rs1891158, rs10887926, rs10788160, rs6579002, rs10832514, rs7358335, rs1944047, rs3019779, rs10896437, rs12793759, rs7106762, rs7102758, rs2449600, rs585197, rs2509867, rs11568818, rs7125415, rs11601037, rs11222496, rs4570588, rs6489721, rs3213764, rs17395631, rs4423250, rs11168936, rs10875943, rs3759129, rs902774, rs1827611, rs4760442, rs11610799, rs6539333, rs11067228, rs7485441, rs6489794, rs4119478, rs17070292, rs2293710, rs17256058, rs1950198, rs2331780, rs7141529, rs12880777, rs17123359, rs785437, rs524908, rs12903579, rs7178085, rs714364, rs896615, rs11634741, rs9972541, rs12594014, rs11631109, rs1558902, rs8044335, rs2738571, rs885479, rs385894, rs684232, rs4925094, rs17138478, rs11649743, rs2107131, rs7213769, rs12946864, rs306801, rs138213197, rs1863610, rs17224342, rs9911515, rs12947919, rs966304, rs17744022, rs7234917, rs1943821, rs2227270, rs1363120, rs888663, rs1227732, rs1054564, rs4806120, rs11672691, rs758643, rs3745233, rs6509345, rs2659051, rs2735839, rs1354774, rs2691274, rs6090461, rs2297434, rs6062509, rs2315654, rs2823118, rs2838053, rs398146, rs16988279, rs2269640, rs4822763, rs132774, rs747745, rs5978944, rs6530238, rs5934705, rs5935063, rs4830488, rs17318620, rs5945619, rs5945637, rs11091768, rs2473057, rs5918762, rs4844228, rs6625760 および rs17324573 である。この完全なリストを用いることが好ましいが、このリストのサブセットを、対象における侵攻性前立腺癌の存在または不存在の評価に用いることが適当である。このリスト中の SNP (このリストの SNP 全て、またはこのリストの SNP の約 95 % もしくは 90 % もしくは 85 % もしくは 80 % もしくは 75 % もしくは 70 % を含むサブセット) を、適当な分析装置において同時検出のために同一の固体支持材、例えば同一のスライドグラス上に付けることができる。

【0091】

PCA スクリーニングにおけるある特定の診断または予後モデルの予測パフォーマンスを正確かつ比較可能に評価するのが困難であるとの必然的結果は、PSA のみの使用と比較した新規方法の相対的改良を計算する際、計算される相対的改良が多くのファクター

10

20

30

40

50

に依存して変動しうるということである。計算される相対的改良に影響する1つの重要なファクターは、コントロール群（すなわち陰性とわかっているもの）をどのように得るかということである。例えば、P C aの兆候のない対象に生検を行うのは非倫理的であるから、コントロール群の選択にはしばしばバイアスが伴う。すなわち、新規方法の相対的改良は、どのようにコントロール群が選択されたかに依存しうる。したがって、報告される改良評価は、そのようなバリアンスを考慮して見なければならない。我々の経験では、診断アッセイについて、公正な（fair）コントロール群選択方法の1つを用いてP S A値単独と比較して新規方法の相対的改良が15%であると報告される場合、該新規方法は、別の公正なコントロール群選択方法を用いるP S A値単独との比較としての改良が少なくとも10%であると見る。予後アッセイについても、ゴールドスタンダードとの比較は同じように難しく、予後アッセイパフォーマンスについての記述（本書および他における記述）は、コントロール群の選択によりもたらされるバリアンスを考慮して見なければならない。

10

#### 【0092】

広く用いられるための条件を満足するP C aスクリーニング方法を得るための1つの可能な方法は、複数の情報源からの情報を組み合わせることである。これは、概略レベルで、バイオマーカー分析（例えばP S A値）、遺伝子プロファイル（例えばS N Pプロファイル）、家族歴および他の情報源から得られる値を組み合わせることを含む。組み合わせは、それに含まれるいすれかのファクター単独よりも、良い診断をもたらす可能性を有する。より良い診断をもたらすために値を多重パラメータモデルに組み合わせる試みが、本願中に記載されるように、これまでに開示されている。同じアプローチを予後診断方法に適用しうる。

20

#### 【0093】

異なるカテゴリーからのデータを、患者がa P C aに罹患する可能性があるかを示す単一の値に変換するアルゴリズムは、好ましくは非線形関数であり、ここで、該方法の診断パフォーマンスのさらなる向上のために、異なるカテゴリーの依存が用いられる。例えば、1つの重要な依存は、ある選択されたバイオマーカーの測定レベルを、該バイオマーカーの期待発現レベルに関連する何らかの関連遺伝子マーカーと組み合わせることである。患者の試料に高濃度のバイオマーカーが見られ、かつ、該患者が該バイオマーカーを低レベルで有する遺伝的素因を有する場合、バイオマーカーレベルが高いことが大きな意味を持つ。同様に、あるバイオマーカーが高レベルとなる遺伝的素因を有する患者において該バイオマーカーのレベルが正常よりも明らかに低い場合、この相反する知見により、該バイオマーカーレベルの解釈の重要性が高められる。

30

#### 【0094】

好ましい処置を予測するのに用いるアルゴリズムには、変換された変数、例えば $\log_{10}$ （P S A）値を用いることが有利である。変換は、分布が正規分布から明らかに外れる変数に特に有利である。可能な変数変換は、対数、逆数、平方および平方根を含むが、それに限定されない。さらに通常、各変数を平均ゼロおよび単位分散にセンタリングする。

40

#### 【0095】

データの組み合わせはさまざまな方法で行うことができるが、本発明による典型的な方法を、限定するものとしてではなく、以下ように説明することができる。

#### 【0096】

典型的には、あるパラメータカテゴリーに属するバイオマーカーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせて、該パラメータカテゴリーに関連するリスクに関連付けられる複合値を形成しうる。非限定的な一例は、バイオマーカーカテゴリーのメンバーについての、すべての利用可能な測定値（データ）の平均値を計算し、その平均値を、該バイオマーカーカテゴリーを代表する複合値として用いることである。この方法は明らかに、何個のバイオマーカーメンバーがそのカテゴリーに属するかに関係なく適用することができる。もしカテゴリーに含まれるバイオマーカーの1つについてのデータしか

50

利用可能でない場合、それ自体を、該バイオマーカーカテゴリーを代表するものとして使用することができる。バイオマーカーについては、データ組み合わせステップに通常使用する測定値は、バイオマーカーの生物学的サンプル中の濃度である。これは、例えばバイオマーカー P S A および H K 2 については、通例、ng / ml の単位で表される、血液サンプル中のバイオマーカー濃度である。

【 0 0 9 7 】

遺伝スコア（すなわち、遺伝複合値またはとりわけ S N P 複合値）の計算は通常、パラメータカテゴリーに含まれる個々の S N P について予め定められたオッズ比に基づく。各 S N P について、オッズ比、すなわちある S N P を有する（すなわち該 S N P で規定されるリスク対立遺伝子を有する）個体が調査対象疾患または状態を有する尤度を予め決定する。S N P に関するオッズ比の決定は通常、疾患または状態のわかっている何千もの対象を含んだ大規模な前向き研究において行われる。

10

【 0 0 9 8 】

個体の遺伝スコアは、非限定的な例として、以下のアルゴリズムにしたがって計算することができる：被験個体について、各 S N P を下記方法で処理する。各 S N P について、個体は、2 個の S N P リスク対立遺伝子（その S N P について同型接合陽性）または 1 個のリスク対立遺伝子（その S N P について異型接合陽性）または 0 個のリスク対立遺伝子（その S N P について同型接合陰性）を有しうる。ある S N P についての対立遺伝子の数を、該 S N P に関するオッズ比の自然対数と掛け合わせて、該 S N P に関するリスク評価値を形成する。このことは、ある特定の S N P が陰性である（すなわち 0 個の S N P リスク対立遺伝子を有する）個体は、該 S N P によるリスク寄与を持たないであろうことを意味する。この手順を、測定データが利用可能なすべての S N P について行う。すべてのリスク評価値が計算されたら、測定データが利用可能な S N P についてリスク寄与の平均を計算し、あるカテゴリーの S N P に関する前記個体の遺伝スコア、すなわち遺伝複合値として用いる。この手順は明らかに、S N P カテゴリーに何個の S N P メンバーが属するかに関係なく適用しうる。

20

【 0 0 9 9 】

個体に適用する場合の本発明による典型的手法をさらに説明するために、次のような仮定を行う。第 1 に P r o t 1 および P r o t 2 をメンバーとするタンパク質バイオマーカーカテゴリー（またはバイオマーカーカテゴリー）、第 2 に S n p 1 、 S n p 2 および S n p 3 をメンバーとする遺伝カテゴリー（またはより具体的には S N P カテゴリー）、の 2 パラメータカテゴリーを規定する。状態 C を有することがわかっている 100 個体および状態 C を有しないことがわかっている 100 個体を用いる試験において、 P r o t 1 、 P r o t 2 、 S n p 1 、 S n p 2 および S n p 3 と状態 C との関連を確立し、 P r o t 1 および P r o t 2 についての 1 つのタンパク質バイオマーカー複合値、および S n p 1 、 S n p 2 および S n p 3 についての 1 つの遺伝複合値、ならびに 1 つの総複合値（これは次いで、状態 C を有するリスクに関連付けられる）として公式化する。タンパク質バイオマーカーカテゴリーの複合値は、予め定められた下記式を用いて計算される：

30

$P = ( P r o t 1 + 2 * P r o t 2 ) / 3$  [ P r o t 1 および P r o t 2 両方のデータ（すなわち P r o t 1 値および P r o t 2 値の両方）が利用可能である場合 ]

40

$P' = P r o t 1$  [ P r o t 1 のデータ（すなわち P r o t 1 値）のみ利用可能である場合 ]

$P'' = P r o t 2$  [ P r o t 2 のデータ（すなわち P r o t 2 値）のみ利用可能である場合 ]

したがって、この仮定ケースにおいて、該試験において（ a ） P r o t 1 および P r o t 2 が同じスケールを有すること、および（ b ）個体が状態 C を有するかを評価するために P r o t 2 の値が P r o t 1 の 2 倍重要であることがわかった。1 つのタンパク質バイオマーカーのデータしか利用可能でない場合は、それ自体を、タンパク質バイオマーカーカテゴリーを代表するものとして用いることができる。遺伝カテゴリーのメンバーに関するオッズ比が予め決定されており、それは次のとおりであった： S n p 1 = 1 . 1 ; S n p

50

$2 = 1 . 2$  ; および  $Snp3 = 1 . 3$ 。遺伝カテゴリーの複合値が、上記遺伝スコアとして計算される。次いで、タンパク質バイオマーカー複合値および遺伝スコア（このケースでは遺伝カテゴリー複合値または SNP 複合値に等しい）を、下記の予め定められた式にしたがって組み合わせて、総複合値とする：

$$Y = P + 10 * score$$

[式中、Yは状態Cを有するリスクに関連付けられ、Pはタンパク質バイオマーカー複合値であり（Pは、前記のとおり、P'またはP''で置き換えうる）、scoreは遺伝スコアである。]

大きな個体群（本仮定ケースでは100+100個体）に基づいてすべての式を計算する必要があり、そこでYと調査対象疾患または状態との関連が導かれる。本仮定ケースでは、 $Y > 5$ の場合に個体が状態Cを有するリスクが高く、 $Y > 10$ の場合にそのリスクは非常に高いと推測される。

10

#### 【0100】

次に、第1の個体AをProt1、Prot2、Snp1、Snp2およびSnp3について検査すると仮定する。この場合、すべての測定に成功し、下記結果が得られた：

$$Prot1 = 3ng/ml$$

$$Prot2 = 6ng/ml$$

$$Snp1 = \text{同型接合陰性、すなわちリスク対立遺伝子なし} = 0$$

$$Snp2 = \text{異型接合陽性、すなわち1個のリスク対立遺伝子} = 1$$

$$Snp3 = \text{同型接合陽性、すなわち2個のリスク対立遺伝子} = 2$$

20

この場合、タンパク質バイオマーカーカテゴリーの複合値は、 $P = (3 + 2 * 6) / 3 = 5$ となりうる。遺伝カテゴリーの複合値（遺伝スコアとも称される）は、 $score = (0 * \log(1.1) + 1 * \log(1.2) + 2 * \log(1.3)) / 3 = 0.2357$ となる。総複合値は、 $Y = 5 + 10 * 0.2357 = 7.357$ となる。したがって、個体Aが状態Cを有するリスクは、高いが非常に高くはないと評価される。

#### 【0101】

さらに、第2の個体BをProt1、Prot2、Snp1、Snp2およびSnp3について検査すると仮定する。この場合、3つの測定に成功し、下記結果が得られた：

$$Prot1 = 2ng/ml$$

$$Prot2 = \text{データなし}$$

30

$$Snp1 = \text{同型接合陽性、すなわち2個のリスク対立遺伝子} = 2$$

$$Snp2 = \text{データなし}$$

$$Snp3 = \text{異型接合陽性、すなわち1個のリスク対立遺伝子} = 1$$

この場合、タンパク質バイオマーカーカテゴリーの複合値は、Prot1の結果しか利用可能でないから、 $P' = 2$ となりうる。遺伝カテゴリーの複合値（遺伝スコアとも称される）は、 $score = (2 * \log(1.1) + 1 * \log(1.3)) / 2 = 0.2264$ となる。総複合値は、 $Y = 2 + 10 * 0.2264 = 4.264$ となる。したがって、個体Bが状態Cを有するリスクは低いと評価される。

#### 【0102】

aPcaに罹患するリスクを予測するモデルにおいて一般に、1つまたはそれ以上のカットオフ値が規定されることが多い。カットオフ値（またはカットオフレベル）の選択は、多くのファクターに依存し、それには、疾患リスク自体、および疾患を持たない個体を不正確に陽性と診断すること（偽陽性）に関連するリスクが含まれるが、それに限定されない。一般的なケースでは、予測モデルは通常、単調関数  $Y = f(x_1, x_2, \dots, x_N)$  であり、疾患を有する推定リスクがY値の増加と関連付けられる。このことは、カットオフ値を低いレベルに設定した場合、検査による偽陽性結果の数は多くなりうるが、実際に疾患を持つ個体の大部分を検出しうることを意味する。カットオフ値を高い値に設定した場合は逆に、カットオフレベルを超えるY値を有する個体は非常に高い確率で疾患を持ちうるが、疾患を有する多数の個体に陰性の検査結果（すなわち多数の偽陰性結果）が出されうる。カットオフレベルの選択は、（a）疾患を持つ個体を見落とすことと（b）疾患

40

50

を持たない個体を処置することと天秤に掛ける社会経済学的アウトカムを包含する多くのファクターに依存する。

【0103】

実際に適用される場合、例えば予測不能の技術的問題、ヒューマンエラー、または他の予期せぬ一般的でない理由によって、1つまたは少数の測定を欠くことがしばしばありうる。そのような場合、個体について得られるデータセットは不完全でありうる。一般的には、そのような不完全なデータセットは、評価するのが困難または不可能でありうる。しかしながら、本発明は、その多くが部分的に冗長である多数の特徴の測定に基づく。このことは、データセットが不完全である個体についても、多くの場合、本発明にしたがって質の高い評価を行うことが可能であることを意味する。このことは、カテゴリー内において特に当てはまり、ここで例えばカリクレイン様バイオマーカーが相関し部分的に冗長である。したがって技術的に、アルゴリズム的2段階アプローチを適用することが可能であり、ここではカリクレインバイオマーカー寄与をカリクレインスコア（またはカリクレイン値）にまとめ、次いで第2段階で、このカリクレインスコアを他のデータ（例えば遺伝スコア、年齢および家族歴であるが、それに限定されない）と組み合わせて、P C aに関する診断または予後診断をなすことができる。同様の2段階手法は、他の種類のマーカー、例えばB M Iに関連する遺伝マーカー、または形質転換増殖因子 スーパーファミリー（M I C - 1を包含する、構造的に関連する細胞調節タンパク質の大きなファミリー）に関連するタンパク質バイオマーカー（この2例に限定されない）についても行うことができる。

10

20

30

40

【0104】

冗長性は、多くの異なる方法で具体化することができる。冗長性を実現する1つの可能な方法では、共通のフィールドまたはファミリーに関連するバイオマーカーを代表するバイオマーカーのセットを規定する。そのようなフィールドまたはファミリーの非限定的な一例は、カリクレイン様バイオマーカーである。1つを超える規定されたバイオマーカーセット（またはカテゴリー）を決定することができ、加えて、そのようなセット以外にさらに別のバイオマーカーを適用することができる。通常、カテゴリーは重複せず、すなわち、規定されたバイオマーカーは、1つの規定されたカテゴリーのメンバーであるかまたは孤立的に用いられるだけである。次に、すべてのバイオマーカーについて、存在または濃度を測定する試みを行う。多くの場合に、すべてのバイオマーカーの測定が成功しうるが、1つまたは少数の値が欠けることもありうる。欠けた値に対するモデルのロバスト性を導入するために、規定されたカテゴリーのメンバーのすべてまたはサブセットを用いて決定しうるバイオマーカーカテゴリー複合値を規定することが可能である。これを実際に行うには、規定されたカテゴリーのバイオマーカーのメンバーが少なくとも部分的に冗長である必要がある。次の段階で、そのバイオマーカーカテゴリー複合値を、他のバイオマーカー値、他のバイオマーカーカテゴリー複合値（2つまたはそれ以上のバイオマーカーカテゴリーが規定された場合）、P C aリスクに関連する遺伝スコア、他の特徴（例えばB M Iまたはバイオマーカー濃度であるが、この2例に限定されない）に関連する遺伝スコア、家族歴、年齢、および好ましい処置法の評価に関連する他の情報担体と組み合わせて、総複合値とする。最終的に総複合値が、好ましい処置法の判断に用いられる。

【0105】

したがって、バイオマーカーカテゴリー複合値の目的は、不完全データを用いて計算されうる中間値として役立つことである。規定されたバイオマーカーカテゴリーが、いずれもバイオマーカーファミリーBに関連するB 1、B 2、B 3、…B NというN個の異なるバイオマーカーを含むと仮定する。その場合、ファミリーBバイオマーカー複合値Cを計算するのに利用可能なN個の異なるモデルが存在しうる：

$$C = f_1 (B_1, B_2, B_3, \dots, B_N)$$

$$C = f_2 (B_2, B_3, \dots, B_N)$$

$$C = f_3 (B_1, B_3, \dots, B_N)$$

...

50

$$C = f(N(B_1, B_2, B_3, \dots, B_N - 1))$$

ここで、 $f_1(\cdot)$ 、 $f_2(\cdot)$ … $f_N(\cdot)$ は、バイオマーカー $B_1 \dots B_N$ の値をインプットとして用い、何らかの方法でファミリーBバイオマーカー複合値を表す単一のアウトプットCをもたらす数学関数である。関数 $f_1(\cdot) \dots f_N(\cdot)$ の非限定的な一例は、独立変数の線形結合を含む。そのような、1つのバイオマーカー値を欠くいづれの場合にもCを計算することのできる複数の関数のセットを用いると、総複合値の計算は、欠けたデータの影響を受けにくくなる。すべてのデータが揃わない場合はCの値の質は劣るかも知れないが、好ましい処置法の判断に用いるには十分に良好でありうると理解される。すなわち、そのような方法を用いる場合、Cの値を得るために $N - 1$ 個のバイオマーカー測定が成功しさえすればよい。さらに欠落データが何個であっても計算を行うことが可能であり、すなわち、 $N - 2$ 個のバイオマーカー測定が成功すべきであれば、別の関数 $f(\cdot)$ のセットを開発し適用してCを計算することができる。

10

## 【0106】

すなわち、 $PCa$ バイオマーカーに関して、本発明は、本願のいづれかの箇所で規定されるように、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法に関する。より具体的には、本発明の方法は、少なくとも部分的に冗長な $PCa$ バイオマーカーの存在または濃度を測定することを含んでなり、ここで、該 $PCa$ バイオマーカーの少なくとも1個、例えば2個は、(i) PSA、(ii) 総PSA(tPSA)、(iii) インタクトPSA(iPSA)、(iv) 遊離PSA(fPSA)、および(v) hK2からなる群から選択される。本発明の方法は、バイオマーカー複合値の形成の際、 $PCa$ バイオマーカー(i)～(v)の少なくとも1つのサブセットの無視を許容する。換言すると、本発明の方法は、前記バイオマーカーカテゴリーの全 $PCa$ バイオマーカーよりも少ない $PCa$ バイオマーカーのデータ、より具体的には4個までの前記 $PCa$ バイオマーカーのサブセットに関するデータから、バイオマーカー複合値を形成することを可能にする。これは、当業者に理解されるように、前記バイオマーカー複合値の計算に、前記 $PCa$ バイオマーカーの4個までのサブセットに関するデータが必要とされる方法と等価でありうる。バイオマーカー複合値の形成の際に、前記 $PCa$ バイオマーカーのサブセットに関するデータの省略、欠失または欠損が許容されることとは、本発明の方法の利点である。

20

## 【0107】

当業者に理解されるように、本発明は、バイオマーカーカテゴリーの全バイオマーカーに関するデータが利用可能であれば、その全バイオマーカーに関するデータからバイオマーカー複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。

30

## 【0108】

一態様において、本発明の方法は、 $PCa$ バイオマーカー(i) PSA、(ii) 総PSA(tPSA)、(iii) インタクトPSA(iPSA)、(iv) 遊離PSA(fPSA)、および(v) hK2の1個、2個、3個または4個のサブセットの無視を許容する。換言すると、本発明の方法は、 $PCa$ バイオマーカー(i)～(v)の4個、3個、2個または1個のサブセットに関するデータから前記バイオマーカー複合値を形成することを可能にする。

40

## 【0109】

本願において前述のように、本発明の方法は、複数の追加的な $PCa$ バイオマーカーカテゴリーの1つまたはそれを解釈することをさらに含んでよく、ここで、追加的 $PCa$ バイオマーカーカテゴリーが1個を超える $PCa$ バイオマーカーを含む場合、各追加的バイオマーカー複合値を形成するためのデータの組み合わせは、冗長的に設計される。本発明の方法は、バイオマーカー複合値の形成の際、 $PCa$ バイオマーカーのサブセットの無視を許容する。換言すると、本発明の方法は、追加的 $PCa$ バイオマーカーカテゴリーの全 $PCa$ バイオマーカーよりも少ない $PCa$ バイオマーカーに関するデータ、例えば追加的 $PCa$ バイオマーカーカテゴリーの $PCa$ バイオマーカーの10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%のサブセットに関するデータから、バイオマーカー複合値を形成することを可能にする。当業者に理解されるように、本

50

発明は、追加的 P C a バイオマーカーカテゴリーの全 P C a バイオマーカーに関するデータが利用可能であれば、その全バイオマーカーに関するデータから各追加的バイオマーカー複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。

【 0 1 1 0 】

遺伝リスクスコア（すなわち、遺伝スコアまたは遺伝複合値、より具体的には S N P 複合値）も、例えば予測不能の技術的問題、ヒューマンエラーまたは他の予期せぬ一般的でない理由による少々のデータ欠落に影響されない。1つの s n p のリスクスコアへの寄与は通常、他の s n p に関連付けられない。s n p の場合、各 s n p によるリスク変化は小さいが、ある状態に関連する複数の s n p を協調的に用いることにより、その状態についてのリスク変化は、モデルのパフォーマンスに影響を及ぼすのに十分大きなものとなる。遺伝スコアを形成するための s n p の好ましい数は、少なくとも 3 s n p 、より好ましくは 1 0 s n p 、より好ましくは 2 5 s n p 、より好ましくは 5 0 s n p 、より好ましくは 6 0 s n p 、より好ましくは 7 0 s n p 、より好ましくは 8 0 s n p 、より好ましくは 9 0 s n p 、より好ましくは 1 0 0 s n p 、より好ましくは 1 5 0 s n p 、より好ましくは 2 0 0 s n p 、より好ましくは 2 5 0 s n p 、より好ましくは 3 0 0 s n p である。これは、1つの s n p が総合的な結果に及ぼす影響は通常小さく、少数の s n p を省略しても総遺伝スコアリスク評価は通常大きくは変わらない、すなわち S N P 複合値は大きくは変わらないことを意味する。現在の技術水準で、大規模遺伝子測定におけるデータ欠損は通常、1～2%のオーダーであり、これは、遺伝スコアが 1 0 0 個の異なる s n p からなる場合、個体の通常の遺伝子分析により該 s n p の約 9 8 ~ 9 9 % についての情報が得られることを意味する。しかしながら、本発明の研究において見出された本発明のモデルは、より大きなデータ欠損または欠落、例えば 5 ~ 7 % または 7 ~ 1 5 % または 1 5 ~ 3 0 % の情報欠損にも耐えうる。この意味で、S N P p c に関するデータの組み合わせは少なくとも部分的に冗長である。

10

20

30

40

【 0 1 1 1 】

したがって、遺伝子マーカー（ S N P ）に関しても、本発明は、本願のいずれかの箇所において規定されるように、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法に関する。本発明の方法は、 S N P 複合値の形成の際、 S N P p c の少なくとも 5 % の無視を許容する。換言すれば、本発明の方法は、 S N P p c カテゴリーの全 S N P p c よりも少ない S N P p c に関するデータから、より具体的には前記 S N P p c の 9 5 % までのサブセットに関するデータから、前記 S N P p c 複合値を形成することを可能にする。当業者に理解されるように、これは、前記 S N P p c 複合値の形成に前記 S N P p c の 9 5 % までのサブセットに関するデータが必要とされる方法と等価である。 S N P p c 複合値の形成の際、前記 S N P p c のサブセットに関するデータの省略、欠失または欠損が許容されることは、本発明の方法の利点である。

【 0 1 1 2 】

当業者に理解されるように、本発明は、 S N P p c カテゴリーの全 S N P p c に関するデータが利用可能であれば、その全 S N P p c に関するデータから S N P p c 複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。同様に、本発明は、前記 S N P p c の 9 9 % 、 9 8 % 、 9 7 % または 9 6 % のサブセットに関するデータから S N P p c 複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。

40

【 0 1 1 3 】

一態様において、本発明の方法は、 S N P p c 複合値の形成の際、 S N P p c の 6 % 、 7 % 、 8 % 、 9 % 、 1 0 % 、 1 5 % 、 2 0 % 、 2 5 % または 3 0 % の無視を許容する。換言すれば、本発明の方法は、 S N P p c の 9 4 % 、 9 3 % 、 9 2 % 、 9 1 % 、 9 0 % 、 8 5 % 、 8 0 % 、 7 5 % または 7 0 % のサブセットに関するデータから前記 S N P p c 複合値を形成することを可能にする。

【 0 1 1 4 】

そのような冗長的に設計されたデータ組み合わせの非限定的な一例は、測定データの存在する各 S N P に関するリスクの平均を計算することである。そのような冗長的に設計

50

されたデータ組み合わせの他の非限定的な一例は、複合値を計算するための複数の独立した式（複合値の形成に使用しうるデータサブセット毎に1つの式）を提供することである。

#### 【0115】

S N P を状態（例えば P C a、または上昇した血中 h k 2 バイオマーカー濃度）に関連付ける1つの適当な方法が、Cancer Prev Res 2010;3:611-619に発表されたRobert Klein および共著者による公開報文“Blood Biomarker Levels to Aid Discovery of Cancer-Related Single-Nucleotide Polymorphisms: Kallikreins and Prostate Cancer”（引用により本書の一部とする）に記載されている。この報文において著者は、著者がどのように S N P rs2735839を（遊離 P S A）/（総 P S A）の上昇した値に関連付けることができたかを記載している。さらに著者は、S N P rs10993994を、高 P C a リスク、高総 P S A 値、高遊離 P S A 値および高 h k 2 値に関連付けることができ、S N P rs198977を、高 P C a リスク、高（遊離 P S A）/（総 P S A）値および高 h k 2 値に関連付けることができた。

10

#### 【0116】

実際に、S N P を状態に関連付ける1つの一般的な方法は、1つの健康なコントロール群と試験対象状態を有する1つのケース群との2つの大個体集団を比較するケースコントロール臨床試験へのアクセスに依拠する。各群のすべての個体において、一般的な既知の S N P の大多数について遺伝子型を決定する。すべての遺伝子型決定データが利用可能である場合、対立遺伝子頻度がケース群とコントロール群との間で有意に異なるかを調べる。そのような設定で、効果量を示す典型的な単位は、オッズ比である。オッズ比は、特定の対立遺伝子を有するケース群中の個体集団、および同じ対立遺伝子を有するコントロール群中の個体集団、の2集団間の比を示す。もしケース群における対立遺伝子頻度がコントロール群における対立遺伝子頻度よりも有意に高ければ、オッズ比は1よりも大きくなりうる。もしケース群における対立遺伝子頻度がコントロール群における対立遺伝子頻度よりも有意に低ければ、オッズ比は1よりも小さくなりうる。

20

#### 【0117】

複数の情報源からの情報を組み合わせる1つの好ましい方法が、EUROPEAN UROLOGY 60 (2011) 21-28に発表されたMarkus Alyおよび共著者による公開報文“Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study”（引用により本書の一部とする）に記載されている。各 S N P と生検における P C a との関連が、コクランアーミテージの傾向検定により評価された。ロジスティック回帰モデルを用いて、95%信頼区間で対立遺伝子オッズ比（O R）が計算された。各患者について、各 S N P のリスク対立遺伝子の数（0、1または2）に該 S N P の O R の対数を乗じたものを総合して、遺伝リスクスコアが形成された。P C a 診断と評価されたリスク因子との関連が、ロジスティック回帰分析において検証された。非遺伝情報に関するモデル部分は、対数変換された総 P S A、対数変換された遊離-対-総 P S A 比、生検時の年齢、および P C a の家族歴（有または無）を含んだ。生検における P C a の予測された確率を評価するために、繰り返し10分割交差検証が用いられた。正規近似によって、R O C - A U C 値の95%信頼区間が構成された。報告された p 値はすべて、両側仮説に基づく。Alyおよび共著者の方法が P C a スクリーニングに関して記載されるとしても、同じアプローチを予後診断方法にも適用しうる。

30

#### 【0118】

多くの場合、前立腺癌は進行の遅い疾患である。したがって、個体に、生検を行う前から、積極的治療を受けるよう勧告することができれば、例えばその個体に積極的治療（必要であれば）に備えてライフスタイルを変えることを動機付けることが可能となる。禁煙すること、B M I を30未満にすること、定期的に運動すること（週3～6日、30分間程度）はいずれも、一般に、前立腺癌を含む重篤な疾患状態において生存を促進する要因である。したがって、個体に積極的治療が適当であることがわかれば、それは、その個体に、治療の副作用に耐え易くし疾患からの回復の可能性を高めるために、禁煙し、B

40

50

M I < 3 0 とし、運動を始めるよう勧告する理由となる。もう一つの重要な側面は、食事の問題である。食事を変えることで、P C a の進行を軽減または遅延しうる。J Nutr. 2013 Feb;143(2):189-96に発表されたSongおよび共著者の文献“Whole milk intake is associated with prostate cancer-specific mortality among U.S. male physicians.”（引用により本書の一部とする）に報告されるように、乳製品摂取を減らすとP C a 発症リスクが低下しうることを示唆する証拠が示されている。緑茶の摂取および大豆製品の摂取の正の効果について同様の証拠が存在する。したがって、個体に積極的治療が適当であることがわかれれば、それは、その個体に、積極的治療を遅らせるかまたは回避するために、乳製品の摂取を減らすこと、および／または緑茶および大豆系製品の摂取を増やすことを勧告する理由となる。

10

## 【実施例 1】

## 【0 1 1 9】

本発明を説明するために、S T H L M 2 データから、172 の症例（積極的治療を受けたa P C a に罹患していることがわかっている対象）および79 のコントロール（経過観察が決定されたP C a に罹患していることがわかっている対象）を含むデータセットを抽出した。S T H L M 2 データセットは、ウェブページhttp://sthlm2.se/から明らかによう、公に検討されている。つまり、2010 - 2012 年に、ストックホルム地域でP S A 検査を受けた約26000 人の男性がS T H L M 2 研究に含められた。172 + 79 = 251 の対象を、下記バイオマーカーおよびS N P に関して特徴付けた。

20

## 【0 1 2 0】

バイオマーカー：

総前立腺特異抗原 ( t P S A ) [ n g / m l ]

インタクト前立腺特異抗原 ( i P S A ) [ n g / m l ]

遊離前立腺特異抗原 ( f P S A ) [ n g / m l ]

ヒトカリクレイン2 ( h K 2 ) [ n g / m l ]

マクロファージ抑制サイトカイン1 ( M I C - 1 ) [ n g / m l ]

beta-microseminoprotein ( M S M B ) [ n g / m l ]

## 【0 1 2 1】

S N P :

657del5, rs10086908, rs1016343, rs10187424, rs1041449, rs10486567, rs1054564, rs10875943, rs10896449, rs10934853, rs10993994, rs11067228, rs11135910, rs11228565, rs11568818, rs11649743, rs11650494, rs11672691, rs11704416, rs12130132, rs12409639, rs12418451, rs12500426, rs12543663, rs12621278, rs12653946, rs1270884, rs130067, rs13252298, rs13385191, rs1354774, rs1363120, rs137853007, rs138213197, rs1447295, rs1465618, rs1512268, rs1571801, rs16901979, rs16902094, rs17021918, rs17632542, rs17879961, rs1859962, rs1894292, rs1933488, rs1983891, rs2018334, rs2121875, rs2242652, rs2273669, rs2292884, rs2405942, rs2660753, rs2735839, rs2736098, rs2928679, rs3213764, rs339331, rs3771570, rs3850699, rs3863641, rs401681, rs4245739, rs4430796, rs445114, rs4643253, rs4857841, rs4962416, rs5759167, rs5919432, rs5945619, rs6062509, rs620861, rs6465657, rs6763931, rs684232, rs6869841, rs6983267, rs6983561, rs7127900, rs7210100, rs721048, rs7241993, rs7611694, rs7679673, rs7931342, rs8008270, rs8102476, rs888663, rs902774, rs9364554, rs9600079, rs9623117

30

## 【0 1 2 2】

年齢および家族歴（有または無）を含む、各対象のバックグラウンド情報を収集した。年齢は、年の単位で表した。

## 【0 1 2 3】

積極的治療を勧めるべき対象を予測するために、下記の予め定められた式に示すように遺伝スコアのみに依存することが可能であった：

$$y = 0.63 + 0.039 * \text{score}$$

40

50

## 【0124】

この式において、「score」は、本実施例に挙げる確証された（validated）前立腺癌感受性SNP（前記SNPは前立腺癌感受性に関連付けられるか、またはPSA、遊離PSA、MSMBおよびMIC-1バイオマーカーの血漿レベルに関連付けられる）を含んで、EUROPEAN UROLOGY 60 (2011) 21-28に発表されたMarkus Alyおよび共著者による公開報文“Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study”（引用により本書の一部とする）に記載されるように計算される遺伝スコア変数である。

## 【0125】

得られる「y」値は、図1に示されるように、積極的治療の必要性と強く関連しうる。図1のROC曲線は、PSA値のみ（101；実線）および本実施例に記載のモデル（102；破線）を用いる、積極的治療の必要性の予測を表す。yがカットオフ値を上回る場合、その男性に、生検による前立腺検査のために泌尿器科医を受診するよう勧告すべきである。

10

## 【0126】

カットオフの値は、検査の感度と特異度とのトレードオフに依存する。例えば、1.04のカットオフ値を用いる場合、この検査の感度は0.5、特異度は0.67となりうる。これを、スクリーニング検査としてPSA値のみを用いた場合（感度0.5、特異度0.46となる）と比較することができる。当該予後診断方法にとって、最も重要なパフォーマンスは、グレーゾーンの個体に対し、すなわち感度レベル0.5～0.6で、決定を補助することであることに注意する必要がある。

20

## 【実施例2】

## 【0127】

さらに本発明を説明するために、実施例1に記載されるデータセットをさらなる解析に付した。遺伝スコアおよびバイオマーカー濃度を包含する複数のカテゴリーからの情報を組み合わせることにより、実施例1に記載される上記バイオマーカーおよび遺伝スコアを含む多重パラメータモデルを、線形回帰を用いて導いた。

## 【0128】

このモデルで得られる「y」値は、図2に示すように、積極的治療の必要性に強く関連付けられうる。図2のROC曲線は、PSA値のみ（201）および本実施例に記載のモデル（202）を用いる、積極的治療の必要性の予測を表す。yがカットオフ値を上回る場合、その男性に、生検による前立腺検査のために泌尿器科医を受診するよう勧告すべきである。

30

## 【0129】

カットオフの値は、検査の感度と特異度とのトレードオフに依存する。例えば、0.72のカットオフ値を用いる場合、この検査の感度は0.5、特異度は0.78となりうる。これを、スクリーニング検査としてPSA値のみを用いた場合（感度0.5、特異度0.46となる）と比較することができる。当該予後診断方法にとって、最も重要なパフォーマンスは、グレーゾーンの個体に対し、すなわち感度レベル0.5～0.6で、決定を補助することであることに注意する必要がある。

40

## 【実施例3】

## 【0130】

さらに本発明を説明するために、実施例1に記載されるデータセットのサブセットを、PSA > 7 ng / ml の全個体、またはPSA値がない場合は遊離PSA > 0.91 ng / ml の個体を除外することにより、抽出した。

## 【0131】

このサブセットは144の個体を含んだ。個体が積極的治療を受けるかを予測する試みにおいて、4つの異なるモデルを導いた。

## 【0132】

$$Y1 = 1.4076640 + 0.0352188 * PSA - 0.0159339 * Age - 0.0005042 * PSA * Age$$

50

## 【 0 1 3 3 】

$$Y2 = 6.420955 - 0.897462 * score - 0.445241 * PSA - 0.067727 * Age + 0.081441 * score * PSA + 0.009316 * score * Age + 0.000848 * PSA * Age$$

## 【 0 1 3 4 】

$$Y3 = 3.901443 - 0.408785 * score90 - 0.262197 * PSA - 0.040232 * Age + 0.045336 * score90 * PSA + 0.003840 * score90 * Age + 0.001104 * PSA * Age$$

## 【 0 1 3 5 】

$$Y4 = 3.503319 - 0.337091 * score - 2.747459 * fPSA - 0.042007 * Age + 1.243013 * intact + 0.242149 * score * fPSA - 0.070408 * score * intact + 0.019290 * fPSA * Age + 0.205893 * fPSA * intact - 0.014322 * Age * intact$$

10

## 【 0 1 3 6 】

ここで、PSAはPSAの濃度、fPSAは遊離PSAの濃度、intactはインタクトPSAの濃度、Ageは個体の年齢、scoreは遺伝スコア、score90は90%のSNPのみ（無作為に選択された）を用いて計算された遺伝スコアである。モデルY1ではROC-AUC=0.60、モデルY2ではROC-AUC=0.69、モデルY3ではROC-AUC=0.65、モデルY4ではROC-AUC=0.68であった。

## 【 0 1 3 7 】

本実施例は、本発明の4つの異なる側面を説明する：

第1の側面は、患者が積極的治療を受けるかを予測する能力にとって、遺伝スコアの算入が有利である、ということである（モデルY1とY2の比較によりわかる）。

20

## 【 0 1 3 8 】

第2の側面は、モデルY2がスコアパラメータに本質的な冗長性を有し、モデルY3に対し、Y3においては10%のSNP情報が欠けるにも関わらず、モデルY1（遺伝の情報を用いない）と比較して良好なパフォーマンスを与えるということである。データの欠落は、いくつもの理由で、例えば、限定するものではないが、技術的問題、試料の不足またはヒューマンエラーにより起こりうる。

## 【 0 1 3 9 】

第3の側面は、PSAタンパク質バイオマーカー（カリクレイン様バイオマーカーファミリーに属する）を、カリクレインバイオマーカーファミリーの他のメンバーと置き換えることができ（モデルY4において説明される）、その際、より単純なモデルY1と比較して良好なパフォーマンスが保たれるということである。PSA値についての情報を欠く個体を含める基準は、遊離PSA < 0.91であることに注意されたい。

30

## 【 0 1 4 0 】

第4の側面は、本実施例は、治療するか、およびどのように治療するかの決定が困難な個体カテゴリーについて情報提供が可能であることを説明するということである。高PSA値（7ng/mlを超える、または30ng/mlを超える）の個体は通常、積極的治療の候補となるが、より低いPSA値の個体は、リスク・ベネフィット比を必ずしも容易に決定できないグレーゾーンに入る。

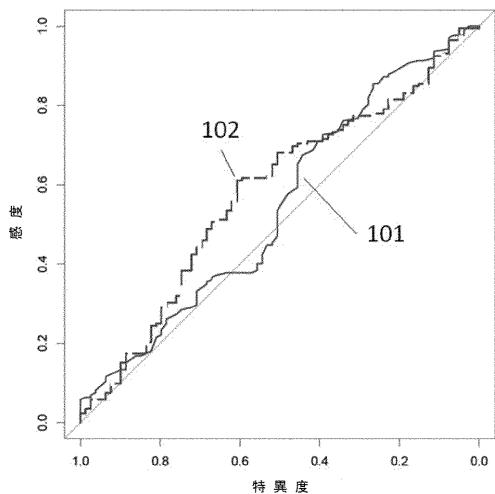
## 【 0 1 4 1 】

本発明を、発明者が現在知る最良の形態である好ましい態様について説明したが、当業者にとって明らかでありうるさまざまな変更または改変が、請求の範囲に記載される発明の範囲を逸脱することなくなされうることを理解すべきである。

40

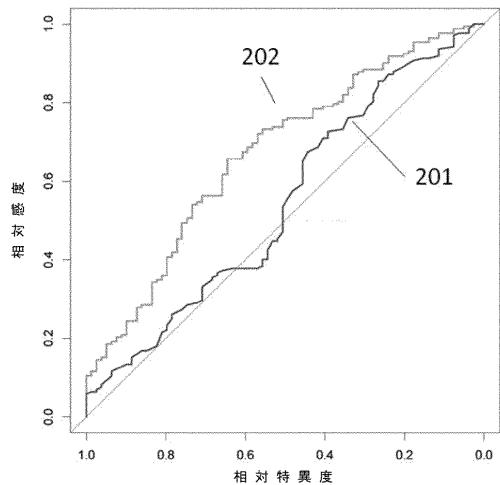
【図1】

FIGURE 1



【図2】

FIGURE 2



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/EP2013/074270						
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C12Q1/68 ADD.								
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC								
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q								
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 practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE								
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px; vertical-align: top;">         MARKUS ALY ET AL: "Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study", EUROPEAN UROLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 60, no. 1, 8 January 2011 (2011-01-08), pages 21-28, XP028223801, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/J.EURURO.2011.01.017 [retrieved on 2011-01-11] cited in the application the whole document          -----          -/--       </td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-39</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	MARKUS ALY ET AL: "Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study", EUROPEAN UROLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 60, no. 1, 8 January 2011 (2011-01-08), pages 21-28, XP028223801, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/J.EURURO.2011.01.017 [retrieved on 2011-01-11] cited in the application the whole document ----- -/--	1-39
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
X	MARKUS ALY ET AL: "Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study", EUROPEAN UROLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 60, no. 1, 8 January 2011 (2011-01-08), pages 21-28, XP028223801, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/J.EURURO.2011.01.017 [retrieved on 2011-01-11] cited in the application the whole document ----- -/--	1-39						
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.								
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed								
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report						
10 February 2014		18/02/2014						
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Eveleigh, Anna						

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2013/074270

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MATTHEW P. JOHNSON ET AL: "Genome-Wide Association Scan Identifies a Risk Locus for Preeclampsia on 2q14, Near the Inhibin, Beta B Gene", PLOS ONE, vol. 7, no. 3, 14 March 2012 (2012-03-14), page e33666, XP055100802, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0033666 the whole document -----	23, 25-27, 29-31, 33,34
X	A. KARIM KADER ET AL: "Potential Impact of Adding Genetic Markers to Clinical Parameters in Predicting Prostate Biopsy Outcomes in Men Following an Initial Negative Biopsy: Findings from the REDUCE Trial", EUROPEAN UROLOGY, vol. 62, no. 6, 11 May 2012 (2012-05-11), pages 953-961, XP055100841, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/j.eururo.2012.05.006 the whole document -----	24,28,32
X	R. J. KLEIN ET AL: "Blood Biomarker Levels to Aid Discovery of Cancer-Related Single-Nucleotide Polymorphisms: Kallikreins and Prostate Cancer", CANCER PREVENTION RESEARCH, vol. 3, no. 5, 27 April 2010 (2010-04-27), pages 611-619, XP055073549, ISSN: 1940-6207, DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0206 cited in the application the whole document -----	24,28,32
X	J. XU ET AL: "Inherited genetic variant predisposes to aggressive but not indolent prostate cancer", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, vol. 107, no. 5, 2 February 2010 (2010-02-02), pages 2136-2140, XP055100769, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/pnas.0914061107 the whole document -----	23, 25-27, 29-31, 33,34
A	----- ----- -----	1-22,24, 28,32, 35-39

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2013/074270
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	A. AMIN AL OLAMA ET AL: "A meta-analysis of genome-wide association studies to identify prostate cancer susceptibility loci associated with aggressive and non-aggressive disease", HUMAN MOLECULAR GENETICS, vol. 22, no. 2, 12 October 2012 (2012-10-12), pages 408-415, XP055073408, ISSN: 0964-6906, DOI: 10.1093/hmg/ddz425 the whole document	23, 25-27, 29-31, 33,34
A	----- G. JIN ET AL: "Genome-wide copy-number variation analysis identifies common genetic variants at 20p13 associated with aggressiveness of prostate cancer", CARCINOGENESIS, vol. 32, no. 7, 5 May 2011 (2011-05-05), pages 1057-1062, XP055100776, ISSN: 0143-3334, DOI: 10.1093/carcin/bgr082 the whole document	1-22,24, 28,32, 35-39
X	----- ATISH D. CHOUDHURY ET AL: "The Role of Genetic Markers in the Management of Prostate Cancer", EUROPEAN UROLOGY, vol. 62, no. 4, 5 June 2012 (2012-06-05), pages 577-587, XP055101039, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/j.eururo.2012.05.054 the whole document	23, 25-27, 29-31, 33,34
A	-----	1-22,24, 28,32, 35-39
2		

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
C 1 2 N 15/09 (2006.01) C 1 2 N 15/00 F

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

(72) 発明者 マルティン・エクルンド

スウェーデン、エス-117 32ストックホルム、ヘレネボリスガータン14番

F ターム(参考) 2G041 CA01 DA04 FA11 LA08

2G045 AA26 DA36  
4B024 AA01 AA11 AA12 CA01 DA03 GA11 HA11 HA12 HA13 HA14  
4B029 AA07 AA15 BB11 CC01 FA15  
4B063 QA01 QA07 QA19 QQ04 QQ42 QQ52 QQ53 QR08 QS34 QX01  
QX02