(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2010-509598
(P2010-509598A)
(43)公表日　平成22年3月25日(2010.3.25)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
G01N 33/574	***(2006.01)***	G01N	33/574 A	
G01N 33/53	***(2006.01)***	G01N	33/53 N	
G01N 37/00	***(2006.01)***	G01N	37/00 102	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 109 頁）

(21)出願番号　特願2009-536543 (P2009-536543)
(86)(22)出願日　平成19年11月13日 (2007.11.13)
(85)翻訳文提出日　平成21年7月6日 (2009.7.6)
(86)国際出願番号　PCT/US2007/084585
(87)国際公開番号　WO2008/061104
(87)国際公開日　平成20年5月22日 (2008.5.22)
(31)優先権主張番号　60/865,621
(32)優先日　平成18年11月13日 (2006.11.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　502221282
ライフ　テクノロジーズ　コーポレーション
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９２００８，カールスバッド，　バン　アレン　ウェイ　５７９１
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊

最終頁に続く

(54)【発明の名称】前立腺癌バイオマーカーを検出するための方法およびキット

(57)【要約】
本願明細書は、新規の自己抗体バイオマーカー、ならびに前立腺癌の自己抗体バイオマーカーを検出するためのパネル、ならびに前立腺癌を有していると疑われる個体の血清中のこれらバイオマーカーを検出するための方法およびキットを提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ａ）自己抗体捕捉分子が表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である、２種以上の自己抗体捕捉分子と、個体由来の試料を接触させる段階と、
（ｂ）該自己抗体捕捉分子への該試料中の抗体もしくは抗体含有複合体の結合を検出して、それにより該個体中の自己抗体を検出する段階と
を含む、前立腺癌を有していると疑われる該個体中の自己抗体を検出する方法。
【請求項２】
前記自己抗体捕捉分子が、表２の自己抗体捕捉分子、または表２の抗原に対する標的抗体である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記自己抗体捕捉分子が、表３の自己抗体捕捉分子、または表３の抗原に対する標的抗体である、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記自己抗体捕捉分子が、表４の自己抗体捕捉分子、または表４の抗原に対する標的抗体である、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記自己抗体捕捉分子が、表１０の自己抗体捕捉分子、または表１０の抗原に対する標的抗体である、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
前記自己抗体捕捉分子が、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ＣＣＮＢ１、ＡＭＡＣＲ、ＴＰ５３、ＭＵＣ１、ＫＬＫ３、ＢＩＲＣ５、ならびにＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ＣＣＮＢ１、ＡＭＡＣＲ、ＴＰ５３、ＭＵＣ１、ＫＬＫ３、およびＢＩＲＣ５に対する標的抗体からなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項７】
前記自己抗体捕捉分子がＫＤＲまたはＰＩＭ－１を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項８】
表５、表６、表７、表８、または表９の自己抗体検出セットと、前記個体由来の試料を接触させる段階
を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
自己抗体捕捉分子が表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である、１０種以上の自己抗体捕捉分子と、前記個体由来の試料を接触させる段階
を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１０】
自己抗体捕捉分子が表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である、１５種以上の自己抗体捕捉分子と、前記個体由来の試料を接触させる段階
を含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１１】
前記自己抗体捕捉分子が固体支持体に固定されている検出段階を、イムノアッセイ法によって実施する、請求項１に記載の方法。
【請求項１２】
前記試験試料が血液またはその画分である、請求項１に記載の方法。

【請求項１３】
前記試験試料中の抗体または抗体含有複合体への前記自己抗体捕捉分子の結合を、前立腺癌の診断と相関させる段階
をさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項１４】
前記試験試料中の抗体または抗体含有複合体への前記自己抗体捕捉分子の結合により、前記個体中の前立腺癌とＢＰＨとが区別される、請求項１に記載の方法。
【請求項１５】
前記試験試料中の抗体または抗体含有複合体への前記自己抗体捕捉分子の結合により、高悪性前立腺癌と低悪性前立腺癌とが区別される、請求項に記載の方法。
【請求項１６】
（ａ）自己抗体捕捉分子がＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ならびにＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、およびＰＴＥＮに対する標的抗体からなる群から選択される、１つ以上の自己抗体捕捉分子と、個体由来の試料を接触させる段階と、
（ｂ）１つ以上の該自己抗体捕捉分子への該試料中の抗体もしくは抗体含有複合体の結合を検出して、それにより該個体中の自己抗体を検出する段階と
を含む、前立腺癌を有していると疑われる個体中の自己抗体を検出する方法。
【請求項１７】
前記の１つ以上の自己抗体捕捉分子が、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１を含む、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
バイオマーカー検出パネルが、２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、
該抗体捕捉分子が、表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である、
前立腺癌を診断、予測、モニター、検出または病期決定するためのバイオマーカー検出パネル。
【請求項１９】
前記自己抗体捕捉分子が、表２の自己抗体捕捉分子、または表２の抗原に対する標的抗体である、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２０】
前記自己抗体捕捉分子が、表３の自己抗体捕捉分子、または表３の抗原に対する標的抗体である、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２１】
前記自己抗体捕捉分子が、表１０の自己抗体捕捉分子、または表１０の抗原に対する標的抗体である、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２２】
前記自己抗体捕捉分子が、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ＣＣＮＢ１、ＡＭＡＣＲ、ＴＰ５３、ＭＵＣ１、ＫＬＫ３、ＢＩＲＣ５、ならびにＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ＣＣＮＢ１、ＡＭＡＣＲ、ＴＰ５３、ＭＵＣ１、ＫＬＫ３、およびＢＩＲＣ５に対する標的抗体からなる群から選択される、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２３】
前記自己抗体捕捉分子がＫＤＲまたはＰＩＭ－１を含む、請求項１８に記載の検出パネ

ル。
【請求項２４】
前記自己抗体捕捉分子が固体支持体上に固定されている、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２５】
表５、表６、表７、表８、または表９の少なくとも１種のバイオマーカー検出セットを含む、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２６】
自己抗体捕捉分子が表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である、１０種以上の自己抗体捕捉分子
を含む、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２７】
自己抗体捕捉分子が表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である、１５種以上の自己抗体捕捉分子
を含む、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２８】
前記バイオマーカー検出パネルが、前立腺癌の存在とＢＰＨの存在を区別するための０．７８０以上のＡＵＣ／ＲＯＣ値を有する、請求項１８に記載の検出パネル。
【請求項２９】
ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、抗体によって認識可能なエピトープを含むこれらの断片、ならびにＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、およびＰＴＥＮに対する標的抗体からなる群から選択される自己抗体捕捉分子
を含む、前立腺癌を診断、予測、モニター、検出または病期決定するためのバイオマーカー検出パネル。
【請求項３０】
ＫＤＲ、抗体によって認識可能なエピトープを含むＫＤＲの断片、ＰＩＭ－１、または抗体によって認識可能なエピトープを含むＰＩＭ－１の断片
を含む、請求項２９に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項３１】
（ａ）表２のタンパク質または表２のタンパク質に対する抗体である自己抗体捕捉分子と、個体由来の試料を接触させる段階と、
（ｂ）該自己抗体捕捉分子への該試料中の抗体もしくは抗体含有複合体の結合を検出して、それにより該個体中の自己抗体を検出する段階と
を含む、個体中の自己抗体を検出するための方法。
【請求項３２】
さらなる抗体捕捉分子が表１の抗体、表１のタンパク質、または表１のタンパク質に対する抗体である、表１の１つ以上のさらなる自己抗体捕捉分子と、前記試料を接触させる段階と、
該試験試料中の１つ以上の抗体または抗体含有複合体への、１つ以上のさらなる該自己抗体捕捉分子の結合を検出する段階と
をさらに含む、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
さらなる抗体捕捉分子が表３の抗体、表３のタンパク質、または表３のタンパク質に対する抗体である、表３の１つ以上のさらなる自己抗体捕捉分子と、前記試料を接触させる段階と、
該試験試料中の１つ以上の抗体への１つ以上のさらなる該自己抗体捕捉分子の結合を検出する段階と

をさらに含む、請求項３１に記載の方法。
【請求項３４】
さらなる抗体捕捉分子が表１０の抗体、表１０のタンパク質、または表１０のタンパク質に対する抗体である、表１０の１つ以上のさらなる自己抗体捕捉分子と、前記試料を接触させる段階と、
該試験試料中の１つ以上の抗体への１つ以上のさらなる該自己抗体捕捉分子の結合を検出する段階と
をさらに含む、請求項３１に記載の方法。
【請求項３５】
前記自己抗体捕捉分子が、ＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、もしくはＥＩＦ４Ｇ１、またはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、もしくはＥＩＦ４Ｇ１に対する抗体である、請求項３１に記載の方法。
【請求項３６】
前記自己抗体捕捉分子が固体支持体に固定されている検出段階を、イムノアッセイ法を実施することによって実施する、請求項３１に記載の方法。
【請求項３７】
前記検出段階が、前記自己抗体捕捉分子に結合した自己抗体への抗ヒトＩｇＧ抗体の結合を検出する段階を含む、請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
前記自己抗体捕捉分子が標的抗体である、請求項３１に記載の方法。
【請求項３９】
前記試料中の前記自己抗体の検出が、前記標的抗体に結合した抗原－自己抗体複合体への抗ヒトＩｇＧ抗体の結合を検出する段階を含む、請求項３８に記載の方法。
【請求項４０】
前記自己抗体捕捉分子が固体支持体に結合されている、請求項３１に記載の方法。
【請求項４１】
前記試験試料が血液またはその画分である、請求項３１に記載の方法。
【請求項４２】
前記個体が癌についてスクリーニングされた、請求項３１に記載の方法。
【請求項４３】
前記個体が前立腺癌についてスクリーニングされた男性である、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記個体が前立腺癌の１つ以上の危険因子を有する、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
前記個体が前立腺癌の１つ以上の指標を有する、請求項４３に記載の方法。
【請求項４６】
前記試験試料中の抗体への前記自己抗体捕捉分子の結合を、前立腺癌の診断と相関させる段階
をさらに含む、請求項４３から請求項４５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４７】

（ａ）バイオマーカーパネルが表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、さらなる抗体捕捉分子が表１の抗体、表１のタンパク質、または表１のタンパク質に対する抗体である、バイオマーカーパネルと、個体由来の試験試料を接触させる段階と、

（ｂ）前立腺癌の存在を示す該バイオマーカーパネルに対する該試験試料の免疫反応性のパターンを検出する段階と

を含む、個体中の前立腺癌を診断する方法。

【請求項４８】

前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、表２のタンパク質または表２のタンパク質に対する抗体である、請求項４７に記載の方法。

【請求項４９】

前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、表３の抗体、表３のタンパク質、または表３のタンパク質に対する抗体である、請求項４７に記載の方法。

【請求項５０】

前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、ＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、もしくはＥＩＦ４Ｇ１、またはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、もしくはＥＩＦ４Ｇ１に対する抗体である、請求項４９に記載の方法。

【請求項５１】

前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも２種が、表３の自己抗体捕捉分子である、請求項４９に記載の方法。

【請求項５２】

前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、表１０の自己抗体捕捉分子である、請求項４７に記載の方法。

【請求項５３】

前記バイオマーカー検出パネルが、表５、表６、表７、表８、または表９の少なくとも１種のバイオマーカー検出セットを含む、請求項４７に記載の方法。

【請求項５４】

前記バイオマーカーパネルが１つ以上の標的抗体を含む、請求項４７に記載の方法。

【請求項５５】

前記の１つ以上の標的抗体の少なくとも１種が、ＡＣＣＰ、ＢＣＬ２、ＣＸＣＲ４、ＰＴＧＥＲ２、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＰＳＡ（全体）、またはＰＳＡ（遊離）に対する抗体である、請求項５３に記載の方法。

【請求項５６】

前記の１つ以上の標的抗体の少なくとも１種が、ＣＸＣＲ４またはＩＬ－６に対する抗体である、請求項５４に記載の方法。

【請求項５７】

前記バイオマーカー検出パネルの前記自己抗体捕捉分子が固体支持体に結合されている、請求項４７に記載の方法。

【請求項５８】

前記固体支持体がタンパク質アレイである、請求項５７に記載の方法。

【請求項５９】

検出段階がイムノアッセイ法を用いる、請求項４７に記載の方法。
【請求項６０】
検出段階がイムノアッセイ法を用いる、請求項５４に記載の方法。
【請求項６１】
検出段階が、標的抗原への前記試料の第１の自己抗体の結合を検出する段階と、抗ヒトＩｇＧ抗体を使用して標的抗体への該試料の第２の自己抗体の結合を検出する段階とによるものである、請求項６０に記載の方法。
【請求項６２】
前記試験試料が血液またはその画分を含む、請求項４７に記載の方法。
【請求項６３】
前記試験試料の免疫反応性を、前記個体から後で得られた第２の試験試料の免疫反応性と比較する段階
をさらに含む、請求項４７に記載の方法。
【請求項６４】
前記個体が前立腺癌について治療された後に、前記第２の試験試料が該個体から入手された、請求項６３に記載の方法。
【請求項６５】
前記の免疫反応性の検出されたパターンにより、前記個体中の前立腺癌とＢＰＨとが区別される、請求項４７に記載の方法。
【請求項６６】
前記バイオマーカーパネルが、前立腺癌の存在とＢＰＨの存在を区別するための０．７８０以上のＡＵＣ／ＲＯＣ値を有する、請求項６５に記載の方法。
【請求項６７】
前記個体が年齢５０歳以上の男性である、請求項４７に記載の方法。
【請求項６８】
前記個体に対して経時的に繰返される、請求項６７に記載の方法。
【請求項６９】
（ａ）表１１の２種以上の自己抗体捕捉分子、表１１のタンパク質、または表１のタンパク質に対する抗体を含むバイオマーカーパネルと、個体由来の試験試料を接触させる段階と、
（ｂ）前立腺癌の存在を示す該バイオマーカーパネルに対する該試験試料の免疫反応性のパターンを検出する段階と
を含む、個体中の前立腺癌を診断する方法。
【請求項７０】
前記バイオマーカー検出パネルの前記自己抗体捕捉分子が、固体支持体に結合されている、請求項６９に記載の方法。
【請求項７１】
前記固体支持体がタンパク質アレイである、請求項７０に記載の方法。
【請求項７２】
検出段階がイムノアッセイ法を用いる、請求項６９に記載の方法。
【請求項７３】
前記試験試料が血液またはその画分を含む、請求項６９に記載の方法。
【請求項７４】
前記試験試料の免疫反応性を、前記個体から後で得られた第２の試験試料の免疫反応性と比較する段階
をさらに含む、請求項６９に記載の方法。
【請求項７５】
前記個体が前立腺癌について治療された後に、前記第２の試験試料が該個体から入手された、請求項６９に記載の方法。
【請求項７６】

前記の免疫反応性の検出されたパターンにより、前記個体中の前立腺癌とＢＰＨとが区別される、請求項６９に記載の方法。
【請求項７７】
前記の免疫反応性の検出されたパターンにより、高悪性前立腺癌と低悪性前立腺癌とが区別される、請求項６９に記載の方法。
【請求項７８】
前記個体が年齢５０歳以上の男性である、請求項６９に記載の方法。
【請求項７９】
前記個体に対して経時的に繰り返される、請求項６９に記載の方法。
【請求項８０】
表１１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含む、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネル。
【請求項８１】
バイオマーカー検出パネルが、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、
該抗体捕捉分子が、表１の抗体、表１のタンパク質、もしくは表１のタンパク質に対する抗体である、
前立腺癌を診断、予測、モニター、検出または病期決定するためのバイオマーカー検出パネル。
【請求項８２】
表１の前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、表２のタンパク質または表２のタンパク質に対する抗体である、請求項８１に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項８３】
表１の前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、表３の抗体、表３のタンパク質、または表３のタンパク質に対する抗体である、請求項８１に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項８４】
表３の少なくとも２種の抗体捕捉分子を含む、請求項８３に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項８５】
表１の前記の２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が、表１０の自己抗体捕捉分子である、請求項８１に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項８６】
表５、表６、表７、表８、または表９の少なくとも１種のバイオマーカー検出セットを含む、請求項８１に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項８７】
少なくとも１種の標的抗原および少なくとも１種の標的抗体を含む、請求項８１から請求項８６のいずれか１項に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項８８】
少なくとも１種の標的抗体が、ＡＣＣＰ、ＢＣＬ２、ＰＳＡ（全体）、ＰＳＡ（遊離）、ＣＸＣＲ４、ＰＴＧＥＲ２、ＩＬ－６、またはＩＬ－８に対する抗体である、請求項８７に記載のバイオマーカー検出パネル試験パネル。
【請求項８９】
少なくとも１種の標的抗体がＣＸＣＲ４またはＩＬ－６に対する抗体である、請求項８８に記載のバイオマーカー検出パネル試験パネル。
【請求項９０】
前記バイオマーカー検出パネルの前記自己抗体捕捉分子が少なくとも１種の固体支持体に結合されている、請求項８０から請求項８９のいずれか１項に記載のバイオマーカー検出パネル。
【請求項９１】

前記固体支持体がビーズ、ウェル、または皿である、請求項９０に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９２】

前記自己抗体捕捉分子が１つ以上のフィルター、膜、シート、スライド、またはチップに結合されている、請求項９１に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９３】

前記自己抗体捕捉分子が、アドレス指定可能なアレイ中の前記固体支持体に結合されている、請求項９２に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９４】

アドレス指定可能なアレイが高密度タンパク質アレイである、請求項９３に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９５】

前記アレイに結合されている前記タンパク質の少なくとも５０％が、表１１のタンパク質または表１１のタンパク質に対する抗体である、請求項９３に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９６】

前記アレイに結合されている前記タンパク質の少なくとも５０％が、表１の抗体、表１のタンパク質、または表１のタンパク質に対する抗体である、請求項９３に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９７】

前記アレイに結合されている前記タンパク質の少なくとも５０％が、表３の抗体、表３のタンパク質、または表３のタンパク質に対する抗体である、請求項９３に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項９８】

請求項８１から請求項９７のいずれか１項に記載のバイオマーカー検出パネルのいずれかを含む、キット。

【請求項９９】

少なくとも１種の抗種特異的抗体をさらに含む、請求項９８に記載のキット。

【請求項１００】

前記抗種特異的抗体が抗ヒトＩｇＧである、請求項９９に記載のキット。

【請求項１０１】

（ａ）自己抗体捕捉分子が表３の標的抗原、表３の標的抗体、または表３の標的抗原に対する抗体を含む、本発明の１つ以上の自己抗体捕捉分子と、個体由来の試験試料を接触させる段階と、

（ｂ）１つ以上の該自己抗体捕捉分子の少なくとも１種への該試料中の１つ以上の抗体の結合を検出して、それにより該試料中の１つ以上の該標的抗体の存在を検出する段階とを含む、前立腺癌を有していると疑われる個体の試験試料中の１種以上の標的抗体を検出する方法。

【請求項１０２】

前記の１つ以上の標的抗原が固体支持体に固定されている、請求項１０１に記載の方法。

【請求項１０３】

前記試験試料を、ＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＰＴＥＮ、ＢＤＫＲＢ２、ＢＣＬ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＥＲＢＢ２、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＣＰＰ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＨＳＰＢ１、ＣＡＶ３、ＨＳＰＤ１、ＫＤＲ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＴＲＡ１、ＨＭＧＡ２、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＧＦＲ、ＥＴＳ２、ＨＳＰＡ１Ａ、ＭＩＣＢ、ＣＤ１６４、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＩＭＰ－３、ＳＴＩＰ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＸＬＫＤ１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＰＣＮＡ、およびＥＩＦ４Ｇ１の

うちの１つ以上と、またはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＰＴＥＮ、ＢＤＫＲＢ２、ＢＣＬ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＥＲＢＢ２、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＣＰＰ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＨＳＰＢ１、ＣＡＶ３、ＨＳＰＤ１、ＫＤＲ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＴＲＡ１、ＨＭＧＡ２、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＧＦＲ、ＥＴＳ２、ＨＳＰＡ１Ａ、ＭＩＣＢ、ＣＤ１６４、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＩＭＰ－３、ＳＴＩＰ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＸＬＫＤ１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＰＣＮＡ、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上に対する抗体と接触させる、請求項１０１に記載の方法。

【請求項１０４】

前記試験試料を、ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＤ１６４、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＸＬＫＤ１、ＣＣＮＢ１、ＰＣＮＡ、ＥＲＢＢ２、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上と、またはＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＤ１６４、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＸＬＫＤ１、ＣＣＮＢ１、ＰＣＮＡ、ＥＲＢＢ２、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上に対する抗体と接触させる、請求項１０１に記載の方法。

【請求項１０５】

前記試験試料を、ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上と、またはＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上に対する抗体と接触させる、請求項１０１に記載の方法。

【請求項１０６】

前記試験試料を、ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上と、またはＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上に対する抗体と接触させる、請求項１０１に記載の方法。

【請求項１０７】

（ａ）ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、およびＰＴＥＮ、抗体によって認識可能なエピトープを含むこれらの断片に対する１つ以上の標的抗体と、

（ｂ）前立腺癌を有していると疑われる個体由来の試料と

を含む、前立腺癌を診断、予測、モニター、検出または病期決定するためのバイオマーカー検出パネル。

【請求項１０８】

前記試料が血清試料である、請求項１０７に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項１０９】

前記試料が前立腺組織試料である、請求項１０７に記載のバイオマーカー検出パネル。

【請求項１１０】

ＫＤＲの自己抗体結合エピトープを含む第１のバイオマーカーと、

ＰＩＭ－１の自己抗体結合エピトープを含む第２のバイオマーカーと

を含む、請求項２９に記載のバイオマーカー検出パネル。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本願は、２００６年１１月１３日出願の米国特許仮出願第６０／８６５，６２１号の優先権を主張する。この仮出願を、本開示と一貫性がない範囲まで、参照によりその全体を本願明細書に援用する。

【０００２】

本発明は、全体として、前立腺癌に関連するバイオマーカー、ならびに前立腺癌の進行の検出、診断、予後、モニタリングのための方法および組成物に関する。

【背景技術】

【０００３】

背景

前立腺癌（本願明細書において「ＰＣａ」とも呼ばれる）は、最もまん延している種類の癌であり、米国人男性において２番目に多い癌死亡の原因である（Ｊｅｍａｌら，（２００７）「Ｃａｎｃｅｒ ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ，」ＣＡ Ｃａｎｃｅｒ Ｊ Ｃｌｉｎ．５７（１）：４３－６６（非特許文献１））。しかしながら、前立腺癌がその早期の病期で診断された場合、予後は非常に良好であり、１０年生存率は８５％を超える。現在の治療様式としては、放射線療法、手術、およびアンドロゲン枯渇療法が挙げられる。前立腺癌の治療では、性機能または泌尿器機能の障害を含めた重篤な副作用が発生する可能性があり、従って、介入する決断は、可能な限り最も信頼性の高い基準でなされるべきである。

【０００４】

しかしながら、精度が高い、前立腺癌の早期診断が難しいことがわかっている。なぜなら、前立腺癌についての現在の診断試験は、癌にかかる危険性を高めない、生命を脅かさない病状である良性前立腺肥大症（ＢＰＨ）と相関関係もある指標である、前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）レベルの検出に頼るものであるからである。ＢＰＨは、６０歳の男性の約半分、そして８５歳に達した男性の約９０％に見出される。このＰＳＡ試験は、前立腺癌の診断に現在広く使用されている。一般に、４ｎｇ／ｍｌ以上のＰＳＡの血清レベルは前立腺癌を示唆すると考えられ、他方、１０ｎｇ／ｍｌ以上のＰＳＡレベルは、前立腺癌を非常に強く示唆すると考えられる。このＰＳＡ試験はかなりよい感度（８０％）を有するが、それは７５％にもなる偽陽性率の問題を抱えている。４～１０ｎｇ／ｍＬのＰＳＡ値に対して、実施したおよそ４件の生検でたった１件のみの正確な前立腺癌の診断が行われるということが推定される（Ｃａｔａｌｏｎａら，（１９９４）「Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｏｆ ｄｉｇｉｔａｌ ｒｅｃｔａｌ ｅｘａｍｉｎａｔｉｏｎ ａｎｄ ｓｅｒｕｍ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎ ｔｈｅ ｅａｒｌｙ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ：ｒｅｓｕｌｔｓ ｏｆ ａ ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｅｒ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｔｒｉａｌ ｏｆ ６，６３０ ｍｅｎ」Ｊ Ｕｒｏｌ．１５１（５）：１２８３－９０（非特許文献２））。遊離ＰＳＡ対（遊離ＰＳＡと結合ＰＳＡを合わせた）ＰＳＡ全体の比を測定する試験は、標準的ＰＳＡ試験よりも有意に高い特異度または感度を有していない。

【０００５】

最近、ＰＣＡ３転写物の検出に基づいて尿試験が開発された。しかしながら、この試験の信頼性は、注意深い直腸診（ＤＲＥ）と併せて実施されることに依存しており、これは熟練した臨床医の時間と労力、および患者がＤＲＥを受けようとする積極的意思が必要であることを意味する。

【０００６】

前立腺上皮細胞内腫瘍（ＰＩＮ）として知られる別の病状は、前立腺癌に５～１０年先行することがあるが、治療または診療行為を必要とはしない。現在、ＰＩＮについての特異的診断試験は存在しないが、潜在的な前癌（ｐｒｅ－ｃａｎｃｅｒｏｕｓ）状態を検出しモニターすることができれば、前立腺癌の早期検出および生存率の上昇に寄与するであろう。

【０００７】

タンパク質マイクロアレイを使用する自己抗体に基づくアプローチは、良質の診断バイ

オマーカーを発見するにあたり多くの傑出した利点を有する。潜在的に最良の疾患に基づくバイオマーカーの多くは、骨の折れる方法でも検出可能ではないレベルでしか血液中に分泌されない。かかるバイオマーカーは、便利な生体外の血液に基づく診断試験には常に「利用できない」であろう。しかしながら、これらの同じ特異的な非分泌型のバイオマーカーに対する自己抗体は（形成されるのであれば）、病気にかかった組織の境界を越えて循環するであろうし、長期間全血中で安定であろう。タンパク質アレイのアプローチを使用すると、特異的疾患と相関させるための自己抗体の存在について、非常に多くの潜在的タンパク質標的を非常に迅速に診察することができる。

【０００８】

癌の発生および進行は、免疫的編集（ｉｍｍｕｎｏｅｄｉｔｉｎｇ）のプロセスと関連することが示されている（Ｄｕｎｎら，（２００４），「Ｔｈｅ ｔｈｒｅｅ Ｅｓ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ ｉｍｍｕｎｏｅｄｉｔｉｎｇ，」Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２２：３２９－６０（非特許文献３））。免疫的編集では、免疫系は癌と相互作用し、癌特異的免疫反応を誘発し、これには癌進行の種々の病期に特有の免疫痕跡（ｉｍｍｕｎｅ ｓｉｇｎａｔｕｒｅ）の特徴を伴う。腫瘍に関連する抗原（ペプチド、タンパク質および多糖が挙げられる）は、癌および正常な血清をプロファイルするために、マイクロアレイまたはＥＬＩＳＡ実験で利用されてきた。

【０００９】

前立腺癌の進行には、前立腺上皮細胞内腫瘍（ＰＩＮ）、限局型癌腫、浸潤癌および転移を含む複数の段階が関与している。前立腺腫瘍形成における遺伝的事象および非遺伝的事象としては、腫瘍抑制因子、細胞周期制御因子およびアポトーシス制御因子、代謝機構およびストレス反応におけるタンパク質、血管新生ならびに転移に関連する分子の機能の喪失が挙げられる（Ａｂａｔｅ－Ｓｈｅｎら，（２０００）「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｇｅｎｅｔｉｃｓ ｏｆ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ」Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１４（１９）：２４１０－３４（非特許文献４）；Ｃｉｏｃｃａら，（２００５）「Ｈｅａｔ ｓｈｏｃｋ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ：ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ，ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ，ｐｒｅｄｉｃｔｉｖｅ，ａｎｄ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｉｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」Ｃｅｌｌ Ｓｔｒｅｓｓ Ｃｈａｐｅｒｏｎｅｓ １０（２）：８６－ １０３（非特許文献５））。これらのタンパク質は、潜在的にＰＣａ抗原として働き、ＰＣａ患者において自己抗体反応を誘発することができるであろう。さらに、これらの誘発された自己抗体は、単独のマーカー形式または複数のマーカー形式のいずれかでＰＣａ診断に使用できる。ＰＣａは上皮細胞の調節解除された増殖に由来するが、ＢＰＨは主に、悪性腫瘍につながることは頻繁ではない正常な上皮細胞の増殖に由来する（Ｚｉａｄａら，（１９９９）「Ｂｅｎｉｇｎ ｐｒｏｓｔａｔｉｃ ｈｙｐｅｒｐｌａｓｉａ：ａｎ ｏｖｅｒｖｉｅｗ」Ｕｒｏｌｏｇｙ ５３（３ 補遺 ３Ｄ）：１－６（非特許文献６））。ＰＣａ患者およびＢＰＨ患者由来の血清試料を使用する免疫プロファイリングは、ＢＰＨ自己抗体の痕跡とはっきり区別できる、ＰＣａに特有の自己抗体パターンを有するバイオマーカーを同定するのに役立つであろう。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００１０】

【非特許文献１】Ｊｅｍａｌら，（２００７）「Ｃａｎｃｅｒ ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ，」ＣＡ Ｃａｎｃｅｒ Ｊ Ｃｌｉｎ．５７（１）：４３－６６

【非特許文献２】Ｃａｔａｌｏｎａら，（１９９４）「Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｏｆ ｄｉｇｉｔａｌ ｒｅｃｔａｌ ｅｘａｍｉｎａｔｉｏｎ ａｎｄ ｓｅｒｕｍ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎ ｔｈｅ ｅａｒｌｙ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ：ｒｅｓｕｌｔｓ ｏｆ ａ ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｅｒ ｃｌｉｎｉｃａｌ ｔｒｉａｌ ｏｆ ６，６３０ ｍｅｎ」Ｊ Ｕｒｏｌ．１５１（５）：１２８３－９０

【非特許文献３】Ｄｕｎｎら，（２００４），「Ｔｈｅ ｔｈｒｅｅ Ｅｓ ｏｆ ｃ

ａｎｃｅｒ ｉｍｍｕｎｏｅｄｉｔｉｎｇ，」 Ａｎｎｕ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２２：３２９－６０
【非特許文献４】Ａｂａｔｅ－Ｓｈｅｎら，（２０００）「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｇｅｎｅｔｉｃｓ ｏｆ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ」 Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１４（１９）：２４１０－３４
【非特許文献５】Ｃｉｏｃｃａら，（２００５）「Ｈｅａｔ ｓｈｏｃｋ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ：ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ，ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ，ｐｒｅｄｉｃｔｉｖｅ，ａｎｄ ｔｒｅａｔｍｅｎｔ ｉｍｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」 Ｃｅｌｌ Ｓｔｒｅｓｓ Ｃｈａｐｅｒｏｎｅｓ １０（２）：８６－１０３
【非特許文献６】Ｚｉａｄａら，（１９９９）「Ｂｅｎｉｇｎ ｐｒｏｓｔａｔｉｃ ｈｙｐｅｒｐｌａｓｉａ：ａｎ ｏｖｅｒｖｉｅｗ」 Ｕｒｏｌｏｇｙ ５３（３ 補遺 ３Ｄ）：１－６

【発明の概要】

【００１１】

本発明は、全体として、癌に関連する自己抗体の検出、より具体的には、自己抗体の検出のために、抗原のパネルを使用して、前立腺癌を診断、予測、およびモニターする方法に関する。

【００１２】

本発明は、精度が高い前立腺癌の試験、特に、前立腺癌を検出することができる、好ましくは高感度および高特異度で前立腺癌を良性前立腺肥大症（ＢＰＨ）から見分けることができる最小侵襲試験へのニーズを認識している。本発明は、一部は、自己抗体を検出するための標的抗原および標的抗体の一群、および癌、特に前立腺癌を検出、診断、予後、病期決定、およびモニターするための自己抗体バイオマーカーの検出に基づく。本発明は、自己抗原を含むバイオマーカーおよびバイオマーカー検出パネルを提供する。このバイオマーカー検出パネルは、前立腺癌の検出および前立腺癌の診断に関して、ＢＰＨよりも高い選択性および感度を有する。本発明はまた、個体の試験試料中の前立腺癌バイオマーカーを検出する段階によって、前立腺癌を検出、診断、予測、病期決定、およびモニターする方法を提供する。

【００１３】

本発明の一態様は、個体由来の試料中の自己抗体を検出する方法である。この方法は、前記個体由来の試料を本発明の自己抗体捕捉分子と接触させる段階と、前記自己抗体捕捉分子への前記試料中の抗体の結合を検出し、これにより前記個体中の自己抗体を検出する段階とを含む。この自己抗体捕捉分子は、自己抗体を認識する標的抗原であってよく、または自己抗体と複合体を形成した自己抗原に結合できる標的抗体であってもよい。標的抗原は、タンパク質全体（標的抗原と呼ばれるタンパク質など）、その指定されたタンパク質の変異体もしくは改変形態であってよく、あるいは標的抗原は、標的抗原と名付けられたタンパク質の断片を含むエピトープであってもよい。標的抗体である自己抗体捕捉分子は、自己抗体と複合体を形成している自己抗原に結合することができる抗体である。自己抗体捕捉分子は、例えば、表１もしくは表１１ａに列挙された自己抗体捕捉分子のいずれかであってよいし、または、表１もしくは表１１ａの標的抗原のいずれかに対する抗体であってもよい。いくつかの実施形態では、この自己抗体捕捉分子は、表２の標的抗原であってもよいし、または表２に提供される標的抗原のいずれかに対する抗体であってもよい。この場合、この抗体は表２の標的抗原を含む自己抗体－自己抗原複合体を特異的に結合することが出来る。

【００１４】

一実施形態では、その個体由来の試料を、表１もしくは表１１ａの自己抗体捕捉分子であるか、または表１もしくは表１１ａの抗原に対する標的抗体である２種以上の自己抗体捕捉分子と接触させる。さらなる実施形態では、この自己抗体捕捉分子は、表２、表３、表４、表１０の自己抗体捕捉分子であるか、またはこれらの表（これらは表１の中のサブセットと記載することができる）の抗原に対する標的抗体である。前立腺癌の診断に相関

する可能性がある自己抗体は、抗体または抗体を含有する複合体がこの自己抗体捕捉分子の少なくとも２種に結合したと検出されるときに、その試料中で検出される。好ましくは、試験試料中の抗体または抗体を含有する複合体への自己抗体捕捉分子の結合により、前立腺癌とＢＰＨとが区別され、かつ好ましくは、低悪性前立腺癌と高悪性前立腺癌とが区別される。

【００１５】

本発明のいくつかの実施形態では、ＰＣａを検出および診断する方法ならびにバイオマーカー検出パネルは、ＰＳＡの自己抗体捕捉分子を含まない。

【００１６】

さらなる実施形態では、自己抗体捕捉分子の少なくとも１種がＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ＣＣＮＢ１、ＡＭＡＣＲ、ＴＰ５３、ＭＵＣ１、ＫＬＫ３、ＢＩＲＣ５、ならびにＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ＣＣＮＢ１、ＡＭＡＣＲ、ＴＰ５３、ＭＵＣ１、ＫＬＫ３、およびＢＩＲＣ５に対する標的抗体からなる群から選択される２種以上の自己抗体捕捉分子と、個体由来の試料を接触させる。いくつかの好ましい実施形態では、この試料をＫＤＲおよび／またはＰＩＭ－１と接触させる。「ＫＤＲおよび／またはＰＩＭ－１」は、全長ＫＤＲ、ＫＤＲを認識する抗体によって認識されるＫＤＲの変異体、抗体によって認識可能なエピトープを含むＫＤＲの断片、ならびに／または全長ＰＩＭ－１、ＰＩＭ－１を認識する抗体によって認識されるＰＩＭ－１の変異体、および抗体によって認識可能なエピトープを含むＰＩＭ－１の断片を包含することを理解されたい。

【００１７】

特定の態様では、本発明のバイオマーカーパネルは、ＫＤＲのエピトープを含む第１のバイオマーカーと、ＰＩＭ－１のエピトープを含む第２のバイオマーカーとを含む。特定の具体的実施形態では、この第１のバイオマーカーおよび／またはこの第２のバイオマーカーのエピトープは、ヒト被験者の血清において自己抗体によって認識されることが公知のエピトープである。特定の実施形態では、この第１のバイオマーカーおよび／またはこの第２のバイオマーカーは、少なくとも５ｋＤａまたは少なくとも１０ｋＤａである。具体的実施形態では、この第１のバイオマーカーは、全長ＰＩＭ－１であり、この第２のバイオマーカーは全長ＫＤＲである。

【００１８】

本発明の別の態様では、これまで自己抗体反応を誘発すると報告されていなかった１４種の新規の腫瘍抗原（またはその変異体もしくは断片）のいずれか、あるいはこれらの抗原に対する抗体を、前立腺癌を検出するために、および前立腺癌とＢＰＨを区別するために、試料と接触させる。一実施形態では、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮ、ならびにＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、およびＰＴＥＮに対する標的抗体からなる群から選択される１つ以上の自己抗体捕捉分子と前立腺癌を有すると思われる個体由来の試料を接触させる。この試料を、ＫＤＲおよび／またはＰＩＭ－１を含む１つ以上の自己抗体捕捉分子と接触させることが好ましい。これらの用語は、全長ＫＤＲ、ＫＤＲを認識する抗体によって認識されるＫＤＲの変異体、抗体が認識可能なエピトープを含むＫＤＲの断片、ならびに／または全長ＰＩＭ－１、ＰＩＭ－１を認識する抗体によって認識されるＰＩＭ－１の変異体、および抗体が認識可能なエピトープを含むＰＩＭ－１の断片を包含することを理解されたい。

【００１９】

本発明とともに使用するのに適したアッセイ法としては、個体由来の液体試料、および

個体由来の非液体試料（前立腺組織試料など）中の自己抗体を検出するために使用されるアッセイ法が挙げられる。このアッセイ法ならびに本発明の検出および診断方法で使用される試料は任意の種類の試料であってよいが、唾液試料もしくは血液試料、またはそれらの画分（血漿もしくは血清）であることが好ましい。いくつかの実施形態では、試料は血液またはその画分（例えば、血清）である。他の実施形態では、この試料は非液体試料（組織試料など）である。さらなる実施形態では、この組織試料は前立腺組織試料である。上記個体は、癌についてスクリーニングされた個体であってよく、いくつかの実施形態では、前立腺癌についてスクリーニングされた男性の個体である。

【００２０】

いくつかの実施形態では、上記方法は前立腺癌の検出に関し、該方法は、自己抗体捕捉分子が表４の分子のうちの１つ（またはその変異体もしくは断片）、あるいは表４の標的抗原のいずれかに対する抗体であり、該抗体が自己抗体－自己抗原複合体に特異的に結合することができる、自己抗体捕捉分子に対するその個体由来の試験試料の免疫反応性を測定する段階と、前記捕捉分子に対する上記試験試料の免疫反応性を前立腺癌の診断に相関させる段階とを含む。この方法は、いくつかの実施形態では、前立腺癌とＢＰＨを区別するために使用することができる。

【００２１】

別の態様では、本発明は、個体由来の試料を、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子、または表１の標的抗原のいずれかに対する抗体を含むバイオマーカー検出パネルと接触させる段階と、このバイオマーカー検出パネルに対するこの試験試料の免疫反応性のパターンを検出する段階（この場合、このバイオマーカー検出パネルに対するこの試験試料の免疫反応性のパターンが前立腺癌の存在を示す）とによって、個体において前立腺癌を診断する方法を提供する。自己抗体捕捉分子は、標的抗体または標的抗原であってよい。標的抗原はタンパク質全体（標的抗原と呼ばれるタンパク質など）であってよいし、または指定されたタンパク質の変異体、処理体、未処理体、または改変形態であってもよく、指定されたタンパク質のエピトープ含有断片であってもよいし、それを含んでいてもよい。標的抗体である自己抗体捕捉分子は、自己抗原と複合体を形成している試料中の自己抗体を検出することができる抗体である。

【００２２】

本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、複数の自己抗体捕捉分子、例えば、２以上、３以上、４以上、５以上、６以上、７以上、１０以上、２０以上、５０以上、１００以上、２００以上、５００以上、１，０００以上、２，０００以上、５，０００以上、または１０，０００以上の自己抗体捕捉分子を含み、このうち上記自己抗体捕捉分子の２～２１４種は表１および／または表１１ａに由来するものである。

【００２３】

本発明に包含される自己抗体捕捉分子は、特定の実施形態では、配列番号１もしくは配列番号２の少なくとも２５、５０、７５、１００のアミノ酸セグメントまたはアミノ酸セグメント全体と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、もしくは１００％同一である。この自己抗体捕捉分子は、特定の具体的実施形態では、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１の自己抗体に結合する。

【００２４】

好ましい実施形態では、このバイオマーカー検出パネルの自己抗体捕捉分子の少なくとも１種は、表３の自己抗体捕捉分子である。前立腺癌を検出するために使用されるバイオマーカー検出パネルは、いくつかの実施形態では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３０～３５、３５～４０、４０～４５、４５～５０、５０～５５、５５～６０、６０～６５、もしくは６５～７０種の表３の自己抗体捕捉分子、または表３の抗原のいずれかに対する抗体を含むことができ、チップ上で使用される表３の抗原に対する抗体は、その試料の自己抗原－自己抗体複合体の結合を介して自己抗体を検出するために使用される。

【００２５】
いくつかの実施形態では、上記バイオマーカー検出パネルは、少なくとも２種の表３の自己抗体捕捉分子を含む。いくつかの実施形態では、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカー検出パネルは、表４を構成する群から選択される少なくとも１種の標的抗原を含む。いくつかの好ましい実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、前立腺癌とＢＰＨを区別するためのＲＯＣ曲線とＡＵＣ値（ＲＯＣ／ＡＵＣ値とも呼ばれる）が０．８００以上である。この方法のいくつかの好ましい実施形態では、前立腺癌とＢＰＨの存在を区別するためのこのバイオマーカー検出パネルのＲＯＣ曲線とＡＵＣ値は０．９００以上である。

【００２６】
いくつかの実施形態では、本発明は、前立腺癌を診断する方法および前立腺癌とＢＰＨを区別する方法、ならびに個体由来の試料を、表３の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、この自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が表１０に由来するバイオマーカー検出パネルと接触させる段階と、このバイオマーカー検出パネルに対するこの試料の免疫反応性のパターンを検出する段階（この場合、このバイオマーカー検出パネルに対するこの試料の免疫反応性のパターンがその個体において前立腺癌とＢＰＨを区別する）とを含む方法を、包含する。いくつかの例示的な実施形態では、このバイオマーカー検出パネルは、表５の少なくとも１種の３マーカー自己抗体検出セット、表６の少なくとも１種の４マーカー自己抗体検出セット、表７の少なくとも１種の５マーカー自己抗体検出セット、表８の少なくとも１種の６マーカー自己抗体検出セット、表９の少なくとも１種の７マーカー自己抗体検出セットを含む。

【００２７】
このバイオマーカー検出パネルは、いくつかの実施形態では、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり、８０％以上、８５％以上、９０％以上、９６％以上、もしくは９８％以上の特異度、および／または８０％以上、９０％以上、９６％以上、９８％以上、もしくは１００％の感度を有する。このバイオマーカー検出パネルは、いくつかの実施形態では、前立腺癌を診断するにあたり７８％以上、８５％以上、もしくは９０％以上のベイジアン特異度、および／または前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり８０％以上、９０％以上、もしくは９５％以上のベイジアン感度を有する。このバイオマーカー検出パネルは、いくつかの例示的な実施形態では、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり８０％以上、８５％以上、８５％以上、９０％以上、もしくは９６％以上のベイジアン精度を有する。

【００２８】
前立腺癌を診断するための方法の好ましい実施形態では、試験試料は血液またはその画分（血清など）である。いくつかの実施形態では、上記個体は５０歳以上の男性である。いくつかの実施形態では、上記方法は、その個体に対して経時的に繰り返される。いくつかの実施形態では、上記個体は、本発明のバイオマーカー検出パネルに対するその患者の試料の免疫反応性を測定することにより、癌治療後に規則的間隔または不規則的間隔でモニターされる。後日試験される試料の免疫反応性は、早期に採取した試料の免疫反応性と比較することができる。

【００２９】
本発明は、さらに他の態様では、バイオマーカー検出パネルが表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、その抗体捕捉分子の少なくとも１種が表３のものである、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するため、あるいは前立腺癌とＢＰＨを区別するためのバイオマーカー検出パネルを提供する。本発明のバイオマーカー検出パネルは複数の自己抗体捕捉分子、例えば、２以上、３以上、４以上、５以上、６以上、７以上、１０以上、２０以上、５０以上、１００以上、２００以上、５００以上、または１，０００以上の自己抗体捕捉分子を含む。このバイオマーカー検出パネルは、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２

１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３０～３５、３５～４０、４０～４５、４５～５０、５０～５５、５５～６０、６０～６５、または６５～７０種の表３の自己抗体捕捉分子を含むことができる。

【００３０】

いくつかの好ましい実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、表２から選択される自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種を含む。いくつかの好ましい実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、表４から選択される自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種を含む。本発明は、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、またはＫＤＲおよびＰＩＭ－１の両方を含むバイオマーカー検出パネルを提供する。

【００３１】

いくつかの実施形態では、バイオマーカー検出パネルはさらに、抗体（ＡＣＣＰ、ＢＣＬ２、ＰＳＡ（全体）、ＰＳＡ（遊離）、ＣＸＣＲ４、ＰＴＧＥＲ２、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＰＡＰ、またはＰＳＭＡに対する抗体のうちの１つ以上が挙げられるが、これらに限定されない）を含むことができる。いくつかの好ましい実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、ＡＣＣＰおよび／またはＩＬ－６に対する抗体を含む。

【００３２】

バイオマーカー検出パネルのいくつかの好ましい実施形態では、上記自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種は表１０から選択される。いくつかの例示的な実施形態では、本発明のバイオマーカー検出パネルは、表５、表６、表７、表８、または表９の１つ以上の自己抗体検出セットを含む。

【００３３】

いくつかの好ましい実施形態では、上記バイオマーカー検出パネルは、１つ以上の固体または半固体支持体（例えば、ゲルもしくはマトリクス、ビーズ、粒子、繊維、棒、フィラメント、もしくはフィルター、ストリップ、シート、膜、プレート（例えば、マルチウェルプレート）、皿、チップもしくはアレイ）に結合されて提供される。いくつかの好ましい実施形態では、上記固体支持体に結合されたヒトタンパク質の少なくとも５０％は、上記バイオマーカー検出パネルの試験抗原である。いくつかの好ましい実施形態では、上記固体支持体に結合されたヒトタンパク質の少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％は、上記バイオマーカー検出パネルの試験抗原である。いくつかの好ましい実施形態では、上記バイオマーカー検出パネルはタンパク質アレイの中または上に提供される。

【００３４】

本発明はまた、本願明細書において提供される１つ以上のバイオマーカー検出パネルを含むキットを提供する。このキットは、試料から、抗体、または抗原－抗体複合体の結合を検出するため、１つ以上の試薬を含むことができる。検出試薬は、１つ以上の抗体、標識、標識試薬、または緩衝液を含むことができる。いくつかの実施形態では、キットのバイオマーカーパネルの１つ以上の自己抗体捕捉分子は固体支持体に結合されて提供される。キットのいくつかの実施形態では、このキットは、検出パネルの標的抗原がチップまたはアレイに結合されているバイオマーカー検出パネルを提供する。

【００３５】

本発明のキットは、異なる容器および／または固体支持体と結合した、表１または表１１ａの２種以上の自己抗体捕捉分子を含むことができる。

【図面の簡単な説明】

【００３６】

【図１】前立腺癌自己抗体バイオマーカーを同定するために使用された本発明の自己抗体チップの図である。このチップ上のアレイは、８種の捕捉抗体、１０８種の自己抗原、マウス抗ヒトＫ３－段階（陽性対照）、マウス抗ヒトＩｇＧ１３－段階（陽性対照）、プロテインＬ３－段階（陽性対照）、ヒトＩｇＧ４－段階（陽性対照）、および１１３７個の空のスポットを備える。図１に示したアレイは各チップ上で二重にプリントされ、そのた

めこのチップ上のすべてのスポットは全部で４回複製される。
【図２Ａ】３２人のＰＣａ患者および３２人のＢＰＨ患者由来のプールされた血清試料を用いた自己抗体プロファイリング実験を示す図である。このタンパク質アレイは９６タンパク質抗原で作製されており、信号はマイクロアレイ上にプリントされたプロテインＬスポットを使用して標準化されている。図２Ａは、ＰＣａとＢＰＨとの間の差を示す代表的な画像である。セルロースのスライド上にプリントされた９０種の抗原の中で、約半分は有意な自己抗体信号を示した。矢印は、プールされたＢＰＨ血清中よりもプールされたＰＣａ血清中で有意に高い自己抗体信号を捕捉するＫＤＲおよびＰＩＭ－１のスポットを示す。
【図２Ｂ】３２人のＰＣａ患者および３２人のＢＰＨ患者由来のプールされた血清試料を用いた自己抗体プロファイリング実験を示す図である。このタンパク質アレイは９６タンパク質抗原で作製されており、信号はマイクロアレイ上にプリントされたプロテインＬスポットを使用して標準化されている。図２Ｂは、ＰＣａ血清とＢＰＨ血清との間で最も高い倍率の開きを示す上位２０種のタンパク質抗原を示す。
【図２Ｃ】３２人のＰＣａ患者および３２人のＢＰＨ患者由来のプールされた血清試料を用いた自己抗体プロファイリング実験を示す図である。このタンパク質アレイは９６タンパク質抗原で作製されており、信号はマイクロアレイ上にプリントされたプロテインＬスポットを使用して標準化されている。図２Ｃは、示された濃度で、精製されたＫＤＲタンパク質を使用する自己抗原競合実験を示す。１．８μｇ／ｍｌ濃度で、ＫＤＲ信号の半分が排除された。
【図２Ｄ】３２人のＰＣａ患者および３２人のＢＰＨ患者由来のプールされた血清試料を用いた自己抗体プロファイリング実験を示す図である。このタンパク質アレイは９６タンパク質抗原で作製されており、信号はマイクロアレイ上にプリントされたプロテインＬスポットを使用して標準化されている。同様に、図２Ｄは示された濃度で、精製されたＰＩＭ－１タンパク質を使用する自己抗原競合実験を示す。２μｇ／ｍｌ濃度で、ＰＩＭ－１信号の半分が排除された。
【図３Ａ】ＫＤＲ抗原について、３２人のＰＣａ患者（１－３２の番号をつけた）および３２人のＢＰＨ患者（３３－６４の番号をつけた）の自己抗体蛍光信号プロファイルを示す。奇数の患者番号だけが図中に表示されている。ＲＯＣ解析により決定された信号の閾値レベルが水平の破線で示されている。
【図３Ｂ】ＰＩＭ－１抗原について、３２人のＰＣａ患者（１－３２の番号をつけた）および３２人のＢＰＨ患者（３３－６４の番号をつけた）の自己抗体蛍光信号プロファイルを示す。奇数の患者番号だけが図中に表示されている。ＲＯＣ解析により決定された信号の閾値レベルが水平の破線で示されている。
【図３Ｃ】ＫＤＲ（緑色）、ＰＩＭ－１（赤色）、ＰＳＡ（暗青色）の１－ｐｌｅｘ解析ならびにＫＤＲおよびＰＩＭ－１（薄青色）の組合せの２－ｐｌｅｘ解析を使用した６４個の血清データセットのＲＯＣ曲線のプロットを示す。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の２－ｐｌｅｘ解析は、それぞれ９０．６％の感度および８４．４％特異度を生成する。すべての解析のＡＵＣは凡例に示されている。この実験は、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１抗原を含有する低含有量マイクロアレイを用いて行われた。
【図４】抗ＫＤＲおよび抗ＰＩＭ－１抗体を用いた前立腺組織マイクロアレイ実験の画像を示す図である。赤色蛍光はＡｌｅｘａ６４７標識されたヤギ抗ヒトＩｇＧによって検出された自己抗体信号を示し、青色蛍光はＤＡＰＩによる核の対比染色を示す。この画像は、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１がＰＣａ組織で優先的に発現されることを示す。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１タンパク質の過剰発現は、ＰＣａ患者における異常な体液性応答反応につながる。
【図５】図２Ａ～図２Ｄに記載された自己抗体プロファイリング実験の基本構想を示す。前立腺癌およびＢＰＨを有する個体由来の試料を採取し、その試料を前立腺癌における役割に基づいて選択された標的抗原を含有する可能性のあるチップに接触させる。その結果生じた自己抗体への標的抗原の結合は定量され、ＢＰＨよりも前立腺癌に対して選択的な

バイオマーカーを同定するのに使用される。
【発明を実施するための形態】
【００３７】
詳細な説明
本発明は、候補抗原の同定に基づいて、個体由来の試料中に自己抗体を検出するためのものである。表１に提供される試験抗原および試験抗体は、前立腺癌の生物学的知識に基づいて選択されたヒトタンパク質である。表１に列挙された試験抗原のうち、ＴＰ５３、ＰＴＥＮ、ＰＤＬＩＭ１、ＳＰＲＸ、ＮＵＣＢ１、およびＰＳＣＡは前立腺癌経路特異的腫瘍抑制因子遺伝子である、ＦＯＬＨ１、ＫＤＲ、ＰＳＩＰ１、ＥＧＦＲ、ＥＲＢＢ２、ＣＣＫＢＲ、ＸＬＫＤ１、ＭＭＰ９、ＴＭＰＲＳＳ２、ＡＧＲ２、ＰＲＳＳ８、ＭＵＣ１、ＬＧＡＬＳ８、ＣＤ１６４、ＣＸＣＲ４、ＮＲＰ１、ＳＴＥＡＰ１、ＨＰＮ、ＭＥＴ、ＰＴＧＥＲ３、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＮＣＡＭ２、ＥＤＮＲＢ、ＦＬＴ１、ＰＥＣＡＭ１、ＢＤＫＲＢ２、ＣＤ１５１、ＱＳＣＮ６、ＥＲＧ、ＰＣＮＡ、ＥＰＣＡＭ、およびＭＡＤ１Ｌ１はいくつかの癌細胞によって発現される細胞表面タンパク質であり、ＨＳＰＡ１Ａ、ＨＳＰＢ１、ＳＥＲＰＩＮＨ１、ＨＳＰＡ５、ＴＲＡ１、ＭＩＣＢ、ＰＳＭＡＢ４、ＵＢＥ２Ｃ、ＳＴＩＰ１、ＨＳＰＤ１、およびＵＢＱＬＮ１は生来の免疫に関係するタンパク質であり、ＥＩＦ４Ｇ１　ＡＬＯＸ１５、ＰＴＧＳ１、ＲＰＬ２３、ＲＰＳ１４、ＥＬＡＣ１、ＥＩＦ３Ｓ３、ＴＯＰ２Ａ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＡＣＰＰ、ＫＬＫ３、ＦＡＳＮ、ＲＰＬ３０、およびＥＮＯ１は細胞代謝に関係するタンパク質であり、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＣＣＮＡ、ＣＤＫＮ２Ａ、ＣＵＬ４Ａ、ＢＩＲＣ５、ＭＹＣ、ＥＴＳ２、ＢＣＬ２、ＢＣＬＧ、ＴＰ５３ＢＰ２、ＧＤＦ１５、ＲＡＳＳＦ１、ＡＫＴ１、ＭＤＭ２、ＰＩＭ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＨＩＭＰ２、ＨＩＭＰ３、ＫＨＤＲＢＳ１、ＰＣＮＡ、およびＣＡＶ３、は細胞周期関連もしくはアポトーシス関連タンパク質であり、Ｅ６およびＥ７はヒトパピローマウイルス抗原である。ＨＩＰ１、ＢＲＤ２、ＡＺＧＰ１、ＣＯＶＡ１、ＭＬＨ１、ＴＰＤ５２、ＰＳＡＰ、ＭＩＢ１、ＨＯＸＢ１３、ＲＤＨ１１、ＨＭＧＡ２、ＺＷＩＮＴ、ＲＣＶ１、ＳＦＲＰ４、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＨＩＰ２、およびＨＥＹＬは、癌に関与していることが見出された。
【００３８】
（表１）試験抗原および試験抗体

マーカー （自己抗体 捕捉分子）	HUGO 名称	タンパク質/遺伝子 別名	Genbank 識別子	供給源
ABV0G41VX-KLK3	KLK3	KLK3, APS, PSA, hK3, KLK2A1	kallikrein 3, (前立腺特異的抗原) GI:22208991 NM_145864	インビトロ合成コムギ胚芽(WG IVT) - Abnova; 台北市、台湾
ACPP	ACPP	ACPP, PAP, ACP3, ACP-3	酸性フォスファターゼ, 前立腺 GI:6382063 NM_001099	WG IVT
AGR2	AGR2	AGR2, AG2, GOB-4, HAG-2, XAG-2	anterior gradient 2 homolog (Xenopus laevis) GI:20070225NM_006408	WG IVT
AKT1	AKT1	AKT1, PKB, RAC, PRKBA, MGC99656, RAC-ALPHA	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1 GI:62241010 NM_005163	WG IVT
ALOX15	ALOX15	ALOX15	アラキドン酸15-リポキシゲナーゼ GI:40316936 NM_001140	WG IVT
AMACR	AMACR	AMACR, RACE	α-メチルアシル- CoA ラセマーゼ NM_014324 GI:42794624	WG IVT
抗 **ACPP**	（抗体）	抗PAPマウス捕捉mAb		United Biotech
抗 **BCL2**	（抗体）	マウス抗bcl－2		Zymed
抗 **CXCR4**	（抗体）	マウス抗CXCR4 モノクローナル		Zymed
抗**IL6**	（抗体）	hIL－6 58. 126. 09μクローン677B 6A2 IgG1についてのCytosetsアッセイキット由来の捕捉Ab		Biosource
抗 **IL8**	（抗体）	IL8Cytosetsキット由来の捕捉Ab		Biosource
抗 **PSA(f)**	（抗体）	（遊離PSAコートAb）		Biospacific
抗 **PSA(t)**	（抗体）	（全PSAコートAb）		Medix

抗 **PTER2**	（抗体）	マウス抗PTER2 モノクローナル		GeneTex
AZGP1	AZGP1	AZGP1, ZAG, ZA2G	alpha-2-glycoprotein 1, zinc GI:38372939 NM_001185	WG IVT
BCL2	BCL2	BCL2, Bcl-2	B-cell CLL/lymphoma 2 (BCL2), 核内遺伝子コードの ミトコンドリアタンパク質 GI:72198188 NM_000633	WG IVT
BCLG	BCL2L14	BCL2L14, BCLG	BCL2-like 14 (アポトーシス促進因子) GI:13540528 NM_030766	WG IVT
BDKRB2	BDKRB2	BDKRB2, B2R, BK2, BK-2, BKR2, BRB2, DKFZp686O088	ブラジキニン受容体B2 GI:17352499 NM_000623	WG IVT
BIRC5	BIRC5	BIRC5, API4, EPR-1	baculoviral IAP repeat-containing 5 (survivin) GI:59859879 NM_001012270	WG IVT
BRD2	BRD2	BRD2, NAT, RNF3, FSRG1, RING3, D6S113E, FLJ31942, KIAA9001, DKFZp686N0336	bromodomain containing 2 GI:12408641 NM_005104	WG IVT
CAV3	CAV3	CAV3, VIP21, LGMD1C, VIP-21, MGC126100, MGC126101, MGC126129	caveolin 1, caveolae protein, 22kDa GI:15451855 NM_001753	WG IVT
CCKBR	CCKBR	CCKBR, GASR, CCK-B	コレシストキニンB 受容体 GI:33356159 NM_176875	ヒト血清から精製, (EMD Biosciences, サンディエゴ, CA)
CCNA1	CCNA1	CCNA1	cyclin A1 GI:16306528 NM_003914	WG IVT
CCNB1	CCNB1	CCNB1, CCNB	cyclin B1 GI:34304372 NM_031966	WG IVT
CCND1	CCND1	CCND1, BCL1, PRAD1, U21B31, D11S287E	cyclin D1 GI:77628152 NM_053056	WG IVT
CD151	CD151	CD151, GP27, MER2, RAPH, SFA1, PETA-3, TSPAN24	CD151 分子(Raph 血液型) GI:87159810 NM_004357	WG IVT
CD164	CD164	CD164, MGC-24, MUC-24, エンドリン（endolyn）	CD164 分子, sialomucin GI:34222157 NM_006016	WG IVT

CDKN2A	CDKN2A	CDKN2A, ARF, MLM, p14, p16, p19, CMM2, INK4, MTS1, TP16, CDK4I, CDKN2, INK4a, p14ARF, p16INK4, p16INK4a	サイクリン依存性キナーゼ阻害剤2A GI:47132606 NM_000077	WG IVT
CLDN3	CLDN3	CLDN3, RVP1, HRVP1, C7orf1, CPE-R2, CPETR2	claudin 3 GI:21536298 NM_001306	WG IVT
CLDN4	CLDN4	CLDN4, CPER, CPE-R, CPETR, CPETR1, WBSCR8, hCPE-R	Claudin 4 GI:34335232 NM_001305	WG IVT
COVA1	COVA1	COVA1, APK1, tNOX	細胞卵巣癌抗原1 GI:32528292 NM_006375	WG IVT
CUL4A	CUL4A	CUL4A	cullin 4A (CUL4A), transcript variant 2 GI:57165422 NM_003589	WG IVT
CXCR4	CXCR4	CXCR4, FB22, HM89, LAP3, LCR1, NPYR, WHIM, CD184, LESTR, NPY3R, NPYRL, HSY3RR, NPYY3R, D2S201E	ケモカイン (C-X-Cモチーフ) 受容体 4 GI:56790926 NM_001008540	WG IVT
E6	NA		HPV（ウイルス）タンパク質	WG IVT
E7	NA		HPV（ウイルス）タンパク質	WG IVT
EDNRB	EDNRB	EDNRB, ETB, ETRB, HSCR, ABCDS, HSCR2	エンドセリン受容体 B型 GI:4557546 NM_000115	WG IVT
EGFR	EGFR	EGFR, ERBB, mENA, ERBB1	上皮成長因子受容体 GI:41327737 NM_005228	WG IVT
EIF3S3	EIF3S3	EIF3S3, eIF3-p40, MGC102958, eIF3-γ	eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 3 gamma, 40kDa GI:83656776 NM_003756	WG IVT
EIF4G1	EIF4G1	EIF4G1, p220, EIF4F, EIF4G, DKFZp686A1451	eukaryotic translation initiation factor 4 gamma, 1 GI:38201620 NM_182917	WG IVT
ELAC1	ELAC1	ELAC1, D29	elaC homolog 1 (E. coli) GI:50726987 NM_018696	WG IVT
ENO1	ENO1	ENO1, NNE, PPH, MPB1, MBP-1, ENO1L1	エノラーゼ1, (α) GI:16507965 NM_001428	WG IVT

EP-CAM	TACSTD1	TACSTD1, EGP, KSA, M4S1, MK-1, CD326, EGP40, MIC18, TROP1, Ep-CAM, hEGP-2, CO17-1A, GA733-2	tumor-associated calcium signal transducer 1 precursor GI:49457558 NM_002354	WG IVT
ERBB2	ERBB2	ERBB2, NEU, NGL, HER2, TKR1, HER-2, c-erb B2, HER-2/neu	v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, neuro/glioblastoma derived oncogene homolog (avian) GI:54792097 NM_001005862	WG IVT
ERG	ERG	ERG, p55, erg-3	v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog (avian) GI:46255021 NM_004449	WG IVT
ETS2	ETS2	ETS2	epidermal growth factor receptor (erythroblastic leukemia viral (v-erb-b) oncogene homolog, avian) GI:41327737 NM_005228	WG IVT
FASN	FASN	FASN, FAS, OA-519, MGC14367, MGC15706	脂肪酸シンターゼ GI:41872630 NM_004104	WG IVT
FLT1	FLT1	FLT1, FLT, VEGFR1	fms関連チロシンキナーゼ1 (血管内皮成長因子/血管透過性因子受容体) GI:32306519 NM_002019	WG IVT
FOLH1	FOLH1	FOLH1, PSM, FGCP, FOLH, GCP2, PSMA, mGCP, GCPII, NAALAD1, NAALAダーゼ	葉酸ヒドラーゼ (前立腺特異的膜抗原) 1 GI:4758397 NM_004476	WG IVT
GDF15	GDF15	GDF15, PDF, MIC1, PLAB, MIC-1, NAG-1, PTGFB, GDF-15	成長分化因子15 GI:4758935 NM_004864	WG IVT
HEYL	HEYL	HEYL, HRT3, MGC12623	hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif-like GI:105990530 NM_014571	WG IVT
HIP1	HIP1	HIP1, ILWEQ, MGC126506	huntingtin interacting protein 1 GI:38045918 NM_005338	インビトロ合成コムギ胚芽 (Abnova;台北市、台湾)

HIP2	HIP2	HIP2, LIG, HYPG, UBE2K	huntingtin interacting protein 2 GI:21536483 NM_005339	大腸菌（E. coli）で合成（MI大学）
HMGA2	HMGA2	HMGA2, BABL, LIPO, HMGIC, HMGI-C	high mobility group AT-hook 2 GI:62912481 NM_003484	WG IVT
HOXB13	HOXB13	HOXB13, PSGD	homeobox B13 GI:84043952 NM_006361	WG IVT
HPN	HPN	HPN, TMPRSS1	hepsin (膜貫通プロテアーゼ，セリン1) GI:4504480 NM_002151	WG IVT
HSPA1A	HSPA1A	HSPA1A, HSP72, HSPA1, HSPA1B, HSP70-1	熱ショック 70kDa タンパク質 1A GI:26787973 NM_005345	WG IVT
HSPA5	HSPA5	HSPA5, BIP, MIF2, GRP78, FLJ26106	熱ショック 70kDa タンパク質 5 (グルコース調節タンパク質, 78kDa) GI:21361242 NM_005347	WG IVT
HSPB1	HSPB1	HSPB1, CMT2F, HSP27, HSP28, Hsp25, HS.76067, DKFZp586P1322	熱ショック 27kDa タンパク質1 GI:4996892 NM_001540	WG IVT
HSPD1	HSPD1	HSPD1, CPN60, GROEL, HSP60, HSP65, SPG13, HuCHA60	熱ショック 60kDa タンパク質 1 (シャペロニン) GI:41399283 NM_002156	WG IVT
IMP-2	IGF2BP2	IGF2BP2, p62, IMP2, IMP-2, VICKZ2	insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2 GI:64085376 NM_006548	WG IVT
IMP-3	IGF2BP3	IGF2BP3, IMP3, KOC1, IMP-3, VICKZ3, DKFZp686F1078	insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3 GI:30795211 NM_006547	WG IVT
KDR	KDR	KDR, FLK1, CD309, VEGFR, VEGFR2	kinase insert domain receptor (III型受容体チロシンキナーゼ) GI:11321596 NM_002253	WG IVT
KHDRBS1	KHDRBS1	KHDRBS1, p62, Sam68	KH domain containing, RNA binding, signal transduction associated 1 GI:5730026 NM_006559	WG IVT
LGALS8	LGALS8	LGALS8, Gal-8, PCTA1, PCTA-1, Po66-CBP	lectin, galactoside-binding, soluble, 8 GI:42544184 NM_006499	WG IVT
MAD1L1	MAD1L1	MAD1L1, MAD1, PIG9, HsMAD1, TP53I9, TXBP181	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 GI:6466452 NM_002358	WG IVT

MDM2	MDM2	MDM2, hdm2, MGC71221	Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein GI:46488903 NM_002392	WG IVT
MET	MET	MET, HGFR, RCCP2	met proto-oncogene (幹細胞増殖因子受容体) GI:42741654 NM_000245	WG IVT
MIB1	MIB1	MIB1, MIB, ZZZ6, DIP-1, ZZANK2, FLJ90676, MGC129659, MGC129660, DKFZp686I0769, DKFZp761M1710	mindbomb homolog 1 (Drosophila) GI:62868229 NM_020774	WG IVT
MICB	MICB	MICB, PERB11.2	MHC class I polypeptide-related sequence B GI:26787987 NM_005931	WG IVT
MLH1	MLH1	MLH1, FCC2, COCA2, HNPCC, hMLH1, HNPCC2, MGC5172	mutL homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 GI:28559089 NM_000249	WG IVT
MMP9	MMP9	MMP9, GELB, CLG4B, MMP-9	マトリックスメタロペプチダーゼ9 GI:74272286 NM_004994	WG IVT
MUC1	MUC1	MUC1, EMA, PEM, PUM, MAM6, PEMT, CD227, H23AG	mucin 1, cell surface associated GI:65301116 NM_002456	WG IVT
MYC	MYC	MYC, c-Myc	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian) GI:71774082 NM_002467	WG IVT
NCAM2	NCAM2	NCAM2, NCAM21, MGC51008	神経細胞接着分子2 GI:33519480 NM_004540	WG IVT
NRP1	NRP1	NRP1, NRP, CD304, VEGF165R, DKFZp781F1414, DKFZp686A03134	neuropilin 1 GI:57162075 NM_015022	WG IVT
NUCB1	NUCB1	NUCB1, NUC, FLJ40471, DKFZp686A15286	nucleobindin 1 GI:39725676 NM_006184	WG IVT
PCNA	PCNA	PCNA, MGC8367	増殖性細胞核内抗原 GI:33239450 NM_182649	WG IVT
PDLIM1	PDLIM1	PDLIM1, CLIM1, CLP36, ELFIN, CLP-36, hCLIM1	PDZ and LIM domain 1 (elfin) GI:20127594 NM_020992	WG IVT

PECAM1	PECAM1	PECAM1, CD31, PECAM-1	血小板/内皮細胞接着分子 (CD31 抗原) GI:110347450 NM_000442	WG IVT
PIM1	PIM1	PIM1, PIM	pim-1 癌遺伝子 GI:31543400 NM_002648	WG IVT
PRL	PRL	PRL	Prolactin GI:40254429 NM_000948	インビトロ合成コムギ胚芽 (Abnova, 台北市、台湾)
PRL	PRL	PRL	Prolactin GI:40254429 NM_000948	Purified from human serum (Fitgerald Industries International, マサチューセッツ州、コンコード)
PRSS8	PRSS8	PRSS8, CAP1, プロスタシン	Homo sapiens protease, serine, 8 (prostasin) GI:21536453 NM_002773	WG IVT
PSA	KLK3	KLK3, APS, PSA, hK3, KLK2A1	kallikrein 3, (前立腺特異的抗原) GI:22208991 NM_145864	WG IVT
PSAP	PSAP	PSAP, GLBA, SAP1, FLJ00245, MGC110993	prosaposin (異型ゴーシェ病および異型異染性白質ジストロフィー) GI:110224477 NM_002778	WG IVT
PSCA	PSCA	PSCA, PRO232	前立腺幹細胞抗原 GI:83641882 NM_005672	WG IVT
PSIP1	PSIP1	PSIP1, p52, p75, PAIP, DFS70, LEDGF, PSIP2, MGC74712	PC4 and SFRS1 interacting protein 1 GI:19923652 NM_033222	WG IVT
PSMB4	PSMB4	PSMB4, HN3, HsN3, PROS26	proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 4 GI:22538466 NM_002796	WG IVT
PTEN	PTEN	PTEN, BZS, MHAM, TEP1, MMAC1, PTEN1, MGC11227	phosphatase and tensin homolog GI:110224474 NM_000314	WG IVT
PTGER3	PTGER3	PTGER3, EP3, EP3e, EP3-I, EP3-II, EP3-IV, EP3-III, MGC27302, MGC141828, MGC141829	プロスタグランジンE受容体2 GI:31881629 NM_000956	WG IVT
PTGS1	PTGS1	PTGS1, COX1, COX3, PHS1, PCOX1, PGHS1, PTGHS, PGG/HS, PGHS-1	プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ1 GI:18104966 NM_000962	WG IVT
QSCN6	QSCN6	QSCN6, Q6, QSOX1	quiescin Q6 GI:52493187 NM_002826	WG IVT

RASSF1	RASSF1	RASSF1, 123F2, RDA32, NORE2A, RASSF1A, REH3P21	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 1 GI:25777678 NM_007182	WG IVT
RCV1	RCVRN	RCVRN, RCV1	recoverin GI:56550117 NM_002903	WG IVT
RDH11	RDH11	RDH11, MDT1, PSDR1, RALR1, SCALD, ARSDR1, CGI-82, HCBP12, FLJ32633	レチノールデヒドロゲナーゼ11 GI:20070271 NM_016026	WG IVT
RNF14	RNF14	RNF14, ARA54, HFB30, FLJ26004, HRIHFB2038	リングフィンガータンパク質14 GI:34577094 NM_004290	WG IVT
RPL23	RPL23	RPL23, rpL17, MGC72008, MGC111167, MGC117346	リボソームタンパク質L23a GI:78190460 NM_000984	WG IVT
RPL30	RPL30	RPL30	リボソームタンパク質L30 GI:15812218 NM_000989	WG IVT
RPS14	RPS14	RPS14, EMTB	リボソームタンパク質S14 (RPS14) GI:68160914 NM_001025070	WG IVT
RPS6KA1	RPS6KA1	RPS6KA1, RSK, HU-1, RSK1, MAPKAPK1A, S6K-α1	リボソームタンパク質S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド1 GI:56243479 NM_002953	WG IVT
SERPINH1	SERPINH1	SERPINH1, CBP1, CBP2, gp46, AsTP3, HSP47, PIG14, RA-A47, SERPINH2	セルピンペプチターゼ 阻害剤, クレイドH (熱ショックタンパク質 47), メンバー 1, (コラーゲン結合タンパク質1) GI:32454740 NM_001235	WG IVT
SFRP4	SFRP4	SFRP4, FRP-4, FRPHE, MGC26498	secreted frizzled-related protein 4 GI:8400733 NM_003014	WG IVT
SH3GLB1	SH3GLB1	SH3GLB1, Bif-1, CGI-61, KIAA0491, dJ612B15.2	SH3-domain GRB2-like endophilin B1 GI:108936948 NM_016009	WG IVT
SPRR1B	SPRR1B	SPRR1B, SPRR1, GADD33, コルニフィン (CORNIFIN), MGC61901	small proline-rich protein 1B (cornifin) GI:83582814 NM_003125	WG IVT
STEAP	STEAP1	STEAP1, STEAP, PRSS24, MGC19484	six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1 GI:22027487 NM_012449	WG IVT
STIP1	STIP1	STIP1, HOP, P60, STI1L, IEF-SSP-3521	ストレス誘導性リンタンパク質1 GI:110225356 NM_006819	WG IVT

TMPRSS2	TMPRSS2	TMPRSS2, PRSS10	膜貫通プロテアーゼ, セリン2 GI:14602458 NM_005656	WG IVT
TOP2A	TOP2A	TOP2A, TOP2, TP2A	トポイソメラーゼ (DNA) II α 170kDa GI:19913405 NM_001067	WG IVT
TP53	TP53	TP53, p53, LFS1, TRP53	腫瘍タンパク質 p53 (リー・フラウメニ症候群) GI:8400737 NM_000546	WG IVT
TPD52	TPD52	TPD52, D52, N8L, PC-1, PrLZ, hD52	腫瘍タンパク質 D52 GI:70608192 NM_005079	WG IVT
TRA1(-SP)	HSP90B1	HSP90B1, ECGP, GP96, TRA1, GRP94	熱ショックタンパク質 90kDa β (Grp94), メンバー 1 GI:4507676 NM_003299	WG IVT
UBE2C	UBE2C	UBE2C, UBCH10, dJ447F3.2	ユビキチン結合酵素 E2C GI:32967292 NM_007019	WG IVT
UBQLN1	UBQLN1	UBQLN1, DA41, DSK2, XDRP1, PLIC-1, FLJ90054	ubiquilin 1 GI:44955932 NM_013438	WG IVT
XLKD1	XLKD1	XLKD1, HAR, LYVE-1, CRSBP-1	extracellular link domain containing 1 GI:40549450 NM_006691 NM_016164	WG IVT
ZWINT	ZWINT	ZWINT, KNTC2AP, HZwint-1, MGC117174	ZW10 interactor GI:53729319 NM_001005413	WG IVT

【００３９】

本願明細書に提供される実施例は、試験抗原および表１の１０８種の試験抗原および８種の試験抗体からの試験抗原が、イムノアッセイ法を用いて試験された場合に、それぞれ、前立腺癌患者の血液試料中の抗体または抗体－抗原複合体を検出したことを明らかにする。表１の７０種の試験抗原および全８種の試験抗体は、本願明細書に提供される自己抗体を検出するための方法を用いて試験された、前立腺癌患者に由来する血清中の自己抗体または抗体－抗原複合体をそれぞれ検出した。

【００４０】

加えて、前立腺癌患者の血清中の自己抗体を検出した９９種の標的抗原は、ＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）高密度タンパク質チップ（インビトロジェン、カリフォルニア州、カールスバッド）上で同定された。個体の試料中でのこれらの試験抗原に結合する自己抗体の検出（それによって自己抗原として確認される）は、単独で、または他のバイオマーカーの存在もしくはそのレベルと併用して、癌を示唆することができる。表１１ａは、前立腺癌とＢＰＨを区別しつつ前立腺癌を検出する能力を示すＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）高密度タンパク質チップによって同定された、標的抗原を提供する。表１１ａはまた、高悪性前立腺癌、低悪性前立腺癌、またはその両方（全体）とＢＰＨを区別するために、各抗原が有意性を有するかどうかも示す。表１１ｂおよび表１１ｃは、これらの抗原が前立腺癌とＢＰＨを区別することができることを示す統計的裏づけを提供する。

【００４１】

（表１１Ａ）高悪性または低悪性前立腺癌とＢＰＨを区別するための有意性を有する、ＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）タンパク質アレイ上でスクリーニングされた標的抗原

遺伝子記号	Genbank アクセッション番号	アルティメイトORF（商標） クローンID	有意性の判定
ACAD9	BC001817	IOH5174	HGにおいて有意
B2M	BC032589	IOH21955	HGにおいて有意
BMX	NM_001721	IOH11645	全体的に有意
BRAF	NP_004324		LGにおいて有意
BRD3	BC032124	IOH23093	HGにおいて有意、全体的に有意
C10orf65	BC011916	IOH12850	HGにおいて有意
C11orf9	BC004938	IOH5465	HGにおいて有意
C14orf126	NM_080664	IOH9768	HGにおいて有意
C14orf147	BC021701	IOH23015	HGにおいて有意
C1orf36	NM_183059	IOH39968	HGにおいて有意
C4orf15	NM_024511	IOH5198	HGにおいて有意
C7orf31	BC043269	IOH25865	HGにおいて有意
C9orf123	BC009510	IOH12049	HGにおいて有意、全体的に有意
CA14	NM_012113	IOH27401	HGにおいて有意
CASQ2	BC022288	IOH12278	HGにおいて有意、全体的に有意
CD58	BC005930	IOH7549	HGにおいて有意
CDCA8	BC001651	IOH3740	HGにおいて有意、全体的に有意
CDKN1A	BC001935	IOH5068	HGにおいて有意
CRABP2	NM_001878	IOH1673	全体的に有意
CYB5-M	NM_030579	IOH5585	HGにおいて有意
DKFZp434L142	NM_016613	IOH11008	HGにおいて有意、全体的に有意
DTNBP1	NM_032122	IOH13153	HGにおいて有意
DYRK1A	NM_001396		HGにおいて有意
EFS	NM_032459	IOH21413	HGにおいて有意
FER	NM_005246		HGにおいて有意
FHIT	NM_002012	IOH21676	全体的に有意
FKBP6	BC036817	IOH22107	HGにおいて有意
FLJ10052	BC004888	IOH5668	HGにおいて有意
FLJ13150	BC039014	IOH26125	HGにおいて有意
FLJ13910	NM_022780	IOH13276	HGにおいて有意
FLJ30294	BC020898	IOH13022	HGにおいて有意
FLJ30473	BC032485	IOH21724	HGにおいて有意

FLJ32884	BC033790	IOH21793	LGにおいて有意
FLJ44216	BC032390	IOH27534	全体的に有意
FRMD3	BC023560	IOH27849	LGにおいて有意
FTL	BC016715	IOH27895	全体的に有意
HADHSC	BC000306	IOH3456	全体的に有意
HCK	BC014435	IOH14630	HGにおいて有意
HEY1	BC001873	IOH4800	HGにおいて有意、全体的に有意
HLA-DRB2	BC033827	IOH21889	HGにおいて有意
HNRPK	NM_002140	IOH3670	全体的に有意
HSPA4	BC002526	IOH4058	HGにおいて有意
IL17RB	BC000980	IOH2952	HGにおいて有意、全体的に有意
JDP2	NM_130469	IOH28073	HGにおいて有意、全体的に有意
LARP	BC033856	IOH21797	HGにおいて有意、全体的に有意
LEPREL1	BC005029	IOH6657	全体的に有意
LIG3	NM_013975	IOH40893	HGにおいて有意
LOC196394	NM_207337	IOH40127	HGにおいて有意、全体的に有意
LOC441046	BC025996	IOH10875	HGにおいて有意
MGC31967	NM_174923	IOH14835	HGにおいて有意
MGC40168	NM_153709	IOH21517	HGにおいて有意、全体的に有意
MGC52010	NM_194326	IOH26706	HGにおいて有意
MGC59937	NM_199001	IOH28105	HGにおいて有意
MLKL	BC028141	IOH21529	HGにおいて有意
MPG	BC014991	IOH12177	HGにおいて有意
MPPE1	BC002877	IOH5717	HGにおいて有意
MS4A4A	NM_024021	IOH36738	HGにおいて有意
MTHFD2	BC017054	IOH10366	HGにおいて有意
MVD	NM_002461	IOH4651	HGにおいて有意
MYC	BC000141	IOH2954	HGにおいて有意
MYLC2PL	BC002778	IOH5313	全体的に有意
NAP1L2	BC026325	IOH11158	全体的に有意
PDE4DIP	BC025406	IOH11226	HGにおいて有意
PDYN	NM_024411	IOH11247	HGにおいて有意
PPAP2B	BC009196	IOH12943	HGにおいて有意
PPIA	BC007104	IOH7532	HGにおいて有意
PRKACB	BC035058	IOH27691	全体的に有意
PSMD11	NM_002815	IOH3459	LGにおいて有意
PTGS2	NM_000963	IOH11237	LGにおいて有意
RFX5	NM_000449	IOH10040	HGにおいて有意
RNF5	NM_006913	IOH3743	HGにおいて有意、全体的に有意
RPL14	BC005134	IOH5666	全体的に有意
RPS19	NM_001022	IOH4572	全体的に有意
RPS6KA3	NM_004586		HGにおいて有意
RPS6KC1	NM_012424		全体的に有意
RRAGB	BC034726	IOH25776	HGにおいて有意
SERPINI2	NM_006217	IOH11838	HGにおいて有意
SFRS7	BC000997	IOH2939	HGにおいて有意
SMARCD2	BC018953	IOH13650	HGにおいて有意
SMN2	NM_017411	IOH10903	LGにおいて有意

SMR3B	NM_006685	IOH11229	HGにおいて有意
SNAI2	NM_003068	IOH10082	HGにおいて有意
SPG21	NM_016630	IOH4511	全体的に有意
SPRR1B	BC056240	IOH29466	全体的に有意
SRP9	BC021995	IOH14627	HGにおいて有意
TTYH2	BC004233	IOH5231	HGにおいて有意、全体的に有意
TXNL4A	NM_006701	IOH3749	全体的に有意
TYRO3	NM_006293		HGにおいて有意
UBOX5	NM_199415	IOH26936	HGにおいて有意
UCK2	NM_012474	IOH40599	LGにおいて有意
URG4	BC018426	IOH9673	HGにおいて有意
UROS	NM_000375	IOH4136	全体的に有意
UXS1	BC009819	IOH12608	全体的に有意
VAPB	NM_004738	IOH4934	HGにおいて有意
VIPR2	NM_003382	IOH9624	HGにおいて有意
WDR4	NM_033661	IOH6391	HGにおいて有意、全体的に有意
ZCCHC4	BC016914	IOH10995	HGにおいて有意
ZNF581	NM_016535	IOH4783	HGにおいて有意、全体的に有意

【００４２】

（表１１ｂ）高悪性または低悪性前立腺癌とＢＰＨを区別するための有意性を有する、ＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）タンパク質アレイ上でスクリーニングされた標的抗原；Ｐ値を含めた統計値

遺伝子記号	低悪性 癌/正常 比	高悪性 癌/正常 比	All PCA 対 BPH P値	HG PCA 対 BPH P値	LG PCA 対 BPH P値
ACAD9	1.162470024	0.757246377	0.05988135	0.000969619	0.259609431
B2M	1.219371915	0.956939082	0.023031288	0.000161603	0.250773994
BMX	1.23719588	0.799912988	0.000707711	0.003393665	0.054227197
BRAF	1.06137257	0.756860044	0.03294643	0.127989657	0.000357228
BRD3	1.007407407	1.46509851	0.00022316	0.000161603	0.003611971
C10orf65	1.27312196	0.778762307	0.002055424	0.000969619	0.057791538
C11orf9	1.13630708	1.341577122	0.001913559	0.000969619	0.015440184
C14orf126	1.634055501	0.804034796	0.042772393	0.000969619	0.187306502
C14orf147	1.353750582	0.908549821	0.004574786	0.000969619	0.03989045
C1orf36	0.970859211	0.772121966	0.002055424	0.000969619	0.018059856
C4orf15	1.243298599	0.706382334	0.004574786	0.000969619	0.057791538
C7orf31	1.276783872	0.971358584	0.001301768	0.000161603	0.049122807
C9orf123	1.333791089	0.783155116	0.000317583	0.000969619	0.004437564
CA14	1.197577425	0.759441992	0.058881043	0.000969619	0.204929745
CASQ2	1.300961325	0.853836373	0.000223218	0.000969619	0.015440184
CD58	2.010870829	0.946903077	0.005988135	0.000161603	0.105572755
CDCA8	1.48758564	0.735950982	0.00022316	0.000161603	0.014447884
CDKN1A	1.312358322	0.790184407	0.002863891	0.000969619	0.105572755
CRABP2	1.339278029	0.907247212	0.0003608	0.009049774	0.003929507
CYB5-M	0.993521615	0.477181166	0.01197627	0.000161603	0.187306502
DKFZp434L142	1.208883709	0.907434598	0.000317583	0.000969619	0.004437564

DTNBP1	1.518970007	1.030859029	0.009484313	0.000161603	0.259609431
DYRK1A	1.372657432	1.010271961	0.042772393	0.000161603	0.306501548
EFS	2.247215006	0.48469795	0.005988135	0.000969619	0.014447884
FER	1.324652778	0.955782313	0.01197627	0.000969619	0.156918314
FHIT	1.039032959	0.743245033	0.000707711	0.003393665	0.003215051
FKBP6	1.312099253	0.857584561	0.002055424	0.000969619	0.049122807
FLJ10052	2.431110974	0.702468544	0.009484313	0.000969619	0.03989045
FLJ13150	1.215104062	0.770332481	0.003932941	0.000969619	0.049122807
FLJ13910	1.424118335	0.983937883	0.001913559	0.000969619	0.156918314
FLJ30294	1.357971014	0.973864326	0.009484313	0.000969619	0.057791538
FLJ30473	2.007543999	0.540415322	0.034106334	0.000969619	0.296181631
FLJ32884	1.143609646	0.626325474	0.019690961	0.278280543	0.000357228
FLJ44216	1.248492407	0.90009307	0.000707711	0.003393665	0.003215051
FRMD3	1.146829664		0.001301768	0.014705882	0.000722394
FTL	0.88004925	0.761439346	0.000223218	0.003393665	0.003215051
HADHSC	1.551796828	0.880630631	0.000235304	0.00210084	0.010216718
HCK	1.330952381	0.696443342	0.003932941	0.000161603	0.023839009
HEY1	1.397489485	1.102228373	0.0003608	0.000161603	0.024886878
HLA-DRB2	1.215223401	0.629726665	0.002863891	0.000161603	0.003929507
HNRPK	1.303875824	0.773978726	0.000557901	0.052521008	0.014447884
HSPA4	1.580284949	0.992612842	0.001913559	0.000969619	0.015440184
IL17RB	1.282353347	0.93388687	0.00022316	0.000161603	0.009883306
JDP2	1.240702174	0.934734513	0.000849575	0.000969619	0.057791538
LARP	1.020773383	1.600998404	0.000557901	0.000969619	0.014447884
LEPREL1	0.997990926	0.728299735	0.000707711	0.003393665	0.001309836
LIG3	0.810788225	0.790472468	0.018485112	0.000969619	0.049122807
LOC196394	1.150393767	0.717851917	0.000849575	0.000969619	0.018059856
LOC441046	0.871319142	0.697274808	0.001019651	0.000969619	0.023839009
MGC31967	1.702403255	0.739953427	0.023031288	0.000161603	0.147368421
MGC40168	0.749691945	0.882877794	0.000223218	0.000969619	0.003215051
MGC52010	1.089363462	0.766755587	0.001301768	0.000969619	0.049122807
MGC59937	1.433770866	1.171278591	0.076990307	0.000161603	0.296181631
MLKL	1.545161861	0.623150295	0.002863891	0.000161603	0.147368421
MPG	1.621703212	0.93860869	0.005988135	0.000161603	0.014447884
MPPE1	1.137113311	0.679554968	0.001301768	0.000161603	0.018059856
MS4A4A	1.250713572	1.1002849	0.001913559	0.000161603	0.015440184
MTHFD2	1.573891626	0.959472228	0.002863891	0.000161603	0.102167183
MVD	0.982767902	0.761473708	0.004574786	0.000969619	0.003215051
MYC	1.294859551	1.060884219	0.005988135	0.000161603	0.105572755
MYLC2PL	1.28086945	0.770674519	0.0003608	0.020361991	0.023839009
NAP1L2	1.135174419	0.76985755	0.000334293	0.009049774	0.03989045
PDE4DIP	1.222619048	0.832978193	0.058881043	0.000969619	0.137254902
PDYN	1.343532744	0.749279144	0.013765295	0.000969619	0.102167183
PPAP2B	1.487720911	0.725823454	0.001913559	0.000161603	0.147368421
PPIA	0.894068691		0.003932941	0.000969619	0.051083591
PRKACB	1.24862016	0.840965587	0.000223218	0.003393665	0.015440184
PSMD11	0.903461389	0.733500484	0.05988135	0.207983193	0.000770025
PTGS2	1.165972222	0.706594445	0.002863891	0.073529412	0.000722394

RFX5	2.30012442	0.609409763	0.005725735	0.000969619	0.052115583
RNF5	0.918109106	0.739568234	0.000849575	0.000969619	0.004437564
RPL14	1.048172957	0.648122651	0.0003608	0.009857789	0.024886878
RPS19	2.27209198	0.613443063	0.000849575	0.009049774	0.018059856
RPS6KA3	1.295793226	0.899175064	0.01197627	0.000969619	0.147368421
RPS6KC1	1.063906337	0.772026543	0.000235304	0.020361991	0.010216718
RRAGB	1.514367816	0.705171652	0.005988135	0.000161603	0.049122807
SERPINI2	1.332480407	1.035150924	0.002863891	0.000161603	0.156918314
SFRS7	2.065030947	1.51100029	0.113756025	0.000969619	0.187306502
SMARCD2	1.246801706	0.936639229	0.001913559	0.000161603	0.052115583
SMN2	1.059886664	0.612138501	0.003291672	0.009049774	0.000770025
SMR3B	1.298064611	1.065819421	0.023031288	0.000161603	0.187306502
SNAI2	1.306347607	0.959687052	0.002055424	0.000161603	0.057791538
SPG21	1.432676317	1.012578455	0.000317583	0.052521008	0.015440184
SPRR1B	0.853978677	1.527526395	0.000707711	0.074660633	0.003215051
SRP9	1.577757079	0.990385933	0.01197627	0.000161603	0.102167183
TTYH2	1.392587894	1.165611587	0.00022316	0.000161603	0.03989045
TXNL4A	0.744509392	1.281679936	0.000849575	0.009857789	0.004437564
TYRO3	4.096516716		0.023031288	0.000969619	0.049122807
UBOX5	1.472284007	0.935727116	0.009484313	0.000969619	0.153147575
UCK2	0.751419118	0.882890123	0.004574786	0.009857789	0.000770025
URG4	1.232855865	1.917607328	0.002863891	0.000969619	0.014447884
UROS	1.462585682	0.873990628	0.000849575	0.009049774	0.004437564
UXS1	1.209117235	1.030439466	0.000707711	0.003393665	0.137254902
VAPB	1.4075032	0.905413431	0.009484313	0.000161603	0.057791538
VIPR2	1.624015347	0.782106501	0.043280283	0.000969619	0.147368421
WDR4	1.284354133	0.671563203	0.000557901	0.000969619	0.014447884
ZCCHC4	1.492037651	0.840563712	0.002863891	0.000161603	0.049122807
ZNF581	1.29159949	0.856237167	0.000849575	0.000969619	0.003611971

【００４３】

（表１１ｃ）高悪性または低悪性前立腺癌とＢＰＨを区別するための有意性を有する、ＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）タンパク質アレイ上でスクリーニングされた標的抗原；罹患率を含めた統計値

遺伝子記号	BPH 罹患率	全 PCa 罹患率	HG PCA 罹患率	LG PCA 罹患率
ACAD9	21.43%	40.91%	85.71%	40.00%
B2M	14.29%	36.36%	85.71%	50.00%
BMX	28.57%	77.27%	85.71%	80.00%
BRAF	71.43%	50.00%	28.57%	30.00%
BRD3	21.43%	63.64%	85.71%	60.00%
C10orf65	21.43%	63.64%	85.71%	50.00%
C11orf9	28.57%	72.73%	85.71%	70.00%
C14orf126	14.29%	31.82%	85.71%	80.00%
C14orf147	21.43%	59.09%	85.71%	70.00%
C1orf36	85.71%	40.91%	28.57%	50.00%

C4orf15	21.43%	59.09%	85.71%	50.00%
C7orf31	14.29%	54.55%	85.71%	40.00%
C9orf123	21.43%	72.73%	85.71%	70.00%
CA14	35.71%	59.09%	85.71%	60.00%
CASQ2	28.57%	81.82%	85.71%	70.00%
CD58	14.29%	45.46%	85.71%	80.00%
CDCA8	14.29%	63.64%	85.71%	50.00%
CDKN1A	14.29%	50.00%	85.71%	80.00%
CRABP2	64.29%	13.64%	28.57%	20.00%
CYB5-M	14.29%	40.91%	85.71%	80.00%
DKFZp434L142	21.43%	72.73%	85.71%	70.00%
DTNBP1	21.43%	54.55%	85.71%	40.00%
DYRK1A	14.29%	31.82%	85.71%	80.00%
EFS	14.29%	45.46%	85.71%	50.00%
FER	14.29%	40.91%	85.71%	70.00%
FHIT	78.57%	36.36%	28.57%	40.00%
FKBP6	85.71%	40.91%	28.57%	70.00%
FLJ10052	21.43%	54.55%	85.71%	70.00%
FLJ13150	42.86%	9.09%	28.57%	70.00%
FLJ13910	28.57%	72.73%	85.71%	70.00%
FLJ30294	21.43%	54.55%	85.71%	50.00%
FLJ30473	85.71%	59.09%	28.57%	70.00%
FLJ32884	28.57%	59.09%	71.43%	90.00%
FLJ44216	28.57%	77.27%	85.71%	80.00%
FRMD3	14.29%	54.55%	57.14%	70.00%
FTL	78.57%	22.73%	28.57%	30.00%
HADHSC	50.00%	95.46%	71.43%	90.00%
HCK	42.86%	9.09%	28.57%	20.00%
HEY1	42.86%	90.91%	85.71%	80.00%
HLA-DRB2	92.86%	54.55%	28.57%	20.00%
HNRPK	92.86%	45.46%	57.14%	60.00%
HSPA4	28.57%	72.73%	85.71%	70.00%
IL17RB	14.29%	63.64%	85.71%	80.00%
JDP2	21.43%	68.18%	85.71%	50.00%
LARP	14.29%	59.09%	85.71%	50.00%
LEPREL1	78.57%	27.27%	28.57%	20.00%
LIG3	85.71%	54.55%	28.57%	70.00%
LOC196394	85.71%	36.36%	28.57%	50.00%
LOC441046	50.00%	9.09%	28.57%	20.00%
MGC31967	14.29%	36.36%	85.71%	80.00%
MGC40168	78.57%	22.73%	28.57%	30.00%
MGC52010	14.29%	54.55%	85.71%	40.00%
MGC59937	14.29%	27.27%	85.71%	70.00%
MLKL	92.86%	54.55%	28.57%	80.00%
MPG	92.86%	59.09%	28.57%	60.00%
MPPE1	14.29%	54.55%	85.71%	60.00%
MS4A4A	78.57%	31.82%	28.57%	40.00%
MTHFD2	14.29%	50.00%	85.71%	90.00%

MVD	85.71%	45.46%	28.57%	30.00%
MYC	14.29%	45.46%	85.71%	80.00%
MYLC2PL	64.29%	13.64%	28.57%	20.00%
NAP1L2	71.43%	22.73%	28.57%	40.00%
PDE4DIP	71.43%	45.46%	28.57%	50.00%
PDYN	71.43%	95.46%	85.71%	90.00%
PPAP2B	28.57%	72.73%	85.71%	80.00%
PPIA	64.29%	95.46%	85.71%	90.00%
PRKACB	78.57%	22.73%	28.57%	40.00%
PSMD11	85.71%	63.64%	28.57%	30.00%
PTGS2	14.29%	50.00%	42.86%	70.00%
RFX5	57.14%	86.36%	85.71%	60.00%
RNF5	85.71%	36.36%	28.57%	40.00%
RPL14	42.86%	90.91%	71.43%	80.00%
RPS19	21.43%	68.18%	85.71%	60.00%
RPS6KA3	14.29%	40.91%	85.71%	80.00%
RPS6KC1	57.14%	9.09%	28.57%	20.00%
RRAGB	14.29%	45.46%	85.71%	40.00%
SERPINI2	14.29%	50.00%	85.71%	70.00%
SFRS7	50.00%	68.18%	85.71%	30.00%
SMARCD2	28.57%	72.73%	85.71%	60.00%
SMN2	71.43%	27.27%	28.57%	30.00%
SMR3B	14.29%	36.36%	85.71%	80.00%
SNAI2	21.43%	63.64%	85.71%	50.00%
SPG21	21.43%	72.73%	57.14%	70.00%
SPRR1B	78.57%	27.27%	28.57%	30.00%
SRP9	14.29%	40.91%	85.71%	90.00%
TTYH2	14.29%	63.64%	85.71%	70.00%
TXNL4A	85.71%	36.36%	42.86%	40.00%
TYRO3	92.86%	68.18%	28.57%	40.00%
UBOX5	85.71%	50.00%	28.57%	70.00%
UCK2	85.71%	45.46%	57.14%	30.00%
URG4	14.29%	50.00%	85.71%	50.00%
UROS	85.71%	36.36%	28.57%	40.00%
UXS1	28.57%	77.27%	85.71%	50.00%
VAPB	21.43%	54.55%	85.71%	50.00%
VIPR2	57.14%	81.82%	85.71%	80.00%
WDR4	14.29%	59.09%	85.71%	50.00%
ZCCHC4	14.29%	50.00%	85.71%	40.00%
ZNF581	85.71%	36.36%	28.57%	60.00%

【００４４】

それゆえ、本発明は、個体の試料中に存在する自己抗体に特異的に結合する試験抗原および標的抗原を提供する。本発明はまた、個体由来の試料中に存在する自己抗原に特異的に結合する試験抗体および標的抗体を提供し、この標的抗体は認識された自己抗原に結合した自己抗体を検出するのに使用できる。本発明は、個体由来の試料中の自己抗体を検出するために標的抗原および標的抗体（まとめて、本願明細書では自己抗体捕捉分子と呼ぶ）を使用する方法、および個体由来の試料中の自己抗体を検出する段階によって癌を検出するため、自己抗体捕捉分子を使用する方法を提供する。本発明はまた、自己抗体を検出する段階によって前立腺癌を検出するため、自己抗体捕捉分子を使用する方法を提供し、前立腺癌自己抗体バイオマーカーを検出するため、自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカー検出パネルを提供する。本発明は、同定された標的抗原および標的抗体を使用して、前立腺癌を検出、診断、予測、病期決定、およびモニターする方法を提供し、自己抗体を検

出するためのバイオマーカー検出パネルを提供し、また自己抗体捕捉分子を含むキットを提供する。

【００４５】

本願明細書に提供される方法および組成物のいずれかで使用される標的抗体は、個体由来の試料中の自己抗原に特異的に結合する任意の抗体であってよく、このときこの自己抗原は、その試料由来の自己抗体に結合される一方、捕捉抗体によっても結合され得る。標的抗体としては、例えば、抗原－抗体複合体に結合することによって自己抗体を検出することができる表１に列挙される抗体（ＡＣＰＰ、ＢＣＬ２、ＣＸＣＲ４、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＰＳＡ（Ｆ）（遊離ＰＳＡ）、ＰＳＡ（Ｔ）（全体、または遊離ＰＳＡと結合ＰＳＡを合わせたもの）、またはＰＴＧＥＲ２などに対する抗体）が挙げられ、また試料中に存在する自己抗原－自己抗体複合体に特異的に結合することによって、試料中の自己抗体を検出することができる表１または表１１ａのタンパク質のいずれかに対する抗体も挙げられる。

【００４６】

本発明の態様または実施形態のいずれかにおける標的抗原は、タンパク質の前駆体、またはそのタンパク質の未処理体、処理体、もしくは翻訳後改変形態、または翻訳後に改変されたものではないそのタンパク質のある形態、または部分的に、非定型にもしくは異常に翻訳後改変されたそのタンパク質のある形態を含めた、タンパク質全体（標的抗原と呼ばれるタンパク質など）であってよい。本願明細書に提供される方法または組成物で使用される標的抗原は、指定されたタンパク質のアイソフォーム（例えば、スプライス変異体）、もしくは対立遺伝子多型であってもよいし、標的抗原は標的抗原と名付けられるタンパク質のエピトープ含有断片であってもよい。

【００４７】

標的抗原を列挙する表で提供されるＧｅｎｂａｎｋ配列識別子およびアクセッション番号は、タンパク質をそれらの特異的配列によってコードされるものに限定しない。特に、識別されたタンパク質は、将来のある日に、提出された配列を更新していてもよいし、または特定のＧｅｎｂａｎｋ配列識別子またはアクセッション番号によって識別された標的タンパク質（標的抗原）として包含される、アイソフォーム、対立遺伝子多型、ホモログなどを有していてもよい。参照された表のタンパク質の抗原または抗原断片の配列変異体はまた、少なくとも４アミノ酸長であるタンパク質もしくはその断片に対して少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％アミノ酸配列相同性を有するペプチドおよびポリペプチドも含み、この配列変異体は表に列挙された標的抗原を認識する抗体に結合する。

【００４８】

「標的抗原」という用語に具体的に包含されるものは、標的抗原と名付けられたタンパク質（またはその配列変異体）のエピトープ含有断片を含む分子であり、その結果、当該分子は、標的抗原エピトープを認識する抗体によって特異的に認識される。エピトープ含有断片を含む分子は、いかなる種類の分子であってもよく、ポリマー（合成ポリマーを含む）、または生体分子（ポリペプチド、核酸、ペプチド核酸など）であってよい。

【００４９】

抗体によって認識されるエピトープを含むタンパク質の断片は、少なくとも３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０、７５、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、７５０、または１０００のアミノ酸長であってよく、この断片中のアミノ酸は全長タンパク質配列中の連続したアミノ酸に対応する。好ましくは、この断片は少なくとも１５アミノ酸長である。抗体によって認識されるエピトープを含む断片は、１０００を超えるアミノ酸長であってもよい。この断片は、５、１０、１５、２０、２５、５０、７５、１００、１５０、２００、２５０、３００、３５０、４００、４５０、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、または２０００個のアミノ酸と、自己抗原

の全長より１アミノ酸短い長さとの間であってもよい。典型的には、かかるエピトープは、予め特性解析され、従って所与の抗原に対する自己抗体がそのエピトープを認識することが既知である。エピトープマッピングの方法は、当該技術分野で周知である。

【００５０】

標的抗体である自己抗体捕捉分子は、試料中の自己抗体を検出することができる抗体である。試料中の自己抗体を検出することができる自己抗体捕捉分子は、その標的抗体が特異的に結合する自己抗原と複合体を形成した自己抗体を検出する。抗体は、本願明細書に開示される方法によって、例えば、上記試料の提供源である種の抗体を認識する、直接的または間接的に標識された種特異的二次抗体を使用して結合を検出する段階により、その抗体が自己抗原－自己抗体複合体に結合する能力を試験することができる。

【００５１】

自己抗体捕捉分子は、例えば、表１もしくは表１１ａに列挙される標的抗原または標的抗体のいずれかであってよいし、表１もしくは表１１ａの標的抗原のいずれかに対する抗体であってもよい。例えば、表２は、前立腺癌を検出する上で特に有用な抗原であると考えられる、表１から選択された５５種のタンパク質のセットを列挙する。前立腺癌血清中で検出可能であり、バックグラウンドの少なくとも２倍の信号を呈した、表１からのマーカーが表３に提供される。表４は、前立腺癌を検出する上で特に有用な抗原であると考えられる、表２からのタンパク質を含めて、表１から選択された８３種のタンパク質のセットを列挙する。いくつかの実施形態では、自己抗体捕捉分子は、表２の標的抗原であるか、または表２に提供される標的抗原のいずれかに対する抗体であり、この抗体は表２の標的抗原を含む自己抗体－自己抗原複合体に特異的に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗体捕捉分子は表３のものである。いくつかの実施形態では、自己抗体捕捉分子は表４の標的抗原であるか、または表４に提供される標的抗原のいずれかに対する抗体であり、この抗体は、表４の標的抗原を含む自己抗体－自己抗原複合体に特異的に結合することができる。

【００５２】

（表２）関心対象のタンパク質

現在の用語およびHugo記号による用語	現在の用語およびHugo記号による用語	現在の用語およびHugo記号による用語	現在の用語およびHugo記号による用語
AGR2	COVA1	NCAM2	RNF14
ALOX15	CUL4A	NRP1	RPL23
AZGP1	EIF3S3	NUCB1	RPL30
BCLG	EIF4G1	PDLIM1	RPS14
BDKRB2	ELAC1	PIM1	RPS6KA1
BIRC5	ETS2	PRSS8	SFRP4
BRD2	FLT1	PSAP	SH3GLB1
CCKBR	HEYL	PSCA	SPRR1B
CCNA1	HIP2	PSMB4	STEAP
CCNB1	HOXB13	PTGER3	TOP2A
CCND1	HPN	PTGS1	UBE2C
CD151	MAD1L1	QSCN6	UBQLN1
CLDN3	MICB	RASSF1	ZWINT
CLDN4	MLH1	RDH11	

【００５３】

（表３）ＰＣａ患者の血清中の自己抗体を検出した自己抗体捕捉分子

マーカー	Genbank ID			マーカー	Genbank ID	
ACPP	NM_001099	抗原		NCAM2	NM_004540	抗原
AMACR	NM_014707	抗原		NRP1	NM_015022	抗原
AZGP1	NM_001185	抗原		NUCB1	NM_006184	抗原
BCL2	NM_000633	抗原		PCNA	NM_182649	抗原
BCLG	NM_030766	抗原		PRL	NM_000948	抗原
BDKRB2	NM_000623	抗原		PRSS8	NM_002773	抗原
BIRC5	NM_001012270	抗原		PSA	NM_145864	抗原
CAV3	NM_001753	抗原		PSAP	NM_002778	抗原
CCNA1	NM_003914	抗原		PSIP1	NM_033222	抗原
CCNB1	NM_031966	抗原		PSMB4	NM_002796	抗原
CCND1	NM_053056	抗原		PTEN	NM_000314	抗原
CD151	NM_004357	抗原		PTGER3	NM_000956	抗原
CD164	NM_006016	抗原		QSCN6	NM_002826	抗原
CLDN3	NM_001306	抗原		RASSF1	NM_007182	抗原
COVA1	NM_006375	抗原		RCV1	NM_002903	抗原
EGFR	NM_005228	抗原		RDH11	NM_016026	抗原
EIF3S3	NM_003756	抗原		RNF14	NM_004290	抗原
EIF4G1	NM_182917	抗原		RPL30	NM_000989	抗原
ENO1	NM_001428	抗原		RPS6KA1	NM_002953	抗原
ERBB2	NM_001005862	抗原		SH3GLB1	NM_016009	抗原
ERG	NM_004449	抗原		SPRR1B	NM_003125	抗原
ETS2	NM_005239	抗原		STEAP	NM_012449	抗原
HEYL	NM_014571	抗原		STIP1	NM_006819	抗原
HIP1	NM_005338	抗原		TMPRSS2	NM_005656	抗原
HMGA2	NM_003484	抗原		TOP2A	NM_001067	抗原
HSPA1A	NM_005345	抗原		TP53	NM_000546	抗原
HSPA5	NM_005347	抗原		TPD52	NM_005079	抗原
HSPB1	NM_001540	抗原		TRA1(-SP)	NM_003299	抗原
HSPD1	NM_002156	抗原		XLKD1	NM_016164	抗原
IMP-2	NM_006548	抗原		ZWINT	NM_001005413	抗原
IMP-3	NM_006559	抗原				
KDR	NM_002253	抗原		a-ACPP		抗体
KHDRBS1	NM_006559	抗原		a-BCL2		抗体
MAD1L1	NM_002358	抗原		a-CXCR4		抗体
MET	NM_000245	抗原		a-Il-6-1		抗体
MICB	NM_005931	抗原		a-Il-8-1		抗体
MLH1	NM_000249	抗原		a-PSA (F)		抗体
MMP9	NM_004994	抗原		a-PSA(T)		抗体
MUC1	NM_002456	抗原		a-Pter2		抗体
MYC	NM_002467	抗原				

【００５４】

（表４）関心対象のタンパク質

現在の用語	現在の用語	現在の用語	現在の用語
ACPP	CUL4A	IMP-3	QSCN6
AGR2	CXCR4	KDR	RASSF1
AKT1	EDNRB	LGALS8	RDH11
ALOX15	EGFR	MAD1L1	RNF14
AZGP1	EIF3S3	MDM2	RPL23
BCL2	EIF4G1	MICB	RPL30
BCLG	ELAC1	MLH1	RPS14
BDKRB2	EP-CAM	NCAM2	RPS6KA1
BIRC5	ERBB2	NRP1	SERPINH1
BRD2	ETS2	NUCB1	SFRP4
CAV3	FASN	PCNA	SH3GLB1
CCKBR	FLT1	PDLIM1	SPRR1B
CCNA1	GDF15	PECAM1	STEAP
CCNB1	HEYL	PIM1	STIP1
CCND1	HIP2	PRSS8	TOP2A
CD151	HMGA2	PSAP	TRA1
CD164	HOXB13	PSCA	UBE2C
CDKN2A	HPN	PSMB4	UBQLN1
CLDN3	HSPA1A	PTEN	XLKD1
CLDN4	HSPB1	PTGER3	ZWINT
COVA1	HSPD1	PTGS1	

【００５５】

特定の実施形態では、１つ以上の自己抗体バイオマーカーなどの１つ以上の診断（または予後）バイオマーカーは、バイオマーカーの存在または非存在によって病状または疾患に関連づけられる。他の実施形態では、診断もしくは予後バイオマーカーの閾値を確立することができ、試料中のバイオマーカーのレベルをその閾値と比較することができる。レベルは、相対値であってもよいし絶対値であってもよいが、１つ以上の対照に対して標準化されていることが好ましい。

【００５６】

本願明細書に提供される方法では、試験試料は、液相で提供される自己抗体捕捉分子と接触することができるし、またはこの自己抗体捕捉分子は、固体支持体に結合されて提供されてもよい。試料は、希釈されていてもよいし、濃縮されていてもよいし、自己抗体捕捉分子と接触するのに先立ち１つ以上の処理段階にかけられていてもよい。いくつかの好ましい実施形態では、この試料は、結合緩衝液中で希釈された血清試料である。この希釈は、許容できるバックグラウンドで検出可能な結合信号を得るための任意の有用な希釈、例えば、希釈なし～１：１０，０００、１：１～１：１，０００、または１：２～１：５００、または１：５～１：２００、または１：１０～１：１００などであってよい。インキュベーション段階は、抗体結合を許容する温度、イオン強度、およびｐＨの条件下で、抗体－抗原結合を可能にするのに十分な時間インキュベーションが行われる。抗体－抗原結合条件およびアッセイパラメータは当該技術分野で周知である。

【００５７】

検出は、後の節でさらに詳細に記載される免疫学的アッセイ法（様々な形式のいずれかで実施される放射性免疫分析またはＥＬＩＳＡなど）によるものであってもよいし、信号発生試薬などの標識された試薬を用いて固体支持体もしくは半固体支持体上で結合を検出する段階によるものであってもよい。固体支持体に対するバイオマーカーの結合は、ゲル、マトリクス、フィルター、ストリップ、シート、ストリップ、膜、スライド、プレート（例えば、マルチウェルプレート（ｐｌａｎｅ））、ウェル、皿、ビーズ、粒子、フィラメント、棒、繊維、チップ、もしくはアレイの中、またはこれらの上で検出することができる。いくつかの好ましい実施形態では、タンパク質アレイ上の自己抗体捕捉分子への、

試料中に存在する自己抗原の結合が検出される。このタンパク質アレイは、そのアレイに結合されている自己抗体捕捉分子以外のタンパク質を有することができ、例えば、自己抗体に必ずしも結合していないタンパク質を検出するために使用される抗体、陰性対照または陽性対照のタンパク質、信号強度の標準化のために使用されるタンパク質、および試験試料に対する反応性または結合状況が未知であるタンパク質（抗体を含むが、これに限定されない）などが挙げられるが、これに限定されない。

【００５８】

本発明は、個体由来の試料中の自己抗体を検出するための自己抗体捕捉分子（標的抗原および標的抗体など）、個体中の自己抗体を検出する段階により癌（前立腺癌など）を検出するための方法、ならびに高感度および高特異度で前立腺癌を検出および診断するにあたり使用可能な表１の標的抗原および／または標的抗体の組合せを含むバイオマーカー検出パネルを提供する。バイオマーカー検出パネルは、表５、表６、表７、表８、および表９に提供されるバイオマーカー検出セットを含め、前立腺癌の検出に高感度および高特異的である自己抗体捕捉分子のセットを含むことができる。ＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）ヒトタンパク質マイクロアレイ（インビトロジェン、カリフォルニア州、カールスバッド）を使用して同定された標的抗原、すなわち前立腺癌の試料中に存在する自己抗体を検出するための標的抗原も提供される（表１１ａ）。バイオマーカー検出パネルは、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１の一方もしくは両方、またはそれらの変異体もしくは断片（実施例３）を含むことができる。従って、個体中の癌（前立腺癌など）を検出、診断、病期決定、およびモニターするための方法、組成物、およびキットが本願明細書で提供される。

【００５９】

定義

特記しない限り、本願明細書で使用されるすべての専門用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般的に理解するのと同じ意味を有する。

【００６０】

「約」という用語は、本願明細書で使用する場合、基礎となるパラメータの１０％以内の値（すなわち、±１０％）を指し、時には基礎となるパラメータの５％以内の値（すなわち、±５％）、時には基礎となるパラメータの２．５％以内の値（すなわち、±２．５％）、または基礎となるパラメータの１％以内の値（すなわち、±１％）であり、時には変動量なくそのパラメータを指す。このように、「約２０ヌクレオチド長」という距離は、１９ヌクレオチド長もしくは２１ヌクレオチド長（すなわち、５％変動量以内）の距離、またはいくつかの実施形態では２０ヌクレオチド長（すなわち、変動量なし）の距離を含む。

【００６１】

本願明細書で使用する場合、冠詞「１つの（ａ）」または「１つの（ａｎ）」は、その後に続く要素の１つ以上を指すことができる（例えば、１つ（ａ）のタンパク質マイクロアレイと言った場合、「１つ（ａ）」のタンパク質には、１種のタンパク質配列または複数のタンパク質が含まれてよい）。

【００６２】

用語「または（ｏｒ）」は、それが指定するものまたは用語に限定されているという意味ではない。例えば、それが構造「ＡまたはＢ」の語句で使用される場合、Ａのみ、Ｂのみ、またはＡとＢの両方を示す場合がある。

【００６３】

「バイオマーカー」とは、疾患または病状の進行、もしくは疾患または病状の治療の効果を診断するため、あるいは測定するために使用することができる生化学的特徴を意味する。バイオマーカーは、例えば、個体の中の癌もしくは別の疾患の存在に関連する核酸、タンパク質、もしくは抗体の存在であってよい。本発明は、前立腺癌と診断された被験者の血清中に存在する抗体である、前立腺癌のバイオマーカーを提供する。本発明におけるバイオマーカー抗体は、恐らくは増大した存在量の結果として前立腺癌を有する個体において高められた反応性を示す自己抗体である。自己抗体は、自己抗原、つまり抗体によっ

て特異的に結合されたヒトタンパク質を用いて検出してもよい。確立されたバイオマーカーは、それらが観察されるのと同じ頻度で広範に変化する。重要なことは、バイオマーカーは、臨床的価値を有する場合でも、必ずしも大多数の疾患個体で発現される必要はない。受容体チロシンキナーゼＨｅｒ２はすべての乳癌のおよそ２５％で過剰発現されることが公知であり（Ｊ．Ｓ．Ｒｏｓｓら，Ｍｏｌ　Ｃｅｌｌ　Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ　３、３７９－９８（２００４年４月））、今のところ疾患進行および特異的治療の選択肢の臨床的に重要な指標である。

【００６４】

「生体分子」とは、生物学的起源の有機分子、例えば、ステロイド、脂肪酸、アミノ酸、ヌクレオチド、糖類、ペプチド、ポリペプチド（タンパク質）、抗体、ポリヌクレオチド、複合体炭水化物または脂質を指す。

【００６５】

本願明細書で使用する場合、「タンパク質」という語は、全長タンパク質、タンパク質の一部分、またはペプチドを指す。タンパク質との用語は、抗体を含む。タンパク質は、より大きいタンパク質の断片化によって生成できるし、または化学的に合成できる。タンパク質は、例えば、細菌、酵母、昆虫細胞、および哺乳類細胞などの種（これらに限定されない）における組換え過剰発現によって調製されてもよい。例えば本発明のタンパク質マイクロアレイに置かれるべきタンパク質は、例えば精製および／または固定を容易にするための少なくとも１種の親和性タグを備えた融合タンパク質であってよい。本発明の特定の態様では、少なくとも２種のタグがタンパク質上に存在し、そのうちの１種は精製を容易にするために使用することができ、他方は固定を容易にするために使用することができる。特定の例示的な態様では、このタグはＨｉｓタグ、ＦＬＡＧタグ、ＧＳＴタグ、またはビオチンタグである。これらの例は、限定するためのものではない。タグがビオチンタグである場合、このタグは、市販されている試薬（インビトロジェン、カリフォルニア州、カールスバッド）を使用して、生体外または生体内でタンパク質と結合させることができる。タグが生体外でタンパク質と結合する態様では、Ｂｉｏｅａｓｅタグが使用できる（インビトロジェン、カリフォルニア州、カールスバッド）。

【００６６】

本願明細書で使用する場合、「ペプチド」、「オリゴペプチド」、および「ポリペプチド」という用語は、本願明細書においてタンパク質とほとんど同義で使用され、ペプチド結合によって結合された連続するアミノ酸の配列を指す。本願明細書で使用する場合、「タンパク質」という用語は、タンパク質のアミノ酸の改変など、翻訳後の改変をも含むことができ、かつアミノ酸ベースではない化学基または生体分子の付加を含んでいてもよいポリペプチドを指す。この用語は、１つ以上のアミノ酸残基が天然に存在する対応するアミノ酸の類似体または模倣化合物であるアミノ酸ポリマー、および天然に存在するアミノ酸ポリマーに用いられる。ポリペプチドは、例えば、炭水化物残基を付加して糖タンパク質を形成することによって改変することができる。用語「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は、糖タンパク質、および非糖タンパク質を包含する。

【００６７】

「抗原」または「試験抗原」との用語は、本願明細書で使用する場合、被験者から入手した試験試料を自己抗体の存在についてスクリーニングするにあたり、標的として使用されるべきタンパク質もしくはポリペプチドを指す。「自己抗原」は、個体の試料中に抗体の存在が検出されている場合、その原因となった抗原を表すのに使用される。これらの抗原、試験抗原、または自己抗原は、そのように同定されたタンパク質の任意の断片、特に、免疫的に検出可能な断片を包含することが企図される。抗原および試験抗原という用語はまた、免疫的に検出可能なタンパク質分解生成物、および処理された形態、翻訳後改変形態、例えば、マーカーの「前」形態、「後」形態、もしくは「前後」形態、あるいは成熟したマーカーを形成するために除去される「前」断片、「後」断片、もしくは「前後」断片、ならびに配列変異体（抗原、試験抗原、もしくは自己抗原またはその断片の対立遺伝子多型およびスプライス変異体を含むがこれらに限定されない）などを包含することも

意図されている。抗原、試験抗原、および自己抗原の同定または列挙はまた、これらのアミノ酸配列変異体、例えば、同定された抗原、試験抗原、および自己抗原タンパク質と免疫反応性を共有する断片、領域、またはエピトープを含む配列変異体を包含する。この断片、領域、またはエピトープは、より大きい分子または化合物の一部分として提供されてもよいし、それに結合されていてもよい。

【００６８】

本願明細書で使用する場合、「標的抗原」とは、被験者由来の試料中の抗体の存在、非存在またはその量を決定するために使用されるタンパク質を指すか、あるいはそのタンパク質の免疫反応性を有する一部分、断片、変異体、アイソフォーム、その処理生成物を指す。「試験抗原」は、標的抗原として使用するために評価されるタンパク質である。試験抗原は、それゆえ、それに対して反応性である抗体を試験集団の一部が有するかどうかを決定するために使用される、候補標的抗原、またはタンパク質である。「標的抗原」、「試験抗原」、「自己抗原」、および単に「抗原」という用語の使用は、完全な野生型の成熟したタンパク質を包含することが意図されているか、あるいは示されたタンパク質の前駆体、処理された形態（タンパク質分解処理された形態もしくは別の方法で切断された形態を含む）、未処理形態、翻訳後に改変された形態、または化学的に改変された形態を示すことができ、その場合、この標的抗原、試験抗原、または抗原は、試験試料の１つ以上の自己抗体への参照されたタンパク質の特異的結合の特徴を保持もしくは保有している。このタンパク質は、例えば、正常な細胞によって産生されるタンパク質中には典型的には見出されない１つ以上の改変体（アミノ酸残基の異常な処理、切断もしくは分解、酸化、非定型グリコシル化パターンなどを含む）を有してよい。「標的抗原」、「試験抗原」、「自己抗原」、もしくは「抗原」という用語の使用は、参照されたタンパク質のスプライスアイソフォームまたは対立遺伝子多型も含み、または「標的抗原」、「試験抗原」、「自己抗原」、もしくは「抗原」が試験試料の１つ以上の自己抗体に対する参照されたタンパク質の免疫反応性を保持もしくは保有する限り、その参照されたタンパク質の配列変異体であってもよい。「標的抗原」、「試験抗原」、「自己抗原」、もしくは単に「抗原」という用語の使用は、基準タンパク質の抗体結合特異度を有する参照されたタンパク質の断片（「抗原断片」）を特に包含する。この断片は、より大きい分子または化合物の一部分として提供されてもよいし、それに結合されていてもよい。

【００６９】

「自己抗体」は、個体中に存在する抗体であり、その個体中に存在する生体分子を特異的に認識する抗体である。典型的には、自己抗体は、その個体によって発現されたタンパク質、もしくはその個体由来の試料中に存在するその改変形態に特異的に結合する。自己抗体は、一般に、個体の血液中を循環するＩｇＧ抗体であるが、本発明は、ＩｇＧ自己抗体または血液中に存在する自己抗体に限定されるものではない。

【００７０】

「自己抗体捕捉分子」は、個体由来の試料中の特定の自己抗体、または自己抗原－自己抗体複合体に特異的に結合する試薬である。自己抗体捕捉分子は、例えば、自己抗体に直接結合することができるタンパク質（もしくは標的抗原）であってよく、または上記標的抗体と特異的に結合できる自己抗原と複合体を形成している自己抗体に間接的に結合する抗体（例えば、標的抗体）であってよい。

【００７１】

「標的抗体」という用語は、本願明細書において、抗原－自己抗体複合体を結合できる抗体を意味するために使用される。

【００７２】

ポリペプチドまたはタンパク質の「変異体」は、本願明細書で使用する場合、参照されたポリペプチドまたはタンパク質に関して、１つ以上のアミノ酸が変化しているアミノ酸配列を指す。本発明では、ポリペプチドの変異体は、参照されたタンパク質の抗体結合特性を保持する。本発明の好ましい態様では、ポリペプチドまたはタンパク質の変異体は、参照されたタンパク質に結合することができる同じ集団の自己抗体によって特異的に結合

され得る。好ましくは、ポリペプチドの変異体は、少なくとも１０アミノ酸の配列にわたって、参照されたタンパク質に対して少なくとも６０％同一性を有する。より好ましくは、ポリペプチドの変異体は、少なくとも４アミノ酸の配列にわたって参照されたタンパク質に少なくとも７０％同一である。タンパク質変異体は、少なくとも４アミノ酸の配列にわたって、参照されたポリペプチドに対して、例えば、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一であってよい。本発明のタンパク質変異体は、少なくとも１０アミノ酸の配列にわたって、参照されたポリペプチドに対して、例えば、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一であってよい。この変異体は、置換されたアミノ酸が類似の構造または化学特性を有する「保存的」変化（例えば、ロイシンをイソロイシンで置き換えること）を有してよい。変異体は、「非保存的」変化（例えば、グリシンをトリプトファンで置き換えること）も有してよい。同様の小さな変形としては、アミノ酸の削除もしくはアミノ酸の挿入、またはその両方も挙げられる。免疫学的反応性を失うことなくどのアミノ酸残基が置換、挿入、または削除されてよいかを決定する際の指針は、当該技術分野で周知の、コンピュータプログラム、例えば、ＤＮＡＳＴＡＲソフトウェアを使用して見出すことができる。

【００７３】

本願明細書で使用する場合、「バイオマーカー検出パネル」または「バイオマーカーパネル」とは、バイオマーカーのセット（パネル）に対する検出値に基づいて、疾患または病状を検出、診断、予後、病期決定、もしくはモニタリングするために一緒に提供されるバイオマーカーの一群を指す。このバイオマーカーのセットは、例えば一緒に詰められることにより、または固体支持体に可逆的もしくは不可逆的に結合されることにより、物理的に関連付けられている。例えば、このバイオマーカー検出パネルは、一緒に販売および／または輸送される個別のチューブの中に、例えばキットの一部として提供されてもよいし、チップ、膜、ストリップ、フィルター、もしくはビーズ、粒子、フィラメント、繊維、もしくは他の支持体の上、ゲルもしくはマトリクスの中または上に提供されてもよく、あるいはマルチウェルプレートのウェルに結合されていてもよい。加えて、または代替的方法として、バイオマーカー検出パネルは、バイオマーカー識別およびウェブサイトに保存されている情報のコンピュータベースのリンケージのためのインターネットアドレスを提供し、使用者もしくは潜在的使用者に供給される、一覧表、表、もしくはプログラムによって関連付けられていてもよい。コンピュータベースのプログラムは、使用者が入力した選択に基づいて、バイオマーカー検出パネルを構成するバイオマーカーの一群について、バイオマーカーの識別、情報および／または購入機能の間のリンクを提供することができる。

【００７４】

「異なって存在する」という語句は、前立腺癌を有しない（例えば、良性前立腺過形成を有する）患者から採取した比較できる試料と比べたときの、前立腺癌を有する患者から採取した試料に存在する生体分子（抗体など）の量における差を指す。１つの試料中のポリペプチドの量が他の試料中のポリペプチドの量と有意に異なる場合、生体分子は２つの試料の間で異なって存在する。例えば、他の試料中で存在するよりも少なくとも約１５０％、少なくとも約２００％、少なくとも約５００％または少なくとも約１０００％多い量（例えば、濃度、質量、モル量など）で存在する場合に、あるいは１つの試料中でそれが検出可能であり（バックグラウンドまたは陰性対照より有意に大きい信号を与える）他の試料中で検出可能でない場合に、ポリペプチドはその２つの試料間で異なって存在する。前立腺癌を有しない被験者（例えば、良性前立腺肥大症患者）と比べて前立腺癌患者から採取された試料中で異なって存在する任意の生体分子は、バイオマーカーとして使用することができる。

【００７５】

「試料」は、本願明細書で使用する場合、いかなる種類の試料であってもよく、好まし

くは動物由来、最も好ましくはヒト由来の細胞もしくは組織の試料、または体液の試料などであってよい。この試料は、組織試料（ぬぐい液もしくは塗抹、または組織の病変もしくは生検試料（腫瘍組織を含む）など）であってよい。試料はまた、例えば、組織生検または剖検材料由来の組織抽出物であってもよい。試料は、体液試料（血液、血漿、血清、脳脊髄液、唾液、精液、尿、肺吸引物、乳頭吸引液、涙液、または洗浄液が挙げられるが、これらに限定されない）であってよい。試料としては、例えば、細胞または組織抽出物（患者から入手したホモジネートまたは可溶化組織）も挙げることができる。好ましい試料は、血液または血清試料である。「血液」とは、全血、血漿、血清、または血液の任意の誘導体を包含することを意味する。血液試料は、例えば、血清であってよい。

【００７６】

「患者」は、疾患と診断されたか、または疾患の存在について試験されている個体である。疾患について試験された患者は、病態の１つ以上の指標を有する場合もあるし、または病態の任意の指標の非存在下で疾患の存在についてスクリーニングされる場合もある。本願明細書で使用する場合、疾患を有していると「疑われる」個体は、病態の１つ以上の指標を有することができるし、病態の任意の指標の非存在下で疾患について日常的にスクリーニングされた集団の一部分であってもよい。

【００７７】

「前立腺癌を有していると疑われる個体」とは、前立腺癌であると診断された個体、または前立腺癌の少なくとも１種の指標（生検コアの少なくとも１種が癌腫または腺癌を含有し、グリーソンスコア値を与えると明記した前立腺生検病理報告、４ｎｇ／ｍｌを超えるＰＳＡレベル、１０ｎｇ／ｍＬを超えるＰＳＡ血清レベル、肥大した前立腺、または陽性ＰＣＡ３試験などが挙げられるが、これらに限定されない）を有する個体を意味する。

【００７８】

本願明細書で使用する場合、「アレイ」という用語は、基材上のあるパターンの実体の配置を指す。このパターンは典型的には二次元パターンであるが、パターンは、三次元パターンであってもよい。個々の実体は特定の位置、すなわち「スポット」と呼ばれることもあるアレイ上の座に局在化されている。タンパク質アレイでは、この実体はタンパク質である。特定の実施形態では、このアレイは、マイクロアレイまたはナノアレイであってよい。「ナノアレイ」は、個々の実体が０．１ｎｍ～１０μｍだけ、例えば１ｎｍ～１μｍだけ離されているアレイである。「マイクロアレイ」は、アレイ上の実体の密度が１ｃｍ^{2}あたり少なくとも１００個の別個の座であるアレイである。高密度アレイは、１ｃｍ^{2}あたり少なくとも４００個の別個の座を有する。例えば、高密度タンパク質アレイは、１ｃｍ^{2}あたり少なくとも４００個の別個のタンパク質スポットを有する。いくつかの実施形態では、高密度アレイは、１ｃｍ^{2}あたり少なくとも１，０００個の別個の座を有する。例えば、高密度タンパク質アレイは、１ｃｍ^{2}あたり少なくとも１，０００個の別個のタンパク質スポットを有する。マイクロアレイ上では、個々の実体は例えば、１μｍより大きく離れていてよい。

【００７９】

「タンパク質アレイ」という用語は、本願明細書で使用する場合、タンパク質アレイ、タンパク質マイクロアレイまたはタンパク質ナノアレイを指す。タンパク質アレイとしては、例えば、「ＰｒｏｔｏＡｒｒａｙ（商標）」、ヒトタンパク質高密度アレイ（インビトロジェン、カリフォルニア州、カールスバッド、インターネット上でＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ．ｃｏｍで入手可能である）を挙げることができるが、これに限定されない。このＰｒｏｔｏＡｒｒａｙ（商標）高密度タンパク質アレイは、ヒトタンパク質を指向する自己抗体の存在を分析（アッセイ）するため、複雑な生物学的混合物（血清など）をスクリーニングするのに使用できる。あるいは、自己抗体バイオマーカーの検出に使用される自己抗原（本願明細書に提供される自己抗原など）を含む特注の（カスタム）タンパク質アレイは、ヒトタンパク質を指向する自己抗体の存在を分析（アッセイ）するのに使用できる。自己免疫疾患および癌を含む特定の病態では、自己抗体は正常な個体で観察されるレベルとは異なるレベルで発現される。

【００８０】
「タンパク質チップ」という用語は、本願では、タンパク質アレイまたはマイクロアレイと同義で使用される。
【００８１】
「診断」との語句は、本願明細書で使用する場合、患者が所与の疾患または病状に罹患しているか否かを当業者が推測および／または決定することができる方法を指す。当業者は、しばしば１つ以上の診断指標、すなわち、存在、非存在、もしくは量が病状の存在、重症度、もしくは非存在を示すマーカー、物理的特徴（組織中もしくは組織上のしこりまたは硬い領域）、あるいは生検または試料採取された組織もしくは細胞の組織学的または生化学的分析、またはこれらの組合せに基づいて診断する。
【００８２】
同様に、予後はしばしば、１つ以上の「予後指標」を検討することによって決定される。患者（またはその患者から入手された試料）中のその存在または量は、所与の進行または結末が起こる可能性を知らしめる。例えば、１つ以上の予後指標が、かかる患者から入手した試料において十分に高いレベルに達した場合、このレベルは、より低いマーカーレベルを呈する同様の患者と比べて、その患者が疾患または病状を有している可能性が高いことを示している場合がある。予後指標のレベルまたはレベルの変化は、今度は罹患または死亡の可能性が高まっていることに関連しており、患者において「有害事象になりやすくなっていることに関連している」と呼ばれる。好ましい予後マーカーは、ＰＩＮを有している患者における前立腺癌の発症、または前立腺癌であると診断された患者におけるより進行した病期の前立腺癌を予測することができる。
【００８３】
「相関している」という用語は、診断指標および予後指標の使用に関して本願明細書で使用する場合、患者の中のその指標の存在もしくは量を、所与の病状に罹患していることが既知であるか、または所与の病状の危険にあることが既知の人、あるいは所与の病状がないことが既知の人のその存在もしくは量と比較することを指す。これまでに考察したように、患者試料中のマーカーレベルは、前立腺癌に関連していることが公知のレベルと比較することができる。この試料のマーカーレベルは、診断と相関していたと言われる。すなわち、当業者は、このマーカーレベルを、その患者が前立腺癌を有しているか否か、従って反応するか否かを決定するために使用することができる。あるいは、この試料のマーカーレベルは、良好な結末（例えば、前立腺癌の非存在など）と関連していることが公知のマーカーレベルと比較することができる。好ましい実施形態では、マーカーレベルのプロファイルは、ＲＯＣ曲線を使用して、全体的な可能性または特定の結末と関連付けられる。
【００８４】
「予後を決定する」という語句は、本願明細書で使用する場合、患者の病状の進行または結末を当業者が予測できる方法を指す。「予後」という用語は、病状の進行または結末を１００％の精度で予測できることを指すわけではなく、所与の進行または結末が起こらないよりは起こりそうであるということさえ指すわけではない。そうではなく、「予後」という用語は、特定の進行または結末が起こる可能性が高いこと、すなわち、その病状を呈していない個体と比べた場合に、所与の病状を呈する患者で進行または結末がより起こりそうであるということを指し、それを当業者は理解するであろう。例えば、その病状を呈していない個体において、所与の結末の可能性は約３％であるかも知れない。好ましい実施形態では、予後は、所与の結末の約５％の可能性、約７％の可能性、約１０％の可能性、約１２％の可能性、約１５％の可能性、約２０％の可能性、約２５％の可能性、約３０％の可能性、約４０％の可能性、約５０％の可能性、約６０％の可能性、約７５％の可能性、約９０％の可能性、および約９５％の可能性である。「約」という用語は、これに関しては＋／－１％を指す。
【００８５】
「診断」は、病態の存在または性質を同定することを意味する。診断方法は、その感度

および特異度が様々である。特定の診断方法は、病状の決定的な診断を提供しないかも知れないが、診断を補助する有益な指標をその方法が提供すれば、それで十分である。

【００８６】

「感度」は、関心対象のバイオマーカーが検出される病気にかかった個体（前立腺癌を有する個体）の割合（％）（真陽性数／病気にかかった者の総数×１００）として定義される。試験によって病気にかかっていると診断された、病気にかかっていない個体は「偽陽性」である。

【００８７】

「特異度」は、関心対象のバイオマーカーが検出されない病気にかかっていない個体の割合（％）（真陰性／疾患を有しない者の総数×１００）として定義される。アッセイ法で検出されない病気にかかった個体は「偽陰性」である。病気にかかっておらずかつアッセイ法で陰性と試験された被験者は「真陰性」と呼ばれる。

【００８８】

マーカーの「診断量」とは、前立腺癌の診断と整合する被験者の試料中のマーカーの量を指す。診断量は、絶対量（例えば、Ｘｎｇ／ｍｌ）であっても、相対量（例えば信号の相対強度）であってもよい。

【００８９】

マーカーの「試験量」とは、試験されている試料中に存在するマーカーの量を指す。試験量は、絶対量（例えば、Ｘｎｇ／ｍｌ）であっても、相対量（例えば信号の相対強度）であってもよい。

【００９０】

マーカーの「対照量」は、マーカーの試験量に対して比較されるべき任意の量もしくは量の範囲であってよい。例えば、マーカーの対照量は、前立腺癌患者、ＢＰＨ患者または前立腺癌もＢＰＨも有しない人のマーカー量（例えば、精子塩基性タンパク質）であってよい。対照量は、絶対量（例えば、Ｘｎｇ／ｍｌ）であっても、相対量（例えば信号の相対強度）であってもよい。

【００９１】

「検出する」とは、検出されるべき対象の存在、非存在、または相対量もしくは絶対量を同定することを指す。

【００９２】

「標識」または「検出可能な部分」とは、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段、電磁的手段、または化学的手段によって検出可能な組成物を指す。例えば、有用な標識としては、放射性標識（^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、または^{125}Ｉなど）；重同位体（^{15}Ｎまたは^{13}Ｃなど）または重原子（セレンまたは金属など）；蛍光性色素；発色団、高電子密度試薬；検出可能な信号を生成する酵素（例えば、ＥＬＩＳＡで一般的に使用されるアルカリホスファターゼまたはペルオキシダーゼ）；あるいはスピン標識が挙げられる。この標識または検出可能な部分は、試料中の結合された検出可能な部分の量を定量化するのに使用できる測定可能な信号（放射活性信号、発色信号、または蛍光信号など）を有するか、または生成する。この検出可能な部分は、例えば共有結合によるか、またはイオン結合、ファンデルワールス結合もしくは水素結合を介して、あるいは標識された前駆体の組込みによって、分子（タンパク質、例えば、抗体など）に組み込まれていてもよく、または結合されていてもよい。この標識または検出可能な部分は、直接または間接的に検出可能であってもよい。間接的な検出には、検出可能な部分に対する第２の直接または間接的に検出可能な部分の結合が関与していてもよい。例えば、この検出可能な部分は、直接検出可能な標識に結合することができる結合パートナー（ストレプトアビジンに対する結合パートナーであるビオチンなど）のリガンドであってよい。この結合パートナーは、それ自体が直接検出可能であってもよく、例えば、抗体はそれ自体が蛍光性分子で標識されていてもよい。この結合パートナーはまた、間接的に検出可能であってもよく、例えば、それは標識を含む別の部分によって結合されていてもよい。信号の定量は、任意の適切な手段、例えば、蛍光検出、分光光度検出（例えば、特定の波長での吸収）、

シンチレーション計数、質量分析、濃度測定、またはフローサイトメトリーによって行われる。

【００９３】

「測定する」は、文法上すべての形式で、定量する場合には絶対的に、あるいは比較できる物理的実体または化学的組成物に対しては相対的に、物理的実体もしくは化学的組成物の量（モル量を含む）、濃度または質量を検出する、定量するまたは定性することを指す。

【００９４】

「抗体」とは、免疫グロブリン遺伝子（複数種であってもよい）、もしくはその断片によって実質的にコードされるポリペプチドリガンドであり、分子または分子の領域もしくはドメイン（エピトープ）を特異的に認識し結合する。この認識された免疫グロブリン遺伝子としては、κおよびλ軽鎖定常領域遺伝子、α、γ、δ、εおよびμ重鎖定常領域遺伝子、ならびに種々の免疫グロブリン可変領域遺伝子が挙げられる。抗体は、例えば、インタクトな免疫グロブリンとして、または種々のペプチダーゼを用いて消化することによって産生される多数の十分に特徴付けられた断片として存在する。これは、例えば、Ｆａｂ’およびＦ（ａｂ）’$_2$断片を含む。「抗体」という用語は、本願明細書で使用する場合、全抗体の改変によって産生される抗体断片、または組換えＤＮＡ方法論を使用して初めから合成された抗体断片のいずれをも含む。あるいは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または一本鎖抗体も含まれる。抗体の「Ｆｃ」部分とは、１つ以上の重鎖定常領域ドメイン、ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３を含むが、重鎖可変領域を含まない、免疫グロブリン重鎖の一部分を指す。

【００９５】

「タンパク質に対する抗体」または「タンパク質を認識する抗体」は、タンパク質に特異的に結合する抗体である。

【００９６】

「イムノアッセイ法」は、抗体が抗原に特異的に結合するアッセイ法である。イムノアッセイ法は、その抗原を単離、捕捉、標的化、および／または定量化するために特定の抗体の特異的結合特性を使用することを特徴とする。

【００９７】

タンパク質もしくはペプチドに言及する場合に、抗体に「特異的に（または選択的に）結合する」、あるいは「～に特異的に（または選択的に）免疫反応性である」という語句は、タンパク質および他の生物関連物質の異種集団において、タンパク質の存在を決定する結合反応を指す。従って、指定されたイムノアッセイ条件下では、特定された抗体は、バックグラウンドとは統計的に有意に異なるレベルで特定のタンパク質に結合し、その試料中に存在する他のタンパク質とは有意な量では実質的に結合しない。抗体が捕捉分子として使用される本発明の方法では、その抗体は、特定のタンパク質に対するその特異度によって選択され、あるいは、いくつかの実施形態では、自己抗体と複合体を形成した抗原に特異的に結合するその能力によって選択される。種々のイムノアッセイ形式を使用して特定のタンパク質と特異的に免疫反応性である抗体を選択することができる。例えば、固相ＥＬＩＳＡイムノアッセイ法は、あるタンパク質と特異的に免疫反応性である抗体を選択するために日常的に使用されている（特異的免疫反応性を測定するために使用できるイムノアッセイ形式および条件の説明について、例えば、ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（１９８８）を参照）。いくつかの実施形態では、特異的または選択的反応は、バックグラウンド信号もしくはノイズの少なくとも２倍であろうし、より典型的にはバックグラウンド信号の５倍より大きく、例えば、バックグラウンドの１０～１００倍であることもある。

【００９８】

「免疫反応性」は、本願明細書で使用する場合、１つ以上の標的抗原への試料中の抗体（複数種の場合もある）の結合の存在またはレベルを意味する。「免疫反応性のパターン」とは、複数の標的抗原および／または標的抗体への試料中の抗体（自己抗体）の結合の

プロファイルを指す。このプロファイルとしては、その試料が特異的に結合する標的抗原および／または標的抗体のサブセット、および／または結合が検出される標的抗原および／または標的抗体のサブセットのメンバーに対する結合の相対的レベルもしくは絶対的レベルが挙げられる。

【００９９】

「エピトープ」は、抗原（本願明細書に開示される自己抗原など）上の、抗体によって認識された部位である。

【０１００】

方法

本発明は、一態様では、個体由来の試料中の自己抗体を検出する方法を提供する。この方法は、その個体由来の試料を本発明の自己抗体捕捉分子と接触させる段階と、その自己抗体捕捉分子へのその試料中の抗体の結合を検出し、それによりその個体中の自己抗体を検出する段階とを含む。

【０１０１】

この自己抗体捕捉分子は、自己抗体に特異的に結合できる標的抗原であってもよいし、または自己抗体と複合体を形成した自己抗原に特異的に結合できる抗体であってもよい。この自己抗体捕捉分子は、表１に提供される標的抗原または標的抗体のいずれであってもよいし、抗原－自己抗体複合体に結合できる表１のタンパク質に対する抗体であってもよく、いくつかの好ましい実施形態では、それは表２のタンパク質であるか、または表２のタンパク質を認識する抗体であり、その場合、この抗体は試料中の自己抗体と複合体を形成した表２の標的抗原に結合できる。標的抗原としては、具体的に、表２に列挙されるタンパク質の変異体および改変形態が挙げられ、そして具体的に表２に列挙されるタンパク質のエピトープ含有断片が挙げられる。いくつかの例示的な実施形態では、上記方法で使用される自己抗体捕捉分子は、ＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、またはＥＩＦ４Ｇ１であるか、あるいはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、またはＥＩＦ４Ｇ１に対する抗体であり、この抗体は自己抗原－自己抗体複合体に結合することができる。いくつかの例示的な実施形態では、この自己抗体捕捉分子は、ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＣＮＢ１、またはＥＩＦ４Ｇ１であるか、あるいはＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＣＮＢ１、またはＥＩＦ４Ｇ１に対する抗体であり、この抗体は自己抗原－自己抗体複合体に結合することがきる。

【０１０２】

いくつかの例示的な実施形態では、上記方法で使用される自己抗体捕捉分子は、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１であるか、あるいはＫＤＲまたはＰＩＭ－１に対する抗体であり、この抗体は自己抗原－自己抗体複合体に結合することができる。

【０１０３】

本願明細書に提供される方法では、上記試料は、細胞もしくは組織（その抽出物を含む）の任意の試料、または任意の体液の任意の試料であってよい。スクリーニングされた自

己抗体は血液中を循環し、血液試料中ではかなり安定であるため、特定の具体的実施形態では、この試験試料は血液またはその画分（例えば、血清など）である。この試料は、試験抗原との接触の前には未処理であってもよいし、１つ以上の処理段階をすでに受けた試料であってもよい。例えば、血液試料は、赤血液細胞を除去して血清を入手するために処理されていてもよい。

【０１０４】

試験試料が採取される個体は任意の個体であってよく、いくつかの実施形態では、癌についてスクリーニングされた個体である。個体由来の試料中で検出された自己抗体は、複数種の癌を示すことができる。複数種の癌を示す自己抗体の試験で陽性とされた個体はさらに、所与の種類の癌がその個体中に存在するか否かを決定するためにスクリーニングすることができる。いくつかの実施形態では、試料が採取される個体は、前立腺、乳癌、肝癌、卵巣癌、膵臓癌、子宮癌、胃癌、骨肉種、脳癌、結腸直腸癌、膀胱癌、もしくは肺癌、または白血病もしくはリンパ腫のいずれかについてスクリーニングされた個体であってよい。

【０１０５】

いくつかの実施形態では、本発明の標的抗原と接触させるために試料が採取される個体は、前立腺癌についてスクリーニングされた男性個体であってよい。これらの実施形態のうちのいくつかでは、上記方法は、その個体由来の試料を表４のタンパク質、または表４のタンパク質に対する抗体と接触させる段階と、表４のタンパク質に対するこの試料中の抗体の結合、または、表４のタンパク質の抗体へのこの試料中の抗原－抗体複合体の結合を検出する段階とを含む。この方法は、個体中の前立腺癌もしくは前立腺上皮細胞内腫瘍（ＰＩＮ）を検出、診断、予測、病期決定またはモニターするために使用することができる。いくつかの実施形態では、この方法は、前立腺癌とＢＰＨを区別するために使用される。いくつかの例示的な実施形態では、この方法は、個体由来の試料を、標的抗原：ＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＰＴＥＮ、ＢＤＫＲＢ２、ＢＣＬ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＥＲＢＢ２、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＣＰＰ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＨＳＰＢ１、ＣＡＶ３、ＨＳＰＤ１、ＫＤＲ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＴＲＡ１、ＨＭＧＡ２、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＧＦＲ、ＥＴＳ２、ＨＳＰＡ１Ａ、ＭＩＣＢ、ＣＤ１６４、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＩＭＰ－３、ＳＴＩＰ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＸＬＫＤ１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＰＣＮＡ、もしくはＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上と、またはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＰＴＥＮ、ＢＤＫＲＢ２、ＢＣＬ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＥＲＢＢ２、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＣＰＰ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＨＳＰＢ１、ＣＡＶ３、ＨＳＰＤ１、ＫＤＲ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＴＲＡ１、ＨＭＧＡ２、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＧＦＲ、ＥＴＳ２、ＨＳＰＡ１Ａ、ＭＩＣＢ、ＣＤ１６４、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＩＭＰ－３、ＳＴＩＰ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＸＬＫＤ１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＰＣＮＡ、もしくはＥＩＦ４Ｇ１に対する１つ以上の抗体と接触させる段階と、その標的抗原の１つ以上に対する自己抗体、または標的抗原に対する抗体を検出して個体中の前立腺癌もしくはＰＩＮを検出、診断、モニター、病期決定、または予測する段階とを含む。いくつかの例示的な実施形態では、この方法は、個体由来の試料を、標的抗原：ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＤ１６４、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＸＬＫＤ１、ＣＣＮＢ１、ＰＣＮＡ、ＥＲＢＢ２、もしくはＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上と、またはこれらの標的抗原（ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＤ１６４、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬ

Ｂ１、ＸＬＫＤ１、ＣＣＮＢ１、ＰＣＮＡ、ＥＲＢＢ２、もしくはＥＩＦ４Ｇ１）の１つ以上に対する１つ以上の抗体と接触させる段階と、この標的抗原の１つ以上に対する自己抗体を検出して、個体中の前立腺癌もしくはＰＩＮを検出、診断、モニター、病期決定、または予測する段階とを含む。いくつかの例示的な実施形態では、上記方法は、個体由来の試料を、標的抗原：ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、もしくはＣＣＮＢ１のうちの１つ以上と、または標的抗原（ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、もしくはＣＣＮＢ１）の１つ以上に対する１つ以上の抗体と接触させる段階と、ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、もしくはＣＣＮＢ１のうちの１つ以上に対するこの試料中の自己抗体を検出して、個体中の前立腺癌もしくはＰＩＮを検出、診断、モニター、病期決定、または予測する段階とを含む。いくつかの例示的な実施形態では、上記方法は、個体由来の試料を、標的抗原：ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、もしくはＣＣＮＢ１のうちの１つ以上と、または標的抗原ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、もしくはＣＣＮＢ１のうちの１つ以上に対する抗体と接触させる段階と、ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、もしくはＣＣＮＢ１のうちの１つ以上に対するこの試料中の自己抗体を検出して、個体中の前立腺癌もしくはＰＩＮを検出、診断、モニター、病期決定、または予測する段階とを含む。

【０１０６】

上記試料が採取される個体は、例えば、前立腺癌について１つ以上の危険因子（年齢５０歳以上であること、アフリカ系遺伝形質を有すること、または前立腺癌の家族歴を有することが挙げられるが、これらに限定されない）を有する可能性がある男性個体であってよい。この個体は、前立腺癌の１つ以上の指標を有してよい。例えば、この個体は肥大した前立腺を有する個体であってよい。この個体は、４ｎｇ／ｍｌを超える、または１０ｎｇ／ｍｌを超えるＰＳＡレベルを有する男性であってよい。この個体はまた、４ｎｇ／ｍｌ未満、例えば０～４ｎｇ／ｍｌのＰＳＡレベルを有する男性であってもよい。この個体は、０．２５未満の遊離ＰＳＡ対全ＰＳＡの比を有する男性であってよい。この個体は、前立腺癌またはＢＰＨを示すＰＣＡ３転写物レベルを有する男性であってよい。この個体は、以前にＰＩＮであると診断された個体であってよい。この個体はまた、以前に前立腺癌について試験または生検を受けて陰性であると明らかになった個体であってもよい。

【０１０７】

試験試料は溶液相で提供された自己抗体捕捉分子と接触させてもよいし、またはこの自己抗体捕捉分子は固体支持体に結合されて提供されてもよい。この試料は、自己抗体捕捉分子との接触に先立ち、希釈されていてもよいし、濃縮されていてもよいし、１つ以上の処理段階にかけられていてもよい。この試料を自己抗体捕捉分子と接触させた後、抗体結合を許容する温度、イオン強度、およびｐＨの条件下で、抗体－抗原結合を可能にするのに十分な時間インキュベーションが行われる。抗体－抗原結合条件およびアッセイパラメータは当該技術分野で周知である。自己抗体の検出は、イムノアッセイ法を用いて行うことができ、このイムノアッセイ法は、さらに詳細に後述されるものを含めて、抗体によるタンパク質の検出を含む種々の形式のいずれであってもよい。

【０１０８】

特定の具体的実施形態における結合の検出は、自己抗体捕捉分子が固定され、かつ個体の試料、好ましい実施形態ではヒト被験者由来の試料が結合されている１つ以上の固体または半固体支持体を利用する。例示的な実施形態では、固定された自己抗体捕捉分子と試料とのインキュベーション（および、好ましくは、引き続く洗浄段階）の後に、または任意に、試料および自己抗体捕捉分子のインキュベーションと同時に、試料を採取する種の抗体に対して反応性の抗体、例えば、抗ヒト抗体（例えば、ヒト以外の種、例えば、ヤギ、ウサギ、ブタ、マウスなどに由来する抗ヒトＩｇＧ抗体）が、試料と一緒にインキュベ

ーションされる固体または半固体支持体に加えられてもよい。この抗ヒトＩｇＧ抗体は、直接または間接的に標識される。いくつかの実施形態では、この抗ヒトＩｇＧ抗体は、抗ヒトＩｇＧ抗体が試料と接触している固定された抗原と接触した後、１つ以上のさらなる段階で標識される。非特異的に結合された抗体を除去した後、バックグラウンドレベルを有意に超えるその標識からの信号が、その固体もしくは半固体支持体上の自己抗体捕捉分子へのその試料由来のヒト抗体の結合を示す。

【０１０９】

検出抗体（例えば抗種特異的抗体など）は、標的抗原に直接結合した捕捉された自己抗体を検出するために使用でき、または標的抗体に間接的に結合した捕捉された自己抗体を検出するために使用できる。標的抗体に間接的に結合した自己抗体は、自己抗体－自己抗原複合体として捕捉された自己抗体である。

【０１１０】

このように、いくつかの態様における本発明は、個体由来の試料中の自己抗体を検出する方法であり、個体由来の試料を、少なくとも１種の標的抗体と接触させ、この標的抗体を表２または表４の抗原に特異的に結合させる段階と、この標的抗体へのこの試料の自己抗体－自己抗原複合体の結合を検出して、その試料中の自己抗体を検出する段階とを含む方法を提供する。標的抗体は、表２または表４の抗原に特異的に結合する任意の抗体であってよく、いくつかの例示的な実施形態では、これはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＡＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＭＩＣＢ、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、またはＥＩＦ４Ｇ１に対する抗体である。

【０１１１】

標的抗体へのこの自己抗体の結合の検出は、標的抗体への自己抗原－自己抗体複合体の結合を検出する段階による。結合の検出は、自己抗体を検出する任意の手段によってもよい。この検出は、好ましくは抗種特異的抗体を使用する。例えば、この試料がヒト由来である場合、この方法は、この標的抗体に結合した自己抗原－自己抗体複合体への抗ヒトＩｇＧ抗体の結合を検出する段階によって、自己抗体を検出する段階を含んでもよい。この抗種特異的ＩｇＧ抗体は、直接または間接的に標識することができる。

【０１１２】

標的抗原または標的抗体のいずれかによって結合された自己抗体の検出は、いくつかの好ましい実施形態では、任意の種類の固体または半固体支持体（ビーズ、粒子、マトリクス、ゲル、フィラメント、繊維、棒、皿、プレート、ウェル、シート、膜、スライド、チップ、またはアレイ（タンパク質アレイなど）など）上で行うことができる。このアレイは、マイクロアレイであってよく、必要に応じて高密度マイクロアレイであってもよい。高密度ＰＲＯＴＯＡＲＲＡＹ（商標）ヒトタンパク質マイクロアレイ（インビトロジェン、カリフォルニア州、カールスバッド）での分析が実施例２に示されており、その前立腺癌と正に相関するアレイのマーカーは表１１ａに提供されている。

【０１１３】

上記検出方法は、陽性／陰性結合結果を提供することができるし、またはその試料中の自己抗体バイオマーカーのレベルについて、相対値または絶対値である値を与えることができる。例えば、試験抗原への標的試料の結合の検出は、その試料中の試験抗原に特異的に結合する自己抗体の存在を示す。個体由来の試料中に存在する自己抗体の同定は、疾患もしくは病状のバイオマーカーを同定するため、または疾患または病状を診断するために使用できる。他の実施形態では、１つ以上の自己抗体の１つ以上のレベルは、本発明の方法を用いて検出することができる。例示的な実施形態のアッセイ法で検出される自己抗体のレベルの上昇または低下は、正常な対照（例えば、癌を有していない個体由来の血清）がアッセイされたときの信号レベルの少なくとも２標準偏差、いくつかの実施形態では少

なくとも３標準偏差上もしくは下の信号である。例えば、自己抗体は、ＢＰＨ試料と比べて上昇した信号または低下した信号を伴って前立腺癌試料中で検出することができる。自己抗体レベルの値は、いくつかの例示的な実施形態では、閾値の上または下として検出することができる。この自己抗体レベル値は、検出アッセイ法で同時に（検出アッセイ法と平行して、好ましくは相前後して）提供される１つ以上の対照に対して標準化されることが好ましい。結果は診断または予後を提供することができるし、あるいはさらなる試験を行うための指標、または診断もしくは予後をもたらす場合ももたらさない場合もある評価として使用することができる。

【０１１４】

特定の具体的実施形態では、自己抗体を検出するための本願明細書に提供される方法は、疾患状態、疾患にかかる前の状態、または医学的状態を検出、診断、予測、病期決定、モニターするために使用できる。例えば、この方法は、癌状態または前癌状態（前立腺癌もしくはＰＩＮが挙げられるが、これらに限定されない）を検出、診断、予測、病期決定、モニターするために使用できる。特定の具体的実施形態では、自己抗体を検出するための本願明細書に提供される方法は、疾患状態、疾患にかかる前の状態、または医学的状態を管理する（治療計画を管理することを含む）ため、あるいは疾患状態、疾患にかかる前の状態、または医学的状態を、例えば、医薬品により、放射線療法により、手術により、またはこれらのいずれかの組合せにより治療するかどうかの決定に寄与するために使用される。いくつかの実施形態では、上記方法は、寛解または抗癌治療（手術または化学療法が挙げられるがこれらに限定されない）後の癌の再発について試験するために使用できる。

【０１１５】

いくつかの実施形態では、上記方法は、表２または表４からの自己抗体補足分子を使用して、個体由来の試料中の自己抗体を検出する段階と、同じ個体由来の試料中の癌についての１つ以上のさらなるバイオマーカーを検出する段階とを含み、この場合、癌は、任意の種類の癌（肺癌、肝癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌、膵臓癌、結腸直腸癌、胃癌、食道癌、頭頚部癌、脳癌、骨肉種、もしくは前立腺癌、またはリンパ腫もしくは白血病が挙げられるが、これらに限定されない）であってよい。癌のさらなるバイオマーカーは、任意の種類、例えば、タンパク質、ペプチド、抗体、核酸、ホルモン、成長因子、もしくは代謝マーカーであってよく、検出は陽性または陰性の結果を与えることができるし、相対値または絶対値の検出であってもよい。この方法は、その個体中の癌を検出、診断、病期決定、モニター、または予測するために使用できる。いくつかの好ましい実施形態では、この方法は、個体中の前立腺癌とＢＰＨとを区別する。

【０１１６】

本発明の検出および診断の方法は、その個体に対して経時的に繰りかえされてもよい。例えば、その個体は、前立腺癌の存在についてモニターされている、ＰＩＮであると診断された個体であってもよい。この個体は、早期の前立腺癌であると診断された個体、または低いもしくは中間のグリーソンスコアを有する個体であってもよい。

【０１１７】

この個体は、本発明のいくつかの実施形態では、例えば１種以上の医薬品、「栄養補給食品」もしくは食餌療法、化学的抗癌剤、放射線療法、または手術を使用して前立腺癌について治療されたか、または治療されている個体であってもよい。試験抗原に対する患者試料の免疫反応性を決定する診断試験の結果は、早期に実施された同じ診断試験の結果と比較することができる。経時的な免疫反応性の有意差は、前立腺癌の診断または予後に寄与することができる。これらの態様では、本願明細書に提供される方法および組成物は、癌（前立腺癌など）の退行、進行、または再発を検出するために使用できる。

【０１１８】

本発明の方法はまた、自己抗体を検出するために使用されるこの２種以上の標的抗原の少なくとも１種が表２または表４の標的抗原、もしくはそのエピトープ含有断片である、２種以上の標的抗原に結合する個体由来の試料中の２種以上の自己抗体を検出する段階を

含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、その個体由来の試料を、本発明の複数の自己抗体捕捉分子と接触させる段階と、この複数の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種へのその試料中の抗体の結合を検出して、それによりその個体中の自己抗体を検出する段階とを含む。いくつかの実施形態では、上記方法は、その個体由来の試料を本発明の複数の標的自己抗体捕捉分子と接触させる段階と、この複数の自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも２種に対するその試料中の少なくとも２種の自己抗体の結合を検出して、それによりその個体中の少なくとも２種の自己抗体を検出する段階とを含む。例示的な実施形態では、その個体中の自己抗体を検出するために使用される複数の標的抗原のうちの少なくとも１種は表２または表４の自己抗体捕捉分子である。１種以上のさらなる自己抗体捕捉分子は、表１または表３からのものであってもよい。いくつかの例示的な実施形態では、その個体中の自己抗体を検出するために使用される複数の標的抗原のうちの少なくとも２種は、表２または表４の標的抗原である。

【０１１９】

実施例３に記載される一研究では、前立腺癌（ＰＣａ）の進行に関連があると仮定される９６種の選択されたタンパク質が発現され、精製され、次いでニトロセルロースのスライド上にプリントされた。プリントされたタンパク質スポットの各々はおよそ０．０３ピコグラムのタンパク質しか含有していなかったため、拡張したタンパク質アレイに基づく研究でさえ、およそ１～１０μｇのタンパク質の無細胞発現で十分であった。これらのタンパク質の多くは、高められたレベルのＰＣａと相関する自己抗体を有することが後に明らかになったが、良性前立腺肥大症（ＢＰＨ）を有する患者には存在しなかった。

【０１２０】

本研究は、有意な体液性自己抗体反応を誘発するものとして、表２および表４に列挙されるＫＤＲおよびＰＩＭ－１を含めて２０種の抗原を明らかにした。低含有量タンパク質チップを用いたさらなる研究は、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１に対する自己抗体が、３２人の前立腺癌患者および３２人の良性前立腺肥大症患者において９０．６％の感度および８４．４％の特異度で良性前立腺肥大症から前立腺癌を差別化することを示した。タンパク質アレイの信号は特異的であり、純粋な抗原を用量依存性の方法で血清に加えることにより、すぐに競合させることができる。加えて、前立腺癌組織アレイの蛍光免疫組織化学から、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１は前立腺癌組織で異なって発現され、良性前立腺肥大症組織では発現が減少することが示され、これはＫＤＲおよびＰＩＭ－１腫瘍抗原の過剰発現が異常な体液性応答反応につながることを示唆する。

【０１２１】

単一の自己抗体マーカーであるＫＤＲまたはＰＩＭ－１単独の使用は、それぞれ６２．５％および６５．６％の特異度をもたらしたが、これらの２つのマーカーの組合せは、有意に高い８４．４％の特異度をもたらした。ＫＤＲ自己抗体は前立腺癌患者集団の約６２％に存在し、これはいくつかの他の腫瘍抗原について報告されているものよりも有意に高い割合（％）である。自己免疫にはポリクローナル抗体反応が関与するため、短縮されたＫＤＲを使用すると、自己抗体捕捉より多くのエピトープがさらされ、その結果、癌患者集団における陽性反応がより高い頻度で得られたかも知れない。

【０１２２】

本発明の方法は、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１、またはそれらのエピトープ含有断片に結合する、個体由来の試料中の自己抗体を検出する段階を含む。いくつかの実施形態では、この方法は、その個体由来の試料を本発明の複数の自己抗体捕捉分子と接触させる段階と、ＫＤＲもしくはＰＩＭ－１、またはそれらの断片もしくは変異体の少なくとも１種へのその試料中の抗体の結合を検出して、それによりその個体中でＫＤＲまたはＰＩＭ－１に対する自己抗体を検出する段階とを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、その個体由来の試料を本発明の複数の標的自己抗体捕捉分子と接触させる段階と、ＫＤＲもしくはＰＩＭ－１、またはそれらの断片もしくは変異体に対するその試料中の少なくとも２種の自己抗体の結合を検出して、それによりその個体中のＫＤＲまたはＰＩＭ－１に対する自己抗体を検出する段階とを含む。いくつかの実施形態では、この方法は、個体中の前立腺

癌を診断するための方法である。いくつかの実施形態では、この方法は、個体中の前立腺癌とＢＨＰを区別するための方法である。

【０１２３】

本発明の別の態様は、表１１ａの抗原または自己抗体と複合体を形成した表１１ａの抗原に特異的に結合する抗体のいずれかである少なくとも１種の自己抗体捕捉分子と、個体由来の試料を接触させる段階と、その試料の自己抗体への自己抗体捕捉分子の結合が前立腺癌を示す、この試料の少なくとも１種の自己抗体との自己抗体捕捉分子の結合を検出する段階とによって、個体中の前立腺癌を診断する方法である。いくつかの実施形態では、上記方法は、試料中に存在する表１１ａの抗原の自己抗体に直接または間接に特異的に結合する抗原または抗体のいずれかである、２種以上の自己抗体捕捉分子と、その個体由来の試料を接触させる段階と、表１１ａの抗原または表１１ａの抗原の抗体へのこの試料の結合が前立腺癌を示す、１つ以上の該抗原または自己抗体への１つ以上の該抗体の少なくとも１種へのその試料の結合を検出する段階とを含む。この方法は、表１１ａの抗原へのまたは表１１ａに列挙される抗原の抗体への、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、１０～１５、１５～２０、２０～２５、２５～３０、３０～３５、３５～４０、４０～４５、４５～５０、５０～６０、６０～７０、７０～８０、８０～９０、もしくは９０～９８種の自己抗体の結合を検出する段階を含むことができる。表１１ａの抗原には、表１１ａに列挙されるタンパク質の変異体および改変形態も含まれ、表１１ａのタンパク質のエピトープ含有断片も含まれる。

【０１２４】

上記方法は、前立腺癌またはＰＩＮを診断、予測、モニターまたは病期決定するために使用することができる。実施例２（後述する）で明らかにされるように、この方法は高悪性前立腺癌と低悪性前立腺癌とを区別するために使用することができる。この方法を用いて、前立腺癌とＢＰＨを区別することができる。

【０１２５】

本発明の別の態様では、本発明は、前立腺癌またはＰＩＮを検出、診断、病期決定、予測、および／またはモニターする方法を提供し、該方法には、バイオマーカー検出パネルが表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、その自己抗体捕捉分子の１つ以上が表３からのものである、バイオマーカー検出パネルに対する個体由来の試料の免疫反応性のパターンを決定する段階も含まれる。

【０１２６】

自己抗体捕捉分子としては、標的抗原（その変異体および改変形態を含み、かつそのエピトープ含有断片を含む）、ならびに個体由来の試料中の自己抗体（自己抗体－自己抗原複合体として試料中に存在する自己抗体など）を検出することができる標的抗体が挙げられる。これらの方法では、標的抗体は、本願明細書において提供される表で抗体と指定されたものであってよいし、または指定された標的抗原のうちのいずれかに対する抗体（例えば、表１または表３の標的抗原のいずれかに対する抗体）であってもよく、その場合、この標的抗体は抗原に特異的に結合し、この抗原は自己抗体と複合体を形成している。この方法は、バイオマーカー検出パネルが表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、その自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種が表３からのものである、バイオマーカー検出パネルと、個体由来の試験試料を接触させる段階と、このバイオマーカー検出パネルに対する免疫反応性のパターンを決定して、前立腺癌を診断、予測、病期決定、またはモニターする段階とを含む。好ましい実施形態では、この試料は、血液試料または血液試料に由来する試料（血清など）である。

【０１２７】

それゆえ本発明は、いくつかの態様では、自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が標的抗原であり、かつ自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が標的抗体である、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカー検出パネルと、個体の試料を接触させる段階と、該標的抗原に結合した少なくとも１種の自己抗体およびこの標的抗体に結合した少なくと

も１種の自己抗体を検出する段階とによって、前立腺癌を診断する方法を含む。いくつかの好ましい実施形態では、この２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種は、表３の自己抗体捕捉分子である。これらの方法では、抗原－自己抗体複合体としてバイオマーカー検出パネルの標的抗体に結合した試料の自己抗体および標的抗原に直接結合した自己抗体は、ともに、直接または間接的に標識された抗種特異的抗体（例えば、抗ヒトＩｇＧ抗体などの抗種特異的ＩｇＧ抗体など）を使用して検出することができる。このパネルの自己抗体捕捉分子は、一般的な固体支持体（タンパク質アレイなど）に任意に結合されていてもよい。そうすれば、例示的な実施形態では、標的抗原（１種または複数種）および標的抗体（１種または複数種）の両方に結合した自己抗体の検出のための抗種特異的抗体の添加は、１つの段階で行うことができる。

【０１２８】

いくつかの実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、３、４、５、６、７、または８種の表１の自己抗体捕捉分子を含む。いくつかの実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、またはこれ以上の表１の自己抗体捕捉分子を含む。いくつかの実施形態では、上記試験試料を、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、または３０種の表１の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカー検出パネルと接触させる。バイオマーカー検出パネルは、３０～３５種の表１の自己抗体捕捉分子、３５～４０種の表１の自己抗体捕捉分子、４０～４５種の表１の自己抗体捕捉分子、４５～５０種の表１の自己抗体捕捉分子、５０～５５種の表１の自己抗体捕捉分子、５５～６０種の表１の自己抗体捕捉分子、６０～６５種の表１の自己抗体捕捉分子、６５～７０種の表１の自己抗体捕捉分子、７０～７５種の表１の自己抗体捕捉分子、７５～８０種の表１の自己抗体捕捉分子、８０～８５種の表１の自己抗体捕捉分子、８５～９０種の表１の自己抗体捕捉分子、９０～９５種の表１の自己抗体捕捉分子、９５～１００種の表１の自己抗体捕捉分子、１００～１１０種の表１の自己抗体捕捉分子、または１１０～１１６種の表１の自己抗体捕捉分子を含むことができる。これらの実施形態のすべてにおいて、このバイオマーカー検出パネル中に存在する表１の自己抗体捕捉分子の１つ以上は、表３の自己抗体捕捉分子であってよい。

【０１２９】

いくつかの実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、表３の２種以上の自己抗体捕捉分子を含む。バイオマーカー検出パネルは、非限定的な例として、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３０～３５、４０～４５、４５～５０、５０～５５、５５～６０、６０～６５、または６５～７０種の表３の自己抗体捕捉分子を含むことができる。

【０１３０】

いくつかの好ましい実施形態では、上記方法で使用されるバイオマーカーパネルの１つ以上の自己抗体捕捉分子は表２のタンパク質である。いくつかの実施形態では、１つ以上の自己抗体捕捉分子は表４のタンパク質である。いくつかの実施形態では、前立腺癌は、ＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＰＴＥＮ、ＢＤＫＲＢ２、ＢＣＬ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＥＲＢＢ２、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＣＰＰ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＨＳＰＢ１、ＣＡＶ３、ＨＳＰＤ１、ＫＤＲ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡＰ、ＰＳＭＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＴＲＡ１、ＨＭＧＡ２、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＧＦＲ、ＥＴＳ２、ＨＳＰＡ１Ａ、ＭＩＣＢ、ＣＤ１６４、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＩＭＰ－３、ＳＴＩＰ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＸＬＫＤ１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＰＣＮＡ、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上、またはＨＥＹＬ、ＭＬＨ１、ＰＴＥＮ、ＢＤＫＲＢ２、ＢＣＬ２、ＰＴＧＥＲ３、ＲＰＬ３０、ＺＷＩＮＴ、ＥＲＢＢ２、ＢＩＲＣ５、ＴＯＰ２Ａ、ＡＣＰＰ、ＡＺＧＰ１、ＣＬＤＮ３、ＨＳＰＢ１、ＣＡＶ３、ＨＳＰＤ１、ＫＤＲ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＲＳＳ８、ＰＳＡ

Ｐ、ＰＳＭＢ４、ＱＳＣＮ６、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＴＲＡ１、ＨＭＧＡ２、ＥＩＦ３Ｓ３、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＣＤ１５１、ＮＣＡＭ２、ＥＧＦＲ、ＥＴＳ２、ＨＳＰＡ１Ａ、ＭＩＣＢ、ＣＤ１６４、ＮＵＣＢ１、ＣＯＶＡ１、ＩＭＰ－３、ＳＴＩＰ１、ＲＡＳＳＦ１，ＳＴＥＡＰ、ＮＲＰ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＤＨ１１、ＸＬＫＤ１、ＢＣＬＧ、ＣＣＮＢ１、ＣＣＮＤ１、ＰＣＮＡ、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上に対する抗体を含む、バイオマーカーパネルを使用して診断される。いくつかの実施形態では、前立腺癌は、ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＤ１６４、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＸＬＫＤ１、ＣＣＮＢ１、ＰＣＮＡ、ＥＲＢＢ２、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上、またはＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＴＯＰ２Ａ、ＰＳＡＰ、ＲＰＳ６ＫＡ１、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＨＭＧＡ２、ＣＣＮＡ１、ＲＮＦ１４、ＮＣＡＭ２、ＥＴＳ２、ＣＤ１６４、ＣＯＶＡ１、ＲＡＳＳＦ１、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＸＬＫＤ１、ＣＣＮＢ１、ＰＣＮＡ、ＥＲＢＢ２、およびＥＩＦ４Ｇ１のうちの１つ以上に対する抗体を含むバイオマーカーパネルを使用して診断される。いくつかの例示的な実施形態では、前立腺癌は、ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、またはＣＣＮＢＩのうちの１つ以上を含むか、またはＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＲＰＬ３０、ＰＳＭＢ４、ＭＩＣＩＢ、ＩＭＰ－３、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上に対する抗体を含む、バイオマーカーパネルを使用して診断される。いくつかの例示的な実施形態では、前立腺癌は、ＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上を含むか、またはＨＥＹＬ、ＰＴＧＥＲ３、ＺＷＩＮＴ、ＳＰＲＲ１Ｂ、ＳＨ３ＧＬＢ１、およびＣＣＮＢ１のうちの１つ以上を含む、バイオマーカーパネルを使用して診断される。

【０１３１】

いくつかの実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、０．８００以上、または０．８５０以上のＲＯＣ／ＡＵＣ値を有する。いくつかの実施形態では、そのバイオマーカー検出パネルは０．９５０以上のＲＯＣ／ＡＵＣ値を有する。

【０１３２】

いくつかの実施形態では、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含む、上記方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、１つ以上の表１０の自己抗体捕捉分子を含む。いくつかの例示的な実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、表３の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、表３の２種以上の自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種は表１０の自己抗体捕捉分子である。

【０１３３】

いくつかの実施形態では、本発明は、前立腺癌もしくはＰＩＮを検出、診断、病期決定、予測、および／またはモニターするための方法、あるいは個体中のＢＰＨと前立腺癌を区別するための方法を含み、併用されたとき、前立腺癌の診断およびＢＰＨと前立腺癌との区別にあたり高特異度および高感度を有する自己抗体捕捉分子のセット（「自己抗体検出セット」）を含むバイオマーカー検出パネルに対する、その個体由来の試験試料の免疫反応性を測定する段階も含まれる。この自己抗体検出セットは、いくつかの実施形態では、１つ以上の表１０の自己抗体捕捉分子を含むことができる。

【０１３４】

例示的な実施形態では、本発明は、前立腺癌を検出、診断、病期決定、予測、および／またはモニターするための方法、あるいは個体中のＢＰＨと前立腺癌を区別するための方法であり、表５の３実体の自己抗体検出セット、表６の４マーカー自己抗体検出セット、表７の５マーカー自己抗体検出セット、表８の６マーカー自己抗体検出セット、もしくは表９の７マーカー自己抗体検出セットを含むバイオマーカー検出パネルに対するその個体由来の試験試料の免疫反応性を測定する段階と、このバイオマーカー検出パネルに対するその試験試料の免疫反応性を前立腺癌の診断、病期決定、もしくは予後と相関させる段階

とを含む方法を含む。１つの例示的な実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、ＨＥＹＬ、ＲＮＦ１４およびＰＣＮＡを含む３マーカー検出セットを含む。１つの例示的な４－バイオマーカーの実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、抗ＩＬ－６抗体、ＴＲＡ１－ＳＰ、ＸＬＫＤ１、およびＰＣＮＡを含む。１つの具体的な５－バイオマーカー実施形態では、バイオマーカー検出パネルはＳＰＲＲ１Ｂ、ＣＣＮＡ１、ＥＲＧ、ＣＣＮＢ１、ＰＳＩＰ１を含む。１つの具体的な６－バイオマーカーの実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、ＥＲＢＢ２、ＣＣＮＡ１、ＫＨＤＲＢＳ１、ＲＡＳＳＦ１、ＮＲＰ１、ＰＣＮＡを含む。１つの具体的な７－バイオマーカー実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＳＡＰ、ＭＡＤ１Ｌ１、ＣＣＮＡ１、ＥＲＧ、ＰＣＮＡを含む。

【０１３５】

このバイオマーカー検出パネルは、必要に応じてさらなる自己抗体捕捉分子（表１１ａ、表１、表３、または表１０からの自己抗体捕捉分子が挙げられるが、これらに限定されない）を含むことができる。

【０１３６】

バイオマーカー検出パネル中に存在する自己抗体捕捉分子は、標的抗原と呼ばれるタンパク質（例えば、表１１ａ、表１、表３、または表１０に列挙される標的抗原）（自己抗体を検出するその変異体もしくは改変形態、またはそれらの断片を含む）であってよい。自己抗体捕捉分子はまた、１つ以上の自己抗体と複合体を形成している自己抗原に結合できる抗体であってもよい。バイオマーカー検出パネルは、１つ以上の標的抗原および１つ以上の標的抗体を含むことができる。

【０１３７】

自己抗体捕捉分子に加えて、前立腺癌を検出するために使用されるバイオマーカー検出パネルは、自己抗体と必ずしも複合体を形成していない抗原を捕捉する１つ以上の抗体を任意に含むことができる。試験試料中の自己抗体へのこのバイオマーカー検出パネルの１つ以上の試験抗原の結合、および試験試料中の抗原へのバイオマーカー検出パネルの１つ以上の抗体の結合は、個体中の前立腺癌の存在を測定する際、または被験者中のＢＰＨと前立腺癌とを区別する際に検出し分析することができる。本発明のバイオマーカー検出パネル上に存在する抗体は任意の抗体であってよく、その抗体としては表１の自己抗原のいずれかに特異的に結合する抗体が挙げられるが、これに限定されない。かかる抗体は、自己抗体捕捉分子を使用して自己抗体を検出するのに使用されるのと同じアッセイ法において、試料中の抗原を検出するのに使用してもよい。例えば、上記方法のいくつかの実施形態では、直接または間接的に標識された二次抗体が検出に先立ちそのパネルに加えられ、その抗体がパネルの抗体によって捕捉された抗原を認識してもよい。

【０１３８】

特定の実施形態では、免疫反応性のパターンは、標的抗原への１つ以上の自己抗体の結合の量を定量することによって測定される。この定量は絶対的なものであってもよく、相対的なものであってもよい。この定量には、必要に応じて同じ検出アッセイ法で提供されるのが好ましい１つ以上の対照に対して、検出値を標準化する段階を含むことができる。いくつかの実施形態では、上記方法は、２種以上の自己抗体捕捉分子への試料の抗体の結合レベル（結合レベルは閾値またはカットオフ値を超える）を検出する段階を含む。

【０１３９】

単独で考慮した場合には１つ以上の試験抗原が不十分な診断値または予後値を有するかも知れないが、バイオマーカー検出のための他の試薬（他の試験抗原が含まれるがこれに限定されない）を含むパネルの一部として使用される場合には、かかる試験抗原が特定の診断または予後に貢献できることは理解されるであろう。好ましい実施形態では、バイオマーカー検出パネルの１つ以上の試験抗原に対する特定の閾値は、被験者から入手したマーカーレベルのプロファイルが特定の診断または予後を示すかどうかを決定するにあたり信頼できるものではない。むしろ、本発明は、種々の閾値カットオフでのパネルに関する特定のバイオマーカー検出パネルの感度対１－（特異度）についてＲＯＣ曲線をプロット

することにより、バイオマーカー検出パネルのマーカープロファイル全体の評価を利用する。本願明細書で行われる分析は、ロジスティック回帰分析を使用して閾値を決定したが、同様の結果はK近傍法を用いて得られている（統計的分析は当該技術分野で公知であり、例えば、Ｈａｓｔｉｎｇｓ，Ｔｉｂｓｈｉｒａｎｉ，およびＦｒｉｅｄｍａｎ（２００３） Ｅｌｅｍｅｎｔｓ ｏｆ Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａｌ Ｌｅａｒｎｉｎｇ，Ｓｐｒｉｎｇｅｒなどの参考文献に詳細に記載されている）。これらの方法では、個体の試料由来のバイオマーカー測定値のプロファイルはまとめて考察され、例えば個体が前立腺癌を有するという全体的な可能性が提供される（数値スコアとして、または危険率として表される）。かかる実施形態では、バイオマーカーの特定のサブセット（１つ以上の自己抗体を含むバイオマーカーのサブセットなど）の増加が１人の患者で特定の診断（または予後）を示すためには十分であるかも知れないが、バイオマーカーの異なるサブセットの増加（１つ以上の自己抗体を含むバイオマーカーのサブセットなど）が、別の患者で同じかまたは異なる診断（または予後）を示すのに十分であるかも知れない。重み係数が、検出されている１つ以上のバイオマーカーに付与されてもよい。一例として、バイオマーカーが特定の診断または予後を同定する上で特に高い有用性を有する場合、所与のレベルでそれのみで陽性診断を示すのに十分であるように、そのバイオマーカーが重み付けされていてよい。別の例では、重み係数は、特定のマーカーの所与のレベルでは、陽性の結果を示すのに十分ではなく、別のマーカーも分析に寄与する場合にのみ、ある結果が示されることを提供するかも知れない。

【０１４０】

診断試験の特異度を高めることは、その感度をある程度低下させもする。本発明の例示的な実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、現在使用されるＰＳＡ試験（８０％より高い）と少なくとも同程度の感度と、現在使用されるＰＳＡ試験（約７５％偽陽性）よりも低い偽陽性率とを有する、個体中の前立腺癌の存在についての試験を提供する。本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、いくつかの例示的な実施形態では、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり、８０％以上、８５％以上、８８％以上、９０％以上、９２％以上、９４％以上、９６％以上、９８％以上、もしくは１００％の特異度を有する。例示的な実施形態では、このバイオマーカー検出パネルは、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり、８０％以上、８２％以上、８４％以上、８６％以上、８８％以上、９０％以上、９２％以上、９４％以上、９６％以上、９８％以上、もしくは１００％の感度を有する。例示的な実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり、７８％以上、８０％以上、８５％以上、８８％以上、９０％以上、もしくは９２％以上のベイジアン特異度を有する。例示的な実施形態では、このバイオマーカー検出パネルは、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり、８０％以上、８２％以上、８４％以上、８５％以上、９０％以上、もしくは９５％以上のベイジアン感度を有する。例示的な実施形態では、このバイオマーカー検出パネルは、７８％以上、８０％以上、８５％以上、８８％以上、９０％以上、または９２％以上のベイジアン特異度を有する。例示的な実施形態では、このバイオマーカー検出パネルは、前立腺癌を診断するにあたり、または個体においてＢＰＨから前立腺癌を識別するにあたり、８０％以上、８１％以上、８４％以上、８５％以上、８５％以上、８７％以上、９０％以上、９３％以上、もしくは９６％以上のベイジアン精度を有する。

【０１４１】

試料の免疫反応性を測定することは、バイオマーカー検出パネルの自己抗体捕捉分子へのその試料の抗体の結合の検出によって行うことができ、かつそのパネルの各自己抗体捕捉分子が独立にその試料と接触する別々のアッセイ法で、または複数の自己抗体捕捉分子が１つのアッセイ法でその試料と接触する１つのアッセイ法で行うことができる。後者の場合、個々の自己抗体捕捉分子を独立に評価することができるように、異なる自己抗体捕捉分子は、例えば別々の固体支持体表面に結合することにより、または個々の自己抗体を

１つの固体支持体上の特異的位置に結合することにより、空間的に離されていることが好ましい。イムノアッセイ法を含めて結合を検出するためのアッセイ法は、本願明細書に記載されている。

【０１４２】

試験試料は、溶液相で提供された自己抗体捕捉分子と接触させることができるし、または自己抗体捕捉分子は固体支持体に結合して提供されてもよい。自己抗体の検出は、イムノアッセイ法を用いて行うことができ、このイムノアッセイ法は、詳細に後述するような種々の形式であってよい。結合の検出は、特定の具体的実施形態では、自己抗体捕捉分子が固定されている１つ以上の固体支持体を利用し、個体（この場合はヒト被験者）由来の試料がそれに提供される。この検出は、任意の固体または半固体支持体（ゲル、マトリクス、ビーズ、粒子、フィラメント、繊維、棒、皿、プレート、ウェル、シート、フィルター、ストリップ、膜、スライド、チップ、またはアレイ（タンパク質アレイなど）など）上で行うことができる。このアレイは、マイクロアレイであってよく、必要に応じて高密度マイクロアレイであってもよい。

【０１４３】

固定された自己抗体捕捉分子と試料のインキュベーションの後に、または任意に、試料のインキュベーションと同時に、ヒトの抗体に対して反応性の抗体（例えば、ヒト以外の種、例えば、ヤギ、ウサギ、ブタ、マウスなどに由来する抗ヒトＩｇＧ抗体）が、試料を一緒にインキュベーションする固体支持体に加えられる。この抗ヒトＩｇＧ抗体は、直接または間接的に標識される。いくつかの実施形態では、この抗ヒトＩｇＧ抗体は、試料と接触させ固定した自己抗体捕捉分子と抗ヒトＩｇＧ抗体とを接触させた後、１つ以上のさらなる段階で標識される。非特異的に結合された抗体を除去した後、バックグラウンドレベルを有意に超えるその標識からの信号が、その固体支持体上の自己抗体捕捉分子へのその試料由来のヒト抗体の結合を示す。

【０１４４】

個体由来の試料をバイオマーカー検出パネルと接触させることにより前立腺癌を診断する方法は、例えば、前癌（ｐｒｅ－ｃａｎｃｅｒｏｕｓ）状態もしくは前悪性（ｐｒｅ－ｍａｌｉｇｎａｎｔ）状態をモニターするため、または治療または治療計画（例えば、手術、放射線療法、化学療法など）の後またはその最中に前立腺癌の退行、進行、もしくは再発をモニターするために、経時的に繰り返されてもよい。試験抗原に対する患者試料の免疫反応性を測定する診断試験の結果は、早期の同じ診断試験の結果と比較することができる。経時的な免疫反応性の有意差は、前立腺癌の診断または予後に寄与することができる。

【０１４５】

いくつかの実施形態では、個体は、ＢＰＨもしくは前立腺癌の存在を示す少なくとも１種の診察または診断試験をすでに受けている。いくつかの実施形態では、その個体は年齢５０歳以上の男性である。いくつかの実施形態では、その個体は肥大した前立腺を有する男性である。その個体は以前にＢＰＨまたはＰＩＮであると診断された男性であってよい。その個体は、前立腺癌について１つ以上の危険因子（年齢５５歳以上であること、アフリカ系アメリカ人であること、または前立腺癌の家族歴を有することが挙げられるが、これらに限定されない）を有する可能性がある。その個体は、前立腺癌の１つ以上の陽性指標（例えば、４ｎｇ／ｍｌを超えるＰＳＡレベル、１０ｎｇ／ｍｌを超えるＰＳＡレベル、経時的なＰＳＡレベルの有意な上昇、０．２５以下の遊離ＰＳＡ対全ＰＳＡの比、ＤＲＥで検出された前立腺の異常、陽性ＰＣＡ３尿試験など）を有してよい。提供された値は例示だけであり、診断に使用される試験値は異なるかも知れない。いくつかの実施形態では、例えば、個体は４ｎｇ／ｍｌ未満のＰＳＡレベルを有していてよい。

【０１４６】

いくつかの実施形態では、上記方法はさらに、前立腺癌の１つ以上のさらなる指標（例えば、ＰＳＡレベルまたはＰＣＡ３転写物レベル）について試験する段階を含む。この試験段階は、標的抗原に対する試料の免疫反応性を測定する段階と同時に行ってよいし、ま

たは標的抗原に対する自己抗体を検出するための試験よりも前または後に行ってもよい。かかるさらなる指標は診断に寄与することができる。

【０１４７】

特定の免疫反応性パターンは、以下の実施例で示されるように、同じバイオマーカーセットを使用する前立腺癌患者の試料と前立腺癌を呈していない個体由来の試料との免疫反応性の比較に基づいて、統計分析を使用して、前立腺癌の診断と相関させることができる。好ましくはコンピュータで可読の形式で提供することができ、かつ信号検出デバイスと統合されて試料の結合パターンを前立腺癌の診断と相関させることができるアルゴリズムが、試験試料の結合パターンの分析に適用されてもよい。

【０１４８】

任意の特定のバイオマーカーについて、疾患を有する被験者および疾患を有しない被験者に対するバイオマーカーレベルの分布が重なる可能性があることは、理解されるであろう。かかる状態のもとでは、試験は疾患と正常とを絶対的に１００％の精度では区別しない。重なりの領域は、その試験が正常と疾患を区別できない範囲を示す。ある閾値が選択され、その値より上で（または、疾患に対してバイオマーカーがどのように変化するかによって、その値より下で）その試験は異常であると考えられ、その閾値の下でその試験は正常であると考えられる。受信者動作特性曲線、すなわち「ＲＯＣ」曲線、は、典型的には、ある変数の値を「正常」集団および「疾患」集団におけるその相対的頻度に対してプロットすることにより生成される。ＲＯＣ曲線の下の面積は、認識された測定値が状態の正しい同定をもたらす可能性の尺度である。ＲＯＣ曲線はまた、相対的な、またはランク付けされた結果を使用して生成することもできる。ＲＯＣ曲線の生成および使用方法は、当該技術分野で周知である。例えば、Ｈａｎｌｅｙら，Ｒａｄｉｏｌｏｇｙ　１４３：２９－３６（１９８２）を参照。

【０１４９】

イムノアッセイ法

イムノアッセイ法は、前述の実施形態のいずれかで用いることができる。当該技術分野で公知の事実上任意のイムノアッセイ技法が、本発明の方法およびキットに従って抗原に結合する抗体を検出するために使用することができる。かかるイムノアッセイ方法としては、ラジオムノアッセイ法、免疫組織化学アッセイ法、競合結合アッセイ法、ウエスタンブロット分析、ＥＬＩＳＡアッセイ法、サンドイッチアッセイ法、試験ストリップに基づくアッセイ法、免疫沈降を使用するアッセイ法、抗体結合と二次元ゲル電気泳動（２Ｄ電気泳動）とを組合せたアッセイ法および非ゲルに基づくアプローチ（質量分析法またはタンパク質相互作用プロファイリングなど）が挙げられるがこれらに限定されず、すべては当業者に公知である。これらの方法は、当該技術分野で公知のように、自動化されたやり方で行ってよい。かかるイムノアッセイ方法はまた、標的抗原への試料中の抗体の結合を検出するために使用してもよい。

【０１５０】

ＥＬＩＳＡ方法の一例として、上記方法は、試料を標的タンパク質（自己抗体捕捉分子など）とともにインキュベーションする段階と、生成した反応生成物（これはその試料の捕捉された自己抗体を含む）を、結合パートナー（二次抗体（例えば、抗種特異的抗体）など）とともにインキュベーションする段階とを含む。ここで結合パートナーは、標的タンパク質と会合して反応生成物を形成したその試料由来の抗体に結合することによって反応生成物に結合する。いくつかの場合では、これらは２つの別々の段階を含んでよく、別の場合には、この２つの段階は同時であってよく、または同じインキュベーション段階で行われてもよい。抗体への標的タンパク質の結合を検出する方法の例としては、抗ヒトＩｇＧ（または他のアイソタイプ特異的）抗体またはプロテインＡの使用が挙げられる。この検出抗体は蛍光標識されていてもよいし、または直接もしくは間接的に、例えば、アルカリホスファターゼもしくはペルオキシダーゼ（セイヨウワサビペルオキシダーゼなど）に結合されていてもよい。ＣＡＲＤ技法は、ペルオキシダーゼ酵素によって変換された基質によって生成された信号を高めるために、必要に応じて採用することができる（Ｂｏｂ

ｒｏｗら，（１９８９） Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １２５：２７９－２８５；Ｂｈａｔｔａｃｈａｒｙａら，（１９９９） Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２２７：３１－３９）。

【０１５１】

イムノアッセイ法のためにマイクロアレイを使用すると、複数のタンパク質の同時分析が可能になる。例えば、試料中に存在するかも知れないバイオマーカーを認識する標的抗原または抗体は、マイクロアレイ上に固定される。次いで、そのバイオマーカー抗体またはタンパク質は、その試料中に存在する場合には、特異的抗原－抗体相互作用にとって好ましい条件下でマイクロアレイとともにその試料をインキュベーションすることにより、そのアレイ上の同種の（ｃｏｇｎａｔｅ）スポットに捕捉される。次いで、その試料中のタンパク質または抗体の結合は、二次抗体もしくは他の結合標識、タンパク質、または検体を使用して測定することができる。２種以上の異なる試料中で見出されたタンパク質または抗体の比較は、当該技術分野で公知の任意の手段で行うことができる。例えば、第１の試料は１つのアレイで分析することができ、そして第２の試料は、第１のアレイの複製である第２のアレイで分析することができる。

【０１５２】

「サンドイッチアッセイ法」という用語は、検出されるべき分子が２つの結合試薬（これは、通常抗体である）の間に挟まれるイムノアッセイ法を指す。第１の結合試薬／抗体は表面に結合され、第２の結合試薬／抗体は検出可能な部分または標識を含む。本発明の例示的な実施形態では、この第１の結合試薬は、抗原または抗体であってもよい自己抗体捕捉分子であり、第２の結合試薬は抗種特異的抗体であり、この第２の結合試薬は、試料がすでに加えられた捕捉分子に付与されたときには直接または間接的に標識することができるし、または後の段階で直接または間接的に標識することもできる。標識の例としては、例えば、フルオロフォア、発色団、検出可能な信号を生成する酵素、または第２の結合試薬を結合するためのエピトープ（例えば、第２の結合試薬／抗体が、蛍光標識された抗マウス抗体によって検出されるマウス抗体である場合）、例えば抗原または結合対のメンバー（ビオチンなど）が挙げられるが、これらに限定されない。表面は、本願明細書に記載されるような典型的なグリッド型アレイ（例えば、９６ウェルプレートおよび平面マイクロアレイが挙げられるが、これらに限定されない）の場合のように、平面的な表面であってよいし、ビーズの各「種」が、例えば蛍光色素（本願明細書ならびに米国特許第６，５９９，３３１号、同第６，５９２，８２２号、および同第６，２６８，２２２号に記載されるＬｕｍｉｎｅｘ技術など）で標識されたコーティングされたビーズアレイ技術、または量子ドット技術（例えば、米国特許第６，３０６，６１０号に記載されるもの）のように、非平面的な表面であってもよい。

【０１５３】

種々の異なる固相および半固相基材は、試料中のタンパク質または抗体を検出するため、または試料中のタンパク質または抗体の濃度を定量もしくは測定するために使用することができる。基材の選択は、利便性、費用、技能、または他の考慮事項に基づき、当業者が容易になすことができる。有用な基材としては、ゲル、マトリクス、ビーズ、粒子、瓶、表面、基材、繊維、ワイヤ、骨組みのある構造体、チューブ、フィラメント、プレート、シート、フィルター、ストリップ、およびウェルが挙げられるが、これらに限定されない。これらの基材は、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、ガラス、シリカ、シリコン、プラスチック、金属、合金、セラミクス、セルロース、セルロース誘導体、ナイロン、コーティングされた表面、アクリルアミドまたはその誘導体およびそれらのポリマー、アガロース、もしくはラテックス、またはこれらの組合せからできていてよい。この一覧は例としてのものであり、網羅的なものではない。

【０１５４】

試料を上記バイオマーカー検出パネルと接触させたのち、そのパネルは、抗体－抗原結合と適合性の温度、イオン強度、およびｐＨの条件下で、抗原－抗体結合が起こるのに十分な時間、インキュベーションされる。好ましい実施形態では、１つ以上の洗浄段階の後

、検出のための結合試薬（例示的な実施形態では、種－特異的抗体）がバイオマーカー検出パネルに付与され、そしてまたそのバイオマーカー検出パネルとともに、抗体－抗原結合と適合性の温度、イオン強度、およびｐＨの条件下で、抗原－抗体結合が起こるのに十分な時間、インキュベーションされる。

【０１５５】

当該技術分野で記載されるタンパク質検出および測定の他の方法も同様に使用できる。例えば、単一抗体をビーズもしくはマイクロウェルプレートのウェルに連結して、イムノアッセイ法によって定量することができる。このアッセイ形式では、単一のタンパク質を各アッセイ法で検出することができる。このアッセイ法は、多くの検体に対して抗体を用いて繰り返すことにより、本発明の方法を用いて達成することができる結果と実質的に同じ結果に到達することができる。ビーズアッセイ法は、各々がある方法で特有に標識された複数のビーズを用いて多重化できる。例えば、各タイプのビーズは、予め選択した量のフルオロフォアを含有することができる。ビーズの種類は、ビーズが発する蛍光の量（および／または波長）を測定することによって区別することができる。このような蛍光標識されたビーズは、Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ（テキサス州、オースチン；ｌｕｍｉｎｅｘｃｏｒｐ．ｃｏｍのワールドワイドウェブアドレスを参照）から市販されている。Ｌｕｍｉｎｅｘアッセイ法は、典型的なサンドイッチＥＬＩＳＡアッセイ法に非常に類似しているが、抗体またはタンパク質に結合したＬｕｍｉｎｅｘミクロスフェアを利用する（Ｖｉｇｎａｌｉ，　Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２４３：２４３－２５５（２０００））。

【０１５６】

種々の抗体アッセイ法の方法論および段階は、当業者に公知である。さらなる情報は、例えば、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：　Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，　Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，第１４章（１９８８）；ＢｏｌｔｏｎおよびＨｕｎｔｅｒ，「Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ　ａｎｄ　Ｒｅｌａｔｅｄ　Ｍｅｔｈｏｄｓ」、ｉｎ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｄ．Ｍ．Ｗｅｉｒ編），Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ，　１９９６；ならびにＣｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｊｏｈｎ　Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎら編）（１９９３）に見出すことができる。

【０１５７】

前述のアッセイ法を実施するために使用される抗体としては、上述したように、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体およびその断片を挙げることができる。モノクローナル抗体は、確立された方法に従って調製することができる（例えば、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５）　Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５；ならびにＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ（１９８８）　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ（Ｃ．Ｈ．Ｓ．Ｐ．，Ｎ．Ｙ．）を参照）。

【０１５８】

抗体は、完全免疫グロブリンまたは抗体断片であってもよい。本発明で使用される抗体断片は、典型的には、抗原を結合する能力を保持する抗体断片である。抗体の亜型としてはＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＥ、またはそのアイソタイプ（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ、ＩｇＧ２ｂまたはＩｇＧ３）が挙げられる。抗体調製物は、ポリクローナルまたはモノクローナルであってよく、かかる抗体のキメラバージョン、ヒト化バージョンまたは二重特異性バージョンであってもよい。抗体断片としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ）’$_2$、Ｄａｂ、Ｆｖおよび一本鎖Ｆｖ（ＳｃＦｖ）断片が挙げられるが、これらに限定されない。二機能性抗体は、時には２種の異なる結合特異性を単一の抗体鎖の中へと操作することにより構築され、時には、各Ｆａｂ’領域が異なる抗体に由来する２つのＦａｂ’領域を一緒に結合することにより構築される（例えば、米国特許第６，３４２，２２１号）。抗体断片は、しばしば操作された領域（ＣＤＲグラフト化断片またはヒト化断片など）を含む。抗体は、時には、検出可能な標識（例えば、色素、フルオロフォア、放射

性同位体、光散乱剤（例えば、銀、金））などの機能性分子または結合剤（例えば、ビオチン、ストレプトアビジン）を用いて誘導体化される。

【０１５９】

検出は、用いられる標識および形式と適合性の任意の手段を使用することができる。例えば、アレイ、フィルター、プレート、またはビーズアッセイ法からの信号（蛍光性信号など）を検出するためにスキャナを使用することができる。プレートリーダーもまた、発色性試薬を使用するＥＬＩＳＡで使用することができる。検出は、信号が放射性同位体標識によって生成される場合には、シンチレーションカウンタまたはオートラジオグラフィ／濃度測定を使用することもできる。

【０１６０】

本発明の方法で利用されるもののようなイムノアッセイ法を行うための自動化システムは広く知られており、医学的診断で使用されている。例えば、当該技術分野で公知のように、ランダム方式イムノアッセイシステムまたはバッチ式分析装置イムノアッセイシステムを使用することができる。これらは、磁性粒子もしくは非磁性粒子または微粒子を利用することができ、例えば、蛍光または化学発光による読み出しを利用することができる。非限定的な例として、この自動化システムは、Ｂｅｃｋｍａｎ　ＡＣＣＥＳＳ常磁性粒子、化学発光イムノアッセイ法、Ｂａｙｅｒ　ＡＣＳ：１８０化学発光イムノアッセイ法またはＡｂｂｏｔｔ　ＡｘＳＹＭ微粒子酵素イムノアッセイ法であってよい。かかる自動化システムは、複数の使用者が操作しなくても、個々の抗原に対して、または複数の抗原に対して本願明細書に提供される方法を実施できるように設計することができる。

【０１６１】

バイオマーカー検出パネル

本発明はまた、バイオマーカー検出パネルが表１または表１１ａから選択される２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、この試験パネルのタンパク質の少なくとも５０％が表１または表１１ａの自己抗体捕捉分子である、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを提供する。バイオマーカー検出パネルの自己抗体捕捉分子のセットは、例えばバイオマーカー検出パネルのメンバーである特定の自己抗体捕捉分子の購入もしくは使用について、識別および／または情報をリンクすることにより電子的に、または好ましくは物理的に関連付けられている。

【０１６２】

例えば、バイオマーカー検出パネルの各バイオマーカーは、単離された形態で提供されてもよく、別々のチューブもしくはバイアル中で提供されてもよく、または別々の固体支持体（キットの一部として一緒に販売および／または輸送されるストリップもしくはビーズなど）に結合されて提供されてもよい。バイオマーカーパネルの自己抗体捕捉分子はまた、同じ溶液中で一緒に混合されていてもよい。バイオマーカーパネルの自己抗体捕捉分子はまた、ビーズ、１つ以上のマトリクス（例えば、ゲルもしくは樹脂）、または１つ以上の皿、ウェル、プレート、スライド、シート、膜、ストリップ、フィルター、繊維、チップ、もしくはアレイの形態の１つ以上の固体支持体に物理的に結び付けられていてもよい。

【０１６３】

特定の実施形態では、単離された自己抗体捕捉分子は、それらを同じ固体支持体に取り付けることによって検出パネルへ組み込まれる。いくつかの好ましい実施形態では、このバイオマーカー検出パネルのタンパク質はタンパク質アレイ上に提供され、そのアレイ上のタンパク質の５０％以上がバイオマーカー検出パネルの自己抗体捕捉分子である。バイオマーカーパネルを含むタンパク質アレイは、いくつかの例示的な実施形態では、高密度アレイであってよい。

【０１６４】

本発明はまた、バイオマーカー検出パネルが、表１もしくは表１１ａ、または特定の好ましい実施形態では、表３から選択される２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０種以上の標的抗原を含み、この試験パネル

のタンパク質の少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、もしくは７５％が、それぞれ、表１、表１１ａ、または表３のタンパク質である、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを提供する。いくつかの好ましい実施形態では、このバイオマーカー検出パネルのタンパク質は、１つ以上の固体支持体上に提供され、そのパネルのタンパク質が結合している１つ以上の固体支持体上の少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または１００％のタンパク質は表１、表１１ａ、または表３のタンパク質である。いくつかの好ましい実施形態では、このバイオマーカー検出パネルのタンパク質はタンパク質アレイ上に提供され、アレイ上のタンパク質の少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、または７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または１００％はそのバイオマーカー検出パネルの自己抗体捕捉分子である。

【０１６５】

本発明は、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを提供し、このバイオマーカー検出パネルはＫＤＲまたはＰＩＭ－１、その一つの変異体、またはその一つ断片を含む。本発明は、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを提供し、このバイオマーカー検出パネルはＫＤＲおよびＰＩＭ－１、その複数の変異体、またはその複数の断片を含む。本発明は、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを提供し、このバイオマーカー検出パネルは、表１から選択される２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５、５０種以上の標的抗原を含み、ＫＤＲもしくはＰＩＭ－１の一方または両方、その複数の断片、またはその複数の変異体を含む。いくつかの好ましい実施形態では、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１の一方または両方を含むバイオマーカー検出パネルのタンパク質は１つ以上の固体支持体上に提供され、このパネルのタンパク質が結合されている１つ以上の固体支持体上のタンパク質の少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または１００％は表１のタンパク質である。いくつかの好ましい実施形態では、このバイオマーカー検出パネルのタンパク質は、アレイ上のタンパク質の少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、または７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または１００％が上記バイオマーカー検出パネルの自己抗体捕捉分子であるタンパク質アレイ上に提供される。

【０１６６】

いくつかの実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、もしくは１２種の表１、表１１ａ、または表３のタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、本発明の方法で使用されるバイオマーカー検出パネルは、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０種以上の表１、表１１ａ、または表３のタンパク質を含む。いくつかの実施形態では、試験試料を、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、もしくは３０種の表１、表１１ａ、または表３のタンパク質を含むバイオマーカー検出パネルと接触させる。バイオマーカー検出パネルは、表１、表１１ａ、または表３の３０～３５種の自己抗体捕捉分子、３５～４０種の自己抗体捕捉分子、４０～４５種の自己抗体捕捉分子、４５～５０種の自己抗体捕捉分子、５０～５５種の自己抗体捕捉分子、５５～６０種の自己抗体捕捉分子、６０～６５種の自己抗体捕捉分子、６５～７０種の自己抗体捕捉分子、７０～７５種の自己抗体捕捉分子、７５～８０種の自己抗体捕捉分子、８０～８５種の自己抗体捕捉分子、８５～９０種の自己抗体捕捉分子、９０～９５種の自己抗体捕捉分子、９５～１００種の自己抗体捕捉分子、１００～１０５種の自己抗体捕捉分子、もしくは１０５～１１０種の自己抗体捕捉分子を含むことができる。

【０１６７】

本発明の一実施形態は、表１または表１１ａからの３種の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカーパネルを提供する。表５ａは、３種の自己抗体捕捉分子を有する１０種の自己抗体検出セット（５－１から５－１０と名付けた）を提供する。表５ｂは、これらのバイ

オマーカーパネルの特異度および感度をそれらのベイジアン精度を含めて示す。両表はともに、データを標準化するために、公知の陽性対照（マウス抗ヒトＩｇＧ１など）を使用している。一実施形態では、３種の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカー検出パネルは、表５ａに提供されるパネルである。

【０１６８】

（表５ａ）ベイジアン精度、マーカーの識別によって並べた３種のマーカーのバイオマーカー検出パネル

標準化法	パネル	マーカー１	マーカー２	マーカー３
マウス抗ヒトIgG1	5-1	TOP2A	COVA1	RASSF1
ヤギ抗ヒトIgG	5-2	HEYL	RNF14	PCNA
マウス抗ヒトκ 6.3	5-3	IMP-2	XLKD1	PCNA
マウス抗ヒトκ 6.3	5-1	TOP2A	COVA1	RASSF1
プロテインＬ 1.6	5-4	a-ACPP	RPS6KA1	EIF4G1
マウス抗ヒトκ 6.3	5-5	HEYL	CCNA1	PCNA
プロテインＬ 1.6	5-6	a-Il-6	COVA1	RASSF1
プロテインＬ 1.6	5-7	SPRR1B	XLKD1	CCNB1
マウス抗ヒトκ 6.3	5-8	SPRR1B	CCNA1	RASSF1
プロテインＬ 1.6	5-9	a-Il-6	AZGP1(-SP)	COVA1
マウス抗ヒトIgG1	5-10	ZWINT	COVA1	RASSF1

【０１６９】

（表５ｂ）ベイジアン精度、統計値によって並べた３種のマーカーのバイオマーカー検出パネル

標準化法	パネル	AUC	特異度	感度	ベイジアン特異度	ベイジアン感度	ベイジアン精度
マウス抗ヒトIgG1	5-1	0.88158	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
ヤギ抗ヒトIgG	5-2	0.91228	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
マウス抗ヒトκ6.3	5-3	0.89474	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
マウス抗ヒトκ6.3	5-1	0.87719	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
プロテインＬ 1.6	5-4	0.87281	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
マウス抗ヒトκ6.3	5-5	0.86842	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
プロテインＬ 1.6	5-6	0.86404	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
プロテインＬ 1.6	5-7	0.86842	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
マウス抗ヒトκ6.3	5-8	0.85088	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
プロテインＬ 1.6	5-9	0.81579	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
マウス抗ヒトIgG1	5-10	0.80702	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%

【０１７０】

本発明の一実施形態は、表１または表１１ａからの４種の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカーパネルを提供する。表６ａは、４種の自己抗体検出分子を有する２１種の自己抗体検出セット（６－１から６－２１と名付けた）を提供する。表６ｂは、これらのバイオマーカーパネルの特異度および感度をそれらのベイジアン精度を含めて示す。この表は、データを標準化するために、公知の陽性対照（マウス抗ヒトＩｇＧ１など）を使用して

いる。本発明の一実施形態では、４種の自己抗体検出分子を含むバイオマーカー検出パネルは、表６ａに提供されるパネルである。

【０１７１】

（表６ａ）ベイジアン精度、マーカーの識別によって並べた４種のマーカーのバイオマーカー検出パネル

パネル	標準化法	マーカー１	マーカー２	マーカー３	マーカー４
6-1	プロテインＬ1.6	a-Il-6	TRA1(-SP)	XLKD1	PCNA
6-2	マウス抗ヒトκ6.3	ZWINT	ACPP	CCNA1	RASSF1
6-3	マウス抗ヒトκ6.3	a-ACPP	CCNA1	CD164	RASSF1
6-4	マウス抗ヒトIgG1	NCAM2	KHDRBS1	UBE2C	RASSF1
6-5	プロテインＬ1.6	a-Il-6	a-PSA (F)	RPS6KA1	EIF4G1
6-6	マウス抗ヒトIgG1	SPRR1B	RASSF1	XLKD1	CCND1
6-7	マウス抗ヒトIgG1	TOP2A	RNF14	CD164	RASSF1
6-8	プロテインＬ1.6	a-Il-8	CCNA1	CD164	RASSF1
6-9	プロテインＬ1.6	a-Il-6	a-PSA(T)	RPS6KA1	EIF4G1
6-10	ヤギ抗ヒトIgG	PTGER3	HMGA2	EGFR	COVA1
6-11	マウス抗ヒトIgG1	PTGER3	SPRR1B	NCAM2	RASSF1
6-12	マウス抗ヒトIgG1	SPRR1B	STIP1	RASSF1	H3GLB1
6-13	プロテインＬ1.6	a-Il-6	RPS6KA1	CD151	EIF4G1
6-14	マウス抗ヒトκ6.3	a-Il-6	NRP1	XLKD1	PCNA
6-15	マウス抗ヒトκ6.3	a-Il-8	ACPP	CCNA1	RASSF1
6-16	ヒトIgG 1.6	PTGER3	MAD1L1	SPRR1B	CCNA1
6-17	プロテインＬ1.6	RCV1	H3GLB1	CCNB1	PCNA
6-18	ヤギ抗ヒトIgG	MLH1	RPS6KA1	SPRR1B	RASSF1
6-19	プロテインＬ1.6	PTGER3	PSMB4	CCNA1	COVA1
6-20	プロテインＬ1.6	ZWINT	H3GLB1	CCNB1	EIF4G1
6-21	プロテインＬ1.6	TRA1(-SP)	H3GLB1	CCNB1	EIF4G1

【０１７２】

（表６ｂ）ベイジアン精度、統計値によって並べた４種のマーカーのバイオマーカー検出パネル

パネル	AUC	特異度	感度	ベイジアン特異度	ベイジアン感度	ベイジアン精度
6-1	0.89035	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
6-2	0.86842	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
6-3	0.89474	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
6-4	0.85965	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
6-5	0.89474	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-6	0.89035	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-7	0.88596	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
6-8	0.88158	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-9	0.87281	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-10	0.86404	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-11	0.85965	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-12	0.85526	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-13	0.85088	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
6-14	0.8114	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
6-15	0.7807	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
6-16	0.88596	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
6-17	0.82018	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
6-18	0.81579	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
6-19	0.81579	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
6-20	0.80702	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
6-21	0.79386	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%

【０１７３】

本発明の一実施形態は、表１または表１１ａからの５種の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカーパネルを提供する。表７ａは、５種の自己抗体検出分子を有する７種の自己抗体検出セット（７－１から７－７と名付けた）を提供する。表７ｂは、これらのバイオマーカーパネルの特異度および感度をそれらのベイジアン精度を含めて示す。この表は、データを標準化するために、公知の陽性対照（マウス抗ヒトＩｇＧ１など）を使用している。本発明の一実施形態では、５種の自己抗体検出分子を含むバイオマーカー検出パネルは、表７ａに提供されるパネルである。

【０１７４】

（表７ａ）ベイジアン精度、マーカーの識別によって並べた５種のマーカーのバイオマーカー検出パネル

マーカー	パネル	AUC	マーカー１	マーカー２	マーカー３	マーカー４	マーカー５
プロテインＬ1.6	7-1	0.91667	SPRR1B	CCNA1	ERG	CCNB1	PSIP1
マウス抗ヒトIgG1	7-2	0.90351	HEYL	CCNA1	ERG	KHDRBS1	PCNA
マウス抗ヒトIgG1	7-3	0.85965	HEYL	ERBB2	CCNA1	KHDRBS1	PCNA
ヒトIgG 1.6	7-4	0.82018	HEYL	RNF14	CCNB1	PCNA	EIF4G1
ヒトIgG 1.6	7-5	0.74561	HEYL	CCNA1	MMP9	BCLG	PCNA
マウス抗ビオチン25	7-6	0.74561	HEYL	BDKRB2	RNF14	HSPA5	PCNA
ヒトIgG 1.6	7-7	0.76316	HEYL	ERBB2	RNF14	CCNB1	PCNA

【０１７５】

（表７ｂ）ベイジアン精度、統計値によって並べた５種のマーカーのバイオマーカー検出パネル

パネル	AUC	特異度	感度	ベイジアン特異度	ベイジアン感度	ベイジアン精度
7-1	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
7-2	0.90351	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
7-3	0.85965	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
7-4	0.82018	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
7-5	0.74561	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
7-6	0.74561	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
7-7	0.76316	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%

【０１７６】

本発明の一実施形態は、表１または表１１ａからの６種の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカーパネルを提供する。表８ａは、６種の自己抗体検出分子を有する１８種の自己抗体検出セット（８－１から８－１８と名付けた）を提供する。表８ｂは、これらのバイオマーカーパネルの特異度および感度をそれらのベイジアン精度を含めて示す。この表は、データを標準化するために、公知の陽性対照（マウス抗ヒトＩｇＧ１など）を使用している。本発明の一実施形態では、６種の自己抗体検出分子を含むバイオマーカー検出パネルは、表８ａに提供されるパネルである。

【０１７７】

（表８ａ）ベイジアン精度、マーカーの識別によって並べた６種のマーカーのバイオマーカー検出セット

マーカーセット	方法	マーカー1	マーカー2	マーカー3	マーカー4	マーカー5	マーカー6
8-1	マウス抗ヒトκ6.3	ERBB2	CCNA1	KHDRBS1	RASSF1	NRP1	PCNA
8-2	マウス抗ビオチン25	MAD1L1	SPRR1B	HMGA2	ETS2	IMP-2	CCNB1
8-3	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ETS2	PCNA
8-4	ヒトIgG 1.6	HEYL	RPL30	ERBB2	CCNA1	MMP9	PCNA
8-5	マウス抗ヒトIgG1	HEYL	CCNA1	ERG	IMP-3	KHDRBS1	PCNA
8-6	ヒトIgG .4	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	CCNB1	EIF4G1
8-7	マウス抗ビオチン25	HEYL	BDKRB2	CCNA1	ERG	RASSF1	PCNA
8-8	マウス抗ビオチン25	HEYL	RNF14	ERG	AMACR	PCNA	EIF4G1
8-9	ヒトIgG 1.6	HEYL	PRL	BIRC5	CCNA1	CD164	PCNA
8-10	マウス抗ビオチン25	HSPB1	SPRR1B	HMGA2	ERG	IMP-2	CCNB1
8-11	ヒトIgG .4	a-ACPP	PSAP	CCNA1	ERG	MICB	EIF4G1
8-12	マウス抗ヒトκ6.3	a-Il-8	E7	BDKRB2	CCNA1	RASSF1	EIF4G1
8-13	マウス抗ビオチン25	HEYL	RNF14	STEAP	BCLG	CCNB1	PCNA
8-14	ヒトIgG 1.6	HEYL	CCNA1	ERG	MMP9	CCND1	PCNA
8-15	マウス抗ビオチン25	HEYL	BDKRB2	CCNA1	ETS2	RASSF1	PCNA
8-16	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PTGER3	ENO1	CCNA1	PCNA
8-17	マウス抗ビオチン25	HEYL	CLDN3	RNF14	BCLG	CCNB1	PCNA
8-18	マウス抗ビオチン25	MYC	PSAP	NCAM2	ETS2	CCNB1	EIF4G1

【０１７８】

（表８ｂ）ベイジアン精度、統計値によって並べた６種のマーカーのバイオマーカー検出セット

マーカーセット	AUC	特異度	感度	ベイジアン特異度	ベイジアン感度	ベイジアン精度
8-1	0.99123	100.00%	94.74%	92.86%	90.48%	93.94%
8-2	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
8-3	0.94298	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
8-4	0.9386	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
8-5	0.91228	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
8-6	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
8-7	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
8-8	0.89035	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
8-9	0.86404	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
8-10	0.84211	100.00%	84.21%	92.86%	80.95%	87.88%
8-11	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
8-12	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
8-13	0.77193	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
8-14	0.74561	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
8-15	0.74561	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
8-16	0.70175	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
8-17	0.70175	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%
8-18	0.70175	83.33%	84.21%	78.57%	80.95%	81.82%

【０１７９】

本発明の一実施形態は、表１または表１１ａからの７種の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカーパネルを提供する。表９ａは、７種の自己抗体検出分子を有する８１種の自己抗体検出セット（９－１から９－８１と名付けた）を提供する。表９ｂは、これらのバイオマーカーパネルの特異度および感度をそれらのベイジアン精度を含めて示す。この表は、データを標準化するために、公知の陽性対照（ヒトＩｇＧ　１．６など）を使用している。本発明の一実施形態では、７種の自己抗体検出分子を含むバイオマーカー検出パネルは、表９ａに提供されるパネルである。

【０１８０】

（表９ａ）ベイジアン精度、マーカーの識別によって並べた７種のマーカーのバイオマーカー検出セット

パネル	方法	マーカー 1	マーカー 2	マーカー 3	マーカー 4	マーカー 5	マーカー 6	マーカー 7
9-1	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	MAD1L1	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-2	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	IMP-3	PCNA
9-3	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	PIM1	PCNA
9-4	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ETS2	RDH11	PCNA
9-5	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PRSS8	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-6	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	KHDRBS 1	PCNA
9-7	ヒト IgG .4	a-ACPP	MYC	PSAP	CCNA1	ETS2	MICB	EIF4G1
9-8	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	HSPB1	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-9	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	PSMB4	CCNA1	ERG	PCNA
9-10	ヒト IgG 1.6	HEYL	ACPP	CCNA1	ERG	TPD52	PSA	PCNA
9-11	ヒト IgG 1.6	a-PSA(T)	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-12	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	FLT1	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-13	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	MUC1	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-14	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	SPRR1B	CCNA1	ERG	PCNA
9-15	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	MMP9	PCNA
9-16	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	TPD52	PCNA
9-17	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	CCNA1	ERG	MMP9	CCKBR	PCNA
9-18	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ETS2	KHDRBS 1	PCNA
9-19	ヒト IgG .4	a-ACPP	PSAP	QSCN6	CCNA1	ETS2	MICB	EIF4G1
9-20	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	HSPD1	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-21	ヒト IgG .4	a-ACPP	BIRC5	CCNA1	RNF14	MICB	CCNB1	EIF4G1
9-22	ヒト IgG .4	a-ACPP	PSAP	CCNA1	ETS2	MICB	RDH11	EIF4G1
9-23	ヒト IgG .4	BIRC5	CCNA1	RNF14	MICB	ELAC1	CCNB1	EIF4G1
9-24	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	CAV3	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-25	ヒト IgG 1.6	HEYL	TP53	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-26	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	LGALS8	PCNA
9-27	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	HMGA2	CCNA1	ERG	MMP9	PCNA
9-28	ヒト IgG .4	a-ACPP	PSAP	CCNA1	ERG	MICB	UBE2C	EIF4G1
9-29	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	ELAC1	PCNA
9-30	ヒト IgG .4	RCV1	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	CCNB1	EIF4G1
9-31	ヒト IgG .4	BDKRB2	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	CCNB1	EIF4G1
9-32	ヒト IgG .4	BDKRB2	CCNA1	RNF14	ETS2	MICB	CCNB1	EIF4G1

9-33	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	RASSF1	PCNA
9-34	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	PSA	PCNA
9-35	ヒトIgG .4	EIF3S3	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	CCNB1	EIF4G1
9-36	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	RCV1	CCNA1	ERG	PCNA
9-37	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	CCNA1	ERG	MMP9	HOXB13	PCNA
9-38	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	CCNA1	MMP9	ETS2	HOXB13	PCNA
9-39	ヒトIgG 1.6	HEYL	ACPP	FLT1	CCNA1	ERG	MMP9	PCNA
9-40	ヒトIgG 1.6	HEYL	MET	BDKRB2	CCNA1	MMP9	H3GLB1	PCNA
9-41	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	BCL2	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-42	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	HOXB13	PCNA
9-43	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	HIP1	PCNA
9-44	ヒトIgG .4	a-ACPP	PTGER3	PSAP	CCNA1	ETS2	MICB	EIF4G1
9-45	ヒトIgG 1.6	a-BCL2	HEYL	BDKRB2	CCNA1	ERG	MMP9	PCNA
9-46	ヒトIgG 1.6	a-Il-6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-47	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PTGS1	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-48	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	UBE2C	PCNA
9-49	ヒトIgG .4	a-ACPP	PSAP	QSCN6	CCNA1	ERG	MICB	EIF4G1
9-50	ヒトIgG .4	MAD1L1	CCNA1	NRP1	CCNB1	CCKBR	PCNA	EIF4G1
9-51	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	CXCR4	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-52	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	KDR	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-53	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	TRA1(-SP)	CCNA1	ERG	PCNA
9-54	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	ALOX15	PCNA
9-55	ヒトIgG .4	a-Il-8	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	CCNB1	EIF4G1
9-56	ヒトIgG .4	CCNA1	RNF14	ETS2	MICB	PDLIM1	CCNB1	EIF4G1
9-57	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	BCLG	PCNA
9-58	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	CCKBR	PCNA
9-59	ヒトIgG 1.6	HEYL	ACPP	CCNA1	ERG	MMP9	KHDRBS1	PCNA
9-60	ヒトIgG .4	a-ACPP	PTEN	PSAP	CCNA1	ERG	MICB	EIF4G1
9-61	ヒトIgG .4	a-ACPP	PSAP	CCNA1	ERG	NCAM2	MICB	EIF4G1
9-62	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	BCL2	CCNA1	ERG	MMP9	PCNA
9-63	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CUL4A	CCNA1	ERG	PCNA
9-64	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	BRD2	PCNA
9-65	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	CD164	PCNA
9-66	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	CCNA1	ERG	GDF15(-SP)	HOXB13	PCNA
9-67	ヒトIgG 1.6	HEYL	MET	BDKRB2	CCNA1	MMP9	TMPRSS2	PCNA
9-68	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	BIRC5	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-69	ヒトIgG .4	a-Pter2	PTGER3	HSPB1	HSPD1	CCNA1	MICB	EIF4G1
9-70	ヒトIgG .4	a-ACPP	BIRC5	PSAP	CCNA1	GDF15(-SP)	MICB	EIF4G1
9-71	ヒトIgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	STEAP	PCNA

9-72	ヒト IgG .4	a-ACPP	PTGER3	PSAP	CCNA1	ERG	MICB	EIF4G1
9-73	ヒト IgG .4	a-ACPP	PSAP	CCNA1	ERG	MICB	RDH11	EIF4G1
9-74	ヒト IgG .4	a-ACPP	PSAP	CCNA1	GDF15(-SP)	ETS2	MICB	EIF4G1
9-75	ヒト IgG .4	PRL	HSPB1	EIF3S3	CCNA1	ERG	MICB	EIF4G1
9-76	ヒト IgG 1.6	a-CXCR4	HEYL	ACPP	CCNA1	ERG	PSA	PCNA
9-77	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	CCNA1	ERG	EGFR	PCNA
9-78	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	RPL30	PSAP	CCNA1	ERG	PCNA
9-79	ヒト IgG .4	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	PDLIM1	CCNB1	EIF4G1
9-80	ヒト IgG .4	CCNA1	RNF14	ERG	MICB	MIB1	CCNB1	EIF4G1
9-81	ヒト IgG 1.6	HEYL	BDKRB2	PSAP	SFRP4	CCNA1	ERG	PCNA

【０１８１】

（表９ｂ）ベイジアン精度、統計値によって並べた７種のマーカーのバイオマーカー検出セット

パネル	AUC	特異度	感度	ベイジアン特異度	ベイジアン感度	ベイジアン精度
9-1	1	100.00%	100.00%	92.86%	95.24%	96.97%
9-2	1	100.00%	100.00%	92.86%	95.24%	96.97%
9-3	1	100.00%	100.00%	92.86%	95.24%	96.97%
9-4	1	100.00%	100.00%	92.86%	95.24%	96.97%
9-5	0.99561	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-6	0.99123	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-7	0.94737	100.00%	94.74%	92.86%	90.48%	93.94%
9-8	0.94737	100.00%	94.74%	92.86%	90.48%	93.94%
9-9	0.94737	100.00%	94.74%	92.86%	90.48%	93.94%
9-10	0.94737	100.00%	94.74%	92.86%	90.48%	93.94%
9-11	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-12	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-13	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-14	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-15	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-16	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-17	0.91667	91.67%	100.00%	85.71%	95.24%	93.94%
9-18	0.98246	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-19	0.94298	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-20	0.94298	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-21	0.9386	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-22	0.9386	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-23	0.9386	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-24	0.9386	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-25	0.93421	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-26	0.91228	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-27	0.91228	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-28	0.90789	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-29	0.90789	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%

9-30	0.89474	100.00%	89.47%	92.86%	85.71%	90.91%
9-31	0.86842	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-32	0.86842	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-33	0.86842	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-34	0.86842	91.67%	94.74%	85.71%	90.48%	90.91%
9-35	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-36	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-37	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-38	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-39	0.83333	83.33%	100.00%	78.57%	95.24%	90.91%
9-40	0.92982	100.00%	84.21%	92.86%	80.95%	87.88%
9-41	0.92544	100.00%	84.21%	92.86%	80.95%	87.88%
9-42	0.92105	100.00%	84.21%	92.86%	80.95%	87.88%
9-43	0.89912	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-44	0.86404	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-45	0.86404	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-46	0.86404	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-47	0.86404	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-48	0.86404	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-49	0.85965	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-50	0.85965	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-51	0.85965	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-52	0.85965	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-53	0.85965	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-54	0.82456	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-55	0.82018	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-56	0.82018	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-57	0.82018	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-58	0.82018	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-59	0.82018	91.67%	89.47%	85.71%	85.71%	87.88%
9-60	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-61	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-62	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-63	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-64	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-65	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-66	0.78947	83.33%	94.74%	78.57%	90.48%	87.88%
9-67	0.92105	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-68	0.85088	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
9-69	0.81579	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-70	0.80702	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
9-71	0.80702	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
9-72	0.78509	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-73	0.78509	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-74	0.78509	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-75	0.78509	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-76	0.78509	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-77	0.78509	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%

9-78	0.77632	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-79	0.77193	91.67%	84.21%	85.71%	80.95%	84.85%
9-80	0.74561	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%
9-81	0.74561	83.33%	89.47%	78.57%	85.71%	84.85%

【０１８２】

表５、表６、表７、表８、および表９の２種以上の統計的に有意な分類器（ｃｌａｓｓｉｆｉｅｒ）の少なくとも１０％に存在する個々のマーカー（自己抗体捕捉分子）を表１０に提供する。マーカー（自己抗体捕捉分子）が同定された統計的に有意な分類器の１０％以上に存在する（７つのうちの）標準化法の数が提供される。標準化は、種々の陽性対照を用いて種々の濃度で行った。さらに、（自己抗体捕捉分子）が同定された統計的に有意な分類器の１０％以上に存在する標準化法の割合（％）が提供される。

【０１８３】

（表１０）ＢＰＨ対前立腺癌について１０％以上の統計的に有意な分類器を有する標的抗原

マーカー	マーカーが分類器の10%以上に存在した標準化法の数	標準化法の割合（%）	マーカー	マーカーが分類器の10%以上に存在した標準化法の数	標準化法の割合（%）
CCNA1	6	85.71%	a-ACPP	2	28.57%
PCNA	6	85.71%	a-Il-6	2	28.57%
HEYL	5	71.43%	ZWINT	2	28.57%
SPRR1B	5	71.43%	ERBB2	2	28.57%
RASSF1	5	71.43%	TOP2A	2	28.57%
RNF14	4	57.14%	RPS6KA1	2	28.57%
ERG	4	57.14%	HMGA2	2	28.57%
COVA1	4	57.14%	NCAM2	2	28.57%
EIF4G1	4	57.14%	ETS2	2	28.57%
BDKRB2	3	42.86%	CD164	2	28.57%
PTGER3	3	42.86%	IMP-2	2	28.57%
PSAP	3	42.86%	KHDRBS1	2	28.57%
XLKD1	3	42.86%	H3GLB1	2	28.57%
CCNB1	3	42.86%			

【０１８４】

本発明のバイオマーカー検出パネルとしては、本願に開示される任意のバイオマーカー検出パネルが特に挙げられているが、これに限定されるものではない。いくつかの好ましい実施形態では、このバイオマーカーパネルは、少なくとも１種の表２の自己抗体捕捉分子を含む。いくつかの好ましい実施形態では、バイオマーカーパネルのタンパク質の少なくとも１種は表１０から選択される。いくつかの好ましい実施形態では、バイオマーカーパネルは、表５、表６、表７、表８、または表９の少なくとも１種のバイオマーカー検出セットを含む。

【０１８５】

本発明のバイオマーカー検出パネルは、抗体ではないタンパク質もしくはタンパク質断片を含むことができ、抗体であるタンパク質（ＡＣＰＰ、ＢＣＬ２、ＣＸＲ４、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＰＳＡ（遊離）、ＰＳＡ（全体）、またはＰＴＧＥＲ２に対する抗体が挙げられるがこれらに限定されない）も含むことができる。いくつかの実施形態では、バイオマーカー検出パネルは、表１または表１１ａの標的抗原のいずれかに対する抗体を含むことができる。本発明のバイオマーカー検出パネルはまた、表１に列挙されておらずかつ表１または表１１ａの標的抗原に対する抗体ではない１つ以上の抗体も含むことができる。

非限定的な例として、ＰＡＰまたはＰＳＭＡに対する抗体もまた、本発明のバイオマーカー検出パネルの一部分であってよい。

【０１８６】

本発明には、バイオマーカー検出パネルが表１または表１１ａから選択される２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、２種以上の自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種が個体の試料由来の自己抗体に結合している、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを含む組成物もまた包含される。本発明は、バイオマーカー検出パネルが３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０種、またはこれより多い、表１または表１１ａから選択される自己抗体捕捉分子を含み、この２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が個体の試料由来の自己抗体に結合している、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを含む。

【０１８７】

本発明は、バイオマーカー検出パネルがＫＤＲおよびＰＩＭ－１、その変異体、またはそれらの断片を含み、２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が個体の試料由来の自己抗体に結合している、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを提供する。本発明は、バイオマーカー検出パネルが３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０種またはこれより多い自己抗体捕捉分子を含み、自己抗体捕捉分子の少なくとも１種がＫＤＲまたはＰＩＭ－１であり、この２種以上の自己抗体捕捉分子の少なくとも１種が個体の試料由来の自己抗体に結合している、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを含む。いくつかの実施形態では、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１自己抗体捕捉分子の少なくとも１つは個体の試料由来の自己抗体に結合している。いくつかの実施形態では、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１自己抗体捕捉分子の両方が個体の試料由来の自己抗体に結合している。

【０１８８】

本発明には、バイオマーカー検出パネルが表３から選択される２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、アレイの表３の自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種が個体の試料由来の自己抗体に結合している、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを含む組成物もまた包含される。本発明には、バイオマーカー検出パネルが表３から選択される２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、アレイが少なくとも１種の表１０の自己抗体捕捉分子を含み、このアレイの表３の自己抗体捕捉分子のうちの少なくとも１種が個体の試料由来の自己抗体に結合している、前立腺癌を診断、予測、モニター、または病期決定するためのバイオマーカー検出パネルを含む組成物もまた包含される。試料由来の抗体を結合しているアレイは、このアレイに結合しているタンパク質の少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、または９５％が表３のタンパク質であるアレイであってよい。

【０１８９】

自己抗原／自己抗体バイオマーカー検出パネルを同定するための方法

本開示は、他の癌に類似して、癌進行によって変化する生物学的経路（免疫学的経路を含む）の知見、ならびに正常な前立腺細胞と比べて前立腺癌細胞中で過剰発現され、不適切に発現され、または異なって改変もしくは分解されたタンパク質の一覧を収集するための文献調査に基づき、前立腺癌と関連付けられる自己抗体の集団およびそのパネルを同定するものである。類似の方法は、例えば、乳癌、肺癌、結腸直腸癌、脳癌、胃癌、膀胱癌、膵臓癌、卵巣癌、肝癌、白血病など、他の癌に対して使用することができる。従って、本願明細書に提供される方法は、標的癌を有していない個体とは異なって標的癌を有する個体由来の試料中に存在する１つ以上の自己抗原または自己抗原の１つ以上のパネルを同定するための方法であり、該方法は、正常な細胞もしくは良性の病状の細胞と比べて標的

癌中で過剰発現され、不適切に発現され、または異なって改変もしくは分解されたタンパク質を同定する段階と、１種以上の、２種以上の、３種以上、４種以上、５種以上、１０種以上、２０種以上、２５種以上、１００種以上、２００種以上、２５０種以上、５００種以上、または１０００種以上の同定されたタンパク質を含むバイオマーカー検出パネルに対して、標的癌を有する個体由来の試料の免疫反応性のパターンを、癌を有しない個体の試料と比較し、その標的癌を有しない個体由来の試料と比較してその標的癌を有する個体由来の試料中で異なって存在する該同定されたタンパク質に対する抗体が、該同定されたタンパク質をその標的癌に対する自己抗原として同定するイムノアッセイ法を実施する段階とを含む。特定の態様では、この方法はさらに、標的癌を有する異なる個体に由来する一群の試料についてこのイムノアッセイ法を繰返す段階と、標的癌を有しない異なる個体に由来する一群の試料についてこのイムノアッセイ法を繰返す段階とを含む。

【０１９０】

タンパク質抗原を合成するための方法

本願明細書に提供される方法、キット、およびシステムは、典型的にはタンパク質抗原である自己抗原を含む。本願明細書に提供される方法で使用されるタンパク質抗原を得るため、公知の方法が、高スループット分析に適用できる容易に大規模に実現可能な形式で、ウイルス、原核生物または真核生物のタンパク質を作製し単離するために使用できる。例えば、自動化技術に適合するアレイ形式でタンパク質を合成し精製する方法がこれに含まれる。

【０１９１】

いくつかの例示的な実施形態では、タンパク質は、生体外合成系または細胞培養系を使用して遺伝子構築物から発現される。タンパク質合成を駆動するための誘導性プロモーターを有する任意の発現構築物を、本発明の方法に従って使用することができる。この発現構築物は、例えば、形質転換に使用される細胞型に合わせて作成してよい。発現構築物と宿主細胞との間の適合性は、当該技術分野で公知であり、その変異体の使用もまた本発明が企図するものである。

【０１９２】

それゆえ、一実施形態では、本発明のためのタンパク質マイクロアレイにおいて、真核生物のタンパク質を作製し単離するための方法は、調節配列に作動可能に結合された異種配列を有するベクターで形質転換された細胞を増殖させる段階と、この調節配列をこの異種配列によってコードされるタンパク質の発現を高める誘導因子と接触させる段階と、この細胞を溶解する段階と、タンパク質と結合剤との間の複合体が形成されるようにこのタンパク質を結合剤と接触させる段階と、この複合体を壊死細胞片から単離する段階と、このタンパク質をこの複合体から単離する段階とを含み、各段階が９６ウェル形式で行われることを特徴とする。例えば、細菌細胞、酵母細胞、哺乳類細胞、または昆虫細胞がタンパク質の製造のために使用することができる。

【０１９３】

特定の実施形態では、真核生物のタンパク質は、９６アレイ形式（すなわち、処理が行われる固体支持体上の各部位は９６個の部位のうちの１つである）、例えば、９６ウェルマイクロタイタープレートで作製し、精製することができる。別の実施形態では、この固体支持体はタンパク質に結合しない（例えば、非タンパク質結合性マイクロタイタープレート）。

【０１９４】

特定の実施形態では、タンパク質は、当該技術分野で一般的に知られている方法に従って生体外翻訳によって合成される。例えば、コムギ胚芽発現（ＷＧＥ）系を、自己抗体捕捉分子として使用されるタンパク質を合成するために使用できる。種々の市販のＷＧＥ系が利用でき、本研究の大部分はセルフリーサイエンス（Ｃｅｌｌ　Ｆｒｅｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ）ＷＧＥ系（日本、横浜）を使用して行われた。あるいは、自己抗体捕捉分子として使用されるタンパク質は、他の生体外合成系または細胞培養物中で合成できる。非限定的な例として、Ｅ．ｃｏｌｉ生体外翻訳系または網状赤血球溶解質生体外翻訳系を自己抗

体捕捉分子の合成ために使用することができる。自己抗体捕捉分子として使用されるタンパク質は、生物、例えば、血清から単離することもできる。

【０１９５】

いくつかの例示的な実施形態では、タンパク質は生体外でまたは細胞培養系でＧＳＴ－融合構築物として合成され、細胞培養物または無細胞発現系から、ＧＳＴ－ビーズまたはカラムを使用して精製される。インビトロジェンのアルティメイト（商標）ＯＲＦクローンコレクションは、非常に多くの抗原を容易に生成するための理想的なプラットフォームである。

【０１９６】

特定の実施形態では、この融合タンパク質はＧＳＴタグを有し、このタンパク質をグルタチオンビーズと接触させることにより、親和性によって精製される。さらなる実施形態では、融合タンパク質が結合したこのグルタチオンビーズは、９６ウェルボックス中でフィルタープレートを使用することなく洗浄することができ、その結果、試料の取扱いが容易になり、試料の交差汚染が防止できる。

【０１９７】

加えて、融合タンパク質は、結合している化合物（例えば、グルタチオンビーズ）から溶出緩衝液を用いて溶出することができ、所望のタンパク質濃度を提供することができる。具体的な実施形態では、融合タンパク質は、グルタチオンビーズから溶出緩衝液を用いて溶出され、所望のタンパク質濃度が提供される。

【０１９８】

最終的に顕微鏡用スライド上にスポッティングされる精製されたタンパク質のために、このグルタチオンビーズは、精製されたタンパク質から分離される。一例では、精製されたタンパク質を固体支持体上にスポッティングするために使用されるマイクロアレイのピンをブロックしないようにするため、このグルタチオンビーズのすべてが取り除かれる。一実施形態では、このグルタチオンビーズは、例えば、非タンパク質結合性固体支持体を含むフィルタープレートを使用して精製されたタンパク質から分離される。精製されたタンパク質を含有する溶出液を濾過すると、９０％を超えるタンパク質が回収されるはずである。

【０１９９】

溶出緩衝液は、例えば、高粘性の液体（例えば、１５％～５０％グリセロールなど、例えば、約４０％グリセロール）を含んでいてよい。このグリセロール溶液は、溶液中でタンパク質を安定化し、マイクロアレイヤを使用するプリント段階の間、タンパク質溶液の乾燥を防止する。

【０２００】

精製されたタンパク質は、例えば、そのタンパク質を安定化し、試料の乾燥を防止する媒体中に保存してよい。例えば、精製されたタンパク質は、高粘性の液体（例えば、１５％～５０％グリセロールなど、例えば、約４０％グリセロール中）中に保存できる。一例では、試料は、凍結／解凍サイクルによって引き起こされるタンパク質活性の喪失を回避するために、精製されたタンパク質を含有するアリコートにしてもよい。

【０２０１】

精製手順は所望のタンパク質純度のレベルを制御するように調整できることは、当業者には理解できる。いくつかの例では、関心対象のタンパク質と会合する分子の単離が所望される。例えば、関心対象の過剰産生されたタンパク質を含む二量体、三量体、またはより高次のホモタイプもしくはヘテロタイプの複合体は、本願明細書に提供される精製方法、またはその修正法を用いて単離することができる。さらに、会合した分子は、個々に単離することができ、当該技術分野で公知の方法（例えば、質量分析）を使用して同定することができる。

【０２０２】

タンパク質抗原は、ひとたび産生されると、「位置的にアドレス指定可能な」アレイの一部分として本願明細書に提供されるバイオマーカーパネル、方法およびキットで使用す

ることができる。このアレイは、複数の標的抗原を含み、各標的抗原は固体支持体上の異なる位置に存在する。このアレイは、例えば、１、２、３、４、５、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、４０、５０、１００、２００、３００、４００、または５００種の異なるタンパク質を含むことができる。このアレイは、１、２、３、４、５、１０、１５、２０、２５、５０、１００種またはすべての表１のタンパク質を含むことができる。一態様では、アレイ上のタンパク質の大部分は、一緒に自己抗原バイオマーカー検出パネルに提供されたとき、特定の疾患もしくは医学的状態についての診断値を有し得る自己抗原として同定されるタンパク質を含む。

【０２０３】

一態様では、上記タンパク質アレイはビーズ系アレイである。別の態様では、上記タンパク質アレイは平面アレイである。例えばコンタクトプリンティングによるタンパク質アレイを作製するための方法は周知である。いくつかの実施形態では、検出はタンパク質アレイ上で実施することができ、このタンパク質アレイは、マイクロアレイであってよく、そして任意に少なくとも１００／ｃｍ^{2}または１０００／ｃｍ^2、または４００／ｃｍ^{2}より高い濃度でタンパク質を含むマイクロアレイであってよい。

【０２０４】

この実施形態では、アミノ末端タグ化ＧＳＴタンパク質が利用された。タンパク質は、３８６ウェルのプリンティング「マスタープレート」に入れられた。

【０２０５】

キット

本発明の特定の実施形態では、キットが提供される。従って、いくつかの実施形態では、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０～３４、３５～３９、４０～４４、４５～４９、５０～５４、５５～５９、６０～６４、６５～６９、７０～７４、７５～７９、８０～８４、８５～８９、９０～９４、９５～１００、１００～１０５、または１０６～１０８種の表１に提供される自己抗体捕捉分子を含むキットが提供される。本発明のキットは、本願明細書に開示されるバイオマーカー検出パネルのいずれを含むことができ、例としては、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含むバイオマーカーパネル、表１の２種以上のバイオマーカー捕捉分子を含み、この捕捉分子の１つ以上が表３のタンパク質であるバイオマーカーパネル、表３の２種以上のバイオマーカー捕捉分子を含むバイオマーカーパネル、表１の２種以上の自己抗体捕捉分子を含み、この捕捉分子の１つ以上が表１０の自己抗体捕捉分子であるバイオマーカーパネル、および表５の３種のマーカーのバイオマーカー検出セット、表６の４種のマーカーのバイオマーカー検出セット、表７の５種のマーカーのバイオマーカー検出セット、表８の６種のマーカーのバイオマーカー検出セット、または表９の７種のマーカーのバイオマーカー検出セットを含むバイオマーカーパネルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２０６】

いくつかの好ましい実施形態では、本発明のキットは、ＫＤＲ（例えば、ＫＤＲ、またはその変異体もしくは断片）に対する自己抗体に結合する自己抗体捕捉分子、またはＰＩＭ－１（例えば、ＰＩＭ－１、またはその抗体もしくは断片）に対する自己抗体に結合する自己抗体捕捉分子を含むことができる。本発明のキットは、ＫＤＲ（例えば、ＫＤＲ、またはその変異体もしくは断片）に対する自己抗体に結合する自己抗体捕捉分子、およびＰＩＭ－１（例えば、ＰＩＭ－１、またはその抗体もしくは断片）に対する自己抗体に結合する自己抗体捕捉分子を含むことができる。このキットはさらに、他の自己抗体捕捉分子（表１に提供されるものが挙げられるが、これに限定されない）を含むことができる。キットは、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、またはＫＤＲとＰＩＭ－１との両方を含むバイオマーカー検出パネルを含むことができる。検出パネルは、任意の数の自己抗体捕捉分子、例えば、１～１０、１０～２０、２０～３０、３０～４０、４０～５０、５０～１００種、または１００種より多い自己抗体捕捉分子を含むことができる。

【０２０７】
キットは、１つ以上の陽性対照、１つ以上の陰性対照、および／または１つ以上の標準化対照を含むことができる。
【０２０８】
このキットのタンパク質は、例えば、固体支持体上または表面上に固定されていてもよい。このタンパク質は、例えば、アレイに固定されていてもよい。タンパク質マイクロアレイは、Ｌｕｍｉｎｅｘ技術（Ｌｕｍｉｎｅｘ　Ｃｏｒｐ．、テキサス州、オースチン）などのビーズ技術を使用してよい。試験タンパク質アレイは、少なくとも１００タンパク質／ｃｍ^{2}を含む高密度タンパク質マイクロアレイであってもよいし、そうでなくてもよい。このキットは、アレイ上に固定された、本願明細書に記載されているようなタンパク質のバイオマーカー検出パネルを提供することができる。アレイ上に固定されたタンパク質の少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％は、バイオマーカー試験パネル（ｐａｎｅ）のタンパク質であってよい。このアレイは、そのアレイ上に固定された１つ以上の陽性対照タンパク質、１つ以上の陰性対照、および／または１つ以上の標準化対照を含むことができる。
【０２０９】
キットはさらに、バイオマーカー検出パネルのタンパク質（例えば、ヒト抗体に結合する種特異的抗体（例えば、抗ヒトＩｇＧ抗体など））に対するヒト抗体の結合を検出するための、検出試薬および／または１つ以上のレポーター試薬を含んでよい。この種特異的抗体は、検出可能な標識に結合されていてよい。
【０２１０】
キットはさらに、種々の免疫反応性アッセイ法（ＥＬＩＳＡなど）、または当業者に公知の他のイムノアッセイ技法に有用な試薬を含んでよい。このキット試薬を使用することができるアッセイ法は、競合アッセイ法、サンドイッチアッセイ法、試験ストリップアッセイ法であってよく、この標識は、ラジオイムノアッセイ法、蛍光イムノアッセイ法または化学発光イムノアッセイ法に使用される周知の標識の群から選択されてよい。
【０２１１】
キットは、本願明細書に記載される試薬を任意の組合せで含むことができる。例えば、１つの態様では、そのキットは、固体支持体上に固定された、本願明細書に提供されるバイオマーカー検出パネル、および溶液中での検出もしくは固体支持体上での検出のための抗ヒト抗体を含む。この検出抗体は、標識を含むことができる。
【０２１２】
このキットはまた、本願明細書に提供される方法を実行するため、キットを使用して実施される方法の結果を分析するためのコンピュータ可読形式のプログラムを含むことができる。
【０２１３】
本発明のキットはまた、任意の数の別々の容器、小包（ｐａｃｋｅｔ）、チューブ、バイアル、マイクロタイタープレートなどの中に１つ以上の要素を含んでいてもよいし、またはこの要素は、かかる容器中で種々の組合せで組合せられていてよい。
【０２１４】
本発明のキットはまた、本願明細書に記載される１つ以上の方法を実施するための使用説明書および／または本願明細書に記載される１つ以上の組成物もしくは試薬の解説書を含んでよい。使用説明書および／または解説書は、印刷物であってもよく、キット挿入物に含まれていてもよい。キットはまた、かかる使用説明書または解説書を提供するインターネット上の位置についての解説書を含んでいてもよい。
【０２１５】
実施例
以下に示す実施例は、本発明を例証するが、限定はしない。
【０２１６】

実施例１：診断用自己抗原のための試験タンパク質アレイ
より高い特異度とともに少なくとも標準的ＰＳＡ試験と同じ高さの感度（８０％）を有するバイオマーカー検出パネルを探索した。
【０２１７】
実験の設計
タンパク質アレイを、平面的なニトロセルロース基材上にタンパク質をスポッティングすることにより製作した。このアレイの全体的な設計を図１に図示する。図１は、表１に列挙する１０８種の抗原および８種の抗体の診断的利用を試験するために使用したアレイの半分を示している。抗原および抗体は、生物学的実験、癌進行によって変化する生物学的経路（免疫学的経路を含む）の知見、他の癌との類似性、ならびに正常な前立腺細胞と比べて前立腺癌細胞中で過剰発現され、不適切に発現され、または異なって改変もしくは分解されたタンパク質の一覧を収集するための文献調査に基づき、選択した。
【０２１８】
表１は、第１の縦列（「マーカー」）に、本願全体を通して自己抗体捕捉分子に対して使用する用語を提供する。第２の縦列は、ヒト遺伝子解析機構（Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎｏｍｅ　Ｏｒｇａｎｉｚａｔｉｏｎ）（ＨＵＧＯ）によって使用されるタンパク質についての用語を提供する。科学文献で使用されるこれらのタンパク質の他の名称を縦列３に提供し、縦列４は、Ｇｅｎｂａｎｋ遺伝子識別子および参照配列識別番号（ＩＤ）を提供する。この表はまた、縦列５にそのタンパク質の合成方法および／または供給元も提供する。
【０２１９】
これらのタンパク質を生体外で合成し（１０８種のうち１０３種はコムギ胚芽抽出物を使用し、ほとんどの場合、セルフリーサイエンスＷＧＥシステム（日本、横浜）を使用した）、またはいくつかの場合には、Ｅ．ｃｏｌｉで合成されたかまたはヒト血清から単離されたタンパク質として、市販品を入手した。広範囲のヒトＯＲＦコレクションを含め、インビトロジェン社（カリフォルニア州、カールスバッド、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ．ｃｏｍ）から入手できる種々のクローンをテンプレートとして使用した。無細胞発現したタンパク質を精製タグ（例えば、ＧＳＴカラムを使用するＧＳＴ－融合ベクター）を使用して精製し、次いで高スループット電気泳動（例えば、Ａｇｉｌｅｎｔバイオアナライザー）を使用して品質管理を確認した（正しい分子量および純度）。抗体は、市販品を入手した。
【０２２０】
（図１に示す）チップアレイは、対照として、１１３７個の空のスポット（タンパク質なし）、３５個のＡｌｅｘａ　４８８基準、１６個のＡｌｅｘａ　５５５基準、２４個のＡｌｅｘａ　６４７基準、８ステージの濃度のグルタチオン　Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）、８ステージの濃度のウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）、３ステージの濃度のマウス抗ヒトκ抗体（陽性対照）、３ステージの濃度のマウス抗ヒトＩｇＧ１抗体（陽性対照）、３ステージの濃度のヤギ抗マウスビオチン、３ステージの濃度のマウス抗ビオチン、３ステージの濃度のプロテインＬ（細菌Ｐｅｐｔｏｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｍａｇｎｕｓ由来の免疫グロブリン結合タンパク質）、３ステージの濃度のヤギ抗ヒトＩｇＧ、および３ステージの濃度のヒトＩｇＧも含んでいた。陽性対照は、５～８ステージの異なる濃度でスポッティングした。
【０２２１】
次いで、品質管理を確認したタンパク質抗原を、種々の表面（ニトロセルロース、アミン基改質表面またはエポキシ基改質表面が挙げられるがこれらに限定されない）を有するスライド上にプリントした。ニトロセルロースは、これらの表面の中で最も大きい結合能を有するため、これを最終の試験チップバージョン３に対して使用した。抗原を、各々複数の独立したスポットを使用して表し、互いから数ｍｍ離れた地理的に別個のスポットに位置するようにプリントした（図１）。特に選択し自己抗原プロファイリング実験のために設計した複数の陽性対照および陰性対照のタンパク質を、それらが抗原スポットの周りおよび内部に散らばるように、試験チップバージョン３上にスポッティングした。陽性対

照および陰性対照のスポットの例を、試験した抗原および抗体とともに図１に提供する（フルオロフォア基準、ＧＳＴタンパク質、マウス抗ヒト抗体、プロテインＬ、マウス抗ビオチン、ＢＳＡタンパク質、およびヒトＩｇＧ）。

【０２２２】

図１に示すチップ設計形式の例は、８種の捕捉抗体、１０８種の自己抗原、マウス抗ヒトＫ　３ステージ（陽性対照）、マウス抗ヒトＩｇＧ１　３ステージ（陽性対照）、ヤギ抗マウスビオチン　３ステージ（ビオチン化アッセイ対照）、マウス抗ビオチン３ステージ（ビオチン化アッセイ対照）、プロテインＬ　３ステージ（陽性対照）、ヒトＩｇＧ　４ステージ（陽性対照）、および１１３７個の空スポットを含む。このアレイは、各チップ上に二重にプリントされているため、このチップ上のどのスポットも全部で４回複製されている。このチップはまた、プリント緩衝液、ＢＳＡ　２ステージ勾配（陰性対照）、ＧＳＴ　８ステージ勾配（チップ上での濃度定量）、３５個のＡｌｅｘａ　４８８基準、１６個のＡｌｅｘａ　５５５基準、２４個のＡｌｅｘａ　６４７基準を利用する。

【０２２３】

プリントするためのタンパク質濃度は、およそ１５０μｇ／ｍＬであった（３０～２５０μｇ／ｍＬの範囲にわたる）。５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、１０ｍＭ　グルタチオン　ｐＨ８中のおよそ１０μＬのタンパク質のアリコートを、この同じ緩衝液またはＷｈａｔｍａｎプリント緩衝液（タンパク質アレイ用緩衝液、２×濃度、製品番号１０　４８５　３３１）を用いて１：１に希釈した。プリントプロセスの間、マスタープレートを１５℃か約４℃かのいずれかに維持した。タンパク質をＷｈａｔｍａｎニトロセルローススライド（ＦＡＳＴスライド、１パッド、厚さ１１μｍニトロセルロース、製品番号１０　４８４　１８２）上にプリントした。およそ２５０ｐＬのタンパク質溶液をスポッティングした。または３～６回の多数回の２５０ｐＬを、Ｓｃｉｅｎｉｏｎ非接触型圧電圧力型プリンタ（ｓｃｉＦＬＥＸＡＲＲＡＹＥＲ　Ｓ５圧力ディスペンサ）を使用して、連続的にスポッティングした。スポッティング後、スライドを低湿度の環境（低湿度室内部で室温で１０％の相対湿度）に置き、少なくとも１２時間乾燥させた。タンパク質を、一括して２４枚のスライドにプリントした。１枚のマスタープレートから２４～約２００枚のスライドを精製することができた。２４枚目のスライド毎に、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ抗ＧＳＴ抗体を使用して、品質管理のための撮像を行った。手短に言えば、自己抗原アレイのスライドをＰＢＳ、０．１％　Ｔｗｅｅｎ－２０（ＰＢＳＴ）中の１％　ＢＳＡでブロッキングし、次いでＰＢＳＴ／０．３％　ＢＳＡ中２４０ｎｇ／ｍＬのウサギ抗ＧＳＴ　Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７を用いて発色させた。ＧｅｎｅＰｉｘ　４０００Ｂマイクロアレイスキャナを使用してスポットの強度を定量した。

【０２２４】

バージョン３試験チップを、ブロッキング緩衝液（１×ＰＢＳ、１％　ＢＳＡ、０．１％　Ｔｗｅｅｎ－２０）を用いて、４℃で１時間ブロッキングした。このブロッキングを、ガラス染色皿でゆっくり撹拌しながら行った。血清を、反応（ｐｒｏｂｉｎｇ）緩衝液（１×ＰＢＳ、５ｍＭ　$Mgcl_2$、０．５ｍＭ　ＤＴＴ、０．０５％　Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００、５％　グリセロール、１％　ＢＳＡ）中で１：１５０に希釈した。次いで、１００μｌの希釈した血清を、このタンパク質アレイチップを自己抗体で調べるために、リフタースリップ（ｌｉｆｔｅｒｓｌｉｐ）（Ｅｒｉｅ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に加えた。このリフタースリップを、リフタースリップとチップとの間に気泡が入り込まないように、一端から他端までこのチップを覆うように付与した。血清による反応を、湿室（Ｅｖｅｒｇｒｅｅｎ、カタログ番号２４０－９０２０－Ｚ１０）中で、４℃で１．５時間行った。血清反応後、このチップを、広口瓶（ｐａｐ　ｊａｒ）中で反応緩衝液を用いて３回洗浄した（１０分／洗浄）（２５ｍｌの容積の１つの広口瓶（Ｅｖｅｒｇｒｅｅｎカタログ番号２２２－５４５０－Ｇ８Ｓ）あたり１スライド）。洗浄したチップを、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏ　６４７（インビトロジェン、カタログ番号Ａ２１４４５）で標識した二次抗体ヤギ抗ヒトＩｇＧとともに１．５時間反応緩衝液で１：２０００に希釈してインキュベーションした。次いで、このチップを反応緩衝液で３回洗浄し（１０分／洗浄、２５ｍ

１の容積の広口瓶中で）、遠心脱水した。このチップをＡｘｏｎスキャナ（ＰＭＴ６００、３３％検出力）で走査した。

【０２２５】

上記の抗原含有量および実験の設計方法は、１９の生検で確認した前立腺－癌（ＰＣａ）患者の血清試料の血清試料、および１２の良性肥大（ＢＰＨ）患者の血清試料を使用して行ったものである。ＰＳＡをバイオマーカーとして使用する前立腺癌の診断を複雑化させる主な要因の１つは、ＰＳＡが正真正銘の前立腺癌と良性前立腺肥大症（ＢＰＨ）と呼ばれる生命を脅かさない病状とを識別できないことである。従って、生物医学的にＰｃａに関連する自己抗体の痕跡（ｓｉｇｎａｔｕｒｅ）を生成するため、自己抗体検出チップを、生検で確認したＰＣａおよび生検で確認したＢＰＨ患者に由来する血清を用いてスクリーニングした。この血清は、すべての場合、直腸診の前で、前立腺生検が行われる前に採取した。これは得られた結果がＤＲＥまたは生検手順に依存しない、またはそれに影響は受けないようにするためである。

【０２２６】

データ解析を、局所的にバックグラウンドを差し引いたデータに対して行い、陽性対照の信号（プロテイン　Ｌ　１．６ｎｇ／ｍｌ、ヤギ抗ヒトＩｇＧ、ヒトＩｇＧ、４ｎｇ／ｍｌ、ヒト　ＩｇＧ　１．６ｎｇ／ｍｌ、マウス抗ビオチン　２５ｎｇ／ｍｌ、マウス抗ヒトκ　６．３、またはマウス抗ヒトＩｇＧ１のいずれか）の中央値を算出し、それで抗原／抗体信号の中央値を割ることにより標準化を行い、標準化した信号を得た。各マーカーに対してこの標準化した信号を使用し、リーブ－ワン－アウト（ｌｅａｖｅ－ｏｎｅ－ｏｕｔ）アプローチを使用して、ロジスティック回帰分類器を、リーブ－アウト観察結果を予測するために使用した。これを各標準化した信号に対して行った。標準化した信号のすべてをリーブ－ワン－アウトロジスティック回帰によって予測した後、受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線を算出し、そして関連する曲線下面積（ＡＵＣ）を算出した。マーカーセットを、ＡＵＣに基づき、最も大きいものから最も小さいものへと並べた。各マーカーセットに対し、ＲＯＣを使用して、感度および特異度をともに最大にする曲線上の最適ポイントを探した。

【０２２７】

表３のマーカーは、バックグラウンドの少なくとも２倍の信号を呈した。表５～表９は、上記の方法によって分析した場合に、８０％を超える感度および８０％を超える特異度を有するマーカーセット（自己抗体検出セット）を提供する。これらの表は、分類器を作成するためのデータを標準化するのに使用した陽性対照（「方法」）を提供する。表５～表９はまた、各分類器、またはマーカーセットに対する名称（５－１、５－２、６－１、６－２など）も提供し、表５～表９のその後の縦列は各自己抗体検出セットのマーカーを提供する。表５ｂ、表６ｂ、表７ｂ、表８ｂ、および表９ｂでは、統計値は、各マーカーセットに対して提供されている。「ＡＵＣ」は、上記分類器に対する関連するリーブ－ワン－アウト受信者動作特性（「ＲＯＣ」）曲線の曲線下面積である。「特異度」は、１９の前立腺癌血清試料および１２のＢＰＨ血清試料の試験および分析に基づく分類器の特異度の最頻蓋然法による推定値、すなわち、正しく同定された陰性（ＢＰＨ患者）の割合（％）である。「感度」は、１９の前立腺癌血清試料および１２のＢＰＨ血清試料の試験および分析に基づく分類器の感度の最頻蓋然法による推定値、すなわち、正しく同定された陽性（前立腺癌患者）の割合（％）である。「ベイジアン特異度」は、１９の前立腺癌血清試料および１２のＢＰＨ血清試料の試験および分析に基づく分類器の特異度のベイジアン推定値、すなわち、正しく同定された陰性（ＢＰＨ患者）の数と１の合計を、ＢＰＨ試料の数と２の合計で割ったものである。「ベイジアン感度」は、１９の前立腺癌血清試料および１２のＢＰＨ血清試料の試験および分析に基づく分類器の感度のベイジアン推定値、すなわち、正しく同定された陽性（前立腺癌患者）の数と１の合計を、前立腺癌試料の数と２の合計で割ったものである。「ベイジアン精度」は、１９の前立腺癌血清試料および１２のＢＰＨ血清試料の試験および分析に基づく分類器の精度のベイジアン推定値、すなわち、正しく同定された試料の数と１の合計を、試料の数と２の合計で割ったものであ

る。

【０２２８】

８０％を超えるベイジアン精度を有する３種のマーカーの自己抗体検出セットを表５に提供する。８０％を超えるベイジアン精度を有する４種のマーカーの自己抗体検出セットを表６に提供する。８０％を超えるベイジアン精度を有する５種のマーカーの自己抗体検出セットを表７に提供する。８０％を超えるベイジアン精度を有する６種のマーカーの自己抗体検出セットを表８に提供する。８０％を超えるベイジアン精度を有する７種のマーカーの自己抗体検出セットを表９に提供する。７種のマーカーの自己抗体検出セットのうちの４つは、前立腺癌とＢＰＨを区別するにあたって、１００％特異度および１００％感度を示した。これらの自己抗体検出セットは、セット７－１：ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＭＡＤ１Ｌ１、ＰＳＡＰ、ＣＣＮＡ１、ＥＲＧ、およびＰＣＮＡ；セット７－２：ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＳＡＰ、ＣＣＮＡ１、ＥＲＧ、ＩＭＰ－３、およびＰＣＮＡ；セット７－３：ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＳＡＰ、ＣＣＮＡ１、ＥＲＧ、ＰＩＭ１、およびＰＣＮＡ；ならびにセット７－４：ＨＥＹＬ、ＢＤＫＲＢ２、ＰＳＡＰ、ＣＣＮＡ１、ＥＤＳ、ＲＤＨ１１、およびＰＣＮＡである。これらのバイオマーカー検出セットの各々は、１という算出されたＲＯＣ／ＡＵＣを有していた。

【０２２９】

表５、表６、表７、表８、および表９の統計的に有意な分類器の２種以上の少なくとも１０％に存在する個々のマーカー（自己抗体捕捉分子）を表１０に提供する。表１０の縦列２には、マーカー（自己抗体捕捉分子）が同定された統計的に有意な分類器の１０％以上で存在する（７つのうちの）標準化法の数を提供する。縦列３には、（自己抗体捕捉分子）が同定された統計的に有意な分類器の１０％以上で存在する標準化法の割合（％）を提供する。

【０２３０】

実施例２：ＰｒｏｔｏＡｒｒａｙ（商標）ヒトタンパク質アレイ上での前立腺癌血清中に存在する自己抗原の同定

インビトロジェン（カリフォルニア州、カールスバッド）から入手したヒトＰｒｏｔｏａｒｒａｙ（商標）高含有量タンパク質マイクロアレイを、実施例１に提供した方法を用いて、血清に対してスクリーニングした。１人の患者の試料およびプールされた患者の試料の組合せを、これらのアレイとともに利用した。全部で３２の患者試料（１６の前立腺癌および１６のＢＰＨ）をスクリーニングし、併せて高ＰＳＡ値、中ＰＳＡ値、および低ＰＳＡ値を表す一連のプールされた患者の試料もスクリーニングした。これらのデータのすべてを一緒に分析し、およそ９８種の候補前立腺癌バイオマーカー（表１１ａ）の一覧を生成した。

【０２３１】

高密度Ｐｒｏｔｏａｒｒａｙ（商標）マイクロアレイデータを、使用したすべてのチップに対して変位値標準化（Ｑｕａｎｔｉｌｅ　Ｎｏｒｍａｌｉｚａｔｉｏｎ）方法を用いて標準化した。標準化後、個体マーカーの診断値を、すべての可能な次数のＭ統計およびその関連するｐ値を算出することによって推定した。最低のｐ値を有する次数を各マーカーに対して選択し、そのマーカーの罹患率を罹患率の標準的ベイジアン推定値を使用して算出した。００２未満のｐ値を有するマーカーを有意性と決定した。プールされたデータの解析に際しては、低悪性ＰＣａ対ＢＰＨおよび高悪性ＰＣａ対ＢＰＨの比を算出し、信号の少なくとも２０％増加または減少を示すあらゆるマーカーを有意であると考えた。通常のＰｒｏｔｏＡｒｒａｙ分析およびプールされた実験の両方において有意であると決定したマーカーだけを表１１ａに提供する。

【０２３２】

表１１ａは、ＢＰＨよりも前立腺癌、高悪性（ＨＧ）前立腺癌（ＰＣＡ）、または低悪性（ＬＧ）前立腺癌の検出について有意性を有すると見出されたマーカーについて使用する用語を提供する。このパネルはまた、Ｇｅｎｂａｎｋ識別子および／または参照配列識別番号、インビトロジェンＯＲＦ名称、前立腺癌全体、高悪性前立腺癌、または低悪性前

立腺癌とＢＰＨを区別するためにそのマーカーが有意性を有するかどうかの「有意性の判定」も提供する。表１１ｂは、１つの縦列にはＢＰＨプール信号と低悪性プール信号の比である「低悪性癌／正常比」を、別の縦列にはＢＰＨプール信号と高悪性プール信号の比である「高悪性癌／正常比」を、別の縦列には個々の分析における全ＰＣａ対ＢＰＨの差のｐ値である「全ＰＣＡ対ＢＰＨ　Ｐ値」を、別の縦列には個々の分析における高悪性ＰＣａ対ＢＰＨの差のｐ値である「ＨＧ　ＰＣＡ対ＢＰＨ　Ｐ値」を、パネルの最後の縦列には個々の分析における低悪性ＰＣａ対ＢＰＨの差のｐ値である「ＬＧ　ＰＣＡ対ＢＰＨ　Ｐ値」を提供する（ｐ値はＭ統計に基づく）。表１１ｃでは、１つの縦列はＢＰＨ罹患率、すなわち個々のＰｒｏｔｏａｒｒａｙ実験の信号に基づくすべてのＢＰＨ試料中のマーカーの推定ベイジアン罹患率を提供し、別の縦列は個々のＰｒｏｔｏａｒｒａｙ実験の信号に基づくすべての前立腺癌試料中のマーカーの推定ベイジアン罹患率である「全ＰＣＡ罹患率」を提供し、別の縦列は、個々のＰｒｏｔｏａｒｒａｙ実験の信号に基づくすべての高悪性前立腺癌試料中のマーカーの推定ベイジアン罹患率である「ＨＧ　ＰＣＡ罹患率」を提供し、３つめのパネルの最後の縦列は、個々のＰｒｏｔｏａｒｒａｙ実験の信号に基づくすべての低悪性前立腺癌試料中のマーカーの推定ベイジアン罹患率である「ＬＧ　ＰＣＡ罹患率」を提供する。

【０２３３】

実施例３：患者中の良性前立腺肥大症から前立腺癌を区別する自己抗体

前立腺癌の発症に関連すると考えられる９６種のタンパク質を含有するタンパク質マイクロアレイチップを使用する自己抗体プロファイリングを、３２人の前立腺癌を有する患者および３２人の良性前立腺肥大症を有する患者に由来する血清を使用して行った。目的は、血液中で安定であり、およそ１μＬの血清（または血漿）を使用して容易に測定され、かつ真の前立腺癌とそれと密接に関連する良性前立腺肥大症を区別できる（この点は、現在臨床的に使用されるＰＳＡに基づく前立腺癌診断試験の大きな弱点である）バイオマーカーを見出すことである。

【０２３４】

前立腺癌およびＢＰＨを有する個体由来のヒト血清を用いてチップを試験するためのスキームを図５に提供する。前立腺癌およびＢＰＨを有する個体由来の血清試料を採取し、標的抗原を含有する可能性のあるチップと接触させた。自己抗体への標的抗原の結合結果を定量し、ＢＰＨよりも前立腺癌に対して選択的なバイオマーカーを同定するのに使用した。プールされたＰＣａ血清とプールされたＢＰＨとの間で有意差をもつ上位２０種のイオマーカーを図２Ｂに示す。

【０２３５】

選択した抗原を、無細胞発現系を使用して発現させ、精製し、マイクロスライド上に並べた。プールされたＰＣＡおよびＢＰＨ試料を用いた自己抗体プロファイリングの結果は、これらのタンパク質抗原のうちの２０種がＰＣａとＢＰＨを区別する有意な自己抗体信号を検出することを示した。これら２０種のタンパク質抗原の中で、ｐ５３、ＣＣＮＢ１、サバイビン、およびムチン１は種々の癌の種類（乳癌、結腸癌、前立腺癌、肺癌および黒色腫など）に共通の一般的な腫瘍関連抗原であるが、これまで前立腺癌診断アッセイ法の一部として利用されたことはなかった。これらの抗原のうちの１４種は、これまでに報告されていないまったく新規の腫瘍抗原である。

【０２３６】

特に、ＰＣａの発症および進行に寄与する２つの新規の腫瘍抗原、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１は、ＰＣａ診断に関して顕著な感度および特異度を有することが示された。ＫＤＲは、血管新生およびＰＣａの増殖に関与するＩＩＩ型受容体チロシンキナーゼである（Ｈｕｓｓら，（２００１）「Ａｎｇｉｏｇｅｎｅｓｉｓ ａｎｄ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ：ｉｄｅｎｔｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ａ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｐｒｏｇｒｅｓｓｉｏｎ ｓｗｉｔｃｈ」，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６１（６）：２７３６－４３；Ｊａｃｋｓｏｎら（２００２）「Ａ ｐｏｔｅｎｔｉａｌ ａｕｔｏｃｒｉｎｅ ｒｏｌｅ ｆｏｒ ｖａｓｃｕｌａｒ ｅｎｄｏｔｈｅｌｉａｌ ｇｒｏｗｔｈ ｆａｃ

tor in prostate cancer」, Cancer Res. 62（3）：854－9；およびSokerら（2001）「Vascular endothelial growth factor－mediated autocrine stimulation of prostate tumor cells coincides with progression to a malignant phenotype」, Am J Pathol. 159（2）：651－9）。PIM－1は、セリン／トレオニンキナーゼであり、それが前立腺で過剰発現されると腫瘍進行に寄与する遺伝子の不安定性につながる（Valdmanら,（2004）「Pim－1 expression in prostatic intraepithelial neoplasia and human prostatecancer」, Prostate. 60（4）：367－71；Bhattacharyaら,（2002）「Pim－1 associates with protein complexes necessary for mitosis」, Chromosoma. 111（2）：80－95；Rohら,（2003）「Overexpression of the oncogenic kinase Pim－1 leads to genomic instability」, Cancer Res. 63（23）：8079－84；およびCibullら,（2006）「Overexpression of Pim－1 during progression of prostatic adenocarcinoma」, J. Clin. Pathol. 59（3）：285－8）。

【0237】

KDRおよびPIM－1に対する自己抗体は、約62％のPCA患者および約30％のBPH患者に存在することが示された。さらに、KDRおよびPIM－1の対合によって、PCaを診断するにあたり、等しい数のBPH試料以上である90．6％の感度および84．4％の特異度をもたらした。組織マイクロアレイ実験は、KDRおよびPIM－1抗原が、それぞれ70％および30％のPCa患者で過剰発現されることを示し、これはこれらの腫瘍抗原の過剰発現で異常な自己抗体誘発が説明できるかも知れないことを示唆する。

【0238】

興味深いことに、PCaでは、KDRおよびPIM－1自己抗体は、PSAアッセイ法が限定的な診断値をもつ小さいサイズの腫瘍（病理診断されたときに1～2個の陽性の核が存在する腫瘍）を診断する上で非常に有効であった。

【0239】

非常に少量の無細胞抽出物から生体外で合成されたタンパク質（約10μg）を使用して本研究を行ったことは注目に値する。これらの抗原を作製するのに必要なのは、無細胞発現系と組み合わせた必須のオープンリーディングフレーム遺伝子構築物だけであり、この両方の材料は広く市販されている。このようにして見出した自己抗体は、それらが血清中で安定に存在するため、非常に高い診断クオリティを有する。アッセイ法には1μLの血清しか必要ではなく、診断アッセイ法開発段階自体が不要となる。さらに、遺伝子検出試薬（例えば、蛍光標識されたヤギ抗ヒト抗体）を、タンパク質チップ上での検出に使用することができる。

【0240】

材料および方法

患者および血清

32人の未治療のPCA患者および32人の未治療のBPH患者に由来する生検により確定診断された64の血清試料が、患者がDREおよび生検を受ける前にBIOCHEMED Corporation（1483 Tobias Blvd.、Charles、SC 29407）により集められた。すべての試料を、Beckman Access（カリフォルニア州、フラートン）によって、PSAレベルについて試験した。各識別された患者について、患者のグリーソンスコア、全部で8つのコアニードル生検について

の陽性スコア数、ならびに１つのコア中の癌細胞の割合（％）についての生検情報とともに、完全な病歴が提供された。すべての試料を、インフォームドコンセントの形式をとってサウスカロライナ地域の患者から集め、本研究は施設内治験審査委員会によって承認された。患者情報を表１２に列挙する。

【０２４１】

（表１２）前立腺癌および良性前立腺肥大症の患者についての臨床データ

変数	前立腺癌の組	良性前立腺癌肥大症の組
患者数	32	32
平均年齢 ±SD	65.17 ± 7.79	61.72 ± 9.24
PSA レベル		
<4 ng/ml	37.5%	50%
4-10 ng/ml	50%	37.5%
>10 ng/ml	12.5%	12.5%
グリーソンスコア		
<6	72%	NA
>7	28%	NA

【０２４２】

腫瘍抗原の発現および抗原マイクロアレイの製作

９６種の組換えＧＳＴタグ化タンパク質を、生体外コムギ胚芽無細胞発現系（Ａｂｎｏｖａまたはインビトロジェン）を使用して入手した。これを表１３に示す。無細胞発現したタンパク質を、Ｔｒｉｓ－グルタチオン緩衝液（ｐＨ　８．０）を用いてＧＳＴ－カラム（インビトロジェン、カタログ番号　１３－６７４１）から溶出させた。これらのタンパク質を全長または短縮された形のいずれかで発現させた。各タンパク質を、Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｂｉｏａｎａｌｙｚｅｒ（カリフォルニア州、サンタクララ）を使用して（正しい分子量（ｍａｓｓ－ｗｅｉｇｈｔ）および不純物について）品質管理し、次いでｓｃｉＦＬＥＸＡＲＲＡＹＥＲ　Ｓ５　Ｐｉｅｚｏ　Ｄｉｓｐｅｎｓｅｒ（Ｓｃｉｅｎｉｏｎ　ＡＧ、ドイツ、ベルリン）を使用して、ワンパッドのニトロセルローススライド（Ｗｈａｔｍａｎ、カタログ番号１０４８４１８２）上に、約０．１～約０．２５μｇ／ｍｌの範囲の濃度で、四重に並べた。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１を含有する低含有量チップを、１６パッドのニトロセルローススライド（Ｗｈａｔｍａｎ、カタログ番号１０４８５３２３）上に作製し、そのチップには各タンパク質が、二重にプリントされ、各チップは全部で１２個のアレイを含んでいた。マウス抗ヒトＩｇＧ１（インビトロジェン、カタログ番号０５－３３００）を６μｇ／ｍｌの４つの同一のスポットとして各アレイ上にプリントし、マイクロアレイ信号の標準化のために使用した。各プリント操作から選択したマイクロアレイスライドを抗ＧＳＴ抗体を用いて反応させ、アレイ上の各スポット上にプリントされたタンパク質の最終量を測定した。

【０２４３】

（表１３）自己抗体プロファイリングチップに使用したタンパク質抗原の機能およびスコア

HUGO 名称	タンパク質 供給源	タンパク質/遺伝子 別名	GenBank 識別子	機能	バイオマーカー 分類
ABL1	ABL1 (全長) Invitrogen	JTK7, c-ABL, p150, v-abl	v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1 NM_007313	癌遺伝子	アポトーシス
ACPP	ACPP (310-418) Abnova	ACPP, PAP, ACP3, ACP-3	酸性ホスファターゼ, 前立腺 NM_001099	アルコールと ホスフェートヘリン酸 モノエステルを 触媒する	細胞代謝
AGR2	AGR2 (全長) Abnova	AGR2, AG2, GOB-4, HAG-2, XAG-2	Anterior gradient homolog 2 (Xenopus laevis) NM_006408	細胞分化	転移
AKT1	AKT1 (全長) Invitrogen	AKT1, PKB, RAC, PRKBA, MGC99656, RAC-ALPHA	v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1 NM_005163	癌遺伝子	アポトーシス
ALOX15	ALOX15 (全長) Abnova	ALOX15	アラキドン酸15-リポキシゲナーゼ NM_1140	アラキドン酸を 15S－ ヒドロ ペルオキシエイコサテトラエン酸へ 変換する	細胞代謝
AMACR	AMACR (全長) Abnova	AMACR, RACE	α-メチルアシル-CoA ラセマーゼ NM_014707	2－メチル－分枝 脂肪酸CoAエステルの ラセミ化	細胞代謝
BCL2	BCL2 (140-239) Abnova	BCL2, Bcl-2	B-cell CLL/lymphoma 2 NM_000633	アポトーシスを 抑制	アポトーシス
BCL2L14	BCL2L14 (全長) Abnova	BCL2L14, BCLG	BCL2-like 14 NM_030766	アポトーシス 促進因子	アポトーシス
BDKRB2	BDKRB2 (1-61) Abnova	BDKRB2, B2R, BK2, BK-2, BKR2, BRB2, DKFZp686O088	ブラジキニン 受容体 B2 NM_000623	ブラジキニンに 対する受容体	細胞表面 タンパク質

BIRC5	BIRC5 (全長) Abnova	BIRC5, API4, EPR-1	Baculoviral IAP repeat-containing 5 (survivin) NM_001012270	抗アポトーシス性	アポトーシス
CAV3	CAV3 (1-84) Abnova	CAV3, VIP21, LGMD1C, VIP-21, MGC126100, MGC126101, MGC126129	Caveolin 3 NM_001753	カベオラ膜内の足場タンパク質	腫瘍抑制因子
CCKBR	CCKBR (215-327) Abnova	CCKBR, GASR, CCK-B	コレシストキニンB受容体 NM_176875	ガストリンおよびコレシストキニンに対する受容体	細胞表面タンパク質
CCNA1	CCNA1 (全長) Abnova	CCNA1	Cyclin A1 NM_003914	細胞周期調節	細胞周期
CCNB1	CCNB1 (1-91) Abnova	CCNB1, CCNB	Cyclin B1 NM_031966	細胞周期調節	細胞周期
CCND1	CCND1 (全長) Abnova	CCND1, BCL1, PRAD1,U21B31, D11S287E	Cyclin D1 NM_053056	細胞周期調節	細胞周期
CD151	CD151 (全長) Abnova	CD151, GP27, MER2, RAPH, SFA1, PETA-3, TSPAN24	CD151 分子 (Raph 血液型) NM_004357	腎臓における糸球体基底膜および管状基底膜の適正な集合に必須	転移
CD164	CD164 (1-115) Abnova	CD164, MGC-24, MUC-24, Endolyn	CD164 分子, sialomucin NM_006016	ムチン様タンパク質	転移
CDKN2A	CDKN2A (全長) Abnova	CDKN2A, ARF, MLM, p14, p16, p19, CMM2, INK4, MTS1, TP16, CDK4I, CDKN2, INK4a, p14ARF, p16INK4, p16INK4a	サイクリン依存性キナーゼ阻害剤2A NM_000077	腫瘍抑制因子	腫瘍抑制因子
CHEK1	CHK1 (全長) Invitrogen	CHK1	CHK1 checkpoint homolog (S. pombe) NM_001274	細胞周期調節	細胞周期
CLDN3	CLDN3 (全長) Abnova	CLDN3, RVP1, HRVP1, C7orf1, CPE-R2, CPETR2	Claudin 3 NM_001306	細胞接着	細胞表面タンパク質

CLDN4	CLDN4 (全長) Abnova	CLDN4, CPER, CPE-R, CPETR, CPETR1, WBSCR8, hCPE-R	Claudin 4 NM_001305	細胞接着	細胞表面 タンパク質
CUL4A	CUL4A (1-100) Abnova	CUL4A	Cullin 4A NM_003589	DNA修復	細胞周期
CXCR4	CXCR4 (1-47) Abnova	CXCR4, FB22, HM89, LAP3, LCR1, NPYR, WHIM, CD184, LESTR, NPY3R, NPYRL, HSY3RR, NPYY3R, D2S201E	ケモカイン(C-X-C モチーフ) 受容体4 NM_001008540	腫瘍転移	転移
EDNRB	EDNRB (27-101) Abnova	EDNRB, ETB, ETRB, HSCR, ABCDS, HSCR2	エンドセリン 受容体B型 NM_000115	エンドセリン1、2および3に対する非特異的受容体	細胞表面 タンパク質
EGFR	EGFR (26-126) Abnova	EGFR, ERBB, mENA, ERBB1	上皮成長因子受容体 (erythroblastic leukemia viral (v-erb-b) oncogene homolog, avian) NM_005228	成長因子受容体	細胞表面 タンパク質
EIF3S3	EIF3S3 (全長) Abnova	EIF3S3, eIF3-p40, MGC102958, eIF3-gamma	真核生物 翻訳開始因子 3, サブユニット 3 γ, 40kDa NM_003756	タンパク質翻訳	細胞代謝
ELAC1	ELAC1 (282-363) Abnova	ELAC1, D29	elaC homolog 1 (E. coli) NM_018696	tRNAの成熟化に関与	細胞代謝
ENO1	ENO1 (全長) Abnova	ENO1, NNE, PPH, MPB1, MBP-1, ENO1L1	エノラーゼ 1, (α) NM_001428	成長制御、低酸素症耐性およびアレルギー反応のような様々なプロセスで役割を果たす	細胞成長
ENOX2	COVA1 (全長) Abnova	COVA1, APK1, tNOX	Ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 2 NM_006375	細胞成長、腫瘍抗原	細胞表面 タンパク質

ERBB2	ERBB2 (676-1255) Invitrogen	ERBB2, NEU, NGL, HER2, TKR1, HER-2, c-erb B2, HER-2/neu	v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, neuro/glioblastoma derived oncogene homolog (avian) NM_001005862	チロシンキナーゼ型細胞表面受容体HER2、癌遺伝子	細胞表面タンパク質
ERG	ERG (全長) Abnova	ERG, p55, erg-3	v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog (avian) NM_004449	癌遺伝子	細胞成長および分化
ETS2	ETS2 (1-101) Abnova	ETS2	v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 2 (avian) NM_005228	癌遺伝子	細胞成長および分化
EZH2	EZH2 (全長) Abnova	EZH1, ENX-1	Enhancer of zeste homolog 2 (Drosophila) NM_004456	遺伝子転写およびクロマチン構造の調節に関与	転移
FASN	FASN (全長) Abnova	FASN, FAS, OA-519, MGC14367, MGC15706	脂肪酸シンターゼ NM_004104	脂肪酸代謝	細胞代謝
FLT1	FLT1 (aa781-1338) Invitrogen	FLT1, FLT, VEGFR1	Fms関連チロシンキナーゼ1 (血管内皮成長因子/血管透過性因子受容体) NM_002019	血管新生に関与	血管新生
FOLH1	FOLH1 (547-657) Abnova	FOLH1, PSM, FGCP, FOLH, GCP2, PSMA, mGCP, GCPII, NAALAD1, NAALAdase	葉酸ヒドラーゼ (前立腺特異的膜抗原) 1 NM_004476	葉酸ヒドラーゼおよびN－アセチル化α結合酸性ジペプチダーゼ (NAALADダーゼ) の両活性を有する	細胞表面タンパク質 細胞代謝
GDF15	GDF15 (全長) Abnova	GDF15, PDF, MIC1, PLAB, MIC-1, NAG-1, PTGFB, GDF-15	成長分化因子 15 NM_004864	細胞成長因子	細胞成長
HEYL	HEYL (全長) Abnova	HEYL, HRT3, MGC12623	Hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif-like NM_014571	転写抑制因子	血管新生

HIPK3	HIPK3 (163-562) Invitrogen	PKY, DYRK6, YAK1	ホメオドメイン相互作用タンパク質キナーゼ3 NM_001048200	FADDリン酸化促進によってアポトーシスを調節	アポトーシス
HMGA2	HMGA2 (1-93) Abnova	HMGA2, BABL, LIPO, HMGIC, HMGI-C	High mobility group AT-hook 2 NM_003484	転写調節	細胞成長および分化
HOXB13	HOXB13 (全長) Abnova	HOXB13, PSGD	Homeobox B13 NM_006361	細胞分化に関与する転写因子	細胞分化
HPN	HPN (全長) Abnova	HPN, TMPRSS1	Hepsin (膜貫通プロテアーゼ, セリン1) NM_002151	細胞成長	細胞成長
HSPA5	HSPA5 (全長) Abnova	HSPA5, BIP, MIF2, GRP78, FLJ26106	熱ショック70kDaタンパク質5 (グルコース調節タンパク質, 78kDa) NM_005347	ストレス応答タンパク質	ストレス応答
HSPD1	HSPD1 (全長) Abnova	HSPD1, CPN60, GROEL, HSP60, HSP65, SPG13, HuCHA60	熱ショック60kDaタンパク質1 (シャペロニン) NM_002156	ストレス応答タンパク質	ストレス応答
KDR	KDR (789-1356) Invitrogen	KDR, FLK1, CD309, VEGFR, VEGFR2	キナーゼ挿入ドメイン受容体（III型受容体チロシンキナーゼ） NM_002253	血管新生	血管新生
KLK3	PSA (全長) Abnova	KLK3, APS, PSA, hK3, KLK2A1	Kallikrein 3, (前立腺特的抗原) NM_145864	プロテアーゼ	血管新生
LGALS8	LGALS8 (全長) Abnova	LGALS8, Gal-8, PCTA1, PCTA-1, Po66-CBP	Lectin, galactoside-binding, soluble, 8 (galectin 8) NM_006499	細胞接着	細胞表面タンパク質
MAD1L1	MAD1L1 (619-718) Abnova	MAD1L1, MAD1, PIG9, HsMAD1, TP53I9, TXBP181	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 NM_002358	細胞分裂	細胞周期
MDM2	MDM2 (101-201) Abnova	MDM2, hdm2, MGC71221	Mdm2, transformed 3T3 cell double minute 2, p53 binding protein NM_002392	細胞周期調節	細胞周期
MET	MET (26-125) Abnova	MET, HGFR, RCCP2	Met 癌原遺伝子 (肝細胞増殖因子受容体) NM_000245	癌遺伝子	アポトーシス

MIB1	MIB1 (909-1007) Abnova	MIB1, MIB, ZZZ6, DIP-1, ZZANK2, FLJ90676, MGC129659, MGC129660, DKFZp686I0769	Mindbomb homolog 1 (Drosophila) NM_020774	ノッチ（Notch）タンパク質のリガンドとして作用するδ受容体のユビキチン化を媒介するE3ユビキチンタンパク質リガーゼ	細胞周期
MICB	MICB (全長) Abnova	MICB, PERB11.2	MHC class I polypeptide-related sequence B NM_005931	NK細胞に対するリガンド	自然免疫
MLH1	MLH1 (全長) Abnova	MLH1, FCC2, COCA2, HNPCC, hMLH1, HNPCC2, MGC5172	mutL homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 NM_000249	DNAミスマッチ修復	細胞周期
MMP9	MMP9 (全長) Abnova	MMP9, GELB, CLG4B, MMP-9	マトリックスメタロペプチダーゼ9 (ゼラチナーゼB, 92kDa ゼラチナーゼ, 92kDa IV型コラゲナーゼ) NM_004994	腫瘍転移	転移
MUC1	MUC1 (315-420) Abnova	MUC1, EMA, PEM, PUM, MAM6, PEMT, CD227, H23DG	Mucin 1, cell surface associated NM_002456	細胞接着および腫瘍転移	転移
MYC	MYC (330-440) Abnova	MYC, c-Myc	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog 1, lung carcinoma derived (avian) NM_002467	癌遺伝子	細胞周期
NCAM2	NCAM2 (598-696) Abnova	NCAM2, NCAM21, MGC51008	神経細胞接着分子2 NM_004540	細胞接着	細胞表面タンパク質
NKX3-1	NKX3-1 (100-210) Abnova	NKX3-1, BAPX2	NK3 transcription factor related, locus 1 (Drosophila) NM_006167	前立腺癌特異的腫瘍抑制因子	腫瘍抑制因子
NRP1	NRP1 (全長) Abnova	NRP1, NRP, CD304, VEGF165R,	Neuropilin 1 NM_015022	腫瘍血管新生	血管新生
NUCB1	NUCB1 (全長) Abnova	NUCB1, NUC, FLJ40471,	Nucleobindin 1 NM_006184	ゴルジ体の主要カルシウム結合タンパク質	細胞代謝
PCNA	PCNA (全長) Abnova	PCNA, MGC8367	増殖性細胞核内抗原 NM_182649	DNA修復	細胞周期

PDLIM1	PDLIM1 (123-233) Abnova	PDLIM1, CLIM1, CLP36, ELFIN, CLP-36, hCLIM1	PDZ and LIM domain 1 (elfin) NM_020992	他のタンパク質（キナーゼなど）を細胞骨格に運ぶアダプターとして作用する場合がある細胞骨格タンパク質	細胞成長および分化
PECAM1	PECAM1 (全長) Abnova	PECAM1, CD31, PECAM-1	血小板/内皮細胞接着分子 (CD31抗原) NM_000442	細胞接着	細胞表面タンパク質
PIM-1	PIM-1 (全長) Abnova	PIM-1, PIM	pim-1 癌遺伝子 NM_02648	癌遺伝子	細胞周期
PRSS8	PRSS8 (全長) Abnova	PRSS8, CAP1, PROSTASIN	Homo sapiens プロテアーゼ, セリン, 8 (prostasin) NM_002773	トリプシン様切断特異性を有する	細胞成長および分化
PSAP	PSAP (全長) Abnova	PSAP, GLBA, SAP1, FLJ00245, MGC110993	Prosaposin (異型ゴーシェ病および異型異染性白質ジストロフィー) NM_002778	脂質代謝	細胞代謝
PSCA	PSCA (23-96) Abnova	PSCA, PRO232	前立腺幹細胞抗原 NM_005672	未知	細胞表面タンパク質
PSMB4	PSMB4 (全長) Abnova	PSMB4, HN3, HsN3, PROS26	Proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type, 4 NM_002796	タンパク質分解に関与	細胞代謝
PTEN	PTEN (221-320) Abnova	PTEN, BZS, MHAM, TEP1, MMAC1, PTEN1, MGC11227	Phosphatase and tensin homolog (mutated in multiple advanced cancers 1) NM_000314	腫瘍抑制因子	腫瘍抑制因子
PTGER3	PTGER3 (1-90) Abnova	PTGER3, EP3, EP3e, EP3-I, EP3-II, EP3-IV, EP3-III, MGC27302, MGC141828, MGC141829	プロスタグランジンE受容体2 NM_000956	腫瘍転移に関与するGPCR受容体	転移
PTGS1	PTGS1(26-125) Abnova	PTGS1, COX1, COX3, PHS1, PCOX1, PGHS1, PTGHS, PGG/HS, PGHS-1	プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ1 (プロスタグランジンG/Hシンターゼおよびシクロオキシゲナーゼ) NM_000962	細胞増殖	細胞代謝

QSOX1	QSCN6 (81-181) Abnova	QSCN6, Q6, QSOX1	Quiescin Q6 NM_002826	細胞周期調節	細胞周期
RASSF1	RASSF1 (241-341) Abnova	RASSF1, 123F2, RDA32, NORE2A, RASSF1A, REH3P21	Ras association (RalGDS/AF-6) domain family 1 NM_007182	潜在的腫瘍抑制因子	腫瘍抑制因子
RCVRN	RCV1 (101-200) Abnova	RCVRN, RCV1	Recoverin NM_002903	ロドプシンのリン酸化阻害に関与	細胞代謝
RDH11	RDH11 (全長) Abnova	RDH11, MDT1, PSDR1, RALR1, SCALD, ARSDR1, CGI-82, HCBP12, FLJ32633	レチノール デヒドロゲナーゼ11 (すべて-trans/9-cis/ 11-cis) NM_016026	NADPH依存性 レチナール レダクターゼ	細胞代謝
RNF14	RNF14 (217-317) Abnova	RNF14, ARA54, HFB30, FLJ26004, HRIHFB2038	リングフィンガー タンパク質 14 NM_004290	E3ユビキチン タンパク質リガーゼ	細胞代謝
ROCK2	ROCK2 (1-552) Invitrogen	ROCK2	Rho結合 コイルドコイル 含有タンパク質 キナーゼ 2 NM_004850	アクチン細胞骨格の 集合の調節に 関与するタンパク質 キナーゼ	細胞成長
RPL23	RPL23 (全長) Abnova	RPL23, rpL17, MGC72008, MGC111167, MGC117346	リボソームタンパク質 L23 NM_000984	タンパク質翻訳	細胞代謝
RPL30	RPL30 (全長) Abnova	RPL30	リボソームタンパク質 L30 NM_000989	タンパク質翻訳	細胞代謝
RPS14	RPS14 (全長) Abnova	RPS14, EMTB	リボソームタンパク質 S14 (RPS14) NM_001025070	タンパク質翻訳	細胞代謝
RPS6KA1	RPS6KA1 (全長) Invitrogen	RPS6KA1, RSK, HU-1, RSK1, MAPKAPK1A, S6K-alpha 1	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド1 NM_002953	成長因子の媒介 および転写因子 CREBのストレス 誘導活性化	ストレス応答

RPS6KA3	RPS6KA3 (全長) Invitrogen	RSK, RSK2, HU-3	リボソームタンパク質S6キナーゼ, 90kDa, ポリペプチド3 NM_004586	成長因子の媒介および転写因子CREBのストレス誘導活性化	ストレス応答
SERPINH1	SERPINH1 (全長) Abnova	SERPINH1, CBP1, CBP2, gp46, AsTP3, HSP47, PIG14, RA-A47, SERPINH2	セルピンペプチターゼ阻害剤, クレイドH (熱ショックタンパク質7), メンバー1, (コラーゲン結合タンパク質1) NM_001235	コラーゲン生合成におけるシャペロンとして関与	ストレス応答
SFRP4	SFRP4 (211-313) Abnova	SFRP4, FRP-4, FRPHE, MGC26498	Secreted frizzled-related protein 4 NM_003014	細胞成長および分化	細胞成長および分化
SH3GLB1	SH3GLB1 (全長) Abnova	SH3GLB1, Bif-1, CGI-61, KIAA0491, dJ612B15.2	SH3-domain GRB2-like endophilin B1 NM_016009	アポトーシス	アポトーシス
SPRR1B	SPRR1B (全長) Abnova	SPRR1B, SPRR1, GADD33, CORNIFIN, MGC61901	Small proline-rich protein 1B (cornifin) NM_003125	未知	細胞分化
STEAP1	STEAP (全長) Abnova	STEAP1, STEAP, PRSS24, MGC19484	Six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1 NM_012449	メタロレダクターゼ	細胞表面タンパク質
STIP1	STIP1 (全長) Abnova	STIP1, HOP, P60, STI1L, IEF-SSP-3521	ストレス誘導性リンタンパク質1 (Hsp70/Hsp90-organizing protein) NM_006819	ストレス応答	ストレス応答
TACSTD1	EP-CAM (全長) Abnova	TACSTD1, EGP, KSA, M4S1, MK-1, CD326, EGP40, MIC18, TROP1, Ep-CAM, hEGP-2, CO17-1A, GA733-2	Tumor-associated calcium signal transducer 1 precursor NM_002354	細胞接着	細胞表面タンパク質
TMPRSS2	TMPRSS2 (全長) Abnova	TMPRSS2, PRSS10	膜貫通プロテアーゼ, セリン2 NM_005656	細胞接着	血管新生
TOP2A	TOP2A (1435-1532) Abnova	TOP2A, TOP2, TP2A	トポイソメラーゼ (DNA) II α 170kDa NM_001067	DNA複製	細胞周期

TP53	TP53 (94-202) Abnova	TP53, p53, LFS1, TRP53	腫瘍タンパク質 p53 (リー・フラウメニ症候群) NM_000546	腫瘍抑制因子	腫瘍抑制因子
TPD52	TPD52 (100-185) Abnova	TPD52, D52, N8L, PC-1, PrLZ, hD52	腫瘍タンパク質 D52 NM_005079	癌遺伝子	細胞周期
UBE2C	UBE2C (全長) Abnova	UBE2C, UBCH10, dJ447F3.2	ユビキチン結合酵素 E2C NM_007019	細胞周期調節、有糸分裂サイクリンの破壊に必要	細胞周期
XLKD1	XLKD1 (全長) Abnova	XLKD1, HAR, LYVE-1, CRSBP-1	Extracellular link domain containing 1 NM_016164	リンパ球新生に関与	血管新生
ZWINT	ZWINT (全長) Abnova	ZWINT, KNTC2AP, HZwint-1, MGC117174	ZW10 interactor NM_001005413	細胞分裂	細胞周期

注：縦列２の括弧の数字は、部分的組換えタンパク質についてのアミノ酸の数を示す。

【０２４４】

前立腺癌および良性前立腺肥大症の血清の免疫プロファイリング

タンパク質アレイチップを、ブロッキング緩衝液（１×ＰＢＳ、１％ＢＳＡ、０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０）を用いて４℃で１時間ブロッキングした。このブロッキングを、ゆっくりと撹拌しながらガラス染色皿中で行った。プールされた血清の実験については、ＰＣａ血清プールおよびＢＰＨ血清プールの両方を、対応する３２人の患者由来の血清をプールすることにより作製した。次いで、各プールからの１６μｌの試料を、反応緩衝液（１×ＰＢＳ、５ｍＭ　ＭｇＣＬ２、０．５ｍＭ　ＤＴＴ、０．０５％　Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ－１００、５％　グリセロール、１％　ＢＳＡ）中で１：１５０に希釈し、各アレイの反応に対して使用した。個々の患者のスクリーニングについては、各患者の血清を反応緩衝液中で１：１５０に希釈し、１００μｌの希釈した血清を低含有量タンパク質アレイに加えた。血清反応を、湿室（Ｅｖｅｒｇｒｅｅｎ、カタログ番号２４０－９０２０－Ｚ１０）中で４℃で１．５時間行った。血清反応後、このチップを、広口瓶中で反応緩衝液を用いて３回洗浄した（１０分／洗浄）（２５ｍｌの容積の１つの広口瓶（Ｅｖｅｒｇｒｅｅｎ　カタログ番号２２２－５４５０－Ｇ８Ｓ）あたり１スライド）。洗浄したチップを、Ａｌｅｘａ　６４７（インビトロジェン、カタログ番号Ａ２１４４５）で標識した二次抗体ヤギ抗ヒトＩｇＧとともに、１．５時間反応緩衝液で１：２０００に希釈してインキュベーションした。このチップを反応緩衝液で３回洗浄し（１０分／洗浄、２５ｍｌの容積の広口瓶中で）、遠心脱水した。このチップをＡｘｏｎ　Ｇｅｎｅｐｉｘ　４０００Ｂスキャナ（ＰＭＴ６００、３３％検出力）で走査した。各試料を精製した抗原とともに４℃で３０分間インキュベーションした後、それらをタンパク質アレイに載せたことを除いて、競合アッセイ法を同様にして実施した。

【０２４５】

組織マイクロアレイ

前立腺癌組織アレイ分析を、標準的手順でＭａｘＡｒｒａｙヒトＰＣａスライド（インビトロジェン、カタログ番号７３－５０６３）を使用して実施した。手短に言えば、組織マイクロアレイスライドをキシレン（シグマ）で５分間、２回処理した。このスライドを、無水エタノールで２回（各回５分間）、９５％エタノールで１回（５分間）、８０％エタノールで１回（５分間）処理し、最後に短時間H_2Oでリンスした。この再水和したスライドを、さらにＤｉｇｅｓｔ－Ａｌｌ４（プロテイナーゼＫ）（インビトロジェン、カタログ番号００－３０１１）で、湿室中、室温で４０分間処理した。１％　ＢＳＡを用いて１時間ブロッキングした後、このスライドを抗ＫＤＲ／抗ＰＩＭ－１抗体の１：５００

希釈液と反応させ、ＫＤＲまたはＰＩＭ－１抗原を検出した。ＫＤＲ抗体は（インビトロジェン）から入手し、ＰＩＭ－１抗体はＡｂｃａｍ（ａｂ１５００２）から入手した（これはヒトＰＩＭ－１のＮ末端ペプチドアミノ酸２２－３７（ＡＴＫＬＡＰＧＫＥＫＥＰＬＥＳＱＴ）に対して生成したものである）。両方の抗体をＡｌｅｘａ　６４７（インビトロジェン）で標識した。このスライドを、蛍光Ｎｉｋｏｎ　Ｅｃｌｉｐｓｅ　ＴＥ　２００（４０×）顕微鏡を用いて観察した。画像を、Ｉｍａｇｅ－Ｐｒｏ　ソフトウェア（Ｍｅｄｉａ　Ｃｙｂｅｒｎｅｔｉｃｓ）を使用して処理した。この実験では、各患者由来の少なくとも１０００個の細胞を分析し、陰性で強い信号を有する試料だけをカウントした。

【０２４６】

データ解析

結果に統計的有意差がないデータを（アッセイ上の陽性対照により）標準化および標準化しない両方の方法によってデータ解析を行ったため、提示したすべての分析は、バックグラウンドを差し引いた標準化していないデータを扱った。

【０２４７】

１回の自己抗体アッセイ法および二重の自己抗体アッセイ法の両方について、ロジスティック回帰分類器をデータにフィットさせた。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１をアレイ上に２回スポッティングしたため、分類する割合（％）はその対の平均であり、結合したロジスティック回帰（すべての４つの組合せ）は平均であった。結果を表１４に示す。

【０２４８】

（表１４）前立腺癌についてのＫＤＲおよびＰＩＭ－１の予測可能性の比較

患者	PSA 測定値	状態	KDR 予測	PIM-1 予測	KDR および PIM-1 予測
103	5.25	PCa	99.04%	82.08%	99.98%
104	3.25	PCa	39.80%	100.00%	100.00%
105	174.84	PCa	97.57%	40.15%	99.01%
106	0.41	PCa	40.04%	95.53%	97.06%
107	4.37	PCa	97.41%	21.55%	96.75%
109	6.95	PCa	45.07%	100.00%	100.00%
110	26.63	PCa	53.28%	49.65%	51.96%
111	8.52	PCa	56.47%	19.54%	15.05%
112	5.77	PCa	34.07%	45.51%	21.13%
115	5.95	PCa	17.97%	90.87%	69.02%
116	4.18	PCa	95.16%	99.94%	100.00%

119	3.71	PCa	59.47%	49.84%	61.30%
120	5.01	PCa	97.00%	75.20%	99.82%
123	1.83	PCa	27.73%	99.98%	100.00%
126	1.35	PCa	60.77%	44.01%	55.07%
128	3.66	PCa	32.21%	37.90%	12.66%
130	8.84	PCa	96.66%	36.84%	98.15%
131	5.05	PCa	89.02%	22.95%	77.04%
135	3.21	PCa	89.23%	70.28%	98.46%
136	2.15	PCa	14.74%	100.00%	100.00%
137	3.96	PCa	39.88%	88.57%	88.79%
140	57.22	PCa	98.65%	30.75%	99.11%
141	4.84	PCa	99.81%	49.14%	99.98%
142	6.8	PCa	55.58%	43.45%	46.73%
143	7.53	PCa	36.34%	69.34%	55.62%
144	11.84	PCa	38.61%	87.09%	86.21%
150	5.13	PCa	99.87%	100.00%	100.00%
156	1.38	PCa	40.72%	53.11%	38.94%
169	9	PCa	95.47%	80.57%	99.79%
170	1.38	PCa	95.42%	23.37%	93.11%
176	2.82	PCa	98.34%	22.98%	98.34%
177	5.1	PCa	35.94%	85.78%	82.09%
101	5.96	BPH	35.65%	25.53%	7.91%
102	30.08	BPH	38.50%	36.80%	17.37%
108	1.93	BPH	28.70%	55.65%	23.69%
113	5.75	BPH	16.08%	26.66%	1.99%
114	4.98	BPH	43.09%	22.55%	9.73%
117	0.9	BPH	30.61%	23.42%	5.02%
118	8.87	BPH	24.78%	23.52%	3.38%
121	21.03	BPH	11.37%	27.28%	1.20%
122	7.01	BPH	81.64%	38.70%	78.94%
124	3.58	BPH	13.87%	60.15%	9.73%
125	3.97	BPH	27.87%	38.68%	10.53%
127	1.42	BPH	21.53%	25.27%	2.97%
129	5.96	BPH	26.39%	25.48%	4.37%
132	1.55	BPH	17.07%	29.28%	2.63%
133	2.45	BPH	31.52%	22.84%	5.10%
134	3.66	BPH	40.06%	42.92%	24.32%
138	3.15	BPH	20.72%	55.83%	14.45%
139	2.47	BPH	23.33%	24.00%	3.13%
145	2.79	BPH	59.84%	26.24%	27.18%
146	0.22	BPH	27.14%	31.67%	6.83%
147	0.61	BPH	60.61%	28.60%	30.38%
148	14.37	BPH	45.56%	74.01%	72.37%
149	6.82	BPH	85.73%	69.76%	98.24%
152	4.56	BPH	60.88%	26.41%	27.48%
153	0.87	BPH	14.31%	28.53%	1.88%
154	3.27	BPH	35.98%	23.28%	6.87%
155	3.24	BPH	26.97%	25.68%	4.63%
157	4.34	BPH	32.81%	43.54%	18.00%
158	6.64	BPH	30.05%	25.42%	5.57%
160	19.43	BPH	29.03%	78.32%	54.98%
161	5.1	BPH	32.25%	76.89%	57.97%
162	7.62	BPH	55.15%	24.52%	19.39%

【０２４９】

受信者動作特性（ＲＯＣ）曲線を、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１および併用マーカーに対する平均ロジスティック回帰を使用して算出した。ＰＳＡアッセイ法についてのこのＲＯＣ曲線は、観察したＰＳＡ濃度を使用して算出した。曲線下面積（ＡＵＣ）を各ＲＯＣ曲線に対して算出した。各マーカーまたは併用マーカーに対して、感度および特異度の両方を最大にするＲＯＣ曲線上の最適ポイントを、ＲＯＣを使用して、感度および特異度の和の最大値を探すことにより求め、ＲＯＣ曲線上の複数のポイントが同じ感度および特異度の和を与える場合は、その同点のポイントの平方和の最大値を使用した。

【０２５０】
結果
本実験は、複数の前立腺癌腫瘍関連抗原を同定した。そしてこれは、体液性応答反応を誘発するあらゆる疾患に拡張できる。２つの新規の腫瘍抗原、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１が、現在の臨床的ＰＳＡ試験より高い特異度および感度で前立腺癌を診断することが見出された。
【０２５１】
プールされた血清試料および個々の血清試料の両方を、本研究で検討した。３２例のＰＣａ由来のプールされた血清および３２例のＢＰＨ由来のプールされた血清を、まず、９６種のすべてのタンパク質（ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の位置を示して図２Ａに示す）を含有する高含有量タンパク質アレイチップを使用して検討した。９６種のタンパク質抗原の約半分は、検出可能な自己抗体信号を示した（バックグラウンドレベル信号より上の最小の蛍光信号プラス３倍の標準偏差分として観察した）。プールされたＰＣａ血清とプールされたＢＰＨとの間で有意差を有する上位２０種のバイオマーカーを図２Ｂに示す。これらのタンパク質の中で、サイクリンＢ１（ＣＣＮＢ１）、α－メチルアシル－ＣｏＡ ラセマーゼ（ＡＭＡＣＲ）および前立腺特異的抗原またはＰＳＡ（ＫＬＫ３）、サバイビン（ＢＩＲＣ５）は、ＰＣａ患者において自己抗体を誘発することがこれまでに報告されている。腫瘍抑制因子Ｐ５３（ＴＰ５３）およびムチン１（ＭＵＣ１）は、２つの活発に研究されている種々の腫瘍に対する腫瘍抗原である（Ｃａｓｉａｎｏら，（２００６）「Ｔｕｍｏｒ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ａｎｔｉｇｅｎ ａｒｒａｙｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｓｅｒｏｌｏｇｉｃａｌ ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ」，Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ．５（１０）：１７４５－５９；Ｍｅｇｌｉｏｒｉｎｏら，（２００５）「Ａｕｔｏｉｍｍｕｎｅ ｒｅｓｐｏｎｓｅ ｔｏ ａｎｔｉ－ａｐｏｐｔｏｔｉｃ ｐｒｏｔｅｉｎ ｓｕｒｖｉｖｉｎ ａｎｄ ｉｔｓ ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｔｏ ｐ５３ ａｎｄ ｃ－ｍｙｃ ｉｎ ｃａｎｃｅｒ ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ」，Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔ．Ｐｒｅｖ．２９（３）：２４１－８；およびＨｉｒａｓａｗａら，（２０００）「Ｎａｔｕｒａｌ ａｕｔｏａｎｔｉｂｏｄｙ ｔｏ ＭＵＣ１ ｉｓ ａ ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ ｉｎｄｉｃａｔｏｒ ｆｏｒ ｎｏｎ－ｓｍａｌｌ ｃｅｌｌ ｌｕｎｇ ｃａｎｃｅｒ」，Ａｍ Ｊ Ｒｅｓｐｉｒ Ｃｒｉｔ Ｃａｒｅ Ｍｅｄ．１６１：５８９－９４）。
【０２５２】
上位２０種のマーカーの中で、ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＬＧＡＬＳ８、ＧＤＦ１５、ＲＰＬ２３、ＲＰＬ３０、ＳＦＲＰ４、ＱＳＣＮ６、ＮＣＡＭ２、ＨＯＸＢ１３、ＳＨ３ＧＬＢ１、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＰＴＥＮは、自己抗体反応を誘発するとしてこれまでに報告されていない新規の腫瘍抗原である。これらのマーカーは、細胞成長およびアポトーシス（ＫＤＲ、ＰＩＭ－１、ＧＤＦ１５、ＳＦＲＰ４、ＨＯＸＢ１３、ＱＳＣＮ６）、代謝（ＲＰＬ２３およびＲＰＬ３０）、転移および血管新生（ＫＤＲ、ＰＴＥＮ、ＣＬＤＮ３、ＣＬＤＮ４、ＮＣＡＭ２、ＬＧＡＬＳ８）を含めたＰＣａ進行の種々の病期に関与している。
【０２５３】
ＫＤＲおよびＰＩＭ－１のタンパク質スポットは、ＰＣａにおいて、ＢＰＨにおいてよりも（それぞれ）２倍および１．６倍高い自己抗体反応を生成した（図２Ａおよび図２Ｂに示す）。タンパク質マイクロアレイ上では、全長ＰＩＭ－１および短縮されたＫＤＲタンパク質（その細胞間ドメインから誘導した）を利用した。両方のタンパク質は、ＰＣａの発症に関与していることがこれまでに報告されている。
【０２５４】
ＫＤＲおよびＰＩＭ－１に対する自己抗体をさらに特性解析し確認するために、図２Ｃ（ＫＤＲ）および図２Ｄ（ＰＩＭ－１）に示すような精製したタンパク質競合アッセイ法を用いた。１．８μｇ／ｍＬという高い濃度で精製したＫＤＲを血清に加えると、タンパク質チップ上のＫＤＲ自己抗体信号が５０％だけ減少した。精製したＰＩＭ－１タンパク

質を２μｇ／ｍＬの濃度で血清に加えると、ＰＩＭ－１自己抗体タンパク質チップ信号もまた、半分だけ減少した。同じチップ上の他のタンパク質に対する自己抗体信号は影響を受けなかった（データは示さず）。これらの結果は、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の自己抗体信号はそれぞれの腫瘍抗原に対して特異的であることを示唆する。

【０２５５】

ＫＤＲおよびＰＩＭ－１に対する自己抗体は、前立腺癌と良性前立腺肥大症を区別する

ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の自己抗体をそれらの併用診断値についてさらに調べるために、低含有量チップを作製した。これは、１６パッドのニトロセルローススライド上にプリントされた全長ＰＩＭ－１およびＫＤＲタンパク質の細胞間ドメインを含有していた。このようにして、６４種の個々の（プールされたものではない）血清試料をすべて、比較的少ない数のタンパク質アレイチップ（１つのスライドあたり６つの個々の血清試料、二重に実施した）を使用して迅速かつ再現性よく測定することができる。この低含有量タンパク質チップを全９６要素のタンパク質チップに対して血清を用いて交差確認したところ、２つのチップ間で８～１０％のＣＶを得た（データは示さず）。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の両方に対する蛍光信号を、互いに対して、各患者について図３Ａおよび図３Ｂにプロットした。ＫＤＲはＰＩＭ－１よりも強い自己抗体信号を与えたが、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１はともにＰＣａにおいて、ＢＰＨ血清よりも有意に高い自己抗体信号を示した。これらの結果は、プールされた血清試料を使用した免疫プロファイリングデータと整合する。

【０２５６】

アッセイ法の診断クオリティは、受信者動作特性曲線（ＲＯＣ）を使用して特徴付けられる。３２例のＰＣａ対３２例のＢＰＨの個々にサンプリングされた血清データセット由来の各個別バイオマーカー、ロジスティック回帰を使用した併用バイオマーカー（ＰＩＭ１およびＫＤＲ）およびＰＳＡについてのＲＯＣ曲線を図３Ｃに示す。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１曲線下面積（ＡＵＣ）については、それぞれ０．８０６６および０．７５であったが、併用したＰＩＭ－１およびＫＤＲの二重アッセイ法は、０．５５９６のＡＵＣを有するＰＳＡ試験と比べ、０．９２６８というＡＵＣを与えた。ＰＳＡをさらなるバイオマーカーとして含む二重および三重アッセイ法のすべての組合せをＲＯＣを使用して調べた（データは示さず）。ＰＳＡを加えても、他のマーカーのいずれの組合せにおいてもさらなる診断値は何ら加わらなかった。一重のアッセイ法として、ＰＳＡ試験は、これまでに報告されているものと同様の値である７１．９％の感度および４３．７％の特異度をもたらし、これは、ＰＣＡとＢＰＨを区別する上でそれほど有効ではないことを示している（Ｅｔｚｉｏｎｉら，（２００２）「Ｏｖｅｒｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｄｕｅ ｔｏ ｐｒｏｓｔａｔｅ－ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｔｉｇｅｎ ｓｃｒｅｅｎｉｎｇ：ｌｅｓｓｏｎｓ ｆｒｏｍ Ｕ．Ｓ．ｐｒｏｓｔａｔｅ ｃａｎｃｅｒ ｉｎｃｉｄｅｎｃｅ ｔｒｅｎｄｓ」，Ｊ Ｎａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．９４（１３）：９８１－９０）。

【０２５７】

すべてのＰＣａおよびＢＰＨ血清試料を生検ベースで分類した。入手した各患者の血清は、グリーソンスコア、全部で８つのコアニードル生検についての陽性スコア数、ならびに任意の１つのコア中の癌腫の割合（％）を含めた病理報告とともに入手した。本研究においてほとんどのＰＣａ患者は、６というグリーソンスコア（３２人中２３人）を有しており、これは中悪性度の腫瘍を表す。各患者からの病理報告を詳細に検討すると、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１は、非常に少ない数の癌陽性コアを有する患者では良好な鑑別能力を与えることが明らかとなった。１つまたは２つのいずれかの陽性コアをもつ患者では、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の自己抗体アッセイ法は、癌症例の９０％を検出したが、ＰＳＡは癌症例のわずか５０％しか検出しない（表１５）。（１人の患者あたり生検した８個のコアの中で）わずかに１つの陽性癌コアをもつすべての１１人の患者は、ＫＤＲ－ＰＩＭ－１二重アッセイ法を用いて正しく分類された。３個以上の陽性コアをもつ患者では、ＰＳＡおよび二重の自己抗体アッセイ法はともに、癌を診断する上で同程度の感度、それぞれ８３．３％および９１．７％を示した。陽性コアの数は腫瘍体積と相関し（Ｌｅｗｉｓら，（２００２）「Ｃａｒｃｉｎｏｍａ ｅｘｔｅｎｔ ｉｎ ｐｒｏｓｔａｔｅ ｎｅｅ

dle biopsy tissue in the prediction of whole gland tumor volume in a screening population」, Am J Clin Pathol. 118（3）：442－450）、これは、腫瘍が触診できないかも知れない場合、すなわちＤＲＥによって検出できない場合に、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の自己抗体がＰＣａを診断する上で貴重であるかも知れないことを示唆する。

【０２５８】

（表１５）病理学、ＰＳＡレベルおよびＫＤＲ／ＰＩＭ－１自己抗体試験の相関

陽性スコア数（8つのうち）	Pca患者数	単一のコアにおける癌腫の最大割合の平均（%）	グリーソンスコア			PSAレベル4+ ng/ml	組み合わせたKDRおよびPIM−1試験を用いた場合の陽性
			6	7	8+		
1	11 (34%)	16%	10/11	1/11	0	5/11	11/11
2	9 (28%)	35%	7/9	2/9	0	5/9	7/9
3およびそれ以上	12 (38%)	43%	6/12	2/12	4/12	10/12	11/12

【０２５９】

ＫＤＲおよびＰＩＭ－１は、前立腺癌組織で過剰発現され、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１の過剰発現は、患者集団における自己抗体頻度と相関する。癌患者における自己抗体誘発についていくつかの機構が提案されており、例えば、遺伝子変異、過剰発現、異常な翻訳後の改変、ミスフォールディングならびに異常な細胞および細胞レベル下の局在化が挙げられる（Ｃａｓｉａｎｏら，（２００６）「Ｔｕｍｏｒ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ａｎｔｉｇｅｎ ａｒｒａｙｓ ｆｏｒ ｔｈｅ ｓｅｒｏｌｏｇｉｃａｌ ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｏｆ ｃａｎｃｅｒ」, Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ. 5（１０）：１７４５－５９；およびＴａｎ，ＥＭ.（２００１）「Ａｕｔｏａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｓ ｒｅｐｏｒｔｅｒｓ ｉｄｅｎｔｉｆｙｉｎｇ ａｂｅｒｒａｎｔ ｃｅｌｌｕｌａｒ ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ ｉｎ ｔｕｍｏｒｉｇｅｎｅｓｉｓ」, Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ. １０８（１０）：１４１１－５）。ＰＩＭ－１およびＫＤＲの最終タンパク質発現レベルを測定し、ＰＣａ組織における自己抗体誘発と相関させた。ＫＤＲおよびＰＩＭ－１に対する抗体を、蛍光免疫組織化学を使用して、それぞれ、ＰＣａ組織におけるこれらの２つのタンパク質の発現パターンについて検討した。

【０２６０】

ＫＤＲの細胞間ドメインに対する抗体は、ＫＤＲが癌細胞の細胞質に局在化していることを示した（図４）。ＰＩＭ－１抗体を用いた免疫染色は、ＰＩＭ－１が細胞質および核の両方に局在化していることを示した（図４）。表１６に示すように、ＫＤＲ－抗原信号を、組織マイクロアレイ上で、ＰＣａの約７０％および約２１％のＢＰＨ患者で検出した。これはＫＤＲがＰＣａ組織で優先的に発現されることを示す。これは、ＰＣａ患者における高ＫＤＲ自己抗体（約６２％）信号対ＢＰＨ患者における低ＫＤＲ自己抗体信号（約２０％）と相関する。同じ傾向はＰＩＭ－１についても観察された。ＰＩＭ－１発現は、約３０％のＰＣａ患者組織アレイで検出したが、検出可能なＰＩＭ－１信号を示したＢＰＨ患者はほとんどおらず、これはＰＣａ患者（約３７％）およびＢＰＨ患者（約０％）におけるＰＩＭ－１自己抗体の頻度と一致する。本研究では、陰性でかつ強い蛍光信号を有する検体だけを使用し、これらの結果は、ＰＩＭ－１は３８％の癌症例で検出されたが、正常な対照では検出されないとする、最も強い強度等級（スコア３）を使用したこれまでの報告と整合する。これらの結果は、ＫＤＲおよびＰＩＭ－１タンパク質の過剰発現が、ＰＣａ患者におけるより強い自己抗体誘発につながるかも知れないことを示唆する。

【０２６１】

（表１６）ＰＣａ患者およびＢＰＨ患者におけるＫＤＲおよびＰＩＭ－１検出

	組織アレイによる KDR陽性患者 (n=20)	アッセイ法における KDR自己抗体陽性患者 (n=32)	組織アレイによる PIM－1陽性患者 (n=20)	アッセイ法における PIM－1自己抗体陽性患者 (n=32)
PCa	70%	62%	30%	37%
BPH	21%	20%	2.6%	0%

ＢＰＨにおいてよりもＰＣａにおいてより高い自己抗体信号を有する患者の割合（％）（データは示さず）は、自己免疫反応が、ＢＰＨにおいてよりもＰＣａにおいてより著しいことを示唆する。

【０２６２】

理解を明確にするため、図解および実施例によって、ここまでいくらか詳細かつ十分に本発明を完全に説明してきたが、本発明またはその任意の具体的実施形態の範囲に影響を及ぼすことなく、条件、処方および他のパラメータの広義かつ均等な範囲内で本発明を修正または変更することにより、同じ内容が実施できること、およびかかる修正または変更は添付の特許請求の範囲の中に包含されることは当業者には明らかであろう。

【０２６３】

具体的に例示されたもの以外に、出発物質、試薬、精製方法、材料、基材、装置要素、分析方法、アッセイ方法、混合形態および要素の組合せが、過度の実験を行わずとも本発明を実施する際に使用可能であることは当業者には分かるであろう。任意のかかる材料および方法に関しては、当該技術分野で公知の機能的等価物がすべて、本発明に包含されている。用いられてきた用語および表現は、説明のための用語として使用され、限定のためのものではなく、かかる用語および表現を使用する際に、示され説明された特徴の任意の等価物またはその一部分でも排除する意図はなく、請求項に係る本発明の範囲内で種々の修正が可能であることは認識されている。このように、本発明は好ましい実施形態および任意の特徴によって具体的に開示されたが、本願明細書において開示された技術思想の修正およびバリエーションが、当業者によって利用されるかも知れず、そしてかかる修正およびバリーションが添付の特許請求の範囲によって画定される本発明の範囲内にあると見なされるべき点は理解するべきである。

【０２６４】

本願明細書で使用する場合、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」は「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」、「含有する（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」、または「を特徴とする」、と同義であり、それは包括的または開放型（ｏｐｅｎ－ｅｎｄｅｄ）であり、追加の、引用されていない要素または方法の段階を排除しない。本願明細書で使用する場合、「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」は、請求項の要素で特定されていないあらゆる要素、段階、または成分を排除する。本願明細書で使用する場合、「本質的に～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」は、請求項の基礎となりかつ新規の特徴に実質的に影響を及ぼさない材料または段階を排除するものではない。本願明細書中の各々の例では、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「本質的に～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」および「からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」という用語は、いずれも、他の２つの用語のいずれかで置き換えられてもよい。

【０２６５】

一群の材料、組成物、要素または化合物が本願明細書に開示される場合、これらの群およびそのサブグループのすべての個々のメンバーは別々に開示されることを理解されたい。マーカッシュ群または他のグループ分けが本願明細書で使用される場合、その群のすべての個々のメンバーならびにその群の可能なすべの組合せおよびサブコンビネーションは、個々にその開示に包含されることが意図されている。本願明細書に記載または例示された要素のあらゆる処方もしくは組合せは、特段の記載がないかぎり、本発明を実施するために使用することができる。ある範囲、例えば、温度範囲、時間範囲、または組成範囲が本願明細書中で与えられた場合はいつでも、すべての中間の範囲および部分的範囲、なら

びに所与の範囲中に含まれるすべての個々の値は、本開示に包含されることが意図されている。開示および特許請求の範囲において、「および／または」は追加または代替を意味する。さらに、単数形の用語の使用はすべて複数形をも包含する。

【０２６６】

本願明細書に引用したすべての引用文献は、本願明細書の開示と矛盾がない程度まで参照によってその全体が本願明細書に援用される。本願明細書に提供されるいくつかの引用文献は、出発物質、追加の出発物質、追加の試薬、追加の合成方法、追加の分析方法、追加の生物学的材料、追加の核酸、化学変性された核酸、追加の細胞、および本発明の追加使用の供給源に関する詳細を提供するため、参照によって援用される。本願明細書で使用されるすべての見出しは、便宜上のものに過ぎない。本願明細書中で言及されたすべての特許および刊行物は、本発明が関係する技術分野の当業者の技術のレベルを示すものであり、それらは、各個々の刊行物、特許または特許出願が具体的かつ個々に参照により援用されると示してあるかのごとく、参照により本願明細書に援用される。本願明細書に引用される引用文献は、それらの公開日または出願日の技術水準を表すため、参照によりその全体が本願明細書に援用され、その情報は、必要に応じて、先行技術である具体的実施形態を排除するため、本願明細書で用いることができることが意図されている。例えば、組成物が請求項に記載されている場合、公知かつ本出願人らの発明以前に業界で入手可能な化合物は、本願明細書に引用された引用文献に実施可能な開示が提供されている化合物を含め、本願明細書の組成物の請求項に含む意図がないことは理解されるべきである。

【０２６７】

ＰＩＭ－１の配列　（アクセッション番号　ＮＰ＿００２６３９）
定義：　ｐｉｍ－１　癌遺伝子　［ホモサピエンス（Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ）］．
バージョン　ＮＰ＿００２６３９．１　ＧＩ：４５０５８１１
データベースソース　参照配列：　アクセッション番号　ＮＭ＿００２６４８．２

(SEQ ID NO: 1)

```
  1 mllskinsla hlraapcndl hatklapgke keplesqyqv gpllgsggfg svysgirvsd
 61 nlpvaikhve kdrisdwgel pngtrvpmev vllkkvssgf sgvirlldwf erpdsfvlil
121 erpepvqdlf dfitergalq eelarsffwq vleavrhchn cgvlhrdikd enilidlnrg
181 elklidfgsg allkdtvytd fdgtrvyspp ewiryhryhg rsaavwslgi llydmvcgdi
241 pfehdeeiir gqvffrqrvs secqhlirwc lalrpsdrpt feeiqnhpwm qdvllpqeta
301 eihlhslspg psk
```

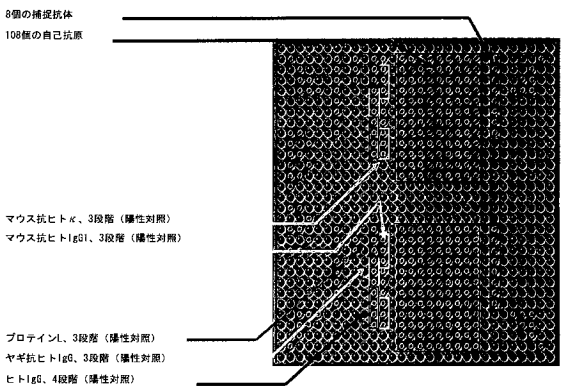
【０２６８】

ＫＤＲの配列（アクセッション番号　ＮＰ＿００２２４４）
定義：　キナーゼ挿入ドメイン受容体　（ＩＩＩ型受容体チロシンキナーゼ）　［ホモサピエンス］．
バージョン　ＮＰ＿００２２４４．１　Ｇｌ：１１３２１５９７
データベースソース　参照配列：　アクセッション番号ＮＭ＿００２２５３．１

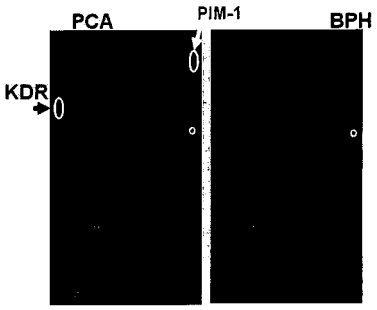
(SEQ. ID. NO. 2)

```
   1 mqskvllava lwlcvetraa svglpsvsld lprlsiqkdi ltikanttlq itcrgqrdld
  61 wlwpnnqsgs eqrvevtecs dglfcktlti pkvigndtga ykcfyretdl asviyvyvqd
 121 yrspfiasvs dqhgvvyite nknktvvipc lgsisnlnvs lcarypekrf vpdgnriswd
 181 skkgftipsy misyagmvfc eakindesyq simyivvvvg yriydvvlsp shgielsvge
 241 klvlnctart elnvgidfnw eypsskhqhk klvnrdlktq sgsemkkfls tltidgvtrs
 301 dqglytcaas sglmtkknst fvrvhekpfv afgsgmeslv eatvgervri pakylgyppp
 361 eikwykngip lesnhtikag hvltimevse rdtgnytvil tnpiskekqs hvvslvvyvp
 421 pqigekslis pvdsyqygtt qtltctvyai ppphhihwyw qleeecanep sqavsvtnpy
 481 pceewrsved fqggnkievn knqfaliegk nktvstlviq aanvsalykc eavnkvgrge
 541 rvisfhvtrg peitlqpdmq pteqesvslw ctadrstfen ltwyklgpqp lpihvgelpt
 601 pvcknldtlw klnatmfsns tndilimelk naslqdqgdy vclaqdrktk krhcvvrqlt
 661 vlervaptit gnlenqttsi gesievscta sgnpppqimw fkdnetlved sgivlkdgnr
 721 nltirrvrke deglytcqac svlgcakvea ffiiegaqek tnleiiilvg taviamffwl
 781 llviilrtvk ranggelktg ylsivmdpde lpldehcerl pydaskwefp rdrlklgkpl
 841 grgafgqvie adafgidkta tcrtvavkml kegathsehr almselkili highhlnvvn
 901 llgactkpgg plmvivefck fgnlstylrs krnefvpykt kgarfrqgkd yvgaipvdlk
 961 rrldsitssq ssassgfvee kslsdveeee apedlykdfl tlehlicysf qvakgmefla
1021 srkcihrdla arnillsekn vvkicdfgla rdiykdpdyv rkgdarlplk wmapetifdr
1081 vytiqsdvws fgvllweifs lgaspypgvk ideefcrrlk egtrmrapdy ttpemyqtml
1141 dcwhgepsqr ptfselvehl gnllqanaqq dgkdyivlpi setlsmeeds glslptspvs
1201 cmeeeevcdp kfhydntagi sqylqnskrk srpvsvktfe dipleepevk vipddnqtds
1261 gmvlaseelk tledrtklsp sfggmvpsks resvasegsn qtsgyqsgyh sddtdttvys
1321 seeaellkli eigvqtgsta qilqpdsgtt lssppv
```

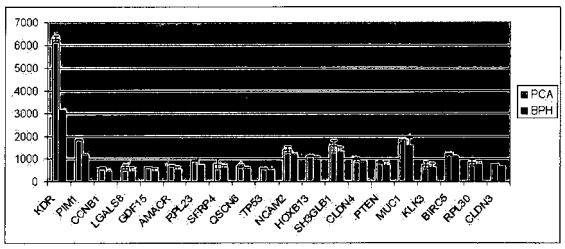
【図１】



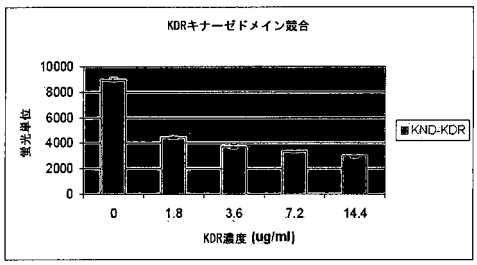
【図２Ａ】



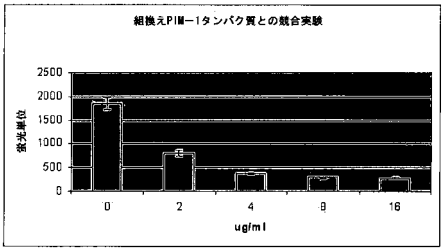
【図２Ｂ】



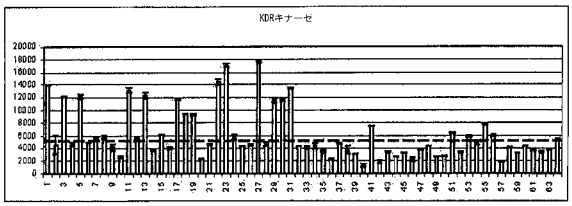
【図２Ｃ】



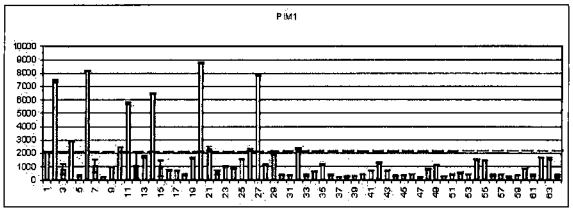
【図２Ｄ】



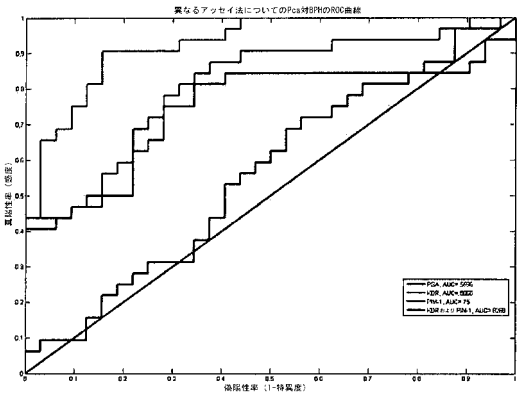
【図３Ａ】



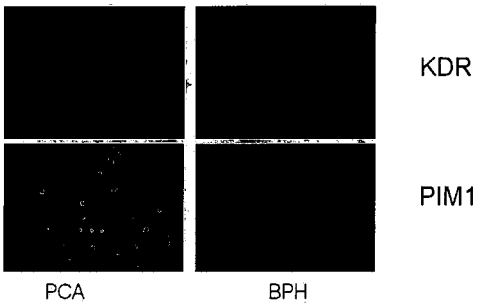
【図３Ｂ】



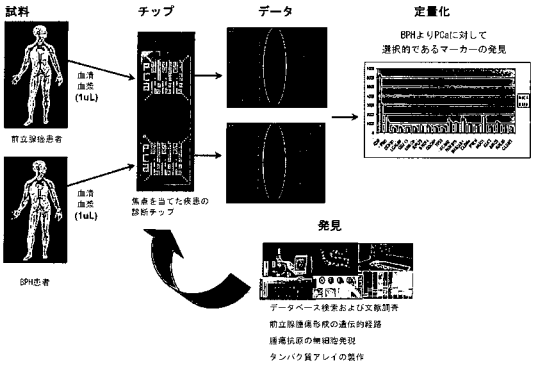
【図３Ｃ】



【図４】



【図５】



【配列表】
2010509598000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US07/84585

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC: G01N 33/53(2006.01)

USPC: 435/7.1
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)
U.S. : 435/7.1

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)
STN DATABASE (medline, biosis, confsci, scisearch, embase, caplus, uspatfull, pctfull, dissabs) pubmed, west

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PONTES ER et al. Auto-antibodies in prostate cancer: humoral immune response to antigenic determinants coded by the differentially expressed transcripts FLJ23438 and VAMP3. Prostate. October 2006, Vol. 66, No. 14, pages 1463-1473.	1-110
A	DANIELS, T. et al. Antinuclear autoantibodies in prostate cancer: immunity to LEDGF/p75, a survival protein highly expressed in prostate tumors and cleaved during apoptosis. Prostate. January 2005, Vol. 62, No 1, pages 14-26.	1-110

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
26 May 2008 (26.05.2008)

Date of mailing of the international search report
14 JUL 2008

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized officer
CHRISTOPHER H. YAEN

Telephone No. 571-272-1600

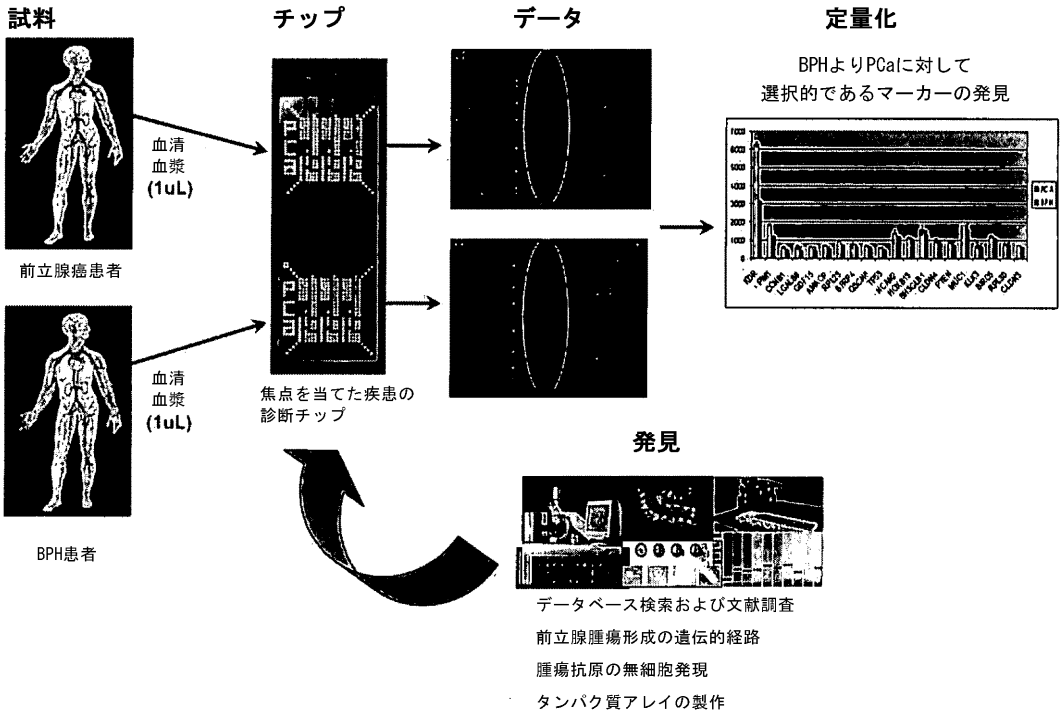
Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2007)

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,MT,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,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,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 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100130845
弁理士 渡邉 伸一
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 ビーケム ジョセフ エム.
アメリカ合衆国 オレゴン州 ユージーン リッジライン ドライブ ４６
(72)発明者 ワン リーリン
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンディエゴ トーリー ブラフ ドライブ １２６３４
(72)発明者 ラブ ブラッドリー
アメリカ合衆国 メリーランド州 ティモニウム ロックネル ロード ２１１
(72)発明者 ロジャーズ ジェフ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 エスコンディード バレンシア グレン コート １８２０

【要約の続き】


試料
チップ
データ
定量化
BPHよりPCaに対して
選択的であるマーカーの発見
血清
血漿
(1uL)
前立腺癌患者
血清
血漿
(1uL)
BPH患者
焦点を当てた疾患の
診断チップ
発見
データベース検索および文献調査
前立腺腫瘍形成の遺伝的経路
腫瘍抗原の無細胞発現
タンパク質アレイの製作