

(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2017-509351

(P2017-509351A)

(43) 公表日 平成29年4月6日(2017.4.6)

(51) Int.Cl.	F 1		テーマコード (参考)
C 12 Q 1/68 (2006.01)	C 12 Q 1/68	Z NAA	4 B 02 9
A 61 K 45/00 (2006.01)	A 61 K 45/00		4 B 06 3
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00		4 C 04 8
A 61 P 13/08 (2006.01)	A 61 P 13/08		4 C 08 4
C 12 N 15/09 (2006.01)	C 12 N 15/09	A	4 C 08 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 48 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-561993 (P2016-561993)	(71) 出願人	501051125 ザ ヘンリー エム. ジャクソン ファ ウンデーション フォー ザ アドヴァン スメント オブ ミリタリー メディシン インコーポレイテッド アメリカ合衆国 メリーランド州 ベセス ダ ロックレッジ ドライブ 6720— エイ スイート 100
(86) (22) 出願日	平成26年12月29日 (2014.12.29)	(71) 出願人	516193346 ゲノマティックス ドイツ国 80335 ミュンヘン バイ アーシュトラーセ 85エー
(85) 翻訳文提出日	平成28年8月16日 (2016.8.16)	(71) 出願人	110000796 特許業務法人三枝国際特許事務所
(86) 國際出願番号	PCT/US2014/072610		
(87) 國際公開番号	W02015/103166		
(87) 國際公開日	平成27年7月9日 (2015.7.9)		
(31) 優先権主張番号	61/921,739		
(32) 優先日	平成25年12月30日 (2013.12.30)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

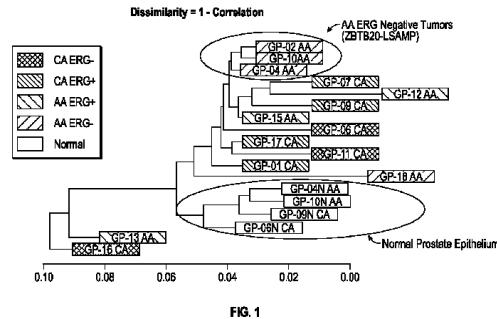
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】前立腺癌遺伝子プロファイル及びその使用方法

(57) 【要約】

本開示は、アフリカ系人種の対象とコーカサス系人種の対象とを識別するいくつかの遺伝子発現プロファイル、並びにアフリカ系人種及びコーカサス系人種の両方の対象に共通である他の遺伝子発現プロファイルを含む、前立腺癌に関連している遺伝子発現プロファイルを提供する。遺伝子発現プロファイルは、核酸又はタンパク質レベルで測定することができ、民族性又は前立腺癌の重症度若しくは侵襲性に基づいて前立腺癌を階層化するために使用することができる。遺伝子発現プロファイルはまた、前立腺癌治療について対象を同定するために使用することもできる。また、アフリカ系人種又はコーカサス系人種の対象における前立腺癌に関連している特有の遺伝子発現プロファイルの検出用のプローブを含む、前立腺癌の診断及び予後判定用のキット並びにアレイも提供される。

【選択図】図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

患者における前立腺癌の診断又は予後判定における使用のためのデータを収集する方法であって、

a) 前記患者から得られた生体サンプルにおける複数の遺伝子の発現を検出することであって、ここで、前記患者がアフリカ系人種であり、かつ、ここで、前記複数の遺伝子が、前記患者がアフリカ系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3つを含むこと、

b) 前記患者から得られた生体サンプルにおける複数の遺伝子の発現を検出することであって、ここで、前記患者がコーカサス系人種であり、かつ、ここで、前記複数の遺伝子が、前記患者がコーカサス系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N の少なくとも4つを含むこと、又は、

c) 前記患者から得られた生体サンプルにおける複数の遺伝子の発現を検出することであって、ここで、前記複数の遺伝子が、以下の遺伝子：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも4つを含むこと、

を含む、方法。

【請求項 2】

工程a)、工程b)、又は工程c)において得られる発現データを使用して、前立腺癌を診断又は予後判定する工程を更に含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

対照サンプル又は閾値と比較しての、1)以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3つ、2)以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも4つ、又は、3)以下の遺伝子：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも4つの過剰発現が、前記生体サンプルにおける前立腺癌の存在又は前立腺癌の発生リスクの増大を示す、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

前記生体サンプルにおけるE R G 遺伝子の発現を検出することを更に含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記生体サンプルが、組織サンプル、細胞サンプル、血液サンプル、血清サンプル、又は尿サンプルである、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記生体サンプルが、前立腺細胞又は前立腺細胞から単離された核酸若しくはポリペプチドを含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

核酸発現が、工程a)、b)、又はc)において検出される、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

ポリペプチド発現が、工程a)、b)、又はc)において検出される、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前立腺癌の診断又は予後判定における使用のためのキットであって、該キットが以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H

10

20

30

40

50

G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3つの検出用の複数のプローブを含み、ここで、前記複数のプローブが、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の異なる遺伝子の検出用のプローブを含有する、キット。

【請求項10】

前立腺癌の診断又は予後判定における使用のためのキットであって、該キットが以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも4つの検出用の複数のプローブを含み、ここで、前記複数のプローブが、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の異なる遺伝子の検出用のプローブを含有する、キット。

10

【請求項11】

前立腺癌の診断又は予後判定における使用のためのキットであって、該キットが以下の遺伝子：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも4つの検出用の複数のプローブを含み、ここで、前記複数のプローブが、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の異なる遺伝子の検出用のプローブを含有する、キット。

【請求項12】

前記複数のプローブが、複数のオリゴヌクレオチドプローブ、複数の抗体、又は複数のポリペプチドプローブから選択される、請求項9～11のいずれか一項に記載のキット。

20

【請求項13】

前記複数のプローブが、250、100、50、25、15、10、又は5以下の異なる遺伝子の検出用のプローブを含有する、請求項9～12のいずれか一項に記載のキット。

【請求項14】

前記複数のプローブが、アレイの表面に結合している、請求項9～13のいずれか一項に記載のキット。

【請求項15】

前記アレイが、500、250、100、50、25、15、又は10以下のアドレス指定可能な要素を含む、請求項14に記載のキット。

30

【請求項16】

前記複数のプローブが、標識されている、請求項9～15のいずれか一項に記載のキット。

【請求項17】

前記複数のプローブが、E R G 遺伝子の検出用のプローブを更に含む、請求項9～16のいずれか一項に記載のキット。

【請求項18】

生体サンプルにおける遺伝子発現プロファイルを得る方法であって、
a) 請求項14又は15に記載の前記アレイを前記生体サンプルとともにインキュベートすることであって、ここで、前記生体サンプルがアフリカ系人種の患者から得られたものであることと、
b) 以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3つの発現レベルを測定して、前記遺伝子発現プロファイルを得ることと、
を含む、方法。

40

【請求項19】

生体サンプルにおける遺伝子発現プロファイルを得る方法であって、
a) 請求項14又は15に記載の前記アレイを前記生体サンプルとともにインキュベートすることであって、ここで、前記生体サンプルがコーカサス系人種の患者から得られた

50

ものであることと、

b) 以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも4つの発現レベルを測定して、前記遺伝子発現プロファイルを得ることと、
を含む、方法。

【請求項 2 0】

生体サンプルにおける遺伝子発現プロファイルを得る方法であって、

a) 請求項14又は15に記載の前記アレイを前記生体サンプルとともにインキュベートすることと、

b) 以下の遺伝子：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4
、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、
A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも4つの発現レベルを測定して、前記遺伝子発現プロファイルを得ることと、
を含む、方法。

【請求項 2 1】

前記生体サンプルが、組織サンプル、細胞サンプル、血液サンプル、血清サンプル、又は尿サンプルである、請求項18～20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記生体サンプルが、前立腺細胞から単離された核酸又はポリペプチドを含む、請求項18～21のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記測定する工程が、核酸発現レベルを測定することを含む、請求項18～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記測定する工程が、ポリペプチド発現レベルを測定することを含む、請求項18～22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記測定する工程が、E R G 遺伝子の発現レベルを測定することを更に含む、請求項18～24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前立腺癌治療を必要とする患者を同定する方法であって、ここで、前記患者がアフリカ系人種であり、該方法が、

a) 前記患者からの生体サンプルを、複数の遺伝子の過剰発現について検査することであって、ここで、前記複数の遺伝子が、前記患者がアフリカ系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3つを含むことと、

b) 前記C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1 遺伝子の1又は複数が、対照サンプル又は閾値と比較して前記生体サンプルにおいて過剰発現している場合に、前立腺癌治療を必要とするものであるとして前記患者を同定することと、
を含む、方法。

【請求項 2 7】

前記患者が前立腺癌治療を必要とするものであるとして同定された場合に、前記患者を治療する工程を更に含む、請求項26に記載の方法。

【請求項 2 8】

前立腺癌治療を必要とする患者を同定する方法であって、ここで、前記患者がコーカサス系人種であり、該方法が、

a) 前記患者からの生体サンプルを、複数の遺伝子の過剰発現について検査することであって、ここで、前記複数の遺伝子が、前記患者がコーカサス系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O

10

20

30

40

50

R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及び C L D N 3 の少なくとも 4 つを含むことと、

b) 前記 P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及び C L D N 3 遺伝子の 1 又は複数が、対照サンプル又は閾値と比較して前記生体サンプルにおいて過剰発現している場合に、前立腺癌治療を必要とするものであるとして前記患者を同定することと、

を含む、方法。

【請求項 2 9】

前記患者が前立腺癌治療を必要とするものであるとして同定された場合に、前記患者を治療する工程を更に含む、請求項 2 8 に記載の方法。

10

【請求項 3 0】

患者における前立腺癌を治療する方法であって、ここで、前記患者がアフリカ系人種であり、該方法が、

a) 前記患者からの生体サンプルを、複数の遺伝子の発現について検査することであって、ここで、前記複数の遺伝子が、前記患者がアフリカ系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及び A G S K 1 の少なくとも 3 つを含むことと、

b) 工程 a) における前記検査により、前記患者が、対照サンプル又は閾値と比較して、以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及び A G S K 1 の 1 又は複数を過剰発現すると明らかになった場合に、前記患者を治療することと、

20

を含む、方法。

【請求項 3 1】

患者における前立腺癌を治療する方法であって、ここで、前記患者がコーカサス系人種であり、該方法が、

a) 複数の遺伝子の発現について前記患者からの生体サンプルを検査することであって、ここで、前記複数の遺伝子が、前記患者がコーカサス系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及び C L D N 3 の少なくとも 4 つを含むことと、

b) 工程 a) における前記検査により、前記患者が、対照サンプル又は閾値と比較して、以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及び C L D N 3 の 1 又は複数を過剰発現すると明らかになった場合に、前記患者を治療することと、

30

を含む、方法。

【請求項 3 2】

E R G 遺伝子の発現について前記生体サンプルを検査することを更に含む、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記複数の遺伝子が、1 0 0、9 0、8 0、7 0、6 0、5 0、4 0、3 0、2 5、2 0、1 5、1 4、1 3、1 2、1 1、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は 2 以下の遺伝子からなる、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 3 4】

コンピュータで実施される方法である、請求項 1 ~ 8 又は 1 8 ~ 3 3 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

[関連出願の相互参照]

本願は、2 0 1 3 年 1 2 月 3 0 日付で出願された米国仮特許出願第 6 1 / 9 2 1 , 7 3 9 号の利益を主張し、その出願日に依拠し、その開示全体が引用することにより本明細書

50

の一部をなす。

【0002】

[政府の権利]

本発明は一部、米国政府による支援を受けてなされたものである。米国政府は本発明に對して一定の権利を有する。

【0003】

[配列表]

本願は、A S C I I フォーマットで電子的に提出された配列表を含み、その全体が引用することにより本明細書の一部をなす。2014年12月29日付で作製された上記A S C I I コピーの名前はH M J - 1 4 5 - P C T _ S L . t x t であり、3 4 4 4 1 0 バイ特のサイズである。10

【背景技術】

【0004】

2013年には、推定23万8590名の男性が前立腺の癌(C a P)であると診断され、推定2万9720名の男性がこの疾患によって死亡であろう[1]。この悪性腫瘍は、アメリカ合衆国における男性の癌関連死の第2の主因である。さらに、アフリカ系アメリカ人(AA)の男性では、他の人種と比較して、C a Pの発生率及びC a Pによる死亡率が最も高い[1]。この人種間の相違は、発現及び診断から治療、生存、及び生活の質にまで存在する[2]。研究者らにより、社会経済的状況(S E S)が、C a P特異的死亡率を含むこれらの相違に著しく寄与していることが示唆されている[3]。同様に、医療を受ける機会が少ないことがC a Pの転帰不良に関連しているという証拠があり、これは、コーカサス系アメリカ人(CA)の男性よりもAAの男性の間でより広く認められる[4]。20

【0005】

しかしながら、CAの男性と同様の転帰を有するAAの男性の集団が存在する。Sridhar及び同僚ら[5]は、メタ解析を公表し、そこでは、S E Sを考慮すると、AAの男性とCAの男性との間に全生存及びC a P特異的生存における差はない結論づけた。同様に、軍人及び退役軍人集団(同等のアクセス及びスクリーニングのシステム)では、人種間で生存における差は観察されず[6]、診断時の病理学的段階における差は、退役軍人のコホートにおいて、2000年代初期までに狭くなった[7]。注目すべきことに、これらの研究は両方、AAの男性はCAの男性よりも高いグリーソンスコア及びP S Aレベルを有する可能性が高かったということを示した[6、7]。30

【0006】

社会経済的要因がC a Pの転帰に寄与している可能性はあるが、社会経済的要因が、診断及び疾患リスクに関連している全ての変数の原因となっているわけではないようである。いくつかの研究は、AAの男性はCAの男性と比較してより高いC a Pの発生率を有していることを支持している[1、8、9]。研究により、AAの男性は、診断時の有意により高いP S A、生検でのより高いグレードの疾患、各ステージについてのより大きい腫瘍体積、及び前立腺全摘除術の前のより短いP S A倍加時間を有することも示されている[10~12]。CAの男性からの前立腺癌とAAの男性からの前立腺癌との間の生物学的な差が、ストレス及び炎症反応に関連する腫瘍微小環境において認められている[13]。生物学的な差の役割に関する論争がいまだに存在するものの、発生率及び発現時の疾患の侵襲性において観察される差は、AAの男性とCAの男性との間の異なる前立腺発癌の経路にとっての潜在的な機能を示す。40

【0007】

これまでの十年間に、多くの研究が、癌遺伝子の変化及び癌遺伝子のC a Pにおける効果に着目してきた[14~16]。民族及び人種の間の有病率における差異は、C a Pにおいて過剰発現しており、かつ、C a Pにおける最も一般的な既知の癌遺伝子である、T M P R S S 2 / E R G 遺伝子融合において認められている[17、18]。データの蓄積により、民族の間のE R G 癌化変異に差があることが示唆されている[17、19~21]50

]。A A の男性と比較して C A の男性における有意により多い E R G 発現が、E R G 過剰発現及び E R G スプライスバリアントについて論じている初期の論文において着目された [17, 21]。この差は、高いグリーソングレード (8 ~ 10) の腫瘍を有する患者において、C A と A A との間でより一層明らかである (50 % 対 16 %)。したがって、E R G はこれらの民族間の主要な体細胞遺伝子変化である。いまだに T M P R S S 2 / E R G の他は、A A の男性と C A の男性との間の C a P 相違についての遺伝学的基礎に関してはほとんど知られておらず、未知のままである [24]。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

10

それゆえ、異なる民族集団に特異的であり、かつ、より正確な診断及び／又は予後判定潜在力を提供する、新しいバイオマーカー及び治療マーカーが必要とされている。したがって、アフリカ系人種の患者及びコーカサス系人種の患者についての別々の遺伝子発現プロファイルは、異なる民族集団における C a P の診断又は予後判定に使用することができるとともに、これらの民族特異的な遺伝子発現特性に基づいて、より多くの情報に基づく治療選択肢を提供することができる。

【課題を解決するための手段】

【0009】

概要

20

本開示は、前立腺癌に関連している遺伝子発現プロファイル及びそれを使用する方法を提供する。この遺伝子発現プロファイルは、サンプルにおける前立腺癌細胞を検出するのに使用することができ、又は前立腺癌が発症する患者の可能性を予測するのに使用することができる。遺伝子発現プロファイルはまた、前立腺癌の重症度若しくはステージを評価するのにも使用することができ、又は治療の有効性を評価するのにも使用することができ、又は治療の後の前立腺癌の進行若しくは退行（例えば、手術後の無病再発率）をモニターするのにも使用することができる。この遺伝子発現プロファイルは、核酸又はタンパク質レベルのいずれかで測定することができる。一つの態様において、遺伝子発現プロファイルは、アフリカ系人種の患者に特異的である。別の態様において、遺伝子発現プロファイルは、コーカサス系人種の患者に特異的である。

【0010】

30

したがって、一つの態様は、アフリカ系人種の患者における前立腺癌に関連する遺伝子発現プロファイルに関するものであり、この遺伝子発現プロファイルは、以下の遺伝子： C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の組合せを含む。

【0011】

別の態様は、コーカサス系人種の患者における前立腺癌に関連する遺伝子発現プロファイルに関するものであり、この遺伝子発現プロファイルは、以下の遺伝子： P C A 3 、 A L O X 1 5 、 A M A C R 、 C D H 1 9 、 O R 5 1 E 2 / P S G R 、 F 5 、 F Z D 8 、及び C L D N の組合せを含む。

【0012】

40

更に別の態様は、両方の民族における前立腺癌において最も差を持って発現する遺伝子を表し、以下の遺伝子： D L X 1 、 N K X 2 - 3 、 C R I S P 3 、 P H G R 1 、 T H B S 4 、 A M A C R 、 G A P 4 3 、 F F A R 2 、 G C N T 1 、 S I M 2 、 S T X 1 9 、 K L B 、 A P O F 、 L O C 2 8 3 1 7 7 、及び T R P M 4 の組合せを含む、遺伝子発現プロファイルに関する。いくつかの実施の形態において、遺伝子発現プロファイルは少なくとも D L X 1 及び N K X 2 - 3 を含む。一つの実施の形態において、組合せは少なくとも D L X 1 及び N K X 2 - 3 を含む。

【0013】

これら遺伝子プロファイルは、前立腺癌の診断又は予後判定用のデータを収集する方法に使用することができ、この方法は、開示される遺伝子プロファイルの 1 つにおける代表

50

的な数の遺伝子の発現を測定することを含み、ここで、遺伝子発現は患者から得られたサンプルにおいて測定される。収集された遺伝子発現データは、対象が前立腺癌を有するか否か、若しくは対象が前立腺癌を発症するか否かを予測するのに使用することができ、又は前立腺癌のステージ若しくは重症度を予測するのに使用することができる。収集された遺伝子発現データはまた、患者の治療又はモニタリングに関する決定を通知するにも使用することができる。これら特有の遺伝子発現プロファイルが同定されれば、当業者は、同定された遺伝子のなかのどの遺伝子を遺伝子プロファイリング解析に含めるかを判定することができる。代表的な数の遺伝子は、特定のプロファイルに収載された遺伝子の全てを含むことができ、又はいくらかより少ない数、例えば、3つ若しくは4つ以上の遺伝子を含むことができる。いくつかの実施の形態において、この方法は、E R G、P S A、及びP C A 3を含むが、それらに限定されない、前立腺癌に関連している1又は複数の他の遺伝子の発現を検出することを更に含む。

10

【0014】

別の態様は、前立腺癌の診断又は予後判定における使用のためのキットに関する。一つの実施の形態において、キットは、アフリカ系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定における使用のために設計されており、以下の遺伝子（又はそれにコードされるポリペプチド）：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも1つ（好ましくは、少なくとも3つ）の検出用の複数のプローブを含む。いくつかの実施の形態において、複数のプローブは、複数のオリゴヌクレオチドプローブ、複数の抗体、又は複数のポリペプチドプローブから選択される。他の実施の形態において、複数のプローブは、5 0 0、1 0 0、5 0、2 5、1 5、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子（又はポリペプチド）についてのプローブを含有する。一つの実施の形態において、キットは、E R G、P S A、及びP C A 3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している1又は複数の他の遺伝子の発現の検出用のプローブを更に含む。

20

【0015】

別の実施の形態において、キットは、コーラス系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定における使用のために設計されており、以下の遺伝子（又はそれにコードされるポリペプチド）：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D Nの少なくとも1つ（好ましくは、少なくとも3つ）の検出用の複数のプローブを含む。いくつかの実施の形態において、複数のプローブは、複数のオリゴヌクレオチドプローブ、複数の抗体、又は複数のポリペプチドプローブから選択される。他の実施の形態において、複数のプローブは、5 0 0、1 0 0、5 0、2 5、1 5、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子（又はポリペプチド）についてのプローブを含有する。いくつかの実施の形態において、この方法は、E R G、P S A、及びP C A 3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している1又は複数の他の遺伝子の発現を検出することを更に含む。

30

【0016】

更に別の実施の形態において、前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、以下の遺伝子（又はそれによってコードされるポリペプチド）：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも1つ（好ましくは、少なくとも4つ）の検出用の複数のプローブを含む。一つの実施の形態において、遺伝子は、D L X 1及び/又はN K X 2 - 3を含む。いくつかの実施の形態において、複数のプローブは、複数のオリゴヌクレオチドプローブ、複数の抗体、又は複数のポリペプチドプローブから選択される。他の実施の形態において、複数のプローブは、5 0 0、1 0 0、5 0、2 5、1 5、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子（又はポリペプチド）についてのプローブを含有する。いくつかの実施の形態において、この方法は、E R G、P S A、及びP C A 3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している1又は複数の他の遺伝子の発現を検出することを更に含む。

40

50

【0017】

関連する態様において、本開示は、前立腺癌の診断及び／又は予後判定用のアレイを提供する。一つの実施の形態において、アレイは、(a)基板と、(b)以下のヒト遺伝子：COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMPP9、ABC A13、PCDHGA1、及びAGSK1の少なくとも3つの発現の検出用の基板に固定化された複数のプローブとを含む。別の実施の形態において、アレイは、(a)基板と、(b)以下のヒト遺伝子：PCA3、ALOX15、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDNの少なくとも3つの発現の検出用の基板に固定化された複数のプローブとを含む。更に別の実施の形態において、アレイは、(a)基板と、(b)以下のヒト遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KL B、APOF、LOC283177、及びTRPM4の少なくとも4つの発現の検出用の基板に固定化された複数のプローブとを含む。いくつかの実施の形態において、アレイは、ERG、PSA、及びPCA3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している1又は複数の他の遺伝子の発現の検出用のプローブを更に含む。

10

【0018】

プローブは、好ましくは、検出を容易にするアドレス指定可能な要素内にて基板上に配置される。アレイは、そのアレイを、例えばゲノムアレイ等のより網羅的なアレイから区別するために、限定された数のアドレス指定可能な要素を含むのが好ましい。したがって、一つの実施の形態において、アレイは、500以下のアドレス指定可能な要素を含む。別の実施の形態において、アレイは、250、100、50、又は25以下のアドレス指定可能な要素を含む。別の実施の形態において、1000以下のポリヌクレオチドプローブがアレイ上に固定化される。別の態様において、本開示は、本明細書に記載されるアレイを使用して、生体サンプルにおける遺伝子発現を検出する方法を提供する。遺伝子発現を検出するのにこれらアレイを使用することはまた、生体サンプルにおいて前立腺癌を検出又は予後判定する方法の一部であるとすることもできる。

20

【0019】

別の態様において、本開示は、遺伝子発現プロファイルを使用して、前立腺癌治療を必要とする患者を同定する方法を提供する。一つの実施の形態において、患者はアフリカ系人種であり、この方法は、a)患者からの生体サンプルを、複数の遺伝子の過剰発現について検査することであって、ここで、複数の遺伝子は、患者がアフリカ系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMPP9、ABC A13、PCDHGA1、及びAGSK1の少なくとも3つを含むことと、b)COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMPP9、ABC A13、PCDHGA1、及びAGSK1遺伝子の1又は複数が、対照サンプル又は閾値と比較して生体サンプルにおいて過剰発現している場合に、前立腺癌治療を必要とするものとして患者を同定することと、を含む。別の実施の形態において、患者はコーラカサス系人種であり、この方法は、a)患者からの生体サンプルを、複数の遺伝子の過剰発現について検査することであって、ここで、複数の遺伝子は、患者がコーラカサス系人種であるために選択されるものであり、以下の遺伝子：PCA3、ALOX15、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3の少なくとも4つを含むことと、b)PCA3、ALOX15、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3遺伝子の1又は複数が、対照サンプル又は閾値と比較して生体サンプルにおいて過剰発現している場合に、前立腺癌治療を必要とするものとして患者を同定することと、を含む。いくつかの実施の形態において、この方法は、ERG、PSA、及びPCA3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している1又は複数の他の遺伝子の発現を検出することを更に含む。この方法はまた、患者を治療する工程を更に含むことができる。

30

【0020】

引用することにより本明細書の一部をなす添付の図面は、いくつかの実施形態を解説し

40

50

、本明細書と共に本明細書に開示される抗体及び方法のいくつかの原理を説明するのに役立つ。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】14の腫瘍サンプル及び4の正常サンプルの、平均連結法を用いる階層的クラスタリング解析（HCA）を示す図である。HCAにより、正常患者の明瞭なクラスター（GP-04、GP-10、GP-09、及びGP-06）と、AA、ERG融合陰性患者のもう一つの明瞭なクラスター（GP-02、GP-10、及びGP-04）とが明らかになっている。クラスタリングは遺伝子の発現レベルに基づく。全ての群は色分けされている。

10

【図2A】14の腫瘍サンプル及び4の正常サンプルのクラスタリングを用いたヒートマップであり、ヒートマップの左側がアフリカ系アメリカ人の患者であり、右側がCAである。ヒートマップに示される遺伝子は、AAの患者及びCAの患者について、過剰発現した遺伝子及び過小発現した遺伝子（腫瘍対正常）の重複である。

【図2B】AAの患者及びCAの患者からの腫瘍サンプル及び正常サンプルの両方において過剰発現した上位3つの遺伝子の発現値（log2）を提供する図である。

【図3A】AAの患者において一貫して過剰発現しており、CAの患者においては同時に過小発現しているか又は変化を示さない、遺伝子を示すヒートマップである。

20

【図3B】CAの患者において一貫して過剰発現しており、AAの患者においては同時に過小発現しているか又は変化を示さない、遺伝子を示すヒートマップである。

【図4】本発明のいくつかの実施形態によるシステムの模式図である。特に、この図は、様々なハードウェア、ソフトウェア、並びに開示されるシステム及び方法による、コンピュータシステム106の実行において使用することができる他のリソースを図示する。示される実施形態において、コンピュータシステム106は、オペレーティングシステムの制御下で又はオペレーティングシステムと共に作動する、ランダムアクセスメモリに接続された、1又は複数のプロセッサ110を含むことができる。実施形態におけるプロセッサ（複数の場合もあり）110は、1若しくは複数のサーバー、クラスター、若しくは他のコンピュータ若しくはハードウェア資源に含むことができ、又はクラウドベースのリソースを用いて実行することができる。オペレーティングシステムは、例えば、Linux（登録商標）オペレーティングシステム、Unix（商標）オペレーティングシステムの配布物、又は他のオープンソース若しくは専用オペレーティングシステム若しくはプラットフォームであることができる。プロセッサ（複数の場合もあり）110は、ハードドライブ又はドライブアレイに保存されたデータベース等のデータストア112と交信して、プログラム命令他のデータにアクセス又は保存することができる。プロセッサ（複数の場合もあり）110はネットワークインターフェース108を介して更に交信することができ、ネットワークインターフェース108は次いで、インターネット又は他のパブリック若しくはプライベートネットワーク等の1又は複数のネットワーク104を介して交信することができ、それによってクエリー又は他のリクエストを、クライアント102、又は他のデバイス若しくはサービスから受信することができる。さらに、プロセッサ（複数の場合もあり）110はネットワークインターフェース108を利用して、情報、命令、ワークフロー、クエリー、部分ワークフロー、又は他のデータを、ユーザーに1又は複数のネットワーク104を介して送信することができる。ネットワークインターフェース104は、1若しくは複数のサーバーを含むことができるか、又は1若しくは複数のサーバーに通信可能に接続することができる。クライアント102は、例えば、インターネットに接続されたパーソナルコンピューターであることができる。プロセッサ（複数の場合もあり）110は一般に、本明細書に開示される方法を実行するために制御ロジック及び制御操作を実行するように、プログラム又は設定することができる。プロセッサ110は、コプロセッサ114に更に通信可能に接続する（即ち、コミュニケーションチャネルによって接続する）ことができる。コプロセッサ114は、本明細書に開示される方法を実行するように設定された専用ハードウェア及び/又はファームウェアコンポーネントであ

30

40

50

ことができる。したがって、本明細書に開示される方法は、プロセッサ 110 及び / 又はコプロセッサ 114 によって実行することができる。コンピュータシステム 106、関連したネットワーク接続、並びに他のハードウェア、ソフトウェア、及びサービスリソースの他の構成が可能である。

【発明を実施するための形態】

【0022】

ここで、様々に例示的な実施形態を詳細に参照し、実施形態の例を、添付の図面において図示する。以下の発明を実施するための形態は読者に本発明のいくつかの実施形態、特徴及び様様の詳細のより十分な理解をもたらすために提示され、本発明の範囲を限定するものと解釈すべきではないことを理解されたい。

【0023】

定義

本発明がより容易に理解され得るように、いくつかの用語を初めに定義する。付加的な定義は発明を実施するための形態の全体にわたって説明する。

【0024】

「アフリカ系人種の」という用語は、アフリカ系人種であると自認する個体のことをいい、これにはアフリカ系アメリカ人であると自認する個体、及び、祖先識別マーカー（AIM）とも称される、引用することによってその全体が本明細書の一部をなす引用文献である、Judith Kidd et al., Analyses of a set of 128 ancestry informative single-nucleotide polymorphisms in a global set of 119 population samples, Investigative Genetics, (2):1, 2011において同定された AIM 等の、アフリカ人祖先と相関関係がある遺伝子マーカーを有すると判定された個体が含まれる。

【0025】

「コーカサス系人種の」という用語は、コーカサス系人種であると自認する個体のことをいい、これにはコーカサス系アメリカ人であると自認する個体、及び、祖先識別マーカー（AIM）とも称される、引用することによってその全体が本明細書の一部をなす引用文献である、Judith Kidd et al., Analyses of a set of 128 ancestry informative single-nucleotide polymorphisms in a global set of 119 population samples, Investigative Genetics, (2):1, 2011において同定された AIM 等の、コーカサス人（例えば、ヨーロッパ人、北アフリカ人又はアジア人（西アジア人、中央アジア人又は南アジア人））祖先と相関関係がある遺伝子マーカーを有すると判定された個体が含まれる。

【0026】

「抗体」という用語は、免疫グロブリン又はその抗原結合断片のことをいい、抗原結合断片又は抗原結合領域を含むあらゆるポリペプチドを包含する。この用語には、これらに限定されないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、単一特異性抗体、多特異性抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、单鎖抗体、キメラ抗体、合成抗体、組換え抗体、ハイブリッド抗体、変異抗体、移植抗体、及び *in vitro* 作製抗体が含まれる。「インタクト」という言葉が先行しない限り、「抗体」という用語には、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAb 等の抗体断片、及び抗原結合機能を保持している他の抗体断片が含まれる。特に断りのない限り、抗体は必ずしも、いずれかの特定の供給源に由来するわけではなく、いずれかの特定の方法によって產生されるわけでもない。

【0027】

「検出すること」又は「検出」という用語は、核酸又はタンパク質の存在又は量を判定するために当該技術分野において知られている様々な方法のうちの任意のものを意味する。本明細書中に使用される場合、「検出すること」又は「検出」という用語は、定性的検出又は定量的検出を含む。

【0028】

「遺伝子発現プロファイル」という用語は、サンプルにおける複数の遺伝子の発現レベルのことをいう。当該技術分野において理解されているように、遺伝子の発現レベルは、核酸（例えば、ゲノム DNA 又は mRNA）又は核酸によってコードされるポリペプチド

10

20

30

40

50

の発現を測定することによって解析することができる。

【0029】

「単離された」という用語はポリペプチド又は核酸との関連で使用される場合、その自然環境を実質的に含まないため、自然に発生し得るポリペプチド又は核酸から区別可能であるポリペプチド又は核酸を指す。例えば、単離されたポリペプチド又は核酸は、由来元である細胞又は組織起源からの細胞物質又は他のポリペプチド若しくは核酸を実質的に含まない。

【0030】

「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」という用語は本明細書で区別なく使用され、アミノ酸の重合体を指す。

10

【0031】

「ポリペプチドプローブ」という用語は、本明細書において使用される場合、生体サンプル中の目的のポリペプチドを定量するためにタンパク質検出アッセイ（例えば、質量分析）において使用することができる、標識された（例えば、同位体的に標識された）ポリペプチドのことをいう。

【0032】

「プライマー」という用語は、標的核酸の領域に結合することができ、標的核酸の核酸増幅を促進することができる、ポリヌクレオチド、又はその相補鎖を意味する。一般に、プライマーは、核酸ポリメラーゼによって伸長することができる遊離の3'末端を有する。プライマーはまた一般に、標的核酸の少なくとも1つの鎖と直接に、又は標的配列に相補的な鎖と、相補的塩基相互作用を介して、ハイブリダイズすることができる塩基配列を含む。プライマーは、標的特異的配列を含むことができるとともに、標的配列に非相補的な他の配列を任意に含むことができる。これらの非相補的配列は、例えば、プロモーター配列又は制限エンドヌクレアーゼ認識部位を含むことができる。

20

【0033】

「バリエーション」又は「バリエント」とは、わずか一塩基又はより長い区間にわたり、リファレンスとは異なる対立遺伝子配列のことをいう。

【0034】

「E R G」又は「E R G 遺伝子」という用語は、固有の H u g o 遺伝子命名委員会 (H G N C : Hugo Gene Nomenclature Committee) 識別コード : H G N C : 3 4 4 6 を与えられた、E t s 関連遺伝子 (E R G) のことをいい、T M P R S S 2 - E R G 融合産物を含む、前立腺癌において高頻度に見られるE R G 遺伝子融合産物を含む。E R G 又はE R G 遺伝子の発現を解析することには、T M P R S S 2 - E R G 等の、前立腺癌に関連しているE R G 遺伝子融合産物の発現を解析することが含まれる。

30

【0035】

前立腺癌における遺伝子発現プロファイル

次世代シーケンシング法をC a Pについての新しいバイオマーカー及び治療標的を同定するために使用した。組織学的に同定され、正確に切り出された原発性C a P 標本 (80% ~ 95%腫瘍、プライマリーグリーソンパターン3) から得られた高クオリティゲノム配列データ及びカバレッジを、7名のコーカサス系人種の患者及び7名のアフリカ系人種の患者のコホートの間で比較し（各患者からの適合対照を含む、全部で28のサンプル）、2つの民族の間でのC a P 発生率及び死亡率において観察された相違を評価した。これらのデータ及び解析は、臨床病理学的特徴について照合させた、アフリカ系人種及びコーカサス系人種のC a P 患者からの前立腺癌ゲノムの第1の評価を提供する。

40

【0036】

両方の民族におけるC a Pにおいて最も差を持って発現する遺伝子には：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4が含まれる。したがって、生体サンプルからのこれら遺伝子の、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、又は10の発現データを収集することは、対象におけ

50

る前立腺癌の診断又は予後判定における使用のための特有の遺伝子発現プロファイルを提供する。

【0037】

いくつかの実施形態は、CaPの診断又は予後判定における使用のためのデータを収集する方法であって、以下の遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KLB、APOF、LOC283177、及びTRPM4の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15の生体サンプルにおける発現を検出することを含む、方法に関する。この方法は、対象から生体サンプルを得る追加の工程を任意に含んでいてもよい。この方法は、収集された遺伝子発現データを使用して、CaPを診断又は予後判定する追加の工程を任意に含んでいてもよい。一つの実施形態において、以下の遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KLB、APOF、LOC283177、及びTRPM4の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15の対照サンプル又は閾値と比較しての過剰発現は、生体サンプルにおけるCaPの存在又はCaPを発症する可能性の増大を示す。データ収集方法、又はCaPの診断及び／又は予後判定方法は、ERG、PSA、及びPCA3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している他の遺伝子の発現を検出することを更に含むことができる。いくつかの実施形態において、この方法は、100、90、80、70、60、50、40、30、25、20、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子の発現を検出することを含む。
10

【0038】

一つの実施形態において、この方法は、DLX1と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、NKX2-3と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、DLX1及びNKX2-3と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、PHGR1と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、THBS4と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、GAP43と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、FFAR2と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、GCNT1と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、SIM2と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、STX19と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、KLBと表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、APOFと表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、LOC283177と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、TRPM4と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現を検出することを含む。
20

【0039】

ヒトDLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KLB、APOF、LOC283177、及びTRPM4についての核酸及びアミノ酸配列は、既知である。Hugo遺伝子命名委員会(HGNC)及びEntrez Geneによってこれらの遺伝子について指定された固有の識別コード並びに代表的配列のアクセション番号を表1に提
30

供し、これらの配列は、引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。

【0040】

【表1】

表1

遺伝子	H G N C 識別名	E n t r e z G e n e 識別名	アクセッショ番号
DLX1	2914	1745	NM_178120.4 GI: 84043957
NKX2-3	7836	159296	NM_145285.2 GI:148746210
CRISP3	16904	10321	NM_006061.2 GI:300244559
PHGR1	37226	644844	NM_001145643.1 GI:224548949
THBS4	11788	7060	NM_003248.4 GI:291167798
AMACR	451	23600	NM_014324.5 GI:266456114
GAP43	4140	2596	AK091466.1 GI:21749841
FFAR2	4501	2867	NM_005306.2 GI:227430361
GCNT1	4203	2650	NM_001097634.1 GI:148277030
SIM2	10833	6493	NM_005069.3 GI:194239685
STX19	19300	415117	NM_001001850.2 GI:344313159
KLB	15527	152831	NM_175737.3 GI:198041706
APOF	615	319	BC026257.1 GI:20072209
LOC283177	N/A	283177	AK095081.1 GI:21754271
TRPM4	17993	54795	NM_017636.3 GI:304766649

【0041】

以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3を、アフリカ系人種の患者と比較して、コーカサス系人種の患者の前立腺腫瘍において過剰発現しているものとして同定した。したがって、これらの遺伝子の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、又は8の発現データを得ることは、コーカサス系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定のための特有の遺伝子発現プロファイルを提供する。

【0042】

いくつかの実施形態は、コーカサス系人種の患者におけるC a Pの診断又は予後判定における使用のためのデータを収集する方法であって、この方法は、以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、又は8の生体サンプルにおける発現を検出することを含み、ここで、生体サンプルは、コーカサス系人種の患者から得られたものである、方法に関する。この方法は、任意に、コーカサス系人種の患者から生体サンプルを得る、追加の工程を含んでいてもよい。この方法は、任意に、収集された遺伝子発現データを使用して、C a Pを診断又は予後判定する追加の工程を含んでいてもよい。C a Pを診断又は予後判定する方法において、以下の遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、又は8の対照サンプル又は閾値と比較しての過剰発現は、生体サンプルにおけるC a Pの存在又はC a Pの発生リスクの増大を示

10

20

30

40

50

す。データ収集方法、又はC a P の診断及び／又は予後判定方法は、E R G 、P S A 、及びP C A 3 を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している他の遺伝子の発現を検出することを更に含むことができる。いくつかの実施形態において、この方法は、100、90、80、70、60、50、40、30、25、20、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子の発現を検出することを含む。

【0043】

一つの実施形態において、この方法は、A L O X 1 5 と、P C A 3 、A M A C R 、C D H 1 9 、O R 5 1 E 2 / P S G R 、F 5 、F Z D 8 、及びC L D N 3 の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、C D H 1 9 と、P C A 3 、A M A C R 、A L O X 1 5 、O R 5 1 E 2 / P S G R 、F 5 、F Z D 8 、及びC L D N 3 の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、F 5 と、P C A 3 、A M A C R 、A L O X 1 5 、O R 5 1 E 2 / P S G R 、C D H 1 9 、F Z D 8 、及びC L D N 3 の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、F Z D 8 と、P C A 3 、A M A C R 、A L O X 1 5 、O R 5 1 E 2 / P S G R 、C D H 1 9 、F 5 、及びC L D N 3 の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、C L D N 3 と、P C A 3 、A M A C R 、A L O X 1 5 、O R 5 1 E 2 / P S G R 、C D H 1 9 、F 5 、及びF Z D 8 の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、P C A 3 と、A M A C R と、A L O X 1 5 、C D H 1 9 、F 5 、F Z D 8 、及びC L D N 3 の1又は複数との発現を検出することを含む。

10

20

20

30

40

50

【0044】

コーカサス系人種の患者においてより高頻度に過剰発現しているこれらの遺伝子についての、H G N C 及びE n t r e z G e n e により指定された固有の識別コードと、代表的配列のアクセッション番号を表2に提供し、これら配列は、引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。

【0045】

【表2】

表2

遺伝子	H G N C 識別名	E n t r e z G e n e 識別名	N C B I リファレンス
PCA3	8637	50652	AF103907.1 GI:6165973
ALOX15	433	246	NM_001140.3 GI:40316936
AMACR	451	23600	NM_014324.5 GI:266456114
CDH19	1758	28513	NM_021153.3 GI:402534572
OR51E2/PSGR	15195	81285	AY033942.1 GI:16943640
F5	3542	2153	NM_000130.4 GI:119395710
FZD8	4046	8325	AB043703.1 GI:13623798
CLDN3	2045	1365	NM_001306.3 GI:171541813

【0046】

以下の遺伝子：C O L 1 0 A 1 、H O X C 4 、E S P L 1 、M M P 9 、A B C A 1 3 、P C D H G A 1 、及びA G S K 1 を、コーカサス系人種の患者と比較して、アフリカ人を祖とする患者の前立腺腫瘍において過剰発現しているものとして同定した。したがって、これらの遺伝子の少なくとも1、2、3、4、5、6、又は7の発現データを得ることは

、アフリカ系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定における使用のための特有の遺伝子発現プロファイルを提供する。

【0047】

いくつかの実施形態は、アフリカ系人種の患者におけるCaPの診断又は予後判定における使用のためのデータを収集する方法であって、この方法は、以下の遺伝子：COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABC13、PCDHGA1、及びAGSK1の少なくとも1、2、3、4、5、6、又は7の、生体サンプルにおける発現を検出することを含み、ここで、生体サンプルは、アフリカ系人種の患者から得られたものである、方法に関する。この方法は、任意に、アフリカ系人種の患者から生体サンプルを得る、追加の工程を含んでいてもよい。この方法は、任意に、収集された遺伝子発現データを使用して、CaPを診断又は予後判定する追加の工程を含んでいてもよい。CaPを診断又は予後判定する方法において、以下の遺伝子：COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABC13、PCDHGA1、及びAGSK1の少なくとも1、2、3、4、5、6、又は7の対照サンプル又は閾値と比較しての過剰発現は、生体サンプルにおけるCaPの存在又はCaPの発生リスクの増大を示す。データ収集方法、又はCaPの診断及び/又は予後判定方法は、ERG、PSA、及びPCA3を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している他の遺伝子の発現を検出することを更に含むことができる。いくつかの実施形態において、この方法は、100、90、80、70、60、50、40、30、25、20、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子の発現を検出することを含む。10

【0048】

一つの実施形態において、この方法は、COL10A1と、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABC13、PCDHGA1、及びAGSK1の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、HOXC4と、COL10A1、ESPL1、MMP9、ABC13、PCDHGA1、及びAGSK1の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、ESPL1と、COL10A1、HOXC4、MMP9、ABC13、PCDHGA1、及びAGSK1の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、MMP9と、COL10A1、HOXC4、ESPL1、ABC13、PCDHGA1、及びAGSK1の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、ABC13と、COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、PCDHGA1、及びAGSK1の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、PCDHGA1と、COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABC13、及びAGSK1の1又は複数との発現を検出することを含む。別の実施形態において、この方法は、AGSK1と、COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABC13、及びPCDHGA1の1又は複数との発現を検出することを含む。30

【0049】

アフリカ系人種の患者においてより高頻度に過剰発現しているこれらの遺伝子についての、HGNC及びEntrez Geneにより指定された固有の識別コードと、代表的配列のアクセスション番号を表3に提供し、これら配列は、引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。40

【0050】

【表3】

表3

遺伝子	H G N C 識別名	E n t r e z G e n e 識別名	N C B I リファレンス
COL10A1	2185	1300	NM_000493.3 GI:98985802
HOXC4	5126	3221	NM_014620.5 GI:546232084
ESPL1	16856	9700	NM_012291.4 GI:134276942
MMP9	7176	4318	NM_004994.2 GI:74272286
ABCA13	14638	154664	AY204751.1 GI:30089663
PCDHGA1	8696	56114	NM_018912.2 GI:14196453
AGSK1	N/A	80154	NR_026811 GI:536293433 NR_033936.3 GI:536293365 NR_103496.2 GI:536293435

10

20

【0051】

さらに、28のサンプルの全ゲノム配列解析により、解析した14の前立腺腫瘍の少なくとも1つにおいてより高い信頼性で存在する65の遺伝子突然変異が同定された。解析した前立腺腫瘍において最も高い対立遺伝子頻度を有する65の遺伝子突然変異は、以下の遺伝子：GLI1、IRX4、PAPPA、SPOP、TEX15、ZNF292、ANKRD11、FAT4、HECW2、KIAA1109、SHROOM3、SPOP、TTC36、ZNRF3、C17orf65、DEGS2、NEK3、KIAA0947、LSP1、NOX3、AKR1B1、ARHGA P12、ITGA4、PVRL4、RB M26、UCN3、CATSPERB、FCRL2、CACNA1E、CORO6、DMKN、EXT1、HEATR7B2、NDUFB5、GPR180、LRRC4、TPRA1、ZIM2、C12orf50、ELMO2、RB M26、SEC14L1、TNFSF11、C9orf125、CDC73、ITSN1、KCNK16、LRRC7、METTL6、MOSC1、RP11-50B3.2、STAB2、STARD13、PTPRT、RB PJ、UBA2、DIAPH3、IL18R1、LIPF、SLITRK5、TMEM132E、POT1、RB1CC1、TAOK1、及びUNC5Aにおいて起こっていた。これら65の遺伝子のなかで、SPOPのみが、前立腺癌に関連している突然変異を有することが知られている。したがって、サンプルにおけるこれらの遺伝子突然変異の1又は複数を同定することにより、前立腺癌の診断又は予後判定に有用な遺伝子サインを提供することができる。

30

【0052】

いくつかの実施形態は、CaPの診断又は予後判定における使用のためのデータを収集する方法であって、この方法は、以下の遺伝子：GLI1、IRX4、PAPPA、SPOP、TEX15、ZNF292、ANKRD11、FAT4、HECW2、KIAA1109、SHROOM3、SPOP、TTC36、ZNRF3、C17orf65、DEGS2、NEK3、KIAA0947、LSP1、NOX3、AKR1B1、ARHGA P12、ITGA4、PVRL4、RB M26、UCN3、CATSPERB、FCRL2、CACNA1E、CORO6、DMKN、EXT1、HEATR7B2、NDUFB5、GPR180、LRRC4、TPRA1、ZIM2、C12orf50、ELMO2、RB M26、SEC14L1、TNFSF11、C9orf125、CDC73、ITSN1、KCNK16、LRRC7、METTL6、MOSC1、RP11-50B3.2、STAB2、STARD13、PTPRT、RB PJ、UBA2、DIAPH3、IL18R1、LIPF、SLITRK5、TMEM132E、POT1、RB1CC1、TAOK1、及びUNC5Aにおいて起こっていた。これら65の遺伝子のなかで、SPOPのみが、前立腺癌に関連している突然変異を有することが知られている。したがって、サンプルにおけるこれらの遺伝子突然変異の1又は複数を同定することにより、前立腺癌の診断又は予後判定に有用な遺伝子サインを提供することができる。

40

50

2、S T A B 2、S T A R D 1 3、P T P R T、R B P J、U B A 2、D I A P H 3、I L 1 8 R 1、L I P F、S L I T R K 5、T M E M 1 3 2 E、P O T 1、R B 1 C C 1、T A O K 1、及びU N C 5 Aの少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50における1又は複数の突然変異の生体サンプルにおける発現を検出することを含む、方法に関する。この方法は、任意に、対象から生体サンプルを得る追加の工程を含んでいてもよい。この方法は、任意に、収集された遺伝子突然変異データを使用して、C a Pを診断又は予後判定する追加の工程を含んでいてもよい。C a Pを診断又は予後判定する方法において、以下の遺伝子：G L I 1、I R X 4、P A P P A、S P O P、T E X 1 5、Z N F 2 9 2、A N K R D 1 1、F A T 4、H E C W 2、K I A A 1 1 0 9、S H R O O M 3、S P O P、T T C 3 6、Z N R F 3、C 1 7 o r f 6 5、D E G S 2、N E K 3、K I A A 0 9 4 7、L S P 1、N O X 3、A K R 1 B 1、A R H G A P 1 2、I T G A 4、P V R L 4、R B M 2 6、U C N 3、C A T S P E R B、F C R L 2、C A C N A 1 E、C O R O 6、D M K N、E X T 1、H E A T R 7 B 2、N D U F B 5、G P R 1 8 0、L R R C 4、T P R A 1、Z I M 2、C 1 2 o r f 5 0、E L M O 2、R B M 2 6、S E C 1 4 L 1、T N F S F 1 1、C 9 o r f 1 2 5、C D C 7 3、I T S N 1、K C N K 1 6、L R R C 7、M E T T L 6、M O S C 1、R P 1 1 - 5 0 B 3 . 2、S T A B 2、S T A R D 1 3、P T P R T、R B P J、U B A 2、D I A P H 3、I L 1 8 R 1、L I P F、S L I T R K 5、T M E M 1 3 2 E、P O T 1、R B 1 C C 1、T A O K 1、及びU N C 5 Aの少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、又は50における1又は複数の突然変異の検出は、生体サンプルにおけるC a Pの存在又はC a Pを発症するリスクの増大を示す。いくつかの実施形態において、この方法は、1 0 0、9 0、8 0、7 0、6 0、5 0、4 0、3 0、2 5、2 0、1 5、1 4、1 3、1 2、1 1、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の突然変異遺伝子の発現を検出することを含む。
【0 0 5 3】

これら遺伝子についてH G N Cによって指定された固有の識別コード及びそれらのE n t r e z G e n e識別名を、表4に提供し、これら配列は、引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。さらに、表4に、各突然変異が前立腺腫瘍及び適合させた正常サンプルにおいて同定された頻度を提供する。

【0 0 5 4】

10

20

30

【表4】

表4

遺伝子	腫瘍頻度	正常頻度	H G N C 識別名	E n t r e z G e n e 識別名
GLI1	G:21/T:23(52%)	G:37/T:0(0%)	20500	79820
IRX4	G:18/A:19(51%)	G:42/A:0(0%)	14875	79368
PAPPA	C:21/T:20(48%)	C:40/T:0(0%)	1392	777
SPOP	A:18/C:15(45%)	A:39/C:0(0%)	21356	84940
TEX15	C:25/T:21(45%)	C:32/T:0(0%)	25063	93099
ZNF292	T:14/A:11(44%)	T:40/A:0(0%)	3512	2131
ANKRD11	C:19/A:14(42%)	C:41/A:0(0%)	26857	133558
FAT4	C:26/T:19(42%)	C:30/T:0(0%)	7700	4711
HECW2	C:22/T:16(42%)	C:42/T:0(0%)	28899	160897
KIAA1109	A:19/G:14(42%)	A:47/G:0(0%)	15586	64101
SHROOM3	G:23/A:16(41%)	G:39/A:0(0%)	30413	131601
SPOP	G:20/C:14(41%)	G:37/C:0(0%)	12875	23619
TTC36	G:21/A:15(41%)	G:30/A:0(0%)	26665	160419
ZNRF3	C:15/T:10(40%)	C:31/T:0(0%)	17233	63916
C17orf65	T:19/C:12(38%)	T:41/C:0(0%)	20327	64062
DEGS2	C:19/G:12(38%)	C:41/G:0(0%)	10698	6397
NEK3	G:24/C:15(38%)	G:32/C:0(0%)	11926	8600
KIAA0947	G:28/A:17(37%)	G:35/A:0(0%)	28180	84302
LSP1	G:18/T:11(37%)	G:38/T:0(0%)	16783	79577
NOX3	C:22/T:13(37%)	C:38/T:0(0%)	6183	6453
AKR1B1	T:19/A:11(36%)	T:47/A:0(0%)	14464	83795
ARHGAP12	G:24/A:14(36%)	G:40/A:0(0%)	18531	57554
ITGA4	A:30/G:17(36%)	A:35/G:0(0%)	28343	131965

10

20

30

40

【0055】

遺伝子	腫瘍頻度	正常頻度	H G N C 識別名	E n t r e z G e n e 識別名
PVRL4	C:26/T:15(36%)	C:21/T:0(0%)	26189	64757
RBM26	C:30/G:17(36%)	C:61/G:0(0%)	15446	26121
UCN3	T:24/G:14(36%)	T:41/G:0(0%)	18629	55576
CATSPERB	T:36/G:20(35%)	T:46/G:0(0%)	19164	90627
FCRL2	G:26/A:14(35%)	G:32/A:0(0%)	9682	11122
CACNA1E	C:25/T:13(34%)	C:40/T:0(0%)	5724	3516
CORO6	T:30/A:16(34%)	T:24/A:0(0%)	30661	10054
DMKN	A:23/C:12(34%)	A:37/C:0(0%)	15480	81624
EXT1	G:23/A:12(34%)	G:31/A:0(0%)	5988	8809
HEATR7B2	C:23/T:12(34%)	C:41/T:0(0%)	6622	8513
NDUFB5	A:32/C:17(34%)	A:55/C:0(0%)	20295	26050
GPR180	A:32/G:16(33%)	A:41/G:0(0%)	26991	124842
LRRC4	T:14/G:7(33%)	T:40/G:0(0%)	17284	25913
TPRA1	A:18/C:9(33%)	A:33/C:0(0%)	15574	9821
ZIM2	C:28/T:14(33%)	C:30/T:0(0%)	29259	57551
C12orf50	C:35/A:17(32%)	C:38/A:0(0%)	12567	90249
ELMO2	T:35/C:17(32%)	T:45/C:0(0%)	20500	79820
RBM26	C:34/T:16(32%)	C:58/T:0(0%)	14875	79368
SEC14L1	T:31/G:15(32%)	T:35/G:0(0%)	1392	777
TNFSF11	A:33/C:16(32%)	A:44/C:0(0%)	21356	84940
C9orf125	T:26/G:12(31%)	T:27/G:0(0%)	25063	93099
CDC73	G:31/T:14(31%)	G:44/T:0(0%)	3512	2131
ITSN1	T:31/C:14(31%)	T:40/C:0(0%)	26857	133558
KCNK16	C:24/A:11(31%)	C:39/A:0(0%)	7700	4711
LRRC7	C:39/T:18(31%)	C:32/T:0(0%)	28899	160897

10

20

30

40

遺伝子	腫瘍頻度	正常頻度	H G N C 識別名	E n t r e z G e n e 識別名
METTL6	A:28/G:13(31%)	A:35/G:0(0%)	15586	64101
MOSC1	A:20/G:9(31%)	A:35/G:0(0%)	30413	131601
RP11-50B3.2	G:26/A:12(31%)	G:44/A:0(0%)	12875	23619
STAB2	G:20/A:9(31%)	G:38/A:0(0%)	26665	160419
STARD13	C:24/T:11(31%)	C:35/T:0(0%)	17233	63916
PTPRT	C:30/T:13(30%)	C:40/T:0(0%)	20327	64062
RBPJ	C:23/T:9/G:1(30%)	C:30/T:0(0%)	10698	6397
UBA2	T:25/A:11(30%)	T:46/A:0(0%)	11926	8600
DIAPH3	C:39/A:16(29%)	C:32/A:0(0%)	28180	84302
IL18R1	G:34/T:14(29%)	G:42/T:0(0%)	16783	79577
LIPF	G:29/T:12(29%)	G:43/T:0(0%)	6183	6453
SLITRK5	G:22/A:9(29%)	G:45/A:0(0%)	14464	83795
TMEM132E	C:34/T:14(29%)	C:32/T:0(0%)	18531	57554
POT1	T:30/C:12(28%)	T:46/C:0(0%)	28343	131965
RB1CC1	A:27/C:11(28%)	A:42/C:0(0%)	26189	64757
TAOK1	A:25/C:10(28%)	A:44/C:0(0%)	15446	26121
UNC5A	G:27/A:11(28%)	G:38/A:0(0%)	18629	55576

【 0 0 5 6 】

G L I 1 突然変異は、解析した腫瘍において最も高い対立遺伝子頻度を示し、また、前立腺癌に関連していることが知られている突然変異を有する遺伝子である S P O P と共に経路を共有している。それゆえ、一つの実施形態において、本明細書に記載される方法は、G L I 1 突然変異を、単独で、又は表 4 に収載される遺伝子突然変異の 1 若しくは複数と組み合わせて検出することを含む。

【 0 0 5 7 】

データを収集する方法、又は C a P を診断及び / 又は予後判定する方法は、E R G 、 P S A 、及び P C A 3 を含むがそれらに限定されない、前立腺癌に関連している他の遺伝子の発現を検出することを更に含むことができる。

【 0 0 5 8 】

遺伝子発現の検出

本明細書において使用される場合、上記の遺伝子又は核酸のいずれかの発現の測定又は検出は、目的の遺伝子又はそれによってコードされるタンパク質に対応する、いずれかの核酸転写産物（例えば、m R N A 、 c D N A 、又はゲノム D N A ）の測定又は検出を含む。或る遺伝子が、2つ以上の m R N A 転写産物又はアイソフォームに関連している場合、

10

20

30

40

50

遺伝子の発現は、遺伝子のmRNA転写産物の1若しくは複数、又は遺伝子に関連しているmRNA転写産物の全てを測定又は検出することによって測定又は検出することができる。

【0059】

通例、遺伝子発現は、mRNA又はcDNAレベルに基づいて検出又は測定することができるが、タンパク質レベルもまた、適切な場合、使用することができる。mRNAレベル、cDNA、又はタンパク質レベルを測定するための任意の定量的又は定性的方法を使用することができる。mRNA又はcDNAレベルを検出又は測定するのに適した方法には、例えば、ノーザンプロット法、マイクロアレイ解析、又は逆転写PCR(RT-PCR)、若しくは定量的RT-PCR(qRT-PCR)としても知られているリアルタイムRT-PCR等の核酸增幅法が含まれる。かかる方法は当該技術分野においてよく知られている。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4thEd., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2012を参照されたい。他の技法には、これら全てを引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす、[22]、[23]、米国特許出願公開第2010/0112710号及び米国特許出願公開第2010/0047924号に更に記載されている、nCounter(登録商標)(NanoString Technologies、ワシントン州、シアトル)遺伝子発現アッセイ等の遺伝子発現のデジタル多重解析が含まれる。

10

【0060】

目的の核酸の検出は、一般に、標的(例えば、mRNA、cDNA、又はゲノムDNA)とプローブとの間のハイブリダイゼーションを含む。前立腺癌遺伝子発現プロファイルに使用される遺伝子の配列は既知である(上記を参照されたい)。それゆえ、当業者であれば、それら遺伝子の検出用のハイブリダイゼーションプローブを容易に設計することができる。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4thEd., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2012を参照されたい。各プローブは、あらゆるクロスハイブリダイゼーションと偽陽性とを避けるために、その標的に実質的に特異的であるべきである。特異的プローブを使用することの代替手段は、転写産物から物質を得る際に(例えば、cDNA产生時、又は増幅時の標的特異的プライマーの使用の際)、特異的試薬を使用することである。両方の場合において、特異性は、解析される遺伝子の群内で実質的に特有の標的の部分へのハイブリダイゼーションによって達成することができ、例えば、ポリAテイルへのハイブリダイゼーションでは、特異性は提供されない。標的が複数のスプライスバリエントを有する場合、各バリエントに共通な領域を認識するハイブリダイゼーション試薬を設計すること、及び/又は、それぞれが1若しくは複数のバリエントを認識することができる2つ以上の試薬を使用することが可能である。

20

30

【0061】

マイクロアレイ解析又はPCRベースの方法を使用するのが好ましい。この点に関して、前立腺癌組織における上記の核酸の発現の測定は、例えば、前立腺癌細胞を含有するか、又は前立腺癌細胞を含有する疑いがあるサンプルと、目的の遺伝子に特異的なポリヌクレオチドプローブ又は目的の遺伝子の一部を増幅するように設計されたプライマーとを接触させることと、核酸標的とのプローブの結合又は核酸の増幅を検出することとを、それぞれ含むことができる。PCRプライマーを設計するための詳細なプロトコルは、当該技術分野において知られている。例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4thEd., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2012を参照されたい。同様に、遺伝子発現を解析するためにマイクロアレイを調製及び使用するための詳細なプロトコルは、当該技術分野において知られており、本明細書に記載される。

40

【0062】

代替的又は追加的に、遺伝子の発現レベルは、タンパク質レベルで判定することができ、これは、上記の遺伝子によってコードされるタンパク質のレベルを測定することを意味

50

する。タンパク質のレベルを判定するためのいくつかの方法及びデバイスはよく知られており、例えば、そのそれぞれを引用することによってその全体が本明細書の一部をなす、米国特許第6,143,576号；同第6,113,855号；同第6,019,944号；同第5,985,579号；同第5,947,124号；同第5,939,272号；同第5,922,615号；同第5,885,527号；同第5,851,776号；同第5,824,799号；同第5,679,526号；同第5,525,524号；同第5,458,852号；及び同第5,480,792号に記載されているもの等のイムノアッセイが含まれる。これらのアッセイには、目的のタンパク質の存在又は量に関連したシグナルを生じさせるための、様々なサンドイッチアッセイ型式、競合的アッセイ型式、又は非競合的アッセイ型式が含まれる。あらゆる適したイムノアッセイ、例えば、側方流動、酵素結合イムノアッセイ(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、競合的結合アッセイ等を利用することができます。抗体アレイについての多数の型式が記載されている。かかるアレイには、通例、検出されることが意図されている異なるタンパク質に対して特異性を有する異なる抗体が含まれる。例えば、少なくとも100の異なる抗体が100の異なるタンパク質標的を検出するために使用され、各抗体は、1つの標的に対して特異的なものである。引用することによってその全体が本明細書の一部をなす国際公開第2008/048970号に開示された合成抗体等の、特定のタンパク質標的に対する特異性を有する他のリガンドもまた使用することができる。所望の結合特異性を有する他の化合物を、ペプチド又は小分子のランダムライブラリーから選択することができる。引用することによってその全体が本明細書の一部をなす米国特許第5,922,615号は、アレイにおける複数の標的抗原を検出するためにメンプラン上の固定化抗体の複数の別々のゾーンを使用するデバイスを記載している。多数の異なるタンパク質の検出を容易にするために、マイクロタイタープレート又は自動化を使用することができる。

【0063】

核酸検出イムノアッセイ(NADIA)と称される、イムノアッセイの1つのタイプは、イムノアッセイによるタンパク質抗原検出の特異性と、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)の感度及び精度とを組み合わせたものである。この増幅DNA-イムノアッセイアプローチは、酵素イムノアッセイのアプローチと同様であり、抗体結合反応及び中間洗浄工程を含むが、ただし、酵素標識の代わりにDNAの鎖を用い、PCR等の増幅法を使用する増幅反応によって検出される。例示的なNADIA法は、その両方を引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす、米国特許第5,665,539号及び米国特許出願公開第2008/0131883号に記載されている。簡単には、NADIAでは、目的のタンパク質に対して特異的であって、アッセイ特異的核酸で標識された第1の(レポーター)抗体を使用する。核酸の存在は抗体の結合に干渉せず、抗体も核酸増幅及び検出に干渉しない。通例、目的のタンパク質上の異なるエピトープに対して特異的な第2の(キャプチャー)抗体が、固相(例えば、常磁性粒子)上へコーティングされる。レポーター抗体/核酸接合体はマイクロタイタープレート中のサンプルと反応して、標的抗原との第1の免疫複合体を形成する。免疫複合体は次いで、キャプチャー抗体によりコーティングされた固相粒子上へキャプチャーされ、不溶性のサンドイッチ免疫複合体が形成される。微小粒子を洗浄することで、過剰の、非結合のレポーター抗体/核酸接合体を除去する。結合した核酸標識は次いで、懸濁粒子を増幅反応(例えば、PCR)に供し、増幅された核酸産物をモニターすることによって、検出される。

【0064】

イムノアッセイが通例タンパク質の同定及び定量に使用されてきたが、質量分析(MS)法における最近の進歩により、高感度で、ハイスループットのMSタンパク質解析の開発がなされてきた。MS方法は、複雑な生体サンプル中の存在量が少ないタンパク質を検出するのに使用することができる。例えば、MS解析に先立って生体サンプルを分画することにより、標的化MSを実施することが可能である。MS解析に先立ってかかる分画を行うための一般的な技法には、二次元電気泳動、液体クロマトグラフィー、及びキャピラリー電気泳動が含まれ[25]、この引用文献は引用することによってその全体が本明細

10

20

30

40

50

書の一部をなす。多重反応モニタリング（M R M）としても知られている、選択的反応モニタリング（S R M）もまた、遺伝子融合（例えば、T M P R S S 2 / E R G）によってコードされる前立腺癌バイオマーカーを含む、複雑な生体サンプルにおける標的化タンパク質を定量するための有用なハイスループットM Sベースの技法として出現し [2 6 、 2 7] 、これらの引用文献は引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。

【 0 0 6 5 】

サンプル

本出願に記載される方法は、前立腺細胞における遺伝子発現プロファイルの解析を含む。これら前立腺細胞は、前立腺組織、血液、血清、血漿、尿、唾液、又は前立腺液等の生体サンプルにおいて見られる。核酸又はポリペプチドは、遺伝子発現の検出に先立って細胞から単離することができる。

10

【 0 0 6 6 】

一つの実施形態において、生体サンプルは、前立腺組織を含み、経直腸生検又は経会陰生検等の生検によって得られる。別の実施形態において、生体サンプルは尿である。尿サンプルは、直腸指診（D R E）又は前立腺生検の後に収集することができる。別の実施形態において、サンプルは、血液、血清、又は血漿であり、原発性腫瘍から脱離した循環している腫瘍細胞を含有する。サンプルはまた、腫瘍由来エキソソームを含有する可能性もある。エキソソームは、正常細胞、疾患細胞、及び腫瘍性細胞から遊離した、小さい（通常例、 $30\text{ nm} \sim 100\text{ nm}$ ）膜結合粒子であり、血液及び他の体液中に存在する。本出願に開示される方法は、様々な哺乳類から収集されたサンプルを用いて、しかし好ましくは、ヒト対象から得られたサンプルを用いて、使用することができる。

20

【 0 0 6 7 】

対照

対照は、前立腺癌細胞における遺伝子の発現レベルの、適合させた対象からの正常前立腺上皮細胞等の非癌性前立腺細胞を含むサンプル又はかかるサンプルのプールにおける同じ遺伝子の発現と比較しての評価を可能にするあらゆる適したリファレンスであることができる。したがって、例えば、対照は、試験サンプルと同時に若しくは順次に解析される同じ対象からのサンプルであることができ、又は対照は、非癌性であることが知られている前立腺サンプルのプールにおける、上記のような目的の遺伝子の平均発現レベルを有することができる。代替的に、対照は、遺伝子発現レベルをノーマライズするのに使用することができる、ハウスキーピング遺伝子（例えば、P B G D 又はG A P D H）等のサンプルにおける他の遺伝子のm R N A コピー数によって規定することができる。したがって、対照は、例えば、標準若しくはリファレンスとして使用される予め調製されたマイクロアレイにおいて、又は電子データベース若しくはコンピュータプログラムの一部である可能性のあるもの等の、サンプル若しくは非癌性サンプルのプールにおける関連している遺伝子の発現プロファイルを反映するデータにおいて、具現化することができる。

30

【 0 0 6 8 】

遺伝子の過剰発現及び発現低下は、試験サンプルにおける遺伝子の発現と対照（例えば、陽性対照又は陰性対照）とを比較すること、又は予め定められた絶対的発現の「カットオフ」若しくは閾値を使用することによる等の任意の適した方法によって判定することができる。対照は、前述のようにして提供することができる。使用する方法にかかわらず、過剰発現及び発現低下は、非癌性前立腺細胞又は組織における、同じ遺伝子、又は他の遺伝子（例えば、ハウスキーピング遺伝子）の発現レベルを上回るか又は下回る、任意の発現レベルとして規定することができる。更なる実例として、過剰発現は、非癌性前立腺細胞又は組織と比較して、少なくとも約1.2倍、1.5倍、2倍、2.5倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍高いか又は更により高い発現である発現として規定することができるとともに、発現低下は同様に、非癌性前立腺細胞又は組織と比較して、少なくとも約1.2倍、1.5倍、2倍、2.5倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍低いか又は更により低い発現である発現として規定することができる。一つの実施形態において、本明細書において使用される場合、過剰発現又は発現低下は、対照サンプル又は

40

50

閾値と比較して、それぞれ、少なくとも約2倍高い又は少なくとも約2倍低い発現として規定される。

【0069】

前立腺癌

本開示は、前立腺癌に関連している遺伝子発現プロファイルを提供する。遺伝子発現プロファイルは、サンプルにおける前立腺癌細胞を検出するために、又は前立腺癌の重症度若しくは侵襲性を測定するために、例えば、高分化(WD)前立腺癌と低分化(PD)前立腺癌とを区別することにおいて、使用することができる。

【0070】

前立腺癌が生検において見られる場合、通例、どれほど迅速に発達し、広がりそうであるかを推定するためにグレード分類される。グリーソングレード分類と称される、最も一般的に使用されている前立腺癌グレード分類システムは、顕微鏡下で見た場合のそれら前立腺癌細胞のパターンに基づいて、1から5のスケールで前立腺癌細胞を評価する。

【0071】

依然として健康前立腺細胞に似ている癌細胞は、明確な境界を伴って均一なパターンを有しており、高分化(グリーソングレード1及び2)であるとみなされる。癌細胞が前立腺組織により似ているほど、細胞はより正常前立腺組織のように振る舞うとともに、癌の悪性度は低くなる。最も一般的なグレードであるグリーソングレード3は、中程度に分化した細胞を示し、即ち、依然としていくらか高分化であるが、あまり明確でない境界を伴う。低分化癌細胞は明確性の乏しい境界を伴うランダムなパターンを有し、もはや前立腺組織に似ておらず(グリーソングレード4及び5)、より高悪性度の癌であることが示される。

【0072】

前立腺癌は、しばしば異なるグレードの領域を有する。複合グリーソンスコアは、腫瘍内の2つの最もよく見られる癌細胞パターンからのグレードを足すことによって判定する。例えば、最もよく見られるパターンがグレード4であり、2番目によく見られるパターンがグレード3であれば、複合グリーソンスコアは、 $4 + 3 = 7$ となる。腫瘍内に1つのパターンのみ存在する場合、複合グリーソンスコアは、 $1 + 1 = 2$ と低くなる可能性があり、又は $5 + 5 = 10$ と高くなる可能性がある。 $2 \sim 4$ の複合スコアは高分化であるとみなされ、 $5 \sim 6$ のスコアは中程度の分化であるとみなされ、 $7 \sim 10$ のスコアは低分化であるとみなされる。高いグリーソンスコアを有する癌は、癌が見つかった時にはすでに前立腺を超えて広がっている可能性が高い。

【0073】

一般に、グリーソンスコアが低いほど、癌の悪性度は低く、予後(治癒又は長期生存についての見通し)はより良好である。グリーソンスコアが高いほど、癌の悪性度は高く、長期の転移のない生存についての予後はより不良である。

【0074】

アレイ

複数の遺伝子についてのRNA転写産物レベルを並行して測定する簡便な方法は、アレイ(当該技術分野において、マイクロアレイとも称される)を使用することである。遺伝子発現レベルを評価し、比較するためにアレイを使用する技法は、当該技術分野においてよく知られており、適切なハイブリダイゼーション、検出及びデータ処理プロトコルが含まれる。有用なアレイは、存在する各転写産物の量を示すために、プローブと転写産物との間に検出可能なハイブリダイゼーションが起こることができるように、別々の位置(例えば、アドレス指定可能な要素)において、固体基板(例えば、顕微鏡スライド等のガラス支持体、又はメンプラン)に固定化されている複数のポリヌクレオチドプローブ(DNA)を含む。本出願に開示されるアレイは、所望の組合せの遺伝子の発現を検出する方法において使用することができ、かかる組合せは本出願にわたって記載されている。

【0075】

一つの実施形態において、アレイは、(a)基板と、(b)それぞれが、以下のヒト遺

10

20

30

40

50

伝子 : D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7 及び T R P M 4 の 1 つの m R N A 転写産物 (又は m R N A 転写産物から合成された c D N A) の発現の検出用の少なくとも 1 つのポリヌクレオチドプローブを含む、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 以上の異なるアドレス指定可能な要素とを含む。

【 0 0 7 6 】

別の実施形態において、アレイは、(a) 基板と、(b) それぞれが、以下のヒト遺伝子 : P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及び C L D N 3 の 1 つの m R N A 転写産物 (又は m R N A 転写産物から合成された c D N A) の発現の検出用の少なくとも 1 つのポリヌクレオチドプローブを含む、2、3、4、5、6、7、又は 8 以上の異なるアドレス指定可能な要素とを含む。
10

【 0 0 7 7 】

更に別の実施形態において、アレイは、(a) 基板と、(b) それぞれが、以下のヒト遺伝子 : C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及び A G S K 1 の 1 つの m R N A 転写産物 (又は m R N A 転写産物から合成された c D N A) の発現の検出用の少なくとも 1 つのポリヌクレオチドプローブを含む、2、3、4、5、6、又は 7 以上の異なるアドレス指定可能な要素とを含む。

【 0 0 7 8 】

本明細書において使用される場合、「アドレス指定可能な要素」という用語は、予め定められた位置にて基板に結合しており、既知の標的分子に特異的に結合することにより、(例えば、蛍光標識することによって) 標的結合が検出されると、結合分子の同一性に関する情報が、基板上の要素の位置に基づいて提供される、要素を意味する。アドレス指定可能な要素は、同じ標的遺伝子に結合しない場合、本開示の目的では、「異なる」ものである。アドレス指定可能な要素は、所与の遺伝子の m R N A 転写産物、又は m R N A 転写産物から合成された c D N A に対して特異的な 1 又は複数のポリヌクレオチドプローブを含む。アドレス指定可能な要素は、ポリヌクレオチドの全てが同じ標的分子に結合する場合は、2 コピー以上のポリヌクレオチドを含むことができ、2 つ以上の異なるポリヌクレオチドを含むことができる。或る遺伝子が 2 つ以上の m R N A 転写産物を発現する事が知られている場合、その遺伝子についてのアドレス指定可能な要素は、異なる転写産物についての異なるプローブ、又は 2 つ以上 (又は全て) の転写産物に共通する核酸配列を検出するように設計されたプローブを含むことができる。代替的に、アレイは、異なる転写産物について 1 つのアドレス指定可能な要素を含むことができる。アドレス指定可能な要素はまた、検出可能な標識を含むことができ、かかる標識の適した例は、当該技術分野においてよく知られている。
20

【 0 0 7 9 】

アレイは、1) D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及び T R P M 4、2) P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及び C L D N 3、又は、3) C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及び A G S K 1 の m R N A 又は c D N A 以外の m R N A 又は c D N A に結合するアドレス指定可能な要素を含むことができる。しかしながら、細胞株、染色体、ゲノム等の網羅的な発現プロファイリングのために設計されたアレイ等の、非常に多数の標的 (例えば、m R N A 又はポリペプチド標的) を検出することができるアレイは、前立腺癌の診断及び / 又は予後判定において使用するためのデータを収集するためには、経済的でも便利ではない。したがって、例えば、本明細書に記載される方法と共に、診断ツール又は診断スクリーンとしてアレイを便利に使用することを容易にするためには、アレイは、好ましくは、限定された数のアドレス指定可能な要素を含む。この点に関して、一つの実施形態において、アレイは、約 1 0 0 0 以下の異なるアドレス指定可能な要素、より好ましくは約 5 0
40

10

20

30

40

50

0以下の異なるアドレス指定可能な要素、約250以下の異なるアドレス指定可能な要素、又は更には約100以下の異なるアドレス指定可能な要素、例えば約75以下の異なるアドレス指定可能な要素、又は更には、約50以下の異なるアドレス指定可能な要素を含む。もちろん、更により小さいアレイは、約25以下の異なるアドレス指定可能な要素、例えば約15以下の異なるアドレス指定可能な要素又は約12以下の異なるアドレス指定可能な要素を含むことができる。アレイは、その機能性に干渉することなく、約7の異なるアドレス指定可能な要素に更に限定することができる。

【0080】

これらの診断アレイと、より網羅的なゲノムアレイ等とを、アレイ上のポリヌクレオチドプローブの数を限定することにより、区別することも可能である。したがって、一つの実施形態において、アレイは、基板上に固定化された、1000以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを有する。他の実施形態において、アレイは、基板上に固定化された、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子についてのオリゴヌクレオチドプローブを有する。

10

【0081】

基板は、ポリヌクレオチドが共有結合又は非共有結合により結合することができる、任意の硬質又は半硬質支持体とすることができる。適した基板には、メンプラン、フィルター、チップ、スライド、ウエハ、ファイバー、ビーズ、ゲル、キャピラリー、プレート、ポリマー、微小粒子等が含まれる。基板に適した物質には、例えば、ナイロン、ガラス、セラミック、プラスチック、シリカ、アルミニノケイ酸塩、ホウケイ酸塩、アルミナ及び酸化ニッケル等の金属酸化物、様々な粘土、ニトロセルロース等が含まれる。

20

【0082】

アドレス指定可能な要素のポリヌクレオチド（「プローブ」とも称される）は、プローブへのハイブリダイゼーション又は結合のパターンと、特定の遺伝子の発現とを、容易に相関させるように、予め定められた1次元配置又は2次元配置にて基板に結合させることができる。プローブは基板上の特定の位置に位置しているので（即ち、要素は「アドレス指定可能な」ものである）、ハイブリダイゼーション又は結合パターン及び強度は特有の発現プロファイルを作り、かかる発現プロファイルは、特定の遺伝子の発現レベルの点から解釈することができるとともに、本明細書に記載される方法に従って前立腺癌と相関させることができる。

30

【0083】

ポリヌクレオチド及びポリペプチドプローブは、当該技術分野において知られている任意の適した方法によって作製することができる（例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4thEd., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2012を参照されたい）。例えば、本明細書に記載される遺伝子のmRNA転写産物（又はそれから合成されるcDNA）に特異的に結合するポリヌクレオチドプローブは、mRNA又はcDNA標的自体の核酸配列（例えば、表1～表4に開示される核酸配列）を用いて、ルーチン的技法（例えば、PCR又は合成）によって作ることができる。本明細書において使用される場合、「断片」という用語は、約10以上のヌクレオチド、約15以上のヌクレオチド、約20以上のヌクレオチド、約30以上のヌクレオチド、又は更には約50以上のヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチド配列の連続した一部又は部分を意味する。更なる実例として、DLX1のmRNA転写産物（又はそれに対応するcDNA）に結合するポリヌクレオチドプローブは、mRNA転写産物に相補的な核酸配列を含むポリヌクレオチド（例えば、配列番号2）若しくはその断片、又は配列番号2に選択的に結合するのに十分に配列番号2に相補的な核酸配列を含むポリヌクレオチド若しくはその断片によって提供することができる。本明細書に記載される他の遺伝子についても同じことがあてはまる。ポリヌクレオチドプローブの正確な性質は、本発明にとって重大な意味を持つわけではなく、mRNA又はcDNA標的に選択的に結合するあらゆるプローブを使用することができる。通例、ポリヌクレオチドプローブは、10以上の核酸、20以上の核酸、50以上の核酸、又は100以上の核酸を含む。十分な特異性を与えるた

40

50

めに、例えば、よく知られた、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) アルゴリズム（国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）、メリーランド州、ベセスタから入手可能）を用いて判定して、プローブは、標的配列（例えば、表1～表4に開示される核酸配列）の相補鎖に対して、約90%以上、好ましくは約95%以上（例えば、約98%以上又は約99%以上）の配列同一性を有するものとする。

【0084】

ハイブリダイゼーション反応のストリンジエンシーは、当業者によって容易に判定可能であり、一般に、プローブ長、洗浄温度、及び塩濃度に応じた経験的計算である。一般に、より長いプローブは、適切なアニーリングのためにより高い温度を必要とし、より短いプローブはより低い温度を必要とする。ハイブリダイゼーションは、一般に、相補鎖がその融解温度より低温の環境に存在する際に、変性した核酸配列が再アニーリングする能力に依存する。プローブとハイブリダイズ可能な配列との間の所望の相同性の程度が高いほど、使用することができる相対温度はより高くなる。その結果、相対温度が高いほど、反応条件をよりストリンジエンシーが高いものとする傾向があることになり、一方、温度が低いほど、反応条件をよりストリンジエンシーが低いものとする傾向があることになる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジエンシーの更なる詳細及び説明については、Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience Publishers, (1995)を参照されたい。

【0085】

「ストリンジエントな条件」又は「高ストリンジエンシー条件」は、本明細書において規定する場合、限定されないが、(1)洗浄については低イオン強度及び高温、例えば、0.015M 塩化ナトリウム / 0.0015M クエン酸ナトリウム / 0.1% ドデシル硫酸ナトリウムを、50で使用する条件、(2)ハイブリダイゼーション中には、ホルムアミド等の変性剤、例えば、0.1% ウシ血清アルブミン / 0.1% フィコール / 0.1% ポリビニルピロリドン / 50mM リン酸ナトリウムバッファー (pH 6.5) を含む 50% (v/v) ホルムアミドと、750mM 塩化ナトリウム、75mM クエン酸ナトリウムとを、42で使用する条件、又は(3)50% ホルムアミド、5×SSC (0.75M NaCl、0.075M クエン酸ナトリウム)、50mM リン酸ナトリウム (pH 6.8)、0.1% ピロリン酸ナトリウム、5×デンハルト液、超音波処理したサケ精子DNA (50μg/ml)、0.1% SDS、及び 10% デキストララン硫酸を 42 で使用し、42 で 0.2×SSC (塩化ナトリウム / クエン酸ナトリウム) 中の洗浄及び 55

で 50% ホルムアミド中の洗浄を行い、次いで、EDTA を含有する 0.1×SSC からなる 55 での高ストリンジエンシーの洗浄を行う条件によって同定される。「中程度にストリンジエントな条件」は、限定されないが、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989中に記載されており、上記のものよりもストリンジエンシーが低い、洗浄溶液及びハイブリダイゼーション条件（例えば、温度、イオン強度及び% SDS）の使用を含む。中程度にストリンジエントな条件の一例は、20% ホルムアミド、5×SSC (150mM NaCl、15mM クエン酸三ナトリウム)、50mM リン酸ナトリウム (pH 7.6)、5×デンハルト液、10% デキストララン硫酸、及び 20mg/ml 変性剪断サケ精子DNA を含む溶液中の、37 での一晩のインキュベーション、次いで、1×SSC 中約 37 ~ 50 でのフィルターの洗浄である。当業者であれば、例えばプローブ長等の因子に対応する必要に応じて、温度、イオン強度等をどのように調整するかを認識しているであろう。

【0086】

アレイは、ポリヌクレオチドアレイに一般的な他の要素を含むことができる。例えば、アレイはまた、発現レベルのノーマライズ又は核酸の品質及び結合特性、試薬の品質及び有効性、ハイブリダイゼーションの成功、解析の閾値及び成功の判定等を支援する、ハウスクーピング遺伝子若しくはその部分（例えば、PBGD 又は GAPDH）等の、対照、標準、又はリファレンス分子として働く、1若しくは複数の要素を含むことができる。本

10

20

30

40

50

発明に従う、アレイ又はアドレス指定可能な要素、並びに、適したプローブの作製、標識化及び基板への結合を含む、アレイを構築及び使用する方法のこれらの他の一般的な態様は、当該技術分野においてよく知られている。アレイの他の態様は、本発明の方法に関して本明細書中に先に記載した通りである。

【0087】

一つの実施形態において、アレイは、(a)基板と、(b)それぞれが、以下のヒト遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KLkB、APOF、LOC283177、及びTRPM4の1つのmRNA転写産物の発現の検出用の少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブを含む、2以上の異なるアドレス指定可能な要素とを含み、ここで、アレイは、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のアドレス指定可能な要素を含むものである。いくつかの実施形態において、アレイは、少なくとも3、4、5、6、7、10、12、又は15の異なるアドレス指定可能な要素を含む。

10

【0088】

別の実施形態において、アレイは、それぞれが、以下のヒト遺伝子：PCA3、ALOX15、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3の1つのmRNA転写産物の発現の検出用の少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブを含む、2以上の異なるアドレス指定可能な要素を含み、ここで、アレイは、500以下、250以下、100以下、50以下、25以下、又は15以下のアドレス指定可能な要素を含むものである。一つの実施形態において、アレイは、少なくとも3、4、5、6、7、10、12、又は15の異なるアドレス指定可能な要素を含む。

20

【0089】

別の実施形態において、アレイは、それぞれが、以下のヒト遺伝子：COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABCAL3、PCDHGA1、及びAGSK1の1つのmRNA転写産物の発現の検出用の少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブを含む、2以上の異なるアドレス指定可能な要素を含み、ここで、アレイは、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のアドレス指定可能な要素を含むものである。一つの実施形態において、アレイは、少なくとも3、4、5、6、7、10、12、又は15の異なるアドレス指定可能な要素を含む。

30

【0090】

アレイはまた、複数のタンパク質のタンパク質レベルを並行して測定するのに使用することもできる。かかるアレイは、複数のタンパク質に特異的に結合する複数のリガンドを持する1又は複数の支持体を含み、ここで、複数のタンパク質は、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の異なるタンパク質を含む。リガンドは、平面状支持体又はビーズに任意に結合している。一つの実施形態において、リガンドは抗体である。アレイを使用して検出されるタンパク質は、上記のように、開示される特定の遺伝子発現プロファイルを含む、目的の核酸によってコードされるタンパク質に対応する。したがって、各リガンド（例えば、抗体）は、標的タンパク質（例えば、表1～表4に開示されるポリペプチド配列）の1つに結合するように設計されている。核酸アレイと同様に、各リガンドは、好ましくは、サンプルにおける異なるタンパク質の検出を容易にするように、異なるアドレス指定可能な要素に関連している。

40

【0091】

患者の治療

本出願は、対象から得られたサンプルにおける前立腺癌の診断及び予後判定の方法であって、前立腺細胞及び/又は組織における遺伝子発現を解析する、方法を記載する。或るサンプルが、いくつかの遺伝子の過剰発現又はいくつかの遺伝子突然変異の発現を示せば、対象が前立腺癌を有する可能性が増大しているか、又は対象が程度の差はある前立腺癌の進行したステージ（例えば、WD又はPD前立腺癌）を有する可能性が増大している。かかる結果の場合には、前立腺癌を検出又は予後判定する方法は、患者が前立腺癌、W

50

D 前立腺癌若しくは P D 前立腺癌を有する可能性があることを患者に通知する工程、前立腺組織の確認的組織学的検査工程、及び／又は、患者を前立腺癌治療によって治療する工程の 1 又は複数を含むことができる。

【 0 0 9 2 】

したがって、いくつかの態様において、検出工程によって、対象が前立腺癌を有するこ
とが示された場合に、この方法は、対象から前立腺生検を取るとともに、生検において前立腺組織を調べて（例えば、組織学的検査）、患者が前立腺癌を有するか否かを確認する工程を更に含む。代替的に、前立腺癌を検出又は予後判定する方法は、治療の必要性を評価するために、又は治療に対する応答（例えば、手術又は他の治療の後の無病再発率）をモニターするために使用することができ、したがって、前立腺癌を有する対象を治療する追加の工程を含むことができる。

10

【 0 0 9 3 】

前立腺癌治療選択肢には、手術、放射線療法、ホルモン療法、化学療法、生物療法、又
は高密度焦点式超音波療法が含まれる。前立腺癌のために認可されている薬物にはエンザ
ルタミド（X T A N D I）、アビラテロン酢酸エステル、カバジタキセル、デガレリクス
、ジェブタナ（カバジタキセル）、プレドニゾン、プロベンジ（シプロイセルT）、シプロ
イセルT、又はドセタキセルが含まれる。したがって、本出願に記載される方法は、陽
性結果の後に、手術、放射線療法、ホルモン療法、化学療法、生物療法、又は高密度焦点
式超音波療法の更なる工程を含むことができる。

20

【 0 0 9 4 】

薬物スクリーニング

本出願に記載される方法によって提供される、前立腺癌又は前立腺癌ではないことに関
連している遺伝子発現プロファイルはまた、前立腺癌の臨床治験又は動物モデルのいずれ
かにおける薬物のスクリーニングにおいても有用であることができる。臨床治験は、個々
の患者のモニタリングと同様にして或る薬物について実施することができるが、ただし、
薬物は、通常、プラセボを投与された対照集団と比較して、前立腺癌患者の集団に並行し
て投与される。

30

【 0 0 9 5 】

遺伝子の発現レベルの変化は、個々の患者において解析することができるとともに、治
療集団又は対照集団の間で解析することができる。個々の患者のレベルでの解析は、治験
の終了時での患者の全体的状態の指標（即ち、遺伝子発現プロファイルが前立腺癌の存在
又は重症度（例えば、W D 又は P D ）を示すか否か）及び／又はそのプロファイルが治験
の過程でかかる指標に近づくよう若しくは遠ざかるよう変化したか否かの指標を提供する
。個々の患者についての結果を集団について統合して、治療集団と対照集団との間の比較
を可能にすることができる。

40

【 0 0 9 6 】

同様の試験を、前立腺癌の非ヒト動物モデルにおいて実施することができる。この場合
、検出される遺伝子の発現レベルは、試験が行われる予定の非ヒト動物の任意の種にお
ける、上記のヒト遺伝子の種バリエント又はホモログである。ヒト前立腺癌患者において判
定されたヒト遺伝子の平均発現レベルは、動物モデルにおけるホモログ遺伝子の発現レ
ベルと直接に比較することができる必要はないが、ヒトでの値がやはり、非ヒトホモログの
発現レベルの変化が、前立腺癌の診断又は W D 若しくは P D 前立腺癌の予後判定に対し
て、近づく方向であるか又は遠ざかる方向であるかの指標を提供するために使用するこ
ができる。試験における個々の動物の発現プロファイルは、試験の終了時での動物の状態の
指標（即ち、遺伝子発現プロファイルが前立腺癌の存在又は重症度（例えば、W D 又は P
D ）を示すか否か）及び／又は試験の間のかかる状態の変化を提供することができる。個々
の動物からの結果を、或る集団並びに比較される治療集団及び対照集団について統合す
ることができる。遺伝子の発現レベルの平均変化を次いで、2つの集団の間で比較するこ
とができる。

50

【 0 0 9 7 】

コンピュータで実施されるモデル

本発明の全ての態様及び実施形態に従って、提供される方法は、コンピュータで実施することができる。

【0098】

遺伝子発現レベルは、デジタルコンピュータにおいて、解析することができるとともに、対象の状態（例えば、前立腺癌の存在又は疾患の重症度（例えば、WD又はPD前立腺癌））と関連付けることができる。かかるコンピュータは、任意に、スキャナー等に直接に連結され、遺伝子発現レベルに関連した実験的に判定されたシグナルを受信する。代替的に、発現レベルは、他の手段によって入力することができる。コンピュータは、未処理のシグナルを発現レベル（絶対的又は相対的）へと変換し、測定された発現レベルと、1又は複数のリファレンス発現レベル、又はかかる値のスケールとを比較するようにプログラムすることができる。コンピュータはまた、値又は他の指示を、1又は複数のリファレンス発現レベルとの比較に基づいて、発現レベルに割り当てるとともに、発現プロファイルにおける複数の遺伝子についてのかかる値又は指示を統合するように、プログラムすることもできる。コンピュータはまた、前立腺癌の存在又は重症度の指標を提供する値又は他の指示と、かかる値又は指示の判定に使用される未処理データ又は中間データのいずれかとを出力するようにプログラムすることもできる。

10

【0099】

典型的なコンピュータ（米国特許第6,785,613号、図4及び図5を参照されたい）は、中央処理装置、システム記憶装置、入出力制御装置、パラレルポートを介するプリンター、ディスプレーアダプターを介する表示画面、シリアルポート、キーボード、固定ディスクドライブ、及び外部記憶装置を受けるように作動するポート（例えば、USBポート）等の外部装置等の主要サブシステムを相互接続するバスを含む。入出力制御装置を介するスキャナー、シリアルポートに接続されるマウス、又はネットワークインターフェース等の多くの他のデバイスを接続することができる。コンピュータは、コンピュータが様々な機能を実施することを可能にするコンピュータ可読媒体保持コードを含有する。これらの機能は、上記のように、自動装置の制御、入力の受信及び出力の送信を含む。自動装置は、発現レベルの判定用の試薬の送達用のロボットアームと、小型容器、例えば、発現解析の実施用のマイクロタイターウェルとを含むことができる。

20

【0100】

典型的なコンピュータシステム106はまた、図4に示すとともに、上述するように、オペレーティングシステムの制御下で又はオペレーティングシステムと共に作動するランダムアクセスメモリに接続されている、1又は複数のプロセッサ110を含むこともできる。

30

【0101】

一つの実施形態において、本発明のコンピュータで実施される方法のいずれも、生体サンプルにおける、以下のヒト遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KLB、APOF、LOC283177、及びTRPM4の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15の発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得る工程を含むことができる。

40

【0102】

一つの実施形態において、コンピュータで実施される方法は、DLX1と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、NKX2-3と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、DLX1及びNKX2-3と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、PHGR1

50

と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、THBS4と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、GAP43と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、FFAR2と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、GCNT1と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、SIM2と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、STX19と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、KLBと表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、APOFと表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、LOC283177と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、TRPM4と表1に収載される他の遺伝子の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。
10

【0103】

別の実施形態において、本発明のコンピュータで実施される方法はいずれも、コーラス系人種の患者から得られた生体サンプルにおける、以下のヒト遺伝子：PCA3、ALOX15、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3の少なくとも2、3、4、5、6、7、又は8の発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む工程を含むことができる。

【0104】

一つの実施形態において、コンピュータで実施される方法は、ALOX15と、PCA3、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、CDH19と、PCA3、AMACR、ALOX15、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、F5と、PCA3、AMACR、ALOX15、OR51E2/PSGR、CDH19、FZD8、及びCLDN3の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、FZD8と、PCA3、AMACR、ALOX15、OR51E2/PSGR、CDH19、F5、及びCLDN3の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、CLDN3と、PCA3、AMACR、ALOX15、OR51E2/PSGR、CDH19、F5、及びFZD8の1又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも1つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、PCA3と、AMACRと、ALOX15、CDH19、F5、FZD8、及びCLDN3の1又は複数との発現レベルを反映する情報
20

10

20

30

40

50

を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。

【 0 1 0 5 】

別の実施形態において、本発明のコンピュータで実施される方法はいずれも、アフリカ系人種の患者から得られた生体サンプルにおける、以下のヒト遺伝子： C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の少なくとも 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、又は 7 の発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得る工程を含むことができる。

【 0 1 0 6 】

一つの実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 C O L 1 0 A 1 と、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 H O X C 4 と、 C O L 1 0 A 1 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 E S P L 1 と、 C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 M M P 9 と、 C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 A B C A 1 3 と、 C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 P C D H G A 1 と、 C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、及び A G S K 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。別の実施形態において、コンピュータで実施される方法は、 A G S K 1 と、 C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、及び P C D H G A 1 の 1 又は複数との発現レベルを反映する情報を、少なくとも 1 つのプロセッサによって得ることを含む。

【 0 1 0 7 】

本発明のコンピュータで実施される方法の別の実施形態において、この方法は、 i) 少なくとも 1 つのプロセッサによって、 1 又は複数の対照遺伝子の発現レベルと、 1) 生体サンプルにおける、以下のヒト遺伝子： D L X 1 、 N K X 2 - 3 、 C R I S P 3 、 P H G R 1 、 T H B S 4 、 A M A C R 、 G A P 4 3 、 F F A R 2 、 G C N T 1 、 S I M 2 、 S T X 1 9 、 K L B 、 A P O F 、 L O C 2 8 3 1 7 7 、及び T R P M 4 の少なくとも 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 1 0 、 1 1 、 1 2 、 1 3 、 1 4 、若しくは 1 5 、 2) コーカサス系人種の患者から得られた生体サンプルにおける、以下のヒト遺伝子： P C A 3 、 A L O X 1 5 、 A M A C R 、 C D H 1 9 、 O R 5 1 E 2 / P S G R 、 F 5 、 F Z D 8 、及び C L D N 3 の少なくとも 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、若しくは 8 、又は、 3) アフリカ系人種の患者から得られた生体サンプルにおける、以下のヒト遺伝子： C O L 1 0 A 1 、 H O X C 4 、 E S P L 1 、 M M P 9 、 A B C A 1 3 、 P C D H G A 1 、及び A G S K 1 の少なくとも 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、若しくは 7 の発現レベルとの差を判定する工程と、 (i i) 判定する工程において得られた差を、ユーザー可読型式において出力する工程とを更に含むことができる。

【 0 1 0 8 】

本発明のコンピュータで実施される方法の別の実施形態において、この方法は、上記の出力する工程において得られた差に基づいた、対象が、前立腺癌、高分化前立腺癌、又は低分化前立腺癌を有するかの判定を、ユーザー可読型式において出力することを更に含むことができる。

10

20

30

40

50

【0109】

キット

本出願に記載される方法に使用される、ポリヌクレオチドプローブ及び／又はプライマー、又は抗体若しくはポリペプチドプローブは、キット中に配置することができる。したがって、一つの実施形態は、以下のヒト遺伝子：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15の検出用の複数のポリヌクレオチドプローブを含む、前立腺癌の診断又は予後判定用のキットであって、ここで、複数のポリヌクレオチドプローブが、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを含有するものである、キットに関する。一つの実施形態において、複数のポリヌクレオチドプローブは、上記遺伝子の少なくとも4又は5の検出用のポリヌクレオチドプローブであって、ここで、複数のポリヌクレオチドプローブが10以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを含有するものである、ポリヌクレオチドプローブを含む。ポリヌクレオチドプローブは任意に標識されていてもよい。キットは、以下のヒト遺伝子：D L X 1、N K X 2 - 3、C R I S P 3、P H G R 1、T H B S 4、A M A C R、G A P 4 3、F F A R 2、G C N T 1、S I M 2、S T X 1 9、K L B、A P O F、L O C 2 8 3 1 7 7、及びT R P M 4の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15からのmRNA転写産物の一部を増幅するためのポリヌクレオチドプライマーを任意に含んでいてもよい。10

【0110】

別の実施形態は、コーカサス系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定用のキットであって、そのキットが、以下のヒト遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも3、4、5、6、7、又は8の検出用の複数のポリヌクレオチドプローブを含み、ここで、複数のポリヌクレオチドプローブが、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを含有するものである、キットに関する。一つの実施形態において、複数のポリヌクレオチドプローブは、上記遺伝子の少なくとも4又は5の検出用のポリヌクレオチドプローブを含み、ここで、複数のポリヌクレオチドプローブは10以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを含有する。ポリヌクレオチドプローブは任意に標識されていてもよい。キットは、以下のヒト遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3の少なくとも3、4、5、6、7、又は8からのmRNA転写産物の一部を増幅するためのポリヌクレオチドプライマーを任意に含んでいてもよい。20

【0111】

更に別の実施形態は、アフリカ系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定用のキットであって、そのキットが、以下のヒト遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3、4、5、6、又は7の検出用の複数のポリヌクレオチドプローブを含み、ここで、複数のポリヌクレオチドプローブが、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを含有するものである、キットに関する。一つの実施形態において、複数のポリヌクレオチドプローブは、上記遺伝子の少なくとも4又は5の検出用のポリヌクレオチドプローブを含み、ここで、複数のポリヌクレオチドプローブは10以下の遺伝子についてのポリヌクレオチドプローブを含有する。ポリヌクレオチドプローブは任意に標識されていてもよい。キットは、以下のヒト遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1の少なくとも3、4、5、6、又は7からのmRNA転写産物の一部を増幅するためのポリヌクレオチドプライマーを任意に含んでい304050

てもよい。

【0112】

前立腺癌の診断又は予後判定用のキットはまた、抗体を含むこともできる。したがって、一つの実施形態において、前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、以下のヒト遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KL B、APOF、LOC283177、及びTRPMによってコードされるポリペプチドの少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15を検出する複数の抗体を含み、ここで、複数の抗体は、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のポリペプチドについての抗体を含有する。一つの実施形態において、複数の抗体は、上記遺伝子によってコードされるポリペプチドの少なくとも4又は5を検出する抗体を含み、ここで、複数の抗体は、10以下のポリペプチドについての抗体を含有する。抗体は任意に標識されていてもよい。10

【0113】

別の実施形態において、コーカサス系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、以下のヒト遺伝子：PCA3、ALOX15、AMACR、CDH19、OR51E2/PSGR、F5、FZD8、及びCLDN3によってコードされるポリペプチドの少なくとも3、4、5、6、7、又は8を検出する複数の抗体を含み、ここで、複数の抗体は、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のポリペプチドについての抗体を含有する。一つの実施形態において、複数の抗体は、上記遺伝子によってコードされるポリペプチドの少なくとも4又は5を検出する抗体を含み、ここで、複数の抗体は、10以下のポリペプチドについての抗体を含有する。抗体は任意に標識されていてもよい。20

【0114】

別の実施形態において、アフリカ系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、以下のヒト遺伝子：COL10A1、HOXC4、ESPL1、MMP9、ABCA13、PCDHGA1、及びAGSK1によってコードされるポリペプチドの少なくとも3、4、5、6、又は7を検出する複数の抗体を含み、ここで、複数の抗体は、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のポリペプチドについての抗体を含有する。一つの実施形態において、複数の抗体は、上記遺伝子によってコードされるポリペプチドの少なくとも4又は5を検出する抗体を含み、ここで、複数の抗体は、10以下のポリペプチドについての抗体を含有する。抗体は任意に標識されていてもよい。30

【0115】

別の態様において、前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、例えば、質量分析等の分光測定方法において使用することができるポリペプチドプローブを含むことができる。したがって、一つの実施形態において、前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、以下のヒト遺伝子：DLX1、NKX2-3、CRISP3、PHGR1、THBS4、AMACR、GAP43、FFAR2、GCNT1、SIM2、STX19、KL B、APOF、LOC283177、及びTRPMによってコードされるポリペプチドの少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、又は15を検出する複数のポリペプチドプローブを含み、ここで、複数のポリペプチドプローブは、500、250、100、50、25、15、10、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のポリペプチドについてのポリペプチドプローブを含有する。一つの実施形態において、複数のポリペプチドプローブは、上記遺伝子によってコードされるポリペプチドの少なくとも4又は5を検出するポリペプチドプローブを含み、ここで、複数のポリペプチドプローブは、10以下のポリペプチドについてのポリペプチドプローブを含有する。ポリペプチドプローブは任意に標識されていてもよい。40

【0116】

別の実施形態において、コーカサス系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定

10

20

30

40

50

用のキットは、以下のヒト遺伝子：P C A 3、A L O X 1 5、A M A C R、C D H 1 9、O R 5 1 E 2 / P S G R、F 5、F Z D 8、及びC L D N 3によってコードされるポリペプチドの少なくとも3、4、5、6、7、又は8を検出する複数のポリペプチドプローブを含み、ここで、複数のポリペプチドプローブは、5 0 0、2 5 0、1 0 0、5 0、2 5、1 5、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のポリペプチドについてのポリペプチドプローブを含有する。一つの実施形態において、複数のポリペプチドプローブは、上記遺伝子によってコードされるポリペプチドの少なくとも4又は5を検出するポリペプチドプローブを含み、ここで、複数のポリペプチドプローブは、1 0 以下 のポリペプチドについてのポリペプチドプローブを含有する。ポリペプチドプローブは任意に標識されていてもよい。

10

【0 1 1 7】

更に別の実施形態において、アフリカ系人種の患者における前立腺癌の診断又は予後判定用のキットは、以下のヒト遺伝子：C O L 1 0 A 1、H O X C 4、E S P L 1、M M P 9、A B C A 1 3、P C D H G A 1、及びA G S K 1によってコードされるポリペプチドの少なくとも3、4、5、6、又は7を検出する複数のポリペプチドプローブを含み、ここで、複数のポリペプチドプローブは、5 0 0、2 5 0、1 0 0、5 0、2 5、1 5、1 0、9、8、7、6、5、4、3、又は2以下のポリペプチドについてのポリペプチドプローブを含有する。一つの実施形態において、複数のポリペプチドプローブは、上記遺伝子によってコードされるポリペプチドの少なくとも4又は5を検出するポリペプチドプローブを含み、ここで、複数のポリペプチドプローブは、1 0 以下 のポリペプチドについてのポリペプチドプローブを含有する。ポリペプチドプローブは任意に標識されていてもよい。

20

【0 1 1 8】

一つの実施形態において、キットは、開示される方法におけるキット内容物の使用方法を開示する指示資料を含む。指示資料は、書面形態（例えば、ハードコピー用紙等）、電子的形態（例えば、コンピュータディスケット又はコンパクトディスク）を含むがそれらに限定されない、任意の数の形態において提供することができ、又は視覚的なものとすることができる（例えば、動画ファイル）。キットはまた、キットが設計される特定の適用を容易にする更なる成分を含むこともできる。したがって、例えば、キットは、バッファー、酵素、標識化化合物等を含むがそれらに限定されない、特定の方法の実施のためにルーチン的に使用される他の試薬を更に含むことができる。かかるキット及び適切な内容物は、当業者によく知られている。キットはまた、リファレンス又は対照サンプルを含むこともできる。リファレンス又は対照サンプルは、生体サンプル又はデータベースであることができる。

30

【0 1 1 9】

上記のように、本出願に記載される、ポリヌクレオチド又はポリペプチドプローブ及び抗体は、検出可能な標識によって、任意に標識される。プローブ又は抗体技術と共に使用される任意の検出可能な標識を、当業者によって知られているように、使用することができる。特定の実施形態において、プローブは、蛍光標識、化学発光標識、消光剤、放射性標識、ビオチン、質量タグ及び／又は金からなる群から選択される検出可能な標識によって標識される。

40

【0 1 2 0】

他に規定のない限り、本明細書で用いられる全ての技術用語及び科学用語は、当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと同様の又は均等の方法及び材料を、本発明の実施又は試験に使用することができるが、好適な方法及び材料を以下に記載する。本明細書で言及される全ての刊行物、特許出願、特許、及び他の参考文献は引用することによりその全体が本明細書の一部をなす。矛盾が生じる場合には、定義を含めて本明細書に従うものとする。さらに、材料、方法、及び実施例は一例にすぎず、限定を意図するものではない。

【実施例】

50

【0121】

実施例1. 比較ゲノムDNA解析

比較全ゲノム解析を、7名のAAのCaP患者及び7名のCAのCaP患者のコホートにおいて、原発性前立腺腫瘍及び対応する正常組織（血液）を用いて行った（28の検体）。コホートは、以下の基準：一次治療前立腺全摘除術、ネオアジュvant療法なし、グリーソングレード3+3及び3+4（診断／一次治療の際にPSAによりスクリーニングしたCaPの大部分を表す）、80%以上の腫瘍細胞含有量を有する凍結腫瘍組織、2μgを超える高分子量ゲノムDNAをもたらす解剖腫瘍組織、対応する血液ゲノムDNAの入手可能性、並びに患者の臨床病理学的データに基づいて選択した。

【0122】

28のサンプルをシーケンシングのためにIllumina Inc.（英国）に送った。腫瘍サンプルからの配列を、IlluminaのELANDアライメントアルゴリズムを用いてリファレンスゲノムに対してマップした。シーケンシングは、良好なカバレッジ（平均37）を報告した。一塩基多型（SNP）、小さな挿入及び欠失（Indel）、コピー数バリエント（CNV）、並びに構造バリエント（SV）についてのバリエントコーリングを、Strelkaアルゴリズムを用いて同時に実施した。全ての確立しているCaP突然変異（TPRSS2/ERG、SPOP、CHD1、及びPTEN）を、このコホートにおいて予測される頻度にて同定した。

【0123】

14名の患者のうち少なくとも2名において、SNV、CNV又はIndel全体細胞突然変異を有する31の遺伝子（既知の突然変異を含む）：AC091435.2；APC；ASMTL；ASMTL-AS1；CDC73；CHD1；CSF2RA；EY5；FRG1；FRG1B；HK2；IL3RA；KLLN；LIPF；LOC100293744；MT-ATP6；MT-BD4；MT-CO1；MT-CYB；MT-ND2；MT-ND3；MUC16；MUC6；NOX3；PDHA2；PTEN；SLC25A6；SLC9B1；SPOP；TRAV20；及びUSH2Aを同定した。

【0124】

突然変異は特定の群（AA-、AA+、CA-、CA+）のいずれとも関連を示さないようであった。しかしながら、AAの患者におけるPTEN欠失の非存在は予期しないものであった。明白なPTEN欠失が2名のCAの症例において検出され、3名の更なるCAの症例においては、PTEN欠失はそれほど明らかではなく、CAの症例におけるPTEN欠失の可能性のある独占性が示された。

【0125】

実施例2. 比較RNA解析

ゲノムDNA解析を補完するために、RNA-Seq解析を前立腺腫瘍サンプルの同じコホートにおいて実施した。RNA-Seq技術は、遺伝子融合、遺伝子及び転写産物発現を含む、トランスクリプトームの複数の態様を調べる能力を有する。周囲の正常組織を14名の患者のうち4名から収集した。正常組織サンプルの2つは、AAの男性からのものとし、2つはCAの男性からのものとした。

【0126】

RNAサンプルを、Expression Analysis（ノースカロライナ州、ダーラム）にトランスクリプトームシーケンシングのために送った。シーケンシング統計の詳細は以下の通りである：シーケンシングタイプ：ペアエンド、各サンプルの平均リード長：50nt、平均リードクオリティ：37、リード数：各サンプルにおいておよそ3100万。

【0127】

Expression Analysisからのローリードは各サンプルについてfastq形式にて得た。これらのファイルは、Illuminaの純度フィルターを通過した全ての配列及びIlluminaのphred metricによって規定されるper-base quality scoreを含有する。これらのローリードを、実際の

10

20

30

40

50

解析に先立って、低クオリティのリード（クオリティスコア < 20 ）、アーチファクト／重複配列及びアダプター配列についてフィルターにかけた。

【 0 1 2 8 】

この解析におけるマッピングのために使用するヒトリファレンスゲノム（ h g 1 9 ）を、 U C S C ウェブサイトからダウンロードした。フィルターを通過したペアエンドリードを、 T o p H a t ソフトウェアのバージョン 2 . 0 . 8 （マッピングのために入手可能な無料オープンソースツール）を用いて h g 1 9 リファレンスゲノムに対してアライメントし、各リードについてアライメント中に 2 以下のミスマッチを許容した。 T o p H a t はリードをリファレンスゲノムに対して、超ハイスループットのショートリードアライナーである B o w t i e を用いてマップする。ソフトウェアは更なる解析のための多数のファイル：マップされたリード、融合ジャンクション、スプライスジャンクション、挿入及び欠失ファイルを出力する。

10

【 0 1 2 9 】

アライメントしたリードを、転写産物をアセンブルし、それら転写産物の存在量を推定し、 R N A - S e q サンプルにおける差のある発現及び調節について試験するオープンソースツールである C u f f l i n k s を用いて、転写産物へとアセンブルした。 C u f f l i n k s は、遺伝子の発現レベルを、その遺伝子の全ての既知のスプライスバリエント／アイソフォームに応じて算出する。

【 0 1 3 0 】

C u f f l i n k s は F r a g m e n t s p e r K i l o b a s e o f t r a n s c r i p t p e r M i l l i o n m a p p e d r e a d s (F P K M) において転写産物及び遺伝子存在量レベルを測定する。 F P K M 式は、以下に規定される通りである：

20

$$F P K M = C / L N$$

【 0 1 3 1 】

C は、その構成（転写産物、エクソン）内で、マッピング可能なリードの数であり、 L は、構成における長さ（ k b ）であり、 N は、その特性上、マッピング可能なリードの全数（ 1 0 0 万単位）である。 F P K M ノーマライズ方法は、サンプル間の遺伝子発現の差を比較するために、遺伝子長とシーケンシングとの矛盾を排除する。

30

【 0 1 3 2 】

C u f f l i n k s パッケージに含まれる C u f f d i f f プログラムは、 C a P 腫瘍サンプルと正常サンプルとの間の発現差を算出し、サンプルの間の発現において観察される各変化についての p 値を含む。 C u f f d i f f は、実験条件に基づいて複数のサンプルファイルを入力することを可能にする。遺伝子及び転写産物発現レベルは、表形式で報告され、これらのファイルは、遺伝子情報、各遺伝子についての log 2 スケールの倍数変化、 P 値及び偽発見率（ F D R ）を含有する。統計的に有意な遺伝子に対する P a t h w a y A n a l y s i s 及び G e n e O n t o l o g y B i o l o g i c a l P r o c e s s e s を、 G e n o m a t i x 経路解析ソフトウェアを用いて実施した。

【 0 1 3 3 】

階層的クラスタリング（ R パッケージを用いて実施した）を使用して、それらの発現レベルに基づいてサンプルを分類した。図 1 . 全部で 1 8 のサンプル（ 1 4 の腫瘍サンプル及び 4 の正常サンプル）のクラスタリングは、腫瘍サンプルと正常サンプルとの間に明確な境界を示す。しかしながら、腫瘍サンプルの大部分は、 A A 群及び C A 群によってクラスター化されなかった。興味深いことに、 4 つの融合陰性 A A サンプルのうち 3 つは 1 つの群へとクラスター化され、そして患者の追跡研究に基づいて、これら 3 名の患者のうち 2 名は、転移を発症し（このコホートにおける 2 名のみの転移）、第 3 人目の患者は生化学的再発を有していた。

40

【 0 1 3 4 】

遺伝子発現プロファイルを、 1 4 の腫瘍（ 7 の A A 及び 7 の C A ）及び 4 の正常（ 2 の A A 及び 2 の C A ）サンプルから得た。腫瘍サンプルと正常サンプルとの間の比較解析に

50

についての限界は、全ての腫瘍サンプルについての正常サンプルの入手可能性であった。したがって、今回の解析においては、各群内の2つの正常サンプルを一緒にプールし、平均値をそれらそれぞれの群と比較した。

【0135】

初期解析においては、各患者についての遺伝子発現プロファイルを、各群内の腫瘍サンプルと正常サンプルとを比較することによって作成した。統計的に有意な遺伝子を、倍数変化（腫瘍／正常比）、腫瘍における少なくとも2倍の過剰発現／過小発現及びP値<0.05を用いて抽出した。101の遺伝子及び180の遺伝子が、それぞれアフリカ系アメリカ人群及びコーカサス系アメリカ人群において統計的に有意であった（2倍及びp値<0.05）。アフリカ系アメリカ人リストにおける遺伝子に関連した前立腺癌の文献のうちわずかのものが、CRISP3、SIM2、THBS4及びMMP9を含んでおり、コーカサス系アメリカ人リストにおける遺伝子に関連した前立腺癌の文献のうちわずかのものが、AMACR、APOF、CRISP3、OR51E2(PSGR)、SIM2及びTHBS4を含んでいた。

10

【0136】

AA遺伝子リストとCA遺伝子リストとの比較により、84の遺伝子が両方の民族において共通であることが示された。共通遺伝子のリストは、AMACR、CRIPS3及びSIM2といった、前立腺癌においてよく研究された数個の遺伝子を含んでいた。DLX1、NKX3-2及びCRISP3がこのリストにおいて最も過剰発現した遺伝子であった。図2。両方の民族において最も一貫して過剰発現していた遺伝子はDLX1及びNKX2-3であった。AAの前立腺腫瘍とCAの前立腺腫瘍との両方において、上位15の過剰発現していた遺伝子を、表5に収載する（倍数変化によりランク付け）。

20

【0137】

【表5】

表5

遺伝子記号	AA	CA
DLX1	168.76	94.24
NKX2-3	128.58	49.14
CRISP3*	128.08	711.14
PHGR1	44.04	100.24
THBS4	17.37	18.87
AMACR*	11.89	25
GAP43	7.19	7.99
FFAR2	7.03	8.54
GCNT1	6.62	15.23
SIM2*	6.41	9.68
STX19	5.98	7.67
KLB	5.07	5.91
APOF	5.04	19.42
LOC283177	4.86	7
TRPM4	4.35	6.48
* 前立腺癌において既知の遺伝子変化		

30

40

【0138】

同様に、CA群（180の遺伝子）の腫瘍／正常比と、AA群における腫瘍／正常比とを比較した。この遺伝子リストは、PCA3（10倍）、PSGR（5倍）及びAMACR（2倍）等の、よく研究された前立腺癌遺伝子のいくつかは、AA群と比較してCA群において過剰発現していたことを明らかにした（図3B）。さらに、TMPRSS2/ERG融合陽性サンプルの遺伝子発現レベルと、融合陰性サンプルとを比較した。CRISP3、GLDC、及びTDRD1が、TMPRSS2/ERG融合陽性サンプルにおいて

50

最も差を持って発現した遺伝子であり、一方、COL2A1及びPLA2G7が、TMPRSS2/ERG融合陰性サンプルにおいて最も差を持って発現した遺伝子であった。AA群と比較してCA群の前立腺腫瘍において最も差を持って発現した遺伝子を、表6に示す。

【0139】

【表6】

表6

遺伝子記号	CA	AA
PCA3*	94.76	6.09
ALOX15	79.68	9.66
AMACR*	25	11.89
CDH19	13.73	1.43
OR51E2/PSGR	10.79	2.8
F5	8.89	4.16
FZD8	7.72	3.08
CLDN3	5.28	2.58

* 現在の前立腺癌診断マーカー

10

20

30

40

50

【0140】

AA人種特異的な遺伝子発現傾向を評価するため、AA群(101の遺伝子)において差を持って発現した遺伝子リストの腫瘍/正常比と、CA群における腫瘍/正常比とを比較した。図3Aにおけるヒートマップは、AA群において一貫してアップレギュレートされていたと同時に、CA群においてダウンレギュレートされていた(又は発現変化なし)遺伝子を示す。このリストにおいて、MMP9が、AA群において非常に強度にアップレギュレートされているが、CA群においてダウンレギュレートされていることが判明した、第1位の遺伝子であった。CA群と比較してAA群の前立腺腫瘍において最も差を持って発現した遺伝子を表7に示す。

【0141】

【表7】

表7

遺伝子記号	AA	CA
COL10A1	539.86	16.81
HOXC4	72.06	13.13
ESPL1	35.49	1.92
MMP9	32.23	0.27
ABCA13	22.65	2.02
PCDHGA1	15.15	1.82
AGSK1	6.09	0.98

【0142】

本明細書において言及した、全ての特許、特許出願、及び公表された参考文献は、引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。本発明を、特に、その好ましい実施形態に関連して示し、記載したが、添付の特許請求の範囲により包含される本発明の範囲を逸脱することなく、形態及び詳細における様々な変更を、本発明内でなすことができる事が当業者に理解されるであろう。

【0143】

参考文献

以下の参考文献が、本出願において引用され、本発明の分野についての一般的情報を提供し、本出願において論じたアッセイ及び他の詳細を提供する。以下の参考文献は、引用することによってそれら全体が本明細書の一部をなす。

1. Siegel, R.; Naishadham, D.; Jemal, A. Cancer statistics. CA Cancer J. Clin. 2013, 63, 11-30.

2. Chornokur, G.; Dalton, K.; Borysova, M.E.; Kumar, N.B. Disparities at presentation, diagnosis, treatment, and survival in African American men affected by prostate cancer. *Prostate* 2011, 71, 985-997.
3. Schwartz, K.; Powell, I.J.; Underwood, W., 3rd; George, J.; Yee, C.; Banerjee, M. Interplay of race, socioeconomic status, and treatment on survival of patients with prostate cancer. *Urology* 2009, 74, 1296-1302.
4. Major, J.M.; Oliver, M.N.; Doubeni, C.A.; Hollenbeck, A.R.; Graubard, B.I.; Sinha, R. Socioeconomic status, healthcare density, and risk of prostate cancer among African American and Caucasian men in a large prospective study. *Cancer Causes Control* 2012, 23, 1185-1191. 10
5. Sridhar, G.; Masho, S.W.; Adera, T.; Ramakrishnan, V.; Roberts, J.D. Do African American men have lower survival from prostate cancer compared with White men? A meta-analysis. *Am. J Mens. Health* 2010, 4, 189-206.
6. Cullen, J.; Brassell, S.; Chen, Y.; Porter, C.; L'Esperance, J.; Brand, T.; McLeod, D.G. Racial/ethnic patterns in prostate cancer outcomes in an active surveillance cohort. *Prostate Cancer* 2011, 2011, doi:10.1155/2011/234519.
7. Berger, A.D.; Satagopan, J.; Lee, P.; Taneja, S.S.; Osman, I. Differences in clinicopathologic features of prostate cancer between black and white patients treated in the 1990s and 2000s. *Urology* 2006, 67, 120-124.
8. Kheirandish, P.; Chinegwundoh, F. Ethnic differences in prostate cancer. *Br. J. Cancer* 2011, 105, 481-485. 20
9. Odedina, F.T.; Akinremi, T.O.; Chinegwundoh, F.; Roberts, R.; Yu, D.; Reams, R.R.; Freedman, M.L.; Rivers, B.; Green, B.L.; Kumar, N. Prostate cancer disparities in black men of African descent: A comparative literature review of prostate cancer burden among black men in the United States, Caribbean, United Kingdom, and West Africa. *Infect. Agents Cancer* 2009, 4, doi:10.1186/1750-9378-4S1-S2.
10. Heath, E.I.; Kattan, M.W.; Powell, I.J.; Sakr, W.; Brand, T.C.; Rybicki, B.A.; Thompson, I.M.; Aronson, W.J.; Terris, M.K.; Kane, C.J.; et al. The effect of race/ethnicity on the accuracy of the 2001 Partin Tables for predicting pathologic stage of localized prostate cancer. *Urology* 2008, 71, 151-155. 30
11. Moul, J.W.; Sesterhenn, I.A.; Connelly, R.R.; Douglas, T.; Srivastava, S.; Mostofi, F.K.; McLeod, D.G. Prostate-specific antigen values at the time of prostate cancer diagnosis in African-American men. *JAMA* 1995, 274, 1277-1281.
12. Tewari, A.; Horninger, W.; Badani, K.K.; Hasan, M.; Coon, S.; Crawford, E.D.; Gamito, E.J.; Wei, J.; Taub, D.; Montie, J.; et al. Racial differences in serum prostate-specific (PSA) doubling time, histopathological variables and long-term PSA recurrence between African-American and white American men undergoing radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer. *BJU Int.* 2005, 96, 29-33.
13. Wallace, T.A.; Prueitt, R.L.; Yi, M.; Howe, T.M.; Gillespie, J.W.; Yfantis, H.G.; Stephens, R.M.; Caporaso, N.E.; Loffredo, C.A.; Ambs, S. Tumor immunobiological differences in prostate cancer between African-American and Caucasian-American men. *Cancer Res.* 2008, 68, 927-936. 40
14. Prensner, J.R.; Rubin, M.A.; Wei, J.T.; Chinnaiyan, A.M. Beyond PSA: The next generation of prostate cancer biomarkers. *Sci. Transl. Med.* 2012, 4, doi:10.1126/scitranslmed.3003180.
15. Rubin, M.A.; Maher, C.A.; Chinnaiyan, A.M. Common gene rearrangements in prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 2011, 29, 3659-3668.
16. Sreenath, T.L.; Dobi, A.; Petrovics, G.; Srivastava, S. Oncogenic activation of ERG: A predominant mechanism in prostate cancer. *J. Carcinog.* 2011, 11, 10 50

-21.

17. Petrovics, G.; Liu, A.; Shaheduzzaman, S.; Furusato, B.; Sun, C.; Chen, Y.; Nau, M. Ravindranath, L.; Chen, Y.; Dobi, A.; et al. Frequent overexpression of ETS-related gene-1 (ERG1) in prostate cancer transcriptome. *Oncogene* 2005, 24, 3847-3852.
18. Tomlins, S.A.; Rhodes, D.R.; Perner, S.; Dhanasekaran, S.M.; Mehra, R.; Sun, X.W.; Varambally, S.; Cao, X.; Tchinda, J.; Kuefer, R.; et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005, 310, 644-648.
19. Magi-Galluzzi, C.; Tsusuki, T.; Elson, P.; Simmerman, K.; LaFarque, C.; Esqueva, R.; Klein, E.; Rubin, M.A.; Zhou, M. TMPRSS2-ERG gene fusion prevalence and class are significantly different in prostate cancer of Caucasian, African-American and Japanese patients. *Prostate* 2011, 71, 489-497.
20. Rosen, P.; Pfister, D.; Young, D.; Petrovics, G.; Chen, Y.; Cullen, J.; Bohm, D.; Perner, S.; Dobi, A.; McLeod, D.G.; et al. Differences in frequency of ERG oncoprotein expression between index tumors of Caucasian and African American patients with prostate cancer. *Urology* 2012, 80, 749-753.
21. Hu, Y.; Dobi, A.; Sreenath, T.; Cook, C.; Tadase, A.Y.; Ravindranath, L.; Cullen, J.; Furusato, B.; Chen, Y.; Thanqapazham, R.L.; et al. Delineation of TMPRSS2-ERG splice variants in prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008, 14, 4719-4725.
22. Gary K Geiss, et al. (2008) Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs, *Nature Biotechnology* 26:317-25.
23. Paolo Fortina and Saul Surrey, (2008) Digital mRNA Profiling, *Nature Biotechnology* 26:317-25.
24. Farrell J, Petrovics G, McLeod DG, Srivastava S.: Genetic and molecular differences in prostate carcinogenesis between African American and Caucasian American men. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14(8):15510-31.
25. Rodriguez-Suarez et al., Urine as a source for clinical proteome analysis: From discovery to clinical application, *Biochimica et Biophysica Acta* (2013).
26. Shi et al., Antibody-free, targeted mass-spectrometric approach for quantification of proteins at low picogram per milliliter levels in human plasma/serum, *PNAS*, 109(38):15395-15400 (2012).
27. Elentiboba-Johnson and Lim, Fusion peptides from oncogenic chimeric proteins as specific biomarkers of cancer, *Mol Cell Proteomics*, 12:2714 (2013).

【 図 1 】

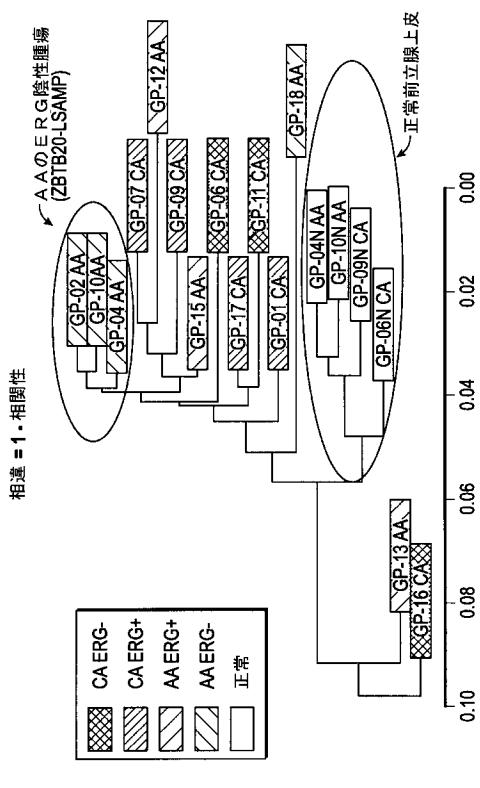
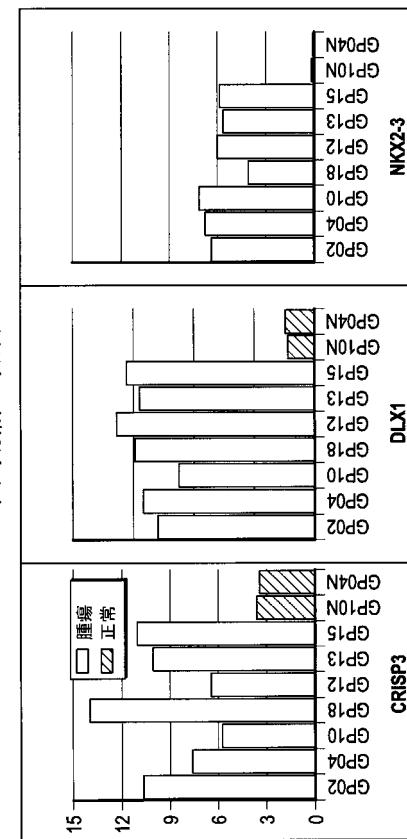


FIG. 1

【 図 2 B - 1 】



2

【 図 2 B - 2 】

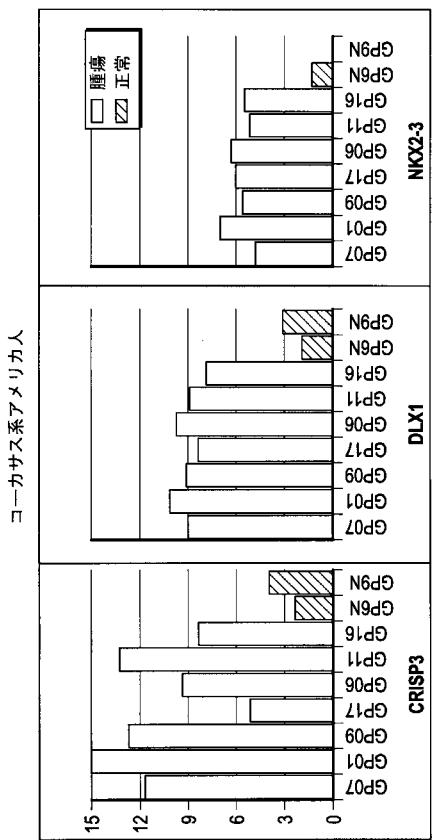


FIG. 2 (Cont.)

【 図 4 】

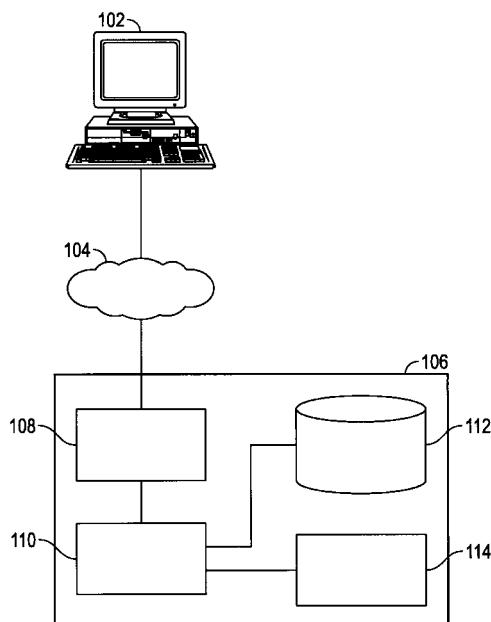
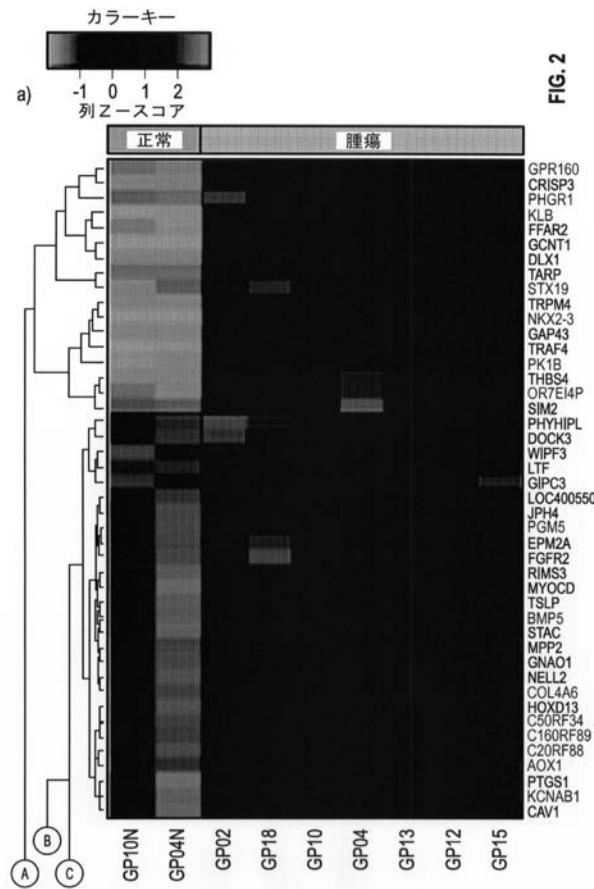


FIG. 4

【図 2 A - 1】



【図 2 A - 2】

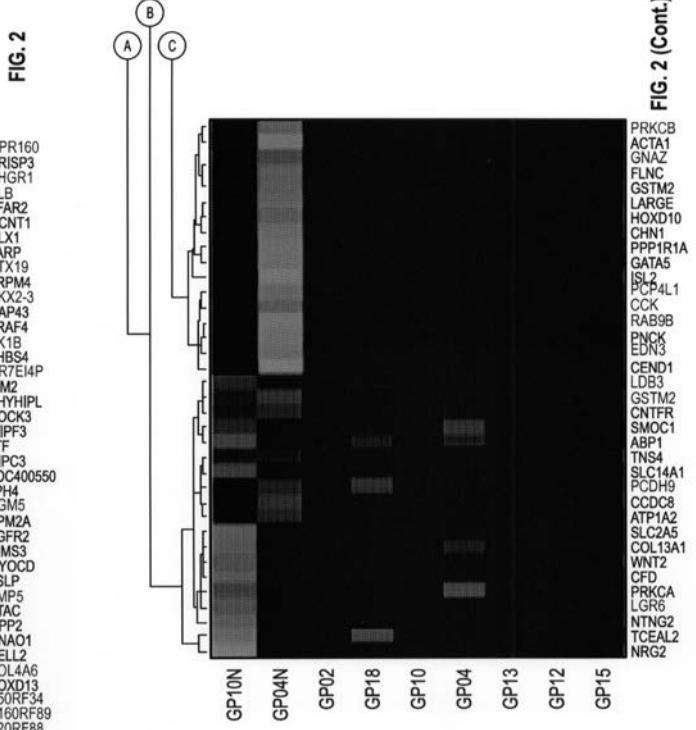


FIG. 2 (Cont.)

【図 2 A - 3】

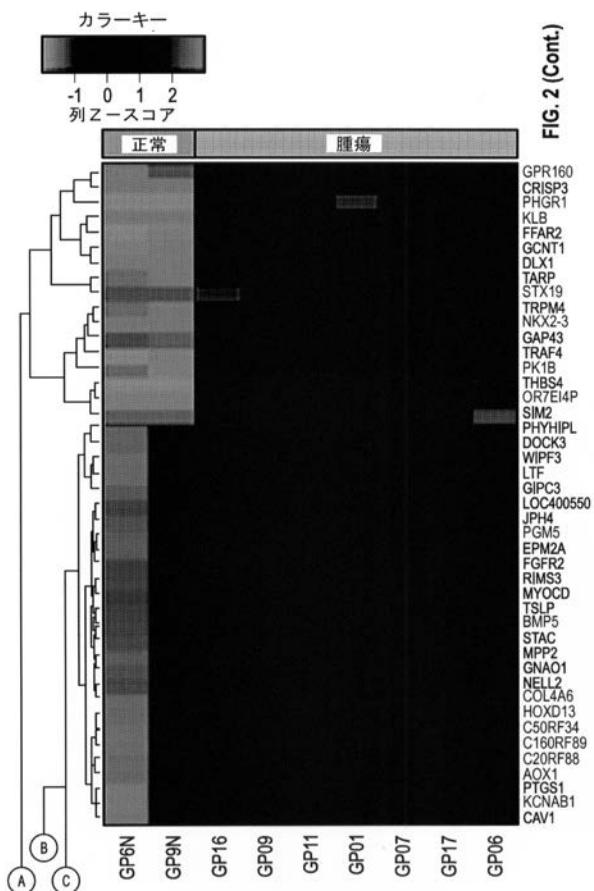


FIG. 2 (Cont.)

【図 2 A - 4】

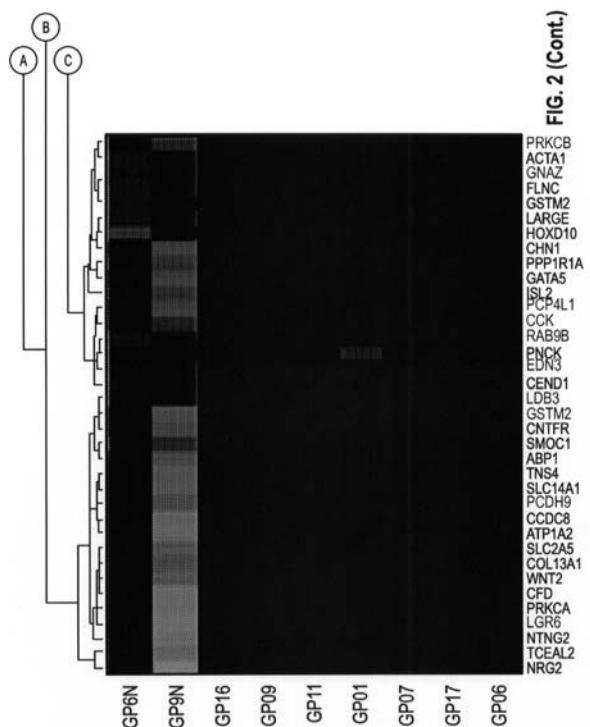


FIG. 2 (Cont.)

【図3】

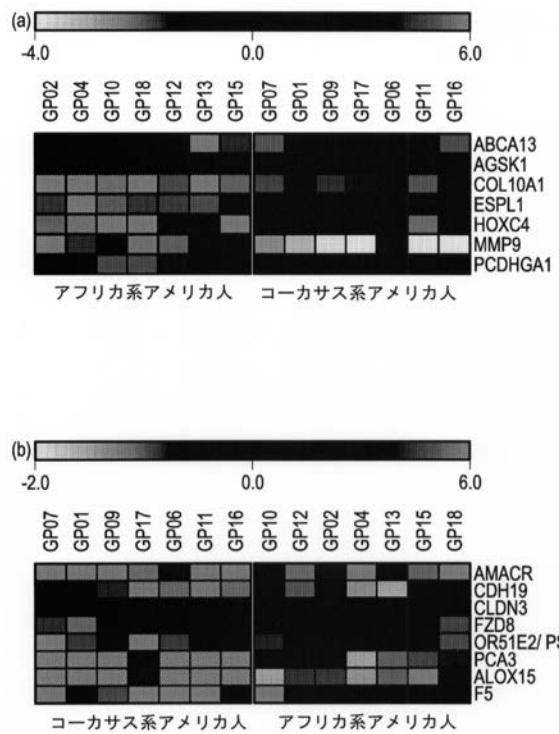


FIG. 3

【配列表】

2017509351000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2014/072610
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - G01N 33/574 (2015.01) CPC - G01N 33/57434 (2015.01) 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) IPC(8) - C07K 16/32 ; G01N 33/574 (2015.01) USPC - 435/6.11, 6.14, 7.23		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched CPC - C07K 16/3069 ; C12N 5/0693 ; C12Q 1/686 ; G01N 33/57434, 2800/52 (2015.01) (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Orbit, Google Patents, Google Scholar. Search terms used: prostate, cancer, diagnosis, prognosis, African, Caucasian, ERG, PCA3, AMACR, ERG, PCA3, AMACR, LTF, DD3, PCA3, ALOX15, AMACR, CDH19, FZD8, COL10A1, HOXC4, ESPL1, MMP9, ABCA13, PCDHGA1, DLX1, THBS4, AMACR, GAP43, FFAR2, GCNT1, SIM2, STX19, KLB, TRPM4		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2009/0170075 A1 (PETROVICS et al) 02 July 2009 (02.07.2009) entire document	1-4, 9-12, 26-32
Y	WO 2012/031008 A2 (GENERAL HOSPITAL CORP) 08 March 2012 (08.03.2012) entire document	1-4, 9-12, 26-32
A	US 2013/0323734 A1 (KIDD LA CREIS RENEE) 05 December 2013 (05.12.2013) entire document	1-4, 9-12, 26-32
A	WO 2010/136716 A1 (UNIVERSITE D'AUVERGNE CLERMONT) 02 December 2010 (02.12.2010) entire document	1-4, 9-12, 26-32
A	WO 2012/024543 A1 (CARIS LIFE SCIENCES) 23 February 2012 (23.02.2012) entire document	1-4, 9-12, 26-32
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
** 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 18 March 2015	Date of mailing of the international search report 28 APR 2015	
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: Blaine R. Copenheaver <small>PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT QSP: 571-272-7774</small>	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2014/072610

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

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

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

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

3. Claims Nos.: 5-8, 13-25, 33, 34 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

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

Remark on Protest

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

フロントページの続き

(51) Int.CI.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00	A 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/58 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	F 4 C 0 9 1
C 0 7 J 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/58	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	C 0 7 J 43/00	
A 6 1 K 31/4166 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
C 0 7 D 233/86 (2006.01)	A 6 1 K 31/4166	
A 6 1 K 31/573 (2006.01)	C 0 7 D 233/86	
C 0 7 J 5/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	C 0 7 J 5/00	
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
C 0 7 D 305/14 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	
	C 0 7 D 305/14	

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,Th,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72) 発明者 スリバスタバ シブ ケー .

アメリカ合衆国 2 0 8 5 4 メリーランド ポトマック ボズウェル レーン 1 0 5 2 0

(72) 発明者 ドビ アルバート

アメリカ合衆国 2 0 8 5 0 メリーランド ロックビル ペリー・タ テラス 1 4 0 7 1

(72) 発明者 ペトロビッチ ジエルジュ

アメリカ合衆国 2 0 8 1 7 メリーランド ベセスダ フライアース ロード 9 1 0 3

(72) 発明者 ウェルナー トーマス

ドイツ国 8 0 9 9 9 ミュンヘン マンレサシュトラーセ 4 8

(72) 発明者 ザイフェルト マルティン

ドイツ国 8 2 3 9 6 フィッセン/ペール アム レーマーヒューゲル 9

(72) 発明者 シエルフ マティアス

ドイツ国 8 0 3 3 5 グレーベンツェル コッヘルゼーシュトラーセ 2 9

F ターム(参考) 4B029 AA07 BB11 FA03 GA01 GA03

4B063 QA19 QQ02 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QS34 QX02

4C048 TT08 UU01 XX01

4C084 AA02 AA17 BA01 BA10 BA17 BA23 BA32 NA20 ZA81 ZB26

4C085 AA03 CC01 EE01

4C086 AA01 AA02 BA02 BC38 DA05 DA10 MA01 MA04 NA20 ZA81
ZB26

4C091 AA01 BB03 BB05 BB06 BB11 CC01 DD01 EE03 EE07 FF01
GG01 HH01 JJ03 KK01 KK12 LL01 MM03 NN01 PA02 PA03

PA05 PA07 PA09 PB02 PB04 QQ01