

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2011-174933

(P2011-174933A)

(43) 公開日 平成23年9月8日(2011.9.8)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/574 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/574 Z N A Z	4 B O 6 3
<b>GO 1 N 33/543 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/574 A	4 H O 4 5
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/543 5 O 1 A	
<b>C 1 2 Q 1/37 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 D	
<b>C 1 2 Q 1/28 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/37	

審査請求 有 請求項の数 1 O L (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-50083 (P2011-50083)	(71) 出願人	505345037
(22) 出願日	平成23年3月8日 (2011.3.8)		フジレビオ アメリカ インク
(62) 分割の表示	特願2006-507164 (P2006-507164) の分割		アメリカ合衆国 デラウェア州 1980 8 ウィルミントン スイート 3206 センターヴィレ ロード 2751
原出願日	平成16年3月15日 (2004.3.15)	(74) 代理人	100102978
(31) 優先権主張番号	10/388, 930		弁理士 清水 初志
(32) 優先日	平成15年3月13日 (2003.3.13)	(74) 代理人	100128048
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 新見 浩一
		(72) 発明者	オウシャネッスィー ダニエル ジュー アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 19 468 リメリック ヒッコリー グロー ブ ドライブ 912

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 卵巣癌査定のための尿のメソセリン／巨核球可能化因子関連ペプチド (mesothelin/megakaryocytopotentiating factor family peptide)

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】メソセリン(mesothelin)、巨核球可能因子(megakaryocyte potentiating factor)と関連するアミノ酸配列(amino acid sequences)を有するペプチド(peptides)と卵巣癌患者の血清中の発生に関係する他のペプチドの女性の尿中の発生を査定するための方法とキットに関する。

【解決手段】女性の卵巣癌を診断し、その他の点では、無症候の女性の卵巣癌の展開を予測し、卵巣癌治療法の効果を査定するために使用。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

女性の卵巣癌の診断方法であって、女性から採取した尿中のメソセリン/巨核球可能化因子族(MMPFF)ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide)の発生を査定することを含んで構成され、それにより尿中のMMPFFペプチドの発生が女性の卵巣癌にかかっていることの示唆とすることを特徴とする方法。

## 【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、前記卵巣癌は上皮卵巣癌であることを特徴とする方法。

## 【請求項 3】

請求項 1 に記載の方法であって、前記卵巣癌は間質卵巣癌であることを特徴とする方法。

## 【請求項 4】

請求項 1 に記載の方法であって、前記卵巣癌は幹細胞卵巣癌であることを特徴とする方法。

## 【請求項 5】

請求項 1 に記載の方法であって、尿中におけるMMPFFペプチドの発生は特にMMPFFペプチドと結合する第 1 抗体と尿を接触させ、MMPFFペプチドが前記第 1 抗体と結合したかどうかを査定することによって査定することを特徴とする方法。

## 【請求項 6】

請求項 5 に記載の方法であって、尿を第 1 抗体と接触させる前に尿を遠心分離機にかけて沈殿物があればそれをそこから殆ど取り除くことを特徴とする方法。

## 【請求項 7】

請求項 5 に記載の方法であって、第 1 抗体は担体と結合していることを特徴とする方法。

## 【請求項 8】

請求項 7 に記載の方法であって、前記担体はプラスチック容器であることを特徴とする方法。

## 【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法であって、前記容器はマルチウエルプレートであることを特徴とする方法。

## 【請求項 10】

請求項 9 に記載の方法であって、前記プレートはロボット装置による自動分析に適合しているものであることを特徴とする方法。

## 【請求項 11】

請求項 5 に記載の方法であって、MMPFFペプチドと第 1 抗体との結合は、尿と前記第 1 抗体の接触の後、特にMMPFFペプチドと結合する第 2 抗体と第 1 抗体を接触させ、第 1 と第 2 の抗体と一緒に局在しているかを査定することによって査定することを特徴とする方法。

## 【請求項 12】

請求項 11 に記載の方法であって、前記尿は、第 1 抗体と第 2 抗体の接触前少なくとも 10 分間第 1 抗体と接触していることを特徴とする方法。

## 【請求項 13】

請求項 11 に記載の方法であって、前記尿は、第 1 抗体と第 2 抗体の接触前少なくとも 60 分間第 1 抗体と接触していることを特徴とする方法。

## 【請求項 14】

請求項 11 に記載の方法であって、第 2 抗体は検出可能にラベル付けしてあることを特徴とする方法。

## 【請求項 15】

請求項 14 に記載の方法であって、前記第 2 抗体は酵素、放射性核種、発蛍光団、及び

10

20

30

40

50

発色団を構成する群から選択された化合物と接続していることを特徴とする方法。

【請求項 16】

請求項 11 に記載の方法であって、第 2 抗体は配位子に接続しており、第 1 及び第 2 抗体の局在が、第 2 抗体と (i) 配位子と結合する受容体と (ii) 検出可能ラベル、から構成される化合物との接触によって査定されることを特徴とする方法。

【請求項 17】

請求項 16 に記載の方法であって、前記ラベルは酵素、放射性核種、発蛍光団、及び発色団を構成する群から選択されていることを特徴とする方法。

【請求項 18】

請求項 16 に記載の方法であって、前記配位子はビオチンであり前記受容体はアビジンであることを特徴とする方法。

10

【請求項 19】

請求項 18 に記載の方法であって、前記アビジンはストレプトアビジン(streptavidin)であることを特徴とする方法。

【請求項 20】

請求項 19 に記載の方法であって、前記ラベルは酵素であることを特徴とする方法。

【請求項 21】

請求項 20 に記載の方法であって、前記酵素は西洋わさびペルオキシダーゼ(horseradish peroxidase)であることを特徴とする方法。

【請求項 22】

請求項 21 に記載の方法であって、第 1 及び第 2 抗体の局在は 3、3'、5、5' - テトラメチルベンジジンであることを特徴とする方法。

20

【請求項 23】

請求項 5 に記載の方法であって、第 1 抗体と尿を接触させた後に、第 1 抗体と第 1 抗体をラベル付けした担体とを接触させ、尿と接触させた第 1 抗体と結合するラベル付けした配位子の量と、尿と接触させなかった等量の第 1 抗体と結合するラベル付けした配位子の量を比較することを特徴とする方法。

【請求項 24】

請求項 23 に記載の方法であって、ラベル付けした配位子は MMPFF ペプチドと同じアミノ酸配列を有していることを特徴とする方法。

30

【請求項 25】

請求項 24 に記載の方法であって、ラベル付けした配位子のグリコシル化状態は MMPFF ペプチドのグリコシル化状態と同じであることを特徴とする方法。

【請求項 26】

請求項 1 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドはグリコシル化されていることを特徴とする方法。

【請求項 27】

請求項 1 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番号 1 から 5 よりなる群から選択された 1 つの配列の少なくとも 10 の連続する残基から構成されていることを特徴とする方法。

40

【請求項 28】

請求項 27 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番号 1 から 5 よりなる群から選択された 1 つの配列の少なくとも 20 の連続する残基から構成されていることを特徴とする方法。

【請求項 29】

請求項 27 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番号 1 から 5 よりなる群から選択された 1 つの配列の少なくとも 50 の連続する残基から構成されていることを特徴とする方法。

【請求項 30】

請求項 27 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番

50

号 1 から 5 よりなる群から選択された 1 つの配列の少なくとも 200 の連続する残基から構成されていることを特徴とする方法。

【請求項 3 1】

請求項 2 7 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番号 1 から 5 よりなる群から選択された 1 つの配列から構成されていることを特徴とする方法。

【請求項 3 2】

請求項 2 7 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番号 4 の少なくとも 10 の連続的残基から構成されていることを特徴とする方法。

【請求項 3 3】

請求項 2 7 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドのアミノ酸配列は、配列 ID 番号 5 の少なくとも 10 の連続的残基から構成されていることを特徴とする方法。

【請求項 3 4】

請求項 1 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドは、少なくとも 20 の連続アミノ酸残基の部分からなり、その部分のアミノ酸配列は配列 ID 番号 1 から 5 よりなる群から選択された 1 つの配列の 20 の連続残基に対し少なくとも 90 % 同じであることを特徴とする方法。

【請求項 3 5】

請求項 3 4 に記載の方法であって、MMPFF ペプチドは、少なくとも 20 の連続アミノ酸残基の部分からなり、その部分のアミノ酸配列は配列 ID 番号 4 と 5 よりなる群から選択された 1 つの配列の 20 の連続残基に対し少なくとも 90 % 同じであることを特徴とする方法。

【請求項 3 6】

請求項 1 に記載の方法であって、更に、女性の尿中の第 2 卵巣癌マーカーの発生の査定を含んで構成され、尿中の前記第 2 マーカーの発生もまた女性が卵巣癌にかかっていることの示唆であることを特徴とする方法。

【請求項 3 7】

請求項 3 6 に記載の方法であって、前記第 2 の卵巣癌マーカーは尿ゴナドトロピンペプチド (urinary gonadotropin peptide)、システインプロテイナーゼ (cysteine proteinase)、ネオプテリン (neopterin)、及び腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor) よりなる群から選択されたものであることを特徴とする方法。

【請求項 3 8】

請求項 1 に記載の方法であって、更に、女性の血清中の第 2 卵巣癌マーカーの発生の査定を含んで構成され、血清中の前記第 2 マーカーの発生もまた女性が卵巣癌にかかっていることの示唆であることを特徴とする方法。

【請求項 3 9】

請求項 3 8 に記載の方法であって、前記第 2 卵巣癌マーカーは CA 125、癌性胎児抗原 (carcinoembryonic antigen)、血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor)、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor)、CD 44 スプライス変形体 (splice variants)、抗マリグニン抗体 (anti-malignin antibody)、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase)、アルファヒドロキシ酪酸脱水素酵素 (alpha-hydroxybutyrate dehydrogenase)、CA 19 - 9、組織ポリペプチド抗原 (tissue polypeptide antigen)、及びシアリル TN よりなる群から選択されたものであることを特徴とする方法。

【請求項 4 0】

請求項 3 8 に記載の方法であって、前記第 2 の卵巣癌マーカーは CA 125 であることを特徴とする方法。

【請求項 4 1】

請求項 1 に記載の方法はさらに女性の血清中の MMPFF ペプチドの発生の査定を含んで構成され、血清中の前記 MMPFF ペプチドの発生もまた女性が卵巣癌にかかっている

10

20

30

40

50

ことの示唆であることを特徴とする方法。

【請求項 4 2】

女性が卵巣癌になった可能性を査定する方法であって、その方法は女性から採取した尿中のメソセリン/巨核球可能化因子族(MMPFF)ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide)の発生を査定することを含んで構成され、尿中にMMPFFペプチドが発生するという事は、その女性が、尿中にMMPFFの発生がなくその他では同じ女性に較べてより卵巣癌になりやすいことを示唆するものであることを特徴とする方法。

【請求項 4 3】

女性の卵巣癌の治療の効果を査定する方法であって、治療後の女性から採取した尿中のメソセリン/巨核球可能化因子族(MMPFF)ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide)の量を査定し、その量と手術前その女性から採取した尿中のMMPFFペプチドの量を比較することから構成され、手術後の尿中のMMPFFペプチドの量がより少なくなっていれば手術が効果的であったことを示していることを特徴とする方法。

10

【請求項 4 4】

女性から採取した尿中のメソセリン/巨核球可能因子族(MMPFF)ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide)の発生を査定するキットであって、そのキットは配列ID番号3から5よりなる群から選定された一つの配列の少なくとも10の連続する残基を含んで構成されるMMPFFペプチドと結合するための第1薬剤と、尿を浄化する装置と、浄化した尿と前記第1薬剤を接触することを記述する使用説明書から構成されていることを特徴とするキット。

20

【請求項 4 5】

請求項 4 4 に記載のキットであって、前記第1薬剤は抗体であることを特徴とするキット。

【請求項 4 6】

請求項 4 5 に記載のキットであって、前記抗体は薄い金属フィルムに結合されていることを特徴とするキット。

【請求項 4 7】

請求項 4 6 に記載のキットであって、前記フィルムは表面プラズモン共鳴装置内の分析に用いられることを特徴とするキット。

30

【請求項 4 8】

請求項 4 4 に記載のキットであって、更に、MMPFFペプチドが前記第1薬剤との結合を査定するための第2薬剤を含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 4 9】

請求項 4 8 に記載のキットであって、前記第2薬剤は前記第1薬剤の検出可能にラベルをつけた配位子であることを特徴とするキット。

【請求項 5 0】

請求項 4 9 に記載のキットであって、前記第1薬剤は抗体で前記配位子はMMPFFペプチドであることを特徴とするキット。

40

【請求項 5 1】

請求項 4 9 に記載のキットであって、前記配位子は酵素、放射性核種、発蛍光団、及び発色団よりなる群から選択された化合物でラベル付けされていることを特徴とするキット。

【請求項 5 2】

請求項 4 8 に記載のキットであって、前記第2薬剤は検出可能にラベル付けした抗体であることを特徴とするキット。

【請求項 5 3】

請求項 5 2 に記載のキットであって、前記抗体はビオチン化した抗体であることを特徴とするキット。

50

## 【請求項 5 4】

請求項 5 2 に記載のキットであって、前記抗体は酵素、放射性核種、発蛍光団、及び発色団よりなる群から選択された化合物でラベル付けされていることを特徴とするキット。

## 【請求項 5 5】

請求項 4 8 に記載のキットであって、前記第 1 薬剤は検出可能にラベル付けされている抗体と結合するエピトープとは異なる M M P F F のエピトープと結合する抗体であることを特徴とするキット。

## 【請求項 5 6】

請求項 4 4 に記載のキットであって、前記装置は女性から採取した尿サンプルを遠心分離する装置であることを特徴とするキット。

## 【請求項 5 7】

請求項 4 4 に記載のキットであって、前記第 1 薬剤は担体に結合されていることを特徴とするキット。

## 【請求項 5 8】

請求項 5 7 に記載のキットであって、前記担体はプラスチックの容器であることを特徴とするキット。

## 【請求項 5 9】

請求項 5 8 に記載のキットであって、前記容器はマルチウエルプレートであることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 0】

請求項 5 9 に記載のキットであって、前記プレートはロボット装置による自動分析に適合するように作製されたものであることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 1】

請求項 5 8 に記載のキットであって、前記第 1 薬剤は抗体であることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 2】

請求項 6 1 に記載のキットであって、前記第 2 薬剤は第 2 抗体であることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 3】

請求項 6 2 に記載のキットであって、前記第 2 抗体は配位子に接続されていることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 4】

請求項 6 3 に記載のキットであって、更に、(i) 前記配位子と結合する受容体と (ii) 検出可能なラベルを含んで構成されていることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 5】

請求項 6 4 に記載のキットであって、ラベルは酵素、放射性核種、発蛍光団、及び発色団よりなる群から選択された化合物でラベル付けされていることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 6】

請求項 6 5 に記載のキットであって、前記配位子はビオチンであり、前記受容体はアビジンであることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 7】

請求項 6 6 に記載のキットであって、前記アビジンはストレプトアビジン(streptavidin)であることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 8】

請求項 6 7 に記載のキットであって、前記ラベルは酵素であることを特徴とするキット。

## 【請求項 6 9】

請求項 6 8 に記載のキットであって、前記酵素は西洋からしペルオキシダーゼ(horse radish peroxidase)であることを特徴とするキット。

## 【請求項 7 0】

請求項 7 0 に記載のキットであって、前記ラベルは酵素であることを特徴とするキット。

10

20

30

40

50

請求項 69 に記載のキットであって、更に、3、3'、5、5' - テトラメチルベンジジンを含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 71】

請求項 44 に記載のキットであって、更に、対照例としての MMPFF ペプチドを含んで構成され、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 3 から 5 よりなる群から選ばれたひとつの配列の少なくとも 10 の連続する残基を含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 72】

請求項 71 に記載のキットであって、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 3 から 5 よりなる群から選ばれたひとつの配列の少なくとも 20 の連続する残基を含んで構成されていることを特徴とするキット。

10

【請求項 73】

請求項 71 に記載のキットであって、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 3 から 5 よりなる群から選ばれたひとつの配列の少なくとも 50 の連続する残基を含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 74】

請求項 71 に記載のキットであって、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 3 から 5 よりなる群から選ばれたひとつの配列の少なくとも 200 の連続する残基を含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 75】

請求項 71 に記載のキットであって、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 3 から 5 よりなる群から選ばれたひとつの配列を含んで構成されていることを特徴とするキット。

20

【請求項 76】

請求項 71 に記載のキットであって、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 4 の少なくとも 10 の連続する残基を含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 77】

請求項 71 に記載のキットであって、対照例ペプチドのアミノ酸配列は配列 ID 番号 5 の少なくとも 10 の連続する残基を含んで構成されていることを特徴とするキット。

【請求項 78】

請求項 44 に記載のキットであって、更に、少なくとも 20 の連続するアミノ酸残基の部分を含んで構成される対照例ペプチドを含み、その部分のアミノ酸配列は配列 ID 番号 3 から 5 よりなる群から選択された配列の 20 の連続する残基と少なくとも 90% 同一であることを特徴とするキット。

30

【請求項 79】

請求項 78 に記載のキットであって、前記対照例ペプチドは少なくとも 20 の連続するアミノ酸残基の部分を含んで構成され、その部分のアミノ酸配列は配列 ID 番号 4 と 5 よりなる群から選択された配列の 20 の連続する残基と少なくとも 90% 同一であることを特徴とするキット。

【請求項 80】

請求項 44 に記載のキットであって、更に、女性の尿中の第 2 卵巣癌マーカーの発生を査定する試薬を含んで構成されることを特徴とするキット。

40

【請求項 81】

請求項 80 に記載のキットであって、前記第 2 の卵巣癌マーカーは尿ゴナドトロピンペプチド (urinary gonadotropin peptide)、システインプロテイナーゼ (cysteine proteinase)、ネオプテリン (neopterin)、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor) よりなる群から選択されたものであることを特徴とするキット。

【請求項 82】

請求項 44 に記載のキットであって、更に、女性の血清中の第 2 卵巣癌マーカーの発生を査定する試薬を含んで構成されることを特徴とするキット。

50

## 【請求項 8 3】

請求項 8 2 に記載のキットであって、前記第 2 卵巣癌マーカーは C A 1 2 5、癌性胎児抗原 (carcinoembryonic antigen)、血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor)、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor)、C D 4 4 スプライス変形体 (splice variants)、抗マリグニン抗体 (anti-malignin antibody)、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase)、アルファ-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素 (alpha-hydroxybutyrate dehydrogenase)、C A 1 9 - 9、組織ポリペプチド抗原 (tissue polypeptide antigen)、及びシアリル T N よりなる群から選択されたものであることを特徴とするキット。

## 【請求項 8 4】

請求項 8 3 に記載のキットであって、前記第 2 の卵巣癌マーカーは C A 1 2 5 であることを特徴とするキット。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

卵巣癌査定のための尿のメソセリン / 巨核球可能化因子関連ペプチド (mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide) の検出。

## 【背景技術】

## 【0002】

本発明は、一般的に女性の卵巣癌の診断に関するものである。

## 【0003】

卵巣癌は米国における女性の癌死亡の主要な原因のひとつである。卵巣癌患者の間で死亡率が比較的高い理由のひとつは、この疾病が進行した状態になるまでしばしばそうと診断されないことにある。

## 【0004】

卵巣腫瘍は腫瘍が発生した細胞のタイプ、腫瘍細胞の形態学、および腫瘍の進行段階によって分類できる。

## 【0005】

卵巣腫瘍は次の 3 つの卵巣細胞のタイプのいずれからでも - 上皮細胞、生殖細胞、間質細胞のいずれからでも起こりうる。上皮卵巣腫瘍 (E O T s) は全卵巣腫瘍の 8 5 % 以上を占める卵巣腫瘍の最も一般的なタイプである。E O T s は卵巣の外側表面を覆う上皮細胞から発生する。ある種の E O T s は良性で医学的損傷は比較的に殆どない。併し悪性の E O T s は無制御に成長し近くの細胞を侵し又は離れた身体部分に転移する。生殖細胞卵巣腫瘍は卵子生産細胞から発生し、やはり良性のものと悪性のものとがある。間質卵巣腫瘍は卵巣結合組織細胞から発生するが比較的まれである。

## 【0006】

E O T s は上皮卵巣腫瘍を構成する細胞の種類によってさらに特徴づけられている。確認されている細胞の種類としては血清、粘液嚢胞、子宮内膜、および明細胞がある。ある種の E O T s はこれらの細胞種のなかで明確に区別できないものがあり、これらの区別できない E O T s が明確に区別できる E O T s の種類よりもより早く成長し蔓延する傾向がある。

## 【0007】

E O T s はまた等級と段階によっても分類される。腫瘍の等級はその肉眼で見える外観を著すものである。等級 1 腫瘍は、通常の卵巣組織に近似する傾向を有し、比較的良好な予後診断がなされる傾向を有している。等級 3 腫瘍は異常な外観を有する傾向があり、普通、悪い予後診断がなされる。等級 2 の腫瘍は等級 1 と等級 3 の中間である。腫瘍の段階とは腫瘍がその元の状態から広がった度合い又は範囲を示すものである。段階 1 の卵巣腫瘍は 1 つ又は両方の卵巣に限られる。段階 1 の中での等級づけとしては、1 つの卵巣内部に限られる腫瘍 (段階 1 A)、両卵巣内部にかぎられる腫瘍 (段階 1 B)、1 つ又は両卵巣の表面に現れ、破裂したカプセルを有する 1 つまたはそれ以上の卵巣の状態、或いは腹水

10

20

30

40

50

に存在する腫瘍細胞又は腹膜洗浄で検出された腫瘍細胞と関連する腫瘍（段階 1 C）であらわされる。段階 2 卵巣腫瘍は卵巣をこえて骨盤内に広がったものである。段階 2 内の等級づけとしては、子宮や卵管の 1 つ又は両方に広がった腫瘍を段階 2 A とあらし、他の骨盤臓器に広がるか、腹水に存在するか腹膜洗浄で検出された腫瘍細胞と関連した腫瘍を段階 2 B としあらし。段階 3 卵巣腫瘍は骨盤をこえてリンパ節にひろがるか骨盤、リンパ節両方にひろがったものである。段階 4 卵巣腫瘍は腹膜腔をこえた臓器に広がったものである。

#### 【 0 0 0 8 】

卵巣腫瘍の早期診断は腫瘍の効果的治療のためにも患者の生存を伸ばすためにも重要である。卵巣癌の早期診断はこの疾病が進んだ状況に進行するまで目に見える兆候が殆どないという事実から判りにくいものである。卵巣腫瘍のための現存する診断テストには、効果的治療を与えるのに十分なほど早期な段階の卵巣癌を検出するのにあまねく成功しているといえるものはない。現存するテストが十分早期の卵巣癌を検出しない理由は完全には判っていない。例えば、いくつかのテストは腫瘍細胞から放出されるマーカーに依存しているが、その放出レベルは腫瘍の大きさが比較的大きく成長するまでは検出したと信頼できるにはあまりにも低いレベルなのである。

#### 【 0 0 0 9 】

人々によって卵巣癌診断に用いられたマーカーには C A 1 2 5 (ハリラほか、1987、Br. J. キャンサー、56(2):153-156 (Halila et al., Br. J. Cancer 56(2):153-156) (非特許文献1))、癌性胎児抗原 (carcinoembryonic antigen) (C E A ; ジュエイほか、1997、ジネコルオンコル 67(3):259-271 (CEA; Juweid et al., 1997 Gynecol. Oncol 67(3):259-271) (非特許文献2))、血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor) (V E G F ; キャンディド ドス レイスほか、2002、ジネコル Obstet. Invest. 54(3):132-136 (VEGF; Candido Dos Reis et al., Gynecol. Obstet. Invest. 54(3):132-136) (非特許文献3))、尿ゴナドトロピンペプチド (urinary gonadotropin) (U G P ; シュッターほか、アンチキャンサー レス 19(6C):5551-5557 (UGP; Schutter et al., 1999, Anticancer Res. 19(6C):5551-5557) (非特許文献4))、ネオプテリン (neopterin), ザルカほか、1988、アクタチアヒュング 29(4):359-364 (Szarka et al., 1988, Acta Chir. Hung. 29(4):359-364) (非特許文献5))、C D 4 4 スプライスヴァリアント (splice variants) (ウールスタイドほか、1995、オンコロジー 52(5):400-406 (Uhl-Steidl et al., 1995, Oncology 52(5):400-406) (非特許文献6))、尿システインプロテナーゼ (urinary cysteine proteinase) (U C P ; ガオほか、1996、ヒュアキイケダクエケバオ 27(3):291-294 (UCP; Gao et al., 1996, Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao 27(3):291-294) (非特許文献7))、抗マリグニン抗体 (anti-malignin antibody) (ボゴッホほか 1991、ランセット 337:927) (Bogoch et al., Lancet 337:927) (非特許文献8))、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor) (T A T I ; メドルほか、1995、Br. J. キャンサー、71(5):1051-1054 (TATI; Medl et al., 1995, Br. J. Cancer 71(5):1051-1054) (非特許文献9)); ハリラほか、1988、Br. J. キャンサー、57(3):304-307 (Halia et al., 1988, Br. J. Cancer 57(3):304-307) (非特許文献10))、クドーほか (1999、ジネコル Obstet. Invest 47(1):52-57 (Kudoh et al., Gynecol. Obstet. Invest 47(1):52-57) (非特許文献11)) は、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase) (L D H)、アルファーヒドロキシ酪酸脱水素酵素 (alpha-hydroxy butyrate dehydrogenase) (a H B D H)、C A 1 9 - 9、組織ポリペプチド抗原 (tissue polypeptide antigen) (T P A)、シアリル T N (S T N) を含むいくつかの他の E O T s 用血清マーカーの有用性を比較した。この段落にあげられたマーカーはどれも卵巣癌患者それぞれに異常量で存在しているわけではない。

#### 【 0 0 1 0 】

メソセリンは少なくとも中皮細胞、中皮腫、いくつかの扁平上皮癌、及び卵巣癌の表面に

10

20

30

40

50

発現されたタンパク質である(チャングほか、1996、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 93:136-140(Chang et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:136-140)(非特許文献12))。メソセリンは文献に記載されている(例えば、米国特許第6,083,502号(特許文献1))。メソセリンと結合する抗体についても記載されている。例えば、K1と称される単クローン性の抗体が米国特許第5,320,956(特許文献2)に記載されており、受入番号HB10570としてアメリカ基準培養物収集展示場(American Type Culture Collection)(ATCC;10801大学通り;マナサス、バージニア20110-2209;USA)に他の人によって預託されたハイブリドーマによって分泌される。抗体K1は卵巣癌や他の細胞の表面に見出される約40キロダルトンのタンパク質と結合することが判明されている(チャングほか、1996、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 93:136-140(Chung et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(1):136-140)(非特許文献12))。メソセリンと呼ばれるそのタンパク質はより大きな(約69キロダルトン)前駆タンパク質から得られ、その配列は図1に示されている。ショラーら(1999、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 96(20):11531-11536(Scholler et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536)(非特許文献13))は、メソセリン(methothelin)や巨核球可能化因子(megakaryocyte potentiating factor)(MPF)のアミノ末端配列に高度に類似するアミノ酸配列を有する抗原が卵巣癌にかかった多くの患者の血清中に発生することを確認した。ショラーは、この抗原が卵巣癌の診断のための有用な血清マーカーたりうると提案している。

10

20

30

40

50

#### 【0011】

有用な診断テストというものは患者のなかの卵巣癌の存在を検出できることだけであってはならず、それがまた安価、非侵襲性で使いやすいものであることが望ましい。テスト用基質として血液や血清を用いる診断テストは審査される患者から血液を抜き取らねばならず、時として抜き取った血液サンプルは更に分離、精製、または他の処理を必要とする。血液の抜き取りは訓練されたヘルスケア従事者によってなされねばならず、患者にとっては苦痛の多い侵襲的なもので、血液サンプルの貯蔵と輸送のための専門設備と試薬が必要で血液からの病原体の伝染の危険を有している。それに比べ、尿サンプルは殆ど又は全く専門的な設備を要せずに収集でき、ヘルスケア従事者によるしっかりした監視を必要とせず、患者の通常の生理上のプロセスの一部としてつくることができ、一般に伝染病の重要な原因とはならない。これらの理由から、テスト用基質として尿サンプルを用いた診断テストは血液サンプルで行われる同等のテストより好ましい。

#### 【0012】

本発明は、尿サンプルを使って実行でき、疾病進行の早期段階での卵巣癌検出に用い得る卵巣癌診断テストを提供する。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0013】

【特許文献1】米国特許第6,083,502号

【特許文献2】米国特許第5,320,956

#### 【非特許文献】

#### 【0014】

【非特許文献1】Halila et al., Br. J. Cancer 56(2):153-156)

【非特許文献2】Juweid et al., 1997 Gynecol. Oncol 67(3):259-271)

【非特許文献3】Candido Dos Reis et al., Gynecol. Obstet. Invest. 54(3)132-136)

【非特許文献4】Schutter et al., 1999, Anticancer Res. 19(6C):5551-5557)

【非特許文献5】Szarka et al., 1988, Acta Chir. Hung. 29(4):359-364)

【非特許文献6】Uhl-Steidl et al., 1995, Oncology 52(5):400-406)

【非特許文献7】Gao et al., 1996, Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao 27(3):291-294)

【非特許文献8】Bogoch et al., Lancet 337:927)

【非特許文献 9】Medl et al., 1995, Br. J. Cancer 71(5):1051-1054)

【非特許文献 10】Halia et al., 1988, Br. J. Cancer 57(3)304-307)

【非特許文献 11】Kudoh et al., Gynecol. Obstet. Invest 47(1);52-57)

【非特許文献 12】Chang et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci USA 93:136-140)

【非特許文献 13】Scholler et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536)

【発明の概要】

【0015】

本発明は女性における卵巣癌（即ち、上皮、間質、生殖細胞卵巣癌の1つ又はそれ以上）の診断方法に関する。その方法は女性から採取した尿素中のメソセリン及び/又は巨核球可能化因子族（MMPFF）ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide)の発生を査定することを含んで構成されていることを特徴とする。尿中のMMPFFペプチドの発生はその女性が卵巣癌にかかっていることを示している。

10

【0016】

1つの実施形態においては特異的にMMPFFペプチドと結合する第1抗体と尿（又は遠心分離した尿）を接触させることによって女性の尿のなかのMMPFFペプチドを査定する。MMPFFペプチドがこの第1抗体と結合したかを査定することによって女性の尿のなかのMMPFFペプチドの存在を査定することが出来る。例えば、ロボット装置で自動分析するのに適合した型のプラスチックのマルチウエルプレートのような基板に第1抗体を結合させることが出来る。MMPFFペプチドと第1抗体の結合は、例えば第1抗体と、特異的にMMPFFペプチドと結合する第2抗体を接触させ、第1と第2の抗体が共存しているかを査定することによって評価できる。第2抗体は酵素、放射性核種、発蛍光団、及び発色団からなる群から選定された化合物などで検出可能に標識することが出来る。

20

【0017】

例として、この方法は結合している抗MMPFFペプチド捕獲抗体を有するプレートと女性から採取した尿とを接触させることを含む。尿は10分又は1時間などの時間プレートで任意でインキュベートすることが出来る。そのプレートは次いで、捕獲抗体が結合するよりも強くMMPFFペプチドのエピトープと結合するビオチン化した第2抗体と接触することができる。ストレプトアビジン(streptavidin)結合酵素はビオチン化した抗体と結合して発色性基質（例えば西洋わさびペルオキシダーゼ(horseradish peroxidase)の発色性基質である3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン）の存在のもとに該抗体の検出を可能にする。勿論、第2抗体はそれに代えて蛍光標識、放射標識、または他の方法で検出できるように標識することが出来る。

30

【0018】

卵巣癌を診断するための方法についての他の実施形態において、第1の抗体と尿を接触させた後に、第1の抗体とその標識リガンドとを接触させる。尿と接触した第1抗体と結合する標識リガンドの量と、尿と接触しなかった第1抗体の相当量と結合する標識リガンドの量を比較することによって尿からどのくらいの量のMMPFFが第1抗体と結合したかを査定することができる。

40

【0019】

ここに記載されるキットと方法が自然に発生するMMPFFペプチド（即ちメソセリンと卵巣癌患者の体から自然に造りだされるようなタンパク質の部分のような両全長タンパク質）と合成的に造られたMMPFFペプチドを含む種々のMMPFFペプチドを検出するのに用いることができる。MMPFFペプチドのアミノ酸配列は、配列ID番号1から5よりなる群から選択された1つの配列の少なくとも10(20、50、又は200)の連続する残基から構成されていることを特徴としている。その代わりに、MMPFFペプチドは少なくとも20の連続アミノ酸残基の部分から構成され、その部分のアミノ酸配列は、配列ID番号1から5よりなる群から選択された1つの配列の20の連続する残基と少なくとも90%（又は95%）同じであることを特徴としている。

50

## 【 0 0 2 0 】

ここに開示されたキットと方法は、他の卵巣癌マーカーの発生（尿または血清中での）の査定のための既知またはこれから開発されるキットや方法とともに用いることが出来る。例をあげれば、尿に発生することが知られている卵巣癌のマーカーは尿ゴナドトロピンペプチド (urinary gonadotropin peptide)、システインプロテイナーゼ (cysteine proteinase)、ネオプテリン (neopterin)、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor) である。既知の血清卵巣癌マーカーには C A 1 2 5、癌性胎児抗原、血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor)、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor)、C D 4 4 スプライス変形体 (splice variants)、抗マリグニン抗体 (anti-malignin antibody)、乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase)、アルファーヒドロキシ酪酸脱水素酵素 (alpha-hydroxybutyrate dehydrogenase)、C A 1 9 - 9、組織ポリペプチド抗原 (tissue polypeptide antigen)、及びシアリル T N があげられる。C A 1 2 5 は卵巣癌の発生、進行のための代理マーカーとして知られている。女性の尿中の M M P F F ペプチドの発生の査定は女性の血清中の M M P F F ペプチドの査定と関連して同様に行うことが出来る。

10

## 【 0 0 2 1 】

殆ど同じキットと方法が女性の卵巣癌にかかっている可能性を査定するのに用いられる。即ち、採取された尿の中に M M P F F ペプチドが発生している女性は、他の点では同じで且つ尿の中に M M P F F が無い女性よりも卵巣癌にかかっている可能性が高いということを示すものである。

20

## 【 0 0 2 2 】

殆ど同じキットや方法が女性の卵巣癌の治療の効能を査定するのに用いられる。治療後の女性から採取した尿中の M M P F F ペプチドの量は治療前のその女性の M M P F F の量と比較される。治療後の尿中の M M P F F ペプチドの量が少ないことはその治療の効果があったことを示している。同様に、治療後の尿中の M M P F F ペプチドの量が多いことはその治療の効き目がなかったことを示している。そのようなキットや方法は種々の治療薬や養生法の効能の比較に用いることが出来る。

## 【 0 0 2 3 】

別の観点において、本発明は女性から採取した尿中の M M P F F ペプチドの発生を査定するキットに関するものである。そのキットは M M P F F ペプチドと結合するための第 1 薬剤（例えば抗体）と、尿と第 1 薬剤との接触を記述する使用説明書とから構成されている。キットの構成は決定的なものではなく E L I S A、ラテックスビーズ凝集体、表面プラズモン共鳴形式のような多くの標準形式を使うことが出来る。そのキットには積極的なコントロールとして用いるための M M P F F ペプチドを含めることが出来る。勿論、そのキットに卵巣癌の他の既知のマーカーを評価するための試薬を含めることが出来る。

30

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 4 】

アミノ酸配列を含んでいるすべての図において、標準単一文字アミノ酸コードはアミノ酸残基を代表するのに用いられる。

## 【 0 0 2 5 】

【 図 1 】 図 1 はメソセリン前駆タンパク質のアミノ酸配列（配列 I D 番号： 1 ）である。この配列はゲンバンク（登録商標）（GENBANK（登録商標））受入番号 2 2 0 7 3 8 6 A にリストされているものと同じで、チャングほか、1 9 9 6、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・U S A 9 3（ 1 ）： 1 3 6 - 1 4 0（ Chung et al., Proc. Natl. Ac ad. Sci. USA 93(1):136-140 ）に報告されている。

40

## 【 0 0 2 6 】

【 図 2 】 図 2 は巨核球可能化因子 (megakaryocyte potentiating factor) ( M P F ) 前駆タンパク質のアミノ酸配列（配列 I D 番号： 2 ）である。この配列はゲンバンク（登録商標）（GENBANK（登録商標））受入番号 N P 0 0 5 8 1 4 と同じで、ヤマグチほか、1 9 9 4、J . ビオール . ケミ . 2 6 9（ 2 ）： 8 0 5 - 8 0 8（ Yamaguchi et al, 1994, J.

50

Biol. Chem.269(2):805-808) に報告されている。

【0027】

【図3】図3はMPF前駆タンパク質の可溶性変形型で部分アミノ酸配列(配列ID番号:3)でゲンバンク(登録商標)(GENBANK(登録商標))受入番号AF180951にリストされショラーら1999、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA96(20):11531-11536(Scholler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536)に報告されている。

【0028】

【図4A】図4は配列ID番号1の残基294-628と配列ID番号2のほぼ同じ部分との比較である。残基の数が右の余白に表記されている。「MST」はメソセリンを意味する。「MPF」は巨核球可能化因子(megakaryocyte potentiating factor)を意味する。この配列において、同じアミノ酸残基は垂直線で示され、同類アミノ酸置換はクロス(+)で示され、ダッシュ(-)は配列を合わせるために配列ID番号2に挿入した隙間を意味している。

10

【図4B】図4Bは図4Aの続きを示す図である。

【0029】

【図5A】図5Aおよび5Bからなる図5は配列ID番号1から3の同じ部分の比較である。残基の数は右の余白にあげられている。「MST」はメソセリンを意味する。「MPF」は巨核球可能化因子(megakaryocyte potentiating factor)を意味する。「SMR」はMPFの可溶性変形型でその配列は図3にあげられている。この配列で、3つの配列で同じになっている残基は大文字の単一文字コードによって示され、3つの配列すべてにおいて同一でない残基は小文字の単一文字コードによって示され、配列を合わせるために挿入した隙間はダッシュ(-)で表されている。

20

【図5B】図5Bは図5Aの続きを示す図である。

【0030】

【図6】図6は、図6Aおよび6Bからなる。図6Aは、アミノ酸配列(配列ID番号4)でここに記載される抗体の発生に好ましいエピトープを含んでいる。図6Bは、アミノ酸配列(配列ID番号5)でここに記載される抗体の発生に好ましいエピトープを含んでいる。配列ID番号4及び5のそれぞれにおいて、下線を引いた太字のXは何らかのアミノ酸残基を示し、アスパラギン酸塩またはアスパラギンのいずれかであることが好ましい。図6Aにおいてその他の下線を引いた太字の残基は図6Bに示される配列には存在しない残基を示している。

30

【0031】

【図7】図7は、CA125II抗体の血清レベル(左から右に斜め下に伸びる線条のある棒)とMMPFペプチドの尿レベル(左から右に斜め上に伸びる線条のある棒)を示す棒グラフで、ここに開示されたように査定されたものである。査定は1から4として示されている4人の患者について卵巣癌診断時(a)と手術着手から約1ヵ月後(b)の両方で行われた。

【発明を実施するための形態】

【0032】

40

本発明はメソセリン(mesothelin)、巨核球可能化因子(megakaryocyte potentiating factor)(MPF)、及びMPFの可溶性変形物を含むタンパク質族と類似な重要なアミノ酸配列を有する1つ又はそれ以上のポリペプチドが卵巣癌にかかっている女性の尿の中に存在しているという発見に関係している。これらの尿ポリペプチドはその族のタンパク質に対して産生される抗体と特異的に結合する。患者の尿中にこれらのポリペプチドが存在しているということはその患者が卵巣癌にかかっているという診断である。ポリペプチドの量は卵巣癌の効果的な治療によって減少する。このように、尿ポリペプチドは抗卵巣癌治療の効果を査定するのにも用いられる。

【0033】

定義

50

## 【0034】

ここに用いられるように、次の用語の各々はこの章内でそれと関連する意味を有している。

## 【0035】

メソセリン/巨核球可能化因子族ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide) (MMPFFペプチド)は(i)配列ID番号1から5よりなる群から選択された1つの配列の少なくとも10の連続的な残基からなるか、(ii)少なくとも20の連続アミノ酸残基の一部からなり、その部分のアミノ酸配列は配列ID番号1から5よりなる群から選択された1つの配列の20の連続残基と少なくとも90%(好ましくは少なくとも95%又は100%)同一であるかのいずれかのアミノ酸配列を有するポリペプチドである。

10

## 【0036】

「抗体」というのは集合的にまた個別に免疫性グロブリン分子、免疫性グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、即ち特異的にMMPFFペプチドと結合する抗原結合部位を含む分子に対して集合的及び個別に当てはまるものである。特異的にMMPFFペプチドと結合する分子はそのペプチドと結合するが、そのポリペプチドを天然に含んでいる試料(例えば尿サンプル)のなかの他の分子とは殆ど結合しない分子である。免疫性グロブリン分子の免疫学的活性部分の例には、抗体がそれぞれパイン又はペプシンのような酵素で処理されることによって発生できるF(ab)とF(ab')2フラグメントが含まれている。ポリクローナルおよびモノクローナルの一方又は両方の抗体がここに記載される方法とキット

20

## 【0037】

「モノクローナル抗体」という語は特定のエピトープと免疫学的に反応することのできる抗原結合部位の一種のみを含む抗体分子の集団をいう。

## 【0038】

「標識した」という語は抗体またはペプチドに関するもので、検出可能物質をペプチド又は抗体にカップリング(即ち物理的に結合する)することによって直接ペプチド又は抗体を標識することと、ペプチド又は抗体を直接標識されている他の試薬とカップリングすることによってペプチド又は抗体を間接的に標識することを含んでいる。間接標識の例には蛍光標識した二次抗体を用いて、および蛍光標識したストレプトアビジン(streptavidin)で検出できるようペプチドをビオチンで末端標識して、一次抗体を検出することを含んでいる。

30

## 【0039】

「使用説明書」というのは刊行物、記録、図表、又はここに記載されているキットをどのように使うかを伝達するのに用いることが出来るその他の表現媒体と、卵巣癌に関するものとして尿中のMMPFFの発生を解釈するための情報、またはその両者である。本発明のキットについての使用説明書は例えば本発明のキットを含む容器に添付されるか、キットをいれた容器と一緒に出荷することができる。代わりに、使用説明書は容器と別に出荷することができるが意図としては使用説明書とキットを受取人が一緒に使うようにということである。

40

## 【0040】

詳細な記載

## 【0041】

タンパク質族とかなりのアミノ酸配列類似性を有する1つまたはそれ以上のポリペプチド(メソセリン/巨核球可能化因子族(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide); MMPFF)が卵巣癌にかかった女性の尿に発生する。これらの尿ペプチドは、例えばMMPFFのタンパク質に対抗する抗体で検出される。患者の尿にこのようなペプチドが発生することは、患者が卵巣癌にかかっていることを示すものである。卵巣癌の多様性、個々のなかでの遺伝子的多様性や他の要因により、MMPFFペプチドは卵巣癌にかかった全患者の尿中には現れにくく、殆ど同じ型の卵巣癌にかかった個々に対

50

して異なった量で現れやすいのである。これらの変化を考慮にいれても、女性の尿中の MMPFF ペプチドの1つ又はそれ以上の発生があれば、その女性は卵巣癌にかかっていることを示している。

【0042】

都合のよいことには、卵巣癌にかかった女性の尿に MMPFF ペプチドが発生することは卵巣癌だと判る段階に依存しないようである。そのため、MMPFF ペプチドの尿での発生は早期段階での卵巣癌の診断に用いることが出来て、治療が無駄となるか、無駄に近い病状段階に達する前に癌の効果的な治療が可能となるのである。

【0043】

ここに開示されたキットと方法の他の利点は卵巣癌患者の尿中の MMPFF ペプチドの量と濃度が腫瘍の状態を示すものであることである。そのため、尿 MMPFF ペプチド発生の査定は卵巣癌の治療のための養生法の効果を査定するのに用いることが出来る。養生で腫瘍の収縮、後退がおこる分だけ MMPFF ペプチドの尿中濃度が減少することが期待される。同様に、卵巣癌治療の間に尿中の MMPFF ペプチドが徐々にスムーズに増加していることは、治療のための養生が腫瘍の成長を抑制していないことを示している。

10

【0044】

ここに記載されているキットや方法は種々の卵巣癌型の発生、進行を査定するのに用いることが出来る。ひとつの重要な実施形態では、キットと方法が最も普通の卵巣癌のなかの上皮卵巣癌の発生または進行を査定するのに用いられる。その他の実施形態では、このキットや方法は間質卵巣腫瘍や生殖細胞卵巣腫瘍の発生や進行を査定するのに用いられる。

20

【0045】

診断方法

【0046】

本発明は女性の卵巣癌の診断方法を含むものである。その方法は女性から採取した尿のなかのメソセリン/巨核球可能化因子族(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide) (MMPFF) ペプチドの発生を査定することを含んで構成されることを特徴としている。尿中の MMPFF ペプチドの発生は女性が卵巣癌にかかったことを示唆するものである。種々の型の卵巣癌(例えば上皮卵巣癌)、程度、段階がこの方法を用いて診断される。この方法はまた種々の細胞の型(例えば血清細胞、粘液細胞、子宮細胞、明細胞、及び区別できない卵巣腫瘍)によって特徴づけられる卵巣癌の診断に用いることが出来る。

30

【0047】

女性の尿中の MMPFF ペプチドの発生を査定するのに用いられるこの方法は決定的なものではない。どんな方法でもペプチドの有無を査定するのに用いられればその方法でよいのである。尿中の MMPFF ペプチドの量(例えば濃度)を査定できる方法がいくつかの実施形態では好ましく、特に、比較のために時間の経過とともになされる査定の場合に好ましい(例えば、抗癌治療の養生効果の査定の場合)。

【0048】

ひとつの実施形態において、患者の尿中での MMPFF ペプチドの存在が、特異的に MMPFF ペプチドと結合する抗体と尿の接触により、そして MMPFF ペプチドが第1抗体と結合したかを査定することによって査定される。

40

【0049】

この分野では多くの MMPFF 結合抗体が知られている。例えば米国特許第 5,320,956 に記載され、受入番号 HB 10570 として ATCC に預託されたハイブリドーマによって分泌される抗体を使うことが出来る。その抗体はチャングほか(1996、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 93:136-140 (Chung et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(1):136-140)に記載のように、特異的にメソセリンタンパク質の約 40 キロダルトン部と結合する。他の好適な抗体についてはショラーほか(1999、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 96(20):11531-11536 (Scholler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536

50

)及びPCT公報W000/50900に記載され、そのような抗体はOV569, 4H3, 3G3, 及び1A6と呼ばれている。

#### 【0050】

2つの抗MMPFFペプチド抗体を用いる診断用キットと方法において、2つの抗体は同じエピトープとの結合を競合しないことが好ましい。例を挙げれば、ショラーほかによってOV569と呼ばれる抗体は4H3, 3G3, 及び1A6と呼ばれる抗体に結合されたエピトープと異なるエピトープの所で結合する。このように、例えばOV569を基質と結合させて患者の尿中に存在するMMPFFペプチドと適当な抗体結合条件のもとで結合する捕獲抗体として用いることが出来、抗体4H3, 3G3, 及び1A6のひとつを検出可能に標識して、捕獲抗体と患者の尿の接触後、捕獲抗体と接触させることができる。検出可能に標識された抗体と捕獲抗体との結合はMMPFFペプチドが患者の尿に存在していたことを示している。捕獲抗体と共同在している検出可能な標識の量の分析から存在していたペプチドの量を示すことが出来る。

10

#### 【0051】

ここに記載されているように、MMPFFペプチドの幾つかの部分は重要なアミノ酸配列相同を共有している。図1から3は少なくとも3つのMMPFFタンパク質のアミノ酸配列の少なくともある部分を示している。図4と5はこれらの配列の直線性を示し、これらのタンパク質のなかの最大配列相同の領域を示している。これらの図から、図6Aおよび6B(それぞれ配列ID番号4と5)に示される配列がMMPFFペプチドの有用な部分をあらわしている。これらの配列のいずれかの全部分又は一部分(例えば、10、20、50、又は200の連続残基)に対抗する抗体は特に卵巣癌患者の尿中に発生するものを含むMMPFFペプチドの広い範囲と結合することが期待される。

20

#### 【0052】

MMPFF(例えばここに記載されたもの又は従来技術の中に記載されているもの)又はその一部が多クローン及び単クローン抗体作製のための標準技術を用いて抗体を発生させるための免疫抗原として用いることが出来る。全長MMPFFの断片は免疫抗原として用いられる場合には配列ID番号1から5までのいずれかのアミノ酸配列か他のMMPFFメンバーのアミノ酸配列の少なくとも10のアミノ酸残基(好ましくは12、15、20、50、100か200またはそれ以上)からなることが望ましい。

30

#### 【0053】

ここに記載されたキットと方法に有用な抗体の発生に適切なMMPFFペプチドは、配列ID番号1から5よりなる群から選択された1つの配列の20の連続する残基と少なくとも90%(好ましくは少なくとも95%或いは100%)は同一である少なくとも20の連続したアミノ酸残基の部分から構成されているものである。

#### 【0054】

抗体発生方法は既知でありここに簡単に要約のみを記載する。一般に免疫抗原はウサギ、ヤギ、ねずみ、その他の哺乳動物又は脊椎動物のような適当な対象(即ち免疫担当)を免疫化することによって抗体を作製するのに用いられる。好適な免疫抗原作製には例えば遺伝子組み換えと表現された、又は化学的に合成されたポリペプチドを含めることが出来る。その作製は更にフロイドの完全又は不完全補助薬又は同じ免疫活性化試薬のような補助薬を含めることが出来る。

40

#### 【0055】

多クローン抗体は免疫抗原として本発明のポリペプチドを用いて適当な対象を免疫化することによって上述のように作製することが出来る。免疫化した対象中の抗体タイターは固定したポリペプチドを用いた酵素結合免疫吸着剤査定法(ELISA)のような標準技法によって時間の経過とともに監視することが出来る。望むなら、抗体分子はその対象から収穫され又は分離され(例えば、対象の血液、血清から)、タンパク質Aクロマトグラフィーのような既知の技法によって精製されIgG留分を得ることが出来る。

#### 【0056】

免疫化後適切なときに、例えば、特定の抗体タイターが最高のとき、抗体生産細胞を対象

50

から収穫し、元来はコーラーとミルスタイン(1975)ネイチャー256:495-497 (Kohler and Milstein (1975) Nature 256:495-497)に記載されたハイブリドーマ技法、人のB細胞ハイブリドーマ技法(コツボ-ほか(1983)イムノル.トゥデイ4:72 (Kozbor et al., (1983) Immunol. Today 4:72)、EBVハイブリドーマ技法(コールほか(1985)モノクロナル アンチボディ アンド キャンサーセラピー、アランR.リス,インクpp77-96 (Cole et al., 81985) Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp.77-96)又はトリオーマ技法のような標準技法によって単クローン抗体を作製するのに用いることが出来る。ハイブリドーマを生産する技術はよく知られている(カレント プロトコル イン イムノロジー(1994)コリガンほか(Eds.)ジョン ウイリー&サン、インク.、ニューヨーク、NY(Current Protocols in Immunology (1994) Coligan et al., (Eds.) John Wiley & Sons, Inc., New York, NY). 本発明の単クローン抗体を生産するハイブリドーマ細胞は、問題のポリペプチドと結合する抗体用ハイブリドーマ培養菌の上澄みを、例えば標準ELISA査定を用いて、スクリーニングすることによって検出される。

10

## 【0057】

単クローン抗体分泌ハイブリドーマの作製の代わりに、本発明のポリペプチドに対抗する単クローン抗体は組み換え組み合わせ免疫性グロブリンライブラリー(例えば抗体ファージ展示ライブラリ)を問題のポリペプチドでスクリーニングすることで同定され分離される。ファージ展示ライブラリを発生させスクリーニングするためのキットは市販で入手可能である。(例えば、ファーマシア リコンビナント ファージ アンチボディ システムのカタログ番号27-9400-01 (Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, Catalog No. 27-9400-01);とストラタジーンSURFZAP<sup>TM</sup>ファージディスプレイキット カタログ番号240612 (Stratagene SURFZAP<sup>TM</sup> Phage Display Kit, Catalog No. 240612)。また、特に、抗体展示ライブラリを発生、スクリーニングする用途に適用できる方法や試薬の例は、例えば、米国特許番号5,223,409、PCT公報番号WO92/18619, PCT公報番号WO91/17271, PCT公報番号WO92/20791, PCT公報番号WO92/15679, PCT公報番号WO93/01288, PCT公報番号WO92/01047, PCT公報番号WO92/09690, PCT公報番号WO90/02809, フックスほか、(1991)バイオ/テクノロジー9:1370-1372 (Fucks et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372;ヘイほかフム.アンチボド.ハイブリドマス3:81-85 (Hay et al. (1992) Hum. Antibody Hybridomas 3:81-85);フュースほか(1989)サイエンス246:1275-1281 (Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281);グリフィスほか(1993)EMBO J. 12:725-734 (Griffiths et al. (1993) EMBO J. 12:725-734).

20

30

## 【0058】

人間的な部分と非人間的な部分の両方からなる標準的な組み換えDNA技法を用いた空想的且つ人間的単クローン抗体組み換え抗体は本発明の範囲内にあるものである。そのような空想的且つ人間的単クローン抗体はこの分野で既知の組み換えDNA技法によって造られるが、PCT公報番号WO87/02671;ヨーロッパ特許番号184,187;ヨーロッパ特許番号171,496;ヨーロッパ特許番号173,494;PCT公報番号WO86/01533;米国特許番号4,816,567;ヨーロッパ特許番号125,023;ベターほか。(1988)サイエンス240:1041-1043 (Better et al. (1988) Science 240:1041-1043);リュ-ほか。(1987)ブロック.ナット.アカド.サイエンス.USA84:3439-3443 (Liu et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:3439-3443);リュ-ほか。(1987)J.イムノル.39:3521-3526 (Liu et al. (1987) J. Immunol. 139:3521-3526);サンほか。(1987)ブロック.ナット.アカド.サイエンス.USA84:214-218 (Sun et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218);ニシムラほか。(1987)キャンサーレス.47:999-1005 (Nishimura et al. (1987) Cancer Res. 47:999-1005);ウッドほか。(1985)ネイチャー314:446-449 (Wood et al. (1985) Nature 314

40

50

:446-449); ショウほか . ( 1 9 8 8 ) J. ナット . キャンサーインスト . 8 0 : 1 5 5 3 - 1 5 5 9 (Shaw et al. (1988) J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559); モリソン ( 1 9 8 5 ) サイエンス 2 2 9 : 1 2 0 2 - 1 2 0 7 (Morrison (1985) Science 229:1202-1207); オーイほか . ( 1 9 8 6 ) バイオ/テクニーク 4 : 2 1 4 (Oi et al. (1986) Bio/Techniques 4:214); 米国特許番号 5 , 2 2 5 , 5 3 9 ; ジョンほか . ( 1 9 8 6 ) ネイチャー 3 2 1 : 5 5 2 - 5 2 5 (Jones et al. (1986) Nature 321: 552-525); バーホーヤン ( 1 9 8 8 ) サイエンス 2 3 9 : 1 5 3 4 (Verhoeyan et al. (1988) Science 239:1534); バイドラほか . ( 1 9 8 8 ) J . イムノル . 1 4 1 : 4 0 5 3 - 4 0 6 0 (Beidler et al. (1988) J. Immunol. 141:4053-4060)。

#### 【 0 0 5 9 】

抗 MMPFF ペプチド抗体を患者から採取した尿と接触させる実施形態において、尿はその自然に分泌された状態で用いられるか使用前に部分的に精製するか浄化することが出来る。例えば、尿は標準の方法を用いて遠心分離され、その尿を抗体と接触させる前に沈殿物を実質上除いてもよい。代わりに、尿はその量を減らすか大きな不純物を除くために濾過または限外濾過してもよい。尿中に存在する MMPFF ペプチドは 1 0 , 0 0 0 から 1 0 0 , 0 0 0 ダルトンの範囲の分子量をもつポリペプチドであると思われるので、MMPFF ペプチドが検出前に除かれてしまうのを防ぐために適切な濾過又は限外濾過の選定が必要である。例をあげれば、比較的大きな孔のフィルター（例えば、250,000 から百万ダルトンの分子量を有する球状粒子の通過を許す様なもの）が尿から粒状物質を除くに用いることが出来て、約 5 0 0 0 ダルトンよりも大きな分子量をもつタンパク質の通過を除外するような膜を装備した限外濾過装置が濾液を濃縮するのに用いることが出来る。この実施例では、限外濾過装置のなかの残留物のなかの MMPFF の存在を査定できる。

#### 【 0 0 6 0 】

MMPFF ペプチドは卵巣癌患者の尿中に比較的多量に存在することが多く、ここに記載された多くの方法（例えば免疫学的方法）は比較的感受性がよいので、通常卵巣癌患者の尿中の MMPFF ペプチドの発生を検出するのに尿の濃縮は必要としない。尿の浄化が必要とされる場合、遠心分離が好ましい。何故なら、限外濾過を使えば尿中に存在する MMPFF ペプチドが濾過媒体と結合したり絡まったりする可能性がないからである。

#### 【 0 0 6 1 】

女性の尿中の MMPFF ペプチドの存在を査定する1つの好ましい方法は通常 [ サンドイッチ ELISA ] アッセイとして知られる処理法である（ELISA は酵素免疫測定法の略称である）。この方法では、抗体はガラスビーズやプラスチックのマルチウエルアッセイプレートの底面のような基質に結合される。この抗体は「捕獲」抗体と呼ばれる。尿中に存在するいかなる MMPFF ペプチドも特異的に捕獲抗体と結合するように、女性からの未処理の、或いは浄化したり精製した尿を、種々の条件のもと（例えば、塩および洗浄剤の濃度が低くタンパク質変性でない条件）で基質と接触させる。基質は任意には MMPFF ペプチドを含まない液体で洗浄して残りの尿及び結合していない MMPFF を除く。次いで基質は捕獲抗体が結合しているエピトープの所と異なるエピトープの所で MMPFF ペプチドと特異的に結合する第2抗体と接触させる。第2抗体はリガンド又はリガンドの受容体のいずれかと検出可能に標識されるか結合する。どちらにせよ、基質を第2抗体を含まない液体で洗浄した後に第2抗体の結合が検出され（かつ任意で定量される）。第2抗体の検出は MMPFF ペプチドの尿中での存在を示している。第2抗体の量が定量されれば、次いで尿中の MMPFF ペプチドの量が定量できる。例えば、既知量の MMPFF を含む対照試料を用いて行った測定で検出した第2抗体の量を比較することによって定量できる。

#### 【 0 0 6 2 】

抗体検出は抗体を検出可能物質とカップリングすることによって容易にすることができる。検出可能な物質の例には種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質、及び放射性物質がある。好適な酵素の例には西洋わさびペルオキシダーゼ（horseradish

10

20

30

40

50

h peroxidase)、アルカリホスファターゼ(alkaline phosphatase)、ベータガラクトシダーゼ(beta-galactosidase)、又はアセチルコリンエステラーゼ(acetylcholinesterase)を含み、好適な補欠分子族複合体の例はストレプトアビジン/ビオチン(streptavidin/biotin)とアビジン/ビオチン(avidin/biotin)を含み、好適な蛍光物質の例はウンベリフェロン(umbelliferone)、フルオレセイン(fluorescein)、フルオレセインイソチオシアネート(fluorescein isothiocyanate)、ローダミン(rhodamine)、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセン(dichlorotriazinylamine fluorescein)、塩化ダンシル(dansyl chloride)又はフィコエリトリン(phycoerythrin)を含み、発光物質の例はルミノール(luminol)を含み、生体発光性物質の例はルシフェラーゼ(luciferase)、ルシフェリン(luciferin)、及びエクオリン(aequorin)で、好適な放射性物質の例は<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>35</sup>S、又は<sup>3</sup>Hを含む。

10

#### 【0063】

標準化したアッセイ装置を使用することでここに記載された方法の自動化ができるようになる。例えば、24、48、96、384のウェルのあるプラスチックプレートのような多くの異なる標準化したアッセイ用容器が知られている。これらの容器をロボット装置に収容されるように適合させた場合、試料の自動分析が達成でき、比較的短い時間で多くの試料を高処理量でスクリーニングできる。コンピュータ制御アッセイに使用するように適合した自動アッセイ装置と容器はこの分野で既知でありここに記載されたキットや方法に容易に適合されている。

20

#### 【0064】

女性から採取された尿中のMMPFFペプチドの存在を査定するのに用いることの出来る免疫学的アッセイについての他のタイプは普通「競合」アッセイと呼ばれる。このアッセイでは、特異的にMMPFFペプチドと結合する抗体が基質に固定される。尿中に存在するいかなるMMPFFペプチドも抗体と結合するように、未処理の尿、浄化又は精製された尿を(好ましくは数分又は数時間の間)基質に接触させる。特異的に抗体と結合する標識リガンド(例えば、同じMMPFFペプチド又は別のMMPFFペプチドの標識されたもの)が次いで基質と接触される(好ましくは数分又は数時間の間)。標識または標識リガンドを含まない液体で基質を洗浄した後、基質と結合した標識リガンドの量が査定される。基質と結合した標識の量が、患者の尿とは接触していないが他の点では同様に処理された基質に結合した標識の量と比較される。結合した標識のこの2つの量の差が基質に結合したMMPFFペプチドの量を示すものであり、基質に適用された尿サンプル中に存在したMMPFFペプチドの量を示唆するものである。

30

#### 【0065】

免疫学的競合アッセイが用いられると、基質と結合した抗体の標識リガンドは患者の尿中に存在していると判っているか又は存在していると思われるMMPFFペプチドと出来るだけ同じでなければならない。例えば、そのリガンドとそのMMPFFペプチドは同じアミノ酸配列を有するか含んでいなければならない。同様に患者の尿中に存在するMMPFFペプチドがグリコシル化されたものと思われる場合、リガンドも同様に同じ位置で同じ程度にグリコシル化されていなければならない。このように、リガンドに対する抗体とMMPFFペプチドに対する抗体の親和性の差は最小にする事が出来て競合アッセイの精度を改善することが出来る。

40

#### 【0066】

ここに記載されるキットや方法は人間の患者の尿のなかにあるMMPFFペプチドの発生の査定のみ用いることが出来るもので、そのような発生が女性が卵巣癌にかかっていることを示すものである。併し、もし卵巣癌の1つ以上のマーカーの発生が女性のなかで査定されれば、多くの卵巣癌が検出できて卵巣癌の診断における大きな確信が得られるのである。その他の卵巣癌マーカーも普通尿のなかで発見されるマーカーでありうるし、通常血液のなかで発見されるマーカーでありうるし、又は尿及び血液の両方で発見されるマーカーでありうる。例をあげれば、MMPFFペプチドは卵巣癌にかかった患者の血清のなかで見つかる(ショラーほか、1999、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス

50

. USA 96 (20) : 11531 - 11536 (Scholler et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536)). このように、尿中の MMPFF ペプチドの発生の査定用にここに記載されたキットや方法は、血清中の同じ又は別の MMPFF ペプチドの検出のためのキットや方法と関連付けて用いることが出来る。

【 0 0 6 7 】

尿中に発生することが知られている他の卵巣癌マーカーには尿グナドトロピンペプチド (urinary gonadotropin peptide (UGP ; シュッターほか、1999、アンチキャンサーレス 19 (6C) : 5551 - 5557 (UGP; Schutter et al., 1999, Anticancer Res. 19(6C):5551-5557)), システインプロテナーゼ (cysteine proteinase) (UCP ; ガオほか、1996、ヒュアキイケダクェクェバオ 27 (3) : 291 - 294 (UCP; Gao et al., 1996, Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao 27(3):291-294), ネオプテリン (neopterin) (ザルカほか、1998、アクタチアヒュング 29 (4) : 359 - 364 (Szarka et al., 1988, Acta Chir. Hung. 29(4):359-364)) 及び腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor) (TATI ; メドルほか、1995、Br. J. キャンサー、71 (5) : 1051 - 1054 (TATI; Medl et al., 1995, Br. J. Cancer 71(5):1051-1054; ハリラほか、1988、Br. J. キャンサー、57 (3) : 304 - 307 (Halia et al., 1988, Br. J. Cancer 57(3)304-307)) がある。

【 0 0 6 8 】

血清中に発生することが知られている他の卵巣癌マーカーには CA 125 (ハリラほか、1987、Br. J. キャンサー、56 (2) : 153 - 156 (Halila et al., Br. J. Cancer 56(2):153-156)), 癌性胎児抗原 (carcinoembryonic antigen) (CEA ; ジュエイほか、1997、ジネコルオンコル 67 (3) : 259 - 271 (CEA; Juweid et al., 1997 Gynecol. Oncol 67(3):259-271)), 血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth) (VEGF ; キャンディド ドス レイスほか、2002、ジネコルオブステットインベスト 54 (3) : 132 - 136 (VEGF; Candido Dos Reis et al., Gynecol. Obstet. Invest. 54(3)132-136)、腫瘍関連トリプシン抑制剤 (tumor-associated trypsin inhibitor) (TATI ; メドルほか、1995、Br. J. キャンサー、71 (5) : 1051 - 1054 (TATI; Medl et al., 1995, Br. J. Cancer 71(5):1051-1054; ハリラほか、1988、Br. J. キャンサー、57 (3) : 304 - 307 (Halia et al., 1988, Br. J. Cancer 57(3)304-307)), CD 44 スプライス変形体 (CD44 splice variants) (ウールスタイドほか、1995、オンコロジィ 52 (5) : 400 - 406 (Uhl-Steidl et al., 1995, Oncology 52(5):400-406)), 抗マリグニン抗体 (anti-malignin antibody) (ボゴッホほか 1991、ランセット 337 : 927) (Bogoch et al., Lancet 337:927)), 乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase) (LDH)、アルファ-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素 (alpha-hydroxybutyrate dehydrogenase) (aHBDH)、CA 19-9、組織ポリペプチド抗原 (tissue polypeptide antigen) (TPA)、シアリル TN (STN; クド-ほか (1999、ジネコルオブステットインベスト 47 (1) ; 52 - 57 (Kudoh et al., 1999, Gynecol. Obstet. Invest 47(1);52-57)) がある。血液及び又は尿中のこれら既知のマーカーの組み合わせのいずれかを査定するためのキットや方法は、それが少なくとも尿中の MMPFF ペプチドの発生を査定するキットや方法であるかぎり本発明に含むものである。

【 0 0 6 9 】

女性から採取した尿中の MMPFF ペプチドの発生を査定するためのここに記載したキットや方法は、女性が卵巣癌にかかる可能性を査定するのに使うことが出来る。女性の尿中の MMPFF ペプチドの発生の検出は他の点では同じであるがその尿のなかに MMPFF が発生していない女性にくらべて一層卵巣癌にかかっているらしいことを示している。卵巣腫瘍、腫瘍成長の早期段階、腫瘍形成の初期、及び卵巣腫瘍形成の可能性の増大、との間の差が殆ど区別できないということは認められていることである。それでもなお、これらの進行各々の結果は女性の健康が傷ついてしまう卵巣腫瘍の展開発展なのである。この理由から、ここに開示されているキットや方法を用いたこれらの段階のいずれかを査定す

ることが有用なのである。

【0070】

抗MMPFFペプチド抗体は臨床テストの手順の一部として、例えば、行った卵巣癌治療の養生の効果を測定するために尿中のMMPFFのレベルを診断的に又は予後診断的に監視するのに用いることが出来る。

【0071】

ここに記載されたキットや方法はひとつの薬剤（例えばアゴニスト、アンタゴニスト、ペプチドミメティック、タンパク質、ペプチド、核酸、小さい分子、または他の薬物候補品）は卵巣癌を緩和、抑制、後退、又は予防するために患者に与えることが出来るかどうかを決定するために用いることが出来る。例えば、そのような方法は、卵巣癌患者が特定の薬剤、または特定の種類の薬剤を用いれば効果的に治療されるかどうかを決定するのに用いられる。

10

【0072】

尿MMPFFペプチド発生の査定のためのキット

【0073】

本発明は哺乳類（例えば女性）から採取された尿サンプル中のMMPFFの存在を検出するためのキットも含んでいる。そのキットはMMPFFペプチドと結合する第1の薬剤、そのMMPFFペプチドとその薬剤との結合を査定するための第2の薬剤、尿と第1の薬剤を接触させることを記載した使用説明書を含む。これらのキットは患者が卵巣癌に罹患しているか発症の危険が高まっているかを決定するために用いることが出来る。例えば、キットは尿サンプル中のMMPFFペプチドを検出可能な標識化合物又は薬剤を含むことが出来る。そのキットは又、或いはその代わりに、サンプル中のMMPFFペプチドの量を決定する手段を含むことができる。キットはMMPFFペプチドの量が正常レベル（例えば、実施例1の方法を用いて450ナノメータでの吸光度測定値が少なくとも0.2）の上か下であるとき検査した患者が卵巣癌にかかっているか発症のリスクを負っているかを査定するための説明書を含むものである。

20

【0074】

抗体をベースにしたキットに関し、そのキットは、例えば、（1）特異的にMMPFFペプチドと結合する第1抗体（例えば、固形支持体に付けられた）とオプシオンとして、（2）特異的にMMPFFペプチド（例えば、第1抗体が結合しているところのエピトープと別のエピトープのところ）が第1抗体のどちらかと結合し検出可能な薬剤と結合している第2の別の抗体を含むことができる。代わりに、そのキットは第1抗体とその第1抗体の標識リガンドを含むことが出来る。その第1抗体と女性の尿サンプルを接触させた後、標識リガンドと第1抗体の結合がここで記載されたような競合型アッセイで査定することができる。

30

【0075】

そのキットは更に試薬、及び又は、女性の尿又は血清中に女性の卵巣癌の発生を示唆する他のマーカーの発生を査定するための指導書を含んで構成できる。

【実施例】

【0076】

本発明は次の実施例をもとにここに記載される。これらの実施例は説明の目的のためにのみ提供するものであって、本発明はこれらの実施例に限定されるものではなく、ここに提供された教示の結果として明らかならずすべての変形を含むものである。

40

【0077】

実施例1

【0078】

試料中のMMPFFを査定するためのサンドウィッチELISA査定

【0079】

尿中のMMPFFを検出するために用いられる代表的査定についてここに記載する。査定は、予め単クローン抗体4H3（ショラーら1999、ブロック・ナショナル・アカデミ

50

サイエンス・USA 96(20):11531-11536 (Scholler et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536) と PCT 公報 WO 00 / 50900 に記載されたような) が塗布してある、96 のウエルのある、すっきりしたマイクロ滴低定プレートのなかで行われる。ウエルの底には、炭酸塩 - 重炭酸塩バッファー (pH 9.6) 1 ミリリットル当たり 3 マイクログラムの抗体からなる懸濁液 50 マイクロリットルが個々のウエルに加えられることによって、抗体が塗られる。そのプレートがまわされて、ウエルの底面が塗布され次いで 4 で一夜乾燥される。個々のウエルをウシ血清アルブミン (BSA) の 3% (w/v) 懸濁液で満たし、2 時間室温に保ち、その後 BSA 懸濁液をその個々のウエルから取り除く。

#### 【0080】

人間の Ig 配列をエンコードしたベクトルを用いてイムノグロブリン (Ig) 定常領域に溶解した MPF アミノ酸配列 (即ち、44 kDa メンブラン結合領域) の部分からなる溶解タンパク質 (ショラーら 1999、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 96(20):11531-11536 (Scholler et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536) に記載されたように) を用いて標準カーブが作られる (PCT 公報番号 WO 00 / 50900 及びホーレンバウほか、1995、J. イムノル・メス. 188:1-7 (Hollenbaugh et al., 1995, J. Immunol. Meth. 188:1-7 に記載のように)。この溶解タンパク質は hIgG と呼ばれる。標準カーブについて、溶解タンパク質がミリリットル当たり 1.0 マイクログラム、ミリリットル当たり 0.1 マイクログラム、及びその 4 連続 5 倍希釈液 (即ち、1:5、1:25、1:125、1:625) の濃度で査定される。用いられた希釈剤は BSA の 7% (w/v) 懸濁液であった。

#### 【0081】

アッセイを行うために、hIgG 融合タンパク質希釈液、対照、又は尿サンプル、又は希釈尿サンプルの 50 マイクロリットルが個々のウエルに加えられた。そのプレートを 1 時間常温でインキュベートし、ウエルは 0.05% (v/v) トゥイーン (登録商標) 20 界面活性剤を含むトリス緩衝した食塩水 (pH 7.8 から 8) で洗浄した。ビオチン化モノクローナル抗体 OV569 (ショラーら 1999、ブロック・ナショナル・アカデミ・サイエンス・USA 96(20):11531-11536 (Scholler et al., 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11531-11536) 及び PCT 公報番号 WO 00 / 50900 に記載) のリットル当たり 200 ナノグラム懸濁液 50 マイクロリットルが個々のウエルに加えられた。常温で 1 時間プレートをインキュベートし、そのあと 0.05% (v/v) トゥイーン (登録商標) 20 界面活性剤を含むトリス緩衝した食塩水 (pH 7.8 から 8) で各ウエルを洗浄した後、ストレプトアビジン - 西洋わさびペルオキシダーゼ (streptavidin-horseradish peroxidase) (アラバマ州バーミンガムのサウザーンバイオテクノロジーアソシエートインクのカタログ番号 7100-05 から得た (Southern Biotechnology Associates, Inc., Birmingham, Al. catalog no. 7100-05)) の 1:5000 希釈液 50 マイクロリットルを個々のウエルに加え、そのプレートを常温で 1 時間インキュベートした。50 マイクロリットルの 3、3'、5、5' - テトラメチルベンジジン (TMB; 西洋わさびペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase) 用発色基質; メリーランド、ガイサースブルグ、キルクガード & ペリーラボラトリー、インク (Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD) から得られる) を個々のウエルに加えて信号を発生する。そのプレートを常温で 15 分インキュベートし 50 マイクロリットルの TMB ストップ液 (0.1 規定硫酸; メリーランド、ガイサースブルグ、キルクガード & ペリーラボラトリー、インク (Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD) から得られる) を加えてペルオキシダーゼ反応を停止した。ペルオキシダーゼの TMB への反応により出来た青色をモレキュラーディバイセススペクトラマックス (登録商標) プラス 384 (Molecular Devices SpectraMax Plus 384) 分光光度プレートリーダー (モデル番号 02523) を用いて 450 ナノメータでの吸光度を測定した。

#### 【0082】

実施例 2

## 【0083】

卵巣癌患者から得られた尿サンプル中のMMPFFの検出

## 【0084】

卵巣癌にかかった25人の患者から尿サンプルを得た。個々の尿サンプルを15分13000rpm(約15,700(g))で遠心分離し沈殿を除去した。尿サンプル上澄みの各々50マイクロリッターの部分標本を実施例1で述べた査定法を用いてテストした。

## 【0085】

テストした25サンプルのうち、22サンプルが450ナノメータで0.2より大きい吸光度を示した。これらのデータは、尿中のMMPFF検出のための発色体サンドウィッチELISA型査定法が多く数の患者の卵巣癌の発生を検出するのに信頼できる方法であることを示している。

10

## 【0086】

実施例3

## 【0087】

卵巣癌患者から得られた尿サンプル中のMMPFF信号の確認

## 【0088】

実施例2に記載された尿サンプル中のMMPFF発生に相当する擬似信号を有する非特定結合を除外するために、実施例2で比較的高い吸光度値が得られた尿サンプルが選ばれた。抗体4H3が塗布されていないことを除き実施例1に記載されたものと同じ査定用プレートが調整された。個々の尿サンプルが準備され実施例2に記載したプレートに加えられた。

20

## 【0089】

この実施例でテストされたサンプルはいずれも背景強度を超える信号は検出されなかった。

## 【0090】

別の実験では、実施例2に記載された尿サンプルが実施例1で述べられたように調整されたプレートを用いてテストされた。しかしこの実験で用いられた569単クローン抗体はビオチン化されていないものであった。それ以外には、査定法は実施例1に記載の通りであった。テストされたサンプルのいずれについても背景強度を超える信号はなかった。

## 【0091】

他の別の実験では、ビオチン化した単クローン抗体569の代わりに前述のMMPFFと無関係のビオチン化した抗体が用いられたこと以外には実施例1に記載された方法で査定が行われた。この方法による実施例2記載の尿サンプルの査定では、この方法でテストされたときの背景を超える信号は出なかった。

30

## 【0092】

卵巣癌の患者から得られた尿を使用した450ナノメータでのサンドウィッチELISA査定の吸光信号が増加していることが、これらのデータは患者の尿中のMMPFFペプチドの存在を示唆する真の応答であることを示している。

## 【0093】

実施例4

## 【0094】

膀胱癌と診断された31患者から得られた尿サンプル、良性の婦人病にかかった3人の女性からの尿サンプル、正常な健康成人から得られた22の尿サンプルが実施例1に記載された査定法を用いてテストされた。

40

## 【0095】

データは正常な健康な患者から得られた尿はMMPFFペプチドが非常に低いレベルであることを示している。実施例2に記載のように、25の卵巣癌患者のうちの22(88%)の尿は著しく高いMMPFFペプチドレベルを示した。膀胱癌(即ち他の泌尿生殖系疾病)患者から得られた尿サンプルは31サンプルのうち8サンプルにのみ高レベルのMMPFFペプチドが示された。良性の婦人病にかかっている女性から得られた3つの尿サン

50

ブル中には高いMMPFFペプチドレベルは検出されなかった。総合すると、56の非卵巣癌患者のうち8の尿サンプルのみしか高いMMPFFペプチドレベルを示さず、一方卵巣癌患者からの25の尿サンプルのうち22が高いMMPFFペプチドを示した。これらのデータは卵巣癌のこの査定法は正診86%であることを示している。

【0096】

実施例5

【0097】

尿MMPFFペプチドレベルと卵巣癌の段階との相関

【0098】

実施例2において尿サンプルが分析された25人の卵巣癌患者の各々について、その癌の段階についての情報が集められた。4つの段階の各々についての卵巣癌を有する患者が代表とされた。患者の癌の段階と患者の尿中に検出されたMMPFFペプチドの量には明らかな相関はなかった。ここに記載された尿MMPFFペプチド査定法は早期段階卵巣癌の発生の査定に後期段階卵巣癌と同じように効果的に使用することが出来ることがこの観察から言える。

10

【0099】

実施例6

【0100】

尿MMPFFペプチドレベルに対する卵巣癌治療の効果

【0101】

実施例2に記載の25人の卵巣癌患者のうち4患者に対する卵巣癌治療のMMPFFペプチドレベルについての効果が査定され、CA125と呼ばれる卵巣癌腫瘍マーカーの血清レベルと比較した。4患者のそれぞれから得られた血清サンプルにおけるCA125が治療前、治療後でCA125 II™ (ペンシルバニア、マルヴァーン フジレバイオ ダイアグノスティクス、インク。(Fujirebio Diagnostics, Inc., Malvern, PA) 査定と本質的に同じ免疫性査定法を用いて査定された。尿MMPFFペプチドレベルは実施例1及び2に記載の方法を用いて4患者の各々について治療前後で査定された。

20

【0102】

尿MMPFFペプチドレベルの治療前後での変化は図7に説明されているように4人の患者のそれぞれにおいて血清CA125レベルの変化にほぼ比例していた。何故ならCA125は卵巣癌進行の代理マーカーとしてこの分野では受け入れられており、これらのデータは尿のMMPFFペプチドレベルと疾病進行とは相関関係があることを示している。これらのデータはこのテストの臨床的価値と卵巣癌治療効果を監視する非侵襲性方法として使える可能性を立証している。

30

【0103】

実施例7

【0104】

MMPFFペプチドの尿レベルと血清レベルの間の相関

【0105】

実施例2で査定された尿サンプルを提供した25人の患者の各々から血液を採取した。実施例1に記載の作業標準を用いてこれらの血液サンプルの血清MMPFFペプチドレベルを測定した。血清と尿サンプルは個々の患者から同じ日に集められたものである。

40

【0106】

MMPFFペプチドが、いくつかの例では非常に低いレベルであったとはいえ、すべての患者から尿と血清の両方のサンプルに検出されている。尿サンプルのテストに0.2吸光度単位(450ナノメータで)をカットオフ値として用いた場合、テストした25サンプルのうち22(88%)はMMPFFは陽のテスト結果であった。血清サンプルのテストに0.1吸光度単位(450ナノメータで)をカットオフ値として用いた場合、テストした25サンプルのうち16のみ(64%)がMMPFFは陽のテスト結果であった。これらのデータから、MMPFFペプチドレベルは卵巣癌患者の血清と尿の両方において上昇

50

することを示している。併し、尿中のMMPFFペプチドの検出はより感度が高いようで、それだけ大きい診断的価値を有しているといえよう。

【0107】

実施例8

【0108】

尿CA125レベルの査定

【0109】

CA125レベルが実施例2に記載された25の尿サンプルの各々についてCA125<sup>TM</sup>テストキットを用いて査定された。上記査定の背景強度を超える結果は尿サンプルからは全くでなかった。これらの結果からCA125はこれらの患者の尿には存在していないことを示している。これらのデータは、CA125のような血清腫瘍マーカーは、血清の中には発生していてもその患者の尿中には必ずしも存在しないことを立証している。

【0110】

ここに記載された個々の特許、特許申請書、公報で開示されたものはすべて参照文献としてここに組み込まれる。

【0111】

本発明は特定の実施形態を参照に開示されたが本発明の他の実施形態や変形が当業者によって本発明の真の精神と範囲から逸脱することなく案出しうることは明らかである。添付の請求の範囲はそのような実施形態や相当する変形の全てを含むものである。

10

【図1】

```

MALQRLDPCW 60
PRQLLGFPCA 120
LLEFLNDAFS 180
RALGGACDL 240
STMDALRGLL 300
PSGKKAREID 360
GYPESVIQHL 420
IDRFVAKRGQ 480
VLYPKARLAF 540
TVAEVQKLLG 600
ETLSGTPCLL 628
  
```

Fig. 1

【図2】

```

MALPTARPLL 60
LSPRQLLGF 120
DLLEFLNDA 180
DVRALGGAC 240
SVETMDALR 300
ACPSGKKAR 360
PQGYPSVIQ 420
GRGQLDKD 480
RLAFQNWNG 540
KLLGGHVEGL 600
PCLLGGFQPV 622
  
```

Fig. 2

【 3 】

VEKTACPSCK KAREIDESLI FYKWELEAC VDAALIAIQM DRVNAIPFTY EOLDVLKHKL 60  
 DELYEQGYPE SVIOHIGYLF LKMSPEDIRK WNVTSLETLK ALLEVKNKHE MSPQVATLID 120  
 REVKRGQLD KDTLDTLTAQ YFGYLSLSP BELSSVPPSS IWAVERPQLD TCDPRQLDVL 180  
 YPKARLAFQN MNGSEYFVKI OSFIGGAPTE DLKALSQQNV SMDLATFMKL RTDAVILPITV 240  
 ABEVQKLLGPH VEGHKAERH RPYVDWTLRQ RQDDLETLGL GLOGGIPNGY LVLDLSVQGG 300  
 RGGQARAGGR AGGEVEGALS HPSLCRGPJG DALPPTWTWC SHRPGTAPSL HPGHRAPLPC 360  
 WFPQPCWGSPP GQEQARVIPV PPOENSRSVN GNMPEADI 398

Fig. 3

【 4 B 】

MST TVAEVQKLLG PHVEGLKAE RHRPVRDWIL RQRQDDLDLTL GLOGGIPN GYLVLDLSVQ 600  
 MPF TVAEVQKLLG PHVEGLKAE RHRPVRDWIL RQRQDDLDLTL GLOGGIPN GYLVLDLSVQ 594  
 MST EYLSGTPCLL GPGVIVIVIA LLLASTIA 628  
 MPF EALSSTPCLL GPGVIVIVIA LLLASTIA 622

Fig. 4B

【 4 A 】

EVEKTAC 300  
 |||||  
 EVEKTAC 302  
 |||||  
 MST PSGKKAREID ESLIFYKKWE LEACVDAALL ATQMDRVNAI PFTYEQLDVL KHKLDELYPO 360  
 |||||  
 MPF PSGKKAREID ESLIFYKKWE LEACVDAALL ATQMDRVNAI PFTYEQLDVL KHKLDELYPO 362  
 MST GYVESVIOHL GYLFKMSPE DIRKWNVTSL ETLKALLEVD KGHMSPOAP RRPLPOVATL 420  
 |||||  
 MPF GYVESVIOHL GYLFKMSPE DIRKWNVTSL ETLKALLEVN KGHMSPO-- ----VATL 414  
 MST IDRFVKGRGQ LDKDTLDTLT AFYFGYLCSL SPEELSSVPP SSIWAVRPOD LDTCDPRQLD 480  
 |||||  
 MPF IDRFVKGRGQ LDKDTLDTLT AFYFGYLCSL SPEELSSVPP SSIWAVRPOD LDTCDPRQLD 474  
 MST VLYPKARLAF QNMNGSEYFV KIQSFIGGAP TEDLKALSQQ NVSMDLATFM KLRTDAVLEL 540  
 |||||  
 MPF VLYPKARLAF QNMNGSEYFV KIQSFIGGAP TEDLKALSQQ NVSMDLATFM KLRTDAVLEL 534

Fig. 4A

【 5 A 】

eVEKT 298  
 eVEKT 300  
 -VEKT 4  
 MST ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY 358  
 MPF ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY 360  
 SMR ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY 64  
 MST PQGPESVIQ HLGYLEFKMS PEDIRKWNVT SLETIKALLE VnKGHEMSFQ APRPLPOVA 418  
 MPF PQGPESVIQ HLGYLEFKMS PEDIRKWNVT SLETIKALLE VnKGHEMSFQ -----VA 412  
 SMR PQGPESVIQ HLGYLEFKMS PEDIRKWNVT SLETIKALLE VnKGHEMSFQ -----VA 116  
 MST TLIDRFVKGR GOLDKDTLDT LTAFFPGYIC SLSPPELSSV PPSIWAVERP QDLDTCDPRQ 478  
 MPF TLIDRFVKGR GOLDKDTLDT LTAFFPGYIC SLSPPELSSV PPSIWAVERP QDLDTCDPRQ 472  
 SMR TLIDRFVKGR GOLDKDTLDT LTAFFPGYIC SLSPPELSSV PPSIWAVERP QDLDTCDPRQ 176  
 MST LDVLYPKARL AFONMNGSEY FVKIQSFLGG APTEDLKALS QQNVSMDLAT FMKLTDAVL 538  
 MPF LDVLYPKARL AFONMNGSEY FVKIQSFLGG APTEDLKALS QQNVSMDLAT FMKLTDAVL 532  
 SMR LDVLYPKARL AFONMNGSEY FVKIQSFLGG APTEDLKALS QQNVSMDLAT FMKLTDAVL 236  
 MST PLTVAEVQKL LGPHVEGLKA EERHRPVRDW ILRQRQDDLD TLGGLQGGI PNGYLVLDLS 598  
 MPF PLTVAEVQKL LGPHVEGLKA EERHRPVRDW ILRQRQDDLD TLGGLQGGI PNGYLVLDLS 592  
 SMR PLTVAEVQKL LGPHVEGLKA EERHRPVRDW ILRQRQDDLD TLGGLQGGI PNGYLVLDLS 296

Fig. 5A

【 5 B 】

```

MST VQetlsqtpc llgpppvlv lalllastla ----- 628
MPF VQealsqtpc llgpppvlv lalllastla ----- 622
SMR VQggraggqr aggraggvev galshpslcr gplgdalppr twtcshrpgt apshpgqlra 356

MST -----
MPF -----
SMR plpcwppcw gspqqeqar vipppqensr svngnmpa dt 398

```

Fig. 5B

【 6 】

```

EVEKTACPSG KKAREIDESL IFYKWELEA CVDALLATQ MDRVNAIPFT YEQLDVLKHK LDELYPOGYP
ESVIQHLGYL FLKMSPEDIR KWNVTSLETL KALLEVXKXGH EMSPQAPPEP LEPQVATLIDR FVKGRGQLDK
DTLDTLTA FYGILCSLS PEELSSVPPS SIWAVRQDLV LYPKARLAFQ NMNNGSEYFVK IOSFLLGGAPT
SFLGGAPTED LKALSQQNVS MDLAFMKLR TDAVILPITVA EVOKLLGPHV EGLKAEERHR PVRDWILRQR
QDDLDLTLGLG LQGGIENGYL VLDLDSVQ

```

Fig. 6A

```

EVEKTACPSG KKAREIDESL IFYKWELEA CVDALLATQ MDRVNAIPFT YEQLDVLKHK LDELYPOGYP
ESVIQHLGYL FLKMSPEDIR KWNVTSLETL KALLEVXKXGH EMSPQVATLI DRFVKGRGQI KQDITDLTLTA
FYGILCSLS PEELSSVPPS SIWAVRQDLV LYPKARLAFQ NMNNGSEYFVK IOSFLLGGAPT
EDLKALSQQN VSMDLATFMK LETDAVILPIT VAEVQKLLGP HVEGLKAEER HRPVRDWILR QRQDDLDLTLG
IGLQGGIENG YLVLDSLVSQ

```

Fig. 6B

【 7 】

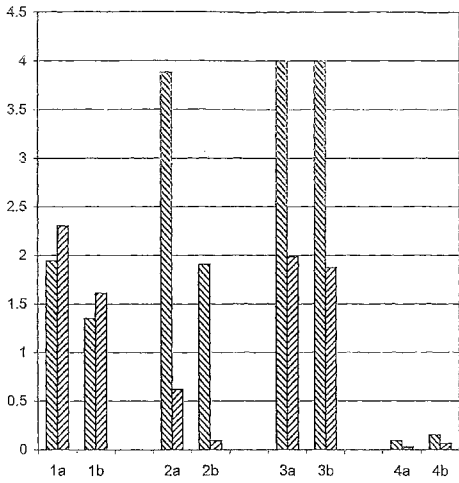


Fig. 7

## 【配列表】

2011174933000001.xml

## 【手続補正書】

【提出日】平成23年3月10日(2011.3.10)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【配列表】

2011174933000001.app

## 【手続補正書】

【提出日】平成23年4月6日(2011.4.6)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

女性の卵巣癌の診断方法であって、女性から採取した尿中のメソセリン/巨核球可能化因子族(MMPFF)ペプチド(mesothelin/megakaryocyte potentiating factor family peptide)の発生を査定することを含んで構成され、それにより尿中のMMPFFペプチドの発生が女性の卵巣癌にかかっていることの示唆とすることを特徴とする方法。

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
 C 0 7 K 14/705 (2006.01) C 1 2 Q 1/28  
 C 0 7 K 14/705

(72)発明者 サルデサイ ニランジャン ワイ  
 アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 4 5 4 ノース ウェールズ セイボリー レーン 1  
 0 2

(72)発明者 ボーンズ ジェニファー  
 アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 1 9 3 8 2 ウェスト チェスター サウス ブラッドフォ  
 ード アベニュー 7 1 9

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ08 QQ36 QQ79 QR03 QR55 QS33  
 4H045 AA11 AA30 CA41 DA50 EA54 FA74

(54)【発明の名称】卵巣癌査定のための尿のメソセリン/巨核球可能化因子関連ペプチド(mesothelin/  
 megakaryocytopotentiatingfactorfamilypeptide)の検出

专利名称(译)	用于卵巢癌评估的尿间皮素/巨核细胞活化因子相关肽 ( 间皮素/巨核细胞增强因子胞嘧啶肽 ) 的检测		
公开(公告)号	<a href="#">JP2011174933A</a>	公开(公告)日	2011-09-08
申请号	JP2011050083	申请日	2011-03-08
申请(专利权)人(译)	FUJIREBIO美国公司		
[标]发明人	オウシャネッスイーダニエルジェー サルデサイニランジャンワイ ポーンズジェニファー		
发明人	オウシャネッスイーダニエルジェー サルデサイニランジャンワイ ポーンズジェニファー		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/543 G01N33/53 C12Q1/37 C12Q1/28 C07K14/705 C07K16/00 C12Q C12Q1/68		
CPC分类号	G01N33/57449 G01N2333/4703 G01N2800/50 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/574.ZNA.Z G01N33/574.A G01N33/543.501.A G01N33/53.D C12Q1/37 C12Q1/28 C07K14/705 G01N33/574.AZN.A G01N33/574.ZZN.A		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ36 4B063/QQ79 4B063/QR03 4B063/QR55 4B063/QS33 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA41 4H045/DA50 4H045/EA54 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷		
优先权	10/388930 2003-03-13 US		
其他公开文献	JP2011174933A5 JP5570029B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

要解决的问题：要获得间皮素的雌性，其肽应具有与巨核细胞增强因子相关的氨基酸序列，以及与卵巢癌患者血清中发育相关的其他肽。提供一种用于评估大肠杆菌的尿道感染的方法和试剂盒。用于诊断女性卵巢癌，并预测无症状女性的卵巢癌发展，并评估卵巢癌治疗的功效。 [选择图]无

