

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-507388

(P2010-507388A)

(43) 公表日 平成22年3月11日 (2010.3.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	
G O 1 N 33/542 (2006.01)	G O 1 N 33/542 A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 98 頁)

(21) 出願番号	特願2009-534057 (P2009-534057)	(71) 出願人	507381673
(86) (22) 出願日	平成19年10月26日 (2007.10.26)		デコード・ジェネティクス・イーエイチエフ
(85) 翻訳文提出日	平成21年6月29日 (2009.6.29)		アイスランド国 アイエスー１０１ レイクジャヴィク, スタールゲテュ 8
(86) 国際出願番号	PCT/IS2007/000019	(74) 代理人	100140109
(87) 国際公開番号	W02008/050356		弁理士 小野 新次郎
(87) 国際公開日	平成20年5月2日 (2008.5.2)	(74) 代理人	100089705
(31) 優先権主張番号	8560		弁理士 社本 一夫
(32) 優先日	平成18年10月27日 (2006.10.27)	(74) 代理人	100075270
(33) 優先権主張国	アイスランド (IS)		弁理士 小林 泰
		(74) 代理人	100080137
			弁理士 千葉 昭男
		(74) 代理人	100096013
			弁理士 富田 博行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CHR8Q24.21上の癌感受性変異体

(57) 【要約】

【課題】 早期段階前立腺癌検出及び予後を容易にするであろう改良された診断法、ならびに該疾患の予防的及び治癒的治療における補助に対する大きな要求が明白に存在する。加えて、前立腺癌の進行性形態を有する可能性がある患者を、前立腺内に局在して残り及び罹患率又は死亡率には有意に寄与しない、前立腺癌のより良質な形態を有する可能性が高い患者からより良好に識別するためのツールを開発することが要求されている。

【解決手段】 染色体 8 q 2 4 . 2 1 上の領域が、癌の特定の形態において主たる役割を果たすことが示された。特定のマーカー及びハプロタイプが、前立腺癌を含む特定の癌への感受性を示すことが発見された。これらのマーカー及びハプロタイプを使用して癌への感受性を同定するための診断的応用が記述されている。

【選択図】 図 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト個体において癌への感受性を診断するための方法であって、該個体から得られた核酸サンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーが配列番号 2 と関連しており、少なくとも一つのアレルの存在が癌への感受性を示す、前記方法。

【請求項 2】

該少なくとも一つの多型マーカーが、表 5 A、5 B 及び 5 C に示されたマーカーの群より選択される少なくとも一つのマーカーを含んでなる、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

該少なくとも一つのマーカーが、表 4 A 及び 4 B 中のマーカーから成る群より選択される一つ又はそれ以上のマーカーと、 $|D'| > 0.8$ 及び $r^2 > 0.2$ により定義される強い連鎖不平衡にある Chr 8 q 24.21 内の少なくとも一つのマーカーを含んでなる、請求項 2 の方法。

【請求項 4】

該少なくとも一つの多型マーカーが、Hap C と連鎖不平衡にある、請求項 1 の方法。

【請求項 5】

該少なくとも一つのマーカーが、マーカー rs 16901979 (配列番号 73) 及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーである、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 6】

該少なくとも一つのマーカーが、表 4 A 及び 4 B に示されたマーカーから選択される、請求項 5 の方法。

【請求項 7】

さらに個体における少なくとも一つのハプロタイプの頻度を評価することを含んでなる、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 8】

該少なくとも一つのハプロタイプが、rs 1456314 アレル G、rs 1783162 アレル T、rs 7825414 アレル G、rs 6993569 アレル G、rs 6994316 アレル A、rs 6470494 アレル T、rs 1016342 アレル C、rs 1031588 アレル G、rs 1016343 アレル T、rs 1551510 アレル G、rs 1456306 アレル C、rs 1378897 アレル G、rs 1456305 アレル T、rs 7816535 アレル G を含んでなる、請求項 7 の方法。

【請求項 9】

該感受性が、増加した感受性である、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 10】

該少なくとも一つのアレル又はハプロタイプの存在が、少なくとも 1.7 の相対リスクの増加した感受性を示す、請求項 9 の方法。

【請求項 11】

該少なくとも一つのアレル又はハプロタイプの存在が、少なくとも 2.0 の相対リスクの増加した感受性を示す、請求項 10 の方法。

【請求項 12】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプが、rs 16901979 アレル 1 を含んでなる、請求項 9 ~ 11 のいずれか一項の方法。

【請求項 13】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプが、マーカー rs 16901979 アレル 1 である、請求項 9 ~ 12 のいずれか一項の方法。

【請求項 14】

該感受性が、減少した感受性である、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項の方法。

【請求項 15】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプが、0.8 未満の相対リスクを有する、請

10

20

30

40

50

求項 14 の方法。

【請求項 16】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプが、0.6未満の相対リスクを有する、請求項 14 又は 15 の方法。

【請求項 17】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプが、rs16901979 アレル 2 を含んでなる、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項の方法。

【請求項 18】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプが、マーカー rs16901979 アレル 2 である、請求項 14 ~ 17 のいずれか一項の方法。

10

【請求項 19】

該癌が、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黒色腫癌から成る群より選択される、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 20】

該癌が、前立腺癌である、請求項 19 の方法。

【請求項 21】

該前立腺癌が、7(4+3)~10の合計グリーソンスコアにより定義される進行性前立腺癌である、請求項 19 又は 20 の方法。

【請求項 22】

該前立腺癌が、2~7(3+4)の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性前立腺癌である、請求項 19 又は 20 の方法。

20

【請求項 23】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプの存在が、より高い進行性前立腺癌及び/又は悪い予後を示す、請求項 20 又は 21 の方法。

【請求項 24】

該マーカー又はハプロタイプの存在が、特定の治療モダリティーに対する対象の異なった奏功率を示す、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 25】

該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプの存在が、腫瘍又はその前駆体中のChr8q24.21の体細胞再構成への素因を示す、前記請求項のいずれか一項の方法。

30

【請求項 26】

該体細胞再構成が、増幅、転座、挿入及び欠失から成る群より選択される、請求項 25 の方法。

【請求項 27】

該個体が、特定の祖先を有する、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 28】

該祖先が、ブラックアフリカ人祖先である、請求項 27 の方法。

【請求項 29】

該祖先が、自己申告である、請求項 27 又は 28 の方法。

【請求項 30】

該祖先が、個体からのサンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを検出することにより決定され、該アレルの存在又は不存在が該個体の祖先を示す、請求項 27 又は 28 の方法。

40

【請求項 31】

癌への感受性を評価するために使用するためのマーカーの同定法であって、該方法が、
d. 配列番号 2 内の少なくとも一つの多型マーカー又はそれらと連鎖不平衡にある少なくとも一つの多型マーカーを同定すること；
e. 前立腺癌と、又は感受性を有すると診断された個体のサンプルの遺伝子型状態を決定すること；及び
f. 対照個体のサンプルの遺伝子型状態を決定すること；

50

を含んでなり、対照サンプル中の少なくとも一つのアレルの頻度と比較した場合、前立腺癌と、又は感受性を有すると診断された個体における少なくとも一つの多型中の少なくとも一つのアレル頻度の有意な相違は、癌への感受性を評価するために有用である少なくとも一つの多型を示す、前記方法。

【請求項 3 2】

連鎖不平衡が、0.2 より大きな r^2 及び / 又は 0.8 より大きな $|D'|$ の数値により特徴付けられる、請求項 3 1 の方法。

【請求項 3 3】

該少なくとも一つの多型マーカーが、HapC 及び / 又はマーカー rs16901979 と、0.2 より大きな r^2 及び / 又は 0.8 より大きな $|D'|$ の数値により特徴付けられる連鎖不平衡にある、請求項 3 1 の方法。

10

【請求項 3 4】

対照サンプル中の少なくとも一つのアレルの頻度と比較して、癌と診断された、又は感受性を有する個体における少なくとも一つの多型中の少なくとも一つのアレルの頻度の増加が、癌への増加した感受性を評価するために有用である少なくとも一つの多型を示す、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか一項の方法。

【請求項 3 5】

対照サンプル中の少なくとも一つのアレルの頻度と比較して、落屑症候群と、又は感受性を有すると診断された個体における少なくとも一つの多型中の少なくとも一つのアレルの頻度の減少が、癌への減少した感受性、又は癌に対する保護を評価するために有用である少なくとも一つの多型を示す、請求項 3 1 ~ 3 3 のいずれか一項の方法。

20

【請求項 3 6】

癌についてアットリスクにある、又は癌と診断されたヒト個体から得られた核酸サンプルを遺伝子型同定する方法であって、該サンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つのマーカーは、表 4 A 及び 4 B に示したマーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、及び該少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在は癌の感受性を示す、前記方法。

【請求項 3 7】

該少なくとも一つのマーカーが、rs16901979 (配列番号 7 3) 及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーである、請求項 3 6 の方法。

30

【請求項 3 8】

連鎖不平衡が、少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び / 又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の数値で決定される、請求項 3 6 又は 3 7 の方法。

【請求項 3 9】

遺伝子型同定が、該少なくとも一つの多型マーカーに隣接するヌクレオチドプライマー対を使用するポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により、該少なくとも一つの多型マーカーを含んでなる核酸のセグメントを増幅することを含んでなる、請求項 3 6 ~ 3 8 のいずれか一項の方法。

【請求項 4 0】

遺伝子型同定が、アレル特異的プローブハイブリダイゼーション、アレル特異的プライマー伸長法、アレル特異的増幅、核酸シーケンシング、5' - エキソヌクレアーゼ消化、分子ビーコンアッセイ、オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ、サイズ分析、及び一本鎖配座解析から選択されるプロセスを使用して実施される、請求項 3 6 ~ 3 9 のいずれか一項の方法。

40

【請求項 4 1】

該プロセスが、アレル特異的プローブハイブリダイゼーションを含んでなる、請求項 4 0 の方法。

【請求項 4 2】

該プロセスが、核酸シーケンシングを含んでなる、請求項 4 0 の方法。

50

【請求項 4 3】

該核酸シーケンシングが、DNAシーケンシングである、請求項 4 2 の方法。

【請求項 4 4】

請求項 3 6 ~ 3 9 のいずれか一項の方法であって、

4) 該核酸のコピーと検出オリゴヌクレオチドプローブ及びエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブを、該オリゴヌクレオチドプローブと該核酸の特異的ハイブリダイゼーションのための条件下で接触させること；ここで

a) 該検出オリゴヌクレオチドプローブは 5 ~ 1 0 0 ヌクレオチド長であり、そのヌクレオチド配列が少なくとも一つの多型部位を含んでなる配列番号 2 により与えられる核酸の第一のセグメントに特異的にハイブリダイズし；

b) 該検出オリゴヌクレオチドプローブは、その 3' 末端に検出可能標識を、及びその 5' 末端にクエンチング部分を含んでなり；

c) 該エンハンサーオリゴヌクレオチドは 5 ~ 1 0 0 ヌクレオチド長であり、両方のオリゴヌクレオチドが該核酸にハイブリダイズされた時、該エンハンサーオリゴヌクレオチドが該検出オリゴヌクレオチドプローブに関して 3' に位置されるように、該オリゴヌクレオチドプローブに関して 5' にある該ヌクレオチド配列の第二のセグメントに相補的であり；及び

d) 該オリゴヌクレオチドプローブ及びエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブが両方とも該核酸にハイブリダイズされた時、該オリゴヌクレオチド間に単一塩基ギャップが存在するように、第一のセグメント及び第二のセグメント間に単一塩基ギャップが存在する；

5) 検出プローブが該核酸にハイブリダイズされた時、該検出プローブの 3' 末端から検出可能標識を切断して遊離検出可能標識を放出するであろうエンドヌクレアーゼで該核酸を処理すること；及び

6) 遊離検出可能標識を測定すること、ここで遊離検出可能標識の存在は、該検出プローブが該核酸の第一のセグメントへ特異的にハイブリダイズされたことを示し、及び検出プローブの補体としての多型部位の配列を示す、前記方法。

【請求項 4 5】

該核酸のコピーが、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による増幅により提供される、請求項 4 4 の方法。

【請求項 4 6】

該感受性が、増加した感受性である、請求項 3 6 ~ 4 5 のいずれか一項の方法。

【請求項 4 7】

該感受性が、減少した感受性である、請求項 3 6 ~ 4 5 のいずれか一項の方法。

【請求項 4 8】

該癌が、前立腺癌、結腸癌、乳癌、肺癌、精巣癌及び黒色腫から選択される、請求項 3 1 ~ 4 7 のいずれか一項の方法。

【請求項 4 9】

該癌が前立腺癌である、請求項 3 1 ~ 4 7 のいずれか一項の方法

【請求項 5 0】

該前立腺癌が、7 (4 + 3) ~ 1 0 の合計グリーソンスコアにより定義される進行性前立腺癌である、請求項 4 9 の方法。

【請求項 5 1】

該前立腺癌が、2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性前立腺癌である、請求項 4 9 の方法。

【請求項 5 2】

該個体が、特定の祖先を有する、請求項 3 1 ~ 5 1 のいずれか一項の方法。

【請求項 5 3】

該祖先が、ブラックアフリカ人祖先である、請求項 5 2 の方法。

【請求項 5 4】

該祖先が、自己申告である、請求項 5 2 又は 5 3 の方法。

【請求項 5 5】

該祖先が、個体からのサンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを検出することにより決定され、該アレルの存在又は不存在が該個体の祖先を示す、請求 5 2 又は 5 3 の方法。

【請求項 5 6】

癌に関連する症状を予防する及び / 又は寛解するための療法剤への応答の可能性について個体を評価する方法であって：個体から得られた核酸サンプル中の、少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは、表 5 A、5 B 及び 5 C にリストした多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、該少なくとも一つのマーカーの少なくとも一つのアレルの存在は、落屑症候群及び / 又は緑内障療法剤に関連した症状に陽性応答の可能性を示す、前記方法。

10

【請求項 5 7】

癌と診断された個体の予後を予測する方法であって、該方法は、個体から得られた核酸サンプル中の、少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは、表 5 A、5 B 及び 5 C に掲げた多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、該少なくとも一つのアレルの存在は、個体の癌のより悪い予後を示す、前記方法。

20

【請求項 5 8】

癌の治療を行っている個体の治療の予後をモニターする方法であって、該方法は個体から得られた核酸サンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは、表 5 A、5 B 及び 5 C に掲げた多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、該少なくとも一つのアレルの存在は、個体の治療結果を示す、前記方法。

【請求項 5 9】

該少なくとも一つの多型マーカーが、rs16901979 (配列番号：73) 及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーである、請求項 5 6 ~ 5 8 のいずれか一項の方法。

【請求項 6 0】

連鎖不平衡が、少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び / 又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の値により定義される、請求項 5 6 ~ 5 9 のいずれか一項の方法。

30

【請求項 6 1】

該癌が、前立腺癌である、請求項 5 6 ~ 6 0 のいずれか一項の方法。

【請求項 6 2】

該前立腺癌が、7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーソンスコアにより定義される進行性前立腺癌である、請求項 6 1 の方法。

【請求項 6 3】

該前立腺癌が、2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性前立腺癌である、請求項 6 1 の方法。

【請求項 6 4】

さらに該個体からのサンプル中の少なくとも一つのバイオマーカーを評価することを含んでなる、前記請求項のいずれか一項の方法。

40

【請求項 6 5】

該サンプルが、血液サンプル又は癌生検サンプルである、請求項 6 4 の方法。

【請求項 6 6】

該個体のリスク評価、診断又は予後診断を行うために非遺伝的情報を分析することをさらに含んでなる、前記請求項のいずれか一項の方法。

【請求項 6 7】

該非遺伝的情報が、年齢、性別、民族性、社会経済的地位、既往症診断、対象の病歴、癌の家族歴、生化学的測定及び臨床的測定から選択される、請求項 6 6 の方法。

50

【請求項 68】

全リスクを計算することをさらに含んでなる、請求項 64 ~ 67 のいずれか一項の方法。

【請求項 69】

ヒト個体の癌への感受性を評価するためのキットであって、該キットは、個体のゲノム中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを選択的に検出するための試薬を含んでなり、該多型マーカーは、その配列が配列番号 2 に示されているセグメント内の多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、及び該少なくとも一つのアレルの存在は癌への感受性を示す、前記キット。

【請求項 70】

該少なくとも一つの多型マーカーが、表 5 A、5 B 及び 5 C に示されたマーカーの群、及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから選択される、請求項 69 のキット。

10

【請求項 71】

該少なくとも一つの多型マーカーが、表 4 A 及び 4 B に示されたマーカーの群から選択される、請求項 69 のキット。

【請求項 72】

該少なくとも一つの多型マーカーが、rs16901979 (配列番号 73) である、請求項 69 ~ 71 のいずれか一項のキット。

【請求項 73】

該連鎖不平衡が、少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び / 又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の値により定義される、請求項 69 ~ 72 のいずれか一項のキット。

20

【請求項 74】

該癌が、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黑色腫癌から選択される、請求項 69 ~ 73 のいずれか一項のキット。

【請求項 75】

該癌が、前立腺癌である、請求項 74 のキット。

【請求項 76】

該前立腺癌が、7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーソンスコアにより定義される進行性前立腺癌である、請求項 75 のキット。

【請求項 77】

該前立腺癌が、2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性前立腺癌である、請求項 75 のキット。

30

【請求項 78】

該試薬が、該少なくとも一つの多型マーカーを含んでなる該個体のゲノムの断片へハイブリダイズする少なくとも一つの近接するオリゴヌクレオチド、緩衝液及び検出可能な標識を含んでなる、請求項 69 ~ 77 のいずれか一項のキット。

【請求項 79】

該試薬が、該対象から得られたゲノム核酸セグメントの反対鎖にハイブリダイズする少なくとも一つのオリゴヌクレオチド対を含んでなり、各オリゴヌクレオチドプライマー対は、一つの多型マーカーを含む該個体のゲノムの断片を選択的に増幅するように設計されており、及び該断片は少なくとも 30 塩基対のサイズである、請求項 69 ~ 78 のいずれか一項のキット。

40

【請求項 80】

該少なくとも一つのオリゴヌクレオチドが、該個体のゲノムと完全に相補的である、請求項 78 又は 79 のキット。

【請求項 81】

該オリゴヌクレオチドが、約 18 ~ 約 50 ヌクレオチド長である、請求項 78 ~ 80 のいずれか一項のキット

【請求項 82】

該オリゴヌクレオチドが、20 ~ 30 ヌクレオチド長である、請求項 78 ~ 81 のいずれか一項のキット。

50

【請求項 83】

請求項 69～82 のいずれか一項のキットであって、

d. 5～100ヌクレオチド長である検出オリゴヌクレオチドプローブ；

e. 5～100ヌクレオチド長であるエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブ；及び

f. エンドヌクレアーゼ酵素；

を含んでなり；

該検出オリゴヌクレオチドプローブは、そのヌクレオチド配列が少なくとも一つの多型部位を含んでなる配列番号 2 により与えられている核酸の第一のセグメントへ特異的にハイブリダイズし；及び

該検出オリゴヌクレオチドプローブは、その 3' 末端に検出可能な標識及びその 5' 末端にクエンチング部分を含んでなり；

該エンハンサーオリゴヌクレオチドは、5～100ヌクレオチド長であり、両方のオリゴヌクレオチドが該核酸にハイブリダイズされた時、該エンハンサーオリゴヌクレオチドが該検出オリゴヌクレオチドプローブに関して 3' に位置されるように、該オリゴヌクレオチドプローブに関して 5' にある該ヌクレオチド配列の第二のセグメントに相補的であり；

該オリゴヌクレオチドプローブ及びエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブが両方とも該核酸にハイブリダイズされた時、該オリゴヌクレオチド間に単一塩基ギャップが存在するように、第一のセグメント及び第二のセグメント間に単一塩基ギャップが存在し；及び該核酸をエンドヌクレアーゼで処理することは、該検出プローブが該核酸にハイブリダイズされた時、該検出プローブの 3' 末端から検出可能標識を切断して遊離検出可能標識を放出する、

前記キット。

【請求項 84】

ヒト個体における癌への感受性を診断する及び/又は評価するための診断試薬の製造におけるオリゴヌクレオチドプローブの使用であって、該プローブは、そのヌクレオチド配列が、少なくとも一つの多型部位を含んでなる配列番号 2 により与えられている核酸のセグメントにハイブリダイズし、該断片は 15～500ヌクレオチド長である、前記使用。

【請求項 85】

該多型部位が、表 5 A、5 B 及び 5 C に示された多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にある多型から選択される、請求項 84 に記載の使用。

【請求項 86】

該多型部位が、rs16901979（配列番号 73）である、請求項 84 又は 85 に記載の使用。

【請求項 87】

該癌が、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黒色腫癌から選択される、請求項 84～87 のいずれか一項の使用。

【請求項 88】

該癌が、前立腺癌である、請求項 87 の使用。

【請求項 89】

該前立腺癌が、7（4+3）～10 の合計グリーソンスコアにより定義される進行性前立腺癌である、請求項 88 の使用。

【請求項 90】

該前立腺癌が、2～7（3+4）の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性前立腺癌である、請求項 88 の使用。

【請求項 91】

コンピューター可読媒体であって、

a. 少なくとも一つの多型マーカーのための識別子

b. 複数の癌と診断された個体における、前記少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの頻度の指標；及び

10

20

30

40

50

c. 複数の参照個体における、前記少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの頻度の指標；

が保存され；

該少なくとも一つの多型マーカーは表 5 A、5 B 及び 5 C に示された多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にある多型から選択される；

前記媒体。

【請求項 9 2】

該多型部位が、rs16901979 マーカー（配列番号 7 3）、及び少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び / 又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の値により定義される、それらと連鎖不平衡にあるマーカーである、請求項 9 1 に記載の媒体。

10

【請求項 9 3】

該癌が、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黑色腫瘍から選択される、請求項 9 1 又は 9 2 の媒体。

【請求項 9 4】

該癌が、前立腺癌である、請求項 9 3 の媒体。

【請求項 9 5】

該前立腺癌が、7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーソンスコアにより定義される進行性前立腺癌である、請求項 9 3 又は 9 4 の媒体。

【請求項 9 6】

該前立腺癌が、2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性前立腺癌である、請求項 9 3 又は 9 4 の媒体。

20

【請求項 9 7】

複数の個体の祖先についての情報をさらに含んでなる、請求項 9 1 ~ 9 6 のいずれか一項の媒体。

【請求項 9 8】

癌と診断された複数の個体及び参照個体の複数の特定の祖先を有する、請求項 9 1 ~ 9 7 のいずれか一項の媒体。

【請求項 9 9】

該祖先が、ブラックアフリカ人祖先である、請求項 9 8 の媒体。

【請求項 1 0 0】

30

該祖先が、自己申告である、請求項 9 9 の媒体。

【請求項 1 0 1】

ヒト個体において、癌についての遺伝的指標を決定するための装置であって；

コンピューター可読メモリー；及び

コンピューター可読メモリー上に保存されたルーチン；

を含んでなり、該ルーチンは、表 5 A、5 B 及び 5 C に示されたマーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから選択される少なくとも一つの多型マーカーに関する少なくとも一つのヒト個体について、マーカー及び / 又はハプロタイプ情報を分析するためにプロセッサで実行されるのに適合しており、そしてマーカー及び / 又はハプロタイプ情報に基づいたアウトプットを発生し、該アウトプットはヒト個体についての癌の遺伝的指標としての該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプのリスク尺度を含んでなる、前記装置。

40

【請求項 1 0 2】

該ルーチンが、癌と診断された複数の個体における少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレル又は少なくとも一つのハプロタイプの頻度の指標、及び複数の参照個体における少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレル又は少なくとも一つのハプロタイプの頻度の指標をさらに含んでなり、そしてリスク尺度は、癌と診断された複数の個体についての該少なくとも一つのマーカー及び / 又はハプロタイプ情報の頻度の指標とヒト個体についての該少なくとも一つのマーカー及び / 又はハプロタイプ状態の比較に基づいている、請求項 1 0 1 の装置。

50

【請求項 103】

該少なくとも一つの多型マーカーが、rs16901979（配列番号：73）及びそれらと連鎖不平衡にある、少なくとも、0.2の r^2 の数値及び/又は少なくとも0.8の $|D'|$ 値により定義されたマーカーである、請求項101又は102の装置。

【請求項 104】

リスク基準が、オッズ比（OR）又は相対リスク（RR）により特徴付けられる、請求項101～103のいずれか一項の装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

悪性細胞の制御されない増殖である癌は、現代医学時代の主たる健康問題であり、そして先進国における主たる死因の一つである。米国において、4人に1人は癌で死亡している（Jemal, A. et al., CA Cancer J. Clin. 52:23-47 (2002)）。

前立腺癌の発生率はこの十年で劇的に増加しており、そして前立腺癌は現在、米国及び西欧において主たる死亡原因である（Peschel, R.E. and J. W. Colberg, Lancet 4:233-41 (2003); Nelson, W.G. et al, N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003)）。

前立腺癌は、先進工業国の男性間で最も頻繁に診断される非皮膚性悪性腫瘍であり、及び米国において、8人の内1人が生涯の間に前立腺癌を発症するであろう（Simard, J. et al., Endocrinology 143 (6):2029-40 (2002)）。

食事因子及び生活スタイル関連因子のような環境因子が前立腺癌のリスクに寄与するけれども、遺伝因子が重要な役割を果たすことも示されている。実際、陽性家族歴は、中でも最も強い前立腺癌の疫学的リスク因子であり、そして一卵性双生児における前立腺癌の一致した出現を比較している双生児研究は、いずれか

20

他のタイプの癌におけるよりも前立腺癌のリスクにおけるより強い遺伝性成分を一貫して明らかにした（Nelson, W.G. et al., N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003); Lichtenstein P. et al., N. Engl. J. Med. 343(2):78-85 (2000)）。

加えて、1955～2003年にアイスランドで診断されたすべての癌症例の家族性についての全国的研究において、前立腺癌の増加したリスクが前立腺癌事例の1から5親等血縁者で観察された（Amundadottir et al., PLoS Medicine 1(3):e65 (2004)）。

血縁者間の増加したリスクにより強調されたこの疾患についての遺伝的素地はさらに、特定の集団間の前立腺癌の研究により支持された：例えば、アフリカンアメリカ人は中でも、最も高い前立腺癌の発生率及びこの疾患に帰する死亡率を有する：ヨーロッパ系アメリカ人よりも1.6倍、前立腺癌

30

を発生するようであり、及び2, 4倍この疾患により死亡するようである（Ries, L.A.G. et al., NIH Pub. No. 99-4649 (1999)）。

【0002】

前立腺癌の男性では、余命において平均40%の減少がある。もし早期に検出されたら（転移及び被膜を超えた局所拡散に先立って）、前立腺癌を治癒させ得る（例えば、外科手術を使用して）。しかしながら、もし前立腺からの拡散及び転移後に診察されたら、前立腺癌は、典型的には、低い治癒率の致死性疾患である。

前立腺特異的抗原（PSA）に基づいたスクリーニングが前立腺癌の早期診断を助けてきたが、それは高感度でもまた特異的でもない（Punglia et al., N Engl J Med. 349(4):335-42 (2003)）。

40

このことは、高いパーセンテージの偽陰性及び偽陽性診断が試験に関連することを意味している。結果は、見逃された癌の多くの例及び癌を有しない例の不必要な引き延ばしのバイオプシーの両方である。65～85%（年齢の依存して）もの前立腺癌の個体が、正常PSAレベル

の上限として慣用的に使用されてきた4.0 ng/mLに等しいか又はそれ未満のPSA値を有する（Punglia et al., N Engl J Med. 349(4):335-42 (2003); Cookston, M.S., Cancer Control 8(2): 133-40 (2001); Thompson, LM. et al., N Engl J Med. 350:2239-46 (2004)）。

低PSAレベルを有する癌のかなりの部分が、進行性（aggressive）前立腺癌の尺度であるグリーソングレードで7又はそれ以上とスコア付けされる。上記文献。上に概説した感度の問題に加え、PSA試験は特異性及び予後を予測することについての

困難さも有している。PSAレベルは前立腺癌を有しないものにおいても異常である可能

50

性がある。例えば、良性前立腺肥大（BPH）は、偽陽性PSA試験のよくある原因の一つである。加えて、尿貯留、前立腺炎、激しい前立腺マッサージ及び射精を含む多様な非癌状態は血清PSAレベルを上昇させることができる。上記文献。

【0003】

それ故、早期段階前立腺癌検出及び予後を容易にするであろう改良された診断法、ならびに該疾患の予防的及び治療的治療における補助に対する大きな要求が明白に存在する。加えて、前立腺癌の進行性形態を有する可能性がある患者を、前立腺内に局在して残り及び罹患率又は死亡率には有意に寄与しない、前立腺癌のより良質な形態を有する可能性が高い患者からより良好に識別するためのツールを開発することが要求されている。このことは、有意なリスクのない患者についての、侵襲的及び費用がかかる処置を避けることを助けるであろう。

【0004】

前立腺癌の多様な形態に関連する座位

前立腺癌の発生は最近の10年で劇的に増加した。前立腺癌は、その病因論に遺伝的及び環境的要素が含まれる多因子性の疾患である。それはゆっくりと増殖する腫瘍から非常に急速で高度な転位性病変に及ぶ異質な増殖パターンにより特徴付けられる。

【0005】

遺伝因子は、前立腺癌の疫学的リスク因子のうちで最も強いけれども、該疾患に関与する遺伝決定因子の探求は挑戦的であった。研究は前立腺癌に対する関連候補遺伝子マーカーが、乳癌、卵巣癌及び結腸癌のような他の癌についての感受性遺伝子を同定することよりもより困難であったことを明らかにした。この増加した困難さについて提案されたいくつかの理由には：前立腺癌がしばしば高齢で診察されるという事実は、二つ以上の世代の生存する患者個体からDNAサンプルを得ることを困難にしている；遺伝的及び散在的形態間の特色を区別することの欠如に不随する表現的模写の高リスク系統内の存在；及び前立腺癌の遺伝子不均一性及びこの複雑な疾患についての適切な統計学的伝達モデルを開発することの付随する困難さが含まれる（Simard, J. et al., *Endocrinology* 143 (6):2029-40 (2002)）。

【0006】

前立腺癌感受性遺伝子についての種々のゲノムスキャンが実施され、いくつかの前立腺癌感受性座位が報告されている。例えば、HPC1（1q24-q25）、PCAP（1q42-q43）、HCPX（Xq27-q28）、CAPB（1p36）、HPC20（20q13）、HPC2/ELAC2（17p11）及び16q23が前立腺癌感受性座位として提案されている（Simard, J. et al., *Endocrinology* 143 (6):2029-40 (2002)）；Nwosu, V. et al., *Hum. Mol. Genet.* 10(20):2313-18 (2001)）。Smith et al., により行われたゲノムスキャンにおいて、連鎖の最も強い証拠はHPC1であったが、二点解析はD4S430での1.5のLODスコア及びXq27-28のマーカーを含むいくつかの座位での1.0のLODスコアも明らかにした（Ostrander E. A. and J.L. Stanford, *Am. J. Hum. Genet.* 67:1361-15 (2000)）。別のゲノムスキャンは、遺伝の常染色体優性モデルを使用して染色体10q、12q及び14q、及び遺伝の劣性モデルを使用して染色体1q、8q、10q及び16pについて>1.5の二点LODスコアを報告している。上記文献。さらに別のゲノムスキャンは、2q、12p、15q、16q及び16pの連鎖についての名目上の証拠を有する領域を同定した。上記文献。小さなユタハイリスク前立腺癌系統の組及び300多型性マーカーの組を使用した前立腺癌素因遺伝子座のゲノムスキャンは、染色体17p上の座位の連鎖についての証拠を提供した（Simard, J. et al., *Endocrinology* 143 (6):2029-40 (2002)）。八つの新規連鎖分析が2003年の後半に公表され、それは著しい異種性を示した。2.0より高いLODスコアを有する11のピークが報告され、そのどれもが重複していなかった（Actane consortium, Schleutker et.al, Wiklund et.al., Witte et.al, Janer et.al., Xu et.al., Lange et.al., Cunningham et.al.; all of which appear in *Prostate*, vol. 57 (2003)を参照されたい）。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 7 】

上記のように、前立腺癌に關与する特定の遺伝子の同定は、挑戦的であった。關係付けられている一つの遺伝子は、ウイルス及び細胞RNAを分解すると信じられているインターフェロン誘導可能RNA崩壊経路に關与する、広範囲に発現されている不顕性エンドリボヌクレアーゼをコードし、HPC座位に連鎖しているRNASELである (Carpten, J. et al., Nat. Genet. 30:181-84 (2002); Casey, G. et al., Nat. Genet. 32(4):5S1-S3 (2002))。RNASEL中の変異は、前立腺癌に対する増加した感受性と關係があった。例えば、一つの家族において、前立腺癌を有する4人の兄弟はRNASEL中にディスエイプリング変異を運んでおり、一方別の家族において、前立腺癌を有する6人の兄弟の内の4人が、RNASELの開始メチオニンコドンに影響する塩基置換を運んでいた。上記文献。他の研究は、家族性前立腺癌を有するフィンランド人男性及びアシュケナージ系ユダヤ人集団において、前立腺癌の増加したリスクに關連する変異体RNASELアレルを明らかにした (Rokman, A. et al., Am J. Hum. Genet. 70:1299-1304 (2002); Renner t, H. et al., Am J. Hum. Genet. 77:981-84 (2002))。加えて、Ser 2 1 7 Leu 遺伝子型が、65歳よりも若い白色人種のアメリカ人におけるすべての孤発例のおよそ9%を占めると提案されている (Stanford, J.L., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 12(9):876-81 (2003))。これらの陽性報告とは対照的に、いくつかの研究は、RNASELアレルと不活性化変異及び前立腺癌との間の何らかの關係を検出することに失敗している (Wang, L. et al., Am. J. Hum. Genet 71:116-23 (2002); Wiklund, F. et al., Clin. Cancer Res. 10(21):7150-56 (2004); Maier, C. et al., Br. J. Cancer 92(6):1159-64(2005))。

10

20

【 0 0 0 8 】

8 p 2 2 に位置するマクロファージ捕捉剤レセプター1 (MSR1) 遺伝子も、候補前立腺癌感受性遺伝子として同定されている (Xu, J. et al., Nat. Genet. 32:321-25 (2002))。変異MSR1アレルは、非遺伝的な前立腺癌を有する男性のおよそ3%で検出されたが、罹患していない男性では0.4%しか検出されなかった。上記文献。しかしながら、すべての続いての報告がこれらの最初の発見を確認しているわけではない(例えば、Lindmark, F. et al., Prostate 59(2):132-40 (2004); Seppala, E.H. et al., Clin. Cancer Res. 9(14):5252-56 (2003); Wang, L. et al., Nat Genet. 35(2): 128-29 (2003); Miller, D.C. et al., Cancer Res. 63(13):34S6-S9 (2003) を参照されたい)。MSR1は、血清中の細菌性リボ多糖及びリボテイコ酸、及び酸化高比重リボタンパク及び低比重リボタンパクを含む多様なリガンドとの結合が可能であるマクロファージ捕捉剤レセプターのサブユニットをコードする (Nelson, W.G. et. al., N. Engl. J. Med. 349(4): 366-81 (2003))。

30

Chr 17上のELAC2遺伝子は、ユタからのハイリスク前立腺癌家族においてクローン化されるべき最初の前立腺癌感受性遺伝子であった (Tavtigian, S. V., et al., Nat. Genet. 27(2): 172-80 (2001))。一つの系統においてフレームシフト変異 (1641 Ins G) が発見された。3つの追加のミスセンス変化: Ser 2 1 7 Leu; Ala 5 4 1 Thr; 及びArg 7 8 1 His が前立腺癌の増加したリスクと關係することも見いだされた。Ser 2 1 7 Leu 及びAla 5 4 1 Thr 両方を運んでいる男性における前立腺癌の相対的リスクは、前立腺癌の家族歴に基づいて選択されていないコホートにおいて2.37であることが見いだされた (Rebbeck, T.R., et al., Am. J. Hum. Genet. 67(4):1014-19 (2000))。別の研究は、一つの高発生前立腺癌家族において新規終結変異 (Glu 2 1 6 X) を記載している (Wang, L., et al., Cancer Res. 61(17):6494-99 (2001))。他の報告は、これらのミスセンス変異との強い関連を示しておらず、及び最近のメタアナリシスは、これらの変異に關連する家族リスクが最初の報告に示されたよりもより控えめであることを示唆している (Vesprini, D., et al, Am. J. Hum. Genet. 68(4):912-11 (2001); Shea, P.R., et al., Hum. Genet. 111 (4-5):398-400 (2002); Suarez, B.K., et. al., Cancer Res. 61(13):4982-84 (2001); Severi, G., et al., J. Natl. Cancer Inst. 95 (11):818-24 (2003); Fujiwara, H., et al., J. Hum. Genet. 47 (12):641-

40

50

48(2002); Camp, N.J., et al., Am. J. Hum. Genet. 71 (6):1475-78 (2002))。

【 0 0 0 9 】

アンドロゲン作用に関与する遺伝子の多型性変異体（例えば、アンドロゲンレセプター（AR）遺伝子、チトクローム P - 4 5 0 c 1 7（CYP17）遺伝子及びステロイド - 5 - α - レダクターゼ、タイプ II（SRD5A2）遺伝子）も前立腺癌の増加したリスクに関係付けられてきた（Nelson, W.G. et al., N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003)）。アンドロゲンレセプターをコードする AR に関しては、いくつかの遺伝的疫学的研究が、前立腺癌の増加したリスクとアンドロゲンレセプターポリグルタミンリピートの存在間の相関を示しているが、一方、他の研究はこうした相関を検出することに失敗している。上記文献。連鎖データも CYP17 の対立形質形（性ステロイド生合成において鍵となる反応を触媒する酵素）と前立腺癌を結びつけた（Chang, B. et al., Int. J. Cancer 95:354-59 (2001)）。前立腺において 5 - α - レダクターゼの主アイソザイムをコードし、テストステロンをより強力なジヒドロテストステロンに変換するように機能する、SRD5A2 のアレル異型は、前立腺癌の増加したリスク及び前立腺癌を有する男性の予後不良と関係付けられてきた（Makridakis, N.M. et al., Lancet 354:975-78 (1999); Nam, R.K. et al., Urology 57:199-204 (2001)）。

10

【 0 0 1 0 】

要するに、全世界の多くのグループの努力にもかかわらず、前立腺癌リスクの実質的一部分を説明する遺伝子は同定されていない。双生児の研究は、遺伝的因子が前立腺癌で優性であるらしいことを暗示したが、ほんの一握りの遺伝子しか前立腺癌の増加したリスクと関係していると同定されておらず、及びこれらの遺伝子は低いパーセンテージの場合しか説明していない。それ故、前立腺癌についての遺伝的リスク因子の大部分が見つからないことは明白である。これらの遺伝的リスク因子は比較的多くの数の低から中リスク遺伝子異型を含んでいるであろうと思われる。しかしながら、これらの低から中リスク遺伝子異型は前立腺癌の実質的一部分に関与することができ、それ故、それらの同定は公衆衛生にとって大きな利益である。さらに、公表された前立腺癌遺伝子はどれも、進行が遅い前立腺癌よりも進行性前立腺癌についてのより大きなリスクを予測するとは報告されていない。

20

【 0 0 1 1 】

癌患者を含む集団についての広範な系統学的情報が、最近の研究において強力な遺伝子近親度（gene sharing）法と結合され、癌（例えば、乳癌、前立腺癌、肺癌、黒色腫）において主要な役割を果たすことが示されている染色体 8 q 2 4 . 2 1 上の座位の地図を製作した。多様な癌患者及び彼らの親族を、3 ~ 4 c M の平均マーカー密度を有する 1 1 0 0 のマイクロサテライトマーカーを含む、全ゲノムマーカーセットで遺伝子型を同定した。（Amundadottir L.T., Nature Genet. 38(6):652-658 (2006)）。ユタ CEPH ハップマップ（HapMap）サンプル中の 1 2 8 . 4 1 4 及び 1 2 8 . 5 0 6 M b（NCBI Build 3 4 34）位間の座位内の単一 LD ブロックとの関連が検出された。

30

【 0 0 1 2 】

乳癌は米国及び世界中の女性にとって、重大な健康問題である。該疾患の検出及び治療において進歩はあったが、乳癌は女性における癌関連死因の第 2 位で残っており、米国において 1 8 0 , 0 0 0 人以上の女性が罹患している。北アメリカの女性について、生涯で乳癌にかかる可能性は現在 8 人に 1 人である。

40

【 0 0 1 3 】

乳癌の治療又は予防について普遍的に成功している方法は、現在のところ得られていない。乳癌の管理は現在、早期診断（例えば、胸部スクリーニング法を介する）及び、外科手術、放射線療法、化学療法及びホルモン療法のような種々の治療の一つ又はそれより多くを含むことができる攻撃的治療の組み合わせである。特定の乳癌のための治療過程は、特異的腫瘍マーカーの分析を含む種々の予後パラメーターに基づいてしばしば選択される。例えば、Porter-Jordan and Lippman. Breast cancer 5:73-100 (1994) を参照されたい。

50

B R C A 1 及び B R C A 2 の発見は、乳癌に關与する鍵となる遺伝子因子の同定における重要な段階であったが、B R C A 1 及び B R C A 2 中の変異は乳癌への遺伝的感受性のほんの一部しか説明しないことが明らかになってきている (Nathanson, K.L. et al. Human Mol. Gen. 10(7):715- 720 (2001); Anglican Breast cancer Study Group. Br. J. Cancer 53(10):1301-08 (2000); 及び Syrjakoski K. et.al., J. Natl. Cancer Inst. 92: 1529-31 (2000))。乳癌に対する療法へのかなりの研究にもかかわらず、乳癌は診断及び有効に治療するのが困難なまま残されており、乳癌患者で觀察される高い死亡率は、該疾患の診断、治療及び予防における改善を必要としている。

【 0 0 1 4 】

1 9 5 5 ~ 2 0 0 3 年にアイスランドで診断されたすべての癌の家族性の全国的な研究では、乳癌例の 1 ~ 5 等親血縁者において、d e C O D E が乳癌の増加したリスクを示し (Amundadottir et.al., PLoS Med. 1(3):e65 (2004); Lichtenstein P. et.al., N. Engl. J. Med. 343(2):78-85 (2000))、乳癌が 4 5 , 0 0 0 に近い双生児のコホートで試験されたすべての癌の中でも最も高い遺伝可能性を有することを著者は示している。女性においてすべての乳癌の 5 ~ 1 0 % のみが、B R C A 1、B R C A 2、p 5 3、p T E N 及び S T K 1 1 / L K B 1 のような常染色体優性遺伝子中の変異による遺伝的感受性に関連する (Mincey, B. A. Oncologist 8:466-73 (2003))。染色体 8 p 上の遺伝子座位が、散在性乳癌中のこの領域でのアレル喪失を記録する研究に基づいて、乳癌感受性遺伝子の座位であると提案された (Seitz, S. et al., Br. J. Cancer 76:983-91 (1997); Kerangueven, F. et al., Oncogene 10:1023 (1995))。研究は、乳癌感受性遺伝子は 1 3 q 2 1 上に位置しているであろうことも示唆した (Kainu, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:9603-08 (2000))。しかしながら、前立腺癌の場合のように、追加の乳癌 - 感受性遺伝子の同定は困難であった。

【 0 0 1 5 】

肺癌は、世界中でいずれか他の型の癌よりもより多くの死を引き起こす (Goodman, G.E., Thorax 57:994-999 (2002))。米国において、肺癌は、男性及び女性の両方で、癌死因の第 1 位である。2 0 0 2 年に、肺癌からの死亡率は 1 3 4 , 9 0 0 人と見積もられ、乳、前立腺及び結腸を合わせた総計を超えている。肺癌は、欧州の国々でも癌死因の 1 位であり、途上国において急速に増加している。生活スタイル因子 (例えば、喫煙) 及び食事要因のような環境因子が肺癌において重要な役割を果たしているが、遺伝的因子も該疾患に寄与している。例えば、発癌物質活性化の原因となる酵素のファミリー、分解及び続いての D N A 修復が肺癌への感受性に関係付けられている。研究により、p 5 3 及び R B / p 1 6 の両方の経路における欠損が肺上皮細胞の悪性の形質転換に必須であることを明らかにした (Yokota, J. and T. Kohno, cancer Sci 95(3):197-204 (2004))。K - r a s、P T E N 及び M Y O 1 8 B のような他の遺伝子は、肺癌細胞において p 5 3 及び R B / p 1 6 ほど頻繁には一般には改変されておらず、これらの遺伝子はさらなる悪性進行又は肺癌細胞の下位集団における独特の表現型に関係していることを示唆している。p 5 3 変異及び R B / p 1 6 欠失の部位で実施された分子フットプリント (footprint) 研究は、D N A 修復活性及び D N A 二本鎖中断の非相同的末端結合化が、肺癌細胞における遺伝子変化の蓄積に重要であることを実証した。加えて、研究は、肺腺癌感受性遺伝子候補、例えば、N Q O 1 (N A D (P) H : キノンオキシドレダクターゼ) 及び G S T T 1 (グルタチオン S トランスフェラーゼ T 1) のような薬剤発癌物質代謝遺伝子、及び X R C C 1 (X 線交叉相補的グループ 1) のような D N A 修復遺伝子を同定した (Yanagitani, N. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 12:366-71 (2003); Lin, P. et al., J. Toxicol. Environ. Health A. 58:187-97 (1999); Divine, K.K. et al., Mutat. Res. 461:273-78 (2001); Sunaga, N. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 11:730-38 (2002))。座位 D 1 9 S 2 4 6 を包含する染色体 1 9 q 1 3 . 3 の領域も、肺腺癌に関連する遺伝子 (単数又は複数) を含有すると示唆された (Yanagitani, N. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 12: 366-71 (2003))。4 8 年を超えてアイスランドで診断されたすべての肺癌例を解析することにより、核家族の外側の家族メンバーへの増加

したリスクが d e C O D E 遺伝学者により示された。この増加したリスクは喫煙では完全に説明することができず、遺伝子変異体が特定の個体を肺癌にかかりやすくしてもよいことを示している (Jonson et.al., JAMA 292(24):2977-83 (2004); Amundadottir et.al., PLoS Med. 1(3):e65 (2004))。

診断時での疾患の段階に関わらず、すべての肺癌患者の 5 年生存率はただの 13% である。このことは、疾患が未だ局在化している間に検出されたケースの 46% の 5 年生存率と対照的である。しかしながら、16% のみの肺癌しか、疾患が広がる前に発見されていない。疾患が進行した段階に達するまではほとんど臨床的徴候が観察されないで、早期検出は困難である。現在、診断は胸 X 線、痰に含まれている細胞型の分析及び気管支通路の光ファイバー試験の使用により補助されている。治療計画は癌のタイプ及び段階により決定され、外科手術、放射線療法及び / 又は化学療法が含まれる。この及び他の癌に対する療法へのかなりの研究にもかかわらず、肺癌は診断及び有効に治療するのが困難なまま残されている。従って、こうした癌を検出する及び治療するための改善された方法に対する大きな要求が存在する。

【0016】

悪性黒色腫の発生は、北アメリカにおいてヒト癌のいずれの他の型よりも急速に増加している (Armstrong et al., Cancer Surv. 19-20:219-240 (1994))。黒色腫は早期段階で同定された場合には治癒可能であるが、それが遠位の部位へ広がる前の検出及び原発性腫瘍の除去を必要とする。悪性黒色腫は転移する大きな性向を有し、化学療法及び - 照射のような慣用的癌治療に抵抗することで有名である。一度転移が生じたら、予後は非常に悪い。それ故、黒色腫の早期検出は、黒色腫治療及び制御において極めて重要である。

【0017】

研究は、正常色素細胞から異型母斑へ、それから侵襲的原発性黒色腫及び最後に進行性転移能を有する細胞への段階的進行に、遺伝的因子が重要な役割を果たしていることを実証した (Kim, C. J., et al., Cancer Control 9(1):49-53 (2002))。例えば、腫瘍抑制遺伝子を内部に有する染色体 1 上の再編成のような遺伝子異常が、悪性黒色腫で関係付けられている。上記文献。しかしながら、どのように成人皮膚の正常メラニン細胞が黒色腫細胞に形質転換するのかについての分子及び生物学的機構は明らかでないままである。

【0018】

多様な研究が、黒色腫における遺伝的因子を意味づけてきた。例えば、早期発症黒色腫についての上昇した家族性リスクがユタ (Utah) 集団データベースの検討により注目された (Cannon-Albright, L.A., et al., Cancer Res., 54(9):2378-85 (1994))。加えて、Swedish Family-Cancer Database は、罹患した親又は同胞を有する個体における皮膚悪性黒色腫 (CMM) について、各々 2.54 及び 2.98 の家族性標準化罹患比 (SIR) を報告した。多発性原発性黒色腫を有していた両親の子孫では、SIR は 61.78 に上昇した (Hemminki, K., et al., J. Invest. Dermatol. 120(2):217-23 (2003))。Amundadottir et al. (PLoS Med. 1(3):e65 (2004)) によるアイスランド人集団に基づいた研究において、匹敵する SIR 値が観察された。形は変化しているが、CMM ケースの約 10% は家族性であることが報告されている (Hansen, C. B., et al., Lancet Oncol. 5(5):314-19 (2004))。黒色腫についての既知の環境リスク要因から判断すると、遺伝子に加えて共有環境がこれらの見積りに組み入れられるようである。しかしながら、家族性のケースは多発性原発性腫瘍の低年齢での発症及び高いリスクを有する傾向があり、遺伝的要素を示唆している (例えば、Tucker M., Oncogene 22f20:3042-52 (2003) を参照されたい)。しかしながら、どのようにして正常メラニン細胞が黒色腫細胞に形質転換するかについての分子的及び生物学的機構は明らかにされていない。

一連の連鎖に基づいた研究は、Chr 9p21 上の CDKN2a を主 CMM 感受性遺伝子として関連づけた (Bataille, V., Eur. J. Cancer 39(10):1341-47 (2003))。CDK4 はそれらのすぐ後ろの経路候補として同定されているが、CDK4 中の変異は世界中で数家族でのみしか観察されていない (Zuo, L., et al., Nat. Genet. 12(1):97-99 (1996))。CDKN2a は CDK4 及び CDK6 を阻害するサイクリン依存性キナーゼインヒビ

10

20

30

40

50

ター p 1 6 をコードし、それにより G 1 から S への細胞周期通過を防止する。C K D N 2 a の別の転写体は、M D M 2 - p 5 3 経路を介して作用する細胞周期阻害剤をコードする p 1 4 A R F を産生する。C D K N 2 a 突然変異体メラニン細胞は、発生状態で又は D N A 損傷に応答して、細胞周期制御又は老化の確立が欠損しているようである (Ohtani, N., et al., J. Med. Invest. 51(3-4):146-53 (2004))。家族性 C M M ケースにおける C D K N 2 a 突然変異体の全表現率は 8 0 歳で 6 7 % である。しかしながら、表現率は高黒色腫有病率の領域で増加している (Bishop, D.T., et al., J. Natl. Cancer Inst. 94(12):894-903 (2002))。

【 0 0 1 9 】

Melanoma Genetics Consortium は、主としてオーストラリア人の、9 p 2 1 又は C D K 4 非連鎖高リスク家族の組を使用して、C M M についての全ゲノムスキャンを完成した (Gillanders, E., et al., Am. J. Hum. Genet. 73(2):301-13 (2003))。1 0 c M 分解能スキャンは、1 p 2 2 領域において 2 . 0 6 のノンパラメトリック多点 L O D スコアを与えた。染色体 4、7、1 4、及び 1 8 上の他の位置は 1 . 0 を上回る L O D を与えた。1 p 2 2 に対する追加のマーカー及び発症年齢制限の適用により、5 . 0 を上回るノンパラメトリック L O D が観察された。証拠は腫瘍抑制遺伝子の高表現率変異がこの位置に存在することを示唆しているが、L O H のパターンは複雑である (Walker, G. J., et al., Genes Chromosomes Cancer, 41(1):56-64 (2004))。

【 0 0 2 0 】

C M M で関係付けられた別の遺伝子座は、メラノコルチン 1 レセプター (M C 1 R) をコードするものである。M C 1 R はフェオメラニンからのユーメラニン合成のスイッチの促進に関与する G タンパク質結合レセプターである。M C 1 R 遺伝子の多数のよく特徴付けられた変異体が、赤毛、青白肌、そばかすがちな表現型と関係付けられている。赤毛の個体の半分以上が、少なくとも一つのこれらの M C 1 R 変異体を運んでいる (Valverde, P., et al., Nat. Genet. 11(3):328-30 (1995); Palmer, J.S., et al., Am. J. Hum. Genet. 66(1): 176-86 (2000))。その後、同一の変異体が、単一変異体について約 2 . 0 の、及び形成されたヘテロ接合体について約 4 . 0 のオッズ比で C M M に対するリスクを与えることが示された。最近の研究は、より強い M C 1 R の変異体は C D K N 2 a 突然変異の表現率を増加し、発症の年齢を低下させることを示した (Box, N.F., et al., Am. J. Hum. Genet. 69(4): 165-13 (2001); van der Velden, P. A., et al., Am. J. Hum. Genet. 69(4):774-79 (2001))。

多数の他の候補遺伝子が C M M において関係付けられている。例えば、癌ゲノミクスにおける画期的な研究は、6 0 % の黒色腫において B R A F (v - r a f マウス肉腫ウイルス腫瘍遺伝子のヒト B 1 相同体) 中の体細胞突然変異を同定した (Davies, H., et al., Nature 417 (6892):949-54 (2002))。変異は同胞でも共通であり (定型及び非定型の両方)、突然変異は早期の事象であることを示唆している。上記文献。生殖系列変異は報告されていないが、しかしながら、B R A F の生殖系列 S N P 変異体が C M M リスクと関係付けられている (Meyer, P., et al., J. Carcinog. 2(1):7(2003))。関連性研究を介して同定され、及び C M M リスクと関係付けられている他の候補遺伝子には、例えば、X R C C 3、X P D、E G F、V D R、N B S 1、C Y P 2 D 6 及び G S T M 1 が含まれる (Hayward, N.K., Oncogene. 22(20):3053-62 (2003))。しかしながら、こうした関連性研究は、しばしば小さなサンプルサイズ、単一 S N P s への信頼性及び集団層別化可能性に悩まされる。

明らかに、特定の形態の癌 (例えば、前立腺癌、乳癌、肺癌、黒色腫、結腸癌、精巣癌) への感受性の原因となるマーカー及び遺伝子の同定は、現在の腫瘍学が直面している一つの主要な挑戦である。癌の原因となっている経路のいくつかは、癌の異なった形態で共有されている。その結果、癌の一つの特定の形態について同定された遺伝的リスク因子は、他の癌タイプについてのリスク因子も示すことができる。これらのリスク因子を利用する診断及び治療法は、それ故共通の有用性も有することができる。従って、こうしたリスク因子を標的とするように開発された療法的尺度は、リスク因子が本来同定された癌のみで

10

20

30

40

50

なく、一般に癌に意味を有することができる。癌の早期検出及び治療についてのより積極的スクリーニング及び治療介入計画を開始できるように、癌への遺伝的感受性を有する個体の早期検出のための手段を同定する必要がある。癌遺伝子は、操作することができる（例えば、小又は大分子量薬剤を使用して）鍵となる分子経路も明らかにし、及び特定の癌が最初に診断された時の癌段階に関わらず、より有効な治療に導くことができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0021】

【特許文献1】米国公開特許出願番号20030099964

【特許文献2】米国公開特許出願番号20030170665

10

【特許文献3】米国公開特許出願番号20040023237

【特許文献4】米国公開特許出願番号20040146870

【特許文献5】米国特許番号5,143,854

【特許文献6】PCT特許出願番号WO90/15070

【特許文献7】PCT特許出願番号WO92/10092

【特許文献8】米国特許番号5,424,186

【特許文献9】米国特許番号5,384,261

【特許文献10】公開PCT出願番号WO95/11995

【特許文献11】米国特許第5,223,409号

20

【特許文献12】PCT公開番号WO92/18619

【特許文献13】PCT公開番号WO91/17271

【特許文献14】PCT公開番号WO92/20791

【特許文献15】PCT公開番号WO92/15679

【特許文献16】PCT公開番号WO93/01288

【特許文献17】PCT公開番号WO92/01047

【特許文献18】PCT公開番号WO92/09690

【特許文献19】PCT公開番号WO90/02809

【非特許文献】

【0022】

【非特許文献1】Jemal, A. et al., CA Cancer J. CHn. 52:23-47 (2002)

30

【非特許文献2】Peschel, R.E. and J.W. Colberg, Lancet 4:233-41 (2003)

【非特許文献3】Nelson, W.G. et al., N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003)

【非特許文献4】Simard, J. et al., Endocrinology 143(6):2029-40 (2002)

【非特許文献5】Nelson, W.G. et al., N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003)

【非特許文献6】Lichtenstein P. et al., N. Engl. J. Med. 343(2):78-85 (2000)

【非特許文献7】Amundadottir et al., PLoS Medicine 1(3):e65 (2004)

【非特許文献8】Ries, L.A.G. et al., NIH Pub. No. 99-4649 (1999)

【非特許文献9】Punglia et al., N Engl J Med. 349(4):335-42 (2003)

【非特許文献10】Punglia et al., N Engl J Med. 349(4):335-42 (2003)

40

【非特許文献11】Cookston, M.S., Cancer Control 8(2):133-40 (2001);

【非特許文献12】Thompson, I.M. et al., N Engl J Med. 350:2239-46 (2004)

【非特許文献13】Mistry K.J., Am. Board Fam. Pract.16(2):95-101 (2003)

【非特許文献14】Simard, J. et al., Endocrinology 143(6):2029-40 (2002)

【非特許文献15】Simard, J. et al., Endocrinology 143(6):2029-40 (2002)

【非特許文献16】Nwosu, V. et al., Hum. Mol. Genet. 10(20):2313-18 (2001)

【非特許文献17】Ostrander E.A. and J. L. Stanford, Am. J. Hum. Genet. 67:1367-75 (2000)

【非特許文献18】Simard, J. et al., Endocrinology 143(6):2029-40 (2002)

【非特許文献19】Actane consortium, Schleutker et al., Wiklund et al., Witte et al., Janer et al., Xu et al., Lange et al., Cunningham et al.; すべてProstate,

50

vol. 57 (2003)

- 【非特許文献 2 0】Carpten, J. et al., Nat. Genet. 30:181-84 (2002)
- 【非特許文献 2 1】Casey, G. et al., Nat. Genet. 32(4):581-83 (2002)
- 【非特許文献 2 2】Rokman, A. et al., Am J. Hum. Genet. 70:1299-1304 (2002);
- 【非特許文献 2 3】Rennert, H. et al., Am J. Hum. Genet. 77:981-84 (2002)
- 【非特許文献 2 4】Stanford, J. L., Cancer Epidemiol. biomarkers Prev. 12(9):876-81 (2003)
- 【非特許文献 2 5】Wang, L. et al., Am. J. Hum. Genet. 77:116-23 (2002)
- 【非特許文献 2 6】Wiklund, F. et al., Clin. Cancer Res. 10(21):7150-56 (2004);
- 【非特許文献 2 7】Maier, C. et al., Br. J. Cancer 92(6):159-64(2005) 10
- 【非特許文献 2 8】Xu, J. et al., Nat. Genet. 32:321-25 (2002)
- 【非特許文献 2 9】Lindmark, F. et al., Prostate 59(2):132-40 (2004)
- 【非特許文献 3 0】Seppala, E. H. et al., CHn. Cancer Res. 9(14):5252-56 (2003);
- 【非特許文献 3 1】Wang, L. et al., Nat Genet. 35:128-29 (2003);
- 【非特許文献 3 2】Miller, D.C. et al., Cancer Res. 63(731):3486-89 (2003)
- 【非特許文献 3 3】Nelson, W. G. et al., N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003)
- 【非特許文献 3 4】Tavtigian, S.V., et al., Nat. Genet. 27:172-80 (2001)
- 【非特許文献 3 5】Rebbeck, T.R., et al., Am. J. Hum. Genet. 67(4):1014-19 (2000)
- 【非特許文献 3 6】Wang, L., et al., Cancer Res. 61(17):6494-99 (2001)
- 【非特許文献 3 7】Vesprini, D., et al., Am. J. Hum. Genet. 68(4):912-17 (2001); 20
- 【非特許文献 3 8】Shea, P.R., et al., Hum. Genet. 111 (4-5):398-400 (2002)
- 【非特許文献 3 9】Suarez, B.K., et al., Cancer Res. 61(13):4982-84 (2001)
- 【非特許文献 4 0】Severi, G., et al., J. Natl. Cancer Inst. 95(11):818-24 (2003)
- ;
- 【非特許文献 4 1】Fujiwara, H., et al., J. Hum. Genet. 47(12):641 -48 (2002);
- 【非特許文献 4 2】Camp, N.J., et al., Am. J. Hum. Genet. 71(6):1475-78 (2002)
- 【非特許文献 4 3】Nelson, W. G. et al., N. Engl. J. Med. 349(4):366-81 (2003)
- 【非特許文献 4 4】Chang, B. et al., Int. J. Cancer 95:354-59 (2001)
- 【非特許文献 4 5】Makridakis, N. M. et al., Lancet 354:975-78 (1999)
- 【非特許文献 4 6】Nam, R.K. et al., Urology 57:199- 204 (2001) 30
- 【非特許文献 4 7】Amundadottir LT., Nature Genet. 38(6):652-658 (2006))
- 【非特許文献 4 8】Porter-Jordan and Lippman, breast cancer 8:73-100 (1994)
- 【非特許文献 4 9】Nathanson, K.L. et al., Human Mol. Gen. 10(7):715-720 (2001)
- 【非特許文献 5 0】Anglican Breast Cancer Study Group. Br. J. Cancer 83(10); 1301-08 (2000)
- 【非特許文献 5 1】Syrjakoski K. et al., J. Natl. Cancer Inst. 92:1529-31 (2000)
- 【非特許文献 5 2】Amundadottir et al., PLoS Med. 1(3):e65 (2004)
- 【非特許文献 5 3】Lichtenstein P. et al., N. Engl. J. Med. 343(2):78-85 (2000)
- 【非特許文献 5 4】Mincey, B.A. Oncologist 8:466-73 (2003)
- 【非特許文献 5 5】Seitz, S. et al., Br. J. Cancer 76:983-91 (1997) 40
- 【非特許文献 5 6】Kerangueven, F. et al., Oncogene 10:1023 (1995)
- 【非特許文献 5 7】Kainu, T. et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 97:9603-08 (2000)
- 【非特許文献 5 8】Goodman, G.E., Thorax 57:994-999 (2002)
- 【非特許文献 5 9】Yokota, J. and T. Kohno, Cancer Sci. 95(3): 197-204 (2004)
- 【非特許文献 6 0】Yanagitani, N. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 12:366-71 (2003)
- 【非特許文献 6 1】Lin, P. et al., J. Toxicol. Environ. Health A. 58:187-97 (1999)
- 【非特許文献 6 2】Divine, K.K. et al., Mutat. Res. 461:273-78 (2001)
- 【非特許文献 6 3】Sunaga, N. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 11:730-3 50

8 (2002)

【非特許文献 6 4】Yanagitani, N. et al., Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 12:366-71 (2003)

【非特許文献 6 5】Jonson et al., JAMA 292(24):2977-83 (2004)

【非特許文献 6 6】Amundadottir et al., PLoS Med. 1(3):e65 (2004)

【非特許文献 6 7】Armstrong et al., Cancer Surv. 19-20:219-240 (1994)

【非特許文献 6 8】Kim, C.J., et al., Cancer Control 9(1):49-53 (2002)

【非特許文献 6 9】Cannon-Albright, L.A., et al., Cancer Res., 54(9):2378-85 (1994)

【非特許文献 7 0】Hemminki, K., et al., J. Invest. Dermatol. 120(2):217-23 (2003) 10

【非特許文献 7 1】Amundadottir et al., PLoS Med. 1(3):e65 (2004)

【非特許文献 7 2】Hansen, C.B., et al., Lancet Oncol. 5(5):314-19 (2004)

【非特許文献 7 3】Tucker M., Oncogene 22(20):3042-52 (2003)

【非特許文献 7 4】Bataille, V., Eur. J. Cancer 39(10):1341-47 (2003)

【非特許文献 7 5】Zuo, L., et al., Nat. Genet. 12(1):97-99 (1996)

【非特許文献 7 6】Ohtani, N., et al., J. Med. Invest. 51(3-4):146-53 (2004)

【非特許文献 7 7】Bishop, D.T., et al., J. Natl. Cancer Inst. 94(12):894-903 (2002)

【非特許文献 7 8】Gillanders, E., et al., Am. J. Hum. Genet. 73(2):301-13 (2003) 20

【非特許文献 7 9】Walker, G.J., et al., Genes Chromosomes Cancer, 41(1):56-64 (2004)

【非特許文献 8 0】Valverde, P., et al., Nat. Genet. 11(3):328-30 (1995)

【非特許文献 8 1】Palmer, J. S., et al., Am. J. Hum. Genet. 66(1):176-86 (2000)

【非特許文献 8 2】Box, N. F., et al., Am. J. Hum. Genet. 69(4):165-73 (2001)

【非特許文献 8 3】van der Velden, P.A., et al., Am. J. Hum. Genet, 69(4):774-79 (2001)

【非特許文献 8 4】Davies, H., et al., Nature 417(6892):949-54 (2002)

【非特許文献 8 5】Meyer, P., et al., J. Carcinog. 2(1):7 (2003)

【非特許文献 8 6】Hayward, N. K., Oncogene, 22(20):3053-62 (2003) 30

【発明の概要】

【0023】

本明細書に記載したように、染色体 8 q 2 4 . 2 1 内の特定の DNA セグメント中の特定のマーカー、ハプロタイプが特定の癌に対する感受性を示すことが発見された。

第一の側面において、本発明は、ヒト個体における癌への感受性を診断するための方法に関し、該個体から得られた核酸サンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは配列番号 2 と関連しており、該少なくとも一つのアレルの存在は、癌への感受性を示す。一つの態様において、該少なくとも一つのマーカーは、配列番号 1 と関連している。別の態様において、該少なくとも一つのマーカーは、そのヌクレオチド配列が配列番号 2 に示されているゲノム領域内に位置している。他の態様において、該少なくとも一つのマーカーは、そのヌクレオチド配列が配列番号 1 に示されているゲノム領域内に位置している。一つの好ましい態様において、該少なくとも一つの多型マーカーは、表 5 A、5 B 及び 5 C に示したマーカーの群から選択される少なくとも一つのマーカーを含んでなる。連鎖不平衡の性質により、本発明は連鎖不平衡にある多様な多型マーカーを使用して実施することができる。それ故、別の態様において、該少なくとも一つのマーカーは、表 4 A 及び 4 B のマーカーから成る群より選択される一つ又はそれ以上のマーカーと、 $|D'| > 0.8$ 及び $r^2 > 0.2$ により定義される強い連鎖不平衡にある Chr 8 q 2 4 . 2 1 内の少なくとも一つのマーカーを含んでなる。別の態様において、該少なくとも一つの多型マーカーは、Hap C と連鎖不平衡にある。一つの好ましい態様において、 40 50

該少なくとも一つのマーカーは、マーカー rs 1 6 9 0 1 9 7 9（配列番号：73）及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーである。別の好ましい態様において、該少なくとも一つのマーカーは、表4A及び4Bに示したマーカーから選択される。

【0024】

本発明のいくつかの態様において、癌への感受性を診断する方法はさらに、該個体中の少なくとも一つのハプロタイプの頻度を評価することを含んでなる。該ハプロタイプは、一つのこうした態様において、マーカー rs 1 4 5 6 3 1 4 アレル G、rs 1 7 8 3 1 6 2 6 アレル T、rs 7 8 2 5 4 1 4 アレル G、rs 6 9 9 3 5 6 9 アレル G、rs 6 9 9 4 3 1 6 アレル A、rs 6 4 7 0 4 9 4 アレル T、rs 1 0 1 6 3 4 2 アレル C、rs 1 0 3 1 5 8 8 アレル G、rs 1 0 1 6 3 4 3 アレル T、rs 1 5 5 1 5 1 0 アレル G、rs 1 4 5 6 3 0 6 アレル C、rs 1 3 7 8 8 9 7 アレル G、rs 1 4 5 6 3 0 5 アレル T、rs 7 8 1 6 5 3 5 アレル G を含んでなる。

10

【0025】

本発明の特定の態様において、感受性は相対リスク（RR）についての値により表される。他の態様において、該感受性はオッズ比（OR）により表される。癌への感受性を診断する方法の特定の態様において、該感受性は、1より大きなRR又はORの値により特徴付けられる増加した感受性である。他の態様において、該感受性は、1未満のRR又はOR値により特徴付けられる減少した感受性である。本発明の特定の態様において、該増加した感受性は、少なくとも1.7の相対リスク、少なくとも2.0の相対リスク、少なくとも2.5の相対リスク、少なくとも3.0の相対リスク、少なくとも3.5の相対リスク及び少なくとも4.0の相対リスクを含む少なくとも1.5の相対リスクにより特徴付けられる。他の態様は、少なくとも1.75、2.25、2.75、3.25、3.75などの相対リスクにより特徴付けられる。相対リスクについての他の値も、しかしながら本発明の範囲内である。

20

【0026】

本発明の特定の他の態様において、特定のアレル又はハプロタイプが、集団中よりも患者において頻度が減少していることが観察されている。それ故、特定のアレル又はハプロタイプが、母集団中よりも、特別の癌（例えば、前立腺癌）を有する又はアットリスクと診断された個体において頻度が減少していることが観察されている。こうしたマーカーは、該癌に対する保護、又はこれらの障害を発生する減少した感受性を示す。減少した感受性は、特定の態様において、0.6未満の相対リスク、0.5未満の相対リスク、0.4未満の相対リスク、0.35未満の相対リスク、0.3未満の相対リスク及び0.25未満の相対リスクを含む0.7未満の相対リスクにより特徴付けられる。しかしながら減少した感受性又は減少したリスクを特徴付けている相対リスクの他の値も可能であり、そして本発明の範囲内であり、限定されるわけではないが、0.8未満、0.75未満、0.65未満、0.55未満、0.45未満、0.20未満などが含まれる。

30

【0027】

本発明の方法の特定の態様において、該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプは、癌の増加した感受性を与える該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプを有する、rs 1 6 9 0 1 9 7 9 アレル 1 を含んでなる。別のこうした態様において、該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプはマーカー rs 1 6 9 0 1 9 7 9 アレル 1 である。本発明の方法の他の特別の態様において、該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプは、癌の増加した感受性を与える該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプを有する、rs 1 6 9 0 1 9 7 9 アレル 2 を含んでなる。別のこうした態様において、該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプはマーカー rs 1 6 9 0 1 9 7 9 アレル 2 である。

40

【0028】

本発明の方法の特定の態様において、該癌は、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黒色腫瘍から成る群より選択される。好ましい態様において、該癌は前立腺癌である。

【0029】

50

該前立腺癌は、一つの態様において7(4+3)~10の合計グリーンスコアにより定義される進行性の前立腺癌である。該前立腺癌は、別の態様において2~7(3+4)の合計グリーンスコアにより定義されるより低い進行性の前立腺癌である。一つの態様において、該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプは、より進行性の前立腺癌及び/又はより悪い予後を示す。

【0030】

本発明の方法の別の態様は、特定の治療様式に対する対象の異なった奏功率を示しているマーカー又はハプロタイプの存在に関する。別の態様において、該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプの存在は、腫瘍又はその前駆体におけるChr8q24.21の体細胞再構成の素因を示す。一つのこうした態様において、該体細胞再構成は増幅、転座、挿入及び欠失から成る群より選択される。

10

【0031】

本発明の方法、使用及びキットは、特定の態様において、特定の祖先を有する個体に関し得る。それ故、本発明の一つの態様において、該個体は特定の祖先を有する。別の態様において、該祖先はブラックアフリカ人祖先である。本明細書でさらに詳細に記述されるように、本発明の方法により評価されるべき個体は他の祖先でも可能であり、そして本発明の範囲内でもある。一つの態様において、祖先は自己申告されている。別の態様において、該祖先は該個体からのサンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを検出することにより決定され、該アレルの存在又は不存在は該個体の祖先を示す。

20

【0032】

本発明の別の側面は、癌への感受性を評価することに使用するためのマーカーの同定の方法に関し、該方法は

- a. 配列番号2内の少なくとも一つの多型マーカー又はそれらと連鎖不平衡にある少なくとも一つの多型マーカーを同定すること；
- b. 前立腺癌と、又は感受性を有すると診断された個体のサンプルの遺伝子型状態を決定すること；及び
- c. 対照個体のサンプルの遺伝子型状態を決定すること；

を含んでなり、対照サンプル中の少なくとも一つのアレルの頻度と比較して、前立腺癌と、又は感受性を有すると診断された個体における少なくとも一つの多型中の少なくとも一つのアレル頻度の有意な相違は、癌への感受性を評価するために有用である少なくとも一つの多型を示す。

30

【0033】

連鎖不平衡は、一つの特定の態様において、0.2より大きな r^2 数値及び/又は0.8より大きな $|D'|$ の数値により特徴付けられる。別の態様において、該少なくとも一つの多型マーカーはHapC及び/又はrs16901979マーカーと、0.2より大きな r^2 の数値及び/又は0.8より大きな $|D'|$ の数値により特徴付けられる連鎖不平衡にある。別の態様において、対照サンプル中の少なくとも一つのアレルの頻度と比較して、癌と診断された、又は感受性を有する個体における少なくとも一つの多型中の少なくとも一つのアレル頻度の増加は、癌への増加した感受性を評価するために有用である少なくとも一つの多型を示す。さらに別の態様において、対照サンプル中の少なくとも一つのアレルの頻度と比較して、落屑症候群と診断された、又は感受性を有する個体における少なくとも一つの多型中の少なくとも一つのアレル頻度の減少は、癌への減少した感受性、又は癌に対する保護を評価するために有用である少なくとも一つの多型を示す。

40

【0034】

本発明は、別の側面において、癌についてアットリスクにある、又は癌と診断されたヒト個体から得られた核酸サンプルを遺伝子型同定する方法に関し、該サンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つのマーカーは、表4A及び4Bに示したマーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、及び該少なくとも一つの多型マ

50

カーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在は癌の感受性を示す。一つの態様において、該少なくとも一つのマーカーは rs 16901979 (配列番号: 73) 及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーである。別の態様において、連鎖不平衡は、少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び ρ 又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の数値により決定される。別の態様において、該遺伝子型同定は、該少なくとも一つの多型マーカーに隣接するヌクレオチドプライマー対を使用する by ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) により、該少なくとも一つの多型マーカーを含んでなる核酸のセグメントを増幅することを含んでなる。さらに別の態様において、遺伝子型同定は、アレル特異的プローブハイブリダイゼーション、アレル特異的プライマー伸長法、アレル特異的増幅、核酸シーケンシング、 $5'$ -エキソヌクレアーゼ消化、分子ビーコン (beacon) アッセイ、オリゴヌクレオチドライゼーション

10

【0035】

発明に従った遺伝子型同定の方法の一つの態様において:

1) 該核酸のコピーと検出オリゴヌクレオチドプローブ及びエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブを、該オリゴヌクレオチドプローブと該核酸の特異的ハイブリダイゼーションのための条件下で接触させること; ここで

a) 該検出オリゴヌクレオチドプローブは $5 \sim 100$ ヌクレオチド長であり、そのヌクレオチド配列が少なくとも一つの多型部位を含んでなる配列番号 2 により与えられる核酸の第一のセグメントに特異的にハイブリダイズし;

20

b) 該検出オリゴヌクレオチドプローブは、その $3'$ 末端に検出可能標識を、及びその $5'$ 末端にクエンチング部分を含んでなり;

c) 該エンハンサーオリゴヌクレオチドは $5 \sim 100$ ヌクレオチド長であり、両方のオリゴヌクレオチドが該核酸にハイブリダイズされた時、該エンハンサーオリゴヌクレオチドが該検出オリゴヌクレオチドプローブに関して $3'$ に位置されるように、該オリゴヌクレオチドプローブに関して $5'$ にある該ヌクレオチド配列の第二のセグメントに相補的であり; 及び

d) 該オリゴヌクレオチドプローブ及びエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブが両方とも該核酸にハイブリダイズされた時、該オリゴヌクレオチド間に単一塩基ギャップが存在するように、第一のセグメント及び第二のセグメント間に単一塩基ギャップが存在する;

30

2) 検出プローブが該核酸にハイブリダイズされた時、該検出プローブの $3'$ 末端から検出可能標識を切断して遊離検出可能標識を放出するであろうエンドヌクレアーゼで該核酸を処理すること; 及び

3) 遊離検出可能標識を測定すること、ここで遊離検出可能標識の存在は、該検出プローブが該核酸の第一のセグメントへ特異的にハイブリダイズされたことを示し、及び検出プローブの補体としての多型部位の配列を示す。

【0036】

40

特定の態様において、該核酸のコピーは、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) による増幅によって提供される。いくつかの態様において、検出されるべき感受性は増加した感受性である。他の態様において、該感受性は、減少した感受性である。特定の態様において、該癌は、前立腺癌、結腸癌、乳癌、肺癌、精巣癌及び黒色腫から選択される。好ましい態様において、癌は前立腺癌である。一つのこうした態様において、前立腺癌は、 $7(4+3) \sim 10$ の合計グリーソンスコアにより定義される進行性の前立腺癌である。別のこうした態様において、該前立腺癌は、 $2 \sim 7(3+4)$ の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性の前立腺癌である。

【0037】

癌への感受性を評価するために使用するためのマーカーの同定法、及び遺伝子型同定の

50

方法は、いくつかの態様において、特定の祖先を有する個体を実施される。一つのこうした態様において、該祖先はブラックアフリカ人祖先である。本明細書において詳細に記述されるように、他の祖先も本発明の範囲内である。祖先は、一つの態様において、自己申告されている。別の態様において、該祖先は該個体からのサンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを検出することにより決定され、該アレルの存在又は不存在は該個体の祖先を示す。

【0038】

本発明の別の側面は、癌に関連する症状を予防する及び／又は寛解するための療法剤への応答の可能性について個体を評価する方法に関し：個体から得られた核酸サンプル中の、少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは、表5A、5B及び5Cに掲げた多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、該少なくとも一つのマーカーの少なくとも一つのアレルの存在は、落屑症候群及び／又は緑内障療法剤に関連した症状に陽性応答の可能性を示す。本発明の別の側面は、癌と診断された個体の予後を予測する方法に関し、該方法は、個体から得られた核酸サンプル中の、少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは、表5A、5B及び5Cに掲げた多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、該少なくとも一つのアレルの存在は、個体の癌のより悪い予後を示す。本発明のさらに別の側面は、癌の治療を行っている個体の治療の予後をモニターする方法に関し、該方法は個体から得られた核酸サンプル中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を決定することを含んでなり、該少なくとも一つの多型マーカーは、表5A、5B及び5Cに掲げた多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、該少なくとも一つのアレルの存在は、個体の治療結果を示す。これらの側面のいずれかにおいて、該少なくとも一つの多型マーカーは、一つの態様において、rs16901979（配列番号：73）及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーである。別の態様において、連鎖不平衡は、少なくとも0.2の r^2 の数値及び／又は少なくとも0.8の $|D'|$ の値により定義される。一つの好ましい態様において、該癌は前立腺癌である。一つのこうした態様において、該前立腺癌は7（4+3）～10の合計グリーソンスコアにより定義される進行性の前立腺癌である。別の態様において、該前立腺癌は2～7（3+4）の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性の前立腺癌である。

【0039】

本発明の方法はこのように利用することができる。いくつかの態様において、本方法は本明細書に記載した他の有用な方法と組み合わせて利用することもできる。一つのこうした態様において、本方法は個体からのサンプル中の少なくとも一つのバイオマーカーを評価することをさらに含んでなる。該バイオマーカーは、本明細書に記載した方法に基づいた意志決定を助けるために有用ないずれの生物学的マーカーであってもよい。一つの態様において、該バイオマーカーはPSAである。別の態様において、該サンプルは血液サンプル又は癌生検サンプルである。しかしながら、本発明の実施に有用な、いずれかのヒト組織型からの他の体液又は組織サンプルのような、他のサンプルタイプも企図され、本発明の範囲内である。

【0040】

本発明の方法の他の態様は、個体のリスク評価、診断又は予後診断を行うため、非遺伝的情報を分析することをさらに含んでなる。一つの態様において、該非遺伝的情報は、年齢、性別、民族性、社会経済的地位、既往症診断、対象の病歴、癌の家族歴、生化学的測定及び臨床的測定から選択される。好ましい態様において、本方法は遺伝的及び非遺伝的情報に基づいた全リスクを計算することをさらに含んでなる。

【0041】

本発明の別の側面は、ヒト個体の癌への感受性を評価するためのキットに関し、該キットは、個体のゲノム中の少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを選択

的に検出するための試薬を含んでなり、該多型マーカーは、その配列が配列番号 2 に示されているセグメント内の多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから成る群より選択され、及び該少なくとも一つのアレルの存在は癌への感受性を示す。一つの態様において、該キットは、表 5 A、5 B 及び 5 C 及びマーカーに示されたマーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーの群より選択される少なくとも一つの多型マーカーを含んでなる。別の態様において、該少なくとも一つの多型マーカーは、表 4 A 及び 4 B に示されたマーカーの群より選択される。一つの好ましい態様において、該少なくとも一つの多型マーカーは、rs 16901979 (配列番号: 73) 及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから選択される。別の態様において、該少なくとも一つの多型マーカーは rs 16901979 である。一つの態様において、連鎖不平衡は、少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び / 又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の値により定義される。別の態様において、癌は、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黒色腫癌から選択される。好ましい態様において、該癌は前立腺癌である。一つのこうした態様において、該前立腺癌は 7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーソンスコアにより定義される進行性の前立腺癌である。別の態様において、該前立腺癌は 2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーソンスコアにより定義されるより低い進行性の前立腺癌である。

【0042】

本発明のキットは、本明細書に記載したように、本発明のいずれかの方法に使用することができる。それ故、本明細書に記載した少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルを特異的に検出する試薬を含んでなるキットは、当業者には明らかとなるであろうように、本明細書に記載したいずれかの方法に使用することができる。

【0043】

本発明のキットの一つの態様において、該試薬は、該少なくとも一つの多型マーカーを含んでなる該個体のゲノムの断片へハイブリダイズする少なくとも一つの近接するオリゴヌクレオチド、緩衝液及び検出可能な標識を含んでなる。一つの態様において、該試薬は、対象から得られたゲノム核酸セグメントの反対鎖にハイブリダイズする少なくとも一つのオリゴヌクレオチド対を含んでなり、各オリゴヌクレオチドプライマー対は、一つの多型マーカーを含む該個体のゲノムの断片を選択的に増幅するように設計されており、及び該断片は少なくとも 30 塩基対のサイズである。好ましい態様において、該少なくとも一つのオリゴヌクレオチドは該個体のゲノムと完全に相補的である。別の態様において、該オリゴヌクレオチドは約 18 ~ 約 50 ヌクレオチド長である。さらに別の態様において、該オリゴヌクレオチドは 20 ~ 30 ヌクレオチド長である。

【0044】

本発明のキットの一つの好ましい態様において、該キットは：

- a. 5 ~ 100 ヌクレオチド長である検出オリゴヌクレオチドプローブ；
- b. 5 ~ 100 ヌクレオチド長であるエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブ；及び
- c. エンドヌクレアーゼ酵素；

を含んでなり；

該検出オリゴヌクレオチドプローブは、そのヌクレオチド配列が少なくとも一つの多型部位を含んでなる配列番号 2 により与えられている核酸の第一のセグメントへ特異的にハイブリダイズし；及び

該検出オリゴヌクレオチドプローブは、その 3' 末端に検出可能な標識及びその 5' 末端にクエンチング部分を含んでなり；

該エンハンサーオリゴヌクレオチドは、5 ~ 100 ヌクレオチド長であり、両方のオリゴヌクレオチドが該核酸にハイブリダイズされた時、該エンハンサーオリゴヌクレオチドが該検出オリゴヌクレオチドプローブに関して 3' に位置されるように、該オリゴヌクレオチドプローブに関して 5' にある該ヌクレオチド配列の第二のセグメントに相補的であり；

該オリゴヌクレオチドプローブ及びエンハンサーオリゴヌクレオチドプローブが両方とも該核酸にハイブリダイズされた時、該オリゴヌクレオチド間に単一塩基ギャップが存在す

るように、第一のセグメント及び第二のセグメント間に単一塩基ギャップが存在し；及び該核酸をエンドヌクレアーゼで処理することは、該検出プローブが該核酸にハイブリダイズされた時、該検出プローブの 3' 末端から検出可能標識を切断して遊離検出可能標識を放出するであろう。

【0045】

本発明の別の側面は、ヒト個体における癌への感受性を診断する及び／又は評価するための診断試薬の製造におけるオリゴヌクレオチドプローブの使用に関し、該プローブは、そのヌクレオチド配列が、少なくとも一つの多型部位を含んでなる配列番号 2 により与えられている核酸のセグメントにハイブリダイズし、該断片は 15 ~ 500 ヌクレオチド長である。一つの態様において、該多型部位は表 5 A、5 B 及び 5 C に示された多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にある多型から選択される。別の態様において、該多型部位は rs16901979 (配列番号：73) である。一つの態様において、該癌は、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黒色腫瘍から選択される。好ましい態様において、該癌は前立腺癌である。一つのこうした態様において、該前立腺癌は 7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーンスコアにより定義される進行性の前立腺癌である。別の態様において、該前立腺癌は 2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーンスコアにより定義されるより低い進行性の前立腺癌である。

10

【0046】

さらに別の側面において、本発明は；

20

a. 少なくとも一つの多型マーカーのための識別子

b. 複数の癌と診断された個体における、前記少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの頻度の指標；及び

c. 複数の参照個体における、前記少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの頻度の指標；

該少なくとも一つの多型マーカーは表 5 A、5 B 及び 5 C に示された多型マーカー及びそれらと連鎖不平衡にある多型から選択される；

が保存されるコンピューター可読媒体に関する。

【0047】

一つの態様において、該多型部位は rs16901979 マーカー (配列番号：73)、及び少なくとも 0.2 の r^2 の数値及び／又は少なくとも 0.8 の $|D'|$ の値により定義される、それらと連鎖不平衡にあるマーカーである。別の態様において、該癌は、前立腺癌、結腸癌、乳癌、精巣癌、肺癌及び黒色腫瘍から選択される。好ましい態様において、該癌は前立腺癌である。一つのこうした態様において、該前立腺癌は 7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーンスコアにより定義される進行性の前立腺癌である。別の態様において、該前立腺癌は 2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーンスコアにより定義されるより低い進行性の前立腺癌である。

30

【0048】

いくつかの態様において、本発明に従ったコンピューター可読媒体は、複数の個体の祖先についての情報を含んでなる。別の態様において、癌と診断された複数の個体、及び複数の参照個体は、特定の祖先を有する。一つの態様において、該祖先はブラックアフリカ人先祖である。別の態様において、該先祖は自己申告されている。さらに別の態様において、該先祖は本明細書でさらに記載されるように、先祖を評価するための複数の多型マーカーを遺伝子型同定することにより遺伝的に決定される。

40

【0049】

本発明はさらに、ヒト個体における癌についての遺伝的指標を決定するための装置に関し；

コンピューター可読メモリ；及び

コンピューター可読メモリ上に保存されたルーチン (routine)；

を含んでなり、該ルーチンは、表 5 A、5 B 及び 5 C に示されたマーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカーから選択される少なくとも一つの多型マーカーに関する少なくと

50

も一つのヒト個体について、マーカー及び／又はハプロタイプ情報を分析するためにプロセッサで実行されるのに適合しており、そしてマーカー及び／又はハプロタイプ情報に基づいたアウトプットを発生し、該アウトプットはヒト個体についての癌の遺伝的指標としての該少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプのリスク尺度を含んでなる。一つの態様において、該ルーチンは、癌と診断された複数の個体における少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレル又は少なくとも一つのハプロタイプの頻度の指標、及び複数の参照個体における少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレル又は少なくとも一つのハプロタイプの頻度の指標をさらに含んでなり、そしてリスク尺度は、癌と診断された複数の個体についての該少なくとも一つのマーカー及び／又はハプロタイプ情報の頻度の指標とヒト個体についての該少なくとも一つのマーカー及び／又はハプロタイプ状態の比較に基づいている。

10

【0050】

一つの態様において、該少なくとも一つの多型マーカーは r^2 16901979 (配列番号: 73)、及び少なくとも0.2の r^2 の数値及び／又は少なくとも0.8の $|D'|$ の値により定義される、それらと連鎖不平衡にあるマーカーである。別の態様において、リスク尺度はオッズ比 (OR) 又は相対リスク (RR) により特徴付けられる。

【図面の簡単な説明】

【0051】

【図1】図1は、Chr 8q24.21 LDブロックC領域におけるLD構造 (HAPMAP) を示す。コーカサス人 (CEU) のLD構造が (A) に示されており、一方、ヨルバからのアフリカ人 (YRI) のLD構造が (B) に示されている。太い斜線はLDブロックC (配列番号1) の位置を示している。各マーカーは二つの連続したマーカー間が等しい間隔で、存在する順に示されている。

20

【図2】図2は、Chr 8q24.21領域中のLDブロックC' (配列番号2) のLD構造を示し、該領域の精微化された分析を示しており、その中に本明細書に記載した前立癌に関連する変異体が位置されている。コーカサス人 (CEU) のLD構造が (A) に示されており、一方、ヨルバからのアフリカ人 (YRI) のLD構造が (B) に示されている。太い斜線はLDブロックCの位置を示している。各マーカーは二つの連続したマーカー間が等しい間隔で、存在する順に示されている。

30

【発明を実施するための形態】

【0052】

発明の詳細な説明

定義

以下の用語は、本文脈において、示された意味を有する：

本明細書に記載した「多型マーカー」(「マーカー」と呼ばれることもある)とは、ゲノム多型部位を指す。各多型マーカーは、多型部位の特定のアレルに特徴的な少なくとも二つの配列変異を有する。それ故、多型マーカーへの遺伝的関連は、その特定の多型マーカーの少なくとも一つの特異的アレルとの関連があることを暗示する。該マーカーは、塩基変異多型 (SNPs)、マイクロサテライト、挿入、欠失、重複及び転座を含む、ゲノムで観察されるいずれかの変異体タイプのいずれかのアレルを含み得る。

40

【0053】

「アレル」とは、染色体上の所与の座位 (位置) のヌクレオチド配列を指す。多型マーカーアレルはそれ故、染色体上の該マーカーの組成 (即ち、配列) を指す。個体からのゲノムDNAは、各染色体上の該マーカーの各コピーを代表する、いずれかの所与の多型マーカーについての二つのアレルを含有する。

【0054】

集団 (天然の集団か又は合成的集団、例えば、合成分子のライブラリー) 中で一つより多くの配列が可能であるヌクレオチド位置が、本明細書中で「多型部位」と称される。

「単一ヌクレオチド多型」又は「SNP」は、種のメンバー間で又は個体中の対となった染色体間で、ゲノム中の特異的位置で単一ヌクレオチドが異なっている場合に生じるD

50

NA 配列変異である。ほとんどのSNP多型は二つのアレルを有する。各個体は、この場合、多型の一つのアレルについてホモ接合性であるか（即ち、個体の両方の染色体コピーはSNP位置で同一のヌクレオチドを有する）、又は該個体はヘテロ接合性である（即ち、該個体の二つの姉妹染色体は異ったヌクレオチドを含有する）。本明細書で報告されているSNP命名はNational Center for Biotechnology Information (NCBI)により、それぞれ独特のSNPと指定された公式Reference SNP(rs) ID 同定を指す。

【0055】

本明細書に記載した「変異体」とは、参照DNAとは異なっているDNAのセグメントを指す。本明細書に記載した「マーカー」又は「多型マーカー」は変異体である。参照と異なっているアレルは「変異体」アレルと称される。

10

【0056】

本明細書に記載したヌクレオチド又はタンパク質の「断片」は、ヌクレオチド又はタンパク質の全て又は一部を含んでなる。

本明細書に記載した「動物」とは、いずれの家庭動物（例えば、ネコ、イヌなど）、農業動物（例えば、ウシ、ウマ、ヒツジ、ニワトリなど）又は試験種（例えば、ウサギ、マウス、ラットなど）を指し、そしてヒトも含む。

【0057】

本明細書に記載した「マイクロサテライト」は、特定の部位に、2～8ヌクレオチド長である多数の小さな塩基のリピートを有する（CAリピートのような）多型マーカーであり、母集団中でリピート長の数は変化する。

20

【0058】

本明細書に記載した「インデル」は、典型的には数ヌクレオチド長である小さな挿入又は欠失を含んでなる多型の一般形態である。

本明細書に記載した「ハプロタイプ」とは、セグメントに沿って配置されたアレルの特異的組み合わせにより特徴付けされる、DNAの一つの鎖内のゲノムDNAのセグメントを指す。ヒトのような二倍体生物については、ハプロタイプは各多型マーカー又は座位について一対のアレルの一つのメンバーを含んでなる。特定の態様において、該ハプロタイプは二つ又はそれ以上のアレル、三つ又はそれ以上のアレル、四つ又はそれ以上のアレル、又は五つ又はそれ以上のアレルを含み得る。

【0059】

本明細書に記載した用語「感受性」とは、増加した感受性及び減少した感受性の両方を包含する。それ故、本発明の特定の多型マーカー及び/又はハプロタイプは、1より大きな相対リスク(RR)により特徴付けられるような、緑内障の増加した感受性（即ち、増加したリスク）により特徴付けることができる。もしくは、本発明の多型マーカー及び/又はハプロタイプは、1未満の相対リスクにより特徴付けられるような、緑内障の減少した感受性（即ち、減少したリスク）を特徴とする。

30

【0060】

本明細書に記載した「核酸サンプル」は、核酸(DNA又はRNA)を含有する、個体から得られたサンプルである。特定の態様において、特異的多型マーカー及び/又はハプロタイプの検出において、該核酸サンプルはゲノムDNAを含んでなる。こうした核酸サンプルは、血液サンプル、羊水のサンプル、脳脊髄液のサンプル、又は皮膚、筋肉、頬側又は結膜粘膜（頬側スワブ）、胎盤、消化管又は他の器官からの組織サンプルを含む、ゲノムDNAを含有する任意の起源のものであることが可能である。

40

【0061】

本明細書で使用される「Chr 8 q 24 . 21」及び「8 q 24 . 21」とは、UCSC Build 34中のおおよそ127,200,001～131,400,000bp位に相当する染色体バンド8 q 24 . 21を指す（www.genome.ucsc.eduのUCSC Genome browser Build 34から）。

【0062】

本明細書で使用される「LDブロック」とは、癌、即ち、前立腺癌、乳癌、肺癌及び

50

黒色腫と変異体との関連が観察されたChr 8 q 2 4 . 2 1上のLDブロックを指す。このLDブロックのNCBI Build 3 4位は1 2 8、0 3 2、2 7 8 ~ 1 2 8、0 9 4、2 5 6 b p (配列番号1)である。

【0063】

本明細書で使用される「LDブロックC」とは、癌に関連した変異体の関連が好ましくは検出することができる、Chr 8 q 2 4 . 2 1上のLDブロックを指す。このLDブロックのNCBI Build 3 4位は1 2 8、0 2 9、1 1 3 ~ 1 2 8、1 2 6、4 4 7であり、その配列は配列番号2に示されている。

【0064】

NCBI Build 3 5及び3 6において、該領域の位置は1 2 8、1 4 1、7 0 6 ~ 1 2 8、2 3 9、0 4 0位である。Build 3 4、3 5及び3 6中のLDブロックC領域の配列は、9 7、3 3 5 b pの全スパンにわたって同一である。

【0065】

本明細書に記載した用語「アフリカ系先祖」とは、自己申告された個体のアフリカ系祖先を指す。

用語「癌療法剤」とは、癌(即ち、前立腺癌、肺癌、乳癌及び/又は黒色腫)と関連する症状を寛解又は予防するために使用し得る剤を指す。

【0066】

用語「配列番号2と関連する」、「配列番号1と関連する」、「LDブロックCと関連する」及び「LDブロックC'と関連する」とは、配列番号2、配列番号1、LDブロックC及びLDブロックC'により表されるゲノムセグメントと連鎖不平衡(LD)にあるDNAセグメント(例えば、多型マーカー)を指す。特定の態様において、こうしたDNAセグメントは、0.8より大きな $|D'|$ 及び/又は0.2より大きな r^2 についての値で測定されるように、配列番号2、配列番号1、LDブロックC又はLDブロックC'内の一つ又はそれ以上のマーカーとLDにある。

【0067】

Chr 8 q 2 4 . 2 1との関連

上に議論したように、染色体8 q 2 4 . 2 1への連鎖及び連鎖領域領域内の連鎖不平衡(LD)ブロックとの関連が最近報告された。本明細書に記載したように、染色体8 q 2 4 . 2 1領域中の、広範囲LDの別のDNAセグメント(即ち、別のLDブロック)内に属する変異体(マーカー及び/又はハプロタイプ)も癌に関連することが、驚くべきことにここに発見された。検出された関連は、該領域中で以前に検出された関連とは独立しており、本発明者には驚くべき結果であった。本発明の一つの態様において、該関連は、マーカーrs 1 4 5 6 3 1 4アレルG、rs 1 7 8 3 1 6 2 6アレルT、rs 7 8 2 5 4 1 4アレルG、rs 6 9 9 3 5 6 9アレルG、rs 6 9 9 4 3 1 6アレルA、rs 6 4 7 0 4 9 4アレルT、rs 1 0 1 6 3 4 2アレルC、rs 1 0 3 1 5 8 8アレルG、rs 1 0 1 6 3 4 3アレルT、rs 1 5 5 1 5 1 0アレルG、rs 1 4 5 6 3 0 6アレルC、rs 1 3 7 8 8 9 7アレルG、rs 1 4 5 6 3 0 5アレルT及びrs 7 8 1 6 5 3 5アレルGを含んでなるハプロタイプHap Cにより検出された。ヒト形質と関連する他の変異体のように、多数の代替変異体(マーカー及び/又はハプロタイプ)を記述し得る。Hap Cについての一つのこうした代替マーカーはrs 1 6 9 0 1 9 7 9マーカーである。代替変異体を最も含む可能性が高い領域は、本明細書でさらに記述されるような、広範囲に及ぶ連鎖不平衡の領域と通常画定される(いわゆる連鎖不平衡ブロック(LDブロック)と称される)。一つの態様において、癌に関連する変異体を包含するLDブロックは、配列番号1に示した配列により特徴付けられるLDブロックCである。本発明者により元々検出されたシグナルのさらなる改善は、染色体8 q 2 4 . 2 1上の、二つの組換えホットポイント間の領域としてLDブロックC'を明らかにした。該ホットポイントは染色体8上のおよそ1 2 8、0 2 9、1 1 3位及び1 2 8、1 2 6、4 4 7位に位置しており、それ故、該領域は配列番号2に示されたように定義される。Hap Cの代替マーカー及び/又はハプロタイプ、rs 1 6 9 0 1 9 7 9は明確にされているように両方のLDブロック(即

10

20

30

40

50

ち、配列番号 1 及び配列番号 2) に見いだすことができ、本明細書中で詳細にさらに記述される。

【0068】

発明の多様な態様において、本明細書に記載した方法を使用して同定されたある種のマーカー及び/又は SNP は、癌（例えば、前立腺癌）への増加した感受性の診断のため、及び癌（例えば、前立腺癌）への減少した感受性の診断のため、即ち、癌（例えば、前立腺癌）に対して保護的である変異体の同定、にも使用し得る。以下に示される診断アッセイは、これらの特定の変異体の存在又は不存在を同定するために使用し得る。

【0069】

グリーソンスコアは前立腺癌の最も頻繁に使用される分類システムである（DeMarzo, A. M. et al., Lancet 361:955-64 (2003)）。本システムは、前立腺癌の予後が癌の最も優勢なパターン及び第二に優勢なパターン間の中間であるという発見に基づいている。これらの優勢な及び第二に最も優勢なパターンは前立腺腫瘍からの組織学的サンプル中で同定され、各々が 1（最も分化された）から 5（より少なく分化された）に分類され、そして二つのスコアが加えられる。グリーソン合計又はスコアとしても知られている、合計されたグリーソングレードはそれ故、2（パターン 1 の均一な腫瘍に対して）から 10（未分化腫瘍に対して）の範囲である。多様なパターンのほとんどの場合、特に針バイオプシーにおいて、1 パターンを超えて異なっていない。

【0070】

グリーソンスコアは予後指標であり、主たる予後的シフトは 6 及び 7 の間であり、グリーソンスコア 7 腫瘍は、5 又は 6 にスコア付けされた腫瘍よりもより悪く振る舞い、より多い罹患率及びより高い死亡率を導く。スコア 7 腫瘍は、さらに 3 + 4 又は 4 + 3 に副分類され（最初の数字はバイオプシーされたサンプル中の優性組織学的サブタイプであり、及び第二の数字は次ぎに優勢な組織学的サブタイプである）、4 + 3 スコアはより悪い予後に関連している。患者のグリーソンスコアは治療見解にも影響しうる。例えば、針バイオプシーでグリーソンスコア 5 ~ 6 及び低 PSA 濃度の限られた量のより若い男性は、単純にモニターすることができるが、7 又はより高いグリーソンスコアの男性は通常積極的な管理を受ける。表 1 において、ハプロタイプの頻度及び進行性前立腺癌（即ち、7（4 + 3 のみ）~ 10 の合計グリーソンスコアにより示される）及びより遅い進行性前立腺癌（即ち、2 ~ 7（3 + 4 のみ）の合計グリーソンスコアにより示される）の相関リスクが示されている。しかしながら、該グリーソンスコアは完全な予後の予測ではない。それ故、低グリーソンスコアの腫瘍を有する患者は、それにもかかわらずより進行性前立腺癌（局所的に前立腺を超えて又は遠位転移を介して広がっている腫瘍として定義される）を有していてもよい。

【0071】

本明細書に記載されたある方法において、癌（例えば、前立腺癌）の危険性がある個体は、アットリスクマーカー又はハプロタイプが同定された個体である。一つの態様において、マーカー又はハプロタイプの関連の強度は、相対リスク（RR）により測定される。RR は、該マーカー又はハプロタイプの一つのコピーを運ぶ対象間の状態の発生の、該マーカー又はハプロタイプのコピーを運んでいない対象間の状態の発生に対する比である。この比は該マーカー又はハプロタイプの二つのコピーを運ぶ対象間の状態の発生の、該マーカー又はハプロタイプのコピーの一つのコピーを運ぶ対象間の状態の発生に対する比に等しい。

【0072】

一つの態様において、本発明は前立腺癌（進行性又は高グリーソングレード前立腺癌、より遅い進行性又は低グリーソングレード前立腺癌）への感受性を診断する方法であり、LD ブロック C に関連するマーカー又はハプロタイプ（例えば、表 5 に示されたマーカー又はハプロタイプ、疾患への増加した感受性/疾患の増加したリスクに関連する及びそれ故「アットリスク」変異体であるマーカーを示している、1 より大きな相対リスク（RR）の値を有している；1 未満の値を有するマーカー又はハプロタイプは、該マーカーが疾

患への減少した感受性／疾患の減少したリスクに関連し、それ故、「保護的」変異体である）検出することを含んでなり、該マーカー又はハプロタイプの存在は、前立腺癌への感受性を示す。

【0073】

別の態様において、本発明は前立腺癌（例えば、進行性又は高グリーソングレード前立腺癌、より遅い進行性又は低グリーソングレード前立腺癌）への感受性を診断する方法であり、マーカー rs 16901979 を検出することを含んでなる。一つの態様において、該感受性は増加した感受性であり、マーカー rs 16901979 での 1 アレルの存在は、前立腺癌への増加した感受性を示す。さらなる態様において、本発明はその祖先がアフリカ系祖先を含んでなる個体において、前立腺癌への増加した感受性を診断する方法であり、マーカー rs 16901979 を検出することを含んでなり、マーカー rs 16901979 での 1 アレルの存在は、前立腺癌への増加した感受性又は前立腺癌への増加したリスクを示す。特定の態様において、前立腺癌への感受性に関連しているマーカー又はハプロタイプは、少なくとも 1.5 又は少なくとも 1.7 又は少なくとも 2.0 のような少なくとも 1.3 の相対リスクを有する。別の態様において、該前立腺癌は、7 (4 + 3) ~ 10 の合計グリーソンスコア及び / 又は前立腺癌の進行した段階（例えば、段階 2 ~ 4）により定義される進行性前立腺癌である。さらに別の態様において、該前立腺癌は、2 ~ 7 (3 + 4) の合計グリーソンスコア及び / 又は前立腺癌の初期段階（例えば、段階 1）により定義されるより遅い進行性前立腺癌である。別の態様において、LD ブロック C と関連するマーカー又はハプロタイプの存在は (4 ng / ml より大きな PSA レベルを有する対象と共に)、より進行性の前立腺癌及び / 又はより悪い予後を示す。さらに別の態様において、正常 PSA レベル（例えば、4 ng / ml 未満）を有する患者において、該マーカー又はハプロタイプの存在は、より進行性の前立腺癌及び / 又はより悪い予後を示す。

【0074】

他の態様において、本発明は前立腺癌への減少した感受性を診断する方法であり、LD ブロック C に関連するマーカー又はハプロタイプを検出することを含んでなり、そのマーカー又はハプロタイプの存在は、前立腺癌への減少した感受性又は前立腺癌に対して保護的なマーカー又はハプロタイプを示す。それ故、一つの態様において、該感受性は減少した感受性であり、マーカー rs 16901979 での 2 アレルの存在は前立腺癌への減少した感受性を示す。さらなる態様において、本発明はその祖先がアフリカ系祖先を含んでなる個体において、前立腺癌への減少した感受性を診断する方法であり、マーカー rs 16901979 を検出することを含んでなり、マーカー rs 16901979 での 2 アレルの存在は、前立腺癌への減少した感受性又は前立腺癌への減少したリスクを示す。

【0075】

本発明の染色体 8q24.21 上のセグメントは、癌の他の型、例えば、乳癌、結腸癌、肺癌及び黒色腫においても役割を果たすことが観察されている。該領域内の特異的 DNA セグメント中の特定のマーカー及び / 又はハプロタイプが乳癌患者において予期されるよりも高い頻度で存在することが発見された。それ故、一つの態様において、本発明は乳癌、肺癌、結腸癌及び黒色腫より選択される癌への増加した感受性を診断する方法であり、その配列が配列番号 1 又は配列番号 2 に示されているゲノムセグメントに関連するマーカー又はハプロタイプを検出することを含んでなり、該マーカー又はハプロタイプの存在は、癌（例えば、乳癌、結腸癌、肺癌及び黒色腫）への増加した感受性を示す。特定の態様において、癌（即ち、乳癌、肺癌及び黒色腫）への感受性に関連したマーカー又はハプロタイプは、少なくとも 1.5 又は少なくとも 1.7 又は少なくとも 2.0 のような少なくとも 1.3 の相対リスクを有する。他の態様において、本発明は癌（即ち、乳癌、肺癌及び黒色腫）への減少した感受性に関し、その配列が配列番号 1 又は配列番号 2 に示されているゲノムセグメントに関連するマーカー又はハプロタイプを検出することを含んでなり、該マーカー又はハプロタイプの存在は、癌への減少した感受性、又は乳癌に対して保護的な（癌（即ち、乳癌、肺癌及び黒色腫）に対して保護的な）マーカーを示す。特定の

態様において、癌（即ち、乳癌、肺癌及び黒色腫）への減少した感受性と関連するマーカー又はハプロタイプは、0.8未満、0.7未満、0.6未満及び0.5未満のような0.9未満の相対リスクを有する。別の態様において、黒色腫は悪性皮膚黒色腫である。

【0076】

マーカー及びハプロタイプについての評価

個体が比較された場合、集団内のゲノム配列は同一ではない。むしろ、ゲノム中の多くの位置で、個体間の配列可変性を示す。配列中のこうした変異は多型と称され、各ゲノム内に多くのこうした部位がある。例えば、ヒトゲノムは、平均500塩基対毎に生じる配列変異を示す。最も普通の配列変異体は、ゲノム中の単一塩基位置での塩基変異から成り、こうした配列変異体、又は多型は一般に単一ヌクレオチド多型（「SNPs」）と称される。これらのSNPsは、単一突然変異事象で生じると信じられており、それ故、各SNP部位で可能な二つの可能なアレルがある；本来のアレル及び突然変異したアレル。自然の遺伝的浮動及び場合により選択圧のため、本来の突然変異は、いずれか所与の集団中の、そのアレルの特定の頻度により特徴付けられる多型を生じる。マイクロサテライト、挿入、欠失、逆位及びコピー数変異体を含む、配列変異体の多くの他のタイプがヒトゲノム中で観察されている。多型マイクロサテライトは、特定の部位に塩基の多数の小さなリピート（CAリピート、相補鎖上のTGのような）を有し、そこではリピート長の数は母集団中で変化する。一般論として、多型部位に関する配列の各バージョンは、多型部位の特異的なアレルを表している。これらの配列変異体は、問題とする配列変異体に特徴的な特異的な多型部位で生じている多型とすべて呼ぶことができる。一般論として、多型は任意の数の特異的なアレルを含むことができる。それ故、本発明の一つの態様において、該多型はいずれの所与の集団においても二つ又はそれ以上のアレルの存在により特徴付けられる。別の態様において、該多型は三つ又はそれ以上のアレルの存在により特徴付けられる。他の態様において、該多型は四つ又はそれ以上のアレル、五つ又はそれ以上のアレル、六つ又はそれ以上のアレル、七つ又はそれ以上のアレル、九つ又はそれ以上のアレル、又は十又はそれ以上のアレルにより特徴付けられる。すべてのこうした多型が、本発明の方法及びキットにおいて利用することが可能であり、そしてそれ故、本発明の範囲内である。

【0077】

いくつかの例において、基準アレルを選ぶことなく多型部位での異なったアレルに対して参照が行われる。もしくは、基準配列が特定の多型部位について参照される。基準アレルは時には「野生型」アレルと称され、それは通常第一の配列決定されたアレルと、又は「非罹患」個体（例えば、形質又は疾患表現型を示さない個体）からのアレルと通常選ばれる。

【0078】

本明細書に記述したSNPマーカーについてのアレルは、用いられたSNPアッセイにおける多型部位で生じる場合、塩基A、C、G又はTを指す。本明細書で使用したSNPsについてのアレルコードは以下の通りである：1 = A、2 = C、3 = G、4 = T。しかしながら、当業者は反対のDNA鎖をアッセイすること又は読み取ることにより、相補的なアレルを各ケースで測定し得ることを理解するであろう。それ故、A/G多型により特徴付けられる多型部位（多型マーカー）に対して、用いられるアッセイは、可能な二つの塩基（即ち、A及びG）の一つ又は両方の存在を特異的に検出するように設計される。もしくは、DNA鋳型の反対の鎖を検出するように設計されているアッセイを設計することにより、相補的な塩基T及びCの存在を測定し得る。定量的には（例えば、相対リスクの点から）、同一の結果が両DNA鎖（+鎖/又は-鎖）の測定から得られるであろう。

【0079】

典型的には、基準配列が特定の配列について参照される。基準から異なるアレルは「変異体」アレルと称される。本明細書で使用する変異体配列とは、基準配列とは異なっているが、それ以外は実質的に類似している配列を指す。本明細書に記載した多型遺伝子マーカーでのアレルは変異体である。追加の変異体は、ポリペプチドに影響する変化を含み得る。基準ヌクレオチド配列と比較した場合のこれらの配列相違は、本明細書に詳細に記載

されている、フレームシフトを生じる単一又は1より多くのヌクレオチドの欠失；コードされたアミノ酸に変化を生じる少なくとも一つのヌクレオチド変化；早発性の終止コドンの発生を生じる少なくとも一つのヌクレオチド変化；ヌクレオチドによりコードされた一つまたはそれより多くのアミノ酸の欠失を生じるいくつかのヌクレオチドの欠失；読み取り枠のコード配列の中断を生じる、非等価組換え又は遺伝子変換によるような一つ又はいくつかのヌクレオチドの挿入；配列のすべて又は一部の重複；転座；又はヌクレオチド配列の再編成を含み得る。こうした斑列変化は、核酸によりコードされているポリペプチドを変化させる。例えば、もしヌクレオチド配列中の変化がフレームシフトを起こすとすれば、該フレームシフトはコードされたアミノ酸の変化を生じ得、及び／又は早発性の終止コドンを生じ得、端が切断されたポリペプチドの発生を起こす。もしくは、癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、メラノーマ）に関連する多型、又は癌への感受性は、一つまたはそれより多くのヌクレオチドの同義の変化であり得る（即ち、変化はアミノ酸配列の変化を生じさせない）。こうした多型は、例えば、スプライシング部位を変化し、mRNAの安定性又は輸送に影響し、又はさもなくばコードされたポリペプチドの転写又は翻訳に影響し得る。それは、増幅又は欠失のような構造変化が腫瘍の体細胞レベルで生じる可能性を増加させるようにDNAを変化させることもできる。基準ヌクレオチド配列によりコードされているポリペプチドは、特定の基準アミノ酸配列を有する「基準」ポリペプチドであり、及び変異体アレルによりコードされているポリペプチドは、変異体アミノ酸配列を有する「変異体」ポリペプチドと称される。

10

20

30

40

50

【0080】

ハプロタイプとは、セグメントに沿って配置されたアレルの特異的組み合わせにより特徴付けられるDNAのセグメントを指す。ヒトのような二倍体生物では、ハプロタイプは各多型マーカー又は座位について対のアレルを有する一つのメンバーを含んでなる。ある態様において、該ハプロタイプは、各アレルがセグメントに沿った特異的多型マーカーに対応する二つ又はそれ以上のアレル、三つ又はそれ以上のアレル、四つ又はそれ以上のアレル、又は五つ又はそれ以上のアレルを含んでなることが可能である。ハプロタイプは、多型部位に特定のアレルを有する多様な多型マーカー、例えば、SNPs及びマイクロサテライトの組み合わせを含んでなることが可能である。該ハプロタイプは、それ故、種々の遺伝子マーカーでのアレルの組み合わせを含んでなる。

【0081】

特異的多型マーカー及び／又はハプロタイプの検出は、多型部位の配列を検出するための当該技術分野では公知の方法により達成し得る。例えば、核酸増幅のためにPCR、LCR、ネステッドPCR及び他の技術を利用する蛍光に基づいた技術（Chen, X. et al., Genome Res. 9(5): 492-98 (1999)）のような、SNP及び／又はマイクロサテライトマーカーの存在について遺伝子型同定する標準技術を使用し得る。SNP遺伝子型同定に利用可能な具体的方法論には、限定されるわけではないが、TaqMan遺伝子型同定アッセイ及びSNPlex プラットフォーム（Applied Biosystems）、質量分析（例えば、SequenomからのMassARRAY システム）、ミニシーケンシング法、リアルタイムPCR、Bio-Plex システム（BioRad）、CEQ及びSNPstream システム（Beckman）、Molecular Inversion Probe アレイ技術（例えば、Affymetrix GeneChip）及び BeadArray Technologies（例えば、Illumina GoldenGate and Infinium アッセイ）が挙げられる。これら又は当業者には利用可能な他の方法により、マイクロサテライト、SNP又は他のタイプの多型マーカーを含む、多型マーカーでの一つ又はそれ以上のアレルを同定し得る。

【0082】

本明細書に記載したある方法において、研究下のいずれかの具体的疾患又は形質について増加した感受性（即ち、増加したリスク）にある個体は、疾患又は形質に増加した感受性を与える一つまたはそれより多くの多型マーカーで少なくとも一つの特異的アレルが同定されている（即ち、アットリスクマーカーアレル又はハプロタイプ）個体である。一つの側面において、該アットリスクマーカー又はハプロタイプは、疾患又は形質の有意に増加したリスク（又は感受性）を与えるものである。一つの態様において、マーカー又はハ

プロタイプに関連する有意性は相対リスク（RR）により測定される。別の態様において、マーカー又はハプロタイプに関連する有意性はオッズ比（OR）により測定される。さらなる態様において、有意性はパーセンテージにより測定される。一つの態様において、有意に増加したリスクは、限定されるわけではないが、少なくとも1.2、少なくとも1.3、少なくとも1.4、少なくとも1.5、少なくとも1.6、少なくとも1.7、少なくとも1.8、少なくとも1.9、少なくとも2.0、少なくとも2.5、少なくとも3.0、少なくとも4.0及び少なくとも5.0を含む、少なくとも1.2のリスク（相対リスク及び/又はオッズ比）として測定される。特定の態様において、少なくとも1.2のリスク（相対リスク及び/又はオッズ比）が有意である。別の特定の態様において、少なくとも1.3のリスクが有意である。さらに別の態様において、少なくとも1.4のリスクが有意である。さらなる態様において、少なくとも約1.5の相対リスクが有意である。別のさらなる態様において、少なくとも約1.7であるリスクの有意な増加が有意である。しかしながら、他のカットオフ、例えば、少なくとも1.15、1.25、1.35なども企図され、こうしたカットオフも本発明の範囲内である。他の態様において、リスクの有意な増加は、限定されるわけではないが、約25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、150%、200%、300%及び500%を含む、少なくとも約20%である。一つの特定の態様において、リスクの有意な増加は少なくとも約20%である。他の態様において、リスクの有意な増加は少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%及び少なくとも100%である。しかしながら、本発明を特徴付けるため、当業者により適していると考えられた他のカットオフ又は範囲も企図され、それらも本発明の範囲内である。

【0083】

本発明のアットリスク多型マーカー又はハプロタイプは、比較群（対照）におけるその存在の頻度と比較して、該疾患又は形質（罹患した）についてアットリスクである個体において、少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプの少なくとも一つのアレルがより頻繁に存在しているものであり、該マーカー又はハプロタイプの存在は、該疾患又は形質への質感受性を示す。一つの態様において、対照群は集団サンプル、即ち、母集団からのランダムサンプルであることができる。別の態様において、対照群は疾患を有していない個体の群により表される。こうした疾患を有していない対照は、一つの態様において、一つまたはそれより多くの特異的疾患関連症状が存在しないことにより特徴付けることができる。別の態様において、疾患を有していない対照は、一つ又はそれ以上の疾患特異的リスク因子が存在しないことにより特徴付けられる。一つの態様において、こうしたリスク因子は少なくとも一つの環境リスク因子である。代表的な環境要因は、特異的疾患又は形質に影響することが知られている、又は影響するように企図された天然産物、鉱物又は他の化学物質である。他の環境リスク因子は、限定されるわけではないが、食物及び飲酒習慣、主な生育地の地理的な位置、及び職業的リスク因子を含む、ライフスタイルに関連するリスク因子である。別の態様において、リスク因子は、少なくとも一つの遺伝的リスク因子である。

【0084】

相関のための単純な検定の例は、 2×2 分割表でのフィッシャーの直接確率検定であろう。染色体のコホートを考えると、 2×2 分割表は、マーカー又はハプロタイプの両方を含む、マーカー又はハプロタイプの一つを含む（他方は含まない）及びマーカー又はハプロタイプを含まない染色体の数から構成される。

【0085】

本発明の他の態様において、疾患又は形質について減少した感受性（即ち、減少したリスク）にある個体は、疾患又は形質に減少した感受性を与える一つまたはそれより多くの多型マーカーで少なくとも一つの特異的アレルが同定されている個体である。減少したリスクを与えるマーカーアレル及び/又はハプロタイプは保護的であるとも言われている。

一つの側面において、該保護的マーカー又はハプロタイプは、疾患又は形質の有意に減少したリスク（又は感受性）を与えるものである。一つの態様において、有意に減少したリスクは、限定されるわけではないが、0.9未満、0.8未満、0.7未満、0.6未満、0.5未満、0.4未満、0.3未満、0.2未満及び0.1未満を含む、0.9未満の相対リスクとして測定される。一つの特定の態様において、有意に減少したリスクは0.7未満である。別の態様において、有意に減少したリスクは0.5未満である。さらに別の態様において、有意に減少したリスクは0.3未満である。別の態様において、リスクの減少（又は感受性）は、限定されるわけではないが、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%及び少なくとも98%を含む、少なくとも20%である。一つの特定の態様において、リスクの有意な減少は少なくとも約30%である。別の態様において、リスクの有意な減少は少なくとも約50%である。別の態様において、リスクの減少は少なくとも約70%である。しかしながら、本発明を特徴付けるため、当業者により適していると考えられた他のカットオフ又は範囲も企図され、それらも本発明の範囲内である。

10

20

30

40

50

【0086】

当業者は、集団中に存在する二つのアレルを有するマーカーについて研究されていることを理解するであろうし（SNPのような）、ここで一つのアレルは、対照と比較して、集団中の形質又は疾患を有する個体の群において増加した頻度で観察され、該マーカーの他のアレルは、対照と比較して、集団中の形質又は疾患を有する個体の群において減少した頻度で観察されるであろう。こうしたケースにおいて、マーカーの一つのアレル（形質又は疾患を有する個体において増加した頻度で観察された方）がアットリスクアレルであろうし、一方、他のアレルは保護的アレルであろう。

【0087】

連鎖不平衡

各減数分裂事象間に、各染色体対について平均一回起こる組換えの自然現象は、自然が配列（及び結果により生物学的機能）に変異を提供する一つの様式を代表している。ゲノム中では組換えがランダムに起こらないことが発見されており；組換え率の頻度には大きな変動があり、高組換え頻度の小さな領域（組換えホットスポットとも称される）及び低組換え頻度のより大きな領域が生じており、それは一般に連鎖不平衡（LD）ブロックと称されている（Myers, S. et al., Biochem Soc Trans 34:526-530 (2006); Jeffreys, A. J., et al., Nature Genet 29:217-222 (2001); May, C.A., et al., Nature Genet 31:272-275 (2002)）。

【0088】

連鎖不平衡（LD）とは二つの遺伝的要素の非ランダム分類を指す。例えば、もし一つの特定の遺伝的要素（例えば、多型マーカー又はハプロタイプのアレル）が集団中で0.50（50%）の頻度で生じ、及び別の要素が0.50（50%）の頻度で生じたとすれば、両方の要素を有するヒトでの予期される発生率は、要素のランダム分布を仮定すれば0.25（25%）である。しかしながら、もし二つの要素が0.25よりも高い頻度で一緒に生じるならば、それらは発生の独立した頻度（例えば、アレル又はハプロタイプ頻度）が予測されるであろうよりも高い比率で一緒に遺伝される傾向があるので、該要素は連鎖不平衡にあると言われている。大まかに言うと、LDは、二つの要素間の組換え事象の頻度に一般的に相関している。集団中の個体の遺伝子型を決定し、及び集団中の各アレルの出現率を決定することにより、集団中のアレル頻度を決定し得る。二倍体の集団（例えば、ヒト集団）では、個体は典型的には各遺伝的要素（例えば、マーカー、ハプロタイプ又は遺伝子）について二つのアレルを有しているであろう。

【0089】

連鎖不平衡（LD）の強度を評価するため、多くの異なった尺度が提案されてきた。ほとんどは両アレル部位の対間の関連の強さを捕捉する。二つの重要なLDの対尺度は r^2

(しばしば $\Delta 2$ で表示される) 及び $|D'|$ である。両方の尺度とも 0 (不平衡なし) から 1 (「完全」不平衡) の範囲であるが、それらの解釈はわずかに異なっている。 $|D'|$ は、もし二つ又は三つの可能なハプロタイプが存在するならば、それは 1 に等しく、及び四つの可能なハプロタイプが存在するならば、それは < 1 であるように定義される。従って、 < 1 である $|D'|$ の値は、二つの部位で歴史的組換えが起こってもよいことを示している (反復性変異も < 1 である $|D'|$ を生じ得るが、単一ヌクレオチド多型 (SNPs) についてこのことは組換えよりも起こりにくいと通常考えられている)。尺度 r^2 は、二つの部位間の統計的相関を表しており、もし二つのみのハプロタイプが存在すれば 1 の値をとる。

【0090】

r^2 尺度は、 r^2 間の単純な逆関係であり、及び感受性座位及び SNPs 間の関連を検出するために少量の試料しか必要とされないので、関連マッピングについての間違いなく最もよい関連尺度である。これらの尺度は対の部位について定義されているが、いくつかの適用については、多くの多型部位を含有する全領域にわたり、LD がどれくらい強いかを決定することが望まれるであろう (例えば、LD の強度が座位間で又は集団にわたって有意に異なっているかどうか、又は特定のモデル下で予測されるよりも領域中で LD が大きいのか又は小さいかどうかを試験すること)。領域にわたって LD を測定することは容易ではないが、一つのアプローチは集団遺伝学で開発された尺度 r を使用するものである。大まかに言うと、 r は、データに見られる LD を発生させるため、特定の集団モデル下でどのくらいの組換えが必要とされるであろうかを測定する。このタイプの方法は、LD データが組換えホットスポットの存在についての証拠を提供するかどうかを決定することへの統計的に厳密なアプローチも提供できる可能性がある。本明細書に記載されている方法について、有意な r^2 値は、少なくとも、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.91、0.92、0.93、0.94、0.95、0.96、0.97、0.98、0.99 又は 1.0 のように、少なくとも 0.1 であり得る。一つの好ましい態様において、有意な r^2 値は少なくとも、0.2 であり得る。もしくは、本明細書に記載した連鎖不平衡は、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.85、0.9、0.95、0.96、0.97、0.98、0.99 のような、少なくとも、0.2 の $|D'|$ の値により特徴付けられる連鎖不平衡を指す。それ故、連鎖不平衡は特有なマーカーのアレル間の相関を表す。それは相関係数又は $|D'|$ (1.0 までの r^2 及び 1.0 までの $|D'|$) により測定される。ある態様において、連鎖不平衡は r^2 及び $|D'|$ 尺度の両方についての値に関して定義される。一つのこうした態様において、有意な連鎖不平衡は、 $r^2 > 0.1$ 及び $|D'| > 0.8$ と定義される。別の態様において、有意な連鎖不平衡は、 $r^2 > 0.2$ 及び $|D'| > 0.9$ と定義される。連鎖不平衡を決定するための r^2 及び $|D'|$ の値についての他の組み合わせ及び順序も可能であり、本発明の範囲内である。連鎖不平衡は本明細書で定義した単一ヒト集団において決定することもできるし、又は一つより多くのヒト集団からの個体を含んでなるサンプルの集合においても決定し得る。本発明の一つの態様において、LD は、定義されているような (<http://www.hapmap.org>)、一つ又はそれ以上の HapMap 集団 (コーカサス人 (CEU)、アフリカ人 (YRI)、日本人 (JPT)、中国人 (CHB)) からのサンプルにおいても決定される。一つのこうした態様において、HapMap サンプルの CEU 集団において LD が決定される。別の態様において、YRI 集団において LD が決定される。さらに別の態様において、アイランド集団からのサンプルにおいて LD が決定される。

【0091】

もしゲノム中のすべての多型が集団レベルで同一であれば、次ぎに、それらのことごとくが関連性研究で調査されるべきであろう。しかしながら、多型の連鎖不平衡のため、強固に連結した多型は強く相関し、それは有意な関連を観察するための関連性研究で調査されることを必要とする多型の数を減少させる。LD の別の結果は、これらの多型が強く相

10

20

30

40

50

関性があるという事実のため、多くの多型が関連性シグナルを与えることができるということである。

【 0 0 9 2 】

ゲノム LD 地図は、ゲノムの全域で作製されており、こうした LD 地図は疾患 - 遺伝子地図作製のための骨組みとして働くことが提案されてきた (Risch, N. & Merkiangas, K, Science 273:1516-1517 (1996); Maniatis, N., et al., Proc Natl Acad Sci USA 99:2228-2233 (2002); Reich, DE et al, Nature 411:199-204 (2001))。

【 0 0 9 3 】

ヒトゲノムの多くの部分が、少数の共通ハプロタイプを含有する、一連の分離したハプロタイプブロックに分解され得ることが確立されており；これらのブロックについて、連鎖不平衡データは組換えを示す証拠を提供しなかった (例えば、Wall, J. D. and Pritchard, J. K., Nature Reviews Genetics 4:587-597 (2003); Daly, M. et al., Nature Genet. 29:229-232 (2001); Gabriel, S.B. et al., Science 296:2225-2229 (2002); Patil, N. et al., Science 294:1719-1723 (2001); Dawson, E. et al., Nature 418:544-548 (2002); Phillips, M.S. et al., Nature Genet. 33:382-387 (2003) を参照されたい)。

【 0 0 9 4 】

これらのハプロタイプブロックを画定するための二つの主な方法がある：ブロックは、限定されたハプロタイプ多様性を有する DNA の領域として (例えば、Daly, M. et al., Nature Genet. 29:229-232 (2001); Patil, N. et al., Science 294:1719-1723 (2001); Dawson, E. et al., Nature 418:544-548 (2002); Zhang, K. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:7335-7339 (2002) を参照されたい)、又は連鎖不平衡を使用して同定された、広範囲の歴史的組換えを有する遷移域間の領域として (例えば、Gabriel, S.B. et al., Science 296:2225-2229 (2002); Phillips, M.S. et al., Nature Genet. 33:382-387 (2003); Wang, N. et al., Am. J. Hum. Genet. 71:1227-1234 (2002); Stumpf, M. P., and Goldstein, D.B., Curr. Biol. 73:1-8 (2003) を参照されたい) 画定し得る。さらに最近、組換え率の高精度地図及びヒトゲノム全域にわたった対応するホットスポットが作製された (Myers, S., et al., Science 310:321-323 (2005); Myers, S. et al., Biochem Soc Trans 34:526-530 (2006))。該地図は、該ゲノム全域にわたった組換えでの膨大な変異を明らかにし、ホットスポット中では 10 ~ 60 cM / Mb ほど高い組換え率を有し、一方、介在領域では 0 に近く、それ故、それは限定されたハプロタイプ多様性及び高 LD の領域を表している。該地図はそれ故、組換えホットスポットが隣接した領域としてのハプロタイプブロック / LD ブロックを画定するために使用し得る。本明細書で使用する用語「ハプロタイプブロック」又は「LD ブロック」は、上記の特徴のいずれかにより、又はこうした領域を画定するために当業者により使用される代替法により画定されたブロックを含む。

【 0 0 9 5 】

ハプロタイプブロックの同定のためのいくつかの代表的な方法が、例えば、米国公開特許出願番号 20030099964、20030170665、20040023237 及び 20040146870 に示されている。ハプロタイプブロックは、単一マーカー又は複数のマーカーを含んでなるハプロタイプを使用し、表現型とハプロタイプ状態間の関連の地図作製に使用し得る。主ハプロタイプが各ハプロタイプブロックで同定でき、次ぎに「タグ付けされた」SNPs 又はマーカーの組 (SNP 又はマーカーの最も小さな組がハプロタイプ間を区別するために必要とされる) を同定し得る。これらのタグ付けされた SNPs 又はマーカーを次ぎに、表現型とハプロタイプ間との関連を同定するため、個体の群からのサンプルの評価に使用し得る。望むなら、隣接したハプロタイプブロックは、ハプロタイプブロック間の連鎖不平衡でも存在することができるので、同時に評価し得る。

【 0 0 9 6 】

ゲノム中の多型マーカーへのいずれかの所与の観察された関連について、ゲノム中の追加のマーカーも関連を示すようであることが明らかにされた。このことは、組換え率の大

10

20

30

40

50

きな変動により観察されたように、ゲノム全域にわたるLDの一樣でない分布の自然の結果である。関連を検出するために使用されたマーカーは、それ故、ある意味で、所与の疾患又は形質に関連するゲノム領域（即ち、ハプロタイプブロック又はLDブロック）のための「タグ」を表し、そのようであるので、本発明の方法及びキットでの使用に有用である。一つ又はそれ以上の原因となる（機能的）変異体又は突然変異は、該疾患又は形質へ関連していることが見いだされた領域内に属することができる。こうした変異体は、関連性を検出するために使用されたタグ付けマーカーで観察されたよりも高い相対リスク（RR）又はオッズ比（OR）を与えることができる。本発明はそれ故、本明細書に記載した該疾患への関連性を検出するために使用したマーカー、ならびに該マーカーと連鎖不平衡にあるマーカーについて言及する。それ故、本発明のある態様において、本明細書に記載した本発明のマーカー及び／又はハプロタイプとLDにあるマーカーを、代替マーカーとして使用することができる。該代替マーカーは、一つの態様において、本明細書に記載した、該疾患と関連していると最初に見いだされたマーカー又はハプロタイプよりも小さな相対リスク（RR）及び／又はオッズ比（OR）値を有する。他の態様において、該代替マーカーは、本明細書に記載した、該疾患と関連していると最初に見いだされたマーカーについて決定されたRR又はOR値よりも大きな値を有する。こうした態様の例は、本明細書に記載した変異体のような、該疾患に関連していると最初に発見された、より共通の変異体（>10%の集団頻度）を伴ったLD中の、希な又は相対的に希な変異体（<10%の集団頻度）であろう。本明細書に記載した、本発明者により発見された関連を検出するためにこうしたマーカーを同定すること及び使用することは、当業者には公知のルーチン法により実施することができ、そしてそれ故、本発明の範囲内である。

【0097】

ハプロタイプ頻度の決定

患者及び対照群中のハプロタイプの頻度は期待値最大化（expectation-maximization）アルゴリズム（Dempster A. et al., J. R. Stat. Soc. B, 39:1-38 (1977)）を使用して見積もることが可能である。失われた遺伝子型及びフェーズの不確かさを取り扱うことが可能なこのアルゴリズムの実行を使用し得る。帰無仮説下、患者及び対照は同一の頻度を有すると仮定した。尤度アプローチを使用し、対立仮説を試験し、そこでは、本明細書に記載したマーカーを含むことができる候補アットリスクハプロタイプは対照よりも患者でより高い頻度にし、一方、他のハプロタイプの頻度は両群で同一とした。両方の仮説下で尤度を別々に最大化し、対応する1 - d f 尤度比統計を、統計的有意性を評価するために使用した。

【0098】

連鎖領域内のアットリスク及び保護的マーカー及び／ハプロタイプを探すため、例えば、これらのマーカーが実行領域に広がっていると仮定して、遺伝子型決定したマーカーのすべての可能な組み合わせの関連を研究した。合併した患者及び対照群を、患者及び対照の本来の群に等しいサイズで、二つの組にランダムに分割することができる。マーカー及び／ハプロタイプ分析を次ぎに繰り返し、登録された最も有意なP値を決定した。このランダム化スキームを例えば、100回以上繰り返すことができ、P値の実験的分布を構築した。好ましい態様において、<0.05のP値が有意なマーカー及び／又はハプロタイプの関連を示す。

【0099】

ハプロタイプ分析

ハプロタイプ分析の一つの一般的アプローチはネステッドモデル（NEMO）（Gretarsdottir S., et al., Nat. Genet. 35:131-38 (2003)）に応用した尤度に基づいた推論を使用することを含んでいる。該方法は、多くの多型マーカー、SNPs及びマイクロサテライトを許容するプログラムNEMOで実行される。方法及びソフトウェアは、患者対照研究について具体的に設計され、異なったリスクを与えるハプロタイプ群を同定することが目的である。それはLD構造を研究するためのツールでもある。NEMOにおいて、最大尤度見積もり、尤度比及びP値は、観察されたデータについてそれを失われたデータ問

題として取り扱う、E M アルゴリズムの助けを借りて、直接的に計算される。

【 0 1 0 0 】

フェーズの不確かさ及び失われた遺伝子型による情報損失を取り込んだ観察データを直接計算される尤度に基づいた尤度比試験は信頼できて、有効な P 値を与えるが、不完全である情報のため、どのくらいの情報が失われていたかを知ることではそれでも興味あることであろう。ハプロタイプ分析についての情報量は、連鎖分析について定義された情報量の自然な流れとして Nicolae and Kong (Technical Report 537, Department of Statistics, University of Statistics, University of Chicago ; Biometrics, 60(2):368-75 (2004)) により記載されており、N E M O で実行された。

【 0 1 0 1 】

疾患との単一マーカー関連について、フィッシャーの直接確率検定を使用することができ、各個体アレルの両側 P 値を計算した。通常、すべての P 値は特別に示されていない限り、複数比較のために調整されずに示されている。示された頻度 (マイクロサテライト、SNPs 及びハプロタイプについて) は、キャリアー頻度に対立するものとしてのアレル頻度である。連鎖分析のための家族として動員された患者の同系性による偏向を最小化するため、一等親及び二等親血縁者類は患者リストから除去し得る。さらに、Risch, N. & Teng, J. (Genome Res., 8: 1273-1288 (1998)) に記載されている分散調節法を拡大することにより、一般的家族関連性に適用できるように、及び比較のため調整及び未調整 P 値の両方に提示できるように同胞群について DNA をプール化することにより (前記文献)、患者間に残った同系性を補正して関連について試験を繰り返し得る。相違は、予測されたごとく一般的に非常に小さかった。多重試験のために補正された単一マーカー関連の有意性を評価するため、同一の遺伝子型データを使用してランダム化試験を実施し得る。患者及び対照のコホートをランダム化でき、関連分析を複数回 (例えば、500,000 回まで) やり直し、及び P 値は、本来の患者及び対照のコホートを使用して観察された P 値より低いか又は等しい、いくつかのマーカーアレルについての P 値を生み出す反復の一部である。

【 0 1 0 2 】

単一マーカー及び / ハプロタイプ両分析について、相対リスク (RR) 及び集団寄与リスク (PAR) を乗法 (multiplicative) モデル (ハプロタイプ相対リスクモデル) (Terwilliger, J.D. & Ott, J., Hum. Hered. 42:337-46 (1992) 及び Falk, CT. & Rubinstein, P, Ann. Hum. Genet. 51 (Pt 3):227-33 (1987))、即ち、二つのアレル / 人が多数重なって運んでいるハプロタイプのリスク、を仮定して計算し得る。例えば、もし RR が a に対する A の相対リスクであるとしたら、ホモ接合体 AA の人のリスクはヘテロ接合体 Aa のリスクの RR 倍であり、ホモ接合体 aa のその RR² 倍であろう。乗法モデルは、分析及び計算を単純化する素晴らしい特性を有する - 罹患した集団内ならびに対照集団内でハプロタイプは独立している (即ち、Hardy-Weinberg 平衡で)。その結果、罹患者及び対照のハプロタイプ計算は各々多項分布を有するが、対立仮説下では異なったハプロタイプ頻度を有する。具体的には、二つのハプロタイプ、 h_i 及び h_j について、リスク (h_i) / リスク (h_j) = (f_i / p_i) / (f_j / p_j)、式中、f 及び p は、それぞれ患者集団及び対照集団中の頻度を表す。もし真のモデルが乗法的でないとしたら、いくつかのパワーの損失があるが、該損失は極端なケースを除いて軽度である傾向がある。最も重要なことは、P 値は帰無仮説に関して計算されるので、常に有効である。

【 0 1 0 3 】

N E M O を使用する連鎖不平衡

マーカーの対間の LD は、D' 及び R² の標準定義を使用して計算し得る (Lewontin, R., Genetics 49:49-67 (1964); Hill, W.G. & Robertson, A. Theor. Appl Genet. 22:226-231 (1968))。N E M O を使用し、二つのマーカーアレルの組み合わせを、最大尤度により見積もり、及び連鎖平衡からの逸脱を尤度比試験により評価した。D' 及び R² の定義を、辺縁アレル確率により加重した二つのマーカーのすべての可能なアレル組み合わせについての値を平均することによりマイクロサテライトを含むように拡張した。特定の領域

中のLD構造を評価するためにすべてのマーカーの組み合わせをプロットする場合、D'を左上の隅に及びP値を右下隅にプロットした。LDプロットにおいて、もし望むなら、マーカーはそれらの物理的位置に従うよりもむしろ等距離にプロットし得る。

【0104】

リスク評価及び診断

本明細書に記載したように、こうしたマーカーを含有するある種の多型マーカー及びハプロタイプは、癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、肺癌、結腸癌、乳癌、黒色腫）のリスク評価に有用であることが見いだされた。リスク評価は、癌への感受性を診断するためのマーカーの使用を含み得る。多型マーカーの特定のアレルが、癌と診断されていない個体よりも、癌を有する個体でより頻度高く観察された。従って、これらのマーカーアレルは、個体において癌の検出又は癌への感受性を予測することに役に立つ。本発明のマーカーのようなアットリスクマーカーを含んでなるハプロタイプブロック又はLDブロック内のタグ付けマーカーは、該ハプロタイプブロック又はLDブロック内の他のマーカー及び/又はハプロタイプの代替物として使用し得る。1に等しい r^2 の値を有するマーカーは該アットリスク変異体の完全な代替物である；即ち、一つのマーカーについての遺伝子型は、他についての遺伝子型を完全に予測する。1より小さな r^2 の値を有するマーカーも該アットリスク変異体の代替物であることができ、もしくは、アットリスク変異体と同じ高さの又はもしかするとさらに高い相対リスク値を有する変異体を示す。同定されたアットリスク変異体は、それ自身が機能性変異体ではなくてもよいが、この例においては真の機能性変異体と連鎖不平衡にある。本発明は、本明細書に記載したマーカーのこうした代替マーカーの評価を包含する。こうしたマーカーは、当業者には公知であるように、注釈が付けられ、地図作製され、及び公開データベースに収載されるか、もしくは、個体のグループ中で本発明のマーカーにより同定された領域又は領域の一部を配列決定することにより容易に同定することができ、そして生じた配列群中の多型を同定する。その結果、当業者は容易に及び実験することなく、本明細書に記載したマーカー及び/又はハプロタイプと連鎖不平衡にある代替マーカーを遺伝子型同定し得る。検出されたアットリスク変異体とLDにあるタグ付け又は代替マーカーも、個体における癌への関連又は癌への感受性を検出することを予測することに役に立つ。本発明のマーカー及び/又はハプロタイプと連鎖不平衡にあるこれらのタグ付け又は代替マーカーは、ハプロタイプを識別する他のマーカーも含み得る（これらの類似性は癌への感受性を検出することを予測することに役に立つ）。

【0105】

本発明のマーカー及びハプロタイプ、例えば、表4A、4B、5A、5B、5Cに示したマーカーは、単独で又は組み合わせて、リスク評価及び診断目的に有用である。それ故、個々のマーカーによるリスクの増加が比較的軽微（即ち、10～30%程度）の場合においても、該関連性は有意な意味を有する。それ故、比較的共通の変異体が全リスクに対して有意に寄与し（集団寄与危険度（Population Attributable Risk）が高い）、マーカーの統合リスクに基づいて、疾患を発生する有意な統合リスクを有する個体の群を規定するために、マーカーの組み合わせを使用し得る。

【0106】

それ故、本発明の一つの態様において、複数の変異体（遺伝子マーカー、バイオマーカー及び/又はハプロタイプ）が全リスク評価のために使用される。これらの変異体は、一つの態様において、本明細書に開示した変異体から選択される。他の態様には、癌への感受性を診断するために有用であることが知られている他の変異体と組み合わせられた本発明の変異体の使用が含まれる。こうした態様において、複数のマーカー及び/又はハプロタイプの遺伝子型状態が個体において決定され、個体の状態を、関連変異体の集団頻度、又は年齢が一致した及び性が一致した対象のような臨床的に健康な対象における変異体の頻度と比較する。多変量分析又は結合リスク（joint risk）分析のような当該技術分野で公知である方法を、多座位での遺伝子型状態に基づいて、与えられた全リスクを決定するために引き続いて使用することができる。こうした分析に基づいたリスクの評価は、本明細

書に記載した本発明の方法及びキットで引き続いて使用することができる。

【0107】

上記のように、ヒトゲノムのハプロタイプブロック構造は、疾患又は形質と本来関連する変異体と連鎖不平衡にある多数の変異体（マーカー及び／又はハプロタイプ）が、該疾患又は形質との関連を評価するための代替マーカーとして使用することができる効果を有する。こうした代替マーカーの数は、領域中の歴史的組換え率、領域中の突然変異頻度（即ち、領域中の多型部位又はマーカーの数）、及び領域中のLDの程度（LDブロックのサイズ）のような因子に依存するであろう。これらのマーカーは、本明細書に記載した方法を使用して、又は当業者には公知の他の方法により画定された、問題とするLDブロック又はハプロタイプブロックの物理的境界内に通常位置する。しかしながら、時にはマーカー及びハプロタイプ関連性は、画定されたハプロタイプブロックの物理的境界を超えて拡大していることが観察される。こうしたマーカー及び／又はハプロタイプは、これらのケースにおいて、画定されたハプロタイプブロック内に物理的に属する該マーカー及び／又はハプロタイプの代替マーカー及び／又はハプロタイプとしても使用することができる。その結果、本明細書に記載したマーカー及びハプロタイプとLDにある（典型的には、0.3より大きな r^2 を含む、0.4より大きな r^2 も含んだ0.2より大きな r^2 のような、0.1より大きな r^2 により特徴付けられる）マーカー及びハプロタイプは、たとえそれらが画定されたハプロタイプブロックの境界を超えて位置してしても、本発明の範囲内である。本発明はそれ故、本明細書に記載されているマーカー（例えば、表4A、4B、5A、5B、5C）に関するが、本明細書にリストされたマーカーの一つ又はそれより多くと強いLD（例えば、0.1又は0.2より大きな r^2 及び／又は $|D'| > 0.8$ により特徴付けられる）にある他のマーカーも包含する。

10

20

【0108】

本明細書に記載したSNPマーカーについては、特定の癌（例えば、前立腺癌）を有する患者で発現していることが観察されたアレル（アットリスクアレル）と逆のアレルは、癌を有する患者において減少した頻度で観察された。LDにある及び／又はこうしたマーカーを含んでなるこれらのマーカー及びハプロタイプは、それ故癌に対して保護的であり、即ち、それらは癌を発生するマーカー及び／又はハプロタイプを運んでいる個体の減少したリスク又は感受性を与える。他の態様において、少なくとも二つの多型マーカーを含んでなるハプロタイプは、特定の癌を有する個体において減少した頻度で観察され、それ故、癌に保護的である。こうしたマーカー及びハプロタイプは、個体における減少した癌への感受性を診断するために有用である。

30

【0109】

ある種のハプロタイプを含んだ本発明のある種の変異体は、いくつかのケースにおいて、種々の遺伝子マーカー（例えば、SNP及びマイクロサテライト）の組み合わせを含んでなる。ハプロタイプを検出することは、多型部位の配列を検出するために当該技術分野で公知である及び／又は本明細書に記載された方法により達成し得る。さらに、ある種のハプロタイプ又はマーカーの組と疾患表現型間の相関は、標準技術を使用して検証し得る。相関についての単純な試験の代表的例は、2×2表でのフィッシャーの直接確率検定であろう。

40

【0110】

具体的態様において、癌と関連することが観察されたアレル又はハプロタイプマーカー（例えば、表1、2、3、4A及び4Bにリストしたマーカーアレル）は、健常な個体（対照）におけるその存在の頻度と比較し、癌のリスクがある個体（患者）においてより高頻度で存在するアレル又はハプロタイプマーカーであり、該アレル又はハプロタイプマーカーの存在は癌又は癌への感受性を示す。他の態様において、癌と関連することが観察された一つ又はそれ以上のマーカーと連鎖不平衡にあるアットリスクマーカーは、健常な個体（対照）におけるそれらの存在の頻度と比較して、癌のリスクがある個体（患者）により高頻度で存在するタグ付けマーカーであり、該タグ付けマーカーの存在は癌への感受性を示す。さらなる態様において、癌と関連することが観察された一つ又はそれ以上のマ-

50

カー（例えば、表 4 A、4 B、5 A、5 B 及び 5 C にリストしたマーカーアレル）と連鎖不平衡にあるアットリスクマーカーアレル（即ち、増加した感受性を与える）は、健常な個体（対照）におけるそれらの存在の頻度と比較して、癌のリスクがある個体（患者）により高頻度で存在する一つ又はそれ以上のアレルを含んでなるマーカーであり、該マーカーの存在は癌への感受性を示す。

【0111】

調査対象集団

一般的な意味において、本発明の方法及びキットは、いずれの起源（即ち、いずれの個体）からのゲノム DNA 含有サンプルにも利用し得る。好ましい態様において、該個体はヒト個体である。該個体は、大人、子供、又は胎児であり得る。本発明は、標的集団のメン
10
メンバーである個体中のマーカー及び／又はハプロタイプを評価するためにも提供される。こうした標的集団は、一つの態様において、他の遺伝因子、バイオマーカー、生物物理的パラメーター（例えば、体重、BMD、血圧）又は一般健康及び／又はライフスタイルパラメーター（例えば、疾患又は関連疾患の病歴、疾患の診断歴、疾患の家族歴）に基づいて疾患を発生するリスクを有する個体の集団又は群である。

【0112】

本発明は、40歳以上、45歳以上、又は50歳、55歳、60歳、65歳、70歳、75歳、80歳又は85歳以上のような特異的年齢副群からの個体を含む態様を提供する。本発明の他の態様は、80歳未満、75歳未満、又は70歳、65歳、60歳、55歳、50歳、45歳、40歳、35歳、又は30歳未満のような、85歳未満の年齢の個体
20
のような他の年齢群に関する。他の態様は、いずれかの上記の年齢範囲に疾患の発症年齢を有する個体に関する。45歳より上で60歳未満での発症年齢のような年齢範囲がある種の態様で関連することができるとも企図される。しかしながら、上にリストした年齢値によりひとくくりにされたすべての年齢範囲を含む、他の年齢範囲も企図される。本発明はさらに両方の性（男性又は女性）の個体に関する。

【0113】

アイスランド人集団は、北ヨーロッパ祖先のコーカサス人集団である。アイスランド人集団における遺伝子連鎖及び関連性の結果を報告している多数の研究が、ここ数年公開されてきた。これらの研究の多くは、他の集団において、特定の疾患に関連しているとして元々アイスランド人集団で同定された変異体の複製を示した（Stacey, S. N., et al., N
30
at Genet. May 27 2007 (Epub ahead of print; Helgadóttir, A., et al., Science 316:1491-93 (2007); Steinthorsdóttir, V., et al., Nat Genet. 39:770-75 (2007); Gudmundsson, J., et al., Nat Genet. 39:631-37 (2007); Amundadóttir, L.T., et al., Nat Genet. 38:652-58 (2006); Grant, S.F., et al., Nat Genet. 38:320-23 (2006)）。それ故、アイスランド人集団における遺伝的発見は、アフリカ及びアジアからの集団を含む他の集団においても一般に複製されてきた。

【0114】

本発明のマーカーは、癌（例えば、前立腺癌）に関連していることが見いだされ、他のヒト集団においても同様の関連を示すと信じられる。個々のヒト集団を含んでなる特定の態様もそれ故企図され、本発明の範囲内である。こうした態様は、限定されるわけでは
40
ないが、コーカサス人、ヨーロッパ人集団、アメリカ人集団、ユーラシア人集団、アジア人集団、中央／南アジア人集団、東アジア人集団、中東人集団、アフリカ人集団、ラテンアメリカ人系集団及びオセアニア人集団を含む、一つ又はそれ以上のヒト集団であるヒト対象に関する。ヨーロッパ人集団には、限定されるわけではないが、スウェーデン人、ノルウェー人、フィンランド人、ロシア人、デンマーク人、アイスランド人、アイルランド人、ケルト人、イギリス人、スコットランド人、オランダ人、ベルギー人、フランス人、ドイツ人、スペイン人、ポルトガル人、イタリア人、ポーランド人、ブルガリア人、スラブ人、セルビア人、ボスニア人、チェチェン人、ギリシア人及びトルコ人集団が含まれる。他の態様において、本発明はさらに、バンツー、マンデニカ、ヨルバ、サン、ムブティビ
50
グミー、オルカディアン、エディゲル、ロシア、サルジニア、トスカナ、ムザブ、ペドウ

イン、ドルーズ、パレスティナ、パローチ、ブラフイ、マクラーニー、シンド、パターン、ブルーショー、ハザラ、ウィグル、カラーシュ、ハン、ダイ、ダフル、ホジェン、ラフ、ミャオ、オロチョン、シ、エ、トゥチャ、トウ、シボ、イー、モンゴル、ナシ、カンボジア、ジャパニーズ、ヤクート、メラネシア、パプア、カリティアナ、スルイ、コロンビア、マヤ及びピマを含む特異的ヒト集団においても実施し得る。

【0115】

一つの好ましい態様において、本発明は、アフリカ系家系又は血統の人々を含んでなる集団のようなブラックアフリカ人祖先を含む集団に関する。ブラックアフリカ人祖先は自己申告により、ブラック人種のメンバーである又はネグロ人種のメンバーである、アフリカンアメリカ人、アフロアメリカ人、ブラックアメリカ人として決定することができる。例えば、アフリカンアメリカ人又はブラックアメリカ人は北アメリカに住み、そしてアフリカのブラック人種群のいずれかに起源を有する人々である。別の例において、ブラックアフリカ人祖先の自己申告をした人々は、少なくとも一人のブラックアフリカ人祖先の親又は少なくとも一人のブラックアフリカ人祖先の祖父母を有している。

【0116】

個々の対象における人種的寄与も遺伝子分析により決定することができる。祖先の遺伝子分析は、Smith et al. (Am J Hum Genet 74, 1001-13 (2004)) により示されているような非連鎖マイクロサテライトマーカースを使用して実施することができる。一つの態様において、遺伝的祖先は、多民族コホートを使用し、以前に記述されている研究 (Pritchard, J. K. et al., Genetics 115:945-59 (2000)) で遺伝子型が決定された約 2000 のマイクロサテライトから選択されるマイクロサテライトマーカースの組を使用して推定された。一つのこうした態様において、本明細書に記載したように、ヨーロッパ系アメリカ人 35 人、アフリカンアメリカ人 88 人、中国人 34 人、及びメキシコ系アメリカ人 29 人のコホートを使用した。この組から遺伝子祖先を推定することに有用な一つの特定の態様は、30 の非連鎖マイクロサテライトマーカースを含んでなる。選択された組は、Pritchard et al. により記述された 2000 マーカースの、ヨーロッパ系アメリカ人、アフリカンアメリカ人及びアジア人間の最も有意な相違を示し、良好な質及び収率も有する。それ故、一つの態様において、遺伝子祖先は、D1S2630、D1S2847、D1S466、D1S493、D2S166、D3S1583、D3S4011、D3S4559、D4S2460、D4S3014、D5S1967、DG5S802、D6S1037、D8S1719、D8S1746、D9S1777、D9S1839、D9S2168、D10S1698、D11S1321、D11S4206、D12S1723、D13S152、D14S588、D17S1799、D17S745、D18S464、D19S113、D20S878 及び D22S1172 から成るマイクロサテライトマーカースの組を遺伝子型同定することにより決定した。マーカース DG5S802 を含んでなるセグメントを増幅するために適切なプライマー対は配列番号 4 及び配列番号 5 に示されている。当業者は、マイクロサテライトマーカースの他の組み合わせ、又は他のタイプの多型マーカース (例えば、SNPs) も、遺伝子祖先を推定するために使用できることを理解するであろう。

【0117】

ある態様において、本発明は上記の特異的集団で同定されたマーカース及び/又はハプロタイプに関する。当業者は、連鎖不平衡 (LD) の尺度は、異なった集団に適応された場合に異なった結果を与えることを認識するであろう。このことは、異なったヒト集団の異なった集団歴史、ならびに特異的ゲノム領域中の LD の相違を導くことができる異なった選択圧による。ある種のマーカース (例えば、SNP マーカース) は、異なった集団中で異なった集団頻度を有し、又は一つの集団では多型であるが、別の集団ではそうではないことも、当業者には公知である。しかしながら、当業者はいずれの所与のヒト集団においても本発明を実施するため、利用可能な及び本明細書で考えられた方法を適用するであろう。このことは、特異的集団内で最も強い関連性を与えるマーカースを同定するための、本発明の LD 領域中の多型マーカースの評価が含まれる。それ故、本発明のアットリスク変異体は

、多様なヒト集団において異なったハプロタイプバックグラウンド上に、及び異なった頻度で存在することができる。しかしながら、当該技術分野で公知である方法及び本発明のマーカーを利用し、本発明はいずれの所与のヒト集団においても実行し得る。

【0118】

遺伝子検査の有用性

当業者は、本明細書に記載した変異体は一般に、それ自身では特定の癌、例えば、前立腺癌を発症するであろう個体の絶対的同定を提供しないことを認識及び理解するであろう。しかしながら、本明細書に記載した変異体は、本発明のアットリスク又は保護的変異体を運んでいる個体が癌に関連する症状に付随した癌の特定の形態を発症するであろう、増加した又は減少した可能性を示す。しかしながら、この情報は例えば、初期段階で治療を応用することが可能なように、早期段階で予防的測定を開始するため、定期的な身体的及び/又は精神的試験を実施して症状の進行及び/又は出現をモニターするため、又は該癌の早期兆候を同定するため定期的な間隔での試験を計画するために使用し得るので、以下により詳細に概説するように、それ自身非常に有益である。

10

【0119】

癌を発生するリスクを与える遺伝子変異体についての知識は、癌を発生する増加したりリスクを有する個体（即ち、アットリスク変異体のキャリアー）及び癌を発生する減少したりリスクを有する個体（即ち、保護的変異体のキャリアー）間を区別するための遺伝子試験を適用する機会を与える。上記の群の両方に属する個体についての遺伝子試験の中核的意義は、早期段階で癌を診断することができる可能性であり、最も適切な治療を適用することが可能であるように癌の予後/進行性について、臨床医に情報を提供することである。例えば、癌（例えば、前立腺癌（進行性又は高グリーソングレード前立腺癌、より進行性の遅い又は低グリーソングレード前立腺癌））についての遺伝子試験の適用は、早期段階での療法的尺度の適用を導くことができる、早期段階での疾患の検出の機会を提供することができ、そしてそれ故、癌により受ける症状の有害な効果及び深刻な健康状態を最小にし得る。癌の遺伝子試験のいくつかの利点には次のものが含まれる：

20

1. 早期検出を助けるため

前立腺癌についての遺伝子試験の適用は、もし局所的に発見されたら、より高い治癒率を導き、腫瘍の局所及び遠位伝搬を最小化することにより生存率を増加させる、早期段階での疾患の検出の機会を提供し得る。

30

【0120】

前立腺癌については、遺伝子試験は、すでに一般的に適用されている前立腺特異的抗原（PSA）試験及び直腸診（DRE）の感度及び特異性を増加させる可能性が高いであろう。このことは、偽陽性（それ故、針バイオプシーのような不必要な過程を最小にする）及び偽陰性（それ故、潜在性疾患の検出を増加させ、PCAによる罹患率及び死亡率を最小化する）の率を低下させることを導く。

【0121】

2. 進行性を決定するため

遺伝子試験は、前診断予後指標についての情報を提供し得、スクリーニング戦略の修正を導くことが可能な、進行性腫瘍タイプについて高リスク又は低リスクの個体の同定を可能にする。例えば、進行性前立腺癌の発生について高リスクアレルのキャリアであると決定された個体は、より頻繁なPSA試験、検査を受けるであろうし、異常PSA値の存在での針バイオプシーに対してより低い閾値を有する。

40

【0122】

さらに、進行性腫瘍タイプについて高リスク又は低リスクアレルのキャリアである個体を同定することは、治療戦略の修正を導くであろう。例えば、もし、前立腺癌の進行性形態を発生させる増加したリスクを与えるアレルのキャリアである個体で前立腺癌が診断されたら、臨床医は攻撃性が低い治療戦略の代わりに、前立腺切除術のようなより攻撃的な治療戦略を勧めるであろう。

【0123】

50

当該技術分野で既知であるように、前立腺特異的抗原（P S A）は、癌細胞を含む前立腺の上皮細胞により分泌されるタンパク質である。血中の上昇したレベルは、良性にせよ又は悪性にせよ、前立腺の異常状態を示している。P S Aは前立腺中の潜在的問題を検出するため、及び前立腺癌療法の進行を追跡するために使用される。4 n g / m l 以上のP S Aレベルは前立腺癌の存在を示す（当該技術分野で公知であるように及び本明細書に記載したように、本試験は非常に特異的でも高感度でもないが）。

【 0 1 2 4 】

一つの態様において、本発明の方法はP S Aアッセイと併用して（先だって、同時に又は後で）実施される。特定の態様において、対象が4 n g / m l より高いレベルを有していることと組み合わせられた、マーカー又はハプロタイプの存在は、より進行性の前立腺癌及び／又はより悪い予後を示す。本明細書に記載したごとく、特定のマーカー及び／ハプロタイプは高いグリーンソン（即ち、より進行性）前立腺癌と関連している。別の態様において、正常P S Aレベル（例えば、4 n g / m l 未満）を有する患者におけるマーカー又はハプロタイプの存在は、高いグリーンソン（即ち、より進行性）前立腺癌及び／又はより悪い予後を示す。「より悪い予後」又は「悪い予後」は、癌が前立腺の境界を超えて増殖し、転移し、療法を逃れ及び／又は宿主を殺すことが起こりそうな時に生じる。

10

【 0 1 2 5 】

一つの態様において、マーカー又はハプロタイプの存在は、腫瘍又はその前駆体中のC h r 8 q 2 4 . 2 1 の体細胞再構成（例えば、一つまたはそれより多くの増幅、転座、挿入及び／又は欠失）の素因を示す。体細胞再構成それ自身、続いて前立腺癌のより進行性形態（例えば、より高いグリーンソンスコア又はより高い診断段階を反映したより高い組織学的グレード）、前立腺癌の増加した進行（例えば、より高い段階へ）、より悪い結果（例えば、罹患率、合併症又は死に関して）を導くことができる。当該技術分野で公知であるように、グリーンソングレードは、正常腺構築物（サイズ、形状及び腺の分化）の損失の程度について前立腺癌を分類するために広く使用されている方法である。

20

【 0 1 2 6 】

1 ~ 5 のグレードが、試験された組織サンプル中に存在する二つの最も主な組織パターンの各々に連続的に帰属され、一緒に足し合わされて合計又は合併グリーンソングレード（スケール2 ~ 1 0）を生じる。高い数字は弱い分化を示し、それ故より進行性の癌を示す。

30

【 0 1 2 7 】

進行性前立腺癌は、前立腺を超えて増殖し、転移し、そして最終的には患者を殺す癌である。本明細書に記載したごとく、攻撃性の一つの代用尺度は高い合併グリーンソングレードである。2 ~ 1 0 のスケール上のグレードが高いほど、患者は進行性疾患を有しているであろう。

【 0 1 2 8 】

本明細書に使用したごとく、及び別に注意しない限り、用語「段階（stage）」は癌（例えば、前立腺癌）のサイズ及び物理的範囲を定義するために使用される。多様な癌を段階分けする一つの方法は、T N M法であり、T N M頭字語において、Tは腫瘍サイズ及び侵襲度（例えば、前立腺中の原発性腫瘍）を表し；Nは節関与（例えば、リンパ節に広がった前立腺癌）に関係し；及びMは転移（遠い部位への伝搬）の存在又は不存在を示す。

40

【 0 1 2 9 】

本発明はさらに、癌（例えば、前立腺癌）のリスク評価に関し、個体が癌を発生するリスクにあるかどうかを診断することを含んでいる。本発明の多型マーカーは、単独で又は組み合わせて、ならびに他の遺伝的又は非遺伝的リスク因子又はバイオマーカー（例えば、P S A）を含む他の因子と組み合わせて、特定の癌（例えば、前立腺癌）についての個体の評価のために使用し得る。癌を発生するリスクを発生させることに対する個体の素因に影響する多くの因子が当業者には知られており、こうした評価に利用し得る。これらには、限定されるわけではないが、年齢、性、喫煙歴及び喫煙状態、身体活動性、ウエストヒップ外周比、癌の家族歴、以前に診断された癌、肥満、高トリグリセリド血症、低H D

50

L コレステロール、高血圧、血圧上昇、コレステロールレベル、HDL コレステロール、LDL コレステロール、トリグリセリド、アポリポタンパク質 A I 及び B レベル、フィブリノーゲン、フェリチン、C 反応性タンパク質及びロイコトリエンレベルが含まれる。多変量解析又はロジスティック回帰分析を含む、当該技術分野で公知である方法をこうした全リスク評価に使用し得る。

【0130】

本発明の方法

癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）への感受性を診断する方法が本明細書に記載されており、本発明に包含される。癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）への感受性を検出するため、対象からのサンプルをアッセイするためのキットも本発明に包含される。

10

【0131】

診断及びスクリーニングアッセイ

ある態様において、本発明は、癌対象又は癌に感受性である対象により高頻度で出現する遺伝子マーカーでの特定のアレルを検出することにより、癌又は癌への感受性を診断する又は診断を助ける方法に関する。特定の態様において、本発明は、一つまたはそれより多くの特定の多型マーカー（例えば、本明細書に記載したマーカー又はハプロタイプ）を検出することによる、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、結腸癌、肺癌及び／又は黒色腫への感受性を診断する方法である。本発明は、特定のマーカー又はハプロタイプの検出が癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）への感受性を示す方法を記載する。こうした予後又は予測的アッセイは、こうした癌に関連する症状の発病に先立って、対象の予防的治療を決定するために使用し得る。

20

【0132】

加えて、ある他の態様において、本発明は、癌においてより低い頻度で出現する特定の遺伝子マーカーアレル又はハプロタイプを検出することによる、癌への減少した感受性を診断する、又は診断を助ける方法に関する。特定の態様において、本発明は、一つまたはそれより多くの特定の遺伝子マーカー（例えば、本明細書に記載したマーカー又はハプロタイプ）を検出することにより、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌及び／又は黒色腫への感受性を診断する方法である。本発明は、特定のマーカー又はハプロタイプの検出が、減少した癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、結腸癌、肺癌、黒色腫）への感受性、又は癌に対する保護的マーカー又はハプロタイプを示す方法を記載する。

30

【0133】

本明細書に記載した及び例示したごとく、Chr 8q24.21 LD ブロック C（配列番号 1）及び LD ブロック C（配列番号 2）に関連する特定のマーカー又はハプロタイプ（例えば、ハプロタイプ）は癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）と関係がある。一つの態様において、該マーカー又はハプロタイプは前立腺癌、乳癌、肺癌及び／又は黒色腫への感受性の有意なリスクを与えるものである。別の態様において、本発明は、健常対象（対照）における存在と比較して、癌を有している又は癌が疑われる対象（患者）におけるその存在がより高頻度である、配列番号 2（例えば、5A、5B 及び 5C に示されたマーカー、及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカー）に関連するマーカー又はハプロタイプについてスクリーニングすることによる、対象における癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）への感受性を診断する方法に関する。ある態様において、該マーカー又はハプロタイプは、 p 値 < 0.05 を有する。他の態様において、関連の有意性は、 < 0.01 、 < 0.001 、 < 0.0001 、 < 0.00001 、 < 0.000001 、 < 0.0000001 、 < 0.00000001 、 < 0.000000001 又は 0.0000000001 のようなより小さい p 値により特徴付けられる。

40

【0134】

これらの態様において、該マーカー又はハプロタイプの存在は、癌（例えば、前立腺癌

50

(例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、肺癌、黒色腫)への感受性を示す。これらの診断法は、本明細書に記載した、癌に関連しているマーカー又はハプロタイプの存在又は不存在を検出することを含む。本明細書に記載したハプロタイプは、多様な遺伝子マーカー(例えば、SNPs、マイクロサテライト)の組み合わせを含む。特定のハプロタイプを作り上げる特定の遺伝子マーカーの検出は、本明細書に記載した及び/又は当該技術分野で既知の多様な方法により実行し得る。例えば、遺伝子マーカーは、核酸レベルで(例えば、直接ヌクレオチド配列決定により)又は、もし遺伝子マーカーが癌関連核酸(例えば、その配列が配列番号1又は配列番号2に示されている核酸)によりコードされたタンパク質のコード配列に影響するならばアミノ酸レベルで(例えば、タンパク質配列決定により、又はこうしたタンパク質を認識する抗体を使用するイムノアッセイにより)検出し得る。本発明のマーカーアレル又はハプロタイプは、癌(例えば、前立腺癌)と関連するゲノムDNA配列の断片に相当する。こうした断片は、問題とする多型マーカー又はハプロタイプのDNA配列を包含するが、該マーカー又はハプロタイプと強いLD(連鎖不平衡)にあるDNAセグメントも含む。一つの態様において、こうしたセグメントは、 0.2 より大きな r^2 及び/又は $|D'| > 0.8$ の値により決定される、該マーカー又はハプロタイプとLDにあるゲノムセグメントを含んでなる。該マーカー又はハプロタイプとLDにあるこうしたセグメントの例は、配列番号1又は配列番号2に示されている。

10

【0135】

一つの態様において、癌(例えば、前立腺癌(例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、肺癌、黒色腫)への感受性の診断は、サザン分析、ノーザン分析及び/又はインサイツハイブリダイゼーションのようなハイブリダイゼーション法(Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, F. et al, eds., John Wiley & Sons、すべての補足を含んで、を参照されたい)を使用して達成し得る。ゲノムDNA、RNA又はcDNAの試験対象又は個体からの生物学的サンプル(「試験サンプル」)は癌を有すると疑われた、かかりやすい、又は素因がある対象(「試験対象」)から得られた。対象は成人、小児又は胎児であり得る。該試験サンプルは、血液サンプル、羊水のサンプル、脳脊髄液のサンプル、又は皮膚、筋肉、頬側又は結膜粘膜、胎盤、胃腸管又は他の器官からの組織サンプルのような、ゲノムDNAを含有するいずれかの起源からであり得る。胎児細胞又は組織からのDNAの試験サンプルは、羊水穿刺又は絨毛膜絨毛サンプリングによるような適切な方法により得ることが可能である。次ぎにDNA、RNA又はcDNAサンプルを試験する。特異的マーカーアレルの存在は、該特定のアレルに特異的である核酸プローブの配列特異的ハイブリダイゼーションにより示し得る。特異的マーカーアレル又は特異的ハプロタイプを超える存在は、それぞれが特定のアレルに特異的である、いくつかの配列特異的核酸プローブを使用することにより示し得る。一つの態様において、ハプロタイプは、特定のハプロタイプに特異的である(即ち、該ハプロタイプに特徴的な特異的マーカーアレルを含んでなるDNA鎖に特異的にハイブリダイズする)単一核酸プローブにより示し得る。配列特異的プローブは、ゲノムDNA、RNA又はcDNAへハイブリダイズするように方向付け得る。本明細書で使用する「核酸プローブ」は、相補的配列にハイブリダイズするDNAプローブ又はRNAプローブであり得る。当業者は、特定のアレルが試験サンプルからのゲノムDNA中に存在する場合にのみ配列特異的ハイブリダイゼーションが起こるように、こうしたプローブをどのように設計するのかを承知しているであろう。

20

30

40

【0136】

癌(例えば、前立腺癌(例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、肺癌、黒色腫)への感受性を診断するため、癌関連核酸を含有する試験サンプルと少なくとも一つの核酸プローブを接触させることによりハイブリダイゼーションサンプルを形成させる。mRNA又はゲノムDNAを検出するためのプローブの非制限例は、本明細書に記載したmRNA又はゲノムDNA配列にハイブリダイズすることができる標識核酸プローブである。該核酸プローブは完全長核酸分子、又は例えば、ストリンジェント条件下で適切なmRNA又はゲノムDNAに特異的にハイブリダイズするのに十分である、少なくとも15、30、50、100、250又は500ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチドのようなそれらの一部であ

50

り得る。例えば、該核酸プローブは配列番号：1のすべて又は一部又は配列番号：2のすべて又は一部であることが可能であり、本明細書に記載したハプロタイプ中に含まれる少なくとも一つのアレルを含んでいてもよく、又は該プローブはこうした配列の相補配列であることが可能である。特定の態様において、該核酸プローブは配列番号：1の一部、又は配列番号：2の一部であり、ハプロタイプ中に含まれる少なくとも一つのアレルを含んでいてもよく、又は該プローブはこうした配列の相補配列であり得る。本発明の診断アッセイに使用するための他の適したプローブは本明細書に記載されている。

【0137】

ハイブリダイゼーションは当業者には公知の方法により実施し得る（例えば、Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, F. et al., eds., John Wiley & Sons, including all supplements、すべての補足を含んで、を参照されたい）。一つの態様において、ハイブリダイゼーションは特異的ハイブリダイゼーション、即ち、ミスマッチのないハイブリダイゼーション（正確なハイブリダイゼーション）を指す。一つの態様において、特異的ハイブリダイゼーションのためのハイブリダイゼーション条件は高ストリンジェンシーである。

10

【0138】

特異的ハイブリダイゼーションは、もし存在するならば、標準法を使用して検出される。もし特異的ハイブリダイゼーションが、該核酸プローブと試験サンプル中の核酸との間で起こったら、該サンプルは、該核酸プローブ中に存在するヌクレオチドに相補的であるアレルを含有する。該プロセスは、本発明のいずれのマーカー、本発明のハプロタイプを作り上げるマーカーについても繰り返すことができ、一つまたはそれより多くのマーカーアレルを検出するために複数のプローブを同時に使用し得る。特定のハプロタイプの一つより多くのマーカーアレルを含有する単一プローブ（例えば、特定のハプロタイプを作り上げる2、3、4、5又はすべてのマーカーに相補的なアレルを含有するプローブ）を設計することが可能である。該サンプル中のハプロタイプ特定のマーカーの検出は、サンプルの起源が特定のハプロタイプ（例えば、一つのハプロタイプ）を有し、それ故、癌（例えば、前立腺癌）へ感受性であることを示す。

20

【0139】

一つの好ましい態様において、一つの方法は、Kutyavin et al., (Nucleic Acids Res. 34:e128 (2006)) により記載されているように、蛍光部分を3'末端に、及びクエンチャーを5'末端に、及びエンハンサーオリゴヌクレオチドを含んでなるオリゴヌクレオチドプローブの検出を利用する。該蛍光成分はGig Harbor Green又はYakima Yellow又は他の適した蛍光成分であり得る。該検出プローブは、検出されるべきSNP多型を含む短い核酸配列へハイブリダイズするように設計されている。好ましくは、該SNPは末端残基から検出プローブの3'末端から6残基の間のいずれかにある。該エンハンサーは、検出プローブに関して3'のDNA鋳型へハイブリダイズする短いオリゴヌクレオチドプローブである。該プローブは、検出プローブ及びエンハンサーヌクレオチドプローブの両方が鋳型に結合された場合、両者間に単一ヌクレオチドギャップが存在するように設計されている。該ギャップは、エンドヌクレアーゼI Vのようなエンドヌクレアーゼにより認識される合成塩基脱落部位を創造する。該酵素は、完全に相補的な検出プローブの染料を切断するが、ミスマッチを含有する検出プローブを切断できない。それ故、放出された蛍光部分の蛍光を測定することにより、検出プローブの核酸配列により規定された特定のアレルの存在の評価を実施し得る。

30

40

【0140】

検出プローブはどのようなサイズでもよいが、好ましくは、該プローブは比較的短い。一つの態様において、該プローブは5～100ヌクレオチド長である。別の態様において、該プローブは10～50ヌクレオチド長である。別の態様において、該プローブは12～30ヌクレオチド長である。該プローブの他の長さも可能であり、当業者の範囲内である。

【0141】

50

好ましい態様において、S N P多型を含有する該D N A鋳型は、検出に先立ってポリメラーゼ連鎖反応（P C R）により増幅される。こうした態様において、該増幅されたD N Aは、該検出プローブ及び該エンハンサープローブのための鋳型として働く。

【0142】

該検出プローブ、該エンハンサープローブ及び／又はP C Rによる鋳型の増幅に使用されたプライマーのある種の態様は、修飾A及び修飾Gを含む修飾塩基の使用を含む。修飾塩基の使用は、鋳型D N Aに対するヌクレオチド分子（プローブ及び／又はプライマー）の融点を調節するために、例えば、低パーセンテージのG又はCを含有する領域の融点を上昇させるために（その相補的Tと三つの水素結合を形成する能力を有する修飾Aを使用し得る）、又は高パーセンテージのG又はCを含有する領域の融点を低下させるために（例えば、二本鎖D N A分子中で、その相補的Cと二つの水素結合しか形成しない修飾G塩基を使用することにより）、有用であり得る。好ましい態様において、修飾塩基は、検出ヌクレオチドプローブの設計に使用される。当業者には既知のいずれの修飾塩基もこれらの方法において選択することができ、適した塩基の選択は、本明細書の教示に基づく当業者の範囲内であり、及び当業者には公知のように既知の塩基が商業的供給源から入手可能である。

10

【0143】

別のハイブリダイゼーション法において、ノーザン分析（Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, F. et al., eds., John Wiley & Sons、上記文献、を参照されたい）を、癌に関連する多型の存在又は癌への感受性（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）を同定するために使用する。ノーザン分析のためには、適切な手段により対象からR N Aの試験サンプルを得る。本明細書に記載したごとく、対象からのR N Aへの核酸プローブの特異的ハイブリダイゼーションは、プローブに相補的な特定のアレルを示す。核酸プローブの使用の代表的な例は、例えば、米国特許番号5,288,611及び4,851,330を参照されたい。

20

【0144】

さらに、又はもしくは、ペプチド核酸（P N A）プローブを、本明細書に記載したハイブリダイゼーション法の核酸プローブに加えて、又は代わりに使用し得る。P N Aは、N -（2 - アミノエチル）グリシンユニットのような、ペプチド様無機主鎖を有し、メチレンカルボニルリンカーを介して該グリシン窒素に有機塩基（A、G、C、T又はU）が結合されているD N A模倣物である（例えば、Nielsen, P., et al, Bioconjug. Chem. 5:3-7(1994)を参照されたい）。P N Aプローブは、癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、黒色腫）に関連するハプロタイプの一つまたはそれより多くの遺伝子マーカーを含有すると疑われるサンプル中の分子に特異的にハイブリダイズするように設計し得る。P N Aプローブのハイブリダイゼーションは、癌又は癌への感受性を診断するものである。

30

【0145】

本発明の一つの態様において、対象から得られたゲノムD N Aを含有する試験サンプルが集められ、本発明の一つまたはそれより多くのマーカー又はハプロタイプを含んでなる断片を増幅するためポリメラーゼ連鎖反応（P C R）が使用される。本明細書に記載したように、癌に関連する特定のアレル又はハプロタイプマーカーの同定は種々の方法（例えば、配列分析、制限消化による分析、特異的ハイブリダイゼーション、一本鎖コンホメーション多型アッセイ（S S C P）、電気泳動分析など）により達成し得る。別の態様において、診断は定量的P C R（動力学的熱サイクリング）を使用する発現分析により達成される。この技術は、例えば、TaqMan（登録商標）（Applied Biosystems、Foster City、CA）のような商業的に入手可能な技術を利用することができる。該技術は、癌に関連する核酸（例えば、その配列が配列番号1又は配列番号2に示された配列すべて又は断片を含んでなる核酸）によりコードされているポリペプチドの発現又は組成又はスプライシング変異体（単数又は複数）の発現の変化の存在を評価し得る。さらに、変異体（単数又は複数）の発現を物理的に又は機能的に異なったものとして定量し得る。

40

50

【0146】

本発明の別の方法において、もしアレルが基準配列と比べて制限部位の創造又は除去を生じていたら、制限消化による分析を、特定のアレルを検出するために使用し得る。ゲノムDNAを含有する試験サンプルは対象から得ることが可能である。試験対象からの試験サンプル中の、配列番号1又は配列番号2の特定の領域を増幅するためにPCRを使用し得る。例えば、Current Protocols in Molecular Biology、上記文献、に記載されている、制限断片長多型(RFLP)分析を実行し得る。関連DNA断片の消化パターンは、サンプル中の特定のアレルの存在又は不存在を示す。

【0147】

配列分析も使用することができ、配列番号1又は配列番号2に関連する多型部位での特異的アレルを検出する。それ故、一つの態様において、特定のマーカーアレル又はハプロタイプの存在又は不存在の決定は、対象又は個体から得たDNA又はRNAの試験サンプルの配列分析を含んでなる。PCR又は他の適切な方法を配列番号1又は配列番号2の一部を増幅するために使用することができ、そして特異的アレルの存在を、サンプル中のゲノムDNAの多型部位(又は、もしくはハプロタイプ中の多くの多型部位)を配列決定することにより直接的に検出し得る。

10

【0148】

アレル特異的オリゴヌクレオチドも、増幅されたオリゴヌクレオチドとアレル特異的オリゴヌクレオチド(ASO)プローブのドット-プロットハイブリダイゼーションの使用を介して、癌に関連する多型部位での特定のアレルの存在を検出するために使用し得る(例えば、Saiki, R. et al, Nature, 324:163-166 (1986)を参照されたい)。「アレル特異的オリゴヌクレオチド」(「アレル特異的オリゴヌクレオチドプローブ」とも称される)は、配列番号1又は配列番号2の領域に特異的にハイブリダイズし、多型部位(例えば、本明細書に記載した多型)に特異的アレルを含む、およそ10~50塩基対又はおよそ15~30塩基対のオリゴヌクレオチドである。配列番号1又は配列番号2に関連する一つまたはそれより多くの特定の多型に特異的であるアレル特異的オリゴヌクレオチドプローブは、標準法を使用して製造し得る(例えば、Current Protocols in Molecular Biology、上記文献、を参照されたい)。PCRを、配列番号1又は配列番号2の所望の領域を増幅するために使用し得る。増幅されたLDブロックC領域を含有するDNAは、標準法を使用してドット-プロットすることができ(例えば、Current Protocols in Molecular Biology、上記文献、を参照されたい)、該プロットを該オリゴヌクレオチドと接触させ得る。増幅された領域への該プローブの特異的ハイブリダイゼーションの存在を次ぎに検出し得る。対象からのDNAへのアレル特異的オリゴヌクレオチドプローブの特異的ハイブリダイゼーションは、癌に関連する多型部位での特異的アレルを示す(例えば、Gibbs, R. et al., Nucleic Acids Res., 17:2437-2448 (1989)及びW093/22456を参照されたい)。

20

30

【0149】

ロクト核酸(LNA)のような類似体の添加により、プライマー及びプローブのサイズをわずか8塩基に減少させ得る。LNAは二環式DNA類似体の新規クラスであり、フラノース環の2'及び4'位がO-メチレン(オキシLNA)、S-メチレンチオLNA)又はアミノメチレン(アミノLNA)部分により結合されている。これらLNA変異体のすべてに共通していることは、相補的核酸に対する親和性であり、DNA類似体について報告されている中で飛び抜けて高いことである。例えば、特定のすべてのオキシLNA九量体は、対応するDNA九量体についてDNA及びRNAの両方が28であるのに対し、相補的DNA又はRNAと複合体形成した場合、それぞれ64及び74の融解温度(Tm)を有することが示されている。Tmの実質的な増加は、LNAの単量体が標準DNA又はRNA単量体と組み合わせて使用された場合にも得られる。プライマー及びプローブについては、どこにLNA単量体が含まれているかに依存して(例えば、3'末端、5'末端又は中央)、Tmをかなり上昇させることができた。

40

【0150】

50

別の態様において、対象からの標的核酸配列セグメントに相補的であるオリゴヌクレオチドプローブのアレイを、癌関連核酸中の多型を同定するために使用し得る。例えば、オリゴヌクレオチドアレイを使用し得る。オリゴヌクレオチドアレイは典型的には、異なった既知の位置で基質の表面に結合する複数の異なったオリゴヌクレオチドプローブを含んでなる。「Genechips (商標)」とも記述されているこれらのオリゴヌクレオチドアレイは、当該技術分野で一般的に記載されている(例えば、米国特許番号5,143,854、PCT特許出願番号WO90/15070及び92/10092を参照されたい)。これらのアレイは一般的には、機械的合成法又は光リソグラフィ法及び固相オリゴヌクレオチド合成を取り込んだ光指向(light directed)合成法を使用して製造される(Fodor, S. et al., Science, 251:767-773 (1991); Pirrung et al., 米国特許番号5,143,854 (公開PCT出願番号WO90/15070も参照されたい); 及びFodor, S. et al., 公開PCT出願番号WO92/10092 及び米国特許番号5,424,186、これらの各々の全教示が本明細書において援用される)。機械的合成法を使用したこれらのアレイの合成のための技術については、例えば、米国特許番号5,384,261 (その全教示が本明細書において援用される)に記載されている。別の例においては、リニアアレイを利用し得る。

【0151】

オリゴヌクレオチドアレイが製造されたら、目的の核酸を該アレイとハイブリダイズさせる。ハイブリダイゼーションの検出は、目的の核酸中の、特定のアレルの検出である。ハイブリダイゼーション及びスキニングは一般に本明細書に記載した、及び、例えば、公開PCT出願番号WO92/10092及びWO95/11995及び米国特許番号5,424,186 (各々の全教示は本明細書において援用される)にも記載されている方法により実施する。簡単には、一つ又はそれ以上の以前に同定された多型マーカーを含む標的核酸配列を公知の増幅技術(例えば、PCR)により増幅する。典型的には、このことは、多型部位からの標的配列の二つの鎖(上流及び下流の両方)に相補的であるプライマー配列の使用を含む、非対称PCR技術も使用し得る。一般には標識を取り込んでいる増幅された標的を次ぎに、配列特異的ハイブリダイゼーションを可能にする適切な条件下、アレイとハイブリダイズさせる。アレイのハイブリダイゼーション及び洗浄が完了したら、アレイをスキャンし、標的配列がハイブリダイズしたアレイ上の位置を決定する。該スキャンから得られたハイブリダイゼーションデータは、典型的にはアレイ上の位置の関数としての蛍光強度の形態である。

【0152】

主として、例えば、単一多型部位の検出のための単一検出ブロックに関して記載したけれども、アレイは多重検出ブロックを含むことが可能であり、そしてそれ故、多重特異的多型(例えば、特定のハプロタイプの多くの多型(例えば、一つのハプロタイプ))を分析し得る。別の配置において、アレイへの標的のハイブリダイゼーション間に使用することが可能な最適条件を変動できるように、検出ブロックを単一アレイ又は多重分離アレイにグループ化し得る。例えば、A-T富化セグメントに含まれるものから切り離されたゲノム配列のG-C富化ストレッチに含まれる多型の検出を提供することがしばしば望まれるであろう。このことは、各状況についての別々のハイブリダイゼーション条件の最適化を可能にする。

【0153】

多型の検出のためのオリゴヌクレオチドアレイの使用の追加の記述は、例えば、米国特許番号5,858,659 及び5,837,832 (両方の全教示が本明細書において援用される)に見ることができる。

【0154】

核酸分析の他の方法が癌に関連する多型(例えば、その核酸配列が配列番号1及び配列番号2に示された配列により表される、Chr 8q24.21上のゲノムセグメントに関連する多型部位)での特定のアレルを検出するために使用し得る。代表的な方法には、例えば、直接マニュアルシーケンシング(Church and Gilbert, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 1991-1995 (1988); Sanger, F., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74:5463-5467

10

20

30

40

50

(1977); Beavis, et al., 米国特許番号5,288,644); 自動化蛍光シーケンシング; 一本鎖コンホメーション多型アッセイ (SSCP); クランプト変性ゲル電気泳動 (CDGE); 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) (Sheffield, V., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:232-236 (1989)); 移動度シフト分析 (Orita, M., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:2766-2770 (1989)); 制限酵素分析 (Flavell, R., et al., Cell, 15:25-41 (1978); Geever, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:5081-5085 (1981)); ヘテロ二重鎖分析; 化学ミスマッチ切断 (CMC) (Cotton, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:4397-4401 (1988)); RNase保護アッセイ (Myers, R., et al., Science, 230:1242-1246 (1985)); 大腸菌mutSタンパク質のようなヌクレオチドミスマッチを認識するポリペプチドの使用; 及びアレル特異的PCRが含まれる。

10

【0155】

本発明の別の態様において、癌又は癌への感受性 (例えば、前立腺癌 (例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、肺癌、黒色腫) の診断は、癌関連核酸によりコードされたポリペプチドの発現及び/又は組成を試験することによって行うことができ、これらの例において、本明細書に記載した遺伝子マーカー (単数又は複数) 又はハプロタイプはポリペプチドの組成又は発現に変化をもたらす。それ故、癌への感受性 (例えば、前立腺癌 (例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、肺癌、黒色腫) の診断は、これらのポリペプチドの一つ、又は癌関連核酸によりコードされた別のポリペプチドの発現及び/又は組成を試験することにより行うことができ、これらの例において、本明細書に記載した遺伝子マーカー又はハプロタイプはポリペプチドは、ポリペプチドの組成又は発現に変化をもたらす。癌への関連を示す本明細書に記載したハプロタイプ又はマーカーは、これらの近隣の遺伝子の一つまたはそれより多くに、その効果を介して関与することができる。これらの遺伝子に影響することが可能な機構には、例えば、転写への影響、RNAスプライシングへの影響、mRNAの別のスプライス形の相対量の変化、RNA安定性への影響、核から細胞質への輸送に対する影響、及び翻訳の効率及び正確さに対する影響が含まれる。

20

【0156】

Chr 8q24.21上のc-myc遺伝子は、トリ骨髄球腫症レトロウイルスのウイルス癌遺伝子v-mycの細胞性対応物として20年以上前に同定されたc-MYCタンパク質をコードする (Vennstrom et al., J. Virology 42:113-19 (1982))。c-MYCタンパク質は、分裂促進刺激による細胞の処置で迅速に誘導される転写因子である。c-MYCはMAXと称されるタンパク質とのヘテロ二量体複合体中のEボックス (CACGTG) と結合することにより多くの遺伝子の発現を調節する。c-MYCにより調節されている多くの遺伝子は細胞周期制御に関与している。c-MYCは細胞周期進行を促進し、細胞分化を抑制し及びアポトーシスを誘導する。c-MYCは二本鎖DNA修復に対して負の効果も有している (Karlsson, A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100(17):9974-79 (2003))。c-MYCは血管新生も促進する (Ngo, C.V., et al., Cell Growth Differ. 11(4):201-10(2000); Baudino T.A., et al., Genes Dev. 16(19):2530-43 (2002))。

30

【0157】

c-myc遺伝子はインビトロ及びインビボで高度に腫瘍発生的である。c-MYCはBCL、BCL-XLのようなアポトーシスを抑制するタンパク質と、又はトランスジェニックマウスのリンパ腫発生におけるp53又はARFの喪失に協力する (Strasser et al., Nature 348:331-333 (1990); Blyth, K., et al., Oncogene 10:1717-23 (1990); Ellison, A., et al., Oncogene 11:181-90 (1995); Eischen, CM., et al., Genes Dev. 13:2658-69 (1999))。

40

【0158】

c-myc遺伝子の増幅及び過剰発現は前立腺癌で観察され、進行性腫瘍、ホルモン非依存性及び予後不良としばしば関連している (Jenkins, R.B., et al., Cancer Res. 57(3):524-31 (1997); El Gedaily, A., et al., Prostate 46(3):184-90 (2001); Saramaki, O., et al., Am. J. Pathol. 159(6):2089-94 (2001); Bubendorf, L., et al., Cancer R

50

es. 59(4):803-06 (1999))。c - m y c 及び C h r 8 q 2 4 . 2 1 領域は前立腺、乳及び及び肺癌及び黒色腫においてさらに増している(Blancato J., et al., Br. J. Cancer 90(8): 1612-9 (2004); Kubokura, H., et al., Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg. 7 (4):197-203 (2001); Treszl, A., et al, Cytometry 60B(1):37-46 (2004); Kraehn, G.M., et al, Br. J. Cancer 84(1):72-79 (2001))。加えて、多くの他の腫瘍タイプはこの領域の獲得を示しており、結腸、肝臓、卵巣、胃、腸管及び膀胱癌が含まれる。すべての腫瘍タイプをまとめると、C h r 8 q 2 4 . 2 1 は最も頻繁に獲得される染色体領域であり、すべての腫瘍タイプのおよそ 1 7 % で獲得されている (www.progenetix.com)。

【 0 1 5 9 】

c - m y c を免疫グロブリンエンハンサーに並置し、それにより該遺伝子の発現を活性化する転座の結果として、癌遺伝子はパーキットリンパ腫に關与する(Dalla-Favera, R., et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA 79(24):7824-27 (1982); Taub, R., et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79(24):7837-41 (1982))。それは、該遺伝子の近くへのヒトパピローマウイルス (H P V) 組込みによる子宮頸部癌にも關与する。ほとんどのケースにおいて、H P V 組込みは、c - m y c 遺伝子の 5 0 0 k b 動原体及び 2 0 0 k b テロメアにまたがる領域で生じる(Ferber, J.M., et al., Cancer Genetics CytoGenetics 154:1-9 (2004); Ferber, M.J., et al., Oncogene 22:7233-7242 (2003))。

【 0 1 6 0 】

二つの脆弱な部位 F R A 8 C 及び F R A 8 D が、それぞれ C h r 8 q 2 4 . 2 1 の c - m y c の動原体及びテロメアにある。脆弱な部位は、D N A 合成を停止させる剤の存在下で破損しがちである。脆弱な部位の複製は、S 期の後期及び誘導事象後に起こると考えられている。染色体増幅、転座及び / 又はウイルス挿入における脆弱な部位の關与は、これらの部位の遅い複製及び破壊が複製フォークの停止で又は近接して開始されることに關係する (Hellman, A., et al, Cancer Cell 1 : 89-97 (2002))。

【 0 1 6 1 】

L D ブロック C (配列番号 1) 又は L D ブロック C ' (配列番号 2) 内の、又は L D ブロック C (配列番号 1) 又は L D ブロック C ' (配列番号 2) と強い L D (0 . 2 を超える r^2 及び / 又は $|D'| > 0 . 8$ により測定される) にある本明細書に記載したマーカー又はハプロタイプは c - m y c 遺伝子及び他の近傍の遺伝子の遺伝子増幅を導く領域の安定性に影響することができるとも可能である。即ち、人は配列番号 1 又は配列番号 2 に示された領域の特定の変異体形を一人又は両方の親から受け継ぐことができ、及びそれにより一つまたはそれより多くの細胞において体細胞突然変異事象を後で有する可能性が高くなり、より攻撃的形態への癌の進行を導いている。それ故、一つの態様において、本発明のマーカー又はハプロタイプ (例えば、配列番号 2 又は配列番号 1 に關連するマーカー又はハプロタイプ) の同定は、より攻撃的形態への癌の進行を導き得る体細胞突然変異事象への感受性を診断するために使用することができる。

【 0 1 6 2 】

一つの態様において、該マーカー又はハプロタイプは、c - m y c 読み取り枠 (即ち、NCBI Build 34 中の chr8 : 128 , 705 , 092 ~ 128 , 710 , 260 bp) 内に位置しているマーカーを含んでいない。別の態様において、該マーカー又はハプロタイプは、c - m y c プロモーター又は読み取り枠内に位置しているマーカーを含んでいない。さらに別の態様において、該マーカー又はハプロタイプは、c - m y c プロモーター、エンハンサー又は読み取り枠内に位置しているマーカーを含んでいない。さらに別の態様において、該マーカー又はハプロタイプは、c - m y c 読み取り枠の 1 k b、2 k b、5 k b、10 k b、15 k b、20 k b 又は 25 k b 以内に位置しているマーカーを含んでいない。

【 0 1 6 3 】

酵素連結免疫吸着アッセイ (E L I S A)、ウェスタンブロット、免疫沈降及び免疫蛍光を含む多様な方法をこうした検出を行うために使用し得る。対象からの試験サンプルは、C h r 8 q 2 4 . 2 1 關連核酸及び / 又は L D ブロック C (配列番号 1) 又は L D ブロ

10

20

30

40

50

ックC' (配列番号2) 関連核酸によりコードされたポリペプチドの発現の変化及び/又は組成の変化の存在について評価される。こうした核酸によりコードされたポリペプチドの発現における変化は、例えば、定量的ポリペプチド発現 (即ち、産生されたポリペプチドの量) であろう。該核酸によりコードされたポリペプチドの組成における変化は、定量的ポリペプチド発現 (突然変異体ポリペプチドの又は異なったスプライシング変異体の発現) である。一つの態様において、癌 (例えば、前立腺癌 (例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、結腸癌、肺癌、黒色腫) への感受性の診断は、本明細書に記載した癌関連核酸 (例えば、Chr 8q24.21 関連核酸、LDブロックC (配列番号1) 関連核酸及び/又はLDブロックC' (配列番号2) 関連核酸) によりコードされた特定のスプライシング変異体、又はスプライシング変異体の特定のパターンを検出することにより行われる。

10

【0164】

こうした変化の両方 (定量的及び定性的) が存在し得る。本明細書で使用されるポリペプチド発現又は組成における「変化」とは、対照サンプル中のポリペプチドの発現又は組成と比較して、試験サンプル中のポリペプチドの発現又は組成の変化を指す。対照サンプルは、試験サンプルに対応するサンプル (例えば、同一タイプの細胞から) であり、及び癌に罹患していない及び/又は癌への感受性を有していない対象 (例えば、本明細書に記載したマーカー又はハプロタイプを有していない対象) からのものである。同様に、対照サンプルと比較して、試験サンプル中の一つ又はそれ以上の異なったスプライシング変異体の存在、又は試験サンプル中の異なったスプライシング変異体の有意に異なった量での存在は、癌への感受性 (例えば、前立腺癌 (例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、結腸癌、肺癌、黒色腫) を示し得る。対照サンプルと比較して、試験サンプル中のポリペプチドの発現又は組成における変化は、変異体が対照サンプル中の基準に関連したスプライス部位を変化させている例においては、特異変異体 (例えば、アレル又はハプロタイプマーカー) を示す。核酸によりコードされたポリペプチドの発現又は組成を試験する多様な手段が当業者には知られ、及び使用することができ、分光法、比色分析法、電気泳動法、等電点電気泳動及びイムノプロットティングのような免疫アッセイ (例えば、David et al., 米国特許番号4,376,110) が含まれる (例えば、Current Protocols in Molecular Biology, 特に10章、上記文献、を参照されたい)。

20

【0165】

例えば、一つの態様において、本明細書に記載した癌に関連する核酸によりコードされたポリペプチドに結合することが可能である抗体 (例えば、検出可能な標識を有する抗体) を使用し得る。抗体はポリクローナルでもモノクローナルでもよい。無傷の抗体、又はそれらの断片 (例えば、Fv、Fab、Fab', F(ab')₂) を使用し得る。プローブ又は抗体に関する用語「標識された」とは、プローブ又は抗体へ検出可能物質をカップリング (即ち、物理的連結) させることによるプローブ又は抗体の直接標識化、ならびに直接的に標識された別の試薬との反応性によるプローブ又は抗体の間接標識を包含することが意図される。間接標識の例には、標識二次抗体 (例えば、蛍光標識二次抗体) を使用する一次抗体の検出、及び蛍光性標識ストレプトアビジンで検出できるような、ビオチンによるDNAプローブの末端標識が含まれる。

30

【0166】

この方法の一つの態様において、試験サンプル中の癌関連核酸によりコードされたポリペプチドのレベル又は量が、対照サンプル中の該ポリペプチドのレベル又は量と比較される。対照サンプル中のポリペプチドのレベル又は量よりも高い又は低い試験サンプル中のポリペプチドのレベル又は量 (相違が統計的に有意であるような) は、該核酸によりコードされたポリペプチドの発現における変化を示し、発現に相違を起こすことの原因となる特定のアレルについての診断である。もしくは、試験サンプル中の該ポリペプチドの組成が対照サンプル中の該ポリペプチドの組成と比較される。別の態様において、該ポリペプチドのレベル及び量の両方を試験サンプル中及び対照サンプル中で評価し得る。

40

【0167】

別の態様において、癌 (例えば、前立腺癌 (例えば、進行性前立腺癌)、乳癌、結腸癌

50

、肺癌、黒色腫）への感受性の診断は、追加のタンパク質に基づいた、RNAに基づいた、又はDNAに基づいたアッセイ（例えば、限定されるわけではないが、PSAアッセイ、癌胎児性抗原（CEA）アッセイ、BRCA1アッセイ、BRCA2アッセイを含む他の癌診断アッセイ）と組み合わせられた、本発明の少なくとも一つのマーカー又はハプロタイプ（例えば、表5A、5B及び5Cに示されたマーカー及びそれらと連鎖不平衡にあるマーカー又はハプロタイプ）を検出することにより行われる。こうした癌診断アッセイは当該技術分野では公知であり、当業者には公知である癌についての他の遺伝的リスク因子も含まれる。本発明の方法は、対象の家族履歴及びリスク因子（例えば、環境リスク因子、生活習慣リスク因子）の分析と組み合わせても使用し得る。

【0168】

当該技術分野で公知のように、及び本明細書に記載されているように、PSA試験が前立腺癌の早期診断を助けてきたが、それは高感度でもそして特異的でもない(Punglia et al., N. Engl. J. Med. 349(4):335-42 (2003))。従って、PSA試験単独では、多くの癌の見逃し及び癌のない対象の不必要な続いてのバイオプシーの両方を生じる、高いパーセンテージの偽陰性及び偽陽性診断を導く。一つの態様において、前立腺癌又は前立腺癌への感受性の診断は、PSAアッセイと組み合わせ、少なくとも一つのChr8q24.21関連アレル及び/又はLDブロックC関連アレルを検出することにより行われる。

【0169】

キット

本発明の方法に有用なキットは、例えば、ハイブリダイゼーションプローブ、制限酵素（例えば、RFLP分析）、アレル特異的オリゴヌクレオチド、本明細書に記載した核酸（例えば、本発明の少なくとも一つの多型マーカー及び/又はハプロタイプを含んでなるゲノムセグメント）によりコードされた変化したポリペプチド、又は本明細書に記載した本発明の核酸によりコードされた変化していない（天然の）ポリペプチドに結合する抗体、を含む本明細書に記載したいずれかの方法、癌と関連する核酸の増幅のための手段、癌と関連する核酸の核酸配列を分析するための手段、癌と関連する核酸によりコードされたポリペプチドのアミノ酸配列を分析するための手段、その他、に有用な成分を含んでなる。該キットは、例えば、必要な緩衝液、本発明の核酸（例えば、一つ又はそれ以上の癌に関連した多型マーカー、例えば、表5A、5B及び5Cに示されたマーカーセット）を増幅するための核酸プライマー、及びこうしたプライマー及び必要な酵素（例えば、DNAポリメラーゼ）を使用して増幅された断片のアレル特異的検出のための試薬を含んでいる。加えて、キットは、本発明の方法と組み合わせ使用されるべきアッセイのための試薬、例えば、他の癌診断アッセイで使用するための試薬を提供し得る。

【0170】

一つの態様において、本発明は対象における特定の癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、肺癌、結腸癌、乳癌、黒色腫）又は癌（例えば、前立腺癌、肺癌、結腸癌、乳癌、黒色腫）への感受性の検出を助けるため、対象からのサンプルをアッセイするためのキットであり、該キットは、個体のゲノム中の、本発明の少なくとも一つの多型の少なくとも一つのアレルを選択的に検出するために必要な試薬を含んでなる。特定の態様において、該試薬は、少なくとも一つの本発明の多型を含んでなる個体のゲノムの断片にハイブリダイズする、少なくとも一つの近接するオリゴヌクレオチドを含んでなる。別の態様において、該試薬は、対象から得られたゲノムセグメントの反対鎖にハイブリダイズする少なくとも一つの対のオリゴヌクレオチドを含んでなり、各オリゴヌクレオチドプライマー対は、少なくとも一つの多型を含む個体のゲノムの断片を選択的に増幅するように設計されており、該多型は、表5A、5B及び5Cに示された多型、及びそれらと連鎖不平衡にある多型マーカーから成る群より選択される。さらに別の態様において、該断片は少なくとも20塩基対のサイズである。こうしたオリゴヌクレオチド又は核酸（例えば、オリゴヌクレオチドプライマー）は、癌を示す多型（例えば、SNP又はマイクロサテライト）に隣接する核酸配列の一部を使用して設計し得る。別の態様において、該キットは、癌に関連する一つ又はそれ以上の特異的多型マーカー又はハプロタイプのアレル特異的

10

20

30

40

50

検出が可能な一つ又はそれ以上の標識核酸、及び標識を検出するための試薬を含んでなる。適した標識には、例えば、放射性同位元素、蛍光標識、酵素標識、酵素補因子標識、磁気標識、スピン標識、エピトープラベルが含まれる。

【0171】

特定の態様において、本キットの試薬により検出されるべき多型マーカー又はハプロタイプは、表5A、表5B及び表5Cに示されたマーカーから成る群より選択される一つ又はそれ以上のマーカー、二つ又はそれ以上のマーカー、三つ又はそれ以上のマーカー、四つ又はそれ以上のマーカー、五つ又はそれ以上のマーカーを含んでなる。別の態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、表4A及び表4Bに示されたマーカーを含んでなる。別の態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、表4A及び表4Bにリストしたマーカーから成る群の少なくとも一つに、 0.2 より大きな r^2 の値により定義される強い連鎖不平衡にあるマーカーの群からの少なくとも一つのマーカーを含んでなる。好ましい態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは $rs16901979$ 及びそれと連鎖不平衡にあるマーカーを含んでなる。別の好ましい態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、HapC($rs1456314$ アレルG、 $rs17831626$ アレルT、 $rs7825414$ アレルG、 $rs6993569$ アレルG、 $rs6994316$ アレルA、 $rs6470494$ アレルT、 $rs1016342$ アレルC、 $rs1031588$ アレルG、 $rs1016343$ アレルT、 $rs1551510$ アレルG、 $rs1456306$ アレルC、 $rs1378897$ アレルG、 $rs1456305$ アレルT、及び $rs7816535$ アレルG)を含んでなる。

10

20

【0172】

一つの好ましい態様において、本発明のマーカーを検出するためのキットは、検出されるべきSNP多型を鋳型DNAのセグメントにハイブリダイズする検出オリゴヌクレオチドプローブ、エンハンサーオリゴヌクレオチドプローブ及びエンドヌクレアーゼを含んでなる。上で説明したように、該検出オリゴヌクレオチドプローブは、蛍光成分又は基を3'末端に、及びクエンチャーをその5'末端に含んでなり、及びKutyavin et al. (Nucleic Acids Res. 34:e128 (2006))に記載されているエンハンサーオリゴヌクレオチドが用いられている。該蛍光成分はGig Harbor Green又はYakima Yellow 又は他の適した蛍光成分であり得る。該検出プローブは、検出されるべきSNP多型を含む短い核酸配列へハイブリダイズするように設計されている。好ましくは、該SNPは末端残基から検出プローブの3'末端から6残基の間のいずれかにある。該エンハンサーは、検出プローブに関して3'のDNA鋳型へハイブリダイズする短いオリゴヌクレオチドプローブである。該プローブは、検出プローブ及びエンハンサーヌクレオチドプローブの両方が鋳型に結合された場合、両者間に単一ヌクレオチドギャップが存在するように設計されている。該ギャップは、エンドヌクレアーゼIVのようなエンドヌクレアーゼにより認識される合成塩基脱落部位を創造する。該酵素は、完全に相補的な検出プローブの染料を切断するが、ミスマッチを含有する検出プローブを切断できない。それ故、放出された蛍光部分の蛍光を測定することにより、検出プローブの核酸配列により規定された特定のアレルの存在の評価を実施し得る。

30

40

【0173】

検出プローブはどのようなサイズでもよいが、好ましくは、該プローブは比較的短い。一つの態様において、該プローブは5~100ヌクレオチド長である。別の態様において、該プローブは10~50ヌクレオチド長である。別の態様において、該プローブは12~30ヌクレオチド長である。該プローブの他の長さも可能であり、当業者の範囲内である。

【0174】

好ましい態様において、SNP多型を含有する該DNA鋳型は、検出に先立ってポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により増幅され、そしてこうした増幅のためのプライマーは、該試薬キットに含まれている。こうした態様において、該増幅されたDNAは、該検出プローブ及び該エンハンサープローブのための鋳型として働く。

50

【 0 1 7 5 】

好ましい態様において、S N P 多型を含有する該 D N A 鋳型は、検出に先立ってポリメラーゼ連鎖反応 (P C R) により増幅される。こうした態様において、該増幅された D N A は、該検出プローブ及び該エンハンサープローブのための鋳型として働く。

【 0 1 7 6 】

該検出プローブ、該エンハンサープローブ及び / 又は P C R による鋳型の増幅に使用されたプライマーのある種の態様は、修飾 A 及び修飾 G を含む修飾塩基の使用を含む。修飾塩基の使用は、鋳型 D N A に対するヌクレオチド分子 (プローブ及び / 又はプライマー) の融点を調節するために、例えば、低パーセンテージの G 又は C を含有する領域の融点を上昇させるために (その相補的 T と三つの水素結合を形成する能力を有する修飾 A を使用し得る) 、又は高パーセンテージの G 又は C を含有する領域の融点を低下させるために (例えば、二本鎖 D N A 分子中で、その相補的 C と二つの水素結合しか形成しない修飾 G 塩基を使用することにより) 、有用であり得る。好ましい態様において、修飾塩基は、検出ヌクレオチドプローブの設計に使用される。当業者には既知のいずれの修飾塩基もこれらの方法において選択することができ、適した塩基の選択は、本明細書の教示に基づく当業者の範囲内であり、及び当業者には公知のように既知の塩基が商業的供給源から入手可能である。

10

【 0 1 7 7 】

こうした態様の一つにおいて、該マーカー又はハプロタイプの存在は、癌 (例えば、前立腺癌 (例えば、進行性前立腺癌) 、肺癌、結腸癌、乳癌、黒色腫) への感受性 (増加した感受性又は減少した感受性) を示す。別の態様において、該マーカー又はハプロタイプの存在は、癌の療法剤への応答を示す。別の態様において、該マーカー又はハプロタイプの存在は、個体における癌予後を示す。さらに別の態様において、該マーカー又はハプロタイプの存在は、癌治療の進行を示す。こうした治療は、手術による、投薬又は他の手段 (例えば、ライフスタイル変更) による介入を含むことができる。

20

【 0 1 7 8 】

本発明の変異体に関連する疾患の診断

本発明の方法は癌 (例えば、前立腺癌) への感受性を診断することとの関連においてほとんどの場合記述されてきたが、本方法は、本発明の多型マーカーと関連する癌を診断することにも使用し得る。例えば、癌を有する又は癌を発生するリスクにある個体は、個体における本発明の多型又はハプロタイプの存在が、個体の癌を診断することに寄与しているかどうかを決定することにより評価し得る。一つの態様において、本発明のマーカー及び / 又はハプロタイプに関連する癌の同定は、治療計画を容易にする。例えば、癌を発生する個体の発生を最少化する予防的治療を与えることができる。こうした予防的治療は、本発明の変異体が冠動脈疾患及び心筋梗塞の低い発症年齢と関連していることが示されているので、(i) 個体がアットリスク変異体についてヘテロ接合性又はホモ接合性であるかどうか ; (i i) 個体の年齢 ; 及び (i i i) 個体の性 ; の評価も含む。本発明の他の態様において、療法を計画することができ、及び本発明の多型及び / 又はハプロタイプに関連する適切な遺伝子又はタンパク質を標的とするように治療学が選択される。

30

【 0 1 7 9 】

本発明の一つの態様において、本発明のマーカー及び / 又はハプロタイプに関連する癌の診断は、本発明の多型又はハプロタイプを検出することにより行われる。特定の多型が本明細書に記載されている。特定の態様において、検出されるべき多型マーカー又はハプロタイプは、表 5 A 、表 5 B 及び表 5 C に示されたマーカーから成る群より選択される、一つ又はそれ以上のマーカー、二つ又はそれ以上のマーカー s , 三つ又はそれ以上のマーカー、四つ又はそれ以上のマーカー、又は五つ又はそれ以上のマーカーを含んでなる。別の態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、表 4 A 及び表 4 B に示されたマーカーを含んでなる。別の態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、表 4 A 及び表 4 B にリストしたマーカーから成るマーカーの群からの少なくとも一つの、 0.2 より大きな r^2 の値により定義される強い連鎖不平衡にあるマーカーの

40

50

群からの少なくとも一つのマーカーを含んでなる。好ましい態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、rs16901979及びそれと連鎖不平衡にあるマーカーを含んでなる。別の好ましい態様において、検出されるべきマーカー又はハプロタイプは、HapC(rs1456314アレルG、rs17831626アレルT、rs7825414アレルG、rs6993569アレルG、rs6994316アレルA、rs6470494アレルT、rs1016342アレルC、rs1031588アレルG、rs1016343アレルT、rs1551510アレルG、rs1456306アレルC、rs1378897アレルG、rs1456305アレルT及びrs7816535アレルG)を含んでなる。

【0180】

ゲノムDNA、RNA又はcDNAの試験サンプルは、癌を有している対象から得られ、疾患が本発明の一つ又はそれ以上の多型と関連しているかどうか決定される。DNA、RNA又はcDNAサンプルは次に、本発明の多型又は特異的ハプロタイプの特異的アレルが、サンプル中に存在していることが観察されるかどうかを決定するために試験される。もし、該核酸サンプルが該多型又は特異的ハプロタイプの特異的アレルを含有することが観察されたら、該アレル又はハプロタイプの存在は、癌が該多型及び/又はハプロタイプと関連していることを示す。

【0181】

本発明の方法及びキットにおいてさらに詳細に記述される当業者には既知の方法が、該多型を検出するために使用できる。

療法剤

本発明の変異体(例えば、本発明のマーカー及び/又はハプロタイプ、例えば、表5A、5B及び5Cにリストしたマーカー、及びそれらの連鎖不平衡にあるマーカー、例えば、表4A及び4Bにリストしたマーカー)は、癌(例えば、前立腺癌)の新規療法的標的を同定するために使用し得る。例えば、癌に関連する変異体(マーカー及び/又はハプロタイプ)、又は連鎖不平衡にある変異体を含有する遺伝子、又はそれらの産物、ならびにこれらの変異体遺伝子又はそれらの産物により直接的に又は間接的に調節されている、又はそれらと相互作用する遺伝子又はそれらの産物は、癌を治療する、又は癌に関連する症状の発症を予防する又は遅延するための、療法剤の開発の標的であり得る。一つの態様において、該遺伝子はc-mycである。療法剤は、一つ又はそれ以上の、例えば、小さな非タンパク質及び非核酸分子、タンパク質、ペプチド、タンパク質断片、核酸(DNA、RNA)、PNA(ペプチド核酸)又は標的遺伝子又はそれらの遺伝子産物の機能及び/又はレベルを変調し得るそれらの誘導体又は模倣物を含んでなることができる。

【0182】

本発明の核酸及び/又は変異体、又はそれらの相補的配列を含んでなる核酸は、アンチセンス構築物として使用することができ、細胞、組織又は器官中の遺伝子発現を制御する。アンチセンス技術に関連する方法論は当業者には公知であり、Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications, Crooke, ed., Marcel Dekker Inc., New York (2001)、に記述及び概説されている。一般に、アンチセンス分子がmRNAにハイブリダイズし、タンパク質へのmRNAの翻訳を阻止するように、アンチセンス核酸分子は、遺伝子により発現されるmRNAの領域と相補的であるように設計される。切断剤及び阻止剤を含むいくつかのクラスのアンチセンスオリゴヌクレオチドが当業者において公知である。前者は標的RNA部位に結合し、標的RNAを切断する細胞内ヌクレアーゼ(例えば、RnaseH又はRnaseL)を活性化する。阻止剤は標的RNAに結合し、リボソームの立体障害によりタンパク質翻訳を阻害する。阻止剤の例には、核酸、モルホリノ化合物、ロクト核酸及びメチルホスホン酸が含まれる(Thompson, Drug Discovery Today, 7:912-917 (2002))。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、直接的に療法剤として有用であり、遺伝子機能を決定する及び検証するためにも(例えば、遺伝子ノックアウト又は遺伝子ノックダウン実験により)有用である。アンチセンス技術はさらに、La

10

20

30

40

50

Curr. Opin. Mol. Ther. 5:118-122 (2003), Kurreck, Eur. J. Biochem. 270:1628-44 (2003), Dias et al., Mol. Cancer Ther. 1:347-55 (2002), Chen, Methods Mol. Med. 75:621-636 (2003), Wang et al., Curr. Cancer Drug Targets 1:177-96 (2001) 及び Bennett, Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 12:215-24 (2002)、に記述されている。

【 0 1 8 3 】

本明細書に記載した変異体は、特定の変異体に特異的であるアンチセンス試薬の選択及び設計に使用し得る。本明細書に記載した変異体についての情報を使用し、本発明の一つ又は以上の変異体を含む m R N A 分子を特異的に標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド又は他のアンチセンス分子を設計し得る。この様式において、一つ又はそれ以上の本発明の変異体（マーカー及び／又はハプロタイプ）を含む m R N A 分子の発現を、阻害又は阻止することができる。一つの態様において、該アンチセンス分子は標的核酸の特定のアレル形（即ち、一つ又は数個の変異体（マーカー及び／又はハプロタイプ））に特異的に結合するように設計され、それによりこの特異的アレル又はハプロタイプに由来する産物の翻訳を阻害するが、標的核酸分子の特異的多型部位で他の又は代替の変異体へは結合しない。

10

【 0 1 8 4 】

アンチセンス分子は、遺伝子発現を阻害するために、m R N A を不活性化するように使用することができるので、該分子は、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、肺癌、結腸癌、乳癌、黒色腫を含む癌のような疾患を治療するために使用し得る。方法論は、翻訳されるべき m R N A の能力を弱める、m R N A 中の一つ又はそれ以上の領域に相補的なヌクレオチド配列を含むリボザイムによる切断を含み得る。こうした m R N A 領域には、例えば、タンパク質コード領域、特に触媒活性に対応するタンパク質コード領域、基質及び／又はリガンド結合部位、又はタンパク質の他の機能性領域が含まれる。

20

【 0 1 8 5 】

R N A 干渉 (R N A i) の現象は、C . エレガンスでのその最初の発見 (Fire et al., Nature 391 :806-11 (1998)) 以来、ここ十年間活発に研究されてきており、ヒト疾患の治療における使用可能性が活発に追求されている (Kim & Rossi, Nature Rev. Genet. 8:173-204 (2007) に概説されている) 。 R N A 干渉 (R N A i) は遺伝子サイレンシングとも称され、特異的遺伝子をオフにするための二本鎖 R N A 分子 (d s R N A) を使用することに基づいている。細胞内で、細胞性二本鎖 R N A 分子 (d s R N A) は細胞性複合体により小さな干渉 R N A (s i R N A) にプロセッシングされる。 s i R N A は、タンパク質 - R N A 複合体の標的を標的 m R N A 上の特異的部位へと導く (Thompson, Drug Discovery Today, 7:912-917 (2002)) 。 s i R N A 分子は典型的には、約 2 0 、 2 1 、 2 2 又は 2 3 ヌクレオチド長である。それ故、本発明の一つの側面は、単離された核酸分子、及び R N A 干渉へのこれらの分子の使用 (即ち、小さな干渉 R N A 分子 (s i R N A) としての) に関する。一つの態様において、該単離された核酸分子は 1 8 ~ 2 6 ヌクレオチド長、好ましくは 1 9 ~ 2 5 ヌクレオチド長、より好ましくは 2 0 ~ 2 4 ヌクレオチド長、及びより好ましくは 2 1 、 2 2 又は 2 3 ヌクレオチド長である。

30

【 0 1 8 6 】

R N A i 仲介遺伝子サイレンシングの別の経路は、細胞中でプロセッシングされて前駆体 m i R N A (p r e - m i R N A) を発生し、内因的にコードされている一次マイクロ R N A (p r i - m i R N A) 転写体由来する。これらの m i R N A 分子は、核から細胞質へ輸送され、プロセッシングを受けて成熟 m i R N A 分子 (m i R N A) を発生し、それは m R N A の 3 ' 非翻訳領域中の標的部位を認識することによる翻訳阻害及び P ボディーをプロセッシングすることによる続いての m R N A 分解を指示する (Kim & Rossi, Nature Rev. Genet. 8:173-204 (2007) により概説されている) 。

40

【 0 1 8 7 】

R N A i の臨床応用には、およそ 2 0 ~ 2 3 ヌクレオチドのサイズであり、そして好ましくは 2 ヌクレオチドの 3 ' オーバーラップを有する合成 s i R N A 二重鎖の取り込みが含まれる。遺伝子発現のノックダウンは、標的 m R N A のための配列特異的設計により確

50

立されている。こうした分子の最適化設計及び合成についてのいくつかの商業的サイトが当業者には知られている。

【0188】

他の応用は、より長い *siRNA* 分子（典型的には、25～30ヌクレオチド長、好ましくは約27ヌクレオチド）、ならびに小さなヘアピン *RNA*（*shRNA*；典型的には約29ヌクレオチド長）を提供する。後者は、Amarzguioui et al., (FEBS Lett. 579: 5974-81 (2005)) により記載されているように、天然に発現される。化学合成 *siRNA* 及び *shRNA* は、インビトロプロセスの基質であり、いくつかの場合、より短い設計よりも強力な遺伝子サイレンシングを提供する (Kim et al., Nature Biotechnol. 23: 222-226 (2005); Siolas et al., Nature Biotechnol. 23:227-231 (2005))。一般に、*siRNA* は、それらの細胞内濃度が続いての細胞分裂により希釈されるので、遺伝子発現の一時的サイレンシングしか提供しない。対称的に、発現された *shRNA* は、*shRNA* の転写が起こる限り、標的転写体の長期、安定なノックダウンを仲介する (Marques et al., Nature Biotechnol. 23:559-565 (2006); Brummelkamp et al., Science 296: 550-553 (2002))。

10

【0189】

siRNA、*miRNA* 及び *shRNA* を含む *RNAi* 分子は配列依存性様式で働くので、本発明の変異体（例えば、表5A、5B及び5Cに示したマーカー、及びそれらの連鎖不平衡にあるマーカー、例えば、表4A及び4Bに示したマーカーのヌクレオチド配列）は、特異的アレル及び／又はハプロタイプ（例えば、本発明のアレル及び／又はハプロタイプ）を含んでなる特異的核酸分子を認識するが、一方、他のアレル又はハプロタイプを含んでなる核酸分子は認識しない *RNAi* 試薬を設計するために使用し得る。これらの *RNAi* 試薬は、それ故、標的核酸分子を認識し及び破壊できる。アンチセンス試薬と同様に、*RNAi* 試薬は療法剤として有用であり得るが（即ち、疾患関連遺伝子又は疾患関連遺伝子変異体をオフにする）、遺伝子機能の特徴付ける及び検証するためにも有用であることができる（例えば、遺伝子ノックアウト又は遺伝子ノックダウン実験により）。

20

【0190】

RNAi の送達は、当業者には公知のさまざまな方法論により実行することができる。非ウイルス送達を利用する方法には、コレステロール、安定核酸-リピッド粒子 (*SNALP*)、重鎖抗体断片 (*Fab*)、アプタマー及びナノ粒子が含まれる。ウイルス送達法には、レンチウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスの使用が含まれる。*siRNA* 分子はいくつかの態様において、それらの安定性を増加させるため、化学的に修飾される。このことには、*RNAse* 活性への耐性を提供する、2'-O-メチルプリン及び2'-フルオロピリミジンを含むリボースの2'での修飾が含まれる。他の化学的修飾が可能であり、当業者には公知である。

30

【0191】

以下の参考文献は *RNAi* のさらなる要約であり、*RNAi* を使用する特異的遺伝子標的化の可能性である：Kim & Rossi, Nat. Rev. Genet. 8:173-184 (2007), Chen & Rajewsky, Nat. Rev. Genet. 8:93-103 (2007), Reynolds, et al., Nat. Biotechnol. 22:326-330 (2004), Chi et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 100:6343-6346 (2003), Vickers et al., J. Biol. Chem. 278:7108-7118 (2003), Agami, Curr. Opin. Chem. Biol. 6:829-834 (2002), Lavery, et al., Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 6:561-569 (2003), Shi, Trends Genet. 19:9-12 (2003), Shuey et al., Drug Discov. Today 7:1040-46 (2002), McManus et al., Nat. Rev. Genet. 3:737-747 (2002), Xia et al., Nat. Biotechnol. 20:1006-10 (2002), Plasterk et al., Curr. Opin. Genet. Dev. 10:562-7 (2000), Boshier et al., Nat. Cell Biol. 2:E31-6 (2000), 及びHunter, Curr. Biol. 9:R440-442 (1999)。

40

癌を含む疾患の発生について増加した素因又はリスクを導く遺伝的欠陥、又は該疾患を起こす欠陥は、該遺伝的欠陥の部位で正常／野生型ヌクレオチド（単数又は複数）を供給する、修復配列を組み入れる核酸断片を欠陥を運んでいる対象に投与することにより永久

50

に修正することができる。こうした部位特異的修復配列は、対象のゲノムDNAの内因性修復を促進するように作用するRNA/DNAオリゴヌクレオチドを包含することができる。配列修復の投与は、ポリエチレンジンと複合体、陰イオン性リボソームでのカプセル化、アデノウイルスベクターのようなウイルスベクター、又は投与された核酸の細胞内取り込みを促進するために適した他の医薬組成物のような適切なビヒクルにより実施することができる。キメラオリゴヌクレオチドが対象のゲノム内への正常配列の組み入れを誘導し、正常/野生型遺伝子産物の発現を導くので、遺伝的欠陥を克服することができる。置き換えが伝搬され、それ故、恒久的修復及び疾患又は状態に関連する症状の緩和を与える。

【0192】

本発明は、癌を治療するために使用できる化合物又は剤を同定する方法を提供する。それ故、本発明の変異体は療法剤の同定及び/又は開発のための標的として有用である。こうした方法は、本発明の少なくとも一つの変異体(マーカー及び/又はハプロタイプ)を含む核酸、又は核酸がコードする産物の活性及び/又は発現を変調する剤又は化合物の能力をアッセイすることを含むことができる。このことは順に、コードされた核酸産物の望まれない活性又は発現を阻害する又は改変する剤又は化合物を同定するために使用し得る。こうした実験を実施するためのアッセイは、当業者には公知のように、細胞に基づいたシステム又は無細胞システムで実施し得る。細胞に基づいたシステムには、問題とする核酸分子を天然で発現している細胞、又はある種の所望の核酸分子を発現するように遺伝子修飾されている組換え細胞が含まれる。

【0193】

患者における変異体遺伝子発現は、変異体含有核酸配列(例えば、少なくとも一つの本発明の変異体を含む遺伝子、それは少なくとも一つの変異体を含むRNAに転写することができ、順にタンパク質に翻訳される)の発現により、又は正常転写体の発現のレベル又はパターンに影響する変異体(例えば、遺伝子の調節又は制御領域中の変異体)のため、正常/野生型核酸配列の発現の変化により評価し得る。遺伝子発現についてのアッセイには、直接核酸アッセイ(mRNA)、発現されたタンパク質レベルについてのアッセイ、又は経路、例えば、シグナル経路に関与する傍系化合物のアッセイが含まれる。さらに、シグナル経路に応答して上方又は下方制御される遺伝子の発現もアッセイし得る。一つの態様は、問題とする遺伝子(単数又は複数)の調節領域に動作可能なように連結された、ルシフェラーゼのようなレポーター遺伝子を含む。

【0194】

遺伝子発現の変調剤は、一つの態様において、細胞を候補化合物又は剤と接触させ、そしてmRNAの発現が決定された時に同定し得る。候補化合物又は剤の存在下でのmRNAの発現レベルが、該化合物又は剤の不存在下での発現レベルと比較される。この比較に基づき、癌を治療するための候補化合物又は剤を、該変異体遺伝子の遺伝子発現を変調するものとして同定し得る。mRNA又はコードされたタンパク質の発現が、候補化合物又は剤の存在下でその不存在下よりも統計的に有意に高い場合、該候補化合物又は剤は該核酸の発現の刺激剤又は上方調節剤として同定される。核酸発現又はタンパク質レベルが、候補化合物又は剤の存在下でその不存在下よりも統計的に有意に低い場合、該候補化合物は該核酸発現の抑制剤又は下方調節剤として同定される。

【0195】

本発明はさらに、遺伝子変調剤(即ち、遺伝子発現の刺激剤及び/又は抑制剤)の薬剤(化合物又は剤)スクリーニングを介して同定された化合物を使用する治療の方法も提供する。

【0196】

本発明のさらなる側面において、医薬バック(キット)が提供され、該バックは療法剤、及び本明細書に記載した本発明の一つ又はそれ以上の変異体について診断的に試験されるヒトへの療法剤の投与に関する説明書のセットを含んでなる。該療法剤は、低分子薬剤、抗体、ペプチド、アンチセンス又はRNAi分子、又は他の療法的分子であり得る。一

10

20

30

40

50

つの態様において、本発明の少なくとも一つの変異体のキャリアと同定された個体は、該療法剤の処方された用量を服用するように指示される。一つのこうした態様において、本発明の少なくとも一つの変異体のホモ接合性キャリアと同定された個体は、該療法剤の処方された用量を服用するように指示される。別の態様において、本発明の少なくとも一つの変異体の非キャリアと同定された個体は、該療法剤の処方された用量を服用するように指示される。

【0197】

療法剤への応答の可能性を評価する方法、治療の進行をモニタリングする方法、及び治療の方法

当該技術分野で既知であるように、個体は特定の療法（例えば、療法剤又は治療法）に対して異なった応答を有し得る。薬理ゲノミクスは、薬剤の体内動態の変化及び／又は異常な又は変化した薬剤の作用のため、どのように遺伝子変異体（例えば、本発明の変異体（マーカー及び／又はハプロタイプ））が薬剤応答に影響するかの問題について取り組んだ。そのため、異なった応答の基礎が一部遺伝学的に決定された。薬剤応答に影響する遺伝子変異体による臨床的結果は、ある種の個体（例えば、遺伝子変異体のキャリア又は非キャリア）において薬剤の毒性、又は薬剤の治療不全を生じてよい。それ故、本発明の変異体は、療法剤及び／又は方法が体に作用する様式、又は体が療法剤を代謝する経路を決定することができる。

【0198】

従って、一つの態様において、多型部位又はハプロタイプでの特定のアレルの存在は、特定の治療モダリティ（modality）に対して異なった応答、例えば、異なった奏功率を示す。このことは、癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、結腸癌、黒色腫）と診断され、及び本発明の多型又はハプロタイプにある種のアレル（例えば、アットリスク及び保護的アレル及び／又は発明のハプロタイプ）を運んでいる患者は、癌を治療するために使用された特定の療法、薬剤及び／又は他の療法により良好に、又はより悪く応答するであろう。それ故、該アレル又はハプロタイプマーカーの存在又は不存在は、該患者に対してどのような治療を使用すべきかの決定において助けとなることができる。例えば、新規に診断された患者に対して、本発明のマーカー又はハプロタイプの存在を評価することができる（例えば、本明細書に記載したように、血液サンプルに由来するDNAを試験することを介して）。もし患者がマーカーアレル又はハプロタイプについて陽性であれば（即ち、マーカーの少なくとも一つの特異的アレル又はハプロタイプが存在）、医者は一つの特定の療法を推奨し、一方、もし患者がマーカーの少なくとも一つのアレルについて陰性であれば、療法の異なったコースが推奨される（疾患の進行について連続的にモニターすること以外は、即時の療法を実施することは推奨しないことを含むことができる）。それ故、患者のキャリア状態を、特定の治療モダリティを与えるべきかどうかを決定するのを助けるために使用できる。最も適切な治療を選択するために早期段階で疾患を診断することが可能であること、及び最も適切な治療を適用することが可能のように疾患の予後／進行性度について臨床医に情報を提供する可能性にも意義がある。

【0199】

本発明は、特定の癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌）、乳癌、肺癌、結腸癌、黒色腫）についての治療の進行又は有効性をモニタリングする方法にも関する。このことは本発明のマーカー及び／ハプロタイプの遺伝子型及び／又はハプロタイプ状態に基づいて、即ち、本明細書に記載した少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレルの存在又は不存在を評価することにより、又は本発明の変異体（マーカー及び／ハプロタイプ）に関連している遺伝子の発現をモニタリングすることにより行い得る。リスク遺伝子mRNA又はコードされたポリペプチドは、組織サンプル（例えば、末梢血液サンプル又は生検サンプル）で測定し得る。発現レベル及び／又はmRNAレベルは、それ故、その有効性をモニターするため、治療前及び治療間に決定される。もしくは、又は同時に、本明細書で示された、癌についての少なくとも一つのリスク変異体の遺伝子型及び／又はハプロタイプ状態が、その有効性をモニターするため、治療前及び治療間に決定

される。

【0200】

もしくは、本発明のマーカー及び／ハプロタイプに関連する生物学的ネットワーク又は代謝経路を、mRNA及び／又はポリペプチドを決定することによりモニターし得る。このことは、例えば、治療前及び治療間に採取されたサンプル中の、該ネットワーク又は経路に属しているいくつかの遺伝子の発現レベル又はポリペプチドをモニターすることにより行い得る。もしくは、治療前及び治療間に、生物学的ネットワーク又は代謝経路に属している代謝産物を決定し得る。治療の有効性は、治療の間に観察された発現レベル／代謝レベルの変化を、健常対象からの対応するデータと比較することにより決定される。

【0201】

さらなる側面において、本発明のマーカーは、臨床試行の能力及び有効性を増加させるために使用し得る。それ故、本発明の少なくとも一つのアットリスク変異体のキャリアである個体、即ち、癌を発生する増加したリスクを与える少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレル又はハプロタイプのキャリアである個体は、特定の治療モダリティーにより応答し易いようである。一つの態様において、特定の治療（例えば、低分子薬剤）が標的としている、経路及び／又は代謝ネットワーク中の遺伝子（単数又は複数）のアットリスク変異体を運んでいる個体は、該治療のレスポnderである可能性が高い。別の態様において、一つの遺伝子のアットリスク変異体を運んでいる個体（発現及び機能がアットリスク変異体により変化している）は、該遺伝子、その発現又はその遺伝子産物を標的とする治療モダリティーのレスポnderである可能性が高い。この応用は、臨床試行の安全性を改善し得るが、臨床試行が統計的に有意な効力を示すであろう機会を高めることもでき、それはある種の集団の副群に限定されるであろう。それ故、こうした試行の起こり得る結果は、ある種の遺伝子変異体（例えば、本発明のマーカー及び／ハプロタイプ）のキャリアは、該療法剤に正の応答を統計的に有意に示し易い、即ち、処方された療法剤又は薬剤を服用した場合、癌に関連する症状の緩和を経験することである。

【0202】

さらなる側面において、本発明のマーカー及び／ハプロタイプは、特定の個体のための医薬品の選択を目標に使用し得る。治療モダリティーの個別化選択、ライフスタイル変化又は二つの組み合わせは、本発明のアットリスク変異体の利用により実現し得る。それ故、本発明の特定のマーカーについての個体の状態は、本発明のアットリスク変異体により影響される標的遺伝子又は遺伝子産物を標的とする治療オプションの選択に有用であり得る。変異体のある種の組み合わせは、治療オプションの一つの選択に適していることができ、一方、他の遺伝子変異体の組み合わせは、他の治療オプションを目的とすることができる。こうした変異体の組み合わせは、臨床的に信頼できる正確さで治療モジュールの選択を決定するのに必要とされる場合、一つの変異体、二つの変異体、三つの変異体、又は四つ又はそれ以上の変異体を含むことができる。

【0203】

本発明の変異体の診断的及び療法的使用に加えて、該変異体（マーカー及び／ハプロタイプ）は人物同定に有用なマーカーでもあり、そのため法医学、親子鑑定及びバイオメトリクスにおいても有用である。法医学目的のためのSNPsの具体的使用は、Gill (Int. J. Legal Med. 114:204-10 (2001)) により概説されている。個体間のゲノムDNA中の遺伝子変異は、個体を同定するため及び生物学的サンプルと個体を結びつけるための遺伝子マーカーとして使用し得る。SNPs及びマイクロサテライトを含む遺伝子マーカーは、個体を識別するために有用であり得る。より多くのマーカーが分析されると、いずれかの所与の個体中のマーカーのアレル組み合わせが無関連個体と同一である可能性を低くする（マーカーは相関していないこと、即ち、該マーカーは完全連鎖平衡にあることを仮定して）。それ故、好ましいマーカーは、本発明のマーカーのような利用可能なマーカーから選択することができ、選択されたマーカーは、異なった染色体上のマーカーを含む、ヒトゲノム中の異なった領域からのマーカーを含んでなることができる。

【0204】

ある種の応用において、法医学試験に有用なSNPsは縮重コドン位置からのものである（即ち、SNPの変異がコドンによりコードされているアミノ酸に影響しないように、ある種のコードの三番目の位置）。人種、祖先又は物理的特色を含む表現型特徴を予想するための応用のような他の応用において、コードされたタンパク質のアミノ酸配列に影響するSNPsを利用するのがより有用であり及び望ましいであろう。他のこうした態様において、該変異体（SNP又は他の多型マーカー）は近隣の遺伝子の発現レベルに影響し、それ故、変化したタンパク質発現を導く。

【0205】

核酸及びポリペプチド

本明細書に記載した核酸及びポリペプチドは、上記のように、本発明の方法及びキットに使用し得る。

10

【0206】

本明細書で使用される「単離された」核酸分子とは、通常は遺伝子又はヌクレオチド配列が隣接する核酸（ゲノム配列のように）から分離された及び／又は他の転写された配列から完全に又は部分的に精製された（例えば、RNAライブラリー中のように）ものである。例えば、本発明の単離された核酸は、それが自然に生じる複雑な細胞環境、又は組換え技術により産生された場合の培養培地、又は化学的に合成された場合の化学前駆体又は他の化学薬品に関して実質的に単離し得る。いくつかの例において、単離された物質は組成物（例えば、他の物質を含む粗抽出物）、緩衝液系又は試薬混合物の一部を形成するであろう。他の状況下では、該物質は、例えば、ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）又はカラムクロマトグラフィー（例えば、HPLC）により決定されるように、本質的に均一にまで精製し得る。本発明の単離された核酸分子は、存在するすべての巨大分子の少なくとも約50%、少なくとも約80%又は少なくとも約90%（モルに基づいて）含まれている。ゲノムDNAに関しては、用語「単離された」は、ゲノムDNAが天然に付随していた染色体から分離された核酸分子を指す。例えば、単離された核酸分子は、該核酸分子が由来した細胞のゲノムDNA中の該核酸分子に隣接する、約250kb、200kb、150kb、100kb、75kb、50kb、25kb、10kb、5kb、4kb、3kb、2kb、1kb、0.5kb又は0.1kb未満のヌクレオチドを含み得る。

20

【0207】

該核酸分子は、他のコード又は調節配列と融合することが可能であり、それでも単離されたと考えられる。それ故、ベクター中に含まれている組換えDNAは、本明細書で使
用した「単離された」の定義に含まれる。また、単離された核酸分子には、異種宿主細胞又は異種生物体中の組換えDNA分子、ならびに溶液中の部分的に又は実質的に精製されたDNA分子も含まれる。「単離された」核酸分子は本発明のDNA分子のインビボ又はインビトロRNA転写体も包含する。単離された核酸分子又はヌクレオチド配列は、化学的に合成された又は組換え手段による核酸分子又はヌクレオチド配列を含み得る。こうした単離されたヌクレオチド配列は、例えば、コードされたポリペプチドの製造における、相同的配列（例えば、他の哺乳類種からの）を単離するためのプローブとして、遺伝子地図作製のために（例えば、染色体とのインサイツハイブリダイゼーションによる）、又はノーザンブロット分析又は他のハイブリダイゼーション技術によるような組織中の（例えば、ヒト組織）遺伝子発現を検出するために有用である。

30

40

【0208】

本発明は、本明細書に記載したヌクレオチド配列に、選択的ハイブリダイゼーションのためのような高ストリンジェンシーハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする核酸分子にも関する（例えば、本明細書に記載したハプロタイプに関連する多型を含有するヌクレオチド配列に特異的にハイブリダイズする核酸分子）。こうした核酸分子はアレル又は配列特異的ハイブリダイゼーションにより検出及び／又は単離し得る（例えば、高ストリンジェンシー条件下）。核酸ハイブリダイゼーションのためのストリンジェンシー条件及び方法は、当業者には公知である（例えば、その全教示が本明細書において援用さ

50

れる、Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, F. et al, John Wiley & Sons, (1998)、及びKraus, M. and Aaronson, S., Methods Enzymol., 200:546-556 (1991)を参照されたい)。

【0209】

二つのヌクレオチド又はアミノ酸配列のパーセント同一性は、最適比較目的のために配列をアラインすることにより決定し得る(例えば、ギャップを第一の配列中に導入し得る)。対応する位置でのヌクレオチド又はアミノ酸を次ぎに比較し、二つの配列間のパーセント同一性は、配列により共有されている同一位置の数の関数である(即ち、%同一性 = 同一位置の数 / 位置の総数 × 100)。ある態様において、比較目的のためにアラインされた配列の長さは、基準配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、又は少なくとも95%である。二つの配列の正確な比較は、例えば、数学的アルゴリズムを使用する公知の方法により達成し得る。こうした数学的アルゴリズムの非制限例は、Karlin, S. and Altschul, S., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:5873-5877 (1993)に記載されている。Altschul, S. et al, Nucleic Acids Res., 25:3389-3402 (1997)に記載されているように、こうしたアルゴリズムはNBLAST及びXBLASTプログラム(バージョン2.0)に組み込まれている。BLAST及びGapped BLASTプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム(例えば、NBLAST)のデフォルトパラメーターを使用し得る。ncbi.nlm.nih.gov. のワールドワイドウェブ上のウェブサイトを参照されたい。一つの態様において、配列比較のためのパラメーターは、スコア = 100、ワードレングス = 12にセットすることができるが、あるいは変化させることも可能である(例えば、W = 5又はW = 20)。

【0210】

他の例には、Myers and Miller, CABIOS (1989)、のアルゴリズム、Torellis, A. and Robotti, C1 Comput. Appl. Biosci. 10:3-5 (1994)に記載されているADVANCE及びADAM; 及びPearson, W. and Lipman, D., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:2444-48 (1988)に記載されているFASTAが含まれる。

【0211】

別の態様において、二つのアミノ酸配列間のパーセント同一性はGCGソフトウェアパッケージ(Accelrys, Cambridge, UK)中のGAPプログラムを使用して達成し得る。

本発明は、高ストリンジェント条件下で配列番号1又は配列番号2に示したヌクレオチド配列を含んでなる又は、から成る核酸(配列番号1又は配列番号2の相補体を含んでなる又はから成るヌクレオチド配列)にハイブリダイズする断片又は部分を含有する単離された核酸分子も提供し、該ヌクレオチド配列は、本明細書に記載したマーカー又はハプロタイプ中に含有される少なくとも一つの多型アレルを含んでなる。本発明の核酸断片は、少なくとも約15、少なくとも約18、20、23又は25ヌクレオチドであり、30、40、50、100、200、500、1000、10,000又はそれ以上のヌクレオチド長でもあり得る。

【0212】

本発明の核酸断片は、本明細書に記載したアッセイにおいてプローブ又はプライマーとして使用される。「プローブ」又は「プライマー」は、核酸分子の相補鎖に塩基特異の様式でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドである。DNA及びRNAに加え、こうしたプローブ及びプライマーには、Nielsen, P. et al, Science 254:1497-1500(1991)に記載されているポリペプチド核酸(PNA)が含まれる。プローブ又はプライマーは、核酸分子の少なくとも約15、典型的には約20~25、及びある態様において約40、50又は75の連続したヌクレオチドにハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含んでなる。一つの態様において、該プローブ又はプライマーは、本明細書に記載した少なくとも一つの多型マーカーの少なくとも一つのアレル又は少なくとも一つのハプロタイプ、又はそれらの相補体を含んでなる。特定の態様において、プローブ又はプライマーは、100又はより少ないヌクレオチド; 例えば、ある態様において6~50ヌクレオチド、又は

、例えば、12～30ヌクレオチドを含み得る。他の態様において、該プローブ又はプライマーは、該連続したヌクレオチド配列と、又は該連続したヌクレオチド配列の相補体と少なくとも70%同一、少なくとも80%同一、少なくとも85%同一、少なくとも90%同一又は少なくとも95%同一である。別の態様において、該プローブ又はプライマーは、該連続したヌクレオチド配列に、又は該連続したヌクレオチド配列の相補体に選択的にハイブリダイズすることが可能である。しばしば、該プローブ又はプライマーはさらに、標識、例えば、ラジオアイソトープ、蛍光標識、酵素標識、酵素補因子標識、磁気標識、スピン標識、エピトープ標識を含んでなる。

【0213】

上記の本発明の核酸分子は、当業者には公知の標準分子生物学技術を使用して同定する及び単離することができる。増幅されたDNAは標識することができ（例えば、放射性標識）、ヒト細胞から誘導されるcDNAをスクリーニングするためのプローブとして使用する。cDNAはmRNAから誘導することができ、適したベクターに含ませることができる。対応するクローンを単離することが可能であり、DNAはインビボ切り出しに続いて得ることが可能であり、そしてクローン化した挿入物は当該技術分野で認識されている方法で片方又は両方の向きで配列決定できて、適切な分子量のポリペプチドをコードする正しい読み取り枠を同定する。これら又は類似の方法を使用し、ポリペプチド及びポリペプチドをコードするDNAを単離する、配列決定する及びさらに特徴付け得る。

【0214】

一般に、本発明の単離された核酸配列は、サザンゲル上の分子量マーカーとして、及び関連する遺伝子位置を地図作製するために標識された染色体マーカーとして使用し得る。該核酸配列は癌（例えば、前立腺癌）又は癌（例えば、前立腺癌）への感受性を同定するため、患者の内在性DNA配列と比較するため、及び関連DNA配列をハイブリダイズする及び発見するための、又はサンプルから既知の配列を差し引くための（例えば、サブトラクティブハイブリダイゼーション）プローブとしても使用し得る。該核酸配列はさらに、遺伝子フィンガープリンティングのためにプライマーを誘導するため、免疫化技術を使用する抗ポリペプチド抗体を上昇させるため、及び/又は抗DNA抗体を上昇させる又は免疫応答を惹起するために使用し得る。

【0215】

抗体

遺伝子産物の一つの形態に特異的に結合するが、遺伝子産物の他の形態には結合しないポリクローナル抗体及び/又はモノクローナル抗体も提供される。変異体又は多型部位（単数又は複数）を含有する基準遺伝子産物の一部を結合する抗体も提供される。本明細書で使用する用語「抗体」は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、即ち、抗原を特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子を指す。本発明のポリペプチドに特異的に結合する分子は、そのポリペプチド又はそれらの断片に結合するが、サンプル、例えば、天然に該ポリペプチドを含有する生物学的サンプル中の他の分子には実質的に結合しない分子である。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例には、該抗体をペプシンのような酵素で処理することにより発生し得る、F(ab)及びF(ab')₂断片が含まれる。本発明は、本発明のポリペプチドに結合するポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体を提供する。本明細書で使用する用語「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」は、本発明のポリペプチドの特定のエピトープと免疫反応することが可能である抗原結合部位のただ一つの種を含有する、抗体分子の集団を指す。モノクローナル抗体組成物は、それ故典型的には、それが免疫反応する本発明の特定のポリペプチドに対する単一の結合親和性を示す。

【0216】

ポリクローナル抗体は、所望の免疫原、例えば、本発明のポリペプチド又はそれらの断片で、適した対象を免疫化することにより、上記のように調製し得る。免疫化対象中の抗体力価は、固定化ポリペプチドを使用する、酵素連結免疫吸着アッセイ（ELISA）のような標準技術により、時間を通してモニターし得る。もし望むなら、該ポリペプチドに

対して方向付けられた抗体分子を、哺乳動物から（例えば、血液から）単離することが可能であり、そしてプロテインAクロマトグラフィーのような公知の技術によりさらに精製できて、IgG分画を得る。免疫化後の適切な時点で（例えば、抗体力価が最も高い時）、対象から抗体産生細胞を得ることが可能であり、Kohler and Milstein, Nature 256:495-497 (1975) により最初に記載されたハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術(Kozbor et al, Immunol. Today 4: 72 (1983))、EBV-ハイブリドーマ技術(Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, 1985, Inc., pp. 77-96) 及びトリオーマ技術のような標準的技術によりモノクローナル抗体を調製するために使用する。ハイブリドーマを産生するテクノロジーは公知である（一般的には、Current Protocols in Immunology (1994) Coligan et al (eds.) John Wiley & Sons, Inc., New York, NY を参照されたい）。簡潔には、不死細胞株（典型的には骨髓腫）を、上記のように免疫原で免疫した哺乳動物からのリンパ球（典型的には脾細胞）と融合させ、生じたハイブリドーマ細胞の培養上清を、本発明のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを同定するためにスクリーニングする。

【0217】

リンパ球及び不死細胞株を融合させるために使用される多くの公知のプロトコルのいずれもが、本発明のポリペプチドに対するモノクローナル抗体を発生させる目的に応用し得る（例えば、Current Protocols in Immunology, 上記文献; Galfre et al., Nature 266:55052 (1977); R.H. Kenneth, in Monoclonal Antibodies: A New Dimension In Biological Analyses, Plenum Publishing Corp., New York, New York (1980); 及び Lerner, Yale J. Biol. Med. 54:387-402 (1981)を参照されたい）。さらに、当業者は、有用であろう、こうした方法の多くの変形があることを理解するであろう。

【0218】

モノクローナル抗体分泌ハイブリドーマを調製する代案として、本発明のポリペプチドに対するモノクローナル抗体は、該ポリペプチドを結合する免疫グロブリンライブラリーメンバーを単離するために該ポリペプチドで組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリー（例えば、抗体ファージディスプレイライブラリー）をスクリーニングすることにより同定する又は単離することが可能である。ファージディスプレイライブラリーを発生する及びスクリーニングするためのキットは商業的に入手可能である（例えば、Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, カタログ番号27-9400-01 ; 及びStratagene SurfZAP（商標） Phage Display Kit, カタログ番号240612）。加えて、抗体ファージディスプレイライブラリーを発生する及びスクリーニングするために特に受け入れられる方法及び試薬の例は、例えば、米国特許第5,223,409号；PCT公開番号WO92/18619；PCT公開番号WO91/17271；PCT公開番号WO92/20791；PCT公開番号WO92/15679；PCT公開番号WO93/01288；PCT公開番号WO92/01047；PCT公開番号WO92/09690；PCT公開番号WO90/02809；Fuchs et al., Bio/Technology 9:1370-1372 (1991); Hay et al., Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85 (1992); Huse et al., Science 246: 1275-1281 (1990); 及び Griffiths et al, EMBO J. 12:725-734 (1993) に見ることができる。

【0219】

加えて、キメラ及びヒト化モノクローナル抗体のような組換え抗体は、ヒト及び非ヒト部分を含んでなり、標準組換えDNA技術を使用して作製でき、本発明の範囲内である。こうしたキメラ及びヒト化モノクローナル抗体は、当該技術分野では既知の組換えDNA技術により製造し得る。

【0220】

一般に、本発明の抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、アフィニティークロマトグラフィー又は免疫沈降のような標準技術による本発明のポリペプチドの単離に使用し得る。ポリペプチド特異的抗体は、細胞からの天然のポリペプチドの、又は宿主細胞中で発現された組換え的に産生されたポリペプチドの精製を容易にすることができる。さらに、本発明のポリペプチドに特異的な抗体は、該ポリペプチドの発現の存在量及びパターンを評価するため、該ポリペプチド（例えば、細胞溶解物、細胞上清又は組織サンプル中の）を

検出することに使用し得る。抗体は、臨床試験法の一部として、例えば、所与の治療計画の効力を決定するために組織中のタンパク質レベルをモニターするように、診断的に使用し得る。該抗体はその検出を容易にするため、検出可能な物質に結合させることができる。検出可能な物質の例には、多様な酵素、補欠分子族、蛍光物質、化学発光物質、生物化学発光物質及び放射性物質が含まれる。適した酵素の例には、西洋わさびペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ又はアセチルコリンエステラーゼが含まれ、適した補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチン及びアビジン/ビオチンが含まれ；適した蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル又はフィコエリトリン；適した化学発光物質の例にはルミノールが含まれ；生物化学発光物質の例には、ルシフェラーゼ、ルシフェリン及びエクオリンが含まれ、及び適した放射性物質の例には ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 又は ^3H が含まれる。

10

【0221】

抗体は、薬理ゲノミクスの解析においても有用であることができる。こうした態様において、本発明の少なくとも一つの多型マーカーを含有する核酸によりコードされている変異体タンパク質のような、本発明に従った核酸によりコードされている変異体タンパク質に対する抗体は、修飾治療モダリティーを必要とする個体を同定するために使用し得る。

【0222】

抗体はさらに、癌（例えば、前立腺癌）の活性段階のような疾患状態における、又はタンパク質の機能に関係する癌、特に前立腺癌、の素因を有する個体における変異体タンパク質の発現を評価するためにも有用であり得る。本明細書に記載した少なくとも一つの多型マーカー又はハプロタイプを含んでなる核酸によりコードされている本発明の変異体タンパク質に特異的な抗体は、該変異体タンパク質の存在をスクリーニングするために、例えば、該変異体タンパク質の存在により示される癌（例えば、前立腺癌）の素因についてスクリーニングするために使用することができる。

20

【0223】

抗体は他の方法においても使用し得る。それ故、電気泳動移動度、等電点、トリプシン又は他のプロテアーゼ消化による分析と併用して、又は当業者には既知の他の物理的アッセイで使用するため、本発明の変異体タンパク質のようなタンパク質を評価する診断ツールとして抗体は有用である。抗体は組織分類にも使用することができる。一つのこうした態様において、特異的な変異体タンパク質は特定の組織タイプでの発現と相関しており、変異体タンパク質に特異的な抗体は、特定の組織タイプを同定するために使用し得る。

30

【0224】

変異体タンパク質を含むタンパク質の細胞内局在性も抗体を使用して決定することができる、そして多様な組織中の細胞における該タンパク質の異常な細胞内局在性を評価するために応用し得る。こうした使用は遺伝子試験におけるのみではなく、特定の治療モダリティーのモニタリングにおいても応用し得る。治療が、該変異体タンパク質の発現レベル又は存在を、又は該変異体タンパク質の異常な組織分布又は発生過程での発現を是正することを目的とする場合、該変異体タンパク質又はそれらの断片に特異的な抗体は、治療効率をモニターするために使用し得る。

40

【0225】

抗体はさらに、例えば、結合分子又は相手への変異体タンパク質の結合を阻止することにより変異体タンパク質機能を阻害するために有用である。こうした使用は、治療が変異体タンパク質の機能を阻害することを含む療法状況にも応用し得る。抗体は、例えば、結合を阻止する又は競合的に阻害するために使用でき、それにより該タンパク質の活性を変調する（即ち、刺激する又は拮抗する）。抗体は、特異的な機能に必要な部位を含有する特定のタンパク質断片に対して、又は細胞又は細胞膜に関連している無傷のタンパク質に対して調製し得る。インビボでの投与のため、抗体を放射性核種、酵素、免疫原性エピトープ、又は細菌毒素（リシンのようなジフテリア又は植物毒素）を含む細胞毒のような追加の療法的ペイロード（payload）と連結させることができる。抗体又はそれらの断片のイ

50

ンビボ半減期は、ポリエチレングリコールへのコンジュゲーションを経たペグ化により増加させることができる。

【0226】

本発明は、さらに、本明細書に記載された方法において抗体を使用するためのキットに関する。これには、限定されるわけではないが、試験サンプル中の変異体タンパク質の存在を検出するためのキットが含まれる。一つの好ましい態様は、標識又は標識可能抗体のような抗体、及び生物学的サンプル中の変異体タンパク質を検出するための化合物又は剤、サンプル中の変異体タンパク質の量又は存在及び／又は不存在を決定するための手段、及びサンプル中の変異体タンパク質の量を標品と比較するための手段、ならびにキットの使用のための説明書を含んでなる。

10

【0227】

本発明はここで、いかようにも制限されることは意図されていない以下の実施例により例示される。

【実施例】

【0228】

実施例1．前立腺癌に関連するLDブロック領域の同定

遺伝的研究に関与した患者

1955年～2005年にアイスランドにおいて前立腺癌と診断された全前立腺癌患者の集団に基づいたリストが、この研究の基礎である。患者は、2001年から継続的に研究に参加するよう招かれた。2006年10月現在で、1564人の前立腺癌患者からの血液サンプルが集められた。そのコレクションの内の1455人の前立腺癌患者に加えて4182人の対照個体がイルミナ(Illumina) 317Kビーズチップで遺伝子型が同定された。

20

【0229】

関連性及びハプロタイプ分析についての統計法

該疾患への単一マーカー関連性については、フィッシャーの直接確率検定を各個体アレルの両側p値を計算するために使用した。結果の提示には、SNPs及びハプロタイプについてはキャリア頻度よりもむしろアレル頻度を使用した。ハプロタイプ分析は、NEMO(ネステッドモデル)と呼ぶdeCODEで開発されたコンピュータプログラムを使用して実行した(Gretarsdottir, et al., Nat Genet. 2003 Oct;35(2):131-8)。NEMOは、マーカー-マーカー関連を研究するため及びマーカー間の連鎖不平衡(LD)を計算するための両方に、及びケースコントロールハプロタイプ分析のために使用した。NEMOでは、ハプロタイプ頻度は、患者及び対照間の最大尤度及び相違により見積もられ、及び一般化尤度比試験を使用して試験される。最大尤度見積値、尤度比及びP値は、直接的に観察されたデータについて、EMアルゴリズムの助けにより計算され、及びそれ故、フェースの不確かさによる情報の損失及び失われた遺伝子型は自動的に尤度比により捕捉され、及びほとんどの状況下で大サンプル理論を、統計的有意さを確実に決定するために使用し得る。アレル又はハプロタイプの相対リスク(RR)、即ち、同一のマーカーのすべての他のアレルと比較したアレルのリスク、は集団寄与リスク(PAR)と一緒に乗法モデル(Terwilliger, J.D. & Ott, J. A haplotype-based 'Haplotype relative risk' Approach to detecting allelic associations. Hum. Hered. 42, 337-46 (1992) and Falk, CT. & Rubinstein, P. Haplotype relative risks: an easy reliable way to construct a proper control sample for risk calculations. Ann. Hum. Genet. 51 (Pt 3), 227-33 (1987))を仮定することにより計算される。

30

40

【0230】

ハプロタイプ分析においては、ハプロタイプを一緒にグループ化し、そしてグループを全体として疾患について試験するのが有用であろう。このことはNEMOで行うことが可能である。モデルはすべての可能なハプロタイプの組の分配により定義され、ここで同一グループ中のハプロタイプは同一のリスクを与えることが仮定され、一方、異なったグループ中のハプロタイプは異なったリスクを与え得る。帰無仮説及び代替仮説は、後者が前

50

者よりも細かい分配に対応している場合、入れ子状態である（ネステッド）と称される。NEMOはハプロタイプスペースの分配において完全な融通性を提供する。このようにして、関連について多ハプロタイプを連帯して試験すること及び異なったハプロタイプが異なったリスクを与えるかどうか試験することが可能である。LDの一つの尺度として、LDの量についての相補的情報を与える、LDの二つの標準定義、 D' 及び R^2 (Lewontin, R., Genetics, 49:49-67(1964) and Hill, W.G. and A. Robertson, Theor. Appl. Genet., 22:226-231 (1968)) を使用した。 D' 及び R^2 を見積もる目的のため、最大尤度法を使用してすべての2 - マーカーアレル組み合わせの頻度を見積り、尤度比試験を使用して連鎖不平衡の逸脱を評価した。辺縁のアレル確率により重み付けされた二つのマーカーのすべての可能な組み合わせについての値を平均することにより、 D' 及び R^2 の標準定義をマイクロサテライトが含まれるように拡大した。

10

【0231】

全ゲノムにわたって遺伝子型同定されたマーカーの密な組の外側で構築しうる可能なハプロタイプの数是非常に多く、患者及び対照コホート中に実際に観察されるハプロタイプ数はよりかなり小さいにしても、疾患との関連についてすべてのこれらのハプロタイプを試験することは大変な仕事である。いくつかのマーカーは非常に変異可能であることができ、及び取り巻いているマーカーの外側で構築された、さもないと非常に保存されたハプロタイプを分割するかもしれないので、我々の分析を、連続したマーカーの組から構築されたハプロタイプに制限するものではないことに気づくべきである。

20

結果

本明細書に記載したように、特定の癌（例えば、前立腺癌）に増加したリスクを与える染色体8q24.21（LDブロックC）上の領域が同定された。前立腺癌の増加したリスクに関連する特定のハプロタイプ及びマーカーが表1に示されている。表1に示したように、該ハプロタイプ（HapC）には以下のマーカー（例えば、SNPs）及びアレルが含まれる： $rs1456314$ 3アレル、 $rs17831626$ 4アレル、 $rs7825414$ 3アレル、 $rs6993569$ 3アレル、 $rs6994316$ 1アレル、 $rs6470494$ 4アレル、 $rs1016342$ 2アレル、 $rs1031588$ 3アレル、 $rs1016343$ 4アレル、 $rs1551510$ 3アレル、 $rs1456306$ 2アレル、 $rs1378897$ 3アレル、 $rs1456305$ 4アレル、 $rs7816535$ 3アレル。HapMapプロジェクト中のコーカサス人（CEU）サンプルについての結果を試験することにより、SNPマーカー $rs16901979$ のアレル1が、HapCと強い相関にあることが示された（ $D' = 1$ 、 $r^2 = 1$ ）。アイランドサンプル中の $rs16901979$ の遺伝子型同定で、HapCとのその相関を確認した（対照において $D' = 0.98$ 、 $r^2 = 0.70$ ）。該マーカー及び/ハプロタイプは、128,032,278及び128,094,256bp位（NCBI Build 34）間の我々がLDブロックCと呼ぶ所に位置しており、個々のマーカーの位置が表2に示されている。SNPsについてのアレルコードは次の通りである：1 = A、2 = C、3 = G、4 = T。全ての前立腺癌と比較して、進行性前立腺癌において増加したリスクが見られたことに注目されたい。進行性表現型は、7又はそれより高い合計グリーソングレード及び/又はT3又はそれより高い段階及び/又はリンパ節陽性及び/又は転移陽性疾患及び/又は前立腺癌による死亡を有する前立腺癌により決定される。進行性前立腺癌であると決定されるには、これらの判定基準の一つを有することで十分であることに注意されたい。これらの臨床的指標は、増加した疾患の悪性度の代替指標であることがよく知られている。

30

40

【0232】

【表 1】

表 1. アイスランドにおける前立腺癌(PrCa)と Chr8q24 上の SNP マーカーとの関連

罹患 表現型	個体数		p 値	RR	アレル頻度		アレル又はハプロタイプ	PAR
	罹患	対照			罹患	対照		
PrCa	1455	4182	7.86E-09	1.72	0.072	0.043	1 rs16901979	0.059
PrCa	1455	4182	3.89E-12	2.05	0.063	0.032	HapCb	0.064
進行性 PrCa	745	4182	4.82E-07	1.82	0.076	0.043	1 rs16901979	0.067
進行性 PrCa	745	4182	3.69E-10	2.26	0.069	0.032	HapC	0.076

マーカー rs16901979 についてのアレル及び 8q24.21 での同一 LD ブロックにおける SNPs、ケース及び対照(N)の対応する数、罹患及び対照個体における変異体のアレル頻度、オッズ比 (OR) 及び 両側 P 値が示されている。罹患個体は、前立腺癌(ICD10:C61)と診断された個体であるか；又は前立腺癌(ICD10:C61)と診断された及び 7 又はそれより高いグリッサン合計グレードの癌又は段階 T3 又はそれより高い癌、又はリンパ節陽性疾患又は転移陽性疾患を含む合計表現型により決定された進行性癌を有する個体、又は前立腺癌のために死亡した個体である。対照は非罹患集団に基づいた対照である。SNPs についてのアレルコードは次の通りである：1=A、2=C、3=G、4=T。PAR は、これらの変異体により説明し得る集団寄与リスクである。

rs16901979 のアレル 1 についての結果は、rs16901979 ならびに遺伝子型収率を増加させるため HapC 中の他の相関する SNPs についての遺伝子型を使用することにより発生させた。

HapC: 3 rs1456314 4 rs17831626 3 rs7825414 3 rs6993569 1 rs6994316 4 rs6470494 2 rs1016342 3 rs1031588 4 rs1016343 3 rs1551510 2 rs1456306 3 rs1378897 4 rs1456305 3 rs7816535。

【0 2 3 3】

表 1 に示したように、マーカー rs16901979 で 1 アレル及び 1 4 マーカー HapC ハプロタイプの両方が前立腺癌と有意な関連性を与えた。ハプロタイプの集団頻度は、rs16901979 で 1 アレルの頻度よりもわずかに低く、対応する相対リスクは幾分より高かった。アイスランドにおけるこれらの変異体の集団寄与リスクは、全前立腺癌中で 5.9 ~ 6.4 % であり、進行性前立腺癌患者中ではわずかに高く、6.7 ~ 7.6 % であった。

【0 2 3 4】

SNP マーカー rs16901979 の逆アレル又はアレル 2 は、キャリアにおいて前立腺癌に対する有意な保護を示した。これらの結果は表 2 に示されている。

【0 2 3 5】

【表 2】

表 2. アイスランドにおける前立腺癌に保護を与える Chr8q24 上の変異体

罹患表現型	個体数		p 値	RR	アレル頻度		アレル
	罹患	対照			罹患	対照	
前立腺癌	1446	4182	1.63E-08	0.59	0.928	0.957	2rs16901979
侵襲性 PrCa	745	4182	4.82E-07	0.55	0.924	0.957	rs16901979

8q24.21 におけるマーカー rs16901979 についてのアレル、ケース及び対照(N)の対応する数、罹患及び対照個体における変異体のアレル頻度、オッズ比 (OR) 及び 両側 P 値が示されている。罹患個体は、前立腺癌(ICD10:C61)と診断された個体であるか；又は前立腺癌(ICD10:C61)と診断された及び 7 又はそれより高いグリッサン合計グレードの癌又は段階 T3 又はそれより高い癌、又はリンパ節陽性疾患又は転移陽性疾患を含む合計表現型により決定された進行性癌を有する個体、又は前立腺癌のために死亡した個体である。対照は非罹患集団に基づいた対照である。SNPs についてのアレルコードは次の通りである：1=A、2=C、3=G、4=T。

【0 2 3 6】

【表 3】

表 3:HapC 中の SNPs 及びマーカー rs16901979
のゲノム位置

rs 名称	BUILD34
rs1456314	128032278
rs17831626	128037011
rs7825414	128038109
rs6993569	128040685
rs6994316	128041127
rs6470494	128044492
rs1016342	128049043
rs1031588	128049865
rs1016343	128049885
rs1551510	128050067
rs1456306	128073088
rs 1378897	128079247
rs16901979	128081505
rs 1456305	128083840
rs7816535	128094256

10

HapC 中の SNP マーカー及び rs16901979 と
NCBI Build 34 中のゲノム位置(塩基対)

20

【0237】

試験されたマーカー及びハプロタイプに見られるような、及び表 1 に示したような LD ブロック C のこの関連を見い出すため、単一チップ上におよそ 317,000 の一塩基変異多型 (SNPs) をアッセイするための、Illumina からの Infinium ヒト Hap300 SNP チップを使用して全ゲノムスキャンを実施した。我々はこの様式で 1455 人の患者及び 4182 人の対照の遺伝子型を同定した。対照は非罹患アイスランド集団サンプルであった。関連性分析は、ヒトゲノム中の各々及びすべての LD ブロック内のすべての連続したマーカーを表している単一マーカー、二つのマーカー及びハプロタイプで行った。SNP マーカー rs16901979 1 アレルが前立腺癌と高度に有意な関連性を与えることが見いだされた。マーカー rs16901979 は Illumina Hap300 チップ上にはないので、独立して遺伝子型が同定された。LD ブロック C 内のマーカーの、二つのマーカーハプロタイプが前立腺癌と高度に有意な関連性を与えた。全ゲノムを通して各 LD ブロック内のすべての連続した SNP マーカーから成るハプロタイプを前立腺癌との関連について試験した場合 (LD ブロックハプロタイプ)、最も有意なハプロタイプは 128.414 - 128.506 Mb (NCBI Build 34) 位での Chr8q24 上にあった。この発見は我々によりすでに記述されている (Amundadottir et al. Nat Genet. 2006 Jun;38(6):652-8)。驚くことに、2 番目に良い LD ブロックハプロタイプは Chr8q24 上でほんの数十万塩基対しか離れておらず、128.032 - 128.095 Mb (NCBI Build 34) に位置していた。我々はこのハプロタイプ及び LD ブロックをハプロタイプ C (HapC) 及び LD ブロック C と称する。ヒトゲノムの LD ブロック (ハプロタイプブロック) 構造のため、rs16901979 が属する LD ブロック C の探求を続行した。

30

40

【0238】

rs16901979 と強い LD にある 30 の SNPs があり、そしてそれ故、本明細書に記載した前立腺癌への関連を検出することにおいて同じ程度に良好である。 r^2 により測定されたこれらの SNP 及び rs16901979 間の LD は、0.5 より大きな。これらのマーカーは表 4A にリストされている。表 4B は、異なった HapMap 集団中で rs16901979 と LD にあるマーカーをリストしており、その集団中で少なくとも

50

も 0.2 の r^2 の値を有している。

【 0 2 3 9 】

【 表 4 】

表 4A: rs16901979 と関連している SNPs

rs 名称	BUILD34
rs10453084	128069367
rs10505483	128081783
rs1551512	128080714
rs16901948	128063689
rs16901949	128063741
rs16901950	128063831
rs16901952	128063858
rs16901953	128064817
rs16901959	128066118
rs16901966	128066840
rs16901967	128066865
rs16901969	128068685
rs16901970	128069303
rs16901984	128087549
rs6470498	128072308
rs6983561	128063468
rs6987640	128069616
rs6987723	128069447
rs6988257	128068044
rs6989838	128085960
rs6990420	128065313
rs7001069	128067234
rs7010450	128065267
rs7013255	128087075
RS7817677	128082092
rs7824451	128071049
rs7824785	128071298
rs7826388	128066364
rs7830341	128066518
rs7844219	128075403

rs16901979 と $r^2 > 0.5$ を有するすべての SNPs、
SNP 名称が NCBI Build 34 中のゲノム位置 (塩基
対の最初の部分) とともにリストされている。

10

20

30

【 0 2 4 0 】

【表 5】

表 4 B : マーカー rs16901979 と強い連鎖不平衡にあるマーカー。コーカサス人 CEPH 集団 CEU、アフリカ人ヨルバ人集団 YRI、日本人集団 JPT 及び中国人集団 CHB において少なくとも 0.2 の r^2 値で rs16901979 と相関しているマーカー。示されているのは各マーカーと rs16901979 との LD の程度についての値 (D' , r^2 及び p 値)、ならびに NCBI Build 34、35、36 及び配列番号 2 (LD プロット C') 中のマーカーの位置、ならびにそれらの配列番号への参照である。

CEU HapMap								
マーカー	D'	R^2	p	位置 (B34)	位置 (B35)	位置 (B36)	位置 配列番号:2	配列番号
rs12682344	1	1	1.18E-07	128063373	128175966	128175966	34261	43
rs6983561	1	1	1.18E-07	128063469	128176062	128176062	34357	21
rs16901948	1	1	1.18E-07	128063690	128176283	128176283	34578	9
rs16901949	1	1	1.18E-07	128063742	128176335	128176335	34630	10
rs16901950	1	1	1.18E-07	128063832	128176425	128176425	34720	11
rs16901952	1	1	1.24E-07	128063859	128176452	128176452	34747	12
rs16901953	1	1	1.18E-07	128064818	128177411	128177411	35706	13
rs7010450	1	1	1.18E-07	128065268	128177861	128177861	36156	28
rs6990420	1	0.74026	1.28E-06	128065314	128177907	128177907	36202	26
rs16901959	1	1	1.18E-07	128066119	128178712	128178712	37007	14
rs7826388	1	1	1.18E-07	128066365	128178958	128178958	37253	33
rs7830341	1	1	1.18E-07	128066519	128179112	128179112	37407	34
rs16901966	1	1	1.18E-07	128066841	128179434	128179434	37729	15
rs16901967	1	1	1.18E-07	128066866	128179459	128179459	37754	16
rs7001069	1	1	1.18E-07	128067235	128179828	128179828	38123	27
rs6988257	1	1	1.18E-07	128068045	128180638	128180638	36933	24
rs16901969	1	1	1.18E-07	128068686	128181279	128181279	39574	17
rs16901970	1	1	1.18E-07	128069304	128181897	128181897	40192	18
rs10453084	1	1	1.18E-07	128069368	128181961	128181961	40256	6
rs6987723	1	1	1.18E-07	128069448	128182041	128182041	40336	23
rs6987640	1	1	1.18E-07	128069617	128182210	128182210	40505	22
rs7824451	1	1	1.18E-07	128071050	128183643	128183643	41938	31
rs7824785	1	1	1.18E-07	128071299	128183892	128183892	42187	32
rs6470498	1	1	1.18E-07	128072309	128184902	128184902	43197	20
rs7844219	1	1	1.18E-07	128075404	128187997	128187997	46292	35
rs1551512	1	1	1.18E-07	128080715	128193308	128193308	51603	8
rs10505483	1	1	1.18E-07	128081784	128194377	128194377	52672	7
rs7817677	1	1	1.18E-07	128082093	128194686	128194686	52981	30
rs6989838	1	1	1.18E-07	128085961	128198554	128198554	56849	25
rs7013255	1	1	1.18E-07	128087076	128199669	128199669	57964	29
rs16901984	1	1	1.45E-07	128087550	128200143	128200143	58438	19
YRI HapMap								
M1	D'	r^2	p	位置 (B34)	位置 (B35)	位置 (B36)	位置 配列番号:2	配列番号
rs1456315	0.583779	0.237876	9.12E-07	128060526	128173119	128173119	31414	46
rs13254738	0.767679	0.260913	4.36E-08	128060932	128173525	128173525	31820	45
rs7006390	0.923431	0.652818	8.36E-21	128060956	128173549	128173549	31844	63
rs1073997	0.86296	0.720149	1.90E-22	128061776	128174369	128174369	32664	41
rs7012442	0.966424	0.933975	3.18E-32	128062320	128174913	128174913	33208	65
rs6983561	0.962864	0.782622	1.44E-25	128063469	128176062	128176062	34357	21
rs16901948	1	0.507692	7.85E-19	128063690	128176283	128176283	34578	9
rs16901949	1	0.507692	7.85E-19	128063742	128176335	128176335	34630	10
rs16901950	1	0.507692	7.85E-19	128063832	128176425	128176425	34720	11
rs16901952	1	0.507692	2.04E-18	128063859	128176452	128176452	34747	12
rs16901953	1	0.507692	7.85E-19	128064818	128177411	128177411	35706	13
rs7010450	1	0.507692	1.27E-18	128065268	128177861	128177861	36156	28
rs12544977	0.93185	0.31233	2.91E-10	128065876	128178469	128178469	36764	42
rs16901959	1	0.507692	7.85E-19	128066119	128178712	128178712	37007	14
rs7826337	0.95708	0.604515	1.40E-19	128066163	128178756	128178756	37051	69

【 0 2 4 1 】

【表 6】

rs7826388	1	0.294728	6.60E-12	128066365	128178958	128178958	37253	33
rs7830341	1	0.489879	2.94E-18	128066519	128179112	128179112	37407	34
rs16901966	1	0.507692	7.86E-19	128066841	128179434	128179434	37729	15
rs16901967	1	0.507692	7.86E-19	128066866	128179459	128179459	37754	16
rs7006910	0.954702	0.55904	4.30E-18	128067194	128179787	128179787	38082	62
rs7001069	1	0.507692	7.86E-19	128067235	128179828	128179828	38123	27
rs7006409	0.932011	0.31983	6.19E-10	128068018	128180611	128180611	38906	64
rs6988257	1	0.507692	7.86E-19	128068045	128180638	128180638	38933	24
rs16901969	1	0.507692	7.86E-19	128068686	128181279	128181279	39574	17
rs16901970	1	0.507692	7.86E-19	128069304	128181897	128181897	40192	18
rs10453084	1	0.507692	7.86E-19	128069368	128181961	128181961	40256	6
rs6987723	1	0.489879	2.94E-18	128069448	128182041	128182041	40336	23
rs6987640	1	0.507692	7.86E-19	128069617	128182210	128182210	40505	22
rs7824451	1	0.507692	7.86E-19	128071050	128183643	128183643	41938	31
rs7824785	1	0.507692	7.86E-19	128071299	128183892	128183892	42187	32
rs6470498	1	0.507692	7.86E-19	128072309	128184902	128184902	43197	20
rs7827234	1	0.610001	1.92E-21	128074695	128187288	128187288	45583	70
rs7844219	0.964897	0.930545	3.58E-30	128075404	128187997	128187997	46292	35
rs6470499	1	0.934871	5.99E-34	128079983	128192576	128192576	50871	56
rs1551512	1	0.934871	5.99E-34	128080715	128193308	128193308	51603	8
rs10505483	1	1	7.04E-38	128081784	128194377	128194377	52672	7
rs7817677	1	0.525988	2.02E-19	128082093	128194686	128194686	52981	30
rs6989838	1	1	7.04E-38	128085961	128198554	128198554	56849	25
rs7013255	1	1	7.04E-38	128087076	128199669	128199669	57964	29
rs16901984	1	0.525043	6.71E-18	128087550	128200143	128200143	58438	19
rs7000307	1	0.334526	3.19E-13	128089665	128202258	128202258	60553	61
rs7840773	1	0.334526	3.19E-13	128091923	128204516	128204516	62811	71
rs7824364	1	0.334526	3.19E-13	128091954	128204547	128204547	62842	68
JPT HapMap								
M1	D'	r ²	p	位置 (B34)	位置 (B35)	位置 (B36)	位置 配列番号:2	配列番号
rs16901932	0.871703	0.309945	0.000085	128028107	128140700	128140700		48
rs16901935	0.668518	0.254464	0.000841	128033134	128145727	128145727	4022	49
rs6470494	0.654239	0.236706	0.000813	128044493	128157086	128157086	15381	55
rs1016343	1	0.52	3.40E-11	128049886	128162479	128162479	20774	37
rs7841060	1	0.52	3.40E-11	128053066	128165659	128165659	23954	72
rs7006390	1	0.921053	4.71E-17	128060956	128173549	128173549	31844	63
rs1073997	1	1	7.61E-17	128061776	128174369	128174369	32664	41
rs7012442	1	1	1.14E-18	128062320	128174913	128174913	33208	65
rs12682344	1	1	1.14E-18	128063373	128175966	128175966	34261	43
rs6983561	1	1	9.10E-18	128063469	128176062	128176062	34357	21
rs16901948	1	1	1.14E-18	128063690	128176283	128176283	34578	9
rs16901949	1	1	1.14E-18	128063742	128176335	128176335	34630	10
rs16901950	1	1	1.14E-18	128063832	128176425	128176425	34720	11
rs16901952	1	1	1.14E-18	128063859	128176452	128176452	34747	12
rs16901953	1	1	1.14E-18	128064818	128177411	128177411	35706	13
rs7010450	1	1	1.14E-18	128065268	128177861	128177861	36156	28
rs6990420	1	0.736842	1.81E-14	128065314	128177907	128177907	36202	26
rs16901959	1	1	1.14E-18	128066119	128178712	128178712	37007	14
rs7826337	1	0.238919	3.93E-07	128066163	128178756	128178756	37051	69
rs7826388	1	1	1.14E-18	128066365	128178958	128178958	37253	33
rs7830341	1	1	9.10E-18	128066519	128179112	128179112	37407	34
rs16901966	1	1	1.14E-18	128066841	128179434	128179434	37729	15
rs16901967	1	1	1.14E-18	128066866	128179459	128179459	37754	16
rs7000910	1	0.238919	3.93E-07	128067194	128179787	128179787	38082	62
rs7001069	1	1	9.10E-18	128067235	128179828	128179828	38123	27
rs6988257	1	1	9.10E-18	128068045	128180638	128180638	38933	24
rs16901969	1	1	1.14E-18	128068686	128181279	128181279	39574	17
rs16901970	1	1	1.14E-18	128069304	128181897	128181897	40192	18
rs10453084	1	1	1.14E-18	128069368	128181961	128181961	40256	6
rs6987723	1	1	1.14E-18	128069448	128182041	128182041	40336	23
rs6987640	1	1	9.10E-18	128069617	128182210	128182210	40505	22
rs7824451	1	1	9.10E-18	128071050	128183643	128183643	41938	31
rs7824785	1	1	9.10E-18	128071299	128183892	128183892	42187	32
rs6470498	1	1	1.14E-18	128072309	128184902	128184902	43197	20
rs7827234	1	0.238919	3.93E-07	128074695	128187288	128187288	45583	70
rs7844219	1	1	1.14E-18	128075404	128187997	128187997	46292	35
rs6470499	1	1	9.10E-18	128079983	128192576	128192576	50871	56
rs1551512	1	1	9.10E-18	128080715	128193308	128193308	51603	8

【 0 2 4 2 】

【表 7】

rs10505483	1	1	1.26E-17	128081784	128194377	128194377	52672	7
rs7817677	1	1	1.14E-18	128082093	128194686	128194686	52981	30
rs6989838	1	1	9.10E-18	128085961	128198554	128198554	56849	25
rs7013255	1	1	9.10E-18	128087076	128199669	128199669	57964	29
rs16901984	1	1	8.21E-15	128087550	128200143	128200143	58438	19
rs16901997	1	0.387755	5.84E-07	128128090	128240683	128240683		50
rs283710	0.634312	0.209223	0.002854	128246180	128358773	128358773		52
rs283719	0.657568	0.254825	0.000865	128266367	128378960	128378960		53
rs7017081	0.576954	0.264459	0.003929	128275936	128388529	128388529		66
rs6984136	0.570098	0.235283	0.002359	128276727	128389320	128389320		58
rs1995613	0.570098	0.235283	0.002359	128278532	128391125	128391125		51
CHB HapMap								
M1	D'	r ²	p	位置 (B34)	位置 (B35)	位置 (B36)	位置 配列番号:2	配列番号
rs10216560	0.562661	0.293676	0.001256	127962278	128074871	128074871		38
rs6470494	0.649644	0.224207	0.00107	128044493	128157086	128157086	15381	55
rs1016342	1	0.246652	2.77E-08	128049044	128161637	128161637	19932	36
rs1031589	1	0.235197	5.23E-08	128049571	128162164	128162164	20459	40
rs1016343	0.77074	0.361993	9.71E-06	128049886	128162479	128162479	20774	37
rs1031587	1	0.235197	5.23E-08	128050061	128162654	128162654	20949	39
rs1551510	1	0.22807	1.07E-07	128050067	128162660	128162660	20955	47
rs4871008	1	0.224138	9.74E-08	128050130	128162723	128162723	21018	54
rs6981122	1	0.224138	9.74E-08	128051049	128163642	128163642	21937	57
rs13252298	1	0.206124	3.66E-07	128051745	128164338	128164338	22633	44
rs7841060	0.77074	0.361993	9.71E-06	128053066	128165659	128165659	23954	72
rs6997559	1	0.235197	5.23E-08	128054167	128166760	128166760	25055	60
rs7006390	1	0.895105	2.06E-21	128060956	128173549	128173549	31844	63
rs1073997	1	1	2.42E-25	128061776	128174369	128174369	32664	41
rs7012442	1	1	2.42E-25	128062320	128174913	128174913	33208	65
rs12682344	1	1	2.42E-25	128063373	128175966	128175966	34261	43
rs6983561	1	1	2.42E-25	128063469	128176062	128176062	34357	21
rs16901948	1	1	2.42E-25	128063690	128176283	128176283	34578	9
rs16901949	1	1	2.42E-25	128063742	128176335	128176335	34630	10
rs16901950	1	1	2.42E-25	128063832	128176425	128176425	34720	11
rs16901952	1	1	4.86E-25	128063859	128176452	128176452	34747	12
rs16901953	1	1	2.42E-25	128064818	128177411	128177411	35706	13
rs7010450	1	1	2.42E-25	128065268	128177861	128177861	36156	28
rs6990420	1	0.729647	5.85E-18	128065314	128177907	128177907	36202	26
rs12544977	1	0.325	4.30E-10	128065876	128178469	128178469	36764	42
rs16901959	1	1	2.42E-25	128066119	128178712	128178712	37007	14
rs7826337	1	0.40625	7.40E-12	128066163	128178756	128178756	37051	69
rs7826388	1	1	2.42E-25	128066365	128178958	128178958	37253	33
rs7830341	1	1	2.42E-25	128066519	128179112	128179112	37407	34
rs16901966	1	1	2.42E-25	128066841	128179434	128179434	37729	15
rs16901967	1	1	2.42E-25	128066866	128179459	128179459	37754	16
rs7000910	1	0.40625	7.40E-12	128067194	128179787	128179787	38082	62
rs7001069	1	1	2.42E-25	128067235	128179828	128179828	38123	27
rs7006409	1	0.3125	1.46E-09	128068018	128180611	128180611	38906	64
rs6988257	1	1	2.42E-25	128068045	128180638	128180638	38933	24
rs16901969	1	1	2.42E-25	128068686	128181279	128181279	39574	17
rs16901970	1	1	2.42E-25	128069304	128181897	128181897	40192	18
rs10453084	1	1	2.42E-25	128069368	128181961	128181961	40256	6
rs6987723	1	1	2.42E-25	128069448	128182041	128182041	40336	23
rs6987640	1	1	2.42E-25	128069617	128182210	128182210	40505	22
rs7824451	1	1	2.42E-25	128071050	128183643	128183643	41938	31
rs7824785	1	1	2.42E-25	128071299	128183892	128183892	42187	32
rs6470494	1	1	2.42E-25	128072309	128184902	128184902	43197	20
rs7827234	1	0.40625	7.40E-12	128074695	128187288	128187288	45583	70
rs7844219	1	1	2.42E-25	128075404	128187997	128187997	46292	35
rs6470499	1	1	2.42E-25	128079983	128192576	128192576	50871	56
rs1551512	1	1	2.42E-25	128080715	128193308	128193308	51603	8
rs10505483	1	1	2.42E-25	128081784	128194377	128194377	52672	7
rs7817677	1	1	2.42E-25	128082093	128194686	128194686	52981	30
rs6989838	1	1	2.42E-25	128085961	128198554	128198554	56849	25
rs7013255	1	1	2.42E-25	128087076	128199669	128199669	57964	29
rs16901984	1	1	2.38E-24	128087550	128200143	128200143	58438	19
rs7816535	1	0.283608	3.74E-09	128094257	128206850	128206850	65145	67
rs6990483	0.510459	0.260566	0.000619	128655867	128768460	128768460		59

【0243】

前立腺癌と関連するマーカー及びノハプロタイプのLDブロック領域のLD構造が図1に示されている。該構造はHAPMAPデータリリース19から誘導された。このLDブロック(LDブロックC)は128,032,278bpに位置するマーカーrs1456314と128,094,256bp位(NCBI Build 34)に位置するrs7816535間に位置しており、ほぼ65kb長である。図に示されているように

10

20

30

40

50

、マーカー間で高い r^2 及び $|D'|$ を有する DNA のブロックとして LD 構造が見られる。マーカーは等距離で示されており、即ち、いずれの二つのマーカー間も同一距離である。

【0244】

LD ブロック C 領域内にある他のマーカーも前立腺癌と関連することが可能である（こうしたマーカーは rs16901979 と連鎖不平衡にあるので）。表 5 A は、LD ブロック C にまたがった（NCBI Build 34 中の 128032278 ~ 128094256 bp 位）LD ブロック C 中の公知の SNP マーカーのリストを提供している。表 5 B は LD ブロック C'（配列番号 2 に示された配列に対応する）中のすべての公知の SNP マーカーのリストを提供しており、及び表 5 C はその領域内のすべてのマイクロサテライトマーカーのリストを提供している。

【0245】

【表 8】

表 5A: LD ブロック C (配列番号 1) 内の
すべての既知 SNPs

Rs 名称	BUILD34	
rs1456314	128032278	
rs1551516	128032477	
rs3940781	128032803	
rs16901935	128033133	
rs12542102	128034109	
rs11987219	128035269	10
rs11988135	128035997	
rs2124598	128036063	
rs2392726	128036067	
rs2392727	128036184	
rs2392728	128036231	
rs2392729	128036254	
rs1014656	128036271	
rs2392730	128036282	
rs2392731	128036328	
rs1014655	128036427	
rs2392732	128036522	20
rs2893603	128036545	
rs9656965	128036836	
rs17831626	128037011	
rs16901938	128037088	
rs28451013	128037234	
rs28385355	128037374	
rs11785961	128037423	
rs13267056	128037675	
rs7824674	128037681	
rs7824679	128037698	
rs7824923	128037726	30
rs7843300	128037819	
rs7824957	128037848	
rs7825394	128038037	
rs10308400	128038109	
rs7825414	128038109	
rs11994932	128038486	
rs13248907	128038933	
rs13282331	128038957	
rs13282364	128038997	
rs12548394	128039290	
rs10089648	128039437	
rs13363429	128039437	40
rs11985630	128040216	
rs6993569	128040685	
rs6994316	128041127	
rs12550334	128041512	
rs11998124	128042068	
rs6999589	128042234	
rs11998248	128042343	
rs7005114	128043346	

【表 9】

rs11319438	128043465	
rs6991325	128043514	
rs1902431	128043664	
rs6470494	128044492	
rs7843737	128044654	
rs10095770	128045158	
rs6987760	128046899	
rs10306042	128047254	
rs6470495	128047254	
rs4581008	128047453	10
rs7461435	128047550	
rs4620246	128047550	
rs12544839	128047970	
rs12544844	128048146	
rs10956351	128048147	
rs1016342	128049043	
rs1551511	128049402	
rs1031589	128049570	
rs1378896	128049642	
rs1031588	128049865	
rs1016343	128049885	20
rs1031587	128050060	
rs1551510	128050066	
rs4871008	128050129	
rs11363193	128050445	
rs6981122	128051048	
rs7001504	128051071	
rs13252298	128051744	
rs7841060	128053065	
rs4540377	128053502	
rs6997559	128054166	
rs11554368	128055276	30
rs7007694	128055754	
rs17831913	128055754	
rs13257371	128055830	
rs4571699	128055857	
rs1840709	128056043	
rs3037753	128056058	
rs7837848	128056120	
rs3837167	128056513	
rs3837166	128056618	
rs11993508	128056664	
rs17832021	128056764	40
rs3999809	128056896	
rs3999810	128056955	
rs28663168	128056997	
rs3999811	128057050	
rs3999812	128057095	
rs3999806	128057100	
rs3857883	128057194	
rs2392733	128057260	

【表 1 0】

rs1456317	128057294	
rs1456316	128057436	
rs16901946	128057513	
rs28735726	128057517	
rs9656813	128057552	
rs9656814	128057565	
rs9656815	128057591	
rs10505484	128057900	
rs11994653	128057931	
rs6470496	128058617	10
rs6470497	128058918	
rs7844454	128059089	
rs7826322	128059141	
rs12677860	128059213	
rs12677861	128059215	
rs7000321	128059607	
rs12682421	128059739	
rs7000967	128059948	
rs7001895	128060267	
rs1456315	128060525	20
rs5013678	128060567	
rs7463708	128060643	
rs13254738	128060931	
rs7006390	128060955	
rs1073997	128061775	
rs7012407	128062181	
rs7012442	128062319	
rs7016828	128062820	
rs7016830	128062823	
rs12682344	128063372	
rs6983561	128063468	
rs16901948	128063689	30
rs1869931	128063724	
rs16901949	128063741	
rs16901950	128063831	
rs16901952	128063858	
rs7005144	128064232	
rs16901953	128064817	
rs4871009	128065004	
rs7010450	128065267	
rs6990420	128065313	
rs6994359	128065511	
rs17832285	128065581	40
rs7825340	128065717	
rs12544977	128065875	
rs16901959	128066118	
rs7826337	128066162	
rs7826388	128066364	
rs7830341	128066518	
rs7830381	128066713	
rs16901966	128066840	

【表 1 1】

rs16901967	128066865	
rs7000910	128067193	
rs7001069	128067234	
rs17765137	128067402	
rs11781162	128067484	
rs11774449	128067620	
rs7006076	128067826	
rs7005862	128067930	
rs7006251	128067931	
rs7006409	128068017	10
rs6988257	128068044	
rs16901969	128068685	
rs16901970	128069303	
rs10453084	128069367	
rs6987723	128069447	
rs6987640	128069616	
rs12675027	128069785	
rs13259163	128070111	
rs13256837	128070171	
rs13259247	128070181	
rs13256863	128070189	20
rs13257829	128070218	
rs13259520	128070224	
rs10106712	128070449	
rs3956788	128070480	
rs7824451	128071049	
rs7824785	128071298	
rs13268116	128071384	
rs6470498	128072308	
rs1011829	128072331	
rs6999725	128072340	
rs28686871	128073068	30
rs1456306	128073088	
rs13260084	128073418	
rs12544678	128074274	
rs7827234	128074694	
rs7844219	128075403	
rs6982324	128075644	
rs10098867	128075845	
rs28667456	128076744	
rs28368838	128076745	
rs12676925	128076746	
rs12216801	128076898	40
rs10956352	128077241	
rs17866275	128077520	
rs7464849	128077876	
rs4341134	128077876	
rs12549692	128078335	
rs7837051	128078437	
rs1378898	128078955	
rs4593501	128078994	

【表 1 2】

rs1378897	128079247	
rs2392734	128079338	
RS13259145	128079368	
rs6470499	128079982	
rs7842760	128080058	
rs16901976	128080672	
rs1551512	128080714	
rs16901979	128081504	
rs10505483	128081783	
rs7817677	128082092	10
rs10505482	128082437	
rs1456305	128083840	
rs17184796	128085047	
rs12678505	128085094	
rs16901983	128085630	
rs6989838	128085960	
rs7341677	128086973	
rs7013255	128087075	
rs11274077	128087187	
rs16901984	128087549	
rs10956353	128087878	20
rs10098156	128088379	
rs6995291	128088912	
rs7000307	128089664	
rs12545722	128089822	
rs16901985	128090565	
rs13253958	128090894	
rs7840773	128091922	
rs7824364	128091953	
rs28645998	128094025	
rs7816535	128094256	30
LDブロック C 中の SNP 名称と NCBI Build 34		
中のゲノム位置(塩基対の最初の部分)。		
db SNP 125 に基づいている。		

【 0 2 5 0 】

【表 13】

表 5 B : 配列番号 2 (LD ブロック C') により定義された領域内の SNP マーカー。示されているのはマーカー名、NCBI Build 34、35、36、配列番号 2 及び配列番号 1 中の位置、ならびにマーカーの配列番号 (適用される場合) である。

マーカー	位置 Build 34	位置 Build 35&36	位置 配列番号:2	位置 配列番号:1	配列番号
rs1031586	128029114	128141707	2		
rs17764031	128030209	128142802	1097		
rs35569027		128142871	1166		
rs10091694	128030343	128142936	1231		
rs1456314	128032279	128144872	3167	280	
rs1551516	128032478	128145071	3366	479	
rs3940781	128032804	128145397	3692	805	
rs16901935	128033134	128145727	4022	1135	49
rs35664936		128146550	4845	1958	
rs12542102	128034110	128146703	4998	2111	
rs35732005		128146827	5122	2235	
rs36032667		128146879	5174	2287	
rs11987219	128035270	128147863	6158	3271	
rs11988135	128035998	128148591	6886	3999	
rs2124598	128036064	128148657	6952	4065	
rs2392726	128036068	128148661	6956	4069	
rs2392727	128036185	128148778	7073	4186	
rs2392728	128036232	128148825	7120	4233	
rs2392729	128036255	128148848	7143	4256	
rs1014656	128036272	128148865	7160	4273	
rs2392730	128036283	128148876	7171	4284	
rs2392731	128036329	128148922	7217	4330	
rs1014655	128036428	128149021	7316	4429	
rs2392732	128036523	128149116	7411	4524	
rs2893603	128036546	128149139	7434	4547	
rs34138989		128149265	7560	4673	
rs9656965	128036837	128149430	7725	4838	
rs17831626	128037012	128149605	7900	5013	
rs16901938	128037089	128149682	7977	5090	
rs28451013	128037235	128149828	8123	5236	
rs28385355	128037375	128149968	8263	5376	
rs35755774		128149994	8289	5402	
rs11785961	128037424	128150017	8312	5425	
rs13267056	128037676	128150269	8564	5677	
rs7824674	128037682	128150275	8570	5683	
rs7824679	128037699	128150292	8587	5700	
rs7824923	128037727	128150320	8615	5728	
rs35346020		128150398	8693	5806	
rs7843300	128037820	128150413	8708	5821	
rs7824957	128037849	128150442	8737	5850	
rs7825394	128038038	128150631	8926	6039	
rs10308400	128038110	128150703	8998	6111	
rs7825414	128038110	128150703	8998	6111	
rs35954086		128150967	9262	6375	
rs11994932	128038487	128151080	9375	6488	
rs13248907	128038934	128151527	9822	6935	
rs13282331	128038958	128151551	9846	6959	
rs13282364	128038998	128151591	9886	6999	
rs35832881		128151824	10119	7232	
rs12548394	128039291	128151884	10179	7292	
rs35409776		128151899	10194	7307	
rs10089648	128039438	128152031	10326	7439	
rs13363429	128039438	128152031	10326	7439	
rs34895815		128152438	10733	7846	
rs11985630	128040217	128152810	11105	8218	
rs6993569	128040686	128153279	11574	8687	
rs35520562		128153449	11744	8857	
rs6994316	128041128	128153721	12016	9129	
rs34629453		128153986	12281	9394	
rs12550334	128041513	128154106	12401	9514	
rs35090438		128154122	12417	9530	
rs11998124	128042069	128154662	12957	10070	
rs6999589	128042235	128154828	13123	10236	

【表 1 4】

表 5 B : 配列番号 2 (LD ブロック C') により定義された領域内の SNP マーカー。示されているのはマーカー名、NCBI Build 34、35、36、配列番号 2 及び配列番号 1 中の位置、ならびにマーカーの配列番号 (適用される場合) である。

マーカー	位置 Build 34	位置 Build 35&36	位置 配列番号:2	位置 配列番号:1	配列番号
rs11998248	128042344	128154937	13232	10345	
rs35837627		128155023	13318	10431	
rs35450468		128155214	13509	10622	
rs34658436		128155215	13510	10623	
rs34985891		128155403	13698	10811	
rs7005114	128043347	128155940	14235	11348	
rs11319438	128043466	128156059	14354	11467	
rs6991325	128043515	128156108	14403	11516	
rs1902431	128043665	128156258	14553	11666	
rs34371194		128156400	14695	11808	
rs6470494	128044493	128157086	15381	12494	55
rs7843737	128044655	128157248	15543	12656	
rs10095770	128045159	128157752	16047	13160	
rs41388647		128158164	16459	13572	
rs6987760	128046900	128159493	17788	14901	
rs10306042	128047255	128159848	18143	15256	
rs6470495	128047255	128159848	18143	15256	
rs34872094		128159883	18178	15291	
rs4581008	128047454	128160047	18342	15455	
rs4620246	128047551	128160144	18439	15552	
rs7461435	128047551	128160144	18439	15552	
rs36002700		128160340	18635	15748	
rs12544839	128047971	128160564	18859	15972	
rs12544844	128048147	128160740	19035	16148	
rs10956351	128048148	128160741	19036	16149	
rs36012530		128160820	19115	16228	
rs34375527		128160828	19123	16236	
rs35719509		128160838	19133	16246	
rs1016342	128049044	128161637	19932	17045	36
rs1551511	128049403	128161996	20291	17404	
rs1031589	128049571	128162164	20459	17572	40
rs1378896	128049643	128162236	20531	17644	
rs1031588	128049866	128162459	20754	17867	
rs1016343	128049886	128162479	20774	17887	37
rs1031587	128050061	128162654	20949	18062	39
rs1551510	128050067	128162660	20955	18068	47
rs4871008	128050130	128162723	21018	18131	54
rs11363193	128050446	128163039	21334	18447	
rs35534753**		128163334	21629	18742	
rs6981122	128051049	128163642	21937	19050	57
rs7001504	128051072	128163665	21960	19073	
rs13252298	128051745	128164338	22633	19746	44
rs35201402		128165598	23893	21006	
rs7841060	128053066	128165659	23954	21067	72
rs35024323		128165800	24095	21208	
rs4540377	128053503	128166096	24391	21504	
rs6997559	128054167	128166760	25055	22168	60
rs11554368	128055277	128167870	26165	23278	
rs1802259		128168243	26538	23651	
rs17831913	128055755	128168348	26643	23756	
rs7007694	128055755	128168348	26643	23756	
rs13257371	128055831	128168424	26719	23832	
rs4571699	128055858	128168451	26746	23859	
rs1840709	128056044	128168637	26932	24045	
rs3037753	128056059	128168652	26947	24060	
rs7837848	128056121	128168714	27009	24122	
rs3837167	128056513	128169106	27401	24514	
rs3837166	128056618	128169211	27506	24619	
rs11993508	128056665	128169258	27553	24666	
rs17832021	128056765	128169358	27653	24766	
rs3999809	128056897	128169490	27785	24898	
rs3999810	128056956	128169549	27844	24957	
rs28663168	128056998	128169591	27886	24999	
rs3999811	128057051	128169644	27939	25052	
rs3999812	128057096	128169689	27984	25097	

【表 1 5】

表 5 B : 配列番号 2 (LD プロット C') により定義された領域内の SNP マーカー。示されているのはマーカー名、NCBI Build 34、35、36、配列番号 2 及び配列番号 1 中の位置、ならびにマーカーの配列番号 (適用される場合) である。

マーカー	位置 Build 34	位置 Build 35&36	位置 配列番号:2	位置 配列番号:1	配列番号
rs3999806	128057101	128169694	27989	25102	
rs3857883	128057195	128169788	28083	25196	
rs2392733	128057261	128169854	28149	25262	
rs1456317	128057295	128169888	28183	25296	
rs3999807***		128169888	28183	25296	
rs1456316	128057437	128170030	28325	25438	
rs16901946	128057514	128170107	28402	25515	
rs28735726	128057518	128170111	28406	25519	
rs9656813	128057553	128170146	28441	25554	
rs9656814	128057566	128170159	28454	25567	
rs9656815	128057592	128170185	28480	25593	
rs10505484	128057901	128170494	28789	25902	
rs11994653	128057932	128170525	28820	25933	
rs6470496	128058618	128171211	29506	26619	
rs6470497	128058919	128171512	29807	26920	
rs7844454	128059090	128171683	29978	27091	
rs7826322	128059142	128171735	30030	27143	
rs12677860	128059214	128171807	30102	27215	
rs12677861	128059216	128171809	30104	27217	
rs7000321	128059608	128172201	30496	27609	
rs12682421	128059740	128172333	30628	27741	
rs7000967	128059949	128172542	30837	27950	
rs7001895	128060268	128172861	31156	28269	
rs1456315	128060526	128173119	31414	28527	46
rs5013678	128060568	128173161	31456	28569	
rs7463708	128060644	128173237	31532	28645	
rs34446482		128173246	31541	28654	
rs13254738	128060932	128173525	31820	28933	45
rs7006390	128060956	128173549	31844	28957	63
rs1073997	128061776	128174369	32664	29777	41
rs7012407	128062182	128174775	33070	30183	
rs7012442	128062320	128174913	33208	30321	65
rs7016828	128062821	128175414	33709	30822	
rs7016830	128062824	128175417	33712	30825	
rs12682344	128063373	128175966	34261	31374	43
rs6983561	128063469	128176062	34357	31470	21
rs16901948	128063690	128176283	34578	31691	9
rs1869931	128063725	128176318	34613	31726	
rs16901949	128063742	128176335	34630	31743	10
rs16901950	128063832	128176425	34720	31833	11
rs16901952	128063859	128176452	34747	31860	12
rs7005144	128064233	128176826	35121	32234	
rs16901953	128064818	128177411	35706	32819	13
rs4871009	128065005	128177598	35893	33006	
rs7010450	128065268	128177861	36156	33269	28
rs6990420	128065314	128177907	36202	33315	26
rs35365584		128177908	36203	33316	
rs6994359	128065512	128178105	36400	33513	
rs17832285	128065582	128178175	36470	33583	
rs7825340	128065718	128178311	36606	33719	
rs12544977	128065876	128178469	36764	33877	42
rs16901959	128066119	128178712	37007	34120	14
rs7826337	128066163	128178756	37051	34164	69
rs7826388	128066365	128178958	37253	34366	33
rs7830341	128066519	128179112	37407	34520	34
rs7830381	128066714	128179307	37602	34715	
rs16901966	128066841	128179434	37729	34842	15
rs16901967	128066866	128179459	37754	34867	16
rs7000910	128067194	128179787	38082	35195	62
rs7001069	128067235	128179828	38123	35236	27
rs17765137	128067403	128179996	38291	35404	
rs11781162	128067485	128180078	38373	35486	
rs11774449	128067621	128180214	38509	35622	
rs7006076	128067827	128180420	38715	35828	
rs7005862	128067931	128180524	38819	35932	

【表 16】

表5B：配列番号2(LDアロックC')により定義された領域内の SNP マーカー。示されているのはマーカー名、NCBI Build 34、35、36、配列番号2及び配列番号1中の位置、ならびにマーカーの配列番号(適用される場合)である。

マーカー	位置 Build 34	位置 Build 35&36	位置 配列番号:2	Pos 配列番号:1	配列番号
rs7006251	128067932	128180525	38820	35933	
rs7006409	128068018	128180611	38906	36019	64
rs6988257	128068045	128180638	38933	36046	24
rs16901969	128068686	128181279	39574	36687	17
rs16901970	128069304	128181897	40192	37305	18
rs10453084	128069368	128181961	40256	37369	6
rs6987723	128069448	128182041	40336	37449	23
rs6987640	128069617	128182210	40505	37618	22
rs12675027	128069786	128182379	40674	37787	
rs13259163	128070112	128182705	41000	38113	
rs13256837	128070172	128182765	41060	38173	
rs13259247	128070182	128182775	41070	38183	
rs13256863	128070190	128182783	41078	38191	
rs13257829	128070219	128182812	41107	38220	
rs13259520	128070225	128182818	41113	38226	
rs10106712	128070450	128183043	41338	38451	
rs3956788	128070481	128183074	41369	38482	
rs7824451	128071050	128183643	41938	39051	31
rs7824785	128071299	128183892	42187	39300	32
rs13268116	128071385	128183978	42273	39386	
rs6470498	128072309	128184902	43197	40310	20
rs1011829	128072332	128184925	43220	40333	
rs6999725	128072341	128184934	43229	40342	
rs34965819		128185532	43827	40940	
rs28686871	128073069	128185662	43957	41070	
rs1456306	128073089	128185682	43977	41090	
rs13260084	128073419	128186012	44307	41420	
rs35270158		128186496	44791	41904	
rs12544678	128074275	128186868	45163	42276	
rs7827234	128074695	128187288	45583	42696	70
rs34512164		128187312	45607	42720	
rs7844219	128075404	128187997	46292	43405	35
rs6982324	128075645	128188238	46533	43646	
rs10098867	128075846	128188439	46734	43847	
rs34171547		128189021	47316	44429	
rs34646118		128189070	47365	44478	
rs28667456	128076745	128189338	47633	44746	
rs28368838	128076746	128189339	47634	44747	
rs12676925	128076747	128189340	47635	44748	
rs34425474		128189416	47711	44824	
rs12216801	128076899	128189492	47787	44900	
rs10956352	128077242	128189835	48130	45243	
rs17866275	128077521	128190114	48409	45522	
rs4341134	128077877	128190470	48765	45878	
rs7464849	128077877	128190470	48765	45878	
rs12549692	128078336	128190929	49224	46337	
rs7837051	128078438	128191031	49326	46439	
rs1378898	128078956	128191549	49844	46957	
rs4593501	128078995	128191588	49883	46996	
rs1378897	128079248	128191841	50136	47249	
rs2392734	128079339	128191932	50227	47340	
rs13259145	128079369	128191962	50257	47370	
rs6470499	128079983	128192576	50871	47984	56
rs7842760	128080059	128192652	50947	48060	
rs16901976	128080673	128193266	51561	48674	
rs1551512	128080715	128193308	51603	48716	8
rs16901979	128081505	128194098	52393	49506	73
rs10505483	128081784	128194377	52672	49785	7
rs7817677	128082093	128194686	52981	50094	30
rs35045168		128194764	53059	50172	
rs10505482	128082438	128195031	53326	50439	
rs1456305	128083841	128196434	54729	51842	
rs95997767		128196523	54818	51931	
rs17184796	128085048	128197641	55936	53049	
rs12678505	128085095	128197688	55983	53096	

【表 17】

表 5 B : 配列番号 2 (LD ブロック C') により定義された領域内の SNP マーカー。示されているのはマーカー名、NCBI Build 34、35、36、配列番号 2 及び配列番号 1 中の位置、ならびにマーカーの配列番号 (適用される場合) である。

マーカー	位置 Build 34	位置 Build 35&36	位置 配列番号:2	位置 配列番号:1	配列番号
rs16901983	128085631	128198224	56519	53632	
rs34933805		128198512	56807	53920	
rs6989838	128085961	128198554	56849	53962	25
rs7341677	128086974	128199567	57862	54975	
rs7013255	128087076	128199669	57964	55077	29
rs11274077	128087187	128199780	58075	55188	
rs16901984	128087550	128200143	58438	55551	19
rs34826080*		128200278	58573	55686	
rs10956353	128087879	128200472	58767	55880	
rs10098156	128088380	128200973	59268	56381	
rs6995291	128088913	128201506	59801	56914	
rs34537182		128201519	59814	56927	
rs7000307	128089665	128202258	60553	57666	61
rs12545722	128089823	128202416	60711	57824	
rs16901985	128090566	128203159	61454	58567	
rs34720002		128203299	61594	58707	
rs35610862		128203459	61754	58867	
rs13253958	128090895	128203488	61783	58896	
rs7840773	128091923	128204516	62811	59924	71
rs7824364	128091954	128204547	62842	59955	68
rs28645998	128094026	128206619	64914	62027	
rs7816535	128094257	128206850	65145	62258	67
rs16901988	128095149	128207742	66037		
rs7821533	128095346	128207939	66234		
rs7821299	128095370	128207963	66258		
rs34074310		128208988	67283		
rs12335235	128100703	128213296	71591		
rs34933261		128214191	72486		
rs2124596	128101759	128214352	72647		
rs2124595	128101824	128214417	72712		
rs4624993	128101824	128214417	72712		
rs10111496	128102406	128214999	73294		
rs13364435	128102406	128214999	73294		
rs35623297		128215361	73656		
rs34035606		128215465	73760		
rs10101884	128102897	128215490	73785		
rs6470500	128103187	128215780	74075		
rs6987409	128106750	128219343	77638		
rs35775018		128219607	77902		
rs36080589		128219616	77911		
rs17446747	128107241	128219834	78129		
rs17446776	128108261	128220854	79149		
rs10094434	128110394	128222987	81282		
rs7017820	128110462	128223055	81350		
rs7018238	128110470	128223063	81358		
rs7018243	128110480	128223073	81368		
rs11286339	128110587	128223180	81475		
rs13253040	128111938	128224531	82826		
rs13252570	128111939	128224532	82827		
rs13252598	128111964	128224557	82852		
rs2466040	128112253	128224846	83141		
rs7822987	128113252	128225845	84140		
rs7822995	128113277	128225870	84165		
rs2516280	128115044	128227637	85932		
rs13257144	128115979	128228572	86867		
rs3100857	128116021	128228614	86909		
rs34946000		128228837	87132		
rs35282781		128228987	87282		
rs28824784	128116644	128229237	87532		
rs34195077		128230348	88643		
rs2392724	128118125	128230718	89013		
rs2925465	128118125	128230718	89013		
rs4427134	128118125	128230718	89013		
rs36021065		128230793	89088		
rs2392725	128118217	128230810	89105		

【表 18】

表 5 B : 配列番号 2 (LD ブロック C') により定義された領域内の SNP マーカー。示されているのはマーカー名、NCBI Build 34、35、36、配列番号 2 及び配列番号 1 中の位置、ならびにマーカーの配列番号 (適用される場合) である。

マーカー	位置 Build 34	位置 Build 35&36	位置 配列番号:2	位置 配列番号:1	配列番号
rs2954005	128118217	128230810	89105		
rs4593502	128118217	128230810	89105		
rs2893602	128118242	128230835	89130		
rs4552862	128118242	128230835	89130		
rs7459511	128118242	128230835	89130		
rs35636657		128230862	89157		
rs2445605	128118533	128231126	89421		
rs7843464	128118533	128231126	89421		
rs17374770	128119309	128231902	90197		
rs17446916	128119563	128232156	90451		
rs11341635	128119823	128232416	90711		
rs35532717		128232429	90724		
rs5894869	128120238	128232831	91126		
rs33965163		128232832	91127		
rs3037747	128120240	128232833	91128		
rs3758058	128122147	128234740	93035		
rs13275200	128123145	128235738	94033		
rs34106304		128237228	95523		
rs34285962		128238577	96872		
rs13269873	128126198	128238791	97086		
rs10111439	128126446	128239039	97334		

* (-/TATT 多型)

** (A/AGAA 多型)

*** (-/GTTT 多型)

【0256】

【表 19】

表 5 C. 配列番号 2 (LD ブロック C') 領域内のマイクロサテライトマーカー。マーカー名、NCBI Build 34 中の各マイクロサテライトマーカー付近を中心とする 400bp ゲノムセグメントの開始及び終止位置、及び配列番号:2 中の対応する位置が示されている。

マーカー名	開始 B34	終止 B34	開始 配列番号:2	終止 配列番号:2
DG8S502	128029888	128030288	776	1176
DG8S815	128043386	128043621	14274	14509
DG8S345	128055889	128056158	26777	27046
DG8S1334	128056004	128056111	26892	26999
DG8S625	128064928	128065358	35816	36246
DG8S551	128071376	128071525	42264	42413
DG8S911	128071591	128071748	42479	42636
DG8S1179	128075716	128076097	46604	46985
DG8S1508	128087019	128087367	57907	58255
DG8S1088	128094303	128094579	65191	65467
DG8S733	128097441	128097570	68329	68458
DG8S402	128099742	128100125	70630	71013
DG8S1431	128108504	128108934	79392	79822
DG8S1230	128119990	128120400	90878	91288

【0257】

ヒトゲノムの染色体 8 q 2 4 . 2 1 上の LD ブロック C に位置する遺伝子及び予想遺伝子には、Chr 1 p 3 6 上の SRRM1 遺伝子のイントロンがないコピーであるレトロトランスポーズされた (retrotransposed) 遺伝子 (Genbank 寄託番号 BC017315)、ならびに、予測遺伝子 (例えば、NT_008046.701、chr8_1173.1、chr8.129.001.a、vug ee . bDecO3、kloger、keebly)) が含まれる。LD ブロック C 領域及び癌に関連するマーカー又はハプロタイプ中に内在する変異は、LD ブロック C 内の遺伝子のみではなく、NSE2、POU5FLC20、c-MYC、PVT1 のような近隣の遺伝子、及び / 又は該領域中の他の既知の、未知の又は予測遺伝子にも影響することができる。さらに、こうした変異は、該領域はハプロタイプキャリアにおいてより体細胞再構成する傾向があるので、RNA 又はタンパク質安定性

に影響することができ、又は構造的影響を有することができる。このことは、大きな割合の癌（限定されるわけではないが、前立腺癌を含んで）で増幅されるLDブロックCと一致している（www.progenetix.com）。実際、Chr 8 q 21～24はすべての合計の癌（約17%）で及び前立腺癌（約20%）で、最も頻繁に増える染色体領域である（www.progenetix.com）。それ故、内在する変異は、本明細書に記載したハプロタイプに直接連結された特徴付けられていない遺伝子に影響し、本明細書に記載したハプロタイプに直接連結されていない近隣遺伝子にも影響することができる。

【0258】

【表20】

表6. 本明細書で提供されている配列番号へのキー

配列番号	マーカー/配列
1	LD Block C
2	LD Block C'
3	DG5S802
4	DG5S803-F
5	DG5S803-R
6	rs10453084
7	rs10505483
8	rs1551512
9	rs16901948
10	rs16901949
11	rs16901950
12	rs16901952
13	rs16901953
14	rs16901959
15	rs16901966
16	rs16901967
17	rs16901969
18	rs16901970

10

20

【0259】

【表 2 1】

配列番号	マーカー/配列
19	rs16901984
20	rs6470498
21	rs6983561
22	rs6987640
23	rs6987723
24	rs6988257
25	rs6989838
26	rs6990420
27	rs7001069
28	rs7010450
29	rs7013255
30	rs7817677
31	rs7824451
32	rs7824785
33	rs7826388
34	rs7830341
35	rs7844219
36	rs1016342
37	rs1016343
38	rs10216560
39	rs1031587
40	rs1031589
41	rs1073997
42	rs12544977
43	rs12682344
44	rs13252298
45	rs13254738
46	rs1456315
47	rs1551510
48	rs16901932
49	rs16901935
50	rs16901997
51	rs1995613
52	rs283710
53	rs283719
54	rs4871008
55	rs6470494
56	rs6470499
57	rs6981122
58	rs6984136
59	rs6990483
60	rs6997559
61	rs7000307
62	rs7000910
63	rs7006390
64	rs7006409
65	rs7012442
66	rs7017081
67	rs7816535
68	rs7824364
69	rs7826337
70	rs7827234
71	rs7840773
72	rs7841060
73	rs16901979

10

20

30

40

50

【0260】

議論

本明細書に記載したように、染色体 8 q 2 4 . 2 1 上の座位が癌（例えば、前立腺癌（例えば、進行性前立腺癌））において役割を果たすことが実証された。特定のマーカー及びハプロタイプ（例えば、Hap C、表 3 に示した一つ又はそれ以上のマーカーを含有するハプロタイプ）は、前立腺癌を有する対象中で予想された頻度よりも高く存在する。本明細書に記載したハプロタイプに基づくと、それらは癌の特定の形態に対する傾向に関連

し、遺伝子感受性アッセイ（例えば、診断的スクリーニング試験）を癌のリスクがある個体を同定するために使用し得る。

【0261】

本明細書に記載したマーカー及びノハプロタイプは、全前立腺癌群と比較して進行性前立腺癌においてより高い相対リスクを有しており（表1）、それにより、進行性、急速に増殖する前立腺癌についての増加したリスクを示している。もし前立腺癌の有意なパーセンテージが非進行形形態であるなら、それは前立腺を超えて広がらず、罹患率又は死亡率を上げないであろうし、及び前立腺切除術、放射線及び化学療法を含む前立腺癌の治療はすべて副作用を有し及び著しい費用がかかることから、より進行性ではない形態と比較して進行性前立腺癌についてより大きなリスクを示す、本明細書に記載したような診断マーカーを有することは価値がある。

10

【0262】

実施例2：いくつかのコホートにおける前立腺癌との関連の検証

追加の分析は、染色体8q24上の、癌に関連する変異体の存在をさらに支持する。表7に示したように、rs16901979 1 アレル及びHapCの両方が、コーカサス人祖先の二つのコホート及びアフリカ人祖先の一つのコホートにおいて前立腺癌に関連していることが見いだされた。

【0263】

前立腺癌とLDブロックC内の単一マーカー及びノハプロタイプの関係の反復研究。コホートは、シカゴ、米国（Northwestern University）及びスペイン（Zaragoza University Hospital）に由来するコーカサス人のサンプル、及び米国ミシガン（University of Michigan）からのアフリカンアメリカ人コホートから成っている。SNPsについてのアレルコードは次の通りである：1 = A、2 = C、3 = G、4 = T、及びX = 任意のアレル

20

【0264】

【表22】

表7. スペイン及び米国における前立腺癌(PrCa)とChr8q24上のSNPマーカーとの関連

罹患表現型	個体数		p-値	RR	アレル頻度		アレル	PAR
	罹患	対照			罹患	対照		
PrCa-シカゴ [*]	419	237	0.006	2.39	0.054	0.023	1 rs16901979	0.061
PrCa-スペイン	385	892	0.005	1.71	0.066	0.040	1 rs16901979	0.054
PrCa-JHU	373	372	0.005	1.35	0.500	0.420	1 rs16901979	0.240

30

マーカー rs16901979 についてのアレル及び8q24.21での同一LDブロックにおけるSNPs、PrCa ケース及び対照(N)の対応する数、罹患及び対照個体における変異体のアレル頻度、オッズ比(OR)及び両側P値が示されている。

罹患個体は、前立腺癌(ICD10=C61)と診断された個体である。対照は非罹患集団に基づいた対照である。

SNPs についてのアレルコードは次の通りである：1=A、2=C、3=G、4=T。PAR は集団寄与リスクである。スペイン及びシカゴからの前立腺癌患者及び対照はコーカサス人種性であり、John Hopkins University (JHU)からのコホートはアフリカンアメリカ人種性である。

40

1 rs16901979: 遺伝子型収率を増加させるため他のSNPsからの情報を使用して。

【0265】

コーカサス人サンプルにおけるアットリスク変異体の集団頻度（対照における頻度から概算された）は、アイスランド集団のものに匹敵する。しかしながら、アフリカンアメリカ人における集団頻度はかなり大きいことが注目された。アフリカンアメリカ人コホートにおいての集団寄与リスクは、それ故、2つのコーカサス人起源コホートでの約5～6%と比較して、かなり高く約24%である。このことは、コーカサス人よりアフリカンアメ

50

リカ人においてより大きな前立腺癌のパーセンテージは、本発明のアットリスク変異体により説明し得る。

【0266】

材料及び方法

コーカサス人米国研究集団は、Urology Department of Northwestern Memorial Hospital、シカゴ、で手術を受けた419人の前立腺癌患者（ICD10 C61）、及びDepartment of Human Genetics, University of Chicago で登録された237人の集団に基づいた対照から成っている。段階及び生検グリーンスコアを含む臨床情報を取り出すために医学記録を検査した。診断時での平均年齢は患者について59歳であった。患者及び対照は自己申告ヨーロッパ系アメリカ人民族性であった。このことは、ゲノムを通してランダムに分布した30のマイクロサテライトマーカーを使用する、遺伝子祖先の判断により確認した（以下参照）。このコホート中のヨーロッパ系祖先の平均及び中央値は両方とも0.99より大きかった（詳細に以下に記載した方法を参照されたい）。研究プロトコールはInstitutional Review Boards of Northwestern University 及びUniversity of Chicago により承認された。すべての対象からインフォームドコンセント書類を得た。

10

【0267】

スペイン人研究集団は、2005年6月から2006年6月、Oncology Department of Zaragoza Hospital で集められた390人の前立腺癌から成っていた。患者はDr. Jose I. Mayordomo 及びDivision of Medical Oncology, University Hospital in Zaragoza, スペイン、の腫瘍学者により集められた。研究サンプルが集められた12ヶ月の間に、700人の患者が適格であった。これらの内約600人の（～85%）患者に申し入れ、440人が登録された（関与率73%）。すべての患者がコーカサス人民族性であった。前立腺癌診断から血液サンプルの採取までの時間間隔の中央値は5ヶ月（平均7ヶ月、1～67ヶ月の範囲）であった。発症年齢、グレード及び段階を含む臨床情報は、医療記録から集められた。患者の発症での平均年齢は69歳（中央値71歳）であり、範囲は45～83歳である。892人のスペイン人対照は、University Hospital in Zaragoza、スペイン、で申し入れ、すべて癌以外の疾患であり、血液サンプル採取前に、質問により以前に癌を患った人を除外した。研究プロトコールはInstitutional Review Boards of Zaragoza University Hospital により承認された。すべての対象からインフォームドコンセント書類を得た。

20

30

【0268】

遺伝子祖先の評価

プログラムStructure(Pritchard, J.K. et al., Genetics 115:945-59 (2000)) を、個体の遺伝子祖先を推定するために使用した。Structureは、個体の組及びKの使用数特定値からの多座位遺伝子型に基づいてK祖先集団のアレル頻度を与え、及び与えられたK集団の各々からの祖先の集団を各個体に帰属させる。データセットの分析は、各個体のアフリカ人及びヨーロッパ人祖先の比率を同定することを目的として、K=3で行った。アフリカンアメリカン患者及び対照間の平均ヨーロッパ人祖先における相違の統計的有意性は、10000ランダム化データセットから誘導されるヌル分布を基準にして評価した。

40

【0269】

米国からの研究集団の遺伝的に推定される祖先を評価するため、以前に記載した(Pritchard, J.K. et al, Genetics 115:945-59(2000)) 35ヨーロッパ系アメリカ人、88アフリカンアメリカ人、34中国人、及び29メキシコ系アメリカ人の多民族コホートで遺伝子型同定した約2000のマイクロサテライトから30の非連鎖マイクロサテライトマーカーを選択した。2000のマイクロサテライトの内の選択された組は、ヨーロッパ系アメリカ人、アフリカンアメリカ人及びアジア人間で最も有意な相違を示し、良好な質及び収率も有していた：D1S2630、D1S2847、D1S466、D1S493、D2S166、D3S1583、D3S4011、D3S4559、D4S2460、D4S3014、D5S1967、D6S1037、D8S1719、D8S1746、D9S1777、D9S1839、D9S2168、D10S1698

50

、D 1 1 S 1 3 2 1、D 1 1 S 4 2 0 6、D 1 2 S 1 7 2 3、D 1 3 S 1 5 2、D 1 4 S 5 8 8、D 1 7 S 1 7 9 9、D 1 7 S 7 4 5、D 1 8 S 4 6 4、D 1 9 S 1 1 3、D 2 0 S 8 7 8 及び D 2 2 S 1 1 7 2。以下のプライマー対を D G 5 S 8 0 2 に対して使用した：D G 5 S 8 0 2 - F：C A A G T T T A G C T G T G A T G T A C A G G T T T（配列番号 4 6）及び D G 5 S 8 0 2 - R：T T C C A G A A C C A A A G C C A A A T（配列番号 4 7）。

【0270】

議論

要約すると、rs 1 6 9 0 1 9 7 9 の 1 アレルに対する前立腺癌リスクの有意な関連が、アイスランド、スペイン及びシカゴからのヨーロッパ人祖先の 3 つのコホートで示された。対応する集団寄与リスク（PAR）は、3 集団でのすべての前立腺癌を考慮した場合は約 5 ~ 6 % の範囲であり、進行性前立腺癌においては約 7 ~ 8 % へわずかに増加した。アフリカンアメリカ人コホートにおいて、1 . 3 5（ $P = 0 . 0 0 5$ ）の相対リスクの前立腺癌及び rs 1 6 9 0 1 9 7 9 の 1 アレルの関連が反復された。フリカンアメリカ人サンプルにおけるこれらの変異体の増加した頻度のため、この集団の PAR はコーカサス人サンプルと比較して約 2 4 % 高かった。

10

【0271】

本明細書に記載した変異体は、ゲノムワイド関連分析を介して同定された。1 4 5 5 人の前立腺癌患者及び 4 1 8 2 人の対照において 3 0 0 , 0 0 0 を超える SNPs が分類された。この領域が 2 番目に有意なハプロタイプを全ゲノム中の個々の LD ブロック内を含んでいるので、我々はこの領域に注目した（LD ブロックハプロタイプ）。

20

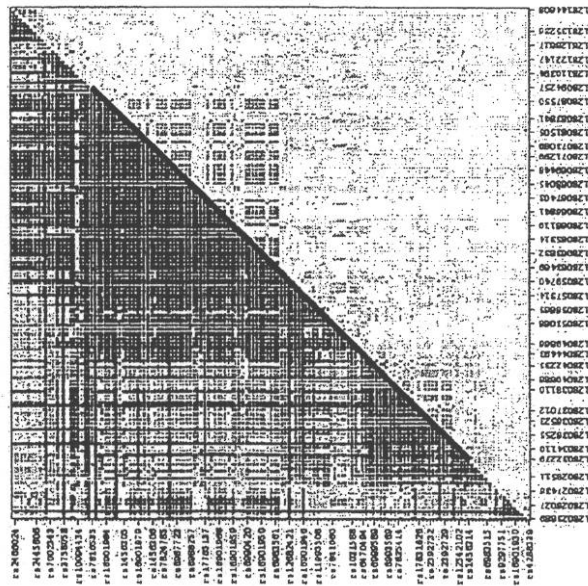
【0272】

重要なことは、コーカサス人と比較してアフリカンアメリカ人においてこのハプロタイプの頻度が非常に増加していることであり、それにより、この群における前立腺癌のより高い発生率を説明することができる。

【図 1】

A.

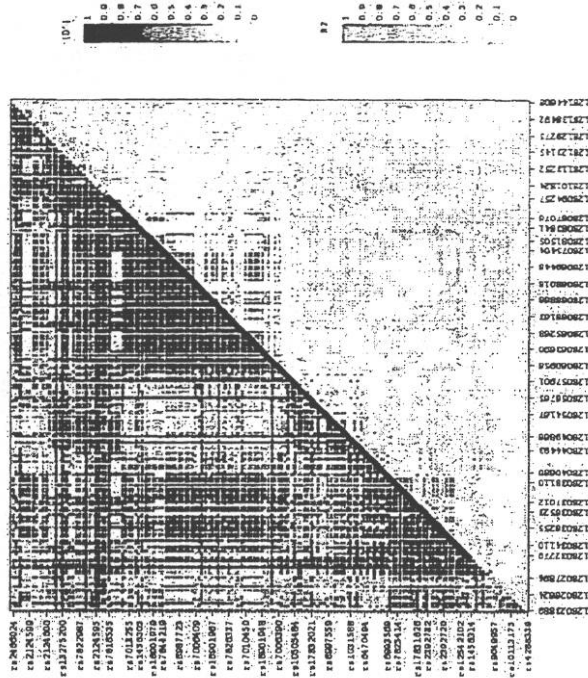
CEU



7-4

B.

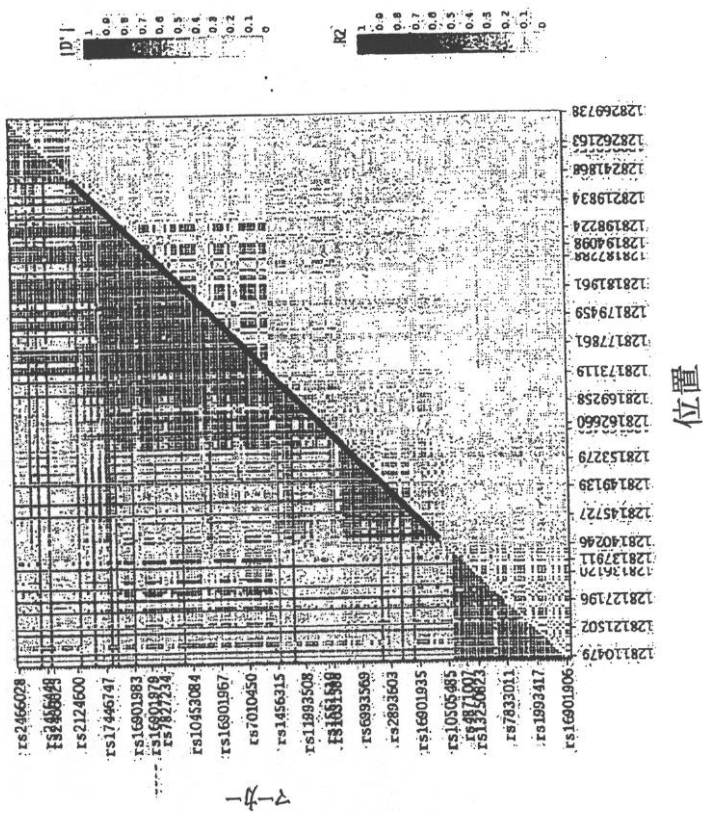
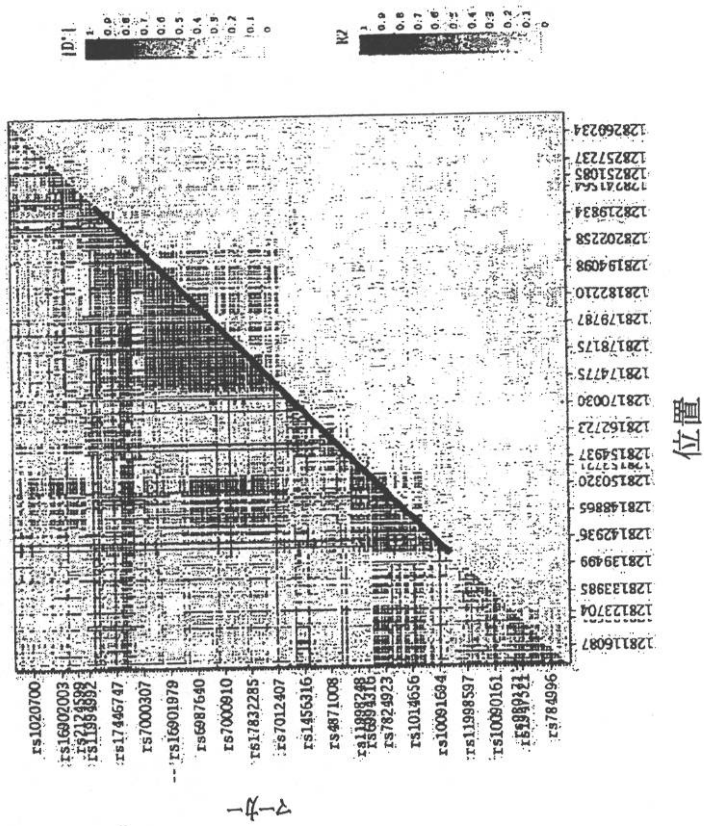
YRI



7-4

位置

位置

B.
YRI

【配列表】
2010507388000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IS2007/000019

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE PROBE [Online] NCBI; Used in HapMap project for genotyping 16 February 2006 (2006-02-16), "Sequence-specific oligonucleotide (SSO) probe for Homo sapiens variation rs16901979" XP002469975 retrieved from NCBI Database accession no. Pr003657859.1 abstract	36-55, 69-83
X	DATABASE DBSNP [Online] NCBI; Genotyping assay for SNP rs16901979 10 August 2004 (2004-08-10), "Submitted SNP details: ss23517647" XP002469976 Database accession no. ss23517647 abstract -/-	36-55, 69-83
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 March 2008		Date of mailing of the international search report 17/03/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bradbrook, Derek

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IS2007/000019

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	-& DATABASE DBSNP [Online] NCBI; Genotyping method used for ss23517647 25 May 2006 (2006-05-25), "Submitter Method ID: AFD_CHIP_HYB" XP002469977 retrieved from HTTP://WWW.NCBI.NLM.NIH.GOV/SNP/SNP_SS.CGI ?SUBSNP_ID=23517647 abstract	
X	FREEDMAN MATTHEW L ET AL: "Admixture mapping identifies 8q24 as a prostate cancer risk locus in African-American men" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA, vol. 103, no. 38, September 2006 (2006-09), pages 14068-14073, XP002469971 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-30, 84-90, 101-104
X	AMUNDADOTTIR L T ET AL: "A common variant associated with prostate cancer in European and African populations" NATURE GENETICS, NEW YORK, NY, US, vol. 38, no. 6, 7 May 2006 (2006-05-07), pages 652-658, XP002396336 ISSN: 1061-4036 cited in the application the whole document	1-30, 84-90, 101-104
P,X	GUDMUNDSSON JULIUS ET AL: "Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24" NATURE GENETICS, vol. 39, no. 5, May 2007 (2007-05), pages 631-637, XP002469972 ISSN: 1061-4036 the whole document	1-104
P,X	HAIMAN CHRISTOPHER A ET AL: "Multiple regions within 8q24 independently affect risk for prostate cancer" NATURE GENETICS, vol. 39, no. 5, May 2007 (2007-05), pages 638-644, XP002469973 ISSN: 1061-4036 the whole document	1-104

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IS2007/000019

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	YEAGER MEREDITH ET AL: "Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24" NATURE GENETICS, vol. 39, no. 5, May 2007 (2007-05), pages 645-649, XP002469974 ISSN: 1061-4036 the whole document	1-104
T	ROBBINS CHRISTIANE ET AL: "Confirmation study of prostate cancer risk variants at 8q24 in African Americans identifies a novel risk locus" GENOME RESEARCH, vol. 17, no. 12, December 2007 (2007-12), pages 1717-1722, XP009096157 ISSN: 1088-9051 the whole document	

フロントページの続き

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

(72)発明者 グドムンドソン, ユリウス

アイスランド国 1 0 8 レイクジャヴィク, クヴィスタランド 1 7

(72)発明者 サレム, パトリック

アイスランド国 1 0 5 レイクジャヴィク, エスキヒリド 2 2

(72)発明者 コング, オーガスティン

アイスランド国 1 0 1 レイクジャヴィク, マラガタ 2

(72)発明者 マノレスク, アンドレイ

アイスランド国 1 0 5 レイクジャヴィク, エスキヒリド 2 2 エイ

(72)発明者 アムンダドッティル, ラウフェイ

アメリカ合衆国メリーランド州 2 0 8 7 8, ゲイザースバーグ, フェルプス・ストリート 4 6 1

Fターム(参考) 4B024 AA12 AA19 BA80 CA01 CA09 DA03 HA14

4B063 QA12 QA13 QA17 QA19 QQ02 QQ12 QQ42 QQ58 QR32 QR55

QR62 QR82 QS25 QS34 QS39

专利名称(译)	CHR8Q24.21上の癌感受性変異体		
公开(公告)号	JP2010507388A	公开(公告)日	2010-03-11
申请号	JP2009534057	申请日	2007-10-26
[标]申请(专利权)人(译)	解码遗传学私营有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	解码遗传学leichiefu		
[标]发明人	グドムンドソンユリウス サレムパトリック コングオーガスティン マノレスクアンドレイ アムンダドッティルラウフェイ		
发明人	グドムンドソン,ユリウス サレム,パトリック コング,オーガスティン マノレスク,アンドレイ アムンダドッティル,ラウフェイ		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 G01N33/53 G01N33/542		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/172 Y02A90/26		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A G01N33/53.M G01N33/542.A		
F-TERM分类号	4B024/AA12 4B024/AA19 4B024/BA80 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/DA03 4B024/HA14 4B063/QA12 4B063/QA13 4B063/QA17 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ12 4B063/QQ42 4B063/QQ58 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR82 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS39		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	8560 2006-10-27 IS		
其他公开文献	JP5631000B2 JP2010507388A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

显然，迫切需要改进的诊断方法，这些方法将有助于早期前列腺癌的检测和预后，以及辅助疾病的预防和治疗。 另外，可能具有进行性前列腺癌形式的患者可能具有更良性的前列腺癌形式，其仍然局限在前列腺中并且对发病率或死亡率没有显著贡献。 需要开发工具以更好地识别高病患者。 已显示染色体8q24.21上的区域在某些形式的癌症中起主要作用。 已经发现某些标记和单倍型表明对某些癌症包括前列腺癌的易感性。 已经描述了使用这些标志物和单倍型鉴定对癌症的易感性的诊断应用。 [选型图]图1

表 2. *Prostate* における前立腺癌に保護を与える Chr8q24 上の変異体

	個体数				7p11 頻度		
罹患表現型	罹患	対照	p 値	RR	罹患	対照	7p11
前立腺癌	1446	4182	1.63E-08	0.59	0.928	0.957	2rs16901979
侵襲性 PrCa	745	4182	4.82E-07	0.55	0.924	0.957	rs16901979

8q24.21 における rs16901979 についての 7p11、*h* 及び対照 (N) の対応する数、罹患及び対照個体における変異体の 7p11 頻度、*h* 及び *h* 両側 P 値が示されている。罹患個体は、前立腺癌 (ICD10=C61) と診断された個体であるか；又は前立腺癌 (ICD10=C61) と診断された及び 7 又はそれより高い *h* リン合計ゲノムの癌又は段階 T3 又はそれより高い癌、又は *h* 節陽性疾患又は転移陽性疾患を含む合計表現型により決定された進行性癌を有する個体、又は前立腺癌のために死亡した個体である。対照は非罹患集団に基づいた対照である。SNPs についての 7p11 コードは次の通りである：1=A, 2=C, 3=G, 4=T。