

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2014-221073

(P2014-221073A)

(43) 公開日 平成26年11月27日(2014.11.27)

| (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 | A 4 B 0 2 4 |
| G O 1 N 33/53 (2006.01) | G O 1 N 33/53 | M 4 B 0 2 9 |
| G O 1 N 33/574 (2006.01) | G O 1 N 33/574 | A 4 B 0 6 3 |
| C 1 2 Q 1/04 (2006.01) | G O 1 N 33/53 | D |
| C 1 2 M 1/34 (2006.01) | C 1 2 Q 1/04 | |

審査請求 有 請求項の数 27 O L 外国語出願 (全 57 頁) 最終頁に続く

| | | | |
|--------------|------------------------------|----------|----------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2014-151713 (P2014-151713) | (71) 出願人 | 504350120 |
| (22) 出願日 | 平成26年7月25日 (2014.7.25) | | パシフィック エッジ バイオテクノロジー |
| (62) 分割の表示 | 特願2008-554172 (P2008-554172) | | ー リミティド |
| | の分割 | | ニュージーランド国、ダニディン、モレー |
| 原出願日 | 平成19年2月9日 (2007.2.9) | | ・ブレイス 481、オタゴ・ハウス、8 |
| (31) 優先権主張番号 | 545243 | | ティーエイチ・フロアー、シー/オー・デ |
| (32) 優先日 | 平成18年2月10日 (2006.2.10) | | ロイト |
| (33) 優先権主張国 | ニュージーランド (NZ) | (74) 代理人 | 100078662 |
| | | | 弁理士 津国 肇 |
| | | (74) 代理人 | 100119079 |
| | | | 弁理士 伊藤 佐保子 |
| | | (74) 代理人 | 100116528 |
| | | | 弁理士 三宅 俊男 |
| | | (74) 代理人 | 100146031 |
| | | | 弁理士 柴田 明夫 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌の検出のための尿遺伝子発現比

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】膀胱癌検出のため、低発現腫瘍マーカー (T M) 及び少なくとも一つの他の T M の発現レベルの分析に基づき、対象における癌の存在を判定する方法の提供。

【解決手段】少なくとも一つの低発現 T M、詳しくは低発現膀胱 T M (B T M) および少なくとも一つの過剰発現 T M、詳しくは過剰発現 B T M、の発現レベルの比、回帰または分類分析を行うことによる、癌、特に膀胱癌の判定。さらに、これらの方法を実施するためのキットおよび装置。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- (a) 該対象からの試料を提供するステップ；
 (b) 少なくとも一つの T M が低発現 T M である、前記試料中の少なくとも二つの T M ファミリーメンバーの発現レベルを検出するステップ；および
 (c) あらかじめ定めた閾値に従って、患者が癌を有するかを立証するステップ；
 を含む、対象における癌の存在を決定する方法。

【請求項 2】

ステップ (c) を、前記 B T M の発現比を測定することによって行う、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

ステップ (c) を、該 B T M 発現値の回帰または分類分析によって行う、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

該 T M が B T M である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記癌が膀胱癌である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

該 T M の少なくとも一つが過剰発現 T M である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

該少なくとも一つの低発現 T M が、図 3 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 8】

該少なくとも一つの低発現 T M が、図 4 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

該過剰発現 T M が、図 1 1 または図 1 2 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 10】

検出する前記ステップを、T M m R N A の発現を検出することによって行う、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 11】

検出する前記ステップを、T M タンパクの発現を検出することによって行う、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

検出する前記ステップを、T M ペプチドの発現を検出することによって行う、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 13】

該試料が、生検、血液、血清、腹膜洗浄液、脳脊髄液、尿および便試料のいずれか一つである、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 14】

その上に T M キャプチャー試薬を有する基材；および
 前記基質に付随する検出器で、前記キャプチャー試薬に結合している低発現 T M を検出することができる前記検出器；
 を含む、T M を検出するための装置。

【請求項 15】

該 T M が B T M である、請求項 14 に記載の装置。

【請求項 16】

前記 T M キャプチャー試薬がオリゴヌクレオチドである、請求項 14 に記載の装置。

【請求項 17】

50

前記 T M キャプチャー試薬が抗体である、請求項 1 4 に記載の装置。

【請求項 1 8】

該 T M が図 3 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 1 4 に記載の装置。

【請求項 1 9】

該 T M が図 4 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 1 4 に記載の装置。

【請求項 2 0】

基材；

少なくとも一つの T M が低発現 T M である、少なくとも二つの T M キャプチャー試薬；

および

使用のための指示書；

を含む、対象における癌の存在を決定するためのキット。

【請求項 2 1】

該 T M が B T M である、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 2】

前記 T M キャプチャー試薬が、T M 特異的オリゴヌクレオチドである、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 3】

前記 T M キャプチャー試薬が、T M 特異的抗体である、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 4】

該低発現 T M が、図 3 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 5】

該低発現 T M が、図 4 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 6】

少なくとも一つの T M が過剰発現 T M である、請求項 2 0 に記載のキット。

【請求項 2 7】

該過剰発現 T M が図 1 1 または図 1 2 に概要を述べた群から選択される B T M である、請求項 2 6 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、癌の検出に関する。具体的には、本発明は膀胱癌の検出のためのマーカーの使用に関する。より具体的には、本発明は、膀胱癌検出のため、低発現 (under-expressed) マーカーを少なくとも一つの他のマーカーと組み合わせた使用に関する。

【0 0 0 2】

背景

癌患者の生存は、癌を初期に治療すると、大きく増大する。膀胱癌の場合、進行した疾患と診断された患者の約 1 5 ~ 3 0 % と比較して、疾患の初期段階と診断された患者は、> 9 0 % 以上の 5 年生存率を有する。それ故、膀胱癌の早期診断につながる進歩によって、患者の予後の改善がもたらされる。尿試料を用いた、実施されている膀胱癌検出方法は、細胞診断である。しかしながら、細胞診断は、浸潤性膀胱癌の検出には 7 5 % 感度、および表在性膀胱癌の検出にはたった約 2 5 % の感度であることが知られている (Lotan and Roehrborn, Urology 61 , 109-118 (2003))。

【0 0 0 3】

尿中の特異的なマーカーの同定によって、癌の早期診断のための価値ある方法が提供でき、早期治療と予後の改善につながる。特異的な癌マーカーはまた、疾患の進行を監視する方法を提供し、外科、放射線療法、化学療法治療の有効性を監視することが可能になる

10

20

30

40

50

。

【0004】

現在、膀胱癌を検出するための最も信頼できる方法は、生検病変部の組織学的検査を伴う細胞検査である。しかしながら、この技法は時間がかかり、侵襲的であり、その感度は約90%であるに過ぎず、癌の約10%はこの方法を用いても検出されないことを意味する。非侵襲的な方法としては、剥脱した悪性細胞を顕微鏡的に検出する尿の細胞診断が、現在の好まれる方法である。細胞診断は約95%の特異性を有するが、低段階の病変部については感度(9~25%)が不十分であり、試料の品質に非常に依存し、観察者間での変異が大きいことに悩まされている。

【0005】

幾つかの尿タンパクマーカーが知られている。これらマーカーに関する試験は、細胞診断よりも感度が良好であるが、これらマーカー値の上昇はまた、炎症、尿路結石症および良性前立腺肥大を含む、非悪性疾患を有する患者において一般に観察されることから、特異性が不十分であることに悩まされる傾向がある。例えば、特異的核マトリックスタンパクを検出するNMP22は、47~87%の感度および58~91%の特異性を有する。

【0006】

尿検査に付随する一つの欠陥は、個々のマーカー値は、以下によって有意に変化する可能性があることである：(i)異なった尿採取方法(カテーテル採取尿、排尿、尿沈殿物)；(ii)尿採取の日周タイミング；(iii)排尿時の採取点(例えば中間点对終了時点の試料)；および(iv)変動する液体摂取、腎臓機能および血漿体積に影響する疾患、に伴う尿の濃度。これらの変動によって、擬陽性および擬陰性を招く可能性がある。この変動の幾つかは厳密な標準的操作手法を用いて減少させることができるが、これらの手法を患者が順守することは信頼できない可能性がある。変動する尿濃度の影響は、ある症例では、尿クレアチニンに対する相対的なマーカーレベルを評価することにより、説明できるが、これは、特に試料調製または貯蔵方法がマーカー検出とクレアチニン測定で異なる場合、試験コストを増大させ、試験がさらに複雑になる。

【0007】

癌の早期検出と診断のための簡単なツールが必要である。本発明は、膀胱癌の検出および診断に役立つための、マーカーに基づく、特に膀胱癌マーカーの比、回帰または分類分析に基づく方法、装置およびキットをさらに提供する。

【0008】

発明の要約

本発明は、以下のステップを含む、対象における癌の存在を決定する方法、を提供する：

- (a) 対象からの試料を提供するステップ；
- (b) 前記試料中の、少なくとも一つの腫瘍マーカー(TM)が低発現TMである、少なくとも二つのTMファミリーメンバーの発現レベルを検出するステップ；および
- (c) あらかじめ定めた閾値に従って、患者が癌を有するかを立証するステップ。

【0009】

ステップ(c)は、前記TMの発現比を測定することによって、またはTM発現レベルの回帰または分類分析を行うことによって行うことができる。

【0010】

TMはBTMであることが可能である。検出される癌は膀胱癌であることがあり得るし、ある特定の実施態様では、TMの少なくとも一つは過剰発現BTMである。過剰発現BTMは、図11または図12に要約された群から選択してもよい。

【0011】

ある特定の実施態様では、少なくとも一つの低発現TMは、図3または図4に概要を述べた群から選択してもよい。

【0012】

本発明の他の実施態様では、検出ステップは、BTM mRNA、BTMタンパクまた

10

20

30

40

50

は B T M ペプチドの過剰発現を検出することによって行う。

【 0 0 1 3 】

試料は、生検、血液、血清、腹膜洗浄液、脳脊髄液、尿および便試料のいずれかであり得る。

【 0 0 1 4 】

本発明はまた、以下を含む、T Mを検出するための装置を提供する：

その上にT Mキャプチャー試薬を有する基材；および

該基材に付随する検出器であって、該キャプチャー試薬に結合している低発現T Mを検出することができる該検出器。

【 0 0 1 5 】

T MはB T Mであることが可能である。

【 0 0 1 6 】

T Mキャプチャー試薬がオリゴヌクレオチドまたは抗体であることが可能である。

【 0 0 1 7 】

ある特定の実施態様では、T Mは図3または図4に概要を述べた群から選択されるB T Mであることが可能である。

【 0 0 1 8 】

本発明はまた、以下を含む、対象における癌の存在を判定するためのキットを提供する：

基材；

少なくとも一つのT Mが低発現T Mである、少なくとも二つのT Mキャプチャー試薬；

および

使用のための取扱説明書。

【 0 0 1 9 】

T MはB T Mであることが可能である。

【 0 0 2 0 】

T Mキャプチャー試薬は、T M特異的オリゴヌクレオチドまたはT M特異的な抗体であってもよい。

【 0 0 2 1 】

キットによって検出されるT Mは、図3または図4に概要を述べた群から選択されるB T Mであってもよい。

【 0 0 2 2 】

キットによって検出される少なくとも一つのT Mは、過剰発現T Mまたは過剰発現B T Mであってもよい。過剰発現B T Mは、図11または図12に概要を述べた群から選択されてもよい。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 3 】

本発明を、特定の発明の実施態様に準拠しておよび図を参照して説明するが、ここで：

【 図 1 - 1 】 図 1 は、q P C R 分析において用いられた尿試料の特徴を示す表を示す。

【 図 1 - 2 】 図 1 は、q P C R 分析において用いられた尿試料の特徴を示す表を示す。

【 図 2 】 図 2 は、本発明に拠る膀胱癌のq P C R 分析のためのマーカーのプライマーおよびオリゴヌクレオチドの表を示す。

【 図 3 - 1 】 図 3 は、膀胱癌の試料についてマイクロアレイ法を用いて同定した低発現膀胱腫瘍マーカーの表を示す。

【 図 3 - 2 】 図 3 は、膀胱癌の試料についてマイクロアレイ法を用いて同定した低発現膀胱腫瘍マーカーの表を示す。

【 図 3 - 3 】 図 3 は、膀胱癌の試料についてマイクロアレイ法を用いて同定した低発現膀胱腫瘍マーカーの表を示す。

【 図 3 - 4 】 図 3 は、膀胱癌の試料についてマイクロアレイ法を用いて同定した低発現膀胱

10

20

30

40

50

腫瘍マーカーの表を示す。

【図4-3】図4は、膀胱癌の試料についてマイクロアレイ法を用いて同定した、全血においては殆ど発現していないが、正常膀胱組織においては高度に発現している低発現膀胱腫瘍マーカーの表を示す。

【図4-4】図4は、膀胱癌の試料についてマイクロアレイ法を用いて同定した、全血においては殆ど発現していないが、正常膀胱組織においては高度に発現している低発現膀胱腫瘍マーカーの表を示す。

【図5】図5は、非悪性泌尿器疾患またはTCCを有する患者からの尿試料について、三つの膀胱移行上皮癌(TCC)マーカー(HoxA13、IGFBP5およびMDK)と低発現マーカーLTB4DHとの比を示すボックスアンドウィスカープロット(箱髭図)を表す。ボックスは第25、50および75番パーセンタイルを規定し、水平のバーは隣接の値を印す。異常値は丸で示す。中空ボックスは非悪性疾患コントロールからの試料を表し、斜線ボックスはTCC患者からの試料を表す。

【図6】図6は、LTB4DHを含む試験のための、TCC検出の感度および特異性の例を示す。(a)単独試験；(b)LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用いた組み合わせ試験。

【図7】図7a~cは、LTB4DHを含む比を用いた、尿試料中のTCCの検出の感度および特異性に関するROC曲線を示す。7a.IGFBP5/LTB4DH；7b.MDK/LTB4DH；7c.HoxA13/LTB4DH。

【図8a】図8a~fは、組み合わせ試験の散乱プロットを示し、a~cは、LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用い、d~fは、LTB4DHの代わりにBAG1を用いて繰り返した。8a.MDK/LTB4DHおよびIGFBP5/LTB4DH。

【図8b】図8a~fは、組み合わせ試験の散乱プロットを示し、a~cは、LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用い、d~fは、LTB4DHの代わりにBAG1を用いて繰り返した。8b.MDK/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DH；IGFBP5/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DH。

【図8c】図8a~fは、組み合わせ試験の散乱プロットを示し、a~cは、LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用い、d~fは、LTB4DHの代わりにBAG1を用いて繰り返した。

【図8d】図8a~fは、組み合わせ試験の散乱プロットを示し、a~cは、LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用い、d~fは、LTB4DHの代わりにBAG1を用いて繰り返した。8d.MDK/BAG1およびIGFBP5/BAG1。

【図8e】図8a~fは、組み合わせ試験の散乱プロットを示し、a~cは、LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用い、d~fは、LTB4DHの代わりにBAG1を用いて繰り返した。8e.MDK/BAG1およびHoxA13/BAG1。

【図8f】図8a~fは、組み合わせ試験の散乱プロットを示し、a~cは、LTB4DHおよび三つのマーカーHoxA13、IGFBP5およびMDKの内の二つを用い、d~fは、LTB4DHの代わりにBAG1を用いて繰り返した。8f.IGFBP5/BAG1およびHoxA13/BAG1。

【図9a】図9a~bは、IGFBP5に関するCtならびにIGFBP5/LTB4DHおよび尿クレアチニン濃度に関するCt比の間の相関関係を示す散乱プロットを示す。9a.TCCを有する患者からの尿試料。

【図9b】図9a~bは、IGFBP5に関するCtならびにIGFBP5/LTB4DHおよび尿クレアチニン濃度に関するCt比の間の相関関係を示す散乱プロットを示す。9b.非悪性疾患を有する患者からの尿試料。

【図10a】図10a~fは、膀胱腫瘍マーカーMDK、IGFBP5およびHoxA1

10

20

30

40

50

3 単独または L T B 4 D H との比を用いて分析した T C C 患者からの、排泄採取およびカテテル採取試料の分布を示す、自己散乱プロット (Self-self scatter plots) を表す。

【図 1 0 b】図 1 0 a ~ f は、膀胱腫瘍マーカー M D K、I G F B P 5 および H o x A 1 3 単独または L T B 4 D H との比を用いて分析した T C C 患者からの、排泄採取およびカテテル採取試料の分布を示す、自己散乱プロット (Self-self scatter plots) を表す。

【図 1 0 c】図 1 0 a ~ f は、膀胱腫瘍マーカー M D K、I G F B P 5 および H o x A 1 3 単独または L T B 4 D H との比を用いて分析した T C C 患者からの、排泄採取およびカテテル採取試料の分布を示す、自己散乱プロット (Self-self scatter plots) を表す。

10

【図 1 0 d】図 1 0 a ~ f は、膀胱腫瘍マーカー M D K、I G F B P 5 および H o x A 1 3 単独または L T B 4 D H との比を用いて分析した T C C 患者からの、排泄採取およびカテテル採取試料の分布を示す、自己散乱プロット (Self-self scatter plots) を表す。

【図 1 0 e】図 1 0 a ~ f は、膀胱腫瘍マーカー M D K、I G F B P 5 および H o x A 1 3 単独または L T B 4 D H との比を用いて分析した T C C 患者からの、排泄採取およびカテテル採取試料の分布を示す、自己散乱プロット (Self-self scatter plots) を表す。

【図 1 0 f】図 1 0 a ~ f は、膀胱腫瘍マーカー M D K、I G F B P 5 および H o x A 1 3 単独または L T B 4 D H との比を用いて分析した T C C 患者からの、排泄採取およびカテテル採取試料の分布を示す、自己散乱プロット (Self-self scatter plots) を表す。

20

【図 1 1 - 1】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 2】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 3】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 4】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 5】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 6】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 7】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 8】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 9】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 0】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 1】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 2】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 3】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 4】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 5】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 1 - 1 6】図 1 1 は、浸潤性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 1】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 2】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 3】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 4】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 5】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 6】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 7】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 8】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 9】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 1 0】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図 1 2 - 1 1】図 1 2 は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

30

40

50

【図12-12】図12は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図12-13】図12は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図12-14】図12は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図12-15】図12は、表在性膀胱腫瘍からの既知の過剰発現マーカーを示す。

【図13】図13は、ROC曲線分析で使用した低段階TCC試料およびコントロールの臨床的特徴を示す。

【図14】図14は、ROC曲線分析の結果を示す。LTB4DHがHoxA13およびIGFBP5との比として用いられた時得られる試験の正確度の増加の図示。

【図15】図15は、TCCの検出に関して、LTB4DHの存在および非存在下での、BTMの線形識別分析の結果を示す。

【0024】

発明の詳細な説明

定義

用語「マーカー」は、生物現象の存在と定量的に、または定性的に関連する分子を意味する。マーカーの例としては、遺伝子、遺伝子断片、RNAまたはRNA断片のようなポリヌクレオチド；ペプチド、オリゴペプチド、タンパクまたはタンパク断片のようなポリペプチドを含む遺伝子産物；または現象の基礎となるメカニズムに直接的に関係していようが、間接的に関係していようが、関連代謝物、副産物または抗体または抗体断片のような他の識別分子が挙げられる。本発明のマーカーとしては、本明細書に開示した核酸配列（例えばGenBank配列）、具体的には全長配列、任意のコード配列、ノンコード配列および断片、またはそれらの任意の相補体、および上に規定したような任意の測定可能なそれらのマーカーが挙げられる。

【0025】

用語「感度」は、試験で陽性（モデルによっては）である、疾患を有する個人の比率を意味する。従って、感度が増加することは、試験結果に擬陰性がより少ないことを意味する。

【0026】

用語「特異性」は、試験で陰性（モデルによっては）である、疾患を有しない個人の比率を意味する。従って特異性が増加することは、試験結果に擬陽性がより少ないことを意味する。

【0027】

用語「発現」は、ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの生産、具体的には遺伝子または遺伝子の部分からのRNA（例えばmRNA）の生産を含み、ならびにRNAまたは遺伝子または遺伝子の部分によってコードされるポリペプチドの生産を含み、発現と関連する検出可能な物質の出現を含む。例えば、ポリペプチド-ポリペプチド相互作用、ポリペプチド-ヌクレオチド相互作用等からの複合体の形成は、用語「発現」の範囲内に含まれる。別の例としては、ハイブリダイゼーションプローブまたは抗体のような結合リガンドの、遺伝子もしくは他のポリヌクレオチド、ポリペプチドもしくはタンパク断片との結合、および結合リガンドの可視化も含まれる。従って、マイクロアレイ上の、ノーザンプロットのようなハイブリダイゼーションプロット上の、またはウエスタンプロットのような免疫プロット上の、またはビーズアレイ上の、またはPCR分析による、スポットの密度は、根本的な生物分子の用語「発現」の範囲内に含まれる。

【0028】

用語「過剰発現」は、ある細胞または細胞型におけるマーカーの発現が、他の同等の細胞または細胞型におけるマーカーの発現よりも多い場合に用いる。

【0029】

用語「低発現」は、ある細胞または細胞型におけるマーカーの発現が、他の同等の細胞または細胞型におけるマーカーの発現よりも少ない場合に用いる。

【0030】

用語「TM」または「腫瘍マーカー」または「TMファミリーメンバー」は、特定の癌

10

20

30

40

50

に関連するマーカーを意味する。用語 T M はまた、その組み合わせが癌の検出の感度および特異性を改良する、個々のマーカーの組み合わせをも含む。当然のことながら、用語「T M」は、マーカーが特定の腫瘍にのみ特異的であることは必要としない。むしろ、T M の発現は、他の型の細胞、疾患細胞、悪性腫瘍を含む腫瘍において変化することが可能である。

【0031】

T M は、膀胱癌を有すると疑われる患者からの組織試料から R N A を抽出し、その上に多くのオリゴヌクレオチドを有するマイクロアレイに R N A または c D N A コピーを加え、アレイ上のオリゴヌクレオチドに試料 R N A をハイブリダイズさせ、各アレイスポットに結合した測定 R N A のレベルを定量することにより、同定することができる。もしマーカーの存在が、マイクロアレイ法を用いて、正常、非悪性組織において見出される値の少なくとも約 1 . 2 倍に閾値より低い場合は、マーカーは低発現 T M であると考えられる。代わりに、閾値は、正常値の約 2 倍より低い、正常値の約 3 分の 1、正常値の約 4 分の 1 または約 5 分の 1 であることも可能である。「正常」は、ここでは正常の集団の 9 0 パーセンタイルより小さいことを意味する。他の場合、正常とは、9 5 パーセンタイル（すなわち平均値から約 2 標準偏差（S D））の存在のレベルを意味することも可能であり、また他の場合、約 9 7 . 5 パーセンタイル未満（すなわち約 3 S D）または 9 9 パーセンタイルであることも可能である。

10

【0032】

用語「低発現 T M」は、非悪性膀胱組織におけるよりも膀胱腫瘍において低い発現を示すマーカーを意味する。

20

【0033】

用語「過剰発現 T M」は、非悪性膀胱組織におけるよりも膀胱腫瘍において高い発現を示すマーカーを意味する。

【0034】

用語「B T M」または「膀胱腫瘍マーカー」または「B T M ファミリーメンバー」は、膀胱癌に関連する T M を意味する。用語 B T M はまた、その組み合わせが膀胱癌検出の感度および特異性を改良する、個々のマーカーの組み合わせを含む。当然のことながら、用語 B T M は、マーカーが膀胱腫瘍に対してのみ特異的であることを必要としない。むしろ、B T M の発現は、他の型の細胞、疾患細胞、悪性腫瘍を含む腫瘍において変化することができる。

30

【0035】

用語「低発現 B T M」は、非悪性膀胱組織においてよりも、膀胱腫瘍において低い発現を示すマーカーを意味する。

【0036】

用語「過剰発現 B T M」は、非悪性膀胱組織においてよりも、膀胱腫瘍において高い発現を示すマーカーを意味する。

【0037】

用語「q P C R」は、定量的ポリメラーゼ連鎖反応を意味する。用語「q P C R」又は「Q P C R」は、例えば PCR Technique: Quantitative PCR, J.W. Larrick, ed., Eaton Publishing, 1997 および A-Z of Quantitative PCR, S. Bustin, ed., IUL Press, 2004 に記載する定量的ポリメラーゼ連鎖反応を言う。

40

【0038】

用語「T C C」は、膀胱の移行上皮細胞癌を意味する。T C C は全膀胱癌の ~ 9 5 % を占める。

【0039】

本明細書では、「抗体」および同様の用語は、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン（I g）分子の免疫学的に活性な部分、すなわち抗原と特異的に結合する（免疫反応する）抗原結合部位を含む分子、を言う。これらにとっては、限定されないが、多クローン抗体、単クローン抗体、キメラ、単鎖、F c、F a b、F a b' および F a b 2 断片、な

50

らびに F a b 発現ライブラリーが挙げられる。抗体分子は、クラス I g G、I g M、I g A、I g E および I g D のいずれかに関連しており、それらは分子中に存在する重鎖の性質によって互いに異なっている。これらは I g G 1、I g G 2、およびその他のようなサブクラスを含む。軽鎖は、カップ鎖またはラムダ鎖であってもよい。本明細書における抗体の参照には、全てのクラス、サブクラスおよびタイプに対する参照が含まれる。更に、例えばマウスまたはヒトの配列のように一つを越える供給源に対して特異的である単クローン抗体またはその断片のようなキメラ抗体も含まれる。更にまた、ラクダ科動物の抗体、サメの抗体またはナノボディも含まれる。

【 0 0 4 0 】

用語「癌」および「癌性の」は、異常なまたは制御されない細胞増殖を通常、特徴とする哺乳動物における生理的状态を言うか、または述べている。癌および癌の病理は、例えば、転移；隣接する細胞の正常機能に対する阻害；サイトカインまたは他の分泌産物の異常量の放出；炎症または免疫反応の抑制または悪化；腫瘍形成；前悪性の状態；悪性の状態；リンパ節等の周縁または遠隔組織または器官の侵入；に關与する可能性がある。

10

【 0 0 4 1 】

用語「腫瘍」は、悪性であろうと良性であろうと、全ての腫瘍性の細胞成長および増殖、ならびに全ての前癌および癌細胞および組織を言う。

【 0 0 4 2 】

用語「マイクロアレイ」は、キャプチャー剤、好ましくはポリヌクレオチド（例えばプローブ）またはポリペプチドが基質上に規則的に、または不規則に配置したものを言う。例えば、Microarray Analysis, M. Schena, John Wiley & Sons, 2002; Microarray Bioc hip Technology, M. Schena, ed., Eaton Publishing, 2000; Guide to Analysis of D N A Microarray Data, S. Knudsen, John Wiley & Sons, 2004; and Protein Microarra y Technology, D. Kambhampati, ed., John Wiley & Sons, 2004を参照のこと。

20

【 0 0 4 3 】

用語「オリゴヌクレオチド」は、ポリヌクレオチド、通常はプローブまたはプライマーを言い、限定されないが、一本鎖デオキシリボヌクレオチド、一本鎖または二本鎖のリボヌクレオチド、RNA : DNA ハイブリッドおよび二本鎖 DNA が挙げられる。一本鎖 DNA プローブオリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、化学的方法、例えば市販の自動化オリゴヌクレオチド合成装置を用いて、またはインビトロ発現システム、組み換え技術、ならびに細胞および生物における発現を含む種々の他の方法により、しばしば合成される。

30

【 0 0 4 4 】

用語「ポリヌクレオチド」は、単数または複数形で用いられた時、いずれかのポリヌクレオチドまたはポリデオキシヌクレオチドを言い、それらは改変されない RNA もしくは DNA、または改変された RNA もしくは DNA であってもよい。これは、非限定的に、一本鎖および二本鎖 DNA、一本鎖および二本鎖領域を含む DNA、一本鎖および二本鎖 RNA、ならびに一本鎖および二本鎖領域を含む RNA、一本鎖もしくは、より一般的には二本鎖であってもよい、または一本鎖および二本鎖領域を含む、DNA および RNA を含むハイブリッド分子を含む。更に、RNA もしくは DNA、または RNA および DNA の両方を含む三本鎖領域も含まれる。mRNA、cDNA およびゲノム DNA およびそれらの断片が、特に含まれる。この用語は、トリチウム標識された塩基またはイノシンのような異常塩基などの改変された一つ以上の塩基を含有する DNA および RNA を含む。本発明のポリヌクレオチドは、コーディングまたはアンチコーディング配列もしくはセンスまたはアンチセンス配列を包含することができる。当然のことながら、本明細書で、「ポリヌクレオチド」または同様な用語の参照には、全長配列ならびにそれらのいずれかの断片、誘導体または変異体が含まれる。

40

【 0 0 4 5 】

本明細書で用いる「ポリペプチド」は、オリゴペプチド、ペプチドもしくはタンパク配列、またはそれらの断片、および天然分子、組み換え分子、合成または半合成分子を言う

50

。天然に存在するタンパク分子のアミノ酸配列に言及するために、「ポリペプチド」を本明細書に列挙する場合、「ポリペプチド」または同様な用語は、アミノ酸配列を全長分子の完全な天然アミノ酸配列に限定することを意味するものではない。当然のことながら、本明細書において、「ポリペプチド」または同様な用語の各参照には、全列配列ならびにそれらの任意の断片、誘導体または変異体が含まれるであろう。

【0046】

ハイブリダイゼーション反応の「ストリンジェンシー」は当業者により容易に決定でき、一般的に、プローブの長さ、洗浄温度および塩濃度に依存した経験的な計算でなされる。一般的に、プローブが長くなると適切なアニリングのために、より高い温度が必要となり、一方プローブが短くなると、より低い温度が必要となる。ハイブリダイゼーションは、一般的に、その融点より低い環境に相補鎖が存在する場合、変性したDNAが再アニリングする能力に依存する。プローブとハイブリダイズさせる配列間の所望の相同性の度合いが高いほど、適用することができる相対温度は高くなる。その結果、相対温度が高いほど、反応条件がよりストリンジェントになるであろうし、一方相対温度が低いほどストリンジェンシーはより少なくなる。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーの更なる詳細および説明は、例えば、Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers, (1995)に見られる。

10

【0047】

「ストリンジェントな条件」または「高度なストリンジェンシー条件」は、本明細書では、通常は(1)洗浄において低イオン強度および高温を用い、例としては0.015M塩化ナトリウム/0.0015Mクエン酸ナトリウム/0.1%ドデシル硫酸ナトリウム、50℃；(2)ホルムアミドのような変性剤をハイブリダイゼーション中に用い、例としては、50%(v/v)ホルムアミドを0.1%ウシ血清アルブミン/0.1% Ficoll/0.1%ポリビニルピロリドン/50mMリン酸ナトリウムバッファー、pH6.5、750mM塩化ナトリウム、75mMクエン酸ナトリウム中に、42℃；または(3)50%ホルムアミド、5XSSC(0.75M NaCl、0.075Mクエン酸ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH6.8)、0.1%ピロリン酸ナトリウム、5X Denhardt's溶液、超音波処理サケ精子DNA(50µg/ml)、0.1%SDS、および10%デキストラン硫酸、42℃を用い、洗浄は42℃において、0.2XSSC(塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム)および50%ホルムアミドで55℃、次いでEDTAを含む0.1XSSCで55℃から成る高ストリンジェンシー洗浄を行う。

20

30

【0048】

「中程度にストリンジェントな条件」は、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989に記載されたものを参照としても良く、上記のものよりはストリンジェンシーの低い洗浄溶液およびハイブリダイゼーション条件(例えば、温度、イオン強度およびSDS%)の使用を含む。中程度にストリンジェントな条件の例としては、20%ホルムアミド、5XSSC(150mM NaCl、15mMクエン酸三ナトリウム)、50mMリン酸ナトリウム(pH7.6)、5X Denhardt's溶液、10%デキストラン硫酸、および20mg/mlの変性、せん断したDNAを含む溶液中で37℃一夜インキュベートし、次いでフィルターを1XSSC中で約37~50℃にて洗浄する。当業者であれば、温度、イオン強度等を、プローブの長さ等のような因子に適応するため必要に応じて、調整する方法を認識するであろう。

40

【0049】

本発明の実施には、別段指定のない限り、当技術分野の範囲にある、分子生物学(組み換え技術を含む)、微生物学、細胞生物学および生化学の通常の技術が用いられるであろう。そのような技術はMolecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition, Sambrook et al., 1989; Oligonucleotide Synthesis, MJ Gait, ed., 1984; Animal Cell Culture, R.I. Freshney, ed., 1987; Methods in Enzymology, Academic Press, Inc.; Handbook of Experimental Immunology, 4th edition, D.M. Weir & CC. Blackwell, eds., Blackwell Science Inc., 1987; Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells, J. M. Mi

50

ller & M.P. Calos, eds., 1987; Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., eds., 1987; および PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al., eds., 1994、のような文献に十分に説明している。

【0050】

本発明の実施態様の説明

マイクロアレイ分析および定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) の組み合わせを用いて、腫瘍において低発現の、膀胱の移行上皮細胞癌 (TCC) のマーカーを同定した。驚くべきことには、これらのマーカー、および他の膀胱腫瘍マーカー (BTM)、特に腫瘍において過剰発現しているマーカーとの間の比は、膀胱癌の診断に関するものであることを見出した。

【0051】

比 (マーカーの絶対値を測定するよりもむしろ) は、膀胱癌細胞の特徴を表している、単純な遺伝子発現「兆候」を同定し、驚くべきことに、試料採取技術または尿濃度の変動に対して、より耐性がある。更に、低発現マーカーと過剰発現マーカーを組み合わせると、患者から試料と非悪性コントロールからの試料の間の差が最大になり、試験の信頼性が向上する。本明細書に記載する低発現マーカーは、(i) TCCにおける強く、一貫した下方制御、(ii) 正常組織における高発現、および (iii) 血尿を呈する患者での擬陽性のリスクを最小にするため、全血における発現がわずかであること、に基づいて選択した。

【0052】

二つのBTM比の測定の代用として、低発現および過剰発現BTMを回帰分析または線形識別分析を含む分類分析で分析できることも発見され、これらの分析の結果はまた、膀胱癌の存在の指標である。

【0053】

試験には、癌を有すると疑われる、または癌を有するリスクのある患者からの試料中の、BTMのようなTMマーカーの少なくとも二つの測定が含まれており、TMの少なくとも一つは低発現TMである。低発現TMと他のTMの比は癌の存在の指標である。第二のTMは当技術分野で知られている任意のTMでも可能であるが、好ましくは過剰発現BTMである。図3は、本発明で使用適性のある多くの低発現マーカーを示す。

【0054】

試験は、一つの低発現TMを一つの過剰発現TMと組み合わせて使用して行うのが最良である。例えば任意の過剰発現TMも使用することができる。浸潤性膀胱腫瘍 (本明細書ではステージ1以上の腫瘍として規定される) から特定された既知の過剰発現BTMは、表11に概要を述べてあり、表在性膀胱腫瘍 (本明細書ではステージTaおよびTis腫瘍として規定される) から特定された過剰発現BTMを図12に示す。

【0055】

本発明に使用する好ましい低発現BTMは、全血において有意には上昇しておらず、腫瘍細胞および非悪性膀胱細胞の両方において十分に高いコピー数存在することが立証されたことはまた驚くべきことである。図4に好ましい低発現BTMの概要を述べる。

【0056】

癌マーカーは、任意の適切な技術を用いて試料中に検出することができ、限定されないが、オリゴヌクレオチドプロブ、qPCRまたは癌マーカーに対する抗体、が含まれる。

【0057】

当然のことながら、試験される試料は、腫瘍であると疑われる組織の試料に限定されない。マーカーは、血清中に分泌され、細胞膜から脱落し、溶解した細胞から放出され、または尿中へと失われる細胞に付着している可能性がある。それ故、試料としては任意の身体試料を含み、生検試料、血液、血清、腹膜洗浄液、脳精髓液、尿および便試料が挙げられる。

【0058】

当然のことながら、本発明はヒトにおける癌の検出に限られておらず、限定されないが

10

20

30

40

50

、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ヒツジ、シカ、ブタおよび癌に罹患することが知られている任意の他の動物を含む、任意の動物において癌の検出に適している。

【0059】

癌検出の一般的方法

以下の方法は、TMを測定するために用いることができる非限定的な方法である。個々のTMの測定後、高および低発現BTMファミリーメンバーの間の比を測定する。これらの比は癌が存在するかしないかを予測するために使用する。

【0060】

あるいは、TMの高および低発現は、回帰または分類分析に用いる。これらの分析結果もまた、癌が存在するかしないかを予測するために使用する。

10

【0061】

当然のことながら、発現レベルを測定するどのような方法も適切であろうが、発現レベルを測定する一般方法の概要を以下に述べる。

【0062】

定量的PCR (qPCR)

定量的PCR (qPCR) は、BTM特異的プライマーおよびプローブを用いて、腫瘍試料、血清、血漿および尿試料について行うことができる。コントロール反応において、PCR反応で生成した産物の量は、出発テンプレートの量と相関する (Sambrook, J., E Fritsch, E. and T Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor (2001))。PCR産物の定量化は、試薬が律速になる前に、対数期にある時にPCR反応を停止させることによって行うことができる。それからPCR産物をアガロースまたはポリアクリルアミドゲル中で電気泳動させ、臭化エチジウム染色または同等のDNA染色を行い、染色の強度をデンストメトリーによって測定する。または、PCR反応の進行を、産物の蓄積をリアルタイムで測定するApplied Biosystems¹ Prism 7000または the Roche LightCyclerのようなPCR装置を用いて測定することができる。リアルタイムPCRは、Sybr Greenのような色素を合成PCR産物へ挿入してDNA蛍光を測定するか、または消光分子から切断された時に、レポーター分子によって放出される蛍光を測定する；レポーターおよび消光分子は、プライマーオリゴヌクレオチドからのDNA鎖伸長の後、標的DNA分子にハイブリダイズさせるオリゴヌクレオチドプローブに組み込ませておく。オリゴヌクレオチドプローブは、次のPCRサイクルにおいてTaqポリメラーゼの酵素作用により、置換されかつ分解され、消光分子からレポーターを放出させる。Scorpion (登録商標) として知られる一つの変法においては、プローブはプライマーに共有結合している。

20

30

【0063】

逆転写PCR (RT-PCR)

RT-PCRは、薬剤治療を受ける、または受けない正常および腫瘍組織において、異なった試料群におけるRNAレベルを比較し、発現の型を特徴づけ、近縁関係にあるRNAを識別し、RNA構造を分析するために用いることができる。

【0064】

RT-PCRについては、最初のステップは標的試料からRNAを分離することである。出発物質は、通常は、ヒトの腫瘍または腫瘍細胞株、およびそれぞれに対応する正常組織または細胞株である。RNAは、乳房、肺、結腸 (例えば大腸または小腸)、結腸直腸、胃、食道、肛門、直腸、前立腺、脳、肝臓、すい臓、脾臓、胸腺、精巣、卵巣、子宮、膀胱等からの腫瘍試料、原発性腫瘍または腫瘍細胞株からの、および健常提供者からのプールされた組織、のような種々の試料から分離することができる。もしRNA源が腫瘍ならば、RNAは、例えば、凍結したまたは保存したパラフィン包埋および固定 (ホルマリン固定) した組織試料から抽出することができる。

40

【0065】

RT-PCRによる遺伝子発現プロファイリングの最初のステップは、RNAテンプレートのcDNAへの逆転写であり、次いでPCR反応における指数関数的な増幅を行う。

50

二つの最も普通に使用されている逆転写酵素はトリ骨髄芽球症ウイルスの逆転写酵素 (A M V - R T) および M o l o n e y マウス白血病ウイルス逆転写酵素 (M M L V - R T) である。逆転写ステップは、通常は、状況と発現プロファイリングの目的に応じて、特異的なプライマー、ランダムヘキサマーまたはオリゴ d T プライマーを用いて開始する。例えば、抽出された R N A は、GeneAmp RNA PCR キット (Perkin Elmer, CA, USA) を用いて、メーカーの指示に従って、逆転写することができる。得られた c D N A を次の P C R 反応におけるテンプレートとして用いることができる。

【 0 0 6 6 】

P C R ステップは種々の熱安定性の D N A 依存 D N A ポリメラーゼを用いることができるが、通常は、5 ' 3 ' ヌクレアーゼ活性を有するが、3 ' 5 ' ブルーフリーディングエンドヌクレアーゼ活性を欠く T a q D N A ポリメラーゼを用いる。従って、T a q M a n (q) P C R は通常は、T a q または T t h ポリメラーゼの 5 ' ヌクレアーゼ活性を、標的アンプリコン結合しているハイブリダイゼーションプローブを加水分解するために用いるが、同等の 5 ' ヌクレアーゼ活性を有するいかなる酵素も用いることができる。

10

【 0 0 6 7 】

二つのオリゴヌクレオチドプライマーが、P C R 反応に典型的なアンプリコンを生成するために用いる。第三のオリゴヌクレオチドまたはプローブは、二つの P C R プライマーの間に存在するヌクレオチド配列を検出するために設計される。プローブは T a q D N A ポリメラーゼ酵素によっては伸長されず、レポーター蛍光色素および消光蛍光色素で標識されている。二つの色素が、プローブ上でのように接近して存在する場合、レポーター色素からの、いかなるレーザー誘導発光も消光色素によって消光される。増幅反応の間、T a q D N A ポリメラーゼ酵素はプローブを、テンプレート依存的に切断する。その結果のプローブ断片は、溶液中に分散し、放出されたレポーター色素からのシグナルは、第二のフルオロフォアの消光効果を受けない。新分子が合成されるごとに、レポーター色素 1 分子が放出され、消光されないレポーター色素の検出により、データの定量的解釈の基盤が与えられる。

20

【 0 0 6 8 】

T a q M a n R T P C R は、例えば ABI PRISM 7700 Sequence Detection System (Perkin-Elmer-Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), または Lightcycler (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) のような市販の装置を用いて行うことができる。好ましい一実施態様では、5 ' ヌクレアーゼ手順は、ABI PRISM 7700 tam Sequence Detection System のようなリアルタイム定量 P C R 装置で行われる。システムは、サーモサイクラー、レーザー、チャージカップル装置 (C C D)、カメラおよびコンピュータから成る。システムは、サーモサイクラー上の 9 6 穴型中の試料を増幅する。増幅中、レーザー誘導蛍光シグナルをリアルタイムで、光ファイバーケーブルを通じて全 9 6 穴から集め、C C D で検出する。システムは機器の操作とデータ分析のためのソフトウェアを含む。

30

【 0 0 6 9 】

5 ' ヌクレアーゼアッセイデータは、はじめに C t または閾値サイクルとしてとして表される。上に考察したように、蛍光値は、各サイクルの間記録され、増幅反応におけるその時点での増幅された産物の量を表す。蛍光シグナルが、統計的に有意であると最初に記録された時点が、閾値サイクルである。

40

【 0 0 7 0 】

リアルタイム定量 P C R (q P C R)

R T - P C R 技術の最近の変種は、二重標識蛍光プローブ (すなわち T a q M a n プローブ) によって、P C R 産物の蓄積を測定するリアルタイム定量 P C R である。リアルタイム P C R は、競合定量 P C R と相対定量 P C R の両方に適合する。前者は、基準化のために各標的配列に対して内部競合剤を用い、一方後者は、試料中に含まれる基準化遺伝子、または R T - P C R についてはハウスキーピング遺伝子を用いる。更なる詳細は、例えば Held et al., Genome Research 6: 986-994 (1996) によって与えられる。

50

【0071】

発現レベルは、RNA源として固定したパラフィン包埋組織を用いて測定可能である。本発明の一態様によれば、PCRプライマーおよびプローブは、増幅されるべき遺伝子のイントロン配列に基づいて設計する。この実施態様では、プライマー/プローブ設計の第一段階は遺伝子内のイントロン配列の描写である。これは、Kent, W. J., *Genome Res.* 12 (4): 656-664 (2002)が開発したDNA-BLASTソフトウェアのような公的に入手可能なソフトウェア、またはその変種を含むBLASTソフトウェアによって行うことができる。その後の段階として、PCRプライマーおよびプローブ設計についての定評のある方法が続く。

【0072】

非特異的なシグナルを避けるためにプライマーおよびプローブを設計する時にイントロン内の反復配列をマスクすることが有用である。これは、ベイラー医科大学を通じてオンラインで得られるRepeat Maskerプログラムを用いて容易に実施することができ、このプログラムはDNA配列を反復要素のライブラリーに対してスクリーニングし、反復要素がマスクされたクエリ配列を返す。マスクされた配列を、Primer Express (Applied Biosystems); MGB assay-by-design (Applied Biosystems); Primer3 (Steve Rozen and Helen J. Skaletsky (2000)、のような、いずれかの市販のまたは公的に得られるプライマー/プローブパッケージを用いて、プライマーおよびプローブを設計するために用いることができる。Primer3は一般利用者のためにはWWWにあり、生物学プログラマーのために Krawetz S, Misener S (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365-386)に記載している。

【0073】

PCRプライマー設計において考慮すべき最も重要な要素としては、プライマー長、融点 (T_m) およびG/C含量、特異性、相補的プライマー配列および3'末端配列が挙げられる。一般的に、最適PCRプライマーは、一般的に17~30塩基長であり、約20~80%、例えば約50~60%G+C塩基を含む。融点は50と80の間、例えば約50から70が通常、好まれる。PCRプライマーおよびプローブ設計に関する更なる指針としては、例えばDieffenbach, C. W. et al., *General Concepts for PCR Primer Design in: PCR Primer, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1995, pp. 133-155; Innis and Gelfand, *Optimization of PCRs in: PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications*, CRC Press, London, 1994, pp. 5-11; and Plasterer, T. N. *Primerselect: Primer and probe design. Methods Mol. Biol.* 70: 520-527 (1997)を参照されたい。これらの全開示内容は、参照により本明細書に明確に援用される。

【0074】

マイクロアレイ分析

差次的発現はまた、マイクロアレイ技術を用いて同定または確認することができる。従って、CCPMsの発現プロフィールは、新鮮腫瘍組織またはパラフィン包埋腫瘍組織のどちらかで、マイクロアレイ技術を用いて測定することができる。この方法では、対象となるポリヌクレオチド配列(cDNAおよびオリゴヌクレオチド)をマイクロチップ基材上に蒔く、または整列させる。整列した配列(すなわちキャプチャープローブ)は、対象となる細胞または組織(すなわち標的)からの特定のポリヌクレオチドとハイブリダイゼーションさせる。RT-PCR法におけるように、RNAの源は、通常、ヒト腫瘍または腫瘍細胞株、および対応する正常組織または細胞株から分離した全RNAである。従って、RNAは、種々の原発腫瘍または腫瘍細胞株から分離することができる。もしRNA源が原発腫瘍である場合は、RNAは、日常の診療において常に調製し保存している、例えば凍結した、または保存したホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織試料および固定(例えばホルマリン固定)組織試料から抽出することができる。

【0075】

マイクロアレイ技術の具体的な実施態様では、cDNAクローンのPCR増幅された挿

10

20

30

40

50

入断片を基材に添加する。基材は、1、2、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、または75までのヌクレオチド配列を含むことができる。他の態様では、基材は少なくとも10,000ヌクレオチド配列を含むことができる。マイクロアレイの配列は、マイクロチップ上に固定され、ストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションを行うのに適している。他の実施態様として、マイクロアレイの標的は、少なくとも50、100、200、400、500、1000、または2000塩基長；または50~100、100~200、100~500、100~1000、100~2000または500~5000塩基長であり得る。更なる実施態様として、マイクロアレイのためのキャプチャープローブは、少なくとも10、15、20、25、50、75、80、または100塩基長；または10~15、10~20、10~25、10~50、10~75、10~80または20~80塩基長であり得る。

【0076】

蛍光標識cDNAプローブは、対象となる組織から抽出されたRNAの逆転写による蛍光ヌクレオチドの組み込みによって作製してもよい。チップに添加された標識cDNAプローブは、アレイ上のDNAの各スポットに、特異性をもってハイブリダイゼーションする。非特異的に結合したプローブを除去するためのストリンジェントな洗浄の後、共焦点レーザー顕微鏡またはCCDカメラのような別の検出方法で、チップを走査する。各アレイの要素のハイブリダイゼーションの定量によって、対応するmRNAの存在量の評価が可能になる。二つの源からのRNAから作製した、二重蛍光色で別々に標識されたcDNAプローブは、対としてアレイとハイブリダイゼーションさせる。それぞれの特定遺伝子に対応する二つの源からの転写物の相対的な存在量を、このようにして同時に測定する。このための代表的なプロトコルは、実施例4に詳細に記述する。

【0077】

ハイブリダイゼーションの小型化によって、膨大な遺伝子の発現型の便利で迅速な評価が利用可能になる。該方法は、細胞あたり数コピーで発現する、稀有な転写物を検出するために、および発現レベルにおける約2倍の差を再現性良く検出するために、必要となる感度を有することが示された(Schena et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93 (2): 106-149 (1996))。マイクロアレイ分析は、Affymetrix GenChip technology, Illumina microarray technology またはIncyte's microarray technologyのような市販の装置によって、メーカーのプロトコルに従って行うことができる。遺伝子発現の大規模分析のためのマイクロアレイ法の開発によって、癌分類の分子マーカーを体系的に探査すること、種々の腫瘍型における効果予測することが可能になる。

【0078】

RNAの分離、精製および増幅

当技術分野においてmRNA抽出のための一般的な方法は良く知られており、Ausubel et al., Current Protocols of Molecular Biology, John Wiley and Sons (1997)を含む標準的な分子生物学の教科書に開示されている。パラフィン包埋組織からのRNA抽出法は例えばRupp and Locker, Lab Invest. 56: A67 (1987), and De Sandres et al., BioTechniques 18: 42044 (1995)に開示している。特に、RNA抽出は、Qiagenのような業者からの精製キット、バッファセットおよびプロテアーゼを用いて、メーカーの指示に従って行うことができる。例えば、培養細胞からの全RNAはQiagen RNeasy mini-columnsを用いて分離することができる。他の市販のRNA分離キットとしては、MasterPure Complete DNA and RNA Purification Kit (EPICENTRE (D, Madison, WI)およびParaffin Block RNA Isolation Kit (Ambion, Inc.)が挙げられる。組織試料からの全RNAは、RNA Stat-60 (Tel-Test)を用いて分離することができる。腫瘍から調製されたRNAは、塩化セシウム密度勾配遠心法によって分離できる。

【0079】

固定パラフィン包埋組織をRNA源として用い、mRNA分離、精製、プライマー伸長および増幅を含む、遺伝子発現のプロファイリングのための代表的なプロトコルのステップは、種々の公刊された雑誌の論文に与えられている(例えば: T. E. Godfrey et al. J.

Molec. Diagnostics 2: 84-91 (2000); K. Specht et al., Am. J. Pathol. 158: 419-29 (2001)). 手短かに説明すれば、代表的な手順は、パラフィン包埋腫瘍組織試料の約10 μ m厚の切片を切ることから始まる。それからRNAを抽出し、タンパクとDNAを除去する。RNAの濃度の分析後、必要であれば、RNA修復および/または増幅ステップを含めても良く、それからRNAを、遺伝子特異的なプロモータを用いて逆転写し次いでRT-PCRを行う。最後に、データを分析し、検査した腫瘍試料において同定された特徴的な遺伝子発現パターンに基づき、患者が得られる最良の治療の選択を明らかにする。

【0080】

免疫組織化学およびプロテオミクス

免疫組織化学法はまた、本発明の増殖マーカーの発現レベルを検出するのに適している。従って、各マーカーに特異的な、抗体または抗血清、好ましくはポリクロナール抗血清、最も好ましくはモノクロナール抗体を、発現を検出するために用いる。抗体は、例えば放射線標識、蛍光標識、ビオチンのようなハプテン標識、またはセイヨウワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼのような酵素での、抗体自身の直接標識によって検出することができる。あるいは、未標識の第一次抗体を、第一次抗体に特異的な抗血清、ポリクロナール抗血清またはモノクロナール抗体を含む標識された第二次抗体と組み合わせる。免疫組織化学プロトコルおよびキットは当技術分野で良く知られており、市販されている。

【0081】

プロテオミクスは、試料中(例えば、組織、器官または培養細胞)に存在するポリペプチドをある時点において分析するために用いることができる。特に、プロテオミクス技術は試料中のポリペプチド発現の包括的な変化の評価をするために用いることができる(発現プロテオミクスとも呼ばれる)。プロテオミクス分析は、通常は:(1)二次元ゲル電気泳動法(2-D PAGE)による試料中の個々のポリペプチドの分離;(2)ゲルから回収された個々のポリペプチドの同定、例えば質量分光分析またはN末端配列決定による;および(3)生物情報科学を用いての分析を含む。プロテオミクス法は、単独で、または本発明の増殖マーカーの産物を検出するための他の方法と組み合わせる、遺伝子発現プロファイリングの他の方法に対する貴重な補助である。

【0082】

マーカーに対して選択的である核酸プローブを用いたハイブリダイゼーション方法

これらの方法は、核酸プローブを支持体に結合させ、試験試料から由来したRNAまたはcDNAと適切な条件下でハイブリダイゼーションさせることを含む(Sambrook, J., E. Fritsch, E. and T Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor (2001))。これらの方法は、組織または液体試料から由来したBTMに適用することができる。RNAまたはcDNA製剤は、通常は検出と定量を可能にするために、蛍光または放射性分子で標識されている。いくつかの応用では、ハイブリダイゼーションするDNAは、シグナル強度を増強するために、分岐した蛍光標識構造でタグを付けることができる(Nolte, F.S., Branched DNA signal amplification for direct quantitation of nucleic acid sequences in clinical specimens. Adv. Clin. Chem. 33, 201-35 (1998))。ハイブリダイゼーションしない標識は、蛍光検出またはゲル像のデンシトメトリーによってハイブリダイゼーションの量を定量する前に、0.1XSSC、0.5%SDSのような低塩溶液中での強い洗浄によって除去する。支持体はナイロンまたはニトロセルロースのような固体であっても、液体懸濁状態でハイブリダイゼーションする小球体またはビーズであってもよい。洗浄と精製を可能にするために、ビーズは磁石であってもよい(Haukanes, B-I and Kvam, C, Application of magnetic beads in bioassays. Bio/Technology 11, 60-63 (1993))、またはフローサイトメトリーを可能にするために蛍光標識されていてもよい(例えば: Spiro, A., Lowe, M. and Brown, D., A Bead-Based Method for Multiplexed Identification and Quantitation of DNA Sequences Using Flow Cytometry. Appl. Env. Micro. 66, 4258-4265 (2000)を参照)。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 3 】

ハイブリダイゼーション技術の変種は、蛍光ビーズ支持体と分岐 DNA シグナル増幅を組み合わせた QuantiGene Plex (登録商標) アッセイ (Genospectra, Fremont) である。ハイブリダイゼーション技術の更に別の変種は、Quantikine (登録商標) m R N A アッセイ (R&D Systems, Minneapolis) である。方法はメーカーの指示書中に記述してある。簡単に説明すれば、このアッセイは、ジゴキシゲニンと結合したオリゴヌクレオチドハイブリダイゼーションプローブを用いる。ハイブリダイゼーションは、呈色反応アッセイにおいて、アルカリホスファターゼと結合した抗ジゴキシゲニン抗体を用いて検出される。

【 0 0 8 4 】

追加の方法は、当技術において周知であり、本明細書にさらに記述する必要はない。

10

【 0 0 8 5 】

酵素結合免疫アッセイ (E L I S A)

簡単に説明すれば、サンドイッチ E L I S A アッセイにおいては、B T M に対するポリクローンまたはモノクローン抗体は固体の支持体 (Crowther, J. R. The ELISA guidebook. Humana Press: New Jersey (2000); Harlow, E. and Lane, D., Using antibodies: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor (1999))、または懸濁ビーズに結合している。他の方法は当技術分野において周知であり、更に本明細書で説明する必要はない。モノクロナール抗体は、ハイブリドーマ由来であることもできるし、またはファージ抗体ライブラリーから選択することができる (Hust M. and Dubel S., Phage display vectors for the in vitro generation of human antibody fragments. Methods Mol Biol. 295:71-96 (2005))。非特異的な結合部位は、非標的タンパク製剤および界面活性剤でブロックされる。それからキャプチャー抗体を、B T M 抗原を含む尿または組織の調製物とインキュベートする。抗体 / 抗原複合体を、標的 B T M を検出する第二の抗体とインキュベートする前に、混合物を洗浄する。第二の抗体は通常は、酵素反応またはレポーターと結合している第三の抗体のいずれかによって検出される、蛍光分子または他のレポーター分子と結合している (Crowther, Id.). または、直接 E L I S A においては、B T M を含む調製物は、支持体またはビーズに結合でき、標的抗原は抗体レポーター抱合体で直接検出される (Crowther, Id.).

20

【 0 0 8 6 】

モノクロナール抗体およびポリクロナール抗血清を製造する方法は当技術分野においては公知であり、本明細書で更に説明する必要はない。

30

【 0 0 8 7 】

免疫検出

腫瘍を除くための手術の前後に採取された膀胱癌患者からの血清または血漿におけるマーカーファミリーメンバーの免疫検出；限定されないが、結腸直腸、膵臓、卵巣、黒色肉腫、肝臓、食道、胃、子宮内膜および脳を含む、他の癌を有する患者におけるマーカーファミリーメンバーの免疫検出；および膀胱癌患者からの尿および便試料におけるマーカーファミリーメンバーの免疫検出；のために、本方法を用いることもできる。

【 0 0 8 8 】

B T M はまた、免疫プロットイングまたは免疫沈降のような他の標準的な免疫検出法を用いて、組織または尿中で検出することができる (Harlow, E. and Lane, D., Using antibodies: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor (1999))。免疫プロットイングにおいては、B T M を含む組織または液体からのタンパク調製物を、変性または非変性状態で、ポリアクリルアミドゲルを介して電気泳動する。それからタンパクを、ナイロンのような膜状支持体に移動させる。その後、B T M を直接または間接的に、免疫組織化学について記述したように、モノクロナール抗体またはポリクロナール抗体と反応させる。あるいは、ある調製物では、タンパクを先に電気泳動分離することなしに膜に直接スポットすることができる。シグナルはデンシトメトリーにより定量することができる。

40

【 0 0 8 9 】

50

免疫沈降において、BTMを含む可溶性の調製物をBTMに対するモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体とインキュベートする。反応混合物を、それから共有結合したプロテインAまたはプロテインGを有するアガロースまたはポリアクリルアミドからなる不活性なビーズとインキュベートする。プロテインAまたはプロテインGビーズは、ビーズに結合した抗体-BTM-抗原の固定された複合体を形成する抗体と特異的に相互作用する。洗浄後、結合したBTMは免疫プロットングまたはELISAによって検出および定量することができる。

【0090】

閾値の決定

下方制御されたBTMを用いた、比率または回帰分析のいずれかにおける試験のために、試料をTCCに関して陽性または陰性と呼ぶことを可能にする、閾値を誘導する。これらの閾値は、TCCの存在を調査されている患者のコホートの分析によって決定されるであろう。閾値は異なった試験の適用により変動する可能性がある；例えば集団のスクリーニングにおける試験に使用する閾値は、主として泌尿器症状の無い患者のコホートを用いて決定されるであろうし、これらの閾値は、TCC再発の監視下にある患者、または血尿のような泌尿器症状の存在を調査される患者に対する試験に用いる閾値とは異なっている可能性がある。閾値は、要求される臨床状況において試験の特異性の実用的なレベルを提供するために選択することができる；すなわち擬陽性の結果を受ける患者の数が過剰ではないような、適度な感度を可能にする特異性である。この特異性は80~90%の範囲内にあればよい。試験の閾値を得る代替法の一つは、異なった試験の閾値について、感度を特異性に対してプロットし(ROC曲線)、それから曲線の変曲点を選択する方法である。

10

20

【0091】

単一閾値の代用として、試験は、疾患の存在の可能性の程度が異なる、およびそれらに関連した臨床結果が異なる、試験区間を用いてもよい。例えば、試験は三つの区間を有してもよい：一つはTCCの存在の高リスク(例えば90%)と関連する区間、第二はTCCの低リスクと関連する区間、および第三は疾患の疑いがあると見なされる区間である。「疑わしい区間」は、規定された期間での再試験の推奨と関連し得る。

【0092】

尿中の膀胱癌マーカーを検出する方法

いくつかの実施態様では、BTMに関するアッセイは、尿試料について行うことができることが望ましい。一般的に、これらの液体中のオリゴヌクレオチド、タンパクおよびペプチドに関するアッセイ方法は当技術分野では知られている。しかしながら、例示の目的で、BTMの尿レベルはサンドイッチ型酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)を用いて定量することができる。血漿または血清アッセイのために、適切に希釈した試料または段階希釈した標準BTM5 μ l、およびペルオキシダーゼ結合抗ヒトBTM抗体75 μ lを、マイクロタイタープレートのウエルに加える。30分間30のインキュベーション期間の後、結合していない抗体を除くために、ウエルをリン酸バッファー食塩水(PBS)中0.05% Tween 20で洗浄する。BTMと抗BTM抗体の結合した複合体は、それからH₂O₂を含むo-フェニレンジアミンと15分間30でインキュベートする。当然のことながら、反応を1M H₂SO₄を加えて停止し、492nmでの吸光度をマイクロタイタープレートリーダーで測定する。抗BTM抗体は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体であり得る。

30

40

【0093】

多くのタンパクは、(1)細胞によって分泌され、(2)細胞膜から切断され、(3)細胞死時に細胞から喪失するか、または(4)脱落した細胞内に含まれる、のいずれかであることから、当然のことながら、BTMは尿中で検出される可能性もある。更に加えて、膀胱癌の診断は、試料中のBTMの発現、または試料中のBTMの蓄積のいずれかを測定することにより決定することができる。診断の先行技術における方法には、膀胱鏡検査、細胞学的検査およびこれらの処置の間に抽出された細胞の検査が挙げられる。該方法は

50

、尿中または尿路上皮のこすり取った試料中の、又は他の症例の場合、膀胱壁の生検試料中の腫瘍細胞の同定に依存した。これらの方法は、試料採取の誤り、観察者間の同定における誤差等を含む、数種類の誤差を被る。

【0094】

膀胱腫瘍マーカーに対する抗体

更なる態様では、本発明は、BTMに対する抗体の製造を含む。本明細書に記載する方法を用いて、新規のBTMを、マイクロアレイおよび/またはqPCRを用いて同定することができる。ひとたび推定マーカーが同定されると、免疫反応を誘発するのに十分な量の推定マーカーを製造することができる。場合によっては、全長BTMを用いることができ、他の場合は、免疫原としてBTMのペプチド断片が十分であるかも知れない。免疫原は、適切な宿主（例えば、マウス、ウサギ等）に注射することができ、必要に応じて、完全フロイントアジュバント、フロイント不完全アジュバントのようなアジュバントを、免疫反応を増強させるために注射することができる。当然のことながら、免疫技術においては抗体を作成することは、ルーチンであり、本明細書でさらに記述する必要はない。その結果、本明細書に記載した方法を用いて、同定されたBTMに対する抗体を製造することができる。

10

【0095】

更なる実施態様では、本明細書で同定された腫瘍マーカーのタンパクまたはタンパクコアに対して、またはBTMに特有のオリゴヌクレオチド配列に対して、抗体を作製することができる。ある種のタンパクはグリコシル化が可能であるが、グリコシル化のパターンの変種は、ある状況下においては、通常のグリコシル化パターンを欠いたBTMの形を検出間違いする可能性がある。従って、本発明のある態様では、BTM免疫原は、脱グリコシルBTMまたは脱グリコシルBTM断片を含むことができる。脱グリコシル化は、当技術分野において知られる一つ以上のグリコシダーゼを用いて達成することができる。あるいは、BTMcDNAを、大腸菌等を含む原核生物細胞株のようなグリコシル化欠損細胞株において発現させることができる。

20

【0096】

BTMをコードするオリゴヌクレオチドを有するベクターを作成することができる。多くのそのようなベクターは、当技術分野において周知の公知の標準ベクターを基礎とすることができる。ベクターは、種々の細胞株をトランスフェクトして、BTMを製造する細胞株を作製するために用いることができる。特異的抗体、またはBTM検出用の他の試薬を開発するため、またはBTMに対して開発されたアッセイを基準化するため、BTMを製造する細胞株を用いて、所望量のBTMを製造することができる。

30

【0097】

キット

本発明の発見に基づいて、数種のタイプの試験キットを想定し製造することができる。第一に、検出分子（またはキャプチャー試薬）を予め搭載した検出装置を有するキットを作製できる。BTM mRNAの検出に関する実施態様では、該装置は、基材（例えば、ガラス、シリコン、石英、金属等）を含むことが可能であり、基材の上には、検出されるべきmRNAとハイブリダイゼーションするオリゴヌクレオチドがキャプチャー試薬として結合している。いくつかの実施態様では、mRNAの直接検出は、mRNA（cy3、cy5、放射線標識または他の標識で標識されている）を基材上のオリゴヌクレオチドにハイブリダイゼーションさせることにより達成することが可能である。他の実施態様では、mRNAの検出は、所望のmRNAに対する相補的DNA（cDNA）をまず作製することによって達成可能である。それから、標識cDNAを、基質上のオリゴヌクレオチドとハイブリダイゼーションさせ、検出できる。

40

【0098】

抗体をキット中でキャプチャー試薬として用いることもできる。いくつかの実施態様では、基材（例えばマルチウエルプレート）はそこに付着した特異的BTMキャプチャー試薬を有することが可能である。いくつかの実施態様では、キットにブロッキング試薬を含

50

ませることも可能である。ブロッキング試薬は非特異的な結合を減少させるために使用できる。例えば、非特異的なオリゴヌクレオチド結合は、サケ精子DNAのようなBTMオリゴヌクレオチドを含まない、任意の都合の良い供給源からのDNAの過剰量を用いて減少させることができる。非特異的な抗体の結合は、血清アルブミンのようなブロッキングタンパクの過剰量を用いて減少させることができる。当然のことながら、オリゴヌクレオチドおよびタンパクを検出するための数多くの方法が、当技術分野で知られており、BTM関連分子を特異的に検出することが可能ないかなる戦略も使用することができ、本発明の範囲内にあると考えることができる。

【0099】

基材に加えて、試験キットはキャプチャー試薬（プローブのような）、洗浄液（例えばSSC、他の塩、バッファー、洗剤等）ならびに検出部分（例えば、cy3、cy5、放射線標識等）を含むことができる。キットはまた、使用のための取扱説明書および包装を含むことができる。

10

【0100】

膀胱癌Iの検出のために用いるBTM比

一連の実施態様では、過剰発現するBTMと組み合わせるBTMLTBDH4を検査するための試薬は、膀胱癌を検出するための、分画されない尿または尿細胞沈殿物の試験のためのキットに組み込むことができる。尿試料は、疾患の進行または治療に対する反応の監視を必要とする、膀胱癌と診断された患者、肉眼または顕微鏡的な血尿を含む泌尿器症状を有する個人、または無症状の個人、から採取することができる。分画されない尿中のBTMを測定するキットを用いて試験される患者または個人については、試験用に尿の約2mlを採取して試験することができる。尿の沈殿物に関する試験については、>10mlの尿を採取することができる。

20

【0101】

適切なキットとして：(i)使用および結果の解釈のための取扱説明書、(ii)任意の回帰分析分類子または式を含む、多遺伝子分析の解釈のためのソフトウェア、(iii)未分画の尿または尿沈殿物からのRNAの安定化および精製のための試薬、(iv)dNTPおよび逆転写酵素を含む、cDNAの合成のための試薬、および(v)BTMcDNAの定量化のための試薬、が挙げられる。一つの形では、これらの試薬は、定量PCRに用いても良く、PCRに必要とされる、特異的なエクソンにまたがるオリゴヌクレオチドプライマー、検出のためのプローブで標識された第三のオリゴヌクレオチド、Taqポリメラーゼおよび他のバッファー、塩およびdNTPsを含む。キットは、標識プローブまたは分岐DNA技術によるBTMRNAの直接ハイブリダイゼーションのような転写物の検出のための他の方法；および(vi)品質管理測定としての機能を果たす、アクチンのような高度に転写される遺伝子からの転写物を検出するためのオリゴヌクレオチドおよびプローブ、も使用できる。

30

【0102】

BTM比を用いた膀胱癌の進行の評価

膀胱腫瘍の進行を評価するために、組織試料を膀胱壁の生検によって得、または膀胱癌を有する患者から尿試料を長い時間をかけて採取する。BTMまたはそれらの組み合わせの比の評価を、異なった時間に採取された試料について行う。特定の範囲内のBTM比は膀胱癌の進行を示す。

40

【0103】

BTM比を用いた膀胱癌の治療の評価

膀胱腫瘍のための治療の効果を評価するために、組織および/または尿の試料を治療開始前に得る。一つ以上のBTMのベースライン値を、互いに関して種々のBTMの比を測定するのと同じように、測定する。治療を開始し、治療には、疾患の種類と段階に応じて、手術、放射線治療または化学療法を含めて、当技術分野において知られている任意の治療法を挙げることができる。治療過程の間、組織および/または尿の試料を採取し、BTMの存在および量を分析する。種々のBTMの比を測定し、結果を(1)治療前の患者の

50

ベースライン値、または(2)膀胱癌を有しない個人の集団から得た正常値と比較する。

【0104】

TCC療法の進行を監視するためのBTM比の使用

TCCの迅速診断および早期検出に加えて、組織、血清または尿において検出されたBTMマーカー比は、治療に対する患者の反応を監視するために使用することができる。これらの応用において、尿および/または血清試料は、全身、小胞内または血管内化学療法、放射線療法または免疫療法の開始後、周期的に採取することができる。マーカー比の変化は、有効な治療を示す腫瘍サイズの減少を示す可能性がある。変化の比率は各患者または治療法のための最良の治療用量を予想するために用いることができる。

【0105】

BTM回帰分析の利用

BTM比に加えて、高および低発現BTMファミリーメンバーを含む、回帰または分類分析は上記の応用に用いることができる。

【0106】

評価したマーカーは、既知のヒト遺伝子から選択する。評価した遺伝子は図3および4に示す。図3および4に含まれるものは、遺伝子名、HUGO識別子、MWGオリゴ数、NCBI mRNA参照配列番号およびタンパク参照番号である。全長配列は、<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>に見出すことができる。

【0107】

実施例

本明細書で記述した実施例は本発明の実施態様を例示するためのものであって、本発明の範囲を制限する意図はない。他の実施態様、方法および分析の方法は分子診断技術における当業者の範囲内にあり、本明細書において詳細に記述する必要はない。本明細書の教えに基づく当技術分野の範囲内にある他の実施態様は、本発明の部分であると考えられる。

【0108】

方法

腫瘍の採取

膀胱腫瘍試料および非悪性尿路上皮試料は日本の京都大学病院において切除された外科手術標本から採取した。

【0109】

尿の採取

非悪性コントロールおよび膀胱癌患者からの尿試料は、日本の京都大学病院から得た。健常コントロール試料は日本人志願者から得た(図1)。

【0110】

RNA抽出

腫瘍組織はTriReagent:水(3:1)混合物中でホモゲナイズし、それからクロロホルムで抽出した。その後、全RNAはそれからRNeasy(商標)手順(Qiagen)を用いて水相から精製した。RNAは、また16の癌細胞株からも抽出し、参照RNAとして役立つようにプールした。

【0111】

RNAは、尿試料を等量の溶解バッファー(5.64Mグアニジン-塩酸、0.5%サルコシル、50mM酢酸ナトリウム(pH6.5)、および1mMβ-メルカプトエタノール;pHは7.0に1.5M HEPES pH8で調整)と混合することにより、尿から抽出した。尿中のRNA量が低いことから、担体として作用させるために、全バクテリアRNA7.5μgを尿/溶解バッファー混合物に加えた。それから全RNAを、TrizolおよびRNeasy(商標)手順を用いて抽出した。RNA調製品は、Qiagen QIAquick(商標)PCR精製キットを用いて、cDNA合成の前に更に精製した。

【0112】

RNAは、3人の健常な志願者の血液から、3.6%デキストランにおける沈降を用い

10

20

30

40

50

て全血から濃縮した細胞についてTrizol/RNeasy (商標) 抽出を行うことにより抽出した。

【0113】

マイクロアレイスライドの調製

エポキシコーティングしたガラススライド(MWG Biotech)を、Gene Machinesマイクロアレイ作製ロボットを用いて、メーカーのプロトコルに従って、~30,000の50merオリゴヌクレオチド(MWG Biotech)でプリントした。

【0114】

RNA 標識およびハイブリダイゼーション

cDNAは、5 µg全RNAから、5-(3-アミノアリル)-2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸を含む反応において、Superscript II (商標) 逆転写酵素(Invitrogen)を用いて転写した。反応混合物を、Cy3またはCy5と炭酸水素塩バッファー中で1時間室温にてインキュベートする前に、Microconカラムで脱イオン化した。組み込まれていない色素はQiaquick カラム(Qiagen)を用いて除去し、SpeedVac中で試料を15 µlに濃縮した。Cy3およびCy5で標識されたcDNAは、それからAmbion ULTRAhyb (商標) バッファーと混合し、100、2分間で変性させ、ハイブリダイゼーションチェンバー内のマイクロアレイスライドと42で16時間ハイブリダイゼーションさせた。それからスライドを洗浄し、Axon 4000A (商標) スキャナー内で、2出力セッティングで2回走査した。

10

【0115】

癌マーカー遺伝子のマイクロアレイ分析

53の膀胱腫瘍および20の非悪性(「正常」)膀胱組織試料からのRNAをCy5で標識し、Cy3標識参照RNAと二重または三重でハイブリダイゼーションさせた。標準化した後、29,718遺伝子のそれぞれの発現の変化を、倍変化率および統計的確率によって推定した。

20

【0116】

標準化手順

Genepix (商標) ソフトウェアにより検出した蛍光強度の中央値を、局所的なバックグラウンド強度を引き算することにより補正した。バックグラウンド補正強度がゼロ未満のスポットは排除した。標準化を容易にするために、強度比および総合的スポット強度を対数変換した。対数化した強度比は、LOCFIT (商標) パッケージで実施した局所回帰を用いて、色素および空間的バイアスに関して補正した。対数化した強度比は、総合的スポット強度および場所に関して同時に回帰させた。局所回帰の残余は、補正された対数化した倍変化率を与えた。品質管理のために、各標準化されたマイクロアレイの比をスポットの強度および局在化に関してプロットした。プロットをその後、人為産物の残余のいずれかが存在するかを肉眼的に検査した。更にANOVA モデルをpin-tipバイアスを検出するために適用した。統計分析のために、標準化の全ての結果およびパラメータをPostgresデータベースに挿入した。

30

【0117】

統計分析

アレイ間の測定倍変化率の比較を改良するために、log2(比)を、アレイ当たり同じ総合的標準偏差を有するように、率に応じて決めた。この標準化は平均組織内クラス変動率を減少させた。それから倍変化率に基づくランク検定を、ノイズロバスト性を改善するために用いた。この検定は、(i)アレイ内の倍変化率のランク(Rfc)の計算、および(ii)腫瘍組織の(Rfc)中央値から正常組織の(Rfc)中央値を引く、と言う2段階より成る。両ランクの中央値の差は、倍変化率のランクのスコアを規定する。更に三つの統計検定を、標準化されたデータについて行った：1)2サンプルステューデントt-検定、2)Wilcoxon検定、および3)マイクロアレイの統計分析(SAM)。各統計方法で(ランク倍変化率、t-検定、Wilcoxon検定およびSAM)最も有意に下方制御された遺伝子は、各検定においてランクスコアを与えられた。全てのランクスコアを加えて、一つの合計ランクスコアにした。

40

50

【0118】

尿RNAからのcDNA合成

全尿RNAは、順方向プライマーを0.01 µg含む50 µlの反応液において、70でインキュベートし、それから氷上で2分間冷却することにより、膀胱腫瘍マーカーのそれぞれに対して遺伝子特異的なプライマーとアニールさせた。各cDNA反応液には、最終容積20 µl中、アニールしたRNAおよび5x Superscript II逆転写酵素バッファー(Invitrogen, USA) 4 µl、0.1 M DTT(Invitrogen, USA) 2 µl、RNase out(40 U/µl(Invitrogen, USA) 0.5 µl、10 mM dNTP(Invitrogen, USA) 4 µlおよびSuperscript II逆転写酵素(200 U/µl)(Invitrogen, USA) 0.5 µlが含まれていた。反応液を42で1時間、70で10分および80で1分インキュベートした。qPCRに先立って、反応液をQiagen QIAquick PCR精製カラム(Qiagen, Victoria, Australia)で精製し、-80で保存した。

10

【0119】

定量的リアルタイムPCR

リアルタイムまたは定量PCR(qPCR)は、PCRテンプレートコピー数の絶対的または相対的定量のために用いた。Taqman(商標)プローブおよびプライマーセットは、Primer Express V 2.0(商標)(Applied Biosystems)を用いて設計した。可能であれば、全ての潜在的スプライス変種は、結果として得られるアンプリコンに含め、アンプリコン優先権は、MWG-Biotech-由来マイクロアレイオリゴヌクレオチドによって包含される領域に与えた。プライマーおよびプローブの配列は図2に示す。あるいは、もし標的遺伝子が、所望のアンプリコンを包含して、Assay-on-Demand(商標)発現アッセイ(Applied Biosystems)によって表される場合は、それらを用いた。自家設計アッセイにおいて、プライマー濃度は、SYBR green標識プロトコルおよび参照RNAから作製したcDNAを用いて、滴定した。増幅はABI Prism(商標)7000配列検出システムで、標準的なサイクリング条件で行った。解離曲線において単一の増幅産物を観察した場合は、最適プライマー濃度および5' FAM - 3' TAMRA リン酸塩 Taqman(商標)プローブ(Proligo)を最終濃度250 nMで用いて、625倍の濃度範囲にわたって標準曲線を作成した。0.98を越える回帰係数を有する標準曲線を与えるアッセイを、次の分析に用いた。

20

【0120】

アッセイは96穴プレートで行った。各プレートは、625倍の濃度範囲にわたって、参照cDNA標準曲線を含んだ。尿qPCRについては、各反応において~5 mlの未分画尿から抽出した全RNAを用いた。Ct(標的遺伝子Ct-平均参照cDNA Ct)を、各マーカーについて計算し、それに続く比率、回帰または分類分析において用いた。

30

【0121】

血液におけるマーカーの発現

図3および4に示すマーカーの全血における発現を、コンピュータシミュレーションで決定した。マイクロアレイプローブは、それらの標的mRNAのGenBank登録番号を介してUniGeneクラスターに接続し、UniGeneからの組織発現プロフィールを、血液ライブラリーにおける発現配列タグ(ESTs)の数を決定するために用いた。0または1個の発現配列タグ(EST)を有する遺伝子のみを図4に示す。全血におけるLTB4DHの低発現を確認するために、図2に示すプライマーおよびプローブを用いて、全血から抽出された全RNAについて、RT-qPCRを実施した。有意な発現は観察されなかった(結果は示さず)。

40

【0122】

下方制御された膀胱癌マーカーの同定

膀胱癌の下方制御されたマーカーを同定するために、30,000オリゴヌクレオチドチップを用いて、53の膀胱腫瘍および20の非悪性膀胱組織試料からのRNAについて、マイクロアレイ研究を、我々は行った。図3は、非悪性膀胱組織と比較して、膀胱癌組織において有意な下方制御を示す300の遺伝子に関するマイクロアレイデータの統計分析を示す。図3は、HUGO遺伝子名および略語、タンパク参照配列番号、NCBI mR

50

NA参照配列番号、MWG Biotechプローブオリゴヌクレオチド番号、腫瘍および非悪性組織の間の遺伝子発現における倍変化率中央値、本来の補正されないStudentのt検定の結果、2-サンプルWilcoxon検定の結果、SAM検定の結果および合計ランクスコアを含む。

【0123】

膀胱癌のための尿試験における、好ましい低発現膀胱腫瘍マーカーの同定

血尿は、膀胱癌に伴う普通の共出現症状であることから、膀胱癌マーカーが全血において有意に上昇していないことが、有利である。更に、下方制御されるマーカーは、比率、回帰または分類分析に用いることから、それらが、腫瘍細胞および非悪性膀胱細胞に十分に高いコピー数で存在することは、尿における信頼性のある検出を可能にするために、有利である。適切なマーカーを同定するために、我々は、血液ESTライブラリーにおいてはほとんど、または全く代表されておらず、かつ非悪性組織において中央値よりも高い発現を有する、サブセットについて、図3における遺伝子をスクリーニングした。発現中央値は、アレイ上の30,000オリゴヌクレオチドを、マイクロアレイ試験において分析された試料における、それらの強度の中央値によってランク付けを行うことにより推測した。この基準に合うマーカーを図4に示す。図4は、HUGO遺伝子名および略語、タンパク参照配列番号、NCBI mRNA参照配列番号、倍変化率中央値、ランクスコア、腫瘍組織および非悪性組織におけるマイクロアレイスポット強度のランクの中央値、および血液ESTライブラリーに存在するEST数を含む。

【0124】

アレイデータで観察した下方制御は、図4に示す三つの遺伝子、LTB4DH、BAG1およびFLJ21511について、qPCRによって確認された。これらの遺伝子は、10の腫瘍試料および10の非悪性試料からの全RNAについて試験した。LTB4DH、BAG1およびFLJ21511は、これらの試料において、それぞれ2.5倍、1.4倍および6.1倍の非悪性組織と比較して、膀胱癌において平均下方制御を示した。

【0125】

LTB4DHを用いた尿のqPCR分析

TCC患者および非悪性泌尿器状態を有するコントロールからの尿を、排尿またはカテーテルによって採取した。全RNAを、42のコントロールの排尿採取尿、および37のTCC患者の排尿採取尿またはカテーテル採取尿から抽出し、LTB4DHおよび三つの過剰発現マーカー、IGFBP5、MDKおよびHoxA13に対するプライマーとプローブを用いる定量RT-PCRにおいて使用した。Ct比を、IGFBP5/LTB4DH、MDK/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DHについて決定した。このデータは図5のボックスプロットによって図示され、3回の検定のそれぞれにおけるコントロールおよびTCC患者からの尿試料の間のデータの広がりにも明瞭な差を示す。最も正確な検定は、試料コホートにおいてそれぞれ87%と88%の感度および特異性を示したIGFBP5/LTB4DHであった(図6a)。これらの検定のそれぞれに関する、感度と特異性の間の対応を図示するために、ROC曲線を図7に示す。IGFBP5/LTB4DH、MDK/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DHに関する曲線下の面積は、それぞれ0.9223、0.9199および0.7497である。検定の正確さを測定するこれらの面積は、全ての三つのLTB4DHとの比率が有用なこと、特にIGFBP5/LTB4DHおよびMDK/LTB4DHが有用なことを示している。

【0126】

TCC検出の感度と特異性を増加させるために、二つの検定の組み合わせを用いた。これらの検定の組み合わせの最適感度および特異性を図6bに示す。図8a-fは、LTB4DHおよびBAG1を用いる三つの検定のそれぞれについての2次元空間でのデータ分離を示す。このデータは、下方制御BTMであるLTB4DHまたはBAG1のいずれかを含む二つ以上の検定の組み合わせが、90%を超える感度と特異性を達成することができることを示す。更に、これらの検定は単純な遺伝子発現シグニチャー(signature)を測定し、マーカーの絶対レベルを測定するのではないことから、これらは尿濃度の変動に

10

20

30

40

50

対して耐性があるであろう。

【0127】

L T B 4 D Hとの比が関与した検定の、尿濃度に対するロバスト性を示すために、I G B P 5 単一(C t)およびI G F B P 5 / L T B 4 D Hのレベルを、尿濃度の関数としてプロットし(図9 a - b)、データにトレンドラインをフィットさせた。非悪性コントロールおよびT C Cを有する患者からのつりの r y o u尿試料について、尿濃度の増加に伴い、I G F B P 5 C tが減少することが分かるが、これはI G F B P 5 / L T B 4 D H比に関しては存在しない。この効果は非悪性試料について最も顕著であったが、これはI G F B P 5 およびL T B 4 D Hの発現においては腫瘍の大きさおよび腫瘍の不均一さのような他の影響がないからである。

10

【0128】

場合によっては、膀胱癌アッセイにおいて単一マーカーを用いた時、尿試料採取の方法は、採取された脱落膀胱細胞の数の変動により、検出されるべきマーカーの量に影響し得る。このバイアスは、試料の少ない割合で、擬陽性または擬陰性の結果になり得る。L T B 4 D Hまたは他の低発現遺伝子を含む比を使用は、異なった方法を補償するための方法を提供するはずである。この仮説を検証するために、単純な排尿採取(9試料)またはカテテルによる採取(28試料)によるT C C患者からの採取試料を、T C CマーカーおよびL T B 4 D Hの存在について検定した。T C Cマーカー単独での分析により、排尿採取試料は、データの範囲の低い端に(より高いC t)より多く代表されていることが示され、カテテル採取試料に比べて、これらの試料中に脱落細胞の平均数がより少ないことと一致している。このことは、図10 a - cに、I G F B P 5、M D KおよびH o x A 1 3に関する自己散乱プロットで図示している。対照的に、これらのマーカーとL T B 4 D Hの間の比率を計算した時、排尿およびカテテル採取試料は、C t比の類似した範囲に広がっており(図10 d - f)、高発現マーカーおよびL T B 4 D Hのような低発現マーカーの間の遺伝子発現シグニチャーの計算により、異なった尿採取方法によって導入されたマーカーレベルの変動が補償されることを図示している。

20

【0129】

低グレード腫瘍を有する患者からの尿試料は、これらの試料中に脱落細胞の少数のみが存在することから、B T Mの蓄積ではしばしばボーダーライン上にある。これらの試料はそれ故、試料採取法または尿濃度の変動のために、分類が不正確であるという高いリスクがある。

30

【0130】

T C Cの検出のための下方制御遺伝子を組み込んだ遺伝子発現比の有用性は、それ故、低グレードT C Cの検出に応用された時に顕著である可能性が高い。この効果を示すために、低グレードT C Cを有する患者からの排尿採取された43の尿試料のコホートと、123のコントロールを、マーカーI G F B P 5、H o x A 1 3およびL T B 4 D Hについて検定した。コホートの臨床的特徴を図13に要約する。I G F B P 5およびH o x A 1 3に関するq P C Rデータを、検定の正確さの尺度としてR O C曲線下の面積を用いて(S T A T A統計パッケージ)、単独でおよびL T B 4 D Hとの比で分析した。結果を図14に要約する。I G F B P 5マーカーを用いると、L T B 4 D Hは、低グレード(グレード1 - 2)ステージT aのT C Cの検出精度を9%、いずれかのステージの低グレードT C Cを8%増加させた。低グレードステージT aのT C CのH o x A 1 3検定の精度は、3%増加した。

40

【0131】

L T B 4 D Hを用いたq P C Rデータの線形識別分析

線形識別分析(L D A)は、二つ以上の群の間に最大の分離が存在するように、変数の線形の組み合わせを生成する、統計的手法である(Fisher R.A. "The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems", Annals of Eugenics 7 179 (1936))。この変数の線形の組み合わせは、「線形判別」と呼ばれ、データセットのクラスの分離を最大にするインプット変数の線形関数である。q P C Rデータのような特定のデータセットを特徴付

50

けるために、LDA（またはいずれかの他の分類手法）の能力は、相互検証を用いて検定できる。この方法において、データセットの一部は、分類子を生成するために用い、またデータベースの一部は、分類子の有効性を測るために用いる。データベースを訓練と検定への分割は、複数回反復することができる（毎回新分類子を生成する）。k - 倍相互検証において、データベースはk - 通りに分割され、各サブセットは、訓練と検証のk 回目の一つにおいて、検定セットとして用いる。これは一つを抜き出す相互検証（leave-one-out cross-validation (LOOCV)）にまで伸張することができ、ここで各試料は、データベースにおける残りの試料から生成する分類子に従って分類する（“leave one out”；検定される試料を抜き出す）。

【0132】

LDAおよびLOOCVは、TCCの診断を改良することにおいて、下方制御BTMであるLTB4DHの有用性を例示するために用いた。qPCRを最初に、さらなる30のグレード3腫瘍（5 > ステージ1、13 = ステージ1、4 = Tis, および8 = Ta）を補足した、図13に記載したコントロールおよびTCC尿試料のコホートについて行った。六つの遺伝子LTB4DH、MDK、IGFBP5、HOXA13、TOP2aおよびCDC2の組み合わせを、LOOCVによって判定して、分類子性能に関して検定した。事後確率（「脱落」した試料はTCC試料であったこと）を、R統計プログラミング環境のROCパッケージを用いてROC曲線を作製するために用いた。一定の特異性に対する分類子の感度は適切なROC曲線を参照して得た。

【0133】

LTB4DHを伴う、または伴わない上方制御BTMの組み合わせを用いたTCCの検出感度は、85%の特異性で測定した。この分析の結果を図15に示す。上方制御されるBTMsであるMDK、IGFBP5、Top2a、cdc2およびHOXA13の組み合わせを含むアッセイにLTB4DHを加えることにより、総合感度を1~2%、およびTaステージの腫瘍、グレード1~2の腫瘍およびグレード3の腫瘍の検出感度を3%上昇することが分かる。

【0134】

先の記述において、公知の同等物を有する完全体または構成成分について参照したが、そのような同等物は、個々に述べられたとして本明細書に援用される。

【0135】

本発明は、例証として、およびそれらの可能な実施態様を参照して説明したが、当然のことながら、本発明の範囲または精神から逸脱することなく、改良および/または改変してもよい。

【0136】

産業上の利用可能性

BTMファミリーメンバーの検出法には、マイクロアレイおよび/またはリアルタイムPCR法を用いた、核酸、タンパクおよびペプチドの検出を含む。本発明の組成物および方法は、疾患の診断、治療法の有効性の評価、ならびにBTMファミリーメンバーの発現を測定するのに適した試薬および試験キットを製造するために有用である。

10

20

30

【 図 1 - 1 】

| 病状 | 年齢 | ステージ | グレード |
|--------|----|------|------|
| 前立腺肥大 | 73 | | |
| 尿管結石 | 76 | | |
| 正常 | 40 | | |
| 前立腺肥大 | 61 | | |
| 前立腺肥大 | 78 | | |
| 神経因性膀胱 | 72 | | |
| 前立腺肥大 | 68 | | |
| 尿管結石 | 63 | | |
| 正常 | 40 | | |
| 神経因性膀胱 | 76 | | |
| 前立腺肥大 | 69 | | |
| 正常 | 24 | | |
| 前立腺肥大 | 65 | | |
| 正常 | 24 | | |
| 正常 | 37 | | |
| 尿管結石 | 48 | | |
| 正常 | 28 | | |
| 尿管結石 | 23 | | |
| 神経因性膀胱 | 69 | | |
| 正常 | 28 | | |
| 正常 | 25 | | |
| 神経因性膀胱 | 78 | | |
| 正常 | 50 | | |
| 正常 | 36 | | |
| 正常 | 34 | | |
| 尿管結石 | 85 | | |
| 神経因性膀胱 | 54 | | |
| 正常 | 53 | | |
| 前立腺肥大 | 55 | | |
| 前立腺肥大 | 76 | | |
| 感染 | 19 | | |
| 正常 | 64 | | |
| 正常 | 62 | | |
| 感染 | 62 | | |
| 神経因性膀胱 | 63 | | |
| 正常分娩 | 35 | | |
| 尿管結石 | 76 | | |
| 正常分娩 | 40 | | |
| 尿管結石 | 80 | | |
| 前立腺肥大 | 72 | | |
| 正常 | 70 | | |
| 尿管結石 | 63 | | |
| TCC | 82 | | |
| TCC | 69 | | |
| TCC | 52 | | |
| 尿管結石 | 77 | | |
| TCC | 67 | | |
| TCC | 87 | | |
| TCC | 64 | | |
| TCC | 87 | | |
| TCC | 77 | | |
| TCC | 37 | | |
| TCC | 73 | | |
| TCC | 72 | | |

【 図 1 - 2 】

| 病状 | 年齢 | ステージ | グレード |
|-----|----|------|------|
| TCC | 76 | a | 2 |
| TCC | 74 | a | 3 |
| TCC | 38 | a | 2 |
| TCC | 86 | a | 2 |
| TCC | 77 | a | 3 |
| TCC | 78 | 1 | 3 |
| TCC | 72 | - | - |
| TCC | 72 | 1 | 2 |
| TCC | 71 | a | 2 |
| TCC | 64 | 1 | 1 |
| TCC | 61 | a | 1 |
| TCC | 67 | a | 2 |
| TCC | 75 | a | 2 |
| TCC | 76 | a | 2 |
| TCC | 70 | a | 3 |
| TCC | 78 | is | 3 |
| TCC | 76 | 2a | 3 |
| TCC | 76 | 尿管 | 2=3 |
| TCC | 68 | 2 | 3 |
| TCC | 78 | 0 | 3 |
| TCC | 78 | 1 | 3 |
| TCC | 70 | a | 2=3 |
| TCC | 77 | 1 | 3=2 |
| TCC | 83 | a | 2 |
| TCC | 83 | a | 1 |

(続き)

【 図 2 】

| 名称 | 略番 | フォワードプライマー | リバースプライマー | プローブ | 配列番号 |
|-------------------------|----------|-----------------------------------|---------------------------------------|---|------|
| インスリン様増殖因子受容体タンパク質5 | IGFBP5 | AATTGTGACCGCAAAAGGAT TCT | CAGCAGATGCCACGCTTG | AAGAGAAAGCAGTGCAAA CCTTCCCGT | 3 |
| ホメオボックスA13 | HOKA13 | Taqman(R)遺伝子発現 アッセイ Hs00426284_m1 | | | |
| 腫瘍抑制因子2 (神経突起抑制) | MDK | Taqman(R)遺伝子発現 アッセイ Hs00171064_m1 | | | |
| ヒトロトモリンB4 12-オキシドリン | LTB4DH | TATACAGACAGCGGCCCA CTTC | CCCATTTGACGAAGTCCTT CA | CCAGCCCCACCCCCAGAG ATTG | 6 |
| 細胞分化因子2, G1 からSへ移行2からM1 | | | TGT CTA CCC TTA TAC ACA ACT CCA TAG S | AGC CGG GAT CTA CCA TAC CCA TTG ACT AAC T | 9 |
| トポイソメラーゼ(DNA)II | TOP2A | CGG CCC AGA CAC CTA CAT TG | TGT AGA AAC CAG GAA CAA AAG TGA CT | TTC TGT GGA ATT AGT GAC CCA GCA AAT GTG | 12 |
| BC12 関連 anahogene | BAG1 | Taqman(R)遺伝子発現 アッセイ Hs0195380_m1 | | | |
| 低限タンパク質 FLJ21511 | FLJ21511 | Taqman(R)遺伝子発現 アッセイ Hs00228221_m1 | | | |

【 図 3 - 1 】

| タンパク質 登録番号 | mRNA 参照配列登録番号 | MMG プロローブ名 | 倍率化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | マンクスコア | 癌組織 強度指数 中央値 | 非癌組織 強度指数 中央値 | 血液 |
|-------------|---------------|---------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|--------------|---------------|----|
| NP_004031.1 | NM_004040.2 | mwghuman3 DKFA08114 | -2.684652 | 2.13794E-10 | 2.26758E-09 | -10.53678 | 38 | 8789.5 | 4176 | 23 |
| NP_079363.1 | NM_025067.1 | mwghuman3 DKFA00410 | -2.080908 | 2.54894E-11 | 3.22908E-08 | -6.925773 | 68 | 14455 | 9272.5 | 0 |
| NP_003457.1 | NM_003466.3 | mwghuman3 DKFB:3648 | -1.961896 | 4.71674E-11 | 4.07014E-08 | -6.806281 | 82 | 19419 | 12989.5 | 0 |
| NP_075387.1 | NM_023011.2 | mwghuman3 DKFA06295 | -3.84007 | 1.03703E-13 | 3.34027E-08 | -7.811653 | 96.5 | 5663.5 | 1825 | 0 |
| NP_036344.1 | NM_012212.2 | mwghuman3 DKFB:8686 | -5.034613 | 3.08873E-10 | 1.41836E-07 | -6.436167 | 122.5 | 11340.5 | 3158 | 0 |

【 3 - 1 0 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|--------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| アデニン3 (ADD3),転写変 異体1,mRNA | NP_068432.1 | NM_016624.3 | mwghuman3 OK#B:5211 | -2.092475 | 1.34331E- 05 | 1.16156E -05 | -5.683251 | 716 | 7666.5 | 4808.75 | 8 |
| ヒドロキンス テロイド字比 ドロカナーゼ 糖2(HSDL2), mRNA | NP_115679.2 | NM_032303.2 | mwghuman3 OK#B:3888 | -2.1317 | 9.38959E- 07 | 5.61228E -06 | -5.58267 | 732.5 | 7276.5 | 5055 | 2 |
| DNA-相転写 可能転写体4 (DDT4), mRNA | NP_061931.1 | NM_019068.2 | mwghuman3 OK#B:2115 | -2.960775 | 6.68834E- 05 | 5.16818E -06 | -5.96952 | 750 | 10960.5 | 5062.75 | 12 |
| RNA結合タン パク質,自己抗 原性(hmRNP, 黄色酸アミラー ゼ), (RALY),転 写変異体1, mRNA | NP_067951.1 | NM_016732.1 | mwghuman3 OK#A:06376 | -1.901576 | 1.7076E- 07 | 4.32656E -06 | -4.392163 | 750.5 | 977 | 386.5 | 26 |

(続き)

【 3 - 1 2 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|--------------|---------------------------|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|-----|
| コイルドコイ ルドメイン含 有28A (CCDC29A), mRNA | NP_065254.1 | NM_016439.2 | mwghuman3 OK#B:3726 | -1.960606 | 1.97345E- 06 | 5.46116E -06 | -5.330597 | 826 | 19022 | 14223.75 | 4 |
| 筋原線維形成 調節因子1 (MR-1),転写変 異体1,mRNA | NP_065003.2 | NM_015488.3 | mwghuman3 OK#B:3179 | -1.526799 | 1.22924E- 05 | 6.92439E -06 | -5.674478 | 832 | 13007 | 10755.75 | 6 |
| アネウナスク レオナド結合 タンパク質(G タンパク質), タンパク質, タンパク質, タンパク質, プルト2様1, (GNB2L1), mRNA | NP_066089.1 | NM_006098.4 | mwghuman3 OK#C:0941 | -1.789085 | 2.16356E- 06 | 4.35419E -05 | -4.900056 | 844.5 | 1710 | 1178 | 106 |
| スベフトリン リビート含有 核エンペロー プ1 (SYNE1), 転写変異体ベ ーカ,mRNA | NP_065108.1 | NM_015293.1 | mwghuman3 OK#B:9104 | -1.414534 | 7.52733E- 07 | 3.02433E -06 | -5.983107 | 851 | 20159.5 | 17233.75 | 64 |
| ensembl ジー ムスキャンチ ン | NP_04320.2 | AL021155.1.1 .107603.5 | mwghuman3 OK#C:7534 | -1.766409 | 2.12121E- 06 | 2.01355E -05 | -4.468876 | 853 | 1264 | 847.5 | |

(続き)

【 3 - 1 1 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|--------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| アシル-CoA 合 成酵素中鎖フ アミラーゼ 3 (ACSM3),転写 変異体1, mRNA | NP_005613.2 | NM_005622.3 | mwghuman3 OK#B:9076 | -1.967123 | 1.7751E- 05 | 7.33836E -06 | -5.050721 | 765.5 | 18906.5 | 12252.25 | 3 |
| BCL2-関連 転写調節因子 (BAG1),転写 変異体1, mRNA | NP_004314.3 | NM_004323.3 | mwghuman3 OK#A:09591 | -2.525417 | 2.13163E- 08 | 5.29006E -07 | -5.924904 | 776 | 9031 | 4503.5 | 1 |
| 発酵発生の下 流調節因子 (NEDD4),転写 変異体1, mRNA | NP_006145.1 | NM_006154.1 | mwghuman3 OK#B:7862 | -1.900818 | 3.7763E- 06 | 8.23334E -06 | -5.249282 | 781 | 15497 | 12075 | 2 |
| 蛋白質7ター ンリンター ンクドメイン 19 (CTort19), mRNA | NP_116220.1 | NM_032831.1 | mwghuman3 OK#B:2324 | -1.780735 | 4.63759E- 06 | 0.000016 624 | -5.43532 | 783 | 11586.5 | 6704.75 | 16 |
| カルパイン13 (CAPN13), mRNA | NP_663176.2 | NM_144575.2 | mwghuman3 OK#B:6754 | -1.542431 | 4.41704E- 06 | 5.81228E -06 | -4.643249 | 808.5 | 23318 | 18953.5 | 0 |
| オメガオメガ B2 (HOXB2), mRNA | NP_002136.1 | NM_002145.2 | mwghuman3 OK#A:01639 | -2.702649 | 2.94498E- 11 | 5.08294E -08 | -6.774876 | 814.5 | 11537.5 | 6408 | 3 |

(続き)

【 3 - 1 3 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|---|---------------------------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| 骨形成タンパ ク結合タンパク 質(BMPRIA), mRNA | NP_004320.2 | NM_004329.2 | mwghuman3 OK#A:02484 | -1.559632 | 2.2237E- 07 | 1.22937E -05 | -4.618211 | 874.5 | 5116 | 5037.5 | 4 |
| IO-モーター 含有B1 (OCB1), 転写変異体1, mRNA | NP_0010168 64.1 | NM_0010235 70.1 | mwghuman3 OK#B:4020 | -1.646698 | 2.7949E- 05 | 1.62908E -05 | -5.169955 | 882.5 | 10922 | 8773.5 | 2 |
| ensembl ジー ムスキャンチ ン | NP_0010179 20.1 | AC069502.9.1 .16380.1 | mwghuman3 OK#C:3663 | -1.464573 | 6.94397E- 07 | 2.53657E -05 | -4.951029 | 901 | 21078 | 19035 | |
| 発光阻害タン パク質類似 (LOC41196), mRNA | NP_0010179 20.1 | NM_0010179 20.1 | mwghuman3 OK#B:6718 | -2.553467 | 5.7694E- 07 | 7.78152E -07 | -5.221107 | 907 | 23255 | 15868 | 0 |
| ensembl ジー ムスキャンチ ン | NP_0012203.4.1 (5919.1.123571 .1) | AC012203.4.1 (5919.1.123571 .1) | mwghuman3 OK#C:4578 | -1.438718 | 3.21933E- 05 | 4.85662E -07 | -5.989899 | 907 | 27071.5 | 25867.5 | |
| ensembl ジー ムスキャンチ ン | NP_158153.8.4 5139.11.3162. 3 | AL158153.8.4 5139.11.3162. 3 | mwghuman3 OK#C:2173 | -2.089238 | 4.80568E- 07 | 4.32856E -06 | -5.395407 | 909.5 | 1290 | 1010.25 | |

(続き)

【 3 - 2 6 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | MWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|--|-------------|--------------|-------------------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|-----------|------------|-------------|----|
| 染色体14オー ブリンゲイ (C14orf154)、転 写変異体1、 mRNA | NP_115609.2 | NM_032233.2 | mwghuman3 OK#B:2063 | -1.704609 | 8.00302E- 09 | 0.000166 289 | -4.427372 | 1561 5 | 16629 | 15080.75 | 5 |
| 転写タンパク 質 xp_098665 loc155095 | | XM_098665 | mwghuman3 OK#B:6056 | -1.672814 | 4.27792E- 05 | 0.000142 749 | -4.312941 | 1566 5 | 8795 | 6847.25 | 4 |
| h90117 前立腺および 乳癌過剰発現1 (PBOV1)、 mRNA | NP_067648.1 | NM_021635.1 | mwghuman3 OK#A:05114 | -1.898405 | 1.16377E- 05 | 9.05268E- 05 | -4.735768 | 1570 5 | 20168 | 14933.5 | 0 |
| エストロゲンレ セプターミ Dホルミルシ ルトチオアミ イドロラーゼ (ESD)、mRNA | NP_001975.1 | NM_001984.1 | mwghuman3 OK#C:2041 | -1.535083 | 6.75303E- 08 | 4.84369E- 05 | -4.777065 | 1574 | 8049 | 4838.75 | 6 |
| ATG4 自己食 集阻連4 非 ログ B (S corevisae) (ATG4B)、転 写変異体1、 mRNA | NP_037457.3 | NM_013325.4 | mwghuman3 OK#B:2746 | -1.348856 | 8.58727E- 06 | 1.6224E- 05 | -4.71932 | 1575 | 15166 | 16712.25 | 13 |

(続き)

【 3 - 2 7 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | MWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|--|-------------|--------------------------|-------------------------|------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------|------------|-------------|----|
| WADPH オキシ ゲナーゼ1 (NOX1)、転 (NOX1)、OH- イオン TLR、mRNA | NP_038249.1 | NM_013985.1 | mwghuman3 OK#B:1370 | -1.903809 | 5.0437E- 06 | 2.65189E- 05 | -3.799877 | 1585 5 | 18807.5 | 17371.5 | 0 |
| ensembli ジ ンズ システ ンタンパ ク阻 ORF- FL48 (ORF4 FL48)、mRNA | | AL44575.9.1 :171993.9 | mwghuman3 OK#C:6741 | -1.774793 | 2.60881E- 03 | 0.000182 316 | -4.133137 | 1598 | 22483.5 | 18071.5 | 0 |
| 転写タンパ ク阻 ORF- FL48 (ORF4 FL48)、mRNA | NP_115788.1 | NM_032412.2 | mwghuman3 OK#B:7936 | -1.4989659 | 6.10749E- 09 | 3.32944E- 05 | -4.457256 | 1610 5 | 8598 | 4986 | 8 |
| THUMP タンパク質1 (THUMP1)、 mRNA | NP_060208.2 | NM_017736.3 | mwghuman3 OK#B:2088 | -1.313257 | 4.11592E- 07 | 6.53282E- 06 | -5.325518 | 1651 5 | 14877 | 15313.5 | 0 |
| グルタミ ベツチドク ロトランス フェラーゼ (CPCT)、 mRNA | NP_036545.1 | NM_012413.3 | mwghuman3 OK#A:09422 | -1.769571 | 4.69508E- 07 | 0.000122 803 | -3.862851 | 1651 5 | 11960 | 6357.75 | 2 |
| PHD フィン タンパク質 23 (PHF23)、 mRNA | NP_077273.1 | NM_054297.1 | mwghuman3 OK#A:02678 | -1.396461 | 1.43961E- 05 | 0.000109 884 | -4.356774 | 1657 5 | 10658.5 | 9355.75 | 0 |

(続き)

【 3 - 2 8 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | MWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|---|-------------|------------------------------|-------------------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|-----------|------------|-------------|----|
| 上咽頭癌阻 断因子タンパ ク阻-8 (NAG8)、 mRNA | NP_055226.1 | NM_014411.2 | mwghuman3 OK#B:1482 | -1.388055 | 2.98325E- 05 | 5.10584E- 05 | -4.601658 | 1660 | 15731.5 | 12161 | 0 |
| ensembli ジ ンズキヤ ン | | AC013487.5.1 02376.117540 | mwghuman3 OK#C:3348 | -1.465932 | 0.0001448 57 | 2.37433E- 06 | -6.225756 | 1662 | 14711 | 9423 | 0 |
| ensembli ジ ンズキヤ ン | | AC078757.5.5 4037.62672.1 | mwghuman3 OK#C:3844 | -1.486502 | 2.69625E- 05 | 4.12768E- 05 | -4.765229 | 1684 5 | 25678.5 | 23575.5 | 0 |
| 転写タンパ ク阻 FL22313 (FL22313)、 mRNA | NP_071788.2 | NM_022373.3 | mwghuman3 OK#B:3974 | -1.47429 | 0.0001047 25 | 5.67368E- 05 | -4.784258 | 1688 5 | 8360.5 | 9165.25 | 2 |
| ホロトク ム、c 合 成(チトク ム、c 合 成) (HCCS)、 mRNA | NP_006324.2 | NM_006333.2 | mwghuman3 OK#A:04510 | -2.084412 | 0.0003326 32 | 0.000211 886 | -5.979649 | 1692 5 | 10130.5 | 5488.25 | 4 |
| 二重特異性ホ スファターゼ 5 (DUSP5)、 mRNA | NP_004410.3 | NM_004419.3 | mwghuman3 OK#A:04028 | -1.869767 | 5.52516E- 05 | 2.27276E- 05 | -5.708882 | 1694 5 | 16243.5 | 8895 | 2 |
| 転写タンパ ク阻 FL20245 (FL20245)、 mRNA | NP_060793.1 | NM_017723.1 | mwghuman3 OK#B:2083 | -1.525601 | 6.09068E- 05 | 0.000116 76 | -4.328617 | 1697 | 16122 | 13101 | 3 |

(続き)

【 3 - 2 9 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | MWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|---|-------------|--------------|-------------------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|-----------|------------|-------------|----|
| クロマチン ナーゼ AMP- 活性化、ガン マ阻断因子 PRKAG2)、 mRNA | NP_057287.2 | NM_016203.2 | mwghuman3 OK#A:00771 | -1.408092 | 1.41239E- 05 | 8.59969E- 05 | -4.435082 | 1697 5 | 16315.5 | 13437.25 | 5 |
| 染色体20上の クロマチンp11- 31484 absentショウ ジョウハニホ モログ2 esis sis および gss starts の一部 含有、 mRNA | | AL358434 | mwghuman3 OK#B:3638 | -1.591958 | 1.67257E- 05 | 6.56055E- 05 | -4.203762 | 1702 | 2548.5 | 23840.75 | 0 |
| 転写タンパ ク阻 p1598 NIMA (never in mitosis gene a)、阻断因子 ゼ9 (NEK9)、 mRNA | NP_149107.3 | NM_033116.3 | mwghuman3 OK#C:0238 | -1.359292 | 3.922E-05 | 4.35419E- 05 | -4.78725 | 1722 5 | 10134.5 | 7455.5 | 5 |
| アリン受容 体、アルファ3 (GLRA3)、 mRNA | NP_006520.1 | NM_006529.1 | mwghuman3 OK#A:03690 | -1.412224 | 0.0001037 63 | 8.1682E- 05 | -4.59741 | 1726 | 9472.5 | 8083.25 | 2 |

(続き)

【 3 - 3 4 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | IMWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|---|-------------|--------------|---------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|------------|-------------|----|
| KIAA1049タンパク質 (KIAA1049), mRNA | NP_065787.1 | NM_014972.1 | mwhuman3 OK#B.2555 | -1.400381 | 1.30483E-05 | 7.38685E-05 | -4.350759 | 1913.5 | 10972 | 8888.5 | 12 |
| DnaJ (Hsp40) ホモログサブファミリー-B, フォスホ-6 (DNAJB6), 転写変異体1, mRNA | NP_490647.1 | NM_098246.3 | mwhuman3 OK#A.04684 | -1.455502 | 9.60314E-05 | 0.00015005 | -4.286094 | 1917 | 3609 | 2895.5 | 14 |
| レクチン, ガラクトシド結合, 可溶性, 3 (ガラクトシン3) (LGALS3), mRNA | NP_002297.1 | NM_002306.1 | mwhuman3 OK#A.10306 | -1.93733 | 6.69527E-06 | 2.55121E-05 | -4.690215 | 1923 | 2753 | 1803.5 | 6 |
| PTPRF 相互作用タンパク質, 結合タンパク質2 (リブリン, PPF1BP2), mRNA | NP_003612.1 | NM_003621.1 | mwhuman3 OK#B.0552 | -1.881545 | 1.28489E-06 | 2.98753E-05 | -4.14602 | 1937.5 | 6372.5 | 4594.5 | 2 |
| ポリメラーゼ(DNA依存性), タムタ(POLL), mRNA | NP_037406.1 | NM_013274.2 | mwhuman3 OK#B.1279 | -1.399567 | 3.5692E-05 | 2.98753E-05 | -4.793654 | 1938 | 15108.5 | 11461.25 | 8 |

(続き)

【 3 - 3 5 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | IMWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|---|-------------|------------------------|---------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|------------|-------------|----|
| 増殖分化因子15 (GDF15), mRNA | NP_004855.1 | NM_004884.1 | mwhuman3 OK#A.07217 | -2.483648 | 0.000224134 | 0.00025725 | -4.296268 | 1944 | 6377 | 3127.5 | 2 |
| 伝信タンパク質, PD, 089809, loc150785, mRNA | | XM_089809 | mwhuman3 OK#B.6474 | -1.381507 | 9.90157E-07 | 2.40122E-05 | -4.093057 | 1949 | 11626.5 | 11522.5 | |
| ロイシノリク, 手付糖鎖および不飽和アルブミン, 含有, 1 (LRSAM1), 転写変異体1, mRNA | NP_612370.3 | NM_138381.3 | mwhuman3 OK#B.4416 | -2.034574 | 0.000184031 | 0.000233537 | -4.13512 | 1959.5 | 7671.5 | 4421.75 | 1 |
| 輸送タンパク質, 遺伝子複合体 (TFAPPC6A), mRNA | NP_077013.1 | NM_024108.1 | mwhuman3 OK#A.02117 | -1.452954 | 2.44741E-06 | 2.53857E-05 | -3.509555 | 1985 | 1279 | 1294 | 8 |
| ensembl ジェネシスキャンシー, 転写変異体1, mRNA | | AL357146.10, 1.82494.1 | mwhuman3 OK#C.3606 | -1.287782 | 1.49739E-05 | 6.05474E-05 | -4.826559 | 1989 | 28444.5 | 26063.25 | |
| 転写タンパク質, MGC14327 (MGC14327), mRNA | NP_444273.1 | NM_053045.1 | mwhuman3 OK#B.4427 | -1.504495 | 0.000150258 | 0.000174117 | -4.521635 | 1992 | 16805 | 15440.5 | 4 |

(続き)

【 3 - 3 6 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | IMWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|---|-------------|------------------------------|---------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|------------|-------------|----|
| キネシンファミリーメンバー5b, クローニン, mgc15265, image-429779, 3 と類似 | | BC009353 | mwhuman3 OK#B.4438 | -1.51682 | 0.00018214 | 0.000192131 | -4.531075 | 1992 | 23071.5 | 21809.75 | |
| カリウムチャネル, 4 単位, 化ドメイン, 含有, 3 (KCTD3), mRNA | NP_067205.2 | NM_016121.3 | mwhuman3 OK#A.04386 | -1.358006 | 1.34593E-05 | 5.38262E-05 | -4.810824 | 1994.5 | 17479.5 | 13203.75 | 3 |
| ensembl ジェネシスキャンシー, 転写変異体1, mRNA | | AC018425.3.1, 53134.166975.1 | mwhuman3 OK#B.3925 | -1.496534 | 0.000149525 | 0.000192131 | -4.315259 | 1997 | 25336 | 25414.75 | |
| グアニンヌクレオチド結合タンパク質(Gタンパク質), アルブミン, 結合, 1 (GNAI1), mRNA | NP_002060.4 | NM_002069.4 | mwhuman3 OK#A.10291 | -1.631361 | 5.34689E-06 | 0.000433377 | -3.865346 | 2003 | 16803.5 | 14082 | 1 |
| 微小管結合タンパク質, 4 (MAP4), 転写変異体1, mRNA | NP_002386.2 | NM_002375.3 | mwhuman3 OK#B.4355 | -1.468752 | 0.000155187 | 0.00025725 | -4.423887 | 2004 | 10052 | 9080 | 11 |

(続き)

【 3 - 3 7 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | IMWGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 癌組織強度階級中央値 | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|--|-------------|----------------------|---------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|------------|-------------|----|
| 核小体タンパク質, F, アミノ末端, 1 (NOL6), 転写変異体アルブミン, mRNA | NP_075068.2 | NM_022917.4 | mwhuman3 OK#A.07182 | -1.30257 | 1.12604E-06 | 3.70681E-05 | -4.767639 | 2009 | 10513 | 8821 | 7 |
| 大腸内皮細胞接着分子1 (CEECAM1), mRNA | NP_057258.2 | NM_016174.3 | mwhuman3 OK#A.10231 | -1.516413 | 4.80849E-05 | 0.000109198 | -3.667581 | 2014 | 16862.5 | 13757.75 | 0 |
| エヒキノール, チトクローム, c, レクタター, 7, 複合体 III サブユニット VII, 9.5kDa (UOCCRQ), ミトコンドリアタンパク質, 転写変異体1, mRNA | NP_055217.2 | NM_014402.3 | mwhuman3 OK#B.8060 | -1.71221 | 4.79684E-05 | 4.35419E-05 | -5.049166 | 2014 | 4199.5 | 2995.25 | 14 |
| 転写タンパク質, MGC14327 (MGC14327), mRNA | | XM_092745, loc164337 | mwhuman3 OK#B.3253 | -1.388871 | 3.26973E-05 | 0.000165716 | -4.513374 | 2041 | 19510 | 15741.25 | |

(続き)

【 3 - 3 8 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン スク スコア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|--------------------|----------------------|-------------------------|-------------|-------------|-----------------|-----------|-----------------|--------------------|---------------------|----|
| 遺伝子名/略語 質FLJ22965 (FLJ22965) mRNA | NP_071384.1 | NM_022101.2 | mwghuman3 OK#A:09776 | -1.903469 | 7.18955E-05 | 0.000475 592 | -4.078844 | 2041. 5 | 2596 | 2337 | 0 |
| 遺伝子名/略語 製剤体9オー ンリンディ ンリンディ ンリンディ (C8orf102), 転 写産物体1, mRNA | NP_064592.1 | NM_020207.2 | mwghuman3 OK#B:6958 | -1.369819 | 3.05523E-05 | 0.000105 506 | -4.676244 | 2049 | 16457.5 | 13970 | 0 |
| 遺伝子名/略語 スライソゴン ン-トリオン酸塩 ホスファター ゼ1 (SGP1), mRNA | NP_110418.1 | NM_030791.2 | mwghuman3 OK#B:1909 | -1.477332 | 4.90035E-05 | 0.000142 749 | -4.328137 | 2062. 5 | 20094 | 17541.5 | 1 |
| 遺伝子名/略語 ン上セCec7 トメオン含有3 (PSD3), 転写産 物体1, mRNA | NP_056125.2 | NM_015310.2 | mwghuman3 OK#B:9515 | -1.395381 | 2.70551E-05 | 0.000142 896 | -3.953529 | 2072 | 14023 | 13223.25 | 1 |
| 遺伝子名/略語 質LOC283874 (LOC283874), mRNA | NP_0010127 49.1 | NM_0010127 31.1 | mwghuman3 OK#B:2101 | -1.376341 | 1.45793E-05 | 2.67916E-05 | -5.079803 | 2090. 5 | 23511.5 | 23000 | 1 |

(続き)

【 3 - 3 9 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン スク スコア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|--------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|--------------------|---------------------|----|
| 遺伝子名/略語 ニFYEドメ イン含有21 (ZFYF2), mRNA | NP_076976.1 | NM_024071.2 | mwghuman3 OK#A:05642 | -1.576652 | 0.0001142 53 | 0.000342 648 | -4.238027 | 2094 | 2994.5 | 2740.25 | 0 |
| 遺伝子名/略語 ボックスE1(甲 状腺癌転写産 物体2), mRNA | NP_004464.2 | NM_004473.3 | mwghuman3 OK#A:07899 | -1.676652 | 1.3104E-05 | 0.000192 131 | -3.837954 | 2107 | 7269 | 5293.75 | 0 |
| 遺伝子名/略語 ensembl ジーン スキヤン子 産物, per-hexamer 序 列タンパク質5 loc149135に類 似, mRNA | NP_004464.2 | AL158168.17 82811.114103 .1 | mwghuman3 OK#C:5892 | -1.54059 | 5.72345E-05 | 8.88591E-06 | -4.136599 | 2114 | 26578 | 27753.75 | 0 |
| 遺伝子名/略語 (ZNF1) 転写 産物体3, mRNA | NP_115817.1 | NM_032441.1 | mwghuman3 OK#C:0106 | -1.423696 | 0.0001055 64 | 3.77672E-05 | -3.9371 | 2131 | 27002.5 | 27249.5 | 2 |
| 遺伝子名/略語 内臓から得た のシグナリング 2(ERN2), mRNA | NP_150296.2 | NM_033286.2 | mwghuman3 OK#B:9444 | -1.735187 | 1.99165E-05 | 2.70984E-05 | -4.509363 | 2135 | 24789 | 18903 | 0 |

(続き)

【 3 - 4 0 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン スク スコア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|--------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|--------------------|---------------------|----|
| 遺伝子名/略語 ラングアイン タータンタンク 質38(RNF38), 転写産物体1, mRNA | NP_073618.3 | NM_022781.3 | mwghuman3 OK#B:5588 | -1.302965 | 2.50283E-05 | 2.15085E-05 | -4.986001 | 2138 | 24546.5 | 22148.75 | 1 |
| 遺伝子名/略語 Myc-誘導ミト コンドリアタ ンタンク質 (minim), mRNA | NP_777546.1 | NM_174889.2 | mwghuman3 OK#B:3716 | -1.474873 | 8.439E-05 | 0.000359 234 | -4.207401 | 2151. 5 | 9215 | 7030.25 | 1 |
| 遺伝子名/略語 TGF-β受容体 質1(TNFR1), mRNA | NP_055701.1 | NM_014886.2 | mwghuman3 OK#A:06520 | -1.655993 | 0.0003187 59 | 0.000571 767 | -4.796546 | 2153 | 7530 | 5545.5 | 6 |
| 遺伝子名/略語 発生多分化能 阻害5, 胚幹細 胞特異的遺伝 子1 (LOC341912) (LOC341912), mRNA | XP_292301.3 | XI_292301.3 | mwghuman3 OK#B:8134 | -1.639786 | 7.64251E-07 | 4.32856E-06 | -5.437632 | 2155 | 18581.5 | 12815.25 | 1 |
| 遺伝子名/略語 アヒドログラ ン-レタダク タ(1)メンバ ミリン)メンバ -3(DHR83), mRNA | NP_004744.2 | NM_004753.4 | mwghuman3 OK#B:0738 | -1.439285 | 4.39552E-05 | 0.000222 464 | -3.974197 | 2166. 5 | 4626 | 3570 | 3 |

(続き)

【 3 - 4 1 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン スク スコア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|--------------|-----------------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|--------------------|---------------------|----|
| 遺伝子名/略語 フラビン含有 モノオキシゲ ナーゼ4 (FMO4), mRNA | NP_002013.1 | NM_002022.1 | mwghuman3 OK#B:2927 | -1.804252 | 0.0001959 67 | 0.000222 464 | -4.159771 | 2173. 5 | 21428 | 18241 | 1 |
| 遺伝子名/略語 ensembl ジーン スキヤン子 産物, 免疫学的に症 染された結腸 癌細胞8 (SDCCAG8), mRNA | NP_006633.1 | AC022526.4.9 087.13827.1 | mwghuman3 OK#C:9081 | -1.518222 | 0.0001264 09 | 0.000174 117 | -4.437239 | 2174 | 25713.5 | 23316 | 0 |
| 遺伝子名/略語 CDC14 細菌分 裂抑制剤14 ホモログB(S. cerevisiae) (CDC14B), 転 写産物体2, mRNA | NP_201588.1 | NM_033331.1 | mwghuman3 OK#B:0753 | -1.359218 | 5.81032E-06 | 1.22937E-05 | -4.628131 | 2177. 5 | 18648 | 16566 | 4 |
| 遺伝子名/略語 糖鎖誘導および リンパ系また は混合系列白 血病(Lithorax ホモログ, ショ ウジョウバエ), 転写産物体3 (MLLT3), mRNA | NP_004520.1 | NM_004529.1 | mwghuman3 OK#A:00725 | -1.503791 | 0.0001500 76 | 0.000245 124 | -4.702655 | 2178. 5 | 23322 | 22971 | 2 |
| 遺伝子名/略語 血腫誘導および リンパ系また は混合系列白 血病(Lithorax ホモログ, ショ ウジョウバエ), 転写産物体3 (MLLT3), mRNA | NP_004520.1 | NM_004529.1 | mwghuman3 OK#B:0753 | -1.503791 | 3.87447E-05 | 0.000311 603 | -4.282874 | 2188 | 20164.5 | 17462 | 4 |

(続き)

【 3 - 4 2 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWGプロ ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|---|---|--|--|--|--|--|--|---|---|-----------------------------|
| チトクローム P450, フアミ リ-27, サブア リアリ-1A, 赤 リペラチド1 (CYP27A1), ミ トコンドリア タンパク質を コードする核 遺伝子, mRNA pre-tk 補配関 連タンパク質 16'3'末端 ヘプタヌクレ オチド 抗原-ヘプタド (HAMP), mRNA ensembl ジ ェン スキャン ン ス 想 質 BC009862 (LOC90113), mRNA 伸長因子, RNA ポリマラーゼ II, 2 (ELL2), mRNA | NP_000775.1 NP_066998.1 NP_064529.4 NP_021017.3 NP_079204.1 | NM_000784.2 NM_021175.2 NM_021175.2 NM_021175.2 NM_024928.3 | mwghuman3 OK#A:07422 mwghuman3 OK#B:5025 mwghuman3 OK#A:06397 mwghuman3 OK#C:792 mwghuman3 OK#B:3668 mwghuman3 OK#A:00356 | -1.399006 -1.643379 -1.279742 -1.349603 -1.769275 -1.499648 | 4.06019E-05 5.92094E-06 2.53831E-05 2.94705E-06 0.0003405 5.40285E-05 | 3.91276E-05 3.84222E-06 1.72268E-05 7.88194E-05 0.000454 0.000157 | -4.085983 -0.055927 -4.893297 -4.262185 -4.413577 -4.384409 | 2197 2201 2205 2213 2221 2223 | 20714 6449.5 3722.5 21381.5 6261.5 14138 | 13781.5 4787.5 5385.25 17800.75 5176 11702.5 | 10 0 0 0 0 4 |

(続き)

【 3 - 4 3 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWGプロ ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|--|---|--|---|--|---|--|--|--|---|----------------------------|
| EGFR1 遺伝子 (FGFR1OP), 転写産物1, mRNA ensembl ジ ェン スキャン ン ス 想 質 AC025953.2 18948.12472 .1 EHドメイン 含有タンパク 質1 (EHF1), mRNA プロヒオホル ム コエンザイム Aカルボキシ ラール ド (PCCA), mRNA ensembl ジ ェン スキャン ン ス 想 質 AL138498.4 .18713.1 AC025937.3 8407.38498.1 | NP_008976.1 NP_056067.1 NP_00275.2 NP_064589.2 NP_065702.2 | NM_007045.2 NM_015252.2 NM_000282.2 NM_020242.2 NM_020651.2 | mwghuman3 OK#B:4675 mwghuman3 OK#C:6647 mwghuman3 OK#B:0385 mwghuman3 OK#B:3551 mwghuman3 OK#C:4137 mwghuman3 OK#C:9420 | -1.513357 -2.043219 -1.35833 -1.505038 -1.655664 -5.821331 | 9.11409E-05 0.0001551 2.50342E-06 6.411E-05 1.65577E-05 1.29566E-11 | 0.000233 0.000283 6.99321E-05 0.000110 8.59869E-05 3.14688E-07 | -4.085108 -3.955032 -4.628579 -4.042034 -3.700791 -5.588115 | 2226 2231 2249 2251 2252 2255 | 19894 21041 13151.5 16323 6728 3524 | 19145.25 17429.5 12131 13459 6542.5 1088.5 | 0 0 5 5 0 7 |

(続き)

【 3 - 4 4 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWGプロ ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|---|---|---|---|---|---|--|--|---|--|----------------------------|
| ミオンリン, 線維柱帯崩壊 性アルコホル サロイド反応 (MYOC), mRNA hepc074 エボキンドヒ ドラーゼ2, 細 胞質 (EPHX2), mRNA セントロメア タンパク質 C1 (GENPC1), mRNA ポリ(A)ポリメ ラーゼベータ (PAPOLB), mRNA オリゴヌクレ オチドポリオ メラーゼ有1 (OBFC1), mRNA | NP_00252.1 NP_001803.2 NP_001970.2 NP_001803.2 NP_064529.4 NP_079204.1 | NM_000251.1 NM_001812.2 NM_001979.4 NM_001812.2 NM_02144.4 NM_024928.3 | mwghuman3 OK#A:08642 mwghuman3 OK#B:1281 mwghuman3 OK#A:06300 mwghuman3 OK#A:10535 mwghuman3 OK#A:00034 mwghuman3 OK#A:07366 | -1.364785 -1.61806 -1.416398 -1.578112 -1.533242 -1.597262 | 4.61814E-05 1.54965E-06 5.8666E-06 0.0001833 0.0001793 0.0001519 | 2.61402E-05 1.54035E-05 5.81228E-06 0.000192 0.000311 0.000150 | -4.638227 -4.426706 -4.695716 -4.258306 -4.116646 -4.339099 | 2283 2264 2267 2275 2284 2292 | 23915.5 1792 19752.5 19346.5 24777 15940.5 | 22357.25 1727 16857 14107.25 23772.75 11655 | 0 3 3 4 1 4 |

(続き)

【 3 - 4 5 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWGプロ ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|---|---|---|---|---|---|--|--|---|--|---------------------------------|
| 三葉草モチー ン (TRIM10), 転写 産物1, mRNA Rag2-結合タン パク質9 (RIP9), mRNA fhsig17 Gタンパク質 共役受容体 93 (GPR93), mRNA ensembl ジ ェン スキャン ン ス 想 質 LIM ホメオボ ックス9 (LHX9), 転写 産物1, mRNA pellino ホモロ グ1 (ペリウジ ン) (PELL1), mRNA | NP_006769.1 NP_612147.1 NP_057624.2 NP_064589.2 NP_065702.2 | NM_006778.2 NM_138290.1 NM_016540.2 NM_020242.2 NM_020651.2 | mwghuman3 OK#A:10515 mwghuman3 OK#B:7696 mwghuman3 OK#B:1656 mwghuman3 OK#A:05359 mwghuman3 OK#C:4632 mwghuman3 OK#B:8634 mwghuman3 OK#A:10770 | -1.750912 -1.451227 -1.472466 -1.374971 -1.492094 | 5.52205E-05 1.03872E-06 6.54909E-05 4.6851E-06 8.8328E-06 | 0.000135 1.37651E-05 0.000182 0.00019E-05 8.23638E-06 | -4.621742 -5.068475 -4.037981 -3.811779 -4.918105 -5.312469 -5.23835 -5.23835 | 2296 2287 2320 2322 2322 2333 2336 | 4089.5 24136.5 2050 18871.5 25018.5 16158 22421.5 | 1565.5 22036.5 1701.75 15879.25 21332.5 13872.25 17524.5 | 0 1 1 0 0 0 7 |

(続き)

【 3 - 4 6 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|--------------|----------------------|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| 遺伝子名/略語 LOC401500, XP_379629.1 mRNA | XP_379629.1 | XM_379629.1 | mwghuman3 OK4B:6223 | -1.325858 | 2.27785E-05 | 4.12789E-05 | -4.402696 | 2336 5 | 26315 | 25320.25 | 0 |
| TSC2 トライ ンフラミン, メンバ-3 (TSC2D3) 転 写変異体 2, mRNA | NP_004080.2 | NM_004089.3 | mwghuman3 OK4B:0462 | -1.491298 | 5.41371E-05 | 1.72269E-05 | -5.010311 | 2390 5 | 18693.5 | 13200.5 | 43 |
| G タンパク質 共発現体 51 (GPR51), mRNA | NP_005449.5 | NM_005458.5 | mwghuman3 OK4A:0415 | -1.389185 | 0.0001017 06 | 2.99759E-05 | -4.845168 | 2361 | 3420 | 2489.25 | 0 |
| 染色体 10 ター ンフラミン 1 (C10orf1), 転写変異体 2, mRNA | NP_056446.1 | NM_015631.2 | mwghuman3 OK4B:3105 | -1.555923 | 0.0001770 95 | 0.000297 088 | -4.510054 | 2386 5 | 10134 | 8091.5 | 3 |
| Junoril トライ ンフラミン 2C (JUN2C), 転写変異体 1, mRNA | NP_055876.1 | NM_015061.1 | mwghuman3 OK4B:0435 | -1.317474 | 6.41124E-05 | 0.000142 749 | -4.870495 | 2386 5 | 24516.5 | 22272.75 | 11 |
| 重鎖タンパク 質 547 (DNF547), mRNA | NP_775902.2 | NM_173631.2 | mwghuman3 OK4B:0716 | -1.63256 | 0.0002511 74 | 0.000257 25 | -3.984452 | 2370 | 19484 | 19537 | 2 |

(続き)

【 3 - 4 7 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|--|--------------|------------------------------|------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| 遺伝子名/略語 NP_060098.2 | NP_060098.2 | NM_017628.2 | mwghuman3 OK4B:2068 | -1.74414 | 6.61052E-05 | 0.000105 506 | -4.166213 | 2374 | 15233.5 | 9767.75 | 16 |
| 転写変異体 1, mRNA | | AC064877.3.1 21131.166893 | mwghuman3 OK4C:7466 | -1.319284 | 4.28953E-05 | 2.03519E-05 | -4.802131 | 2374 | 27348 | 26740.25 | |
| 転写変異体 1, mRNA | | AC027755.2.8 1287.97090.1 | mwghuman3 OK4C:3411 | -1.439071 | 0.0001259 01 | 0.000331 474 | -4.145868 | 2376 5 | 14385.5 | 10781.5 | |
| KIA03690 (KIA03690), mRNA | NP_055994.1 | NM_015179.2 | mwghuman3 OK4B:7202 | -1.642414 | 0.0001739 36 | 0.000433 377 | -4.08872 | 2380 | 14459 | 11844.25 | 10 |
| SH3 トライ ンフラミン 結合アルタミ ン転写変異体-2 (SH3BGRIL2), mRNA | NP_113857.1 | NM_031469.1 | mwghuman3 OK4B:1794 | -1.995457 | 0.0002796 76 | 0.000376 568 | -4.033794 | 2381 | 9893.5 | 6985.75 | 3 |
| cdna:ti21394 fis クローン col03536 無名 タンパク質産 物 | | AK025047 | mwghuman3 OK4B:2550 | -2.259109 | 0.0004473 76 | 0.000359 234 | -4.071961 | 2387 5 | 17288 | 11926.75 | 0 |
| 位相タンパク 質 xp_039231 loc51565 | XM_039231 | XM_039231 | mwghuman3 OK4B:6431 | -1.337232 | 2.70859E-05 | 0.000174 117 | -4.141157 | 2398 | 24099.5 | 20885 | |

(続き)

【 3 - 4 8 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|--------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| GPI 関連分子 補タンパク質 (GML), mRNA | NP_002057.1 | NM_002066.1 | mwghuman3 OK4A:02108 | -1.438045 | 0.0000724 93 | 0.000129 14 | -4.162956 | 2405 | 16818 | 14285.75 | 0 |
| 小核 RNA 塩基 化変異体, ポリ ヘンチド 5, (SNAPC5), mRNA | NP_006040.1 | NM_006049.1 | mwghuman3 OK4B:0345 | -1.323754 | 1.74702E-05 | 0.000184 787 | -4.006319 | 2444 | 17556.5 | 17969.25 | 6 |
| ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 ミトコンドリ ア糖原抑制因 子 1 (MTUS1), ミトコンドリ アタンパク質 各コードする 転写変異体 1, mRNA | NP_0010019 24.1 | AC027689.10, 1.180573.5 | mwghuman3 OK4C:9758 | -1.644263 | 0.0002550 65 | 2.98753E-05 | -3.674803 | 2451 | 16829.5 | 10684.25 | |
| ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 | NP_0010019 24.1 | NM_0010019 24.1 | mwghuman3 OK4B:7775 | -1.715161 | 0.0003036 63 | 0.000269 936 | -4.435392 | 2461 5 | 17489 | 15873 | 0 |
| ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 | NP_0010019 24.1 | AL049829.4.1 1.98292.3 | mwghuman3 OK4C:4548 | -1.402914 | 1.70051E-06 | 2.48927E-06 | -5.01844 | 2471 | 28131 | 26784 | |
| ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 ensembi ジー ンスキヤンチ ン抑制因子 | NP_0010019 24.1 | AC084842.1.7 903.10639.1 | mwghuman3 OK4C:7638 | -1.400793 | 0.0008120 94 | 7.36585E-05 | -5.107784 | 2475 5 | 14235.5 | 11061.25 | |

(続き)

【 3 - 4 9 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク 登録番号 | mRNA 参照配列登録 番号 | MWG プロロー ブ名 | 倍変化率 中央値 | t-検定 | Wilcoxon 検定 | SAM | ラン クス コア | 癌組織 強度階級 中央値 | 非癌組織 強度階級 中央値 | 血液 |
|---|--------------|----------------------|-------------------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------|----------------|--------------------|---------------------|----|
| SAFB-様 転写 抑制因子 (SITM), 転写 変異体 1, mRNA | NP_079031.2 | NM_024755.2 | mwghuman3 OK4B:2154 | -1.309539 | 2.00445E-05 | 0.000122 803 | -4.680439 | 2477 5 | 12490 | 12280 | 12 |
| クアニニヌク レオチド結合 タンパク質(G タンパク質) アルファ 経路阻害因子 転写変異体 2, mRNA | NP_002062.1 | NM_002071.1 | mwghuman3 OK4A:08286 | -1.838112 | 0.0003002 6 | 0.000498 109 | -4.10637 | 2478 | 19959 | 16690.75 | 0 |
| CG14192 動物 loc46175 に類 似 | | XM_085352 | mwghuman3 OK4B:7955 | -1.746066 | 0.0001949 23 | 0.000433 377 | -3.812815 | 2487 | 14791.5 | 9814.5 | |
| PH ドメインお よび O-GlcNAc シグナル受容 タンパク質ホ スチルホス (PHLP), mRNA | NP_919431.1 | NM_194449.1 | mwghuman3 OK4B:2242 | -2.043619 | 0.0003079 45 | 0.000498 109 | -4.006924 | 2500 | 15125 | 10009.75 | 7 |

(続き)

【 3 - 5 0 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | MWIGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 非癌組織強度階級中央値 | 癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|-----------------------------|-------------|--------------|----------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|-------------|------------|----|
| 遺伝子名/略語 | NP_056385.1 | NM_015570.1 | mwghuman3 OK#B.0110 | -1.807633 | 0.00038299 | 0.000382814 | -4.213775 | 2503 | 18404 | 14412.75 | 8 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.428873 | 1.32234E-06 | 2.67916E-05 | -4.387947 | 2513 | 4388 | 2091.75 | |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.519205 | 7.81416E-05 | 0.000122803 | -3.810559 | 2514 | 21417.5 | 19684 | 2 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.740805 | 1.93346E-05 | 9.52811E-05 | -4.388994 | 2525 | 8797.5 | 6359.5 | |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.519488 | 1.50412E-06 | 3.41028E-06 | -5.713059 | 2537 | 8575 | 7118.5 | 0 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.393019 | 1.91864E-05 | 2.73302E-05 | -4.362445 | 2538 | 15588 | 12275.75 | 0 |

(続き)

【 3 - 5 1 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | MWIGプロローブ名 | 倍変化率中央値 | t-検定 | Wilcoxon検定 | SAM | ランクスコア | 非癌組織強度階級中央値 | 癌組織強度階級中央値 | 血液 |
|-----------------------------|-------------|--------------|----------------------|-----------|-------------|-------------|-----------|--------|-------------|------------|----|
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.405054 | 9.33312E-05 | 0.00011676 | -4.399207 | 2542 | 6039 | 4650.5 | 1 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.451818 | 0.000237039 | 0.00025725 | -4.319003 | 2545 | 16909 | 14109 | 0 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.601859 | 0.00037884 | 0.000286633 | -4.042534 | 2545 | 27071.5 | 28285 | |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.653773 | 0.000237178 | 0.000475582 | -3.927921 | 2581 | 19931 | 18693.5 | 0 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_060960.1 | NM_018490.1 | mwghuman3 OK#B.08106 | -1.678106 | 0.000186359 | 0.000546156 | -3.864729 | 2588 | 17527 | 15364.5 | 1 |

(続き)

【 4 - 1 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | 倍変化率中央値 | ランクスコア | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 EST 番号 |
|-----------------------------|-------------|--------------|------------|--------|-------------|-----------|
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -2.080908 | 88 | 14455 | 9272.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -1.961896 | 82 | 19419 | 12989.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -3.84007 | 96.5 | 5663.5 | 1825 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -5.034613 | 122.5 | 11340.5 | 3138 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -1.993629 | 156 | 19636.5 | 12951 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -2.133065 | 156.5 | 8415 | 6130 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -1.622803 | 223 | 11312.5 | 8789.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -2.976809 | 225 | 8376.5 | 3870.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -2.343357 | 342 | 19820 | 12053.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -10.745275 | 501 | 10716 | 2016.25 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -2.070447 | 511 | 2537 | 1931.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -1.640751 | 539.5 | 1644 | 1134 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -2.181735 | 549 | 15965.5 | 8040.75 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073983.1 | NM_025087.1 | -1.584085 | 587 | 10035.5 | 7858.25 |

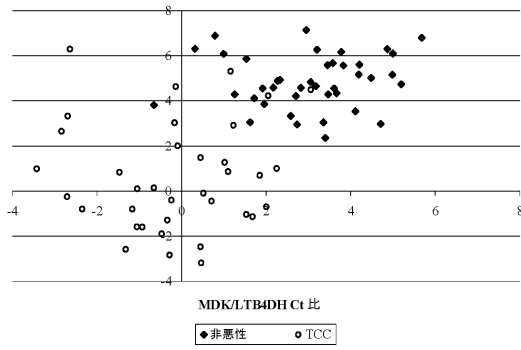
【 4 - 2 】

| 遺伝子名/略語 | タンパク質登録番号 | mRNA参照配列登録番号 | 倍変化率中央値 | ランクスコア | 非癌組織強度階級中央値 | 血液 EST 番号 |
|-----------------------------|-------------|--------------|-----------|--------|-------------|-----------|
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.81726 | 673.5 | 12025.5 | 9585.25 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -2.525417 | 776 | 9031 | 4503.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.357114 | 942.5 | 15308.5 | 13004.75 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -2.638428 | 1087.5 | 17096 | 9762.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.466987 | 1124.5 | 2139 | 1026.25 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.720326 | 1178 | 17312.5 | 14031 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.745086 | 1199.5 | 19380 | 10749.25 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.415555 | 1206 | 9672.5 | 7512.25 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.773183 | 1266 | 14806.5 | 10341 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.353366 | 1292 | 6288.5 | 4664.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.732075 | 1309 | 18307 | 12138.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -4.049648 | 1332 | 3947 | 996.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.948612 | 1349 | 10775 | 8652.0 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.544042 | 1405.5 | 17051 | 12319 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.512002 | 1414 | 45738 | 14705.75 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -2.091505 | 1449.5 | 8391 | 6488 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.501021 | 1454.5 | 16509.5 | 14157 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.527839 | 1463.5 | 17565 | 13134.5 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.41942 | 1488.5 | 8059 | 5065 |
| 癌転移転写本質 XP_097338 loc147909 | NP_073598.1 | NM_022761.1 | -1.402922 | 1504 | 13882.5 | 11233.25 |

(続き)

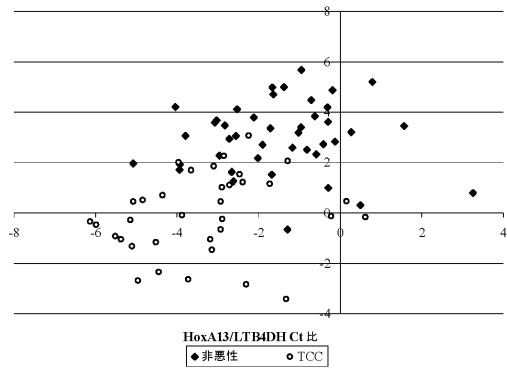
【図 8 a】

MDK/LTB4DHおよびIGFBP5/LTB4DHを用いた組み合わせ試験



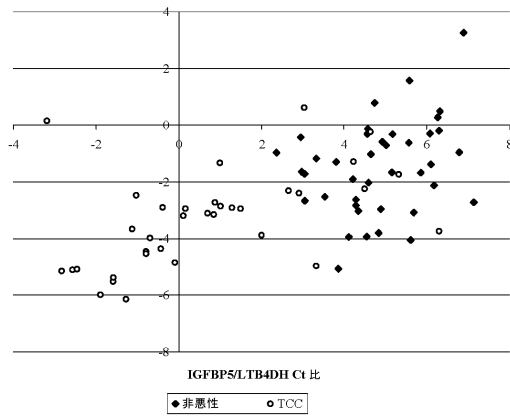
【図 8 b】

MDK/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DHを用いた組み合わせ試験



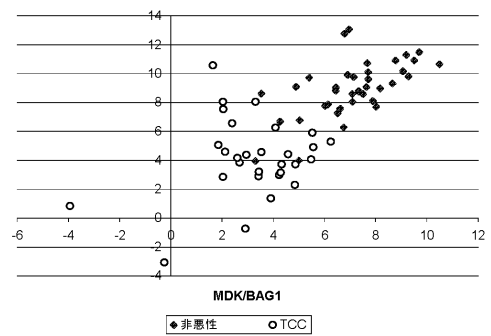
【図 8 c】

IGFBP5/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DHを用いた組み合わせ試験

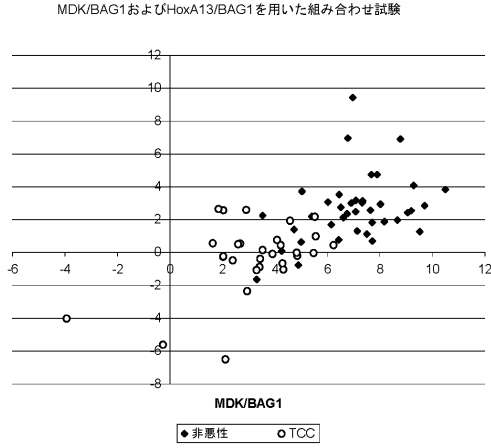


【図 8 d】

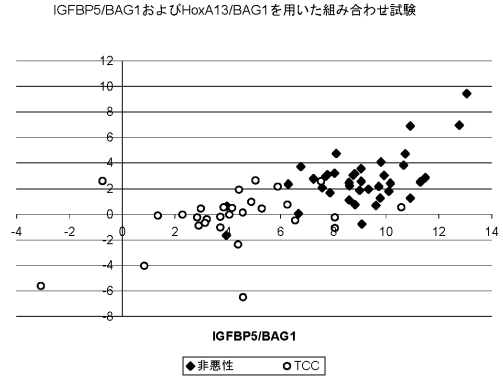
MDK/BAG1およびIGFBP5/BAG1を用いた組み合わせ試験



【 図 8 e 】

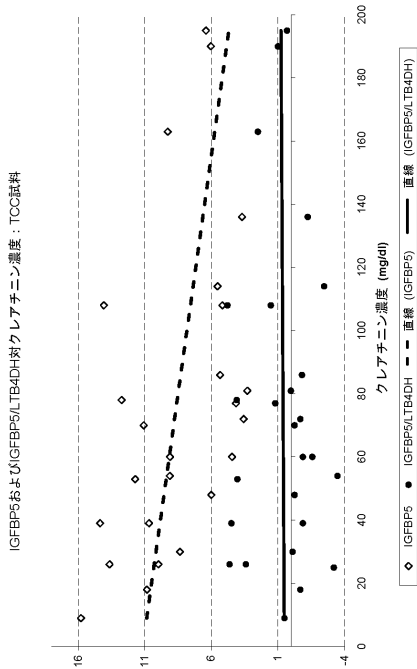


【 図 8 f 】

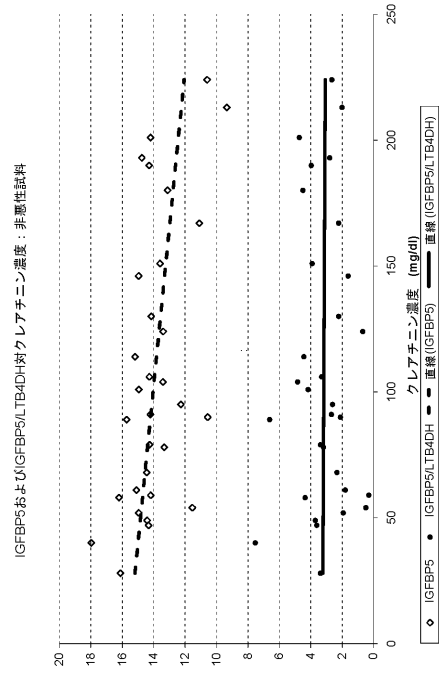


TCC患者および非悪性疾患を有するコントロールからの尿試料の間を識別するための試験
 組み合わせの使用を示す散乱プロット。8a:MDK/LTB4DHおよびIGFBP5/LTB4DH；8b:MDK/LTB4DH
 およびHoxA13/LTB4DH；8c:IGFBP5/LTB4DHおよびHoxA13/LTB4DH；8d:MDK/BAG1および
 IGFBP5/BAG1；8e:MDK/BAG1およびHoxA13/BAG1；8f:IGFBP5/BAG1およびHoxA13/BAG1

【 図 9 a 】



【 図 9 b 】



IGFBP5に対するΔCt、およびIGFBP5/LTB4DHおよび尿クレアチニン濃度に対する
 ΔCt比の間の相関を示す散乱プロット。
 9a. TCCを有する患者からの尿試料
 9b. 非悪性疾患を有する患者からの尿試料

【 ☒ 1 1 - 1 0 】

| HUGO | 遺伝子名 | MWG オリゴ # | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|-------------------------|-------------------------|---------------------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| SMC1L1 | SMC1 染色体の複製抑制因子 1-級 | mwghuman3 OKFA05798 | NM_006306.2 | NP_06297.2 | 1.6 | 2.9 | 4.98E-06 | 0.000134 | 1081.5 | 血清 |
| Thy-1 共転写 | Thy-1 共転写 | mwghuman3 OKKC0578 | NM_033209.2 | NP_149966.1 | 1.8 | 4.7 | 1.15E-06 | 0.00000375 | 1074 | 血清 |
| RA-細胞誘導タンパク質 | RA-細胞誘導タンパク質 | mwghuman3 OKFA03935 | NM_016448.1 | NP_057532.1 | 1.5 | 2.1 | 4.195E-07 | 7.28584E-07 | 1076 | 血清 |
| FK506 拮抗タンパク質 11 | FK506 拮抗タンパク質 11 | mwghuman3 OKFA07244 | NM_016594.1 | NP_057678.1 | 1.8 | 5.0 | 0.000122 | 0.0000287 | 1088.5 | 血清 |
| 染色体 20 オープンリーディング | 染色体 20 オープンリーディング | mwghuman3 OKFB3650 | NM_030919.1 | NP_112181.1 | 1.6 | 2.4 | 2.438E-05 | 2.91948E-06 | 1106 | 血清 |
| フレーム 129 | フレーム 129 | mwghuman3 OKFB4586 | NM_003543.3 | NP_003534.1 | 2.1 | 6.4 | 0.0000344 | 0.000059 | 1117 | 血清 |
| ヒストン 1, H4H | ヒストン 1, H4H | mwghuman3 OKFA05799 | NM_005192.2 | NP_005183.2 | 2.1 | 4.7 | 7.871E-05 | 1.93628E-05 | 1117.5 | 血清 |
| サイクリン依存性キナーゼインヒビター 3 | サイクリン依存性キナーゼインヒビター 3 | mwghuman3 OKFA10589 | NM_006500.1 | NP_006491.1 | 1.6 | 3.0 | 1.81E-06 | 0.0000045 | 1135.5 | 血清 |
| 線維分子シンスクレイン | 線維分子シンスクレイン | mwghuman3 OKFA08103 | NM_005460.1 | NP_005451.1 | 1.7 | 2.7 | 0.0000151 | 0.0000236 | 1151.5 | 血清 |
| タンパク質相互作用 | タンパク質相互作用 | mwghuman3 OKFA10699 | NM_003634.1 | NP_003625.1 | 2.4 | 21.5 | 0.0000194 | 0.0000153 | 1185.5 | 血清 |
| nipsnap ホモログ 1 | nipsnap ホモログ 1 | mwghuman3 OKFB1553 | NM_032463.2 | NP_115882.1 | 1.5 | 4.1 | 6.692E-06 | 8.99315E-06 | 1173.5 | 血清 |
| アダプター関連タンパク質複合体 1, ミュート | アダプター関連タンパク質複合体 1, ミュート | mwghuman3 OKFA05280 | NM_018665.2 | NP_061155.2 | 2.6 | 7.7 | 0.0001 | 0.0000716 | 1177 | 血清 |
| anilin, アクチン結合タンパク質 | anilin, アクチン結合タンパク質 | mwghuman3 OKFA0894 | NM_173562.3 | NP_775833.2 | 1.6 | 3.6 | 3.65E-07 | 0.00000666 | 1187 | 血清 |

(続き)

【 ☒ 1 1 - 1 1 】

| HUGO | 遺伝子名 | MWG オリゴ # | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|-------------------|-------------------|---------------------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| TORC3 | TORC3 | mwghuman3 OKFA04006 | NM_022769.1 | NP_073606.2 | 1.6 | 2.8 | 1.51E-05 | 1.73622E-05 | 1187.5 | 血清 |
| MAZ | MAZ | mwghuman3 OKFA04363 | NM_002383.1 | NP_002374.1 | 1.6 | 3.5 | 0.0000117 | 0.0000325 | 1195.5 | 血清 |
| TXNRP1 | TXNRP1 | mwghuman3 OKFA02930 | NM_182743.1 | NP_877420.1 | 2.4 | 16.9 | 0.0000377 | 0.0000254 | 1201 | 血清 |
| XP_096969 | XP_096969 | mwghuman3 OKFB5965 | XM_096969 | | 1.5 | 3.2 | 5.361E-06 | 2.51921E-06 | 1211.5 | 血清 |
| C22orf4 | C22orf4 | mwghuman3 OKFB3849 | NM_014346.1 | NP_055161.1 | 1.5 | 2.3 | 1.056E-05 | 1.33979E-05 | 1234 | 血清 |
| VSNL1 | VSNL1 | mwghuman3 OKFA06227 | NM_003385.3 | NP_003376.2 | 2.2 | 13.8 | 0.0000215 | 0.0000254 | 1243.5 | 血清 |
| KIAA1598 | KIAA1598 | mwghuman3 OKFB4922 | XM_020550.5 | XP_209550.4 | 2.0 | 10.5 | 0.0000141 | 0.00000899 | 1256.5 | 血清 |
| KDa 類に類似 | KDa 類に類似 | mwghuman3 OKFA10158 | NM_016330.3 | NP_060002.2 | 1.9 | 18.9 | 6.547E-05 | 8.56146E-07 | 1271 | 血清 |
| DKFZP434C047 | DKFZP434C047 | mwghuman3 OKFA06319 | NM_025007 | | 2.0 | 5.7 | 3.162E-05 | 2.23662E-05 | 1285 | 血清 |
| 染色体 22 オープンリーディング | 染色体 22 オープンリーディング | mwghuman3 OKFA08783 | NM_015594.1 | NP_066409.1 | 1.8 | 4.5 | 9.622E-06 | 4.13751E-05 | 1280.5 | 血清 |
| フレーム 4 | フレーム 4 | mwghuman3 OKFB1769 | NM_152367.1 | NP_869500.1 | 1.9 | 4.0 | 9.5E-06 | 2.87228E-05 | 1291.5 | 血清 |
| visinin-様 1 | visinin-様 1 | mwghuman3 OKFA02711 | XM_372039.1 | XP_372039.2 | 1.9 | 3.5 | 3.977E-05 | 1.73622E-05 | 1295.5 | 血清 |
| チターゼ N 83 | チターゼ N 83 | mwghuman3 OKFB3746 | XM_291269.3 | XP_291269.2 | 1.6 | 2.4 | 2.655E-05 | 1.33979E-05 | 1313.5 | 血清 |
| PRIM1 | PRIM1 | mwghuman3 OKFA07853 | NM_000946.2 | NP_000937.1 | 1.6 | 2.9 | 3.313E-05 | 5.24719E-05 | 1315 | 血清 |

(続き)

【 ☒ 1 1 - 1 2 】

| HUGO | 遺伝子名 | MWG オリゴ # | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|-------------------|-------------------|---------------------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| MCM2 | MCM2 ミニ染色体複製因子 2 | mwghuman3 OKFA06834 | NM_004526.2 | NP_004517.2 | 1.6 | 2.7 | 1.81E-06 | 0.0000045 | 1332 | 血清 |
| GJA3 | GJA3 | mwghuman3 OKFA04569 | NM_021954.2 | NP_068773.2 | 1.6 | 2.7 | 1.04E-06 | 0.00000252 | 1332.5 | 血清 |
| C11orf30 | C11orf30 | mwghuman3 OKFA10932 | NM_020193.2 | NP_064578.2 | 1.4 | 3.4 | 6.848E-07 | 1.00418E-06 | 1339 | 血清 |
| FLJ30672 に類似 | FLJ30672 に類似 | mwghuman3 OKFB9577 | XM_376318.1 | XP_376318.1 | 1.6 | 2.3 | 3.03E-05 | 2.53726E-05 | 1349 | 血清 |
| Thy-1 共転写 | Thy-1 共転写 | mwghuman3 OKFA07488 | NM_033209.2 | NP_149986.1 | 1.5 | 3.4 | 1.262E-05 | 2.53726E-05 | 1353 | 血清 |
| 低密度脂蛋白タンパク質 3 | 低密度脂蛋白タンパク質 3 | mwghuman3 OKFA05066 | NM_002333.1 | NP_002324.1 | 1.5 | 2.1 | 1.068E-05 | 1.9727E-05 | 1358 | 血清 |
| LAG1 長寿遺伝子 | LAG1 長寿遺伝子 | mwghuman3 OKFA00927 | NM_013384.3 | NP_037516.3 | 1.7 | 4.6 | 0.0000173 | 0.0000224 | 1365 | 血清 |
| 染色体 18 オープンリーディング | 染色体 18 オープンリーディング | mwghuman3 OKFA07371 | NM_013326.2 | NP_037458.2 | 1.5 | 2.1 | 6.11E-06 | 0.00000899 | 1366.5 | 血清 |
| フレーム 8 | フレーム 8 | mwghuman3 OKFB1067 | NM_007137.1 | NP_006988.1 | 1.5 | 2.2 | 2.598E-06 | 1.8667E-06 | 1387.5 | 血清 |
| 亜型プロテイン A 2 | 亜型プロテイン A 2 | mwghuman3 OKFA02601 | NM_031966.1 | NP_114174.1 | 1.5 | 2.5 | 8.752E-06 | 1.73622E-05 | 1391.5 | 血清 |

(続き)

【 ☒ 1 1 - 1 3 】

| HUGO | 遺伝子名 | MWG オリゴ # | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|----------|------------|---------------------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| MTHFD2 | MTHFD2 | mwghuman3 OKFA01688 | NM_006636.2 | NP_006627.1 | 2.4 | 8.4 | 0.0000861 | 0.00013 | 1392.5 | 血清 |
| DBT | DBT | mwghuman3 OKFB6054 | NM_001918.1 | NP_001909.1 | 1.6 | 2.3 | 4.015E-05 | 8.99315E-06 | 1398.5 | 血清 |
| SIAT7D | SIAT7D | mwghuman3 OKFA03266 | NM_175040.1 | NP_778205.1 | 1.7 | 7.9 | 3.17E-06 | 0.00000596 | 1400 | 血清 |
| MMPL1 | MMPL1 | mwghuman3 OKFA02674 | NM_004142.1 | NP_004133.1 | 1.5 | 3.4 | 1.38E-06 | 2.91943E-06 | 1403 | 血清 |
| KLK11 | KLK11 | mwghuman3 OKFA03721 | NM_144947.1 | NP_659196.1 | 1.5 | 2.3 | 0.0000159 | 0.0000153 | 1415.5 | 血清 |
| KPNA2 | KPNA2 | mwghuman3 OKFB4056 | NM_002266.1 | NP_002257.1 | 1.6 | 3.3 | 9.792E-05 | 5.89923E-05 | 1426.5 | 血清 |
| FGFR1OP2 | FGFR1 産生因子 | mwghuman3 OKFA02210 | NM_015633.1 | NP_056448.1 | 1.5 | 5.0 | 1.339E-05 | 1.33979E-05 | 1427.5 | 血清 |
| VIM | VIM | mwghuman3 OKFA02879 | NM_003300.1 | NP_003371.1 | 3.3 | 19.1 | 0.000123 | 0.0002 | 1451 | 血清 |
| PAPOLG | PAPOLG | mwghuman3 OKFB0361 | XM_379827.1 | XP_379827.1 | 1.7 | 2.9 | 7.749E-05 | 2.53726E-05 | 1474 | 血清 |
| FHOD1 | FHOD1 | mwghuman3 OKFA03636 | NM_022894.2 | NP_075045.2 | 2.7 | 36.2 | 0.0000757 | 0.0000392 | 1474.5 | 血清 |
| RASL12 | RASL12 | mwghuman3 OKFA05058 | NM_013241.1 | NP_037373.1 | 1.6 | 4.0 | 9.54E-06 | 0.00000187 | 1483.5 | 血清 |
| HMGN2 | HMGN2 | mwghuman3 OKFA07221 | NM_016863.2 | NP_057647.1 | 1.4 | 2.1 | 1.179E-05 | 2.23662E-05 | 1490.5 | 血清 |
| HMGN2 | HMGN2 | mwghuman3 OKFB9113 | NM_005517.2 | NP_005508.1 | 1.6 | 2.7 | 0.0000626 | 0.0000387 | 1495.5 | 血清 |

(続き)

【 ☒ 1 1 - 1 4 】

| HUGO | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|-----------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| PTPNM2 | NM_020845 | NP_06589 | 2.3 | 26.2 | 0.000711 | 0.0000224 | 1497 | |
| DER1 | NM_024295.3 | NP_077271.1 | 1.5 | 3.3 | 4.889E-05 | 5.24719E-05 | 1527 | |
| EPHA4 | NM_004438.3 | NP_004429.1 | 1.5 | 3.1 | 0.000113 | 0.0000743 | 1527.5 | |
| VSIG1 | NM_182807.3 | NP_872413.1 | 2.0 | 5.8 | 7.831E-05 | 3.24766E-05 | 1532.5 | |
| RGS5 | NM_003617.2 | NP_003608.1 | 1.8 | 6.3 | 0.000417 | 0.0000174 | 1534.5 | |
| SH2B | XI_290923.2 | XP_290923.3 | 1.9 | 11.5 | 2.678E-05 | 1.9727E-05 | 1540.5 | |
| PGLYRP4 | NM_015503.1 | NP_066318.1 | 2.2 | 13.2 | 0.000252 | 0.0000197 | 1556.5 | |
| CDC45L | NM_020393.1 | NP_065726.1 | 1.5 | 3.2 | 2.991E-06 | 4.50138E-06 | 1566 | |
| MLSD1 | NM_003504.3 | NP_003495.1 | 1.8 | 2.9 | 6.318E-05 | 0.000129985 | 1567.5 | |
| TFNRSF13B | NM_018099.3 | NP_060569.3 | 1.9 | 10.0 | 6.279E-05 | 3.86781E-05 | 1568.5 | |
| | NM_024322.1 | NP_077298.1 | 1.5 | 3.4 | 5.18E-05 | 6.62502E-05 | 1608 | |
| | NM_012462.2 | NP_036584.1 | 1.7 | 3.8 | 2.737E-05 | 6.62502E-05 | 1643 | |

(続き)

【 ☒ 1 1 - 1 5 】

| HUGO | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|----------|----------------|-------------|---------|---------|------------|-------------|--------|----|
| NET1 | S82401.1 | AAB37683.1 | 1.4 | 2.1 | 8.678E-06 | 4.50138E-06 | 1657 | |
| LHFPL5 | NM_182548.2 | NP_872354.1 | 1.7 | 9.5 | 5.419E-05 | 4.66208E-05 | 1661 | |
| MX2 | NM_002463.1 | NP_002454.1 | 1.6 | 9.3 | 0.000739 | 0.000001 | 1680 | |
| SPHK1 | NM_182965.1 | NP_892010.1 | 1.5 | 2.2 | 2.284E-06 | 5.18452E-06 | 1702 | |
| ABCG4 | NM_022169.3 | NP_071452.2 | 1.7 | 8.3 | 0.000012 | 0.0000039 | 1702 | |
| SERPINE2 | NM_002575.1 | NP_002566.1 | 1.8 | 8.3 | 3.09E-05 | 2.50475E-05 | 1705.5 | |
| GALNT10 | NM_017540.3 | NP_06010.3 | 1.6 | 7.1 | 6.432E-05 | 2.23862E-05 | 1711 | |
| LEPR | NM_0010036 | NP_0010036 | 1.6 | 2.8 | 2.176E-05 | 2.87228E-05 | 1715.5 | |
| MXD4 | NM_006454.2 | NP_006445.1 | 1.7 | 4.1 | 0.000011 | 0.0000134 | 1719.5 | |
| FAPP2 | NM_032639.2 | NP_116028.1 | 1.5 | 3.3 | 1.563E-05 | 3.66781E-05 | 1725.5 | |
| NUP210 | NM_024923.2 | NP_079199.2 | 1.6 | 2.8 | 6.5238E-05 | 0.000104262 | 1728.5 | |

(続き)

【 ☒ 1 1 - 1 6 】

| HUGO | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|------|----|
| CSK | NM_004983.1 | NP_004374.1 | 1.5 | 5.1 | 7.283E-06 | 8.56146E-07 | 3601 | |
| NRP1 | NM_003973.2 | NP_003864.2 | 2.3 | 17.2 | 0.002761 | 0.004728544 | 6356 | |

(続き)

【 ☒ 1 2 - 1 1 】

| HUGO | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階級 | 血清 |
|----------|----------------|-------------|---------|---------|----------|-------------|-------|----|
| NRN1 | NM_016588.2 | NP_057672.1 | 3.0 | 17.6 | 4.78E-07 | 0.000000421 | 63 | S |
| MGAT1 | NM_002406.2 | NP_002397.1 | 1.7 | 4.1 | 3.51E-07 | 0.00000396 | 165.5 | S |
| LCN7 | NM_014680.2 | NP_055495.2 | 1.6 | 2.5 | 1.74E-08 | 0.000000085 | 241 | S |
| OLFML1 | NM_022164.1 | NP_071447.1 | 1.8 | 5.6 | 0.000015 | 0.0000271 | 436.5 | S |
| BMP7 | NM_058189.2 | NP_478106.1 | 1.8 | 6.9 | 3.39E-06 | 0.00000178 | 465 | S |
| MDK | NM_001719.1 | NP_001710.1 | 1.7 | 4.1 | 2.96E-06 | 0.00000579 | 473 | S |
| ADAMTS10 | NM_002391.2 | NP_002382.1 | 1.8 | 4.8 | 4.98E-07 | 0.000000194 | 492.5 | S |
| PM5 | NM_00987.1 | NP_112219.2 | 1.9 | 6.9 | 0.000042 | 0.0000379 | 589.5 | S |
| TIMP1 | NM_003254.1 | NP_003245.1 | 1.7 | 3.2 | 0.000185 | 0.0000107 | 611.5 | S |
| LUM | NM_002345.2 | NP_002336.1 | 2.5 | 19.1 | 0.000104 | 0.0000983 | 632 | S |

遺伝子名
c-src
ニューロロニン1

遺伝子名
ニューロリン1
マンシリン(プロモ
ア1,3)トリコロポ
リン
N-アセチルグルコサ
ミニドトランスフェ
ラーゼ
KIAA0100 遺伝
子産物
リポリン7
オルファクトム
ダイク1
骨形成タンパク
質7A
ミッドカイン(伸
縮突起増殖促進
因子2)
ディエンタグリ
ン様およびトロン
ボスポンダイク1
型セリン/チロシン
キナーゼ
メタロプロテアー
ゼ(メタロプロテ
イン)
pM5 タンパク質
メタロプロテアー
ゼ1の組織
インヒビター
ルミカン

【 ☒ 1 2 - 1 0 】

| HUGO | 遺伝子名 | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階数 | 血清 |
|---------|--|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| VSNL1 | visinin-様 1 | NM_003385.3 | NP_003376.2 | 1.7 | 3.5 | 0.000811 | 0.00012 | 1013 | 血清 |
| LYN | vyes-1 ヤマダチ サルコモウライ ルス 関連 遺伝伝 子 ホモログ | NM_002350.1 | NP_002341.1 | 1.6 | 3.5 | 0.000593 | 0.000108 | 1013.5 | |
| HCA127 | 肝細胞癌関連放 尿-127 | NM_018684.1 | NP_061154.1 | 1.3 | 2.0 | 0.0000442 | 0.0000797 | 1017 | |
| SLC22A2 | 溶血輸送体2型 2 (ヒト) (輸送体) カチオン 依存性) メンバ-4 | NM_153191.1 | NP_694861.1 | 2.3 | 12.5 | 0.000298 | 0.000535 | 1021 | |
| MXD4 | MAX 2 転位形成 タンパク質 4 | NM_006454.2 | NP_006445.1 | 1.4 | 2.5 | 5.21E-06 | 0.0000656 | 1025 | |
| THY1 | Thy-1 共配子 (LOC94105) | NM_033208.2 | NP_149866.1 | 1.4 | 2.0 | 0.0000307 | 0.0000153 | 1032.5 | |
| | Thy-1 共配子 (LOC94105) | NM_033209.2 | NP_149866.1 | 1.4 | 2.0 | 3.072E-05 | 1.52973E-05 | 1032.5 | |
| LRFN3 | ロイシリンリッチ反 後およびフィブリン オクチン III 型ドメイン含有 3 | NM_024509.1 | NP_078785.1 | 1.6 | 2.4 | 0.000225 | 0.0000419 | 1035.5 | |
| | h4 トランスドムフア ー | NM_030144 | | 1.9 | 12.3 | 0.000241 | 0.0000863 | 1040 | |
| | 低密度タンパク質 配列22890 | NM_022746.2 | NP_073583.2 | 1.5 | 2.4 | 0.0000373 | 0.0000172 | 1045.5 | |

(続き)

【 ☒ 1 2 - 1 1 】

| HUGO | 遺伝子名 | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階数 | 血清 |
|----------|--------------------------------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| TRIB2 | tribbles ホモログ 2 | NM_021643.1 | NP_067675.1 | 1.7 | 4.1 | 0.0000616 | 0.000195 | 1058 | 血清 |
| KRTHA3B | ケラチン、毛髪、 鱗片、3B | NM_002279.3 | NP_002270.1 | 1.3 | 2.1 | 0.0000079 | 0.0000271 | 1071.5 | |
| KIF21A | キネシリンファミリーメンバ- 21A | NM_017641.2 | NP_060111.2 | 1.7 | 3.1 | 0.000121 | 0.000108 | 1073 | |
| HMGX2 | 高移動ゲル電泳 結合ドメイン 2 | NM_05517.2 | NP_005508.1 | 1.5 | 2.9 | 0.000199 | 0.0000863 | 1075 | |
| ANKRD17 | アンキリン17 | NM_198889.1 | NP_942592.1 | 1.5 | 2.6 | 0.000013 | 0.00000743 | 1089.5 | |
| RAG1 | 細胞免疫活性化 運送子 1 | NM_009448.1 | NP_004439.1 | 1.4 | 2.7 | 0.000114 | 0.0000797 | 1090 | |
| NUBP2 | ヌクレオチド結合 タンパク質 2 | NM_012225.1 | NP_036357.1 | 1.4 | 2.3 | 0.0000198 | 0.0000193 | 1097 | |
| FLJ20489 | カルシウムカル モジュレーター 性セリンプロテ インキナーゼ | NM_017642.1 | NP_060312.1 | 1.4 | 2.7 | 3.49E-06 | 0.00000395 | 1100.5 | |
| CASK | (MAGUK)ファミ リー | NM_003668.1 | NP_003679.1 | 1.5 | 3.5 | 0.0000572 | 0.000161 | 1104.5 | |
| HIP1 | ハンチンチン相 互作用タンパク 質 1 | NM_005338.4 | NP_005329.3 | 1.4 | 4.5 | 0.0000185 | 0.0000656 | 1110 | |
| LASS2 | LAG1 長寿保証 コホログ 2 | NM_013384.3 | NP_037516.3 | 1.5 | 2.3 | 0.0000311 | 0.000063 | 1111.5 | |
| PRKDCBP | プロテインキナーゼ C、アルファ結 合タンパク質 | NM_145040.2 | NP_659477.2 | 1.6 | 3.5 | 6.96E-07 | 0.000000194 | 1123.5 | |

(続き)

【 ☒ 1 2 - 1 2 】

| HUGO | 遺伝子名 | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階数 | 血清 |
|-----------|--|-----------------|-----------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| TIE | 免疫グロブリンお び上皮細胞増殖 因子誘発因子ドメイン ロンキナーゼ | NM_005424.2 | NP_005415.1 | 1.7 | 4.3 | 0.000266 | 0.000312 | 1126.5 | 血清 |
| C5orf15 | 染色体 5 オープン リーディングフレ ーム 15 | NM_020199.1 | NP_064584.1 | 1.6 | 3.3 | 0.000144 | 0.000195 | 1131 | |
| ANLN | anln, アクチン結 合タンパク質 | NM_018685.2 | NP_061155.2 | 2.2 | 6.5 | 0.0000906 | 0.000332 | 1154 | |
| DER1 | デルリン-1 | NM_024295.3 | NP_072721.1 | 1.4 | 3.1 | 0.000115 | 0.0000422 | 1160.5 | |
| CGI-72 | CGI-72 タンパク 質 | NM_016018.3 | NP_057102.3 | 1.4 | 2.5 | 0.000047 | 0.000195 | 1165 | |
| ACVRL1 | アカチレン A 受容 体 II 類似 1 | NM_000020.1 | NP_000011.1 | 1.4 | 2.3 | 0.000113 | 0.0000618 | 1178 | |
| ENTPD8 | エントドケラチン ミニドメドローゼ 8 | NM_138793.2 | NP_620148.1 | 1.4 | 2.2 | 0.0000121 | 0.0000379 | 1179.5 | |
| SH3BGR1 3 | SH3 ドメイン結合 タンパク質 3 | NM_031286.2 | NP_112576.1 | 1.5 | 2.5 | 0.000062 | 0.000177 | 1185.5 | |
| SMC4L1 | SMC4 染色体の構 造維持 4 様 1 (骨 肉) | NM_0010027 95.1 | NP_0010027 95.1 | 1.7 | 3.4 | 0.000271 | 0.000215 | 1190 | |
| VG5Q | NAHDH ユビキリン オキシドレドレタタ ーゼ MLRO サブユ ニットホモログ 血管形成因子 | NM_020142.3 | NP_064527.1 | 2.2 | 17.8 | 0.000123 | 0.000049 | 1196 | |
| | | NM_018046.3 | NP_060516.2 | 1.4 | 2.8 | 0.0000245 | 0.0000582 | 1226.5 | |

(続き)

【 ☒ 1 2 - 1 3 】

| HUGO | 遺伝子名 | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合計階数 | 血清 |
|---------|---|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| STMN1 | スタスミン 1 | NM_203401.1 | NP_391946.1 | 1.9 | 11.6 | 0.0004 | 0.000342 | 1250 | 血清 |
| BG1 | リヒトスミン | NM_015162.3 | NP_055977.3 | 1.6 | 8.8 | 0.000221 | 0.00017 | 1267 | |
| BCL2L11 | BCL2-様 11 | NM_207003.1 | NP_998886.1 | 1.4 | 2.5 | 0.0000689 | 0.000108 | 1271 | |
| ARK5 | AMP-活性化プロテ インキナーゼファミ リーメンバ-5 | NM_014840.2 | NP_055655.1 | 1.5 | 3.1 | 0.000345 | 0.0000647 | 1273.5 | |
| PLEKH44 | プレカストリン プレカストリン 1 家族 アミロイド ー A (ホスチオイ ノン) 結合特異 的) メンバ-4 | NM_020904.1 | NP_065955.1 | 1.4 | 2.6 | 6.69E-06 | 0.0000107 | 1278.5 | |
| KLK11 | カリクレイン 11 | NM_144947.1 | NP_659196.1 | 1.4 | 3.3 | 0.00024 | 0.000047 | 1332 | |
| ST7L | 発癌性抑制 7 様 | NM_138728.2 | NP_620056.1 | 1.5 | 3.3 | 0.000181 | 0.000132 | 1376.5 | |
| TLES3 | トランススチュー ミン膜タンパク質 ハンチン-3 | NM_005078.1 | NP_005069.1 | 1.3 | 2.1 | 0.0000102 | 0.0000064 | 1382.5 | |
| ITIH5 | インターアクトイ ン (プロリン)イ ンヒビター-H5 | NM_032817.2 | NP_116206.2 | 1.4 | 2.4 | 0.000205 | 0.000259 | 1387.5 | |
| RGS11 | G-タンパク質受 容体タンパク質の 因子 11 | NM_183337.1 | NP_899180.1 | 1.5 | 2.8 | 0.0000268 | 0.0000379 | 1400.5 | |
| ASB9 | インキリン受容 体および SOCS ポッ クス含有 9 | NM_024087.1 | NP_076992.1 | 1.4 | 2.5 | 0.000131 | 0.000146 | 1418.5 | |

(続き)

【 図 1 2 - 1 4 】

| 遺伝子名 | HUGO | MWG オリゴ # | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合併増数 | 血清 |
|-----------------------------------|----------|----------------------|----------------|-------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| 遺伝子6 (ネオプ ラシマ) フレーム 69 | C6orf69 | mwghuman3 OK#C:0954 | NM_173562.3 | NP_775633.2 | 1.4 | 2.7 | 0.0000737 | 0.000195 | 1436 | |
| 腫瘍増7 (ネーバ) フレーム 3 | TM7SF3 | mwghuman3 OK#A:09465 | NM_016851.1 | NP_057693.1 | 1.6 | 3.0 | 0.000278 | 0.000635 | 1437 | |
| セセミン3 | SCRN3 | mwghuman3 OK#A:00394 | NM_024983.2 | NP_076859.2 | 1.4 | 2.7 | 0.0000977 | 0.000215 | 1452 | |
| クリプトトコリン1 | CRY1 | mwghuman3 OK#A:06219 | NM_004075.2 | NP_004066.1 | 1.5 | 3.7 | 0.000377 | 0.000259 | 1457.5 | |
| プレキシンA1 | PLXNA1 | mwghuman3 OK#B:8739 | NM_032424.2 | NP_115618.2 | 1.4 | 3.2 | 0.000107 | 0.000108 | 1474 | |
| UDP-N-アセチル- グルコサミン-6-リン酸トランスフェラーゼ | GALT10 | mwghuman3 OK#B:6489 | NM_017540.3 | NP_060010.3 | 1.4 | 2.0 | 4.42E-06 | 0.00000659 | 1479.5 | |
| ギンギン結合 タンパク質、アルブ ミンA4 | GJA4 | mwghuman3 OK#A:07540 | NM_002060.1 | NP_002051.1 | 1.4 | 2.8 | 0.000427 | 0.000284 | 1488.5 | |
| 低糖タンパク質 DIFZ434G1415 | W5B2 | mwghuman3 OK#B:1353 | NM_031292.2 | NP_112582.2 | 1.4 | 2.9 | 0.0000627 | 0.000156 | 1501 | |
| WD 巨核球タンパク 含有2A | CDA | mwghuman3 OK#A:07490 | NM_018639.3 | NP_061109.1 | 1.4 | 2.5 | 0.0000652 | 0.0000523 | 1505 | |
| SOCs 結合タンパク | GART | mwghuman3 OK#A:10142 | NM_000819.3 | NP_000810.1 | 1.4 | 2.2 | 0.0000428 | 0.000146 | 1560 | |
| シチジンデアミナーゼ | HIST1H1B | mwghuman3 OK#A:03716 | NM_005322.2 | NP_005313.1 | 1.5 | 4.0 | 0.0000929 | 0.000236 | 1576.5 | |

(続き)

【 図 1 2 - 1 5 】

| 遺伝子名 | HUGO | MWG オリゴ # | NCBI mRNA 参照配列 | タンパク 参照配列 | 平均倍 変化率 | 最大倍 変化率 | T-検定 | Wilcoxon 検定 | 合併増数 | 血清 |
|------------------------------------|----------|----------------------|----------------|--------------|---------|---------|-----------|-------------|--------|----|
| 車輪メタロプロ テイナーゼ (STE24, ホモロジ 一, 酵母) | ZMPSTE24 | mwghuman3 OK#A:09568 | NM_005657.2 | NP_005648.2 | 1.5 | 3.9 | 0.000166 | 0.000236 | 1653.5 | |
| 膜貫通タンパク 質33 | TMEM33 | mwghuman3 OK#A:01542 | NM_018126.1 | NP_060596.1 | 2.9 | 31.9 | 0.000365 | 0.002513 | 1669.5 | |
| グルコシラーシ ン イノミターゼ | GPI | mwghuman3 OK#B:1465 | NM_000175.2 | NP_000166.2 | 1.4 | 2.6 | 0.000153 | 0.000236 | 1670.5 | |
| 低糖タンパク質 FLJ11000 | WDR18 | mwghuman3 OK#B:4538 | NM_018295.1 | NP_060765 | 1.6 | 5.1 | 0.000203 | 0.000448 | 1687.5 | |
| 低糖タンパク質 MGC5576 | CAMK1D | mwghuman3 OK#A:06786 | NM_024056.2 | NP_076961.1 | 1.6 | 11.7 | 0.000735 | 0.000312 | 1710 | |
| カルシウム/カル ボキシル ATPase 特異的イオンキ ナーゼID | PTPN21 | mwghuman3 OK#A:00327 | NM_020397.1 | NP_065130.1 | 1.4 | 2.6 | 0.00064 | 0.000423 | 1719 | |
| プロテインチロ シンリン酸ターゼ 21型 細胞受容体 | EIF2C2 | mwghuman3 OK#B:09269 | NM_007039.2 | NP_008970.1 | 1.4 | 2.4 | 0.000571 | 0.000259 | 1723.5 | |
| 結核菌毒力調節 因子2C | WDR18 | mwghuman3 OK#C:2287 | NM_012154.2 | NP_036286.2 | 1.4 | 2.5 | 0.00011 | 0.0000243 | 1730 | |
| WD 変換ドメイン 16 | TNS | mwghuman3 OK#B:3546 | NM_024100.2 | NP_077005.2 | 1.4 | 3.2 | 0.0000511 | 0.0000682 | 1746.5 | |
| テンシン | CSK | mwghuman3 OK#B:6493 | NM_022946.2 | NP_072174.2 | 1.3 | 2.0 | 0.000393 | 0.000177 | 1753.5 | |
| c-src チロシンキ ナーゼ | UBE2C | mwghuman3 OK#A:01629 | NM_004983.1 | NP_004374.1 | 1.4 | 1.9 | 1.05E-06 | 0.000107 | 1935.5 | |
| ユビキチン結合 酵素E2C | NRP1 | mwghuman3 OK#A:01776 | NM_181903.1 | NP_1861519.1 | 2.1 | 8.9 | 0.001146 | 0.000908 | 2155 | |
| ニューロロビン1 | | mwghuman3 OK#A:03091 | NM_003873.2 | NP_003864.2 | 1.9 | 6.0 | 0.003291 | 0.000636 | 2941 | |

(続き)

【 図 1 3 】

| コントロール | 数 | TCC | 数 |
|--------------|----|-----------|----|
| 他の泌尿器癌 | 35 | Ta グレード1 | 9 |
| 良性前立腺肥大 | 10 | Ta グレード2 | 28 |
| 種々の非悪性泌尿器疾患 | 10 | T1 ステージ2 | 4 |
| TCC 監視 (非悪性) | 47 | Tis ステージ1 | 1 |
| 尿道感染 | 21 | Tis ステージ2 | 1 |

【 図 1 4 】

| TCC 特性 | 曲線下の面積 (%) | | | |
|-------------------|------------|---------------|--------|---------------|
| | HoxA13 | HoxA13/LTB4DH | IGFBP5 | IGFBP5/LTB4DH |
| ステージ Ta (グレード1-2) | 64 | 67 | 61 | 70 |
| ステージ Ta (グレード1) | 66 | 69 | 73 | 81 |
| グレード1 (全ステージ) | 66 | 69 | 73 | 81 |
| グレード2 (全ステージ) | 62 | 62 | 55 | 63 |
| グレード1-2 (全) | 64 | 64 | 60 | 68 |

【 図 1 5 】

| BTM | 総合感度 | ステージ Ta | グレード1&2 | grade 3 |
|------------------------------------|------|---------|---------|---------|
| c6c2 Hoxa13, MDK | 0.61 | 0.41 | 0.42 | 0.86 |
| c6c2 Hoxa13, MDK, LTb4DH | 0.63 | 0.44 | 0.43 | 0.89 |
| c6c2 Hoxa13, IGFBP5, MDK | 0.61 | 0.44 | 0.44 | 0.82 |
| c6c2 Hoxa13, IGFBP5, MDK, LTb4DH | 0.62 | 0.46 | 0.45 | 0.84 |
| c6c2, IGFBP5, MDK | 0.61 | 0.44 | 0.45 | 0.82 |
| c6c2, IGFBP5, MDK, LTb4DH | 0.62 | 0.46 | 0.45 | 0.85 |
| Hoxa13, IGFBP5, MDK, Top2a | 0.61 | 0.44 | 0.45 | 0.83 |
| Hoxa13, IGFBP5, MDK, Top2a, LTb4DH | 0.63 | 0.47 | 0.46 | 0.85 |
| Hoxa13, IGFBP5, MDK, LTb4DH | 0.61 | 0.44 | 0.45 | 0.83 |
| Hoxa13, IGFBP5, MDK, LTb4DH | 0.62 | 0.46 | 0.45 | 0.85 |
| HoxA13, MDK, LTb4DH | 0.64 | 0.45 | 0.44 | 0.89 |
| IGFBP5, MDK | 0.62 | 0.44 | 0.45 | 0.84 |
| IGFBP5, MDK, LTb4DH | 0.63 | 0.47 | 0.45 | 0.86 |
| c6c2, IGFBP5, MDK, Top2a | 0.62 | 0.45 | 0.45 | 0.84 |
| c6c2, IGFBP5, MDK, Top2a, LTb4DH | 0.64 | 0.48 | 0.46 | 0.87 |

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | F I | テーマコード(参考) |
|--------------------------------|---------------|------------|
| C 1 2 N 15/09 (2006.01) | C 1 2 M 1/34 | B |
| | C 1 2 M 1/34 | Z |
| | C 1 2 M 1/34 | F |
| | C 1 2 N 15/00 | A |

(74)代理人 100122736

弁理士 小國 泰弘

(74)代理人 100122747

弁理士 田中 洋子

(74)代理人 100132540

弁理士 生川 芳徳

(74)代理人 100141357

弁理士 鈴木 音哉

(72)発明者 ギルフォード, パリー・ジョン

ニュージーランド国、ダニディン、イースト・タイエリ、リカルトン・ロード・イースト 3 8

Fターム(参考) 4B024 AA12 CA12 DA03 HA14

4B029 AA07 BB11 BB17 BB20 CC02 CC08 FA03 FA12

4B063 QA13 QA18 QQ03 QQ42 QQ53 QQ79 QR36 QR48 QR62 QR72

QS02 QS25 QS33 QS34 QX01

【外国語明細書】

2014221073000001.pdf

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 用于癌症检测的尿液基因表达比率 | | |
| 公开(公告)号 | JP2014221073A | 公开(公告)日 | 2014-11-27 |
| 申请号 | JP2014151713 | 申请日 | 2014-07-25 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 环太平洋生物技术有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 太平洋边缘生物科技Rimitido | | |
| [标]发明人 | ギルフォードパリージョン | | |
| 发明人 | ギルフォード,パリージョン | | |
| IPC分类号 | C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/574 C12Q1/04 C12M1/34 C12N15/09 | | |
| CPC分类号 | C12Q1/6886 C12Q2600/118 C12Q2600/158 G01N33/57407 G16H50/20 Y02A90/26 C12Q1/6813 C12Q2600/16 | | |
| FI分类号 | C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/574.A G01N33/53.D C12Q1/04 C12M1/34.B C12M1/34.Z C12M1/34.F C12N15/00.A C12M1/00.A C12Q1/6886.C C12Q1/6886.Z | | |
| F-TERM分类号 | 4B024/AA12 4B024/CA12 4B024/DA03 4B024/HA14 4B029/AA07 4B029/BB11 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC02 4B029/CC08 4B029/FA03 4B029/FA12 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QQ03 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR36 4B063/QR48 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QS02 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 | | |
| 代理人(译) | 津国 肇 三宅 俊男 阿基奥·希巴达 田中洋子 | | |
| 优先权 | 545243 2006-02-10 NZ | | |
| 其他公开文献 | JP6062399B2 | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

摘要(译)

要解决的问题：提供一种基于对低表达肿瘤标志物 (TM) 和至少一种其他TM的表达水平的分析来确定受试者中是否存在癌症的方法，以检测膀胱癌。 解决方案：通过对至少一种低表达TM，特别是低表达膀胱TM (BTM) 和至少一种过表达TM，更具体地说是过表达BTM的表达水平进行比率，回归或分类分析，即可获得癌症。 ，尤其适用于膀胱癌。 此外，用于执行这些方法的套件和设备。 [选择图]无

| | | 特開2014-221073 (P2014-221073) | |
|---|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| | | (43) 公開日 平成26年11月27日 (2014. 11. 27) | |
| (51) Int. Cl. | F I | テーマコード (参考) | |
| C 1 2 Q 1 / 6 8 (2006. 01) | C 1 2 Q 1 / 6 8 | A | 4 B 0 2 4 |
| G O 1 N 3 3 / 5 3 (2006. 01) | G O 1 N 3 3 / 5 3 | M | 4 B 0 2 9 |
| G O 1 N 3 3 / 5 7 4 (2006. 01) | G O 1 N 3 3 / 5 7 4 | A | 4 B 0 6 3 |
| C 1 2 Q 1 / 0 4 (2006. 01) | G O 1 N 3 3 / 5 3 | D | |
| C 1 2 M 1 / 3 4 (2006. 01) | C 1 2 Q 1 / 0 4 | | |
| 審査請求 有 請求項の数 27 O L 外国語出願 (全 57 頁) 最終頁に | | | |
| (21) 出願番号 | 特開2014-151713 (P2014-151713) | (71) 出願人 | 504380120 |
| (22) 出願日 | 平成26年7月25日 (2014. 7. 25) | | パシフィック エッジ バイオテクノロ |
| (62) 分割の表示 | 特開2008-554172 (P2008-554172) の分割 | | ー リミティド |
| 発出願日 | 平成18年2月8日 (2007. 2. 8) | | ニュージーランド国、ダニディン、モレ |
| (31) 優先権主張番号 | 545243 | | ・ブレイス 481、オタゴ・ハウス、 |
| (32) 優先日 | 平成18年2月10日 (2006. 2. 10) | (74) 代理人 | 100078682 |
| (33) 優先権主張国 | ニュージーランド (NZ) | | 弁理士 津国 肇 |
| | | (74) 代理人 | 100119079 |
| | | | 弁理士 伊藤 佐保子 |
| | | (74) 代理人 | 100116528 |
| | | | 弁理士 三宅 俊男 |
| | | (74) 代理人 | 100146031 |
| | | | 弁理士 柴田 明夫 |