

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-507175**(P2015-507175A)**(43) 公表日 **平成27年3月5日(2015.3.5)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 D	4 B O 2 4
GO 1 N 33/577 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A	4 B O 6 3
GO 1 N 33/536 (2006.01)	GO 1 N 33/577 B	4 B O 6 5
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	GO 1 N 33/536 D	4 C O 8 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-544870 (P2014-544870)	(71) 出願人	509012625 ジェネンテック, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー ウェイ 1
(86) (22) 出願日	平成24年11月29日 (2012.11.29)	(74) 代理人	100109726 弁理士 園田 吉隆
(85) 翻訳文提出日	平成26年7月24日 (2014.7.24)	(74) 代理人	100101199 弁理士 小林 義教
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/066998	(72) 発明者	アトウォル, シミンダー アメリカ合衆国 カリフォルニア 940 80, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテ ッド
(87) 国際公開番号	W02013/082249		最終頁に続く
(87) 国際公開日	平成25年6月6日 (2013.6.6)		
(31) 優先権主張番号	61/629, 886		
(32) 優先日	平成23年11月29日 (2011.11.29)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/703, 099		
(32) 優先日	平成24年9月19日 (2012.9.19)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

(54) 【発明の名称】 前立腺癌分析のための組成物及び方法

(57) 【要約】

本発明は、前立腺癌の診断方法を提供する。本発明はまた新規な抗 S T E A P - 1 抗体及びその使用を提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被検体における前立腺癌の診断の方法であって、

a) 被検体より採取される血液試料から得る上皮由来の癌細胞を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させることと、

b) 癌細胞のいずれかが前立腺特異的マーカーを発現するかを判定すること
を含み、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の存在が被検体における前立腺癌への罹患を予測する、方法。

【請求項 2】

前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の量を測定することを更に含み、その量が被検体における前立腺癌のステージを予測するものである、請求項 1 に記載の方法。 10

【請求項 3】

癌細胞上の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定することを更に含む、請求項 1 から 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 4】

前立腺特異的マーカーの発現レベルに基づいて癌細胞をグレード分類し、各グレードにおける癌細胞のパーセンテージを決定することを更に含む、請求項 1 から 3 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 5】

各グレードに対するグレードスコアを、該グレードにおける癌細胞のパーセンテージに、該グレードにおける前立腺特異的マーカーの発現レベルを表すグレード固有の番号を乗じることによって、算出することと、グレードスコアを全て合計することによって、被検体における前立腺癌のステージを示す指標である Hスコアを得ることを更に含む、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。 20

【請求項 6】

癌細胞が、上皮由来の癌細胞に特異的に結合するリガンドを含む捕捉組成物を用いて血液試料から識別される、請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 7】

リガンドが、癌細胞に優先的に発現される上皮抗原に特異的に結合する抗体である、請求項 6 に記載の方法。 30

【請求項 8】

上皮抗原が上皮細胞接着分子 (E p C A M) である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

識別された癌細胞が血液試料から分離される細胞画分に濃縮される、請求項 6 から 8 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 10】

細胞画分が磁場下で分離される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

捕捉組成物中のリガンドが磁性粒子 (例えばコロイド状磁性粒子、例えばコロイド状磁性ナノ粒子) に結合する、請求項 10 に記載の方法。 40

【請求項 12】

リガンドが E p C A M 抗体を含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前立腺特異的マーカーが、前立腺 6 膜貫通上皮抗原 (S T E A P)、前立腺特異的膜抗原 (P S M A)、前立腺癌腫瘍抗原 (P C T A - 1)、及び前立腺幹細胞抗原 (P S C A) から成る群より選択される、請求項 1 から 12 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体が抗 S T E A P - 1 抗体を含む、請求項 1 から 13 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 15】

抗STEAP-1抗体が K_D 値1000nM以下でSTEAP-1と結合する、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

抗STEAP-1抗体がポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体である、請求項14から15の何れか一項に記載の抗体。

【請求項17】

抗STEAP-1抗体がマウスモノクローナル抗体である、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

抗STEAP-1抗体が微生物寄託番号PTA-12259のハイブリドーマ細胞により産生される15A5である、請求項17に記載の方法。

10

【請求項19】

抗STEAP-1抗体が検出可能な第1の標識とコンジュゲートされる、請求項14から18の何れか一項に記載の方法。

【請求項20】

癌細胞が、上皮由来の癌細胞の検出を可能にする一つ以上の試薬を用いて識別される、請求項1から19の何れか一項に記載の方法。

【請求項21】

試薬が、サイトケラチンに特異的に結合するリガンドを含み、リガンドが、検出可能な第2の標識と任意選択的にコンジュゲートされる、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

試薬が細胞を非細胞成分から識別する色素を更に含む、請求項20から21の何れか一項に記載の方法。

20

【請求項23】

色素が4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール(DAPI)である、請求項22に記載の方法。

【請求項24】

試薬が白血球マーカーに特異的に結合するリガンドを更に含み、リガンドが検出可能な第3の標識と任意選択的にコンジュゲートされる、請求項20から23の何れか一項に記載の方法。

【請求項25】

白血球マーカーに対するリガンドがCD45抗体である、請求項24に記載の方法。

30

【請求項26】

判定が、免疫蛍光顕微鏡法、フローサイトメトリー、光ファイバースキャンサイトメトリー、又はレーザースキャンサイトメトリーに基づく方法による、請求項1から25の何れか一項に記載の方法。

【請求項27】

被検体における前立腺癌治療の有効性を予測する方法であって、

a) 被検体より採取した血液試料から得られる上皮由来の癌細胞を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させることと、

b) 癌細胞のいずれかが前立腺特異的マーカーを発現するかを判定すること

40

を含み、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の存在が、被検体における前立腺癌治療の有効性を予測する、方法。

【請求項28】

被検体における前立腺癌治療への応答をモニターする方法であって、

a) 被検体より採取した第1の血液試料から得られる上皮由来の癌細胞の第1群を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させること、

b) 前立腺特異的マーカーを発現する第1群の癌細胞の量及び/又は癌細胞中の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定すること、

c) 前立腺癌治療の試験期間後に被検体から採取した第2の血液試料から得られる上皮由来の癌細胞の第2群を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させるこ

50

と、

d) 前立腺特異的マーカーを発現する第2群の癌細胞の量及び/又は癌細胞中の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定すること、及び

e) ステップb) で測定した前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の量及び/又は前立腺特異的マーカーの発現レベルと、ステップd) でのそれらの値を比較すること

を含み、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の量の減少及び/又は癌細胞中の前立腺特異的マーカーの発現レベルの低下が、被検体における前立腺癌治療への応答を予測する、方法。

【請求項29】

前立腺癌治療が前立腺特異的マーカーに結合する抗体又は抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を含む、請求項27から28の何れか一項に記載の方法。

10

【請求項30】

前立腺特異的マーカーがSTEAP-1である、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

ADCが、細胞傷害剤に共有結合した抗STEAP-1抗体を含む、請求項27から30の何れか一項に記載の方法。

【請求項32】

細胞傷害剤が、毒素、化学療法剤、薬剤の構成成分、モノメチルアウリスタチンE(MMAE)、抗生剤、放射性同位体、及び核酸分解酵素から選択される、請求項31に記載の方法。

20

【請求項33】

抗体15A5が結合するエピトープと実質的に同じエピトープに結合する抗体であって、ここで抗体15A5が微生物寄託番号PTA-12259のハイブリドーマ細胞により産生される、抗体。

【請求項34】

抗体15A5のCDR領域のうちの少なくとも一つを含む、請求項33に記載の抗体。

【請求項35】

抗体15A5の6つのCDR領域を含む、請求項34に記載の抗体。

【請求項36】

抗体15A5の重鎖可変領域を含む、請求項33から35の何れか一項に記載の抗体。

30

【請求項37】

抗体15A5の軽鎖可変領域を含む、請求項33から36の何れか一項に記載の抗体。

【請求項38】

抗体15A5又はその抗原結合性断片である、請求項33から37の何れか一項に記載の抗体。

【請求項39】

検出可能な標識に更にコンジュゲートされた、請求項33から38の何れか一項に記載の抗体。

【請求項40】

請求項33から39の何れか一項に記載の抗体をコードする、単離されたポリヌクレオチド。

40

【請求項41】

請求項40に記載のポリヌクレオチドを含む宿主細胞。

【請求項42】

微生物寄託番号PTA-12259として寄託されているハイブリドーマ細胞株。

【請求項43】

前立腺癌の診断用薬剤の製造における、請求項33から39の何れか一項に記載の抗体又はその抗原結合性断片の使用。

【請求項44】

STEAP-1に特異的に結合する抗体を含む、血液試料中のSTEAP-1発現前立

50

腺癌細胞の存在を検出するための検査キット。

【請求項 4 5】

抗体が検出可能な標識とコンジュゲートされる、請求項 4 4 に記載の検査キット。

【請求項 4 6】

抗体が請求項 3 3 から 3 9 の何れか一項に記載の抗体である、請求項 4 4 又は 4 5 に記載の検査キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

10

本出願は、その内容全体が本明細書において出典明示により援用される、2011年1月29日に提出された米国特許仮出願第61/629886号及び2012年9月19日に提出された米国特許仮出願第61/703099号の米国特許法第119条(e)に基く優先権を主張する。

【0002】

本発明は、腫瘍学及び癌診断の分野に関し、特に前立腺癌のスクリーニング、ステージング及び治療モニタリングのための組成物及び方法に関する。

【背景技術】

【0003】

前立腺癌は男性において最も高頻度に見られる癌の一つである。大多数の前立腺癌は発症早期において症状がなく増殖が遅い一方で、ある種の前立腺癌はより侵襲性、有痛性、致死性を有する。現在、2つの主要なタイプの非侵襲的スクリーニング検査が男性における前立腺癌発見のために利用可能である。一つは直腸指診(DRE)であり、これは医師が手袋で覆われた指を直腸に挿入し前立腺に触れることにより前立腺の異常を発見するものである。もう一つは、前立腺表面抗原検査(PSA検査)であり、これは血液試料中のPSAレベルを測定するものである。米国食品医薬品局(FDA)は、男性における前立腺癌の発見に役立てるためにDREと併用したPSA検査の使用を認可したが、PSA検査は、実際に人命を救うかどうか明らかでないため、スクリーニングにおいて論争がある。特に、最近、米国予防医学作業部会(USPSTF)は、PSAスクリーニングは不必要な痛みや副作用を引き起こす治療や検査を招く一方で、前立腺癌死亡率を全く或いはほとんど低下させないという調査結果に基づき、健常男性におけるPSAスクリーニングを行わないよう勧告した(例えば、R. Chou等, Ann. Intern. Med., October 7, 2011 E-375; Djulibegovic等, BMJ 2010, 341: c4543を参照)。前立腺癌の最も決定的な診断は生検であり、腫瘍細胞の有無を調べる顕微鏡検査を行うために、疑われる患者から前立腺の薄片を切除する。明らかに、そのような処置はむしろ侵襲性が高く、初期のスクリーニング検査では望ましくない。

20

30

【0004】

他のあらゆるタイプの癌と同様に、前立腺癌患者の死亡は原発腫瘍によるのではなく転移による場合がほとんどである。原発腫瘍細胞の中には、原発組織から離れて体内を循環するものもある。これらの細胞は循環腫瘍細胞(CTC)と呼ばれる。一度CTCが体内の好適な部位に種をまくように広がれば、転移性コロニーを形成する可能性がある。転移性コロニーは発見が難しい上に、二次性腫瘍へと進行するうちに死亡等の重篤な事態が生じるおそれがある。CTC検出のためにこれまでさまざまな試みがなされている。しかし、CTCの原発部位が前立腺なのかを識別し、また、前立腺癌の進行度を判定する方法はこれまで開発されていない。PSAスクリーニングが死亡率低下に寄与していないという最近の研究結果を考慮すると、前立腺癌の診断及び予後診断において、信頼性のある結果を提供することが可能な薬剤及び方法の開発に対するニーズは依然として非常に高い。

40

【発明の概要】

【0005】

一態様において、本開示は、被検体について前立腺癌を診断するための方法であって、

50

a) 前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と、被検体より採取した血液試料中の上皮由来の複数の癌細胞を接触させることと、b) 癌細胞の何れかが前立腺特異的マーカーを発現しているかどうかを判定することを含み、ここで、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の存在が、被検体における前立腺癌の存在を予測する、方法を提供する。

【0006】

ある実施態様において、この方法は、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の量を測定することを更に含み、この量は被検体における前立腺癌のステージを予測するものである。

【0007】

ある実施態様において、この方法は、該癌細胞上の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定することを更に含む。

【0008】

ある実施態様において、この方法は、前立腺特異的マーカーの発現レベルに基づいて該癌細胞をグレード分類し、各グレードにおける該癌細胞のパーセンテージを決定することを更に含む。

【0009】

ある実施態様において、この方法は、各グレードの癌細胞のパーセンテージに、前立腺特異的マーカーの発現レベルに基づいて割り当てられたそのグレード固有のグレード番号を乗じて各グレードのスコアを算出することと、この全グレードのスコアを合計することによって、被検体における前立腺癌のステージを表す指標であるHスコアを得る、方法を

【0010】

ある実施態様において、癌細胞は、上皮由来の癌細胞に特異的に結合するリガンドを含む捕捉組成物によって、血液試料から識別される。ある実施態様において該リガンドは、癌細胞上に優先的に発現する上皮抗原に特異的に結合する抗体である。ある実施態様において、この上皮抗原は上皮細胞接着分子(EpCAM)である。

【0011】

ある実施態様において、識別された癌細胞は、血液試料から分離した細胞画分に濃縮される。ある実施態様において、この細胞画分は、磁場下で分離される。ある実施態様において、捕捉組成物中のリガンドは、磁性粒子に結合する。

【0012】

ある実施態様において、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体は、抗STEAP-1抗体を含む。ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、Kd値1000nM以下でSTEAP-1と結合する。ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、マウスモノクローナル抗体である。ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、微生物寄託番号PTA-12259として寄託されているハイブリドーマ細胞により産生された15A5である。

【0013】

ある実施態様において、癌細胞は、上皮由来の癌細胞の検出を可能にする一つ以上の試薬を用いて識別される。ある実施態様において、この試薬は、サイトケラチンに特異的に結合するリガンドを含み、そのリガンドは検出可能な第2標識と任意選択的にコンジュゲートされる。ある実施態様において、この試薬は、細胞を非細胞成分から識別する色素を更に含む。ある実施態様において、該試薬は、白血球マーカーに特異的に結合するリガンドを更に含む。

【0014】

ある実施態様において、癌細胞は、免疫蛍光顕微鏡法、フローサイトメトリー、光ファイバースキャンサイトメトリー、又はレーザースキャンサイトメトリーに基づく方法によって検出される。

【0015】

別の態様において、本発明は、被検体における前立腺癌治療の効果を予測する方法を提

10

20

30

40

50

供する。

【0016】

別の態様において、本発明は、被検体における前立腺癌治療に対する応答をモニターする方法を提供する。

【0017】

別の態様において、本発明は、抗体15A5が結合するエピトープと実質的に同じエピトープに結合する抗体を提供し、ここで、抗体15A5は微生物寄託番号PTA-12259として寄託されているハイブリドーマ細胞により産生されるものである。

【0018】

別の態様において、本発明は、微生物寄託番号PTA-12259として寄託されているハイブリドーマ細胞株を提供する。

10

【0019】

別の態様において、本発明は、STEAP-1に特異的に結合する抗体を含む血液試料中の、STEAP-1を発現している前立腺癌細胞を検出するための検査キットを提供する。ある実施態様において、この検査キットは、上皮由来の癌細胞に特異的に結合する第1リガンド、上皮マーカーに特異的に結合する第2リガンド、及び白血球マーカーに特異的に結合する第3リガンドに結合する磁性粒子、並びに、細胞を非細胞成分から識別する色素から成る群より選択される一つ以上の組成物を更に含む。

【図面の簡単な説明】

【0020】

20

【図1】抗STEAP-1抗体による染色レベルに基づくCTCの代表的なスコアリング基準を示す。

【図2A】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体、マウスモノクローナル抗STEAP-1抗体37、及びウサギポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、LB50細胞上のSTEAP-1発現を示す。

【図2B】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体、及びウサギポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、PC3細胞上のSTEAP-1発現を示す。

【図2C】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体、マウスモノクローナル抗STEAP-1抗体37、及びウサギポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、LB50細胞のHスコアを示す。

30

【図2D】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体、及びウサギポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、PC3細胞のHスコアを示す。

【図3A】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、異なるスパイク試料におけるSTEAP-1発現を示す。

【図3B】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、異なるスパイク試料におけるHスコアを示す。

40

【図4】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、11名の患者の血液試料におけるHスコアを示す。

【図5A】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、10名の患者の血液試料におけるHスコアを示す。

【図5B】同じ患者由来の腫瘍組織試料でのIHC結果と、上記結果との比較を示す。

【図5C】同じ患者由来の腫瘍組織試料でのIHC結果と、上記結果との比較を示す。

【図6A】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search（登録商標）システムで測定された、異なるスパイク試料におけるSTEAP-1発現を示す。

【図6B】ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体を使用してCell Search

50

(登録商標)システムで測定された、異なるスパイク試料におけるHスコアを示す。

【図6C】マウスモノクローナル抗STEAP-1抗体15A5を使用してCellSearch(登録商標)システムで測定された、異なるスパイク試料におけるSTEAP-1発現を示す。

【図6D】マウスモノクローナル抗STEAP-1抗体15A5を使用してCellSearch(登録商標)システムで測定された、異なるスパイク試料におけるHスコアを示す。

【図7A】同一患者のペア試料におけるCTC計数の再現性を、患者ごとのCTC数によって示す。

【図7B】同一患者のペア試料由来のCTCにおけるSTEAP-1バイオマーカー発現レベルの再現性を、患者ごとのHスコアによって示す。

【図8】ベースライン1及び2で採取された血液試料間でのCTC数の高い相関性を示す。

【図9】投与量1-7の用量漸増療法期間中の患者におけるCTC数の、投与前後での倍数変化を示す。

【図10】投与量1-7の用量漸増療法期間中の患者における投与前及び投与後のCTC数を示す。

【図11】投与量1-7の用量漸増療法期間中の患者における投与前及び投与後のCTC数を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

I. 定義

用語「腫瘍」又は「癌」は、本明細書では互換的に使用され、腫瘍性又は悪性の細胞の成長、増殖もしくは転移によって特徴づけられるいかなる病状も意味し、また、固形癌と、白血病などの非固形癌の両方を含む。

【0022】

本明細書で用いられる用語「前立腺癌」又は「前立腺腫瘍」は、前立腺組織由来の癌又は腫瘍を指す。

【0023】

(癌や腫瘍など)疾患の文脈で用いられる用語「ステージ」は、その疾患の進行度(重症度)を指す。

【0024】

本明細書で用いられる用語「ステージング」は、疾病がどこまで進行しているのか、そのステージを判定することを指す。

【0025】

本明細書で用いられる用語「診断」(及び「診断する」や「診断の」などの文法的変形)は、癌の識別など、分子状態もしくは病的状態、疾患や病状の識別を指し、又は、特定の治療計画が効果的な癌患者を識別することを指す。

【0026】

本明細書で用いられる用語「予後」(及び「予後診断する」や「予後の」等の文法的変形)は、癌治療などの療法が効果を発揮する可能性の予測を指す。

【0027】

本明細書で用いられる用語「予測」又は「予測する」は、患者が特定の抗前立腺癌療法に好ましい応答もしくは好ましくない応答を示す可能性を指す。一実施態様では、予測は、それらの応答の程度に関するものである。一実施態様では、予測は、例えば特定の治療薬による治療の後に、患者が生存もしくは改善していて、ある一定期間疾患の進行がみられないかどうか、及び/又はその可能性に関する。

【0028】

用語「効果」は、最も広い意味で用いられており、いかなる望ましい効果をも意味し、特に本明細書に定義されているような臨床効果を含む。

10

20

30

40

50

【0029】

「個体」又は「被検体」は、哺乳動物である。哺乳動物は、限定されないが、家畜動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ウマ）、霊長類（例えば、ヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、げっ歯類（例えば、マウスやラット）を含む。ある実施態様において、個体又は被検体はヒトである。

【0030】

用語「前立腺6膜貫通上皮抗原1」（又はSTEAP-1とも称される）は、主に前立腺組織において発現され、複数の癌細胞株において発現上昇することが認められている細胞表面抗原を指す。Hubert等（1999）, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96(25), 14523-8. 典型的ヒトSTEAP-1は、2007年10月26日出願の米国特許出願公開第2009/0280056号に記載の配列番号：1のアミノ酸配列を持ち、この出願は出典明示によりその全文が本明細書中に明示的に援用される。

10

【0031】

用語「抗STEAP-1抗体」及び「STEAP-1に結合する抗体」は、STEAP-1を標的とした診断剤として有用となるように、十分な親和性を有してSTEAP-1と結合することができる抗体を指す。一実施態様では、無関係の、非STEAP-1タンパク質への抗STEAP-1抗体の結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定した場合、該抗体のSTEAP-1への結合の約10%未満である。ある実施態様において、STEAP-1へ結合する抗体の解離定数（Kd）は、1 μM、100 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM、又は0.001 nM（例えば10⁻⁸ M以下、例えば10⁻⁸ Mから10⁻¹³ M、例えば10⁻⁹ Mから10⁻¹³ M）である。ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、異なる種由来のSTEAP-1間で保持されているSTEAP-1のエピトープに結合する。

20

【0032】

「親和性」とは、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総和の強度を指す。本明細書に用いられる「結合親和性」とは、別段の記載がない限り、結合対（例えば、抗体と抗原）のメンバー間の1対1の相互作用を反映している本質的な結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は、一般的に解離定数（Kd）で表すことができる。親和性は、本明細書に記載したものを含む、当該技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例示であって典型的な実施態様は、以下で説明される。

30

【0033】

用語「抗体」は、本明細書で最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造を包含し、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び、所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含むがこれらに限定されない。

【0034】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原に結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定されないが、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、ダイアボディ、直鎖状抗体、単鎖抗体分子（例えば、scFv）、及び、抗体断片から形成される多重特異性抗体などがある。

40

【0035】

参照抗体と「同一のエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて50%以上、参照抗体のその抗原への結合をブロックする抗体を指す。また逆に参照抗体は、競合アッセイにおいて50%以上、該抗体のその抗原への結合をブロックする。典型的な競合アッセイを本明細書で提供する。

【0036】

本明細書に用いられる用語「抗体15A5」は、微生物寄託番号PTA-12259として寄託されているハイブリドーマ細胞株により産生された、マウスモノクローナル抗S

50

TEAP-1抗体を指す。このハイブリドーマ細胞株の微生物寄託情報は後述の通りである。ATCC寄託番号：PTA-12599、寄託日：2011年11月17日、寄託材料：抗体15A5を産生するハイブリドーマ15A5.1.1.1(7284とも標記)

【0037】

抗体の「クラス」は、その重鎖の定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体の主要なクラスには、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMの5つがあり、これらの幾つかは、更にサブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IGA₁、及びIgA₂に分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインはそれぞれ、 γ 、 δ 、 ϵ 、 μ と呼ばれる。

10

【0038】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「全抗体」は、本明細書中で互換的に使用され、天然抗体構造と実質的に類似の構造を有するか、又は本明細書で定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【0039】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、通常少量存在する、起こりうる変異体抗体(例えば自然発生的な突然変異やモノクローナル抗体製剤の製造時に発生する変異体)を除いて同一であり、及び/又は、同じエピトープに結合する。異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を一般的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。従って、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定されないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法を含む様々な技術によって作製され、モノクローナル抗体を作製するためのこれらの方法及び他の典型的な方法は、本明細書に記載されている。

20

【0040】

「天然抗体」は、様々な構造を有する天然に生じる免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然IgG抗体は、ジスルフィド結合している2本の同一の軽鎖と2本の同一の重鎖から成る約150000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端にかけて各重鎖は、可変重鎖ドメイン又は重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VH)を有し、3つの定常ドメイン(CH1、CH2及びCH3)が続く。同様に、N末端からC末端にかけて各軽鎖は、可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VL)を有し、一つの定常軽鎖(CL)ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ(κ)とラムダ(λ)と呼ばれる、2つのタイプのいずれかに分けることができる。

30

【0041】

本明細書で用いられる用語「細胞傷害剤」は、細胞の機能を阻害もしくは阻止し、及び/又は細胞死もしくは破壊を生ずる物質を指す。細胞傷害剤は、限定されないが、放射性同位体(例えば、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²及びLuの放射性同位体)、化学療法剤又は薬物(例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ピンカルカロイド(ピンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド)、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシン又は他の挿入剤)、成長阻害剤、核酸分解酵素などの酵素及びその断片、抗生物質、小分子毒素又は細菌、真菌、植物もしくは動物由来の酵素活性毒素(それらの断片及び/又はその変異体を含む)などの毒素を含む。本発明に好適な細胞傷害剤の例は、出典明示によりその全文が本明細書中に明示的に援用される、2007年10月26日出願の米国特許出願公開第2009/0280056号に記載さ

40

50

れているが、これに限定されない。例えば、ある実施態様において、細胞傷害剤は、モノメチルアウリスタチン E (MMAE) である。

【0042】

「単離された」抗体は、その天然の環境の成分から分離された抗体である。幾つかの実施態様において、抗体は、例えば、電気泳動法 (SDS-PAGE、等電点電気泳動法 (IEF)、キャピラリー電気泳動法など)、又はクロマトグラフィー (例えば、イオン交換や逆相 HPLC) により決定して 95% 又は 99% より大きい純度まで精製される。抗体純度の評価法の総説としては、例えば Flatman 等, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007) を参照のこと。

「単離された」核酸は、その天然の環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、しかし、その核酸分子は、染色体外又は染色体上の本来の位置とは異なる染色体位置に存在している。

【0043】

「抗 STEAP-1 抗体をコードする単離された核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖 (又はその断片) をコードする一つ以上の核酸分子を指し、単一のベクター又は個々のベクター内のそのような核酸分子、及び、宿主細胞内の 1 以上の位置に存在するそのような核酸分子を含む。

【0044】

本明細書に用いられる用語「ベクター」は、それが結合される別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、及び、それが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。ある種のベクターは、それらが作動的に結合されている核酸の発現を指示することができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と言う。

【0045】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養」は互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫も含める。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、一次形質転換細胞、及び継代数に関係なくその細胞に由来する子孫を含む。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一ではない場合があり、変異体が含まれることがある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニング又は選択されたものと同じ機能もしくは生物活性を有する変異型子孫が本明細書に含まれる。

【0046】

用語「添付文書」は、治療用製品の商用パッケージに慣習的に含まれている注意書きを指し、それには、適応症、用法、用量、投与、併用療法、禁忌についての情報、及び/又は該治療用製品の使用についての警告が含まれている。

【0047】

II. 方法

一態様において、本発明は、被検体より採取した血液試料を用いて被検体における前立腺癌の診断又はステージングを行うための方法を提供する。特に、本発明は、CTC が一つ又はそれ以上の前立腺特異的マーカーを発現しているかどうかを判定することにより、被検体における前立腺癌の診断又はステージングを行うための方法を提供する。

【0048】

本明細書で提供される方法において、CTC は、一つ又はそれ以上の前立腺特異的マーカーを発現しているかどうかを調べるために解析される。CTC 上の前立腺特異的マーカーの検出は、前立腺癌の診断及びステージングに関する更なる情報を提供する。

【0049】

ある実施態様において、本発明は被検体に前立腺癌の診断又はステージングを行うための方法であり、a) 前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と、被検体より採取した血液試料中の上皮由来の複数の癌細胞を接触させることと、b) これらの癌細胞の何れかが前立腺特異的マーカーを発現しているかどうかを判定することを含む方法を提供する。また、この前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の存在は、被検体における前立腺癌

10

20

30

40

50

の存在を予測するものである。

【 0 0 5 0 】

用語「上皮由来の癌細胞」は、少なくとも一つの上皮性マーカーを発現する癌細胞を指す。本明細書で使用される用語「マーカー」は、特定のタイプの細胞に選択的に発現し、それらの細胞を他のタイプの細胞から識別するのを助ける抗原分子を指す。例えば、上皮性マーカーは、すべての上皮細胞表面に発現するが白血球表面には通常見られない抗原分子である。上皮由来の癌細胞は、例えば、腫瘍マーカー（腫瘍細胞上に選択的に見られるが正常細胞表面にはあまり見られない抗原分子）も発現することがある。ある実施態様において、上皮由来の癌細胞はCTCを含む。

【 0 0 5 1 】

ある実施態様において、上皮由来の癌細胞は、癌細胞中にも選択的に見られる上皮性マーカーを少なくとも一つ発現する。このような上皮性マーカーの検出は、上皮由来の癌細胞を示唆する。ある実施態様において、このような上皮性マーカーは上皮細胞接着分子（EpCAM）である。

【 0 0 5 2 】

この上皮由来の癌細胞は、被検体より採取した血液試料から得たものである。この血液試料はヒト由来の血液で、例えば、血漿試料、血清試料、全血又は抗凝固剤等特定の薬剤で処理した血液など、任意の試料であってもよい。血液試料は、直接被検体より得るか、又は、被検体より血液サンプルを収集する組織から得ることができる。

【 0 0 5 3 】

ある実施態様において、癌細胞は捕捉組成物を用いて血液試料から識別される。ある実施態様において、この捕捉組成物は、上皮由来の癌細胞に特異的に結合するリガンドを含む。ある実施態様において該リガンドは、癌細胞表面に選択的に発現する上皮抗原に特異的に結合する抗体である。ある実施態様において、この上皮抗原はEpCAMである。

【 0 0 5 4 】

本明細書に用いられる用語「識別（する）」は、上皮由来の癌細胞を血液試料中の他の成分から実質上区別することを指す。例えば、上皮由来の癌細胞は捕捉組成物により結合されるか又は捕捉され、一方、他の成分は結合又は捕捉されない。

【 0 0 5 5 】

識別された癌細胞は、血液試料中の他の成分から分離される場合とされない場合がある。ある実施態様において、識別された癌細胞は試料中の他の成分から分離又は濃縮されていない。例えば、血清試料などの血液試料は、スライドに載せられ、捕捉組成物によって識別され、分離又は濃縮操作なしで他の試薬と更に接触させられる。

【 0 0 5 6 】

ある実施態様において、識別された癌細胞は血液試料から分離した細胞画分に濃縮される。本明細書で用いられる用語「濃縮」は、細胞画分中の識別された癌細胞の濃度が、血液試料中よりも高いことを指す。任意の好適な技術が細胞画分を分離するために使用されてよい。癌細胞の分離を可能にする捕捉組成物と癌細胞との複合体形成後に用いられる、当該技術分野において一般的な技術は、限定されないが、例えば、重力分離、磁気分離、アフィニティー分離を含む。重力分離に関して捕捉組成物は、識別された癌細胞の濃縮を可能にするために沈降することができる粒子又はビーズに結合する。磁気分離に関して捕捉組成物は、好適な磁場で分離することができる磁気粒子に結合する。アフィニティー分離に関して捕捉組成物は、スライドなどの装置上で固定され、識別された細胞の捕捉を可能にする。

【 0 0 5 7 】

ある実施態様において、この細胞画分は磁場下で分離される。ある実施態様において、捕捉組成物中のリガンドは磁性粒子に結合する。

【 0 0 5 8 】

本明細書に記載の方法に適した磁性粒子は、当該技術分野で公知の方法を用いて調製することができる。例えば、米国特許第5597531号、第5698271号、及び第6

10

20

30

40

50

365362号を参照のこと。また、手順はLiberti等, In Fine Particles Science and Technology、777-90, E. Pelizzetti (編)(1996)にも記載されている。簡単には、磁性粒子はポリマー又はタンパク質(例:ウシ血清アルブミン、カゼイン)でコーティングされた磁気コア(例:酸化鉄)を含む。磁性粒子の質量及び大きさは、磁性粒子が磁気応答性をもつが免疫蛍光検出のような分析技術ではほぼ検出されないように制御することができる。磁性粒子の好適なサイズは200nm未満であり、例えば90から150nmの粒度分布範囲が望ましい。磁性粒子の質量は70から90%の範囲である。

【0059】

ある実施態様において、磁性粒子はコロイド状である。かかるコロイド状磁性粒子は溶液中で長時間にわたりほぼ定常状態を保ち、また、重力下もしくは印加磁場が存在しない状態で凝集する傾向がない。ある実施態様において、磁性粒子はコロイド状ナノ粒子である。

10

【0060】

捕捉組成物中のリガンドは、当該技術分野で公知の任意の好適な方法を用いて磁性粒子に結合することができる。例えば、捕捉組成物は、スクシンイミジル-プロピオノ-ジチオピリジチオピリジン(SPD P)やスルホスクシンイミジル-4-(マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)などのヘテロ二官能性リンカーを用いて磁性粒子に直接結合することができる。他の例としては、ビオチン化抗体を含む捕捉組成物は、ストレプトアビジンに結合された磁性粒子に結合する。また、捕捉組成物及び磁性粒子は、アビジン-ビオチン、プロテインA-抗体Fc、受容体リガンド、及びレクチン-炭水化物など、結合をもたらす他の接合対と共に導入される。

20

【0061】

ある実施態様において、捕捉組成物はコロイド状磁性ナノ粒子に結合するEpCAM抗体を含む。ある実施態様において、Cell Search(登録商標)システム(ニュージャージー州ヴェリデックス社)が、識別された細胞で濃縮した細胞画分を分離するために用いられる。

【0062】

上皮由来の癌細胞を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させる。本明細書で用いられる用語「前立腺特異的」は、前立腺組織に選択的に見られるマーカーで、実質的に他の組織や細胞から前立腺の組織や細胞を識別する。ある実施態様において、この前立腺特異的マーカーは、前立腺細胞の表面マーカー又は細胞膜マーカーである。ある実施態様において、この前立腺特異的マーカーは、前立腺6膜貫通上皮抗原(STEAP-1)(例えば、Hubert等,(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 14523-14528参照)、前立腺特異的膜抗原(PSM)(例えば、Israeli, R. S.等,(1993) Cancer Res. 53,227-230参照)、前立腺癌腫瘍抗原(PCTA-1)(例えば、Su, Z. Z. et al, (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 7252-7257参照)及び前立腺幹細胞抗原(PSCA)(例えば、Reiter, R. E.等,(1998) Proc. Natl. Acad. Sci USA 95, 1735-1740参照)から成る群より選択される。典型的ヒトSTEAP-1は、出典明示によりその全文が本明細書中に明示的に援用される、2007年10月26日出願の米国特許出願公開第2009/0280056号に記載の配列番号:1のアミノ酸配列を有する。

30

40

【0063】

ある実施態様において、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体は、抗STEAP-1抗体を含む。ある実施態様において、抗STEAP-1抗体はKd値1000nm以下でSTEAP-1と結合する。抗STEAP-1抗体は、ポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体のいずれであってもよく、例えば、ヒツジ抗体、ウサギ抗体又はマウス抗体など、好適ないかなる種のものでよい。

【0064】

ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、マウスモノクローナル抗体である。ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、微生物寄託番号PTA-12259として寄託されているハイブリドーマ細胞により産生された15A5である。ある実施態様

50

において、抗STEAP-1抗体は、抗体15A5が結合するエピトープと実質的に同じエピトープに結合する抗体である。

【0065】

ある実施態様において、抗STEAP-1抗体は、検出可能な第1標識とコンジュゲートされる。任意の検出可能で好適な標識が使用されうる。ある実施態様において、検出可能な標識は、フルオロフォアAF-488、シアン色素誘導体、フルオレセイン、ローダミン、テキサスレッド、アミノメチルクマリン(AMCA)、フィコエリトリン、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)などの蛍光標識である。抗体を検出可能な標識とコンジュゲートさせる方法は、当該技術分野においてよく知られており、例えば、Hermanson, G..T., Bioconjugate techniques, Academic Press 2008を参照のこと。

10

【0066】

ある実施態様において、抗STEAP-1抗体はコンジュゲートされていない。非コンジュゲート抗STEAP-1抗体は、検出可能な標識(例:検出可能な第1標識)とコンジュゲートされた二次抗体を用いて検出される。このような二次抗体は、当該技術分野で一般に用いられているように、抗STEAP-1抗体と異なる種において産生される任意の抗体であり得、抗STEAP-1抗体の定常領域を認識する。

【0067】

ある実施態様において、癌細胞は、上皮由来の癌細胞の検出を可能にする一つ以上の試薬を用いて識別される。

【0068】

ある実施態様において、該試薬は、上皮マーカーに特異的に結合するリガンドを含む。ある実施態様において、該上皮マーカーはEpCAMではない。ある実施態様において、該上皮マーカーはサイトケラチンである。サイトケラチンはほぼ全ての上皮細胞に発現するタンパク質群の一つであり、上皮組織の細胞骨格でケラチン含有繊維を形成する。

20

【0069】

ある実施態様において、上皮マーカーに特異的に結合するリガンドは、抗サイトケラチン抗体で、検出可能な第2標識と任意に結合する。例えば、フィコエリトリン等の蛍光標識など、任意の好適な検出可能な標識が使用される。

【0070】

ある実施態様において該試薬は、細胞を非細胞成分から識別する、細胞特異的な色素を更に含む。例えば、細胞核を染色する色素が使用される。ある実施態様において、該色素は4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール(DAPI)である。

30

【0071】

ある実施態様において、該試薬は更に、白血球マーカーに特異的に結合するリガンドを含む。白血球マーカーは、すべての白血球表面に発現するが、非白血球表面には通常発現しないことから選択される。例えば、CD45は好適な白血球マーカーである。ある実施態様において、白血球マーカーに特異的に結合するリガンドは、検出可能な第3標識とコンジュゲートされる。例えば、該リガンドは、アロフィコシアニンと結合する抗CD45抗体であってもよい。抗CD45抗体によって識別された細胞の染色は、白血球を上皮由来のCTCから取り除くのに役立つ。

40

【0072】

一つの検査に一つ以上の検出可能な標識(色素を含む)が使用される場合、この検出可能な標識は、それぞれが試料中に存在する他のいかなる検出可能なシグナルを実質的に妨害することなく、単独で検出されるように選択されることが望ましい。例えば、検出可能な標識(色素を含む)は、検出条件下で異なる色を示す異なる蛍光分子であってもよい。

【0073】

検出は、例えば免疫蛍光顕微鏡法、フローサイトメトリー、光ファイバースキャンサイトメトリー又はレーザースキャンサイトメトリー等、任意の好適な方法を用いて行ってもよい。

【0074】

50

ある実施態様において、癌細胞は、細胞特異的な色素並びに、上皮マーカー、前立腺特異的マーカー及び白血球マーカーにそれぞれ結合する標識化された抗体やリガンドを用いて染色された後に、免疫蛍光顕微鏡検査のもと可視化される。細胞特異的な色素、上皮マーカー、及び前立腺特異的マーカーに対して陽性だが白血球マーカーに対して陰性の細胞は、前立腺特異的マーカーを発現する上皮由来の癌細胞に分類される。このような細胞は、フローサイトメトリーを用いても解析することができる。例えば、Cruz, I.等, Am J Clin Pathol, Vol. 123: 66-74 (2005)を参照のこと。

【0075】

もう一つの方法として、癌細胞をガラススライド表面に付着させ、スキャンして細胞特異的な色素、上皮マーカー、及び前立腺特異的マーカーに対して陽性だが白血球マーカーに対して陰性の細胞を探すこともできる（例えば、Marrinucci, D等, Human Pathology, Vol. 38, No. 3, 514-519(2007)参照）。同様に、ガラススライド表面に付着した識別された該細胞は、レーザースキャン技術で解析することもできる（例えば、Pachmann, K.等, Breast Cancer Research, Vol. 7, No. 6, R975-R979 (2005)参照）。

10

【0076】

ある実施態様において、これらの方法は更に、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の量を測定することを含み、この量は被検体における前立腺癌のステージを予測するものである。末梢血中の腫瘍細胞の数と、腫瘍のサイズ及び/又は悪性度との相関関係が成立するための仮定がいくつかなされている。例えば、直径1mmの腫瘍をもつ患者は抹消血液100mlあたり約6個の腫瘍細胞をもつ頻度が高いことが報告されている（例えば、米国特許第6365362号参照）。腫瘍のサイズの増大はこの頻度に比例するものと仮定すると、被検体の癌のステージを示す基準の策定が可能になる。ある実施態様において、初期又は転移性の前立腺癌と診断された複数の患者から採取した臨床血液試料が、これらの患者のために抹消血中の癌細胞の統計的レベルを測定するために使用され、また、それにより将来の検査や解析の基準を提供する。

20

【0077】

ある実施態様において、これらの方法は更に、この癌細胞上の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定することを含む。幾つかの前立腺特異的マーカーは、腫瘍の成長、転移及び/又は癌のステージの進行の結果として、その発現レベルが亢進される抗原である。このような前立腺特異的マーカーは、限定されないが、STEAP-1、PSMA、PCTA-1及びPSCAを含む。癌細胞上の前立腺特異的マーカーの発現レベルは、例えば前立腺特異的マーカーに対応する蛍光シグナルの強度によって測定するなど、任意の好適な方法によって測定することができる。

30

【0078】

ある実施態様において、これらの方法は更に、前立腺特異的マーカーの発現レベルに基づいて癌細胞をグレード分類し、各グレードにおける癌細胞のパーセンテージを決定する方法を含む。ある実施態様において、癌細胞は、前立腺特異的マーカーの発現レベルに応じて、高レベル群、中レベル群及び低レベル群にそれぞれ分類される。「高レベル」、「中レベル」及び「低レベル」の分類基準は、例えば、該マーカーの公知の発現レベルをもつ樹立した細胞株を用いて決定することができる。例えば、LB50細胞株は、STEAP-1を高いレベルに発現することが知られており、LnCAPner細胞株は、STEAP-1を中レベルに発現することが知られており、また、PC3細胞株は、STEAP-1を低レベルに発現することが知られている。従って、LB50細胞株と同等かそれ以上のSTEAP-1発現レベルが検出された癌細胞は、「高レベル」にグレード分類される。同様に、STEAP-1の発現レベルがLnCAPner細胞株のそれと同等かそれ以上だがLB50の示すレベルより低い癌細胞は、「中レベル」に分類される。STEAP-1の発現レベルがPC3細胞株のそれと同等かそれ以下のものは、「低レベル」に分類される。

40

【0079】

更に、各グレードにおける癌細胞の数が測定される。ある実施態様において、グレード

50

毎に癌細胞のパーセンテージが算出される。高レベル群の癌細胞のパーセンテージが高い場合、前立腺癌のステージが進行していることを示す。同様に、初期の前立腺癌は、高レベル群の癌細胞のパーセンテージが低く、及び/又は低レベル群の癌細胞のパーセンテージが高い。

【0080】

ある実施態様において、これらの方法は更に、各グレードの癌細胞のパーセンテージに、前立腺特異的マーカーの発現レベルに基づいて割り当てられたそのグレード固有のグレード番号を乗じて各グレードのスコアを算出することと、この全グレードのスコアを合計することによって、被検体の前立腺癌のステージを表す指標であるHスコアを得る方法を含む。例えば、グレード番号3は高レベル群に、2は中レベル群に、及び1は低レベル群に割り当てられ、これは、0から300のHスコアの範囲を規定するものである。高いHスコアは、高レベル群においてより細胞数が多いこと、すなわち、前立腺癌のステージがより進んでいることを示し、低いHスコアは、低レベル群においてより細胞数が多いこと、すなわち、前立腺癌が比較的初期のステージであることを示す。

10

【0081】

幾つかの実施態様では、これらの方法は更に、マーカーの存在及び/又はマーカーの存在頻度を判定することを含む。幾つかの実施態様において、マーカーの存在は、免疫組織化学的検査(「IHC」)、ウエスタンブロット解析、免疫沈降、分子結合アッセイ、ELISA、ELIFA、蛍光活性化細胞分類(「FACS」)、MassARRAY、プロテオミクス、定量的な血液に基づくアッセイ(例えば血清ELISA)、生化学酵素活性アッセイ、インサイツハイブリダイゼーション、ノーザン解析、定量的リアルタイムPCR(「qRT-PCR」)や他の増幅型検出方法(例えば、分枝DNA、SISBA、TMAなど)を含むポリメラーゼ連鎖反応(「PCR」)、RNA-Seq、FISH法、マイクロアレイ解析、遺伝子発現プロファイリング及び/又は遺伝子発現の連続分析(「SAGE」)、並びに、タンパク質、遺伝子及び/又は組織アレイ解析によって行われる多種多様なアッセイの何れか一つによっても判定される。ある実施態様において、マーカーの存在は、蛍光インサイツハイブリダイゼーション(FISH法)によって判定される。幾つかの実施態様では、該マーカーは、PTENである。幾つかの実施態様では、CTCは、3倍体である。幾つかの実施態様では、CTCは、PTEN欠損型3倍体である。幾つかの実施態様では、CTCは、CEP10 FISH法によって3倍体と判定される。幾つかの実施態様では、CTCは、PTEN FISH法によってPTEN欠損を含むと判定される。

20

30

【0082】

別の態様において、本発明は、被検体に対する前立腺癌治療の効果を予測する方法であり、a)前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と、被検体より採取した血液試料中の上皮由来の複数の癌細胞を接触させることと、b)これらの癌細胞の何れかが前立腺特異的マーカーを発現しているかどうかを判定することを含む方法も提供する。また、この前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の存在は、被検体に対する前立腺癌治療の効果を予測するものである。

【0083】

ある種の前立腺特異的マーカーは、前立腺癌治療の治療標的でもある。従って、CTC表面の該マーカーの発現レベル及びその変化は、該マーカーを標的とする治療の効果予測になる。

40

【0084】

ある実施態様において、これらの方法は更に、前立腺特異的マーカーを発現する癌細胞の量を測定すること、及び/又は癌細胞上の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定することを含む。例えば、臨床試験初期段階の投与前ベースライン試料由来の癌細胞上の前立腺特異的マーカー(例:STEAP-1)の発現レベルを、ある閾値を超える前立腺特異的マーカーの発現が前立腺癌治療(例:STEAP-1抗体-薬物コンジュゲート(ADC)に基づく治療)の臨床活性を予測するの否かを判定するために、臨床的エンドポ

50

イント（無進行生存率、P S A 値の変化、患者が訴える骨痛、全生存率など）と相関させることができる。癌細胞における前立腺特異的マーカー（例：S T E A P - 1）の発現レベルの動的変化（すなわち、投与後試料における低下）を臨床転帰評価尺度と相関させ、このような変化が治療活性を予測するの可否かを判定することができる。これらの手法は、前立腺癌治療（例：S T E A P - 1 A D C に基づく治療）を行う患者の選定のために使用可能な予測バイオマーカー候補としてのアッセイをクオリフィケーションする際の最初のステップとして用いることができ、次に検証的第 I I I 相試験でのプロスペクティブな検証へと続く。

【 0 0 8 5 】

別の態様において、本発明は、被検体における前立腺癌治療への反応をモニターするための方法であり、a) 被検体より採取した第 1 の血液試料から得た上皮由来の癌細胞の第 1 群を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させること、b) 前立腺特異的マーカーを発現している第 1 群の癌細胞の量及び / 又はこれらの癌細胞中の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定すること、c) 前立腺癌治療の試験期間後に被検体より採取した第 2 の血液試料から得た上皮由来の癌細胞の第 2 群を、前立腺特異的マーカーに特異的に結合する抗体と接触させること、d) 前立腺特異的マーカーを発現している第 2 群の癌細胞の量及び / 又はこれらの癌細胞中の前立腺特異的マーカーの発現レベルを測定すること、並びに、e) ステップ b) で測定した前立腺特異的マーカーを発現している癌細胞の量及び / 又は前立腺特異的マーカーの発現レベルと、ステップ d) で測定したそれらの値を比較することを含む方法を提供し、この前立腺特異的マーカーを発現している癌細胞の量の変化及び / 又はこれら癌細胞中の前立腺特異的マーカーの発現レベルの上昇は、被検体における前立腺癌治療への反応を予測するものである。ある実施態様において、この前立腺癌特異的マーカーは S T E A P - 1 である。

【 0 0 8 6 】

I I I . 抗体

別の態様において、本発明は、抗体 1 5 A 5 が結合するエピトープと実質的に同じエピトープに結合する抗体を提供し、この抗体 1 5 A 5 は微生物寄託番号 P T A - 1 2 2 5 9 として寄託されているハイブリドーマ細胞により産生されるものである。

【 0 0 8 7 】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、S T E A P - 1 への結合に関して 1 5 A 5 抗体と競合する。競合アッセイは、S T E A P - 1 への結合について、抗 S T E A P - 1 抗体 1 5 A 5 と競合する抗体を識別するために使用されてもよい。

【 0 0 8 8 】

典型的な競合アッセイにおいて、固定化した S T E A P - 1 が、S T E A P - 1 に結合する第 1 の標識化された抗体（例えば 1 5 A 5）、及び S T E A P - 1 への結合に関して第 1 の抗体と競合する能力について試験された未標識の第 2 の抗体を含む溶液中で培養される。この第 2 抗体はハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化した S T E A P - 1 が、第 2 の未標識の抗体でなく、第 1 の標識された抗体を含む溶液中で培養される。第 1 の抗体の S T E A P - 1 への結合を許容する条件下で培養した後、未結合の過剰な抗体を取り除き、固定化した S T E A P - 1 に結合した標識の量が測定される。もし、固定化 S T E A P - 1 に結合した標識の量が、対照試料と比較して検査試料中で実質的に減少している場合、それは、S T E A P - 1 への結合に関して、第 2 の抗体が第 1 の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY) を参照のこと。

【 0 0 8 9 】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、S T E A P - 1 に対する解離定数 (K_d) が、1 0 0 0 n M、1 0 0 n M、1 0 n M、1 n M、0 . 1 n M、0 . 0 1 n M、又は 0 . 0 0 1 n M（例えば、1 0⁻⁸ M 以下、例えば、1 0⁻⁸ M から 1 0⁻¹³ M、例えば、1 0⁻⁹ M から 1 0⁻¹³ M）である。

【0090】

一実施態様では、以下のアッセイにより説明されるように、 K_d は、目的の抗体のFab型とその抗原を用いて実施される放射標識抗原結合アッセイ(RIA)により測定される。非標識抗原の滴定系列の存在下でFabを最小濃度のヨウ素 125 I標識抗原と平衡させ、次に結合した抗原を抗Fab抗体でコーティングしたプレートに捕捉することによって、抗原に対するFabの溶液結合親和性を測定する(例としてChen等 J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照のこと)。アッセイの条件を決めるために、MICROTITER(登録商標)マルチウェルプレート(Thermo Scientific)を $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の捕捉抗Fab抗体(Cappel Labs)を含む 50 mM 炭酸ナトリウム($\text{pH} 9.6$)にて一晚コートして、その後 2% (w/v)のウシ血清アルブミンを含むPBSにて室温(およそ 23°C)で2~5時間ブロックする。非吸着プレート(Nunc # 269620)において、 100 pM 、又は、 26 pM の $[^{125}\text{I}]$ 抗原を、段階希釈した目的のFabと混合する(例えば、Presta等, Cancer Res. 57: 4593-4599(1997)の抗VEGF抗体、Fab-12の評価と一致)。次に、目的のFabを一晚培養する。ただし、培養は平衡状態に達したことを確認するまで長時間(例えばおよそ65時間)かかるかもしれない。その後、混合物を捕捉プレートに移し、室温で培養する(例えば1時間)。そして、溶液を取り除き、プレートを 0.1% のポリソルベート20(Tween-20(登録商標))を含むPBSにて8回洗浄する。プレートが乾燥したら、 $150 \mu\text{l}/\text{well}$ の閃光物質(MICROSCINT-20(商標)、Packard社製)を加え、プレートをTOPCOUNT(商標)ガンマカウンター(Packard社製)で10分間計測する。それぞれ最大結合の 20% 以下の濃度のFabを選択して競合結合アッセイに用いる。

【0091】

他の実施態様によると、 ~ 10 反応単位(RU)の固定化した抗原CM5チップを用いて 25°C のBIACORE(登録商標)-2000又はBIACORE(登録商標)-3000(ニュージャージー州ピスケイタウェイ、BIAcore社製)にて表面プラズモン共鳴アッセイを行って K_d を測定する。簡単には、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5、BIAcore社製)を、提供者の指示書に従ってN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)、及び、N-ヒドロキシスクシニミド(NHS)で活性化する。抗原を 10 mM 酢酸ナトリウム($\text{pH} 4.8$)で $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($\sim 0.2 \mu\text{M}$)に希釈し、結合したタンパク質の反応単位(RU)がおよそ10になるように $5 \mu\text{l}/\text{分}$ の流速で注入する。抗原の注入後、未反応群をブロックするために 1 M のエタノールアミンを注入する。反応速度論的測定のために、2倍段階希釈したFab(0.78 nM から 500 nM)を 25°C 、およそ $25 \mu\text{l}/\text{分}$ の流速で、 0.05% ポリソルベート20(TWEEN-20(商標))界面活性剤(PBST)を含むPBSに注入する。会合及び解離のセンサーグラムを同時にフィットさせることによる単純1対1ラングミュア結合モデル(BIACORE(登録商標)評価ソフトウェアバージョン3.2)を用いて、会合速度(k_{on})と解離速度(k_{off})を算出する。平衡解離定数(K_d)を k_{off}/k_{on} 比として算出する。例えば、Chen等, J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照のこと。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる会合速度が $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ を上回る場合、分光計、例えば、流動停止を備えた分光光度計(Aviv Instruments社製)又は攪拌キュベットを備えた8000シリーズSLM-AMINCO(商標)分光光度計(Thermo Spectronic)で測定される、漸増濃度の抗原の存在下にて、 25°C のPBS($\text{pH} 7.2$)中の、 20 nM の抗抗原抗体(Fab型)の蛍光放出強度(励起= 295 nm ; 放出= 340 nm 、帯域通過= 16 nm)の増加又は減少を測定する蛍光消光法を用いて会合速度を測定することができる。

【0092】

結合反応速度測定は、Octet Redインストルメント(米国カリフォルニア州メンロパーク、ForteBio社製)を用いても実施することができる。例えば、全ての洗浄、希釈及び測定は、 1000 rpm でプレートを振動させながら、Octet緩衝液(0.2% ドデシルマルチド、すなわちDDM、-PBS)においても実施することが

できる。ストレプトアビジンバイオセンサーをOctet緩衝液中で10分間平衡化し、次にビオチン化STEAP-1(1%DDM中のウイルス溶解物由来、Octet緩衝液中に1:8で希釈)を5分間充填した後、10分間洗浄する。会合段階では、リガンド被覆ストレプトアビジンチップが抗STEAP-1抗体断片中に10分間浸漬される(8連続2倍希釈、500又は50nMから開始)。Ab-STEAP-1複合体の解離はOctet緩衝液のみが入っているウェル内で600秒間測定できる。KD、Ka及びKdはOctet評価ソフトウェアv6.3を用いて1:1結合モデルにグローバルフィッティングすることにより測定できる。

【0093】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、限定されないが、マウス抗体、ヒツジ抗体及びウサギ抗体を含む。ある実施態様において、抗体は、マウスモノクローナル抗体である。

10

【0094】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体15A5の相補性決定領域(CDR)のうち少なくとも一つを含む。抗体のCDRは、当該技術分野で公知の方法を用いて測定できる。典型的なCDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3)は、アミノ酸残基L1の24-34、L2の50-56、L3の89-97、H1の31-35B、H2の50-65、及びH3の95-102に生じる。(Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).)重鎖可変領域のCDR1を例外として、CDRは一般的に超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。CDRは、抗原に接触する残基である「特異性決定残基」すなわち「SDR」も含む。SDRは、短縮型(abbreviated)CDR、又はa-CDRと呼ばれるCDRの領域内に含まれている。典型的なa-CDR(a-CDR-L1、a-CDR-L2、a-CDR-L3、a-CDR-H1、a-CDR-H2、及びa-CDR-H3)は、アミノ酸残基L1の31-34、L2の50-55、L3の89-96、H1の31-35B、H2の50-58、及びH3の95-102に生じる。(Almagro及びFransson, Front. Biosci.13:1619-1633 (2008)参照)特に断らない限り、可変ドメイン内のCDR残基及び他の残基(例えば、FR残基)は、上掲のKabataらに従って、本明細書において番号が付けられる。

20

30

【0095】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体15A5の重鎖可変領域の少なくとも一つ、又は、抗体15A5の軽鎖可変領域の少なくとも一つを含む。

【0096】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗体の抗原への結合に關与する抗体の重鎖又は軽鎖の領域を指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖可変領域(それぞれVH及びVL)は、それぞれ4つの保存されたフレームワーク領域(FR)と3つの超可変領域(HVR)から成り、一般的に似たような構造を有する(例えば、Kindt等 Kuby Immunology, 6版, W.H. Freeman and Co., p91 (2007)を参照のこと)。抗原結合特異性を付与するには、単一のVH又はVLドメインで十分である。更に、ある特定の抗原に結合する複数の抗体を、その抗原に特異的に結合するある一つの抗体に由来するVHドメイン又はVLドメインを用いて単離し、相補的なVLドメイン又はVHドメインそれぞれのライブラリーをスクリーニングすることができる。例えば、Portolano等, J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson等, Nature 352:624-628 (1991)を参照のこと。

40

【0097】

本明細書で提供される抗体の抗体断片もまた、本発明に包含される。ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、限定されないが、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、及びscFv断片、及び下記の他の断片を含む。特定の抗体断片の総説については、Hudson等, Nat. Med. 9:129-134 (2003)を参照のこと。scFv断片の総説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacolo

50

gy of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg及びMoore編, (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)、並びに、国際公開第93/16185号、米国特許第5571894号及び第5587458号も参照のこと。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつ生体内半減期が増加したFab及びF(ab')₂断片の議論については、米国特許第5869046号を参照のこと。

【0098】

ダイアボディは、2つの抗原結合部位を有する抗体断片で、二価又は二重特異的でありうる。例えば、欧州特許出願公開第404097号、国際公開第1993/01161号、Hudson等, Nat. Med. 9:129-134 (2003)、及びHollinger等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993)を参照のこと。トリアボディ及びテトラボディについても、Hudson等, Nat. Med. 9:129-134 (2003)に記載がある。

10

【0099】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、もしくは、軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。ある実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である(米国マサチューセッツ州ウォルサム市Domantis社:例えば、米国特許第6248516号を参照)。

【0100】

抗体断片は様々な技術で作製することができ、本明細書に記載するように、インタクトな抗体のタンパク分解、及び組換え宿主細胞(例えば、大腸菌やファージ)による作製を含むがこれらに限定されない。

20

【0101】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体15A5抗体又はその抗原結合性断片である。

【0102】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、検出可能な標識に更にコンジュゲートされる。好適な標識には、限定されないが、直接検出される標識又は部分(蛍光標識、発色団標識、高電子密度標識、化学発光標識、放射性標識など)、及び、例えば酵素反応や分子間相互作用を介して間接的に検出されるような酵素やリガンドといった部分が含まれる。典型的な標識には、限定されないが、放射性同位元素³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H、及び¹³¹I、希土類キレート又はフルオレセイン及びその誘導体などのフルオロフォア、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルセリフェラーゼ(luciferase)、例えばホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ(米国特許第4737456号)、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)、アルカリフォスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカライドオキシダーゼ(例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ)、複素環式オキシダーゼ(例えば、ウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ)、その他、過酸化水素を用いて染料前駆体を酸化する酵素(例えば、HRP、ラクトペルオキシダーゼ、マイクロペルオキシダーゼ)、ビオチン/アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定フリーラジカル等が含まれる。

30

40

【0103】

IV. 核酸及び宿主細胞

抗体は、例えば米国特許第4816567号記載の組換え方法及び組成物を用いて作製され得る。一実施態様において、本明細書に記載される抗STEAP-1抗体をコードする単離された核酸が提供される。該核酸は、抗体のVLを構成するアミノ酸配列、及び/又は抗体のVHを構成するアミノ酸配列(例えば、抗体の軽鎖及び/又は重鎖)をコードし得る。更なる実施態様において、該核酸を含む一つ以上のベクター(例えば、発現ベクター)が提供される。更なる実施態様において、該核酸を含む宿主細胞が提供される。このような一実施態様において、宿主細胞(例えば、以下により形質転換された宿主細胞)は、(1)抗体のVLを構成するアミノ酸配列、及び抗体のVHを構成するアミノ酸配列

50

をコードする核酸を含むベクター、又は(2)抗体のV_Lを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1ベクター、及び抗体のV_Hを構成するアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2ベクターを含む。一実施態様では、該宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞又はリンパ系細胞(例えば、Y0、NS0、Sp20細胞)である。一実施態様では、抗STEAP-1抗体の作製方法が提供され、その方法は、上記のように抗体の発現に好適な条件下で、上記の抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含み、宿主細胞(又は宿主細胞培養培地)から任意選択的に抗体を回収することを含む。

【0104】

抗STEAP-1抗体の組換え作製のために、例えば上述したように、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内での更なるクローニング及び/又は発現のために一つ以上のベクターに挿入される。該核酸は容易に単離され、従来の手順を用いて(例えば、抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって)配列決定することができる。

10

【0105】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に好適な宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞又は真核細胞を含む。例えば、抗体は特に、グリコシル化及びFcエフェクター機能が必要な場合には、細菌内で産生することができる。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5648237号、第5789199号及び第5840523号を参照のこと(また、大腸菌における抗体断片の発現に関する記述は、Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo編, Human a Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254 参照)。発現の後、抗体は、可溶性画分中の細菌の細胞ペーストから単離でき、更に精製することができる。

20

【0106】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物も、抗体をコードするベクターの適切なクローニング宿主又は発現宿主であり、そのグリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトのグリコシル化パターンを有する抗体の生成をもたらす菌や酵母菌株も含む。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004)と、Li等, *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)を参照のこと。

30

【0107】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞には、多細胞生物(無脊椎動物及び脊椎動物)由来のものもある。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫の細胞が挙げられる。特にスポドプテラ・フルギベルダ細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と併用することができる多数のパキウウイルス株が同定されている。

【0108】

植物細胞培養を宿主として利用することもできる。例えば、米国特許第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号及び第6417429号(トランスジェニック植物における抗体産生に関するPLANTIBODIES(商標)技術を記載)を参照。

【0109】

脊椎動物細胞もまた宿主として利用することができる。例えば、浮遊液中で増殖するように適合されている哺乳類細胞株は有用であり得る。他の有用な哺乳類細胞株としては、例えば、SV40(COS-7)で形質転換させたサル腎CV1株、ヒト胎児腎株(例えば、Graham等, *J. Gen Virol.* 36:59(1977)に記載の293又は293細胞)、幼ハムスター腎細胞(BHK)、マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251(1980)記載TM4細胞)、サル腎細胞(CV1)、アフリカミドリザル腎細胞(VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞(HEL4)、イヌ腎細胞(MDCK)、パッファローラット肝細胞(BRL 3A)、ヒト肺細胞(W138)、ヒト肝細胞(He p G2)、マウス乳腺腫瘍(MMT 060562)、例えばMather等, *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68(1982)記載のTRI細胞、MRC5細胞、及びFS4細胞がある。他の有用な哺乳

40

50

乳類宿主細胞株は、D H F R - C H O 細胞 (Urlaub等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4 216(1980) を含むチャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞、並びに、Y O、N S O 及び S p 2 / 0 などの骨髓腫細胞株を含む。抗体産生に好適な特定の哺乳類宿主細胞株の総説としては、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo編, Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268(2003)を参照のこと。

【0110】

本明細書では、微生物寄託番号 P T A - 1 2 2 5 9 として寄託されているハイブリドーマ細胞株も提供される。このハイブリドーマ細胞株は、抗体 1 5 A 5 を産生する。

【0111】

V. 抗体の使用

本明細書で提供される抗体は、前立腺癌の診断試薬の製造に使用可能である。この抗体は更に、診断目的に好適で検出可能な標識に結合し、好適な形態、例えば凍結乾燥された粉末で、又は、好適な液剤の形態で提供される。

【0112】

VI. 検査キット

本発明の別の態様において、前立腺癌の診断又は予後診断に有用な組成物を含む検査キットが提供される。

【0113】

本発明は更に、S T E A P - 1 に特異的に結合する抗体を含む血液試料中の、S T E A P - 1 を発現している前立腺癌細胞を検出するための検査キットを提供する。

【0114】

ある実施態様において、この抗体は、検出可能な第1標識とコンジュゲートされる。例えば蛍光標識など、任意の好適で検出可能な標識が使用され得る。

【0115】

ある実施態様において、この抗体は、本明細書で提供される抗 S T E A P - 1 抗体である。ある実施態様において、この抗体は、抗体 1 5 A 5 である。

【0116】

ある実施態様において、この検査キットは更に、上皮由来の癌細胞に特異的に結合する第1リガンド、上皮マーカーに特異的に結合する第2リガンド及び白血球マーカーに特異的に結合する第3リガンドに結合する磁性粒子、並びに、細胞を非細胞成分から識別する色素より成る群から選択された一つ以上の組成物を含む。

【0117】

ある実施態様において、第2リガンドは検出可能な第2の標識とコンジュゲートされ、及び/又は第3リガンドは検出可能な第3の標識とコンジュゲートされる。ある実施態様において、検査キットに一つ以上の検出可能な標識(色素を含む)が含まれる場合、この検出可能な標識(色素を含む)は、それぞれが試料中に存在する他のいかなる検出可能なシグナルを実質的に妨害することなく、単独で検出されるように選択されることが望ましい。

【0118】

ある実施態様において、第1リガンド、第2リガンド及び/又は第3リガンドは抗体を含む。ある実施態様において、第1リガンドは、抗 E p C A M 抗体を含む。ある実施態様において、第2リガンドは、抗ケラチン抗体を含む。ある実施態様において、第3リガンドは、抗 C D 4 5 抗体を含む。

【0119】

検査キットは更に、容器及び、ラベルもしくは容器表面又は容器に付属する添付文書を含む。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ、I V 輸液バッグ等を含む。容器にはガラス又はプラスチックなど様々な材質のもので良い。この容器には、単独で又は他の組成物との併用で病状の診断に効果のある組成物が入られる。組成物中の少なくとも一つの試薬は本発明の抗体である。ラベル又は添付文書は、組成物が、選択された症状のインビトロ診断のために使用されることを示す。

10

20

30

40

50

【実施例】

【0120】

以下は本発明の方法及び組成物の実施例である。上掲の一般的記述を前提として、他の様々な実施態様が実施され得ることが理解される。

【0121】

実施例1．種々の細胞株表面上のSTEAP-1の検出

免疫組織化学(IHC)アッセイを用いて3つの前立腺癌細胞株の表面に発現したSTEAP-1を検出するために、3つの抗STEAP-1抗体が使用された。293LB50はSTEAP-1高発現細胞株として使用され、LnCAPnerはSTEAP-1中程度発現細胞株として使用され、PC3はSTEAP-1低発現-陰性細胞株として使用された。検査された抗STEAP-1抗体は、抗体37(マウスモノクローナル抗STEAP-1抗体)、ヒツジポリクローナル抗STEAP-1抗体、及びsc-25514(ウサギポリクローナル抗STEAP-1抗体)である。この3つの抗体がフルオロフォアAF-488とコンジュゲートされた。

10

【0122】

これらの抗体は、3つの細胞株を使ってそれぞれ培養された。AF-488のシグナルを検出する蛍光顕微鏡検査法を使用して、抗体-抗原結合が可視化された。検査結果は、これら3つの抗体すべてにおいて、3つの細胞株の発現レベルに比例した期待通りの強度のシグナルを得たことを示した。すなわち、抗体は、293LB50細胞上で最も強く染色され、LnCAPner細胞上で中程度に染色され、及びPC3細胞上では弱い染色から染色なし(陰性)であった。

20

【0123】

実施例2．CellSearch(登録商標)システムで抗STEAP-1抗体を使用した、前立腺癌細胞におけるSTEAP-1発現の検出

3つの抗体(マウス抗体37、ヒツジポリクローナル抗体、及びウサギsc-25514)が、LB50細胞及びPC3細胞表面のSTEAP-1発現検出の能力について、それぞれCellSearch(登録商標)システムで検査された。

【0124】

スパイクイン(Spike-in)アッセイが次の通り実施された。LB50細胞及びPC3細胞をT75フラスコの中で増殖させた。細胞が80%コンフルエンスに達しときに、10mlのPBSで洗浄し、3mlのトリプシンで処理した。培地7mlを剥離した細胞に加え、浮遊液をすべてファルコンチューブに移した。続いて、13000rpmで5分間遠心分離機にかけた。浮遊物は除去され、沈殿物がPBS10ml中に再浮遊した。各細胞浮遊液0.5mlをvicecellチューブに移し、Beckman Coulterカウンターを用いて計数した。細胞浮遊液を、10mlの培地で5000セル/ml溶液になるように希釈した。適量の細胞を10mlの血液に添加した。この血液のうち、7.5mlにはCellSearch法を使用した。100個の細胞を添加するために、26.6µlの細胞浮遊液を血液10mlに加えた。細胞を添加したこの血液を20分間回転させた。

30

【0125】

血液へ添加する細胞を確実に約100個にするため、各細胞浮遊液を5µlずつ、ポリエリジン・グリッドスライド(電子顕微鏡法)上に繰り返し5回添加した。細胞浮遊液5µlは、約25個の細胞に相当した。各スライド上の細胞数をカウントした。この細胞数は、CellSearchで捕捉された「CTC」(すなわち添加された細胞)の数÷スライド上でカウントされた実際の細胞数を算出することにより求められる細胞の回収率の計算に用いた。

40

【0126】

細胞を添加した血液が完全に混ざったら、CellSearch CTCプロトコルに従って、血液試料を3つの抗STEAP-1抗体と共にそれぞれCellSearchにかけた。簡単には、各試料を、磁性コロイドナノ粒子と結合した抗EpCAM抗体と混合

50

し、試料中のEpCAM陽性上皮細胞で濃縮された細胞画分の分離を可能にするように磁場にさらした。次に、この細胞画分を、フィコエリスリン結合抗サイトケラチン抗体、アロフィコシアニン結合抗CD45抗体、DAPI、及び、第4フィルターで使用するAF-488と結合した、3つの抗STEAP-1抗体の何れか一つと混ぜた。これらの結合抗STEAP-1抗体を、PBSで1:50に希釈した。これらの試料でCellSearchを実施し、CellTracksアナライザーでCTCがスコア化された。サイトケラチン及びDAPIに対して陽性に染まるがCD45に対して陰性に染まる細胞が、CTCと判定された。CellSearchオートプレップシステム上でSTEAP-1の染色を示すCTCが選択され、更にSTEAP-1の発現レベルを示す抗STEAP-1抗体の蛍光強度が定量化された。

10

【0127】

STEAP-1を発現しているCTCを染色強度、すなわちSTEAP-1発現レベルに基づきスコア化した。STEAP-1高発現CTCは染色強度が強く、背景染色は無しから最小であり、これらにはスコア3を与え、中程度の染色強度でやや背景染色されているものにはスコア2を、低い染色強度で比較的強い背景染色が認められるものにはスコア1を与えた。図1に代表例を示す。

【0128】

図2(a)が示すように、検査した3つの抗体はすべて、ダイナミックレンジは異なるが、血液試料中に添加したSTEAP-1高発現体であるLB50細胞を検出した。図2(b)が示すように、ヒツジポリクローナル抗体及びウサギsc-25514は、血液試料中に添加されたSTEAP-1低発現体であるPC3も検出した。

20

【0129】

STEAP-1を発現しているCTCを示すHスコアは、(1×染色強度が弱い細胞のパーセンテージ)+(2×染色強度が中程度の細胞のパーセンテージ)+(3×染色強度が強い細胞のパーセンテージ)で算出され、300が最大スコアとなった。(McCall等,(2008) British Journal of Cancer 98(6):1094-1101)

【0130】

図2(c)-(d)のように、ヒツジポリクローナル抗体は最も優れたダイナミックレンジを示しており、それ故にヒツジポリクローナル抗体は、臨床試料を用いた更なる検査用に選択された。

30

【0131】

実施例3. CellSearch(登録商標)システムでヒツジポリクローナル抗体を使用した、スパイク試料におけるSTEAP-1発現細胞の分析

血液試料中に添加した細胞表面のSTEAP-1発現を判定するために、抗STEAP-1ヒツジポリクローナル抗体を用いた。このスパイクインアッセイは、実施例2と同様の手順で実施した。3つの細胞株、293LB50、LnCAPner及びPC3をそれぞれ血液試料に添加し、完全に混ぜた。ヒツジポリクローナル抗体を、PBSで1:50に希釈し、CellSearchの第4フィルターで血液試料に添加した。これらの試料でCellSearchを実施し、CellTracksアナライザーでCTCがスコア化された。サイトケラチン及びDAPIに対して陽性に染まるがCD45に対して陰性に染まる細胞が、CTCと判定された。CellSearchオートプレップシステム上でSTEAP-1の染色を示すCTCが選択され、更にSTEAP-1の発現レベルを示す抗STEAP-1抗体の蛍光強度が定量化された。実施例2と同じ方法でHスコアが算出された。

40

【0132】

図3(a)-(b)のように、ヒツジポリクローナル抗体は、検査した3つの細胞株のいずれにもSTEAP-1の発現を検出し、また、優れたダイナミックレンジを示した。ヒツジポリクローナル抗体により検出されたように、293LB50細胞を添加した試料には(染色)強度が高いCTCが60%超含まれ、そのHスコアは200を上回った。LnCAPner細胞を添加した試料はHスコアが約100となり、PC3細胞を添加した

50

試料のHスコアは100を下回った。

【0133】

実施例4．Cell Search（登録商標）システムで抗STEAP-1抗体を使用した、前立腺癌患者のCTCにおけるSTEAP-1発現の検出

前立腺患者11名の血液試料をある1件の診療所から得た。これらの血液試料を、抗STEAP-1ヒツジポリクローナル抗体を用いてCell Search（登録商標）システムで解析した。ヒツジポリクローナル抗体を、PBSで1：50に希釈し、Cell Searchの第4フィルターで血液試料に添加した。これらの試料でCell Searchを実施し、Cell TracksアナライザーでCTCがスコア化された。サイトケラチン及びDAPIに対して陽性に染まるがCD45に対して陰性に染まる細胞が、CTCと判定された。Cell Searchオートプレップシステム上でSTEAP-1の染色を示すCTCが選択され、更にSTEAP-1の発現レベルを示す抗STEAP-1抗体の蛍光強度が定量化された。各試料のCTCの数がカウントされ、Hスコアも実施例2に記載の通り算出された。結果を図4に示す。

10

【0134】

実施例5．CTCアッセイと免疫組織化学（IHC）アッセイとの相関性

第I相試験で10名の前立腺患者から血液試料及び腫瘍組織試料を採取した。

【0135】

これらの血液試料を、抗STEAP-1ヒツジポリクローナル抗体を用いてCell Search（登録商標）システムで解析した。各試料のCTCの数がカウントされ、Hスコアも実施例2に記載の通り算出された。結果を図5（a）に示す。

20

【0136】

腫瘍組織試料は、従来 of IHC法を用いて検査され、組織中のSTEAP-1発現レベルは、総合スコア（1+、2+、及び、3+）で示された。この数字が大きいほどSTEAP-1の発現レベルが高いことを示した。

【0137】

Cell Search（登録商標）の結果及びIHCの結果を、図5（b）-（c）で比較する。Cell Search（登録商標）の結果は、IHCの結果と高い相関を示した。これは、ヒツジポリクローナル抗体を利用したCell Search（登録商標）法が、STEAP-1を発現している血液試料中のCTCの検出に有効であることを示唆している。

30

【0138】

実施例6．ヒツジポリクローナル抗体とマウスモノクローナル抗体15A5の比較

マウスモノクローナル抗体15A5が、スパイクインアッセイを用いてCell Search（登録商標）システムで検査され、ヒツジポリクローナル抗体と比較された。実施例2に記載の通り、293LB50細胞（高発現体）、LnCAPner細胞（中発現体）及びPC3細胞（低発現体）がそれぞれ血液試料に添加された。これらの血液試料が、ヒツジポリクローナル抗体及びマウスモノクローナル抗体15A5をそれぞれ利用して、Cell Search（登録商標）システムで解析された。Hスコアもまた算出された。この手順と方法は実施例2記載のものと同様である。

40

【0139】

図6（a）-（d）に示されるように、いずれの抗体も、各試料における強度レベル及びHスコアの結果は類似していた。また、マウスモノクローナル抗体15A5は、本アッセイにおいて優れたダイナミックレンジを示していた。

【0140】

モノクローナル抗体15A5の利用は、ポリクローナル抗体の利用に勝る利点がある。例えば、モノクローナル抗体は、ポリクローナル抗体と比較して、バッチ間変動及び背景がより少なく、また、実験の再現性がより高い。

【0141】

実施例7．Cell Search（登録商標）システムによるマウスモノクローナル15

50

A 5 抗体を使用した、患者試料における STEAP - 1 発現細胞の分析

前立腺癌患者から血液試料を採取し、抗 STEAP - 1 モノクローナル抗体 15A5 を用いて Cell Search (登録商標) システムで解析した。抗体 15A5 を、例えば PBS で 1 : 50 に希釈し、血液試料に添加した。この試料で Cell Search を実行し、Cell Tracks アナライザーで CTC が数えられる。サイトケラチン及び DAPI に対して陽性に染まるが CD45 に対して陰性に染まる細胞が、CTC と判定される。Cell Search オートプレップシステム上の CTC の内 STEAP - 1 の染色を示す CTC が選択され、更に STEAP - 1 の発現レベルを示す抗 STEAP - 1 抗体の蛍光強度が定量化される。各試料の CTC の数がカウントされ、Hスコアも実施例 2 に記載の通り算出される。

10

【0142】

更に、臨床試験において「ベースライン」(すなわち、投与前)の患者から採取した血液試料中の CTC 表面における STEAP - 1 発現レベルは、ある閾値を超える前立腺癌特異的マーカーの発現が前立腺癌治療(例:抗 STEAP - 1 抗体-薬物コンジュゲート(ADC)に基づく治療)の臨床活動性を予測するのかが否かを判定するために、臨床的エンドポイント(無進行生存率、PSA 値の変化、患者が訴える骨痛、全生存率など)と関連づけられる。癌細胞における前立腺特異的マーカー(例:STEAP - 1)の発現レベルの動的変化(すなわち、投与後試料における低下)は、これらの変化が治療活性を予測するのかが否かを判定するために、臨床転帰評価尺度と関連づけられる。そのような手法は、前立腺癌治療(例:抗 STEAP - 1 抗体-薬物コンジュゲート(ADC)に基づく治療)を行う患者の選定のために使用可能な予測バイオマーカー候補としてのアッセイをクオリフィケーションする際に最初のステップとして用いることができ、次に検証的 III 相試験でのプロスペクティブな検証へと続く。

20

【0143】

実施例 8 . 患者試料中の CTC の計数

前立腺癌患者の血液を、治療開始前にペアで採取した(ベースライン試料)。試料は Cell Search (登録商標) システムで解析され、上記のように Cell Tracks アナライザーで CTC 計数が得られた。簡単には、サイトケラチン及び DAPI に対して陽性に染まるが CD45 に対しては陰性に染まる細胞が、CTC として数えられた。各試料ペアについて CTC 数の平均値及び標準偏差値が計算され、また、誤差(+ SDEV)がヒストグラム上にプロットされた。図 7A で見られるように、これらの患者の CTC 数の平均値に大きなダイナミックレンジがあり、また、試料ペア間でもカウントがほぼ一致していた(エラーバーが小さい)。これは、このシステムを使用した CTC 計数の再現性が高いことを示している。

30

【0144】

前立腺癌患者の血液を、治療開始前にペアで採取した(ベースライン試料)。試料は Cell Search (登録商標) システムで、A488 チャンネル内で $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ の抗 STEAP - 1 モノクローナル抗体 15A5 を利用して解析された。実施例 2 の通り、CTC 計数と STEAP - 1 発現が Cell Tracks アナライザーでスコア化された。簡単には、Cell Search オートプレップシステム上の CTC の内 STEAP - 1 の染色を示す CTC が選択され、更に抗 STEAP - 1 抗体の蛍光強度が、加重スコアリングシステム(Hスコア、実施例 2 参照)を用いて定量化された。各試料ペアについて Hスコアの平均値及び標準偏差値が計算され、また、誤差(+ SDEV)がプロットされた。図 7B に見られるように、患者母集団における STEAP - 1 発現レベルには大きなダイナミックレンジがある。また、各試料ペア間で Hスコアがほぼ一致しており、これは、Cell Search システムを使用した標的発現レベルのクオリフィケーションにおける高い再現性を示している。

40

【0145】

前立腺癌患者からの試料の採血は、治療開始前の異なる時点で 2 回、間隔を約 2 - 4 週間空けて行った(ベースライン 1 及びベースライン 2)。血液試料は Cell Search

50

h (登録商標) システムで解析され、上記のようにCellTracksアナライザーでCTC計数が得られた。CTC計数における生物学的変異性評価のため、各患者につき2つのベースライン試料間のCTC数を比較した。

【0146】

図8で、各点は1人の患者を表しており、X軸がベースライン1でのCTC数、Y軸がベースライン2でのCTC数である。このプロットは14名の患者のデータを含み、異なる時点でのCTC数に強い相関があることを示している。これは、治療開始前のCTC数は生物学的変異性が低いことを示唆している。これらのデータはCTC数における正常な変異を算出するのに用いられ、治療前のCTC数の分布に関して、95%信頼区間が得られた。

10

【0147】

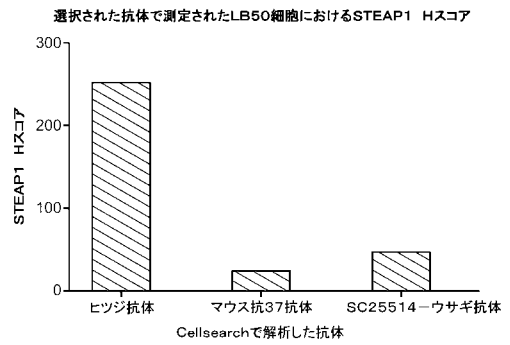
この信頼区間は、治療中に観察されたCTC変化の有意性を判断するのに用いられた。算出された信頼区間を超えるCTC数の減少は、投与効果の評価及び薬物活性のエビデンス評価に使用された。前立腺癌患者からの試料の採血は、抗STEAP-1ADCによる治療前及び治療後で2回ずつ行った。試料はCellSearch(登録商標)システムで解析され、上記のようにCellTracksアナライザーでCTC計数及びSTEAP-1発現度が得られた。図9-11に示されるように、治療前と治療後でのCTC数の倍数変化、及びCTC数の予後好転ベースで見ると、高用量を投与したケースでCTC数の有意な減少が認められた。更に、治療において有意なCTC数の減少を示した患者に、より高いSTEAP-1の標的発現が見られた(データは示さず)。

20

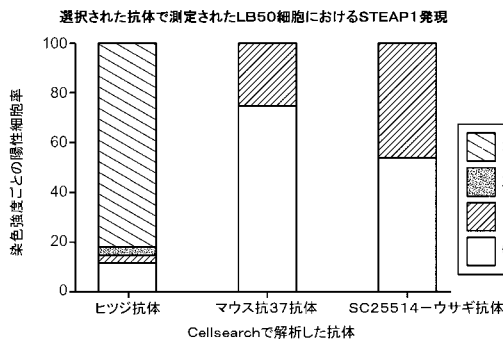
【図1】



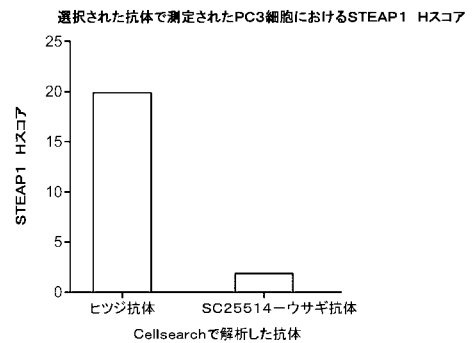
【図2C】



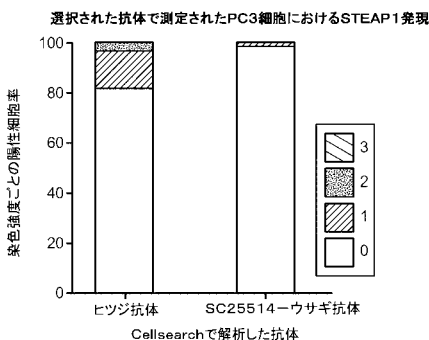
【図2A】



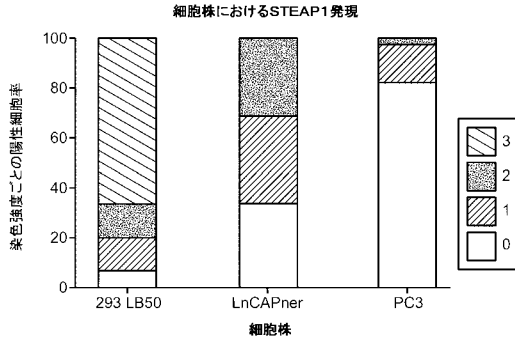
【図2D】



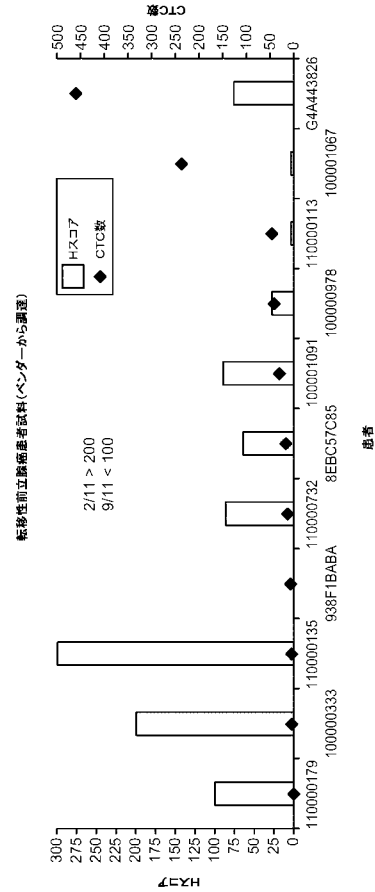
【図2B】



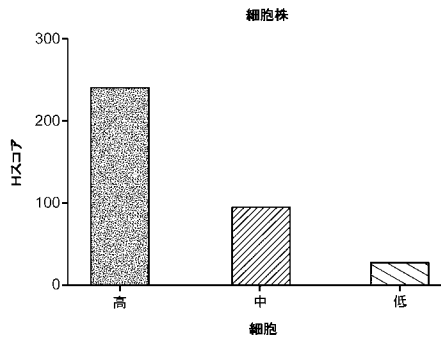
【 図 3 A 】



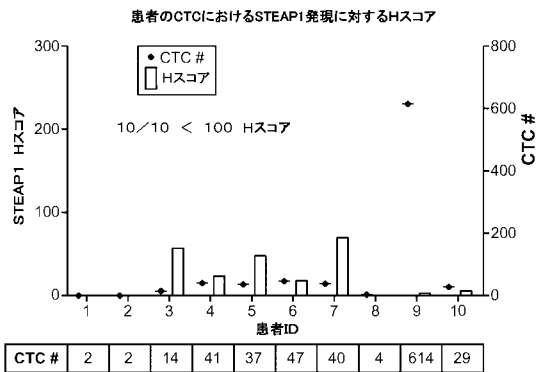
【 図 4 】



【 図 3 B 】



【 図 5 A 】



【 図 5 C 】

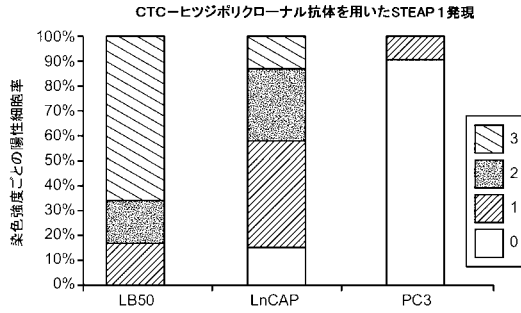
ソース	患者番号	細胞膜 0	細胞膜 1+	細胞膜 2+	細胞膜 3+	膜スコア	総合スコア (0, 1+, 2+, 3+)*
組織	101	87	10	3	0	16	1
CTC	101スクリーニング	2	0	0	0	0	
組織	102	0	0	5	95	295	3
CTC	非スクリーニング試料						
組織	1003	0	95	5	0	105	1
CTC	1003スクリーニング	2	0	0	0	0	
組織	1004	20	10	40	30	180	2
CTC	1004スクリーニング	10	2	0	2	57	
組織	1005	0	55	35	10	155	1
CTC	1005スクリーニング	37	0	2	2	24	
組織	1006	0	10	65	25	215	
CTC	1006スクリーニング	23	10	4	0	48.6	
組織	1007	0	75	15	10	135	1
CTC	1007スクリーニング	40	5	2	0	19.14	
組織	1008	0	5	10	85	280	3
CTC	1008スクリーニング	26	4	6	4	70	
組織	1009	5	2	28	65	253	
CTC	1009スクリーニング	0	0	0	0	0	
組織	1010						
CTC	1010スクリーニング	592	22	0	0	3.6	
組織	1011	10	35	50	5	150	
CTC	1011スクリーニング	血液不足					
組織	1012						
CTC	1012スクリーニング	スクリーニング失敗					
組織	1013	0	0	0	100	300	
CTC	1013スクリーニング	27	2	0	0	6.9	

【 図 5 B 】

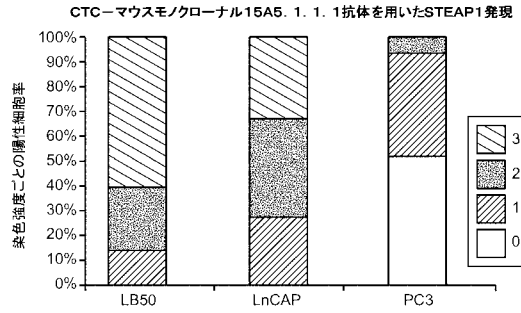
STEAP1 CTC Hスコアと組織中のSTEAP1 IHC比較: 相関性あり

CTC #	患者ID	STEAP1 CTC Hスコア	STEAP1 IHC
	1	0	1+
	2	0	1+
	6	19	1+
	4	24	1+
	5	48	2+
	3	57	2+
	8	0	2+
	7	70	3+
	10	7	3+

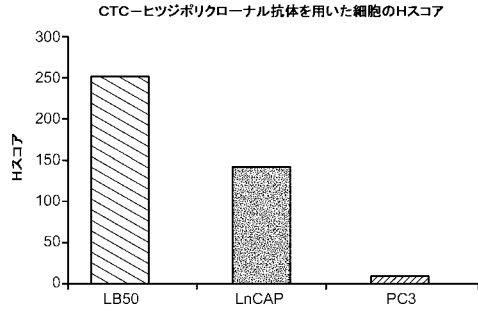
【図 6 A】



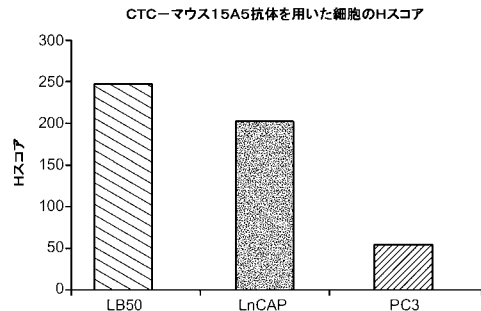
【図 6 C】



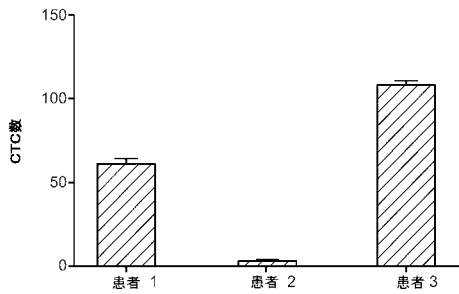
【図 6 B】



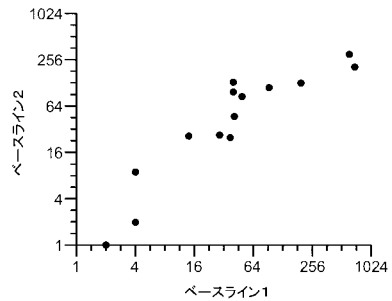
【図 6 D】



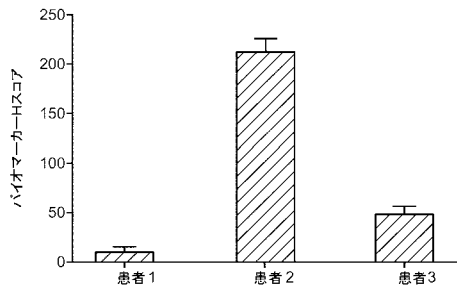
【図 7 A】



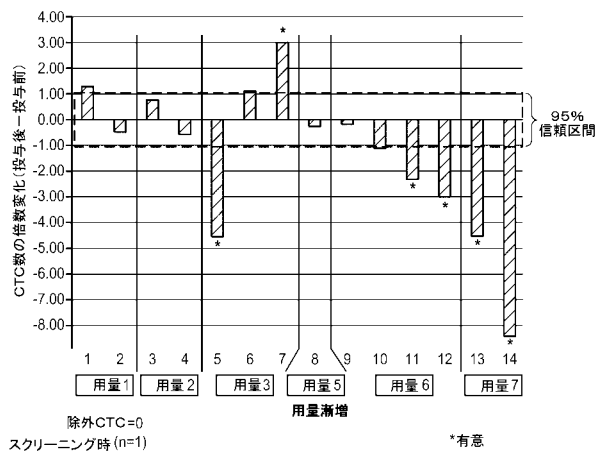
【図 8】



【図 7 B】



【図 9】



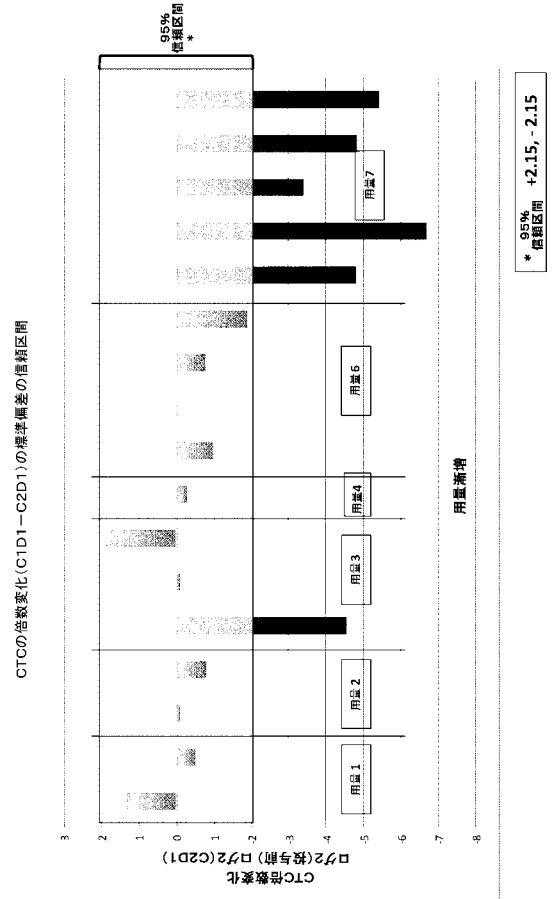
【 図 1 0 】

患者	投与前	投与後
用量1	1	2
	2	102
用量2	3	14
	4	41
用量3	5	47
	6	40
	7	4
用量5	8	27
	9	446
用量6	10	49
	11	5
	12	4
用量7	13	93
	14	692

* ← CTC数の有意な倍数増加
 * ← CTC数の有意な倍数減少
 * ←
 * ←
 * ←
 * ←
 * ←
 * ←

* 予後好転
 * 予後悪化

【 図 1 1 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/066998

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/574 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/028160 A1 (SCRIPPS RESEARCH INST [US]; KUHN PETER [US]; GRIFFIN JOHN [US]; BETHEL) 11 March 2010 (2010-03-11)	1-12, 20-29
Y	0010, 007-008, 0044-0045, 0066-0068, 0073-0083, cl 1, 19-25, 29.	13-19, 30-32
X	WO 99/56779 A1 (PACIFIC NORTHWEST CANCER FOUND [US]) 11 November 1999 (1999-11-11) pg 3, l 24-pg 4, l 27; pg 9, l 19- pg 10, l 5; pg 12, l 25-pg 13, l 15; cl 1-35.	1-3, 6-12, 20-29
X	WO 2008/052187 A2 (GENENTECH INC [US]; DENNIS MARK S [US]; RUBINFELD BONNEE [US]; POLAKIS) 2 May 2008 (2008-05-02)	33-46
Y	par 0013, 0023, 0197, 0598-0603; cl 1-17, 28-31.	13-19, 30-32
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 1 March 2013		Date of mailing of the international search report 10/07/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Motrescu-Hateley, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/066998

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2011/130566 A2 (BELLICUM PHARMACEUTICALS INC [US]; SLAWIN KEVIN [US]; SPENCER DAVID [U] 20 October 2011 (2011-10-20) the whole document -----	1-46

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2012/066998**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
14-19, 27-46(completely); 1-13, 20-26(partially)

Remark on Protest

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

International Application No. PCT/ US2012/ 066998

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 14-19, 27-46(completely); 1-13, 20-26(partially)

A method for diagnosing prostate cancer in a test subject, comprising: a) contacting cancer cells of epithelial origin with an antibody that specifically binds to a prostate-specific marker, wherein the cancer cells are from a blood sample taken from the test subject; and b) determining whether any of the cancer cells express the prostate-specific marker, wherein the presence of cancer cells that express the prostate-specific marker is predictive of having prostate cancer in the test subject. The prostate-specific marker is: STEAP. A corresponding antibody, a isolated polynucleotide, a host cell and a hybridoma cell line. A kit comprising an antibody that specifically binds STEAP. A method of predicting the efficacy of prostate cancer therapy as well as a method of monitoring response to a prostate cancer therapy in a test subject.

2. claims: 1-13, 20-26(all partially)

A method for diagnosing prostate cancer in a test subject, comprising: a) contacting cancer cells of epithelial origin with an antibody that specifically binds to a prostate-specific marker, wherein the cancer cells are from a blood sample taken from the test subject; and b) determining whether any of the cancer cells express the prostate-specific marker, wherein the presence of cancer cells that express the prostate-specific marker is predictive of having prostate cancer in the test subject. The prostate-specific marker is: PSMA.

3-4. claims: 1-13, 20-26(all partially)

The same as the invention 2 wherein the prostate-specific marker is one of the following: PCTA-1, PSCA.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/066998

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010028160 A1	11-03-2010	CA 2736178 A1	11-03-2010
		EP 2335075 A1	22-06-2011
		US 2010247492 A1	30-09-2010
		WO 2010028160 A1	11-03-2010

WO 9956779 A1	11-11-1999	AU 3783599 A	23-11-1999
		CA 2331627 A1	11-11-1999
		EP 1076568 A1	21-02-2001
		US 6200765 B1	13-03-2001
		US 6383759 B1	07-05-2002
		WO 9956779 A1	11-11-1999

WO 2008052187 A2	02-05-2008	AR 063532 A1	28-01-2009
		AU 2007308792 A1	02-05-2008
		CA 2667019 A1	02-05-2008
		CO 6180431 A2	19-07-2010
		CR 10734 A	25-06-2009
		DK 2061814 T3	27-08-2012
		EP 2061814 A2	27-05-2009
		EP 2502938 A2	26-09-2012
		ES 2387924 T3	04-10-2012
		HK 1131626 A1	22-02-2013
		HR P20120683 T1	30-09-2012
		KR 20090078360 A	17-07-2009
		MA 30910 B1	02-11-2009
		NZ 576132 A	27-04-2012
		PE 10232012 A1	06-08-2012
		PE 12662008 A1	04-10-2008
		PT 2061814 E	10-09-2012
		RS 52452 B	28-02-2013
		TW 200825105 A	16-06-2008
		US 2009280056 A1	12-11-2009
WO 2008052187 A2	02-05-2008		

WO 2011130566 A2	20-10-2011	AU 2011239569 A1	25-10-2012
		CA 2795947 A1	20-10-2011
		EP 2558109 A2	20-02-2013
		US 2011287038 A1	24-11-2011
		WO 2011130566 A2	20-10-2011

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 1
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	1 0 2
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
	A 6 1 P 13/08	
	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 K 39/395	E

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

(72)発明者 ホンゴ, ジョ - アン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエ
 ー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72)発明者 ラックナー, マーク
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエ
 ー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72)発明者 パンヌース, エリザベス
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエ
 ー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72)発明者 ルービンフェルド, ボニー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエ
 ー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72)発明者 ヴィジ, ラジェッシュ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 0, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエ
 ー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4B024 AA12 BA41 BA61 CA01 CA11 DA01 DA02 DA05 DA11 DA12
 EA04 GA11 HA01 HA08
 4B063 QQ03 QQ08 QR48 QS03 QX01
 4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA90X AA91X AB01 AB05 AC14 BA01
 CA24 CA25 CA46
 4C085 AA13 AA14 AA25 AA26 AA27 CC23 DD86 EE01 EE06
 4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA51 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2015507175A5	公开(公告)日	2016-01-28
申请号	JP2014544870	申请日	2012-11-29
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	アトウォルシミンダー ホンゴジョアン ラックナーマーク パンヌースエリザベス ルービンフェルドボニー ヴィジラジェッシュ		
发明人	アトウォル, シミンダー ホンゴ, ジョ-アン ラックナー, マーク パンヌース, エリザベス ルービンフェルド, ボニー ヴィジ, ラジェッシュ		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/577 G01N33/536 C12N15/09 C12Q1/02 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/395 A61P13/08 A61P35/00		
CPC分类号	C07K16/3069 C12N5/0693 G01N33/57434 G01N33/57492 G01N2333/70596 G01N2800/52 A61P35/00 C12Y116/01 C12Y301/03048 G01N33/4915 G01N33/577 G01N33/582 G01N2333/4742 G01N2333/90287 G01N2333/916		
FI分类号	G01N33/574.D G01N33/574.A G01N33/577.B G01N33/536.D C12N15/00.A C12Q1/02 C07K16/28 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C12N5/00.102 A61K39/395.T A61P13/08 A61P35/00 A61K39/395.E		
F-TERM分类号	4B024/AA12 4B024/BA41 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/CA11 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA08 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QR48 4B063/QS03 4B063/QX01 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA91X 4B065/AB01 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA46 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA25 4C085/AA26 4C085/AA27 4C085/CC23 4C085/DD86 4C085/EE01 4C085/EE06 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	61/629886 2011-11-29 US 61/703099 2012-09-19 US		
其他公开文献	JP6219304B2 JP2015507175A		

摘要(译)

本发明提供了一种诊断前列腺癌的方法。本发明还提供了新的抗STEAP-1抗体及其用途。

