

(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2005-518790

(P2005-518790A)

(43) 公表日 平成17年6月30日(2005.6.30)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68	Z N A A 2 G O 4 5
C 1 2 N 15/09	G O 1 N 21/78	C 2 G O 5 4
G O 1 N 21/78	G O 1 N 33/50	P 4 B O 2 4
G O 1 N 33/50	G O 1 N 33/53	M 4 B O 6 3
G O 1 N 33/53	G O 1 N 33/566	
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 38 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-566246 (P2003-566246)
 (86) (22) 出願日 平成15年1月24日 (2003. 1. 24)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年9月9日 (2004. 9. 9)
 (86) 国際出願番号 PCT/FI2003/000061
 (87) 国際公開番号 W02003/066898
 (87) 国際公開日 平成15年8月14日 (2003. 8. 14)
 (31) 優先権主張番号 20020132
 (32) 優先日 平成14年1月24日 (2002. 1. 24)
 (33) 優先権主張国 フィンランド (F1)
 (31) 優先権主張番号 20021617
 (32) 優先日 平成14年9月10日 (2002. 9. 10)
 (33) 優先権主張国 フィンランド (F1)

(71) 出願人 504282773
 アンナマリー・ランキ
 Annamari RANKI
 フィンランド、エファイエン-00250
 ヘルシンキ、シペリウクセンカトゥ11番
 、ペー28
 (71) 出願人 504282784
 レーナ・カレンコ
 Leena KARENKO
 フィンランド、エファイエン-00670
 ヘルシンキ、ミールティエ4番

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リンパ球異常増殖疾患の診断方法

(57) 【要約】

本発明は、リンパ球異常増殖疾患を診断および治療するための新規な方法に関する。詳細には、本発明は、第12染色体中の染色体ブレイクポイント (breakpoint) および/または第12染色体からの染色体構成要素の転座を検出することを利用し、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座 (または複数の転座) が原発性皮膚T細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖疾患と関連している診断および治療するための新規な方法に関する。さらに、本発明は、診断および治療剤としての、第12染色体中の染色体ブレイクポイントおよび/またはその転座に含まれるニューロンナビゲーター3遺伝子 (NAV3) またはその等価物または機能的フラグメントの使用に関し、ここに該遺伝子および/またはその転座は原発性皮膚T細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖性疾患と関連している。また、本発明は、療法の開発にも関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

生物試料において、第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイント (breakpoint) および / または第 1 2 染色体からの染色体構成要素の少なくとも 1 の転座の存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該ブレイクポイントおよび転座がリンパ球異常増殖疾患と関連している、原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖疾患を診断および追跡 (follow-up) する方法。

【請求項 2】

生物試料において、ニューロナビゲーター 3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該 NAV3 またはその等価物またはフラグメントがリンパ球異常増殖疾患と関連している、CTCL のごときリンパ球異常増殖疾患を診断および追跡する方法。

10

【請求項 3】

臨床試料において、第 1 2 染色体中のニューロナビゲーター 3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物の転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該転座または欠失または他の欠陥がリンパ球異常増殖疾患と関連している、CTCL のごときリンパ球異常増殖疾患を診断および追跡する方法。

【請求項 4】

リンパ球異常増殖疾患に苦しむ患者から得た生物試料において、第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントおよび / または第 1 2 染色体からの染色体構成要素の少なくとも 1 の転座および / または第 1 2 染色体中のニューロナビゲーター 3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの転座または欠失または他の欠陥を検出することによって特徴付けられ、ここに該染色体のブレイクポイントまたは転座および遺伝子の転座、欠失または欠陥が疾患亜型と関連している、原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖疾患の攻撃形態の発達の危険性のある患者を同定する方法。

20

【請求項 5】

第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントおよび / または第 1 2 染色体からの染色体構成要素の少なくとも 1 の転座および / または第 1 2 染色体中のニューロナビゲーター 3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの転座または欠失または他の欠陥を検出することによって特徴付けられ、ここに該染色体のブレイクポイントまたは転座および遺伝子の転座、欠失または欠陥が疾患亜型と関連している、原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖疾患の進行を予想する方法。

30

【請求項 6】

第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントを領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中に検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ないし 5 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

第 1 2 染色体由来の構成要素の第 4 染色体または第 1 8 染色体への転座を検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ないし 5 いずれか 1 項記載の方法。

40

【請求項 8】

第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントおよびその第 4 染色体または第 1 8 染色体への転座を検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ないし 5 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 9】

NAV3 遺伝子の一部分の第 1 8 染色体への転座を検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ないし 5 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 10】

検出を、特異的な発色、スペクトル、発色比または発色強度またはそれらの組合せで第 1

50

2 染色体を検出する染色体特異的またはアーム特異的なペインティング・プローブ (painting probe) に基づく蛍光イン・サイチュ (in situ) ・ハイブリダイゼーション法で行うことを特徴とする請求項 1 ないし 9 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 1】

検出を、マルチ蛍光イン・サイチュ・ハイブリダイゼーション (M F I S H) または分光核型決定 (S K Y) で行うことを特徴とする請求項 1 0 記載の方法。

【請求項 1 2】

第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントが原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) と関連していることを特徴とする請求項 1 ないし 1 1 いずれか 1 項記載の方法。

10

【請求項 1 3】

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) が菌状息肉腫 (M F) であることを特徴とする請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 1 4】

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) が白血病セザリー症候群 (S S) であることを特徴とする請求項 1 2 記載の方法。

【請求項 1 5】

C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患を診断するための、第 1 2 染色体中の特定の染色体ブレイクポイントおよび / または第 1 2 染色体からの染色体構成要素の転座の使用であって、ここに該ブレイクポイントおよび転座が該疾患と関連している該使用。

20

【請求項 1 6】

リンパ球異常増殖疾患の療法を開発するための、C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患と関連する特定の染色体ブレイクポイントまたは転座または特定の複数の染色体ブレイクポイントまたは転座の使用。

【請求項 1 7】

C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患を診断するための、ニューロナビゲーター 3 (N A V 3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントのおよび / または第 1 2 染色体中のニューロナビゲーター 3 (N A V 3) 遺伝子の転座、欠失または他の欠陥の使用であって、ここに該遺伝子、転座、欠失または欠陥が該疾患と関連している該使用。

【請求項 1 8】

C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患の療法における、該疾患と関連するニューロナビゲーター 3 (N A V 3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの、および / または該疾患と関連する第 1 2 染色体中のニューロナビゲーター 3 (N A V 3) 遺伝子の転座、欠失または他の欠陥の使用。

30

【請求項 1 9】

第 1 2 染色体中の染色体ブレイクポイントまたは複数のブレイクポイントに広がり、異なる発色または蛍光マーカーで標識され、かつ生物試料中の第 1 2 染色体にハイブリダイズする少なくとも 2 の D N A プローブ、および蛍光イン・サイチュ (in situ) ・ハイブリダイゼーション分析を行うための試薬を含むことによって特徴付けられる、第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントまたはその転座 (ここに該ブレイクポイントまたは転座は C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患と関連している) を検出するための、または、C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患に苦しむ患者から得た臨床標本中の第 1 2 染色体中の分子細胞遺伝学的変化を同定するための試験系。

40

【請求項 2 0】

N A V 3 またはその遺伝子産物またはフラグメントを同定することができる特異的抗体、好ましくはモノクローナル抗体、および視覚化または定量に必要な他の抗体、マーカーおよび標準物質を含む必要な試薬、ならびにバッファー、希釈剤、洗浄溶液などを含むことによって特徴付けられる、第 1 2 染色体中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントまたはその転座 (該ブレイクポイントまたは転座は C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患と関連している) を検出するための、または、ニューロナビゲーター 3 (N A

50

V 3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントおよび/または第 1 2 染色体中のニューロンナビゲーター 3 (NAV3) 遺伝子の転座、欠失または他の欠陥を検出するための診断キット。

【請求項 2 1】

第 1 2 染色体中の NAV3 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの不存在を検出することによって特徴付けられる請求項 2 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、リンパ球異常増殖疾患を診断および治療するための新規な方法に関する。詳細には、本発明は、ヒト第 1 2 染色体中の染色体ブレイクポイント (breakpoint) および/または第 1 2 染色体からの染色体構成要素の転座を検出することを利用し、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座 (または複数の転座) が原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖疾患と関連している診断および治療するための新規な方法に関する。さらに、本発明は、診断および治療剤としての、第 1 2 染色体中の染色体ブレイクポイントおよび/またはその転座に含まれるニューロンナビゲーター 3 遺伝子 (NAV3) またはその等価物または機能的フラグメントの使用に関し、ここに該遺伝子および/またはその転座は原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) のごときリンパ球異常増殖性疾患と関連している。また、本発明は、療法の開発にも関する。

10

【0002】

発明の背景

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (CTCL) は、病因および病理学的機構がほとんど理解されていない非ホジキンリンパ腫 (NHL) の異類群を表す [Siegel, R. S.ら, J.Clin. Oncol. 18 (2000) 2908-2925]。CTCL については治癒力のある療法が存在しない。過去数十年の間に、先進国世界においては約 2 - 8 % の CTCL の発生の増加が観察されている [Doll, R.ら (編者), Trends in cancer incidence and mortality, cancer surveys, Vol 19/20, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1994, 423-53; Hjalgrim, H.ら, Br. J. Cancer 73 (1996) 951-54]。原発性胃腸リンパ腫の群の後、CTCL は原発性皮膚 B 細胞リンパ腫と一緒に、リンパ節外 NHL の 2 番目の最も一般的な群を形成している [Isaacson, P. G.および Norton, A. J., Cutaneous lymphoma, in Extranodal lymphomas, London, Churchill Livingstone, 1994, p.172]。フィンランドにおいては、過去 40 年の間に男性において 3 倍高い CTCL の発生が見出されているが、女性においては見出されていない [Vaekevae, L.ら, J. Invest. Dermatol. 115 (2000) 62-65]。

20

30

【0003】

CTCL 患者の大部分、約 80 % が通常は無痛性の疾患経過を示し、治療によって長期の鎮静を達成し得る。しかしながら、約 20 % の症例では、皮膚、血液、リンパ節および骨髄のごとき幾つかの組織を腫瘍細胞が侵入するように攻撃性大細胞変異型へのトランスフォーメーションを受け、これが元の悪性細胞クローンであるという幾つかの証拠が存在する [Wolfe, J.ら, J. Clin. Oncol. 13 (1995) 1751-57]。これらの患者の 5 年生存率は 15 % 未満である [Willemze, R.ら, Blood 90 (1997) 354-371; Siegel, R. S.ら, 前掲]。このトランスフォーメーションはいずれの現在の手段をもってしても予想し得ない。

40

【0004】

CTCL の最も一般的な形態は、菌状息肉腫 (MF) である。最初の皮膚障害は徐々に進行する。それは湿疹または軽症乾癬に似ており、局面性類乾癬 (Pps) とも呼ばれる。初期フェーズにおいて、ポリ-またはオリゴ-クローナルな CD-4 陽性リンパ球が皮膚の表皮に浸潤する。悪性トランスフォーメーションの時期およびコンパートメントは知られていない [Veelken, H.ら, J. Invest. Dermatol. 104 (1995) 889]。悪性リンパ球は後に血液およびリンパ節においても見出されている。しかしながら、最近のデータは、

50

悪性細胞が以前に考えられていたよりもより早期に分散するようであることを示唆している [Karenko, L. ら, J. Invest. Dermatol. 108 (1997) 22-29; Karenko, L. ら, J. Invest. Dermatol. 112 (1999) 329-95; Karenko L. ら, J. Invest. Dermatol. 16 (2001) 188-193]。

【 0 0 0 5 】

C T C L のより攻撃的な形態は、M F から発達し得るかまたは紅皮性皮膚症状と直接的に開始し得る白血病セザリー症候群 (S S) である。

【 0 0 0 6 】

C T C L の治療においては、早期の診断が極めて重要である。この疾患は後のステージで繰り返す傾向があるからである。しかしながら、現在、C T C L の明確な診断に利用可能な手段は存在しない。とりわけ、M F は、それが湿疹または軽症乾癬に似ていることに起因してその初期の発現において診断することは困難であり、したがって、残念ながらその時点において検出されないままとなり得る。C T C L の診断においては、罹患した皮膚領域から皮膚バイオプシー試料が得られて組織病理学的分析が行われる。組織病理学的診断は、表皮侵入性の (epidermotropic) 、形態的に悪性のリンパ球の検出、すなわち過染色性 (hyperchromatic) でくぼんだ (脳構造) 核を有する細胞の検出に基づく (Willemze, R. ら, 前掲) 。すべてでないにせよ、大部分の症例においては、これらの細胞は C D 4 表面マーカーを発現し、これは免疫組織化学的に検出し得る (Willemze, R. ら, 前掲) 。したがって、診断の精度は、病理学者によってなされる視覚的等級付けおよび印象に依存し、非常に少ない悪性腫瘍細胞しか有していない、またはまだ正常な形態を有する染色体クローナル悪性リンパ腫しか有していない初期障害は見逃し得る。

【 0 0 0 7 】

さらに、血液または皮膚障害由来の D N A における T - 細胞受容体 (T C R) 再構成の証明は、C T C L の診断における補足的な方法として用いられている。しかしながら、T C R 再構成は疾患特異的なマーカーではない。それは反応性クローナル細胞も同定するからである [Guitart J. および Kaul K., Arch. Dermatol. 135 (1999) 158-62] 。

【 0 0 0 8 】

また、分子細胞遺伝学実験において C T C L においては幾つかの染色体異常、とりわけ数に関する (numerical) 異常が観察されており、これらを診断に用い得る。詳細には、細胞遺伝学的変化が組織学的に同定可能な悪性腫瘍の先に起こることが示されている [Whang-Peng, J. ら, Cancer 50 (1982) 1539; Berger, R. ら, Cancer Genet Cytogenet 27 (1987) 79; Karenko ら, 1997, 前掲] 。しかしながら、疾患の初期フェーズにおいては、これらの異常は非クローナルであって、これは検出を非特異的なものにしてしまう。

【 0 0 0 9 】

C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患における残余の悪性腫瘍細胞のための早期の診断および治療介入の追跡が可能な新たな方法を開発することは最も重要である。また、療法を開始および追跡するための新たなガイドラインを開発するためのさらなる手段も非常に必要とされている。

【 0 0 1 0 】

発明の概要

ここに、本発明者らは、第 1 2 染色体、詳細には 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 に、皮膚 T 細胞リンパ腫と関連する特定の繰り返し染色体ブレイクポイントおよび / または転座を同定した。また、本発明者らは、かかる染色体ブレイクポイントおよび / または転座に含まれる遺伝子も同定した。かかる特異的な染色体ブレイクポイントおよび / または転座ならびに遺伝子および / または遺伝子の転座、欠失または他の欠陥の同定により、C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患を検出および追跡および治療するための新規な診断および治療方法の開発が許容される。

【 0 0 1 1 】

本発明の目的は、C T C L のごときリンパ球異常増殖疾患を診断するための新規な方法および手段を提供することであり、かかる方法および手段によって該疾患の早期診断が許

10

20

30

40

50

容される。

【0012】

本発明のもう1の目的は、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患を診断するための新規な方法および手段を提供することであり、かかる方法および手段は特異的かつ信頼できる。

【0013】

本発明のなもう1の目的は、疾患の進行およびCTCLのごときリンパ球異常増殖疾患における攻撃的形態へのそのトランスフォーメーションを予想するための新規な方法および手段を提供することであり、かかる方法および手段によって人命救助になり得る治療的介入が時宜に許容される。

10

【0014】

本発明のいまだもう1の目的は、治療的介入を開始および追跡するための新たなガイドラインを開発するためのならびにCTCLのごときリンパ球異常増殖疾患の新たな治療物理療法を開発するための新規の方法および手段を提供することであり、かかる方法および手段は疾患の軽減ステージを延長し、疾患を駆逐しかつ患者を回復させるための新たな可能性を導入する。

【0015】

本発明は、臨床試料中における、第12中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体からの染色体構成要素の少なくとも1の転座の存在または不存在を検出することを含み、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座はリンパ球異常増殖疾患と関連している、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患を診断および追跡するための新規な方法に関する。

20

【0016】

さらに、本発明は、臨床試料中における、リンパ球異常増殖疾患と関連するニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物または機能的フラグメントの存在または不存在を検出することを含む、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患を診断および追跡するための新規な方法に関する。

【0017】

いまださらに、本発明は、臨床試料中における、リンパ球異常増殖疾患と関連する第12染色体中のニューロンナビゲーター3 (NAV3) またはその等価物もしくはフラグメントの転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することを含む、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患を診断および追跡するための新規な方法に関する。

30

【0018】

また、本発明は、第12染色体中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体からの染色体構成要素の少なくとも1の転座および/または第12中のニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物または機能的フラグメントの転座または欠失または他の欠陥の検出に基づき、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座および/または遺伝子の転座、欠失または欠陥が細胞遺伝学的変化と関連している、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患に苦しむ患者から得た臨床標本中の分子細胞遺伝学的変化を同定するための高速試験系に関する。

40

【0019】

さらに、本発明は、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患またはその白血病变異型を発症する危険性があり、かつ、第12染色体中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体からの染色体構成要素の少なくとも1の転座および/または第12染色体中のニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物または機能的フラグメントの転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することによる時宜な療法相互作用によって助け得る患者を同定するための方法に関し、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座および/または遺伝子の転座、欠失または欠陥は該患者から得た生物試料中の疾患亜型と関連する。

【0020】

50

さらに、本発明は、疾患に苦しむ患者から得た生物試料中における、第12染色体、詳細には12q14-12q24中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体からの染色体構成要素の少なくとも1の転座および/または第12染色体中のニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することによって、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患の進行およびその攻撃的変異型へのトランスフォーメーションを予想する方法に関し、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座および/または遺伝子の転座、欠失または欠陥は疾患亜型と関連する。

【0021】

また、本発明は、該疾患を診断するための、第12染色体、詳細には12q14-12q24中の特定の染色体ブレイクポイントまたは特定の複数の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体からの染色体構成要素の転座の使用に関し、ここに該染色体ブレイクポイントおよび/または転座はCTCLのごときリンパ球異常増殖疾患と関連する。

【0022】

また、本発明は、該疾患を診断するための、ニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントおよび/または第12染色体中のニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの転座、欠失または他の欠陥の使用にも関し、ここに該遺伝子、転座、欠失または欠陥はCTCLのごときリンパ球異常増殖疾患と関連する。

【0023】

また、本発明は、該疾患の療法を開発するための、第12染色体中の特定の染色体ブレイクポイントまたは複数の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体からの染色体構成要素の転座の使用にも関し、ここに該染色体ブレイクポイントおよび転座はCTCLのごときリンパ球異常増殖疾患と関連する。

【0024】

また、本発明は、該疾患の療法における、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患と関連するニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントのおよび/または第12染色体中のニューロンナビゲーター3 (NAV3) 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの転座、欠失または他の欠陥の使用にも関する。

【0025】

図面の簡単な説明

図1は、SS患者からの試料中の染色体12q (ワインレッド色) および染色体18q (赤色) の間の転座のSKY-分析を示す。正常な染色体は、Nで、転座した染色体はTで印を付している。

【0026】

図2は、染色体12q、4qおよび10間の転座のFISH-解析を示す。最上部分のサブウィンドウは正常な第4染色体を示している。第2のサブウィンドウは染色体長腕中の第12染色体の遠位に転座した構成要素を有する第4染色体を示す。第3のサブウィンドウは、q22中のブレイクポイントを有する第12染色体長腕、および短腕中の第10染色体の遠位に転座した構成要素を示す。最下部のサブウィンドウは短腕中の第10染色体を示す。各染色体のFISHの結合したカラーは各サブウィンドウの右手側に示している (N = 正常、T = 転座)。

【0027】

図3は、染色体試料のFISH分析を示す。図3A) および3B) は同一細胞中の第12染色体と第18染色体とのカラー組合せを表す。染色体の組み合わせの発色は、両方の図の右側に示されている。発色スペクトルは、中位サブウィンドウに示されている。試料は、図1と同一の患者から得た。

【0028】

図3A) 最上部サブウィンドウは正常な第12染色体 (N1) を示しており、これは

10

20

30

40

50

バックグラウンド図の右側の3の第12染色体の群のうちの中位の染色体でもある。第12染色体のセントロメアは赤色シグナルを与え、これはサブウインドウにおいて鮮やかな赤色およびワインレッド色の組合せとして見える。YAC 803-C-2はすべてのサブウインドウおよびバックグラウンド図においてワインレッド色シグナルである。BAC RP11-359M6は正常第12染色体(N1)中の緑色スポットであり、最上部サブウインドウおよび第12染色体の群の中位の第12染色体において見える。2のつぎのサブウインドウにおいて緑色シグナルは欠失しており、それが第12染色体の2の他のコピー(T1およびT2)から引っ越したことを示している。緑色はバックグラウンド図の正常第12染色体の両方の側の染色体からも欠失しているが、ワインレッド色YAC 803-C-2スポットはYAC 803-C-2由来の構成要素がこれらの2コピー中に存在することを示している。最下部のサブウインドウは、BAC RP11-359M6に対応する構成要素を受容した第18染色体(T3)を図示する。第18染色体のセントロメアは上部の緑色スポットであり、下部の緑色スポットはBACである。転座した構成要素を示す対応する第18染色体は、バックグラウンド図中の4の第18染色体の群中の最も左側(T3)である。

10

【0029】

図3B) 2の上部サブウインドウは、緑色に発色するセントロメアのみを示す正常な第18染色体(N2およびN3)を表している。3番目のサブウインドウは、第12染色体から構成要素を受容した第18染色体(T4)を示している(BAC 359M6は緑色に発色するセントロメア下では他の緑色である)。この染色体(T4)はバックグラウンド図中で右から2番目である。

20

【0030】

図4は、BAC 36P3およびYAC 857F6を用いた第12染色体および第18染色体間の転座のFISH分析を示している。最上部のサブウインドウは正常な第12染色体を示しており：セントロメアは赤色シグナルを与え；BAC 36P3はセントロメア下の小さな赤色シグナルを与え；YAC 587F6は緑色シグナルを与えている。3番目のサブウインドウは異常な第18染色体を示しており：セントロメアは緑色シグナルを与え；BAC 36P3は赤色シグナルを与えて第12染色体から転座した構成要素を示している。最下部のサブウインドウは正常な第18染色体を示しており：セントロメアは緑色シグナルを与えている。各染色体のFISHの合わせた発色は各サブウインドウの右側に示している。上部バックグラウンド図は、左側および右側に各々正常および異常な第12染色体を示しており、下部バックグラウンド図は、右側および左側に各々正常および異常な第18染色体を示している。

30

【0031】

図5は、SS患者からの試料中におけるBAC 36P3を用いた第12染色体(セントロメア 赤色)および18q(セントロメア 緑色)間の転座のFISH分析を示している。上列は左から右に：2の異常な第12染色体および1の正常な第12染色体；第12染色体のセントロメアおよびBAC 36P3は両方とも赤色シグナルを与えており、これは第12染色体が短いために没入している。下列は左から右に：2の異常な第18染色体および2の正常な第18染色体であるが、セントロメアは緑色シグナルを与え、転座したBAC 35P3は赤色シグナルを与えている。

40

【0032】

図6は、BAC 781A6(緑色)およびBAC 136F16(赤色およびワインレッド色)を用いた第12染色体と第18染色体との間の転座のFISH分析を示している。最上部サブウインドウは転座後の第12染色体を示しており：セントロメアはスミレ色シグナルを与え；BAC 136F16は存在しておらず；BAC 781A6は緑色シグナルを与えている。2番目のサブウインドウは正常な第12染色体を示しており：セントロメアはスミレ色シグナルを与え；BAC 136F16はセントロメア下の赤色およびスミレ色の二重シグナルを与えており；BAC 781A6は緑色シグナルを与えている。3番目のサブウインドウは特異的なシグナルを含まない正常な第18染色体を示し

50

ている。最下部のサブウィンドウは転座後の第18染色体を示しており：BAC 136 F16は赤色およびスミレ色の二重シグナルを与えている。各染色体のFISHの組み合わせた発色を各サブウィンドウの右側に示す。上部のバックグラウンド図は、右側および左側に、各々正常および異常な第12染色体を示しており、下部バックグラウンド図は左側および右側に、各々正常および異常な第18染色体を示している。

【0033】

図7は、BAC 494K17（緑色）およびBAC 144J4（12q24）（赤色）を用いた第12染色体のMFISH分析を示している。上部のサブウィンドウは正常な第12染色体を示しており：セントロメアはスミレ色シグナルを与えている。下部サブウィンドウは転座後の第12染色体を示しており：BAC 494K17（緑色）が残存してあり；BAC 144J4（赤色）は消失している。

10

【0034】

図8は、すべてCTCLの白血病亜型であるSSに罹った患者1、2および3において観察された異常な第12染色体中の幾つかの対応する遺伝子を用いたFISHアッセイにおけるYAC、BACまたはPac（P1）プローブのシグナルを示しており、ハイブリダイゼーションを用いて調べた長い染色体距離を示している。

【0035】

図9は、BACプローブを用いて行ったFISHで検出された患者3における転座に含まれていたNAV3遺伝子の一部分を示している。BAC RP11-494K17の範囲内の正確なブレイクポイント（？マーク）は近似である。

20

【0036】

発明の詳細な説明

本発明は、染色体構成要素の他の染色体への転座を有するかまたは有しない、第12染色体長腕中の、具体的には12q14-q24中の特定のブレイクポイントまたは特定の複数のブレイクポイントを同定したことに基づき、該ブレイクポイントはCTCLと関連している。

【0037】

本明細書中で用いる"染色体ブレイクポイント"および"染色体ブレイク"なる語は、そこから染色体が構成要素を失ったポイントをいい、したがって染色体の構造異常である。本明細書中で用いる"転座"なる語は、非同相染色体間の染色体領域の移動をいう。

30

【0038】

本明細書中で用いる"ニューロンナビゲーター3遺伝子"（NAV3）なる語は、配列番号：1として同定される配列を有する遺伝子、または実質的に同一の機能を有し、かつ、実質的に同一のタンパク質をコードするその等価物をいい、あるいは、配列番号：3として同定される配列を有する遺伝子、またはその等価物をいう。"等価物"なる語には、さらに、配列番号：2として同定される配列またはそれにハイブリダイズ可能な機能的に等価な単離されたDNA配列のごときNAV3の機能性フラグメントまたは変異型も含まれる。

【0039】

本明細書中で用いるNAV3遺伝子の"機能的に等価なフラグメント"なる語は、本発明の方法で検出可能であるかかるとの遺伝子フラグメントをいう。

40

【0040】

本明細書中で用いるNAV3遺伝子の"欠失または他の欠陥"なる表現は、存在しないと遺伝子の機能に悪影響を及ぼす遺伝子配列中のヌクレオチドまたは複数のヌクレオチドおよび/またはエキソンまたは複数のエキソンの不存在をいう。

【0041】

ブレイクポイントは、CTCLの白血病形態であるセザリー症候群（SS）に罹った7の患者のうちの6において領域12q14-12q24において、ならびにCTCLの亜型である菌状息肉腫症（MF；ステージIA-IB）に罹った4の患者のうちの3において観察された（図1および2を参照されたい）。2の患者においては、ブレイクポイン

50

トは領域 12q14 - q21.3 (図3) に特定された。これらの後者の患者のうちの1において、12q中の欠失は、遠位のブレイクポイントが12q23または12q24中に存在するように間欠的である。SSに罹った3の患者において、染色体構成要素は第18染色体短腕または18q12 - 18q21に転座していた。1のSS患者において、第12染色体由来の構成要素の転座は第4染色体において起こっており(図2)、第22染色体への転座も認められた。

【0042】

染色体のブレイクポイントおよび転座は、コンビナトリアルマルチ蛍光FISH [MFI SH, Speicher, M. R.ら, Nat. Genet. 2 (1996) 368-375] または分光核型決定 [SKY; Schrock, E.ら, Science 273 (1966) 494-497] のいずれかを用いるマルチカラー 10
 蛍光イン・サイチュ・ハイブリダイゼーションを用いて同定した。転座およびブレイクポイントはさらに、対立遺伝子特異的な市販のプローブ、YAC 803 - C - 2 (12q14 - q15) およびBAC RP11 - 359M6を用いるFISHでさらに特定した。Yac 803 - C - 2は、12q15の公表されているYAC - コンティグの一部 20
 である [Schoenmakersら, Genomics 29 (1995) 665-678]。それはこれらのマーカーを含むDNAマーカーSTS12 - 98とSTS - 72との間に位置し、コンティグの隣接する末端付近に位置する。Yac 803 - C - 2はキメラではない。YAC 803 - C - 2はHMGタンパク質遺伝子HMGIC [Schoenmakersら, Nature Genetics 10 (1995) 436-444; Schoenmakersら, Genomics 29 (1995) 665-678] を含む。BAC RP11 - 359M6は公表されている [AC027288.26 8422.. 8574 www.ncbi.nlm.gov (Ros 20
 well Park Cancer Institute Human BAC Library, complete sequence 177080)]。BAC RP11 - 359M6は、ヒトPAWR - 遺伝子を含む [位置12q21; Johnstoneら, Genomics 53 (1998) 241-243; BACについては www.ncbi.nlm.nih.govを参照されたい]。12q24はレトロウイルス遺伝子HMGICYを含み [Rogallaら, Cancer Genet. Cytogenet. 130 (2001) 51-56]、これはHMGタンパク質遺伝子のもう1のメンバーである。子宮筋腫においては、12q24.1のミトコンドリア・アルデヒド・デヒドロゲナーゼ (ALDH2) 遺伝子がHMGICに対する転座パートナーであることが見出されている [Kazmierczakら, Cancer Res 55 (1995) 6038-6039]。

【0043】

FISH分析によって、SS患者から得られた生物試料における12q14 - q21中 30
 の染色体ブレイクポイントおよびその18q12 - q21への転座は、第12染色体からの緑色のBAC RP11 - 359M6スポットの消失(図3A、最上部サブウインドウ、正常な染色体と2のつづくサブウインドウ、欠陥染色体とを比較)、および第18染色体におけるさらなる緑色のBAC RP11 - 359M6スポットの出現(図3B、2の上部サブウインドウ、正常染色体と最下部サブウインドウ、欠陥第18染色体とを比較)として観察された。

【0044】

染色体の破壊および転座の結果として、腫瘍抑制遺伝子が碎け得るか、細胞増殖またはアポトーシスを促進する遺伝子の転写が増幅され得るか、あるいは細胞増殖を調節している公知の転写因子間に介在しているネオジーン (neogene) が形成されて、疾患のその悪 40
 性形態へのトランスフォーメーションを誘導し得る。

【0045】

観察されたブレイクポイントおよび転座をさらに同定するために、ならびに転座した構成要素を同定するために、さらなる特定のYAC - およびBAC - プローブを用いたさらなる分析を行った(図8)。

【0046】

プローブYAC 855F7は異常な第12染色体と異常な第18染色体との間に分割されることが示され、これは調べた患者試料中の転座ブレイクポイントがこのYACの範囲内に存在することを示している。YAC 855FはYAC - コンティグ12.4の一部であり(NIH: www.ncbi.nlm.nih.gov)、マーカーCHLC . GATA65A12 50

およびWI-6487の間の領域に広がっている。NCBIデータベースにより、対応するゲノムコンティグ(NT 009551)中のこれらのマーカーの間の連続する対立遺伝子、すなわちLOC255379、LOC255315、LOC204040、LOC121318およびKIAA0938を明らかにした。遺伝子座特異的なSTS-マーカーを用いたPCRおよびBLASTAコンピュータ解析(www.ncbi.nlm.nih.gov)により、これらの遺伝子座はYAC 855F7 DNAおよび4のBAC:RP11-781A6、RP11-494K17、RP11-136F16およびRP11-36P3(各々、受託番号AC073552.1、AC022268.5、AC073572.14およびAC073608.19)に位置することが判明した。

【0047】

BAC RP11-494K17は、遺伝子座255315およびほぼ全体の遺伝子座204040が含まれる。後者の遺伝子座の一部分はBAC F16にも存在し、これは全体遺伝子座121318およびKIAA0938の小部分も含まれる。BAC RP11-36P3は全体遺伝子座KIAA0938を含むが、遺伝子座12318の配列は含んでいない。BAC 781A6は遺伝子座255379および遺伝子座255315の小さい部分を含む(図8を参照されたい)。

【0048】

BLASTA分析およびMaesら[Genomics 80(2002)21-30]によると、遺伝子座255315、203040、121318およびKIAA0938は一緒になってRAINB1-遺伝子ホモログ、ニューロンナビゲーター3(NAV3)遺伝子(配列番号:1)またはその部分コーディング配列(AF397731)を形成している。LOC255315(配列番号:2)はその配列498ないし668をNAV3配列の1ないし171と共有しているが、ポジション594の1のヌクレオチドは除かれる。完全5'末端を含むNAV3遺伝子配列を配列番号:3として掲載する。

【0049】

FISH分析によって、SS患者から得た生物試料中の12q14-q21中の前記に観察された染色体ブレイクポイントおよび転移t(12;18)(q21;q12-21)は、第12染色体からの赤色のBAC 36P3スポットの消失(図4A、最上部サブウインドウ、正常染色体とつぎのサブウインドウ、異常染色体とを比較)および第18染色体におけるさらなる赤色BAC 36P3スポットの出現(図4、3番目および4番目のサブウインドウ、各々、異常な第18染色体および正常な第18染色体)によって確認された。YAC 857F6は第12染色体に残存している。第12染色体から第18染色体への染色体構成要素の転座は、SKY-分析によっても観察された(図1)。

【0050】

SS患者からの試料中のBAC 36P3での第12染色体(セントロメア、赤色)および第18染色体長腕(セントロメア、緑色)の間の転座は、さらに、さらなるFISH-分析によっても確認された(図5)。

【0051】

SS患者試料を用いたさらなるFISH分析において、BAC 781A6(図6中の緑色シグナル)およびBAC 136F16(図6中の赤色およびワインレッドシグナル)は、正常な第12染色体と比較した場合の異常な第12染色体における赤色スポットの不存在および緑色スポットの存在から判断されるように、転座において互いに分離する。この構成要素は第18染色体に転座していた(図6中の異常な第18染色体における赤色スポットを参照されたい)。一方、BAC 494K17は第12染色体に残存し(図7中の異常な第12染色体中の緑色シグナル)、BAC 144J4は第12染色体から離れて移動した(図7中の異常な第12染色体における赤色シグナルの消失)。

【0052】

上記のBACは一緒になってNAV3遺伝子を形成する遺伝子座を含むため、遺伝子座の分離を示すシグナルの分離は、転座におけるNAV3遺伝子の2の部分への分裂を示している。その1の部分は第12染色体中に残存し(BAC RP11-786A1および

10

20

30

40

50

494K17に位置する部分および遺伝子座)、もう1の部分は第18染色体長腕に転座する(BAC 136F16および36P3に位置する部分および遺伝子座)。

【0053】

FISH実験から推定されるブレイクポイントは、BAC 494K17によってカバーされる領域の末端部分に位置する(おそらく、遺伝子座204040、図8)。より正確な決定には、DNAレベルの実験、例えば転座ブレイクポイントのクローニングが必要であろう。

【0054】

これは、特定の再発ブレイクポイントまたは転座がCTCLにおいて認められたという最初のものであるが、染色体ブレイクポイント/転座を有する造血系の他の悪性腫瘍は記載されている。最もよく知られているのは、第9染色体と第22染色体との間の転座であり、CMLにおいて同定されたいわゆるフィラデルフィア症候群を生じる[Nowell, P.およびHungerford, D., Science 132 (1960) 1497; Rowley, J., Nature 243 (1973) 290-293.]。このトランスフォーメーションはBCRおよびABL遺伝子の融合を生じ、これはCMLの発達に必須である[Shtivelman, E.ら, Nature 315 (1985) 550-554]。この融合遺伝子はチロシンキナーゼ活性を有する。MLL(混合性白血病)遺伝子はヒト急性白血病と関連する染色体転座の一般的なターゲットである。後者の転座は、30の異なるパートナータンパク質のうち1とインフレームで融合したMLLのアミノ末端を含む新規なキメラタンパク質を生成することによってMLL機能の取得を生じる。この融合タンパク質の発現は必要であるが、マウスモデルにおける白血病発生に十分なものではない[Ayton, P.およびCleary, M., Oncogene 20 (2001) 5695-707]。

10

20

【0055】

急性前骨髄性白血病はt(15;17)転座によって特徴付けられ(Xuら, Leukemia 9 (2001) 1358-68)、脾辺縁帯B細胞リンパ腫はt(11;14)(p11;q32)転座によって特徴付けられ[Cuneo, A.ら, Leukemia 15 (2001) 1262-7]、濾胞性リンパ腫はt(14;18)(q32;q21)を有し、これはIGH遺伝子のプロモーター領域と第18染色体上の抗アポトーシスタンパク質Bcl-2のコーディング領域との並置を生じる[Fukuhara, S.ら, Cancer Res 39 (1979) 3119-3128, Tsujimoto, Y.ら, Science 266 (1984) 1097-1099]。再発性の相互に平衡のとれた転座t(2;5)(p23;q35)が、CD30+未分化大細胞型リンパ腫において見出されており[Kadin, M. E.およびMorris, S. W., Leuk Lymphoma 29 (1998) 249-56]、CD30+原発性CTCLの50%に上ることが判明している[Beylot-Barry, M.ら, Blood 91 (1998) 4668-76]。この転座は新規な融合タンパク質を生成し、これはイン・ビトロ(in vitro)においてトランスフォーミング特性を有する。

30

【0056】

同様にして、これは、特定の遺伝子NAV3およびその転座が、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患と関連しているという初めてのものである。

【0057】

ニューロンナビゲーター3(NAV3)遺伝子は、ケノルハブディティス・エレガンス(Caenorhabditis elegans)からの細胞ガイダンス遺伝子であるunc-53に対してホモロジーを示す最近同定されたヒト遺伝子ファミリーのメンバーである(Maesら, 前掲)。それは、unc-53の哺乳動物ホモログである[Merrillら, PNAS 99 (2002) 3422-3427]、ヒトRAINB1(神経芽腫細胞に誘導可能なレチノイン酸)と相同配列を共有する。NAV3は39のエキソンからなり、mRNA検出に基づくその発現は脳組織に大きく限定されている(Maesら, 2002, 前掲)が、いままで、造血またはリンパ腫組織は全く調べられていない。NAV3は異なる長さのタンパク質をコードする転写物を生成することが示され、それは組織特異的な別のスプライシングに付され得ることが示された。NAV3のサブセラー局在性は知られていない。予想された構造に基づいて、相同タンパク質UNC-53は、SH3-結合ドメインを表し得る2のポリプロリンに富むドメイン、中央コイル化コイル領域(おそらくは他のタンパク質と相互作用している)および推定AT

40

50

P / G T P - ヌクレオチド結合サイトを有する [Stringham, E.ら, Development 129 (2002) 3367-3379]。それは2の推定アクチン - 結合ドメインも含んでいる [Stringham, E.ら, Development 129 (2002) 3367-3379]。

【0058】

前記した相同性遺伝子およびタンパク質の最近の知見に基づいて、本発明者らは、配列番号：1または3として掲載するNAV3がその機能をシグナル伝達において発揮し、その不存在（遺伝子欠失）または（転座の結果としての）妨害もしくは増幅された機能は、おそらくはアポトーシスに対する調節応答を介して、細胞に対して増殖許可を提供し、つぎにこれは悪性腫瘍への必須であると予想している。

【0059】

レチノイドはCTCLにおいて治療活性を発揮することが知られており [Zackheim, H. S., Dermatology 199 (1999) 102-105)、NAV3遺伝子はその前記したホモログと同様に全トランスレチノイン酸によって誘導されるようであるため、本明細書中に示すようにNAV3の欠失/転座は（本明細書中に示す実験において調べたすべての3の患者での症例と同様に）イン・ビボ(in vivo)においてかかる療法に対する耐性を提供することは理解し得る。

【0060】

さらに、本発明は、リンパ球異常増殖疾患、すなわちCTCLおよびとりわけその白血病形態のセザリー症候群におけるその関与を示すことによってNAV3遺伝子に対する新たな潜在的機能を同定する。

【0061】

本発明は、細胞遺伝学的知見を特徴付けし、特定の細胞遺伝学的異常を有するT細胞クローンと同定する。同定した細胞は定義によって真正な悪性腫瘍であり、臨床組織標本におけるかかる細胞の実証は疾患が存在することを示した。

【0062】

本発明は、転座およびその結果として起こるネオジーン形成ならびにリンパ球異常増殖疾患、すなわちCTCLおよびとりわけその白血病形態であるセザリー症候群と関連する特定の遺伝子欠失および転座を同定する。上記の知見、病態生理学的スキームと他のリンパ球異常増殖疾患に対するモデル特性とを統合することによって、新たな診断ツールを提供する。

【0063】

本発明の診断方法によれば、染色体ブレイクポイントまたは複数のブレイクポイントの存在または不存在を、ブレイクポイントおよび転座を検出するのに好適ないずれかの公知の検出方法によって生物試料から検出し得る。かかる方法は、当業者によって簡単に認識され、マルチカラー蛍光イン・サイチュ・ハイブリダイゼーションのごとき、蛍光イン・サイチュ・ハイブリダイゼーションが含まれ、それは特定の色、スペクトル、色の割合または色の強さまたはそれらの組合せで第12染色体を色分けする染色体特異的またはアーム特異的色分けプローブに基づく。色分けプローブは単独またはマルチ蛍光イン・サイチュ・ハイブリダイゼーション [MFISH, Speicher, M. R.ら, Nat Genet 12 (1996) 368-375によって記載]、または分光核型決定 [SKY, Schock, E.ら, Science 273 (1996) 494-497によって記載]、またはコンバインド・バイナリーレシオラベリング [COBRA, Tanke, H. J.ら, Eur J. Hum. Genet 7 (1999) 2-11によって記載] または色変化核型決定 [CCK, Henegariu, O.ら, Nat. Genet. 23 (1999) 263-4] におけるのと同様に、またはセントロメア特異的プローブまたは転座領域における遺伝子座に対して特異的な遺伝子座特異的またはバンド特異的プローブを用いて、他の染色体または染色体アームを検出する他の色分けプローブと組合せて用い得る。従来のG-バンド技術でさえこの場合に用い得、これは十分とみなせる転座の粗い検出であった。好ましい方法は、MFISHおよびSKYのごとき臨床的研究室で使用するのに好適なものである。

【0064】

リンパ球異常増殖疾患におけるNAV3遺伝子の同定に有利な本発明の1の好ましい具

10

20

30

40

50

体例によれば、NAV3 遺伝子またはその等価物またはフラグメントの存在または不存在を、遺伝子発現（またはコピー数）を検出するのに好適ないずれかの公知の検出方法、すなわち遺伝子（またはDNA）のコピー数を検出することに基づく方法および/または遺伝子発現産物（mRNAまたはタンパク質）を検出することに基づく方法、によって生物試料から検出し得る。かかる方法は当業者によって容易に認識され、蛍光イン・サイチュハイブリダイゼーション（FISH）のごときイン・サイチュ・ハイブリダイゼーション、mRNAイン・サイチュ・ハイブリダイゼーション、ノザン分析、RT-PCR、サザンおよびウエスタン分析、免疫組織化学、およびELISAのごとき他のイムノアッセイが含まれる。好ましい方法は、FISH、RT-PCR法および免疫組織化学のごとき日常的な臨床研究室で使用するのに好適なものである。

10

【0065】

療法においては、NAV3 遺伝子の正常な機能の回復を使用し得る。これは、増殖性疾患の進行を防ぐための遺伝子療法に現在利用可能ないずれかの技術で、機能的に相同な遺伝子の発現を高めることによって、インタクトなNAV3 遺伝子を導入することによって、または変化した形態のNAV3 遺伝子またはNAV3 に対するアンチセンス・オリゴヌクレオチドを用いることによって達成し得る。特に、腫瘍細胞の増殖は、かかる療法によって減速または停止さえし得る。かかる技術にはエクス・ビボ(ex vivo)およびイン・サイチュ(in situ)療法が含まれ、前者には、組換え体またはペプチド形態中またはアンチセンス・オリゴヌクレオチドとしてまたはベクター中のインタクトまたは改変したNAV3 遺伝子（またはその機能ドメイン）を患者に導入またはトランスフェクトすることが含まれ、後者には、改変した遺伝子またはオリゴヌクレオチドを担体に挿入し、ついでこれを患者に導入することが含まれる。治療する疾患に依存して、一時的な治癒または永続的な治癒を達成し得る。あるいは、NAV3 タンパク質または転座の結果として生成した融合遺伝子に結合するモノクローナル抗体またはヒト化抗体またはペプチドを用いて、変化したNAV3 タンパク質の機能を抑制することができ、したがって腫瘍細胞の増殖を減速または停止させし得る。NAV3 に対する抗体を用いて、NAV3 遺伝子を過剰発現しているガン細胞まで細胞毒性物質のごとき他の剤を運搬させ得る。ついで、かかる剤を用いて、ガン細胞を特異的に殺すことができる。

20

【0066】

本発明により、臨床標本における同定した分子細胞遺伝学的変化に対する高速試験系の開発も許容される。かかる系には、染色体ブレイクポイント（複数のブレイクポイント）に広がり、異なる発色または蛍光マーカーで標識し、簡単に入手可能な非分裂性の皮膚または血液細胞（間期細胞）にハイブリダイズするた2のDNAプローブが含まれる。プローブ間の領域中の染色体ブレイクポイントが試料中に存在する場合には、視覚化されたシグナルは視覚的に互いに離れるか、消失するか、または没入するかのいずれかである。本発明のこの具体例に有用なプローブは、例えば、ヒト遺伝子座特異的な配列を含む、YACまたはBAC、P1またはコスミドをベースとするものである。実施例2も参照されたい。プローブは異なる手法、例えばYACのヒト・インサートを富化するためのPCR、および異なる標識手法によってさらに発展し得る。

30

【0067】

本発明の1の具体例は診断キットであり、これにはNAV3 遺伝子、その遺伝子産物またはフラグメントの検出に必要な試薬が含まれる。これらの試薬には、NAV3 またはその遺伝子産物またはフラグメントを同定することができる特異的抗体、好ましくはモノクローナル抗体、視覚化または定量に必要であるマーカーおよび標準物質、ならびに、市販の試薬キットに一般的に含まれているバッファー、希釈剤、洗浄溶液などが含まれる。あるいは、本発明の診断キットには、NAV3 タンパク質に対する抗体の検出に必要な前掲したごとき好適な試薬と一緒に、NAV3 遺伝子産物またはその機能的変異型またはフラグメントが含まれ得る。

40

【0068】

本発明の方法においては、生物試料は、皮膚またはリンパ節からのバイオプシー、全血

50

、リンパ液または脳脊髄流体試料のごとき体液のごときいずれの好適な組織試料ともし得る。必要な場合には、生物試料は、当業者に知られている好適な方法で予め処理し得る。

【0069】

第12染色体中の染色体ブレイクポイントおよび/またはその転座の検出は、組み合わせた診断アプローチによって、とりわけ原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）のごときリンパ球異常増殖疾患の進行/トランスフォーメーションの早期の診断において、および、予期することにおいて価値がある。例えば、CTCLにおいては、本発明により検出した第12染色体中の頻発ブレイクポイント（複数のブレイクポイント）および/またはその転座（複数の転座）によって、初めて凝集形態のCTCLが同定され、重要なことには疾患の初期ステージにおいて同定された。しかしながら、この染色体転座の証明と後に記載するものごとを組み合わせると、リンパ球異常増殖疾患の特定の臨床過程と関連する染色体異常のパターンの作成の基礎が得られるであろう。また、罹患したリンパ球の機能的な能力を確認するために、本明細書に記載する発明は、公知のセントロメア特異的な染色体プローブについて以前に記載されているごとく細胞の表面マーカーの実証に結合し得る [Karenko, L.ら, J. Invest. Dermatol. 116 (2001) 188-193]。

10

【0070】

本発明は、CTCLのごときリンパ球異常増殖疾患のより信頼性が高く、より早期の、より簡便な診断を提供し、その療法における新たな可能性を公開する。

【0071】

以下の実施例は本発明をさらに説明するために提供するものである。

20

実施例 1

第12染色体中の転座の同定

a) 細胞培養および慣用的な染色体の調製

末梢血液リンパ球を Ficoll - Isopaque 密度勾配遠心を用いて単離し、RPMI 1640 (Gibco BRL, Life Technologies) で洗浄し、20%のウシ胎児血清 (Gibco BRL)、L-グルタミン (100x液体、1xとして使用、Gibco BRL)、抗生物質 (ペニシリン 10000 IU/ml、ストレプトマイシン 10000 mg/ml、1:100として使用) およびフィトヘマグルチニン (PHA 10576-015、Gibco BRL、1:100として使用) 存在下、RPMI 1640 中で3日間培養した。この細胞を低張KCl溶液で処理した後に、氷酢酸-メタノール (1:3) で固定し、その細胞懸濁液を対物スライドに落として従来の染色体調製物を作成した。

30

【0072】

b) MFISH法

風乾した調製物を0.1%のparaホルムアルデヒドで固定し、一連のエタノール (70%、85%、100%) 中で乾燥した。染色体特異的な蛍光色素の組合せで標識した各染色体対に特異的なペインティング・プローブを含有するプローブ混合物 (24x Cyte - Meta Systems' 24 color kit, MetaSystem GmbH, Altlußheim, Germany) を、製造業者の指示書に従って、75℃の水浴中で6分間変性させ、短時間氷上に置き、ついで37℃のインキュベーター中で30ないし60分間維持した。染色体のDNAは2xSSC、pH7.0中の70%のホルムアルデヒド中で2分間変性させ、スライドを、各々70%、85% および100%のエタノール中で乾燥させ、37℃の加温プレート上に置いた。プローブをスライド上の染色体にアプライし、ラバーセメント (Starkey Chemical Co., IL, USA) を用いてカバーガラスを覆った。スライドを加湿チャンバー中、37℃にて3ないし5日間インキュベートした。

40

【0073】

そのスライドを2xSSC、pH7.3、42℃中の50%のホルムアミドで2x5分間、ついで2xSSC、pH7.0、42℃中のもので2x5分間、および0.01%のTween 20 (=SSCT)、pH7.0を含む4xSSC中で1分間洗浄した。ビオチン標識は、製造業者の指示書に従って1または2層のストレプトアビジン - Cy5で検出し (B-tech kit, MetaSystems GmbH)、調製物をantifadeおよびDAPI (B-tech kit, M

50

etasytems GmbH)中でマウントした。

【0074】

中期をUV顕微鏡(Axioplan imaging 2, Zeiss, Germany)を用いて撮影し、MFISH-プログラムモジュールとMetaSystems GmbHのコンピュータ・プログラムISISを用いて解析した。

【0075】

ブレイクポイントは従来のG-バンド染色法(Verma, R. S.およびBabu, A., Human Chromosomes. Manual of basic techniques, 初版, Pergamon Press, New York, 1989)を用いてさらに明らかにし、そこではマーカー染色体および欠失した染色体の中のこれらの転座した染色体を見出すことが可能である。

【0076】

1c) SKY法(MFISHの代替法)

SKY[Schroeck, E.ら, Science 273 (1996) 494-497によって記載された]は、ASI(Applied Spectral Imaging)によって推奨されているごとく行った。簡単には、プローブ混合物(SKYキット, ASIからの)を37℃にて1時間変性およびインキュベートした。スライドを70%のホルムアミド/2×SSC中で変性させ、脱水した。そのプローブを中期の展開にアプライして、37℃にて2日間ハイブリダイズさせた。ビオチニル化プローブはアビジン-Cy5で検出し、マウス抗ジゴキシゲニン抗体とジゴキシゲニン標識プローブにつづいてCy5.5にコンジュゲートしたヤギ抗マウス抗体で検出した。

【0077】

MFISHまたはSKYのいずれかを用いて、ブレイクポイントは、CTCLの白血病形態であるセザリー症候群(SS)に罹った6患者のうちの5患者において、およびCTCLの亜型である菌状息肉腫(MF)を患う2の患者において、領域12q14-12q24に観察された。SSを患う3の患者においては、染色体構成要素は染色体18pまたは18q12-q21に転座し(図3)、1の患者においては第4染色体に転座していた(図2)。

【0078】

実施例2

転座の特徴付け

対立遺伝子特異的なYACプローブまたはBACプローブ(YAC-probes, CEPH, Fondation Jean Dausset, FranceからのYAC; Research Genetics, Groningen, The NetherlandsからのBAC-probes)を用いることによるFISHを用いて転座をさらに明らかにした。YACはAHCプロブス中で増殖させ、Genomesystems(St. Louis, Missouri, USA)の指示書に従って精製した。BACはResearch Genetics(Groningen)の指示書に従って増殖および精製した。YACおよびBACは両方ともFITC(フルオレセイン-12-dUTP, NEN Life Science Products, Inc, Boston, MA, USA)、Alexa 488(登録商標)またはAlexa 594(登録商標)(両方とも、Molecular probes, Leiden, The Netherlands)またはビオチン(Oncor Inc. Gaithersburg, MD, USA)でニックトランスレーションを用いて標識した。BACはResearch Genetics(Groningen)の指示書に従って増殖および精製した。YAC 803-C-2およびBAC RP11-359M6に関しては、発明の詳細な説明の章を参照されたい。

【0079】

含まれる染色体は、ビオチン(Oncor Inc. Gaithersburg, MD, USA)またはジゴキシゲニン(Oncor Inc.)で標識した第12染色体または第18染色体のセントロメア特異的プローブで同定した。ビオチン標識は、2層のアビジンCy3(ExtrAvidin-Cy3コンジュゲート, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, USA)およびそれらの間のビオチニル化抗アビジン抗体(ヤギ, Vector)を用いて検出した。ジゴキシゲニン標識は、ヒツジにおいて生成した抗ジゴキシゲニン抗体(Roche, Mannheim, Germany)につづいてロバにおいて生成し、FITC(Jackson West Grove, Pennsylvania, USA)で標識した抗-ヒツジ抗体を用いて検出した。調製物はDAPIを含むVectashield(登録商標)(Vector Laboratorie

10

20

30

40

50

s, Inc, Burlingame, CA, USA)を用いてマウントした。

【0080】

中期はUV顕微鏡(Axioplan imaging 2, Zeiss, Germany)を用いて撮影し、M F I S H - プログラムモジュールとMetaSystems GmbHのコンピュータ・プログラム I s i s を用いて分析した。

【0081】

前記した方法を用いて、ブレイクポイントは2の患者において領域12q14 - q21.3に特定された(図3)。

【0082】

実施例3

転座中のNAV3遺伝子の同定

転座をさらに同定するために、さらなるプローブをFISHに用いた。実施例2に記載したごとく、YAC 855F7 (CEPH)を増殖させ、精製し、ニックトランスレーションを用いてジゴキシゲニン - 11 - dUTP (Roche)で標識した。ハイブリダイゼーションは実施例2に前記したごとく行い、ハイブリダイズしたプローブはヒツジ抗ジゴキシゲニン - ロダミン抗体 (Roche, Mannheim)を用いて検出した。

【0083】

ハイブリダイズしたプローブは撮影し、紫外線顕微鏡およびI s i s 3 - コンピュータ・プログラムを用いて分析した(図8)。SSに苦しむ患者3からの試料においては、YAC 855F7が2の染色体12qおよび18qの間に分割された。さらなるYACを用いる他のハイブリダイゼーションにおいては、YACはYAC 855F7上の領域に位置したYAC(図8、患者応答ブロックを参照されたい)は異常な12qのその対応する場所に残存して、YAC 855F7以下のYACは異常な12qから異常な染色体18qに転座することが見出された。患者1および2からの試料においては、YAC 855F7は正常な第12染色体のホモログにのみ存在し、いずれの他の染色体においても見えなかった。NAV3と同様に、YAC 855F7に表される遺伝子の1のホモログのみが細胞中に存在した。

【0084】

YAC - コンティグ12.4 (NIH: www.ncbi.nlm.nih.gov)の一部であるYAC 855F7は、マーカーCHLC.GATA65A12およびWI - 6487の間の領域に広がる。5の連続する遺伝子座、すなわちLOC255379、LOC255315、LOC204040、LOC121318およびKIAA0938は、対応するゲノムコンティグ(NT__009551)中にNCBIデータベース(www.ncbi.nlm.nih.gov)から見出された。遺伝子座およびBAC特異的STS - マーカー(各々、SHGC - 155034、G62498、SHGC - 79622およびWI - 6487)のPCRおよびBLASTAコンピュータ分析(www.ncbi.nlm.nih.gov)によって、これらの遺伝子座がYAC 855F7 DNAおよび4のBAC RP11 - 781A6、RP11 - 494K17、RP11 - 136F16およびRP11 - 36P3(各々、受託番号AC073552.1、AC022268.5、AC073571.14およびAC073608.19)中に位置することが判明した。

【0085】

4のBAC、RP11 - 781A6、RP11 - 494K17、RP11 - 136F16およびRP11 - 36P3は前記したごとく精製し、標識し、ハイブリダイズさせ、撮影した。SSに苦しむ患者3からの試料においては、BAC RP11 - 781A6およびRP11 - 494K17は異常な第12染色体中のそれらの位置に残存していたが、RP11 - 136F16およびRP11 - 36P3は染色体18qに転座していた。SS患者1および2からの試料においては、BAC RP11 - 36P3に対応する1のホモログが正常な12qにのみ存在するシグナルを全体的に欠いていた(図8、拡大部分)。

【0086】

BLASTA解析およびMaesら(2002)によれば、前記遺伝子座255315、2040

10

20

30

40

50

40、121318およびKIAA0938は一緒になってRAINB1 - 遺伝子ホモログであるニューロナビゲーター3 (NAV3) を形成する。この遺伝子は配列番号：1 (AF397731)、あるいは3を有する。

【0087】

BAC RP11 - 494K17は遺伝子座255315およびほぼ全体の遺伝子座204040を含む。後者の遺伝子座の一部はBAC 136F16、ならびに全体遺伝子座121318およびKIAA0938の小さい部分にも表されている。BAC RP11 - 36P3は全体の遺伝子座KIAA0938を含むが、遺伝子座121318の配列は含まない。BAC 781A6は遺伝子座255379および遺伝子座255315の小さい部分を含む(図9)。したがって、患者3の試料中の転座においては、NAV3 10
遺伝子は、一部分が染色体12qに残存するが、他の部分が染色体18qに転座するように2の部分に分かれる。調べた2の他のSS患者からの試料においては、遺伝子(BAC RP11 - 36P3)の少なくとも最小の低い部分は全体的に欠失している。

【図面の簡単な説明】

【0088】

【図1】図1は、SS患者からの試料中の染色体12q(ワインレッド色)および染色体18q(赤色)の間の転座のSKY - 分析を示す。

【図2】図2は、染色体12q、4qおよび10間の転座のFISH - 解析を示す。

【図3A】図3は、染色体試料のFISH分析を示す。図3A)は同一細胞中の第12染色体と第18染色体とのカラー組合せを表す。 20

【図3B】図3は、染色体試料のFISH分析を示す。図3B)は同一細胞中の第12染色体と第18染色体とのカラー組合せを表す。

【図4】図4は、BAC 36P3およびYAC 857F6を用いた第12染色体および第18染色体間の転座のFISH分析を示している。最上部のサブウィンドウは正常な第12染色体を示しており：セントロメアは赤色シグナルを与え；BAC 36P3はセントロメア下の小さな赤色シグナルを与え；YAC 587F6は緑色シグナルを与えている。

【図5】図5は、SS患者からの試料中におけるBAC 36P3を用いた第12染色体(セントロメア 赤色)および18q(セントロメア 緑色)間の転座のFISH分析を示している。 30

【図6】図6は、BAC 781A6(緑色)およびBAC 136F16(赤色およびワインレッド色)を用いた第12染色体と第18染色体との間の転座のFISH分析を示している。

【図7】図7は、BAC 494K17(緑色)およびBAC 144J4(12q24)(赤色)を用いた第12染色体のMFISH分析を示している。

【図8】図8は、すべてCTCLの白血病亜型であるSSに罹った患者1、2および3において観察された異常な第12染色体中の幾つかの対応する遺伝子を用いたFISHアッセイにおけるYAC、BACまたはPac(P1)プローブのシグナルを示している。

【図9】図9は、BACプローブを用いて行ったFISHで検出された患者3における転座に含まれていたNAV3遺伝子の一部を示している。 40

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Karenko, Leena
 Karhu, Ritva
 Kähkönen, Marketta
 Visakorpi, Tapio
 Ranki, Annamari

<120> Diagnostic and therapeutic methods 10

<130> 2021775

<160> 3

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1 20

<211> 6849

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

atttacactg actgggcca	ccactaccta gcaaaatcag gccacaagcg gctgatcaag	60	
gacttgcaac aagacattgc	agatggagta ctctggcag aaatcatcca gattattgca	120	
aatgaaaaag ttgaagatat	caatggatgt cctagaagtc agtctcagat gattgaaaat	180	30
ggtgatgtct gccttagttt	tctagcagcc agaggggtaa atgttcaagg tctatctgct	240	
gaagaaataa gaaatggaaa	cttaaaagcc attetagggc tgtttttcag tttatctcgc	300	
tacaagcagc aacaacacca	tcaacaacag tactatcagt ccttggtgga acttcagcag	360	
cgagttactc acgcttcccc	tccatcggaa gccagccagc ccaaaaccca gcaagatatg	420	
cagtccagtc tggcagccag	atatgcaact cagtctaac acagtggaat tgcaaccagt	480	
caaaaaaagc ctactaggct	tccagggccc tctaggggtgc ctgctgcagg aagcagcagc	540	

aagggtccaggg gagcctctaa tttaaatagg agaagtcaga gctttaacag cattgacaaa 600
aacaagcctc caaattatgc aaatggaac gaaaagatt cctccaaagg acctcaatcg 660
tcttcaggtg taaatggtaa cgtgcagcct cccagtactg ctgggcagcc tectgcctct 720
gccatccctt ctccaagtgc cagcaagccc tgggcagca agtccatgaa tgtcaaacac 780
agtgccacct ccaccatggt gactgtaaag cagtcaagta cagccaacct cccacacca 840
tcttcagaca gactgaagcc acctgtctca gaaggggtca aaactgctcc ctccaggacag 900
aaatccatgc ttgagaaatt caagctagtc aatgcccgga ctgctttacg cccccgag 960
cctcccagtt caggacctag tgatggtggg aaggatgatg atgccttttc tgaatctggt 1020
gaaatggaag gttttaacag tggctctaat agtgggtggct caacaaatag cagtccaaa 1080
gtgtcaccta agttggcccc tccaaaagct ggaagcaaaa atctcagcaa taaaaagtct 1140
ttgtacagc caaagaaaa agaagaaaag aacagggaca aaaataaagt ttgcaactgaa 1200
aaaccagtca aagaagagaa ggatcaggtg acagagatgg ctccaaaaaa gacctccaaa 1260
attgcaagct tgatccctaa gggcagcaag acaacagcag ctaagaagga aagcttaatt 1320
cgtcttcca gtggtattcc aaaaccagcc tctaaagttc caacagtaaa gcaaacatt 1380
tcacctggca gcacagcaag caaagagtct gagaaattca ggactacca ggggagccct 1440
tcccagtcct tatctaagcc tataaccatg gagaaagcaa gtgcttctag ttgtcctgcc 1500
cctttggaag gaagggaagc tggccaagct tctcctctg gttcctgtac catgacagtg 1560
gcacaaagca gtgggcagag cacaggaaat ggtgctgtcc aactcctca acagcagcaa 1620
catagccacc cgaataccgc gacagtggca ccattcattt acagggcaca ttcagaaaat 1680
gaaggtaccg ctttaccatc ggctgactcc tgtaccagt ctaaaaagat ggacttatca 1740
tatagtaaga ctgctaagca gtgcctggag gagatctctg gtgaagacct tgaacaaga 1800
agaatgagaa cagttaaaaa catagcagac ttgaggcaga atttagaaga gactatgtcc 1860
agtcttcgtg ggactcagat aagccacagc accctggaga caacatttga cagcactgtg 1920
acaacagaag ttaatggaag gaccataccc aacttgacaa gtcgaccac ccccatgacc 1980
tggaggttg gccagcatg tccgcgactt caggcgggag atgctcctc cctgggtgct 2040
ggctatcctc gcagtggtag cagtcgattc atccacacag acccctcgag gttcatgat 2100
accacgcctc tccgtcagc tgctgtctct aggctgggaa acatgtcaca gattgacatg 2160
agtgagaaag caagcagtga cctggacatg tcttctgagg tcatgtggg tggatatatg 2220
agtgatggtg atatccttgg gaaaagtctc aggactgatg acatcaacag tgggtacatg 2280

10

20

30

40

acagatggag gacttaacct atatactaga agtetgaacc gaataccaga cacagcaact 2340
 tccccgggaca tcattccagag aggggttcac gatgtgacag tggatgcaga cagctgggat 2400
 gacagcagtt cagtgagcag tggctctcagt gacacccttg ataacatcag cactgatgac 2460
 ctgaacacca catcctctgt cagctcttac tccaacatca ccgtccctc taggaagaat 2520
 actcaggtga ggacagattc agagaaacgc tccaccacag acgagacctg ggatagtcct 2580
 gaggaactga aaaaaccaga agaagathtt gacagccatg gggatgctgg tggcaagtgg 2640
 aagactgtgt cctctggact tcttgaagac cccgagaagg cagggcagaa agcttccctg 2700
 tctgtttcac agacaggttc ctggagaaga ggcatgtctg cccaaggagg ggcgccatct 2760
 aggcagaaag ctggaacaag tgcactcaaa acaccggga aaaccgatga tgccaaagct 2820
 tctgagaaag gaaaagctcc cctaaaagga tcatctctac aaagatctcc ttcagatgca 2880
 ggaaaaagca gtggagatga agggaaaaag cccctctcag gcattggaag atcgactgcc 2940
 accagctcct ttggctttaa gaaaccaagt ggagtagggt catctgccat gatcaccagc 3000
 agtggagcaa ccataacaag tggctctgca aactgggtta aaattccaaa atctgctgcc 3060
 attggcggga agtcaaatgc agggagaaaa accagtttgg acggttcaca gaatcaggat 3120
 gatgttgtgc tgcattgttag ctcaaagact accctacaat atcgagctt gcccccct 3180
 tcaaaatcca gcaccagtgg cattcctggc cgaggaggcc acagatccag taccagcagt 3240
 attgattcca acgtcagcag caagtctgct ggggccacca cctcgaaact gagagaacca 3300
 actaaaattg ggtcagggcg ctcgagctct gtcaccgtca accaaacaga caaggaaaag 3360
 gaaaaagtag cagtctcaga ttcagaaagt gtttctttgt caggttccc ccaatccagc 3420
 cccacctctg ccagcgcctg tgggtgcacaa ggtctcaggc agccaggatc caagtatcca 3480
 gatattgctt caccacatt tcgaaggttg tttgggtcca aggcaggtgg caaatctgcc 3540
 tctgcacctt atactgaggg tgtgaaatct tctcagtaa tgcccagccc tagtaccaca 3600
 ttagcggggc aaggcagctt ggagtcaccg tcgtccggta cgggcagcat gggcagtgct 3660
 ggtgggctaa gcggcagcag cagccctctc ttcaataaac cctcagactt aactacagat 3720
 gttataagct taagtcactc gttggcctcc agcccagcat cggttcactc tttcacatca 3780
 ggtggtctcg tgtgggctgc caatatgagc agttcctctg caggcagcaa ggatactccg 3840
 agctaccagt ccattgactag cctccacacg agctctgagt ccattgacct cccctcagc 3900
 catcatggct ccttctctgg actgaccaca ggcactcacg aggtccagag cctgctcatg 3960
 agaacgggta gtgtgagatc tactctctca gaaagcatgc agcttgacag aaatacacta 4020

10

20

30

40

cccaaaaagg gactaagata taccocatca tctoggcagg ccaaccaaga agagggcaaa 4080
 gagtgggtgc gttctcattc tactggaggg cttcaggaca ctggcaacca gtcacctctg 4140
 gtttccccctt ctgccatgtc atctttctgca gctggaaaat accacttttc taacttgggtg 4200
 agcccaacaa atttgtctca gtttaacctt cccgggceca gcatgatgcg ctcaaacagc 4260
 atcccagccc aagaactctc cttcgatctc tatgatgact cccagctttg tgggagtgc 4320
 acttctctgg aggaaagacc tcgtgccatc agtcattcgg gctcattcag agacagcatg 4380
 gaagaagttc atggctcttc attatcactg gtgtccagca cttcttctct ttactctaca 4440
 gctgaagaaa aggctcattc agagcaaatc cataaactgc ggagagagct ggttgcata 4500
 caagaaaaag ttgctaccct cacatctcag ctttcagcaa atgctcacct tgtagcagct 4560
 tttgaaaaga gcttagggaa tatgactggc cgattgcaaa gtctaactat gacagcggaa 4620
 caaaaggaat ctgaacttat agaactaaga gaaaccattg aatgctgaa ggctcagaat 4680
 tctgctgccc aggcggctat tcagggagca ctgaatggtc cagaccatcc toccaaagat 4740
 cttcgcata gaagacagca ttcctctgaa agtgtttcta gtatcaacag tgccacaagc 4800
 cattccagta ttggcagtgg taatgatgcc gactccaaga agaagaaaaa gaaaaactgg 4860
 gtgaactcta gaggaagtga gctgagaagt tctttcaaac aagcctttgg gaagaaaaag 4920
 tccaccaagc ctccttcac acattctgac attgaagagc ttactgattc atcccttccg 4980
 gcatccccc agttacccc taatgctggg gactgtggct cagcatccat gaagccctca 5040
 caatctgctt cagcgatctg tgaatgcaca gaagctgagg cagagataat tctgcagctg 5100
 aagagcgagc tcagagaaaa ggaattaaaa ttaacggata ttcggctgga ggccctcagc 5160
 tctgctcacc atcttgatca gatccgggaa gccatgaacc ggatgcagaa tgaattgaa 5220
 atactgaaag ctgaaaatga cgggttgaag gcagaaactg gtaacacagc taagcctact 5280
 cggccaccgt cagaatcctc aagcagcacc tcctcttcat cttccaggca gtcattagga 5340
 cttctcttaa acaatttgaa catcacagag gctgttagct cagatatttt gctagatgat 5400
 gctggatgat caactggaca taaagatggc cgcagtgtga aaattatagt ctccataagc 5460
 aagggctatg gtcgagcaaa ggaccaaaaa tctcaggcat attgatagg atccattggg 5520
 gttagtggaa aaaccaagtg ggatgtctta gatgggtgaa taagacgtct ctttaaggaa 5580
 tatgtattcc gaattgatac atccactagc cttggctctga gctctgactg cattgctagc 5640
 tactgtatag gagacttaat tagatcccat aacctagaag tgcctgaatt gctgccttgt 5700
 ggataccttg ttggagataa taacatcacc actgtgaacc tcaaaggggt agaagaaat 5760

10

20

30

agtttggaca gttttgtttt tgatacgtg attcctaaac caattacceca aaggtacttt 5820
 aacttggtga tggagcatca cagaattata ctctcaggac cgagtgggtac tggaaagacc 5880
 tatttgcaa acaaaacttgc tgaatatgta ataaccaaat ctggaaggaa aaaaacagag 5940
 gatgcaattg ccacttttaa tgtggaccac aagtcaagta aggaattgca acaatatcta 6000
 gctaaccctgg ctgaacagtg cagtgtgat aataatggag tggagctccc agttgtaata 6060
 attcttgata atcttcatca tgtgggtct ctgagtgata tcttcaatgg ttttctcaat 6120
 tgtaaataca acaaatgtcc atatattatt ggaacaatga atcagggagt ttcttcatca 6180
 ccaaatctag agctgcatca caatttcagg tgggtattat gtgcaaatca tacagaacca 6240
 gtgaaaggct ttttaggcag atatcttoga agaaaactca tagagataga aattgaaagg 6300
 aacattcgca ataatgacct agtcaaaatt atagattgga ttccgaagac gtggcatcat 6360
 ctcaacagtt ttttgaaaac acacagttct tctgacgta ccattggtcc ccgactattc 6420
 cttccttgcc ccattggatgt agaaggttct agagtatggt tcatggatct ctggaactat 6480
 tctttagtao cttatattct ggaggcagtg agagagggtc ttcagatgta tgggaaacgc 6540
 acaccatggg aagatccttc aaagtgggtg cttgacacat atccatggag ctcagcaact 6600
 ctgcctcagg agagcccagc cttacttcag ctgagaccag aagatggttg gtatgaaagc 6660
 tgcacatcca ctaaggaagc cacaacctca aagcacatc caaaaactga cacagaagga 6720
 gatccccga tgaatatgct aatgaaacte caagaagcag ccaattactc gagcacacaa 6780
 agctgagaca gcgaaagcac cagccaccat gaagacattt tggattcatc tottgaatct 6840
 accctctga 6849

10

20

<210> 2

<211> 794

<212> DNA

<213> Homo sapiens

30

<400> 2

gagagagcga tagagagaga gagagagaca tgagaatgaa tatgaatccc agccagcaag 60
 aaagaaaaga tacttaacta aagatgcagg gaagttttgc ctcttctga aaattatatt 120
 attagctttt taaaaatcag gatgactgct agttttgttt aaagtatttg ttctggaat 180
 actaaagttg gagtctacca gactgagggtt agaagcattt tctttggcag caagaagata 240

40

attttataga agccatgcct gttcttgggg ttgcctcaaa actgaggcag ccagctggtg 300
 ggtcaaagcc tgtgcatact gctcttccga taccaaatct tggcactact gggtcacagc 360
 actgttcttc aagacctttg gaacttactg aaacagagag ctccatgctt tcttgtcagc 420
 ttgcgttaaa atcaacctgt gaatttggag agaagaaacc cctccaagga aaagccaagg 480
 agaaagaaga cagcaagatt tacactgact gggccaacca ctacctagca aaatcaggcc 540
 acaagcggct gatcaaggac ttgcaacaag acattgcaga tggagtactc ctagcagaaa 600
 tcatccagat tattgcaaat gaaaaagtg aagatatcaa tggatgtcct agaagtcagt 660
 ctccagatggt aagatgagaa gatgaggttc ttaaccaa at agggaagaga taaaatactg 720
 gaatgctctt aaaggtttaa taaaatctta tatatggcat actgcaaaat tgtagcacta 780
 tgactcagag gagt 794

<210> 3

<211> 7340

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3
 gagagagcga tagagagaga gagagagaca tgagaatgaa tatgaatccc agccagcaag 60
 aaagaaaaga tacttaacta aagatgcagg gaagttttgc ctcttctga aaattatatt 120
 attagctttt taaaaatcag gatgactgct agttttgitt aaagtatttg ttctggaaat 180
 actaaagttg gactctacca gactgagggt agaagcattt tctttggcag caagaagata 240
 attttataga agccatgcct gttcttgggg ttgcctcaaa actgaggcag ccagctggtg 300
 ggtcaaagcc tgtgcatact gctcttccga taccaaatct tggcactact gggtcacagc 360
 actgttcttc aagacctttg gaacttactg aaacagagag ctccatgctt tcttgtcagc 420
 ttgcgttaaa atcaacctgt gaatttggag agaagaaacc cctccaagga aaagccaagg 480
 agaaagaaga cagcaagatt tacactgact gggccaacca ctacctagca aaatcaggcc 540
 acaagcggct gatcaaggac ttgcaacaag acattgcaga tggagtactc ctggcagaaa 600
 tcatccagat tattgcaaat gaaaaagtg aagatatcaa tggatgtcct agaagtcagt 660
 ctccagatgat tgaatgtt gatgtctgcc ttagttttct agcagccaga ggggtaaatg 720
 ttcaaggtct atctgctgaa gaaataagaa atggaaactt aaaagccatt ctagggtctg 780

10

20

30

40

ttttcagttt atctcgctac aagcagcaac aacaccatca acaacagtac tatcagtect 840
 tgggtggaact tcagcagcga gttactcactg cttccctctcc atcgggaagcc agccaggcca 900
 aaaccagca agatatgcag tccagctctgg cagccagata tgcaactcag tctaatacaca 960
 gtggaattgc aaccagtcaa aaaaagccta ctaggcttcc agggcctctct aggggtgctg 1020
 ctgcaggaag cagcagcaag gtccagggag cctctaattt aaataggaga agtcagagct 1080
 ttaacagcat tgacaaaaac aagcctccaa attatgcaaa tggaaacgaa aaagattcct 1140
 ccaaaggacc tcaatcgtct tcaggtgtaa atggtaacgt gcagcctccc agtactgctg 1200
 ggcagcctcc tgctctgccc atccctctcc caagtgccag caagcctgg cgcagcaagt 1260
 ccatgaatgt caaacacagt gccacctcca ccatgttgac tgtaaagcag tcaagtacag 1320
 ccacctcccc cacaccatct tcagacagac tgaagccacc tgtctcagaa ggggtcaaaa 1380
 ctgctccctc aggacagaaa tccatgcttg agaaattcaa gctagtcaat gcccgactg 1440
 ctttacgccc ccgcagcct cccagttcag gaacctagtga tgggtgggaag gatgatgatg 1500
 ccttttctga atctgggtgaa atggaagggt ttaacagtgg tctgaatagt ggtggtcaa 1560
 caaatagcag tcccaaagtg tcacctagt tggccctcc aaaagctgga agcaaaaatc 1620
 tcagcaataa aaagtctttg ctacagccaa aggaaaaaga agaaaagaac agggacaaaa 1680
 ataaagttg cactgaaaaa ccagtcaaag aagagaagga tcaggtgaca gagatggctc 1740
 caaaaaagac ctccaaaatt gcaagcttga tccctaaggg cagcaagaca acagcagcta 1800
 agaaggaag cttaatccg tcttccagtg gtattccaaa accagctct aaagttccaa 1860
 cagtaaagca aaccatttca cctggcagca cagcaagcaa agagtctgag aaattcagga 1920
 ctaccaaggg gagcccttcc cagtcttat ctaagcctat aacctggag aaagcaagtg 1980
 cttctagttg tctgccccct ttggaaggaa gggagctgg ccaagcttct ccttctggtt 2040
 cctgtaccat gacagtggca caaagcagtg ggcagagcac aggaaatggt gctgtccaac 2100
 tcctcaaca gcagcaacat agccaccga ataccgcgac agtggcacca ttcatttaca 2160
 gggcacattc agaaaatgaa ggtaccgctt taccatcggc tgactcctgt accagtccta 2220
 caaagatgga cttatcatat agtaagactg ctaagcagtg cctggaggag atatctggtg 2280
 aagaccctga aacaagaaga atgagaacag ttaaaaacat agcagacttg aggcagaatt 2340
 tagaagagac tatgtccagt cttcgtggga ctacagataag ccacagcacc ctggagacaa 2400
 catttgacag cactgtgaca acagaagtta atggaaggac catacccaac ttgacaagtc 2460
 gaccacccc catgacctgg aggttgggccc aggcattgccc gcgacttcag gggggagatg 2520

10

20

30

40

ctccctccct gggtgctggc tatectcgca gtggtaccag togattcatic cacacagacc 2580
cctcgagggt catgtatacc acgcctctcc gtcgagctgc tgtctctagg ctgggaaaca 2640
tgtcacagat tgacatgagt gagaaagcaa gcagtgacct ggacatgtct tctgaggtcg 2700
atgtgggtgg atatatgagt gatgggtgata tccttgggaa aagtctcagg actgatgaca 2760
tcaacagtgg gtacatgaca gatggaggac ttaacctata tactagaagt ctgaaccgaa 2820
taccagacac agcaacttcc cgggacatca tccagagagg ggttcacgat gtgacagtgg 2880
atgcagacag ctgggatgac agcagttcag tgagcagtgg tctcagtgac acccttgata 2940
acatcagcac tgatgacctg aacaccacat cctctgtcag ctcttactcc aacatcacccg 3000
tcccctctag gaagaatact caggtgagga cagattcaga gaaacgctcc accacagacg 3060
agacctggga tagtctgag gaactgaaaa aaccagaaga agattttgac agccatgggg 3120
atgctgggtg caagtggag actgtgtcct ctggacttcc tgaagacccc gagaaggcag 3180
ggcagaaaagc ttccctgtct gtttcacaga caggttcctg gagaagaggc atgtctgccc 3240
aaggaggggc gccatctagg cagaaagctg gaacaagtgc actcaaaaca cccgggaaaa 3300
ccgatgatgc caaagcttct gagaaaggaa aagctcccct aaaaggatca tctctacaaa 3360
gatctccttc agatgcagga aaaagcagtg gagatgaagg gaaaaagccc ccctcaggca 3420
ttggaagatc gactgccacc agctcctttg gctttaagaa accaagtgga gtaggggtcat 3480
ctgcatgat caccagcagt ggagcaacca taacaagtgg ctctgcaaca ctgggtaaaa 3540
ttccaaaatc tgctgccatt ggcggaagt caaatgcagg gagaaaaacc agtttgacg 3600
gttcacagaa tcaggatgat gttgtgctgc atgttagctc aaagactacc ctacaatatic 3660
gcagcttgcc ccgcocttca aaatccagca ccagtggcat tcctggcoga ggaggccaca 3720
gatccagtac cagcagtatt gattccaacg tcagcagcaa gtctgctggg gccaccacct 3780
cgaaactgag agaaccaact aaaattgggt cagggcgctc gagtctctgc accgtcaacc 3840
aaacagacaa ggaaaaggaa aaagtagcag tctcagattc agaaagtgtt tctttgtcag 3900
gttcccccaa atccagcccc acctctgcca gcgcctgtgg tgcacaaggc ctcaggcagc 3960
caggatcaa gtatccagat attgcctcac ccacatttcg aaggttgttt ggtgccaaag 4020
caggtggcaa atctgcctct gcacctata ctgaggggtg gaaatcttcc tcagtaatgc 4080
ccagccctag taccacatta gcgoggcaag gcagctctga gtcaccgtcg tccggtagcg 4140
gcagcatggg cagtgtctgt gggctaagcg gcagcagcag cctctcttc aataaacct 4200
cagacttaac tacagatgtt ataagcttaa gtcactcgtt ggcctccagc ccagcatcgg 4260

10

20

30

40

ttcaactcttt cacatcaggt ggtctcgtgt gggctgcaa tatgagcagt tcctctgcag 4320
 gcagcaagga tactccgagc taccagtcca tgactagcct ccacacgagc tctgagtcca 4380
 ttgacctccc cctcagccat catggctcct tgtctggact gaccacaggc actcacgagg 4440
 tccagagcct gctcatgaga acgggtagtg tgagatctac tctctcagaa agcatgcagc 4500
 ttgacagaaa tacactaccc aaaaaggac taagatatac cccatcatct cggcaggcca 4560
 accaagaaga gggcaaagag tggttgcgtt ctcatctac tggaggcctt caggacactg 4620
 gcaaccagtc acctctgggt tccccctctg ccatgtcatc ttctgcagct ggaaaatacc 4680
 acttttctaa ctgtgtgagc ccaacaaatt tgtctcagtt taaccttccc gggcccagca 4740
 tgatgcgctc aaacagcatc ccagcccaag actcttctt cgatctctat gatgactccc 4800
 agctttgtgg gagtgccact tctctggagg aaagacctcg tgccatcagt cattcgggct 4860
 cattcagaga cagcatggaa gaagttcatg gctcttcatt atcactggtg tccagcactt 4920
 cttctcttta ctctacagct gaagaaaagg ctcatctaga gcaaatccat aaactgcgga 4980
 gagagctggg tgcatcacia gaaaaagttg ctacctcac atctcagctt tcagcaaatg 5040
 ctacacctgt agcagctttt gaaaagagct tagggaatat gactggccga ttgcaaagtc 5100
 taactatgac agcggaaaca aaggaatctg aacttataga actaagagaa accattgaaa 5160
 tgctgaaggc tcagaattct gctgccaggc cggctattca gggagcactg aatgggtccag 5220
 accatcctcc caaagatctt cgcacagaa gacagcattc ctctgaaagt gtttctagta 5280
 tcaacagtgc cacaagccat tccagtattg gcagtggtaa tgatgccgac tccaagaaga 5340
 agaaaaagaa aaactgggtg aactctagag gaagtgagct gagaagttct ttcaacaag 5400
 cctttgggaa gaaaaagtc accaagcctc cttcatcaca ttctgacatt gaagagctta 5460
 ctgattcatc ccttcggca tcccccaagt taccataa tgctggtgac tgtggctcag 5520
 catccatgaa gccctcacia tctgcttcag cgatctgtga atgcacagaa gctgaggcag 5580
 agataattct gcagctgaag agcagactca gagaaaagga attaaaatta acggatattc 5640
 ggctggaggc cctcagctct gctcatcatc ttgatcagat ccgggaagcc atgaaccgga 5700
 tgcagaatga aattgaata ctgaaagctg aaaatgaccg gttgaaggca gaaactggta 5760
 acacagctaa gcctactcgg ccaccgtcag aatcctcaag cagcacctc tcttcatctt 5820
 ccaggcagtc attaggactt tctctaaaca atttgaacat cacagaggct gttagctcag 5880
 atatlttgct agatgatgct ggtgatgcaa ctggacataa agatggccgc agtgtgaaaa 5940
 ttatagtctc cataagcaag ggtatggct gagcaaagga ccaaaaatct caggcatatt 6000

10

20

30

40

tgataggatc cattggtggt agtggaaaaa ccaagtggga tgccttagat ggtgtaataa 6060
 gacgtctctt taaggaatat gtattccgaa ttgatacatc cactagcctt ggtctgagct 6120
 ctgactgcat tgctagctac tgtataggag acttaattag atcccataac ctagaagtgc 6180
 ctgaattgct gccttgtgga taccttggtg gagataataa catcatcact gtgaacctca 6240
 aaggggtaga agaaaatagt ttggacagtt ttgtttttga tacgctgatt cctaaaccaa 6300
 ttacccaaag gtactttaac ttggtgatgg agcatcacag aattatactc tcaggaccga 6360
 gtggtactgg aaagacctat ttggcaaaaca aacttgcctga atatgtaata accaaatctg 6420
 gaaggaaaaa aacagaggat gcaattgcca cttttaatgt ggaccacaag tcaagtaagg 6480
 aattgcaaca atatctagct aacctggctg aacagtgcag tgctgataat aatggagtgg 6540
 agctcccagt tgtaataatt cttgataatc ttcagggctc tctgagtgat atcttcaatg 6600
 gttttctcaa ttgtaaacac aacaaatgct catatattat tggaacaatg aatcagggag 6660
 tttcttcac accaaatcta gagctgcac acaatttcag gtgggtatta tgtgcaaact 6720
 atacagaacc agtgaaggc tttttaggca gatatcttcg aagaaaactc atagagatag 6780
 aaattgaaag gaacattgct aataatgacc tagtcaaat tatagattgg attccgaaga 6840
 cgtggcatca tctcaacagt tttttggaaa cacacagttc ttctgacgtt accattggctc 6900
 cccgactatt ccttccttgc cccatggatg tagaaggttc tagagtatgg ttcattggatc 6960
 tctggaacta ttcttttagta ctttatattc tggaggcagt gagagagggc cttcagatgt 7020
 atgggaaacg cacaccatgg gaagatcctt caaagtgggt gcttgacaca tatccatgga 7080
 gctcagcaac tctgcctcag gagagcccag ccttacttca gctgcgacca gaagatggtg 7140
 ggtatgaaag ctgcacatcc actaaggag ccacaacctc aaagcacatt ccacaaactg 7200
 acacagaagg agatccctg atgaatatgc taatgaaact ccaagaagca gccattact 7260
 cgagcacaca aagctgcgac agggaaagca ccagccacca tgaagacatt ttggattcat 7320
 ctcttgaatc tacctctga 7340

10

20

30

【 図 1 】



Figure 1

【 図 3 A 】

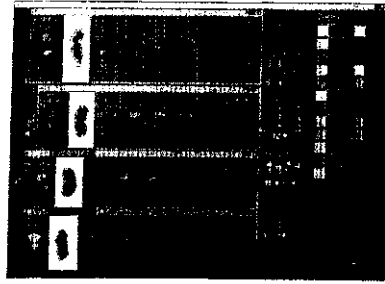


Figure 3A

【 図 2 】

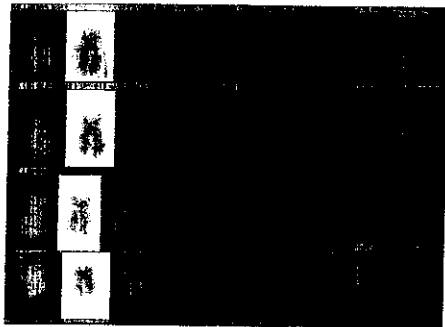


Figure 2

【 図 3 B 】

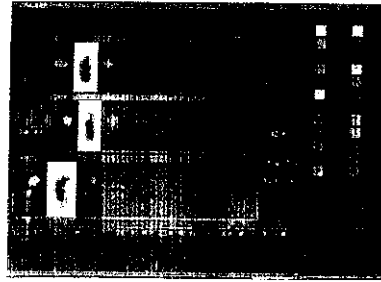
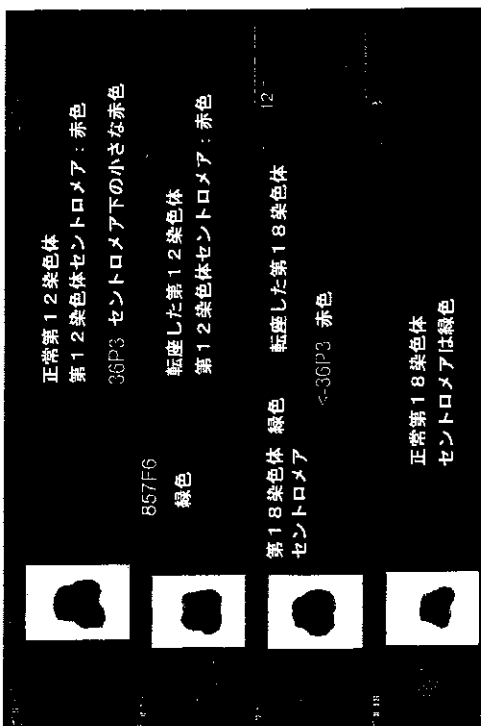
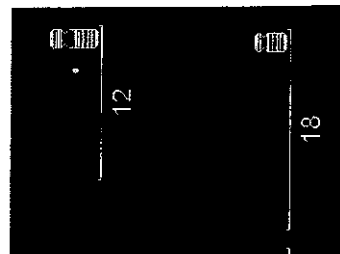


Figure 3B

【 図 4 】



【 図 5 】



【手続補正書】

【提出日】平成16年9月9日(2004.9.9)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

[2005518790000001.app](#)

【手続補正書】

【提出日】平成16年9月28日(2004.9.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

生物試料において、第12染色体、領域12q14 - 12q24中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイント(breakpoint)および/または第12染色体、領域12q14 - 12q24からの染色体構成要素の少なくとも1の転座の存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該ブレイクポイントおよび転座が原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)と関連している、原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)を診断および追跡(follow-up)する方法。

【請求項2】

生物試料において、配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3(NAV3)遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントの存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該NAV3またはその等価物またはフラグメントが原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)と関連している、原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)を診断および追跡する方法。

【請求項3】

臨床試料において、第12染色体中の配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3(NAV3)遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントの転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該転座または欠失または他の欠陥が原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)と関連している、原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)を診断および追跡する方法。

【請求項4】

原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)の攻撃形態に苦しむ患者から得た生物試料において、第12染色体、領域12q14 - 12q24中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントおよび/または第12染色体、領域12q14 - 12q24からの染色体構成要素の少なくとも1の転座および/または第12染色体中の配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3(NAV3)遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントの転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該染色体のブレイクポイントまたは転座および遺伝子の転座、欠失または欠陥が疾患亜型と関連している、原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)の攻撃形態の発達の危険性のある患者を同定する方法。

【請求項5】

原発性皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)に苦しむ患者から得た生物試料において、第12

染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントおよび / または第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 からの染色体構成要素の少なくとも 1 の転座および / または第 1 2 染色体中の配列番号 : 1 を有するニューロンナビゲーター 3 (N A V 3) 遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントの転座または欠失または他の欠陥の存在または不存在を検出することによって特徴付けられ、ここに該染色体のブレイクポイントまたは転座および遺伝子の転座、欠失または欠陥が疾患亜型と関連している、原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) の進行およびその攻撃変異型へのトランスフォーメーションを予想する方法。

【請求項 6】

第 1 2 染色体由来の構成要素の領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 から第 4 染色体または第 1 8 染色体への転座を検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ~ 5 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 7】

第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中の少なくとも 1 の特定の染色体ブレイクポイントおよびその第 4 染色体または第 1 8 染色体への転座を検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ~ 5 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 8】

N A V 3 遺伝子の一部分の第 1 8 染色体への転座を検出することによって特徴付けられる請求項 1 または 3 ~ 5 いずれか 1 記載の方法。

【請求項 9】

第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中の配列番号 : 1 を有する N A V 3 遺伝子、または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントの存在または不存在を検出することによって特徴付けられる請求項 2 項記載の方法。

【請求項 10】

検出を、特異的な発色、スペクトル、発色比または発色強度またはそれらの組合せで第 1 2 染色体の領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 を検出する染色体特異的またはアーム特異的なペインティング・プローブ (painting probe) に基づく蛍光イン・サイチュ (in situ) ・ハイブリダイゼーション法で行うことを特徴とする請求項 1 ないし 9 いずれか 1 項記載の方法。

【請求項 11】

検出を、マルチ蛍光イン・サイチュ・ハイブリダイゼーション (M F I S H) または分光核型決定 (S K Y) で行うことを特徴とする請求項 10 記載の方法。

【請求項 12】

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) が菌状息肉腫 (M F) であることを特徴とする請求項 11 記載の方法。

【請求項 13】

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) が白血病セザリー症候群 (S S) であることを特徴とする請求項 11 記載の方法。

【請求項 14】

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) を診断するための、第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中の特定の染色体ブレイクポイントおよび / または第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 からの染色体構成要素の転座の使用であって、ここに該ブレイクポイントおよび転座が該疾患と関連している該使用。

【請求項 15】

原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) の療法を開発するための、原発性皮膚 T 細胞リンパ腫 (C T C L) と関連する第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 中の特定の染色体ブレイクポイントまたは複数の特定の染色体ブレイクポイントまたは第 1 2 染色体、領域 1 2 q 1 4 - 1 2 q 2 4 からの転座または複数の転座の使用。

【請求項 16】

原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）を診断するための、配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントおよび/または第12染色体中の配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子の転座、欠失または他の欠陥の使用であって、ここに該遺伝子、転座、欠失または欠陥が該疾患と関連している該使用。

【請求項 17】

原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）の療法における、配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメント、および/または該疾患と関連する第12染色体中の、配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子の転座、欠失または他の欠陥の使用。

【請求項 18】

原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）を治療するための薬物を製造するための、配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物またはそのフラグメントの使用。

【請求項 19】

第12染色体、領域12q14 - 12q24中の染色体ブレイクポイントまたは複数のブレイクポイントに広がり、異なる発色または蛍光マーカで標識され、かつ生物試料中の第12染色体、領域12q14 - 12q24にハイブリダイズする少なくとも2のDNAプローブ、および蛍光イン・サイチュ（in situ）・ハイブリダイゼーション分析を行うための試薬を含むことによって特徴付けられる、第12染色体、領域12q14 - 12q24中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントまたはその転座（ここに該ブレイクポイントまたは転座は原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）と関連している）を検出するための、または、原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）に苦しむ患者から得た臨床標本中の第12染色体、領域12q14 - 12q24中の分子細胞遺伝学的変化を同定するための試験系。

【請求項 20】

NAV3またはその遺伝子産物またはそのフラグメントを同定することができる特異的抗体、好ましくはモノクローナル抗体、および視覚化または定量に必要である他の抗体、マーカおよび標準物質を含む必要な試薬、ならびにバッファー、希釈剤、洗浄溶液などを含むことによって特徴付けられる、第12染色体、領域12q14 - 12q24中の少なくとも1の特定の染色体ブレイクポイントまたはその転座（該ブレイクポイントまたは転座は原発性皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）と関連している）または配列番号：1を有するニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子、または実質的に同じ機能を有しかつ実質的に同じタンパク質をコードするその等価物、またはそのフラグメントを検出するための、および/または第12染色体、領域12q14 - 12q24中のニューロンナビゲーター3（NAV3）遺伝子の転座、欠失または他の欠陥を検出するための診断キット。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FI 03/00061

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC7: C12Q 1/68 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC7: C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
SE,DK,FI,NO classes as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
WPI, MEDLINE, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Cancer Genet Cytogenet, Volume 20, 1986, Dario Barbieri et al: "Involvement of Chromosomes 12 and 14 in the Cutaneous Stage of Mycosis Fungoides: Cytogenetic Evidence for a Multistep Pathogenesis of the Disease", page 287 - page 292, see table 1	1,4-8,10-16
Y	--	2,3,9,17-18, 20-21
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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		Date of mailing of the international search report
12 May 2003		26 -05- 2003
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86		Authorized officer Yvonne Sjösteen/EÖ Telephone No. +46 8 782 25 00

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FI 03/00061

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Abstract of blood, Volume 87, Issue 8, 15 April 1996, VJ Zani et al: "Molecular cloning of complex chromosomal translocation t(8;14;12)(q24.1;q32.3;q24.1) in a Burkitt lymphoma cell line defines a new gene (BCL7A) with homology to caldesmon", page 3124 - page 3134, http://www.bloodjournal.org/cgi/content/abstract/87/8/3124 , Retrieved on 2003-05-12	1,4-8,10-11, 15-16,19
Y		2,3,9,17-18, 20-21
A	--	12-14
P,Y	Genomics, Volume 80, no. 1, July 2002, Tamara Maes et al: "Neuron Navigator: A Human Gene Family with Homology to unc-53, a Cell Guidance Gene from <i>Caenorhabditis elegans</i> ", page 21 - page 30	2,3,9,17-18, 20-21
A	--	1-21
A	Cancer Genet Cytogenet, Volume 83, 1995, Janusz Limon et al: "Chromosome Aberrations, Spontaneous SCE, and Growth Kinetics in PHA-Stimulated Lymphocytes of Five Cases with Sézary Syndrome", page 75 - page 81	1-21
A	BIOSIS, accession no. PREV200100299278, Odero Maria D et al: "Characterization of breakpoints in 12p unbalanced translocations in hematological malignancies. Analysis by G-banding, FISH and spectral karyotyping", Blood, Vol. 96, No. 11, Part 2, 16 November 2000, page 161b	1-21
	-- -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FI03/00061

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item I 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.: **15-21 partly**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see next sheet*

2. Claims Nos.: **1-12 partly, 15-21 partly**
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:
see next sheet*

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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

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

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

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FI03/00061

*

Claims 15-21 might include in vivo diagnosis and therefore these claims can be directed to a diagnostic method on the human/animal body (Rule 39.1(iv)). Nevertheless a search has been executed for these claims.

**

Claims 1-12 relate to the diagnosis of diseases which are actually not well defined. The use of the definition "lymphoproliferative diseases" in the present context is considered to lack clarity within the meaning of Article 6 PCT. It is not fully possible to determine the diseases for which protection might legitimately be sought. The lack of clarity is such as to render a meaningful complete search not fully possible. Consequently, the search has been directed to the diagnosis of T-cell lymphomas and especially the diagnosis of mycosis fungoides and Sezary syndrome and to the expression "lymphoproliferative disease"

フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁷ F I テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/566 C 1 2 N 15/00 A

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

(71) 出願人 504282810
マルケッタ・ケヒケネン
フィンランド、エフィーエン - 3 3 5 8 0 タンペレ、ヌオティオカトゥ 1 番、エフ 1 7

(71) 出願人 504282809
リトヴァ・カルフ
R i t v a K A R H U
フィンランド、エフィーエン - 3 3 3 4 0 タンペレ、トゥオヒコルヴェンティエ 3 2 番

(71) 出願人 504282795
タピオ・ヴィサコルピ
T a p i o V I S A K O R P I
フィンランド、エフィーエン - 3 3 4 1 0 タンペレ、レウハリンカトゥ 1 7 アー番

(71) 出願人 504283024
ボグスラフ・ネドシトコ
B o g u s l a w N E D O S Z Y T K O
ポーランド、ペエル - 8 0 - 3 3 6 グダニスク、チゼフスキエゴ・ストリート 3 0 / 5 番

(74) 代理人 100081422
弁理士 田中 光雄

(74) 代理人 100106231
弁理士 矢野 正樹

(72) 発明者 アンナマリー・ランキ
フィンランド、エフィーエン - 0 0 2 5 0 ヘルシンキ、シベリウクセンカトゥ 1 1 番、ベー 2 8

(72) 発明者 レーナ・カレンコ
フィンランド、エフィーエン - 0 0 6 7 0 ヘルシンキ、ミールティエ 4 番

(72) 発明者 マルケッタ・ケヒケネン
フィンランド、エフィーエン - 3 3 5 8 0 タンペレ、ヌオティオカトゥ 1 番、エフ 1 7

(72) 発明者 リトヴァ・カルフ
フィンランド、エフィーエン - 3 3 5 2 0 タンペレ、テイスコンティエ 3 5 番、エックス 2 6

(72) 発明者 タピオ・ヴィサコルピ
フィンランド、エフィーエン - 3 3 4 1 0 タンペレ、レウハリンカトゥ 1 7 アー番

(72) 発明者 ボグスラフ・ネドシトコ
ポーランド、ペエル - 8 0 - 3 3 6 グダニスク、チゼフスキエゴ・ストリート 3 0 / 5 番

F ターム(参考) 2G045 DA13 FB02 FB03
2G054 CA22 CE02 EA03
4B024 AA01 AA11 CA03 CA09 HA14
4B063 QA19 QQ43 QR55 QS34

专利名称(译)	诊断淋巴细胞异常增殖性疾病的方法		
公开(公告)号	JP2005518790A	公开(公告)日	2005-06-30
申请号	JP2003566246	申请日	2003-01-24
[标]申请(专利权)人(译)	安娜玛丽rankinite ANNAMARI RANKI Renakarenko LEENA KARENKO 丸Ketta卡奇凯南 Ritovakarufu RITVA KARHU 塔皮奥Vie的支持科皮 TAPIO VISAKORPI 沼泽幻灯片Fune土壤和托哥 BOGUSLAW NEDOSZYTKO		
申请(专利权)人(译)	安娜玛丽rankinite 莉娜Karenko Maruketta-Kehikenen Ritova, 卡尔夫 塔皮奥Visakorupi Bogusurafu-Nedoshitoko		
[标]发明人	アンナマリーランキ レーナカレンコ マルケッタケヒケネン リトヴァカルフ タピオヴィサコルピ ボグスラフネドシトコ		
发明人	アンナマリー・ランキ レーナ・カレンコ マルケッタ・ケヒケネン リトヴァ・カルフ タピオ・ヴィサコルピ ボグスラフ・ネドシトコ		
IPC分类号	G01N33/50 C12N15/09 C12Q1/68 G01N21/78 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q2600/156		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A G01N21/78.C G01N33/50.P G01N33/53.M G01N33/566 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	2G045/DA13 2G045/FB02 2G045/FB03 2G054/CA22 2G054/CE02 2G054/EA03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA03 4B024/CA09 4B024/HA14 4B063/QA19 4B063/QQ43 4B063/QR55 4B063/QS34		
代理人(译)	田中, 三夫 矢野正树		
优先权	2002000132 2002-01-24 FI 2002001617 2002-09-10 FI		
其他公开文献	JP2005518790A5 JP4782378B2		

摘要(译)

本发明涉及一种诊断和治疗淋巴细胞增殖性疾病的新方法。具体而言，本发明利用检测染色体12中的染色体断裂点和/或来自染色体12的染色体组分的易位，其中染色体断点和/或易位（或多个易位）与原发性皮肤T细胞淋巴瘤（CTCL）相关，对于与淋巴细胞过度增殖性疾病有关的诊断和治疗的新方法。此外，本发明作为诊断和治疗剂涉及包含在易位（NAV3）或等效或其功能片段12染色体，其中所述用途染色体断点和/或神经元导航3基因该基因和/或其易位是由原代皮肤T细胞诱导的

图 3 B]

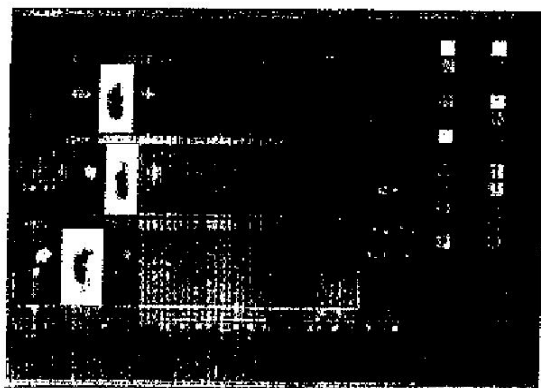


Figure 3B