

(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2016-503301
(P2016-503301A)

(43) 公表日 平成28年2月4日(2016.2.4)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z	4 B 0 2 9
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04	4 B 0 6 3
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34 F	
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/34 Z	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-542308 (P2015-542308)
 (86) (22) 出願日 平成25年11月20日 (2013.11.20)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年7月8日 (2015.7.8)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2013/074259
 (87) 国際公開番号 W02014/079865
 (87) 国際公開日 平成26年5月30日 (2014.5.30)
 (31) 優先権主張番号 1251312-3
 (32) 優先日 平成24年11月20日 (2012.11.20)
 (33) 優先権主張国 スウェーデン (SE)
 (31) 優先権主張番号 1350600-1
 (32) 優先日 平成25年5月16日 (2013.5.16)
 (33) 優先権主張国 スウェーデン (SE)

(71) 出願人 500139981
 ファディア・アクチボラゲット
 Phadia AB
 スウェーデン751 37ウプサラ、ボックス6460
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 稜
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子
 (72) 発明者 ヘンリック・グレンバリ
 スウェーデン、エスー112 18ストックホルム、リンドハーゲンステラッセン9番

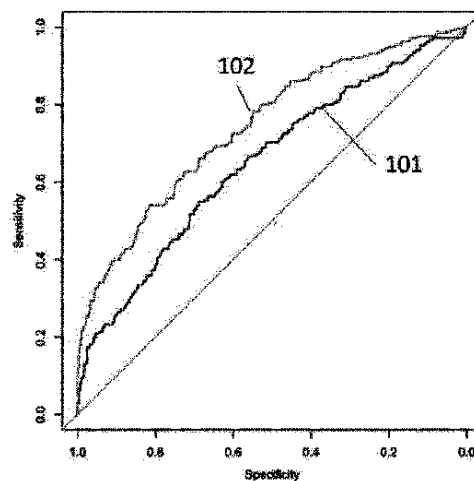
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 侵襲性前立腺癌の存在または不存在を判定する方法

(57) 【要約】

本発明は全般に、診断マーカーとしての潜在的有用性を有する、さまざまな形態の遺伝子マーカーおよびさまざまな形態のタンパク質の検出および同定に関する。患者の試料中の複数のバイオマーカーおよび遺伝子マーカーのレベルを測定し、得られた値を予め定められた式にしたがって組み合わせることにより、該患者が侵襲性前立腺癌に罹患する可能性を評価することができる。本発明は特に肥満度指数が2.5を超える患者に限定して適用することができる。

FIG. 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

個体における侵攻性の前立腺癌（P C a）の存在または不存在を判定するための、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法であって、下記ステップを含んでなる方法

- 1．前記個体からの少なくとも1つの生物学的サンプルを用意し；
- 2．前記生物学的サンプルにおいて、
 - a．P C a バイオマーカークатегoriesを、前記P C a バイオマーカークатегoriesの複数のP C a バイオマーカークатегoriesのそれぞれの存在または濃度を測定することにより解析し；
 - b．P C a に関連するS N P（S N P p c）のcategoriesを、前記S N P p c categoriesの複数のS N P p cのそれぞれの存在または不存在を測定することにより解析し；
- 3．前記P C a バイオマーカークатегoriesに関するデータを組み合わせ、P C a バイオマーカークатегoriesに関連のP C a 発症リスクを表すバイオマーカークатегories複合値を形成し；
- 4．前記S N P p c categoriesに関するデータを組み合わせ、S N P p c 関連のP C a 発症リスクを表すS N P p c 複合値を形成し、ここで、該方法は、S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c categoriesのS N P p cの少なくとも5%のサブセットの無視を許容し；
- 5．前記バイオマーカークатегories複合値および前記S N P p c 複合値を組み合わせ、総複合値を形成し；
- 6．前記総複合値を、わかっている侵攻性P C a および良性疾患診断のコントロールサンプルを用いて確立された、予め定められたカットオフ値と比較することにより、前記個体における侵攻性P C a の存在または不存在に関連付ける。

10

20

【請求項 2】

ステップ2（a）が、少なくとも部分的に冗長なP C a バイオマーカークатегoriesの存在または濃度を測定することを含んでなり、ここで、P C a バイオマーカークатегoriesの少なくとも1つ、例えば2つが、（i）P S A、（ii）総P S A（t P S A）、（iii）インタクトP S A（i P S A）、（iv）遊離P S A（f P S A）、および（v）h K 2 からなる群から選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記バイオマーカークатегories複合値の形成の際、P C a バイオマーカークатегoriesの前記P C a バイオマーカークатегories（i）～（v）の少なくとも1つのサブセット、例えば前記P C a バイオマーカークатегories（i）～（v）の1つ、2つ、3つまたは4つのサブセットの無視を許容する、請求項2に記載の方法。

30

【請求項 4】

前記S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c categoriesのS N P p cの少なくとも10%、例えば15%、例えば20%、例えば30%の無視を許容する、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項 5】

前記P C a バイオマーカークатегoriesに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせ、前記バイオマーカークатегories複合値を形成する、請求項1～4のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 6】

前記S N P p c categoriesに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせ、前記S N P p c 複合値を形成する、請求項1～5のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

前記バイオマーカークатегories複合値および前記S N P p c 複合値を、予め定められた式にしたがって組み合わせ、前記総複合値を形成する、請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記総複合値がカットオフ値を上回る場合に、個体に生検を勧めるステップをさらに含む、請求項1～7のいずれかに記載の方法。

50

【請求項 9】

前記総複合値がカットオフ値を上回る場合に、個体に、食習慣の変更、体重の減量、BMI値30未満の達成、定期的な運動、および/または禁煙を勧めるステップをさらに含む、請求項1～8のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

SNPが、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117, およびrs138213197の少なくとも1つを含む、請求項1～9のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 11】

PCaバイオマーカー濃度に関連するSNP(SNPbm)のカテゴリを、少なくとも1つのSNPbmの存在または不存在を測定することにより解析し;前記SNPbmに関するデータを組み合わせることでSNPbm複合値を形成し;前記SNPbm複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む、請求項1～10のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

前記少なくとも1つのSNPbmが、rs3213764, rs1354774, rs1227732, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, およびrs1054564の少なくとも1つを含む、請求項11に記載の方法。

20

【請求項 13】

前記個体の肥満度指数に関連するSNP(SNPbmi)のカテゴリを、少なくとも1つのSNPbmiの存在または不存在を測定することにより解析し;前記SNPbmiに関するデータを組み合わせることでSNPbmi複合値を形成し;前記SNPbmi複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む、請求項1～12のいずれかに記載の方法。

【請求項 14】

前記少なくとも1つのSNPbmiが、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, およびrs1558902の少なくとも1つを含む、請求項13に記載の方法。

30

【請求項 15】

PCaに関する家族歴、治療歴、および身体データを前記個体から収集することさらに含み、ここで、前記家族歴、治療歴、および/または身体データは、前記総複合値を形成する組み合わせデータに含められる、請求項1～14のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

付加的なPCaバイオマーカーカテゴリを、前記付加的バイオマーカーカテゴリの複数のPCaバイオマーカーの1つまたはそれぞれの存在または濃度を測定することにより解析し;前記付加的PCaバイオマーカーカテゴリに関するデータを組み合わせることで前記付加的PCaバイオマーカーカテゴリの付加的バイオマーカー複合値を形成し;前記付加的バイオマーカー複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含み;ここで、前記付加的バイオマーカー複合値を形成するデータの組み合わせは冗長的に設計され、前記付加的PCaバイオマーカーカテゴリは1つを超えるPCaバイオマーカーを含む、請求項2～15のいずれかに記載の方法。

40

【請求項 17】

前記付加的PCaバイオマーカーカテゴリは、バイオマーカーMIC-1および場合により他のMIC-1関連バイオマーカー、またはバイオマーカーMSMBおよび場合により他のMSMB関連バイオマーカーを含む、請求項16に記載の方法。

【請求項 18】

前記生物学的サンプルが血液サンプルである、請求項1～17のいずれかに記載の方法

50

。

【請求項 19】

前記総複合値が、SNPbmおよび対応するPCAバイオマーカー濃度の非加算的效果を利用する方法を用いて計算される、請求項12～18のいずれかに記載の方法。

【請求項 20】

前記個体が25を超えるBMI値を有する、請求項1～19のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

前記SNPの存在または不存在の測定を、MALDI質量分析を用いて行う、請求項1～20のいずれかに記載の方法。

【請求項 22】

前記PCAバイオマーカーの存在または濃度の測定を、マイクロアレイ技術を用いて行う、請求項1～21のいずれかに記載の方法。

【請求項 23】

SNPの存在または不存在の測定が、該SNPの対立遺伝子の数を測定することを含んでなる、請求項1～22のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】

請求項1に記載されるステップ2aおよびステップ2bを行うためのアッセイ装置であって、少なくとも2つの異なるカテゴリーのリガンドが固定された固相を含んでなり、ここで、

- 前記リガンドの第1のカテゴリーは、PCAバイオマーカーに特異的に結合し、複数の異なるPCAバイオマーカー、好ましくはPSA、iPSA、tPSA、fPSA、hK2の少なくとも1つ、および場合によりMSMBおよび/またはMIC-1、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含み；

- 前記リガンドの第2のカテゴリーは、SNPpcに特異的に結合し、複数の異なるSNPpc、例えばrs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197の少なくとも1つ、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、アッセイ装置。

【請求項 25】

複数の異なるSNPbm、例えばrs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564の少なくとも1つ、の1つまたはそれぞれに特異的に結合する1つまたは複数の異なるリガンドを含む、SNPbmに特異的に結合する第3のカテゴリーのリガンドが固相にさらに固定される、請求項11に記載の方法を行うための請求項24に記載のアッセイ装置。

【請求項 26】

1つまたは複数の異なるSNPbmi、例えばrs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902の少なくとも1つ、に特異的に結合する1つまたは複数の異なるリガンドを含む、SNPbmiに特異的に結合する第4のカテゴリーのリガンドが固相にさらに固定される、請求項13に記載の方法を行うための請求項24または25に記載のアッセイ装置。

【請求項 27】

請求項1に記載されるステップ2aおよび2bを行うための試験キットであって、請求項24に記載のアッセイ装置、および少なくとも2つのカテゴリーの検出分子を含んでなり、ここで、

- 前記検出分子の第1のカテゴリーは、PCAバイオマーカー、好ましくはPSA、iP

10

20

30

40

50

S A、t P S A、f P S A および h K 2 の少なくとも 1 つ、および場合により M S M B および / または M I C - 1 を検出することができ ;

- 前記検出分子の第 2 のカテゴリーは、S N P p c、例えば rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs104149, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197 の少なくとも 1 つを検出することができる、
試験キット。

10

【請求項 2 8】

請求項 2 5 に記載のアッセイ装置、および S N P b m、例えば rs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564 の少なくとも 1 つを検出することができる第 3 の検出分子カテゴリーを含む、請求項 2 7 に記載の試験キット。

【請求項 2 9】

請求項 2 6 に記載のアッセイ装置、および S N P b m i、例えば rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902 の少なくとも 1 つを検出することができる第 4 の検出分子カテゴリーを含む、請求項 2 7 または 2 8 に記載の試験キット。

20

【請求項 3 0】

少なくとも 2 つの異なるカテゴリーのリガンドが固定された固相を含んでなるアッセイ装置であって、

- 前記リガンドの第 1 のカテゴリーは、P C a バイオマーカに特異的に結合し、P S A、i P S A、t P S A、f P S A および h K 2 の少なくとも 1 つ、および場合により M S M B および / または M I C - 1 から選択される複数の異なる P C a バイオマーカのそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含み ;

- 前記リガンドの第 2 のカテゴリーは、S N P p c に特異的に結合し、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197 の少なくとも 1 つから選択される複数の異なる S N P p c のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、アッセイ装置。

30

【請求項 3 1】

rs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564 の少なくとも 1 つから選択される複数の異なる S N P b m の 1 つまたはそれぞれに特異的に結合する 1 つまたは複数の異なるリガンドを含む、S N P b m に特異的に結合する第 3 のリガンドカテゴリーが固相にさらに固定される、請求項 3 0 に記載のアッセイ装置。

40

【請求項 3 2】

rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902 の少なくとも 1 つから選択される複数の異なる S N P b m i の 1 つまたはそれぞれに特異的に結合する 1 つまたは複数の異なるリガンドを含む、S N P b m i に特異的に結合する第 4 のリガンドカテゴリーが固相にさらに固定される、請求項 3 0 または 3 1 に記載のアッセイ装置。

50

【請求項 3 3】

少なくとも請求項 1 に記載されるステップ 3、4 および 5、例えば請求項 1 に記載されるステップ 1 ~ 6 を行うためのソフトウェアコード手段を含んでなる、デジタルコンピューターの内部メモリに直接ロード可能なコンピュータープログラム。

【請求項 3 4】

請求項 1 1 に記載の方法を行うためのソフトウェアコード手段をさらに含む、請求項 3 3 に記載のコンピュータープログラム。

【請求項 3 5】

請求項 1 3 に記載の方法を行うためのソフトウェアコード手段をさらに含む、請求項 3 3 または 3 4 に記載のコンピュータープログラム。

【請求項 3 6】

請求項 3 0 に記載のアッセイ装置および請求項 3 3 に記載のコンピュータープログラム、または請求項 3 1 に記載のアッセイ装置および請求項 3 4 に記載のコンピュータープログラム、または請求項 3 2 に記載のアッセイ装置および請求項 3 5 に記載のコンピュータープログラムを含んでなる装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は全般に、診断マーカーとしての潜在的有用性を有する、さまざまな形態の遺伝子マーカーおよびさまざまな形態のタンパク質の検出および同定に関する。本発明はとりわけ、侵襲性 (aggressive) 形態の前立腺癌の改善された検出のために、複数の診断マーカーを同時使用することに関する。本発明は特に、肥満度指数 (BMI) が 25 を超える男性における侵襲性前立腺癌の改善された検出のために、複数の診断マーカーを同時使用することに関する。

【背景技術】

【0002】

前立腺癌 (PCa) のスクリーニングおよび早期発見のために、血清前立腺特異抗原 (PSA) の測定が広く用いられている。EUROPEAN UROLOGY 60(2011)21-28 に発表された Markus Aly および共著者による公開報文 “Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study” (引用により本書の一部とする) に記載されるように、現在の臨床免疫アッセイにより測定可能な血清 PSA は、遊離「非複合体化」形態 (遊離 PSA) または 1 - 抗キモトリプシン (ACT) との複合体のいずれかとして主に存在する。血清中の遊離 PSA と総 PSA との比が、PCa の発見を有意に改善することが示されている。年齢および確認された家族歴のような他のファクターも、PCa の発見をさらに改善し得る。PCa に関連する遺伝子マーカー、とりわけ一塩基多型 (SNP) の測定は、前立腺癌のスクリーニングおよび早期発見のための新たな手段である。PSA のようなバイオマーカーおよび患者についての全体的情報との組み合わせにおいて、複数の PCa 関連 SNP を解析することにより、複数の SNP の遺伝スコアへの組み込みによってリスク評価を改善することができる。

【0003】

前立腺癌のスクリーニングおよび早期発見は困難なタスクであり、男性集団の特異的かつ高感度のマッピングに十分良好な単一のバイオマーカーはこれまでにわかっていない。したがって、PCa のスクリーニングおよび早期発見により役立つ方式をつくるために、複数のバイオマーカーレベルを組み合わせることが試みられている。最も一般的な例は通常の PSA 検査であり、これは「遊離」PSA および「総」PSA の評価である。PSA は、1 つの「非複合体化」形態、および PSA が 1 - 抗キモトリプシンと複合体を形成している 1 つの形態として存在する。他の例は、WO 03100079 (METHOD OF ANALYZING PRO ENZYME FORMS OF PROSTATE SPECIFIC ANTIGEN IN SERUM TO IMPROVE PROSTATE CANCER DETECTION) (引用により本書の一部とする) に記載されるように、遊離 PSA、総 PSA、および 1 種またはそれ以上のプロ酵素形態の PSA の濃度の組み合わせを診断目的で用

10

20

30

40

50

いることである。P C aのスクリーニングおよび早期発見の改善された性能をもたらす、P S A濃度およびプロ酵素濃度の1つの可能な組み合わせは、phi指数である。phiは、BJU Int. 2011 Nov 11. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10751.x.に発表された、Nichol MBおよび共著者による報文“Cost-effectiveness of Prostate Health Index for prostate cancer detection”（引用により本書の一部とする）に開示されるように、P S A検査においてボーダーライン（例えばP S A 2 ~ 10 ng / ml）でありデジタル直腸検査において疑わしくない男性におけるP C a発見の改善のために、P S A、遊離P S AおよびP S A前駆形態 [- 2] プロP S Aの組み合わせとして開発された。他の例は、US 2012021925 (DIAGNOSTIC ASSAY FOR PROSTATE CANCER USING psp94 and PSA BIOMARKERS) に記載されるような、p s p 9 4 および P S A の組み合わせである。

10

【 0 0 0 4 】

患者がP C aに罹患するかを評価する診断または予測に潜在的に有用な他のバイオマーカーには、Clin Cancer Res 2009;15(21):OF1-7に発表されたDavid A. Brownおよび共著者による報文“Macrophage Inhibitory Cytokine 1: A New Prognostic Marker in Prostate Cancer”（引用により本書の一部とする）に記載されるように、M I C - 1がある。

【 0 0 0 5 】

P C aリスクの予測のために、複数の情報源からの情報を1つのアルゴリズムモデルに組み合わせる試みが、これまでに開示されている。Cancer Prev Res (2010),3(5):611-619に発表されたRobert Kleinおよび共著者による公開報文“Blood Biomarker Levels to Aid Discovery of Cancer-Related Single-Nucleotide Polymorphisms: Kallikreins and Prostate Cancer”（引用により本書の一部とする）において、著者は、血中バイオマーカーがどのように新規S N Pの発見に役立つかを論じ、また、予測モデルに遺伝子型およびバイオマーカーレベルの両方を組み込むことに潜在的役割があることを示唆している。さらに、この報文は、遺伝子マーカーおよびバイオマーカーの両方の非加算的組み合わせが、P C aリスク推定の予測に役立つことの証拠を示している。後に、特許出願WO 2012031207（引用により本書の一部とする）において、Xuおよび共同発明者が、5 レダクターゼ阻害薬（例えばデュタステリドまたはフィナステリド）による化学予防療法が適当な対象を同定することを主な目的として、遺伝子マーカーを高悪性度前立腺癌と関連付ける方法を開示した。これら2つの開示には、P C aリスクを推定する目的で、また、高悪性度癌に関しても、遺伝の情報およびバイオマーカー濃度を組み合わせることに関する従来技術の概要が記載されている。

20

30

【 0 0 0 6 】

P S Aスクリーニングおよび早期発見の現在のパフォーマンスは、およそ感度80%および特異度30%である。現在のスクリーニングでは、約65%が不要な前立腺生検を受け、臨床的に意義のある前立腺癌の15~20%が見逃されると推定される。米国だけで毎年約百万件の生検が行われ、それにより約192000件の新たな症例の診断がなされている。したがって、診断パフォーマンスが少しでも向上すれば、生検の減少によりヘルスケア費用が大きく削減され、かつ、侵襲的診断処置を受ける人の数が減少することにもなるであろう。

【 0 0 0 7 】

現在の臨床診療（スウェーデンにおける）は、無症候性および早期の前立腺癌の発見のためのバイオマーカーとして総P S Aを用いる。前立腺生検によるさらなる検査を行う一般的カットオフ値は、3 ng / mlである。しかしながら、P S Aスクリーニングの意義が否定的である故に、今日、欧州または北米において推奨される整ったP S Aスクリーニングは存在しない。

40

【 0 0 0 8 】

個体において侵襲性前立腺癌（a P C a）を正確に同定することは、個体の治療を施すのが早いほど癌治療の可能性が高いことから、極めて重要である。しかしながら、a P C aの同定は難しく、その理由の一部は、統計モデルを開発するのに、十分な数の症例およびコントロールを提供する、より大規模なコホートが必要であることにある。したがって

50

、 a P C a の予測モデルが得られる可能性は低い。しかしながら本発明は、個体のバイオマーカーおよび遺伝プロファイルの解析により a P C a を同定するための予測モデルを提供する。

【発明の概要】

【0009】

本発明は、異なる由来の診断マーカーの組み合わせが、母集団における a P C a 発見能力を改善するという発見に基づく。とりわけ、本発明は、肥満度指数 (B M I) の高い個体において a P C a 発見能力を改善する。これにより、早期に同定される侵攻性癌をより容易に治療できるから、社会にとっての大きな節約となりうる。

【0010】

したがって、本発明の発見に基づき、本発明の一側面は、個体における侵攻性の前立腺癌 (P C a) の存在または不存在を判定するための、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法であって、下記ステップを含んでなる方法を提供する：

- 1 . 前記個体からの少なくとも1つの生物学的サンプルを用意し；
- 2 . 前記生物学的サンプルにおいて、
 - a . P C a バイオマーカーのカテゴリーを、該 P C a バイオマーカーカテゴリーの複数の P C a 関連バイオマーカーのそれぞれの存在または濃度を測定することにより解析し；
 - b . P C a に関連する S N P (S N P p c) のカテゴリーを、該 S N P p c カテゴリーの複数の S N P p c のそれぞれの存在または不存在を測定することにより解析し；
- 3 . 前記 P C a バイオマーカーカテゴリーに関するデータを組み合わせ、 P C a バイオマーカー関連の P C a 発症リスクを表すバイオマーカー複合値を形成し；
- 4 . 前記 S N P p c カテゴリーに関するデータを組み合わせ、 S N P p c 関連の P C a 発症リスクを表す S N P p c 複合値を形成し、ここで、本方法は、 S N P p c 複合値の形成の際、 S N P p c カテゴリーの S N P p c の少なくとも5%のサブセットの無視を許容し；
- 5 . バイオマーカー複合値および S N P p c 複合値を組み合わせ、総複合値を形成し；
- 6 . 前記総複合値を、わかっている侵攻性 P C a および良性疾患診断のコントロールサンプルを用いて確立された、予め定められたカットオフ値と比較することにより、前記個体における侵攻性 P C a の存在または不存在に関連付ける。

【0011】

本発明の一側面によると、前記方法の1つまたはそれ以上のステップ、通常ステップ3、4、5および/または6は、プロセッサおよびメモリを含むコンピューターにおいて実行されるコンピュータープログラムによってなされる。

【0012】

前記方法のステップ3は通常、ステップ2 a のデータからバイオマーカー複合値を形成または計算するようプログラムされたコンピューターで行われ；前記方法のステップ4は、ステップ2 b のデータから S N P p c 複合値を形成または計算するようプログラムされたコンピューターで行われ；ステップ5は、ステップ3および4のデータから総複合値を形成または計算するようプログラムされたコンピューターで行われ；および/または前記方法のステップ6は、総複合値を、わかっている侵攻性 P C a および良性疾患診断のコントロールサンプルを用いて確立された、予め定められたカットオフ値との比較によって、前記個体における侵攻性 P C a の存在または不存在に関連付けるようプログラムされたコンピューターで行われる。さらに、本発明は、そのような計算を行い、またはそのような複合値を形成し、および/または前記のような関連付けステップを行う実行可能命令を有する、一時的でない有形の、コンピューターに読み取り可能な記憶媒体に関する。

【0013】

カットオフ値(またはカットオフレベル)の選択は、疾患リスクそのもの、および疾患を有さない個体を陽性と不正確に診断すること(偽陽性)に関連するリスクを含むがそれに限定されない、多くのファクターに依存する。カットオフ値の選択についてはより詳細に後述する。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 4 】

本発明の好ましい一態様において、前記方法のステップ 2 (a) は、少なくとも部分的に冗長な P C a バイオマーカの存在または濃度を測定することを含んでなり、ここで、P C a バイオマーカの少なくとも 1 つ、例えば 2 つは、(i) P S A、(ii) 総 P S A (t P S A)、(iii) インタクト P S A (i P S A)、(iv) 遊離 P S A (f P S A)、および (v) h K 2 からなる群から選択される。

【 0 0 1 5 】

とりわけ、本発明の方法は、前記バイオマーカ複合値の形成の際、P C a バイオマーカカテゴリーの前記 P C a バイオマーカ (i) ~ (v) の少なくとも 1 つのサブセット、例えば前記 P C a バイオマーカ (i) ~ (v) の 1 つ、2 つ、3 つまたは 4 つのサブセットの無視を許容する。

10

【 0 0 1 6 】

さらに、一態様において、前記方法は、S N P p c 複合値の形成の際、S N P p c カテゴリーの S N P p c の少なくとも 1 0 %、例えば 1 5 %、例えば 2 0 %、例えば 3 0 % の無視を許容する。

【 0 0 1 7 】

好ましくは、P C a バイオマーカカテゴリーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせ、前記バイオマーカ複合値を形成し、および / または S N P p c カテゴリーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせ、前記 S N P p c 複合値を形成する。また、前記バイオマーカ複合値および S N P p c 複合値を、好ましくは、予め定められた式にしたがって組み合わせ、前記総複合値を形成する。

20

【 0 0 1 8 】

一態様において、前記方法は、総複合値がカットオフ値を上回る場合に、個体に生検を勧めるステップをさらに含む。

【 0 0 1 9 】

別の一態様において、前記方法は、総複合値がカットオフ値を上回る場合に、個体に、食習慣の変更、体重の減量、B M I 値 3 0 未満の達成、定期的な運動、および / または禁煙を勧めるステップをさらに含む。

【 0 0 2 0 】

本発明の一態様においては、P C a に関連する S N P (S N P p c) は、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117, および rs138213197 の少なくとも 1 つを含む。

30

【 0 0 2 1 】

一態様において、本発明の方法は、P C a バイオマーカ濃度に関連する S N P (S N P b m) のカテゴリーを、少なくとも 1 つの S N P b m の存在または不存在を測定することにより解析し；前記 S N P b m に関するデータを組み合わせ、S N P b m 複合値を形成し；前記 S N P b m 複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含む。

40

【 0 0 2 2 】

一態様において、少なくとも 1 つの S N P b m は、rs3213764, rs1354774, rs1227732, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564 の少なくとも 1 つを含む。

【 0 0 2 3 】

一態様において、本発明の方法は、前記個体の肥満度指数 (Body Mass Index) に関連する S N P (S N P b m i) のカテゴリーを、少なくとも 1 つの S N P b m i の存在または不存在を測定することにより解析し；前記 S N P b m i に関するデータを組み合わせ、S N P b m i 複合値を形成し；前記 S N P b m i 複合値を前記総複合値に組み込むことを

50

さらに含む。

【0024】

一態様において、少なくとも1つのSNP b m i は、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, およびrs1558902の少なくとも1つを含む。

【0025】

他の一態様において、本発明の方法は、PCaに関する家族歴、治療歴、および身体データを前記個体から収集することさらに含み、ここで、前記家族歴、治療歴、および/または身体データは、前記総複合値を形成する組み合わせデータに含められる。

【0026】

さらに別の一態様において、本発明の方法は、付加的なPCaバイオマーカーカテゴリーを、該付加的PCaバイオマーカーカテゴリーの複数のPCaバイオマーカーの1つまたはそれぞれの存在または濃度を測定することにより解析し；前記付加的PCaバイオマーカーカテゴリーに関するデータを組み合わせる前記付加的PCaバイオマーカーカテゴリーの付加的バイオマーカー複合値を形成し；前記付加的バイオマーカー複合値を前記総複合値に組み込むことをさらに含み；ここで、付加的バイオマーカー複合値を形成するデータの組み合わせは冗長的に設計され、付加的PCaバイオマーカーカテゴリーは1つを超えるPCaバイオマーカーを含む。

【0027】

好ましい態様において、付加的PCaバイオマーカーカテゴリーは、バイオマーカーMIC-1および場合により他のMIC-1関連バイオマーカー、またはバイオマーカーMSMBおよび場合により他のMSMB関連バイオマーカーを含む。

【0028】

他の一態様において、本発明の方法は、上記手順にしたがって、複数の付加的PCaバイオマーカーカテゴリーのそれぞれを解析し、各PCaバイオマーカーカテゴリーについて付加的バイオマーカー複合値を形成することを含んでなる。好ましくは、少なくとも2つの付加的PCaバイオマーカーカテゴリーを解析し、ここで、1つの付加的PCaバイオマーカーカテゴリーはバイオマーカーMIC-1および場合により他のMIC-1関連バイオマーカーを含み、他の1つの付加的カテゴリーはバイオマーカーMSMBおよび場合により他のMSMB関連バイオマーカーを含む。

【0029】

一態様において、生物学的サンプルは血液サンプルである。

【0030】

本発明の一態様において、総複合値は、PCaバイオマーカー濃度に関連するSNP (SNP b m) および対応するPCaバイオマーカー濃度の非加算的效果 (non-additive effect) を利用する方法を用いて計算される。

【0031】

本発明の方法の好ましい一態様において、個体は25を超える、例えば30を超えるBMI値を有する。

【0032】

本発明の方法の一態様において、SNPの存在または不存在の測定は、MALDI質量分析を用いて行われる。

【0033】

本発明の方法の一態様において、PCaバイオマーカーの存在または不存在の測定は、マイクロアレイ技術を用いて行われる。

【0034】

本発明の方法の好ましい一態様において、SNP (いずれかのSNPカテゴリーに属するもの) の存在または不存在の測定は、該SNPの対立遺伝子の数を測定することを含んでなる。一態様において、前記個体において、1個または2個の対立遺伝子は、該SNPの存在に対応し、0個の対立遺伝子は、該SNPの不存在に対応し；ここで、該SNPに

10

20

30

40

50

関し、0個の対立遺伝子は同型接合陰性に対応し、1個の対立遺伝子は異型接合陽性に対応し、2個の対立遺伝子は同型接合陽性に対応する。

【0035】

一態様において、前記方法は、P C aバイオマーカの存在または濃度の測定に、E L I Z Aアッセイ装置、マイクロアレイアッセイ装置、免疫沈降アッセイ装置、免疫蛍光アッセイ装置、放射免疫アッセイ装置、またはマトリックス支援レーザー脱離イオン化(M A L D I)を用いる質量分析装置を使用することを含んでなる。

【0036】

前記態様と組み合わせうる一態様において、前記方法は、S N Pの存在または不存在の測定に、マトリックス支援レーザー脱離イオン化(M A L D I)を用いる質量分析装置を使用することを含んでなる。

10

【0037】

本発明の他の一側面は、個体における侵襲性前立腺癌の存在または不存在を判定する前記方法のステップ2 a (すなわち、少なくとも1つのP C aバイオマーカの存在または濃度の測定)およびステップ2 b (すなわち、少なくとも1つのS N P p cの存在または不存在の測定)を行うためのアッセイ装置であって、少なくとも2つの異なるカテゴリーのリガンドが固定された固相を含んでなり、

- 前記リガンドの第1のカテゴリーは、P C aバイオマーカに特異的に結合し、複数のP C aバイオマーカ、好ましくはP S A、i P S A、t P S A、f P S A、h K 2、および場合によりM S M Bおよび/またはM I C - 1の少なくとも1つ、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含み；

20

- 前記リガンドの第2のカテゴリーは、S N P p cに特異的に結合し、複数の異なるS N P p c、例えばrs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197の少なくとも1つ、のそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、アッセイ装置を提供する。

30

【0038】

一態様において、本発明のアッセイ装置は、S N P b mの存在または不存在の測定にさらに適合し、この場合、アッセイ装置の固相には、S N P b mに特異的に結合する第3のカテゴリーのリガンドがさらに固定され、複数の異なるS N P b m、例えばrs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564の少なくとも1つ、の1つまたはそれぞれに特異的に結合する、1つまたは複数の異なるリガンドを含む。

【0039】

一態様において、本発明のアッセイ装置は、S N P b m iの存在または不存在の測定に適合し、この場合、固相には、S N P b m iに特異的に結合する第4のカテゴリーのリガンドがさらに固定され、1つまたは複数の異なるS N P b m i、例えばrs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902の少なくとも1つ、に特異的に結合する、1つまたは複数の異なるリガンドを含む。

40

【0040】

一態様において、前記アッセイ装置は、P C aバイオマーカの存在または濃度の測定のために、E L I Z Aアッセイ装置、マイクロアレイアッセイ装置、免疫沈降アッセイ装置、免疫蛍光アッセイ装置、放射免疫アッセイ装置、またはマトリックス支援レーザー脱離イオン化(M A L D I)を用いる質量分析装置を含んでなる。

【0041】

50

前記態様と組み合わせうる一態様において、前記アッセイ装置は、SNPの存在または不存在の測定のために、マトリクス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)を用いる質量分析装置を含んでなる。

【0042】

本発明の他の一側面によると、個体における侵襲性前立腺癌の存在または不存在を判定する前記方法のステップ2a(すなわち、少なくとも1つのPCaバイオマーカの存在または濃度の測定)およびステップ2b(すなわち、少なくとも1つのSNPpcの存在または不存在の測定)を行うための試験キットであって、前記の対応するアッセイ装置、および少なくとも2つのカテゴリーの検出分子を含んでなり、

- 前記検出分子の第1のカテゴリーは、PCaバイオマーカ、好ましくはPSA、iPSA、tPSA、fPSAおよびhK2の少なくとも1つ、および場合によりMSMBおよび/またはMIC-1を検出することができる；

- 前記検出分子の第2のカテゴリーは、SNPpc、例えばrs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197の少なくとも1つを検出することができる、試験キットが提供される。

10

20

【0043】

一態様において、本発明の試験キットは、少なくとも1つのSNPbmの存在または不存在の測定にさらに適合したアッセイ装置、およびSNPbm、例えばrs1227732, rs3213764, rs1354774, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564の少なくとも1つを検出することができる第3の検出分子カテゴリーを含む。

【0044】

一態様において、本発明の試験キットは、SNPbmiの存在または不存在の測定に適合したアッセイ装置、およびSNPbmi、例えばrs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902の少なくとも1つを検出することができる第4の検出分子カテゴリーをさらに含む。

30

【0045】

本発明のさらに別の側面は、少なくとも2つの異なるカテゴリーのリガンドが固定された固相を含んでなるアッセイ装置であって、

- 前記リガンドの第1のカテゴリーは、PCaバイオマーカに特異的に結合し、PSA、iPSA、tPSA、fPSAおよびhK2の少なくとも1つ、および場合によりMSMBおよび/またはMIC-1から選択される複数の異なるPCaバイオマーカのそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含み；

- 前記リガンドの第2のカテゴリーは、SNPpcに特異的に結合し、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, または rs2405942, rs12621278, rs9364554, rs10486567, rs6465657, rs2928679, rs6983561, rs16901979, rs16902094, rs12418451, rs4430796, rs11649743, rs2735839, rs9623117 および rs138213197の少なくとも1つから選択される複数の異なるSNPpcのそれぞれに特異的に結合する複数の異なるリガンドを含む、アッセイ装置を提供する。

40

【0046】

本発明のアッセイ装置の一態様において、固相には、rs1227732, rs3213764, rs135477

50

4, rs2736098, rs401681, rs10788160, rs11067228, rs1363120, rs888663, および rs1054564の少なくとも1つから選択される複数の異なるSNPbmの1つまたはそれぞれに特異的に結合する1つまたは複数の異なるリガンドを含む、SNPbmに特異的に結合する第3のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

【0047】

本発明のアッセイ装置のさらなる一態様において、固相には、rs3817334, rs10767664, rs2241423, rs7359397, rs7190603, rs571312, rs29941, rs2287019, rs2815752, rs713586, rs2867125, rs9816226, rs10938397, および rs1558902の少なくとも1つから選択される複数の異なるSNPbmiの1つまたはそれぞれに特異的に結合する1つまたは複数の異なるリガンドを含む、SNPbmiに特異的に結合する第4のリガンドカテゴリーがさらに固定される。

10

【0048】

本発明のさらに別の一側面は、個体における侵襲性前立腺癌の存在または不存在を判定する前記方法の、少なくともステップ3（すなわち、前記PCAバイオマーカーカテゴリーに関するデータを組み合わせてバイオマーカー複合値を形成すること）、ステップ4（すなわち、前記SNPpcカテゴリーに関するデータを組み合わせてSNPpc複合値を形成すること）、ステップ5（すなわち、バイオマーカー複合値およびSNPpc複合値を組み合わせて総複合値を形成すること）、および/またはステップ6（前記総複合値を、わかっている侵襲性PCAおよび良性疾患診断のコントロールサンプルを用いて確立された、予め定められたカットオフ値と比較することにより、前記個体における侵襲性PCAの存在または不存在に関連付けること）、例えば前記方法のステップ1（すなわち、前記個体からの少なくとも1つの生物学的サンプルを用意すること）、ステップ2（前記生物学的サンプルにおいて、複数のPCAバイオマーカーのそれぞれの存在または濃度を測定することによりPCAバイオマーカーカテゴリーを解析し、複数のSNPpcのそれぞれの存在または不存在を測定することによりSNPpcカテゴリーを解析すること）、ステップ3、4、5および6を行うためのソフトウェアコード手段を含んでなる、デジタルコンピューターの内部メモリに直接ロード可能なコンピュータープログラムを提供する。

20

【0049】

一態様において、本発明のコンピュータープログラムは、少なくとも1つのSNPbmの存在または不存在の測定によりSNPbmカテゴリーを解析するためのソフトウェアコード手段をさらに含む。

30

【0050】

他の一態様において、本発明のコンピュータープログラムは、少なくとも1つのSNPbmiの存在または不存在の測定によりSNPbmiカテゴリーを解析するためのソフトウェアコード手段をさらに含む。

【0051】

本発明のさらなる側面は、前記アッセイ装置および前記の対応するコンピュータープログラムを含んでなる装置を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0052】

【図1】図1は、実施例1の線形モデルのROC曲線を示し、aPCA予測におけるPSA(101)と多重パラメータモデル(102)とのパフォーマンスの相異を説明するものである。

40

【図2】図2は、対象に生検を勧告すべきかを判定する決定木の例を示す。

【図3】図3は、実施例1の線形モデルのROC曲線を示し、BMI値が25を超える個体におけるaPCA予測におけるPSA(301)と多重パラメータモデル(302)とのパフォーマンスの相異を説明するものである。

【発明を実施するための形態】

【0053】

本願の目的のため、および明確化のために、下記の定義を行う：

50

用語「PSA」は、血清前立腺特異抗原全般をさす。PSAはさまざまな形態で存在し、用語「遊離PSA」は、別の分子に未結合または別の分子に結合していないPSAをさし、用語「結合PSA」は、別の分子に結合または別の分子と複合体形成しているPSAをさし、用語「総PSA」は、遊離PSAおよび結合（複合体化）PSAの総体をさす。用語「F/T PSA」は、未結合のPSAと総PSAとの比である。PSAの分子誘導体も存在し、用語「プロPSA」は、PSAの前駆不活性形態をさし、「インタクトPSA」は、インタクトおよび不活性で見られるプロPSAのさらなる形態をさす。

【0054】

用語「診断アッセイ」は、病的状態の存在または性質の検出をさす。これは、「診断方法」と互換的に用いられうる。診断アッセイによって感度および特異度が異なる。

10

【0055】

診断ツールの有用性の1つの評価基準は、「受信者動作特性曲線下面積」で、これは一般にROC-AUC統計学として知られる。この広く受け入れられている評価基準は、該ツールの感度および特異度の両方を考慮する。ROC-AUC評価基準の値は、通常、0.5~1.0の範囲であり、ここで、0.5の値はツールに診断価値が無いことを意味し、1.0の値はツールが100%の感度および100%の特異度を有することを意味する。

【0056】

用語「感度」は、PCaを有する全ての対象の、そのように正しく判定される割合を意味する（真陽性数を真陽性および偽陰性の合計数で除したものに等しい）。

20

【0057】

用語「特異度」は、PCaに関し健康な（すなわちPCaを有さない）全ての対象の、そのように正しく判定される割合を意味する（真陰性数を真陰性および偽陽性の合計数で除したものに等しい）。

【0058】

用語「バイオマーカー」は、例えば診断目的で、生物学的マーカーとして用いうるタンパク質、タンパク質の一部、ペプチドまたはポリペプチドを意味する。

【0059】

用語「カリクレイン様バイオマーカー」は、カリクレインファミリーのタンパク質に属するかまたはそれに関連するタンパク質バイオマーカーを意味し、それには、遊離形態または複合体化形態の前立腺特異抗原（PSA）、プロPSA（一群のPSAアイソフォーム）、特に欠失型（-2）プロPSA、インタクトPSA、ヒトプロスタタン酸ホスファターゼ（PAP）、およびヒトカリクレイン2（本願において、hK2またはHK2またはhk2と略される）が包含されるが、それに限定されない。

30

【0060】

用語「一塩基多型」（SNP）は、個体の遺伝コードにおける定められた遺伝子座の遺伝的特性を意味する。SNPは、PCaの増大したリスクに関連付けることができ、したがって、個体の診断評価または予後評価のために用いることができる。一塩基多型データベース（dbSNP）は、いずれも米国にある全米バイオテクノロジー情報センター（NCBI）と米国国立ヒトゲノム研究所（NHGRI）とが共同で開発および提供する、異なる種内および種間の遺伝的多様性のアーカイブである。このデータベースの名称は1つのクラスの多形のみ（すなわち一塩基多型（SNP））のコレクションを意味するが、実際には、ある範囲の分子変異を含んでいる。それぞれ唯一の提示SNP記録毎に、参照SNP ID番号（「rs#」；「refSNPクラスター」）が付与される。本願においては、SNPは主にrs#番号を用いて特定される。したがって、本願においては、SNPは、一塩基多型だけでなく、dbSNPに含まれる範囲の分子変異をさす用語として用いられる。本願の目的のために、用語「SNP」および「SNPs」は、互換的に使用し得、単数および/または複数の「一塩基多型」を記載するために使用しうる。

40

【0061】

用語「肥満度指数」（BMI）は、式： $BMI = \text{体重} / (\text{身長} * \text{身長})$ [式中、体重は

50

キログラムで表される個体の体重であり、身長はメートルで表される個体の身長である]に従う、個体の体重および身長に基づくヒト体脂肪のヒューリスティックな代用値を意味する。正常な健康的BMI値は通常、18.5~25の範囲内にあると考えられ、BMI>30の個体は通常、肥満とみなされる。

【0062】

用語「侵攻性(aggressive)前立腺癌」(aPCa)は、平均的な前立腺癌疾患よりも重篤な状態を意味する。aPCaは、さまざまに定義することができ、それには次のものが含まれるが、それに限定されない：(a)グリソンスコアが7またはそれ以上の前立腺癌、(b)腫瘍ステージが3またはそれ以上の前立腺癌、(c)PSA値が10ng/mlを超える個体における前立腺癌、(d)PSA値の増加している個体(倍加時間が1年未満)、(e)コンピューター画像解析(例えば、ポジトロン放出断層撮影(PET)または単一光子放出型コンピューター断層撮影(SPECT)またはX線コンピューター断層撮影(CT)または磁気共鳴断層撮影(MRI)または超音波撮影または任意の他のコンピューター画像解析)により示される腫瘍サイズが、患者集団の上位4分の1に入ること。

10

【0063】

用語「病歴」は、何らかの癌疾患のための過去の検査、診断および/または治療に関する情報を意味する。病歴の一例は、対象が過去に前立腺生検によるPCa存在の検査を受けたことがあるか、であるが、これに限定されない。

【0064】

用語「パラメータカテゴリー」は、関連パラメータの群またはファミリー、例えば関連バイオマーカーまたは関連SNPの群またはファミリー(予測パフォーマンスに関して部分的にまたは全体的に冗長である)を意味する。パラメータカテゴリーの一例は、「カリクレイン様バイオマーカー」であり、これは、例えばPSA、総PSA(tPSA)、インタクトPSA(iPSA)、遊離PSA(fPSA)およびhk2を含むカテゴリーである。パラメータカテゴリーの他の例は、「BMIに関連するSNP」であり、これは、個体のBMIに関連するSNPを含むカテゴリーである。本発明の予測モデルにおいては、各カテゴリーが、そのメンバーのサブセットしか用いられなくても予測モデルにおいて意味を持つように、各カテゴリーのメンバーのサブセットについての測定結果(データ)を持つことが十分でありうる。本願において用語「パラメータカテゴリー」はしばしば、単に「カテゴリー」と称される。

20

30

【0065】

用語「複合値」は、パラメータカテゴリーに関するデータの、該パラメータカテゴリーの代表値への組み合わせを意味する。データの組み合わせは典型的には、1つまたはそれ以上の予め定められた式にしたがって行うことができる。複合値は、1つまたはそれ以上の予め定められた式にしたがうデータ組み合わせのアウトプットである。パラメータカテゴリーのメンバーのどのサブセットについてデータが利用可能であるかに応じて、異なる測定結果(すなわち、データ)に異なる式を適用できる。あるパラメータカテゴリーの複合値を形成する方法の一例は、そのカテゴリーのメンバーについて利用可能な結果の平均を用いることであるが、これに限定されない。本願において、用語「複合値」はしばしば、「スコア」と称される。複合値の一例は、「バイオマーカー複合値」であるが、これに限定されない。複合値の他の非限定的な例は、「遺伝複合値」(または「遺伝スコア」)、より具体的には「SNP複合値」である。

40

【0066】

用語「冗長的に設計されたデータ組み合わせ」は、1つまたはそれ以上のパラメータカテゴリーまたはそのサブセットについて複合値を形成するのに、複数の測定により得られたデータを組み合わせることであって、データの組み合わせが、1つのパラメータカテゴリーを代表する複合値が該カテゴリーのデータのサブセット(例えばいくつかのデータが欠けているかまたは誤っている場合)または該カテゴリーのデータのフルセットのいずれかに基づいて得られるように行われることを意味する。

50

【0067】

本願において用いられる用語「複数」は、「2またはそれ以上」を意味する。

【0068】

本発明は、対象における侵攻性前立腺癌の存在または不存在を判定、推定、発見および/または決定するのに役立つ診断方法を提供する。本発明は所望により、定められた部分母集団内における本発明のパフォーマンスおよび有用性を高めるために、その部分母集団に合わせて調整することができる。本発明は、男性個体の母集団に適用しうるが、定められた部分母集団に対し高められたパフォーマンスでa P C aを発見するための診断方法を構成することが可能である。定められた部分母集団の非限定的な一例は、肥満度指数(B M I)の高い個体群、例えばB M I > 25またはB M I > 30またはB M I > 35の個体群である。定められた部分母集団の他の非限定的な例は、P S A値の低い個体、例えばP S A < 4 n g / m lまたはP S A < 3 n g / m lまたはP S A < 2 n g / m lまたはP S A < 1 n g / m lの個体群である。

10

【0069】

本発明の基本原理は、個体について評価された情報の組み合わせ使用が診断の質を改善するような方法で、バイオマーカーおよび遺伝の情報の組み合わせを用いることである。

【0070】

- ・前記患者からP C aに関する家族歴(カテゴリー H I S T)を収集すること。
- ・体重、B M I、年齢などの患者身体データ(カテゴリー P P D)を収集すること。
- ・前記患者からいくつかの生物学的サンプルを入手すること。
- ・前記生物学的サンプルにおいて、複数の定められたバイオマーカー(カテゴリー バイオマーカー)の存在または濃度を測定または定量し、次いで、該バイオマーカーに関するデータを組み合わせてバイオマーカー複合値を形成すること。
- ・前記生物学的サンプルにおいて、P C aに関連する複数の定められたS N P (S N P p c)の存在または不存在を測定または定量することにより、P C aに関連する複数の定められたS N Pに関する前記患者の遺伝状態(カテゴリー S N P p c)を測定または定量し、次いで、P C aに関連するS N Pに関して得られたデータを組み合わせてS N P p c複合値を形成すること。
- ・前記生物学的サンプルにおいて、バイオマーカー発現レベルまたはバイオマーカー濃度に関連する複数の定められたS N P (S N P b m)の存在または不存在を測定または定量することにより、バイオマーカー発現レベルまたはバイオマーカー濃度に関連する複数の定められたS N Pに関する前記患者の遺伝状態(カテゴリー S N P b m)を測定または定量し、S N P b m複合値を形成すること。
- ・前記生物学的サンプルにおいて、肥満度指数(B M I)に関連する複数の定められたS N P (S N P b m i)の存在または不存在を測定または定量することにより、B M Iに関連する複数の定められたS N Pに関する前記患者の遺伝状態(カテゴリー S N P b m i)を測定または定量し、S N P b m i複合値を形成すること。
- ・前記カテゴリーの少なくとも2つからのデータを組み合わせて、早期侵攻性前立腺癌の発見に使用するための総複合値を形成すること。
- ・前記総複合値を、単独で、またはさらなるデータと組み合わせて用いることにより、患者がa P C aに罹患する可能性があるかを決定すること。

20

30

40

【0071】

より詳細には、家族歴の収集を含むステップは、P C aに罹患するかまたは罹患したことがある近親男性(例えば患者の父親、兄弟または息子)がいるかの特定を包含するが、それに限定されない。

【0072】

患者に関する身体情報は通常、年齢、体重、身長、B M I等の身体データを収集する標準的な身体検査により得られる。

【0073】

患者から採取される生物学的サンプルは、血漿、血清、末梢血白血球からのD N A、お

50

よび尿を包含するが、それに限定されない。

【0074】

生物学的サンプル中のバイオマーカの存在または濃度の定量は、さまざまな方法で行うことができる。一般的な方法の1つは、選択されたバイオマーカの存在および濃度（可能な場合）を調べるのに抗体および検量線を用いる、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）の使用である。ELISAアッセイは、Biomarkers. 2011 Sep;16(6):498-503に発表されたShiiki Nおよび共著者による“Association between saliva PSA and serum PSA in conditions with prostate adenocarcinoma.”（引用により本書の一部とする）に記載されるように、当分野で一般的であり知られている。別の一般的な方法は、生物学的サンプル中のバイオマーカの存在または濃度の定量のためのマイクロアレイアッセイの使用である。マイクロアレイアッセイは通常、それぞれが1種のバイオマーカを特異的に捕捉するように選択された複数の異なる捕捉試薬（通常は抗体）が、片面の重ならない領域に固定された平らなスライドグラスを含む。生物学的サンプルを、前記捕捉試薬が配置された領域に、定められた時間にわたり接触させた後、捕捉試薬領域を洗浄する。この時点で、検出しようとするバイオマーカが生物学的サンプル中に存在した場合には、対応する捕捉試薬はそのバイオマーカのフラクシオンを捕捉しており、洗浄後もスライドグラス上に固定維持するであろう。その後、一連の検出試薬を捕捉試薬領域（すでにバイオマーカを潜在的に結合している）に添加する。検出試薬は、(i)スライドグラス上に存在するバイオマーカに結合すること、および(ii)（通常、蛍光色素との結合によって）検出可能なシグナルを発することができる。通常、バイオマーカ毎に1つの検出試薬をスライドグラスに添加する必要がある。バイオマーカの存在または濃度を定量することのできる方法は他にも多数あり、例としては免疫沈降アッセイ、免疫蛍光アッセイ、放射免疫アッセイ、およびマトリックス支援レーザー脱離イオン化（MALDI）を用いる質量分析法が挙げられるが、それに限定されない。

10

20

【0075】

生物学的サンプルの分析によるSNP存在の定量には、通常、対立遺伝子特異的プライマー伸長に基づくMALDI質量分析を用いるが、他の方法も同等に適用できる。これは、いずれのタイプのSNPにも適用され、すなわち、PCaに関連するSNP（SNP_pc）、BMIに関連するSNP（SNP_bmi）およびバイオマーカ発現/濃度に関連するSNP（SNP_bm）のいずれにも適用される。

30

【0076】

データの組み合わせは、結果の何らかの種類のアルゴリズム的組み合わせ、例えばデータの線形結合であり得、ここで、該線形結合は診断パフォーマンスを改善する（例えばROC-AUCを用いて評価される）。他の可能な組み合わせは、非線形多項関係を包含する。

【0077】

aPCa診断に適切なバイオマーカは、遊離形態または複合体化形態の前立腺特異抗原（PSA）、プロPSA（一群のPSAアイソフォーム）、特に欠失型（-2）プロPSA、インタクトPSA、ヒトプロスタノ酸ホスファターゼ（PAP）、ヒトカリクレイン2（hK2）、早期前立腺癌抗原（early prostate cancer antigen（EPCA））、前立腺分泌タンパク質（PSP94；beta-microseminoproteinおよびMSMBとしても知られる）、グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GSTP1）、および-メチルアシルCoAラセマーゼ（AMACR）を包含するが、それに限定されない。本発明の方法の診断精度を向上するのに有用でありうる関連バイオマーカには、マクロファージ抑制サイトカイン1（Macrophage Inhibitory Cytokine 1）（MIC-1；GDF-15としても知られる）がある。

40

【0078】

PCaに関連する適切なSNPは、rs12621278（2番染色体、遺伝子座2q31.1）、rs9364554（6番染色体、遺伝子座6q25.3）、rs10486567（7番染色体、遺伝子座7p15.2）、rs6465657（7番染色体、遺伝子座7q21.3）、rs2928679（8番染色体、遺伝子座8p21）、rs69

50

83561 (8番染色体、遺伝子座 8q24.21)、rs16901979 (8番染色体、遺伝子座 8q24.21)、rs16902094 (8番染色体、遺伝子座 8q24.21)、rs12418451 (11番染色体、遺伝子座 11q13.2)、rs4430796 (17番染色体、遺伝子座 17q12)、rs11649743 (17番染色体、遺伝子座 17q12)、rs2735839 (19番染色体、遺伝子座 19q13.33)、rs9623117 (22番染色体、遺伝子座 22q13.1)、およびrs138213197 (17番染色体、遺伝子座 17q21)を包含するが、それに限定されない。

【 0 0 7 9 】

P C aに関連する適当な S N P は、さらに、rs11672691, rs11704416, rs3863641, rs12130132, rs4245739, rs3771570, rs7611694, rs1894292, rs6869841, rs2018334, rs16896742, rs2273669, rs1933488, rs11135910, rs3850699, rs11568818, rs1270884, rs8008270, rs4643253, rs684232, rs11650494, rs7241993, rs6062509, rs1041449, およびrs2405942を包含するが、それに限定されない。

10

【 0 0 8 0 】

P C aに関連する適当な S N P は、さらに、N Engl J Med. 2012 Jan 12;366(2):141-9 に発表されたEwing CM および共著者による報文 “Germline mutations in HOXB13 and prostate-cancer risk.” (引用により本書の一部とする) に記載されるrs138213197、Cancer Res. 2004 Apr 15;64(8):2677-9 に発表されたCybulski C および共著者による報文 “A novel founder CHEK2 mutation is associated with increased prostate cancer risk.” (引用により本書の一部とする) に記載される1100delC (22q12.1) および 1157T (22q12.1)、ならびにCancer Res. 2004 Feb 15;64(4):1215-9に発表されたCybulski C および共著者による報文 “NBS1 is a prostate cancer susceptibility gene” (引用により本書の一部とする) に記載される657del5 (8q21)を包含するが、それに限定されない。

20

【 0 0 8 1 】

P C aに関連する S N P を含むパラメータカテゴリーを「P C aに関連する S N P」と定義することが可能である。適当なメンバーは、上記に挙げた S N P を包含する(ただし、それに限定されない)。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

【 0 0 8 2 】

P C a以外のプロセスに関連する適当な S N P は、いずれも P S A の発現レベルに関連するrs3213764、rs1354774、rs2736098、rs401681、rs10788160、rs11067228を包含するが、それに限定されない。P S A の濃度または発現レベルに関連する S N P を含むパラメータカテゴリーを、「P S A 濃度に関連する S N P」または「P S A 発現レベルに関連する S N P」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。S N P rs3213764およびrs1354774は、遊離 P S A の発現レベルに特に関連する。

30

【 0 0 8 3 】

P C a以外のプロセスに関連する適当な S N P はさらに、いずれも炎症性サイトカインバイオマーカー M I C 1 の発現レベルに関連するrs1363120、rs888663、rs1227732、rs1054564を包含するが、それに限定されない。M I C 1 の濃度または発現レベルに関連する S N P を含むパラメータカテゴリーを、「M I C 1 濃度に関連する S N P」または「M I C 1 発現レベルに関連する S N P」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

40

【 0 0 8 4 】

P C a 関連のバイオマーカー、例えば遊離形態または複合体化形態の前立腺特異抗原 (P S A)、プロ P S A (一群の P S A アイソフォーム)、特に欠失型 (- 2) プロ P S A、インタクト P S A、ヒトプロスタノ酸ホスファターゼ (P A P)、ヒトカリクレイン 2 (h K 2)、早期前立腺癌抗原 (early prostate cancer antigen (E P C A))、前立腺分泌タンパク質 (P S P 9 4 ; beta-microseminoprotein および M S M B としても知られる)、グルタチオン S - トランスフェラーゼ (G S T P 1)、 - メチルアシル C o

50

Aラセマーゼ (AMACR)、およびマクロファージ抑制サイトカイン 1 (Macrophage Inhibitory Cytokine 1) (MIC-1; GDF-15 としても知られる) の濃度または発現レベルに関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを、「PCa バイオマーカー濃度に関連する SNP」または「PCa バイオマーカー発現レベルに関連する SNP」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

【0085】

PCa 以外のプロセスに関連する適当な SNP は、いずれも個体の BMI に関連する rs3817334、rs10767664、rs2241423、rs7359397、rs7190603、rs571312、rs29941、rs2287019、rs2815752、rs713586、rs2867125、rs9816226、rs10938397 および rs1558902 をさらに 10
包含するが、それに限定されない。BMI に関連する他の適当な SNP は、PLoS One. 2013 Aug 7;8(8):e70735 に発表された Maegi および共著者による報文 “Contribution of 32 GWAS-identified common variants to severe obesity in European adults referred for bariatric surgery” (引用により本書の一部とする) に開示されている。個体の BMI に関連する SNP を含むパラメータカテゴリーを、「BMI に関連する SNP」と定義することが可能である。このカテゴリーのメンバーのサブセットは、予測モデルにおいて、該カテゴリーを代表するのに十分でありうる。

【0086】

対象における侵襲性前立腺癌の存在または不存在の評価において使用するのに好ましい SNP のコレクションは、rs582598, rs439378, rs2207790, rs1046011, rs10458360, rs7525167, rs10489871, rs7529518, rs4245739, rs4512641, rs10178804, rs11900952, rs1873555, rs10191478, rs6755901, rs6545962, rs721048, rs2710647, rs12612891, rs2028900, rs1009, rs12233245, rs6760417, rs10496470, rs10199796, rs12475433, rs16860513, rs12151618, rs3765065, rs13017302, rs12988652, rs871688, rs749264, rs3771570, rs4346531, rs6770955, rs12637074, rs2660753, rs13319878, rs6437715, rs2162185, rs1515542, rs2270785, rs9830294, rs1439024, rs6762443, rs888507, rs6794467, rs12490248, rs1477886, rs4833103, rs3796547, rs17779822, rs2366711, rs16849146, rs1894292, rs12640320, rs3805284, rs12500426, rs4699312, rs17021918, rs7679673, rs2047408, rs2647262, rs12506850, rs7658048, rs2078277, rs12505546, rs13113975, rs4246742, rs2736098, rs401681, rs11134144, rs10060513, rs40485, rs2087724, rs1482679, rs16901841, rs1295683, rs2070874, rs7752029, rs2018334, rs9358913, rs1140809, rs409558, rs3096702, rs9267911, rs2025645, rs9359428, rs6569371, rs2813532, rs1933488, rs712242, rs6934898, rs9456490, rs651164, rs3120137, rs9364554, rs9457937, rs10486562, rs10807843, rs7801918, rs6962297, rs2465796, rs6957416, rs7777631, rs2272316, rs6961773, rs2132276, rs13265330, rs16887736, rs2911756, rs2272668, rs2339654, rs1380862, rs9297746, rs12543663, rs10086908, rs16901922, rs1016343, rs17832285, rs16901979, rs4871779, rs10107982, rs16902094, rs620861, rs17467139, rs6983267, rs9297756, rs10094059, rs7818556, rs1992833, rs986472, rs12552397, rs4273907, rs4237185, rs753032, rs11253002, rs2386841, rs10795841, rs10508422, rs7075945, rs10508678, rs539357, rs10826398, rs3818714, rs7090755, rs10993994, rs4382847, rs1891158, rs10887926, rs10788160, rs6579002, rs10832514, rs7358335, rs1944047, rs3019779, rs10896437, rs12793759, rs7106762, rs7102758, rs2449600, rs585197, rs2509867, rs11568818, rs7125415, rs11601037, rs11222496, rs4570588, rs6489721, rs3213764, rs17395631, rs4423250, rs11168936, rs10875943, rs3759129, rs902774, rs1827611, rs4760442, rs11610799, rs6539333, rs11067228, rs7485441, rs6489794, rs4119478, rs17070292, rs2293710, rs17256058, rs1950198, rs2331780, rs7141529, rs12880777, rs17123359, rs785437, rs524908, rs12903579, rs7178085, rs7164364, rs896615, rs11634741, rs9972541, rs12594014, rs11631109, rs1558902, rs8044335, rs2738571, rs885479, rs385894, rs684232, rs4925094, rs17138478, rs11649743, rs2107131, rs7213769, rs12946864, rs306801, rs138213197, rs1863610, rs17224342, 40
50

rs9911515, rs12947919, rs966304, rs17744022, rs7234917, rs1943821, rs2227270, rs1363120, rs888663, rs1227732, rs1054564, rs4806120, rs11672691, rs758643, rs3745233, rs6509345, rs2659051, rs2735839, rs1354774, rs2691274, rs6090461, rs2297434, rs6062509, rs2315654, rs2823118, rs2838053, rs398146, rs16988279, rs2269640, rs4822763, rs132774, rs747745, rs5978944, rs6530238, rs5934705, rs5935063, rs4830488, rs17318620, rs5945619, rs5945637, rs11091768, rs2473057, rs5918762, rs4844228, rs6625760 および rs17324573である。この完全なリストを用いることが好ましいが、このリストのサブセットを、対象における侵襲性前立腺癌の存在または不存在の評価に用いることが適当である。このリスト中のSNP（このリストのSNP全て、またはこのリストのSNPの約95%もしくは90%もしくは85%もしくは80%もしくは75%もしくは70%を含むサブセット）を、適当な分析装置において同時検出のために同一の固体支持材、例えば同一のスライドガラス上に付けることができる。

10

【0087】

すでに議論されているように、PCaスクリーニング効率のパフォーマンスを評価することは難しい。ROC-AUC特性はパフォーマンスに関する知見をいくらか提供するが、さらなる方法が望まれる。PCaスクリーニングのパフォーマンス評価のための他の一方法は、ある特定の感度レベルにおける生検陽性の割合を計算して、PSAのみを用いるスクリーニングのパフォーマンスと新規スクリーニング方法のパフォーマンスとを比較することである。しかしながら、そのためには、PSAのパフォーマンスを正確に定義する必要がある。

20

【0088】

PSAスクリーニングの評価パフォーマンスの一例が、J Natl Cancer Inst. 2006 Apr 19;98(8):529-34に発表されたIM Thompsonおよび共著者による報文“Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial.”（引用により本書の一部とする）に開示されている。この報文においては、前立腺癌予防試験（Prostate Cancer Prevention Trial）（PCPT）に参加した男性の前立腺生検データが、PSAの感度の決定に用いられた。全部で、前立腺生検を受け、生検前1年間の間に実施された少なくとも1つのPSA測定およびデジタル直腸検査（DRE）を受け、前立腺生検前3年間の間に実施された少なくとも2つのPSA測定を受けた、PCPTのプラセボ群からの5519人の男性が含まれた。この報文は、3ng/mlのPSA値をカットオフ値として用いた場合、高悪性度癌（すなわちグリソンスコア7またはそれ以上の癌）の約41%が見落とされうると記載している。

30

【0089】

同じ調査対象母集団を用いた別の解析が、JAMA. 2005 Jul 6;294(1):66-70に発表されたIM Thompsonおよび共著者による“Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/ml or lower”（引用により本書の一部とする）に記載されている。この報文において著者は、グリソン7+およびグリソン8+の全ての前立腺癌についてPSAの感度および特異度の評価を示している。生検へのPSAカットオフ値として3.1ng/mlを用いた場合、グリソン7+の腫瘍について感度56.7%および特異度82.3%と評価された。この報文において著者は、健常男性の前立腺癌モニタリングのために高感度および高特異度が保証されるPSAのカットポイントは存在せず、すべてのPSA値において前立腺癌リスクが連続体で存在する（a continuum of prostate cancer risk）と結論付けた。これは、PSAと前立腺癌との関連は認められるが、PSAをスクリーニング試験とすることが難しいことを説明する。

40

【0090】

PCaスクリーニングにおけるある特定の診断または予測モデルの予測パフォーマンスを正確かつ比較可能に評価するのが困難であることの必然的結果は、PSAのみの使用と比較した新規方法の相対的改良を計算する際、計算される相対的改良が多くのファクターに依存して変動するということである。計算される相対的改良に影響する1つの重要なファクターは、コントロール群（すなわち陰性とわかっているもの）をどのように得るか

50

ということである。P C aの兆候のない対象に生検を行うのは非倫理的であるから、コントロール群の選択にはバイアスが伴う。すなわち、新規方法の相対的改良は、どのようにコントロール群が選択されたかに依存し得、コントロール群の選択には複数の公正(fair)な方法が知られている。したがって、報告される改良評価は、そのようなバリエーションを考慮して見なければならない。我々の経験では、診断アッセイについて、既知の公正なコントロール群選択方法の1つを用いてP S A値単独と比較して新規方法の相対的改良が15%であると報告される場合、該新規方法は、別の既知の公正なコントロール群選択方法を用いるP S A値単独との比較としての改良が少なくとも10%でありうると見る。

【0091】

社会で広く用いられるようになるためには、スクリーンのパフォーマンスは、健康に関する妥当な経済的利点をもたらすものでなければならない。大まかに見積もって、P S Aと比較して同一感度レベル(すなわち、母集団中に同数の前立腺癌を検出する)でパフォーマンスが約15%良好な(すなわち、不要な生検の15%を回避する)スクリーニング方法には、現在の公的医療制度のコストレベルで広く用いられるチャンスがありうる。しかしながら、P S A値パフォーマンスと比較しての改良がより小さくても、新規スクリーニング方法は、定められた個体の部分母集団にとっては経済的に有利でありうる。P C aリスク評価のための組み合わせモデルを見出すのに多大な努力がなされているとしても(本願において引用される文献のいくつかに記載されるように)、現在欧州において、そのような組み合わせ方法で標準的に用いられるものは存在しないことに注目すべきである。すなわち、これまでに知られた多重パラメータ法は、現在の医療において有用となるための社会経済的基準を満たしていない。本発明の方法は、これまでもたらされた組み合わせ方法よりも優れたパフォーマンスを有し、医療制度によって考慮されるほどの社会経済的パフォーマンス条件を満足する。

【0092】

広く用いられるための条件を満足するa P C aスクリーニング方法を得るための1つの可能な方法は、複数の情報源からの情報を組み合わせることである。これは、概略レベルで、バイオマーカー分析(例えばP S A値)、遺伝子プロファイル(例えばS N Pプロファイル)、家族歴および他の情報源から得られる値を組み合わせることを含む。組み合わせは、それに含まれるいずれかのファクター単独よりも、良い診断をもたらす可能性を有する。より良い診断をもたらすために値を多重パラメータモデルに組み合わせる試みが、本願中に記載されるように、これまでに開示されている。

【0093】

データの組み合わせは、結果の何らかの種類のアルゴリズム的組み合わせ、例えばデータの線形結合であり得、ここで、該線形結合は診断パフォーマンスを改善する(例えばR O C - A U Cを用いて評価される)。診断推定をもたらし得るモデルへの他の可能な組み合わせ方法は、非線形多項式、サポートベクターマシン、ニューラルネットワーク分類器、判別分析、ランダムフォレスト、勾配ブースティング、部分最小二乗法、リッジ回帰、ラッソ(lasso)、エラスティックネット(elastic net)、k近傍法を包含する(それに限定されない)。さらに、Springer Series in Statisticsで刊行されたT Hastie、R Tibshirani および J Friedmanによる書籍“The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference, and Prediction, Second Edition”, ISBN 978-0387848570(引用により本書の一部とする)には、ある特定のアウトカムを予測または分類するためにデータを組み合わせるのに適当な方法が多数記載されている。

【0094】

異なるカテゴリからのデータを、患者がa P C aに罹患する可能性があるかを示す単一の値に変換するアルゴリズムは、好ましくは非線形関数であり、ここで、該方法の診断パフォーマンスのさらなる向上のために、異なるカテゴリの依存が用いられる。例えば、1つの重要な依存は、ある選択されたバイオマーカーの測定レベルを、該バイオマーカーの期待発現レベルに関連する何らかの関連遺伝子マーカーと組み合わせることである。患者の試料に高濃度のバイオマーカーが見られ、かつ、該患者が該バイオマーカーを低レ

10

20

30

40

50

ベルで有する遺伝的素因を有する場合、バイオマーカーレベルが高いことが大きな意味を持つ。同様に、あるバイオマーカーが高レベルとなる遺伝的素因を有する患者において該バイオマーカーのレベルが正常よりも明らかに低い場合、この相反する知見により、該バイオマーカーレベルの解釈の重要性が高められる。侵襲性P C aのリスクを予測するのに用いるアルゴリズムには、変換された変数、例えば $\log_{10}(PSA)$ 値を用いることが有利でありうる。変換は、分布が正規分布から明らかに外れる変数に特に有利である。可能な変数変換は、対数、逆数、平方および平方根を包含するが、それに限定されない。さらに通常、各変数を平均ゼロおよび単位分散にセンタリングする。

【0095】

データの組み合わせはさまざまな方法で行うことができるが、本発明による典型的な方法を、限定するものとしてではなく、以下のように説明することができる。

10

【0096】

典型的には、あるパラメータカテゴリーに属するバイオマーカーに関するデータを、予め定められた式にしたがって組み合わせ、該パラメータカテゴリーに関連するリスクに関連付けられる複合値を形成しうる。非限定的な一例は、バイオマーカーカテゴリーのメンバーについての、すべての利用可能な測定値（データ）の平均値を計算し、その平均値を、該バイオマーカーカテゴリーを代表する複合値として用いることである。この方法は明らかに、何個のバイオマーカーメンバーがそのカテゴリーに属するかに関係なく適用することができる。もしカテゴリーに含まれるバイオマーカーの1つについてのデータしか利用可能でない場合、それ自体を、該バイオマーカーカテゴリーを代表するものとして使用することができる。バイオマーカーについては、データ組み合わせステップに通常使用する測定値は、バイオマーカーの生物学的サンプル中の濃度である。これは、例えばバイオマーカーPSAおよびHK2については、通例、 ng/ml の単位で表される、血液サンプル中のバイオマーカー濃度である。

20

【0097】

遺伝スコア（すなわち、遺伝複合値またはとりわけSNP複合値）の計算は通常、パラメータカテゴリーに含まれる個々のSNPについて予め定められたオッズ比に基づく。各SNPについて、オッズ比、すなわちあるSNPを有する（すなわち該SNPで規定されるリスク対立遺伝子を有する）個体が調査対象疾患または状態を有する尤度を予め決定する。SNPに関するオッズ比の決定は通常、疾患または状態のわかっている何千もの対象

30

【0098】

個体の遺伝スコアは、非限定的な例として、以下のアルゴリズムにしたがって計算することができる：被験個体について、各SNPを下記方法で処理する。各SNPについて、個体は、2個のSNPリスク対立遺伝子（そのSNPについて同型接合陽性）または1個のリスク対立遺伝子（そのSNPについて異型接合陽性）または0個のリスク対立遺伝子（そのSNPについて同型接合陰性）を有しうる。あるSNPについての対立遺伝子の数を、該SNPに関するオッズ比の自然対数と掛け合わせて、該SNPに関するリスク評価値を形成する。このことは、ある特定のSNPが陰性である（すなわち0個のSNPリスク対立遺伝子を有する）個体は、該SNPによるリスク寄与を持たないであろうことを意味する。この手順を、測定データが利用可能なすべてのSNPについて行う。すべてのリスク評価値が計算されたら、測定データが利用可能なSNPについてリスク寄与の平均を計算し、あるカテゴリーのSNPに関する前記個体の遺伝スコア、すなわち遺伝複合値として用いる。この手順は明らかに、SNPカテゴリーに何個のSNPメンバーが属するかに関係なく適用しうる。

40

【0099】

個体に適用する場合の本発明による典型的な手法をさらに説明するために、次のような仮定を行う。第1にProt1およびProt2をメンバーとするタンパク質バイオマーカーカテゴリー（またはバイオマーカーカテゴリー）、第2にSnp1、Snp2およびSnp3をメンバーとする遺伝カテゴリー（またはより具体的にはSNPカテゴリー）、の

50

2パラメータカテゴリーを規定する。状態Cを有することがわかっている100個体および状態Cを有しないことがわかっている100個体を用いる試験において、Prot 1、Prot 2、Snp 1、Snp 2およびSnp 3と状態Cとの関連を確立し、Prot 1およびProt 2についての1つのタンパク質バイオマーカ複合値、およびSnp 1、Snp 2およびSnp 3についての1つの遺伝複合値、ならびに1つの総複合値（これは次いで、状態Cを有するリスクに関連付けられる）として公式化する。タンパク質バイオマーカカテゴリーの複合値は、予め定められた下記式を用いて計算される：

$P = (Prot 1 + 2 * Prot 2) / 3$ [Prot 1およびProt 2両方のデータ（すなわちProt 1値およびProt 2値の両方）が利用可能である場合]

$P' = Prot 1$ [Prot 1のデータ（すなわちProt 1値）のみ利用可能である場合]

$P'' = Prot 2$ [Prot 2のデータ（すなわちProt 2値）のみ利用可能である場合]

したがって、この仮定ケースにおいて、該試験において（a）Prot 1およびProt 2が同じスケールを有すること、および（b）個体が状態Cを有するかを評価するためにProt 2の値がProt 1の2倍重要であることがわかった。1つのタンパク質バイオマーカのデータしか利用可能でない場合は、それ自体を、タンパク質バイオマーカカテゴリーを代表するものとして用いることができる。遺伝カテゴリーのメンバーに関するオッズ比が予め決定されており、それは次のとおりであった：Snp 1 = 1.1；Snp 2 = 1.2；およびSnp 3 = 1.3。遺伝カテゴリーの複合値が、上記遺伝スコアとして計算される。次いで、タンパク質バイオマーカ複合値および遺伝スコア（このケースでは遺伝カテゴリー複合値またはSNP複合値に等しい）を、下記の予め定められた式にしたがって組み合わせて、総複合値とする：

$$Y = P + 10 * score$$

[式中、Yは状態Cを有するリスクに関連付けられ、Pはタンパク質バイオマーカ複合値であり（Pは、前記のとおり、P'またはP''で置き換えうる）、scoreは遺伝スコアである。]

大きな個体群（本仮定ケースでは100 + 100個体）に基づいてすべての式を計算する必要があり、そこでYと調査対象疾患または状態との関連が導かれる。本仮定ケースでは、 $Y > 5$ の場合に個体が状態Cを有するリスクが高く、 $Y > 10$ の場合にそのリスクは非常に高いと推測される。

【0100】

次に、第1の個体AをProt 1、Prot 2、Snp 1、Snp 2およびSnp 3について検査すると仮定する。この場合、すべての測定に成功し、下記結果が得られた：

$$Prot 1 = 3 \text{ ng / ml}$$

$$Prot 2 = 6 \text{ ng / ml}$$

$$Snp 1 = \text{同型接合陰性、すなわちリスク対立遺伝子なし} = 0$$

$$Snp 2 = \text{異型接合陽性、すなわち1個のリスク対立遺伝子} = 1$$

$$Snp 3 = \text{同型接合陽性、すなわち2個のリスク対立遺伝子} = 2$$

この場合、タンパク質バイオマーカカテゴリーの複合値は、 $P = (3 + 2 * 6) / 3 = 5$ となりうる。遺伝カテゴリーの複合値（遺伝スコアとも称される）は、 $score = (0 * \log(1.1) + 1 * \log(1.2) + 2 * \log(1.3)) / 3 = 0.2357$ となる。総複合値は、 $Y = 5 + 10 * 0.2357 = 7.357$ となる。したがって、個体Aが状態Cを有するリスクは、高いが非常に高くはないと評価される。

【0101】

さらに、第2の個体BをProt 1、Prot 2、Snp 1、Snp 2およびSnp 3について検査すると仮定する。この場合、3つの測定に成功し、下記結果が得られた：

$$Prot 1 = 2 \text{ ng / ml}$$

$$Prot 2 = \text{データなし}$$

$$Snp 1 = \text{同型接合陽性、すなわち2個のリスク対立遺伝子} = 2$$

10

20

30

40

50

S n p 2 = データなし

S n p 3 = 異型接合陽性、すなわち 1 個のリスク対立遺伝子 = 1

この場合、タンパク質バイオマーカーカテゴリーの複合値は、P r o t 1 の結果しか利用可能でないから、P ' = 2 となりうる。遺伝カテゴリーの複合値（遺伝スコアとも称される）は、 $score = (2 * \log(1.1) + 1 * \log(1.3)) / 2 = 0.2264$ となる。総複合値は、 $Y = 2 + 10 * 0.2264 = 4.264$ となる。したがって、個体 B が状態 C を有するリスクは低いと評価される。

【0102】

a P C a に罹患するリスクを予測するモデルにおいて一般に、1 つまたはそれ以上のカットオフ値が規定されることが多い。カットオフ値（またはカットオフレベル）の選択は、多くのファクターに依存し、それには、疾患リスク自体、および疾患を持たない個体を不正確に陽性と診断すること（偽陽性）に関連するリスクが含まれるが、それに限定されない。一般的なケースでは、予測モデルは通常、単調関数 $Y = f(x_1, x_2, \dots, x_N)$ であり、疾患を有する推定リスクが Y 値の増加と関連付けられる。このことは、カットオフ値を低いレベルに設定した場合、検査による偽陽性結果の数は多くなりうるが、実際に疾患を持つ個体の大部分を検出しうることを意味する。カットオフ値を高い値に設定した場合は逆に、カットオフレベルを超える Y 値を有する個体は非常に高い確率で疾患を持ちうるが、疾患を有する多数の個体に陰性の検査結果（すなわち多数の偽陰性結果）が出されうる。カットオフレベルの選択は、(a) 疾患を持つ個体を見落とすことと (b) 疾患を持たない個体を処置することとを天秤に掛ける社会経済学的アウトカムを包含する多くのファクターに依存する。

10

20

【0103】

実際に適用される場合、例えば予測不能の技術的問題、ヒューマンエラー、または他の予期せぬ一般的でない理由によって、1 つまたは少数の測定を欠くことがしばしばありうる。そのような場合、個体について得られるデータセットは不完全でありうる。一般的には、そのような不完全なデータセットは、評価するのが困難または不可能でありうる。しかしながら、本発明は、その多くが部分的に冗長である多数の特徴の測定に基づく。このことは、データセットが不完全である個体についても、多くの場合、本発明にしたがって質の高い評価を行うことが可能であることを意味する。このことは、カテゴリー内において特に当てはまり、ここで例えばカリクレイン様バイオマーカーが相関し部分的に冗長である。したがって技術的に、アルゴリズム的 2 段階アプローチを適用することが可能であり、ここではカリクレインバイオマーカー寄与をカリクレインスコア（またはカリクレイン値）にまとめ、次いで第 2 段階で、このカリクレインスコアを他のデータ（例えば遺伝スコア、年齢および家族歴であるが、それに限定されない）と組み合わせて、P C a に関連する診断または予後診断をなすことができる。同様の 2 段階手法は、他の種類のマーカー、例えば B M I に関連する遺伝マーカー、または形質転換増殖因子 スーパーファミリー（M I C - 1 を包含する、構造的に関連する細胞調節タンパク質の大きなファミリー）に関連するタンパク質バイオマーカー（この 2 例に限定されない）についても行うことができる。

30

【0104】

冗長性は、多くの異なる方法で具体化することができる。冗長性を実現する 1 つの可能な方法では、共通のフィールドまたはファミリーに関連するバイオマーカーを代表するバイオマーカーのセットを規定する。そのようなフィールドまたはファミリーの非限定的な一例は、カリクレイン様バイオマーカーである。1 つを超える規定されたバイオマーカーセット（またはカテゴリー）を決定することができ、加えて、そのようなセット以外にさらに別のバイオマーカーを適用することができる。通常、カテゴリーは重複せず、すなわち、規定されたバイオマーカーは、1 つの規定されたカテゴリーのメンバーであるかまたは孤立的に用いられるだけである。次に、すべてのバイオマーカーについて、存在または濃度を測定する試みを行う。多くの場合に、すべてのバイオマーカーの測定が成功しうるが、1 つまたは少数の値が欠けることもありうる。欠けた値に対するモデルのロバスト性

40

50

を導入するために、規定されたカテゴリーのメンバーのすべてまたはサブセットを用いて決定しうるバイオマーカーカテゴリー複合値を規定することが可能である。これを実際に行うには、規定されたカテゴリーのバイオマーカーのメンバーが少なくとも部分的に冗長である必要がある。次の段階で、そのバイオマーカーカテゴリー複合値を、他のバイオマーカー値、他のバイオマーカーカテゴリー複合値（2つまたはそれ以上のバイオマーカーカテゴリーが規定された場合）、PCaリスクに関連する遺伝スコア、他の特徴（例えばBMIまたはバイオマーカー濃度であるが、この2例に限定されない）に関連する遺伝スコア、家族歴、年齢、およびaPCaリスクに関連する他の情報担体と組み合わせて、総複合値とする。最終的に総複合値が、aPCaリスクの推定に用いられる。

【0105】

したがって、バイオマーカーカテゴリー複合値の目的は、不完全データを用いて計算されうる中間値として役立つことである。規定されたバイオマーカーカテゴリーが、いずれもバイオマーカーファミリーBに関連する B_1 、 B_2 、 B_3 、... B_N というN個の異なるバイオマーカーを含むと仮定する。その場合、ファミリーBバイオマーカー複合値Cを計算するのに利用可能なN個の異なるモデルが存在しうる：

$$C = f_1(B_1, B_2, B_3, \dots, B_N)$$

$$C = f_2(B_2, B_3, \dots, B_N)$$

$$C = f_3(B_1, B_3, \dots, B_N)$$

...

$$C = f_N(B_1, B_2, B_3, \dots, B_{N-1})$$

ここで、 $f_1()$ 、 $f_2()$... $f_N()$ は、バイオマーカー B_1 ... B_N の値をインプットとして用い、何らかの方法でファミリーBバイオマーカー複合値を表す単一のアウトプットCをもたらす数学関数である。関数 $f_1()$... $f_N()$ の非限定的な一例は、独立変数の線形結合を含む。そのような、1つのバイオマーカー値を欠くいずれの場合にもCを計算することのできる複数の関数のセットを用いると、総複合値の計算は、欠けたデータの影響を受けにくくなる。すべてのデータが揃わない場合はCの値の質は劣るかも知れないが、PCaリスクの評価に用いるには十分に良好でありうると思われる。すなわち、そのような方法を用いる場合、Cの値を得るためにN-1個のバイオマーカー測定が成功さえすればよい。さらに欠落データが何個であっても計算を行うことが可能であり、すなわち、N-2個のバイオマーカー測定が成功すべきであれば、別の関数 $f()$ のセットを開発し適用してCを計算することができる。

【0106】

すなわち、PCaバイオマーカーに関して、本発明は、本願のいずれかの箇所で規定されるように、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法に関する。より具体的には、本発明の方法は、少なくとも部分的に冗長なPCaバイオマーカーの存在または濃度を測定することを含んでなり、ここで、該PCaバイオマーカーの少なくとも1個、例えば2個は、(i)PSA、(ii)総PSA($tPSA$)、(iii)インタクトPSA($iPSA$)、(iv)遊離PSA($fPSA$)、および(v)hK2からなる群から選択される。本発明の方法は、バイオマーカー複合値の形成の際、PCaバイオマーカー(i)~(v)の少なくとも1つのサブセットの無視を許容する。換言すると、本発明の方法は、前記バイオマーカーカテゴリーの全PCaバイオマーカーよりも少ないPCaバイオマーカーのデータ、より具体的には4個までの前記PCaバイオマーカーのサブセットに関するデータから、バイオマーカー複合値を形成することを可能にする。これは、当業者に理解されるように、前記バイオマーカー複合値の計算に、前記PCaバイオマーカーの4個までのサブセットに関するデータが必要とされる方法と等価でありうる。バイオマーカー複合値の形成の際に、前記PCaバイオマーカーのサブセットに関するデータの省略、欠失または欠損が許容されることは、本発明の方法の利点である。

【0107】

当業者に理解されるように、本発明は、バイオマーカーカテゴリーの全バイオマーカーに関するデータが利用可能であれば、その全バイオマーカーに関するデータからバイオマ

10

20

30

40

50

ーカ-複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。

【0108】

一態様において、本発明の方法は、PCaバイオマーカー(i)PSA、(ii)総PSA(tPSA)、(iii)インタクトPSA(iPSA)、(iv)遊離PSA(fPSA)、および(v)hK2の1個、2個、3個または4個のサブセットの無視を許容する。換言すると、本発明の方法は、PCaバイオマーカー(i)~(v)の4個、3個、2個または1個のサブセットに関するデータから前記バイオマーカー複合値を形成することを可能にする。

【0109】

本願において前述のように、本発明の方法は、複数の追加的なPCaバイオマーカーカテゴリーの1つまたはそれぞれを解析することをさらに含んでよく、ここで、追加的PCaバイオマーカーカテゴリーが1個を超えるPCaバイオマーカーを含む場合、各追加的バイオマーカー複合値を形成するためのデータの組み合わせは、冗長的に設計される。本発明の方法は、バイオマーカー複合値の形成の際、PCaバイオマーカーのサブセットの無視を許容する。換言すると、本発明の方法は、追加的PCaバイオマーカーカテゴリーの全PCaバイオマーカーよりも少ないPCaバイオマーカーに関するデータ、例えば追加的PCaバイオマーカーカテゴリーのPCaバイオマーカーの10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%のサブセットに関するデータから、バイオマーカー複合値を形成することを可能にする。当業者に理解されるように、本発明は、追加的PCaバイオマーカーカテゴリーの全PCaバイオマーカーに関するデータが利用可能であれば、その全バイオマーカーに関するデータから各追加的バイオマーカー複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。

【0110】

遺伝リスクスコア(すなわち、遺伝スコアまたは遺伝複合値、より具体的にはSNP複合値)も、例えば予測不能の技術的問題、ヒューマンエラーまたは他の予期せぬ一般的でない理由による少々のデータ欠落に影響されない。1つのsnpのリスクスコアへの寄与は通常、他のsnpに関連付けられない。snpの場合、各snpによるリスク変化は小さいが、ある状態に関連する複数のsnpを協調的に用いることにより、その状態についてのリスク変化は、モデルのパフォーマンスに影響を及ぼすのに十分大きなものとなる。遺伝スコアを形成するためのsnpの好ましい数は、少なくとも3snp、より好ましくは10snp、より好ましくは25snp、より好ましくは50snp、より好ましくは60snp、より好ましくは70snp、より好ましくは80snp、より好ましくは90snp、より好ましくは100snp、より好ましくは150snp、より好ましくは200snp、より好ましくは250snp、より好ましくは300snpである。これは、1つのsnpが総合的な結果に及ぼす影響は通常小さく、少数のsnpを省略しても総遺伝スコアリスク評価は通常大きくは変わらない、すなわちSNP複合値は大きくは変わらないことを意味する。現在の技術水準で、大規模遺伝子測定におけるデータ欠損は通常、1~2%のオーダーであり、これは、遺伝スコアが100個の異なるsnpからなる場合、個体の通常の遺伝子分析により該snpの約98~99%についての情報が得られることを意味する。しかしながら、本発明の研究において見出された本発明のモデルは、より大きなデータ欠損または欠落、例えば5~7%または7~15%または15~30%の情報欠損にも耐えうる。この意味で、SNPpcに関するデータの組み合わせは少なくとも部分的に冗長である。

【0111】

したがって、遺伝子マーカー(SNP)に関しても、本発明は、本願のいずれかの箇所において規定されるように、冗長的に設計されたデータ組み合わせに基づく方法に関する。本発明の方法は、SNP複合値の形成の際、SNPpcの少なくとも5%の無視を許容する。換言すれば、本発明の方法は、SNPpcカテゴリーの全SNPpcよりも少ないSNPpcに関するデータから、より具体的には前記SNPpcの95%までのサブセットに関するデータから、前記SNPpc複合値を形成することを可能にする。当業者に理

10

20

30

40

50

解されるように、これは、前記SNPpc複合値の形成に前記SNPpcの95%までのサブセットに関するデータが必要とされる方法と等価である。SNPpc複合値の形成の際、前記SNPpcのサブセットに関するデータの省略、欠失または欠損が許容されることは、本発明の方法の利点である。

【0112】

当業者に理解されるように、本発明は、SNPpcカテゴリーの全SNPpcに関するデータが利用可能であれば、その全SNPpcに関するデータからSNPpc複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。同様に、本発明は、前記SNPpcの99%、98%、97%または96%のサブセットに関するデータからSNPpc複合値を形成することを含んでなる方法を包含する。

10

【0113】

一態様において、本発明の方法は、SNPpc複合値の形成の際、SNPpcの6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%または30%の無視を許容する。換言すれば、本発明の方法は、SNPpcの94%、93%、92%、91%、90%、85%、80%、75%または70%のサブセットに関するデータから前記SNPpc複合値を形成することを可能にする。

【0114】

そのような冗長的に設計されたデータ組み合わせの非限定的な一例は、測定データの存在する各SNPに関連するリスクの平均を計算することである。そのような冗長的に設計されたデータ組み合わせの他の非限定的な一例は、複合値を計算するための複数の独立した式（複合値の形成に使用しうるデータサブセット毎に1つの式）を提供することである。

20

【0115】

SNPを状態（例えばPCa、またはBMI > 25、または上昇した血中hk2バイオマーカー濃度）に関連付ける1つの適当な方法が、Cancer Prev Res 2010;3:611-619に発表されたRobert Kleinおよび共著者による公開報文“Blood Biomarker Levels to Aid Discovery of Cancer-Related Single-Nucleotide Polymorphisms: Kallikreins and Prostate Cancer”（引用により本書の一部とする）に記載されている。この報文において著者は、著者がどのようにSNPre2735839を（遊離PSA）/（総PSA）の上昇した値に関連付けることができたかを記載している。さらに著者は、SNPrs10993994を、高PCaリスク、高総PSA値、高遊離PSA値および高hk2値に関連付けることができ、SNPrs198977を、高PCaリスク、高（遊離PSA）/（総PSA）値および高hk2値に関連付けることができた。

30

【0116】

実際に、SNPを状態に関連付ける1つの一般的な方法は、1つの健康なコントロール群と試験対象状態を有する1つのケース群との2つの大個体集団を比較するケースコントロール臨床試験へのアクセスに依拠する。各群のすべての個体において、一般的な既知のSNPの大多数について遺伝子型を決定する。すべての遺伝子型決定データが利用可能である場合、対立遺伝子頻度がケース群とコントロール群との間で有意に異なるかを調べる。そのような設定で、効果量を示す典型的単位は、オッズ比である。オッズ比は、特定の対立遺伝子を有するケース群中の個体集団、および同じ対立遺伝子を有するコントロール群中の個体集団、の2集団間の比を示す。もしケース群における対立遺伝子頻度がコントロール群における対立遺伝子頻度よりも有意に高ければ、オッズ比は1よりも大きくなりうる。もしケース群における対立遺伝子頻度がコントロール群における対立遺伝子頻度よりも有意に低ければ、オッズ比は1よりも小さくなりうる。

40

【0117】

複数の情報源からの情報を組み合わせる1つの好ましい方法が、EUROPEAN UROLOGY 60 (2011) 21-28に発表されたMarkus Alyおよび共著者による公開報文“Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study”（引用により本書の一部とする）に記載されている。各SNPと生検におけるP

50

C aとの関連が、コクランアーミテージの傾向検定により評価された。ロジスティック回帰モデルを用いて、95%信頼区間で対立遺伝子オッズ比(OR)が計算された。各患者について、各SNPのリスク対立遺伝子の数(0、1または2)に該SNPのORの対数を乗じたものを総合して、遺伝リスクスコアが形成された。PCa診断と評価されたリスク因子との関連が、ロジスティック回帰分析において検証された。非遺伝情報に関するモデル部分は、対数変換された総PSA、対数変換された遊離-対-総PSA比、生検時の年齢、およびPCaの家族歴(有または無)を含んだ。生検におけるPCaの予測された確率を評価するために、繰り返し10分割交差検証が用いられた。正規近似によって、ROC-AUC値の95%信頼区間が構成された。報告されたp値はすべて、両側仮説に基づく。

10

【0118】

一般的な前立腺癌と侵襲性前立腺癌とを区別するには、多くの合理的理由がある。多くの場合、前立腺癌は進行の遅い疾患である。多くの男性が高齢になって診断されるという事実は、前立腺癌と診断された男性の大部分が他の原因で死亡することを意味する。したがって、生検を行う前から、個体が侵襲性前立腺癌リスクが高いことを判定できれば、例えばその個体にライフスタイル変更を動機付けることが可能となる。禁煙すること、BMIを30未満にすること、定期的に運動すること(週3~6日、約30分間)はいずれも、一般に、前立腺癌を包含する重篤な疾患状態において生存を促進する要因である。したがって、個体が高いaPCaリスクを有することがわかれば、それは、その個体に、禁煙し、BMI<30とし、運動を始めるよう勧告する理由となる。もう一つの重要な側面は、食事の問題である。食事を変えることで、PCaの進行を軽減または遅延しうる。J Nutr. 2013 Feb;143(2):189-96に発表されたSongおよび共著者の文献“Whole milk intake is associated with prostate cancer-specific mortality among U.S. male physicians.”(引用により本書の一部とする)に報告されるように、乳製品摂取を減らすとPCa発症リスクが低下しうることを示唆する証拠が示されている。緑茶の摂取および大豆製品の摂取の正の効果について同様の証拠が存在する。したがって、個体が高いaPCaリスクを有することがわかれば、それは、その個体に、乳製品の摂取を減らすこと、および/または緑茶および大豆系製品の摂取を増やすことを勧告する理由となる。

20

【実施例1】

【0119】

本発明を説明するために、STHLM2データから、215の症例(グリソングレード7またはそれ以上でaPCaに罹患していることがわかっている対象)および627のコントロール(aPCaに罹患していないことがわかっている対象)を含むデータセットを抽出した。STHLM2データセットは、ウェブページ<http://sthlm2.se/>から明らかのように、公に検討されている。つまり、2010-2012年に、ストックホルム地域でPSA検査を受けた約26000人の男性がSTHLM2研究に含められた。215+627=842人の対象を、下記バイオマーカーおよびSNPに関して特徴付けた。

30

【0120】

バイオマーカー:

総前立腺特異抗原(tPSA)[ng/ml]

インタクト前立腺特異抗原(iPSA)[ng/ml]

遊離前立腺特異抗原(fPSA)[ng/ml]

ヒトカリクレイン2(hK2)[ng/ml]

マクロファージ抑制サイトカイン1(MIC-1)[ng/ml]

beta-microseminoprotein(MSMB)[ng/ml]

40

【0121】

SNP:

657del5, rs10086908, rs1016343, rs10187424, rs1041449, rs10486567, rs1054564, rs10875943, rs10896449, rs10934853, rs10993994, rs11067228, rs11135910, rs11228565, rs11568818, rs11649743, rs11650494, rs11672691, rs11704416, rs12130132, rs1240

50

9639, rs12418451, rs12500426, rs12543663, rs12621278, rs12653946, rs1270884, rs130067, rs13252298, rs13385191, rs1354774, rs1363120, rs137853007, rs138213197, rs1447295, rs1465618, rs1512268, rs1571801, rs16901979, rs16902094, rs17021918, rs17632542, rs17879961, rs1859962, rs1894292, rs1933488, rs1983891, rs2018334, rs2121875, rs2242652, rs2273669, rs2292884, rs2405942, rs2660753, rs2735839, rs2736098, rs2928679, rs3213764, rs339331, rs3771570, rs3850699, rs3863641, rs401681, rs4245739, rs4430796, rs445114, rs4643253, rs4857841, rs4962416, rs5759167, rs5919432, rs5945619, rs6062509, rs620861, rs6465657, rs6763931, rs684232, rs6869841, rs6983267, rs6983561, rs7127900, rs7210100, rs721048, rs7241993, rs7611694, rs7679673, rs7931342, rs8008270, rs8102476, rs888663, rs902774, rs9364554, rs960079, rs9623117

10

【 0 1 2 2 】

年齢および家族歴（有または無）を含む、各対象のバックグラウンド情報を収集した。年齢は、年の単位で表した。

【 0 1 2 3 】

生検を勧めるべき対象を決定するために、各試験対象について、対象がグリソングレード7またはそれ以上の前立腺癌を持つ可能性に関連付けられる値を予測することが必要である。これは、下記の予め定められた式においてバイオマーカー測定値を組み合わせることによって行うことができる：

$$y = -0.4366579 + 0.0577639 * \text{score} - 0.1026622 * \text{HK2} - 0.0312050 * \text{fPSA} + 0.0640730 * \text{iPSA} + 0.0256631 * \text{MIC1} - 0.0069049 * \text{MSMB} + 0.0012231 * \text{tPSA} + 0.0069759 * \text{age}$$

20

【 0 1 2 4 】

この式において、「score」は、本実施例に挙げる確証された（validated）前立腺癌感受性SNP（前記SNPは前立腺癌感受性に関連付けられるか、またはPSA、遊離PSA、MSMBおよびMIC-1バイオマーカーの血漿レベルに関連付けられる）を含んで、EUROPEAN UROLOGY 60（2011）21-28に発表されたMarkus Alyおよび共著者による公開論文“Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study”（引用により本書の一部とする）に記載されるように計算される遺伝スコア変数である。パラメータ「HK2」、「fPSA」、「iPSA」、「MIC1」、「MSMB」、「tPSA」は、これらバイオマーカーの各測定値（未変換）を意味し、「age」は対象の年齢である。この式は、最小二乗推定量（ordinary least squares estimator）を用いて導かれた（他の線形推定量、例えばロジスティック回帰推定量を直接的に用いることもできる）。この特定のモデルにおいては、家族歴に関する情報は省略された。

30

【 0 1 2 5 】

得られる「y」値は、図1に示されるように、グリソングレード7またはそれ以上の前立腺癌を持つリスクと強く関連しうる。図1のROC曲線は、PSAのみ（101）および本実施例に記載のモデル（102）を示す。yがカットオフ値を上回る場合、その男性に、生検による前立腺検査のために泌尿器科医を受診するよう勧告すべきである。このモデルが侵攻性の高悪性度PCaを予測するという事実は、得られた「y」値が低い場合、患者が、非侵攻性形態のものではあるがPCaを持つリスクは、依然存在することを示唆する。低「y」値は、患者がPCaを持たないことも示しうる。

40

【 0 1 2 6 】

カットオフの値は、検査の感度と特異度とのトレードオフに依存する。例えば、0.166のカットオフ値を用いる場合、この検査の感度は0.9、特異度は0.38となりうる。これを、スクリーニング検査としてPSA値のみを用いた場合（感度0.9、特異度0.22となる）と比較することができる。これは実際には、このモデルが対象827人の母集団に適用された場合、PSA検査の場合と同数の高リスク癌（グリソングレード7およびそれ以上）が検出されるが、生検を勧告される対象者数は100少ないことを意味し、これはPSA検査単独と比較して約15%の改善に相当する。第2の例として、0.

50

201のカットオフ値を用いる場合、この検査の感度は0.8、特異度は0.52となりうる。この0.8の感度レベルで、PSAを用いて予測される生検の約20%が除外される。

【実施例2】

【0127】

さらに本発明を説明するために、予測を得るための別の計算方法を適用した。実施例1において示したような式が、aPCA予測のためにバイオマーカーを組み合わせることのできる唯一の方法ではない。実際、aPCA予測のためにyを計算する方法は、複雑であり得、1枚の紙に書くことが不可能でさえありうる。バイオマーカーを組み合わせる方法の、より複雑であるが非常に有効な例は、決定木のフォレストを用いることである。図2に決定木(200)の例を示す。81歳の対象がバイオマーカーおよびSNPの検査を受けた結果、 $HK2 = 0.2425$ 、 $PSA = 84.1$ であったとする。図2に示す決定木(200)を適用すると、最初のノード(201)は $hk2$ 値に関するものである。前記対象は $HK2$ 値を有し、これはノードの条件を満足するから、該ノードの分岐を左に進む。第2のノード(202)も $hk2$ 値に関するものであり、この場合、対象はノードの条件を満足しない $hk2$ 値を有するから、該ノードの分岐を右に進む。第3レベルのノード(203)は年齢に関するものである。対象の年齢はノードの条件を満足しないから、該ノードの分岐を右に進む。第4レベルのノード(204)は PSA 値に関するものであり、対象の PSA 値はノードの条件を満足するから、該ノードの分岐を左に進む。この段階でさらなるノードは無く、すなわち、決定木のリーフに到達する。各リーフは対応するアウトプットを持ち、この例においては、リーフの値「1」は「生検を勧告する」を意味し、「0」は「生検を勧告しない」を意味する。例示の対象はこの場合、値「0」のリーフに到達したので、この決定木によって与えられる予測は「生検を勧告しない」である。

【0128】

aPCA予測のためのyの計算を1つの決定木のみによることによる問題は、単一の決定木は、バイアスは非常に低い、バリエーションが非常に高いことである(すなわち、データが少し変化するとyの計算値も変化する可能性があり、aPCA予測においてバリエーションが生じる)。高いバリエーションを低減する1つの可能な方法は、Machine Learning 45(1): 5-32 (2001)に発表されたLeo Breimanによる報文“Random Forests”に記載されるようなランダムフォレストアルゴリズムを用いて無相関の木のフォレストを構築することである。多数の木を成長させ、各木の成長前に、予測の期待値が変わらないような方法でデータをランダムに攪乱する。aPCAを予測するのに、すべての木の投票により、対象に生検を勧告すべきかを決定する。そのような投票予測は、決定木の不偏性を維持し、同時にバリエーションを顕著に低下する(平均のバリエーションが、該平均を計算するのに用いられた個々の測定値のバリエーションよりもどのように低いかと同様に)。ランダムフォレストアルゴリズムは乱数発生に依存するので、得られる予測アルゴリズムを閉形式に記載するのは難しい。

【0129】

このモデルは、実施例1に記載されるデータセットに適用する場合、感度0.9で、PSAのみと比較して生検数の約20%を除外することができる。

【実施例3】

【0130】

さらに本発明を説明するために、STHLM2データセットから51の症例(グリソングレード7またはそれ以上でaPCAに罹患していることがわかっている対象)および195のコントロール(aPCAに罹患していないことがわかっている対象)を含むデータセットを抽出した。この症例およびコントロールはいずれも、25を超えるBMI値を有した。51 + 195 = 246人の対象を、下記バイオマーカーに関して特徴付けた。

【0131】

バイオマーカー:

総前立腺特異抗原 (tPSA) [ng/ml]

10

20

30

40

50

インタクト前立腺特異抗原 (i P S A) [n g / m l]
 遊離前立腺特異抗原 (f P S A) [n g / m l]
 ヒトカリクレイン 2 (h K 2) [n g / m l]
 マクロファージ抑制サイトカイン 1 (M I C - 1) [n g / m l]
 beta-microseminoprotein (M S M B) [n g / m l]

【 0 1 3 2 】

上記実施例 1 において規定したのと同じ S N P を本実施例においても適用した。過去に前立腺の生検を受けたことがあるか (p r e v B i o p)、年齢および家族歴 (有または無) を含む、各対象のバックグラウンド情報を収集した。年齢は年の単位、身長はメートルの単位、体重はキログラムの単位で表した。

10

【 0 1 3 3 】

生検を勧めるべき対象を決定するために、各試験対象について、対象がグリソングレード 7 またはそれ以上の前立腺癌を持つ可能性に関連付けられる値を予測することが必要である。これは、下記の予め定められた式を用いてバイオマーカー測定値を総複合値に組み合わせることによって行うことができる：

$$y = 21.487704 + 0.548938 * prevBiop + 0.014242 * GenScore + 0.311481 * hk2 - 0.043471 * fPSA + 0.047176 * iPSA + 0.068407 * mic1 - 0.008860 * msmb + 0.002693 * tPSA + 0.006325 * age - 0.121356 * height + 0.119005 * weight - 0.388930 * bmi$$

【 0 1 3 4 】

この式において、「score」は、上記実施例 1 に記載のように計算される遺伝スコア変数である。パラメータ「H K 2」、「f P S A」、「i P S A」、「M I C 1」、「M S M B」、「t P S A」は、これらバイオマーカーの各測定値 (未変換) を意味し、「age」、「height」、「weight」、「bmi」は、対象の年齢、身長、体重、B M I である。パラメータ「prevBiop」は、対象が過去に前立腺の生検を受けたことを表し、対象の医療歴を反映する。この式は、最小二乗推定量 (ordinary least squares estimator) を用いて導かれた (他の線形推定量、例えばロジスティック回帰推定量を直接的に用いることもできる)。この特定のモデルにおいては、家族歴に関する情報は省略された。

20

【 0 1 3 5 】

得られる「y」値は、図 3 に示されるように、グリソングレード 7 またはそれ以上の侵襲性前立腺癌を持つリスクと強く関連しうる。図 3 の R O C 曲線は、P S A のみ (3 0 1) および本実施例に記載のモデル (3 0 2) を示す。y がカットオフ値を上回る場合、その男性に、生検による前立腺検査のために泌尿器科医を受診するよう勧告すべきである。

30

【 0 1 3 6 】

カットオフの値は、検査の感度と特異度とのトレードオフに依存する。例えば、0 . 2 0 1 のカットオフ値を用いる場合、この検査の感度は 0 . 8 となり得、P S A のみを用いる場合と比較して生検の約 4 4 % を除外しうる。

【 実施例 4 】

【 0 1 3 7 】

パラメータカテゴリーおよびカテゴリー内の冗長性の側面をさらに説明するために、実施例 1 のデータセットを下記に関して特徴付けた：

40

【 0 1 3 8 】

バイオマーカー：

総前立腺特異抗原 (t P S A) [n g / m l]
 インタクト前立腺特異抗原 (i P S A) [n g / m l]
 遊離前立腺特異抗原 (f P S A) [n g / m l]
 ヒトカリクレイン 2 (H K 2) [n g / m l]
 マクロファージ抑制サイトカイン 1 (M I C - 1) [n g / m l]
 beta-microseminoprotein (M S M B) [n g / m l]

【 0 1 3 9 】

S N P : P C a に関する S N P カテゴリーに属するもの (S N P p c) :

50

657del5, rs10086908, rs1016343, rs10187424, rs1041449, rs10486567, rs1054564, rs10875943, rs10896449, rs10934853, rs10993994, rs11067228, rs111135910, rs11228565, rs11568818, rs11649743, rs11650494, rs11672691, rs11704416, rs12130132, rs12409639, rs12418451, rs12500426, rs12543663, rs12621278, rs12653946, rs1270884, rs130067, rs13252298, rs13385191, rs1354774, rs1363120, rs137853007, rs138213197, rs1447295, rs1465618, rs1512268, rs1571801, rs16901979, rs16902094, rs17021918, rs17632542, rs17879961, rs1859962, rs1894292, rs1933488, rs1983891, rs2018334, rs2121875, rs2242652, rs2273669, rs2292884, rs2405942, rs2660753, rs2735839, rs2736098, rs2928679, rs3213764, rs339331, rs3771570, rs3850699, rs3863641, rs401681, rs4245739, rs4430796, rs445114, rs4643253, rs4857841, rs4962416, rs5759167, rs5919432, rs5945619, rs6062509, rs620861, rs6465657, rs6763931, rs684232, rs6869841, rs6983267, rs6983561, rs7127900, rs7210100, rs721048, rs7241993, rs7611694, rs7679673, rs7931342, rs8008270, rs8102476, rs888663, rs902774, rs9364554, rs9600079, rs9623117

10

【 0 1 4 0 】

年齢、および過去に生検が行われたか（有または無）を含む、各対象のバックグラウンド情報を収集した。年齢は、年の単位で表した。

【 0 1 4 1 】

予測モデルとして用いる総複合値を得る式は、下記の予め定められた式にしたがって設計された：

20

$$Y = -0.632820 + 0.118107 * K + 0.139045 * \text{prevBiopsy} + 0.051609 * \text{score} + 0.048033 * \text{MIC1} - 0.001368 * \text{MSMB} + 0.008002 * \text{age}$$

【 0 1 4 2 】

この式において、scoreは、遺伝スコア、すなわち前記のようにPCAに関するSNPから得られる複合値（すなわちSNPpc複合値）であり、Kはカリクレイン様バイオマーカのパラメータカテゴリーの複合値であり、MIC1はMIC1の濃度、MSMBはMSMBの濃度、ageは個体の年齢、PrevBiopsyは、個体が過去に生検を受けたことがあれば1である（生検を受けたことがなければ0）。特定の個体についてのカリクレインデータの利用可能性に応じて、異なる方法でカリクレイン様バイオマーカカテゴリーの複合値Kを計算した。

30

【 0 1 4 3 】

$$K = (0.6122516 + 0.0012714 * \text{fPSA} + 0.0001864 * \text{PSA} + 0.0200385 * \text{iPSA} - 0.037976 * \text{HK2} - 1.3108243 \text{ f/tPSA}) / 0.1559314$$

$$K' = (0.3961801 + 0.0001864 * \text{PSA} + 0.0200385 * \text{iPSA} - 0.0377976 * \text{HK2}) / 0.109478$$

$$K'' = (0.3961967 + 0.0012714 * \text{fPSA} + 0.0200385 * \text{iPSA} - 0.0377976 * \text{HK2}) / 0.1090876$$

$$K''' = (0.3987352 + 0.0200385 * \text{iPSA} - 0.0377976 * \text{HK2}) / 0.1033296$$

$$K'''' = (0.6548828 + 0.0012714 * \text{fPSA} + 0.0001864 * \text{PSA} - 1.3108243 \text{ f/tPSA}) / 0.1068742$$

40

【 0 1 4 4 】

これら式において、PSAはPSAの濃度、fPSAは遊離PSAの濃度、iPSAはインタクトPSAの濃度、HK2はHK2の濃度、f/tPSAは遊離PSAと総PSAの比である。Kは、前記カリクレインデータがすべて利用可能である場合に用いるのが適当なパラメータ値である。パラメータK'、K''、K'''およびK''''は、カリクレインデータの1つまたはそれ以上が欠けている場合に用いるのが適当なKの近似値である。

【 0 1 4 5 】

上記モデルの試験により、次の結果が得られた：

・すべてのデータが含まれた完全なモデル： ROC - AUC = 0.77

・すべてのSNPおよびK'近似値を使用： ROC - AUC = 0.70

50

- すべての SNP および K' 近似値を使用： ROC - AUC = 0.70
- すべての SNP および K'' 近似値を使用： ROC - AUC = 0.70
- すべての SNP および K''' 近似値を使用： ROC - AUC = 0.75
- K'''' データを使用し、SNP データの 10% をランダムに除外： ROC - AUC = 0.74
- K'''' データを使用し、SNP データの 30% をランダムに除外： ROC - AUC = 0.73

【0146】

参照値として、aPc a リスクを予測するのに PSA のみを用いる場合には、ROC - AUC = 0.65 である。したがって、本実施例のモデルは、(a) すべてのデータを用いる場合に参照モデルよりも良好であり、また、(b) パラメータカテゴリー内の冗長性のゆえにインプットデータの欠損に対しロバスト性を有する。カリクレイン様バイオマーカーの測定結果(すなわちデータ)の1つまたはそれ以上を除外することが可能であり、SNP 情報の10%(さらには30%)の欠損と組み合わせてもなお、PSAのみを用いた参照モデルよりも良好な有用な結果をもたらすことができる。実際の場面で、そのようなロバスト作用は、技術的欠陥、試料の不足、ヒューマンエラーまたは他の理由によっていくつかのデータが欠けている場合にも、個体が aPc a を持つリスクを判定することを可能にする。これにより、再検査の数を減らしうるので、医療提供者のコストを削減できる可能性がある。また、応答が早まり、再検査のためのさらなる試料提供のために医療提供者に赴く必要性が低下するので、個人においても利便性が向上しうる。

10

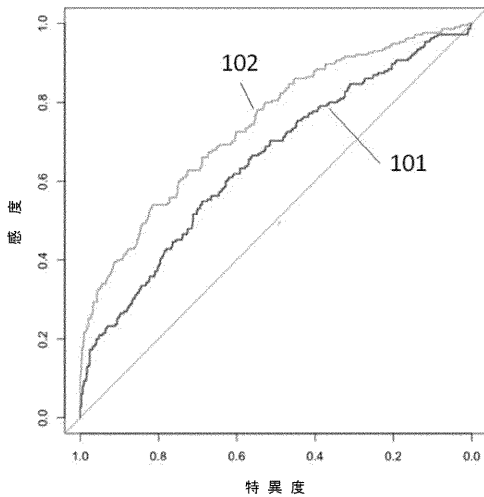
20

【0147】

本発明を、発明者が現在知る最良の形態である好ましい態様に関して説明したが、当業者にとって明らかでありうるさまざまな変更または改変が、請求の範囲に記載される発明の範囲を逸脱することなくなされうることを理解すべきである。

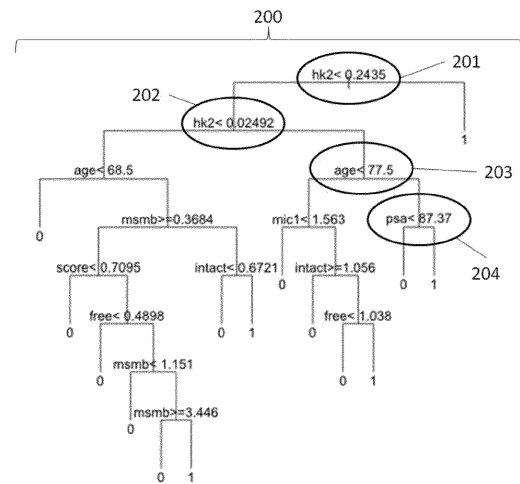
【図1】

FIG. 1



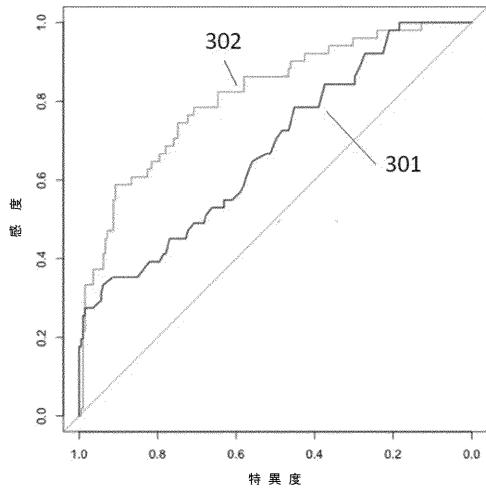
【図2】

FIG. 2



【 図 3 】

FIG. 3



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2013/074259

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 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) C12Q 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) EP0-Internal, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MARKUS ALY ET AL: "Polygenic Risk Score Improves Prostate Cancer Risk Prediction: Results from the Stockholm-1 Cohort Study", EUROPEAN UROLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 60, no. 1, 8 January 2011 (2011-01-08), pages 21-28, XP028223801, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/J.EURURO.2011.01.017 [retrieved on 2011-01-11] the whole document paragraphs [02.4], [0004]; tables 2, 3 page 23, right-hand column ----- -/--	1-36
<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 :		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search 7 February 2014		Date of mailing of the international search report 12/03/2014
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 Pinta, Violaine

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2013/074259

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MATTIAS JOHANSSON ET AL: "Combining 33 genetic variants with prostate-specific antigen for prediction of prostate cancer: Longitudinal study", INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 130, no. 1, 15 February 2011 (2011-02-15), pages 129-137, XP055095299, ISSN: 0020-7136, DOI: 10.1002/ijc.25986 the whole document page 135, right-hand column -----	1-36
A	WO 2012/031207 A2 (UNIV WAKE FOREST HEALTH [US]; XU JIANFENG [US]; ZHENG SIQUN LILLY [US]) 8 March 2012 (2012-03-08) the whole document page 5, line 30 - page 6, line 10; examples 4-6 -----	1-36
A	J. GUDMUNDSSON ET AL: "Genetic Correction of PSA Values Using Sequence Variants Associated with PSA Levels", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, vol. 2, no. 62, 15 December 2010 (2010-12-15), pages 62ra92-62ra92, XP055073558, ISSN: 1946-6234, DOI: 10.1126/scitranslmed.3001513 the whole document page 8 -----	1-36
A	ROBERT K NAM ET AL: "Single nucleotide polymorphism of the human kallikrein-2 gene highly correlates with serum human kallikrein-2 levels and in combination enhances prostate cancer detection", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY, US, vol. 21, no. 12, 15 June 2003 (2003-06-15), pages 2312-2319, XP002667124, ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2003.11.007 the whole document page 2315, right-hand column -----	1-36
A	WO 2010/012823 A1 (COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE [FR]; AURIBAUT KARINE [FR]; MULLER JEAN) 4 February 2010 (2010-02-04) the whole document -----	1-36
A	WO 2010/081240 A1 (MIRACULINS INC [CA]; STEDRONSKY KATRIN [CA]; BARKER DOUGLAS [CA]; ZHAN) 22 July 2010 (2010-07-22) the whole document example 4; table 4 -----	1-36
1	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2013/074259

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	A. VICKERS ET AL: "Reducing Unnecessary Biopsy During Prostate Cancer Screening Using a Four-Kallikrein Panel: An Independent Replication", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 28, no. 15, 26 April 2010 (2010-04-26), pages 2493-2498, XP055095569, ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2009.24.1968 the whole document figures 1, 2	1-36
A	----- I. M. THOMPSON ET AL: "Assessing Prostate Cancer Risk: Results from the Prostate Cancer Prevention Trial", JNCI JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE, vol. 98, no. 8, 18 April 2006 (2006-04-18), pages 529-534, XP055100812, ISSN: 0027-8874, DOI: 10.1093/jnci/djj131 the whole document page 530, right-hand column page 532; figure 2	1-36
A	----- D. A. BROWN ET AL: "Macrophage Inhibitory Cytokine 1: A New Prognostic Marker in Prostate Cancer", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 15, no. 21, 20 October 2009 (2009-10-20), pages 6658-6664, XP055095148, ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3126 the whole document page 6659, right-hand column page 6662, left-hand column; tables 1, 4	1-36
A	----- ELIZABETH K SPELIOTES ET AL: "Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index", NATURE GENETICS, vol. 42, no. 11, 10 November 2010 (2010-11-10), pages 937-948, XP055100829, ISSN: 1061-4036, DOI: 10.1038/ng.686 the whole document table 1	1-36
	----- -/--	

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2013/074259

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	<p>TOBIAS NORDSTRÖM ET AL: "A Genetic Score Can Identify Men at High Risk for Prostate Cancer Among Men With Prostate-Specific Antigen of 1-3 ng/ml", EUROPEAN UROLOGY, 1 July 2013 (2013-07-01), XP055095847, ISSN: 0302-2838, DOI: 10.1016/j.eururo.2013.07.005 the whole document paragraph [02.3]; tables 1, 3 -----</p>	1-36
A,P	<p>SCARDINO PETER T: "Prostate cancer: Improving PSA testing by adjusting for genetic background", NATURE REVIEWS. UROLOGY, NEW YORK, NY : NATURE PUBL. GROUP, 2009-, US, vol. 10, no. 4, 1 April 2013 (2013-04-01), pages 190-192, XP008166567, ISSN: 1759-4820, DOI: 10.1038/NRUROL.2013.28 the whole document -----</p>	1-36
A,P	<p>ELISABETH MÖLLER ET AL: "Lifetime body size and prostate cancer risk in a population-based case-control study in Sweden", CANCER CAUSES & CONTROL, vol. 24, no. 12, 19 September 2013 (2013-09-19), pages 2143-2155, XP055095680, ISSN: 0957-5243, DOI: 10.1007/s10552-013-0291-0 cited in the application the whole document -----</p>	1-36
E	<p>WO 2013/172779 A2 (PHADIA AB [SE]) 21 November 2013 (2013-11-21) the whole document -----</p>	24-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/074259

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2012031207 A2	08-03-2012	EP 2611943 A2 WO 2012031207 A2	10-07-2013 08-03-2012
WO 2010012823 A1	04-02-2010	CA 2733385 A1 CN 102171698 A EP 2318971 A1 FR 2934698 A1 US 2011301863 A1 WO 2010012823 A1	04-02-2010 31-08-2011 11-05-2011 05-02-2010 08-12-2011 04-02-2010
WO 2010081240 A1	22-07-2010	CA 2750062 A1 US 2012021925 A1 WO 2010081240 A1	22-07-2010 26-01-2012 22-07-2010
WO 2013172779 A2	21-11-2013	NONE	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
G 0 1 N 37/00	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 Q 1/06	(2006.01)	G 0 1 N	37/00	1 0 1
		C 1 2 Q	1/06	
		C 1 2 Q	1/68	A

(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, TM), 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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, 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, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 マルティン・エクルンド

スウェーデン、エス - 1 1 7 3 2 ストックホルム、ヘレネボリスガータン 1 4 番

Fターム(参考) 4B029 AA07 AA23 BB11 BB15 BB17 BB20 CC01 CC02 CC08 FA03
 FA05 FA12 FA15
 4B063 QA01 QA11 QA13 QA19 QQ02 QQ03 QQ08 QQ42 QQ79 QR32
 QR48 QR55 QR72 QR77 QS12 QS33 QS34 QS36 QS39 QX02
 QX10

专利名称(译)	确定侵袭性前列腺癌的存在或不存在的方法		
公开(公告)号	JP2016503301A	公开(公告)日	2016-02-04
申请号	JP2015542308	申请日	2013-11-20
申请(专利权)人(译)	Phadia激活因子宝来得到		
[标]发明人	ヘンリクグレンバリ マルティンエクルンド		
发明人	ヘンリク・グレンバリ マルティン・エクルンド		
IPC分类号	C12Q1/68 C12Q1/04 C12M1/34 C12M1/00 G01N33/53 G01N37/00 C12Q1/06		
FI分类号	C12Q1/68.Z C12Q1/04 C12M1/34.F C12M1/34.Z C12M1/00.A G01N33/53.D G01N37/00.101 C12Q1/06 C12Q1/68.A		
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/AA23 4B029/BB11 4B029/BB15 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC01 4B029/CC02 4B029/CC08 4B029/FA03 4B029/FA05 4B029/FA12 4B029/FA15 4B063/QA01 4B063/QA11 4B063/QA13 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ79 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS12 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02 4B063/QX10		
代理人(译)	山田卓司		
优先权	1251312 2012-11-20 SE 1350600 2013-05-16 SE		
其他公开文献	JP2016503301A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明一般涉及检测和鉴定具有潜在用途作为诊断标记物的各种形式的遗传标记物和各种形式的蛋白质。通过测量患者样品中多种生物标志物和遗传标志物的水平并组合根据预定公式获得的值，评估患者患有侵略性前列腺癌的可能性。你可以 本发明特别适用于体重指数大于25的患者。

(21) 出願番号	特願2015-542308 (P2015-542308)	(71) 出願人	500139881
(86) (22) 出願日	平成25年11月20日 (2013.11.20)		ファディア・アクチボラゲット
(85) 翻訳文提出日	平成27年7月8日 (2015.7.8)		Phadia AB
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/074259		スウェーデン751 37ウブサラ、ボックス6460
(87) 国際公開番号	W02014/079865		
(87) 国際公開日	平成26年5月30日 (2014.5.30)	(74) 代理人	100101454
(31) 優先権主張番号	1251312-3		弁理士 山田 卓二
(32) 優先日	平成24年11月20日 (2012.11.20)	(74) 代理人	100062144
(33) 優先権主張国	スウェーデン(SE)		弁理士 青山 僚
(31) 優先権主張番号	1350600-1	(74) 代理人	100106518
(32) 優先日	平成25年5月16日 (2013.5.16)		弁理士 松谷 道子
(33) 優先権主張国	スウェーデン(SE)	(72) 発明者	ヘンリク・グレンバリ
			スウェーデン、エス-112 18ストックホルム、リンドハーゲンステラッセン9番

最終頁に続く