

(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2014-507160

(P2014-507160A)

(43) 公表日 平成26年3月27日 (2014. 3. 27)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 2 9
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/536 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	4 B 0 6 5
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/536 E	
G O 1 N 37/00 (2006.01)	G O 1 N 33/574 A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 528 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-555467 (P2013-555467)	(71) 出願人	511107212
(86) (22) 出願日	平成24年2月17日 (2012. 2. 17)		カリス ライフ サイエンス ルクセンブルク ホールディングス エス. アー. エール. エル.
(85) 翻訳文提出日	平成25年10月18日 (2013. 10. 18)		ルクセンブルク大公国 エル2 1 2 4 ルクセンブルク リュ ド マレシェ 1 0 2
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/025741	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開番号	W02012/115885		弁理士 清水 初志
(87) 国際公開日	平成24年8月30日 (2012. 8. 30)	(74) 代理人	100102118
(31) 優先権主張番号	61/446, 313		弁理士 春名 雅夫
(32) 優先日	平成23年2月24日 (2011. 2. 24)	(74) 代理人	100160923
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 山口 裕孝
(31) 優先権主張番号	61/445, 273	(74) 代理人	100119507
(32) 優先日	平成23年2月22日 (2011. 2. 22)		弁理士 刑部 俊
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/471, 417		
(32) 優先日	平成23年4月4日 (2011. 4. 4)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 循環バイオマーカー

(57) 【要約】

診断方法、治療関連方法、または予後判定方法に関して、病態もしくは疾患、または疾患の病期もしくは進行等の表現型を同定するために、バイオマーカーを評価することができる。循環バイオマーカーを検出することができ、任意で、生理学的状態のプロファイリングまたは表現型の決定に使用することができる。これらには、核酸、タンパク質、および、小胞等の循環構造物が含まれる。バイオマーカーを、診断目的、予後判定目的、またはセラノーシス (theranosis) 目的のために、例えば疾患、病態、病期、および病態の段階に対する治療レジメンの候補を選択するために評価することができ、かつ治療効果を決定するために使用することもできる。有用な循環バイオマーカーの例には、ポリペプチド、核酸 (例えばDNA、mRNA、マイクロRNA)、および小胞が含まれる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の工程を含む、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーを検出する方法:

(a)生物学的試料を、1種または複数種のバイオマーカーの存在またはレベルを決定するように設計された試薬と接触させる工程であって、該1種または複数種のバイオマーカーが、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせより選択される、工程;ならびに

(b)該生物学的試料中の該1種または複数種のバイオマーカーを同定する工程であって、それにより、該生物学的試料中の該1種または複数種のバイオマーカーを検出する、工程。

10

【請求項2】

前記生物学的試料が生物学的流体を含む、請求項1記載の方法。

【請求項3】

前記生物学的流体が、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髓、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、毛髪、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膈分泌液、粘膜分泌液、水便、腭液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胞胚腔液、または臍帯血を含む、請求項2記載の方法。

20

【請求項4】

前記生物学的流体が血液または血液派生物を含む、請求項2記載の方法。

【請求項5】

前記生物学的試料が細胞外微小胞集団を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項6】

前記微小胞集団が直径10nm～1000nmの微小胞を含む、請求項5記載の方法。

【請求項7】

前記微小胞集団が直径20nm～200nmの微小胞を含む、請求項5記載の方法。

【請求項8】

前記微小胞集団が、前記同定する工程の前に前記生物学的試料から単離される、請求項5記載の方法。

30

【請求項9】

単離が、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノメンブレン限外濾過、免疫吸着による捕捉、アフィニティー選択、アフィニティー精製、アフィニティー捕捉、免役アッセイ、免疫沈降、マイクロ流体工学分離、フローサイトメトリー、またはそれらの組み合わせを含む、請求項8記載の方法。

【請求項10】

前記アフィニティー選択が、前記微小胞集団を1種または複数種の結合物質と接触させることを含む、請求項9記載の方法。

40

【請求項11】

前記1種または複数種の結合物質が、核酸、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体断片、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)、レクチン、ペプチド、デンドリマー、膜タンパク質標識物質、化学物質、またはそれらの組み合わせを含む、請求項10記載の方法。

【請求項12】

前記微小胞集団を捕捉および/または検出するために前記1種または複数種の結合物質が用いられる、請求項10記載の方法。

【請求項13】

前記1種または複数種の結合物質が、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、

50

CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される微小胞表面マーカーに特異的に結合する、請求項10記載の方法。

【請求項14】

前記1種または複数種の結合物質が基体に結合している、請求項12記載の方法。

【請求項15】

前記基体がウェル、マイクロビーズ、および/またはアレイを含む、請求項13記載の方法。

【請求項16】

前記1種または複数種の結合物質が標識を有する、請求項12記載の方法。

【請求項17】

前記標識が、磁気標識、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、量子ドット、またはそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項16記載の方法。

【請求項18】

前記1種または複数種のバイオマーカーがポリペプチドまたはその機能的断片を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項19】

前記1種または複数種のバイオマーカーが微小胞表面抗原またはその機能的断片を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項20】

前記1種または複数種のバイオマーカーが核酸またはその機能的断片を含む、請求項1～17のいずれか一項記載の方法。

【請求項21】

前記核酸がmRNAを含む、請求項20記載の方法。

【請求項22】

前記核酸がマイクロRNAを含む、請求項20記載の方法。

【請求項23】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、ポリペプチドおよび核酸分子、またはその機能的断片を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項24】

前記1種または複数種のバイオマーカーがCD9を含む、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項25】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、Gal3、BCA200、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項26】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、OPN、NCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項27】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、Gal3、BCA200、OPN、NCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項28】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、Gal3および/またはBCA200、OPNおよび/またはNCAM、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項29】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、テトラスパニン、CD45、FasL、CTLA4、CD31、DLL4、VEGFR2、HIF2a、Tie2、Ang1、Muc1、CD147、TIMP1、TIMP2、MMP7、MMP9、および

10

20

30

40

50

それらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 0】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、CD83およびFasL、CTLA4およびCD80、CD147およびTIMP1、TIMP2およびMMP9、HIF2aおよびAng1、VEGFR2およびTie2、CD45およびCTLA4、DLL4およびCD31、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 1】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、5T4(栄養芽細胞)、ADAM10、AGER/RAGE、APC、APP(β アミロイド)、ASPH(A-10)、B7H3(CD276)、BACE1、BAI3、BRCA1、BDNF、BIRC2、C1GALT1、CA125(MUC16)、カルモジュリン1、CCL2(MCP-1)、CD9、CD10、CD127(IL7R)、CD174、CD24、CD44、CD63、CD81、CEA、CRMP-2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CYFRA21、デルリン1、DLL4、DPP6、E-CAD、EpCaM、EphA2(H-77)、ER(1)ESR1 α 、ER(2)ESR2 β 、ErbB4、ErbB2、erb3(Erb-B3)PA2G4、FRT(FLT1)、Gal3、GPR30(G共役ER1)、HAP1、HER3、HSP-27、HSP70、IC3b、IL8、insig、ジャンクションプラコグロビン、ケラチン15、KRAS、マンマグロビン、MART1、MCT2、MFGE8、MMP9、MRP8、Muc1、MUC17、MUC2、NCAM、NG2(CSPG4)、Nga1、NHE-3、NT5E(CD73)、ODC1、OPG、OPN、p53、PARK7、PCSA、PGP9.5(PARK5)、PR(B)、PSA、PSMA、RAGE、STXBP4、サバイビン、TFF3(分泌型)、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TRAF4(足場)、TRAIL-R2(デスレセプター5)、TrkB、Tsg101、UNC93a、VEGFA、VEGFR2、YB-1、VEGFR1、GCDPF-15(PIP)、BigH3(TGF β 1誘導性タンパク質)、5HT2B(セロトニン受容体2B)、BRCA2、BACE1、CDH1-カドヘリン、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 2】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 3】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、DST.3、GATA3、KRT81、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 4】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、DST.3、ELF5、GATA3、KRT81、LALBA、OXTR、RASL10A、SERHL、TFAP2A.1、TFAP2A.3、TFAP2C、VTCN1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 5】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、表89のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 6】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、表90のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 7】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、表91のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 8】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、MS4A1、PRB、DR3、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 3 9】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、PRB、MACC1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項 4 0】

10

20

30

40

50

1種または複数種のバイオマーカーが、表92のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項18～21または23のいずれか一項記載の方法。

【請求項41】

前記1種または複数種のバイオマーカーが、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-650、hsa-miR-194、hsa-miR-1200、hsa-miR-326、hsa-miR-30b^{*}、hsa-miR-19a、hsa-miR-7a^{*}、hsa-miR-708^{*}、hsa-miR-99a、hsa-miR-199b-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-7i^{*}、hsa-miR-518c^{*}、hsa-miR-642、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-518d-5p、hsa-miR-1266、hsa-miR-154、hsa-miR-662、hsa-miR-523、hsa-miR-198、hsa-miR-920、hsa-miR-885-3p、hsa-miR-99a^{*}、hsa-miR-337-3p、hsa-miR-363、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のマイクロRNAを含む、請求項20または22～23のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項42】

前記1種または複数種のバイオマーカーがmiR-497マイクロRNAを含む、請求項20または22～23のいずれか一項記載の方法。

【請求項43】

前記微小胞集団が、前記1種または複数種のバイオマーカーに対する前記1種または複数種の結合物質を用いて捕捉され、かつ、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されるバイオマーカーに対する結合物質を用いて検出される、請求項19記載の方法。

20

【請求項44】

前記微小胞集団内のペイロードのレベルを検出する工程をさらに含む、請求項5記載の方法。

【請求項45】

検出された前記ペイロードが、1つまたは複数の核酸、ペプチド、タンパク質、脂質、抗原、糖質、および/またはプロテオグリカンを含む、請求項44記載の方法。

【請求項46】

検出された前記ペイロードが、請求項24～42のいずれか一項記載のバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む、請求項44記載の方法。

30

【請求項47】

検出された前記ペイロードが、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む、請求項44記載の方法。

【請求項48】

前記核酸が、1種または複数種のDNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、またはshRNAを含む、請求項45記載の方法。

【請求項49】

前記核酸が、表5～9、30～44、58～59、71、および73のいずれかにあるマイクロRNAからなる群より選択される1種または複数種のマイクロRNAを含む、請求項45記載の方法。

40

【請求項50】

前記タンパク質が、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のペプチド、ポリペプチド、タンパク質、またはその断片を含む、請求項45記載の方法。

【請求項51】

前記核酸が、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のmRNAを含む、請

50

求項45記載の方法。

【請求項52】

テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される少なくとも1つのさらなるバイオマーカーについて前記生物学的試料をアッセイする工程をさらに含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項53】

前記生物学的試料が公知の癌試料または疑わしい癌試料を含む、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項54】

前記生物学的試料が、癌細胞培養物、または癌を有するもしくは癌を有すると疑われる対象に由来する試料を含む、請求項53記載の方法。

【請求項55】

検出された微小胞集団の存在またはレベルを参照と比較する工程であって、該参照と比べた存在またはレベルの変化が、癌の診断、予後判定、またはセラノーシス (theranostic) 用の決定を提供する工程をさらに含む、請求項53記載の方法。

【請求項56】

前記癌の診断、予後判定、またはセラノーシス用の決定が、癌もしくは癌の可能性の診断、癌の予後判定、癌のセラノーシス、癌が治療的処置に応答しているかどうかの判定、または癌が治療的処置に応答する可能性があるかどうかの判定を含む、請求項54記載の方法。

20

【請求項57】

前記治療的処置が、表10、11～13、または69より選択される、請求項56記載の方法。

【請求項58】

前記参照が、癌を有さない生物学的試料に由来する、請求項55記載の方法。

【請求項59】

前記試料における前記1種または複数種のバイオマーカーのレベルが前記参照と比べて高いことが、該試料における癌の存在もしくは癌の可能性、または、試料におけるさらに進行した癌の存在もしくはさらに進行した癌の可能性を示す、請求項58記載の方法。

30

【請求項60】

前記参照が、1つまたは複数の異なる時点で測定された一連の生物学的試料に由来する、請求項55記載の方法。

【請求項61】

前記癌が、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹部神経膠腫；脳腫瘍（脳幹部神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、上衣細胞腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；バーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性障害；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌腺細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；嗅神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；脾臓腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；上衣細胞腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨

40

50

髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髓異形成症候群；骨髓増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜胚芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリ－症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽頭癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂と尿管の移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；腔癌；外陰癌；ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む、請求項53記載の方法。

10

【請求項 6 2】

前記癌が乳癌を含む、請求項24～37のいずれか一項に従属する請求項53記載の方法。

【請求項 6 3】

前記癌が非浸潤性乳管癌(DCIS)を含む、請求項36～37のいずれか一項に従属する請求項53記載の方法。

【請求項 6 4】

前記癌が肺癌を含む、請求項24および38～42のいずれか一項に従属する請求項53記載の方法。

20

【請求項 6 5】

インビトロで行われる、前記請求項のいずれか一項記載の方法。

【請求項 6 6】

前記請求項のいずれか一項記載の方法を実施するための1種または複数種の試薬の使用。

【請求項 6 7】

以下の工程を含む、アッセイ：

(a)生物学的試料から細胞外微小胞を単離する工程であって、該微小胞が1種または複数種のRNA分子を含み、該1種または複数種のRNA分子が、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカーに対応する診断指標である、工程；

30

(b)該微小胞中の該1種または複数種のRNA分子の量を決定する工程；ならびに

(c)該1種または複数種のRNA分子の決定された量を1つまたは複数の対照レベルと比較する工程であって、該1つまたは複数の対照レベルと比べて該細胞外微小胞中の該1種または複数種のRNA分子の量に差があれば、癌が検出される、工程。

【請求項 6 8】

前記単離する工程が、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノメンブレン限外濾過、免疫吸着による捕捉、アフィニティー選択、アフィニティー精製、アフィニティー捕捉、免役アッセイ、免疫沈降、マイクロ流体力学分離、フローサイトメトリー、またはそれらの組み合わせを含む、請求項67記載のアッセイ。

40

【請求項 6 9】

前記アフィニティー選択が、前記微小胞集団を、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせより選択される微小胞表面マーカーに特異的に結合する1種または複数種の結合物質と接触させることを含む、請求項68記載のアッセイ。

【請求項 7 0】

請求項1～65のいずれか一項記載の方法を実施するための1種または複数種の試薬を含む、キット。

【請求項 7 1】

50

前記1種または複数種の試薬が、前記1種または複数種のバイオマーカーに対する前記1種または複数種の結合物質を含む、請求項70記載のキットまたは請求項66記載の使用。

【請求項72】

前記1種または複数種の試薬が、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質を含む、請求項70記載のキットまたは請求項66記載の使用。

【請求項73】

前記1種または複数種の結合物質が抗体またはアプタマーを含む、請求項71または72記載のキットまたは使用。

10

【請求項74】

前記1種または複数種の結合物質が基体に繫留されている、請求項71または72記載のキットまたは使用。

【請求項75】

前記1種または複数種の結合物質が標識されている、請求項71または72記載のキットまたは使用。

【請求項76】

標識が、磁気標識、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、または量子ドットを含む、請求項75記載の方法。

20

【請求項77】

請求項24～42のいずれか一項に列挙されたバイオマーカー、およびそれらの組み合わせより選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む、単離された小胞。

【請求項78】

図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のさらなるバイオマーカーを含む、請求項77記載の単離された小胞。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

相互参照

本願は、2011年2月24日に提出された米国特許仮出願第61/446,313号；2011年6月27日に提出された同第61/501,680号；2011年4月4日に提出された同第61/471,417号；2011年8月15日に提出された同第61/523,763号；および2011年2月22日に提出された同第61/445,273号の利益を主張する。これらの出願は全てその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

本願は、2011年8月18日に提出された国際特許出願PCT/US2011/048327の一部継続出願である。国際特許出願PCT/US2011/048327は、2010年8月18日に提出された米国特許仮出願第61/374,951号；2010年9月2日に提出された同第61/379,670号；2010年9月9日に提出された同第61/381,305号；2010年9月15日に提出された同第61/383,305号；2010年10月8日に提出された同第61/391,504号；2010年10月15日に提出された同第61/393,823号；2010年11月9日に提出された同第61/411,890号；2010年11月17日に提出された同第61/414,870号；2010年11月23日に提出された同第61/416,560号；2010年12月10日に提出された同第61/421,851号；2010年12月15日に提出された同第61/423,557号；2010年12月29日に提出された同第61/428,196号の利益を主張する。これらの出願は全てその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

40

【0003】

本願はまた、2011年3月1日に提出された国際特許出願PCT/US2011/026750の一部継続出

50

願でもある。国際特許出願PCT/US2011/026750は、2009年11月12日に出願された米国特許出願第12/591,226号の一部継続出願である。米国特許出願第12/591,226号は、2008年11月12日に出願された米国特許仮出願第61/114,045号;2008年11月12日に出願された同第61/114,058号;2008年11月13日に出願された同第61/114,065号;2009年2月9日に出願された同第61/151,183号;2009年10月2日に出願された同第61/278,049号;2009年10月9日に出願された同第61/250,454号;および2009年10月19日に出願された同第61/253,027号の利益を主張し、2010年3月1日に出願された米国特許仮出願第61/274,124号;2010年6月22日に出願された同第61/357,517号;2010年7月15日に出願された同第61/364,785号の利益も主張する。これらの出願は全てその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0004】

本願はまた、2011年4月6日に出願された国際特許出願PCT/US2011/031479の一部継続出願でもある。国際特許出願PCT/US2011/031479は、2010年4月6日に出願された米国特許仮出願第61/321,392号;2010年4月6日に出願された同第61/321,407号;2010年5月6日に出願された同第61/332,174号;2010年5月25日に出願された同第61/348,214号、2010年5月26日に出願された同第61/348,685号;2010年6月11日に出願された同第61/354,125号;2010年6月16日に出願された同第61/355,387号;2010年6月21日に出願された同第61/356,974号;2010年6月22日に出願された同第61/357,517号;2010年7月8日に出願された同第61/362,674号;2010年11月12日に出願された同第61/413,377号;2010年4月9日に出願された同第61/322,690号;2010年5月13日に出願された同第61/334,547号;2010年7月15日に出願された同第61/364,785号;2010年8月2日に出願された同第61/370,088号;2010年9月2日に出願された同第61/379,670号;2010年9月9日に出願された同第61/381,305号;2010年9月15日に出願された同第61/383,305号;2010年10月8日に出願された同第61/391,504号;2010年10月15日に出願された同第61/393,823号;2010年11月9日に出願された同第61/411,890号;および2010年11月23日に出願された同第61/416,560号の利益を主張する。これらの出願は全てその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0005】

背景

癌のような病態および疾患に関するバイオマーカーは、生物学的分子、たとえばタンパク質、ペプチド、脂質、RNA、DNAならびにそれらのバリエーションおよび修飾を含む。

【0006】

DNA、RNAおよびタンパク質のような特異的バイオマーカーの同定は、病態または疾患の診断、予後判定またはセラノーシス(theranosis)用に使用されるバイオシグネチャーを提供することができる。バイオマーカーは、循環中のDNA、RNA、タンパク質および小胞を含む体液中で検出することができる。循環バイオマーカーは、タンパク質、たとえばPSAおよびCA125ならびに核酸、たとえばSEPT9 DNAおよびPCA3メッセンジャーRNA(mRNA)を含む。循環バイオマーカーはまた、循環する小胞を含む。小胞とは、細胞から流出する膜封じ込め構造であり、血液、血漿、血清、母乳、腹水、気管支肺泡洗浄液および尿を含む複数の体液中に見いだされている。小胞は、タンパク質、RNA、DNA、ウイルスおよびプリオンのための輸送小胞として細胞間の連絡に関与する可能性がある。マイクロRNAは、メッセンジャーRNAの転写および分解を調節する短いRNAである。マイクロRNAは、体液中に見いだされ、腫瘍細胞から流出する小胞内の成分として確認されている。小胞および/またはマイクロRNAを含む、疾患に関連した循環バイオマーカーの解析は、疾患またはその重篤度を検出し、疾患への素因を決定し、治療判断を下すことを支援することができる。

【0007】

生物学的試料中に存在する小胞はバイオマーカーの供給源を提供する。たとえば、マーカーは、小胞内に存在する(小胞ペイロード)、または小胞の表面に存在する。また、小胞の特徴(たとえばサイズ、表面抗原、起始細胞の決定、ペイロード)が、診断、予後判定またはセラノーシス用の読み取り値を提供することができる。疾患を検出し、治療するために使用することができるバイオマーカーを同定する必要性が残る。マイクロRNAおよ

び小胞と関連した他のバイオマーカーならびに小胞の特徴が診断、予後判定およびセラノースを提供することができる。

【0008】

本発明は、疾患または疾患進行を示すバイオマーカーを検出することによって表現型を特徴決定する方法およびシステムを提供する。バイオマーカーは、小胞およびマイクロRNAを含む循環バイオマーカーであることができる。

【発明の概要】

【0009】

概要

本明細書において、小胞、たとえば対象の細胞に由来する生物学的試料中に存在する小胞を解析することによって表現型を特徴決定する方法および組成物が開示される。対象または個人の表現型を特徴決定することは、疾患もしくは病態の診断、疾患もしくは病態の予後、疾患期もしくは病態期、薬物効果、生理学的状態、臓器窮迫もしくは臓器拒絶反応、疾患もしくは病態進行、疾患もしくは病態への治療関連性または具体的な生理学的もしくは生物学的状態の決定を含むことがあるが、これらに限定されない。

【0010】

一局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーを検出する方法であって、(a)生物学的試料を、1種または複数種のバイオマーカーの存在またはレベルを決定するように設計された試薬と接触させる工程であって、該1種または複数種のバイオマーカーが、図1~60、または表3~10、12~17、19~20、22、26、28~50、52、54~64、66、67、69~71、73~85、89~92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせより選択される、工程;ならびに(b)該生物学的試料中の該1種または複数種のバイオマーカーを同定する工程であって、それにより、該生物学的試料中の該1種または複数種のバイオマーカーを検出する工程を含む、方法を提供する。

【0011】

生物学的試料は生物学的流体を含んでもよい。生物学的流体は、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、毛髪、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、腔分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胞胚腔液、または臍帯血を含んでもよいが、それに限定されるわけではない。例えば、生物学的流体は、血液、血液派生物、または血液画分、例えば、血清もしくは血漿でもよい。

【0012】

本発明の方法の態様において、生物学的試料は細胞外微小胞集団を含む。微小胞集団は、直径10nm~1000nmの微小胞を含んでもよい。例えば、微小胞集団は、直径20nm~200nm、50~100nm、100~1,000nm、50~200nm、50~80nm、20~50nm、または50~500nmの微小胞を含んでもよい。

【0013】

本明細書の方法の一部の態様において、微小胞集団の全部または一部は、同定する工程の前に生物学的試料から単離される。適切な単離技法は、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノメンブレン限外濾過、免疫吸着による捕捉、アフィニティー選択、アフィニティー精製、アフィニティー捕捉、免役アッセイ、免疫沈降、マイクロ流体工学分離、フローサイトメトリー、またはそれらの組み合わせを含む。使用することができる他の単離技法は本明細書において開示されるか、または当技術分野において公知である。

【0014】

アフィニティー選択は、微小胞集団と1種または複数種の結合物質(試薬)との接触を含んでもよい。1種または複数種の結合物質は、核酸、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体断片、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)、レクチン、

ペプチド、デンドリマー、膜タンパク質標識物質、化学物質、またはそれらの組み合わせでもよい。使用することができる他の結合物質は本明細書において開示されるか、または当技術分野において公知である。

【0015】

1種または複数種の結合物質は、微小胞集団を捕捉および/または検出するために使用することができる。1種または複数種の結合物質は、微小胞、例えば、微小胞表面マーカーに特異的に結合する物質でもよい。表面マーカーは、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1~60、または表3~10、12~17、19~20、22、26、28~50、52、54~64、66、67、69~71、73~85、89~92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。

10

【0016】

一態様において、1種または複数種の結合物質は、ウェル、マイクロビーズ、および/またはアレイを含むが、それに限定されるわけではない基体に結合される。1種または複数種の結合物質はまた、標識、例えば、磁気標識、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、量子ドット、またはそれらの組み合わせを含むが、それに限定されるわけではない、本明細書に記載の標識、または当技術分野において公知の標識を有してもよい。

【0017】

本発明の方法において、1種または複数種のバイオマーカーは、分析することができる任意の有用な生物学的実体でもよい。一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーはポリペプチドまたはその機能的断片を含む。一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは微小胞表面抗原またはその機能的断片を含む。さらに他の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは核酸またはその機能的断片を含む。核酸は、循環中および/または小胞内に見られる、DNA、RNA、mRNA、マイクロRNA、または他の小型RNAでもよいが、それに限定されるわけではない。一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは複数のタイプの生物学的実体を含む。例えば、1種または複数種のバイオマーカーは、ポリペプチドおよび核酸分子、またはいずれかの機能的断片を含んでもよい。

20

【0018】

非限定的な例として、本発明の一態様は、1種または複数種の微小胞表面抗原に対する1種または複数種の結合物質を用いた微小胞集団のアフィニティー選択、その後の、選択された微小胞内に見出される核酸および/またはポリペプチドの評価を含む。

30

【0019】

本発明の方法の一態様において、1種または複数種のバイオマーカーはテトラスパニン、例えば、CD9を含む。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、前立腺癌、肺癌、結腸癌、乳癌、膀胱癌、子宮内膜癌、肝臓癌、膵臓癌、卵巣癌、食道癌、または腎臓癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。癌を特徴決定するためにCD9を評価することができる。

【0020】

本発明の方法の別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3、BCA200、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、OPN、NCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3、BCA200、OPN、NCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3および/またはBCA200、OPNおよび/またはNCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。乳癌を特徴決定するために1種または複数種のバイオマーカーを評価することができる。

40

【0021】

50

1種または複数種のバイオマーカーは、テトラスパニン、CD45、FasL、CTLA4、CD31、DLL4、VEGFR2、HIF2a、Tie2、Ang1、Muc1、CD147、TIMP1、TIMP2、MMP7、MMP9、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、CD83およびFasL、CTLA4およびCD80、CD147およびTIMP1、TIMP2およびMMP9、HIF2aおよびAng1、VEGFR2およびTie2、CD45およびCTLA4、DLL4およびCD31、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【0022】

1種または複数種のバイオマーカーは、5T4 (栄養芽細胞)、ADAM10、AGER/RAGE、APC、APP (β-アミロイド)、ASPH (A-10)、B7H3 (CD276)、BACE1、BAI3、BRCA1、BDNF、BIRC2、C1GALT1、CA125 (MUC16)、カルモジュリン1、CCL2 (MCP-1)、CD9、CD10、CD127 (IL7R)、CD174、CD24、CD44、CD63、CD81、CEA、CRMP-2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CYFRA 21、デルリン1、DLL4、DPP6、E-CAD、EpCaM、EphA2 (H-77)、ER(1) ESR1 α、ER(2) ESR2 β、ErbB4、ErbB2、erb3 (Erb-B3) PA2G4、FRT (FLT1)、Gal3、GPR30 (G共役ER1)、HAP1、HER3、HSP-27、HSP70、IC3b、IL8、insig、ジャンクションプラコグロビン、ケラチン15、KRAS、マンマグロビン、MART1、MCT2、MFGE8、MMP9、MRP8、Muc1、MUC17、MUC2、NCAM、NG2 (CSPG4)、Ngal、NHE-3、NT5E (CD73)、ODC1、OPG、OPN、p53、PARK7、PCSA、PGP9.5 (PARK5)、PR(B)、PSA、PSMA、RAGE、STXBP4、サバイビン、TFF3 (分泌型)、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TRAF4 (足場)、TRAIL-R2 (デスレセプター5)、TrkB、Tsg 101、UNC93a、VEGF A、VEGFR2、YB-1、VEGFR1、GCDPF-15 (PIP)、BigH3 (TGFβ1誘導性タンパク質)、5HT2B (セロトニン受容体2B)、BRCA2、BACE 1、CDH1-カドヘリン、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。乳癌を特徴決定するために1種または複数種のバイオマーカーを評価することができる。

【0023】

別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。1種または複数種のバイオマーカーは、DST.3、GATA3、KRT81、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、DST.3、ELF5、GATA3、KRT81、LALBA、OXTR、RASL10A、SERHL、TFAP2A.1、TFAP2A.3、TFAP2C、VTCN1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。一態様において、原発不明癌が乳癌に由来するかどうか特徴決定するために、マーカーの1つまたは複数が評価される。

【0024】

一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、表89のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。一態様において、乳癌を特徴決定するためにマーカーの1つまたは複数が評価される。別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、表90のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせ群より選択される。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。一態様において、乳癌、例えば、非浸潤性乳管癌(DCIS)を特徴決定するために、マーカーの1つまたは複数が評価される。さらに別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、表91のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。一態様において、乳癌を特徴決定するために、例えば

、DCIS乳癌または非DCIS乳癌を識別するために、マーカーの1つまたは複数が評価される。

【0025】

本発明の方法に従って評価される1種または複数種のバイオマーカーは、MS4A1、PRB、DR3、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーはまた、PRB、MACC1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、肺癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。一態様において、肺癌を特徴決定するためにマーカーの1つまたは複数が評価される。

【0026】

本発明の方法の別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、表92のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される。さらに別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-650、hsa-miR-194、hsa-miR-1200、hsa-miR-326、hsa-miR-30b^{*}、hsa-miR-19a、hsa-miR-7a^{*}、hsa-miR-708^{*}、hsa-miR-99a、hsa-miR-199b-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-7i^{*}、hsa-miR-518c^{*}、hsa-miR-642、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-518d-5p、hsa-miR-1266、hsa-miR-154、hsa-miR-662、hsa-miR-523、hsa-miR-198、hsa-miR-920、hsa-miR-885-3p、hsa-miR-99a^{*}、hsa-miR-337-3p、hsa-miR-363、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のマイクロRNAを含む。1種または複数種のバイオマーカーはまたmiR-497マイクロRNAを含んでもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、肺癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。一態様において、肺癌を特徴決定するためにマーカーの1つまたは複数が評価される。

【0027】

前記方法において、1種または複数種のバイオマーカーは、列挙されたバイオマーカーの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、20個以上を含んでもよい。1種または複数種のバイオマーカーは前記のバイオマーカーの全てを含んでもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、タンパク質、核酸、またはそれらの組み合わせを含むが、それに限定されるわけではない任意の測定可能な生物学的実体を含んでもよい。例えば、1種または複数種のバイオマーカーは、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、またはその断片でもよい。または、1種または複数種のバイオマーカーは、核酸、例えば、DNA、もしくはmRNA、マイクロRNAを含むが、それに限定されるわけではないRNA、またはその断片でもよい。1種または複数種のバイオマーカーはまた、生物学的実体の組み合わせ、例えば、少なくとも1種類のタンパク質および少なくとも1種類の核酸を含んでもよい。

【0028】

本発明の方法の一部の態様において、微小胞集団は、1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質を用いて捕捉され、かつ、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1~60、または表3~10、12~17、19~20、22、26、28~50、52、54~64、66、67、69~71、73~85、89~92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されるバイオマーカーに対する結合物質を用いて検出される。例えば、1種または複数種のバイオマーカーは、前記のバイオマーカーの1つまたは複数を含んでもよい。

【0029】

本発明の方法の態様は、微小胞集団内のペイロードのレベルを検出する工程をさらに含む。検出されたペイロードは、1つまたは複数の核酸、ペプチド、タンパク質、脂質、抗原、糖質、および/またはプロテオグリカンを含むが、それに限定されるわけではない、小胞内の任意の測定可能な生物学的実体でもよい。検出されたペイロードは、前記のバイオマーカー、または図1~60、もしくは表3~10、12~14、22、26、45~50、52、54~57、60~64、66、67、69~70、74~85、89~92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含んでも

よい。核酸バイオマーカーは、1種または複数種のDNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、またはshRNAを含んでもよい。例えば、核酸は1種または複数種の前記のマイクロRNAを含んでもよく、表5～9、30～44、58～59、71、および73のいずれかにあるマイクロRNAからなる群より選択されてもよい。核酸バイオマーカーはまた1種または複数種の前記のmRNAを含んでもよく、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。タンパク質バイオマーカーは、1種または複数種の前記のペプチド、ポリペプチド、タンパク質、またはその断片を含んでもよく、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。

10

【0030】

本発明の方法は、前記のバイオマーカー、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される少なくとも1種類のさらなるバイオマーカーについて生物学的試料をアッセイする工程をさらに含んでもよい。1種または複数種のさらなるバイオマーカーは、本明細書に含まれる、または当技術分野において公知の任意の有用な方法を用いて検出することができる。

20

【0031】

前述のように、生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料を含んでもよい。一部の態様において、生物学的試料は、癌細胞培養物、または癌を有するもしくは癌を有すると疑われる対象に由来する試料を含む。癌は、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫瘍/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹部神経膠腫；脳腫瘍（脳幹部神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫瘍/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、上衣細胞腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；バーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫瘍/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性障害；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；嗅神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵島腫瘍；カポジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；上衣細胞腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜胚芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽頭癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂と尿管の移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワ

30

40

50

ルデンシュトレーム型マクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【0032】

前記方法は、1種または複数種のバイオマーカーの存在またはレベルを参照と比較する工程であって、該参照と比べた存在またはレベルの変化が、癌の診断、予後判定、またはセラノーシス用の決定を提供する工程をさらに含んでもよい。癌の診断、予後判定、またはセラノーシス用の決定は、癌もしくは癌の可能性の診断、癌の予後判定、癌のセラノーシス、癌が治療的処置に応答しているかどうかの判定、または癌が治療的処置に応答する可能性が高いかどうかの判定を含んでもよい。態様において、治療的処置は表10～13または69より選択される。参照は、癌を有さない生物学的試料に由来してもよい。参照は、1つまたは複数の異なる時点で測定された一連の生物学的試料に由来してもよい。態様において、試料における1種または複数種のバイオマーカーのレベルが参照と比べて高いことが、試料における癌の存在もしくは癌の可能性、または、試料におけるさらに進行した癌の存在もしくはさらに進行した癌の可能性を示す。

【0033】

別の局面において、本発明は、(a)生物学的試料から細胞外微小胞を単離する工程であって、該微小胞が1種または複数種のRNA分子を含み、該1種または複数種のRNA分子が、前記のバイオマーカー、または図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカーに対応する診断指標である、工程；(b)該微小胞中の該1種または複数種のRNA分子の量を決定する工程；ならびに(c)該1種または複数種のRNA分子の決定された量を1つまたは複数の対照レベルと比較する工程であって、該1つまたは複数の対照レベルと比べて該細胞外微小胞中の該1種または複数種のRNA分子の量に差があれば、癌が検出される、工程を含む、アッセイを提供する。単離工程は、本明細書において開示された方法または当技術分野において公知の方法、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノメンブレン限外濾過、免疫吸着による捕捉、アフィニティー選択、アフィニティー精製、アフィニティー捕捉、免疫アッセイ、免疫沈降、マイクロ流体工学分離、フローサイトメトリー、またはそれらの組み合わせを含んでもよい。一態様において、アフィニティー選択は、微小胞集団と、前記のバイオマーカー、ならびに/または図1～60、もしくは表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせより選択される微小胞表面マーカーに特異的に結合する1種または複数種の結合物質と接触させることを含む。

【0034】

前記方法はインビトロで行われてもよい。関連する局面において、本発明は、前記方法を実施するための1種または複数種の試薬の使用を提供する。同様に、本発明は、前記方法を実施するための1種または複数種の試薬を含むキットを提供する。前記方法において、1種または複数種の試薬は、1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質を含んでもよい。1種または複数種の試薬はまた、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質でもよい。一態様において、1種または複数種の結合物質は抗体またはアプタマーを含む。1種または複数種の結合物質は基体に繫留されてもよい。1種または複数種の結合物質は標識されてもよい。1種または複数種の結合物質は、様々な形をした複数種の結合物質を含んでもよい。例えば、1種または複数種の結合物質は、基体および別々に1種または複数種の標識結合物質に繫留されてもよい。標識は、本明細書に記載の、または当技術分野において公知の任意の有用な標識、例えば、磁気標識、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、または量子ドットでもよい。

【0035】

一局面において、本発明は、前記方法において列挙されたバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む、単離された小胞を提供する。一態様において、小胞は、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む。

【0036】

参照による引用

本明細書中で言及される全ての刊行物、特許、および特許出願は、各個別の刊行物、特許、または特許出願が、参照することにより組み込まれることが具体的かつ個別に示されるのと同程度に、参照することにより本明細書に組み込まれる。 10

【図面の簡単な説明】

【0037】

本発明の新規の特徴を、添付の特許請求の範囲において詳細に示した。本発明の特徴および利点のより良い理解は、本発明の原理が利用されている例示的な態様を示す以下の詳細な説明および添付の図面を参照することによって得られるであろう。

【図1A】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。 20

【図1B】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図1C】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。 30

【図1D】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図1E】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。 40

【図1F】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図1G】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および固有の病状、ならびにこれらの癌、細胞／組織群比較、および固有の病状に固有の抗原を列記する表を表す。さらに、該抗原は、バイオマーカーであり得る。1つ以上のバイオマーカーは、参照に対して変化し得る、例えば、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変 50

異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 2 A】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および特異的な病状、およびこれらの癌、細胞／組織群比較、ならびに特異的な病状に固有の結合物質を列記する表を表す。

【図 2 B】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および特異的な病状、およびこれらの癌、細胞／組織群比較、ならびに特異的な病状に固有の結合物質を列記する表を表す。

【図 2 C】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および特異的な病状、およびこれらの癌、細胞／組織群比較、ならびに特異的な病状に固有の結合物質を列記する表を表す。

【図 2 D】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および特異的な病状、およびこれらの癌、細胞／組織群比較、ならびに特異的な病状に固有の結合物質を列記する表を表す。

【図 2 E】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および特異的な病状、およびこれらの癌、細胞／組織群比較、ならびに特異的な病状に固有の結合物質を列記する表を表す。

【図 2 F】系統別の例示的な癌、細胞／組織の群比較、および特異的な病状、およびこれらの癌、細胞／組織群比較、ならびに特異的な病状に固有の結合物質を列記する表を表す。

【図 3 A】は、乳癌に固有の小胞バイオシグネチャーを作製するために、乳癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な乳癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 3 B】乳癌に固有の小胞バイオシグネチャーを作製するために、乳癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な乳癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 4 A】卵巢癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、卵巢癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な卵巢癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 4 B】卵巢癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、卵巢癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な卵巢癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 5】肺癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、肺癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な肺癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 6 A】結腸癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、結腸癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な結腸癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 6 B】結腸癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、結腸癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な結腸癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 6 C】結腸癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、結腸癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な結腸癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得

10

20

30

40

50

るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 6 D】結腸癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、結腸癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な結腸癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 7-0 1】過形成性ポリープに対して腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、過形成性ポリープに対して腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 7-0 2】過形成性ポリープに対して腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、過形成性ポリープに対して腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 8】正常組織に対して炎症性腸疾患 (IBD) に固有の小胞に由来し、分析され得る、正常組織に対して炎症性腸疾患に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 9 A】結腸直腸癌 (CRC) に対して腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、結腸直腸癌に対して腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 9 B】結腸直腸癌 (CRC) に対して腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、結腸直腸癌に対して腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 1 0】CRC に対して IBD に固有の小胞に由来し、分析され得る、CRC に対して IBD に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 1 1 A】CRC デュークス C-D に対して CRC デュークス B に固有の小胞に由来し、分析され得る、CRC デュークス C-D に対して CRC デュークス B に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 1 1 B】CRC デュークス C-D に対して CRC デュークス B に固有の小胞に由来し、分析され得る、CRC デュークス C-D に対して CRC デュークス B に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 1 1 C】CRC デュークス C-D に対して CRC デュークス B に固有の小胞に由来し、分析され得る、CRC デュークス C-D に対して CRC デュークス B に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 1 2 A】高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図12B】高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図12C】高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

10

【図12D】高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図13A】クローン病(CD)に対して潰瘍性大腸炎(UC)に固有の小胞に由来し、分析され得る、CDに対してUCに固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図13B】クローン病(CD)に対して潰瘍性大腸炎(UC)に固有の小胞に由来し、分析され得る、CDに対してUCに固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

20

【図14】正常組織に対して過形成性ポリープに固有の小胞に由来し、分析され得る、正常組織に対して過形成性ポリープに固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図15】正常組織に対して低度異形成を有する腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、正常組織に対して低度異形成を有する腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

30

【図16】正常組織に対して腺腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、正常組織に対して腺腫に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図17】正常組織に対してCRCに固有の小胞に由来し、分析され得る、正常組織に対してCRCに固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

40

【図18】良性前立腺肥大症に固有の小胞に由来し、分析され得る、良性前立腺肥大症に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図19A】前立腺癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、前立腺癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な前立腺癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

50

【図 19 B】前立腺癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、前立腺癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な前立腺癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 19 C】前立腺癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、前立腺癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な前立腺癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

10

【図 20 A】黒色腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために、黒色腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な黒色腫バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 20 B】黒色腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために、黒色腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な黒色腫バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 20 C】黒色腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために、黒色腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な黒色腫バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

20

【図 21 A】膵臓癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、膵臓癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な膵臓癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 21 B】膵臓癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、膵臓癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な膵臓癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

30

【図 22】脳癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、脳癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、脳癌に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 23 A】乾癬特異的なバイオシグネチャーを作製するために、乾癬に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な乾癬バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 23 B】乾癬特異的なバイオシグネチャーを作製するために、乾癬に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な乾癬バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

40

【図 24 A】心血管疾患特異的なバイオシグネチャーを作製するために、心血管疾患に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な心血管疾患バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図 24 B】心血管疾患特異的なバイオシグネチャーを作製するために、心血管疾患に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な心血管疾患バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは

50

は過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図24C】心血管疾患特異的なバイオシグネチャーを作製するために、心血管疾患に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な心血管疾患バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図25】血液悪性腫瘍特異的なバイオシグネチャーを作製するために、血液悪性腫瘍に固有の小胞に由来し分析され得る、血液悪性腫瘍に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

10

【図26A】B細胞慢性リンパ球性白血病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、B細胞慢性リンパ球性白血病に固有の小胞に由来し、分析され得る、B細胞慢性リンパ球性白血病に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図26B】B細胞慢性リンパ球性白血病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、B細胞慢性リンパ球性白血病に固有の小胞に由来し、分析され得る、B細胞慢性リンパ球性白血病に固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

20

【図27】B細胞リンパ腫、およびB細胞リンパ腫-DLBCLに固有の小胞に由来し、分析され得る、B細胞リンパ腫、およびB細胞リンパ腫-DLBCLに固有の例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図28】B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様、およびB細胞リンパ腫-DLBCL-活性化B細胞様、およびB細胞リンパ腫-DLBCLに固有の小胞に由来し、分析され得る、B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様、およびB細胞リンパ腫-DLBCL-活性化B細胞様、およびB細胞リンパ腫-DLBCLに固有の例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

30

【図29】バーキットリンパ腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために、バーキットリンパ腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的なバーキットリンパ腫バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図30A】肝細胞癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、肝細胞癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な肝細胞癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

40

【図30B】肝細胞癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、肝細胞癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な肝細胞癌バイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図31】子宮頸癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、子宮頸癌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは

50

不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図32】子宮内膜癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、子宮内膜癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、子宮内膜癌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図33A】頭頸部癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、頭頸部癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、頭頸部癌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

10

【図33B】頭頸部癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、頭頸部癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、頭頸部癌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図34】炎症性腸疾患（IBD）特異的なバイオシグネチャーを作製するために、IBDに固有の小胞に由来し、分析され得る、IBDに対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

20

【図35】糖尿病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、糖尿病に固有の小胞に由来し、分析され得る、糖尿病に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図36】バレット食道特異的なバイオシグネチャーを作製するために、バレット食道に固有の小胞に由来し、分析され得る、バレット食道に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

30

【図37】線維筋痛症に固有の小胞に由来し、分析され得る、線維筋痛症に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図38】脳卒中特異的なバイオシグネチャーを作製するために、脳卒中に固有の小胞に由来し、分析され得る、脳卒中に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

40

【図39】多発性硬化症（MS）特異的なバイオシグネチャーを作製するために、MSに固有の小胞に由来し、分析され得る、MSに対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図40A】図40A～40Bは、パーキンソン病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、パーキンソン病に固有の小胞に由来し、分析され得る、パーキンソン病に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的

50

修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図4 1】リウマチ性疾患特異的なバイオシグネチャーを作製するために、リウマチ性疾患に固有の小胞に由来し、分析され得る、リウマチ性疾患に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図4 2 A】アルツハイマー病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、アルツハイマー病に固有の小胞に由来し、分析され得る、アルツハイマー病に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

10

【図4 2 B】アルツハイマー病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、アルツハイマー病に固有の小胞に由来し、分析され得る、アルツハイマー病に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図4 3】プリオン病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、プリオン病に固有の小胞に由来し、分析され得る、プリオン病に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

20

【図4 4】敗血症特異的なバイオシグネチャーを作製するために、敗血症に固有の小胞に由来し、分析され得る、敗血症に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図4 5】慢性神経因性疼痛に固有の小胞に由来し、分析され得る、慢性神経因性疼痛に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

30

【図4 6】末梢神経因性疼痛に固有の小胞に由来し、分析され得る、末梢神経因性疼痛に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図4 7】統合失調症特異的なバイオシグネチャーを作製するために、統合失調症に固有の小胞に由来し、分析され得る、統合失調症に対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図4 8】双極性障害特異的なバイオシグネチャーを作製するために、双極性障害に固有の小胞に由来し、分析され得る、双極性障害または疾患に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

40

【図4 9】うつ病特異的なバイオシグネチャーを作製するために、うつ病に固有の小胞に由来し、分析され得る、うつ病に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 0】消化管間質腫瘍（GIST）特異的なバイオシグネチャーを作製するために、GIST

50

に固有の小胞に由来し、分析され得る、GISTに対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 1 A】腎細胞癌（RCC）特異的なバイオシグネチャーを作製するために、RCCに固有の小胞に由来し、分析され得る、RCCに対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 1 B】腎細胞癌（RCC）特異的なバイオシグネチャーを作製するために、RCCに固有の小胞に由来し、分析され得る、RCCに対して例示的なバイオマーカーを列記する表を表す。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 2】肝硬変特異的なバイオシグネチャーを作製するために、肝硬変に固有の小胞に由来し、分析され得る、肝硬変に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 3】食道癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、食道癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、食道癌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 4】胃癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、胃癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、胃癌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 5 - 0 1】自閉症特異的なバイオシグネチャーを作製するために、自閉症に固有の小胞に由来し、分析され得る、自閉症に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 5 - 0 2】自閉症特異的なバイオシグネチャーを作製するために、自閉症に固有の小胞に由来し、分析され得る、自閉症に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 6】臓器拒絶反応特異的なバイオシグネチャーを作製するために、臓器拒絶反応に固有の小胞に由来し、分析され得る、臓器拒絶反応に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 7】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオシグネチャーを作製するために、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に固有の小胞に由来し、分析され得る、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に対して例示的なバイオマーカーを列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図5 8】不安定プラーク特異的なバイオシグネチャーを作製するために、不安定プラークに固有の小胞に由来し、分析され得る、不安定プラークに対して例示的なバイオマーカー

10

20

30

40

50

一を列記する表である。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59A】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59B】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59C】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59D】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59E】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59F】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59G】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図59H】小胞に由来し得るか、または分析され得る、例示的な遺伝子融合を列記する表である。遺伝子融合は、バイオマーカーであり得、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

【図60A】遺伝子およびそれらの関連miRNAの表であり、これらのうち、遺伝子のmRNA等の遺伝子、それらの関連miRNA、またはその任意の組み合わせは、小胞から分析され得る1つ以上のバイオマーカーとして使用され得る。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または修飾をされ得る。

【図60B】遺伝子およびそれらの関連miRNAの表であり、これらのうち、遺伝子のmRNA等の遺伝子、それらの関連miRNA、またはその任意の組み合わせは、小胞から分析され得る1つ以上のバイオマーカーとして使用され得る。さらに、1つ以上のバイオマーカーは、存在もしくは不在し得るか、過小発現もしくは過剰発現し得るか、変異し得るか、または修飾をされ得る。

【図61A】核酸を含むバイオシグネチャーを同定して表現型を特徴決定する方法を示す。

【図61B】小胞または小胞集団のバイオシグネチャーを同定して表現型を特徴決定する方法を示す。

【図62】小胞のバイオマーカーとして使用することができる、小胞表面のタンパク質の

10

20

30

40

50

スクリーニングから得られた結果を示す。タンパク質に対する抗体を結合物質として使用することができる。小胞のバイオマーカーとして同定されるタンパク質の例は、Bcl-XL、ERCC1、ケラチン15、CD81/TAPA-1、CD9、上皮特異的抗原（ESA）およびマスト細胞キマーゼを含む。バイオマーカーは、小胞の中または表面に存在していても存在していなくてもよく、過小発現または過剰発現していてもよく、突然変異されていて、修飾されていてもよく、かつ、病態を特徴決定するために使用されることができる。

【図63A】小胞バイオシグネチャーを評価することによって表現型を特徴決定する方法を示す。そのタンパク質を発現する小胞を捕捉する捕捉抗体でコーティングされた平坦な基体の略図である。捕捉抗体は、患部細胞に由来する小胞（「疾患小胞」）に特異的であるかまたは特異的ではない小胞タンパク質に対する捕捉抗体である。検出抗体は、捕捉された小胞に結合し、蛍光シグナルを提供する。検出抗体は、一般に小胞に関連しているかまたは起始細胞もしくは疾患、たとえば癌に関連している、抗原を検出することができる。

10

【図63B】小胞バイオシグネチャーを評価することによって表現型を特徴決定する方法を示す。そのタンパク質を発現する小胞を捕捉する、捕捉抗体でコーティングされたビーズの略図である。捕捉抗体は、患部細胞に由来する小胞（「疾患小胞」）に特異的であるかまたは特異的ではない小胞タンパク質に対する捕捉抗体である。検出抗体は、捕捉された小胞に結合し、蛍光シグナルを提供する。検出抗体は、一般に小胞に関連しているかまたは起始細胞もしくは疾患、たとえば癌に関連している、抗原を検出することができる。

【図63C】小胞バイオシグネチャーを評価することによって表現型を特徴決定する方法を示す。図64Bに示すようにビーズを使用する多重化によって実施することができるスクリーニングスキームの例である。

20

【図63D】小胞バイオシグネチャーを評価することによって表現型を特徴決定する方法を示す。小胞を捕捉し、検出して表現型を特徴決定するための例示的スキームを示す。

【図63E】小胞バイオシグネチャーを評価することによって表現型を特徴決定する方法を示す。小胞ペイロードを評価して表現型を特徴決定するための例示的スキームを示す。

【図64】タンパク質の発現パターンの略図である。異なるタンパク質は、典型的には、小胞シェル上に満遍なくまたは均一に分散しない。小胞に固有のタンパク質が典型的によりありふれている一方で、癌に固有のタンパク質は、それほどありふれてはいない。小胞の捕捉は、よりありふれた、あまり癌に特異的ではないタンパク質と、検出工程に使用される癌に固有のタンパク質とを用いてさらに容易に達成され得る。

30

【図65】本発明のいくつかの例示的態様において使用することができるコンピュータシステムを示す。

【図66A】VCaP小胞と共にインキュベートされたEpCam結合ビーズの走査型電子顕微鏡写真（SEM）を示す。

【図66B】VCaP小胞と共にインキュベートされたEpCam結合ビーズの走査型電子顕微鏡写真（SEM）を示す。

【図67A】対象からの小胞を検出するビーズベースの方法を用いた結果を示す方法を示す。個々の患者に関する、図63Bに示されるスクリーニングスキームを用いたビーズ計数およびシグナル強度のグラフであり、患者当たりの、各捕捉／検出の組み合わせアッセイに対して、約100個の捕捉ビーズを使用する。所与の患者について、出力は、シグナルの強度に対して検出されたビーズ数を示す。所与の強度で捕捉されたビーズ数は、小胞が、その強度において、どのような頻度で検出タンパク質を発現するかを示す1つの指標である。所与のビーズに対してシグナルが強くなるほど、検出タンパク質の発現が多くなる。

40

【図67B】対象からの小胞を検出するビーズベースの方法を用いた結果を示す方法を示す。正常な患者を1本の曲線に、癌患者を別の曲線に組み合わせて、生物統計学分析を用いて、曲線を微分することによって得られた標準化されたグラフである。検出器によって読み取られたビーズ数の変動を考慮するために、各個人からのデータを標準化し、合算し、次いで、各集団中の異なる試料数を考慮するために、再度標準化する。

【図68A】前立腺癌のバイオシグネチャーを示す。ミクロスフェアプラットフォームを

50

用いて、多重化実験から収集した強度値のヒストグラムであり、ビーズは、CD63抗体を用いて機能的にし、患者の血漿から精製した小胞と共にインキュベートし、次いで、フィコエリトリン（PE）結合EpCam抗体で標識した。濃い影付きの棒（青色）は、12人の正常対象からの集団を表し、薄い影付きの棒（緑色）は、7人の第3期の前立腺癌患者である。

【図 6 8 B】前立腺癌のバイオシグネチャーを示す。図67に記載される、図68Aのそれぞれのヒストグラムの標準化グラフである。分布は、前立腺癌患者の試料と正常試料の両方における図68Aのミクロスフェアの結果からの強度値にフィットするガウス関数である。

【図 6 8 C】前立腺癌のバイオシグネチャーを示す。図68Bに示される前立腺癌バイオシグネチャーである、CD63対CD63のバイオシグネチャー（上のグラフ）のうちの一例であり、CD63は、検出体および捕捉抗体として使用される。下の3つのパネルは、3つの前立腺癌細胞株（VCaP、LNCap、および22RV1）におけるフローサイトメトリーの結果を示す。横線より上の点は、B7H3を含むCD63を用いて小胞を捕捉したビーズを示す。縦線の右側にあるビーズは、PSMAを有するCD63を用いて小胞を捕捉しているビーズを示す。線よりも上で右側にあるこれらのビーズは全て、3つの抗原を有する。CD63は、小胞に付随する表面タンパク質であり、PSMAは、前立腺細胞に付随する表面タンパク質であり、B7H3は、侵襲性の強い癌（具体的には、前立腺、卵巣、および非小細胞肺）に付随する表面タンパク質である。全ての3つの抗原を一緒にした組み合わせは、前立腺癌細胞からの小胞を同定する。前立腺癌小胞を発現するCD63の大部分はまた、前立腺に固有の膜抗原、PSMA、およびB7H3（腫瘍細胞移動および浸潤の制御、ならびに侵襲性の強い癌および臨床結果の指標に参与する）も有する。

【図 6 8 D】前立腺癌のバイオシグネチャーを示す。前立腺癌小胞のトポグラフィーである。上のパネルは、種々の組み合わせにおける、CD63、CD9、およびCD81で捕捉し、これらで標識した結果を示す。ほとんど全ての点は、右上の象限内にあり、これらの3つのマーカーが高度に結合していることを示す。下列は、細胞株小胞をB7H3で捕捉し、CD63およびPSMAで標識した結果を示す。VCaPおよび22RV1は共に、B7H3を用いて捕捉したほとんどの小胞がCD63も有すること、およびPSMAを有するものと有さないものの2つの集団があることを示す。多量のB7H3を含む小胞をLNCapが有さない（CD63を有するスポットが多くない）ため、B7H3の存在は、この癌がいかに侵襲性の強いものであるかを示す1つの指標となり得る。LNCapは、初期段階の前立腺癌類似細胞株である。

【図 6 9 A】結腸癌のバイオシグネチャーを示す。ミクロスフェアプラットフォームを用いて、種々の多重化実験から収集した強度値のヒストグラムを示し、ビーズは、捕捉抗体を用いて機能的にし、患者の血漿から精製した小胞と共にインキュベートし、次いで、検出抗体で標識した。濃い影付きの棒（青色）は、正常者からの集団であり、薄い影付きの棒（緑色）は、結腸癌患者からのものである。

【図 6 9 B】結腸癌のバイオシグネチャーを示す。（A）に示されるヒストグラムのそれぞれに対する標準化グラフを示す。

【図 6 9 C】結腸癌のバイオシグネチャーを示す。多重実験から収集した強度値のヒストグラムを示し、ビーズは、CD66抗体（捕捉抗体）を用いて機能的にし、患者の血漿から精製した小胞を用いてインキュベートし、次いで、PE結合EpCam抗体（検出抗体）で標識した。赤色の集団は、6人の正常者からのものであり、緑色は、21人の結腸癌患者からのものである。各個人からのデータを標準化して、検出されたビーズ数の変動を考慮し、合算し、次いで、再度標準化して、各集団中の異なる試料数を考慮した。

【図 7 0 A】多重検出体が、シグナルを増加させることができることを示す。強度中央値は、種々の前立腺に特異的なPE結合抗体で標識した際の、VCaP細胞株からの精製された濃度の関数としてプロットされる。EpCam（左のグラフ）またはPCSA（右のグラフ）で捕捉された小胞および検出抗体によって検出された種々のタンパク質を、それぞれのグラフの右に列記する。両方の場合において、CD9とCD63の組み合わせは、バックグラウンドに対してシグナルの最大の増加を得る（下のグラフは、増加パーセントを示す）。CD9とCD63の組み合わせは、バックグラウンドに対して約200%のパーセントの増加をもたらした。

【図 7 0 B】多重検出体が、シグナルを増加させることができることを示す。前立腺癌／

10

20

30

40

50

前立腺小胞に固有のマーカーの多重化は、前立腺癌細胞に由来する小胞の検出を改善することをさらに示す。強度中央値は、種々の前立腺に固有のPE結合抗体で標識した際の、VCaP細胞株からの精製された濃度の関数としてプロットされる。PCSAで捕捉された小胞（左）およびEpCam（右）で捕捉された小胞を示す。両方の場合において、B7H3とPSMAの組み合わせは、バックグラウンドに対してシグナルの最大の増加を得る。

【図7 1 A】CD63検出体およびCD63捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。CD63でコーティングしたビーズで捕捉し、CD63結合PEで標識した小胞からの強度のヒストグラム。対照群に6人がいる。

【図7 1 B】CD63検出体およびCD63捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。CD63でコーティングしたビーズで捕捉し、CD63結合PEで標識した小胞からの強度のヒストグラム。第I期に4人の患者がいる。

【図7 1 C】CD63検出体およびCD63捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。CD63でコーティングしたビーズで捕捉し、CD63結合PEで標識した小胞からの強度のヒストグラム。第II期に5人の患者がいる。

【図7 1 D】CD63検出体およびCD63捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。CD63でコーティングしたビーズで捕捉し、CD63結合PEで標識した小胞からの強度のヒストグラム。第III期に8人の患者がいる。

【図7 1 E】CD63検出体およびCD63捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。CD63でコーティングしたビーズで捕捉し、CD63結合PEで標識した小胞からの強度のヒストグラム。第IV期に4人の患者がいる。

【図7 1 F】CD63検出体およびCD63捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。検出されたビーズ数の変動を考慮するために、各個人からのデータを標準化し、合算し、次いで、各集団中の異なる試料数を考慮するために、再度標準化した。

【図7 2 A】EpCam検出体およびCD9捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。強度のヒストグラムは、CD9でコーティングしたビーズで捕捉し、EpCamで標識した小胞からのものである。対照群がいる。

【図7 2 B】EpCam検出体およびCD9捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。強度のヒストグラムは、CD9でコーティングしたビーズで捕捉し、EpCamで標識した小胞からのものである。第I期の患者がいる。

【図7 2 C】EpCam検出体およびCD9捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。強度のヒストグラムは、CD9でコーティングしたビーズで捕捉し、EpCamで標識した小胞からのものである。第II期の患者がいる。

【図7 2 D】EpCam検出体およびCD9捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。強度のヒストグラムは、CD9でコーティングしたビーズで捕捉し、EpCamで標識した小胞からのものである。第III期の患者がいる。

【図7 2 E】EpCam検出体およびCD9捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。強度のヒストグラムは、CD9でコーティングしたビーズで捕捉し、EpCamで標識した小胞からのものである。第IV期の患者がいる。

【図7 2 F】EpCam検出体およびCD9捕捉を用いた、病期別の結腸癌における、結腸癌のバイオシグネチャーを示す。強度のヒストグラムは、CD9でコーティングしたビーズで捕捉し、EpCamで標識した小胞からのものである。検出されたビーズ数の変動を考慮するために、各個人からのデータを標準化し、合算し、次いで、各集団中の異なる試料数を考慮するために、再度標準化した。

【図7 3 A】検出体および捕捉抗体として列記される、列記したタンパク質に対する抗体を用いた前立腺癌の検出の感度および特異度、ならびに信頼度のレベルを示す。CD63、CD9、およびCD81は、一般的マーカーであり、EpCamは、癌マーカーである。

【図7 3 B】EpCam対CD63について、99%の信頼度で、100% (n=8) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、77% (n=10) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異なることを示す。

10

20

30

40

50

【図 7 3 C】CD81対CD63について、99%の信頼度で、90% (n=5) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、77% (n=10) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 3 D】CD63対CD63について、99%の信頼度で、60% (n=5) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、80% (n=10) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 3 E】CD9対CD63について、99%の信頼度で、90% (n=5) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、77% (n=10) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 4 A】検出体および捕捉抗体として列記される、列記したタンパク質に対する抗体を用いて、結腸癌を検出するために、感度および信頼度のレベルを示す。CD63、CD9は、一般的マーカーであり、EpCamは、癌マーカーであり、CD66は、結腸マーカーである。

【図 7 4 B】EpCam対CD63について、99%の信頼度で、95% (n=2) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、100% (n=6) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 4 C】EpCam対CD9について、99%の信頼度で、90% (n=20) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、77% (n=6) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 4 D】CD63対CD63について、99%の信頼度で、60% (n=20) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、80% (n=6) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 4 E】CD9対CD63について、99%の信頼度で、90% (n=20) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、77% (n=6) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 4 F】CD66対CD9について、99%の信頼度で、90% (n=20) の癌患者の試料は、一般化正規分布とは異なり、99%の信頼度で、77% (n=6) の正常患者の試料は、一般化正規分布とは異ならないことを示す。

【図 7 5 A】TMPRSS2-ERGの発現を評価することによってEpCamを有する血漿からの前立腺癌細胞由来の小胞の捕捉を示す。段階的な量のVCAP精製した小胞を正常な血漿に添加した。EPCAM抗体あるいはそのアイソタイプ対照のいずれかを有するDynaI ビーズを用いて、小胞を単離した。小胞からのRNAを単離し、TMPRSS2:ERGの融合転写物の発現をqRT-PCRを用いて測定した。

【図 7 5 B】TMPRSS2-ERGの発現を評価することによってEpCamを有する血漿からの前立腺癌細胞由来の小胞の捕捉を示す。VCaP精製した小胞を正常な血漿に添加し、次いで、EpCamあるいはそのアイソタイプ対照抗体のいずれかでコーティングされたDynaI 磁気ビーズと共にインキュベートした。DynaI ビーズからRNAを直接単離した。各試料からの等量のRNAをRT-PCR、続いて、Taqmanアッセイに使用した。

【図 7 5 C】TMPRSS2-ERGの発現を評価することによってEpCamを有する血漿からの前立腺癌細胞由来の小胞の捕捉を示す。EpCamとIgG2アイソタイプ陰性対照ビーズで捕捉した22RV1小胞間のSPINK1およびGAPDH転写物のサイクル閾値 (CT) の差異。CT値が高いほど、転写物の発現が低いことを示す。

【図 7 6 A】上位10種類の、VCaP前立腺癌細胞由来小胞と正常血漿小胞との間で異なって発現したマイクロRNAを示す。VCaP細胞株小胞および正常血漿からの小胞は、超遠心分離法によって単離し、次いで、RNA単離した。qRT-PCR分析を用いて、マイクロRNAをプロファイルした。前立腺癌細胞株由来の小胞は、棒グラフに示されるように、示されたマイクロRNAのより高いレベル (より低いCT値) を有する。

【図 7 7】CD9ビーズ捕捉したmiR-21発現の棒グラフを示す。前立腺癌患者からの1mlの血漿、250ng/mlのLNCaP、または正常な精製小胞を、CD9でコーティングしたDynaI ビーズと共にインキュベートした。ビーズおよびビーズの上清からRNAを単離した。また、1例の試料 (#6) は、比較のために捕捉しなかった。MiR-21発現をqRT-PCRで測定し、各試料のCT

10

20

30

40

50

の平均値を比較した。CD9捕捉は、前立腺癌試料中のmiR-21の検出を改善する。

【図 7 8】CD9ビーズ捕捉したmiR-141発現の棒グラフを示す。実験は図77のように行い、miR-21の代わりに、miR-141発現を、qRT-PCRで測定した。

【図 7 9】MWC0100kDaの500 μ lカラム (Millipore, Billerica, MA) (A、E)、MWC0150kDaの7mlカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) (B、F)、MWC0100kDaの15mlカラム (Millipore, Billerica, MA) (C、G) またはMWC0150kDaの20mlカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) (D、H) を使用して試料 (#126) から単離された小胞に関する、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質によるバイオマーカーCD9、CD81およびCD63 (A~D) またはB7H3およびEpCam (E~H) の検出を示すグラフを表す。

10

【図 8 0】MWC0100kDaの500 μ lカラム (Millipore, Billerica, MA) (A、E)、MWC0150kDaの7mlカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) (B、F)、MWC0100kDaの15mlカラム (Millipore, Billerica, MA) (C、G) またはMWC0150kDaの20mlカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) (D、H) を使用して試料 (#342) から単離された小胞に関する、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質によるバイオマーカーCD9、CD81およびCD63 (A~D) またはB7H3およびEpCam (E~H) の検出を示すグラフを表す。

20

【図 8 1】MWC0150kDaの7mlカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) (A、D)、MWC0100kDaの15mlカラム (Millipore, Billerica, MA) (B、E) またはMWC0150kDaの20mlカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) (C、F) を使用した、試料 (#126) (A~C) 対 別の試料 (#117) (D~F) からの、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質による、小胞のバイオマーカーCD9、CD81およびCD63の検出を示すグラフを表す。

【図 8 2】A) CD9、B) PCSA、C) PSMA、およびD) EpCamの捕捉物質によるバイオマーカーCD9、CD63およびCD81の検出を示すグラフを表す。小胞を対照試料 (健康な試料) および前立腺癌試料、すなわちII期前立腺癌 (PCa) 試料から単離した。小胞の超遠心分離単離に比べて、カラムベースの単離ろ過法を使用した場合、PCaと対照との間の分離が改善されている。

【図 8 3】超遠心分離法を使用した場合と、100kDa分子量カットオフ (MWC0) の500 μ lカラム (Millipore, Billerica, MA) を使用するフィルタベースの方法を使用した場合とで、患者試料 (#126) から単離された小胞の様々なバイオマーカーの検出レベルの比較を示す。グラフは、A) 超遠心分離精製試料、B) Microcon試料、C) 超遠心分離精製試料および10ug Vcap、およびD) 10ug VcapとのMicrocon試料を示す。使用した捕捉物質はCD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamであり、CD9、CD81およびCD63が検出される。

30

【図 8 4】超遠心分離法を使用した場合と、MWC0100kDaの500 μ lカラム (Millipore, Billerica, MA) を使用するフィルタベースの方法を使用した場合とで、患者試料 (#342) から単離された小胞の様々なバイオマーカーの検出レベルの比較を示す。グラフは、A) 超遠心分離精製試料、B) Microcon試料、C) 超遠心分離精製試料および10ug Vcap、およびD) 10ug VcapとのMicrocon試料を示す。使用した捕捉物質はCD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamであり、CD9、CD81およびCD63が検出される。

40

【図 8 5】MoFlo XDPを使用する小胞の分離および同定を示す。

【図 8 6 A】血漿中の小胞のフローソーティングを示す図であり、前立腺癌患者の血漿中のPCSA陽性小胞の検出およびソーティングを示す。

【図 8 6 B】血漿中の小胞のフローソーティングを示す図であり、正常および前立腺癌患者の血漿中のCD45陽性小胞の検出およびソーティングを示す。

【図 8 6 C】血漿中の小胞のフローソーティングを示す図であり、正常および乳癌患者の血漿中のCD45陽性小胞の検出およびソーティングを示す。

【図 8 6 D】血漿中の小胞のフローソーティングを示す図であり、正常および前立腺癌患者の血漿中のDLL4陽性小胞の検出およびソーティングを示す。

【図 8 7 A】小球プラットフォームを使用して所望の小胞の存在またはレベルが評価され

50

る、試料中の小胞の検出の略図を表し、カラムベースのろ過法を使用して血漿から小胞を単離したのち、単離した小胞を、小球プラットフォームを使用して評価する略図を表す。

【図 8 7 B】小球プラットフォームを使用して所望の小胞の存在またはレベルが評価される、試料中の小胞の検出の略図を表し、超遠心分離法のような高速遠心分離法による小胞の膜の圧縮の略図を示す。

【図 8 7 C】小球プラットフォームを使用して所望の小胞の存在またはレベルが評価される、試料中の小胞の検出の略図を表し、レーザー検出を使用する、小球に結合した小胞の検出の略図を表す。

【図 8 8 A】正常な前立腺試料とPCa試料とを識別する小胞バイオシグネチャーの能力を示す。癌マーカーはEpCamおよびB7H3を含むものであった。一般的小胞マーカーはCD9、CD81およびCD63を含むものであった。前立腺特異的マーカーはPCSAを含むものであった。試験は、正常な試料に対し、PCa試料に関して感度98%および特異度95%であることがわかった。 10

【図 8 8 B】正常および前立腺癌患者における、図88Aの小胞マーカーの平均蛍光強度 (MFI) をY軸上に示す。

【図 8 9 A】従来のPCa試験に対する本発明の小胞アッセイの改善された感度を示す。

【図 8 9 B】従来のPCa試験に対する本発明の小胞アッセイの改善された特異度を示す。

【図 9 0】CD63を使用する、正常およびPCa試料からのBPH試料の識別を示す。

【図 9 1】正常な前立腺試料とPCa試料とを識別する小胞バイオシグネチャーの能力を示す。癌マーカーはEpCamおよびB7H3を含むものであった。一般的小胞マーカーはCD9、CD81およびCD63を含むものであった。前立腺特異的マーカーはPCSAを含むものであった。試験は、正常およびBPH試料に対し、PCa試料に関して感度98%および特異度84%であることがわかった。 20

【図 9 2】BPH試料が含まれる場合でさえ従来の試験に対して改善された、PCaに関する本発明の小胞アッセイの特異度を示す。

【図 9 3】従来の試験に対する本発明の小胞アッセイのROC曲線分析を示す。

【図 9 4】一般的小胞 (たとえば小胞「MV」) レベル、前立腺特異的MVのレベルおよび癌マーカーを有するMVの間の相関を示す。

【図 9 5】PCa試料と正常試料とを区別する小胞マーカーを示す。

【図 9 6 A】試料が前立腺癌に関して陽性であるかどうかを判定するための決定木(B)、(C)、(D)につながる小胞前立腺癌アッセイの略図である。 30

【図 9 6 B】試料が前立腺癌に関して陽性であるかどうかを判定するための決定木である。

【図 9 6 C】試料が前立腺癌に関して陽性であるかどうかを判定するための決定木である。

【図 9 6 D】試料が前立腺癌に関して陽性であるかどうかを判定するための決定木である。

【図 9 7 A】上昇したPSAレベルを使用する検出に対する、決定木に従う前立腺癌の小胞検出アッセイの結果を示す。

【図 9 7 B】933例のPCaおよび非PCa患者試料のコホートに対する、決定木に従う前立腺癌の小胞検出アッセイの結果を示す。 40

【図 9 7 C】図97Bに示すデータに対応するROC曲線を示す。

【図 9 8 A】前立腺癌の小胞バイオマーカーのMFI閾値を設定するためのクラスタ分析の使用を示し、149例の試料に関する生および対数変換データを示す。生データは左のカラムにプロットされ、変換データは右のカラムにプロットされている。

【図 9 8 B】前立腺癌の小胞バイオマーカーのMFI閾値を設定するためのクラスタ分析の使用を示し、対数変換データを入力として使用する、PSMA対B7H3のクラスタ分析を示す。円 (正常) および× (癌) が、見いだされた二つのクラスタを示す。白抜きの大きな円は、クラスタの中心として使用された点を示す。青い線は、各パラメータに選択されたカットオフを示す。 50

【図 9 8 C】前立腺癌の小胞バイオマーカーのMFI閾値を設定するためのクラスタ分析の使用を示し、対数変換データを入力として使用する、PCSA対B7H3のクラスタ分析を示す。円（正常）および×（癌）が、見いだされた二つのクラスタを示す。白抜きの大きな円は、クラスタの中心として使用された点を示す。青い線は、各パラメータに選択されたカットオフを示す。

【図 9 8 D】前立腺癌の小胞バイオマーカーのMFI閾値を設定するためのクラスタ分析の使用を示し、対数変換データを入力として使用する、PSMA対PCSAのクラスタ分析を示す。円および×が、見いだされた二つのクラスタを示す。白抜きの大きな赤い円は、クラスタの中心として使用された点を示す。青い線は、各パラメータに選択されたカットオフを示す。

【図 9 8 E】前立腺癌の小胞バイオマーカーのMFI閾値を設定するためのクラスタ分析の使用を示す。図98B～Dにおいて決定した閾値を、313例の試料を含むより大きなデータのセットに適用すると、92.8%の感度および78.7%の特異度が得られた。

【図 9 9】前立腺癌（癌）および正常（正常）試料中の小胞を評価するための平均蛍光強度（MFI）をy軸上に示す。左から右にCD9、PSMA、PCSA、CD63、CD81、B7H3、IL-6、OPG-13（OPGとも呼ばれる）、IL6R、PA2G4、EZH2、RUNX2、SERPINB3およびEpCamを含む小胞タンパク質バイオマーカーがx軸上に示されている。

【図 1 0 0】抗体アレイを使用する、BPH対III期PCaの区別を示す。

【図 1 0 1】対照およびPCa試料から単離された小胞中のmiR-145のレベルを示す。

【図 1 0 2】図102A～102Bは、X軸上に示す、対照（非PCa）および前立腺癌試料から単離された小胞中のmiR-107（図102A）およびmiR-574-3p（図102B）のレベルを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。プロットの下方にP値が示されている。Y軸は、検出されたmiRのコピー数を示す。図102Bにおいて、試料の偏差の範囲の十分に外にあるコピー数を有する各試料群からの二例の異常値試料を分析から除外した。

【図 1 0 3 A】転移性（M1）および非転移性（M0）前立腺癌試料から単離された小胞中のmiR-141のレベルを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。

【図 1 0 3 B】転移性（M1）および非転移性（M0）前立腺癌試料から単離された小胞中のmiR-375のレベルを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。

【図 1 0 3 C】転移性（M1）および非転移性（M0）前立腺癌試料から単離された小胞中のmiR-200bのレベルを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。

【図 1 0 3 D】転移性（M1）および非転移性（M0）前立腺癌試料から単離された小胞中のmiR-574-3pのレベルを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。

【図 1 0 4 A】前立腺癌に対する小胞ベースの診断アッセイから偽陰性を同定するためのmiR-107およびmiR-141の使用を示し、小胞内のmiR分析を使用して偽陰性を真陽性に変換して、それによって感度を改善するスキームを示す。

【図 1 0 4 B】前立腺癌に対する小胞ベースの診断アッセイから偽陰性を同定するためのmiR-107およびmiR-141の使用を示し、小胞内のmiR分析を使用して偽陽性を真陰性に変換して、それによって特異度を改善するスキームを示す。

【図 1 0 4 C】小胞診断アッセイによって判定された真陽性（TP）、小胞診断アッセイによって判定された真陰性（TN）、小胞診断アッセイによって判定された偽陽性（FP）および小胞診断アッセイによって判定された偽陰性（FN）の場合のmiR-107の標準化レベルがY軸上に示されている。

【図 1 0 4 D】小胞診断アッセイによって判定された真陽性（TP）、小胞診断アッセイによって判定された真陰性（TN）、小胞診断アッセイによって判定された偽陽性（FP）および小胞診断アッセイによって判定された偽陰性（FN）の場合のmiR-141の標準化レベルがY

10

20

30

40

50

軸上に示されている。

【図105A】PCa有する、または有しない、PSA 4.0ng/ml以上または4.0ng/ml未満の患者におけるhsa-miR-432の上昇のボックスプロットを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。Taqmanアッセイによって検出されたmiRのレベルがY軸上に表示されている。X軸は四つの試料群を示す。左から右に、「Control, no」はPSA 4.0以上の対照患者であり、「Control, yes」はPSA 4.0未満の対照患者であり、「Diseased, no」はPSA 4.0以上の前立腺癌患者であり、「Diseased, yes」はPSA 4.0未満の前立腺癌患者である。

【図105B】PCa有する、または有しない、PSA 4.0ng/ml以上または4.0ng/ml未満の患者におけるhsa-miR-143の上昇のボックスプロットを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。Taqmanアッセイによって検出されたmiRのレベルがY軸上に表示されている。X軸は四つの試料群を示す。左から右に、「Control, no」はPSA 4.0以上の対照患者であり、「Control, yes」はPSA 4.0未満の対照患者であり、「Diseased, no」はPSA 4.0以上の前立腺癌患者であり、「Diseased, yes」はPSA 4.0未満の前立腺癌患者である。

【図105C】PCa有する、または有しない、PSA 4.0ng/ml以上または4.0ng/ml未満の患者におけるhsa-miR-424の上昇のボックスプロットを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。Taqmanアッセイによって検出されたmiRのレベルがY軸上に表示されている。X軸は四つの試料群を示す。左から右に、「Control, no」はPSA 4.0以上の対照患者であり、「Control, yes」はPSA 4.0未満の対照患者であり、「Diseased, no」はPSA 4.0以上の前立腺癌患者であり、「Diseased, yes」はPSA 4.0未満の前立腺癌患者である。

【図105D】PCa有する、または有しない、PSA 4.0ng/ml以上または4.0ng/ml未満の患者におけるhsa-miR-204の上昇のボックスプロットを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。Taqmanアッセイによって検出されたmiRのレベルがY軸上に表示されている。X軸は四つの試料群を示す。左から右に、「Control, no」はPSA 4.0以上の対照患者であり、「Control, yes」はPSA 4.0未満の対照患者であり、「Diseased, no」はPSA 4.0以上の前立腺癌患者であり、「Diseased, yes」はPSA 4.0未満の前立腺癌患者である。

【図105E】PCa有する、または有しない、PSA 4.0ng/ml以上または4.0ng/ml未満の患者におけるhsa-miR-581fの上昇のボックスプロットを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。Taqmanアッセイによって検出されたmiRのレベルがY軸上に表示されている。X軸は四つの試料群を示す。左から右に、「Control, no」はPSA 4.0以上の対照患者であり、「Control, yes」はPSA 4.0未満の対照患者であり、「Diseased, no」はPSA 4.0以上の前立腺癌患者であり、「Diseased, yes」はPSA 4.0未満の前立腺癌患者である。

【図105F】PCa有する、または有しない、PSA 4.0ng/ml以上または4.0ng/ml未満の患者におけるhsa-miR-451の上昇のボックスプロットを示す。miRは、Taqmanアッセイを使用して、単離された小胞中に検出されたものである。Taqmanアッセイによって検出されたmiRのレベルがY軸上に表示されている。X軸は四つの試料群を示す。左から右に、「Control, no」はPSA 4.0以上の対照患者であり、「Control, yes」はPSA 4.0未満の対照患者であり、「Diseased, no」はPSA 4.0以上の前立腺癌患者であり、「Diseased, yes」はPSA 4.0未満の前立腺癌患者である。

【図106】前立腺癌（PCa）および対照からの血漿試料から単離された小胞中のマイクロRNAであるmiR-29aおよびmiR-145のレベルを示す。

【図107】マイクロビーズアッセイのプレートレイアウトを示す。

【図108A】正常な試料に対して結腸直腸癌（CRC）試料を区別する小胞を捕捉するために使用される様々な捕捉抗体の能力を示し、抗体アレイによって計測された、正常に対するCRC小胞試料中の捕捉抗体抗原（X軸）の変化倍率（Y軸）を示す。

【図108B】正常な試料に対して結腸直腸癌（CRC）試料を区別する小胞を捕捉するた

10

20

30

40

50

めに使用される様々な捕捉抗体の能力を示し、凡例によって示すようにY軸がCRCおよび正常試料における蛍光強度中央値（MFI）を表すことを除き、類似している。

【図108C】正常な試料に対して結腸直腸癌（CRC）試料を区別する小胞を捕捉するために使用される様々な捕捉抗体の能力を示し、さらなる試料セットに対して実施された、図108Bに類似したものである。

【図108D】正常な試料に対して結腸直腸癌（CRC）試料を区別する小胞を捕捉するために使用される様々な捕捉抗体の能力を示し、CD24を結腸マーカーとして使用し、TROP2を癌マーカーとして使用し、テトラスパニン、CD9、CD63およびCD81を一般的小胞マーカーとして使用した分析を示す。

【図109A】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、バイオマーカーTMEM211を用いた本発明の小胞アッセイのROC曲線分析を示す。

【図109B】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、バイオマーカーCD24を用いた本発明の小胞アッセイのROC曲線分析を示す。

【図109C】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、正常、結腸直腸癌（CRC）対象および交絡因子に関する本発明の小胞アッセイの分析を示す。

【図109D】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、正常、結腸直腸癌（CRC）対象および交絡因子に関する、バイオマーカーTMEM211を使用したフォローオン研究における小胞試料の分析を示す。

【図109E】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、バイオマーカーTMEM211を用いた本発明の小胞アッセイのROC曲線分析を示す。

【図109F】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、拡大患者コホートを用いたさらなる研究からの結果を示す。図109Fにおいて、TMEM211の場合の蛍光強度中央値（MFI）がX軸上に示され、CD24の場合のMFIがY軸上に示されている。

【図109G】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、拡大患者コホートを用いたさらなる研究からの結果を示す。様々なクラスの試料の個々の区別に関するTMEM211の結果が示されている。

【図109H】TMEM211および／またはCD24を使用して小胞を検出することによる、血漿試料中のCRCの検出を示し、拡大患者コホートを用いたさらなる研究からの結果を示す。様々なクラスの試料の個々の区別に関するCD24の結果が示されている。

【図110】結腸直腸癌（CRC）細胞株と正常な小胞との間のTaqMan低密度アレイ（TLDA）miRNAカード比較を示す。CRC細胞株がプロットの右に示されている。Y軸は、正常な対照と比較したCRC細胞株中の発現の変化倍率を示す。調査されたmiRNAがX軸上に示され、左から右に、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200aおよびmiR-200bである。各miRに関して、バーは、左から右に、細胞株LOVO、HT29、SW260、COLO205、HCT116およびRKOに対応する。これらのmiRNAは、正常またはメラノーマ細胞においては過剰発現しなかった。

【図111A】miR 92およびmiR 491を使用する、正常試料とCRC試料との区別を示す。

【図111B】miR 92およびmiR 21を使用する、正常試料とCRC試料との区別を示す。

【図111C】miR 92、miR 21、miR 9およびmiR 491を用いる多重化を使用する、正常試料とCRC試料との区別を示す。

【図112】結腸直腸癌（CRC）細胞株および患者試料におけるKRAS配列決定を示す。試料は、細胞株から得られたゲノムDNA（B）もしくは患者からの組織試料から得られたゲノムDNA（D）、または細胞株から流出した小胞内のRNAペイロードから得られたcDNA（A）もしくは患者からの血漿試料からのcDNA（C）を含む。

【図113】血漿試料からの微小胞中のTMEM211およびMUC1を検出することによるCRCの識

10

20

30

40

50

別を示す。X軸（MUC1）およびY軸（TMEM211）は、試料中の検出された小胞の蛍光強度中央値（MFI）に対応する。水平線および垂直線は、CRCを検出する場合の、それぞれTMEM211およびMUC1のMFI閾値である。

【図114A】乳癌患者試料（n=10）または正常な対照（すなわち乳癌なし）中に検出されたバイオマーカーの、標準に対する変化倍率を示すグラフを示す。血漿試料中の小胞を、ビーズにつながれた表記抗原に対する抗体によって捕捉した。捕捉した小胞を、テトラスパニン、CD9、CD63およびCD81に対する標識抗体によって検出した。Y軸上の変化倍率は、標準と比較した場合の、乳癌試料中に検出された小胞の変化倍率蛍光強度中央値（MFI）である。

【図114B】乳癌細胞株MCF7、T47DおよびMDAに由来する小胞中に検出された様々なバイオマーカーのレベルを示す。T47DおよびMDAは転移性細胞株である。

【図115A】表記小胞抗原に対する抗体を使用して検出された、正常試料と比較した場合の、肺癌試料からの膜小胞中の様々なバイオマーカーの変化倍率を示す。黒棒は、正常試料に対する肺癌試料の比である。白棒は、正常試料に対する非肺癌試料の比である。基礎にあるデータが図115Bに示されている。

【図115B】表記小胞抗原に対する抗体を使用して検出された膜小胞の蛍光レベルを示す。蛍光レベルは、以下の試料：正常（白）、非肺癌試料（グレー）および病期分類された肺癌試料（黒）からの平均である。

【図115C】肺癌患者および正常対照からの試料中のEPHA2（i）、CD24（ii）、EGFR（iii）およびCEA（iv）を使用して検出された小胞の蛍光強度中央値（MFI）を示す。

【図115D】肺癌および正常（非肺癌）対象からの試料中に検出された小胞に関する蛍光強度中央値（MFI）をY軸上にプロットしたものを示す。捕捉抗体がX軸上に示されている。

【図115E】肺癌および正常（非肺癌）対象からの試料中に検出された小胞に関する蛍光強度中央値（MFI）をY軸上にプロットしたものを示す。捕捉抗体がX軸上に示されている。

【図115F】CENPH（縦軸）、PRO GRP（最も左側の横軸）、およびMMP9（最も右側の横軸）からなる3バイオマーカーパネルの3次元プロットを示す。プロット上で、癌は白四角で示されており、正常は黒三角で示されている。

【図116】小胞を検出するために表記捕捉抗体を使用して肺癌を検出する場合の決定木を示す。

【図117A】血漿由来小胞中のCD81標識小胞レベル対循環腫瘍細胞（CTC）を示す。患者から捕集した小胞（左寄り14例の「CTC」試料）および正常な血漿から捕集した小胞（右寄り四例の試料）は、カウントされたCD81およびCTCで計測された小胞レベルを有した。

【図117B】EpCAM+血漿由来小胞中のmiR-21コピー数対CTCを示す。患者試料（左寄り15例の「CTC」試料）および正常な試料（右寄り七例の「正常」試料）が示されている。EpCAM+血漿由来小胞から抽出されたRNAからのmiR-21のqRT-PCRによってコピー数を評価した。同じ試料からCTCカウントを得た。

【図118】図118A～118Cは、試料からCD31+陽性小胞を除去したのち、CD31（図118A）、DLL4（図118B）およびCD9（図118C）に対する抗体を使用して検出された、乳癌患者からの血漿中の小胞のレベルを示す。

【図119】正常（非癌）血漿試料、乳癌（BCa）血漿試料および前立腺癌（PCa）血漿試料からの小胞中のTissue Factor（TF）の検出を示す。血漿試料中の小胞を、小球につながれた抗Tissue Factor抗体によって捕捉した。捕捉した小胞を、テトラスパニン、CD9、CD63およびCD81に対する標識抗体によって検出した。

【図120A】示した小胞抗原に対するFITC結合抗体を用いて標識された小胞のフローソートティングを示す。結腸直腸癌（CRC）患者およびCRCのない正常からのCD9/CD63 FITC標識小胞をCD31レベルおよびDLL4レベルについてゲーティングした。

【図120B】示した小胞抗原に対するFITC結合抗体を用いて標識された小胞のフローソ

10

20

30

40

50

ーティングを示す。(B)正常およびCRC患者からのCD9/CD63 FITC標識小胞をTMEM211レベルおよびDLL4についてゲーティングした。

【図120C】示した小胞抗原に対するFITC結合抗体を用いて標識された小胞のフローソーターティングを示す。正常および乳癌患者からのCD9 FITC標識小胞をCD31レベルおよびDLL4レベルについてゲーティングした。

【図121】正常個体および様々な癌のある個体の血漿中にある、DLL4によって捕捉された循環微小胞(cMV)のレベルを図示したグラフを示す。血漿試料中の小胞を、マイクロビーズに繫留された抗DLL4抗体を用いて捕捉した。捕捉された小胞を、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する標識抗体を用いて検出した。小胞の中央値蛍光強度(MFI)をY軸に示した。試料群をX軸の左から右に正常対照(「正常」;すなわち、非癌)、乳癌(「乳房」)、肺癌(「肺」)、前立腺癌(「前立腺」)、結腸直腸癌(「結腸直腸」)、腎臓癌(「腎臓」)、卵巣癌(「卵巣」)、および膵臓癌(「膵臓」)を含めて示した。

【図122-1】マイクロRNA miR-497が患者血液試料中の肺癌試料と正常(非肺癌)試料とを識別する能力を示す。y軸は試料0.1ml中のmiR-497のコピー数を示す。図122Aでは、水平線は1154コピーのコピー数を示す。図122Bでは、水平線は1356のコピー数を示す。

【図122-2】マイクロRNA miR-497が患者血液試料中の肺癌試料と正常(非肺癌)試料とを識別する能力を示す。循環微小胞(cMV)中のmiR-497レベルを調べることによって、非小細胞肺癌血漿試料と正常血漿試料とを識別するための受信者動作特性(ROC)曲線である。データは図122Bに対応する。

【図123A】癌試料および非癌試料のパネルにおけるCD9陽性(CD9+)小胞の検出を示す。y軸は、抗CD9抗体を用いて捕捉され、CD9、CD63、およびCD81に対する標識抗体を用いて検出された小胞の平均蛍光強度(MFI)を示す。群としての全ての癌対非癌(正常)の比較を示す。

【図123B】癌試料および非癌試料のパネルにおけるCD9陽性(CD9+)小胞の検出を示す。y軸は、抗CD9抗体を用いて捕捉され、CD9、CD63、およびCD81に対する標識抗体を用いて検出された小胞の平均蛍光強度(MFI)を示す。個別の癌対非癌の比較を示す。

【図124A】小胞表面マーカー検出を用いた乳癌の識別を示す。プロットは、示されたマーカーを用いて小胞を検出することによって得られた中央値蛍光値(MFI)を示す。垂直線および水平線は、試料群を分けるために用いられた、例えば、癌と非癌とを分けるために用いられた、それぞれのマーカーのMFIカットオフを示す。Gal3およびBCA200と第1のセットのカットオフを用いた癌患者と非癌患者との間での乳癌の識別を示す。

【図124B】小胞表面マーカー検出を用いた乳癌の識別を示す。プロットは、示されたマーカーを用いて小胞を検出することによって得られた中央値蛍光値(MFI)を示す。垂直線および水平線は、試料群を分けるために用いられた、例えば、癌と非癌とを分けるために用いられた、それぞれのマーカーのMFIカットオフを示す。Gal3およびBCA200と第2のセットのカットオフを用いた癌患者と非癌患者との間での乳癌の識別を示す。

【図124C】小胞表面マーカー検出を用いた乳癌の識別を示す。プロットは、示されたマーカーを用いて小胞を検出することによって得られた中央値蛍光値(MFI)を示す。垂直線および水平線は、試料群を分けるために用いられた、例えば、癌と非癌とを分けるために用いられた、それぞれのマーカーのMFIカットオフを示す。Gal3およびBCA200と、さらなる交絡因子(confounder)試料を用いた乳癌の検出を示す。

【図124D】小胞表面マーカー検出を用いた乳癌の識別を示す。プロットは、示されたマーカーを用いて小胞を検出することによって得られた中央値蛍光値(MFI)を示す。垂直線および水平線は、試料群を分けるために用いられた、例えば、癌と非癌とを分けるために用いられた、それぞれのマーカーのMFIカットオフを示す。OPNおよびNCAMを用いた癌患者と交絡因子患者との間での乳癌の識別を示す。

【図124E】小胞表面マーカー検出を用いた乳癌の識別を示す。プロットは、示されたマーカーを用いて小胞を検出することによって得られた中央値蛍光値(MFI)を示す。垂直線および水平線は、試料群を分けるために用いられた、例えば、癌と非癌とを分けるために用いられた、それぞれのマーカーのMFIカットオフを示す。乳癌を識別するための二段

10

20

30

40

50

階手順を示す。最初に、最も左側のプロットに示したように、Gal3およびBCA200を用いて試料を識別する。次いで、最も右側のプロットに示したように、OPNおよびNCAMを用いて、「陽性」と付けられた四半分の中の試料を評価して、偽陽性交絡因子患者を分ける。

【図125A】乳癌患者および健常患者におけるcMVのFACSスクリーニングのプロットを示す。cMVを染色するのに使用したマーカーをプロットに示した。免疫抑制マーカーCD45(y軸)およびCTL4A(x軸)を用いた染色を示す。

【図125B】乳癌患者および健常患者におけるcMVのFACSスクリーニングのプロットを示す。cMVを染色するのに使用したマーカーをプロットに示した。転移マーカーMMP-7(y軸)およびTIMP-1(x軸)を用いた染色を示す。

【図125C】乳癌患者および健常患者におけるcMVのFACSスクリーニングのプロットを示す。cMVを染色するのに使用したマーカーをプロットに示した。血管形成マーカーCD31(y軸)およびVEGFR2(x軸)を用いた染色を示す。

【図126A】DNAマイクロアレイ発現データを用いた乳癌および他の癌の分類を示す。試料1~30は乳癌試料である。試料31~60は非乳房由来の癌である。一般化LASSO回帰を用いて試料を分類した。分類器(classifier)モデルを構築するために使用した3種類の遺伝子転写物には、DST.3、GATA3、およびKRT81が含まれる。

【図126B】DNAマイクロアレイ発現データを用いた乳癌および他の癌の分類を示す。試料1~30は乳癌試料である。試料31~60は非乳房由来の癌である。ベイジアンアンサンブル(Bayesian Ensemble)法を用いて試料を分類した。モデルを構築するために使用した15種類の遺伝子転写物には、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、DST.3、ELF5、GATA3、KRT81、LALBA、OXTR、RASL10A、SERHL、TFAP2A.1、TFAP2A.3、TFAP2C、およびVTCN1が含まれる。

【発明を実施するための形態】

【0038】

発明の詳細な説明

本明細書に開示されるものは、生物学的試料、たとえば細胞培養物、生物または対象由来の試料の表現型を特徴決定する方法およびシステムである。表現型は、一つまたは複数のバイオマーカーを評価することによって特徴決定することができる。バイオマーカーは、小胞または小胞集団、提示された小胞表面抗原または小胞ペイロードと関連し得る。本明細書において使用される小胞ペイロードは、小胞内に封じ込められた実体を含む。小胞関連バイオマーカーは、膜結合バイオマーカーおよび可溶性バイオマーカーの両方を含むことができる。バイオマーカーはまた、体液中で評価される循環バイオマーカー、たとえばマイクロRNAまたはタンパク質であることもできる。断りない限り、小胞またはバイオマーカー成分に関して本明細書において使用される「精製」または「単離」という用語は、細胞または生物からのそのような成分の部分的または完全な精製または単離をいう。さらに、断りない限り、結合物質を使用する小胞単離への言及は、小胞を結合物質と結合させることを含み、そのような結合が、出発原料中の他の生物学的実体から該小胞を隔てる完全な単離をもたらすかどうかには関わらない。

【0039】

循環バイオマーカー、たとえば核酸バイオマーカーを解析することによって表現型を特徴決定する方法が、非限定的な説明のための例として、図61Aのスキーム6100Aに示されている。最初の工程6101において、生物学的試料、たとえば体液、組織試料または細胞培養物を得る。核酸を試料から単離する(6103)。核酸は、DNAまたはRNA、たとえばマイクロRNAであることができる。このような核酸の評価は、表現型に関するバイオシグネチャーを提供することができる。標的表現型(たとえば、疾患対健康、治療の前後)と関連した核酸をサンプリングすることにより、表現型を示す一つまたは複数の核酸マーカーを決定することができる。本発明の様々な局面は、試料中に存在する一つまたは複数の核酸分子(たとえばマイクロRNA)を評価することによって決定される(6105)、所定の表現型に対応する(6107)バイオシグネチャーに関する。図61Bは、小胞を使用して核酸分子を単離するスキーム6100Bを示す。一例において、生物学的試料を採取し(6102)、一つまたは複数の小胞、たとえば特定の起始細胞からの小胞および/または特定の疾患状態と関連

した小胞を試料から単離する（6104）。小胞と関連した表面抗原を特徴決定する、および／または小胞内に存在する成分（「ペイロード」）の存在またはレベルを決定することによって小胞を解析する（6106）。断りない限り、本明細書において使用される「抗原」という用語は、一般に、結合物質（結合試薬とも呼ばれる）が結合し得るバイオマーカーをいい、結合物質は、抗体、アプタマー、レクチン、またはバイオマーカーに対する他の結合物質のいずれでもよく、そのようなバイオマーカーが宿主における免疫反応を誘発するかどうかは問われない。小胞ペイロードは、ペプチドおよびポリペプチドを含むタンパク質であってもよいし、DNAおよびRNAのような核酸であってもよい。RNAペイロードは、メッセンジャーRNA（mRNA）およびマイクロRNA（本明細書においてはmiRNAまたはmiRとも呼ばれる）を含む。小胞のバイオシグネチャーに基づいて表現型を特徴決定する（6108）。本発明のもう一つの例示的な方法においては、スキーム6100Aおよび6100Bをいっしょに実施して表現型を特徴決定する。このようなスキームにおいては、小胞および核酸、たとえばマイクロRNAを評価して、それによって表現型を特徴決定する。

10

【0040】

関連する局面においては、バイオマーカーの発見のための方法であって、一つの試料中の小胞表面マーカーまたはペイロードマーカーを評価する工程、およびマーカーを別の試料と比較する工程を含む方法が本明細書に提供される。試料を識別するマーカーを本発明にしたがってバイオマーカーとして使用することができる。そのような試料は、対象または対象群からの試料であることができる。たとえば、群は、たとえば、所与の疾患または障害に対する所与の治療に対する既知の応答者および非応答者であることができる。既知の応答者と非応答者とを識別することが見いだされたバイオマーカーは、対象が、治療剤、たとえば薬物または生物製剤のような治療に応答する可能性があるかどうかのバイオシグネチャーを提供する。

20

【0041】

表現型

本明細書に開示されるものは、膜小胞のような小胞を解析することによって個人の表現型を特徴決定するための製品およびプロセスである。表現型は、対象の観察可能な任意の特徴または特性、たとえば疾患もしくは病態、病期もしくは病態期、疾患もしくは病態に対する感受性、病期もしくは病態の予後、生理学的状態または治療剤に対する応答であり得る。表現型は、対象の遺伝子発現ならびに環境要因の影響および二つの間の相互作用ならびに核酸配列に対する後成的変化から生じ得る。

30

【0042】

対象における表現型は、生物学的試料を対象から得、その試料由来の一つまたは複数の小胞を解析することによって特徴決定することができる。たとえば、対象または個人の表現型の特徴決定は、疾患または病態を検出すること（前駆症状早期検出を含む）、疾患または病態の予後判定、診断またはセラノーシスを決定すること、または疾患または病態の病期または進行を決定することを含むことができる。表現型の特徴決定はまた、特定の疾患、病態、病期および病態期に適切な治療または治療効果を同定すること、疾患進行、特に疾患回帰、転移拡散または疾患再発の予測および尤度解析を含むこともできる。表現型はまた、病態または疾患の臨床的に明確なタイプまたはサブタイプ、たとえば癌または腫瘍であることもできる。表現型決定はまた、生理学的状態の決定または移植後のような臓器窮迫もしくは臓器拒絶反応の評価であることもできる。本明細書に記載される製品およびプロセスは、個人ベースにおける対象の評価を可能にし、これにより、治療におけるより効率的かつ経済的な決定の恩典を提供することができる。

40

【0043】

ある局面において、本発明は、対象が疾患または障害に対する治療に応答する可能性があるかどうかを予測するためのバイオシグネチャーを提供するための小胞の解析に関する。表現型の特徴決定は、対象の応答者／非応答者状態を予測することを含み、応答者は疾患に対する治療に応答し、非応答者はその治療に応答しない。小胞を対象において解析し、治療に応答するかまたは応答しないことが知られている以前の対象の小胞解析と比較す

50

ることができる。対象における小胞バイオシグネチャーが、治療に応答することが知られている以前の対象の小胞バイオシグネチャーとより密接に合致するならば、その対象を、その治療に対する応答者として特徴決定または予測することができる。同様に、対象における小胞バイオシグネチャーが、治療に応答しなかった以前の対象の小胞バイオシグネチャーとより密接に合致するならば、その対象を、その治療に対する非応答者として特徴決定または予測することができる。治療は、任意の適切な疾患、障害または他の病態に対する治療であることができる。本方法は、応答者／非応答者状態と相関する小胞バイオシグネチャーが知られている任意の疾患状況において使用することができる。

【0044】

本明細書において使用される「表現型」という用語は、本発明の方法を使用して同定される小胞バイオシグネチャーに帰される任意の特性または特徴を意味することができる。たとえば、表現型は、治療に応答する可能性があるという対象の正体であることもできるし、より広くいうと、対象から得られた試料に関して特徴決定されたバイオシグネチャーに基づく診断、予後判定またはセラノーシス用の決定であることもできる。

【0045】

本明細書で使用する「検出する」(その語尾変化、例えば、「検出している」を含む)という用語は、生物学的試料または一連の生物学的試料の中の候補バイオマーカー、例えば、核酸、ポリペプチドまたはその機能的断片の存在またはレベルを決定することを意味し得る。態様において、一種または複数種の試料は、状態もしくは疾患を検出するために、または状態もしくは疾患の可能性を検出するために対象から得られる。バイオマーカーに関して「機能的断片」という用語は、同定可能であり、かつ配列全体もしくは完全配列より短くてもよいが、バイオマーカーが存在するかどうか検出するのに十分な、および/または存在するバイオマーカーのレベルを検出するのに十分な、バイオマーカーの一部または断片を意味し得る。例えば、機能的断片は、同定することができるポリペプチド断片または核酸分子配列でもよい。

【0046】

いくつかの態様において、表現型は、表1に記載されたもののような疾患または病態を含む。たとえば、表現型は、腫瘍、新生物または癌の存在またはそれらを発生させる可能性を含むことができる。本明細書に記載される製品またはプロセスによって検出または評価される癌は、乳癌、卵巣癌、肺癌、結腸癌、過形成性ポリープ、腺腫、結腸直腸癌、高悪性度の異形成、低悪性度の異形成、前立腺肥大症、前立腺癌、黒色腫、膵臓癌、脳癌(たとえば神経膠芽腫など)、血液悪性腫瘍、肝細胞癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、頭頸部癌、食道癌、消化管間質腫瘍(GIST)、腎細胞癌(RCC)または胃癌を含むが、これらに限定されない。結腸直腸癌はCRCデュークスBまたはデュークスC~Dであり得る。血液悪性腫瘍は、B細胞慢性リンパ球性白血病、B細胞リンパ腫DLBCL、B細胞リンパ腫DLBCL胚中心様、B細胞リンパ腫DLBCL活性化B細胞様およびバーキットリンパ腫であり得る。

【0047】

表現型は、前癌状態、たとえば光線角化症、萎縮性胃炎、白板症、紅色肥厚症、リンパ腫様肉芽腫症、前白血病、線維症、頸部異形成、子宮頸部異形成、色素性乾皮症、バレット食道、結腸直腸ポリープまたは悪性腫瘍に発展する可能性が高い他の異常な組織増殖もしくは病変であることができる。悪性転換性ウイルス感染症、たとえばHIVおよびHPVもまた、本発明にしたがって評価することができる表現型を提示する。

【0048】

本発明の方法によって特徴決定することができる癌は、非限定的に、癌腫、肉腫、リンパ腫もしくは白血病、胚細胞腫、芽細胞腫または他の癌を含むことができる。癌腫は、非限定的に、上皮新生物、扁平上皮新生物、扁平上皮癌腫、基底細胞新生物、基底細胞癌腫、移行上皮乳頭腫および癌腫、腺腫および腺癌腫(腺)、腺腫、腺癌腫、形成性胃組織炎インスリノーマ、グルカゴノーマ、ガストリノーマ、ビポーマ、胆管癌腫、肝細胞癌、腺様嚢胞癌腫、虫垂カルチノイド腫、プロラクチノーマ、好酸性顆粒細胞腫、ヒュルトレ細胞腺腫、腎細胞癌腫、グラビッツ腫、多発性内分泌腺腫、子宮内膜腺腫、付属器および皮

膚付属器新生物、粘膜表皮新生物、嚢胞、粘液および漿液新生物、嚢胞腺腫、腹膜偽粘液腫、管、小葉および髓質新生物、腺房細胞新生物、複合上皮新生物、ウォーシン腫、胸線腫、特定化生殖腺新生物、性索間質腫、きょう膜腫、顆粒膜細胞腫、男性胚細胞腫、セルトリライディッヒ細胞腫、グロムス腫、傍神経節腫、褐色細胞腫、グロムス腫、母斑および黒色腫、メラノサイト母斑、悪性黒色腫、黒色腫、結節性黒色腫、異形成母斑、悪性黒子黒色腫、表在拡大型黒色腫および悪性末端性ほくろ性黒色腫を含む。肉腫は、非限定的に、アスクン腫瘍、ブドウ状肉腫、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、悪性血管内皮腫、悪性神経鞘腫、骨肉腫、軟部組織肉腫、たとえば胞巣状軟部肉腫、血管肉腫、葉状嚢肉腫、皮膚線維肉腫、デスモイド腫、線維形成性小円形細胞腫、類上皮肉腫、骨外性軟骨肉腫、骨外性骨肉腫、線維肉腫、血管外皮腫、血管肉腫、カボジ肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ管肉腫、リンパ肉腫、悪性線維性組織球腫、神経線維肉腫、横紋筋肉腫および滑膜肉腫を含む。リンパ腫および白血病は、非限定的に、慢性リンパ球性白血病／小リンパ球性リンパ腫、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫（たとえばワルデンストロームのマクログロブリン血症）、脾臓辺縁帯リンパ腫、形質細胞性骨髓腫、形質細胞腫、モノクローナル免疫グロブリン沈着症、重鎖病、MALTリンパ腫とも呼ばれる節外性辺縁帯B細胞リンパ腫、結節辺縁帯B細胞リンパ腫（nmz1）、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、縦隔（胸腺）大細胞型B細胞リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、パーキットリンパ腫／白血病、T細胞前リンパ球性白血病、T細胞大顆粒リンパ球性白血病、活性NK細胞白血病、成人T細胞白血病／リンパ腫、節外性NK/T細胞リンパ腫、鼻型腸症型T細胞リンパ腫、肝脾T細胞リンパ腫、芽球NK細胞リンパ腫、菌状息肉腫／セザリー症候群、原発性皮膚CD30陽性T細胞リンパ増殖性疾患、原発性皮膚未分化大細胞リンパ腫、リンパ腫様丘疹症、血管免疫芽細胞T細胞リンパ腫、末梢性T細胞リンパ腫、不特定の未分化大細胞リンパ腫、古典的ホジキンリンパ腫（結節性硬化症、混合細胞充実度、リンパ球豊富、リンパ球枯渇または非枯渇）および結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫を含む。胚細胞腫は、非限定的に、胚細胞腫、未分化胚細胞腫、精上皮腫、非胚細胞腫、胎児性癌腫、内胚葉洞腫、絨毛癌腫、奇形腫、多胚腫および生殖腺芽細胞腫を含む。芽細胞腫は、非限定的に、腎芽腫、髓芽腫および網膜芽細胞腫を含む。他の癌は、非限定的に、口唇癌腫、喉頭癌腫、下咽頭癌腫、舌癌腫、唾液腺癌腫、胃癌腫、腺癌腫、甲状腺癌腫（髓様および甲状腺乳頭癌腫）、腎癌腫、腎実質癌腫、子宮頸癌腫、子宮内膜癌腫、子宮内膜癌腫、絨毛癌腫、精巣癌腫、泌尿器癌腫、黒色腫、脳腫瘍、たとえば神経膠芽腫、星状細胞腫、髓膜腫、髓芽腫および末梢神経外胚葉性腫瘍、胆嚢癌腫、気管支癌腫、多発性骨髓腫、基底細胞腫、奇形腫、網膜芽細胞腫、脈絡膜黒色腫、精上皮腫、横紋筋肉腫、頭蓋咽頭腫、骨肉腫、軟骨肉腫、筋肉腫、脂肪肉腫、線維肉腫、ユーイング肉腫および形質細胞腫を含む。

【0049】

さらなる態様において、解析される癌は、非小細胞肺癌および小細胞肺癌を含む肺癌（小細胞癌腫（燕麦細胞癌）、混合小細胞／大細胞癌腫および複合小細胞癌腫を含む）、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肝臓癌、膵臓癌、脳癌、腎臓癌、卵巣癌、胃癌、皮膚癌、骨癌、胃癌、乳癌、膵臓癌、神経膠腫、神経膠芽腫、肝細胞癌、乳頭状腎臓癌腫、頭頸部扁平上皮細胞癌腫、白血病、リンパ腫、骨髓腫または固形腫瘍であってもよい。

【0050】

態様において、癌は、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髓性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹部神経膠腫；脳腫瘍（脳幹部神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髓芽腫、上衣細胞腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；パーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髓性白血病；慢性骨髓増殖性障害；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌膵島細胞

腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；嗅神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；臍島腫瘍；カボジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；上衣細胞腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；臍臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜胚芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽頭癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂と尿管の移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含む。本発明の方法は、これらおよび他の癌を特徴決定するために使用することができる。したがって、表現型の特徴決定は、本明細書に開示される癌のいずれかの診断、予後判定またはセラノーシスを提供することであることができる。

10

20

【0051】

該表現型はまた、炎症性疾患、免疫疾患、または自己免疫疾患であり得る。例えば、該疾患は、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病（CD）、潰瘍性大腸炎（UC）、骨盤炎症、血管炎、乾癬、糖尿病、自己免疫性肝炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型糖尿病、関節リウマチ、乾癬、全身性エリテマトーデス（SLE）、橋本甲状腺炎、グレーブス病、強直性脊椎炎、シェーグレン病、CREST症候群、強皮症、リウマチ性疾患、臓器拒絶反応、原発性硬化性胆管炎、または敗血症であり得る。

【0052】

該表現型はまた、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、不安定プラーク、脳卒中、または虚血等の心血管疾患を含み得る。該心血管疾患または病態は、高血圧症、狭窄、血管閉塞、または血栓事象であり得る。

30

【0053】

該表現型はまた、多発性硬化症（MS）、パーキンソン病（PD）、アルツハイマー病（AD）、統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉症、プリオン病、ピック病、認知症、ハンチントン病（HD）、ダウン症候群、脳血管疾患、ラスムッセン脳炎、ウイルス性髄膜炎、全身性エリテマトーデスに伴う中枢神経障害（NPSLE）、筋萎縮性側索硬化症、クロイツフェルト・ヤコブ病、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、伝染性海綿状脳症、虚血性再灌流障害（例えば、脳卒中）、脳外傷、微生物感染、または慢性疲労症候群等の神経系疾患を含み得る。該表現型はまた、線維筋痛症、慢性神経因性疼痛、または末梢神経因性疼痛等の病態であり得る。

40

【0054】

該表現型はまた、細菌、ウイルス、またはイースト菌感染症等の感染症を含み得る。例えば、該疾患もしくは病態は、ウィップル病、プリオン病、肝硬変、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、HIV、肝炎、梅毒、髄膜炎、マラリア、結核、またはインフルエンザであり得る。HIVまたはHCV様粒子等のウイルスタンパク質は、ウイルスの状態を特徴決定するために、小胞中で評価され得る。

【0055】

該表現型はまた、周産期または妊娠に関連した病態（例えば、子癇前症もしくは早産）

50

、鉄代謝に関連する代謝性疾患もしくは病態等の代謝性疾患もしくは病態を含み得る。例えば、ヘプシジンは、鉄分不足を特徴決定するために、小胞中で評価され得る。該代謝性疾患または病態はまた、糖尿病、炎症、または周産期の病態であり得る。

【0056】

本発明の方法は、バイオマーカーにより評価され得るこれらならびに他の疾患および障害を特徴決定するために使用され得る。したがって、表現型の特徴決定は、本明細書に開示される疾患および障害のうち1つの診断、予後判定、またはセラノーシスを提供することが可能である。

【0057】

対象

対象の1つ以上の表現型を、対象から得られる生体試料中の小胞などの一つまたは複数の小胞を分析することによって決定することができる。対象または患者としては、ウシ、トリ、イヌ、ウマ、ネコ、ヒツジ、ブタ、または霊長類動物（ヒトおよび非ヒト霊長類を含む）等の哺乳動物を挙げることができるが、これらに限定されない。対象はまた、シベリアトラ等の絶滅の危機に瀕しているために重要な哺乳動物、ヒトによって消費に農場で育てられる動物等の経済的に重要な哺乳動物、またはペットとして、または動物園で飼育されている動物等の、ヒトにとって社会的に重要な動物が含まれ得る。このような動物の例としては、ネコおよびイヌ等の肉食動物、ブタ（pig）、雄ブタ、およびイノシシを含むブタ（swine）、ウシ、雄ウシ、ヒツジ、キリン、シカ、ヤギ、バイソン、およびラクダ、またはウマ等の反芻動物または有蹄動物が挙げられるが、これらに限定されない。また、絶滅の危機に瀕したトリ、または、動物園で飼育されるトリ、ならびに家禽（fowl）、さらに具体的には、家畜化された家禽、すなわち、シチメンチョウ、ニワトリ、アヒル、ガチョウ、ホロホロチョウ等の家禽類（poultry）も含まれる。また、家畜化されたブタおよびウマ（競争馬を含む）も含まれる。加えて、農業および水産、ならびに他の活動と関係がある動物等の、商業活動と関係がある任意の動物種も含まれ、ここで、疾患のモニタリング、診断、および治療の選択は、経済的生産性および／または食物連鎖の安全性のため、畜産において通常の業務である。

【0058】

該対象は、癌等の既存の疾患もしくは病態を有し得る。あるいは、該対象は、いかなる既知の既存の病態を有していなくてもよい。該対象はまた、癌の治療等の、現行または過去の治療に対し非応答性であり得る。

【0059】

試料

対象から得られる生物学的試料は任意の体液であることができる。たとえば、生物学的試料は、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液（CSF）、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液（前立腺液を含む）、カウパー液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、毛髪、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膈分泌液、粘膜分泌液、水便、腭液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液または他の洗浄液であることができる。生物学的試料はまた、胎児もしくは母体起源であってもよい胞胚腔液、臍帯血または母体循環物を含むこともある。生物学的試料はまた、小胞および他の循環バイオマーカーを得ることができる組織試料または生検材料であってもよい。たとえば、試料由来の細胞を培養し、培養物から小胞を単離することができる（たとえば実施例1を参照）。様々な態様において、本明細書に開示されるバイオマーカーまたは、より具体的にはバイオシグネチャーは、様々な方法、たとえば血液、血漿、血清または前記生物学的試料のいずれかからの核酸分子の抽出、ポリペプチド（または機能性フラグメント）バイオマーカーを同定するためのタンパク質または抗体アレイの使用ならびに核酸およびポリペプチド分子の同定および評価のための当技術分野において公知の他のアレイ、配列決定、PCRおよびプロテオミックス技術を使用して、そのような生物学的試料から直接評価することができる（たとえば、核酸もしくはポリペプチドバイオマーカーまたはそれらの機能性フ

ラグメントの存在またはレベルの同定)。

【0060】

表1は、疾患、病態または生物学的状態の例のリストおよび小胞を解析することができる生物学的試料の対応するリストを示す。

【0061】

(表1) 様々な疾患、病態または生物学的状態に関連する循環バイオマーカーの解析のための生物学的試料の例

疾患、病態、または生物学的状態の例	生物学的試料の例
以下の組織型/体組織を冒す癌/腫瘍： 乳房、肺、卵巣、結腸、直腸、前立腺、膵臓、脳、骨、結合組織、腺、皮膚、リンパ、神経系、内分泌腺、胚細胞、尿生殖器、血液/血液、骨髄、筋肉、眼、食道、脂肪組織、甲状腺、下垂体、脊髄、胆管、心臓、胆嚢、膀胱、精巣、子宮頸部、子宮内膜、腎臓、卵巣、消化管/胃腸、胃、頭頸部、肝臓、白血病、呼吸器/胸郭、原発不明癌（CUP）	血液、血清、血漿、脳脊髄液（CSF）、尿、痰、腹水、滑液、精液、乳頭吸引液、唾液、気管支肺胞洗浄液、涙、口腔咽頭洗浄液、大便、腹水、胸水、汗、涙、眼房水、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、水便、羊水、母乳、膝液、耳垢、カウパー液または尿道球腺液、女性射精液、間質液、月経分泌物、粘液、膿、皮脂、腔潤滑液、嘔吐物
神経変性/神経性疾患： パーキンソン病、アルツハイマー病および多発性硬化症、統合失調症、および双極性障害、痙攣性障害、てんかん	血液、血清、血漿、CSF、尿
心血管疾患： アテローム性動脈硬化症、心筋症、心内膜炎、不安定プラーク、感染症	血液、血清、血漿、CSF、尿
脳卒中： 虚血、脳内出血、くも膜下出血、一過性脳虚血発作（TIA）	血液、血清、血漿、CSF、尿
疼痛性障害：末梢神経因性疼痛および慢性神経因性疼痛、ならびに線維筋痛症	血液、血清、血漿、CSF、尿
自己免疫疾患：全身性および限局性疾患、リウマチ性疾患、狼瘡、シェーグレン症候群	血液、血清、血漿、CSF、尿、滑液
消化器系の異常： バレット食道、過敏性腸症候群、潰瘍性大腸炎、クローン病、憩室症および憩室炎、セリアック病	血液、血清、血漿、CSF、尿
内分泌障害： 真性糖尿病、様々な型の甲状腺炎、副腎障害、下垂体障害	血液、血清、血漿、CSF、尿
皮膚の疾患および障害：乾癬	血液、血清、血漿、CSF、尿、滑液、涙
泌尿器系障害： 良性前立腺肥大症（BPH）、多発性嚢胞腎、間質性膀胱炎	血液、血清、血漿、尿
肝疾患/傷害： 肝硬変、（天然または合成化学物質源への曝露により）誘発された肝毒性	血液、血清、血漿、尿
腎臓疾患/傷害： 急性、亜急性、慢性状態、有足細胞傷害、巣状分節状糸球体硬化症	血液、血清、血漿、尿
子宮内膜症	血液、血清、血漿、尿、腔分泌液
骨粗鬆症	血液、血清、血漿、尿、滑液
膵炎	血液、血清、血漿、尿、膝液
喘息	血液、血清、血漿、尿、痰、気管支肺胞洗浄液
アレルギー	血液、血清、血漿、尿、痰、気管支肺胞洗浄液
プリオン関連疾患	血液、血清、血漿、CSF、尿
ウイルス感染症；HIV/AIDS	血液、血清、血漿、尿
敗血症	血液、血清、血漿、尿、涙、鼻洗浄
臓器拒絶反応/移植	血液、血清、血漿、尿、様々な洗浄液

10

20

30

40

示差的状态： 腺腫 対 過形成性ポリープ、過敏性大腸症候群（IBS） 対 正常、結腸癌のデュークス病期分類A、B、C、 および／またはD、低度過形成を伴う腺腫 対 高度過形成を伴う腺腫、腺腫 対 正常、結腸直腸癌 対 正常、IBS 対 潰瘍性大腸炎（UC） 対 クローン病（CD）	血液、血清、血漿、尿、痰、大便、結腸洗浄液
妊娠に関連した生理学的状態、病態、または付随疾患： 遺伝的リスク、有害妊娠事象	母体の血清、血漿、羊水、臍帯血

【0062】

10

本発明の方法は、血液試料または血液由来物を使用して表現型を特徴決定するために使用することができる。血液由来物は血漿および血清を含む。血漿は、全血の液体成分であり、全血量の約55%までを構成する。血漿は、主に水ならびに少量のミネラル、塩、イオン、栄養素および溶解状態のタンパク質で構成されている。全血中、赤血球、白血球および血小板が血漿内に懸濁している。血清とは、フィブリノーゲンまたは他の凝固因子を有しない血漿（すなわち、全血から血球および凝固因子を差し引いたもの）をいう。

【0063】

20

生物学的試料は、生物学的試料の直接評価によるのか、生物学的試料から得られる一つまたは複数の小胞のプロファイリングによるのかにかかわらず、バイオマーカーの解析を実施しない当事者のような第三者を通して得ることができる。たとえば、試料は、試料が由来する対象の臨床医、医師または他の健康管理者を通して得ることができる。または、生物学的試料は、小胞を解析する同じ当事者によって得ることもできる。加えて、アッセイされる生物学的試料は、保管（たとえば凍結）されるか、または他の様式で保存条件下に貯蔵される。

【0064】

30

小胞の解析に使用される生物学的試料の量は、0.1~20mL、たとえば約20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1または0.1mL未満の範囲であることができる。いくつかの態様において、試料は、約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20 mLである。いくつかの態様において、試料は、約1,000、900、800、700、600、500、400、300、250、200、150、100、75、50、25、または10 μ lである。例えば、少量の試料を、穿刺またはスワブによって得ることができる。

【0065】

40

体液の試料は、表現型を特徴決定するための試料として使用することができる。たとえば、試料中のバイオマーカーを評価して、疾患の診断、予後判定および／またはセラノーシスを提供することができる。バイオマーカーは、循環バイオマーカー、たとえば循環タンパク質または核酸であることができる。バイオマーカーはまた、小胞または小胞集団と関連していることもできる。本発明の方法は、生物学的試料または対象中に存在することがある一つまたは複数の小胞および一つまたは複数の異なる小胞集団を評価するために適用することができる。生物学的試料中の一つまたは複数のバイオマーカーの解析を使用して、解析のためにさらなる生物学的試料を得るべきかどうかを判定することができる。たとえば、体液の試料中の一つまたは複数の小胞の解析は、組織生検材料を得るべきかどうかの決定を支援することができる。

【0066】

患者からの試料は、循環バイオマーカーおよびその中に含まれる他の関心のある実体をその後の分析のために保存する条件下、捕集することができる。ある態様において、試料は、CellSave保存チューブ（Veridex, North Raritan, NJ）、PAXgene血液DNAチューブ（QIAGEN GmbH, Germany）およびRNAlater（QIAGEN GmbH, Germany）の一つまたは複数を使用して処理される。

【0067】

50

CellSave保存チューブ（CellSaveチューブ）は無菌真空血液捕集チューブである。各チューブは、Na₂EDTAおよび細胞保存剤を含有する溶液を含む。EDTAはカルシウムイオンを吸収し、それが血液凝固を減らす、またはなくすることができる。保存剤は、上皮細胞および他の細胞の形態および細胞表面抗原発現を保存する。捕集および処理は、製造者によって提供されるプロトコールに記載されているように実施することができる。当業者に公知であるような標準的瀉血手法にしたがって、各チューブを真空にして静脈全血を吸引する。CellSaveチューブは、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第5,466,574号、第5,512,332号、第5,597,531号、第5,698,271号、第5,985,153号、第5,993,665号、第6,120,856号、第6,136,182号、第6,365,362号、第6,551,843号、第6,620,627号、第6,623,982号、第6,645,731号、第6,660,159号、第6,790,366号、第6,861,259号、第6,890,426号、第7,011,794号、第7,282,350号、第7,332,288号、第5,849,517号および第5,459,073号に開示されている。

【0068】

PAXgene血液DNAチューブ（PAXgeneチューブ）は、核酸の単離のために全血を捕集するためのプラスチック真空チューブである。チューブは、全血標本の捕集、輸送および貯蔵ならびにその中に含まれる核酸、たとえばDNAまたはRNAの単離に使用することができる。血液は、標準的瀉血プロトコールの下、添加物を含む排気チューブの中に捕集される。捕集および処理は、製造者によって提供されるプロトコールに記載されているように実施することができる。PAXgeneチューブは、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第5,906,744号、第4,741,446号、第4,991,104号に開示されている。

【0069】

RNAlater RNA安定化試薬（RNAlater）は、組織中のRNAの速やかな安定化のために使用される。RNAは、採取された試料中では不安定であることがある。水性RNAlater試薬は組織および他の生物学的試料に浸透して、それにより、その中に含まれるRNAを安定化し、保護する。このような保護は、下流の分析が組織または他の試料中のRNAの発現プロファイルを反映することを保証するのに役立つ。試料は、採取の直後、適量のRNAlater試薬に浸漬される。捕集および処理は、製造者によって提供されるプロトコールに記載されているように実施することができる。製造者にしたがって、試薬は、RNAを、37℃では1日、18～25℃では7日間または2～8℃では4週間保存して、液体窒素またはドライアイスなしで試料の処理、輸送、貯蔵および発送を可能にする。試料はまた、たとえば貯蔵のために、－20℃または－80℃に置くこともできる。保存された試料は、全RNA、mRNAおよびマイクロRNAをはじめとする任意のタイプのRNAを分析するために使用することができる。RNAlaterはまた、DNA、RNAおよびタンパク質分析のための試料を捕集するのに役立つこともできる。RNAlaterは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第5,346,994号に開示されている。

【0070】

小胞

本発明の方法は、一つまたは複数の小胞を評価する工程、例えば小胞集団を評価する工程を含むことができる。本明細書において使用される小胞とは、細胞から流出する膜小胞である。小胞または膜小胞は、非限定的に、循環微小胞（cMV）、微小胞、エキソソーム、ナノ小胞、デキソソーム、プレブ、小水疱、プロスタソーム、微粒子、内腔内小胞、膜フラグメント、内腔内エンドソーム小胞、エンドソーム様小胞、エキソサイトーシスビヒクル、エンドソーム小胞、エンドソーマル小胞、アポトーシス体、多胞体、分泌小胞、リン脂質小胞、リポソーム小胞、アルゴソーム、テキサソーム、セクレソーム、トレロソーム、メラノソーム、オンコソームまたはエキソサイトーシスビヒクルを含む。さらに、小胞は、様々な細胞プロセスによって産生されることがあるが、本発明の方法は、そのような小胞が生物学的試料中に存在し、本明細書に開示される方法によって特徴決定することができる限り、任意の一つの機構に限定されない、または依存しない。特に定めのない限り、本明細書の方法および組成物のいずれかが小胞について言及している時はいつでも、前記の任意の小胞種も指している。さらに、本明細書の方法および組成物のいずれかが小

胞種について言及している時はいつでも、定めのない限り、他の全ての小胞種も使用できることが理解される。断りない限り、ある種の小胞を使用する方法を他の種類の小胞に適用することができる。小胞は、ペイロードとも呼ばれる可溶性成分を含むことができる内部区画を包囲する細胞膜に類似した脂質二重層を有する球形構造を含む。いくつかの態様において、本発明の方法は、直径約40～100nmの小さな分泌小胞であるエキソソームを使用する。種類および特徴の決定を含む膜小胞の考察に関しては、Thery et al., Nat Rev Immunol. 2009 Aug; 9(8):581-93を参照すること。様々な種類の小胞のいくつかの性質は表2におけるものを含む。

【0071】

(表2) 小胞の性質

特徴	エキソソーム	微小胞	エクソソーム	膜粒子	エキソソーム様小胞	アポトーシス小胞
サイズ	50-100 nm	100-1,000 nm	50-200 nm	50-80 nm	20-50 nm	50-500 nm
スクロース中の密度	1.13-1.19 g/ml			1.04-1.07 g/ml	1.1 g/ml	1.16-1.28 g/ml
EMでの外観	カップ形	不規則形状、電子密	バイラメラ円形構造	円形	不規則形状	不均一
遠沈	100,000 g	10,000 g	160,000-200,000 g	100,000-200,000 g	175,000 g	1,200 g, 10,000 g, 100,000 g
脂質組成	コレステロール、スフィンゴミエリンおよびセラミドにおいて濃縮; 脂質ラフト含有; PPS露出	PPS露出	コレステロールおよびジアシルグルセロールにおいて濃縮; PPS露出		脂質ラフトなし	
主要タンパク質マーカー	テトラスパニン(たとえばCD63、CD9)、Alix、TSG101	インテグリン、セレクチンおよびCD40リガンド	CR1およびタンパク質分解酵素; CD63なし	CD133; CD63なし	TNFR1	ヒストン類
細胞内起源	内部区画(エンドソーム)	細胞膜	細胞膜	細胞膜		

略号: ホスファチジルセリン (PPS)、電子顕微鏡法 (EM)

【0072】

小胞は、原形質膜または内部膜に由来する流出膜結合粒子または「微粒子」を含む。小胞は、細胞から細胞外環境に放出され得る。小胞を放出する細胞は、非限定的に、外胚葉、内胚葉または中胚葉から生じるかまたはそれらに由来する、細胞を含む。細胞は、遺伝子的、環境的および／または他の変動または変更を有することもある。たとえば、細胞は腫瘍細胞であり得る。小胞は、ソース細胞における任意の変化を反映し、それにより、発生する細胞、たとえば様々な遺伝子突然変異を有する細胞における変化を反映することができる。一つの機構において、小胞は、細胞膜のセグメントが自発的に陥入し、最終的に開口分泌されるとき、細胞内に生成される(たとえば、Keller et al., Immunol. Lett. 107(2):102-8 (2006)を参照すること)。小胞はまた、原形質膜の部分の脱出膨出(プレブ形成)分離および封止から生じるか、または腫瘍起源の種々の膜結合タンパク質を含有する任意の細胞内膜に画定された小胞構造の輸送から生じる、脂質二重膜によって画定された細胞由来構造も含み、これには、腫瘍由来マイクロRNAまたは細胞内タンパク質を非限定的に含む、小胞内腔中に含有される分子とともに腫瘍由来タンパク質に選択的に結合する宿主循環に由来する表面結合分子を含む。プレブおよびプレブ形成は、Charras et al., Nature Reviews Molecular and Cell Biology, Vol. 9, No. 11, p. 730-736 (2008)にさらに記載されている。腫瘍細胞から循環または体液中に流出する小胞は「腫瘍由来循

環小胞」と呼ばれることもある。そのような小胞がエキソソームである場合、それは腫瘍由来循環エキソソーム (CTE) と呼ばれることもある。場合によっては、小胞は、特定の起始細胞に由来することもできる。CTEは一般に、起始細胞特異的小胞と同様に、ときには特異的な様式で、たとえば体液からのCTEまたは起始細胞特異的小胞の単離を可能にする一つまたは複数の固有のバイオマーカーを有する。たとえば、細胞または組織特異的マーカーは、起始細胞を同定するために使用される。そのような細胞または組織特異的マーカーの例は本明細書に開示されており、さらに、bioinfo.wilmer.jhu.edu/tiger/で入手可能なTissue-specific Gene Expression and Regulation (TiGER) データベース、Liu et al. (2008) TiGER: a database for tissue-specific gene expression and regulation. BMC Bioinformatics. 9:271、genome.dkfz-heidelberg.de/menu/tissue_db/index.htmlで入手可能なTissueDistributionDBsにおいてアクセスすることもできる。

【0073】

小胞は、約10nm、20nmまたは30nmよりも大きい直径を有することができる。小胞は、40nm、50nm、100nm、200nm、500nm、1000nmよりも大きい、または10,000nmよりも大きい直径を有することができる。小胞は、約30~1000nm、約30~800nm、約30~200nmまたは約30~100nmの直径を有することができる。いくつかの態様において、小胞は、10,000nm、1000nm、800nm、500nm、200nm、100nm、50nm、40nm、30nm、20nm未満または10nm未満の直径を有する。本明細書において数値に関して使用される「約」という用語は、その数値の上下10%の変動が、指定された値に帰される範囲内であることを意味する。様々な種類の小胞の一般的なサイズが表2に示されている。小胞を評価して、一つの小胞またはいくつかの小胞の直径を計測することができる。たとえば、小胞集団の直径の範囲または小胞集団の平均直径を測定することができる。小胞直径は、当技術分野において公知の方法、たとえば電子顕微鏡法のような画像化技術を使用して評価することができる。ある態様において、一つまたは複数の小胞の直径は、光学粒子検出を使用して測定される。たとえば、「Optical Detection and Analysis of Particles」と題する2010年7月6日発行の米国特許第7,751,053号および「Optical Detection and Analysis of Particles」と題する2010年7月15日発行の米国特許第7,399,600号を参照すること。

【0074】

いくつかの態様において、小胞は、生物学的試料の事前の単離、精製または濃縮なしに生物学的試料から直接アッセイされる。たとえば、試料中の小胞の量それ自体が、診断、予後判定またはセラノーシス用の判定を提供するバイオシグネチャーを提供することができる。または、試料中の小胞は、解析の前に試料から単離、捕捉、精製または濃縮することもできる。前記のように、本明細書において使用される単離、捕捉または精製は、試料中の他の成分からの、部分的単離、部分的捕捉または部分的精製を含む。小胞単離は、本明細書に記載されるような様々な技術、たとえばクロマトグラフィー、ろ過法、遠心分離法、フローサイトメトリー、アフィニティー捕捉（たとえば平坦面またはビーズへの）および／またはマイクロ流体工学を使用して実施することができる。

【0075】

小胞特徴を参照と比較することによって表現型特徴決定を提供するために、エキソソームのような小胞を評価することができる。いくつかの態様においては、小胞の表面抗原が評価される。特定のマーカーを担持する小胞または小胞集団は、陽性（バイオマーカー+）の小胞または小胞集団と見なすことができる。例えば、DLL4+の集団は、DLL4に関連する小胞集団を意味する。反対に、DLL4-の集団は、DLL4に関連しない。表面抗原は、小胞の解剖学的起源および／または細胞ならびに他の表現型情報、たとえば腫瘍の状態の指標を提供することができる。たとえば、患者試料、たとえば血液、血清または血漿のような体液中に見られる小胞は、結腸直腸起源および癌の存在を示す表面抗原に関して評価される。表面抗原は、表面タンパク質、脂質、糖質および他の膜成分を非限定的に含む、小胞膜表面上で検出することができる、情報をもたらす任意の生物学的実体を含むことがある。たとえば、腫瘍抗原を発現する結腸由来の小胞の陽性検出は、患者が結腸直腸癌を有していることを示すことができる。このように、本発明の方法を使用して、たとえば、対象

から得られた一つまたは複数の小胞の疾患特異的および細胞特異的バイオマーカーを評価することにより、解剖学的または細胞起源と関連する任意の疾患または病態を特徴決定することができる。

【0076】

もう一つの態様においては、表現型特徴決定を提供するために一つまたは複数の小胞ペイロードが評価される。小胞のペイロードは、小胞内に封じ込められた状態で検出することができる情報をもたらす任意の生物学的実体を含み、タンパク質および核酸、たとえばゲノムもしくはcDNA、mRNAまたはそれらの機能性フラグメントおよびマイクロRNA (miR) を非限定的に含む。加えて、本発明の方法は、小胞表面抗原（小胞ペイロードに加えて、またはそれを除いて）を検出して表現型特徴決定を提供することに関する。たとえば、小胞は、小胞表面抗原に特異的である結合物質（たとえば抗体またはアプタマー）を使用して特徴決定することができ、結合した小胞をさらに評価して、本明細書に開示される一つまたは複数のペイロード成分を同定することができる。本明細書に記載されるように、関心対象の表面抗原または関心対象のペイロードを有する小胞のレベルを参照と比較して表現型を特徴決定することができる。たとえば、試料中の癌関連表面抗原または小胞ペイロード、たとえば腫瘍関連mRNAまたはマイクロRNAの、参照に比べた場合の過剰発現は、その試料中の癌の存在を示すことができる。評価されるバイオマーカーは、所望の標的試料の選択および所望の参照試料と標的試料との比較に基づいて、存在しても存在しなくてもよく、増加していても減少していてもよい。標的試料の非限定的な例は、疾患、治療／非治療、長期的研究におけるような様々な時点を含み、参照試料の非限定的な例は、非疾患、正常、様々な時点および候補治療に対する感受性または耐性を含む。

【0077】

マイクロRNA

生物学的試料またはそのような生物学的試料から得られる小胞中で様々なバイオマーカー分子を評価することができる。マイクロRNAは、本発明の方法によって評価される一つのクラスのバイオマーカーを含む。本明細書においてはmiRNAまたはmiRとも呼ばれるマイクロRNAは、長さ約21~23ヌクレオチドの短いRNA鎖である。miRNAは、DNAから転写される遺伝子によってコードされるが、タンパク質へと翻訳はされず、したがって、コードRNAを含む。miRは、pri-miRNAとして知られる一次転写物からプロセシングされてpre-miRNAと呼ばれる短いステムループ構造になり、最終的には一本鎖miRNAになる。pre-miRNAは一般に、自己相補的領域において自らに折り重なる構造を形成する。そして、これらの構造が、動物においてはヌクレアーゼDicerによって、または植物においてはDCL1によってプロセシングされる。成熟したmiRNA分子は、一つまたは複数のメッセンジャーRNA (mRNA) 分子に対して部分的に相補的であり、タンパク質の翻訳を調節するように機能することができる。miRNAの同定された配列は、公表されているデータベース、たとえばwww.microRNA.org、www.mirbase.orgまたはwww.mirz.unibas.ch/cgi/miRNA.cgiでアクセスすることができる。

【0078】

miRNAは一般に、命名規則にしたがって番号「mir- [番号]」を割り当てられる。miRNAの番号は、以前に同定されたmiRNA種に対するその発見の順序にしたがって割り当てられる。たとえば、最後に公表されたmiRNAがmir-121であるならば、次に発見されるmiRNAはmir-122と命名される、などである。既知のmiRNAに対して相同であるmiRNAが異なる生物から発見されるならば、その名称は、[生物同定子]-mir-[番号]の形態の任意選択の生物同定子を与えられる。同定子は、ヒトの場合のhsaおよびハツカネズミの場合のmmuを含む。たとえば、mir-121へのヒト相同体はhsa-mir-121と呼ばれ、マウス相同体はmmu-mir-121と呼ばれる。

【0079】

成熟マイクロRNAは一般に接頭辞「miR」で指定され、遺伝子または前駆体miRNAは接頭辞「mir」で指定される。たとえば、mir-121はmiR-121の前駆体である。異なるmiRNA遺伝子または前駆体が同一の成熟miRNAへとプロセシングされる場合、遺伝子／前駆体は、番

号付き接尾辞によって規定することができる。たとえば、mir-121-1およびmir-121-2は、miR-121へとプロセシングされる異なる遺伝子または前駆体を指す。密接に関連した成熟配列を示すためには文字付き接尾辞が使用される。たとえば、mir-121aおよびmir-121bは、それぞれ、密接に関連したmiRNAであるmiR-121aおよびmiR-121bへとプロセシングされることができる。本発明に関連して、本明細書において接頭辞mir-*またはmiR-*によって指定されるマイクロRNA (miRNAまたはmiR) は、そうではないことが明示的に述べられない限り、前駆体および／または成熟種の両方を包含すると理解される。

【0080】

二つの成熟miRNA配列が同じ前駆体に由来しているのが認められることもある。それらの配列の一方が他方よりも豊富であるならば、接尾辞「*」を使用して、一般的でない方のバリエーションを指定することができる。たとえば、miR-121は優勢な産物であるが、miR-121*は、前駆体の反対側のアームに見られる、一般的ではない方のバリエーションである。優勢なバリエーションが同定されないならば、miRは、前駆体の5'アームからのバリエーションの場合の接尾辞「5p」および3'アームからのバリエーションの場合の接尾辞「3p」によって識別することができる。たとえば、miR-121-5pは前駆体の5'アームに由来し、miR-121-3pは3'アームに由来する。それほど一般的ではないが、5pおよび3pバリエーションは、それぞれセンス(「s」)形態およびアンチセンス(「as」)形態とも呼ばれる。たとえば、miR-121-5pはmiR-121-sと呼ばれることもあり、miR-121-3pはmiR-121-asと呼ばれることもある。

【0081】

上記命名規則は時とともに考案されたものであり、絶対的規則というよりも一般的なガイドラインである。たとえば、miRNAのletおよびlinファミリーは、それらのあだ名で呼ばれ続けている。前駆体／成熟形態のためのmir/miR規則もまたガイドラインであり、どの形態が参照されているのかを決定するためには文脈を考慮に入れるべきである。miR命名のさらなる詳細は、www.mirbase.orgまたはAmbros et al., A uniform system for microRNA annotation, RNA 9:277-279 (2003)に見ることができる。

【0082】

植物miRNAは、Meyers et al., Plant Cell. 2008 20(12):3186-3190に記載されているような異なる命名規則に従う。

【0083】

複数のmiRNAが遺伝子調節に関与しており、miRNAは、遺伝子制御の主要な段階と目下認識されている、拡大中の非コードRNAのクラスの一部である。いくつかの場合において、miRNAは、標的mRNAの3'UTRに埋め込まれた調節部位に結合することによって翻訳を妨害して、翻訳の抑制を招くことができる。標的認識は、標的部位とmiRNAのseed領域(miRNAの5'末端の位置2〜8)との相補的塩基ペアリングを含むが、seed相補性の厳密な程度は正確には決定されず、3'ペアリングによって変化することができる。他の場合においては、miRNAは、低分子干渉RNA (siRNA) のように機能し、完全に相補的なmRNA配列に結合して標的転写物を破壊する。

【0084】

複数のmiRNAの特徴決定により、これらが、初期発生、細胞増殖および細胞死、アポトーシスおよび脂肪代謝を含む多様なプロセスに影響することが示されている。たとえば、いくつかのmiRNA、たとえばlin-4、let-7、mir-14、mir-23およびパンタムは、細胞分化および組織発達において重要な役割を有することが示されている。他のものもまた、それらの異なる空間的および時間的発現パターンにより、同様に重要な役割を有すると考えられている。

【0085】

miRBase (www.mirbase.org) で入手可能なmiRNAデータベースは、公表されているmiRNA配列および注釈の検索可能なデータベースを含む。miRBaseに関するさらなる情報を、それぞれが参照によりその全体が本明細書に組み入れられる以下の文献:Griffiths-Jones et al., miRBase: tools for microRNA genomics. NAR 2008 36(Database Issue):D154-D158、Griffiths-Jones et al., miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenc

10

20

30

40

50

lature. NAR 2006 34(Database Issue):D140-D144およびGriffiths-Jones, S. The micro RNA Registry. NAR 2004 32(Database Issue):D109-D111に見ることができる。miRBaseの Release 16に含まれる代表的miRNAは、2010年9月に入手可能になった。

【0086】

本明細書に記載されるように、マイクロRNAは、癌および他の疾患に関与することが知られており、試料中の表現型を特徴決定するために評価することができる。たとえば、Ferracin et al., Micromarkers: miRNAs in cancer diagnosis and prognosis, Exp Rev Mol Diag, Apr 2010, Vol. 10, No. 3, Pages 297-308、Fabbri, miRNAs as molecular biomarkers of cancer, Exp Rev Mol Diag, May 2010, Vol. 10, No. 4, Pages 435-444を参照すること。小胞およびmiRを単離し、特徴決定するための技術は当業者に公知である。本明細書において提示される方法に加えて、さらなる方法を、それぞれが参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、「METHODS FOR ASSESSING RNA PATTERNS」と題する2011年2月15日発行の米国特許第7,888,035号ならびに「METHODS AND SYSTEMS FOR ISOLATING, STORING, AND ANALYZING VESICLES」と題する2010年11月30日出願の国際特許出願第PCT/US2010/058461号および「DETECTION OF GASTROINTESTINAL DISORDERS」と題する2011年1月13日出願のPCT/US2011/021160に見ることができる。

【0087】

循環バイオマーカー

循環バイオマーカーは、体液、たとえば血液、血漿、血清中に検出可能であるバイオマーカーを含む。循環癌バイオマーカーの例は、心臓トロポニンT (cTnT)、前立腺癌に対する前立腺特異的抗原 (PSA) および卵巣癌に対するCA125を含む。本発明の循環バイオマーカーは、タンパク質、核酸、たとえばDNA、mRNAおよびマイクロRNA、脂質、糖質および代謝産物を非限定的に含む、体液中に検出することができる任意の適切なバイオマーカーを含む。循環バイオマーカーは、細胞と関連しないバイオマーカー、たとえば膜関連であるバイオマーカー、膜フラグメントに埋め込まれたバイオマーカー、生物学的複合体の一部であるバイオマーカーまたは溶液中に遊離状態にあるバイオマーカーを含むことができる。一つの態様において、循環バイオマーカーは、対象の生物学的流体中に存在する一つまたは複数の小胞と関連したバイオマーカーである。

【0088】

様々な表現型の特徴決定に使用するための循環バイオマーカーが同定されている。たとえば、Ahmed N, et al., Proteomic-based identification of haptoglobin-1 precursor as a novel circulating biomarker of ovarian cancer. Br. J. Cancer 2004、Mathelin et al., Circulating proteinic biomarkers and breast cancer, Gynecol Obstet Fert. 2006 Jul-Aug; 34(7-8):638-46. Epub 2006 Jul 28、Ye et al., Recent technical strategies to identify diagnostic biomarkers for ovarian cancer. Expert Rev Proteomics. 2007 Feb; 4(1):121-31、Carney, Circulating oncoproteins HER2/neu, EGFR and CAIX (MN) as novel cancer biomarkers. Expert Rev Mol Diagn. 2007 May; 7(3):309-19、Gagnon, Discovery and application of protein biomarkers for ovarian cancer, Curr Opin Obstet Gynecol. 2008 Feb; 20(1):9-13、Pasterkamp et al., Immune regulatory cells: circulating biomarker factories in cardiovascular disease. Clin Sci (Lond). 2008 Aug; 115(4):129-31、Fabbri, miRNAs as molecular biomarkers of cancer, Exp Rev Mol Diag, May 2010, Vol. 10, No. 4, Pages 435-444、国際公開公報第2007/088537号、米国特許第7,745,150号および第7,655,479号、米国特許公開公報20110008808、20100330683、20100248290、20100222230、20100203566、20100173788、20090291932、20090239246、20090226937、20090111121、20090004687、20080261258、20080213907、20060003465、20050124071および20040096915を参照すること。これらの刊行物それぞれが参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0089】

小胞濃縮

小胞または小胞の集団は、分析前および／または分析中に単離、精製、濃縮または他の

やり方で富化されてもよい。断りない限り、小胞またはバイオマーカー成分について本明細書において使用される用語「精製」、「単離」は、細胞または生物からのそのような成分の部分的または完全な精製または単離を含む。小胞の解析は、生物学的試料の一つまたは複数の小胞集団の量を定量することを含むことができる。たとえば、不均一な小胞集団を定量することもできるし、均一な小胞集団、たとえば特定のバイオマーカープロファイルを有する小胞集団、特定のバイオシグネチャーを有する小胞集団または特定の細胞型に由来する小胞集団を不均一な小胞集団から単離し、定量することもできる。小胞の解析はまた、本明細書に記載するように、小胞の一つまたは複数の特定のバイオマーカープロファイルまたはバイオシグネチャーを定量的または定性的に検出することを含むこともできる。

10

【0090】

小胞は、体液バンクなどに貯蔵および保管し、必要に応じて解析のために取り出すことができる。小胞はまた、生きた対象または死んだ対象から事前に採取および貯蔵されている生物学的試料から、単離してもよい。加えて、小胞は、King et al., Breast Cancer Res 7(5):198-204 (2005)に記載されているように、回収された生物学的試料から単離してもよい。小胞は、保管または貯蔵された試料から単離してもよい。または、小胞は、生物学的試料から単離し、試料の貯蔵または保管なしに解析してもよい。さらには、第三者が、生物学的試料を採取または貯蔵してもよく、解析のために小胞を採取または貯蔵してもよい。

【0091】

20

濃縮された小胞集団を生物学的試料から得ることができる。たとえば、小胞を、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離法、分画遠心分離法、ナノ膜限外ろ過法、免役吸着捕捉法、アフィニティー精製法、マイクロ流体工学分離法またはこれらの組み合わせを使用して生物学的試料から濃縮または単離することもできる。

【0092】

サイズ排除クロマトグラフィー、たとえばゲル透過カラム、遠心分離法または密度勾配遠心分離法およびろ過法を使用することができる。たとえば、小胞は、分画遠心分離法、アニオン交換および／またはゲル透過クロマトグラフィー（たとえば米国特許第6,899,863号および第6,812,023号に記載）、スクロース密度勾配、オルガネラ電気泳動（たとえば米国特許第7,198,923号に記載）、磁気活性化細胞ソート（MACS）またはナノ膜限外ろ過濃縮器によって単離することができる。単離または濃縮法の種々の組み合わせを使用することができる。

30

【0093】

豊富にあるタンパク質、たとえばアルブミンおよび免疫アルブミンが、生物学的試料からの小胞の単離を妨げることがある。たとえば、小胞は、血液のような生物学的試料中に見られるもっとも豊富なタンパク質に特異的である複数の抗体を使用するシステムを使用して、生物学的試料から単離することができる。このようなシステムは、いくつかのタンパク質を一度に除去することができ、それにより、起始細胞特異的小胞のような比較的豊富でない種を顕在化させる。

【0094】

40

この種のシステムは、生物学的試料、たとえば血液、脳脊髄液または尿からの小胞の単離のために使用することができる。生物学的試料からの小胞の単離はまた、Chromy et al., J Proteome Res 2004; 3:1120-1127に記載されているように、豊富タンパク質除去法によって改善することもできる。もう一つの態様において、生物学的試料からの小胞の単離はまた、Zhang et al., Mol Cell Proteomics 2005; 4:144-155に記載されているように、糖ペプチド捕捉を使用して血清タンパク質を除去することによって改善することもできる。加えて、尿のような生物学的試料からの小胞は、Pisitkun et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2004; 101:13368-13373に記載されているように、分画遠心分離ののち、細胞質または抗細胞質エピトープに対する抗体との接触によって単離することもできる。

【0095】

50

生物学的試料からの小胞の単離または濃縮はまた、音波処理（たとえば超音波を印加することによって）、洗浄剤、他の膜活性化剤またはこれらの組み合わせの使用によって改善することができる。たとえば、超音波エネルギーは、潜在的な腫瘍部位に適用することができ、かつ、理論に拘束される訳ではないが、組織からの小胞の放出を増加させることができ、本明細書に開示される一つまたは複数の方法を使用して生物学的試料から解析または評価することができる小胞集団の濃縮を可能にする。

【0096】

試料取り扱い

本明細書に記載されるような循環バイオマーカーを検出する方法、たとえば抗体アフィニティー単離法とともに、必要に応じて様々な濃縮または単離手法を使用して結果の一貫性を最適化することができる。そのような工程は、振とうまたはボルテックスのようなくかく拌、たとえばPEGを用いるポリマーベースの単離のような様々な単離技術および/または他の工程における様々なレベルまでの濃縮を含むことができる。当業者には、小胞含有試料を試験する様々な段階でそのような処理を適用することができることが理解されよう。一つの態様においては、試料そのもの、たとえば血漿または血清のような体液をボルテックスする。いくつかの態様においては、一つまたは複数の試料処理工程、たとえば小胞単離を実施したのち、試料をボルテックスする。かく拌は、所望により、いくつかまたはすべての適切な試料処理工程で実施することができる。プロセスを改善するために、たとえば関心のあるバイオマーカーの凝集または分解を抑制するために、様々な工程において添加物を導入することができる。

【0097】

また、所望により、試料を様々な剤で処理することにより、結果を最適化することもできる。そのような剤は、凝集を抑制するための添加物および/またはpHもしくはイオン強度を調節するための添加物を含む。凝集を抑制する添加物は、ブロッキング剤、たとえばウシ血清アルブミン（BSA）およびミルク、カオトロピック剤、たとえばグアニジウム塩酸塩および洗浄剤または界面活性剤を含む。有用なイオン洗浄剤は、ドデシル硫酸ナトリウム（SDS、ラウリル硫酸ナトリウム（SLS））、ラウレス硫酸ナトリウム（SLS、ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（SLES））、ラウリル硫酸アンモニウム（ALS）、臭化セトリモニウム、塩化セトリモニウム、ステアリン酸セトリモニウムなどを含む。有用な非イオン（両性イオン）洗浄剤は、ポリオキシエチレングリコール類、ポリソルベート20（Tween 20とも知られる）、他のポリソルベート（たとえば40、60、65、80など）、Triton-X（たとえばX100、X114）、3-[(3-コラミドプロピル)ジメチルアンモニオ]-1-プロパンスルホネート（CHAPS）、CHAPSO、デオキシコール酸、デオキシコール酸ナトリウム、NP-40、グリコシド類、オクチルチオグルコシド類、マルトシド類などを含む。いくつかの態様においては、血小板凝集を減らすことが示されている界面活性剤Pluronic F-68を使用して、単離および/または検出中、小胞を含有する試料を処理する。F68は、0.1%~10%の濃度、たとえば1%、2.5%または5%の濃度で 사용할 ことができる。溶液のpHおよび/またはイオン強度は、塩化ナトリウム（NaCl）、リン酸緩衝食塩水（PBS）、トリス緩衝食塩水（TBS）、リン酸ナトリウム、塩化カリウム、リン酸カリウム、クエン酸ナトリウムおよび食塩水・クエン酸ナトリウム（SSC）緩衝液をはじめとする様々な酸、塩基、緩衝液または塩によって調節することができる。いくつかの態様においては、NaClが0.1%~10%、たとえば1%、2.5%または5%の最終濃度で加えられる。いくつかの態様においては、Tween 20が0.005~2%、たとえば0.05%、0.25%または0.5%の最終濃度で加えられる。本発明と共に使用するためのブロッキング剤は、不活性タンパク質、たとえば乳タンパク質、無脂肪粉乳タンパク質、アルブミン、BSA、カゼインまたは血清、たとえば新生仔ウシ血清（NBCS）、ヤギ血清、ウサギ血清またはサケ血清を含む。これらのタンパク質は、0.1%~10%の濃度、たとえば1%、2%、3%、3.5%、4%、5%、6%、7%、8%、9%または10%の濃度で加えることができる。いくつかの態様においては、BSAが0.1%~10%の濃度、たとえば1%、2%、3%、3.5%、4%、5%、6%、7%、8%、9%または10%の濃度で加えられる。ある態様において、試料は、参照によりその全体が本明細書に組み入れ

られる2005年7月13日出願の米国特許出願11/632946に提示されている方法にしたがって処理される。市販のブロッキング剤、たとえばPierce (Thermo Fisher Scientificの一部門、Rockford, IL) からのSuperBlock、StartingBlock、Protein-Freeが使用される場合もある。いくつかの態様においては、SSC/洗浄剤（たとえば0.5% Tween 20または0.1% Triton-X 100を含む20×SSC）が0.1%～10%の濃度、たとえば1.0%または5.0%の濃度で加えられる。

【0098】

小胞および他の循環バイオマーカーを検出する方法は、所望により、本明細書に記載されるプロトコールおよび処理の様々な組み合わせによって最適化することができる。検出プロトコールは、かく拌、単離法および添加物の様々な組み合わせによって最適化することができる。いくつかの態様において、患者試料は、単離工程の前後でボルテックスされ、BSAおよび/またはF68を含む遮断剤で処理される。そのような処理は、大きな凝集塊またはタンパク質もしくは他の生物学的屑の形成を減らし、それにより、より一貫した検出読みを提供する場合がある。

【0099】

フィルタ

フィルタを備えた濾過モジュールで試料を濾過し、小胞を含む保持物を捕集し、それによって、生物学的試料から小胞を単離することによって、生物学的試料から小胞を単離することができる。望ましい分子の単離を容易にするように、濾過モジュールを調整することができる。一部の態様において、フィルタは、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、または500キロダルトンより大きな分子を保持する。

【0100】

単離はまた、保持物を1つまたは複数の基体に適用する工程を含んでもよく、それぞれの基体は1種または複数種の捕捉物質と結合している。態様において、複数の基体のそれぞれのサブセットは、複数の基体の別のサブセットとは異なる捕捉物質または捕捉物質の組み合わせを含む。このようにして、小胞の異なる亜集団を単離することができる。一部の態様において、小胞のバイオシグネチャーが決定される。

【0101】

一局面において、本発明は、試料中の小胞のバイオシグネチャーを決定する方法であって、障害を有する対象からの生物学的試料を濾過モジュールで濾過する工程、1つまたは複数の小胞を含む保持物を濾過モジュールから捕集する工程、および1つまたは複数の小胞のバイオシグネチャーを決定する工程を含む、方法を提供する。一部の態様において、フィルタは、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、または500キロダルトンより大きな分子を保持する。1つの態様において、濾過モジュールは、約100または150キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える。

【0102】

本発明の濾過方法は、対象からの生物学的試料を濾過モジュールで濾過し、1つまたは複数の小胞を含む保持物を濾過モジュールから捕集し、1つまたは複数の小胞のバイオシグネチャーを検出し、バイオシグネチャーに基づいて対象における表現型を特徴決定することによって、対象における表現型を特徴決定する工程をさらに含んでもよい。ここで、特徴決定する工程は、要求される感度および特異度で行われる。一部の態様において、前記方法は、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、または95%の感度および少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、または95%の特異度を提供する。一部の態様において、特徴決定する工程は、バイオシグネチャーを有する1つまたは複数の小胞の量を決定することを含む。

【0103】

一局面において、本発明は、複数の小胞を多重解析するための方法を提供する。前記方法は、対象からの生物学的試料を濾過モジュールで濾過する工程; 複数の小胞を含む保持物を濾過モジュールから捕集する工程、複数の小胞を複数の捕捉物質に適用する工程であ

って、複数の捕捉物質は複数の基体と結合し、複数の基体のそれぞれのサブセットは、任意で、複数の基体の別のサブセットとは異なって標識される、工程;少なくとも、複数の小胞のサブセットを捕捉物質で捕捉する工程;および少なくとも、捕捉された小胞のサブセットのバイオシグネチャーを決定する工程を含む。1つの態様において、それぞれの基体は1種または複数種の捕捉物質と結合し、複数の基体のそれぞれのサブセットは、複数の基体の別のサブセットと比較して異なる捕捉物質または捕捉物質の組み合わせを含む。一部の態様において、少なくとも、複数の基体のサブセットは、1種または複数種の標識を含むなど固有に標識される。基体は粒子もしくはビーズまたはその任意の組み合わせでもよい。一部の態様において、フィルタは、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、または500キロダルトンより大きな分子を保持する。1つの態様において、濾過モジュールは、約100または150キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える。1つの態様において、濾過モジュールは、約9、20、または150キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える。

10

【0104】

複数の小胞を多重解析するための関連方法は、対象からの生物学的試料を濾過モジュールで濾過する工程であって、濾過モジュールは約10キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える、工程;複数の小胞を含む保持物を濾過モジュールから捕集する工程;複数の小胞を、マイクロアレイに結合している複数の捕捉物質に適用する工程;少なくとも、複数の小胞のサブセットをマイクロアレイ上で捕捉する工程;および少なくとも、捕捉された小胞のサブセットのバイオシグネチャーを決定する工程を含む。一部の態様において、フィルタは、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、350、400、450、または500キロダルトンより大きな分子を保持する。1つの態様において、濾過モジュールは、100または150キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える。1つの態様において、濾過モジュールは、約9、20、または150キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える。

20

【0105】

本発明の方法において、濾過しようとする生物学的試料は、濾過による単離の前に清澄化されてもよい。清澄化は、細胞破片および他の望ましくない材料、例えば、非小胞成分の選択的除去を含む。一部の態様において、清澄化は、低速遠心分離、例えば、約5,000xg、4,000xg、3,000xg、2,000xg、1,000xgでの遠心分離を含む。一部の態様において、1,000xg未満の清澄化が用いられる。次いで、清澄化された生物学的試料から小胞を単離するために、小胞を含有する、上清すなわち清澄化された生物学的試料は捕集および濾過されてもよい。一部の態様において、生物学的試料は、濾過による小胞単離の前に清澄化されない。

30

【0106】

一部の態様において、試料からの小胞の単離は、超遠心などの高速遠心分離を使用しない。単離によって、約100,000xg以上などの高速の遠心速度の使用を避けることができる。一部の態様において、試料からの小胞の単離では、50,000xg未満、40,000xg、30,000xg、20,000xg、15,000xg、12,000xg、または10,000xg未満の速度が用いられる。

40

【0107】

理論に拘束されるものではないが、微小胞は、超遠心などの高速遠心分離のために圧縮され得る。高速遠心分離は、膜の中にしっかりと繋ぎ止められているテトラスパニンとは対照的に、微小胞膜の中に弱く繋ぎ止められているタンパク質標的を除去し、その結果、微小胞膜の中の細胞特異的標的を減少させ、従って、微小胞の分析中に特定のバイオマーカーを検出できないことがある。

【0108】

小胞含有試料を濾過するために、任意の数の適用可能なフィルタ配置を使用することができる。一部の態様において、生物学的試料から小胞を単離するのに用いられる濾過モジュールは、繊維ベースの濾過カートリッジである。繊維には、ポリプロピレン中空糸などの中空ポリマー繊維が含まれる。生物学的試料は、蠕動ポンプなどのポンプ装置を用いて

50

試料液、例えば、本明細書において開示された生物学的流体を濾過モジュールに注入することによって濾過モジュールに導入されてもよい。ポンプ流速は、約0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9、または10mL/分など変化してもよい。濾過モジュールの配置、例えば、サイズおよび処理量を与えられれば、流速を調整することができる。

【0109】

一部の態様において、生物学的試料から小胞を単離するのに用いられる濾過モジュールは膜濾過モジュールである。膜濾過モジュールは、フィルタディスク膜、例えば、(例えば、マグネティックスターラーを備える)攪拌式セル装置の中に收容された親水性フッ化ポリビニリデン(PVDF)フィルタディスク膜を備えてもよい。一部の態様において、試料は、フィルタ膜の一方の側に確立された圧力勾配の結果としてフィルタを通して移動する。

10

【0110】

フィルタは、低い疎水吸収性および/または高い親水性を有する材料を含んでもよい。フィルタは、小胞保持および大部分のタンパク質の透過のために選択された平均孔径と、親水性であり、そのためにタンパク質吸着が限定される表面を有してもよい。一部の態様において、フィルタは、ポリプロピレン、PVDF、ポリエチレン、ポリフルオロエチレン、セルロース、二級酢酸セルロース、ポリビニルアルコール、およびエチレンビニルアルコール(EVAL(登録商標), Kuraray Co., Okayama, Japan)からなる群より選択される材料を含む。フィルタにおいて使用することができるさらなる材料には、ポリスルホンおよびポリエーテルスルホンが含まれるが、これに限定されない。

20

【0111】

濾過モジュールは、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、400、または500キロダルトン(kDa)より大きな分子を保持するフィルタ、例えば、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、400、または500kDaのMWC0(分子量カットオフ)を有するフィルタを有してもよい。9kDa、20kDa、および/または150kDaのMWC0範囲を有する限外濾過膜を使用することができる。一部の態様において、濾過モジュールの中のフィルタの平均孔径は約0.01 μm ~約0.15 μm であり、一部の態様において、約0.05 μm ~約0.12 μm である。一部の態様において、フィルタの平均孔径は、約0.06 μm 、0.07 μm 、0.08 μm 、0.09 μm 、0.1 μm 、0.11 μm 、または0.2 μm である。

30

【0112】

市販の濾過モジュール、例えば、タンパク質の濃縮またはタンパク質の単離に典型的に用いられるカラムを本発明の方法において使用することができる。例には、Milliporeのカラム(Billerica, MA)、例えば、Amicon(登録商標)遠心フィルタ、またはPierceのカラム(登録商標)(Rockford, IL)、例えば、Pierce Concentratorフィルタ装置が含まれるが、これに限定されない。Pierceの有用なカラムには、MWC0 9kDa、20kDa、および/または150kDaの使い捨て限外濾過遠心装置が含まれる。これらの濃縮器は、円錐形装置と一体化された高性能再生セルロース膜からなる。フィルタは、米国特許第6,269,957号または同第6,357,601号に記載されているものでもよく、これらは両方ともその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

40

【0113】

本発明の方法において、タンパク質小胞を濃縮するための、単離された装置を含む保持物は、典型的には、濾過モジュールから捕集される。保持物は、フィルタから保持物を押し流すことによって捕集されてもよい。保持物を容易に捕集するために、例えば、過酷な、または時間がかかる捕集法の使用を最小限にするために、親水性の表面特性を有し、そのためにタンパク質吸着が限定されるフィルタ組成物の選択が用いられてもよい。

【0114】

次いで、本明細書においてさらに説明されるように後の分析のために、例えば、保持物中の1つまたは複数の小胞のバイオシグネチャーを評価するために、捕集された保持物が

50

用いられてもよい。分析は、捕集された保持物に対して直接行われてもよい。または、捕集された保持物は、1つまたは複数の小胞の分析の前にさらに濃縮または精製されてもよい。一部の態様において、別の濾過工程、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、免疫吸着による捕捉、アフィニティー精製、マイクロ流体力学分離、またはこれらの組み合わせ、例えば、本明細書に記載の組み合わせを用いて、保持物はさらに濃縮されるか、または保持物から小胞がさらに単離される。小胞はまた、任意の濾過工程の前に、例えば、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、免疫吸着による捕捉、アフィニティー精製、マイクロ流体力学分離、またはこれらの組み合わせを用いて濃縮または単離されてもよい。

【0115】

小胞を濃縮および単離するためにフィルタの組み合わせを使用することができる。例えば、生物学的試料は、最初に、約 $0.01\mu\text{m}$ ～約 $2\mu\text{m}$ 、約 $0.05\mu\text{m}$ ～約 $1.5\mu\text{m}$ の多孔度(porosity)または孔径を有するフィルタで濾過されてもよく、次いで、試料は、約50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、400、または500キロダルトン(kDa)より大きな分子を保持するフィルタ、例えば、MWC0(分子量カットオフ)が約50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、400、または500kDaのフィルタを備える濾過モジュールで濾過される。一部の態様において、約0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または $2.0\mu\text{m}$ の孔径を有するフィルタが用いられる。フィルタはシリンジフィルタでもよい。非限定的な例として、1つの態様は、生物学的試料を、フィルタ、例えば、約 $1\mu\text{m}$ より大きな気孔率を有するシリンジフィルタで濾過した後に、約100または150キロダルトンより大きな分子を保持するフィルタを備える濾過モジュールで試料を濾過する工程を含む。1つの態様において、フィルタは $1.2\mu\text{m}$ フィルタであり、濾過の後に、試料は150kDaカットオフの7ml濃縮カラムに通される。

【0116】

濾過モジュールはマイクロ流体力学装置の一構成要素でもよい。マイクロ流体力学装置は「ラブオンチップ」システム、生物医学微少電気機械システム(biomedical micro-electro-mechanical system)(bioMEM)、または多成分一体化システム(multicomponent integrated system)とも呼ばれ、小胞の単離および分析に使用することができる。このようなシステムは、小胞の結合、バイオマーカーの検出を可能にするプロセス、および、例えば、本明細書においてさらに説明されるような他のプロセスを小型化および区画化する。

【0117】

1つの態様において、小胞の単離に用いられるマイクロ流体力学装置は濾過モジュールを備える。生物学的試料は1つまたは複数のマイクロ流体力学チャンネルに導入されてもよい。マイクロ流体力学チャンネルは、例えば、濾過によって、または粒径に基づいて他のやり方で分離することによって小胞を選択的に通過することができる。マイクロ流体力学装置はまた、複数の濾過モジュール、結合物質、またはサイズ、形状、変形性、バイオマーカープロファイル、もしくはバイオシグネチャーなどの小胞の特性に基づいて小胞を選択する他の分離モジュールも備えてよい。

【0118】

1つの態様において、小胞は、サイズおよび質量によって濾過を用いて生物学的試料から単離される。濾過は、最初にサイズによって濾過し、次いで質量によって濾過するか、または最初に質量によって濾過し、次いでサイズによって濾過するなど連続してもよい。例えば、血漿を全血から分離し、次いで、サイズによって注射器を用いて物理的に濾過し、次いで、質量によって選択するためにカラム濾過によって濾過して、小胞を血漿から単離することができる。図87Bは、超遠心などの高速遠心分離のために小胞の膜を圧縮する模式図を示す。このような高速遠心分離は、膜の中にしっかりと繋ぎ止められているテトラスパンニンとは対照的に、膜の中に弱く繋ぎ止められているタンパク質標的を取り出すことができる。理論に拘束されるものではないが、超遠心は、場合によっては、小胞内の細胞特異的標的を減少させ、従って、小胞のバイオシグネチャーの後の分析において検出さ

れないことがある。従って、このような方法の利点には、収量にばらつきがないこと、脂質損傷が少ないこと、バイオマーカーが保存されること、サイズおよび質量の両方について濾過できることが含まれ得る。

【0119】

結合物質

結合物質(結合試薬とも呼ばれる)には、標的バイオマーカーに結合することができる剤が含まれる。結合物質は、標的バイオマーカーに特異的な結合物質でもよい。標的バイオマーカーに特異的とは、剤が標的バイオマーカーに結合することができることを意味する。標的は、本明細書において開示された任意の有用なバイオマーカー、例えば、小胞表面にあるバイオマーカーでよい。一部の態様において、標的は単一タンパク質などの単一分子であり、そのため、結合物質は単一タンパク質に特異的である。他の態様において、標的は、類似のエピトープまたは部分を有するファミリーまたはタンパク質などの分子グループでもよく、そのため、結合物質はタンパク質ファミリーまたはタンパク質グループに特異的である。分子グループはまた、タンパク質、DNA、またはRNAなどの分子クラスでもよい。結合物質は、小胞の成分またはバイオマーカーを結合することによって小胞を捕捉するのに用いられる捕捉物質でもよい。一部の態様において、捕捉物質は、小胞上の抗原に結合する、抗体もしくはそのフラグメントまたはアプタマーを含む。捕捉物質は、本明細書においてさらに説明されるように、任意で、基体に結合させ、小胞を単離するのに用いられてもよい。

【0120】

結合物質とは、循環バイオマーカー、たとえば小胞または小胞の成分に結合する物質である。結合物質は、捕捉物質および/または検出物質として使用することができる。捕捉物質は、たとえば小胞の成分またはバイオマーカーに結合することにより、循環バイオマーカーに結合およびこれを捕捉することができる。たとえば、捕捉物質は、小胞表面の抗原に結合する捕捉抗体または捕捉抗原であることができる。検出物質は、循環バイオマーカーに結合し、それにより、バイオマーカーの検出を容易にすることができる。たとえば、基体に対して隔離されている抗体またはアプタマーを含む捕捉物質を使用して試料中の小胞を捕捉することができ、標識を担持する抗体またはアプタマーを含む検出物質を使用して、検出物質の標識の検出を介して、捕捉された小胞を検出することができる。いくつかの態様において、小胞は、同じ小胞バイオマーカーを認識する捕捉物質および検出物質を使用することによって評価される。たとえば、小胞集団は、テトラスパニンを使用して、たとえば基体に結合した抗CD9抗体を使用することによって捕捉することができ、捕捉された小胞は、捕捉された小胞を標識するための蛍光標識された抗CD9抗体を使用して検出することができる。他の態様において、小胞は、様々な小胞バイオマーカーを認識する捕捉物質および検出物質を使用して評価される。たとえば、小胞集団は、細胞特異的マーカーを使用して、たとえば基体に結合した抗PCSA抗体を使用することによって捕捉することができ、捕捉された小胞は、捕捉された小胞を標識するための蛍光標識された抗CD9抗体を使用して検出することができる。同様に、小胞集団は、一般的小胞マーカーを使用して、たとえば基体に結合した抗CD9抗体を使用することによって捕捉することができ、捕捉された小胞は、捕捉された小胞を標識するための細胞特異的または疾患特異的マーカーに対する蛍光標識された抗体を使用して、検出することができる。

【0121】

結合物質によって認識されるバイオマーカーは本明細書において抗原と呼ばれる時もある。特別の定めのない限り、本明細書で使用する抗原は、結合物質のタイプにもバイオマーカーの免疫原性にも関係なく、結合物質が結合することができる任意の実体を含むことが意図される。抗原はその機能性フラグメントをさらに含む。例えば、抗原は、結合物質が結合することができるタンパク質のフラグメントを含む、結合物質が結合することができるタンパク質バイオマーカーを含んでもよい。

【0122】

一つの態様において、小胞は、小胞表面上のバイオマーカーに結合する捕捉物質を使用

して捕捉される。本明細書にさらに記載されるように、捕捉物質を基体に結合させ、使用して、小胞を単離することができる。一つの態様において、捕捉物質は、物質または試料中に存在する小胞のアフィニティー捕捉または単離のために使用される。

【0123】

結合物質は、小胞を生物学的試料から濃縮または単離したのち、使用することができる。たとえば、まず小胞を生物学的試料から単離したのち、特異的バイオシグネチャーを有する小胞を単離または検出することができる。特異的バイオシグネチャーを有する小胞は、バイオマーカーに対する結合物質を使用して単離または検出することができる。特異的バイオマーカーを有する小胞は、不均一な小胞集団から単離または検出することができる。または、事前の単離または濃縮工程なしで、小胞を含む生物学的試料に対して結合物質を使用することもできる。たとえば、結合物質は、特異的なバイオシグネチャーを有する小胞を生物学的試料から直接単離または検出するために使用される。

【0124】

結合物質は、核酸、タンパク質または小胞の成分に結合することができる他の分子であることができる。結合物質は、DNA、RNA、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、Fab、Fab'、一本鎖抗体、合成抗体、アプタマー（DNA/RNA）、ペプチド、 α DNA、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸（LNA）、レクチン、合成または天然に存在する化学物質（薬物、標識試薬を含むが、それらに限定されない）、デンドリマーまたはそれらの組み合わせを含むことができる。たとえば、結合物質は捕捉抗体、抗体フラグメント、またはアプタマーであることができる。本発明の態様において、結合物質は膜タンパク質標識物質を含む。たとえば、Alroyらの米国特許出願公開公報US2005/0158708に開示されている膜タンパク質標識物質を参照すること。ある態様において、小胞は、本明細書に記載されるように単離または捕捉され、小胞を検出するために一つまたは複数の膜タンパク質標識物質が使用される。

【0125】

いくつかの例においては、一つの結合物質を使用して小胞を単離または検出することができる。他の例においては、異なる結合物質の組み合わせを使用して小胞を単離または検出することもできる。たとえば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75または100種類の異なる結合物質を使用して、生物学的試料から小胞を単離または検出することもできる。また、以下にさらに記載されるように、小胞に対する一つまたは複数の異なる結合物質は小胞のバイオシグネチャーを形成することができる。

【0126】

また、異なる結合物質を多重化のために使用することもできる。たとえば、異なる結合物質によって各小胞集団を単離または検出することにより、二つ以上の小胞集団の単離または検出を実施することができる。異なる結合物質は異なる粒子に結合することができ、異なる粒子は、粒子の識別を可能にする標識で標識されている。もう一つの態様においては、異なる結合物質を含むアレイを多重解析に使用することができ、異なる結合物質は、差次的に標識されるか、または、アレイ上の結合物質の位置に基づいて確かめることができる。多重化は、以下に記載するように、標識または検出法の分解能まで達成することができる。結合物質は、小胞を検出するために、たとえば起始細胞特異的小胞を検出するために使用することができる。結合物質または複数の結合物質は、それら自体が、小胞のバイオシグネチャーを提供する結合物質プロファイルを形成することができる。一つまたは複数の結合物質を図2から選択することができる。たとえば、不均一な小胞集団からの小胞の差次的検出または単離において、二つ、三つ、四つまたはそれ以上の結合物質を使用して小胞集団が検出または単離される場合、その小胞集団に関する特定の結合物質プロファイルによって、その特定の小胞集団のバイオシグネチャーが提供される。小胞は、任意の数の結合物質を多重に使用して検出することができる。このように、結合物質を使用して小胞のバイオシグネチャーを形成することもできる。そのバイオシグネチャーを使用して表現型を特徴決定することができる。

【0127】

結合物質はレクチンであることができる。レクチンは、多糖類および糖タンパク質に選択的に結合するタンパク質であり、植物および動物中に広く分布している。たとえば、ガラントス・ニバリス (*Galanthus nivalis*) 由来のガラントス・ニバリス アグルチニン (「GNA」) の形態のレクチン、ナルシッソス・シュードナルシッソス (*Narcissus pseudonarcissus*) 由来のナルシッソス・シュードナルシッソス アグルチニン (「NPA」) 形態のレクチン、および「シアノビリン」と呼ばれる藍藻類のノストック・エリプソスポルム (*Nostoc ellipsosporum*) 由来のレクチン (Boyd et al Antimicrob Agents Chemother 41(7):1521 1530, 1997, Hammar et al. Ann N Y Acad Sci 724:166 169, 1994, Kaku et al. Arch Biochem Biophys 279(2):298 304, 1990) のようなレクチンを使用して小胞を単離することができる。これらのレクチンは、高いマンノース含量を有する糖タンパク質に結合することができる (Chervenak et al. Biochemistry 34(16):5685 5695, 1995)。高マンノース糖タンパク質とは、 $\alpha 1 \rightarrow 3$ または $\alpha 1 \rightarrow 6$ マンノース-マンノース結合の形態のマンノース-マンノース結合を有する糖タンパク質をいう。

10

【0128】

結合物質は、一つまたは複数のレクチンに結合する物質であることができる。レクチン捕捉は、バイオマーカーであるカテプシンDの単離に適用することができる。なぜならカテプシンDは、ガラントス・ニバリス アグルチニン (GNA) およびコンカナバリニンA (ConA) のレクチンに結合することができるグリコシル化タンパク質であるからである。

20

【0129】

レクチンを使用して小胞を捕捉する方法および装置は、それぞれ参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、「METHODS AND SYSTEMS FOR ISOLATING, STORING, AND ANALYZING VESICLES」と題する2010年11月30日出願の国際特許出願PCT/US2010/058461、「AFFINITY CAPTURE OF CIRCULATING BIOMARKERS」と題する2009年12月3日出願のPCT/US2009/066626、「METHODS AND MATERIALS FOR ISOLATING EXOSOMES」と題する2010年6月4日出願のPCT/US2010/037467および「EXTRACORPOREAL REMOVAL OF MICROVESICULAR PARTICLES」と題する2007年3月9日出願のPCT/US2007/006101に記載されている。

【0130】

結合物質は、抗体もしくはそのフラグメントまたはアプタマーなどの捕捉物質を含む。小胞は、小胞上にあるバイオマーカーに特異的な1種または複数種の捕捉物質を用いて単離することができる。1つの態様において、小胞の捕捉物質として、小胞上に存在する1種または複数種の抗原に特異的な1種または複数種の抗体が用いられる。例えば、表面にCD63を有する小胞は、CD63に対する抗体を用いて捕捉することができる。または、腫瘍細胞由来の小胞はEpCamを発現してもよく、小胞は、EpCamに対する捕捉物質、CD63に対する捕捉物質、またはその両方を用いて単離または検出することができる。様々な態様において、捕捉物質は、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNFR、またはこれらの組み合わせを含むバイオマーカーに特異的な剤である。これらのマーカーの捕捉物質は、マーカーを認識する抗体または抗体フラグメントでもよい。一部の態様において、本発明の方法によって用いられる小胞を結合および捕捉するための抗体には、CD9、PSCA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMA、および/または5T4に対する抗体およびフラグメントが含まれる。他の態様において、捕捉物質は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、EpCam、PSCA、ICAM、STEAP、および/またはEGFRに対する抗体である。別の態様において、

30

40

50

TMEM211および/またはCD24に結合する抗体など、捕捉物質はTMEM211および/またはCD24を認識する。

【0131】

一部の態様において、複数種のバイオマーカーを有する小胞を捕捉するために、捕捉物質は組み合わせて用いられる。

【0132】

捕捉物質を用いて、小胞のバイオマーカーを特定することができる。例えば、CD9に対する抗体などの捕捉物質を用いて、小胞のバイオマーカーであるCD9を特定することができる。一部の態様において、例えば、多重解析において複数種の捕捉物質と一緒に用いられる。複数種の捕捉物質は、以下:CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、EpCam、PSCA、ICAM、STEAP、およびEGFRの1つまたは複数に対する結合物質を含んでもよい。または、複数種の捕捉物質は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、および/またはEpCamに対する結合物質を含む。さらに他の態様では、複数種の捕捉物質は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、EpCam、PSCA、ICAM、STEAP、および/またはEGFRに対する結合物質を含む。複数種の捕捉物質はまた、TMEM211および/またはCD24に対する結合物質を含んでもよい。

【0133】

複数種の捕捉物質はまた、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、CD9、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、EGFR、B7H3、IC3b、MUC1、メソテリン、SPA、PCSA、CD63、STEAP、AQP5、CD81、DR3、PSM、GPCR、EphA2、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP-2、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エフリン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、および/またはTNFRを含む小胞バイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質を含んでもよい。

【0134】

小胞を捕捉するための有用なバイオマーカーのサブセットには、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、および/またはCD45が含まれる。小胞を捕捉するための有用なバイオマーカーの別のサブセットには、CD10、NPGP/NPFF2、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、および/またはNY-ESO-1が含まれる。小胞を捕捉するための有用なバイオマーカーのさらに別のサブセットには、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、CD9、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、EGFR、B7H3、IC3b、MUC1、メソテリン、SPA、PCSA、CD63、STEAP、AQP5、CD81、DR3、PSM、GPCR、EphA2、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP-2、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、および/またはTNFRが含まれる。

【0135】

本明細書に参照される抗体は、免疫グロブリン分子または免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、抗原および合成抗体に特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子であり得る。免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意のクラス(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、もしくはIgA)またはサブクラスのものであり得る。抗体としては、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、二重特異性抗体、合成抗体、ヒト化抗体およびキメラ抗体、一本鎖抗体、FabフラグメントおよびF(ab')₂フラグメント、Fvも

しくはFv'部分、Fab発現ライブラリーにより産生されたフラグメント、抗イディオタイプ（抗Id）抗体、または上記のいずれかのエピトープ結合フラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。抗体が抗原に優先的に結合する場合、および、例えば別の分子と約30%、20%、10%、5%、または1%未満の交差反応性を有する場合、抗体、または一般的にあらゆる分子は、抗原（または他の分子）に「特異的に結合する」。いくつかの態様において、複数のマーカーと交差反応する抗体が小胞との結合に使用される。たとえば、表面タンパク質ファミリーの関連するメンバーと交差反応する抗体を、このファミリーの様々なメンバーを提示する小胞との結合に使用することができる。

【0136】

また、結合物質は、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドであり得る。「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」という用語は、本明細書においてその最も広い意味で使用され、サブユニットアミノ酸、アミノ酸類似体、またはペプチド模倣物の配列を含み得る。サブユニットは、ペプチド結合によって連結され得る。ポリペプチドは、天然に存在する、（酵素消化によるような）天然に存在するポリペプチドの処理された形態、化学的に合成された、もしくは組換え発現されたものであり得る。本発明の方法に使用されるポリペプチドは、標準技術を用いて化学的に合成され得る。ポリペプチドは、特殊な特性を付与するために、D-アミノ酸（L-アミノ酸に特異的なプロテアーゼに対して耐性である）、D-およびL-アミノ酸の組み合わせ、βアミノ酸、または種々の他のデザイナーアミノ酸もしくは天然に存在しないアミノ酸（例えば、β-メチルアミノ酸、Cα-メチルアミノ酸、およびNα-メチルアミノ酸等）を含み得る。合成アミノ酸には、リジンに対するオルニチン、およびロイシンまたはイソロイシンに対するノルロイシンが含まれ得る。加えて、ポリペプチドは、新規な特性を有するポリペプチドを調製するために、エステル結合等のペプチド模倣結合を有することができる。例えば、還元型のペプチド結合、すなわち、 $R_1-CH_2-NH-R_2$ （ R_1 および R_2 はアミノ酸残基または配列である）を組み込むポリペプチドを作製し得る。還元型のペプチド結合は、ジペプチドサブユニットとして導入してもよい。このようなポリペプチドは、プロテアーゼ活性に対して耐性であり、延長された生体内での半減期を有することとなる。また、ポリペプチドは、側鎖が、アミノ酸の場合のようにα炭素に付いているのではなく、分子骨格に沿って窒素原子に付いている、ペプトイド（N-置換グリシン）を含むこともできる。「ポリペプチド」および「ペプチド」という用語は、本願を通して交換可能に使用されることを意図し、すなわち、ペプチドという用語が使用される場合、それは、ポリペプチドも含み得、ポリペプチドという用語が使用される場合、それは、ペプチドも含み得る。「タンパク質」という用語もまた、特別の定めのない限り、本願を通して「ポリペプチド」および「ペプチド」という用語と交換可能に使用されることを意図している。

【0137】

小胞は、結合物質を使用して単離、捕捉または検出することもできる。結合物質は、小胞の「ハウスキーピングタンパク質」または一般的小胞バイオマーカーに結合する物質であってよい。バイオマーカーは、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、またはMFG-E8であってよい。四つの膜貫通ドメインを有する膜タンパク質のファミリーであるテトラスパニン是一般的小胞マーカーとして使用することができる。テトラスパニンはCD151、CD53、CD37、CD82、CD81、CD9およびCD63を含む。TSPAN1（TSP-1）、TSPAN2（TSP-2）、TSPAN3（TSP-3）、TSPAN4（TSP-4、NAG-2）、TSPAN5（TSP-5）、TSPAN6（TSP-6）、TSPAN7（CD231、TALLA-1、A15）、TSPAN8（CO-029）、TSPAN9（NET-5）、TSPAN10（オキュロスパニン）、TSPAN11（CD151様）、TSPAN12（NET-2）、TSPAN13（NET-6）、TSPAN14、TSPAN15（NET-7）、TSPAN16（TM4-B）、TSPAN17、TSPAN18、TSPAN19、TSPAN20（UP1b、UPK1B）、TSPAN21（UP1a、UPK1A）、TSPAN22（RDS、PRPH2）、TSPAN23（ROM1）、TSPAN24（CD151）、TSPAN25（CD53）、TSPAN26（CD37）、TSPAN27（CD82）、TSPAN28（CD81）、TSPAN29（CD9）、TSPAN30（CD63）、TSPAN31（SAS）、TSPAN32（TSSC6）、TSPAN33およびTSPAN34を含む、哺乳動物において同定された30種類超のテトラスパニンが存在する。他の一般的に認められた小胞マーカーは、表3に記載されたものを含む。これらの

タンパク質のいずれをも小胞マーカーとして使用することができる。

【0138】

(表3) 複数の細胞型からの小胞中に認められるタンパク質

クラス	タンパク質
抗原提示	MHCクラスI、MHCクラスII、インテグリン、 $\alpha 4\beta 1$ 、 $\alpha M\beta 2$ 、 $\beta 2$
免疫グロブリンファミリー	ICAM1/CD54、P-セレクション
細胞表面ペプチダーゼ	ジペプチジルペプチダーゼIV/CD26、アミノペプチダーゼ _n /CD13
テトラスパニン	CD151、CD53、CD37、CD82、CD81、CD9 および CD63
熱ショックタンパク質	Hsp70、Hsp84/90
細胞骨格タンパク質	アクチン、アクチン結合タンパク質、チューブリン
膜輸送および融合	アネキシンI、アネキシンII、アネキシンIV、アネキシンV、アネキシンVI、RAB7/RAP1B/RADGDI
シグナル伝達	Gi2 α /14-3-3、CBL/LCK
豊富な膜タンパク質	CD63、GAPDH、CD9、CD81、ANXA2、ENO1、SDCBP、MSN、MFGE8、EZR、GK、ANXA1、LAMP2、DPP4、TSG101、HSPA1A、GDI2、CLTC、LAMP1、Cd86、ANPEP、TFRC、SLC3A2、RDX、RAP1B、RAB5C、RAB5B、MYH9、ICAM1、FN1、RAB11B、PIGR、LGALS3、ITGB1、EHD1、CLIC1、ATP1A1、ARF1、RAP1A、P4HB、MUC1、KRT10、HLA-A、FLOT1、CD59、C1orf58、BASP1、TACSTD1、STOM

10

【0139】

結合物質はまた、腫瘍細胞などの特定の細胞型に由来する小胞に結合する剤(例えば、Tissue Factor、EpCam、B7H3、もしくはCD24に対する結合物質)でもよく、特定の起始細胞に由来する小胞に結合する剤でもよい。小胞を単離または検出するのに用いられる結合物質は、図1より選択される抗原に対する結合物質でもよい。小胞に対する結合物質はまた、図2に列挙される結合物質より選択されるものでもよい。結合物質は、テトラスパニン、MFG-E8、アネキシンV、5T4、B7H3、カベオリン、CD63、CD9、E-カドヘリン、Tissue Factor、MFG-E8、TMEM211、CD24、PSCA、PCSA、PSMA、Rab-5B、STEAP、TNFR1、CD81、EpCam、CD59、CD81、ICAM、EGFR、またはCD66などの抗原に対する結合物質でもよい。結合物質はまた、TMEM211またはCD24などのバイオマーカーに対する結合物質でもよい。結合物質はまた、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、および/またはTNFRなどのバイオマーカーに対する結合物質でもよい。血小板に対する結合物質は、GpIa-IIa、GpIIb-IIIa、GpIIb、GpIb、またはGpIXなどの糖タンパク質でもよい。小胞を単離または検出するために、1種または複数種の結合物質、例えば、前記抗原の2つ以上に対する1種または複数種の結合物質が用いられてもよい。ある特定の細胞型に由来する小胞または起始細胞に特異的な小胞を単離または検出する要望に基づいて、使用される結合物質が選択されてもよい。

20

30

40

【0140】

インテグリンは、細胞と周囲組織との付着を媒介する受容体である。インテグリンは、細胞間および細胞-マトリックスの相互作用および情報交換を媒介するために、カドヘリン、細胞接着分子、およびセレクチンなどの他のタンパク質と共に働く。インテグリンは、細胞表面ならびに細胞外マトリックス成分、例えば、フィブロネクチン、ビトロネクチン、コラーゲン、およびラミニンに結合する。インテグリンは、 α サブユニットおよび β サブユニットと呼ばれる2本の別個の鎖を含むヘテロ二量体からなる。哺乳動物 α サブユニットには、ITGA1(CD49a、VLA1)、ITGA2(CD49b、VLA2)、ITGA3(CD49c、VLA3)、ITGA4(CD49d、VLA4)、ITGA5(CD49e、VLA5)、ITGA6(CD49f、VLA6)、ITGA7(FLJ25220)、ITGA8、ITGA

50

9(RLC)、ITGA10、ITGA11(HsT18964)、ITGAD(CD11D、FLJ39841)、ITGAE(CD103、HUMINAE)、ITGAL(CD11a、LFA1A)、ITGAM(CD11b、MAC-1)、ITGAV(CD51、VNRA、MSK8)、ITGAW、およびITGAX(CD11c)が含まれる。哺乳動物βサブユニットには、ITGB1(CD29、FNRB、MSK12、MDF20)、ITGB2(CD18、LFA-1、MAC-1、MFI7)、ITGB3(CD61、GP3A、GPIIIa)、ITGB4(CD104)、ITGB5(FLJ26658)、ITGB6、ITGB7、およびITGB8が含まれる。それぞれのサブユニットのディファレンシャルスプライシングならびにこれらのαサブユニットおよびβサブユニットの異なる組み合わせによって、ヒトでは約24種類の独特のインテグリンが検出されている。前立腺癌または本明細書に記載の他の癌などの癌を特徴決定するために、インテグリンレベルが評価されてもよい。一部の態様において、例えば、癌が低悪性度か高悪性度かを判定するために、前立腺癌を特徴決定する方法は、α2β1インテグリンのレベルを評価する工程を含む。インテグリンは小胞表面マーカーとして評価されてもよく、例えば、インテグリンmRNAを検出することによって、小胞ペイロードとして評価されてもよい。

10

【0141】

また、結合物質は、固体表面または基体に直接または間接的に連結することもできる。固体表面または基体は、マイクロアレイおよびウェル、ビーズ等の粒子、カラム、光ファイバー、ふき取り繊維(wipe)、ガラスおよび修飾もしくは機能性ガラス、水晶、雲母、ジアゾ化膜(紙もしくはナイロン)、ポリホルムアルデヒド、セルロース、酢酸セルロース、紙、セラミック、金属、半金属、半導体材料、量子ドット、コーティングビーズもしくは粒子、他のクロマトグラフ材料、磁気粒子によって提供される表面；プラスチック(アクリル、ポリスチレン、スチレンもしくは他の材料のコポリマー、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリブチレン、ポリウレタン、テフロン(商標)等を含む)、多糖類、ナイロンもしくはニトロセルロース、樹脂、シリカもしくはシリコンおよび修飾シリコンを含むシリカ系材料、カーボン、金属類、無機ガラス、プラスチック、セラミック、導電性ポリマー(ポリピロールおよびポリインドール等のポリマーを含む)；核酸タイリングアレイ、ナノチューブ、ナノワイヤー、もしくはナノ粒子で装飾された表面等のマイクロ構造もしくはナノ構造の表面；またはメタクリル樹脂、アクリルアミド、糖ポリマー、セルロース、ケイ酸塩、または他の繊維性ポリマーもしくは鎖ポリマー等の多孔性表面もしくはゲルが挙げられるが、これらに限定されない、直接もしくは間接的に結合物質を付着し得る、任意の物理的に分離可能な固体であり得る。加えて、従来技術に公知であるように、基体は、デキストラン、アセチルアミド、ゼラチン、もしくはアガロース等のポリマーを含む材料の幾つかを用いて、受動的または化学的に誘導体化されたコーティングを用いてコーティングされ得る。このようなコーティングは、生体試料を有するアレイの使用を容易にすることができる。

20

30

【0142】

例えば、小胞を単離するために使用される抗体は、市販のプレート(例えば、Nunc、Milan Italyより市販)等のウェル等の固体基体に結合させることができる。各ウェルは、抗体でコーティングすることができる。幾つかの態様において、小胞を単離するために使用される抗体は、アレイ等の固体基体に結合する。該アレイは、分子相互作用、結合性アイランド、生体分子、ゾーン、ドメインの所定の空間的配置、または別の境界内に沈着した結合性アイランドもしくは結合物質の空間的配置を有し得る。さらに、アレイという用語は、表面がアレイの複数のコピーを有する場合のような、表面上に配置された複数アレイを指すよう、本明細書で使用され得る。また、複数のアレイを有するこのような表面は、マルチアレイ(multiple array)または反復アレイと称されることもある。

40

【0143】

アレイは、典型的には、結合事象を介して、実体、例えば、試料中の小胞の存在を検出することができるアドレス可能な部分を含有する。アレイはマイクロアレイと呼ばれることがある。アレイまたはマイクロアレイには、DNAマイクロアレイ、例えば、cDNAマイクロアレイ、オリゴヌクレオチドマイクロアレイおよびSNPマイクロアレイ、マイクロRNAアレイ、タンパク質マイクロアレイ、抗体マイクロアレイ、組織マイクロアレイ、細胞マイクロアレイ(トランスフェクションマイクロアレイとも呼ばれる)、化学物質マイクロアレ

50

イ、ならびに糖質アレイ(グリコアレイ)が含まれるが、それに限定されるわけではない。DNAアレイは、典型的には、試料中に存在する配列に結合することができるアドレス可能なヌクレオチド配列を含む。マイクロRNAを検出するために、マイクロRNAアレイ、例えば、ルイビル大学のMMChipsアレイまたはAgilentの市販のシステムを使用することができる。プロテインキナーゼ、転写因子タンパク質活性化の基質の特定、または生物学的に活性な低分子の標的の特定を含むが、それに限定されるわけではない、タンパク質間相互作用の特定のために、タンパク質マイクロアレイを使用することができる。タンパク質アレイは、異なるタンパク質分子、一般的には抗体、または関心対象のタンパク質に結合するヌクレオチド配列のアレイからなってもよい。非限定的な例では、表面に特定のタンパク質がある小胞を検出するために、タンパク質アレイを使用することができる。抗体アレイは、試料、例えば、細胞または組織溶解産物溶液からタンパク質または他の生物学的材料を検出するために捕捉用分子として用いられる、タンパク質チップ上にスポットされた抗体からなる。例えば、抗体アレイは、体液、例えば、血清または尿から小胞関連バイオマーカーを検出するのに使用することができる。組織マイクロアレイは、多重組織学的分析を行うためにアレイ様式で組み立てられた別々の組織コアからなる。細胞マイクロアレイはトランスフェクションマイクロアレイとも呼ばれ、細胞と相互作用して、アドレス可能な位置での細胞捕捉を容易にすることができる様々な捕捉物質、例えば、抗体、タンパク質、または脂質からなる。細胞アレイはまた、小胞と細胞膜との類似性のために小胞を捕捉するのに使用することもできる。化学物質マイクロアレイは化学物質のアレイからなり、化合物に結合するタンパク質または他の生物学的材料を検出するのに使用することができる。糖質アレイ(グリコアレイ)は糖質のアレイからなり、例えば、糖部分に結合するタンパク質を検出することができる。当業者であれば、本発明の方法に従って類似の技術または改善を使用できることを理解するであろう。

【0144】

また、結合物質は、ビーズまたはミクロスフェア等の粒子に結合させることもできる。例えば、小胞の成分に特異的な抗体は、粒子に結合させることができ、抗体が結合した粒子が、生体試料から小胞を単離するために使用される。幾つかの態様において、ミクロスフェアは、磁気または蛍光標識され得る。加えて、小胞を単離するための結合物質は、固体基体自体であり得る。例えば、アルデヒド／硫酸ビーズ(Interfacial Dynamics, Portland, OR)等のラテックスビーズを使用することができる。

【0145】

また、磁気ビーズに結合した結合物質を、小胞を単離するために使用することもできる。例えば、患者からの血清等の生体試料を、結腸癌スクリーニングのために収集することができる。該試料は、磁気マイクロビーズに連結された抗CCSA-3(結腸癌固有の抗原)と共にインキュベートすることができる。低密度のマイクロカラムは、MACS分離器の磁場内に置くことができ、次いで、トリス緩衝食塩水等の緩衝液で該カラムを洗浄する。次いで、磁気免疫複合体をこのカラムに適用し、結合していない、非特異性の材料を廃棄することができる。CCSA-3選択小胞は、分離器からカラムを除去し、収集管上にそれを置くことによって回収することができる。緩衝液をカラムに添加することができ、カラムに提供されたプランジャーを利用することによって、磁気標識された小胞を放出することができる。単離された小胞は、IgG溶出緩衝液中で希釈することができ、次いで、複合体は、小胞からマイクロビーズを分離するために遠心分離することができる。ペレット化した単離された起始細胞に特異的な小胞は、リン酸緩衝生理食塩水等の緩衝液中で再懸濁し、定量化することができる。あるいは、起始細胞に特異的な小胞を捕捉した抗体と磁気マイクロビーズとの間の強力な接着力によって、トリプシン等のタンパク質分解酵素を、遠心分離を必要とせずに、捕捉された小胞の放出に使用することができる。小胞を放出するのに少なくとも十分な時間、起始細胞に特異的な小胞を捕捉した抗体と共に、このタンパク質分解酵素をインキュベートすることができる。

【0146】

小胞を単離するための結合物質、例えば、抗体を、好ましくは、関心対象の小胞を含む

生物学的試料と、結合物質と小胞成分が結合するのに十分な時間、接触させる。1つの態様において、抗体を、生物学的試料と、約1分、2分、3分、4分、5分、6分、7分、8分、9分、10分、15分、20分、25分、30分、45分、1時間、2時間、3時間、5時間、7時間、10時間、15時間、1日、3日、7日、または10日を含むが、これに限定されない数秒から数日に及ぶ様々な間隔で接触させる。結合物質システムまたは小胞が分解することなく、効率的な結合をもたらすように時間を選択することができる。

【0147】

結合物質、例えば、図1に列挙された抗原に特異的な抗体または図2に列挙された結合物質を検出するために、これらを標識することができる。適切な標識には、磁気標識、蛍光部分、酵素、化学発光プローブ、金属粒子、非金属コロイド粒子、ポリマー染料粒子、色素分子、色素粒子、電気化学的に活性な種、半導体ナノ結晶、または量子ドットもしくは金粒子を含む他のナノ粒子、フルオロフォア、量子ドット、あるいは放射性標識が含まれるが、これに限定されるわけではない。タンパク質標識には、下記のように緑色蛍光タンパク質(GFP)およびその変種(例えば、シアン蛍光タンパク質および黄色蛍光タンパク質); ならびに発光タンパク質、例えば、ルシフェラーゼが含まれる。放射性標識には、放射性同位体(放射性核種)、例えば、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{133}Xe 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 、または ^{213}Bi が含まれるが、これに限定されるわけではない。蛍光標識には、希土類キレート(例えば、ユーロピウムキレート)、ローダミンが含まれるが、これに限定されるわけではない。フルオレセインタイプには、FITC、5-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシフルオレセインが含まれるが、これに限定されるわけではない。ローダミンタイプには、特に、TAMRA; ダンシル; リサミン; シアニン; フィコエリトリン; Texas Red; Cy3、Cy5、ダボキシル、NBD、Cascade Yellow、ダンシル、PyMP0、ピレン、7-ジメチルアミノクマリン-3-カルボン酸および他のクマリン誘導体、Marina Blue(商標)、Pacific Blue(商標)、Cascade Blue(商標)、2-アントラセンスルホニル(anthracenesulfonyl)、PyMP0、3,4,9,10-ペリレン-テトラカルボン酸、2,7-ジフルオロフルオレセイン(Oregon Green(商標)488-X)、5-カルボキシフルオレセイン、Texas Red(商標)-X、Alexa Fluor430、5-カルボキシテトラメチルローダミン(5-TAMRA)、6-カルボキシテトラメチルローダミン(6-TAMRA)、BODIPY FL、ビマン(bimane)、ならびにAlexa Fluor350、405、488、500、514、532、546、555、568、594、610、633、647、660、680、700、および750、ならびにその誘導体が含まれるが、これに限定されるわけではない。例えば、インターネットでprobes (dot) invitrogen (dot) com/handbookから入手可能な、「The Handbook--A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies」Tenth Editionを参照されたい。

【0148】

結合物質は、例えば、共有結合を介して直接標識してもよい。結合物質はまた、標識が結合システムによって結合物質に付着されている場合などに、間接標識されてもよい。非限定的な例では、ビオチン-ストレプトアビジンによって標識された抗体を考える。または、抗体は標識しないが、第1の抗体を関心対象の抗原と結合させた後に、標識した第2の抗体と接触させる。

【0149】

例えば、種々の酵素基質標識が、利用可能であるか、または開示されている(例えば、米国特許第4,275,149号を参照のこと)。酵素は、一般に、種々の技術を用いて測定することができる発色性基質の化学変化を触媒する。例えば、酵素は、基質における色変化を触媒し得、それは分光学的に測定することができる。あるいは、酵素は、基質の蛍光または化学発光を変化させ得る。酵素標識の例には、ルシフェラーゼ(例えば、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ; 米国特許第4,737,456号)、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、リンゴ酸塩デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)等のペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ(AP)、 β -ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖類オキシダーゼ(例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、およびグルコース-6-ホスフェートデヒドロゲナ

ーゼ)、ヘテロ環オキシダーゼ(ウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼ等)、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼ等が含まれる。酵素-基質の組み合わせの例としては、過酸化水素が色素前駆物質(例えば、オルトフェニレンジアミン(OPD)または3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンヒドロクロリド(TMB))を酸化する、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)と基質としての過酸化水素;アルカリホスファターゼ(AP)と発色性基質としてのパラ-ニトロフェニルホスフェート;および β -D-ガラクトシダーゼ(β -D-Gal)と発色性基質(例えば、p-ニトロフェニル- β -D-ガラクトシダーゼ)または蛍光性基質4-メチルウンベリフェリル- β -D-ガラクトシダーゼが挙げられるが、これらに限定されない。

【0150】

使用した単離または検出の方法に依存して、結合物質は、アレイ、粒子、ウェル等の固体表面もしくは基体、および上記の他の基体に連結され得る。細胞表面に対する、抗体の直接化学的結合の方法は、当該技術分野において公知であり、例えば、グルタルアルデヒドまたはマレイミドで活性化した抗体を用いて結合させることが含まれ得る。複数工程の手順を用いた化学的に結合させるための方法には、ビオチン化、例えば、これらの化合物のスクシンイミドエステルを用いたトリニトロフェノール(TNP)またはジゴキシゲニンの結合が含まれる。ビオチン化は、例えば、D-ビオチニル-N-ヒドロキシスクシンイミドの使用により達成され得る。スクシンイミド基は、7を超えるpH値で、および、約pH8.0と約pH8.5との間で優先的にアミノ基と効率的に反応する。ビオチン化は、例えば、ビオチンマレイミドを添加した後に、細胞をジチオスレイトールで処理することによって達成され得る。

【0151】

フローサイトメトリー

ビーズまたはミクロスフェア等の粒子を用いた小胞の単離または検出はまた、フローサイトメトリーを用いても行うことができる。フローサイトメトリーは、流体の流れ中に懸濁した微細粒子を選別するために使用することができる。粒子が通過する際、粒子を選択的に帯電させ、それらの出口で別個の経路に偏向させることができる。したがって、高度の精度および速度を伴って、生体試料等の元の混合物から集団を分離することが可能である。フローサイトメトリーは、光学/電子検出装置を流れる単一の細胞の物理的および/または化学的特性の同時の多様性解析を可能にする。単一周波数(色)の光線、多くの場合、レーザー光線が、流体力学的に集束された流体の流れに向けられる。多くの検出器が、1つは光線に沿って(前方散乱またはFSC)、および幾つかはこれに垂直に(側方散乱またはSSC)、流れが光線を通過する点に向けられ、1つ以上の蛍光検出器が存在する。

【0152】

光線を通過する各懸濁粒子は、何らかの方法で光を散乱し、粒子内の蛍光化合物が励起されて、光源より低い周波数で発光し得る。この散乱光および蛍光の組み合わせが、検出器によって拾われて、各検出器(蛍光発光ピークの各々に対して1つずつ)における輝度(brightness)の変化を解析することによって、個々の粒子それぞれの物理的および化学的構造についての種々の情報を外挿することが可能となる。FSCは、細胞の大きさと関連し、SSCは、核の形状、細胞質顆粒の量および種類、または膜の粗さ等の粒子の内部の複雑さに依存する。幾つかのフローサイトメーターは、蛍光の必要性を省き、光の散乱のみを測定に用いている。

【0153】

フローサイトメーターは、毎秒数千個の粒子を「リアルタイム」で解析することができ、指定された性質を有する粒子をアクティブに分離および単離することができる。フローサイトメーターは、各解析セッション中、複数の単一細胞に関する設定パラメータの高スループット自動化定量および分離を提供する。フローサイトメーターは複数のレーザーおよび蛍光検出器を有して、複数の標識が、それらの表現型によって標的集団をより正確に指定するために使用されることを可能にする。したがって、フローサイトメーター、たとえばマルチカラーフローサイトメーターを使用して、複数の蛍光標識または色を有する一

つまたは複数の小胞を検出することができる。いくつかの態様において、フローサイトメーターはまた、様々な小胞集団を、たとえばサイズごと、または異なるマーカーごとにソートまたは単離することもできる。

【0154】

フローサイトメーターは、一つまたは複数のレーザ、たとえば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10種類またはより多くのレーザを有することもできる。いくつかの態様において、フローサイトメーターは、二つ以上の色または蛍光標識、たとえば少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20種類の異なる色または蛍光標識を検出することができる。たとえば、フローサイトメーターは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19または20個の蛍光検出器を有することができる。

10

【0155】

一つまたは複数の小胞を検出または解析し、異なる小胞集団をソートまたは分離するために使用することができる市販のフローサイトメーターの例は、MoFlo (商標) XDP Cell Sorter (Beckman Coulter, Brea, CA)、MoFlo (商標) Legacy Cell Sorter (Beckman Coulter, Brea, CA)、BD FACSAria (商標) Cell Sorter (BD Biosciences, San Jose, CA)、BD (商標) LSRII (BD Biosciences, San Jose, CA) およびBD FACSCalibur (商標)

(BD Biosciences, San Jose, CA) を含むが、これらに限定されない。以下にさらに記載されるように、小胞の多重解析には、マルチカラーまたはマルチ蛍光サイトメーターを使用することができる。いくつかの態様において、フローサイトメーターは、一つまたは複数の特徴に基づいて二つ以上の小胞集団をソートし、それにより、回収またはソートすることができる。サイズが違う、異なる小胞集団の態様において、各集団内の小胞は、サイズに基づいて差次的に検出またはソートされることができる。別の態様において、二種類の異なる小胞集団は、検出またはソートを可能にするために、差次的に標識される。サイズおよび標識は、検出およびソートのために一緒に用いることができる。

20

【0156】

フローサイトメーターから得られるデータは、ヒストグラムを生成するように一次元にプロットすることもできるし、二次元でドットプロットとして見ることもできるし、より新規なソフトウェアを用いて三次元で見ることもできる。これらのプロット上の領域は、ゲートと呼ばれる一連のサブセット抽出によって順次分離することができる。特定のゲーティングプロトコルが、特に血液学に関して診断および臨床目的のために存在する。プロットは、多くの場合、対数スケールで作成される。異なる蛍光色素の放出スペクトルは重なり合うため、検出器におけるシグナルは電子的および計算的に補正されなければならない。バイオマーカーを標識するための蛍光体は、参照により本明細書に組み入れられるOrmerod, Flow Cytometry 2nd ed., Springer-Verlag, New York (1999) およびNida et al., Gynecologic Oncology 2005; 4 889-894に記載されたものを含むこともできる。

30

【0157】

多重化

多重実験は、一回のアッセイにおいて複数の解析対象物を同時に計測することができる実験を含む。小胞および関連するバイオマーカーを多重に評価することができる。異なる小胞集団を多重化するために異なる結合物質を使用することができる。異なる小胞集団は、本明細書において開示されるもののような異なる結合物質を使用して単離または検出することができる。異なる小胞集団を多重化するために異なる結合物質を使用することができる。生物学的試料中の各集団は、上記のような異なる標識、たとえば蛍光体、量子ドットまたは放射性標識によって標識することができる。標識は、結合物質に直接結合させることもできるし、小胞に結合する結合物質を検出するために間接的に使用することもできる。二つ以上のアフィニティーエレメントに結合する三つ以上の差次的に標識された小胞集団は、合計したシグナルを生成できるため、多重化アッセイにおいて検出される集団の数は標識の分解能およびシグナルの合計に依存する。

40

【0158】

50

複数の小胞集団に対して、同時に多重化を実施することができる。少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75または100種類の異なる小胞集団の多重化解析を実施することもできる。たとえば、起始細胞に特異的な小胞の一つの集団を、異なる起始細胞に特異的な小胞の第二の集団とともにアッセイすることができ、その場合、各集団は異なる標識によって標識される。または、特定のバイオマーカーまたはバイオシグネチャーを有する小胞集団を、異なるバイオマーカーまたはバイオシグネチャーを有する第二の小胞集団とともにアッセイすることもできる。場合によっては、何百または何千の小胞が一回のアッセイにおいて評価される。

【0159】

一つの態様において、多重化解析は、ビーズ等の複数個の基体に複数の小胞集団を含む複数の小胞を適用することによって行われる。各ビーズには、1つ以上の捕捉物質を結合させる。複数個のビーズはサブセットに分割され、ビーズの各サブセットが、別のビーズサブセットとは異なる捕捉物質または捕捉物質の組み合わせを有するように、同一の捕捉物質または捕捉物質の組み合わせを有するビーズが、ビーズのサブセットを形成する。次いで、ビーズは、捕捉物質に結合する成分を含む小胞を捕捉するために使用することができる。異なるサブセットは、小胞の異なる集団を捕捉するために使用することができる。次いで、1つ以上のバイオマーカーを検出することによって、捕捉した小胞を分析することができる。

【0160】

フローサイトメトリーを、粒子ベースまたはビーズベースのアッセイと組み合わせて使用することができる。高感度自動化に合った比活性度を有する類似のリガンドおよびレポーター分子でコーティングされたビーズを用いるマルチパラメトリック免疫アッセイまたは他のハイスループット検出アッセイを使用することができる。例えば、各サブセット中のビーズは、別のサブセットとは差別的に標識することができる。粒子ベースのアッセイ系において、アドレス可能なビーズまたはミクロスフェア上に、捕捉抗体等の小胞に対する結合物質または捕捉物質を固定化することができる。各個々の結合アッセイ（結合物質が抗体である場合の免疫アッセイ等）における各結合物質は、異なる型のミクロスフェア（すなわち、マイクロビーズ）に連結され、結合アッセイ反応は、ミクロスフェアの表面上で起こる。ミクロスフェアは、異なる標識で区別することができ、例えば、特定の捕捉物質を有するミクロスフェアは、異なる捕捉物質を有する別のミクロスフェアと比較した場合、異なるシグナル標識を有する。例えば、特定の結合物質を有するミクロスフェアの蛍光強度は、異なる結合物質を有する別のミクロスフェアの蛍光強度とは異なるように、別個の蛍光強度でミクロスフェアを染色することができる。異なる捕捉物質が結合した小胞は、異なる標識を使用して検出することができる。

【0161】

少なくとも2つの異なる標識または染色を用いて、ミクロスフェアを標識または染色することができる。幾つかの態様において、ミクロスフェアは、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、または10個の異なる標識で標識される。複数個のミクロスフェア中の異なるミクロスフェアは、2つ以上の標識または染色を有することができ、ミクロスフェアの種々のサブセットは、標識または染色の種々の比および組み合わせを有し、異なる結合物質を用いる、異なるミクロスフェアの検出を可能にする。例えば、該標識または染色の種々の比および組み合わせは、異なる蛍光強度を可能にし得る。あるいは、該種々の比および組み合わせは、結合物質を同定するために異なる検出パターンを生成するために使用され得る。ミクロスフェアは、外面的に標識もしくは染色することができるか、または内部蛍光またはシグナル標識を有し得る。ビーズは、それらの適切な結合物質を用いて、別々に負荷することができ、したがって、異なる結合物質が結合した差別的に標識されたミクロスフェア上の異なる結合物質に基づいて、異なる小胞集団を単離することができる。

【0162】

別の態様において、平面基体を用いて多重化解析を行うことができ、該基体は、複数の捕捉物質を含む。複数の捕捉物質は、小胞の1つ以上の集団を捕捉することができ、捕捉

した小胞の1つ以上のバイオマーカーが検出される。平面基体は、本明細書にさらに記載される、マイクロアレイまたは他の基体であり得る。

【0163】

結合物質

小胞は、関心対象の小胞に特異的な抗原に対する抗体等の、小胞の新規成分に対する結合物質を用いて、単離または検出され得る。関心対象の小胞に特異的な新規な抗原は、アレイまたは複数個の粒子等の基体に結合した既知の組成の異なる試験化合物を用いて単離され得るかまたは同定され得、これは、大量の化学的／構造的空間を、そのほんのわずかな空間のみを使用して適切にサンプリングをすることを可能にし得る。また、同定された新規な抗原は、小胞のバイオマーカーとしての役割も果たし得る。例えば、起始細胞に特異的な小胞に対して同定された新規な抗原は、該小胞集団の検出のための有用なバイオマーカーであり得る。

10

【0164】

試料との接触に関して用いられる「物質」または「試薬」という用語は、本明細書に記載のように、または当技術分野において公知のように検出することができる、標的ポリペプチド、ペプチド、核酸分子、レプチン、脂質、または他の任意の生物学的実体を含む、標的分子に結合する、ハイブリダイズする、関連する、または他の点では標的分子を検出する、もしくは標的分子の検出を容易にするように設計された任意の実体を意味し得る。このような物質/試薬の例は当技術分野において周知であり、ユニバーサルまたは特異的な核酸プライマー、核酸プローブ、抗体、アプタマー、ペプトイド、ペプチド核酸、ロックス核酸、レクチン、デンドリマー、化学物質、または本明細書に記載の、もしくは当技術分野において公知の他の実体を含むが、これに限定されない。

20

【0165】

結合物質は、試験化合物に対して均質あるいは非均質のいずれかの小胞集団をスクリーニングすることによって同定することができる。基体表面上の各試験化合物の組成は既知であるため、これは、親和性要素に対するスクリーンを構成する。例えば、試験化合物のアレイは、基体のアドレス可能な位置にある特定の位置で試験化合物を含む。このアレイに小胞を接触させて、アドレス可能な化合物のうちのどれが、所望の小胞用の1つ以上の結合物質を同定するために使用することができるか、決定することができる。試験化合物は全て、コア配列または構造の軽微な変更に基づいて関連し得ないか、または関連し得る。異なる試験化合物には、所与の試験化合物（ポリペプチドアイソフォーム等）のバリエーション、構造的もしくは組成的に関連しない試験化合物、またはこれらの組み合わせが含まれ得る。

30

【0166】

試験化合物は、結合物質として使用可能な、ペプトイド、多糖類、有機化合物、無機化合物、ポリマー、脂質、核酸、ポリペプチド、抗体、タンパク質、多糖類、または他の化合物であり得る。試験化合物は、天然または合成であり得る。試験化合物は、多くの結合、または結合の組み合わせ（例えば、アミド、エステル、エーテル、チオール、ラジカル付加、金属配位等）、樹枝状構造物、環状構造物、空洞構造物、または特異的な付加がなされる骨格として働く多数の近接した付着部位を有する他の構造物のいずれかに基づく、直鎖状または分枝状のヘテロ多量体化合物を含むか、またはそれらからなり得る。これらの試験化合物は、当該技術分野において標準的な方法を用いて、基体上にスポットするか、またはインサイチューで合成することができる。加えて、試験化合物は、協同的結合等の有用な相互作用を検出するために、組み合わせでスポットするか、またはインサイチューで合成することができる。

40

【0167】

試験化合物は、既知のアミノ酸配列を有するポリペプチドであり得、故に、小胞と結合する試験化合物を検出することにより、結合物質として使用することができる、既知のアミノ酸配列のポリペプチドの同定をもたらすことができる。例えば、均質の小胞集団を、可変アミノ酸のある長さを有する数個から1,000,000個の試験ポリペプチドを含む、スラ

50

イド上のスポット型アレイに添加することができる。ポリペプチドは、C末端を介して表面に付着させることができる。ポリペプチドの配列は、システインを除く19種類のアミノ酸からランダムに作製することができる。結合反応は、各ポリペプチド結合標的に対する特異性の比率を決定することができるように、別の色素で標識した過剰な細菌タンパク質等の非特異的競合物を含むことができる。最も高い特異性および結合を有するポリペプチドを選択することができる。各スポット上のポリペプチドが何であるかは既知であり、故に、容易に同定することができる。起始細胞に特異的な小胞等の均質の小胞集団に特異的な新規な抗原が同定されると、続いて、その抗原を用いて、そのような起始細胞に特異的な小胞が、後に記載される方法において単離され得る。

【0168】

また、アレイは、小胞に対する結合物質として抗体を同定するために使用することもできる。試験抗体は、小胞を単離または同定するために使用することができる抗体を同定するために、アレイに付着させ、非均質の小胞集団に対してスクリーニングすることができる。起始細胞に特異的な小胞等の均質の小胞集団はまた、抗体アレイを用いてスクリーニングすることもできる。均質の小胞集団を単離または検出するために抗体を同定すること以外に、均質の集団に特異的な1つ以上のタンパク質のバイオマーカーを同定することができる。事前に選択した試験抗体、またはアレイに付着させたカスタム選択した試験抗体を用いて、市販のプラットフォームを使用することができる。例えば、Full Moon Biosystemsからの抗体アレイは、前立腺癌細胞由来の小胞を用いてスクリーニングし、結合物質としてBcl-XL、ERCC1、ケラチン15、CD81/TAPA-1、CD9、上皮特異抗原（ESA）、および脂肪細胞キマーゼに対する抗体を同定することができ（例えば、図62を参照のこと）、同定したタンパク質は、これらの小胞に対するバイオマーカーとして使用することができる。

【0169】

結合物質として使用される抗体または合成抗体はまた、ペプチドアレイを介して同定することもできる。別の方法は、抗体ファージディスプレイ法による合成抗体産生の使用である。抗体（例えば、Fab）のM13バクテリオファージライブラリーは、外殻タンパク質への融合としてファージ粒子の表面上に提示される。各ファージ粒子は固有の抗体を提示し、コードDNAを含むベクターも包含する。多様性に富むライブラリーを構築し、ファージプールとして示すことができ、固定化抗原に結合する抗体の選択に使用することができる。抗原結合ファージは固定化抗原によって保持され、非結合ファージは、洗浄することによって除去される。保持したファージプールは、大腸菌の宿主の感染によって増幅することができ、増幅したプールを、最終的に抗原結合クローンが多数を占める集団を得るように、さらなる回の選択に使用することができる。この段階で、個々のファージクローンを単離し、表示された抗体の配列を解読するために、DNA基配列決定法に供することができる。ファージディスプレイおよび当該技術分野において公知の他の方法の使用を通して、小胞に対する高親和性のデザイナー抗体を作製することができる。

【0170】

また、ビーズベースのアッセイを使用して、小胞を単離または検出するための新規な結合物質を同定することもできる。試験抗体またはペプチドは、粒子に結合させることができる。例えば、ビーズに抗体またはペプチドを結合させ、特定の組織または腫瘍型からの小胞を標的とすることができる新規な抗体を発見および特異的に選択するために、小胞集団の表面上に発現したタンパク質の検出および定量化に使用することができる。有機起源の任意の分子を、製造業者の説明書に従って、市販のキットの使用を通じてポリスチレンビーズに成功裏に結合させることができる。各ビーズセットは、ある検出可能な波長に着色することができ、それぞれは、既知の抗体またはペプチドと結合することができ、これは、どのビーズが、以前に結合した抗体またはペプチドのエピトープと一致するエキソソームタンパク質に結合するかを特異的に測定するために使用することができる。異なる強度を有する各ビーズが、上記のような、異なる結合物質を有するように、別個の蛍光強度でビーズを染色することができる。

【0171】

例えば、精製された小胞の調製物は、実験的に決定したアッセイのダイナミックレンジに従って、アッセイ緩衝液中で適切な濃度に希釈することができる。十分な量の結合したビーズを調製することができ、約1 μ lの抗体結合ビーズをウェルに分割し、最終量の約50 μ lまで調節することができる。抗体結合ビーズが真空対応プレートに添加されると、これらのビーズを洗浄して、適当な結合状態を確保することができる。次いで、小胞調製物の適切な量を試験される各ウェルに添加し、15～18時間等の間、混合物をインキュベートすることができる。検出抗体の希釈溶液を用いて十分な量の検出抗体を調製し、1時間、あるいは、必要な限り、混合物と共にインキュベートすることができる。次いで、これらのビーズを洗浄し、その後ストレプトアビジンフィコエリトリンからなる検出抗体（ビオチンを発現する）の混合物を添加することができる。次いで、これらのビーズを数回洗浄および真空吸引し、その後、計器が備わっているソフトウェアを用いて、懸濁アレイシステム上で解析することができる。次いで、小胞を選択的に抽出するために使用することができる抗原の同一性を、解析から解明することができる。

10

【0172】

イメージングシステムを用いるアッセイを使用して、特定の組織、細胞、または腫瘍型からの小胞を発見し、特に選択し、濃縮するために、小胞の表面上に発現したタンパク質を検出および定量化することができる。複数ウェル多重炭素コーティングプレートに結合した抗体、ペプチド、または細胞を使用することができる。パターン化した炭素の作用表面上に配置された捕捉抗体の使用を通して、ウェル中の多くの分析物の同時測定を達成することができる。次いで、増強電気化学発光プレートを用い、試薬で標識された抗体を用いて、電極ウェル中で分析物を検出することができる。有機起源の任意の分子を、炭素コーティングプレートに成功裏に結合させることができる。小胞の表面上に発現したタンパク質をこのアッセイから同定することができ、特定の組織または腫瘍型からの小胞を特に選択しかつ濃縮するための標的として使用することができる。

20

【0173】

また、この結合物質はアプタマーであり得、これは、これらの相補配列以外の分子に結合し得る核酸を意味する。アプタマーは、典型的に30～80の核酸を含み、かつ特定の標的分子に対して高い親和性を有する（報告されている解離定数(K_d)は 10^{-11} ～ 10^{-6} モル/l）。米国特許第5,270,163号、第6,482,594号、第6,291,184号、第6,376,190号、および米国特許第6,458,539号に記載されるような、試験管内進化法（SELEX）（Tuerk & Gold, Science 249:505-510, 1990; Ellington & Szostak, Nature 346:818-822, 1990）を用いて、標的に対するアプタマーを同定することができる。核酸のライブラリーを標的の小胞と接触させることができ、標的に特異的に結合する核酸が、ライブラリーにおける標的に特異的に結合しない核酸の残りから区分化される。区分化された核酸を増幅し、リガンドが濃縮されたプールを得る。結合、区分化、および増幅（すなわち、選択）の複数のサイクルにより、所望の活性を有する1つ以上のアプタマーの同定がもたらされる。小胞を単離するためのアプタマーを同定するための別の方法は、米国特許第6,376,190号に記載されており、同特許は、ライブラリーにおける核酸の頻度を、化学的に合成したペプチドへの結合によって増加または減少させることを説明する。米国特許公開第20090264508号に記載される、レーザーSELEXまたはdeSELEX等の修正された方法も使用することができる。

30

40

【0174】

結合物質に関して本明細書で使用する「特異的」という用語は、物質が、その標的に対して他の標的よりも高い親和性を、典型的には極めて高い親和性を有することを意味するが、該結合物質がその標的に対して絶対的に特異的であることを必要とする訳ではない。

【0175】

マイクロ流体工学

本明細書に記載されるような小胞を単離するまたは同定するための方法を実施するために、マイクロ流体工学デバイスが使用され得る。マイクロ流体工学デバイスを用いて、本

50

明細書に記載されるような小胞を単離または検出する方法を行うことができる。マイクロ流体工学デバイスは、「ラボチップ (lab-on-a-chip)」システム、生物医学的なマイクロ電気機械システム (bioMEM)、または多構成の集積システムとも称され得、小胞を単離し、分析するために使用することができる。そのようなシステムは、小胞の結合、バイオシグネチャーの検出を可能にするプロセス、および他のプロセスを小型化および分画化する。

【0176】

マイクロ流体工学デバイスはまた、サイズ分離または親和性選択を通して小胞を単離するために使用することもできる。例えば、マイクロ流体工学デバイスは、サイズに基づいて、または生体試料から小胞を単離するための1つ以上の結合物質を用いることによって、生体試料から小胞を単離するための1つ以上のチャンネルを使用することができる。1つ以上のマイクロ流体工学デバイスに生体試料を導入することができ、これにより、小胞の通過を選択的に可能にする。選択は、小胞のサイズ、形状、変形能、またはバイオシグネチャーなどの、小胞の特性に基づくものであり得る。

【0177】

一つの態様において、非均質の小胞集団をマイクロ流体工学デバイスに導入することができ、1つ以上の異なる均質小胞集団を得ることができる。例えば、異なるチャンネルは、異なる小胞集団を選択するために、異なるサイズ選択または結合物質を有し得る。故に、マイクロ流体工学デバイスは、複数の小胞を単離することができ、該複数の小胞の少なくとも1つのサブセットは、該複数の小胞の別のサブセットとは異なるバイオシグネチャーを含む。例えば、該マイクロ流体工学デバイスは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、または100の異なる小胞のサブセットを単離することができ、小胞のそれぞれのサブセットは、異なるバイオシグネチャーを含む。

【0178】

幾つかの態様において、該マイクロ流体工学デバイスは、小胞のさらなる濃縮または選択を可能にする1つ以上のチャンネルを含むことができる。第1のチャンネルの通過後、濃縮された小胞集団を第2のチャンネルに導入でき、第2のチャンネルに存在する一つまたは複数の結合物質等を通して、所望の小胞または小胞集団の通過をさらに濃縮することが可能になる。

【0179】

アレイベースのアッセイおよびビーズベースのアッセイを、マイクロ流体工学デバイスとともに使用することができる。例えば、結合物質をビーズに結合させることができ、マイクロ流体工学デバイス中でこのビーズと小胞との間の結合反応を行うことができる。また、マイクロ流体工学デバイスを用いて、多重化も行うことができる。異なる区画は、異なる小胞集団について異なる結合物質を含むことができ、各集団は、異なる起始細胞に特異的な小胞集団からのものである。一つの態様において、それぞれの集団は、異なるバイオシグネチャーを有する。マイクロ流体工学デバイス中でミクロスフェアと小胞との間のハイブリダイゼーション反応を行うことができ、該反応混合物を検出デバイスに送達することができる。二重または多重レーザー検出系等の検出デバイスは、マイクロ流体工学系の一部であり得、そのカラーコーディングによってそれぞれのビーズまたはミクロスフェアを同定するためにレーザーを使用することができ、別のレーザーは、それぞれのビーズと関連するハイブリダイゼーションシグナルを検出することができる。

【0180】

任意の適切なマイクロ流体工学デバイスを、本発明の方法において使用することができる。小胞と共に使用することができるか、または使用のために適合させることができるマイクロ流体工学デバイスの例は、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第7,591,936号、第7,581,429号、第7,579,136号、第7,575,722号、第7,568,399号、第7,552,741号、第7,544,506号、第7,541,578号、第7,518,726号、第7,488,596号、第7,485,214号、第7,467,928号、第7,452,713号、第7,452,509号、第7,449,096号、第7,431,887号

、第7,422,725号、第7,422,669号、第7,419,822号、第7,419,639号、第7,413,709号、第7,411,184号、第7,402,229号、第7,390,463号、第7,381,471号、第7,357,864号、第7,351,592号、第7,351,380号、第7,338,637号、第7,329,391号、第7,323,140号、第7,261,824号、第7,258,837号、第7,253,003号、第7,238,324号、第7,238,255号、第7,233,865号、第7,229,538号、第7,201,881号、第7,195,986号、第7,189,581号、第7,189,580号、第7,189,368号、第7,141,978号、第7,138,062号、第7,135,147号、第7,125,711号、第7,118,910号、第7,118,661号、第7,640,947号、第7,666,361号、第7,704,735号および国際公開公報第2010/072410号に記載されているものを含むが、それらに限定されない。本明細書に開示される方法で使用するためのもう一つの例が、Chen et al., "Microfluidic isolation and transcriptome analysis of serum vesicles," Lab on a Chip, Dec. 8, 2009 DOI:10.1039/b916199fに記載されている。

【0181】

本発明と共に使用するための他のマイクロ流体工学装置には、米国特許第5,376,252号、同第6,408,878号、同第6,645,432号、同第6,719,868号、同第6,793,753、同第6,899,137号、同第6,929,030号、同第7,040,338号、同第7,118,910号、同第7,144,616号、同第7,216,671号、同第7,250,128号、同第7,494,555号、同第7,501,245号、同第7,601,270号、同第7,691,333号、同第7,754,010号、同第7,837,946号；米国特許出願第2003/0061687号、同第2005/0084421号、同第2005/0112882号、同第2005/0129581号、同第2005/0145496号、同第2005/0201901号、同第2005/0214173号、同第2005/0252773号、同第2006/0006067号；ならびに欧州特許第0527905号および同第1065378号に開示されるエラストマー層、エラストマー弁、およびエラストマーポンプを含むが、それに限定されるわけではない、エラストマー層、エラストマー弁、およびエラストマーポンプを含む装置が含まれる。これらはそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる。場合によっては、装置の大部分または全てはエラストマー材料からなる。ある特定の装置は、装置を通る溶液の流れを調節するための1種または複数種のエラストマー弁を備えた装置を用いてサーマルサイクリング反応(例えば、PCR)を行うように設計されている。装置は反応部位アレイを含んでもよく、それによって、複数の反応を行うことが可能になる。従って、装置を用いて、小胞から単離されたマイクロRNAを含む循環マイクロRNAを多重様式で評価することができる。一態様において、マイクロ流体工学装置は、(a)エラストマー基体の中に形成された第1の複数のフローチャンネル；(b)反応部位アレイを規定するように、第1の複数のフローチャンネルを交差する、エラストマー基体の中に形成された第2の複数のフローチャンネルであって、それぞれの反応部位は第1のフローチャンネルおよび第2のフローチャンネルの1つの交点に位置する、第2の複数のフローチャンネル；(c)それぞれの反応部位の中にある溶液を他の反応部位にある溶液から隔離するように動かすことができる、第1の複数のフローチャンネルおよび第2の複数のフローチャンネルに沿って配置され、かつ反応部位の間で間隔をおいて配置された複数の隔離弁であって、それぞれがフローチャンネルの1つまたは複数を含む、かつ交差する1種または複数種の制御チャンネルを備える、隔離弁、ならびに(d)反応部位を互いに隔離するための弁を同時に動かすための手段を備える。装置の基本構造に対する様々な変更が本発明の範囲内で想定される。PCR方法を使用することによって、それぞれの反応部位においてマイクロRNAを検出することができる。例えば、この方法は、以下の工程：(i)第1の末端および第2の末端を有する第1の流体チャンネルであって、第1の末端および第2の末端はチャンネルを通して互いに流体連通している、第1の流体チャンネル；複数のフローチャンネルであって、それぞれのフローチャンネルは末端壁で終わる、複数のフローチャンネル；第1の流体チャンネルと流体連通しており、試料流体を導入するための入口；ならびに制御チャンネルを備えるマイクロ流体工学装置を準備する工程であって、それぞれのフローチャンネルは第1の流体チャンネルから分岐し、第1の流体チャンネルと流体連通し；第1の流体チャンネルからフローチャンネルの1つに入る水性流体は第1の流体チャンネルを通り抜けた時しかフローチャンネルから流れ出ることができず；それぞれのフローチャンネルは、閉鎖時に、フローチャンネルの1つの末端を第1の流体チャンネルから隔離する弁と結びつけられ、それによって、隔離された反応部位が弁と末端壁と

の間に形成され;作動力が制御チャンネルに加えられ、それによって、弁が閉鎖された時に、弁はそれぞれ、弁と結びつけられているフローチャンネルに偏向される偏向可能な膜であり;作動力が制御チャンネルに加えられた時に、それぞれのフローチャンネルにある弁が閉鎖され、それぞれのフローチャンネルの中に隔離された反応部位が生成される、工程;(ii)試料流体を入口に導入して、フローチャンネルを試料流体で満たす工程;(iii)弁を動かして、試料流体をフローチャンネル内の別々の部分に分ける工程;(iv)試料流体中の核酸を増幅する工程;(v)試料流体の部分进行分析して、増幅によって反応が生じたかどうかを判定する工程を含む。試料流体は、増幅可能な核酸標的、例えば、マイクロRNAを含むしてもよく、条件は、PCR産物中の反応結果が形成されるようなポリメラーゼ鎖反応(PCR)条件でもよい。

10

【0182】

一態様において、マイクロRNAを検出するために用いられるPCRはデジタルPCRである。デジタルPCRは、Brown, et al., 米国特許第6,143,496号、発明の名称「Method of sampling, amplifying and quantifying segment of nucleic acid, polymerase chain reaction assembly having nanoliter-sized chambers and methods of filling chambers」およびVogelstein, et al, 米国特許第6,446,706号、発明の名称「Digital PCR」によって説明され、これらは両方ともその全体が参照により本明細書に組み入れられる。デジタルPCRでは、試料中の個々の核酸分子が、多くの別々の領域、例えば、前記のマイクロ流体工学装置の反応部位の中に局在化および濃縮されるように、試料が分割される。試料を分割すると、ポアソンに従って評価することによって分子を計数することが可能になる。結果として、それぞれの部分は「0」個の分子または「1」個の分子、すなわち、それぞれ、負の反応または正の反応を含む。PCR増幅後に、正の反応であるPCR最終生成物を含む領域を計数することによって核酸を定量することができる。従来のPCRでは、出発コピー数はPCR増幅サイクル数に比例する。しかしながら、デジタルPCRは、試料の初期量を決定するのに増幅サイクル数に依存せず、そのため、標的核酸を定量するために不確定な指数データへの依存が無くなり、絶対定量が行われる。従って、この方法は、試料中のマイクロRNAを検出するための感度の高い手法を提供することができる。

20

【0183】

一つの態様において、小胞を単離または検出するためのマイクロ流体工学デバイスは、幅が約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45、50、55もしくは60mm未満、または幅が約2~60、3~50、3~40、3~30、3~20もしくは4~20mmのチャンネルを含む。マイクロチャンネルは、約10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60、65もしくは70 μm 未満または約10~70、10~40、15~35もしくは20~30 μm の深さを有することができる。さらに、マイクロチャンネルは、約1、2、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5または10cm未満の長さを有することができる。マイクロ流体工学デバイスは、広さが約40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、65、70、75もしくは80 μm 未満、または広さが約40~80、40~70、40~60もしくは45~55 μm である溝をその天井に有することができる。溝は、深さが約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45または50 μm 未満、たとえば約1~50、5~40、5~30、3~20または5~15 μm であることができる。

30

40

【0184】

マイクロ流体工学装置は、チャンネル内の表面に付着させたかチャンネル内に存在している1種または複数種の結合物質を有することができる。例えば、マイクロチャンネルは、1種または複数種の捕捉物質、例えば、EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAP、および/またはEGFRに対する捕捉物質を有してもよい。捕捉物質はまたTMEM211および/またはCD24に対する捕捉物質でもよい。他の態様において、1種または複数種の捕捉物質は、以下:CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A3

50

3、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、およびTNFRの1つまたは複数を認識する。1つの態様において、マイクロチャネル表面をアビジンで処理し、ビオチン化された捕捉物質、例えば、抗体をチャネルに注入して、アビジンと結合させることができる。他の態様において、捕捉物質は、チャンバーまたはマイクロ流体工学装置の他の構成要素の中に存在する。捕捉物質はまた、マイクロ流体工学チャネルを通して移動するように操作することができるビーズに付着させてもよい。1つの態様において、捕捉物質は磁気ビーズに付着させる。ビーズは、磁石を用いて操作することができる。

【0185】

生物学的試料は、少なくとも毎分約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45または50 μ l、たとえば毎分約1~50、5~40、5~30、3~20または5~15 μ lの速度でマイクロ流体工学デバイスまたはマイクロチャネル中に流すことができる。一つまたは複数の小胞をマイクロ流体工学デバイス中で捕捉し、直接検出することができる。または、解析の前に、捕捉した小胞を放出してマイクロ流体工学デバイスから出すこともできる。もう一つの態様においては、一つまたは複数の捕捉した小胞をマイクロチャネル中で溶解させ、例えば、小胞に伴うペイロードを調べるために、溶解産物を解析することもできる。溶解緩衝液をチャネル中に流し、捕捉した小胞を溶解させることができる。たとえば、溶解緩衝液は、少なくとも毎分約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、26、27、28、29、30、35、40、45または50 μ l、たとえば毎分約1~50、5~40、10~30、5~30または10~35 μ lの速度で装置またはマイクロチャネル中に流すことができる。溶解産物を回収し、たとえばRT-PCR、PCR、質量分析法、ウエスタンブロット法または他のアッセイ法を実施することによって解析して、小胞の一つまたは複数のバイオマーカーを検出することができる。

【0186】

本明細書に記載の様々な単離システムおよび検出システムは、このような疾患および障害に関連するような診断、予後判定、疾患層別化、セラノース、応答者/非応答者の状態の予測、疾患モニタリング、治療モニタリングのために情報価値のある小胞を単離または検出するのに使用することができる。単離法の組み合わせは本発明の範囲内である。非限定的な例では、試料をクロマトグラフィーカラムに流して、電気泳動移動度のサイズなどの特性に基づいて小胞を単離し、次いで、小胞をマイクロ流体工学装置に通すことができる。これらの工程の前、間、または後に結合物質を使用することができる。

【0187】

起始細胞および疾患特異的小胞

本明細書に開示される結合物質を使用して、小胞、たとえば起始細胞小胞または特異的バイオシグネチャーを有する小胞を単離または検出することができる。結合物質は、不均一な小胞集団を試料から単離または検出するために使用することもできるし、均一な小胞集団、たとえば特異的バイオシグネチャーを有する起始細胞特異的小胞集団を不均一な小胞集団から単離または検出するために使用することもできる。

【0188】

起始細胞特異的小胞のような均一な小胞集団を解析し、使用して、対象の表現型を特徴決定することができる。起始細胞特異的小胞は、特定の細胞型に由来する小胞であり、特定の組織の細胞、関心対象の特定の腫瘍もしくは関心対象の患部組織からの細胞、循環腫瘍細胞または母体もしくは胎児起源の細胞を含むことができるが、これらに限定されない

。小胞は、腫瘍細胞または肺、脾臓、胃、腸、膀胱、腎臓、卵巣、精巣、皮膚、結腸直腸、乳房、前立腺、脳、食道、肝臓、胎盤もしくは胎児の細胞に由来することができる。単離された小胞はまた、尿小胞のような、特定の試料型からの小胞であることもできる。

【0189】

生物学的試料由来の起始細胞特異的小胞は、起始細胞に特異的である一つ以上の結合物質を使用して単離することができる。疾患または病態の解析のための小胞は、その疾患または病態のバイオマーカーに特異的な一つまたは複数の結合物質を使用して単離することができる。

【0190】

起始細胞特異的小胞の単離または検出の前に、上記のように、たとえば遠心分離法、クロマトグラフィーまたはろ過法によって小胞を濃縮して、起始細胞特異的小胞単離の前に、不均一な小胞集団を生成することができる。または、起始細胞小胞単離の前には小胞は濃縮されず、または生物学的試料は小胞に関して濃縮されない。

【0191】

図61Bは、起始細胞特異的小胞を単離または同定する方法6100Bを示すフローチャートを示す。まず、工程6102において、対象から生物学的試料を得る。試料は、第三者または解析を実施する同じ当事者から得ることができる。次に、工程6104において、生物学的試料から起始細胞特異的小胞を単離する。次いで、工程6106において、単離した起始細胞特異的小胞を解析し、工程6108において、特定の表現型に関してバイオマーカーまたはバイオシグネチャーを同定する。本方法は、複数の表現型に関して使用することができる。いくつかの態様においては、工程6104の前に、小胞を生物学的試料から濃縮または単離して、均一な小胞集団を生成する。たとえば、特定の細胞型に由来する小胞の単離または同定に特異的な一つまたは複数の結合物質を使用する前に、遠心分離法、クロマトグラフィー、ろ過法または上記他の方法を使用して不均一な小胞集団を単離することもできる。

【0192】

起始細胞特異的小胞は、起始細胞特異的小胞に対して高い特異性で結合する一つまたは複数の結合物質を用いることによって、対象の生物学的試料から単離することができる。いくつかの例においては、一つの結合物質を用いて起始細胞特異的小胞を単離することができる。他の例においては、結合物質の組み合わせを用いて起始細胞特異的小胞を単離することもできる。たとえば、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75または100種類の異なる結合物質を使用して起始細胞小胞を単離することもできる。したがって、一つまたは複数の結合物質を使用することによって小胞集団（たとえば、同じ結合物質プロファイルを有する小胞）を同定することができる。

【0193】

一つまたは複数の結合物質は、起始細胞、たとえば腫瘍、自己免疫疾患、心血管疾患、神経疾患、感染症または他の疾患もしくは障害に関連する起始細胞に特異的である標的抗原に対するそれらの特異性に基づいて選択することができる。起始細胞は、そのような疾患および障害に関連する診断、予後判定、疾患層別化、セラノーシス、応答者／非応答者状態の予測、疾患モニタリング、治療モニタリングなどに情報をもたらす細胞であることができる。起始細胞はまた、それらに使用するためのバイオマーカーを発見するために有用な細胞であることもできる。起始細胞特異的小胞、疾患特異的小胞または腫瘍特異的小胞を単離するために単独で、または組み合わせて使用することができる抗原の非限定的な例は図1に示され、本明細書にも記載されている。抗原は、結合物質が接触可能である膜結合抗原を含むことができる。抗原は、表現型を特徴決定することに関連するバイオマーカーであることができる。

【0194】

当業者は、情報をもたらす小胞を単離するために使用することができる適用可能な抗原が本発明によって考慮されることを理解するであろう。本明細書に概説するように、表面抗原および／またはそのフラグメントを認識する結合物質、たとえば抗体、アプタマーお

よびレクチンを選択することができる。結合物質は、所望の細胞型または位置に特異的な抗原を認識することができ、かつ／または、所望の細胞と関連したバイオマーカーを認識することができる。細胞は、たとえば、腫瘍細胞、他の患部細胞、疾患のマーカーとして働く細胞、たとえば活性化された免疫細胞などであることができる。当業者は、関心対象の任意の細胞に対する結合物質が、これらの細胞と関連した小胞を単離するのに有用であることができることを理解するであろう。当業者はさらに、関心対象の小胞を検出するために本明細書に開示される結合物質を使用できることを理解するであろう。非限定的な例として、小胞バイオマーカーに対する結合物質は、同じまたは異なる結合物質の一つまたは複数が結合する小胞を検出するために、直接的または間接的に標識されることができる。

10

【0195】

癌、自己免疫疾患、心血管疾患、神経疾患、感染症または他の疾患もしくは障害と関連した小胞への結合に有用な結合物質にとってのいくつかの標的が表4に提示されている。記載されたある障害と関連する細胞に由来する小胞は、表中の抗原の一つを使用して特徴決定することができる。結合物質、たとえば抗体またはアプタマーが、記載された抗原のエピトープ、そのフラグメントを認識することもできるし、結合物質が任意の適切な組み合わせに対して使用されることもできる。小胞を特徴決定するために、疾患または障害と関連した他の抗原を認識することもできる。当業者は、小胞を特徴決定するための情報をもたらし小胞を評価するために使用することができる任意の適用可能な抗原が、単離、捕捉または検出のために本発明によって考慮されることを理解するであろう。

20

【0196】

(表4) 様々な疾患および障害の特徴決定に使用するための例示的抗原

疾患または障害	標的
乳癌、たとえば腺細胞または間質細胞	BCA-225、hsp70、MART1、ER、VEGFA、クラスIIIb チューブリン、HER2/neu (Her2+乳癌の場合)、GPR30、ErbB4 (JM) イソ型、MPR8、MISIIR
乳癌	CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、ERB B4
乳癌	BCA-225、hsp70、MART1、ER、VEGFA、クラスIII b-チューブリン、HER2/neu (例えば、Her2+乳癌の場合)、GPR30、ErbB4 (JM) イソ型、MPR8、MISIIR、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1 (NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3 (MUC1 分泌型)、CA27.29 (MUC1 分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、プロゲステロン受容体(PR)またはそのイソ型(PR(A)またはPR(B))、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1 IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTP IA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R-β、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2 エラフィン、ST2/IL1 R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNF
乳癌	CD10、NPGP/NPFF2、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、ニューロキニン受容体-1 (NK-1またはNK-1R)、NK-2、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3 (MUC1 分泌型)、CA27.29 (MUC1 分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1
乳癌	SPB、SPC、NSE、PGP9.5、CD9、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、EGFR、B7H3、IC3b、MUC1、メソテリン、SPA、PCSA、CD63、STEAP、AQP5、CD81、DR3、PSM、GPCR、EphA2、hCEA-CAM、PTP IA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP-2、MUC2、IL10R-β、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2 エラフィン、ST2/IL1 R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNFR
乳癌	BRCA、MUC-1、MUC 16、CD24、ErbB4、ErbB2 (HER2)、ErbB3、HSP70、マンマグロビン、PR、PR(B)、VEGFA

10

20

30

卵巣癌	CA125, VEGFR2, HER2, MISHR, VEGFA, CD24
肺癌	CYFRA21-1, TPA-M, TPS, CEA, SCC-Ag, XAGE-1b, HLAクラス1, TA-MUC1, KRAS, hENT1, キニンB1受容体, キニンB2受容体, TSC403, HTI56, DC-LAMP
肺癌	SPB, SPC, PSP9.5, NDUFB7, gal3-b2c10, iC3b, MUC1, GPCR, CABYR および muc17
結腸直腸癌	CEA, MUC2, GPA33, CEACAM5, ENFB1, CCSA-3, CCSA-4, ADAM10, CD44, NG2, エフリンB1, プラコグロビン, ガレクチン4, RACK1, テトラスパニン-8, FASL, A33, CEA, EGFR, ジペプチダーゼ1, PTEN, NA (+) 依存性グルコース輸送体, UDPグルクロノシルトランスフェラーゼ1A, TMEM211, CD24
前立腺癌	PSA, TMPRSS2, FASLG, TNFSF10, PSMA, NGEP, IL-7RI, CSCR4, CysLT1R, TRPM8, Kv1.3, TRPV6, TRPM8, PSGR, MISHR, ガレクチン-3, PCA3, TMPRSS2:ERG
脳癌	PRMT8, BDNF, EGFR, DPPX, Elk, デンシン-180, BAI2, BAI3
血液癌 (血液悪性腫瘍)	CD44, CD58, CD31, CD11a, CD49d, GARP, BTS, ラフトリン
黒色腫	DUSP1, TYRP1, SILV, MLANA, MCAM, CD63, Alix, hsp70, メオシン, p120カテニン, RGRL, シンタキシン結合タンパク質1&2, カベオリン
肝臓癌 (肝細胞癌)	HBxAg, HBsAg, NLT
子宮頸癌	MCT-1, MCT-2, MCT-4
子宮内膜癌	α V β 6 インテグリン
乾癬	flt-1, VPF受容体, kdr
自己免疫疾患	Tim-2
過敏性腸疾患 (IBDまたは症候群 (IBS))	IL-16, IL-1 β , IL-12, TNF α , インターフェロン γ , IL-6, Rantes, IL-12, MCP-1, 5HT
糖尿病、たとえば膵臓細胞	IL-6, CRP, RBP4
バレット食道	p53, MUC1, MUC6
線維筋痛症	ネオブテリン, gp130
良性前立腺肥大 (BPH)	KIA1, 無傷のフィブロネクチン
多発性硬化症	B7, B7-2, CD-95 (fas), Apo-1/Fas
パーキンソン病	PARK2, セルロプラスミン, VDBP, タウ, DJ-1
リウマチ性疾患	シトルリン化フィブリン α 鎖、CD5抗原様フィブリノーゲンフラグメントD、CD5抗原様フィブリノーゲンフラグメントB、TNF α
アルツハイマー病	APP695, APP751またはAPP770, BACE1, シスタチンC, アミロイド β , Tタウ, 補体因子H, α 2マクログロブリン
頭頸部癌	EGFR, EphB4, エフリンB2
消化管間質腫瘍 (GIST)	c-kitPDGFRA, NHE-3
腎細胞癌	c PDGFRA, VEGF, HIF 1 α
統合失調症	ATP5B, ATP5H, ATP6V1B, DNMI
末梢神経因性疼痛	OX42, ED9
慢性神経因性疼痛	ケモカイン受容体 (CCR2/4)
プリオン病	PrPSc, 14-3-3 ζ , S-100, AQP4
脳卒中	S-100, ニューロン特異的エノラーゼ, PARK7, NDKA, ApoC-I, ApoC-III, SAAまたはAT-IIIフラグメント, Lp-PLA2, hs-CRP
心血管疾患	FATP6
食道癌	CaSR
結核	抗原60, HSP, リポアラビノマンナン、スルホ脂質、アシル化トレハロースファミリーの抗原、DAT, TAT, トレハロース6, 6-ジミコレート (コード因子) 抗原
HIV	gp41, gp120
自閉症	VIP, PACAP, CGRP, NT3
喘息	YKL-40, S-ニトロソチオール, SSCA2, PAI, アンフィレグリン, ペリオスチン
狼瘡	TNFR
肝硬変	NLT, HBsAg
インフルエンザ	ヘマグルチニン, ノイラミニダーゼ
不安定プラーク	α v β 3 インテグリン, MMP9

起始細胞に特異的な小胞は、新規結合物質を用い、本明細書記載の方法を用いて、単離され得る。さらに、起始細胞に特異的な小胞はまた、そのような小胞の細胞結合パートナーまたは結合物質に基づく単離方法を用いて、生体試料から単離することもできる。そのような細胞結合パートナーとしては、1つ以上の固有のバイオマーカーが存在する場合、そのような小胞にのみ結合する、ペプチド、タンパク質、RNA、DNA、アプタマー、細胞、または血清付随タンパク質を挙げることができるが、これらに限定されない。単一の結合パートナーもしくは結合物質、または単独の適用もしくは組み合わせた適用が起始細胞に特異的な単離もしくは検出をもたらす結合パートナーもしくは結合物質の組み合わせを用いて、起始細胞に特異的な小胞の単離または検出を行うことができる。そのような結合物質の限定されない例を図2に提供する。例えば、乳癌を特徴決定するための小胞は、エストロゲン、プロゲステロン、トラスツズマブ、CCND1、MYC PNA、IGF-1 PNA、MYC PNA、SC4アプタマー (Ku)、AII-7アプタマー (ERB2)、ガレクチン-3、ムチン型O-グリカン、L-PHA、ガレクチン9、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上の結合物質を用いて単離することができる。

【0198】

結合物質はまた、i) 起始細胞に特異的な小胞に特異的な抗原の存在、ii) 起始細胞に特異的な小胞に特異的なマーカーの不在、またはiii) 起始細胞に特異的な小胞に特異的なバイオマーカーの発現レベルに基づいて、起始細胞に特異的な小胞を単離または検出するために使用され得る。小胞の起始細胞の特徴を除外するまたは同定するように設計された特定の結合物質でコーティングされた表面に、非均質の小胞集団を適用することができる。固体表面または基体上に抗体等の種々の結合物質を配列させることができ、十分な時間、非均質の小胞集団を固体表面または基体に接触させて、相互作用を行う。次いで、アレイ表面または基体上のある抗体位置に対する特異的な結合または非結合は、ある起始細胞に特異的な小胞集団の抗原に特異的な特徴を同定する役目を果たすことができる。換言すれば、結合事象は、結合抗体によって認識される抗原を有する小胞の存在を示唆し得る。反対に、結合事象が無いことは、結合抗体によって認識される抗原を有する小胞が存在しないことを示唆し得る。

【0199】

起始細胞に特異的な小胞は、上記の、磁気捕捉法、蛍光活性化細胞分取 (FACS)、またはレーザーサイトメトリー法を用いて、1つ以上の結合物質を用いて濃縮または単離することができる。磁気捕捉法としては、磁気活性化セルソーター (MACS) のマイクロビーズまたは磁気カラムの使用を挙げることができるが、これらに限定されない。使用することができる免疫親和性および磁気粒子の方法は、米国特許第4,551,435号、同第4,795,698号、同第4,925,788号、同第5,108,933号、同第5,186,827号、同第5,200,084号、または同第5,158,871号に記載されている。起始細胞に特異的な小胞はまた、米国特許第7,399,632号に記載の一般的方法に従って、小胞に特異的な抗原の組み合わせを用いることによって、単離することもできる。

【0200】

また、生体試料について起始細胞に特異的な小胞を単離するか、そうでなければ濃縮するための任意の他の適切な方法を、本発明にしたがって使用することができる。例えば、ゲル浸透カラム等のサイズ排除クロマトグラフィー、遠心分離法もしくは密度勾配遠心分離法、および濾過法は、本明細書に記載の抗原選択法と組み合わせて使用することができる。また、起始細胞に特異的な小胞は、Koga et al., Anticancer Research, 25:3703-3708(2005)、Taylor et al., Gynecologic Oncology, 110:13-21(2008)、Nanjee et al., Clin Chem, 2000;46:207-223、または米国特許第7,232,653号に記載の方法に従って単離され得る。

【0201】

診断、予後判定、疾患層別化、セラノーシス、応答者/非応答者の状態の予測、疾患モニタリング、治療モニタリングなどを行うために、小胞を単離および/または検出することができる。1つの態様において、疾患または障害を有する細胞、例えば、悪性細胞、自

己免疫疾患、心血管疾患、神経学的疾患、または感染症の部位に由来する細胞から小胞が単離される。一部の態様において、単離された小胞は、このような疾患および障害に関連する細胞、例えば、疾患原因において役割を果たし、分析が、このような疾患および障害に関連する診断、予後判定、疾患層別化、セラノース、応答者/非応答者の状態の予測、疾患モニタリング、治療モニタリングなどのために情報価値のある免疫細胞に由来する。小胞は、新規のバイオマーカーを発見するのにさらに有用である。小胞に関連したバイオマーカーを特定することによって、本明細書に記載の表現型を特徴決定するために、単離された小胞を評価することができる。

【0202】

バイオマーカー評価

本発明の一局面において、生物学的試料を分析し、試料中の循環バイオマーカー、例えば、循環小胞、タンパク質、または核酸の1つまたは複数の集団の存在、レベル、量、または濃度を決定することによって対象の表現型が特徴決定される。態様において、特徴決定は、試料中の循環バイオマーカーが参照と比べて変化したかどうか決定する工程を含む。参照は標準または対照と呼ばれることもある。変化は、完全な存在もしくは非存在、定量レベル、参照、例えば、存在する全ての小胞のレベル、ハウスキーピングマーカーのレベル、および/またはスパイクインマーカーのレベルと比較した相対レベル、高レベル、低レベル、過剰発現、過小発現、ディファレンシャルな発現、変異または他の変化した配列、修飾(グリコシル化、リン酸化、エピジェネティック変化)などを含むが、それに限定されるわけではない、試料と参照との任意の測定可能な差を含んでもよい。一部の態様において、循環バイオマーカーの量を決定する前に、循環バイオマーカーを試料から精製または濃縮する。特別の定めのない限り、本明細書で使用する「精製された」または「単離された」は部分的または完全な精製または単離を指す。他の態様において、循環バイオマーカーは、先に精製または濃縮されることなく試料から直接評価される。循環小胞は起始細胞特異的小胞でもよく、特定のバイオシグネチャーを有する小胞でもよい。バイオシグネチャーには、特定のバイオマーカーパターン、例えば、検出するために望ましい表現型、例えば、疾患表現型を示すバイオマーカーパターンが含まれる。バイオシグネチャーは1種または複数種の循環バイオマーカーを含んでもよい。診断、予後判定、セラノース、または応答者/非応答者の状態の予測などの表現型を特徴決定する時にバイオシグネチャーを使用することができる。一部の態様において、バイオシグネチャーは、生理学的状態または生物学的状態、妊娠または妊娠の段階を決定するために用いられる。バイオシグネチャーはまた、治療効力、疾患もしくは状態の段階、または疾患もしくは状態の進行を決定するために使用することもできる。例えば、1つまたは複数の小胞の量は、疾患の段階の上昇または進行に比例してもよく、反比例してもよい。検出された小胞量はまた、疾患もしくは状態の進行をモニタリングするために、または治療に対する対象の応答をモニタリングするために使用することもできる。

【0203】

循環バイオマーカーは、循環バイオマーカーのレベルを参照レベルまたは参照値と比較することによって評価することができる。参照値は、身体的エンドポイントまたは時間的エンドポイントに特有のものでよい。例えば、参照値は、評価される試料が得られた対象と同じ対象に由来してもよい。または、参照値は、試料の代表的な集団(例えば、疾患の症状を示さない正常対象からの試料)に由来してもよい。従って、参照値は、ある特定の試料においてアッセイされるバイオシグネチャーの対象試料読み取り値と比較される閾値測定値でもよい。このような参照値は、年齢(例えば、新生児、幼児、青少年、青年、中年の成人、老人および様々な年齢の成人)、人種/民族群、正常対疾患対象、喫煙者対非喫煙者、療法を受けている対象対非未治療対象、ある特定の個体または同様の診断もしくは治療を受けた対象群に対する治療の異なる時点、あるいはその組み合わせを含むが、これに限定されない、ある特定のコホートに対応する試料の群からプールされたデータに従って設定されてもよい。さらに、ある特定の個体に対する治療の異なる時点でのバイオシグネチャーを決定することによって、個体が治療を受けている疾患または状態の治療また

10

20

30

40

50

は進行に対する個体の応答をモニタリングすることができる。

【0204】

参照値は、個別化された追跡を提供するように、同じ対象から評価された試料に基づいてもよい。一部の態様において、対象からの試料中のバイオシグネチャーを頻繁に試験すると、その対象について以前に確立された参照値との比較が良好に行われる。このような時間経過測定値は、医師が対象の疾患の段階または進行を正確に評価し、従って、治療のためのより良い決定を知らせるのに用いられる。場合によっては、対象自身のバイオシグネチャーが経時的に比較された時、従って、対象について個別化された閾値、例えば、診断が行われる閾値が定義された時に、バイオシグネチャーのばらつきは小さくなる。時間的な対象内ばらつきがあると、個人個人が、疾患状態または生理学的状態の最適分析のための長期対照として役立つことができる。例示として、対象血液中の前立腺細胞由来小胞のレベルを経時的に測定する場合を考える。対象血液中の前立腺由来小胞レベルの急激な上昇は、例えば、前立腺癌による前立腺細胞の過剰増殖を示し得る。

10

【0205】

特定の表現型を有しない非罹患者（種々な年齢、民族的背景および性別の）に関して、参照値は、非罹患者における関心対象のバイオシグネチャーを測定することによって確立することができる。たとえば、参照集団の参照値を、試験対象における一つまたは複数の循環バイオマーカー集団の検出のためのベースラインとして使用することができる。対象由来の試料が参照と同様なレベルまたは値を有する場合、その対象を、疾患を有しない、または疾患を発症する可能性が低いものと同定することができる。

20

【0206】

または、参照値またはレベルは、ある特定の表現型を有する個人における一つまたは複数の小胞集団の量を測定することによって、その表現型を有する個人に関して確立することができる。加えて、特定の表現型に関して値のインデックスを作成することができる。たとえば、異なる病期は、異なる病期の個人から得られる、異なる値を有することができる。対象の値をインデックスと比較し、対象のレベルがインデックスと最も密接に相関している、病期または進行などの疾患の診断または予後を決定することができる。他の態様においては、治療の効果に関して値のインデックスが作成される。たとえば、特定の疾患を有する個人の小胞のレベルを生成し、どの治療がその個人に有効であったかに注目することができる。これらのレベルを使用して、対象の値が比較される値を生成することができ、たとえば対象が治療に関して応答者または非応答者である可能性があるかどうかをそのレベルから予測することにより、個人に対する治療または治療法を選択することができる。

30

【0207】

いくつかの態様においては、特定の癌のバイオマーカーを特異的に標的とする抗原を用いて循環バイオマーカーを単離または検出することにより、その特定の癌に罹患していない個人に関する参照値が決定される。非限定的な例として、非患者個人に関して記載された同じ技術を使用して様々な病期の結腸直腸癌および非癌性のポリープを有する個人を調査することができ、各群の循環小胞のレベルを測定することができる。いくつかの態様において、レベルは、少なくとも二重または三重反復で実施された少なくとも二つの別個の実験からの平均±標準偏差として決定される。統計的検定を用いてこれらの群の間の比較を実施して、観察されたバイオマーカー識別の統計的有意性を決定することができる。いくつかの態様において、統計的有意性は、パラメトリック統計的検定を用いて決定される。パラメトリック統計的検定は、非限定的に、一部実施要因計画法、分散分析法（ANOVA）、t検定、最小二乗法、ピアソン相関、単回帰、非線形回帰、多重線形回帰または多重非線形回帰を含むことができる。または、パラメトリック統計的検定は、一方向分散分析、二方向分散分析または反復計測分散分析を含むことができる。他の態様において、統計的有意性は、非パラメトリック統計的検定を使用して決定される。例は、ウィルコクソン符号順位検定、マン・ホイットニー検定、クラスカル・ウォリス検定、フリードマン検定、スピアマンの順位相関係数、ケンドール τ 分析およびノンパラメトリック回帰検定を含

40

50

むが、これらに限定されない。いくつかの態様において、統計的有意性は、0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005または0.0001未満のp値で決定される。p値はまた、たとえば、ボンフェローニ補正、その変形または当業者に公知の他の技術、たとえばホフバーグ補正、ホルム・ボンフェローニ補正、シダック補正、ダネット補正もしくはテューキー多重比較を使用して、多重比較に関して補正することができる。いくつかの態様においては、ANOVAののち、各集団からのバイオマーカーの検定後比較のためにテューキー補正が実施される。

【0208】

参照値はまた、疾患再発モニタリング（またはMSにおける増悪段階）、治療応答モニタリングまたは応答者／非応答者状態の予測のために確立することもできる。

10

【0209】

いくつかの態様においては、本明細書においては合成小胞とも呼ばれる人工小胞を使用して、小胞の参照値が決定される。たとえばリボソームを使用して人工小胞を製造する方法は当業者には公知である。人工小胞は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるUS20060222654およびUS4448765に開示されている方法を使用して製造することができる。人工小胞は、捕捉および／または検出を容易にするための公知のマーカーを用いて構成することができる。いくつかの態様において、人工小胞は処理の前に体液試料中に添加される。たとえばろ過法または本明細書に開示される他の単離法を使用する処理の間、無傷の合成小胞のレベルを追跡して、処理された試料に対する初期試料中の小胞の量の対照を提供することができる。同様に、任意の処理工程の前または後で人工小胞を試料中に添加することもできる。いくつかの態様において、人工小胞は、小胞の単離および検出に使用される機器を校正するために使用される。

20

【0210】

人工小胞は、ビーズベースのアッセイ法のようなアッセイ法の実行可能性を試験するための対照として製造および使用することができる。人工小胞は、ビーズおよび検出抗体の両方に結合することができる。したがって、人工小胞は、各抗体が結合するアミノ酸配列／立体配置を含む。人工小胞は、抗体が結合する精製タンパク質または合成ペプチド配列を含むことができる。人工小胞は、生物学的分子を付着させることができるビーズ、たとえばポリスチレンビーズであることもできる。ビーズが利用可能なカルボキシ基を有するならば、利用可能なアミン基を介して、たとえばカルボジイミドカップリングを使用して、タンパク質またはペプチドをビーズに連結することもできる。

30

【0211】

もう一つの態様において、人工小胞は、アビジンでコーティングされたポリスチレンビーズであることができ、ビオチンが、合成時に、またはビオチン・マレイミド化学を介して、選択されたタンパク質またはペプチドの表面に配置される。ビーズ表面に配されるタンパク質／ペプチドは、人工小胞が使用される用途に特異的な比率で混合したのち、ビーズに結合させることができる。そして、これらの人工小胞は、捕捉ビーズと検出抗体との間のリンクとして働くことができ、それにより、アッセイの構成要素が正しく作用していることを示すための対照を提供する。

【0212】

値は、定量的または定性的な値であることができる。値は、小胞のレベルの直接的測定値（たとえば体積あたりの質量）または特定のバイオマーカーの量のような間接的尺度であることができる。値は、数値のような定量値であることができる。他の態様において、値は、小胞なし、低レベルの小胞、中レベルの小胞、高レベルの小胞またはこれらの変形のような定性値である。

40

【0213】

参照値は、データベースに記憶し、循環バイオマーカーのレベルもしくは量、たとえば小胞もしくはマイクロRNAの全量、または小胞もしくはマイクロRNAの特定の集団、たとえば起始細胞特異的な小胞もしくはマイクロRNA、もしくは特定のバイオシグネチャーを有する小胞からのマイクロRNAの量に基づいて、疾患または病態の診断、予後判定、セラノ

50

ーシス、疾患層別化、疾患モニタリング、治療モニタリングまたは非応答者／応答者状態の予測のための参照として使用することができる。説明のための例として、癌の診断を決定する方法を考えてみる。癌の参照対象および癌ではない参照対象からの小胞または他の循環バイオマーカーを評価し、データベースに記憶する。参照対象は、癌または別の状態、たとえば健康な状態を示すバイオシグネチャーを提供する。そして、試験対象由来の試料をアッセイし、マイクロRNAバイオシグネチャーをデータベース中のものに対して比較する。対象のバイオシグネチャーが、癌を示す参照値とより近く相関しているならば、癌の診断を下すことができる。逆に、対象のバイオシグネチャーが、健康な状態を示す参照値とより近く相関しているならば、その対象を無疾患者と決定することができる。当業者は、この例が非限定的であり、他の表現型、たとえば他の疾患、予後判定、セラノーシス、疾患層別化、疾患モニタリング、治療モニタリングまたは非応答者／応答者状態の予測などを評価するために拡張することができることを理解するであろう。

10

【0214】

表現型を特徴決定するためのバイオシグネチャーは、表面抗原またはペイロードなどの、小胞に関連するバイオマーカーを含む、小胞などの循環バイオマーカーを検出することによって決定することができる。ペイロード、例えばタンパク質またはmRNAもしくはマイクロRNAなどのRNAの種類は、小胞内で評価することができる。または、試料中のペイロードは、ペイロードを小胞から単離することなく表現型を特徴決定するために解析される。小胞を評価するために多くの解析技術が利用可能である。いくつかの態様において、小胞レベルは、当技術分野において公知の手法にしたがって、質量分析法、フローサイトメトリー、免疫細胞化学的染色法、ウェスタンブロット法、電気泳動法、クロマトグラフィーまたはX線結晶写真法を使用して特徴決定される。たとえば、小胞は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるClayton et al., Journal of Immunological Methods 2001; 163-174に記載されているフローサイトメトリーを使用して特徴決定し、定量的に計測することができる。小胞レベルは、上記のような結合物質を使用して測定することもできる。たとえば、小胞に対する結合物質を標識し、その標識を検出し、使用して、試料中の小胞の量を測定することができる。結合物質は、基体、たとえば上記のようなアレイまたは粒子に結合することができる。または、小胞は直接標識することもできる。

20

【0215】

電気泳動タグまたはeタグを使用して小胞の量を測定することができる。eタグは、核酸または抗体に結合した小さな蛍光分子であり、それぞれ一つの特異的核酸配列またはタンパク質に結合するように設計されている。eタグがその標的に結合したのち、酵素を使用して、結合したeタグを標的から切断する。「レポーター」と呼ばれる、解放されたeタグから生成されるシグナルは、試料中の標的核酸またはタンパク質の量に比例する。eタグレポーターは、毛管電気泳動によって同定することができる。各eタグレポーターに固有の電荷質量比、すなわち、その電荷をその分子量で割ったものが、毛管電気泳動読み取り値における特異的なピークとして示される。このように、小胞の特異的バイオマーカーをeタグで標的化することにより、小胞の量またはレベルを測定することができる。

30

【0216】

小胞レベルは、試料中の小胞の全集団のような不均一な小胞集団から測定することができる。または、特定の起始細胞小胞のレベルのような小胞レベルは、小胞の均一な集団または実質的に均一な集団、たとえば前立腺癌細胞からの小胞から測定される。さらに他の態様において、レベルは、特異的なバイオマーカーまたはバイオマーカーの組み合わせ、たとえば前立腺癌に特異的なバイオマーカーを有する小胞に関して測定される。小胞のレベルの測定は、小胞のバイオマーカーまたはバイオマーカーの組み合わせの決定とともに実施することができる。または、小胞の量の測定は、小胞のバイオマーカーまたはバイオマーカーの組み合わせの決定の前または後に実施することもできる。

40

【0217】

小胞の量の測定は、多重にアッセイすることができる。たとえば、二つ以上の小胞集団、たとえば本明細書に開示されるもののような異なるバイオマーカーまたはバイオマカ

50

一の組み合わせを有する異なる起始細胞特異的小胞の量の測定を実施することができる。

【0218】

診断または関連する試験の性能は一般に、統計的尺度を使用して評価される。特徴決定の性能は、感度、特異度および関連する尺度を計測することによって評価することができる。たとえば、関心対象の循環バイオマーカーのレベルをアッセイして、表現型を特徴決定する、たとえば疾患を検出することができる。疾患を検出するためのアッセイの感度および特異度が決定される。

【0219】

真陽性とは、たとえば疾患または障害などの特徴を有すると正しく同定された、該特徴を有する対象である。偽陽性とは、試験により特徴を有すると誤って同定された、該特徴を有しない対象である。真陰性とは、試験により特徴をしないと正しく同定された、該特徴を有しない対象である。偽陰性とは、試験により特徴を有しないと誤って同定された、該特徴を有する人である。試験がこれらのクラスを識別する能力により、試験性能の尺度が提供される。

【0220】

試験の特異度は、真陰性の数を実際の陰性の数（すなわち、真陰性と偽陽性との合計）で割ったものと定義される。特異度は、どれほど多くの対象が陰性として正しく同定されるのかの尺度である。100%の特異度は、試験がすべての実際の陰性を認識する、たとえば、すべての健康な人が健康と認識されることを意味する。特異度が低いほど、陽性と判定される陰性がより多いことを示す。

【0221】

試験の感度は、真陽性の数を実際の陽性の数（すなわち、真陽性と偽陰性との合計）で割ったものと定義される。特異度は、どれほど多くの対象が陽性として正しく同定されるのかの尺度である。100%の感度は、試験がすべての実際の陽性を認識する、たとえば、すべての病人が病人と認識されることを意味する。感度が低いほど、陰性と判定されることによって見逃される陽性がより多いことを示す。

【0222】

試験の精度は、真陽性および真陰性の数をすべての真および偽陽性ならびにすべての真および偽陰性の合計で割ったものと定義される。これは、感度計測値と特異度計測値とを合わせた一つの数値を提供する。

【0223】

感度、特異度および精度は特定の識別閾値において決定される。たとえば、前立腺癌（PCa）検出のための一般的な閾値は、血清中、前立腺特異的抗原（PSA）4ng/mLである。この閾値以上のPSAのレベルはPCaに関して陽性とみなされ、それ未満のレベルは陰性とみなされる。閾値が変化すると、感度および特異度もまた変化する。たとえば、癌を検出する場合の閾値が高まると、対象を陽性とみなすことがより困難になり、偽陽性が少なくなるため、特異度は高まる。同時に感度が低下する。受信者動作特性曲線（ROC曲線）は、二項分類系の場合、その識別閾値が変化する時の真陽性率（すなわち感度）対偽陽性率（すなわち、1-特異度）のグラフプロットである。ROC曲線は、閾値が変化する時、感度および特異度がどのように変化するのかを示す。ROC曲線の曲線下面積（AUC）が、閾値の全範囲にわたる試験の性能を示す集計値を提供する。AUCは、分類器が、ランダムに選択された陽性試料をランダムに選択された陰性試料よりも高く順位付けする確率に等しい。0.5のAUCは、試験が正しく順位付けする確率が50%であり、識別能がないに等しいことを示す（コイントスもまた、正しく順位付けする確率は50%である）。1.0のAUCは、試験がすべての対象を正しく順位付け（分類）することを意味する。AUCは、ウィルコクソン順位検定に等しい。

【0224】

本発明のバイオシグネチャーを使用して、少なくとも50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69または70%の感度、たとえば少なくとも71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86または87%の感

度で表現型を特徴決定することができる。いくつかの態様において、表現型は、少なくとも87.1、87.2、87.3、87.4、87.5、87.6、87.7、87.8、87.9、88.0または89%の感度、たとえば少なくとも90%の感度で特徴決定される。表現型は、少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99または100%の感度で特徴決定することができる。

【0225】

本発明のバイオシグネチャーを使用して、少なくとも50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96または97%の特異度、たとえば少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9または100%の特異度で対象の表現型を特徴決定することができる。

【0226】

本発明のバイオシグネチャーを使用して、たとえば循環バイオマーカーのレベルまたは他の特徴に基づいて、少なくとも50%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも55%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも60%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも65%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも70%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも75%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも80%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも85%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも86%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも87%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも88%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも89%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも90%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも91%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも92%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも93%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも94%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも95%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも96%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも97%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも98%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度、少なくとも99%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度または実質的に100%の感度および少なくとも60、65、70、75、80、85、90、95、99または100%の特異度で対象の表現型を特徴決定することができる。

【0227】

本発明のバイオシグネチャーを使用して、少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96または97%の精度、たとえば少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9または100%の精度で対象の表現型を特徴決定することができる。

【0228】

いくつかの態様においては、本発明のバイオシグネチャーを使用して、少なくとも0.60、0.61、0.62、0.63、0.64、0.65、0.66、0.67、0.68、0.69、0.70、0.71、0.72、0.73、0.74、0.75、0.76、0.77、0.78、0.79、0.80、0.81、0.82、0.83、0.84、0.85、0.86、0.87、0.88、0.89、0.90、0.91、0.92、0.93、0.94、0.95、0.96または0.97、たとえば少なくとも0.971、0.972、0.973、0.974、0.975、0.976、0.977、0.978、0.978、0.979、0.980、0.981、0.982、0.983、0.984、0.985、0.986、0.987、0.988、0.989、0.99、0.991、0.992、0.993、0.994、0.995、0.996、0.997、0.998、0.999または1.00のAUCで対象の表現型を特徴決定する。

【0229】

さらには、特異度、感度、精度またはAUCを決定するための信頼レベルを、少なくとも50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98または99%の信頼度で決定することもできる。

【0230】

他の関連する性能の尺度は、陽性および陰性尤度比〔陽性LR＝感度／（1-特異度）、陰性LR＝（1-特異度）／特異度〕を含む。このような尺度はまた、本発明の方法の試験性能を測るために使用することもできる。

【0231】

分類

本発明のバイオシグネチャーを使用して試料进行分类することができる。解析を識別するための技術は当業者に公知である。たとえば、試料を、所与の疾患または障害に対する所与の治療に対する応答者または非応答者として分類するか、またはそれであると予測することができる。多くの統計的 분류技術が当業者に公知である。教師あり学習法においては、二つ以上の群からの試料の群が統計的 분류法によって解析される。二つ以上の群を識別する分類器を構築するために使用することができるバイオマーカーを発見することができる。そして、分類器が新たな試料を二つ以上の群の一つと関連させることができるように新たな試料を解析することができる。一般に使用される教師あり分類器は、非限定的に、ニューラルネットワーク（多層パーセプトロン）、サポートベクターマシン、k近傍法、混合正規分布モデル、ガウシアン、ナイーブベイス、決定木および放射基底関数（RBF）分類器を含む。線形分類法は、フィッシャー線形判別解析、ロジスティック回帰、ナイーブベイス分類器、パーセプトロンおよびサポートベクターマシン（SVM）を含む。本発明で使用するための他の分類器は、二次分類器、k近傍法、ブースティング、決定木、ランダムフォレスト、ニューラルネットワーク、パターン認識、ベイジアンネットワークおよび隠れマルコフモデルを含む。当業者は、これらおよび他の分類器が、それらのいずれかの改良を含め、本発明の範囲内にあると考えられることを理解するであろう。

【0232】

教師あり法を使用する分類は一般に以下の方法によって実施される。

【0233】

教師あり学習の所与の問題を解く（たとえば、手書きを認識することを学ぶ）ためには、様々な工程を考慮しなければならない。

【0234】

1. 訓練事例を集める。これらは、たとえば、疾患または障害を有するまたは有しない対象、治療に応答するまたは応答しないことが知られている対象、疾患が進行しているまたは進行していない対象などから得られる試料を含む。訓練試料は、分類器を「訓練」するために使用される。

【0235】

2. 学習された機能の入力「特徴」表現を決定する。学習された機能の精度は、入力オブジェクトがどのように表現されるのかに依存する。一般に、入力オブジェクトは、オブジェクトを記述する複数の特徴を含む特徴ベクトルに変換される。次元の数が災いになるため、特徴の数は多すぎるべきではないが、出力を正確に予測するのに十分に多くあるべき

である。特徴は、バイオマーカー、たとえば本明細書に記載されるような小胞に由来するバイオマーカーのセットを含むこともできる。

【0236】

3. 学習された機能および対応する学習アルゴリズムの構造を決定する。学習アルゴリズム、たとえば人工ニューラルネットワーク、決定木、ベイズ分類器またはサポートベクターマシンを選択する。学習アルゴリズムは、分類器を構築するために使用される。

【0237】

4. 分類器を構築する。集めた訓練事例に対して学習アルゴリズムを実行する。訓練事例のサブセット（確認事例とも呼ばれる）に対する性能を最適化することによって、または交差確認を介して、学習アルゴリズムのパラメータを調節することもできる。パラメータ調節および学習ののち、訓練事例から切り離されたナイーブな試料の試験事例に対してアルゴリズムの性能を計測することもできる。

【0238】

ひとたび上記のように分類器が決定されると、それを使用して、試料、たとえば本発明の方法によって解析される対象の試料を分類することができる。例として、有疾患参照対象および無疾患参照対象における関心対象の循環バイオマーカーのレベルのデータを訓練および試験事例として使用して分類器を構築することができる。試験対象由来の試料中に見られる循環バイオマーカーレベルを評価し、分類器を使用して、その対象を有疾患者または無疾患者として分類する。もう一つの例として、特定の疾患に応答するまたは応答しないことがわかっている参照対象における関心対象の小胞バイオマーカーのレベルのデータを訓練および試験事例として使用して分類器を構築することができる。試験対象由来の試料中に見られる小胞バイオマーカーレベルを評価し、分類器を使用して、その対象を有疾患者または無疾患者として分類する。

【0239】

また、教師なし学習法を本発明で 사용할 ことができる。クラスタリングは、クラスタリングアルゴリズムが標識を使用せずに一連の試料を相関させる教師なし学習法である。もっとも類似する試料が「クラスタ」にソートされる。新たな試料をクラスタにソートし、それにより、その試料がもっとも密接に関連する他のメンバーとともに分類することもできる。当業者に周知の多くのクラスタリングアルゴリズム、たとえば階層クラスタリングを本発明とともに使用することができる。

【0240】

バイオシグネチャー

本発明にしたがって、表面およびペイロード小胞関連バイオマーカーならびに／またはマイクロRNAおよびタンパク質を含む循環バイオマーカーを含む、小胞集団を評価することにより、バイオシグネチャーを得ることができる。対象に由来するバイオシグネチャーを使用して、その対象の表現型を特徴決定することができる。バイオシグネチャーはさらに、一つまたは複数のさらなるバイオマーカー、たとえば循環バイオマーカーまたは関心対象の小胞と関連したバイオマーカーのレベルを含むことができる。関心対象の小胞のバイオシグネチャーは、小胞表面に存在する特定の抗原またはバイオマーカーを含むことができる。バイオシグネチャーはまた、検査されるマイクロRNAを含む、ペイロードとして小胞内に担持される一つまたは複数の抗原またはバイオマーカーを含むことができる。バイオシグネチャーは、小胞表面に存在する一つまたは複数の抗原またはバイオマーカーと小胞中に検出される一つまたは複数のバイオマーカーとの組み合わせを含むことができる。バイオシグネチャーはさらに、小胞に関する、そのバイオマーカー以外の他の情報を含むこともできる。そのような情報は、小胞サイズ、循環半減期、代謝半減期およびインビボまたはインビトロの比活性を含むことができる。バイオシグネチャーは、分類器を構築するために使用されるバイオマーカーまたは他の特徴を含むことができる。

【0241】

追加的なバイオマーカーとの関連でアッセイする事は、単離されたcMV、生物学的流体、または他の試料であろうとなかろうと、試料を、特定の標的バイオマーカー結合できる

または結合できない追加的なバイオマーカーと接触させて、該試料のバイオシグネチャーを得る事を意味する。

【0242】

いくつかの態様において、マイクロRNAは生物学的試料中で直接検出される。たとえば、体液中のRNAは、市販のキット、たとえばmirVanaキット (Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX)、MagMAX (商標) RNA単離キット (Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX) およびQIAzol溶解試薬およびRNeasy Midiキット (Qiagen Inc., Valencia CA) を使用して単離することができる。マイクロRNAの特定の種類は、以下に記載するようなアレイまたはPCR技術を使用して決定することができる。

【0243】

10

いくつかの態様においては、表現型を特徴決定するために、小胞とのマイクロRNAペイロードが評価される。バイオシグネチャーを決定する前に小胞を精製または濃縮することができる。たとえば、起始細胞特異的小胞を単離し、そのバイオシグネチャーを決定することができる。または、小胞のバイオシグネチャーは、事前の精製または濃縮なしに、試料から直接アッセイすることもできる。本発明のバイオシグネチャーは、疾患もしくは病態の診断、予後判定もしくはセラノーシス、または本明細書に記載される類似尺度を決定するために使用することができる。バイオシグネチャーはまた、治療効果、疾患もしくは病態の病期または疾患もしくは病態の進行または応答者／非応答者状態を決定するために使用することもできる。さらに、バイオシグネチャーは、妊娠のような生理学的状態を決定するために使用することもできる。

20

【0244】

小胞そのものの特徴を評価してバイオシグネチャーを決定することができる。特徴は、病期もしくは進行、疾患もしくは病態の治療的暗示を診断、検出もしくは決定するため、または生理学的状態を特徴決定するために使用することができる。そのような特徴は、非限定的に、小胞のレベルまたは量、小胞サイズ、小胞半減期、小胞の循環半減期、小胞の代謝半減期または小胞の活性の変動の時間的評価を含む。

【0245】

バイオシグネチャーに含まれることができるバイオマーカーは、一つまたは複数のタンパク質またはペプチド (たとえば、タンパク質シグネチャーを提供する)、核酸 (たとえば、記載のRNAシグネチャーまたはDNAシグネチャー)、脂質 (たとえば脂質シグネチャー) またはそれらの組み合わせを含む。いくつかの態様において、バイオシグネチャーはまた、小胞中に存在する薬物または薬物代謝産物の種類または量 (たとえば、薬物シグネチャーを提供する) を含むことができる。なぜならそのような薬物は、生物学的試料が採取される対象によって摂取されて、薬物またはその薬物の代謝産物を担持する小胞を生じさせることがあるからである。

30

【0246】

バイオシグネチャーはまた、一つまたは複数のバイオマーカーの発現レベル、存在、不在、突然変異、バリエーション、コピー数変化、切断、複製、修飾または分子集合を含むことができる。遺伝子バリエーションまたはヌクレオチドバリエーションとは、コード領域およびコード領域におけるヌクレオチド塩基欠失、挿入、転位および置換を非限定的に含む、特定の座における遺伝子またはcDNA配列の変化または変更をいう。欠失は、一つのヌクレオチド塩基の欠失、遺伝子のヌクレオチド配列の部分もしくは領域の欠失または遺伝子配列全体の欠失であることができる。挿入は、一つまたは複数のヌクレオチド塩基の挿入であることができる。遺伝子バリエーションは、転写調節領域、mRNAの非翻訳領域、エキソン、イントロンまたはエキソン／イントロン接合部で起こることができる。遺伝子バリエーションは、停止コドン、フレームシフト、アミノ酸の欠失、遺伝子転写物スプライス形態の変化またはアミノ酸配列の変化を生じさせることもある。

40

【0247】

一つの態様においては、小胞内の核酸ペイロードを含む核酸バイオマーカーがヌクレオチドバリエーションに関して評価される。核酸バイオマーカーは、一つまたは複数のRNA種、

50

たとえばmRNA、miRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、shRNAまたはそれらの組み合わせを含むことができる。同様に、DNAペイロードを評価してDNAシグネチャーを形成することもできる。

【0248】

RNAシグネチャーまたはDNAシグネチャーには、小胞中に存在するRNAまたはDNAの突然変異、後成的修飾または遺伝子バリエーション解析を含めることもできる。後成的修飾はDNAメチル化のパターンを含む。たとえば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるLesche R. and Eckhardt F., DNA methylation markers: a versatile diagnostic tool for routine clinical use. Curr Opin Mol Ther. 2007 Jun; 9(3):222-30を参照すること。したがって、バイオマーカーは、DNAのセグメントのメチル化状態であることができる。

10

【0249】

バイオシグネチャーは、一つまたは複数のmiRNAシグネチャーを、mRNAシグネチャー、DNAシグネチャー、タンパク質シグネチャー、ペプチドシグネチャー、抗原シグネチャーまたはそれらの任意の組み合わせを非限定的に含む一つまたは複数のさらなるシグネチャーと組み合わせて含むことができる。たとえば、バイオシグネチャーは、一つまたは複数のmiRNAバイオマーカーを一つまたは複数のDNAバイオマーカー、一つまたは複数のmRNAバイオマーカー、一つまたは複数のsnoRNAバイオマーカー、一つまたは複数のタンパク質バイオマーカー、一つまたは複数のペプチドバイオマーカー、一つまたは複数の抗原バイオマーカー、一つまたは複数の脂質バイオマーカーまたはそれらの任意の組み合わせとともに含むことができる。

20

【0250】

バイオシグネチャーは、たとえば図1および2にそれぞれ記載された、または本明細書の他の箇所に記載された、一つまたは複数の抗原または結合物質（たとえば、一つまたは複数の結合物質に結合する能力）ものの組み合わせを含むことができる。バイオシグネチャーはさらに、一つまたは複数の他のバイオマーカー、たとえば非限定的にmiRNA、DNA（たとえば一本鎖DNA、相補的DNAまたは非コードDNA）またはmRNAを含むことができる。小胞のバイオシグネチャーは、たとえば図1に示す一つまたは複数の抗原、たとえば図2に示す一つまたは複数の結合物質、および、たとえば図3〜60に示す病態または疾患の一つまたは複数のバイオマーカーの組み合わせを含むことができる。バイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえばmiRNAを、癌細胞に特異的な一つまたは複数の抗原（たとえば図1に示すような）とともに含むことができる。バイオシグネチャーはまた、小胞上の表面マーカーおよび／または小胞中のペイロードマーカー（例えばmiRNAペイロード）に由来し得る。

30

【0251】

いくつかの態様において、本方法において使用される小胞は起始細胞に特異的であるバイオシグネチャーを有し、かつ、起始細胞を表す、疾患特異的または生物学的状態特異的な診断、予後判定または治療関連のバイオシグネチャーを導出するために使用される。他の態様において、小胞は、診断、予後判定、病期決定、治療関連の決定または生理学的状態特徴決定に使用するための該起始細胞の該バイオシグネチャーとは異なる、所与の疾患または生理学的状態に特異的であるバイオシグネチャーを有する。バイオシグネチャーはまた、起始細胞特異的小胞と非特異的小胞との組み合わせを含むことができる。

40

【0252】

バイオシグネチャーは、診断基準、たとえば疾患の存在、病期決定、疾患モニタリング、疾患層別化または疾患の検出、転移もしくは再発もしくは進行の監視を評価するために使用することができる。バイオシグネチャーはまた、治療介入を含む治療モダリティに関する決定を下す際に臨床的に使用することもできる。バイオシグネチャーはさらに、手術を実施するかどうか、または手術とともにどの治療標準を使用すべきか（たとえば術前または術後に）を含む治療の決定を下すために臨床的に使用することもできる。説明のための例として、侵襲型の癌を示す、循環バイオマーカーのバイオシグネチャーにより、患者

50

を治療するためにより侵襲的な外科処置および／またはより侵襲的な治療レジメンが必要とされる。

【0253】

また、バイオシグネチャーは治療関連の診断において、疾患の診断または正しい治療レジメンの選択、たとえばセラノーシスの提供に有用な試験を提供するために使用することができる。セラノーシスは、疾患状態の治療法または治療に影響する能力を提供する診断試験を含む。セラノーシス試験は、診断または予後試験がそれぞれ診断または予後判定を提供するのと同様な様式でセラノーシスを提供する。本明細書において使用されるセラノーシスとは、予測的医療、個別化医療、統合医療、薬理診断学およびDx/Rxパターンニングを含む、所望の形態の治療関連の試験を包含する。治療関連の試験は、個々の対象における薬物応答を予測および評価する、すなわち、個別化医療を提供するために使用することができる。薬物応答の予測とは、たとえば対象が曝露されるかまたは他の様式で治療される前に、その対象が候補治療剤に対して応答者または非応答者である可能性があるかどうかを決定することであり得る。薬物応答の評価は、薬物に対する応答をモニターすること、たとえば治療の開始後、時間経過とともに対象の改善またはその欠如をモニターすることであることができる。治療関連の試験は、治療から恩恵を受ける可能性が特に高い対象をその治療に選択するか、または個々の対象において治療効果の早期かつ客観的指示を提供するのに有用である。このように、本明細書に開示されるバイオシグネチャーは、より有望な治療を選択するために治療を変更すべきであることを示し、それにより、有益な治療が遅れるという多大な犠牲を避け、かつ、効果のない薬物を投与するという金銭および罹患率の犠牲を避ける。

10

20

【0254】

治療関連の診断はまた、心血管疾患、癌、感染症、敗血症、神経疾患、中枢神経系関連の疾患、血管内関連の疾患および自己免疫関連の疾患を非限定的に含む多様な疾患および障害の臨床診断および管理に有用である。治療関連の診断はまた、薬物毒性、薬物耐性または薬物応答の予測に役立つ。治療関連の試験は、たとえば免疫組織化学的試験、臨床化学、免疫アッセイ法、細胞ベースの技術、核酸試験または全身画像化法を非限定的に含む任意の適当な診断試験形式において展開することもできる。治療関連の試験はさらに、治療の決定を支援する試験、治療毒性または治療試験に対する応答をモニターする試験を含むことができるが、これらに限定されない。このように、バイオシグネチャーを使用して、治療に対する対象の応答を予測またはモニターすることができる。バイオシグネチャーは、特定の治療を開始、排除または変更したのち、対象に関して別の時点で決定することができる。

30

【0255】

いくつかの態様において、対象が治療に応答しているかどうかの決定または予測は、バイオシグネチャーの一つまたは複数の成分（すなわち、関心対象のマイクロRNA、小胞および／またはバイオマーカー）の量の変化、特定のバイオシグネチャーの一つまたは複数の成分の量または成分に関して検出されるバイオシグネチャーに基づいて下される。もう一つの態様において、対象の病態は、異なる時点でバイオシグネチャーを決定することによってモニターされる。病態の進行、後退または再発が決定される。また、時間経過とともに治療に対する応答を計測することもできる。したがって、本発明は、対象における疾患または他の病態の状態をモニターする方法であって、対象由来の生物学的試料からバイオシグネチャーを単離もしくは検出する工程、特定のバイオシグネチャーの成分の全量を検出する工程または一つもしくは複数の成分のバイオシグネチャー（たとえばバイオマーカーの存在、不在または発現レベル）を検出する工程を含む方法を提供する。バイオシグネチャーは、疾患または病態の状態をモニターするために使用される。

40

【0256】

小胞の1種または複数種の新規のバイオシグネチャーも同定することができる。例えば、1種または複数種の小胞を、薬物治療または治療法に反応する対象から単離し、参照、例えば、薬物治療または治療法に反応しない別の対象と比較することができる。バイオシ

50

グネチャー間の差を求め、他の対象を、ある特定の薬物または治療法に対する反応者または非反応者と同定するのに使用することができる。

【0257】

いくつかの態様において、バイオシグネチャーは、特定の疾患または病態が薬物に耐性であるかどうかを判定するために使用される。対象が薬物耐性であるならば、医師は、そのような薬物治療によって貴重な時間を無駄にする必要はない。薬物選択または治療レジメンの早期確認を得るために、対象から得られた試料に関してバイオシグネチャーを決定する。そのバイオシグネチャーを使用して、特定の対象の疾患が薬物耐性と関連したバイオマーカーを有するかどうかを評価する。そのような決定は、医師が重要な時間および患者の財源を有効な治療に充てることを可能にする。

10

【0258】

そのうえバイオシグネチャーを用いて、対象が罹患しているかどうか、もしくは疾患を発症する危険性を有するかどうかを評価するか、または、疾患の病期もしくは進行を評価することもできる。たとえば、バイオシグネチャーを使用して、対象が、前立腺癌（たとえば図68、73）または結腸癌（たとえば図69、74）を有するかどうかを評価することができる。さらに、バイオシグネチャーを使用して、結腸癌（たとえば図71、72）のような疾患または病態の病期を決定することができる。

【0259】

さらに、小胞、たとえば不均一な小胞集団の量および一つまたは複数の均一な小胞集団、たとえば同じバイオシグネチャーを有する小胞集団の量の決定を使用して、表現型を特徴決定することができる。たとえば、試料中の小胞の全量（すなわち、細胞型特異的ではない）の決定および一つまたは複数の異なる起始細胞特異的小胞の存在の判定を使用して、表現型を特徴決定することができる。以下にさらに記載されるように、正常な対象と関心対象の表現型を有する対象との比較に基づいて閾値または参照値または量を測定することができ、その閾値または参照値に基づく基準を決定することができる。その様々な基準を使用して表現型を特徴決定することができる。

20

【0260】

一つの基準は、試料中の不均一な小胞集団の量に基づくことができる。一つの態様においては、一般的小胞マーカー、たとえばCD9、CD81、CD63、または表3中のマーカーを使用して、試料中の小胞の量を測定することができる。任意のこれらのマーカーまたはそれらの組み合わせの発現レベルを検出することができ、そのレベルが閾値よりも大きいならば、基準は満たされる。もう一つの態様において、該マーカーの任意のものまたはそれらの組み合わせのレベルが閾値または参照値よりも低いならば、基準は満たされる。もう一つの態様において、基準は、小胞の量が閾値または参照値よりも高いかどうかに基づくことができる。もう一つの基準は、特定のバイオシグネチャーを有する小胞の量に基づくことができる。特定のバイオシグネチャーを有する小胞の量が閾値または参照値よりも低いならば、基準は満たされる。もう一つの態様において、特定のバイオシグネチャーを有する小胞の量が閾値または参照値よりも高いならば、基準は満たされる。基準はまた、特定の細胞型に由来する小胞の量に基づくことができる。量が閾値または参照値よりも低いならば、基準は満たされる。もう一つの態様において、量が閾値よりも高いならば、基準は満

30

40

【0261】

非限定的な例において、バイオマーカーPCSAまたはPSCAを検出することによって前立腺細胞からの小胞が決定され、かつ、検出されたPCSAまたはPSCAのレベルが閾値レベルよりも大きいならば基準が満たされると考えられる。閾値とは、対照細胞株または対照対象由来の試料中の同じマーカーのレベルであることができる。別の基準は、癌細胞に由来する小胞または一つまたは複数の癌特異的バイオマーカーを含む小胞の量に基づくことができる。たとえば、バイオマーカーB7H3、EpCamまたは両方を決定することができ、検出されたB7H3および／またはEpCamのレベルが閾値レベルよりも大きい、または事前に決定された範囲内であるならば、基準は満たされる。量が閾値または参照値よりも低い、または高

50

いならば、基準は満たされる。基準はまた、品質管理尺度または値を満たすような結果の信頼性であることもできる。対照試料中のB7H3および／またはEpCamの量よりも多い、試験試料中のB7H3および／またはEpCamの検出量は、その試験試料中の癌の存在を示すことがある。

【0262】

上記のように、複数のマーカーの解析を組み合わせて、基準が満たされるかどうかを評価することができる。説明のための例において、バイオシグネチャーを使用して、一般的小胞マーカーCD9、CD63およびCD81の一つまたは複数、PCSAまたはPSMAを含む一つまたは複数の前立腺上皮マーカーおよび一つまたは複数の癌マーカー、たとえばB7H3および／またはEpCamを検出することにより、対象が前立腺癌を有するかどうかを評価する。対象由来の試料中のマーカーのレベルが、前立腺癌を有しない対照個人よりも高いことは、その対象における前立腺癌の存在を示す。いくつかの態様においては、複数のマーカーが多重に評価される。

【0263】

当業者は、上記のように基準を満たすことに基づくそのような規則を任意の適切なバイオマーカーに適用することができることを理解するであろう。たとえば、基準は、小胞の特徴、たとえば存在する小胞の量、存在する特定のバイオシグネチャーを有する小胞の量、存在する小胞ペイロードバイオマーカーの量、存在するマイクロRNAまたは他の循環バイオマーカーの量などに適用することができる。適切なバイオマーカーの比率を決定することができる。説明のための例として、基準は、小胞表面タンパク質と別の小胞表面タンパク質との比率、小胞表面タンパク質とマイクロRNAとの比率、一つの細胞集団と別の細胞集団との比率、一つの循環バイオマーカーと別の循環バイオマーカーとの比率などであることができる。

【0264】

対象の表現型は、任意の数の有用な基準を満たすことに基づいて特徴決定することができる。いくつかの態様においては、バイオマーカーごとに少なくとも一つの基準が使用される。いくつかの態様においては、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90または少なくとも100種類の基準が使用される。たとえば、癌の特徴決定に関して、対象を癌と診断するときに、以下の複数の異なる基準を使用することができる：1) 対象由来の試料中のマイクロRNAの量が参照値よりも高いかどうか、2) 細胞型特異的小胞（すなわち、特定の組織または臓器に由来する小胞）内のマイクロRNAの量が参照値よりも高いかどうか、または、3) 一つもしくは複数の癌特異的バイオマーカーを有する小胞内のマイクロRNAの量が参照値よりも高いかどうか。マイクロRNAの量が参照以下である場合にも、同様な規則を適用することができる。本方法はさらに、試料が品質管理尺度を満たすならば対象に関する結果が提供されるような品質管理尺度を含むことができる。いくつかの態様においては、基準は満たされるが、品質管理が疑わしい場合、対象は再評価される。

【0265】

他の態様においては、複数のバイオマーカーの評価のための一つの尺度が決定され、その尺度が参照と比較される。例示として、前立腺癌の試験は、血液試料中のmiR-141のレベルに対してPSAのレベルを増倍することを含んでもよい。そのレベルの積が閾値よりも高いならば、基準は満たされて、癌の存在を示す。もう一つの例示として、一般的小胞マーカーに対する複数の結合物質が、同一の標識、たとえば同一の蛍光体を担持することができる。検出される標識のレベルを閾値と比較することができる。

【0266】

基準は、同じ種類の複数のバイオマーカーに加え、複数の種類のバイオマーカーにも適用することができる。たとえば、一つまたは複数の循環バイオマーカー（たとえばRNA、DNA、ペプチド）、小胞、突然変異などのレベルを参照と比較することができる。バイオシグネチャーの様々な成分は、異なる基準を有することができる。非限定的な例として、癌を診断するために使用されるバイオシグネチャーは、参照と比較した場合の一つのmiR種

の過剰発現、および別の参照と比較した場合の小胞表面抗原の過剰発現を含むことができる。

【0267】

バイオシグネチャーは、小胞の量、小胞の構造、または小胞の他の情報をもたらし特徴を比較することによって決定することができる。小胞構造は、透過電子顕微鏡法（たとえば、Hansen et al., Journal of Biomechanics 31, Supplement 1:134-134(1) (1998)を参照）または走査電子顕微鏡法を使用して評価することができる。方法および技術の様々な組み合わせまたは一つまたは複数の小胞の解析を使用して、対象の表現型を決定することができる。

【0268】

バイオシグネチャーは、非限定的に、バイオマーカーの存在もしくは不在、コピー数、発現レベルまたは活性レベルを含むことができる。バイオシグネチャーの他の有用な成分は、バイオマーカーの突然変異（たとえば、転写または翻訳産物の活性に影響を及ぼす突然変異、たとえば置換、欠失、または挿入突然変異）、バリエーションまたは翻訳後修飾の存在を含む。タンパク質バイオマーカーの翻訳後修飾は、非限定的に、バイオマーカーのアシル化、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化、脱アセチル化、アルキル化、メチル化、アミド化、ビオチン化、 γ カルボキシル化、グルタミル化、グリコシル化、グリシル化、ヒドロキシル化、ヘム部分の共有結合、ヨウ素化、イソプレニル化、リポイル化、プレニル化、GPIアンカー形成、ミリスチル化、ファルネシル化、ゲラニルゲラニル化、ヌクレオチドもしくはその誘導体の共有結合、ADPリボシル化、フラビン付加、酸化、パルミトイル化、PEG化、ホスファチジルイノシトールの共有結合、ホスホパンテテイル化、ポリシアル化、ピログルタミン酸形成、プロリルイソメラーゼによるプロリンのラセミ化、tRNA媒介アミノ酸付加、たとえばアルギニル化、硫酸化、チロシンへの硫酸基付加またはセレノイル化を含む。

【0269】

本明細書に記載される方法を使用して、疾患、病態または生理的状态と関連したバイオシグネチャーを同定することができる。バイオシグネチャーはまた、対象が癌を患っているかどうか、または癌を発症する危険性を有するかどうかを判定するために使用することもできる。癌を発症する危険性を有する対象は、素因を有するおそれのある対象または前駆症状の早期疾患を有する対象を含むことができる。

【0270】

バイオシグネチャーはまた、自己免疫疾患、炎症性腸疾患、心血管疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経疾患、もしくは多発性硬化症、敗血症などの感染症、もしくは膵臓炎を非限定的に含む他の疾患、または図3~58に記載された他の疾患、病態もしくは徴候に対する診断またはセラノーシス用の決定を提供するために使用することもできる。

【0271】

バイオシグネチャーはまた、末梢血、臍帯血、または羊水から、所与の妊娠状態（たとえば、ダウン症候群に特異的なmiRNAシグネチャー）または有害な妊娠転帰、たとえば子癇前症、早産、早期破水、子宮内発育遅延、もしくは不育症を同定するために使用することもできる。バイオシグネチャーはまた、母親、全ての発育段階の胎児、着床前の胚または新生児の健康を示すために使用することもできる。

【0272】

バイオシグネチャーはまた、前駆症状診断のために使用することもできる。さらに、バイオシグネチャーは、疾患を検出する、疾患期もしくは進行を決定する、疾患の再発を決定する、治療プロトコルを同定する、治療プロトコルの効果を決定する、または年齢および環境曝露に関連する個人の生理学的状態を評価するために使用することもできる。

【0273】

小胞のバイオシグネチャーのモニタリングはまた、早期曝露または未知もしくは未確認毒物への曝露の状況を非限定的に含む、対象における毒性曝露を同定するために使用する

こともできる。作用機序に関して一つの特定の理論によって拘束される訳ではないが、小胞は、損傷した細胞から流出し、その過程で、膜成分および包み込まれた細胞質内容物の両方を含む細胞の特定の内容物を区分することができる。毒物／薬品に曝露された細胞は、小胞流出を増加させて毒物またはその代謝産物を排出し、それにより、小胞レベルの増加を生じさせることがある。したがって、小胞レベル、小胞バイオシグネチャー、または両方のモニタリングは、潜在的な毒物に対する個人の応答の評価を可能にする。

【0274】

本発明の小胞および／または他のバイオマーカーは、一つまたは複数の特定の抗原、結合物質、バイオマーカー、またはこれらの任意の組み合わせを検出することにより、薬物誘発毒性の状態または損傷した臓器を同定するために使用することができる。小胞のレベル、小胞のバイオシグネチャーの変化、または両方を使用して、薬物、抗生物質、工業用薬品、毒性抗生物質代謝産物、薬草、家庭用薬品、および他の生物によって産生される化学物質（天然または合成）を非限定的に含む任意の数の毒物への急性、慢性、または職業的曝露に関して個人をモニターすることができる。加えて、バイオシグネチャーは、原発不明癌（CUP）としても知られる未知の起源の癌を含む病態または疾患を同定するために使用することもできる。

【0275】

前記のように、生物学的試料から小胞を単離して、不均一な小胞集団に達することができる。そして、その不均一な小胞集団を、所与の起始細胞に特異的である小胞集団の抗原特異的特徴を除外または同定するように設計された特異的結合物質でコーティングされた基体と接触させることができる。さらに、上記のように、小胞のバイオシグネチャーは細胞の癌状態と相関し得る。対象において癌を阻害する化合物が変化、たとえば小胞のバイオシグネチャーの変化を生じさせることがあり、その変化を、時間および治療の過程にわたって小胞の連続単離によってモニターすることができる。特異的バイオシグネチャーを有する小胞のレベルまたはレベルの変化をモニターすることができる。

【0276】

一局面において、対象の表現型を特徴決定する工程は、対象が療法に応答する可能性があるのかまたは療法に応答しない可能性があるのかを判定する方法を含む。本発明の方法はまた、対象が応答する可能性があるのかまたは応答しない可能性があるのかの予測において有用な新たなバイオシグネチャーを決定する工程も含む。療法に応答する1つまたは複数の対象（応答者）および同じ療法に応答しない1つまたは複数の対象（非応答者）の小胞を調査することができる。調査は、対象を、関心対象の治療に対する応答者または非応答者と分類する小胞バイオシグネチャーを特定するために行うことができる。一部の局面では、小胞の存在、量、およびペイロードがアッセイされる。小胞のペイロードは、例えば、内部タンパク質、核酸、例えば、miRNA、脂質、または糖質を含む。

【0277】

セラノーシスのために、応答者/非応答者の状態を示すバイオシグネチャーを使用することができる。応答者/非応答者の状態が既知の、または応答者/非応答者の状態を確定することができる対象からの試料を、以下:小胞の量、小胞の独特のサブセットまたは種の量、このような小胞におけるバイオマーカー、このような小胞のバイオシグネチャーなどの1つまたは複数について分析することができる。1つの場合、応答者および非応答者からの小胞、例えば、微小胞またはエキソソームを、1種または複数種のmiRNA、例えば、miR-A-122、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200a、および/またはmiR-200bの存在および/または量について分析する。セラノーシスのために、応答者と非応答者とのバイオシグネチャーの差を使用することができる。別の態様において、疾患または状態のある対象から小胞を入手する。このような疾患または状態のない対象からも小胞を入手する。両対象群からの小胞を、この群の全ての対象に関連するが、他の群からの対象にはない独特のバイオシグネチャーについてアッセイする。次いで、このようなバイオシグネチャーまたはバイオマーカーを、状態もしくは疾患の有無の診断指標として、または対象が群（疾患のある群/疾患のない群、高悪性度疾患/高悪性度でない疾患、応

答者/非応答者など)の一方に属していると分類するために使用することができる。

【0278】

一局面において、対象の表現型を特徴決定する工程は、疾患の段階を決定する方法を含む。本発明の方法はまた、段階の決定において有用な新たなバイオシグネチャーを決定する工程を含む。例示において、小胞は、I期癌をもつ患者およびII期またはIII期の同じ癌をもつ患者からアッセイされる。一部の態様において、小胞は転移性疾患患者においてアッセイされる。それぞれの患者群からの小胞間のバイオシグネチャーまたはバイオマーカの差が特定され(例えば、III期癌からの小胞は高発現の1種または複数種の遺伝子またはmiRNAを有することがある)、それによって、異なる段階の疾患を区別するバイオシグネチャーまたはバイオマーカが特定される。次いで、このようなバイオシグネチャーを用いて、疾患を有する患者の段階を決定することができる。

10

【0279】

場合によっては、バイオシグネチャーは、ある期間にわたって、例えば、毎日、週2回、毎週、隔週、月2回、毎月、隔月、3ヶ月に2回、年4回、年2回、2年に1回、または毎年、対象から小胞をアッセイすることによって決定される。例えば、ある特定の療法の応答者または非応答者を示すシグネチャーを検出するために、その療法を受けている患者のバイオシグネチャーを経時的にモニタリングすることができる。同様に、異なる段階の疾患をもつ患者の小胞を経時的に調査する。各時点での小胞のペイロードまたは物理的特性を比較することができる。従って、時間パターンがバイオシグネチャーを形成してもよく、次いで、このバイオシグネチャーを、セラノーシス、診断、予後判定、疾患層別化、治療モニタリング、疾患モニタリング、または応答者/非応答者の状態の予測のために使用することができる。単なる例示として、時間経過にわたって漸増する量の小胞バイオマーカ(例えば、miR122)は転移性癌と関連づけられるのに対して、時間経過にわたってほとんど変化のない量の小胞バイオマーカは非転移性癌と関連づけられる。時間経過は、少なくとも1週間超、2週間、3週間、4週間、1ヶ月、6週間、8週間、2ヶ月、10週間、12週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、12ヶ月、1年、18ヶ月、2年、または少なくとも3年、続いてよい。

20

【0280】

小胞のレベル、特定のバイオシグネチャーを有する小胞のレベル、または小胞のバイオシグネチャーはまた、病態に対する治療法の効果を評価するために使用することもできる。たとえば、小胞のレベル、特定のバイオシグネチャーを有する小胞のレベル、または小胞のバイオシグネチャーを使用して、癌治療、たとえば化学療法、放射線療法、手術、または対象における癌を阻害するのに有用な任意の他の治療法の効果を評価することができる。加えて、バイオシグネチャーは、小胞のバイオシグネチャーに対して調節作用を有する候補または試験化合物もしくは剤(たとえばタンパク質、ペプチド、ペプチド模倣薬、ペプチド、小分子または他の薬物)を同定するためのスクリーニングアッセイにおいて使用することもできる。このようなスクリーニングアッセイによって同定された化合物は、たとえば、病態または疾患を調節、たとえば阻害、改善、治療または予防するのに有用でありうる。

30

【0281】

たとえば、特定の癌に対する好結果の治療を受けている患者から小胞のバイオシグネチャーを得ることができる。バイオシグネチャーを決定するために、同じ薬物で治療されていない癌患者からの細胞を培養し、その培養物から小胞を得ることができる。細胞を試験化合物で処理し、培養物からの小胞のバイオシグネチャーを、好結果の治療を受けている患者から得られた小胞のバイオシグネチャーと比較することができる。好結果の治療を受けている患者のバイオシグネチャーに類似したバイオシグネチャーを生じさせる試験化合物をさらなる研究のために選択することができる。

40

【0282】

また、小胞のバイオシグネチャーは、治験においてバイオシグネチャーに対する剤(たとえば薬物化合物)の影響をモニターするために使用することもできる。また、小胞のレ

50

ベル、小胞のバイオシグネチャーの変化、または両方のモニタリングを試験化合物、たとえば癌細胞を阻害するための試験化合物の効果を評価する方法において使用することもできる。

【0283】

疾患、病態、または症候群の診断または存在もしくは発症の危険性の確認に加えて、本明細書で開示する方法および組成物は、さらに、そのような疾患、病態、または症候群を有する対象の治療を最適化するためのシステムも提供する。また、小胞のレベル、小胞のバイオシグネチャー、または両方を使用して、特定の治療介入（薬学的または非薬学的）の有効性を決定し、その介入を、1) 有害な転帰を発生させるリスクを低減する、2) 介入の有効性を高める、または3) 耐性状態を同定するように変更することもできる。このように、疾患、病態もしくは症候の存在またはこれらを発現するリスクを診断または確認することに加えて、本明細書に開示される方法および組成物はまた、このような疾患、病態または症候を有する対象の治療を最適化するためのシステムを提供する。たとえば、小胞のバイオシグネチャーを同定することにより、診断と治療とを統合して対象のリアルタイム治療を改善することによる、疾患、病態または症候を治療するための治療関連の手法を決定することができる。

【0284】

小胞のレベル、小胞のバイオシグネチャー、または両方を同定する試験を使用して、治療レジメンを最適化するために、どの患者が特定の治療にもっとも適しているかを同定し、薬物がどれほど良好に作用しているかに関するフィードバックを提供することができる。たとえば、妊娠誘発性高血圧症および関連する病態において、治療関連の診断は、治療を最適化するために、重要なパラメータ（たとえばサイトカインおよび／または増殖因子レベル）の経時的变化をフレキシブルにモニターすることができる。

【0285】

FDA、MDA、EMA、USDAおよびEMAによって定義されるような調査機関の治療設定内で、本明細書に開示されるバイオシグネチャーによって決定されるような治療関連の診断は、治療設計を最適化し、効果をモニターし、薬物安全性を向上させるための重要な情報を提供することができる。たとえば、治療設計に関して、治療関連の診断は、患者階層化、患者の適格性（包含／排除）の決定、均一な治療群の形成、および対応する症例対照コホートに対して最適化される患者試料の選択のために使用することができる。したがって、このような治療関連の診断は、患者の効果強化のための手段を提供することができ、それにより、治療募集に必要とされる個人の数を最小化することができる。たとえば、効果に関して、治療関連の診断は、治療をモニターし、効果基準を評価するのに有用である。または、安全性に関して、治療関連の診断は、薬物の有害反応を阻止する、または投薬過誤を防ぐ、および治療レジメンの順守をモニターするために使用することができる。

【0286】

いくつかの態様において、本発明は、治療を受ける治療に対する応答者および非応答者を同定する方法であって、治療に登録された対象においてバイオシグネチャーを検出する工程、および応答者と非応答者とを識別するバイオシグネチャーを同定する工程を含む方法を提供する。さらなる態様において、バイオシグネチャーは、ドラッグナイーブな対象において計測され、対象が応答者であるのか非応答者であるのかを予測するために使用される。予測は、ドラッグナイーブな対象のバイオシグネチャーが、応答者として同定された試験対象とより密接に相関しているかどうかに基づくことができ、それにより、ドラッグナイーブな対象は応答者であると予測される。逆に、ドラッグナイーブな対象のバイオシグネチャーが、非応答者として同定された試験対象とより密接に相関しているならば、本発明の方法は、そのドラッグナイーブな対象が非応答者であると予測することができる。したがって、その予測を使用して、治療に対する潜在的応答者および非応答者を層別化することができる。いくつかの態様において、予測は、たとえば治療する医師が薬物を投与するかどうかを判定するのを支援することにより、治療の進路を手引きするために使用される。いくつかの態様において、予測は、さらなる試験に登録するための患者の選択を

手引きするために使用される。非限定的な例においては、II相治験における応答者／非応答者状態を予測するバイオシグネチャーを使用して、III相治験のための患者を選択し、それにより、III相患者集団における応答の見込みを高めることができる。当業者は、応答者／非応答者状態以外の基準で対象を層別化するためのバイオシグネチャーを同定するように本方法を適合させることができることを理解するであろう。一つの態様において、基準は治療安全性である。したがって、本方法は、治療に対する有害な事象を有する可能性が高い対象またはその可能性が高くない対象を同定するために、上記のように踏襲される。非限定的な例においては、II相治験における安全性プロファイルを予測するバイオシグネチャーを使用して、III相治験のための患者を選択し、それにより、III相患者集団における治療安全性プロファイルを高めることができる。

10

【0287】

したがって、循環バイオマーカーに基づくバイオシグネチャーは、薬物効果をモニターし、所与の薬物に対する応答または耐性を決定し、またはその両方を実施して、それによって薬物安全性を高めるために使用することができる。たとえば、結腸癌において、小胞は一般に結腸癌細胞から流出し、それを末梢血から単離して、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば、KRAS mRNAを単離するために使用することができ、その後、そのバイオマーカーを配列決定してKRAS突然変異を検出することができる。mRNAバイオマーカーの場合、mRNAをcDNAに逆転写し、配列決定し（たとえば、サンガー配列決定法、パイロシーケンシング法、NextGen配列決定法、RT-PCRアッセイ法によって）、薬物（たとえばセツキシマブまたはパニツミマブ）に対する耐性を与える突然変異が存在するかどうかを判定することができる。もう一つの例においては、肺癌細胞から特異的に流出する小胞を生物学的試料から単離して、肺癌バイオマーカー、たとえばEGFR mRNAを単離するために使用することができる。EGFR mRNAをcDNAにプロセッシングし、配列決定して、肺癌に特異的な薬物または治療に対して耐性または応答を示すEGFR突然変異が存在するかどうかを判定する。

20

【0288】

一つまたは複数のバイオシグネチャーは、特定の群におけるバイオシグネチャーのセットに関して得られた情報が、診断、予後判定、または治療の管理、たとえば治療選択を非限定的に含む臨床的に関連する決定を下すための妥当な基礎を提供するように分類されることができる。

30

【0289】

大部分の診断マーカーと同様に、多くの場合、正しい医学的判断を下すのに十分である最小数のマーカーを使用することが望ましい。これは、さらなる解析までの治療の遅れならびに時間および資金の不適切な使用を防ぐ。

【0290】

同じく本明細書に開示されるものは、疾患状態、病期、進行、予後；治療効果もしくは選択；または生理学的状態に関して、たとえば小胞のバイオシグネチャーなどの定性的および定量的性質を臨床転帰と相関させるために、試料（たとえば血清および組織バイオバンク）に対して遡及的解析を実施する方法である。さらに、本明細書に開示される方法および組成物は、疾患状態、病期、進行、予後；治療効果もしくは選択；または生理学的状態に関して、小胞の定性的および定量的バイオシグネチャーを臨床転帰と相関させるために、試料（たとえば、治験において個人から採取された血清および／または組織）に対して前向き分析を実施するために使用される。本明細書において使用されるように、小胞のバイオシグネチャーは、起始細胞特異的小胞を同定するために使用することができる。さらに、バイオシグネチャーは、小胞の表面マーカープロファイルまたは小胞の内容物に基づいて決定することもできる。

40

【0291】

本発明にしたがって表現型を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、複数の成分（たとえばマイクロRNA、小胞または他のバイオマーカー）または特徴（たとえば小胞サイズまたは形態）を含むことができる。バイオシグネチャーは、少なくとも2、3

50

、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、75または100種類の成分または特徴を含むことができる。二つ以上の成分または特徴、たとえば少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、40、50、75または100種類の成分を有するバイオシグネチャーは、表現型を特徴決定することにおいてより高い感度および／または特異度を提供することもできる。いくつかの態様において、複数の成分または特徴の評価は、より少ない成分または特徴を評価することに比べて、感度および／または特異度の増加をもたらす。他方、多くの場合、正しい医学的判断を下すのに十分である最小数の成分または特徴を使用することが望ましい。より少数のマーカーは、分類器の統計的過剰適合を避けることができ、さらなる解析までの治療の遅れならびに時間および資金の不適切な使用を防ぐことができる。したがって、本発明の方法は、最適な数の成分または特徴を決定する工程を含む。

10

【0292】

本発明のバイオシグネチャーは、上記のように感度、特異度、精度、または同様な性能測定基準で表現型を特徴決定するために使用することができる。バイオシグネチャーはまた、試料をある群に属するもの、たとえば有疾患群または無疾患群、侵襲性疾患を有する群もしくは有しない群、または応答者もしくは非応答者の群に属するものとして分類するための分類器を構築するために使用することもできる。一つの態様において、分類器は、対象が侵襲性の癌を有するの、非侵襲性の癌を有するのかを決定するために使用される。説明のための前立腺癌の場合において、これは、医師が、癌を経過観察する、すなわち「待機療法」を処方するの、前立腺切除術を実施するのかを決定するのを支援することが

20

【0293】

バイオマーカー

表現型を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカーを含むことができる。バイオマーカーは、循環バイオマーカー、膜関連マーカー、または小胞内もしくは小胞表面上に存在する成分であることができる。これらのバイオマーカーは、非限定的に、核酸（たとえばRNA（mRNA、miRNAなど）またはDNA）、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、抗原、脂質、糖質またはプロテオグリカンを含む。

30

【0294】

バイオシグネチャーは、バイオマーカー（たとえば、図1、3～60に記載された任意の一つまたは複数のバイオマーカー）の存在もしくは不在、発現レベル、突然変異状態、遺伝的変異状態、または任意の修飾（たとえば後成的修飾、または翻訳後修飾）を含むことができる。バイオマーカーの発現レベルを対照または参照と比較して、試料中のバイオマーカーの過剰発現または過小発現（または上方制御もしくは下方制御）を決定することができる。いくつかの態様において、対照または参照レベルは、病態または疾患を有しないまたは示さない対象からの対照試料中の同じバイオマーカー、たとえばmiRNAの量を含む。もう一つの態様において、参照レベルの対照は、様々な生物学的設定、たとえば罹患状態対非罹患状態においてそのレベルが影響を受けるとしてもごくわずかであるハウスキーピングマーカーのレベルを含む。さらに別の態様において、対照または参照レベルは、同じ対象中の、ただし異なる時点で採取された試料中の同じマーカーのレベルを含む。他の種類の対照が本明細書に記載されている。

40

【0295】

核酸バイオマーカーは様々なRNAまたはDNA種を含む。たとえば、バイオマーカーは、mRNA、マイクロRNA（miRNAまたはmiR）、核小体低分子RNA（snoRNA）、核内低分子RNA（snRNA）、リボソームRNA（rRNA）、ヘテロ核RNA（hnRNA）、リボソームRNA（rRNA）、siRNA、トランスファーRNA（tRNA）またはshRNAであることができる。DNAは、二本鎖DNA、一本鎖DNA、相補的DNAまたは非コードDNAであることができる。miRNAは、長さが平均で約22ヌクレオチドである短いリボ核酸（RNA）分子である。miRNAは、標的メッセンジャーRNA転

50

写物（mRNA）の三つの主要な非翻訳領域（3'UTR）中の相補的配列に結合する転写後制御因子として作用し、それが遺伝子サイレンシングを生じさせることができる。一つのmiRNAは何千ものmRNAに対して作用することもある。miRNAは、負の調節、たとえば転写物分解および隔離、翻訳抑制における複数の役割を有し、また、正の調節、たとえば転写および翻訳活性化においても役割を有することがある。遺伝子調節に影響することにより、miRNAは、多くの生物学的プロセスに影響することができる。発現したmiRNAの様々なセットが様々な細胞型および組織中に見られる。

【0296】

本発明で使用するためのバイオマーカーはさらに、断りない限り本明細書を通して互換可能に使用される語であるペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質を含む。いくつかの態様において、タンパク質バイオマーカーは、上記のような、その修飾状態、切断、突然変異、発現レベル（たとえば、参照レベルと比較した場合の過剰発現または過小発現）および／または翻訳後修飾を含む。非限定的な例において、疾患のバイオシグネチャーは、疾患を有しない試料よりも疾患に関連した試料中でより優勢である特定の翻訳後修飾を有するタンパク質を含むことができる。

【0297】

バイオシグネチャーは、複数の同じ種類のバイオマーカー（たとえば1種以上の異なるマイクロRNAまたはmRNAの種）または一つまたは複数の異なる種類のバイオマーカー（たとえばmRNA、miRNA、タンパク質、ペプチド、リガンドおよび抗原）を含むこともできる。

【0298】

一つまたは複数のバイオシグネチャーは、図1、3～60に記載されたものから選択される少なくとも一つのバイオマーカーを含むことができる。特定の起始細胞バイオシグネチャーが一つまたは複数のバイオマーカーを含むこともある。図3～58は、小胞に由来し、小胞から解析することができる多くの疾患または病態特異的バイオマーカーを記載する表を示す。バイオマーカーはまた、CD24、ミッドカイン、ヘプシジン、TMPRSS2-ERG、PCA-3、PSA、EGFR、EGFRvIII、BRAFバリエーション、MET、cKit、PDGFR、Wnt、βカテニン、K-ras、H-ras、N-ras、Raf、N-myc、c-myc、IGFR、PI3K、Akt、BRCA1、BRCA2、PTEN、VEGFR-2、VEGFR-1、Tie-2、TEM-1、CD276、HER-2、HER-3またはHER-4であることができる。バイオマーカーはまた、アネキシニンV、CD63、Rab-5bもしくはカベオリンまたはmiRNA、たとえばlet-7a、miR-15b、miR-16、miR-19b、miR-21、miR-26a、miR-27a、miR-92、miR-93、miR-320もしくはmiR-20であることもできる。バイオマーカーはまた、国際公開公報第2009/100029号に開示されている任意の遺伝子またはそれらのフラグメント、たとえばその中の表3～15に記載されているものであることもできる。

【0299】

別の態様において、小胞は、稀な細胞、例えば、国際公開公報第2006054991号に記載の細胞に由来する細胞フラグメントまたは細胞破片を含む。小胞の1種または複数種のバイオマーカー、例えば、CD146、CD105、CD31、CD133、CD106、またはこれらの組み合わせを評価することができる。1つの態様において、小胞を単離または検出するために、1種または複数種のバイオマーカーに対する捕捉物質が用いられる。一部の態様において、小胞のバイオマーカーCD45、サイトケラチン(CK)8、CK18、CK19、CK20、CEA、EGFR、GUC、EpCAM、VEGF、TS、Muc-1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価される。1つの態様において、腫瘍由来小胞はCD45-、CK+であり、核酸を含み、CD45の非存在またはCD45の低発現もしくは低検出を有し、サイトケラチン(例えば、CK8、CK18、CK19、またはCK20)の検出可能な発現および核酸の検出可能な発現を有する。

【0300】

本願全体を通じて、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1もしくはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC

10

20

30

40

50

1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PIPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNFR、またはこれらの組み合わせを含むが、それに限定されるわけではない、小胞バイオシグネチャーの一部として評価することができる任意の数の有用なバイオマーカーが開示される。

【0301】

本明細書に開示される方法および組成物における評価に有用な他のバイオマーカーは、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第6329179号および第7,625,573号、米国特許公開公報第2002/106684号、第2004/005596号、第2005/0159378号、第2005/0064470号、第2006/116321号、第2007/0161004号、第2007/0077553号、第2007/104738号、第2007/0298118号、第2007/0172900号、第2008/0268429号、第2010/0062450号、第2007/0298118号、第2009/0220944号および第2010/0196426号、米国特許出願第12/524,432号、第12/524,398号、第12/524,462号、カナダ国特許CA2453198ならびに国際公開公報第1994022018号、同第2001036601号、同第2003063690号、同第2003044166号、同第2003076603号、同第2005121369号、同第2005118806号、同第2005/078124号、同第2007126386号、同第2007088537号、同第2007103572号、同第2009019215号、同第2009021322号、同第2009036236号、同第2009100029号、同第2009015357号、同第2009155505号、同第2010/065968号および同第2010/070276号に開示されているような、病態または生理学的状態に関連したバイオマーカーを含む。小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含む、これらの特許および出願に開示されているバイオマーカーは、表現型を特徴決定する、たとえば癌または他の疾患の診断、予後判定、またはセラノーシスを提供するためのシグネチャーの一部として評価することができる。さらに、これらに開示されている方法および技術は、小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含むバイオマーカーを評価するために使用することもできる。

【0302】

本明細書に開示される方法および組成物における評価に有用なバイオマーカーのもう一つの群は、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第6,692,916号、第6,960,439号、第6,964,850号、第7,074,586号、米国特許出願第11/159,376号、第11/804,175号、第12/594,128号、第12/514,686号、第12/514,775号、第12/594,675号、第12/594,911号、第12/594,679号、第12/741,787号、第12/312,390号および国際PCT特許出願第PCT/US2009/049935号、第PCT/US2009/063138号、第PCT/US2010/000037号に開示されているような、癌の診断、予後判定、およびセラノーシスと関連するバイオマーカーを含む。有用なバイオマーカーはさらに、米国特許出願第10/703,143号および第10/701,391号に記載されている、炎症性疾患のバイオマーカー、第11/529,010号に記載されている、関節リウマチのバイオマーカー、第11/454,553号および第11/827,892号に記載されている、多発性硬化症のバイオマーカー、第11/897,160号に記載されている、移植拒絶反応のバイオマーカー、第12/524,677号に記載されている、狼瘡のバイオマーカー、PCT/US2009/048684に記載されている、骨粗鬆症のバイオマーカー、第10/742,458号に記載されている、感染症および敗血症のバイオマーカー、第12/520,675号に記載されている、敗血症のバイオマーカーを含む。これらの特許または出願はすべて参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。mRNAを含む、これらの特許および出願に開示されているバイオマーカーは、表現型を特徴決定する、たとえば癌または他の疾患の診断、予後判定、またはセラノーシスを提供するためのシグネチャーの一部として評価することができる。さらに、これらに開示されている方法および技術は、小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含むバイオマーカーを評価するために使用することもできる。

【0303】

本明細書に開示される方法および組成物における評価に有用なさらに他のバイオマーカーは、Wieczorek et al., Isolation and characterization of an RNA-proteolipid com

10

20

30

40

50

plex associated with the malignant state in humans, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 May; 82(10):3455-9, Wieczorek et al., Diagnostic and prognostic value of RNA-proteolipid in sera of patients with malignant disorders following therapy: first clinical evaluation of a novel tumor marker, *Cancer Res.* 1987 Dec 1; 47(23):6407-12, Escola et al. Selective enrichment of tetraspan proteins on the internal vesicles of multivesicular endosomes and on exosomes secreted by human B-lymphocytes. *J. Biol. Chem.* (1998) 273:20121-27, Pileri et al. Binding of hepatitis C virus to CD81 *Science*, (1998) 282:938-41, Kopreski et al. Detection of Tumor Messenger RNA in the Serum of Patients with Malignant Melanoma, *Clin. Cancer Res.* (1999) 5:1961-1965, Carr et al. Circulating Membrane Vesicles in Leukemic Blood, *Cancer Research*, (1985) 45:5944-51, Weichert et al. Cytoplasmic CD24 expression in colorectal cancer independently correlates with shortened patient survival. *Clinical Cancer Research*, 2005, 11:6574-81, Iorio et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* (2005) 65:7065-70, Taylor et al. Tumour-derived exosomes and their role in cancer-associated T-cell signaling defects *British J Cancer* (2005) 92:305-11, Valadi et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells *Nature Cell Biol* (2007) 9:654-59, Taylor et al. Pregnancy-associated exosomes and their modulation of T cell signaling *J Immunol* (2006) 176:1534-42, Koga et al. Purification, characterization and biological significance of tumor-derived exosomes *Anticancer Res* (2005) 25:3703-08, Seligson et al. Epithelial cell adhesion molecule (KSA) expression: pathobiology and its role as an independent predictor of survival in renal cell carcinoma *Clin Cancer Res* (2004) 10:2659-69, Clayton et al. (Antigen-presenting cell exosomes are protected from complement-mediated lysis by expression of CD55 and CD59. *Eur J Immunol* (2003) 33:522-31), Simak et al. Cell Membrane Microparticles in Blood and Blood Products: Potentially Pathogenic Agents and Diagnostic Markers *Trans Med Reviews* (2006) 20:1-26, Choi et al. Proteomic analysis of microvesicles derived from human colorectal cancer cells *J Proteome Res* (2007) 6:4646-4655, Iero et al. Tumour-released exosomes and their implications in cancer immunity *Cell Death Diff* (2008) 15:80-88, Baj-Krzyworzeka et al. Tumour-derived microvesicles carry several surface determinants and mRNA of tumour cells and transfer some of these determinants to monocytes *Cancer Immunol Immunother* (2006) 55:808-18, Admyre et al. B cell-derived exosomes can present allergen peptides and activate allergen-specific T cells to proliferate and produce TH2-like cytokines *J Allergy Clin Immunol* (2007) 120:1418-1424, Aoki et al. Identification and characterization of microvesicles secreted by 3T3-L1 adipocytes: redox- and hormone dependent induction of milk fat globule-epidermal growth factor 8-associated microvesicles *Endocrinol* (2007) 148:3850-3862, Baj-Krzyworzeka et al. Tumour-derived microvesicles carry several surface determinants and mRNA of tumour cells and transfer some of these determinants to monocytes *Cancer Immunol Immunother* (2006) 55:808-18, Skog et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers *Nature Cell Biol* (2008) 10:1470-76, El-Hefnawy et al. Characterization of amplifiable, circulating RNA in plasma and its potential as a tool for cancer diagnostics *Clin Chem* (2004) 50:564-573, Pisitkun et al., *Proc Natl Acad Sci US A*, 2004; 101:13368-13373, Mitchell et al., Can urinary exosomes act as treatment response markers in Prostate Cancer?, *Journal of Translational Medicine* 2009, 7:4, Clayton et al., Human Tumor-Derived Exosomes Selectively Impair Lymphocyte Responses to Interleukin-2, *Cancer Res* 2007; 67:(15). August 1, 2007, Rabesandratana et al. Decay-accelerating factor (CD55) and membrane inhibitor of reactive l

ysis (CD59) are released within exosomes during In vitro maturation of reticulocytes. *Blood* 91:2573-2580 (1998)、Lamparski et al. Production and characterization of clinical grade exosomes derived from dendritic cells. *J Immunol Methods* 270:211-226 (2002)、Keller et al. CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid. *Kidney Int'l* 72:1095-1102 (2007)、Runz et al. Malignant ascites-derived exosomes of ovarian carcinoma patients contain CD24 and EpCAM. *Gynecol Oncol* 107:563-571 (2007)、Redman et al. Circulating microparticles in normal pregnancy and preeclampsia placenta. *Am J Pathol* 29:73-77 (2008)、Gutwein et al. Cleavage of L1 in exosomes and apoptotic membrane vesicles released from ovarian carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 11:2492-2501 (2005)、Kristiansen et al., CD24 is an independent prognostic marker of survival in nonsmall cell lung cancer patients, *Brit J Cancer* 88:231-236 (2003)、Lim and Oh, The Role of CD24 in Various Human Epithelial Neoplasias, *Pathol Res Pract* 201:479-86 (2005)、Matutes et al., The Immunophenotype of Splenic Lymphoma with Villous Lymphocytes and its Relevance to the Differential Diagnosis With Other B-Cell Disorders, *Blood* 83:1558-1562 (1994)、Pirruccello and Lang, Differential Expression of CD24-Related Epitopes in Mycosis Fungoides/Sezary Syndrome: A Potential Marker for Circulating Sezary Cells, *Blood* 76:2343-2347 (1990)に開示されているような、病態または生理学的状態と関連したバイオマーカーを含む。小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含む、これらの刊行物に開示されているバイオマーカーは、表現型を特徴決定する、たとえば癌または他の疾患の診断、予後判定、またはセラノーシスを提供するためのシグネチャーの一部として評価することができる。さらに、これらに開示されている方法および技術は、小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含むバイオマーカーを評価するために使用することもできる。

10

20

【0304】

本明細書に開示される方法および組成物における評価に有用なさらに他のバイオマーカーは、Rajendran et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:11172-11177、Taylor et al., *Gynecol Oncol* 2008; 110:13-21、Zhou et al., *Kidney Int* 2008; 74:613-621、Buning et al., *Immunology* 2008、Prado et al. *J Immunol* 2008; 181:1519-1525、Vella et al. (2008) *Vet Immunol Immunopathol* 124(3-4):385-93、Gould et al. (2003). *Proc Natl Acad Sci USA* 100(19):10592-7、Fang et al. (2007). *PLoS Biol* 5(6):e158、Chen, B. J. and R. A. Lamb (2008). *Virology* 372(2):221-32、Bhatnagar, S. and J. S. Schorey (2007). *J Biol Chem* 282(35):25779-89、Bhatnagar et al. (2007) *Blood* 110(9):3234-44、Yuyama, et al. (2008). *J Neurochem* 105(1):217-24、Gomes et al. (2007). *Neurosci Lett* 428(1):43-6、Nagahama et al. (2003). *Autoimmunity* 36(3):125-31、Taylor, D. D., S. Akyo, et al. (2006). *J Immunol* 176(3):1534-42、Peché, et al. (2006). *Am J Transplant* 6(7):1541-50、Iero, M., M. Valenti, et al. (2008). *Cell Death and Differentiation* 15:80-88、Gesierich, S., I. Berezoversuskiy, et al. (2006), *Cancer Res* 66(14):7083-94、Clayton, A., A. Turkes, et al. (2004). *Faseb J* 18(9):977-9、Skriner, K. Adolph, et al. (2006). *Arthritis Rheum* 54(12):3809-14、Brouwer, R., G. J. Pruijn, et al. (2001). *Arthritis Res* 3(2):102-6、Kim, S. H., N. Bianco, et al. (2006). *Mol Ther* 13(2):289-300、Evans, C. K, S. C. Ghivizzani, et al. (2000). *Clin Orthop Relat Res* (379 Suppl):S300-7、Zhang, H. G., C. Liu, et al. (2006). *J Immunol* 176(12):7385-93、Van Niel, G., J. Mallegol, et al. (2004). *Gut* 52:1690-1697、Fiasse, R. and O. Dewit (2007). *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 17(12):1423-1441(19)に開示されているような、病態または生理学的状態と関連したバイオマーカーを含む。小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含む、これらの刊行物に開示されているバイオマーカーは、表現型を特徴決定する、たとえば癌または他の疾患の診断、予後判定、またはセラノーシスを提供するためのシグネチャーの一部として評価することができる。さらに、これらに開示されている方法および技術は、小胞バイオマーカーおよびマイクロRNAを含むバイオマーカーを評価するために使用するこ

30

40

50

ともできる。

【0305】

別の局面において、本発明は、CD9、HSP70、Gal3、MIS、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4、CD81、ERB3、VEGF、BCA225、BRCA、CA125、CD174、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、CD31、cMET、MUC2、またはERB4からなる群より選択される、対象に由来する試料中の1種または複数種の循環バイオマーカーのレベルを検出する工程を含む、癌を評価する方法を提供する。CD9、HSP70、Gal3、MIS、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4、CD81、ERB3、VEGF、BCA225、BRCA、BCA200、CA125、CD174、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、CD31、cMET、MUC2、またはERB4。別の態様において、1種または複数種の循環バイオマーカーは、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1 (CD54)、PSMA、A33、DR3、CD66e、MFG-8e、EphA2、ヘプシン、TMEM211、EphA2、TROP-2、EGFR、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、NK-2、EpCam、NGAL、NK-1R、PSMA、5T4、PAI-1、およびCD45からなる群より選択される。さらに別の態様において、1種または複数種の循環バイオマーカーは、CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、およびERB B4からなる群より選択される。これらの群から、任意の数の有用なバイオマーカー、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個以上の有用なバイオマーカーを評価することができる。一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3、BCA200、OPNおよびNCAMの1つまたは複数、例えば、Gal3およびBCA200、OPNおよびNCAM、または4つ全てである。癌を評価する工程は、癌の診断、予後判定、またはセラノーシスを行う工程を含んでもよい。癌は乳癌でもよい。マーカーは小胞または小胞集団と関連してもよい。マーカーは小胞または小胞集団と関連してもよい。例えば、1種または複数種の循環バイオマーカーは小胞表面抗原または小胞ペイロードでもよい。さらに、捕捉用抗原、検出用抗原、またはその両方として小胞表面抗原を使用することができる。

10

20

【0306】

さらに、本発明は、CD9、HSP70、Gal3、MIS、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4、CD81、ERB3、VEGF、BCA225、BRCA、CA125、CD174、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、CD31、cMET、MUC2、またはERB4からなる群より選択される、対象に由来する試料中の1種または複数種の循環バイオマーカーのレベルを検出する工程を含む、治療剤に対する反応を予測する方法を提供する。別の態様において、1種または複数種の循環バイオマーカーは、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1 (CD54)、PSMA、A33、DR3、CD66e、MFG-8e、EphA2、ヘプシン、TMEM211、EphA2、TROP-2、EGFR、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、NK-2、EpCam、NGAL、NK-1R、PSMA、5T4、PAI-1、およびCD45からなる群より選択される。さらに別の態様において、1種または複数種の循環バイオマーカーは、CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、およびERB B4からなる群より選択される。これらの群から、任意の数の有用なバイオマーカー、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個以上の有用なバイオマーカーを評価することができる。一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3、BCA200、OPNおよびNCAMの1つまたは複数、例えば、Gal3およびBCA200、OPNおよびNCAM、または4つ全てである。治療剤は、癌を治療するための治療剤でもよい。癌は乳癌でもよい。マーカーは小胞または小胞集団と関連してもよい。例えば、1種または複数種の循環バイオマーカーは小胞表面抗原または小胞ペイロードでもよい。さらに、捕捉用抗原、検出用抗原、またはその両方として小胞表面抗原を使用することができる。

30

40

【0307】

1種または複数種のバイオマーカーを、抗体アレイ、マイクロビーズ、または本明細書において開示される、もしくは当技術分野において公知の他の方法を用いて検出することができる。例えば、1種または複数種のバイオマーカーに対する捕捉抗体またはアプタマーをアレイまたはビーズに結合することができる。次いで、捕捉された小胞を、検出可能な物質を用いて検出することができる。一部の態様において、捕捉された小胞は、小胞の

50

全集団を検出する一般的な小胞マーカー、例えば、テトラスパニンまたはMFG-E8を認識する物質、例えば、抗体またはアプタマーを用いて検出される。これらには、テトラスパニン、例えば、CD9、CD63、および/またはCD81が含まれ得る。他の態様において、捕捉された小胞は、小胞起源、例えば、組織または器官のタイプに特異的なマーカーを用いて検出される。一部の態様において、捕捉された小胞は、内皮由来の細胞または小胞のマーカーであるCD31を用いて検出される。所望のように、捕捉に用いられたバイオマーカーを検出にも使用することができ、逆の場合も同様に使用することができる。

【0308】

一局面において、本発明は、5T4(栄養芽細胞)、ADAM10、AGER/RAGE、APC、APP(β アミロイド)、ASPH(A-10)、B7H3(CD276)、BACE1、BAI3、BRCA1、BDNF、BIRC2、C1GALT1、CA125(MUC16)、カルモジュリン1、CCL2(MCP-1)、CD9、CD10、CD127(IL7R)、CD174、CD24、CD44、CD63、CD81、CEA、CRMP-2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CYFRA21、デルリン1、DLL4、DPP6、E-CAD、EpCaM、EphA2(H-77)、ER(1)ESR1 α 、ER(2)ESR2 β 、ErbB4、ErbB2、erb3(Erb-B3)、PA2G4、FRT(FLT1)、Gal3、GPR30(G共役ER1)、HAP1、HER3、HSP-27、HSP70、IC3b、IL8、insig、ジャンクションプラコグロビン、ケラチン15、KRAS、マンマグロビン、MART1、MCT2、MFG8、MMP9、MRP8、Muc1、MUC17、MUC2、NCAM、NG2(CSPG4)、Ngal、NHE-3、NT5E(CD73)、ODC1、OPG、OPN、p53、PARK7、PCSA、PGP9.5(PARK5)、PR(B)、PSA、PSMA、RAGE、STXBP4、サバイビン、TFF3(分泌型)、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TRAF4(足場)、TRAIL-R2(デスレセプター5)、TrkB、Tsg101、UNC93a、VEGFA、VEGFR2、YB-1、VEGFR1、GCDPF-15(PIP)、BigH3(TGF β 1誘導性タンパク質)、5HT2B(セロトニン受容体2B)、BRCA2、BACE1、CDH1-カドヘリンからなる群より選択される、対象に由来する試料中の、1種または複数種の循環バイオマーカーのレベルを検出する工程を含む、癌を評価する方法を提供する。検出されたバイオマーカーは、タンパク質、RNA、またはDNAを含んでもよい。1種または複数種のマーカーは小胞に関連してもよく、例えば、小胞表面抗原として、または小胞ペイロード(例えば、可溶性タンパク質、mRNA、もしくはDNA)として小胞に関連してもよい。これらの群から、任意の数の有用なバイオマーカー、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個以上の有用なバイオマーカーを評価することができる。癌は乳癌でもよい。マーカーは小胞または小胞集団に関連してもよい。例えば、1種または複数種の循環バイオマーカーは小胞表面抗原または小胞ペイロードでもよい。さらに、捕捉用抗原、検出用抗原、またはその両方として小胞表面抗原を使用することができる。

【0309】

本発明はまた、対象に由来する試料中の、1種または複数種の免疫調節用循環バイオマーカーのレベル、1種または複数種の転移用循環バイオマーカーのレベル、および1種または複数種の血管形成用循環バイオマーカーのレベルを検出する工程;ならびにレベルを参照と比較し、それによって、癌を評価する工程を含む、癌を評価する方法を提供する。1種または複数種の免疫調節用循環バイオマーカーは、CD45、FasL、CTLA4、CD80、およびCD83の1つまたは複数でもよい。1種または複数種の転移用循環バイオマーカーは、Muc1、CD147、TIMP1、TIMP2、MMP7、およびMMP9の1つまたは複数でもよい。1種または複数種の血管形成用循環バイオマーカーは、HIF2a、Tie2、Ang1、DLL4、およびVEGFR2の1つまたは複数でもよい。これらの群から、任意の数の有用なバイオマーカー、例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個以上の有用なバイオマーカーを評価することができる。癌は乳癌でもよい。マーカーは小胞または小胞集団に関連してもよい。例えば、1種または複数種の循環バイオマーカーは小胞表面抗原または小胞ペイロードでもよい。さらに、捕捉用抗原、検出用抗原、またはその両方として小胞表面抗原を使用することができる。

【0310】

一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーはDLL4またはcMETを含む。Delta-like 4(DLL4)はNotchリガンドであり、血管形成中に上方制御される。cMET(c-Met、MET、またはMNNG HOS Transforming遺伝子とも呼ばれる)は、リガンドが肝細胞増殖因子(HGF)である膜受容体型チロシンキナーゼをコードする癌原遺伝子である。METタンパク質は

、時として、肝細胞増殖因子受容体(HGFR)と呼ばれる。METは通常、上皮細胞上で発現し、不適切な活性化が腫瘍成長、血管形成、および転移を誘発することがある。DLL4およびcMETは、小胞集団を検出するためのバイオマーカーとして使用することができる。

【0311】

小胞から得られ、分析することができるバイオマーカーには、miRNA(miR)、miRNA*ナンセンス(miR*)、および他のRNA(mRNA、preRNA、priRNA、hnRNA、snRNA、siRNA、shRNAを含むが、これに限定されない)が含まれる。miRNAバイオマーカーは、そのmiRNAおよびマイクロRNA*ナンセンスだけでなく、その前駆分子:プリマイクロRNA(pri-miR)およびプレマイクロRNA(pre-miR)も含んでもよい。miRNAの配列は、<http://www.mirbase.org/>、<http://www.microrna.org/>などの公的利用可能なデータベース、または他の任意の利用可能なデータベースから入手することができる。定めのない限り、miR、miRNA、およびマイクロRNAという用語は、定めのない限り全体を通して同義に用いられる。一部の態様において、本発明の方法は、小胞を単離する工程、および単離された小胞内のmiRNAペイロードを評価する工程を含む。バイオマーカーはまた、核酸分子(例えば、DNA)、タンパク質、またはペプチドでもよい。バイオマーカーの存在または非存在、発現レベル、変異(例えば、遺伝子変異、例えば、欠失、転座、重複、ヌクレオチド置換またはアミノ酸置換など)を決定することができる。バイオマーカーのいかなるエピジェネティック調節またはコピー数変化も分析することができる。

【0312】

小胞に由来し、小胞から解析することができるバイオマーカーは、miRNA(miR)、miRNA*ナンセンス(miR*)および他のRNA(mRNA、preRNA、priRNA、hnRNA、snRNA、siRNA、shRNAを含むが、これらに限定されない)を含む。miRNAバイオマーカーは、そのmiRNAおよびマイクロRNA*ナンセンスだけでなく、その前駆体分子、priマイクロRNA(pri-miR)、およびpreマイクロRNA(pre-miR)をも含み得る。miRNAの配列は、公表されているデータベース、たとえば<http://www.mirbase.org/>、<http://www.microrna.org/>または利用可能な他のデータベースから得ることができる。断りない限り、miR、miRNAおよびマイクロRNAという用語は、全体を通して交換可能に使用される。いくつかの態様において、本発明の方法は、小胞を単離すること、および単離された小胞中のmiRNAペイロードを評価することを含む。バイオマーカーはまた、核酸分子(たとえばDNA)、タンパク質、またはペプチドであることもできる。バイオマーカーに関して、有無、発現レベル、突然変異(たとえば遺伝子突然変異、たとえば欠失、転座、重複、ヌクレオチドまたはアミノ酸置換など)を決定することができる。また、バイオマーカーの任意の後成的修飾またはコピー数変化を解析することもできる。

【0313】

分析される1つ以上のバイオマーカーは、特定の組織もしくは起始細胞、疾患、または生理的状态を示し得る。さらに、本明細書に記載のバイオマーカーのうちの1つ以上の存在、不在、または発現レベルは、疾患、病態、予後、または薬物の有効性を含む、対象の表現型と相関性があり得る。以下に記載される該特異的なバイオマーカーおよびバイオシグネチャーは、疾患、病態比較、病態、および/または生理的状态のそれぞれに対する非包括的な例を構成する。さらに、表現型に対して評価される1つ以上のバイオマーカーは、起始細胞に特異的な小胞であり得る。

【0314】

表現型を特徴決定するために使用される1つ以上のmiRNAは、国際公開公報第2009/036236号に開示されるものから選択される。例えば、表I~VI(図6~11)に列記される1つ以上のmiRNAを使用して、本明細書にさらに記載されるような、結腸腺癌、結腸直腸癌、前立腺癌、肺癌、乳癌、B細胞リンパ腫、膵臓癌、びまん性大細胞型BCL癌、CLL、膀胱癌、腎臓癌、低酸素症腫瘍、子宮平滑筋腫、卵巣癌、C型肝炎ウイルス関連肝細胞癌、ALL、アルツハイマー病、骨髓線維症、真性赤血球増加症、血小板血症、HIV、またはHIV-Iの潜伏を特徴決定することができる。

【0315】

10

20

30

40

50

該1つ以上のmiRNAは、小胞中で検出され得る。該1つ以上のmiRNAは、miR-223、miR-484、miR-191、miR-146a、miR-016、miR-026a、miR-222、miR-024、miR-126、およびmiR-32であり得る。1つ以上のmiRNAはまた、PBMC中でも検出され得る。該1つ以上のmiRNAは、miR-223、miR-150、miR-146b、miR-016、miR-484、miR-146a、miR-191、miR-026a、miR-019b、またはmiR-020aであり得る。該1つ以上のmiRNAを使用して、特定の疾患もしくは病態を特徴決定することができる。例えば、膀胱癌の疾患に関しては、miR-223、miR-26b、miR-221、miR-103-1、miR-185、miR-23b、miR-203、miR-17-5p、miR-23a、miR-205、または任意の組み合わせ等の1つ以上のmiRNAを検出することができる。該1つ以上のmiRNAは、疾患状況において上方制御または過剰発現され得る。

【0316】

10

幾つかの態様において、該1つ以上のmiRNAを使用して、低酸素症腫瘍を特徴決定する。該1つ以上のmiRNAは、miR-23、miR-24、miR-26、miR-27、miR-103、miR-107、miR-181、miR-210、またはmiR-213であり得、上方制御され得る。また、1つ以上のmiRNAを使用して、子宮平滑筋腫を特徴決定することもできる。例えば、子宮平滑筋腫を特徴決定するために使用される該1つ以上のmiRNAは、let-7ファミリーメンバー、miR-21、miR-23b、miR-29b、またはmiR-197であり得る。該miRNAは、上方制御したものであり得る。

【0317】

上方制御され得るmiR-190、下方制御され得るmiR-31、miR-150、およびmiR-95、またはこれらの任意の組み合わせ等の1つ以上のmiRNAによって、骨髓線維症を特徴決定することもできる。さらに、miR-34a、miR-342、miR-326、miR-105、miR-149、miR-147、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上のmiRNAを検出することによって、骨髓線維症、真性赤血球増加症、または血小板血症を特徴決定することもできる。該1つ以上のmiRNAは、下方制御され得る。

20

【0318】

1つ以上のバイオマーカーについて小胞を評価することによって特徴決定することができる表現型の他の例をさらに本明細書に記載する。

【0319】

該1つ以上のバイオマーカーは、プローブを用いて検出され得る。プローブは、DNAもしくはRNA等のオリゴヌクレオチド、アプタマー、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、Fab、Fab'、一本鎖抗体、合成抗体、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸（PNA）、ロックス核酸（LNA）、レクチン、合成もしくは天然に存在する化学的化合物（薬物もしくは標識試薬が挙げられるが、これらに限定されない）、デンドリマー、またはこれらの任意の組み合わせ等を含み得る。該プローブは、例えば、直接標識することによって、直接的に検出され得るか、または標識試薬等を通して間接的に検出され得る。該プローブは、バイオマーカーに選択的に認識することができる。例えば、オリゴヌクレオチドであるプローブは、miRNAバイオマーカーに選択的にハイブリダイズすることができる。

30

【0320】

局面において、本発明は、対象における疾患または障害の診断、セラノーシス、予後判定、疾患層別化、病期決定、治療モニタリング、または応答者／非応答者状態の予測を提供する。本発明は、小胞表面上に存在するバイオマーカーを評価することを含む、対象からの小胞を評価すること、および／または小胞内のペイロード、たとえばタンパク質、核酸、または他の生物学的分子を評価することを含む。小胞を使用して評価することができる、疾患または障害に関連する任意の適切なバイオマーカーを使用して、本発明の方法を実施することができる。さらに、本明細書に記載されるような小胞を評価するために任意の適切な技術を使用することができる。本発明の方法の使用を説明する目的で、例示的なバイオマーカーが本明細書において提供され、異なる疾患に対して同じバイオマーカーの多くが本発明の方法において有用である。本明細書における出願人の発見および発明に基づいて、当業者であれば、本明細書において具体的に述べられたバイオマーカーに加えて、非常に多くの他の小胞関連バイオマーカーを用いて、疾患および障害のバイオシグネチャーを作り出すことができると理解するだろう。

40

50

【0321】

本明細書に記載の任意のタイプのバイオマーカまたは特異的バイオマーカをバイオシグネチャーの一部として評価することができる。例示的なバイオマーカには、表5のバイオマーカが含まれるが、それに限定されるわけではない。本明細書において開示された表現型を特徴決定するための小胞を捕捉および/または検出するために、表のマーカを使用することができる。場合によっては、特徴決定を向上させるために、複数回の捕捉および/または検出が用いられる。マーカはタンパク質として検出されてもよく、mRNAとして検出されてもよく、これらは遊離に循環していてもよく、複合体で循環していてもよい。マーカは小胞表面抗原として検出されてもよく、小胞ペイロードとして検出されてもよい。「例示的なクラス」は、公知のマーカであるマーカの表示を示す。当業者であれば、ある特定の場、これらのマーカを代わりの状況でも使用できることを理解するであろう。例えば、あるタイプの疾患を特徴決定するために使用することができるマーカを、適宜、別の疾患を特徴決定するために使用することもできる。

10

【0322】

(表5) 例示的な小胞関連バイオマーカ

例示的なクラス	バイオマーカー
薬物関連標的 および 予後マーカー	ABCC1, ABCG2, ACE2, ADA, ADH1C, ADH4, AGT, AR, AREG, ASNS, BCL2, BCRP, BDCA1, β IIIチューブリン, BIRC5, B-RAF, BRCA1, BRCA2, CA2, カベオリン, CD20, CD25, CD33, CD52, CDA, CDKN2A, CDKN1A, CDKN1B, CDK2, CDW52, CES2, CK 14, CK 17, CK 5/6, c-KIT, c-Met, c-Myc, COX-2, サイクリン D1, DCK, DHFR, DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, E-カドヘリン, ECGF1, EGFR, EML4-ALK 融合体, EPHA2, エピレグリン, ER, ERBR2, ERCC1, ERCC3, EREG, ESR1, FLT1, 葉酸受容体, FOLR1, FOLR2, FSHB, FSHPRH1, FSHR, FYN, GART, GNRH1, GNRHR1, GSTP1, HCK, HDAC1, hENT-1, Her2/Neu, HGF, HIF1A, HIG1, HSP90, HSP90AA1, HSPCA, IGF-1R, IGFRBP, IGFRBP3, IGFRBP4, IGFRBP5, IL13RA1, IL2RA, KDR, Ki67, KIT, K-RAS, LCK, LTB, リンホトキシン β 受容体, LYN, MET, MGMT, MLH1, MMR, MRP1, MS4A1, MSH2, MSH5, Myc, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NRAS, ODC1, OGFR, p16, p21, p27, p53, p95, PARP-1, PDGFC, PDGFR, PDGFRA, PDGFRB, PGP, PGR, PI3K, POLA, POLA1, PPARG, PPARGC1, PR, PTEN, PTGS2, PTPN12, RAF1, RARA, RRM1, RRM2, RRM2B, RXRB, RXRG, SIK2, SPARC, SRC, SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR4, SSTR5, サバイピン, TK1, TLE3, TNF, TOP1, TOP2A, TOP2B, TS, TUBB3, TXN, TXNRD1, TYMS, VDR, VEGF, VEGFA, VEGFC, VHL, YES1, ZAP70
癌治療関連マーカー	AR, AREG (アンフィレギュリン), BRAF, BRCA1, cKIT, cMET, EGFR, EGFR w/T790M, EML4-ALK, ER, ERBB3, ERBB4, ERCC1, EREG, GNA11, GNAQ, hENT-1, Her2, Her2 エキソン 20 インサート, IGF1R, Ki67, KRAS, MGMT, MGMT メチル化, MSH2, MSI, NRAS, PGP (MDR1), PIK3CA, PR, PTEN, ROS1, ROS1 転座, RRM1, SPARC, TLE3, TOPO1, TOPO2A, TS, TUBB3, VEGFR2
癌治療関連マーカー	AR, AREG, BRAF, BRCA1, cKIT, cMET, EGFR, EGFR w/T790M, EML4-ALK, ER, ERBB3, ERBB4, ERCC1, EREG, GNA11, GNAQ, Her2, Her2 エキソン 20 インサート, IGF1R, Ki67, KRAS, MGMT-Me, MSH2, MSI, NRAS, PGP (MDR-1), PIK3CA, PR, PTEN, ROS1 転座, RRM1, SPARC, TLE3, TOPO1, TOPO2A, TS, TUBB3, VEGFR2
結腸癌治療関連マーカー	AREG, BRAF, EGFR, EML4-ALK, ERCC1, EREG, KRAS, MSI, NRAS, PIK3CA, PTEN, TS, VEGFR2
結腸癌治療関連マーカー	AREG, BRAF, EGFR, EML4-ALK, ERCC1, EREG, KRAS, MSI, NRAS, PIK3CA, PTEN, TS, VEGFR2
黒色腫治療関連マーカー	BRAF, cKIT, ERBB3, ERBB4, ERCC1, GNA11, GNAQ, MGMT, MGMT メチル化, NRAS, PIK3CA, TUBB3, VEGFR2
黒色腫治療関連マーカー	BRAF, cKIT, ERBB3, ERBB4, ERCC1, GNA11, GNAQ, MGMT-Me, NRAS, PIK3CA, TUBB3, VEGFR2
卵巣癌治療関連マーカー	BRCA1, cMET, EML4-ALK, ER, ERBB3, ERCC1, hENT-1, HER2, IGF1R, PGP(MDR1), PIK3CA, PR, PTEN, RRM1, TLE3, TOPO1, TOPO2A, TS
卵巣癌治療関連マーカー	BRCA1, cMET, EML4-ALK(転座), ER, ERBB3, ERCC1, HER2, PIK3CA, PR, PTEN, RRM1, TLE3, TS
乳癌治療関連マーカー	BRAF, BRCA1, EGFR, EGFR T790M, EML4-ALK, ER, ERBB3, ERCC1, HER2, Ki67, PGP (MDR1), PIK3CA, PR, PTEN, ROS1, ROS1 転座, RRM1, TLE3, TOPO1, TOPO2A, TS
乳癌治療関連マーカー	BRAF, BRCA1, EGFR w/T790M, EML4-ALK, ER, ERBB3, ERCC1, HER2, Ki67, KRAS, PIK3CA, PR, PTEN, ROS1 転座, RRM1, TLE3, TOPO1, TOPO2A, TS
NSCLC癌治療関連マーカー	BRAF, BRCA1, cMET, EGFR, EGFR w/T790M, EML4-ALK, ERCC1, Her2 エキソン 20 インサート, KRAS, MSH2, PIK3CA, PTEN, ROS1 (トランス), RRM1, TLE3, TS, VEGFR2

10

20

30

40

NSCLC癌治療関連 マーカー	BRAF, cMET, EGFR, EGFR w/T790M, EML4-ALK, ERCC1, Her2 エキソン20 インサート, KRAS, MSH2, PIK3CA, PTEN, ROS1 転座, RRM1, TLE3, TS
癌/血管	Erb 2, Erb 3, Erb 4, UNC93a, B7H3, MUC1, MUC2, MUC16, MUC17, 5T4, RAGE, VEGF A, VEGFR2, FLT1, DLL4, Epcam
組織(乳房)	BIG H3, GCDFP-15, PR(B), GPR 30, CYFRA 21, BRCA 1, BRCA 2, ESR 1, ESR2
組織(前立腺)	PSMA, PCSA, PSCA, PSA, TMPRSS2
炎症/免疫	MFG-E8, IFNAR, CD40, CD80, MICB, HLA-DRb, IL-17-Ra
一般の小胞 マーカー	HSPA8, CD63, Actb, GAPDH, CD9, CD81, ANXA2, HSP90AA1, ENO1, YWHAZ, PDCD6IP, CFL1, SDCBP, PKN2, MSN, MFGE8, EZR, YWHAG, PGK1, EEF1A1, PPIA, GLC1F, GK, ANXA6, ANXA1, ALDOA, ACTG1, TPI1, LAMP2, HSP90AB1, DPP4, YWHAB, TSG101, PFN1, LDHB, HSPA1B, HSPA1A, GSTP1, GNAI2, GDI2, CLTC, ANXA5, YWHAQ, TUBA1A, THBS1, PRDX1, LDHA, LAMP1, CLU, CD86
一般の小胞膜 マーカー	CD63, GAPDH, CD9, CD81, ANXA2, ENO1, SDCBP, MSN, MFGE8, EZR, GK, ANXA1, LAMP2, DPP4, TSG101, HSPA1A, GDI2, CLTC, LAMP1, CD86, ANPEP, TFRC, SLC3A2, RDX, RAP1B, RAB5C, RAB5B, MYH9, ICAM1, FN1, RAB11B, PIGR, LGALS3, ITGB1, EHD1, CLIC1, ATP1A1, ARF1, RAP1A, P4HB, MUC1, KRT10, HLA-A, FLOT1, CD59, C1orf58, BASP1, TACSTD1, STOM
一般の小胞 マーカー	MHC クラス I, MHC クラス II, インテグリン類, $\alpha 4 \beta 1$, $\alpha M \beta 2$, $\beta 2$, ICAM1/CD54, P-セレクチン, ジペプチジルペプチダーゼIV/CD26, アミノペプチダーゼ n/CD13, CD151, CD53, CD37, CD82, CD81, CD9, CD63, Hsp70, Hsp84/90アクチン, アクチン結合タンパク質, チューブリン, アネキシンI, アネキシンII, アネキシンIV, アネキシンV, アネキシンVI, RAB7/RAP1B/RADGDI, Gi2 α /14-3-3, CBL/LCK, CD63, GAPDH, CD9, CD81, ANXA2, ENO1, SDCBP, MSN, MFGE8, EZR, GK, ANXA1, LAMP2, DPP4, TSG101, HSPA1A, GDI2, CLTC, LAMP1, Cd86, ANPEP, TFRC, SLC3A2, RDX, RAP1B, RAB5C, RAB5B, MYH9, ICAM1, FN1, RAB11B, PIGR, LGALS3, ITGB1, EHD1, CLIC1, ATP1A1, ARF1, RAP1A, P4HB, MUC1, KRT10, HLA-A, FLOT1, CD59, C1orf58, BASP1, TACSTD1, STOM
小胞マーカー	A33, a33 n15, AFP, ALA, ALIX, ALP, アネキシンV, APC, ASCA, ASPH (246- 260), ASPH (666-680), ASPH (A-10), ASPH (D01P), ASPH (D03), ASPH (G- 20), ASPH (H-300), AURKA, AURKB, B7H3, B7H4, BCA-225, BCNP, BDNF, BRCA, CA125 (MUC16), CA-19-9, C-Bir, CD1.1, CD10, CD174 (Lewis y), CD24, CD44, CD46, CD59 (MEM-43), CD63, CD66e CEA, CD73, CD81, CD9, CDA, CDAC1 1a2, CEA, C-Erb2, C-erbB2, CRMP-2, CRP, CXCL12, CYFRA21-1, DLL4, DR3, EGFR, Epcam, EphA2, EphA2 (H-77), ER, ErbB4, EZH2, FASL, FRT, FRT c.f23, GDF15, GPCR, GPR30, Gro-alpha, HAP, HBD 1, HBD2, HER 3 (ErbB3), HSP, HSP70, hVEGFR2, iC3b, IL 6 Unc, IL-1B, IL6 Unc, IL6R, IL8, IL-8, INSIG-2, KLK2, L1CAM, LAMN, LDH, MACC-1, MAPK4, MART-1, MCP-1, M-CSF, MFG-E8, MIC1, MIF, MIS RII, MMG, MMP26, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC1 seq1, MUC1 seq11A, MUC17, MUC2, Ncam, NGAL, NPGP/NPFF2, OPG, OPN, p53, p53, PA2G4, PBP, PCSA, PDGFRB, PGP9.5, PIM1, PR (B), PRL, PSA, PSMA, PSME3, PTEN, R5- CD9 Tube 1, Reg IV, RUNX2, SCRNI, セプラーゼ, SERPINB3, SPARC, SPB, SPDEF, SRVN, STAT 3, STEAP1, TF (FL-295), TFF3, TGM2, TIMP-1, TIMP1, TIMP2, TMEM211, TMPRSS2, TNF- α , Trail-R2, Trail-R4, TrKB, TROP2, Tsg 101, TWEAK, UNC93A, VEGF A, YPSMA-1
小胞マーカー	NSE, TRIM29, CD63, CD151, ASPH, LAMP2, TSPAN1, SNAIL, CD45, CKS1, NSE, FSHR, OPN, FTH1, PGP9, アネキシン 1, SPD, CD81, EPCAM, PTH1R, CEA, CYTO 7, CCL2, SPA, KRAS, TWIST1, AURKB, MMP9, P27, MMP1, HLA, HIF, CEACAM, CENPH, BTUB, INTG b4, EGFR, NACC1, CYTO 18, NAP2, CYTO 19, アネキシン V, TGM2, ERB2, BRCA1, B7H3, SFTPC, PNT, NCAM, MS4A1, P53, INGA3, MUC2, SPA, OPN, CD63, CD9, MUC1, UNCR3, PAN ADH, HCG, TIMP, PSMA, GPCR, RACK1, PSCA, VEGF, BMP2, CD81, CRP, PRO GRP, B7H3, MUC1, M2PK, CD9, PCSA, PSMA
小胞マーカー	TFF3, MS4A1, EphA2, GAL3, EGFR, N-gal, PCSA, CD63, MUC1, TGM2,

10

20

30

40

	CD81, DR3, MACC-1, TrKB, CD24, TIMP-1, A33, CD66 CEA, PRL, MMP9, MMP7, TMEM211, SCRNI, TROP2, TWEAK, CDACC1, UNC93A, APC, C-Erb, CD10, BDNF, FRT, GPR30, P53, SPR, OPN, MUC2, GRO-1, tsg 101, GDF15
小胞マーカー	CD9, Erb2, Erb4, CD81, Erb3, MUC16, CD63, DLL4, HLA-Drpe, B7H3, IFNAR, 5T4, PCSA, MICB, PSMA, MFG-E8, Muc1, PSA, Muc2, Unc93a, VEGFR2, EpCAM, VEGF A, TMPRSS2, RAGE, PSCA, CD40, Muc17, IL-17-RA, CD80
良性前立腺肥大症(BPH)	BCMA, CEACAM-1, HVEM, IL-1 R4, IL-10 Rb, トラツピン-2, p53, hsa-miR-329, hsa-miR-30a, hsa-miR-335, hsa-miR-152, hsa-miR-151-5p, hsa-miR-200a, hsa-miR-145, hsa-miR-29a, hsa-miR-106b, hsa-miR-595, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-99a, hsa-miR-20b, hsa-miR-373, hsa-miR-502-5p, hsa-miR-29b, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-663, hsa-miR-423-5p, hsa-miR-15a, hsa-miR-888, hsa-miR-361-3p, hsa-miR-365, hsa-miR-10b, hsa-miR-199a-3p, hsa-miR-181a, hsa-miR-19a, hsa-miR-125b, hsa-miR-760, hsa-miR-7a, hsa-miR-671-5p, hsa-miR-7c, hsa-miR-1979, hsa-miR-103
転移性前立腺癌	hsa-miR-100, hsa-miR-1236, hsa-miR-1296, hsa-miR-141, hsa-miR-146b-5p, hsa-miR-17*, hsa-miR-181a, hsa-miR-200b, hsa-miR-20a*, hsa-miR-23a*, hsa-miR-331-3p, hsa-miR-375, hsa-miR-452, hsa-miR-572, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-577, hsa-miR-582-3p, hsa-miR-937, miR-10a, miR-134, miR-141, miR-200b, miR-30a, miR-32, miR-375, miR-495, miR-564, miR-570, miR-574-3p, miR-885-3p
転移性前立腺癌	hsa-miR-200b, hsa-miR-375, hsa-miR-141, hsa-miR-331-3p, hsa-miR-181a, hsa-miR-574-3p
転移性前立腺癌	FOXO1A, SOX9, CLNS1A, PTGDS, XPO1, LETMD1, RAD23B, ABCC3, APC, CHES1, EDNRA, FRZB, HSPG2, TMPRSS2 ETV1 融合体
前立腺癌	hsa-let-7b, hsa-miR-107, hsa-miR-1205, hsa-miR-1270, hsa-miR-130b, hsa-miR-141, hsa-miR-143, hsa-miR-148b*, hsa-miR-150, hsa-miR-154*, hsa-miR-181a*, hsa-miR-181a-2*, hsa-miR-18a*, hsa-miR-19b-1*, hsa-miR-204, hsa-miR-2110, hsa-miR-215, hsa-miR-217, hsa-miR-219-2-3p, hsa-miR-23b*, hsa-miR-299-5p, hsa-miR-301a, hsa-miR-301a, hsa-miR-326, hsa-miR-331-3p, hsa-miR-365*, hsa-miR-373*, hsa-miR-424, hsa-miR-424*, hsa-miR-432, hsa-miR-450a, hsa-miR-451, hsa-miR-484, hsa-miR-497, hsa-miR-517*, hsa-miR-517a, hsa-miR-518f, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-595, hsa-miR-617, hsa-miR-625*, hsa-miR-628-5p, hsa-miR-629, hsa-miR-634, hsa-miR-769-5p, hsa-miR-93, hsa-miR-96
前立腺癌	CD9, PSMA, PCSA, CD63, CD81, B7H3, IL 6, OPG-13, IL6R, PA2G4, EZH2, RUNX2, SERPINB3, EpCam
前立腺癌	A33, a33 n15, AFP, ALA, ALIX, ALP, アネキシンV, APC, ASCA, ASPH (246-260), ASPH (666-680), ASPH (A-10), ASPH (D01P), ASPH (D03), ASPH (G-20), ASPH (H-300), AURKA, AURKB, B7H3, B7H4, BCA-225, BCNP, BDNF, BRCA, CA125 (MUC16), CA-19-9, C-Bir, CD1.1, CD10, CD174 (Lewis y), CD24, CD44, CD46, CD59 (MEM-43), CD63, CD66e CEA, CD73, CD81, CD9, CDA, CDAC1 1a2, CEA, C-Erb2, C-erbB2, CRMP-2, CRP, CXCL12, CYFRA21-1, DLL4, DR3, EGFR, Epcam, EphA2, EphA2 (H-77), ER, ErbB4, EZH2, FASL, FRT, FRT c.f23, GDF15, GPCR, GPR30, Gro- α , HAP, HBD 1, HBD2, HER 3 (ErbB3), HSP, HSP70, hVEGFR2, iC3b, IL 6 Unc, IL-1B, IL6 Unc, IL6R, IL8, IL-8, INSIG-2, KLK2, L1CAM, LAMN, LDH, MACC-1, MAPK4, MART-1, MCP-1, M-CSF, MFG-E8, MIC1, MIF, MIS RII, MMG, MMP26, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC1 seq1, MUC1 seq11A, MUC17, MUC2, Ncam, NGAL, NPGP/NPFF2, OPG, OPN, p53, p53, PA2G4, PBP, PCSA, PDGFRB, PGP9.5, PIM1, PR (B), PRL, PSA, PSMA, PSME3, PTEN, R5-CD9 Tube 1, Reg IV, RUNX2, SCRNI, セブラーゼ, SERPINB3, SPARC, SPB, SPDEF, SRVN, STAT 3, STEAP1, TF (FL-295), TFF3, TGM2, TIMP-1, TIMP1, TIMP2, TMEM211, TMPRSS2, TNF- α , Trail-R2, Trail-R4, TrKB, TROP2, Tsg 101, TWEAK, UNC93A, VEGF A, YPSMA-1
前立腺癌 小胞マーカー	5T4, ACTG1, ADAM10, ADAM15, ALDOA, ANXA2, ANXA6, APOA1, ATP1A1, BASP1, C1orf58, C20orf114, C8B, CAPZA1, CAV1, CD151, CD2AP, CD59, CD9, CD9, CFL1, CFP, CHMP4B, CLTC, COTL1, CTNND1, CTSB, CTSZ, CYCS, DPP4, EEF1A1, EHD1, ENO1, F11R, F2, F5, FAM125A, FNBP1L, FOLH1, GAPDH, GLB1, GPX3, HIST1H1C, HIST1H2AB, HSP90AB1, HSPA1B, HSPA8, IGSF8, ITGB1, ITIH3, JUP, LDHA, LDHB,

10

20

30

40

	LUM, LYZ, MFGE8, MGAM, MMP9, MYH2, MYL6B, NME1, NME2, PABPC1, PABPC4, PACSIN2, PCBP2, PDCD6IP, PRDX2, PSA, PSMA, PSMA1, PSMA2, PSMA4, PSMA6, PSMA7, PSMB1, PSMB2, PSMB3, PSMB4, PSMB5, PSMB6, PSMB8, PTGFRN, RPS27A, SDCBP, SERINC5, SH3GL1, SLC3A2, SMPDL3B, SNX9, TACSTD1, TCN2, THBS1, TPI1, TSG101, TUBB, VDACC2, VPS37B, YWHAG, YWHAQ, YWHAZ
前立腺癌 小胞マーカー	FLNA, DCRN, HER 3 (ErbB3), VCAN, CD9, GAL3, CDADC1, GM-CSF, EGFR, RANK, CSA, PSMA, トリ IgY, B7H3, PCSA, CD63, CD3, MUC1, TGM2, CD81, S100-A4, MFG-E8, インテグリン, NK-2R(C-21), PSA, CD24, TIMP-1, IL6 Unc, PBP, PIM1, CA-19-9, Trail-R4, MMP9, PRL, EphA2, TWEAK, NY-ESO-1, マンマグロビン, UNC93A, A33, AURKB, CD41, XAGE-1, SPDEF, AMACR, セプラーゼ/FAP, NGAL, CXCL12, FRT, CD66e CEA, SIM2 (C-15), C-Bir, STEAP, PSIP1/LEDGF, MUC17, hVEGFR2, ERG, MUC2, ADAM10, ASPH (A-10), CA125, Gro- α , Tsg 101, SSX2, Trail-R4
前立腺癌 小胞マーカー	NT5E (CD73), A33, ABL2, ADAM10, AFP, ALA, ALIX, ALPL, AMACR, Apo J/CLU, ASCA, ASPH (A-10), ASPH (D01P), AURKB, B7H3, B7H4, BCNP, BDNF, CA125 (MUC16), CA-19-9, C-Bir (フラゲリン), CD10, CD151, CD24, CD3, CD41, CD44, CD46, CD59(MEM-43), CD63, CD66e CEA, CD81, CD9, CDA, CDADC1, C-erbB2, CRMP-2, CRP, CSA, CXCL12, CXCR3, CYFRA21-1, DCRN, DDX-1, DLL4, EGFR, EpCAM, EphA2, ERG, EZH2, FASL, FLNA, FRT, GAL3, GATA2, GM-CSF, Gro- α , HAP, HER3 (ErbB3), HSP70, HSPB1, hVEGFR2, iC3b, IL-1B, IL6 R, IL6 Unc, IL7 R α /CD127, IL8, INSIG-2, インテグリン, KLK2, Label, LAMN, マンマグロビン, M-CSF, MFG-E8, MIF, MIS RII, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC17, MUC2, Ncam, NDUFB7, NGAL, NK-2R(C-21), NY-ESO-1, p53, PBP, PCSA, PDGFRB, PIM1, PRL, PSA, PSIP1/LEDGF, PSMA, RAGE, RANK, Reg IV, RUNX2, S100-A4, セプラーゼ/FAP, SERPINB3, SIM2 (C-15), SPARC, SPC, SPDEF, SPPI, SSX2, SSX4, STEAP, STEAP4, TFF3, TGM2, TIMP-1, TMEM211, Trail-R2, Trail-R4, TrKB (ボリ), Trop2, Tsg 101, TWEAK, UNC93A, VCAN, VEGF A, wnt-5a(C-16), XAGE, XAGE-1
前立腺癌治療	hsa-miR-1974, hsa-miR-27b, hsa-miR-103, hsa-miR-146a, hsa-miR-22, hsa-miR-382, hsa-miR-23a, hsa-miR-376c, hsa-miR-335, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-221, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-151-3p, hsa-miR-21, hsa-miR-16
前立腺癌	let-7d, miR-148a, miR-195, miR-25, miR-26b, miR-329, miR-376c, miR-574-3p, miR-888, miR-9, miR1204, miR-16-2*, miR-497, miR-588, miR-614, miR-765, miR92b*, miR-938, let-7f-2*, miR-300, miR-523, miR-525-5p, miR-1182, miR-1244, miR-520d-3p, miR-379, let-7b, miR-125a-3p, miR-1296, miR-134, miR-149, miR-150, miR-187, miR-32, miR-324-3p, miR-324-5p, miR-342-3p, miR-378, miR-378*, miR-384, miR-451, miR-455-3p, miR-485-3p, miR-487a, miR-490-3p, miR-502-5p, miR-548a-5p, miR-550, miR-562, miR-593, miR-593*, miR-595, miR-602, miR-603, miR-654-5p, miR-877*, miR-886-5p, miR-125a-5p, miR-140-3p, miR-192, miR-196a, miR-2110, miR-212, miR-222, miR-224*, miR-30b*, miR-499-3p, miR-505*
前立腺癌	hsa-miR-451, hsa-miR-223, hsa-miR-593*, hsa-miR-1974, hsa-miR-486-5p, hsa-miR-19b, hsa-miR-320b, hsa-miR-92a, hsa-miR-21, hsa-miR-675*, hsa-miR-16, hsa-miR-876-5p, hsa-miR-144, hsa-miR-126, hsa-miR-137, hsa-miR-1913, hsa-miR-29b-1*, hsa-miR-15a, hsa-miR-93, hsa-miR-1266
前立腺癌	miR-148a, miR-329, miR-9, miR-378*, miR-25, miR-614, miR-518c*, miR-378, miR-765, let-7f-2*, miR-574-3p, miR-497, miR-32, miR-379, miR-520g, miR-542-5p, miR-342-3p, miR-1206, miR-663, miR-222
前立腺癌	hsa-miR-877*, hsa-miR-593, hsa-miR-595, hsa-miR-300, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-548a-5p, hsa-miR-329, hsa-miR-550, hsa-miR-886-5p, hsa-miR-603, hsa-miR-490-3p, hsa-miR-938, hsa-miR-149, hsa-miR-150, hsa-miR-1296, hsa-miR-384, hsa-miR-487a, hsa-miRPlus-C1089, hsa-miR-485-3p, hsa-miR-525-5p
前立腺癌	miR-588, miR-1258, miR-16-2*, miR-938, miR-526b, miR-92b*, let-7d, miR-378*, miR-124, miR-376c, miR-26b, miR-1204, miR-574-3p, miR-195, miR-499-3p, miR-2110, miR-888
前立腺癌	miR-183-96-182 クラスター (miRs-183, 96 および 182), 金属イオン輸送体、例えば、hZIP1, SLC39A1, SLC39A2, SLC39A3, SLC39A4, SLC39A5, SLC39A6, SLC39A7, SLC39A8, SLC39A9, SLC39A10, SLC39A11, SLC39A12,

10

20

30

40

	SLC39A13, SLC39A14
前立腺癌	RAD23B, FBP1, TNFRSF1A, CCNG2, NOTCH3, ETV1, BID, SIM2, LETMD1, ANXA1, miR-519d, および miR-647
前立腺癌	RAD23B, FBP1, TNFRSF1A, NOTCH3, ETV1, BID, SIM2, ANXA1 および BCL2
前立腺癌	ANPEP, ABL1, PSCA, EFNA1, HSPB1, INMT および TRIP13
前立腺癌	E2F3, c-met, pRB, EZH2, e-cad, CAXII, CAIX, HIF-1 α , Jagged, PIM-1, ヘプシン, RECK, クラスレリン, MMP9, MTSP-1, MMP24, MMP15, IGFBP-2, IGFBP-3, E2F4, カベオリン, EF-1A, カリクレイン 2, カリクレイン 3, PSGR
結腸直腸癌	CD9, EGFR, NGAL, CD81, STEAP, CD24, A33, CD66E, EPHA2, フェリチン, GPR30, GPR110, MMP9, OPN, p53, TMEM211, TROP2, TGM2, TIMP, EGFR, DR3, UNC93A, MUC17, EpCAM, MUC1, MUC2, TSG101, CD63, B7H3
結腸直腸癌	DR3, STEAP, epha2, TMEM211, unc93A, A33, CD24, NGAL, EpCam, MUC17, TROP2, TETS
結腸直腸癌	A33, AFP, ALIX, ALX4, ANCA, APC, ASCA, AURKA, AURKB, B7H3, BANK1, BCNP, BDNF, CA-19-9, CCSA-2, CCSA-3&4, CD10, CD24, CD44, CD63, CD66 CEA, CD66e CEA, CD81, CD9, CDA, C-Erb2, CRMP-2, CRP, CRTN, CXCL12, CYFRA21-1, DcR3, DLL4, DR3, EGFR, Epcam, EphA2, FASL, FRT, GAL3, GDF15, GPCR (GPR110), GPR30, GRO-1, HBD 1, HBD2, HNP1-3, IL-1B, IL8, IMP3, L1CAM, LAMN, MACC-1, MGC20553, MCP-1, M-CSF, MIC1, MIF, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC17, MUC2, Ncam, NGAL, NNMT, OPN, p53, PCSA, PDGFRB, PRL, PSMA, PSME3, Reg IV, SCRNI, Sept-9, SPARC, SPON2, SPR, SRVN, TFF3, TGM2, TIMP-1, TMEM211, TNF-alpha, TPA, TPS, Trail-R2, Trail-R4, TrKB, TROP2, Tsg 101, TWEAK, UNC93A, VEGFA
結腸直腸癌	miR 92, miR 21, miR 9, miR 491
結腸直腸癌	miR-127-3p, miR-92a, miR-486-3p, miR-378
結腸直腸癌	TMEM211, MUC1, CD24 および/または GPR110 (GPCR 110)
結腸直腸癌	hsa-miR-376c, hsa-miR-215, hsa-miR-652, hsa-miR-582-5p, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-1296, hsa-miR-28-5p, hsa-miR-190, hsa-miR-590-5p, hsa-miR-202, hsa-miR-195
結腸直腸癌 小胞マーカ	A26C1A, A26C1B, A2M, ACAA2, ACE, ACOT7, ACP1, ACTA1, ACTA2, ACTB, ACTBL2, ACTBL3, ACTC1, ACTG1, ACTG2, ACTN1, ACTN2, ACTN4, ACTR3, ADAM10, ADSL, AGR2, AGR3, AGRN, AHCY, AHNAK, AKR1B10, ALB, ALDH16A1, ALDH1A1, ALDOA, ANXA1, ANXA11, ANXA2, ANXA2P2, ANXA4, ANXA5, ANXA6, AP2A1, AP2A2, APOA1, ARF1, ARF3, ARF4, ARF5, ARF6, ARHGDI, ARPC3, ARPC5L, ARDC1, ARVCF, ASCC3L1, ASNS, ATP1A1, ATP1A2, ATP1A3, ATP1B1, ATP4A, ATP5A1, ATP5B, ATP5I, ATP5L, ATP5O, ATP6AP2, B2M, BAIAP2, BAIAP2L1, BRI3BP, BSG, BUB3, C1orf58, C5orf32, CAD, CALM1, CALM2, CALM3, CAND1, CANX, CAPZA1, CBR1, CBR3, CCT2, CCT3, CCT4, CCT5, CCT6A, CCT7, CCT8, CD44, CD46, CD55, CD59, CD63, CD81, CD82, CD9, CDC42, CDH1, CDH17, CEACAM5, CFL1, CFL2, CHMP1A, CHMP2A, CHMP4B, CKB, CLDN3, CLDN4, CLDN7, CLIC1, CLIC4, CLSTN1, CLTC, CLTCL1, CLU, COL12A1, COPB1, COPB2, CORO1C, COX4I1, COX5B, CRYZ, CSPG4, CSRP1, CST3, CTNNA1, CTNNB1, CTNND1, CTTN, CYFIP1, DCD, DERA, DIP2A, DIP2B, DIP2C, DMBT1, DPEP1, DPP4, DYNC1H1, EDIL3, EEF1A1, EEF1A2, EEF1A3, EEF1G, EEF2, EFN1, EGFR, EHD1, EHD4, EIF3EIP, EIF3I, EIF4A1, EIF4A2, ENO1, ENO2, ENO3, EPHA2, EPHA5, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPPK1, ESD, EZR, F11R, F5, F7, FAM125A, FAM125B, FAM129B, FASLG, FASN, FAT, FCGBP, FER1L3, FKBP1A, FLNA, FLNB, FLOT1, FLOT2, G6PD, GAPDH, GARS, GCN1L1, GDI2, GK, GMDS, GNA13, GNAI2, GNAI3, GNAS, GNB1, GNB2, GNB2L1, GNB3, GNB4, GNG12, GOLGA7, GPA33, GPI, GPRC5A, GSN, GSTP1, H2AFJ, HADHA, hCG_1757335, HEPH, HIST1H2AB, HIST1H2AE, HIST1H2AJ, HIST1H2AK, HIST1H4A, HIST1H4B, HIST1H4C, HIST1H4D, HIST1H4E, HIST1H4F, HIST1H4H, HIST1H4I, HIST1H4J, HIST1H4K, HIST1H4L, HIST2H2AC, HIST2H4A, HIST2H4B, HIST3H2A, HIST4H4, HLA-A, HLA-A29.1, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-H, HNRNPA2B1, HNRNP2, HPCAL1, HRAS, HSD17B4, HSP90AA1, HSP90AA2, HSP90AA4P, HSP90AB1, HSP90AB2P, HSP90AB3P, HSP90B1, HSPA1A, HSPA1B,

10

20

30

40

	HSPA1L, HSPA2, HSPA4, HSPA5, HSPA6, HSPA7, HSPA8, HSPA9, HSPD1, HSPE1, HSPG2, HYOU1, IDH1, IFITM1, IFITM2, IFITM3, IGH@, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHM, IGHV4-31, IGK@, IGKC, IGKV1-5, IGKV2-24, IGKV3-20, IGSF3, IGSF8, IQGAP1, IQGAP2, ITGA2, ITGA3, ITGA6, ITGAV, ITGB1, ITGB4, JUP, KIAA0174, KIAA1199, KPNB1, KRAS, KRT1, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT18, KRT19, KRT2, KRT20, KRT24, KRT25, KRT27, KRT28, KRT3, KRT4, KRT5, KRT6A, KRT6B, KRT6C, KRT7, KRT75, KRT76, KRT77, KRT79, KRT8, KRT9, LAMA5, LAMP1, LDHA, LDHB, LFNG, LGALS3, LGALS3BP, LGALS4, LIMA1, LIN7A, LIN7C, LOC100128936, LOC100130553, LOC100133382, LOC100133739, LOC284889, LOC388524, LOC388720, LOC442497, LOC653269, LRP4, LRPPRC, LRSAM1, LSR, LYZ, MAN1A1, MAP4K4, MARCKS, MARCKSL1, METRNL, MFGE8, MICA, MIF, MINK1, MITD1, MMP7, MOBKL1A, MSN, MTCH2, MUC13, MYADM, MYH10, MYH11, MYH14, MYH9, MYL6, MYL6B, MYO1C, MYO1D, NARS, NCALD, NCSTN, NEDD4, NEDD4L, NME1, NME2, NOTCH1, NQO1, NRAS, P4HB, PCBP1, PCNA, PCSK9, PDCD6, PDCD6IP, PDIA3, PDXK, PEBP1, PFN1, PGK1, PHB, PHB2, PKM2, PLEC1, PLEKHB2, PLSCR3, PLXNA1, PLXNB2, PPIA, PPIB, PPP2R1A, PRDX1, PRDX2, PRDX3, PRDX5, PRDX6, PRKAR2A, PRKDC, PRSS23, PSMA2, PSMC6, PSMD11, PSMD3, PSME3, PTGFRN, PTPRF, PYGB, QPCT, QSOX1, RAB10, RAB11A, RAB11B, RAB13, RAB14, RAB15, RAB1A, RAB1B, RAB2A, RAB33B, RAB35, RAB43, RAB4B, RAB5A, RAB5B, RAB5C, RAB6A, RAB6B, RAB7A, RAB8A, RAB8B, RAC1, RAC3, RALA, RALB, RAN, RANP1, RAP1A, RAP1B, RAP2A, RAP2B, RAP2C, RDX, REG4, RHOA, RHOC, RHOG, ROCK2, RP11-631M21.2, RPL10A, RPL12, RPL6, RPL8, RPLP0, RPLP0-like, RPLP1, RPLP2, RPN1, RPS13, RPS14, RPS15A, RPS16, RPS18, RPS20, RPS21, RPS27A, RPS3, RPS4X, RPS4Y1, RPS4Y2, RPS7, RPS8, RPSA, RPSAP15, RRAS, RRAS2, RUVBL1, RUVBL2, S100A10, S100A11, S100A14, S100A16, S100A6, S100P, SDC1, SDC4, SDCBP, SDCBP2, SERINC1, SERINC5, SERPINA1, SERPINF1, SETD4, SFN, SLC12A2, SLC12A7, SLC16A1, SLC1A5, SLC25A4, SLC25A5, SLC25A6, SLC29A1, SLC2A1, SLC3A2, SLC44A1, SLC7A5, SLC9A3R1, SMPDL3B, SNAP23, SND1, SOD1, SORT1, SPTAN1, SPTBN1, SSBP1, SSR4, TACSTD1, TAGLN2, TBCA, TCEB1, TCP1, TF, TFRC, THBS1, TJP2, TKT, TMED2, TNFSF10, TNK1, TNKS1BP1, TNPO3, TOLLIP, TOMM22, TPI1, TPM1, TRAP1, TSG101, TSPAN1, TSPAN14, TSPAN15, TSPAN6, TSPAN8, TSTA3, TTYH3, TUBA1A, TUBA1B, TUBA1C, TUBA3C, TUBA3D, TUBA3E, TUBA4A, TUBA4B, TUBA8, TUBB, TUBB2A, TUBB2B, TUBB2C, TUBB3, TUBB4, TUBB4Q, TUBB6, TUFM, TXN, UBA1, UBA52, UBB, UBC, UBE2N, UBE2V2, UGDH, UQCRC2, VAMP1, VAMP3, VAMP8, VCP, VIL1, VPS25, VPS28, VPS35, VPS36, VPS37B, VPS37C, WDR1, YWHAB, YWHA, YWHAG, YWHAH, YWHAQ, YWHAZ
結腸直腸癌	hsa-miR-16, hsa-miR-25, hsa-miR-125b, hsa-miR-451, hsa-miR-200c, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-658, hsa-miR-370, hsa-miR-1296, hsa-miR-636, hsa-miR-502-5p
前立腺癌	NY-ESO-1, SSX-2, SSX-4, XAGE-1b, AMACR, p90 自己抗原, LEDGF
乳癌	miR-21, miR-155, miR-206, miR-122a, miR-210, miR-21, miR-155, miR-206, miR-122a, miR-210, let-7, miR-10b, miR-125a, miR-125b, miR-145, miR-143, miR-145, miR-1b
乳癌	GAS5
乳癌	ER, PR, HER2, MUC1, EGFR, KRAS, B-Raf, CYP2D6, hsp70, MART-1, TRP, HER2, hsp70, MART-1, TRP, HER2, ER, PR, クラス IIIb-チューブリン, VEGFA, ETV6-NTRK3, BCA-225, hsp70, MART1, ER, VEGFA, クラス IIIb-チューブリン, HER2/neu (例えばHer2+ 乳癌の場合), GPR30, ErbB4 (JM)アイソフォーム, MPR8, MISIR, CD9, EphA2, EGFR, B7H3, PSM, PCSA, CD63, STEAP, CD81, ICAM1, A33, DR3, CD66e, MFG-E8, TROP-2, マンマグロビン, ヘプシン, NPGP/NPFF2, PSCA, 5T4, NGAL, EpCam, ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R), NK-2, Pai-1, CD45, CD10, HER2/ERBB2, AGTR1, NPY1R, MUC1, ESA, CD133, GPR30, BCA225, CD24, CA15.3 (MUC1 分泌型), CA27.29 (MUC1 分泌型), NMDAR1, NMDAR2, MAGEA, CTAG1B, NY-ESO-1, SPB, SPC,

10

20

30

40

	NSE, PGP9.5, プログステロン受容体(PR)またはそのアイソフォーム (PR(A)ま P2RX7, NDUFB7, NSE, GAL3, オステオポンチン, CHI3L1, IC3b, メソテリン, S AQP5, GPCR, hCEA-CAM, PTP IA-2, CABYR, TMEM211, ADAM28, UNC93A, MUC17, MUC2, IL10R-β, BCMA, HVEM/TNFRSF14, トラップイン-2, エラフィン, ST2/IL1 R4, TNFRF14, CEACAM1, TPA1, LAMP, WF, WH1000, PECAM, BSA, TNFR
乳癌	CD9, MIS Rii, ER, CD63, MUC1, HER3, STAT3, VEGFA, BCA, CA125, CD24, EPCAM, ERB B4
乳癌	CD10, NPGP/NPFF2, HER2/ERBB2, AGTR1, NPY1R, ニューロキニン受容体-1 (NK-1 or NK-1R), NK-2, MUC1, ESA, CD133, GPR30, BCA225, CD24, CA15.3 (MUC1 分泌型), CA27.29 (MUC1 分泌型), NMDAR1, NMDAR2, MAGEA, CTAG1B, NY-ESO-1
乳癌	SPB, SPC, NSE, PGP9.5, CD9, P2RX7, NDUFB7, NSE, GAL3, オステオポンチン, CHI3L1, EGFR, B7H3, IC3b, MUC1, メソテリン, SPA, PCSA, CD63, STEAP, AQP5, CD81, DR3, PSM, GPCR, EphA2, hCEA-CAM, PTP IA-2, CABYR, TMEM211, ADAM28, UNC93A, A33, CD24, CD10, NGAL, EpCam, MUC17, TROP-2, MUC2, IL10R-β, BCMA, HVEM/TNFRSF14, トラップイン-2 エラフィン, ST2/IL1 R4, TNFRF14, CEACAM1, TPA1, LAMP, WF, WH1000, PECAM, BSA, TNFR
乳癌	BRCA, MUC-1, MUC 16, CD24, ErbB4, ErbB2 (HER2), ErbB3, HSP70, マンマグロビン, PR, PR(B), VEGFA
乳癌	CD9, HSP70, Gal3, MIS, EGFR, ER, ICB3, CD63, B7H4, MUC1, DLL4, CD81, ERB3, VEGF, BCA225, BRCA, CA125, CD174, CD24, ERB2, NGAL, GPR30, CYFRA21, CD31, cMET, MUC2, ERBB4
乳癌	CD9, EphA2, EGFR, B7H3, PSMA, PCSA, CD63, STEAP, CD81, STEAP1, ICAM1 (CD54), PSMA, A33, DR3, CD66e, MFG-8e, TMEM211, TROP-2, EGFR, マンマグロビン, ヘプシン, NPGP/NPFF2, PSCA, 5T4, NGAL, NK-2, EpCam, NK-1R, PSMA, 5T4, PAI-1, CD45
乳癌	PGP9.5, CD9, HSP70, gal3-b2c10, EGFR, iC3b, PSMA, PCSA, CD63, MUC1, DLL4, CD81, B7-H3, HER 3 (ErbB3), MART-1, PSA, VEGF A, TIMP-1, GPCR GPR110, EphA2, MMP9, mmp7, TMEM211, UNC93a, BRCA, CA125 (MUC16), マンマグロビン, CD174 (Lewis y), CD66e CEA, CD24 c.sn3, C-erbB2, CD10, NGAL, epcam, CEA (癌胎児性抗原), GPR30, CYFRA21-1, OPN, MUC17, hVEGFR2, MUC2, NCAM, ASPH, ErbB4, SPB, SPC, CD9, MS4A1, EphA2, MIS RII, HER2 (ErbB2), ER, PR (B), MRP8, CD63, B7H4, TGM2, CD81, DR3, STAT 3, MACC-1, TrkB, IL 6 Unc, OPG - 13, IL6R, EZH2, SCRN1, TWEAK, SERPINB3, CDAC1, BCA-225, DR3, A33, NPGP/NPFF2, TIMP1, BDNF, FRT, フェリチン重鎖, セプラーゼ, p53, LDH, HSP, ost, p53, CXCL12, HAP, CRP, Gro-α, Tsg 101, GDF15
乳癌	CD9, HSP70, Gal3, MIS (RII), EGFR, ER, ICB3, CD63, B7H4, MUC1, CD81, ERB3, MART1, STAT3, VEGF, BCA225, BRCA, CA125, CD174, CD24, ERB2, NGAL, GPR30, CYFRA21, CD31, cMET, MUC2, ERB4, TMEM211
乳癌	5T4 (栄養芽細胞), ADAM10, AGER/RAGE, APC, APP (β-アミロイド), ASPH (A- 10), B7H3 (CD276), BACE1, BAI3, BRCA1, BDNF, BIRC2, C1GALT1, CA125 (MUC16), カルモジュリン 1, CCL2 (MCP-1), CD9, CD10, CD127 (IL7R), CD174, CD24, CD44, CD63, CD81, CEA, CRMP-2, CXCR3, CXCR4, CXCR6, CYFRA 21, デルリン1, DLL4, DPP6, E-CAD, EpCaM, EphA2 (H-77), ER(1) ESR1 α, ER(2) ESR2 β, Erb B4, Erbb2, erb3 (Erb-B3), PA2G4, FRT (FLT1), Gal3, GPR30 (G 共役 ER1), HAP1, HER3, HSP-27, HSP70, IC3b, IL8, insig, ジャンクション プラコグロビン, ケラチン15, KRAS, マンマグロビン, MART1, MCT2, MFG8, MMP9, MRP8, Muc1, MUC17, MUC2, NCAM, NG2 (CSPG4), Ngal, NHE-3, NT5E (CD73), ODC1, OPG, OPN, p53, PARK7, PCSA, PGP9.5 (PARK5), PR(B), PSA, PSMA, RAGE, STXBP4, サバイビン, TFF3 (分泌型), TIMP1, TIMP2, TMEM211, TRAF4 (足場), TRAIL-R2 (デスレセプター 5), TrkB, Tsg 101, UNC93a, VEGF A, VEGFR2, YB-1, VEGFR1, GCDPF-15 (PIP), BigH3 (TGfb誘導タンパク質), 5HT2B (セロトニン受容体 2B), BRCA2, BACE 1, CDH1-カドヘリン
乳癌	AK5.2, ATP6V1B1, CRABP1
乳癌	DST.3, GATA3, KRT81
乳癌	AK5.2, ATP6V1B1, CRABP1, DST.3, ELF5, GATA3, KRT81, LALBA, OXTR,

10

20

30

40

	RASL10A, SERHL, TFAP2A.1, TFAP2A.3, TFAP2C, VTCN1
乳癌	TRAP; 腎細胞癌; フィラミン; 14.3.3, Pan; プロヒピチン; c-fos; Ang-2; GSTmu; Ang-1; FHIT; Rad51; インヒピン α; カドヘリン-P; 14.3.3 γ; p18INK4c; P504S; XRCC2; カスパーゼ 5; CREB結合タンパク質; エストロゲン受容体; IL17; クローディン 2; ケラチン 8; GAPDH; CD1; ケラチン, LMW; γ グルタミルシステインシンセターゼ(GCS)/グルタミン酸-システインリガーゼ; a-B-クリスタリン; Pax-5; MMP-19; APC; IL-3; ケラチン 8 (リン酸化特異的Ser73); TGF-β2; ITK; Oct-2; DJ-1; B7-H2; 形質細胞マーカー; Rad18; エストリオール; Chk1; プロラクチン受容体; ラミニン受容体; ヒストン H1; CD45RO; GnRH受容体; IP10/CRG2; アクチン, 筋肉特異的; S100; ジストロフィン; チューブリン-a; CD3zeta; CDC37; GABA a受容体1; MMP-7 (マトリライシン); ヘレグリン; カスパーゼ 3; CD56/NCAM-1; ガストリン 1; SREBP-1 (ステロール調節エレメント結合タンパク質-1); MLH1; PGP9.5; 第VIII因子関連抗原; ADP-リボシル化因子 (ARF-6); MHC II (HLA-DR) Ia; サバイビン; CD23; G-CSF; CD2; カルレチニン; ニューロン特異的エノラーゼ; CD165; カルボニン; CD95 / Fas; ウロコルチン; 熱ショックタンパク質27/hsp27; Topo IIβ; インスリン受容体; ケラチン5/8; sm; アクチン, 骨格筋; CA19-9; GluR1; GRIP1; CD79a mb-1; TdT; HRP; CD94; CCK-8; チミジンホスホリラーゼ; CD57; アルカリホスファターゼ(AP); CD59 / MACIF / MIRL / プロテクチン; GLUT-1; α-1-抗トリプシン; プレセニリン; ムチン 3 (MUC3); pS2; 14-3-3β; MMP-13 (コラゲナーゼ-3); Fli-1; mGluR5; 肥満細胞キマーゼ; ラミニン B1/b1; 神経フィラメント (160kDa); CNPase; アミリンペプチド; Gai1; CD6; α-1-抗キモトリプシン; E2F-2; MyoD1
非浸潤性乳管癌 (DCIS)	ラミニン B1/b1; E2F-2; TdT; アポリポタンパクD; 顆粒球; アルカリホスファターゼ (AP); 熱ショックタンパク質 27/hsp27; CD95 / Fas; pS2; エストリオール; GLUT-1; フィブロンネクチン; CD6; CCK-8; sm; 第VIII因子関連抗原; CD57; プラスミノージェン; CD71 / トランスフェリン受容体; ケラチン 5/8; チミジンホスホリラーゼ; CD45/T200/LCA; 上皮特異的抗原; マクロファージ; CD10; MyoD1; Gai1; bcl-XL; hPL; カスパーゼ 3; アクチン, 骨格筋; IP10/CRG2; GnRH受容体; p35nck5a; ADP-リボシル化因子(ARF-6); Cdk4 ; α-1-抗トリプシン; IL17; ニューロン特異的エノラーゼ; CD56/NCAM-1; プロラクチン受容体; Cdk7; CD79a mb-1; コラーゲン IV; CD94; ミエロイド特異的マーカー; ケラチン 10; Pax-5; IgM (m-重鎖); CD45RO; CA19-9; ムチン 2; グルカゴン; 肥満細胞キマーゼ; MLH1; CD1; CNPase; パーキン; MHC II (HLA-DR) Ia; B7-H2; Chk1; ラムダ軽鎖; MHC II (HLA-DP および DR); ミオゲニン; MMP-7 (マトリライシン); Topo IIβ; CD53; ケラチン 19; Rad18; Ret オンコプロテイン; MHC II (HLA-DP); E3結合タンパク質 (ARM1); プロゲステロン受容体; ケラチン 8; IgG; IgA; チューブリン; インスリン受容体基質-1; ケラチン 15; DR3; IL-3; ケラチン 10/13; サイクリン D3; MHC I (HLA25 および HLA-Aw32); カルモジュリン; 神経フィラメント (160kDa)
非浸潤性乳管癌 (DCIS) 対 他の乳癌	マクロファージ; フィブロンネクチン; 顆粒球; ケラチン19; サイクリンD3; CD45/T200/LCA; EGFR; トロンボスポンジン; CD81/TAPA-1; Ruv C; プラスミノージェン; コラーゲン IV; ラミニン B1/b1; CD10; TdT; フィラミン; bcl-XL; 14.3.3 γ; 14.3.3, Pan; p170; アポリポタンパクD; CD71 / トランスフェリン受容体; FHIT
肺癌	Pgrmc1 (プロゲステロン受容体膜コンポーネント 1)/シグマ-2受容体, STEAP, EZH2
肺癌	プロヒピチン, CD23, アミリンペプチド, HRP, Rad51, Pax-5, Oct-3/, GLUT-1, PSCA, トロンボスポンジン, FHIT, a-B-クリスタリン, LewisA, 血管内皮成長因子 (VEGF), 肝細胞因子ホモログ-4, Fli-4, GluR6/7, 前立腺アポトーシス応答タンパク質-4, GluR1, Fli-1, ウロコルチン, S100A4, 14-3-3β, P504S, HDAC1, PGP9.5, DJ-1, COX2, MMP-19, アクチン, 骨格筋, クローディン 3, カドヘリン-P, コラーゲン IX, p27Kip1, Catヘプシン D, CD30 (リード-スターンバーグ細胞マーカー), ユビキチン, FSH-b, TrxR2, CCK-8, サイクリン C, CD138, TGF-β2, 副腎皮質刺激ホルモン, PPAR-γ, Bcl-6, GLUT-3, IGF-I, mRANKL, Fas-リガンド, フィラミン, カルレチニン, Oct-1, 副甲状腺ホルモン, クローディン 5, クローディン 4, Raf-1 (リン酸化特異的), CDC14A ホスファターゼ, ミトコンドリア, APC, ガストリン 1, Ku (p80), Gai1, XPA, マルトース結合タンパク質, 黒色腫 (gp100), ホスホチロシン, アミロイド A, CXCR4 / フーシン, 肝性核因子-3B, カスパーゼ 1, HPV 16-E7, 軸索成長円錐, Lck, オルニチンデカルボキシラーゼ, Γ グルタミルシステインシンセターゼ(GCS)/グルタミン酸-システインリガーゼ, ERCC1, カルモジュリン, カスパーゼ 7 (Mch 3), CD137 (4-1BB), 酸化窒素

10

20

30

40

	シンターゼ, 脳 (bNOS), E2F-2, IL-10R, L-プラスチン, CD18, ビメンチン, CD50/ICAM-3, スーパーオキシドジスムターゼ, アデノウイルスタイプ 5 E1A, PHAS-I, プログステロン受容体(リン酸化特異的) - セリン 294, MHC II (HLA-DQ), XPG, ER Ca ²⁺ ATPase2, ラミニン-s, E3結合タンパク質 (ARM1), CD45RO, CD1, Cdk2, MMP-10 (ストロメライシン-2), sm, サーフアクタントタンパクB (Pro), アポリポタンパクD, CD46, ケラチン 8 (リン酸化特異的Ser73), PCNA, PLAP, CD20, Syk, LH, ケラチン 19, ADP-リボシル化因子(ARF-6), Int-2オンコプロテイン, ルシフェラーゼ, AIF(アポトーシス誘導因子), Grb2, bcl-X, CD16, パキシリン, MHC II (HLA-DPおよびDR), B細胞, p21WAF1, MHC II (HLA-DR), チロシナーゼ, E2F-1, Pds1, カルポニン, Notch, CD26/DPP IV, SV40 ラージT抗原, Ku (p70/p80), パーフォリン, XPF, SIM Ag (SIMA-4D3), Cdk1/p34cdc2, ニューロン特異的 エノラーゼ, b-2-ミクログロブリン, DNA ポリメラーゼβ, 甲状腺ホルモン受容体, ヒト アルカリホスファターゼ(AP), 形質細胞マーカー, 熱ショックタンパク質 70/hsp70, TRP75 / gp75, SRF (血清応答因子), ラミニン B1/b1, 肥満細胞キマーゼ, カルデスモン, CEA / CD66e, CD24, レチノイド X受容体(hRXR), CD45/T200/LCA, 狂犬病ウイルス, チトクローム c, DR3, bcl-XL, ファスシン, CD71 / トランスフェリン受容体
インテグリン	ITGA1 (CD49a, VLA1), ITGA2 (CD49b, VLA2), ITGA3 (CD49c, VLA3), ITGA4 (CD49d, VLA4), ITGA5 (CD49e, VLA5), ITGA6 (CD49f, VLA6), ITGA7 (FLJ25220), ITGA8, ITGA9 (RLC), ITGA10, ITGA11 (HsT18964), ITGAD (CD11D, FLJ39841), ITGAE (CD103, HUMINAE), ITGAL (CD11a, LFA1A), ITGAM (CD11b, MAC-1), ITGAV (CD51, VNRA, MSK8), ITGAW, ITGAX (CD11c), ITGB1 (CD29, FNRB, MSK12, MDF20), ITGB2 (CD18, LFA-1, MAC-1, MFI7), ITGB3 (CD61, GP3A, GPIIIa), ITGB4 (CD104), ITGB5 (FLJ26658), ITGB6, ITGB7, ITGB8
糖タンパク質	GpIa-IIa, GpIIb-IIIa, GpIIIb, GpIb, GpIX
転写因子	STAT3, EZH2, p53, MACC1, SPDEF, RUNX2, YB-1
キナーゼ	AURKA, AURKB
疾患マーカー	6Ckine, アディポネクチン, 副腎皮質刺激ホルモン, Agouti-関連タンパク質, アルドースレダクターゼ, A-1-抗キモトリプシン, A-1-抗トリプシン, A-1-ミクログロブリン, A-2-マクログロブリン, A-フェトタンパク質, アンフィレギュリン, アンジオゲニン, アンジオポエチン-2, アンジオテンシン変換酵素, アンジオテンシノゲン, アネキシン A1, アポリポタンパクA-I, アポリポタンパクA-II, アポリポタンパクA-IV, アポリポタンパクB, アポリポタンパクC-I, アポリポタンパクC-III, アポリポタンパクD, アポリポタンパクE, アポリポタンパクH, アポリポタンパク(a), AXL受容体チロシンキナーゼ, B細胞活性化因子, Bリンパ球走化性因子, Bcl-2様タンパク2, β-2-ミクログロブリン, ベタセルリン, 骨形成タンパク質 6, 脳由来神経栄養因子, カルビンジン, カルシトニン, 癌抗原125, 癌抗原15-3, 癌抗原19-9, 癌抗原72-4, 癌胎児性抗原, Catヘプシン D, CD 40抗原, CD40 リガンド, CD5抗原様, 細胞性 フィブロネクチン, ケモカイン CC-4, クロモグラニン-A, 毛様体神経栄養因子, クラステリン, コラーゲンIV, 補体C3, 補体因子H, 結合組織成長因子, コルチゾール, C-ペプチド, C-反応性タンパク質, クレアチンキナーゼ-MB, シスタチン-C, エンドグリン, エンドスタチン, エンドセリン-1, EN-RAGE, エオタキシン-1, エオタキシン-2, エオタキシン-3, 上皮成長因子, エピレグリン, 上皮細胞接着分子, 上皮由来好中球活性化タンパク質78, エリスロポエチン, E-セレクトリン, エズリン, 第VII因子, Fas リガンド, FASLG受容体, 脂肪酸結合タンパク質 (脂肪細胞), 脂肪酸結合タンパク質 (心臓), 脂肪酸結合タンパク質 (肝臓), フェリチン, フェツイン-A, フィブリノゲン, 線維芽細胞成長因子4, 線維芽細胞成長因子塩基性, フィブリン-1C, 卵胞刺激ホルモン, ガレクチン-3, ゲルソリン, グルカゴン, グルカゴン様ペプチド 1, グルコース-6-ホスフェート イソメラーゼ, グルタミン酸-システインリガーゼ調節サブユニット, グルタチオンS-トランスフェラーゼ α, グルタチオンS-トランスフェラーゼ Mu 1, 顆粒球コロニー刺激因子, 顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子, 成長ホルモン, 成長調節性 αタンパク質, ハプトグロビン, HE4, 熱ショックタンパク質 60, ヘパリン結合 EGF様成長因子, 肝細胞成長因子, 肝細胞成長因子受容体, ヘプシン, ヒト 絨毛性ゴナドトロピンβ, ヒト 上皮成長因子受容体2, 免疫グロブリン A, 免疫グロブリン E, 免疫グロブリン M, インスリン, インスリン様成長因子I, インスリン様成長因子結合タンパク質 1, インスリン様

10

20

30

40

	成長因子結合タンパク質 2, インスリン様成長因子結合タンパク質 3, インスリン様成長因子結合タンパク質 4, インスリン様成長因子結合タンパク質 5, インスリン様成長因子結合タンパク質 6, 細胞間接着分子 1, インターフェロン γ, インターフェロン γ 誘導タンパク質 10, インターフェロン誘導T細胞α走化性因子, インターロイキン-1α, インターロイキン-1β, インターロイキン-1受容体, アンタゴニスト, インターロイキン-2, インターロイキン-2受容体α, インターロイキン-3, インターロイキン-4, インターロイキン-5, インターロイキン-6, インターロイキン-6受容体, インターロイキン-6受容体サブユニットβ, インターロイキン-7, インターロイキン-8, インターロイキン-10, インターロイキン-11, インターロイキン-12 サブユニット p40, インターロイキン-12 サブユニット p70, インターロイキン-13, インターロイキン-15, インターロイキン-16, インターロイキン-25, カリクレイン 5, カリクレイン-7, 腎臓傷害分子-1, トランスフォーミング成長因子β1の乳酸グルタチオンリアーゼ潜伏関連ペプチド, レクチン様酸化LDL受容体1, レプチン, 黄体形成ホルモン, リンホタクチン, マクロファージコロニー刺激因子1, マクロファージ炎症性タンパク質-1α, マクロファージ炎症性タンパク質-1β, マクロファージ炎症性タンパク質-3α, マクロファージ炎症性タンパク質 3β, マクロファージ遊走阻止因子, マクロファージ誘導 ケモカイン, マクロファージ刺激タンパク質, マロンジアルデヒド改変低密度リポタンパク質, マスピン, マトリックスメタロプロテイナーゼ-1, マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, マトリックスメタロプロテイナーゼ-7, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, マトリックスメタロプロテイナーゼ-10, メソテリン, MHC クラス I 鎖-関連タンパク質 A, 単球走化性タンパク質 1, 単球走化性タンパク質 2, 単球走化性タンパク質 3, 単球走化性タンパク質 4, γ インターフェロンに誘導されたモノカイン, ミエロイド前駆体阻害因子1, ミエロペルオキシダーゼ, ミオグロビン, 神経成長因子β, ニューロン細胞接着分子, ニューロン特異的エノラーゼ, ニューロピリン-1, 好中球セラチナーゼ関連リポカリン, NT-proBNP, スクレオシドジホスフェートキナーゼB, オステオポンチン, オステオプロテジェリン, 膵臓ポリペプチド, ペプシノゲン I, ペプチド YY, ペルオキシレドキシン-4, ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ, 血清 成長因子, プラスミノージェン, アクチベーターインヒビター 1, 血小板由来成長因子BB, 妊娠関連血漿タンパク質 A, プロゲステロン, プロインスリン(総プロインスリンまたは完全プロインスリンを含む), プロラクチン, プロスタシン, 前立腺特異的抗原(遊離PSAを含む), 前立腺酸性ホスファターゼ, プロテインS100-A4, プロテインS100-A6, 肺性 および 活性化調節ケモカイン, 終末糖化産物の受容体, 受容体チロシン-タンパク質キナーゼ erbB-3, レジスチン, S100 カルシウム結合タンパク質 B, セクレチン, セロトランスフェリン, 血清アミロイド P-コンポーネント, 血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ, 性ホルモン結合グロブリン, ソルチリン, 扁平上皮癌抗原-1, 幹細胞因子, ストロマ細胞由来因子-1, スーパーオキシドジスムターゼ 1 (可溶性), T リンパ球分泌タンパク質 1-309, Tamm-Horsfall尿中糖タンパク質, T細胞特異的タンパク質 RANTES, テネイシン-C, テストステロン, テトラネクチン, トロンボモジュリン, トロンボポエチン, トロンボスポンジン-1, サイログロブリン, 甲状腺刺激ホルモン, チロキシン結合グロブリン, 組織因子, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, 組織型プラスミノージェン, アクチベーター, TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体3, トランスフォーミング成長因子α, トランスフォーミング成長因子β-3, トランスサイレシン, トレフォイルファクター 3, 腫瘍壊死因子α, 腫瘍壊死因子β, 腫瘍壊死因子受容体1, 腫瘍壊死因子受容体2, IgおよびEGF相同ドメイン2を有するチロシンキナーゼ, ウロキナーゼ型 プラスミノージェンアクチベーター, ウロキナーゼ型 プラスミノージェンアクチベーター受容体, 血管細胞接着分子-1, 血管内皮因子, 血管内皮因子B, 血管内皮因子C, 血管内皮因子D, 血管内皮因子受容体1, 血管内皮因子受容体2, 血管内皮因子受容体3, ビタミン K依存性タンパク質 S, ビトロネクチン, フォン・ヴィルブランド因子, YKL-40	10
		20
		30
		40
疾患マーカー	アディポネクチン, 副腎皮質刺激ホルモン, Agouti-関連タンパク質, α-1-抗キモトリプシン, α-1-抗トリプシン, α-1-ミクログロブリン, α-2-マクログロブリン, α-フェトタンパク質, アンフィレギュリン, アンジオポエチン-2, アンジオテンシン変換酵素, アンジオテンシノゲン, アポリポタンパク A-I, アポリポタンパク A-II, アポリポタンパク A-IV, アポリポタンパク B, アポリポタンパク C-I, アポリポタンパク C-III, アポリポタンパク D, アポリポタンパク E, アポリポタンパク H, アポリポタンパク(a),	

	AXL受容体チロシンキナーゼ, B リンパ球走化性因子, β-2-ミクログロブリン, ベタセルリン, 骨形成タンパク質 6, 脳由来神経栄養因子, カルビンジン, カルシトニン, 癌抗原125, 癌抗原19-9, 癌胎児性抗原, CD 40抗原, CD40 リガンド, CD5抗原様, ケモカイン CC-4, クロモグラニン-A, 毛様体神経栄養因子, クラスチリン, 補体C3, 補体因子H, 結合組織成長因子, コルチゾール, C-ペプチド, C-反応性タンパク質, クレアチンキナーゼ-MB, シスタチン-C, エンドセリン-1, EN-RAGE, エオタキシン-1, エオタキシン-3, 上皮成長因子, エピレグリン, 上皮由来好中球活性化タンパク質78, エリスロポエチン, E-セ렉チン, 第VII因子, Fasリガンド, FASLG受容体, 脂肪酸結合タンパク質 (心臓), フェリチン, フェツイン-A, フィブリノゲン, 線維芽細胞成長因子4, 線維芽細胞成長因子塩基性, 卵胞刺激ホルモン, グルカゴン, グルカゴン様ペプチド 1, グルタチオンS-トランスフェラーゼ α, 顆粒球コロニー刺激因子, 顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子, 成長ホルモン, 成長調節性 αタンパク質, ハプトグロビン, 熱ショックタンパク質 60, ヘパリン結合 EGF様成長因子, 肝細胞成長因子, 免疫グロブリン A, 免疫グロブリン E, 免疫グロブリン M, インスリン, インスリン様成長因子1, インスリン様成長因子結合タンパク質 2, 細胞間接着分子 1, インターフェロン γ, インターフェロン γ 誘導タンパク質 10, インターロイキン-1 α, インターロイキン-1β, インターロイキン-1受容体アンタゴニスト, インターロイキン-2, インターロイキン-3, インターロイキン-4, インターロイキン-5, インターロイキン-6, インターロイキン-6受容体, インターロイキン-7, インターロイキン-8, インターロイキン-10, インターロイキン-11, インターロイキン-12 サブユニット p40, インターロイキン-12 サブユニット p70, インターロイキン-13, インターロイキン-15, インターロイキン-16, インターロイキン-25, 腎臓傷害分子-1, レクチン様酸化LDL受容体1, レプチン, 黄体形成ホルモン, リンホタクチン, マクロファージコロニー刺激因子1, マクロファージ炎症性タンパク質-1 α, マクロファージ炎症性タンパク質-1β, マクロファージ炎症性タンパク質-3 α, マクロファージ遊走阻止因子, マクロファージ誘導ケモカイン, マロンジアルデヒド改変低密度リポタンパク質, マトリックスメタロプロテイナーゼ-1, マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, マトリックスメタロプロテイナーゼ-7, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, マトリックスメタロプロテイナーゼ-10, 単球走化性タンパク質 1, 単球走化性タンパク質 2, 単球走化性タンパク質 3, 単球走化性タンパク質 4, γ インターフェロンに誘導されたモノカイン, ミエロイド前駆体阻害因子1, ミエロペルオキシダーゼ, ミオグロビン, 神経成長因子β, ニューロン細胞接着分子, 好中球グラチナーゼ関連リポカリン, NT-proBNP, オステオポンチン, 膵臓ポリペプチド, ペプチド YY, 胎盤成長因子, プラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1, 血小板由来成長因子BB, 妊娠関連血漿タンパク質 A, プロゲステロン, プロインスリン (完全プロインスリンまたは総プロインスリンを含む), プロラクチン, 前立腺特異的抗原(遊離PSAを含む), 前立腺酸性ホスファターゼ, 肺性 および 活性化調節ケモカイン, 終末糖化産物の受容体, レジスチン, S100 カルシウム結合タンパク質 B, セクレチン, セロトランスフェリン, 血清アミロイド P-コンポーネント, 血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ, 性ホルモン結合グロブリン, ソルチリン, 幹細胞因子, スーパーオキシドジスムターゼ 1 (可溶性), T リンパ球分泌タンパク質 I-309, Tamm-Horsfall尿中糖タンパク質, T細胞特異的タンパク質 RANTES, テネイシン-C, テストステロン, トロンボモジュリン, トロンボポエチン, トロンボスポンジン-1, 甲状腺刺激ホルモン, チロキシン結合グロブリン, 組織因子, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体3, トランスフォーミング 成長因子α, トランスフォーミング 成長因子β-3, トランスサイレシン, トレフォイルファクター 3, 腫瘍壊死因子α, 腫瘍壊死因子β, 腫瘍壊死因子受容体2, 血管細胞接着分子-1, 血管内皮因子, ビタミン K依存性タンパク質 S, ビトロネクチン, フォン・ヴィルブランド因子	10
		20
		30
		40
腫瘍学	6Ckine, アルドースレダクターゼ, A-フェトタンパク質, アンフィレギュリン, アンジオゲニン, アネキシン A1, B 細胞活性化因子, B リンパ球走化性因子, Bcl-2様タンパク質 2, ベタセルリン, 癌抗原125, 癌抗原15-3, 癌抗原 19-9, 癌抗原72-4, 癌胎児性抗原, Catヘプシン D, 細胞性フィブロネクチン, コラーゲン IV, エンドグリン, エンドスタチン, エオタキシン-2, 上皮成長因子, エピレグリン, 上皮細胞接着分子, エズリン, 脂肪酸結合	

	タンパク質 (脂肪細胞), 脂肪酸結合タンパク質 (肝臓), 線維芽細胞成長因子塩基性, フィブリリン-1C, ガレクチン-3, ゲルソリン, グルコース-6-ホスフェート イソメラーゼ, グルタミン酸-システインリガーゼ 調節サブユニット, グルタチオンS-トランスフェラーゼ Mu 1, HE4, ヘパリン結合 EGF様成長因子, 肝細胞成長因子, 肝細胞成長因子受容体, ヘプシン, ヒト 絨毛性ゴナドトロピンβ, ヒト 上皮成長因子受容体2, インスリン様成長因子結合タンパク質 1, インスリン様成長因子結合タンパク質 2, インスリン様成長因子結合タンパク質 3, インスリン様成長因子結合タンパク質 4, インスリン様成長因子結合タンパク質 5, インスリン様成長因子結合タンパク質 6, インターフェロンγ 誘導タンパク質 10, インターフェロン誘導T細胞α走化性因子, インターロイキン-2受容体α, インターロイキン-6, インターロイキン-6受容体サブユニットβ, カリクレイン 5, カリクレイン-7, トランスフォーミング成長因子β1の乳酸グルタチオンリアーゼ 潜伏関連ペプチド, レプチン, マクロファージ炎症性タンパク質 3β, マクロファージ遊走阻止因子, マクロファージ刺激タンパク質, マスピン, マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, メソテリン, MHC クラス I 鎖-関連タンパク質 A, 単球走化性タンパク質 1, γ インターフェロンに誘導されたモノカイン, ニューロン特異のエノラーゼ, ニューロピリン-1, 好中球グラチナーゼ関連リポカリン, スクレオシドホスフェートキナーゼ B, オステオポンチン, オステオプロテジェリン, ペプシノゲン I, ペルオキシレドキシン-4, ホスホセリン アミノトランスフェラーゼ, 血清 成長因子, 血小板由来成長因子BB, プロスタシン, プロテインS100-A4, プロテインS100-A6, 受容体チロシン-タンパク質キナーゼ erbB-3, 扁平上皮癌抗原-1, ストロマ細胞由来因子-1, テネイシン-C, テトラネクチン, サイログロブリン, 組織型プラスミノーゲンアクチベーター, トランスフォーミング 成長因子α, 腫瘍壊死因子受容体I, IgおよびEGF相同ドメイン2を有するチロシンキナーゼ, ウロキナーゼ型 プラスミノーゲンアクチベーター, ウロキナーゼ型 プラスミノーゲンアクチベーター受容体, 血管内皮因子, 血管内皮因子B, 血管内皮因子C, 血管内皮因子D, 血管内皮因子受容体1, 血管内皮因子受容体2, 血管内皮因子受容体3, YKL-40	10
疾患	アディポネクチン, A-1-抗トリプシン, A-2-マクログロブリン, A-フェトタンパク質, アポリポタンパクA-I, アポリポタンパクC-III, アポリポタンパクH, アポリポタンパク(a), β-2-ミクログロブリン, 脳由来神経栄養因子, カルシトニン, 癌抗原125, 癌抗原19-9, 癌胎児性抗原, CD 40抗原, CD40 リガンド, 補体C3, C-反応性タンパク質, クレアチンキナーゼ-MB, エンドセリン-1, EN-RAGE, エオタキシン-1, 上皮成長因子, 上皮由来好中球活性化タンパク質78, エリスロポエチン, 第VII因子, 脂肪酸結合タンパク質 (心臓), フェリチン, フィブリノゲン, 線維芽細胞成長因子塩基性, 顆粒球コロニー刺激因子, 顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子, 成長ホルモン, ハプトグロビン, 免疫グロブリン A, 免疫グロブリン E, 免疫グロブリン M, インスリン, インスリン様成長因子I, 細胞間接着分子 1, インターフェロンγ, インターロイキン-1α, インターロイキン-1β, インターロイキン-1受容体アンタゴニスト, インターロイキン-2, インターロイキン-3, インターロイキン-4, インターロイキン-5, インターロイキン-6, インターロイキン-7, インターロイキン-8, インターロイキン-10, インターロイキン-12 サブユニット p40, インターロイキン-12 サブユニット p70, インターロイキン-13, インターロイキン-15, インターロイキン-16, レプチン, リンホタクチン, マクロファージ炎症性タンパク質-1α, マクロファージ炎症性タンパク質-1β, マクロファージ誘導 ケモカイン, マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, 単球走化性タンパク質 1, ミエロペルオキシダーゼ, ミオグロビン, プラスミノーゲンアクチベーターインヒビター 1, 妊娠関連血漿タンパク質 A, 前立腺特異的抗原(遊離PSA を含む), 前立腺酸性ホスファターゼ, 血清アミロイド P-コンポーネント, 血清グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ, 性ホルモン結合グロブリン, 幹細胞因子, T細胞特異的タンパク質 RANTES, トロンボポエチン, 甲状腺刺激ホルモン, チロキシン結合グロブリン, 組織因子, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, 腫瘍壊死因子α, 腫瘍壊死因子β, 腫瘍壊死因子受容体2, 血管細胞接着分子-1, 血管内皮因子, フォン・ヴィルブランド因子	30
神経学的	α-1-抗トリプシン, アポリポタンパクA-I, アポリポタンパクA-II, アポリポタンパクB, アポリポタンパクC-I, アポリポタンパクH, β-2-ミクログロブリン, ベタセルリン, 脳	40

	由来神経栄養因子, カルビンジン, 癌抗原125, 癌胎児性抗原, CD5抗原様, 補体C3, 結合組織成長因子, コルチゾール, エンドセリン-1, 上皮成長因子受容体, フェリチン, フェツイン-A, 卵胞刺激ホルモン, ハプトグロビン, 免疫グロブリン A, 免疫グロブリン M, 細胞間接着分子 1, インターロイキン-6受容体, インターロイキン-7, インターロイキン-10, インターロイキン-11, インターロイキン-17, 腎臓傷害分子-1, 黄体形成ホルモン, マクロファージ誘導ケモカイン, マクロファージ遊走阻止因子, マクロファージ炎症性タンパク質-1 α , マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, 単球走化性タンパク質 2, ペプチド YY, プロラクチン, 前立腺酸性 ホスファターゼ, セロトランスフェリン, 血清アミロイド P-コンポーネント, ソルチリン, テストステロン, トロンボポエチン, 甲状腺刺激ホルモン, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体3, 腫瘍壊死因子受容体2, 血管内皮因子, ビトロネクチン	10
心血管	アディポネクチン, アポリポタンパクA-I, アポリポタンパクB, アポリポタンパクC-III, アポリポタンパクD, アポリポタンパクE, アポリポタンパクH, アポリポタンパク(a), クラステリン, C-反応性タンパク質, シスタチン-C, EN-RAGE, E-セ렉チン, 脂肪酸結合タンパク質 (心臓), フェリチン, フィブリノゲン, ハプトグロビン, 免疫グロブリン M, 細胞間接着分子 1, インターロイキン-6, インターロイキン-8, レクチン様酸化LDL受容体1, レプチン, マクロファージ炎症性タンパク質-1 α , マクロファージ炎症性タンパク質-1 β , マロンジアルデヒド改変低密度リポタンパク質, マトリックスメタロプロテイナーゼ-1, マトリックスメタロプロテイナーゼ-10, マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, マトリックスメタロプロテイナーゼ-7, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, 単球走化性タンパク質 1, ミエロペルオキシダーゼ, ミオグロビン, NT-proBNP, オステオポンチン, プラスミノゲン アクチベーターインヒビター 1, P-セ렉チン, 終末糖化産物の受容体, 血清アミロイド P-コンポーネント, 性ホルモン結合グロブリン, T細胞特異的タンパク質 RANTES, トロンボモジュリン, チロキシン結合グロブリン, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, 腫瘍壊死因子 α , 腫瘍壊死因子受容体2, 血管細胞接着分子-1, フォン・ヴィルブラント因子	20
炎症	α -1-抗トリプシン, A-2-マクログロブリン, β -2-ミクログロブリン, 脳由来神経栄養因子, 補体C3, C-反応性タンパク質, エオタキシン-1, 第VII因子, フェリチン, フィブリノゲン, 顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子, ハプトグロビン, 細胞間接着分子 1, インターフェロン γ , インターロイキン-1 α , インターロイキン-1 β , インターロイキン-1受容体アンタゴニスト, インターロイキン-2, インターロイキン-3, インターロイキン-4, インターロイキン-5, インターロイキン-6, インターロイキン-7, インターロイキン-8, インターロイキン-10, インターロイキン-12 サブユニット p40, インターロイキン-12 サブユニット p70, インターロイキン-15, インターロイキン-17, インターロイキン-23, マクロファージ炎症性タンパク質-1 α , マクロファージ炎症性タンパク質-1 β , マトリックスメタロプロテイナーゼ-2, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, マトリックスメタロプロテイナーゼ-9, 単球走化性タンパク質 1, 幹細胞因子, T細胞特異的タンパク質 RANTES, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, 腫瘍壊死因子 α , 腫瘍壊死因子 β , 腫瘍壊死因子受容体2, 血管細胞接着分子-1, 血管内皮因子, ビタミン D結合タンパク質, フォン・ヴィルブラント因子	30
代謝	アディポネクチン, 副腎皮質刺激ホルモン, アンジオテンシン変換酵素, アンジオテンシノゲン, 補体C3ades arg, コルチゾール, 卵胞刺激ホルモン, ガラニン, グルカゴン, グルカゴン様ペプチド 1, インスリン, インスリン様成長因子I, レプチン, 黄体形成ホルモン, 膵臓ポリペプチド, ペプチド YY, プロゲステロン, プロラクチン, レジスチン, セクレチン, テストステロン	40
腎臓	α -1-ミクログロブリン, β -2-ミクログロブリン, カルビンジン, クラステリン, 結合組織成長因子, クレアチニン, シスタチン-C, グルタチオンS-トランスフェラーゼ α , 腎臓傷害分子-1, ミクロアルブミン, 好中球ゲラチナーゼ関連リポカリン, オステオポンチン, Tamm-Horsfall尿中糖タンパク質, 組織メタロプロテイナーゼ阻害物質 1, トレフォイルファクター 3, 血管内皮因子	
サイトカイン	顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子, インターフェロン γ , インターロイキン-2, インターロイキン-3, インターロイキン-4, インターロイキン-5, インターロイキン-6, インターロイキン-7, インターロイキン-8, インターロイキン-10, マクロファージ炎症性タンパク質-1 α , マクロファージ炎症性タンパク質-1 β , マトリックスメタロプロテイナーゼ-2,	

	単球走化性タンパク質 1, 腫瘍壊死因子 α , 腫瘍壊死因子 β , 脳由来神経栄養因子, エオタキシン-1, 細胞間接着分子 1, インターロイキン-1 α , インターロイキン-1 β , インターロイキン-1受容体アンタゴニスト, インターロイキン-12 サブユニット p40, インターロイキン-12 サブユニット p70, インターロイキン-15, インターロイキン-17, インターロイキン-23, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, 幹細胞因子, 血管内皮因子
タンパク質	14.3.3 γ, 14.3.3 (Pan), 14-3-3β, 6-ヒスチジン, a-B-クリスタリン, 腺房, アクチンβ, アクチン (筋肉特異的), アクチン (Pan), アクチン (骨格筋), アクチビン受容体タイプII, アデノウイルス, アデノウイルス Fiber, アデノウイルスタイプ 2 E1A, アデノウイルスタイプ 5 E1A, ADP-リボシル化因子(ARF-6), 副腎皮質刺激ホルモン, AIF (アポトーシス誘導因子), アルカリホスファターゼ(AP), αフェトタンパク質 (AFP), αラクトアルブミン, α-1-抗キモトリプシン, α-1-抗トリプシン, アンフィレギュリン, アミリンペプチド, アミロイド A, アミロイドA4タンパク質前駆体, アミロイドβ(APP), アン드로ゲン受容体, Ang-1, Ang-2, APC, APC11, APC2, アポリポタンパクD, A-Raf, ARC, Ask1 / MAPKKK5, ATM, 軸索成長円錐, b ガラクトシダーゼ, b-2-ミクログロブリン, B7-H2, BAG-1, Bak, Bax, B細胞, B細胞リンカータンパク質 (BLNK), Bcl10 / CIPER / CLAP / mE10, bcl-2a, Bcl-6, bcl-X, bcl-XL, Bim (BOD), ビオチン, Bonzo / STRL33 / TYMSTR, ウシ血清アルブミン, BRCA2 (aa 1323-1346), BrdU, ブロモデオキシウリジン (BrdU), CA125, CA19-9, c-Abl, カドヘリン (Pan), カドヘリン-E, カドヘリン-P, カルシトニン, カルシウムポンプATPase, カルデスモン, カルモジュリン, カルポニン, カルレチニン, カゼイン, カスパーゼ 1, カスパーゼ 2, カスパーゼ 3, カスパーゼ 5, カスパーゼ 6 (Mch 2), カスパーゼ 7 (Mch 3), カスパーゼ 8 (FLICE), カスパーゼ 9, カテニンα, カテニンβ, カテニンγ, Catヘプシン D, CCK-8, CD1, CD10, CD100/白血球セマフォリン, CD105, CD106 / VCAM, CD115/c-fms/CSF-1R/M-CSFR, CD137 (4-1BB), CD138, CD14, CD15, CD155/PVR (ポリオウイルス受容体), CD16, CD165, CD18, CD1a, CD1b, CD2, CD20, CD21, CD23, CD231, CD24, CD25/IL-2受容体a, CD26/DPP IV, CD29, CD30 (リード-スターンバーク細胞マーカー), CD32/Fcγ受容体II, CD35/CR1, CD36GPIIb/GPIV, CD3zeta, CD4, CD40, CD42b, CD43, CD45/T200/LCA, CD45RB, CD45RO, CD46, CD5, CD50/ICAM-3, CD53, CD54/ICAM-1, CD56/NCAM-1, CD57, CD59 / MAC1F / M1RL / プロテクチン, CD6, CD61/血小板糖タンパク質IIIA, CD63, CD68, CD71/トランスフェリン受容体, CD79a mb-1, CD79b, CD8, CD81/TAPA-1, CD84, CD9, CD94, CD95 / Fas, CD98, CDC14A ホスファターゼ, CDC25C, CDC34, CDC37, CDC47, CDC6, cdh1, Cdk1/p34cdc2, Cdk2, Cdk3, Cdk4, Cdk5, Cdk7, Cdk8, CDw17, CDw60, CDw75, CDw78, CEA / CD66e, c-erbB-2/HER-2/neu Ab-1 (21N), c-erbB-4/HER-4, c-fos, Chk1, 絨毛性ゴナドトロピンβ(hCG-β), クロモグラニン A, CIDE-A, CIDE-B, CITED1, c-jun, クラスリン, クローディン 11, クローディン 2, クローディン 3, クローディン 4, クローディン 5, クローディン 7, クローディン-1, CNPase, コラーゲン II, コラーゲン IV, コラーゲン IX, コラーゲン VII, コネキシン 43, COX2, CREB, CREB結合タンパク質, クリプトコッカス・ネオフォルマンズ(Cryptococcus neoformans), c-Src, カリン-1 (CUL-1), カリン-2 (CUL-2), カリン-3 (CUL-3), CXCR4/フーシン, サイクリン B1, サイクリン C, サイクリン D1, サイクリン D3, サイクリン E, サイクリン E2, 嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子, チトクローム c, D4-GDI, Daxx, DcR1, DcR2 / TRAIL-R4 / TRUNDD, デスミン, DFF40 (DNA 断片化因子40) /CAD, DFF45/ICAD, DJ-1, DNAリガーゼ I, DNAポリメラーゼβ, DNAポリメラーゼγ, DNA プライマーゼ(p49), DNA プライマーゼ(p58), DNA-PKcs, DP-2, DR3, DR5, ジスフェリン, ジストロフィン, E2F-1, E2F-2, E2F-3, E2F-4, E2F-5, E3結合タンパク質 (ARM1), EGFR, EMA/CA15-3/MUC-1, エンドスタチン, 上皮膜抗原(EMA / CA15-3 / MUC-1), 上皮特異的抗原, ERβ, ER Ca²⁺ ATPase2, ERCC1, Erk1, ERK2, エストラジオール, エストリオール, エストロゲン受容体, Exo1, エズリン/p81/80K/サイトビリン, F.VIII/VWF, 第VIII因子関連抗原, FADD (FAS関連デスドメイン含有タンパク質), ファスシン, Fas-リガンド, フェリチン, FGF-1, FGF-2, FHIT, フィブリリン-1, フィブロネクチン, フィラグリン, フィラミン, FITC, Fli-1, FLIP, Flk-1/KDR/VEGFR2, Flt-1 / VEGFR1, Flt-4, Fra2, FSH, FSH-b, Fyn, Ga0, Gab-1, GABA a受容体1, GAD65, Gail, Γ グルタミルトランスフェラーゼ (gGT), γグルタミルシステインシナーゼ(GCS)/グルタミン酸-システインリガーゼ, GAPDH, ガストリン 1, GCDFP-15, G-CSF, GFAP, グリセニン, グルカゴン, グルコース調節タンパク質 94, GluR 2/3, GluR1, GluR4, GluR6/7, GLUT-1, GLUT-3, グリコーゲン合成キナーゼ3b (GSK3b), グリコホリンA, GM-CSF, GnRH受容体, ゴルジ複合体,

10

20

30

40

	顆粒球, グランザイム B, Grb2, 緑色蛍光タンパク質 (GFP), GRIPI, 成長ホルモン (hGH), GSK-3, GST, GSTmu, H.Pylori, HDAC1, HDJ-2/DNAJ, 熱ショック因子1, 熱ショック因子2, 熱ショックタンパク質 27/hsp27, 熱ショックタンパク質 60/hsp60, 熱ショックタンパク質 70/hsp70, 熱ショックタンパク質 75/hsp75, 熱ショックタンパク質 90a/hsp86, 熱ショックタンパク質 90b/hsp84, ヘリコバクター・ピロリ (<i>Helicobacter pylori</i>), ヘパラン硫酸プロテオグリカン, 肝性核因子-3B, 肝細胞, 肝細胞因子ホモログ-4, 肝細胞成長因子, ヘレグリン, HIF-1a, ヒストン H1, hPL, HPV 16, HPV 16-E7, HRP, ヒトナトリウム・ヨウ素共輸送体(hNIS), I-FLICE/CASPER, IFN γ, IgA, IGF-1R, IGF-1, IgG, IgM (m-重鎖), I-κ-Bキナーゼ b (IKKb), IL-1 α, IL-1β, IL-10, IL-10R, IL17, IL-2, IL-3, IL-30, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, インヒビリン α, インスリン, インスリン受容体, インスリン受容体基質-1, Int-2 オンコプロテイン, インテグリン β5, インターフェロン-a(II), インターフェロン-g, インボルクリン, IP10/CRG2, IPO-38 増殖マーカー, IRAK, ITK, JNK 活性化キナーゼ (JNK1), κ軽鎖, ケラチン 10, ケラチン 10/13, ケラチン 14, ケラチン 15, ケラチン 16, ケラチン 18, ケラチン 19, ケラチン 20, ケラチン 5/6/18, ケラチン 5/8, ケラチン 8, ケラチン 8 (リン酸化特異的 Ser73), ケラチン 8/18, ケラチン (LMW), ケラチン (Multi), ケラチン (Pan), Ki67, Ku (p70/p80), Ku (p80), L1細胞接着分子, ラムダ軽鎖, ラミニンB1/b1, ラミニンB2/g1, ラミニン受容体, ラミニン-s, Lck, Lck (p56lck), ロイコトリエン (C4, D4, E4), LewisA, LewisB, LH, L-プラスチン, LRP / MVP, ルシフェラーゼ, マクロファージ, MADD, MAGE-1, マルトース結合タンパク質, MAP1B, MAP2a,b, MART-1/Melan-A, 肥満細胞キマーゼ, Mcl-1, MCM2, MCM5, MDM2, 酢酸メドロキシプロゲステロン (MPA), Mek1, Mek2, Mek6, Mekk-1, 黒色腫 (gp100), mGluR1, mGluR5, MGMT, MHC I (HLA25 および HLA-Aw32), MHC I (HLA-A), MHC I (HLA-A,B,C), MHC I (HLA-B), MHC II (HLA-DP および DR), MHC II (HLA-DP), MHC II (HLA-DQ), MHC II (HLA-DR), MHC II (HLA-DR) Ia, 小眼球症, 乳脂肪球膜タンパク質, ミトコンドリア, MLH1, MMP-1 (コラゲナーゼ-I), MMP-10 (ストロメライシン-2), MMP-11 (ストロメライシン-3), MMP-13 (コラゲナーゼ-3), MMP-14 / MT1-MMP, MMP-15 / MT2-MMP, MMP-16 / MT3-MMP, MMP-19, MMP-2 (72kDa コラゲナーゼ IV), MMP-23, MMP-7 (マトリライシン), MMP-9 (92kDa コラゲナーゼ IV), モエシン, mRANKL, Muc-1, ムチン 2, ムチン 3 (MUC3), ムチン 5AC, MyD88, ミエリン / オリゴデンドロサイト, ミエロイド特異的マーカー, ミエロペルオキシダーゼ, MyoD1, ミオゲニン, ミオグロビン, ミオシン平滑筋重鎖, Nck, マウスIgG1の陰性対照, マウスIgG2aの陰性対照, マウスIgG3の陰性対照, マウスIgMの陰性対照, ウサギIgGの陰性対照, 神経フィラメント, 神経フィラメント (160kDa), 神経フィラメント (200kDa), 神経フィラメント (68kDa), ニューロン特異的エノラーゼ, 好中球エラスターゼ, NF κB / p50, NF κB / p65 (Rel A), NGF-受容体 (p75NGFR), 脳酸化窒素シンターゼ (bNOS), 内皮酸化窒素シンターゼ (eNOS), nm23, NOS-i, NOS-u, Notch, スクレオフォスミン(NPM), NuMA, Oct-1, Oct-2/, Oct-3/, オルニチンデカルボキシラーゼ, オステオポンチン, p130, p130cas, p14ARF, p15INK4b, p16INK4a, p170, p170 / MDR-1, p18INK4c, p19ARF, p19Sklp1, p21WAF1, p27Kip1, p300 / CBP, p35nck5a, P504S, p53, p57Kip2 Ab-7, p63 (p53 ファミリーメンバー), p73, p73a, p73a/b, p95VAV, 副甲状腺ホルモン, 副甲状腺ホルモン受容体タイプ1, パーキン, PARP, PARP (ポリADP-リボースポリメラーゼ), Pax-5, パキシリン, PCNA, PCTAIRE2, PDGF, PDGFR α, PDGFRβ, Pds1, パーフォリン, PGP9.5, PHAS-I, PHAS-II, ホスホ-Ser/Thr/Tyr, ホスホチロシン, PLAP, 形質細胞マーカー, プラスミノーゲン, PLC γ 1, PMP-22, ニューモシスチス・ジロベシ (<i>Pneumocystis jiroveci</i>), PPAR-γ, PR3 (プロテイナーゼ 3), プレセニリン, プロゲステロン, プロゲステロン受容体, プロゲステロン受容体(リン酸化特異的) - セリン 190, プロゲステロン受容体(リン酸化特異的) - セリン 294, プロヒビチン, プロラクチン, プロラクチン受容体, 前立腺アポトーシス応答タンパク質-4, 前立腺特異的酸性ホスファターゼ, 前立腺特異的抗原, pS2, PSCA, 狂犬病ウイルス, RAD1, Rad51, Raf1, Raf-1 (リン酸化特異的), RAIDD, Ras, Rad18, 腎細胞癌, Ret オンコプロテイン, 網膜芽細胞腫, 網膜芽細胞腫 (Rb) (リン酸化特異的セリン608), レチノイン酸受容体 (b), レチノイド X受容体(hRXR), レチノール結合タンパク質, ロドプシン (オプシン), ROC, RPA/p32, RPA/p70, Ruv A, Ruv B, Ruv C, S100, S100A4, S100A6, SHP-1, SIM Ag (SIMA-4D3), SIRP a1, sm, SODD (デスドメインのサイレンサー), ソマトスタチン受容体-I, SRC1 (ステロイド受容体コアアクチベーター-1)

10

20

30

40

	Ab-1, SREBP-1 (ステロール調節エレメント結合タンパク質-1), SRF (血清応答因子), Stat-1, Stat3, Stat5, Stat5a, Stat5b, Stat6, ストレプトアビジン, スーパーオキシドジスムターゼ, サーファクタントタンパクA, サーファクタントタンパクB, サーファクタントタンパクB (Pro), サバイビン, SV40 ラージT抗原, Syk, シナプトフィジン, シヌクレイン, シヌクレイン β , シヌクレイン pan, TACE (TNF- α 変換酵素) / ADAM17, TAG-72, tau, TdT, テネイシン, テストステロン, TGF β 3, TGF- β 2, Thomsen-Friedenreich抗原, トロンボスポンジン, チミジンホスホリラーゼ, チミジル酸シンターゼ, チミングリコール類, サイログロブリン, 甲状腺ホルモン受容体 β , 甲状腺ホルモン受容体, 甲状腺刺激ホルモン (TSH), TID-1, TIMP-1, TIMP-2, TNF α , TNFa, TNF-R2, Topo II β , Topoイソメラーゼ IIa, トキソプラズマ・ゴンディ (Toxoplasma Gondii), TR2, TRADD, トランスフォーミング 成長因子a, トランスグルタミナーゼ II, TRAP, トロポミオシン, TRP75 / gp75, TrxR2, TTF-1, チューブリン, チューブリン-a, チューブリン-b, チロシナーゼ, ユビキチン, UCP3, uPA, ウロコルチン, 血管内皮成長因子(VEGF), ビメンチン, ビンキュリン, ビタミン D受容体(VDR), フォンヒッペル・リンダウタンパク質, Wnt-1, キサンチンオキシダーゼ, XPA, XPF, XPG, XRCC1, XRCC2, ZAP-70, Zip キナーゼ
既知の癌遺伝子	ABL1, ABL2, ACSL3, AF15Q14, AF1Q, AF3p21, AF5q31, AKAP9, AKT1, AKT2, ALDH2, ALK, ALO17, APC, ARHGEF12, ARHH, ARID1A, ARID2, ARNT, ASPSCR1, ASXL1, ATF1, ATIC, ATM, ATRX, BAP1, BCL10, BCL11A, BCL11B, BCL2, BCL3, BCL5, BCL6, BCL7A, BCL9, BCOR, BCR, BHD, BIRC3, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD3, BRD4, BRIP1, BTG1, BUB1B, C12orf9, C15orf21, C15orf55, C16orf75, CANT1, CARD11, CARS, CBFA2T1, CBFA2T3, CBFB, CBL, CBLB, CBLC, CCNB1IP1, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD273, CD274, CD74, CD79A, CD79B, CDH1, CDH11, CDK12, CDK4, CDK6, CDKN2A, CDKN2a(p14), CDKN2C, CDX2, CEBPA, CEP1, CHCHD7, CHEK2, CHIC2, CHN1, CIC, CIITA, CLTC, CLTCL1, CMKOR1, COL1A1, COPEB, COX6C, CREB1, CREB3L1, CREB3L2, CREBBP, CRLF2, CRTC3, CTNNB1, CYLD, D10S170, DAXX, DDB2, DDIT3, DDX10, DDX5, DDX6, DEK, DICER1, DNMT3A, DUX4, EBF1, EGFR, EIF4A2, ELF4, ELK4, ELKS, ELL, ELN, EML4, EP300, EPS15, ERBB2, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EVI1, EWSR1, EXT1, EXT2, EZH2, FACL6, FAM22A, FAM22B, FAM46C, FANCA, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FBXO11, FBXW7, FCGR2B, FEV, FGFR1, FGFR1OP, FGFR2, FGFR3, FH, FHIT, FIP1L1, FLI1, FLJ27352, FLT3, FNBP1, FOXL2, FOXO1A, FOXO3A, FOXP1, FSTL3, FUBP1, FUS, FVT1, GAS7, GATA1, GATA2, GATA3, GMPS, GNA11, GNAQ, GNAS, GOLGA5, GOPC, GPC3, GPHN, GRAF, HCMOGT-1, HEAB, HERPUD1, HEY1, HIP1, HIST1H4I, HLF, HLXB9, HMGA1, HMGA2, HNRNPA2B1, HOOK3, HOXA11, HOXA13, HOXA9, HOXC11, HOXC13, HOXD11, HOXD13, HRAS, HRPT2, HSPCA, HSPCB, IDH1, IDH2, IGH@, IGK@, IGL@, IKZF1, IL2, IL21R, IL6ST, IL7R, IRF4, IRTA1, ITK, JAK1, JAK2, JAK3, JAZF1, JUN, KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KIAA1549, KIT, KLK2, KRAS, KTN1, LAF4, LASP1, LCK, LCP1, LCX, LHFP, LIFR, LMO1, LMO2, LPP, LYL1, MADH4, MAF, MAFB, MALT1, MAML2, MAP2K4, MDM2, MDM4, MDS1, MDS2, MECT1, MED12, MEN1, MET, MITF, MKL1, MLLF1, MLH1, MLL, MLL2, MLL3, MLLT1, MLLT10, MLLT2, MLLT3, MLLT4, MLLT6, MLLT7, MN1, MPL, MSF, MSH2, MSH6, MSI2, MSN, MTCP1, MUC1, MUTYH, MYB, MYC, MYCL1, MYCN, MYD88, MYH11, MYH9, MYST4, NACA, NBS1, NCOA1, NCOA2, NCOA4, NDRG1, NF1, NF2, NFE2L2, NFIB, NFKB2, NIN, NKX2-1, NONO, NOTCH1, NOTCH2, NPM1, NR4A3, NRAS, NSD1, NTRK1, NTRK3, NUMA1, NUP214, NUP98, OLIG2, OMD, P2RY8, PAFAH1B2, PALB2, PAX3, PAX5, PAX7, PAX8, PBRM1, PBX1, PCM1, PCSK7, PDE4DIP, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PER1, PHOX2B, PICALM, PIK3CA, PIK3R1, PIM1, PLAG1, PML, PMS1, PMS2, PMX1, PNUTL1, POU2AF1, POU5F1, PPARG, PPP2R1A, PRCC, PRDM1, PRDM16, PRF1, PRKAR1A, PRO1073, PSIP2, PTCH, PTEN, PTPN11, RAB5EP, RAD51L1, RAF1, RALGDS, RANBP17, RAP1GDS1, RARA, RB1, RBM15, RECQL4, REL, RET, ROS1, RPL22, RPN1, RUNDC2A, RUNX1, RUNXBP2, SBDS, SDH5, SDHB, SDHC, SDHD, SEPT6, SET, SETD2, SF3B1, SFPQ, SFRS3, SH3GL1, SIL, SLC45A3, SMARCA4, SMARCB1, SMO,

10

20

30

40

	SOCS1, SOX2, SRGAP3, SRSF2, SS18, SS18L1, SSH3BP1, SSX1, SSX2, SSX4, STK11, STL, SUFU, SUZ12, SYK, TAF15, TAL1, TAL2, TCEA1, TCF1, TCF12, TCF3, TCF7L2, TCL1A, TCL6, TET2, TFE3, TFEB, TFG, TFPT, TFRC, THRAP3, TIF1, TLX1, TLX3, TMPRSS2, TNFAIP3, TNFRSF14, TNFRSF17, TNFRSF6, TOP1, TP53, TPM3, TPM4, TPR, TRA@, TRB@, TRD@, TRIM27, TRIM33, TRIP11, TSC1, TSC2, TSHR, TTL, U2AF1, USP6, VHL, VTI1A, WAS, WHSC1, WHSC1L1, WIF1, WRN, WT1, WTX, XPA, XPC, XPO1, YWHAЕ, ZNF145, ZNF198, ZNF278, ZNF331, ZNF384, ZNF521, ZNF9, ZRSR2	
既知の癌遺伝子	AR, アンドロゲン受容体; ARPC1A, アクチン-関連タンパク質複合体 2/3 サブユニット A; AURKA, オーロラキナーゼ A; BAG4, BCL-2関連抗原(anthogene) 4; BCL2L2, BCL-2様2; BIRC2, バキュロウイルスIAP リピート含有タンパク質2; CACNA1E, カルシウムチャンネル電圧依存性 α -1E サブユニット; CCNE1, サイクリン E1; CDK4, サイクリン依存性キナーゼ 4; CHD1L, クロモドメイン ヘリカーゼDNA結合ドメイン1様; CKS1B, CDC28タンパク質キナーゼ 1B; COPS3, COP9 サブユニット 3; DCUNID1, DCN1 ドメイン含有タンパク質 1; DYRK2, 二重特異性チロシンリン酸化調節キナーゼ 2; EEF1A2, 真核生物伸張転写因子1 α 2; EGFR, 上皮成長因子受容体; FADD, Fas結合デスドメイン; FGFR1, 線維芽細胞成長因子受容体1, GATA6, GATA 結合タンパク質 6; GPC5, グリピカン 5; GRB7, 成長因子受容体結合タンパク質7; MAP3K5, マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ キナーゼ キナーゼ 5; MED29, メディエーター複合体サブユニット 5; MITF, 小眼球症関連転写因子; MTDH, メタドヘリン(metadherin); NCOA3, 核受容体コアアクチベーター 3; NKX2-1, NK2 ホメオボックス 1; PAK1, p21/CDC42/RAC1活性化キナーゼ 1; PAX9, ペアードボックス遺伝子 9; PIK3CA, ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ 触媒 α ; PLA2G10, ホスホリパーゼ A2, グループ X; PPM1D,タンパク質ホスファターゼマグネシウム依存性1D; PTK6, タンパク質チロシンキナーゼ 6; PRKCI,タンパク質キナーゼ C iota; RPS6KB1, リボソームタンパク質s6 キナーゼ 70kDa; SKP2, s期キナーゼ関連タンパク質; SMURF1, sMAD 特異的E3 ユビキチンタンパク質リガーゼ 1; SHH, ソニック ヘッジホッグホモログ; STARD3, sTAR関連脂質輸送ドメイン含有タンパク質 3; YWHAQ, チロシン 3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン 5-モノオキシゲナーゼ 活性化タンパク質, zeta アイソフォーム; ZNF217, zinc fingerタンパク質217	10 20
有糸分裂関連癌遺伝子	Aurora kinase A (AURKA); Aurora kinase B (AURKB); Baculoviral IAP repeat-containing 5, survivin (BIRC5); Budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog (BUB1); Budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog beta, BUBR1 (BUB1B); Budding uninhibited by benzimidazoles 3 homolog (BUB3); CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B (CKS1B); CDC28 protein kinase regulatory subunit 2 (CKS2); Cell division cycle 2 (CDC2)/CDK1 Cell division cycle 20 homolog (CDC20); Cell division cycle-associated 8, borealin (CDCA8); Centromere protein F, mitotin (CENPF); Centrosomal protein 110 kDa (CEP110); Checkpoint with forkhead and ring finger domains (CHFR); Cyclin B1 (CCNB1); Cyclin B2 (CCNB2); Cytoskeleton-associated protein 5 (CKAP5/ch-TOG); Microtubule-associated protein RP/ EB family member 1. End-binding protein 1, EB1 (MAPRE1); Epithelial cell transforming sequence 2 oncogene (ECT2); Extra spindle poles like 1, separase (ESPL1); Forkhead box M1 (FOXO1); H2A histone family, member X (H2AFX); Kinesin family member 4A (KIF4A); Kinetochore-associated 1 (KNTC1/ROD); Kinetochore-associated 2; highly expressed in cancer 1 (KNTC2/HEC1); Large tumor suppressor, homolog 1 (LATS1); Large tumor suppressor, homolog 2 (LATS2); Mitotic arrest deficient-like 1; MAD1 (MAD1L1); Mitotic arrest deficient-like 2; MAD2 (MAD2L1); Mps1 protein kinase (TTK); Never in mitosis gene a-related kinase 2 (NEK2); Ninein, GSK3b interacting protein (NIN); Non-SMC condensin I complex, subunit D2 (NCAPD2/CNAP1); Non-SMC condensin I complex, subunit H (NACPH/CAPH); Nuclear mitotic apparatus protein 1 (NUMA1); Nucleophosmin (nucleolar phosphoprotein B23, numatrin); (NPM1); Nucleoporin (NUP98); Pericentriolar material 1 (PCM1); Pituitary tumor-transforming 1, securin (PTTG1); Polo-like kinase 1 (PLK1); Polo-like kinase 4 (PLK4/SAK); Protein (peptidylprolyl cis/trans isomerase) NIMA-interacting 1 (PIN1); Protein regulator of cytokinesis 1 (PRC1); RAD21 homolog (RAD21); Ras association (RalGDS/AF-6); domain family 1 (RASSF1); Stromal antigen 1 (STAG1);	30 40

	Synuclein-c, breast cancer-specific protein 1 (SNCG, BCSG1); Targeting protein for Xklp2 (TPX2); Transforming, acidic coiled-coil containing protein 3 (TACC3); Ubiquitin-conjugating enzyme E2C (UBE2C); Ubiquitin-conjugating enzyme E2I (UBE2I/UBC9); ZW10 interactor, (ZWINT); ZW10, kinetochore-associated homolog (ZW10); Zwilch, kinetochore-associated homolog (ZWILCH)

【0323】

さらなる非限定的なバイオマーカーリストを以下に列挙する。

【0324】

乳癌

乳癌特異的なバイオマーカーは、図3に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0325】

1つ以上の乳癌特異的なバイオマーカーを評価して、乳癌特異的なバイオシグネチャーを提供することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-21、miR-155、miR-206、miR-122a、miR-210、miR-21、miR-155、miR-206、miR-122a、miR-210、もしくはmiR-21、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。

【0326】

該バイオシグネチャーはまた、let-7、miR-10b、miR-125a、miR-125b、miR-145、miR-143、miR-145、miR-16、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0327】

分析され得るmRNAとしては、ER、PR、HER2、MUC1、もしくはEGFR、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。また、KRAS、B-Raf、もしくはCYP2D6、またはこれらの任意の組み合わせに関連するものが挙げられるが、これらに限定されない、突然変異は、乳癌に固有の小胞からのバイオマーカーとしても使用することができる。加えて、乳癌に固有の小胞からのバイオマーカーとして使用され得る、タンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、hsp70、MART-1、TRP、HER2、hsp70、MART-1、TRP、HER2、ER、PR、クラスIII b-チューブリン、もしくはVEGFA、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。さらに、乳癌のエクソソームのバイオマーカーとして使用され得る、snoRNAとしては、GAS5が挙げられるが、これに限定されない。また、遺伝子融合ETV6-NTRK3は、乳癌のバイオマーカーとしても使用することができる。

【0328】

本発明はまた、ETV6-NTRK3、または乳癌について図3および図1に列記されるバイオマーカー等の1つ以上の乳癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、ETV6-NTRK3、または乳癌について図3および図1に列記されるバイオマーカー等の、1つ以上の乳癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、乳癌に固有の小胞、またはETV6-NTRK3、または乳癌について図3および図1に列記されるバイオマーカー等の、1つ以上の乳癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について実質的に均質である。

【0329】

ETV6-NTRK3、または乳癌について図3および図1に列記されるバイオマーカー等の、1つ以上の乳癌特異的なバイオマーカーはまた、乳癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、ETV6-NTRK3、または乳癌について図3および図1に列記されるバイオマーカー等の、1つ以上の乳癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプロ

10

20

30

40

50

ープを含むことができる。

【0330】

乳癌を評価するために本発明の方法において用いられるバイオマーカーには、BCA-225、hsp70、MART1、ER、VEGFA、クラスIIIb-チューブリン、HER2/neu(例えば、HER2+乳癌の場合)、GPR30、ErbB4(JM)アイソフォーム、MPR8、MISIIR、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、プロゲステロン受容体(PR)またはそのアイソフォーム(PR(A)もしくはPR(B))、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNFR、またはこれらの任意の組み合わせが含まれるが、それに限定されるわけではない。乳癌細胞に由来する小胞を評価するために、1種または複数種の抗原CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、およびERB B4が用いられてもよい。

【0331】

小胞を評価するためのサブセットの1つは、CD10、NPGP/NPFF2、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、またはこれらの組み合わせを含む。

【0332】

別のサブセットは、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、CD9、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、EGFR、B7H3、IC3b、MUC1、メソテリン、SPA、PCSA、CD63、STEAP、AQP5、CD81、DR3、PSM、GPCR、EphA2、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP-2、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNFR、またはこれらの組み合わせを含む。

【0333】

さらに別のサブセットは、BRCA、MUC1、MUC16、CD24、ErbB4、ErbB2(HER2)、ErbB3、HSP70、マンマグロビン、PR、PR(B)、VEGFA、またはこれらの組み合わせを含む。

【0334】

卵巣癌

小胞からの、卵巣癌特異的なバイオマーカーは、図4に列記されるような、1つ以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上)の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、卵巣癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-200a、miR-141、miR-200c、miR-200b、miR-21、miR-141、miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-203、miR-205、miR-214、miR-199*、もしくはmiR-215、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-199a、miR-140、miR-145、miR-100、miR-let-7クラスタ、もしくはmiR-125b-1、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、ERCC1、ER、TOP01、TOP2A、AR、PTEN、HER2/neu、CD24、もしくはEGFR、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0335】

小胞中で評価され得る卵巣癌のバイオマーカーの突然変異としては、KRASの突然変異、B-Rafの突然変異、または卵巣癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、

これらに限定されない。小胞において評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、VEGFA、VEGFR2、もしくはHER2、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。さらに、単離された、またはアッセイされた小胞は、卵巢癌細胞に特異的であり得るか、または卵巢癌細胞に由来し得る。

【0336】

本発明はまた、CD24、卵巢癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巢癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、CD24、卵巢癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巢癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、卵巢癌に固有の小胞、またはCD24、卵巢癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巢癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

10

【0337】

CD24、卵巢癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巢癌特異的なバイオマーカーはまた、卵巢癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、CD24、卵巢癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巢癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0338】

肺癌

20

小胞からの、肺癌特異的なバイオマーカーは、図5に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、肺癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。

【0339】

該バイオシグネチャーは、miR-21、miR-205、miR-221（保護）、let-7a（保護）、miR-137（危険性のある）、miR-372（危険性のある）、もしくはmiR-122a（危険性のある）、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーは、miR-17-92、miR-19a、miR-21、miR-92、miR-155、miR-191、miR-205、もしくはmiR-210等の1つ以上の上方制御もしくは過剰発現miRNA；miR-let-7等の1つ以上の下方制御もしくは過小発現miRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。1つ以上のバイオマーカーは、小細胞肺癌に関する、miR-92a-2*、miR-147、miR-574-5pでありうる。

30

【0340】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、EGFR、PTEN、RRM1、RRM2、ABCB1、ABCG2、LRP、VEGFR2、VEGFR3、クラスIII b-チューブリン、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0341】

小胞中で評価され得る肺癌のバイオマーカーの突然変異としては、EGFR、KRAS、B-Raf、UGT1A1の突然変異、または肺癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、KRAS、hENT1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

40

【0342】

該バイオマーカーはまた、ミッドカイン（MKまたはMDK）であり得る。いくつかの態様において、肺癌特異的小胞は、正常試料と比較して肺癌試料において過剰発現し得るSPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、gal3-b2c10、iC3b、MUC1、GPCR、CABYRおよびmuc17のうちの一つまたは複数を含む。さらに、単離された、またはアッセイされた小胞は、肺癌細胞に特異的であり得るか、または肺癌細胞に由来し得る。

50

【0343】

本発明はまた、一つまたは複数の肺癌特異的バイオマーカー、たとえばRLF-MYCL1、TGF-ALKもしくはCD74-ROS1または肺癌に関して図5および図1に記載されたものを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、一つまたは複数の肺癌特異的バイオマーカー、たとえばRLF-MYCL1、TGF-ALKもしくはCD74-ROS1または肺癌に関して図5および図1に記載されたものを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、肺癌特異的小胞または一つまたは複数の肺癌特異的バイオマーカー、たとえばRLF-MYCL1、TGF-ALKもしくはCD74-ROS1または肺癌に関して図5および図1に記載されたものを含む小胞に関して実質的に均一である。いくつかの態様において、肺癌特異的小胞は、SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、gal3-b2c10、iC3b、MUC1、GPCR、CABYRおよびmuc17のうちの一つまたは複数を含む。

10

【0344】

また、一つまたは複数の肺癌特異的バイオマーカー、たとえばRLF-MYCL1、TGF-ALKもしくはCD74-ROS1または肺癌に関して図5および図1に記載されたものは、肺癌を特徴決定するための、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することができる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞の、一つまたは複数の肺癌特異的バイオマーカー、たとえばRLF-MYCL1、TGF-ALKもしくはCD74-ROS1または肺癌に関して図5および図1に記載されたものを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

20

【0345】

結腸癌

小胞からの結腸癌特異的バイオマーカーは、図6に記載されているような、一つまたは複数の（たとえば2、3、4、5、6、7、8またはそれよりも多い）過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNAまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、結腸癌特異的バイオシグネチャーを創製するために使用することができる。たとえば、バイオシグネチャーは、一つまたは複数の過剰発現miR、たとえば非限定的にmiR-24-1、miR-29b-2、miR-20a、miR-10a、miR-32、miR-203、miR-106a、miR-17-5p、miR-30c、miR-223、miR-126、miR-128b、miR-21、miR-24-2、miR-99b、miR-155、miR-213、miR-150、miR-107、miR-191、miR-221、miR-20a、miR-510、miR-92、miR-513、miR-19a、miR-21、miR-20、miR-183、miR-96、miR-135b、miR-31、miR-21、miR-92、miR-222、miR-181b、miR-210、miR-20a、miR-106a、miR-93、miR-335、miR-338、miR-133b、miR-346、miR-106b、miR-153a、miR-219、miR-34a、miR-99b、miR-185、miR-223、miR-211、miR-135a、miR-127、miR-203、miR-212、miR-95もしくはmiR-17-5pまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。バイオシグネチャーはまた、一つまたは複数の過小発現miR、たとえばmiR-143、miR-145、miR-143、miR-126、miR-34b、miR-34c、let-7、miR-9-3、miR-34a、miR-145、miR-455、miR-484、miR-101、miR-145、miR-133b、miR-129、miR-124a、miR-30-3p、miR-328、miR-106a、miR-17-5p、miR-342、miR-192、miR-1、miR-34b、miR-215、miR-192、miR-301、miR-324-5p、miR-30a-3p、miR-34c、miR-331、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422aもしくはmiR-148bまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。

30

40

【0346】

結腸腺癌を特徴決定する場合、一つまたは複数のバイオマーカーは、上方制御または過剰発現miRNA、たとえばmiR-20a、miR-21、miR-106a、miR-181bまたはmiR-203であることができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえばmiR-19a、miR-21、miR-127、miR-31、miR-96、miR-135bおよびmiR-183からなる群より選択される上方制御または過剰発現miRNA、下方制御または過小発現miRNA、たとえばmiR-30c、miR-133a、miR-143、miR-133bもしくはmiR-145またはこれらの任意の組み合わせを使用して結腸直腸癌を特徴決定することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえばmiR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200aおよびmiR-200bまたはそれらの任意の組み合わせか

50

らなる群より選択される上方制御または過剰発現miRNAを使用して結腸直腸癌を特徴決定することができる。

【0347】

解析することができる一つまたは複数のmRNAは、EFNB1、ERCC1、HER2、VEGFもしくはEGFRまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができるが、これらに限定されない。小胞中で評価することができる結腸癌のバイオマーカーの突然変異は、EGFR、KRAS、VEGFA、B-Raf、APCもしくはp53の突然変異または結腸癌特異的突然変異の任意の組み合わせを含むが、これらに限定されない。小胞中で評価することができるタンパク質、リガンドまたはペプチドは、AFR、Rab、ADAM10、CD44、NG2、エフリンB1、MIF、bカテニン、ジャンクシオン、プラコグロビン、ガレクチン4、RACK1、テトラスパニン8、FasL、TRAIL、A33、CEA、EGFR、ジペプチダーゼ1、hsc-70、テトラスパニン、ESCRT、TS、PTENもしくはTOP01またはそれらの任意の組み合わせを含むことができるが、これらに限定されない。さらに、単離またはアッセイされる小胞は、結腸癌細胞特異的であることもできるし、結腸癌細胞に由来することもできる。

【0348】

本発明はまた、結腸癌に関して図6および図1に記載されているような一つまたは複数の結腸癌特異的バイオマーカーを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、結腸癌に関して図6および図1に記載されているような一つまたは複数の結腸癌特異的バイオマーカーを含む小胞集団を含む。組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、結腸癌特異的小胞または結腸癌に関して図6および図1に記載されているような一つまたは複数の結腸癌特異的バイオマーカーを含む小胞に関して実質的に均一である。

【0349】

また、結腸癌に関して図6および図1に記載されているような一つまたは複数の結腸癌特異的バイオマーカーは、結腸癌を特徴決定するための、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することができる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞の、結腸癌に関して図6および図1に記載されているような一つまたは複数の結腸癌特異的バイオマーカーを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

【0350】

腺腫 対 過形成性ポリープ

小胞からの腺腫対過形成性ポリープ特異的バイオマーカーは、図7に記載されているような、一つまたは複数の（たとえば2、3、4、5、6、7、8またはそれよりも多い）過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチドまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、腺腫対過形成性ポリープ特異的バイオシグネチャーを創製するために使用することができる。たとえば、解析することができる一つまたは複数のmRNAは、ABCA8、KIAA1199、GCG、MAMDC2、C2orf32、229670_at、IGF1、PCDH7、PRDX6、PCNA、COX2もしくはMUC6またはこれらの任意の組み合わせを含むことができるが、これらに限定されない。

【0351】

小胞中で評価することができる腺腫を過形成性ポリープに対して識別するためのバイオマーカー突然変異は、KRASの突然変異、B-Rafの突然変異または腺腫と過形成性ポリープとを識別するための特異的な突然変異の任意の組み合わせを含むが、それらに限定されない。小胞中で評価することができるタンパク質、リガンドまたはペプチドはhTERTを含むことができるが、これに限定されない。

【0352】

本発明はまた、図7に記載されているような、腺腫と過形成性ポリープとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組

成物は、図7に記載されているような、腺腫と過形成性ポリープとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、図7に記載されているような、腺腫と過形成性ポリープとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを有するために実質的に均一である。

【0353】

また、図7に記載されているような、腺腫と過形成性ポリープとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーは、腺腫と過形成性ポリープとを識別するための、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することができる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞の、図7に記載されているよう

10

【0354】

膀胱癌

本発明の方法にしたがって、膀胱癌のバイオマーカーを使用して膀胱癌を評価することができる。バイオマーカーは、一つまたは複数の（たとえば2、3、4、5、6、7、8またはそれよりも多い）過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNAまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。膀胱癌のバイオマーカーは、非限定的に、miR-223、miR-26b、miR-221、miR-103-1、miR-185、miR-23b、miR-203、miR-17-5p、miR-23a、miR-205またはこれらの任意の組み合わせの一つまたは複数を含む。膀胱癌のさらなるバイオマーカーは、FGFR3、EGFR、pRB（網膜芽細胞腫タンパク質）、5T4、p53、Ki-67、VEGF、CK20、COX2、p21、サイクリンD1、p14、p15、p16、Her-2、MAPK（細胞有糸分裂活性化プロテインキナーゼ）、Bax/Bcl-2、PI3K（ホスホイノシチド-3-キナーゼ）、CDK（サイクリン依存性キナーゼ）、CD40、TSP-1、HAアーゼ、テロメラゼ、サバイビン、NMP22、TNF、サイクリンE1、p27、カスパーゼ、サバイビン、NMP22（核マトリックスタンパク質22）、BCL4、サイトケラチン（8、18、19および20）、CYFRA 21-1、IL-2および補体因子H関連タンパク質を含む。ある態様において、非受容体チロシンキナーゼETK/BMXおよび／またはカルボニックアンヒドラーゼIXが診断、予後判定および治療目的のために膀胱癌のマーカーとして使用される。Guo et al., Tyrosine Kinase ETK/BMX Is Up-Regulated in Bladder Cancer and Predicts Poor Prognosis in Patients with Cystectomy. PLoS One. 2011 Mar 7;6(3):e17778、Klatte et al., Carbonic anhydrase IX in bladder cancer: a diagnostic, prognostic, and therapeutic molecular marker. Cancer. 2009 Apr 1;115(7):1448-58を参照すること。バイオマーカーは、Pisitkun et al., Discovery of urinary biomarkers. Mol Cell Proteomics. 2006 Oct;5(10):1760-71、Welton et al., Proteomics analysis of bladder cancer exosomes. Mol Cell Proteomics. 2010 Jun;9(6):1324-38に記載されているように、膀胱癌と関連した一つまたは複数の小胞バイオマーカーであることができる。これらのバイオマーカーを、膀胱癌を評価するために使用することができる。これらのマーカーは、小胞または小胞集団と関連していることができる。

20

30

【0355】

過敏性腸疾患（IBD）

小胞からのIBD対正常バイオマーカーは、図8に記載されているような、一つまたは複数の（たとえば2、3、4、5、6、7、8またはそれよりも多い）過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNAまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、IBD対正常特異的バイオシグネチャーを創製するために使用することができる。たとえば、解析することができる一つまたは複数のmRNAは、REG1A、MMP3またはこれらの任意の組み合わせを含むことができるが、これらに限定されない。

【0356】

本発明はまた、図8に記載されているような、IBDと正常試料とを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された

40

50

小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、図8に記載されているような、IBDと正常試料とを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、小胞集団は、図8に記載されているような、IBDと正常試料とを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを有するために実質的に均一である。

【0357】

また、図8に記載されているような、IBDと正常試料とを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーは、IBDと正常試料とを識別するための、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することができる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞の、図8に記載されているような、IBDと正常試料とを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

【0358】

腺腫 対 結腸直腸癌 (CRC)

小胞からの腺腫対CRC特異的バイオマーカーは、図9に記載されているような、一つまたは複数の（たとえば2、3、4、5、6、7、8またはそれよりも多い）過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNAまたはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、腺腫対CRC特異的バイオシグネチャーを創製するために使用することができる。たとえば、解析することができる一つまたは複数のmRNAは、GREM1、DDR2、GUCY1A3、TNS1、ADAMTS1、FBLN1、FLJ38028、RDX、FAM129A、ASPN、FRMD6、MCC、RBMS1、SNAI2、MEIS1、DOCK10、PLEKHC1、FAM126A、TBC1D9、VWF、DCN、ROBO1、M

【0359】

本発明はまた、図9に記載されているような、腺腫とCRCとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、図9に記載されているような、腺腫とCRCとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、小胞集団は、図9に記載されているような、腺腫とCRCとを識別するための一つまたは複数の特異的バイオマーカーを有するために実質的に均一である。

【0360】

図9に列記されるような、腺腫とCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、腺腫とCRCとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図9に列記されるような、腺腫とCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0361】

IBD 対 CRC

小胞からのCRCに対してIBD特異的なバイオマーカーは、図10に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、CRCに対してIBD特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、227458__at、INDO、CXCL9、CCR2、CD38、RARRES3、CXCL10、FAM26F、TNIP3、NOS2A、CCRL1、TLR8、IL18BP、FCRL5、SAMD9L、ECGF1、TNFSF13B、GBP5、もしくはGBP1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0362】

本発明はまた、図10に列記されるような、IBDとCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図10に列記されるような、IBDとCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図10に列記されるような、IBDとCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有することについて実質的に均質である。

【0363】

図10に列記されるような、IBDとCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、IBDとCRCとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図10に列記されるような、IBDとCRCとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

10

【0364】

CRCのデュークスB 対 デュークスC-D

小胞からの、CRCデュークスC-Dに対してデュークスB特異的なバイオマーカーは、図11に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、CRCデュークスC-Dに対してデュークスD-B特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、TMEM37*、IL33、CA4、CCDC58、CLIC6、VERSUSNL1、ESPN、APCDD1、C13orf18、CYP4X1、ATP2A3、LOC646627、MUPCDH、ANPEP、C1orf115、HSD3B2、GBA3、GABRB2、GYLTL1B、LYZ、SPC25、CDKN2B、FAM89A、MOGAT2、SEMA6D、229376_at、TSPAN5、IL6R、もしくはSLC26A2、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

20

【0365】

本発明はまた、図11に列記されるような、CRCデュークスBとCRCデュークスC-Dとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図11に列記されるような、CRCデュークスBとCRCデュークスC-Dとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図11に列記されるような、CRCデュークスBとCRCデュークスC-Dとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有することについて実質的に均質である。

30

【0366】

図11に列記されるような、CRCデュークスBとCRCデュークスC-Dとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、CRCデュークスBとCRCデュークスC-Dとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図11に列記されるような、CRCデュークスBとCRCデュークスC-Dとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

40

【0367】

低度異形成を有する腺腫 対 高度異形成を有する腺腫

小胞からの、高度異形成を有する腺腫に対して低度異形成を有する腺腫特異的なバイオマーカーは、図12に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、高度異形成の腺腫に対して低度異形成の腺腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、SI、DMBT1、CFI*、AQP1、APOD、TNFRSF17、CXCL10、CTSE、IGHA1、SLC9A3、SLC7A1、BATF2、SOCS1、DOCK2、NOS2A、

50

HK2、CXCL2、IL15RA、POU2AF1、CLEC3B、ANI3BP、MGC13057、LCK*、C4BPA、HOXC6、GOLT1A、C2orf32、IL10RA、240856__at、SOCS3、MEIS3P1、HIPK1、GLS、CPLX1、236045__x__at、GALC、AMN、CCDC69、CCL28、CPA3、TRIB2、HMGA2、PLCL2、NR3C1、EIF5A、LARP4、RP5-1022P6.2、PHLDB2、FKBP1B、INDO、CLDN8、CNTN3、PBEF1、SLC16A9、CDC25B、TPSB2、PBEF1、ID4、GJB5、CHN2、LIMCH1、もしくはCXCL9、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0368】

本発明はまた、図12に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と高度異形成を有する腺腫とを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図12に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と高度異形成を有する腺腫とを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図12に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と高度異形成を有する腺腫とを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有するについて実質的に均質である。

【0369】

図12に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と高度異形成を有する腺腫とを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、低度異形成を有する腺腫と高度異形成を有する腺腫とを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図12に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と高度異形成を有する腺腫とを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0370】

潰瘍性大腸炎（UC） 対 クローン病（CD）

小胞からの、クローン病（CD）に対して潰瘍性大腸炎（UC）特異的なバイオマーカーは、図13に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、CDに対してUC特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、IFITM1、IFITM3、STAT1、STAT3、TAP1、PSME2、PSMB8、HNF4G、KLF5、AQP8、APT2B1、SLC16A、MFAP4、CCNG2、SLC44A4、DDAH1、TOB1、231152__at、MKNK1、CEACAM7*、1562836__at、CDC42SE2、PSD3、231169__at、IGL@*、GSN、GPM6B、CDV3*、PDPK1、ANP32E、ADAM9、CDH1、NLRP2、215777__at、OSBPL1、VNN1、RABGAP1L、PHACTR2、ASH1L、213710__s__at、CDH1、NLRP2、215777__at、OSBPL1、VNN1、RABGAP1L、PHACTR2、ASH1、213710__s__at、ZNF3、FUT2、IGHA1、EDEM1、GPR171、229713__at、LOC643187、FLVCR1、SNAP23*、ETNK1、LOC728411、POSTN、MUC12、HOXA5、SIGLEC1、LARP5、PIGR、SPTBN1、UFM1、C6orf62、WDR90、ALDH1A3、F2RL1、IGHV1-69、DUOX2、RAB5A、もしくはCP、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、CDに対してUCに固有の、小胞からのバイオマーカーとしても使用することができる。

【0371】

小胞中で評価され得るUCとCDとを識別するためのバイオマーカーの突然変異としては、CARD15の突然変異、またはUCとCDとを識別するために固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、（P）ASCAを挙げることができるが、これに限定されない。

【0372】

本発明はまた、図13に列記されるような、UCとCDとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図13に列記されるような、UCとCDとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物

は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図13に列記されるような、UCとCDとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有することについて実質的に均質である。

【0373】

図13に列記されるような、UCとCDとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、UCとCDとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図13に列記されるような、UCとCDとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0374】

過形成性ポリープ

小胞からの、正常なものに対して過形成性ポリープ特異的なバイオマーカーは、図14に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、正常なものに対して過形成性ポリープ特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、SLC6A14、ARHGEF10、ALS2、IL1RN、SPRY4、PTGER3、TRIM29、SERPINB5、1560327__at、ZAK、BAG4、TRIB3、TTL、FOXQ1、または任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0375】

本発明はまた、図14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープ特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープ特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、過形成性ポリープに固有の小胞、または図14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープ特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0376】

図14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープ特異的なバイオマーカーはまた、過形成性ポリープを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープ特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0377】

低度異形成を有する腺腫 対 正常

小胞からの、正常なものに対して低度異形成を有する腺腫特異的なバイオマーカーは、図15に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、正常なものに対して低度異形成の腺腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得るRNAとしては、UGT2A3、KLK11、KIAA1199、FOXQ1、CLDN8、ABCA8、もしくはPYY、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、正常なものに対して低度異形成の腺腫特異的なバイオマーカーとして使用することができる。さらに、正常なものに対して低度異形成の腺腫に対するエキソソームのバイオマーカーとして使用することができるsnoRNAとしては、GAS5を挙げることができるが、これに限定されない。

【0378】

本発明はまた、図15に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と正常なものとの識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、

10

20

30

40

50

図15に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞の集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図15に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有することについて実質的に均質である。

【0379】

図15に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、低度異形成を有する腺腫と正常なものとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図15に列記されるような、低度異形成を有する腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

10

【0380】

腺腫 対 正常

小胞からの、正常なものに対して腺腫特異的なバイオマーカーは、図16に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、正常なものに対して腺腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、KIAA1199、FOXQ1、もしくはCA7、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。正常なものに対して腺腫に固有の小胞からのバイオマーカーとして使用することができるタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、クラスレリンを挙げることができるが、これに限定されない。

20

【0381】

本発明はまた、図16に列記されるような、腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む、単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図16に列記されるような、腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図16に列記されるような、腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有することについて実質的に均質である。

30

【0382】

図16に列記されるような、腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、腺腫と正常なものとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図16に列記されるような、腺腫と正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0383】

CRC 対 正常

小胞からの、正常なものに対してCRC特異的なバイオマーカーは、図17に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、正常なものに対してCRC特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、VWF、IL8、CHI3L1、S100A8、GREM1、もしくはODC、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、正常なものに対してCRC特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

40

【0384】

小胞中で評価され得る正常なものに対するCRCのバイオマーカーの突然変異としては、KRAS、BRAF、APC、MSH2、もしくはMLH1の突然変異、またはCRCと正常なものとを識別する

50

ための特異的な突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、サイトケラチン13、カルシニューリン、CHK1、クラスリン軽鎖、ホスホ-ERK、ホスホ-PTK2、もしくはMDM2、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0385】

本発明はまた、図17に列記されるような、CRCと正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図17に列記されるような、CRCと正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図17に列記されるような、CRCと正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを有することについて実質的に均質である。

10

【0386】

図17に列記されるような、CRCと正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーはまた、CRCと正常なものとを識別するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図17に列記されるような、CRCと正常なものとを識別するための1つ以上の固有のバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0387】

良性前立腺肥大症（BPH）

20

小胞からの、良性前立腺肥大症（BPH）特異的なバイオマーカーは、図18に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、BPH特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、無傷フィブロネクチンを挙げることができるが、これに限定されない。

【0388】

本発明はまた、BPHについて図18および図1に列記されるような、1つ以上のBPH特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、BPHについて図18および図1に列記されるような、1つ以上のBPH特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、BPHに固有の小胞、またはBPHについて図18および図1に列記されるような、1つ以上のBPH特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

30

【0389】

BPHについて図18および図1に列記されるような、1つ以上のBPH特異的なバイオマーカーはまた、BPHを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、BPHについて図18および図1に列記されるような、1つ以上のBPH特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

40

【0390】

前立腺癌

小胞からの、前立腺癌特異的なバイオマーカーは、図19に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、前立腺癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、前立腺癌のバイオシグネチャーには、miR-9、miR-21、miR-141、miR-370、miR-200b、miR-210、miR-155、またはmiR-196aを含むことができる。幾つかの態様において、該バイオシグネチャーは、miR-202、miR-210、miR-296、miR-320、miR-370、miR-373、miR-498、miR-503、miR-184、miR-198、miR-302c、miR-345、miR-491、

50

miR-513、miR-32、miR-182、miR-31、miR-26a-1/2、miR-200c、miR-375、miR-196a-1/2、miR-370、miR-425、miR-425、miR-194-1/2、miR-181a-1/2、miR-34b、let-7i、miR-188、miR-25、miR-106b、miR-449、miR-99b、miR-93、miR-92-1/2、miR-125a、miR-141、miR-29a、miR-145、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。一部の態様において、バイオシグネチャーは、miR-29aおよび/またはmiR-145を含む、前立腺癌において過剰発現している1種または複数種のmiRを含む。一部の態様において、バイオシグネチャーは、hsa-miR-1974、hsa-miR-27b、hsa-miR-103、hsa-miR-146a、hsa-miR-22、hsa-miR-382、hsa-miR-23a、hsa-miR-376c、hsa-miR-335、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-221、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-151-3p、およびhsa-miR-21もしくはmiR-141、またはこれらの任意の組み合わせを含む、前立腺癌において過剰発現している1種または複数種のmiRを含む。

10

【0391】

該バイオシグネチャーはまた、let-7a、let-7b、let-7c、let-7d、let-7g、miR-16、miR-23a、miR-23b、miR-26a、miR-92、miR-99a、miR-103、miR-125a、miR-125b、miR-143、miR-145、miR-195、miR-199、miR-221、miR-222、miR-497、let-7f、miR-19b、miR-22、miR-26b、miR-27a、miR-27b、miR-29a、miR-29b、miR-30__5p、miR-30c、miR-100、miR-141、miR-148a、miR-205、miR-520h、miR-494、miR-490、miR-133a-1、miR-1-2、miR-218-2、miR-220、miR-128a、miR-221、miR-499、miR-329、miR-340、miR-345、miR-410、miR-126、miR-205、miR-7-1/2、miR-145、miR-34a、miR-487、もしくはlet-7b、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むこともできる。該バイオシグネチャーは、上方制御もしくは過剰発現のmiR-21、下方制御もしくは過剰発現のmiR-15a、miR-16-1、miR-143、もしくはmiR-145、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができる。

20

【0392】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、AR、PCA3、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、前立腺癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0393】

小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、FASLGもしくはHSP60、PSMA、PCSAもしくはTNFSF10、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。PSMA結合用の抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第6,207,805号および第6,512,096号に見出すことができる。さらに、単離された、またはアッセイされた小胞は、前立腺癌細胞に特異的であり得るか、または前立腺癌細胞に由来し得る。さらに、前立腺癌のエキソソームのバイオマーカーとして使用することができるsnoRNAとしては、U50を挙げることができるが、これに限定されない。前立腺癌のバイオシグネチャーの例は、以下にさらに記載される。

30

【0394】

本発明はまた、一つまたは複数の前立腺癌特異的バイオマーカー、たとえばACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5もしくはKLK2-ETV4または前立腺癌に関して図19、60および図1に記載されたものを含む、単離された小胞を提供する。いくつかの態様において、単離された小胞はEpCam+、CK+、CD45-である。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、一つまたは複数の前立腺癌特異的バイオマーカー、たとえばACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5もしくはKLK2-ETV4または前立腺癌に関して図19、60および図1に記載されたものを含む小胞集団を含む。いくつかの態様において、本組成物は、EpCam+、CK+、CD45-である小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、前立腺癌特異的小胞または一つまたは複数の前立腺癌特異的バイオマーカー、たとえばACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS

40

50

S2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5もしくはKLK2-ETV4または前立腺癌に関して図19、60および図1に記載されたものを含む小胞に関して実質的に均一である。一つの態様において、組成物は、EpCam+、CK+、CD45-である、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができる。

【0395】

また、一つまたは複数の前立腺癌特異的バイオマーカー、たとえばACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5もしくはKLK2-ETV4または前立腺癌に関して図19、60および図1に記載されたものは、前立腺癌を特徴決定するための、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することができる。いくつかの態様において、バイオマーカーEpCam、CK（サイトケラチン）およびCD45は、前立腺癌を特徴決定する、たとえば対象の前立腺癌の予後または対象の治療耐性を決定するための、本明細書に開示されるシステムの一つまたは複数によって検出される。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞の、一つまたは複数の前立腺癌特異的バイオマーカー、たとえばACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5もしくはKLK2-ETV4または前立腺癌に関して図19、60および図1に記載されたものを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。一つの態様において、検出システムは、EpCam、CK、CD45またはそれらの組み合わせを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

【0396】

黒色腫

小胞からの、黒色腫特異的なバイオマーカーは、図20に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、黒色腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-19a、miR-144、miR-200c、miR-211、miR-324-5p、miR-331、もしくはmiR-374、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-9、miR-15a、miR-17-3p、miR-23b、miR-27a、miR-28、miR-29b、miR-30b、miR-31、miR-34b、miR-34c、miR-95、miR-96、miR-100、miR-104、miR-105、miR-106a、miR-107、miR-122a、miR-124a、miR-125b、miR-127、miR-128a、miR-128b、miR-129、miR-135a、miR-135b、miR-137、miR-138、miR-139、miR-140、miR-141、miR-145、miR-149、miR-154、miR-154#3、miR-181a、miR-182、miR-183、miR-184、miR-185、miR-189、miR-190、miR-199、miR-199b、miR-200a、miR-200b、miR-204、miR-213、miR-215、miR-216、miR-219、miR-222、miR-224、miR-299、miR-302a、miR-302b、miR-302c、miR-302d、miR-323、miR-325、let-7a、let-7b、let-7d、let-7e、もしくはlet-7g、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0397】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、MUM-1、 β カテニン、もしくはNop/5/Sik、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、黒色腫特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0398】

小胞中で評価され得る黒色腫のバイオマーカーの突然変異としては、CDK4の突然変異、または黒色腫に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、DUSP-1、Alix、hsp70、Gib2、Gia、モエシン、GAPDH、リンゴ酸脱水素酵素、p120カテニン、PGRL、シンタキシン結合タンパク質1&2、セプチン-2、もしくはWDリピート含有タンパク質1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。黒色

腫に対するエクソソームのバイオマーカーとして使用され得る snoRNA としては、H/ACA (U107f)、SNORA11D、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。さらに、単離された、またはアッセイされた小胞は、黒色腫細胞に特異的であり得るか、または黒色腫細胞に由来し得る。

【0399】

本発明はまた、黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の黒色腫特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の黒色腫特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、黒色腫に固有の小胞、または黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の黒色腫特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0400】

黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の黒色腫特異的なバイオマーカーはまた、黒色腫を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0401】

黒色腫微小胞に関連するバイオマーカーには、HSPA8、CD63、ACTB、GAPDH、ANXA2、CD81、ENO1、PDCD6IP、SDCBP、EZR、MSN、YWHAЕ、ACTG1、ANXA6、LAMP2、TPI1、ANXA5、GDI2、GSTP1、HSPA1A、HSPA1B、LDHB、LAMP1、EEF2、RAB5B、RDX、GNB1、KRT10、MDH1、STXBP2、RAN、ACLY、CAPZB、GNA11、IGSF8、WDR1、CAV1、CTNND1、PGAM1、AKR1B1、EGFR、MLANA、MCAM、PPP1CA、STXBP1、TGFB1、SEPT2、およびTSNAXIP1が含まれる。黒色腫を特徴決定するために、これらのマーカーの1つまたは複数を評価することができる。

【0402】

膵臓癌

小胞からの、膵臓癌特異的なバイオマーカーは、図21に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、膵臓癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-221、miR-181a、miR-155、miR-210、miR-213、miR-181b、miR-222、miR-181b-2、miR-21、miR-181b-1、miR-220、miR-181d、miR-223、miR-100-1/2、miR-125a、miR-143、miR-10a、miR-146、miR-99、miR-100、miR-199a-1、miR-10b、miR-199a-2、miR-221、miR-181a、miR-155、miR-210、miR-213、miR-181b、miR-222、miR-181b-2、miR-21、miR-181b-1、miR-181c、miR-220、miR-181d、miR-223、miR-100-1/2、miR-125a、miR-143、miR-10a、miR-146、miR-99、miR-100、miR-199a-1、miR-10b、miR-199a-2、miR-107、miR-103、miR-103-2、miR-125b-1、miR-205、miR-23a、miR-221、miR-424、miR-301、miR-100、miR-376a、miR-125b-1、miR-21、miR-16-1、miR-181a、miR-181c、miR-92、miR-15、miR-155、let-7f-1、miR-212、miR-107、miR-024-1/2、miR-18a、miR-31、miR-93、miR-224、もしくはlet-7d、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。

【0403】

該バイオシグネチャーはまた、miR-148a、miR-148b、miR-375、miR-345、miR-142、miR-133a、miR-216、miR-217、もしくはmiR-139、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、PSCA、メソテリン、もしくはオステオポンチン、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、膵臓癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0404】

小胞中で評価され得る膵臓癌のバイオマーカーの突然変異としては、KRAS、CTNNB1、AKT、NCOA3、もしくはB-RAF、または膵臓癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。該バイオマーカーはまた、BRCA2、PALB2、またはp16であり得る。さらに、単離された、またはアッセイされた小胞は、膵臓癌細胞に特異的であり得るか、または膵臓癌細胞に由来し得る。

【0405】

本発明はまた、図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、膵臓癌に固有の小胞、または図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

10

【0406】

図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌特異的なバイオマーカーはまた、膵臓癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0407】

20

脳癌

小胞からの、脳癌（神経膠腫、神経膠芽腫、髄膜腫、聴神経腫／神経鞘腫、髄芽細胞腫）が挙げられるが、これらに限定されない）特異的なバイオマーカーは、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、または図22に列記されるもの等の、これらの任意の組み合わせを含むことができ、脳癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-21、miR-10b、miR-130a、miR-221、miR-125b-1、miR-125b-2、miR-9-2、miR-21、miR-25、もしくはmiR-123、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。

30

【0408】

該バイオシグネチャーはまた、miR-128a、miR-181c、miR-181a、もしくはmiR-181b、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、MGMTが挙げられるが、これらに限定されず、小胞からの、脳癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、EGFRを挙げることができるが、これに限定されない。

【0409】

本発明はまた、GOPC-ROS1、または脳癌について図22および図1に列記されるような、1つ以上の脳癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、GOPC-ROS1、または脳癌について図22および図1に列記されるような、1つ以上の脳癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、脳癌に固有の小胞、またはGOPC-ROS1、もしくは脳癌について図22および図1に列記されるもののような、1つ以上の脳癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

40

【0410】

脳癌について図22および図1に列記されるような、1つ以上の脳癌特異的なバイオマーカーはまた、脳癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、GOPC-ROS1、

50

もしくは脳癌について図22および図1に列記されるもののような、1つ以上の脳癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0411】

乾癬

小胞からの、乾癬特異的なバイオマーカーは、図23に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、乾癬特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-146b、miR-20a、miR-146a、miR-31、miR-200a、miR-17-5p、miR-30e-5p、miR-141、miR-203、miR-142-3p、miR-21、もしくはmiR-106a、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-125b、miR-99b、miR-122a、miR-197、miR-100、miR-381、miR-518b、miR-524、let-7e、miR-30c、miR-365、miR-133b、miR-10a、miR-133a、miR-22、miR-326、もしくはmiR-215、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0412】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、IL-20、VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3、もしくはEGFR1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、乾癬特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得る乾癬のバイオマーカーの突然変異としては、MGST2の突然変異、または乾癬に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0413】

本発明はまた、乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、乾癬に固有の小胞、または乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0414】

乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬特異的なバイオマーカーはまた、乾癬を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

【0415】

心血管疾患（CVD）

小胞からの、CVD特異的なバイオマーカーは、図24に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、CVD特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-195、miR-208、miR-214、let-7b、let-7c、let-7e、miR-15b、miR-23a、miR-24、miR-27a、miR-27b、miR-93、miR-99b、miR-100、miR-103、miR-125b、miR-140、miR-145、miR-181a、miR-191、miR-195、miR-199a、miR-320、miR-342、miR-451、もしくはmiR-499、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。

【0416】

該バイオシグネチャーはまた、miR-1、miR-10a、miR-17-5p、miR-19a、miR-19b、miR-20a、miR-20b、miR-26b、miR-28、miR-30e-5p、miR-101、miR-106a、miR-126、miR-222、m

iR-374、miR-422b、もしくはmiR-423、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得るmRNAとしては、MRP14、CD69、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、CVD特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0417】

小胞中で評価され得るCVDのバイオマーカーの突然変異としては、MYH7、SCN5A、もしくはCHRM2の突然変異、またはCVDに固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0418】

小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、CK-MB、cTnI（心臓トロポニン）、CRP、BPN、IL-6、MCSF、CD40、CD40L、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。さらに、単離された、またはアッセイされた小胞は、CVD細胞に特異的であり得るか、または心臓細胞に由来し得る。

【0419】

本発明はまた、CVDについて図24および図1に列記されるような、1つ以上のCVD特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、CVDについて図24および図1に列記されるような、1つ以上のCVD特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、CVDに固有の小胞、またはCVDについて図24および図1に列記されるような、1つ以上のCVD特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0420】

CVDについて図24および図1に列記されるような、1つ以上のCVD特異的なバイオマーカーはまた、CVDを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、CVDについて図24および図1に列記されるような、1つ以上のCVD特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0421】

miRNAまたは組み合わせまたはmiRNA、たとえばmiR-21、miR-129、miR-212、miR-214、miR-134またはそれらの組み合わせの増加（米国特許公開公報第2010/0010073号に開示されている）を使用して、心肥大および／または心不全の発症リスク増大またはその存在を診断することができる。miR-182、miR-290またはそれらの組み合わせの下方制御を使用して、心肥大および／または心不全の発症リスク増大またはその存在を診断することができる。miR-21、miR-129、miR-212、miR-214、miR-134またはそれらの組み合わせの発現の増大をmiR-182、miR-290またはそれらの組み合わせの発現の減少とともに使用して、心肥大および／または心不全の発症リスク増大またはその存在を診断することができる。

【0422】

血液癌

小胞からの、血液悪性腫瘍特異的なバイオマーカーは、図25に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、血液悪性腫瘍特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、HOX11、TAL1、LY1、LM01、もしくはLM02、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、血液悪性腫瘍特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0423】

小胞中で評価され得る血液癌のバイオマーカーの突然変異としては、c-kit、PDGFR、もしくはABLの突然変異、または血液悪性腫瘍に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0424】

本発明はまた、血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、血液癌に固有の小胞、または血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0425】

血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌特異的なバイオマーカーはまた、血液癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0426】

1つ以上の血液癌特異的なバイオマーカーはまた、急性リンパ性白血病（ALL）に関しては、TTL-ETV6、CDK6-MLL、CDK6-TLX3、ETV6-FLT3、ETV6-RUNX1、ETV6-TTL、MLL-AFF1、MLL-AFF3、MLL-AFF4、MLL-GAS7、TCBA1-ETV6、TCF3-PBX1、もしくはTCF3-TFPT；T細胞急性リンパ性白血病（T-ALL）に関しては、BCL11B-TLX3、IL2-TNFRFS17、NUP214-ABL1、NUP98-CCDC28A、TAL1-STIL、もしくはETV6-ABL2；未分化大細胞リンパ腫（ALCL）に関しては、ATIC-ALK、KIAA1618-ALK、MSN-ALK、MYH9-ALK、NPM1-ALK、TGF-ALK、もしくはTPM3-ALK；慢性骨髄性白血病（CML）に関しては、BCR-ABL1、BCR-JAK2、ETV6-EVI1、ETV6-MN1、もしくはETV6-TCBA1；AMLに関しては、CBFB-MYH11、CHIC2-ETV6、ETV6-ABL1、ETV6-ABL2、ETV6-ARNT、ETV6-CDX2、ETV6-HLXB9、ETV6-PER1、MEF2D-DAZAP1、AML-AFF1、MLL-ARHGAP26、MLL-ARHGEF12、MLL-CASC5、MLL-CBL、MLL-CREBBP、MLL-DAB21P、MLL-ELL、MLL-EP300、MLL-EPS15、MLL-FNBP1、MLL-FOXO3A、MLL-GMP5、MLL-GPHN、MLL-MLLT1、MLL-MLLT11、MLL-MLLT3、MLL-MLLT6、MLL-MYO1F、MLL-PICALM、MLL-SEPT2、MLL-SEPT6、MLL-SORBS2、MYST3-SORBS2、MYST-CREBBP、NPM1-MLF1、NUP98-HOXA13、PRDM16-EVI1、RABEP1-PDGFRB、RUNX1-EVI1、RUNX1-MDS1、RUNX1-RPL22、RUNX1-RUNX1T1、RUNX1-SH3D19、RUNX1-USP42、RUNX1-YTHDF2、RUNX1-ZNF687、もしくはTAF15-ZNF-384；慢性リンパ球性白血病（CLL）に関しては、CCND1-FSTL3；および過好酸球増加症／慢性好酸球性白血病に関しては、FLIP1-PDGFR A、FLT3-ETV6、KIAA1509-PDGFR A、PDE4DIP-PDGFRB、NIN-PDGFRB、TP53BP1-PDGFRB、もしくはTPM3-PDGFRBからなる群より選択される遺伝子融合であり得る。

【0427】

CLLにおける1つ以上のバイオマーカーはまた、miR-23b、miR-24-1、miR-146、miR-155、miR-195、miR-221、miR-331、miR-29a、miR-195、miR-34a、もしくはmiR-29c等の上方制御または過剰発現miRNAのうちの1つ以上、miR-15a、miR-16-1、miR-29、もしくはmiR-23等の下方制御または過小発現miRNAのうちの1つ以上、またはこれらの任意の組み合わせを含むこともできる。

【0428】

ALLにおける1つ以上のバイオマーカーはまた、miR-128b、miR-204、miR-218、miR-331、miR-181b-1、miR-17-92等の上方制御または過剰発現miRNAのうちの1つ以上、またはこれらの任意の組み合わせを含むこともできる。

【0429】

B細胞慢性リンパ球性白血病（B-CLL）

小胞からの、B-CLL特異的なバイオマーカーは、図26に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、B-CLL特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-183-prec、miR-190、miR-24-1-prec

10

20

30

40

50

、miR-33、miR-19a、miR-140、miR-123、miR-10b、miR-15b-prec、miR-92-1、miR-188、miR-154、miR-217、miR-101、miR-141-prec、miR-153-prec、miR-196-2、miR-134、miR-141、miR-132、miR-192、もしくはmiR-181b-prec、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。

【0430】

該バイオシグネチャーはまた、miR-213、miR-220、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、ZAP70、AdipoR1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、B-CLL特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るB-CLLのバイオマーカーの突然変異としては、IGHV、P53、ATMの突然変異、またはB-CLLに固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0431】

本発明はまた、BCL3-MYC、MYC-BTG1、BCL7A-MYC、BRWD3-ARHGAP20、もしくはBTG1-MYC、または図26に列記されるもののような、1つ以上のB-CLL特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、BCL3-MYC、MYC-BTG1、BCL7A-MYC、BRWD3-ARHGAP20、もしくはBTG1-MYC、または図26に列記されるもののような、1つ以上のB-CLL特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、B-CLLに固有の小胞、またはBCL3-MYC、MYC-BTG1、BCL7A-MYC、BRWD3-ARHGAP20、もしくはBTG1-MYC、または図26に列記されるもののような、1つ以上のB-CLL特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0432】

BCL3-MYC、MYC-BTG1、BCL7A-MYC、BRWD3-ARHGAP20、もしくはBTG1-MYC、または図26に列記されるもののような、1つ以上のB-CLL特異的なバイオマーカーはまた、B-CLLを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、BCL3-MYC、MYC-BTG1、BCL7A-MYC、BRWD3-ARHGAP20、もしくはBTG1-MYC、または図26に列記されるもののような、1つ以上のB-CLL特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0433】

B細胞リンパ腫

小胞からの、B細胞リンパ腫特異的なバイオマーカーは、図27に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、B細胞リンパ腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-17-92ポリシストロン、miR-155、miR-210、もしくはmiR-21、miR-19a、miR-92、miR-142、miR-155、miR-21、miR-17-92、miR-21、miR-191、miR-205、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。さらに、B細胞リンパ腫におけるエキソソームのバイオマーカーとして使用され得るsnoRNAとしては、U50を挙げることができるが、これに限定されない。

【0434】

本発明はまた、図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、B細胞リンパ腫に固有の小胞、または図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0435】

図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫特異的なバイオマーカーはまた、B細胞リンパ腫を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0436】

びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)

小胞からの、DLBCL特異的なバイオマーカーは、図28に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、DLBCL特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-17-92、miR-155、miR-210、もしくはmiR-21、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、A-myb、LMO2、JNK3、CD10、bcl-6、サイクリンD2、IRF4、Flip、もしくはCD44、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、DLBCL特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0437】

本発明はまた、CITTA-BCL6、CLTC-ALK、IL21R-BCL6、PIM1-BCL6、TFCR-BCL6、IKZF1-BCL6、もしくはSEC31A-ALK、または図28に列記されるもののような、1つ以上のDLBCL特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、CITTA-BCL6、CLTC-ALK、IL21R-BCL6、PIM1-BCL6、TFCR-BCL6、IKZF1-BCL6、もしくはSEC31A-ALK、図28に列記されるもののような、1つ以上のDLBCL特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、DLBCLに固有の小胞、またはCITTA-BCL6、CLTC-ALK、IL21R-BCL6、PIM1-BCL6、TFCR-BCL6、IKZF1-BCL6、もしくはSEC31A-ALK、または図28に列記されるもののような、1つ以上のDLBCL特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0438】

CITTA-BCL6、CLTC-ALK、IL21R-BCL6、PIM1-BCL6、TFCR-BCL6、IKZF1-BCL6、もしくはSEC31A-ALK、または図28に列記されるもののような、1つ以上のDLBCL特異的なバイオマーカーはまた、DLBCLを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、CITTA-BCL6、CLTC-ALK、IL21R-BCL6、PIM1-BCL6、TFCR-BCL6、IKZF1-BCL6、もしくはSEC31A-ALK、または図28に列記されるもののような、1つ以上のDLBCL特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0439】

バーキットリンパ腫

小胞からの、バーキットリンパ腫特異的なバイオマーカーは、図29に列記されるような、1つ以上の（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、バーキットリンパ腫特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーはまた、pri-miR-155、またはこの組み合わせ等があるが、これに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、MYC、TERT、NS、NP、MAZ、RCF3、BYSL、IDE3、CDC7、TCL1A、AUTS2、MYBL1、BMP7、ITPR3、CDC2、BACK2、TTK、MME、ALOX5、もしくはTOP1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、バーキットリンパ腫特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、

BCL6、KI-67、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0440】

本発明はまた、IGH-MYC、LCP1-BCL6、または図29に列記されるもののような、1つ以上のバーキットリンパ腫特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、IGH-MYC、LCP1-BCL6、または図29に列記されるもののような、1つ以上のバーキットリンパ腫特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、バーキットリンパ腫に固有の小胞、またはIGH-MYC、LCP1-BCL6、または図29に列記されるもののような、1つ以上のバーキットリンパ腫特異的な

10

【0441】

IGH-MYC、LCP1-BCL6、または図29に列記されるもののような、1つ以上のバーキットリンパ腫特異的なバイオマーカーはまた、バーキットリンパ腫を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、IGH-MYC、LCP1-BCL6、または図29に列記されるもののような、1つ以上のバーキットリンパ腫特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0442】

肝細胞癌

20

小胞からの、肝細胞癌特異的なバイオマーカーは、図30に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、肝細胞癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-221等があるが、これに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、let-7a-1、let-7a-2、let-7a-3、let-7b、let-7c、let-7d、let-7e、let-7f-2、let-fg、miR-122a、miR-124a-2、miR-130a、miR-132、miR-136、miR-141、miR-142、miR-143、miR-145、miR-146、miR-150、miR-155（BIC）、miR-181a-1、miR-181a-2、miR-181c、miR-195、miR-199a-1-5p、miR-199a-2-5p、miR-199b、miR-200b、miR-214、miR-223、もしくはpre-miR-594、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、FAT10を挙げることができるが、これらに限定されない。

30

【0443】

バイオシグネチャーの1つ以上のバイオマーカーはまた、C型肝炎ウイルス関連肝細胞癌を特徴決定するために使用することもできる。1つ以上のバイオマーカーは、過剰発現または過小発現miRNA等のmiRNAであり得る。例えば、該上方制御または過剰発現miRNAは、miR-122、miR-100、またはmiR-10aであり得、該下方制御miRNAは、miR-198またはmiR-145であり得る。

【0444】

40

本発明はまた、肝細胞癌について図30および図1に列記されるような、1つ以上の肝細胞癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、肝細胞癌について図30および図1に列記されるような、1つ以上の肝細胞癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、肝細胞癌に固有の小胞、または肝細胞癌について図30および図1に列記されるような、1つ以上の肝細胞癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0445】

肝細胞癌について図30および図1に列記されるような、1つ以上の肝細胞癌特異的なバイオマーカーはまた、肝細胞癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシ

50

システムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、肝細胞癌について図30および図1に列記されるような、1つ以上の肝細胞癌特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

【0446】

子宮頸癌

小胞からの、子宮頸癌特異的なバイオマーカーは、図31に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、子宮頸癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、HPV E6、HPV E7、もしくはp53、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、子宮頸癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0447】

本発明はまた、子宮頸癌について図31および図1に列記されるような、1つ以上の子宮頸癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、子宮頸癌について図31および図1に列記されるような、1つ以上の子宮頸癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、子宮頸癌に固有の小胞、または子宮頸癌について図31および図1に列記されるような、1つ以上の子宮頸癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0448】

子宮頸癌について、図31および図1に列記されるような、1つ以上の子宮頸癌特異的なバイオマーカーはまた、子宮頸癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、子宮頸癌について図31および図1に列記されるような、1つ以上の子宮頸癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0449】

子宮内膜癌

小胞からの、子宮内膜癌特異的なバイオマーカーは、図32に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、子宮内膜癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-185、miR-106a、miR-181a、miR-210、miR-423、miR-103、miR-107、もしくはlet-7c、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-7i、miR-221、miR-193、miR-152、もしくはmiR-30c、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0450】

小胞中で評価され得る子宮内膜癌のバイオマーカーの突然変異としては、PTEN、K-RAS、B-カテニン、p53、Her2/neuの突然変異、または子宮内膜癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、NLRP7、 $\alpha V \beta 6$ インテグリン、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0451】

本発明はまた、子宮内膜癌について図32および図1に列記されるような、1つ以上の子宮内膜癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、子宮内膜癌について図32および図1に列記されるような、1つ以上の子宮内膜癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は

、子宮内膜癌に固有の小胞、または子宮内膜癌について図32および図1に列記されるような、1つ以上の子宮内膜癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0452】

子宮内膜癌について図32および図1に列記されるような、1つ以上の子宮内膜癌特異的なバイオマーカーはまた、子宮内膜癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、子宮内膜癌について図32および図1に列記されるような、1つ以上の子宮内膜癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0453】

頭頸部癌

小胞からの、頭頸部癌特異的なバイオマーカーは、図33に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、頭頸部癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-21、let-7、miR-18、miR-29c、miR-142-3p、miR-155、miR-146b、miR-205、もしくはmiR-21、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-494等があるが、これに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、HPV E6、HPV E7、p53、IL-8、SAT、H3FA3、もしくはEGFR、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されず、小胞からの、頭頸部癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0454】

小胞中で評価され得る頭頸部癌のバイオマーカーの突然変異としては、GSTM1、GSTT1、GSTP1、OGG1、XRCC1、XPD、RAD51、EGFR、p53の突然変異、または頭頸部癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、EGFR、EphB4、もしくはEphB2、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0455】

本発明はまた、一つまたは複数の頭頸部癌特異的なバイオマーカー、たとえばCHCHD7-PLAG1、CTNNB1-PLAG1、FHIT-HMGA2、HMGA2-NFIB、LIFR-PLAG1もしくはTCEA1-PLAG1または頭頸部癌に関して図33および図1に記載されたものを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、一つまたは複数の頭頸部癌特異的なバイオマーカー、たとえばCHCHD7-PLAG1、CTNNB1-PLAG1、FHIT-HMGA2、HMGA2-NFIB、LIFR-PLAG1もしくはTCEA1-PLAG1または頭頸部癌に関して図33および図1に記載されたものを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、頭頸部癌特異的な小胞または一つまたは複数の頭頸部癌特異的なバイオマーカー、たとえばCHCHD7-PLAG1、CTNNB1-PLAG1、FHIT-HMGA2、HMGA2-NFIB、LIFR-PLAG1もしくはTCEA1-PLAG1または頭頸部癌に関して図33および図1に記載されたものを含む小胞に関して実質的に均一である。

【0456】

頭頸部癌について図33および図1に列記されるような、1つ以上の頭頸部癌特異的なバイオマーカーはまた、頭頸部癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、CHCHD7-PLAG1、CTNNB1-PLAG1、FHIT-HMGA2、HMGA2-NFIB、LIFR-PLAG1、もしくはTCEA1-PLAG1、または頭頸部癌について図33および図1に列記されるような、1つ以上の頭頸部癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0457】

炎症性腸疾患（IBD）

10

20

30

40

50

小胞からの、IBD特異的なバイオマーカーは、図34に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、IBD特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、トリプシノーゲンIV、SERT、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、IBD特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0458】

小胞中で評価され得るIBDのバイオマーカーの突然変異としては、CARD15の突然変異、またはIBDに固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、II-16、II-1β、II-12、TNF-α、インターフェロンγ、II-6、ランテス、MCP-1、レジスチン、もしくは5-HT、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0459】

本発明はまた、IBDについて図34および図1に列記されるような、1つ以上のIBD特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、IBDについて図34および図1に列記されるような、1つ以上のIBD特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、IBDに固有の小胞、またはIBDについて図34および図1に列記されるような、1つ以上のIBD特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0460】

IBDについて図34および図1に列記されるような、1つ以上のIBD特異的なバイオマーカーはまた、IBDを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、IBDについて図34および図1に列記されるような、1つ以上のIBD特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0461】

糖尿病

小胞からの、糖尿病特異的なバイオマーカーは、図35に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、糖尿病特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、IL-8、CTSS、ITGB2、HLA-DRA、CD53、PLAG27、もしくはMMP9、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、糖尿病特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、RBP4を挙げることができるが、これに限定されない。

【0462】

本発明はまた、糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、糖尿病に固有の小胞、または糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0463】

糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病特異的なバイオマーカーはまた、糖尿病を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステム

10

20

30

40

50

によっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

【0464】

バレット食道

小胞からの、バレット食道特異的なバイオマーカーは、図36に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、バレット食道特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-21、miR-143、miR-145、miR-194、もしくはmiR-215、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、S100A2、S100A4、またはこれらの任意の組み合わせを挙げられるが、これらに限定されず、小胞からの、バレット食道特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

10

【0465】

小胞中で評価され得るバレット食道のバイオマーカーの突然変異としては、p53の突然変異、またはバレット食道に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、p53、MUC1、MUC2、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

20

【0466】

本発明はまた、バレット食道について図36および図1に列記されるような、1つ以上のバレット食道特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、バレット食道について図36および図1に列記されるような、1つ以上のバレット食道特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、バレット食道に固有の小胞、またはバレット食道について図36および図1に列記されるような、1つ以上のバレット食道特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

30

【0467】

バレット食道について図36および図1に列記されるような、1つ以上のバレット食道特異的なバイオマーカーはまた、バレット食道を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、バレット食道について図36および図1に列記されるような、1つ以上のバレット食道特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0468】

線維筋痛症

小胞からの、線維筋痛症特異的なバイオマーカーは、図37に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、線維筋痛症特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、NR2Dを挙げることができるが、これに限定されず、小胞からの、線維筋痛症特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

40

【0469】

本発明はまた、線維筋痛症について図37および図1に列記されるような、1つ以上の線維筋痛症特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、線維筋痛症につ

50

いて図37および図1に列記されるような、1つ以上の線維筋痛症特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、線維筋痛症に固有の小胞、または線維筋痛症について図37および図1に列記されるような、1つ以上の線維筋痛症特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0470】

線維筋痛症について図37および図1に列記されるような、1つ以上の線維筋痛症特異的なバイオマーカーはまた、線維筋痛症を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、線維筋痛症について図37および図1に列記されるような、1つ以上の線維筋痛症特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

10

【0471】

脳卒中

小胞からの、脳卒中特異的なバイオマーカーは、図38に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、脳卒中特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、MMP9、S100-P、S100A12、S100A9、凝固第V因子、アルギナーゼI、CA-IV、モノカルボン酸トランスポーター、ets-2、EIF2 α 、細胞骨格関連タンパク質4、N-ホルミルペプチド受容体、リボヌクレアーゼ2、N-アセチルノイラミン酸ピルビン酸リアーゼ、BCL-6、もしくはグリコーゲンホスホリラーゼ、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これに限定されず、小胞からの、脳卒中特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

20

【0472】

本発明はまた、脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、脳卒中に固有の小胞、または脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

30

【0473】

脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中特異的なバイオマーカーはまた、脳卒中を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0474】

多発性硬化症（MS）

小胞からの、MS特異的なバイオマーカーは、図39に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、MS特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、IL-6、IL-17、PAR-3、IL-17、T1/ST2、JunD、5-L0、LTA4H、MBP、PLP、もしくは α - β クリスタリン、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これに限定されず、小胞からの、MS特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

40

【0475】

本発明はまた、MSについて図39および図1に列記されるような、1つ以上のMS特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供され

50

る。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、MSについて図39および図1に列記されるような、1つ以上のMS特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、MSに固有の小胞、またはMSについて図39および図1に列記されるような、1つ以上のMS特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0476】

MSについて図39および図1に列記されるような、1つ以上のMS特異的なバイオマーカーはまた、MSを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、MSについて図39および図1に列記されるような、1つ以上のMS特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

10

【0477】

パーキンソン病

小胞からの、パーキンソン病特異的なバイオマーカーは、図40に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、パーキンソン病特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-133b等があるが、これに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、Nurr1、BDNF、TrkB、gstml、もしくはS100β、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、パーキンソン病特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

20

【0478】

小胞中で評価され得るパーキンソン病のバイオマーカーの突然変異としては、FGF20、α-シヌクレイン、FGF20、NDUFV2、FGF2、CALB1、B2Mの変異体、またはパーキンソン病に固有の変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、apo-H、セルロプラスミン、BDNF、IL-8、β2-ミクログロブリン、apoAII、tau、Aβ1-42、DJ-1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0479】

本発明はまた、パーキンソン病について図40および図1に列記されるような、1つ以上のパーキンソン病特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、パーキンソン病について図40および図1に列記されるような、1つ以上のパーキンソン病特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、パーキンソン病に固有の小胞、またはパーキンソン病について図40および図1に列記されるような、1つ以上のパーキンソン病特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

30

【0480】

パーキンソン病について図40および図1に列記されるような、1つ以上のパーキンソン病特異的なバイオマーカーはまた、パーキンソン病を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、パーキンソン病について図40および図1に列記されるような、1つ以上のパーキンソン病特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

40

【0481】

リウマチ性疾患

小胞からの、リウマチ性疾患特異的なバイオマーカーは、図41に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任

50

意の組み合わせを含むことができ、リウマチ性疾患特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-146a、miR-155、miR-132、miR-16、もしくはmiR-181、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、HOXD10、HOXD11、HOXD13、CCL8、LIMホメオボックス2、もしくはCENP-E、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、リウマチ性疾患特異的なバイオマーカーとして使用することができる。エキソソーム中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、TNF α を挙げることができるが、これに限定されない。

【0482】

10

本発明はまた、リウマチ性疾患について図41および図1に列記されるような、1つ以上のリウマチ性疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、リウマチ性疾患について図41および図1に列記されるような、1つ以上のリウマチ性疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、リウマチ性疾患に固有の小胞、またはリウマチ性疾患について図41および図1に列記されるような、1つ以上のリウマチ性疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0483】

20

リウマチ性疾患について図41および図1に列記されるような、1つ以上のリウマチ性疾患特異的なバイオマーカーはまた、リウマチ性疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、リウマチ性疾患について図41および図1に列記されるような、1つ以上のリウマチ性疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0484】

アルツハイマー病

小胞からの、アルツハイマー病特異的なバイオマーカーは、図42に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、アルツハイマー病特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーはまた、miR-107、miR-29a、miR-29b-1、もしくはmiR-9、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-128等、またはこの任意の組み合わせ等の1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。

30

【0485】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、HIF-1 α 、BACE1、リーリン、CHRNA7、もしくは3Rtau/4Rtau、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、アルツハイマー病特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

40

【0486】

小胞中で評価され得るアルツハイマー病のバイオマーカーの突然変異としては、APP、プレセニリン1、プレセニリン2、APOE4の突然変異、またはアルツハイマー病に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、BACE1、リーリン、シスタチンC、短縮型シスタチンC、アミロイド β 、C3a、t-Tau、補体因子H、もしくは α -2-マクログロブリン、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0487】

50

本発明はまた、アルツハイマー病について図42および図1に列記されるような、1つ以上のアルツハイマー病特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、アルツハイマー病について図42および図1に列記されるような、1つ以上のアルツハイマー病特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、アルツハイマー病に固有の小胞、またはアルツハイマー病について図42および図1に列記されるような、1つ以上のアルツハイマー病特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0488】

アルツハイマー病について図42および図1に列記されるような、1つ以上のアルツハイマー病特異的なバイオマーカーはまた、アルツハイマー病を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、アルツハイマー病について図42および図1に列記されるような、1つ以上のアルツハイマー病特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0489】

プリオン病

小胞からの、プリオン特異的なバイオマーカーは、図43に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、プリオン特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、アミロイドB4、App、IL-1R1、もしくはSOD1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、プリオン特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、PrP(c)、14-3-3、NSE、S-100、Tau、AQP-4、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0490】

本発明はまた、プリオン病について図43および図1に列記されるような、1つ以上のプリオン病特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、プリオン病について図43および図1に列記されるような、1つ以上のプリオン病特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、プリオン病に固有の小胞、またはプリオン病について図43および図1に列記されるような、1つ以上のプリオン病特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0491】

プリオン病について図43および図1に列記されるような、1つ以上のプリオン病特異的なバイオマーカーはまた、プリオン病を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、プリオン病について図43および図1に列記されるような、1つ以上のプリオン病特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0492】

敗血症

小胞からの、敗血症特異的なバイオマーカーは、図44に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、敗血症特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、15-ヒドロキシ-PGデヒドロゲナーゼ（上方）、LAIR1（上方）、NFKB1A（上方）、TLR2、PGLYPR1、TLR4、MD2、TLR

5、IFNAR2、IRAK2、IRAK3、IRAK4、PI3K、PI3KCB、MAP2K6、MAPK14、NFKB1A、NFKB1、IL1R1、MAP2K1IP1、MKNK1、FAS、CASP4、GADD45B、SOCS3、TNFSF10、TNFSF13B、OSM、HGF、もしくはIL18R1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、敗血症特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0493】

本発明はまた、図44に列記されるような、1つ以上の敗血症特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図44に列記されるような、1つ以上の敗血症特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、敗血症に固有の小胞、または図44に列記されるような、1つ以上の敗血症特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

10

【0494】

図44に列記されるような、1つ以上の敗血症特異的なバイオマーカーはまた、敗血症を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図44に列記されるような、1つ以上の敗血症特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0495】

慢性神経因性疼痛

小胞からの、慢性神経因性疼痛（CNP）特異的なバイオマーカーは、図45に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、CNP特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、ICAM-1（齧歯類）、CGRP（齧歯類）、TIMP-1（齧歯類）、CLR-1（齧歯類）、HSP-27（齧歯類）、FABP（齧歯類）、もしくはアポリポタンパク質D（齧歯類）、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、CNP特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、ケモカイン、ケモカイン受容体（CCR2/4）、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これに限定されない。

20

30

【0496】

本発明はまた、慢性神経因性疼痛について図45および図1に列記されるような、1つ以上の慢性神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、慢性神経因性疼痛について図45および図1に列記されるような、1つ以上の慢性神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、慢性神経因性疼痛に固有の小胞、または慢性神経因性疼痛について図45および図1に列記されるような、1つ以上の慢性神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0497】

慢性神経因性疼痛について図45および図1に列記されるような、1つ以上の慢性神経因性疼痛特異的なバイオマーカーはまた、慢性神経因性疼痛を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、慢性神経因性疼痛について図45および図1に列記されるような、1つ以上の慢性神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

40

【0498】

末梢神経因性疼痛

小胞からの、末梢神経因性疼痛（PNP）特異的なバイオマーカーは、図46に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過

50

小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、PNP特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、OX42、ED9、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0499】

本発明はまた、末梢神経因性疼痛について図46および図1に列記されるような、1つ以上の末梢神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、末梢神経因性疼痛について図46および図1に列記されるような、1つ以上の末梢神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、末梢神経因性疼痛に固有の小胞、または末梢神経因性疼痛について図46および図1に列記されるような、1つ以上の末梢神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0500】

末梢神経因性疼痛について図46および図1に列記されるような、1つ以上の末梢神経因性疼痛特異的なバイオマーカーはまた、末梢神経因性疼痛を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、末梢神経因性疼痛について図46および図1に列記されるような、1つ以上の末梢神経因性疼痛特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプロ

【0501】

統合失調症

小胞からの、統合失調症特異的なバイオマーカーは、図47に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、統合失調症特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-181b等があるが、これに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-7、miR-24、miR-26b、miR-29b、miR-30b、miR-30e、miR-92、もしくはmiR-195、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0502】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、IFITM3、SERPINA3、GLS、もしくはALDH7A1BASP1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、統合失調症特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得る統合失調症のバイオマーカーの突然変異としては、DISC1、ディスピンディン、ニューレグリン-1、セロトニン2a受容体、NURR1の突然変異、または統合失調症に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0503】

小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、ATP5B、ATP5H、ATP6V1B、DNM1、NDUFV2、NSF、PDHB、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0504】

本発明はまた、統合失調症について図47および図1に列記されるような、1つ以上の統合失調症特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、統合失調症について図47および図1に列記されるような、1つ以上の統合失調症特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、統合失調症に固有の小胞、または統合失調症について図47および図1に列記されるよう

な、1つ以上の統合失調症特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0505】

統合失調症について図47および図1に列記されるような、1つ以上の統合失調症特異的なバイオマーカーはまた、統合失調症を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、統合失調症について図47および図1に列記されるような、1つ以上の統合失調症特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0506】

双極性疾患

小胞からの、双極性疾患特異的なバイオマーカーは、図48に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、双極性疾患特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、FGF2、ALDH7A1、AGXT2L1、AQP4、もしくはPCNT2、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、双極性疾患特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得る双極性疾患のバイオマーカーの突然変異としては、ディスビンディン、DAOA/G30、DISC1、ニューレグリン-1の突然変異、または双極性疾患に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0507】

本発明はまた、図48に列記されるような、1つ以上の双極性疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図48に列記されるような、1つ以上の双極性疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、双極性疾患に固有の小胞、または図48に列記されるような、1つ以上の双極性疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0508】

図48に列記されるような、1つ以上の双極性疾患特異的なバイオマーカーはまた、双極性疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図48に列記されるような、1つ以上の双極性疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0509】

うつ病

小胞からの、うつ病特異的なバイオマーカーは、図49に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、うつ病特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、FGFR1、FGFR2、FGFR3、もしくはAQP4、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、うつ病特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0510】

本発明はまた、図49に記載されているような一つまたは複数のうつ病特異的なバイオマーカーを含む、単離された小胞を提供する。また、単離された小胞を含む組成物が提供される。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、図49に記載されているような一つまたは複数のうつ病特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、うつ病特異的な小胞または図49に記載されているような一つまたは複数のうつ病特異的なバイオマーカーを含む小胞に関し

10

20

30

40

50

て実質的に均一である。

【0511】

図49に列記されるような、1つ以上のうつ病特異的なバイオマーカーはまた、うつ病を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図49に列記されるような、1つ以上のうつ病特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0512】

消化管間質腫瘍（GIST）

小胞からの、GIST特異的なバイオマーカーは、図50に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、GIST特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、分析され得る1つ以上のmRNAとしては、DOG-1、PKC- θ 、KIT、GPR20、PRKCQ、KCNK3、KCNH2、SCG2、TNFRSF6B、もしくはCD34、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されず、小胞からの、GIST特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0513】

小胞中で評価され得るGISTのバイオマーカーの突然変異としては、PKC- θ の突然変異、またはGISTに固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、PDGFRA、c-kit、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0514】

本発明はまた、GISTについて図50および図1に列記されるような、1つ以上のGIST特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、GISTについて図50および図1に列記されるような、1つ以上のGIST特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、GISTに固有の小胞、またはGISTについて図50および図1に列記されるような、1つ以上のGIST特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0515】

GISTについて図50および図1に列記されるような、1つ以上のGIST特異的なバイオマーカーはまた、GISTを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、GISTについて図50および図1に列記されるような、1つ以上のGIST特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0516】

腎細胞癌

小胞からの、腎細胞癌特異的なバイオマーカーは、図51に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、腎細胞癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーはまた、miR-141、miR-200c、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。1つ以上の上方制御または過剰発現miRNAは、miR-28、miR-185、miR-27、miR-let-7f-2、またはこれらの任意の組み合わせであり得る。

【0517】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、ラミニン受容体1、betaig-h3、ガレクチン-1、 α -2マクログロブリン、アディポフィリン、アンジオポエチン2、カルデスモン1、クラスII MHC-関連インバリエント鎖（CD74）、コラーゲンIV- α 1、補体成分、補体成分3、シトク

10

20

30

40

50

ロムP450、サブファミリーIIJポリペプチド2、デルタ睡眠誘発ペプチド、Fc g受容体IIIa (CD16)、HLA-B、HLA-DRA、HLA-DRb、HLA-SB、IFN誘発膜貫通タンパク質3、IFN誘発膜貫通タンパク質1、もしくはリシルオキシダーゼ、またはこれらの任意の組み合わせを挙げられるが、これらに限定されず、小胞からの、腎細胞癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0518】

小胞中で評価され得るバレット食道のバイオマーカーの突然変異としては、VHLの突然変異、または腎細胞癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0519】

小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、IF1 α 、VEGF、PDGFRA、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0520】

本発明はまた、ALPHA-TFEB、NONO-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、CLTC-TFE3、もしくはMALAT1-TFEB、またはRCCについて図51および図1に列記されるような、1つ以上のRCC特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、ALPHA-TFEB、NONO-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、CLTC-TFE3、もしくはMALAT1-TFE、またはRCCについて図51および図1に列記されるような、1つ以上のRCC特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、RCCに固有の小胞、またはALPHA-TFEB、NONO-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、CLTC-TFE3、もしくはMALAT1-TFE、またはRCCについて図51および図1に列記されるような、1つ以上のRCC特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0521】

ALPHA-TFEB、NONO-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、CLTC-TFE3、もしくはMALAT1-TFE、またはRCCについて図51および図1に列記されるような、1つ以上のRCC特異的なバイオマーカーはまた、RCCを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、ALPHA-TFEB、NONO-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、CLTC-TFE3、もしくはMALAT1-TFE、またはRCCについて図51および図1に列記されるような、1つ以上のRCC特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0522】

肝硬変

小胞からの、肝硬変特異的なバイオマーカーは、図52に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、肝硬変特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、NLTが挙げられるが、これに限定されず、小胞からの、肝硬変特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0523】

小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、NLT、HBsAG、AST、YKL-40、ヒアルロン酸、TIMP-1、 α 2マクログロブリン、 α -1-抗トリプシンPIZ対立遺伝子、ハプトグロビン、もしくは酸性ホスファターゼACP AC、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0524】

本発明はまた、肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含

む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、肝硬変に固有の小胞、または肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0525】

肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変特異的なバイオマーカーはまた、肝硬変を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0526】

食道癌

小胞からの、食道癌特異的なバイオマーカーは、図53に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、食道癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-192、miR-194、miR-21、miR-200c、miR-93、miR-342、miR-152、miR-93、miR-25、miR-424、もしくはmiR-151、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-27b、miR-205、miR-203、miR-342、let-7c、miR-125b、miR-100、miR-152、miR-192、miR-194、miR-27b、miR-205、miR-203、miR-200c、miR-99a、miR-29c、miR-140、miR-103、もしくはmiR-107、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。分析され得る1つ以上のmRNAとしては、MTHFRが挙げられるが、これに限定されず、小胞からの、食道癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。

【0527】

本発明はまた、食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、食道癌に固有の小胞、または食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0528】

食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌特異的なバイオマーカーはまた、食道癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

【0529】

胃癌

小胞からの、胃癌特異的なバイオマーカーは、図54に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、胃癌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-106a、miR-21、miR-191、miR-223、miR-24-1、miR-24-2、miR-107、miR-92-2、miR-214、miR-25、もしくはmiR-221、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、let-7a等があるが、これに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0530】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、RRM2、EphA4、もしくはスルビビン、またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されず、小胞からの、胃癌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得る胃癌のバイオマーカーの突然変異としては、APCの突然変異、または胃癌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞において評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、EphA4を挙げることができるが、これに限定されない。

【0531】

本発明はまた、図54に列記されるような、1つ以上の胃癌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図54に列記されるような、1つ以上の胃癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、胃癌に固有の小胞、または図54に列記されるような、1つ以上の胃癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0532】

図54に列記されるような、1つ以上の胃癌特異的なバイオマーカーはまた、胃癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図54に列記されるような、1つ以上の胃癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0533】

自閉症

小胞からの、自閉症特異的なバイオマーカーは、図55に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、自閉症特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-484、miR-21、miR-212、miR-23a、miR-598、miR-95、miR-129、miR-431、miR-7、miR-15a、miR-27a、miR-15b、miR-148b、miR-132、もしくはmiR-128、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-93、miR-106a、miR-539、miR-652、miR-550、miR-432、miR-193b、miR-181d、miR-146b、miR-140、miR-381、miR-320a、もしくはmiR-106b、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、GM1、GD1a、GD1b、もしくはGT1b、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0534】

本発明はまた、自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、自閉症に固有の小胞、または自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0535】

自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症特異的なバイオマーカーはまた、自閉症を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0536】

臓器拒絶反応

小胞からの、臓器拒絶反応特異的なバイオマーカーは、図56に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、臓器拒絶反応特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。例えば、該バイオシグネチャーは、miR-658、miR-125a、miR-320、miR-381、miR-628、miR-602、miR-629、もしくはmiR-125a、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過剰発現miRを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-324-3p、miR-611、miR-654、miR-330__MM1、miR-524、miR-17-3p__MM1、miR-483、miR-663、miR-516-5p、miR-326、miR-197__MM2、もしくはmiR-346、またはこれらの任意の組み合わせ等があるが、これらに限定されない、1つ以上の過小発現miRを含むことができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、マトリックス金属タンパク質9、プロテイナーゼ3、もしくはHNP、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。該バイオマーカーは、マトリックス金属プロテイナーゼのメンバーであり得る。

10

【0537】

本発明はまた、図56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、臓器拒絶反応に固有の小胞、または図56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

20

【0538】

図56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応特異的なバイオマーカーはまた、臓器拒絶反応を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0539】

30

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

小胞からの、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーは、図57に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。

【0540】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、TSST-1、またはこれらの任意の組み合わせを挙げられるが、これらに限定されず、小胞からの、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーとして使用することができる。小胞中で評価され得るメチシリン耐性黄色ブドウ球菌のバイオマーカーの突然変異としては、mecA、タンパク質A SNPの突然変異、またはメチシリン耐性黄色ブドウ球菌に固有の突然変異の任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、ETA、ETB、TSST-1、もしくはロイコシジン、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

40

【0541】

本発明はまた、図57に列記されるような、1つ以上のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図57に列記されるような、1つ以上のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含

50

む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に固有の小胞、または図57に列記されるような、1つ以上のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0542】

図57に列記されるような、1つ以上のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーはまた、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、図57に列記されるような、1つ以上のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌特異的なバイオマーカーを検出するために1つ以上のプローブを含むことができる。

【0543】

不安定プラーク

小胞からの、不安定プラーク特異的なバイオマーカーは、図58に列記されるような、1つ以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上）の過剰発現miR、過小発現miR、mRNA、遺伝子突然変異、タンパク質、リガンド、ペプチド、snoRNA、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、不安定プラーク特異的なバイオシグネチャーを作製するために使用することができる。小胞中で評価され得るタンパク質、リガンド、またはペプチドとしては、IL-6、MMP-9、PAPP-A、Dダイマー、フィブリノーゲン、Lp-PLA2、SCD40L、Il-18、oxLDL、GPx-1、MCP-1、PIGF、もしくはCRP、またはこれらの任意の組み合わせを挙げることができるが、これらに限定されない。

【0544】

本発明はまた、不安定プラークについて図58および図1に列記されるような、1つ以上の不安定プラーク特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、不安定プラークについて図58および図1に列記されるような、1つ以上の不安定プラーク特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、不安定プラークに固有の小胞、または不安定プラークについて図58および図1に列記されるような、1つ以上の不安定プラーク特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0545】

不安定プラークについて図58および図1に列記されるような、1つ以上の不安定プラーク特異的なバイオマーカーはまた、不安定プラークを特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、不安定プラークについて図58および図1に列記されるような、1つ以上の不安定プラーク特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0546】

自己免疫疾患

本発明はまた、自己免疫疾患について図1に列記されるような、1つ以上の自己免疫疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、自己免疫疾患について図1に列記されるような、1つ以上の自己免疫疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、自己免疫疾患に固有の小胞、または自己免疫疾患について図1に列記されるような、1つ以上の自己免疫疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0547】

自己免疫疾患について図1に列記されるような、1つ以上の自己免疫疾患特異的なバイオマーカーはまた、自己免疫疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、自己免疫疾患について図1に列記されるような、1つ以上の自己免疫疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

10

20

30

40

50

【0548】

結核 (TB)

本発明はまた、TB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、TB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、TB疾患に固有の小胞、またはTB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0549】

TB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患特異的なバイオマーカーはまた、TB疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、TB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0550】

HIV

本発明はまた、HIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、HIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、HIV疾患に固有の小胞、またはHIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0551】

HIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患特異的なバイオマーカーはまた、HIV疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、HIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0552】

1つ以上のバイオマーカーはまた、上方制御または過剰発現miRNA等のmiRNAであり得る。該上方制御miRNAは、miR-29a、miR-29b、miR-149、miR-378、またはmiR-324-5pであり得る。1つ以上のバイオマーカーはまた、1つ以上のmiRNAを評価すること等によって、HIV-1の潜伏を特徴決定するために使用することもできる。該miRNAは、miR-28、miR-125b、miR-150、miR-223、およびmiR-382であり、かつ上方制御したものであり得る。

【0553】

喘息

本発明はまた、喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、喘息疾患に固有の小胞、または喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

【0554】

喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患特異的なバイオマーカーはまた、喘息疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患特異的なバイオマーカーを検出する

ために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0555】

狼瘡

本発明はまた、狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、狼瘡疾患に固有の小胞、または狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

10

【0556】

狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患特異的なバイオマーカーはまた、狼瘡疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0557】

インフルエンザ

本発明はまた、インフルエンザ疾患について図1に列記されるような、1つ以上のインフルエンザ疾患特異的なバイオマーカーを含む単離された小胞も本提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、インフルエンザ疾患について図1に列記されるような、1つ以上のインフルエンザ疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、インフルエンザ疾患に固有の小胞、またはインフルエンザ疾患について図1に列記されるような、1つ以上のインフルエンザ疾患特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

20

【0558】

インフルエンザ疾患について図1に列記されるような、1つ以上のインフルエンザ疾患特異的なバイオマーカーはまた、インフルエンザ疾患を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、インフルエンザ疾患について図1に列記されるような、1つ以上のインフルエンザ疾患特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

30

【0559】

甲状腺癌

本発明はまた、甲状腺乳頭癌の特徴を示す、AKAP9-BRAF、CCDC6-RET、ERC1-RET、GOLGA5-RET、HOOK3-RET、HRH4-RET、KTN1-RET、NCOA4-RET、PCM1-RET、PRKARA1A-RET、RFG-RET、RFG9-RET、Ria-RET、TGF-NTRK1、TPM3-NTRK1、TPM3-TPR、TPR-MET、TPR-NTRK1、TRIM24-RET、TRIM27-RET、もしくはTRIM33-RET等、または、濾胞性甲状腺癌の特徴を示す、PAX8-PPAR γ 等の、1つ以上の甲状腺癌特異的なバイオマーカーを含む、単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、甲状腺癌について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌特異的なバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、甲状腺癌に固有の小胞、または甲状腺癌について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌特異的なバイオマーカーを含む小胞について、実質的に均質である。

40

【0560】

甲状腺癌について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌特異的なバイオマーカーはまた、甲状腺癌を特徴決定するために、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の、甲状腺癌

50

について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0561】

遺伝子融合

小胞の評価した1つ以上のバイオマーカーは、図59に列記される1つ以上のもののような遺伝子融合であり得る。融合遺伝子は、2つの以前は別個の遺伝子の並列によって作製されるハイブリッド遺伝子である。これは、染色体転座もしくは逆位、欠失によって、またはトランススプライシングを介して生じ得る。結果として得られる融合遺伝子は、細胞増殖因子、血管新生因子、腫瘍プロモーター、または細胞の悪性形質転換および腫瘍の生成の一因となる他の因子の異常発現をもたらす等の、遺伝子の異常な時間的および空間的発現を引き起こし得る。このような融合遺伝子は、1) 細胞増殖因子、腫瘍プロモーター、または遺伝子発現の増加をもたらす発癌性を促進する他の遺伝子のコード領域に隣接した1つの遺伝子の強力なプロモーター領域の並列のため、または2) 2つの異なる遺伝子のコード領域の融合によりキメラ遺伝子、ひいては異常な活性があるキメラタンパク質が生じるため、発癌性であり得る。

【0562】

融合遺伝子の一例は、慢性骨髄性白血病（CML）の約90%および急性白血病のサブセットにおける特徴的分子異常である、BCR-ABLである（Kurzrock et al., *Annals of Internal Medicine* 2003;138(10):819-830）。BCR-ABLは、染色体9番と22番の間の転座に起因する。転座は、BCR遺伝子の5'領域およびABL1の3'領域を接合し、キメラBCR-ABL1遺伝子を生じ、これは、構造的に活性なチロシンキナーゼ活性を有するタンパク質をコードする（Mittleman et al., *Nature Reviews Cancer* 2007;7(4):233-245）。異常なチロシンキナーゼ活性は、脱調節された細胞シグナリング、細胞増殖および細胞生存、アポトーシス抵抗性および増殖因子非依存性をもたらし、これらの全ては、白血病の病態生理の一因となる（Kurzrock et al., *Annals of Internal Medicine* 2003;138(10):819-830）。

【0563】

別の融合遺伝子は、バーキットリンパ腫の約80%を決定付ける特徴である、IGH-MYCである（Ferry et al. *Oncologist* 2006; 11(4):375-83）。この原因となる事象は染色体8番と14番の転座であり、免疫グロブリン重鎖遺伝子の強力なプロモーターに隣接してc-Mycの発癌遺伝子をもたらし、c-myc過剰発現を引き起こす（Mittleman et al., *Nature Reviews Cancer* 2007;7(4):233-245）。c-myc転位は、永続的に増殖性の状態をもたらす場合、リンパ腫発生において重要な事象である。それは、細胞周期、細胞分化、アポトーシス、および細胞粘着を通して、進行において広範な影響を有する（Ferry et al. *Oncologist* 2006;11(4):375-83）。

【0564】

多くの再発融合遺伝子は、Mittlemanデータベース（cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mittleman）にカタログ化されており、小胞中で評価され、表現型を特徴決定するために使用することができる。遺伝子融合は、血液悪性腫瘍または上皮腫瘍を特徴決定するために使用することができる。例えば、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV、およびSLC45A3-ELK4融合を検出し、前立腺癌を特徴決定するために使用することができ、乳癌については、ETV6-NTRK3およびODZ4-NRG1を検出することができる。

【0565】

融合遺伝子の存在もしくは不在、または発現レベルを評価することを、癌等の表現型の診断、および、治療の選択に対する治療反応のモニタリングに使用することができる。例えば、BCR-ABL融合遺伝子の存在は、CMLの診断のための特徴であるだけでなく、CMLの治療のための、受容体チロシンキナーゼ阻害剤である薬物メシル酸イマチニブ（グリベック、Novartis社）の標的でもある。イマチニブ療法は、分子反応（BCR-ABLの消失+血液細胞）をもたらし、BCR-ABL+CML患者において無増悪生存率を向上している（Kantarjian et al., *Clinical Cancer Research* 2007;13(4):1089-1097）。

【0566】

10

20

30

40

50

一部の態様において、小胞の不均一集団が、遺伝子融合の有無、または発現レベルについて評価される。他の態様において、評価される小胞は、本明細書に記載のような起始細胞特異的小胞などの特定の細胞型に由来する。バイオシグネチャーの作成において役割を果たし得る例示的な融合タンパク質を以下で概説する。当業者であれば、今までに特定されていなかった融合を含む、さらなる融合の存在が関心対象の小胞、例えば、ある特定の疾患に関連する小胞と相関付けられたら、今までに特定されていなかった融合を含む、さらなる融合を用いてバイオシグネチャーを作り出すことができることを理解するであろう。

【0567】

乳癌

乳癌を特徴決定するために、ETV6-NTRK3が挙げられるが、これに限定されない、1つ以上の乳癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、乳癌細胞に由来し得る。

【0568】

肺癌

肺癌を特徴決定するために、RLF-MYCL1、TGF-ALK、またはCD74-ROS1が挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上の肺癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、肺癌細胞に由来し得る。

【0569】

前立腺癌

前立腺癌を特徴決定するために、ACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5、またはKLK2-ETV4が挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上の前立腺癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、前立腺癌細胞に由来し得る。

【0570】

脳癌

脳癌を特徴決定するために、GOPC-ROS1が挙げられるが、これに限定されない、1つ以上の脳癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、脳癌細胞に由来し得る。

【0571】

頭頸部癌

頭頸部癌を特徴決定するために、CHCHD7-PLAG1、CTNNB1-PLAG1、FHIT-HMGA2、HMGA2-NF1B、LIFR-PLAG1、またはTCEA1-PLAG1が挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上の頭頸部癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、頭頸部癌細胞に由来し得る。

【0572】

腎細胞癌 (RCC)

RCCを特徴決定するために、ALPHA-TFEB、NONO-TFE3、PRCC-TFE3、SFPQ-TFE3、CLTC-TFE3、またはMALAT1-TFEBが挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上のRCCに固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、RCC細胞に由来し得る。

【0573】

甲状腺癌

甲状腺癌を特徴決定するために、甲状腺乳頭癌の特徴を示す、AKAP9-BRAF、CCDC6-RET、ERC1-RETM、GOLGA5-RET、HOOK3-RET、HRH4-RET、KTN1-RET、NCOA4-RET、PCM1-RET、PRKARA1A-RET、RFG-RET、RFG9-RET、Ria-RET、TGF-NTRK1、TPM3-NTRK1、TPM3-TPR、TPR-MET、TPR-NTRK1、TRIM24-RET、TRIM27-RET、もしくはTRIM33-RET、または濾胞性甲状腺癌の特徴を示す、PAX8-PPAR γ が挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上の甲状腺癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、甲状腺癌細胞に由来し得る。

10

20

30

40

50

【0574】

血液癌

血液癌を特徴決定するために、急性リンパ性白血病（ALL）の特徴を示す、TTL-ETV6、CDK6-MLL、CDK6-TLX3、ETV6-FLT3、ETV6-RUNX1、ETV6-TTL、MLL-AFF1、MLL-AFF3、MLL-AFF4、MLL-GAS7、TCBA1-ETV6、TCF3-PBX1、もしくはTCF3-TFPT；T細胞急性リンパ性白血病（T-ALL）の特徴を示す、BCL11B-TLX3、IL2-TNFRFS17、NUP214-ABL1、NUP98-CCDC28A、TAL1-STIL、もしくはETV6-ABL2；未分化大細胞リンパ腫（ALCL）の特徴を示す、ATIC-ALK、KIAA1618-ALK、MSN-ALK、MYH9-ALK、NPM1-ALK、TGF-ALK、もしくはTPM3-ALK；慢性骨髄性白血病（CML）の特徴を示す、BCR-ABL1、BCR-JAK2、ETV6-EVI1、ETV6-MN1、もしくはETV6-TCBA1；AMLの特徴を示す、CBFB-MYH11、CHIC2-ETV6、ETV6-ABL1、ETV6-ABL2、ETV6-ARNT、ETV6-CDX2、ETV6-HLXB9、ETV6-PER1、MEF2D-DAZAP1、AML-AFF1、MLL-ARHGAP26、MLL-ARHGEF12、MLL-CASC5、MLL-CBL、MLL-CREBBP、MLL-DAB21P、MLL-ELL、MLL-EP300、MLL-EPS15、MLL-FNBP1、MLL-FOXO3A、MLL-GMPS、MLL-GPHN、MLL-MLLT1、MLL-MLLT11、MLL-MLLT3、MLL-MLLT6、MLL-MYO1F、MLL-PICALM、MLL-SEPT2、MLL-SEPT6、MLL-SORBS2、MYST3-SORBS2、MYST-CREBBP、NPM1-MLF1、NUP98-HOXA13、PRDM16-EVI1、RABEP1-PDGFRB、RUNX1-EVI1、RUNX1-MDS1、RUNX1-RPL22、RUNX1-RUNX1T1、RUNX1-SH3D19、RUNX1-USP42、RUNX1-YTHDF2、RUNX1-ZNF687、もしくはTAF15-ZNF-384；慢性リンパ球性白血病（CLL）の特徴を示す、CCND1-FSTL3；B細胞慢性リンパ球性白血病（B-CLL）の特徴を示す、BCL3-MYC、MYC-BTG1、BCL7A-MYC、BRWD3-ARHGAP20、もしくはBTG1-MYC；びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）の特徴を示す、CITTA-BCL6、CLTC-ALK、IL21R-BCL6、PIM1-BCL6、TFCR-BCL6、IKZF1-BCL6、もしくはSEC31A-ALK；過好酸球増加症／慢性好酸球性白血病の特徴を示す、FLIP1-PDGFRB、FLT3-ETV6、KIAA1509-PDGFRB、PDE4DIP-PDGFRB、NIN-PDGFRB、TP53BP1-PDGFRB、もしくはTPM3-PDGFRB；パーキットリンパ腫の特徴を示す、IGH-MYC、もしくはLCP1-BCL6が挙げられるが、これらに限定されない、1つ以上の血液癌に固有の融合について、小胞を評価することができる。該小胞は、血液癌細胞に由来し得る。

10

20

【0575】

本発明はまた、図59に列記されるような、本明細書に開示される、1つ以上の遺伝子融合を含む単離された小胞も提供する。単離された小胞を含む組成物も提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、図59に列記されるような、1つ以上の遺伝子融合を含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、図59に列記されるような、1つ以上の関心対象の遺伝子融合を含む小胞について、実質的に均質である。

30

【0576】

また、図59に列記される1つ以上の遺伝子融合を検出するための検出システムも本明細書に提供される。例えば、検出システムは、関心対象の1つ以上の遺伝子融合を検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。1つ以上の遺伝子融合の検出を使用して、本発明に記載の表現型を特徴決定することができる。いくつかの態様において、遺伝子融合に対応するmRNAは、小胞のペイロード中に見出される。いくつかの態様において、融合遺伝子産物、例えばタンパク質融合が検出される。

40

【0577】

遺伝子に関連したバイオマーカー

本発明の方法に従って評価される1つ以上のバイオマーカーはまた、PFKFB3、RHAMM（HMMR）、cDNA FLJ42103、ASPM、CENPF、NCAPG、アンドロゲン受容体、EGFR、HSP90、SPARC、DNMT3B、GART、MGMT、SSTR3、およびTOP2Bからなる群より選択される1つ以上の遺伝子を含むこともできる。1つ以上の遺伝子と相互作用するマイクロRNAはまた、バイオマーカーであり得る（例えば、図60を参照のこと）。いくつかの態様において、1つ以上のバイオマーカーを使用して、疾患、例えば前立腺癌などの癌を特徴決定する。

【0578】

本発明はまた、PFKFB3、RHAMM（HMMR）、cDNA FLJ42103、ASPM、CENPF、NCAPG、アンドロゲン受容体、EGFR、HSP90、SPARC、DNMT3B、GART、MGMT、SSTR3、およびTOP2Bからな

50

る群より選択される1つ以上のバイオマーカー、またはこれらのバイオマーカーと相互作用するマイクロRNAを含む単離された小胞も提供する（例えば、図60を参照のこと）。いくつかの態様において、本発明は、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、PFKFB3、RHAMM（HMMR）、cDNA FLJ42103、ASPM、CENPF、NCAPG、アンドロゲン受容体、EGFR、HSP90、SPARC、DNMT3B、GART、MGMT、SSTR3、および／またはTOP2Bからなる1つ以上のバイオマーカー、または図60に列記される、1つ以上の遺伝子と相互作用するマイクロRNAを含む、小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、PFKFB3、RHAMM（HMMR）、cDNA FLJ42103、ASPM、CENPF、NCAPG、アンドロゲン受容体、EGFR、HSP90、SPARC、DNMT3B、GART、MGMT、SSTR3、およびTOP2Bからなる1つ以上のバイオマーカー、または図60に列記されるような、1つ以上の遺伝子と相互作用するマイクロRNAを含む小胞について、実質的に均質である。

10

【0579】

図60に列記されるような、1つ以上の前立腺癌特異的なバイオマーカーはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞の図60に列記されるような、1つ以上の前立腺癌特異的なバイオマーカーを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0580】

一部の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、TBP; ILT.2; ABCC5; CD18; GATA3; DICER1; MSH3; GBP1; IRS1; CD3z; fas1; TUBB; BAD; ERCC1; MCM6; PR; APC; GGPS1; KRT18; ESRRG; E2F1; AKT2; A. カテニン; CEGP1; NP009; MAPK14; RUNX1; ID2; G. カテニン; FBX05; FHIT; MTA1; ERBB4; FUS; BBC3; IGF1R; CD9; TP53BP1; MUC1; IGFBP5; rhoC; RALBP1; CD C20; STAT3; ERK1; HLA.DPB1; SGCB; CGA; DHPS; MGMT; CRTP2; MMP12; ErbB3; RAP1GDS1; CDC25B; IL6; CCND1; CYBA; PRKCD; DR4; ヘプシン; CRABP1; AK055699; コンティグ.51037; VCAM1; FYN; GRB7; AKAP.2; RASSF1; MCP1; ZNF38; MCM2; GBP2; SEMA3F; CD31; COL1A1; ER2; BAG1; AKT1; COL1A2; STAT1; Wnt.5a; PTPD1; RAB6C; TK1; ErbB2; CCNB1; BIRC5; STK6; MKI67; MYBL2; MMP11; CTSL2; CD68; GSTM1; BCL2; ESR1、またはこれらの組み合わせである。バイオマーカーは、RNAレベルまたは転写物または他の遺伝子発現産物、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2005100606号に記載のものでよい。

20

【0581】

1つの態様において、ILT.2; CD18; GBP1; CD3z; fas1; MCM6; E2F1; ID2; FBX05; CDC20; HLA.DPB1; CGA; MMP12; CDC25B; IL6; CYBA; DR4; CRABP1; コンティグ.51037; VCAM1; FYN; GRB7; AKAP.2; RASSF1; MCP1; MCM2; GBP2; CD31; ER2; STAT1; TK1; ERBB2; CCNB1; BIRC5; STK6; MKI67; MYBL2; MMP11; CTSL2; CD68、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の高発現の全てのユニットについて、対象は化学療法に応答する可能性が高いと予測される。

30

【0582】

別の態様において、TBP; ABCC5; GATA3; DICER1; MSH3; IRS1; TUBB; BAD; ERCC1; PR; APC; GGPS1; KRT18; ESRRG; AKT2; A. カテニン; CEGP1; NP009; MAPK14; RUNX1; G. カテニン; FHIT; MTA1; ErbB4; FUS; BBC3; IGF1R; CD9; TP53BP1; MUC1; IGFBP5; rhoC; RALBP1; STAT3; ERK1; SGCB; DHPS; MGMT; CRIP2; ErbB3; RAP1GDS1; CCND1; PRKCD; ヘプシン; AK055699; ZNF38; SEMA3F; COL1A1; BAG1; AKT1; COL1A2; Wnt.5a; PTPD1; RAB6C; GSTM1; BCL2; ESR1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の高発現の全てのユニットについて、対象は化学療法に応答する可能性が低いと予測される。

40

【0583】

一部の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、Bカテニン; BAG1; BIN1; BUB1; C20_orf1; CCNB1; CCNE2; CDC20; CDH1; CEGP1; CIAP1; cMYC; CTSL2; DKFZp586M07; DR5; EpCAM; EstR1; FOXM1; GRB7; GSTM1; GSTM3; HER2; HNRPA; ID1; IGF1R; ITGA7; Ki_67; KNSL2; LMNB1; MCM2; MELK; MMP12; MMP9; MYBL2; NEK2; NME1; NP009; PCNA; PR; PREP; PTTG1; RPLP0; Src; STK15; STMY3; SURV; TFRG; TOP2A; TS、またはこれらの組み合わせである。バイオマーカーは、RNAレベルまたは転写物または他の遺伝子発現産

50

物、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2005039382号に記載のものでよい。

【0584】

1つの態様において、BUB1、C20orf1、CCNB1、CCNE2、CDC20、CDH1、CTSL2、EpCAM、FOX M1、GRB7、HER2、HNRPAB、Ka67、KNSL2、LMNB1、MCM2、MELK、MMP12、MMP9、MYBL2、NEK2、NME1、PCNA、PREP、PTTG1、Src、STK15、STMY3、SURV、TFRC、TOP2A、TS、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の発現は、癌の再発なく長期生存する可能性が低いことを示す。別の態様において、BUB1、C20orf1、CCNB1、CCNE2、CDC20、CDH1、CTSL2、EpCAM、FOX M1、GRB7、HER2、HNRPAB、Ka67、KNSL2、LMNB1、MCM2、MELK、MMP12、MMP9、MYBL2、NEK2、NME1、PCNA、PREP、PTTG1、Src、STK15、STMY3、SURV、TFRC、TOP2A、TS、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の発現は、癌の再発なく長期生存する可能性が低いことを示す。さらに別の態様において、BAG1、Bカテニン、BIN1、CEGP1、CIAP1、cMYC、DKFZp586M07、DR5、EstR1、GSTM1、GSTM3、ID1、IGF1R、ITGA7、NPD009、PR、RPLPO、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の発現は、癌の再発なく長期生存する可能性が高いことを示す。一部の態様において、癌は乳癌である。

10

【0585】

一部の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、p53BP2、カテプシンB、カテプシンL₅Ki67/MiB1、チミジンキナーゼ、またはこれらの組み合わせである。1つの態様において、1種または複数種のバイオマーカーは対照遺伝子に対して基準化され、参照癌組織セットにおいて見出された量と比較される。ここで、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2003078662号に記載されるように、(a)p53BP2の発現レベルが下側第10百分位数にあれば、または(b)カテプシンBもしくはカテプシンLの発現レベルが上側第10百分位数にあれば、または(c)Ki67/MiB1もしくはチミジンキナーゼの発現レベルが上側第10百分位数にあれば、不良なアウトカムが予測される。一部の態様において、不良なアウトカムは、生存期間の短縮または癌再発リスクの増大について測定された時の臨床アウトカムである。別の態様において、不良な臨床アウトカムは、癌の外科切除後の生存期間の短縮または癌再発リスクの増大について測定される。

20

【0586】

一部の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、Bcl2、肝細胞核内因子3、ER、ErbB2、またはGrb7である。1つの態様において、1種または複数種のバイオマーカー(例えば、RNAまたはその発現産物)は対照遺伝子に対して基準化され、参照癌組織セットにおいて見出された量と比較される。ここで、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2003078662号に記載のように、(i)参照組織セットにおける平均発現レベルを上回って、Bcl2、肝細胞核内因子3、およびER、またはその発現産物の少なくとも1つを発現する腫瘍は、治療後の無病生存率および全患者生存率について良好な予後を有すると分類される;ならびに(ii)参照組織セットにおける平均発現レベルの10倍以上のレベルで、高レベルのErbB2およびGrb7またはその発現産物を発現する腫瘍は、治療後の無病生存率および全患者生存率について不良な予後を有すると分類される。

30

40

【0587】

別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、FOX M1、PRAME、Bcl2、STK15、CEGP1、Ki67、GSTM1、CA9、PR、BBC3、NME1、SURV、GATA3、TFRC、YB-I、DPYD、GSTM3、RPS6KB1、Src、Chk1、ID1、EstR1、p27、CCNB1、XIAP、Chk2、CDC25B、IGF1R、AK055699、P13KC2A、TGFB3、BAG1、CYP3A4、EpCAM、VEGFC、pS2、hENT1、W1SP1、HNF3A、NFKBp65、BRCA2、EGFR、TK1、VDR、コンティグ51037、pENT1、EPHX1、IF1A、DIABLO、CDH1、HIF1 α 、IGFBP3、CTSB、Her2、またはこれらの組み合わせである。1つの態様において、FOX M1、PRAME、STK15、Ki-67、CA9、NME1、SURV、TFRC、YB-I、RPS6KB1、Src、Chk1、CCNB1、Chk2、CDC25B、CYP3A4、EpCAM、VEGFC、hENT1、BRCA2、EGFR、TK1、VDR、EPHX1、IF1A、コンティグ51037、CDH1、HIF1 α 、IGFBP3、CTSB、Her2、pENT1、またはこれらの組み合わ

50

せのうち1つまたは複数の過剰発現は、乳癌の再発なく長期生存する可能性が低いことを示す。別の態様において、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2003078662号に記載のように、Bcl2、CEGP1、GSTM1、PR、BBC3、GATA3、DPYD、GSTM3、ID1、EstR1、p27、XIAP、IGF1R、AK055699、P13KC2A、TGFB3、BAG1、pS2、WISP1、HNF3A、NFKBp65、DIABLO、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の過剰発現は、乳癌の再発なく長期生存する可能性が高いことを示す。

【0588】

別の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、ABCC1, ABCC5,

ABCD1, ACTB, ACTR2, AKT1, AKT2, APC, APOC1, APOE, APRT, BAK1, BAX, BBC3, BCL2 .mu.l, BCL2L13, BID, BUB1, BUB3, CAPZA1, CCT3, CD14, CDC25B, CDCA8, CHEK2, CHFR, CSNK1D, CST7, CXCR4, DDR1, DICER1, DUSP1, ECGF1, EIF4E2, ERBB4, ESR1, FAS, GADD45B, GATA3, GCLC, GDF15, GNS, HDAC6, HSPA1A, HSPA1B, HSPA9B, IL7, ILK, LAPTM4B, LILRB1, LIMK2, MAD2L1BP, MAP2K3, MAPK3, MAPRE1, MCL1, MRE11A, NEK2, NFKB1, NME6, NTSR2, PLAU, PLD3, PPP2CA, PRDX1, PRKCH, RAD1, RASSF1, RCC1, REG1A, RELA, RHOA, RHOB, RPN2, RXRA, SHC1, SIRT1, SLC1A3, SLC35B1, SRC, STK10, STMN1, TBCC, TBCD, TNFRSF10A, TOP3B, TSPAN4, TUBA3, TUBA6, TUBB, TUBB2C, UFM1, VEGF, VEGFB, VHL, ZW10, ZWILCH

10

、またはこれらの組み合わせ、例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開US20090311702に記載のようなホルモン受容体(HR)陽性癌患者のバイオマーカーである。

20

【0589】

1つの態様において、発現レベルは、ホルモン受容体(HR)陽性癌患者に対するタキサンを含む治療に対する有益な応答の可能性を判定するために用いられる。ここで、DDR1,

EIF4E2, TBCC, STK10, ZW10, BBC3, BAX, BAK1, TSPAN4, SLC1A3, SHC1, CHFR, RHOB, TUBA6, BCL2L13, MAPRE1, GADD45B, HSPA1B, FAS, TUBB, HSPA1A, MCL1, CCT3, VEGF, TUBB2C, AKT1, MAD2L1BP, RPN2, RHOA, MAP2K3, BID, APOE, ESR1, ILK, NTSR2, TOP3B, PLD3, DICER1, VHL, GCLC, RAD1, GATA3, CXCR4, NME6, UFM1, BUB3, CD14, MRE11A, CST7, APOC1, GNS, ABCC5, AKT2, APRT, PLAU, RCC1, CAPZA1, RELA, NFKB1, RASSF1, BCL2L11, CSNK1D, SRC, LIMK2, SIRT1, RXRA, ABCD1, MAPK3, DUSP1, ABCC1, PRKCH, PRDX1, TUBA3, VEGFB, LILRB1, LAPTM4B, HSPA9B, ECGF1, GDF15, ACTR2, IL7, HDAC6, CHEK2, REG1A, APC, SLC35B1, ACTB, PPP2CA, TNFRSF10A, TBCD, ERBB4, CDC25B, STMN1

30

、またはこれらの組み合わせの発現は、タキサンを含む治療に対する有益な応答の可能性の増加と正に相関する。別の態様において、CDCA8、ZWILCH、NEK2、BUB1、またはこれらの組み合わせの発現は、タキサンを含む治療に対する有益な応答の可能性の増加と負に相関する。

40

【0590】

別の態様において、ホルモン受容体(HR)陽性癌患者の癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、

ABCA9, ABCC1, ABCC10, ABCC3, ABCD1, ACTB, ACTR2, ACTR3, AKT1, AKT2, APC, APEX1, APOC1, APOE, APRT, BAD, BAK1, BAX, BBC3, BCL2, BCL2L1, BCL2L11, BCL2L13, BID, BIRC3, BIRC4, BUB3, CAPZA1, CCT3, CD14, CD247, CD63, CD68, CDC25B, CHEK2, CHFR, CHGA, COL1A1, COL6A3, CRABP1, CSNK1D, CST7, CTSD, CXCR4, CYBA, CYP1B1, DDR1, DIABLO, DICER1, DUSP1, ECGF1, EIF4E2, ELP3, ERBB4, ERCC1, ESR1, FAS, FLAD1, FOS, FOXA1, FUS, FYN, GADD45B, GATA3, GBP1, GBP2, GCLC, GGPS1, GNS, GPX1, HDAC6, HRAS, HSPA1A, HSPA1B, HSPA5, HSPA9B, IGFBP2, IL2RA, IL7, ILK, KDR, KNS2, LAPTM4B, LILRB1, LIMK1, LIMK2, MAD1L1, MAD2L1BP, MAD2L2, MAP2K3, MAP4, MAPK14, MAPK3, MAPRE1, MCL1, MGC52057, MGMT, MMP11, MRE11A, MSH3, NFKB1, NME6, NPC2, NTSR2, PDGFRB, PECAM1, PIK3C2A, PLAUI, PLD3, PMS1, PPP2CA, PRDX1, PRKCD, PRKCH, PTEN, PTPN21, RAB6C, RAD1, RASSF1, RB1, RBM17, RCC1, REG1A, RELA, RHOA, RHOB, RHOC, RPN2, RXRA, RXRB, SEC61A1, SGK, SHC1, SIRT1, SLC1A3, SLC35B1, SOD1, SRC, STAT1, STAT3, STK10, STK11, STMN1, TBCC, TBCE, TFF1, TNFRSF10A, TNFRSF10B, TOP3B, TP53BP1, TSPAN4, TUBA3, TUBA6, TUBB, TUBB2C, TUBD1, UFM1, VEGF, VEGFB, VEGFC, VHL, XIST, ZW10, WILCH

10

、またはこれらの組み合わせである。

【 0 5 9 1 】

1つの態様において、バイオマーカーの1つまたは複数は、
 DDR1, ZW10, RELA, BAX, RHOB, TSPAN4, BBC3, SHC1, CAPZA1, STK10, TBCC, EIF4E2, MCL1, RASSF1, VEGF, SLC1A3, DICER1, ILK, FAS, RAB6C, ESR1, MRE11A, APOE, BAK1, UFM1, AKT2, SIRT1, BCL2L13, ACTR2, LIMK2, HDAC6, RPN2, PLD3, RHOA, MAPK14, ECGF1, MAPRE1, HSPA1B, GATA3, PPP2CA, ABCD1, MAD2L1BP, VHL, GCLC, ACTB, BCL2L11, PRDX1, LILRB1, GNS, CHFR, CD68, LIMK1, GADD45B, VEGFB, APRT, MAP2K3, MGC52057, MAPK3, APC, RAD1, COL6A3, RXRB, CCT3, ABCC3, GPX1, TUBB2C, HSPA1A, AKT1, TUBA6, TOP3B, CSNK1D, SOD1, BUB3, MAP4, NFKB1, SEC61A1, MAD1L1, PRKCH, RXRA, PLAUI, CD63, CD14, RHOC, STAT1, NPC2, NME6, PDGFRB, MGMT1, GBP1, ERCC1, RCC1, FUS, TUBA3, CHEK2, APOC1, ABCC10, SRC, TUBB, FLAD1, MAD2L2, LAPTM4B, REG1A, PRKCD, CST7, IGFBP2, FYN, KDR, STMN1, RBM17, TP53BP1, CD247, ABCA9, NTSR2, FOS, TNFRSF10A, MSH3, PTEN, GBP2, STK11, ERBB4, TFF1, ABCC1, IL7, CDC25B, TUBD1, BIRC4, ACTR3, SLC35B1, COL1A1, FOXA1, DUSP1, CXCR4, IL2RA, GGPS1, KNS2, RB1, BCL2L1, XIST, BIRC3, BID, BCL2, STAT3, PECAM1, DIABLO, CYBA, TBCE, CYP1B1, APEX1, TBCE, HRAS, TNFRSF10B, ELP3, PIK3C2A, HSPA5, VEGFC, MMP11, SGK, CTSD, BAD, PTPN21, HSPA9B, PMS1

20

30

、またはこれらの組み合わせからなる群より選択され、タキサンを含む治療に対する有益な応答の可能性の増加と正に相関する。別の態様において、CHGA、ZWILCH、CRABP1、またはこれらの組み合わせの発現は、タキサンを含む治療に対する有益な応答の可能性の増加と負に相関する。

40

【 0 5 9 2 】

別の態様において、肺癌などの肺障害を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開US20090061454に記載のように、

CYP1B1, AKR1B10, CYP1B1, CYP1A1, CYP1B1, CEACAM5, ALDH3A1, SLC7A11, AKR1C2,
 NQO1, NQO1, GPX2, MUC5AC, AKR1C2, MUC5AC, AKR1C1, CLDN10, AKR1C3, NQO1, SLC7A11,
 HGD//LOC642252, AKR1C1, PIR, CYP4F11, TCN1, TM4SF1, KRT14, ME1, CBR1, ADH7, SPDEF, ME1,
 CXCL14, SRPX2, UPK1B, TRIM16, TRIM16L, LOC653524, KLF4, TXN, TKT, DEFB1, CSTA, CEACAM6,
 TALDO1, CA12, GCLM, PGD, TXNRD1, CEACAM6, GCLC, GPC1, TFF1, CABYR, CA12, UPK1B,
 GALNT6, TKT, TSPAN8, UGT1A10, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A6, UGT1A, SPDEF, MSMB, ANXA3,
 MUC5AC, CTGF, IDS, CA12, FTH1, HN1, DPYSL3, GMDS, UGT1A10, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A6,
 UGT1A, ABHD2, GCLC, GALNT7, MSMB, HTATIP2, UGT1A10, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A6, UGT1A,
 S100A10, DAZ1, DAZ3, DAZ2, DAZ4, IDS, PRDX1, CYP4F3, UGT1A10, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A6,
 UGT1A, AGR2, S100P, NDUFA7, MAFG, ZNF323, AP2B1, UGT1A6, NKX3-1, SEPX1, CTSC, GCNT3,
 GULP1, LOC283677, SMPDL3A, SLC35A3, WBP5, TARS, EIF2AK3, C11orf32, GALNT12, VPS13D,
 BCL2L13, IMPA2, GMDS, AZGP1, PLCE1, FOLH1, NUDT4, NUDT4P1, TAGLN2, GNE, TSPAN13,
 GALNT3, HMGN4, SCP2, PLA2G10, GULP1, DIAPH2, RAP1GAP, FTH1, LYPLA1, CREB3L1, AKR1B1,
 RAB2, SCGB2A1, KIAA0367, ABCC1, TPARL, ABHD2, TSPAN1, DHRS3, ABCC1, FKBP11, TTC9,
 GSTM3, S100A14, SLC35A1, ENTPD4, P4HB, AGTPBP1, NADK, B4GALT5, CCPG1, PTP4A1, DSG2,
 CCNG2, CPNE3, SEC31L1, SLC3A2, ARPC3, CDC14B, SLC17A5, H1ST1H2AC, CBLB, H1ST1H2BK,
 TOM1L1, TIMP1, ABCB6, GFPT1, TIAM1, SORL1, PAM, NADK, RND3, XPOT, SERINC5, GSN,
 HIGD1A, PDIA3, C3orf14, PRDX4, RAB7, GPR153, ARL1, IDS, GHITM, RGC32, TMED2, PTS, GTF3C1,
 IDH1, LAMP2, ACTL6A, RAB11A, COX5A, APLP2, PTK9, UBE2J1, TACSTD2, PSMD14, PDIA4,
 MTMR6, FA2H, NUDT4, TBC1D16, PIGP, CCDC28A, AACS, CHP, TJP2, EFHD2, KATNB1, SPA17,
 TPBG, GALNT1, HSP90B1, TMED10, SOD1, BECN1, C14orf1, COPB2, TXNDC5, SSR4, TLE1, TXNL1,
 LRRC8D, PSMB5, SQSTM1, ETHE1, RPN2, TIPARP, CAP1, LOC92482, FKBP1A, EDEM1, CANX,
 TMEM59, GUK1, LOC57228, SPINT2, C20orf111, ECOP, JTB, REXO2, UFDIL, DDX17, SSH3, TRIOBP,
 GGA1, FAM53C, PPP3CC, SFRS14, ACTN1, SPEN, CYP2J2, TLE2, ProSAPiP1, PFTK1, PCDH7, FLNB,
 SIX2, CD81, ZNF331, AMACR, GNB5, CUGBP1, EDD1, TLR5, MGLL, CHST4, SERPINI2, PPAP2B,
 BCL11A, STEAP3, SYNGR1, CRYM, RUTBC1, PARVA, NFIB, TCF7L1, MAGI2, CCDC81, COL9A2,
 CNKSR1, NCOR2, INHBB, PEX14, TSPAN9, RAB6B, GSTM5, FLJ10159, TNS1, MT2A, TNFSF13,
 TNFSF12-TNFSF13, I-Mar, ELF5, JAG2, FLJ23191, PHGDH, CYP2F1, TNS3, GAS6, CD302, PTPRM,
 CCND1, TNFSF13, TNFSF12-TNFSF13, ADCY2, CCND2, MT1X, SNED1, SFRS14, ANXA6, HNMT, AK1,
 EPOR, EPAS1, PDE8B, CYFIP2, SLIT1, ACCN2, KAL1, MTIE, MTIF, HLF, SITPEC, JAG2, HSPA2,
 LOC650610, KRT15, SORD, ITM2A, PEC1, HPGD, CKB, HLF, CYP2A6, CYP2A7, CYP2A7P1, CYP2A13,
 C14orf132, MT1G, FGFR3, PROS1, FAM107A, MT1X, FXDY1, MTIF, CX3CL1, CX3CL1, CYP2A6, HLF,
 SLIT2, BCAM, FMO2, MT1H, FLRT3, PRG2, TMEM45A, MMP10, C3, LOC653879, CYP2W1, FABP6,
 SCGB1A1, MUC5B, LOC649768, FAM107A, SEC14L3, 210524_x_at, 213169_at, 212126_at, 43511_s_at,
 213891_s_at, 212233_at, 217626_at, AACS, ABHD2, ADCY2, ADH7, ALDH3A1, AP2B1, APLP2, ARHE,
 ARL1, ARPC3, ASM3A, AZGP1, C14orf1, C1orf8, CANX, CAP1, CCND2, CCNG2, CEACAM5,

10

20

30

40

CEACAM6, CHP, CLDN10, COX5A, CPNE3, CPR8, CTSC, CYP1A1, CYP2F1, CYP4F11, CYP4F3, DAZ4, DCL-1, DKFZP434J214, DPYSL3, ERP70, FKBP11, FKBP1A, FLJ13052, FOLH1, FTH1, GALNT1, GALNT12, GALNT3, GALNT7, GCLM, GCNT3, GFPT1, GMDS, GNE, GRP58, GSN, HGD, H1ST1H2BK, HMGN4, HTATIP2, IDS, IMPA2, JTB, KATNB1, KDELR3, KIAA0227, KIAA0367, KIAA0905, KLF4, LAMP2, LOC92689, LRRC5, ME1, MSMB, MTIG, MUC5B, NKX3-1, NQO1, NUDT4, OASIS, P4HB, PDEF, PIR, PLA2G10, PPP3CC, PRDX4, RAB11A, RAB2, RAP1GA1, RGC32, RNP24, S100A10, SCGB2A1, SDR1, SEPX1, SLC17A5, SLC35A1, SLC7A11, TACSTD2, TAGLN2, TCN1, TIMP1, TKT, TM4SF13, TM4SF3, TMP21, TXNDC5, UBE2J1, UGT1A10, UPK1B, CYP1B1, 203369_x_at, CD164, MUC16, MUC4, MUC5AC, CYP2A6, CYP2B7P1, CYP4B1, POR, CYP2F1, DNAI2, DYNLT1, DNALI1, DNAI1, DNAH9, DNAH7, DYNC112, DYNC1H1, DYNLL1, DYNLRB1, ESD, GSTM2, GSTM1, GSTK1, GSTA1, GPX4, GPX1, MGST2, GSTP1, GSS, GSTO1, KRT19, KRT7, KRT8, KRT18, KRT10, KRT10, KRT17, KRT5, KRT15, MAP1A, MAPRE1, EML2, MAST4, MACF1, ALDH3A1, ALDH1A1, ALDH3B1, ALDH3B1, ALDH3A2, ALDH1L1, ALDH9A1, ALDH2, K-ALPHA-1, TUBB3, TUBGCP2, TBCA, TUBB2A, TUBA4, TUBB2C, TUBA3, TUBA6, K-ALPHA-1, TUBB, TUBA6, TUBA1, TUBB, K-ALPHA-1, 76P, TUBB3, TUBB2C

10

、またはこれらの組み合わせである。

【0593】

20

別の態様において、乳癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーはBcl2である。ここで、Bcl2の過剰発現は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開US20070141589に記載のように、乳癌の再発なく長期生存する可能性が高いことを示す。1つの態様において、乳癌はエストロゲン受容体(ER)の過剰発現を特徴とする。別の態様において、乳癌は浸潤性乳癌である。さらに別の態様において、原発性腫瘍の外科切除を受けた対象の1種または複数種のバイオマーカーが評価される。

【0594】

別の態様において、乳癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、FOXO1、PRAME、STK15、CEGP1、Ki-67、GSTM1、CA9、PR、BBC3、NME1、SURV、GATA3、TFRC、YB-1、DPYD、GSTM3、RPS6KB1、Src、Chk1、ID1、EstR1、p27、CCNB1、XIAP、Chk2、CDC25B、IGF1R、AK055699、P13KC2A、TGFB3、BAG1、CYP3A4、EpCAM、VEGFC、pS2、hENT1、WISP1、HNF3A、NFKBp65、BRCA2、EGFR、TK1、VDR、コンティグ51037、pENT1、EPHX1、IF1A、DIABLO、CDH1、HIF1 α 、IGFBP3、CTSB、Her2、またはこれらの組み合わせである。1種または複数種の抗原CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、およびERBB4を用いて、乳癌を評価することができる。1つの態様において、FOXO1、PRAME、STK15、Ki-67、CA9、NME1、SURV、TFRC、YB-1、RPS6KB1、Src、Chk1、CCNB1、Chk2、CDC25B、CYP3A4、EpCAM、VEGFC、hENT1、BRCA2、EGFR、TK1、VDR、EPHX1、IF1A、コンティグ51037、CDH1、HIF1 α 、IGFBP3、CTSB、Her2、pENT1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の過剰発現は、乳癌の再発なく長期生存する可能性が低いことを示す。別の態様において、CEGP1、GSTM1、PR、BBC3、GATA3、DPYD、GSTM3、ID1、EstR1、p27、XIAP、IGF1R、AK055699、P13KC2A、TGFB3、BAG1、pS2、WISP1、HNF3A、NFKBp65、DIABLO、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数の過剰発現は、乳癌の再発なく長期生存する可能性が高いことを示す。1つの態様において、乳癌はエストロゲン受容体(ER)の過剰発現を特徴とする。別の態様において、乳癌は浸潤性乳癌である。さらに別の態様において、原発性腫瘍の外科切除を受けた対象の1種または複数種のバイオマーカーが評価される。

30

40

【0595】

別の態様において、乳癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニュ

50

ーロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、TNFR、またはこれらの組み合わせを含む。乳癌を特徴決定するために、例えば、診断、予後判定、もしくはセラノーシスを行うために、または癌を特定することによって、マーカーの発現レベルを評価することができる。1つの態様において、乳癌は浸潤性乳癌である。

10

【0596】

一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーの発現レベルを決定することから得られたデータは、例えば、コックス比例ハザードモデルを用いて統計解析に供される。

【0597】

別の態様において、肺癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられるEP特許公報番号EP2105511に記載のような、Satb1、Hspa9a、Hey1、Gas1、Bnip2、Capn2、Anp32a、Ddit3、Ccnb2、Cdkn2d(p19)、Prcl、Uck2、Srm、Shmt1、Slc19a1、Npm1、Npm3、Nol5、Lamr1/Prsa、Arhu(Rhou)、Traf4、Adam19、Bmp6、Rbp1、Reck、Ect2、またはこれらの組み合わせである。

20

【0598】

1つの態様において、肺癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、Prcl、Klt4、Ect2、

Cdc20、Stk6、Nek6、Birc5、Hspa9a、Cideb Pglyrp、Zfp239、Efl5、Uck2、Smarcc1、Arg1、Hkl、Gapd、Suclg2、Tpi、Gnpnat1、Pign、Gapd、Mre11a、Top2a、Ard1、Hmgb2、Xrcc5、Rrm1、Rrm2、Smarcc1、Npm3、Nol5、Lamr1、H1fx、Lmnb1、Spnr、Npm3、Nola1 Mki67ip、Ppan、Rnac、Grwd1、Srr、Pycs Pcbd、Mrps5、Lamr1、Mrpl12、Rpl44、Eif2b、Tomm40、Slc15a2、Slc4a7、Slc4a4、Rangnrf、Kpn3b、Ipo4、Mlp、Stk39、Rbp1、Reck、Areg、Ros1、Arhu、Frat2、Traf4、Myc、Frat2、Cldn2、Ghb3、Gja1、Krt1-18、Col15a1、Dsg2、Ect2、Lcn2、Kng、Hgfac、Adora2b、Spint1、Adam19、Hpn、Cdkn2d、Lats2、Hey1、Stat1、Bnip2、capn2、Anp32a、Madh6、Foxf1a、Tbx3、Tcf21、Gata3、Sox2、Crap、Trim30、Klf7、Sox17、Sox18、Meis1、Foxf2、Satb1、Anp32a、Bmp6、Tgfb1、Dpt、Acvr11、Eng、Zfhx1a、Igfbp6、Igfbp6、Igfbp4、Socs2、Nfkb1a、Sox7、Ptpr、Ptprns1、Rassf5、Fkbp7、Sema3f、Vsn11、Reck、Capn2、Cdh5、Spock2、Thbd、Tiel Icam2、Tek、Nes、Vwf、Xlkd1、Sparcl1、Marcks、Tenc1、Pcdha6、Lama4、Lama3、Pcdha4、Vtn、Vcam1、Tna、Stab1、Pmp22、Ptprb、Ptprg、Slfn2、Ndr2、Ets1、Sipa1、Ndn、Meox2、Rbp1、Sema7a、Sema3c、Sema3e、Tagln、Ablim1

30

またはこれらの組み合わせである。

【0599】

肺癌は、肺腺癌、例えば、細気管支肺胞癌腫(BAC)または肺乳頭状腺癌(PLAC)でもよい。

40

【0600】

1つの態様において、肺癌を特徴決定する工程は、治療時に肺癌対象をモニタリングすることを含む。ここで、治療は、イリノテカン、パクリタキセル、5-フルオロウラシル、EpCamに結合する薬物(例えば、EpCam抗体)、またはこれらの組み合わせを含む。別の態様において、肺癌を特徴決定する工程は異なる肺癌サブタイプを区別することを含む。例えば、対照個体における1種または複数種のバイオマーカーのレベルと比較して高いレベルのCcnb2、Slc19a1、Uck2、Srm1、Nol6a、Arhu、Adam19、Ect2、Shmt1、またはこれらの組み合わせなどの検出はPLACを示し得る。別の態様において、対照個体における1種または複数種のバイオマーカーのレベルと比較して低いレベルのGas1、Bmp6、Bnip2、Capn2、Ddit3、Hey1、またはこれらの組み合わせの検出はPLACを示し得る。

50

【0601】

別の態様において、高レベルのPrcl、Klt4、Ect2、Cdc20、Stk6、Nek6、Birc5、Hspa9a、Cideb Pglyrp、Zfp239、Ef15、Uck2、Smarcc1、Arg1、Hk1、Gapd、Suctlg2、Tpi、Gnpna t1、Pign、Gapd、Mrell1、Top2a、Ard1、Hmgb2、Xrcc5、Rrm1、Rrm2、Smarcc1、Npm3、No 15、Lamr1、Hlfx、Lmnbl、Spnr、Npm3、Nola1 Mki67ip、Ppan、Rnac、Grwd1、Srr、Pycs Pcbd、Mrps5、Lamr1、Mrp112、Rp144、Eif2b、Tomm40、Slc15a2、Slc4a7、Slc4a4、Rangn rf、Kpn3、Ipo4、Mlp、Stk39、Rbp1、Reck、Areg、Ros1、Arhu、Frat2、Traf4、Myc、Fr at2、Cldn2、Ghb3、Gja1、Krt1-18、Coll5a1、Dsg2、Ect2、Lcn2、Kng、Hgfacc、Adora2b、Spint1、Adam19、Hpn、またはこれらの組み合わせの検出は肺癌の高リスクを示し得る、または癌を示し得る。

10

【0602】

別の態様において、低レベルのCdkn2d、Lats2、Hey1、Stat1、Bnip2、capn2、Anp32a、Madh6、Foxf1a、Tbx3、Tcf21、Gata3、Sox2、Crap、Trim30、Klf7、Sox17、Sox18、Meis1、Foxf2、Satb1、Anp32a、Bmp6、Tgfb1、Dpt、Acvrl1、Eng、Zfhx1a、Igfbp6、Igfbp6、I gfbp4、Socs2、Nfkb1a、Sox7、Ptpre、Ptpns1、Rassf5、Fkbp7、Sema3f、Vsnl1、Reck、C apn2、Cdh5、Spock2、Thbd、Tiel、Icam2、Tek、Nes、Vwf、Xlkd1、Sparcl1、Marcks、Te ncl、Pcdha6、Lama4、Lama3、Pcdha4、Vtn、Vcam1、Tna、Stab1、Pmp22、Ptprb、Ptprg、Slfn2、Ndr2、Ets1、Sipa1、Ndn、Meox2、Rbp1、Sema7a、Sema3c、Sema3e、Tagln、Ablim 1、またはこれらの組み合わせの検出は非小細胞肺癌の高リスクを示し得る、または非小細胞肺癌を示し得る。

20

【0603】

別の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開番号US20080064049に記載のように、PTGFRN、CD166、CD164、CD82、TGFB1、MET、EFNB2、ITGA6、TDGF1、HBEGF、ABCC4、ABCD3、TDE2、ITGB1、TNFRSF21、CD81、CD9、KIAA1324、CEACAM6、FZD6、FZD7、BMP1A、JAG1、ITGAV、NOTCH2、SOX4、HES1、HES6、ATOH1、CDH1、EPHB2、MYB、MYC、S OX9、PCGF1、PCGF4、PCGF5、ALDH1A1、STRAP、TCF4、VIM、CD44、またはこれらの組み合わせである。1つの態様において、癌は腫瘍形成性または非腫瘍形成性と特徴決定される。一部の態様において、特徴決定される癌は結腸癌または頭頸部癌である。

【0604】

30

1つの態様において、PTGFRN、CD166、CD164、CD82、TGFB1、MET、EFNB2、ITGA6、TDGF 1、HBEGF、ABCC4、ABCD3、TDE2、ITGB1、TNFRSF21、CD81、CD9、KIAA1324、CEACAM6、FZD 6、FZD7、BMP1A、JAG1、ITGAV、NOTCH2、SOX4、HES1、HES6、ATOH1、CDH1、EPHB2、MYB、MYC、SOX9、PCGF1、PCGF4、PCGF5、ALDH1A1、STRAPまたはこれらの組み合わせのうち1 つまたは複数の高レベルは腫瘍形成癌を示す。別の態様において、TCF4またはVIMの一方 または両方の低レベルは腫瘍形成癌を示す。一部の態様において、膜小胞は、CD44、上皮 特異的抗原(ESA)、またはその両方などのバイオマーカーを含み、腫瘍形成癌を示す。さ らに他の態様において、腫瘍形成癌を示す膜小胞は、高レベルのCD49f活性、ALDH活性、 またはその両方を有する。

【0605】

40

バイオマーカーのレベル(すなわち、発現レベル)または活性レベルは、非腫瘍形成性腫 瘍細胞に由来する膜小胞と比較することができる、または比べることができる。

【0606】

別の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、そ の全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開番号US20090130125に記載のように、細胞表面タンパク質のエピトープを含む抗原、異常なタンパク質グリコシル 化のエピトープを含む抗原、またはその両方である。1つの態様において、エピトープは、EpCAM、NCAM、Her-2/neu受容体、またはCEAなどの細胞接着タンパク質のエピトープで ある。別の態様において、エピトープは、EGF受容体ファミリー、CD55受容体、トランス フェリン受容体、およびP糖タンパク質からなる群より選択される受容体分子などの表面

50

受容体のエピトープである。1つの態様において、抗原は、ルイス抗原からなる群より選択される糖質のエピトープを含む。ルイス抗原は、ルイスY、ルイスB、シアリル-Tn、GloboH、またはこれらの組み合わせでもよい。

【0607】

別の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、EpCam、またはその全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開番号US20050084913に記載のポリペプチドである。1種または複数種のバイオマーカーは、その中のSEQ ID NO:4のペプチド配列またはそのフラグメントを含んでもよい。一部の態様において、バイオマーカーは、その中のSEQ ID NO:4と少なくとも約90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%の配列同一性を有する。1つの態様において、バイオマーカーは、その中のSEQ ID NO:4のアミノ酸残基81-265を含む。別の態様において、バイオマーカーは、その中のSEQ ID NO:4のアミノ酸残基24-265を含む。

10

【0608】

別の態様において、癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許第7560226号に記載のように、CD3、CD4、CD8、CD14、CD19、CD56、mIgG1、CD2、CD5、CD7、CD9、CD10、CD11b、CD11c、CD13、CD15、CD16、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD25、CD33、CD34、CD36、CD37、CD38、CD41、CD42a、CD45、CD45RA、CD45RO、CD52、CD57、CD61、CD71、CD95、CD103、CD117、CD122、CD154、GPA、HLA-DR、KOR、FMC7、抗hIg、mIgG2a、mIg2b、およびmIgM、抗Ig、IgG2a、 κ 、 λ 、またはこれらの組み合わせである。1つの態様において、癌は白血病である。一部の態様において、1種または複数種のバイオマーカーについての膜小胞の評価は、T細胞、B細胞、または骨髄球系列の白血病を区別するのに用いられる。

20

【0609】

別の態様において、乳癌などの癌を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2005118875号に記載のように、マンマグロビン、PIP、B305D、B726、GABA、PDEF、CK19、ルミカン、セレン含有タンパク質P、結合組織成長因子、EPCAM、E-カドヘリン、コラーゲン、IV型、 α -2.6、またはこれらの組み合わせである。乳癌を特徴決定する工程は、乳癌の存在を診断することまたは乳癌の経過を予測すること、または転移リスクがあると対象を特定することを含んでもよい。

30

【0610】

別の態様において、炎症状態または炎症疾患を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開番号US20090226902に記載のような、シンタキシン1a、FCAR、SDR1、PTPN7、FABP5、CD9、またはこれらの組み合わせである。

【0611】

1つの態様において、炎症状態を特徴決定する工程は、炎症疾患の発症をモニタリング、スクリーニング、診断、または予測する工程を含む。1つの態様において、炎症状態は自己炎症疾患または自己炎症状態である。1つの態様において、炎症状態は双極性疾患またはうつ病などの情動障害である。さらに別の態様において、炎症状態を特徴決定する工程は、情動障害を発症するリスクが高いと判定する工程を含む。

40

【0612】

一部の態様において、心血管状態を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2006004910号に記載のように、CD34、CD9、CD29、CD34、CD44、CD45、CD49e、CD54、CD71、CD90、CD105、CD106、CD120a、CD124、CD166、Sca-1、SH2、SH3、HLAクラスI、またはこれらの組み合わせである。

【0613】

一部の態様において、パーキンソン病を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、

50

ALDH1A1,

ARPP-21, HSPA8, SKP1A, SLC18A2, SRPK2, TMEFF1, TRIM36, ADH5, PSMA3, PSMA2, PSMA5, PSMC4, HIP2, PACE4, COX6A1, PFKP, OXCT, GBE1, UQCRC2, LANCL1, TRIP15, PIK3CA, PLCL1, GNG5, GNAI1, VEGF, RHOB, NR4A2, SCL31A2, SCP2, PIGH, ARIH2, GMPR2, PP, IKBKAP, PRKACB, PTPRN2, BCAS2, IARS, PPP1R8, SEP15, TAF9, ZFP103, WRB, TMEM4, SMARCA3, FMR1, PDE6D, SGCE, AUH, SLC16A7, ATP6V1E1, UGTREL1, SEC22L1, CD9, CDH19, DUSP1, HSA6591, ACTR3, KIF2, TUBB2, ASPA, HELO1, C3orf4, CBR1, XPOT, LOC51142, NY-REN-45, SETO-2, EGLN1, EIF4EBP2, LGALS9, LOC56920, LRP6, MAN2B1, PARVA, PENK, SELPLG, SPHK1, SRRM2, ZSIG11, ITGB3BP, ITGAM, COL18A1, TM4SF9, LAMB2, HS3ST2, TSTA3, COL5A3, PALM, MYOM1, FLNB, HMBS, KRT2A, CSK, NUDC, HYPE, GAK, SIAT1, CSF1R, ICSBP1, CD22, ERCC1, DNAJB5, TRAF3, MMP9, EIF4G1, RPL36, SRPK1, CSNK1G2, RPS6KA1, JIK, LNK, INPP5D, TCOF1, NAPG, SLC19A1, ITSN1, LOC51035, PMVK, C21orf2, EFEMP2, TBL1X, APRT, SPUF, GLTSCR2, ADIR, PSCD4, CBFA2T1,

10

CUGBP1, ING4, STAT6, ZNF239, TAL1, TAF11, MXD4, RDHL, LOC51157, LRP6, MBD3, C9orf7
またはこれらの組み合わせである。1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2005067391号に開示されるように、パーキンソン病の検出、予後判定、モニタリング、またはセラノーシスに使用することができる。

【0614】

20

一部の態様において、1型糖尿病を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、STX1A、MCP-3、CCL2、HSPA1A、HSPA1B、EMP1、BAZ1A、CD9、PTPN7、CDC42、FABP5、NAB2、SDR、またはこれらの組み合わせである。1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第200505451号に開示されるように、1型糖尿病の検出、診断、スクリーニング、または特定に使用することができる。

【0615】

別の態様において、自己免疫状態を特徴決定するための1種または複数種のバイオマーカーは、その全体が参照により本明細書に組み入れられる米国特許出願公開番号US20080213280に記載のように、CD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CDw78、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CDw84、CD85、CD86、またはこれらの組み合わせである。

30

【0616】

1つの態様において、膜小胞をCD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CDw78、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CDw84、CD85、CD86、またはこれらの組み合わせについて評価する工程は、治療剤、例えば、CD20に結合する抗体、メトトレキセート(MTX)、コルチコステロイドレジメン、またはこれらの組み合わせを選択するために使用することができる。抗体は、米国特許出願公開番号US20080213280に開示されるようにリツキシマブを含んでもよい。1つの態様において、対象は、リツキシマブおよび併用メトトレキセート(MTX)を用いて治療される。別の態様において、対象は、コルチコステロイドレジメンを用いてさらに治療される。一部の態様において、コルチコステロイドレジメンは、メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、またはこれらの組み合わせからなる。

40

【0617】

別の態様において、膜小胞をCD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw75、CDw76、CD77、CDw78、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CDw84、CD85、CD86、またはこれらの組み合わせについて評価する工程は、対象がTNF α 阻害剤に対する不適当な応答を経験するかどうかの評価など、対象において慢性関節リウマチを評価するために使用することができる。別の態様において、膜小胞をCD10、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD37、CD40、CD53、CD72、CD73、CD74、CDw7

50

5、CDw76、CD77、CDw78、CD79a、CD79b、CD80、CD81、CD82、CD83、CDw84、CD85、CD86、またはこれらの組み合わせについて評価する工程は、自己免疫状態の治療の結果として、対象に感染症、心不全、脱髄、またはこれらの組み合わせなどの副作用が現れるのかどうかを判定するために使用することができる。

【0618】

自己免疫疾患または自己免疫状態は、関節炎、慢性関節リウマチ、若年性慢性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、乾癬、皮膚炎、多発性筋炎/皮膚筋炎、中毒性表皮壊死症、全身硬皮症および全身硬化症、炎症性腸疾患に関連した応答、クローン病、潰瘍性大腸炎、呼吸窮迫症候群、成人呼吸窮迫症候群(ARDS)、髄膜炎、脳炎、ブドウ膜炎、大腸炎、糸球体腎炎、アレルギー状態、湿疹、喘息、T細胞浸潤に関連した状態および慢性炎症反応、アテローム性動脈硬化症、自己免疫性心筋炎、白血球粘着不全症、全身性エリテマトーデス(SLE)、若年発症糖尿病、多発性硬化症、アレルギー性脳脊髄炎、サイトカインおよびTリンパ球によって媒介される急性過敏症および遅延型過敏症に関連した免疫反応、結核、類肉腫症、ウェゲナー肉芽腫症を含む肉芽腫症、無顆粒球症、脈管炎(ANCAを含む)、再生不良性貧血、ダイヤモンド・ブラックファン貧血、自己免疫溶血性貧血(AIHA)を含む免疫溶血性貧血、悪性貧血、真正赤血球性貧血(PRCA)、第VIII因子欠損症、血友病A、自己免疫性好中球減少症、汎血球減少症、白血球減少症、白血球血管外漏出に關与する疾患、中枢神経系(CNS)炎症障害、多臓器損傷症候群(multiple organ injury syndrome)、重症筋無力症、抗原抗体複合体を介した疾患、抗糸球体基底膜抗体病、抗リン脂質抗体症候群、アレルギー性神経炎、ベーチェット病、キャスルマン症候群、グッドパスチャー症候群、ランバート・イートン筋無力症候群、レノー症候群、シェーグレン症候群、スティーブンス・ジョンソン症候群、実質臓器移植片拒絶、移植片対宿主病(GVHD)、水疱性類天疱瘡、天疱瘡、自己免疫性多腺性内分泌障害、ライター病、全身硬直症候群、巨細胞性動脈炎、免疫複合体腎炎、IgA腎症、IgM多発ニューロパシーもしくはIgMを介したニューロパシー、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic thrombocytopenic purpura)(TTP)、自己免疫性血小板減少、自己免疫性精巣炎および自己免疫性卵巣炎を含む精巣および卵巣の自己免疫疾患、原発性甲状腺機能低下症;自己免疫性甲状腺炎を含む自己免疫性内分泌疾患、慢性甲状腺炎(橋本甲状腺炎)、亜急性甲状腺炎、特発性甲状腺機能低下症、アジソン病、グレーブス病、自己免疫性多腺性症候群(もしくは多腺性内分泌疾患症候群)、インスリン依存性糖尿病(IDDM)とも呼ばれるI型糖尿病、およびシーハン症候群;自己免疫性肝炎、リンパ球性間質性肺炎(HIV)、閉塞性細気管支炎(非移植)対NSIP、ギラン・バレー症候群、大血管脈管炎(リウマチ性多発筋痛症および巨細胞動脈炎(高安動脈炎)を含む)、中血管脈管炎(川崎病および結節性多発動脈炎を含む)、強直性脊椎炎、ベルガー病(IgA腎症)、急速進行性糸球体腎炎、原発性胆汁性肝硬変、セリアックスブルー(グルテン腸症)、クリオグロブリン血症、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、または冠動脈疾患でもよいが、これらに限定されない。

【0619】

説明したように、本発明の方法を実施するのに有用なバイオマーカーは、関心対象の遺伝子(遺伝子産物を含む)と相互作用するmiRNAを含む。PFKFB3と相互作用するmiRNAは、miR-513a-3p、miR-128、miR-488、miR-539、miR-658、miR-524-5p、miR-1258、miR-150、miR-216b、miR-377、miR-135a、miR-26a、miR-548a-5p、miR-26b、miR-520d-5p、miR-224、miR-1297、miR-1197、miR-182、miR-452、miR-509-3-5p、miR-548m、miR-625、miR-509-5p、miR-1266、miR-135b、miR-190b、miR-496、miR-616、miR-621、miR-650、miR-105、miR-19a、miR-346、miR-620、miR-637、miR-651、miR-1283、miR-590-3p、miR-942、miR-1185、miR-577、miR-602、miR-1305、miR-220c、miR-1270、miR-1282、miR-432、miR-491-5p、miR-548n、miR-765、miR-768-3p、またはmiR-924であり得、バイオマーカーとして使用することができる。

【0620】

本発明はまた、PFKFB3と相互作用する1つ以上のmiRNAを含む単離された小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様

10

20

30

40

50

において、該組成物は、PFKFB3と相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、PFKFB3と相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、PFKFB3と相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のPFKFB3と相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

【0621】

RHAMMと相互作用するmiRNAは、miR-936、miR-656、miR-105、miR-361-5p、miR-194、miR-374a、miR-590-3p、miR-186、miR-769-5p、miR-892a、miR-380、miR-875-3p、miR-208a、miR-208b、miR-586、miR-125a-3p、miR-630、miR-374b、miR-411、miR-629、miR-1286、miR-1185、miR-16、miR-200b、miR-671-5p、miR-95、miR-421、miR-496、miR-633、miR-1243、miR-127-5p、miR-143、miR-15b、miR-200c、miR-24、またはmiR-34c-3pであり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

10

【0622】

本発明はまた、RHAMMと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む単離された小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、RHAMMと相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、RHAMMと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、RHAMMと相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のRHAMMと相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

20

【0623】

CENPFと相互作用するmiRNAは、miR-30c、miR-30b、miR-190、miR-508-3p、miR-384、miR-512-5p、miR-548p、miR-297、miR-520f、miR-376a、miR-1184、miR-577、miR-708、miR-205、miR-376b、miR-520g、miR-520h、miR-519d、miR-596、miR-768-3p、miR-340、miR-620、miR-539、miR-567、miR-671-5p、miR-1183、miR-129-3p、miR-636、miR-106a、miR-1301、miR-17、miR-20a、miR-570、miR-656、miR-1263、miR-1324、miR-142-5p、miR-28-5p、miR-302b、miR-452、miR-520d-3p、miR-548o、miR-892b、miR-302d、miR-875-3p、miR-106b、miR-1266、miR-1323、miR-20b、miR-221、miR-520e、miR-664、miR-920、miR-922、miR-93、miR-1228、miR-1271、miR-30e、miR-483-3p、miR-509-3-5p、miR-515-3p、miR-519e、miR-520b、miR-520c-3p、またはmiR-582-3pであり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

30

【0624】

本発明はさらに、CENPFと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、CENPFと相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、CENPFと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、CENPFと相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のCENPFと相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

40

【0625】

NCAPGと相互作用するmiRNAは、miR-876-5p、miR-1260、miR-1246、miR-548c-3p、miR-1224-3p、miR-619、miR-605、miR-490-5p、miR-186、miR-448、miR-129-5p、miR-188-3p、miR-516b、miR-342-3p、miR-1270、miR-548k、miR-654-3p、miR-1290、miR-656、miR-34b、miR-520g、miR-1231、miR-1289、miR-1229、miR-23a、miR-23b、miR-616、またはmiR-6

50

20であり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0626】

本発明はまた、NCAPGと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む単離された小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、NCAPGと相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、NCAPGと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、NCAPGと相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のNCAPGと相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

10

【0627】

アンドロゲン受容体と相互作用するmiRNAは、miR-124a、miR-130a、miR-130b、miR-143、miR-149、miR-194、miR-29b、miR-29c、miR-301、miR-30a-5p、miR-30d、miR-30e-5p、miR-337、miR-342、miR-368、miR-488、miR-493-5p、miR-506、miR-512-5p、miR-644、miR-768-5p、またはmiR-801であり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0628】

本発明はまた、ARと相互作用する1種または複数種のmiRNAを含む単離された小胞を提供する。さらに、本発明は、単離された小胞を含む組成物を提供する。従って、一部の態様において、組成物は、ARと相互作用するmiRNAからなる1種または複数種のバイオマーカーを含む小胞の集団を含む。組成物は、小胞の実質的に濃縮された集団を含んでもよい。ここで、小胞の集団は、ARと相互作用する1種または複数種のmiRNAを含む小胞について実質的に均一である。さらに、ARと相互作用する1種または複数種のmiRNAはまた、本明細書において開示された1つまたは複数のシステムによって検出することもできる。例えば、検出システムは、生物学的試料の1つまたは複数の小胞のARと相互作用する1種または複数種のmiRNAを検出するための1種または複数種のプローブを含んでもよい。

20

【0629】

EGFRと相互作用するmiRNAは、miR-105、miR-128a、miR-128b、miR-140、miR-141、miR-146a、miR-146b、miR-27a、miR-27b、miR-302a、miR-302d、miR-370、miR-548c、miR-574、miR-587またはmiR-7でもよい。これらのmiRNAは、本発明の方法に従ってバイオマーカーとして使用することができる。

30

【0630】

本発明はまた、EGFRと相互作用する1種または複数種のmiRNAを含む単離された小胞を提供する。さらに、本発明は、単離された小胞を含む組成物を提供する。従って、一部の態様において、組成物は、EGFRと相互作用するmiRNAからなる1種または複数種のバイオマーカーを含む小胞の集団を含む。組成物は、小胞の実質的に濃縮された集団を含んでもよい。ここで、小胞の集団は、EGFRと相互作用する1種または複数種のmiRNAを含む小胞について実質的に均一である。さらに、EGFRと相互作用する1種または複数種のmiRNAはまた、本明細書において開示された1つまたは複数のシステムによって検出することもできる。例えば、検出システムは、生物学的試料の1つまたは複数の小胞のARと相互作用する1種または複数種のmiRNAを検出するための1種または複数種のプローブを含んでもよい。

40

【0631】

HSP90と相互作用するmiRNAは、miR-1、miR-513a-3p、miR-548d-3p、miR-642、miR-206、miR-450b-3p、miR-152、miR-148a、miR-148b、miR-188-3p、miR-23a、miR-23b、miR-578、miR-653、miR-1206、miR-192、miR-215、miR-181b、miR-181d、miR-223、miR-613、miR-769-3p、miR-99a、miR-100、miR-454、miR-548n、miR-640、miR-99b、miR-150、miR-181a、miR-181c、miR-522、miR-624、miR-130a、miR-130b、miR-146、miR-148a、miR-148b、miR-152、miR-181a、miR-181b、miR-181c、miR-204、miR-206、miR-211、miR-212、miR

50

-215、miR-223、miR-23a、miR-23b、miR-301、miR-31、miR-325、miR-363、miR-566、miR-9、またはmiR-99bであり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0632】

本発明はまた、HSP90と相互作用する1つ以上のmiRNAを含む単離された小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、HSP90と相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、HSP90と相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、HSP90と相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のHSP90と相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

10

【0633】

SPARCと相互作用するmiRNAは、miR-768-5p、miR-203、miR-196a、miR-569、miR-187、miR-641、miR-1275、miR-432、miR-622、miR-296-3p、miR-646、miR-196b、miR-499-5p、miR-590-5p、miR-495、miR-625、miR-1244、miR-512-5p、miR-1206、miR-1303、miR-186、miR-302d、miR-494、miR-562、miR-573、miR-10a、miR-203、miR-204、miR-211、miR-29、miR-29b、miR-29c、miR-339、miR-433、miR-452、miR-515-5p、miR-517a、miR-517b、miR-517c、miR-592、またはmiR-96であり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

20

【0634】

本発明はまた、SPARCと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む単離された小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、SPARCと相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、SPARCと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、SPARCと相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のSPARCと相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

30

【0635】

DNMT3Bと相互作用するmiRNAは、miR-618、miR-1253、miR-765、miR-561、miR-330-5p、miR-326、miR-188、miR-203、miR-221、miR-222、miR-26a、miR-26b、miR-29a、miR-29b、miR-29c、miR-370、miR-379、miR-429、miR-519e、miR-598、miR-618、またはmiR-635であり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0636】

本発明はまた、DNMT3Bと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む単離された小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物も提供する。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、DNMT3Bと相互作用するmiRNAからなる1つ以上のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。該組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み得、該小胞集団は、DNMT3Bと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞について実質的に均質である。さらに、DNMT3Bと相互作用する1つ以上のmiRNAはまた、本明細書に開示される1つ以上のシステムによっても検出され得る。例えば、検出システムは、生体試料の1つ以上の小胞のDNMT3Bと相互作用する1つ以上のmiRNAを検出するために、1つ以上のプローブを含むことができる。

40

【0637】

GARTと相互作用するmiRNAは、miR-101、miR-141、miR-144、miR-182、miR-189、miR-199a、miR-199b、miR-200a、miR-200b、miR-202、miR-203、miR-223、miR-329、miR-383、m

50

iR-429、miR-433、miR-485-5p、miR-493-5p、miR-499、miR-519a、miR-519b、miR-519c、miR-569、miR-591、miR-607、miR-627、miR-635、miR-636、またはmiR-659であり得る。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0638】

本発明はまた、GARTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む、単離された小胞を提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物を提供する。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、GARTと相互作用するmiRNAからなる一つまたは複数のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、GARTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む小胞に関して実質的に均一である。さらに、GARTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAは、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することもできる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞のGARTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

10

【0639】

MGMTと相互作用するmiRNAは、miR-122a、miR-142-3p、miR-17-3p、miR-181a、miR-181b、miR-181c、miR-181d、miR-199b、miR-200a、miR-217、miR-302b、miR-32、miR-324-3p、miR-34a、miR-371、miR-425-5p、miR-496、miR-514、miR-515-3p、miR-516-3p、miR-574、miR-597、miR-603、miR-653、miR-655、miR-92、miR-92bまたはmiR-99aであることができる。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

20

【0640】

本発明はまた、MGMTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む、単離された小胞を提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物を提供する。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、MGMTと相互作用するmiRNAからなる一つまたは複数のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、MGMTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む小胞に関して実質的に均一である。さらに、MGMTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAは、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することもできる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞のMGMTと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

30

【0641】

SSTR3と相互作用するmiRNAは、miR-125a、miR-125b、miR-133a、miR-133b、miR-136、miR-150、miR-21、miR-380-5p、miR-504、miR-550、miR-671、miR-766またはmiR-767-3pであることができる。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0642】

本発明はまた、SSTR3と相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む、単離された小胞を提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物を提供する。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、SSTR3と相互作用するmiRNAからなる一つまたは複数のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、SSTR3と相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む小胞に関して実質的に均一である。さらに、SSTR3と相互作用する一つまたは複数のmiRNAは、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することもできる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つまたは複数の小胞のSSTR3と相互作用する一つまたは複数のmiRNAを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

40

【0643】

TOP2Bと相互作用するmiRNAは、miR-548f、miR-548a-3p、miR-548g、miR-513a-3p、miR-548c-3p、miR-101、miR-653、miR-548d-3p、miR-575、miR-297、miR-576-3p、miR-548b-3p、miR-624、miR-548n、miR-758、miR-1253、miR-1324、miR-23b、miR-320a、miR-320b、miR-1183、miR-1244、miR-23a、miR-451、miR-568、miR-1276、miR-548e、miR-590-3p、m

50

iR-1、miR-101、miR-126、miR-129、miR-136、miR-140、miR-141、miR-144、miR-147、miR-149、miR-18、miR-181b、miR-181c、miR-182、miR-184、miR-186、miR-189、miR-191、miR-19a、miR-19b、miR-200a、miR-206、miR-210、miR-218、miR-223、miR-23a、miR-23b、miR-24、miR-27a、miR-302、miR-30a、miR-31、miR-320、miR-323、miR-362、miR-374、miR-383、miR-409-3p、miR-451、miR-489、miR-493-3p、miR-514、miR-542-3p、miR-544、miR-548a、miR-548b、miR-548c、miR-548d、miR-559、miR-568、miR-575、miR-579、miR-585、miR-591、miR-598、miR-613、miR-649、miR-651、miR-758、miR-768-3pまたはmiR-9であることができる。これらのmiRNAは、本発明の方法にしたがってバイオマーカーとして使用可能である。

【0644】

10

本発明はまた、TOP2Bと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む小胞も提供する。本発明はさらに、単離された小胞を含む組成物を提供する。したがって、いくつかの態様において、本組成物は、TOP2Bと相互作用するmiRNAからなる一つまたは複数のバイオマーカーを含む小胞集団を含む。本組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含むことができ、その小胞集団は、TOP2Bと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む小胞に関して実質的に均一である。さらに、TOP2Bと相互作用する一つまたは複数のmiRNAは、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムによって検出することもできる。たとえば、検出システムは、生物学的試料の一つ以上の小胞のTOP2Bと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを検出するための一つまたは複数のプローブを含むことができる。

【0645】

20

他のマイクロRNAバイオマーカー

小胞中で検出または評価することができ、表現型を特徴決定するために使用することができる他のマイクロRNAは以下を含むが、これらに限定されない：

hsa-let-7a、hsa-let-7b、hsa-let-7c、hsa-let-7d、hsa-let-7e、hsa-let-7f、hsa-miR-15a、

hsa-miR-16、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-17-3p、hsa-miR-18a、hsa-miR-19a、hsa-miR-19b、hsa-miR-20a、hsa-miR-

21、hsa-miR-22、hsa-miR-23a、hsa-miR-189、hsa-miR-24、hsa-miR-25、hsa-miR-26a、hsa-miR-26b、hsa-miR-

27a、hsa-miR-28、hsa-miR-29a、hsa-miR-30a-5p、hsa-miR-30a-3p、hsa-miR-31、hsa-miR-32、hsa-miR-33、hsa-

miR-92、hsa-miR-93、hsa-miR-95、hsa-miR-96、hsa-miR-98、hsa-miR-99a、hsa-miR-100、hsa-miR-101、hsa-

miR-29b、hsa-miR-103、hsa-miR-105、hsa-miR-106a、hsa-miR-107、hsa-miR-192、hsa-miR-196a、hsa-miR-197、

30

hsa-miR-198、hsa-miR-199a、hsa-miR-199a*、hsa-miR-208、hsa-miR-129、hsa-miR-148a、hsa-miR-30c、hsa-

miR-30d、hsa-miR-139、hsa-miR-147、hsa-miR-7、hsa-miR-10a、hsa-miR-10b、hsa-miR-34a、hsa-miR-181a、hsa-

miR-181b、hsa-miR-181c、hsa-miR-182、hsa-miR-182*、hsa-miR-183、hsa-miR-187、hsa-miR-199b、hsa-miR-

203、hsa-miR-204、hsa-miR-205、hsa-miR-210、hsa-miR-211、hsa-miR-212、hsa-miR-181a*、hsa-miR-214、hsa-

miR-215、hsa-miR-216、hsa-miR-217、hsa-miR-218、hsa-miR-219、hsa-miR-220、hsa-miR-221、hsa-miR-222、

hsa-miR-223、hsa-miR-224、hsa-miR-200b、hsa-let-7g、hsa-let-7i、hsa-miR-1、hsa-miR-15b、hsa-miR-23b、hsa-

miR-27b、hsa-miR-30b、hsa-miR-122a、hsa-miR-124a、hsa-miR-125b、hsa-miR-128a、hsa-miR-130a、hsa-miR-

132、hsa-miR-133a、hsa-miR-135a、hsa-miR-137、hsa-miR-138、hsa-miR-140、hsa-miR-141、hsa-miR-142-5p、

40

hsa-miR-142-3p、hsa-miR-143、hsa-miR-144、hsa-miR-145、hsa-miR-152、hsa-miR-153、hsa-miR-191、hsa-miR-

9、hsa-miR-9*、hsa-miR-125a、hsa-miR-126*、hsa-miR-126、hsa-miR-127、hsa-miR-134、hsa-miR-136、hsa-

miR-146a、hsa-miR-149、hsa-miR-150、hsa-miR-154、hsa-miR-154*、hsa-miR-184、hsa-miR-185、hsa-miR-186、

hsa-miR-188、hsa-miR-190、hsa-miR-193a、hsa-miR-194、hsa-miR-195、hsa-miR-206、hsa-miR-320、hsa-miR-

200c、hsa-miR-155、hsa-miR-128b、hsa-miR-106b、hsa-miR-29c、hsa-miR-200a、hsa-miR-302a*、hsa-miR-302a、

hsa-miR-34b, hsa-miR-34c, hsa-miR-299-3p, hsa-miR-301, hsa-miR-99b, hsa-miR-296, hsa-miR-130b, hsa-miR-30c-5p, hsa-miR-30c-3p, hsa-miR-361, hsa-miR-362, hsa-miR-363, hsa-miR-365, hsa-miR-302b*, hsa-miR-302b, hsa-miR-302c*, hsa-miR-302c, hsa-miR-302d, hsa-miR-367, hsa-miR-368, hsa-miR-369-3p, hsa-miR-370, hsa-miR-371, hsa-miR-372, hsa-miR-373*, hsa-miR-373, hsa-miR-374, hsa-miR-375, hsa-miR-376a, hsa-miR-377, hsa-miR-378, hsa-miR-422b, hsa-miR-379, hsa-miR-380-5p, hsa-miR-380-3p, hsa-miR-381, hsa-miR-382, hsa-miR-383, hsa-miR-340, hsa-miR-330, hsa-miR-328, hsa-miR-342, hsa-miR-337, hsa-miR-323, hsa-miR-326, hsa-miR-151, hsa-miR-135b, hsa-miR-148b, hsa-miR-331, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-324-3p, hsa-miR-338, hsa-miR-339, hsa-miR-335, hsa-miR-133b, hsa-miR-325, hsa-miR-345, hsa-miR-346, ebv-miR-BHRF1-1, ebv-miR-BHRF1-2*, ebv-miR-BHRF1-2, ebv-miR-BHRF1-3, ebv-miR-BART1-5p, ebv-miR-BART2, hsa-miR-384, hsa-miR-196b, hsa-miR-422a, hsa-miR-423, hsa-miR-424, hsa-miR-425-3p, hsa-miR-18b, hsa-miR-20b, hsa-miR-448, hsa-miR-429, hsa-miR-449, hsa-miR-450, hcmv-miR-UL22A, hcmv-miR-UL22A*, hcmv-miR-UL36, hcmv-miR-UL112, hcmv-miR-UL148D, hcmv-miR-US5-1, hcmv-miR-US5-2, hcmv-miR-US25-1, hcmv-miR-US25-2-5p, hcmv-miR-US25-2-3p, hcmv-miR-US33, hsa-miR-191*, hsa-miR-200a*, hsa-miR-369-5p, hsa-miR-431, hsa-miR-433, hsa-miR-329, hsa-miR-453, hsa-miR-451, hsa-miR-452, hsa-miR-452*, hsa-miR-409-5p, hsa-miR-409-3p, hsa-miR-412, hsa-miR-410, hsa-miR-376b, hsa-miR-483, hsa-miR-484, hsa-miR-485-5p, hsa-miR-485-3p, hsa-miR-486, hsa-miR-487a, kshv-miR-K12-10a, kshv-miR-K12-10b, kshv-miR-K12-11, kshv-miR-K12-1, kshv-miR-K12-2, kshv-miR-K12-9*, kshv-miR-K12-9, kshv-miR-K12-8, kshv-miR-K12-7, kshv-miR-K12-6-5p, kshv-miR-K12-6-3p, kshv-miR-K12-5, kshv-miR-K12-4-5p, kshv-miR-K12-4-3p, kshv-miR-K12-3, kshv-miR-K12-3*, hsa-miR-488, hsa-miR-489, hsa-miR-490, hsa-miR-491, hsa-miR-511, hsa-miR-146b, hsa-miR-202*, hsa-miR-202, hsa-miR-492, hsa-miR-493-5p, hsa-miR-432, hsa-miR-432*, hsa-miR-494, hsa-miR-495, hsa-miR-496, hsa-miR-193b, hsa-miR-497, hsa-miR-181d, hsa-miR-512-5p, hsa-miR-512-3p, hsa-miR-498, hsa-miR-520e, hsa-miR-515-5p, hsa-miR-515-3p, hsa-miR-519e*, hsa-miR-519e, hsa-miR-520f, hsa-miR-526c, hsa-miR-519c, hsa-miR-520a*, hsa-miR-520a, hsa-miR-526b, hsa-miR-526b*, hsa-miR-519b, hsa-miR-525, hsa-miR-525*, hsa-miR-523, hsa-miR-518f*, hsa-miR-518f, hsa-miR-520b, hsa-miR-518b, hsa-miR-526a, hsa-miR-520c, hsa-miR-518c*, hsa-miR-518c, hsa-miR-524*, hsa-miR-524, hsa-miR-517*, hsa-miR-517a, hsa-miR-519d, hsa-miR-521, hsa-miR-520d*, hsa-miR-520d, hsa-miR-517b, hsa-miR-520g, hsa-miR-516-5p, hsa-miR-516-3p, hsa-miR-518c, hsa-miR-527, hsa-miR-518a, hsa-miR-518d, hsa-miR-517c, hsa-miR-520h, hsa-miR-522, hsa-miR-519a, hsa-miR-499, hsa-miR-500, hsa-miR-501, hsa-miR-502, hsa-miR-503, hsa-miR-504, hsa-miR-505, hsa-miR-513, hsa-miR-506, hsa-miR-507, hsa-miR-508, hsa-miR-509, hsa-miR-510, hsa-miR-514, hsa-miR-532, hsa-miR-299-5p, hsa-miR-18a*, hsa-miR-455, hsa-miR-493-3p, hsa-miR-539, hsa-miR-544, hsa-miR-545, hsa-miR-487b, hsa-miR-551a, hsa-miR-552, hsa-miR-553, hsa-miR-554, hsa-miR-92b, hsa-miR-555, hsa-miR-556, hsa-miR-557, hsa-miR-558, hsa-miR-559, hsa-miR-560, hsa-miR-561, hsa-miR-562, hsa-miR-563, hsa-miR-564, hsa-miR-565, hsa-miR-566, hsa-miR-567, hsa-miR-568, hsa-miR-551b, hsa-miR-569, hsa-miR-570, hsa-miR-571, hsa-miR-572, hsa-miR-573, hsa-miR-574, hsa-miR-575, hsa-miR-576, hsa-miR-577, hsa-miR-578, hsa-miR-579, hsa-miR-580, hsa-miR-581, hsa-miR-582, hsa-miR-583, hsa-miR-584, hsa-miR-585, hsa-miR-548a, hsa-miR-586, hsa-miR-587, hsa-miR-548b, hsa-miR-588, hsa-miR-589, hsa-miR-550, hsa-miR-590, hsa-miR-591, hsa-miR-592, hsa-miR-593, hsa-miR-595, hsa-miR-596, hsa-miR-597, hsa-miR-598, hsa-miR-599, hsa-miR-600, hsa-miR-601, hsa-miR-602, hsa-miR-603, hsa-miR-604, hsa-miR-605, hsa-miR-606, hsa-miR-607, hsa-miR-608, hsa-miR-609, hsa-miR-610, hsa-miR-611, hsa-miR-612, hsa-miR-613, hsa-miR-614, hsa-miR-615, hsa-miR-616, hsa-

10

20

30

40

miR-548c, hsa-miR-617, hsa-miR-618, hsa-miR-619, hsa-miR-620, hsa-miR-621, hsa-miR-622, hsa-miR-623, hsa-miR-624, hsa-miR-625, hsa-miR-626, hsa-miR-627, hsa-miR-628, hsa-miR-629, hsa-miR-630, hsa-miR-631, hsa-miR-33b, hsa-miR-632, hsa-miR-633, hsa-miR-634, hsa-miR-635, hsa-miR-636, hsa-miR-637, hsa-miR-638, hsa-miR-639, hsa-miR-640, hsa-miR-641, hsa-miR-642, hsa-miR-643, hsa-miR-644, hsa-miR-645, hsa-miR-646, hsa-miR-647, hsa-miR-648, hsa-miR-649, hsa-miR-650, hsa-miR-651, hsa-miR-652, hsa-miR-548d, hsa-miR-661, hsa-miR-662, hsa-miR-663, hsa-miR-449b, hsa-miR-653, hsa-miR-411, hsa-miR-654, hsa-miR-655, hsa-miR-656, hsa-miR-549, hsa-miR-657, hsa-miR-658, hsa-miR-659, hsa-miR-660, hsa-miR-421, hsa-miR-542-5p, hcmv-miR-US4, hcmv-miR-UL70-5p, hcmv-miR-UL70-3p, hsa-miR-363*, hsa-miR-376a*, hsa-miR-542-3p, ebv-miR-BART1-3p, hsa-miR-425-5p, ebv-miR-BART3-5p, ebv-miR-BART3-3p, ebv-miR-BART4, ebv-miR-BART5, ebv-miR-BART6-5p, ebv-miR-BART6-3p, ebv-miR-BART7, ebv-miR-BART8-5p, ebv-miR-BART8-3p, ebv-miR-BART9, ebv-miR-BART10, ebv-miR-BART11-5p, ebv-miR-BART11-3p, ebv-miR-BART12, ebv-miR-BART13, ebv-miR-BART14-5p, ebv-miR-BART14-3p, kshv-miR-K12-12, ebv-miR-BART15, ebv-miR-BART16, ebv-miR-BART17-5p, ebv-miR-BART17-3p, ebv-miR-BART18, ebv-miR-BART19, ebv-miR-BART20-5p, ebv-miR-BART20-3p, hsv1-miR-H1, hsa-miR-758, hsa-miR-671, hsa-miR-668, hsa-miR-767-5p, hsa-miR-767-3p, hsa-miR-454-5p, hsa-miR-454-3p, hsa-miR-769-5p, hsa-miR-769-3p, hsa-miR-766, hsa-miR-765, hsa-miR-768-5p, hsa-miR-768-3p, hsa-miR-770-5p, hsa-miR-802, hsa-miR-801, および hsa-miR-675

10

20

。

【0646】

miR-128A、miR-129およびmiR-128Bは脳内で濃縮され、miR-194、miR-148およびmiR-192は肝臓内で濃縮され、miR-96、miR-150、miR-205、miR-182およびmiR-183は胸腺内で濃縮され、miR-204、miR-10B、miR-154およびmiR-134は精巣内で濃縮され、miR-122、miR-210、miR-221、miR-141、miR-23A、miR-200CおよびmiR-136は胎盤内で濃縮されることが観察されている。前述のmiRの一つまたは複数を含むバイオシグネチャーを使用して、関心対象の小胞、例えば、例として子宮頸癌、脳腫瘍、肝臓癌、胸腺癌、精巣癌、結腸癌または乳癌である癌を有する対象からの陽性リンパ節と陰性リンパ節とを識別するのに有用な小胞を検出することができる。

30

【0647】

もう一つの態様において、バイオシグネチャーは、乳癌を特徴決定するために使用することができる以下のmiR:miR-125b-1、miR-125b-2、miR-145、miR-21、miR-155、miR-10b、miR-009-1 (miR-131-1)、miR-34 (miR-170)、miR-102 (miR-29b)、miR-123 (miR-126)、miR-140-as、miR-125a、miR-125b-1、miR-125b-2、miR-194、miR-204、miR-213、let-7a-2、let-7a-3、let-7d (let-7d-v1)、let-7f-2、let-7l (let-7d-v2)、miR-101-1、miR-122a、miR-128b、miR-136、miR-143、miR-149、miR-191、miR-196-1、miR-196-2、miR-202、miR-203、miR-206およびmiR-210の一つまたは複数を含むことができる。

【0648】

もう一つの態様においては、miR-375発現が小胞中で検出され、膵島腫瘍または腺房腫瘍を特徴決定するために使用される。

40

【0649】

さらに別の態様においては、以下のmiR:miR-103-2、miR-107、miR-103-1、miR-342、miR-100、miR-24-2、miR-23a、miR-125a、miR-26a-1、miR-24-1、miR-191、miR-15a、miR-368、miR-26b、miR-125b-2、miR-125b-1、miR-26a-2、miR-335、miR-126、miR-1-2、miR-21、miR-25、miR-92-2、miR-130a、miR-93、miR-16-1、miR-145、miR-17、miR-99b、miR-181b-1、miR-146、miR-181b-2、miR-16-2、miR-99a、miR-197、miR-10a、miR-224、miR-92-1、miR-27a、miR-221、miR-320、miR-7-1、miR-29b-2、miR-150、miR-30d、miR-29a、miR-23b、miR-135a-2、miR-223、miR-3p21-v、miR-128b、miR-30b、miR-29b-1、miR-106b、miR-132、miR-214、miR-7-3、miR-29c、miR-367、miR-30c-2、miR-27b、miR-140、miR-10

50

b、miR-20、miR-129-1、miR-340、miR-30a、miR-30c-1、miR-106a、miR-32、miR-95、miR-222、miR-30e、miR-129-2、miR-345、miR-143、miR-182、miR-1-1、miR-133a-1、miR-200c、miR-194-1、miR-210、miR-181c、miR-192、miR-220、miR-213、miR-323およびmiR-375の一つまたは複数を小胞中に検出することができ、一つまたは複数のmiRの高い発現または過剰発現を使用して膵臓癌を特徴決定することができる。

【0650】

以下のmiR:miR-101、miR-126、miR-99a、miR-99-prec、miR-106、miR-339、miR-99b、miR-149、miR-33、miR-135およびmiR-20の一つまたは複数の発現を小胞中に検出し、巨核球形成を特徴決定するために使用することができる。

【0651】

細胞増殖は、miR-31、miR-92、miR-99a、miR-100、miR-125a、miR-129、miR-130a、miR-150、miR-187、miR-190、miR-191、miR-193、miR-204、miR-210、miR-211、miR-212、miR-213、miR-215、miR-216、miR-217、miR-218、miR-224、miR-292、miR-294、miR-320、miR-324、miR-325、miR-326、miR-330、miR-331、miR-338、miR-341、miR-369、miR-370、let-7a、let-7b、let-7c、let-7d、let-7g、miR-7、miR-9、miR-10a、miR-10b、miR-15a、miR-18、miR-19a、miR-17-3p、miR-20、miR-23b、miR-25、miR-26a、miR-26a、miR-30e-5p、miR-31、miR-32、miR-92、miR-93、miR-100、miR-125a、miR-125b、miR-126、miR-127、miR-128、miR-129、miR-130a、miR-135、miR-138、miR-139、miR-140、miR-141、miR-143、miR-145、miR-146、miR-150、miR-154、miR-155、miR-181a、miR-182、miR-186、miR-187、miR-188、miR-190、miR-191、miR-193、miR-194、miR-196、miR-197、miR-198、miR-199、miR-201、miR-204、miR-216、miR-218、miR-223、miR-293、miR-291-3p、miR-294、miR-295、miR-322、miR-333、miR-335、miR-338、miR-341、miR-350、miR-369、miR-373、miR-410およびmiR-412の発現と相関していた。上記miRの一つまたは複数の検出を使用して癌などの増殖性疾患を特徴決定することができる。

【0652】

小胞中に検出され得、癌を特徴決定するために使用されるmiRの他の例が、前立腺癌と相関した3,765種類の固有の核酸配列の同定を記載する米国特許第7,642,348号および肝臓癌に関連するマイクロRNAを記載する米国特許第7,592,441号に開示されている。

【0653】

また、固形癌、たとえば結腸癌、肺癌、乳癌、胃癌、前立腺癌および膵臓癌において一般に発現する他のマイクロRNAを小胞中に検出し、癌を特徴決定するために使用することができる。たとえば、以下のmiR:miR-21、miR-17-5p、miR-191、miR-29b-2、miR-223、miR-128b、miR-199a-1、miR-24-1、miR-24-2、miR-146、miR-155、miR-181b-1、miR-20a、miR-107、miR-32、miR-92-2、miR-214、miR-30c、miR-25、miR-221およびmiR-106aの一つまたは複数を小胞中に検出し、固形癌を特徴決定するために使用することができる。

【0654】

小胞中に検出することができるマイクロRNAの他の例が、いずれも参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2006126040号、同第2006033020号、同第2005116250号および同第2005111211号、米国特許公開公報第US20070042982号および第US20080318210号ならびにEP公開公報第EP1784501A2号および第EP1751311A2号に開示されている。

【0655】

バイオマーカー検出

バイオシグネチャーは、本明細書に開示されるように、循環バイオマーカー、例えば小胞または他のバイオマーカーの存在、レベルまたは濃度を検出することによって定性的または定量的に検出することができる。これらのバイオシグネチャー成分は、当業者には公知の多数の技術を使用して検出することができる。たとえば、バイオマーカーは、マイクロアレイ解析、ポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）（PCRベースの方法、たとえばリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法（RT-PCR）、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法（Q-PCR/qPCR）などを含む）、対立遺伝子特異的プローブによるハイブリダイゼーション、酵素突然変異検出、ライゲーション連鎖反応法（LCR）、オリゴヌクレオチドライゲーション

10

20

30

40

50

ョンアッセイ法（OLA）、フローサイトメトリーヘテロ二本鎖解析、ミスマッチの化学的切断、質量分析法、核酸配列決定、一本鎖高次構造多型分析法（SSCP）、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（DGGE）、温度勾配ゲル電気泳動法（TGGE）、制限断片長多型、連続的遺伝子発現解析（SAGE）またはこれらの組み合わせによって検出することができる。核酸のようなバイオマーカーは、検出前に増幅することができる。バイオマーカーはまた、免疫アッセイ法、免疫プロット法、免疫沈降法、酵素結合免疫吸着アッセイ法（ELISA、EIA）、ラジオ免疫アッセイ法（RIA）、フローサイトメトリーまたは電子顕微鏡法（EM）によって検出することもできる。

【0656】

バイオシグネチャーは、本明細書に記載されるような捕捉物質および検出物質を使用して検出することができる。捕捉物質は、抗体、アプタマーまたはバイオマーカーを認識し、バイオマーカーを捕捉するために使用することができる他の実体を含むことができる。捕捉することができるバイオマーカーは、循環バイオマーカー、たとえば体液中に溶解した状態にあるタンパク質、核酸、脂質または生物学的複合体を含む。同様に、捕捉物質は、小胞を捕捉するために使用することもできる。検出物質は、バイオマーカーを認識し、かつバイオマーカー小胞を検出するために使用することができる抗体もしくは他の実体、または小胞を認識し、かつ小胞を検出するのに有用である抗体もしくは他の実体を含むことができる。いくつかの態様において、検出物質は標識され、その標識が検出されて、それにより、バイオマーカーまたは小胞が検出される。検出物質は、結合物質、たとえば抗体またはアプタマーであることができる。他の態様において、検出物質は、膜タンパク質標識物質のような小分子を含む。たとえば、Alroyらの米国特許公開公報第US2005/0158708号に開示された膜タンパク質標識物質を参照すること。ある態様においては、小胞が、本明細書に記載されるように単離または捕捉され、その小胞を検出するために一つまたは複数の膜タンパク質標識物質が使用される。多くの場合、捕捉および検出物質によって認識される抗原または他の小胞部分は互換可能である。非限定的な例として、起始細胞特異的抗原を表面に有し、癌特異的抗原を表面に有する小胞を考えてみる。一例において、小胞は、起始細胞特異的抗原に対する抗体を使用して、たとえば捕捉抗体を基体に繫留することによって捕捉することができ、次いで、小胞は、癌特異的抗原に対する抗体を使用して、たとえば検出抗体を蛍光色素で標識し、その色素によって放出される蛍光放射線を検出することによって検出される。もう一つの例において、小胞は、癌特異的抗原に対する抗体を使用して、たとえば捕捉抗体を基体に繫留することによって捕捉することができ、次いで、小胞は、起始細胞特異的抗原に対する抗体を使用して、たとえば検出抗体を蛍光色素で標識し、その色素によって放出される蛍光放射線を検出することによって検出される。

【0657】

いくつかの態様において、同じバイオマーカーが捕捉物質および検出物質の両方によって認識される。このスキームは、状況に依存して使用することができる。一つの態様において、バイオマーカーは、関心対象の小胞を検出する、たとえば起始細胞特異的小胞を捕捉するだけで十分である。他の態様において、バイオマーカーは、多機能性である、たとえば起始細胞特異性および癌細胞特異性の両方を有する。バイオマーカーは、捕捉および検出のための他のバイオマーカーとともに使用することもできる。

【0658】

バイオマーカーを検出する方法の一つの方法は、上記のように生物学的試料から不均一な小胞集団を精製または単離する工程、およびサンドイッチアッセイ法を実施する工程を含む。集団中の小胞は、捕捉物質によって捕捉することができる。捕捉物質は、一次抗体のような捕捉抗体であることができる。捕捉抗体は、基体、たとえばアレイ、ウェルまたは粒子に結合していることができる。捕捉または結合された小胞は、検出抗体のような検出物質によって検出することができる。たとえば、検出抗体は、小胞の抗原に対する抗体であることができる。検出抗体は、直接標識され、検出されることができる。または、検出物質は、検出物質と反応することができる酵素結合二次抗体を介するなど、間接的に標識され

、検出されることもできる。国際公開公報第2009092386号に記載されているように、検出試薬または検出基質を加え、反応を検出することができる。捕捉物質がRab-5bに結合し、検出物質がCD63またはカベオリン1に結合またはこれを検出する説明のための例において、捕捉物質は抗Rab-5b抗体であることができ、検出物質は抗CD63または抗カベオリン1抗体であることができる。いくつかの態様において、捕捉物質は、CD9、PSCA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMAまたは5T4に結合する。たとえば、捕捉物質は、CD9、PSCA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMAまたは5T4に対する抗体であることができる。捕捉物質はまた、MFG-E8、アネキシンV、Tissue Factor、DR3、STEAP、epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2またはTETSに対する抗体であることもできる。検出物質は、CD63、CD9、CD81、B7H3またはEpCamに結合またはこれを検出する物質、たとえばCD63、CD9、CD81、B7H3またはEpCamに対する検出抗体であることができる。捕捉物質および／または検出物質の様々な組み合わせをいっしょに使用することができる。ある態様において、捕捉物質はPCSA、PSMA、B7H3および場合によってはEpCamを含み、検出物質は一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカー、例えば、CD9、CD63および／またはCD81などのテトラスパニンを含む。もう一つの態様において、捕捉物質はTMEM211およびCD24を含み、検出物質は一つまたは複数のテトラスパニン、たとえばCD9、CD63およびCD81を含む。もう一つの態様において、捕捉物質はCD66およびEpCamを含み、検出物質は一つまたは複数のテトラスパニン、たとえばCD9、CD63およびCD81を含む。場合によっては、そのようなテトラスパニンおよび／または他の一般的小胞マーカーの数の増加が検出シグナルを改善することができる。タンパク質または他の循環バイオマーカーはまた、サンドイッチ手法を使用して検出することもできる。捕捉された小胞を回収し、使用して、その中に含まれるペイロード、たとえばmRNA、マイクロRNA、DNAおよび可溶性タンパク質を解析することができる。

【0659】

一部の態様において、捕捉剤または検出剤は、CD9、HSP70、Gal3、MIS、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4、CD81、ERB3、VEGF、BCA225、BRCA、CA125、CD174、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、CD31、cMET、MUC2、またはERB4の1つまたは複数を経験する。一部の態様において、捕捉剤または検出剤は、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1(CD54)、PSMA、A33、DR3、CD66e、MFG-8e、EphA2、ヘプシン、TMEM211、EphA2、TROP-2、EGFR、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、NK-2、EpCam、NGAL、NK-1R、PSMA、5T4、PAI-1、およびCD45の1つまたは複数を経験する。さらに他の態様において、捕捉剤または検出剤は、CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、およびERB B4の1つまたは複数を経験する。捕捉剤または検出剤はGal3およびBRCAの1つまたは複数を経験する。一部の態様において、捕捉剤および／または検出剤は、A33、APC、BDNF、CD10、CD24、CD63、CD66、CEA、CD81、CDADC1、C-Erb、DR3、EGFR、EphA2、FRT、GAL3、GDF15、GPR30、GRO-1、MACC-1、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC2、N-gal、OPN、P53、PCSA、PRL、SCRN1、SPR、TFF3、TGM2、TIMP-1、TMEM211、TrkB、TROP2、tsg 101、TWEAK、およびUNC93Aの1つまたは複数を経験する。別の態様において、捕捉剤および／または検出剤は、A33、APC、B7H3、BDNF、CD10、CD24、CD3、CD63、CD66e、CD81、CD9、CDADC1、C-ERBB2、CRP、CXCL12、EpCam、フェリチン、Gal3、GPCR GRP110、Gro- α 、ハプトグロビン(HAP)、HSP70、iC3b、LDH、MACC1、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC2、NCAM、NDUFB7、NGAL、OPN、PGP9.5、セプラーゼ、SPB、SPC、TFF3、TGM2、TIMP1、TMEM211、TrkB、TWEAK、およびUNC93の1つまたは複数を経験する。捕捉剤および／または検出剤は、EPHA2、CD24、EGFR、および／またはCEAの1つまたは複数を経験することができる。一態様において、捕捉剤および／または検出剤は、A33、ADAM28、AQP5、B7H3、CABYR、CD10、CD24、CD63、CD81、CD9、CEACAM、CHI3L1、DLL4、DR3、EGFR、EpCam、EPHA2、Gal3、GPCR GPR110、iC3b、メソテリン、MUC1、MUC17、MUC2、NDUFB7、NGAL、NSE、オステオポンチン、P2RX7、PCSA、PGP9.5、PSMA、PTP、SPA、SPB、SPC、TMEM211、TPA、TROP2、およびUNC93aの1つまたは複数を経験する。捕捉剤および／または検出剤は、アネキシン1、アネキシンV、ASPH、AURKB、B7H3、

BMP2、BRCA1、BTUB、CCL2、CD151、CD45、CD63、CD81、CD9、CEA、CEACAM、CENPH、CKS1、CRP、CYTO 18、CYTO 19、CYTO 7、EGFR、EPCAM、ERB2、FSHR、FTH1、GPCR(GRP 110)、HCG、HIF、HLA、INGA3、INTG b4、KRAS、LAMP2、M2PK、MMP1、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC2、NACC1、NAP2、NCAM、NSE、オステオポンチン、P27、P53、PAN ADH、PCSA、PGP9、PNT、PRO GRP、PSMA、PTH1R、RACK1、SFTPC、SNAIL、SPA、SPD、TGM2、TIMP、TRIM29、TSPAN1、TWIST1、UNCR3、およびVEGFの1つまたは複数を認識することができる。例えば、捕捉剤および/または検出剤は、CENPH、PRO GRP、およびMMP9の結合物質でもよい。これらのマーカーの1つまたは複数は、癌、例えば、肺癌を特徴決定するための捕捉剤および/または検出剤として使用することができる。

【0660】

10

いくつかの態様において、捕捉物質はEpCam、B7H3またはCD24に結合またはこれを標的とし、小胞表面で検出される一つまたは複数のバイオマーカーはCD9および/またはCD63である。一つの態様において、捕捉物質はEpCamに結合またはこれを標的とし、小胞表面で検出される一つまたは複数のバイオマーカーはCD9、EpCamおよび/またはCD81である。一つの捕捉物質は、CD9、PCSA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMAまたは5T4から選択することができる。一つの捕捉物質はまた、DR3、STEAP、e pha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、MFG-E8、TF、アネキシンVまたはTETSに対する抗体であることもできる。いくつかの態様において、一つの捕捉物質は、PCSA、PSMA、B7H3、CD81、CD9およびCD63から選択される。

【0661】

20

他の態様において、捕捉物質はPCSAを標的とし、捕捉された小胞表面で検出される一つまたは複数のバイオマーカーはB7H3および/またはPSMAである。他の態様において、捕捉物質はPSMAを標的とし、捕捉された小胞表面で検出される一つまたは複数のバイオマーカーはB7H3および/またはPCSAである。他の態様において、捕捉物質はB7H3を標的とし、捕捉された小胞表面で検出される一つまたは複数のバイオマーカーはPSMAおよび/またはPCSAである。さらに他の態様において、捕捉物質はCD63を標的とし、小胞表面で検出される一つまたは複数のバイオマーカーはCD81、CD83、CD9および/またはCD63である。本明細書に開示される様々な捕捉物質およびバイオマーカーの組み合わせを使用して、表現型を特徴決定する、たとえば疾患、たとえば癌を検出、診断または予後判定することができる。いくつかの態様において、小胞は、前立腺癌を特徴決定するために、EpCamを標的とする捕捉物質ならびにCD9およびCD63の検出；PCSAを標的とする捕捉物質ならびにB7H3およびPSMAの検出；またはCD63の捕捉物質およびCD81の検出を使用して解析される。他の態様において、小胞は、結腸癌を特徴決定するために、CD63を標的とする捕捉物質およびCD63の検出；またはCD9を標的とする捕捉物質およびCD63の検出を使用して使用される。当業者は、捕捉物質および検出物質の標的を互換可能に使用することができることを理解するであろう。説明のための例において、PCSAを標的とする捕捉物質ならびにB7H3およびPSMAを標的とする検出物質を考えてみる。これらのマーカーすべてはPCa由来の小胞を検出するのに有用であるため、捕捉物質によってB7H3またはPSMAを標的とすることができ、検出物質によってPCSAを認識することができる。たとえば、いくつかの態様において、検出物質はPCSAを標的とし、小胞を捕捉するために使用される一つまたは複数のバイオマーカーはB7H3および/またはPSMAを含む。他の態様において、検出物質はPSMAを標的とし、小胞を捕捉するために使用される一つまたは複数のバイオマーカーはB7H3および/またはPCSAを含む。他の態様において、検出物質はB7H3を標的とし、小胞を捕捉するために使用される一つまたは複数のバイオマーカーはPSMAおよび/またはPCSAを含む。いくつかの態様において、本発明は、PSMA、B7H3および/またはPCSAに対する捕捉物質および/または検出物質を使用して体液中の前立腺癌細胞を検出する方法を提供する。体液は、血清または血漿を含む血液を含むことができる。体液は射精液または精液を含むことができる。さらなる態様において、前立腺癌を検出する方法はさらに、CD81、CD83、CD9および/またはCD63に対する捕捉物質および/または検出物質を使用する。本方法はさらに、DR3、STEAP、e pha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2およびTETSの一つまた

30

40

50

は複数を有する小胞を捕捉する工程、ならびに捕捉された小胞を一つまたは複数の一般的小胞抗原、たとえばCD81、CD63および／またはCD9で検出する工程を含む、GI障害を特徴決定する方法を提供する。さらなる剤が、さらなる生物学的識別能力をもたらしことにより、および／または実験ノイズを減らすことにより、試験性能を改善する、たとえば試験精度またはAUCを改善することができる。

【0662】

本発明で使用するためのバイオマーカーを検出する技術は、平坦な基体、たとえばアレイ（たとえばバイオチップまたはマイクロアレイ）を、特定のバイオシグネチャーの検出を容易にする捕捉物質として基体に固定化された分子とともに使用することを含む。アレイは、一つまたは複数のバイオマーカーまたは小胞をアッセイするためのキットの一部として提供することができる。上述され、図3～60に示されるバイオマーカーを同定する分子および図1の抗原を、前駆症状的疾患を含む疾患の検出および診断用のアレイに含めることができる。いくつかの態様において、アレイは、関心対象のバイオマーカーを特異的に同定するように選択された生体分子を含むカスタムアレイを含む。カスタマイズされたアレイは、統計的性能を高めるバイオマーカー、たとえばバイオシグネチャーを同定するさらなる生体分子を検出するように改変されることができ、それが、多変量予測モデル（たとえばロジスティック回帰、判別分析または回帰木モデル）における交差検定エラー率の改善につながる。いくつかの態様において、カスタマイズされたアレイは、疾患、病態または徴候の生物学を研究し、所定の生理学的状態におけるバイオシグネチャーをプロファイリングするように構成される。カスタマイズされたアレイに含まれるマーカーは、統計的基準、たとえば、表現型または生理学的状態を同定する際に所望のレベルの統計的有意性を有することに基づいて選択される。いくつかの態様においては、マイクロアレイ上の生体分子を排除または包含するために、 p 値=0.05の標準有意性が選択される。 p 値は、複数の比較に関して補正することができる。説明のための例として、有疾患対象または無疾患対象由来の試料から抽出された核酸を、何千もの遺伝子配列に結合する高密度マイクロアレイにハイブリダイズさせることができる。有疾患試料または無疾患試料の間でレベルが有意に異なる核酸を、試料を有疾患または無疾患として同定するためのバイオマーカーとして選択することができる。選択されたバイオマーカーを検出するために、カスタマイズされたアレイを構成することができる。いくつかの態様において、カスタマイズされたアレイは、比較的少ない数、たとえば何千ではなく何十または何百のアドレス可能な結合物質を有するアレイを意味する低密度マイクロアレイを含む。低密度アレイを基体表面に形成することができる。いくつかの態様において、カスタマイズ可能な低密度アレイは、プレートウェル、たとえばTaqMan（登録商標）Gene Expression Assays（Applied Biosystems by Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA）におけるPCR増幅を使用する。

【0663】

平面アレイは一般に、アレイ型式における生体分子のアドレス可能な位置（たとえばパッド、アドレスまたは微小位置）を含む。アレイのサイズはアレイの組成および最終用途に依存する。2種類の異なる分子から何千もの分子までを含むアレイを製造することができる。一般に、アレイは、アレイの最終用途および製造方法に依存して、二つから100,000以上までの分子を含む。本発明で使用するためのマイクロアレイは、関心対象のバイオシグネチャー中に存在するバイオマーカー、たとえばそのバイオシグネチャーを構成するマイクロRNAもしくは他の生体分子または小胞を同定または捕捉する少なくとも一つの生体分子を含む。いくつかのアレイにおいては、異なる組成または同一組成の複数の基体を使用される。したがって、平面アレイは、より小さい複数の基体を含むこともできる。

【0664】

本発明は、バイオマーカー、たとえば関心対象のバイオシグネチャーと関連したバイオマーカーを検出するために多くの種類のアレイを利用することができる。有用なアレイまたはマイクロアレイは、非限定的に、DNAマイクロアレイ、たとえばcDNAマイクロアレイ、オリゴヌクレオチドマイクロアレイおよびSNPマイクロアレイ、マイクロRNAアレイ、タ

10

20

30

40

50

ンパク質マイクロアレイ、抗体マイクロアレイ、組織マイクロアレイ、細胞マイクロアレイ（トランスフェクションマイクロアレイとも呼ばれる）、化学物質マイクロアレイ、ならびに糖質アレイ（グリコアレイ）を含む。これらのアレイは上記でさらに詳細に説明されている。いくつかの態様において、マイクロアレイは、バイオマーカー結合が間接的に（たとえば蛍光を介して）モニターされる認識分子（たとえば抗体）の高密度固定化アレイを提供するバイオチップを含む。図2Aは、関心対象の小胞抗原に対する捕捉抗体が表面に繫留されている例示的な構成を示す。捕捉された小胞はその後、関心対象の同じまたは異なる小胞抗原に対する検出抗体を使用して検出される。捕捉抗体は、利用可能でありかつ望ましい場合、繫留されているアプタマーに置き換えることもできる。蛍光検出体が示されている。他の検出体、たとえば酵素反応、検出可能なナノ粒子、放射標識などを同様に使用することができる。他の態様において、アレイは、生化学的または分子間の相互作用によるタンパク質捕捉を質量分析法（MS）による検出と併せて含む形式を含む。小胞は表面から溶出させ、その中のペイロード、たとえばマイクロRNAを解析することができる。

10

【0665】

バイオシグネチャーの一つまたは複数のバイオマーカーを検出するために使用することができるアレイまたはマイクロアレイは、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる米国特許第6,329,209号、第6,365,418号、第6,406,921号、第6,475,808号および第6,475,809号ならびに米国特許出願第10/884,269号に記載されている方法にしたがって製造することができる。本明細書に記載されるバイオマーカーのセットの特定の選択を検出するためのカスタムアレイは、これらの特許に記載されている方法を使用して製造することができる。また、Affymetrix (Santa Clara, CA)、Illumina (San Diego, CA)、Agilent (Santa Clara, CA)、Exiqon (Denmark) またはInvitrogen (Carlsbad, CA) から市販されているものを非限定的に含む市販のマイクロアレイを使用して本発明の方法を実施することもできる。カスタムおよび／または市販のアレイは、本明細書に記載のようなタンパク質、核酸ならびに他の生物学的分子および実体（たとえば細胞、小胞、ビリオン）の検出のためのアレイを含む。

20

【0666】

いくつかの態様において、アレイに固定化される分子はタンパク質またはペプチドを含む。一つまたは複数の種類のタンパク質を表面に固定化することもできる。特定の態様において、タンパク質は、タンパク質の変性を最小化する、タンパク質の活性の変化を最小化する、またはタンパク質とそれが固定化される表面との間の相互作用を最小化する方法および材料を使用して固定化される。

30

【0667】

有用なアレイ表面は、所望の形、形態またはサイズであることができる。表面の非限定的な例は、チップ、連続面、曲面、可撓面、フィルム、プレート、シートまたはチューブを含む。表面は、約1平方マイクロメートルから約500cm²までの範囲の面積を有することができる。表面の面積、長さおよび幅は、実施されるアッセイ法の要件にしたがって異なることもある。考慮される要素は、たとえば、取り扱い易さ、表面が形成される材料の制限、検出システムの要件、付着システム（たとえば、アレイヤ）の要件などを含むことができる。

40

【0668】

特定の態様において、結合アイランドまたは固定化生体分子の群またはアレイを分離するための物理的手段を使用することが望ましい。そのような物理的分離は、関心対象の異なる溶液に対する異なる群またはアレイの曝露を容易にする。したがって、特定の態様において、アレイは、任意の数のウェルを有するマイクロウェルプレート内に位置する。このような態様においては、ウェルの底がアレイ形成のための面として作用することもできるし、アレイを他の面に形成したのち、ウェルの中に配置することもできる。ウェルを有しない面が使用されるような特定の態様においては、結合アイランドを形成することもできるし、分子を表面に固定化し、アイランドまたは生体分子に対応するように空間的に配

50

設された穴を有するガスケットをその表面に配置することもできる。このようなガスケットは好ましくは液密である。ガスケットは、アレイを製造する工程のいずれかの時点で表面に配置することもでき、群またはアレイの分離がもはや不要であるならば、取り除くこともできる。

【0669】

いくつかの態様において、固定化された分子は、その固定化された分子と接触する生物学的試料中に存在する一つまたは複数のバイオマーカーまたは小胞に結合することができる。いくつかの態様において、固定化された分子は、その固定化された分子と接触する一つまたは複数の小胞中に存在する分子を修飾する、または、その分子によって修飾される。試料を接触させることは一般に、試料をアレイの上に重ねることを含む。

10

【0670】

溶液中の分子またはアレイ表面に固定化された分子の修飾または結合は、当技術分野において公知の検出技術を使用して検出することができる。そのような技術の例は、免疫学的技術、たとえば競合的結合アッセイ法およびサンドイッチアッセイ法；共焦点スキャナ、共焦点顕微鏡またはCCDベースのシステムのような機器、および蛍光、蛍光偏光 (FP)、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET)、全内反射蛍光 (TIRF)、蛍光相関分光法 (FCS) のような技術を使用する蛍光検出法；比色／分光分析技術；表面で吸着される物質の質量の変化を計測する表面プラズモン共鳴；従来の放射性同位元素結合およびシンチレーション近接アッセイ法 (SPA) を含む、放射性同位元素を使用する技術；質量分析法、たとえばマトリックス支援レーザー脱離／イオン化質量分析法 (MALDI) およびMALDI飛行時間 (TOF) 型質量分析法；タンパク質フィルムの厚さを測定する光学的方法である偏光解析法；表面に吸着する物質の質量を計測するための非常に高感度の方法である水晶結晶板微量天秤法 (QCM)；走査型プローブ顕微鏡法、たとえば原子間力顕微鏡法 (AFM)、走査力顕微鏡法 (SFM) または走査型電子顕微鏡法 (SEM)；ならびに電気化学、インピーダンス、音響、マイクロ波およびIR／ラマン検出のような技術を含む。たとえば、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられるMere L, et al., "Miniaturized FRET assays and microfluidics: key components for ultra-high-throughput screening, "Drug Discovery Today 4(8):363-369 (1999)およびその中に引用されている参考文献、Lakowicz J R, Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd Edition, Plenum Press (1999)またはJain KK: Integrative Omics, Pharmacoproteomics, and Human Body Fluids. In: Thongboonkerd V, ed., ed. Proteomics of Human Body Fluids: Principles, Methods and Applications. Volume 1: Totowa, N. J.: Humana Press, 2007を参照されたい。

20

30

【0671】

マイクロアレイ技術は、質量分析 (MS) および他のツールと組み合わせることができる。質量分析計へのエレクトロスプレーインタフェースをマイクロ流体力学デバイス中の毛管と一体化させることができる。たとえば、一つの市販システムは、固有の明確な電気泳動移動度を有する蛍光標識であるeTagレポーターを含み、各標識が切断可能な結合を介して生物学的または化学的プローブに結合している。各eTagレポーターの明確な移動度アドレスが、これらのタグの混合物が毛管電気泳動によって速やかに逆重畳積分され、定量化されることを可能にする。このシステムは、同じ試料からの同時発生的な遺伝子発現、タンパク質発現およびタンパク質機能解析を可能にする。参照によりその全体が本明細書に組み入れられるJain KK: Integrative Omics, Pharmacoproteomics, and Human Body Fluids. In: Thongboonkerd V, ed., ed. Proteomics of Human Body Fluids: Principles, Methods and Applications. Volume 1: Totowa, N. J.: Humana Press, 2007を参照されたい。

40

【0672】

バイオチップは、マイクロ流体力学またはナノ流体アッセイ法のための構成要素を含むことができる。マイクロ流体力学デバイスは、バイオマーカーを単離または解析する、たとえばバイオシグネチャーを決定するために使用することができる。マイクロ流体力学システムは、小胞を単離、捕捉または検出し、マイクロRNAを検出し、循環バイオマーカー

50

を検出し、バイオシグネチャーを検出するための一つまたは複数のプロセスまたは他のプロセスの小型化および区画化を可能にする。マイクロ流体力学デバイス、システムの少なくとも一つの局面において一つまたは複数の検出試薬を使用することができ、そのような検出試薬を使用して一つまたは複数のバイオマーカーを検出することができる。一つの態様において、装置は、単離または結合された小胞表面のバイオマーカーを検出する。様々なプローブ、抗体、タンパク質または他の結合物質を使用して、マイクロ流体力学システム内のバイオマーカーを検出することができる。検出物質は、マイクロ流体力学デバイスの様々な区画に固定化することもできるし、装置の様々なチャンネルを通してハイブリダイゼーションまたは検出反応に導入することもできる。

【0673】

マイクロ流体力学デバイス中の小胞を溶解させ、その内容物、たとえばタンパク質または核酸、たとえばDNAまたはRNA、たとえばmiRNAまたはmRNAをマイクロ流体力学デバイス内で検出することができる。核酸は、マイクロ流体力学デバイス内で、検出前に増幅することもできるし、直接検出することもできる。したがって、マイクロ流体力学システムはまた、様々なバイオマーカーの検出を多重化するために使用することもできる。ある態様においては、小胞がマイクロ流体力学デバイス内で捕捉され、捕捉された小胞が溶解され、その小胞ペイロードからのマイクロRNAのバイオシグネチャーが決定される。バイオシグネチャーはさらに、小胞を捕捉するために使用される捕捉物質を含むことができる。

【0674】

ナノ製造技術が、高密度の精密アレイ、たとえば不均一ナノアレイとも知られるヌクレオチドベースのチップおよびタンパク質アレイの製造に依存するバイオセンシング用途の可能性を開拓している。ナノ流体力学により、マイクロチップ中の流体分析対象物の量をナノリットルレベルまでさらに減少することが可能になり、ここで使用されるチップがナノチップと呼ばれる（たとえば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるUnger M et al., *Biotechniques* 1999; 27(5): 1008-14, Kartalov EP et al., *Biotechniques* 2006; 40(1):85-90を参照すること）。現在、市販のナノチップは、試料を試薬と合わせ、混合し、反応をモニターすることによって実施することができる簡単な一工程アッセイ法、たとえば総コレステロール、総タンパク質またはグルコースアッセイ法を提供する。液体クロマトグラフィー（LC）およびナノLC分離に基づくゲルフリーの分析法（いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられるCutillas et al. *Proteomics*, 2005; 5: 101-112およびCutillas et al., *Mol Cell Proteomics* 2005; 4:1038-1051）をナノチップと組み合わせて使用することができる。

【0675】

疾患、病態、症候群、または生理学的状態の同定に適したアレイが、キットに含まれ得る。キットは、非限定的例として、アレイの結合性アイランドまたは領域上への固定化用の分子の調製に有用な1種または複数種の試薬、固定化分子への小胞の結合の検出に有用な試薬、および使用のための指示書を含み得る。

【0676】

さらに、生物学的試料中の特定のバイオシグネチャーの検出を容易にする高速検出装置が、本明細書において提供される。この装置は、チップ上での生物学的試料調製をポリメラーゼ連鎖反応法（PCR）と統合することができる。この装置は、生物学的試料中の小胞の特定のバイオシグネチャーの検出を容易にすることができ、例が、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるPipper et al., *Angewandte Chemie*, 47(21), p. 3900-3904 (2008)に記載のように提供されている。参照によりその全体が本明細書に組み入れられるLi et al., *Adv Dent Res* 18(1):3-5 (2005)に記載されているように、診断用途のために、マイクロ／ナノエレクトロケミカルシステム（MEMS/NEMS）センサおよび口腔液を使用してバイオシグネチャーを組み込むことができる。

【0677】

平面アレイの代替として、粒子を使用するアッセイ、たとえば本明細書に記載されるようなビーズベースのアッセイをフローサイトメトリーと組み合わせて使用することができ

10

20

30

40

50

る。高感度自動化に合った比活性を有する同族のリガンドおよびレポーター分子を用いたビーズコーティングを使用する、マルチパラメトリックアッセイ法または他の高スループット検出アッセイ法を使用することができる。ビーズベースのアッセイシステムにおいては、バイオマーカーまたは小胞に対する結合物質、たとえば捕捉物質（たとえば捕捉抗体）をアドレス可能なミクロスフェア表面に固定化することができる。個々の結合アッセイのための各結合物質を異なる種類のミクロスフェア（すなわち、マイクロビーズ）に結合することができ、アッセイ反応は、図63Bに示されるようにそのミクロスフェアの表面で起こる。小胞に対する結合物質は、ビーズに結合した捕捉抗体であることができる。異なる蛍光強度を有する染色されたミクロスフェアをそれらの適切な結合物質または捕捉プローブとともに別々に添加する。必要に応じて、異なる結合物質を担持する異なるビーズセットをプールして、カスタムビーズアレイを生成することもできる。次いで、ビーズアレイを、アッセイを実施するための単一の反応容器の中で試料とともにインキュベートする。本発明とともに使用することができる、またはそれとともに使用するのに適合させることができるマイクロ流体工学デバイスの例は、本明細書に記載されるものを含むが、それらに限定されない。

【0678】

固定化された捕捉分子または結合物質とのバイオマーカーの産物形成を蛍光ベースのレポーターシステム（たとえば図63A～Bを参照）によって検出することができる。バイオマーカーは、蛍光体によって直接標識することもできるし、第二の蛍光標識された捕捉生体分子によって検出することもできる。捕捉されたバイオマーカーから導出されるシグナル強度をフローサイトメーターにおいて計測することができる。フローサイトメーターは、まず、その個々のカラーコードによって各ミクロスフェアを同定することができる。たとえば、異なる強度を有する各ビーズが異なる結合物質を有するよう、異なるビーズを異なる蛍光強度で染色することができる。ビーズは、少なくとも2種類の異なる標識または色素によって標識または染色することができる。いくつかの態様において、ビーズは、少なくとも3、4、5、6、7、8、9または10種類の異なる標識で標識される。また、二つ以上の標識または色素を有するビーズは、標識または色素の様々な比率および組み合わせを有することができる。ビーズは、外部的に標識または染色することもできるし、内在性の蛍光またはシグナル伝達標識を有することもできる。

【0679】

個々のビーズの各表面の捕捉されたバイオマーカーの量は、結合した標的に特異的な第二の色の蛍光によって計測することができる。これは、同じ実験内で一つの試料からの複数の標的の多重的定量化を可能にする。感度、信頼度および精度は、標準的なマイクロタイター-ELISA法に匹敵するか、またはそれよりも改善され得る。ビーズベースのシステムの利点は、小胞に対する捕捉生体分子または結合物質の、異なるミクロスフェアへの個々の結合が、多重化能力を提供することである。たとえば、図63Cに示すように、検出される5種類の異なるバイオマーカー（抗原、たとえばCD63、CD9、CD81、B7H3およびEpCamに対する抗体によって検出される）および小胞を捕捉する（捕捉抗体、たとえばCD9、PSCA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMA、5T4および／またはCD24に対する抗体を使用）ための20種類のバイオマーカーの組み合わせは、約100種類の検出される組み合わせを生じさせることができる。図63Cに「EpCam 2x」、「CD63 2X」として示すように、一つの標的に対する複数の抗体を使用して、様々なエピトープに対して検出を探ることができる。もう一つの例において、多重解析は、CD24に対する結合物質を使用して小胞を捕捉すること、およびCD9、CD63および／またはCD81に対する結合物質を使用して、捕捉された小胞を検出することを含む。捕捉された小胞は、抗体のような検出物質を使用して検出することができる。検出物質は、本明細書に記載されるように、直接または間接的に標識され得る。

【0680】

本明細書において開示された小胞バイオマーカーの任意の適切なパネルを多重解析において使用することができる。例えば、多重解析において以下のバイオマーカー:CD9、EphA

10

20

30

40

50

2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1またはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PTPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH100、PEGAM、BSA、TNFRの1つまたは複数も使用することができる。別の例において、以下のマーカー：5T4、A33、B7H3、B7H4、BCA、BCA225、BRCA、CA125、CD174、CD24、CD31、CD45、CD63、CD66e、CD81、CD9、cMET、CYFRA21、DLL4、DR3、EGFR、EpCam、EphA2、ER、ERBB4、ERBB2、ERBB3、ERBB4、Gal3、GPR30、ヘプシン、HER3、HSP70、ICAM1 (CD54)、ICB3、マンマグロビン、MFG-8e、MIS、MIS Rii、MUC1、MUC2、NGAL、NK-1R、NK-2、NPGP/NPFF2、PAI-1、PCSA、PSCA、PSMA、STAT3、STEAP1 (STEAP)、TROP-2、VEGF、およびVEGFAの1つまたは複数も多重分析において使用することができる。

【0681】

本明細書において開示された小胞バイオマーカーの任意の適切なパネルを多重分析において使用することができる。一部の態様において、多重分析のために、以下のマーカー：A33、APC、BDNF、CD10、CD24、CD63、CD66 CEA、CD81、CDADC1、C-Erb、DR3、EGFR、EphA2、FRT、GAL3、GDF15、GPR30、GRO-1、MACC-1、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC2、N-gal、OPN、P53、PCSA、PRL、SCRN1、SPR、TFF3、TGM2、TIMP-1、TMEM211、TrkB、TROP2、tsg101、TWEAK、およびUNC93Aの1つまたは複数が評価される。別の態様において、多重分析のために以下のマーカー：A33、APC、B7H3、BDNF、CD10、CD24、CD3、CD63、CD66e、CD81、CD9、CDADC1、C-ERBB2、CRP、CXCL12、EpCam、フェリチン、Gal3、GPCR GRP110、Gro- α 、ハプトグロビン (HAP)、HSP70、iC3b、LDH、MACC1、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC2、NCAM、NDUFB7、NGAL、OPN、PGP9.5、セブラーゼ、SPB、SPC、TFF3、TGM2、TIMP1、TMEM211、TrkB、TWEAK、およびUNC93の1つまたは複数が評価される。多重分析のために以下のマーカー：EPHA2、CD24、EGFR、および/またはCEAの1つまたは複数を経評価することができる。一態様において、多重分析のために以下のマーカー：A33、ADAM28、AQP5、B7H3、CABYR、CD10、CD24、CD63、CD81、CD9、CEACAM、CHI3L1、DLL4、DR3、EGFR、EpCam、EPHA2、ER、ERBB4、Gal3、GPCR GPR110、iC3b、メソテリン、MUC1、MUC17、MUC2、NDUFB7、NGAL、NSE、オステオポンチン、P2RX7、PCSA、PGP9.5、PSMA、PTP、SPA、SPB、SPC、TMEM211、TPA、TROP2、およびUNC93aの1つまたは複数が評価される。別の態様において、多重分析のために以下のマーカー：ERBB3、ERBB4、Gal3、GPR30、ヘプシン、HER3、HSP70、ICAM1 (CD54)、ICB3、マンマグロビン、MFG-8e、MIS、MIS Rii、MUC1、MUC2、NGAL、NK-1R、NK-2、NPGP/NPFF2、PAI-1、PCSA、PSCA、PSMA、STAT3、STEAP1 (STEAP)、TROP-2、およびVEGFAの1つまたは複数が評価される。一態様において、多重分析のために以下のマーカー：アネキシン1、アネキシンV、ASPH、AURKB、B7H3、BMP2、BRCA1、BTUB、CCL2、CD151、CD45、CD63、CD81、CD9、CEA、CEACAM、CENPH、CKS1、CRP、CYTO 18、CYTO 19、CYTO 7、EGFR、EPCAM、ERBB2、FSHR、FTH1、GPCR (GRP 110)、HCG、HIF、HLA、INGA3、INTG b4、KRAS、LAMP2、M2PK、MMP1、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC2、NACC1、NAP2、NCAM、NSE、オステオポンチン、P27、P53、PAN ADH、PCSA、PGP9、PNT、PRO GRP、PSMA、PTH1R、RACK1、SFTPC、SNAIL、SPA、SPD、TGM2、TIMP、TRIM29、TSPAN1、TWIST1、UNCR3、およびVEGFの1つまたは複数が用いられる。例えば、多重分析は、CENPH、PRO GRP、およびMMP9の評価を含んでもよい。

【0682】

少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75または100種類の異なるバイオマーカーの多重化を実施することができる。たとえば、差次的に標識されている複数の粒子を用いて、不均一な小胞集団のアッセイを実施することができる。少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16

、17、18、19、20、25、50、75または100個の差次的に標識された粒子があることができる。粒子は、たとえばタグにより、外部的に標識されることもできるし、内在的に標識されることもできる。差次的に標識された各粒子を小胞に対する捕捉物質、たとえば結合物質に結合して、小胞の捕捉を生じさせることができる。関心対象の表現型を特徴決定するために、一般的小胞バイオマーカー、起始細胞特異的バイオマーカーおよび疾患バイオマーカーに対する捕捉物質を含む、複数の捕捉物質を選択することができる。そして、捕捉された小胞の一つまたは複数のバイオマーカーを複数の結合物質によって検出することができる。結合物質は、検出を容易にするために直接標識されることもできる。または、結合物質は第二の剤によって標識される。たとえば、結合物質は、小胞表面上のバイオマーカーに対する抗体であることもできる。結合物質はビオチンに結合する。第二の剤が、レポーターに結合したストレプトアビジンを含み、バイオマーカーを検出するために添加されることができる。いくつかの態様において、捕捉された小胞は、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75または100種類の異なるバイオマーカーに関してアッセイされる。たとえば、多重検出器、すなわち、捕捉された小胞または小胞集団の複数のバイオマーカーの検出は、得られるシグナルを増大させることができ、感度、特異度または両方の増大およびより少量の試料の使用を可能にする。たとえば、二つ以上の一般的小胞マーカーを用いる検出は、より少ない数の検出マーカー、たとえば一つのマーカーを使用する場合に比べ、シグナルを改善することができる。例を示すならば、CD9、CD63およびCD81の二つ又は三つに対して標識された結合物質を用いる小胞の検出は、テトラスパニンのいずれか一つを個々に用いる検出に比べ、シグナルを改善することができる。

【0683】

また、免疫アッセイベースの方法またはサンドイッチアッセイ法を使用して、小胞のバイオマーカーを検出することもできる。例はELISAを含む。結合物質または捕捉物質をウェルに結合することができる。たとえば、小胞の抗原に対する抗体をウェルに結合させることができる。捕捉された小胞表面上のバイオマーカーを、本明細書に記載される方法に基づいて検出することができる。図63Aは、サンドイッチタイプの免疫アッセイ法を説明する図を示す。捕捉抗体は、対象の小胞抗原、たとえば一般的小胞バイオマーカー、起始細胞マーカーまたは疾患マーカーに対する抗体であることができる。図中、捕捉された小胞は、関心対象の小胞抗原に対する蛍光標識された抗体を使用して検出される。複数の捕捉抗体を、たとえばアレイ上の識別可能なアドレスまたは免疫アッセイプレートの異なるウェルにおいて使用することができる。検出抗体は、捕捉抗体と同じ抗原に対する抗体であることもできるし、他のマーカーに対して向けられることもできる。捕捉抗体は代替の結合物質、たとえば繫留されたアプタマーまたはレクチンと置き換えることもできるし、検出抗体がたとえば検出可能な（たとえば標識された）アプタマー、レクチンまたは他の結合タンパク質もしくは実体と同様に置き換えることもできる。ある態様において、一般的小胞バイオマーカー、起始細胞マーカーおよび／または疾患マーカーに対する一つまたは複数の捕捉物質が、一般的小胞バイオマーカー、たとえばCD9、CD63およびCD81の一つまたは複数の非限定的に含むテトラスパニン分子に対する検出物質とともに使用される。

【0684】

図63Dは、本発明の方法にしたがって小胞を解析するための説明図を示す。捕捉物質を使用して小胞を捕捉し、検出物質を使用して捕捉された小胞を検出し、捕捉され、検出された抗体のレベルまたは存在を使用して表現型を特徴決定する。捕捉物質、検出物質および表現型の特徴決定は、本明細書に記載されるもののいずれかであることができる。たとえば、捕捉物質は、関心対象の小胞抗原を認識する、基体に繫留された抗体またはアプタマーを含み、検出物質は、関心対象の小胞抗原に対する標識された抗体またはアプタマーを含み、表現型の特徴決定は、疾患の診断、予後判定またはセラノーシスを含む。図63D(i)に示すスキームにおいては、一般的小胞バイオマーカー（6300）に対する一つまたは複数の捕捉物質によって小胞集団を捕捉する。次いで、捕捉された小胞を、起始細胞バイオマーカー（6301）および／または疾患特異的バイオマーカー（6302）に対する検出物質

で標識する。起始細胞検出物質（6301）のみが使用されるならば、表現型（6303）を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、一般的小胞マーカー（6300）および起始細胞バイオマーカー（6301）を含むことができる。疾患検出物質（6302）のみが使用されるならば、表現型（6303）を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、一般的小胞マーカー（6300）および疾患バイオマーカー（6302）を含むことができる。あるいは、検出物質を使用して起始細胞バイオマーカー（6301）および疾患特異的バイオマーカー（6302）の両方を検出する。この場合、表現型（6303）を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、一般的小胞マーカー（6300）、起始細胞バイオマーカー（6301）および疾患バイオマーカー（6302）を含むことができる。バイオマーカーの組み合わせは、関心対象の表現型を特徴決定するように選択され、本明細書に記載されるバイオマーカーおよび表現型から選択されることができる。

10

【0685】

図63D(ii)に示すスキームにおいては、起始細胞バイオマーカー（6310）および／または疾患バイオマーカー（6311）に対する一つまたは複数の捕捉物質によって小胞集団を捕捉する。次いで、捕捉された小胞を、一般的小胞バイオマーカー（6312）に対する検出物質を使用して検出する。起始細胞捕捉物質（6310）のみが使用されるならば、表現型（6313）を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、起始細胞バイオマーカー（6310）および一般的小胞マーカー（6312）を含むことができる。疾患バイオマーカー捕捉物質（6311）のみが使用されるならば、表現型（6313）を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、疾患バイオマーカー（6311）および一般的小胞バイオマーカー（6312）を含むことができる。あるいは、一つまたは複数の起始細胞バイオマーカー（6310）および一つまたは複数の疾患特異的バイオマーカー（6311）に対する捕捉物質を使用して小胞を捕捉する。この場合、表現型（6313）を特徴決定するために使用されるバイオシグネチャーは、起始細胞バイオマーカー（6310）、疾患バイオマーカー（6311）および一般的小胞マーカー（6313）を含むことができる。バイオマーカーの組み合わせは、関心対象の表現型を特徴決定するように選択され、本明細書に記載されるバイオマーカーおよび表現型から選択されることができる。

20

【0686】

小胞ペイロードを含むバイオマーカーを解析して表現型を特徴決定することができる。ペイロードは、小胞膜内に含まれる生物学的実体を含む。これらの実体は、非限定的に、核酸、たとえばmRNA、マイクロRNAまたはDNAフラグメント；タンパク質、たとえば可溶性および膜関連タンパク質；糖質；脂質；代謝産物；および様々な小分子、たとえばホルモンを含む。ペイロードは、細胞環境中に小胞が形成されるとき封じ込められる細胞環境の一部であることができる。本発明のいくつかの態様において、小胞表面抗原を検出することに加えて、ペイロードが解析される。特異的な小胞集団を上記のように捕捉したのち、捕捉された小胞中のペイロードを使用して表現型を特徴決定することができる。たとえば、基体表面に捕捉された小胞をさらに単離して、その中のペイロードを評価することができる。あるいは、捕捉することなく試料中の小胞を検出し、ソートする。そのように検出された小胞をさらに単離して、その中のペイロードを評価することができる。ある態様においては、小胞集団をフローサイトメトリーによってソートし、ソートされた小胞中のペイロードを解析する。図63E(iii)に示すスキームにおいては、起始細胞バイオマーカー（6320）、疾患バイオマーカー（6321）および一般的小胞マーカー（6322）の一つまたは複数を使用して小胞集団を捕捉および／または検出する（6320）。単離された小胞のペイロードを評価する（6323）。ペイロード内で検出されたバイオシグネチャーを使用して表現型（6324）を特徴決定することができる。非限定的な例においては、関心対象の一つまたは複数の小胞抗原に対する抗体を使用して、患者からの血漿試料中の小胞集団を解析することができる。抗体は、所望の小胞集団を単離するために基体に繫留された捕捉抗体であることができる。あるいは、抗体を直接標識し、標識された抗体をフローサイトメトリーによるソートによって単離することもできる。単離された小胞集団から抽出されるマイクロRNAまたはmRNAの存在またはレベルを使用してバイオシグネチャーを検出することが

30

40

50

できる。そして、そのバイオシグネチャーを使用して、患者の診断、予後判定またはセラノーシスを実施する。

【0687】

他の態様においては、小胞ペイロードを、はじめに小胞の部分集団を捕捉または検出することなく、小胞集団中で解析する。たとえば、小胞は一般に、遠心分離法、ろ過法、クロマトグラフィーまたは本明細書に記載される他の技術を使用して、試料から単離することができる。その後、単離された小胞のペイロードを解析して、バイオシグネチャーを検出し、表現型を特徴決定することができる。図63E(iv)に示すスキームにおいては、小胞集団を単離し(6330)、単離された小胞のペイロードを評価する(6331)。ペイロード内で検出されたバイオシグネチャーを使用して表現型(6332)を特徴決定することができる。非限定的な例においては、サイズ排除および膜ろ過法を使用して、患者からの血漿試料から小胞集団を単離する。小胞集団から抽出されたマイクロRNAまたはmRNAの存在またはレベルを使用してバイオシグネチャーを検出する。そして、そのバイオシグネチャーを使用して患者の診断、予後判定またはセラノーシスを実施する。

【0688】

ペプチドまたはタンパク質バイオマーカーは、質量分析法またはフローサイトメトリーによって解析することができる。小胞のプロテオーム解析を、免疫細胞化学的染色法、ウェスタンブロット法、電気泳動法、SDS-PAGE、クロマトグラフィー、X線結晶写真法または他のタンパク質解析技術により、当技術分野において周知の手法にしたがって実施することもできる。他の態様において、小胞のタンパク質バイオシグネチャーは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるChromy et al. J Proteome Res, 2004; 3:1120-1127に記載されているような二次元ディファレンシャルゲル電気泳動法を使用して、または参照によりその全体が本明細書に組み入れられるZhang et al. Mol Cell Proteomics, 2005; 4:144-155に記載されているような液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて、解析することもできる。小胞は、たとえば、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるBerger et al., Am J Pharmacogenomics, 2004; 4:371-381に記載されている活性ベースのタンパク質プロファイリングに供することもできる。他の態様において、小胞は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるPisitkun et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 2004; 101:13368-13373に記載されているようなナノスプレー液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法を使用してプロファイリングすることもできる。もう一つの態様において、小胞は、たとえば、LTQおよびLTQ-FTイオントラップ質量分析計を使用する液体クロマトグラフィー/MS/MS(LC-MS/MS)のようなタンデム質量分析法(MS)を使用してプロファイリングすることもできる。参照によりその全体が本明細書に組み入れられるSmalley et al., J Proteome Res, 2008; 7:2088-2096に記載されているように、スペクトル計数を比較することによってタンパク質同定を決定し、相対定量を評価することができる。

【0689】

また、小胞内の循環タンパク質バイオマーカーまたはタンパク質ペイロードの発現を同定することもできる。後者の解析は、場合によっては、関心対象の集団を捕捉するための捕捉物質を使用する特定の小胞の単離の後に続くこともできる。ある態様においては、免疫細胞化学的染色法を使用してタンパク質発現を解析する。試料を緩衝液中に再懸濁させ、細胞遠心分離機を使用して、免疫細胞化学的染色に備えた接着性スライド上、100×gでたとえば3分間、遠心分離することができる。サイトスピンを夜通し風乾させ、染色まで-80℃で貯蔵することができる。そして、スライドを固定し、無血清ブロッキング試薬でブロッキングすることができる。そして、スライドを特異的抗体とともにインキュベートして、関心対象のタンパク質の発現を検出することができる。いくつかの態様において、小胞は、タンパク質発現解析の前に精製、単離または濃縮されない。

【0690】

小胞内の代謝産物マーカーまたは代謝産物の解析により、小胞ペイロードを含むバイオシグネチャーを特徴決定することができる。代謝産物標的解析、代謝産物プロファイリン

10

20

30

40

50

グまたは代謝フィンガープリンティングのような種々の代謝産物指向の手法が記載されている。たとえば、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられるDenkert et al., Molecular Cancer 2008; 7:4598-4617、Ellis et al., Analyst 2006; 8:875-885、Kuhn et al., Clinical Cancer Research 2007; 24:7401-7406、Fiehn O., Comp Funct Genomics 2001; 2:155-168、Fancy et al., Rapid Commun Mass Spectrom 20(15):2271-80 (2006)、Lindon et al., Pharm Res, 23(6):1075-88 (2006)、Holmes et al., Anal Chem. 2007 Apr 1; 79(7):2629-40. Epub 2007 Feb 27. Erratum in: Anal Chem. 2008 Aug 1; 80(15):6142-3、Stanley et al., Anal Biochem. 2005 Aug 15; 343(2):195-202、Lehtimäki et al., J Biol Chem. 2003 Nov 14; 278(46):45915-23を参照すること。

【0691】

Jain KK: Integrative Omics, Pharmacoproteomics, and Human Body Fluids. In: Thongboonkerd V, ed., ed. Proteomics of Human Body Fluids: Principles, Methods and Applications. Volume 1: Totowa, N.J.: Humana Press, 2007 (参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)に記載されるシステムによって、ペプチドを分析することができる。このシステムは、体液、および小胞に存在するタンパク質の、高感度の分子フィンガープリントを生成することができる。クロマトグラフィー／質量分析、および人体における全ての安定した代謝産物の参照ライブラリー、例えば、Paradigm Genetic社のヒトメタボロームプロジェクト (Paradigm Genetic's Human Metabolome Project) の使用を含む商業的応用は、代謝産物のバイオシグネチャーを検出するために使用することができる。代謝プロファイルを解析するための他の方法は、米国特許第6,683,455号 (Metabotrix)、米国特許出願公開第20070003965号および第20070004044号 (Biocrates Life Science) に記載される方法およびデバイスを含むことができ、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。他のプロテオミクスプロファイリング技術は、Kennedy, Toxicol Lett 120:379-384(2001)、Berven et al., Curr Pharm Biotechnol 7(3):147-58(2006)、Conrads et al., Expert Rev Proteomics 2(5):693-703、Decramer et al., World J Urol 25(5):457-65(2007)、Decramer et al., Mol Cell Proteomics 7(10):1850-62(2008)、Decramer et al., Contrib Nephrol, 160:127-41(2008)、Diamandis, J Proteome Res 5(9):2079-82(2006)、Immler et al., Proteomics 6(10):2947-58(2006)、Khan et al., J Proteome Res 5(10):2824-38(2006)、Kumar et al., Biomarkers 11(5):385-405(2006)、Noble et al., Breast Cancer Res Treat 104(2):191-6(2007)、Omen, Dis Markers 20(3):131-4(2004)、Powell et al., Expert Rev Proteomics 3(1):63-74(2006)、Rai et al., Arch Pathol Lab Med, 126(12):1518-26(2002)、Ramstrom et al., Proteomics, 3(2):184-90(2003)、Tammen et al., Breast Cancer Res Treat, 79(1):83-93(2003)、Theodorescu et al., Lancet Oncol, 7(3):230-40(2006)、またはZurbig et al., Electrophoresis, 27(11):2111-25(2006)に記載されている。

【0692】

mRNA、miRNA、または他の小RNAの解析のために、米国特許出願公開第2008132694号 (参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)に記載される方法等の核酸を単離するための任意の既知の方法を用いて、全RNAを単離することができる。これらとしては、市販の、膜ベースのRNA精製法を行うためのキットが挙げられるが、これらに限定されない。一般に、これらのキットは、細胞および組織からのRNAの小規模 (30mg以下) の調製、細胞および組織からのRNAの中規模 (250mg 組織) の調製、および細胞および組織からのRNAの大規模 (1g 最大) の調製に使用可能である。低分子RNAを含有する全RNAの有効な単離のための他の市販のキットが使用可能である。このような方法は、小胞から核酸を単離するために使用され得る。

【0693】

あるいは、RNAは、米国特許第7,267,950号 (参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)に記載される方法を用いて単離することができる。米国特許第7,267,950号には、生物系 (細胞、細胞フラグメント、細胞小臓器、組織、臓器、または生物) からのRNAを抽出する方法が記載されており、RNAを含有する溶液は、RNAを結合させることができる

基体と接触させ、陰圧を負荷することによって基体からRNAを回収する。あるいは、小RNA分子の単離を記載する、米国特許出願第20050059024号（参照によりその全体が本明細書に組み入れられる）に記載される方法を用いて、RNAは、単離され得る。他の方法は、米国特許出願第20050208510、20050277121、20070238118号に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0694】

一つの態様において、mRNAの発現解析は、試料から単離された小胞からのmRNAにおいて実行することができる。幾つかの態様において、該小胞は、起始細胞に特異的な小胞である。小胞から生成された発現パターンは、所与の病状、疾患の病期、治療関連のシグネチャー、または生理的状态を示すことができる。

10

【0695】

一つの態様において、全RNAが単離されると、cDNAを合成することができ、特異的mRNA標的に対するqRT-PCRアッセイ（例えば、Applied Biosystem's Taqman（登録商標）アッセイ）は、製造業者のプロトコールに従って行うことができるか、または発現のマイクロアレイを行って、1つの実験において、高度に多重化された発現マーカーのセットを検査することができる。遺伝子発現プロファイルを構築するための方法には、タンパク質またはペプチドをコードすることができる遺伝子によって産生されるRNAの量を決定することが含まれる。これは、定量的逆転写酵素PCR（qRT-PCR）、競合的RT-PCR、リアルタイムRT-PCR、差次的発現RT-PCR、ノーザンブロット分析、または他の関連試験によって達成され得る。個々のPCR反応を用いてこれらの技法を実行することが可能であるが、mRNAから産生される相補的DNA（cDNA）または相補的RNA（cRNA）を増幅し、マイクロアレイを介してそれを解析することも可能である。

20

【0696】

試料中のmiRNA産物のレベルは、ノーザンブロット分析、RT-PCR、qRT-PCR、インサイチュハイブリダイゼーション、またはマイクロアレイ解析が挙げられるが、これらに限定されない、生体試料中のmRNA発現レベルを検出するために適している任意の適切な技法を用いて測定することができる。例えば、遺伝子特異的なプライマーおよび標的cDNAを使用して、qRT-PCRは、少数の標的miRNA（単一解析および多重解析を介する）のいずれかの高感度の定量的なmiRNA測定を可能にするか、または、このプラットフォームを、96ウェルまたは384ウェルプレート形式を用いるハイスループット測定を行うために採用することができる。例えば、Ross JS et al, *Oncologist*.2008 May;13(5):477-93を参照されたい。これは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。多くの異なるアレイ配置およびマイクロアレイ産生のための方法は、当業者には公知であり、米国特許第5,445,934号、第5,532,128号、第5,556,752号、第5,242,974号、第5,384,261号、第5,405,783号、第5,412,087号、第5,424,186号、第5,429,807号、第5,436,327号、第5,472,672号、第5,527,681号、第5,529,756号、第5,545,531号、第5,554,501号、第5,561,071号、第5,571,639号、第5,593,839号、第5,599,695号、第5,624,711号、第5,658,734号、または第5,700,637号等の米国特許に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。miRNAをプロファイリングする他の方法は、Taylor et al., *Gynecol Oncol*.2008 Jul;110(1):13-21、Gilad et al, *PLoS ONE*.2008 Sep 5;3(9):e3148、Lee et al., *Annu Rev Pathol*.2008 Sep 25およびMitchell et al, *Proc Natl Acad Sci U S A*.2008 Jul 29;105(30):10513-8、Shen R et al, *BMC Genomics*.2004 Dec 14;5(1):94、Mina L et al, *Breast Cancer Res Treat*.2007 Jun;103(2):197-208、Zhang L et al, *Proc Natl Acad Sci U S A*.2008 May 13;105(19):7004-9、Ross JS et al, *Oncologist*.2008 May;13(5):477-93、Schetter AJ et al, *JAMA*.2008 Jan 30;299(4):425-36、Staudt LM, *N Engl J Med* 2003;348:1777-85、Mulligan G et al, *Blood*.2007 Apr 15;109(8):3177-88、Epub 2006 Dec 21、McLendon R et al, *Nature*.2008 Oct 23;455(7216):1061-8、ならびに米国特許第5,538,848号、第5,723,591号、第5,876,930号、第6,030,787号、第6,258,569号、および第5,804,375号に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。幾つかの態様において、マイクロRNAパネルのアレイを

30

40

50

使用して、複数のmiRの発現を同時に照会する。Exiqon mIRCURY LNA マイクロRNA PCRシステムパネル (Exiqon, Inc., Woburn, MA)、またはTaqMan (登録商標) マイクロRNAアッセイおよびApplied Biosystems(Foster City, CA)のアッセイシステムを、そのような目的に使用することができる。

【0697】

マイクロアレイ技術は、何千もの転写物またはmiRNAの定常状態mRNAまたはmiRNAレベルを同時に測定することを可能にし、それによって、制御されていない細胞増殖の開始、停止、または調節等の効果を同定するための強力なツールを提供する。cDNAアレイおよびオリゴヌクレオチドアレイ等の2つのマイクロアレイ技術を使用することができる。これらの分析の成果は、一般に、マイクロアレイ上の既知の位置で核酸配列にハイブリダイズする試料からのcDNA配列を検出するために使用された標識プローブから受けたシグナルの強度の測定値である。一般に、シグナルの強度は、cDNAの量に比例し、故に、mRNAまたはmiRNAは、試料細胞中に発現する。多くのこのような技法が使用可能であり、有用である。遺伝子発現を決定するための方法は、Linsleyらの米国特許第6,271,002号；Friendらの米国特許第6,218,122号；Peckらの米国特許第6,218,114号；またはWangらの米国特許第6,004,755号に見出され得、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0698】

発現レベルの解析は、このような強度を比較することによって行われ得る。これは、対照試料中の遺伝子の発現強度に対する試験試料中の遺伝子の発現強度の比率マトリックスを生成することによって行われ得る。対照試料は、参照として使用され得、年齢、民族、および性別を考慮するために異なる参照が使用され得る。異なる参照は、異なる病態または疾患、および疾患または病態の異なる病期用に、ならびに治療効果を決定するために使用することができる。

【0699】

例えば、小胞から単離されたものを含む、罹患組織に由来するmRNAまたはmiRNAの遺伝子発現強度は、同じ種類の正常組織における同様の要素の発現強度と比較することができる（例えば、罹患した乳房組織試料 対 正常乳房組織試料）。これらの発現強度の比は、試験試料と対照試料との間の遺伝子発現の倍率変化を示す。あるいは、小胞が正常組織（例えば、乳房）において通常存在しない場合、当該技術分野に公知であるような、絶対量測定法を使用して、正常組織に由来する小胞から単離されたmiRNAまたはmRNAを必要とせずに、存在するmiRNA分子の数を画定することができる。

【0700】

また、遺伝子発現プロファイルも、多くの方法で表示することができる。一般的な方法は、未加工の蛍光強度またはマトリックスの比を、縦の列が試験試料を示し、横の行が遺伝子を示す、グラフの樹状図 (graphical dendrogram) に配列することである。データは、類似した発現プロファイルを有する遺伝子が互いに近位になるように配列される。各遺伝子の発現比は、色で視覚化される。例えば、1未満の比（下方制御を示す）はスペクトルの青の部分に現れ得るが、1より大きい比（上方制御を示す）はスペクトルの赤の部分の色として現れ得る。市販のコンピュータソフトウェアプログラムは、このようなデータを表示するために使用できる。

【0701】

特異的に発現したと見なされるmRNAまたはmiRNAは、疾患を有する患者において、無病個人と比較して過剰発現あるいは過小発現のいずれかであり得る。過剰発現および過小発現は、（それを測定するために使用したシステムのノイズの寄与を超える）検出可能な差異が、あるベースラインと比較してmRNAまたはmiRNAの発現量に見出されることを意味する相対的な用語である。この場合、ベースラインは、疾患のない個人の測定されたmRNA/miRNA発現である。次いで、罹患細胞における関心対象のmRNA/miRNAは、同じ測定方法を用いたベースラインレベルと比較して過剰発現または過小発現したものであり得る。この文脈において、罹患 (diseased) とは、身体機能の適切な働きを妨害するもしくは乱す、

または乱す可能性がある、身体状態の変化のことを指し、それは制御されていない細胞増殖によって生じる。ある人について、その人の遺伝子型または表現型の幾つかの態様が、疾患の存在と一致する場合に、疾患であると診断される。しかしながら、診断および予後判定を行うという行為は、再発または転移の可能性の決定および治療観察といった、疾患／状態の問題の決定を含んでいる。治療観察においては、正常組織とより一致するパターンにmRNA／miRNA発現プロファイルが変化したのかどうか、または変化しつつあるのかどうかを判定するために経時的に遺伝子の発現を比較することによって、所定の一連の治療の効果について、臨床的判断が行われる。

【0702】

過剰発現および過小発現のレベルは、ハイブリダイズしたマイクロアレイプローブの強度測定の変率変化に基づいて区別される。2倍の違いは、このような区別を行うのに望ましい（あるいはp値が0.05未満）。すなわち、mRNA／miRNAが正常／非再発細胞に対して罹患／再発細胞において特異的に発現する前に、罹患細胞は、正常細胞と比較して少なくとも2倍より多い、もしくは2倍少ない強度をもたらすことが分かっている。より大きい倍率の差があるほど、診断もしくは予後判定の手段としてその遺伝子を使用することが好ましい。本発明の発現プロファイルのために選択されたmRNA／miRNAは、臨床用実験器具を使用した際、バックグラウンドを超える量で正常遺伝子もしくは非調節遺伝子のシグナルと区別可能なシグナルの発生をもたらす発現レベルを有している。

【0703】

調節された遺伝子を非調節mRNA／miRNAおよびノイズと明確に区別するために、統計的値を使用することができる。統計的検定により、試料の様々な群の間で最も有意差のあるmRNA／miRNAを検出する。スチューデントのt-検定は、ロバストな統計的検定の一例であり、2群間の有意差を検出するために使用することができる。p値が低いほど、その遺伝子が異なる群の間の差を示している証拠がより説得力を持つ。とはいえ、マイクロアレイは、1回に2つ以上のmRNA／miRNAを測定するので、数万もの統計的検定を一度に行うことがあり得る。このため、全くの偶然によって低いp値を見出す可能性は低く、シダックの補正のみでなく、ランダム化／置換の実験を用いることでこの調整を行うことができる。t-検定による0.05未満のp値は、遺伝子に有意差があるという証拠となる。シダックの補正を計算に入れた後の0.05未満のp値は、より強力な証拠となる。各群の多数の試料に対して、ランダム化／置換検定を行った後の0.05未満のp値は、有意差を示す最も強力な証拠となる。

【0704】

一つの態様において、診断、予後判定、治療に関連する、または生理的状态の特異的なバイオシグネチャーのスコアを可能にするための事後確率スコアを生成する方法は、統計的に有意な数の患者からの循環バイオマーカーデータを取得すること、選択されるバイオマーカーを取得するためにデータに線形判別分析を適用すること、および事後確率スコアとして適用され得る予測モデルを取得するために判別関数因子で選択されたバイオマーカーに、重み付けされた発現レベルを適用することによって、達し得る。同じ問題に答えるために、ロジスティック回帰およびニューラルネットワークアプローチ等の、他の解析手段も使用することができる。

【0705】

例えば、以下は、線形判別分析に使用することができる。

式中、

$I(p_{si_d})$ = 括弧で囲まれているプローブセットの強度の2を底とした対数。 $d(cp)$ = 疾患陽性群に対する判別関数、 $d(C_N)$ = 疾患陰性群に対する判別関数

$P(C_P)$ = 疾患陽性群に対する事後p値

$P(C_N)$ = 疾患陰性群に対する事後p値

である。

【0706】

多くの他の周知のパターン認識方法が使用可能である。以下の参照は、幾つかの例を提

供する:加重投票法:Golubら(1999)、サポートベクターマシン(Support Vector Machines):Suら(2001)、およびRamaswamyら(2001)、K-最近傍法:Ramaswamy(2001)、ならびに相関係数:van't Veerら(2002)、これらの全ては、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0707】

以下にさらに記載される、バイオシグネチャーのポートフォリオは、ポートフォリオ内のバイオマーカーの組み合わせが、個々のバイオマーカーまたはランダムに選択されたバイオマーカーの組み合わせと比較して、改善された感度および特異度を示すように構築され得る。一つの態様において、バイオシグネチャーのポートフォリオの感度は、例えば、正常状態と比較して、罹患状態における転写物の発現によって示される、倍率の差に反映され得る。特異度は、転写物発現シグナルの、関心対象の条件に対する相関の統計的な測定に反映され得る。例えば、標準偏差は、このような測定として使用することができる。バイオシグネチャーのポートフォリオに包含するためのバイオマーカー群を考える場合、発現の測定における小さな標準偏差は、より高い特異度と相関する。相関係数等の他の変法の測定もまた、この限りにおいて使用することができる。

【0708】

非調節mRNA/miRNAまたはノイズのシグナルよりも大きいシグナルを生成するmRNA/miRNAを選択するために使用することができる別のパラメータは、絶対シグナル差の測定の使用である。調節mRNA/miRNA発現によって生成されたシグナルは、正常または非調節遺伝子(絶対的基準において)のシグナルと少なくとも20%の差異がある。このようなmRNA/miRNAは、正常または非調節mRNA/miRNAのシグナルと少なくとも30%の差異がある発現パターンを生じることがさらになお好ましい。

【0709】

miRNAはまた、生体試料から増幅することによって検出し、かつ測定することができ、米国特許第7,250,496号、米国出願公開第20070292878号、第20070042380号、または第20050222399号に記載される方法を用いて測定することができ、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。マイクロRNAは、2011年2月15日に発行された"METHODS FOR ASSESSING RNA PATTERNS"と題される米国特許第7,888,035号に記載されるように評価され得、この出願はその全体が本明細書に組み入れられる。

【0710】

リン酸-糖のポリヌクレオチド骨格が、可撓性擬似ペプチドポリマーで置き換えられる、合成核酸類似体の新しいクラスであるペプチド核酸(PNA)は、バイオシグネチャーの解析に利用され得る。PNAは、相補RNAおよびDNA配列に対して高い親和性および特異性を持ってハイブリダイズする能力があり、ヌクレアーゼおよびプロテイナーゼによる分解に強い抵抗性を示す。ペプチド核酸(PNA)は、ヒト染色体の急速なインサイチューでの同定およびコピー数多型(CNV)の検出のための細胞遺伝学における用途を有する魅力的な新しいクラスのプローブである。マルチカラーペプチド核酸蛍光インサイチューハイブリダイゼーション(PNA-FISH)プロトコールは、幾つかのヒトCNV関連の障害および感染症の同定に対して記載されている。PNAはまた、腫瘍を標的とする放射性核種-PNA-ペプチドキメラを用いて発癌遺伝子mRNAを非侵襲的に測定するための分子診断手段として利用することもできる。PNAを使用する方法は、Pellestor F et al, Curr Pharm Des.2008;14(24):2439-44, Tian X et al, Ann N Y Acad Sci.2005 Nov;1059:106-44, Paulasova P and Pellestor F, Annales de Genetique, 47(2004)349-358, Stender H.Expert Rev Mol Diagn.2003 Sep;3(5):649-55.Review, Vigneault et al., Nature Methods, 5(9), 777-779(2008)にさらに記載されており、各参照は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。これらの方法は、小胞から単離された遺伝物質をスクリーニングするために使用することができる。起始細胞に特異的な小胞にこれらの技法を適用する場合、これらの技法は、起始細胞に直接関連するある分子シグナルを同定するために使用することができる。

【0711】

突然変異解析は、小胞から同定されるものを含むmRNAおよびDNAに対して実行され得る

。RNA起源のものである標的またはバイオマーカーの突然変異解析について、RNA (mRNA、miRNA、またはその他) をcDNAに逆転写し、続いて、既知のSNPなど (例えば、Taqman SNP アッセイによって)、または単一ヌクレオチド突然変異について配列決定またはアッセイすることができ、また、起始細胞中に存在する突然変異を決定するために挿入または欠失を探すための配列決定を用いてもよい。一方、多重連鎖反応依存性プローブ増幅 (MLPA) は、関心対象の小さい特異的な領域におけるCNVを同定する目的で使用され得る。例えば、全RNAが、単離された結腸癌固有の小胞から得られると、cDNAを合成することができ、KRAS遺伝子のエキソン2および3に特異的なプライマーは、KRAS遺伝子のコドン12、13、および61を含有するこれらの2つのエキソンを増幅するために使用することができる。PCR増幅に使用される同じプライマーは、KRASのエキソン2および3において、突然変異を同定するために、ABI 3730上でBig Dye Terminator配列解析のために使用することができる。これらのコドンにおける突然変異は、セツキシマブおよびパニツミマブ (Panitumimab) 等の薬物に対する抵抗力を与えることで知られている。突然変異解析を行う方法は、Maheswaran S et al, July 2, 2008(10.1056/NEJMoa0800668)およびOrita, M et al, PNAS 1989, (86):2766-70に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0712】

突然変異解析を行う他の方法は、miRNA配列決定を含む。miRNAを同定し、プロファイリングするための応用は、クローニング技術、およびキャピラリーDNA配列決定または「次世代」配列決定技術の使用によって行うことができる。現在利用可能な新しい配列決定技術は、ハイブリダイゼーションに基づく方法では検出されないと考えられる少量のmiRNAまたは試料間の低い発現差異を示すものの同定を可能にする。このような新しい配列決定技術には、Nakano et al. 2006, Nucleic Acids Res. 2006;34:D731-D735.doi:10.1093/nar/gkj077に記載される、大規模並列シグネチャー配列決定 (MPSS) 法、Margulies et al. 2005, Nature. 2005;437:376-380に記載される、Roche/454プラットフォーム、またはBerezikov et al. Nat. Genet. 2006b;38:1375-1377に記載される、イルミナ配列決定プラットフォームが含まれ、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0713】

バイオシグネチャーを決定するためのさらなる方法には、遺伝子の2つの対立遺伝子間で増幅し、同時に識別するための特異的なプライマーを含む対立遺伝子特異的なPCR、配列ならびにDNAおよびRNAアダプターの微細な差異に基づく一本鎖核酸の電気泳動分離を含む一本鎖DNA高次構造多型 (SSCP) によってバイオマーカーをアッセイすることが含まれる。DNAおよびRNAアダプターは、高親和性を有する特定の分子に結合する能力に基づいてランダムなプールから選択することができる短いオリゴヌクレオチド配列である。アダプターを使用する方法は、Ulrich H et al, Comb Chem High Throughput Screen. 2006 Sep; 9(8):619-32、Ferreira CS et al, Anal Bioanal Chem. 2008 Feb;390(4):1039-50、Ferreira CS et al, Tumour Biol. 2006;27(6):289-301に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0714】

バイオマーカーはまた、蛍光インサイチューハイブリダイゼーション (FISH) を用いて検出することもできる。特異的なDNA配列を検出および局在化させるため、組織試料内で特異的なmRNAを局在化するため、または染色体異常を同定するためにFISHを用いる方法は、Shaffer DR et al, Clin Cancer Res. 2007 Apr 1;13(7):2023-9、Cappuzo F et al, Journal of Thoracic Oncology, Volume 2, Number 5, May 2007、Moroni M et al, Lancet Oncol. 2005 May;6(5):279-86に記載されており、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0715】

小胞集団をそのペイロードに関して解析するための説明図が図63Eに提示されている。ある態様において、本発明の方法は、小胞を捕捉し (6330)、その中に含まれるマイクロ

10

20

30

40

50

RNA種のレベルを測定して(6331)、それによって表現型を特徴決定することにより(6332)、表現型を特徴決定することを含む。

【0716】

循環バイオマーカーまたは小胞を含むバイオシグネチャーは、それに対する結合物質を含むことができる。結合物質は、DNA、RNA、アプタマー、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、Fab、Fab'、一本鎖抗体、合成抗体、アプタマー(DNA/RNA)、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)、レクチン、合成または天然の化学物質(薬物および標識試薬を含むが、これらに限定されない)であることができる。

【0717】

上記のように、結合物質を使用して、小胞の成分に結合させることにより、小胞を単離または検出することができる。結合物質は、小胞を検出する、たとえば起始細胞特異的小胞を検出するために使用することができる。結合物質または複数の結合物質そのものが、小胞のバイオシグネチャーを提供する結合物質プロファイルを形成することができる。一つまたは複数の結合物質は図2から選択することができる。たとえば、不均一な小胞集団からの小胞の差次的検出または単離において二つ、三つまたは四つの結合物質を使用して小胞集団を検出または単離するならば、その小胞集団の特定の結合物質プロファイルがその特定の小胞集団のバイオシグネチャーを提供する。結合物質の標的として使用されうる多数の小胞抗原が本明細書において記載される。

【0718】

説明のための例として、癌を特徴決定するための小胞は、PSA、PSMA、PCSA、PSCA、B7H3、EpCam、TMPRSS2、mAB5D4、XPSM-A9、XPSM-A10、ガレクチン3、Eセレクチン、ガレクチン1またはE4(IgG2aκ)またはそれらの任意の組み合わせを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質によって検出することができる。

【0719】

結合物質はまた、一般的小胞バイオマーカー、たとえば「ハウスキーピングタンパク質」または抗原に対する結合物質であることもできる。バイオマーカーはCD9、CD63またはCD81であることができる。たとえば、結合物質は、CD9、CD63またはCD81に対する抗体であることができる。結合物質はまた、他のタンパク質、たとえば組織特異的または癌特異的小胞に対する結合物質であることもできる。結合物質は、PCSA、PSMA、EpCam、B7H3またはSTEAPに対する結合物質であることができる。結合物質は、DR3、STEAP、epha2、TMEM211、MFG-E8、アネキシンV、TF、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2またはTETSに対する結合物質であることができる。たとえば、結合物質は、PCSA、PSMA、EpCam、B7H3、DR3、STEAP、epha2、TMEM211、MFG-E8、アネキシンV、TF、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2またはTETSに対する抗体またはアプタマーであることができる。

【0720】

一般に、様々なタンパク質が小胞シェル上に均等または均一に分散しているわけではない。たとえば、タンパク質発現パターンを示す図64を参照すること。小胞特異的タンパク質がよりありふれている一方で、癌特異的タンパク質はそれほどありふれてはいない。いくつかの態様において、小胞の捕捉は、よりありふれた、より癌特異的でないタンパク質、たとえば一つまたは複数のハウスキーピングタンパク質または抗原もしくは一般的小胞抗原(たとえばテトラスパニン)を使用して達成され、一つまたは複数の癌特異的バイオマーカーおよび/または一つまたは複数の起始細胞特異的バイオマーカーは検出段階で使用される。もう一つの態様において、一つまたは複数の癌特異的バイオマーカーおよび/または一つまたは複数の起始細胞特異的バイオマーカーが捕捉に使用され、一つまたは複数のハウスキーピングタンパク質または抗原もしくは一般的小胞抗原(たとえばテトラスパニン)が検出に使用される。態様において、同じバイオマーカーが捕捉および検出の両方に使用される。同じバイオマーカーに対して異なる結合物質、たとえば抗原の異なるエピトープに結合する抗体またはアプタマーを使用することもできる。

【0721】

さらなる細胞結合パートナーまたは結合物質を、当技術分野において公知の従来法によ

10

20

30

40

50

って、または本明細書に記載されるように同定することもでき、さらに、診断、予後判定または治療関連マーカーとして使用することもできる。

【0722】

説明のための例として、肺癌の解析のための小胞は、SCLC特異的アプタマーHCA12、SCLC特異的アプタマーHCC03、SCLC特異的アプタマーHCH07、SCLC特異的アプタマーHCH01、A-p50アプタマー（NF-KB）、セツキシマブ、パニツムマブ、ベバシズマブ、L19Ab、F16Ab、抗CD45（UV3とも知られる抗ICAM-1）もしくはL2G7Ab（抗HGF）を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。いくつかの態様において、肺癌小胞用の結合物質は、SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、gal3-b2c10、iC3b、MUC1、GPCR、CABYRおよびmuc17のうちの一つまたは複数に対する結合物質を含む。

10

【0723】

結腸癌を特徴決定するための小胞は、アンギオポエチン2特異的アプタマー、 β カテニンアプタマー、TCF1アプタマー、抗Derlin1 ab、抗RAGE、mAbg3.1、ガレクチン3、セツキシマブ、パニツムマブ、マツズマブ、ベバシズマブもしくはMac-2を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0724】

腺腫 対 結腸直腸癌（CRC）を特徴決定するための小胞は、補体C3、高ヒスチジン糖タンパク質、キニノゲン1もしくはガレクチン3を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

20

【0725】

低悪性度過形成を伴う腺腫 対 高悪性度過形成を伴う腺腫を特徴決定するための小胞は、結合物質、たとえば非限定的にガレクチン3またはこの比較に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0726】

CRC 対 正常状態を特徴決定するための小胞は、抗ODC mAb、抗CEA mAbもしくはMac-2を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0727】

前立腺癌を特徴決定するための小胞は、PSA、PSMA、TMPRSS2、mAB 5D4、XPSM-A9、XPSM-A10、ガレクチン3、Eセレクチン、ガレクチン1もしくはE4（IgG2a κ ）を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

30

【0728】

黒色腫を特徴決定するための小胞は、トレメリムマブ（抗CTLA4）、イピリムマブ（抗CTLA4）、CTLA-4アプタマー、STAT-3ペプチドアプタマー、ガレクチン1、ガレクチン3もしくはPNAを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0729】

膵臓癌を特徴決定するための小胞は、H38-15（抗HGF）アプタマー、H38-21（抗HGF）アプタマー、マツズマブ、セツキシマブもしくはベバシズマブを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

40

【0730】

脳癌を特徴決定するための小胞は、アプタマーIII.1（pigpen）および／またはTTA1（テナシンC）アプタマーを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0731】

乾癬を特徴決定するための小胞は、Eセレクチン、ICAM-1、VLA-4、VCAM-1、 α E β 7を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出す

50

ることができる。

【0732】

心血管疾患（CVD）を特徴決定するための小胞は、RB007（因子IXAアプタマー）、ARC1779（抗VWF）アプタマーもしくはLOX1を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0733】

血液悪性腫瘍を特徴決定するための小胞は、抗CD20および／または抗CD52を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0734】

B細胞慢性リンパ球性白血病を特徴決定するための小胞は、リツキシマブ、アレムツズマブ、Apt48（BCL6）、R0-60もしくはD-R15-8を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0735】

B細胞リンパ腫を特徴決定するための小胞は、イブリツモマブ、トシツモマブ、抗CD20抗体、アレムツズマブ、ガリキシマブ、抗CD40抗体、エブラツズマブ、ルミリキシマブ、Hu1D10、ガレクチン3もしくはApt48を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0736】

バーキットリンパ腫を特徴決定するための小胞は、TD05アプタマー、IgM mAB（38-13）を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0737】

子宮頸癌を特徴決定するための小胞は、ガレクチン9および／またはHPVE7アプタマーを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0738】

子宮内膜癌を特徴決定するための小胞は、ガレクチン1を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または子宮内膜癌に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0739】

頭頸部癌を特徴決定するための小胞は、（111）In-cMAb U36、抗LOXL4、U36、BIWA-1、BIWA-2、BIWA-4もしくはBIWA-8を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0740】

IBDを特徴決定するための小胞は、ACCA（抗グリカンAb）、ALCA（抗グリカンAb）もしくはAMCA（抗グリカンAb）を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0741】

糖尿病を特徴決定するための小胞は、RBP4アプタマーを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または糖尿病に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0742】

線維筋痛症を特徴決定するための小胞は、Lセレクチンを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または線維筋痛症に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0743】

多発性硬化症（MS）を特徴決定するための小胞は、ナタリズマブ（Tysabri）を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはMSに特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

10

20

30

40

50

【0744】

加えて、リウマチ性疾患を特徴決定するための小胞は、リツキシマブ（抗CD20Ab）および／またはケリキシマブ（抗CD4Ab）を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはリウマチ性疾患に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0745】

アルツハイマー病を特徴決定するための小胞は、TH14-BACE1アプタマー、S10-BACE1アプタマー、抗Abeta、バピネウズマブ（AAB-001）-Elan、LY2062430（抗アミロイドβ Ab）-Eli LillyもしくはBACE1アンチセンスを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0746】

10

プリオン特異的疾患を特徴決定するための小胞は、rhuPrP(c)アプタマー、DP7アプタマー、チオアプタマー97、SAF-93アプタマー、15B3（抗PrPSc Ab）、モノクローナル抗PrPSc抗体P1:1、1.5D7、1.6F4 Abs、mab 14D3、mab 4F2、mab 8G8もしくはmab 12F10を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0747】

敗血症を特徴決定するための小胞は、HA-1A mAb、E-5 mAb、TNF-α MAb、アフエリモマブもしくはEセレクトインを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはそれらの任意の組み合わせによって検出することができる。

【0748】

20

統合失調症を特徴決定するための小胞は、Lセレクトインおよび／またはN-CAMを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または統合失調症に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0749】

うつ病を特徴決定するための小胞は、GPIbを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはうつ病に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0750】

GISTを特徴決定するための小胞は、ANTI-DOG1Abを非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはGISTに特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

30

【0751】

食道癌を特徴決定するための小胞は、CaSR結合物質を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または食道癌に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0752】

胃癌を特徴決定するための小胞は、カルパインnCL-2結合物質および／またはドレブリン結合物質を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または胃癌に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0753】

40

COPDを特徴決定するための小胞は、CXCR3結合物質、CCR5結合物質もしくはCXCR6結合物質を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質またはCOPDに特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0754】

喘息を特徴決定するための小胞は、VIP結合物質、PACAP結合物質、CGRP結合物質、NT3結合物質、YKL-40結合物質、S-ニトロソチオール類、SCCA2結合物質、PAI結合物質、アンフィレグリン結合物質もしくはペリオスチン結合物質を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または喘息に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0755】

50

不安定プラークを特徴決定するための小胞は、Gd-DTPA-g-mimRGD（αvβ3インテグリン

結合ペプチド) もしくはMMP-9結合物質を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または不安定プラークに特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0756】

卵巣癌を特徴決定するための小胞は、(90) Y-muHMG1結合物質および/またはOC125 (抗CA125抗体) を非限定的に含む一つまたは複数の結合物質または卵巣癌に特異的な結合物質の任意の組み合わせによって検出することができる。

【0757】

結合物質はまた、一般的小胞バイオマーカー、たとえば「ハウスキーピングタンパク質」または抗原に対する結合物質であることもできる。バイオマーカーはCD9、CD63またはCD81であることができる。たとえば、結合物質は、CD9、CD63またはCD81に対する抗体であることができる。結合物質はまた、他のタンパク質、たとえば前立腺特異的または癌特異的小胞に対する結合物質であることもできる。結合物質は、PCSA、PSMA、EpCam、B7H3またはSTEAPに対する結合物質であることができる。たとえば、結合物質は、PCSA、PSMA、EpCam、B7H3またはSTEAPに対する抗体であることができる。

【0758】

様々なタンパク質は、小胞外皮上に均一または均等に分布していなくてもよい。例えば、タンパク質発現パターンの模式図を示す図64を参照されたい。小胞特異的タンパク質は典型的によく見られるのに対して、癌特異的タンパク質は稀にしか見られない。一部の態様において、小胞の捕捉は、ハウスキーピングタンパク質または抗原などのよく見られる、癌特異的でないタンパク質を用いて達成され、癌特異的タンパク質は検出相において用いられる。

【0759】

さらには、さらなる細胞結合パートナーまたは結合物質は、当技術分野において公知の従来法によって、または本明細書に記載されるように同定することもでき、さらに、診断、予後判定または治療関連マーカーとして使用することもできる。

【0760】

癌のバイオシグネチャー

本明細書に記載されるように、循環バイオマーカーを含むバイオシグネチャーを使用して癌を特徴決定することができる。このセクションは、たとえば前立腺癌、GI癌または卵巣癌のバイオシグネチャーの一部として使用することができるバイオマーカーの非網羅的リストを提示する。いくつかの態様において、循環バイオマーカーは、小胞または小胞の集団と関連している。たとえば、小胞と関連した循環バイオマーカーを使用して、小胞または小胞集団を捕捉および/または検出することができる。このセクションは、たとえば前立腺癌、GI癌または卵巣癌のバイオシグネチャーの一部として使用することができるバイオマーカーの非網羅的リストを提示する。

【0761】

本明細書に提示されるバイオマーカーは、他の疾患、たとえば他の増殖性疾患および他の細胞または組織起源の癌のバイオシグネチャーにおいても役立つ場合があることが理解されよう。たとえば、様々な細胞型における悪性転換は、よくあるイベント、たとえばp53または他の腫瘍サプレッサにおける突然変異によることができる。起始細胞バイオマーカーおよび癌バイオマーカーを含むバイオシグネチャーを使用して、癌の性質をさらに評価することができる。転移性癌を評価するために、転移性癌のバイオマーカーが起始細胞バイオマーカーとともに使用される場合がある。本発明と共に使用するためのそのようなバイオマーカーは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるDawood, Novel biomarkers of metastatic cancer, Exp Rev Mol Diag July 2010, Vol. 10, No. 5, Pages 581-590におけるものを含む。癌のバイオシグネチャーは、本明細書に記載されたものまたは当技術分野で公知のものなどの、一つまたは複数の公知の癌マーカーを含み得る。

【0762】

本発明のバイオシグネチャーは、参照に依存して上方制御される、下方制御される、ま

たは変化しないマーカーを含み得る。例示のためのみに、参照が正常な試料であるならば、バイオシグネチャーは、対象のバイオシグネチャーが参照と比較して変化しないならば、その対象が正常であることを示し得る。または、バイオシグネチャーは、突然変異した核酸またはアミノ酸配列を含み得、バイオシグネチャー中の成分のレベルが正常な参照と有疾患試料との間で同じである。別の場合、参照は癌試料であることができ、対象のバイオシグネチャーは、それが参照に実質的に類似しているならば、癌を示す。対象のバイオシグネチャーは、参照と比較して上方制御された成分および下方制御された成分の両方を含むことができる。例示のためのみに、参照が正常な試料であるならば、癌バイオシグネチャーは、上方制御されたオンコジーンおよび下方制御された腫瘍抑制子の両方を含むことができる。小胞マーカーはまた、様々な状況において差次的に発現することができる。たとえば、テトラスパニン、非癌小胞と比較して癌小胞において過剰発現する場合があり、MFG-E8は、癌小胞と比較して非癌小胞において過剰発現することができる。

【0763】

癌を特徴決定するためのバイオシグネチャーは1種または複数種の公知の癌遺伝子を含んでもよい。一態様において、1種または複数種の公知の癌遺伝子は、ABL1、ABL2、ACSL3、AF15Q14、AF1Q、AF3p21、AF5q31、AKAP9、AKT1、AKT2、ALDH2、ALK、AL017、APC、ARHG EF12、ARHH、ARID1A、ARID2、ARNT、ASPSCR1、ASXL1、ATF1、ATIC、ATM、ATRX、BAP1、BCL10、BCL11A、BCL11B、BCL2、BCL3、BCL5、BCL6、BCL7A、BCL9、BCOR、BCR、BHD、BIRC3、BLM、BMP1A、BRAF、BRCA1、BRCA2、BRD3、BRD4、BRIP1、BTG1、BUB1B、C12orf9、C15orf21、C15orf55、C16orf75、CANT1、CARD11、CARS、CBFA2T1、CBFA2T3、CBFB、CBL、CBLB、CBLC、CCNB1IP1、CCND1、CCND2、CCND3、CCNE1、CD273、CD274、CD74、CD79A、CD79B、CDH1、CDH11、CDK12、CDK4、CDK6、CDKN2A、CDKN2a(p14)、CDKN2C、CDX2、CEBPA、CEP1、CHCHD7、CHEK2、CHIC2、CHN1、CIC、CIITA、CLTC、CLTCL1、CMKOR1、COL1A1、COPEB、COX6C、CREB1、CREB3L1、CREB3L2、CREBBP、CRLF2、CRTC3、CTNBN1、CYLD、D10S170、DAXX、DDB2、DDIT3、DDX10、DDX5、DDX6、DEK、DICER1、DNMT3A、DUX4、EBF1、EGFR、EIF4A2、ELF4、ELK4、ELKS、ELL、ELN、EML4、EP300、EPS15、ERBB2、ERCC2、ERCC3、ERCC4、ERCC5、ERG、ETV1、ETV4、ETV5、ETV6、EV11、EWSR1、EXT1、EXT2、EZH2、FACL6、FAM22A、FAM22B、FAM46C、FANCA、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FBX011、FBXW7、FCGR2B、FEV、FGFR1、FGFR1OP、FGFR2、FGFR3、FH、FHIT、FIP1L1、FLI1、FLJ27352、FLT3、FNP1、FOX12、FOXO1A、FOXO3A、FOXP1、FSTL3、FUBP1、FUS、FVT1、GAS7、GATA1、GATA2、GATA3、GMPS、GNA11、GNAQ、GNAS、GOLGA5、GOPC、GPC3、GPHN、GRAF、HCMOGT-1、HEAB、HERPUD1、HEY1、HIP1、HIST1H4I、HLF、HLXB9、HMGA1、HMGA2、HNRNPA2B1、HOOK3、HOXA11、HOXA13、HOXA9、HOXC11、HOXC13、HOXD11、HOXD13、HRAS、HRPT2、HSPCA、HSPCB、IDH1、IDH2、IGH@、IGK@、IGL@、IKZF1、IL2、IL21R、IL6ST、IL7R、IRF4、IRTA1、ITK、JAK1、JAK2、JAK3、JAZF1、JUN、KDM5A、KDM5C、KDM6A、KDR、KIAA1549、KIT、KLK2、KRAS、KTN1、LAF4、LASP1、LCK、LCP1、LCX、LHFP、LIFR、LMO1、LMO2、LPP、LYL1、MADH4、MAF、MAFB、MALT1、MAML2、MAP2K4、MDM2、MDM4、MDS1、MDS2、MECT1、MED12、MEN1、MET、MITF、MKL1、MLF1、MLH1、MLL、MLL2、MLL3、MLLT1、MLLT10、MLLT2、MLLT3、MLLT4、MLLT6、MLLT7、MN1、MPL、MSF、MSH2、MSH6、MSI2、MSN、MTC1、MUC1、MUTYH、MYB、MYC、MYCL1、MYCN、MYD88、MYH11、MYH9、MYST4、NACA、NBS1、NCOA1、NCOA2、NCOA4、NDRG1、NF1、NF2、NFE2L2、NFIB、NFKB2、NIN、NKX2-1、NONO、NOTCH1、NOTCH2、NPM1、NR4A3、NRAS、NSD1、NTRK1、NTRK3、NUMA1、NUP214、NUP98、OLIG2、OMD、P2RY8、PAFAH1B2、PALB2、PAX3、PAX5、PAX7、PAX8、PBRM1、PBX1、PCM1、PCSK7、PDE4DIP、PDGFB、PDGFRA、PDGFRB、PER1、PHOX2B、PICALM、PIK3CA、PIK3R1、PIM1、PLAG1、PML、PMS1、PMS2、PMX1、PNU1、POU2AF1、POU5F1、PPARG、PPP2R1A、PRCC、PRDM1、PRDM16、PRF1、PRKAR1A、PRO1073、PSIP2、PTCH、PTEN、PTPN11、RAB5EP、RAD51L1、RAF1、RALGDS、RANBP17、RAP1GDS1、RARA、RB1、RBM15、RECQL4、REL、RET、ROS1、RPL22、RPN1、RUNDC2A、RUNX1、RUNXBP2、SBDS、SDH5、SDHB、SDHC、SDHD、SEPT6、SET、SETD2、SF3B1、SFPQ、SFRS3、SH3GL1、SIL、SLC45A3、SMARCA4、SMARCB1、SMO、SOD1、SOX2、SRGAP3、SRSF2、SS18、SS18L1、SSH3BP1、SSX1、SSX2、SSX4、STK11、STL、SUFU、SUZ12、SYK、TAF15、TAL1、TAL2、TCEA1

10

20

30

40

50

、TCF1、TCF12、TCF3、TCF7L2、TCL1A、TCL6、TET2、TFE3、TFEB、TFG、TFPT、TFRC、THR
 AP3、TIF1、TLX1、TLX3、TMPRSS2、TNFAIP3、TNFRSF14、TNFRSF17、TNFRSF6、TOP1、TP53
 、TPM3、TPM4、TPR、TRA@、TRB@、TRD@、TRIM27、TRIM33、TRIP11、TSC1、TSC2、TSHR、T
 TL、U2AF1、USP6、VHL、VTI1A、WAS、WHSC1、WHSC1L1、WIF1、WRN、WT1、WTX、XPA、XPC
 、XPO1、YWHAE、ZNF145、ZNF198、ZNF278、ZNF331、ZNF384、ZNF521、ZNF9、ZRSR2、およ
 びそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の態様において、1種または複数種
 の公知の癌遺伝子は、AR、アンドロゲン受容体；ARPC1A、actin-related protein comple
 x 2/3 subunit A；AURKA、Aurora kinase A；BAG4、Bcl-2 associated anthogene 4；Bcl
 2l2、Bcl-2 like 2；BIRC2、Baculovirus IAP repeat containing protein 2；CACNA1E、
 calcium channel voltage dependent alpha-1E subunit；CCNE1、cyclin E1；CDK4、cycl
 in dependent kinase 4；CHD1L、chromodomain helicase DNA binding domain 1-like；C
 KS1B、CDC28 protein kinase 1B；COPS3、COP9 subunit 3；DCUN1D1、DCN1 domain conta
 ining protein 1；DYRK2、dual specificity tyrosine phosphorylation regulated kina
 se 2；EEF1A2、eukaryotic elongation transcription factor 1 alpha 2；EGFR、epider
 mal growth factor receptor；FADD、Fas-associated via death domain；FGFR1、fibrob
 last growth factor receptor 1；GATA6、GATA binding protein 6；GPC5、glypican 5；
 GRB7、growth factor receptor bound protein 7；MAP3K5、mitogen activated protein
 kinase kinase kinase 5；MED29、mediator complex subunit 5；MITF、microphthalmia
 associated transcription factor；MTDH、metadherin；NCOA3、nuclear receptor coact
 ivator 3；NKX2-1、NK2 homeobox 1；PAK1、p21/CDC42/RAC1-activated kinase 1；PAX9
 、paired box gene 9；PIK3CA、phosphatidylinositol-3 kinase catalytic a；PLA2G10
 、phospholipase A2, group X；PPM1D、protein phosphatase magnesium-dependent 1D；P
 TK6、protein tyrosine kinase 6；PRKCI、protein kinase C iota；RPS6KB1、ribosomal
 protein s6 kinase 70kDa；SKP2、s-phase kinase associated protein；SMURF1、sMAD
 specific E3 ubiquitin protein ligase 1；SHH、sonic hedgehog homologue；STARD3、s
 TAR-related lipid transfer domain containing protein 3；YWHAQ、tyrosine 3-monoox
 ygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein, zeta isoform；ZNF217、zin
 c finger protein 217、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。さらに別
 の態様において、1種または複数種の公知の癌遺伝子は、Aurora kinase A (AURKA)；Auro
 ra kinase B (AURKB)；Baculoviral IAP repeat-containing 5、サバイピン (BIRC5)；Bu
 dding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog (BUB1)；Budding uninhibited by ben
 zimidazoles 1 homolog beta、BUBR1 (BUB1B)；Budding uninhibited by benzimidazoles
 3 homolog (BUB3)；CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B (CKS1B)；CDC28 pro
 tein kinase regulatory subunit 2 (CKS2)；Cell division cycle 2 (CDC2)/CDK1 Cell
 division cycle 20 homolog (CDC20)；Cell division cycle-associated 8、borealin (C
 DCA8)；Centromere protein F、マイトシン (CENPF)；Centrosomal protein 110 kDa (CE
 P110)；Checkpoint with forkhead and ring finger domains (CHFR)；Cyclin B1 (CCNB1
)；Cyclin B2 (CCNB2)；Cytoskeleton-associated protein 5 (CKAP5/ch-TOG)；Microtub
 ule-associated protein RP/ EB family member 1. End-binding protein 1, EB1 (MAPRE
 1)；Epithelial cell transforming sequence 2 oncogene (ECT2)；Extra spindle poles
 like 1、セパラーズ (ESPL1)；Forkhead box M1 (FOXM1)；H2A histone family, member
 X (H2AFX)；Kinesin family member 4A (KIF4A)；Kinetochores-associated 1 (KNTC1/RO
 D)；Kinetochores-associated 2；highly expressed in cancer 1 (KNTC2/HEC1)；Large t
 umor suppressor, homolog 1 (LATS1)；Large tumor suppressor, homolog 2 (LATS2)；M
 itotic arrest deficient-like 1；MAD1 (MAD1L1)；Mitotic arrest deficient-like 2；
 MAD2 (MAD2L1)；Mps1 protein kinase (TTK)；Never in mitosis gene a-related kinase
 2 (NEK2)；Ninein、GSK3b interacting protein (NIN)；Non-SMC condensin I complex,
 subunit D2 (NCAPD2/CNAP1)；Non-SMC condensin I complex, subunit H (NACPH/CAPH)
 ；Nuclear mitotic apparatus protein 1 (NUMA1)；Nucleophosmin (nucleolar phosphop
 rotein B23、numatrin)；(NPM1)；Nucleoporin (NUP98)；Pericentriolar material 1 (P

CM1) ; Pituitary tumor-transforming 1、セキュリン(PTTG1) ; Polo-like kinase 1 (PLK 1) ; Polo-like kinase 4 (PLK4/SAK) ; Protein (peptidylprolyl cis/trans isomerase) NIMA-interacting 1 (PIN1) ; Protein regulator of cytokinesis 1 (PRC1) ; RAD21 homolog (RAD21) ; Ras association (RalGDS/AF-6) ; domain family 1 (RASSF1) ; Stromal antigen 1 (STAG1) ; シヌクレイン-c、breast cancer-specific protein 1 (SNCG、BCSG1) ; Targeting protein for Xklp2 (TPX2) ; Transforming, acidic coiled-coil containing protein 3 (TACC3) ; Ubiquitin-conjugating enzyme E2C (UBE2C) ; Ubiquitin-conjugating enzyme E2I (UBE2I/UBC9) ; ZW10 interactor, (ZWINT) ; ZW10、kinetochore-associated homolog (ZW10) ; Zwi1、kinetochore-associated homolog (ZWILCH) ; およびそれらの組み合わせからなる群より選択される有糸分裂関連遺伝子である。公知の癌遺伝子の例示的な説明については、例えば、Futreal et al., A CENSUS OF HUMAN CANCER GENES, Nature Reviews Cancer, 4: 177-183 (2004)およびオンライン補足データ;Perez de Castro et al., A census of mitotic cancer genes: new insights into tumor cell biology and cancer therapy; Carcinogenesis vol.28 no.5 pp.899-912, 2007; Santarius et al., A census of amplified and overexpressed human cancer genes, Nature Reviews Cancer, 10:59-64 (2010)およびオンライン補足データを参照されたい。これらの刊行物およびその補足データはそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。1種または複数種の公知の癌遺伝子は、Wellcome Trust Sanger InstituteのCancer Gene Censusプロジェクトによって同定され、www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/においてオンラインで入手可能な遺伝子でもよい。1種または複数種の公知の癌遺伝子は、Institute of Cancer ResearchのAmplified and Overexpressed Genes In Cancerプロジェクトによって同定され、www.amplicon.icr.ac.uk/においてオンラインで入手可能な遺伝子でもよい。

【0764】

前立腺癌

前立腺特異的抗原 (PSA) は、前立腺の細胞によって産生されるタンパク質である。PSAは、正常な男性の血清中に少量で存在し、前立腺癌 (PCa) および他の前立腺障害の存在においてしばしば上昇する。現在、前立腺癌のスクリーニングのためにPSAを計測するための血液試験が使用されているが、その有効性は疑われている。たとえば、PSAレベルは、前立腺感染症、刺激、良性前立腺肥大症 (BPH)、直腸診 (DRE) および最近の射精によって増加して疑陽性結果を出すことができ、それが、不必要な前立腺生検およびそれに伴う病的状態を招くことがある。BPHがPSAレベル上昇の一般的な原因である。PSAは、前立腺に何らかの問題があるかどうかを示し得るが、BPHとPCaとを効果的に区別することはできない。前立腺癌細胞によって過剰発現することが知られる転写物であるPCA3が、PCaに対してわずかながらより特異的であると考えられているが、これは、PSAおよびPCA3に使用されるカットオフならびに研究対象集団に依存する。

【0765】

本発明は、BPHとPCaとを区別するために使用することができる循環バイオマーカーを提供する。BPHをPCaから区別するために、バイオマーカーパネルが評価される。パネルを使用して、特定の表面マーカーを示す小胞を検出することができる。いくつかの態様において、表面マーカーは、BCMA、CEACAM-1、HVEM、IL-1 R4、IL-10 RbおよびTrappin-2の一つまたは複数を含む。血液試料に由来する小胞中のバイオマーカーのレベルを評価したのち、それを使用してBPHをPCaから区別することができる。

【0766】

別の局面においては、BPHと前立腺癌とを区別するためにマイクロRNA (miR) が使用される。miRは、患者試料から直接単離することもでき、および/または、患者試料に由来する小胞を、その小胞内に含まれるmiRペイロードに関して分析することもできる。試料は、精液、尿、血液、血清または血漿を含む体液であることができる。試料はまた、組織または生検試料を含むことができる。本明細書に記載されるようにmiRを検出するためには、いくつかの異なる方法が利用可能である。いくつかの態様においては、複数のmiRの発

現を同時に問うためにmiRパネルのアレイが使用される。たとえば、Exiqon miRCURY LNA マイクロRNA PCRシステムパネル（Exiqon, Inc., Woburn, MA）をそのような目的に使用することができる。hsa-miR-329、hsa-miR-30a、hsa-miR-335、hsa-miR-152、hsa-miR-151-5p、hsa-miR-200aおよびhsa-miR-145の一つまたは複数をはじめとする、BPHとPCaとを区別するmiRは、PCa試料と比較してBPH試料中で過剰発現することができる。または、hsa-miR-29a、hsa-miR-106b、hsa-miR-595、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-99a、hsa-miR-20b、hsa-miR-373、hsa-miR-502-5p、hsa-miR-29b、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-663、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-15a、hsa-miR-888、hsa-miR-361-3p、hsa-miR-365、hsa-miR-10b、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-181a、hsa-miR-19a、hsa-miR-125b、hsa-miR-760、hsa-miR-7a、hsa-miR-671-5p、hsa-miR-7c、hsa-miR-1979およびhsa-miR-103の一つまたは複数をはじめとする、BPHとPCaとを区別するmiRは、BPH試料に対してPCa試料中で過剰発現することができる。

【0767】

上記miRの一つまたは複数の発現レベルを評価し、参照レベルと比較して、差次的に発現するmiRを検出して、それにより、診断、予後判定、またはセラノーシス用の読み取り値を提供することができる。参照レベルは、正常な患者、たとえば前立腺疾患を有しない患者に由来するエキソソーム中のmiRの参照レベルであることができる。したがって、一つまたは複数のmiRの、参照レベルに対して差次的な発現は、試料が正常とは異なる、たとえばBPHまたはPCaを含むということを示すことができる。参照レベルは、BPH患者に由来するエキソソーム中のmiRの参照レベルであることができる。したがって、一つまたは複数のmiRの、参照レベルに対して差次的な発現は、試料がBPHとは異なる、たとえば正常またはPCaを含むということを示すことができる。参照レベルは、PCa患者に由来するエキソソーム中のmiRの参照レベルであることができる。したがって、一つまたは複数のmiRの、参照レベルに対して差次的な発現は、試料がPCaとは異なる、たとえば正常またはBPHを含むということを示すことができる。

【0768】

いくつかの態様において、試験試料中の一つまたは複数のmiRのレベルを参照試料中の同じmiRのレベルと相関させて、それにより、診断、予後判定、またはセラノーシス用の読み取り値を提供する。参照試料は、BPH、PCaを有する一つまたは複数の試料のmiRレベルを含むこともできるし、BPHまたはPCaを有しない正常な人からのものであることもできる。試験試料中の一つまたは複数のmiRのレベルが正常な参照レベルとより密接に相関する場合、その試験試料を正常として分類することができる。試験試料中の一つまたは複数のmiRのレベルがBPH参照レベルとより密接に相関する場合、その試験試料をBPHとして分類することができる。試験試料中の一つまたは複数のmiRのレベルがPCa参照レベルとより密接に相関する場合、その試験試料をPCaとして分類することができる。

【0769】

バイオシグネチャーを使用して前立腺癌を特徴決定することができる。上記のように、前立腺癌のバイオシグネチャーは、前立腺癌に関連した結合物質（たとえば、図2に示すような）および図19に示すような一つまたは複数のさらなるバイオマーカーを含むことができる。たとえば、前立腺癌のバイオシグネチャーは、PSA、PSMA、TMPRSS2、mAB 5D4、XPSM-A9、XPSM-A10、ガレクチン3、Eセレクチン、ガレクチン1、E4（IgG2aκ）またはそれらの任意の組み合わせならびに一つまたは複数のさらなるバイオマーカー、たとえば一つまたは複数のmiRNA、一つまたは複数のDNA、前立腺癌に関連した一つまたは複数のさらなるペプチド、タンパク質または抗原、たとえば非限定的に図19に示すものに対する結合物質を含むことができる。

【0770】

前立腺癌のバイオシグネチャーは、前立腺癌に関連した抗原（たとえば図1に示すもの）および一つまたは複数のさらなるバイオマーカー、たとえば図19に示すものを含むことができる。前立腺癌のバイオシグネチャーは、前立腺癌に関連した一つまたは複数の抗原、たとえば非限定的にKIA1、無傷のフィブロネクチン、PSA、EZH2（Enhancer of zeste h

omolog 2)、TMPRSS2、TMPRSS2融合物、FASLG、TNFSF10、PCSA、PSMA、NGEP、IL-7RI、CSCR4、CysLT1R、TRPM8、Kv1.3、TRPV6、TRPM8、PSGR、MISIIRまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。前立腺癌のバイオシグネチャーはまた、PSMA、PCSA、B7-H3、IL 6、OPG-13 (OPG)、IL6R、PA2G4、EZH2、RUNX2、SERPINB3またはそれらの任意の組み合わせから選択される小胞抗原のうちの一つまたは複数も含み得る。前立腺癌のバイオシグネチャーは、前述の抗原の一つまたは複数および一つまたは複数のさらなるバイオマーカー、たとえば非限定的にmiRNA、mRNA、DNAまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0771】

前立腺癌のバイオシグネチャーはまた、前立腺癌に関連した一つまたは複数の抗原、たとえば非限定的にKIA1、無傷のフィブロネクチン、PSA、EZH2、PCA3、TMPRSS2、TMPRSS2-ERG、FASLG、TNFSF10、PSMA、PCSA、NGEP、IL-7RI、CSCR4、CysLT1R、TRPM8、Kv1.3、TRPV6、TRPM8、PSGR、MISIIR、B7-H3、IL 6、OPG-13 (OPG)、IL6R、PA2G4、RUNX2またはそれらの任意の組み合わせおよび一つまたは複数のmiRNAバイオマーカー、たとえば非限定的にmiR-202、miR-210、miR-296、miR-320、miR-370、miR-373、miR-498、miR-503、miR-184、miR-198、miR-302c、miR-345、miR-491、miR-513、miR-32、miR-182、miR-31、miR-26a-1/2、miR-200c、miR-375、miR-196a-1/2、miR-370、miR-425、miR-425、miR-194-1/2、miR-181a-1/2、miR-34b、let-7i、miR-188、miR-25、miR-106b、miR-449、miR-99b、miR-93、miR-92-1/2、miR-125a、miR-141、let-7a、let-7b、let-7c、let-7d、let-7g、miR-16、miR-23a、miR-23b、miR-26a、miR-92、miR-99a、miR-103、miR-125a、miR-125b、miR-143、miR-145、miR-195、miR-199、miR-221、miR-222、miR-497、let-7f、miR-19b、miR-22、miR-26b、miR-27a、miR-27b、miR-29a、miR-29b、miR-30_5p、miR-30c、miR-100、miR-141、miR-148a、miR-205、miR-520h、miR-494、miR-490、miR-133a-1、miR-1-2、miR-218-2、miR-220、miR-128a、miR-221、miR-499、miR-329、miR-340、miR-345、miR-410、miR-126、miR-205、miR-7-1/2、miR-145、miR-34a、miR-487、miR-27b、miR-103、miR-146a、miR-22、miR-382、miR-23a、miR-376c、miR-335、miR-142-5p、miR-221、miR-142-3p、miR-151-3p、miR-21、let-7bまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0772】

前立腺癌のバイオシグネチャーはまた、一つまたは複数の循環バイオマーカー、たとえば、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、Brase et al., Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *Int J Cancer*. 2011 Feb 1;128(3):608-16、Wach et al., MiRNA profiles of prostate carcinoma detected by multi-platform miRNA screening. *Int J Cancer*. 2011 Mar 11. doi: 10.1002/ijc.26064、Gordanpour et al., miR-221 Is Down-regulated in TMPRSS2:ERG Fusion-positive Prostate Cancer. *Anticancer Res*. 2011 Feb;31(2):403-10、Hagman et al., miR-34c is down regulated in prostate cancer and exerts tumor suppressive functions. *Int J Cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2768-76、Sun et al., miR-99 Family of MicroRNAs Suppresses the Expression of Prostate-Specific Antigen and Prostate Cancer Cell Proliferation. *Cancer Res*. 2011 Feb 15;71(4):1313-24、Bao et al., Polymorphisms inside MicroRNAs and MicroRNA Target Sites Predict Clinical Outcomes in Prostate Cancer Patients Receiving Androgen-Deprivation Therapy. *Clin Cancer Res*. 2011 Feb 15;17(4):928-936、Moltzahn et al., Microfluidic-based multiplex qRT-PCR identifies diagnostic and prognostic microRNA signatures in the sera of prostate cancer patients. *Cancer Res*. 2011 Jan 15;71(2):550-60、Carlsson et al., Validation of suitable endogenous control genes for expression studies of miRNA in prostate cancer tissues. *Cancer Genet Cytogenet*. 2010 Oct 15;202(2):71-75、Zhang et al., Serum miRNA-21: elevated levels in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer and potential predictive factor for the efficacy of docetaxel-based chemotherapy. *Prostate*. 2011 Feb 15;71(3):326-31、Majid et al., MicroRNA-205-directed transcriptional activation of tumor suppressor genes in prostat

10

20

30

40

50

e cancer. Cancer. 2010 Dec 15;116(24):5637-49、Kojima et al., MiR-34a attenuates paclitaxel-resistance of hormone-refractory prostate cancer PC3 cells through direct and indirect mechanisms. Prostate. 2010 Oct 1;70(14):1501-12、Lewinshtein et al., Genomic predictors of prostate cancer therapy outcomes. Expert Rev Mol Diagn. 2010 Jul;10(5):619-36に記載されているものを含む、前立腺癌と関連したマイクロRNAを含むことができる。

【0773】

さらに、前立腺癌バイオシグネチャーのmiRNAは、PFKFB3、RHAMM (HMMR)、cDNA FLJ42103、ASPM、CENPF、NCAPG、アンドロゲン受容体、EGFR、HSP90、SPARC、DNMT3B、GART、MGMT、SSTR3、TOP2Bまたはそれらの任意の組み合わせ、たとえば本明細書に記載され、図60に示されるものと相互作用するmiRNAであることができる。miRNAはまた、miR-9、miR-629、miR-141、miR-671-3p、miR-491、miR-182、miR-125a-3p、miR-324-5p、miR-148B、miR-222またはそれらの任意の組み合わせであることもできる。

【0774】

前立腺癌のバイオシグネチャーはまた、前立腺癌と関連した一つまたは複数の抗原、たとえば非限定的にKIA1、無傷のフィブロネクチン、PSA、EZH2、TMPRSS2、FASLG、TNFSF10、PSMA、PCSA、PSCA、NGEP、IL-7RI、CSCR4、CysLT1R、TRPM8、Kv1.3、TRPV6、TRPM8、PSGR、MISIIR、B7-H3、IL 6、OPG-13 (OPG)、IL6R、PA2G4、RUNX2またはそれらの任意の組み合わせおよび一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に前述のmiRNA、mRNA (たとえば非限定的にARまたはPCA3)、snoRNA (たとえば非限定的にU50) またはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0775】

バイオシグネチャーはまた、一つまたは複数の遺伝子融合体、たとえばACSL3-ETV1、C15ORF21-ETV1、FLJ35294-ETV1、HERV-ETV1、TMPRSS2-ERG、TMPRSS2-ETV1/4/5、TMPRSS2-ETV4/5、SLC5A3-ERG、SLC5A3-ETV1、SLC5A3-ETV5またはKLK2-ETV4を含むこともできる。

【0776】

小胞を、前立腺癌と関連した一つまたは複数のmiRNAおよび一つまたは複数の抗原に関して単離、アッセイまたはその両方を行って、診断、予後判定またはセラノース用のプロファイル、たとえば癌の病期、癌の効果または癌の他の特徴を提供することができる。または、前立腺癌と関連した一つまたは複数のmiRNAまたは抗原に関するアッセイの前に小胞を精製または濃縮することのないよう、小胞を試料から直接アッセイすることもできる。

【0777】

前立腺癌のバイオシグネチャーを用いて療法の効力を評価することができる。例えば、PCaにおいて多量にあるバイオマーカーを治療の前後にモニタリングすることができる。治療後のバイオマーカーレベルの低下は治療が有効なことを示し得る。例えば、治療後の再発または再燃を検出するために、同じバイオシグネチャーを経時的にモニタリングすることができる。一部の態様において、治療効力をモニタリングするためのバイオシグネチャーは、hsa-miR-27b、hsa-miR-103、hsa-miR-146a、hsa-miR-22、hsa-miR-382、hsa-miR-23a、hsa-miR-376c、hsa-miR-335、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-221、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-151-3p、およびhsa-miR-21、またはこれらの任意の組み合わせを含む小胞関連マイクロRNAをモニタリングする工程を含む。

【0778】

図68に記載のように、前立腺癌バイオシグネチャーは、小胞のEpCam、CD63、CD81、CD9、またはこれらの任意の組み合わせをアッセイする工程を含んでもよい。前立腺癌バイオシグネチャーは、EpCam、CD9、CD63、CD81、PCSA、またはこれらの任意の組み合わせの検出を含んでもよい。例えば、前立腺癌バイオシグネチャーは、EpCam、CD9、CD63、およびCD81、またはPCSA、CD9、CD63、およびCD81を含んでもよい(例えば、図70Aを参照されたい)。前立腺癌バイオシグネチャーはまた、PCSA、PSMA、B7H3、またはこれらの任意の組み合わせを含んでもよい(例えば、図70Bを参照されたい)。1つの態様において、バイオシ

グネチャーは、PMSA、ならびに1種または複数種のテトラスパニン、例えば、CD9、CD63、および/またはCD81を含む。別の態様において、バイオシグネチャーは、PCSA、ならびに1種または複数種のテトラスパニン、例えば、CD9、CD63、および/またはCD81を含む。これらの態様において、PMSAまたはPSCAは小胞を捕捉するために使用することができ、1種または複数種のテトラスパニンは検出に使用することができる。

【0779】

さらに、複数より少ないバイオマーカーを評価する工程と比較して、複数のバイオマーカーを評価することによって高い感度、特異度、またはシグナル強度を得ることができる。例えば、PSMAのみまたはB7H3のみを評価する工程と比較して、PSMAおよびB7H3を評価する工程によって、検出において高い感度を得ることができる。CD9のみまたはCD63のみを評価する工程と比較して、CD9およびCD63を評価することによって、検出において高い感度を得ることができる。1つの態様において、以下のバイオマーカー:EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAP、およびEGFRの1つまたは複数が検出される。別の態様において、EpCam+,CK+,CD45-の小胞が検出される。別の態様において、IL6、OPG-13(OPG)、IL6R、PA2G4、RUNX2の1つまたは複数が検出される。

【0780】

感度および特異度を高めると判定されたパネル組み合わせにおいて抗原を検出することができる。1つの態様において、バイオマーカーのパネルは、OPG、PA2G4、RUNX2、およびSERPIを含む。別の態様において、バイオマーカーのパネルはPCSAおよびB7H3を含む。さらに別の態様において、バイオマーカーのパネルは、PA2G4、RUNX2、およびSERPIを含む。一態様において、バイオマーカーのパネルは、OPG、RUNX2、およびSERPIを含む。別の態様において、バイオマーカーのパネルは、OPG、PA2G4、およびSERPIを含む。さらに別の態様において、バイオマーカーのパネルは、OPG、PA2G4、およびRUNX2を含む。別の態様において、バイオマーカーのパネルは、OPG、PA2G4、RUNX2、SERPI、PCSA、およびB7H3を含む。

【0781】

前立腺癌はまた、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10種類の基準を満たすことに基づいて特徴決定することができる。たとえば、いくつかの異なる基準を使用することができる。1) 対象由来の試料中の小胞の量が参照値よりも高い場合、2) 前立腺細胞由来の小胞の量が参照値よりも高い場合、および3) 一つまたは複数の癌特異的バイオマーカーを有する小胞の量が参照値よりも高い場合、その対象は前立腺癌と診断される。本方法はさらに品質管理尺度を含むことができる。

【0782】

もう一つの態様において、小胞の一つまたは複数のバイオシグネチャーは、正常な前立腺および前立腺癌の間または正常な前立腺、BPHおよびPCaの間の診断に使用される。本明細書に開示される任意の適当なバイオマーカーを使用してPCaを識別することができる。いくつかの態様においては、バイオマーカー（または、捕捉物質によって検出または結合されるバイオマーカーである捕捉バイオマーカー）に対する一つまたは複数の一般的捕捉物質を使用して、対象由来の試料から一つまたは複数の小胞を捕捉することができる。

【0783】

前立腺特異的バイオマーカーを使用して前立腺特異的小胞を同定することができる。癌バイオマーカーを使用して癌特異的小胞を同定することができる。いくつかの態様においては、CD9、CD81およびCD63の一つまたは複数が捕捉バイオマーカーとして使用される。いくつかの態様においては、PCSAが前立腺バイオマーカーとして使用される。いくつかの態様において、一つまたは複数の癌バイオマーカーはEpCamおよびB7H3の一つまたは複数を含む。PCaを正常から識別することができるさらなるバイオマーカーはICAM1、EGFR、STEAP1およびPSCAを含む。

【0784】

いくつかの態様において、対象における前立腺癌を同定する方法は、(a) 捕捉物質を使用して、対象からの試料中の小胞の集団を捕捉する工程、(b) 小胞の集団中の一つま

10

20

30

40

50

たは複数の癌バイオマーカーのレベルを決定する工程、(c)小胞の集団中の一つまたは複数の前立腺バイオマーカーのレベルを決定する工程、および(d)一つまたは複数の癌バイオマーカーのレベルおよび一つまたは複数の前立腺バイオマーカーのレベルが所定の閾値を満たすならば、その対象を、前立腺癌を有するものとして同定する工程を含む。いくつかの態様において、捕捉物質は、CD9、CD81およびCD63に対する一つまたは複数の結合物質を含む。いくつかの態様において、一つまたは複数の前立腺バイオマーカーはPCSAおよび/またはPSMAを含む。いくつかの態様において、一つまたは複数の癌バイオマーカーはEpCamおよびB7H3の一つまたは複数を含む。他の態様において、一つまたは複数の前立腺および/または癌バイオマーカーへの結合物質が捕捉物質として使用され、一つまたは複数の一般的小胞マーカーへの結合物質が検出剤として使用される。いくつかの態様において、所定の閾値は、検出可能な標識の計測値を含む。たとえば、検出可能な標識は蛍光部分であることができ、値はその部分の発光値であることができる。

10

【0785】

別の態様において、前立腺癌の予後は、EpCam、CK(サイトケラチン)、および/またはCD45発現を検出することによって判定される。1つの態様において、EpCamおよびCKが検出されるか、または高レベルで検出され、CD45の検出が低いか、または存在しない時に(すなわち、EpCam+、CK+、CD45-の小胞)、不良な予後が示される。別の態様において、前立腺癌の予後を予測するために、DAB2IP発現、例えば、mRNAまたはタンパク質のレベルが検出される。DAB2IP発現は前立腺癌において抑制されることがあり、そのレベルは段階および予後に反比例する。さらに別の態様において、前立腺癌が高悪性度になるまたはならない可能性があるかどうか判定するために、EZH2、例えば、mRNAまたはタンパク質のレベルが評価される。低レベルのEZH2は、高悪性度でない癌、例えば、外科手術または化学療法などの積極的治療を必要としない癌を示し得る。Min et al. An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor- κ B. Nature Medicine 16;256-294(2010)を参照されたい。

20

【0786】

前立腺癌を特徴決定するためにインテグリンレベルを評価してもよい。一部の態様において、例えば、癌が低悪性度または高悪性度かどうかを決定するために前立腺癌を特徴決定する方法は、 $\alpha 2 \beta 1$ インテグリンレベルを評価する工程を含む。インテグリンは小胞表面マーカーとして評価されてもよく、例えば、インテグリンmRNAを検出することによって内部小胞ペイロードとして評価されてもよい。

30

【0787】

当業者であれば、バイオシグネチャーを決定して前立腺癌の予後または悪性度を予測するために、本明細書において開示された複数のバイオマーカーを評価できることを理解するであろう。一部の態様において、前立腺癌の予後または悪性度を予測する方法は、EpCam、CK、CD45、DAB2IP、EZH2、 $\alpha 2 \beta 1$ インテグリン、または本明細書において開示された他のマーカーの1つまたは複数のレベルを評価する工程を含む。

【0788】

本発明の方法は、前立腺癌の病期または悪性度を区別するために使用することができる。前立腺癌病期分類は、前立腺を超える癌拡散の危険を分類するプロセスである。そのような拡散は、外科手術または放射線のような局所療法によって治癒される確率に関連する。そのような予後分類において考慮される情報は、身体検査、画像診断、血液検査および/または生体組織検査を含む臨床および病理学的要因に基づく。

40

【0789】

前立腺癌を病期分類するために使用されるもっとも一般的なスキームは、米国がん合同委員会(The American Joint Committee on Cancer)によって公布され、TNMシステムと呼ばれている。TNMシステムは、腫瘍のサイズ、関与するリンパ節の程度、転移を評価し、また、癌悪性度を考慮に入れる。多くの他の癌と同様に、前立腺癌は、多くの場合、病期、たとえばI~IV期によって分類される。一般に、I期疾患は、他の理由、たとえば良性前立腺肥大症のために前立腺組織が切除されたとき試料の小さな部分に偶然に見つかる癌

50

であり、その細胞は正常な細胞によく似ており、前立腺は、触診する指には正常に感じられる。II期においては、前立腺のより多くが関与し、前立腺内にしこりを感じることができる。III期においては、腫瘍が前立腺嚢全体に拡散し、前立腺の表面にしこりを感じることができる。IV期疾患においては、腫瘍は近隣構造を侵襲している、またはリンパ節もしくは他の臓器に拡散している。

【0790】

Whitmore-Jewett病期分類が、今ではあまり使用されない別の病期分類スキームである。グリーソン分類は、生検材料からの細胞含量および組織構造に基づくものであり、疾患の破壊性および最終予後の推定を提供する。

【0791】

10

TNM腫瘍分類システムを使用して、対象の体の中の癌の範囲を表すことができる。Tが、腫瘍のサイズおよびそれが近隣組織を侵襲しているかどうかを表し、Nが、関与する局所リンパ節を表し、Mが遠隔転移を表す。TNMは、国際対癌連合（The International Union Against Cancer:UICC）によって維持され、米国がん合同委員会（AJCC）および世界産婦人科連合（The International Federation of Gynecology and Obstetrics:FIGO）によって使用されている。当業者は、すべての腫瘍がTNM分類を有するわけではない（たとえば脳腫瘍）ことを理解する。一般に、T（a, is, (0)、1~4）は、原発腫瘍のサイズまたは直接的な範囲として計測される。N（0~3）は、局所リンパ節への拡散の程度を指し、N0は、腫瘍細胞が局所リンパ節には存在しないことを意味する。N1は、腫瘍細胞が最近隣または少数の局所リンパ節に拡散したことを意味し、N2は、腫瘍細胞がN1とN3との間の範囲に拡散したことを意味し、N3は、腫瘍細胞が最遠隔または多数の局所リンパ節に拡散したことを意味する。M（0/1）は転移の存在を指し、MXは、遠隔転移が評価されなかったことを意味し、M0は、遠隔転移が存在しないことを意味し、M1は、遠隔臓器への転移が起こった（局所リンパ節を超えて）ことを意味する。M1はさらに、以下のように線引きすることができる。M1aは、癌が局所リンパ節を超えてリンパ節に拡散したことを示し、M1bは、癌が骨に拡散したことを示し、M1cは、癌が他の部位に拡散したことを示す（骨の関与にかかわらず）。また、他のパラメータが評価される場合がある。G（1~4）は癌細胞の悪性度を指す（すなわち、正常細胞に類似するように見えるならば、低悪性度であり、十分に分化していないように見えるならば、高悪性度である）。R（0/1/2）は手術の完全さを指す（すなわち、切除境界部が癌細胞を有しない、または有する）。L（0/1）は、リンパ管中への侵襲を指す。V（0/1）は、静脈中への侵襲を指す。C（1~4）は、Vの確かさ（質）の修飾要因を指す。

20

30

【0792】

前立腺腫瘍は、多くの場合、グリーソン分類を使用して評価される。グリーソン分類は、生検標本を解釈するとき病理学者によって評価される顕微鏡的腫瘍パターンに基づく。前立腺癌が生検材料中に存在するとき、グリーソンスコアは、正常な腺組織構造（すなわち、腺の形状、サイズおよび分化）の損失の程度に基づく。伝統的なグリーソン分類は、専門用語的には腫瘍「悪性度」と呼ばれる五つの基本的組織パターンを有する。癌によって生じる正常な腺構造のこの損失の顕微鏡的決定は、1~5の範囲の数である悪性度によって表される（5が最悪）。悪性度1は一般に、癌性前立腺が正常な前立腺組織によく似ている状態である。腺は小さく、形が良く、高密度である。悪性度2では、組織はまだ形の良い腺を有するが、腺はより大きく、それらの間により多くの組織を有し、悪性度3では、組織はまだ認識可能な腺を有するが、細胞はより黒ずんでいる。高倍率で見ると、悪性度3試料のこれらの細胞のいくつかは腺を離れ、周囲組織を侵襲し始めている。悪性度4試料は、認識可能な腺が少ない組織を有し、多くの細胞が周囲組織を侵襲している。悪性度5試料では、組織は認識可能な腺を有さず、多くの場合、周囲組織全体に及ぶシート状の細胞である。

40

【0793】

転移性前立腺癌と非転移性前立腺癌とを区別するmiRは、非転移性試料に対して転移性試料中で過剰発現することができる。または、転移性前立腺癌と非転移性前立腺癌とを区

50

別するmiRは、転移性試料に対して非転移性試料中で過剰発現することができる。転移性前立腺癌を区別するのに有用なmiRは、miR-495、miR-10a、miR-30a、miR-570、miR-32、miR-885-3p、miR-564およびmiR-134の一つまたは複数を含む。別の態様において、転移性前立腺癌を区別するためのmiRは、hsa-miR-375、hsa-miR-452、hsa-miR-200b、hsa-miR-146b-5p、hsa-miR-1296、hsa-miR-17^{*}、hsa-miR-100、hsa-miR-574-3p、hsa-miR-20a^{*}、hsa-miR-572、hsa-miR-1236、hsa-miR-181a、hsa-miR-937およびhsa-miR-23a^{*}の一つまたは複数を含む。さらに別の態様において、転移性前立腺癌を区別するのに有用なmiRは、hsa-miR-200b、hsa-miR-375、hsa-miR-582-3p、hsa-miR-17^{*}、hsa-miR-1296、hsa-miR-20a^{*}、hsa-miR-100、hsa-miR-452およびhsa-miR-577の一つまたは複数を含む。転移性前立腺癌を区別するためのmiRは、miR-141、miR-375、miR-200bおよびmiR-574-3pの一つまたは複数であることができる。 10

【0794】

別の局面においては、癌試料と非癌試料とを区別するためにマイクロRNA (miR) が使用される。癌を非癌から区別するのに有用なmiRは、hsa-miR-574-3p、hsa-miR-331-3p、hsa-miR-326、hsa-miR-181a-2^{*}、hsa-miR-130b、hsa-miR-301a、hsa-miR-141、hsa-miR-432、hsa-miR-107、hsa-miR-628-5p、hsa-miR-625^{*}、hsa-miR-497およびhsa-miR-484の一つまたは複数を含む。別の態様において、癌を非癌から区別するのに有用なmiRは、hsa-miR-574-3p、hsa-miR-141、hsa-miR-331-3p、hsa-miR-432、hsa-miR-326、hsa-miR-2110、hsa-miR-107、hsa-miR-130b、hsa-miR-301aおよびhsa-miR-625^{*}の一つまたは複数を含む。さらに別の態様において、癌を非癌から区別するのに有用なmiRは、hsa-miR-107、hsa-miR-326、hsa-miR-432、hsa-miR-574-3p、hsa-miR-625^{*}、hsa-miR-2110、hsa-miR-301a、hsa-miR-141またはhsa-miR-373^{*}の一つまたは複数を含む。癌を非癌から区別するためのバイオシグネチャーは、miR-148a、miR-122、miR-146a、miR-22およびmiR-24の一つまたは複数を含むことができる。 20

【0795】

本発明のバイオシグネチャーは複数のマーカーを含むことができる。たとえば、複数のタンパク質マーカーおよびmiRを使用して、前立腺癌を正常、BPHおよびPCaから区別する、または転移性疾患を非転移性疾患に対して区別することができる。このようにして、改善された感度、特異度および／または精度を得ることができる。いくつかの態様において、患者試料中のhsa-miR-432、hsa-miR-143、hsa-miR-424、hsa-miR-204、hsa-miR-581fおよびhsa-miR-451の一つまたは複数のレベルを検出して、前立腺癌の存在を評価する。これらのmiRのいずれかが、4.0ng/ml未満の血清PSAを有するPCa患者において上昇することができる。ある態様において、本発明は、対象からの試料中のhsa-miR-432、hsa-miR-143、hsa-miR-424、hsa-miR-204、hsa-miR-581fおよびhsa-miR-451の一つまたは複数のレベルを測定する工程を含む、前立腺癌を評価する方法を提供する。試料は、体液、たとえば血液、血漿または血清であることができる。miRは、試料から単離された小胞中で単離することができる。対象は、何らかの閾値、たとえば血液試料中2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0、3.2、3.4、3.6、3.8、4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2、5.4、5.6、5.8または6.0ng/ml未満のPSAレベルを有することができる。参照試料中よりも高いレベルのmiRが、試料中のPCaの存在を示すことができる。いくつかの態様において、参照は、PCaを有しない対象からの対照試料中の一つまたは複数のmiRのレベルを含む。いくつかの態様において、参照は、何らかの閾値、たとえば2.0、2.2、2.4、2.6、2.8、3.0、3.2、3.4、3.6、3.8、4.0、4.2、4.4、4.6、4.8、5.0、5.2、5.4、5.6、5.8または6.0ng/ml以上のPSAレベルを有する、PCaを有する対象からの対照試料中の一つまたは複数のmiRのレベルを含む。閾値は4.0ng/mlであることができる。 30 40

【0796】

本発明は、上記バイオマーカーから選択される一つまたは複数の循環バイオマーカーの存在またはレベルを検出することを含む、前立腺疾患の評価を提供する。一つまたは複数の循環バイオマーカーはまた、BCMA、CEACAM-1、HVEM、IL-1 R4、IL-10 Rb、Trappin-2、p53、hsa-miR-103、hsa-miR-106b、hsa-miR-10b、hsa-miR-125b、hsa-miR-142-3p、hsa-m 50

iR-142-5p、hsa-miR-145、hsa-miR-151-5p、hsa-miR-152、hsa-miR-15a、hsa-miR-181a、hsa-miR-1979、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-19a、hsa-miR-200a、hsa-miR-20b、hsa-miR-29a、hsa-miR-29b、hsa-miR-30a、hsa-miR-329、hsa-miR-335、hsa-miR-361-3p、hsa-miR-365、hsa-miR-373、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-502-5p、hsa-miR-595、hsa-miR-663、hsa-miR-671-5p、hsa-miR-760、hsa-miR-7a、hsa-miR-7c、hsa-miR-888、hsa-miR-99aおよびそれらの組み合わせから選択することができる。一つまたは複数の循環バイオマーカーは、以下のもの:hsa-miR-100、hsa-miR-1236、hsa-miR-1296、hsa-miR-141、hsa-miR-146b-5p、hsa-miR-17^{*}、hsa-miR-181a、hsa-miR-200b、hsa-miR-20a^{*}、hsa-miR-23a^{*}、hsa-miR-331-3p、hsa-miR-375、hsa-miR-452、hsa-miR-572、hsa-miR-574-3p、hsa-miR-577、hsa-miR-582-3p、hsa-miR-937、miR-10a、miR-134、miR-141、miR-200b、miR-30a、miR-32、miR-375、miR-495、miR-564、miR-570、miR-574-3p、miR-885-3pおよびそれらの組み合わせから選択することができる。なおさらに、一つまたは複数の循環バイオマーカーは、以下のもの:hsa-let-7b、hsa-miR-107、hsa-miR-1205、hsa-miR-1270、hsa-miR-130b、hsa-miR-141、hsa-miR-143、hsa-miR-148b^{*}、hsa-miR-150、hsa-miR-154^{*}、hsa-miR-181a^{*}、hsa-miR-181a-2^{*}、hsa-miR-18a^{*}、hsa-miR-19b-1^{*}、hsa-miR-204、hsa-miR-2110、hsa-miR-215、hsa-miR-217、hsa-miR-219-2-3p、hsa-miR-23b^{*}、hsa-miR-299-5p、hsa-miR-301a、hsa-miR-301a、hsa-miR-326、hsa-miR-331-3p、hsa-miR-365^{*}、hsa-miR-373^{*}、hsa-miR-424、hsa-miR-424^{*}、hsa-miR-432、hsa-miR-450a、hsa-miR-451、hsa-miR-484、hsa-miR-497、hsa-miR-517^{*}、hsa-miR-517a、hsa-miR-518f、hsa-miR-574-3p、hsa-miR-595、hsa-miR-617、hsa-miR-625^{*}、hsa-miR-628-5p、hsa-miR-629、hsa-miR-634、hsa-miR-769-5p、hsa-miR-93、hsa-miR-96から選択することができる。循環バイオマーカーは、hsa-miR-1974、hsa-miR-27b、hsa-miR-103、hsa-miR-146a、hsa-miR-22、hsa-miR-382、hsa-miR-23a、hsa-miR-376c、hsa-miR-335、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-221、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-151-3p、hsa-miR-21およびhsa-miR-16の一つまたは複数であることができる。ある態様において、循環バイオマーカーは、CD9、PSMA、PCSA、CD63、CD81、B7H3、IL 6、OPG-13、IL6R、PA2G4、EZH2、RUNX2、SERPINB3およびEpCamの一つまたは複数を含む。バイオマーカーは、FOXO1A、SOX9、CLNS1A、PTGDS、XPO1、LETMD1、RAD23B、ABCC3、APC、CHES1、EDNRA、FRZB、HSPG2およびTMPRSS2_ETV1融合体の一つまたは複数を含むことができる。参照によりその全体が本明細書に組み入れられる出願である国際公開公報第2010056993号を参照すること。別の態様において、循環バイオマーカーは、A33、a33 n15、AFP、ALA、ALIX、ALP、アネキシンV、APC、ASCA、ASPH (246-260)、ASPH (666-680)、ASPH (A-10)、ASPH (D01P)、ASPH (D03)、ASPH (G-20)、ASPH (H-300)、AURKA、AURKB、B7H3、B7H4、BCA-225、BCNP1、BDNF、BRCA、CA125 (MUC16)、CA-19-9、C-Bir、CD1.1、CD10、CD174 (Lewis y)、CD24、CD44、CD46、CD59 (MEM-43)、CD63、CD66e CEA、CD73、CD81、CD9、CDA、CDAC1 1a2、CEA、C-Erb2、C-erbB2、CRMP-2、CRP、CXCL12、CYFRA21-1、DLL4、DR3、EGFR、Epcam、EphA2、EphA2 (H-77)、ER、ErbB4、EZH2、FASL、FRT、FRT c.f23、GDF15、GPCR、GPR30、Gro- α 、HAP、HBD 1、HBD2、HER 3 (ErbB3)、HSP、HSP70、hVEGFR2、iC3b、IL 6 Unc、IL-1B、IL6 Unc、IL6R、IL8、IL-8、INSIG-2、KLK2、L1CAM、LAMN、LDH、MACC-1、MAPK4、MART-1、MCP-1、M-CSF、MFG-E8、MIC1、MIF、MIS RII、MMG、MMP26、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC1 seq1、MUC1 seq11A、MUC17、MUC2、Ncam、NGAL、NPGP/NPFF2、OPG、OPN、p53、p53、PA2G4、PBP、PCSA、PDGFRB、PGP9.5、PIM1、PR (B)、PRL、PSA、PSMA、PSME3、PTEN、R5-CD9 Tube 1、Reg IV、RUNX2、SCRN1、セプラーゼ、SERPINB3、SPARC、SPB、SPDEF、SRVN、STAT 3、STEAP1、TF (FL-295)、TFF3、TGM2、TIMP-1、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TMPRSS2、TNF- α 、Trail-R2、Trail-R4、TrKB、TROP2、Tsg 101、TWEAK、UNC93A、VEGF AおよびYPSMA-1の一つまたは複数を含む。前立腺癌を評価するために、これらのマーカーの任意の組み合わせをバイオシグネチャーにおいて使用することができる。循環バイオマーカーは、小胞、たとえば小胞表面マーカーまたは小胞ペイロードと関連していることができる。前立腺障害は、非限定的に、良性障害、たとえばBPHまたは様々な病期および悪性度の癌を含む前立腺癌を含む。たとえば表6を参照すること。

【0797】

10

20

30

40

50

(表6) 前立腺障害のバイオマーカー

障害の例	バイオマーカー
良性前立腺肥大症 (BPH)	BCMA, CEACAM-1, HVEM, IL-1 R4, IL-10 Rb, Trappin-2, p53, hsa-miR-329, hsa-miR-30a, hsa-miR-335, hsa-miR-152, hsa-miR-151-5p, hsa-miR-200a, hsa-miR-145, hsa-miR-29a, hsa-miR-106b, hsa-miR-595, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-99a, hsa-miR-20b, hsa-miR-373, hsa-miR-502-5p, hsa-miR-29b, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-663, hsa-miR-423-5p, hsa-miR-15a, hsa-miR-888, hsa-miR-361-3p, hsa-miR-365, hsa-miR-10b, hsa-miR-199a-3p, hsa-miR-181a, hsa-miR-19a, hsa-miR-125b, hsa-miR-760, hsa-miR-7a, hsa-miR-671-5p, hsa-miR-7c, hsa-miR-1979, hsa-miR-103
転移性前立腺癌	hsa-miR-100, hsa-miR-1236, hsa-miR-1296, hsa-miR-141, hsa-miR-146b-5p, hsa-miR-17*, hsa-miR-181a, hsa-miR-200b, hsa-miR-20a*, hsa-miR-23a*, hsa-miR-331-3p, hsa-miR-375, hsa-miR-452, hsa-miR-572, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-577, hsa-miR-582-3p, hsa-miR-937, miR-10a, miR-134, miR-141, miR-200b, miR-30a, miR-32, miR-375, miR-495, miR-564, miR-570, miR-574-3p, miR-885-3p
転移性前立腺癌	hsa-miR-200b, hsa-miR-375, hsa-miR-141, hsa-miR-331-3p, hsa-miR-181a, hsa-miR-574-3p
転移性前立腺癌	FOXO1A, SOX9, CLNS1A, PTGDS, XPO1, LETMD1, RAD23B, ABCC3, APC, CHES1, EDNRA, FRZB, HSPG2, TMPRSS2_ETV1 fusion
前立腺癌	hsa-let-7b, hsa-miR-107, hsa-miR-1205, hsa-miR-1270, hsa-miR-130b, hsa-miR-141, hsa-miR-143, hsa-miR-148b*, hsa-miR-150, hsa-miR-154*, hsa-miR-181a*, hsa-miR-181a-2*, hsa-miR-18a*, hsa-miR-19b-1*, hsa-miR-204, hsa-miR-2110,

	hsa-miR-215, hsa-miR-217, hsa-miR-219-2-3p, hsa-miR-23b*, hsa-miR-299-5p, hsa-miR-301a, hsa-miR-301a, hsa-miR-326, hsa-miR-331-3p, hsa-miR-365*, hsa-miR-373*, hsa-miR-424, hsa-miR-424*, hsa-miR-432, hsa-miR-450a, hsa-miR-451, hsa-miR-484, hsa-miR-497, hsa-miR-517*, hsa-miR-517a, hsa-miR-518f, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-595, hsa-miR-617, hsa-miR-625*, hsa-miR-628-5p, hsa-miR-629, hsa-miR-634, hsa-miR-769-5p, hsa-miR-93, hsa-miR-96
前立腺癌	CD9, PSMA, PCSA, CD63, CD81, B7H3, IL 6, OPG-13, IL6R, PA2G4, EZH2, RUNX2, SERPINB3, EpCam
前立腺癌	A33, a33 n15, AFP, ALA, ALIX, ALP, AnnexinV, APC, ASCA, ASPH (246-260), ASPH (666-680), ASPH (A-10), ASPH (D01P), ASPH (D03), ASPH (G-20), ASPH (H-300), AURKA, AURKB, B7H3, B7H4, BCA-225, BCNP1, BDNF, BRCA, CA125 (MUC16), CA-19-9, C-Bir, CD1.1, CD10, CD174 (Lewis y), CD24, CD44, CD46, CD59 (MEM-43), CD63, CD66e CEA, CD73, CD81, CD9, CDA, CDAC1 1a2, CEA, C-Erb2, C-erbB2, CRMP-2, CRP, CXCL12, CYFRA21-1, DLL4, DR3, EGFR, Epcam, EphA2, EphA2 (H-77), ER, ErbB4, EZH2, FASL, FRT, FRT c.f23, GDF15, GPCR, GPR30, Gro-alpha, HAP, HBD 1, HBD2, HER 3 (ErbB3), HSP, HSP70, hVEGFR2, iC3b, IL 6 Unc, IL-1B, IL6 Unc, IL6R, IL8, IL-8, INSIG-2, KLK2, L1CAM, LAMN, LDH, MACC-1, MAPK4, MART-1, MCP-1, M-CSF, MFG-E8, MIC1, MIF, MIS RII, MMG, MMP26, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC1 seq1, MUC1 seq11A, MUC17, MUC2, Ncam, NGAL, NPGP/NPFF2, OPG, OPN, p53, p53, PA2G4, PBP, PCSA, PDGFRB, PGP9.5, PIM1, PR (B), PRL, PSA, PSMA, PSME3, PTEN, R5-CD9 Tube 1, Reg IV, RUNX2, SCRIN1, seprase, SERPINB3, SPARC, SPB, SPDEF, SRVN, STAT 3, STEAP1, TF (FL-295), TFF3, TGM2, TIMP-1, TIMP1, TIMP2, TMEM211, TMPRSS2, TNF-alpha, Trail-R2, Trail-R4, TrKB, TROP2, Tsg 101, TWEAK, UNC93A, VEGF A, YPSMA-1
前立腺癌小胞マーカー	5T4, ACTG1, ADAM10, ADAM15, ALDOA, ANXA2, ANXA6, APOA1, ATP1A1, BASP1, C1orf58, C20orf114, C8B, CAPZA1, CAV1, CD151, CD2AP, CD59, CD9, CD9, CFL1, CFP, CHMP4B, CLTC, COTL1, CTNND1, CTSB, CTSZ, CYCS, DPP4, EEF1A1, EHD1, ENO1, F11R, F2, F5, FAM125A, FNBP1L, FOLH1, GAPDH, GLB1, GPX3, HIST1H1C, HIST1H2AB, HSP90AB1, HSPA1B, HSPA8, IGSF8, ITGB1, ITIH3, JUP, LDHA, LDHB, LUM, LYZ, MFGE8, MGAM, MMP9, MYH2, MYL6B, NME1, NME2, PABPC1, PABPC4, PACSIN2, PCBP2, PDCD6IP, PRDX2, PSA, PSMA, PSMA1, PSMA2, PSMA4, PSMA6, PSMA7, PSMB1, PSMB2, PSMB3, PSMB4, PSMB5, PSMB6, PSMB8, PTGFRN, RPS27A, SDCBP, SERINC5, SH3GL1, SLC3A2, SMPDL3B, SNX9, TACSTD1, TCN2, THBS1, TPI1, TSG101, TUBB, VDAC2, VPS37B, YWHAG, YWHAQ, YWHAZ
前立腺癌治療	hsa-miR-1974, hsa-miR-27b, hsa-miR-103, hsa-miR-146a, hsa-miR-22, hsa-miR-382, hsa-miR-23a, hsa-miR-376c, hsa-miR-335, hsa-miR-142-5p, hsa-miR-221, hsa-miR-142-3p, hsa-miR-151-3p, hsa-miR-21, hsa-miR-16
前立腺癌	E2F3, c-met, pRB, EZH2, e-cad, CAXII, CAIX, HIF-1α, Jagged, PIM-1, hepsin, RECK, Clusterin, MMP9, MTSP-1, MMP24, MMP15, IGFBP-2, IGFBP-3, E2F4, caveolin, EF-1A, Kallikrein 2, Kallikrein 3, PSGR

10

20

30

【0798】

前立腺障害、たとえばBPHおよび前立腺癌を評価するために、これらのマーカーの任意の組み合わせをバイオシグネチャーにおいて使用することができる。バイオシグネチャーはまた、前立腺癌の病期または悪性度を評価するために使用することもできる。

40

【0799】

少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、または70%の感度で、本明細書に開示される1つ以上のプロセスを用いて、前立腺癌を特徴決定することができる。少なくとも80、81、82、83、84、85、86、または87%の感度で、前立腺癌を特徴決定することができる。例えば、少なくとも87.1、87.2、87.3、87.4、87.5、87.6、87.7、87.8、87.9、88.0、もしくは89%の感度、例えば少なくとも90%の感度、例えば少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、もしくは100%の感度等で、前立腺癌を特徴決定することができる。

【0800】

また、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85

50

、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、もしくは97%の特異度、例えば少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9、もしくは100%の特異度などで、対象の前立腺癌を特徴決定することもできる。

【0801】

また、少なくとも70%の感度および少なくとも80、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも80%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも85%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも86%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも87%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも88%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも89%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも90%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも95%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも99%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；または少なくとも100%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度で、前立腺癌を特徴決定することもできる。

【0802】

いくつかの態様において、バイオシグネチャーは、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96または97%の精度、たとえば少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9または100%の精度で対象の表現型を特徴決定する。

【0803】

いくつかの態様において、バイオシグネチャーは、少なくとも0.70、0.71、0.72、0.73、0.74、0.75、0.76、0.77、0.78、0.79、0.80、0.81、0.82、0.83、0.84、0.85、0.86、0.87、0.88、0.89、0.90、0.91、0.92、0.93、0.94、0.95、0.96または0.97、たとえば少なくとも0.971、0.972、0.973、0.974、0.975、0.976、0.977、0.978、0.978、0.979、0.980、0.981、0.982、0.983、0.984、0.985、0.986、0.987、0.988、0.989、0.99、0.991、0.992、0.993、0.994、0.995、0.996、0.997、0.998、0.999または1.00のAUCで対象の表現型を特徴決定する。

【0804】

さらに、特異度、感度、精度および／またはAUCを決定するための信頼レベルは、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98または99%の信頼度で決定することができる。

【0805】

胃腸癌

胃腸（GI）管は、非限定的に、口腔、歯ぐき、咽頭、舌、唾液腺、食道、膵臓、肝臓、胆嚢、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、胆管、胃、大腸（盲腸、結腸、直腸）、虫垂および肛門を含む。バイオシグネチャーを使用して、そのような構成要素の癌、たとえば結腸直腸癌（CRC）、胃癌、腸管癌、肝臓癌または食道癌を検出または特徴決定することができる。胃腸（GI）管バイオシグネチャーは、図1に記載された一つまたは複数の抗原、結腸癌を特徴決定するための小胞を単離することと関連した一つまたは複数の結合物質（たとえば図2に示すような）、図6に示すような一つまたは複数のさらなるバイオマーカーを含むことができる。

【0806】

結腸直腸癌

結腸鏡検査法が、結腸直腸癌（CRC）をスクリーニングし、同定するための最も信頼できる方法であるが、結腸鏡検査法をすすめられる患者の半分が順守しないと推定されている。多くの場合、コンプライアンスの欠如は、多くの人が結腸鏡検査法を不快かつ侵襲的な処置であると考えているからである。結腸鏡検査法による検出および生検の必要性を示す血液ベースのバイオシグネチャーを有する患者を同定することができる、より非侵襲的な診断試験がコンプライアンスを改善することができるであろう。この戦略は、癌がより早期に同定される結果をもたらし、無疾患個人が不必要な侵襲的処置を受けることを防ぐであろう。現在の血液ベースの試験は、癌胎児性抗原（CEA）または糖質抗原決定基（CA 19-9）のレベルの上昇に依存する。残念ながら、CEAおよびCA 19-9は、臓器特異的でもないし腫瘍特異的でもない。本発明は、小胞ベースの検出アッセイを使用してこれらのマーカーに改良を加える。

10

【0807】

本発明は、対象からの試料に由来するバイオシグネチャーを使用して、CRCを有する、または有する可能性が高い対象を同定する方法を提供する。試料は、体液、たとえば血液、血漿もしくは血清または糞便であることができる。バイオシグネチャーは、小胞に関連したバイオマーカーを含む循環バイオマーカーを含むことができる。バイオシグネチャーは、小胞内に含まれる核酸、たとえばRNAを配列決定することによって検出される突然変異を含み得る。

【0808】

本発明の一つの局面において、バイオシグネチャーは、CRCを有する患者およびCRCを有しない患者の血漿から単離された小胞に由来する。小胞を捕捉し、検出するために小胞表面タンパク質が多重アッセイにおいて使用される。これらの表面タンパク質の有意な濃度を有する小胞の量が、CRC試料を正常から区別することができる小胞特異的バイオシグネチャーの開発につながる。CRC患者の血漿中に存在するそのような小胞は、組織学的悪性度1のような早期CRCを診断することができるシグネチャーを提供する。いくつかの態様において、小胞は、様々な表面タンパク質に対する抗体によって捕捉される。捕捉小胞は、小胞特異的マーカー、たとえばCD9、CD81およびCD63の一つまたは複数によって検出することができる。いくつかの態様において、小胞ベースのバイオシグネチャーは、CD9、CD81、CD63、EpCam、EGFRおよびSTEAPの一つまたは複数のレベルを計測することを含む。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するために以下のマーカー：CD9、NGAL、CD81、STEAP、CD24、A33、CD66E、Epha2、TMEM211、TROP2、EGFR、DR3、UNC93A、MUC17、EpCAM、MUC17、CD63、B7H3の一つまたは複数が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するために以下のマーカー：TMEM211、MUC1、GPR110（GPCR 110）、CD24、CD9、CD81およびCD63の一つまたは複数が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するために以下のマーカー：DR3、STEAP、epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2およびTETSの一つまたは複数が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するためにTMEM211が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するためにMUC1が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するためにGPR110が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉および／または検出するためにCD24が使用される。いくつかの態様においては、小胞を捕捉するためにTMEM211、MUC1、GPR110（GPCR 110）およびCD24の一つまたは複数が使用され、捕捉された小胞を検出するために一つまたは複数の一般的小胞マーカーが使用される。

20

30

40

【0809】

本発明の別の局面においては、小胞に関連したマイクロRNA（miR）を使用してバイオシグネチャーを決定する。miRは、患者試料、たとえば血液から単離された小胞、たとえばエクソソームに由来することができる。いくつかの態様においては、CRCバイオシグネチャーを導出するために以下のmiR：miR 92、miR 21、miR 9およびmiR 491の一つまたは複数を使用される。

50

【0810】

本発明のさらに別の局面において、小胞内のペイロードが評価される。腫瘍試料からの結腸癌モニタリングのためにはKRASおよびBRAF突然変異スクリーニングを使用することができる。実施例4に示すように、KRAS突然変異は、結腸細胞株小胞に由来するRNA中に見いだされる。実施例5は、血漿試料に由来するRNA小胞中でKRASを配列決定することができることを示す。いくつかの態様において、小胞内のKRASおよび／またはBRAF核酸の配列決定を使用してCRCを検出することができる。核酸はRNA、たとえばmRNAであることができる。CRCバイオシグネチャーは、小胞から単離されたKRASおよびBRAF RNAの配列決定を含むことができる。

【0811】

結腸癌バイオシグネチャーは、図1に列記される結腸癌の任意の1つ以上の抗原、（例えば、図2に示すような）結腸癌を特徴決定するための小胞の単離または検出に関連する1つ以上の結合物質、図6に示すような任意の1つ以上のさらなるバイオマーカーを含むことができる。

【0812】

該バイオシグネチャーは、miR-24-1、miR-29b-2、miR-20a、miR-10a、miR-32、miR-203、miR-106a、miR-17-5p、miR-30c、miR-223、miR-126、miR-128b、miR-21、miR-24-2、miR-99b、miR-155、miR-213、miR-150、miR-107、miR-191、miR-221、miR-20a、miR-510、miR-92、miR-513、miR-19a、miR-21、miR-20、miR-183、miR-96、miR-135b、miR-31、miR-21、miR-92、miR-222、miR-181b、miR-210、miR-20a、miR-106a、miR-93、miR-335、miR-338、miR-133b、miR-346、miR-106b、miR-153a、miR-219、miR-34a、miR-99b、miR-185、miR-223、miR-211、miR-135a、miR-127、miR-203、miR-212、miR-95、もしくはmiR-17-5p、またはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される1つ以上のmiRNAを含むことができる。該バイオシグネチャーはまた、miR-143、miR-145、miR-143、miR-126、miR-34b、miR-34c、let-7、miR-9-3、miR-34a、miR-145、miR-455、miR-484、miR-101、miR-145、miR-133b、miR-129、miR-124a、miR-30-3p、miR-328、miR-106a、miR-17-5p、miR-342、miR-192、miR-1、miR-34b、miR-215、miR-192、miR-301、miR-324-5p、miR-30a-3p、miR-34c、miR-331、miR-148b、miR-548c-5p、miR-362-3p、およびmiR422a等の1つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0813】

該バイオシグネチャーは、EFNB1、ERCC1、HER2、VEGF、およびEGFR等の1つ以上の遺伝子の評価を含むことができる。また、小胞中で評価され得る結腸癌のバイオマーカーの突然変異としては、EGFR、KRAS、VEGFA、B-Raf、APC、またはp53の1つ以上の突然変異を挙げることができる。また、該バイオシグネチャーには、AFR、Rab、ADAM10、CD44、NG2、エフリン-B1、MIF、b-カテニン、ジャンクション、プラコグロビン、ガレクチン-4、RACK1、テトラスパニン-8、FasL、TRAIL、A33、CEA、EGFR、ジペプチダーゼ1、hsc-70、テトラスパニン、ESCRT、TS、PTEN、またはTOP01等の、小胞から評価され得る1つ以上のタンパク質、リガンド、またはペプチドを含むことができる。

【0814】

癌の病期、癌の有効性、または癌の他の特徴等の診断、予後判定、またはセラノーシス用のプロファイルを提供するために、小胞を単離およびアッセイすることができる。あるいは、結腸癌と関連するバイオシグネチャーに対するアッセイを行う前に小胞が精製または濃縮されないように、試料からの小胞を直接アッセイすることができる。

【0815】

図69に示すように、結腸癌のようなGI癌の場合、バイオシグネチャーは、小胞のEpCam、CD63、CD81、CD9、CD66またはそれらの任意の組み合わせの検出を含むことができる。さらに、癌の様々な病期に関する結腸癌バイオシグネチャーは、CD63、CD9、EpCamまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができる（たとえば図71および72を参照）。たとえば、バイオシグネチャーはCD9およびEpCamを含むことができる。いくつかの態様において、GI癌バイオシグネチャーは、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429

、miR-200aおよびmiR-200bからなる群より選択される一つまたは複数のmiRNAを含む。図10に示すように、これらのmiRNAはGI癌において過剰発現することができる。miRNAシグネチャーを上記バイオマーカーと合わせることができる。バイオシグネチャーは、診断、予後判定またはセラノーシス用のプロファイル、たとえば癌の病期、癌の効果または癌の他の特徴を提供することができる。

【0816】

本発明は、上記バイオマーカーから選択される一つまたは複数の循環バイオマーカーの存在またはレベルを検出することを含む、胃腸障害の評価を提供する。一つまたは複数の循環バイオマーカーはまた、CD9、EGFR、NGAL、CD81、STEAP、CD24、A33、CD66E、EPHA2、フェリチン、GPR30、GPR110、MMP9、OPN、p53、TMEM211、TROP2、TGM2、TIMP、EGFR、DR3、UNC93A、MUC17、EpCAM、MUC1、MUC2、TSG101、CD63、B7H3およびそれらの組み合わせから選択することができる。一つまたは複数の循環バイオマーカーは、以下のもの：DR3、STEAP、epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、TETSおよびそれらの組み合わせから選択することができる。なおさらに、一つまたは複数の循環バイオマーカーは、以下のもの：A33、AFP、ALIX、ALX4、ANCA、APC、ASCA、AURKA、AURKB、B7H3、BANK1、BCNP1、BDNF、CA-19-9、CCSA-2、CCSA-3&4、CD10、CD24、CD44、CD63、CD66CEA、CD66e CEA、CD81、CD9、CDA、C-Erb2、CRMP-2、CRP、CRTN、CXCL12、CYFRA21-1、DcR3、DLL4、DR3、EGFR、Epcam、Epha2、FASL、FRT、GAL3、GDF15、GPCR (GPR110)、GPR30、GRO-1、HBD 1、HBD2、HNP1-3、IL-1B、IL8、IMP3、L1CAM、LAMN、MACC-1、MGC20553、MCP-1、M-CSF、MIC1、MIF、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC17、MUC2、Ncam、NGAL、NNMT、OPN、p53、PCSA、PDGFRB、PRL、PSMA、PSME3、Reg IV、SCRN1、Sept-9、SPARC、SPON2、SPR、SRVN、TFF3、TGM2、TIMP-1、TMEM211、TNF- α 、TPA、TPS、Trail-R2、Trail-R4、TrKB、TROP2、Tsg 101、TWEAK、UNC93AおよびVEGFAおよびそれらの組み合わせから選択することができる。ある態様において、循環バイオマーカーは、miR 92、miR 21、miR 9およびmiR 491の一つまたは複数および／またはhsa-miR-376c、hsa-miR-215、hsa-miR-652、hsa-miR-582-5p、hsa-miR-324-5p、hsa-miR-1296、hsa-miR-28-5p、hsa-miR-190、hsa-miR-590-5p、hsa-miR-202およびhsa-miR-195の一つまたは複数を含む。別の態様において、循環バイオマーカーは、TMEM211、MUC1、CD24および／またはGPR110 (GPCR 110) の一つまたは複数を含む。循環バイオマーカーは、小胞、たとえば小胞表面マーカーまたは小胞ペイロードと関連していることができる。胃腸障害は、非限定的に、良性障害、たとえば良性ポリープまたは様々な病期および悪性度の癌を含む癌、たとえば結腸直腸癌を含む。たとえば表7を参照すること。

【0817】

(表7) 胃腸障害のバイオマーカー

10

20

30

障害の例	バイオマーカー
結腸直腸癌	CD9, EGFR, NGAL, CD81, STEAP, CD24, A33, CD66E, EPHA2, フェリチン, GPR30, GPR110, MMP9, OPN, p53, TMEM211, TROP2, TGM2, TIMP, EGFR, DR3, UNC93A, MUC17, EpCAM, MUC1, MUC2, TSG101, CD63, B7H3
結腸直腸癌	DR3, STEAP, epha2, TMEM211, unc93A, A33, CD24, NGAL, EpCam, MUC17, TROP2, TETS
結腸直腸癌	A33, AFP, ALIX, ALX4, ANCA, APC, ASCA, AURKA, AURKB, B7H3, BANK1, BCNP1, BDNF, CA-19-9, CCSA-2, CCSA-3&4, CD10, CD24, CD44, CD63, CD66 CEA, CD66e CEA, CD81, CD9, CDA, C-Erb2, CRMP-2, CRP, CRTN, CXCL12, CYFRA21-1, DcR3, DLL4, DR3, EGFR, Epcam, EphA2, FASL, FRT, GAL3, GDF15, GPCR (GPR110), GPR30, GRO-1, HBD 1, HBD2, HNP1-3, IL-1B, IL8, IMP3, L1CAM, LAMN, MACC-1, MGC20553, MCP-1, M-CSF, MIC1, MIF, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC17, MUC2, Ncam, NGAL, NNMT, OPN, p53, PCSA, PDGFRB, PRL, PSMA, PSME3, Reg IV, SCRNI, Sept-9, SPARC, SPON2, SPR, SRVN, TFF3, TGM2, TIMP-1, TMEM211, TNF- α , TPA, TPS, Trail-R2, Trail-R4, TrKB, TROP2, Tsg 101, TWEAK, UNC93A, VEGFA
結腸直腸癌	miR 92, miR 21, miR 9 および miR 491
結腸直腸癌	TMEM211, MUC1, CD24 および/または GPR110 (GPCR 110)
結腸直腸癌	hsa-miR-376c, hsa-miR-215, hsa-miR-652, hsa-miR-582-5p, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-1296, hsa-miR-28-5p, hsa-miR-190, hsa-miR-590-5p, hsa-miR-202, hsa-miR-195
結腸直腸癌小胞マーカー	A26C1A, A26C1B, A2M, ACAA2, ACE, ACOT7, ACPI, ACTA1, ACTA2, ACTB, ACTBL2, ACTBL3, ACTC1, ACTG1, ACTG2, ACTN1, ACTN2, ACTN4, ACTR3, ADAM10, ADSL, AGR2, AGR3, AGRN, AHCY, AHNK, AKR1B10, ALB, ALDH1A1, ALDH1A1, ALDOA, ANXA1, ANXA11, ANXA2, ANXA2P2, ANXA4, ANXA5, ANXA6, AP2A1, AP2A2, APOA1, ARF1, ARF3, ARF4, ARF5, ARF6, ARHGDIA, ARPC3, ARPC5L, ARRDC1, ARVCF, ASCC3L1, ASNS, ATP1A1, ATP1A2, ATP1A3, ATP1B1, ATP4A, ATP5A1, ATP5B, ATP5I, ATP5L, ATP5O, ATP6AP2, B2M, BAIAP2, BAIAP2L1, BRI3BP, BSG, BUB3, C1orf58, C5orf32, CAD, CALM1, CALM2, CALM3, CAND1, CANX, CAPZA1, CBR1, CBR3, CCT2, CCT3, CCT4, CCT5, CCT6A, CCT7, CCT8, CD44, CD46, CD55, CD59, CD63, CD81, CD82, CD9, CDC42, CDH1, CDH17, CEACAM5, CFL1, CFL2, CHMP1A, CHMP2A, CHMP4B, CKB, CLDN3, CLDN4, CLDN7, CLIC1, CLIC4, CLSTN1, CLTC, CLTCL1, CLU, COL12A1, COPB1, COPB2, CORO1C, COX4I1, COX5B, CRYZ, CSPG4, CSRP1, CST3, CTNNA1, CTNNB1, CTNND1, CTTN, CYFIP1, DCD, DERA, DIP2A, DIP2B, DIP2C, DMBT1, DPEP1, DPP4, DYNC1H1, EDIL3, EEF1A1, EEF1A2, EEF1AL3, EEF1G, EEF2, EFNBI, EGFR, EHD1, EHD4, EIF3EIP, EIF3I, EIF4A1, EIF4A2, ENO1, ENO2, ENO3, EPHA2, EPHA5, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPPK1, ESD, EZR, F11R, F5, F7, FAM125A, FAM125B, FAM129B, FASLG, FASN, FAT, FCBP, FER1L3, FKBP1A, FLNA, FLNB, FLOT1, FLOT2, G6PD, GAPDH, GARS, GCN1L1, GDI2, GK, GMD5, GNAI3, GNAI2, GNAI3, GNAS, GNB1, GNB2L1, GNB3, GNB4, GNG12, GOLGA7, GPA33, GPI, GPRC5A, GSN, GSTP1, H2AFJ, HADHA, hCG_1757335, HEPH, HIST1H2AB, HIST1H2AE, HIST1H2AJ, HIST1H2AK, HIST1H4A, HIST1H4B, HIST1H4C, HIST1H4D, HIST1H4E, HIST1H4F, HIST1H4H, HIST1H4I, HIST1H4J, HIST1H4K, HIST1H4L, HIST2H2AC, HIST2H4A, HIST2H4B, HIST3H2A, HIST4H4, HLA-A, HLA-A29.1, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-H, HNRNPA2B1, HNRNPH2, HPCAL1, HRAS, HSD17B4, HSP90AA1, HSP90AA2, HSP90AA4P, HSP90AB1, HSP90AB2P, HSP90AB3P, HSP90B1, HSPA1A, HSPA1B, HSPA1L, HSPA2, HSPA4, HSPA5, HSPA6, HSPA7, HSPA8, HSPA9, HSPD1, HSPE1, HSPG2, HYOU1, IDH1, IFITM1, IFITM2, IFITM3, IGH@, IGHG1, IGHG2, IGHG3, IGHG4, IGHM, IGHV4-31, IGK@, IGKC, IGKV1-5, IGKV2-24, IGKV3-20, IGSF3, IGSF8, IQGAP1, IQGAP2, ITGA2, ITGA3, ITGA6, ITGAV, ITGB1, ITGB4, JUP, KIAA0174, KIAA1199, KPNB1, KRAS, KRT1, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT18, KRT19, KRT2, KRT20, KRT24, KRT25, KRT27, KRT28, KRT3, KRT4, KRT5, KRT6A, KRT6B, KRT6C, KRT7, KRT75, KRT76, KRT77, KRT79, KRT8, KRT9, LAMA5, LAMP1, LDHA, LDHB, LFNG, LGALS3, LGALS3BP, LGALS4, LIMA1, LIN7A, LIN7C, LOC100128936, LOC100130553, LOC100133382, LOC100133739, LOC284889, LOC388524, LOC388720, LOC442497, LOC653269, LRP4, LRPPRC, LRSAM1, LSR, LYZ, MAN1A1, MAP4K4, MARCKS, MARCKSL1, METRNL, MFE8, MICA, MIF, MINK1, MITD1, MMP7, MOBKL1A, MSN, MTCH2, MUC13, MYADM, MYH10, MYH11, MYH14, MYH9, MYL6, MYL6B, MYO1C, MYO1D, NARS, NCALD, NCSTN, NEDD4, NEDD4L, NME1, NME2, NOTCH1, NQO1, NRAS,

10

20

30

40

	P4HB, PCBP1, PCNA, PCSK9, PDCD6, PDCD6IP, PDIA3, PDXK, PEBP1, PFN1, PGK1, PHB, PHB2, PKM2, PLEC1, PLEKHB2, PLSCR3, PLXNA1, PLXNB2, PPIA, PPIB, PPP2R1A, PRDX1, PRDX2, PRDX3, PRDX5, PRDX6, PRKAR2A, PRKDC, PRSS23, PSMA2, PSMC6, PSMD11, PSMD3, PSME3, PTGFRN, PTPRF, PYGB, QPCT, QSOX1, RAB10, RAB11A, RAB11B, RAB13, RAB14, RAB15, RAB1A, RAB1B, RAB2A, RAB33B, RAB35, RAB43, RAB4B, RAB5A, RAB5B, RAB5C, RAB6A, RAB6B, RAB7A, RAB8A, RAB8B, RAC1, RAC3, RALA, RALB, RAN, RANP1, RAP1A, RAP1B, RAP2A, RAP2B, RAP2C, RDX, REG4, RHOA, RHOC, RHOG, ROCK2, RP11-631M21.2, RPL10A, RPL12, RPL6, RPL8, RPLP0, RPLP0様, RPLP1, RPLP2, RPN1, RPS13, RPS14, RPS15A, RPS16, RPS18, RPS20, RPS21, RPS27A, RPS3, RPS4X, RPS4Y1, RPS4Y2, RPS7, RPS8, RPSA, RPSAP15, RRAS, RRAS2, RUVBL1, RUVBL2, S100A10, S100A11, S100A14, S100A16, S100A6, S100P, SDC1, SDC4, SDCBP, SDCBP2, SERINC1, SERINC5, SERPINA1, SERPINF1, SETD4, SFN, SLC12A2, SLC12A7, SLC16A1, SLC1A5, SLC25A4, SLC25A5, SLC25A6, SLC29A1, SLC2A1, SLC3A2, SLC44A1, SLC7A5, SLC9A3R1, SMPDL3B, SNAP23, SND1, SOD1, SORT1, SPTAN1, SPTBN1, SSBP1, SSR4, TACSTD1, TAGLN2, TBCA, TCEB1, TCPI1, TF, TFRC, THBS1, TJP2, TKT, TMED2, TNFSF10, TNIK, TNKS1BP1, TNPO3, TOLLIP, TOMM22, TPI1, TPM1, TRAP1, TSG101, TSPAN1, TSPAN14, TSPAN15, TSPAN6, TSPAN8, TSTA3, TTYH3, TUBA1A, TUBA1B, TUBA1C, TUBA3C, TUBA3D, TUBA3E, TUBA4A, TUBA4B, TUBA8, TUBB, TUBB2A, TUBB2B, TUBB2C, TUBB3, TUBB4, TUBB4Q, TUBB6, TUFM, TXN, UBA1, UBA52, UBB, UBC, UBE2N, UBE2V2, UGDH, UQCRC2, VAMP1, VAMP3, VAMP8, VCP, VIL1, VPS25, VPS28, VPS35, VPS36, VPS37B, VPS37C, WDR1, YWHAB, YWHAE, YWHAG, YWHAH, YWHAQ, YWHAZ
マイクロRNA	miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-20a, miR-510, miR-92, miR-513, miR-19a, miR-21, miR-20, miR-183, miR-96, miR-135b, miR-31, miR-21, miR-92, miR-222, miR-181b, miR-210, miR-20a, miR-106a, miR-93, miR-335, miR-338, miR-133b, miR-346, miR-106b, miR-153a, miR-219, miR-34a, miR-99b, miR-185, miR-223, miR-211, miR-135a, miR-127, miR-203, miR-212, miR-95,またはmiR-17-5p, miR-143, miR-145, miR-143, miR-126, miR-34b, miR-34c, let-7, miR-9-3, miR-34a, miR-145, miR-455, miR-484, miR-101, miR-145, miR-133b, miR-129, miR-124a, miR-30-3p, miR-328, miR-106a, miR-17-5p, miR-342, miR-192, miR-1, miR-34b, miR-215, miR-192, miR-301, miR-324-5p, miR-30a-3p, miR-34c, miR-331, miR-148b, miR-548c-5p, miR-362-3p, miR422a
マイクロRNA	hsa-miR-548c-5p, hsa-miR-362-3p, hsa-miR-422a, hsa-miR-597, hsa-miR-429, hsa-miR-200a, hsa-miR-200b, hsa-miR-376c, hsa-miR-652, hsa-miR-221*, hsa-miR-215, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-376c, hsa-miR-652, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-28-5p, hsa-miR-190, hsa-miR-590-5p, hsa-miR-202, hsa-miR-195, hsa-miR-215, hsa-miR-582-5p, hsa-miR-1296

10

20

30

【0818】

少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、または70%の感度で、本明細書に開示される1つ以上のプロセスを用いて、該結腸直腸癌を特徴決定することができる。少なくとも71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、または87%の感度で、該結腸直腸癌を特徴決定することができる。例えば、少なくとも87.1、87.2、87.3、87.4、87.5、87.6、87.7、87.8、87.9、88.0、もしくは89%の感度、例えば少なくとも90%の感度、例えば少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、もしくは100%の感度等で、該結腸直腸癌を特徴決定することができる。

40

【0819】

対象の結腸直腸癌はまた、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、または97%の特異度、例えば、少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9、または100%の特異度で特徴決定することができる。

【0820】

結腸直腸癌はまた、少なくとも70%の感度および少なくとも80、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも80%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%

50

の特異度;少なくとも85%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも86%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも87%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも88%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも89%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも90%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも95%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;少なくとも99%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度;または少なくとも100%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、または100%の特異度でも特徴決定することができる。

10

【0821】

さらに、特異度、感度、および/または他の統計的な性能評価尺度を求めるための信頼度は、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%の信頼度でよい。

【0822】

乳癌

本発明は、対象からの試料に由来するバイオシグネチャーを用いて、乳癌を有する可能性がある対象または乳癌を有する対象を特定する方法を提供する。試料は、体液、例えば、血液、血漿、もしくは血清、または母乳でよい。バイオシグネチャーは、小胞に関連したバイオマーカーを含む循環バイオマーカーを含んでもよい。バイオシグネチャーは、小胞の中に含まれる核酸、例えば、RNAを配列決定することによって検出される変異を含んでもよい。

20

【0823】

本発明は、本明細書において列挙されたバイオマーカーより選択される1種または複数種の循環バイオマーカーの存在またはレベルを検出する工程を含む、乳癌を特徴決定するための方法を提供する。診断、予後判定、またはセラノーシスなどの特徴決定を提供するために前記方法を使用することができる。循環バイオマーカーは、小胞、例えば、小胞表面マーカーまたは小胞ペイロードと関連してもよい。乳癌の特徴決定において使用するための例示的な循環バイオマーカーを表8に示した。

【0824】

(表8) 乳癌のバイオマーカー

30

障害	バイオマーカー
乳癌	miR-21, miR-155, miR-206, miR-122a, miR-210, miR-21, miR-155, miR-206, miR-122a, miR-210, let-7, miR-10b, miR-125a, miR-125b, miR-145, miR-143, miR-145, miR-1b
乳癌	GAS5
乳癌	ER, PR, HER2, MUC1, EGFR, KRAS, B-Raf, CYP2D6, hsp70, MART-1, TRP, HER2, hsp70, MART-1, TRP, HER2, ER, PR, クラス III b-チューブリン, VEGFA, ETV6-NTRK3, BCA-225, hsp70, MART1, ER, VEGFA, クラスIIIb-チューブリン, HER2/neu (例えば Her2+ 乳癌の場合), GPR30, ErbB4 (JM) アイズフォーム, MPR8, MISIIR, CD9, EphA2, EGFR, B7H3, PSM, PCSA, CD63, STEAP, CD81, ICAM1, A33, DR3, CD66e, MFG-E8, TROP-2, マンマグロビン, ヘプシン, NPGP/NPFF2, PSCA, 5T4, NGAL, EpCam, ニューロキニン受容体-1 (NK-1 or NK-1R), NK-2, Pai-1, CD45, CD10, HER2/ERBB2, AGTR1, NPY1R, MUC1, ESA, CD133, GPR30, BCA225, CD24, CA15.3 (MUC1 分泌型), CA27.29 (MUC1 分泌型), NMDAR1, NMDAR2, MAGEA, CTAG1B, NY-ESO-1, SPB, SPC, NSE, PGP9.5, プロゲステロン受容体(PR)またはそのアイソフォーム(PR(A)またはPR(B)), P2RX7, NDUFB7, NSE, GAL3, オステオポンチン, CHI3L1, IC3b, メソテリン, SPA, AQP5, GPCR, hCEA-CAM, PTP IA-2, CABYR, TMEM211, ADAM28, UNC93A, MUC17, MUC2, IL10R-β, BCMA, HVEM/TNFRSF14, トラッピン-2, エラフィン, ST2/IL1 R4, TNFRF14, CEACAM1, TPA1, LAMP, WF, WH1000, PECAM, BSA, TNFR
乳癌	CD9, MIS Rii, ER, CD63, MUC1, HER3, STAT3, VEGFA, BCA, CA125, CD24, EPCAM, ERB B4
乳癌	CD10, NPGP/NPFF2, HER2/ERBB2, AGTR1, NPY1R, ニューロキニン受容体-1 (NK-1 or NK-1R), NK-2, MUC1, ESA, CD133, GPR30, BCA225, CD24, CA15.3 (MUC1 分泌型), CA27.29 (MUC1 分泌型), NMDAR1, NMDAR2, MAGEA, CTAG1B, NY-ESO-1
乳癌	SPB, SPC, NSE, PGP9.5, CD9, P2RX7, NDUFB7, NSE, GAL3, オステオポンチン, CHI3L1, EGFR, B7H3, IC3b, MUC1, メソテリン, SPA, PCSA, CD63, STEAP, AQP5, CD81, DR3, PSM, GPCR, EphA2, hCEA-CAM, PTP IA-2, CABYR, TMEM211, ADAM28, UNC93A, A33, CD24, CD10, NGAL, EpCam, MUC17, TROP-2, MUC2, IL10R-β, BCMA, HVEM/TNFRSF14, トラッピン-2 エラフィン, ST2/IL1 R4, TNFRF14, CEACAM1, TPA1, LAMP, WF, WH1000, PECAM, BSA, TNFR
乳癌	BRCA, MUC-1, MUC 16, CD24, ErbB4, ErbB2 (HER2), ErbB3, HSP70, マンマグロビン, PR, PR(B), VEGFA
乳癌	CD9, HSP70, Gal3, MIS, EGFR, ER, ICB3, CD63, B7H4, MUC1, DLL4, CD81, ERB3, VEGF, BCA225, BRCA, CA125, CD174, CD24, ERB2, NGAL, GPR30, CYFRA21, CD31, cMET, MUC2, ERBB4
乳癌	CD9, EphA2, EGFR, B7H3, PSMA, PCSA, CD63, STEAP, CD81, STEAP1, ICAM1 (CD54), PSMA, A33, DR3, CD66e, MFG-8e, TMEM211, TROP-2, EGFR, マンマグロビン, ヘプシン, NPGP/NPFF2, PSCA, 5T4, NGAL, NK-2, EpCam, NK-1R, PSMA, 5T4, PAI-1, CD45
乳癌	PGP9.5, CD9, HSP70, gal3-b2c10, EGFR, ic3b, PSMA, PCSA, CD63, MUC1, DLL4, CD81, B7-H3, HER 3 (ErbB3), MART-1, PSA, VEGF A, TIMP-1, GPCR GPR110, EphA2, MMP9, mmp7, TMEM211, UNC93a, BRCA, CA125 (MUC16), マンマグロビン, CD174 (Lewis y), CD66e CEA, CD24 c.sn3, C-erbB2, CD10, NGAL, epcam, CEA (癌胎児性抗原), GPR30, CYFRA21-1, OPN, MUC17, hVEGFR2, MUC2, NCAM, ASPH, ErbB4, SPB, SPC, CD9, MS4A1, EphA2, MIS RII, HER2 (ErbB2), ER, PR (B), MRP8, CD63, B7H4, TGM2, CD81, DR3, STAT 3, MACC-1, TrKB, IL 6 Unc, OPG - 13, IL6R, EZH2, SCRNI, TWEAK, SERPINB3, CDAC1, BCA-225, DR3, A33, NPGP/NPFF2, TIMP1, BDNF, FRT, フェリチン 重鎖, セブラーゼ, p53, LDH, HSP, ost, p53, CXCL12, HAP, CRP, Gro-α, Tsg 101, GDF15
乳癌	CD9, HSP70, Gal3, MIS (RII), EGFR, ER, ICB3, CD63, B7H4, MUC1, CD81, ERB3, MART1, STAT3, VEGF, BCA225, BRCA, CA125, CD174, CD24, ERB2, NGAL, GPR30, CYFRA21, CD31, cMET, MUC2, ERB4, TMEM211
乳癌	5T4 (栄養芽細胞), ADAM10, AGER/RAGE, APC, APP (β-アミロイド), ASPH (A-10), B7H3 (CD276), BACE1, BAI3, BRCA1, BDNF, BIRC2, C1GALT1, CA125

10

20

30

40

	(MUC16), カルモジュリン 1, CCL2 (MCP-1), CD9, CD10(BD), CD127 (IL7R), CD174, CD24, CD44, CD63, CD81, CEA, CRMP-2, CXCR3, CXCR4, CXCR6, CYFRA 21, デルリン 1, DLL4, DPP6, E-CAD, EpCAM, EphA2(H-77), ER(1)ESR1 α , ER(2) ESR2 β , Erb B4, Erbb2, erb3 (Erb-B3) PA2G4, Gal3, GPR30 (G 共役 ER1), HAP1, HER3, HSP-27, HSP70, IC3b, IL8, ジャンクシオンプラコグロビン, ケラチン 15, マンマグロビン, MART1, MCT2, MFGE8 as detector Ab-PE, MMP9, MRP8, Muc1, MUC17, MUC2, NCAM, NG2 (CSPG4), Ngal, NHE-3, NT5E (CD73), ODC1, OPG, OPN (SC), p53, PARK7, PCSA, PGP9.5 (PARK5), PR(B), PSA, PSMA, RAGE, STXBP4, サバイビン, TFF3 (分泌型), TIMP1, TIMP2, TMEM211, TRAF4 (足場), TRAIL-R2 (デスレセプター 5), TrkB, Tsg 101, UNC93a, VEGF A, VEGFR2, YB-1, VEGFR1, 5HT2B (セロトニン受容体 2B), BRCA1, BACE 1, CDH1-カドヘリン
乳癌	Gal3 および/またはBCA200; NCAM および/または OPN
乳癌	CD44, CD9, EpCam, CD24, Muc1, BCA200, Gal3
乳癌	cMV マーカー(テトラスパニン ⁺ , CD45 ⁺ , FasL ⁺ , CTLA4 ⁺); 血管形成cMVマーカー(テトラスパニン ⁺ , CD31 ⁺ , DLL4 ⁺ , VEGFR2 ⁺ , HIF2a ⁺ , Tie2 ⁺ , Ang1 ⁺); 転移cMVマーカー(テトラスパニン ⁺ , Muc1 ⁺ , CD147 ⁺ , TIMP1 ⁺ , TIMP2 ⁺ , MMP7 ⁺ , MMP9 ⁺)
乳癌	AK5.2, ATP6V1B1, CRABP1
乳癌	DST.3, GATA3, KRT81
乳癌	AK5.2, ATP6V1B1, CRABP1, DST.3, ELF5, GATA3, KRT81, LALBA, OXTR, RASL10A, SERHL, TFAP2A.1, TFAP2A.3, TFAP2C, VTCN1
乳癌cMVに関連したタンパク質	HSPA8, GAPDH, ANXA2, HSP90AA1, GLC1F, ALB, Lamp1, PRDX1, TUBA1A, PRDX2, CLIC1, GNB2, HSPA5, CCT2, HSPB1, MUC1, P4HB, TUBB, FGG, PDIA3, Flot2, HSPD1, NRAS, PFN2, SERPINF1, C4A, CFH, COMT, G6PD, PHB, RPLP0, ACSL3, ACTB, ACTB, ACTG1, ACTG1, BTG1, C1QC, CRABP2, ERBB2, ETFA, HNRNPA2B1, HSPA9, IGHG1, NEB, SMC3, TUFM, AKAP9, CLASP1, DLD, GLUD1, GNB5, H2-M3, HSD17B10, HTATIP2, IMPDH2, MARVELD2, MYH8, PTX3, SNX25, ZNF571
乳癌	TRAP; 腎細胞癌; フィラミン; 14.3.3, Pan; プロヒビチン; c-fos; Ang-2; GSTmu; Ang-1; FHIT; Rad51; インヒビリン α ; カドヘリン-P; 14.3.3 γ ; p18INK4c; P504S; XRCC2; カスパーゼ5; CREB結合タンパク質; エストロゲン受容体; IL17; クローディン2; ケラチン8; GAPDH; CD1; ケラチン, LMW; γ グルタミルシステインシンセターゼ(GCS)/グルタミン酸-システインリガーゼ; a-B-クリスタリン; Pax-5; MMP-19; APC; IL-3; ケラチン8 (リン酸化特異的Ser73); TGF- β 2; ITK; Oct-2/DJ-1; B7-H2; 形質細胞マーカー; Rad18; エストリオール; Chk1; プロラクチン受容体; ラミニン受容体; ヒストン H1; CD45RO; GnRH受容体; IP10/CRG2; アクチン, 筋肉特異的; S100; ジストロフィン; チューブリン-a; CD3zeta; CDC37; GABA a受容体1; MMP-7(マトリライシン); ヘレグリン; カスパーゼ 3; CD56/NCAM-1; ガストリン 1; SREBP-1 (ステロール調節エレメント結合タンパク質-1); MLH1; PGP9.5; 第VIII因子関連抗原; ADP-リボシル化因子(ARF-6); MHC II (HLA-DR) Ia; サバイビン; CD23; G-CSF; CD2; カルレチニン; ニューロン特異的エノラーゼ; CD165; カルボニン; CD95/Fas; ウロコルチン; 熱ショックタンパク質27/hsp27; Topo II β ; インスリン受容体; ケラチン 5/8; sm; アクチン, 骨格筋; CA19-9; GluR1; GRIPI; CD79a mb-1; TdT; HRP; CD94; CCK-8; チミジンホスホリラーゼ; CD57; アルカリホスファターゼ(AP); CD59 / MACIF / MIRL / プロテクチン; GLUT-1; α -1-抗トリプシン; プレセニリン; ムチン 3 (MUC3); pS2; 14-3-3 β ; MMP-13 (コラゲナーゼ-3); Fli-1; mGluR5; 肥満細胞キマーゼ; ラミニン B1/b1; 神経フィラメント (160kDa); CNPase; アミリンペプチド; Gai1; CD6; α -1-抗キモトリプシン; E2F-2; MyoD1
非浸潤性乳管癌 (DCIS)	ラミニン B1/b1; E2F-2; TdT; アポリポタンパクD; 顆粒球; アルカリホスファターゼ(AP); 熱ショックタンパク質 27/hsp27; CD95 / Fas; pS2; エストリオール; GLUT-1; フィブロネクチン; CD6; CCK-8; sm; 第VIII因子関連抗原; CD57; プラスミノーゲン; CD71 / トランスフェリン受容体; ケラチン 5/8; チミジンホスホリラーゼ; CD45/T200/LCA; 上皮特異的抗原; マクロファージ; CD10; MyoD1; Gai1; bcl-XL; hPL; カスパーゼ 3; アクチン, 骨格筋; IP10/CRG2; GnRH受容体; p35nck5a; ADP-リボシル化因子(ARF-6); Cdk4; α -1-抗トリプシン; IL17; ニューロン特異的エノラーゼ; CD56/NCAM-1; プロラクチン受容体; Cdk7; CD79a mb-1; コラーゲンIV; CD94; ミエロイド特異的マーカー; ケラチン 10; Pax-5; IgM (m-重鎖); CD45RO; CA19-9; ムチン 2; グルカゴン; 肥満細胞キマーゼ; MLH1; CD1; CNPase; パーキン; MHC II (HLA-DR) Ia; B7-H2; Chk1; ラムダ軽鎖; MHC II (HLA-DPおよび DR); ミオゲニン; MMP-7(マトリライシン); Topo II β ; CD53; ケラチン 19;

10

20

30

40

	Rad18; Ret オンコプロテイン; MHC II (HLA-DP); E3結合タンパク質 (ARM1); プロゲステロン受容体; ケラチン 8; IgG; IgA; チューブリン; インスリン受容体基質-1; ケラチン 15; DR3; IL-3; ケラチン 10/13; サイクリン D3; MHC I (HLA25 および HLA -Aw32); カルモジュリン; 神経フィラメント (160kDa)
非浸潤性乳管癌 (DCIS) 対 他の乳癌	マクロファージ; フィブロネクチン; 顆粒球; ケラチン19; サイクリンD3; CD45/T200/LCA; EGFR; トロンボスポンジン; CD81/TAPA-1; Ruv C; プラスミノージェン; コラーゲン IV; ラミニン B1/b1; CD10; TdT; フィラミン; bcl-XL; 14.3.3 γ; 14.3.3, Pan; p170; アポリポタンパクD; CD71 / トランスフェリン受容体; FHIT

【0825】

乳癌は、少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、または70%の感度で、本明細書において開示された1つまたは複数のプロセスを用いて特徴決定することができる。乳癌は、少なくとも71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、または87%の感度で特徴決定することができる。例えば、乳癌は、少なくとも87.1、87.2、87.3、87.4、87.5、87.6、87.7、87.8、87.9、88.0、または89%の感度、例えば、少なくとも90%の感度、例えば、少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%の感度で特徴決定することができる。

10

【0826】

また、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、もしくは97%の特異度、例えば少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9、もしくは100%の特異度で、対象の乳癌を特徴決定することもできる。

20

【0827】

また、少なくとも70%の感度および少なくとも80、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも80%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも85%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも86%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも87%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも88%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも89%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも90%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも95%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；少なくとも99%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度；または少なくとも100%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度で、乳癌を特徴決定することもできる。

30

【0828】

さらに、特異度、感度、および/または他の統計的な性能指標を決定するための信頼度のレベルは、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%の信頼度を有し得る。

40

【0829】

卵巣癌

卵巣癌を特徴決定するためのバイオシグネチャーは、（例えば、図1に示すような）卵巣癌に関連する抗原、および図4に示すような、1つ以上のさらなるバイオマーカーを含むことができる。一つの態様において、卵巣癌のバイオシグネチャーは、CD24、CA125、VEGF1、VEGFR2、HER2、MISIIR、またはこれらの任意の組み合わせ等であるがこれらに限定されない、卵巣癌に関連する1つ以上の抗原を含むことができる。卵巣癌のバイオシグネチャーは、前述の抗原のうちの1つ以上、およびmiRNA、mRNA、DNA、またはこれらの任意の組み合わせ等があるがこれらに限定されない1つ以上のさらなるバイオマーカーを含むことができる。卵巣癌のバイオシグネチャーは、miR-200a、miR-141、miR-200c、miR-200b

50

、miR-21、miR-141、miR-200a、miR-200b、miR-200c、miR-203、miR-205、miR-214、miR-215、miR-199a、miR-140、miR-145、miR-125b-1、またはこれらの任意の組み合わせ等があるがこれらに限定されない1つ以上のmiRNAバイオマーカーと共に、CD24、CA125、VEGF1、VEGFR2、HER2、MISIIR、またはこれらの任意の組み合わせ等があるがこれらに限定されない、卵巣癌と関連する1つ以上の抗原を含むことができる。

【0830】

卵巣癌のバイオシグネチャーは、1つ以上のmiRNAバイオマーカー（前述のmiRNA等）、mRNA（ERCC1、ER、TOP01、TOP2A、AR、PTEN、HER2/neu、EGFR等があるがこれらに限定されない）、突然変異（KRASおよび／もしくはB-Rafに関連するものが挙げられるが、これらに限定されない）、またはこれらの任意の組み合わせと共に、CD24、CA125、VEGF1、VEGFR2、HER2、MISIIR、またはこれらの任意の組み合わせ等があるがこれらに限定されない、卵巣癌と関連する1つ以上の抗原を含むことができる。

【0831】

卵巣癌小胞に関連するタンパク質は、HSP90AA1、GLC1F、CLDN3、CLDN4、CLDN4、およびCLDN5を含む。これらのタンパク質のうちの一つまたは複数は、卵巣癌を特徴決定するために評価され得る。

【0832】

診断、予後判定、またはセラノーシス用のプロファイルを提供するために、1つ以上のmiRNAおよび卵巣癌と関連する1つ以上の抗原について、小胞の単離、アッセイ、またはその両方を行うことができる。あるいは、1つ以上の、miRNAまたは卵巣癌と関連する抗原についてアッセイを行う前に小胞が精製または濃縮されないように、試料からの小胞を直接アッセイすることができる。

【0833】

肺癌

本発明は、対象からの試料に由来するバイオシグネチャーを用いて、肺癌を有する可能性が高い対象または乳癌を有する対象を同定する方法を提供する。試料は、体液、例えば、血液、血漿もしくは血清、痰、粘液、または洗浄液でよい。バイオシグネチャーは、小胞に関連したバイオマーカーを含む循環バイオマーカーを含んでもよい。バイオシグネチャーは、小胞の中に含まれる核酸、例えば、RNAを配列決定することによって検出される変異を含んでもよい。

【0834】

本発明は、本明細書において列挙されたバイオマーカーより選択される1種または複数種の循環バイオマーカーの存在またはレベルを検出する工程を含む、肺癌を特徴決定するための方法を提供する。診断、予後判定、またはセラノーシスなどの特徴決定を提供するために前記方法を使用することができる。循環バイオマーカーは、小胞、例えば、小胞表面マーカーまたは小胞ペイロードと関連してもよい。肺癌の特徴決定において使用するための例示的な循環バイオマーカーを表9に示した。

【0835】

（表9）肺癌のバイオマーカー

障害	バイオマーカー
肺癌	A33, ADAM28, APC, APC, AQP5, B7H3, BDNF, CABYR, CD10, CD24, CD3, CD63, CD66 CEA, CD66e, CD81, CD9, CDADC1, CEA, CEACAM, C-Erb, C-ERBB2, CHI3L1, CRP, CXCL12, DLL4, DR3, EGFR, EpCam, EphA2, フェリチン, FRT, Gal3, GDF15, GPCR GPR110, GPR30, GRO-1, Gro- α , ハプトグロビン (HAP), HSP70, iC3b, LDH, MACC1, メソテリン, MMP7, MMP9, MS4A1, MUC1, MUC17, MUC2, NCAM, NDUFB7, N-gal, NSE, オステオポンチン (OPN), P2RX7, P53, PCSA, PGP9.5, PRL, PSMA, PTP, SCRNI, セブラーゼ, SPA, SPB, SPC, SPR, TFF3, TGM2, TIMP-1, TMEM211, TPA, TrkB, TROP2, tsg 101, TWEAK, UNC93, UNC93a
肺癌	hsa-miR-125a-5p, hsa-miR-650, hsa-miR-194, hsa-miR-1200, hsa-miR-326, hsa-miR-30b*, hsa-miR-19a, hsa-miR-7a*, hsa-miR-708*, hsa-miR-99a, hsa-miR-199b-5p, hsa-miR-543, hsa-miR-7i*, hsa-miR-518c*, hsa-miR-642, hsa-miR-654-3p, hsa-miR-518d-5p, hsa-miR-1266, hsa-miR-154, hsa-miR-662, hsa-miR-523, hsa-miR-198, hsa-miR-920, hsa-miR-885-3p, hsa-miR-99a*, hsa-miR-337-3p, hsa-miR-363
肺癌	miR-497
肺癌	DR3, PRB および MS4A1
肺癌	PRB, MACC1
肺癌	SPB, SPC, TFF3, PGP9.5, CD9, MS4A1, NDUFB7, Cal3, iC3b, CD63, MUC1, TGM2, CD81, B7H3, DR3, MACC1, TrkB, TIMP1, GPCR (GPR110), MMP9, MMP7, TMEM211, TWEAK, CDADC1, UNC93, APC, A33, CD66e, TIMP1, CD24, ErbB2, CD10, BDNF, フェリチン, フェリチン, セブラーゼ, NGAL, EpCam, ErbB2, オステオポンチン (OPN), LDH, OPN, HSP70, OPN, OPN, OPN, OPN, MUC2, NCAM, CXCL12, ハプトグロビン (HAP), CRP, Gro- α
肺癌	SPB, SPC, NSE, PGP9.5, CD9, P2RX7, NDUFB7, NSE, Gal3, オステオポンチン, CHI3L1, EGFR, B7H3, iC3b, MUC1, メソテリン, SPA, TPA, PCSA, CD63, AQP5, DLL4, CD81, DR3, PSMA, GPCR 110 (GPR110), EPHA2, CEACAM, PTP, CABYR, TMEM211, ADAM28, UNC93a, A33, CD24, CD10, NGAL, EpCam, MUC17, TROP2, MUC2

10

20

肺癌	SPB, SPC, PSP9.5, NDUFB7, Gal3, iC3b, MUC1, GPCR 110, CABYR, MUC17	
肺癌	CD9, CD63, CD81, B7H3, PRO GRP, CYTO 18, FTH1, TGM2, CENPH, アネキシン I, アネキシン V, ERB2, EGFR, CRP, VEGF, CYTO 19, CCL2, オステオポンチン(OST19), オステオポンチン(OST22), BTUB, CD45, TIMP, NACCL, MMP9, BRCA1, P27, NSE, M2PK, HCG, MUC1, CEA, CEACAM, CYTO 7, EPCAM, MS4A1, MUC1, MUC2, PGP9, SPA, SPA, SPD, P53, GPCR (GPR110), SFTPC, UNCR2, NSE, INGA3, INTG b4, MMP1, PNT, RACK1, NAP2, HLA, BMP2, PTH1R, PAN ADH, NCAM, CD151, CKS1, FSHR, HIF, KRAS, LAMP2, SNAIL, TRIM29, TSPAN1, TWIST1, ASPH, AURKB	
肺癌	PRO GRP, MMP9, CENPH	
肺癌	miR-21, miR-205, miR-221(保護)、let-7a(保護)、miR-137(危険)、miR-372(危険)、もしくはmiR-112a(危険)、またはその任意の組み合わせ。パイオシグネチャーは、1種類もしくは複数種の上方制御もしくは過剰発現されたmiRNA、例えば、miR-17-92, miR-19a, miR-21, miR-92, miR-155, miR-191, miR-205、もしくはmiR-210; 1種類もしくは複数種の下方制御もしくは過小発現されたmiRNA、例えば、miR-let-7、またはその任意の組み合わせを含んでもよい。1種類または複数種のバイオマーカーは、miR-92a-2*, miR-147, miR-574-5pでもよい。	10
肺癌	EGFR, PTEN, RRM1, RRM2, ABCB1, ABCG2, LRP, VEGFR2, VEGFR3, クラス III b-チューブリン	
肺癌	EGFR, KRAS, B-Raf, UGT1A1	
肺癌	KRAS, hENT1	
肺癌	SPB, SPC, PSP9.5, NDUFB7, gal3-b2c10, iC3b, MUC1, GPCR, CABYR, muc17	
肺癌	ミッドカイン(MK または MDK)	
肺癌	RLF-MYCL1, TGF-ALK, CD74-ROS1	
NSCLC癌治療関連マーカー	BRAF, BRCA1, cMET, EGFR, EGFR w/T790M, EML4-ALK, ERCC1, Her2 エキソン 20インサート, KRAS, MSH2, PIK3CA, PTEN, ROS1 (トランス), RRM1, TLE3, TS, VEGFR2	20
肺癌	Pgrmc1 (プロゲステロン受容体膜コンポーネント1)/シグマ-2受容体, STEAP, EZH2 EZH2	
肺癌	プロヒビチン, CD23, アミリンペプチド, HRP, Rad51, Pax-5, Oct-3/, GLUT-1, PSCA, トロンボスポンジン, FHIT, a-B-クリスタリン, LewisA, 血管内皮成長因子(VEGF), 肝細胞因子ホモログ-4, Flt-4, GluR6/7, 前立腺アポトーシス応答タンパク質-4, GluR1, Fli-1, ウロコリン, S100A4, 14-3-3β, P504S, HDAC1, PGP9.5, DJ-1, COX2, MMP-19, アクチン, 骨格筋, クローディン 3, カドヘリン-P, コラーゲン IX, p27Kip1, Catヘプシン D, CD30 (リード-スターンバーク細胞マーカー), ユビキチン, FSH-b, TrxR2, CCK-8, サイクリン C, CD138, TGF-β2, 副腎皮質刺激ホルモン, PPAR-γ, Bcl-6, GLUT-3, IGF-I, mRANKL, Fas-リガンド, フィラミン, カルレチニン, Oct-1, 副甲状腺ホルモン, クローディン 5, クローディン 4, Raf-1 (リン酸化特異的), CDC14A ホスファターゼ, ミトコンドリア, APC, ガストリン 1, Ku (p80), Gai1, XPA, マルトース結合タンパク質, 黒色腫 (gp100), ホスホチロシン, アミロイド A, CXCR4 / フーシン, 肝性核因子-3B, カスパーゼ 1, HPV 16-E7, 軸索成長円錐, Lck, オルニチンデカルボキシラーゼ, γ グルタミルシステインシンセターゼ(GCS)/グルタミン酸-システインリガーゼ, ERCC1, カルモジュリン, カスパーゼ 7 (Mch 3), CD137 (4-1BB), 酸化窒素シンターゼ, 脳 (bNOS), E2F-2, IL-10R, L-プラスチン, CD18, ビメンチン, CD50/ICAM-3, スーパーオキシドジスムターゼ, アデノウイルスタイプ5 E1A, PHAS-I, プロゲステロン受容体(リン酸化特異的)-セリン 294, MHC II (HLA-DQ), XPG, ER Ca+2 ATPase2, ラミニン-s, E3結合タンパク質 (ARM1), CD45RO, CD1, Cdk2, MMP-10 (ストロメライシン-2), sm, サーフアクタントタンパクB (Pro), アポリポタンパクD, CD46, ケラチン8 (リン酸化特異的Ser73), PCNA, PLAP, CD20, Syk, LH, ケラチン19, ADP-リボシル化因子(ARF-6), Int-2 オンコプロテイン, ルシフェラーゼ, AIF (アポトーシス誘導因子), Grb2, bcl-X, CD16, パキシリン, MHC II (HLA-DPおよびDR), B細胞, p21WAF1, MHC II (HLA-DR), チロシナーゼ, E2F-1, Pds1, カルボニン, Notch, CD26/DPP IV, SV40ラージT抗原, Ku (p70/p80), パーフォリン, XPF, SIM Ag (SIMA-4D3), Cdk1/p34cdc2, ニューロン特異的エノラーゼ, b-2-ミクログロブリン, DNA ポリメラーゼβ, 甲状腺ホルモン受容体, ヒト, アルカリホスファターゼ(AP), 形質細胞マーカー, 熱ショックタンパク質 70/hsp70, TRP75 / gp75, SRF (血清応答因子), ラミニン B1/b1, 肥満細胞キマーズ, カルデスモン, CEA / CD66e, CD24, レチノイド X受容体(hRXR), CD45/T200/LCA, 狂犬病ウイルス, チトクローム c, DR3, bcl-XL, ファスシン, CD71 / トランスフェリン受容体	30 40

【 0 8 3 6 】

一局面において、本発明は、A33、ADAM28、APC、APC、AQP5、B7H3、BDNF、CABYR、CD10、CD24、CD3、CD63、CD66 CEA、CD66e、CD81、CD9、CDADC1、CEA、CEACAM、C-Erb、C-ERB

B2、CHI3L1、CRP、CXCL12、DLL4、DR3、EGFR、EpCam、EphA2、フェリチン、FRT、Gal3、GDF15、GPCR GPR110、GPR30、GRO-1、Gro- α 、ハプトグロビン(HAP)、HSP70、iC3b、LDH、MACC1、メソテリン、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC17、MUC2、NCAM、NDUFB7、N-gal、NSE、オステオポンチン(OPN)、P2RX7、P53、PCSA、PGP9.5、PRL、PSMA、PTP、SCRN1、セプラーゼ、SPA、SPB、SPC、SPR、TFF3、TGM2、TIMP-1、TMEM211、TPA、TrKB、TROP2、tsg 101、TWEAK、UNC93、およびUNC93aからなる群より選択される、対象に由来する試料中の1種または複数種の循環バイオマーカーのレベルを検出する工程を含む、肺癌を特徴決定する方法を提供する。癌の特徴決定は、癌の診断、予後判定、またはセラノーススを行う工程を含んでもよい。さらに、本発明は、A33、ADAM28、APC、APC、AQP5、B7H3、BDNF、CABYR、CD10、CD24、CD3、CD63、CD66 CEA、CD66e、CD81、CD9、CDADC1、CEA、CEACAM、C-Erb、C-ERBB2、CHI3L1、CRP、CXCL12、DLL4、DR3、EGFR、EpCam、EphA2、フェリチン、FRT、Gal3、GDF15、GPCR GPR110、GPR30、GRO-1、Gro- α 、ハプトグロビン(HAP)、HSP70、iC3b、LDH、MACC1、メソテリン、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC17、MUC2、NCAM、NDUFB7、N-gal、NSE、オステオポンチン(OPN)、P2RX7、P53、PCSA、PGP9.5、PRL、PSMA、PTP、SCRN1、セプラーゼ、SPA、SPB、SPC、SPR、TFF3、TGM2、TIMP-1、TMEM211、TPA、TrKB、TROP2、tsg 101、TWEAK、UNC93、およびUNC93aからなる群より選択される、対象に由来する試料中の1種または複数種の循環バイオマーカーのレベルを検出する工程を含む、治療剤に対する反応を予測する方法を提供する。治療剤は、癌、例えば、本明細書において開示された癌を治療するための治療剤でもよい。癌は肺癌でもよい。

10

【0837】

20

肺癌は、本明細書において開示された1つまたは複数のプロセスを用いて、少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、または70%の感度で特徴決定することができる。肺癌は、少なくとも71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、または87%の感度で特徴決定することができる。例えば、肺癌は、少なくとも87.1、87.2、87.3、87.4、87.5、87.6、87.7、87.8、87.9、88.0、または89%の感度、例えば、少なくとも90%の感度、例えば、少なくとも91、92、93、94、95、96、97、98、99、または100%の感度で特徴決定することができる。

【0838】

30

対象の肺癌はまた、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、または97%の特異度、例えば、少なくとも97.1、97.2、97.3、97.4、97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9、または100%の特異度でも特徴決定することができる。

【0839】

40

肺癌はまた、少なくとも70%の感度および少なくとも80、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも80%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも85%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも86%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも87%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも88%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも89%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも90%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも95%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;少なくとも99%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度;または少なくとも100%の感度および少なくとも80、85、90、95、99、もしくは100%の特異度でも特徴決定することができる。

【0840】

さらに、特異度、感度、および/または他の統計的な性能評価尺度を求めるための信頼度は、少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、

50

86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99%の信頼度でよい。

【0841】

臓器拒絶反応および自己免疫病態

また、臓器障害および／もしくは臓器拒絶反応等の表現型を決定するために、小胞を使用することもできる。本明細書に使用される臓器移植には、臓器または組織の移植が含まれる。臓器拒絶反応または成功を観察するために、小胞に存在する1つ以上のバイオマーカーの存在、不在、またはレベルを評価することができる。また、試料中の小胞のレベルまたは量は、臓器拒絶反応または成功を評価するために使用することもできる。少なくとも70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%の特異度、感度、または両方で、評価を決定することができる。例えば、少なくとも97.5、97.6、97.7、97.8、97.8、97.9、98.0、98.1、98.2、98.3、98.4、98.5、98.6、98.7、98.8、98.9、99.0、99.1、99.2、99.3、99.4、99.5、99.6、99.7、99.8、99.9%の感度、特異度、または両方で、評価を決定することができる。

【0842】

分析前に、小胞を精製または濃縮することができる。あるいは、事前に精製または濃縮することなく、試料から小胞のレベルまたは量を直接アッセイすることができる。小胞を定量化することができる。例えば、特定の臓器に固有の1つ以上の結合物質を用いて、細胞または組織に特異的な小胞を単離することができる。臓器障害もしくは臓器拒絶反応と関連する1つ以上のバイオマーカー等の、1つ以上の分子の特徴について、起始細胞に特異的な小胞を評価することができる。臓器拒絶反応または成功を観察するために、存在する1つ以上のバイオマーカーの存在、不在、またはレベルを評価することができる。

【0843】

対象による組織または臓器移植の拒絶の評価、検出、または診断について1つ以上の小胞を分析することができる。組織または臓器の移植拒絶反応は、超急性、急性、または慢性拒絶であり得る。また、対象における移植片対宿主病の評価、検出、または診断のために小胞を分析することもできる。該対象は、自原性、同種、または異種の組織もしくは臓器移植の受容者であり得る。

【0844】

また、組織または臓器移植の拒絶反応を検出するために、小胞を分析することもできる。組織または臓器移植によって、小胞を生成し得る。このような組織または臓器としては、心臓、肺、脾臓、腎臓、眼、角膜、筋肉、骨髄、皮膚、軟骨、骨、付属肢、毛髪、顔、腱、胃、腸、静脈、動脈、分化した細胞、部分的に分化した細胞もしくは幹細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【0845】

小胞は、対象による組織または臓器移植の拒絶反応の可能性もしくは発現を評価、診断、または決定するために使用される、少なくとも1つのバイオマーカーを含むことができる。また、対象において、移植片対宿主病を評価、診断、または検出するために、バイオマーカーを使用することもできる。該バイオマーカーは、タンパク質、多糖、脂肪酸、または核酸（DNAもしくはRNA等）であり得る。該バイオマーカーは、特定の組織または臓器の拒絶反応または全身臓器の不全と関連し得る。2つ以上のバイオマーカーを分析することができ、例えば、1つ以上の核酸マーカーと組み合わせて、1つ以上のタンパク質マーカーを分析することができる。該バイオマーカーは、細胞内または細胞外マーカーであり得る。

【0846】

また、対象による組織または臓器移植の拒絶反応と関連する細胞アポトーシスもしくは壊死、または該拒絶反応の因果関係の評価、検出、もしくは診断のために、少なくとも1つのマーカーについて小胞を分析することもできる。

【0847】

バイオマーカーの存在は、対象による組織または臓器の拒絶反応を示し得、該バイオマ

ーカーとしては、CD40、CD40リガンド、N-アセチルムラモイル-L-アラニンアミダーゼ前駆体、アディポネクチン、AMBPタンパク質前駆体、C4b結合タンパク質a鎖前駆体、セルロプラスミン前駆体、成分C3前駆体、補体成分C9前駆体、成分因子D前駆体、 α 1-B-糖タンパク質、 β 2糖タンパク質I前駆体、ヘパリン副因子II前駆体、免疫グロブリン μ 鎖C領域タンパク質、ロイシンに富む α 2糖タンパク質前駆体、色素上皮由来因子前駆体、血漿レチノール結合タンパク質前駆体、翻訳開始因子3サブユニット10、リボソームタンパク質L7、 β トランスデュシン、1-TRAF、またはリシル-tRNAシンテターゼが挙げられるが、これらに限定されない。

【0848】

また、 β トランスデュシンの存在について小胞を分析することによって、対象による腎臓の拒絶反応を検出することもできる。また、CD40発現細胞から起始細胞特異的小胞を単離し、Bcl-2もしくはTNF α の増加を検出することによって、移植した組織の拒絶反応を検出することもできる。

【0849】

F1抗原マーカーの存在について小胞を分析することによって、対象による肝臓移植の拒絶反応を検出することができる。F1抗原は、理論に拘束されるものではないが、肝臓に特異的であり、肝臓起始細胞に特異的な小胞の増加を検出するために使用することができる。この増加は、臓器障害／拒絶反応の初期兆候として使用することができる。

【0850】

骨髄および／もしくは肺移植、または他の原因による閉塞性細気管支炎、またはグラフトアテローム性動脈硬化症／グラフトアテローム性静脈硬化症を小胞の分析によって診断することもできる。

【0851】

また、対象において、自己免疫、または他の免疫学的反応に関連する表現型の検出、診断、または評価のために小胞を分析することもできる。このような疾患の例としては、全身性エリテマトーデス（SLE）、円板状ループス、ループス腎炎、サルコイドーシス、炎症性関節炎（若年性関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎を含む）、ライター症候群、強直性脊椎炎、および痛風性関節炎、多発性硬化症、高IgE症候群、結節性多発性動脈炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、クローン病、セリアック病（グルテン過敏性腸疾患）、自己免疫性肝炎、悪性貧血、自己免疫性溶血性貧血、乾癬、強皮症、重症筋無力症、自己免疫性血小板減少性紫斑病、自己免疫性甲状腺炎、グレーブス病、橋本甲状腺炎、免疫複合体病、慢性疲労免疫異常症候群（CFIDS）、多発性筋炎・皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、血栓溶解、心筋症、尋常性天疱瘡、間質性肺線維症、喘息、チャグ・ストラウス症候群（アレルギー性肉芽腫症）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性および刺激性接触皮膚炎、蕁麻疹、IgE媒介性アレルギー、アテローム性動脈硬化症、血管炎、特発性炎症性筋疾患、溶血性疾患、アルツハイマー病、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパシー、ならびにAIDが挙げられるが、これらに限定されない。

【0852】

小胞からの1つ以上のバイオマーカーを使用して、対象における自己免疫または他の免疫学的反応に関連する障害の発症を評価、診断、または決定することができる。このバイオマーカーは、タンパク質、多糖、脂肪酸、または核酸（DNAもしくはRNA等）であり得る。このバイオマーカーは、特異的な自己免疫疾患、全身自己免疫疾患、または他の免疫学的反応に関連する障害と関連し得る。2つ以上のバイオマーカーを分析することができる。例えば、1つ以上の核酸マーカーと組み合わせて、1つ以上のタンパク質マーカーを解析することができる。このバイオマーカーは、細胞内または細胞外マーカーであり得る。また、このバイオマーカーを使用して、炎症を検出、診断、または評価することもできる。

【0853】

対象からの小胞の解析を使用して、喘息、サルコイドーシス、肺気腫、嚢胞性線維症、特発性肺線維症、慢性気管支炎、アレルギー性鼻炎と関連する炎症、および過敏性肺炎、好酸球性肺炎等の肺のアレルギー性疾患、ならびにコラーゲン、血管から生じる肺線維症

10

20

30

40

50

、ならびに関節リウマチ等の自己免疫疾患に罹患している対象を特定することができる。

【0854】

セラノーシス

本明細書に開示されるように、小胞バイオマーカーおよび／または循環バイオマーカーを含む一つまたは複数のバイオマーカーを評価することによって対象に関する表現型を特徴決定する方法が開示される。バイオマーカーは、本明細書に開示される小胞バイオマーカーの多重化解析のための方法を使用して評価することができる。表現型の特徴決定は、対象に対するセラノーシスを提供すること、たとえば対象が、治療に応答すると予測されるか、治療に対して非応答性であると予測されるかを決定することを含むことができる。治療に応答する対象を応答者と呼ぶことができ、治療に応答しない対象を非応答者と呼ぶことができる。病態を患う対象は、非限定的に病態の一つまたは複数の徴候の改善、既存の治療の一つまたは複数の副作用の減少、以前の治療もしくは他の治療と比較した場合の一つまたは複数の徴候の改善もしくは改善率の増大、または治療しない場合または以前の治療もしくは他の治療と比較した場合の生存期間の延長に基づいて、治療に対する応答者とみなすことができる。たとえば、病態を患う対象は、非限定的に検出可能であるか検出不可能であるかを問わず一つまたは複数の徴候の軽減もしくは改善、疾患の程度の低下、疾患の状態の安定化（すなわち、悪化していない）、疾患の拡散の防止、疾患進行の遅延もしくは減速、疾患状態の改善もしくは緩和および緩解（部分的または全体的）を非限定的に含む有益なまたは所望の臨床結果に基づいて、治療に対する応答者とみなすことができる。治療はまた、治療を受けない場合または異なる治療を受けた場合に予測される生存期間と比較した場合の生存期間の延長を含む。

10

20

【0855】

本明細書に開示されるシステムおよび方法は、それを必要とする対象のために候補治療を選択するために使用することができる。治療法の選択は、小胞の一つまたは複数の特徴、たとえば小胞のバイオシグネチャー、小胞の量、または両方に基づくことができる。小胞の分類またはプロファイリング、たとえば小胞のバイオシグネチャー、小胞の量、または両方の同定を使用して、病態を患う個人の目的の一つまたは複数の候補治療剤を同定することができる。たとえば、小胞プロファイリングを使用して、対象が、ある特定の治療、たとえば対象が癌を患っている場合には癌治療に対して非応答者であるのか応答者であるのかを決定することができる。

30

【0856】

小胞プロファイリングを使用して対象に対する診断または予後判定を提供することができる。その診断または予後判定に基づいて治療法を選択することができる。または、治療法の選択は、対象の小胞プロファイルに直接基づくこともできる。さらには、対象の小胞プロファイルを使用して、疾患の進化を追跡する、薬の効果を評価する、疾患もしくは病態を患う対象のために既存の治療を適合させる、または疾患もしくは病態を患う対象に対する新たな治療を選択することができる。

【0857】

治療に対する対象の応答は、小胞、マイクロRNAおよび他の循環バイオマーカーを含むバイオマーカーを使用して評価することができる。一つの態様において、対象は、任意の治療の前に評価された対象の小胞プロファイルに基づいて非応答者または応答者として決定、分類または同定される。前処置中に、対象を非応答者または応答者として分類して、それにより、不要な治療選択肢を減らし、無効な治療から起こりうる副作用を回避することができる。さらには、対象を特定の治療に対する応答者として同定することができ、それにより、小胞プロファイリングを使用して、個別化した治療選択肢を提供することによって対象の生存期間を延ばす、対象の徴候もしくは病態を改善する、または両方を達成することができる。したがって、病態を患う対象は、本明細書に開示される一つまたは複数のシステムおよび方法を使用して小胞および他の循環バイオマーカーから生成されたバイオシグネチャーを有し得、そして、そのプロファイルを使用して、対象が、その病態に対する特定の治療に対し、非応答者または応答者である可能性があるかどうかを決定するこ

40

50

とができる。対象が、はじめに考慮された治療に対して非応答者であるのか応答者であるのかを予測するためのバイオシグネチャーの使用に基づき、対象の病態を治療するために考慮される特定の治療をその対象のために選択することもできるし、別の、潜在的により最適な治療を選択することもできる。

【0858】

一つの態様において、ある病態を患う対象が現在ある治療で治療されている。治療前および治療中の一つまたは複数の時点でその対象から試料を得ることができる。その試料由来の小胞または他のバイオマーカーを含むバイオシグネチャーを評価し、使用して、たとえばバイオシグネチャーの経時的变化に基づき、薬に対する対象の応答を決定することができる。対象が治療に応答していない、たとえばバイオシグネチャーが患者が応答していることを示さないならば、その対象を、治療に対して非応答性、すなわち非応答者として分類することができる。同様に、患者が治療に対して好ましく応答することができないことを示すような、病態の悪化と関連した一つまたは複数のバイオマーカーを検出することもできる。もう一つの例において、病態と関連した一つまたは複数のバイオマーカーは、治療にもかかわらず同じままであり、病態が改善していないことを示す。したがって、バイオシグネチャーに基づいて、異なる治療の選択を含め、対象に対する治療レジメンを変更または調節することができる。

【0859】

または、対象を、治療に応答していると決定することができ、その対象を、治療に対して応答性、すなわち応答者として分類することができる。たとえば、病態または障害の改善と関連した一つまたは複数のバイオマーカーを検出することができる。もう一つの例においては、病態と関連した一つまたは複数のバイオマーカーが変化し、それによって改善を示す。したがって、既存の治療を続けることができる。もう一つの態様においては、改善の兆しがある場合でさえ、バイオシグネチャーが別の治療法がより効果的でありうることを示すならば、既存の治療を調節または変更することもできる。既存の治療を別の治療と組み合わせることもできるし、現在の治療の量を増すこともできるし、異なる候補治療または治療を選択することもできる。異なる候補治療を選択するための基準は状況に依存し得る。一つの態様において、候補治療は、既存の治療で成功した対象にとって有効であることが知られているものであり得る。もう一つの態様において、候補治療は、類似したバイオシグネチャーを有する他の対象にとって有効であることが知られているものであり得る。

【0860】

いくつかの態様において、対象は、癌治療のような治療の第二、第三またはそれ以降の治療法を受けている。第二、第三またはそれ以降の治療法の前に本発明のバイオシグネチャーを決定して、対象がその第二、第三またはそれ以降の治療法に対する応答者であるのか非応答者であるのかを決定することができる。もう一つの態様においては、第二、第三またはそれ以降の治療法の最中に対象に関してバイオシグネチャーを決定して、対象がその第二、第三またはそれ以降の治療法に対して応答しているかどうかを判定する。

【0861】

一つまたは複数の小胞を評価するための、本明細書に記載される方法およびシステムは、病態を患う対象が治療に応答性であるかどうかを判定するために使用することができる。したがって、病態の一つまたは複数の徴候を改善する、既存の治療の一つまたは複数の副作用を減らす、以前の治療もしくは他の治療と比較した場合の一つまたは複数の徴候の改善または改善率を増す、または治療しない場合または以前の治療もしくは他の治療と比較した場合に生存期間を延ばす治療を選択するために使用することができる。したがって、本明細書に記載される方法は、個別化した治療選択肢を提供することによって対象の生存期間を延ばすために使用することもできるし、対象にとって不要な治療選択肢および不要な副作用を減らすこともできる。

【0862】

生存期間の延長は、ある疾患、たとえば癌を患う個人または個人群が、治療過程を開始

10

20

30

40

50

したのち、疾患進行をこうむらずにとどまる可能性を指す無増悪生存期間（PFS）の延長であることができる。これは、指定された期間ののち疾患が安定な状態にとどまる（たとえば進行の兆しを示さない）可能性が高い、群中の個人の割合を指すことができる。無増悪生存率は特定の治療の有効性の指標である。他の態様において、生存期間の延長は、癌を患う個人または個人群が、特定の治療を開始したのち、無疾患状態にとどまる可能性を指す無病生存期間（DFS）の延長である。これは、指定された期間ののち疾患を有しない可能性が高い、群中の個人の割合を指すことができる。無病生存率は特定の治療の有効性の指標である。類似した患者群において達成される無病生存期間に基づいて二つの治療戦略を比較することができる。無病生存期間は、癌生存率が記される場合に、しばしば「全生存率」という用語とともに使用される。

10

【0863】

小胞プロファイリングによって選択された治療法を使用する無増悪生存期間（PFS）（期間B）を、対象が増悪した最近の治療法に関するPFS（期間A）と比較することにより、本明細書に記載される小胞プロファイリングによって選択された候補治療を非小胞プロファイリングにより選択された治療と比較することができる。一つの状況においては、小胞プロファイリングにより選択された治療法が対象に利益を提供することを示すために、PFSB/PFSA比 ≥ 1.3 が使用される（たとえば、Robert Temple, Clinical measurement in drug evaluation. Edited by Wu Ningano and G. T. Thicker John Wiley and Sons Ltd. 1995、Von Hoff, D. D. Clin Can Res. 4:1079, 1999、Dhani et al. Clin Cancer Res. 15:118-123, 2009を参照すること）。

20

【0864】

小胞プロファイリングによって選択された治療を比較する他の方法は、4ヶ月で増悪または死亡しなかった対象の応答率（RECIST）および割合を決定することにより、非小胞プロファイリングにより選択された治療と比較するものであり得る。PFSの数値に関して使用される「約」という用語は、数値に対する $\pm 10\%$ の変動をいう。小胞プロファイリングによって選択された治療からのPFSは、非小胞プロファイリングにより選択された治療と比較して、少なくとも10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または少なくとも90%延長され得る。いくつかの態様において、小胞プロファイリングによって選択された治療からのPFSは、非小胞プロファイリングにより選択された治療と比較して、少なくとも100%、150%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%または少なくとも約1000%延長され得る。さらに他の態様において、PFS比（小胞プロファイリングにより選択された治療法または新規治療におけるPFS／従来の治療法または治療におけるPFS）は少なくとも約1.3である。さらに他の態様において、PFS比は少なくとも約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9または2.0である。さらに他の態様において、PFS比は少なくとも約3、4、5、6、7、8、9または10である。

30

【0865】

同様に、本発明にしたがってバイオシグネチャーを決定して、または決定せずに治療が選択される対象において、DFSを比較することもできる。小胞プロファイリングによって選択された治療からのDFSは、非小胞プロファイリングにより選択された治療と比較して、少なくとも10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または少なくとも90%延長され得る。いくつかの態様において、小胞プロファイリングによって選択された治療からのDFSは、非小胞プロファイリングにより選択された治療と比較して、少なくとも100%、150%、200%、300%、400%、500%、600%、700%、800%、900%または少なくとも約1000%延長され得る。さらに他の態様において、DFS比（小胞プロファイリングにより選択された治療法または新規治療におけるDFS／従来の治療法または治療におけるDFS）は少なくとも約1.3である。さらに他の態様において、DFS比は少なくとも約1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9または2.0である。さらに他の態様において、DFS比は少なくとも約3、4、5、6、7、8、9または10である。

40

【0866】

いくつかの態様において、循環バイオマーカーの評価によって選択された候補治療は対

50

象におけるPFS比またはDFS比を増大させない。それにもかかわらず、小胞プロファイリングは対象に利益を提供する。たとえば、いくつかの態様においては、公知の治療が対象にとって利用可能ではない。そのような場合、小胞プロファイリングは、現在何の治療も同定されていない場合に候補治療を同定する方法を提供する。小胞プロファイリングは、PFS、DFSまたは寿命を少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、1ヶ月間、5週間、6週間、7週間、8週間、2ヶ月間、9週間、10週間、11週間、12週間、3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、6ヶ月間、7ヶ月間、8ヶ月間、9ヶ月間、10ヶ月間、11ヶ月間、12ヶ月間、13ヶ月間、14ヶ月間、15ヶ月間、16ヶ月間、17ヶ月間、18ヶ月間、19ヶ月間、20ヶ月間、21ヶ月間、22ヶ月間、23ヶ月間、24ヶ月間または2年間、延ばすことができる。小胞プロファイリングは、PFS、DFSまたは寿命を少なくとも2.5年間、3年間、4年間、5年間またはより多く延ばすことができる。いくつかの態様において、本発明の方法は、対象が緩解状態になるよう、転帰を改善する。

10

【0867】

治療の有効性は、他の手段によってモニターすることができる。完全寛解（CR）は、疾患の完全な消失を含む。検査、走査または他の試験において疾患は認められない。部分寛解（PR）は、いくらかの疾患が体内に残存するが、病変のサイズまたは数が30%以上減少していることをいう。疾患の安定（SD）とは、病変のサイズおよび数が相対的に変化ないままであることをいう。一般に、サイズにおける50%未満の減少またはわずかな増大は疾患の安定と記される。疾患の進行（PD）とは、疾患が、治療を受けてもサイズまたは数において増大したことをいう。いくつかの態様において、本発明の小胞プロファイリングは完全寛解または部分寛解を生じさせる。いくつかの態様において、本発明の方法は疾患の安定を生じさせる。いくつかの態様において、本発明は、非小胞プロファイリングが疾患の進行を生じさせる場合でも、疾患の安定を達成することができる。

20

【0868】

1つの態様において、治療に対する対象の感受性を決定する方法は、対象からバイオマーカー（例えば、バイオマーカーの発現レベル、バイオマーカーの変異または他の修飾）を評価し、癌の治療に対する感受性を予測するモデルを測定値に適用することによって得られる。モデルは、線形和、最近傍法(nearest neighbor)、ニアレストセントロイド(nearest centroid)、線形判別分析、サポートベクタマシン、およびニューラルネットワークを含むが、それに限定されるわけではないアルゴリズムを用いて開発することができる。モデルを適用することによって、対象が治療に応答しているかどうかを判定することができる。このような方法の例には、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2008138578号に開示される方法が含まれ得るが、これに限定されない。

30

【0869】

1つの態様において、測定値は、本明細書において開示された1種または複数種の小胞バイオマーカーの発現レベルを測定することによって得られる。別の態様において、前記方法は第2の治療の存在下において行われる。別の態様において、モデルは、線形和、線形判別分析、サポートベクタマシン、ニューラルネットワーク、k-最近傍法、およびニアレストセントロイドの結果を組み合わせる。または、モデルは、複数の測定値のランダム試料を用いてクロス確認される。別の態様において、治療剤、例えば化合物は患者において以前に効力を示さなかった。別の態様では、線形和は、感受性が既知の参照集団の和と比較される。参照集団の和は、集団メンバーのバイオマーカー発現から得られた和の中央値である。別の態様では、モデルは、独立した成分分析によって得られたデータセットの成分から得られるか、または主成分分析によって得られたデータセットの成分から得られる。

40

【0870】

本発明のバイオシグネチャーに基づくセラノーシスは、本明細書に記載される表現型を非限定的に含む表現型に対するセラノーシスであることができる。表現型の特徴決定は、対象に対するセラノーシスを決定すること、たとえば、対象が、治療に応答する（「応答者」）または治療に対して非応答性である（「非応答者」）可能性があるかどうかを予測

50

することを含む。本明細書において使用される、対象を治療に対する「応答者」または治療に対する「非応答者」として同定することは、対象を、治療に応答する可能性があるまたは治療に応答しない可能性があるかのいずれかとして同定することを含み、対象の応答の決定的予測を決定することを要しない。対象から得られた一つまたは複数の小胞または小胞集団を使用して、本明細書に開示されるバイオマーカー、たとえば表10に記載されたものを評価することにより、対象が特定の治療に対して非応答者であるのか応答者であるのかを決定する。バイオマーカーの高い発現レベルもしくは低い発現レベルまたはバイオマーカーの突然変異の検出を使用して、病態を有する対象に対する候補治療、たとえば薬学的介入を選択することができる。表10は、例示的な病態およびそのような病態に対する薬学的介入を示す。表は、介入の効果に影響するバイオマーカーを記載する。バイオマーカーは、本発明の方法を使用して、たとえば循環バイオマーカーまたは小胞関連バイオマーカーとして評価することができる。

10

【0871】

（表10）病態に対するバイオマーカーおよび薬学的介入の例

病態	薬学的介入	バイオマーカー
末梢動脈疾患	アトルバスタチン、 シンバスタチン、 ロスバスタチン、 プラバスタチン、 フルバスタチン、 ロバスタチン	C反応性タンパク質 (CRP)、 血清アミロイドA (SAA)、 インターロイキン6、 細胞内接触分子 (ICAM)、 血管接着分子 (VCAM)、 CD40L、 フィブリノーゲン、 フィブリンDダイマー、 フィブリノペプチドA、 フォン・ヴィレブランド因子、 組織プラスミノーゲン アクチベータ抗原 (t-PA)、 第VII因子、 プロトロンビンフラグメント1、 酸化低密度リポタンパク質 (oxLDL)、 リポタンパク質A
非小細胞肺癌	エルロチニブ、 カルボプラチン、 パクリタキセル、 ゲフィチニブ	EGFR、 切除修復交差相補群1 (ERCC1)、 p53、 Ras、 p27、 クラスIII β チューブリン、 乳癌遺伝子1 (BRCA1)、 乳癌遺伝子1 (BRCA2)、 リボヌクレオチドレダクターゼ メッセンジャ1 (RRM1)
結腸直腸癌	パニツムマブ、 セツキシマブ	K-ras
乳癌	トラスツズマブ、 アントラサイクリン類、 タキサン、 メトトレキサート、 フルオロウラシル	HER2、 トポイソメラーゼII α 、 エストロゲン受容体、 プロゲステロン受容体
アルツハイマー病	ドネペジル、 ガラントミン、 メマンチン、 リバスチグミン、 タクリン	β アミロイドタンパク質、 アミロイド前駆体タンパク質 (APP) APP670/671 APP693 APP692 APP715 APP716 APP717 APP723 プレセニリン1、 プレセニリン2、 脳脊髄液アミロイド β タンパク質42 (CSF-A β 42)、 脳脊髄液アミロイド β タンパク質40 (CSF-A β 40)、 F2イソプロスタノール、 4-ヒドロキシノネナール、 F4ニューロプロスタノール、 アクロレイン

10

20

30

40

不整脈	ジソピラミド、 フレカイニド、 リドカイン、 メキシレチン、 モリシジン、 プロカインアミド、 プロパフェノン、 キニジン、 トカイニド、 アセプトロール、 アテノロール、 ベタキシロール、 ビソプロロール、 カルベジロール、 エスモロール、 メトプロロール、 ナドロール、 プロプラノロール、 ソタロール、 チモロール、 アミオダロン、 アジミリド、 ベプリジル、 ドフェチリド、 イブチリド、 テジサミル、 ジルチアゼム、 ベラパミル、 アジミリド、 ドロネダロン、 アミオダロン、 PM101、 ATI-2042、 テジサミル、 ニフェカラント、 アンバシリド、 エルセンチリド、 トレセチリド、 アルモカラント、 D-ソタロール、 BRL-32872、 HMR1556、 L768673、 ベルナカラント、 AZD70009、 AVE0118、 S9947、 NIP-141/142、 XEN-D0101/2、 ラノラジン、 ピルシカイニド、 JTV519、 ロチガブチド、 GAP-134	SERCA AAP コネキシン40 コネキシン43 ATP感受性カリウムチャネル、 Kv1.5チャネル、 アセチルコリン活性化カリウム チャネル

10

20

30

40

関節リウマチ	メトトレキサート、 インフリキシマブ、 アダリムマブ、 エタネルセプト、 スルファサラジン	677CC/1298AA MTHFR 677CT/1298AC MTHFR 677CT MTHFR G80AA RFC-1 3435TT MDR1 (ABCB1) 3435TT ABCB1 AMPD1/ATIC/ITPA IL1-RN3 HLA-DRB103 CRP HLA-D4 HLA DRB-1 抗シトルリンエピトープ含有 ペプチド、 抗A1/RA33、 赤血球沈降速度 (ESR)、 C反応性タンパク質 (CRP)、 SAA (血清アミロイド関連 タンパク質)、 リウマチ因子 IL-1 TNF IL-6 IL-8 IL-1Ra ヒアルロン酸 アグレカン Glc-Gal-PYD オステオプロテゲリン RNAKL 軟骨オリゴマー基質タンパク質 (COMP)、 カルプロテクチン
動脈細動	ワーファリン、 アスピリン、 抗凝固剤、 ヘパリン、 キシメラガトラン	F1.2 TAT FPA β トロンボグロブリン、 血小板因子4、 可溶性Pセレクトイン、 IL-6 CRP
HIV感染症	ジドブジン、 ジダノシン、 ザルシタビン、 スタブジン、 ラミブジン、 サキナビル、 リトナビル、 インジナビル、 ネビラン、 ネルフィナビル、 デラビルジン、 スタブジン、 エファビレンツ、 エトラビルン、 エンフビルチド、 ダルナビル、 アバカビル、 アンブレナビル、 ロナビル/リトナビル、 テノフォビル、 チプラナビル	HIV p24 抗原 TNF- α TNFR-II CD3 CD14 CD25 CD27 Fas FasL β 2ミクログロブリン ネオプテリン HIV RNA HLA-B *5701
心血管疾患	リシノプリル、 カンデサルタン、 エナラプリル	ACE阻害剤、 アンギオテンシン

10

20

30

40

癌

小胞バイオシグネチャーは、たとえば癌を患う対象が、特定の癌治療に対して応答者または非応答者である可能性があるかどうかを同定するような癌のセラノースに使用することができる。本方法は、本明細書、たとえば上記「表現型」部分に記載された癌を含む癌のセラノースに使用することができる。これらは、非限定的に、肺癌、非小細胞肺癌および小細胞肺癌（小細胞癌腫（燕麦細胞癌）、小細胞／大細胞混合癌腫および複合小細胞癌腫を含む）、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肝臓癌、膵臓癌、脳癌、腎臓癌、卵巣癌、胃癌、黒色腫、骨癌、胃癌、乳癌、神経膠腫、神経膠芽腫、肝細胞癌、乳頭状腎臓癌腫、頭頸部扁平上皮癌腫、白血病、リンパ腫、骨髄腫または他の固形癌を含む。

【0873】

癌: バイオシグネチャー

バイオシグネチャーを決定して対象に対するセラノースを提供することができる。小胞のバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に本明細書に記載された任意の一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に図1~60、または表3~10、12~14、22、26、45~50、52、54~57、60~64、66、67、69~70、74~85、89~92に記載されたもの、およびそれらの組み合わせを含むことができる。

【0874】

本発明は、癌を特徴決定するためのバイオマーカーを同定する数多くの方法を提供する。さらに、バイオシグネチャーを同定するために評価されるバイオマーカーが、本明細書において提供される。一つの態様において、前立腺癌のバイオシグネチャーは、以下のバイオマーカー: EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRの一つまたは複数を含む。別の態様において、前立腺癌を去勢抵抗性として分類するためのバイオマーカーはEpCam+、CK+、CD45-小胞を含む。別の態様において、小細胞肺癌のセラノースのための小胞バイオシグネチャーはmiR-451、miR-92a-2*、miR-147および／またはmiR-574-5pを含む。さらに別の態様において、結腸直腸癌のセラノースのためのバイオシグネチャーは、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200aおよびmiR-200bからなる群より選択される一つまたは複数のmiRを含む。癌のセラノースのためのバイオシグネチャーは、CA IX、CMET、VEGFR2、VEGF、ビメンチン、CD44v6、Ckit、Axl、RET（retプロトオンコジーン）、EカドヘリンおよびVEカドヘリンの一つまたは複数を含むことができる。

【0875】

癌: 標準治療

癌を病む対象からの試料中の、小胞と関連したマーカーを含む循環バイオマーカーのバイオシグネチャーを使用して、その対象のための候補治療を選択することができる。バイオシグネチャーは、本明細書に提示される本発明の方法にしたがって決定することができる。いくつかの態様において、候補治療は癌のための標準治療を含む。バイオシグネチャーを使用して、対象が特定の治療または標準治療に対して非応答者であるのか応答者であるのかを決定することができる。治療は、癌治療、たとえば放射線、手術、化学療法またはそれらの組み合わせであることができる。癌治療は、抗癌剤および化学療法レジメンのような治療であることができる。本発明の方法と共に使用するための癌治療は、非限定的に、表11に記載されたものを含む。

【0876】

（表11）癌治療

10

20

30

40

	治療または薬剤
癌療法	放射線、手術、化学療法、生物学的療法、ネオアジュバント療法、アジュバント療法、対症療法、経過観察
抗癌剤 (化学療法および生物製剤)	13-cis-レチノイン酸、2-CdA、2-クロロデオキシアデノシン、5-アザシチジン、5-フルオロウラシル、5-FU、6-メルカプトプリン、6-MP、6-TG、6-チオグアニン、アブラキサン、アキュテイン（登録商標）、アクチノマイシンD、アドリアマイシン（登録商標）、アドルシル（登録商標）、アフニートール（登録商標）、アグリリン（登録商標）、Ala-Cort（登録商標）、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリムタ、アリトレチノイン、アルカパンAQ（登録商標）、アルケラン（登録商標）、全トランス型レチノイン酸、αインターフェロン、アルトレタミン、アメトプテリン、アミフォスチン、アミノグルテチミド、アナグレライド、アナンドロン（登録商標）、アナストロゾール、アラビノシルシトシン、Ara-C、アラネスブ（登録商標）、アレディア（登録商標）、アリミデックス（登録商標）、アロマシン（登録商標）、アラノン（登録商標）、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、ATRA、アバスチン（登録商標）、アザシチジン、BCG、BCNU、ベンダムスチン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ベキサール（登録商標）、ビカルタミド、BiCNU、ブレノキサン（登録商標）、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、ブスルフェクス（登録商標）、C225、カルシウムロイコポリン、カンパス（登録商標）、カンプトサル（登録商標）、シカンプトデシン11、カペシタビン、Carac（商標）、カルボプラチン、カルムスチン、カルムスチンウエーハ、カゾデックス（登録商標）、CC-5013、CCI-779、CCNU、CDDP、CeeNU、セルビジン（登録商標）、セツキシマブ、クロラムブシル、シスプラチン、シトロバラム因子、クラドリビン、コルチゾン、コスメゲン（登録商標）、CPT-11、シクロホスファミド、シタドレン（登録商標）、シタラビン、シタラビンリボソーム、シトサルU（登録商標）、シトキサン（登録商標）、ダカルバジン、ダコゲン、ダクチノマイシン、ダルベポエチンα、ダサチニブ、ダウノマイシン、ダウノルビシン、塩酸ダウノルビシン、ダウノルビシンリボソーム、ダウノキソーム（登録商標）、デカドロン、デシタビン、デルタコルテフ（登録商標）、デルタゾン（登録商標）、デニロイキン、ディフティックス、DepoCyt（商標）、デキサメタゾン、酢酸デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、デキサゾン、デクスラゾキサン、DHAD、DIC、デオデックスドセタキセル、ドキシル（登録商標）、ドキシロピシン、ドキシロピシンリボソーム、ドロキシア（商標）、DTIC、DTIC-Dome（登録商標）、デュラロン（登録商標）、エフデックス（登録商標）、エリガード（商標）、エレンス（商標）、エロキサチン（商標）、エルスバル（登録商標）、Emcyt（登録商標）、エビルビン、エボエチンα、エルビタックス、エルロチニブ、Erwinia Lアスパラギナーゼ、エストラムスチン、エチオールエトボフォス（登録商標）、エトボシド、リン酸エトボシド、オイレキシン（登録商標）、エベロリムス、エビスタ（登録商標）、エキセメスタン、ファレストン（登録商標）、ファスロデックス（登録商標）、フェマーラ（登録商標）、フィルグラスチム、フロクスウリジン、フルダーラ（登録商標）、フルダラビン、フルオロプレックス（登録商標）、フルオロウラシル、フルオロウラシル（クリーム）、フルオキシメステロン、フルタミド、フォリン酸、FUDR（登録商標）、フルベストラント、G-CSF、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ジェムザール、グリーベック（商標）、グリアデル（登録商標）ウエーハ、GM-CSF、ゴセリン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、ハロテスチン（登録商標）、ヘルセプチン（登録商標）、ヘキサドロール、ヘキサレン（登録商標）、ヘキサメチルメラミン、HMM、ハイカムチン（登録商標）、ヒドレア（登録商標）、酢酸ヒドロコート（登録商標）、ヒドロコルチゾン、リン酸ヒドロコルチゾンナトリウム、コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム、リン酸ヒドロコルトン、ヒドロキシン尿素、イブリツモマブ、イブリツモマブ、チウキセタン、イダマイシン（登録商標）、イダルビシン、イフェックス（登録商標）、IFN-α、イフォスファミド、IL-11、IL-2、イマチニブメシレート、イミダゾールカルボキサミド、インターフェロンα、インターフェロンα2b（PEGコンジュゲート）、インターロイキン2、インターロイキン11、イントロンA（登録商標）（インターフェロンα2b）、イレッサ（登録商標）、イリノテカン、イソトレチノイン、イクサベピロン、イクセムブラ（商標）、キドローゼ（t）、ラナコルト（登録商標）、ラパチニブ、Lアスパラギナーゼ、LCR、レナリドマイド、レトロゾール、ロイコポリン、ロイケラン、ロイキン（商標）、ロイプロリド、ロイロクリスチン、ロイスタチン（商標）、リボソームAra-C Liquid Pred（登録商標）、ロムスチン、L-PAM、L-サルコリシン、ルブロン（登録商標）、ルブロンデボ（登録商標）、マツラン（登録商標）、マキシデックス、メクロレタミン、塩酸メクロレタミン、メドラロン（登録商標）、メドロール（登録商標）、メゲース（登録商標）、メゲストロール、酢酸メゲストロール、メルファラン、メルカプトプリン、メスナ、メスネックス（商標）、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メチルプレドニゾロン、メチルコルテン（登録商標）、マイトマイシン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、Mプレドニゾル（登録商標）、MTC、MTX、ムスタルゲン（登録商標）、ムスチン、ムタマイシン（登録商標）、ミレラン（登録商標）、ミロセル（商標）、ミロタルグ（登録商標）、ナベルピン（登録商標）、ネララビン、ネオサル（登録商標）、ニューラスタ（商標）、ニューメガ（登録商標）、ニューボジェン（登録商標）、ネキサバル（登録商標）、ニランドロン（登録商標）、ニルタミド、ニペント（登録商標）、ナイトロジェンマスタード、ノバルデックス（登録商標）、ノバントロン（登録商標）、オクトレオチド、酢酸オクトレオチド、オンコスパール（登録商標）、オンコピン（登録商標）、オンタック（登録商標）、オンキサール（商標）、オプレベルキン、オラブレド（登録商標）、オラゾン（登録商標）、オキサリプラチン、パクリタキセル、タンパク質結合パクリタキセル、パミドロネート、パニツムマブ、パンレチン（登録商標）、パラプラチン（登録商標）、ペディアブレド（登録商標）、PEGインターフェロン、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、PEG-INTRON（商標）、PEG-Lアスパラギナーゼ、ペメトレキセド、ペントスタチン、フェニルアラニンマスタード、プラチノール（登録商標）、プラチノールAQ（登録商標）、プレドニゾロン、プレドニゾン、プレロン（登録商標）、プロカルバジン、プロクリット（登録商標）、プロロイキン（登録商標）、カルムスチンインプラント付きプロリフェブロスパン20、プリネトール（登録商標）、ラロキシフェン、レプリミド（登録商標）、リウマトレックス（登録商標）、リツキサン（登録商標）、リツキシマブ、ロフェロンA（登録商標）（インターフェロンα2a）、ルベックス（登録商標）、

10

20

30

40

	塩酸ルビドマイシン、サンドスタチン（登録商標）、サンドスタチンLAR（登録商標）、サルグラモスチム、ソル・コーテフ（登録商標）、ソル・メドロール（登録商標）、ソラフェニブ、スプリセル（商標）、STI-571、ストレプトゾシン、SU11248、スニチニブ、スーテント（登録商標）、タモキシフェン、タルセバ（登録商標）、タルグレチン（登録商標）、タキソール（登録商標）、タキソテール（登録商標）、テモダール（登録商標）、テモゾロミド、テムシロリムス、テニボシド、TESPA、サリドマイド、サロミド（登録商標）、TheraCys（登録商標）、チオグアニン、チオグアニンタブロイド（登録商標）、チオホスホアミド、チオブレックス（登録商標）、チオテパ、TICE（登録商標）、トボサル（登録商標）、トボテカン、トレミフェン、トリセル（登録商標）、トシツモマブ、トラスツズマブ、トレアンダ（登録商標）、トレチノイン、トレキサル（商標）、トリセノックス（登録商標）、TSPA、タイケルブ（登録商標）、VCR、ベクチビックス（商標）、ベルバン（登録商標）、ベルケード（登録商標）、ベプシド（登録商標）、ベサノイド（登録商標）、ピアデュール（商標）、ビダザ（登録商標）、ビンブラスチン、硫酸ビンブラスチン、ピンカサルPfS（登録商標）、ピンクリスチン、ビノレルビン、酒石酸ビノレルビン、VLB、VM-26、ボリノスタット、VP-16、Vumon（登録商標）、キセロダ（登録商標）、ザノサル（登録商標）、ゼパリン（商標）、ジネカード（登録商標）、ゾラデックス（登録商標）、ゾレドロン酸、ゾリンザ、ゾメタ（登録商標）
併用療法	CHOP（シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチンおよびプレドニゾン）、CVP（シクロホスファミド、ピンクリスチンおよびプレドニゾン）、RCVP（リツキシマブ＋CVP）、RCHOP（リツキシマブ＋CHOP）、RICE（リツキシマブ＋イホスファミド、カルボプラチン、エトボシド）、RDHAP（リツキシマブ＋デキサメタゾン、シタラビン、シスプラチン）、RESHAP（リツキシマブ＋エトボシド、メチルプレドニゾン、シタラビン、シスプラチン）、ピンクリスチン、プレドニゾンおよびアントラシクリンを用い、アスパラギナーゼを用いる、または用いない併用治療、ダウノルビシン、ピンクリスチン、プレドニゾンおよびアスパラギナーゼを用いる併用治療、テニボシドおよびAra-C（シタラビン）を用いる併用治療、メトトレキサートおよびロイコボリンを用いる併用治療、プレオマイシン、ドキシソルピシン、エトボシド、メクロレタミン、プレドニゾン、ビンブラスチンおよびピンクリスチンを用いる併用治療、FOLFOX4レジメン（オキサリプラチン、ロイコボリンおよびフルオロウラシル [5-FU]）、FOLFIRIレジメン（塩酸イリノテカン、フルオロウラシルおよびロイコボリンカルシウム）、レバミゾールレジメン（5-FUおよびレバミゾール）、NCCTGレジメン（5-FUおよび低用量ロイコボリン）、NSABPレジメン（5-FUおよび高用量ロイコボリン）、XAD（XELOX（カペシタビン＋オキサリプラチン）＋ベバシズマブ＋ダサチニブ）、FOLFOX／ベバシズマブ／ヒドロキシクロキソン、ドイツAIOレジメン（葉酸、5-FUおよびイリノテカン）、Douillardレジメン（葉酸、5-FUおよびイリノテカン）、CAPOXレジメン（カペシタビン、オキサリプラチン）、FOLFOX6レジメン（オキサリプラチン、ロイコボリンおよび5-FU）、FOLFIRIレジメン（葉酸、5-FUおよびイリノテカン）、FUFOXレジメン（オキサリプラチン、ロイコボリンおよび5-FU）、FUOXレジメン（オキサリプラチンおよび5-FU）、IFLレジメン（イリノテカン、5-FUおよびロイコボリン）、XELOXレジメン（カペシタビン、オキサリプラチン）、KHAD-L（ケトコナゾール、ヒドロコルチゾン、デュタステリドおよびラパチニブ）
生物製剤	抗CD52抗体（たとえばアレムツズマブ）、抗CD20抗体（たとえばリツキシマブ）、抗CD40抗体（たとえばSGN40）
治療のクラス	アントラサイクリン類および関連物質、抗アンドロゲン、抗エストロゲン、抗成長ホルモン（たとえばソマトスタチンアナログ）、併用療法（たとえばピンクリスチン、bcnu、メルファラン、シクロホスファミド、プレドニゾン（VBMCP））、DNAメチルトランスフェラーゼ阻害剤、内分泌療法—酵素阻害剤、内分泌療法—他のホルモンアンタゴニストおよび関連薬剤、葉酸アナログ（たとえばメトトレキサート）、葉酸アナログ（たとえばペメトレキセド）、ゴナドトロピン放出ホルモンアナログ、ゴナドトロピン放出ホルモン、モノクローナル抗体（EGFR標的化、たとえばパニツマブ、セツキシマブ）、モノクローナル抗体（Her2標的化、たとえばトラスツズマブ）、モノクローナル抗体（多重標的化、たとえばアレムツズマブ）、他のアルキル化剤、抗新生物剤（たとえばアスパラギナーゼ、ATRA、ベキサロテン、セレコキシブ、ゲムシタビン、ヒドロキシル尿素、イリノテカン、トボテカン、ペントスタチン）、細胞毒性抗生物質、白金化合物、ボドフィロトキシン誘導体（たとえばエトボシド）、プロゲステゲン、プロテインキナーゼ阻害剤（EGFR標的化）、プロテインキナーゼ阻害剤（Her2標的化治療、たとえばラパチニブ）、ピリミジンアナログ（たとえばシタラビン）、ピリミジンアナログ（たとえばフルオロピリミジン類）、サリチル酸および誘導体（たとえばアスピリン）、Srcファミリータンパク質チロシンキナーゼ阻害剤（たとえばダサチニブ）、タキサン類（たとえばnabパクリタキセル）、ピンカアルカロイド類およびアナログ、ビタミンDおよびアナログ、モノクローナル抗体（多重標的化、たとえばベバシズマブ）、プロテインキナーゼ阻害剤（たとえばイマチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ）
前立腺癌治療	経過観察（すなわち、治療なしのモニタリング）、手術（たとえば骨盤内リンパ節切除術、根治的前立腺摘除術、経尿道的な前立腺切除術（TURP）、睾丸摘出術）、放射線療法（たとえば外照射放射線療法（EBRT）、陽子線放射、放射性同位元素（すなわちヨウ素I125、パラジウムおよびイリジウム）の埋め込み）、ホルモン療法（たとえば黄体形成ホルモン放出ホルモンアゴニスト、たとえばロイプロリド、ゴセレリン、プセレリンまたはオザレリクス；抗アンドロゲン、たとえばフルタミド、2-ヒドロキシフルタミド、ピカルタミド、酢酸メグエストロール、ニルタミド、ケトコナゾール、アミノグルテチミド；カルシトリオール、ゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）、エストロゲン（DES、クロロトリアニセン、エチニルエストラジオール、コンジュゲートエストロゲンUSPおよびDES二リン酸）、

10

20

30

40

	トリプトレリン、フィナステリド、酢酸シプロテロン、ASP3550)、凍結手術/凍結療法、化学療法および生物学的療法(デュタステリド、ゾレドロネート、アザシチジン、ドセタキセル、ブレドニゾロン、セレコキシブ、アトルバスタチン、AMT2003、大豆タンパク質、LHRHアゴニスト、PD-103、ザクロ抽出物、大豆抽出物、タキソテール、I-125、ゾレドロロン酸、ダサチニブ、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンD3、ビタミンE、ゲムシタピン、シスプラチン、レナリドミド、ブレドニゾン、デガレリクス、OGX-011、OGX-427、MDV3100、タスキニモド、カルバジタキセル、TOOKAD(登録商標)、ランレオチド、プロストバック、GM-CSF、レナリドミド、サマリウムSm-153レキシドロラム、N-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)受容体アンタゴニスト、ソラフェニブ、ソラフェニブトシレート、ミトキサントロン、ABI-008、ヒドロコルチゾン、パノビノスタット、大豆・トマト抽出物、KHAD-L、TOK-001、シクスツムマブ、テムシロリムス、イクサベピロン、TAK-700、TAK-448、TRC105、シクロホスファミド、レナリドミド、MLN8237、GDC-0449、アルファラジン(登録商標)、ARN-509、PX-866、ISIS EIF4E Rx、AEZS-108、131I-F16SIPモノクローナル抗体、抗OX40抗体、マスカダインプラス、ODM-201、BBI608、ZD4054、エルロチニブ、rIL-2、エビルビシン、リン酸エストラムスチン、HuJ591-GSモノクローナル(177Lu-J591)、アブラキサン、IVIG、発酵小麦胚芽滋養物(FWGE)、153Sm-EDTMP、エストラムスチン、ミトキサントロン、ビンブラスチン、カルボプラチン、パクリタキセル、パゾパニブ、シタラビン、テストステロン置換、ゾレドロロン酸、塩化ストロンチウムSr89、パリカルシトール、サトラブラチン、RAD001(エベロリムス)、バルプロ酸、茶抽出物、Hamsa-1、ヒドロキシシクロロキン、シプロイセルT、セレノメチオニン、セレン、リコピン、スニチニブ、パンデタニブ、IMC-A12抗体、モノクローナル抗体IMC-3G3、イクサベピロン、ジインドリルメタン、メトホルミン、エファビレンツ、ダサチニブ、ニルタミド、アピラテロン、カボザンチニブ(XL184)、イソフラビン類、塩酸シナカルセト、SB939、LY2523355、KX2-391、オラパリブ、ゲネステイン、ジゴキシシン、R04929097、イピリムマブ、パフェチニブ、マレイン酸セジラニブ、MK2206、硫酸フェネルジン、パモ酸トリプトレリン、サラカチニブ、STA-9090、テセタキセル、パシレオチド、アファチニブ、GTx758、ロナファルニブ、サトラブラチン、放射性標識抗体7E11、FP253/フルダラビン、コクサッキーA21(CVA21)ウイルス、ARRY-380、ARRY-382、抗PSMAデザインT細胞、ペメトレキセド二ナトリウム、ボルテゾミブ、MDX-1106、ホワイトボタンマッシュルーム抽出物、SU011248、MLN9708、BMTP-11、ABT-888、CX-4945、4SC-205、テモゾロミド、MGAH22、ビノレリピン二酒石酸塩、亜セレン酸ナトリウム、ポリノスタット、Ad-REIC/Dkk-3、ASG-5ME、IMF-001、プロヒビチン-TP01、DSTP3086S、リダホロリムス、MK-2206、MK-0752、多価不飽和脂肪酸、I-125、スタチン類、コレカルシフェロール、ω-3脂肪酸、ラロキシフェン、エトポシド、POMELLA(商標)抽出物、ルクリンデポ)、癌ワクチン(たとえばDNAワクチン、ペプチドワクチン、樹状細胞ワクチン、PEP223、PSA/TRICOM、プロストバック-V/TRICOM、プロストバック-F/TRICOM、PSAワクチン、TroVax(登録商標)、GI-6207、PSMAおよびTARPペプチドワクチン)、超音波、陽子線照射	10
結腸直腸癌治療	初回手術療法(たとえば局所切除術、原発巣の切除・吻合および周辺リンパ節の除去)、アジュバント療法(たとえばフルオロウラシル(5-FU)、カペシタビン、ロイコボリン、オキサリプラチン、エルロチニブ、イリノテカン、アスピリン、マイトマイシンC、スニチニブ、セツキシマブ、ペバシズマブ、ペグフィルグラスチム、パニツムマブ、ラムシルマブ、クルクミン、セレコキシブ、FOLFOX4レジメン、FOLFOX6レジメン、FOLFIRIレジメン、FUFOXレジメン、FUOXレジメン、IFLレジメン、XELOXレジメン、5-FUおよびレバミゾールレジメン、ドイツAIOレジメン、CAPOXレジメン、Douillardレジメン、XAD、RAD001(エベロリムス)、ARQ197、BMS-908662、JI-101、ヒドロキシシクロロキン(HCQ)、イットリウム小球、EZN-2208、CS-7017、IMC-1121B、IMC-18F1、ドセタキセル、ロナファルニブ、メイタンシノイドDM4コンジュゲートヒト化モノクローナル抗体huC242、パクリタキセル、ARRY-380、ARRY-382、IMO-2055、MDX1105-01、CX-4945、パゾパニブ、イクサベピロン、OSI-906、NPC-1Cキメラモノクローナル抗体、グリパニブ、ポリADPリボース(PARP)阻害剤、R04929097、抗癌ワクチン、CEAワクチン、シクロホスファミド、イットリウムY90 DOTA抗CEAモノクローナル抗体M5A、MEHD7945A、ABT-806、ABT-888、MEDI-565、LY2801653、AZD6244、PRI-724、BKM120、チボザニブ、フロクスウリジン、デキサメトゾン、NKTR-102、ペリホシン、レゴラフェニブ、EP0906、セレブレックス、PHY906、KRN330、イマチニブメシレート、アザシチジン、エンチノスタット、PX-866、ABX-EGF、BAY43-9006、ESO-1リンパ球およびアルデスロイキン、LBH589、オラパリブ、ホスタマチニブ、PD0332991、STA-9090、コレカルシフェロール、GI-4000、IL-12、AMG706、テムシロリムス、デュラネルミン、ボルテゾミブ、ウルソジオール、リダホロリムス、ペリパリブ、NK012、ダロツズマブ、MK-2206、MK-0752、レナリドミド、レオライシン(登録商標)、AUY922、PRI-724、BKM120、アバスタチン、ダサチニブ)、アジュバント放射線療法(特に直腸癌の場合)	30
		40

【0877】

表11に示すように、癌治療は様々な外科的および治療的処置を含む。抗癌剤は、小分子および生物製剤のような薬を含む。本発明の方法は、治療効能をモニターする、対象を治療に対する応答者または非応答者として分類する、または候補治療剤を選択するようなセラノーシス目的に後で使用する事ができる循環バイオマーカーを含むバイオシグネチャーを同定するために使用することができる。本発明は、表11~13における癌治療を含むセ

ラノーシスをはじめとする、任意の癌治療のためのセラノーシスを提供するために使用することができる。本発明の方法によって候補治療として同定することができる癌療法は、非限定的に、図11~13に記載された化学療法剤およびそれらの適切な組み合わせを含む。一つの態様において、治療は、特定のタイプの癌、たとえば表11における前立腺癌、結腸直腸癌、乳癌および肺癌に関して記載された治療に特異的である。他の態様において、治療は、腫瘍の起源にかかわらず、特定のバイオシグネチャー、たとえば表10、12~13に記載されたマーカーまたは表14に記載された治療関連マーカーを含むバイオシグネチャーを示す腫瘍に特異的である。

【0878】

本発明は、経時的に、たとえば治療の前後または治療後の期間にわたり対象における一連のバイオシグネチャーを同定する工程を含む、癌治療をモニターする方法を提供する。バイオシグネチャーを参照と比較して治療の効能を決定する。ある態様において、治療は、表11~13から選択されるもの、たとえば放射線、手術、化学療法、生物学的療法、ネオアジュバント療法、アジュバント療法または経過観察である。参照は、別の個人または個人の群からの参照であることもできるし、同じ対象からの参照であることもできる。たとえば、癌事前治療を示すバイオシグネチャーを有する対象は、治療成功後の健康な状態を示すバイオシグネチャーを有し得る。逆に、対象は、治療不成功ののち、癌を示すバイオシグネチャーを有し得る。バイオシグネチャーを経時的に比較して、その対象のバイオシグネチャーが病態の改善を示すのか、悪化を示すのか、変化なしを示すのかを決定することができる。経時的に癌が悪化している、または変化がないならば、さらなる治療が求められる場合がある。たとえば、より侵襲性の前立腺癌を治療するためには、手術または放射線療法に加えてホルモン療法が使用される場合がある。以下のmiR:hsa-miR-1974、hsa-miR-27b、hsa-miR-103、hsa-miR-146a、hsa-miR-22、hsa-miR-382、hsa-miR-23a、hsa-miR-376c、hsa-miR-335、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-221、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-151-3p、hsa-miR-21、hsa-miR-16の一つまたは複数を、前立腺癌治療の効能をモニターするためのバイオシグネチャーにおいて使用することができる。以下の刊行物:Albulescu et al., Tissular and soluble miRNAs for diagnostic and therapy improvement in digestive tract cancers, Exp Rev Mol Diag, 11:1, 101-120に記載された一つまたは複数のmiRを、GI管の癌の治療をモニターするためのバイオシグネチャーにおいて使用することができる。

【0879】

いくつかの態様において、本発明は、候補治療を選択するために、対象からの試料中のバイオシグネチャーを同定する方法を提供する。たとえば、バイオシグネチャーは、薬物関連の標的が突然変異または差次的に発現していることを示して、それにより、対象が特定の治療に応答するまたは応答しない可能性があるということを示し得る。候補治療は、表11~13において同定された抗癌剤または治療剤のクラスから選択することができる。いくつかの態様において、本方法にしたがって同定される候補治療は、少なくとも、5-フルオロウラシル、アバレリクス、アレムツズマブ、アミノグルテチミド、アナストロゾール、アスパラギナーゼ、アスピリン、ATRA、アザシチジン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ビカルタミド、カルシトリオール、カペシタビン、カルボプラチン、セレコキシブ、セツキシマブ、化学療法、コレカルシフェロール、シスプラチン、シタラビン、ダサチニブ、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エルロチニブ、エトポシド、エキセメスタン、フルタミド、フルベストラント、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、ゴナドレリン、ゴセレリン、ヒドロキシ尿素、イマチニブ、イリノテカン、ラパチニブ、レトロゾール、ロイプロリド、リボソームドキシソルビシン、メドロキシプロゲステロン、メゲストロール、酢酸メゲストロール、メトトレキサート、マイトマイシン、nabパクリタキセル、オクトレオチド、オキサリプラチン、パクリタキセル、パニツムマブ、ペガスパルガーゼ、ペメトレキセド、ペントスタチン、ソラフェニブ、スニチニブ、タモキシフェン、タキサン類、テモゾロミド、トレミフェン、トラスツズマブ、VBMCPおよびビンクリスチンからなる治療の群から選択される。

【0880】

候補治療を選択するのと同様に、本発明はまた、そもそも癌を治療すべきかどうかを判定する方法を提供する。たとえば、前立腺癌は、対象を実質的に害する可能性が低い非侵襲性の疾患であることがある。アンドロゲンアブレーション（ホルモン減少）との放射線療法が、局所的に進行した前立腺癌を治療する標準的方法である。ホルモン療法の病的状態は、インポテンス、ホットフラッシュおよび性欲損失を含む。加えて、前立腺切除術のような治療は、インポテンスまたは失禁のような病的状態を有することができる。したがって、本発明は、癌の侵襲性または進行（たとえば病期または悪性度）を示すバイオシグネチャーを提供する。非侵襲性の癌または限局性の癌は、速やかな治療を要さず、むしろ経過観察される場合もある（たとえば前立腺癌の「経過観察」）。それに対し、侵襲性または進行期の病巣はより侵襲性の治療レジメンを同時に要するであろう。

10

【0881】

検出することができるバイオマーカーおよび選択またはおそらくは回避することができる治療剤の例が表12～13に記載されている。たとえば、バイオシグネチャーは、前立腺癌を有する対象に関して同定され、バイオシグネチャーはアンドロゲン受容体（AR）のレベルを含む。小胞中のARの過剰発現または過剰産生、たとえば高レベルのmRNAレベルまたはタンパク質レベルがその対象に対する候補治療の同定を提供する。そのような治療は、対象を治療するための剤、たとえばビカルタミド、フルタミド、ロイプロリドまたはゴセレリンを含む。したがって、対象は、ビカルタミド、フルタミド、ロイプロリドまたはゴセレリンに対する応答者として同定される。もう一つの説明のための例において、NSCLCを患う対象からの小胞中にBCRP mRNA、タンパク質または両方が高レベルで検出される。そして、その対象は、剤シスプラチンおよびカルボプラチンに対する非応答者として分類することができるか、または、それらの剤は、対象におけるNSCLCを治療するための他の剤よりも効果がないと考えられ、対象の治療には選択されない。対象から得られる小胞中、以下のバイオマーカーのいずれかを評価することができ、バイオマーカーは、核酸、ポリペプチド、ペプチドまたはペプチド模倣物の一つまたは複数を非限定的に含む形態にあることができる。さらに別の説明のための例において、KRAS、BRAF、PIK3CAおよび／またはc-kitの一つまたは複数における突然変異を使用して候補治療を選択することができる。たとえば、患者におけるKRASまたはBRAFの突然変異は、対象の治療においてセツキシマブおよび／またはパニツムマブが比較的效果がない可能性が高いことを示唆することもできる。

20

30

【0882】

（表12）バイオマーカー、系統、および剤の例

バイオマーカー	系統	おそらく比較的效果が低い薬剤	考慮しうる薬剤
AR (高発現)	前立腺		ビカルタミド、フルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン
AR (高発現)	デフォルト		ビカルタミド、フルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン
BCRP (高発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	シスプラチン、カルボプラチン	
BCRP (低発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		シスプラチン、カルボプラチン
BCRP (高発現)	デフォルト	シスプラチン、カルボプラチン	
BCRP (低発現)	デフォルト		シスプラチン、カルボプラチン
BRAF V600E (突然変異陽性)	結腸直腸	セツキシマブ、パニツムマブ	

40

BRAF V600E (突然変異陰性)	結腸直腸		セツキシマブ、 パニツムマブ	10
BRAF V600E (突然変異陽性)	他すべて	セツキシマブ、 パニツムマブ		
BRAF V600E (突然変異陰性)	他すべて		セツキシマブ、 パニツムマブ	
BRAF V600E (突然変異陽性)	デフォルト	セツキシマブ、 パニツムマブ		
BRAF V600E (突然変異陰性)	デフォルト		セツキシマブ、 パニツムマブ	
CD52 (高発現)	白血病		アレムツズマブ	
CD52 (低発現)	白血病	アレムツズマブ		
CD52 (高発現)	デフォルト (血液悪性腫瘍のみ)		アレムツズマブ	
CD52 (低発現)	デフォルト (血液悪性腫瘍のみ)	アレムツズマブ		
c-kit	ブドウ膜黒色腫			
c-kit(高発現)	消化管間質腫瘍 (GIST) ; WT cKIT陽性ブドウ膜 黒色腫の状況において イマチニブは有用でない ため、cKITはブドウ膜 黒色腫に対しては実施 されない (Hoffmann et al. 2009を参照)。		イマチニブ	20
c-kit (高発現)	肝外胆管腫瘍 ; WT cKIT陽性ブドウ膜 黒色腫の状況において イマチニブは有用でない ため、cKITはブドウ膜 黒色腫に対しては実施 されない (Hoffmann et al. 2009を参照)。		イマチニブ	
c-kit (高発現)	急性骨髄性白血病 (AML)		イマチニブ	
c-kit (高発現)	デフォルト; WT cKIT陽性 ブドウ膜黒色腫の状況に おいてイマチニブは有用 でないため、cKITは ブドウ膜黒色腫に対しては 実施されない (Hoffmann et al. 2009を参照)。		イマチニブ	
EGFR (高コピー数)	頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC)		エルロチニブ、 ゲフィチニブ	
EGFR	頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC)	エルロチニブ、 ゲフィチニブ		
EGFR (高コピー数)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		エルロチニブ、 ゲフィチニブ	
EGFR (低コピー数)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	エルロチニブ、 ゲフィチニブ		
EGFR (高コピー数)	デフォルト		セツキシマブ、パニツムマブ、 エルロチニブ、ゲフィチニブ	
EGFR (低コピー数)	デフォルト	セツキシマブ、パニツムマブ、 エルロチニブ、ゲフィチニブ		
ER (高発現)	乳房	イクサベピロン	タモキシフェンベースの 治療、アロマターゼ阻害剤 (アナストラゾール、レトロゾール)	40

ER (低発現)	乳房		イクサベピロン
ER (高発現)	卵巣		タモキシフェンベースの 治療、アロマターゼ阻害剤 (アナストラゾール、レトロゾール)
ER (高発現)	デフォルト		タモキシフェンベースの 治療、アロマターゼ阻害剤 (アナストラゾール、レトロゾール)
ERCC1 (高発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	カルボプラチン、 シスプラチン	
ERCC1 (低発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		カルボプラチン、 シスプラチン
ERCC1 (高発現)	小細胞肺癌 (SCLC)	カルボプラチン、 シスプラチン	
ERCC1 (低発現)	小細胞肺癌 (SCLC)		カルボプラチン、 シスプラチン
ERCC1 (高発現)	胃	オキサリプラチン	
ERCC1 (低発現)	胃		オキサリプラチン
ERCC1 (高発現)	デフォルト	カルボプラチン、シスプラチン、 オキサリプラチン	
ERCC1 (低発現)	デフォルト		カルボプラチン、シスプラチン、 オキサリプラチン
HER-2 (高発現)	乳房		ラパチニブ、トラスツズマブ
HER-2 (高発現)	デフォルト		ラパチニブ、トラスツズマブ
KRAS (突然変異陽性)	結腸直腸癌	セツキシマブ、 パニツムマブ	
KRAS (突然変異陰性)	結腸直腸癌		セツキシマブ、 パニツムマブ
KRAS (突然変異陽性)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	エルロチニブ、 ゲフィチニブ	
KRAS (突然変異陰性)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		エルロチニブ、 ゲフィチニブ
KRAS (突然変異陽性)	細気管支肺癌 (BAC) または 腺癌 (BAC重型)	エルロチニブ	
KRAS (突然変異陰性)	細気管支肺癌腫 (BAC) または 腺癌 (BAC重型)		エルロチニブ
KRAS (突然変異陽性)	多発性骨髄腫	VBMCP/ シクロホスファミド	
KRAS (突然変異陰性)	多発性骨髄腫		VBMCP/ シクロホスファミド
KRAS (突然変異陽性)	デフォルト	セツキシマブ、 パニツムマブ	
KRAS (突然変異陰性)	デフォルト		セツキシマブ、 パニツムマブ
KRAS (突然変異陽性)	デフォルト	セツキシマブ、エルロチニブ、 パニツムマブ、ゲフィチニブ	
KRAS (突然変異陰性)	デフォルト		セツキシマブ、エルロチニブ、 パニツムマブ、ゲフィチニブ
MGMT (高発現)	下垂体腫瘍、 乏突起膠腫	テモゾロミド	
MGMT (低発現)	下垂体腫瘍、 乏突起膠腫		テモゾロミド

10

20

30

40

MGMT (高発現)	神経内分泌腫瘍	テモゾロミド	
MGMT (低発現)	神経内分泌腫瘍		テモゾロミド
MGMT (高発現)	デフォルト	テモゾロミド	
MGMT (低発現)	デフォルト		テモゾロミド
MRP1 (高発現)	乳房	シクロホスファミド	
MRP1 (低発現)	乳房		シクロホスファミド
MRP1 (高発現)	小細胞肺癌 (SCLC)	エトポシド	
MRP1 (低発現)	小細胞肺癌 (SCLC)		エトポシド
MRP1 (高発現)	結節性びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫	シクロホスファミド/ ビンクリスチン	
MRP1 (低発現)	結節性びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫		シクロホスファミド/ ビンクリスチン
MRP1 (高発現)	デフォルト	シクロホスファミド、 エトポシド、ビンクリスチン	
MRP1 (低発現)	デフォルト		シクロホスファミド、 エトポシド、ビンクリスチン
PDGFRA (高発現)	胸膜の悪性孤立性線維性腫瘍 (MSFT)		イマチニブ
PDGFRA (高発現)	消化管間質腫瘍 (GIST)		イマチニブ
PDGFRA (高発現)	デフォルト		イマチニブ
p糖タンパク質 (高発現)	急性骨髄性白血病 (AML)	エトポシド	
p糖タンパク質 (低発現)	急性骨髄性白血病 (AML)		エトポシド
p糖タンパク質 (高発現)	びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫 (DLBCL)	ドキソルビシン	
p糖タンパク質 (低発現)	びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫 (DLBCL)		ドキソルビシン
p糖タンパク質 (高発現)	肺	エトポシド	
p糖タンパク質 (低発現)	肺		エトポシド
p糖タンパク質 (高発現)	乳房	ドキソルビシン	
p糖タンパク質 (低発現)	乳房		ドキソルビシン
p糖タンパク質 (高発現)	卵巣	パクリタキセル	
p糖タンパク質 (低発現)	卵巣		パクリタキセル
p糖タンパク質 (高発現)	頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC)	ビンクリスチン	
p糖タンパク質 (低発現)	頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC)		ビンクリスチン
p糖タンパク質 (高発現)	デフォルト	ビンクリスチン、エトポシド、 ドキソルビシン、パクリタキセル	
p糖タンパク質 (低発現)	デフォルト		ビンクリスチン、エトポシド、 ドキソルビシン、パクリタキセル

10

20

30

40

PR (高発現)	乳房	化学内分泌療法	タモキシフェン、アナストラゾール、 レトロゾール
PR (低発現)	デフォルト	化学内分泌療法	タモキシフェン、アナストラゾール、 レトロゾール
PTEN (高発現)	乳房		トラスツズマブ
PTEN (低発現)	乳房	トラスツズマブ	
PTEN (高発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		ゲフィチニブ
PTEN (低発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	ゲフィチニブ	
PTEN (高発現)	結腸直腸		セツキシマブ、パニツムマブ
PTEN (低発現)	結腸直腸	セツキシマブ、パニツムマブ	
PTEN (高発現)	神経膠芽腫		エルロチニブ、ゲフィチニブ
PTEN (低発現)	神経膠芽腫	エルロチニブ、ゲフィチニブ	
PTEN (高発現)	デフォルト		セツキシマブ、パニツムマブ、 エルロチニブ、ゲフィチニブ およびトラスツズマブ
PTEN (低発現)	デフォルト	セツキシマブ、パニツムマブ、 エルロチニブ、ゲフィチニブ およびトラスツズマブ	
RRM1 (高発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	ゲムシタビン	
RRM1 (低発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		ゲムシタビン
RRM1 (高発現)	脾臓	ゲムシタビン	
RRM1 (低発現)	脾臓		ゲムシタビン
RRM1 (高発現)	デフォルト	ゲムシタビン	
RRM1 (低発現)	デフォルト		ゲムシタビン
SPARC (高発現)	乳房		nabパクリタクセル
SPARC (高発現)	デフォルト		nabパクリタクセル
TS (高発現)	結腸直腸	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	結腸直腸		フルオロピリミジン類
TS (高発現)	脾臓	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	脾臓		フルオロピリミジン類
TS (高発現)	頭頸部癌	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	頭頸部癌		フルオロピリミジン類
TS (高発現)	胃	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	胃		フルオロピリミジン類
TS (高発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	非小細胞肺癌 (NSCLC)		フルオロピリミジン類
TS (高発現)	肝臓	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	肝臓		フルオロピリミジン類
TS (高発現)	デフォルト	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	デフォルト		フルオロピリミジン類
TOP01 (高発現)	結腸直腸		イリノテカン

10

20

30

40

TOP01 (低発現)	結腸直腸	イリノテカン	
TOP01 (高発現)	卵巣		イリノテカン
TOP01 (低発現)	卵巣	イリノテカン	
TOP01 (高発現)	デフォルト		イリノテカン
TOP01 (低発現)	デフォルト	イリノテカン	
TopoIIa (高発現)	乳房		ドキソルビシン、リポソームドキソルビシン、エピルビシン
TopoIIa (低発現)	乳房	ドキソルビシン、リポソームドキソルビシン、エピルビシン	
TopoIIa (高発現)	デフォルト		ドキソルビシン、リポソームドキソルビシン、エピルビシン
TopoIIa (低発現)	デフォルト	ドキソルビシン、リポソームドキソルビシン、エピルビシン	

10

【0883】

検出することができるバイオマーカーおよびバイオマーカーシグネチャーに基づいて選択またはおそらくは回避することができる治療剤の他の例が表13に記載されている。たとえば、癌を患う対象の場合、対象からの小胞中のADAの過剰発現の検出を使用して、対象を、ペントスタチンに対する応答者として分類する、またはペントスタチンを、対象を治療するために使用すべき剤として同定する。もう一つの例においては、癌を患う対象の場合、対象からの小胞中のBCRPの過剰発現の検出を使用して、対象を、シスプラチン、カルボプラチン、イリノテカンおよびトポテカンに対する非応答者として分類する。すなわち、シスプラチン、カルボプラチン、イリノテカンおよびトポテカンは、対象を治療するのに最適とはいえない剤として同定される。

20

【0884】

(表13) バイオマーカー、剤、および耐性の例

遺伝子名	発現状態	候補薬剤	起こりうる耐性
ADA	過剰発現	ペントスタチン	
ADA	過小発現		シタラビン
AR	過剰発現	アバレリックス、ピカルタミド、フルタミド、ゴナドレリン、ゴセレリン、ロイプロリド	
ASNS	過小発現	アスパラギナーゼ、PEGアスパラギナーゼ	
BCRP (ABCG2)	過剰発現		シスプラチン、カルボプラチン、イリノテカン、トポテカン
BRCA1	過小発現	マイトマイシン	
BRCA2	過小発現	マイトマイシン	
CD52	過剰発現	アレムツズマブ	
CDA	過剰発現		シタラビン
c-erbB2	上皮細胞中の高レベルのリン酸化	トラスツズマブ、c-erbB2キナーゼ阻害剤、ラパチニブ	
CES2	過剰発現	イリノテカン	
c-kit	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
COX-2	過剰発現	セレコキシブ	
DCK	過剰発現	ゲムシタビン	シタラビン
DHFR	過小発現	メトトレキサート、ペメトレキセド	
DHFR	過剰発現		メトトレキサート
DNMT1	過剰発現	アザシチジン、デシタビン	
DNMT3A	過剰発現	アザシチジン、デシタビン	

30

40

DNMT3B	過剰発現	アザシチジン、デシタビン	
EGFR	過剰発現	エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ	
EML4-ALK	過剰発現 (存在)	クリゾチニブ	
EPHA2	過剰発現	ダサチニブ	
ER	過剰発現	アナストラゾール、エキセメスタン、フルベストラント、レトロゾール、メグストロール、タモキシフェン、メドロキシプロゲステロン、トレミフェン、アミノグルテチミド	
ERCC1	過剰発現		カルボプラチン、シスプラチン
GART	過小発現	ペメトレキセド	
GRN (PCDGF, PGRN)	過剰発現		抗エストロゲン療法、タモキシフェン、ファスロデックス、レトロゾール、Her-2過剰発現細胞中のハーセプチン、ドキシソルピシン
HER-2 (ERBB2)	過剰発現	トラスツズマブ、ラパチニブ	
HIF-1 α	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
I κ B- α	過剰発現	ボルテゾミブ	
MGMT	過小発現	テモゾロミド	
MGMT	過剰発現		テモゾロミド
MRP1 (ABCC1)	過剰発現		エトポシド、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビノレルビン、トポテカン、テニポシド
P-gp (ABCB1)	過剰発現		ドキシソルピシン、エトポシド、エピルビシン、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビノレルビン、トポテカン、テニポシド、リボソームドキシソルピシン
PDGFR- α	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
PDGFR- β	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、イマチニブ	
PR	過剰発現	エキセメスタン、フルベストラント、ゴナドレリン、ゴセレリン、メドロキシプロゲステロン、メグストロール、タモキシフェン、トレミフェン	
RARA	過剰発現	ATRA	
RRM1	過小発現	ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素	
RRM2	過小発現	ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素	
RRM2B	過小発現	ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素	
RXR- α	過剰発現	ベキサロテン	
RXR- β	過剰発現	ベキサロテン	
SPARC	過剰発現	nabパクリタキセル	
SRC	過剰発現	ダサチニブ	
SSTR2	過剰発現	オクトレオチド	
SSTR5	過剰発現	オクトレオチド	
TOPO I	過剰発現	イリノテカン、トポテカン	
TOPO II α	過剰発現	ドキシソルピシン、エピルビシン、リボソームドキシソルピシン	
TOPO II β	過剰発現	ドキシソルピシン、エピルビシン、リボソームドキシソルピシン	

10

20

30

40

TS	過小発現	カペシタビン、5-フルオロウラシル、ペメトレキセド	
TS	過剰発現		カペシタビン、5-フルオロウラシル
VDR	過剰発現	カルシトリオール、コレカルシフェロール	
VEGFR1 (Flt1)	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
VEGFR2	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	
VHL	過小発現	ソラフェニブ、スニチニブ	

【0885】

本発明の態様において使用されるさらなる薬物関連および規則は、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる2010年2月12日出願の米国特許出願12/658,770、2010年2月11日出願のPCT国際特許出願PCT/US2010/000407、2010年10月27日出願のPCT国際特許出願PCT/US2010/54366および2010年12月28日出願の米国特許仮出願61/427,788に見られる。たとえば、PCT/US2010/54366の「Table 4: Rules Summary for Treatment Selection」を参照すること。

【0886】

任意の治療関連標的が、セラノーシスを提供するバイオシグネチャーの一部であることができる。小分子または生物製剤のような治療剤によって修飾することができる標的を含む「薬となり得る標的」が、本発明のバイオシグネチャーに包含するための候補である。治療関連標的はまた、表12および13に示すような、治療に対する耐性を与えることができるバイオマーカーを含む。バイオシグネチャーは、遺伝子、たとえばDNA配列および／または遺伝子産物、たとえばmRNAもしくはタンパク質または治療関連標的に基づくことができる。そのような核酸および／またはポリペプチドを、存在もしくは不在、レベルもしくは量、活性、突然変異、配列、ハプロタイプ、再配列、コピー数または他の計測可能な特徴に関して適宜にプロファイリングすることができる。遺伝子または遺伝子産物は、たとえば小胞表面マーカーまたは小胞ペイロードとして小胞集団と関連していることができる。ある態様において、本発明は、癌のセラノーシスを実施する方法であって、一つまたは複数の治療関連標的の存在またはレベルを含むバイオシグネチャーを同定する工程、およびバイオシグネチャーに基づいて候補治療を選択する工程を含む方法を提供する。治療関連標的は、循環バイオマーカー、小胞または小胞関連バイオマーカーであることができる。治療関連の標的は組織または起始細胞から独立していることができるため、治療関連の標的を含むバイオシグネチャーを使用して、任意の増殖性疾患、たとえば、CUPSのような原因不明の癌を含む、様々な解剖学的起源からの癌のセラノーシスを提供することができる。

【0887】

本発明の方法を使用して評価される治療関連標的または治療関連の標的は、非限定的に、ABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、β III チューブリン、BIRC5、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベオリン、CD20、CD25、CD33、CD52、CDA、CDKN2A、CDKN1A、CDKN1B、CDK2、CDW52、CES2、CK14、CK17、CK5/6、c-KIT、c-Met、c-Myc、COX-2、サイクリンD1、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、Eカドヘリン、ECGF1、EGFR、EML4-ALK融合体、EPHA2、エピレグリン、ER、ERBR2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSHB、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、hENT-1、Her2/Neu、HGF、HIF1A、HIG1、HSP90、HSP90AA1、HSPCA、IGF-1R、IGFRBP、IGFRBP3、IGFRBP4、IGFRBP5、IL13RA1、IL2RA、KDR、Ki67、KIT、K-RAS、LCK、LTB、リンホトキシンβ受容体、LYN、MET、MGMT、MLH1、MMR、MRP1、MS4A1、MSH2、MSH5、Myc、NFKB1、NFKB2、NFKBIA、ODC1、OGFR、p16、p21、p27、p53、p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、スルビピン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、

10

20

30

40

50

TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、ZAP70またはそれらの任意の組み合わせを含む。これらのマーカーの一つまたは組み合わせを含むバイオシグネチャーを使用して、本発明にしたがって表現型を特徴決定する、たとえばセラノースを提供することができる。これらのマーカーは、増殖性疾患に対する様々な化学療法剤の効果において役割を有することが知られている。したがって、マーカーを評価して、癌の起源または型から独立して、癌に対する候補治療を選択することができる。ある態様において、本発明は、癌に対する候補治療を選択する方法であって、一つまたは複数の治療関連標的のレベルまたは存在を含むバイオシグネチャーを同定する工程、およびバイオシグネチャーを有する患者に関してその予測される効果に基づいて候補治療を選択する工程を含む方法を提供する。一つまたは複数の治療関連標的は、本明細書に記載された、例えば表12～14に記載された標的の一つであることができる。いくつかの態様においては、一つまたは複数の治療関連標的の少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、20、25、30、35、40、45または少なくとも50が評価される。一つまたは複数の治療関連標的は、たとえば小胞表面マーカーとして、または核酸（たとえばDNA、mRNA）もしくはタンパク質としての小胞ペイロードとして、小胞に関連していることができる。いくつかの態様において、一つまたは複数の治療関連標的と相互作用することが知られるマイクロRNAの存在またはレベルが評価され、一つまたは複数の治療関連標的を抑制することが知られるマイクロRNAの高いレベルが、一つまたは複数の治療関連標的のより低い発現、ひいては治療関連標的に対する治療に対する応答のより低い可能性を示すことができる。一つまたは複数の治療関連標的は循環バイオマーカーであることができる。一つまたは複数の治療関連標的は組織試料中で評価することができる。予測される効果は、一つまたは複数の治療関連標的の存在またはレベルを参照値と比較することによって決定することができ、参照よりも高いレベルは、対象が応答者である可能性があることを示す。予測される効果は、分類器アルゴリズムを使用して決定することができ、分類器は、候補治療に対する応答者または非応答者であることが知られる対象における一つまたは複数の治療関連標的のバイオシグネチャーを比較することによって訓練を受けたものである。一つまたは複数の治療関連標的と適切な候補標的との分子会合が、本明細書の表11～13ならびにいずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる2010年2月12日出願の米国特許出願12/658,770、2010年2月11日出願のPCT国際特許出願PCT/US2010/000407、2010年10月27日出願のPCT国際特許出願PCT/US2010/54366および2010年12月28日出願の米国特許仮出願61/427,788に示されている。

【0888】

表14は、本発明の方法にしたがって解析されるセラノース標的の多くの遺伝子および対応するタンパク質の記号ならびに名称の一覧を提供する。当業者によって理解されるように、遺伝子およびタンパク質は、化学文献において多数の代替名称を創製している。したがって、表14の一覧は、例示的であるが網羅的ではない編さんを構成する。遺伝子の別名および記述のさらなる一覧は、GeneCards（登録商標）（www.genecards.org）、HUGO Gene Nomenclature（www.genenames.org）、Entrez Gene（www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=gene）、UniProtKB/Swiss-Prot（www.uniprot.org）、UniProtKB/TrEMBL（www.uniprot.org）、OMIM（www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM）、GeneLoc（genecards.weizmann.ac.il/geneloc/）およびEnsembl（www.ensembl.org）を含む多様なオンラインデータベースを使用して見いだすことができる。一般に、以下の遺伝子記号および名称は、HUGOによって認可されたものに対応し、タンパク質名は、UniProtKB/Swiss-Protによって推奨されるものである。また、一般的な代替が提供されている。タンパク質名が前駆体を示す場合、その成熟タンパク質が同じく暗示される。本出願を通じて、遺伝子およびタンパク質記号は互換可能に使用されることがあり、意味は、必要に応じて文脈から導き出すことができる。

【0889】

（表14）癌セラノースのための遺伝子および関連タンパク質

遺伝子 記号	遺伝子名	タンパク質 記号	タンパク質名
ABCB1, PGP	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1	ABCB1, MDR1, PGP	Multidrug resistance protein 1; P- glycoprotein
ABCC1, MRP1	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 1	MRP1, ABCC1	Multidrug resistance-associated protein 1
ABCG2, BCRP	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 2	ABCG2	ATP-binding cassette sub-family G member 2
ACE2	angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 2	ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2 precursor
ADA	adenosine deaminase	ADA	Adenosine deaminase
ADH1C	alcohol dehydrogenase 1C (class I), gamma polypeptide	ADH1G	Alcohol dehydrogenase 1C
ADH4	alcohol dehydrogenase 4 (class II), pi polypeptide	ADH4	Alcohol dehydrogenase 4
AGT	angiotensinogen (serpin peptidase inhibitor, clade A, member 8)	ANGT, AGT	Angiotensinogen precursor
ALK	anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase	ALK	ALK tyrosine kinase receptor precursor
AR	androgen receptor	AR	Androgen receptor
AREG	amphiregulin	AREG	Amphiregulin precursor
ASNS	asparagine synthetase	ASNS	Asparagine synthetase [glutamine- hydrolyzing]
BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2	BCL2	Apoptosis regulator Bcl-2
BDCA1, CD1C	CD1c molecule	CD1C	T-cell surface glycoprotein CD1c precursor
BIRC5	baculoviral IAP repeat-containing 5	BIRC5, Survivin	Baculoviral IAP repeat-containing protein 5; Survivin
BRAF	v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1	B-RAF, BRAF	Serine/threonine-protein kinase B-raf
BRCA1	breast cancer 1, early onset	BRCA1	Breast cancer type 1 susceptibility protein
BRCA2	breast cancer 2, early onset	BRCA2	Breast cancer type 2 susceptibility protein
CA2	carbonic anhydrase II	CA2	Carbonic anhydrase 2
CAV1	caveolin 1, caveolae protein, 22kDa	CAV1	Caveolin-1
CCND1	cyclin D1	CCND1, Cyclin D1, BCL-1	G1/S-specific cyclin-D1
CD20,	membrane-spanning 4-domains,	CD20	B-lymphocyte antigen CD20

10

20

30

MS4A1	subfamily A, member 1			
CD25, IL2RA	interleukin 2 receptor, alpha	CD25	Interleukin-2 receptor subunit alpha precursor	
CD33	CD33 molecule	CD33	Myeloid cell surface antigen CD33 precursor	
CD52, CDW52	CD52 molecule	CD52	CAMPATH-1 antigen precursor	
CDA	cytidine deaminase	CDA	Cytidine deaminase	
CDH1, ECAD	cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)	E-Cad	Cadherin-1 precursor (E-cadherin)	
CDK2	cyclin-dependent kinase 2	CDK2	Cell division protein kinase 2	
CDKN1A, P21	cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	CDKN1A, p21	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1	10
CDKN1B	cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1)	CDKN1B, p27	Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B	
CDKN2A, P16	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (melanoma, p16, inhibits CDK4)	CD21A, p16	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, isoforms 1/2/3	
CES2	carboxylesterase 2 (intestine, liver)	CES2, EST2	Carboxylesterase 2 precursor	
CK 5/6	cytokeratin 5 / cytokeratin 6	CK 5/6	Keratin, type II cytoskeletal 5; Keratin, type II cytoskeletal 6	
CK14, KRT14	keratin 14	CK14	Keratin, type I cytoskeletal 14	
CK17, KRT17	keratin 17	CK17	Keratin, type I cytoskeletal 17	20
COX2, PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	COX-2, PTGS2	Prostaglandin G/H synthase 2 precursor	
DCK	deoxycytidine kinase	DCK	Deoxycytidine kinase	
DHFR	dihydrofolate reductase	DHFR	Dihydrofolate reductase	
DNMT1	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 1	DNMT1	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 1	
DNMT3A	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha	DNMT3A	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3A	
DNMT3B	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 beta	DNMT3B	DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3B	
ECGF1, TYMP	thymidine phosphorylase	TYMP, PD- ECGF, ECDF1	Thymidine phosphorylase precursor	30
EGFR, ERBB1, HER1	epidermal growth factor receptor (erythroblastic leukemia viral (v-erb-b) oncogene homolog, avian)	EGFR, ERBB1, HER1	Epidermal growth factor receptor precursor	
EML4	echinoderm microtubule associated protein like 4	EML4	Echinoderm microtubule-associated protein-like 4	
EPHA2	EPH receptor A2	EPHA2	Ephrin type-A receptor 2 precursor	
ER, ESR1	estrogen receptor 1	ER, ESR1	Estrogen receptor	
ERBB2, HER2/NEU	v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, neuro/glioblastoma derived oncogene homolog (avian)	ERBB2, HER2, HER- 2/neu	Receptor tyrosine-protein kinase erbB-2 precursor	40
ERCC1	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1 (重複するアンチセンス配列を含む)	ERCC1	DNA excision repair protein ERCC-1	
ERCC3	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 3 (xeroderma pigmentosum group B complementing)	ERCC3	TFIIH basal transcription factor complex helicase XPB subunit	

EREG	Epiregulin	EREG	Proepiregulin precursor	10
FLT1	fms-related tyrosine kinase 1 (vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor receptor)	FLT-1, VEGFR1	Vascular endothelial growth factor receptor 1 precursor	
FOLR1	folate receptor 1 (adult)	FOLR1	Folate receptor alpha precursor	
FOLR2	folate receptor 2 (fetal)	FOLR2	Folate receptor beta precursor	
FSHB	follicle stimulating hormone, beta polypeptide	FSHB	Follitropin subunit beta precursor	
FSHPRH1, CENP1	centromere protein I	FSHPRH1, CENP1	Centromere protein I	
FSHR	follicle stimulating hormone receptor	FSHR	Follicle-stimulating hormone receptor precursor	
FYN	FYN oncogene related to SRC, FGR, YES	FYN	Tyrosine-protein kinase Fyn	20
GART	phosphoribosylglycinamide formyltransferase, phosphoribosylglycinamide synthetase, phosphoribosylaminoimidazole synthetase	GART, PUR2	Trifunctional purine biosynthetic protein adenosine-3	
GNRH1	gonadotropin-releasing hormone 1 (luteinizing-releasing hormone)	GNRH1, GON1	Progonadoliberein-1 precursor	
GNRHR1, GNRHR	gonadotropin-releasing hormone receptor	GNRHR1	Gonadotropin-releasing hormone receptor	
GSTP1	glutathione S-transferase pi 1	GSTP1	Glutathione S-transferase P	
HCK	hemopoietic cell kinase	HCK	Tyrosine-protein kinase HCK	
HDAC1	histone deacetylase 1	HDAC1	Histone deacetylase 1	
HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	HGF	Hepatocyte growth factor precursor	30
HIF1A	hypoxia inducible factor 1, alpha subunit (basic helix-loop-helix transcription factor)	HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	
HIG1, HIGD1A, HIG1A	HIG1 hypoxia inducible domain family, member 1A	HIG1, HIGD1A, HIG1A	HIG1 domain family member 1A	
HSP90AA1, HSP90, HSPCA	heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1	HSP90, HSP90A	Heat shock protein HSP 90-alpha	
IGF1R	insulin-like growth factor 1 receptor	IGF-1R	Insulin-like growth factor 1 receptor precursor	
IGFBP3, IGFBP3	insulin-like growth factor binding protein 3	IGFBP-3, IBP-3	Insulin-like growth factor-binding protein 3 precursor	
IGFBP4, IGFBP4	insulin-like growth factor binding protein 4	IGFBP-4, IBP-4	Insulin-like growth factor-binding protein 4 precursor	
IGFBP5, IGFBP5	insulin-like growth factor binding protein 5	IGFBP-5, IBP-5	Insulin-like growth factor-binding protein 5 precursor	40
IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	IL-13RA1	Interleukin-13 receptor subunit alpha-1 precursor	
KDR	kinase insert domain receptor (a type III receptor tyrosine kinase)	KDR, VEGFR2	Vascular endothelial growth factor receptor 2 precursor	
KIT, c-KIT	v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog	KIT, c-KIT, CD117, SCFR	Mast/stem cell growth factor receptor precursor	
KRAS	v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog	K-RAS	GTPase KRas precursor	

LCK	lymphocyte-specific protein tyrosine kinase	LCK	Tyrosine-protein kinase Lck
LTB	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)	LTB, TNF3	Lymphotoxin-beta
LTBR	lymphotoxin beta receptor (TNFR superfamily, member 3)	LTBR, LTBR3, TNFR	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 3 precursor
LYN	v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog	LYN	Tyrosine-protein kinase Lyn
MET, c-MET	met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor)	MET, c-MET	Hepatocyte growth factor receptor precursor
MGMT	O-6-methylguanine-DNA methyltransferase	MGMT	Methylated-DNA--protein-cysteine methyltransferase
MKI67, KI67	antigen identified by monoclonal antibody Ki-67	Ki67, Ki-67	Antigen KI-67
MLH1	mutL homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 (E. coli)	MLH1	DNA mismatch repair protein Mlh1
MMR	mismatch repair (refers to MLH1, MSH2, MSH5)		
MSH2	mutS homolog 2, colon cancer, nonpolyposis type 1 (E. coli)	MSH2	DNA mismatch repair protein Msh2
MSH5	mutS homolog 5 (E. coli)	MSH5, hMSH5	MutS protein homolog 5
MYC, c-MYC	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)	MYC, c-MYC	Myc proto-oncogene protein
NBN, P95	nibrin	NBN, p95	Nibrin
NDGR1	N-myc downstream regulated 1	NDGR1	Protein NDGR1
NFKB1	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	NFKB1	Nuclear factor NF-kappa-B p105 subunit
NFKB2	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 2 (p49/p100)	NFKB2	Nuclear factor NF-kappa-B p100 subunit
NFKBIA	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha	NFKBIA	NF-kappa-B inhibitor alpha
NRAS	neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog	NRAS	GTPase NRas, Transforming protein N-Ras
ODC1	ornithine decarboxylase 1	ODC	Ornithine decarboxylase
OGFR	opioid growth factor receptor	OGFR	Opioid growth factor receptor
PARP1	poly (ADP-ribose) polymerase 1	PARP-1	Poly [ADP-ribose] polymerase 1
PDGFC	platelet derived growth factor C	PDGF-C, VEGF-E	Platelet-derived growth factor C precursor
PDGFR	platelet-derived growth factor receptor	PDGFR	Platelet-derived growth factor receptor
PDGFRA	platelet-derived growth factor receptor, alpha polypeptide	PDGFRA, PDGFR2, CD140 A	Alpha-type platelet-derived growth factor receptor precursor
PDGFRB	platelet-derived growth factor receptor, beta polypeptide	PDGFRB, PDGFR, PDGFR1, CD140 B	Beta-type platelet-derived growth factor receptor precursor
PGR	progesterone receptor	PR	Progesterone receptor
PIK3CA	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide	PI3K subunit p110α	Phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide
POLA1	polymerase (DNA directed), alpha 1, catalytic subunit; polymerase (DNA directed), alpha, polymerase (DNA directed), alpha 1	POLA, POLA1, p180	DNA polymerase alpha catalytic subunit

10

20

30

40

PPARG, PPARG1, PPARG2, PPAR- gamma, NR1C3	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PPARGC1A , LEM6, PGC1, PGC1A, PPARGC1	peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha	PGC-1- alpha, PPARGC-1- alpha	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha; PPAR-gamma coactivator 1-alpha
PSMD9, P27	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 9	p27	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 9
PTEN, MMAC1, TEP1	phosphatase and tensin homolog	PTEN	Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3- phosphatase and dual-specificity protein phosphatase; Mutated in multiple advanced cancers 1
PTPN12	protein tyrosine phosphatase, non- receptor type 12	PTPG1	Tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 12; Protein-tyrosine phosphatase G1
RAF1	v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	RAF, RAF-1, c-RAF	RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase
RARA	retinoic acid receptor, alpha	RAR, RAR- alpha, RARA	Retinoic acid receptor alpha
RRM1	ribonucleotide reductase M1	RRM1, RR1	Ribonucleoside-diphosphate reductase large subunit
RRM2	ribonucleotide reductase M2	RRM2, RR2M, RR2	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M2
RRM2B	ribonucleotide reductase M2 B (TP53 inducible)	RRM2B, P53R2	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M2 B
RXRB	retinoid X receptor, beta	RXRB	Retinoic acid receptor RXR-beta
RXRG	retinoid X receptor, gamma	RXRG, RXRC	Retinoic acid receptor RXR-gamma
SIK2	salt-inducible kinase 2	SIK2, Q9H0K1	Salt-inducible protein kinase 2; Serine/threonine-protein kinase SIK2
SLC29A1	solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 1	ENT-1	Equilibrative nucleoside transporter 1
SPARC	secreted protein, acidic, cysteine-rich (osteonectin)	SPARC	SPARC precursor; Osteonectin
SRC	v-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2) viral oncogene homolog (avian)	SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src
SSTR1	somatostatin receptor 1	SSTR1, SSR1, SS1R	Somatostatin receptor type 1
SSTR2	somatostatin receptor 2	SSTR2, SSR2, SS2R	Somatostatin receptor type 2
SSTR3	somatostatin receptor 3	SSTR3, SSR3, SS3R	Somatostatin receptor type 3
SSTR4	somatostatin receptor 4	SSTR4, SSR4, SS4R	Somatostatin receptor type 4
SSTR5	somatostatin receptor 5	SSTR5, SSR5, SS5R	Somatostatin receptor type 5
TK1	thymidine kinase 1, soluble	TK1, KITH	Thymidine kinase, cytosolic
TLE3	transducin-like enhancer of split 3 (E(sp1) homolog, Drosophila)	TLE3	Transducin-like enhancer protein 3

10

20

30

40

TNF	tumor necrosis factor (TNF superfamily, member 2)	TNF, TNF-alpha, TNF-a	Tumor necrosis factor precursor
TOP1, TOPO1	topoisomerase (DNA) I	TOP1, TOPO1	DNA topoisomerase 1
TOP2A, TOPO2A	topoisomerase (DNA) II alpha 170kDa	TOP2A, TOP2, TOPO2A	DNA topoisomerase 2-alpha; Topoisomerase II alpha
TOP2B, TOPO2B	topoisomerase (DNA) II beta 180kDa	TOP2B, TOPO2B	DNA topoisomerase 2-beta; Topoisomerase II beta
TP53	tumor protein p53	p53	Cellular tumor antigen p53
TUBB3	tubulin, beta 3	Beta III tubulin, TUBB3, TUBB4	Tubulin beta-3 chain
TXN	thioredoxin	TXN, TRX, TRX-1	Thioredoxin
TXNRD1	thioredoxin reductase 1	TXNRD1, TXNR	Thioredoxin reductase 1, cytoplasmic; Oxidoreductase
TYMS, TS	thymidylate synthetase	TYMS, TS	Thymidylate synthase
VDR	vitamin D (1,25- dihydroxyvitamin D3) receptor	VDR	Vitamin D3 receptor
VEGFA, VEGF	vascular endothelial growth factor A	VEGF-A, VEGF	Vascular endothelial growth factor A precursor
VEGFC	vascular endothelial growth factor C	VEGF-C	Vascular endothelial growth factor C precursor
VHL	von Hippel-Lindau tumor suppressor	VHL	Von Hippel-Lindau disease tumor suppressor
YES1	v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 1	YES1, Yes, p61-Yes	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Yes
ZAP70	zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa	ZAP-70	Tyrosine-protein kinase ZAP-70

10

20

【 0 8 9 0 】

癌において役割を有することが知られ、本発明のバイオシグネチャーに含まれることができる遺伝子および遺伝子産物は、非限定的に、以下を含む：

30

2AR, A DISINTEGRIN, ACTIVATOR OF THYROID

AND RETINOIC ACID RECEPTOR (ACTR), ADAM 11, ADIPOGENESIS INHIBITORY FACTOR (ADIF), ALPHA 6 INTEGRIN SUBUNIT, ALPHA V INTEGRIN SUBUNIT, ALPHA-CATENIN, AMPLIFIED IN BREAST CANCER 1 (AIB1), AMPLIFIED IN BREAST CANCER 3 (AIB3), AMPLIFIED IN BREAST CANCER 4 (AIB4), AMYLOID PRECURSOR PROTEIN SECRETASE (APPS), AP-2 GAMMA, APPS, ATP-BINDING CASSETTE TRANSPORTER (ABCT), PLACENTA-SPECIFIC (ABCP), ATP-BINDING CASSETTE SUBFAMILY C MEMBER (ABCC1), BAG-1, BASIGIN (BSG), BCEI, B-CELL DIFFERENTIATION FACTOR (BCDF), B-CELL LEUKEMIA 2 (BCL-2), B-CELL STIMULATORY FACTOR-2 (BSF-2), BCL-1, BCL-2-ASSOCIATED X PROTEIN (BAX), BCRP, BETA 1 INTEGRIN SUBUNIT, BETA 3 INTEGRIN SUBUNIT, BETA 5 INTEGRIN SUBUNIT, BETA-2 INTERFERON, BETA-CATENIN, BETA-CATENIN, BONE SIALOPROTEIN (BSP), BREAST CANCER ESTROGEN-INDUCIBLE SEQUENCE (BCEI), BREAST CANCER RESISTANCE PROTEIN (BCRP), BREAST CANCER TYPE 1 (BRCA1), BREAST CANCER TYPE 2 (BRCA2), BREAST CARCINOMA AMPLIFIED SEQUENCE 2 (BCAS2), CADHERIN, EPITHELIAL CADHERIN-11, CADHERIN-ASSOCIATED PROTEIN, CALCITONIN RECEPTOR (CTR), CALCIUM PLACENTAL PROTEIN (CAPL), CALCYCLIN, CALLA, CAM5, CAPL, CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN (CEA), CATENIN, ALPHA 1, CATHEPSIN B

40

CATHEPSIN D, CATHEPSIN K, CATHEPSIN L2, CATHEPSIN O, CATHEPSIN O1, CATHEPSIN V, CD10, CD146, CD147, CD24, CD29, CD44, CD51, CD54, CD61, CD66e, CD82, CD87, CD9, CEA, CELLULAR RETINOL-BINDING PROTEIN 1 (CRBP1), c-ERBB-2, CK7, CK8, CK18, CK19, CK20, CLAUDIN-7, c-MET, COLLAGENASE, FIBROBLAST, COLLAGENASE, INTERSTITIAL, COLLAGENASE-3, COMMON ACUTE LYMPHOCYTIC LEUKEMIA ANTIGEN (CALLA), CONNEXIN 26 (Cx26), CONNEXIN 43 (Cx43), CORTACTIN, COX-2, CTLA-8, CTR, CTSD, CYCLIN D1, CYCLOOXYGENASE-2, CYTOKERATIN 18, CYTOKERATIN 19, CYTOKERATIN 8, CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTE-ASSOCIATED SERINE ESTERASE 8 (CTLA-8), DIFFERENTIATION-INHIBITING ACTIVITY (DIA), DNA AMPLIFIED IN MAMMARY CARCINOMA 1 (DAM1), DNA TOPOISOMERASE II ALPHA, DR-NM23, E-CADHERIN, EMMPRIN, EMS1, ENDOTHELIAL CELL GROWTH FACTOR (ECGR), PLATELET-DERIVED (PD-ECGF), ENKEPHALINASE, EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR (EGFR), EPISIALIN, EPITHELIAL MEMBRANE ANTIGEN (EMA), ER-ALPHA, ERBB2, ERBB4, ER-BETA, ERF-1, ERYTHROID-POTENTIATING ACTIVITY (EPA), ESR1, ESTROGEN RECEPTOR-ALPHA, ESTROGEN RECEPTOR-BETA, ETS-1, EXTRACELLULAR MATRIX METALLOPROTEINASE INDUCER (EMMPRIN), FIBRONECTIN RECEPTOR, BETA POLYPEPTIDE (FNRB), FIBRONECTIN RECEPTOR BETA SUBUNIT (FNRB), FLK-1, GA15.3, GA733.2, GALECTIN-3, GAMMA-CATENIN, GAP JUNCTION PROTEIN (26 kDa), GAP JUNCTION PROTEIN (43 kDa), GAP JUNCTION PROTEIN ALPHA-1 (GJA1), GAP JUNCTION PROTEIN BETA-2 (GJB2), GCP1, GELATINASE A, GELATINASE B, GELATINASE (72 kDa), GELATINASE (92 kDa), GLIOSTATIN, GLUCOCORTICOID RECEPTOR INTERACTING PROTEIN 1 (GRIP1), GLUTATHIONE S-TRANSFERASE p, GM-CSF, GRANULOCYTE CHEMOTACTIC PROTEIN 1 (GCP1), GRANULOCYTE-MACROPHAGE-COLONY STIMULATING FACTOR, GROWTH FACTOR RECEPTOR BOUND-7 (GRB-7), GSTp, HAP, HEAT-SHOCK COGNATE PROTEIN 70 (HSC70), HEAT-STABLE ANTIGEN, HEPATOCYTE GROWTH FACTOR (HGF), HEPATOCYTE GROWTH FACTOR RECEPTOR (HGFR), HEPATOCYTE-STIMULATING FACTOR III (HSF III), HER-2, HER2/NEU, HERMES ANTIGEN, HET, HHM, HUMORAL HYPERCALCEMIA OF MALIGNANCY (HHM), ICERE-1, INT-1, INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE-1 (ICAM-1), INTERFERON-GAMMA-INDUCING FACTOR (IGIF), INTERLEUKIN-1 ALPHA (IL-1A), INTERLEUKIN-1 BETA (IL-1B), INTERLEUKIN-11 (IL-11), INTERLEUKIN-17 (IL-17), INTERLEUKIN-18 (IL-18), INTERLEUKIN-6 (IL-6), INTERLEUKIN-8 (IL-8), INVERSELY CORRELATED WITH ESTROGEN RECEPTOR EXPRESSION-1 (ICERE-1), KAI1, KDR, KERATIN 8, KERATIN 18, KERATIN 19, KISS-1, LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR (LIF), LIF, LOST IN INFLAMMATORY BREAST CANCER (LIBC), LOT ("LOST ON TRANSFORMATION"), LYMPHOCYTE HOMING RECEPTOR, MACROPHAGE-COLONY STIMULATING FACTOR, MAGE-3, MAMMAGLOBIN, MASPIN, MC56, M-CSF, MDC, MDNCF, MDR, MELANOMA CELL ADHESION MOLECULE (MCAM), MEMBRANE METALLOENDOPEPTIDASE (MME), MEMBRANE-ASSOCIATED NEUTRAL ENDOPEPTIDASE (NEP), CYSTEINE-RICH PROTEIN (MDC), METASTASIN (MTS-1), MLN64, MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP9, MMP11, MMP13, MMP14, MMP15, MMP16, MMP17, MOESIN, MONOCYTE ARGININE-SERPIN, MONOCYTE-DERIVED NEUTROPHIL CHEMOTACTIC FACTOR, MONOCYTE-DERIVED PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR, MTS-1, MUC-1, MUC18, MUCIN LIKE CANCER ASSOCIATED ANTIGEN (MCA), MUCIN, MUC-1, MULTIDRUG RESISTANCE

10

20

30

40

PROTEIN 1 (MDR, MDR1), MULTIDRUG RESISTANCE RELATED PROTEIN-1 (MRP, MRP-1), N-CADHERIN, NEP, NEU, NEUTRAL ENDOPEPTIDASE, NEUTROPHIL-ACTIVATING PEPTIDE 1 (NAP1), NM23-H1, NM23-H2, NME1, NME2, NUCLEAR RECEPTOR COACTIVATOR-1 (NCoA-1), NUCLEAR RECEPTOR COACTIVATOR-2 (NCoA-2), NUCLEAR RECEPTOR COACTIVATOR-3 (NCoA-3), NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE KINASE A (NDPKA), NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE KINASE B (NDPKB), ONCOSTATIN M (OSM), ORNITHINE DECARBOXYLASE (ODC), OSTEOCLAST DIFFERENTIATION FACTOR (ODF), OSTEOCLAST DIFFERENTIATION FACTOR RECEPTOR (ODFR), OSTEONECTIN (OSN, ON), OSTEOPOINTIN (OPN), OXYTOCIN RECEPTOR (OXTR), p27/kip1, p300/CBP COINTEGRATOR ASSOCIATE PROTEIN (p/CIP), p53, p9Ka, PAI-1, PAI-2, PARATHYROID ADENOMATOSIS 1 (PRAD1), PARATHYROID HORMONE-LIKE HORMONE (PTHrP), PARATHYROID HORMONE-RELATED PEPTIDE (PTHrP), P-CADHERIN, PD-ECGF, PDGF, PEANUT-REACTIVE URINARY MUCIN (PUM), P-GLYCOPROTEIN (P-GP), PGP-1, PHGS-2, PHS-2, PIP, PLAKOGLOBIN, PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR (TYPE 1), PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR (TYPE 2), PLASMINOGEN ACTIVATOR (TISSUE-TYPE), PLASMINOGEN ACTIVATOR (UROKINASE-TYPE), PLATELET GLYCOPROTEIN IIIa (GP3A), PLAU, PLEOMORPHIC ADENOMA GENE-LIKE 1 (PLAGL1), POLYMORPHIC EPITHELIAL MUCIN (PEM), PRAD1, PROGESTERONE RECEPTOR (Pgr), PROGESTERONE RESISTANCE, PROSTAGLANDIN ENDOPEROXIDE SYNTHASE-2, PROSTAGLANDIN G/H SYNTHASE-2, PROSTAGLANDIN H SYNTHASE-2, pS2, PS6K, PSORIASIN, PTHrP, RAD51, RAD52, RAD54, RAP46, RECEPTOR-ASSOCIATED COACTIVATOR 3 (RAC3), REPRESSOR OF ESTROGEN RECEPTOR ACTIVITY (REA), S100A4, S100A6, S100A7, S6K, SART-1, SCAFFOLD ATTACHMENT FACTOR B (SAF-B), SCATTER FACTOR (SF), SECRETED PHOSPHOPROTEIN-1 (SPP-1), SECRETED PROTEIN, ACIDIC AND RICH IN CYSTEINE (SPARC), STANNICALCIN, STEROID RECEPTOR COACTIVATOR-1 (SRC-1), STEROID RECEPTOR COACTIVATOR-2 (SRC-2), STEROID RECEPTOR COACTIVATOR-3 (SRC-3), STEROID RECEPTOR RNA ACTIVATOR (SRA), STROMELYSIN-1, STROMELYSIN-3, TENASCIN-C (TN-C), TESTES-SPECIFIC PROTEASE 50, THROMBOSPONDIN I, THROMBOSPONDIN II, THYMIDINE PHOSPHORYLASE (TP), THYROID HORMONE RECEPTOR ACTIVATOR MOLECULE 1 (TRAM-1), TIGHT JUNCTION PROTEIN 1 (TJP1), TIMP1, TIMP2, TIMP3, TIMP4, TISSUE FACTOR (TF), TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR, TN-C, TP53, tPA, TRANSCRIPTIONAL INTERMEDIARY FACTOR 2 (TIF2), TREFOIL FACTOR 1 (TFF1), TSG101, TSP-1, TSP1, TSP-2, TSP2, TSP50, TUMOR CELL COLLAGENASE STIMULATING FACTOR (TCSF), TUMOR-ASSOCIATED EPITHELIAL MUCIN, uPA, uPAR, UROKINASE, UROKINASE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR, UROKINASE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR RECEPTOR (uPAR), UVOMORULIN, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-2 (VEGFR2), VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A, VASCULAR PERMEABILITY FACTOR, VEGFR2, VERY LATE T-CELL ANTIGEN BETA (VLA-BETA), VIMENTIN, VITRONECTIN RECEPTOR ALPHA POLYPEPTIDE (VNRA), VITRONECTIN RECEPTOR, VON WILLEBRAND FACTOR, VPF, VWF, WNT-1, ZAC, ZO-1, および ZONULA OCCLUDENS-1

10

20

30

40

。遺伝子および／または遺伝子産物は、癌を検出するためまたは癌のセラノーシスを実施するためのバイオシグネチャーの一部であることができる。

【 0 8 9 1 】

例示として、非小細胞肺癌を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にEGFR、切除修復交差相補群1 (ERCC1)、p5

50

3、Ras、p27、クラスIII β チューブリン、乳癌遺伝子1 (BRCA1)、乳癌遺伝子1 (BRCA2) およびリボヌクレオチドレダクターゼメッセンジャー1 (RRM1) を対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にエルロチニブ、カルボプラチン、パクリタキセル、ゲフィチニブまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0892】

もう一つの態様においては、結腸直腸癌を患う対象に対する治療を選択することができる。バイオマーカー、たとえば非限定的にK-rasを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にパニツムマブ、セツキシマブまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0893】

もう一つの態様においては、乳癌を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にHER2、トポシオメラーゼII α 、エストロゲン受容体およびプロゲステロン受容体を対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にトラスツズマブ、アントラサイクリン類、タキサン、メトトレキサート、フルオロウラシルまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0894】

一態様において、バイオマーカーは、乳癌、肺癌、前立腺癌、および結腸癌に関連する受容体型チロシンキナーゼを含む、様々なヒト腫瘍の表面に発現している受容体型チロシンキナーゼであるEphA2を含む。EphA2は、新薬の開発につながるような標的であることが知られている。従って、対象が治療剤に反応する可能性が高いかどうか評価する方法は、対象に由来する試料中の小胞関連EphA2のレベルを評価する工程を含む。治療剤は、EphA2に結合する物質、例えば、EphA2を標的とする抗体またはその誘導体を含んでもよい。治療剤はペプチドを含んでもよい。治療剤はEphA2ワクチンを含んでもよい。治療剤は、EphA2のアゴニストまたはアンタゴニストとして作用してもよい。本方法に従って効力を評価することができるEphA2結合物質には、PCT特許出願公報WO/2003/094859、発明の名称「EPHA2 MONOCLONAL ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」；WO/2004/014292、発明の名称「EphA2 AGONISTIC MONOCLONAL ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」；WO/2004/091375、発明の名称「EPhA2 AND NON-NEOPLASTIC HYPERPROLIFERATIVE CELL DISORDERS」；WO/2004/091510、発明の名称「RECOMBINANT IL-9 ANTIBODIES AND USES THEREOF」；WO/2004/092343、発明の名称「EPhA2, HYPOPROLIFERATIVE CELL DISORDERS AND EPITHELIAL AND ENDOTHELIAL RECONSTITUTION」；WO/2005/012350、発明の名称「EPhA2 T-CELL EPITOPE AGONISTS AND USES THEREFOR」；WO/2005/016381、発明の名称「COMBINATION THERAPY FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF CANCER USING EPhA2, PCDGF, AND HAAH」；WO/2005/037233、発明の名称「LISTERIA-BASED EPhA2 VACCINES」；WO/2005/048917、発明の名称「USE OF EPhA4 AND MODULATOR OR EPhA4 FOR DIAGNOSIS, TREATMENT AND PREVENTION OF CANCER」；WO/2005/051307、発明の名称「EPhA2 AGONISTIC MONOCLONAL ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」；WO/2005/055948、発明の名称「EPhA2, EPhA4 AND LMW-PTP AND METHODS OF TREATMENT OF HYPERPROLIFERATIVE CELL DISORDERS」；WO/2005/056766、発明の名称「TARGETED DRUG DELIVERY USING EphA2 OR Eph4 BINDING MOIETIES」；WO/2005/067460、発明の名称「EPhA2 VACCINES」；WO/2006/023403、発明の名称「EPH RECEPTOR FC VARIANTS WITH ENHANCED ANTIBODY DEPENDENT CELL-MEDIATED CYTOTOXICITY ACTIVITY」；WO/2006/045110、発明の名称「HIGH CELL DENSITY PROCESS FOR GROWTH OF LISTERIA」；WO/2006/047637、発明の名称「USE OF MODULATORS OF EPhA2 AND EPHRINA1 FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF INFECTIONS」；WO/2006/047638、発明の名称「MODULATORS OF EPhA2 AND EPHRINA1 FOR THE TREATMENT OF FIBROSIS-RELATED DISEASE」；W

10

20

30

40

50

O/2006/047639, 発明の名称「MODULATION OF ANTIBODY SPECIFICITY BY TAILORING THE AFFINITY TO COGNATE ANTIGENS」; WO/2006/050166, 発明の名称「METHODS OF PREVENTING AND TREATING RSV INFECTIONS AND RELATED CONDITIONS」; WO/2007/030642, 発明の名称「TOXIN CONJUGATED EPH RECEPTOR ANTIBODIES」; WO/2007/073499, 発明の名称「EPHA2 BITE MOLECULES AND USES THEREOF」; WO/2007/075706, 発明の名称「AFFINITY OPTIMIZED EPHA2 AGONISTIC ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2007/103261, 発明の名称「LISTERIA-BASED EPHA2 IMMUNOGENIC COMPOSITIONS」; WO/2008/070042, 発明の名称「HIGH POTENCY RECOMBINANT ANTIBODIES, METHODS FOR PRODUCING THEM AND USE IN CANCER THERAPY」; WO/2008/157490, 発明の名称「SYNERGISTIC TREATMENT OF CELLS THAT EXPRESS EPHA2 AND ERBB2」; およびWO/2009/070642, 発明の名称「PROTEIN FORMULATION」に記載のEphA2結合物質が含まれる。これらの出願はそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。一部の態様において、治療剤は、抗EphA2抗体1C1または抗EphA2抗体1C1-薬物結合体[1C1-マレイミドカプロイル-MMAF(mcMMAF)]を含む。その全体が参照により本明細書に組み入れられる、Jackson et al., A Human Antibody-Drug Conjugate Targeting EphA2 Inhibits Tumor Growth In vivo, Cancer Res 2008 68:9367を参照されたい。一部の態様において、治療剤は、固形腫瘍に対する使用に向けられた抗EphA2抗体薬物結合体であるMEDI-547を含む。

【0895】

さらに他の新薬の開発につながるような標的、および対象の小胞を評価することによって効力を予測することができる関連する治療剤は、以下のPCT特許公報:WO/2010/041060, 発明の名称「TARGETED BINDING AGENTS DIRECTED TO HEPARANASE AND USES THEREOF」; WO/2010/032061, 発明の名称「ANTIBODIES AGAINST SONIC HEDGEHOG HOMOLOG AND USES THEREOF」; WO/2010/032060, 発明の名称「ANTIBODIES DIRECTED TO DLL4 AND USES THEREOF」; WO/2010/032059, 発明の名称「ANTIBODIES DIRECTED TO CD105 AND USES THEREOF」; WO/2009/097325, 発明の名称「STABILIZED ANGIOPOIETIN-2 ANTIBODIES AND USES THEREOF」; WO/2009/092011, 発明の名称「CYSTEINE ENGINEERED ANTIBODIES FOR SITE-SPECIFIC CONJUGATION」; WO/2009/090268, 発明の名称「PEPTIDE MIMETICS」; WO/2009/058379, 発明の名称「PROTEIN SCAFFOLDS」; WO/2009/018386, 発明の名称「MULTISPECIFIC EPITOPE BINDING PROTEINS AND USES THEREOF」; WO/2008/157490, 発明の名称「SYNERGISTIC TREATMENT OF CELLS THAT EXPRESS EPHA2 AND ERBB2」; WO/2008/137838, 発明の名称「INTERFERON ALPHA-INDUCED PHARMACODYNAMIC MARKERS」; WO/2008/137835, 発明の名称「AUTO-ANTIBODY MARKERS OF AUTOIMMUNE DISEASE」; WO/2008/121615, 発明の名称「ANTIBODY FORMULATION」; WO/2008/114011, 発明の名称「FC POLYPEPTIDE VARIANTS OBTAINED BY RIBOSOME DISPLAY METHODOLOGY」; WO/2008/070137, 発明の名称「INTERFERON ALPHA-INDUCED PHARMACODYNAMIC MARKERS」; WO/2008/065384, 発明の名称「ANTIBODIES SPECIFIC FOR THE COMPLEX OF INTERLEUKIN-6 AND THE INTERLEUKIN-6 RECEPTOR」; WO/2008/065378, 発明の名称「BINDING MEMBERS FOR INTERLEUKIN-6」; WO/2008/042941, 発明の名称「HUMANIZED ANTI-EPHB4 ANTIBODIES AND THEIR USE IN TREATMENT OF ONCOLOGY AND VASCULOGENESIS-RELATED DISEASE」; WO/2007/103261, 発明の名称「LISTERIA-BASED EPHA2 IMMUNOGENIC COMPOSITIONS」; WO/2007/092772, 発明の名称「PROTEIN FORMULATIONS」; WO/2007/084253, 発明の名称「HIGH AFFINITY ANTIBODIES AGAINST HMGB1 AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2007/075706, 発明の名称「AFFINITY OPTIMIZED EPHA2 AGONISTIC ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2007/073499, 発明の名称「EPHA2 BITE MOLECULES AND USES THEREOF」; WO/2007/059300, 発明の名称「ANTI-ALK ANTAGONIST AND AGONIST ANTIBODIES AND USES THEREOF」; WO/2007/030642, 発明の名称「TOXIN CONJUGATED EPH RECEPTOR ANTIBODIES」; WO/2006/047639, 発明の名称「MODULATION OF ANTIBODY SPECIFICITY BY TAILORING THE AFFINITY TO COGNATE ANTIGENS」; WO/2006/023420, 発明の名称「INTEGRIN ANTAGONISTS WITH ENHANCED ANTIBODY DEPENDENT CELL-MEDIATED CYTOTOXICITY ACTIVITY」; WO/2006/023403, 発明の名称「EPH RECEPTOR FC VARIANTS WITH ENHANCED ANTIBODY DEPENDENT CELL-MEDIATED CYTOTOXICITY ACTIVITY」; WO/2005

/117967, 発明の名称「ANTI-IL-9 ANTIBODY FORMULATIONS AND USES THEREOF」; WO/2005/067460, 発明の名称「EPhA2 VACCINES」; WO/2005/056766, 発明の名称「TARGETED DRUG DELIVERY USING EphA2 OR Eph4 BINDING MOIETIES」; WO/2005/055948, 発明の名称「EPHA2, EPHA4 AND LMW-PTP AND METHODS OF TREATMENT OF HYPERPROLIFERATIVE CELL DISORDERS」; WO/2005/051307, 発明の名称「EPHA2 AGONISTIC MONOCLONAL ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2005/048917, 発明の名称「USE OF EPHA4 AND MODULATOR OR EPHA4 FOR DIAGNOSIS, TREATMENT AND PREVENTION OF CANCER」; WO/2005/037233, 発明の名称「LISTERIA-BASED EPHA2 VACCINES」; WO/2005/016381, 発明の名称「COMBINATION THERAPY FOR THE TREATMENT AND PREVENTION OF CANCER USING EPHA2, PCDGF, AND HAHAH」; WO/2005/012350, 発明の名称「EPHA2 T-CELL EPITOPE AGONISTS AND USES THEREFOR」; WO/2005/009363, 発明の名称「TREATMENT OF PRE-CANCEROUS CONDITIONS AND PREVENTION OF CANCER USING PCDGF-BASED THERAPIES」; WO/2005/009217, 発明の名称「DIAGNOSIS OF PRE-CANCEROUS CONDITIONS USING PCDGF AGENTS」; WO/2005/000207, 発明の名称「PCDGF RECEPTOR ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2004/066957, 発明の名称「ANTI-INTEGRIN α v β 3 ANTIBODY FORMULATIONS AND USES」; WO/2004/022097, 発明の名称「METHODS OF PREVENTING OR TREATING CELL MALIGNANCIES BY ADMINISTERING CD2 ANTAGONISTS」; WO/2004/014292, 発明の名称「EphA2 AGONISTIC MONOCLONAL ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2003/094859, 発明の名称「EPHA2 MONOCLONAL ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF」; WO/2003/075957, 発明の名称「THE PREVENTION OR TREATMENT OF CANCER USING INTEGRIN ALPHAVBETA3 ANTAGONISTS IN COMBINATION WITH OTHER AGENTS」; WO/2003/075741, 発明の名称「METHODS OF PREVENTING OR TREATING DISORDERS BY ADMINISTERING AN INTEGRIN α v β 3 ANTAGONIST IN COMBINATION WITH AN HMG-CoA REDUCTASE INHIBITOR OR A BISPHOSPHONATE」; WO/2001/064751, 発明の名称「HIGH POTENCY RECOMBINANT ANTIBODIES AND METHOD FOR PRODUCING THEM」; WO/2001/064248, 発明の名称「METHODS OF ENHANCING ACTIVITY OF VACCINES AND VACCINE COMPOSITIONS」に記載のものを含む。これらの出願はそれぞれ、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0896】

別の態様において、バイオマーカーが対象に由来する小胞中に観察されなければ、またはバイオマーカーが、疾患のない正常対象の小胞中のバイオマーカーレベルと比較して過小発現していれば、治療剤は有効であると予測され得る。

【0897】

上記のように、癌のセラノーシスを実施するために使用されるバイオシグネチャーは、タンパク質またはmRNAもしくはマイクロRNAを含む核酸であることができる一つまたは複数のバイオマーカーの解析を含むことができる。バイオマーカーは、体液中に検出することもできるし、たとえば小胞抗原または小胞ペイロードとして小胞に関連した状態で検出することもできる。説明のための例においては、バイオシグネチャーを使用して、患者を、チロシンキナーゼ阻害剤に対する応答者または非応答者として同定する。バイオマーカーは、いずれも参照によりその全体が本明細書に組み入れられる「METHODS AND KITS TO PREDICT THERAPEUTIC OUTCOME OF TYROSINE KINASE INHIBITORS」と題する2010年4月19日出願の国際公開公報第2010/121238号または「SYSTEMS AND METHODS OF CANCER STAGING AND TREATMENT」と題する2009年2月19日出願の国際公開公報第2009/105223号に記載されたものの一つまたは複数であることができる。

【0898】

ある局面において、本発明は、対象が、チロシンキナーゼ阻害剤に応答するもしくは応答しない可能性があるのかどうかを判定する方法であって、対象由来の試料中の小胞集団中の一つまたは複数のバイオマーカーを同定する工程を含み、参照と比較した場合の試料中の一つまたは複数のバイオマーカーの差次的発現が、その対象がチロシンキナーゼ阻害剤に対して応答者または非応答者であることを示す方法を提供する。ある態様において、一つまたは複数のバイオマーカーはmiR-497を含み、miR-497の発現の低下はその対象が応

答者である（すなわち、チロシンキナーゼ阻害剤に感受性である）ことを示す。もう一つの態様において、一つまたは複数のバイオマーカーは、miR-21、miR-23a、miR-23bおよびmiR-29bの一つまたは複数を含み、マイクロRNAの上方制御が、その対象が非応答者である（すなわち、チロシンキナーゼ阻害剤に耐性である）可能性があることを示す。いくつかの態様において、一つまたは複数のバイオマーカーは、hsa-miR-029a、hsa-let-7d、hsa-miR-100、hsa-miR-1260、hsa-miR-025、hsa-let-7i、hsa-miR-146a、hsa-miR-594-Pre、hsa-miR-024、FGFR1、MET、RAB25、EGFR、KITおよびVEGFR2の一つまたは複数を含む。もう一つの態様において、一つまたは複数のバイオマーカーはFGF1、HOXC10またはLHFPを含み、バイオマーカーのより高い発現は、対象が非応答者である（すなわち、チロシンキナーゼ阻害剤に耐性である）ことを示す。この方法を使用して、チロシンキナーゼ阻害剤に対する癌、たとえば非小細胞肺癌細胞、腎臓癌またはGISTの感度を決定することができる。チロシンキナーゼ阻害剤は、エルロチニブ、バンデタニブ、スニチニブおよび／またはソラフェニブまたは類似した作用機序によって作用する他の阻害剤であることができる。チロシンキナーゼ阻害剤は、特異的または非特異的な様式で一つまたは複数のチロシンキナーゼの作用を阻害する任意の剤を含む。チロシンキナーゼ阻害剤は、小分子、抗体、ペプチドまたはチロシン残基リン酸化を直接的に、間接的に、アロステリックに、または他の方法で阻害する任意の適切な実体を含む。チロシンキナーゼ阻害剤の具体例は、N-(トリフルオロメチルフェニル)-5-メチルイソキサゾール-4-カルボキサミド、3-[(2,4-ジメチルピロロ-5-イル)メチリデニル]インドリン-2-オン、17-(アリルアミノ)-17-デメトキシゲルダナマイシン、4-(3-クロロ-4-フルオロフェニルアミノ)-7-メトキシ-6-[3-(4-ホルリニル)プロポキシル]キナゾリン、N-(3-エチニルフェニル)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)-4-キナゾリナミン、BIBX1382、2,3,9,10,11,12-ヘキサヒドロ-10-(ヒドロキシメチル)-10-ヒドロキシ-9-メチル-9,12-エポキシ-1H-ジインドロ[1,2,3-fg:3',2',1'-kl]ピロロ[3,4-i][1,6]ベンゾジアゾシン-1-オン、SH268、ゲニステイン、STI571、CEP2563、4-(3-クロロフェニルアミノ)-5,6-ジメチル-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジンメタンスルホネート、4-(3-ブromo-4-ヒドロキシフェニル)アミノ-6,7-ジメトキシキナゾリン、4-(4'-ヒドロキシフェニル)アミノ-6,7-ジメトキシキナゾリン、SU6668、STI571A、N-4-クロロフェニル-4-(4-ピリジルメチル)-1-フタラジンアミン、N-[2-(ジエチルアミノ)エチル]-5-[(Z)-(5-フルオロ-1,2-ジヒドロ-2-オキソ-3H-インドール-3-イリジン)メチル]-2,4-ジメチル-1H-ピロール-3-カルボキサミド（一般にスニチニブとして知られる）、A-[A-[[4-クロロ-3(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイルアミノ]フェノキシ]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミド（一般にソラフェニブとして知られる）、EMD121974およびN-(3-エチニルフェニル)-6,7-ビス(2-メトキシエトキシ)キナゾリン-4-アミン（一般にエルロチニブとして知られる）を含む。いくつかの態様において、チロシンキナーゼ阻害剤は、上皮成長因子受容体（EGFR）、VEGFR、PDGFR β および／またはFLT3に対して阻害活性を有する。

【0899】

したがって、本発明の方法によって同定されるバイオシグネチャーに基づき、癌を患う対象に対する治療を選択することができる。したがって、バイオシグネチャーは、マイクロRNAを含む循環バイオマーカー、小胞または任意の有用な小胞関連バイオマーカーの存在またはレベルを含むことができる。

【0900】

一部の態様において、小胞を用いて、対象が治療に対して応答者であるのか非応答者であるのかを予測するなど、治療に対する対象の感受性または耐性を決定することができる。例えば、1種または複数種のバイオマーカー、例えば、

10

20

30

40

ACTB, ACTN4, ADA, ADAM9, ADAMTS 1, ADD 1, AFIQ, AIF1, AKAP1,
 AKAP13, AKRIC1, AKT1, ALDH2, ALDOC, ALG5, ALMS1, ALOX1 5B, AMIG02, AMPD2, AMPD3,
 ANAPC5, ANP32A, ANP32B, ANXA1, AP1G2, APOBEC3B, APRT, ARHE, ARHGAP1 5, ARHGAP25,
 ARHGDIB, ARHGEF6, ARL7, ASAH1, ASPH, ATF3, ATIC, ATP2A2, ATP2A3, ATP5D, ATP5G2,
 ATP6V1B2, BC008967, BCAT1, BCHE, BCL1 IB, BDNF, BHLHB2, BIN2, BLMH, BM11, BNIP3, BRDT,
 BRRN1, BTN3A3, C11orf2, C14orf139, C15orf25, C18orf10, C1orf24, C1orf29, C1orf38, C1QR1, C22orf1 8,
 C6orf02, CACNA1G, CACNB3, CALM1, CALML4, CALU, CAP350, CASP2, CASP6, CASP7, CAST, CBLB,
 CCNA2, CCNB1IP1, CCND3, CCR7, CCR9, CD1A, CD1C, CD1D, CD1E, CD2, CD28, CD3D, CD3E, CD3G,
 CD3Z, CD44, CD47, CD59, CD6, CD63, CD8A, CD8B1, CD99, CDC10, CDC 14B, CDH1 1, CDH2, CDKL5,
 CDKN2A, CDW52, CECRI, CENPB, CENTB1, CENTG2, CEPI, CG018, CHRNA3, CHS1, CIAPIN1, CKAP4,
 CKIP-1, CNP, COL4A1, COL5A2, COL6A1, CORO1C, CRABP1, CRK, CRY1, CSDA, CTBP1, CTSC, CTSL,
 CUGBP2, CUTC, CXCL1, CXCR4, CXorf9, CYFIP2, CYLD, CYR61, DAB2IP, DATF1, DAZAP1, DBN1,
 DBT, DCTN1, DDX1 8, DDX5, DGKA, DIAPH1, DKC1, DKFZP434J154, DKFZP564C186, DKFZP564G2022,
 DKFZp564J157, DKFZP564K0822, DNAJC10, DNAJC7, DNAPTP6, DOCK10, DOCK2, DPAGT1, DPEP2,
 DPYSL3, DSIPI, DUSP1, DXS9879E, EEF 1 B2, EFN2, EHD2, EIF5A, ELK3, ENO2, EPAS1, EPB41L4B,
 ERCC2, ERG, ERP70, EVER1, EVI2A, EVL, EXT1, EZH2, F2R, FABP5, FAD1 04, FAM46A, FAU, FCGR2A,
 FCGR2C, FER1L3, FHL1, FHOD1, FKBPIA, FKBP9, FLJ10350, FLJ10539, FLJ 10774, FLJ 12270, FLJ
 13373, FLJ20859, FLJ21 159, FLJ22457, FLJ35036, FU46603, FLNC, FLOT1, FMNL1, FNBPI, FOLH1,
 FOXF2, FSCN1, FTL, FYB, FYN, G0S2, G6PD, GALIG, GALNT6, GATA2, GATA3, GFPT1, GIMAP5,
 GIT2, GJA1, GLRB, GLTSCR2, GLUL, GMDS, GNAQ, GNB2, GNB5, G0T2, GPR65, GPRASP1, GPSM3,
 GRP58, GSTM2, GTF3A, GTSE1, GZMA, GZMB, H1FO, H1FX, H2AFX, H3F3A, HA-1, HEXB, HIC,
 HIST1H4C, HK1, HLA-A, HLA-B, HLA-DRA, HMGAI, HMGN2, HMMR, HNRPA1, HNRPD, HNRPM,
 HOXA9, HRMTIL1, HSA9761, HSPA5, HSU79274, HTATSF1, ICAM1, ICAM2, IER3, IFI1 6, IFI44, IFITM2,
 IFITM3, IFRG28, IGFBP2, IGSF4, IL13RA2, IL21R, IL2RG, IL4R, IL6, IL6R, IL6ST, IL8, IMPDH2,
 INPP5D, INSIG1, IQGAP1, IQGAP2, IRS2, ITGA5, ITM2A, JARID2, JUNB, K-ALPHA-1, KHDRBS1,
 KIAA0355, KIAA0802, KIAA0877, KIAA0922, KIAA1078, KIAA1 128, KIAA1393, KIFC1, LAIR1, LAMB1,
 LAMB3, LAT, LBR, LCK, LCPI, LCP2, LEF1, LEPRE1, LGALS1, LGALS9, LHFPL2, LNK, LOC54103,
 LOC55831, LOC81558, LOC94105, LONP, LOX, LOXL2, LPHN2, LPXN, LRMP, LRP12, LRRC5, LRRN3,
 LST1, LTB, LUM, LY9, LY96, MAGEB2, MAL, MAPIB, MAP1LC3B, MAP4K1, MAPK1, MARCKS, MAZ,
 MCAM, MCL1, MCM5, MCM7, MDH2, MDN1, MEF2C, MFNG, MGC17330, MGC21654, MGC2744

10

20

30

MGC4083, MGC8721, MGC8902, MGLL, MLPH, MPHOSPH6, MPPI, MPZL1, MRP63, MRPS2, MTIE, MTIK, MUF1, MVP, MYB, MYL9, MYO1B, NAPIL1, NAPI L2, NARF, NASP, NCOR2, NDN, NDUFAB1, NDUFS6, NFKBIA, NID2, NIPA2, NME4, NME7, NNMT, NOL5A, NOL8, N0M02, NOTCH1, NPC1, NQO1, NR1 D2, NUDC, NUP210, NUP88, NVL, NXF1, OBFC1, OCRL, OGT, OXAIL, P2RX5, P4HA1, PACAP, PAF53, PAFAH1B3, PALM2- AKAP2, PAX6, PCBP2, PCCB, PFDN5, PFN1, PFN2, PGAM1, PHEMX, PHLDA1, PIM2, PITPNC1, PLAC8, PLAGL1, PLAUR, PLCB1, PLEK2, PLEKHC1, PL0D2, PLSCR1, PNAS-4, PNMA2, P0LR2F, PPAP2B, PRF1, PRG1, PRIM1, PRKCH, PRKCQ, PRKD2, PRNP, PRP19, PRPF8, PRSS23, PSCDBP, PSMB9, PSMC3, PSME2, PTGER4, PTGES2, PTOV1, PTP4A3, PTPN7, PTPNS1, PTRF, PURA, PWPI, PYGL, QKI, RAB3GAP, RAB7L1, RAB9P40, RAC2, RAFTLIN, RAG2, RAPIB, RASGRP2, RBPMS, RCN1, RFC3, RFC5, RGC32, RGS3, RHOH, RIMS3, RI0K3, RIPK2, RIS1, RNASE6, RNF 144, RPLIO, RPLIOA, RPL1 2, RPL1 3 A, RPL1 7, RPL18, RPL36A, RPLPO, RPLP2, RPS15, RPS19, RPS2, RPS4X, RPS4Y1, RRAS, RRAS2, RRBPI, RRM2, RUNX1, RUNX3, S100A4, SART3, SATB1, SCAP1, SCARB1, SCN3A, SEC31L2, SEC61G, SELL, SELPLG, SEMA4G, SEPTIO, SEPT6, SERPINA1, SERPINB1, SERPINB6, SFRS5, SFRS6, SFRS7, SH2D1A, SH3GL3, SH3TC1, SHD1, SHMT2, SIAT1, SKB1, SKP2, SLA, SLC1A4, SLC20A1, SLC25A15, SLC25A5, SLC39A14, SLC39A6, SLC43A3, SLC4A2, SLC7A1 1, SLC7A6, SMAD3, SMOX, SNRPA, SNRPB, SOD2, SOX4, SP140, SPANXC, SPII, SRF, SRM, SSA2, SSBP2, SSRPI, SSSCA1, STAG3, STAT1, STAT4, STAT5A, STC1, STC2, STOML2, T3JAM, TACCI, TACC3, TAF5, TALI, TAPI, TARP, TBCA, TCF 12, TCF4, TFD2P2, TFPI, TIMM 17 A, TIMP1, TJPI, TK2, TM4SF1, TM4SF2, TM4SF8, TM6SF1, TMEM2, TMEM22, TMSBIO, TMSNB, TNFAIP3, TNFAIP8, TNFRSF10B, TNFRSF1A, TNFRSF7, TNK1, TNPO1, TOB1, TOMM20, TOX, TPK1, TPM2, TRA@, TRA1, TRAM2, TRB@, TRD@, TRIM, TRIM 14, TRIM22, TRIM28, TRIP1 3, TRPV2, TUBGCP3, TUSC3, TXN, TXNDC5, UBASH3A, UBE2A, UBE2L6, UBE2S, UCHL1, UCK2, UCP2, UFDIL, UGDH, ULK2, UMPS, UNG, USP34, USP4, VASP, VAV1, VLDLR, VWF, WASPI, WBSR20A, WBSR20C, WHSC1, WNT5A, ZAP70, ZFP36L1, ZNF32, ZNF335, ZNF593, ZNFN1A1, ZYX

10

20

30

またはこれらの組み合わせを用いて、対象が放射線療法または1種もしくは複数種の化学療法剤に対して応答者であるのか非応答者であるのか、または対象が放射線療法または1つもしくは複数の化学療法剤に対する感受性または耐性を有するのかどうかを決定することができる。

【 0 9 0 1 】

別の態様において、対象からの膜小胞の中の1種または複数種のmiRNA、例えば、

ath-MIR180aNo2, Hcd1O2 left, Hcd1

1 left, Hcd1 15 left, Hcd120 left, Hcd1 42 right, Hcd1 45 left, Hcd148_HPR225 left, Hcd1 81 left, Hcd1 81 right, Hcd210_HPR205 right, Hcd213_HPR182 left, Hcd230 left, Hcd243 right, Hcd246 right, Hcd248 right, Hcd249 right, Hcd250 left, Hcd255 left, Hcd257 left, Hcd257 right, Hcd263 left, Hcd266 left, Hcd270 right, Hcd279 left, Hcd279 right,, Hcd28_HPR391left, Hcd28_HPR39right, Hcd282PO right, Hcd289 left, Hcd294 left, Hcd318 right, Hcd323 left, Hcd330 right, Hcd338 left, Hcd340 left, Hcd35O right, Hcd355_HPR190 left, Hcd361 right, Hcd366 left, Hcd373 right, Hcd383 left, Hcd383 right, Hcd384 left, Hcd397 left, Hcd404 left, Hcd412 left, Hcd413 right, Hcd415 right, Hcd417 right, Hcd421 right, Hcd425 left, Hcd43 8right, Hcd434 right, Hcd438 left, Hcd440_HPR257 right, Hcd444 right, Hcd447 right, Hcd448 left, Hcd498 right, Hcd503 left, Hcd51 1 right, Hcd512 left, Hcd514 right, Hcd517 left, Hcd517 right, Hcd530 right, Hcd536_HPR104 right, Hcd542 left, Hcd544 left, Hcd547 left, Hcd559 right, Hcd562 right, Hcd569 right, Hcd570 right, Hcd578 right, Hcd581 right, Hcd586 left, Hcd586 right, Hcd587 right, Hcd605 left, Hcd605 left, Hcd605 right. Hcd608 right, Hcd627 left, Hcd631 left, Hcd631 right, Hcd634 left, Hcd642 right, Hcd649 right, Hcd654 left, Hcd655 right, Hcd669 right, Hcd674 left, Hcd678 right, Hcd683 left, Hcd684 right, Hcd689 right, Hcd690 right, Hcd691 right

Hcd693 right, Hcd697 right, Hcd704 left, Hcd704 left, Hcd712 right, Hcd716 right, Hcd731 left, Hcd738 left,
 Hcd739 right, Hcd739 right, Hcd749 right, Hcd753 left, Hcd754 left, Hcd755 left, Hcd760 left, Hcd763 right,
 Hcd768 left, Hcd768 right, Hcd770 left, Hcd773 left, Hcd777 left, Hcd778 right, Hcd781 left, Hcd781 right,
 Hcd782 left, Hcd783 left, Hcd788 left, Hcd794 right, Hcd796 left, Hcd799 left, Hcd807 right, Hcd812 left,
 Hcd817 left, Hcd817 right, Hcd829 right, Hcd852 right, Hcd861 right, Hcd863PO right, Hcd866 right, Hcd869
 left, Hcd873 left, Hcd886 right, Hcd889 right, Hcd891 right, Hcd892 left, Hcd913 right, Hcd923 left, Hcd923
 right, Hcd938 left, Hcd938 right, Hcd939 right, Hcd946 left, Hcd948 right, Hcd960 left, Hcd965 left, Hcd970
 left, Hcd975 left, Hcd976 right, Hcd99 right, HPR100 right, HPR129 left, HPR154 left, HPR159 left, HPR163
 left, HPR169 right, HPR172 right, HPR181 left, HPR187 left, HPR199 right, HPR206 left, HPR213 right,
 HPR214 right, HPR220 left, HPR220 right, HPR227 right, HPR232 right, HPR233 right, HPR244 right,
 HPR262 left, HPR264 right, HPR266 right, HPR271 right, HPR76 right, hsa_mir_490_Hcd20 right,
 HSHLALOI, HSTRNL, HUMTRAB, HUMTRF, HUMTRN, HUMTRS, HUMTRVIA, let-7f-2-prec2, mir-
 OOLb-1-prec1, mir-OOLb-2-prec, mir-007-1-prec, mir-007-2-precNo2, mir-OIOa-precNo1, mir-015b-precNo2,
 mir-016a-chr13, mir-016b-chr3, mir-017-precNo1, mir-017-precNo2, mir-018-prec, mir-019a-prec, mir-019b-1-
 prec, mir-019b-2-prec, mir-020-prec, mir-022-prec, mir-023a-prec, mir-023b-prec, mir-024-2-prec, mir-025-
 prec, mir-027b-prec, mir-029c-prec, mir-032-precNo2, mir-033b-prec, mir-033-prec, mir-034-precNo1, mir-034-
 precNo2, mir-092-prec-13=092-1NO2, mir-092-prec-X=092-2, mir-093-prec-7.1=093-1, mir-095-prec-4, mir-
 096-prec-7No1, mir-096-prec-7No2, mir-098-prec-X, mir-099b-prec-19No1, mir-IOO-1/2-prec, mir-IOONol,
 mir-IOI-prec-9, mir-102-prec-1, mir-103-2-prec, mir-103-prec-5=103-1, mir-106aNo1, mir-106-prec-X, mir-
 107No1, mir-107-prec-IO, mir-122a-prec, mir-123-precNo1, mir-123-precNo2, mir-124a-1-prec1, mir-124a-2-
 prec, mir-124a-3-prec, mir-125b-1, mir-125b-2-precNo2, mir-127-prec, mir-128b-precNo1, mir-128b-precNo2,
 mir-133a-1, mir-135-2-prec, mir-136-precNo2, mir-138-1-prec, mir-140No2, mir-142-prec, mir-143-prec, mir-
 144-precNo2, mir-145-prec, mir-146bNo1, mir-146-prec, mir-147-prec, mir-148aNo1, mir-148-prec, mir-149-
 prec, mir-150-prec, mir-153-1-prec1, mir-154-prec1No1, mir-155-prec, mir-15aNo1, mir-16-1No1, mir-16-2No1,
 mir-181a-precNo1, mir-181b-1No1, mir-181b-2No1, mir-181b-precNo1, mir-181b-precNo2, mir-181c-
 precNo1, mir-181dNo1, mir-188-prec, mir-18bNo2, mir-191-prec, mir-192No2, mir-193bNo2, mir-194-2No1,
 mir-195-prec, mir-196-2-precNo2, mir-197-prec, mir-198-prec, mir-199a-1-prec, mir-199a-2-prec, mir-199b-
 precNo1, mir-200a-prec, mir-200bNo1, mir-200bNo2, mir-202*, mir-202-prec, mir-204-precNo2, mir-205-
 prec, mir-208-prec, mir-20bNo1, mir-212-precNo1, mir-212-precNo2, mir-213-precNo1, mir-214-prec, mir-215-
 precNo2, mir-216-precNo1, mir-219-2No1, mir-219-prec, mir-223-prec, mir-29b-1No1, mir-29b-
 2=102prec7.1=7.2, mir-321No1, mir-321No2, mir-324No1, mir-324No2, mir-328No1, mir-342No1, mir-361No1,
 mir-367No1, mir-370No1, mir-371No1, miR-373*No1, mir-375, mir-376aNo1, mir-379No1, mir-380-5p, mir-
 382, mir-384, mir-409-3p, mir-423No1, mir-424No2, mir-429No1, mir-429No2, mir-4323p, mir-4325p, mir-
 449No1, mir-450-1, mir-450-2No1, mir-483No1, mir-484, mir-487No1, mir-495No1, mir-499No2, mir-501No2,
 mir-503No1, mir-509No1, mir-514-1No2, mir-515-15p, mir-515-23p, mir-516-33p, mir-516-43p, mir-518e/526c,
 mir-519a-1/52, mir-519a-2No2, mir-519b, mir-519c/52, mir-520c/52, mir-526a-2No1, mir-526a-2No2, MPRI
 03 right, MPRI21 left, MPRI21 left, MPRI30 left, MPRI30 right, MPRI33 right, MPRI41 left, MPRI51 left,
 MPRI56 left, MPRI62 left, MPRI74 left, MPRI74 right, MPRI85 right, MPRI97 right, MPR203 left,
 MPR207 right, MPR215 left, MPR216 left, MPR224 left, MPR224 right, MPR228 left, MPR234 right,
 MPR237 left, MPR243 left, MPR244 right, MPR249 left, MPR254 right, MPR74 left, MPR88 right, MPR95 l
 またはこれらの組み合わせが評価され、対象が放射線療法もしくは化学療法剤に対して応
 答者であるのか非応答者であるのか、または対象が放射線療法もしくは化学療法剤に対す
 る感受性もしくは耐性を有するかどうかを判定するのに用いられる。

10

20

30

40

50

【0902】

1つの態様において、1種または複数種のバイオマーカーについて、バイオマーカーの1つまたは複数の発現レベルを測定することができる。バイオマーカーの発現レベルの変化は、変化することが知られている治療に対して対象に感受性または耐性があることを示し得る。例えば、増加または減少を検出し、対照試料と比較することができる。増加または減少に基づいて、対象を、剤を用いた治療に対する感受性を有するまたは感受性を有する可能性があるかと判定することができる。例えば、発現の変化は、治療に対して応答者である患者において変化することが知られている、または以前に判定されたバイオマーカーの発現の変化でもよい。従って、対象のバイオマーカー発現の変化を検出することは、対象が応答者でもあることを示し得る。または、発現の変化は、治療に対して非応答者である患者において変化することが知られている、または以前に判定されたバイオマーカーの発現の変化でもよい。従って、対象のバイオマーカー発現の変化を検出することは、対象が非応答者でもあることを示し得る。

10

【0903】

治療は、ビンクリスチン、シスプラチン、アドリアマイシン、エトポシド、アザグアニン、アクリルビシン、ミトキサントロン、パクリタキセル、マイトマイシン、ゲムシタビン、タキソテール、デキサメサゾン、メチルプレドニゾロン、Ara-C、メトトレキセート、ブレオマイシン、メチル-GAG、リツキシマブ、PXD101(ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤)、5-アザ-2'-デオキシシチジン(デシタビン)、メルファラン、IL4-PE38融合タンパク質、IL13-PE38QQR融合タンパク質(シントレデキン・ベスドトックス(cintredekin besudotox))、バルプロ酸(VPA)、オールトランスレチノイン酸(ATRA)、シトキサン、トポテカン(ハイカムチン(Hycamtin))、スベロイルアニリドヒドロキサム酸(SAHA、ポリノスタット、ゾリンザ(Zolanza))、デブシペプチド(FR901229)、ボルテゾミブ(Bortezomib)、リユーケラン、フルダラビン、ビンブラスチン、ブスルファン、ダカルバジン、オキサリプラチン、ヒドロキシウレア、テガフル、ダウノルビシン、ブレオマイシン、エストラムスチン、クロランブシル、メクロレタミン、ストレプトゾシン、カルムスチン、ロムスチン、メルカプトプリン、テニポシド、ダクチノマイシン、トレチノイン、スニチニブ、SPC2996、イホスファミド、タモキシフェン、フロクスウリジン、イリノテカン、サトラプラチン、またはこれらの組み合わせなどがあるが、これに限定されない1種または複数種の化学療法剤を含んでもよい。

20

30

【0904】

一部の態様において、療法は、アザグアニン、エトポシド、パクリタキセル、ゲムシタビン、タキソテール、デキサメサゾン、Ara-C、メチルプレドニゾロン、メトトレキセート、ブレオマイシン、メチル-GAG、カルボプラチン、5-FU(5-フルオロウラシル)、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤、例えば、PXD101、5-Aza-2'-デオキシシチジン(デシタビン)、 α 放射体、例えば、アスタチン-211、ビスマス-212、ビスマス-213、鉛-212、ラジウム-223、アクチニウム-225、およびトリウム-227、 β 放射体、例えば、トリチウム、ストロンチウム-90、セシウム-137、炭素-11、窒素-13、酸素-15、フッ素-18、鉄-52、コバルト-55、コバルト-60、銅-61、銅-62、銅-64、亜鉛-62、亜鉛-63、ヒ素-70、ヒ素-71、ヒ素-74、臭素-76、臭素-79、ルビジウム-82、イットリウム-86、ジルコニウム-89、インジウム-110、ヨウ素-120、ヨウ素-124、ヨウ素-129、ヨウ素-131、ヨウ素-125、キセノン-122、テクネチウム-94m、テクネチウム-94、テクネチウム-99m、およびテクネチウム-99、 γ 放射体、例えば、コバルト-60、セシウム-137、およびテクネチウム-99m、アレムツズマブ、ダクリズマブ、リツキシマブ(例えば、MABTHERA(商標))、トラスツズマブ(例えば、HERCEPTIN(商標))、ゲムツズマブ、イブリツモマブ、エドレコロマブ、トシツモマブ、CeaVac、エブラツズマブ、ミツモマブ(Mitumomab)、ベバシズマブ、セツキシマブ、エドレコロマブ、リンツズマブ(Lintuzumab)、MDX-210、IGN-101、MDX-010、MAb、AME、ABX-EGF、EMD72000、アポリズマブ、ラベツズマブ、ior-t1、MDX-220、MRA、H-11 scFv、オレゴボマブ、huJ591 MAb、BZL、ビジリズマブ、TriGem、TriAb、R3、MT-201、G-250、非結合型、ACA-125、オニバックス(Onyvax)-105、CDP-860、ブレバレックス(BrevaRex)MAb

40

50

、AR54、IMC-IC11、GHoMab-H、ING-15抗LCG MAb、MT-103、KSB-303、セレックス(Therex)、KW-2871、抗HMI24、抗PTHrP、2C4抗体、SGN-30、TRAIL-RI MAb、CAT、前立腺癌抗体、H22xKi-4、ABX-MA1、イムテラン(Imuteraan)、モノファルム(Monopharm)-C、アシビシン、アクラルピシン、塩酸アコダゾール、アクロニン、アドゼレシン、アドリアマイシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アンボマイシン(Ambomycin)、酢酸アメタントロン、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アントラマイシン、アスパラギナーゼ、アスペルリン(Asperlin)、アザシチジン、アゼテパ、アゾトマイシン、バチマスタット、ベンゾデパ、ビカルタミド、塩酸ビスアントレン、ビスナフィドジメシレート(Bisnafide Dimesylate)、ビゼレシン、硫酸プレオマイシン、ブレキナルナトリウム、プロピリミン、ブスルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カンプトテシン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルムスチン、塩酸カルピシン、カルゼルシン、セデフィンゴール、クロランブシル、シロレマイシン(Cirolemycin)、シスプラチン、クラドリビン、コンブレテスタチン(Combretastatin)A-4、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、DACA(N-[2-(ジメチル-アミノ)エチル]アクリジン-4-カルボキサミド)、ダクチノマイシン、塩酸ダウノルビシン、ダウノマイシン、デシタビン、デキソルマプラチン、デザグアニン(Dezaguanine)、メシル酸デザグアニン、ジアジクオン、ドセタキセル、ドラサチン(Dolasatins)、ドキシソルビシン、塩酸ドキシソルビシン、ドロロキシフェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、デュアゾマイシン(Duazomycin)、エダトレキサート、塩酸エフロルニチン、エリプチシン、エルサミツルシン(Elsamitrucin)、エンロプラチン(Enloplatin)、エンプロマート(Enpromate)、エピプロピジン(Epipropidine)、塩酸エビルピシン、エルプロゾール(Erbulozole)、塩酸エソルビシン、エストラムスチン、リン酸エストラムスチンナトリウム、エタニダゾール、ヨード化ケシ油エチルエステル1131、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン(Etoprine)、塩酸ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フロクスウリジン、リン酸フルダラビン、フルオロウラシル、5-FdUMP、フルロシタビン、ホスキドン、フォストリエシンナトリウム、ゲムシタビン、塩酸ゲムシタビン、金Au198、ホモカンプトテシン、ヒドロキシウレア、塩酸イダルビシン、イホスファミド、イルモフォシン(Imofosine)、インターフェロン α -2a、インターフェロン α -2b、インターフェロン α -n1、インターフェロン α -n3、インターフェロン β -1a、インターフェロン γ -1b、イプロプラチン、塩酸イリノテカン、酢酸ランレオチド、レトロゾール、酢酸リユープロリド、塩酸リアロゾール、ロメテレキソールナトリウム、ロムスチン、塩酸ロソキサントロン、マソプロコール、マイタンシン、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルカプトプリン、メトトレキセート、メトトレキセートナトリウム、メトプリン(Metoprine)、メツレデパ、ミチンドミド、マイトカルシン(Mitocarcin)、ミトクロミン(Mitocromin)、ミトギリ、ミトマルシン(Mitomalcin)、マイトマイシン、ミトスペル(Mitosper)、ミトタン、塩酸ミトキサントロン、ミコフェノール酸、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルマプラチン、オキシスラン、パクリタキセル、ペガスバルガーゼ、ペリオマイシン(Peliomycin)、ペントムスチン(Pentamustine)、硫酸ペプロイシン、ペルホスファミド(Perfosfamide)、ピボプロマン、ピボスルファン、塩酸ピロキサントロン(Piroxantrone)、プリカマイシン、プロメスタン(Plomestane)、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、塩酸プロカルバジン、ピューロマイシン、塩酸ピューロマイシン、ピラゾフリ、リゾキシ、リゾキシD、リボプリン(Riboprine)、ログレチミド(Rogletimide)、サフィンゴール、塩酸サフィンゴール、セムスチン、シムトラゼン(Simtrazene)、スパルホサートナトリウム、スパルソマイシン、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、塩化ストロンチウムSr89、スロフェヌル(Sulofenur)、タリソマイシン、タキサン、タキソイド、テコガラン(Tecogalan)ナトリウム、テガフル、塩酸テロキサントロン(Teloxantrone)、テモボルフィン、テニボシド、テロキシロン(Teroxirone)、テストラクトン、チアミプリン、チオグアニン、チオテパ、チミタック(Thymitaq)、チアゾフリ、チラバザミン、トムデックス(Tomodex)、TOP53、塩酸トボテカン、

10

20

30

40

50

クエン酸トレミフェン、酢酸トレストロン(Trestolone)、リン酸トリシリピン、トリメトレキサート、グルクロン酸トリメトレキサート、トリプトレリン、塩酸ツプロゾール、ウラシルマスタード、ウレデパ(Uredepa)、バプレオチド、ベルテポルフィン、ビンブラスチン、硫酸ビンブラスチン、ピンクリスチン、硫酸ピンクリスチン、ビンデシン、硫酸ビンデシン、硫酸ビネピジン、硫酸ビングリシナート、硫酸ビンレウロシン(Vinleurosine)、酒石酸ビノレルピン、硫酸ビンロシジン、硫酸ビンゾリジン、ボロゾール、ゼニブラチン、ジノスタチン、塩酸ゾルピシン、2-クロロデオキシアデノシン、2'-デオキシホルマイシン(Deoxyformycin)、9-アミノカンプトテシン、ラルチトレキセド、N-プロパルギル-5,8-ジデアザ葉酸、2クロロ-2'-アラビノ-フルオロ-2'-デオキシアデノシン、2-クロロ-2'-デオキシアデノシン、アニソマイシン、トリコスタチンA、hPRL-G129R、CEP-751、リノミド(linomide)、サルファマスタード、ナイトロジェンマスタード(メクロレタミン)、シクロホスファミド、メルファラン、クロランブシル、イホスファミド、ブスルファン、N-メチル-Nニトロソ尿素(MNU)、N,N'-Bis(2-クロロエチル)-N-ニトロソ尿素(BCNU)、N-(2-クロロエチル)-N'-シクロヘキシル-N-ニトロソ尿素(CCNU)、N-(2-クロロエチル)-N'-(trans-4-メチルシクロヘキシル-N-ニトロソ尿素(MeCCNU)、N-(2-クロロエチル)-N-(ジエチル)エチルホスホナート-N-ニトロソ尿素(ホテムスチン)、ストレプトゾトシン、ジアカルバジン(diacarbazine)(DTIC)、ミトゾロミド、テモゾロミド、チオテパ、マイトマイシンC、A ZQ、アドゼレシン、シスプラチン、カルボプラチン、オルマプラチン(Ormaplatin)、オキサリプラチン、C1-973、DWA2114R、JM216、JM335、ビス(白金)、トムデックス(tomodex)、アザシチジン、シタラビン、ゲムシタビン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、ヒポキサンチン、テニポシド9-アミノカンプトテシン、トポテカン、CPT-11、ドキシソルピシン、ダウノマイシン、エピルピシン、ダルピシン、ミトキサントロン、ロソキサントロン、ダクチノマイシン(アクチノマイシンD)、アムサクリン、ピラゾロアクリジン、オールトランスレチノール、14-ヒドロキシ-retro-レチノール、オールトランスレチノイン酸、N-(4-ヒドロキシフェニル)レチンアミド、13-cisレチノイン酸、3-メチルTTNEB、9-cisレチノイン酸、フルダラビン(2-F-ara-AMP)、2-クロロデオキシアデノシン(2-Cda)、20-pi-1,25ジヒドロキシビタミンD3、5-エチニルウラシル、アビラテロン、アクラルピシン、アシルフルベン、アデシペノール(adecypenol)、アドゼレシン、アルデスロイキン、ALL-TKアンタゴニスト、アルトレタミン、アンバムスチン、アミドックス(amidox)、アミホスチン、アミノレプリン酸、アムルピシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管形成阻害剤、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アンタレリクス(antarelix)、抗背方化形態形成タンパク質-1、抗アンドロゲン、前立腺癌、抗エストロゲン、アンチネオプラストン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィディコリングリシナート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシスレギュレーター、アプリン酸、ara-CDP-DL-PTBA、アルギニンデアミナーゼ、アスラクリン(asulacriner)、アタメスタン、アトリムスチン(atrimustine)、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザセトロン、アザトキシン(azatoxin)、アザチロシン、バックカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット、BCR/ABLアンタゴニスト、ベンゾクロリン(benzochlorins)、ベンゾイルスタウロスפורリン(benzoylstaurosporine)、βラクタム誘導体、β-アレチン(alethine)、ベータクラマイシンB、ベツリン酸、bFGF阻害剤、ビカルタミド、ビスアントレン、ビスアジリジニルスベルミン(bisaziridinylspermine)、ビスナフィド(bisnafide)、ピストラテン(bistratene)A、ビゼレシン、ブレフラート、ブレオマイシンA2、ブレオマイシンB2、プロピリミン、ブドチタン、ブチオニンスルホキシミン、カルシポトリオール、カルフォスチンC、カンプトテシン誘導体(例えば、10-ヒドロキシ-カンプトテシン)、カナリアボックスIL-2、カペシタビン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、カルボキサミドトリアゾール、CaRestM3、CARN700、軟骨由来阻害剤、カルゼルシン、カゼインキナーゼ阻害剤(ICOS)、カスタノスベルミン、セクロピンB、セトロレリクス、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、cis-ボルフィリン、クラドリピン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマイシン(collismycin)A、コリスマイシンB、コンブレタスタチンA4、コンブレタスタチン類似体、コナゲニン

、クラムベシジン(crambescidin)816、クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、クラシン(curacin)A、シクロペントアントラキノン(cyclopentantraquinones)、シクロプラタム(cycloplatam)、サイペマイシン(cypemycin)、シタラビンオクホスファート、細胞溶解因子、サイトスタチン(cytostatin)、ダクリキシマブ(dacliximab)、デシタビン、デヒドロジデムニン(dehydrodidemnin)B、2'デオキシコホルマイシン(DCF)、デスロレリン、デキシホスファミド(dexifosfamide)、デクスラゾキサラン、デクスベラパミル、ジアジクオン、ジデムニンB、ジドックス(didox)、ジエチルノルスベルミン、ジヒドロ-5-アザシチジン、9-ジヒドロタキソール、ジオキサマイシン(dioxamycin)、ジフェニルスピロムスチン、ディスコデルモリド、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドロロキシフェン、ドロナビノール

、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン(ecomustine)、エデルフォシン(edelfosine)、エドレコロマブ、エフルニチン、エレメン、エミテフル(emitefur)、エピルビシン、エポシロン(A,R=H,B,R=Me)、エピチロン(epithilones)、エプリステリド、エストラムスチン類似体、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エタニダゾール、エトポシド、エトポシド4'-ホスフェート(エトポフォス(etopofos))、エキセメスタン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フラウステロン(fluasterone)、フルダラビン、塩酸フルオロダウノルニシン(fluorodaunorunicin)、ホルフェニメックス、ホルメスタン、フォストリエシン、ホテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン(galocitabine)、ガニレリクス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、ヘプサルファム(hepsulfam)、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ホモハリントニン(HHT)、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルビシン、イドキシフェン、イドラマントン(idramantone)、イルモフォシン(ilmofosine)、イロマスタット(ilomastat)、イミダゾアクリドン(imidazoacridones)、イミキモド、免疫賦活ペプチド、インシュリン様成長因子-1受容体阻害剤、インターフェロンアゴニスト、インターフェロン、インターロイキン、ヨーベンガアン、ヨードドキソルビシン、4-イポメアノール(ipomeanol)、イリノテカン、イロプラクト(iroplact)、イルソグラジン、イソベンガゾール(isobengazole)、イソホモハリコンドリン(isohomohalicondrin)B、イタセトロン(itasetron)、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-N-トリアセタート、ランレオチド、レイナマイシン(leinamycin)、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レプトルスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球αインターフェロン、リユープロリド、エストロゲン、およびプロゲステロンの組み合わせ、リユープロレリン、レバミゾール、リアロゾール、直鎖ポリアミン類似体、親油性二糖ペプチド、親油性白金化合物、リソクリナミド(lissoclinamide)7、ロバプラチン、ロンブリシン、ロメトレキサール、ロニダミン、ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソリビン(loxoribine)、ラルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン(lysofylline)、溶解性ペプチド、マイタンシン、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリライシン阻害剤、マトリックスメタロプロテインナーゼ阻害剤、メノガリル、メルバロン、メテレリン(meterelin)、メチオニナーゼ(methioninase)、メトクロプラミド、MIF阻害剤、イフェプリストン(ifepristone)、ミルテホシン、ミリモスチム、ミスマッチ二本鎖RNA、ミトラシン(mitracin)、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシン類似体、ミトナフィド(mitona fide)、ミトトキシシン(mitotoxin)線維芽細胞増殖因子-サボリン、ミトキサントロン、モファロテネ(mofarotene)、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリルリピドAおよびミオバクテリウム(myobacterium)細胞壁骨格の組み合わせ、モピダモール、多剤耐性耐性遺伝子阻害剤、多発性腫瘍抑制因子1に基づく療法、マスタード抗癌剤、ミカペルオキシドB、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ミリアポロン、N-アセチルジナリン、N置換ベンズアミド、ナファレリン、ナグレスティップ(nagrestip)、ナロキソンおよびペンタゾシンの組み合わせ、ナパビン(napavin)、ナフテルピン(naphterpin)、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン(nemorubicin)、ネリドロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン(nisamycin)、一酸化窒

10

20

30

40

50

素モジュレーター、窒素酸化物抗酸化物質、ニトルリン(nitruillyn)、06-ベンジルグアニン(benzylguanine)、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オンダンセトロン、オンダンセトロン、オラシン(oracin)、経口サイトカイン誘導物質、オルマプラチン、オサテロン(osaterone)、オキサリプラチン、オキサウノマイシン(oxaunomycin)、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導体、パラウアミン(palauamine)、パルミトイルリゾキシシン(palmitoylrhizoxin)、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、バラバクチン、パゼリプチン(pazelliptine)、ペガスバルガーゼ、ペルデシン、ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール(pentrozole)、ペルフルブロン、ペルフォスファミド(perfosfamide)、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、フェニルアセタート、ホスファターゼ阻害剤、ピシバニール、塩酸ピロカルピン、ピラルピシン、ピリトレキシム、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノゲンアクチベーター阻害剤、白金錯体、白金化合物、白金-トリアミン錯体、ボドフィロトキシシン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プロピルbis-アクリドン、プロスタグランジン32、プロテアソーム阻害剤、プロテインAベースの免疫モジュレーター、プロテインキナーゼC阻害剤、プロテインキナーゼC阻害剤、ミクロアルガル(microalgal)、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、プルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン結合体、rafアンタゴニスト、ラルチトレキセド、ラモセトロン、rasファルネシルタンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、ras阻害剤、ras-GAP阻害剤、レテリプチン脱メチル、レニウムRe 186エチドロネート、リゾキシシン、リボザイム、RIIレチンアミド、ログレチミド(rogletimide)、ロヒツキン(rohitukine)、ロムルチド、ロキニメックス、ルビギノン(rubiginone)B1、ルボキシル(ruboxyl)、サフィンゴール、セイントピン、SarCNU、サルコフィトール(sarcophytol)A、サルグラモスチム、Sdilミメティック、セムスチン、老化由来阻害剤1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達モジュレーター、単鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン、ソブゾキサシ、ボロカプテイトナトリウム、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール(solverol)、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン(sonermin)、スパルフォス酸(sparfosic acid)、スピカマイシンD(spicamycinD)、スピロムスチン、スプレノペンチン、スポンギスタチン(spongistatin)1、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、ストロメライシン阻害剤、スルフィノシン(sulfinosine)、超活性血管作用性小腸ペプチドアンタゴニスト(superactive vasoactive intestinal peptide antagonist)、スラジスタ(suradista)、スラミン、スウェインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリムスチン(tallimustine)、タモキシフェンメチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガラン(tecogalan)ナトリウム、テガフル、テルラピリリウム(tellurapyrylium)、テロメラゼ阻害剤、テモボルフィン、テモゾロミド、テニポシド、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン(tetrazomine)、サリブラスチン(thaliblastine)、サリドマイド、チオコラリン、トロンボポエチン、トロンボポエチンミメティック、サイマルファシン(thymalfasin)、サイモポエチン受容体アゴニスト、サイモトリナン(thymotrinan)、甲状腺刺激ホルモン、エチルエチオブルプリンすず、チラパザミン、二塩化チタノセン、トポテカン、トプセンチン(topsentin)、トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリピン、トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、ツロステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、チロホスチン、UBC阻害剤、ユベニメックス、尿生殖洞由来増殖阻害因子、ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト、バプレオチド、バリオリン(variolin)B、ベクター系、赤血球遺伝子療法、ベラレソール、ベラミン(veramine)、ベルジン(verdins)、ベルテボルフィン、ビノレルビン、ビンキサルチン(vinxaltine)、ビタキシシン(vitaxin)、ボロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチンスチマラーマ、またはこれらの組み合わせを含む。

【0905】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーSFRS3、CCT5、RPL39、SLC25A5、UBE2S、EF1A1、RPLP2、RPL24、RPS23、RPL39、RPL18、NCL、RPL9、RPL10A、RPS10、EIF3S2、SHFM

10

20

30

40

50

1、RPS28、REA、RPL36A、GAPD、HNRPA1、RPS11、HNRPA1、LDHB、RPL3、RPL11、MRPL12、RPL18A、COX7B、RPS7、またはこれらの組み合わせ、好ましくは、遺伝子配列UBB、RPS4X、S100A4、NDUFS6、B2M、C14orf139、MAN1A1、SLC25A5、RPL10、RPL12、EIF5A、RPL36A、SU11、BLMH、CTBP1、TBCA、MDH2、DXS9879E、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくは、バイオマーカーRPS4X、S100A4、NDUFS6、C14orf139、SLC25A5、RPL10、RPL12、EIF5A、RPL36A、BLMH、CTBP1、TBCA、MDH2、DXS9879E、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はビンクリスチンに対する化学感受性を示す。

【0906】

別の態様において、膜小胞のバイオマーカーB2M、ARHGDIB、FTL、NCL、MSN、SNRPF、XP01、LDHB、SNRPF、GAPD、PTPN7、ARHGDIB、RPS27、IFI16、C5orf13、HCLS1、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーC1QR1、HCLS1、CD53、SLA、PTPN7、PTPRCAP、ZNFN1A1、CENTB1、PTPRC、IFI16、ARHGEF6、SEC31L2、CD3Z、GZMB、CD3D、MAP4K1、GPR65、PRF1、ARHGAP15、TM6SF1、TCF4、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーC1QR1、SLA、PTPN7、ZNFN1A1、CENTB1、IFI16、ARHGEF6、SEC31L2、CD3Z、GZMB、CD3D、MAP4K1、GPR65、PRF1、ARHGAP15、TM6SF1、TCF4、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はシスプラチンに対する化学感受性を示す。

【0907】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーPRPS1、DDOST、B2M、SPARC、LGALS1、CBFB、SNRPB2、MCAM、MCAM、EIF2S2、HPRT1、SRM、FKBP1A、GYPC、UROD、MSN、HNRPA1、SND1、COPA、MAPRE1、EIF3S2、ATP1B3、EMP3、ECM1、ATOX1、NARS、PGK1、OK/SW-c1.56、FN1、EEF1A1、GNAI2、PRPS1、RPL7、PSMB9、GPNMB、PPP1R11、MIA、RAB7、VIM、およびSMS、好ましくはバイオマーカーMSN、SPARC、VIM、SRM、SCARB1、SIAT1、CUGBP2、GAS7、ICAM1、WASPIP、ITM2A、PALM2-AKAP2、ANPEP、PTPNS1、MPP1、LNK、FCGR2A、EMP3、RUNX3、EVI2A、BTN3A3、LCP2、BCHE、LY96、LCP1、IFI16、MCAM、MEF2C、SLC1A4、BTN3A2、FYN、FN1、C1orf38、CHS1、CAPN3、FCGR2C、TNK1、AMPD2、SEPT6、RAFTLIN、SLC43A3、RAC2、LPXN、CKIP-I、FLJ10539、FLJ35036、DOCK10、TRPV2、IFRG28、LEF1、ADAMTS1、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーSRM、SCARB1、SIAT1、CUGBP2、ICAM1、WASPIP、ITM2A、PALM2-AKAP2、PTPNS1、MPP1、LNK、FCGR2A、RUNX3、EVI2A、BTN3A3、LCP2、BCHE、LY96、LCP1、IFI16、MCAM、MEF2C、SLC1A4、FYN、C1orf08、CHS1、FCGR2C、TNK1、AMPD2、SEPT6、RAFTLIN、SLC43A3、RAC2、LPXN、CKIP-I、FLJ10539、FLJ35036、DOCK10、TRPV2、IFRG28、LEF1、ADAMTS1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

【0908】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーB2M、MYC、CD99、RPS24、PPIF、PBEF1、ANP32B、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーCD99、INSIG1、LAPTM5、PRG1、MUF1、HCLS1、CD53、SLA、SSBP2、GNB5、MFNG、GMFG、PSMB9、EVI2A、PTPN7、PTGER4、CXorf9、PTPRCAP、ZNFN1A1、CENTB1、PTPRC、NAP1L1、HLA-DRA、IFI16、CORO1A、ARHGEF6、PSCDBP、SELPLG、LAT、SEC31L2、CD3Z、SH2D1A、GZMB、SCN3A、ITK、RAFTLIN、DOCK2、CD3D、RAC2、ZAP70、GPR65、PRF1、ARHGAP15、NOTCH1、UBASH3A、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーCD99、INSIG1、PRG1、MUF1、SLA、SSBP2、GNB5、MFNG、PSMB9、EVI2A、PTPN7、PTGER4、CXorf9、ZNFN1A1、CENTB1、NAP1L1、HLA-DRA、IFI16、ARHGEF6、PSCDBP、SELPLG、LAT、SEC31L2、CD3Z、SH2D1A、GZMB、SCN3A、RAFTLIN、DOCK2、CD3D、RAC2、ZAP70、GPR65、PRF1、ARHGAP15、NOTCH1、UBASH3A、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

【0909】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーKIAA0220、B2M、TOP2A、CD99、SNRPE、RP

S27、HNRPA1、CBX3、ANP32B、HNRPA1、DDX5、PPIA、SNRPF、USP7、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーCD99、LAPTM5、ALDOC、HCLS1、CD53、SLA、SSBP2、IL2RG、GMFG、CXorf9、RHOH、PTPRCAP、ZNFN1A1、CENTB1、TCF7、CD1C、MAP4K1、CD1B、CD3G、PTPRC、CCR9、CORO1A、CXCR4、ARHGEF6、HEM1、SELPLG、LAT、SEC31L2、CD3Z、SH2D1A、CD1A、LAIR1、ITK、TRB@、CD3D、WBSCR20C、ZAP70、IFI44、GPR65、AIF1、ARHGAP15、NARF、PACAP、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーCD99、ALDOC、SLA、SSBP2、IL2RG、CXorf9、RHOH、ZNFN1A1、CENTB1、CD1C、MAP4K1、CD3G、CCR9、CXCR4、ARHGEF6、SELPLG、LAT、SEC31L2、CD3Z、SH2D1A、CD1A、LAIR1、TRB@、CD3D、WBSCR20C、ZAP70、IFI44、GPR65、AIF1、ARHGAP15、NARF、PACAP、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はアドリアマイシンに対する化学感受性を示す。

10

【0910】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーRPLP2、LAMR1、RPS25、EIF5A、TUFM、HNRPA1、RPS9、MYB、LAMR1、ANP32B、HNRPA1、HNRPA1、EIF4B、HMGB2、RPS15A、RPS7、またはこれらの組み合わせ、好ましくは、バイオマーカーRPL12、RPL32、RPLP2、MYB、ZNFN1A1、SCAP1、STAT4、SP140、AMPD3、TNFAIP8、DDX18、TAF5、FBL、RPS2、PTPRC、DOCK2、GPR65、HOXA9、FLJ12270、HNRPD、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーRPL12、RPLP2、MYB、ZNFN1A1、SCAP1、STAT4、SP140、AMPD3、TNFAIP8、DDX18、TAF5、RPS2、DOCK2、GPR65、HOXA9、FLJ12270、HNRPD、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はアクリルビシン

20

【0911】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーARHGEF6、B2M、TOP2A、TOP2A、ELA2B、PTMA、LMNB1、TNFRSF1A、NAP1L1、B2M、HNRPA1、RPL9、C5orf13、NCOR2、ANP32B、OK/SW-c1.56、TUBA3、HMG2、PRPS1、DDX5、PRG1、PPIA、G6PD、PSMB9、SNRPF、MAP1B、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーPGAM1、DPYSL3、INSIG1、GJA1、BNIP3、PRG1、G6PD、BASP1、PLOD2、LOXL2、SSBP2、C1orf29、TOX、STC1、TNFRSF1A、NCOR2、NAP1L1、LOC94105、COL6A2、ARHGEF6、GATA3、TFPI、LAT、CD3Z、AF1Q、MAP1B、PTPRC、PRKCA、TRIM22、CD3D、BCAT1、IFI44、CCL2、RAB31、CUTC、NAP1L2、NME7、FLJ21159、COL5A2、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーPGAM1、DPYSL3、INSIG1、GJA1、BNIP3、PRG1、G6PD、PLOD2、LOXL2、SSBP2、C1orf29、TOX、STC1、TNFRSF1A、NCOR2、NAP1L1、LOC94105、ARHGEF6、GATA3、TFPI、LAT、CD3Z、AF1Q、MAP1B、TRIM22、CD3D、BCAT1、IFI44、CUTC、NAP1L2、NME7、FLJ21159、COL5A2、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はミトキサントロンに対する化学感受性を示す。

30

【0912】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーGAPD、GAPD、GAPD、TOP2A、SUI1、TOP2A、FTL、HNRPC、TNFRSF1A、SHC1、CCT7、P4HB、CTSL、DDX5、G6PD、SNRPF、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーSTC1、GPR65、DOCK10、COL5A2、FAM46A、LOC54103、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーSTC1、GPR65、DOCK10、COL5A2、FAM46A、LOC54103、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はマイトマイシンに対する化学感受性を示す。

40

【0913】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーRPS23、SFRS3、KIAA0114、RPL39、SFRS3、LOC51035、RPS6、EXOSC2、RPL35、IFRD2、SMN2、EEF1A1、RPS3、RPS18、RPS7、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーRPL10、RPS4X、NUDC、RALY、DKC1、DKFZP564C186、PRP19、RAB9P40、HSA9761、GMDS、CEP1、IL13RA2、MAGEB2、HMG2、ALMS1、GPR65、FLJ10774、NOL8、DAZAP1、SLC25A15、PAF53、DXS9879E、PITPNC1、SPANXC、およびKIAA1393、および最も好ましくはバイオマーカーRPL10、RPS4X、NUDC、DKC1、DKFZP564C18

50

6、PRP19、RAB9P40、HSA9761、GMD5、CEP1、IL13RA2、MAGEB2、HMGN2、ALMS1、GPR65、FLJ10774、NOL8、DAZAP1、SLC25A15、PAF53、DXS9879E、PITPNC1、SPANXC、KIAA1393、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はパクリタキセルに対する化学感受性を示す。

【0914】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーCSDA、LAMR1、TUBA3、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーPFN1、PGAM1、K-ALPHA-I、CSDA、UCHL1、PWP1、PALM2、AKAP2、TNFRSF1A、ATP5G2、AF1Q、NME4、FHOD1、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーPFN1、PGAM1、K-ALPHA-I、CSDA、UCHL1、PWP1、PALM2-AKA P2、TNFRSF1A、ATP5G2、AF1Q、NME4、FHOD1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

10

【0915】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーRPS23、SFRS3、KIAA0114、SFRS3、RPS6、DDX39、RPS7、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーANP32B、GTF3A、RRM2、TRIM14、SKP2、TRIP13、RFC3、CASP7、TXN、MCM5、PTGES2、OBFC1、EPB41L4B、CALML4、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーANP32B、GTF3A、RRM2、TRIM14、SKP2、TRIP13、RFC3、CASP7、TXN、MCM5、PTGES2、OBFC1、EPB41L4B、CALML4、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

20

【0916】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーIL2RG、H1FX、RDBP、ZAP70、CXCR4、TM4SF2、ARHGDIB、CDA、CD3E、STMN1、GNA15、AXL、CCND3、SATB1、EIF5A、LCK、NKX2-5、LAPTM5、IQGAP2、FLII、EIF3S5、TRB、CD3D、HOXB2、GATA3、HMGB2、PSMB9、ATP5G2、CORO1A、ARHGDIB、DRAP1、PTPRCAP、RHOH、ATP2A3、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーIFITM2、UBE2L6、LAPTM5、USP4、ITM2A、ITGB2、ANPEP、CD53、IL2RG、CD37、GPRASP1、PTPN7、CXorf9、RHOH、GIT2、ADORA2A、ZNFN1A1、GNA15、CEP1、TNFRSF7、MAP4K1、CCR7、CD3G、PTPRC、ATP2A3、UCP2、CORO1A、GATA3、CDKN2A、HEM1、TARP、LAIR1、SH2D1A、FLII、SEPT6、HA-I、CREB3L1、ERCC2、CD3D、LST1、AIF1、ADA、DATF1、ARHGAP15、PLAC8、CECR1、LOC81558、EHD2、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーIFITM2、UBE2L6、USP4、ITM2A、IL2RG、GPRASP1、PTPN7、CXorf9、RHOH、GIT2、ZNFN1A1、CEP1、TNFRSF7、MAP4K1、CCR7、CD3G、ATP2A3、UCP2、GATA3、CDKN2A、TARP、LAIR1、SH2D1A、SEPT6、HA-I、ERCC2、CD3D、LST1、AIF1、ADA、DATF1、ARHGAP15、PLAC8、CECR1、LOC81558、EHD2、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

30

【0917】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーTM4SF2、ARHGDIB、ADA、H2AFZ、NAP1L1、CCND3、FABP5、LAMR1、REA、MCM5、SNRPF、USP7、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーITM2A、RHOH、PRIM1、CENTB1、GNA15、NAP1L1、ATP5G2、GATA3、PRKCQ、SH2D1A、SEPT6、PTPRC、NME4、RPL13、CD3D、CD1E、ADA、FHOD1、および最も好ましくはバイオマーカーITM2A、RHOH、PRIM1、CENTB1、NAP1L1、ATP5G2、GATA3、PRKCQ、SH2D1A、SEPT6、NME4、CD3D、CD1E、ADA、FHOD1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

40

【0918】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカー

LGALS9, CD7, IL2RG, PTPN7,

ARHGEF6, CENTB1, SEPT6, SLA, LCPI, IFITM1, ZAP70, CXCR4, TM4SF2, ZNF91, ARHGDIB, TFDP2, ADA, CD99, CD3E, CDIC, STMN1, CD53, CD7, GNA1 5, CCND3, MAZ, SATB1, ZNF22, AES, AIF1, MYB, LCK, C5orf13, NKX2-5, ZNFN1A1, STAT5A, CHI3L2, LAPTM5, MAP4K1, DDX1 1, GPSM3, TRB, CD3D, CD3G, PRKCB1, CDIE, HCLS1, GATA3, TCF7, RHOG, CDW52, HMGB2, DGKA, ITGB2, PSMB9, IDH2, AES, MCM5, NUCB2, CORO1A, ARHGDIB, PTPRCAP, CD47, RHOH, LGALS9, ATP2A3

、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカー
CD99, SRRM1, ARHGDIB, LAPTM5, VWF, ITM2A, ITGB2, LGALS9,

INPP5D, SATB1, CD53, TFDP2, SLA, IL2RG, MFNG, CD37, GMFG, SELL, CDW52, LRMP, ICAM2, RIMS3, PTPN7, ARHGAP25, LCK, CXorf9, RHOH, PTPRCAP, GIT2, ZNFN1A1, CENTB1, LCP2, SPII, GNA1 5, GZMA, CEPI, BLM, CD8A, SCAP1, CD2, CDIC, TNFRSF7, VAV1, MAP4K1, CCR7, C6orf02, ALOX15B, BRDT, CD3G, PTPRC, LTB, ATP2A3, NVL, RASGRP2, LCPI, CORO1A, CXCR4, PRKD2, G AT A3, TRA@, PRKCB1, HEMI, KIAA0922, TARP, SEC31L2, PRKCQ, SH2D1A, CHRNA3, CD1A, LSTI, LAIR1, CACNA1G, TRB@, SEPT6, HA-I, D0CK2, CD3D, TRD@, T3JAM, FNBPI, CD6, AIF1, FOLH1, CDIE, LY9, UGT2B17, ADA, CDKL5, TRIM, EVL, DATF1, RGC32, PRKCH, ARHGAP1 5, NOTCH1, BIN2, SEMA4G, DPEP2, CECR1, BCL1 IB, STAG3, GALNT6, UBASH3A, PHEMX, FLJ13373, LEF1, IL21R, MGC17330, AKAP13, ZNF335, GIMAP5

10

20

、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカー

CD99, ARHGDIB, VWF, ITM2A, LGALS9, INPP5D, SATB1, TFDP2, SLA, IL2RG, MFNG, SELL, CDW52, LRMP, ICAM2, RIMS3, PTPN7, ARHGAP25, LCK, CXorf9, RHOH, GIT2, ZNFN1A1, CENTB1, LCP2, SPII, GZMA, CEPI, CD8A, SCAP1, CD2, CDIC, TNFRSF7, VAV1, MAP4K1, CCR7, C6orf32, ALOX1 5B, BRDT, CD3G, LTB, ATP2A3, NVL, RASGRP2, LCPI, CXCR4, PRKD2, GATA3, TRA@, KIAA0922, TARP, SEC31L2, PRKCQ, SH2D1A, CHRNA3, CD1A, LSTI, LAIR1, CACNA1G, TRB@, SEPT6, HA-I, D0CK2, CD3D, TRD@, T3JAM, FNBPI, CD6, AIF1, FOLH1, CDIE, LY9, ADA, CDKL5, TRIM, EVL, DATF1, RGC32, PRKCH, ARHGAP1 5, NOTCH1, BIN2, SEMA4G, DPEP2, CECR1, BCL1 IB, STAG3, GALNT6, UBASH3A, PHEMX, FLJ13373, LEF1, IL21R, MGC1 7330, AKAP1 3, ZNF335, GIMAP5

30

、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はメチルプレドニゾロンに対する化学感受性を示す。

【0919】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーRPLP2、RPL4、HMGA1、RPL27、IMPDH2、LAMR1、PTMA、ATP5B、NPM1、NCL、RPS25、RPL9、TRAP1、RPL21、LAMR1、REA、HNRPA1、LDHB、RPS2、NME1、PAICS、EEF1B2、RPS15A、RPL19、RPL6、ATP5G2、SNRPF、SNRPG、RPS7、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーPRPF8、RPL18、RNPS1、RPL32、EEF1 G、GOT2、RPL13A、PTMA、RPS15、RPLP2、CSDA、KHDRBS1、SNRPA、IMPDH2、RPS19、NUP88、ATP5D、PCBP2、ZNF593、HSU79274、PRIM1、PFDN5、OXA1L、H3F3A、ATIC、RPL13、CIAPIN1、FBL、RPS2、PCCB、RBMX、SHMT2、RPLP0、HNRPA1、STOML2、RPS9、SKB1、GLTSCR2、CCNB1IP1、MRPS2、FLJ20859、FLJ12270、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーPRPF8、RPL18、GOT2、RPL13A、RPS15、RPLP2、CSDA、KHDRBS1、SNRPA、IMPDH2、RPS19、NUP88、ATP5D、PCBP2、ZNF593、HSU79274、PRIM1、PFDN5、OXA1L、H3F3A、ATIC、CIAPIN1、RPS2、PCCB、SHMT2、RPLP0、HNRPA1、STOML2、SKB1、GLTSCR2、CCNB1IP1、MRPS2、FLJ20859、FLJ12270、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はメトトレキサートに対する化学感受性を示す。

40

【0920】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカー

ACTB, COL5A1, MTIE, CSDA,

COL4A2, MMP2, COL1A1, TNFRSF1A, CFHL1, TGFBI, FSCN1, NNMT, PLAUR, CSPG2, NFIL3, C5orf13, NCOR2, TUBB4, MYLK, TUB A3, PLAU, COL4A2, COL6A2, COL6A3, IFITM2, PSMB9, CSDA, COL1A1

、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカー
MSN, PFN1, HK1, ACTR2, MCL1, ZYX, RAPIB, GNB2,

EPAS1, PGAM1, CKAP4, DUSP1, MYL9, K-ALPHA-I, LGALS1, CSDA, AKR1B1, IFITM2, ITGA5, VIM, DPYSL3, JUNB, ITGA3, NFKBIA, LAMB1, FHL1, INSIG1, TIMP1, GJA1, PSME2, PRG1, EXT1, DKFZP434J154, OPTN, M6PRBP1, MVP, VASP, ARL7, NNMT, TAP1, COL1A1, BASP1, PLOD2, ATF3, PALM2-AKAP2, IL8, ANPEP, LOXL2, TGFBI, IL4R, DGKA, STC2, SEC61G, NFIL3, RGS3, NK4, F2R, TPM2, PSMB9, LOX, STC1, CSPG2, PTGER4, IL6, SMAD3, PLAU, WNT5A, BDNF, TNFRSF1A, FLNC, DKFZP564K0822, FLOT1, PTRF, HLA-B, COL6A2, MGC4083, TNFRSF10B, PLAGL1, PNM A2, TFPI, LAT, GZMB, CYR61, PLAUR, FSCN1, ERP70, AFIQ, UBC, FGFR1, HIC, BAX, COL4A2, COL6A1, IFITM3, MAPIB, FLJ46603, RAFTLIN, RRAS, FTL, KIAA0877, MTIE, CDC10, DOCK2, TRIM22, RIS1, BCAT1, PRF1, DBN1, MTK, TMSB10, RAB31, FLJ10350, Clorf24, NME7, TMEM22, TPK1, COL5A2, ELK3, CYLD, ADAMTS1, EHD2, ACTB

、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカー
PFN1,

HK1, MCL1, ZYX, RAPIB, GNB2, EPAS1, PGAM1, CKAP4, DUSP1, MYL9, K-ALPHA- 1, LGALS 1, CSDA, IFITM2, ITGA5, DPYSL3, JUNB, NFKBIA, LAMB1, FHL1, INSIG1, TIMP1, GJA1, PSME2, PRG1, EXT1, DKFZP434J154, MVP, VASP, ARL7, NNMT, TAP1, PLOD2, ATF3, PALM2- AKAP2, IL8, LOXL2, IL4R, DGKA, STC2, SEC61G, RGS3, F2R, TPM2, PSMB9, LOX, STC1, PTGER4, IL6, SMAD3, WNT5A, BDNF, TNFRSF1A, FLNC, DKFZP564K0822, FLOT1, PTRF, HLA-B, MGC4083, TNFRSF10B, PLAGL1, PNMA2, TFPI, LAT, GZMB, CYR61, PLAUR, FSCN1, ERP70, AFIQ, HIC, COL6A1, IFITM3, MAPIB, FLJ46603, RAFTLIN, RRAS, FTL, KIAA0877, MTIE, CDC10, DOCK2, TRIM22, RIS1, BCAT1, PRF1, DBN1, MTK, TMSB10, FLJ10350, Clorf24, NME7, TMEM22, TPK1, COL5A2, ELK3, CYLD, ADAMTS1, EHD2, ACTB

、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はプレオマイシンに対する化学感受性を示す。

【 0 9 2 1 】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーNOS2A、MUC1、TFF3、GP1BB、IGLL1、BATF、MYB、PTPRS、NEFL、AIP、CEL、DGKA、RUNX1、ACTR1A、CLCNKA、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカーPTMA、SSRP1、NUDC、CTSC、AP1G2、PSME2、LBR、EFNB2、SERPINA1、SSSCA1、EZH2、MYB、PRIM1、H2AFX、HMGA1、HMMR、TK2、WHSC1、DIAPH1、LAMB3、DPAGT1、UCK2、SERPINB1、MDN1、BRRN1、GOS2、RAC2、MGC21654、GTSE1、TACC3、PLEK2、PLAC8、HNRPD、PNAS-4、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーSSRP1、NUDC、CTSC、AP1G2、PSME2、LBR、EFNB2、SERPINA1、SSSCA1、EZH2、MYB、PRIM1、H2AFX、HMGA1、HMMR、TK2、WHSC1、DIAPH1、LAMB3、DPAGT1、UCK2、SERPINB1、MDN1、BRRN1、GOS2、RAC2、MGC21654、GTSE1、TACC3、PLEK2、PLAC8、HNRPD、PNAS-4、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はメチル-GAGに対する化学感受性を示す。

【 0 9 2 2 】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーMSN、ITGA5、VIM、TNFAIP3、CSPG2、WNT5A、FOXF2、LOC94105、IFI16、LRRN3、FGFR1、DOCK10、LEPRE1、COL5A2、ADAMTS1、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカーITGA5、TNFAIP3、WNT5A、FOXF2、LOC94105、IFI16、LRRN3、DOCK10、LEPRE1、COL5A2、ADAMTS1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はカル

10

20

30

40

50

ポプラチンに対する化学感受性を示す。

【 0 9 2 3 】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーRPL18、RPL10A、RNPS1、ANAPC5、EEF1B2、RPL13A、RPS15、AKAP1、NDUFAB1、APRT、ZNF593、MRP63、IL6R、RPL13、SART3、RPS6、UCK2、RPL3、RPL17、RPS2、PCCB、TOMM20、SHMT2、RPLP0、GTF3A、STOML2、DKFZp564J157、MRPS2、ALG5、CALML4、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくは、バイオマーカーRPL18、RPL10A、ANAPC5、EEF1B2、RPL13A、RPS15、AKAP1、NDUFAB1、APRT、ZNF593、MRP63、IL6R、SART3、UCK2、RPL17、RPS2、PCCB、TOMM20、SHMT2、RPLP0、GTF3A、STOML2、DKFZp564J157、MRPS2、ALG5、CALML4、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数
10
数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現は5-FU(5-フルオロウラシル)に対する化学感受性を示す。

【 0 9 2 4 】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカー
ITK, KIFC1, VLDLR, RUNX1, PAFAH

1B3, HIFX, RNF144, TMSNB, CRY1, MAZ, SLA, SRF, UMPS, CD3Z, PRKCQ, HNRPM, ZAP70, ADD1, RFC5, TM4SF2, PFN2, BMIL, TUBGCP3, ATP6V1B2, RALY, PSMC5, CDID, ADA, CD99, CD2, CNP, ERG, MYL6, CD3E, CDIA, CDIB, STMN1, PSMC3, RPS4Y1, AKT1, TALI, GNA15, UBE2A, TCF12, UBE2S, CCND3, PAX6, MDK, CAPG, RAG2, ACTN1, GSTM2, SATB1, NASP, IGFBP2, CDH2, CRABP1, DBN1, CTNNA1, AKRIC1, CACNB3, FARSLA, CASP2, CASP2, E2F4, LCP2, CASP6, MYB, SFRS6, GLRB, NDN, CPSF1, GNAQ, TUSC3, GNAQ, JARID2, OCRL, FHL1, EZH2, SMOX, SLC4A2, UFDIL, SEPW1, ZNF32, HTATSF1, SHD1, PTOV1, NXF1, FYB, TRIM28, BC008967, TRB@, TFRC, HIFO, CD3D, CD3G, CENPB, ALDH2, ANXA1, H2AFX, CDIE, DDX5, ABL1, CCNA2, ENO2, SNRPB, GATA3, RRM2, GLUL, TCF7, FGFR1, SOX4, MAL, NUCB2, SMA3, FAT, UNG, ARHGDIB, RUNX1, MPHOSPH6, DCTN1, SH3GL3, VIM, PLEKHCl, CD47, POLR2F, RHOH, ADD1, ATP2A3

、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカー

ITK, KIFC1, VLDLR, RUNX1, PAF AHI B3, HIFX, RNF144, TMSNB, CRY1, MAZ, SLA, SRF, UMPS, CD3Z, PRKCQ, HNRPM, ZAP70, ADD1, RFC5, TM4SF2, PFN2, BMIL, TUBGCP3, ATP6V1B2, RALY, PSMC5, CDID, ADA, CD99, CD2, CNP, ERG, MYL6, CD3E, CDIA, CDIB, STMN1, PSMC3, RPS4Y1, AKT1, TALI, GNA15, UBE2A, TCF12, UBE2S, CCND3, PAX6, MDK, CAPG, RAG2, ACTN1, GSTM2, SATB1, NASP, IGFBP2, CDH2, CRABP1, DBN1, CTNNA1, AKRIC1, CACNB3, FARSLA, CASP2, CASP2, E2F4, LCP2, CASP6, MYB, SFRS6, GLRB, NDN, CPSF1, GNAQ, TUSC3, GNAQ, JARID2, OCRL, FHL1, EZH2, SMOX, SLC4A2, UFDIL, SEPW1, ZNF32, HTATSF1, SHD1, PTOV1, NXF1, FYB, TRIM28, BC008967, TRB@, TFRC, HIFO, CD3D, CD3G, CENPB, ALDH2, ANXA1, H2AFX, CDIE, DDX5, ABL1, CCNA2, ENO2, SNRPB, GATA3, RRM2, GLUL, TCF7, FGFR1, SOX4, MAL, NUCB2, SMA3, FAT, UNG, ARHGDIB, RUNX1, MPHOSPH6, DCTN1, SH3GL3, VIM, PLEKHCl, CD47, POLR2F, RHOH, ADD1, ATP2A3

、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカー

10

20

30

40

KIFC1, VLDLR, RUNX1, PAFAH 1 B3,
 HIFX, RNF 144, TMSNB, CRY1, MAZ, SLA, SRF, UMPS, CD3Z, PRKCQ, HNRPM, ZAP70, ADD1, RFC5,
 TM4SF2, PFN2, BMII, TUBGCP3, ATP6V1B2, CDID, ADA, CD99, CD2, CNP, ERG, CD3E, CD1A, PSMC3,
 RPS4Y1, AKT1, TALI, UBE2A, TCF12, UBE2S, CCND3, PAX6, RAG2, GSTM2, SATB1, NASP, IGFBP2,
 CDH2, CRABP1, DBN1, AKR1C1, CACNB3, CASP2, CASP2, LCP2, CASP6, MYB, SFRS6, GLRB, NDN,
 GNAQ, TUSC3, GNAQ, JARID2, OCRL, FHL1, EZH2, SMOX, SLC4A2, UFDIL, ZNF32, HTATSF1, SHD1,
 PTOV1, NXF1, FYB, TRIM28, BC008967, TRB@, HIFO, CD3D, CD3G, CENPB, ALDH2, ANXA1, H2AFX,
 CDIE, DDX5, CCNA2, ENO2, SNRPB, GATA3, RRM2, GLUL, S0X4, MAL, UNG, ARHGDIB, RUNX1,
 MPHOSPH6, DCTN1, SH3GL3, PLEKHC1, CD47, P0LR2F, RHOH, ADD1

10

またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はリツキシマブ(例えば、MABTHERA(商標))に対する化学感受性を示す。

【 0 9 2 5 】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカー
 CCL21, ANXA2, SCARB2, MAD2L1BP,

CAST, PTS, NBL1, ANXA2, CD151, TRAM2, HLA-A, CRIP2, UGCG, PRSS1 1, MME, CBRI, LGALS1,
 DUSP3, PFN2, MICA, FTH1, RHOC, ZAP 128, P0N2, COL5A2, CST3, MCAM, IGFBP3, MMP2, GALIG,
 CTSD, ALDH3A1, CSRP1, S100A4, CALD1, CTGF, CAPG, HLA-A, ACTN1, TAGLN, FSTL1, SCTR,
 BLVRA, COPEB, DIPA, SMARCD3, FN1, CTSL, CD63, DUSP1, CKAP4, MVP, PEA15, S100A1 3, ECE1

20

、またはこれらの組み合わせ、好ましくはバイオマーカー
 TRA1, ACTN4, WARS, CALM1, CD63, CD81, FKBPIA, CALU,

IQGAP1, CTSB, MGC8721, STAT1, TACC1, TM4SF8, CD59, CKAP4, DUSP1, RCN1, MGC8902, LGALS1,
 BHLHB2, RRBPI, PKM2, PRNP, PPP2CB, CNN3, ANXA2, IER3, JAK1, MARCKS, LUM, FER1 L3,
 SLC20A1, EIF4G3, HEXB, EXT1, TJPI, CTSL, SLC39A6, RI0K3, CRK, NNMT, COL1A1, TRAM2, ADAM9,
 DNAJC7, PLSCR1, PRSS23, PLOD2, NPC1, TOB1, GFPT1, IL8, DYRK2, PYGL, LOXL2, KIAA0355,
 UGDH, NFIL3, PURA, ULK2, CENTG2, NID2, CAP350, CXCL1, BTN3A3, IL6, WNT5A, F0XF2, LPHN2,
 CDH1 1, P4HA1, GRP58, ACTN1, CAPN2, DSIPI, MAP1LC3B, GALIG, IGSF4, IRS2, ATP2A2, OGT,
 TNFRSF10B, KIAA1 128, TM4SF1, RBPMS, RIPK2, CBLB, NR1 D2, BTN3A2, SLC7A1 1, MPZL1, IGFBP3,
 SS A2, FN15 NQO1, ASPH, ASAH1, MGLL, SERPINB6, HSPA5, ZFP36L1, COL4A2, COL4A1, CD44,
 SLC39A14, NIPA2, FKBP9, IL6ST, DKFZP564G2022, PPAP2B, MAPIB, MAPK1, MYO1B, CAST, RRAS2,
 QKI, LHFPL2, 38970, ARHE, KIAA1078, FTL, KIAA0877, PLCB1, KIAA0802, KPNB1, RAB3GAP,
 SERPINB1, TIMM 17A, SOD2, HLA-A, NOMO2, LOC55831, PHLDA1, TMEM2, MLPH, FAD104, LRRC5,
 RAB7L1, FLJ35036, DOCK10, LRP12, TXNDC5, CDC14B, HRMTIL1, CORO1C, DNAJC10, TNPO1, LONP,
 AMIGO2, DNAPTP6, ADAMTS1

30

、またはこれらの組み合わせ、および最も好ましくはバイオマーカー

40

TRA1, ACTN4,
 CALM1, CD63, FKBPIA, CALU, IQGAP1, MGC8721, STAT1, TACCl, TM4SF8, CD59, CKAP4, DUSP1,
 RCN1, MGC8902, LGALS1, BHLHB2, RRBPI, PRNP, IER3, MARCKS, LUM, FER1L3, SLC20A1, HEXB,
 EXT1, TJPI, CTSL, SLC39A6, RIOK3, CRK, NNMT, TRAM2, ADAM9, DNAJC7, PLSCR1, PRSS23, PL0D2,
 NPC1, TOB1, GFPT1, IL8, PYGL, L0XL2, KIAA0355, UGDH, PURA, ULK2, CENTG2, NID2, CAP350,
 CXCL1, BTN3A3, IL6, WNT5A, F0XF2, LPHN2, CDH11, P4HA1, GRP58, DSIPI, MAP1LC3B, GALIG,
 IGSF4, IRS2, ATP2A2, OGT, TNFRSF10B, KIAA1128, TM4SF1, RBPMS, RIPK2, CBLB, NR1D2, SLC7A1
 1, MPZL1, SSA2, NQO1, ASPH, ASAH1, MGLL, SERPINB6, HSPA5, ZFP36L1, C0L4A1, CD44, SLC39A14,
 NIPA2, FKBP9, IL6ST, DKFZP564G2022, PPAP2B, MAP1B, MAPK1, MYO1B, CAST, RRAS2, QKI,
 LHFPL2, 38970, ARHE, KIAA1078, FTL, KIAA0877, PLCB1, KIAA0802, RAB3GAP, SERPINB1,
 TIMM17A, S0D2, HLA-A, N0M02, LOC55831, PHLDA1, TMEM2, MLPH, FAD104, LRRC5, RAB7L1,
 FLJ35036, DOCK10, LRP12, TXNDC5, CDC14B, HRMTIL1, CORO1C, DNAJC10, TNPO1, LONP, AMIG02,
 DNAPTP6, ADAMTS 1

10

、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現は放射線療法に対する感受性を示す。

【0926】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーFAU、NOL5A、ANP32A、ARHGD1B、LBR、FABP5、ITM2A、SFRS5、IQGAP2、SLC7A6、SLA、IL2RG、MFNG、GPSM3、PIM2、EVER1、LRMP、ICAM2、RIMS3、FMNL1、MYB、PTPN7、LCK、CXorf9、RHOH、ZNFN1A1、CENTB1、LCP2、DBT、CEP1、IL6R、VAV1、MAP4K1、CD28、PTP4A3、CD3G、LTB、USP34、NVL、CD8B1、SFRS6、LCP15、CXCR4、PSCDBP、SELPLG、CD3Z、PRKCQ、CD1A、GATA2、P2RX5、LAIR1、C1orf38、SH2D1A、TRB@、SEPT6、HA-I、DOCK2、WBSCR20C、CD3D、RNASE6、SFRS7、WBSCR20A、NUP210、CD6、HNRPA1、AIF1、CYFIP2、GLTSCR2、C11orf2、ARHGAP15、BIN2、SH3TC1、STAG3、TM6SF1、C15orf25、FLJ22457、PACAP、MGC2744、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

20

数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現はHDAC阻害剤に対する感受性を示す。

【0927】

1つの態様において、膜小胞のバイオマーカーCD99、SNRPA、CUGBP2、STAT5A、SLA、IL2RG、GTSE1、MYB、PTPN7、CXorf9、RHOH、ZNFN1A1、CENTB1、LCP2、HIST1H4C、CCR7、APOBEC3B、MCM7、LCP1、SELPLG、CD3Z、PRKCQ、GZMB、SCN3A、LAIR1、SH2D1A、SEPT6、CG018、CD3D、C18orf10、PRF1、AIF1、MCM5、LPXN、C22orf18、ARHGAP15、LEF1、またはこれらの組み合わせのうち1つまたは複数

30

数が評価され、1種または複数種のバイオマーカーの発現は5-Aza-2'-デオキシシチジン(デシタビン)に対する感受性を示す。

【0928】

本発明の方法によって評価することができる治療剤の例には、以下の米国特許出願(公開番号によって参照される):US20090246199;US20110117079;US20100196385;US20070231325、US20100221212、US20100303812、US20090203639、US20090034308、US20070213266、US20110165162、US20100119526、US20100129356、US20080014196、US201000316637、US20080187532、US20080175847;または国際公開公報第2010/032060号、発明の名称「ANTIBODIES DIRECTED TO DLL4 AND USES THEREOF」に開示される治療剤が含まれる。これらの開示はそれぞれその全体が参照により本明細書に組み入れられる。例えば、本明細書において開示された1種または複数種のバイオマーカーを含むバイオシグネチャーを決定するために、標的対象からの生物学的試料がアッセイされる。ここで、標的対象には1種または複数種の治療剤が投与されるか、または投与されてもよい。このような例において、このバイオシグネチャーは参照試料(異なる個体に由来してもよく、同じ試験対象に由来してもよい)と比較された時に、試験対象が特定の治療剤に応答している/応答していない、または応答する/応答しない可能性があることを臨床家に示す読み取り値となる。治療的処置は、DLL4に直接的または間接的に結合する剤でもよい。例えば、治療剤は、腫瘍血管形成に

40

50

おけるDLL4の役割をブロックする剤でもよい。一部の態様において、治療的処置は、抗DLL4抗体もしくはそのフラグメント、抗DLL4抗体薬物結合体、DLL4に対する癌ワクチン、DLL4に結合するペプチドもしくは核酸、DLL4の可溶性フラグメント、または抗VEGF療法、例えば、ベバシズマブを含む。治療剤は、DLL4/Notchシグナル伝達経路および/またはVEGF経路を乱す剤でもよい。例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられるLi et al., Cancer Res. 2007 Dec 1;67(23):11244-53を参照されたい。

【0929】

1種または複数種のバイオマーカーの検出に基づく治療選択はまた、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2008138578号にも開示される。

【0930】

心血管

小胞の評価は、心血管の病態、障害または疾患のセラノースに使用することができる。心血管の病態は、慢性リウマチ性心疾患、高血圧性疾患、虚血性心疾患、肺循環器疾患、心疾患、脳血管疾患、動脈、細動脈および毛細血管の疾患ならびに静脈およびリンパ管の疾患を含むが、それらに限定されない。慢性リウマチ性心疾患は、僧帽弁の疾患、大動脈弁の疾患、僧帽弁および大動脈弁の疾患ならびに他の心内膜構造の疾患を含むが、これらに限定されない。高血圧性疾患は、本態性高血圧症、悪性高血圧症、良性高血圧症、不特定の高血圧症、高血圧性心疾患、高血圧性腎疾患、腎不全を伴う不特定の高血圧性腎疾患、高血圧性心腎疾患、腎血管性悪性高血圧症および腎血管性良性高血圧症を含むが、これらに限定されない。虚血性心疾患は、急性心筋梗塞、心筋梗塞、急性前外側壁心筋梗塞、急性前側壁心筋梗塞、急性下外側壁心筋梗塞、急性下後側壁心筋梗塞、他の下側壁の急性心筋梗塞、他の側壁の急性心筋梗塞、急性真後方壁心筋梗塞、急性心内膜心筋梗塞、急性スベック心筋梗塞、不特定の急性心筋梗塞後症候群、中間冠症候群、陳旧性心筋梗塞、狭心症、安静狭心症、プリンツメタル狭心症、冠状動脈硬化症、心臓の動脈瘤および解離、心臓壁動脈瘤、冠状血管動脈瘤、冠状動脈解離および不特定の慢性虚血性心疾患を含むが、これらに限定されない。

【0931】

肺循環器疾患は、肺循環の疾患、急性肺性心疾患、非医原性肺塞栓症、慢性肺性心疾患および不特定の慢性肺性心疾患を含むが、これらに限定されない。心疾患は、急性心膜炎、他の不特定の急性心膜炎、急性非特異性心膜炎、急性および亜急性心内膜炎、急性細菌性心内膜炎、急性心筋炎、他の不特定の急性心筋炎、特発性心筋炎、心膜の他の疾患、心内膜の他の疾患、弁膜障害、僧帽弁の弁膜障害、大動脈の弁膜障害、三尖弁の弁膜障害、肺心筋症、閉塞性肥大型心筋症、伝導障害、房室ブロック、第三度房室ブロック、第一度房室ブロック、モービッツII房室ブロック、ウェンケバッハの脚ブロック、左脚ブロック、右洞房ブロック、房室興奮、異常なウォルフパーキンソンホワイト症候群、心臓不整脈、頻脈、発作性上室性、心房細動および粗動、心房細動、心房粗動、心室細動および粗動、心室細動、心停止、早期収縮、他の特定された心臓不整脈、洞不全症候群、洞性徐脈、不特定の不整脈、ギャロップリズム、心不全、うっ血性心不全、急性肺水腫、不特定の収縮期心不全、急性収縮期心不全、慢性収縮期心不全、不特定の拡張期心不全、慢性拡張期心不全、不特定の複合心不全および心肥大を含むが、これらに限定されない。

【0932】

脳血管疾患は、くも膜下出血、脳内出血、他の不特定の頭蓋内出血、頭蓋内出血、脳前動脈の閉塞および狭窄、脳底動脈の閉塞および狭窄、頸動脈の閉塞および狭窄、椎骨動脈の閉塞および狭窄、脳動脈の閉塞、脳血栓症、脳梗塞を伴わない脳血栓症、脳梗塞を伴う脳血栓症、脳塞栓症、脳梗塞を伴わない脳塞栓症、脳梗塞を伴う脳塞栓症、一過性脳虚血、脳底動脈症候群、椎骨動脈症候群、鎖骨下盗血症候群、椎骨脳底動脈症候群、一過性脳虚血発作、不明確な急性脳血管疾患、不明確な脳血管疾患、脳動脈硬化症、他の汎発性虚血性脳血管疾患、高血圧性脳症、非破裂脳動脈瘤、脳動脈炎、もやもや病、頭蓋内静脈洞の非化膿性血栓症、一過性全健忘症、脳血管疾患の遅発効果、認知障害、言語障害、不特定の言語障害、失語症、嚥下障害、他の言語障害、片麻痺／麻痺、不特定側に影響を与え

10

20

30

40

50

る片麻痺、優位側に影響を与える片麻痺、非優位側に影響を与える片麻痺、上肢の単麻痺、下肢の単麻痺、他の麻痺性症候群、脳血管疾患の他の遅発効果、失行脳血管疾患、嚥下障害脳血管疾患、顔面の脱力、運動失調およびめまいを含むが、これらに限定されない。

【0933】

動脈、細動脈および毛細血管の疾患は、アテローム性動脈硬化症、腎動脈のアテローム性動脈硬化症、四肢の先天性動脈のアテローム性動脈硬化症、間欠性跛行、潰瘍形成を伴わない四肢のアテローム性動脈硬化症、心臓／脳ではないアテローム性動脈硬化症、大動脈瘤、大動脈解離、腹部破裂大動脈瘤、腹部非破裂大動脈瘤、不特定の大動脈瘤、他の動脈瘤、他の末梢血管疾患、レイノー症候群、閉塞性血栓血管炎、他の動脈解離、頸動脈解離、腸骨動脈解離、腎動脈解離、椎骨動脈解離、他の動脈の解離、先端紅痛症、不特定の末梢血管疾患、動脈塞栓症および血栓症、結節性多発動脈炎および関連症、結節性多発動脈炎、川崎病／急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群、過敏性血管炎、グッドパスチャー症候群、致死性正中肉芽腫、ウェゲナー肉芽腫症、巨細胞性動脈炎、血栓性微小血管症、高安病、動脈および細動脈の他の障害、後天性動静脈瘻、不特定の動脈炎、血管炎および血管の非新生物性母斑を含むが、これらに限定されない。

【0934】

静脈およびリンパ管の疾患は、静脈炎および血栓性静脈炎、大腿深部静脈血栓症、他の脚部静脈の深部静脈血栓症、他の部位の静脈炎、上肢の表在静脈、不特定の血栓性静脈炎、門脈血栓症、他の静脈塞栓症および血栓症、不特定の深部静脈血栓症、近位深部静脈血栓症、遠位深部静脈血栓症、不特定の静脈塞栓症、下肢静脈瘤、潰瘍を伴わない静脈瘤、炎症を伴わない静脈瘤、潰瘍を伴わない静脈瘤、炎症、無徴候性静脈瘤、痔、合併症を伴わない内部の痔、合併症を伴わない外部の痔、外部血栓を伴う痔、痔、他の部位の静脈瘤、出血を伴わない食道静脈瘤、出血を伴わない食道静脈瘤、精索静脈瘤、リンパ管の非感染性障害、乳房切除術後のリンパ浮腫症候群、低血圧症、起立性低血圧症、医原性低血圧症、循環器系の他の疾患、循環器系の他の特定された障害および不特定の静脈不全を含むが、これらに限定されない。

【0935】

心臓病態の他の例は、非限定的に、冠動脈閉塞（たとえば、脂質／コレステロール沈着、マクロファージ／炎症細胞動員、プラーク破裂、血栓症、血小板沈着または新生内膜増殖から生じる、またはそれと関連する）、虚血性症候群（たとえば、心筋梗塞、安定狭心症、不安定狭心症、冠動脈狭窄または再かん流傷害から生じる、またはそれと関連する）、心筋症（たとえば、虚血症候群、心臓毒性、感染症、高血圧症、代謝性疾患（たとえば尿毒症、脚気またはグリコーゲン貯蔵病）、放射線、神経筋疾患、浸潤性疾患（たとえばサルコイドーシス、ヘモクロマトーシス、アミロイドーシス、ファブリー病またはハーラー症候群）、外傷または特発的原因から生じる、またはそれと関連する）、不整脈または律動異常（たとえば、虚血症候群、心臓毒、アドリアマイシン、感染症、高血圧症、代謝性疾患、放射線、神経筋疾患、浸潤性疾患、外傷または特発性原因から生じる、またはそれと関連する）、感染症（たとえば、細菌、ウイルス、真菌または寄生虫のような病原体によって生じる）および炎症性疾患（たとえば、心筋炎、心膜炎、心内膜炎、免疫心拒絶反応または特発性、自己免疫または接統組織疾患の一つから生じる炎症病態と関連する）を含む。

【0936】

心血管：バイオシグネチャー

小胞のバイオシグネチャーを評価して、対象に対するセラノーシスを提供することができる。小胞のバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に本明細書に記載された一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に図24に記載されたバイオマーカー、miR-21、miR-129、miR-212、miR-214、miR-134および米国特許公開公報第2010/0010073号に記載されているような他のバイオマーカーを含むことができる。

【0937】

心 血 管 : 標 準 治 療

心臓の病態、障害または疾患を患う対象由来の試料の小胞のバイオシグネチャー、小胞の量または両方の決定を使用して、その対象に対する標準治療を選択することができる。標準治療は、治療剤または処置（たとえば血管形成術）を含むことができる。治療剤の例は、非限定的に、血管新生促進剤（たとえば血管内皮細胞増殖因子、一酸化窒素放出または生成剤、線維芽細胞増殖因子、血小板由来成長因子、インターロイキン6、単球走化性タンパク質1、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、形質転換成長因子 β ）、抗血栓剤（たとえばアスピリン、ヘパリン、PPACK、エノキサプリン、ヒルジン）、抗凝固薬、抗生物質、抗血小板剤、血栓溶解剤（たとえば組織プラスミノゲン活性化剤）、抗増殖剤、抗炎症剤、過形成を阻害する剤、再狭窄を抑制する剤、平滑筋細胞阻害剤、増殖因子、増殖因子阻害剤、細胞接着阻害剤、化学療法剤およびそれらの任意の組み合わせを含む。

10

【 0 9 3 8 】

たとえば、小胞からの一つまたは複数のマイクロRNAバイオマーカー、たとえばmiR-21、miR-129、miR-212、miR-214、miR-134またはそれらの組み合わせの検出を使用して、心肥大および／または心不全を特徴決定することができ、それが心肥大に対するセラノーシスを提供する。セラノーシスは、血管新生促進剤を投与するような治療法を選択することを含むことができる。治療の他の例は、表15に記載されるような、血中の異常なコレステロールおよび／またはトリグリセリドレベルを治療するためのものを含む。

【 0 9 3 9 】

20

（表 1 5）心 血 管 病 態 の 治 療 の た め の 薬 物 の ク ラ ス の 例

クラス	作用機序	例
スタチン類	HMG-CoAレダクターゼの競争的阻害剤	アトルバスタチン、シムバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、ロスバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、セリバスタチン (市場撤退)
フィブラート類	PPAR- α 活性化剤	フェノフィブラート、ベザフィブラート、ゲムフィプロジル、クロフィブラート、シプロフィブラート
コレステロール吸収阻害剤	腸内でNCP1L1を阻害することができる。	エゼチミブ
ニコチン酸誘導体	コレステロールおよびトリグリセリド合成を阻害する。正確な機序は不明。	ナイアシン
胆汁酸封鎖剤	胆汁酸の腸肝循環を妨害する。	コレセベラム、コレスチルアミン、コレスチミド、コレスチポール
コレステリルエステル転送タンパク質阻害剤	アテローム産生抑制性HDLからアテローム生成促進性アポリポタンパク質B含有リポタンパク質へのコレステリルエステルの交換を媒介する血漿タンパク質であるコレステリルエステル転送タンパク質を阻害する。	JTT-705, CETi-1, トルセトラピブ
逆脂質輸送経路活性化剤	過剰なコレステロールおよび他の脂質を動脈および他の組織の壁から除去する4ステッププロセス形態である逆脂質輸送を刺激する。	ETC-216, ETC-588, ETC-642, ETC-1001, ESP-1552, ESP-24232
抗酸化剤／血管保護剤	血管炎症を阻害し、コレステロールレベルを低下させる。血管細胞接着分子 (VCAM) -1をオンに切り替えるオキシダントシグナルをブロックする。	AGI-1067、プロブコール (市場撤退)
アシルCoAコレステロールアシル転移酵素 (ACAT) 阻害剤	コレステロールエステル化を触媒し、細胞内遊離コレステロールを調節し、コレステロール吸収およびVLDLのアセンブルを促進するACATを阻害する。	エフルシミベ、パクチミベ、アバシミベ (市場撤退) SMP-797
ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体アンタゴニスト	多様な遺伝子調節機能を有するPPAR、たとえばPPAR- α 、 γ およびおそらくは δ を活性化する。	テサグリタザル, GW-50516, GW-590735, LY-929, LY-518674, LY-465608, LY-818
ミクロソームトリグリセリド転送タンパク質 (MTTP) 阻害剤	トリグリセリド、コレステリルエステルおよびホスファチジルコリンの膜間輸送を触媒するMTTPを阻害する。ApoBの合成に必要。	イムブリタピド, CP-346086
スクアレンシンターゼ阻害剤	肝臓酵素の作用を停止させることによってコレステロール合成に干渉する。アテローム硬化性プラーク形成に寄与するいくつかの細胞型の増殖を減速または停止させることもできる	TAK-475, ER-119884
リポタンパク質リパーゼ活性化剤	リポタンパク質の脂肪部分の分解を促進するリポタンパク質リパーゼを直接活性化する。	イブロリピム (NO-1886)
リポタンパク質 (a)アンタゴニスト	まだ立証されず	ゲムバセン
胆汁酸再吸収阻害剤	胆汁酸の腸管上皮吸収を阻害する。	AZD-7806, BARI-1453, S-8921

【0940】

一つの態様において、末梢動脈疾患を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にC反応性タンパク質 (CRP)、血清アミロイドA (SAA)、インターロイキン6、細胞内接着分子 (ICAM)、血管接着分子 (VCA M)、CD40L、フィブリノーゲン、フィブリンDダイマー、フィブリノペプチドA、ヴォン・

10

20

30

40

50

ヴィレブランド因子、組織プラスミノゲンアクチベータ抗原（t-PA）、第VII因子、プロトロンビンフラグメント1、酸化低密度リポタンパク質（oxLDL）およびリポタンパク質Aを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にアトルバスタチン、シムバスタチン、ロスバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチンまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0941】

もう一つの態様において、不整脈を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にSERCA、AAP、コネキシン40、コネキシン43、ATP感受性カリウムチャンネル、Kv1.5チャンネルおよびアセチルコリン活性化カリウムチャンネルを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にジソピラミド、フレカイニド、リドカイン、メキシレチン、モリシジン、プロカインアミド、プロパフェノン、キニジン、トカイニド、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ビソプロロール、カルベジロール、エスモロール、メトプロロール、ナドロール、プロプラノロール、ソタロール、チモロール、アミオダロン、アジミリド、ベプリジル、ドフェチリド、イブチリド、テジサミル、ジルチアゼム、ベラパミル、アジミリド、ドロネダロン、アミオダロン、PM101、ATI-2042、テジサミル、ニフェカラン、アンバリシリド、エルセンチリド、トレセチリド、アルモカラン、Dソタロール、BRL-32872、HMR1556、L768673、ベルナカラン、AZD70009、AVE0118、S9947、NIP-141/142、XEN-D0101/2、ラノラジン、ビルジカイニド、JTV519、ロチガブチド、GAP-134またはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0942】

もう一つの態様において、凝血異常を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にF1.2、TAT、FPA、 β トロンボグロブリン、血小板因子4、可溶性Pセレクトイン、IL-6およびCRPを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にアスピリン、抗凝固剤、キシメラガトラン、ヘパリン、ワーファリンまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0943】

もう一つの態様において、早発性アテローム性動脈硬化症を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にCRP、NF- κ B、IL-1、IL-6、IL-18、Apo-B、Lp-PLA2、フィブリノーゲン、HcyおよびHcyチオラクソンを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療に関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0944】

さらに別の態様において、高血圧症を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に脳ナトリウム排泄増加ペプチドおよびN末端プロホルモンBNPを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療に関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0945】

もう一つの態様において、心血管疾患を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にACE阻害剤またはアンギオテンシンを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にリシノプリル、カンデサルタン、エナラプリルまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0946】

このように、対象の小胞のバイオシグネチャーに基づき、心臓学関連の病態または心血管病態を患う対象に対する治療を選択することができる。

【0947】

自己免疫

小胞の評価は、自己免疫病態、障害または疾患のセラノーシスに使用することができる。自己免疫病態とは、哺乳動物の免疫系が自らの組織に対して反応し始める病態である。そのような病態は、非限定的に、全身性エリテマトーデス（SLE）、円板状ループス、ループス腎炎、サルコイドーシス、若年性関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎、ライター症候群、強直性脊椎炎および痛風性関節炎を含む炎症性関節炎、多発性硬化症、高IgE症候群、結節性多発動脈炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、クローン病、セリアック病（グルテン過敏性腸疾患）、自己免疫性肝炎、悪性貧血、自己免疫性溶血性貧血、乾癬、強皮症、重症筋無力症、自己免疫性血小板減少性紫斑病、自己免疫性甲状腺炎、グレーブス病、橋本甲状腺炎、免疫複合疾患、慢性疲労免疫機能障害症候群（CFIDS）、多発性筋炎および皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、血栓溶解、心筋症、尋常性天疱瘡、肺間質性線維症、喘息、チャグ・ストラウス症候群（アレルギー性肉芽腫症）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性および刺激性接触皮膚炎、蕁麻疹、IgE媒介アレルギー、アテローム性動脈硬化症、血管炎、特発性炎症性ミオパシー、溶血性疾患、アルツハイマー病、慢性炎症性脱髄性多発神経障害、シャーガス病、慢性閉塞性肺疾患、皮膚筋炎、I型糖尿病、子宮内膜症、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、ギラン・バレー症候群（gbs）、橋本病、化膿性汗腺炎、川崎病、iga腎症、特発性血小板減少性紫斑病、間質性膀胱炎、エリテマトーデスi、混合接続組織疾患、限局性強皮症、重症筋無力症、ナルコレプシー、神経性筋強直症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、乾癬、乾癬性関節炎、多発性筋炎、原発性胆汁性肝硬変、関節リウマチ、精神分裂病、強皮症、シェーグレン症候群、スティッフパーソン症候群、側頭動脈炎、潰瘍性大腸炎、血管炎、白斑、ウェゲナー肉芽腫症およびAIDを含む。

【0948】

自己免疫:バイオシグネチャー

小胞のバイオシグネチャーを評価して、対象に対するセラノーシスを提供することができる。小胞のバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に図1に記載された自己免疫疾患のバイオマーカーまたは図23、34、35、36、39、41、42および56に記載された他の自己免疫疾患のバイオマーカーを含むことができる。

【0949】

自己免疫:標準治療

自己免疫病態、障害または疾患を患う対象由来の試料の小胞のバイオシグネチャー、小胞の量または両方の決定を使用して、その対象に対する標準治療を選択することができる。大部分の自己免疫疾患は直接的にはまだ治療することができず、病態に関連する徴候にしたがって治療される。標準治療は、たとえば、コルチコステロイド薬、非ステロイド系抗炎症剤（NHE）またはより強力な免疫抑制薬、たとえば免疫応答を抑制し、疾患の進行を停止させるシクロホスファミド、メトトレキサートおよびアザチオプリンを処方することを含む。リンパ節の放射および血漿分離交換法（患部細胞および有害分子を血液循環から除去する処置）が、自己免疫疾患を治療する他の方法である。

【0950】

対象からの小胞のプロファイリングに基づいて選択することができる、自己免疫疾患を治療する際に使用するための薬物または剤の例は、糖尿病を患う対象に対する表16のもの、多発性硬化症を患う対象に対する表17のものを含む。

【0951】

（表16）糖尿病治療に対する薬物のクラスの例

クラス	作用機序	例
ペルオキシソーム増殖剤 活性化受容体 (PPAR) アゴニスト	標的PPAR- γ またはPPAR- γ および- α (以下を参照)。PPARは、グルコースおよび脂質代謝の調節を支援する核内受容体である。PPAR- γ の活性化はインスリン感受性を改善し、ひいては血糖コントロールを改善する。	ロシグリタゾン、 ピオグリタゾン、 バラグリタゾン。 本明細書中に記載される他のものも参照
二重作用 ペルオキシソーム増殖剤 活性化受容体 アゴニスト	PPAR- γ およびPPAR- α の両方に作用する。PPAR- α 活性化は、脂肪酸の細胞吸収およびその酸化、ならびにリポタンパク質代謝に影響を及ぼす。血管内皮細胞中の炎症反応を減らすように作用することもできる。	TAK-559、 ムラグリタザール、 テサグリタザール、 ネトグリタゾン。 本明細書中に記載される他のものも参照。
ビグアニド類	完全な機序は知られていない。グルコース-6-ホスファターゼを阻害することによって肝臓における糖新生を減らす。	メトホルミン、 メトホルミンGR
スルホニル尿素	膜脱分極およびインスリンエキソサイトーシスを生じさせる細胞受容体に結合することによってインスリン分泌を誘発する。	グリメプリド、グリブリド ／グリベンクラミド、 グリピジド、グリクラジド、 トブタミド
インスリン および インスリン アナログ (注射用、 吸入用、経口、 経皮、鼻腔内)	内在性インスリンを補足する。インスリンアナログは、多様なアミノ酸変化を有し、天然のインスリンに比べて変化した作用の発現および作用期間ならびに他の性質を有する。吸入されたインスリンは肺胞を通して吸収される。スプレー経口インスリンは頬粘膜および鼻粘膜を通して吸収される。経皮インスリンは皮膚を通して吸収される。	インスリンリスプロ、 インスリンアスパルト、 インスリングルルギン、 エクスベラ、AERxインスリン 糖尿病管理システム、HIM-2、 Oaralin、インスリンデテムル、 インスリングルリジン
メグリチニド類	非スルホニル尿素 β 細胞受容体に結合し、スルホニル尿素に類似した機序によってインスリン分泌を生じさせるように作用すると考えられる。	レバグリニド、 ナテグリニド、 ミチグリニド
α グルコシダーゼ 阻害剤	炭水化物消化を阻害する。腸管上皮の刷子縁で作用する。	アカルボース、 ミグリトール、 ボグリボース
グルカゴン様 ペプチド (GLP) 1 アナログ	糖尿病患者は天然のGLP-1を欠くことがあり、アナログが代用物として作用する。GLP-1は、グルコース依存性インスリン分泌を誘発し、胃の空化を制御し、食欲を抑制し、グルカゴンおよびソマトスタチンの分泌を調節する腸ペプチドホルモンである。	エキセナチド、 エキセナチドLAR、 リラグルチド、ZP10、 BN51077
ジペプチジル ペプチダーゼ (DPP) IV 阻害剤	GLP-1を切断し、不活性化する偏在的酵素であるDPP-IVを阻害する。したがって、DPP-IVの阻害はGLP-1活性を高める。	LAF-237, p-32/98, MK- 431, P3298, NVP LAF 237,
膵臓 リパーゼ 阻害剤	リパーゼを阻害し、ひいては食物脂肪の吸収を阻害する。これは、体重減を生じさせ、インスリン感受性を改善し、高血糖を低下させる。	オルリスタット

10

20

30

アミリン アナログ	腸からのグルコース吸収を減速させることによってインスリンとともに作用し、肝臓からの食後グルコース放出を減速させるアミリンを増加させるように作用する。	プラムリンチド
ドーパミン D2受容体 アゴニスト	代謝および免疫系の障害に寄与するおそれがある中枢神経内分泌活性の異常な日周変化を緩和するように作用すると考えられる。	プロモクリプチン
免疫抑制剤	I型およびおそらくはII型糖尿病に関連すると考えられる自己免疫反応を抑制する。 例：IL-2受容体の α サブユニットを認識し、阻害するヒト化モノクローナル抗体；T細胞CD3受容体に結合して、体を攻撃し、自己免疫疾患を生じさせるTエフェクタ細胞の機能を遮断するヒト化Mab	ダクリズマブ、NBI6024、 TRX-TolerRX、 OKT3- γ -1-ala-ala
インスリン様 成長因子1 アゴニスト	インスリン様成長因子1および結合タンパク質3の組み換えタンパク質複合体。標的組織へのソマトメジンの送達を調節する。膵島炎重症度および β 細胞破壊を減らす。	ソマトメジン1 結合タンパク質3
インスリン 感作物質	インスリン感作物質。一般に経口で活性。	S15261, デクスリボタム, CLX 0901, R 483, TAK 654
成長 ホルモン 放出因子 アゴニスト	天然GHRFの作用を模倣する。	TH9507, SOM 230
グルカゴン アンタゴニスト	グルカゴン作用を阻害して、インスリン産生および分泌を刺激し、より低い食後グルコースレベルを生じさせる。	リラグルチド, NN 2501
I型糖尿病 ワクチン	I型糖尿病において起こる膵臓 β 細胞の破壊を防ぐ。	Q-Vax, Damyd ワクチン
ナトリウム グルコース 共輸送体 阻害剤	グルコースの腎再吸収および腸吸収を媒介して適切な血糖値を維持するナトリウムグルコース共輸送体を選択的に阻害する。	T 1095
グリコーゲン ホスホリラーゼ 阻害剤	グリコーゲンホスホリラーゼを阻害して、それにより、グルコース放出を減速させる。	イングリフォリブ
機序不確定	たとえば血糖値およびトリグリセリドレベルを下げることによってI型糖尿病またはII型糖尿病を有するものに有益な方法で作用する、機序が解明されていない薬物。	FK 614, INGAP ペプチド, R 1439
アンチセンス オリゴ ヌクレオチド	RNAに結合し、その破壊を生じさせ、それにより、対応する遺伝子からのタンパク質産生を減らす。	ISIS 113715
インスリン アゴニスト	インスリン放出を刺激する。	CJC 1131
糖新生阻害剤	糖新生を阻害し、それにより、血糖値を調節する。	CS 917
ヒドロキシ ステロイド デヒドロゲナ ーゼ阻害剤	過剰な糖コルチコイド産生およびひいては内臓肥満の原因であるヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼを阻害する。	BVT 3498
β 3アドレナリン 受容体 アンタゴニスト	血糖値を下げ、体重増加を抑制する β 3アドレナリン受容体のアゴニスト。	YM 178, ソラベグロン, N5984,
一酸化窒素 アンタゴニスト	NOの影響を低下させる。	NOX 700
カルニチン パルミトイル トランスフェ ラーゼ阻害剤	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼを阻害する。	ST 1326

【0952】

(表17) 多発性硬化症治療に対する薬物のクラス

10

20

30

40

クラス	作用機序	例
組み換え インターフェロン	IFN β は免疫系に対して多くの効果を有する。 MSにおける正確な作用機序は知られてない	インターフェロン β 1b、 インターフェロン β 1a
変性 ペプチド リガンド	MSにおいて役割を演じる抗原であると考えられる、 ミエリン塩基性タンパク質の配列上で鋳型化されている、 または構造がミエリン塩基性タンパク質に似るランダムに 配列したアミノ酸（たとえばala、lys、glu、tyr）を含む リガンド。T細胞受容体に結合するが、抗原提示細胞に よって提示されないため、T細胞を活性化しない。	酢酸グラチラマー、 MBP-8298、 チプリモチド、AG-284
化学療法剤	免疫抑制性。MSは自己免疫疾患であると考えられ、 したがって、免疫を抑制する化学療法剤はMSを改善する。	ミトキサントロン、 メトトレキサート、 シクロホスファミド
免疫抑制剤	多様な機序を介して作用して免疫応答を弱める。	アザチオプリン、 テリフルノミド、 経口クラドリビン
コルチコ ステロイド	T細胞死を誘発し、脳血管の壁をライニングする内皮細胞中 の接着分子の発現を上方調節し、CNS炎症を軽減することが できる。	メチルプレドニゾロン
モノクローナル 抗体	MSを生じさせる自己免疫カスケードにおいて特異的標的に 結合する、たとえば活性化T細胞に結合する。	ナタリズマブ、ダクリズマブ、 アレムツズマブ、BMS- 188667、E-6040、リツキシマブ、 M1 MAbs、ABT 874、T- 0047
ケモカイン 受容体 アンタゴニスト	ケモカインが、多発性硬化症患者のCNSの中への免疫細胞の 誘引に関与する特異的ケモカイン受容体に結合することを 防ぎ、CNS中への免疫細胞移動を阻害する。	BX-471、MLN-3897、MLN- 1202
AMPA受容体 アンタゴニスト	AMAPA受容体は、MSにおいて過剰な量で放出される興奮性 神経伝達物質であるグルタミン酸に結合する。AMPAアンタ ゴニストは、グルタミン酸によって生じる損傷を抑制する。	E-2007
組み換え ヒトグリア 成長因子 (GGF)	GGFは、CNSのニューロンを有髄化する乏突起膠細胞の 促進および生存と関連する。rhGGFは、乏突起膠細胞を 有髄化し、髄鞘を保護するのに役立つことができる。	組み換えヒトGGF2
T細胞受容体 ワクチン	調節性T細胞を活性化して病原性T細胞を減らす、 髄鞘を攻撃するT細胞中の受容体の一部を模倣する。	NeuroVax
経口 免疫調節剤	MSのプロセスを調節することができる免疫応答に対する 様々な効果。	シムバスタチン、FTY-720、 経口酢酸グラチラマー、 FTY-720、ピルフェニドン、 ラキニモド

【0953】

一つの態様においては、小胞からのmiR-326の検出を使用して多発性硬化症を特徴決定
することができ、表17から選択される一つまたは複数の治療をその対象のために選択す
ることができる。もう一つの態様において、セラノーシスは、インターフェロン β 1bおよび
インターフェロン β 1aのような治療法を選択することを含むことができる。

【0954】

もう一つの態様において、関節リウマチを患う対象に対する治療を選択することができ
る。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に677CC/1298AA MTHFR、677CT/
1298AC MTHFR、677CT MTHFR、G80AA RFC-1、3435TT MDR1 (ABCB1)、3435TT ABCB1、AMPD
1/AT1C/ITPA、IL1-RN3、HLA-DRB103、CRP、HLA-D4、HLA DRB-1、抗シトルリンエпитープ
含有ペプチド、抗A1/RA33、血沈 (ESR)、C反応性タンパク質 (CRP)、SAA (血清アミロ
イド関連タンパク質)、リウマチ因子、IL-1、TNF、IL-6、IL-8、IL-1Ra、ヒアルロン酸
、アグレカン、Glc-Gal-PYD、オステオプロテゲリン、RNAKL、軟骨オリゴマー基質タンパ
ク質 (COMP) およびカルプロテクチンを対象からの小胞から評価することができる。一つ
または複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば
非限定的にメトトレキサート、インフリキシマブ、アダリムマブ、エタネルセプト、スル
ファサラジンまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定する

10

20

30

40

50

ことができる。

【0955】

このように、対象の小胞のバイオシグネチャーに基づき、自己免疫疾患の病態を患う対象に対する治療を選択することができる。

【0956】

感染症

小胞の評価は、感染症、たとえば細菌、ウイルスまたは他の感染性病態もしくは疾患のセラノースに使用することができる。感染性または寄生虫性疾患は、細菌、ウイルス、真菌または他の寄生虫感染から生じることができる。たとえば、疾患または病態は、ウィップル病、プリオン病、肝硬変、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、HIV、肝炎、梅毒、髄膜炎、マラリア、結核またはインフルエンザであることができる。

10

【0957】

感染性または寄生虫性疾患は、腸管感染症、結核、人畜共通細菌性疾患、他の細菌性疾患、ヒト免疫不全ウイルスhiv感染、ポリオおよび他の非節足動物媒介性の中枢神経系のウイルス性疾患、発疹を伴うウイルス性疾患、節足動物媒介性ウイルス性疾患、ウイルスおよびクラミジアによる他の疾患、リケッチア症および他の節足動物媒介性疾患、梅毒および他の性病、他のスピロヘータ疾患、真菌症、寄生虫症、他の感染性および寄生虫性疾患ならびに感染性および寄生虫性疾患の遅発効果を含むが、これらに限定されない。腸管感染症は、コレラ、腸チフスおよびパラチフス熱、サルモネラ胃腸炎、細菌性赤痢、不特定の細菌性赤痢、ブドウ球菌食中毒、アメーバ症、膿瘍を伴わない急性アメーバ赤痢、膿瘍を伴わない慢性腸アメーバ症、アメーバ性非赤痢性大腸炎、アメーバ性肝膿瘍、アメーバ性肺膿瘍、アメーバ性脳膿瘍、アメーバ性皮膚潰瘍、他の部位のアメーバ感染症、不特定のアメーバ症、バランチジウム症、ジアルジア症、コクシジウム症、腸トリコモナス症、クリプトスポリジウム症、シクロスポラ症、不特定の原虫腸疾患、他の生物による腸管感染症、ロタウイルスによる腸炎、他のウイルス性腸炎による腸炎、他では分類されていない他の生物による腸管感染症、不明確な腸の感染症、大腸炎および感染が起源であると推定される胃腸炎を含むが、これらに限定されない。

20

【0958】

ヒト免疫不全ウイルス感染症は、特定の条件を有するヒト免疫不全ウイルス感染症、他の特定の他のヒト免疫不全ウイルス感染症を生じさせるヒト免疫不全ウイルス感染症を含むが、これらに限定されない。

30

【0959】

ポリオおよび他の非節足動物媒介性の中枢神経系のウイルス性疾患は、急性灰白髄炎、中枢神経系のスローウイルス感染症、クールー、クロイツフェルト・ヤコブ病、エンテロウイルスによる髄膜炎、他の中枢神経系のエンテロウイルス疾患および他の非節足動物媒介性の中枢神経系のウイルス性疾患を含むが、これらに限定されない。発疹を伴うウイルス性疾患は、天然痘、牛痘およびパラワクシニア、水痘、帯状疱疹、単純ヘルペス、性器ヘルペス、ヘルペス性歯肉口内炎、合併症を伴わないヘルペス性疾患、麻疹、風疹、他のウイルス性発疹性熱性疾患、第五病、不特定のウイルス性発疹、突発性発疹、他のヒトヘルペスウイルス脳炎、他のヒトヘルペスウイルス感染症、他のポックスウイルス感染症、他のオルソポックスウイルス感染症、サル痘、他のパラポックスウイルス感染症、ウシ口内炎、海豹痘病毒、ヤタポックスウイルス感染症、タナポックス、ヤバサル腫瘍ウイルス、他のポックスウイルス感染症および不特定のポックスウイルス感染症を含むが、これらに限定されない。

40

【0960】

節足動物媒介性ウイルス性疾患は、黄熱、デング熱、蚊媒介性ウイルス性脳炎、蚊不特定脳炎、ダニ媒介性ウイルス性脳炎、他の不特定節足動物によって伝染されるウイルス性脳炎、節足動物媒介性出血熱、不特定のエボラ、他の節足動物媒介性ウイルス性疾患および不特定のウエストナイルウイルスを含むが、これらに限定されない。

【0961】

50

ウイルスおよびクラミジアによる他の疾患は、ウイルス性肝炎、肝性昏睡を伴うA型肝炎、昏睡を伴わないA型肝炎、肝性昏睡を伴うB型肝炎、昏睡を伴わないB型肝炎、肝性昏睡を伴う急性の他の不特定のウイルス性肝炎、肝性昏睡を伴わない他の不特定のウイルス性肝炎、不特定のウイルス性C型肝炎、肝性昏睡を伴わないウイルス性C型肝炎、肝性昏睡を伴うウイルス性C型肝炎、ウイルス性肝炎、狂犬病、ムンプス、合併症を伴わないムンプス、オルニトーシス、コクサッキーウイルスによる特定の疾患、ヘルパンギーナ、手、足、口の疾患、単核球症、トラコーマ、ウイルスおよびクラミジアによる結膜の他の疾患、ウイルスおよびクラミジアによる他の疾患、伝染性軟属腫、ゆうぜい（全部位）、尖圭コンジローマ、発汗熱、猫ひっかき病、口蹄疫、cmv疾患、他で分類される病態における不特定部位のウイルス性感染症、ライノウイルス、hpvおよび呼吸器合胞体ウイルスを含むが、これらに限定されない。リケッチア症および他の節足動物媒介性疾患は、シラミ媒介発疹チフス、他のチフス、ダニ媒介リケッチア症、ロッキー山紅斑熱、他のリケッチア症、マラリア、リーシュマニア症、trypanomiasis、回歸熱、他の節足動物媒介性疾患、他の特定の節足動物媒介性疾患、ライム病およびバベシア症を含むが、これらに限定されない。

10

【0962】

ウイルス宿主は、アデノウイルス、アストロウイルス、鳥インフルエンザウイルス、コクサッキーウイルス、デング熱ウイルス、エボラウイルス、エコーウイルス、腸管アデノウイルス、エンテロウイルス、ハンタウイルス、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス（HSV）、ヒトサイトメガロウイルス、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、ヒトパピローマウイルス（HPV）、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルス（JEV）、ラッサ熱ウイルス、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、ノロウイルス、パラインフルエンザウイルス、ポリオウイルス、狂犬病ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、ロタウイルス、風疹ウイルス、SARSコロナウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス（TBEV）、痘瘡ウイルス、ウエストナイルウイルスおよび黄熱ウイルスを含むが、これらに限定されない。真菌宿主は、カンジダ・アルビカンズを含むが、これに限定されない。寄生虫宿主は、マラリア原虫、マンソン住血吸虫および腔トリコモナスを含むが、これらに限定されない。

20

【0963】

細菌宿主は、アシネトバクター・バウマニ、炭疽菌、バルトネラ、百日咳菌、ボレリア、ブルセラ菌、肺炎クラミジア、トラコーマクラミジア、ボツリヌス菌、ジフテリア菌、Q熱リケッチア、エールリヒア、腸球菌、腸毒性大腸菌、野兔病菌、デュークレイ桿菌、ヘリコバクターピロリ菌、肺炎桿菌、レジオネラ、レプトスピライントロガンス、結核菌、マイコプラズマゲニタリウム、肺炎マイコプラズマ、淋菌、髄膜炎菌、オリエンティアツツガムシ、緑膿菌、リケッチア、サルモネラ菌、赤痢菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、化膿連鎖球菌、梅毒トレポネーマ、ウレアプラズマウレアリチカム、コレラ菌、ビブリオ・バルニフィカスおよびペスト菌を含むが、これらに限定されない。

30

【0964】

人畜共通細菌性疾患は、ペスト、腺ペスト、野兔病、炭疽、ブルセラ症、鼻疽、類鼻疽、鼠咬熱、リステリア症、豚丹毒感染およびパスツレラを含むが、これらに限定されない。他の細菌性疾患は、ハンセン病、他のマイコバクテリアによる疾患、ジフテリア、百日咳、連鎖球菌咽頭炎および猩紅熱、連鎖球菌性咽頭炎、猩紅熱、丹毒、髄膜炎菌性敗血症、破傷風、敗血症、肺炎球菌性敗血症、敗血症、グラム陰性不特定敗血症および放線菌感染症を含むが、これらに限定されない。

40

【0965】

結核は、一次結核感染症、肺結核、髄膜および中枢神経系の結核、腸、腹膜、腸間膜腺の結核、骨および関節の結核、脊柱結核、ポット病、泌尿生殖器系の結核、他の臓器の結核、結核における過敏反応を伴う結節性紅斑、バザン病、末梢リンパ節の結核、瘰癧および粟粒結核を含むが、これらに限定されない。

【0966】

50

梅毒および他の性病は、先天性梅毒、早期梅毒、徴候性梅毒、原発性性器早期梅毒、潜伏性心血管梅毒、神経梅毒、徴候を有する他の形態の晩期梅毒、晩期梅毒、潜伏性の他の不特定の梅毒、淋菌感染症、淋病（急性、低GU管）、淋菌性結膜炎および非淋菌性尿道炎を含むが、これらに限定されない。他のスピロヘータ疾患は、レプトスピラ症、ヴィンセント狭心症、フランベジアおよびピンタを含むが、これらに限定されない。真菌症は、皮膚糸状菌症、頭皮／髭の皮膚糸状菌症、皮膚糸状菌症、手の爪白癬、頑癬、足白癬、体部白癬、皮膚真菌症、他の不特定の癬風、皮膚真菌症（不特定）、カンジダ症、モニリア症（口腔）、モニリア症（外陰部／膣）、モニリア性龟头炎、モニリア症（皮膚／爪）、コクシジオイデス症、ヒストプラスマ症、ヒストプラスマ感染（不特定）、プラストミセス感染、他の真菌症および日和見真菌症を含むが、これらに限定されない。

10

【0967】

蠕虫病は、ビルハルツ住血吸虫症、他の吸虫感染症、エキノコックス症、他の条虫感染症、旋毛虫症、フィラリア感染症およびメジナ虫症、鉤虫症およびアメリカ鉤虫症、他の腸蠕虫病、回虫、アニサキス症、糞線虫、鞭虫症、蟯虫症、毛頭虫症、毛様線虫症、他の不特定の蠕虫病および不特定の腸寄生を含むが、これらに限定されない。他の感染性および寄生虫性疾患は、トキソプラズマ症、トキソプラズマ症（不特定）、トリコモナス症、泌尿生殖器トリコモナス症、トリコモナス膣炎、トリコモナス症、尿道炎、シラミおよびケジラミ侵入、シラミ症（アタマジラミ）、シラミ症（コロモジラミ）、シラミ症（ケジラミ）、シラミ症（不特定）、ダニ、疥癬、ツツガムシ、サルコイドーシス、特発性指趾離断症、ベーチェット症候群、ニューモシスチス症、プソロスペルミウム症および肉胞子虫症を含むが、これらに限定されない。感染性および寄生虫性疾患の遅発効果は、結核の遅発効果およびポリオの遅発効果を含むが、これらに限定されない。

20

【0968】

感染症: バイオシグネチャー

小胞のバイオシグネチャーを評価して、対象に対するセラノーシスを提供することができる。小胞のバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に本明細書に記載された任意の一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に図1ならびに図24および43に記載された、感染症のバイオマーカーを含むことができる。

【0969】

いくつかの態様においては、感染症は、小胞中の病原体、たとえばウイルス、細菌または他の感染因子の成分を検出することによって特徴決定することができる。たとえば、成分は、ABC輸送体（カンジダ・アルビカンズ）、ABC輸送体（腸球菌）、AMA-1（アピカル膜抗原1）、ATPアーゼ、Aac（6'）-Aph（2"）酵素、Ace（アクセサリコレラエンテロトキシン）、Acf（アクセサリ定着因子）、Acr（ α クリスタリン）タンパク質、AhpCおよびAhpD、アミロイド β 、AroC、アタッチメント糖タンパク質（G）（呼吸器合胞体ウイルス）、オートリシン（N-アセチルムラモイル-L-アラニンアミダーゼ）、BacA、BmpA（P39）、ボツリヌス神経毒、BvgA、-S、および-R、BvrR-BvrS、C4BP（C4b結合タンパク質）、C5aペプチダーゼ、CAMP因子（cohemolysin）、CBP（コリン結合タンパク質）、CME型 β ラクターマーゼ、CSP（スポロゾイト周囲タンパク質）、CT（コレラ毒素）、CTX-Mメタロー β ラクターマーゼ、CagA（サイトトキシン関連抗原）、カプシドタンパク質（C）（デング熱ウイルス）、カプシドタンパク質（C）（日本脳炎ウイルス）、カプシドタンパク質（C）（ダニ媒介性脳炎ウイルス）、カプシドタンパク質（C）（ウエストナイルウイルス）、カプシドタンパク質（C）（黄熱ウイルス）、カプシドタンパク質（アストロウイルス）、カプシドタンパク質（コクサッキーウイルス）、カプシドタンパク質（エコーウイルス）、カプシドタンパク質（エンテロウイルス）、カプシドタンパク質（A型肝炎ウイルス）、カプシドタンパク質（ポリオウイルス）、カプシドタンパク質（ロタウイルス）、カテコールシデロフォアABC輸送体、Com-1、CrnB（サイトカイン応答調節剤）、細胞溶解素、D-Ala-D-Lacリガーゼ、DHFR（ジヒドロ葉酸レダクターゼ）、DHPS（ジヒドロプテロエートシンセターゼ）、DbpA（デコリン結合タンパク質A）、ジフテリア毒素、Dot/Icm複合体、E1およびE2タンパク質（風疹ウイルス）、E1Aタンパク質（アデノウイルス）、E1Aタン

30

40

50

パク質（腸管アデノウイルス）、E1Bタンパク質（アデノウイルス）、E1Bタンパク質（腸管アデノウイルス）、E2初期転写領域2、E3タンパク質（アデノウイルス）、E4タンパク質（アデノウイルス）、E6初期転写領域6、E7初期転写領域7、EF（浮腫因子）、ESAT-6およびCFP-10、エラストラーゼ（ビブリオ・バルニフィカス）、Env、エンベロープ糖タンパク質（E）（デング熱ウイルス）、エンベロープ糖タンパク質（E）（日本脳炎ウイルス）、エンベロープ糖タンパク質（E）（ダニ媒介性脳炎ウイルス）、エンベロープ糖タンパク質（E）（ウエストナイルウイルス）、エンベロープ糖タンパク質（E）（黄熱ウイルス）、Esp（腸球菌表面タンパク質）、Esp（タイプIIIシステム分泌タンパク質）、F1カプセル（F1抗原）、FH（H因子）、FHA（繊維状赤血球凝集素）、ファルシパイン1/2、繊維タンパク質（アデノウイルス）、繊維タンパク質（腸管アデノウイルス）、フィブロネクチン結合タンパク質II（タンパク質、F/sfbII）（化膿連鎖球菌）、フィブロネクチン結合タンパク質（レプトスピライントロガンス）、フィブロネクチン結合タンパク質（FBP54）（化膿連鎖球菌）、線毛タンパク質、フラジェリン（FlaBおよび-A）（ピロリ菌）、フラジェリン（H抗原）（大腸菌）、フラジェリン（H抗原）（サルモネラ）、フラジェリン（ビブリオ・バルニフィカス）、FopA（43kDaリボタンパク質）、融合タンパク質（F）（ムンプスウイルス）、融合タンパク質（F）（パラインフルエンザウイルス）、融合タンパク質（F）（呼吸器合胞体ウイルス）、G6PD（グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ）、GES（ギアナ拡張スペクトルβラクタマーゼ）、GTPシクロヒドロラーゼ、Gag、糖タンパク質（G）（狂犬病ウイルス）、糖タンパク質（GP）（エボラウイルス）、糖タンパク質（GP）（ラッサ熱ウイルス）、糖タンパク質（GP）（マールブルグウイルス）、糖タンパク質（Gn/Gc）（ハンタウイルス）、HMW（細胞接着アクセサリタンパク質）、HRP2（ヒスチジンに富むプロテイン2）、ヘマグルチニン（鳥インフルエンザウイルス）、ヘマグルチニン（インフルエンザウイルス）、ヘマグルチニン（麻疹ウイルス）、ヘマグルチニン（痘瘡ウイルス）、ヘマグルチニンエステラーゼ糖タンパク質（HE）、ヘマグルチニンノイラミニダーゼ（HN）（ムンプスウイルス）、ヘマグルチニンノイラミニダーゼ（HN）（パラインフルエンザウイルス）、溶血素（Vvh）、ヘキソントタンパク質（アデノウイルス）、ヘキソントタンパク質（腸管アデノウイルス）、Hsp60（熱ショックタンパク質60）、ヒアルロン酸リアーゼ、ヒアルロニダーゼ、IMPメタローβラクタマーゼ（アシネトバクター・バウマニ）、IMPメタローβラクタマーゼ（肺炎桿菌）、IcsAおよびIcsB、IgAプロテアーゼ（淋菌）、IgA1プロテアーゼ（肺炎球菌）、HSV1/2のIgGおよびIgM、InhA、インチミン、InvA（リケッチア）、インバシン（大腸菌）、インバシン（ペスト菌（*Yersinia pestis*））、IpaA、-B、-C、-Dおよび-H、KPCメタローβラクタマーゼ、KatG、Lタンパク質（ラッサウイルス）、L1後期転写領域1、LF（致死因子）、LSA1（肝臓段階抗原1）、LT（易熱性毒素）、LcrV（V抗原）、LigAおよびLigB、リボタンパク質、Mタンパク質、MSP（メロゾイト表面タンパク質）、基質タンパク質（M）（狂犬病ウイルス）、基質タンパク質（M）（呼吸器合胞体ウイルス）、基質タンパク質（鳥インフルエンザウイルス）、基質タンパク質（インフルエンザウイルス）、MexAB-OprM、MexCD-OprJ、MexEF-OprN、MexXY-OprM、Mip（マクロファージ感染性ポテンシエータ）、NSE（ニューロン特異的エノラーゼ）、Nef、ノイラミニダーゼ（鳥インフルエンザウイルス）、ノイラミニダーゼ（インフルエンザウイルス）、ノイラミニダーゼ（肺炎球菌）、非構造タンパク質（NS）（呼吸器合胞体ウイルス）、非構造タンパク質1（NS1）（デング熱ウイルス）、非構造タンパク質1（NS1）（日本脳炎ウイルス）、非構造タンパク質1（NS1）（ダニ媒介性脳炎ウイルス）、非構造タンパク質1（NS1）（ウエストナイルウイルス）、非構造タンパク質1（NS1）（黄熱ウイルス）、非構造タンパク質2A（NS2A）（デング熱ウイルス）、非構造タンパク質2A（NS2A）（日本脳炎ウイルス）、非構造タンパク質2A（NS2A）（ダニ媒介性脳炎ウイルス）、非構造タンパク質2A（NS2A）（ウエストナイルウイルス）、非構造タンパク質2A（NS2A）（黄熱ウイルス）、非構造タンパク質2B（NS2B）（デング熱ウイルス）、非構造タンパク質2B（NS2B）（日本脳炎ウイルス）、非構造タンパク質2B（NS2B）（ダニ媒介性脳炎ウイルス）、非構造タンパク質2B（NS2B）（ウエストナイルウイルス）、非構造タンパク質2B（NS2B）（黄熱ウイルス）、非構造タンパク質3（NS3）（デング熱ウ

10

20

30

40

50

イルス)、非構造タンパク質3(NS3)(日本脳炎ウイルス)、非構造タンパク質3(NS3)
 (ダニ媒介性脳炎ウイルス)、非構造タンパク質3(NS3)(ウエストナイルウイルス)、
 非構造タンパク質3(NS3)(黄熱ウイルス)、非構造タンパク質4(ロタウイルス)、非
 構造タンパク質4A(NS4A)(デング熱ウイルス)、非構造タンパク質4A(NS4A)(日本脳
 炎ウイルス)、非構造タンパク質4A(NS4A)(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、非構造タンパ
 ク質4A(NS4A)(ウエストナイルウイルス)、非構造タンパク質4A(NS4A)(黄熱ウイル
 ス)、非構造タンパク質4B(NS4B)(デング熱ウイルス)、非構造タンパク質4B(NS4B)
 (日本脳炎ウイルス)、非構造タンパク質4B(NS4B)(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、非構
 造タンパク質4B(NS4B)(ウエストナイルウイルス)、非構造タンパク質4B(NS4B)(黄
 熱ウイルス)、非構造タンパク質5(NS5)(デング熱ウイルス)、非構造タンパク質5(N
 S5)(日本脳炎ウイルス)、非構造タンパク質5(NS5)(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、非
 構造タンパク質5(NS5)(ウエストナイルウイルス)、非構造タンパク質5(NS5)(黄熱
 ウイルス)、非構造タンパク質(鳥インフルエンザウイルス)、非構造タンパク質(イン
 フルエンザウイルス)、ヌクレオカプシド(ハンタウイルス)、ヌクレオカプシド(麻疹
 ウイルス)、ヌクレオカプシド(パラインフルエンザウイルス)、ヌクレオカプシド(SA
 RSコロナウイルス)、核タンパク質(N)(狂犬病ウイルス)、核タンパク質(NP)(呼
 吸器合胞体ウイルス)、核タンパク質(主要な核タンパク質)(マールブルグウイルス)
 、核タンパク質(鳥インフルエンザウイルス)、核タンパク質(エボラウイルス)、核タ
 ンパク質(インフルエンザウイルス)、核タンパク質(ラッサ熱ウイルス)、ORF1(E型
 肝炎ウイルス)、ORF2(E型肝炎ウイルス)、ORF3(E型肝炎ウイルス)、OXAメタローβ
 ラクタマーゼ(アシネトバクター・バウマニ)、OXAメタローβラクタマーゼ(肺炎桿菌
)、OmpAおよびOmpB(リケッチア)、OmpL1(レプトスピラインテロガンズ)、OmpQ(外
 膜ポーリントンパク質)(百日咳)、OmpS(レジオネラニューモフィラ)、不透明因子、
 OprD、Osp(外表面タンパク質)、外膜タンパク質(クラミジアニューモニエ)、外膜タ
 ンパク質(エールリヒア)、P1アドヘシン、P30アドヘシン、PA(防御抗原)、PBP(ペニ
 シリン結合タンパク質)、PCRMP1-4(システインリピートモジュラータンパク質)、PER
 メタローβラクタマーゼ、Pat1、ペプチドグリカン(ムレイン)ヒドロラーゼ、ペルタク
 チン(p69)、百日咳毒素、PfEMP1(熱帯熱マラリア原虫赤血球膜タンパク質1)、リンタ
 ンパク質(P)(呼吸器合胞体ウイルス)、リンタンパク質(麻疹ウイルス)、Pla(プラ
 スミノーゲン活性化因子)、プラスミノーゲン結合タンパク質、Pld、ニューモリシン、P
 ol、ポリ-Dグルタミン酸カプセル、ポリメラーゼ(L)(狂犬病ウイルス)、ポーリン、
 前膜/膜タンパク質(PrM/M)(デング熱ウイルス)、前膜/膜タンパク質(PrM/M)(日
 本脳炎ウイルス)、前膜/膜タンパク質(PrM/M)(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、前膜/
 膜タンパク質(PrM/M)(ウエストナイルウイルス)、前膜/膜タンパク質(PrM/M)(黄
 熱ウイルス)、二成分調節系に関するタンパク質(エールリヒア)、二成分調節系に関す
 るタンパク質(結核菌)、gB、gC、gD、gHおよびgLのタンパク質、PsaA、PspA(肺炎球菌
 表面タンパク質A)、PurE、発熱性外毒素、RBP1/2(網状赤血球結合タンパク質1/2)、Rd
 Rp(RNA依存性RNAポリメラーゼ)(ノロウイルス)、RdRp(RNA依存性RNAポリメラーゼ)
 (アストロウイルス)、RsRp(RNA依存性RNAポリメラーゼ)(SARSコロナウイルス)、Re
 v、RfbE、RibDおよびRibE、Rmp、S層タンパク質、S100B(S100タンパク質β鎖)、SHVメ
 タローβラクタマーゼ、SIMメタローβラクタマーゼ、ST(熱安定性毒素)、サルモネラ
 病原性プラスミド(SPV)タンパク質、セリンプロテアーゼ(アストロウイルス)、ShET1
 /2、志賀毒素(ベロ毒素)、SipA(サルモネラ侵入タンパク質A)、SlyA、小さな疎水性
 タンパク質、Sop(サルモネラ外側タンパク質)、スパイク糖タンパク質(S)、連鎖球菌
 DNアーゼ、ストレプトグラミンAアセチルトランスフェラーゼ、ストレプトキナーゼ、ス
 トレプトリシンO、StxA/B(志賀毒素A/B)、SucB(ジヒドロリポアミドスクシニルトラン
 スフェラーゼ)(結核菌)、SucB(ジヒドロリポアミドスクシニルトランスフェラーゼ)
 (Q熱リケッチア)、Syc(Yopシャペロン)、Tタンパク質、TCP(毒素同時制御線毛)、T
 EMメタローβラクタマーゼ、TRAP(トロネンボスポンジン関連無名タンパク質)、Tat、τ
 タンパク質、TcfA(気管定着因子)、Tir(転座インチミン受容体)、TlyAおよびTlyC、T

oxR (毒素調節タンパク質)、Tu14 (17kDaリポタンパク質)、IV型線毛、ウレアーゼ (ブルセラ)、ウレアーゼ (ピロリ菌)、VEBメタローβラクタマーゼ、VETF (ウイルス初期転写因子)、VIMメタローβラクタマーゼ (アシネトバクター・バウマニ)、VIMメタローβラクタマーゼ (肺炎桿菌)、VP1 (ノロウイルス)、VP2 (ノロウイルス)、VP24 (エボラウイルス)、VP24 (マールブルグウイルス)、VP30 (小さな核タンパク質) (エボラウイルス)、VP30 (小さな核タンパク質) (マールブルグウイルス)、VP35 (P様タンパク質) (エボラウイルス)、VP35 (P様タンパク質) (マールブルグウイルス)、VP40 (基質タンパク質) (エボラウイルス)、VP40 (基質タンパク質) (マールブルグウイルス)、VacA (空胞形成性細胞毒)、Vag8 (毒性活性化遺伝子8)、Vif、VirB IV型分泌系、VlsE (35kDaリポタンパク質)、Vpr、Vpu/Vpx、XerD、Yops (エルシニア外膜タンパク質)、Ysc (YOP分泌装置)、Zタンパク質 (ラッサ熱ウイルス)、Zot (閉鎖毒素)、gG1 (HSV-1) およびgG2 (HSV-2)、p41i、p83およびp100、pLDH (プラスモジウム乳酸デヒドロゲナーゼ)、α/β/γタンパク質、120kDa遺伝子、16Sおよび5S rRNA遺伝子 (レジオネラニューモフィラ)、16S rRNA (バルトネラ)、16S rRNA (ボレリア)、16S rRNA (ブルセラ)、16S rRNA (エールリヒア)、16S rRNA (肺炎桿菌)、16S rRNA (オリエンテアツツガムシ)、16S rRNA (リケッチア)、16S rRNA遺伝子 (アシネトバクターバウマニ)、16S rRNA遺伝子 (クラミジアニューモニエ)、16S rRNA遺伝子 (ボツリヌス菌)、16S rRNA遺伝子 (マイコプラズマニューモニエ)、16S rRNA遺伝子 (淋菌)、16S rRNA遺伝子 (ビブリオ・バルニフィカス)、16S-23S rRNA遺伝子間スペーサ (バルトネラ)、16S-23S rRNA遺伝子間スペーサ (Q熱リケッチア)、17kDa遺伝子、18S ssrRNA、23S rRNA遺伝子 (アシネトバクターバウマニ)、23S rRNA遺伝子 (淋菌)、2C遺伝子、3'NCR (デングウイルス)、3'NCR (日本脳炎ウイルス)、3'NCR (ダニ媒介性脳炎ウイルス)、3'NCR (ウエストナイルウイルス)、3'NCR (黄熱ウイルス)、5'NCR (コクサッキーウイルス)、5'NCR (デング熱ウイルス)、5'NCR (エコーウイルス)、5'NCR (エンテロウイルス)、5'NCR (日本脳炎ウイルス)、5'NCR (ポリオウイルス)、5'NCR (ダニ媒介性脳炎ウイルス)、5'NCR (ウエストナイルウイルス)、5'NCR (黄熱ウイルス)、56kDa遺伝子、A13L遺伝子、ARE1遺伝子、ATF2遺伝子、B12R遺伝子、B6R遺伝子、B8R遺伝子、C遺伝子 (デング熱ウイルス)、C遺伝子 (日本脳炎ウイルス)、C遺伝子 (ダニ媒介性脳炎ウイルス)、C遺伝子 (ウエストナイルウイルス)、C遺伝子 (黄熱ウイルス)、C3L遺伝子、CDR1/2遺伝子、E遺伝子 (デング熱ウイルス)、E遺伝子 (日本脳炎ウイルス)、E遺伝子 (ダニ媒介性脳炎ウイルス)、E遺伝子 (ウエストナイルウイルス)、E遺伝子 (黄熱ウイルス)、E1およびE2遺伝子、E1A遺伝子 (アデノウイルス)、E1A遺伝子 (腸管アデノウイルス)、E1B遺伝子 (アデノウイルス)、E1B遺伝子 (腸管アデノウイルス)、E2遺伝子、E3遺伝子 (アデノウイルス)、E3L遺伝子、E4遺伝子 (アデノウイルス)、E6遺伝子、E7遺伝子、E8R遺伝子、ESAT-6およびCFP-10遺伝子、F遺伝子 (ムンプスウイルス)、F遺伝子 (パラインフルエンザウイルス)、F遺伝子 (呼吸器合胞体ウイルス)、G遺伝子 (狂犬病ウイルス)、G遺伝子 (呼吸器合胞体ウイルス)、GP遺伝子 (エボラウイルス)、GP遺伝子 (ラッサ熱ウイルス)、GP遺伝子 (マールブルグウイルス)、H遺伝子 (麻疹ウイルス)、HA遺伝子 (鳥インフルエンザウイルス)、HA遺伝子 (インフルエンザウイルス)、HE遺伝子 (SARSコロナウイルス)、HN遺伝子 (ムンプスウイルス)、HN遺伝子 (パラインフルエンザウイルス)、IS100、IS1081、IS1533 (レプトスピラインテロガンズ)、IS285、IS481 (B P0023)、IS6110、IS711 (ブルセラ)、ISFtu、J7R遺伝子、L遺伝子 (ラッサ熱ウイルス)、L遺伝子 (狂犬病ウイルス)、Lセグメント、L1遺伝子、LEE (locus of enterocyte effacement)、長い制御領域 (LCR)、M遺伝子 (狂犬病ウイルス)、M遺伝子 (呼吸器合胞体ウイルス)、M遺伝子 (鳥インフルエンザウイルス)、M遺伝子 (インフルエンザウイルス)、Mセグメント、MDR1遺伝子、MEC3遺伝子、N遺伝子 (麻疹ウイルス)、N遺伝子 (狂犬病ウイルス)、N遺伝子 (SARSコロナウイルス)、NA遺伝子 (鳥インフルエンザウイルス)、NA遺伝子 (インフルエンザウイルス)、NC遺伝子 (パラインフルエンザウイルス)、NP遺伝子 (鳥インフルエンザウイルス)、NP遺伝子 (エボラウイルス)、NP遺伝子 (インフルエンザウイルス)、NP遺伝子 (ラッサ熱ウイルス)、NP遺伝子 (マールブルグウイ

ルス)、NP遺伝子(呼吸器合胞体ウイルス)、NS遺伝子(鳥インフルエンザウイルス)、
 NS遺伝子(インフルエンザウイルス)、NS遺伝子(呼吸器合胞体ウイルス)、NS1遺伝子
 (デング熱ウイルス)、NS1遺伝子(日本脳炎ウイルス)、NS1遺伝子(ダニ媒介性脳炎ウ
 イルス)、NS1遺伝子(ウエストナイルウイルス)、NS1遺伝子(黄熱ウイルス)、NS2A遺
 伝子(デング熱ウイルス)、NS2A遺伝子(日本脳炎ウイルス)、NS2A遺伝子(ダニ媒介性
 脳炎ウイルス)、NS2A遺伝子(ウエストナイルウイルス)、NS2A遺伝子(黄熱ウイルス)
 、NS2B遺伝子(デング熱ウイルス)、NS2B遺伝子(日本脳炎ウイルス)、NS2B遺伝子(ダ
 ニ媒介性脳炎ウイルス)、NS2B遺伝子(ウエストナイルウイルス)、NS2B遺伝子(黄熱ウ
 イルス)、NS3遺伝子(デング熱ウイルス)、NS3遺伝子(日本脳炎ウイルス)、NS3遺伝
 子(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、NS3遺伝子(ウエストナイルウイルス)、NS3遺伝子(黄 10
 熱ウイルス)、NS4遺伝子(ロタウイルス)、NS4A遺伝子(デング熱ウイルス)、NS4A遺
 伝子(日本脳炎ウイルス)、NS4A遺伝子(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、NS4A遺伝子(ウエ
 ストナイルウイルス)、NS4A遺伝子(黄熱ウイルス)、NS4B遺伝子(デング熱ウイルス)
 、NS4B遺伝子(日本脳炎ウイルス)、NS4B遺伝子(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、NS4B遺
 伝子(ウエストナイルウイルス)、NS4B遺伝子(黄熱ウイルス)、NS5遺伝子(デング熱ウ
 イルス)、NS5遺伝子(日本脳炎ウイルス)、NS5遺伝子(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、NS
 5遺伝子(ウエストナイルウイルス)、NS5遺伝子(黄熱ウイルス)、ORF1a(アストロウ
 イルス)、ORF1b(アストロウイルス)、ORF2(アストロウイルス)、ORF1(E型肝炎ウイ
 ルス)、ORF1(ノロウイルス)、ORF2(E型肝炎ウイルス)、ORF2(ノロウイルス)、ORF
 3(E型肝炎ウイルス)、ORF3(ノロウイルス)、P遺伝子(麻疹ウイルス)、P遺伝子(呼 20
 吸器合胞体ウイルス)、PDH1遺伝子、ペプチジルトランスフェラーゼ突然変異、プラスミ
 ド(QpH1、QpRS、QpDG、QpDV)、PrM/M遺伝子(デング熱ウイルス)、PrM/M遺伝子(日本
 脳炎ウイルス)、PrM/M遺伝子(ダニ媒介性脳炎ウイルス)、PrM/M遺伝子(ウエストナ
 イルウイルス)、PrM/M遺伝子(黄熱ウイルス)、ORF1ab中のRdRp遺伝子(SARSコロナウイ
 ルス)、S遺伝子(SARSコロナウイルス)、Sセグメント、SH遺伝子(ムンプスウイルス)
 、SNP(単一ヌクレオチド多型)、サルモネラ病原性島(SPI)、サルモネラプラスミド病
 毒性(SPV)オペロン、ShET1/2遺伝子、VNTR(可変数タンデムリピート)(炭疽菌)、VN
 TR(可変数タンデムリピート)(ブルセラ)、VNTR(可変数タンデムリピート)(野兎病
 菌)、VNTR(可変数タンデムリピート)(ペスト菌)、VP24遺伝子(エボラウイルス)、
 VP24遺伝子(マールブルグウイルス)、VP30遺伝子(エボラウイルス)、VP30遺伝子(マ 30
 ールブルグウイルス)、VP35遺伝子(エボラウイルス)、VP35遺伝子(マールブルグウイ
 ルス)、VP40遺伝子(エボラウイルス)、VP40遺伝子(マールブルグウイルス)、Z遺伝
 子(ラッサ熱ウイルス)、aac(3)遺伝子、aac(6')遺伝子、aac(6')-aph(2")遺伝
 子、aad遺伝子、ace遺伝子、acpA遺伝子、agrBDCA座、ahpCおよびahpD遺伝子、arlRS座、
 atxA遺伝子、bclA遺伝子、blaCTX-M遺伝子、blaGES遺伝子、blaGIM遺伝子(緑膿菌)、bl
 aIMP遺伝子(アシネトバクターバウマニ)、blaIMP遺伝子(肺炎桿菌)、blaIMP遺伝子(40
 緑膿菌)、blaKPC遺伝子、blaOXA遺伝子(アシネトバクター・バウマニ)、blaOXA遺伝子
 (肺炎桿菌)、blaOXA遺伝子(緑膿菌)、blaSHV遺伝子、blaSIM遺伝子(肺炎桿菌)、bl
 aSIM遺伝子(緑膿菌)、blaTEM遺伝子、blaVIM遺伝子(アシネトバクターバウマニ)、bl
 aVIM遺伝子(肺炎桿菌)、blaVIM遺伝子(緑膿菌)、bvg座(bvgA、SおよびR遺伝子)、c
 agA遺伝子、cap座(capB、CおよびA遺伝子)(炭疽菌)、capオペロン(capBおよびC)(
 野兎病菌)、カプシド遺伝子(コクサッキーウイルス)、カプシド遺伝子(エコーウイル
 ス)、カプシド遺伝子(エンテロウイルス)、カプシド遺伝子(A型肝炎ウイルス)、カ
 プシド遺伝子(ポリオウイルス)、カプシド遺伝子(ロタウイルス)、cme遺伝子、cnt遺
 伝子、com-1遺伝子、cppB遺伝子、cps遺伝子、crmB遺伝子、ctx遺伝子、cya遺伝子、cyl
 遺伝子、eaeA遺伝子、east遺伝子(大腸菌)、env遺伝子、ery遺伝子、esp遺伝子(腸球
 菌)、esp遺伝子(大腸菌)、ファイバー遺伝子(アデノウイルス)、ファイバー遺伝子
 (腸管アデノウイルス)、線毛遺伝子、flaB遺伝子(ボレリア)、flaB遺伝子(レプトス
 ピラインテロガンズ)、フラジェリン遺伝子、fljA、fljBおよびfliC遺伝子、fopA遺伝子
 、ftsZ遺伝子、gG1およびgG2遺伝子、gag遺伝子、二成分調節系の遺伝子、gB、gC、gD、g 50

HおよびgLの遺伝子、gerX座（gerXC、AおよびB遺伝子）、glpQ遺伝子、gltA（クエン酸シンターゼ）遺伝子（バルトネラ）、gltA（クエン酸シンターゼ）遺伝子（リケッチア）、groEL遺伝子（バルトネラ）、groEL遺伝子（オリエンティアツツガムシ）、groESL遺伝子（クラミジアニューモニエ）、gyrAおよびgyrB遺伝子（緑膿菌）、gyrA遺伝子（淋菌）、gyrB遺伝子（炭疽菌）、ヘキソン遺伝子（アデノウイルス）、ヘキソン遺伝子（腸管アデノウイルス）、hin遺伝子、hlyA遺伝子、hmw遺伝子、hspX（Rv2031c）遺伝子、htpAB関連反復要素（IS1111a）、hyl遺伝子、icsAおよびicsB遺伝子、ileS遺伝子、inhA遺伝子、inv遺伝子（大腸菌）、inv遺伝子（サルモネラ）、ipaA、B、C、DおよびH遺伝子、katG遺伝子、lef遺伝子、letA遺伝子、lidA遺伝子、lpsB遺伝子、lrgAB座、luxS遺伝子、lytA遺伝子、lytRS座、mecA遺伝子、mglA遺伝子、mgrA（ラット）遺伝子、mip遺伝子、mtgA遺伝子、mucZ遺伝子、多遺伝子ファミリー、mupA遺伝子、nanAおよびnanB遺伝子、nef遺伝子、omp遺伝子（ブルセラ）、omp遺伝子（クラミジア肺炎）、ompAおよびB遺伝子（リケッチア）、ompQ遺伝子、opa遺伝子、osp遺伝子、p1遺伝子、p30遺伝子、pagA遺伝子、pap31遺伝子、parCおよびparE遺伝子（緑膿菌）、parC遺伝子（淋菌）、per遺伝子、pilQ遺伝子、ply遺伝子、pmm遺伝子、pol遺伝子、porAおよびporB遺伝子、prn4（ペルタクチン）遺伝子、psaA遺伝子、pspA遺伝子、pst1フラグメントおよびHL-1/HR-1プライマー、ptx（プロモーター領域および完全遺伝子）、rap1/2遺伝子、rev遺伝子、rpo18遺伝子、rpoB遺伝子、rpoS遺伝子、rpsL遺伝子、rrf（5S）-rrl（23S）遺伝子間スペース、rsk遺伝子、rtx遺伝子（ビブリオ・バルニフィカス）、rtxA遺伝子（レジオネラニューモフィラ）、sap遺伝子（炭疽菌）、sar遺伝子、satA（vatD）およびsatG（vatE）遺伝子、sca4遺伝子、secY遺伝子、stx（vt）遺伝子、stxA/B（stx1/2）遺伝子、sucB遺伝子、tat遺伝子、tcp遺伝子、tir遺伝子、tox遺伝子、toxR遺伝子、tul4遺伝子、ウレアーゼ遺伝子、vacA遺伝子、vanA-E遺伝子、veb遺伝子、vif遺伝子、viuB遺伝子、vpr遺伝子、vpu/vpx遺伝子、vvh（ビブリオ・バルニフィカス溶血素）遺伝子、vvpE（ビブリオバルニフィカスエラスターゼ）遺伝子、wboA遺伝子、wzy（O抗原ポリメラーゼ）遺伝子、zot遺伝子、 $\alpha/\beta/\gamma$ 遺伝子、C多糖（ラムノース/N-アセチルグルコサミン）、CPS（莢膜多糖類）、環式 β -1,2グルカン、ヒアルロン酸カプセル、LPS（リポ多糖）（バルトネラ）、LPS（リポ多糖）（ブルセラ）、LPS（リポ多糖）（Q熱リケッチア）、LPS（リポ多糖）（リケッチア）、LPS（リポ多糖）（ビブリオ・バルニフィカス）、O抗原（大腸菌）、O抗原（サルモネラ）、O抗原（コレラ菌）、Vi抗原（サルモネラ）またはカテコールシデロフォアであることができる。

【0970】

感染症:標準治療

感染性または寄生虫性疾患、障害または疾患を患う対象由来の試料の小胞のバイオシグネチャー、小胞の量または両方の決定を使用して、その対象に対する標準治療を選択することができる。感染性または寄生虫性疾患は、病態と関連した徴候にしたがって治療することができる。標準治療は、たとえば、一つまたは複数の抗生物質および抗ウイルス剤によって治療することを含む。

【0971】

抗生物質は、アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、パロモマイシン、ゲルダナマイシン、ハービマイシン、ロラカルベフ、エルタペネム、ドリベネム、イミペネム/シラスタチン、メロベネム、セファドロキシル、セファゾリン、セファロチン、セファレキシン、セファクロール、セファマンドール、セフォキシチン、セフプロジル、セフロキシム、セフィキシム、セフジニル、セフジトレン、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフボドキシム、セフトラジウム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフェピム、セフトビプロール、テイコプラニン、バンコマイシン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、トロレアンドマイシン、テリスロマイシン、スペクチノマイシン、アズトレオナム、アモキシシリン、アンピシリン、アズロシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリ

ン、メズロシリン、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリン、ピペラシリン、チカルシリン、バシトラシン、コリスチン、ポリミキシシンB、シプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン、グレパフロキサシン、スパルフロキサシン、テマフロキサシン、マフェニド、スルホンアミドクリソイジン、スルファセタミド、スルファニルイミド、スルファサラジン、スルfoisキサゾール、トリメトプリム、トリメトプリムー、スルファメトキサゾール、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、スルファジアジン、スルファメチゾール、サルバンサン、クロラムフェニコール、クリンダマイシン、リンコマイシン、エタンブトール、ホスホマイシン、フシジン酸、フラゾリドン、イソニアジド、リネゾリド、メトロニダゾール、ムピロシン、ニトロフラントイン、プラテンシマイシン、ピラジナミド、キヌプリスチンまたはダルホプリスチン、リファンピシン、チアンフェニコール、チニダゾール、ダブソンおよびクロファジミンを含むが、これらに限定されない。抗生物質の例は表18にも記載されている。

【0972】

抗ウイルス剤は、アバカビル、アシクロビル、アシクロビル、アデフォビル、アマンタジン、アンプレナビル、アンプリゲン、アルビドール、アタザナビル、アトリブラ、ボセプレビル、シドフォビル、コンビビル、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ドコサノール、エドクスジン、エファビレンツ、エムトリシタビン、エンフビルチド、エンテカビル、ファムシクロビル、ホミビルセン、ホスアンプレナビル、ホスカルネット、ホスホネット、ガンシクロビル、イバシタビン、イムノビル、イドクスリジン、イミキモド、インジナビル、イノシン、インターフェロンIII型、インターフェロンII型、インターフェロンI型、ラミブジン、ロピナビル、ロビリド、マラビロク、モロキシジン、ネルフィナビル、ネビラピン、ネキサビル、オセルタミビル、ペグインターフェロン α 2A、ペンシクロビル、ペラミビル、プレコナリル、ポドフィロトキシン、ラルテグラビル、リバビリン、リマンタジン、リトナビル、ピラミジン、サキナビル、スタブジン、ティーツリーオイル、テノホビル、テノホビルジソプロキシル、チプラナビル、トリフルリジン、トリジビル、トロマンタジン、ツルバダ、バラシクロビル、バルガンシクロビル、ビクリピロク、ビダラビン、ピラミジン、ザルシタビン、ザナミビルおよびジドブジンを含むが、これらに限定されない。

【0973】

(表18) 抗生薬およびそれらの構造クラスの例

構造クラス	構造クラス内の抗生物質の例
アミノ酸誘導体	アザセリン、ベスタチン、シクロセリン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン
アミノグリコシド	アルマスタチン、アミカシン、ゲンタマイシン、ヒグロマイシン、カナマイシン、ストレプトマイシン
ベンゾキノイド	ヘルビマイシン
カルバペネム	イミペネム、メロペネム
クマリングリコシド	ノボピオシン
脂肪酸誘導体	セルレニン
グルコサミン	1-デオキシノジリマイシン
糖ペプチド	ブレオマイシン、バンコマイシン
イミダゾール	メトロイダゾール
ペニシリン	ベンジルペニシリン、ベンザチンペニシリン、アモキシシリン、ピペラシリン
マクロライド	アムホテリシンB、アジスロマイシン、エリスロマイシン
ヌクレオシド	コルジセピン、ホルマイシンA、ツベルシジン
ペプチド	シクロスポリンA、エキノマイシン、グラミシジン
ペプチジルヌクレオシド	プラスチシジン、ニコマイシン
フェニコール	クロラムフェニコール、チアムフェニコール
ポリエーテル	ラサロシドA、サリノマイシン
キノロン	8-キノリノール、シノキサシン、オフロキサシン
ステロイド	フシジン酸
スルホンアミド	スルファメタジン、スルファジアジン、トリメトプリム
テトラサイクリン	オキシテトラサイクリン、ミノサイクリン、ズラマイシン

【0974】

一つの態様において、対象はHIV感染症を有する。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にp24抗原、TNF- α 、TNFR-II、CD3、CD14、CD25、CD27、Fas、FasL、 β 2ミクログロブリン、ネオプテリン、HIV RNAおよびHLA-B*5701を対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にジドブジン、ジダノシン、ザルシタビン、スタブジン、ラミブジン、サキナビル、リトナビル、インジナビル、ネビラン、ネルフィナビル、デラビルジン、スタブジン、エファビレンツ、エトラビルン、エンフビルチド、ダルナビル、アバカビル、アンブレナビル、ロナビル／リトナビル、テノホビル、チプラナビルまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

10

【0975】

このように、対象の小胞のバイオシグネチャーに基づき、感染性の疾患または病態を患う対象に対する治療を選択することができる。

【0976】

神経疾患

小胞の評価は、神経疾患、たとえば多発性硬化症（MS）、パーキンソン病（PD）、アルツハイマー病（AD）（非炎症性および炎症性）、統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉症、プリオン病、ピック病、認知症、ハンチントン病（HD）、ダウン症候群、脳血管疾患、ラスムッセン脳炎、ウイルス性髄膜炎、精神神経医学的全身性エリテマトーデス（NPSLE）、筋萎縮性側索硬化症、クロイツフェルト・ヤコブ病、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、伝達性海綿状脳症、虚血性再灌流障害（たとえば脳卒中）、脳外傷、微生物感染症または慢性疲労症候群のセラノーシスに使用することができる。

20

【0977】

神経学的障害は、中枢神経系の炎症性疾患、中枢神経系の遺伝性および変性疾患、疼痛、他の頭痛症候群、中枢神経系の他の障害および末梢神経系の障害を含むが、これらに限定されない。中枢神経系の炎症性疾患は、細菌性髄膜炎、髄膜炎、ヘモフィルス、髄膜炎（細菌性）、他の生物による髄膜炎、クリプトコッカス髄膜炎、不特定原因の髄膜炎、脳炎、脊髄炎および脳脊髄炎、感染後脳炎、不特定の脳炎、頭蓋内および脊髄内膿瘍、頭蓋内静脈洞の静脈炎および血栓性静脈炎、静脈洞血栓症（頭蓋内）、頭蓋内膿瘍または化膿性感染の遅発効果、睡眠障害、不特定の器質性不眠、他に分類される病態による不眠症および精神疾患による不眠症を含むが、これらに限定されない。中枢神経系の遺伝性および変性疾患は、通常は幼少時に顕在化する脳変性症、染色性白質ジストロフィー、クラッペ病、ペリツェウス・メルツバッハー病、脳脂質代謝異常、テイサックス病、他の脳変性症、アルツハイマー病、ピック病、脳の老人性変性、交通性水頭症、閉塞性水頭症、特発性正常圧水頭症、他の脳変性症、ライ症候群、レビー小体型認知症、軽度認知障害（いわゆる）、パーキンソン病、パーキンソン症候群、原発性の他の錐体外路系疾患および異常運動障害、大脳基底核のその他の変性疾患、オリーブ橋小脳萎縮症、シャイドレーガー症候群、本態性振せん／家族性振せん、ミオクロヌス、ラフォーラ病、ウンフェルリヒト病、ハンチントン舞蹈病、捻転ジストニアの断片、眼瞼痙攣、他の不特定の錐体外路系疾患および異常運動障害、他の錐体外路系疾患および異常な運動障害、むずむず脚、セロトニン症候群、脊髄小脳変性症、フリードライヒ失調症、脊髄小脳失調症、遺伝性痙攣性対麻痺、原発性小脳変性症、他の小脳性運動失調、他に分類される疾患における小脳性運動失調、他の脊髄小脳疾患、毛細血管拡張性運動失調、皮質線条体性脊髄変性症、不特定の脊髄小脳疾患、前角細胞疾患、運動ニューロン病、筋萎縮性側索硬化症、進行性筋萎縮症、進行性球麻痺、仮性球麻痺、原発性側索硬化症、他の運動ニューロン疾患、脊髄の他の病気、脊髄空洞症および延髄空洞症、自律神経系の障害、特発性末梢自律神経障害、不特定の特発性末梢自律神経、頸動脈洞症候群、他の特発性末梢自律神経障害、他に分類される疾患における末梢自律神経障害、反射性交感神経性ジストロフィー、自律神経反射異常および自律神経系の不特定障害を含むが、これらに限定されない。

30

40

【0978】

50

疼痛は、中枢痛症候群、急性痛、慢性痛、新生物関連の疼痛（急性、慢性）および慢性痛症候群を含むが、これらに限定されない。他の頭痛症候群は、群発性頭痛およびその他の三叉神経自律神経性頭痛、不特定の群発性頭痛症候群、偶発性群発性頭痛、慢性群発性頭痛、偶発性発作性片頭痛、慢性発作性片頭痛、結膜充血および流涙を伴う短期間の片側神経痛様頭痛、他の三叉神経自律神経性頭痛、緊張型頭痛、不特定の緊張型頭痛、偶発性緊張型頭痛、慢性緊張型頭痛、外傷後の頭痛、不特定の外傷後頭痛、急性外傷後頭痛、慢性外傷後頭痛、他で分類されていない薬剤誘発性頭痛、複合頭痛症候群、持続性片側頭痛、新たな日々持続性頭痛、原発性雷鳴頭痛、他の複合頭痛症候群、他の特定の頭痛症候群、睡眠頭痛、性行為関連の頭痛、原発性咳性頭痛、原発性労作性頭痛および原発性刺頭痛を含むが、これらに限定されない。

10

【0979】

中枢神経系の他の障害は、多発性硬化症、中枢神経系の他の脱髄性疾患、視神経脊髄炎、シルダー病、急性脊髄横断性脊髄炎、片側麻痺、片側麻痺（弛緩性）、片側麻痺（痙攣性）、脳性小児麻痺、脳性麻痺、対麻痺性先天性脳性麻痺、片側麻痺性先天性脳性麻痺、四肢麻痺、他の麻痺性症候群、四肢麻痺および四肢不全麻痺、対麻痺、上肢の両麻痺、下肢の単麻痺、上肢の単麻痺、不特定の単麻痺、馬尾症候群、他の特定麻痺性症候群、金縛り状態、てんかん、難治性てんかん、重積なしの強直間代てんかん、重積のあるてんかん、重積なしの側頭葉てんかん、重積なしの不特定てんかん、片頭痛、古典的非難治性片頭痛、一般的非難治性片頭痛、非難治性群発性頭痛、不特定の非難治性片頭痛、脱力発作およびナルコレプシー、脱力発作を伴わないナルコレプシー、脳嚢胞、無酸素性脳損傷、偽脳腫瘍、不特定の脳症、代謝性脳症、脳の圧縮、脳浮腫、脊髄穿刺後硬膜穿刺後頭痛、髄液鼻漏および中毒性脳症を含むが、これらに限定されない。

20

【0980】

末梢神経系の障害は、三叉神経障害、三叉神経痛、顔面神経障害、ベル麻痺、他の脳神経の障害、神経根および神経叢の障害、胸郭出口症候群、幻肢、上肢の単神経炎および多発単神経炎、手根管、下肢の単神経炎、坐骨神経の病変、知覚異常性大腿神経痛、大腿神経の他の病変、横膝窩神経の病変、内側膝窩神経の病変、足根管症候群、足底神経の病変、モートン神経腫、下肢の不特定の単神経炎、不特定部位の単神経炎、遺伝性特発性末梢神経障害、炎症性および有毒性ニューロパシー、ギラン・バレー症候群、ポリニューロパシー、アルコール性ポリニューロパシー、神経筋疾患、増悪する重症筋無力症、増悪しない重症筋無力症、筋ジストロフィーおよび他の筋障害、良性先天性ミオパシー、セントラルコア病、中心核ミオパシー、筋細管性ミオパシー、ネマリン小体病および遺伝性筋ジストロフィーを含むが、これらに限定されない。

30

【0981】

小胞のバイオシグネチャーを評価して対象に対するセラノーシスを提供することができる。小胞のバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に以下の表に開示されたものを含むことができる。

【0982】

神経疾患: バイオシグネチャー

小胞のバイオシグネチャーを評価して、対象に対するセラノーシスを提供することができる。小胞のバイオシグネチャーは、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に図1、45、46、47、48および49に記載されたバイオマーカーを含むことができる。小胞のバイオシグネチャーは、アミロイドβ、ICAM-1（げっ歯類）、CGRP（げっ歯類）、TIMP-1（げっ歯類）、CLR-1（げっ歯類）、HSP-27（げっ歯類）、FABP（げっ歯類）、ATP5B、ATP5H、ATP6V1B、DNM1、NDUFV2、NSF、PDHB、FGF2、ALDH7A1、AGXT2L1、AQP4、PCNT2、FGFR1、FGFR2、FGFR3、AQP4、ディスバインジンの突然変異、DAOA/G30、DISC1、ニューレグリン1、IFITM3、SERPINA3、GLS、ALDH7A1、BASP1、OX42、ED9、アポリポタンパク質D（げっ歯類）、miR-7、miR-24、miR-26b、miR-29b、miR-30b、miR-30e、miR-92、miR-195、miR-181b、DISC1、ディスバインジン、ニューレグリン1、セラトニン2a受容体およびNURR1を非限定的に含む一つまたは複数のバイオマーカーを含むことができる。

40

50

【0983】

神経疾患:標準治療

神経学的障害または疾患を患う対象由来の試料の小胞のバイオシグネチャー、小胞の量または両方の決定を使用して、その対象に対する標準治療を選択することができる。神経学的障害または疾患は、病態と関連した徴候にしたがって治療することができる。標準治療はたとえば医薬品を含むことができる。医薬品は、アスピリン、ジピリダモール、ナラトリプタン、アポモルフィン、ドネベジル、リンゴ酸アルモトリプタン、ルフィナマイド、ブロムフェナク、カルバトロール、セネスチン、タダラフィル、クロナゼパム、エンタカボン、酢酸グラチラマー、ペモリン、ジバルブロックス、ジフルプレドナート、酒石酸ゾルピデム、酒石酸リバスチグミン、デクスメチルフェニデート、コハク酸フロバトリプタン、酢酸亜鉛、スマトリプタン、パリペリドン、イオントカイン (iontocaine)、モルヒネ、レベチラセタム、ラモトリジン、バルデナフィル、リドカイン、エスゾピクロン、ホスプロポフォルニナトリウム、プレガバリン、安息香酸リザトリプタン、メロペネム、メチルフェニデート、メシル酸ジヒドロエルゴタミン、プラミペキソール、B型ボツリヌス毒素 (rimabotulinumtoxin B)、ナルトレキソン、メマンチン、ロチゴチン、ガバペンチン、ヒドロコドン、ミトキサントロン、アルモダフィニル、オキシコドン、プラミペキソール、サマリウム153レキシドロナム、インターフェロン β 1a、デキスフェンフルラミン、臭化水素酸エレクトリプタン、臭化水素酸ガラントミン、塩酸ロピニロール、リルゾール、ラメルテオン、エルデプリル、バルプロ酸、アトモキセチン、トルカボン、カルバマゼピン、トピラメート、オクスカルバゼピン、ナタリズマブ、アセトアミノフェン、トラマドール、ミダゾラム、ラコサミド、イオジキサノール、ジメシル酸リスデキサンフェタミン、テトラベナジン、ナトリウムオキシベート、塩酸チザニジン、ゾルミトリプタンおよびゾニサミドを含むが、これらに限定されない。

10

20

【0984】

対象の小胞プロファイルに基づいて選択することができる他の治療は、多発性硬化症の対象に関して表17、パーキンソン病の対象に関して表19、またはうつ病の対象に関して表20に記載されたものを含む。

【0985】

(表19) パーキンソン病治療薬のクラス

クラス	作用機序	例
ドーパミン前駆体	パーキンソン病において潤滑する神経伝達物質であるドーパミンの合成において前駆体として作用する。通常、レボドパを代謝するカルボキシラーゼ酵素の阻害剤と組み合わせて投与される。いくつか（たとえばデュオドパ）は注入、たとえば十二指腸内注入によって投与される。	レボドパ、 レボドパ・カルビドパ、 レボドパ・ベンセラジド、 エチレボドーパ、 デュオドパ
ドーパミンアゴニスト	線条体ドーパミン受容体を直接刺激することによって天然ドーパミンを模倣する。薬物が活性化する五つの既知のドーパミン受容体サブタイプによって細分類されることができる。一般にもっとも有効なものは、D2受容体ファミリーの受容体（具体的にはD2、D3受容体）を活性化するものである。いくつかは、より徐放性の送達または経皮送達のために調合されている。	プロモクリプチン、 カベルゴリン、 リスリド、ペルゴリド、 プラミペキソール、 ロピニロール、 タリペキソール、 アポモルフィン、 ジヒドロエルゴクリプチン、 リスリド、 ピリベジル、 タリペキソール、 ロチゴチンCDS、 スマニロール、 SLV-308
COMT阻害剤	レボドパを代謝する第二の主要な酵素であるCOMTを阻害する。	エンタカポン、 トルカポン、 エンタカポン・レボドパ・カルビドパの固定された組合せ
MAO-B阻害剤	MAO-Bはドーパミンを代謝し、したがって、MAO-Bの阻害剤はドーパミンの半減期を延ばす。	セレギリン、 ラサギリン、 サフィナミド
抗グルタミン酸作動剤	グルタミン酸放出をブロックする。 レボドパ誘発運動障害を軽減する。	アマンタジン、 ブジピン、 タラムパネル、 ゾニサミド
抗コリン作動剤	ドーパミン欠乏を伴う過度なコリン作動活性を阻害すると考えられている。	トリヘキシフェニジル、 ベンズトロピン、 ビペリデン
混合ドーパミン作動剤	ドーパミン作動性および非ドーパミン作動性のいくつかの神経伝達物質系に作用する。	NS-2330、 サリゾタン
アデノシンA2aアンタゴニスト	アデノシンA2はドーパミン受容体に拮抗し、ドーパミン受容体とともに見いだされる。これらの受容体のアンタゴニストはドーパミン受容体の活性を高めることができる。	イストラデフィリン
$\alpha 2$ アドレナリン作動アンタゴニスト	未知。	ヨヒンビン、 イダゾキサン、 フィパメゾール
抗アポトーシス剤	パーキンソン病の神経変性プロセスに関連する細胞死を遅らせることができる。	CEP-1347, TCH-346
成長因子刺激剤	ドーパミン作動性細胞の生存および増殖を促進する。	GPI-1485、 グリア細胞株由来神経栄養因子、 SR-57667、 PYM-50028
細胞交換治療法	損傷したニューロンを健康なニューロンで交換する。	スフェラミン

【0986】

(表20) うつ病治療薬のクラス

10

20

30

40

クラス	作用機序	例
選択的 セロトニン 再取り込み 阻害剤 (SSRI)	セロトニンのシナプス前再取り込みを遮断する。 ノルエピネフリンまたはドーパミン再取り込みには ほとんど影響を及ぼさない。 シナプス間隙中のセロトニンレベルが増す。	エスシタロプラム、 セルトラリン、 シタロプラム、パロキセチン、 パロキセチン (徐放性)、 フルオキセチン、 フルオキセチン (毎週)、 フルボキサミン、 オランザピン/フルオキセチン併用
セロトニン作動/ ノルアドレナリン 作動剤	セロトニン再取り込みおよびノルエピネフリン再取り込みを 阻害する。このクラスの様々な薬物が各受容体を様々な程度 に阻害することができる。ヒスタミン、アセチルコリン およびアドレナリン作動性受容体には影響しない。	ベンラファキシン、レボキセチン、 ミルナシプラン、ミルタザピン、 ネファゾドン、デュロキセチン
セロトニン作動/ ノルアドレナリン 作動/ドーパミン 作動剤	いくつかの異なる機序がある。ノルエピネフリン、 セロトニンおよび/またはドーパミン再取り込みを 遮断する。いくつかは、ドーパミン再取り込み阻害に よる常習性を有する。	ブプロピオン、マプロチリン、 ミアンセリン、トラゾドン、 デクスメチルフェニデート、 メチルフェニデート、 アミネプチン
三環系抗うつ剤	セロトニンおよびノルエピネフリンのシナプス 再取り込みを遮断する。ドーパミンにはほとんど影響を 及ぼさない。ムスカリン受容体、ヒスタミン作動性H1 受容体、および $\alpha 1$ アドレナリン作動性受容体の強力な 遮断剤である。	アミトリプチリン、アモキサピン、 クロミプラミン、デシプラミン、 ドキシセリン、イミプラミン、 ノルトリプチリン、 プロトリプチリン、トリミプラミン
不可逆性 モノアミン オキシダーゼ 阻害剤	モノアミンオキシダーゼ (MAO) は、セロトニンおよび ノルエピネフリンのようなモノアミン類を代謝する。 MAO阻害剤はMAOを阻害し、それにより、セロトニン およびノルエピネフリンのレベルを増す。	イソカルボキサジド、 フェネルジン、 トラニルシプロミン、 経皮セレギリン
可逆性 モノアミン オキシダーゼ 阻害剤	上記を参照。短時間作用型可逆性阻害剤。セロトニン、 ノルエピネフリンおよびドーパミンの脱アミノ化を 阻害する。	モクロベニド
セロトニン作動性/ ノルアドレナリン作動性/ ドーパミン作動性 再取り込み阻害剤	セロトニン、ノルエピネフリンおよびドーパミン すべての再取り込みを遮断するように作用する。 ドーパミン再取り込み阻害による常習性を有する おそれがある。	DOV-216303, DOV-21947
ノルアドレナリン 作動性/ドーパミン 作動性薬剤	ノルエピネフリンおよびドーパミンの再取り込みを 遮断する。	GW-353162
セロトニン アンタゴニスト	一つのセロトニン受容体 (5-HT ₁ 受容体) の 選択的アンタゴニスト。	アゴメラチン
セロトニン アゴニスト	5-HT _{1A} 受容体の部分的アゴニスト。	エプタピロン、 ビラゾドン、OPC-14523、 MKC-242、ゲピロンER
サブスタンスP アンタゴニスト	急性ストレス時に放出されるサブスタンスPのレベルを 調整する。	アプレピタント, TAK-637, CP- 122721, E6006, R-763OPC- GW-597599
β_3 アドレナリン 受容体 アゴニスト	ノルエピネフリン再取り込みを間接的に阻害する。 脂肪分解および熱発生を刺激するものであるため、 肥満症および糖尿病の治療のためにも研究されている。	SR-58611

10

20

30

40

【0987】

一つの態様において、アルツハイマー病を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に β アミロイドタンパク質、アミロイド前駆体タンパク質 (APP)、APP670/671、APP693、APP692、APP715、APP716、APP717、APP723、プレセニリン1、プレセニリン2、脳脊髄液アミロイド β タンパク質42 (CSF-A β a42)、脳脊髄液アミロイド β タンパク質40 (CSF-A β 40)、F2イソプロスタニン、4-ヒドロキシノネナール、F4ニューロプロスタニンおよびアクロレインを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的にドネペジル、ガランタミン、メマンチン、リバスチグミン、タクリンまたはそれらの組み合わせに関して応答者または非応答者であると決

50

定することができる。

【0988】

もう一つの態様において、パーキンソン病を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的に α シヌクレイン、PARK7 (DJ-1)、S期キナーゼ関連タンパク質1A (p19A/SKP1A)、熱ショックタンパク質70kDa、AMP調節リントタンパク質 (ARPP-21)、小胞モノアミンメンバー2 (VMAT2)、アルコールデヒドロゲナーゼ5 (ADH5)、アルデヒドデヒドロゲナーゼ1A1 (ALDH1A1)、eglennineホモログ1 (EGLN1)、プロリンヒドロキシラーゼ2 (PHD2) および低酸素誘導性因子 (HIF) を対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療、たとえば非限定的に表19に示すものに関して応答者または非応答者であると決定することができる。

10

【0989】

もう一つの態様において、パーキンソン病を患う対象に対する治療を選択することができる。一つまたは複数のバイオマーカー、たとえば非限定的にCRP、TNF、IL-6、S100BおよびMMPを対象からの小胞から評価することができる。一つまたは複数のバイオマーカーの一つまたは複数の特徴に基づき、対象を、治療に関して応答者または非応答者であると決定することができる。

【0990】

このように、対象の小胞のバイオシグネチャーに基づき、神経学関連の病態または神経学的病態もしくは疾患を患う対象に対する治療を選択することができる。

20

【0991】

バイオシグネチャーの発見

本明細書に提供されるシステムおよび方法は、小胞の新規なバイオシグネチャー、たとえば表現型の診断、予後判定またはセラノーシスのための一つまたは複数の新規なバイオマーカーを同定する際に使用することができる。一つの態様においては、表現型を有する対象から一つまたは複数の小胞を単離し、その一つまたは複数の小胞のバイオシグネチャーを決定することができる。そのバイオシグネチャーを、その表現型を有しない対象と比較することができる。二つのバイオシグネチャーの間の差異を決定し、使用して、新規なバイオシグネチャーを形成することができる。そして、その新規なバイオシグネチャーを使用して、もう一つの対象を、その表現型を有するもの、または有しないものとして同定

30

【0992】

特定の表現型を有する対象からのバイオシグネチャーの間の差異を、その特定の表現型を有しない対象からのバイオシグネチャーと比較することができる。一つまたは複数の差異は小胞の任意の特徴における差異であることができる。たとえば、試料中の小胞のレベルまたは量、小胞の半減期、小胞の循環半減期、小胞の代謝半減期もしくは小胞の活性またはそれらの任意の組み合わせが、特定の表現型を有する対象からのバイオシグネチャーと、その特定の表現型を有しない対象からのバイオシグネチャーとの間で異なることができる。

【0993】

いくつかの態様においては、一つまたは複数のバイオマーカーが、特定の表現型を有する対象からのバイオシグネチャーと、その特定の表現型を有しない対象からのバイオシグネチャーとの間で異なる。たとえば、一つまたは複数のバイオマーカーの発現レベル、存在、不在、突然変異、バリエーション、コピー数変化、切断、複製、修飾、分子会合またはそれらの任意の組み合わせが、特定の表現型を有する対象からのバイオシグネチャーと、その特定の表現型を有しない対象からのバイオシグネチャーとの間で異なることができる。バイオマーカーは、循環バイオマーカー、たとえばタンパク質もしくはマイクロRNA、小胞または小胞中もしくは小胞表面に存在する成分、たとえば任意の核酸 (たとえばRNAまたはDNA)、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、抗原、脂質、糖質またはプロテオグリカンを含む、本明細書に開示される、または生物学的実体を特徴決定するために使用する

40

50

ることができる任意のバイオマーカーであることができる。

【0994】

ある局面において、本発明は、新規なバイオシグネチャーを発見する方法であって、二つ以上の試料群の間でバイオマーカーを比較して、試料群間の差異を示すバイオマーカーを同定する工程を含む方法を提供する。複数のマーカーをパネル形式で評価して、個々のマーカーの性能を潜在的に改善することができる。いくつかの態様において、複数のマーカーは多重に評価される。群を識別する個々のマーカーまたはマーカー群の能力は、本明細書において使用されるような統計的識別分析または分類法を使用して評価することができる。マーカーの最適なパネルをバイオシグネチャーとして使用して、解析対象の表現型を特徴決定する、たとえば疾患または病態の診断、予後判定またはセラノーシスを提供することができる。最適化は、ROC AUC、精度、特定の特異度における感度または特定の感度における特異度を最大化することを非限定的に含む様々な基準に基づくことができる。パネルは、複数の型からのバイオマーカーを含むことができる。たとえば、バイオシグネチャーは、関心対象の小胞集団を捕捉するのに有用な小胞抗原を含むことができ、バイオシグネチャーはさらに、マイクロRNA、mRNAまたは可溶性タンパク質を非限定的に含む、小胞集団内のペイロードマーカーを含むことができる。最適な組み合わせは、二つの状況を比較した場合に最大のROC AUC値を有する小胞抗原およびペイロードマーカーとして同定することができる。もう一つの例として、バイオシグネチャーは、エキソソームを単離することによって得られない循環バイオマーカー、たとえば循環タンパク質および／またはマイクロRNAを評価することに加え、小胞集団を評価することによって決定することができる。

10

20

【0995】

表現型は、本明細書、たとえば上記「表現型」部分に記載されたもののいずれかであることができる。たとえば、表現型は、増殖障害、たとえば癌または非悪性増殖、周産期または妊娠関連の病態、感染症、神経学的障害、心血管疾患、炎症性疾患、免疫疾患または自己免疫疾患であることができる。癌は、非限定的に、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌（小細胞癌腫（燕麦細胞癌）、小細胞／大細胞混合癌腫および複合小細胞癌腫を含む）、結腸癌、乳癌、前立腺癌、肝臓癌、膵臓癌、脳癌、腎臓癌、卵巣癌、胃癌、黒色腫、骨癌、胃癌、乳癌、神経膠腫、神経膠芽腫、肝細胞癌、乳頭状腎臓癌腫、頭頸部扁平上皮癌腫、白血病、リンパ腫、骨髄腫または他の固形腫瘍を含む。

30

【0996】

新規のバイオシグネチャーを発見するために、本明細書に記載の任意のタイプのバイオマーカーまたは特異的バイオマーカーを評価することができる。一態様において、発見のために選択されるバイオマーカーは、図1～60、または表3～10、12～17、19～20、22、26、28～50、52、54、55～64、66、67、69～71、73～85、89～92のいずれかに列挙された遺伝子およびマイクロRNA、ならびにそれらの組み合わせを含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において列挙された細胞特異的バイオマーカーを含む。例えば、バイオマーカーは表5の1種または複数種のマーカーを含んでもよい。バイオマーカーは表6～9のいずれかにある1種または複数種のバイオマーカーを含んでもよい。バイオマーカーは、本明細書の実施例のいずれかにある1種または複数種のバイオマーカーを含んでもよい。バイオマーカーは、一つまたは複数の治療関連標的、たとえばABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、β III チューブリン、BIRC5、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベオリン、CD20、CD25、CD33、CD52、CDA、CDKN2A、CDKN1A、CDKN1B、CDK2、CDW52、CES2、CK14、CK17、CK5/6、c-KIT、c-Met、c-Myc、COX-2、サイクリンD1、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、Eカドヘリン、ECGF1、EGFR、EML4-A LK 融合体、EPHA2、エピレグリン、ER、ERBR2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSHB、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、hENT-1、Her2/Neu、HGF、HIF1A、HIG1、HSP90、HSP90AA1、HSPCA、IGF-1R、IGFRBP、IGFRBP3、IGFRBP4、IGFRBP5、IL13RA1、IL2RA、KDR、Ki67、KIT、K-RAS、LCK、LTB、リンホトキシンβ受容体、LYN、MET、MGMT、MLH1、MMR、MRP1、MS4A1、MSH2、MSH5、Myc、N

40

50

FKB1、NFKB2、NFKBIA、ODC1、OGFR、p16、p21、p27、p53、p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SIK2、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイピン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1およびZAP70を含むことができる。治療関連バイオマーカーは、表10または11～13のいずれかにおける一つまたは複数のマーカーであることができる。バイオマーカーは、一つまたは複数の一般的小胞マーカー、一つまたは複数の細胞特異的小胞マーカーおよび／または一つまたは複数の疾患特異的小胞マーカーを含むことができる。

【0997】

10

バイオシグネチャー発見に使用されるバイオマーカーは、HSPA8、CD63、Actb、GAPDH、CD9、CD81、ANXA2、HSP90AA1、ENO1、YWHAZ、PDCD6IP、CFL1、SDCBP、PKN2、MSN、MFGE8、EZR、YWHAG、PGK1、EEF1A1、PPIA、GLC1F、GK、ANXA6、ANXA1、ALDOA、ACTG1、TPI1、LAMP2、HSP90AB1、DPP4、YWHAB、TSG101、PFN1、LDHB、HSPA1B、HSPA1A、GSTP1、GNAI2、GDI2、CLTC、ANXA5、YWHAQ、TUBA1A、THBS1、PRDX1、LDHA、LAMP1、CLUおよびCD86の一つまたは複数を非限定的に含む、一般に小胞に関連したマーカーを含むことができる。バイオマーカーはさらに、CD63、GAPDH、CD9、CD81、ANXA2、ENO1、SDCBP、MSN、MFGE8、EZR、GK、ANXA1、LAMP2、DPP4、TSG101、HSPA1A、GDI2、CLTC、LAMP1、Cd86、ANPEP、TFRC、SLC3A2、RDX、RAP1B、RAB5C、RAB5B、MYH9、ICAM1、FN1、RAB11B、PIGR、LGALS3、ITGB1、EHD1、CLIC1、ATP1A1、ARF1、RAP1A、P4HB、MUC1、KRT10、HLA-A、FLOT1、CD59、Clorf58、BASP1、TACSTD1およびSTOMの一つまたは複数を含むことができる。他のバイオマーカーは、エキソソーム中で同定されるタンパク質およびRNA分子を開示するExoCartaデータベース (exocarta.ludwig.edu.auで入手可能) に開示されているものから選択することができる。また、Mathivanan and Simpson, ExoCarta: A compendium of exosomal proteins and RNA. Proteomics. 2009 Nov 9(21):4997-5000を参照すること。

20

【0998】

バイオシグネチャー発見に使用されるバイオマーカーは、A33、a33 n15、AFP、ALA、ALIX、ALP、アネキシンV、APC、ASCA、ASPH (246-260)、ASPH (666-680)、ASPH (A-10)、ASPH (D01P)、ASPH (D03)、ASPH (G-20)、ASPH (H-300)、AURKA、AURKB、B7H3、B7H4、BCA-225、BCNP1、BDNF、BRCA、CA125 (MUC16)、CA-19-9、C-Bir、CD1.1、CD10、CD174 (Lewis y)、CD24、CD44、CD46、CD59 (MEM-43)、CD63、CD66e CEA、CD73、CD81、CD9、CDA、CDAC1 1a2、CEA、C-Erb2、C-erbB2、CRMP-2、CRP、CXCL12、CYFRA21-1、DLL4、DR3、EGFR、Epcam、EphA2、EphA2 (H-77)、ER、ErbB4、EZH2、FASL、FRT、FRT c.f23、GDF15、GPCR、GPR30、Gro- α 、HAP、HBD1、HBD2、HER3 (ErbB3)、HSP、HSP70、hVEGFR2、iC3b、IL6 Unc、IL-1B、IL6 Unc、IL6R、IL8、IL-8、INSIG-2、KLK2、L1CAM、LAMN、LDH、MACC-1、MAPK4、MART-1、MCP-1、M-CSF、MFG-E8、MIC1、MIF、MISRII、MMG、MMP26、MMP7、MMP9、MS4A1、MUC1、MUC1 seq1、MUC1 seq11A、MUC17、MUC2、Ncam、NGAL、NPGP/NPFF2、OPG、OPN、p53、p53、PA2G4、PBP、PCSA、PDGFRB、PGP9.5、PIM1、PR (B)、PRL、PSA、PSMA、PSME3、PTEN、R5-CD9 Tube 1、Reg IV、RUNX2、SCRN1、セプラーゼ、SERPINB3、SPARC、SPB、SPDEF、SRVN、STAT3、STEAP1、TF (FL-295)、TFF3、TGM2、TIMP-1、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TMPRSS2、TNF- α 、Trail-R2、Trail-R4、TrkB、TROP2、Tsg 101、TWEAK、UNC93A、VEGF AおよびYPSMA-1の一つまたは複数を非限定的に含む、一般に小胞に関連したマーカーを含むことができる。バイオマーカーは、NSE、TRIM29、CD63、CD151、ASPH、LAMP2、TSPAN1、SNAI1、CD45、CKS1、NSE、FSHR、OPN、FTH1、PGP9、アネキシン1、SPD、CD81、EPCAM、PTH1R、CEA、CYTO 7、CCL2、SPA、KRAS、TWIST1、AURKB、MMP9、P27、MMP1、HLA、HIF、CEACAM、CENPH、BTUB、INTG b4、EGFR、NACC1、CYTO 18、NAP2、CYTO 19、アネキシンV、TGM2、ERB2、BRCA1、B7H3、SFTPC、PNT、NCAM、MS4A1、P53、INGA3、MUC2、SPA、OPN、CD63、CD9、MUC1、UNCR3、PAN ADH、HCG、TIMP、PSMA、GPCR、RACK1、PCSA、VEGF、BMP2、CD81、CRP、PRO GRP、B7H3、MUC1、M2PK、CD9、PCSAおよびPSMAの一つまたは複数を含むことができる。バイオマーカーはまた、TFF3、MS4A1、EphA2、GAL3、EGFR

30

40

50

、N-gal、PCSA、CD63、MUC1、TGM2、CD81、DR3、MACC-1、TrKB、CD24、TIMP-1、A33、CD66 CEA、PRL、MMP9、MMP7、TMEM211、SCRN1、TROP2、TWEAK、CDACC1、UNC93A、APC、C-Erb、CD10、BDNF、FRT、GPR30、P53、SPR、OPN、MUC2、GRO-1、tsg 101およびGDF15の一つまたは複数を含むことができる。態様において、バイオシグネチャーを発見するために使用されるバイオマーカーは、図99、100、108A～C、114Aおよび／または115A～Eに示されたものの一つまたは複数を含む。

【0999】

当業者は、本明細書に開示された任意のマーカーまたは関心対象の二つの試料または試料群の間で比較することができる任意のマーカーを使用して、比較することができる所与の生物学的状況に関して新規なバイオシグネチャーを発見することができることを理解するであろう。

10

【1000】

そして、一つまたは複数の差異を使用して、特定の表現型、たとえば病態の診断、疾患もしくは病態期の診断、病態の予後判定または病態のセラノースのための新規なバイオシグネチャーを形成することができる。そして、その新規なバイオシグネチャーを使用して他の対象における表現型を同定することができる。新たな対象に関して小胞のバイオシグネチャーを決定し、新規なバイオシグネチャーと比較して、その対象が、その新規なバイオシグネチャーが同定された特定の表現型を有するかどうかを判定することができる。

【1001】

たとえば、癌を有する対象のバイオシグネチャーを、癌を有しない別の対象と比較することができる。差異があるならばそれを使用して、癌の診断のための新規なバイオシグネチャーを形成することができる。もう一つの態様においては、進行期の癌を有する対象のバイオシグネチャーを、より進行していない病期の癌を有する別の対象と比較することができる。差異があるならばそれを使用して、癌の病期分類のための新規なバイオシグネチャーを形成することができる。さらに別の態様においては、進行期の癌を有する対象のバイオシグネチャーを、より進行していない病期の癌を有する別の対象と比較することができる。差異があるならばそれを使用して、癌の病期分類のための新規なバイオシグネチャーを形成することができる。

20

【1002】

一つの態様において、表現型は、治療薬に対する薬物耐性または非応答性である。特定の治療に対する非応答者から一つまたは複数の小胞を単離し、その小胞のバイオシグネチャーを決定することができる。非応答者から得られた小胞のバイオシグネチャーを、応答者から得られた小胞のバイオシグネチャーと比較することができる。非応答者からのバイオシグネチャーの間の差異を応答者からのバイオシグネチャーと比較することができる。一つまたは複数の差異は小胞の任意の特徴における差異であることができる。たとえば、試料中の小胞のレベルもしくは量、小胞の半減期、小胞の循環半減期、小胞の代謝半減期、小胞の活性またはそれらの任意の組み合わせが、非応答者からのバイオシグネチャーと、応答者からのバイオシグネチャーとの間で異なることができる。

30

【1003】

いくつかの態様において、一つまたは複数のバイオマーカーが、非応答者からのバイオシグネチャーと応答者からのバイオシグネチャーとの間で異なる。たとえば、一つまたは複数のバイオマーカーの発現レベル、存在、不在、突然変異、バリエーション、コピー数変化、切断、複製、修飾、分子会合またはそれらの任意の組み合わせが、非応答者からのバイオシグネチャーと応答者からのバイオシグネチャーとの間で異なることがある。

40

【1004】

いくつかの態様において、差異は、小胞中に存在する薬物または薬物代謝産物の量の差異であることができる。応答者および非応答者の両方を治療薬で治療することができる。応答者からのバイオシグネチャーと非応答者からのバイオシグネチャーとの間の比較を実施することができ、応答者からの小胞中に存在する薬物または薬物代謝産物の量は、非応答者中に存在する薬物または薬物代謝産物の量と異なる。差異はまた、薬物または薬物代

50

謝産物の半減期の差異であることもできる。薬物または薬物代謝産物の量または半減期の差異を使用して、非応答者および応答者を同定するための新規なバイオシグネチャーを形成することができる。

【1005】

本明細書に記載される方法および組成物に有用な小胞は、その物理化学的特徴を利用することによって発見することができる。たとえば、小胞は、たとえば直径30~120nmの公知の範囲の生物学的物質をろ過することにより、そのサイズごとに発見することができる。サイズベースの発見法、たとえば分画遠心分離法、スクロース勾配遠心分離法またはろ過が小胞の単離のために使用されている。

【1006】

小胞は、その分子成分によって発見することができる。分子性質ベースの発見法は、小胞と会合した分子を認識する抗体を使用する免疫学的単離を含むが、これに限定されない。たとえば、小胞と会合した表面分子は、MHC-II分子、CD63、CD81、LAMP-1、Rab7またはRab5を含むが、これらに限定されない。

【1007】

当技術分野において公知の様々な技術が小胞の確認および特徴決定のために適用可能である。小胞の確認および特徴決定に有用な技術は、ウェスタンブロット法、電子顕微鏡法、免疫組織化学法、免疫電子顕微鏡法、FACS（蛍光活性化細胞ソート法）、電気泳動法（一次元、二次元）、液クロマトグラフィー、質量分析法、MALDI-TOF（マトリックス支援レーザー脱離／イオン化飛行時間型質量分析法）、ELISA、LC-MS-MSおよびnESI（ナノエレクトロスプレーイオン化法）を含むが、これらに限定されない。たとえば、米国特許第2009/0148460号は、小胞を特徴決定するためのELISA法の使用を記載している。米国特許第2009/0258379号は、生物学的流体からの膜小胞の単離を記載している。

【1008】

小胞を、小胞内の1種または複数種の核酸、脂質、タンパク質もしくはポリペプチド、例えば、表面タンパク質もしくはペプチド、またはタンパク質もしくはペプチドについてさらに分析することができる。液体クロマトグラフィーなどの精製法と連結した質量分析を含む様々な技法によって、候補ペプチドを特定することができる。次いで、ペプチドを単離し、その配列を配列決定によって特定することができる。小胞から単離されたペプチドの配列を明らかにするために、ペプチドの正確な質量に基づいて配列を予測するコンピュータプログラムも使用することができる。例えば、高感度および高精度のペプチド配列決定のために、LTQ-Orbitrap質量分析を使用することができる。LTQ-Orbitrap法は説明されており(Simpson et al, Expert Rev. Proteomics 6:267-283,2009)、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【1009】

その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開公報第2008138578号に開示される1つまたは複数の方法を用いて、新規の小胞バイオマーカーを特定することができる。1つの態様において、治療を選択するための新規のバイオマーカーとして膜小胞の1種または複数種のバイオマーカーが特定される。治療の存在下で試料から得られた膜小胞を、このような治療の非存在下で試料から得られた膜小胞と比較することができる。治療に対する感受性または耐性を示す、試料の1つまたは複数の特徴を評価することができる(例えば、試料が細胞を含むのであれば、アポトーシス、細胞分裂、遺伝子発現などの細胞の特徴を決定することができる。または、試料が対象に由来するのであれば、対象の状態または症状を評価することができる)。試料の特徴の1つまたは複数を経路小胞中のバイオマーカーの発現レベルと相関づけて相関係数を得ることができる。バイオマーカーの中央値相関係数を計算することができ、中央値相関係数が約0.3より大きければ、治療に対する対象の感受性の決定において使用するためのバイオマーカーを特定することができる。一部の態様において、相関係数は、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、0.95、または0.99以上を上回る。

【1010】

1つの態様において、1種または複数種の細胞株、例えば、肺癌、結腸癌、乳癌、卵巣癌、白血病、腎臓癌、黒色腫、前立腺癌、および脳癌に由来する細胞株を用いて、癌表現型を特徴決定するための新規のバイオマーカーを特定することができる。例えば、以下の癌細胞株: NSCLC_NCIH23、NSCLC_NCIH522、NSCLC_A549ATCC、NSCLC_EKVX、NSCLC_NCIH226、NSCLC_NCIH332M、NSCLC_H460、NSCLC_HOP62、NSCLC_HOP92、COLON_HT29、COLON_HCC-2998、COLON_HCT116、COLON_SW620、COLON_COLO205、COLON_HCT15、COLON KM12、BREAST MCF7、BREAST_MCF7ADRR、BREAST MDAMB231、BREAST HS578T、BREAST MDAMB435、BREAST_MDN、BREAST BT549、BREAST_T47D、OVAR_OVCAR3、OVAR_OVCAR4、OVAR_OVCAR5、OVAR_OVCAR8、OVARJGROV1、OVAR_SKOV3、LEUK_CCRFCM、LEUK_K562、LEUK_MOLT4、LEUK_HL60、LEUK RPMI 8266、LEUK SR、RENAL_UO31、RENAL_SN12C、RENAL_A498、RENAL_CAK11、RENAL_RXF393、RENAL_7860、RENAL_ACHN、RENAL_TK10、MELAN_LOXIMVI、MELAN_MALME3M、MELAN_SKMEL2、MELAN_SKMEL5、MELAN_SKMEL28、MELAN_M14、MELANJJ ACC62、MELAN_JJ ACC257、PROSTATE_PC3、PROSTATE_DU145、CNS_SNB19、CNS_SNB75、CNS_U251、CNS_SF268、CNS_SF295、およびCNS_SF539の1つまたは複数を用いて、非癌細胞株とは異なる1種または複数種のバイオマーカーを特定し、癌を特徴決定する、例えば、癌を診断することができる。別の態様において、特定された1種または複数種のバイオマーカーを用いて、対象の治療を選択することができる。

【1011】

別の態様において、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1もしくはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソテリン、SPA、AQP5、GPCR、hCEA-CAM、PIPIA-2、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93A、MUC17、MUC2、IL10R- β 、BCMA、HVEM/TNFRSF14、Trappin-2、エラフィン、ST2/IL1R4、TNFRF14、CEACAM1、TPA1、LAMP、WF、WH1000、PECAM、BSA、および/またはTNFRを含むが、これに限定されない1種または複数種のバイオマーカーの存在またはレベルを評価することによって、新規のバイオシグネチャーが決定される。表現型をもたない別の試料(例えば、癌のない対象に由来する試料)と比較して、特定の表現型を有する試料(例えば、癌のある対象に由来する試料)の中のバイオマーカーの存在またはレベルに差があることは、バイオマーカーが新規のバイオシグネチャーの有用な成分であることを示す場合がある。

【1012】

1つの態様において、異なる細胞型からの膜小胞(例えば、異なる細胞型から脱落した膜小胞)の1種または複数種のバイオマーカーを(例えば、バイオマーカー発現の検出によって)評価し、癌治療の存在下での前記細胞型の増殖の測定値を癌治療の非存在下での前記細胞型の増殖と比べて求めることができる。小胞のバイオマーカーの1つまたは複数の評価(例えば、バイオマーカーの発現レベルの測定値)を細胞増殖と相関付けて、相関係数を得ることができる。バイオマーカーの相関係数を選択および計算することができる。中央値相関係数が閾値、例えば、約0.3より大きければ、特定の癌治療に対する対象の感受性の決定において使用するためのバイオマーカーとして、前記バイオマーカーを特定することができる。1つの態様において、相関係数が約0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、0.95、または0.99以上より大きければ、治療の選択において使用するために前記バイオマーカーが選択される。1つの態様において、前記方法は第2の治療の存在下で行われる。

【1013】

当業者であれば、表現型を特徴決定するためのバイオシグネチャーの一部として、本明細書において開示された任意のバイオマーカーを使用できることを理解するであろう。例えば、表現型を特徴決定するために、バイオシグネチャーの発見のために開示されたバイオマーカーサブセットを評価することができる。サブセットは、バイオマーカーの中の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100以

上でもよい。

【1014】

核酸

小胞中の1種または複数種の核酸をさらに分析することができる。

【1015】

タンパク質、ペプチド

小胞はさらに、タンパク質またはポリペプチド、たとえば表面タンパク質もしくはペプチドまたは小胞内のタンパク質もしくはペプチドに関して解析することができる。候補ペプチドは、液体クロマトグラフィーのような精製法と組み合わせた質量分析法を含む様々な技術によって同定することができる。そして、ペプチドを単離し、その配列を配列決定によって同定することができる。ペプチドの正確な質量に基づいて配列を予測するコンピュータプログラムを使用して、小胞から単離されたペプチドの配列を明らかにすることもできる。たとえば、高感度および高精度のペプチド配列決定にはLTQ-Orbitrap質量分析法を使用することができる。LTQ-Orbitrap法は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられるSimpson et al, Expert Rev. Proteomics 6:267-283, 2009に記載されている。

【1016】

脂質

小胞の脂質は、当技術分野で公知の方法を使用してさらに解析することができる。

【1017】

小胞組成物

特定のバイオシグネチャーを有する単離された小胞もまた、本明細書において提供される。単離された小胞は、上記のように、特定の細胞型に特異的な、または表現型を特徴決定するための一つまたは複数のバイオマーカーまたはバイオシグネチャーを含むことができる。たとえば、単離された小胞は、一つまたは複数のバイオマーカー、たとえばCD63、EpCam、CD81、CD9、PCSA、PSMA、B7H3、TNFR、MFG-E8、Rab、STEAP、5T4またはCD59を含むことができる。単離された小胞は、以下のバイオマーカー:EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PCSA、ICAM、STEAPおよびEGFRの一つまたは複数を含むことができる。一つの態様において、小胞はEpCam⁺、CK⁺、CD45⁻である。単離された小胞は、その表面上または小胞内に一つまたは複数のバイオマーカーを有することができる。単離された小胞はまた、一つまたは複数のmiRNA、たとえばmiR-9、miR-629、miR-141、miR-671-3p、miR-491、miR-182、miR-125a-3p、miR-324-5p、miR-148BまたはmiR-222を含むことができる。一つの態様において、小胞は、一つまたは複数のmiRNA、たとえばmiR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200aおよびmiR-200bを含む。さらに別の態様において、小胞は、一つまたは複数のmiRNA、たとえばmiR-92a-2^{*}、miR-147、miR-574-5pを含む。単離された小胞は、CD66のようなバイオマーカーを含むことができ、さらに、EpCam、CD63またはCD9からなる群より選択される一つまたは複数のバイオマーカーを含む。単離された小胞はまた、TMRSSG2:ERGのような融合遺伝子またはタンパク質を含むこともできる。

【1018】

また、単離された小胞は、1つ以上のバイオマーカーを含むことができ、正常な細胞に由来する単離された小胞（すなわち、関心対象の表現型がない対象に由来する細胞）と比較して、1つ以上のバイオマーカーの発現レベルは、単離された小胞について、より高いか、より低いか、または同一である。例えば、単離された小胞は、B7H3、PCSA、MFG-E8、Rab、STEAP、PSMA、PCSA、5T4、miR-9、miR-629、miR-141、miR-671-3p、miR-491、miR-182、miR-125a-3p、miR-324-5p、miR-148b、およびmiR-222からなる群より選択される1つ以上のバイオマーカーを含むことができ、正常な細胞に由来する小胞と比較して、単離された小胞について、1つ以上のバイオマーカーの発現レベルは、より高い。単離された小胞は、この群から選択される少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、13、14、15、16、17、18、または19個のバイオマーカーを含むことができる。単離された小胞は、EpCam、CD63、CD59、CD81、またはCD9からなる群より選択される1つ以上のバイオマーカーを

さらに含むことができる。

【1019】

単離された小胞は、バイオマーカーPCSA、EpCam、CD63、およびCD8；バイオマーカーPCSA、EpCam、B7H3、およびPSMAを含むことができる。単離された小胞は、バイオマーカーmiR-9、miR-629、miR-141、miR-671-3p、miR-491、miR-182、miR-125a-3p、miR-324-5p、miR-148b、およびmiR-222を含むことができる。

【1020】

単離された小胞を含む組成物も本明細書に提供される。該組成物は、1つ以上の単離された小胞を含むことができる。例えば、該組成物は、複数の小胞、または小胞の1つ以上の集団を含むことができる。

10

【1021】

該組成物は、小胞について実質的に濃縮することができる。例えば、該組成物は、細胞残屑、細胞、またはエキソソーム非関連性のタンパク質、ペプチド、もしくは核酸（小胞内に含有されない生体分子等）が実質的に不在であり得る。細胞残屑、細胞、またはエキソソーム非関連性のタンパク質、ペプチド、もしくは核酸は、小胞と共に生体試料中に存在し得る。組成物は、細胞残屑、細胞、またはエキソソーム非関連性のタンパク質、ペプチド、もしくは核酸（小胞内に含有されない生体分子等）が実質的に不在であり得、1つ以上の小胞に対して1つ以上の結合物質または捕捉物質を用いるような、本明細書に開示される任意の方法によって得ることができる。小胞は、重量、または質量で、全組成物の少なくとも30、40、50、60、70、80、90、95、または99%を構成することができる。組成物の小胞は、非均質または均質の小胞集団であり得る。例えば、均質の小胞集団は、1つ以上の特性または特徴が均質である小胞を含む。例えば、1つ以上の特徴は、1つ以上の同じバイオマーカー、実質的に同様もしくは同一のバイオシグネチャー、同じ細胞型に由来するか、特定の大きさの小胞、およびこれらの組み合わせからなる群より選択することができる。

20

【1022】

故に、幾つかの態様において、組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含む。組成物は、1つ以上の特性または特徴が少なくとも30、40、50、60、70、80、90、95、または99%均質である小胞集団について濃縮することができる。例えば、1つ以上の特徴は、1つ以上の同じバイオマーカー、実質的に同様もしくは同一のバイオシグネチャー、同じ細胞型に由来するか、特定の大きさの小胞、およびこれらの組み合わせからなる群より選択することができる。例えば、小胞集団は、全てが特定のバイオシグネチャーを有すること、同じバイオマーカーを有すること、同じバイオマーカーの組み合わせを有すること、または同じ細胞型に由来することによって均質であり得る。幾つかの態様において、組成物は、特異的なバイオシグネチャーを有する集団、特定の細胞に由来する集団、または両方等の、実質的に均質の小胞集団を含む。

30

【1023】

小胞集団は、1つ以上の同じバイオマーカーを含むことができる。バイオマーカーは、任意の核酸（例えば、RNAまたはDNA）、タンパク質、ペプチド、ポリペプチド、抗原、脂質、糖質、またはプロテオグリカン等の、任意の成分であり得る。例えば、一集団中の各小胞は、同じまたは同一の1つ以上のバイオマーカーを含むことができる。幾つかの態様において、各小胞は、同じ1、2、3、4、5、6、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75、または100個のバイオマーカーを含む。1つ以上のバイオマーカーは、図1、3～60から選択することができる。

40

【1024】

同じまたは同一のバイオマーカーを含む小胞集団は、バイオマーカーの同じ存在もしくは不在、発現レベル、突然変異状態、または修飾を有する集団中の各小胞を指すことができる。例えば、濃縮された小胞集団は、各小胞が、同じバイオマーカーの存在、同じバイオマーカーの不在、バイオマーカーの同じ発現レベル、バイオマーカーの同じ修飾、またはバイオマーカーの同じ突然変異を有する、小胞を含むことができる。バイオマーカーの

50

同じ発現レベルは、過小発現している、過剰発現している等の、集団中の小胞などの定量的もしくは定性的指標を指すことができるか、または参照レベルと比較して、バイオマーカーの同じ発現レベルを有することができる。

【1025】

あるいは、バイオマーカーの同じ発現レベルは、集団中の各小胞について同様であるバイオマーカー発現を示す数値であり得る。例えば、各小胞のmiRNAのコピー数、タンパク質の量、またはmRNAのレベルは、集団中の各小胞について定量的に同様であり得、したがって、各小胞の数量は、変動が適切であれば、その集団中の各々の他の小胞の量から±1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、または20%である。

【1026】

幾つかの態様において、組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み、濃縮された集団中の小胞は、実質的に同様の、または同一のバイオシグネチャーを有する。バイオシグネチャーは、小胞のレベルもしくは量、小胞の半減期における変動の時間的評価、循環小胞の半減期、もしくは小胞の代謝半減期、または小胞の活性等の1つ以上の小胞の特徴を含むことができる。また、バイオシグネチャーは、本明細書に記載されるもの等のバイオマーカーの存在もしくは不在、発現レベル、突然変異状態、または修飾を含むこともできる。

【1027】

集団中の各小胞のバイオシグネチャーは、少なくとも30、40、50、60、70、80、90、95、または99%同一であり得る。幾つかの態様において、各小胞のバイオシグネチャーは、100%同一である。濃縮された集団中の各小胞のバイオシグネチャーは、同じ1、2、3、4、5、6、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、50、75、または100個の特徴を有することができる。例えば、濃縮された集団中の小胞のバイオシグネチャーは、第1のバイオマーカーの存在、第2のバイオマーカーの存在、および第3のバイオマーカー過小発現であり得る。同じ集団中の別の小胞は、同じ第1および第2のバイオマーカーの存在ならびに第3のバイオマーカーの過小発現を有し、100%同一であり得る。あるいは、同じ集団中の小胞は、同じ第1および第2のバイオマーカーを有するが、第3のバイオマーカーの過小発現を有し得ない。

【1028】

幾つかの態様において、組成物は、実質的に濃縮された小胞集団を含み、これらの小胞は、同じ細胞型に由来する。例えば、これらの小胞は全て、特定の組織の細胞、関心対象の特定の腫瘍からの細胞、もしくは関心対象の罹患組織、循環腫瘍細胞、または母体もしくは胎児起源の細胞に由来し得る。該小胞は全て、腫瘍細胞に由来し得る。これらの小胞は全て、肺、脾臓、胃、腸、膀胱、腎臓、卵巣、睾丸、皮膚、結腸直腸、乳房、前立腺、脳、食道、肝臓、胎盤、または胎児の細胞に由来し得る。

【1029】

また、実質的に濃縮された小胞集団を含む組成物は、特定の大きさからなる小胞を含むこともできる。例えば、これらの小胞は全て、約10、20、または30nmを超える直径を有することができる。これらは、約30~1000nm、約30~800nm、約30~200nm、または約30~100nmの直径を有し得る。幾つかの態様において、これらの小胞は全て、約10,000nm、1000nm、800nm、500nm、200nm、100nm、または50nm未満の直径を有し得る。

【1030】

1つ以上の特徴が均質である小胞集団は、組成物の全小胞集団の少なくとも約30、40、50、60、70、80、90、95、または99%を構成することができる。幾つかの態様において、実質的に濃縮された小胞集団を含む組成物は、組成物が由来した生体試料中の小胞濃度と比較して、少なくとも2、3、4、5、10、20、25、50、100、250、500、または1000倍の小胞濃度を含む。さらに他の態様において、該組成物は、第2の濃縮された小胞集団をさらに含むことができ、該小胞集団は、本明細書に記載される、1つ以上の特徴が少なくとも30%均質である。

【1031】

10

20

30

40

50

多重解析を使用して、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10個の小胞集団等の1個を超える小胞集団について実質的に濃縮された組成物を得ることができる。各々の実質的に濃縮された小胞集団は、重量または質量で、該組成物の少なくとも5、10、15、20、25、30、35、40、45、46、47、48、または49%を構成することができる。幾つかの態様において、実質的に濃縮された小胞集団は、重量または質量で、該組成物の少なくとも約30、40、50、60、70、80、90、95、または99%を構成する。

【1032】

実質的に濃縮された小胞集団は、本明細書に開示される、1つ以上の方法、プロセス、またはシステムを用いることによって得ることができる。例えば、小胞の2つ以上のバイオマーカーを標的とする2つ以上の結合物質を用いるような、小胞の1つ以上のバイオマーカーに対して1つ以上の結合物質を用いることによって、試料からの小胞集団の単離を行うことができる。1つ以上の捕捉物質を使用して、実質的に濃縮された小胞集団を得ることができる。1つ以上の検出物質を使用して、実質的に濃縮された小胞集団を同定することができる。

10

【1033】

一つの態様において、特定のバイオシグネチャーを有する小胞集団は、バイオシグネチャーのバイオマーカーに対して1つ以上の結合物質を用いることによって得られる。特定のバイオシグネチャーを有する実質的に濃縮された小胞集団を含む組成物をもたらし小胞を単離することができる。別の態様において、関心対象の特定のバイオシグネチャーを有する小胞集団は、関心対象のバイオシグネチャーの成分ではないバイオマーカーに対して1つ以上の結合物質を用いることによって得ることができる。故に、これらの結合物質を使用して、関心対象のバイオシグネチャーを有さない小胞を除去することができ、得られる組成物は、関心対象の特定のバイオシグネチャーを有する小胞集団について実質的に濃縮される。得られる組成物は、結合物質のバイオマーカーを含む小胞が実質的に不在であり得る。

20

【1034】

検出システムおよびキット

小胞について1つ以上のバイオシグネチャーを決定するように構成されている検出システムも提供される。検出システムは、非均質の小胞集団または1つ以上の均質の小胞集団を検出するために使用することができる。検出システムは、複数の小胞を検出するように構成することができ、該複数の小胞の少なくとも1つのサブセットは、該複数の小胞の別のサブセットとは異なるバイオシグネチャーを含む。検出システムは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、または100個の異なる小胞のサブセットを検出し、該小胞の各サブセットは、異なるバイオシグネチャーを含む。例えば、本明細書に開示される1つ以上の方法、プロセス、および組成物を用いるような、検出システムは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、または100個の異なる小胞集団を検出するために使用することができる。

30

【1035】

検出システムは、1つ以上の小胞に対して、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、1000、2500、5000、7500、10,000、100,000、150,000、200,000、250,000、300,000、350,000、400,000、450,000、500,000、750,000、または1,000,000個の異なるバイオマーカーを評価するように設定することができる。幾つかの態様において、1つ以上のバイオマーカーは、図1、3~60から選択されるか、本明細書に開示される通りである。検出システムは、特定の起始細胞からの小胞等の特定の小胞集団を評価する、または小胞の複数個の特定の集団を評価するように設定することができ、ここで各小胞集団は、特定のバイオシグネチャーを有する。

40

【1036】

検出システムは、低密度検出システムまたは高密度検出システムであり得る。例えば、低密度検出システムは、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の異なる小胞集団

50

を検出することができる一方、高密度検出システムは、少なくとも約15、20、25、50、または100個の異なる小胞集団を検出することができる。別の態様において、低密度検出システムは、最大約100、200、300、400、または500個の異なるバイオマーカーを検出することができる一方、高密度検出システムは、少なくとも約750、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9,000、10,000、15,000、20,000、25,000、50,000、または100,000個の異なるバイオマーカーを検出することができる。さらに別の態様において、低密度検出システムは、最大約100、200、300、400、または500個の異なるバイオシグネチャーまたはバイオマーカーの組み合わせを検出することができる一方、高密度検出システムは、少なくとも約750、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9,000、10,000、15,000、20,000、25,000、50,000、または100,000個のバイオシグネチャーまたはバイオマーカーの組み合わせを検出することができる。

10

【1037】

検出システムは、小胞に選択的にハイブリダイズするプローブを含むことができる。検出システムは、小胞を検出するために複数のプローブを含むことができる。幾つかの態様において、非均質の小胞集団中の小胞の量を検出するために、複数のプローブが使用される。さらに他の態様において、均質の小胞集団を検出するために、複数のプローブが使用される。複数のプローブは、小胞の少なくとも2つの異なるサブセットを単離する、または検出するために使用することができ、ここで小胞の各サブセットは、異なるバイオシグネチャーを含む。

【1038】

本明細書に開示される1つ以上の方法、プロセス、および組成物を用いるような、検出システムは、本明細書に開示される1つ以上の方法、プロセス、および組成物を用いるような、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、または100個の異なる小胞のサブセットを検出する、または単離するように構成される複数のプローブを含むことができ、小胞の各サブセットは、異なるバイオシグネチャーを含む。

20

【1039】

例えば、検出システムは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、または100個の異なる小胞集団を検出するように構成される複数のプローブを含むことができる。検出システムは、1つ以上の小胞に対して、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、1000、2500、5000、7500、10,000、100,000、150,000、200,000、250,000、300,000、350,000、400,000、450,000、500,000、750,000、または1,000,000個の異なるバイオマーカーに選択的にハイブリダイズするように構成される複数のプローブを含むことができる。幾つかの態様において、1つ以上のバイオマーカーは、図1、3~60から選択されるか、または本明細書に開示される通りである。複数のプローブを、特定の起始細胞からの小胞等の特定の小胞集団を評価する、または小胞の複数個の特定の集団を評価するように構成することができ、各小胞集団は、特定のバイオシグネチャーを有する。

30

【1040】

検出システムは、小胞を検出するためのプローブを含む低密度検出システムまたは高密度検出システムであり得る。例えば、低密度検出システムは、最大1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個の異なる小胞集団を検出するためにプローブを含むことができる一方、高密度検出システムは、少なくとも約15、20、25、50、または100個の異なる小胞集団を検出するためにプローブを含むことができる。別の態様において、低密度検出システムは、最大約100、200、300、400、または500個の異なるバイオマーカーを検出するためにプローブを含むことができる一方、高密度検出システムは、少なくとも約750、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9,000、10,000、15,000、20,000、25,000、50,000、または100,000個の異なるバイオマーカーを検出するためにプローブを含むことができる。さらに別の態様において、低密度検出システムは、最大約100、200、300、400、または500個の異なるバイオシグネチャーまたはバイオマーカーの組み合わせを検出する

40

50

ためにプローブを含むことができる一方、高密度検出システムは、少なくとも約750、1000、2000、3000、4000、5000、6000、7000、8000、9,000、10,000、15,000、20,000、25,000、50,000、または100,000個のバイオシグネチャーまたはバイオマーカの組み合わせを検出するためにプローブを含むことができる。

【1041】

プローブは、特定の小胞集団、例えば、特定のバイオシグネチャーを有する小胞を検出するために特異的であり得、上記の通りである。前立腺固有の小胞を検出するための複数のプローブも提供される。複数のプローブは、以下のバイオマーカのうちの1つ以上を検出するためのプローブを含むことができる:CD9、PSCA、TNFR、CD63、MFG-E8、EpCAM、Rab、CD81、STEAP、PCSA、5T4、EpCAM、PSMA、CD59、CD66、CD24、およびB7H3。Bcl-XL、ERCC1、ケラチン15、CD81/TAPA-1、CD9、上皮特異抗原 (ESA)、および脂肪細胞キマーゼを検出するための複数のプローブも提供される。一つの態様において、複数のプローブは、TMEM211および/またはCD24を検出するための一つまたは複数のプローブを含む。

【1042】

複数のプローブはまた、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSM、PCSA、CD63、STEAP、CD81、ICAM1、A33、DR3、CD66e、MFG-E8、TROP-2、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、EpCam、ニューロキニン受容体-1(NK-1もしくはNK-1R)、NK-2、Pai-1、CD45、CD10、HER2/ERBB2、AGTR1、NPY1R、MUC1、ESA、CD133、GPR30、BCA225、CD24、CA15.3(MUC1分泌型)、CA27.29(MUC1分泌型)、NMDAR1、NMDAR2、MAGEA、CTAG1B、NY-ESO-1、SPB、SPC、NSE、PGP9.5、P2RX7、NDUFB7、NSE、GAL3、オステオポンチン、CHI3L1、IC3b、メソ

【1043】

小胞の一つまたは複数のmiRNAを検出するための複数のプローブは、以下のmiRNA:miR-9、miR-629、miR-141、miR-671-3p、miR-491、miR-182、miR-125a-3p、miR-324-5p、miR-148bおよびmiR-222の一つまたは複数を検出するためのプローブを含むことができる。もう一つの態様において、複数のプローブは、EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRを検出するための一つまたは複数のプローブを含む。いくつかの態様において、複数のプローブは、EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMAおよびB7H3を検出するための一つまたは複数のプローブを含む。他の態様において、複数のプローブは、EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRを検出するための一つまたは複数のプローブを含む。さらに別の態様において、複数のプローブのサブセットは、EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRの一つまたは複数に対する捕捉物質であり、別のサブセットは、CD9、CD63およびCD81の一つまたは複数を検出するためのプローブである。複数のプローブはまた、r miR-92a-2*、miR-147、miR-574-5pまたはそれらの0組み合わせを検出するための一つまたは複数のプローブを含むこともできる。複数のプローブはまた、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200a、miR-200bまたはそれらの任意の組み合わせを検出するための一つまたは複数のプローブを含むこともできる。複数のプローブはまた、EpCam、CKおよびCD45を検出するための一つまたは複数のプローブを含むこともできる。いくつかの態様において、一つまたは複数のプローブは捕捉物質であることができる。もう一つの態様において、プローブは検出物質であることもできる。さらに別の態様において、複数のプローブは捕捉物質および検出物質を含む。

【1044】

捕捉物質などのプローブは、アレイまたはビーズ等の固体基体に付着され得る。あるいは、検出物質などのプローブは付着されない。検出システムは、上記のような、アレイベースのシステム、配列決定システム、PCRベースのシステム、またはビーズベースのシステムであり得る。検出システムはまた、上記のような、マイクロ流体工学デバイスであり

得る。

【1045】

検出システムは、キットの一部であり得る。あるいは、キットは、本明細書に記載される、1つ以上のプローブセット、または複数のプローブを含み得る。キットは、1種の小胞、または非均質集団中の小胞等の複数種の小胞を検出するためにプローブを含むことができる。キットは、均質の小胞集団を検出するためにプローブを含み得る。例えば、キットは、特定の起始細胞小胞、または同じ特定のバイオシグネチャーを有する小胞集団を検出するためにプローブを含み得る。

【1046】

ポートフォリオ

臨床決定および疾患の検出を誘導するための多重化マーカーのポートフォリオは、ポートフォリオ内のバイオマーカーの組み合わせが、個々のバイオシグネチャーまたはランダムに選択されたバイオシグネチャーの組み合わせと比較して、改善された感度および特異度を示すように構築され得る。本発明の文脈において、ポートフォリオの感度は、正常状態と比較した、罹患状態におけるバイオシグネチャーの発現によって示される、倍数差に反映され得る。特異度は、例えば、関心対象の病態と遺伝子発現のシグナリングの相関の統計的測定に反映され得る（例えば、標準偏差は、このような測定として使用することができる）。ポートフォリオに包含するためのバイオシグネチャー群を考える場合、測定における小さな標準偏差は、より高い特異度と相関する。相関係数等の他の変法の測定もまた、この限りにおいて使用することができる。

【1047】

本発明において、バイオマーカーまたはバイオシグネチャーを組み合わせる場合、体外診断多変量指数アッセイ（IVDMIA）ガイドラインおよび規制が適用され得る。IVDMIAは、遺伝子、遺伝子変化、突然変異、増幅、欠失、多型、もしくはメチル化、またはタンパク質、ペプチド、ポリペプチドもしくはRNA分子、miRNA、mRNA、snoRNA、hnRNA、またはグループ化することができるRNAの任意の組み合わせからなる、2つ以上のマーカーのセットとして定義される、バイオシグネチャーに適用することができるため、この群中のバイオシグネチャーのセットについて得られた情報が、診断、予後判定、または治療選択等の臨床的に関連する判断を下すための妥当な基盤を提供する。バイオシグネチャーのこれらのセットは、本発明の種々のポートフォリオを構成する。ほとんどの診断マーカーと同様に、多くの場合、正確な医学的判断を行うのに十分な最小限のマーカーを使用することが望ましい。これにより、さらなる解析を待つ間の治療の遅延、ならびに時間および財源の不適當な使用も防ぐ。好ましくは、ポートフォリオにおけるバイオシグネチャーの組み合わせが、個々のバイオシグネチャーまたはランダムに選択されたバイオシグネチャーの組み合わせと比較して、改善された感度および特異度を示すように、ポートフォリオは構築される。本発明の文脈において、ポートフォリオの感度は、正常状態と比較して、罹患状態におけるバイオシグネチャーの発現によって示される、倍数差に反映され得る。特異度は、例えば、関心対象の条件と遺伝子発現シグナルとの相関の統計的な測定に反映され得る。ポートフォリオに包含するためのバイオシグネチャー群を考える場合、標準偏差、分散、共分散、相関係数、加重平均、算術的合計、平均、倍数値、加重値もしくは平衡値、または全体としてより高い感度、特異度、陰性適中率、陽性適中率、または精度を生じることができる値またはスコアを計算するために一緒に使用することができる2つ以上のマーカーの値の任意の数学的な操作もまた、この能力において使用することができる、本発明の範囲内である。

【1048】

別の態様において、パターン認識法を使用することができる。1つの例は、診断に帰するために、種々のバイオマーカー（またはバイオシグネチャーポートフォリオ）に対するバイオマーカーの発現プロファイルと比較することを含む。バイオシグネチャーポートフォリオを含むそれぞれのバイオマーカーの発現プロファイルは、コンピュータ可読媒体等の媒体中に固定される。

10

20

30

40

50

【1049】

一例において、疾患、または生理的状态を示すシグナルの範囲（例えば、強度測定）を入力する表を構築することができる。次いで、実際の患者データを、表中の値と比較し、患者の試料が正常、良性、罹患しているか、または特異的な生理的状态を示すかどうかを判定することができる。さらに洗練された態様において、発現シグナルのパターン（例えば、蛍光強度）は、デジタル的または図表的に記録される。RNAの例において、患者の試料と組み合わせて使用されるバイオマーカーポートフォリオからの発現パターンが、次いでこれらの発現パターンと比較される。次いで、パターン比較ソフトウェアを使用して、患者試料が、疾患、ある予後を示すパターン、治療に応答する可能性を示すパターン、または特定の生理的状态を示すパターンを有するかどうかを判定することができる。次いで、これらの試料の発現プロファイルは、対照細胞のポートフォリオと比較される。試料の発現パターンが、疾患、予後、または治療関連の反応に対する発現パターンと一致する場合、（対抗する医学上の考察が存在しない場合には）該患者は、これらの種々の状況に関する条件を満たすとして診断される。試料の発現パターンが、正常／対照の細胞集団に由来する発現パターンと一致する場合、該患者は、これらの条件に対して陰性であると診断される。

10

【1050】

別の例示的な態様において、バイオマーカーの発現ポートフォリオを構築するための1つの方法は、株のポートフォリオを構築する際に広く使用されている、平均分散アルゴリズム等の最適化アルゴリズムの使用を介する。この方法は、米国出願公開第20030194734号に詳細に記載されており、参照することにより本明細書に組み込まれる。あるいは、測定したDNAの変化、有効性および毒性の表現型読み取り値に対するmRNA、タンパク質、もしくは代謝産物の変化を、米国特許第7,089,168号、第7,415,359号、および米国出願公開第20080208784号、第20040243354号、または第20040088116号（これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる）に記載される、アルゴリズム、システム、および方法を用いて、モデル化および解析し得る。

20

【1051】

未知のもののバイオシグネチャーのポートフォリオ選択および特徴決定の例示的なプロセスを以下の通りにまとめる。

30

(1) ベースラインの種類を選択する。

(2) ベースラインクラスの試料について、各バイオマーカーの平均および標準偏差を計算する。

(3) 各バイオマーカーについて、 $(X * \text{標準偏差} + \text{平均})$ を計算する。これは、全ての他の試料が比較されるベースラインの読み取り値である。Xは、ストリンジェンシーの変数であり、高いX値は、低い値よりもさらにストリンジェントである。

(4) 工程3において計算されたベースラインの読み取り値に対する各実験試料の比を計算する。

(5) 1未満の比が負であるように比を変換する（例えば、底数10対数を用いる）。（過小発現のバイオマーカーは、ここで、MVの最適化のために必要な負の値を適正に有する）

40

(6) これらの変換された比が、ソフトウェアアプリケーションに通常使用される、有用なリターン（asset return）の代わりに入力として使用される。

(7) そのソフトウェアは、有効フロンティアをプロットし、有効フロンティアに沿ったいずれかの点で、最適ポートフォリオを戻す。

(8) 有効フロンティアにおける所望の戻しまたは分散を選択する。

(9) ポートフォリオ選択アルゴリズムにより生成された重みによる、各遺伝子の強度値の積を合計することによって、各試料に対するポートフォリオの値を計算する。

(10) $Y \times$ ベースライン群の平均バイオシグネチャーポートフォリオ値とベースラインのバイオシグネチャーポートフォリオ値の標準偏差を加算することによって境界値を計算する。この境界値よりも大きな値は、実験クラスとして区分される。

50

(11) 任意に、最良の予測を得るまで、このプロセスを繰り返すことができる。

【1052】

また、バイオシグネチャーのポートフォリオを選択するプロセスは、発見的な規則の適用を含むことができる。好ましくは、このような規則は、生物学および臨床的な結果を生成するために使用される技術の理解に基づいて策定される。さらに好ましくは、これらは、最適化法からの出力に適用される。例えば、バイオシグネチャーのポートフォリオ選択の平均分散法は、特異的な疾患を有する対象で特異的に発現された多くのバイオマーカーに対するマイクロアレイデータに適用することができる。この方法からの出力は、罹患組織と同様に小胞中に発現されたものを含む可能性のある、最適化されたバイオマーカーのセットとなる。試験方法に使用された試料が小胞から得られたものであり、疾患または生理的状態の例の中で特異的に発現されているあるバイオマーカーが小胞中でも特異的に発現され得る場合、小胞中で特異的に発現しているものを排除するような有効フロンティアからバイオマーカーのポートフォリオが選択される、という発見的な規則を適用することができる。もちろん、例えば、データの前選択の間に、この規則を適用することによって、有効フロンティアの形成の前に、この規則を適用することができる。

10

【1053】

診断、予後判定、および治療選択および／もしくは生理的状態を定義する特徴決定のための小胞由来の多重分析物プロファイルを同定するために、線形および非線形特徴部分空間の解析、大規模なデータセットにおける特徴抽出およびシグナルデコンボリューションのための他の統計、数学、および計算アルゴリズムは、主成分分析（PCA）ならびに線形および非線形独立成分分析（ICA）；ブラインドシグナル源分離、非ガウス性解析、自然勾配の最大尤度推定；結合近似対角化；固行列（eigenmatrices）；ガウス型放射基底関数（Gaussian radical basis function）、カーネルおよび多項式カーネル解析の連続した浮いている前進選択（sequential floating forward selection）が挙げられるが、これらに限定されない、監視されていない解析方法の任意の組み合わせを用いて行うことができる。

20

【1054】

コンピュータシステム

例えば、図1、3～60に列記される、1つ以上のバイオマーカーの量、有無を決定することによって、分子的特徴について小胞をアッセイすることができる。作成されたデータを使用して、バイオシグネチャーを生成することができ、図65に示されるような、コンピュータシステムによって保存および解析することができる。1つ以上の表現型を有するバイオシグネチャーのアッセイまたは相関は、コンピュータ実行可能論理を用いること等によって、コンピュータシステムによって行うこともできる。

30

【1055】

図65に示されるような、コンピュータシステムを使用して、解析後のデータおよび結果を送信することができる。したがって、図65は、小胞からの結果が解析されこの解析が報告または生成され得る代表例の論理デバイスを示すブロック図である。図65は、小胞から生成されたデータを受信および保存し、1つ以上のバイオシグネチャーを生成するためのデータを解析し、1つ以上のバイオシグネチャーまたは表現型の特徴決定の報告書を生成するためのコンピュータシステム（またはデジタルデバイス）800を示す。また、コンピュータシステムは、生成したバイオシグネチャーの比較および解析、ならびにその結果を送信することもできる。あるいは、コンピュータシステムは、ネットワーク上のデータの送信を通して小胞解析の生データを受信し、解析を行うことができる。

40

【1056】

コンピュータシステム800は、場合によっては固定媒体812を有するサーバ809に接続されることができる媒体811および／またはネットワークポート805からの命令を読むことができる論理装置として理解することができる。図65に示すシステムは、CPU801、ディスクドライブ803、任意選択の入力装置、たとえばキーボード815および／またはマウス816ならびに任意選択のモニター807を含む。ローカルまたは遠隔場所にあるサーバ809への指示

50

された通信媒体を介してデータ通信を達成することができる。通信媒体は、データを送信および／または受信する任意の手段を含むことができる。たとえば、通信媒体は、ネットワーク接続、ワイヤレス接続またはインターネット接続であることができる。そのような接続は、ワールドワイドウェブを介する通信を提供することができる。本発明に関連するデータは、関係者822による受信および／または閲覧のために、そのようなネットワークまたは接続を介して送信できると考えられる。受信する関係者822は、個人、健康管理提供者または健康管理管理者であることができるが、これらに限定されない。したがって、試験結果に関する情報およびデータは、世界中どこで作成することもでき、異なる場所に送信することができる。たとえば、アッセイが異なる建物、町、州、国、大陸または海外で実施される場合でも、上記のように、試験結果に関する情報およびデータを送信可能な形態で生成し、投げることができる。したがって、送信可能な形態の試験結果は、米国内の受信する関係者822へとインポートすることができる。したがって、本発明はまた、個人からの一つまたは複数の試料の診断に関する、送信可能な形態の情報を作成する方法を包含する。本方法は、(1) 本発明の方法にしたがって試料から診断、予後判定、セラノーシスなどを決定する工程、および(2) 決定工程の結果を送信可能な形態に具現化する工程を含む。送信可能な形態は作成方法の作成物である。一つの態様において、コンピュータ読み取り可能な媒体は、バイオシグネチャーのような生物学的試料の解析の結果の送信に適した媒体を含む。媒体は、小胞に関する結果、たとえば対象のバイオシグネチャーを含むことができ、そのような結果は、本明細書に記載される方法を使用して導出される。

10

20

【1057】

小胞の生体外の収集

表現型の解析および決定のための小胞はまた、生体外で収集されたものであり得る。細胞は培養することができ、培養中に関心対象の細胞から放出される小胞は、自然発生的に生じるか、または培地に小胞を放出するように刺激され得る。(例えば、Zitvogel, et al.1998.Nat.Med.4:594-600、Chaput, et al.2004.J.Immunol.172:2137-214631:2892-2900、Escudier, et al.2005.J.Transl.Med.3:10、Morse, et al.2005, J.Transl.Med.3:9、Peché, et al.2006.Am.J.Transplant.6:1541-1550、Kim, et al.2005.J.Immunol.174:6440-6448を参照されたい。これらの全ては、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)。細胞株または組織試料は、未使用のDMEM中で培養する前に、72時間、80%コンフルエンスまで増殖され得る。続いて、小胞の産生が刺激され得る(例えば、Dressel, et al.2003.Cancer Res.63:8212-8220によって記載される、黒色腫細胞の熱ショック処理を参照されたい。これは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)。次いで、本明細書に記載されるように、上清を収集し、小胞を調製することができる。

30

【1058】

一例において、生体外で生成された小胞は、起始細胞または関心対象の細胞株から培養され得、小胞は、細胞培養培地から単離され、続いて、磁気標識、蛍光部分、放射性同位体、酵素、化学発光プローブ、金属粒子、非金属コロイド粒子、高分子色素粒子、色素分子、色素粒子、電気化学的に活性な種、半導体ナノ結晶もしくは量子ドットもしくは金粒子を含む他のナノ粒子で標識し、画像解析のための標識として生体内で再導入することができる。あるいは、関心対象の特徴を有する所与の起始細胞用の培養条件、例えば、ゲフィチニブに対する耐性または感受性を与える既知のEGFR突然変異を有する肺癌細胞または細胞株の培養を設定し、次にゲフィチニブへ細胞培養物を曝露し、培養物から生じる小胞を単離し、続いてこれらを、この種類の小胞を捕捉するためのバイオシグネチャーとして使用することができる、小胞の外側で発現される新規な抗原もしくは結合物質を探すための発見アレイ上で解析することによって、生体外で培養された小胞は、新規なバイオシグネチャーを同定するために使用することができる。さらに、臨床診断、予後判定、または治療に関連する含意を有し得る新規なシグネチャー(核酸、タンパク質、脂質、またはこれらの組み合わせが挙げられるがこれらに限定されない)の発見のために、これらの小胞内で見出される任意の他のバイオマーカーまたはバイオシグネチャーを単離することが可

40

50

能である。

【1059】

関心対象の細胞はまた、まず、関心対象の組織から単離し、培養することもできる。例えば、成長期におけるヒト毛嚢は、毛嚢を損傷しないように、滅菌装置およびプラスチックウェアを用いて、患者の頭皮から個別に引き抜くことができる。各試料は、組織培養用の滅菌PBSを含有するペトリ皿に移すことができる。単離されたヒト成長期の毛嚢は、1mlのウィリアムE培地を含む24ウェルプレートの個々のウェルに注意深く移すことができる。毛嚢は、加湿した培養器中で、5% CO₂および95% 大気の間隙気下で、37℃で浮遊して維持することができる。毛嚢を損傷しないように、培地は、3日ごとに取り替えることができる。次いで、細胞を収集し、培地から沈降させることができる。次いで、前述の方法を用いて、このような起始細胞特異的小胞に特異的な抗原または細胞結合パートナーを用いて、小胞は単離され得る。次いで、当業者に公知の方法によって、バイオマーカーおよびバイオシグネチャーを単離し、特徴決定することができる。

10

【1060】

関心対象の細胞はまた、微小重力状態または無重力常態、または自由落下環境下で培養され得る。例えば、NASAのバイオリアクター技術は、さらに高速、かつさらに多大な量で、このような細胞を増殖させることが可能である。次いで、前述の方法を用いて、このような起始細胞特異的小胞に特異的な抗原または細胞結合パートナーを用いて、小胞は単離され得る。

【1061】

微小重力を模擬体験する静止環境下で、細胞の懸濁培養物を増殖させるように設計されている、NASAによるNASAのために開発されたバイオリアクターの類である回転壁容器またはRWVersusも使用することができる。(例えば、米国特許第5,026,650号、第5,153,131号、第5,153,133号、第5,437,998号、第5,665,594号、第5,702,941号、第7,351,584号、第5,523,228号、第5,104,802号、第6,117,674号、Schwarz, R P, et al., J.Tiss.Cult.Meth.14:51-58, 1992、Martin et al., Trends in biotechnology 2004;22;80-86、Li et al., Biochemical Engineering Journal 2004;18;97-104、Ashammakhi et al., Journal Nanoscience Nanotechnology 2006;9-10:2693-2711、Zhang et al., International Journal of Medicine 2007;4:623-638、Cowger, N L, et al., Biotechnol.Bioeng 64:14-26, 1999、Spaulding, G F, et al., J.Cell.Biochem.51:249-251, 1993、Goodwin, T J, et al., Proc.Soc.Exp.Biol.Med.202:181-192, 1993、Freed, LE et al., In Vitro Cell.Dev. Biol.33:381-385, 1997, Clejan, S.et al, Biotechnol.Bioeng.50:587-597, 1996、Khaoustov, VI, et al., In Vitro Cell. Dev. Biol. 35:501-509.1999を参照されたい。これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)。

20

30

【1062】

あるいは、関心対象の細胞または単離されている起始細胞に特異的な小胞は、米国特許第6,911,201号、および米国出願公開第20050181504号、第20050180958号、第20050176143号、および第20050176137(これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)に一般に記載されるように、固定相栓流生物反応器中で培養され得る。あるいは、関心対象の細胞または起始細胞に特異的な小胞はまた、米国特許第5,486,359号に一般に記載されるように、単離および培養され得る。

40

【1063】

一つの態様には、関心対象の細胞または起始細胞に特異的な小胞を含む組織標本を提供する工程と、培養する場合、関心対象の細胞または起始細胞に特異的な小胞のみを選択的に基体表面に接着させることができる培地に組織標本からの細胞または小胞を添加する工程と、標本-培地の混合物を培養する工程と、米国特許第5,486,359号(参照によりその全体が本明細書に組み入れられる)に一般に記載される、接着しない物質を基体表面から除去する工程を含むことができる。

【1064】

態様

50

一局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法を提供する。一態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、テトラスパニン、例えば、CD9を含む。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、前立腺癌、肺癌、結腸癌、乳癌、膀胱癌、子宮内膜癌、肝臓癌、膵臓癌、卵巣癌、食道癌、または腎臓癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1065】

別の局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法を提供する。1種または複数種のバイオマーカーは、MS4A1、PRB、DR3、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、PRB、MACC1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、肺癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1066】

さらに別の局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法を提供する。一態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3、BCA200、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。別の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは、OPN、NCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3、BCA200、OPN、NCAM、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、Gal3および/またはBCA200、OPNおよび/またはNCAM、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1067】

一局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含むバイオシグネチャーを提供する。1種または複数種のバイオマーカーは、テトラスパニン、CD45、FasL、CTLA4、CD31、DLL4、VEGFR2、HIF2a、Tie2、Ang1、Muc1、CD147、TIMP1、TIMP2、MMP7、MMP9、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、CD83およびFasL、CTLA4およびCD80、CD147およびTIMP1、TIMP2およびMMP9、HIF2aおよびAng1、VEGFR2およびTie2、CD45およびCTLA4、DLL4およびCD31、ならびにそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1068】

別の局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含むバイオシグネチャーを提供する。1種または複数種のバイオマーカーは、5T4 (栄養芽細胞)、ADAM10、AGER/RAGE、APC、APP (β アミロイド)、ASPH (A-10)、B7H3 (CD276)、BACE1、BAI3、BRCA1、BDNF、BIRC2、C1GALT1、CA125 (MUC16)、カルモジュリン1、CCL2 (MCP-1)、CD9、CD10、CD127 (IL7R)、CD174、CD24、CD44、CD63、CD81、CEA、CRMP-2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CYFRA 21、デルリン1、DLL4、DPP6、E-CAD、E pCaM、EphA2 (H-77)、ER(1) ESR1 α 、ER(2) ESR2 β 、Erb B4、Erbb2、erb3 (Erb-B3) P A2G4、FRT (FLT1)、Gal3、GPR30 (G共役ER1)、HAP1、HER3、HSP-27、HSP70、IC3b、IL8、insig、ジャンクションブラコグロビン、ケラチン15、KRAS、マンマグロビン、MART1、MC T2、MFG8、MMP9、MRP8、Muc1、MUC17、MUC2、NCAM、NG2 (CSPG4)、Ngal、NHE-3、NT5E (CD73)、ODC1、OPG、OPN、p53、PARK7、PCSA、PGP9.5 (PARK5)、PR(B)、PSA、PSMA、RAGE、STXBP4、サバイビン、TFF3 (分泌型)、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TRAF4 (足場)、TRAIL-R 2 (デスレセプター5)、TrkB、Tsg 101、UNC93a、VEGF A、VEGFR2、YB-1、VEGFR1、GCDPF-15 (PIP)、BigH3 (TGF β 1誘導性タンパク質)、5HT2B (セロトニン受容体2B)、BRCA2、BACE

1、CDH1-カドヘリン、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1069】

さらに別の局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含むバイオシグネチャーを提供する。1種または複数種のバイオマーカーは、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、DST.3、GATA3、KRT81、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、DST.3、ELF5、GATA3、KRT81、LALBA、OXTR、RASL10A、SERHL、TFAP2A.1、TFAP2A.3、TFAP2C、VTCN1、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1070】

一局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法であって、1種または複数種のバイオマーカーが表89のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、方法を提供する。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌、例えば、非DCIS乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。関連する局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法であって、1種または複数種のバイオマーカーが表90のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、方法を提供する。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌、例えば、DCIS乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。別の関連する局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法であって、1種または複数種のバイオマーカーが表91のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、方法を提供する。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、乳癌、例えば、非DCIS乳癌またはDCIS乳癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1071】

一局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法であって、1種または複数種のバイオマーカーが表92のバイオマーカーおよびそれらの組み合わせからなる群より選択される、方法を提供する。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、肺癌、例えば、非小細胞肺癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1072】

別の局面において、本発明は、微小胞集団を検出する方法であって、a)微小胞集団を含むと疑われる生物学的試料を準備する工程;b)試料を、前記方法における1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質と接触させる工程;およびc)1種または複数種の結合物質と接触された、1種または複数種のバイオマーカーに関連する微小胞を検出し、それによって、微小胞集団を検出する工程を含む、方法を提供する。

【1073】

一局面において、本発明は、生物学的試料中の1種または複数種のバイオマーカーのレベルを決定する工程を含む、バイオシグネチャーを検出する方法を提供する。1種または複数種のバイオマーカーは、hsa-miR-125a-5p、hsa-miR-650、hsa-miR-194、hsa-miR-1200、hsa-miR-326、hsa-miR-30b*、hsa-miR-19a、hsa-miR-7a*、hsa-miR-708*、hsa-miR-99

a、hsa-miR-199b-5p、hsa-miR-543、hsa-miR-7i*、hsa-miR-518c*、hsa-miR-642、hsa-miR-654-3p、hsa-miR-518d-5p、hsa-miR-1266、hsa-miR-154、hsa-miR-662、hsa-miR-523、hsa-miR-198、hsa-miR-920、hsa-miR-885-3p、hsa-miR-99a*、hsa-miR-337-3p、hsa-miR-363、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されてもよい。1種または複数種のバイオマーカーはmiR-497を含んでもよい。生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料でもよい。癌は、肺癌を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1074】

前記方法において、1種または複数種のバイオマーカーは、列挙されたバイオマーカーの1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、20個以上を含んでもよい。1種または複数種のバイオマーカーは、タンパク質、核酸、またはそれらの組み合わせを含むが、それに限定されるわけではない、任意の測定可能な生物学的実体を含んでもよい。例えば、1種または複数種のバイオマーカーは、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、またはその断片でもよい。または、1種または複数種のバイオマーカーは、核酸、例えば、DNA、もしくはmRNAを含むが、それに限定されるわけではないRNA、またはその断片でもよい。1種または複数種のバイオマーカーはまた、生物学的実体の組み合わせ、例えば、少なくとも1種類のタンパク質および少なくとも1種類の核酸を含んでもよい。

【1075】

前述のように、生物学的試料は公知の癌試料または疑わしい癌試料を含んでもよい。一部の態様において、生物学的試料は、癌細胞培養物、または癌を有するもしくは癌を有すると疑われる対象に由来する試料を含む。癌は、急性リンパ芽球性白血病；急性骨髄性白血病；副腎皮質癌；AIDS関連癌；AIDS関連リンパ腫；肛門癌；虫垂癌；星状細胞腫；非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；基底細胞癌；膀胱癌；脳幹部神経膠腫；脳腫瘍（脳幹部神経膠腫、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胚芽腫、星状細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣芽腫、上衣腫、髄芽腫、上衣細胞腫、中間型松果体実質腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、および松果体芽腫を含む）；乳癌；気管支腫瘍；バーキットリンパ腫；原発不明癌；カルチノイド腫瘍；原発不明癌腫；中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍；中枢神経系胚芽腫；子宮頸癌；小児癌；脊索腫；慢性リンパ球性白血病；慢性骨髄性白血病；慢性骨髄増殖性障害；結腸癌；結腸直腸癌；頭蓋咽頭腫；皮膚T細胞リンパ腫；内分泌腺細胞腫瘍；子宮内膜癌；上衣芽腫；上衣腫；食道癌；嗅神経芽細胞腫；ユーイング肉腫；頭蓋外胚細胞腫瘍；性腺外胚細胞腫瘍；肝臓外胆管癌；胆嚢癌；胃癌；消化管カルチノイド腫瘍；消化管間質細胞腫瘍；消化管間質腫瘍（GIST）；妊娠性絨毛性腫瘍；神経膠腫；毛様細胞性白血病；頭頸部癌；心臓癌；ホジキンリンパ腫；下咽頭癌；眼内黒色腫；膵臓腫瘍；カポジ肉腫；腎臓癌；ランゲルハンス細胞組織球症；喉頭癌；口唇癌；肝臓癌；肺癌；悪性線維性組織球腫；骨癌；髄芽腫；上衣細胞腫；黒色腫；メルケル細胞癌；メルケル細胞皮膚癌；中皮腫；原発不明転移性扁平上皮性頸部癌；口腔癌；多発性内分泌腫瘍症候群；多発性骨髄腫；多発性骨髄腫/形質細胞腫瘍；菌状息肉腫；骨髄異形成症候群；骨髄増殖性腫瘍；鼻腔癌；鼻咽頭癌；神経芽細胞腫；非ホジキンリンパ腫；非黒色腫皮膚癌；非小細胞肺癌；口腔癌；口腔癌；口腔咽頭癌；骨肉腫；その他の脳および脊髄の腫瘍；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；膵臓癌；乳頭腫症；副鼻腔癌；副甲状腺癌；骨盤癌；陰茎癌；咽頭癌；中間型松果体実質腫瘍；松果体芽腫；下垂体腫瘍；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；胸膜胚芽腫；原発性中枢神経系（CNS）リンパ腫；原発性肝細胞肝癌；前立腺癌；直腸癌；腎臓癌；腎細胞（腎臓）癌；腎細胞癌；気道癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；唾液腺癌；セザリー症候群；小細胞肺癌；小腸癌；軟部組織肉腫；扁平上皮癌；頸部扁平上皮癌；胃癌；テント上原始神経外胚葉性腫瘍；T細胞リンパ腫；精巣癌；咽頭癌；胸腺癌；胸腺腫；甲状腺癌；移行上皮癌；腎盂と尿管の移行上皮癌；絨毛性腫瘍；尿管癌；尿道癌；子宮癌；子宮肉腫；陰癌；外陰癌；ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症；またはウィルムス腫瘍を含むが、それに限定されるわけではない、本明細書において開示された癌でもよい。

【1076】

前記方法は、1種または複数種のバイオマーカーの存在またはレベルを参照と比較する工程であって、該参照と比べた存在またはレベルの変化が、癌の診断、予後判定、またはセラノース用の決定を提供する工程をさらに含んでもよい。癌の診断、予後判定、またはセラノース用の決定は、癌もしくは癌の可能性の診断、癌の予後判定、癌のセラノース、癌が治療的処置に応答しているかどうかの判定、または癌が治療的処置に応答する可能性が高いかどうかの判定を含んでもよい。態様において、治療的処置は表10～13または69より選択される。参照は、癌を有さない生物学的試料に由来してもよい。参照は、1つまたは複数の異なる時点で測定された一連の生物学的試料に由来してもよい。態様において、試料における1種または複数種のバイオマーカーのレベルが参照と比べて高いことが、試料における癌の存在もしくは癌の可能性、または、試料におけるさらに進行した癌の存在もしくはさらに進行した癌の可能性を示す。

10

【1077】

前記方法において、生物学的試料は体液でもよく、体液の派生物または画分でもよい。様々な態様において、体液は、末梢血、血清、血漿、腹水、尿、脳脊髄液(CSF)、痰、唾液、骨髄、滑液、眼房水、羊水、耳垢、母乳、気管支肺胞洗浄液、精液、前立腺液、カウパー液もしくは尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、毛髪、涙液、囊胞液、胸膜液および腹膜液、心膜液、リンパ液、糜粥、乳糜、胆汁、間質液、月経分泌物、膿、皮脂、嘔吐物、膈分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胞腔液、または臍帯血を含む。体液は血液または血液派生物を含んでもよい。他の態様において、生物学的試料は組織試料、例えば、生検材料または外科試料である。

20

【1078】

前記方法の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは微小胞集団に由来する。微小胞集団は、本明細書に記載の、または当技術分野において公知の任意の小胞、例えば、表2のようにエキソソーム、微小胞、エクソソーム(ectosome)、膜粒子、エキソソーム様小胞、またはアポトーシス小胞を含んでもよい。一態様において、微小胞集団は、直径10nm～1000nmの小胞を含む。例えば、微小胞集団は、直径20nm～200nm、50～100nm、100～1,000nm、50～200nm、50～80nm、20～50nm、または50～500nmの微小胞を含んでもよい。

【1079】

微小胞集団は、全部または一部、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠心分離、分画遠心分離、ナノメンブレン限外濾過、免疫吸着による捕捉、アフィニティー精製、アフィニティー捕捉、アフィニティー選択、免疫アッセイ、免疫沈降、マイクロ流体工学分離、フローサイトメトリー、またはそれらの組み合わせによって生物学的試料から単離することができる。

30

【1080】

態様において、微小胞集団は1種または複数種の結合物質と接触される。1種または複数種の結合物質は、核酸、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体断片、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)、レクチン、ペプチド、デンドリマー、膜タンパク質標識物質、化学物質、またはそれらの組み合わせを含む。微小胞集団を捕捉および/または検出するために1種または複数種の結合物質を使用することができる。一態様において、1種または複数種の結合物質は、ウェル、マイクロビーズ、および/またはアレイを含むが、それに限定されるわけではない基体に結合している。1種または複数種の結合物質はまた、磁気標識、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、量子ドット、またはそれらの組み合わせを含むが、それに限定されるわけではない、標識、例えば、本明細書に記載の標識または当技術分野において公知の標識を有してもよい。

40

【1081】

前記方法の態様において、1種または複数種のバイオマーカーは微小胞表面抗原またはその機能的断片を含む。微小胞集団は、1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質を用いて捕捉され、かつ、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD8

50

1、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択されるバイオマーカーに対する標識結合物質を用いて検出されてもよい。

【1082】

前記方法の態様は、微小胞集団内のペイロードのレベルを検出する工程をさらに含む。検出されたペイロードは、1種または複数種の核酸、ペプチド、タンパク質、脂質、抗原、糖質、および/またはプロテオグリカンを含むが、それに限定されるわけではない、小胞内の任意の測定可能な生物学的実体でもよい。検出されたペイロードは、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含んでもよい。核酸バイオマーカーは、1種または複数種のDNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、またはshRNAを含んでもよい。例えば、核酸は、表5～9、30～44、58～59、71、および73のいずれかにあるマイクロRNAからなる群より選択される1種または複数種のマイクロRNAを含んでもよい。核酸バイオマーカーはまた、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のmRNAを含んでもよい。タンパク質バイオマーカーは、図1～60、または表3～10、12～17、19～22、22、26、28～29、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のペプチド、ポリペプチド、タンパク質、またはその断片を含んでもよい。

【1083】

前記方法は、テトラスパニン、CD9、CD31、CD63、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、アネキシンV、MFG-E8、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される少なくとも1種類のさらなるバイオマーカーについて生物学的試料をアッセイする工程をさらに含んでもよい。1種または複数種のさらなるバイオマーカーは、本明細書に含まれる、または当技術分野において公知の任意の有用な方法を用いて検出することができる。

【1084】

前記方法はインビトロで行うことができる。関連する局面において、本発明は、本発明を実施するための1種または複数種の試薬の使用を提供する。同様に、本発明は、前記方法を実施するための1種または複数種の試薬を含むキットを提供する。1種または複数種の試薬は、前記方法における1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質を含んでもよい。1種または複数種の試薬はまた、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーに対する1種または複数種の結合物質でもよい。一態様において、1種または複数種の結合物質は抗体またはアプタマーを含む。1種または複数種の結合物質は基体に繫留されてもよい。1種または複数種の結合物質は標識されてもよい。1種または複数種の結合物質は、様々な形をした複数種の結合物質を含んでもよい。例えば、1種または複数種の結合物質は、基体および別々に1種または複数種の標識結合物質に繫留されてもよい。標識は、本明細書に記載の、または当技術分野において公知の任意の有用な標識、例えば、磁気標識、蛍光標識、酵素標識、放射性同位体、または量子ドットでもよい。

【1085】

一局面において、本発明は、前記方法において列挙されたバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む、単

10

20

30

40

50

離された小胞を提供する。一態様において、小胞は、図1～60、または表3～10、12～14、22、26、45～50、52、54～57、60～64、66、67、69～70、74～85、89～92のいずれかにあるバイオマーカー、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される1種または複数種のバイオマーカーを含む。

【実施例】

【1086】

実施例1:前立腺癌細胞株からの小胞の精製

前立腺癌細胞株を20% FBS（ウシ胎仔血清）および1% P/S/Gを含有する培養培地中で3～4日間培養する。次いで、細胞は、400xg、4℃で、10分間、予め回転させる。上清を保持し、2000xg、4℃で、20分間、遠心分離する。小胞を含有する上清は、Millipore Centricon Plus-70 (Cat #UFC710008 Fisher) を用いて濃縮することができる。

10

【1087】

Centriconは、1000xg、室温で、3分間、30mlのPBSで予め洗浄する。次に、15～70mlの事前回転させた細胞培養上清を濃縮カップに注ぎ入れ、1000xg、室温で、30分間、スイングバケットアダプタ (Fisher Cat # 75-008-144) 中で遠心分離する。

【1088】

収集カップ中のフロースルーを注ぎ出す。任意の追加の上清を用いて、濃縮カップ中の量を60mlに戻す。濃縮カップを、1000xg、室温で、30分間、遠心分離して、細胞上清を濃縮する。

【1089】

70mlのPBSを添加することによって濃縮カップを洗浄し、約2ml残留するまで、1000xgで、30～60分間遠心分離する。濃縮カップを小さな試料カップに反転させ、4℃で、1分間遠心分離することによって、フィルタから小胞を取り出す。PBSを用いて量を25mlにする。小胞を直ちに濃縮し、30% ショ糖クッション (Sucrose Cushion) に添加する。

20

【1090】

クッションを作製するために、4mlのトリス/30% ショ糖/D20溶液 (30g プロテアーゼフリーのショ糖、2.4g トリスベース、50ml D20、10N NCL小滴を用いてpHを7.4に調節し、D20を用いて100mlまで量を調節し、0.22umフィルタを通過させることにより滅菌する) を、30ml V字底薄壁の超遠心分離管の底部に充填させる。希釈した25mlの濃縮小胞を、境界面を乱すことなく、ショ糖クッションの上にそっと添加し、100,000xg、4℃で、75分間遠心分離する。ショ糖クッションの上にある約25mlを、10ml ピペットで慎重に除去し、約3.5mlの小胞を、先端先細トランスファーピペット (SAMCO 233) で収集し、未使用の超遠心分離管に移し、30ml PBSを添加する。チューブは、100,000xg、4℃で、70分間遠心分離する。上清を慎重に注ぎ出す。沈殿物は、200ul PBS中で再懸濁し、4℃で保管するか、またはアッセイのために使用することができる。BCAアッセイ (1:2) を使用して、タンパク質含有量を決定することができ、ウエスタンブロット法または電子顕微鏡検査を使用して、小胞精製を決定することができる。

30

【1091】

実施例2:VCaPおよび22Rv1からの小胞の精製

ヒト前立腺癌異種移植片 (CWR22R) に由来する、ヒト前立腺癌細胞株である、脊椎-前立腺癌 (VCaP) および22Rv1からの小胞を、まず、等量のPBS (1ml) で血清を希釈することによる超遠心分離によって、収集した。希釈流体を15ml ファルコンチューブに移し、2000xg、4℃で、30分間遠心分離した。上清 (約2ml) を超遠心分離管 5.0ml PA薄壁チューブ (Sorvall # 03127) に移し、12,000xg、4℃で、45分間遠心分離した。

40

【1092】

上清 (約2ml) を、新しい5.0ml 超遠心分離管に移し、2.5ml PBSを添加して最大容量まで充填し、110,000xg、4℃で、90分間遠心分離した。沈殿物を乱すことなく、上清を注ぎ出し、沈殿物を、1ml PBSで再懸濁した。チューブは、4.5mlのPBSを添加して、最大容量まで充填し、110,000xg、4℃で、70分間遠心分離した。

【1093】

50

沈殿物を乱すことなく、上清を注ぎ出し、さらに1mlのPBSを添加し沈殿物を洗浄した。量は、4.5mlのPBSを添加して、最大容量まで増加させ、110,000xg、4℃で、70分間遠心分離した。チューブ下部のPBSが約100 μ lになるまで、P-1000ピペットで上清を除去した。残留部分の約90 μ lをP-200ピペットで除去し、沈殿物を、約10 μ lの残留しているPBSを用い、P-20ピペットを用いて静かに微小遠心管に取ることによって、収集した。残存沈殿物を、さらに5 μ lの未使用のPBSを用いて乾燥チューブの底部から洗浄し、微小遠心管に収集し、500 μ g/mlの濃度まで、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）中で懸濁した。

【1094】

実施例3: 血漿収集および小胞精製

標準的な静脈穿刺により、7ml K2-EDTAチューブ中に血液を収集する。4℃の遠心分離機中で、400gで、10分間、試料を回転させ、血液細胞（SORVALL Legend RT+遠心分離）から血漿を分離する。15ml ファルコン遠心分離チューブに慎重にピペットで取ることによって、上清（血漿）を移す。2,000gで20分間、血漿を回転させ、上清を収集する。

10

【1095】

保存のためには、約1mlの血漿（上清）をcryovialにアリコートし、ドライアイス上におき、それらを冷凍し、-80℃で保存する。試料が-80℃で保管された場合、小胞を精製する前に、冷水槽中で5分間、試料を解凍する。手で回転させて試料を混合し、不溶性物質を消失させる。

【1096】

第1の事前回転において、血漿を等量のPBSで希釈する（例えば、約2mlの血漿を2mlのPBSで希釈する）。希釈流体を15ml ファルコンチューブに移し、2000xg、4℃で、30分間遠心分離する。

20

【1097】

第2の事前回転に関しては、上清（約4ml）を50ml ファルコンチューブに慎重に移し、12,000xg、4℃で、45分間、Sorval中で遠心分離する。

【1098】

単離工程において、P1000ピペットを用いて、上清（約2ml）を5.0ml 超遠心分離PA薄壁チューブ（Sorvall #03127）に慎重に移し、さらに0.5mlのPBSを用いて最大容量まで充填する。チューブは、110,000xg、4℃で、90分間遠心分離する。

【1099】

第1の洗浄において、沈殿物を乱すことなく、上清を注ぎ出す。沈殿物は、1ml PBSで再懸濁または洗浄し、さらに4.5mlのPBSを添加して、最大容量まで管を充填する。チューブは、110,000xg、4℃で、70分間遠心分離する。同じ工程を繰り返すことによって、第2の洗浄を行う。

30

【1100】

チューブ下部のPBSが約100 μ lになるまで、P-1000ピペットで上清を除去することによって、小胞を収集する。約90 μ lのPBSを、P-200ピペットで除去および廃棄する。P-20ピペットを用いて静かに取ることによって、沈殿物および残留しているPBSを収集する。残存沈殿物を、さらに5 μ lの未使用のPBSを用いて乾燥チューブの底部から洗浄し、微小遠心管に収集する。

40

【1101】

実施例4: 抗体が結合したミクロスフェアおよび直接結合した抗体を用いた小胞の分析

この実施例は、抗体が結合した粒子の使用を示し、該抗体は、小胞を捕捉する。例えば、図63Aを参照のこと。検出抗体である、ある抗体は、標識が結合しており、捕捉した小胞上のバイオマーカーを検出するために使用される。

【1102】

まず、抗体が結合したミクロスフェアセット（Luminex, Austin, TX）を選択する。ミクロスフェアセットは、種々の抗体を含むことができ、ひいては、多重化を可能にする。ミクロスフェアを、ボルテックスで再懸濁し、約20秒間、超音波処理する。作業用のミクロスフェア混合物は、結合したミクロスフェアの原液を、Startblock（Pierce（37538）

50

）中の各セットのミクロスフェア100個／ μL の最終濃度まで希釈することによって調製する。各ウェルに対し、50 μL の作業用のミクロスフェア混合物を使用する。PBS-1% BSAあるいはPBS-BN (PBS、1% BSA、0.05% アジド、pH7.4) のいずれかが、アッセイ緩衝液として使用され得る。

【1103】

1.2 μm ミリポアフィルタプレートを、100 μl ／ウェルのPBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) で事前に湿らせ、真空マニホールドによって吸引する。50 μl の作業用のミクロスフェア混合物のアリコート、フィルタプレート (ミリポアマルチスクリーン (Millipore Multiscreen) HTS (MSBVN1250)) の適切なウェルに分注する。標準または試料の50 μl のアリコートを、適切なウェルに分注する。フィルタプレートを覆い、プレート振盪器上で、室温で60分間培養する。プレートをシーラーで覆い、オービタルシェーカー上に置き、ビーズを再懸濁するために、15～30秒間、900に設定する。これに続いて、培養期間中、速度を550に設定する。

10

【1104】

上清は、真空マニホールドによって吸引する (全ての吸引工程において5インチ未満のHg)。各ウェルは、100 μl のPBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) で2回洗浄し、真空マニホールドによって吸引する。ミクロスフェアは、50 μL のPBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) 中で再懸濁される。PE結合検出抗体は、PBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) 中で4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (または適切な濃度) まで希釈される。(注記:各反応に対し、50 μL の希釈した検出抗体が必要とされる。) 50 μl の希釈した検出抗体のアリコートを、各ウェルに添加する。フィルタプレートを覆い、プレート振盪器上で、室温で60分間培養する。フィルタプレートをシーラーで覆い、オービタルシェーカー上に置き、ビーズを再懸濁するために、15～30秒間、900に設定する。これに続いて、培養期間中、速度を550に設定する。上清は、真空マニホールドによって吸引する。ウェルは、100 μl のPBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) で2回洗浄し、真空マニホールドによって吸引する。ミクロスフェアは、100 μl のPBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) 中で再懸濁される。システムマニュアルに従って、Luminexアナライザ上でミクロスフェアを分析する。

20

【1105】

図66は、抗体結合ミクロスフェアをそれに結合した小胞とともに示す。具体的には、この図は、VCaP小胞とともにインキュベートされたEpCam結合ビーズの走査電子顕微鏡写真 (SEM) を示す。図66Aに示すグラフの場合、ガラススライドをポリ-L-リシンでコートし、ビーズ溶液とともにインキュベートした。付着ののち、ビーズを、(i) グルタルアルデヒドおよび四酸化オスミウムを順に用いて1固定ステップあたり30分間、ステップ間に数回の洗浄をはさみながら固定し、(ii) アセトン中、20% きざみで1ステップあたり約5～7分間徐々に脱水し、(iii) 臨界点乾燥させ、(iv) 金でスパッタコートした。図66B左は、図66Aにおけるような、EpCamコートされたビーズ上の小胞をより高倍率で示す。図66B右は、図66Aにおけるような、超遠心分離法によって単離され、ポリ-L-リシンでコートされたガラススライドに接着し、固定され、染色された小胞を示す。

30

40

【1106】

実施例5: 抗体が結合したミクロスフェアおよびビオチン化抗体を用いた小胞の分析

本実施例は、抗体が結合している粒子の使用を示し、該抗体は、小胞を捕捉する。検出抗体である、ある抗体を、ビオチン化する。ストレプトアビジンに結合した標識は、バイオマーカーを検出するために使用される。

【1107】

まず、適切な抗体が結合したミクロスフェアセット (Luminex, Austin, TX) を選択する。ミクロスフェアを、ボルテックスで再懸濁し、約20秒間、超音波処理する。作業用のミクロスフェア混合物は、結合したミクロスフェアの原液を、Startblock (Pierce (37538)) 中の各セットのミクロスフェア50個／ μL の最終濃度まで希釈することによって調製

50

される。(注記:各ウェルに対し、50 μ Lの作業用のミクロスフェア混合物が必要とされる。) Start Block中のビーズは、30分間および1時間以下ブロックしなければならない。

【1108】

1.2 μ m ミリポアフィルタプレートを、100 μ l/ウェルのPBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) で事前に湿らせ、真空マニホールドによって吸引する。50 μ lの作業用のミクロスフェア混合物のアリコート、フィルタプレート (ミリポアマルチスクリーン (Millipore Multiscreen) HTS (MSBVN1250)) の適切なウェルに分注する。標準または試料の50 μ lのアリコートを、適切なウェルに分注する。フィルタプレートをシールで覆い、プレート振盪器上で、室温で60分間培養する。覆ったフィルタプレートをオービタルシェーカー上に置き、ビーズを再懸濁するために、15~30秒間、900に設定する。これに続いて、培養期間中、速度を550に設定する。

10

【1109】

上清を真空マニホールドによって吸引する (すべての吸引ステップにおいて5インチHg未満)。吸引は、Pall真空マニホールドによって実施することができる。プレートをマニホールド上に配置したとき、バルブは全オフ位置にセットする。ゆっくりと吸引するために、弁を開いて流体をウェルから引き込む。100 μ lの試料およびビーズをウェルから完全に吸引するには約3秒を要する。試料を抜き取った後、マニホールド上のパージボタンを押してプレートから残留真空圧を解除する。

【1110】

各ウェルをPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 100 μ lで2回洗浄し、真空マニホールドによって吸引する。ミクロスフェアをPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 50 μ l中に再懸濁させる。

20

【1111】

ビオチン化検出抗体をPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 中4 μ g/mLに希釈する。(注:反応ごとに希釈検出抗体50 μ lが必要である)。希釈検出抗体の50 μ lアリコートを各ウェルに加える。

【1112】

フィルタプレートをシーラーで覆い、プレートシェーカー上、室温で60分間インキュベートする。プレートをオービタルシェーカーに載せ、900で15~30秒にセットしてビーズを再懸濁させる。その後、インキュベーション期間中、速度を550にセットする。

30

【1113】

上清を真空マニホールドによって吸引する。吸引は、Pall真空マニホールドによって実施することができる。プレートをマニホールド上に配置したとき、バルブは全オフ位置にセットする。ゆっくりと吸引するために、バルブを開いて流体をウェルから引き込む。100 μ lの試料およびビーズをウェルから完全に吸引するには約3秒を要する。すべての試料を抜き取った後、マニホールド上のパージボタンを押してプレートから残留真空圧を解除する。

【1114】

各ウェルをPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 100 μ lで2回洗浄し、真空マニホールドによって吸引する。ミクロスフェアをPBS-1% BSA (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 50 μ l中に再懸濁させる。

40

【1115】

ストレプトアビジン-R-フィコエリスリンレポーター (Molecular Probes 1mg/ml) をPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) 中4 μ g/mLに希釈する。希釈したストレプトアビジン-R-フィコエリスリン50 μ lを各反応に使用した。希釈したストレプトアビジン-R-フィコエリスリンの50 μ lアリコートを各ウェルに加える。

【1116】

フィルタプレートをシーラーで覆い、プレートシェーカー上、室温で60分間インキュベ

50

トする。プレートをオービタルシェーカーに載せ、900で15～30秒にセットしてビーズを再懸濁させる。その後、インキュベーション期間中、速度を550にセットする。

【1117】

上清を真空マニホールドによって吸引する。吸引は、Pall真空マニホールドによって実施することができる。プレートをマニホールド上に配置したとき、バルブは全オフ位置にセットする。ゆっくりと吸引するために、バルブを開いて流体をウェルから引き込む。100 μ lの試料およびビーズをウェルから完全に吸引するには約3秒を要する。すべての試料を抜き取った後、マニホールド上のパージボタンを押してプレートから残留真空圧を解除する。

【1118】

各ウェルをPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 100 μ lで2回洗浄し、真空マニホールドによって吸引する。ミクロスフェアをPBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% アジ化Na (S8032))) 100 μ l中に再懸濁させ、Luminexアナライザ上、システムマニュアルにしたがって分析する。

【1119】

実施例6: 抗体精製およびカルボキシル化ミクロスフェアへのカルボジイミドカップリング

抗体精製プロトコール: PierceからのプロテインG樹脂 (プロテインGスピンキット、製品番号89979、Pierce、Thermo Scientificの一部門、Rockford, IL) を使用して抗体を精製した。精製には、フィルタ付きP-200チップから作られたマイクロクロマトグラフィー

【1120】

プロテインG樹脂100 μ lをPierceキットからの緩衝液100 μ lとともに各マイクロカラムに装填する。数分かけて樹脂を沈降させたのち、必要ならば、カラムが乾燥しないように、P-200 Pipettmanを用いて空気圧をかけて緩衝液を流し出す。結合緩衝液 (pH7.4、100mMリン酸緩衝液、150mM NaCl (Pierce、製品番号89979)) 0.6mlでカラムを平衡化する。抗体をカラムに加える (抗体1mg未満をカラムに装填する)。結合緩衝液1.5mlでカラムを洗浄する。5本の管 (1.5mlマイクロ遠心管) を用意し、中和溶液 (Pierce、製品番号89979) 10 μ lを各管に加える。抗体を溶離緩衝液によってキットから5本の管それぞれに100 μ lずつ溶離させる (合計500 μ l)。Nanodrop (Nanodrop 1000分光光度計、Nanodrop、Thermo Scientificの一部門、Wilmington, DE) を使用して、各画分の相対吸光度を280nmで計測する。最高のOD読みを有する画分を下流での使用のために選択する。Pierce Slide-A-Lyzer透析カセット (Pierce、製品番号66333、カットオフ3kDa) を使用して、PBS緩衝液0.25リットルに対して試料を透析する。4°Cで連続的にかく拌しながら2時間ごとに最低3回は緩衝液を交換する。そして、透析した試料を1.5mlマイクロ遠心管に移し、標識し、4°C (短期) または-20°C (長期) で貯蔵することができる。

【1121】

カップリング: 以下のプロトコールにしたがって、ミクロスフェアを上記のようなそれぞれの抗体でコートする。

【1122】

この手順の間、ミクロスフェアを長期露光から保護する。ミクロスフェア (xMAP technologies, MicroPlex (商標) ミクロスフェア、Luminex Corporation, Austin, TX) とともに提供された製品情報シートに記載されている指示にしたがって、カップリングされていない原料ミクロスフェアを再懸濁させる。5 $\times$ 10⁶の原料ミクロスフェアをUSA Scientificの1.5mlマイクロ遠心管 (USA Scientific, Inc., Orlando, FL) に移す。原料ミクロスフェアを $\geq$ 8000 $\times$ gでのマイクロ遠心分離によって室温で1～2分間ペレット化する。上清を除去し、ペレット化したミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、dH₂O 100 μ l中に再懸濁させる。ミクロスフェアを $\geq$ 8000 $\times$ gでのマイクロ遠心分離によって室温で1～2分間ペレット化する。上清を除去し、洗浄したミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理 (Branson 1510, Branson Ultrasonics Corp., Dan

10

20

30

40

50

bury, CT) により、100mM一塩基性リン酸ナトリウム (pH6.2) 80 μ l中に再懸濁させる。50mg/mlスルホNHS (Thermo Scientific、カタログ番号24500) (dH₂O中に希釈) 10 μ lをミクロスフェアに加え、ボルテックスによってやさしく混合する。50mg/ml EDC (Thermo Scientific、カタログ番号25952-53-8) (dH₂O中に希釈) 10 μ lをミクロスフェアに加え、ボルテックスによってやさしく混合する。ミクロスフェアを10分間隔でのボルテックスによってやさしく混合しながら室温で20分間インキュベートする。活性化されたミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって室温で1~2分間ペレット化する。上清を除去し、ミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、50mM MES (pH5.0) (MES、Sigma、カタログ番号M2933、Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 250 μ l中に再懸濁させる。PBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) ((Sigma (P3688-10PAK+0.05%アジ化Na (S8032)))) のみがアッセイ緩衝液かつ洗浄緩衝液として使用されるべきである。そして、ミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって室温で1~2分間ペレット化する。

10

【1123】

上清を除去し、ミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、50mM MES (pH5.0) (MES、Sigma、カタログ番号M2933) 250 μ l中に再懸濁させる。PBS-1% BSA+アジ化物 (PBS-BN) ((Sigma (P3688-10PAK+0.05%アジ化Na (S8032)))) のみがアッセイ緩衝液かつ洗浄緩衝液として使用されるべきである。そして、ミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって室温で1~2分間ペレット化して、50mM MES (pH5.0) による2回の洗浄を完了する。

20

【1124】

上清を除去し、活性化され、洗浄されたミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、50mM MES (pH5.0) 100 μ l中に再懸濁させる。125、25、5または1 μ gの量のタンパク質を再懸濁したミクロスフェアに加える。(注:1~125 μ g範囲の滴定を実施して、特定のカップリング反応あたりの最適なタンパク質量を決定することができる)。50mM MES (pH5.0) によって全量を500 μ lにした。カップリング反応物をボルテックスによって混合し、混合しながら (Labquake rotator, Barnstead, Thermo Scientific) 上で回転させることによる) 室温で2時間インキュベートする。カップリングしたミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって室温で1~2分間ペレット化する。上清を除去し、ペレット化したミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、PBS-TBN 500 μ l中に再懸濁させる。(濃度は、使用中の特定の試薬、アッセイ条件、多重化のレベルなどに関して最適化することができる)。

30

【1125】

ミクロスフェアを混合しながら (Labquake rotator (Barnstead) 上で回転させることによる) 室温で30分間インキュベートする。カップリングしたミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって室温で1~2分間ペレット化する。上清を除去し、ミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、PBS-TBN 1ml中に再懸濁させる。試料、検出抗体またはSA-PEが加えられるたび、プレートシーラーおよび遮光体 (たとえばアルミフイル) で覆い、オービタルシェーカーに載せ、900で15~30秒にセットしてビーズを再懸濁させる。その後、インキュベーション期間中、速度を550にセットすべきである。

40

【1126】

ミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって1~2分間ペレット化する。上清を除去し、ミクロスフェアを、約20秒間のボルテックスおよび音波処理により、PBS-TBN 1ml中に再懸濁させる。ミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ でのマイクロ遠心分離によって1~2分間ペレット化する (結果として、PBS-TBN 1mlで合計2回洗浄する)。

【1127】

実施例7: 血漿からの小胞濃縮

装備品: Pall life sciences Acrodisc、25mmシリンジフィルタ、w/1.2 μ m Versapor膜 (無菌) 付き、部品番号: 4190、Pierce濃縮器、7ml/MWCO (分子量カットオフ) 150K、部

50

品番号:89922、BDシリンジフィルタ、10ml、部品番号:305482、Sorvall Legend RT Plus シリーズベンチトップ遠心器、w 15mlスイングバケットローター付き、PBS、pH7.4、Sigmaカタログ番号P3813-10PAK、無菌分子グレード水中に調製、コポリマー1.7ml遠心管、USAScientificカタログ番号1415-2500。試薬に使用した水は無菌ろ過分子グレード水（Sigma、カタログ番号W4502）である。患者血漿の取り扱いバイオセーフティフード中で実施される。

【1128】

手順:

1. 血漿試料のろ過手順

- 1.1 血漿試料を -80°C ($-65^{\circ}\text{C} \sim -85^{\circ}\text{C}$) フリーザから取り出す。 10
- 1.2 室温水中で試料を解凍する (10~15分)。
- 1.3 必要な数をケースから取り出すことによってシリンジおよびフィルタを準備する。
- 1.4 プランジャーを引いて無菌分子グレード水4mLをシリンジの中に引き込む。1.2 μm フィルタをシリンジ先端に取り付け、内容物をフィルタに通しながら7ml/MWCO 150KのPierceカラムに装填する。
- 1.5 カラムにふたをし、カラムをスイングバケット遠心器に入れ、Sorvall Legend RT plus遠心器中、 $1000 \times g$ および 20°C ($16^{\circ}\text{C} \sim 24^{\circ}\text{C}$) で4分間スピンする。
- 1.6 スピン中、フィルタをシリンジから分解する。そして、プランジャーをシリンジから取り外す。
- 1.7 流体を管から捨て、カラムをペーパータオル上でやさしくたたいて残留水を除去する。 20
- 1.8 すべての血漿試料の出発量を計測し、記録する。900 μl 未満の量の試料は処理しなくてもよい。
- 1.9 空のシリンジおよびフィルタを空のPierceカラムに載せる。シリンジの開口端に1 $\times$ PBS 5.2mlを充填し、血漿をPBS中で3~4回ピペットで混合する。
- 1.10 シリンジのプランジャーを元に戻し、シリンジの内容物がフィルタを通過しながらPierceカラムに装填されるまでプランジャーをゆっくりと押す。内容物はフィルタを通過して滴下するはずである。

【1129】

2. 微小胞濃縮遠心分離プロトコール

- 2.1 7ml/MWCO 150KのPierceカラムを $2000 \times g$ および 20°C ($16^{\circ}\text{C} \sim 24^{\circ}\text{C}$) で60分間または量が250~300 μL に減るまでスピンする。必要ならば、さらに15分きざみでスピンして、必要な量に到達させる。
- 2.2 スピンが終了すると、カラム15 $\times$ 上でピペットで混合し (気泡発生を避ける)、量 (300 μL 以下) を抜き取り、新たな1.7mlコポリマー管に移す。
- 2.3 血漿濃縮物の最終量は血漿の初期量に依存する。元の血漿量が1mlであるならば、血漿は300 μl まで濃縮される。元の血漿量が1ml未満であるならば、濃縮物の量はその比率と合致すべきである。たとえば、元の量が900 μl であるならば、濃縮物の量は270 μl である。従うべき式は $x = (y/1000) \times 300$ である (式中、 x は濃縮物の最終量であり、 y は血漿の初期量である)。 40
- 2.4 試料量を記録し、1 $\times$ PBSを試料に加えて最終試料量を構成する。
- 2.5 濃縮された微小胞を 4°C ($2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$) で貯蔵する。

【1130】

計算:

1. 濃縮血漿試料の最終量

$x = (y/1000) \times 300$ (式中、 x は濃縮物の最終量であり、 y は血漿の初期量である)。

【1131】

実施例8:多重化を使用する前立腺癌のバイオシグネチャーの決定

実施例3に記載された方法を使用して得られた試料を、実施例4および5に記載された多重化アッセイにおいて使用する。使用される検出抗体はCD63、CD9、CD81、B7H3およびEpC

amである。使用される捕捉抗体はCD9、PSCA、TNFR、CD63 2X、B7H3、MFG-E8、EpCam 2X、CD63、Rab、CD81、SETAP、PCSA、PSMA、5T4、Rab IgG（対照）およびIgG（対照）であり、スクリーニングされる100の組み合わせを生み出す（図63C）。

【1132】

前立腺癌患者10名および正常な対照患者12名をスクリーニングした。前記捕捉および／または検出抗体に関する結果が図68および図70Aに示されている。図70Bは、PCSA捕捉抗体（図70B、左グラフ）またはEpCam捕捉抗体（図70B、右グラフ）を使用した結果および一つまたは複数の検出抗体を使用した検出を示す。様々な組み合わせの感度および特異度が図73に示されている。

【1133】

実施例9:多重化を使用する結腸癌のためのバイオシグネチャーの決定

実施例3に記載された方法を使用して得られた小胞試料を、実施例4および5に記載された多重化アッセイにおいて使用する。使用される検出抗体はCD63、CD9、CD81、B7H3およびEpCamである。使用される捕捉抗体はCD9、PSCA、TNFR、CD63 2X、B7H3、MFG-E8、EpCam 2X、CD63、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMA、5T4、Rab IgG（対照）およびIgG（対照）であり、スクリーニングされる100の組み合わせを生み出す。

【1134】

結果が図69、71および72に示されている。様々な組み合わせの感度が図74に示されている。

【1135】

実施例10:磁性ビーズを使用する小胞の捕捉

実施例2に記載されるように単離された小胞を使用する。小胞約40 μ lを、EpCam抗体コートされたDynalビーズ（Invitrogen, Carlsbad, CA）約5 μ g（約50 μ l）およびスターティングブロック50 μ lとともにインキュベートする。小胞およびビーズを、振とうインキュベータ中、振とうしながら45°Cで2時間インキュベートする。Dynalビーズを含む管を磁気セパレータに1分間載せ、上清を除去する。ビーズを2回洗浄し、そのたびに上清を除去する。ビーズを2回洗浄し、そのたびに上清を除去する。

【1136】

実施例11:小胞中のmRNA転写物の検出

Qiagen miRneasy（商標）キット（カタログ番号217061）を製造者の指示にしたがって使用して、実施例10のビーズ結合小胞からRNAを単離した。

【1137】

小胞をQIAzol（商標）溶解試薬（Qiagenカタログ番号79306）中でホモジナイズする。クロロホルムの添加ののち、ホモジネートを遠心分離法によって水相と有機相とに分離する。RNAが上の水相に分配され、DNAが中間相に分配され、タンパク質が下の有機相または中間層に分配される。上の水相を抽出し、エタノールを加えて、18ヌクレオチド（nt）から上のすべてのRNA分子にとって適切な結合条件を提供する。そして、試料をRNeasy（商標）ミニスピンカラムに適用すると、全RNAが膜に結合し、フェノールおよび他の汚染物が効率的に洗い落とされる。そして、高品質RNAがRNaseフリー水中に溶離する。

【1138】

VCAPビーズ捕捉小胞からのRNAをTaqman TMPRSS:ERG融合転写物アッセイ（Kirsten D. Mertz et al. Neoplasia. 2007 March; 9(3): 200-206）によって計測した。22Rv1ビーズ捕捉小胞からのRNAをTaqman SPINK1転写物アッセイ（Scott A. Tomlins et al. Cancer Cell 2008 June 13(6):519-528）によって計測した。また、両セットの小胞RNAに関してGAPDH転写物（対照転写物）を計測した。

【1139】

より高いCT値がより低い転写物発現を示す。サイクル閾値（CT）における一つの変化は2倍の変化に等しく、三つのCT差は4倍の変化に等しいなどであり、それは、 $2^{\Delta CT1 - CT2}$ によって計算することができる。この実験は、融合転写物TMPRSS:ERGおよびIgG2陰性対照ビーズによって捕捉された等価物の発現のCTの差を示す（図75）。22RV1小胞中のSPINK1転

10

20

30

40

50

写物の同じ比較は、70.5の変化倍率の場合で6.14のCT差を示す（図75C）。GAPDHでの結果も同様であった。

【1140】

実施例12:対象からの血清試料の取得

対象（健康な対象および癌の対象）から血液をEDTA管、クエン酸管または10ml Vacutainer SST plus血液捕集管（BD367985またはBD366643、BD Biosciences）中に捕集する。捕集から2時間以内に血漿単離のために血液を処理する。

【1141】

試料を室温で最低30分間、最大2時間放置する。1,000~1,300×gおよび4℃で15~20分間の遠心分離によって凝塊の分離を達成する。血清を取り出し、500μlアリコートとして500~750μlクライオチューブ中に分注する。標本を-80℃で貯蔵する。

10

【1142】

所与の状況において、引き込まれる血液の量は約20~約90mlの範囲であることができる。いくつかのEDTA管からの血液を溜め、RNaseフリー／DNaseフリー50ml円錐管（Greiner）に移し、Hettich Rotanta 460Rベンチトップ遠心器中、1,200×gおよび室温で10分間遠心分離する。ペレットを乱さないようにペレットの上に0.5cmの一定高さの血漿上清を残しながら血漿を新鮮な管に移す。血漿を分割し、各アリコートの間で転倒させて混合し、-80℃で貯蔵する。

【1143】

実施例13:ヒト血漿および血清試料からのRNA単離

20

ヒト血漿または血清400μlを氷上で解凍し、等量の2×変性溶液（Ambion）によって溶解する。試料が等しい量の酸フェノールクロロホルム（Ambionキットによって供給される）によって2回抽出されるように変更された液体試料のための製造者のプロトコールにしたがってmirVana PARISキット（Ambion）を使用してRNAを単離する。Ambion溶離溶液105μlを製造者のプロトコールにしたがって用いてRNAを溶離させる。各カラムから回収される溶離物の平均量は約80μlである。

【1144】

また、mirVana PARIS（Ambion）プロトコールのスケールアップバージョンを使用する。血漿10mlを氷上で解凍し、二つの5mlアリコートを50ml管に移し、等量のmirVana PARIS 2×変性溶液で希釈し、30秒間ボルテックスすることによって徹底的に混合し、氷上で5分間インキュベートする。そして、等量（10ml）の酸／フェノール／クロロホルム（Ambion）を各アリコートに加える。得られた溶液を1分間ボルテックスし、JA17ローター中、8,000rpmおよび20℃で5分間スピンする。酸／フェノール／クロロホルム抽出を3回繰り返す。得られた水性量を100%分子グレードエタノール1.25容量部と徹底的に混合し、700μlアリコートを順次、mirVana PARISカラムに通す。製造者のプロトコールにしたがってカラムを洗浄し、溶離緩衝液（95℃）105μl中でRNAを溶離させる。合計1.5μlの溶離物をNanodropによって定量化する。

30

【1145】

実施例14:qRT-PCRを使用する血漿および血清からのRNA中のmiRNAレベルの計測

所与の試料のRNA単離からの約80μl溶離物からの一定量のRNA溶液1.67μlを逆転写（RT）反応へのインプットとして使用する。たとえばRNAが400μl血漿または血清試料から単離される試料の場合、RNA溶液1.67μlは、 $(1.67/80) \times 400 = 8.3\mu\text{l}$ 血漿または血清に対応するRNAを表す。既知のmiRNAに対応する化学合成RNAオリゴヌクレオチドの標準曲線を生成するために、RT反応への最終インプットが1.67μlの量を有するような各オリゴヌクレオチドの様々な水希釈物を作る。H₂O 1.387μl、10×逆転写緩衝液0.5μl、RNアーゼインヒビタ0.063μl（20単位/μl）、dTTPを含む100mM dNTP 0.05μl、Multiscribe逆転写酵素0.33μlおよびインプットRNA 1.67μlで構成される小規模RT反応においてTaqMan miRNA逆転写キットおよびmiRNA特異的ステムループプライマー（Applied BioSystems）を使用してインプットRNAを逆転写する。インプットRNA以外の成分は、Tetrad2ペルチエサーマルサイクラ（BioRad）を16℃で30分間、42℃で30分間および85℃で5分間使用して、よ

40

50

り大きな量のマスタミックスとして調製することができる。Applied BioSystems 7900HTサーモサイクラ上、95℃で10分間、次いで95℃で15秒間および60℃で1分間の40サイクルにより、リアルタイムPCRを実施する。SDS相対定量ソフトウェアバージョン2.2.2 (Applied BioSystems) により、ベースラインを割り当てるための自動Ct設定およびCt決定のための閾値を使用してデータを分析する。

【1146】

プロトコールはまた、たとえばmiRNAを検出するための前増幅ステップを含むように変更することもできる。非希釈RT産物の1.25 µlアリコートと、前増幅PCR試薬（反応あたりTaqMan PreAmpマスタミックス（2×）2.5 µlおよび0.2×TaqMan miRNAアッセイ（TE中に希釈）1.25 µlを含む）3.75 µlと合わせて、5.0 µlの前増幅PCRを生成し、それを、Tetra d2ペルチエサーマルサイクラ（BioRad）上、95℃で10分間加熱したのち、95℃で15秒間および60℃で4分間の14サイクルに付す。前増幅PCR産物を希釈し（H₂O 20 µlを5 µl前増幅反応生成物に加えることにより）、その後、希釈材料2.25 µlをリアルタイムPCRに導入し、上記のように実施する。

【1147】

実施例15:miRNAの絶対定量のための標準曲線の生成

成熟したmiRNA配列（miRBase Release v.10.1）に対応する合成一本鎖RNAオリゴヌクレオチドをSigmaから購入する。合成miRNAを、経験的に導出されたコピー範囲でRT反応に投入して、上記miRNA TaqManアッセイそれぞれの標準曲線を生成する。一般に、アッセイごとの正確な定量の下限は、標準曲線の直線範囲内のCt値を生じさせ、より低いコピー数のRTインプットから得られるCtに等しくない、またはそれよりも高くない、RT反応に投入される最小コピー数に基づいて指定される。直線範囲内のCt値を使用して各希釈シリーズからのデータに線当てはめ、それから、各試料Ct (y) からの絶対miRNAコピー (x) の定量のための $y = m \ln(x) + b$ 式が導出される。RT反応に投入される材料が、血漿の全出発量の2.1%からのRNAに対応する（すなわち、全RNA溶離物量（平均80 µl）のうち1.67 µlがRT反応に投入される）という知見に基づき、RT反応に投入されるmiRNAの絶対コピー数を、血漿（または血清）1マイクロリットルあたりのmiRNAのコピー数に変換する。合成miRNA配列の一例は、たとえばSigma (St. Louis, MO) から購入することができるmiR-141の例である。

【1148】

実施例16:小胞からのマイクロRNAの抽出

本明細書に記載されるように患者試料から単離された小胞からマイクロRNAを抽出する。たとえば実施例7、49を参照すること。小胞の単離および濃縮のための方法が本明細書に提示されている。この実施例における方法はまた、はじめに小胞を単離することなく、患者試料からマイクロRNAを単離するために使用することもできる。

【1149】

Trizolを使用するプロトコール

このプロトコールは、Qiagen Inc. (Valencia CA) からのQIAzol溶解試薬およびRNeasy Midiキットを使用して、濃縮された小胞からマイクロRNAを抽出する。方法のステップは以下を含む。

1. RNase A 2 µlを小胞濃縮物50 µlに加え、37℃で20分間インキュベートする。
2. QIAzol溶解試薬700 µlを加え、1分間ボルテックスする。QIAzolの添加ののち、25 fmol / µLのC. elegansマイクロRNA (1 µL) を含む試料をスパイクして、合計試料（三つのアリコートを合わせたもの）それぞれについて75 fmol / µLのスパイクイン(spike in)を作製する。
3. 55℃で5分間インキュベートする。
4. クロロホルム140 µlを加え、激しく15秒間振とうする。
5. 氷上で2～3分間冷やす。
6. 12,000 × gおよび4℃で15分間遠心分離する。
7. 水相 (300 µL) を新たな管に移し、100% EtOH 1.5容量部（すなわち450 µL）を加え

る。

8. 試料4ml以下を15ml捕集管中のRNeasy Midiスピncラムにピペット移送する（三つの50 μ l濃縮物からの溶解物を合わせる）。

9. 2700 $\times$ gおよび室温で5分間スピンする。

10. フロースルーをスピンした物から捨てる。

11. 緩衝液RWT1mlをカラムに加え、2700 $\times$ gおよび室温で5分間遠心分離する。Midiキット中に提供されている緩衝液RW1を使用してはならない。緩衝液RW1はmiRNAを洗い落としてしまう。緩衝液RWTはQiagen Inc.からのMiniキット中に提供されている。

12. フロースルーを捨てる。

13. 緩衝液RPE1mlをカラムに加え、2700 $\times$ gおよび室温で2分間遠心分離する。

14. ステップ12および13を繰り返す。

16. カラムを新たな15ml捕集管に入れ、溶離緩衝液150 μ lを加える。室温で3分間インキュベートする。

17. 2700 $\times$ gおよび室温で3分間遠心分離する。

18. 試料をボルテックスし、1.7mL管に移す。抽出した試料を -80°C で貯蔵する。

【1150】

MagMaxを使用するプロトコール

このプロトコールは、Applied Biosystems/Ambion (Austin, TX) からのMagMAX (商標) RNA単離キットを使用して、濃縮された小胞からマイクロRNAを抽出する。本方法のステップは以下を含む。

1. QIAzol溶解試薬700mlを加え、1分間ボルテックスする。

2. ベンチトップ上、室温で5分間インキュベートする。

3. クロロホルム140 μ lを加え、激しく15秒間振とうする。

4. ベンチトップ上で2~3分間インキュベートする。

5. 12,000 $\times$ gおよび 4°C で15分間遠心分離する。

6. 水相をディープウェルプレートに移し、100%イソプロパノール1.25容量部を加える。

7. MagMAX (商標) 結合ビーズを十分に振とうする。RNA結合ビーズ10 μ lを各ウェルの中にピペット移送する。

8. 二つの溶離プレートおよび二つのさらなるディープウェルプレートを集める。

9. 一方の溶離プレートを「Elution」と標識し、他方の溶離プレートを「Tip Comb」と標識する。

10. 一方の深穴プレートを「1st Wash 2」と標識し、他方のディープウェルプレートを「2nd Wash 2」と標識する。

11. 両方のWash 2ディープウェルプレートを150 μ lのWash 2で満たす。必ずエタノールを加えて事前に洗浄すること。試料の数と同じ数のウェルを満たす。

12. MagMax粒子プロセッサ上で適切な捕集プログラムを選択する。

13. スタートを押し、各適切なプレートを装填する。

14. 試料をマイクロ遠心管に移す。

15. ボルテックスし、 -80°C で貯蔵する。残留ビーズが試料中に見られるであろう。

【1151】

実施例17: マイクロRNAアレイ

試料中のマイクロRNAレベルは、高密度および低密度の両アレイを含むアレイフォーマットを使用して分析することができる。アレイ分析は、たとえば、二つの試料中の複数のmiRの発現を分析し、統計分析を実施して、どのmiRが試料間で差次的に発現し、ひいてはバイオシグネチャーにおいて使用することができるのかを決定することにより、所望の状況における差次的発現を発見するために使用することができる。アレイはまた、試料中のバイオシグネチャーを同定することによって表現型を特徴決定するために、一つの試料中の一つまたは複数のマイクロRNAの存在またはレベルを同定するために使用することもできる。この実施例は、本発明の方法を実施するために使用される市販のシステムを説明する。

10

20

30

40

50

【1152】

TaqMan低密度アレイ

所望により、TaqMan低密度アレイ (TLDA) miRNAカードを使用して、様々な試料群中のmiRNAの発現を比較する。Applied Biosystems (Foster City, CA) からのTaqMan (登録商標) マイクロRNAアッセイおよびアレイシステムを使用してmiRNAを捕集し、分析する。Applied BiosystemsのTaqMan (登録商標) ヒトマイクロRNAアレイを、製造者によって供給されるMegaplex (商標) Pools Quick Reference Cardプロトコールにしたがって使用する。

【1153】

Exiqon miRCURY LNAマイクロRNA

10

所望により、Exiqon miRCURY LNA (商標) Universal RTマイクロRNA PCRヒトパネルIおよびII (Exiqon, Inc, Woburn, MA) を使用して、様々な試料群中のmiRNAの発現を比較する。Exiqon 384ウェルパネルは750のmiRを含む。試料を、Universal cDNA合成キット (UniSp6 CP) からの合成RNAスパイクインに向けて対照プライマーに標準化する。結果をプレート間キャリブレーションプロブに標準化した。

【1154】

いずれのシステムでも品質管理基準が履行される。各指標に関する三つのデータセットの間の各プロブの標準化値を平均する。20%よりも高い平均CV%を有するプロブは分析に使用しない。結果をベアt検定に付して二つの試料群の間で差次的に発現したmiRを発見する。P値をBenjamini-Hochberg偽発見率検定と関連させる。GeneSpringソフトウェア (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA) を使用して結果を分析する。

20

【1155】

実施例18:小胞におけるマイクロRNAプロファイル

実施例1~3に記載されるように、22Rv1、LNCaP、Vcapおよび正常な血漿 (ドナー16名からプールした) から超遠心分離法によって小胞を捕集した。Exiqon miR単離キット (カタログ番号300110、300111) を使用してRNAを抽出した。BCAアッセイによる測定で等しい量の小胞 (30 μ g) を使用した。

【1156】

等しい量 (5 μ l) をマイクロRNAの逆転写反応に投入した。逆転写酵素反応物をヌクレアーゼフリー水81 μ l中に希釈したのち、この溶液9 μ lを個々のmiRアッセイそれぞれに加えた。miR-629は、PCa (前立腺癌) 小胞においてのみ発現することが見いだされ、正常な血漿小胞中では実質的に検出不可能であった。miR-9は、すべてのPCa細胞株中で高過剰発現する (コピー数による計測で正常に対して約704倍増) ことが見いだされたが、正常な血漿小胞中では非常に低い発現しか有しない。上位10種類の差次的に発現するmiRNAが図76に示されている。

30

【1157】

実施例19:磁性EpCam捕捉小胞のマイクロRNAプロファイル

実施例10のビーズ結合小胞をQIAzol (商標) 溶解試薬 (Qiagenカタログ番号79306) に入れた。125fmolのc. elegans miR-39のアリコートを加えた。Qiagen miRneasy (商標) キット (カタログ番号217061) を製造者の指示にしたがって使用してRNAを単離し、RNaseフリー水30 μ l中に溶離させた。

40

【1158】

精製したRNA 10 μ lを、Veritiの96ウェルサーモサイクラを使用する、miR-9、miR-141およびmiR-629のための前増幅反応に入れた。前増幅溶液の1:5希釈物を使用して、miR9 (ABI 4373285)、miR-141 (ABI 4373137) およびmiR-629 (ABI 4380969) ならびにc. elegans miR-39 (ABI 4373455) のためのqRT-PCR反応をセットアップした。試料ごとに結果をc. elegans結果に標準化した。

【1159】

実施例20:CD9捕捉小胞のマイクロRNAプロファイル

実施例19におけるようなEpCamコートされたビーズの代わりにCD9コートされたDynalビ

50

ーズ (Invitrogen, Carlsbad, CA) を使用した。前立腺癌患者からの小胞、LNCaPまたは正常な精製小胞を、CD9コートされたビーズとともにインキュベートし、実施例19に記載されるように、RNAを単離した。miR-21およびmiR-141の発現をqRT-PCRによって検出し、結果を図77および78に示した。

【1160】

実施例21: ろ過モジュールを使用する小胞の単離

PBS 6mLを血漿1mLに加える。そして、試料を、1.2マイクロメートル (μm) Pallシリンジフィルタに通して直接MWC0 100kDa (Millipore, Billerica, MA)、MWC0 150kDaの7mLカラム (Pierce (登録商標)、Rockford, IL)、MWC0 100kDaの15mLカラム (Millipore, Billerica, MA) またはMWC0 150kDaの20mLカラム (Pierce (登録商標)、Rockford, IL) に入れる。

10

【1161】

量が約250 μL になるまで管を60~90分間遠心分離する。保持物を捕集し、PBCを加えて試料を300 μL にする。そして、試料50 μL を、以下の実施例にさらに記載されるようなさらなる小胞分析に使用する。

【1162】

実施例22: フィルタで単離された小胞の多重解析

実施例21に記載された方法を使用して得られた小胞試料を、本明細書に記載される多重化アッセイに使用する。たとえば実施例31~33を参照すること。捕捉抗体はCD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamである。検出抗体は、図79、80および81に示すように、バイオマーカーCD9、CD81およびCD63またはB7H3およびEpCamのための検出抗体である。

20

【1163】

実施例23: 患者試料からのフィルタによる小胞単離

実施例21に記載された方法を使用し、MWC0 150kDaの7mL Pierce (登録商標) 濃縮器 (カタログ番号89920/89922) を使用して得られた小胞試料を、本明細書に記載される多重化アッセイに使用する。たとえば実施例31~33を参照すること。捕捉抗体はCD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamである。使用した検出抗体はCD63、CD9およびCD81である。結果が図82に示されている。

【1164】

実施例24: フィルタによって単離した小胞と超遠心分離法によって単離した小胞との比較

実施例21に記載された方法を使用し、MWC0 100kDaの500 μL カラムを使用して得られた小胞試料を、本明細書に記載される多重化アッセイに使用する。たとえば実施例31~33を参照すること。捕捉抗体はCD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamである。検出抗体はCD63、CD9およびCD81である。結果が図83および84に示されている。各図は、一人の患者からの試料を使用して実施された異なる分析法を示す。両図において、グラフは、A) 超遠心分離精製試料、B) ろ過試料、C) 超遠心分離精製試料および10 μg Vcap、およびD) 10 μg Vcapとのろ過試料を示す。

30

【1165】

実施例25: 試料フィルタ比較

上記のように、多様なフィルタを使用して血漿試料から大きな屑を除去することができる。表21および22に示すように、1.2~0.8マイクロメートルのサイズの範囲のフィルタが同等の結果を提供する。

40

【1166】

(表21) 試験したフィルタ

製造業者	カタログ番号	膜	孔径
Pall	4190		1.2μM
Millipore	SLAA033SB		0.8μM
Millipore	SLAA033SS		0.8μM
GVS	FJ25ANCCA012CC01		1.2μM
Whatman	6822-1312	GF/Cグラスファイバー (13mm)	1.2μM
Whatman	6750-2510	ナイロン	1.0μM
Whatman	6781-2510	PES	1.0μM
Whatman	10 462 261	酢酸セルロース (30mm)	1.2μM
Whatman	6783-2510	GDグラスファイバー	1.0μM

10

【 1 1 6 7 】

血漿試料をろ過し、表22に示すようにバイオマーカーCD9、PSMA、PCSA、CD63、CD81、B7H3およびEpCamを使用して小胞を検出した。方法は、本明細書に記載されるとおりであった。たとえば実施例31～33を参照すること。試料を二重反復で実施した。様々なフィルタの場合の結果は各マーカー内で同等のものであった。

【 1 1 6 8 】

(表 2 2) 小胞を単離するための様々なフィルタを使用するMFI

	CD9	PSMA	PCSA	CD63	CD81	B7-H3	EpCam
高	28303	23417	22815	28630	28513	24045	27389
ブランク	23	10	9	216	7	8	18
Pall 4190	726	15	152	1562	2250	172	94
Pall 4190	787	18	173	1701	2539	208	100
GVS	631	17	163	1722	2738	182	86
GVS	562	19	164	1504	2315	206	95
SLAA033SB	739	26	243	1521	2078	277	135
SLAA033SB	725	23	160	1316	1790	263	116
SLAA033SS	888	19	191	1384	2025	223	124
SLAA033SS	774	22	173	1392	2063	218	100
6822-1312	824	19	196	1601	2359	207	106
6822-1312	697	18	172	1632	2580	202	93
10 462 261	576	19	178	1495	2420	190	93
10 462 261	553	23	191	1465	2091	221	106
6750-2510	743	32	248	1574	2082	286	144
6750-2510	847	38	250	1545	2019	322	171
6783-2510	853	19	178	1474	2185	219	110
6783-2510	757	20	159	1533	2232	199	103
6781-2510	624	23	202	1433	2189	227	111
6781-2510	711	21	196	1365	1966	218	131

20

30

【 1 1 6 9 】

実施例26: 小胞のフローサイトメトリー分析

MoFlo XDP (Beckman Coulter, Fort Collins, CO, USA) を使用して精製された血漿小胞を分析し、Summit 4.3ソフトウェア (Beckman Coulter) を使用して蛍光強度中央値を分析した。小胞は抗体で直接標識されるか、ビーズまたはミクロスフェア (たとえば磁性、たとえばBD FACS 7カラーセットアップを含むポリスチレン、カタログ番号335775) が組み込まれることができる。小胞は、以下の小胞抗原:CD9 (マウス抗ヒトCD9、MAB1880、R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)、PSM (マウス抗ヒトPSM、sc-73651、Santa Cruz, Santa Cruz, CA, USA)、PCSA (マウス抗ヒト前立腺細胞表面抗原、MAB4089、Millipore, MA, USA)、CD63 (マウス抗ヒトCD63、556019、BD Biosciences, San Jose, CA, USA)、CD81 (マウス抗ヒトCD81、555675、BD Biosciences, San Jose, CA, USA)、B7-H3 (ヤギ抗ヒトB7-H3、AF1027、R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)、EpCAM (マウス抗ヒトE

40

50

pCAM、MAB9601、R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) に対する結合物質によって検出することができる。小胞は、所望の小胞抗原に対する蛍光標識された抗体によって検出することができる。たとえば、抗体を標識するためにFITC、フィコエリスリン (PE) およびCy 7が一般に使用される。

【1170】

多重ミクロスフェアによって抗体を捕捉するためには、ミクロスフェアをLuminex (Austin, TX, USA) から得、Pierce Thermoから得られるスルホNHSおよびEDC (それぞれカタログ番号24510および22981、Rockford, Ill, USA) を使用するミクロを使用して所望の抗体に結合させることができる。

【1171】

精製した小胞 (10 μ g/ml) を5,000のミクロスフェアとともに振とうしながら室温で1時間インキュベートする。試料をFACS緩衝液 (0.5% FBS/PBS) 中1700rpmで10分間洗浄する。検出抗体を製造者の推奨濃度および室温で振とうしながら1時間インキュベートする。もう一度FACS緩衝液によって1700rpmで10分間洗浄したのち、試料をFACS緩衝液100 μ l中に再懸濁させ、FACS機にかける。

【1172】

さらに、ミクロスフェアを使用して小胞を検出する場合、標識された小胞を、その検出抗体含量にしたがって異なる管の中にソートすることができる。たとえば、FITCまたはPE標識ミクロスフェアを使用する場合、第一の管は、検出物質なしでミクロスフェア集団を含み、第二の管は、PE検出物質を有する集団を含み、第三の管は、FITC検出物質を有する集団を含み、第四の管は、PEおよびFITCの両検出物質を有する集団を含む。ソートされた小胞集団は、たとえばペイロード、たとえばmRNA、マイクロRNAまたはタンパク質含量を検査することによってさらに分析することができる。

【1173】

図85は、MoFlo XDPを使用する小胞の分離および同定を示す。この実験のセットにおいて、緩衝液だけの場合、約3000のトリガイメント (すなわち、大きな小胞のサイズぐらいの粒状物) があった。染色されない小胞の場合、約46,000のトリガイメント (レーザーを散乱させるのに十分なサイズの43,000の小胞) があった。染色された小胞の場合、500,000のトリガイメントがあった。小胞は、すべてFITCで標識されたテトラスパニンCD9、CD63およびCD81のための検出物質を使用して検出した。より小さな小胞は、検出物質で染色された場合、検出することができる。

【1174】

図86Aは、Cy7標識された抗PSCA抗体を使用する前立腺癌患者の血漿からの小胞のフローソーティングを示す。フローソーティングにより、PSCA+小胞の割合が35%から68%に増大した。図86Bは、標識された抗CD45抗体を使用する正常患者および前立腺癌患者の血漿からの小胞のフローソーティングを示す。健康な対照と比べ、癌血漿中のCD45+小胞の割合は約5倍である。フローソーティングののち、CD45+小胞の割合は大幅に増大した。CD45は免疫応答マーカーであるため、増大した免疫由来小胞は、前立腺癌患者における免疫応答を実証する。図86Cは、標識された抗CD45抗体を使用する正常患者および乳癌患者の血漿からの小胞のフローソーティングを示す。健康な対照と比べ、乳癌血漿中のCD45+小胞の割合は10倍超である。ソーティングののち、CD45+小胞の割合は大幅に増大した。CD45は免疫応答マーカーであるため、増大した免疫由来小胞は、乳癌患者における免疫応答を実証する。図86Dは、標識された抗DLL4抗体を使用する正常患者および前立腺癌患者の血漿からの小胞のフローソーティングを示す。健康な対照と比べ、前立腺癌血漿中のDLL4+小胞の割合は約10倍である。フローソーティングにより、DLL4+小胞の割合は大幅に増大した。DLL4+小胞の増加は、癌患者における血管生成の増大を示し得る。

【1175】

小胞の特定の集団のソーティングによる物理的単離は、部分的または完全に精製された小胞集団に対する、マイクロRNA分析のようなさらなる研究を容易にする。

【1176】

10

20

30

40

50

実施例27: 小胞の抗体検出

本明細書に記載される技術を使用して、抗体コートされたビーズを使用して患者試料中の小胞を検出して、患者試料中の小胞を評価する。以下の一般的プロトコールを使用する。

- a. 治療の地点（たとえば診療所、医師のオフィス、病院）で患者から血液を抜き取る。
- b. 血液の血漿画分をさらなる分析に使用する。
- c. 大きな粒子を除去し、小胞含有画分を単離するために、たとえば0.8または1.2マイクロメートル（ μm ）シリンジフィルタによって血漿試料をろ過したのち、たとえば150kDa分子量カットオフのサイズ排除カラムに通す。全体の概要が図87Aに示されている。図87Bに示すように、ろ過法が超遠心分離法よりも好ましい場合がある。理論によって拘束されることなく、高速遠心分離法は、膜中により固く係着したテトラスパニンとは反対に膜中に弱く係着したタンパク質標的を除去する場合があります、小胞中の細胞特異的標的を減らす場合があります、すると、細胞特異的標的は、小胞のバイオシグネチャーの後続の分析において検出されなくなるであろう。
- d. 小胞画分を、関心のあるマーカーに対する「捕捉」抗体と結合したビーズとともにインキュベートする。そして、捕捉された小胞を、標識された「検出」抗体、たとえばフィコエリスリンまたはFITC結合抗体によってタグ付けする。ビーズを標識することもできる。
- e. 試料中の捕捉され、タグ付けされた小胞を検出する。図87Cに示すように、蛍光標識されたビーズおよび検出抗体を検出することができる。標識されたビーズおよび標識された検出抗体の使用は、捕捉抗体によって結合した小胞を有するビーズの評価を可能にする。
- f. データを分析する。特定の捕捉抗体の蛍光強度中央値（MFI）の閾値を設定することができる。閾値よりも高い捕捉抗体の読みが特定の表現型を示すことができる。実例として、癌マーカーに対する捕捉抗体の閾値よりも高いMFIは、患者試料中の癌の存在を示すことができる。

【1177】

図87において、ビーズ816は毛管811を通過して流れる。異なる波長の二つのレーザー812の使用が、ビーズから導出される蛍光シグナルからの捕捉抗体818および標識された検出抗体819から生じる蛍光強度中央値（MFI）の両方の、検出器813における別々の検出を可能にする。関心のある異なる捕捉抗体に結合した、それぞれが異なる蛍光で標識されたビーズの使用が、図示するように一回のアッセイにおける異なる小胞817集団の多重解析を可能にする。レーザー1（815）がビーズタイプ（すなわち捕捉抗体）の検出を可能にし、レーザー2（814）が、一般的小胞マーカー、たとえばCD9、CD63およびCD81を含むテトラスパニンを含むことができる検出抗体の計測を可能にする。異なる集団のビーズおよびレーザーの使用は、一回のアッセイにおける多くの異なる小胞の集団の同時多重解析を可能にする。

【1178】

実施例28: 前立腺癌の場合の小胞参照値

14例の3期前立腺癌対象、11例の良性前立腺肥大症（BPH）試料および15例の正常な試料を試験した。実施例3に記載される方法を使用して小胞試料を得、それを実施例4および5に記載される多重化アッセイに使用した。試料を分析して四つの基準を決定した。1）試料が小胞を過剰発現したかどうか、2）試料が前立腺小胞を過剰発現したかどうか、3）試料が癌小胞を過剰発現したかどうか、および4）試料が信頼できるかどうか。試料が四つの基準すべてを満たすならば、前立腺癌に関して陽性としての試料の分類は、表23に示すように、試料に関して存在する様々なバイオシグネチャーに依存して、異なる感度および特異度を有していた。

【1179】

表中、「小胞」は、小胞レベルの閾値または参照値を記載し、「前立腺」は、前立腺小胞のために使用される閾値または参照値を記載し、「癌1」、「癌2」および「癌3」は、前立腺癌の場合の三つの異なるバイオシグネチャーの閾値または参照値を記載し、「QC-1

」および「QC-2」列は、品質管理または信頼性の閾値または参照値を記載し、最後四つの列は、良性前立腺肥大症（BPH）の場合の特異度（「特異度」）および感度（「感度」）を記載する。

【1180】

（表23）前立腺癌バイオシグネチャーの感度および特異度

小胞	前立腺	癌-1	癌-2	癌-3	QC-1	QC-2	感度	特異度	感度	特異度
							BPH あり	BPH あり	BPH なし	BPH なし
3000	100	na	200	n/a	4000	n/a	85.70%	58.00%	85.70%	71.40%
3000	100	350	100	n/a	4000	n/a	85.70%	74.10%	85.70%	85.70%
3000	100	125	125	50	4000	n/a	71.40%	83.00%	71.40%	90.40%
3000	100	100	100	50	4000	8000	71.40%	87.00%	71.40%	90.40%
3000	100	100	150	50	4000	n/a	64.30%	90.30%	64.20%	90.40%
3000	100	100	150	150	4000	n/a	35.70%	93.40%	35.70%	95.20%

10

【1181】

試料を分類するために使用された四つの基準は以下のものであった。

【1182】

小胞過剰発現

三回のアッセイにおける試料の蛍光強度中央値（MFI）を使用してその試料の値を決定した。各アッセイが異なる捕捉抗体を使用した。第一のアッセイはCD9捕捉抗体を使用し、第二のアッセイはCD81捕捉抗体を使用し、第三のアッセイはCD63抗体を使用した。CD9、CD81およびCD63のための検出抗体の同じ組み合わせを各アッセイに使用した。三回のアッセイに関して得られた平均値が3000よりも大きいならば、その試料を、過剰発現小胞を有するものとして分類した（表23、小胞）。

20

【1183】

前立腺小胞過剰発現

二回のアッセイにおける試料のMFIを平均化してその試料の値を決定した。各アッセイが異なる捕捉抗体を使用した。第一のアッセイはPCSA捕捉抗体を使用し、第二のアッセイはPSMA捕捉抗体を使用した。CD9、CD81およびCD63に対する標識された検出抗体の同じ組み合わせを各アッセイに使用した。二回のアッセイに関して得られた平均値が100よりも大きいならば、その試料を、過剰発現した前立腺小胞を有するものとして分類した（表23、前立腺）。

30

【1184】

癌小胞過剰発現

三つの異なる癌バイオシグネチャーを使用して、試料中で癌小胞が過剰発現しているかどうかを判定した。第一の癌1は、EpCam捕捉抗体ならびにCD81、CD9およびCD63のための検出抗体を使用した。第二の癌2は、CD9捕捉抗体をEpCamおよびB7H3のための検出抗体とともに使用した。三つの癌バイオシグネチャーのいずれか二つに関して試料のMFI値が参照値よりも高いならば、その試料を、過剰発現した癌を有するものとして分類した（表23、癌1、癌2、癌3を参照すること）。

40

【1185】

試料の信頼性

試料ごとに二つの品質管理尺度QC-1およびQC-2を決定した。試料がこれらの一つを満たすならば、その試料を信頼しうるものとして分類した。

【1186】

QC-1の場合、七回のアッセイすべてのMFIの合計を決定した。七回のアッセイそれぞれがCD59およびPSMAのための検出抗体を使用した。各アッセイに使用した捕捉抗体はCD63、CD81、PCSA、PSMA、STEAP、B7H3およびEpCamであった。合計が4000よりも大きいならば、その試料は信頼しうるものではなく、含めなかった。

【1187】

50

QC-2の場合、五回のアッセイすべてのMFIの合計を決定した。五回のアッセイそれぞれがCD9、CD81およびCD63のための検出抗体を使用した。各アッセイに使用した捕捉抗体はPCSA、PSMA、STEAP、B7H3およびEpCamであった。合計が8000よりも大きいならば、その試料は信頼しうるものではなく、含めなかった。

【1188】

試料が基準を満たした後の、BPHを有する試料およびBPHを有しない試料に関する感度および特異度が表23に示されている。

【1189】

実施例29: 前立腺癌の検出

高品質トレーニングセット試料を供給業者から得た。試料は、42例の正常な前立腺、42例のPCaおよび15例のBPH患者からの血漿を含むものであった。PCa試料は四例のIII期を含み、残りがII期であった。すべての研究室作業が完了するまで試料の正体を隠蔽した。

【1190】

試料からの小胞は、ろ過法によって1.5マイクロメートルよりも大きな粒子を除去したのち、中空糸膜管を使用するカラム濃縮および精製によって得た。上記のビーズベースの多重化アッセイシステムを使用して試料を分析した。

【1191】

以下のタンパク質に対する抗体を分析した。

- a. 一般的小胞 (MV) マーカー: CD9、CD81およびCD63
- b. 前立腺MVマーカー: PCSA
- c. 癌関連MVマーカー: EpCamおよびB7H3

【1192】

試料は、以下のような品質試験に合格することを求められた。多重化蛍光強度中央値 (MFI) $PCSA + MFI \ B7H3 + MFI \ EpCam < 200$ ならば、その試料は、バックグラウンドを超えるシグナルの欠如のため、不合格である。トレーニングセットにおいて、六例の試料 (三例の正常および三例の前立腺癌) が十分な品質スコアを達成せず、除外された。また、MFIの上限を以下のように設定した。EpCamのMFIが > 6300 であるならば、試験は上限スコアを上回り、試料は癌ではない (すなわち、試験に関して「陰性」) と見なされる。

【1193】

トレーニングセットタンパク質に対する六つの抗体のMFIスコアの結果にしたがって試料を分類した。試料がPCa陽性と分類されるためには以下の条件が満たされなければならない。

- a. 一般的小胞マーカーの平均MFI > 1500
- b. PCSA MFI > 300
- c. B7H3 MFI > 550
- d. EpCam MFI $550 \sim 6300$

【1194】

84例の正常およびPCaトレーニングデータ試料を使用すると、試験は、正常試料に対するPCaの場合で感度98%および特異度95%であることがわかった。図88Aを参照すること。正常と比較した場合のPCa試料のMFIの増加が図88Bに示されている。従来のPSAおよびPCA3と比較した場合の試験の感度および特異度がそれぞれ図89Aおよび89Bに提示されている。PSAおよびPCA3試験に比べて、この実施例に提示されたPCa試験は、スクリーニングされる正常な男性1000名のうち、PCaを有しない220名が不必要な生検を受けずに済む結果をもたらすことができる。

【1195】

実施例30: PCaからのBPHの区別

BPHはPSAレベルの上昇の一般的な原因である。PSAは、前立腺に何らかの問題があるかどうかを示すことができるが、BPHとPCaとを効果的に区別することはできない。前立腺癌細胞によって過剰発現することが知られる転写物であるPCA3が、PCaに関してわずかながらより特異的であると考えられているが、これは、PSAおよびPCA3に使用されるカットオ

フならびに研究対象集団に依存する。

【1196】

BPHは、小胞（MV）分析によって特徴決定することができる。実施例29に記載される試料を試験すると、15例のBPH試料のうち10例（67%）が、III期のものを含むPCa試料よりも高いCD63+小胞のレベルを示す。図90を参照すること。また、15例のBPHのうち14例（93%）が正常よりも高いCD63+小胞のレベルを示す。これは、BPHをPCaから区別する場合に癌とは異なる炎症特異的シグネチャーが使用され得ることを示す。

【1197】

15例のBPH試料を含む、実施例29におけるようなPCa試験を繰り返した。99例の試料すべてを使用すると、試験は感度98%であり、特異度84%であった。図91を参照すること。したがって、試験は、PSAに対して15%の改善を提供する。PSAおよびPCA3の場合の性能値は一般に、コホートの中にBPHがない状況に関して報告されるが、それにもかかわらず、本発明の小胞試験は、BPHが含まれる場合でさえ、従来の試験を性能で上回る。図92を参照すること。この状況において、本発明のPCa試験は、PSA試験と比較して、スクリーニングされるPCaを有しない男性1000名のうち110名が不必要な生検を受けずに済む結果をもたらす。また、試験は正常な男性を同定する際に良好に働くため、アッセイからの陽性の結果のせいで生検を受けた男性のうち、大部分は前立腺に関して何らかの問題を有する（すなわち、その集団においては特異度95%、実施例29を参照すること）。

【1198】

図93は、従来の試験に対する本発明の小胞アッセイのROC曲線分析を示す。ROC曲線がグラフの左上隅に向かって急上昇するとき、真陽性率は高く、偽陽性率（1特異度）は低い。図93に示すAUC比較は、本発明の試験が従来のPSAまたはPCA3試験よりも正しく試料を分類する可能性はるかに高いことを示す。

【1199】

図94は、一般的小胞（MV）レベル、前立腺特異的MVのレベルおよび癌マーカーを有するMVの間に相関があることを示して、これらのマーカーが対象集団において相関していることを示す。このような癌特異的マーカーはさらに、BPHとPCaとを区別するために使用することもできる。図中、一般的小胞マーカーはCD9、CD63およびCD81を含み、前立腺MVマーカーはPCSAおよびPSMAを含み、癌MVマーカーはEpCamおよびB7H3を含む。小胞捕捉マーカーなしでのPCa試料の試験は、一般的小胞マーカーを使用した場合とほぼ同じである感度および特異度値を明らかにした。同様に、B7H3を使用しない癌の検出は、性能におけるごくわずかな低下しか招かない。これらのデータは、様々な構成において本発明のマーカーを代用し、試験してもなお最適なアッセイ性能を達成することができることを明らかにする。

【1200】

図95は、試験性能を改善するために加えることができる、PCa試料と正常試料とを区別することができるさらなるマーカーを示す。図は、ICAM1、EGFR、STEAP1およびPSCAによって捕捉され、テトラスパニンCD9、CD63およびCD81に対するフィコエリスリン標識抗体で標識された小胞の蛍光強度中央値（MFI）レベルを示す。

【1201】

実施例31: ミクロスフェア小胞前立腺癌アッセイプロトコール

この例において、小胞PCa試験は、前立腺癌患者の血漿からの小胞上に存在するタンパク質バイオマーカーのセットを検出するためのミクロスフェアベースの免疫アッセイである。試験は、以下のタンパク質バイオマーカー: CD9、CD59、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCAMに特異的な抗体を用いる。抗体でコートされたミクロスフェアによる小胞の捕捉ののち、小胞特異的バイオマーカーの検出のために、フィコエリスリン標識された抗体を使用する。図96Aを参照すること。患者の血漿からの小胞へのこれらの抗体の結合のレベルに依存して、前立腺癌の有無の決定を行う。

【1202】

小胞は、実施例7に記載されるように単離される。

【1203】

ミクロスフェア

特異的抗体をミクロスフェア（Luminex）に結合したのち、ミクロスフェアを合わせて、L100-C105-01、L100-C115-01、L100-C119-01、L100-C120-01、L100-C122-01、L100-C124-01、L100-C135-01およびL100-C175-01からなるミクロスフェアマスタミックスを製造する。xMAP（登録商標）Classification CalibrationミクロスフェアL100-CAL1（Luminex）をLuminex LX200機器のための機器校正試薬として使用する。xMAP（登録商標）Reporter CalibrationミクロスフェアL100-CAL2（Luminex）をLuminex LX200機器のための機器レポーター校正試薬として使用する。xMAP（登録商標）Classification ControlミクロスフェアL100-CON1（Luminex）をLuminex LX200機器のための機器対照試薬として使用する。xMAP Reporter ControlミクロスフェアL100-CON2（Luminex）をLuminex LX200機器のためのレポーター対照試薬として使用する。

【1204】捕捉抗体

本実施例において、以下の抗体を用いて、小胞上の個別のタンパク質標的に結合することによってある特定の集団の小胞を捕捉するのに用いるためのLuminexミクロスフェアをコーティングする：a. マウス抗ヒトCD9モノクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C105をコーティングして*EPCLMACD9-C105を作製するために用いられるIgG2bであり；b. マウス抗ヒトPSMAモノクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C115をコーティングしてEPCLMAPSMA-C115を作製するために用いられるIgG1であり；c. マウス抗ヒトPCSAモノクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C119をコーティングしてEPCLMAPCSA-C119を作製するために用いられるIgG1であり；d. マウス抗ヒトCD63モノクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C120をコーティングしてEPCLMACD63-C120を作製するために用いられるIgG1であり；e. マウス抗ヒトCD81モノクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C124をコーティングしてEPCLMACD81-C124を作製するために用いられるIgG1であり；f. ヤギ抗ヒトB7-H3ポリクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C125をコーティングしてEPCLGAB7-H3-C125を作製するために用いられるIgG精製抗体であり；かつg. マウス抗ヒトEpCAMモノクローナル抗体は、ミクロスフェアL100-C175をコーティングしてEPCLMAEpCAM-C175を作製するために用いられるIgG2b精製抗体である。

【1205】検出抗体

本アッセイ法では、以下のフィコエリスリン（PE）標識抗体を検出プローブとして使用する：a. EPCLMACD81PE: マウス抗ヒトCD81 PE標識抗体は、捕捉された小胞上のCD81を検出するために用いられるIgG1抗体であり；b. EPCLMACD9PE: マウス抗ヒトCD9 PE標識抗体は、捕捉された小胞上のCD9を検出するために用いられるIgG1抗体であり；c. EPCLMACD63PE: マウス抗ヒトCD63 PE標識抗体は、捕捉された小胞上のCD63を検出するために用いられるIgG1抗体であり；d. EPCLMAEpCAMPE: マウス抗ヒトEpCAM PE標識抗体は、捕捉された小胞上のEpCAMを検出するために用いられるIgG1抗体であり；e. EPCLMAPSMAPE: マウス抗ヒトPSMA PE標識抗体は、捕捉された小胞上のPSMAを検出するために用いられるIgG1抗体であり；f. EPCLMACD59PE: マウス抗ヒトCD59 PE標識抗体は、捕捉された小胞上のCD59を検出するために用いられるIgG1抗体であり；かつg. EPCLMAB7-H3PE: マウス抗ヒトB7-H3 PE標識抗体は、捕捉された小胞上のB7-H3を検出するために用いられるIgG1抗体である。

【1206】試薬調製

抗体精製: 表24における以下の抗体を販売業者から受け取り、精製し、以下のプロトコールに従って所望の作用濃度に調整する。

【1207】

（表24）PCaアッセイ法用の抗体

抗体	用途
EPCLMACD9	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLMACD63	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLMACD81	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLMAPSMA	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLGAB7-H3	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLMAEpCAM	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLMAPCSA	小胞捕捉のためのミクロスフェアのコーティング
EPCLMACD81PE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体
EPCLMACD9PE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体
EPCLMACD63PE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体
EPCLMAEpCAMPE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体
EPCLMAPSMAPE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体
EPCLMACD59PE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体
EPCLMAB7-H3PE	小胞バイオマーカー検出のためのPEコートされた抗体

10

【1208】

20

抗体精製のプロトコール:Pierce製のProtein G樹脂 (Protein G spinキット、prod #89979) を用いて抗体を精製する。フィルタ付きのP-200チップから作製したマイクロクロマトグラフィーカラムを精製に使用する。

【1209】

各マイクロカラムに、100 μ lのProtein G樹脂をPierceキットの100 μ lの緩衝液とともに充填する。数分待つて樹脂を沈ませた後、カラムを乾燥させないようにしながら、必要に応じてP-200ピペットマンで空気圧をかけて緩衝液を排出する。カラムを0.6mlの結合緩衝液 (pH7.4、100mMリン酸緩衝液、150mM NaCl ; Pierce, Prod #89979) で平衡化する。抗体をカラムに加える (<1mgの抗体をカラムに充填する)。カラムを1.5mlの結合緩衝液で洗浄する。5本のチューブ (1.5ml微量遠心分離チューブ) を調製し、10 μ lの中和溶液 (Pierce, Prod #89979) を各チューブに加える。キットの溶出緩衝液により、5本のチューブそれぞれに各チューブ100 μ l (計500 μ l) で抗体が溶出する。Nanodrop (Thermo scientific, Nanodrop 1000分光光度計) を用いて、各画分の相対的吸光度を280nmで測定する。最も高いOD読み取り値を有する画分を下流の使用のために選択する。Pierce製のSlide-A-Lyzer Dialysis Cassette (Pierce, prod 66333, 3KDaカットオフ) を用いて、0.25リットルのPBS緩衝液に対して試料を透析する。4℃で継続的に攪拌しながら、緩衝液を2時間ごとに最低3回交換する。次いで、透析した試料を1.5ml微量遠心分離チューブに移し、ラベルを付け、4℃ (短期間) または-20℃ (長期間) で保存することができる。

30

【1210】

ミクロスフェアワーキングミックスの組み合わせ:ミクロスフェアワーキングミックスM WM101には、表25の最初の4列の抗体、ミクロスフェア、およびコーティングされたミクロスフェアが含まれる。

40

【1211】

(表25) 抗体-ミクロスフェアの組み合わせ

抗体	ミクロスフェア	コートされたミクロスフェア
EPCLMACD9	L100-C105	EPCLMACD9-C105
EPCLMACD63	L100-C120	EPCLMACD63-C120
EPCLMACD81	L100-C124	EPCLMACD81-C124
EPCLMAPSMA	L100-C115	EPCLMAPSMA-C115
EPCLGAB7-H3	L100-C125	EPCLGAB7-H3-C125
bEPCLMAEpCAM	L100-C175	EPCLMAEpCAM-C175
EPCLMAPCSA	L100-C119	EPCLMAPCSA-C119

10

【1212】

ミクロスフェアを、以下のプロトコールに従って、上記に挙げた個々の抗体でコーティングする。

【1213】

タンパク質のカルボキシル化ミクロスフェアに対する2段階カルボジイミドカップリングのためのプロトコール: この手順全体にわたり、ミクロスフェアを光への長期の暴露から保護しなくてはならない。ミクロスフェアとともに提供されている商品情報シート (xMAP technologies、MicroPlex (商標) Microspheres) に記載されている指示に従って、カップリングしていないミクロスフェアのストックを再懸濁する。5×10⁶個のミクロスフェアのストックをUSA Scientific製の1.5ml微量遠心分離チューブに移す。ミクロスフェアのストックを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。上清を除去し、ペレットにしたミクロスフェアを、ボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって100 μ lのdH₂O中に再懸濁する。ミクロスフェアを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。上清を除去し、洗浄したミクロスフェアを、ボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理 (Branson 1510, Branson ULTrasonics Corp.) によって80 μ lの100mMリン酸二水素ナトリウム、pH6.2中に再懸濁する。10 μ lの50mg/mlスルホ-NHS (Thermo Scientific、Cat# 24500) (dH₂O中に希釈) をミクロスフェアに加え、ボルテックスによって穏やかに混合する。10 μ lの50mg/ml EDC (Thermo Scientific、Cat# 25952-53-8) (dH₂O中に希釈) をミクロスフェアに加え、ボルテックスによって穏やかに混合する。ミクロスフェアを10分間隔でボルテックスによって穏やかに混合しながら、室温で20分間インキュベートする。活性化したミクロスフェアを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。上清を除去し、ミクロスフェアをボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって250 μ lの50mM MES、pH5.0 (MES、Sigma、Cat# M2933) 中に再懸濁する。(PBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% NaAzide (S8032))) 以外をアッセイ緩衝液ならびに洗浄緩衝液として使用してはならない。) 次いで、ミクロスフェアを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。

20

30

【1214】

上清を除去し、ミクロスフェアをボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって250 μ lの50mM MES、pH5.0 (MES、Sigma、Cat# M2933) 中に再懸濁する。(PBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% NaAzide (S8032))) 以外をアッセイ緩衝液ならびに洗浄緩衝液として使用してはならない。) 次いで、ミクロスフェアを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにし、こうして50mM MES、pH5.0を用いた2回の洗浄が完了する。

40

【1215】

上清を除去し、活性化し、かつ洗浄されたミクロスフェアを、ボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって100 μ lの50mM MES、pH5.0中に再懸濁する。125、25、5、または1 μ gの量のタンパク質を再懸濁したミクロスフェアに加える。(注釈: 1～125 μ gの範囲で滴定を行って、特定のカップリング反応ごとに最適なタンパク質量を決めることができる。) 50mM MES、pH5.0を用いて総容量を500 μ lにする。カップリング反応をボルテ

50

ックスによって混合し、室温で（Labquakeローテーター，Barnstead上で回転させることによって）混合しながら2時間インキュベートする。カップリングしたミクロスフェアを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。上清を除去し、ペレットにしたミクロスフェアをボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって500 μ lのPBS-TBN中に再懸濁する。（使用する特定の試薬、アッセイ条件、多重化レベル等に対して濃度を最適化することができる。）

【1 2 1 6】

ミクロスフェアを室温で（Labquakeローテーター，Barnstead上で回転させることによって）混合しながら30分間インキュベートする。カップリングしたミクロスフェアを室温にて $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。上清を除去し、ミクロスフェアをボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって1mlのPBS-TBN中に再懸濁する。（試料、検出抗体、またはSA-PEを添加するたびに、プレートシーラーおよび光遮断物（アルミホイル等）で覆い、オービタルシェーカー上に置き、15～30秒間90に設定して、ビーズを再懸濁する。その後、インキュベーションの期間中はスピードを550に設定すべきである。）

【1 2 1 7】

ミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする。上清を除去し、ミクロスフェアをボルテックスおよびおよそ20秒間の超音波処理によって1mlのPBS-TBN中に再懸濁する。ミクロスフェアを $\geq 8000 \times g$ での1～2分間の微量遠心分離によってペレットにする（これにより、1mlのPBS-TBNを用いた計2回の洗浄となる）。

【1 2 1 8】

ミクロスフェアアッセイのためのプロトコール: 複数のフィコエリスリン検出抗体の調製は、実施例4に記載されているように使用した。システムマニュアルに従って、100 μ lをLuminexアナライザ（Luminex 200, xMAP technologies）で解析する（高PMT設定）。

【1 2 1 9】

決定木: 決定木（図96B～D）を用いて、ミクロスフェアアッセイの結果を評価し、対象が癌を有するかどうかを判定する。MFIの閾値限界を確立し、抗体に対するMFIスコアの結果に従って試料を分類して、試料が、解析を行うのに十分なシグナルを有するかどうか（例えば、第二の患者試料を入手し得る場合に、解析にとって有効な試料であるのか、または、さらなる解析にとって無効な試料であるのか）、および試料がPCa陽性であるかどうかを判定する。図96Bは、CD59、PSMA、PCSA、B7-H3、EpCAM、CD9、CD81、およびCD63を用いて得られたMFIを用いた決定木を示している。図96Cは、PSMA、B7-H3、EpCAM、CD9、CD81、およびCD63を用いて得られたMFIを用いた決定木を示している。MFIが所定の閾値の標準偏差内にある場合、試料を不確定と分類する。検証のために、試料は、個々のテトラスパニンで小胞を捕捉する際およびすべてのテトラスパニンで標識する際に、十分なシグナルを有しなければならない。前立腺特異的マーカー（PSMA）が陽性に見なされかつ癌マーカー（B7-H3およびEpCam）の共同シグナルも陽性に見なされる場合、検証に合格する試料は陽性と称される。図96Dは、PCSA、PSMA、B7-H3、CD9、CD81、およびCD63を用いて得られたMFIを用いた決定木を示している。MFIが所定の閾値（TH）の標準偏差内にある場合、試料を不確定と分類する。この場合、第二の患者試料を入手することができる。検証のために、試料は、個々のテトラスパニンで小胞を捕捉する際およびすべてのテトラスパニンで標識する際に、十分なシグナルを有しなければならない。前立腺特異的マーカーのいずれか（PSMAまたはPCSA）が陽性に見なされ、かつ癌マーカー（B7-H3）も陽性に見なされる場合、検証に合格する試料は陽性と称される。

【1 2 2 0】

結果: 実施例32および33を参照されたい。

【1 2 2 1】

実施例32: ミクロスフェア小胞PCaアッセイの性能

本実施例では、小胞PCa試験は、前立腺癌患者の血漿に由来する小胞上に存在する一組のタンパク質バイオマーカーを検出するためのミクロスフェアベース免疫アッセイである

。本試験は、実施例31の試験と同様に、以下に示した変更を加えて行われる。

【1222】

本試験では、循環微小胞を検出するように設計された多重化免疫アッセイが用いられる。本試験では、血漿などの患者試料中に存在する微小胞を捕捉するためにPCSA、PSMA、およびB7H3が用いられ、捕捉された微小胞を検出するためにCD9、CD81、およびCD63が用いられる。本アッセイの出力は、微小胞上に個々の捕捉タンパク質および検出タンパク質を含有する微小胞の抗体捕捉および蛍光標識抗体検出に起因する蛍光強度中央値(MFI)である。PSMAまたはPCSA、およびB7H3タンパク質を含有する微小胞のMFIレベルが経験的に求められた閾値を上回れば、本試験より試料は「陽性」である。これらの2つの微小胞捕捉カテゴリーのうちいずれか1つが、経験的に求められた閾値より少ないMFIレベルを示せば、試料は「陰性」と決定される。または、ある特定の閾値を満たさないMFI値のために試料MFIが陽性結果または陰性結果をはっきりと生じなければ、または反復データの統計値のばらつきが大きすぎるのであれば、「不確定」の結果が報告される。本試験の「判定不能」解釈は、この患者試料が分析には不適当な微小胞品質を含んでいたことを示している。経験的に得られた閾値を求める方法については実施例33を参照されたい。

【1223】

本試験では、実施例31と同様に以下のタンパク質バイオマーカー:CD9、CD59、CD63、CD81、PSMA、PCSA、およびB7H3に対する特異的抗体が用いられる。試料が陽性、陰性、または不確定と称されるかどうかを判定するために、表26に概説したように決定規準を設定する。実施例31も参照されたい。試料が陽性と判定されるためには、反復は、テトラスパンニンマーカー(CD9、CD63、CD81)、前立腺マーカー(PSMAまたはPCSA)、およびB7H3について求められた4つ全てのMFIカットオフを超えなければならない。PSMAおよびPCSAからの3回の反復が両方とも、またはB7H3抗体からの3回の反復のいずれかがカットオフMFI値にまたがるのであれば、試料は不確定と判定される。テトラスパンニンマーカー(CD9、CD63、およびCD81)、前立腺マーカー(PSMAまたはPCSA)、B7H3の少なくとも1つがMFIカットオフより少なければ、試料は陰性と判定される。

【1224】

(表26) 各捕捉抗体のMFIパラメータ

テトラスパンニンマーカー (CD9, CD63, CD81)	前立腺マーカー (PSMA, PCSA)	B7H3	結果の決定
3種類の テトラスパンニンからの 全反復の平均が MFI>500である。	2種類の前立腺 マーカー各々からの 全反復がPCSAについては MFI>350であり、 PSMAについては MFI>90である。	B7H3からの 全反復のMFIが >300である。	3つ全てが 真であれば、 試料は陽性と 判定される。
	各前立腺マーカーからの 反復セットが両方とも PCSAについては MFI=350より上の値および MFI=350より下の値、 PSMAについては MFI=90より上の値および MFI=90より下の値を有する。	B7H3からの いかなる反復も MFI=300より上の値 およびMFI=300より 下の値を有する。	いずれかが 真であれば、 試料は不確定と 判定される。
3種類の テトラスパンニンからの 全反復のMFIが <500である。	2種類の前立腺 マーカー各々からの 全反復がPCSAについては MFI<350であり、 PSMAについては MFI<90である。	B7H3からの 全反復のMFIが <300である。	試料が不確定と 認定されない場合、 3つのうちいずれかが 真であれば、 試料は陰性と 判定される。

【1225】

生検によって確認されたPCaのある患者またはPCaのない患者296人からなるコホートに

において、小胞PCa試験を高濃度PSAと比較した。結果のROC曲線を図97Aに示した。示したように、小胞PCa試験の曲線下面積(AUC)は0.94であったのに対して、同じ試料における高濃度PSAのAUCは0.68しかなかった。PCa試料は、高いPSA値のために発見される可能性が高かった。従って、この集団はPSAに有利なようにゆがめられており、このことが、AUCが本当の臨床の場合において観察されるものより高い理由である。

【1226】

933例の患者血漿試料からなるコホートにおいて小胞PCa試験をさらに行った。結果を図97Bに示し、表27にまとめた。

【1227】

(表27) 933人の患者コホートにおける小胞PCa試験の性能

真陽性	409
真陰性	307
偽陽性	50
偽陰性	72
判定不能	63
不確定	32
合計	933
感度	85%
特異度	86%
精度	85%
判定不能率	8%
不確定率	5%

10

20

【1228】

表27に示したように、小胞PCa試験は、精度85%の場合、86%特異度レベルで85%感度レベルに達した。対照的に、感度85%でPSAは特異度が約55%であり、特異度86%でPSAは感度が約5%であった。図97A。933例の試料の約12%は判定不能または不確定であった。患者からの試料を再収集および再評価することができた。図97Cは、図97Bに示したデータに対応するROC曲線を示す。933例の試料を対象にした小胞PCa試験のAUCは0.92であった。

【1229】

実施例33: 蛍光強度中央値(MFI)閾値の計算

バイオマーカーの閾値レベルを設定することはよくあることであり、閾値を上回る値または閾値より少ない値は異なる結果、例えば、陽性 対 陰性 結果を表す。例えば、PSAの基準は血清中4ng/ml PSAの閾値である。この閾値より少ないPSAレベルは正常とみなされるのに対して、この閾値を上回るPSA値は前立腺の問題、例えば、BPHまたは前立腺癌(PCa)を示している可能性がある。この閾値は、特異度に対して感度が高くなるように調節することができる。PSAの場合、閾値を下げれば、検出される癌は多くなり、従って、感度が上昇するが、同時に偽陽性数は増加し、従って、特異度が低下するであろう。同様に、閾値を上げれば、検出される癌は少なくなり、従って、感度が減少するが、同時に、偽陽性数は減少し、従って、特異度が上昇するであろう。

30

【1230】

実施例29～32などの本明細書の実施例では、PCaを検出する試験を構築するために、小胞バイオマーカーの閾値MFI値が設定される。本実施例は閾値を決定するアプローチを提供する。このために、クラスタ分析を用いて、望ましい感度レベルをもたらすMFI閾値に基づいて分離することができるPCa陽性集団およびPCa陰性集団があるかどうかを判定した。

40

【1231】

蛍光強度値は指数関数的に分布し、従って、クラスタリング分析を行う前にデータを対数変換した。結果として生じたデータセットを従来のハードクラスタリング法に供した。ここで実行されたハードクラスタリングでは、データポイントが特定のクラスタに属するかどうかを判定するために、規定されたユークリッド距離パラメータが用いられる。使用

50

されたアルゴリズムが、以下のクラスタ内平方和(within-cluster sum of squares)を最小限にするように各データポイントをc個のクラスタの1つに割り当てる：

$$\sum_{i=1}^c \sum_{k \in A_i} \|x_k - v_i\|_2$$

式中、 A_i はi番目のクラスタにある一組の対象(データポイント)であり、 v_i はクラスタi全体にあるポイントの平均である。この等式はユークリッド距離ノルムを示す。149例の試料からのデータを用いて、クラスタを決定した。均一に分布するように生データを対数変換した。次いで、最小値を差し引き、最大値で割ることによってデータを基準化した。変換前後のPSMA対B7H3、PCSA対B7H3、およびPSMA対PCSAのプロットを図98Aに示した。

10

【1 2 3 2】

可能性のあるそれぞれのマーカーの組み合わせ、PSMA対B7H3、PCSA対PSMA、およびPCSA対B7H3を分析し、集団を最もよく分離すると判定された閾値を特定した。2つのクラスタを最もよく分離する水平ラインおよび垂直ラインが見出された。このラインと軸が交差する点を用いてカットオフを規定した。このために、最初に値を非正規化し、次いで、真数を得ることが必要であった。これにより、図98Bに示したように、各PSMA対B7H3についてそれぞれ90および300のカットオフが得られた。

【1 2 3 3】

PCSA対B7H3の場合、発見された2つのクラスタを図98Cに示した。2つのクラスタを最もよく分離する水平ラインおよび垂直ラインが見出された。このラインと軸が交差する点を用いてカットオフを規定した。このために、最初に値を非正規化し、次いで、真数を得ることが必要であった。これにより、各PCSA対B7H3についてそれぞれ430および300のカットオフが得られた。

20

【1 2 3 4】

PSMA対PCSAの場合、発見された2つのクラスタを図98Dに示した。2つのクラスタを最もよく分離する水平ラインおよび垂直ラインが見出された。このラインと軸が交差する点を用いてカットオフを規定した。このために、最初に値を非正規化し、次いで、真数を得ることが必要であった。これにより、各PSMA対PCSAについてそれぞれ85および350のカットオフが得られた。

【1 2 3 5】

クラスタ分析によって見出された閾値の全ての組み合わせについて感度および特異度を計算した。PSMAの場合、85または90の値で感度または特異度に変化はなく、従って、カットオフとして使用するために90が選択された。PCSAの場合、430または350の閾値で感度に変化はなかったが、この変化により特異度は0.3%減少した。これは有意でない変化なので、感度が高くなって間違いが多くなるようにPCSAカットオフには350の値が選択された。B7H3の場合、両クラスタの閾値とも同じ300であったので、この値が用いられた。これらの閾値によって得られた感度および特異度は、それぞれ、92.7%および81.8%であった。

30

【1 2 3 6】

これらの閾値は、313例の試料を含有するさらに大きなデータセットに適用され、92.8%の感度および78.7%の特異度が得られた。図98Eを参照されたい。

40

【1 2 3 7】

本実施例では、試料が正常患者に由来するののかにも癌患者に由来するののかにも無関係なやり方で閾値を決定した。閾値は2つの集団を分離するのに良好に機能するので、標本の生物機能の差異のために、基礎をなす2つの異なる集団が実際にある可能性が高くなる。この差異は前立腺癌の有無と高い相関関係があり、従って、生検の実施が大いに推奨される。この方法は、正常から他の癌を検出するなど、望ましい全ての比較のためにMFI閾値を決定するのに用いられる。

【1 2 3 8】

実施例34：小胞PCaタンパク質マーカーの発見

50

本実施例では、小胞タンパク質バイオマーカーを前記のように評価した。試料は、285例の前立腺癌試料および237例の対照を含めて合計522人の患者から得られた。試験マーカーには、CD9、PSMA、PCSA、CD63、CD81、B7H3、IL6、OPG-13、IL6R、PA2G4、EZH2、RUNX2、SERPINB3、およびEpCamが含まれた。結果を図99に示した。図99は、前立腺癌および正常試料について各試験マーカーの平均蛍光強度(MFI)値を示す。一般的小胞バイオマーカーとして役立つテトラスパニン(例えば、CD63およびCD81)を除く全てのマーカーについて高い小胞表面マーカーレベルが観察された。様々なマーカーおよびその組み合わせの性能を表28に示した。

【1239】

(表28) 様々なマーカーおよびマーカーの組み合わせの性能

マーカー	感度	特異度
PSMA	84%	81%
PCSA	87%	82%
B7-H3	81%	85%
IL 6	83%	82%
OPG-13	91%	81%
IL6R	84%	81%
PA2G4	90%	80%
EZH2	81%	89%
RUNX2	94%	74%
SERPINB3	96%	68%
OPG + PA2G4 + RUNX2 + SERPI	93%	81%
PCSA + B7H3	81%	87%
PA2G4 + RUNX2 + SERPI	88%	82%
OPG + RUNX2 + SERPI	88%	85%
OPG + PA2G4 + SERPI	86%	85%
OPG + PA2G4 + RUNX2	85%	86%
OPG + PA2G4 + RUNX2 + SERPI+ PCSA + B7H3	94%	79%

【1240】

疾患検出のための小胞マーカーを発見するために、本実施例と同様に様々なマーカーおよびその組み合わせの分析が用いられる。アッセイ性能に加えて、抗体の選択は、医学界におけるマーカーの見解、試薬の入手可能性、多重能力、および他の要因の影響を受けることがある。

【1241】

実施例35: 前立腺癌を検出するための小胞タンパク質アレイ

本実施例では、前立腺癌患者の血漿に由来する小胞上に存在する一組のタンパク質バイオマーカーを検出するために、タンパク質アレイ、具体的には、抗体アレイを用いて小胞PCa試験を行う。アレイは、以下のタンパク質バイオマーカー:CD9、CD59、CD63、CD81に特異的な捕捉抗体を含む。前記のように、例えば、実施例3および実施例7に記載のように、小胞を単離する。PCaのリスクのある男性、例えば、50歳以上の男性の血漿から小胞を濾過および単離した後に、血漿試料を、様々な捕捉抗体を含むアレイとインキュベートする。アレイにハイブリダイズした患者血漿由来小胞に結合する、PSMA、PCSA、B7H3、およびEpCAMに対する蛍光標識検出抗体の結合レベルに応じて、前立腺癌の有無を判定する。

【1242】

第二のアレイ形式では、小胞を血漿から単離し、CD9、CD59、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、およびEpCamを含有するアレイにハイブリダイズさせる。捕捉された小胞を、Cy3および/またはCy5で標識された非特異的小胞抗体でタグ化する。蛍光を検出する。結合パターンに応じて、前立腺癌の有無を判定する。

【1243】

実施例36: 抗体アレイ上でのBPHとPCaの区別

8人のBPH患者および8人の第III期前立腺癌患者に由来する小胞を含有する濃縮血漿を1:30に希釈し、40種類のヒトサイトカイン受容体を含有するRaybiotech Human Receptorア

レイとハイブリダイズさせた。独立t検定を用いて、各群の各サイトカインの平均濃度(pg/ml)を比較した。試験された40種類の受容体のうち、トラピン-2、セアカム-1、HVEM、IL-10Rb、IL-1R4、およびBCMAは最も有意に異なって発現していた。図100を参照されたい。

【1244】

t検定を用いて、発現差異の統計的有意性を求めた。結果を表29に示した。

【1245】

(表29) 抗体マーカーを用いたBPHおよびPCaの区別

マーカー	p値
Trappin-2	0.018
Ceacam-1	0.013
HVEM	0.0095
IL-10Rb	0.052
IL-1 R4	0.054
BCMA	0.019

10

【1246】

6種類のマーカーの組み合わせを用いてBPHをPCaと区別することによって、BPHについては100%の感度と87.5%の特異度が得られた。

【1247】

実施例37:miRを用いたBPHおよびPCaの区別

9人の正常男性個人および9人の第3期前立腺癌個人の血漿由来小胞に由来するRNAを、Exiqon miRCURY LNA マイクロRNA PCRシステムパネルによって分析した。Exiqon 384ウェルパネルでは750種類のmiRが測定される。試料を、Universal cDNA合成キット(UniSp6 CP)に由来する合成RNAスパイクインに対する対照プライマーに対して基準化した。各表示(BPHまたはPCa)の3つのデータセット全体での各プローブの基準化された値の平均をとった。平均CV%が20%を超えるプローブは分析に使用しなかった。

20

【1248】

結果分析から、BPH試料中の数種類のマイクロRNAが第3期前立腺癌試料と比較して2倍以上過剰発現していたことが明らかになった。これらのmiRには、表30に示したように、hsa-miR-329、hsa-miR-30a、hsa-miR-335、hsa-miR-152、hsa-miR-151-5p、hsa-miR-200a、およびhsa-miR-145が含まれる。

【1249】

30

(表30) BPH対PCaにおいて過剰発現していたmiR

BPHにおける過剰発現 対 PCaにおける過剰発現	変化倍率
hsa-miR-329	12.32
hsa-miR-30a	6.16
hsa-miR-335	6.00
hsa-miR-152	4.73
hsa-miR-151-5p	3.16
hsa-miR-200a	3.16
hsa-miR-145	2.35

【1250】

さらに、PCa対BPHにおいて多数のmiRが少なくとも2倍過剰発現していた。これらのmiRには、表31に示したように、hsa-miR-29a、hsa-miR-106b、hsa-miR-595、hsa-miR-142-5p、hsa-miR-99a、hsa-miR-20b、hsa-miR-373、hsa-miR-502-5p、hsa-miR-29b、hsa-miR-142-3p、hsa-miR-663、hsa-miR-423-5p、hsa-miR-15a、hsa-miR-888、hsa-miR-361-3p、hsa-miR-365、hsa-miR-10b、hsa-miR-199a-3p、hsa-miR-181a、hsa-miR-19a、hsa-miR-125b、hsa-miR-760、hsa-miR-7a、hsa-miR-671-5p、hsa-miR-7c、hsa-miR-1979、およびhsa-miR-103が含まれる。

40

【1251】

(表31) PCa対BPHにおいて過剰発現していたmiR

PCaにおける過剰発現 対 BPHにおける過剰発現	変化倍率
hsa-miR-29a	2.18
hsa-miR-106b	2.23
hsa-miR-595	2.24
hsa-miR-142-5p	2.25
hsa-miR-99a	2.30
hsa-miR-20b	2.36
hsa-miR-373*	2.37
hsa-miR-502-5p	2.39
hsa-miR-29b	2.43
hsa-miR-142-3p	2.44
hsa-miR-663	2.51
hsa-miR-423-5p	2.55
hsa-miR-15a	2.71
hsa-miR-888	2.72
hsa-miR-361-3p	2.86
hsa-miR-365	2.90
hsa-miR-10b	2.90
hsa-miR-199a-3p	2.96
hsa-miR-181a	3.00
hsa-miR-19a	3.03
hsa-miR-125b	3.05
hsa-miR-760	3.10
hsa-miR-7a	3.77
hsa-miR-671-5p	4.11
hsa-miR-7c	5.56
hsa-miR-1979	5.80
hsa-miR-103	6.42

10

20

【 1 2 5 2 】

実施例38: 対照試料およびPCa試料におけるmiR-145

図101は、対照試料におけるmiR-145および前立腺癌試料におけるmiR-145を比較している。実施例13と同様にRNAを収集した。対照には、PSA<4ng/mlおよび良性直腸診(DRE)の>75歳の白人および>65歳のアフリカ系アメリカ人が含まれる。図から分かるように、miR-145はPCa試料において低発現であった。miR-145は、初期/低悪性度PCaの患者と良性前立腺変化(例えば、BPH)の患者を見分けるのに有用である。

30

【 1 2 5 3 】

実施例39: 転移性PCaおよび非転移性PCaにおいて異なって発現しているmiRの発見

720種類のmiRからなるパネルを用いて、非転移性前立腺癌があると特定された48人の患者および転移性前立腺癌があると特定された19人の患者に由来する血漿試料中のmiR発現を比較した。血漿試料の微小胞に由来するRNAを、Exiqon microRNA ready to use qRT-PCR panel バージョン1.0において評価した。結果をプレート間キャリブレーションプロブに対して基準化し、次いで、対応のあるt検定に供した。ベンジャミニ・ホシュバーク偽発見率検定(Benjamini and Hochberg false-discovery rate test)を用いてP値を補正した。

40

【 1 2 5 4 】

表32は、このように特定された最も上方制御されていた上位4つのmiRおよび最も下方制御されていた上位4つのmiRを示す。他の標的mRNAのうちmiR-145は、はっきり特徴決定された癌遺伝子であるBRAFを調節すると予測されている。miR-32およびmiR-134は、BMPおよびTGF- β /アクチビン-シグナル伝達の負の調節と関連するSMAD6を調節すると予測されている。SMAD6発現は癌予後不良と関連づけられている。

【 1 2 5 5 】

(表 3 2) 転移性PCa試料 対 非転移性PCa試料でのmiR発現

有意に異なるmiR (p値<0.01)	変化 倍率	転移性疾患における 上方制御または 下方制御	p値	関連する 遺伝子 標的
miR-495	117.1	上方	0.0021	BRAF
miR-10a	16.4	上方	0.0050	
miR-30a	11.4	上方	0.0067	
miR-570	11.0	上方	0.0042	
miR-32	35.0	下方	0.0042	SMAD6
miR-885-3p	9.5	下方	0.0042	
miR-564	4.3	下方	0.0066	
miR-134	3.7	下方	0.0086	SMAD6

【1256】

Exiqon microRNA ready to use qRT-PCR panelバージョン2.0および10人の転移性前立腺癌患者および17人の非転移性前立腺癌患者からなるコホートからの血漿試料を用いて、前記の実験構成を繰り返した。最も有意に異なって発現したmiRの未補正p値を表33に示した。

【1257】

(表33) 転移性PCa試料 対 非転移性PCa試料でのmiR発現

マイクロRNA	p値	非転移性における制御	変化倍率
hsa-miR-375	1.22E-04	下方	36.7
hsa-miR-452	2.04E-04	下方	10.3
hsa-miR-200b	0.00207	下方	5.5
hsa-miR-146b-5p	0.00241	下方	9.7
hsa-miR-1296	0.00430	下方	4.5
hsa-miR-17*	0.0104	下方	5.6
hsa-miR-100	0.0207	下方	4.5
hsa-miR-574-3p	0.0222	下方	2.6
hsa-miR-20a*	0.0259	下方	2.3
hsa-miR-572	0.0281	上方	6.5
hsa-miR-1236	0.0313	下方	2.5
hsa-miR-181a	0.0374	下方	9.5
hsa-miR-937	0.0446	上方	5.7
hsa-miR-23a*	0.0474	下方	2.0

【1258】

実施例40:PCaにおいて異なって発現したmiRの検出

miRパネルを用いて、前立腺癌のない28人の男性および前立腺癌のある64人の男性からの血漿試料におけるmiR発現を比較した。全ての場合において、前立腺癌の状態を生検によって確認した。血漿試料の微小胞に由来するRNAを、Exiqon microRNA ready to use qRT-PCR panelにおいて評価した。結果をプレート間キャリブレーションプロブに対して基準化し、次いで、対応のあるt検定に供した。ベンジャミニ・ホシュバーク偽発見率検定を用いてp値を補正した。最も有意に異なって発現したmiRのp値を表34に示した。

【1259】

(表34) 転移性PCa試料 対 非転移性PCa試料でのmiR発現

10

20

30

40

マイクロRNA	p値	対照に おける制御	変化倍率
hsa-miR-574-3p	0.0264	下方	3.52
hsa-miR-331-3p	0.0264	下方	6.63
hsa-miR-326	0.0264	下方	5.99
hsa-miR-181a-2*	0.0264	上方	2.95
hsa-miR-130b	0.0264	下方	4.83
hsa-miR-301a	0.0264	下方	8.18
hsa-miR-141	0.0312	下方	4.13
hsa-miR-432	0.0351	下方	3.83
hsa-miR-107	0.0351	下方	8.29
hsa-miR-628-5p	0.0391	上方	3.25
hsa-miR-625*	0.0391	下方	3.98
hsa-miR-497	0.0495	下方	4.35
hsa-miR-484	0.0495	下方	2.90

【1260】

実施例41:PCaにおいて異なって発現していたmiR

84例の前立腺癌試料および28例の対照試料(前立腺癌を含まずに管理された生検材料)からなるパネルを、本明細書に記載のようにExiqon RT-PCRパネルを用いて分析した。TNMスケールを用いると、前立腺癌には、13例のMX試料(遠隔転移を評価しなかった)、55例のM0試料(遠隔転移なし)、および16例のM1試料(遠隔転移が確認された)が含まれた。

【1261】

患者試料から単離された小胞中のmiRを検出した。改良を加えたQiagen miRneasyプロトコール(Qiagen GmbH, Germany)を用いて、各試料の150 μ Lの凍結血漿濃縮物からRNAを単離した。改良を加えたプロトコールには、各試料において小胞中に保護されているRNAだけが分析されるように、単離前にRnaseAによって濃縮試料を処理する工程が含まれた。後の工程における基準化のために、既知量の線虫(C.elegans)マイクロRNAを試料に添加した。それぞれのExiqonパネルには、試料中の小胞から単離されたRNA 40ngを使用した。

【1262】

Exiqon RT-PCRパネルは、750種類のmiRおよび対照アッセイをカバーする2つの384カードからなった。ABI 7900(Life Technologies Corporation, Carlsbad, California)によって行われるSybr greenアッセイを用いて、qRT-PCRアッセイを行った。各miRアッセイのCt値を、プレート間キャリブレーター(IPC)プローブおよびRT-PCR対照のCt値に対して基準化した。いくつかの品質チェックを行った。IPC Ct値>25、RT-PCR Cr値>35であり、試料が対照miR(すなわちmiR-16およびmiR-21)を増幅しなかった時には、試料を分析から除外した。アウトライアーを特定するために、GeneSpringソフトウェア(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)を用いて、試料データの主成分分析を行った。これらの品質基準を用いて品質が合格しなかったために、3つの試料を分析から除外した。

【1263】

以下で特定される試料群間で、データを対応のあるt検定にかけた。ベンジャミニ・ホシュバーク偽発見率検定を用いてp値を補正した。Taqmanプローブアプローチを用いて、最も有意なp値を示したmiRを検証した。

【1264】

84例の前立腺癌および28例の対照を比較した。750種類のmiRプローブのうち、PCa試料と対照試料との間のレベルの変化倍率が>2.0であるものは81(81)種類(6種類が下方制御および75種類が上方制御)であった。これらの81種類のうち、10種類の補正p値は<0.05であった。表35を参照されたい。

【1265】

(表35) PCa試料 対 対照試料でのmiR発現

10

20

30

40

マイクロRNA	p値	PCa試料における制御	変化倍率
hsa-miR-574-3p	0.0339	上方	3.38
hsa-miR-141	0.0339	上方	4.26
hsa-miR-331-3p	0.0442	上方	5.53
hsa-miR-432	0.0442	上方	3.32
hsa-miR-326	0.0339	上方	5.10
hsa-miR-2110	0.0339	上方	6.71
hsa-miR-107	0.0317	上方	11.31
hsa-miR-130b	0.0339	上方	4.66
hsa-miR-301a	0.0442	上方	5.21
hsa-miR-625*	0.0442	上方	3.55

【 1 2 6 6 】

16例のM1転移性試料を用いることなく前記のように比較を繰り返した。この比較によって、750種類のmiRのうち、PCa試料と対照試料との間のレベルの変化倍率が>2.0である81種類が特定された。表36を参照されたい。「対照における制御」は、対照試料 対 PCa試料での上方制御(上方)または下方制御(下方)を指す。

【 1 2 6 7 】

(表 3 6) PCa(非転移性試料) 対 対照試料でのmiR発現

マイクロRNA	変化倍率	対照における制御
hsa-miR-107	12.78	下方
hsa-miR-2110	6.42	下方
hsa-miR-326	5.75	下方
hsa-miR-301a	4.87	下方
hsa-miR-185	4.41	下方
hsa-miR-331-3p	4.28	下方
hsa-miR-373*	4.11	下方
hsa-miR-99a	4.06	下方
hsa-miR-432	3.96	下方
hsa-miR-625*	3.83	下方
hsa-miR-130b	3.60	下方
hsa-miR-638	3.56	下方
hsa-miR-425*	3.55	下方
hsa-miR-627	3.53	下方
hsa-miR-197	3.46	下方
hsa-miR-532-3p	3.45	下方
hsa-miR-124	3.42	下方
hsa-miR-411*	3.42	下方
hsa-miR-154	3.40	下方
hsa-miR-16-2*	3.24	下方
hsa-miR-574-3p	3.23	下方
hsa-miR-421	3.21	下方
hsa-miR-18a	3.17	下方
hsa-miR-141	3.12	下方
hsa-miR-423-3p	3.09	下方
hsa-miR-103	3.05	下方
hsa-miR-28-3p	3.01	下方
hsa-miR-375	3.00	下方
hsa-miR-765	2.77	下方
hsa-miR-362-5p	2.77	下方
hsa-miR-22*	2.75	下方
hsa-miR-181b	2.74	下方
hsa-miR-186	2.74	下方
hsa-miR-652	2.69	下方
hsa-miR-192	2.61	上方
hsa-miR-518f*	2.61	下方
hsa-miR-1207-5p	2.59	下方
hsa-miR-532-5p	2.58	下方

10

20

30

hsa-miR-484	2.56	下方
hsa-miR-577	2.51	上方
hsa-miR-379*	2.51	下方
hsa-miR-363	2.51	下方
hsa-miR-1224-3p	2.49	下方
hsa-miR-210	2.46	下方
hsa-miR-181a-2*	2.44	上方
hsa-miR-19b	2.41	下方
hsa-miR-604	2.40	下方
hsa-miR-125a-5p	2.39	上方
hsa-miR-1	2.38	下方
hsa-miR-518c*	2.36	下方
hsa-miR-95	2.33	下方
hsa-miR-140-5p	2.33	下方
hsa-miR-497	2.31	下方
hsa-miR-491-5p	2.28	下方
hsa-miR-144	2.26	下方
hsa-miR-18b	2.25	下方
hsa-miR-423-5p	2.25	下方
hsa-miR-665	2.25	下方
hsa-miR-324-3p	2.25	下方
hsa-miR-335	2.24	下方
hsa-miR-590-5p	2.20	下方
hsa-miR-130a	2.19	下方
hsa-miR-133b	2.18	下方
hsa-miR-1972	2.16	下方
hsa-miR-744*	2.15	下方
hsa-miR-202	2.14	上方
hsa-miR-30e	2.12	下方
hsa-miR-214	2.10	下方
hsa-miR-29c	2.10	下方
hsa-miR-20a	2.10	下方
hsa-miR-1247	2.09	上方
hsa-miR-15b*	2.08	下方
hsa-miR-133a	2.08	下方
hsa-miR-194	2.04	下方
hsa-miR-26b*	2.04	下方
hsa-miR-191	2.04	下方
hsa-miR-106b	2.03	下方
hsa-miR-485-3p	2.03	下方
hsa-miR-1909	2.02	下方
hsa-miR-628-5p	2.02	上方
hsa-miR-431	2.00	下方

10

20

30

【 1 2 6 8 】

表36にある81種類のmiRのうち、9種類の未補正p値は<0.01であった。全てがPCaにおいて上方制御された。表37を参照されたい。「制御」は、PCa試料 対 対照試料での上方制御(上方)または下方制御(下方)を指す。

40

【 1 2 6 9 】

(表 3 7) PCa(非転移性試料) 対 対照試料でのmiR発現

miR	p値	制御	変化倍率
hsa-miR-107	0.0002	上方	12.78
hsa-miR-326	0.0015	上方	5.75
hsa-miR-432	0.0024	上方	3.96
hsa-miR-574-3p	0.0029	上方	3.23
hsa-miR-625*	0.0038	上方	3.83
hsa-miR-2110	0.0044	上方	6.42
hsa-miR-301a	0.0079	上方	4.87
hsa-miR-141	0.0087	上方	3.12
hsa-miR-373*	0.0090	上方	4.11

【1270】

10

前記の結果のさらなる検証において、35人の生検によって確認された対照男性(PCaなし)および133人の非転移性前立腺癌男性の血漿から抽出された微小胞からマイクロRNAを抽出した。ABI Taqmanアッセイを用いて、マイクロRNAをmiR-107およびmiR-574-3pの発現について評価し、合成検量線を用いてコピー数を絶対定量した。RNA単離のばらつきのために、RNA単離中のスパイクインとして75フェムトモルの線虫miR-39を用いて試料を基準化した。マン・ホイットニーU検定を用いて各群からの結果を比較した。結果を図102A(miR-107)および図102B(miR-574-3p)に示した。それぞれの図の下に示されたように、対照とPCa試料との間でp値に有意な差があり、それによって、表35～37に示したようにExiqonカードによって得られた結果が実証された。miR-141も、Taqmanを用いた類似実験において対照とPCa試料を比較した時に実証された。

20

【1271】

16例のM1転移性PCa試料と55例のM0非転移性PCa試料との間で、前記のように比較を繰り返した。この比較によって、750種類のmiRのうち、転移性試料と非転移性試料との間のレベルの変化倍率が>2.0である121種類が特定された。表38を参照されたい。「非転移性における制御」は、非転移性PCa試料 対 転移性PCa試料での上方制御(上方)または下方制御(下方)を指す。

【1272】

(表38) M1転移性PCa 対 M0非転移性PCaでのmiR発現

検出体	変化倍率 ([M0] 対 [M1])	非転移性における制御
hsa-miR-375	12.75	下方
hsa-miR-497	5.90	下方
hsa-miR-572	5.89	上方
hsa-miR-17*	5.65	下方
hsa-miR-197	5.45	下方
hsa-miR-141	5.23	下方
hsa-miR-148a	5.19	下方
hsa-miR-624*	4.93	下方
hsa-miR-577	4.88	下方
hsa-miR-32	4.82	上方
hsa-miR-200b	4.75	下方
hsa-miR-130b	4.70	下方
hsa-miR-210	4.60	下方
hsa-miR-185	4.55	上方
hsa-miR-451	4.51	上方
hsa-miR-146b-5p	4.42	下方
hsa-miR-452	4.17	下方
hsa-miR-342-3p	4.12	上方
hsa-miR-382	4.11	下方
hsa-miR-331-3p	4.10	下方
hsa-miR-100	3.97	下方
hsa-miR-181a	3.77	下方
hsa-miR-532-3p	3.74	下方
hsa-miR-636	3.62	下方
hsa-miR-1296	3.60	下方
hsa-miR-185*	3.43	上方
hsa-miR-1	3.41	下方
hsa-miR-145	3.39	下方
hsa-miR-10a	3.35	下方
hsa-miR-30b	3.30	上方
hsa-miR-199a-5p	3.24	下方

10

20

hsa-miR-30a	3.23	下方
hsa-miR-425	3.20	下方
hsa-miR-1972	3.20	下方
hsa-miR-20a*	3.19	下方
hsa-miR-142-5p	3.18	下方
hsa-miR-361-3p	3.17	下方
hsa-miR-195	3.12	下方
hsa-miR-1471	3.08	下方
hsa-miR-143	3.08	下方
hsa-miR-218-1*	3.08	下方
hsa-miR-1247	3.07	下方
hsa-miR-450b-3p	3.05	下方
hsa-miR-619	2.94	下方
hsa-miR-339-3p	2.90	下方
hsa-miR-555	2.88	下方
hsa-miR-629	2.87	下方
hsa-miR-26b	2.87	下方
hsa-miR-373*	2.85	上方
hsa-miRPlus-A1031	2.84	下方
hsa-miR-99b*	2.82	下方
hsa-miR-323-3p	2.80	下方
hsa-miR-486-5p	2.80	上方
hsa-miR-1539	2.79	上方
hsa-miR-17	2.79	下方
hsa-miR-27b	2.79	上方
hsa-miR-133a	2.78	下方
hsa-miR-144	2.76	上方
hsa-miR-885-5p	2.64	下方
hsa-let-7c*	2.64	下方
hsa-miR-10b	2.62	下方
hsa-miR-454	2.62	下方
hsa-miR-708*	2.59	下方
hsa-miR-140-5p	2.59	下方
hsa-miR-520h	2.58	下方
hsa-miR-16	2.57	上方
hsa-miR-886-5p	2.53	下方
hsa-let-7a	2.53	上方
hsa-miR-1913	2.50	下方
hsa-miR-363	2.49	下方
hsa-miR-517c	2.49	下方
hsa-miR-130a	2.46	下方
hsa-miR-192	2.45	下方
hsa-miR-132*	2.45	下方
hsa-miR-432	2.41	上方
hsa-miR-410	2.40	下方
hsa-miR-22	2.39	上方
hsa-miR-122*	2.39	下方
hsa-miR-937	2.39	上方
hsa-miR-1236	2.37	下方
hsa-miR-411*	2.36	上方
hsa-miR-128	2.35	下方
hsa-miR-340	2.34	下方
hsa-miR-152	2.31	下方
hsa-miR-126	2.31	上方
hsa-miR-30a*	2.30	下方
hsa-miR-186	2.30	上方
hsa-miR-590-5p	2.30	下方
hsa-miR-2110	2.30	下方

10

20

30

40

hsa-miR-139-5p	2.29	上方
hsa-miR-543	2.29	下方
hsa-miR-181c	2.27	下方
hsa-miR-582-3p	2.26	下方
hsa-miR-199a-3p	2.23	下方
hsa-miR-320b	2.22	上方
hsa-miR-182*	2.21	下方
hsa-miR-485-3p	2.19	下方
hsa-miR-30e	2.19	上方
hsa-miR-429	2.17	下方
hsa-miR-628-5p	2.17	下方
hsa-miR-142-3p	2.16	上方
hsa-miR-505*	2.16	下方
hsa-miR-628-3p	2.16	下方
hsa-miR-300	2.15	上方
hsa-miR-503	2.15	下方
hsa-miR-662	2.14	下方
hsa-miR-548c-5p	2.13	下方
hsa-miR-1979	2.12	上方
hsa-miR-433	2.11	下方
hsa-miR-609	2.10	下方
hsa-miR-18a	2.10	下方
hsa-miR-23a*	2.09	下方
hsa-miR-193a-5p	2.08	下方
hsa-miR-103-2*	2.08	下方
hsa-miR-622	2.08	上方
hsa-miR-320a	2.07	上方
hsa-miR-9	2.07	下方
hsa-miR-15b*	2.04	下方
hsa-miR-194	2.03	下方
hsa-miR-513a-5p	2.03	下方
hsa-miR-631	2.01	下方

【 1 2 7 3 】

表38の121種類のmiRのうち、9種類のp値は<0.01であった。表39を参照されたい。9種類全てが転移性PCa試料において上方制御された。

【 1 2 7 4 】

(表 3 9) M1転移性PCa 対 M0非転移性PCaでのmiR発現

miR	p値	転移性における制御	変化倍率
hsa-miR-200b	0.0007	上方	4.75
hsa-miR-375	0.0011	上方	12.75
hsa-miR-582-3p	0.0020	上方	2.26
hsa-miR-17*	0.0023	上方	5.65
hsa-miR-1296	0.0034	上方	3.60
hsa-miR-20a*	0.0039	上方	3.19
hsa-miR-100	0.0061	上方	3.97
hsa-miR-452	0.0091	上方	4.17
hsa-miR-577	0.0098	上方	4.88

【 1 2 7 5 】

miR-17* およびmiR-20a* はoncomir1クラスタに位置する。

【 1 2 7 6 】

Taqmanアッセイを用いて、転移性PCa対非転移性PCa設定において数種類のmiRを検証した。図103A～Dは、転移性(M1)前立腺癌試料および非転移性(M0)前立腺癌試料から単離された小胞におけるmiR-141(図103A)、miR-375(図103B)、miR-200b(図103C)、およびmiR-574-3p(図103D)のレベルを示す。全ての場合において、転移性試料と非転移性試料との間で

miRレベルを比較した時にp値は有意であった。

【1277】

Taqman検証結果をまとめたものを表40に示した。この表において、M0およびM1は、それぞれのマイクロRNAを試験するのに用いられた試料数を指す。全ての場合においてp値は有意であった。

【1278】

(表40) TaqmanによるM1転移性PCa 対 M0非転移性PCaでのmiR発現

miR	M0	M1	p値
hsa-miR-200b	73	33	0.05
hsa-miR-375	71	33	0.0001
hsa-miR-141	73	39	0.0001
hsa-miR-331-3p	64	27	0.002
hsa-miR-181a	65	27	0.002
hsa-miR-574-3p	65	32	0.0001

【1279】

47人の転移性前立腺癌患者の別々のコホートにおける血清由来小胞のRNAからのhsa-miR-141およびhsa-miR-375のレベルは、72人の非再発性前立腺癌患者より有意に高いことも見出された(p=0.0001)。

【1280】

血漿および血清からの小胞は、バイオマーカーのための信頼性の高いマイクロRNA供給源である。2つのmiR、hsa-miR-107および574-3pは、生検によって確認された対照と比較して前立腺癌試料において特に高いことが見出された。転移性血漿由来小胞試料において、いくつかのmiRは有意に高いことが見出され、これらのうちの2つhsa-miR-141およびhsa-miR-375は転移性血清由来小胞においても特に高いことも見出された。

【1281】

実施例42: 小胞診断アッセイの性能を向上させるmiR

本明細書に記載のように、血漿患者試料中にある小胞を濃縮し、診断、予後判定、またはセラノーシス用の測定値を得るために評価した。患者試料の小胞分析には、本明細書に記載のような小胞表面バイオマーカー、例えば、表面抗原、および/または小胞ペイロード、例えば、mRNAおよびマイクロRNAの検出が含まれる。小胞中のペイロードを評価して、アッセイ性能を向上させることができる。例えば、図104Aは、小胞中のmiR分析を用いて、偽陰性を真の陽性に変換し、それによって感度を改善するためのスキームを示す。このスキームでは、小胞表面抗原分析によって陰性と判定された試料は、小胞を用いてペイロードを評価することによって真の陰性または真の陽性とさらに確認される。同様に、図104Bは、小胞中のmiR分析を用いて、偽陽性を真の陰性に変換し、それによって特異度を改善するためのスキームを示す。このスキームでは、小胞表面抗原分析によって陽性と判定された試料は、小胞を用いてペイロードを評価することによって真の陰性または真の陽性とさらに確認される。

【1282】

前立腺癌の診断検査には、前立腺癌の有無を示す小胞を検出するために、患者の血液試料から小胞を単離することが含まれる。例えば、実施例27~34を参照されたい。血液は血清または血漿でもよい。小胞は、特定の小胞表面抗原を認識する「捕捉抗体」を用いた捕捉によって単離される。前立腺癌診断アッセイ用の表面抗原には、一般的に、血中にある小胞上に存在し、従って、一般的小胞バイオマーカーとして働くテトラスパニンCD9、CD63、およびCD81、前立腺特異的バイオマーカーであるPSMAおよびPCSA、ならびに癌特異的バイオマーカーB7H3が含まれる。捕捉抗体は蛍光標識ビーズに繫留され、捕捉抗体ごとにビーズは異なって標識されている。捕捉された小胞は、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識「検出抗体」を用いてさらに強調される。ビーズからの蛍光および検出抗体からの蛍光は、前立腺癌診断アッセイ用の表面抗原を発現する、血漿試料中の小胞の量を求めるために用いられる。試料中の蛍光レベルは、前立腺癌のある試料を区別

10

20

30

40

50

することができる参照レベルと比較される。本実施例では、小胞ベースの前立腺癌診断アッセイの性能を向上させるためにマイクロRNA分析が用いられる。

【1283】

図104Cは、小胞ベースの前立腺癌診断アッセイによって評価された試料中のmiR-107検出の結果を示す。図104Dは、小胞ベースの前立腺癌診断アッセイによって評価された試料中のmiR-141検出の結果を示す。これらの図において、小胞診断アッセイによって判定された真の陽性(TP)、小胞診断アッセイによって判定された真の陰性(TN)、小胞診断アッセイによって判定された偽陽性(FP)、および小胞診断アッセイによって判定された偽陰性(FN)の指示されたmiRの基準化レベルをy軸に示した。図104Cに示したように、miR-107を用いると、偽陰性と真の陰性が区別されることによって小胞アッセイの感度が高まる($p=0.0008$)。同様に、図104Dはまた、miR-141を用いると、偽陰性と真の陰性が区別されることによって小胞アッセイの感度が高まることを示す($p=0.0001$)。miR-141を添加した結果を表41に示した。miR-574-3pも同じように機能する。

【1284】

(表41) PCaを対象とした小胞ベース試験へのmiR-141の追加

	miR-141なし	miR-141あり
感度	85%	98%
特異度	86%	86%

【1285】

本実施例では、前立腺癌を示す表面抗原を介して小胞を検出し、小胞中のmiRを調べることによってシグネチャーの性能をさらに増強する。すなわち、特異度に悪影響を及ぼすことなく感度を上げる。この一般的な方法は、小胞の表面抗原または情報価値のある他の特徴が調べられる任意の状況について拡張することができ、次いで、特徴決定を向上させるために1種または複数種の追加バイオマーカーが用いられる。従って、1種または複数種の追加バイオマーカーはmiRである。これらはまた、mRNA、可溶性タンパク質、脂質、糖質、および関心対象の表現型を特徴決定するのに有用な他の任意の小胞関連生物学的実体も含んでよい。

【1286】

実施例43: 血漿、血清、および細胞株小胞におけるmiR発現パターンの比較

Agilent v3 miRNAマイクロアレイ(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)を用いて、前立腺癌をもつ患者、健常対照からの血漿と血清、1種類の前立腺癌細胞株、ならびに前立腺腫瘍および正常組織の間で小胞由来マイクロRNA(miR)の発現を比較した。総RNAを、Qiagen miRasyキットを用いて血漿および細胞株小胞から単離し、Exomir抽出法(Bioo Scientific Corp., Austin, TX)を用いて血清から単離した。100ngの各試料をマイクロアレイにハイブリダイズさせ、GeneSpringソフトウェアパッケージを用いて抽出データを分析した。試料および遺伝子に対する階層的クラスタリングから、細胞株由来小胞および腫瘍組織と比較して血漿小胞の特異な発現パターンが証明された。前立腺癌患者および健常対照からの血清および血漿を、有意に異なって発現したマイクロRNAについて評価した。末梢血に由来する小胞は、血液ベースのmiR分析のための他に例を見ない供給源となる。

【1287】

実施例44: 小胞垂集団の単離およびその後のmiRプロファイル

本実施例では、表面タンパク質組成物に基づいて特定された循環微小胞垂集団においてマイクロRNA(miR)発現パターンを調べた。前立腺癌細胞株(VCaP)から単離された小胞を、本明細書に記載の方法を用いて、表面タンパク質組成物に基づいてフローソーティングした。小胞をmiR発現差異について評価した。EpCam、CD63、またはB7-H3を標的とするフィコエリトリン標識抗体を用いて、蛍光標識細胞分取によって小胞垂集団を分取した。各小胞を個々の粒子として分析できるように、小胞をBeckman-Coulter MoFlo XDP(Beckman Coulter, Inc., Brea, CA)によって分取した。小胞表面に抗原が豊富にあるために、アイソタイプ対照を上回るFL2チャンネル強度の大幅な変化があった。その後、分取された小

胞垂集団をmiR発現によって調べた。EpCam、CD63、およびB7-H3陽性垂集団のmiRプロファイルを全VCaP小胞集団のプロファイルと比較した。垂集団全体にわたって特異なmiR発現パターンが観察され、全ての発現パターンが、全集団において観察された発現パターンと異なっていた。群間でmiRの過剰発現および過小発現両方のパターンが観察された。これらのデータから、小胞垂集団は、表面タンパク質マーカーならびにその遺伝子含有量、この場合ではmiRに基づいて区別および分離できることが分かる。表面タンパク質組成物に基づいて患者血漿から組織特異的小胞集団を単離し、次いで、表面タンパク質組成物および遺伝子含有量の両方に基づいて分析する能力は、本明細書に記載のように診断、予後判定、およびセラノーシスの用途に使用することができる。

【1288】

10

実施例45: 前立腺癌があり、PSAが低い男性におけるマイクロRNAバイオマーカー

前立腺腫大と低PSA、例えば、4ng/ml未満から良性前立腺過形成(BPH)が判明することがあるが、これらの臨床観察はBPHではなく前立腺癌を示す場合もある。これらの2つの群を区別することができるバイオマーカーがあれば、PSAが低い症候性男性において前立腺癌を早期検出することができるだろう。

【1289】

本明細書に記載の方法を用いて、PSA<4.0ng/mlの対照患者13人(群1)、PSA $\geq$ 4.0ng/mlの対照患者15人(群2)、PSA<4.0ng/mlの非転移性前立腺癌患者9人(群3)、およびPSA $\geq$ 4.0ng/mlの非転移性前立腺癌患者59人(群4)の血漿試料から小胞を単離した。マイクロRNAペイロードを小胞から単離し、本明細書に記載のように750種類のmiRプローブからなるExiqon RT-PCRパネルを用いて調べた。基準化された結果を、PSA>4.0の前立腺癌患者(群4)とPSA<4.0の前立腺癌患者(群3)との間で比較した。これらの群間で、344種類のmiRプローブの変化倍率は2倍超であることが判明した。表42を参照されたい。表42において、「変化倍率」は群3と群4との間のレベルの変化を指し、「制御」は、群3と比較した群4における上方制御(上方)または下方制御(下方)を指す。

20

【1290】

(表42) PSAが<4.0ng/mlまたは $\geq$ 4.0ng/mlのPCa試料におけるmiRレベルの変化倍率

マイクロRNA	変化倍率	制御
hsa-miR-143	41.44	下方
hsa-miR-432	31.23	下方
hsa-miR-425	18.66	下方
hsa-miR-32	17.55	下方
hsa-miR-424	15.78	下方
hsa-miR-96	14.72	下方
hsa-miR-629	14.54	下方
hsa-miR-532-5p	13.43	下方
hsa-miR-215	13.40	下方
hsa-miR-920	12.21	下方
hsa-miR-421	11.78	下方
hsa-miR-204	11.18	下方
hsa-miR-29a	11.04	下方

30

hsa-miR-148a	10.62	下方
hsa-miR-19b	10.00	下方
hsa-miR-595	9.96	下方
hsa-miR-590-5p	9.93	下方
hsa-miR-518f	9.76	下方
hsa-miR-518f*	9.68	下方
hsa-miR-766	9.49	下方
hsa-miR-22*	9.01	下方
hsa-miR-491-5p	8.95	下方
hsa-miR-29b	8.83	下方
hsa-miR-144	8.52	下方
hsa-miR-451	8.33	下方
hsa-miR-376a	8.27	下方
hsa-miR-577	8.22	下方
hsa-miR-151-3p	8.18	下方
hsa-let-7f	7.74	下方
hsa-miR-188-3p	7.52	上方
hsa-let-7i	7.52	下方
hsa-miR-19a	7.45	下方
hsa-miR-616*	7.35	下方
hsa-miR-140-3p	7.28	下方
hsa-miR-18a*	7.24	下方
hsa-miR-154*	7.11	下方
hsa-miR-423-5p	7.11	下方
hsa-miR-192	7.01	下方
hsa-miR-212	7.00	下方
hsa-miR-107	6.95	下方
hsa-miR-16-2*	6.89	下方
hsa-miR-205	6.84	下方
hsa-miR-199a-3p	6.84	下方
hsa-miR-101	6.78	下方
hsa-miR-130a	6.75	下方
hsa-miR-15a	6.64	下方
hsa-miR-363	6.58	下方
hsa-miR-30b*	6.56	下方
hsa-miR-146b-5p	6.54	下方
hsa-miR-142-5p	6.48	下方
hsa-miR-197	6.44	下方
hsa-miR-339-5p	6.41	下方
hsa-miR-140-5p	6.39	下方
hsa-miR-450a	6.27	下方
hsa-miR-624*	6.21	下方
hsa-miR-122	6.15	下方
hsa-miR-665	6.13	下方
hsa-miR-125b	6.06	下方
hsa-miR-937	6.05	下方
hsa-miR-148b	5.99	下方
hsa-miR-106b*	5.99	下方
hsa-miR-769-5p	5.95	下方
hsa-miR-1255b	5.94	下方
hsa-miR-517*	5.87	下方
hsa-miR-517a	5.85	下方
hsa-let-7d	5.68	下方
hsa-miR-365*	5.67	下方
hsa-miR-302d*	5.57	下方
hsa-miR-221*	5.54	下方
hsa-miR-103-2*	5.47	下方
hsa-miR-136	5.43	下方

10

20

30

40

hsa-let-7g	5.43	下方
hsa-miR-424*	5.25	下方
hsa-miR-124	5.12	下方
hsa-miR-103	5.10	下方
hsa-miR-23b*	5.09	下方
hsa-miR-191	5.08	下方
hsa-miR-221	5.06	下方
hsa-miR-324-5p	5.06	下方
hsa-miR-330-5p	5.03	下方
hsa-miR-302b	5.01	下方
hsa-miR-570	4.96	下方
hsa-miR-105*	4.95	下方
hsa-miR-15b	4.95	下方
hsa-miR-29c	4.91	下方
hsa-miR-497	4.76	下方
hsa-miR-617	4.74	下方
hsa-miR-1200	4.69	下方
hsa-miR-29a*	4.62	下方
hsa-miR-1468	4.62	下方
hsa-miR-24	4.58	下方
hsa-miR-181a*	4.56	下方
hsa-miR-211	4.56	下方
hsa-let-7b	4.55	下方
hsa-miR-103-as	4.50	下方
hsa-miR-302a	4.45	下方
hsa-miR-30b	4.45	下方
hsa-miR-765	4.44	下方
hsa-miRPlus-A1031	4.43	下方
hsa-miR-181a	4.42	下方
hsa-miR-25	4.38	下方
hsa-miR-324-3p	4.37	下方
hsa-miR-199a-5p	4.32	下方
hsa-miR-375	4.32	下方
hsa-miR-887	4.30	下方
hsa-miR-1179	4.22	下方
hsa-miR-27a	4.20	下方
hsa-miR-411*	4.19	下方
hsa-miR-10a	4.19	下方
hsa-miR-609	4.18	下方
hsa-miR-342-3p	4.18	下方
hsa-miR-219-2-3p	4.16	下方
hsa-miR-299-5p	4.14	下方
hsa-miR-1	4.14	下方
hsa-miR-23a*	4.05	下方
hsa-miR-31	4.04	下方
hsa-miR-1260	4.01	下方
hsa-miR-335	3.99	下方
hsa-miR-93	3.98	下方
hsa-miR-148b*	3.93	下方
hsa-miR-376b	3.91	下方
hsa-miR-376c	3.90	下方
hsa-miR-16	3.89	下方
hsa-miR-30c	3.88	下方
hsa-miR-21*	3.87	下方
hsa-miR-185*	3.87	下方
hsa-miR-139-5p	3.83	下方
hsa-miR-331-3p	3.82	下方
hsa-miR-210	3.80	下方

10

20

30

40

hsa-miR-371-3p	3.80	下方
hsa-miR-328	3.79	下方
hsa-miR-886-5p	3.77	上方
hsa-let-7c*	3.77	下方
hsa-miR-484	3.74	下方
hsa-miR-198	3.72	下方
hsa-miR-584	3.72	下方
hsa-miR-99b*	3.71	下方
hsa-miR-619	3.69	下方
hsa-miR-654-3p	3.66	下方
hsa-miR-377	3.65	下方
hsa-miR-636	3.64	下方
hsa-miR-921	3.63	下方
hsa-miR-518c*	3.59	下方
SNORD49A	3.56	下方
hsa-miR-188-5p	3.54	下方
hsa-miR-532-3p	3.52	下方
hsa-miR-1266	3.50	下方
hsa-miR-410	3.50	下方
hsa-miR-34b*	3.50	上方
hsa-miR-505*	3.49	下方
hsa-miR-18a	3.49	下方
hsa-miR-297	3.43	下方
hsa-miR-940	3.43	下方
hsa-miR-582-3p	3.43	下方
hsa-miR-7-2*	3.43	下方
hsa-miR-30c	3.42	下方
hsa-miRPlus-A1027	3.42	下方
hsa-miR-146a	3.39	下方
hsa-miR-21	3.38	下方
hsa-miR-431	3.38	下方
hsa-miR-495	3.38	下方
hsa-miR-106a	3.37	下方
hsa-miR-574-3p	3.37	下方
hsa-miR-526b	3.37	下方
hsa-miR-651	3.37	下方
hsa-miR-92a	3.37	下方
hsa-miR-182	3.36	下方
hsa-miR-631	3.34	下方
hsa-miR-675*	3.34	下方
hsa-miR-374b*	3.34	下方
hsa-miR-300	3.31	下方
hsa-miRPlus-C1070	3.31	下方
hsa-miR-135a	3.31	下方
hsa-miR-449a	3.27	下方
hsa-miR-187	3.23	下方
hsa-miR-19b-1*	3.21	下方
hsa-miR-412	3.19	下方
hsa-miR-345	3.18	下方
hsa-miR-202	3.14	下方
hsa-miR-524-5p	3.14	下方
hsa-miR-10b	3.14	下方
hsa-miR-452	3.14	下方
hsa-miR-141	3.13	下方
hsa-miR-217	3.11	下方
hsa-miR-17*	3.10	下方
hsa-miR-200a	3.10	下方
hsa-miR-523	3.08	下方

10

20

30

40

hsa-miR-642	3.07	下方
hsa-miR-378	3.05	下方
hsa-miR-99b	3.04	下方
hsa-miR-339-3p	3.02	下方
hsa-miR-942	3.01	下方
hsa-miR-555	2.99	下方
hsa-miR-222	2.99	下方
hsa-miR-151-5p	2.98	下方
hsa-miR-634	2.97	下方
hsa-miR-628-5p	2.96	下方
hsa-miR-223	2.95	下方
hsa-miR-486-5p	2.95	下方
hsa-miR-142-3p	2.93	下方
hsa-miR-130b	2.92	下方
hsa-miR-220b	2.92	下方
hsa-miR-218	2.90	下方
hsa-miR-132	2.89	下方
hsa-miR-20a	2.89	下方
hsa-miR-320a	2.88	下方
hsa-miR-553	2.87	下方
hsa-miR-27b	2.87	下方
hsa-miR-620	2.86	下方
hsa-miR-28-5p	2.84	下方
hsa-miR-1913	2.83	下方
hsa-miR-150	2.83	下方
hsa-miR-301b	2.83	下方
hsa-miR-520d-3p	2.82	上方
hsa-miR-126	2.82	下方
hsa-miR-654-5p	2.81	下方
hsa-miR-558	2.81	下方
hsa-miR-586	2.80	下方
hsa-miR-516b	2.77	下方
hsa-miR-1269	2.77	下方
hsa-miR-658	2.76	下方
hsa-miR-92a-1*	2.75	下方
hsa-miR-92a-2*	2.75	下方
hsa-miR-625*	2.74	下方
hsa-miR-1205	2.74	下方
hsa-miR-224*	2.74	下方
hsa-miR-326	2.72	下方
hsa-miR-573	2.72	下方
hsa-miR-1909	2.72	下方
hsa-miR-500	2.71	下方
hsa-miR-7	2.71	下方
hsa-miR-583	2.70	下方
hsa-miR-185	2.69	下方
hsa-miR-943	2.69	下方
hsa-miR-544	2.69	下方
hsa-miR-9	2.68	下方
hsa-miR-22	2.67	下方
hsa-miR-1252	2.67	下方
hsa-miR-876-3p	2.64	下方
hsa-miR-890	2.64	下方
hsa-miR-520c-3p	2.63	下方
hsa-miR-1270	2.63	下方
hsa-miR-296-3p	2.62	下方
hsa-miR-450b-3p	2.62	下方
hsa-miR-200b	2.62	下方

10

20

30

40

hsa-miR-576-5p	2.61	下方
hsa-miR-767-5p	2.61	下方
hsa-miR-888	2.61	下方
hsa-miR-216a	2.60	下方
hsa-miRPlus-C1089	2.60	下方
hsa-miR-340*	2.60	下方
hsa-miR-214*	2.59	下方
hsa-miR-550	2.59	下方
hsa-miR-510	2.58	下方
hsa-miR-34c-3p	2.57	下方
hsa-miR-135b	2.57	下方
hsa-miR-106b	2.56	下方
hsa-miR-512-3p	2.56	下方
hsa-miR-1237	2.56	下方
hsa-miR-543	2.56	上方
hsa-miR-18b	2.54	下方
hsa-miR-125a-5p	2.53	下方
hsa-miR-135b*	2.53	下方
hsa-miR-760	2.52	上方
hsa-miR-184	2.51	下方
hsa-miR-629*	2.47	下方
hsa-miR-1238	2.47	下方
hsa-miR-138	2.47	下方
hsa-miR-365	2.46	下方
hsa-let-7g*	2.45	下方
hsa-miR-744	2.45	下方
hsa-miR-133a	2.45	下方
hsa-miR-557	2.44	下方
hsa-miR-454*	2.44	下方
hsa-miR-26b*	2.44	下方
hsa-miR-593*	2.43	下方
hsa-miR-548c-5p	2.42	下方
hsa-miR-653	2.41	下方
hsa-miR-708	2.41	下方
hsa-miR-15a*	2.41	下方
hsa-miR-452*	2.40	下方
hsa-miR-186	2.40	下方
hsa-miR-1972	2.39	下方
hsa-miR-101*	2.39	下方
hsa-miR-148a*	2.38	下方
hsa-miR-548a-5p	2.37	下方
hsa-miR-98	2.36	下方
hsa-miR-33a*	2.36	下方
hsa-miR-877*	2.36	下方
hsa-miRPlus-D1061	2.35	下方
hsa-miR-17	2.35	下方
hsa-miR-608	2.34	下方
hsa-miR-92b*	2.34	下方
hsa-miR-154	2.33	下方
hsa-miR-27b*	2.33	下方
hsa-miR-93*	2.33	下方
hsa-miR-203	2.32	下方
hsa-miR-603	2.30	上方
hsa-miR-30d*	2.29	下方
hsa-miR-373	2.28	下方
hsa-let-7f-1*	2.28	下方
hsa-miR-541*	2.27	下方
hsa-miR-187*	2.27	下方

10

20

30

40

hsa-miR-1265	2.26	下方
hsa-miR-23a	2.25	下方
hsa-miR-30c-1*	2.25	下方
hsa-miR-362-5p	2.25	下方
hsa-miR-30a*	2.25	下方
hsa-miR-200b*	2.25	下方
hsa-miR-744*	2.24	下方
hsa-miR-1979	2.23	下方
hsa-let-7b*	2.23	下方
hsa-miR-132*	2.23	下方
hsa-miR-571	2.22	下方
hsa-miR-425*	2.20	下方
hsa-miR-194*	2.20	下方
hsa-miR-145*	2.17	下方
hsa-miR-551b	2.17	下方
hsa-miR-720	2.16	下方
hsa-miR-302d	2.16	下方
hsa-miR-195	2.16	下方
hsa-miR-194	2.16	下方
hsa-miR-885-3p	2.16	下方
hsa-miR-579	2.15	下方
hsa-miR-361-3p	2.15	下方
hsa-miR-542-5p	2.15	下方
hsa-miR-320b	2.13	下方
hsa-miR-155	2.13	上方
hsa-miR-548j	2.10	下方
hsa-miR-616	2.10	下方
hsa-miR-502-5p	2.10	下方
hsa-miR-662	2.09	下方
hsa-miR-137	2.08	下方
hsa-miR-218-1*	2.08	下方
hsa-miR-1537	2.07	下方
hsa-miR-143*	2.07	下方
hsa-miR-1227	2.06	下方
hsa-miR-23b	2.05	下方
hsa-miR-675b	2.03	下方
hsa-miR-323-3p	2.03	下方
hsa-miR-889	2.02	下方
hsa-miR-485-3p	2.02	上方
hsa-miR-545	2.01	上方
hsa-miR-340	2.00	下方

【 1 2 9 1 】

<0.05のベンジャミニ・ホシュバーク偽発見率検定(FDR)を用いた独立t検定を表42のマイクロRNAに対して行った。Benjamini and Hochberg, 「Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing」 Journal of the Royal Statistical Society, Series B (Methodological) 57: 289-300(1995)を参照されたい。これらの基準を満たす32種類の有意なプローブが特定された。表43を参照されたい。表43には補正p値を示した。制御は、群4と比較した群3における上方制御(上方)または下方制御(下方)を指す。

【 1 2 9 2 】

(表 4 3) PSAが<4.0ng/ml または ≥4.0ng/ml のPCa試料におけるmiRレベルのmiRレベル

マイクロRNA	p値	制御	変化倍率
hsa-miR-432	0.0025	上方	31.23
hsa-miR-23b*	0.0073	上方	5.09
hsa-miR-518f	0.0073	上方	9.76
hsa-miR-96	0.0073	上方	14.72
hsa-miR-154*	0.0084	上方	7.11
hsa-miR-143	0.0157	上方	41.44
hsa-miR-424*	0.0157	上方	5.25
hsa-miR-219-2-3p	0.0257	上方	4.16
hsa-miR-517a	0.0313	上方	5.85
hsa-let-7b	0.0313	上方	4.55
hsa-miR-450a	0.0344	上方	6.27
hsa-miR-204	0.0415	上方	11.18
hsa-miR-19b-1*	0.0415	上方	3.21
hsa-miR-217	0.0441	上方	3.11
hsa-miR-181a*	0.0441	上方	4.56
hsa-miR-150	0.0441	上方	2.83
hsa-miR-629	0.0442	上方	14.54
hsa-miR-148b*	0.0442	上方	3.93
hsa-miR-617	0.0442	上方	4.74
hsa-miR-18a*	0.0442	上方	7.24
hsa-miR-517*	0.0442	上方	5.87
hsa-miR-451	0.0442	上方	8.33
hsa-miR-595	0.0442	上方	9.96
hsa-miR-634	0.0442	上方	2.97
hsa-miR-93	0.0442	上方	3.98
hsa-miR-1270	0.0442	上方	2.63
hsa-miR-424	0.0442	上方	15.78
hsa-miR-299-5p	0.0442	上方	4.14
hsa-miR-365*	0.0442	上方	5.67
hsa-miR-215	0.0442	上方	13.40
hsa-miR-769-5p	0.0442	上方	5.95
hsa-miR-1205	0.0442	上方	2.74

10

20

30

40

50

【1293】

上述の4つの群1～4に関して表43にある32種類のプローブセットを調べた。発現差が5倍超である6種類のマイクロRNAが発見され、前立腺癌PSA<4.0群の平均は対照群の四分位数間範囲と重複しなかった。これらのmiRによって、PSA<4.0の症候性男性において癌の有無を区別することができる。この選択は、図105A～105Fに示したmiR:hsa-miR-432(図105A)、hsa-miR-143(図105B)、hsa-miR-424(図105C)、hsa-miR-204(図105D)、hsa-miR-581f(図105E)およびhsa-miR-451(図105F)からなった。これらの図において、X軸は4つの試料群を示す。「対照いいえ」は、PSA $\geq$ 4.0ng/mlの対照患者である(群2)。「対照はい」は、PSA<4.0ng/mlの対照患者である(群1)。「疾患いいえ」は、PSA $\geq$ 4.0ng/mlの前立腺癌患者である(群4)。「疾患はい」は、PSA<4.0ng/mlの前立腺癌患者である(群3)。

【1294】

実施例46: 前立腺癌関連マイクロRNA

図106は、前立腺癌(PCa)および対照に由来する血漿試料から単離された小胞中のマイクロRNA miR-29aおよびmiR-145のレベルを示す。miR-29aについては、81件の対照および130件のPCa症例のデータを示した。miR-145については、81件の対照および126件のPCa症例のデータを示した。対応のあるt検定から、miR-29aのレベル($p<0.001$)およびmiR-145のレベル($p<0.0001$)は症例と対照の間で有意に異なることが明らかになった。

【1295】

実施例47: PCa治療前後のマイクロRNA

治療前後に15人の前立腺癌患者の血漿試料を採取した。治療は根治的前立腺切除または放射線療法 of のいずれかであった。血漿試料微小胞に由来するRNAをExiqon microRNA ready to use qRT-PCR panelにおいて評価した。さらなる詳細については実施例17～18を参照されたい。結果をプレート間キャリブレーションプロープに対して基準化し、次いで、対応のあるt検定に供した。ベンジャミニ・ホシュバーグ偽発見率検定を用いてP値を補正した。表44は、治療前後のこのmiR発現比較からの統計的に有意な数種類のmiRを示す。変化倍率は、治療後試料と比較した治療前試料におけるこれらのmiRの増加量である。表44にあるmiRは全て治療前試料中で過剰発現していた。

【1296】

(表44) PCa治療前後に異なって発現していたmiR

miR	変化倍率	補正p値
hsa-miR-1974	12.08	0.0025
hsa-miR-27b	7.8	0.0025
hsa-miR-103	10.43	0.0067
hsa-miR-146a	9.24	0.0067
hsa-miR-22	4.06	0.0067
hsa-miR-382	8.12	0.0105
hsa-miR-23a	3.93	0.0181
hsa-miR-376c	3.51	0.0181
hsa-miR-335	8.26	0.0181
hsa-miR-142-5p	3.85	0.0202
hsa-miR-221	7.08	0.0245
hsa-miR-142-3p	3.8	0.0302
hsa-miR-151-3p	9.1	0.0398
hsa-miR-21	3.81	0.0398

【1297】

実施例48: 小胞単離および検出方法

本発明の方法を実施するために、小胞の単離および検出のために前記の技術に加えて当業者に公知の多数の技術を使用することができる。以下は、このようないくつかの方法の例示である。

【1298】

ガラスマイクロビーズ

Illumina, Inc. San Diego, CA, USAからVeraCode/BeadXpressとして入手可能。工程は以下の通りである。

1. 利用可能なカルボキシル基に抗体を直接結合体化することによってビーズを調製する。
2. ビーズ表面にある非特異的結合部位をブロックする。
3. ビーズを小胞濃縮試料に添加する。
4. 結合しなかった小胞が除去されるように、試料を洗浄する。
5. 小胞に特異的に結合する検出抗体として蛍光標識抗体を適用する。
6. 結合しなかった検出抗体が除去されるように、プレートを洗浄する。
7. 小胞の存在を判定するためにプレートウェルの蛍光を測定する。

【1299】

酵素結合免疫測定法(ELISA)

ELISAを行う方法は当業者に周知である。工程は大まかには以下の通りである。

1. 既知量の捕捉抗体が結合している表面を調製する。
2. 表面にある非特異的結合部位をブロックする。
3. 小胞試料をプレートに適用する。
4. 結合しなかった小胞が除去されるように、プレートを洗浄する。

5. 小胞に特異的に結合する検出抗体として酵素結合一次抗体を適用する。
6. 結合しなかった抗体-酵素結合体が除去されるように、プレート洗浄する。
7. 酵素によって色シグナル、蛍光シグナル、または電気化学シグナルに変換される化学物質を適用する。
8. 小胞の存在および量を求めるために、プレートウェルの吸光度、蛍光シグナル、または電気化学シグナル(例えば、電流)を測定する。

【1300】

エレクトロケミルミネッセンス検出アレイ

Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD, USAから入手可能である。

1. 5mLの最適の緩衝液(例えば、PBS、TBS、HEPES)および75 μ Lの1% Triton X-100(0.015%最終)を組み合わせてることによってプレートコーティング緩衝液を調製する。
2. コーティングしようとする捕捉抗体を希釈する。
3. プレートコーティング緩衝液(Tritonを含む)を用いて、1ウェルあたり5 μ Lの希釈捕捉抗体を調製する。
4. 誘電体を破らないように注意しながら、5 μ Lの希釈捕捉抗体を作用電極表面の中心に直接適用する。液滴は誘電体バリアの端までだんだんと広がるが、通過しないはずである。
5. プレートを蓋をせずに、一晩放置する。

【1301】

小胞含有試料および標識検出抗体を含有する溶液をプレートウェルに添加する。検出抗体は、エレクトロケミルミネッセント化合物、MSD SULFO-タグ標識で標識された抗標的抗体である。試料中に存在する小胞は、電極に固定化された捕捉抗体に結合し、標識検出抗体は小胞上の標的に結合して、サンドイッチを完成する。エレクトロケミルミネッセンス検出に必要な環境を設けるために、MSDリード(read)緩衝液を加える。プレートをリーダーに挿入し、プレート電極に電圧を印加すると、標識が電極表面に結合して発光する。リーダーは発光の強度を検出して、試料中の小胞の量を定量測定する。

【1302】

ナノ粒子

それぞれの金ナノ粒子セットに別々の抗体が結合している複数の金ナノ粒子セットを調製する。濃縮された微小胞を1種類のビーズタイプとガラススライド上で37°Cで4時間インキュベートする。十分な量の標的が存在すれば、赤色から紫色に色が変わる。標的ごとに別々にアッセイを行う。金ナノ粒子は、Nanosphere, Inc. of Northbrook, Illinois, USAから入手可能である。

【1303】

ナノサイト(Nanosight)

光学的粒子検出を用いて、一つまたは複数の小胞の直径を求めることができる。発明の名称が「粒子の光学的検出および分析(Optical Detection and Analysis of Particles)」であり、2010年6月6日に発行された米国特許第7,751,053号、および発明の名称が「粒子の光学的検出および分析」であり、2010年7月15日に発行された米国特許第7,399,600号を参照されたい。試料中の特異な小胞または小胞集団の量を評価できるように、粒子を標識および計数することもできる。

【1304】

実施例49:血漿から小胞濃縮物を得るためのプロトコール

本実施例では、患者血漿試料中の小胞を濃縮する。このプロトコールは、本明細書に記載のように、小胞表面バイオマーカー、例えば、表面抗原、および/または小胞ペイロード、例えば、mRNAおよびマイクロRNAの検出を含む、患者試料からの小胞分析に使用することができる。

【1305】

機器、試薬、および消耗品:

機器

10

20

30

40

50

- a. 15ml 水平ローター付き Thermo Scientific Sorvall Legend RT Plus Series Benchtop Centrifuge。部品番号:75004377(Thermo Scientific, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MAの一部門)
- b. 血漿操作の Class II バイオセーフティキャビネット
- c. ピペッター:20 μ L、200 μ L、1000 μ L
- d. セロロジカルピペッター, Pipette Boy, VWR, カタログ番号:14222-180(VWR International, LLC, West Chester, Pennsylvania)
- e. VWR デジタルボルテックスミキサー、カタログ番号:14005-824
- f. インターネットにアクセスできるコンピュータ

【1306】

10

試薬

- a. 1XPBS, Sigma pH7.4. カタログ番号:P-3813(Sigma, Saint Louis, Missouri, Sigma-Aldrich, Inc.の一部門)
- b. Molecular Biology Reagent Water, Sigma, カタログ番号:W4502

【1307】

消耗品

- a. 0.8 μ m Millex-AA シリンジドリブンフィルタユニット, Millipore。部品番号:SLAA033S B(Millipore, Billerica, MA)
- b. Pierce concentrators, 150K MWCO(分子量カットオフ)7ml。部品番号:89922(Pierce, Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, ILの一部門)
- c. Non Sterile BD Luer Lock Syringe, 10ml。部品番号:301029(BD, Franklin Lakes, NJ)
- d. USA Scientific コポリマー1.5ml 非結合チューブ, USA Scientific, カタログ番号1415-2500(USA Scientific, Inc., Ocala, FL)
- e. 5ml 滅菌済み栓付セロロジカルピペット, Fisher, カタログ番号13-678-11D(Fisher Scientific, Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PAの一部門)
- f. アイスバケット, Fisher, カタログ番号02-591-46
- g. チューブラック, Fisher, カタログ番号05-541-38
- h. 4方向ラック, Fisher, カタログ番号03-448-17
- i. 50ml コニカル, VWR, カタログ番号21008-951
- j. フローティングチューブラック, VWR, カタログ番号60986-100
- k. 1リットルビーカー, VWR, カタログ番号89000-226
- l. 10/20 μ L フィルタ付きピペットチップ, Rainin, カタログ番号GP-L10F(Rainin Instrument, LLC, Oakland, CA, METTLER TOLEDO Company)
- m. 200 μ L フィルタ付きピペットチップ, Rainin, カタログ番号GP-L200F
- n. 1000 μ L フィルタ付きピペットチップ, Rainin, カタログ番号GP-L1000F

20

30

o. 防護衣

【1308】

品質管理:

- a. 体積が900 μ L 未満の試料からは最適以下の結果が得られることがあり、このような試料は避けなければならない。
- b. 複数回の凍結融解サイクルを経た試料からは最適以下の結果が得られることがあり、このような試料は避けなければならない。
- c. ピペットチップによって、または製造プロセス中に、150K MWCO カラムが傷つくことがある。カラム損傷の判定は、濾液を調べることによって評価することができる。濾液が多量の血漿を含んでいるように見え、カラム自体が少量の血漿(<100 μ L)を含んでいれば、7 ml 150K MWCO カラムは傷ついている可能性が高い。カラムが傷ついていると疑われたら、同じ患者からの別の血漿アリコートを用いて試料を再濃縮する必要があるだろう。

40

【1309】

手順:

50

濃縮用の試料を選択する

- a. 試料データベースから、選択された試料の試料情報をMicrosoft Excelスプレッドシート(Microsoft Corp, Redmond, WA)に入力する
- b. Excelから血漿濃縮ベンチシートのコピーを一枚印刷する。

【1310】血漿試料を得るためのフィルタ手順

- a. 水道の蛇口から水を出してアイスバケットを満たす。
- b. 血漿濃縮ベンチシートに列挙されている血漿試料を見つけ、-80℃(-65℃～-85℃)冷凍庫から試料を取り出す。もし、追加の血漿アリコートが試験に必要であれば、残っている全てのクライオバイアルを同じ箱の中に入れ-80℃(-65℃～-85℃)で保管し続ける。 10
- c. フローティングチューブラックに入れることによって、a)で出された水で試料を解凍する。10分後に血漿をチェックし、全ての血漿試料が完全に解凍していなかったら、血漿を水の中に放置し、全ての血漿試料が解凍するまで5分間隔でチェックする。
- d. 解凍工程の間に、青色フォルダからラベルを取り出し、ラベルの片面を各7ml 150K MWC 0カラム(血漿試料1例につき1つ)に貼り付け、4方向チューブラックに入れる。血漿濃縮ベンチシートにカラムのロット番号を記録する。
- e. Molecular Biology Reagent水を1リットルビーカーに入れる。
- f. 試料を測定するごとに、注射器の先端をビーカーに入っている水の中に入れ、プランジャーを引くことによって、10ml注射器に4mlのMolecular Biology Reagent水を充填する。
- g. 0.8 μm Milliporeフィルタを注射器の各先端に取り付け、内容物をフィルタに通して7ml 150K MWC 0カラムに入れる。 20
- h. カラムに蓋をし、スイングバケット遠心機に入れ、Sorvall Legend XTR Benchtop遠心機において1000xg、20℃(16℃～24℃)で4分間、遠心分離する。
- i. カラムを回転している間に、注射器からMilliporeフィルタを取り外し、注射器からプランジャーを引き抜き、注射器の先端にあるフィルタを交換する。
- j. 遠心機の回転が終わったら、7ml 150K MWC 0カラムからフロースルーを捨て、残存している水を上部フィルタに残しておく。
- k. 注射器およびフィルタを、蓋を取った7ml 150K MWC 0カラムに取り付ける。注射器の開口端に、分子グレードの滅菌水に溶解して調製された1XPBS 5.2mlを充填する。
- l. p1000ピペットを用いて、患者血漿の体積を評価し、血漿濃縮ベンチシートに記録する 30
- m. 試料が900 μL未満であれば、その患者の別の血漿アリコートに対して新たな試験を行わなければならない。その患者の別の試料を入手し、それに応じて血漿濃縮ベンチシートをアップデートする。
- n. ピペットで患者血漿(900～1000 μL)を注射器に入っているPBSに入れ、ピペットで2回混合し、残存している患者血漿およびピペットチップと一緒に血漿チューブをバイオハザード用ゴミ箱に捨てる。
- o. プランジャーを注射器に入れ、注射器の内容物がフィルタを通過して7ml 150K MWC 0カラムに入るまで、プランジャーをゆっくりと(約1ml/秒)押し下げる。
- p. 7ml 150K MWC 0カラムが液体で一杯になり、泡がフィルタを通過するのが見られるまで全試料をフィルタに通す。 40
- q. 注射器および取り付けられていたフィルタをバイオハザード用ゴミ箱に捨て、全ての7ml 150K MWC 0カラムにしっかりと蓋をする。

【1311】

注:工程k)～q)はバイオセーフティキャビネットの中で行わなければならない。

【1312】

注:血漿からのフロースルーが透明でなく、濃縮中の任意の時点で色がついていれば、カラムが破裂している可能性が高く、試料を捨てなければならない。同様に、濃縮血漿体積が濃縮中の任意の時点で100 μL未満であれば、試料を捨てなければならない。どちらの場合でも、新たな血漿試料を取り寄せ、この手順を繰り返す。

【1313】

小胞濃縮遠心分離プロトコール

a. 7ml 150K MWCOカラムを2000xg、20℃(16℃～24℃)で1時間、遠心分離する。遠心機を開け、以下の血漿濃縮物の体積範囲:

目標体積: $0.3 \times \text{最初の血漿体積} (\mu\text{L})$

にあるのかどうか見るために試料をチェックする。

最小許容体積: 100 μL

例えば、最初の血漿体積が900 μL であれば、目標体積は270 μL ($0.3 \times 900 = 270$) になるであろう。

b. 1時間の回転中に、1リットルビーカーの中に10%漂白剤100mlを調製する。

c. 1時間の回転中に、ラベルの片面を、それぞれのコポリマー1.5mlチューブ(試料1例につき1個)に貼り付ける。

d. 1時間の回転後、フロースルーを10%漂白剤に注ぐ。ビーカーが一杯になったら、または全ての試料が注ぎ出されたら、排水を捨てる。

e. 試料体積を眼で検査する。血漿濃縮物が、濃縮用チューブに付いている8.5ml目盛より上にあれば、血漿試料を2000xg、20℃(16℃～24℃)、10分刻みで回転し続ける。血漿濃縮物が8.0mlと8.5mlの間になるまで、各回転の後に体積をチェックする。

f. この工程中に、ピペットチップで白色フィルタをこすらないようにする。回転が終わったら、p1000ピペットを150 μL に設定し、ピペットを用いてカラム上で最低6回ゆっくりと混合し(泡が生じないようにする)、ピペットを調整して血漿濃縮物体積を決定する。体積が100ulと目標体積の間であれば、以前にラベルが貼られたコポリマー1.5mlチューブに濃縮血漿を移す。体積が依然として目標体積より多ければ、工程e)を繰り返す。

g. 血漿濃縮ベンチシートに濃縮血漿の体積を記録し、濃縮用カラムをバイオハザード用ゴミ箱に捨てる。

h. 血漿体積、濃縮物体積、濃縮機のロット番号を電子血漿濃縮ベンチシートに入力し、保存し、ベンチシートの新しいコピーを印刷し、オリジナルコピーに貼り付ける。

i. 次の工程において使用するために、分子グレードの滅菌水に溶解して調製された1XPBS約45mlを50mlコニカルチューブに注ぐ。

j. 前記で印刷された血漿濃縮ベンチシートに従って、適量の1XPBSを添加して、試料を目標体積まで再構成する。

k. 濃縮血漿試料をチューブラックに入れて4℃(2℃～8℃)で一晩、保管した後に、翌日、分析を行う。ラックをプラスチックの蓋で覆い、蓋に日付およびアクセス番号を書いたラベルを貼る。

【1314】

計算:

a. 濃縮血漿試料の最終体積 $x = y * 0.3$ 。式中、xは濃縮物の最終体積であり、yは最初の血漿体積である。

例: 試料体積は900 μL である。 $900 \mu\text{L} * 0.3 = 270 \mu\text{L}$ の最終体積。

【1315】

参考文献:

a. Pierce concentrators, 150K MWCO(分子量カットオフ)7ml。部品番号: 89922 の添付文書。

【1316】

実施例50: 濃縮血漿からのミクロスフェア小胞分析

本実施例は、小胞濃縮患者血漿試料を評価するためのプロセスを示す。このプロトコールは、実施例49に概説したように処理された濃縮血漿試料中の小胞表面バイオマーカーの分析に使用することができる。

【1317】

機器、試薬、および消耗品:機器

- a.VWRデジタルボルテックスミキサー、カタログ番号14005-824(VWR International, LLC, West Chester, Pennsylvania)
- b.Boekel Scientific Jitterbug 4, カタログ番号270440(Boekel Scientific, Feasterville, PA)
- c.Pall life sciencesバキュームマニホールド、カタログ番号13157(Pall Corporation, East Hills, New York)
- d.Pall life sciencesマルチウェルプレートバキュームマニホールド、カタログ番号5017
- e.Pall life sciences 1mlレシーバープレートスパーサーブロック、カタログ番号5014
- f.Pall life sciencesウェイストドレインアダプターリテイナー、カタログ番号5028
- g. シングルチャンネルピペッター:2 μ l、10 μ l、20 μ l、200 μ l、1000 μ l
- h.8チャンネルピペッター:20 μ l、200 μ l
- i. 電子8チャンネルピペット:1000 μ l
- j. 電子シングルチャンネルピペット:200 μ l、1000 μ l
- k.セロロジカルピペッター、Pipette Boy, VWR, カタログ番号14222-180
- l.Luminex LX200 Instrument(Luminex Corporation, Austin, TX)
- m.マイクロプレートシェーカー、VWR, カタログ番号12620-926
- n.VWR MiniFuge微量遠心機, VWR, カタログ番号93000-196
- o.製氷機、Scotsman, カタログ番号AFE424(Scotsman Ice Systems, Vernon Hills, IL)

10

【1318】試薬

20

a.注:以下に列挙した抗体試薬は例示的な抗体である。別の捕捉抗体および/または検出抗体を用いた試験を行うために、関心対象のバイオマーカーに対する抗体が所望に応じて選択される。

【1319】

例示的な捕捉抗体

望ましい試験目的に応じて選択される。表45を参照されたい。

【1320】

(表45) 捕捉抗体

タンパク質標的	ベンダー	カタログ番号	クローン	タイプ	供給源
CD9	R&D Systems (Minneapolis, MN)	MAB1880	209306	IgG2b	マウス
CD63	BD Biosciences (San Jose, CA)	556019	H5C6	IgG1	マウス
CD81	BD Biosciences	555675	JS-81	IgG1	マウス
PSMA	BioLegend (San Diego, CA)	342502	LNI-17	IgG1,κ	マウス
PCSA	Millipore (Temecula, CA)	MAB4089	5E10	IgG1	マウス
B7H3	BioLegend	135602	MIH35	IgG2a,κ	ラット
	BioLegend	135604	MIH35	IgG2a,κ	ラット
IL8	GeneTex, Inc. (Irvine, CA)	GTX18672	807	IgG1	マウス
	GeneTex	GTX18649	I8-S2	IgG2b	マウス
	United States Biological (Swampscott, MA)	I8430-06A	5D21	IgG1	マウス
	Thermo Scientific (Pierce, Rockford, IL)	OMA1-03346	790128G2	IgG1κ	マウス
MCP-1	Novus Biologicals	NBP1-42360	MNA1	IgG1	マウス
	GeneTex	GTX18678	S101	IgG1κ	マウス
	GeneTex	GTX18677	S14	IgG1κ	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-81750	2.2-4A4-1A11	IgG1	マウス
TNF-α	Thermo Scientific (Pierce)	HYB 141-09-02	10D9	IgG1	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-21386	CH8820	IgG1	マウス
	R&D Systems	MAB610	28401	IgG1	マウス
SRVN	ProMab Biotechnologies, Inc. (Richmond, CA)	Mab-2007128	2H5H2	IgG1	マウス
	United States Biological	S8500-03L	6A189	IgG1	マウス
	Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO)	WH0000332M1	5B10	IgG2aκ	マウス
IL-1B	Sigma-Aldrich Co.	WH0003553M1	2A8	IgG2bκ	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	OMA1-03331	508A4A2	IgG1κ	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-24785	8516.311	IgG1	マウス
AFP	Abcam plc. (Cambridge, MA)	ab54745	モノクローナル	IgGκ	マウス
	Abcam	ab8201	ポリクローナル	IgG	ウサギ

10

20

30

40

CA-19-9	United States Biological	C0075-03	1.B.837	IgG1	マウス
BCNP1	Abcam	ab59781	ポリクローナル	IgG	ウサギ
BANK1	Abcam	ab93203	ポリクローナル	IgG	ウサギ
CDA	Abcam	ab35251	ポリクローナル	IgG	ヒツジ
LAMN	United States Biological	L1225-25	2Q601	IgG1	マウス
	United States Biological	L1225-20	2Q592	IgG2a	マウス
	United States Biological	L1225-21	2Q596	IgG1κ	マウス
M-CSF	R&D Systems	MAB616	21113	IgG2A	マウス
MIF	Sigma-Aldrich Co.	WH0004282M1	2A10-4D3	IgG1κ	マウス
	GeneTex	GTX14575	2Ar3	IgG1	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-20881	2Ar3	IgG1	マウス
HBD 1	MyBioSource, LLC (San Diego, CA)	MBS311954	M11-14b-D10	IgG1	マウス
HBD2	MyBioSource	MBS311949	L12-4C-C2	IgG1	マウス
CRMP-2	AbD Serotec (Raleigh, NC)	AHP1255	ポリクローナル	IgG	ヤギ
	Abcam	ab75036	ポリクローナル	IgG	ウサギ
PSME3	Abcam	ab91540	ポリクローナル	IgG	ウサギ
	Abcam	ab91542	ポリクローナル	IgG	ウサギ
MIC1	United States Biological	M1199	9E 99	IgG1	マウス
Reg IV	Abcam	ab89917	MM0254-9B21	IgG2	マウス
Trail-R4	R&D systems	MAB633	104918	IgG1	マウス
Trail-R2	Thermo Scientific (Pierce)	PA1-23497	ポリクローナル	IgG	ウサギ
CD44	Novus Biologicals, LLC (Littleton, CO)	NBP1-04276	5C10	IgG2b	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-19277	MEM-263	IgG1	マウス
ALIX	United States Biological	A1355-64	8J89	IgG1	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-83977	3A9	IgG1	マウス
FASL	United States Biological	F0019-65B	5E501	IgG1	マウス
	United States Biological	F0019-66V	9i01	IgG1	マウス
L1CAM	GeneTex	GTX23200	UJ127	IgG1κ	マウス
	GenWay Biotech, Inc. (San Diego, CA)	20-272-193053	UJ181.4	IgG	マウス
CRP	United States Biological	C7907-05A	3H109	IgG1κ	マウス
	R&D Systems	MAB17071	232007	IgG2b	マウス
	Abcam	ab13426	CRP8		
	Abcam	ab76434	CRP135		
	R&D Systems	MAB1707	232026	IgG2a	マウス
DLL4	Abcam	ab61031	モノクローナル	IgG2a	マウス
	Cell Signaling Technology, Inc. (Danvers, MA)	2589	ポリクローナル		ウサギ

10

20

30

40

AURKB	Sigma-Aldrich	WH0009212M3	6H7	IgG1κ	マウス
	Novus Biologicals	H00009212-M01A	6A6	IgG1κ	マウス
AURKA	United States Biological	A4190-10D	8J339	IgG2b	マウス
	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-34566	35C1	IgG2b	マウス
SPARC	R&D Systems	MAB941	122511	IgG1	マウス
	United States Biological	O8063-08	5 E 143	IgG1	マウス
PDGFRB	Sigma-Aldrich	WH0005159M8	4C12	IgG2ak	マウス
	R&D Systems	MAB1263	PR7212	IgG1	マウス
TFF3	Sigma-Aldrich	WH0007033M1	クローン 3D9	IgG1κ	マウス
DR3	United States Biological	D4012-01B	ポリクローナル	IgG	ウサギ
MACC-1	ProSci Incorporated (Poway, CA)	5197	ポリクローナル	IgG	ウサギ
MMP7	Novus Biologicals	NB300-1000	ポリクローナル	IgG	ウサギ
TROP2	Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Santa Cruz, CA)	sc103908	クローン c12	IgG	ヤギ
	Santa Cruz	sc80406	クローン yy01	IgG2a	マウス
A33	Santa Cruz	sc33014	クローン g20	IgG	ヤギ
	Santa Cruz	sc33012	クローン n15	IgG	ヤギ
CXCL12	R&D Systems	MAB350	79018	IgG1	マウス
	Sigma Aldrich	WH0006387M1	1E 5	IgG2bκ	マウス
GDF15	LifeSpan Biosciences, Inc. (Seattle, WA)	LS-C89472	クローン 9E99	IgG1	マウス
ASCA	Abcam	ab19498	ポリクローナル	IgG	ウサギ
	Abcam	ab19731	ポリクローナル	IgG	ウサギ
	Abcam	ab25813	ポリクローナル	IgG	ヤギ
VEGFA	United States Biological	V2110-16A	クローン 5G233		マウス
EphA2	Santa Cruz	sc924	クローン c20		ウサギ
EGFR	BD Biosciences	BD555996	クローン EGFR1		マウス
MUC1	Santa Cruz	sc7313	クローン VU4H5		マウス
TGM2	Sigma-Aldrich	WH0007052M10	クローン 2F4		マウス
TIMP-1	Sigma-Aldrich	WH0007076M1	クローン 4D12		マウス
GPCR GPR110	GeneTex	GTX70591	ポリクローナル		ウサギ
MMP9	Novus Biologicals	NBP1-28617	クローン SB15C		マウス
TMEM211	Santa Cruz	sc86534	クローン c15		ウサギ
UNC93A	Santa Cruz	sc135539	クローン c13		ウサギ
CD66c CEA	United States Biological	C1300-08	ポリクローナル		ウサギ
CD24	Santa Cruz	sc19585	クローン sn3		マウス
CD10	BD Biosciences	555373	クローン HI10a		マウス
NGAL	Santa Cruz	sc50350	クローン h130		ウサギ
GPR30	Abcam	ab12563	ポリクローナル		ウサギ
OPN	Santa Cruz	sc-73631	クローン lfmh-14		マウス
MUC17	Santa Cruz	sc32602	クローン c19		ヤギ
p53	BioLegend	645702	クローン do.1		マウス
MUC2	Santa Cruz	sc15334	クローン H-300		ウサギ
Ncam	R&D Systems	MAB2408	クローン 301040		マウス
Tsg 101	Santa Cruz	sc-101254	クローン Y16J		マウス
Epcam	R&D Systems	MAB 9601	MAB 9601		マウス

10

20

30

40

50

【 1 3 2 1 】

結合体化抗体を含むMicroplexミクロスフェア

蛍光標識されたカルボキシル化MicroPlex(登録商標) ミクロスフェアビーズ、SeroMAP(商標) ミクロスフェアビーズ、およびMagPlexミクロスフェアビーズ(Luminex Corporatio

n, Austin, TX)より選択される望ましいミクロスフェアと捕捉抗体を結合体化する。製造業者により供給されたプロトコルを用いて結合体化を行う。「SAMPLE PROTOCOL FOR TWO-STEP CARBODIIMIDE COUPLING OF PROTEIN TO CARBOXYLATED MICROSPHERES」、「SAMPLE PROTOCOL FOR CONFIRMATION OF ANTIBODY COUPLING」、およびwww.luminexcorp.com/support/protocols/protein.htmlにおいてオンラインで入手可能な関連プロトコルを参照されたい。本明細書の実施例においてさらに詳述される。

【1322】

例示的な結合体を以下の表46に示した。結合体化のために任意の適切な捕捉抗体、例えば、前記の表45に列挙した任意の捕捉抗体、または、本明細書に記載されたもの（例えば表5、6～9、14を参照）を含む関心対象の抗原を標的とする他の抗体を使用することができる。

【1323】

（表46）ミクロスフェア結合体化抗体

ビーズ領域	ベンダー	カタログ番号	コンジュゲートに使用した抗体*	
			抗原	抗体クローン
5	Luminex (Austin, TX)	L100-C105-04	CD9	209306
20	Luminex	L100-C120-04	CD63	H5C6
24	Luminex	L100-C124-04	CD81	JS-81
15	Luminex	L100-C115-04	PSMA	LNI-17
19	Luminex	L100-C119-04	PCSA	5E10
25	Luminex	L100-C125-04	B7H3	MIH35

* 結合体化抗体の情報は前記の捕捉抗体の表において見られる。

【1324】

検出抗体

様々な標識を使用することができる。テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する例示的な抗体を示した。他のバイオマーカー、例えば、一般的小胞バイオマーカー、起源細胞に特異的なバイオマーカー、または疾患バイオマーカーに対する抗体を所望に応じて使用することができる。表47を参照されたい。

【1325】

（表47）検出抗体

タンパク質	ベンダー	カスタム コンジュゲーション のカタログ番号	カスタム コンジュゲーション のサイズ	クローン	タイプ	供給源	標識 *
CD9	BD Biosciences	624048	4mg	M-L13	IgG1	マウス	PE
CD63	BD Biosciences	624048	4mg	H5C6	IgG1	マウス	PE
CD81	BD Biosciences	624048	4mg	JS-81	IgG1	マウス	PE

* フィコエリトリン

【1326】

- BSAを含むリン酸緩衝食塩水(PBS)、pH7.4, Sigma, カタログ番号P3688-10PAK(Sigma, Saint Louis, Missouri, Sigma-Aldrich, Inc.の一部門)
- PBSに溶解したStarting Block Blocking Buffer, Thermo Scientific, カタログ番号37538(Thermo Scientific, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MAの一部門)
- PBS-BN(PBS, 1%BSA, pH7.4 Sigmaカタログ番号P3688, 0.05%アジ化ナトリウム, Sigma, カタログ番号S8032)
- 分子グレードの滅菌水(DNaseフリーおよびRNaseフリー、0.1μM濾過済み)、Sigma, カタログ番号W4502
- VCaP微小胞(2.14 μg/μl)

f. 正常男性血漿、ロット番号55-24482-042610(Innovative Research, 試料55-24482)、VCaP対照の作製に使用した。

【1327】

消耗品

- a. USA Scientific TempAssure PCR 8チューブストリップ、カタログ番号1402-2908(USA Scientific, Inc., Ocala, FL)
- b. Millipore Multiscreen HV Luminexフィルタプレート、0.45µm、透明、スチレン、Milliporeカタログ番号MSBVN1250(Millipore, Billerica, MA)
- c. USA Scientificコポリマー1.5ml非結合チューブ、カタログ番号1415-2500
- d. USA Scientific TempPlate Sealingホイル、カタログ番号2923-0110 10
- e. 使い捨てフィルタ付き滅菌ピペットチップ、DNaseフリー、RNaseフリー、および発熱物質フリー
- f. 1Lガラス瓶、VWR、カタログ番号89000-240(VWR International, LLC, West Chester, Pennsylvania)
- g. 250mlガラス瓶、VWR、カタログ番号89000-236
- h. スターラーバー、中、VWR、カタログ番号58948-218
- i. アイスバケット、Fisher、カタログ番号02-591-46(Fisher Scientific, Thermo Fisher Scientificの一部門, Pittsburgh, PA)
- j. 96ウェルFalconプレート、VWR、カタログ番号62406-321
- k. 1Lメスシリンダー、Fisher、カタログ番号03-007-36 20
- l. プレートラック、Fisher、カタログ番号05-541-55
- m. チューブラック、Fisher、カタログ番号05-541-38
- n. 4方向ラック、Fisher、カタログ番号03-448-17
- o. 15mlコニカル、VWR、カタログ番号21008-918
- p. 試薬リザーバー、VWR、カタログ番号89094-662
- q. 10/20µlフィルタ付きピペットチップ、Rainin、カタログ番号GP-L10F(Rainin Instrument, LLC, Oakland, CA, METTLER TOLEDO Company)
- r. 200µlフィルタ付きピペットチップ、Rainin、カタログ番号GP-L200F
- s. フィルタ付き1000µlピペットチップ、Rainin、カタログ番号GP-L1000F
- t. フィルタが付いていない1000µlピペットチップ、Rainin、カタログ番号GPS-L1000 30
- u. アルミニウムホイル、Fisher、01-231-100
- v. 防護衣
- w. マスタープランテンプレートスプレッドシート(トラッキングスプレッドシート)

【1328】

品質管理:

アッセイ対照

アッセイ対照は、VCaP細胞株に由来する微小胞からなる。VCaPは、59歳白人男性のホルモン難治性前立腺癌患者の椎骨転移から1997年に樹立されたヒト上皮細胞株である。これをマウスにおいて異種移植片として継代し、次いで、インビトロ培養した。VCaP細胞株はアンドロゲン感受性であり、小胞を産生する。Korenchuk, S., et al., VCaP, a cell-based model system of human prostate cancer. In Vivo, 2001. 15(2): p.163-68; Jansen, F.H., et al., Exosomal secretion of cytoplasmic prostate cancer xenograft-derived proteins. Mol Cell Proteomics, 2009. 8(6):p.1192-205を参照されたい。 40

【1329】

(1) ビーズマスター混合物の性能、(2) 個々の測定技術の仕様、および(3) 検出抗体の性能を検証するために、三組のVCaP微小胞(MVS)高対照およびブランク対照を各プレートにおいて測定した。VCaP MVS高対照は、正常男性血漿で希釈された0.5mg/ml精製VCaP微小胞からなる。VCaP MVSブランク対照は、PBSバックグラウンドに溶解した0mg/ml精製VCaP微小胞からなる(すなわち、精製微小胞なし)。

【1330】

平均シグナル(高VCaP MVS対照)と平均バックグラウンド(ブランクVCaP MVS対照)の比がバックグラウンドの少なくとも10倍になれば、測定は妥当とみなされる。この大きさのシグナルは、それぞれの結合体化捕捉ビーズが十分な試料結合能を有し、技術的に損なわれていない測定が行われたことを示している。

【1 3 3 1】

測定が、VCaP MVS対照の所定の基準を満たさなければ、測定全体を繰り返す。反復測定は、VCaP MVS対照および患者血漿の追加血漿濃縮物からなる(血漿濃縮;前記の実施例を参照されたい)。受け取った標本数に応じて2回まで測定を繰り返す。最後に測定が失敗したら、妥当な結果を得ることなく、標本を判定不能と報告する。

【1 3 3 2】

内部標準

テトラスパニン捕捉抗体(CD9、CD63、およびCD81)は各試験試料の妥当性の内部標準として役立つ。3種類のテトラスパニン捕捉抗体の平均MFI(蛍光強度中央値)を計算する。合計したMFI値の平均が500を超えれば、試料は、さらに試験するのに十分な微小胞濃度を有するとみなされる。

【1 3 3 3】

試料が既定のテトラスパニン捕捉抗体基準を満たさなければ、再試験される。反復測定は、VCaP MVSおよび患者血漿の追加血漿濃縮物からなる(前記実施例の血漿濃縮を参照されたい)。この測定は、追加の患者血漿アリコートがあれば、さらに2回まで繰り返される。最後に反復測定が失敗したら、妥当な結果を得ることなく、標本を判定不能と報告する。

【1 3 3 4】

限界:

患者血漿が不適切に収集および保管されたら、血漿中の小胞が分解されることがある、または小胞のタンパク質含有量が変わることがある。小胞が分解すると凝集が引き起こされ、タンパク質発現が間違っ測定され、不確定のまたは誤った結果につながる可能性がある。

【1 3 3 5】

手順:

洗浄工程を除く全ての工程においてピペットにはフィルタ付きチップを使用する。

a. 適切なマスタープランテンプレートスプレッドシートを開き、ロットインフォ(Lot Info)タブを押し、空白の黄色のセルに適切な情報を記入する。ファイルを保存する。

b. ワークベンチシートタブ(マスタープランテンプレートスプレッドシートにあるトラッキングおよびインストラクションワークシート)を選択し、ベンチで使用するためのハードコピーを印刷する。

c. 前日から濃縮血漿試料を冷蔵庫から取り出し、ベンチに置く。濃縮血漿の調製については前記の実施例を参照されたい。

d. ワークベンチシートにある配合表に従ってVCaP MVS対照を調製する。

i. アイスバケットをフレーク状の氷で満たす。

ii. プレート1枚につきVCaP MVSプール(対照試料プール)を1チューブおよび正常血漿1チューブを-80℃(-65℃~-85℃)から取り出し、氷上で解凍する。

iii. VCaP MVSプールを1600rpmで10秒間ボルテックスする。

iv. 0.5ug/ul VCaP対照(ワークベンチシートを参照する)を調製する。正常血漿チューブは11.1 μLの正常血漿を含有する。VCaPチューブは5 μLのVCaPを含有する。ピペットで適量のVCaP MVSプール(オレンジ色のチューブ)を正常血漿チューブ(紫色のチューブ)に入れ、およびピペットで5回混合する。

v. チューブをプレートラックに入れ、Jitterbugにおいて550rpmで振盪しながら37℃(35℃~39℃)で1時間インキュベートする。

e. 対照をインキュベートしている間に、試料ビーズ混合物を調製する。

i. 新しい1.5mlコポリマーチューブに、日付、イニシャル、および「試料ビーズ混合

10

20

30

40

50

物」と書いたラベルを貼る。

ii. Starting Blockおよび試料ビーズ混合物を、ラベルを貼ったチューブに添加する(ワークベンチシートを参照する)。

iii. VWRデジタルボルテックスに入れて1600rpmで5秒間ボルテックスする。

iv. アルミニウムホイルで包み、ベンチトップで最低10分間インキュベートする。

f. 対照をインキュベートしている間に、ワークベンチシートのプレートマップに基づいて保管容器から必要数の8チューブストリップを回収する。各ストリップはプレートマップの1縦列に相当する(プレート1枚当たりの8チューブストリップの最大数は12である)。

g. 8チューブストリップを1列おきにプレートラックに垂直に並べ、各チューブに蓋をする。左上の位置にある1から始めてチューブの上部にラベルを貼り、上から下、次に、左から右に連続して番号を付ける。例えば、図107には、ストリップ1~6に1~48のラベルが貼られている。次のプレートラックにあるストリップ7~12には49~96のラベルが貼られるだろう。

h. ワークベンチシートのプレートマップに従って、50 μ Lの各濃縮血漿試料を8チューブストリップに3回繰り返して移す。

i. 1、2、9、10、17、および18を除く全てのチューブの蓋を開ける。これらは、VCaP高およびブランク対照のために準備されている。

ii. 血漿を徹底的に混合するために、各濃縮血漿試料チューブをデジタルボルテックスに入れて1600rpmで少なくとも5秒間ボルテックスした直後に、8チューブストリップに分注する。

iii. p200ピペットを用いて、試料を8チューブストリップに移し、試料をそれぞれ添加した後に蓋を閉じる。

1. 50 μ Lの濃縮血漿をピペットチップに吸い上げ、試料チューブに1回戻すことによって、それぞれの新しいピペットチップを予め湿らす。

2. 同じピペットチップを用いて、別の50 μ L濃縮血漿を吸い上げ、正しいチューブに分配する。分配中に、ピペットチップをチューブの底に配置するように注意する。ピペットチップをチューブからまっすぐ上向きに出す。チューブの側面からピペットチップを引き出さないように注意する。

3. 試料用の3個全てのチューブが50 μ L濃縮血漿を含むまで、前記の工程2)を2回繰り返す。同じ試料の3個全てのアリコートに同じチップを使用することができるが、異なる試料間ではチップを交換しなければならない。

i. 1時間のVCaP対照インキュベーションの後に、p20ピペットを用いて、0.5 μ g/ μ L VCaP対照4 μ Lをチューブ1、9、および17に入れる。

j. ピペットで1xPBS 4 μ Lをチューブ2、10、および18に入れる。

k. ビーズ混合物を全ての試料に添加する。

i. 全てのチューブの蓋を開ける。

ii. 試料ビーズ混合物をデジタルボルテックスに入れて1600rpmで5秒間ボルテックスする。連続したピペット吸引をそれぞれ行う前に、このボルテックス工程を繰り返す。

iii. 200 μ L電子リピーターピペットを用いて、4 μ Lのビーズ混合物を、対照チューブを含む各試料チューブに添加し、ビーズをそれぞれ添加した後に蓋を閉じる。

iv. 8チューブストリップのmini-galaxy遠心機において素早く1秒間回転させて、チューブの底に全ての液体を集める。

v. Jitterbugにおいて550rpm、37°C(35°C~39°C)で2時間インキュベートする。

vi. 余分なビーズをアルミニウムホイルで包み、翌日に余分量(overage)として使用するために一晩、4°C(2°C~8°C)に保ってもよい。このように残ったビーズの使用を1週間続けてもよいが、毎月曜日に古くなったビーズをバイオハザード用ゴミ箱に捨てなければならない。

1. 2時間インキュベーションの間に、検出抗体を調製する。

i. 15mlコニカルチューブに、日付、イニシャル、および「検出抗体」と書いたラベルを貼る。

10

20

30

40

50

ii. PBS-BNを15mlコニカルに添加する(体積についてはワークベンチシートを参照する)。

iii. CD9、CD81、およびCD63をPBS-BNに添加する(体積についてはワークベンチシートを参照する)

iv. VWRデジタルボルテックスに入れて1600rpmで5秒間ボルテックスする。

v. アルミニウムホイルで包み、使用するまで4方向ラックに入れる。

m. 使い捨てのリザーバーにPBS-BNを充填する。

n. プレートにある試料が23例未満であれば、ハサミでホイルシールを切って、空の縦列を覆い、プレートにある空の縦列にくっつける。

o. 以下の工程の間、ピペットチップとフィルタプレートウェルの底は接触してはいけない。常に、チップをウェルの側面に接触させる。また、減圧は常に3インチHg~5インチHgで操作しなければならない。吸引中、プレートはバキュームマニホールドにのみ接触させる。他の全ての工程の間、プレートをベンチトップに配置しなければならない。

p. 1000ul電子マルチチャンネルピペットおよびフィルタが付いていない1000ulチップを用いて、1.2 μ m Milliporeフィルタプレートを100 μ L/ウェルのPBS-BNで予め湿らせ、バキュームマニホールドによって吸引する。

q. 減圧開放ボタン押した後に、マニホールドからプレートを取り出す。プレートの底を清潔なペーパータオルで水気がなくなるまで拭き取る。

r. p200マルチチャンネルピペットを用いて、150 μ LのPBS-BNを各プレートウェルに添加する。

s. 2時間のインキュベーション後、Jitterbugから試料を取り出し、mini-galaxy遠心機において素早く1秒間回転させる。

t. ワークベンチシートのプレートマップに従って、インキュベートされた試料をMilliporeフィルタプレートに移す。

i. プレート(縦列1~12)の端から端まで左から右に、1回で1個の8チューブストリップをプレートラックから取り出し、空のプレートラックに入れる。キャップに書かれた数字が正しい順序および方法にあることを二重に確認することによって、時系列で8チューブストリップが用いられていることを確認する。

ii. p20マルチチャンネルピペットを用いて、8チューブストリップにある2つの対照をフィルタプレート上の正しいウェルに移す。全てのビーズが溶解状態になっていることを確実にするために、吸引中にピペットで5回混合した後に、フィルタプレートに分配し、ピペットでPBS-BNに溶解して2回混合する。

iii. p200マルチチャンネルピペットを用いて、全ての血漿試料をフィルタプレートに移す。

iv. 濃縮血漿は粘着性が極めて高い場合があるので、ピペットで各試料を5回ゆっくりと混合する。確実に、血漿がピペットチップの中を上下に動くようにする。試料が動いていなかったら、各試料が混合されるまで、少なくとも5回、ピペット混合の回数を増やす。試料をフィルタプレートに移し、ピペットでPBS-BNに溶解して2回混合する。

v. 各8チューブストリップが空になった後に、全ての内容物が無くなったことを確かめる。その後に、ストリップをバイオハザード用ゴミ箱に捨てる。

vi. チューブに液体が残っていたら、前記の工程i)~iv)を繰り返す。

vii. 全ての試料がフィルタプレートに添加されるまで、前記の工程i)~v)を続ける。

u. 以下の工程中の任意の時点で、いずれかのウェルが詰まっているが、他のウェルが吸引されるのであれば、一定の減圧を5秒間続ける。一部の試料の目詰まりが依然としてあり、フィルタを通らないのであれば、(マーカーで)プレートのウェルおよびワークベンチシートに書かれているウェルに印をする。p1000ピペットを用いて液体をウェルから吸引し、連続した全ての工程の間、そのウェルを空のままにする。

v. バキュームマニホールドで上清をゆっくりと吸引する。減圧開放ボタンを押した後に、マニホールドからプレートを取り出す。プレートの底を清潔なペーパータオルで水気がなくなるまで拭き取る。

10

20

30

40

50

w. p1000電子マルチチャンネルピペットおよびフィルタの付いていない1000ulチップを用いて、各ウェルを200 μ LのPBS-BNで洗浄し、吸引し、減圧開放ボタンを押し、次いで、マニホールドからプレートを取り出し、プレートの底を清潔なペーパータオルで徹底的に拭き取る。

x. 1回の洗浄につき200ul PBS-BNを用いて合計2回洗浄するために前工程を繰り返す。

y. p200マルチチャンネルピペットを用いて、50 μ LのPBS-BNを各ウェルに添加する。

z. p1000電子シングルチャンネルピペットを用いて、50 μ Lの希釈検出抗体(前記)を各ウェルに添加する。

i. 余分な検出抗体をアルミニウムホイルで包み、翌日にオーバーエイジとして使用するために一晩、4°C(2°C~8°C)に保ってもよい。このように残った検出抗体の使用を1週間続けてもよいが、古くなった検出抗体をバイオハザード用ゴミ箱に捨てなければならない。

aa. ホイルプレートシールを用いてフィルタプレートを覆う。外周に沿ってホイルを優しく密封する。陽圧によってフィルタの底から液体が出てくるので、ウェル内に陽圧が生じないように注意する。

bb. Jitterbugにおいて550rpm、25°C(22°C~27°C)で1時間インキュベートする。

cc. 1時間のインキュベーションの間に、Luminex Maintenance and Calibration SOP(MA-25-0009)を参照し、Luminexビーズ読み取り装置において必要な全てのメンテナンスおよび/または較正を行う。

dd. メンテナンスおよび/または較正が完了した後に、Luminexソフトウェアにプレート情報を入力する。

i. xPONENT3.1ソフトウェアを開き、ログインする。

ii. バッチタブをクリックする。

●バッチ名で、ワークベンチシートの上部付近に見られるプレートIDを入力するが、最後に追加のアンダースコアおよび1を加える。

1.ID:20100915_SampleV1_PME_1

iii. これは後でデータストアへのアップロード番号を示す。例えば:

1.バッチ名:20100915_SampleV1_PME_1_1

iv. 既存のプロトコールから新たなバッチを作る(Create a New Batch from an Existing Protocol)をクリックし、望ましいプロトコールを選択する。

v. 次をクリックする。

vi. プレートマップ上でクリックおよびドラッグすることによって、試料を含有するウェルおよび対照を含有するウェルを強調する。

vii. プレートマップの下にある未知(Unknown)ボタンをクリックする。

viii. スクリーンの右側にある、リストをインポートする(Import List)ボタンをクリックし、エクスポートされた適切なテキストファイルに移動し、選択し、次に、開く(Open)をクリックする。

ee. 試料を1時間インキュベートした後に、Jitterbugからフィルタプレートを取り出し、ホイルシールを取り出し、バキュームマニホールドによって上清を吸引する。減圧開放ボタンを押し、次いで、マニホールドからプレートを取り出し、プレートの底を清潔なペーパータオルで徹底的に拭き取る。

ff. p1000電子マルチチャンネルピペットおよびフィルタの付いていない1000ulチップを用いて、各ウェルを100 μ LのPBS-BNで洗浄し、吸引し、減圧開放ボタンを押し、次いで、マニホールドからプレートを取り出し、プレートの底を清潔なペーパータオルで徹底的に拭き取る。

gg. 1回の洗浄につき100ul PBS-BNを用いて合計2回洗浄するために前工程を繰り返す。

hh. p200マルチチャンネルピペットを用いて、100 μ LのPBS-BNを各ウェルに添加する。

ii. ホイルプレートシールを用いてフィルタプレートを覆う。外周に沿ってホイルを優しく密封する。

jj. VWRマイクロプレートシェーカーにプレートを950rpmで20秒間、置く。Luminex 200

10

20

30

40

50

装置でプレート进行分析する。

- i. シェーカーからプレートを回収し、ホイルシールを取り外す。
- ii. スクリーンの下にあるイジェクトボタンをクリックする。
- iii. プレートを引出しに入れる(A1は左上の隅に進む)。
- iv. スクリーンの下にあるリトラクトボタンをクリックする。
- v. スクリーンの右下の隅にあるランバッチボタンをクリックする。
- vi. ポップアップウィンドウの中のOKをクリックする。
- kk. 測定が終わったら、結果(Results)タブに進み、左側にあるセーブドバッチ(Saved Batches)を選択し、測定を強調し、スクリーンの下にある、結果をエクスポートする(Export Results)をクリックして、.csvファイルをエクスポートする。
- ll. 適切なネットワークサーバーロケーションに.csvファイルを保存する。
- mm. データ分析ソフトウェアにログインし、ラブキューエス(Lab Queues)タブに進み、右上の隅の近くにある、結果をインポートする(Import Results)を選択する。
- nn. ブラウズする(Browse)をクリックし、クリニカルドライブ(clinical drive)にある.csvに進み、開くをクリックする。
- oo. データ分析ソフトウェアの中にあるデータが、Luminex 200装置からエクスポートされたデータと一致することを確認する。

10

【1336】

実施例51:多重アッセイを用いた前立腺癌(PCa)小胞の分析

本実施例では、前立腺癌(PCa)患者またはPCaのない患者(正常)からの血漿試料を、実施例27において概説された一般的な手順に従って分析する。実施例49のプロトコールに従って血漿を調製し、実施例50と同様に多重解析を行う。表48の小胞表面抗原タンパク質に対する捕捉抗体を用いて、PCaを検出するバイオマーカーをスクリーニングした。

20

【1337】

(表48) PCa捕捉抗体

タンパク質 標的	抗体	ベンダー	カタログ番号
SPB	抗肺サーファクタントタンパク質B抗体	US Biological	S8401-02
IL-8	抗インターロイキン8抗体	US biological	I8430-06A
SPC	抗肺サーファクタントタンパク質C抗体	US Biological	U2575-03
IL8	抗インターロイキン8抗体	Thermo scientific pierce	OMA1-03346
MUC1 seq1	MUC1アプタマー2_3'アミノ修飾	IDT	55403591
TFF3	抗トレフォイル因子3(腸)抗体	Sigma-Aldrich	WH0007033M1
TF (FL- 295)	抗組織因子(凝固因子III)抗体	Santacruz	sc-20160
MUC1 seq3	MUC1アプタマー4_3'アミノ修飾	IDT	55403593
PGP9.5	抗プロテインG産物9抗体	Genway	20-002-35062
MCP-1	抗単球走化性因子抗体	Novus Biologicals	NBP1-42360
CD9	抗表面抗原分類9抗体	Novus biologicals	NBP1-28363
CD9	抗表面抗原分類9抗体	R&D systems	MAB1880
MCP-1	抗単球走化性因子抗体	Genetex	GTX18678
MS4A1 5c11	抗膜貫通4A1抗体	Sigma	WH0000931M1
EphA2	抗エフリンA受容体抗体	Santa Cruz	sc924
HSP70	抗熱ショックタンパク質抗体	Biologend	648002
TNF- α	抗腫瘍壊死因子 α 抗体	Thermo scientific pierce	HYB 141-09-02
TIMP2	抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質2抗体	Genetex	GTX48556
GAL3	抗ガラクトース代謝調節因子3抗体	Santa Cruz	sc-32790
TNF- α	抗腫瘍壊死因子 α 抗体	Thermo scientific pierce	MA1-21386
SRVN	抗サバイビン抗体	US biologicals	S8500-03L
INSIG-2	抗インシュリン誘導性遺伝子2抗体	Santa Cruz	sc-66936
PTEN	抗ホスファターゼ・テンシンホモログ抗体	Sigma Aldrich	WH0005728M1- 100UG
SRVN	抗サバイビン抗体	Sigma Aldrich	WH0000332M1
MIS RII	抗ムンレリアン阻害物質受容体II抗体	R&D	AF4749
HER2 (ErbB2)	抗ヒト上皮細胞成長因子受容体2抗体	R&D	MAB1129
EGFR	抗上皮細胞成長因子抗体	BD biosciences	555996

10

20

30

N-gal	抗好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン抗体	Santa Cruz	sc-18698
IL-1B	抗インターロイキン-1B抗体	Sigma Aldrich	WH0003553M1
ER	抗エストロゲン受容体抗体	US Biological	E3564-89
SPP1	抗-SPP1	Sigma	WH0006696M1
iC3b	抗ヒト不活性補体成分3b抗体	Thermo	MA1-82814
AFP	抗アルファ胎児タンパク質抗体	Abcam	ab54745
PSMA	抗前立腺特異的膜抗体	Biolegend	342502B
PSMA	抗前立腺特異的膜抗体	Genetex	GTX19071
PSMA	抗前立腺特異的膜抗体		342502
AFP	抗 α 胎児タンパク質抗体	Abcam	ab8201
KLK2	抗カリクレイン関連ペプチダーゼ2抗体	Novus Biologicals	H00003817-M03
PR (B)	抗プロゲステロンR抗体	R&D	PP-H5344-00
MRP8	抗遊走阻止因子関連タンパク質8抗体	US Biological	M4688-36A
CA-19-9	抗炭水化物19-9抗体	US Biological	C0075-13B
BCNP1	抗B細胞新規タンパク質1抗体	abcam	ab59781
BANK1	抗B細胞足場タンパク質アンキリンリピートあり1抗体	abcam	ab93203
PCSA	抗前立腺細胞表面抗体	Millipore	MAB4089
PCSA	抗前立腺細胞表面抗体		組織内
CD63	抗表面抗原分類63抗体	R&D systems	MAB5048
CD63	抗表面抗原分類63抗体	BD biosciences	556019
B7H4	抗免疫共刺激タンパク質抗体	US Biological	B0000-35A
CDA	抗シチジンデアミナーゼ抗体	abcam	ab35251
MUC1	抗ムチン1, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc7313
TGM2	抗トランスグルタミナーゼ-2抗体	Sigma-Aldrich	WH0007052M10
DLL4	抗デルタ様タンパク質4抗体	Santa Cruz	sc-18639
CD81	抗表面抗原分類81抗体	Sigma Aldrich	WH0000975M1
CD81	抗表面抗原分類81抗体	BD biosciences	555675
B7H3	抗表面抗原分類276 (B7ホモログ3) 抗体	R&D systems	MAB1027
B7H3	抗表面抗原分類276抗体	BioLegend	135602
LAMN	抗ラミニン抗体	US Biological	L1225-25
HER 3 (ErbB3)	抗ヒト上皮細胞成長因子受容体3抗体	US Biological	E3451-36A
CRP	抗C反応性タンパク質抗体	abcam	ab76434
MART-1	抗T細胞認識性メラノーマ抗原1抗体	US Biological	M2410
LAMN	抗ラミニン抗体	US Biological	L1225-20
M-CSF	抗マクロファージコロニー刺激因子抗体	R&D systems	MAB616
PSA	抗前立腺特異的抗体	My bioscience	MBS312739
MFG-E8	抗乳脂肪球-EGF因子8タンパク質抗体	R&D systems	MAB27671
CD46	抗表面抗原分類46抗体	R&D systems	MAB2005
STAT 3	抗シグナル伝達性転写因子3抗体	US Biological	S7971-01M
MIF	抗マクロファージ遊走阻止因子抗体	Genetex	GTX14575

10

20

30

40

TIMP-1	抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質1抗体	Sino biological Inc	10934-MM02
MACC-1	抗結腸癌関連転移1抗体	ProSciInc	5197
PSA	抗前立腺特異的抗原抗体	R&D	MAB13442
ALP	抗アポリポタンパク質J抗体	Novus Biologicals	H00001191-M02
CRP	抗C反応性タンパク質抗体	Abcam	ab13426
HBD2	抗ヒトβデフェンシン2抗体	My biosource	MBS311949
TrKB (ポリ)	抗チロシンキナーゼB抗体	Novus biologicals	NB100-92063
MMP26	抗マトリックスメタロプロテイナーゼ26抗体	Novus Biologicals	H00056547-M02
AnnV	抗アンネキシンV抗体	Abcam	ab54775
CD24	抗表面抗原分類24抗体(熱安定抗原)	BD biosciences	bd 555426
VEGF A	抗血管内皮増殖因子A抗体	US Biological	V2110-05D
PCSA	抗前立腺細胞表面抗体	Novus Biologicals	H00008000-M03
TIMP-1	抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質1抗体	Sigma-Aldrich	WH0007076M1
IL6 Unc	抗インターロイキン6非結合抗体	Invitrogen	AHC0762
CRMP-2	抗コラプシン応答メディエータータンパク質2抗体	Abcam	ab75036
IL 6 Unc	抗ヒトインターロイキン6非結合抗体	Invitrogen	AHC0762
OPG	抗オステオプロテジェリン抗体	Biovendor	RD182003110-13
PSME3	抗プロテアソームアクチベーター複合体サブユニット3抗体	Abcam	ab91540
PBP	抗前立腺結合タンパク質抗体	Novus Biologicals	H00005037-M01
PSME3	抗プロテアソームアクチベーター複合体サブユニット3抗体	Abcam	ab91542
IL6R	抗インターロイキン6受容体抗体	Sigma aldrich	WH0003570M1
CD59(M EM-43)	抗表面抗原分類59(MEM-43)抗体	Genetex	GTX74620
PIM1	抗プロウイルス組込み部位抗体	Novus Biologicals	H00005292-M08
GPCR	抗Gタンパク質共役受容体抗体(ペンダー代用品)	GeneTex	GTX70593
EphA2 (H-77)	抗エフリンA受容体2抗体	Santa Cruz	sc-10746
MIC1	抗マクロファージ阻止サイトカイン抗体	US Biologicals	M1199
Reg IV	抗再生島由来ファミリー, メンバー4抗体	Abcam	ab89917
MMP9	抗マトリックスメタロプロテイナーゼ9抗体	Novus biologicals	NBP1-28617
PRL	抗プロラクチンモノクローナル抗体	Thermo Scientific Pierce	MA1-10597
Trail-R4	抗TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体4抗体	R&D systems	MAB633
EphA2	抗エフリンA受容体2抗体	Santa Cruz	sc101377
Trail-R2	抗TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体2抗体	Thermo scientific pierce	PA1-23497
STEAP1	抗前立腺の6回膜貫通型上皮アンチジーン1抗体	US Biological	S7500-02
PA2G4	抗増殖関連タンパク質2G4抗体	Sigma aldrich	SAB2101707
MMP7	抗マトリックスメタロプロテイナーゼ7抗体	Novus biologicals	NB300-1000
TMEM21 1	抗転移の腫瘍微小環境211抗体	Santa Cruz	sc86534
EZH2	抗ヒストンリジンNメチルトランスフェラーゼ抗体	Sigma aldrich	WH0002146M1

10

20

30

40

TROP2	抗ヒト栄養膜細胞表面抗体	Santa Cruz	sc103908
TMPRSS2	抗膜貫通プロテアーゼ, セリン2抗体	Abcam	ab92323
EZH2	抗ヒストン-リジンNメチルトランスフェラーゼ抗体	ABD serotec	MCA4898Z
PCSA	抗前立腺特異的抗体	Novus Biologicals	NB100-66506
CD44	抗表面抗原分類44抗体	Novus Biologicals	NBP1-04276
SCRN1	抗セリン-1抗体	Sigma-Aldrich	HPA024517
CD44	抗表面抗原分類44抗体	Thermo scientific pierce	MA1-19277
RUNX2	抗runx2関連転写因子2抗体	Sigma aldrich	WH0000860M1
CD1.1	抗サイクリンD1抗体	GTX26152	22995
EphA2	抗エフリンA受容体2抗体	Santa Cruz	sc135658
TWEAK	抗アポトーシスの腫瘍壊死因子様弱誘導因子	US biological	T9185-01
ALIX	抗アポトーシス関連遺伝子産物2相互作用タンパク質X抗体	US Biologicals	A1355-64
SERPINF3	抗セルピンパプチダーゼ阻害剤, クレドBメンバー3抗体	Sigma aldrich	WH0006317M1
ALIX	抗アポトーシス関連遺伝子産物2相互作用タンパク質X抗体	Thermo scientific pierce	MA1-83977
Trop2	抗ヒト栄養膜細胞表面抗体	Santa Cruz	sc80406
CDAC11a2	抗シチジンデアミナーゼ抗体	Sigma	WH0081602M1
FASL	抗ヒトFasリガンド抗体	US Biologicals	F0019-65B
BCA-225	抗乳癌抗原225抗体	US Biological	B0395-10B
EGFR	抗上皮細胞成長因子抗体	R&D	AF231
UNC93A	抗unc93ホモログA抗体	Santa Cruz	sc135539
FASL	抗ヒトFasリガンド抗体	US Biologicals	F0019-66V
ALA	抗血清アミロイドA抗体	abcam	ab18713
DR3	抗デスレセプター3(アポトーシス誘導)抗体	US Biological	D4012-01B
BRCA	抗乳癌遺伝子抗体	US Biological	B2708-06
L1CAM	抗L1細胞接着分子抗体	Genway	20-272-193053
UNC93A	抗unc93ホモログA抗体	Santa Cruz	sc135541
APC	抗大腸腺腫症抗体	US biological	A2298-70A
CRP	抗C反応性タンパク質抗体	US Biologicals	C7907-05A
CRP	抗C反応性タンパク質抗体	R&D systems	MAB17071
CA125 (MUC16)	抗炭水化物抗原125抗体	US Biological	C0050-01D
A33	抗糖タンパク質a33抗体	Santa Cruz	sc33014
MMG	抗マンマグロビン抗体	Santa Cruz	sc-48328
CD174 (ルイスy)	抗表面抗原分類174抗体	US Biological	L2056
DLL4	抗デルタ様タンパク質4抗体	Abcam	ab61031
a33 n15	抗糖タンパク質a33抗体	Santa Cruz	sc-33012
MUC1 seq11A	MUC1アプタマー-11_5'アミノ修飾	IDT	55403589
CD66e CEA	抗癌胎児抗原 (CEA, CD66e)	US biological	C1300-08
DLL4	抗デルタ様タンパク質4抗体	Cell signaling technology	2589

10

20

30

40

NPGP/NP FF2	抗神経ペプチドFF受容体2抗体	Santa Cruz	sc-46206
TIMP1	抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質1抗体	US Biological	T5580-08B
AURKB	抗Aurora Bkinase (セリン/スレオニン-プロテインキナーゼ6)抗体	Sigma Aldrich	WH0009212M3
CD24	抗表面抗原分類24抗体(熱安定抗原)	Santa Cruz	sc19585
TIMP1	抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質1抗体	R&D systems	MAB970
AURKB	抗Aurora Bkinase (セリン/スレオニン-プロテインキナーゼ6)抗体	Novus Biologicals	H00009212- M01A
SPDEF	抗SAMポインテッドドメイン含有ets転写因子抗体	Novus Biologicals	H00025803-M01
C-erbB2	抗c-erbB2抗体	BD Biosciences	610161
CD10	抗表面抗原分類10抗体(熱安定抗原)	BD Pharmingen	555373
AURKA	抗Aurora Aキナーゼ (セリン/スレオニン-プロテインキナーゼ6)抗体	US Biologicals	A4190-10D
BDNF us bio	抗脳由来神経栄養因子抗体	US Bio	B2700-02D
AURKA	抗Aurora Aキナーゼ (セリン/スレオニン-プロテインキナーゼ6)抗体	Thermo scientific pierce	MA1-34566
FRT c.f23	抗フェリチン抗体	Santa Cruz	sc-51887
FRT	抗フェリチン(重鎖)抗体	Santa Cruz	sc-51888
N-GAL	抗好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン抗体	Santa Cruz	sc18695
SPARC	抗分泌型タンパク質酸性抗体 富システイン抗体	R&D systems	MAB941
CD73	抗分泌型タンパク質酸性抗体 富システイン抗体	R&D systems	MAB5795
セプラーゼ	抗セプラーゼ抗体	R&D	MAB3715
NGAL	抗好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン抗体	Santa Cruz	sc50350
Epcam	抗上皮細胞接着分子抗体	R&D systems	MAB 9601
PDGFRB	抗血小板由来成長因子受容体, β , サブユニット抗体	Sigma Aldrich	WH0005159M8
CEA	抗癌胎児抗体	US Biological	C1300-01B
NGAL	抗好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン抗体	Santa Cruz	sc59622
GPR30	抗Gタンパク質受容体抗体	GeneTex	GTX100001
PDGFRB	抗血小板由来成長因子受容体, β , サブユニット抗体	R&D systems	MAB1263
MUC17	抗ムチン17, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc32600
CYFRA2 1-1	抗サイトケラチン19断片抗体	MedixMab	102221
C-Erb2	抗c-erbB2抗体	US biological	C00026-11NX
ASCA	抗サッカロマイセス・セレビシエ(saccharomyces cerevisiae)抗体	abcam	ab19731
ASCA	抗サッカロマイセス・セレビシエ(saccharomyces cerevisiae)抗体	abcam	ab19498
p53	抗腫瘍タンパク質53抗体	BioLegend	645802
OPN	抗オステオポンチン抗体	Santa Cruz	sc-21742
MAPK4	抗マイトジェン活性化プロテインキナーゼ4抗体	Sigma-Aldrich	WH0005596M2
C-Bir	抗フラジェリン抗体	abcam	ab93713
LDH	抗乳酸デヒドロゲナーゼ抗体	US Bio	L1011-12H

10

20

30

40

OPN	抗オステオポンチン抗体	Santa Cruz	sc-73631
ASPH (D01P)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (D01P)抗体	Novus	H00000444-D01P
HSP	抗熱ショックタンパク質抗体	US Bio	H1830-94G
OPN	抗オステオポンチン抗体 (OST zz09 santacruz sc-80262の代用品)	R&D systems	MAB14332
OPN	抗オステオポンチン抗体	Santa Cruz	sc-80262
ASPH (D03)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (D03)抗体	Novus	H00000444-D03
ASCA	抗サッカロマイセス・セレピシエ抗体	abcam	ab25813
CXCL12	抗ケモカイン(C-X-Cモチーフ)リガンド12抗体	Sigma Aldrich	WH0006387M1
ASPH (G-20)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (G-20)抗体	Santa Cruz	sc-33367
p53	抗腫瘍タンパク質53抗体	BioLegend	628202
MUC17	抗ムチン17, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc32602
OPN	抗オステオポンチン抗体	R&D	MAB1433
HBD 1	抗ヒトβデフェンシン1抗体	My biosource	MBS311954
CRMP-2	抗コラプシン応答メディエータータンパク質2抗体	AbD Serotec	AHP1255
Trop2	抗ヒト栄養膜細胞表面抗体	Santa Cruz	sc103909
OPN	抗オステオポンチン抗体	R&D	MAB14332
hVEGFR 2	抗血管内皮増殖因子受容体2抗体	R&D systems	MAB3572
p53	抗腫瘍タンパク質53抗体	BioLegend	645702
OPN	抗オステオポンチン抗体	R&D	MAB14331
ASPH (H-300)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (H-300)抗体	Santa Cruz	sc-66939
MUC2	抗ムチン2, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc15334
Muc2	抗ムチン2抗体	Santa Cruz	sc-15334
Ncam	抗hNCAM/CD56抗体	R&D	MAB2408
CXCL12	抗ケモカイン(C-X-Cモチーフ)リガンド12抗体	R&D systems	MAB350
CD10	抗表面抗原分類10抗体	Santa Cruz	sc19993
ASPH (A-10)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (A10)抗体	Santa Cruz	sc-271391
HAP	抗ハプトグロビン抗体	USBIO	H1820-05
CRP	抗C反応性タンパク質抗体	US Bio	C7907-05A
ASPH (666-680)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (666-680)抗体	Sigma-Aldrich	A7110
Gro-α	抗ヒトgroα抗体	GeneTex	GTX10376
ErbB4	抗ヒト上皮細胞成長因子受容体4抗体	US Biological	E3451-40F
Tsg 101	抗腫瘍感受性遺伝子101抗体	Santacruz	sc-101254
GDF15	抗増殖分化因子15抗体	Life span biosciences	LS-C89472
ASPH (246-260)	抗アスパルチル/アスパラギニルβ-ヒドロキシラーゼ (246-260)抗体	Sigma-Aldrich	A6985

10

20

30

40

【1338】

表48に示したように、入手可能性に応じて、および所望に応じて、単一の標的バイオマーカーに対する複数種の抗体を試験する。これにより、異なる表面エпитープを用いて、PCaの検出に望ましい性能を提供するのはどれであるのか決定するために小胞捕捉を評価することができる。

【1339】

50

実施例52: 多重アッセイを用いた結腸直腸癌(CRC)小胞の分析

本実施例では、結腸直腸癌患者またはCRCのない患者からの血漿試料(正常)を、実施例27において概説された一般的な手順に従って分析する。実施例49のプロトコールに従って血漿を調製し、実施例50と同様に多重解析を行う。表49の小胞表面抗原タンパク質に対する捕捉抗体を用いて、CRCを検出するバイオマーカーをスクリーニングした。

【1340】

(表49) CRC捕捉抗体

タンパク質 標的	抗体	ベンダー	カタログ番号
A33	抗ヒト糖タンパク質A33	Santa Cruz	sc50522, sc33014, sc33012
AFP	抗 α 胎児タンパク質抗体	Abcam	ab8201, ab54745
ALIX	抗アポトーシス関連遺伝子産物2 相互作用タンパク質X抗体	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-83977
		United States Biological	A1355-64
ALX4	抗アリストレス様ホモボックス4抗体		
ANCA	抗好中球細胞質抗体		
APC	抗大腸腺腫症抗体		
ASCA	抗サッカロマイセス・セレビシエ抗体	Abcam	ab19498, ab19731, ab25813
AURKA	抗Aurora Aキナーゼ (セリン/スレオニン-プロテインキナーゼ6)抗体	Thermo Scientific (Pierce)	MA1-34566
		United States Biological	A4190-10D
AURKB	抗Aurora Bキナーゼ (セリン/スレオニン-プロテインキナーゼ6)抗体	Novus Biologicals	H00009212-M01A
		Sigma-Aldrich	WH0009212M3
B7H3	抗表面抗原分類276抗体	BioLegend	135602, 135604
BANK1	抗B細胞足場タンパク質 アンキリンリピートあり1抗体	Abcam	ab93203
BCNP1	抗B細胞新規タンパク質1抗体	Abcam	ab59781
BDNF	抗脳由来神経栄養因子抗体	United States Biological	B2700-02D
CA-19-9	抗炭水化物19-9抗体	United States Biological	C0075-03
CCSA-2	抗結腸癌特異的2抗体		
CCSA-3および4	抗結腸癌特異的3, 4抗体		
CD10	抗表面抗原分類10抗体	BD Biosciences	555373
		Santa Cruz	sc19993
CD24	抗表面抗原分類24抗体	BD Biosciences	bd 555426
		Santa Cruz	sc19585
CD44	抗表面抗原分類44抗体	Novus Biologicals, LLC	NBP1-04276
		Thermo Scientific (Pierce)	MA1-19277
CD63	抗表面抗原分類63抗体	BD Biosciences	556019
CD66 CEA	抗癌胎児抗原(CFA)ファミリー(CD66)抗体	Santa Cruz	
CD66e CEA	抗癌胎児抗原(CEA, CD66e)	United States Biological	C1300-08
CD81	抗表面抗原分類81抗体	BD Biosciences	555675
CD9	抗表面抗原分類9抗体	R&D Systems	MAB1880

10

20

30

40

CDA	抗シチジンデアミナーゼ抗体	Abcam	ab35251
		Sigma-Aldrich	WH0081602M1
C-Erb2	抗c-erb2抗体	BD Biosciences	610161
		United States Biological	C00026-11N1
CRMP-2	抗コラプシン応答メディエータータンパク質2抗体	Abcam	ab75036
		AbD Serotec (Raleigh, NC)	AHP1255
CRP	抗C反応性タンパク質抗体	Abcam	ab13426, ab76434
		R&D Systems	MAB1707
		United States Biological	C7907-05A
CRTN	抗コントラクチン抗体		
CXCL12	抗ケモカイン(C-X-Cモチーフ)リガンド12抗体	R&D Systems	MAB350
		Sigma Aldrich	WH0006387M1
CYFRA21-1	CYFRA21-1	Medix Biochemica (Kauniainen, Finland)	102221
DcR3	抗デコイ受容体3抗体		
DLL4	抗デルタ様タンパク質4抗体	Abcam	ab61031
		Cell Signaling Technology, Inc.	2589
DR3	抗デスレセプター3 (アポトーシス誘導) 抗体	United States Biological	D4012-01B
		United States Biological	D4012-01B
EGFR	抗上皮細胞成長因子抗体	BD Biosciences	BD555996
		R&D Systems	AF231
Epcam	抗上皮細胞接着分子抗体	R&D Systems	MAB 9601
EphA2	抗エフリンA受容体抗体	Santa Cruz	sc924, sc10746, sc101377, sc135658
FASL	抗ヒトFasリガンド抗体	United States Biological	F0019-65B, F0019-66V
FRT	抗フェリチン抗体	Santa Cruz	sc51887, sc51888
GAL3	抗ガラクトース代謝調節因子3抗体	Santa Cruz	sc32790
GDF15	抗増殖分化因子15抗体	LifeSpan Biosciences	LS-C89472
GPCR GPR110	抗Gタンパク質共役受容体抗体	GeneTex	GTX70591
GPR30	抗GPR30抗体	Abcam	ab12563
GRO-1	抗ヒトgro α 抗体	Genetex Inc	GTX10376
HBD 1	抗ヒト β デフェンシン1抗体	MyBioSource, LLC	MBS311954
HBD2	抗ヒト β デフェンシン2抗体	MyBioSource	MBS311949
HNP1-3	抗ヒト好中球ペプチド1-3抗体		
IL-1B	抗インターロイキン1B抗体	Sigma-Aldrich Co.	WH0003553M1
		Thermo Scientific (Pierce)	OMA1-03331, MA1-24785
IL8	抗インターロイキン8抗体	GeneTex, Inc.	GTX18649, GTX18672
		Thermo Scientific (Pierce)	OMA1-03346
		United States Biological	I8430-06A
IMP3	抗インシュリン様成長因子II mRNA結合タンパク質3抗体		

10

20

30

40

LICAM	抗L1細胞接着分子抗体	GeneTex	GTX23200
		GenWay Biotech, Inc.	20-272-193053
LAMN	抗ラミニン抗体	United States Biological	L1225-20, L1225-25, L1225-21
MACC-1	抗結腸癌関連転移1抗体	ProSci Incorporated	5197
MGC20553	抗FERMドメイン含有3抗体		
MCP-1	抗単球化学誘引物質抗体	GeneTex	GTX18677, GTX18678
		Novus Biologicals	NBP1-42360
		Thermo Scientific (Pierce)	MA1-81750
M-CSF	抗マクロファージコロニー刺激因子抗体	R&D Systems	MAB616
MIC1	抗マクロファージ阻止サイトカイン抗体	United States Biological	M1199
MIF	抗マクロファージ遊走阻止因子抗体	GeneTex	GTX14575
		Sigma-Aldrich Co.	WH0004282M1
		Thermo Scientific (Pierce)	MA1-20881
MMP7	抗マトリックスメタロプロテイナーゼ7抗体	Novus Biologicals	NB300-1000
MMP9	抗マトリックスメタロプロテイナーゼ9抗体	Novus Biologicals	NBP1-28617
MS4A1	抗膜貫通4A1抗体	Sigma-Aldrich	WH0000931M1
MUC1	抗ムチン1, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc7313
MUC17	抗ムチン17, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc32600, sc32602
MUC2	抗ムチン2, 細胞表面結合タンパク質抗体	Santa Cruz	sc15334
Ncam	抗 Ncam	R&D Systems	MAB2408
NGAL	抗好中球ゼラチナーゼ関連リポカリン抗体	Santa Cruz	sc18695, sc32600, sc50350, sc59622
NNMT	抗ニコチンアミドN-メチルトランスフェラーゼ抗体		
OPN	抗オステオポンチン抗体	Santa Cruz	sc-21742, sc-73631, sc 80262
p53	抗 p53	BioLegend	628202, 645702, 645802
PCSA	抗前立腺細胞表面抗原	Millipore	MAB4089, RA1004150
PDGFRB	抗血小板由来成長因子受容体, β , サブユニット抗体	R&D Systems	MAB1263
		Sigma-Aldrich	WH0005159M8
PRL	抗プロラクチンモノクローナル抗体	Thermo Scientific Pierce	MA1-10597
PSMA	抗前立腺特異的膜抗原	BioLegend	342502
PSME3	抗プロテアソームアクチベーター複合体サブユニット3抗体	Abcam	ab91540, ab91542
Reg IV	抗再生島由来ファミリー, メンバー4抗体	Abcam	ab89917
SCRN1	抗セクリン-1抗体	Sigma-Aldrich	HPA024517
Sept-9	抗セプチン9抗体		
SPARC	抗Aurora Aキナーゼ (セリン/スレオニンプロテインキナーゼ6)抗体	R&D Systems	MAB941
		United States Biological	O8063-08
SPON2	抗(スポンジン2)細胞外マトリックスタンパク質抗体		

10

20

30

40

SPR	抗セプラーゼ (FAB) 抗体		
SRVN	抗腫瘍壊死因子- α 抗体	ProMab Biotechnologies, Inc.	Mab-2007128
		Sigma-Aldrich Co.	WH0000332M1
		United States Biological	S8500-03L
TFF3	抗トレフォイル因子3(腸)抗体	Sigma-Aldrich	WH0007033M1
TGM2	抗トランスグルタミナーゼ-2抗体	Sigma-Aldrich	WH0007052M10
TIMP-1	抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質1抗体	Sigma-Aldrich	WH0007076M1
TMEM211	抗転移の腫瘍微小環境211抗体	Santa Cruz	sc86534
TNF- α	抗腫瘍壊死因子- α 抗体	R&D Systems	MAB610
		Thermo Scientific (Pierce)	HYB 141-09-02, MA1-21386
TPA	抗組織ポリペプチド抗体		
TPS	抗組織ポリペプチド特異的抗体		
Trail-R2	抗TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体 2抗体	Thermo Scientific (Pierce)	PA1-23497
Trail-R4	抗TNF関連アポトーシス誘導リガンド受容体 4抗体	R&D systems	MAB633
TrKB	抗チロシンキナーゼB抗体	GeneTex	GTX10B41
TROP2	抗ヒト栄養膜細胞表面抗体	Santa Cruz Biotechnology, Inc.	sc80406, sc103908, sc103909
Tsg 101	抗腫瘍感受性遺伝子101抗体	Santa Cruz	sc-101254
TWEAK	抗アポトーシスの腫瘍壊死因子様弱誘導因子	United States Biological	T9185-01
UNC93A	抗 unc93a	Santa Cruz	sc135539, sc135541
VEGFA	抗血管内皮増殖因子抗体	United States Biological	V2110-16A

10

20

【 1 3 4 1 】

表49に示したように、入手可能性に応じて、および所望に応じて、単一の標的バイオマーカーに対する複数種の抗体を試験する。これにより、異なる表面エピトープを用いて、望ましい性能を提供するのはどれであるのかを決定するために、小胞捕捉を評価することができる。

30

【 1 3 4 2 】

図108Aは、正常と比較してCRCにおいて過剰発現している小胞バイオマーカーを検出した、数種類の捕捉バイオマーカーを用いて特定された小胞の変化倍率を示す。小胞の抗体捕捉を用いたCRC検出は、49例の正常、20例の交絡因子、および59例のCRCからなる128例の全試料を用いて行われた。交絡因子試料には、慢性関節リウマチ、喘息、糖尿病、膀胱細胞癌、腎細胞癌、および慢性憩室炎または急性憩室炎をもつ試料が含まれた。CRC試料のうち、16例は第I期であり、19例は第II期であり、24例は第III期であった。言及したように、リストの中の繰返し現われるマーカーは同じ抗原に対する異なる抗体である。図108Aは、小胞を捕捉および検出するために複数種のバイオマーカーに対する抗体を用いた正常試料とCRC試料の識別を示す。捕捉抗体をX軸に示し、検出抗体をY軸に示した。癌試料中で最大の増加を示した抗体には、CD66(CEA)、A33、EPhA2、TROP2、DR3、UNC93A、NGAL、およびMUC17に対する抗体が含まれた。以下の表50は、様々な捕捉抗体を用いて得られた感度および特異度を示す。

40

【 1 3 4 3 】

(表 5 0) 小胞の抗体捕捉を用いたCRC検出

マーカー	感度	特異度
DR3	82%	86%
STEAP	100%	71%
epha2	90%	83%
TMEM211	100%	84%
unc93A	86%	84%
A33	100%	75%
CD24	98%	77%
NGAL	94%	81%
EpCam	90%	62%
MUC17	86%	77%
TROP2	96%	80%
TETS	86%	80%

10

【1344】

図108Bは、説明文によって示されたように、Y軸がCRC試料および正常試料における蛍光強度中央値(MFI)を示す以外は類似する実験からの結果を示す。10例のCRC試料および10例の正常からなる次の試料セットを用いて、図108Bに示したように実験を繰り返した。結果を図108Cに示した。どちらの試料セットを用いても、癌と正常との間で最も過剰発現していると特定されたマーカーは似ていた。図108Dは、前記のマーカーの様々な組み合わせを用いて正常とCRCを区別する能力を示す。このプロットは、X軸およびY軸に指示されたマーカーのMFIを示す。CD24は結腸マーカーとして用いられ、TROP2は癌マーカーとして用いられ、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81は一般的小胞マーカーとして用いられた。

20

【1345】

最適な標的バイオマーカーを発見するために、1回の多重化実験で複数種の表面抗原のMFIをアッセイする能力を用いることができる。後のアッセイ開発のための新規のバイオマーカーを特定するために、同じ技法を様々な状況(例えば、異なる疾患、異なる癌、異なる標的バイオマーカー、診断、予後、セラノーシス等)において適用することができる。

【1346】

実施例53:TMEM211およびCD24を用いた結腸直腸癌(CRC)の検出

濃縮された微小胞血漿試料を、本明細書に記載のようにマイクロスフェアプラットフォーム上で測定した。様々な表面抗原に対する抗体をビーズに付着させ、微小胞を捕捉するのに使用した。いくつかの抗体は、CRC患者に由来する試料と正常患者に由来する試料との間で有意差を示した。捕捉された微小胞をCD9、CD63、および/またはCD81で標識した。本実施例では、試料からの小胞を、TMEM211および/またはCD24に対する捕捉抗体を用いて捕捉する(図109A~H)。実施例52において概説した方法に従ってアッセイを行う。

30

【1347】

CD24は、全てではないが大部分の主要造血系列の未熟細胞ならびに発達中のニューロン(Nedelec et al., 1992; Shirasawa et al., 1993; Rougon et al., 1991)、ならびに胚の腸、鼻、唾液腺、腎臓ラット上皮細胞(Shirasawa et al., 1993)、再生中の筋肉(Figarella-Branger et al., 1993)において発現している、グリコシルホスファチジルイノシトール結合タンパク質(Pierres et al., 1987; Kay et al., 1990; Alterman et al., 1990)である。CD24は、通常、最終分化段階に到達してしまった細胞にはない。CD24発現は強力に誘導され、次いで、T細胞およびB細胞の成熟中に再抑制される(Allman et al., 1992; Bruce et al., 1981; Crispe and Bevan, 1987; Hardy et al., 1991; Husmann et al., 1988; Linton et al., 1989; Symington and Hakamori, 1984; Takei et al., 1981)。赤血球は、高レベルのCD24発現を維持しているという点で例外である。CD24はまた、ケラチノサイト(Magnaldo and Barrandon, 1996)、表皮ランゲルハンス細胞(Enk and Katz, 1994)、および樹状細胞(Inaba et al., 1992; Ardavin and Shortman, 1992)においても発現している。CD24は小細胞肺癌上にある主要な表面抗原として発現する(Jackson et al., 1992)。これは様々な癌腫において発現している(Karran et al., 1995; Akashi et al., 1994; Weber et al., 1995)。

40

【1348】

50

Nielsen et al(1997)は、CD24を発現しないノックアウトマウスを作製した。これらのマウスは、T細胞および脊髄細胞の正常発生を特徴とするが、B細胞発達における漏出ブロック(leaky block)と骨髄における後期プレB細胞および未熟B細胞集団の減少を示す。末梢B細胞数は正常であり、これらのマウスの様々な免疫および感染のモデルにおいて免疫機能の機能低下は検出されない。これらのマウスからの赤血球は凝集する傾向が大きく、インビトロでは低浸透圧溶解に対する感受性が高く、インビボでは寿命が短い。

【1349】

Lu et al(2000)は、トランスジェニックマウスにおいてCD24をわずかに過剰発現させると骨髄中のBリンパ細胞が枯渇し、これは、プレB細胞のアポトーシスによる細胞死増加によって引き起こされている可能性があることを報告している。

10

【1350】

膜貫通タンパク質211(TMEM211)遺伝子は膜貫通タンパク質をコードする。mRNAには、4種類のスプライスバリエーションがある。TMEMは様々な種間で高度に保存されている。転写因子結合部位のプロモーター分析から、CdxAタンパク質のモチーフが豊富にあることが分かっている。ホメオボックスタンパク質CDX-1は、ヒトではCDX1遺伝子によってコードされるタンパク質である。この遺伝子は、caudal関連ホメオボックス転写因子遺伝子ファミリーのメンバーである。コードされるDNA結合タンパク質は腸特異的遺伝子発現および腸細胞分化を調節する。これは、腸アルカリホスファターゼ遺伝子の発現を誘導し、 β -カテニン/T細胞因子転写活性を阻害することが示されている。

20

【1351】

小胞の抗体捕捉を用いた結腸直腸検出を、58例の正常、30例の交絡因子、および59例のCRCからなる147例の全試料を用いて行った(図109C)。交絡因子試料には、表51の表に示したような状態のある試料が含まれた。

【1352】

(表51) 小胞CRC試験のための交絡因子試料

交絡因子	試料数
関節リウマチ	3
II型糖尿病、膀胱移行上皮癌	2
関節リウマチ、顕著な変形性関節症	2
糖尿病、腎明細胞癌	1
糖尿病、浸潤性乳管癌	1
糖尿病、腎細胞癌	1
慢性憩室症	9
肺癌	11

30

【1353】

バイオマーカーTMEM211およびCD24のROC分析を、図109Aおよび図109Bに図示した。CD24を用いたアッセイでは感度は92%であり、特異度は90%であった。捕捉抗体としてTMEM211を使用し、検出抗体としてCD9、CD63、CD81を用いて、前記の試料中のCRCを検出するために表52のデータが得られた。

40

【1354】

(表52) TMEM211を用いたCRC検出

真陽性	59
真陰性	58
偽陽性	11
偽陰性	0
合計	128
感度	特異度
100.00%	84.06%

【 1 3 5 5 】

次の検証的試験では、76例のCRC試料、80例の正常対照、および69例の交絡因子試料を含む225人の患者からなるコホートにおいて結腸直腸癌を検出するためにTMEM211を使用した。抗TMEM211は捕捉抗体として用いられ、検出抗体は抗CD9、抗CD63、および抗CD81からなった。交絡因子試料を表53に示した。

10

【 1 3 5 6 】

(表 5 3) 小胞CRC試験用の交絡因子試料

交絡因子	試料数
関節リウマチ	5
II型糖尿病、膀胱移行上皮癌	3
糖尿病、腎明細胞癌	2
浸潤性乳管癌	1
慢性憩室症	9
肺癌	49

20

【 1 3 5 7 】

次の試験の結果を図109D～Eに示した。図109Dは、TMEM211を用いた試料の平均蛍光強度(MFI)を示す。指示された閾値(水平バー)を用いて得られた結果を表54に示した。

【 1 3 5 8 】

(表 5 4) CRCを検出するためにTMEM211を用いて得られた結果

30

真陽性	73
真陰性	124
偽陽性	25
偽陰性	3
試料合計	225
感度	96%
特異度	83%

【 1 3 5 9 】

TMEM211を用いて評価された同じ試料のROC分析を図109Eに図示した。AUCは0.952であった。

40

【 1 3 6 0 】

正常対照、第I期CRC患者、第II期CRC患者、第III期CRC患者、および交絡因子からの血漿試料からなる患者コホートを用いて、追加の検証的試験を行った。前記のように、交絡因子試料は、慢性関節リウマチ;II型糖尿病および膀胱移行上皮癌;糖尿病および腎明細胞癌;糖尿病および浸潤性乳管癌;慢性憩室症;ならびに肺癌をもつ患者からの試料を含む、CRC以外の癌および他の疾患をもつ患者からのものであった。CRCを検出するための血漿微小胞アッセイの性能を表55に示した。

【 1 3 6 1 】

(表 5 5) CRCを検出するためのTMEM211およびCD24の性能

50

	TMEM	CD24	TMEMおよびCD24
交絡因子あり			
真陽性	73	72	72
真陰性	208	205	221
偽陽性	69	72	56
偽陰性	3	4	4
合計	353	353	353
感度	96%	95%	95%
特異度	75%	74%	80%
精度	80%	78%	83%
癌と憩室炎の交絡あり			
真陽性	73	72	72
真陰性	201	197	212
偽陽性	56	60	45
偽陰性	3	4	4
合計	333	333	333
感度	96%	95%	95%
特異度	78%	77%	82%
精度	82%	81%	85%
交絡因子なし			
真陽性	73	72	72
真陰性	135	129	139
偽陽性	18	24	14
偽陰性	3	4	4
合計	229	229	229
感度	96%	95%	95%
特異度	88%	84%	91%
精度	91%	88%	92%

10

20

【1362】

30

TMEM211およびCD24を用いた全ての試料の結果を図109Fに図示した。TMEM211およびCD24の組み合わせを用いて、この試験から、13例の第I期CRC癌のうち13例(100%感度)、23例の第II期CRC癌のうち22例(96%感度)、および40例の第III期CRC癌のうち37例(93%感度)が特定された。TMEM211およびCD24が様々なクラスを個々に区別した結果を、それぞれ、図109Gおよび図109Hに示した。

【1363】

実施例54: 結腸直腸癌細胞株におけるマイクロRNA過剰発現

TaqMan Low Density Array(TLDA)miRNAカードを用いて、CRC細胞株 対 正常小胞でのmiRNA発現を比較した。Applied Biosystems, Foster City, CAのTaqMan(登録商標)MicroRNA Assays and Arraysシステムを用いて、miRNAを収集および分析した。製造業者により供給されたMegaplex(商標)Pools Quick Reference Card プロトコールに従って、Applied Biosystems TaqMan(登録商標)Human MicroRNA Arraysを使用した。実施例17を参照されたい。

40

【1364】

図110は、結腸直腸癌(CRC)細胞株対正常小胞のTLDA miRNAカード比較を示す。細胞株には、LOVO、HT29、SW260、COLO205、HCT116、およびRKOが含まれる。プロットは、CRC細胞株では正常対照と比較して2~3倍の発現増加を示す。これらのmiRNAは黒色腫細胞において過剰発現していなかった。

【1365】

図110においてアッセイされた配列には、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-59

50

7、miR-429、miR-200a、およびmiR-200bが含まれる。

【1366】

実施例55: CRCを検出するためのマイクロRNA

12人のCRC患者および4人の対照患者から単離された小胞からマイクロRNA(miR)を得た。CRC細胞株において過剰発現していると特定されている2種類のmiR、miR92、およびmiR491について試料を分析した。図111Aから、CRC患者試料対正常においても高レベルのこれらのmiRが見出されたことが分かる。図111Bから、miR92およびmiR21は共に正常試料およびCRC試料の区別を改善することが分かる。図111Cは、miR92およびmiR21と多重化することができる、さらなるmiRの追加を示している。この図は、CRCを検出するためのmiR92、miR21、miR9、およびmiR491の多重化を示している。

10

【1367】

実施例56: CRC細胞株および患者試料におけるKRAS配列決定

KRAS RNAを、CRC細胞株に由来する小胞から単離し、配列決定した。RNAをcDNAに変換した後に、配列決定した。表56において列挙した細胞株において配列決定を行った。

【1368】

(表56) CRC細胞株およびKRAS配列

細胞株	DNAまたは小胞cDNA	KRAS遺伝子型エクソン2	KRAS遺伝子型エクソン3
Colo 205	小胞cDNA	野生型(WT)	WT
Colo 205	DNA	WT	WT
HCT 116	小胞cDNA	c.13G>GA	WT
HCT 116	DNA	c.13G>GA	WT
HT29	小胞cDNA	WT	WT
Lovo	小胞cDNA	c.13G>GA	WT
Lovo	DNA	c.13G>GA	WT
RKO	小胞cDNA	WT	WT
SW 620	小胞cDNA	c.12G>T	WT

20

30

【1369】

表56および図112から、細胞株に由来するゲノムDNAにおいて検出された突然変異は、細胞株に由来する小胞内に含まれるRNAにおいても検出されたことが分かる。図112は、HCT116細胞における、小胞mRNAに由来するcDNAの配列(図112A)およびゲノムDNAに由来するcDNAの配列(図112B)を示す。

【1370】

12例のCRC患者試料のKRASを配列決定した。表57に示したように、全て野生型(WT)であった。RNA抽出中に、全ての患者試料をDNase処理した。単離された小胞からRNAを抽出した。12人全員の患者のGAPDHが増幅されたことは、RNAが患者達の小胞に存在していたことを証明している。

40

【1371】

(表57) CRC患者試料およびKRAS配列

試料	試料の種類	ステージ	KRAS遺伝子型 エクソン2	KRAS遺伝子型 エクソン3
61473a6	結腸癌	1	WT	WT
62454a4	結腸癌	1	WT	WT
110681a4	結腸癌	1	WT	配列決定失敗
28836a7	結腸癌	1	WT	配列決定失敗
62025a2	結腸癌	2a	WT	WT
62015a4	結腸癌	2a	WT	WT
110638a3	結腸癌	2a	WT	WT
110775a3	結腸癌	2a	WT	WT
35512a5	結腸癌	3	WT	WT
73231a1	結腸癌	2a	WT	WT
85823a3	結腸癌	3b	WT	WT
23440a7	結腸癌	3c	WT	WT
145151A2/3	正常		WT	WT
139231A3	正常		WT	配列決定失敗
145155A4	正常		WT	配列決定失敗
145154A4	正常		WT	配列決定失敗

10

20

【 1 3 7 2 】

患者がKRAS 13G>A突然変異陽性だと分かっている患者試料において、CRC患者試料の腫瘍からのKRAS突然変異は同じ患者からの血漿由来小胞においても特定することができた。図112は、この患者における、血漿中の小胞mRNAに由来するcDNAの配列(図112C)を示し、新鮮凍結パラフィン包埋(FFPE)腫瘍試料に由来するゲノムDNAの配列(図112D)も示す。

【 1 3 7 3 】

実施例57: 小胞画分中のCRC miR

本実施例では、血清中のサイズ50~100nmの小胞(小さい小胞)画分およびサイズ100~1,000nmの小胞(大きい小胞)画分において見出されたmiRNAを比較した。

30

【 1 3 7 4 】

Bioo Scientific(Austin, Texas)のExomirキットを用いて、3例の1ml結腸直腸癌(CRC)患者血清試料からRNAを単離した。この方法では、大きい小胞部分および小さい小胞部分を分離するフィルタが用いられる。血清を遠心機において回転させた後に、単離して細胞破片を除去した。

【 1 3 7 5 】

40ngのRNAをRT-PCR反応に添加し、Exiqon miRCURY LNA(商標)Universal RT microRNA PCR Human Panels I and II(Exiqon, Inc, Woburn, MA)を用いて、742種類のmiRの相対発現を評価した。GeneSpring GX 11.0(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)を使用し、製造業者のプロトコールに従って、結果を基準化および分析した。各試料の測定値をプレート間キャリブレーターおよびRT-PCRキャリブレーターに対して基準化し、対応のあるt検定を用いて、大きい小胞-小さい小胞 対標本を比較した。未補正p値0.05における統計的有意性が判定された。5種類のmiRが有意に異なって発現していることを見出された。表58を参照されたい。

40

【 1 3 7 6 】

(表58) 対標本から単離された大きい小胞集団および小さい小胞集団におけるmiRレベル

miR検出体	p値	大きな小胞における制御 対 小さな小胞における制御	変化倍率
hsa-miR-376c	0.0067	上方	56.4
hsa-miR-652	0.0015	上方	287.8
hsa-miR-221*	0.049	下方	42.1
hsa-miR-215	0.019	下方	46.0
hsa-miR-324-5p	0.028	上方	36.2

【1377】

変化倍率の比較によって、大きい小胞と小さい小胞との間で2倍超の差があった361種類のmiRが特定された。大きい小胞において検出されたが、小さい小胞において検出されなかったmiRは8種類あり、小さい小胞しか検出されず、大きい小胞において検出されなかったmiRは3種類であった。表59を参照されたい。

【1378】

(表59) 対標本から単離された大きい小胞集団および小さい小胞集団におけるmiRレベル

大きな小胞のみで検出	小さな小胞のみで検出
hsa-miR-376c	hsa-miR-215
hsa-miR-652	hsa-miR-582-5p
hsa-miR-324-5p	hsa-miR-1296
hsa-miR-28-5p	
hsa-miR-190	
hsa-miR-590-5p	
hsa-miR-202	
hsa-miR-195	

【1379】

これらのデータから、試料中の大きい小胞および小さい小胞のmiRNA含有量は似ていたが、必ずしも同一とは限らないことが明らかになった。このような差異を用いて、診断検査を最適化することができる。

【1380】

実施例58:CRCマーカーの組み合わせ

本実施例では、前記の実施例52に記載のようにアッセイを行った。試料セットは462例の試料からなり、256例の試料は、生検によって確認されたCRCをもつ個人に由来し、206例の試料は正常であった(これらの目的のために、CRCのない個人と規定された)。256例の癌試料には、12例の病期分類なしの試料、57例の第I期、103例の第II期、78例の第III期、および6例の第IV期が含まれた。正常試料は、年齢範囲が一致する、自己申告した、疾患のない個人である。指示された小胞表面抗原MUC1、GPCR110、TMEM211、およびCD24に対する抗体をビーズに付着させ、血漿試料中の微小胞を捕捉するのに使用した。ビーズによって捕捉された微小胞を、PEで標識されたCD9、CD63、CD81で標識し、結合小胞の蛍光を決定した。マーカーの蛍光強度を用いて、CRC対正常として試料を分類した。

【1381】

ヒト遺伝子オントロジー(HUGO)データベースにおいて、GPCR110は承認名Gタンパク質共役受容体110または承認記号GPR110とも呼ばれる。www.genenames.org/data/hgnc_data.php?hgnc_id=18990を参照されたい。2種類のオルターナティブトランスクリプト(alternative transcript)がREFSEQタンパク質NP_079324.2およびNP_722582.2として特定されている。GRP110遺伝子は細胞膜タンパク質をコードする。

【1382】

MUC1のHUGO承認名はムチン1、細胞表面結合型である。www.genenames.org/data/hgnc_data.php?hgnc_id=7508を参照されたい。7種類のオルターナティブトランスクリプトがREFSEQタンパク質NP_001018016.1、NP_001018017.1、NP_001037855.1、NP_001037856.1、NP_

10

20

30

40

50

001037857.1、NP_001037858.1、およびNP_002447.4として特定されている。MUC1遺伝子はムチンファミリーのメンバーであり、細胞接着において役割を果たす膜結合型グリコシル化ホスホプロテインをコードする。

【1383】

MUC1、GPCR110、TMEM211、およびCD24は、CRCおよび正常血漿中の微小胞を検出するための捕捉抗体として用いられた。CD9、CD63、およびCD81を用いて述べられたように捕捉小胞を標識した。癌患者を正常から最適に分離するための蛍光強度中央値(MFI)カットオフ閾値を決定した。試料中のマーカーが上昇していれば、試料は結腸直腸癌(CRC)陽性とみなされた。それぞれの個々のマーカーの診断性能を表60に示した。

【1384】

(表60) 個々のマーカーを対象にしたCRC対正常の血漿試料中微小胞のMFI

	Muc1	GPCR 110	TMEM211	CD24
真陽性	232	225	235	212
真陰性	162	168	151	182
偽陽性	44	38	55	26
偽陰性	24	31	21	46
合計	462			
感度	90.63%	87.89%	91.80%	82.17%
特異度	78.64%	81.55%	73.30%	87.50%
精度	85.28%	85.06%	83.55%	84.55%
MFIカットオフ	390	360	200	600

【1385】

様々なマーカーの組み合わせを用いたCRC検出を表61～63に示した。表63では、論理和の中にあるマーカーのいずれか(すなわち「または」)が陽性であれば、試料は結腸直腸癌(CRC)陽性とみなされた。一例として、「Muc1&GPCR&(TMEMまたはCD24)」は、Muc1が陽性、GPCR(すなわちGPCR110)が陽性、TMEM(すなわちTMEM211)またはCD24のいずれかが陽性であれば、陽性とみなされた。表60の結果と表61～63の結果を比較することによって、単一マーカーはCRCおよび正常試料を極めて正確に分離できるが、場合によっては、複数種のマーカーを用いるとCRC検出を改善できることが観察された。

【1386】

(表61) 2種類のマーカーの組み合わせを対象にしたCRC対正常の血漿試料中微小胞のMFI

	Muc1	Muc1	Muc1	GPCR	GPCR	TMEM
	GPCR	TMEM	CD24	TMEM	CD24	CD24
真陽性	223	232	211	224	210	212
真陰性	171	171	181	174	182	183
偽陽性	35	35	25	32	24	25
偽陰性	33	24	45	32	46	46
合計	462	462	462	462	462	466
感度	87.11%	90.63%	82.42%	87.50%	82.03%	82.17%
特異度	83.01%	83.01%	87.86%	84.47%	88.35%	87.98%
精度	85.28%	87.23%	84.85%	86.15%	84.85%	84.76%

【1387】

(表62) 複数種のマーカーの組み合わせを対象にしたCRC対正常の血漿試料中微小胞のMFI

	Muc1	Muc1	Muc1	GPCR	4種全て
	GPCR	GPCR	TMEM	TMEM	
	TMEM	CD24	CD24	CD24	
真陽性	223	211	211	211	211
真陰性	174	182	182	183	183
偽陽性	32	24	24	25	25
偽陰性	33	45	45	47	47
合計	462	462	462	466	466
感度	87.11%	82.42%	82.42%	81.78%	81.78%
特異度	84.47%	88.35%	88.35%	87.98%	87.98%
精度	85.93%	85.06%	85.06%	84.55%	84.55%

【1388】

(表63) 複数種のマーカーの組み合わせを対象にしたCRC 対 正常の血漿試料中微小胞のMFI

	Muc1 および GPCR および (TMEM またはCD24)	TMEM および Muc1 および (GPCR またはCD24)	GPCR および TMEM および (Muc1 またはCD24)	Muc1 および (GPCR または TMEM) およびCD24	GPCR および (Muc1 または TMEM) およびCD24	(Muc1 または GPCR) および TMEM およびCD24
真陽性	223	224	223	211	210	212
真陰性	174	174	174	182	182	183
偽陽性	32	32	32	24	24	25
偽陰性	33	32	33	45	46	46
合計	462	462	462	462	462	466
感度	87.11%	87.50%	87.11%	82.42%	82.03%	82.17%
特異度	84.47%	84.47%	84.47%	88.35%	88.35%	87.98%
精度	85.93%	86.15%	85.93%	85.06%	84.85%	84.76%

【1389】

図113は、CRC血漿および正常血漿中の微小胞を検出するための捕捉抗体としてTMEM211およびMUC1が用いられたプロットを示す。CD9、CD63、およびCD81を用いて述べられたように、捕捉小胞を標識した。癌患者を正常から最適に分離するための蛍光強度中央値(MFI)カットオフ閾値を決定した。試料中の両マーカーが上昇していれば、試料は結腸直腸癌(CRC)陽性とみなされた。それぞれの個々のマーカーならびにTMEM211およびMUC1の組み合わせの診断性能を前記の表60および表61に示した。

【1390】

実施例59: 乳癌(BCa)の小胞バイオシグネチャー

関心対象の多くの抗原に対する抗体をビーズに繫留し、実施例49～50の方法に従って、10人の乳癌対象または10人の正常(すなわち、乳癌なし)からの血液試料中の小胞を捕捉するために使用した。捕捉抗体は、本実施例に記載の小胞抗原に対して作られた。ビーズに捕捉された小胞を、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識抗体を用いて検出した。レーザー検出を用いて、捕捉および標識された小胞の蛍光強度中央値(MFI)を測定した。

【1391】

捕捉抗体パネルを用いて分析を行った。以下の小胞抗原:CD9、HSP70、Gal3、MIS、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4、CD81、ERB3、VEGF、BCA225、BRCA、CA125、CD174、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、CD31、cMET、MUC2、およびERB4に対する以下の捕捉抗体を用いて分析が行われた時に、乳癌血漿と正常血漿との間で検出小胞のMFIには有意差があった。

10

20

30

40

50

【1392】

10例の乳癌試料および10例の正常試料ならびに追加の捕捉抗体を用いて、追加実験を行った。図114Aは、乳癌において発現している、指示されたバイオマーカーの正常値を上回る変化倍率を示したグラフを示す。マーカーには、左から右に向かって、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1(CD54)、PSMA、A33、DR3、CD66e、MFG-8e、EphA2、ヘプシン、TMEM211、EphA2、TROP-2、EGFR、マンマグロビン、ヘプシン、NPGP/NPFF2、PSCA、5T4、NGAL、NK-2、EpCam、NGAL、NK-1R、PSMA、5T4、PAI-1、およびCD45が含まれる。同じ抗原の複数のバーは、異なるエピトープを認識することができる異なる捕捉抗体の使用を示している。

【1393】

図114Bは、乳癌細胞株MCF7、T47D、およびMDAに由来する小胞中で検出された様々なバイオマーカーのレベルを示す。T47DおよびMDAは転移性細胞株である。乳癌細胞株において観察された抗原には、CD9、MIS Rii、ER、CD63、MUC1、HER3、STAT3、VEGFA、BCA、CA125、CD24、EPCAM、およびERB B4が含まれる。

【1394】

乳癌のバイオシグネチャーを作り出し、さらなるバイオシグネチャーに最適な標的バイオマーカーを発見するために、1回の多重化実験において複数種の小胞バイオマーカーをアッセイする能力を用いることができる。後のアッセイ開発のための新規のバイオマーカーを特定するために、同じ技法を様々な状況(例えば、異なる疾患、異なる癌、異なる標的バイオマーカー、診断、予後、セラノーシスなど)において適用することができる。

【1395】

実施例60: 多重アッセイを用いた乳癌(BCa)小胞の分析

本実施例では、実施例27において概説された一般的な手順に従って、乳癌(BCa)患者またはBCaのない患者(正常)からの血漿試料を分析する。実施例49のプロトコールに従って血漿を調製し、実施例50と同様に多重解析を行う。表64の小胞表面抗原タンパク質に対する捕捉抗体を用いて、BCaを検出するバイオマーカーをスクリーニングした。

【1396】

(表64) BCa捕捉抗体

抗体標的	抗体	ベンダー	カタログ番号
PGP9.5	クローン3D9	Genway	20-002-35062
CD9	209306	R&D	MAB1880
HSP70	W27	Biolegend	648002
gal3-b2c10	B2C10	Santa Cruz	sc-32790
EGFR	EGFR.1	BD Biosciences	555996
iC3b	013III-1.16	Thermo	MA1-82814
PSMA	LNI-17	Biolegend	342502B
PCSA	5E10	MILLIPORE	MAB4089
CD63	H5C6	BD	556019

MUC1 c.Vu4H5	VU4H5	Santa Cruz	sc-7313
DLL4	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-18639
CD81	JS-81	BD	555675
B7-H3	MIH35	BioLegend	135604
HER 3 (ErbB3)	ポリクローナル	US Biological	E3451-36A
MART-1	0.N.396	US Biological	M2410
PSA	181811	R&D	MAB13442
VEGF A	5J63	US Biological	V2110-05D
TIMP-1, 4d12	4D12	Sigma-Aldrich	WH0007076M1
GPCR GPR110	ポリクローナル	GeneTex	GTX70591
EphA2 (H-77)	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-10746
MMP9 c.SB15C	SB15c	Novus Biologicals	NBP1-28617
mmp7	ポリクローナル	Novus	NB300-1000
TMEM211 c.c15	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-86534
UNC93a c.c13	ポリクローナル	Santa Cruz	sc135539
BRCA	1.A.26	US Biological	B2708-06
CA125 (MUC16)	8J453	US Biological	C0050-01D
マンマグロビン	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-48328
CD174 (ルイスy)	8.S.289	US Biological	L2056
CD66e CEA (ポリ)	ポリクローナル	US biological	C1300-08
CD24 c.sn3	SN3	Santa Cruz	sc-19585
C-erbB2	42/c-erbB2-2	BD	610161
CD10	HI10a	BD	555373
NGAL c.h130	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-50350
epcam	158206	R&D	MAB9601
CEA (癌胎児抗原)	8J503	US Biological	C1300-01B
GPR30	ポリクローナル	GeneTex	GTX100001
CYFRA21-1	1603	MedixMab	102221
OPN c.lfmb-14	LFMb-14	Santa Cruz	sc-73631
ASPH (D01P)	ポリクローナル	Novus	H00000444-D01P
ASPH (D03)	ポリクローナル	Novus	H00000444-D03
ASPH (G-20)	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-33367
MUC17 c.c19	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-32602
hVEGFR2	89106	R&D	MAB3572
p53 c.do-1	DO-1	BioLegend	645702
ASPH (H-300)	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-66939
MUC2 c.h-300	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-15334
NCAM	301040	R&D	MAB2408
ASPH (A-10)	A-10	Santa Cruz	sc-271391
ASPH (AB2)	ポリクローナル	Sigma-Aldrich	AV51357
ASPH	ポリクローナル	Sigma-Aldrich	AV51356

10

20

30

40

ASPH (666-680)	ポリクローナル	Sigma-Aldrich	A7110
ErbB4	ポリクローナル	US Biological	E3451-40F
ASPH (246-260)	ポリクローナル	Sigma-Aldrich	A6985
SPB	2Q2279	US Biological	S8401-02
SPC	ポリクローナル	US Biological	U2575-03
CD9	209306	R&D	MAB1880
MS4A1 5c11	5C11	Sigma	WH0000931M1
EphA2 c.20	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-924
MIS RII		R&D	AF4749
HER2 (ErbB2)	191924	R&D	MAB1129
ER	5G106	US Biological	E3564-89
PR (B)	H5344	R&D	PP-H5344-00
MRP8	8L802	US Biological	M4688-36A
CD63	H5C6	BD	556019
B7H4	ポリクローナル	US Biological	B0000-35A
TGM2 c.2F4	2F4	Sigma-Aldrich	WH0007052M10
CD81	JS-81	BD	555675
DR3	ポリクローナル	US Bio	D4012-01B
STAT 3	ポリクローナル	US Biological	S7971-01M
MACC-1 (ポリ)	ポリクローナル	ProSci Inc	5197
TrKB (ポリ)	ポリクローナル	Novus biologicals	NB100-92063
IL 6 Unc	8H12	Invitrogen	AHC0762
OPG - 13	OPG-13	Biovendor	RD182003110-13
IL6R	2G6	Sigma	WH0003570M1
EZH2	2C3	ABD serotec	MCA4898Z
SCRN1	ポリクローナル	Sigma	HPA024517
TWEAK	ポリクローナル	US biological	T9185-01
SERPINB3	2F5	Sigma	WH0006317M1
CDAC1 1a2	1A2	Sigma	WH0081602M1
BCA-225	BRST-1	US Biological	B0395-10B
DR3	ポリクローナル	US Biological	D4012-01B
a33 n15 sc33012	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-33012
NPGP/NPFF2	ポリクローナル	Santa Cruz	sc-46206
TIMP1 ポリ us bio	ポリクローナル	US Biological	T5580-08B
BDNF us bio	ポリクローナル	US Bio	B2700-02D
FRT c.f23	F23	Santa Cruz	sc-51887
フェリチン重鎖	F31	Santa Cruz	sc-51888
セプラーゼ R&D	427819	R&D	MAB3715
p53 クローン do-7	DO-7	BioLegend	645802
ost akm2a1	AKm2A1	Santa Cruz	sc-21742
LDH	ポリクローナル	US Bio	L1011-12H
HSP	8L126	US Bio	H1830-94G
ost zz09	ZZ09	Santa Cruz	sc-80262
p53 クローン BP53-12	BP53-12	BioLegend	628202

10

20

30

40

CXCL12	79014	R&D	MAB310
HAP	1.C.1	USBIO	H1820-05
CRP	3H109	US Bio	C7907-05A
Gro- α	ポリクローナル	GeneTex	GTX10376
Tsg 101 c.Y16J	Y16J	Santa Cruz	sc101254
GDF15		LIFESPAN BIOSC.	LS-C89472
YB-1			

【1397】

10

表64に示したように、入手可能性に応じて、および所望に応じて、単一の標的バイオマーカーに対する複数種の抗体を試験する。これにより、異なる表面エピトープを用いて、BCaの検出に望ましい性能を提供するのはどれであるのかを決定するために、小胞捕捉を評価することができる。

【1398】

実施例61:肺癌(LCa)に対する小胞バイオシグネチャー

実施例49～50において概説されている方法論を用いて、関心対象の多数の抗原に対する抗体をビーズにつなぎ、肺癌を有する対象、正常な対照（すなわち、肺癌ではない）、または他の疾患を有する対象由来の血漿試料中の小胞を捕捉するために用いた。捕捉抗体を、本実施例に記載されている小胞抗原に対するものであった。ビーズで捕捉された小胞を、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識抗体で検出した。捕捉および標識された小胞の蛍光強度中央値（MFI）を、レーザー検出を用いて測定した。

20

【1399】

実験の第一セットでは、上記の方法論に従って、表65に示される10例の正常な対照試料、10例の肺癌ではない試料、および10例の肺癌試料由来の血漿試料中の小胞を検出した。

【1400】

（表65）試料

診断	病期
正常な対照－男性	NA
正常な対照－男性	NA
正常な対照－男性	NA
正常な対照－男性	NA
正常な対照－男性	NA
正常な対照－女性	NA
正常な対照－女性	NA
正常な対照－女性	NA
正常な対照－女性	NA
正常な対照－女性	NA
類内膜腺癌	病期分類なし
類内膜腺癌	病期分類なし
浸潤性乳管内癌	病期分類なし
リンパ節の転移性癌（乳房から）	病期分類なし
リンパ節の転移性癌（乳房から）	病期分類なし
腎臓の腎細胞癌	病期分類なし
腎臓の腎細胞癌	病期分類なし
腎臓の腎細胞癌	病期分類なし
卵巣の硬化性間質性腫瘍	病期分類なし
卵巣の漿液性乳頭状嚢胞腺腫	病期分類なし
肺の細気管支肺癌	IA
肺の大細胞癌	IIA
肺の扁平上皮癌腫	IIA
肺の扁平上皮癌腫	IA
肺の扁平上皮癌腫	IIA
肺の管状腺癌	IB
肺の大細胞癌	IIB
肺の腺癌	IIB
肺の腺癌	IIIA
肺の腺癌	IB

10

20

30

【1401】

ビーズに結合させた捕捉抗体を用いる図115Aおよび図115Bに挙げた抗原に対する抗体を用いて、試料中の小胞を捕捉した。左から右に、図中の抗原はSPB、SPC、TFF3、PGP9.5、CD9、MS4A1、NDUFB7、Ca13、iC3b、CD63、MUC1、TGM2、CD81、B7H3、DR3、MACC1、TrkB、TIMP1、GPCR（GPR110）、MMP9、MMP7、TMEM211、TWEAK、CDADC1、UNC93、APC、A33、CD66e、TIMP1、CD24、ErbB2、CD10、BDNF、フェリチン、フェリチン、セプラーゼ、NGAL、EpCam、ErbB2、オステオポンチン（OPN）、LDH、OPN、HSP70、OPN、OPN、OPN、OPN、MUC2、NCAM、CXCL12、ハプトグロビン（HAP）、CRP、およびGro- α である。同じ抗原、例えばErbB2、フェリチン、およびオステオポンチンが複数回示されている箇所では、異なる捕捉抗体が用いられている。異なる抗体は、同じバイオマーカーの異なるエピトープを認識し得る。

40

【1402】

捕捉された小胞を、CD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識抗体を用いて検出した。図115Bにおいて、検出された蛍光レベル中央値（MFI）をY軸に示す。正常対肺癌試料、または正常対肺癌ではない試料における蛍光の比を、図115Aに示す。図115Cは、肺癌患者および正常対照由来の試料におけるEPHA2（i）、CD24（ii）、EGFR（iii）、およびCEA（iv）

50

）のMFIを示している。

【1403】

濃縮した、肺癌患者および正常患者由来の微小胞血漿試料を、実施例49～50記載のとおり採取および解析した。小胞表面抗原に対する31種類の捕捉抗体について、69人の患者をスクリーニングした。図115Dは、X軸に沿って示された捕捉抗体を示し、Y軸が肺癌試料および正常試料に対する蛍光強度平均値（MFI）であるグラフを示している。捕捉された小胞を、CD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識抗体を用いて検出した。左から右に、図中の抗原は:SPB、SPC、NSE、PGP9.5、CD9、P2RX7、NDUFB7、NSE、Gal3、オステオポンチン、CHI3L1、EGFR、B7H3、iC3b、MUC1、メソテリン、SPA、TPA、PCSA、CD63、AQP5、DLL4、CD81、DR3、PSMA、GPCR 110（GPR110）、EPHA2、CEACAM、PTP、CABYR、TMEM211、ADA M28、UNC93a、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびMUC2である。肺癌と正常な試料とを最も識別し得る抗原には、SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、Gal3、iC3b、MUC1、GPCR 110、CABYR、およびMUC17が含まれる。

【1404】

関連実験の別のセットでは、115例の肺および78例の正常な試料において、異なるが一部重複している小胞表面バイオマーカー群のレベルを評価した。肺癌試料のうち、35例がI期、53例がII期、および27例がIII期の肺癌であった。上記のように、示された表面抗原に対する捕捉抗体を用いて、コホート由来の血漿試料中の小胞を捕捉し、捕捉された小胞をCD9、CD63、およびCD81に対する標識された検出抗体で検出した。結果を表66および図115Eに示す。左から右に、図115E中の抗原は:CD9、CD63、CD81、B7H3、PRO GRP、CYTO 18、FTH1、TGM2、CENPH、アネキシンI、アネキシンV、ERB2、EGFR、CRP、VEGF、CYTO 19、CCL2、オステオポンチン（OST19）、オステオポンチン（OST22）、BTUB、CD45、TIMP、NAC C1、MMP9、BRCA1、P27、NSE、M2PK、HCG、MUC1、CEA、CEACAM、CYTO 7、EPCAM、MS4A1、MUC1、MUC2、PGP9、SPA、SPA、SPD、P53、GPCR（GPR110）、SFTPC、UNCR2、NSE、INGA3、INTG b4、MMP1、PNT、RACK1、NAP2、HLA、BMP2、PTH1R、PAN ADH、NCAM、CD151、CKS1、FSHR、HIF、KRAS、LAMP2、SNAIL、TRIM29、TSPAN1、TWIST1、ASPH、およびAURKBである。表66は、癌と癌ではない試料の識別に関する正確性によってマーカーをランク付けしている。表中に示されたように、試料の品質などの理由により、すべてのマーカーをすべての試料に作用させたわけではない。

【1405】

（表66）肺癌に対するマーカーパネルの結果

マーカー	試料の サイズ	感度	特異度	精度	真陽性	真陰性	偽陽性	偽陰性
NSE	117	57.38	96.43	76.07	35	54	2	26
TRIM29	46	58.62	100	73.91	17	17	0	12
CD63	76	74.07	68.18	72.37	40	15	7	14
CD151	47	70	76.47	72.34	21	13	4	9
ASPH	47	60	94.12	72.34	18	16	1	12
LAMP2	47	56.67	100	72.34	17	17	0	13
TSPAN1	47	56.67	100	72.34	17	17	0	13
SNAIL	46	58.62	94.12	71.74	17	16	1	12
CD45	164	50.55	95.89	70.73	46	70	3	45

CKS1	47	53.33	100	70.21	16	17	0	14
NSE	77	43.9	100	70.13	18	36	0	23
FSHR	46	51.72	100	69.57	15	17	0	14
OPN	193	54.78	91.03	69.43	63	71	7	52
FTH1	193	52.17	94.87	69.43	60	74	4	55
PGP9	193	51.3	96.15	69.43	59	75	3	56
アネキシン 1	193	50.43	97.44	69.43	58	76	2	57
SPD	193	48.7	98.72	68.91	56	77	1	59
CD81	112	49.18	92.16	68.75	30	47	4	31
EPCAM	188	52.17	94.52	68.62	60	69	4	55
PTH1R	95	55.56	93.75	68.42	35	30	2	28
CEA	193	47.83	98.72	68.39	55	77	1	60
CYTO 7	193	47.83	98.72	68.39	55	77	1	60
CCL2	164	42.86	100	68.29	39	73	0	52
SPA	192	47.37	98.72	68.23	54	77	1	60
KRAS	47	50	100	68.09	15	17	0	15
TWIST1	47	50	100	68.09	15	17	0	15
AURKB	47	50	100	68.09	15	17	0	15
MMP9	191	47.79	97.44	68.06	54	76	2	59
P27	169	56.31	86.36	68.05	58	57	9	45
MMP1	172	49.04	97.06	68.02	51	66	2	53
HLA	96	53.12	96.88	67.71	34	31	1	30
HIF	46	48.28	100	67.39	14	17	0	15
CEACAM	193	51.3	91.03	67.36	59	71	7	56
CENPH	193	46.09	98.72	67.36	53	77	1	62
BTUB	193	46.09	98.72	67.36	53	77	1	62
INTG b4	172	45.19	100	66.86	47	68	0	57
EGFR	193	46.09	97.44	66.84	53	76	2	62
NACC1	193	45.22	98.72	66.84	52	77	1	63
CYTO 18	193	44.35	100	66.84	51	78	0	64
NAP2	96	50	100	66.67	32	32	0	32
CYTO 19	192	45.61	97.44	66.67	52	76	2	62
アネキシン V	192	44.74	97.44	66.15	51	76	2	63
TGM2	193	45.22	96.15	65.8	52	75	3	63
ERB2	193	43.48	98.72	65.8	50	77	1	65
BRCA1	193	43.48	98.72	65.8	50	77	1	65
B7H3	146	41.18	100	65.75	35	61	0	50
SFTPC	172	43.27	100	65.7	45	68	0	59
PNT	172	43.27	100	65.7	45	68	0	59
NCAM	96	48.44	100	65.62	31	32	0	33
MS4A1	192	42.98	98.72	65.62	49	77	1	65
P53	173	42.86	100	65.32	45	68	0	60
INGA3	173	42.86	100	65.32	45	68	0	60
MUC2	193	46.09	93.59	65.28	53	73	5	62
SPA	193	43.48	97.44	65.28	50	76	2	65
OPN	193	42.61	98.72	65.28	49	77	1	66
CD63	112	45.9	88.24	65.18	28	45	6	33
CD9	112	36.07	100	65.18	22	51	0	39
MUC1	192	41.23	100	65.1	47	78	0	67
UNCR3	173	42.86	98.53	64.74	45	67	1	60
PAN ADH	96	48.44	96.88	64.58	31	31	1	33
HCG	96	46.88	100	64.58	30	32	0	34
TIMP	193	41.74	97.44	64.25	48	76	2	67
PSMA	103	41.27	100	64.08	26	40	0	37
GPCR	173	40	100	63.58	42	68	0	63
RACK1	96	45.31	100	63.54	29	32	0	35

10

20

30

40

PCSA	167	40.59	98.48	63.47	41	65	1	60
VEGF	193	37.39	100	62.69	43	78	0	72
BMP2	96	45.31	96.88	62.5	29	31	1	35
CD81	76	50	90.91	61.84	27	20	2	27
CRP	193	38.26	94.87	61.14	44	74	4	71
PRO GRP	193	33.04	98.72	59.59	38	77	1	77
B7H3	76	44.44	95.45	59.21	24	21	1	30
MUC1	92	33.33	100	56.52	20	32	0	40
M2PK	188	27.93	94.81	55.32	31	73	4	80
CD9	76	38.89	90.91	53.95	21	20	2	33
PCSA	29	62.5	0	51.72	15	0	5	9
PSMA	76	24.07	95.45	44.74	13	21	1	41

10

【1406】

さらに、試験成績、すなわち、感度、特異度、および精度を改善するために、表66および図121Eに示したマーカーのデータを用いて複数のマーカーパネルを構築した。表67および図121Fは、PRO GRP、MMP9、およびCENPHのパネルを用いて得られた結果を示す。図121Fは、癌(白四角)と非癌試料(黒三角)との区別を示す3次元プロットである。表67に示したように、このマーカー組み合わせは、任意の個々のマーカーと比較して高い特異度(85%)を維持しながら感度を改善することができた。

【1407】

(表67) 肺癌に対する3マーカー組み合わせパネルの結果

20

	PRO GRP	MMP9	CENPH	3種類全て
真陽性	28	44	37	37
真陰性	48	40	45	35
偽陽性	3	11	6	6
偽陰性	33	17	24	8
感度	46%	72%	61%	82%
特異度	94%	78%	88%	85%

30

【1408】

1回の多重化実験において複数の小胞バイオマーカーをアッセイできる能力を用いて、肺癌に対するバイオシグネチャー、および、さらなるバイオシグネチャーに最適な標的バイオマーカーの発見のためのバイオシグネチャーを創出することができる。同じ技術を種々の設定(例えば、異なる疾患、異なる癌、異なる標的バイオマーカー、診断、予後判定、セラノーシス等)で応用して、引き続くアッセイ法開発のための新規なバイオマーカーを同定することができる。

【1409】

実施例62:肺癌を検出するためのツールとしての循環微小胞上のバイオシグネチャー

40

循環微小胞(cMV)は、血液中に豊富に存在する細胞由来の膜結合構造である。腫瘍細胞は多量のcMVを産生し、その産生が腫瘍の侵襲性および治療耐性と相関することが示されている。この実施例においては、非小細胞肺癌(NSCLC)患者におけるcMVのタンパク質組成を分析した。決定木を使用して、腫瘍の存在を予測することができるバイオシグネチャーを開発した。

【1410】

NSCLC患者に由来する血液から単離されたcMVを対照患者からの類似試料中のcMVと比較して、癌を示すバイオマーカーの存在を確認した。蛍光標識されたビーズに結合した抗体を使用して、本明細書に記載される方法を使用して試料中のcMVの存在を検出した。

【1411】

50

多重化解析および決定木を使用して、シグナル閾値を、二つの集団を分けることができる最適レベルに最適化した。111名のNSCLC患者および対照の初期コホートから、63の特異的バイオマーカーのパネルを使用して、高特異度および感度のアッセイを開発した。このアッセイは、以下の小胞バイオマーカー：一つの一般的cMVマーカーであるCD81ならびに肺癌のための三つのマーカーであるサーファクタントタンパク質D（SPD）、サーファクタントタンパク質A（SP-A）およびオステオポンチン（OPN）に対する四つの捕捉抗体の使用を含む、決定木から導出されたアルゴリズムに基づく。本明細書に記載されるように、ビーズに結合した捕捉抗体ならびに抗テトラスパニン検出抗体およびレーザーベースの検出器を使用する検出を使用して、初期肺癌患者40名および肺癌を有しない対照25名のコホートからの血液試料中、標識されたビーズに結合したcMVから生じる蛍光強度を計測した。得られた平均蛍光強度（MFI）値をアルゴリズムに通して癌を同定した。そのアルゴリズムのツリー表示が図116に示されている。各マーカーの間の数字がそのステップのMFI閾値を示し、それを、前記のように感度または特異度を優先するように調節することができる。SPDに関して917を超えるMFIは、癌に関して陽性として示される。SPDに関するMFIが ≤ 917 であるならば、次に、CD81に関するMFIを考慮する。CD81に関して627未満のMFIは、癌に関して陽性として示される。CD81に関するMFIが ≥ 627 であるならば、次に、SP-Aに関するMFIを考慮する。SP-Aに関して375未満のMFIは、癌に関して陰性として示される。SP-Aに関するMFI ≥ 375 であるならば、次に、OPNに関するMFIを考慮する。OPNに関して80未満のMFIは、癌に関して陽性として示される。OPNに関して ≥ 80 のMFIは、癌に関して陰性として示される。

【1412】

図116の決定木を使用する分析の結果が表68に示されている。表に示すように、分析は、肺癌陽性試料を93%の感度、92%の特異度および92%の精度で同定した。

【1413】

（表68）肺癌の循環微小胞検出

内容	患者
真陽性	37
真陰性	23
偽陽性	2
偽陰性	3
合計	65
感度	93%
特異度	92%
精度	92%

【1414】

実施例63:循環腫瘍細胞と比較した循環小胞

様々なタイプの転移性癌の患者における疾病進行をモニターするために循環腫瘍細胞（CTC）が使用されてきた。しかし、転移性乳癌血液標本の50%、転移性前立腺癌血液標本の57%および転移性結腸癌血液標本の18%しか、臨床研究分析に十分なレベルのCTCを有しない。小胞のレベルは腫瘍の進行と相関することができる。

【1415】

方法: 血漿1mlから小胞を超遠心分離法によって単離した。CD81抗体を使用して、乳癌試料（n=14）および健康な対照（n=4）の小胞レベルを捕捉し、計測した。Cell Search CTC試験プロトコールを使用して、すべての試料に関してCTCを計測した。その後、転移性乳癌試料（n=10）、前立腺癌試料（n=2）および結腸癌試料（n=3）からEpCam陽性小胞を捕捉し、健康な対照（n=7）と比較した。これらのEpCam陽性小胞からRNAを抽出し、マイクロRNA-21（miR-21）発現をqRT-PCRによって定量化した。

【1416】

結果: 14例の試料のうち11例（78.6%）が、四例の健康な試料中に見いだされたレベルよりも有意に高いCD-81特異的小胞のレベルを有した（p=0.002）。図117Aを参照すること

。分析した14例の標本のうち七つ（50％）が、転移性乳癌の臨床閾値である5を超えるCTCを有した。三例の癌試料は、正常な試料の平均未満のCD-81計測小胞レベルを有し、それらの一つは>5のCTCを有した。15例のさらなる転移性癌標本（うち五つが>5のCTCを有した）のmiR-21分析が、乳癌試料、前立腺癌試料および結腸癌試料中それぞれ平均 4.2×10^6 、 4.82×10^6 および 5.05×10^6 コピーのmiR-21を見いだした。図117Bを参照すること。逆に、EDTA管中に捕集された健康なドナーからの血漿標本は、平均 1.8×10^4 コピーのmiR21を出した。図117Bを参照すること。

【1417】

結論：血漿試料からの小胞分析は、場合によってはCTC分析よりも良好に、疾病をモニターし、追跡する機会を提供する。腫瘍由来の小胞は、起始腫瘍miR含量を特徴決定する能力を提供し、それが、血液試料からの腫瘍特異的小胞ベースのバイオマーカー分析のためのさらなる機会を実証する。

10

【1418】

実施例64：血漿からの小胞の除去

血液ベースの癌診断法は、膨大な数の生物学的分子を選別して、特定の臓器からの特定の疾病タイプに関して情報提供的である少数を選択しなければならない。これは、特に血流中に放出される細胞物質が少量しかない場合、多くの難題を呈する。この障害を乗り越える一つの戦略は、体内の特定の系に関して学ぶための循環小胞の選択およびインタロゲーションである。小胞は、脂質二重層封入体、たとえばアポトーシス体、ブレブ、エキソソーム、微小胞および本明細書に記載される他の生物学的実体を含む。表2および関連の記述を参照すること。小胞は、豊富な情報源を提供し、大部分の細胞型によって分泌される。内皮および白血球由来の循環微小胞が、血液中に存在する循環微小胞の大部分を代表する。この実施例は、これらのより一般的な循環微小胞の除去を使用して、より希な微小胞の部分集団の濃縮および分析を可能にした。

20

【1419】

本明細書に記載される方法を使用して磁性ビーズをCD31およびCD45と結合させた。内皮および白血球由来の循環微小胞を試料から除去するために、乳癌患者からのヒト血漿とともにビーズをインキュベートした。本明細書に記載される方法にしたがって、20種類の異なる抗原に対する捕捉抗体を同時に使用して、残りの微小胞を多重化免疫ベースのプラットフォームにより特徴決定した。実施例49～50を参照すること。いくつかの高度に関連する内皮マーカー、たとえばDLL4をCD31とともに有意に除去された一方、より一般的な微小胞マーカー、たとえばCD9は、除去後も有意な集団が残っていた。図118を参照すること。これらのデータは、特定の小胞の集団を患者試料から除去することができることを示す。CD45に対する磁性ビーズを使用して小胞を患者試料から除去する場合にも同様な傾向が認められた。

30

【1420】

実施例65：小胞癌マーカーとしてのTissue Factor

Tissue Factorは、その発現が癌との関連において注目されている血液凝固関連タンパク質である。TF発現に結び付けられる腫瘍発生または癌進行に関連したいくつかの生物学的プロセスがある。これらのプロセスは、血管形成、癌細胞侵襲、免疫侵襲および循環腫瘍細胞生存を含む。TF発現とともに形成するフィブリン凝塊が癌細胞をコートして、それらの細胞のための保護コーティングを提供する。循環TFは癌患者の血清中で増加することが知られている。血栓閉塞症および脳卒中のような病的線維性イベントが、患者における癌関連死およびTF発現循環微小胞（cMV）の存在の重要な原因である。

40

【1421】

図119は、10例の正常な（非癌）血漿試料、八例の乳癌（BCa）血漿試料および二例の前立腺癌（PCa）血漿試料からの小胞中のTissue Factor（TF）の検出を示す。本明細書に記載されるように、血漿試料中の小胞を、ミクロスフェアにつながれた抗Tissue Factor抗体によって捕捉した。一般的方法に関しては実施例49～50を参照すること。捕捉した小胞を、テトラスパニンCD9、CD63およびCD81に対する標識された抗体によって検出した。こ

50

の図は、レーザー検出によって観察された蛍光強度中央値（MFI）を示す。BCaおよびPCa試料のMFIは正常な試料よりも一貫して大きかった。多様な癌におけるTissue Factorの検出は、TFを癌小胞マーカーとして使用することができることを示す。

【1422】

実施例66: 癌のための候補治療の選択

本発明の方法は、癌のセラノーシスのためのバイオシグネチャーを同定するために使用することができる。バイオシグネチャーは、本明細書に記載されるように評価することができる任意の数の有用なバイオマーカーを含むことができる。バイオシグネチャーは、体液試料、好ましくは血液試料、たとえば血漿または血清中で決定することができる。小胞は、本明細書に提示される方法を使用して、癌患者からの体液の試料から得られる。一般的方法に関しては実施例49～50を参照すること。異なる状況の場合にバイオシグネチャーを決定するために、バイオシグネチャーに含めるべき適切なバイオマーカーを上記のように発見することができる。たとえば、バイオシグネチャー発見のセクションを参照すること。小胞は、実施例48～50に記載されるように、ミクロスフェアに結合した結合物質を使用して、表面抗原に関して単離、捕捉および／または評価することができる。小胞はまた、実施例35～36におけるようなアレイまたは実施例26におけるようなFACSを使用して、表面抗原に関して単離、捕捉および／または評価することもできる。また、免疫アッセイ技術を使用して小胞を捕捉することもできる。所望により、単離／捕捉された小胞内のバイオマーカーペイロードを分析することもできる。小胞は、レーザー検出技術を使用して、サイズに関して評価することができる。

【1423】

バイオシグネチャーには、マイクロRNA等のさらなるバイオマーカーがさらに含まれてよい。マイクロRNAを、体液から直接評価してもよく、または最初に小胞集団から単離してもよい。例えば、実施例12（血清の入手）、実施例13（血清または血漿からのRNAの単離）、実施例16（小胞からのマイクロRNAの抽出）を参照されたい。RT-PCRを用いて（実施例14～15を参照）、および／またはアレイ解析を用いて（実施例17を参照）、マイクロRNAを評価することができる。核酸増幅を行うためにマイクロ流体工学を用いてマイクロRNAを解析することができる。

【1424】

バイオシグネチャーを同定する方法を、1回のアッセイ法で行うことができる。例えば、多重化手法を用いて、多数のバイオマーカーを評価することができる。さらに、バイオマーカーの一部を1回のアッセイ法で評価しながら、残りの一つまたは複数のバイオマーカーを別のアッセイ法で評価することができ、これもまた多重化アッセイ法であってもよい。例として、複数の小胞表面バイオマーカーを第一の多重アッセイ法で評価することができ、かつ複数のマイクロRNAを第二の多重アッセイ法で評価することができる。第一および第二の多重アッセイ法の結果を組み合わせ、該小胞表面バイオマーカーおよび該マイクロRNAを含むバイオシグネチャーを同定することができる。

【1425】

バイオシグネチャーは任意の有用なバイオマーカーを含んでよく、本明細書において種々の疾患および障害の文脈で示されているものを含むがそれらに限定されず、実施例8、11、28～42、45～47、および51における前立腺癌に対するマーカー；実施例9、および52～58における結腸直腸癌に対するマーカー；実施例59～61における乳癌に対するマーカー；ならびに実施例61～62における肺癌に対するマーカーを含むが、それらに限定されない。

【1426】

実施例67: 治療関連の標的

薬物関連の標的および予後マーカーを含むバイオシグネチャーを同定することによって、癌のセラノーシスを行う。この手法の利点は、候補治療法に対する癌の感度を、癌の起源に関係なく決定できる点である。それどころか、腫瘍自体の分子プロファイルが、治療剤選択の指針を提供する。抗体またはアプタマーの群を用いて、ABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、 β IIIチューブリン、BIRC5

、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベオリン、CD20、CD25、CD33、CD52、CDA、CDKN2A、CDKN1A、CDKN1B、CDK2、CDW52、CES2、CK 14、CK 17、CK 5/6、c-KIT、c-Met、c-Myc、COX-2、サイクリンD1、DCK、DHFR、DNMT1、DNMT3A、DNMT3B、E-カドヘリン、ECGF1、EGFR、EML4-ALK融合体、EPHA2、エピレグリン、ER、ERBR2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSHB、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、hENT-1、Her2/Neu、HGF、HIF1A、HIG1、HSP90、HSP90AA1、HSPCA、IGF-1R、IGFRBP、IGFRBP3、IGFRBP4、IGFRBP5、IL13RA1、IL2RA、KDR、Ki67、KIT、K-RAS、LCK、LTB、リンホトキシンβ受容体、LYN、MET、MGMT、MLH1、MMR、MRP1、MS4A1、MSH2、MSH5、Myc、NFKB1、NFKB2、NFKBIA、NRAS、ODC1、OGFR、p16、p21、p27、p53、p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、PTPN12、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SIK2、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TUBB3、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、ZAP70の存在またはレベルについて小胞集団を評価する。抗体またはアプタマーを、実施例48～50のようにミクロスフェアに結合させてもよく、または実施例35～36のように整列させてもよい。これらのマーカーは、増殖性疾患に対する種々の化学療法薬の効果（表69を参照されたい）および/または様々な癌の予後において重要な役割を果たすことが知られている。したがって、治療にあたる医師は、候補治療を選択する際に、マーカーを評価して、癌の起源または種類とは無関係に癌に対する候補治療を選択することができるが、任意の他の関連情報、例えば患者病歴、以前の治療、他の試験結果、癌の特徴（例えば、病期、起源）、医師の経験などを考慮に入れてもよい。

10

20

【1427】

（表69）バイオマーカー-薬物との関連性

バイオマーカー	薬物との関連性
ABCC1 (MRP1)	ドキシソルビシン (IHCおよびDMA)、エピルビシン (IHCおよびDMA)、メトトレキサート (IHCおよびDMA)、ビンクリスチン (IHCおよびDMA)、ビンOREルピン (IHCおよびDMA)、ビンプラスチン (IHCおよびDMA)、エトポシド (IHCおよびDMA)
ABCG2 (BCRP)	シスプラチン (IHCおよびDMA)、カルボプラチン (IHCおよびDMA)
ADA	ペントスタチン (DMA)、シタラビン (DMA)
ALK, EML4-ALK	クリゾチニブ (FISH)、ペメトレキセド (FISH)
AR	ビカルタミド (IHCおよびDMA)、フルタミド (IHCおよびDMA)、アバレリックス (DMA)、ゴセレリン (DMA)、リユープロリド (DMA)、ゴナドレリン (DMA)
ASNS	アスバラギナーゼ (DMA)、ペガスパルガーゼ (DMA)
BRCA1	マイトマイシン (DMA)、シスプラチン (DMA)、カルボプラチン (DMA)
BRCA2	マイトマイシン (DMA)、シスプラチン (DMA)、カルボプラチン (DMA)
CD52	アレムツズマブ (IHCおよびDMA)
CDA	シタラビン (DMA)
CES2	イリノテカン (DMA)
DCK	ゲムシタビン (DMA)、シタラビン (DMA)
DHFR	メトトレキサート (DMA)、ペメトレキセド (DMA)
DNMT1	アザシチジン (DMA)、デシタビン (DMA)
DNMT3A	アザシチジン (DMA)、デシタビン (DMA)
DNMT3B	アザシチジン (DMA)、デシタビン (DMA)
EGFR	ゲフィチニブ (FISHおよびMA)、エルロチニブ (FISHおよびMA)、セツキシマブ (FISHおよびMA)、パニツムマブ (FISHおよびMA)
EPHA2	ダサチニブ (DMA)
ERBB2 (HER2)	トラスツズマブ (IHCおよびFISH)、ラパチニブ (IHCおよびFISH)、ドキシソルビシン (FISH)、エピルビシン (FISH)、リポソーム-ドキシソルビシン (FISH)
ERCC1	シスプラチン (IHCおよびDMA)、カルボプラチン (IHCおよびDMA)、オキサリプラチン (IHCおよびDMA)
ER	タモキシフェン (IHCおよびDMA)、トレミフェン (DMA)、フルベストラント (DMA)、アナストロゾール (IHCおよびDMA)、レトロゾール (IHCおよびDMA)、エキセメスタン (DMA)、アミノグルテチミド (DMA)、メグastroール (DMA)、メドロキシprogステロン (DMA)
FLT1 (VEGFR1)	ベバシズマブ (DMA)、スニチニブ (DMA)、ソラフェニブ (DMA)
GART	ペメトレキセド (DMA)
HIF1A	スニチニブ (DMA)、ソラフェニブ (DMA)
IGFBP3	レトロゾール (DMA)
IGFBP4	レトロゾール (DMA)
IGFBP5	レトロゾール (DMA)
KDR (VEGFR2)	スニチニブ (DMA)、ソラフェニブ (DMA)
Ki67	「タモキシフェン+化学療法 (IHC)」-乳房のみ
KIT (cKIT)	スニチニブ (MAおよびDMA)、ソラフェニブ (DMA)、イマチニブ (MAおよびDMA)、ダサチニブ (MAおよびDMA)
KRAS	ゲフィチニブ (MA)、エルロチニブ (MA)、セツキシマブ (MA)、パニツムマブ (MA)、ソラフェニブ (MA)、併用療法 (VBMCP) (MA)
cMET/MET	ゲフィチニブ (FISH)、エルロチニブ (FISH)
MGMT	テモゾロミド (IHCおよびDMA)
PDGFRA	スニチニブ (DMA)、ソラフェニブ (DMA)

10

20

30

PDGFRB	スニチニブ(DMA)、ソラフェニブ(DMA)
PGP (ABCB1)	ドキシソルビシン(IHCおよびDMA)、リポソームドキシソルビシン(IHCおよびDMA)、エピルビシン(IHCおよびDMA)、エトポシド(IHCおよびDMA)、テニポシド(DMA)、ドセタキセル(IHCおよびDMA)、パクリタキセル(IHCおよびDMA)、ビンクリスチン(IHCおよびDMA)、ビノレルビン(IHCおよびDMA)、ビンブラスチン(IHCおよびDMA)
PIK3CA/PI3K	セツキシマブ(MA)、パニツムマブ(MA)、トラスツズマブ(MA)
PR	タモキシフェン(IHCおよびDMA)、トレミフェン(DMA)、フルベストラント(DMA)、アナストロゾール(IHCおよびDMA)、レトロゾール(IHCおよびDMA)、エキセメスタン(DMA)、アミノグルテチミド(DMA)、ゴセレリン(DMA)、リユープロリド(DMA)、ゴナドレリン(DMA)、メゲストロール(DMA)、メドロキシprogesterone(DMA)
PTEN	エルロチニブ(IHC)、ゲフィチニブ(IHC)、セツキシマブ(IHC)、パニツムマブ(IHC)、トラスツズマブ(IHC)
PTGS2 (COX2)	セレコキシブ(IHCおよびDMA)、アスピリン(IHC)
BRAF1 (BRAF)	セツキシマブ(MA)、パニツムマブ(MA)
RARA	ATRA (DMA)
RRM1	ゲムシタビン(IHCおよびDMA)、ヒドロキシ尿素(DMA)
RRM2	ゲムシタビン(DMA)、ヒドロキシ尿素(DMA)
RRM2B	ゲムシタビン(DMA)、ヒドロキシ尿素(DMA)
RXRβ	ベキサロテン(DMA)
SPARC (モノ/ポリ)	nab-パクリタキセル(IHCおよびDMA)
SRC	ダサチニブ(DMA)
SSTR2	オクトレオチド(DMA)
SSTR5	オクトレオチド(DMA)
TLE3	パクリタキセル(IHC)、ドセタキセル(IHC)
TOPO1/TOP1	イリノテカン(IHCおよびDMA)、トポテカン(IHCおよびDMA)
TOPO2A/TOP2A	ドキシソルビシン(IHC、FISH、およびDMA)、リポソームドキシソルビシン(IHC、FISH、およびDMA)、エピルビシン(IHC、FISH、およびDMA)
TOP2B	ドキシソルビシン(DMA)、リポソームドキシソルビシン(DMA)、エピルビシン(DMA)
TUBB3	パクリタキセル(IHC)、ドセタキセル(IHC)、ビノレルビン(IHC)
TS/TYMS	ペメトレキセド(IHCおよびDMA)、カペシタビン(DMA)、フルオロウラシル(IHCおよびDMA)
VDR	コレシフェロール(DMA)、カルシトリオール(DMA)
VHL	スニチニブ(DMA)、ソラフェニブ(DMA)

10

20

【1428】

各マーカーの存在またはレベルを、癌のない参照試料群において観察される同じマーカーの存在またはレベルと比較する。参照試料と比較して、患者試料において過剰発現しているまたは過小発現しているバイオマーカーを同定する。バイオマーカーを過剰発現しているまたは過小発現している癌に対して有効であることが知られており、かつ表10、12～13、69、ならびに2010年2月12日に提出された米国特許出願第12/658,770号；2010年2月11日に提出された国際PCT特許出願PCT/US2010/000407；2010年10月27日に提出された国際PCT特許出願PCT/US2010/54366；および2010年12月28日に提出された米国仮特許出願第61/427,788号（これらの出願の全文が参照によりその全体として本明細書に組み入れられる）において示されている治療標的関連性を用いて同定された、候補治療剤のリストが構築されている。例えば、PCT/US2010/54366の「Table 4: Rules Summary for Treatment Selection」を参照されたい。治療にあたる医師は、評価されたバイオマーカーの発現レベルおよび薬物適応のリストを含む報告を得る。医師は、この報告を使用して候補治療の選択に役立てる。

30

40

【1429】

実施例68: 前立腺癌の治療効果のモニタリング

前立腺癌に対する小胞バイオシグネチャーを検出するための方法は、実施例29～32に記載されている。患者由来の血液試料中の小胞を検出する。試料中に以下の小胞表面抗原の存在を検出することによって、バイオシグネチャーを決定する。

- 一般的小胞(MV)マーカー: CD9、CD81、およびCD63
- 前立腺MVマーカー: PCSA、PSMA
- 癌関連MVマーカー: B7H3、任意でEpCam

【1430】

50

バイオシグネチャーを用いて、前立腺癌に対する治療の効果をモニターする。疑いのある血清PSAレベル（例えば、血清PSA>4.0ng/ml）および／または疑いのある直腸指診（DRE）を患者と関連付ける。患者の小胞バイオシグネチャーが決定され、結果は前立腺癌に対して陽性であると分かる。治療にあたる医師は、前立腺癌を治療剤、ホルモン療法、または外科手術（前立腺切除術）のどれで治療するかを判定する。治療後、患者について小胞バイオシグネチャーを再度決定する。癌についての陽性の結果は、該治療に対する患者の応答が陰性であること、およびさらなる治療が必要であることを意味する。陰性の結果は、該治療に対する患者の応答が陽性であること、およびさらなる治療は必要でない可能性があることを意味する。

【1431】

10

また、実施例8、11、28～42、45～47または51に提示されるものをはじめとする、前立腺癌のための代替バイオシグネチャーを使用することもできる。他の疾病および障害の治療効能をモニターするために類似した方法が使用される。たとえば、結腸直腸癌治療は、実施例9または52～58に記載されるようなバイオシグネチャーを使用してモニターすることができ、乳癌治療は、実施例59～61に記載されるようなバイオシグネチャーを使用してモニターすることができ、肺癌治療は、実施例61～62に記載されるようなバイオシグネチャーを使用してモニターすることができる。また、これらの癌ならびに本明細書に提示される他の疾病および障害のためのバイオシグネチャーを使用して治療効能をモニターすることもできる。

【1432】

20

実施例69:循環微小胞(cMV)を用いた乳癌の検出

実施例49～50に示された一般的な方法の後に、血漿中の小胞を検出した。ビーズベースの捕捉抗体および標識された検出抗体を用いて、乳癌(BCa)血漿試料および正常血漿試料を分析した。バイオマーカーCD9、HSP70、Gal3、MIS (RII)、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4 (R23)、CD81、ERB3、MART1、STAT3、DLL4 (R34)、VEGF、DLL4 (R45)、BCA225、BRCA、CA125、CD174、DLL4 (R63)、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、DLL4 (R80)、DLL4 (R81)、DLL4 (R82)、DLL4 (R83)、DLL4 (R84)、DLL4 (R85)、CD31、cMET、VEGF (R2)、MUC2、およびERB4に対する抗体を用いて、小胞を捕捉した。示したように、いくつかの異なる抗DLL4抗体(すなわち、R23-DLL4、R34-DLL4、R45-DLL4、R63-DLL4、およびR81-R85-DLL4)を使用した。2種類のVEGF抗体も使用した。テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対するPE標識抗体を用いて、小胞を検出した。テトラスパニンは一般的小胞マーカーであり、捕捉された全ての小胞を検出するのに用いられる。CD9、CD63、およびCD81捕捉についての値は、正常試料において典型的に観察される範囲の中にあった。このことは、血漿試料は分解されなかったことを示している。内皮マーカーであるCD31に対する標識抗体を用いても、同じ小胞が検出された。従って、抗CD31を用いて検出された小胞の起源は内皮と考えられる。

30

【1433】

概して、上記バイオマーカーに対する抗体を用いて捕捉された小胞は、正常とBCa試料との間で有意に異なるレベルで見出された。しかしながら、R85-DLL4およびcMET捕捉抗体を使用した場合、テトラスパニンカクテル(CD9、CD63、およびCD81)を用いて標識した時には正常と癌との間に有意差がみられたのに対し、抗CD31を用いて標識した時には正常と癌の間に有意差はみられなかった。まとめると、これらのデータから、R85-DLL4およびcMETを用いて検出されたcMVは腫瘍に応答して放出されたことが示唆される。

40

【1434】

実施例70:小胞を検出および分取するためのフローサイトメトリー

図120は、示した小胞抗原に対するFITC結合抗体を用いて標識された小胞のフローソーティングを示す。小胞をフローソーティングするための一般的な方法を前記の実施例26に示した。本実施例では、対象からの血液試料から単離された小胞を、示したテトラスパニンCD9および／またはCD63に対するFITC標識抗体とインキュベートした。テトラスパニンは一般的小胞マーカーであり、試料中の他の破片から離して試料中の小胞を特定する。同時

50

に、小胞を、示したCD31、DLL4、および/またはTMEM211に対するフィコエリトリン(PE)標識抗体またはCy7標識抗体とインキュベートする。CD31によって内皮由来小胞が特定される。DLL4は血管形成マーカーであり、TMEM211は結腸直腸マーカーである。CD31、DLL4、および/またはTMEM211を発現する試料中の小胞レベルを検出するために、抗テトラスパニン抗体によって特定された小胞粒子をフローソーティングする。

【1435】

図120Aは、CD31レベルおよびDLL4レベルについてゲーティングされた結腸直腸癌(CRC)患者および正常対象(すなわち、CRCのない)からのCD9/CD63 FITC標識小胞を示す。これらのデータから、CD31+内皮由来小胞はCRC対象および正常対象において類似したDLL4レベルを示すことが明らかになった。図120Bは、TMEM211レベルおよびDLL4レベルについてゲーティングされた正常およびCRC患者からのCD9/CD63 FITC標識小胞を示す。これらのデータから、TMEM211+結腸直腸小胞はCRC対象(45% DLL4+)対正常対象(2% DLL4+)において非常に高い血管形成マーカーDLL4レベルを示すことが明らかになった。図120Cは、CD31レベルおよびDLL4レベルについてゲーティングされた正常および乳癌患者からのCD9 FITC標識小胞を示す。図120Aに示したCRC患者と同様に、これらのデータから、内皮由来小胞(すなわち、CD31+小胞)は乳癌対象および正常対象において類似したDLL4レベルを示すことが明らかになった。

【1436】

実施例71: 様々な癌におけるDLL4+循環微小胞

実施例49~50に示した方法の後に血漿中の小胞を検出した。ビーズに繫留された抗DLL4抗体を用いて、癌試料中および正常(すなわち、非癌)試料中の微小胞を捕捉した。捕捉されたcMVを、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対するPE標識検出抗体によって標識した。捕捉および標識されたcMVの中央値蛍光値(MFI)を計算した。正常試料および癌試料の数を表70に示した。

【1437】

全ての試料群のMFI計算値を表70および図121に示した。正常対照と様々な癌との間で平均MFIを比較した。全ての癌において平均MFIは正常より高かった。正常における大きな標準偏差は、36の試料のうち4つのMFI(1250~2600; データ示さず)が非常に大きかったためであった。正常における中央値MFIは51.13であった。それぞれの癌群と正常対照群を区別するためにMFI閾値を設定した。結果を表70に示した。結果から、DLL4+小胞レベルを用いて様々な癌と正常非癌対照を区別できることが分かる。

【1438】

(表70) DLL4+cMVは癌において異なって発現している

試料の種類	試料の数	平均MFI	MFIの偏差	MFIのカットオフ	感度	特異度	精度
正常	36	284.41	558.73	106	78.80%	72.20%	77.2
乳癌	20	632.69	158.51	92	80.00%	66.70%	71.4
肺癌	20	620.58	52.50	68	90.00%	58.30%	69.6
前立腺癌	20	918.95	180.12	559	60.00%	83.30%	75.0
結腸直腸癌	19	1426.53	239.78	284	89.50%	80.60%	83.6
腎臓癌	8	1654.25	121.21	738	87.50%	88.90%	88.6
卵巣癌	13	1399.17	226.29	109	84.60%	72.20%	75.5
膵臓癌	13	924.38	159.32	166	76.90%	75.00%	75.5

【1439】

実施例72: 肺癌を検出するためのマイクロRNA

血漿試料から単離されたRNA中のマイクロRNAを調べた。実施例16に詳述したようにマイ

10

20

30

40

50

クロRNAを抽出するために、Applied Biosystems/Ambion, Austin, TXのMagMAX(商標)RNA Isolation Kitを用いて、5つの肺癌試料および5つの正常対照(非肺癌)の血漿からRNAを抽出した。

【1440】

Exiqon miRCURY LNAマイクロRNA PCRシステムパネル(Exiqon, Inc., Woburn, MA)を用いて、試料中のマイクロRNAを調べた。Exiqon 384ウェルパネルは750のmiRを測定する。試料を、Universal cDNA合成キット(UniSp6 CP)の合成RNAスパイクイン(spike-in)に対する対照プライマーに対して規準化した。それぞれの表示(BPHまたはPCa)について3つのデータ集合全体にわたる、それぞれのプローブの規準化された値を平均した。平均CV%が20%より大きなプローブは分析に使用しなかった。

10

【1441】

t検定を用いて、miRの発現データを肺癌と正常との間で比較した。表71は、有意なp値($p=0.05$)をもつmiRの分析結果を示す。群間の発現の倍率変化(FC)も示した。hsa-miR-125a-3pは非小細胞肺癌において下方制御されると報告されている。Jiang et al., Hsa-miR-125a-3p and hsa-miR-125a-5p are downregulated in non-small cell lung cancer and have inverse effects on invasion and migration of lung cancer cells. BMC Cancer. 2010 Jun 22; 10:318.

【1442】

(表71) 肺癌 対 正常におけるmiR発現

miR	p値	変化倍率	LCaと比較した 正常における制御
hsa-miR-125a-5p	0.004	41.07	上方
hsa-miR-650	0.005	2.192	下方
hsa-miR-194	0.005	4.474	下方
hsa-miR-1200	0.006	5.890	上方
hsa-miR-326	0.006	24.782	上方
hsa-miR-30b*	0.007	19.216	上方
hsa-miR-19a	0.008	7.548	上方
hsa-miR-7a*	0.011	9.459	下方
hsa-miR-708*	0.012	2.474	上方
hsa-miR-99a	0.013	4.771	上方
hsa-miR-199b-5p	0.013	4.971	上方
hsa-miR-543	0.013	9.036	上方
hsa-miR-7i*	0.013	7.537	下方
hsa-miR-518c*	0.015	4.660	上方
hsa-miR-642	0.016	12.227	上方
hsa-miR-654-3p	0.021	5.706	下方
hsa-miR-518d-5p	0.023	5.765	上方
hsa-miR-1266	0.027	2.706	上方
hsa-miR-154	0.028	7.046	下方
hsa-miR-662	0.032	6.624	上方
hsa-miR-523	0.034	7.268	上方
hsa-miR-198	0.035	6.776	上方
hsa-miR-920	0.045	3.106	上方
hsa-miR-885-3p	0.046	2.160	上方
hsa-miR-99a*	0.047	3.855	上方
hsa-miR-337-3p	0.049	3.740	下方
hsa-miR-363	0.049	4.170	下方

20

30

40

【1443】

実施例73:肺癌を検出するためのマイクロRNA miR-497

現在、肺癌を早期診断するための血液検査は無い。血漿試料から単離された循環微小胞

50

(cMV)中のマイクロRNAを調べた。一般的に実施例49～50に記載のように、小胞を単離および評価した。トリゾル法を用いて、血漿1mlに含まれる小胞からRNAを抽出した。定量Taqman(登録商標)RT-PCR法を用いてマイクロRNAペイロードを検出した。16人の肺癌患者および15人の対照正常成人(すなわち、肺癌無し)からの血漿中のmiR-497の発現を調べた。2つの群間でmiR-497のコピー数の有意差が観察された($p=0.0001$)。図122Aを参照されたい。肺癌と正常試料とを区別するために、(血漿0.1ml中)1154コピーのmiR-497の閾値(図122Aの垂直線によって示される)を用いて、88%の感度および80%の特異度で肺癌を検出した。

【1444】

後続の試験では、主に初期段階の疾患(IA期=9、IB期=9、IIA期=1、IIB期=2、III期=1、IV期=2)からなる24人の非小細胞肺癌(NSCLC)患者および26人の健常個体からの循環微小胞(cMV)を凍結血漿1mlから単離した。肺癌患者および26人の対照正常成人(すなわち、肺癌無し)からの血漿試料に由来するcMV中のmiR-497の発現を調べた。患者の特徴を表72に示した。

【1445】

(表72) 患者の特徴

病期	男性	女性
IA 期	5	4
IB 期	4	5
IIA 期	1	0
IIB 期	1	1
III 期	1	0
IV 期	0	2
正常	14	12

【1446】

規準化されたコピー数の中央値は、正常個体については 9000 ± 307 コピー/ml($\pm 95\%$ CIM)およびNSCLC患者については $27,500 \pm 1298$ コピー/ml($\pm 95\%$ CIM)であった。癌の閾値を0.1ml試料中1570コピー(すなわち、15,700コピー/ml)に設定すると、アッセイの感度は79%、特異度は81%、AUCは0.89であった。図122B～122Cおよび表73の結果を参照されたい。表73は、13,560コピー/mlおよび15,700コピー/mlのカットオフ閾値を用いた試験成績を示す。感度または特異度を優先するように閾値を調節することができる。

【1447】

(表73) 肺癌を検出するためのmiR-497

真陽性	21	19
真陰性	18	21
偽陽性	8	5
偽陰性	3	5
感度	88%	79%
特異度	69%	81%
精度	78%	80%
AUC	0.89	0.89
カットオフ (コピー/ml)	13,560	15,700

【1448】

実施例74:肺癌の循環微小胞バイオシグネチャー

肺癌は致死性の高い疾患であり、診断されて5年以内に患者の約85%がこの疾患で死亡する。癌が初期段階で検出された時に、最良のアウトカムが観察される。初期肺癌を検出するための典型的な戦略は、高度なイメージング戦略、例えば、胸部X線撮影、CT、またはMRI検査を伴う。残念なことに、これらの手法は、CTの場合、21%に近い高い偽陽性率をもたらす。現在またはかつてのヘビースモーカーからなる高リスク群では、患者の4%~7%が、結果として経済的、心理社会的、医学的な負担を伴って不必要な非侵襲処置を受けた。

【1449】

血漿試料において肺癌を検出するために循環微小胞(cMV)バイオシグネチャーを開発した。生検によって確認された20のNSCLC血漿試料および25の正常(すなわち、非肺癌)同年齢対照血漿試料を、本明細書に記載のようにマイクロスフェアに結合させた100種類の異なる捕捉抗体を用いて分析した。実施例61を参照されたい。分析したNSCLC試料は、IA/B期(n=7)、IIA期(n=4)、IIB期(n=7)、およびIIIA期(n=2)のAJCC/UICCからなった。これらの患者の半分はリンパ節の関与について陽性であった。対照コホートは喫煙者および非喫煙者を含んだ。非癌集団において交絡因子疾患をもつ、13人のさらなる患者(6人は糖尿病および7人は慢性関節リウマチ)でも分析を行った。これらの交絡因子状態/疾患は、診療所にいる非癌患者において見られる可能性が高く、そのため、臨床的有用性には、最も可能性が高い患者スクリーニング集団における試験成績が含まれる。次いで、濃縮されたcMVを捕捉結合マイクロスフェアと混合し、洗浄し、PEと結合体化されたテトラスパニン(CD9、CD81、CD63)カクテルを用いて定量した。捕捉されたcMVを、二次蛍光色素結合テトラスパニン検出用抗体を用いて定量した。肺癌患者を同定する最良の試験を決定するために、それぞれのマイクロスフェアサブタイプのMFIを分析した。肺癌検出のためのバイオシグネチャーの精度を最適化するために、マーカーのサブパネルおよびそれぞれの蛍光レベルカットオフを求めた。

【1450】

表74に示したように、感度85%、特異度92%、および精度89%で、NSCLC患者と正常対照集団からの個体とを区別する6種類の異なるタンパク質からなるバイオシグネチャーが発見された。バイオシグネチャーは、微小胞関連タンパク質および癌関連タンパク質の両方を含む6種類の異なる表面膜タンパク質マーカーを含む。これらのタンパク質のうち3つは、微小胞上に見られるテトラスパニン膜貫通ファミリー(CD9、CD63、およびCD81)のメンバーである。他の3つのタンパク質マーカーは、DR3(アポトーシスに関与するタンパク質であるデスレセプター3)、PRB(プロゲステロン受容体B)、およびMS4A1(シグナル伝達に関与するタンパク質の多重遺伝子族からの膜貫通4ドメインサブファミリーA。このうちMS4A1(CD20)は1メンバーである)である。これらの実験では、テトラスパニンに対する蛍光標識抗体を検出用結合物質として使用し、他のタンパク質に対するビーズ結合抗体を捕捉用物質として使用した。重要なことに、喫煙は偽陽性判定につながらなかった。このコホートの中にいる2人しかいない偽陽性は正常非喫煙患者であった。一般的な交絡因子疾患を分析に含めた時、特異度および精度は表74~75に示したように84%であった。

【1451】

(表74) 肺癌のcMV検出

10

20

30

40

	MS4A1	PRB	DR3	MS4A1および (PRBまたはDR3)
真陽性	17	16	18	17
真陰性	23	22	22	23
偽陽性	2	3	4	2
偽陰性	3	4	2	3
合計	45	45	45	45
感度	85%	80%	90%	85%
特異度	92%	88%	84%	92%
精度	89%	84%	87%	89%
カットオフ	194	400	400	

10

【 1 4 5 2 】

(表 7 5) 交絡因子のある肺癌のcMV検出

	MS4A1	PRB	DR3	MS4A1および (PRBまたはDR3)
真陽性	17	16	18	17
真陰性	30	31	30	31
偽陽性	8	7	8	6
偽陰性	3	4	2	3
合計	58	58	58	58
感度	85%	80%	90%	85%
特異度	79%	82%	79%	84%
精度	81%	81%	83%	84%
カットオフ	194	400	400	

20

30

【 1 4 5 3 】

表76に示したように、試料分析においてPRBと類似の結果がMACC1から得られた。

【 1 4 5 4 】

(表 7 6) 肺癌のcMV検出

	PRB	MACC1	PRB + MACC1
真陽性	16	16	16
真陰性	23	23	23
偽陽性	2	2	2
偽陰性	3	3	3
合計	44	44	44
感度	84%	84%	84%
特異度	92%	92%	92%
精度	89%	89%	89%
カットオフ	447.75	571.125	

10

【1455】

実施例75: 癌における高レベルのCD9+エキソソーム

一般的な小胞抗原CD9に対する抗体をビーズに繫留し、1706人の様々な癌をもつ対象または正常(すなわち、非癌)からの血漿試料中の小胞を捕捉するのに使用した。方法は、一般的に、実施例49～50に示された通りである。CD9ビーズによって捕捉された小胞を、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識抗体を用いて検出した。捕捉および標識された小胞の中央値蛍光強度(MFI)を、レーザー検出を用いて測定した。表77は、試料タイプの分類、それぞれの試料タイプの試料カウント、およびそれぞれの試料群の平均MFIを示す。対応するデータを図123Aおよび123Bに図で示した。図123Aに示したように、群としての癌のMFIは正常と比較して約3倍増加した。図123Bは、MFIが、非常に多くの無関係な癌の全体にわたって正常と比較して高かったことを示す。

20

【1456】

(表77) 癌患者からの血漿中にある、CD9によって捕捉された小胞のMFI

癌	平均 MFI	カウント
正常(非癌)	1403.162	673
前立腺	3296.627	542
肺	7270.545	100
結腸	4728.402	362
乳房	3700.917	9
膀胱	5257.75	1
子宮内膜	3451.313	4
肝臓	7947.25	1
脾臓	9589.75	3
卵巣	1135	2
食道	6419.125	2
腎臓	2263.643	7

30

40

【1457】

実施例76: 小胞マーカー組み合わせを用いた乳癌(BCa)の検出

関心対象の多数の抗原に対する抗体をビーズに繫留し、本明細書に記載のように乳癌対

50

象または正常対照(すなわち、非乳癌)からの血漿試料中の小胞を捕捉するために使用した。例えば、実施例59～60を参照されたい。ビーズによって捕捉された小胞を、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する蛍光標識抗体で検出した。捕捉および標識された小胞の平均蛍光強度(MFI)を、レーザー検出を用いて測定した。試料コホートは80人の乳癌患者および34人の同年齢対照を含んだ。BCa患者は、22人のI期、28人のII期、28人のIII期、および1人のIV期の乳癌を含んだ。

【1458】

バイオマーカーGal3およびBCA200に対する捕捉抗体を用いた結果を図124A～Eおよび表78～82に示した。抗BCA200抗体は、United States Biological, Swampscott, Massachusettsのカatalog番号B2708-06「Anti-BRCA, 40/60/100/200kD Glycoprotein Complex (Breast Cancer Antigen, Early Onset Breast Ovarian Cancer Susceptibility Protein)」である。この抗原は、乳房細胞に由来する複合糖タンパク質抗原であるヒトBCA200を認識する。この抗原はBRCAと呼ばれることもある(US Biologicalの製品情報を参照されたい)。癌細胞において、この複合体の分布は正常細胞と異なる。図124Aには、Gal3捕捉抗体およびBCA200捕捉抗体を用いて検出された小胞の平均蛍光値(MFI)を示した。垂直線は、BCaと正常とを区別するためにGal3に用いられたMFIカットオフを示す。水平線は、BCaと正常とを区別するためにBCA200に用いられたカットオフを示す。表78は、得られた数値結果を示す。表78に示したように、両方のマーカー(「両方」と示した)を使用した時に、3つの偽陽性および11の偽陰性が観察された。偽陰性のうち3つがI期であり、3つがII期であり、5つがIII期の乳癌であった。

【1459】

(表78) Gal3およびBCA200を用いた乳癌の検出

	Gal3	BCA200	両方
真陽性	76	72	69
真陰性	28	25	31
偽陽性	6	9	3
偽陰性	4	8	11
合計	114	114	114
感度	95.0%	90.0%	86.3%
特異度	82.4%	73.5%	91.2%
精度	91.2%	85.1%	87.7%
カットオフ	500	300	

【1460】

図124Bおよび表79は、各マーカーの組み合わせを使用した時に特異度より感度を優先し、それに付随して精度が上昇するように各マーカーのカットオフを調節した以外は、それぞれ、図124Aおよび表78と同じである。表78および表79の比較は、感度または特異度を優先するために試験成績をどのように調節することができるかを証明する。例えば、スクリーニング用途の場合、後続の検査(例えば、生検、マンモグラム、結腸鏡検査など)を受けなければならない対象を同定するために、感度の高い検査に有利に働いてもよい。疾患の存在を除外することが重要な状況では、特異度の高い検査が好ましい場合がある。

【1461】

(表79) Gal3およびBCA200を用いた乳癌の検出

	Gal3	BCA200	両方
真陽性	76	79	75
真陰性	30	17	31
偽陽性	4	17	3
偽陰性	4	1	5
合計	114	114	114
感度	95.0%	98.8%	93.8%
特異度	88.2%	50.0%	91.2%
精度	93.0%	84.2%	93.0%
カットオフ	550	180	

10

【1462】

本試験では、乳癌症例のうち28件が小葉癌と診断された。これらの28件の症例のうち25件は、このアッセイにおいて小葉癌について約90%の感度で正確に診断された。

【1463】

図124Cおよび表80は、37の交絡因子試料を分析に含めた以外は、前記で示したデータに似たデータを示す。交絡因子には、炎症性疾患、または糖尿病、憩室炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、および喘息を含む強い免疫応答を誘導することが知られている疾患があった。

20

【1464】

(表80) Gal3およびBCA200と交絡因子試料を用いた乳癌の検出

	Gal3	BCA200	両方
真陽性	76	72	69
真陰性	39	32	43
偽陽性	32	39	28
偽陰性	4	8	11
合計	151	151	151
感度	95.0%	90.0%	86.3%
特異度	54.9%	45.1%	60.6%
精度	76.2%	68.9%	74.2%
カットオフ	500	300	

30

【1465】

表78対表80において観察された精度を比較することによって分かるように、交絡因子試料を含めると共に精度は減少した。この減少は、主に、偽陽性数の増加によって特異度が減少したためであった。さらなるバイオマーカーを用いて特異度を改善することができる。図124Dおよび表81は、NCAMおよびOPNを用いた前記の乳癌試料と交絡因子試料との区別を示す。CD56とも知られる神経細胞接着分子1(NCAM-1、NCAM)は、Igスーパーファミリーの中のカルシウム依存性接着分子である。オステオポンチン(OPN)は、骨シアロタンパク質1、尿路結石タンパク質、SPP-1、ETA-1、ネフロポンチン(nephropontin)、およびウロポンチンとも呼ばれ、細胞外マトリックス細胞接着ホスホグリコプロテインである。

40

【1466】

(表81) OPNおよびNCAMを用いた乳癌試料と交絡因子試料との識別

	OPN	NCAM	両方
真陽性	61	60	58
真陰性	17	16	18
偽陽性	8	9	7
偽陰性	8	9	11
合計	94	94	94
感度	88.4%	87.0%	84.1%
特異度	68.0%	64.0%	72.0%
精度	83.0%	80.9%	80.9%
カットオフ	182.5	650	

【 1 4 6 7 】

図124Eは、Gal3、BCA200、OPN、およびNCAMを用いて得られた結果を組み合わせることによって乳癌を識別するための二段階手順を示す。最初に、最も左側のプロットに示したように、Gal3およびBCA200を用いて試料を識別する。次いで、最も右側のプロットに示したように、OPNおよびNCAMを用いて、「陽性」と付けられた四半分の中の試料を評価して、偽陽性交絡因子患者を分ける。二段階法を用いて得られた結果を表82に示した。表から分かるように、第2段階を加えると、特異度が59.7%から70.8%へと、精度が77.5%から80.1%からへと改善する。

【 1 4 6 8 】

(表 8 2) 4 マーカー法を用いた乳癌の識別

	Gal3	BCA200	両方	OPNおよびNCAM を使用
真陽性	75	78	74	70
真陰性	41	22	43	51
偽陽性	31	50	29	21
偽陰性	4	1	5	9
合計	151	151	151	151
感度	94.9%	98.7%	93.7%	88.6%
特異度	56.9%	30.6%	59.7%	70.8%
精度	76.8%	66.2%	77.5%	80.1%
カットオフ	550	180		

【 1 4 6 9 】

実施例77:循環微小胞(cMV)は固形腫瘍患者における循環腫瘍細胞(CTC)の存在と相関する。本明細書に記載のように、血漿または血清を含む様々な体液から循環微小胞(cMV)を評価することができる。循環腫瘍細胞(CTC)を検出するための血液ベースのアッセイは十分に確立されているが、CTCの予後判定に関する重要性は確立されておらず、現在、議論されている。CTCの存在は、固形腫瘍患者における将来の転移および/または疾患進行の大きな可能性を示しているかもしれない。

【 1 4 7 0 】

乳癌患者においてcMVおよびCTCを比較する。ビーズベースのアッセイを用いて、および/または直接的なマルチパラメーターフェノタイピング(phenotyping)の場合にはフローサイトメトリーを用いて、様々な小胞表面抗原を評価する。フローソーティングまたは捕捉された小胞を、小胞ペイロードマーカー(例えば、マイクロRNA、mRNA、およびタンパク質)についてさらに評価する。従来のCTC分析より高い感度および最終的な疾患進行との大きな相関関係でCTCの存在を予測する小胞マーカープロファイルを同定する。本明細書に記載のように、単離方法および評価方法ならびにマーカーを用いて、タンパク質および/ま

たは核酸分子からなるこのパネルを癌患者cMVにおいて検出する。

【1471】

マーカープロファイルを、再発についての経過観察臨床データと共に疾患の治療前、治療中、および治療後に、250人超の新たに診断された乳癌患者からの血液連続収集物において調べる。血漿試料を、乳癌試験の全発見(full discovery)パネルを用いて評価し、CTCの有/無ならびに最終的な治療反応および/または最終的な再発と相関付けた。

【1472】

実施例78:乳癌患者における癌幹細胞を評価するための循環微小胞(cMV)

癌幹細胞は、無限増殖能と、レシピエント動物において単一細胞から新たな腫瘍を形成する能力をもつ癌細胞と述べられている。このような腫瘍は、特定のタンパク質ならびに/または核酸(変異、mRNA、およびマイクロRNA)発現について不均一な場合がある。

【1473】

患者が治療的処置を受けている間に、非幹細胞乳癌細胞に対する癌幹細胞の相対頻度は変化することがある。さらに、特異的に癌幹細胞を標的とする新規の療法、例えば、sonic hedge hog(SHH)経路の阻害剤が現在、治験にかけられている。従って、cMVを用いて反応を非侵襲的にモニタリングおよび予測する血液ベースの試験を、乳癌療法を受けている患者の予後を暗示して、これらの癌幹細胞をモニタリングするのに使用することができる。

【1474】

乳癌幹細胞表面には、CD44およびEpCamを含む様々な膜タンパク質マーカーが同定されている。さらに、この細胞は、対応するCD24発現欠如を有することが見出されている。本明細書に記載のようにマルチパラメーターフローサイトメトリーおよび/またはビーズベースのアッセイを用いて、乳癌に罹患している患者からの血漿においてcMVを評価した。本明細書に記載のようにマーカーCD44、CD9、EpCam、CD24、ならびにMuc1、BCA200、およびGal3を含む乳癌特異的マーカーを含む、適切な蛍光色素を有する抗体パネルを用いてcMVを評価した。これらの結果を、患者腫瘍内の乳癌幹細胞の存在または非存在と相関付けた。

【1475】

実施例79:乳癌における血漿由来微小胞

循環微小胞は、血管形成および免疫調節を含む、いくつかの生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たす。本実施例は、疾患、具体的には、乳癌のある患者において変化した特定の微小胞垂集団のレベルに注目した。微小胞垂集団のモニタリングは、癌および他の疾患の進行に関連した重要な生物学的プロセスを同定するのに役立つであろう。

【1476】

癌関連微小胞を同定するために、患者試料中の微小胞を、進行乳癌患者対乳癌の無い正常対照のコホートの間で比較した。コホートからの血漿試料中の微小胞(MV)を濃縮し、蛍光色素結合抗体を用いて染色し、フローサイトメトリーを用いて分析した。腫瘍特異的抗体、白血球特異的抗体、およびストロマ細胞特異的抗体を用いて、血漿試料中の微小胞のこれらのサブタイプを同定し、特徴決定した。これらの組織特異的抗体を、プロセス特異的マーカー、例えば、血管形成微小胞についてはDLL4およびVEGFR2、免疫抑制微小胞についてはCTLA4およびFasL、ならびに免疫賦活性微小胞についてはCD80およびCD83と対にした。本明細書に記載のように、小胞を標識するために、マーカーに対する標識捕捉抗体を用いて小胞を検出し、次いで、フローサイトメトリーを用いて標識小胞を検出した。

【1477】

進行期乳癌(III/IV期)をもつ5人の女性および4人の健常女性からの血漿由来cMVを、表83に示されたパネルに従って蛍光色素結合抗体パネルで標識した。表の最も左側の縦列にあるNPは正常血漿試料を示し、BCはBCa陽性患者からの血漿試料を示す。染色されたcMVを、Beckman-Coulter Mo-Flow XDP(Beckman Coulter, Inc., Brea, California, USA)を用いて分析した。四色染色を用いて、免疫抑制cMV(テトラスパニン⁺、CD45⁺、FasL⁺、CTLA4⁺)、血管形成cMV(テトラスパニン⁺、CD31⁺、DLL4⁺、VEGFR2⁺、HIF2a⁺、Tie2⁺、Ang1⁺)、

10

20

30

40

50

および転移cMV(テトラスパニン⁺、Muc1⁺、CD147⁺、TIMP1⁺、TIMP2⁺、MMP7⁺、MMP9⁺)を評価した。患者一人一人の例示的な結果を図125A～125Cに示した。結果を陽性染色粒子のパーセントならびに陽性粒子数/μl血漿として計算した(表83)。

【1478】

(表83) 4マーカー法を用いた乳癌の識別

	マーカー% (#/ul 血漿)	CD83+/ FasL+	CTLA4+/ CD80+	CD147+/ TIMP1+	TIMP2+/ MMP9+	HIF2a+/ Ang1+	VEGFR2+/ Tie2+
NP4	43% (1,023)	1.3% (29)	0.3% (1)	0.5% (4)	5% (13)	6% (63)	0.1% (1)
NP5	92% (3,895)	0.1% (1)	0.2% (4)	0.3% (16)	3% (115)	4% (183)	0.7% (35)
NP6	75% (2,068)	0.1% (4)	0.1% (4)	0.1% (7)	0.5% (23)	1.8% (90)	0.1% (2)
NP9	83% (3,364)	1.2% (56)	0.03% (2)	0.1% (5)	1% (32)	0.6% (18)	0.05% (2)
正常平均値	73.3% (2,587.5)	0.7% (22.5)	0.2% (2.8)	0.3% (8)	2.4% (45.8)	3.1% (88.5)	0.2% (10)
BC1	98% (3,778)	3% (15)	0.4% (1)	0.2% (3)	1.5% (48)	1.6% (53)	0.2% (6)
BC2	59% (2,301)	7% (59)	0.5% (5)	0.3% (10)	4% (124)	1.5% (50)	0.3% (5)
BC3	72% (5,377)	5% (105)	0.5% (4)	0.1% (7)	5% (236)	2% (131)	1% (79)
BC7	33% (932)	5% (104)	0.1% (4)	0.6% (14)	5% (122)	1% (32)	1% (4)
BC8	85% (3,462)	47% (3,150)	5% (263)	2% (110)	1% (5)	2% (127)	15% (1016)
乳癌 平均値	69.4% (3,170)	13.4% (686.6)	1.3% (55.4)	0.6% (28.8)	3.3 (107)	1.6% (78.6)	3.5% (222)

【1479】

フローサイトメトリーを用いて、乳癌患者におけるcMVのタンパク質発現と対照におけるcMVのタンパク質発現を比較した。この染色は、これらの同じプロセスをインビボで評価する細胞フェノタイピングに類似する。フェノタイピング試験から、生物学的に関連するcMVの亜集団を同定するために典型的な「パーセント陽性」分析は有用でないことが分かった(表83)。

【1480】

しかしながら、癌患者は、健常対照と比較して高レベルのcMVを有する傾向があり、そのため、本発明者らが血漿1μl中の事象の総数を比較する時に、これらのパーセント差は拡大する。例えば、DCに由来する免疫抑制cMV(CD83+/FasL+)の数の平均は健常対照では22.5/μlおよび乳癌患者では686.6/μlである。同様に、8つの転移(CD147+/TIMP1+)cMV/μlが健常ボランティアにおいて検出されたのに対して、乳癌血漿中では28.8/μlが検出された。最後に、乳癌血漿中の血管形成cMV(VEGFR2+/Tie2+)は10/μlから222/μlへと増加した。表83を参照されたい。

【1481】

乳癌患者と健常対照との間で循環微小胞を比較した。小胞に関連した抗原をプローブすることによって、特異な、かつ情報価値のある亜集団を同定および定量した。癌患者の免疫抑制微小胞は多かった(68%対44%のCTLA4同時発現CD45⁺MV)。さらに、癌患者血漿中の血管形成MVは多く、44%のDLL4およびCD31を同時発現する循環微小胞があり、これに対して正常対照では2%の小胞がこれらのマーカーを示した。

【1482】

これらの試験の結果から、健常女性と比較した、後期段階の乳癌患者における免疫抑制cMV、血管形成cMV、および転移cMVのパーセントおよび数が多いことが証明された。対照と比較して、進行乳癌血漿中の免疫抑制cMVは血漿体積で>700倍多く、転移cMVは>3倍多く、血管形成cMVは>21倍多かった。循環微小胞は、生検も標準的な病理学評価、例えば、免疫組織化学も必要とすることなく、患者で起こっている悪性進行プロセスおよび癌進行プロセスについての重要な情報を得るための簡単かつ信頼性の高いツールを提供することができる。

【1483】

実施例80: 乳癌cMVタンパク質バイオマーカー

本実施例では、捕捉抗体が、血漿試料中および乳癌細胞株MCF7中の乳癌循環微小胞(cMV)を同定する能力をスクリーニングした。一般的な方法は実施例49～50に示した通りである。捕捉抗体には、5T4 (栄養芽細胞)、ADAM10、AGER/RAGE、APC、APP (βアミロイド)、ASPH (A-10)、B7H3 (CD276)、BACE1、BAI3、BRCA1、BDNF、BIRC2、C1GALT1、CA125 (MUC16)、カルモジュリン1、CCL2 (MCP-1)、CD9、CD10、CD127 (IL7R)、CD174、CD24、CD44、CD63、CD81、CEA、CRMP-2、CXCR3、CXCR4、CXCR6、CYFRA 21、デルリン1、DLL4、DPP6、E-CAD、EpCaM、EphA2 (H-77)、ER(1) ESR1 α、ER(2) ESR2 β、Erb B4、ErbB2、erb3 (Erb-B3) PA2G4、FRT (FLT1)、Gal3、GPR30 (G-coupled ER1)、HAP1、HER3、HSP-27、HSP70、IC3b、IL8、insig、ジャンクションプラコグロビン、ケラチン15、KRAS、マンマグロビン、MART1、MCT2、MFGE8、MMP9、MRP8、Muc1、MUC17、MUC2、NCAM、NG2 (CSPG4)、Ngal、NHE-3、NT5E (CD73)、ODC1、OPG、OPN、p53、PARK7、PCSA、PGP9.5 (PARK5)、PR(B)、PSA、PSMA、RAGE、STXBP4、サバイビン、TFF3 (分泌型)、TIMP1、TIMP2、TMEM211、TRAF4 (足場)、TRAIL-R2 (デスレセプター5)、TrkB、Tsg 101、UNC93a、VEGF A、VEGFR2、YB-1、VEGFR1、GCDPF-15 (PIP)、BigH3 (TGFB1誘導性タンパク質)、5HT2B (セロトニン受容体2B)、BRCA2、BACE 1、CDH1-カドヘリンに対する抗体が含まれた。抗体を表84に列挙した。PE標識抗テトラスパニン検出用抗体(すなわち、抗CD9、抗CD63、および抗CD81)に加えて、PE標識抗MFGE8も検出用抗体として使用した。

【1484】

(表84) 捕捉抗体

抗体	抗原	クローン	ベンダー	カタログ番号
抗インターロイキン8抗体 IL8 (5D21)	IL8	5D12	US Biologicals	I8430-06A
抗トレフォイルファクター3(腸)抗体 (クローン3D9)	TFF3 (分泌型)	3D9	Sigma	WH0007033 M1
PGP9.5 (クローン3D9)抗体	PGP9.5	3D9	Genway	20-002-35062
抗サバイビン抗体 (5B10)	サバイビン	5B10	Sigma	WH0000332 M1
ヒト ErbB2 (クローン191924)	Erb2	3B5	Abcam	ab16901-100
NGAL (039-32-1)	Ngal	H-130	Santa Cruz	sc-50350
抗IC3b (ネオ抗原) Mab (013III-1.16)	IC3b	013III-1.16	Thermo Scientific	MA1-82814
抗前立腺特異的膜抗体	PSMA	LN1-17	Biolegend	342502

10

20

30

抗cluster of differentiation 276抗体	B7H3	MIH35	Biolegend	135604
抗 MART-1 (melanoma antigen recognized by T-cells 1, Melan-A)	MART1	3H2637	US Biologicals	M2410
抗MFG-E8	MFGE8	278918	R&D Systems	MAB27671
抗血管内皮因子A抗体 (5J63)	VEGF A	5J63	US Biologicals	V2110-05D
抗tumor microenvironment of metastasis 211 抗体 (c15)	TMEM211	C-15	Santa Cruz	sc-86534
抗CA125 癌抗原(卵巣癌)	CA125	9A101	US Biologicals	C0050-01F
DLL4抗体	DLL4		Abcam	ab61031
抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質1抗体 (63515)	TIMP1	63515	R&D Systems	MAB970
抗 cluster of differentiation 10 抗体 (HI10a)	CD10(BD)	HI10a	BD Biosciences	555373
ヒトオステオポンチン Mab (クローン 223112)	OPN (SC)	223112	R&D Systems	MAB14332
抗血管内皮因子受容体 2 抗体 (89106)	VEGFR2	89106	R&D Systems	MAB3572
カルモジュリン抗体 (J4D8)	カルモジュリン	J4D8	Abcam	ab75207
エストロゲン受容体 α 抗体	ER(1) ESR1 α	33	Abcam	ab2746
エストロゲン受容体 β 抗体 (14C8)	ER(2) ESR2 β	14C8	Abcam	ab288
APP/ β -アミロイド(NAB228)マウスMab #2450	APP (β -アミロイド)	NAB228	Cell Signaling	2450S
HSP-27 (G31)マウス mAb #2402	HSP-27	G31	Cell Signaling	2402S
バキュロウイルス IAP リポート含有タンパク質2	BIRC2	ポリクローナル	Genway	18-464-436439
抗ヒトproliferation associated 2G4	PA2G4	PA2GF5F8	Genway	18-464-435060
SCGB2A2 マウス抗ヒト Mab	マンマグロビン	C-16	Santa Cruz	sc-48328
抗プラコグロビン(クローン 15F11)	ジャンクション プラコグロビン	15F11	Millipore	04-139
セロトニン受容体 2B	5HT2B	4A9	Novus	H00003357-M02
AGER/RAGE (1D1)	AGER/RAGE	1D1	Novus	H00000177-M05
RAGE	RAGE	ポリクローナル	R&D Systems	AF1145
C1GALT1	C1GALT1	1F1	Novus	H00056913-M01
デルリン 1抗体 (1B9)	デルリン1	1B9	Novus	H000079139-M01
ErbB 3 抗体 (RTJ2)	HER3	RTJ2	Novus	NB100-2691
オルニチンデカルボキシラーゼ抗体 (2G5)	ODC1	2G5	Novus	H00004953-M01
シンタキシン結合タンパク質 4抗体(EP302Y)	STXBP4	EP302Y	Novus	NB110-57608
ヒト 5T4 Mab (クローン524731)	5T4 (栄養芽細胞)	524731	R&D Systems	MAB4975
ヒトADAM10エクストドメイン Mab (クローン 163003)	ADAM10	163003	R&D Systems	MAB1427
ヒト/マウス BACE-1 Mab (クローン137612)	BACE1	137612	R&D Systems	MAB931
ヒト BAI3 Mab (クローン409633)	BAI3	409633	R&D Systems	MAB39651
BRCA1	BRCA		R&D Systems	AF2210
ヒト BDNF Mab (クローン 35909)	BDNF	35909	R&D Systems	MAB2481
ヒト IL-7 alpha/CD127 Mab (クローン40131)	CD127 (IL7R)	40131	R&D Systems	MAB306
ヒト CD44H Mab (クローン 2C5))	CD44	2C5	R&D Systems	BBA10
抗癌胎児性抗原(CEA,CD66e)	CEA	487609	R&D Systems	MAB41281
ヒト CXCR3 Mab (クローン 49801)	CXCR3	49801	R&D Systems	MAB160
抗単球走化性因子抗体 MCP-1 (S101)	CCL2 (MCP-1)	S101	Genetex	GTX18678
抗組織メタロプロテイナーゼ阻害物質2 抗体 (F27P3A)	TIMP2	F27P3A4	Genetex	GTX48556
抗プロゲステロン R抗体 (クローン H5344)	PR(B)	H5344	R&D Systems	PP-H5344-00
抗遊走阻止因子-関連タンパク質 8	MRP8	8L802	US Biologicals	M4688-36A
抗前立腺細胞表面抗体	PCSA		In house	PCSA1058
抗ムチン 1, 細胞表面結合タンパク質Ab	Muc1	VU4H5	Santa Cruz	sc-7313

10

20

30

40

(Vu4H5)				
抗前立腺特異的抗体	PSA	8A6	Santa Cruz	sc-52173
抗cluster of differentiation 24抗体 (クローン ml5)	CD24	ml5	BD Biosciences	555426
抗オステオプロテジェリン抗体	OPG	OPG-13	Biovendor	RD182003110-13
抗unc 3 ホモログ A抗体 (C13)	UNC93a	C-13	Santa Cruz	sc-135539
抗大腸腺腫症 (クローン 4i295)	APC	4i295	US Biologicals	A2298-70A
抗 Lewis y (CD174) (クローン 8.S.289)	CD174	8.S.289	US Biologicals	L2056
ヒト5'-ヌクレオチダーゼ/CD73 (クローン 606112)	NT5E (CD73)	606112	R&D Systems	MAB5795
抗上皮細胞性接着分子抗体	EpCaM	158206	R&D Systems	MAB9601
抗ムチン 17, 細胞表面結合タンパク質 Ab (ml9)	MUC17	N-19	Santa Cruz	sc-32600
抗腫瘍タンパク質53抗体 (DO-7)	p53	DO7	Biolegend	645802
抗ムチン 2, 細胞表面結合タンパク質 Ab (H-300)	MUC2	[996/1]	Santa Cruz	sc-15334
抗hNCAM/CD56 抗体 (301040)	NCAM	301040	R&D Systems	MAB2408
抗アスパルチル/アスパラギンβ-ヒドロキシラーゼ (A10)抗体	ASPH (A-10)	A10	Santa Cruz	sc-271391
抗ハプトグロビン抗体 (クローン 1.C.1)	HAP1	1.C.1	US Biologicals	H1820-05
抗腫瘍感受性遺伝子 101 (Y16J)	Tsg 101	Y16J	Santa Cruz	sc-101251
ヒト CXCR4 (フーシン) Mab (クローン 44716)	CXCR4	44716	R&D Systems	MAB172
ヒト CXCR6 Mab (クローン 56811)	CXCR6	56811	R&D Systems	MAB699
ヒト DPP6 エクトドメイン Mab (クローン 274311)	DPP6	274311	R&D Systems	MAB23601
抗エフリン-A受容体2抗体	EphA2	233720	R&D Systems	MAB639
ヒト ErbB4 Mab (クローン 182818)	Erb B4	182818	R&D Systems	MAB11311
ヒト ErbB3 (クローン 526806)	erb3 (Erb-B3)	526806	R&D Systems	MAB3483
ヒト ガレクチン-3 (クローン 194805)	Gal3	194805	R&D Systems	MAB11541
抗ヒトGPER	GPER (GPR30)		R&D Systems	AF5534
ヒト/マウス HSP70/HSPA1A Mab (クローン 242707)	HSP70	242707	R&D Systems	MAB1663
抗マトリックスメタロプロテイナーゼ 9抗体	MMP9	36020	R&D Systems	MAB936
ヒト NG2/MCSP Mab (クローン LHM-2)	NG2 (CSPG4)	LHM-2	R&D Systems	MAB2585
ヒト PARK7/DJ-1 (クローン 421015)	PARK7	421015	R&D Systems	MAB3995
ヒト TRAIL R2/TNFRSF10B抗体	TRAIL-R2	71903	R&D Systems	MAB631
ヒト TrkB (クローン 75133)	TrkB	75133	R&D Systems	MAB397
CRMP-2 (1B1)	CRMP-2	1B1	Santa Cruz	sc-101348
p-NHE-3 (10A8)	NHE-3	10A8	Santa Cruz	sc-53961
BACE (61-3E7)	BACE1	61-3E7	Santa Cruz	sc-33711
抗c-K-RAS抗体	KRAS	234-4.2	Sigma	R3400
抗SCL16A7	MCT2		Sigma	SAB2500948
抗TRAF-4 モノクローナル抗体 (クローン 3F6)	TRAF4 (足場)	3F6	Sigma	WH0009618 M1
抗ケラチン 15 Mab (LHK15)	ケラチン15	LHK15	Thermo Scientific	MA1-38005
抗サイトケラチン 19 フラグメント抗体 CYFRA21-1	CYFRA 21	5F230	US Biologicals	C9097-28
抗 YB-1	YB-1	21A3	IBL-America	11106
抗 YB-1	YB-1			
VEGF受容体1抗体 (4H5)	VEGFR1	4H5	Novus	H00002321-M01
panカドヘリン抗体 (CDH1)	eカドヘリン	3F4	Novus	H00000999-M01
eカドヘリン	eカドヘリン	16A	Chemicon	MAB3199Z
GCDPF-15 (プロラクチン誘導タンパク質)	GCDPF-15	D6	Enzo Life Sciences	ALX-801-051-L001
TGFB1-誘導タンパク質	BigH3	K1H12	Acris	AM09047PU-N
BCA-200ハイブリドーマ ATCC 番号 HB-8696	BCA-200	520C9	in house	

10

20

30

40

50

【 1 4 8 5 】

方法を前記の実施例49～50に示した。簡単に述べると、捕捉抗体をマイクロビーズに結合体化した。捕捉抗体がビーズに効率的に結合されていることを確認するために、ビーズを、適切な抗種抗体を用いて品質管理検査に供した。正常(すなわち、非癌)女性血漿中で37℃で60分間インキュベートすることによって活性化されている乳癌細胞株MCF7由来cMV

に結合するかどうか抗体結合ビーズを分析した。次に、ビーズをPE標識検出用抗体とインキュベートした。検量線(cMV/ml血漿の滴定)に対してビーズの蛍光レベルを求め、MCF7 cMVが加えられていない対照(すなわち、正常非癌)血漿中のビーズの蛍光レベルと比較した。表85は、対照と比較したMCF7 cMVを含有する試料中の倍率変化の増加を示す。

【1486】

関連した実験セットにおいて、前記の抗体結合ビーズを用いて、乳癌患者血漿中のcMVを検出した。5つの後期段階の乳房(II/III期)浸潤性乳管癌血漿と5つの同年齢女性血漿対照との間でcMVレベルを比較した。対照は、癌が無いと自分で確認した女性のものであった。表85は、非癌対照と比較した乳癌患者からの試料中の倍率変化の増加も示す。

【1487】

(表85) 乳癌試料中のcMV抗原レベルの増加

抗原名	MCF7増加倍率	血漿中の増加倍率
5T4 (栄養芽細胞)	27.3	8.25
ADAM10	100.4	20.9
AGER/RAGE	24.2	11.97
APC	27.4	9.84
APP (β-アミロイド)	27.4	7.48
ASPH (A-10)	6.2	1.93
B7H3 (CD276)	34	5.85
BACE1	6.8	10.51
BAI3	24.8	6.19
BRCA1	221.4	7.53
BDNF	13.2	21.42
BIRC2	22.2	10.36
C1GALT1	34.3	15.75
CA125 (MUC16)	11.8	6.8
カルモジュリン1	119.4	9.88
CCL2 (MCP-1)	20.8	15.67
CD9	37.3	4.77
CD10(BD)	21.4	3.45
CD127 (IL7R)	19.2	12.88
CD174	285.4	3.59
CD24	38.1	16.68
CD44	23.1	7.19
CD63	12	1.66
CD81	11.7	1.31
CEA	25.9	11.43
CRMP-2	8.7	2.14
CXCR3	18.1	9.84
CXCR4	2.9	0.94
CXCR6	55.5	8.84
CYFRA 21	8.7	2.04
デルリン1	14.7	17.58
DLL4	24	10.17
DPP6	52	8.19
E-CAD	6.4	1.59
EpCAM	69.7	7.61
EphA2 (H-77)	50	7.17
ER(1) ESR1 α	19.4	5.49
ER(2) ESR2 β	30.3	6.35

10

20

30

40

Erb B4	53.4	6.57
ErbB2	14.3	11.97
erb3 (Erb-B3) PA2G4	31.5	5.65
Gal3	47.7	6.05
GPR30 (G共役ER1)	43.6	5.59
HAP1	10.2	1.92
HER3	52.8	10.03
HSP-27	14.1	5.4
HSP70	151.6	12.97
IC3b	7.2	2.19
IL8	33.7	8.61
ジャンクションプラログロビン	14.5	9.21
ケラチン 15	4.7	2.17
マンマグロビン	6.1	1.72
MART1	1.3	1.74
MCT2	38	6.39
検出用Ab-PEとしてのMFGE8	36.9	4.74
MMP9	29.7	15.79
MRP8	2.3	14.71
Muc1	8.2	1.95
MUC17	6.6	1.93
MUC2	3.5	1.84
NCAM	10	6.76
NG2 (CSPG4)	100.8	16.9
Ngal	79.1	8.9
NHE-3	7.6	1.85
NT5E (CD73)	43.5	16.89
ODC1	13.5	7.05
OPG	12.5	2.23
OPN (SC)	9.5	9.39
p53	14.8	7.3
PARK7	51.6	7.81
PCSA	51.3	7.81
PGP9.5 (PARK5)	27.6	10.49
PR(B)	2.4	2
PSA	6.7	1.79
PSMA	30	7.74
RAGE	48.2	7.2
STXB4	20	12.61
サバイビン	29.8	12.8
TFF3 (分泌型)	2.3	1.61
TIMP1	27.1	7.53
TIMP2	56.1	5.91
TMEM211	157.2	5.72
TRAF4 (足場)	22.3	9.93
TRAIL-R2 (デスレセプター 5)	61.5	9.48
TrkB	22.8	5.54
Tsg 101	0.5	0.92
UNC93a	7.5	1.97
VEGF A	10.1	11.32
VEGFR2	3.9	8.66
YB-1	5.4	2.19
VEGFR1	0.9	1.19
5HT2B (セロトニン受容体 2B)	14.6	2.59
BRCA1	221.4	7.53
BACE 1	8.3	2.04
CDH1-カドヘリン	4.5	1.75

10

20

30

40

【 1 4 8 8 】

実施例81:乳癌由来の腫瘍の同定

50

本実施例では、原発不明癌(CUPS)の起源を同定するためにバイオシグネチャーを作り出す。このようなバイオシグネチャーを用いて、転移腫瘍の起源を特徴決定し、それによって、潜在的な治療選択肢の解明を助けることができる。本実施例では、腫瘍組織を用いてマーカーを同定した。マーカーを、循環バイオマーカーシグネチャー、例えば、cMVを含むバイオシグネチャーの一部としてさらに検証することができる。

【1489】

乳腺腫瘍試料からの30のホールゲノムマイクロアレイデータ集合を、他の腫瘍試料のパネルからの30のマイクロアレイデータ集合と比較した。乳癌試料を区別するためのバイオシグネチャーを同定するために、様々な統計モデリング法を用いて情報価値のある遺伝子の発現を比較した。Illumina Whole Genome DASL AssayとUDG(Illumina, カタログ番号DA-903-1024/DA-903-1096)を用いてマイクロアレイデータを入手したが、多くの適切な発現系からのデータを使用することができる。

【1490】

分類・回帰木(CART)

第1の手法では、分類・回帰木(CART)法を用いて乳癌プロファイルと同定した。一般的には、Breiman, Leo; Friedman, J. H., Olshen, R. A., & Stone, C. J. (1984). Classification and regression trees. Monterey, CA: Wadsworth & Brooks/Cole Advanced Books & Softwareを参照されたい。全ての遺伝子発現データを使用した。5倍交差確認(cross-validation)法を用いて、以下の通りに、乳癌と他の腫瘍タイプを区別するための最適な遺伝子を決定した。

- (a) データを5つの訓練集合および5つのテスト集合に無作為に分割する。
- (b) 分割にわたって乳癌および他の腫瘍タイプの比率(すなわち、50/50)を維持した。
- (c) それぞれの分割は、乳癌の分類器を訓練するためにデータの80%を使用し、残りの20%は、分類器の性能を試験するために用いられた。
- (d) それぞれの試料が少なくとも1つのテスト集合に含まれるように、分割を構築する。

【1491】

全ての分割にわたるCART交差確認の結果を表86に示した。乳癌試料の検出は陽性とみなされた。この手法を用いて、96%の精度が得られた。特異度は100%であり(すなわち、すなわち、乳癌陽性と不正確に判定された癌は無かった)、乳癌検出のための感度は95%であった(すなわち、2つを除く全ての乳癌が乳癌として検出された)。それぞれの分割において、これらの結果を生じる1種類の転写物が同定された。1つの分割では、遺伝子はAK5.2であった。別の分割では、遺伝子はATP6V1B1であった。他の3つの分割では、遺伝子はCRABP1であった。

【1492】

(表86) CART交差確認を用いた乳癌プロファイル

	乳癌-真	他の癌-真	精度
乳癌-予測	28	0	28
他の癌-予測	2	30	32
合計	30	30	96%

【1493】

一般化Lasso回帰

一般化lasso回帰モデルは、バイナリアウトカム変数の最も少ない独立線形予測子を発見しようと試みる。Roth, The generalized LASSO, IEEE Trans Neural Netw. 2004 Jan; 15(1):16-28を参照されたい。

【1494】

一般化lasso回帰の結果を表87に示した。乳癌試料の検出は陽性とみなされた。この手法を用いて、95%の精度が得られた。特異度は100%であり(すなわち、乳癌陽性と不正確に判定された癌は無かった)、乳癌検出のための感度は95%であった(すなわち、3つを除

く全ての乳癌が乳癌として検出された)。この分類器を構築するために、3種類の転写物: DST.3、GATA3、およびKRT81が同定された。結果を図126Aに図で示した。この図には、上部の木は、正確に同定された27の乳癌試料を含み、下部の木は、不正確に分類された3つの乳癌に加えて、正確に同定された30の非乳癌試料を含む。不正確に分類された3つの乳癌試料は、正確に同定された乳癌にすぐ隣接する小さなクラスターの中にあることに留意のこと。

【1495】

(表87) 一般化Lasso回帰を用いた乳癌プロフィール

	乳癌-真	他の癌-真	精度
乳癌-予測	27	0	27
他の癌-予測	3	30	33
合計	30	30	95%

10

【1496】

ベイジアンアンサンブル

ベイジアン分類器を構築した。ベイジアンアンサンブル法は非線形関係を検出することができる。例えば、Mitchell, Machine Learning, 1997, pp. 175; Hoeting et al (1999). 「Bayesian Model Averaging: A Tutorial」. Statistical Science 14 (4): 382-401; Haussler et al. Bounds on the sample complexity of Bayesian learning using information theory and the VC dimension. Machine Learning, 14:83-113, 1994; Domingos (2000). 「Bayesian averaging of classifiers and the overfitting problem」. Proceedings of the 17th International Conference on Machine Learning (ICML). pp. 223-230を参照されたい。

20

【1497】

この手法では、発現レベルを蛍光強度値に基づいて4つのビン(bin)の1つに割り当てた。2遺伝子発現値および1遺伝子発現値からなる全ての組み合わせを、乳癌と他の癌試料とを識別する能力について評価した。ベイジアンスコアリング関数(Bayesian scoring function)を用いて遺伝子発現値を分析した。この手法は、遺伝子発現と腫瘍タイプとの非線形関係を同定することができる。数千個もの断片を分析して、可能性の高い分類器の重み付けした収集物(weighted collection)を作製する。前記の交差確認を用いて分類器の性能を評価した。結果として生じた遺伝子は、アンサンブルの中で断片を規定する遺伝子である。

30

【1498】

ベイジアンアンサンブルの結果を表88に示した。乳癌試料の検出は陽性とみなされた。この手法を用いて、97%の精度が得られた。特異度は100%であり(すなわち、乳癌陽性と不正確に判定された癌は無かった)、乳癌検出のための感度は97%であった(すなわち、1つを除く全ての乳癌が乳癌として検出された)。この分類器を構築するために15種類の転写物: AK5.2、ATP6V1B1、CRABP1、DST.3、ELF5、GATA3、KRT81、LALBA、OXTR、RASL10A、SERHL、TFAP2A.1、TFAP2A.3、TFAP2C、およびVTCN1が同定された。結果を図126Bに図で示した。この図には、上部の木は、正確に同定された29の乳癌試料を含み、下部の木は、不正確に分類された1つの乳癌に加えて、正確に同定された30の非乳癌試料を含む。

40

【1499】

(表88) ベイジアンアンサンブル法の交差確認を用いた乳癌プロフィール

	乳癌-真	他の癌-真	精度
乳癌-予測	29	0	29
他の癌-予測	1	30	31
合計	30	30	97%

50

【1500】

ベイジアンアンサンブル法は、予測のための信頼度の測定基準(confidence metric)を提供する。この測定基準を用いて、試料を分類している病理学者または他の補助者(care giver)を支援することができる。例えば、病理学者が試料を非乳房と分類したのに対して、アルゴリズムが、その試料を特定の信頼度閾値で乳房と分類した場合、繰り返し検査および確認するために試料に目印をつけることができる。同様に、病理学者が試料を乳房と分類したのに対して、アルゴリズムが、その試料を特定の信頼度閾値で非乳房と分類した場合、繰り返し検査および確認するために、試料に目印をつけることができる。試料の分類を間違える誤りの大きさなどの必要条件に応じて、信頼度閾値を調節することができる。例えば、閾値は70%、80%、または90%でもよい。

10

【1501】

バイオシグネチャーを小胞試験に適合させると、原発不明癌の起源を非侵襲的に決定することができるだろう。

【1502】

実施例82: 乳癌由来の循環タンパク質バイオマーカー

本実施例では、健常対照と、乳癌患者(非DCIS)と、非浸潤性乳管癌(DCIS)患者とを識別するcMVタンパク質シグネチャーを同定するために、抗体アレイを用いてcMVを調べた。試料セットは、9人の乳癌患者、4人のDCIS患者、および8人の自己申告正常対象からの血漿由来cMV、ならびにMCF3、MDA MB231、およびT47D細胞株からのcMVからなった。試料を、Full Moon BioSystems 649抗体アレイ(Full Moon BioSystems, Inc., Sunnyvale, CA)において製造業者の説明書に従ってインキュベートした。アレイをAgilentスキャナーにおいてスキャンし、Feature Extractorソフトウェア(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)を用いて画像からデータを抽出した。抽出されたデータを負の対照アレイに対して規準化し、GeneSpring GXソフトウェア(Agilent)を用いて、規準化された蛍光値を解析した。乳癌試料では113種類のタンパク質が、対照と比較して1.3倍を超える変化の差があると見出された。表89を参照されたい。DCIS試料では86種類のタンパク質が、対照と比較して2.0倍以上の変化があると見出された。表90を参照されたい。DCISと癌との間で23種類のタンパク質が2倍以上の変化があると見出された。表91を参照されたい。

20

【1503】

(表89) 健常対照からの血漿由来cMVと乳癌患者からの血漿由来cMVとの間で1.3倍以上の差があると見出されたバイオマーカー

30

バイオマーカー	変化倍率 (癌 対 対照 において)	制御 (癌 対 対照 において)
TRAP	1.64	上方
腎細胞癌	1.63	上方
フィラミン	1.53	上方
14.3.3, Pan	1.53	上方
プロヒビチン	1.50	上方
c-fos	1.41	上方
Ang-2	1.40	上方

40

GSTmu	1.40	上方
Ang-1	1.39	上方
FHIT	1.39	上方
Rad51	1.38	上方
インヒビン α	1.37	上方
カドヘリン-P	1.35	上方
14.3.3 γ	1.32	上方
p18INK4c	1.31	上方
P504S	1.31	上方
XRCC2	1.30	上方
カスパーゼ 5	1.30	上方
CREB結合タンパク質	1.30	上方
エストロゲン受容体	-1.30	下方
IL17	-1.30	下方
クローディン 2	-1.30	下方
ケラチン8	-1.31	下方
GAPDH	-1.31	下方
CD1	-1.31	下方
ケラチン, LMW	-1.31	下方
γ グルタミルシステイン シンセターゼ (GCS) / グルタミン酸 -システインリガーゼ	-1.31	下方
α -B-クリスタリン	-1.31	下方
Pax-5	-1.32	下方
MMP-19	-1.32	下方
APC	-1.32	下方
IL-3	-1.32	下方
ケラチン8 (リン酸化特異的Ser73)	-1.32	下方
TGF- β 2	-1.33	下方
ITK	-1.33	下方
Oct-2/	-1.33	下方
DJ-1	-1.33	下方
B7-H2	-1.33	下方
形質細胞マーカー	-1.33	下方
Rad18	-1.33	下方
エストリオール	-1.33	下方
Chk1	-1.33	下方
プロラクチン受容体	-1.34	下方
ラミニン受容体	-1.34	下方
ヒストン H1	-1.34	下方
CD45RO	-1.34	下方
GnRH受容体	-1.34	下方
IP10/CRG2	-1.35	下方
アクチン, 筋肉特異的	-1.35	下方
S100	-1.35	下方

10

20

30

40

ジストロフィン	-1.35	下方
チューブリン- α	-1.36	下方
CD3zeta	-1.36	下方
CDC37	-1.36	下方
GABA α 受容体1	-1.36	下方
MMP-7 (マトリライシン)	-1.37	下方
ヘレグリン	-1.37	下方
カスパーゼ 3	-1.38	下方
CD56/NCAM-1	-1.38	下方
ガストリン 1	-1.38	下方
SREBP-1 (ステロール調節 エレメント結合タンパク質-1)	-1.38	下方
MLH1	-1.38	下方
PGP9.5	-1.39	下方
第VIII因子関連抗原	-1.39	下方
ADP-リボシル化因子 (ARF-6)	-1.39	下方
MHC II (HLA-DR) Ia	-1.40	下方
サバイビン	-1.40	下方
CD23	-1.40	下方
G-CSF	-1.40	下方
CD2	-1.41	下方
カルレチニン	-1.41	下方
ニューロン特異的エノラーゼ	-1.41	下方
CD165	-1.41	下方
カルボニン	-1.41	下方
CD95 / Fas	-1.42	下方
ウロコルチン	-1.42	下方
熱ショックタンパク質 27/hsp27	-1.42	下方
Topo II β	-1.42	下方
インスリン受容体	-1.42	下方
ケラチン 5/8	-1.42	下方
sm	-1.43	下方
アクチン, 骨格筋	-1.43	下方
CA19-9	-1.44	下方
GluR1	-1.45	下方
GRIP1	-1.45	下方
CD79a mb-1	-1.46	下方
TdT	-1.46	下方
HRP	-1.46	下方
CD94	-1.47	下方
CCK-8	-1.48	下方
チミジンホスホリラーゼ	-1.48	下方
CD57	-1.48	下方
アルカリホスファターゼ (AP)	-1.49	下方
CD59/MACIF/MIRL/プロテクチン	-1.49	下方

10

20

30

40

GLUT-1	-1.49	下方
α -1-抗トリプシン	-1.50	下方
プレセニリン	-1.50	下方
ムチン 3 (MUC3)	-1.51	下方
pS2	-1.52	下方
14-3-3 β	-1.53	下方
MMP-13 (コラゲナーゼ-3)	-1.55	下方
Fli-1	-1.56	下方
mGluR5	-1.57	下方
肥満細胞キマーゼ	-1.57	下方
ラミニン B1/b1	-1.57	下方
神経フィラメント (160kDa)	-1.59	下方
CNPase	-1.61	下方
アミリンペプチド	-1.63	下方
Gail	-1.67	下方
CD6	-1.75	下方
α -1-抗キモトリプシン	-1.80	下方
E2F-2	-2.01	下方
MyoD1	-2.17	下方

10

20

【 1 5 0 4 】

(表 9 0) DCIS患者からの血漿由来cMVと健常対照からの血漿由来cMVとの間で2倍以上の差があるバイオマーカー

バイオマーカー	変化倍率 (DCIS 対 対照 において)	制御 (DCIS 対 対照 において)
ラミニン B1/b1	-3.91	下方
E2F-2	-3.15	下方
TdT	-3.13	下方
アポリポタンパクD	-2.90	下方
顆粒球	-2.80	下方
アルカリホスファターゼ (AP)	-2.78	下方
熱ショックタンパク質 27/hsp27	-2.75	下方
CD95 / Fas	-2.74	下方
pS2	-2.63	下方
エストジオール	-2.63	下方
GLUT-1	-2.61	下方
フィブロネクチン	-2.61	下方
CD6	-2.59	下方
CCK-8	-2.55	下方
sm	-2.54	下方
第VIII因子関連抗原	-2.51	下方
CD57	-2.51	下方
プラスミノゲン	-2.49	下方
CD71 / トランスフェリン受容体	-2.46	下方
ケラチン 5/8	-2.46	下方

30

40

チミジンホスホリラーゼ	-2.45	下方
CD45/T200/LCA	-2.42	下方
上皮特異的抗原	-2.42	下方
マクロファージ	-2.38	下方
CD10	-2.38	下方
MyoD1	-2.38	下方
Gai1	-2.38	下方
bcl-XL	-2.37	下方
hPL	-2.35	下方
カスパーゼ 3	-2.35	下方
アクチン, 骨格筋	-2.33	下方
IP10/CRG2	-2.31	下方
GnRH受容体	-2.30	下方
p35nck5a	-2.27	下方
ADP-リボシル化因子 (ARF-6)	-2.26	下方
Cdk4	-2.26	下方
α -1-抗トリプシン	-2.25	下方
IL17	-2.25	下方
ニューロン特異的エノラーゼ	-2.21	下方
CD56/NCAM-1	-2.18	下方
プロラクチン受容体	-2.17	下方
Cdk7	-2.17	下方
CD79a mb-1	-2.17	下方
コラーゲン IV	-2.16	下方
CD94	-2.15	下方
ミエロイド特異的マーカー	-2.15	下方
ケラチン 10	-2.15	下方
Pax-5	-2.14	下方
IgM (m-重鎖)	-2.14	下方
CD45RO	-2.13	下方
CA19-9	-2.13	下方
ムチン 2	-2.12	下方
グルカゴン	-2.12	下方
肥満細胞キマーゼ	-2.11	下方
MLH1	-2.11	下方
CD1	-2.11	下方
CNPase	-2.10	下方
パーキン	-2.09	下方
MHC II (HLA-DR) Ia	-2.09	下方
B7-H2	-2.09	下方
Chk1	-2.09	下方
ラムダ軽鎖	-2.09	下方
MHC II (HLA-DPおよび DR)	-2.08	下方
ミオゲニン	-2.08	下方
MMP-7 (マトリライシン)	-2.08	下方

10

20

30

40

Topo II β	-2.08	下方
CD53	-2.06	下方
ケラチン 19	-2.06	下方
Rad18	-2.06	下方
Ret オンコプロテイン	-2.06	下方
MHC II (HLA-DP)	-2.06	下方
E3結合タンパク質 (ARM1)	-2.06	下方
プロゲステロン受容体	-2.05	下方
ケラチン 8	-2.05	下方
IgG	-2.05	下方
IgA	-2.04	下方
チューブリン	-2.04	下方
インスリン受容体基質-1	-2.03	下方
ケラチン 15	-2.03	下方
DR3	-2.02	下方
IL-3	-2.02	下方
ケラチン 10/13	-2.02	下方
サイクリン D3	-2.02	下方
MHC I (HLA25 および HLA-Aw32)	-2.00	下方
カルモジュリン	-2.00	下方
神経フィラメント (160kDa)	-2.00	下方

10

20

【 1 5 0 5 】

(表 9 1) DCIS患者からの血漿由来cMVと乳癌患者からの血漿由来cMVとの間で2倍以上の差があると見出されたタンパク質

名称	変化倍率 (DCIS 対 対照 において)	制御 (DCIS 対 対照 において)
マクロファージ	-2.54	下方
フィブロネクチン	-2.02	下方
顆粒球	-3.04	下方
ケラチン 19	-2.11	下方
サイクリン D3	-2.07	下方
CD45/T200/LCA	-2.21	下方
EGFR	-2.01	下方
トロンボスポンジン	-2.12	下方
CD81/TAPA-1	-2.04	下方
Ruv C	-2.02	下方
プラスミノゲン	-2.03	下方
コラーゲン IV	-2.08	下方
ラミニン B1/b1	-2.49	下方
CD10	-2.00	下方
TdT	-2.15	下方
フィラミン	-2.61	下方
bcl-XL	-2.00	下方
14.3.3 γ	-2.27	下方
14.3.3, Pan	-2.42	下方
p170	-2.08	下方
アポリポタンパクD	-2.69	下方
CD71 / トランスフェリン受容体	-2.21	下方
FHIT	-2.32	下方

10

20

【1506】

正常対乳癌患者(表89)、正常対DCIS患者(表90)、およびDCIS乳癌対非DCIS乳癌(表91)を区別するために、表89～91のcMVマーカーをバイオシグネチャーにおいて使用することができる。

30

【1507】

実施例83:肺癌由来の循環タンパク質バイオマーカー

本実施例では、健常対照と肺癌患者とを識別するcMVタンパク質シグネチャーを同定するために、抗体アレイを用いてcMVを調べた。試料セットは、10人の非小細胞肺癌(NSCLC)患者(5人のI期、3人のII期、2人のIII期)からの血漿由来cMVおよび10人の自己申告正常対象からの血漿由来cMVからなった。試料を、Full Moon BioSystems 649抗体アレイ(Full Moon BioSystems, Inc., Sunnyvale, CA)において製造業者の説明書に従ってインキュベートした。アレイをAgilentスキャナーにおいてスキャンし、Feature Extractorソフトウェア(Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)を用いて画像からデータを抽出した。抽出されたデータを負の対照アレイに対して規準化し、GeneSpring GXソフトウェア(Agilent)を用いて、規準化された蛍光値を解析した。乳癌試料では166種類のタンパク質が、対照と比較して1.5倍を超える変化の差があると見出された。表92を参照されたい。表中の「未処理(raw)」は、規準化された蛍光値を指す。

40

【1508】

(表92) 健常対照からの血漿由来cMVと肺癌患者からの血漿由来cMVとの間で1.5倍以上の差があると見出されたバイオマーカー

バイオマーカー	変化倍率 (肺癌 対 対照において)	変化倍率 (肺癌 対 正常において)
プロヒビチン	3.31	上方
CD23	2.33	上方
アミリンペプチド	2.25	上方
HRP	2.20	上方
Rad51	2.17	上方
Pax-5	2.11	上方
Oct-3/	2.07	上方
GLUT-1	2.01	上方
PSCA	2.00	上方
トロンボスポンジン	1.96	上方
FHIT	1.95	上方
a-B-クリスタリン	1.88	上方
LewisA	1.87	上方
血管内皮成長因子 (VEGF)	1.87	上方
肝細胞因子ホモログ-4	1.83	上方
Flt-4	1.82	上方
GluR6/7	1.81	上方
前立腺アポトーシス応答タンパク質-4	1.79	上方
GluR1	1.79	上方
Fli-1	1.77	上方
ウロコルチン	1.74	上方

10

20

S100A4	1.74	上方
14-3-3 β	1.73	上方
P504S	1.73	上方
HDAC1	1.72	上方
PGP9.5	1.72	上方
DJ-1	1.72	上方
COX2	1.71	上方
MMP-19	1.71	上方
アクチン, 骨格筋	1.70	上方
クローディン 3	1.70	上方
カドヘリン-P	1.69	上方
コラーゲン IX	1.67	上方
p27Kip1	1.67	上方
Catヘプシン D	1.66	上方
CD30 (リード-スターンバーグ細胞マーカー)	1.66	上方
ユビキチン	1.65	上方
FSH-b	1.63	上方
TrxR2	1.63	上方
CCK-8	1.60	上方
サイクリン C	1.60	上方
CD138	1.59	上方
TGF- β 2	1.59	上方
副腎皮質刺激ホルモン	1.58	上方
PPAR- γ	1.57	上方
Bcl-6	1.57	上方
GLUT-3	1.56	上方
IGF-I	1.55	上方
mRANKL	1.55	上方
Fas-リガンド	1.55	上方
フィラミン	1.55	上方
カルレチニン	1.55	上方
O ct-1	1.54	上方
副甲状腺ホルモン	1.54	上方
クローディン 5	1.53	上方
クローディン 4	1.53	上方
Raf-1 (リン酸化特異的)	1.53	上方
CDC14A ホスファターゼ	1.53	上方
ミトコンドリア	1.52	上方
APC	1.52	上方
ガストリン 1	1.51	上方
Ku (p80)	-1.50	下方
Gail	-1.50	下方
XPA	-1.51	下方
マルトース結合タンパク質	-1.52	下方
黒色腫 (gp100)	-1.52	下方
ホスホチロシン	-1.52	下方
アミロイド A	-1.52	下方
CXCR4 / フーシン	-1.53	下方
肝性核因子-3B	-1.53	下方
カスパーゼ 1	-1.53	下方

10

20

30

40

HPV 16-E7	-1.53	下方
軸索成長円錐	-1.53	下方
Lck	-1.54	下方
オルニチンデカルボキシラーゼ	-1.54	下方
γ グルタミルシステインシンセターゼ (GCS) /グルタミン酸-システインリガーゼ	-1.54	下方
ERCC1	-1.54	下方
カルモジュリン	-1.54	下方
カスパーゼ 7 (Mch 3)	-1.55	下方
CD137 (4-1BB)	-1.56	下方
酸化窒素シンターゼ, 脳 (bNOS)	-1.56	下方
E2F-2	-1.56	下方
IL-10R	-1.56	下方
L-プラスチン	-1.57	下方
CD18	-1.58	下方
ビメンチン	-1.58	下方
CD50/ICAM-3	-1.59	下方
スーパーオキシドジスムターゼ	-1.60	下方
アデノウイルスタイプ 5 E1A	-1.60	下方
PHAS-I	-1.61	下方
プロゲステロン受容体(リン酸化特異的) - セリン 294	-1.61	下方
MHC II (HLA-DQ)	-1.61	下方
XPG	-1.62	下方
ER Ca+2 ATPase2	-1.62	下方
ラミニン-s	-1.62	下方
E3結合タンパク質 (ARM1)	-1.62	下方
CD45RO	-1.63	下方
CD1	-1.63	下方
Cdk2	-1.63	下方
MMP-10 (ストロメライシン-2)	-1.64	下方
sm	-1.64	下方
サーファクタントタンパクB (Pro)	-1.64	下方
アポリポタンパクD	-1.64	下方
CD46	-1.65	下方
ケラチン 8 (リン酸化特異的Ser73)	-1.66	下方
PCNA	-1.66	下方
PLAP	-1.67	下方
CD20	-1.68	下方
Syk	-1.69	下方
LH	-1.69	下方
ケラチン 19	-1.70	下方
ADP-リボシル化因子 (ARF-6)	-1.70	下方
Int-2 オンコプロテイン	-1.71	下方
ルシフェラーゼ	-1.74	下方
AIF (アポトーシス誘導因子)	-1.74	下方
Grb2	-1.75	下方
bcl-X	-1.75	下方
CD16	-1.75	下方
パキシリン	-1.75	下方

10

20

30

40

MHC II (HLA-DP および DR)	-1.75	下方
B細胞	-1.76	下方
p21WAF1	-1.78	下方
MHC II (HLA-DR)	-1.78	下方
チロシナーゼ	-1.79	下方
E2F-1	-1.79	下方
Pds1	-1.80	下方
カルボニン	-1.80	下方
Notch	-1.81	下方
CD26/DPP IV	-1.81	下方
SV40 ラージT抗原	-1.81	下方
Ku (p70/p80)	-1.82	下方
パーフォリン	-1.84	下方
XPF	-1.84	下方
SIM Ag (SIMA-4D3)	-1.85	下方
Cdk1/p34cdc2	-1.86	下方
ニューロン特異的エノラーゼ	-1.87	下方
b-2-ミクログロブリン	-1.89	下方
DNA ポリメラーゼ β	-1.90	下方
甲状腺ホルモン受容体, ヒト	-1.90	下方
アルカリホスファターゼ (AP)	-1.91	下方
形質細胞マーカー	-1.92	下方
熱ショックタンパク質 70/hsp70	-1.92	下方
TRP75 / gp75	-1.92	下方
SRF (血清応答因子)	-1.93	下方
ラミニン B1/b1	-1.97	下方
肥満細胞キマーゼ	-1.98	下方
カルデスモン	-1.99	下方
CEA / CD66c	-2.00	下方
CD24	-2.01	下方
レチノイド X受容体 (hRXR)	-2.08	下方
CD45/T200/LCA	-2.08	下方
狂犬病ウイルス	-2.12	下方
チトクローム c	-2.12	下方
DR3	-2.16	下方
bcl-XL	-2.23	下方
ファスシン	-2.46	下方
CD71 / トランスフェリン受容体	-2.61	下方

10

20

30

【1509】

正常と肺癌患者とを区別するために、表92のcMVマーカーの1つまたは複数をバイオシグネチャーにおいて使用することができる。

40

【1510】

本発明の好ましい態様が本明細書において示されかつ記載されているが、そのような態様が一例としてのみ提供されていることは当業者に明白であろう。本発明から逸脱することなく、当業者には、数々の変動、変更、および置換が想起されるであろう。本発明を実践する際に、本明細書において記載されている本発明の態様の種々の代替物を利用できることが理解されるべきである。添付の特許請求の範囲は本発明の範囲を規定するものであり、かつ、添付の特許請求の範囲の範囲内の方法および構造物、ならびにそれらの同等物はそれによって網羅されることを意図する。

【図 1 A】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
乳房	BCA-225	Cerani et al., 1985
乳房	BCA-225	Mesa-Tejada et al., 1988
乳房	BCA-225	Loy et al., 1991
乳房	BCA-225	Ma et al., 1993
乳房	hsp70	Wolffers et al., 2001 Nat Med 793: 297
乳房	MART-1	Wolffers et al., 2001 Nat Med 793: 297
乳房	ER	Oldenhuis CN et al., Eur J Cancer, 2008 May;44(7):946-53. Epub 2008 Apr 7; Payne SJ et al., Histopathology, 2008 Jan;52(1):82-90
乳房	クラスIII β- チューブリン	Galmarini CM et al., Clin Cancer Res. 2008 Jul 15;14(14):4511-6
乳房	VEGFA	Linderholm BK et al., Cancer Res. 2001 Mar 1;61(5):2256-60
乳房	HER2/neu (Her2-EGFに対して)	De Laurentis M et al., Ann Oncol. 2005 May;16 Suppl 4:v7-13.
乳房	GRP30	Fiardo EJ et al., Steroids. 2008 Oct;73(9-10):870-3.
乳房	ErB4(JM) アイソフォーム	Määttä JA et al., Mol Biol Cell. 2006 Jan;17(1):67-79.
乳房	MPR8	Bera TK et al., Molecular Medicine 7(8): 509-516, 2001
乳房	MSIR	Jamie N Bakkum-Gomez et al., Gynecologic oncology (Gynecol Oncol) Vol. 108 Issue 1 Pg. 141-8
卵巣	CA125 (OC125)#	Bast et al., 1981
卵巣	CA125	Dabawat S, et al., 1983
卵巣	CA125	Davis H et al., 1986
卵巣	CA125	Nouwen E, et al., 1986
卵巣	CA125	Quirk J, et al., 1988
卵巣	CA-125	Fukazawa I et al., 1988
卵巣	VEGFA	Osada R et al., Hum Pathol. 2006 Nov;37(11):1414-25.
卵巣	VEGFR2	Chen BY et al., Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2005 Jan;27(1):33-7
卵巣	HER2	Steffensen KD et al., Int J Oncol. 2008 Jul;33(1):195-204
卵巣	MSIR	Jamie N Bakkum-Gomez et al., Gynecologic oncology (Gynecol Oncol) Vol. 108 Issue 1 Pg. 141-8
肺	CYFRA 21-1	Kulpa J, et al., C Clin Chem 48: 1931-1937 (2002)
肺	TPA-M	Kulpa J, et al., <i>supra</i> .
肺	TPS	Kulpa J, et al., <i>supra</i> .
肺	CEA	Kulpa J, et al., <i>supra</i> .
肺	SOC-Ag	Kulpa J, et al., <i>supra</i> .
肺	XAGE-1b	Kikuchi et al., Cancer Immunity, 8:13 (2008)
肺	HLAクラス I	Kikuchi et al., <i>supra</i> .
肺	TA-MUC1	Kuemmel et al., Lung Cancer Jun 6, 2008
肺	KRAS	Zhang Z et al., Cancer Biol Ther. 2006 Nov;5(11):1481-6
肺	hENT1	Oguri T et al., Cancer Lett. 2007 Oct 18;256(1):112-9.
肺	キニンb1 受容体	Chee J et al., Biol Chem. 2008 Sep;389(9):1225-33.
肺	キニンb2 受容体	Chee J et al., Biol Chem. 2008 Sep;389(9):1225-33.
肺	TSC403	Ozaki K et al., CANCER RESEARCH 58, 3499-3503, August 15, 1998
肺	HTI56	Dobbs LG et al., JHC Volume 47(2): 129-137, 1999

【図 1 C】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
前立腺	MSIR	Bakkum-Gomez J.N. et al., Gynecol Oncol Vol. 108 Issue 1 Pg. 141-8
黒色腫	TYRP1	Mears et al., 2004
黒色腫	SILV	Mears et al., 2004
黒色腫	MLANA	Mears et al., 2004
黒色腫	MCAM	Mears et al., 2004
黒色腫	CD63	Azorsa et al., 1991
黒色腫	CD63	Barrio et al., 1998
黒色腫	CD63	Demetrick et al., 1992
黒色腫	CD63	Mete et al., 2005
黒色腫	CD63	Kwon et al., 2007
黒色腫	Alix	Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31.
黒色腫	hsp70	Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31
黒色腫	モーション	Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31.
黒色腫	p120 カテニン	Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31
黒色腫	PGRL	Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31
黒色腫	シンタキシン 結合タンパク質 1 & 2	Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31
黒色腫	DUSP1	
脳	PRMT8	Lee et al., 2005
脳	BDNF	Binder and Scharfman, 2004
脳	EGFR	Hicke et al., J. Biol. Chem. 276, 48644-48654, 2001; Daniels et al., PNAS 100, 15416-15421, 2003
脳	DPPX	Kim et al., J. Biochem, 2001, Vol. 129, No. 2 289-295
脳	Elk	Lhotak V et al., MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, May 1991, p. 2496-2502
脳	デンシン-180	Apperson ML et al., Journal of Neuroscience Volume 16, Number 21, Issue of November 1, 1996 pp. 6839-6852
脳	BAI2	Shiratsuchi T et al., Cytogenet Cell Genet. 1997;79(1-2):103-8.
脳	BAI3	Shiratsuchi T et al., Cytogenet Cell Genet. 1997;79(1-2):103-8.
乾癬	tlf-1	Detmar M, et al., 1994
乾癬	VPF受容体	Detmar M, et al., 1994
乾癬	kdr	Detmar M, et al., 1994
CVD	FATP6	Gimeno RE et al., J Biol Chem. 2003 May 2;278(18):16039-44.
血液悪性腫瘍	CD44	Liu J and Jiang G, II Mol Immunol. 2006 Oct;3(5):359-65.
血液悪性腫瘍	CD58	Kroger N, et al., 1997
血液悪性腫瘍	CD31	Kroger N, et al., 1998
血液悪性腫瘍	CD11a	Kroger N, et al., 1999
血液悪性腫瘍	CD48d	Kroger N, et al., 2000
血液悪性腫瘍	GARP	Wang R et al., PLoS ONE 2008 Jul 16;3(7):e2705.

【図 1 B】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
肺	DC-LAMP	Salaun B et al., American Journal of Pathology, 2004;164:861-871
結腸	CEA	Park et al., 2002
結腸	MUC2	Park et al., 2002
結腸	GPA33	Huber et al., 2005
結腸	CEACAM5	Huber et al., 2005
結腸	ENF81	Huber et al., 2006
結腸	CCSA-3	Leman et al., 2007
結腸	CCSA-4	Leman et al., 2008
結腸	ADAM 10	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	CD44	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	NG2	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	エフリン-81	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	ブラコグロビン	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	ガレクチン-4	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	RACK1	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	テトラスパニン-8	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	FastL	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	A33	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	CEA	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	EGFR	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	ジペプチダーゼ1	Choi et al., 2007, J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸	PTEN	Frattini et al., 2007
結腸	Ne(+)依存性 グルコース トランス ポーター	Wang Y et al., Pediatr Res. 1994 Oct;36(4):514-21.
結腸	UDP-グルクロニル トランス フェラーゼA	Gong OH et al., Pharmacogenetics 11:357-368(2001).
良性前立腺肥大症	KIA1	Ueda T, et al., 1996
良性前立腺肥大症	無傷の フィブロネクチン	Janković MM, Kosanović MM, Dis Markers. 2008;25(1):49-58.
前立腺	PSA	Numikko P et al., 2000
前立腺	TMPRSS2	Wilson S et al., Biochem J. 2005 Jun 15;388(Pt 3):967-72.
前立腺	FASLG	Huber et al., 2005, Gastroenterol Nurs 28(6): 510-1.
前立腺	TNFSF10	Huber et al., 2005, Gastroenterol Nurs 28(6): 510-1
前立腺	PSMA	Pinto JT et al., Clin Cancer Res. 1996 Sep;2(9):1445-51.
前立腺	NGEP	Das S et al., Cancer Res. 2007 Feb 15;67(4):1594-1601
前立腺	IL-TR1	Haudenschild DR et al., Prostate. 2006 Sep 1;66(12):1268-74.
前立腺	CSCR4	Chinni SR et al., Mol Cancer Res. 2008 Mar;6(3):446-57.
前立腺	CysLT1R	Matsuyama M et al., Oncol Rep. 2007 Jul;18(1):99-104.
前立腺	TRPM8	Bidaux G et al., J Clin Invest. 2007 Jun;117(6):1647-57.
前立腺	Kv1.3	Prevarskaya N et al., Cell Death Differ. 2007 Jul;14(7):1295-304.
前立腺	TRPV6	Prevarskaya N et al., Cell Death Differ. 2007 Jul;14(7):1295-304.
前立腺	TRPM8	Prevarskaya N et al., Cell Death Differ. 2007 Jul;14(7):1295-304.
前立腺	PSGR	Xu LL et al., Cancer Res. 2000 Dec 1;60(23):6568-72.

【図 1 D】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
血液悪性腫瘍	BTS	Suenaga T et al., Eur J Immunol. 2007 Nov;37(11):3197-207.
血液悪性腫瘍	Raffin	Saeki K et al., The EMBO Journal (2003) 22, 3015-3026
肝細胞癌	HBxAg	Wang W, et al., 1991
肝細胞癌	HBsAg	Wang W, et al., 1991
肝細胞癌	NLT	Simonsen GD et al., Journal of Cell Science 107, 1065-1072 (1994)
子宮頸癌	MCT-1	Pinheiro C, et al., 2008
子宮頸癌	MCT-2	Pinheiro C, et al., 2008
子宮頸癌	MCT-4	Pinheiro C, et al., 2008
頭頸部癌	EGFR	Sheikh Ali MA et al., Cancer Sci. 2008 Aug;99(8):1589-94
頭頸部癌	EphB4	Yavrouian EJ et al., Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 Sep;134(9):985-91.
頭頸部癌	Efリン82	Yavrouian EJ et al., Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 Sep;134(9):985-91.
子宮内膜癌	αVβ6 インテグリン	Hecht JL et al., Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2008 Aug 11.
自己免疫疾患	Tim-2	Chakravarti S, et al., 2005
過敏性腸疾患	IL-16	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	5-HT	Kerckhoffs AP et al., Neurogastroenterol Motil. 2008 Aug;20(8):900-7.
過敏性腸疾患	IL-1β	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	IL-12	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	TNF-α	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	インター フェロンγ	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	IL-6	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	Rantes	Seegert D, et al., 2001
過敏性腸疾患	MCP-1	Seegert D, et al., 2001
糖尿病	IL-6	Pradhan A, et al., 2001
糖尿病	CRP	Pradhan A, et al., 2001
糖尿病	RBP4	Lee SJ et al., Anal Chem. 2008 Apr 15;80(8):2867-73.
パレット食道	p53	Hamelin R, et al., 1994
パレット食道	MUC1	Burjorappa SC et al., Indian J Cancer. 2007 Jan-Mar;44(1):1-5.
パレット食道	MUC6	Glickman JN et al., Am J Surg Pathol. 2003 Oct;27(10):1357-65

【図 1 E】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
線維筋痛症	ネオブテリン	Bonaccorso S, et al., 1997
線維筋痛症	gp130	Maes M et al., 1999
脳卒中	S-100	Missler U, et al., 1997
脳卒中	ニューロン 特異的エノラーゼ	Missler U, et al., 1997
脳卒中	PARK7	Allard L, et al., 2005
脳卒中	NDKA	Allard L, et al., 2005
脳卒中	ApoC-I	Allard L, et al., 2005
脳卒中	ApoC-III	Allard L, et al., 2003
脳卒中	SAa	Allard L, et al., 2003
脳卒中	AI-IIIフラグメント	Allard L, et al., 2003
脳卒中	Lp-PLA2	http://www.doctorslounge.com/neurology/news/stroke_lp-pla2_crp.shtml; Gorelick PB, Am J Cardiol. 2008 Jun 16;101(12A):34F-40F
脳卒中	hs-CRP	http://www.doctorslounge.com/neurology/news/stroke_lp-pla2_crp.shtml
多発性硬化症	B7	Ferrante P, et al., 1998
多発性硬化症	B7-2	Ferrante P, et al., 1998
多発性硬化症	CD-95(fas)	Ferrante P, et al., 1998
多発性硬化症	Apo-1/fas	Ferrante P, et al., 1998
パーキンソン病	PARK2	Shimura H, et al., 2000
パーキンソン病	セルロ プラスミン	Shi M et al., Neurobiol Dis. 2008 Sep 26.
パーキンソン病	VDOP	Zhang et al., 2008 Am. J. Clin. Pathol. 129, 526-9.
パーキンソン病	tau	Zhang et al., 2008 Am. J. Clin. Pathol. 129, 526-9; Mollenhauer B et al., Dement Geriatr Cogn Disord; 2006;22(3):200-8; Davidsson P and Sjögren M, Dis Markers. 2005;21(2):81-92
パーキンソン病	DJ-1	Waragai et al., 2007 Neurosci. Lett. 425, 18-22 & Waragai et al 2006 Biochem. Biophys. Res. Commun. 345, 967-72
リウマチ性疾患	シトルリ化 フィブリノー ゲンフラグメントb	Skinner et al., 2006
リウマチ性疾患	CD5抗原様 フィブリノー ゲンフラグメントb	Skinner et al., 2006
リウマチ性疾患	CD5抗原様 フィブリノー ゲンフラグメントB	Skinner et al., 2006
リウマチ性疾患	TNF-α	Anderson AK et al., Arthritis Res Ther. 2008;10(2):204. Epub 2008 Mar 14.
アルツハイマー病	APP695	Rebeck G, et al., 2001
アルツハイマー病	APP751	Rebeck G, et al., 2001
アルツハイマー病	APP770	Rebeck G, et al., 2001
アルツハイマー病	BACE1	Hebert SS et al., 2008, Proc Natl Acad Sci U.S.A., 105(17): 6415-20
アルツハイマー病	シスタチンC	Simonsen et al., 2008 Neurobiol. Aging. 29, 961-8
アルツハイマー病	アミロイドβ	Simonsen et al., 2008 Neurobiol. Aging. 29, 961-8
アルツハイマー病	t-Tau	Simonsen et al., 2008 Neurobiol. Aging. 29, 961-8

【図 1 G】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
TB	スルホリビド 抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	TAT抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	トレハロース 6,6-ジミコレート (コード4子) 抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
HIV	Gp41	Phogat S et al., J Intern Med. 2007 July ; 262(1): 26-43.
HIV	gp120	Phogat S et al., J Intern Med. 2007 July ; 262(1): 26-43.
自閉症	VIP	Nelson KB et al Annals of Neurology 2001, 49:597-606..
自閉症	PACAP	Nelson KB et al Annals of Neurology 2001, 49:597-606.
自閉症	CGRP	Nelson KB et al Annals of Neurology 2001, 49:597-606.
自閉症	NT3	Nelson KB et al Annals of Neurology 2001, 49:597-606.
喘息	YKL-40	Scott, L., Thorax 2008;63:365. A New Biomarker in Asthma
喘息	S-エトロリチオール	Holgate, ST., Lancet. 1998 May 2;351(9112):1317-9.
喘息	SOCA2	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):361-7.
喘息	PAI	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):361-7.
喘息	アンフィレグリン	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):361-7.
喘息	ペリオスチン	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):361-7.
狼瘡	TNFR	Suh CH and Kim HA, Expert Rev Mol Diagn. 2008 Mar;8(2):169-98
不安定ブランク	αvβ3 インテグリン	Burtea C et al., Cardiovasc Res. 2008 Apr 1;78(1):148-57.
不安定ブランク	MMP9	Blankenberg S et al., 2003 Circulation 107:1579-1585.

【図 1 F】

癌系統、 群比較、 病状	抗原	参考文献
アルツハイマー病	補体因子H	Hyte et al., 2006 Brain. 129, 3042-50
アルツハイマー病	α-2-マクロ グロブリン	Hyte et al., 2006 Brain. 129, 3042-50
アルツハイマー病	APOE4	Albert MS, Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Nov 26;93(24):13547-51.
プリオン病	PrPSc	Takenura K et al., Exp Biol Med (Maywood) Feb;231(2):204-14, 2006
プリオン病	14-3-3と	Kubler E et al., British Medical Bulletin 66:267-279, 2003
プリオン病	S-100	Kubler E et al., British Medical Bulletin 66:267-279, 2003
プリオン病	AQP-4	Kubler E et al., British Medical Bulletin 66:267-279, 2003
慢性神経因性疼痛	ケモカイン 受容体 (CCR2/4)	White FA et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Dec 18;104(51):20151-8
末梢神経因性疼痛	OX42 (蓄歯類)	Blackbeard J et al., J Neurosci Methods. 2007 Aug 30;164(2):207-17
末梢神経因性疼痛	ED9 (蓄歯類)	Blackbeard J et al., J Neurosci Methods. 2007 Aug 30;164(2):207-17
統合失調症	ATP5B	Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct 15.
統合失調症	ATP5H	Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct 15.
統合失調症	ATP6V1B	Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct 15.
統合失調症	DNM1	Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct 15.
GIST	PDGFRA	Yang J et al., ncer. 2008 Oct 1;113(7):1532-43
GIST	c-kit	Yang J et al., ncer. 2008 Oct 1;113(7):1532-43
GIST	NHE-3	Kulaksiz H et al., Cell Tissue Res. 2001 Mar;303(3):337-43.
腎細胞癌	HIF1α	Rathmell WK, Chen S, Expert Rev Anticancer Ther. 2008 Jan;8(1):63-73.
腎細胞癌	VEGF	Rathmell WK, Chen S, Expert Rev Anticancer Ther. 2008 Jan;8(1):63-74.
腎細胞癌	PDGFRA	Rathmell WK, Chen S, Expert Rev Anticancer Ther. 2008 Jan;8(1):63-74.
肝硬変	NLT	Simonsen GD et al., Journal of Cell Science 107,1065-1072 (1994)
肝硬変	HBsAg	Wang, W. et al., 1991
食道癌	CaSR	Justinich CJ et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008 Jan;294(1):G120-9.
インフルエンザ	ヘマグルタニン	Verma RK and Jain Amita, FEMS Immunol Med Microbiol 51 (2007) 453-461
インフルエンザ	ノイラミニダーゼ	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	抗原 60	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	HSP 抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	リボアラビノ マンナン抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	アシル化 トレイロース ファミリーの抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .
TB	DAT 抗原	Verma RK and Jain Amita, <i>supra</i> .

【図 2 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	結合物質	選択された参考文献
乳房	ハーセプチン (トラスツズマブ)	Adams GP, Weiner LM, Nat Biotechnol. 2005 Sep;23(9):1147-57.
乳房	CCND1 PNA	Tian et al., NAR 24(5-7):1085-91, 2005; Tian et al., Ann NY Acad Sci 1059, 106-44, 2005
乳房	MYC PNA	Tian et al., NAR 24(5-7):1085-91, 2005; Tian et al., Ann NY Acad Sci 1059, 106-44, 2005
乳房	IGF-1 PNA	Tian et al., J. of Nucl Med 48(10), 1699-707, 20007
乳房	MYC PNA	Tian et al., Bioconjug Chem 16(1):70-9, 2005
乳房	SC4 アプタマー (Ku)	Zhang et al. 2004
乳房	Alt-7 アプタマー (ERβ2)	Kunz et al., MolecularCancer Research(4) 983998, 2006
乳房	ガレクチン-3結合物質	Cancer Invest 26(6):615-23, 2008
乳房	ムチン型0-グリカン 結合物質	Cancer Invest 26(6):615-23, 2008
乳房	L-PHA結合物質	Abbott et al., J Proteome Res 7(4):1470-80, 2008
乳房	ガレクチン-9結合物質	Yamaguchi et al., Breast J 5(2), 2008
乳房	ER	Payne SJ et al., Histopathology. 2008 Jan;52(1):82-90.
乳房	PR	Payne SJ et al., Histopathology. 2008 Jan;52(1):82-90.
卵巢	(90) Y-muHMF61結合物質	Oei et al 2008
卵巢	OC125 (抗CA125 抗体)	Matsuoka et al 1987
卵巢	モノクローナル抗体 (HMF61、HMF62、H317、 およびH17E2)、Hu2PLAP	Kosmas et al., Oncology 55 (5):435-446, 1998
肺	SCLC 特異的アプタマー HCA12	Chen et al., Chem Med Chem (3):991-1001, 2008
肺	SCLC 特異的アプタマー HCC03	Chen et al., Chem Med Chem (3):991-1001, 2008
肺	SCLC 特異的アプタマー HCH07	Chen et al., Chem Med Chem (3):991-1001, 2008
肺	SCLC 特異的アプタマー HCH01	Chen et al., Chem Med Chem (3):991-1001, 2008
肺	A-p50 アプタマー (NF-κB)	Mi et al., Mol Ther 16(1):66-73, 2008
肺	セツキシマブ	Rossi A et al., Rev Recent Clin Trials. 2008 Sep;3(3):217-27
肺	パニツムマブ	Rossi A et al., Rev Recent Clin Trials. 2008 Sep;3(3):217-27
肺	ペバシズマブ	Gettinger S et al., Semin Respir Crit Care Med. 2008 Jun;29(3):291-301
肺	L19 抗体	Pedretti et al., Lung Cancer Sep 15, 2008
肺	F16 抗体	Pedretti et al., Lung Cancer Sep 15, 2008
肺	抗CD45 (抗ICAM-1抗体、 別名UV3)	Brooks et al., Int J Cancer 2438(10):2438-45, 2008
肺	L267抗体 (抗HGF抗体)	Stabile et al., Mol Cancer Ther 7(7):1913-22, 2008
結腸	アンジオポエチン2特異的 アプタマー	Sarraf-Yazdi et al., J SURG Res 148(1):16-23, 2008.

【図 2 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	結合物質	選択された参考文献
結腸	β -カテニンアプタマー	Lee et al., Cancer Research 66(21):10560-6, 2006.
結腸	TOF1 アプタマー	Choi et al., Mol Cancer Therapy 9(2):2428-34, 2006.
結腸	抗Derlin-1抗体	Ran et al., Clin Cancer Res 14(20):6538-45, 2008
結腸	抗AGE抗体	Turovskaya et al., Carcinogenesis 29(10):2035-2043, 2008.
結腸	モノクローナル抗体pb3-1	Turovskaya et al., Carcinogenesis 29(10):2035-2043, 2008.
結腸	ガレクチン-3結合物質	Greco et al., Glycobiology 14(9):783-92, 2004.
結腸	セツキシマブ	Giuliani F, Colucci G et al., Int J Biol Markers. 2007 Jan-Mar;22(1 Suppl 4):S62-70
結腸	パニツムマブ	Chua YJ, Cunningham D, Clin Colorectal Cancer. 2005 Nov;5 Suppl 2:S81-8.
結腸	マツズマブ	Chua YJ, Cunningham D, Clin Colorectal Cancer. 2005 Nov;5 Suppl 2:S81-8.
結腸	ペバシズマブ	Majier M et al., Anticancer Agents Med Chem. 2007 Sep;7(5):492-503
結腸	Mec-2結合物質	Lotz MM et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 90(18):8319-23, "Mitogen-activated protein kinases p42mapk and p44mapk are required for fibroblast proliferation."
腫瘍 対 CRC	標的C3	Qui et al., J of Proteome Res 7(4):1693-1703, 2008
腫瘍 対 CRC	ヒスチジンリッチ 糖タンパク質結合物質	Qui et al., J of Proteome Res 7(4):1693-1703, 2008
腫瘍 対 CRC	キニノーゲン-1結合物質	Qui et al., J of Proteome Res 7(4):1693-1703, 2008
腫瘍 対 CRC	ガレクチン-3結合物質	Schoepfner HL et al., Cancer. 1995 Jun 15;75(12):2818-26.
低度異形成を 伴う腫瘍 対 高度異形成を 伴う腫瘍	ガレクチン-3結合物質	Schoepfner HL et al., Cancer. 1995 Jun 15;75(12):2818-26.
CRC 対 正常	抗ODCモノクローナル抗体	Hu HY et al., World J Gastroenterol. 2005 Apr 21;11(15):2244-8.
CRC 対 正常	抗CEAモノクローナル抗体	Zhang HZ et al., Cancer Res. 1989 Oct 15;49(20):5766-73.
CRC 対 正常	Mec-2結合物質	Lotz MM et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Apr 15;90(8):3466-70.
前立腺	PSA結合物質	Nurmikko P et al., 2000, Clin Chem 46(10): 1610-8.
前立腺	PSMA結合物質	Aggarwal S et al., Cancer Res. 2006 Sep 15;66(18):9171-7.
前立腺	IMPRSS2結合物質	Wilson S et al., Biochem J. 2005 Jun 15;388(Pt 3):967-72.
前立腺	モノクローナル抗体5D4	Sawant et al., J Drug Target 16(7):601-4, 2008.
前立腺	XPSM-A9	Lupold et al., Cancer Research 62(14): 4029-4033, 2002.
前立腺	XPSM-A10	Lupold et al., Cancer Research 62(14): 4029-4033, 2002.
前立腺	ガレクチン-3結合物質	Califice et al., Int J Oncol 25(4):983-92, 2004
前立腺	E-セレクチン結合物質	Bhaskar et al., Cancer Research 63(19):6387-94, 2003.
前立腺	ガレクチン-1結合物質	van den Brule et al., J Pathology 193(1):80-7, 2001
前立腺	E4(1g62a κ)	Nilsson S et al., Cancer Biother Radiopharm. 1997 Dec;12(6):395-403.

【図 2 D】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	結合物質	選択された参考文献
B細胞慢性 リンパ球性 白血病	Ap48 (BCL6)	Chattopadhyay et al 2008, J Assoc Physicians India 54: 547.
B細胞慢性 リンパ球性 白血病	R0-60 アプタマー	Wu CC et al., Hum Gene Ther. 2003 Jun 10;14(9):849-60.
B細胞慢性 リンパ球性 白血病	D-R15-8 アプタマー	Wu CC et al., Hum Gene Ther. 2003 Jun 10;14(9):849-60.
B細胞 リンパ腫	イブリツモマブ	Cheson BD, Leonard JP, N Engl J Med. 2008 Aug 7;359(6):613-26.
B細胞 リンパ腫	トシツモマブ	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	抗CD20抗体	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	アレムツズマブ	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	ガリキシマブ	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	抗CD40抗体	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	エブラツズマブ	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	ルミリキシマブ	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫	モノクローナル抗体 Hu1D10	Cheson BD, Leonard JP, <i>supra</i> .
B細胞 リンパ腫 - DLBCL	ガレクチン-3結合物質	O'Hara N et al., Int J Immunopathol Pharmacol. 2005 Jul-Sep;18(3):431-43.
B細胞 リンパ腫	Ap48	Chattopadhyay A et al., Oncogene. 2006 Apr 6;25(15):2223-33.
パーキット リンパ腫	TD05 アプタマー	Malikarath P et al., Mol Cell Proteomics Dec; 6(12):2230-8, 2007.
パーキット リンパ腫	IgM モノクローナル抗体 (38-13)	Wells J et al., Cancer Res. 1984 Jan;44(1):129-33.
子宮頸癌	ガレクチン-9結合物質	Liang et al., Clin Oncol 134(8):899-907, 2008.
子宮頸癌	HPV7 アプタマー	Nauenburg S et al., FASEB J. 2001 Mar;15(3):592-4. Epub 2001 Jan 19.
子宮内膜癌	ガレクチン-1結合物質	Mylonas I et al., Anticancer Res. 2007 Jul-Aug;27(4A):1975-80.
頭頸部癌	(111)In-cMab U36	Sandstrom K et al., Tumour Biol. 2008;29(3):137-44.
頭頸部癌	抗LOXL4抗体	Weise JB et al., Eur J Cancer. 2008 Jun;44(5):1323-31.
頭頸部癌	U36 モノクローナル抗体	Verel I et al., Int J Cancer. 2002 May 20;99(3):396-402.

【図 2 C】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	結合物質	選択された参考文献
黒色腫	トレメリムマブ (抗CTLA4抗体)	Camacho LH, Expert Opin Investig Drugs 17(3):371-85, 2008.
黒色腫	イビリムマブ (抗CTLA4抗体)	Lens M et al., Recent Patents Anticancer Drug Discovery Jun3(2):105-13, 2008.
黒色腫	CTLA-4 アプタマー	Santulli-Marotto et al., Cancer Research 63(21):7483-9, 2003.
黒色腫	STAT-3ペプチドアプタマー	Nagel Wolfrum et al., Molecular Cancer Research 2:170-182, 2004
黒色腫	ガレクチン-1結合物質	Mathieu et al., J Invest Dermatol 127(10):2399-410, 2007.
黒色腫	ガレクチン-3結合物質	Le Mercier et al., J Neuropathol Exp Neurol. 67(5):456-69, 2008.
黒色腫	PNA	Dore et al., Pigment Cell Res 7(6):461-4, 1994.
肺癌	H38-15 (HGF アプタマー)	Saito T and Tomida M, DNA Cell Biol. 2005 Oct;24(10):624-33.
肺癌	H38-21(HGF アプタマー)	Saito T and Tomida M, DNA Cell Biol. 2005 Oct;24(10):624-33.
肺癌	マツズマブ	Kleespees A et al., Clin Cancer Res. 2008 Sep 1;14(17):5426-36.
肺癌	セツキシマブ	Burnis H 3rd et al., Oncologist. 2008 Mar;13(3):289-98.
肺癌	ペバシズマブ	Burnis H 3rd et al., Oncologist. 2008 Mar;13(3):289-98.
脳	アプタマー-111.1 (open)	Blank Met al., JBC May 11; 276(19):16464-8, 2001
脳	ITAI (チネイシン-C) アプタマー	Hicke et al., J. Biol. Chem. 276, 48644-48654, 2001; Daniels et al., PNAS 100, 15416-15421, 2003
乾癬	E-セレクチン結合物質	Rottman JB et al., Lab Invest. 2001 Mar;81(3):335-47.
乾癬	ICAM-1結合物質	Rottman JB et al., Lab Invest. 2001 Mar;81(3):335-47.
乾癬	VLA-4結合物質	Rottman JB et al., Lab Invest. 2001 Mar;81(3):335-47.
乾癬	VCAM-1結合物質	Rottman JB et al., Lab Invest. 2001 Mar;81(3):335-47.
乾癬	$\alpha E \beta 7$ 結合物質	Rottman JB et al., Lab Invest. 2001 Mar;81(3):335-47.
心血管疾患	RB007 (第1XIXアプタマー)	Chan MY et al., Circulation. 2008 Jun 3;117(22):2865-74. Epub 2008 May 27
心血管疾患	ARG1779 (抗VWF) アプタマー	Gilbert JC et al., Circulation. 2007 Dec 4;116(23):2678-86. Epub 2007 Nov 19
心血管疾患	LOX1結合物質	Dunn S et al., Biochem J. 2008 Jan 15;409(2):349-55.
血液悪性腫瘍	抗 CD20	Ravandi F et al., Clin Cancer Res. 2003 Feb;9(2):535.
血液悪性腫瘍	抗 CD52	Ravandi F et al., Clin Cancer Res. 2003 Feb;9(2):535.
B細胞慢性 リンパ球性 白血病	リツキシマブ	Robak T, Leuk Lymphoma. 2004 Feb;45(2):205-19.
B細胞慢性 リンパ球性 白血病	アレムツズマブ	Robak T, Leuk Lymphoma. 2004 Feb;45(2):205-19.

【図 2 E】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	結合物質	選択された参考文献
頭頸部癌	BIWA-1 モノクローナル抗体	Verel I et al., Int J Cancer. 2002 May 20;99(3):396-402.
頭頸部癌	BIWA-2 モノクローナル抗体	Verel I et al., Int J Cancer. 2002 May 20;99(3):396-402.
頭頸部癌	BIWA-4 モノクローナル抗体	Verel I et al., Int J Cancer. 2002 May 20;99(3):396-402.
頭頸部癌	BIWA-8 モノクローナル抗体	Verel I et al., Int J Cancer. 2002 May 20;99(3):396-402.
過敏性腸疾患	ACCA (抗グリカン抗体)	Li X et al., World J Gastroenterol. 2008 Sep 7;14(33):5115-24.
過敏性腸疾患	ALCA (抗グリカン抗体)	Li X et al., World J Gastroenterol. 2008 Sep 7;14(33):5115-24.
過敏性腸疾患	AMCA (抗グリカン抗体)	Li X et al., World J Gastroenterol. 2008 Sep 7;14(33):5115-24.
糖尿病	RBP4 アプタマー	Lee SJ et al., Anal Chem. 2008 Apr 15;80(8):2867-73.
神経痛症	L-セレクチン結合物質	Macedo JA et al., J Neuroimmunol. 2007 Aug;188(1-2):159-66.
多発性硬化症	ナタリズマブ (Tysabri)	Goodin DS et al., Neurology. 2008 Sep 2;71(10):766-73.
リウマチ性疾患	リツキシマブ (抗CD20抗体)	Anderson AK et al., Arthritis Res Ther. 2008;10(2):204. Epub 2008 Mar 14.
リウマチ性疾患	ケリキシマブ (抗CD4抗体)	Anderson AK et al., Arthritis Res Ther. 2008;10(2):204. Epub 2008 Mar 14.
アルツハイマー 病	TH14-BACE1 アプタマー	Rentmeister A et al., RNA. 2006 Sep;12(9):1650-60. Epub 2006 Aug 3.
アルツハイマー 病	S10-BACE1 アプタマー	Rentmeister A et al., RNA. 2006 Sep;12(9):1650-60. Epub 2006 Aug 3.
アルツハイマー 病	抗A β モノクローナル抗体	Geylis V et al., Autoimmun Rev. 2006 Jan;5(1):33-9. Epub 2005 Aug 1. Review.
アルツハイマー 病	バビネオズマブ (AAB-001) -E1an	Hock C et al., Neuron. 2003 May 22;38(4):54754
アルツハイマー 病	LY2062430 (抗アミロイド β 抗体) -E1i Lilly	Irena Melnikova, Nature Reviews Drug Discovery 6, 341-342 (May 2007)
アルツハイマー 病	BACE1-アンチセンス	Faghiri MA et al., Nat Med. 2008 Jul;14(7):723-30. Epub 2008 Jun 29
プリオン病	rhuPrP ^C アプタマー	Takemura K et al., Exp Biol Med (Maywood) Feb;231(2):204-14, 2006
プリオン病	DP7 アプタマー	Proskes D et al., Chembiochem. 2002 Aug 2;3(8):717-25.
プリオン病	チオアプタマー-97	King DJ et al., J Mol Biol. 2007 Jun 15;369(4):1901-14. Epub 2007 Feb 9
プリオン病	SAR-93 アプタマー	Rhee A et al., J Biol Chem. 2003 Oct 10;278(41):39697-705. Epub 2003 Aug 5
プリオン病	15B3 (抗PrP ^{Sc} 抗体)	Korth C et al., Nature 350:74-77, 1997
プリオン病	抗PrP ^{Sc} モノクローナル 抗体P1:1	Jones M et al., Brain Pathol. 2008 May 26.
プリオン病	1. 5D7. 1. 6F4抗体	Cordes H, J Immunol Methods Sep 15;337(2):106-20, 2008
プリオン病	モノクローナル抗体 14D3	Krasemann S et al., Mol Med. 1996 Nov;2(6):725-34

【図 2 F】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	結合物質	選択された参考文献
ブリオン病	モノクローナル抗体 4F2	Krasemann S et al., Mol Med. 1996 Nov;2(6):725-34
ブリオン病	モノクローナル抗体 8G8	Krasemann S et al., Mol Med. 1996 Nov;2(6):725-34
ブリオン病	モノクローナル抗体 12F10	Krasemann S et al., Mol Med. 1996 Nov;2(6):725-34
敗血症	HA-1A モノクローナル抗体	Cross AS and Opal S. Journal of Endotoxin Research, Vol. 1, No. 1, 57-69 (1994)
敗血症	E-5 モノクローナル抗体	Cross AS and Opal S. Journal of Endotoxin Research, Vol. 1, No. 1, 57-69 (1994)
敗血症	TNF- α モノクローナル抗体	Abraham E et al., JAMA Vol. 273 No. 12, March 22, 1995
敗血症	アフエリモマブ	Vincent JL Int J Clin Pract. 2000 Apr;54(3):190-3
敗血症	E-セレクチン結合物質	Tsokos M et al., Int Journal of Legal Medicine, Volume 113, Number 6:338-342, 2000
統合失調症	L-セレクチン結合物質	Iwata Y et al., Schizophr Res. 2007 Jan;89(1-3):154-60. Epub 2006 Oct 17
統合失調症	N-CAM 結合物質	Vawter MP et al., Exp Neurol. 1998 Feb;149(2):424-32
うつ病	GPIb 結合物質	Walsh MT et al., Life Sci. 2002 May 17;70(26):3155-65
GIST	抗DOG1抗体	Espinosa F et al., Am J Surg Pathol Feb;32(2):210-8, 2008
食道癌	CaSR 結合物質	Justinich CJ et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008 Jan;294(1):G120-9.
胃癌	カルバイン α L-2結合物質	Hata et al., J. Biol. Chem., Vol. 281, Issue 16, 11214-11224, April 21, 2006
胃癌	ドレブリン結合物質	Keon BH et al., Journal of Cell Science, Vol 113, Issue 2 325-336
変形性関節症	DDR-2 結合物質	Xu et al., Arthritis Rheum. 2007 Aug;56(8):2663-73.
COPD	CXCR3 結合物質	Freeman CM et al., Am J Pathol. 2007 Sep;171(3):767-76.
COPD	CCR5 結合物質	Freeman CM et al., Am J Pathol. 2007 Sep;171(3):767-76.
COPD	CXCR6 結合物質	Freeman CM et al., Am J Pathol. 2007 Sep;171(3):767-76.
喘息	VIP 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:587-606.
喘息	PACAP 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:587-606.
喘息	CGRP 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:587-606.
喘息	NT3 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:587-606.
喘息	YKL-40 結合物質	Scot, L., Thorax 2008;63:365. A New Biomarker in Asthma
喘息	S-ニトロソチオール	Holgate, ST., Lancet. 1998 May 2;351(9112):1317-9.
喘息	SCCA2 結合物質	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):3617.
喘息	PAI 結合物質	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):3617.
喘息	アンフィレグリン結合物質	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):3617.
喘息	ペリオステチン結合物質	Izuhara, K., Allergol Int. 2006 Dec ;55 (4):3617.
不安定プラーク	6d-DTPA-g-mimRGD (α v β 3インテグリン結合ペプチド)	Burtas C et al., Cardiovasc Res. 2008 Apr 1;78(1):148-57.
不安定プラーク	MMP-9 結合物質	Blankenberg S et al., 2003 Circulation 107:1579-1585.

【図 3 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
乳癌					クラスIII β -チュー ブリン		Gaimarini CM et al., Clin Cancer Res. 2006 Jul 15;14(14):4511-6
乳癌			EGFR				Rajkumar T, Gullick WJ, Breast Cancer Res Treat. 1994 Jan;29(1):3-9
乳癌				KRAS			Hollestelle A et al., Mol Cancer Res. 2007 Feb;5(2):195-201
乳癌					VEGFA		Linderholm BK et al., Cancer Res. 2001 Mar 1;61(5):2258-60.
乳癌				B-Raf			Hollestelle A et al., Mol Cancer Res. 2007 Feb;5(2):195-201
乳癌				CYP2D6			Punglia RS et al., J Natl Cancer Inst. 2008 May 7;100(9):642-8

【図 3 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
乳癌	miR-21	let-7					Iorio et al., Cancer Research 65, 7065-7070, August 15, 2005.
乳癌	miR-155	miR-10b					Iorio et al., <i>supra</i> .
乳癌	miR-206	miR-125a					Iorio et al., <i>supra</i> .
乳癌	miR-122a	miR-125b					Iorio et al., <i>supra</i> .
乳癌	miR-210	miR-145					Iorio et al., <i>supra</i> .
乳癌		miR-143					Michael et al. Mol Cancer Res 1: 882-891, 2003.
乳癌		miR-145					Michael et al. <i>supra</i> .
乳癌		miR-16					Michael et al. <i>supra</i> .
乳癌		let-7					Michael et al. <i>supra</i> .
乳癌	miR-21	let-7					Lu et al. Nature 435: 834-838, 2005.
乳癌	miR-21	let-7					Volinia et al. Proc Natl Acad Sci USA 103: 2257-2261, 2006.
乳癌	miR-155	miR-10b					Volinia et al. <i>supra</i> .
乳癌	miR-206	miR-125a					Volinia et al. <i>supra</i> .
乳癌	miR-122a	miR-125b					Volinia et al. <i>supra</i> .
乳癌	miR-210	miR-145					Volinia et al. <i>supra</i> .
乳癌	miR-21						Si et al. Oncogene 26: 2799-2803, 2006.
乳癌					hsp70		Wolters et al. 2001 Nat Med 7(3): 297-302.
乳癌					MART-1		Wolters et al. 2001 Nat Med 7(3): 297-302.
乳癌					TRP		Wolters et al. 2001 Nat Med 7(3): 297-302.
乳癌					HER2		Wolters et al. 2001 Nat Med 7(3): 297-302.
乳癌					hsp70		Koga et al., 2005, Anticancer Res 25(6A):3703-5
乳癌					MART-1		Koga et al., <i>supra</i> .
乳癌					TRP		Koga et al., <i>supra</i> .
乳癌					HER2		Koga et al., <i>supra</i> .
乳癌					GASS		Mourada-Maarabouni et al 2008
乳癌			ER		ER		Oldenhuis CN et al., Eur J Cancer. 2008 May;44(7):946-53. Epub 2008 Apr 7; Payne SJ et al., Histopathology. 2008 Jan;52(1):82-90.
乳癌			PR		PR		Oldenhuis et al., <i>supra</i> ;
乳癌							Payne et al., <i>supra</i> .
乳癌			HER2				Oldenhuis et al., <i>supra</i> ;
乳癌							Payne et al., <i>supra</i> .
乳癌			MUC1				Singh R, Bandyopadhyay D, Cancer Biol Ther. 2007 Apr;8(4):481-6

【図 4 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
肺癌			ERCC1				Rosell R et al., Drugs Today (Barc). 2003 Oct;39(10):775-86
肺癌			ER				Ciesler JP et al., Eur J Gynaecol Oncol. 2008;29(2):126-8; Fujimori J et al., J Steroid Biochem Mol Biol. 2007 May;104(3-5):301-4
肺癌			TOP1				Naniwa, J et al., Int J Gynecol Cancer. 2007. 17(1): p. 78-82
肺癌			TOP2A				Chekerov R et al., Neoplasia. 2006 Jan;9(1):38-45.
肺癌			AR				Ito K et al., Int J Cancer. 2002 Jun 10;99(5):652-7; Akahira JI et al., Jpn J Cancer Res. 2001 Sep;92(9):926-32
肺癌			PTEN				Chen Y et al., Chin Med Sci J. 2004 Mar;19(1):25-30
肺癌			HER2/ neu				Mileo AM et al., Int J Biol Markers. 1992 Jan-Mar;7(1):47-51
肺癌			EGFR				Vermeij J et al., BMC Cancer. 2008 Jan 8;8:3; Lassus H et al., J Mol Med. 2006 Aug;84(8):671-81
肺癌			KRAS				Mayr D et al., Gynecol Oncol. 2006 Dec;103(3):883-7
肺癌			VEGFA				Osada R et al., Hum Pathol. 2006 Nov;37(11):1414-25.
肺癌			VEGFR2				Chen BY et al., Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2005 Jan;27(1):33-7
肺癌			B-Raf				Siebert NL et al., J Pathol. 2004 Mar;202(3):336-40
肺癌	miR-200a	miR-199a					Iorio et al. Cancer Res. 2007; 67: (18). September 15, 2007
肺癌	miR-141	miR-140					Iorio et al. <i>Supra</i> .
肺癌	miR-200c	miR-145					Iorio et al. <i>Supra</i> .
肺癌	miR-200b	miR-125b-1					Iorio et al. <i>Supra</i> .
肺癌					HER2		Steffensen KD et al., Int J Oncol. 2008 Jul;33(1):195-204

【図 4 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
卵巣	miR-21						Taylor et al., Gynecologic Oncology 110 (2008) 13- 21.
卵巣	miR-141						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-200a						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-200b						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-200c						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-203						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-205						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-214						Taylor et al., <i>supra</i> .
卵巣	miR-215						Taylor et al., <i>supra</i> .

【図 5】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
肺	miR-21						Markou A et al., Clin Chem. 2008 Oct;54(10):1696-704
肺	miR-205						Markou A et al., <i>supra</i> .
肺	miR-221						Garofalo M et al., Oncogene. 2008 Jun 19;27(27):3945-55
肺	miR-221 (保護的)						Yu SL et al., Cancer Cell. 2008 Jan;13(1):48-57
肺	Let-7a (保護的)						Yu SL et al., <i>supra</i> .
肺	miR-137 (危険)						Yu SL et al., <i>supra</i> .
肺	miR-372 (危険)						Yu SL et al., <i>supra</i> .
肺	miR-122a (危険)						Yu SL et al., <i>supra</i> .
肺			EGFR				Rosell R et al., Clin Cancer Res. 2006 12(24):7222-31
肺					KRAS		Zhang Z et al., Cancer Biol Ther. 2006 Nov;5(11):1481-6
肺			PTEN				Sos ML et al., J Thorac Oncol. 2008 Feb;3(2):170-3
肺			RRM1				Sougiakos et al., 2006; Rosell et al., 2004
肺			RRM2				Sougiakos et al., 2008
肺					hENT1		Oguri T et al., Cancer Lett. 2007 Oct 18;256(1):112-9.
肺			ABCB1				Sekine I et al., J Thorac Oncol. 2006 Jan;1(1):31-7; Ushijima R et al., Anticancer Res. 2007 Nov- Dec;27(6C):4351-8
肺			ABCG2				Nakano H et al., Cancer. 2008 Mar 1;112(5):1122-30
肺			LRP				Paredes Lario A et al., Arch Bronconeumol. 2007 Sep;43(9):479-84
肺			クラスIII β- チュー ブリン				Sève P et al., Clin Cancer Res. 2005 Aug 1;11(15):5481-6; Sève P, Clin Cancer Res. 2007 Feb 1;13(3):954-9
肺					EGFR		Rosell R et al., Clin Cancer Res. 2006 Dec 15;12(24):7222-31
肺					KRAS		Massarelli E et al., Clin Cancer Res. 2007. 13(10): p. 2890-6
肺					B-Raf		Yousem SA et al., Am J Surg Pathol. 2008 Sep;32(9):1317- 21
肺					UGT1A1		Han JY et al., J Clin Oncol. 2006 May 20;24(15):2237-44
肺			VEGFR 2/3				PCT Publication No. WO/2009/105223

【図 6 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
結腸		miR-143					Michael et al., 2003, Mol Cancer Res 1(12): 882-91
結腸		miR-145					Michael et al., 2003, <i>supra</i> .
結腸		miR-143					Akao et al., 2006, Oncol Rep 16(4): 845-50
結腸		miR-126					Guo et al., 2008, Plant Physiol 165(16): 1745-55
結腸		miR-34b					Toyota et al., 2006, Cancer Res 66(11): 4123-31
結腸		miR-34c					Toyota et al., 2006, <i>supra</i> .
結腸		let-7					Akao et al., 2006, Oncol Rep. 16(4): 845-50
結腸	miR-24-1						Volinia et al. Proc Natl Acad Sci USA. 103: 2257- 2261, 2006.
結腸	miR-29b-2						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-20a						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-10a						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-32						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-203						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-106a						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-17-5p						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-30c						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-223						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-126						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-128b						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-21						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-24-2						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-99b						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-155						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-213						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-150						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-107						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-191						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-221						Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-9-3					Volinia et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-34a					Tazawa et al., 2007, J Urol, 156(3): 967-71
結腸		miR-145					Schepeler et al., 2008, Cancer Res. 68(15): 6416- 23
結腸		miR-455					Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-484					Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-101					Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-20a						Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-510						Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-92						Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-513						Schepeler et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-15a						Bandres et al., 2006, Mol Cancer. 5:29
結腸	miR-21						Bandres et al., <i>supra</i> .

【図 6 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
結腸	miR-20						Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-183						Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-96						Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-135b						Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-31						Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-145					Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-133b					Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-129					Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-124a					Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-30-3p					Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-328					Bandres et al., <i>supra</i> .
結腸		miR-106a					Diaz et al., 2006, Br J Anaesth. 101(2): 161-4
結腸		miR-17-5p					Diaz et al., <i>supra</i> .
結腸	miR-21						Schetter et al. 2008, JAMA, 299(4): 425
結腸	miR-92						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-222						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-181b						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-210						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-20a						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-106a						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-93						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-335						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-338						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-133b						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-346						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-106b						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-153a						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-219						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-34a						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-99b						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-185						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-223						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-211						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-135a						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-127						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-203						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-212						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-95						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸	miR-17-5p						Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-342					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-192					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-1					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-34b					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-215					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-192					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-301					Schetter et al. <i>supra</i> .

【図 6 C】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
結腸		miR-324-5p					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-30a-3p					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-34c					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-331					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸		miR-148b					Schetter et al. <i>supra</i> .
結腸					AFRs		Choi et al., 2007. J Ethnopharmacol 110(1): 49-55.
結腸					Rab5		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					ADAM10		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					CD44		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					NG2		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					エプリン-B1		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					MIF		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					セカチニン		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					ジャンクション		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					ブロッグロビン		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					ガレクチン-4		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					RACK1		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					テトラス パニン-8		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					FastL		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					TRAIL		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					A33		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					CEA		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					EGFR		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					ジベプチ ダーゼ1		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					hsc-70		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					テトラス パニン		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸					ESCRT		Choi et al., <i>supra</i> .
結腸			EFNB1				Huber et al., 2005. Gastroenterol Nurs 28(6): 510-1.
結腸			ERCC1				Shirola Y et al., J Clin Oncol, 2001. 19(23): p. 4238-304
結腸					TS		Cascone S et al., Ann Oncol, 2001. 12(2): p. 239-44; Ciaparrone M et al., Oncology, 2006. 70(5): p. 365-77
結腸					PTEN		Fratini et al., 2007
結腸					TOPD1		Braun MS et al., J Clin Oncol, 2008. 26(16): p. 2690-8

【図 6 D】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
結腸			HER2				Ochs AM et al., Clin Colorectal Cancer, 2004 Nov;4(4):262-7
結腸			VEGF				Ochs AM et al., <i>supra</i> .
結腸			EGFR				Capuzzo et al 2008, Sarfore-Blanche et al 2007
結腸			EGFR				Zhang X et al., Oncol Rep, 2008 Jun;19(6):1541-4; Riese DJ 2nd et al., Bioessays, 2007 Jun;29(6):558-65
結腸			KRAS				Amado RG et al., J Clin Oncol, 2008. 26(10): p. 1626-34; De Roock W et al., Ann Oncol, 2008. 19(3): p. 508-15.
結腸			VEGFA				Uthoff SM et al., Int J Cancer, 2002 Sep 1;101(1):32-6.
結腸			B-Raf				Ogino S et al., Gut, 2008 Oct 2; Matos P et al., Gastroenterology, 2008 Sep;135(3):898-906
結腸			APC				Conlin A et al., Gut, 2005. 54(9): p. 1283-6
結腸			p53				Conlin A et al., <i>supra</i> .

【図 7 - 0 1】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
腺腫 対 過形成性 ポリープ			ABCA8			見られず	Galamb et al., 2008, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 17(10): 2835-45
腺腫 対 過形成性 ポリープ			KIAA1199				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			GCG				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			MAMD C2				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			C2orf32				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			229670_at				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			IGF1				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			PCDH7				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			PRDX6				Galamb et al., <i>supra</i> .
腺腫 対 過形成性 ポリープ			BRAF				Kim YH et al., Int J Cancer, 2008 Dec 1;123(11):2587-93
腺腫 対 過形成性 ポリープ			KRAS				Rashid A et al., Gastroenterology, 2000 Aug;118(2):323-32
腺腫 対 過形成性 ポリープ			PCNA				Barletta A et al., Anticancer Res, 1998 May-Jun;18(3A):1677-82
腺腫 対 過形成性 ポリープ			COX2				McLean MH et al., Histopathology, 2008 Jun;52(7):805-15. Epub 2008 May 6.

【図 7 - 0 2】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
腺腫 対 過形成性 ポリープ			MUC6				Owens SR et al., Mod Pathol, 2008 Jun;21(6):660-9.
腺腫 対 過形成性 ポリープ					hTERT		Oka S et al., Scand J Gastroenterol, 2002 Oct;37(10):1194-200

【図 8】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
IBD 対 正常			REG1A				Galamb et al., 2008, "Inflammation, Adenoma and Cancer Objective Classification of Colon Biopsy Specimens with Gene Expression Signature", Dis Markers, 25(1): 1-16
IBD 対 正常			MMP3				Galamb et al., <i>supra</i> .

【図 9 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
膵腫 対 CRC			GREM1				Galamb et al., 2008, Dis Markers, 25(1): 1-16.
膵腫 対 CRC			DDR2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			GUCY1A3				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			TNS1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			ADAMTS1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			FBLN1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			FLJ38028				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			RDX				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			FAM123A				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			ASPN				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			FRMD6				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			MCC				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			RBMS1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			SNAI2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			MEIS1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			DOCK10				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			PLEKHC1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			FAM126A				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			TBC1D9				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			VWF				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			DCN				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			ROBO1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			MSR53				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			LATS2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			MEF2C				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			IGFBP3				Galamb et al., supra.

【図 10】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
IBD 対 CRC			227458_at				Galamb et al., 2008, Helicobacter, 13(2): 112-26.
IBD 対 CRC			INDO				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			CXCL9				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			CCR2				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			CD38				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			RARRES3				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			CXCL10				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			FAM26F				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			TNIP3				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			NOS2A				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			CCR11				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			TLR8				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			IL18BP				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			FCRL5				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			SAMD9L				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			ECGF1				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			TNFSF13B				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			GBP5				Galamb et al., supra.
IBD 対 CRC			GBP1				Galamb et al., supra.

【図 9 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
膵腫 対 CRC			GNB4				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			RCN3				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			AKAP12				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			RFTN1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			226834_at				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			COL5A1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			GNG2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			NR3C1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			SPARC1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			MAP21L2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			AXIN2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			236894_at				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			AEBP1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			AP1S2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			C10orf56				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			LPHN2				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			AKT3				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			FRMD6				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			COL15A1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			CRYAB				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			COL14A1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			LOC286167				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			QKI				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			WVTR1				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			GNG11				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			PAPPA				Galamb et al., supra.
膵腫 対 CRC			ELDT1				Galamb et al., supra.

【図 11 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			TMEM37				Galamb et al., 2008, Helicobacter, 13(2): 112-26.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			IL33				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			CA4				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			CCDC58				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			CLIC6				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			VSNL1				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			ESPN				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			APCDD1				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			C13orf18				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			CYP4X1				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			ATP2A3				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			LOC44627				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			MUPCDH				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			ANPEP				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			C1orf115				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			HSD3B2				Galamb et al., supra.
CRCデュークスB 対 デュークス C-1)			GBA3				Galamb et al., supra.

【図 1 1 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			GABRB2				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-13			GYTL1B				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			LYZ				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			SPC25				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			CDKN2B				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			FAM89A				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			MOGAT2				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			SEMA6D				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			Z29376.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			TSPAN5				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			IL6R				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D			SLC26A2				Galamb et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					PAR4		Madoz-Gúrpide et al., Mol. Cell. Prot. 6:2150-64, 2007
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					DIABLO		Madoz-Gúrpide J et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					カスパーゼ -3		Madoz-Gúrpide J et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					p53		Madoz-Gúrpide J et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					TRF1		Madoz-Gúrpide J et al., <i>supra</i> .

【図 1 1 C】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					c-myc		Madoz-Gúrpide J et al., <i>supra</i> .

【図 1 2 A】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			SI				Galamb et al., 2008, Dis Markers, 25(1): 1- 16
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			DMBT1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			CFI*				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			AQP1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			APOD				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			TNFRSF17				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			CXCL10				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			CTSE				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			IGHA1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			SLC9A3				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			SLC7A1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			BATF2				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			SOC3				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			DOCK2				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			NOS2A				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			HK2				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			CXCL2				Galamb et al. <i>supra</i> .

【図 1 2 B】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			IL15RA				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			POU2AF1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			CLEC3B				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			AN13BP				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			MGC13057				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			LCK*				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			C4BPA				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			HOXC6				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			GOLT1A				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			C2orf32				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			IL10RA				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			Z40856.at				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			SOC3				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			MEIS3P1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			HIPK1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			GLS				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			CPLX1				Galamb et al. <i>supra</i> .
低度異形成を伴う腺腫 対 高度異形成を伴う腺腫			Z6045.x.at				Galamb et al. <i>supra</i> .

【図 1 2 C】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された 参考文献
低度異形成を伴う腺腫 対			GALC				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			AMN				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CCDC69				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CCL28				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CPA3				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			TRIB2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			HMG2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			PLCL2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			NR3C1				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			EIF5A				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			LARP4				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			RP5- 1022P6.2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			PHLDB2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			FKBP1B				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			INDO				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CLDN8				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CNTN3				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			PBEF1				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							

【図 1 2 D】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された 参考文献
低度異形成を伴う腺腫 対			SLC16A9				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CDC25B				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			TPSB2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			PBEF1				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			ID4				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			GJB5				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CHN2				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			LIMCH1				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							
低度異形成を伴う腺腫 対			CXCL9				Galamb et al. <i>supra</i> .
高度異形成を伴う腺腫 対							

【図 1 3 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
UC 対 CD			IFITM1				Wu F., et al., 2007, Inflamm Bowel Dis, 13(7): 807-21.
UC 対 CD							Wu F., et al., 2007 <i>supra</i> .
UC 対 CD			IFITM3				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			STAT1				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			STAT3				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			TAP1	*			Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			PSME2				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			PSMB8				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			HNF4G				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			KLF5				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			AQP8				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			APT2B1				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			SLC16A				Wu F., et al., 2007 <i>supra</i>
UC 対 CD			MFAP4				Galamb et al., 2008, Helicobacter, 13(2): 112- 26
UC 対 CD							Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CCNG2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			SLC44A4				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			DDAH1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			TOB1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z31152.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			MKNK1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CEACAM7				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			156336.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CDC42S22				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			PSD3				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z31169.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			IGL@7				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			GSN				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			GPMB3				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CDV31				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			PDFK1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ANP32E				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ADAM9				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CDH1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			NLRP2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z15777.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			OSBPL1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			VNN1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			RABGA*1L				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			PHACTR2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ASH1L				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z13710.s.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CDH1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			NLRP2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z15777.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			OSBPL1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			VNN1				Galamb et al., <i>supra</i> .

【図 1 3 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
UC 対 CD			RABGA*1L				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			PHACTR2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ASH1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z13710.s.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ZNF3				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			FUT2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			IGHA1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			EDEM1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			GPR171				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			Z26713.at				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			LOC384387				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			FLVCR1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			SNAP23*				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ETNK1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			LOC728411				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			POSTN				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			MUC12				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			HOXA5				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			SIGLEC1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			LARP5				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			PIGR				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			SPTBN1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			UFM1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			C6orf62				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			WDR50				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			ALDH1A3				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			F2RL1				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			IGHV189				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			DUOX2				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			RAB5A				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD			CP				Galamb et al., <i>supra</i> .
UC 対 CD				CARD15			Rachford-Smith et al 2007, Gastroenterology 132(7): 2313-9.
UC 対 CD				{PI}ASCA			Li X et al., World J Gastroenterol. 2008 Sep 7;14(33):5115-24.

【図 14】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA 突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
過形成性ポリープ 対 正常			SLC6A14			Galamb et al., 2008, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 17(10): 2835-45
過形成性ポリープ 対 正常			ARHGEF10			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			ALS2			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			IL1RN			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			SPRY4			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			PTGER3			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			TRIM29			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			SERPINE5			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			1563327_at			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			ZAK			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			BAG4			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			TRI33			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			TTL			Galamb et al., supra.
過形成性ポリープ 対 正常			FOXQ1			Galamb et al., supra.

【図 15】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA 突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
低度異形成を伴う 腺腫 対 正常			UST2A3			Galamb et al., 2008, Dis Markers, 25(1): 1-16.
低度異形成を伴う 腺腫 対 正常			KLK11			Galamb et al., supra.
低度異形成を伴う 腺腫 対 正常			KIAA1199			Galamb et al., supra.
低度異形成を伴う 腺腫 対 正常			FOXQ1			Galamb et al., supra.
高度異形成を伴う 腺腫 対 正常			CLDN8			Galamb et al., supra.
高度異形成を伴う 腺腫 対 正常			ABCA8			Galamb et al., supra.
高度異形成を伴う 腺腫 対 正常			PYY			Galamb et al., supra.

【図 16】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA 突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
腺腫 対 正常			KIAA1199			Galamb et al., 2008, Dis Markers, 25(1): 1-16.
腺腫 対 正常			FOXQ1			Galamb et al., supra.
腺腫 対 正常			CA7			Galamb et al., supra.
腺腫 対 正常				クラス テリン		Chen X et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Aug 5;100(16):9530-5.

【図 17】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA 突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
ORC 対 正常			VWF			Galamb et al., 2008, Dis Markers, 25(1): 1-16
ORC 対 正常			IL8			Galamb et al., supra.
ORC 対 正常			CHI3L1			Galamb et al., supra.
ORC 対 正常			S100A8			Galamb et al., supra.
ORC 対 正常			GREM1			Galamb et al., supra.
ORC 対 正常			ODC			Hu HY et al., World J Gastroenterol. 2005 Apr 21;11(15):244-8.
ORC 対 正常			KRAS			Amadio RG et al., J Clin Oncol. 2008;28(10): p. 162634; De Roock W et al., Ann Oncol. 2008. 19(3): p. 508-15.
ORC 対 正常			BRAF			Ogino S et al., Gut. 2008 Oct 2; Matos P et al., Gastroenterology. 2008 Sep;135(3):899-906.
ORC 対 正常			APC			Conlin A et al., Gut. 2005. 54(9): p. 1283-6.
ORC 対 正常			MSH2			Davidson NO, Keio J Med. 2007 Mar;56(1):14-20.
ORC 対 正常			MLH1			Davidson NO, Keio supra.
ORC 対 正常				サイト セラチン 13		Madoz-Gürpide J et al., Molecular & Cellular Proteomics 6:2150-2164, 2007.
ORC 対 正常				カルシ ニューリン		Madoz-Gürpide J et al., supra.
ORC 対 正常				CHK1		Madoz-Gürpide J et al., supra.
ORC 対 正常				クラスリン 経路		Madoz-Gürpide J et al., supra.
ORC 対 正常				ホスホ- ERK		Madoz-Gürpide J et al., supra.
ORC 対 正常				ホスホ- PIK2		Madoz-Gürpide J et al., supra.
ORC 対 正常				MDM2		Madoz-Gürpide J et al., supra.

【図 18】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA 突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
良性前立腺 肥大症				無傷の フィブロ ネクチン		Janković MM, Kosanović MM, Dis Markers, 2008;25(1):49-58.

【図 19 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA 突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
前立腺				FASLG		Huber et al., 2005, Gastroenterol Nurs 28(6): 510-1.
前立腺				TNFSF10		Huber et al., 2005, supra.
前立腺				FASLG		Adreola et al., JEM 195:10 1303-1316 (2002)
前立腺				TNFSF10		Adreola et al., supra.
前立腺				FASLG		Abusamra et al., 2005, Blood Cells Mol Dis. 35(2): 169-73
前立腺				TNFSF10		Abusamra et al., 2005, supra.
前立腺				FASLG		Kim et al., Int J Cancer. 2008 Dec 1;123(11):2587-93.
前立腺				TNFSF10		Kim et al., supra.
前立腺				FASLG		Taylor et al., 2003, Int J Oncol 22(6): 1311-7
前立腺				TNFSF10		Taylor et al., supra.
前立腺		let-7a				Porkka et al., 2007, Cancer Res. 67(13): 6130-5
前立腺		let-7b				Porkka et al., supra.
前立腺		let-7c				Porkka et al., supra.
前立腺		let-7d				Porkka et al., supra.
前立腺		let-7g				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-16				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-23a				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-23b				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-26a				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-92				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-99a				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-103				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-125a				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-125b				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-143				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-145				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-195				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-199				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-221				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-222				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-497				Porkka et al., supra.
前立腺		let-7f				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-191b				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-22				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-26b				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-27a				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-27b				Porkka et al., supra.
前立腺		miR-29a				Porkka et al., supra.

【図 19B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
前立腺		miR-29b					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-30_5p					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-30c					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-100					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-141					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-148a					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-205					Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-202						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-210						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-296						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-320						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-370						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-373						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-498						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-503						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-184						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-198						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-302c						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-345						Porika et al., <i>supra</i> 5
前立腺	miR-491						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-513						Porika et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-32						Ambs et al., 2008, Cancer Res, 68(15): 6162-70
前立腺	miR-182						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-31						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-26a-1/2						Ambs et al., <i>supra</i> -70
前立腺	miR-200c						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-375						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-196a-1/2						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-370						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-425						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-425						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-194-1/2						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-181a-1/2						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-34b						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	let-7i						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-188						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-25						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-106b						Ambs et al., <i>supra</i> .

【図 19C】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
前立腺	miR-449						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-99b						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-93						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-92-1/2						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺	miR-125a						Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-520h					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-494					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-490					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-133a-1					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-1-2					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-218-2					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-220					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-128a					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-221					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-499					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-329					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-340					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-345					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-410					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-126					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-205					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-7-1/2					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-145					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-34a					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-487					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺		let-7b					Ambs et al., <i>supra</i> .
前立腺						U50	Dong et al., 2008, Prostate 68(4): 361-99.
前立腺			AR				
前立腺	miR-141						Mitchell et al. PNAS 2008
前立腺			PCA3				Marks et. Al, Urology 69: 532-535, 2007.

【図 20A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
黒色腫					Alix		Mears et al., 2004, Proteomics 4(12): 4019-31.
黒色腫					hsp70		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					Gib2		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					Gia		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					モエシン		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					GAPDH		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					リンゴ酸 デヒドロ ゲナーゼ		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					p120 カチニン		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					PGR1		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					シタキシン 結合 タンパク質 182		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					セブチン2		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫					MDM2 含有 タンパク質1		Mears et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-9					Schultz et al., 2008, Cell Res 18(5): 549-57.
黒色腫		miR-15a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-17-3p					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫	miR-19a						Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-23b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-27a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-28					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-29b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-30b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-31					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-34b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-34c					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-95					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-96					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-100		*			Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-104					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-105					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-106a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-107					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-122a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-124a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-125b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-127					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-128a					Schultz et al., <i>supra</i> .

【図 20B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
黒色腫		miR-126b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-129					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-135a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-135b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-137					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-138					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-139					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-140					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-141					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫	miR-144						Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-149					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-154					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-154#3					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-181a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-182					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-183					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-184					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-185					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-189					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-190					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-199					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-199b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-200a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-200b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-200c					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-204					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫	miR-211						Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-213					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-215					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-216					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-219					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-222					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-224					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-269					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-302a					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-302b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-302c					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-302d					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-323					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫	miR-324-5p						Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		miR-325					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫	miR-331			*			Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫	miR-374						Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		let-7a					Schultz et al., <i>supra</i> .

【図 20C】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
黒色腫		let-7b					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		let-7d					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		let-7e					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫		let-7g					Schultz et al., <i>supra</i> .
黒色腫				CDK4			Castelli et al., J Cell Physiology 182(3):323-31, 2000.
黒色腫			MUM-1				Castelli et al., <i>supra</i> .
黒色腫			β - カテニン				Castelli et al., <i>supra</i> .
黒色腫			Nop5/Sik				Nakanoto et al., American Journal of Pathology 155(4), 2001.
黒色腫						HAICA (U107)	Luo and Li, 2007, J Ind Microbiol Biotechnol 34(2): 117-22.
黒色腫						SNO RA11D	Yang et al., <i>nar</i> 34:5112-5123, 2006
黒色腫					DUSP-1		

【図 21A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
肺癌	miR-221						Bloomston et al., 2008, J Gastrointest Surg. Dec;11(12):1680-5.
肺癌	miR-181a						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-155						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-210						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-213						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181b						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-222						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181b-2						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-21						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181b-1						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181c						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-220						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181d						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-223						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-100-1/2						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-125a						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-143						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-10a						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-146						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-99						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-100						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-199a-1						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-10b						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-199a-2						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-107						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-103-2						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-125b-1						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-205						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-23a						Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-148a					Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-148b					Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-375					Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-221						Lee et al., 2006, J Biol Chem 281(5): 2649-53.
肺癌	miR-424						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-301						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-100						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-376a						Lee et al., <i>supra</i> .

【図 21B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
肺癌	miR-125b-1						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-21						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-345					Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-16-1						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181a						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-181c						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-92						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-15						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-142					Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-155						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	let-7f-1						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-212						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-107						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	miR-024 1/2						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌	let-7d						Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-139					Lee et al., <i>supra</i> .
肺癌			KRAS				Shibata D et al., Baillieres Clin Gastroenterol. 1990 Mar;4(1):151-69.
肺癌			CTNNB1				Shi C et al., Adv Anat Pathol. 2008 Jul;15(4):185-95.
肺癌			AKT				Kang SP and Siaf MW. JOP. J Pancreas (Online) 2008; 9(3):251-266.
肺癌			NCOA3				Kang SP and Siaf MW. <i>supra</i> .
肺癌			B-RAF				Kang SP and Siaf MW. <i>supra</i> .
肺癌			PSCA				Koorstra JB et al., Pancreatol. 2008;8(2):110-25. Epub 2008 Apr 1.
肺癌			メソ テリン				Koorstra JB et al., <i>supra</i> .
肺癌			オステオ ポンチン				Koorstra JB et al., <i>supra</i> .

【図 22】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
脳	miR-21						Mathupala et al., 2007, DNA Cell Biol. 26(5): 301-10
脳	miR-10b						Ciafre et al., 2005, Biochem Biophys Res 2005 Sep 9;334(4):1351.
脳	miR-130a						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-221						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-125b-1						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-125b-2						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-9-2						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-21						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-25						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳	miR-23						Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳		miR-128a					Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳		miR-181c					Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳		miR-181a					Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳		miR-181b					Ciafre et al., <i>supra</i> .
脳			MGMT				Blank M et al., JBC May 11; 276(15):16464-8, 2001
脳					EGFR		Hicke et al., J Biol. Chem. 276, 48644-48654, 2001; Daniels et al., PNAS 100, 15416-15421, 2003

【図 2 3 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
乾癬	miR-146b						Sonkoly et al., 2007, PLoS ONE, 2(7): e610
乾癬	miR-20a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-146a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-31						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-200a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-17-5p						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-30a-5p						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-141						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-203						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-142-3p						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-21						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-106a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-125b						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-99b						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-122a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-197						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-100						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-381						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-518b						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-524						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	let-7e						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-30c						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-365						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-133b						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-10a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-133a						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-22						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-326						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬	miR-215						Sonkoly et al., <i>supra</i> .
乾癬			IL-20				Stenderup K et al., Ann N Y Acad Sci. 2007 Sep;1110:368-81.
乾癬			VEGFR-1				Man XY et al., J Cell Mol Med. 2008 Apr;12(2):649-60
乾癬			VEGFR-2				Man XY et al., <i>supra</i> .
乾癬			VEGFR-3				Man XY et al., <i>supra</i> .
乾癬			EGR1				Fang M et al., Genomic Med. 2007;1(1-2):75-85. Epub 2007 Jul 25

【図 2 3 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
乾癬				MGST2			Yan KL et al., J Invest Dermatol. 2006 May;126(5):1003-5.

【図 2 4 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
心血管疾患					CK-MB		Wu AH et al., 1996, Clin Chem, 42(4): 651-2
心血管疾患					cTnI (心筋トロポニンI)		Wu AH et al., <i>supra</i> .
心血管疾患					c-反応性タンパク質		Rifai N and Ridker PM, Clin Chem. 2001 Mar;47(3):403-11.
心血管疾患					心筋トロポニン(cTn)		O'Brien PJ, Toxicology. 2008 Mar 20;245(3):206-18.
心血管疾患					IL-6		Ikonomidis I et al., Atherosclerosis. 2008 Jul;199(1):3-11.
心血管疾患					MCSF		Ikonomidis I et al., <i>supra</i> .
心血管疾患					BNP		Wang TJ et al., N Engl J Med. 350(7): 655-63
心血管疾患		miR-1					van Rooij et al., 2008, Circ. Res. 103(9): 919-28
心血管疾患	miR-195						van Rooij et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-208						van Rooij et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-1					Ikeda et al., 2007, Physiol Genomics 31(3): 367-73.
心血管疾患	miR-214						Ikeda et al., 2007, <i>supra</i> .
心血管疾患		let-7b					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		let-7c					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		let-7e					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-10a					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-15b						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-17-5p					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-19a					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-19b					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-20a					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-20b					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-23a						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-24						Ikeda et al., <i>supra</i> .

【図 2 4 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRN A	選択された参考文献
心血管疾患		miR-26b					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-27a						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-27b						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-28					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-30e-5p					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-93						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-99b						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-100						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-101					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-103						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-106a					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-125b						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-126					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-140						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-145						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-181a						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-191						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-195						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-199a						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-222					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-320						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-342						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-374					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-422b					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患		miR-423					Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患	miR-451						Ikeda et al., <i>supra</i> .

【図 2 4 C】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN	選択された参考文献
心血管疾患	miR-499						Ikeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患				MYH7			Buyoli M et al., Trends Cardiovasc Med. 2008 May;18(4):141-9
心血管疾患				SCN5A			Makita N et al., J Clin Invest. 2008 Jun;118(6):2219-29.
心血管疾患				CHRM2			Zhang L et al., Circ Res. 2008 Jun 6;102(11):1426-32. Epub 2008 May 1.
心血管疾患			MRP14				Healy AM et al., Circulation 113:2278-2284, 2006.
心血管疾患			CD69				Healy AM et al., <i>supra</i> .
心血管疾患					CRP		Moura LM et al., Expert Rev Cardiovasc Ther. 2008 Aug;5(7):945-54.
心血管疾患					BPN		Moura LM et al., <i>supra</i> .
心血管疾患					CD40 & CD40L		Ferroni P and Guadagni F, Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. 2006 Sep;8(3):194-202.

【図 2 5】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN	選択された参考文献
血液悪性腫瘍 - TALL			HOX11				Fernando et al., Cancer Cell. 1: 75-87, 2002.
血液悪性腫瘍 - TALL			TAL1				Fernando et al., Cancer Cell. 1: 75-87, 2002.
血液悪性腫瘍 - TALL			LY1				Fernando et al., Cancer Cell. 1: 75-87, 2002.
血液悪性腫瘍 - TALL			LMO1				Fernando et al., Cancer Cell. 1: 75-87, 2002.
血液悪性腫瘍 - TALL			LMO2				Fernando et al., Cancer Cell. 1: 75-87, 2002.
血液悪性腫瘍				c-kit			Ravandi F et al., Clin Cancer Res. 2003 Feb;9(2):535-52
血液悪性腫瘍				PDGFR			Ravandi F et al., Clin Cancer Res. 2003 Feb;9(2):535-53
血液悪性腫瘍				ABL			Ravandi F et al., Clin Cancer Res. 2003 Feb;9(2):535-54

【図 2 6 B】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN	選択された参考文献
B細胞慢性リンパ球性白血病			ZAP70	IGHV			Plass C et al., 2007 British Journal of Haematology, 139, 744-752, "
B細胞慢性リンパ球性白血病				P53			Plass C et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病				ATM			Plass C et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病			AdipoR1				Molica S et al., 2008 Sep 27, Leuk Lymphoma 49(1): 62-7.

【図 2 7】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
B細胞リンパ腫						U50	Tanaka et al., Genes Cells 5(4):277-87, 2000.
B細胞リンパ腫	miR-17-92 ポリシ トロン						Inomata M et al., Blood. 2008 Oct 21.
B細胞リンパ腫 - DLBCL	miR-155						Lawrie CH et al., Br J Haematol. 2008 May;141(5):672-5.
B細胞リンパ腫 - DLBCL	miR-210						Lawrie CH et al., Br J Haematol. 2008 May;141(5):672-5.
B細胞リンパ腫 - DLBCL	miR-21						Lawrie CH et al., Br J Haematol. 2008 May;141(5):672-5.

【図 2 6 A】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRN	選択された参考文献
B細胞慢性リンパ球性白血病		miR-213					Calin et al., 2004, Proc Natl Acad Sci U S A 101(32): 11755-60.
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-183-prec						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-190						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-24-1-prec						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-33						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-19a						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-140						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-123						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-10b						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-15b-prec						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-92-1						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-188						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-154						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病		miR-220					Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-217						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-101						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-141-prec						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-153-prec						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-196-2						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-134						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-141						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-132						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-192						Calin et al., <i>supra</i> .
B細胞慢性リンパ球性白血病	miR-181b-prec						Calin et al., <i>supra</i> .

【図 2 8】

癌系統、 群比較、 その他の有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			A-myb				Rosenwald et al., 2002, Semin Oncol 29(3): 258-63.
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			LMO2				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			JNK3				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			CD10				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			bcl-6				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			サイ クリ ン D2				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			IRF4				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			Flip				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL-胚中心様			CD44				Rosenwald et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL	miR-155						Lawrie CH et al., Br J Haematol. 2008 May;141(5):672-5.
B細胞リンパ腫-DLBCL	miR-210						Lawrie CH et al., <i>supra</i> .
B細胞リンパ腫-DLBCL	miR-21						Lawrie CH et al., <i>supra</i> .

【図 29】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
パーキットリンパ腫		miR-155					Kluiver J et al., Oncogene. 2007 May 31;26(26):3769-76.
パーキットリンパ腫					BCL6		Rosenwald, A & G. Ott, Ann Oncol. 2008 Jun;19 Suppl 4:n67-9.
パーキットリンパ腫					KL-67		Rosenwald, A & G. Ott, supra.
パーキットリンパ腫			MYC				Dave SS et al., N Engl J Med. 2006 Jun 8;354(23):2431-42.
パーキットリンパ腫			TERT				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			NS				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			NP				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			MAZ				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			RCF3				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			BVSL				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			IDES				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			CDC7				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			TCL1A				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			AUTS2				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			MYBL1				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			BMP7				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			ITPR3				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			CDC2				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			BACK2				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			TTK				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			MME				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			ALOX5				Dave et al., supra.
パーキットリンパ腫			TOP1				Dave et al., supra.

【図 30A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
肝細胞癌		let-7a-1					Gramantieri et al., 2007, Cancer Res 67(13): 6092-9
肝細胞癌		let-7a-2					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7a-3					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7b					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7c					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7d					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7e					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7f-2					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		let-7g					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-122a					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-124a-2					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-130a					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-132					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-136					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-141					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-142					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-143					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-145					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-146					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-150					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-155(BIC)					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-181a-1					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-181a-2					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-181c					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-195					Gramantieri et al., supra.

【図 30B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
肝細胞癌		miR-199a-1-5p					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-199a-2-5p					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-199b					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-200b					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-214					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌	miR-221						Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		miR-223					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌		pre-miR-534					Gramantieri et al., supra.
肝細胞癌			FAT10				Lukasjak S et al., Methods Mol Biol. 2008;429:59-72.

【図 31】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
子宮頸癌			HPV E6				Liang et al., Clin Oncol 134(8):999-907, 2008, "Galelectin-9
子宮頸癌			HPV E7				
子宮頸癌			p53				

【図 32】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
子宮内腺癌	miR-185	miR-71				N/A	Boren T et al., Gynecologic Oncology 110 (2008) 206-215.
子宮内腺癌	miR-106a	miR-221					Boren et al., supra.
子宮内腺癌	miR-181a	miR-193					Boren et al., supra.
子宮内腺癌	miR-210	miR-152					Boren et al., supra.
子宮内腺癌	miR-423	miR-30c					Boren et al., supra.
子宮内腺癌	miR-103				-		Boren et al., supra.
子宮内腺癌	miR-107						Boren et al., supra.
子宮内腺癌	let-7c						Boren et al., supra.
子宮内腺癌			PTEN				Doll A et al., J Steroid Biochem Mol Biol. 2008 Feb;108(3-5):221-9.
子宮内腺癌			K-RAS				Doll et al., supra.
子宮内腺癌			B-カテニン				Doll et al., supra.
子宮内腺癌			p53				Doll et al., supra.
子宮内腺癌			Her2neu				Doll et al., supra.
子宮内腺癌			NLRP7				Ohno S et al., Anticancer Res. 2008 Jul-Aug;28(4C): 2493-7.
子宮内腺癌			α V β 6 インテグリン				Hecht JL et al., Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2008 Aug 11.

【図 3 3 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
頭頸部癌			HPV E6			N/A	Ragin CC et al., J Dent Res. 2007 Feb;86(2):104-14
頭頸部癌			HPV E7				Ragin CC et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			p53				van Houten VM et al., J Pathol. 2002 Dec;198(4):476-86.
頭頸部癌	miR-21	miR-494					Chang SS et al., Int J Cancer. 2008 Sep 16;123(12):2791-2797.
頭頸部癌	let-7						Chang SS et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌	miR-18						Chang SS et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌	miR-29c						Chang SS et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌	miR-142-3p						Chang SS et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌	miR-155						Chang SS et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌	miR-146b						Chang SS et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌	miR-205						Tran N et al., Biochem Biophys Res Commun. 2007 Jun 22;358(1):12-7.
頭頸部癌	miR-21						Tran N et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			GSTM1				Rusin P et al., Postepy Hig Med Dosw (Online). 2008 Sep 23;62:490-501.
頭頸部癌			GSTT1				Rusin P et al., Postepy Hig Med Dosw (Online). 2008 Sep 23;62:490-501.
頭頸部癌			GSTP1				Rusin P et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			OGG1				Rusin P et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			XRCC1				Rusin P et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			XPD				Rusin P et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			RAD51				Rusin P et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			IL-8				Palika KT et al., 2008, Semin Oncol 35(3): 198-210.
頭頸部癌			SAT				Palika KT et al., <i>supra</i> .

【図 3 3 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
頭頸部癌			H3FA3				Palika KT et al., <i>supra</i> .
頭頸部癌			EGFR	EGFR	EGFR		Sheikh Ali MA et al., Cancer Sci. 2008 Aug;98(8):1569-94
頭頸部癌			p53				Kanatas A and Harris A., Tumori 94(3): 444; author reply 444.
頭頸部癌							Ferris RL and Grandis JR, Clinical Cancer Research 13, 5663-5664, October 1, 2007.
頭頸部癌					EphB4		Yavrouian EJ et al., Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 Sep;134(9):985-91.
頭頸部癌					エフリン B2		Yavrouian EJ et al., <i>supra</i> .

【図 3 4】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
過敏性腸疾患					IL-16		Seegert D, et al., 2001, Gut, 48(3): 326-32
過敏性腸疾患					IL-1β		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患					IL-12		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患					TNF-α		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患					インターフェロニン		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患					IL-6		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患					Rantes		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患					MCP-1		Seegert D, et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患				CARD 15			Li X et al., World J Gastroenterol. 2008 Sep 7;14(33):5115-24.
過敏性腸疾患					レジスチン		Li X et al., <i>supra</i> .
過敏性腸疾患			トリプシンノーゲン IV				Kerckhoffs AP et al., Neurogastroenterol Motil. 2008 Aug;20(8):900-7.
過敏性腸疾患					5-HT		Kerckhoffs AP et al., <i>supra</i> .

【図 3 5】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
糖尿病			IL-8				Nair S et al., Diabetologia. 2005 September; 48(9): 1784-1788.
糖尿病			CTSS				Nair S et al., <i>supra</i> .
糖尿病			ITGB2				Nair S et al., <i>supra</i> .
糖尿病			HLA-DRA				Nair S et al., <i>supra</i> .
糖尿病			CD53				Nair S et al., <i>supra</i> .
糖尿病			PLAG27				Nair S et al., <i>supra</i> .
糖尿病			MMP9				Nair S et al., <i>supra</i> .
糖尿病					RBP4		Nair S et al., <i>supra</i> .

【図 3 6】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
バレット食道				p53	p53		Hamelin R, et al., 1994, Gastroenterology, 107(4): 1012-8
バレット食道	miR-21						Watson DJ, et al., 2007, World J Surg 31(3): 447-9.
バレット食道	miR-143						Watson DJ, et al., <i>supra</i> .
バレット食道	miR-145						Watson DJ, et al., <i>supra</i> .
バレット食道	miR-194						Watson DJ, et al., <i>supra</i> .
バレット食道	miR-215						Watson DJ, et al., <i>supra</i> .
バレット食道					MUC1		Burjorappa SC et al., Indian J Cancer. 2007 Jan-Mar;44(1):1-5.
バレット食道					MUC2		Burjorappa SC et al., <i>supra</i> .
バレット食道					MUC6		Glickman JN et al., Am J Surg Pathol. 2003 Oct;27(10):1357-65
バレット食道			S100A2				Lee CJ et al., Neoplasia. 2006 Oct;8(10):843-50
バレット食道			S100A4				Lee CJ et al., <i>supra</i> .

【図 3 7】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
線維筋痛症			NR2D				Kim SH et al., J Rheumatol. 2006 Apr;33(4):785-8.

【図 3 8】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
脳卒中			MMP9				Sharp FR et al., Stroke. 2007 Feb;38(2 Suppl):691-3.
脳卒中			S100-P				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			S100A12				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			S100A9				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			凝乳素 V 因子				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			アルギナーゼI				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			CA-IV				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			モノカルボン酸トランスポート				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			ets-2				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			EIF2α				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			細胞骨格関連タンパク質 4				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			N-ホルミルペプチド受容体				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			リボスクレアーゼ2				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			N-アセチルノイロミン酸ビルビン酸リアーゼ				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			BCL-6				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中			グリコーゲンホスホリラーゼ				Sharp FR et al., <i>supra</i> .
脳卒中					Lp-PLA2		http://www.doctorslounge.com/neurology/news/stroke_ip-Pla2_crp.shtml ; Gorelick PB, Am J Cardiol. 2008 Jun 16;101(12A):34F-40F
脳卒中					hs-CRP		http://www.doctorslounge.com/neurology/news/stroke_ip-Pla2_crp.shtml

【図 39】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
多発性硬化症			IL-6				Kinter J et al., Int MS J. 2008 Jun;15(2):51-8.
多発性硬化症			IL-17				Tajouri L et al., Curr Genomics. 2007 May;2(3):161-9.
多発性硬化症			PAR-3				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			IL-17				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			T1/ST2				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			JunD				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			S-L-O				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			LT44H				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			MBP				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			PLP				Tajouri L et al., <i>supra</i> .
多発性硬化症			α β クリス タリン				Tajouri L et al., <i>supra</i> .

【図 40 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
パーキンソン 病			miR-133b				Kim J. et al., Science. 2007 Aug 31;317(5842):1220-4.
パーキンソン 病				FGF20			Wang G. et al., 2008, FEBS Lett 582 (25-26): 3663-8
パーキンソン 病				α -シヌ クレイン			Mizuta I. et al., 2008, Hum Genet, 124(1): 89-94
パーキンソン 病				FGF20			Mizuta I. et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				NDUFV2			Mizuta I. et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				FGF2			Mizuta I. et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				CALB1			Mizuta I. et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				B2M			Mizuta I. et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				Nurr1			Altar CA, Neuropsychopharm. 2008 Oct 15.
パーキンソン 病				BDNF			Altar CA, <i>supra</i> .
パーキンソン 病				TrkB			Altar CA, <i>supra</i> .
パーキンソン 病				gstml			Altar CA, <i>supra</i> .
パーキンソン 病				S100 β			Altar CA, <i>supra</i> .
パーキンソン 病					apo-H		Shi M et al., Neurobiol Dis. 2008 Sep 26.
パーキンソン 病					セルロ プラスミン		Shi M et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				BDNF			Zhang et al., 2008 Am. J. Clin. Pathol. 129, 526-9.
パーキンソン 病				IL-8			Zhang et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				β 2- ミクロ グロブリン			Zhang et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				apoAII			Zhang et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				tau			Zhang et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				A β 1-42			Zhang et al., <i>supra</i> .
パーキンソン 病				DJ-1			Waragai et al., 2007 Neurosci. Lett. 425, 18-22 & Waragai et al 2006 Biochem. Biophys. Res. Commun. 345, 967-72.

【図 41】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
リウマチ性 疾患	miR-146a						Pauley KM et al., Arthritis Res Ther. 2008 Aug 29;10(4):R101. [Epub ahead of print]; Stanczyk J et al., Arthritis Rheum. 2008 Apr;58(4):1001-9.
リウマチ性 疾患	miR-155						Pauley KM et al., <i>supra</i> .; Stanczyk J et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患	miR-132						Pauley KM et al., <i>supra</i> .; Stanczyk J et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患	miR-16						Pauley KM et al., <i>supra</i> .; Stanczyk J et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患	miR-181						TriNat Clin Pract Rheumatol. 2008 Oct;4(10):534-41. Epub 2008 Aug 26.ii E et al.,
リウマチ性 疾患			HOXD10				Galligan CL et al., Genes Immun. 2007 Sep;6(6):480-91. Epub 2007 Jun 14.
リウマチ性 疾患			HOXD11				Galligan CL et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患			HOXD13				Galligan CL et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患			CCL8				Galligan CL et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患			LIMホメオ ボックス2				Galligan CL et al., <i>supra</i> .
リウマチ性 疾患			CENP-E				Kulmann F et al., Arthritis Res. 1999;1(1):71-80. Epub 1999 Oct 26.
リウマチ性 疾患							Anderson AK et al., Arthritis Res Ther. 2008;10(2):204. Epub 2008 Mar 14.
リウマチ性 疾患					TNF α		Anderson AK et al., <i>supra</i> .

【図 42 A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
アルツ ハイマー 病				APP			Vassar et al., 2005 Subcell. Biochem. 38, pp. 79-103.
アルツ ハイマー 病				プレセニン 1			Vassar et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				プレセニン 2			Vassar et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病		miR-107					Wang WX et al., 2008, FEBS Lett. 582(25-26): 3663-8
アルツ ハイマー 病		miR-29a					Hebert SS et al., 2008, Proc Natl Acad Sci U.S.A., 105(17): 6415-20
アルツ ハイマー 病		miR-29b-1					Hebert SS et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病		miR-9					Hebert SS et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				BACE1			Hebert SS et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病			HIF-1 α				Zhang et al., 2008 Am. J. Clin. Pathol. 129, 526-9.
アルツ ハイマー 病			BACE1				Zhang et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病			APOE4				Thomas P and Fenech M, Mutagenesis. 2007 Jan;22(1):15-33. Epub 2006 Dec 8
アルツ ハイマー 病			リールン		リールン		Botella-Lopez A et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Apr 4;103(14):5573-8. Epub 2006 Mar 27
アルツ ハイマー 病			CHRNA 7				Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct 15.
アルツ ハイマー 病			3Rtau/4 Rtau				Altar CA, <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				シスタテン C			Simonsen et al., 2008 Neurobiol. Aging. 29, 961-8
アルツ ハイマー 病				短縮型 シスタテン C			Simonsen et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				アミロイド β			Simonsen et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				C3a			Simonsen et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				t-Tau			Simonsen et al., <i>supra</i> .
アルツ ハイマー 病				補体因子 H			Hye et al., 2006 Brain. 129, 3042-50

【図 4 2 B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
アルツ ハイマー病					α -2- マクロ グロブリン		Hye et al., <i>supra</i> .

【図 4 3】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
プリオン病					PrP ^{Sc}		Takemura K et al., <i>Exp Biol Med</i> (Maywood) Feb;231(2):204-14, 2006
プリオン病					14-3-3		Kubler E et al., <i>British Medical Bulletin</i> 66:267-279, 2003
プリオン病					NSE		Kubler E et al., <i>British Medical Bulletin</i> 66:267-279, 2003
プリオン病					S-100		Kubler E et al., <i>British Medical Bulletin</i> 66:267-279, 2003
プリオン病					Tau		Kubler E et al., <i>British Medical Bulletin</i> 66:267-279, 2003
プリオン病					AQP-4		Kubler E et al., <i>British Medical Bulletin</i> 66:267-279, 2003
プリオン病			アミロイド β4				Tamguney G et al., <i>J Gen Virol.</i> 2008 Jul;89(Pt 7):1777-88
プリオン病			App				Tamguney G et al., <i>J Gen Virol.</i> 2008 Jul;89(Pt 7):1777-88
プリオン病			IL-1R1				Tamguney G et al., <i>J Gen Virol.</i> 2008 Jul;89(Pt 7):1777-88
プリオン病			SOD1				Tamguney G et al., <i>J Gen Virol.</i> 2008 Jul;89(Pt 7):1777-88

【図 4 4】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
敗血症			15-ヒドロキシ- PGチヒドロゲ ナーゼ(上方)				Tang MP et al., <i>Am J Respir Crit Care Med</i> 176:676-684, 2007
敗血症			LAIR1 (上方)				Tang MP et al., <i>supra</i> .
敗血症			NFKB1A (上方)				Tang MP et al., <i>supra</i> .
敗血症			TLR2				Johnson SB et al., <i>Annals of Surgery</i> 245, Number 4, April 2007, 245(4): 611-21.
敗血症			PGLYPR1			*	Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			TLR4				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			MD2				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			TLR5				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			IFNAR2				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			IRAK2				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			IRAK3				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			IRAK4				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			PI3K				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			PI3KCB	*			Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			MAP2K6				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			MAPK14				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			NFKBIA				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			NFKB1				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			IL1R1				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			MAP2K1P1				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			MKNK1				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			FAS				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			CASP4				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			GADD45B				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			SOCS3				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			TNFSF10				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			TNFSF13B				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			OSM				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			HGF				Johnson SB et al., <i>supra</i> .
敗血症			IL18R1				Johnson SB et al., <i>supra</i> .

【図 4 5】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
慢性 神経因性 疼痛			ICAM-1 (齧歯類)				Rodriguez Parkitna J et al., <i>J Physiol Pharmacol.</i> 2006 Sep;57(3):401-14.
慢性 神経因性 疼痛			CGRP (齧歯類)				Rodriguez Parkitna J et al., <i>J Physiol Pharmacol.</i> 2006 Sep;57(3):401-14.
慢性 神経因性 疼痛			TIMP-1 (齧歯類)				Rodriguez Parkitna J et al., <i>J Physiol Pharmacol.</i> 2006 Sep;57(3):401-14.
慢性 神経因性 疼痛			CLR-1 (齧歯類)				Rodriguez Parkitna J et al., <i>J Physiol Pharmacol.</i> 2006 Sep;57(3):401-14.
慢性 神経因性 疼痛			HSP-27 (齧歯類)				Kim DS et al., <i>Neuroreport.</i> 2001 Oct 29;12(15):3401-5
慢性 神経因性 疼痛			FABP (齧歯類)				Kim DS et al., <i>Neuroreport.</i> 2001 Oct 29;12(15):3401-5
慢性 神経因性 疼痛			アポリポ タンB質 D (齧歯類)				Kim DS et al., <i>Neuroreport.</i> 2001 Oct 29;12(15):3401-5
慢性 神経因性 疼痛					ケモカイン		White FA et al., <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> 2007 Dec 18;104(51):20151-8
慢性 神経因性 疼痛					ケモカイン 受容体 (DR2/4)		White FA et al., <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> 2007 Dec 18;104(51):20151-8

【図 4 6】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
末梢神経因性 疼痛					OX42 (齧歯類)		Blackbeard J et al., <i>J Neurosci Methods.</i> 2007 Aug 30;164(2):207-17
末梢神経因性 疼痛					ED9 (齧歯類)		Blackbeard J et al., <i>J Neurosci Methods.</i> 2007 Aug 30;164(2):207-17

【図 4 7】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な 病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
統合失調症			IFITM3		ATP5B		Altar CA, <i>Neuropsychopharm.</i> 2008 Oct 15.
統合失調症			SERPINA 3		ATP5H		Altar CA, <i>supra</i> .
統合失調症			GLS		ATP6V1B		Altar CA, <i>supra</i> .
統合失調症			ALDH7A1 BASP1		DNM1		Altar CA, <i>supra</i> .
統合失調症					NDUUF2		Altar CA, <i>supra</i> .
統合失調症					NSF		Altar CA, <i>supra</i> .
統合失調症					PDHB		Altar CA, <i>supra</i> .
統合失調症	miR-181b						Beveridge NJ et al., <i>Hum Mol Genet.</i> 2008 Apr 15;17(8):1156-68. Epub 2008 Jan 9
統合失調症		miR-7					Perkins DO et al., <i>Genome Biol.</i> 2007;8(2):R27.
統合失調症		miR-24					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症		miR-26b					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症		miR-29b					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症		miR-30b					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症		miR-30c					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症		miR-92					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症		miR-195					Perkins DO et al., <i>supra</i> .
統合失調症				DISC1			Miller JK et al., <i>J Physiol.</i> 2007 Oct 15;584(Pt 2):401-5.
統合失調症				ディス ビンディン			Chen XW et al., <i>J Cell Biol.</i> 2008 Jun 2;161(5):791-801
統合失調症				ニュー レグリン -1			Harrison PJ, <i>Novartis Found Symp.</i> 2007;285:246-55; discussion 255-9, 276-81
統合失調症				セロトニン 2a受容体			Erdmann J et al., <i>Volume 97, Number 5 / March, 1996 614-619</i>
統合失調症				NURR1			Buervenich Set al., <i>Volume 96 Issue 6, Pages 608-613</i>

【図 48】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
双極性障害			FGF2				Altar CA, Neuropsychopharm. 2008 Oct;15.
双極性障害			ALDH7 A1				Altar CA, <i>supra</i> .
双極性障害			AGXT2L 1				Altar CA, <i>supra</i> .
双極性障害			AQP4				Altar CA, <i>supra</i> .
双極性障害			PCNT2				
双極性障害				ディス ビンディン			Goes FS et al., Curr Psychiatry Rep. 2008 Apr;10(2):178-89 "The genetics of psychotic bipolar disorder."
双極性障害			DAOA/G3 0				Goes FS et al., Curr Psychiatry Rep. 2008 Apr;10(2):178-89.
双極性障害				DISC1			Goes FS et al., Curr Psychiatry Rep. 2008 Apr;10(2):178-89.
双極性障害				ニュー レグリン -1			Goes FS et al., Curr Psychiatry Rep. 2008 Apr;10(2):178-89.

【図 49】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
うつ病			FGFR1				Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct;15.
うつ病			FGFR2				Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct;15.
うつ病			FGFR3				Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct;15.
うつ病			AQP4				Altar CA, Neuropsychopharmacology. 2008 Oct;15.

【図 51A】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
RCC		Mir-141					Nakada C et al., J Pathol. 2008 Aug;28.
RCC		Mir200c					Nakada C et al., <i>supra</i> .
RCC			ラミニン 受容体1				Ohno Y et al., Oncol Rep. 2008 Sep;20(3):501-9.
RCC			β igh3				Ohno Y et al., <i>supra</i> .
RCC				VHL			Nickerson ML et al., Clin Cancer Res. 2008 Aug;14(15):4726-34.
RCC					HIF1 α		Rathmell WK, Chen S, Expert Rev Anticancer Ther. 2008 Jan;8(1):63-73.
RCC					VEGF		Rathmell WK, Chen S, <i>supra</i> .
RCC					PDGFRA		Rathmell WK, Chen S, <i>supra</i> .
RCC			ガレク チン-1				Young AN, Am J Pathol. 2001 May;158(5):1639-51.
RCC			α -2マクロ グロ ブリン				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			アディポ フィリン				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			アンジオ ポエチン2				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			カルデ スモン1				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			クラスII MHC関連 イン バリ アント 鎖 (CD74)				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			コラー ゲンIV- α 1				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			補体 成分				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			補体 成分 3				Young AN, <i>supra</i> .

【図 50】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
GIST					PDGFR A		Yang J et al., Cancer. 2008 Oct;113(7):1532-43.
GIST					c-kit		Yang J et al., <i>supra</i> .
GIST			DOG-1				Espinosa F et al., Am J Surg Pathol Feb;32(2):210-8, 2008
GIST			PKC- θ	PKC- θ			Blay P et al., CM Cancer Res. 2004 Jun;15(12 Pt 1):4089-95.
GIST			KIT				Allander SV et al., Cancer Res. 2001 Dec;61(24):8624-8.
GIST			GPR20				Allander SV et al., <i>supra</i> .
GIST			PRKCCQ				Allander SV et al., <i>supra</i> .
GIST			KCNK3				Allander SV et al., <i>supra</i> .
GIST			KCNH2				Allander SV et al., <i>supra</i> .
GIST			SCG2				Allander SV et al., <i>supra</i> .
GIST			TNFRSF6B				Allander SV et al., <i>supra</i> .
GIST			CD34				Allander SV et al., <i>supra</i> .

【図 51B】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク 質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
RCC			シトクロム P450、 サブ ファミリー 11J α 1 ペプチド2				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			δ 睡眠 誘発 ペプチド				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			Fo g 受容体 111a (CD16)				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			HLA-B				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			HLA-DR a				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			HLA-DR b				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			HLA-SB				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			IFN 誘導性 膜貫通 タンパク 質 3				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			IFN 誘導性 膜貫通 タンパク 質 1				Young AN, <i>supra</i> .
RCC			リジナル オキシ ダーゼ				Young AN, <i>supra</i> .

【図 5 2】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
肝硬変			NLT				Simmons GD et al., Journal of Cell Science 107, 1065- 1072 (1994).
肝硬変					NLT		Simmons GD et al., <i>supra</i> .
肝硬変					HBsAg		Wang, W. et al., Hepatology, 1991 Jul;14(1):29-37.
肝硬変					AST		Wai CT, et al. Hepatology. 2003;38:518-526.
肝硬変					YKL-40		Patel K, et al., Gastroenterology, 2004;126 (suppl 2):A-708. [S1645]
肝硬変					ヒアルロン 酸		Patel K, et al., <i>supra</i>
肝硬変					TIMP-1		Patel K, et al., <i>supra</i> .
肝硬変					α 2マクロ グロブリン		Patel K, et al., <i>supra</i> .
肝硬変					α -1抗トリ プシンPI 2 対立遺伝子		<i>Hum Hered</i> 1992;42:235-241
肝硬変					ハプト グロビン		<i>Hum Hered</i> 1992;42:235-241
肝硬変					酸性ホスファ ターゼ AGP AC		<i>Hum Hered</i> 1992;42:235-241

【図 5 3】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
食道癌 (腺腫)	miR-192	miR-27b					Feber A et al., J Thorac Cardiovasc Surg. 2008 Feb;135(2):255-60
食道癌 (腺腫)	miR-194	miR-205					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (腺腫)	miR-21	miR-203					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (腺腫)	miR-200c	miR-342					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (腺腫)	miR-93	let-7c					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (腺腫)		miR-125b					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (腺腫)		miR-100					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (腺腫)		miR-152					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)	miR-342	miR-192					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)	miR-152	miR-194					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)	miR-93	miR-27b					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)		miR-205					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)		miR-203					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)		miR-200c					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)		let-7c					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌 (扁平上皮癌)		miR-100					Feber A et al., <i>supra</i> .
食道癌	miR-25	miR-100					Guo Y et al., Cancer Res. 2008 Jan 1;68(1):26-33.
食道癌	miR-424	miR-99a					Guo Y et al., <i>supra</i> .
食道癌	miR-151	miR-29c					Guo Y et al., <i>supra</i> .
食道癌		miR-140					Guo Y et al., <i>supra</i> .
食道癌		miR-103					Guo Y et al., <i>supra</i> .
食道癌		miR-107					Guo Y et al., <i>supra</i> .
食道癌			MTHFR				Höfler H et al., Adv Exp Med Biol. 2006;587:115- 20.

【図 5 4】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
胃癌	miR-106a						Xiao B et al., Clin Chim Acta. 2008 Oct 30.
胃癌	miR-21						Zhang Z et al., Lab Invest. 2008 Sep 15.
胃癌		let-7a					Zhang HH et al., World J Gastroenterol. 2007 May 28;13(20):2883-8.
胃癌	miR-21						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-191						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-223						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-24-1						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-24-2						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-107						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-92-2						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-214						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-25						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌	miR-221						Volinia S et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Feb 14;103(7):2257-61.
胃癌			RRM2				Kolesar J et al., Cancer Chemother Pharmacol. 2008 Oct 22.
胃癌		EphA4			EphA4		Oki M et al., World J Gastroenterol. 2008 Oct 7;14(37):5650-6.
胃癌		サバイ ジン					Yie SM et al., Ann Surg Oncol. 2008 Nov;15(11):3073-82.
胃癌			APC				Lea IA et al., Carcinogenesis. 2007 September;28(9): 1851-1858.

【図 5 5 - 0 1】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
自閉症					GM1		Lekman et al., Acta Paediatrica 1985, vol. 84, no.7, pp. 787-790.
自閉症					GDla		Lekman et al., <i>supra</i> .
自閉症					GDlb		Lekman et al., <i>supra</i> .
自閉症					GDIb		Lekman et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-484						Abdu-Elneel, Liu et al., Neurogenetics (2008) 9:153-161
自閉症	miR-21						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-212						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-23a						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-588						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-95						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-129						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-431						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-7						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-15a						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-27a						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-15b						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-148b						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-132						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症	miR-128						Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-93					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-106a					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-539					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-652					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-550					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-432					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-193b					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-181d					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-146b					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .

【図 5 5 - 0 2】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
自閉症		miR-140					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-381					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-320a					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .
自閉症		miR-106b					Abdu-Elneel, Liu et al., <i>supra</i> .

【図 5 6】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
臓器拒絶反応					マトリックス メタロ プロテイン -9		American Physiological Society (2006, November 4). Proteins May Predict Lung Transplant Rejection. ScienceDaily. Retrieved
臓器拒絶反応					プロテ イナーゼ 3		American Physiological Society, <i>supra</i> .
臓器拒絶反応					HNP		American Physiological Society, <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-658						W. Sui et al., Transplant Immunology 19 (2008) 81-85
臓器拒絶反応	miR-125a						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-320						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-381						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-628						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-602						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-629						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応	miR-125a						W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-324- 3p					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-611					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-654					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR- 330_MM1					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-524					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-17- 3p_MM1					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-483					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-663					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-516- 5p					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-326					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR- 197_MM2					W. Sui et al., <i>supra</i> .
臓器拒絶反応		miR-346					W. Sui et al., <i>supra</i> .

【図 5 8】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
不安定プラーク					IL-6		Maier W et al., 2005 Circulation 111:1355-1361.
不安定プラーク					MMP-9		Blankenberg S et al., 2003 Circulation 107:1579-1585.
不安定プラーク					PAPP-A		Eisber AA et al., 2005 Eur Heart J 27:1678-1684.
不安定プラーク					D- ダイマー		Danesh J et al., JAMA 2005, 294:1799-1809. Danesh J, Circulation 2001, 103:2323-2327
不安定プラーク					フィブリ ノーゲン		Danesh et al., 2005, Danesh et al., 2001
不安定プラーク					Lp-PLA2		Zalewski A et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005;25:923-931
不安定プラーク					SCD40L		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.
不安定プラーク					IL-18		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.
不安定プラーク					oxLDL		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.
不安定プラーク					GPx-1		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.
不安定プラーク					MCP-1		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.
不安定プラーク					PIGF		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.
不安定プラーク					CRP		Koenig W and Khuseynova N, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007;27:15-26.

【図 5 7】

癌系統、 群比較、 その他の 有意な病状	上方制御 された miR	下方制御 された miR	mRNA	突然変異 分析	タンパク質 リガンド ペプチド	snoRNA	選択された参考文献
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌					ETA		M. Ben Nejma et al., Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 55 (2006) 21-25
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌					ETB		M. Ben Nejma et al. / Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 55 (2006) 21-26
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌					TSST-1		M. Ben Nejma et al. / Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 55 (2006) 21-27
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌					ロイコ シン		M. Ben Nejma et al. / Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 55 (2006) 21-28
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌				mecA			M. Ben Nejma et al. / Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 55 (2006) 21-29
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌				プロ テインA SNP			Frénay HM et al., J Clin Microbiol. 1994 Mar;32(3):846-7.
メチシリン 耐性黄色 ブドウ球菌			TSST-1				Chini V et al., Lett Appl Microbiol. 2007 Nov;45(5):479-54.

【図 5 9 A】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
ACSL3	ETV1	前立腺癌
AKAP9	BRAF	甲状腺乳頭癌
Alpha	TFEB	腎細胞癌
ARHGAP20	BRWD3	B細胞慢性リンパ球性白血病 (B-CLL)
ASPSOR1	TFE3	腎細胞癌
ATIC	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)
BCL11B	TLX3	T細胞急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (T-ALL)
BCL3	MYC	B細胞慢性リンパ球性白血病 (B-CLL)
BCL7A	MYC	B細胞慢性リンパ球性白血病 (B-CLL)
BCR	ABL1	慢性骨髄性白血病 (CML)
BCR	FGFR1	CML 芽細胞増殖性疾患 (MPD)
BCR	JAK2	慢性骨髄性白血病 (CML)
BCR	PDGFRA	異型CML
BIRC3	MALT1	B細胞非ホジキンリンパ腫、MALTリンパ腫
BRD4	NUT	低分化型上皮癌 (侵襲性正中線癌)
BRWD3	ARHGAP20	B細胞慢性リンパ球性白血病 (B-CLL)
BTG1	MYC	B細胞慢性リンパ球性白血病 (B-CLL)
CARS	ALK	炎症性筋線維芽細胞腫瘍
CANT1	ETV4	前立腺癌
CBFB	MYH11	急性骨髄性白血病 (AML)
CCDC6	PDGFRB	フィラデルフィア染色体陰性骨髄増殖性疾患 (MPD)
CCDC6	RET	甲状腺乳頭癌
CCND1	FSTL3	慢性骨髄性白血病 (CML)
CD74	ROS1	非小細胞肺癌 (NSCLC)
CDH11	USP6	動脈瘤様骨贅腫
CDK6	EV11	骨髄性白血病
CDK6	MLL	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
CDK6	TLX3	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
CEP110	FGFR1	骨髄増殖性疾患 (骨髄増殖性疾患 (MPD))
CHCHD7	PLAG1	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
CHIC2	ETV6	急性骨髄性白血病 (AML)
CITTA	BCL6	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
CLTC	ALK	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
CLTC	TFE3	小児腎臓癌
C15ORF21	ETV1	前立腺癌
COL1A1	PDGFB	隆起性皮膚線維肉腫
COL1A1	USP6	動脈瘤様骨贅腫
COL1A2	PLAG1	脂肪芽細胞癌
CRC1	MAML2	粘表皮癌
CRTC1	MAML2	粘表皮癌、ワルチン腫瘍
CRTC3	MAML2	粘表皮癌

【図 5 9 B】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
C7NNB1	PLAG1	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
DDX5	ETV4	前立腺癌
EIF4A2	BCL6	非ホジキンリンパ腫 (NHL)
EBL1	ABL1	T細胞急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (T-ALL)
EBL4	ALK	非小細胞肺癌 (NSCLC)
EPC1	PHF1	子宮内膜間質肉腫
ERC1	RET	甲状腺乳頭癌
		慢性骨髄性白血病 (CML)
		急性骨髄性白血病 (AML)
		急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
		T細胞急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (T-ALL)、 急性骨髄性白血病 (AML)
ETV6	ABL1	真性赤血球増多症
ETV6	ABL2	
ETV6	ACSL6	急性骨髄性白血病 (AML)
ETV6	ARNT	急性骨髄性白血病 (AML)
ETV6	CDX2	急性骨髄性白血病 (AML)
ETV6	EVH1	慢性骨髄性白血病 (CML)
ETV6	FGFR3	末梢T細胞リンパ腫
ETV6	FLT3	ALL、骨髄増殖性疾患 (MPD)
ETV6	HLXB9	急性骨髄性白血病 (AML)
		フィラデルフィア染色体陰性骨髄増殖性疾患 (MPD)、 B細胞悪性腫瘍
ETV6	JAK2	骨髄異形成症候群
ETV6	MDS2	慢性骨髄性白血病 (CML)
ETV6	MM1	分泌性乳癌
ETV6	NTRK3	慢性骨髄単球性白血病 (CMML)
ETV6	PDGFRB	慢性骨髄単球性白血病 (CMML)
ETV6	PER1	急性骨髄性白血病 (AML)
ETV6	RUNX1	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
ETV6	SYK	骨髄異形成症候群
ETV6	TCBA1	慢性骨髄性白血病 (CML)
ETV6	TTL	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
EWSR1	ATF1	軟部組織肉腫
EWSR1	DDIT3	粘液性脂肪肉腫
EWSR1	ERG	ユーイング肉腫
EWSR1	ETV1	ユーイング肉腫
EWSR1	ETV4	ユーイング肉腫
EWSR1	FEV	ユーイング肉腫
EWSR1	FLJ1	ユーイング肉腫
EWSR1	NR4A3	軟部組織由来の悪性腫瘍
EWSR1	POUSF1	未分化骨腫瘍
EWSR1	TEC	ユーイング肉腫
EWSR1	WT1	軟部組織肉腫
EWSR1	ZNF278	小円形細胞肉腫
EWSR1	ZNF384	急性リンパ芽球性白血病

【図 5 9 D】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
ITK	SYK	不特定末梢T細胞リンパ腫
JA2F1	PHF1	子宮内膜間質肉腫
JA2F1	SUZ12	子宮内膜間質腫瘍および子宮内膜間質肉腫
KIAA1509	PDGFRA	慢性好酸球性白血病 (CEL)
KIAA1618	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)
KLK2	ETV4	前立腺癌
KTN1	RET	甲状腺乳頭癌
LCP1	BCL6	非ホジキン濾胞性バーキットリンパ腫
LIFR	PLAG1	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
MALAT1	TFEB	小児腎腫瘍
MEF2D	DAZAP1	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	ABH1	急性非リンパ芽球性白血病
		急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)、 急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	AFF1	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
MLL	AFF3	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
MLL	AFF4	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
		急性単球性白血病 (急性骨髄性白血病 (AML)) (M5b)
MLL	ARHGAP26	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	ARHGEF12	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	CASC5	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	CBL	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	CLP1	単芽球性白血病
MLL	CREBBP	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	CXCC6	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
MLL	DAB2IP	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	ELL	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	EP300	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	EPS15	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	FNBP1	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	FOXO3A	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	GAS7	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
MLL	GMPS	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	GPHN	急性骨髄性白血病 (AML)
		乳児急性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病 (AML)-M4
MLL	LSP1	二次性急性白血病
MLL	MAPRE1	前駆B細胞急性リンパ芽球性白血病
MLL	MLL	急性骨髄性およびリンパ球性白血病
MLL	MLLT1	急性骨髄性白血病 (AML)
		小児急性巨核芽球性白血病および急性単芽球性白血病
MLL	MLLT10	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	MLLT11	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	MLLT3	急性骨髄性白血病 (AML)

【図 5 9 C】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
		骨髄増生、T細胞リンパ芽球性白血病/リンパ腫、 および末梢血好酸球増加を特徴とし、 急性骨髄性白血病へと徐々に進行する、 幹細胞骨髄増殖性疾患
FGFR10P	FGFR1	骨髄増生、好酸球増加、およびT細胞またはB細胞 リンパ芽球性リンパ腫を特徴とする、 骨髄増殖性疾患 (MPD)
FGFR10P2	FGFR1	骨髄増殖性疾患 (MPD)
FHIT	HMG2	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
FIP1L1	PDGFRA	過好酸球増加症
FLT3	ETV6	過好酸球増加症
FLJ35294	ETV1	前立腺癌
FUS	ATF1	頸血管腫型線性組織肉腫 (AFH)
FUS	CREB3L1	線維粘液肉腫
FUS	CREB3L2	低悪性度線維粘液肉腫 (LGfMS)
FUS	DDIT3	粘液性脂肪肉腫
FUS	DDIT3	粘液性/円形細胞脂肪肉腫
FUS	ERG	ユーイング肉腫
GAPDH	BCL6	B細胞非ホジキンリンパ腫 (B-NHL)、 びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
GOLGA5	RET	甲状腺乳頭癌
GOPC	ROS1	神経芽腫
HAS2	PLAG1	脂肪芽細胞腫
HERV	ETV1	前立腺癌
HIP1	PDGFRB	慢性骨髄単球性白血病 (CMML)
HIST1H4I	BCL6	B細胞非ホジキンリンパ腫 (NHL) (NHL)
HMG2	LAMA4	肺軟骨肉性過誤腫
HMG2	CCNB1IP1	良性間葉系腫瘍
HMG2	COX6C	子宮筋腫
HMG2	CXCR7	脂肪腫
HMG2	FHIT	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
HMG2	LHFP	孤立性脂肪腫
HMG2		脂肪腫、軟骨肉性脂肪腫、および軟骨肉性過誤腫
HMG2	NFIB	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
HMG2	RAD51L1	子宮筋腫
HNRPA2B1	ETV1	前立腺癌
HOOK3	RET	甲状腺乳頭癌
HRH4	RET	甲状腺乳頭癌
HSP90AA1	BCL6	B細胞非ホジキンリンパ腫 (NHL) (B-NHL)
HSP90AB1	BCL6	B細胞腫瘍
IGH	MYC	バーキットリンパ腫
IKZF1	BCL6	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
IL2	TNFRSF17	T細胞急性リンパ芽球性白血病 (T-ALL)
IL21R	BCL6	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)

【図 5 9 E】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
MLL	MLLT4	M4/M5 ALL
MLL	MLLT6	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	MLLT7	急性白血病
MLL	MYO1F	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	PICALM	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	RARA	M5急性非リンパ球性白血病 (ANLL)
MLL	SEPT11	慢性好中球性白血病
		急性骨髄性白血病 (AML)、治療関連骨髄異形成症候群
MLL	SEPT2	新発急性非リンパ球性白血病
MLL	SEPT5	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	SEPT6	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	SEPT9	骨髄腫瘍
MLL	SH3GL1	急性白血病
MLL	SORBS2	急性骨髄性白血病 (AML)
MLL	ZFYVE19	急性骨髄性白血病 (AML)
MSI2	HOXA9	慢性骨髄性白血病 (CML)
MSN	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)
MYC	BCL7A	高悪性度B細胞非ホジキンリンパ腫 (NHL)
MYC	BTG1	B細胞慢性リンパ球性白血病 (B-CLL)
MYH9	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)
MYST3	ASXL2	治療関連骨髄異形成症候群
MYST3	CREBBP	急性骨髄性白血病 (AML)
MYST3	EP300	急性骨髄単球性白血病または単球性白血病 (M4またはM5急性骨髄性白血病 (AML))
MYST3	NCOA2	急性白血病
MYST4	CREBBP	急性骨髄性白血病 (AML)
NACA	BCL6	非ホジキンリンパ腫 (NHL)
NCOA4	RET	甲状腺乳頭癌
NIN	PDGFRB	好酸球増加を伴う慢性骨髄増殖性疾患
NONO	TFE3	腎癌癌腫
NPM1	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)
NPM1	MLF1	急性骨髄性白血病 (AML)
NPM1	RARA	急性前骨髄球性白血病 (APML)
NJMA1	RARA	異型M3急性非リンパ球性白血病 (ANLL)
NUP214	ABL1	T細胞急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (T-ALL)
		急性骨髄性白血病 (AML) および骨髄異形成症候群
NUP214	SET	急性未分化白血病 (AUL)
NUP98	ADD3	混合型特徴を有するT細胞急性リンパ球性白血病 (T/骨髄性)
NUP98	CCDC28A	急性巨核芽球性白血病および T細胞急性リンパ芽球性白血病 (T-ALL)
NUP98	DOX10	新または二次性骨髄悪性腫瘍
NUP98	HOXA11	若年性骨髄単球性白血病 (JMML)

【図 5 9 F】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
NUP98	HOXA13	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	HOXA9	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	HOXC11	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	HOXC13	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	HOXD11	急性骨髄単球性白血病
NUP98	HOXD13	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	JARID1A	急性白血病
NUP98	NSD1	小児期急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	PRRX1	M2-ANLL、非ホジキンリンパ腫 (NHL)
NUP98	PRRX2	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	F5IP1	急性非リンパ芽球性白血病
NUP98	RAP1GDS1	T細胞急性リンパ芽球性白血病
NUP98	TOP1	急性骨髄性白血病 (AML)
NUP98	WHSC1L1	急性骨髄性白血病 (AML)
NUT	BRD4	正中線癌腫
OMD	USP6	動脈瘤様骨囊腫
PAX3	FOXQ1	横紋筋肉腫
PAX5	ETV6	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
PAX7	FOXO1	胸腺型横紋筋肉腫
PAX8	PPARγ	濾胞性甲状腺癌
PCM1	JAK2	骨髄増殖性疾患 (MPD) および急性赤白血病
PCM1	RET	甲状腺乳頭癌
PDE4DIP	PDGFRB	慢性好酸球性白血病 (CEL)
PICALM	MLLT10	AML、急性骨髄性白血病 (AML)
PIM1	BCL6	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
PML	RARA	急性前骨髄球性白血病 (APML)
POU2AF1	BCL6	非ホジキンリンパ腫 (NHL)
PRCC	TFE3	腎細胞癌
PRDM16	EVH1	MDSおよび急性骨髄性白血病 (AML)
PRKAR1A	RET	甲状腺乳頭癌
RABEP1	PDGFRB	骨髄増殖性疾患 (MPD) および急性骨髄性白血病 (AML)
RANBP2	ALK	炎症性筋線維芽細胞腫瘍 (IMT)
RBM15	MKL1	急性骨髄性白血病 (AML)
RFG	RET	甲状腺乳頭癌
RFG9	RET	甲状腺乳頭癌
RHOH	BCL6	中心芽細胞性中心細胞性濾胞性リンパ腫
Ria	RET	甲状腺乳頭癌
RLF	MYCL1	小細胞肺癌 (SCLC)
RPN1	EVH1	急性非リンパ芽球性白血病 (ANLL)、骨髄異形成症候群
RUNX1	CSF2T3	骨髄悪性腫瘍

【図 5 9 H】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
TMPRSS2	ETV1	前立腺癌
TMPRSS2	ETV4	前立腺癌
TMPRSS2	ETV5	前立腺癌
TP53BP1	PDGFRB	好酸球増加を伴うCM样疾患
TPM3	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)
TPM3	NTRK1	甲状腺乳頭癌
TPM3	PDGFRB	慢性好酸球性白血病 (CEL)
TPM3	TPR	甲状腺乳頭癌
TPM4	ALK	炎症性筋線維芽細胞腫瘍
TPR	MET	甲状腺乳頭癌
TPR	NTRK1	甲状腺乳頭癌
TRIM24	FGFR1	骨髄増殖性疾患 (MPD)
TRIM24	RARA	骨髄増殖性疾患 (MPD)
TRIM24	RET	甲状腺乳頭癌
TRIM27	RET	甲状腺乳頭癌
TRIM33	RET	甲状腺乳頭癌
TRIP11	PDGFRB	急性骨髄性白血病 (AML)
TTL	ETV6	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
ZBTB16	RARA	急性前骨髄球性白血病 (APML)
ZMYM2	FGFR1	幹細胞白血病リンパ腫症候群 (SCLL)

【図 5 9 G】

5' 上流融合 遺伝子パートナー	3' 下流融合 遺伝子パートナー	癌系統
RUNX1	EVH1	急性骨髄性白血病 (AML)、治療関連MDS、および芽細胞相の慢性骨髄性白血病
RUNX1	MDS1	急性骨髄性白血病 (AML)、治療関連MDS、および芽細胞相の慢性骨髄性白血病
RUNX1	RPL22	急性骨髄性白血病 (AML)
RUNX1	RUNX1T1	急性骨髄性白血病 (AML)
RUNX1	SH3D19	急性骨髄性白血病 (AML)
RUNX1	USP42	急性骨髄性白血病 (AML)
RUNX1	YTHDF2	急性骨髄性白血病 (AML)
RUNX1	ZNF667	急性骨髄性白血病 (AML)
SEC31A	ALK	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
SENP6	TCBA1	T細胞リンパ腫
SFPQ	TFE3	腎細胞癌
SFRS3	BCL6	濾胞性リンパ腫
SLC5A3	ERG	前立腺癌
SLC45A3	ETV1	前立腺癌
SLC45A3	ETV5	前立腺癌
SPECC1	PDGFRB	若年性骨髄単球性白血病
SS18	SSX1	滑膜肉腫
SS18	SSX2	滑膜肉腫
SS18	SSX4	滑膜肉腫
SS18L1	SSX1	滑膜肉腫
STAT5B	RARA	急性前骨髄球性白血病 (APML)
TAF15	NR4A3	ユーイング肉腫/原始神経外胚葉性腫瘍
TAF15	TEC	ユーイング肉腫
TAF15	ZNF384	急性骨髄性白血病 (AML)
TAL1	STIL	T細胞悪性腫瘍 (T-ALL)
TCBA1	ETV6	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
TCEA1	PLAG1	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
TCF12	NR4A3	骨外性粘液性軟骨肉腫
TCF12	TEC	骨外性粘液性軟骨肉腫
TCF3	HLF	前駆B細胞急性リンパ芽球性白血病
TCF3	PBX1	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
TCF3	TFFT	急性リンパ芽球性/リンパ球性白血病 (ALL)
TFG	ALK	未分化大細胞リンパ腫 (ALCL)、非小細胞肺癌 (NSCLC)
TFG	NR4A3	骨外性粘液性軟骨肉腫
TFG	NTRK1	甲状腺乳頭癌
TFRC	BCL6	B細胞非ホジキンリンパ腫 (B-NHL)、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)
THRAP3	USP6	動脈瘤様骨囊腫
TIAF1	FGFR1	骨髄増殖性疾患 (MPD)
TMPRSS2	ERG	前立腺癌

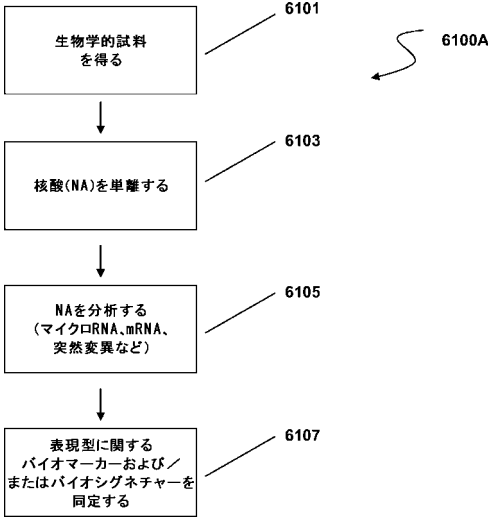
【図 6 0 A】

遺伝子	遺伝子関連miRNA
アンドロゲン受容体	miR-124a, miR-130a, miR-130b, miR-143, miR-149, miR-194, miR-29b, miR-29c, miR-301, miR-30a-5p, miR-30d, miR-30e-5p, miR-337, miR-342, miR-368, miR-488, miR-493-5p, miR-506, miR-512-5p, miR-644, miR-768-5p, miR-801
DNMT3B	miR-618, miR-1253, miR-765, miR-561, miR-330-5p, miR-326, miR-188, miR-203, miR-221, miR-222, miR-26a, miR-26b, miR-29a, miR-29b, miR-29c, miR-370, miR-379, miR-429, miR-519e*, miR-598, miR-618, miR-635
GART	miR-101, miR-141, miR-144, miR-182, miR-189, miR-199a, miR-199b, miR-200a, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-223, miR-329, miR-383, miR-429, miR-433, miR-485-5p, miR-493-5p, miR-499, miR-519a, miR-519b, miR-519c, miR-569, miR-591, miR-607, miR-627, miR-635, miR-659
MGMT	miR-122a, miR-142-3p, miR-17-3p, miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-199b, miR-200a*, miR-217, miR-302b*, miR-32, miR-324-3p, miR-34a, miR-371, miR-425-5p, miR-496, miR-514, miR-515-3p, miR-516-3p, miR-574, miR-597, miR-603, miR-653, miR-655, miR-92, miR-92b, miR-99a
Top2B	miR-548f, miR-548a-3p, miR-548g, miR-513a-3p, miR-548c-3p, miR-101, miR-653, miR-548d-3p, miR-675, miR-297, miR-576-3p, miR-548b-3p, miR-624, miR-548n, miR-758, miR-1253, miR-1324, miR-23b, miR-320a, miR-320b, miR-1183, miR-1244, miR-23a, miR-451, miR-968, miR-1276, miR-548e, miR-590-3p, miR-1, miR-101, miR-126, miR-126*, miR-129, miR-136, miR-140, miR-141, miR-144, miR-147, miR-149, miR-18, miR-181b, miR-181c, miR-182, miR-184, miR-186, miR-189, miR-191, miR-19a, miR-19b, miR-200a, miR-206, miR-210, miR-218, miR-223, miR-23a, miR-23b, miR-24, miR-27a, miR-302, miR-30a, miR-31, miR-320, miR-23, miR-362, miR-374, miR-383, miR-409-3p, miR-451, miR-489, miR-493-3p, miR-514, miR-542-3p, miR-544, miR-548a, miR-548b, miR-548c, miR-548d, miR-559, miR-568, miR-575, miR-579, miR-585, miR-591, miR-598, miR-613, miR-649, miR-651, miR-758, miR-768-3p, miR-9*
HSP90	miR-1, miR-513a-3p, miR-548d-3, miR-642, miR-206, miR-450b-3p, miR-152, miR-148, miR-148b, miR-188-3p, miR-23a, miR-23b, miR-578, miR-653, miR-1206, miR-192, miR-215, miR-181b, miR-181d, miR-223, miR-613, miR-789-3p, miR-99a, miR-100, miR-454, miR-548n, miR-640, miR-99b, miR-150, miR-181a, miR-181c, miR-522, miR-624, miR-1, miR-130a, miR-130b, miR-146, miR-148a, miR-148b, miR-152, miR-181a, miR-181b, miR-181c, miR-204, miR-206, miR-211, miR-212, miR-215, miR-223, miR-23a, miR-23b, miR-301, miR-31, miR-325, miR-363*, miR-566, miR-9, miR-99b
ASPM	miR-1, miR-122a, miR-135a, miR-135b, miR-137, miR-153, miR-190, miR-206, miR-320, miR-382, miR-383, miR-453, miR-453, miR-493-5p, miR-496, miR-499, miR-507, miR-517b, miR-548a, miR-548c, miR-567, miR-569, miR-580, miR-602, miR-651, miR-653, miR-758, miR-9*
SPARC	miR-768-5p, miR-203, miR-198, miR-569, miR-187, miR-641, miR-1275, miR-432, miR-622, miR-298-3p, miR-646, miR-96b, miR-499-5p, miR-590-5p, miR-495, miR-625, miR-1244, miR-512-5p, miR-1206, miR-1303, miR-186, miR-302d, miR-494, miR-562, miR-573, miR-10a, miR-203, miR-204, miR-211, miR-29a, miR-29b, miR-29c, miR-29c, miR-339, miR-433, miR-452, miR-515-5p, miR-517a, miR-517b, miR-517c, miR-592, miR-96
PFKB3	miR-513a-3p, miR-1286, miR-488, miR-539, miR-658, miR-524-5p, miR-1258, miR-150, miR-216b, miR-377, miR-135a, miR-26a, miR-548a-5p, miR-26b, miR-520d-5p, miR-224, miR-1297, miR-1197, miR-182, miR-452, miR-509-3-5p, miR-548m, miR-625, miR-509-5p, miR-1266, miR-135b, miR-190b, miR-496, miR-616, miR-621, miR-650, miR-105, miR-19a, miR-346, miR-620, miR-637, miR-651, miR-1283, miR-590-3p, miR-942, miR-1185, miR-577, miR-602, miR-1305, miR-220c, miR-1270, miR-1282, miR-432, miR-491-5p, miR-548n, miR-765, miR-768-3p, miR-924

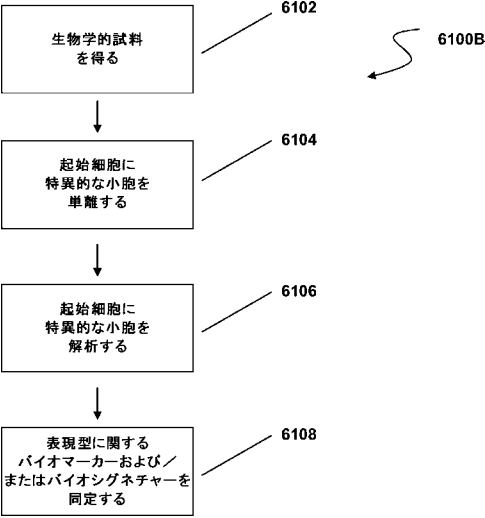
【図 6 0 B】

遺伝子	遺伝子関連miRNA
HMMR	miR-936, miR-656, miR-105, miR-361-5p, miR-194, miR-374a, miR-590-3p, miR-186, miR-769-5p, miR-892a, miR-380, miR-875-3p, miR-208a, miR-208b, miR-566, miR-125a-3p, miR-630, miR-374b, miR-411, miR-629, miR-1266, miR-1185, miR-16, miR-200b, miR-671-5p, miR-95, miR-421, miR-496, miR-633, miR-1243, miR-127-5p, miR-143, miR-15b, miR-200c, miR-24, miR-34c-3p
CENPF	miR-30c, miR-30b, miR-190, miR-508-3p, miR-384, miR-512-5p, miR-548p, miR-297, miR-520f, miR-378a, miR-1184, miR-577, miR-708, miR-205, miR-376b, miR-520g, miR-520h, miR-519d, miR-566, miR-768-3p, miR-340, miR-620, miR-539, miR-567, miR-671-5, miR-1183, miR-129-3p, miR-636, miR-106a, miR-1301, miR-17, miR-20a, miR-570, miR-656, miR-1263, miR-1324, miR-142-5p, miR-28-5p, miR-302b, miR-452, miR-520d-3p, miR-548a, miR-892b, miR-302d, miR-875-3p, miR-106b, miR-1266, miR-1323, miR-20b, miR-221, miR-520e, miR-664, miR-920, miR-922, miR-93, miR-1228, miR-1271, miR-30e, miR-483-3p, miR-509-3-5p, miR-515-3p, miR-519e, miR-520b, miR-520c-3p, miR-582-3p
NCAPG2	miR-876-5p, miR-1280, miR-1246, miR-548c-3p, miR-1224-3p, miR-619, miR-605, miR-490-5p, miR-186, miR-448, miR-129-5p, miR-188-3p, miR-516b, miR-342-3p, miR-127, miR-548k, miR-654-3p, miR-1290, miR-656, miR-34b, miR-520g, miR-1231, miR-1289, miR-1229, miR-23a, miR-23b, miR-616, miR-620
EGFR	miR-105, miR-128a, miR-128b, miR-140, miR-141, miR-146a, miR-146b, miR-27a, miR-27b, miR-302a, miR-302d, miR-370, miR-548c, miR-574, miR-587, miR-7
SSTR3	miR-125a, miR-125b, miR-133a, miR-133b, miR-136, miR-150, miR-21, miR-380-5p, miR-504, miR-550, miR-671, miR-766, miR-767-3p

【図 6 1 A】



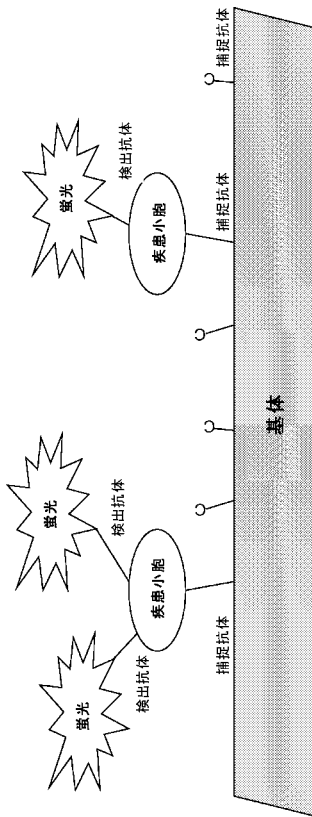
【図 6 1 B】



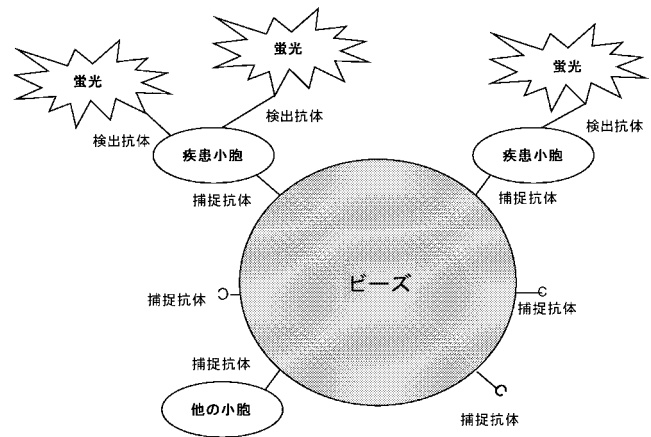
【図 6 2】

タンパク質名	veap平均値	Incap平均値	標準平均値
ヒオニン	33236	40207	52224
β-tub	19206	24887	34658
エストジオール	16066	23435	16580
熱ショックタンパク質27/hsp27	10172	22822	43471
CD45RO	15037	20251	10114
CNPAse	11269	19646	11675
EROC1	15292	19036	1597
ケラチン15	13459	17580	8325
CD81/ITPA-1	4967	17031	194
ラモニンB/b1	4609	14848	10241
MyoD1	7144	12472	15022
HPV 16	12742	11185	15094
Gai1	4163	10716	1361
CD9	7009	10146	191
上皮特異的抗原	10850	9764	1275
サイクリンE	5111	9068	6280
MHC II (HLA-DP および DR)	6936	8943	4757
E2F-2	2890	8801	3094
CD63	4591	8501	2783
アミロイドAPP	4663	7896	5893
スレプトアヒン	6348	7658	7909
腫瘍細胞キマーゼ	1816	7552	433
NF (アポトーシス誘導因子)			
CD42b	4263	7322	7686
MHC II (HLA-DP および DR)	1717	6947	10836
カルモジュリン	6936	8943	4757
	3353	4722	1861

【図 6 3 A】



【図 6 3 B】

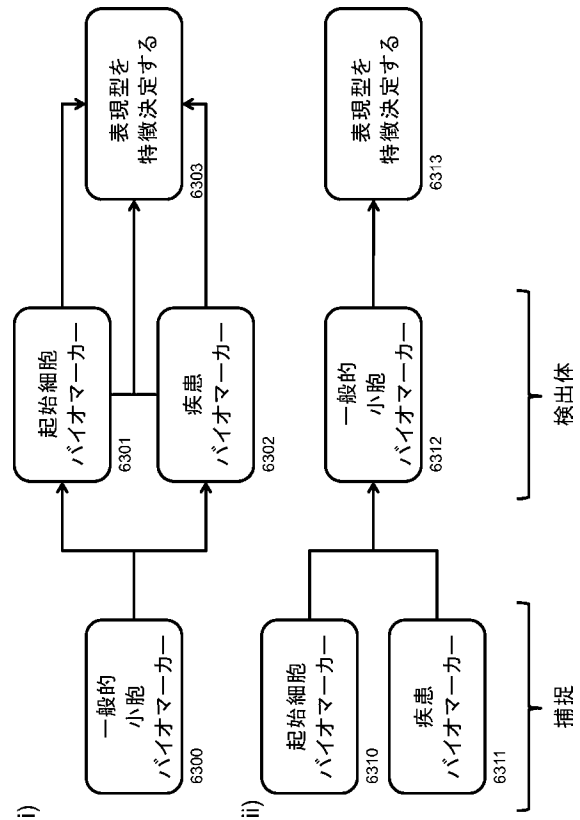


【図 6 3 C】

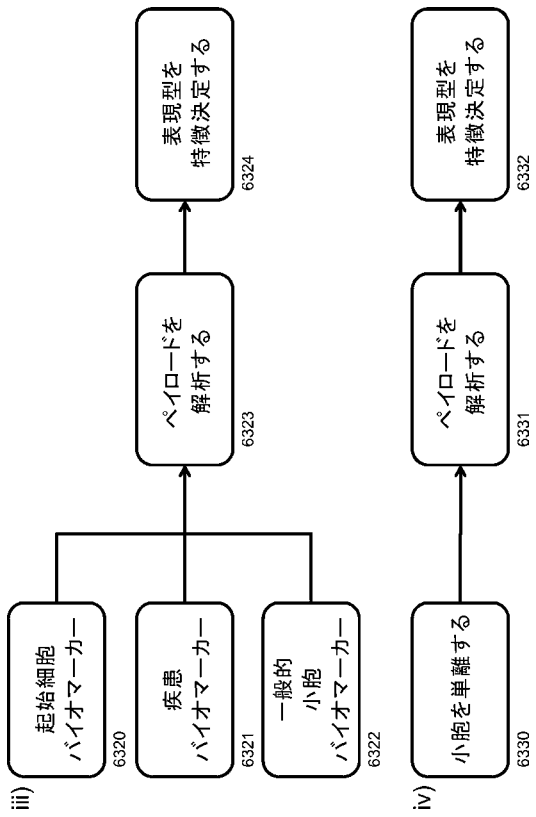
スクリーニングスキーム			
5 検出抗体	x	20 捕捉抗体	= 100 スクリーニングされる 組み合わせ
CD63	CD9	Rab	
CD9	PSCA	IgG	
CD81	TNFR	CD81	
B7H3	CD63 2X	STEAP	
EpCam	B7H3	PCSA	
	Rab IgG	PSMA	
	MFG-E8	5T4	
	EpCam 2X	CD24	
	CD63	TMEM211	

一般的小胞バイオマーカーの抗体：CD9, CD63, CD81
 起始細胞バイオマーカーの抗体：PSCA, MFG-E8, Rab, STEAP,
 PCSA, PSMA, 5T4, TMEM211
 癌バイオマーカーの抗体：EpCam, B7H3, CD24
 対照抗体：Rab IgG, IgG

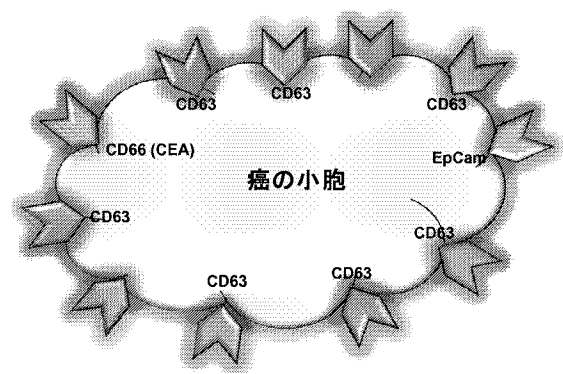
【図 6 3 D】



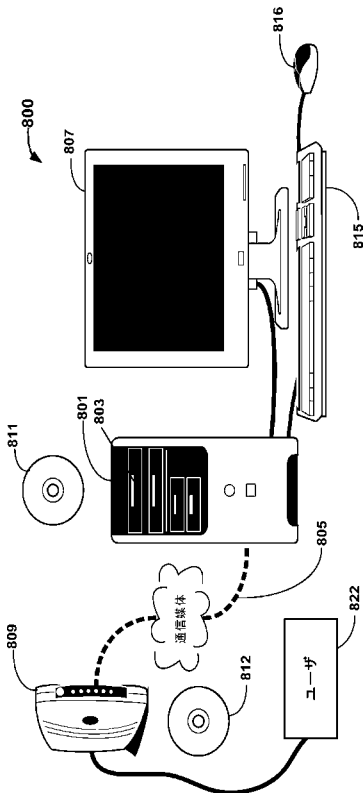
【図 6 3 E】



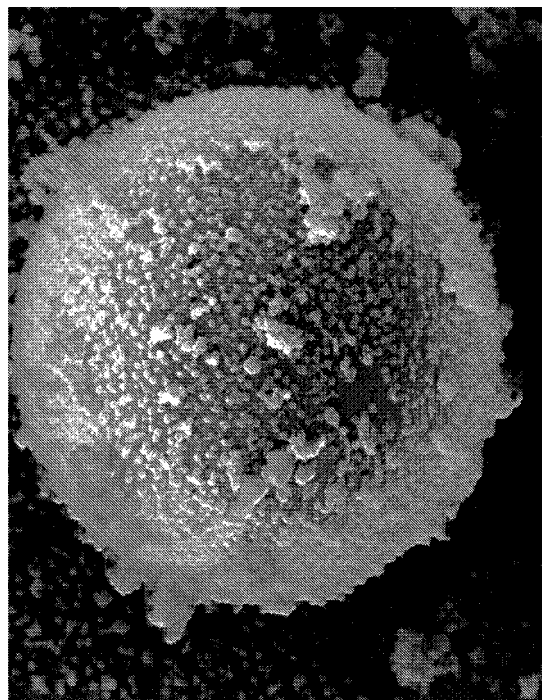
【図 6 4】



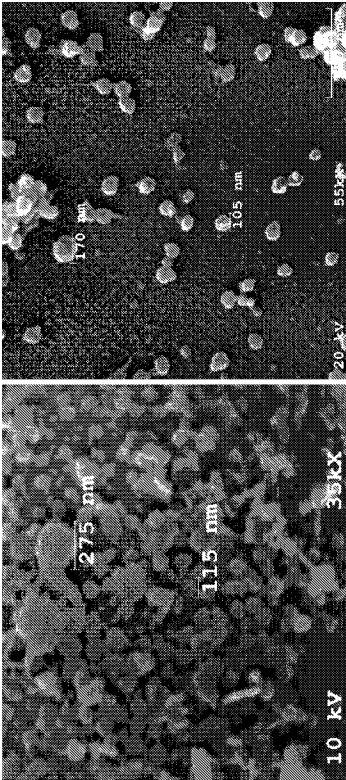
【図 6 5】



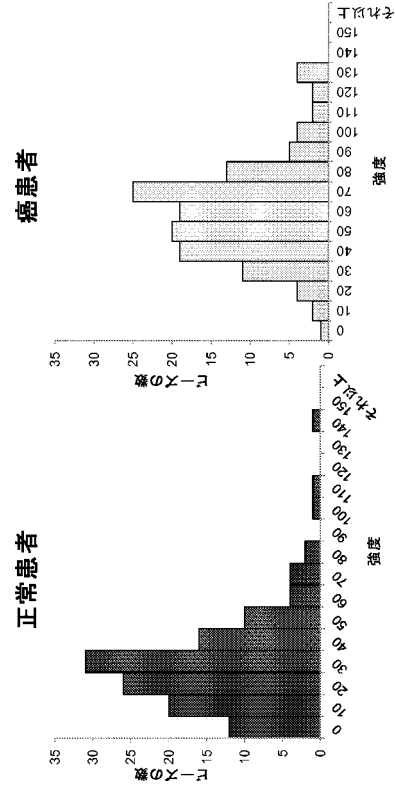
【図 6 6 A】



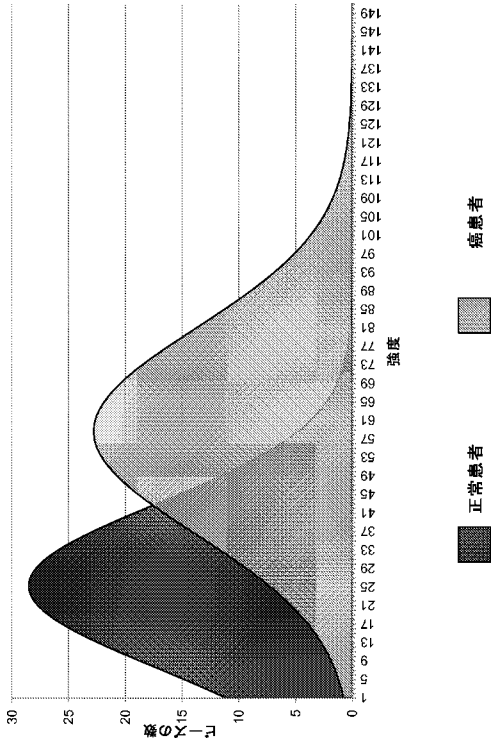
【図 6 6 B】



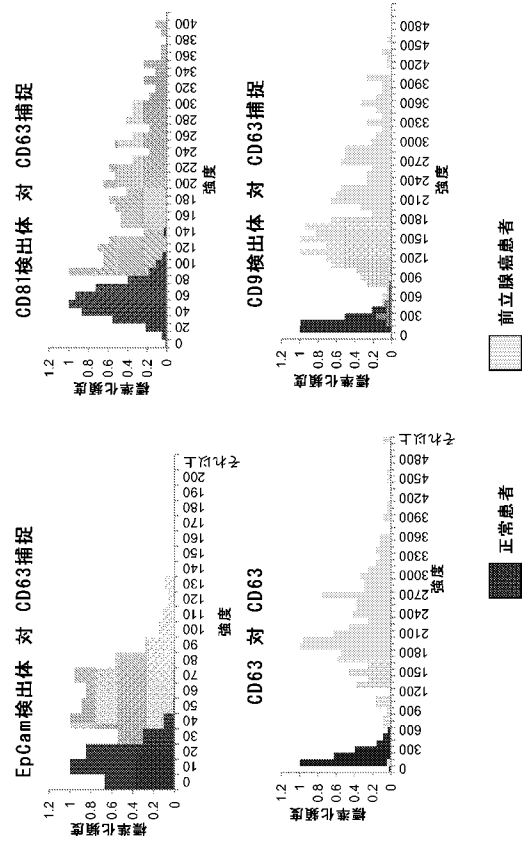
【図 6 7 A】



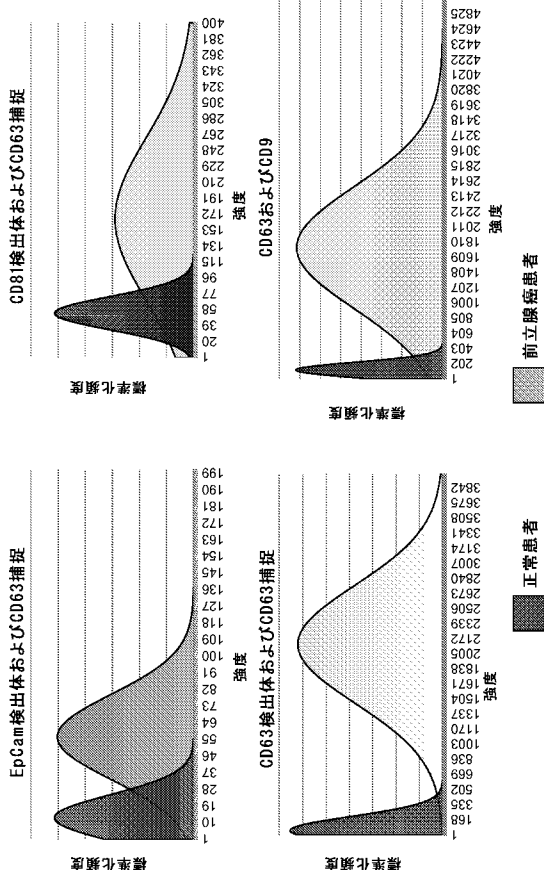
【図 6 7 B】



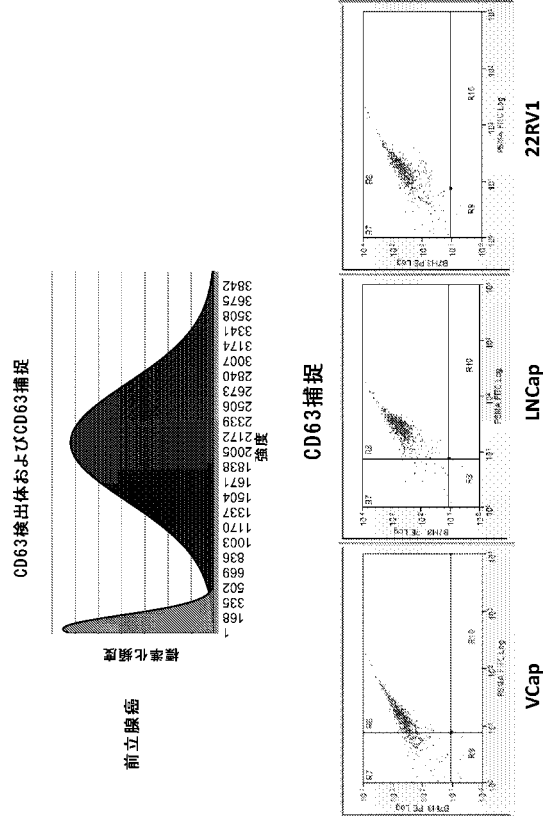
【図 6 8 A】



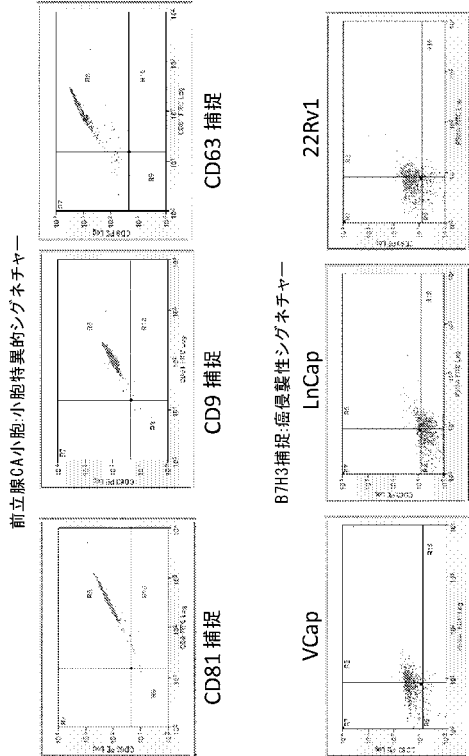
【図 6 8 B】



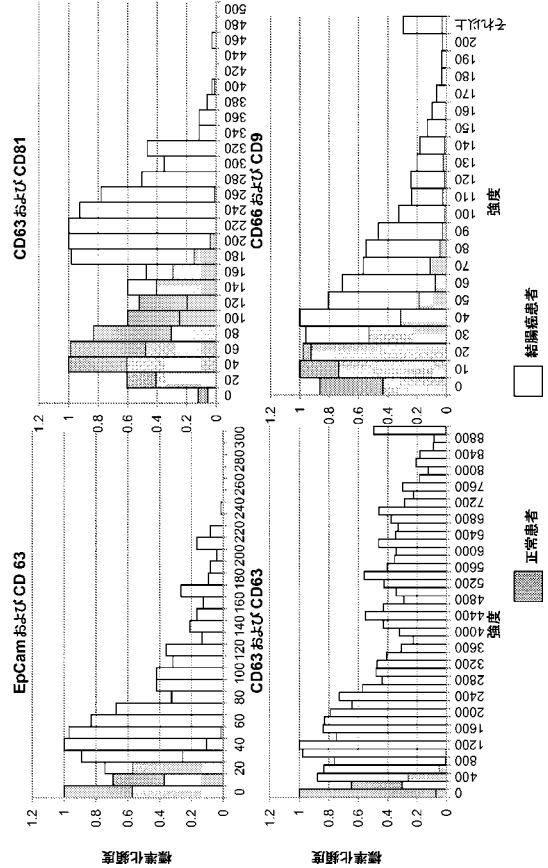
【図 6 8 C】



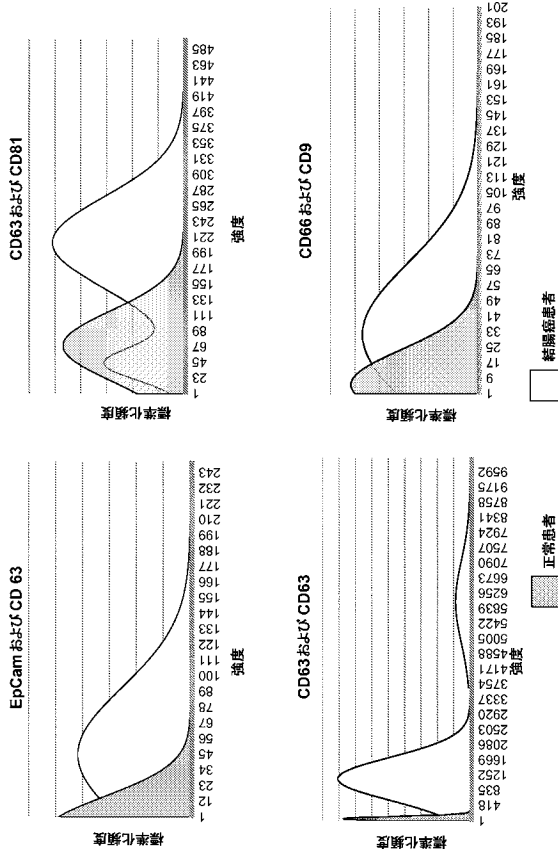
【図 6 8 D】



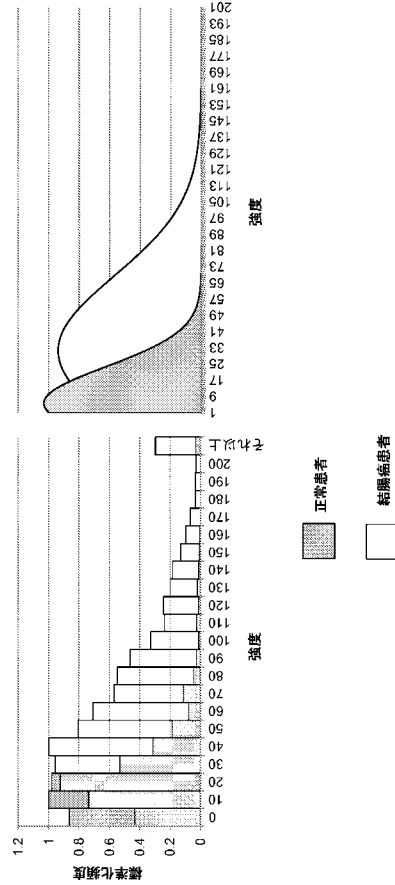
【図 6 9 A】



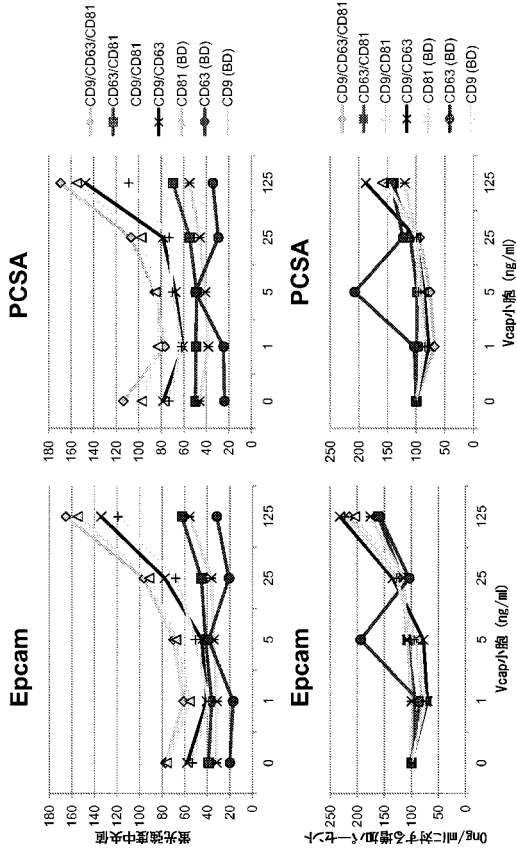
【図 69 B】



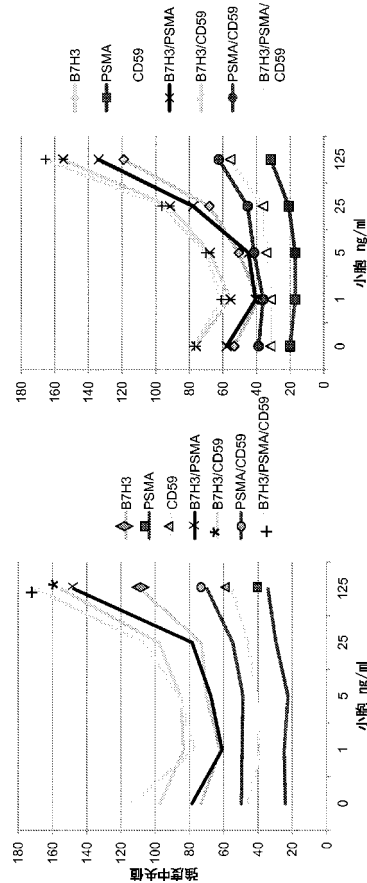
【図 69 C】



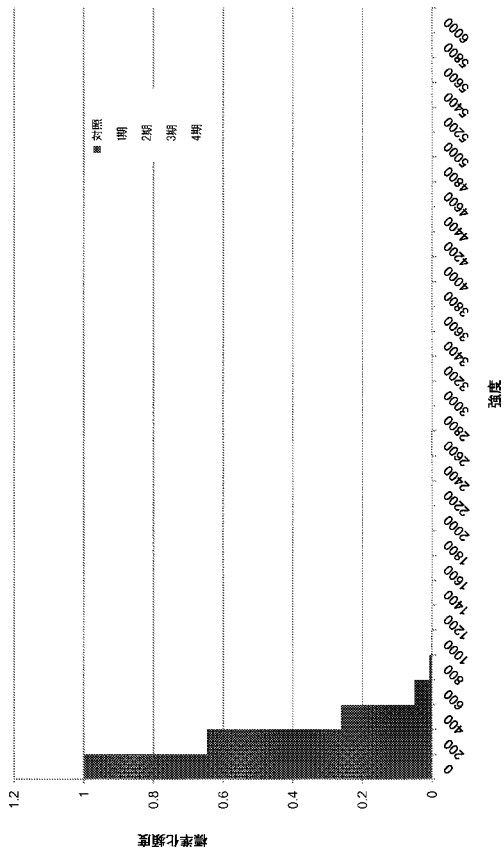
【図 70 A】



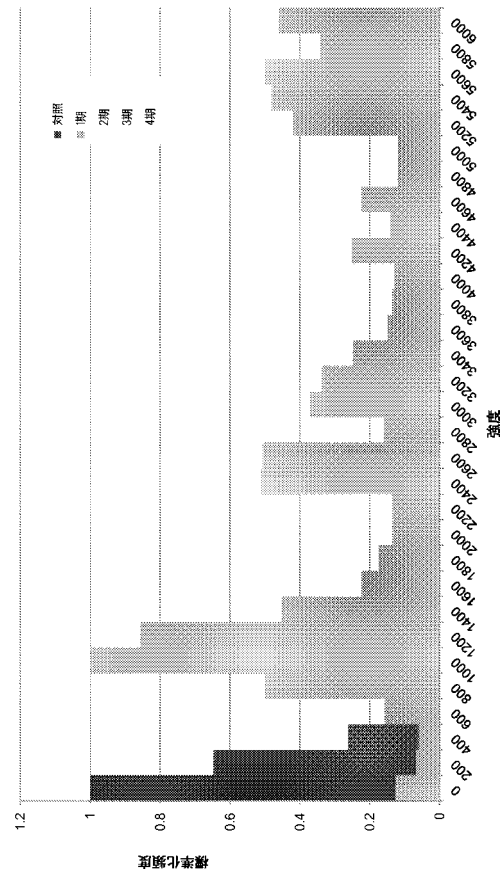
【図 70 B】



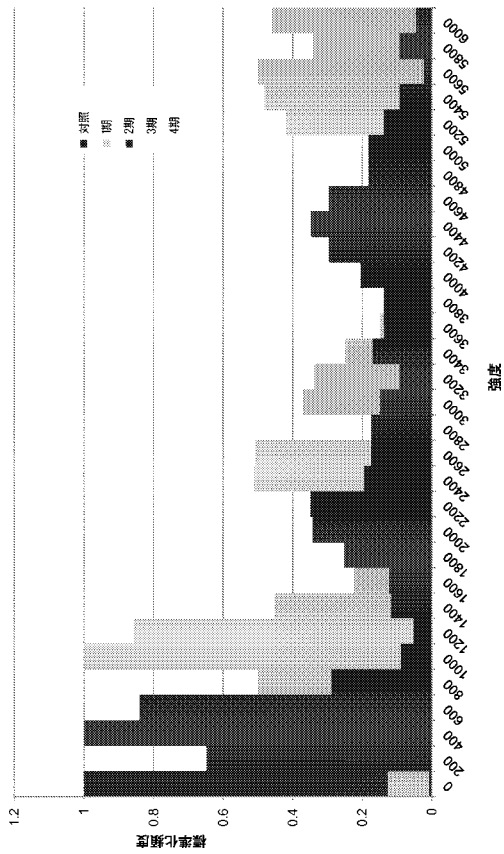
【図 7 1 A】



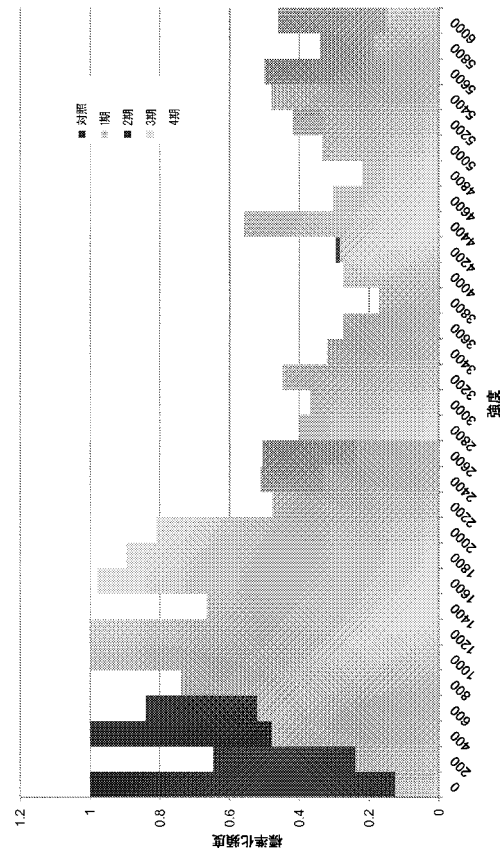
【図 7 1 B】



【図 7 1 C】



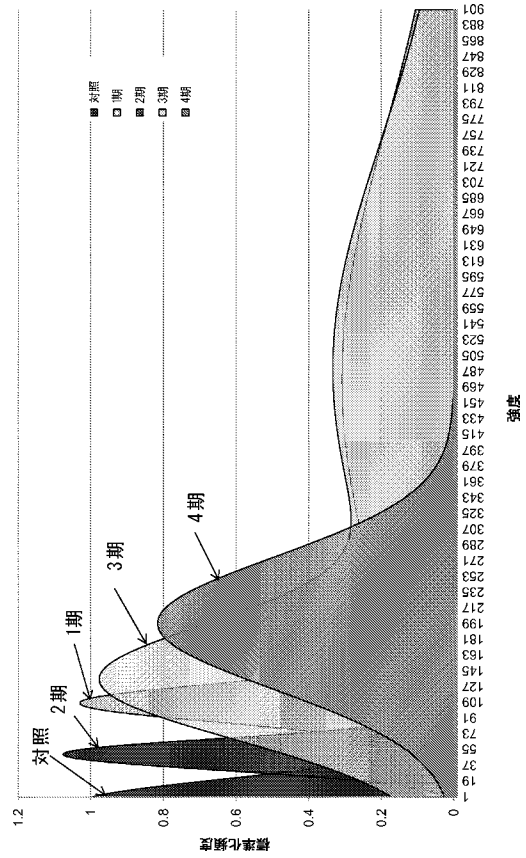
【図 7 1 D】



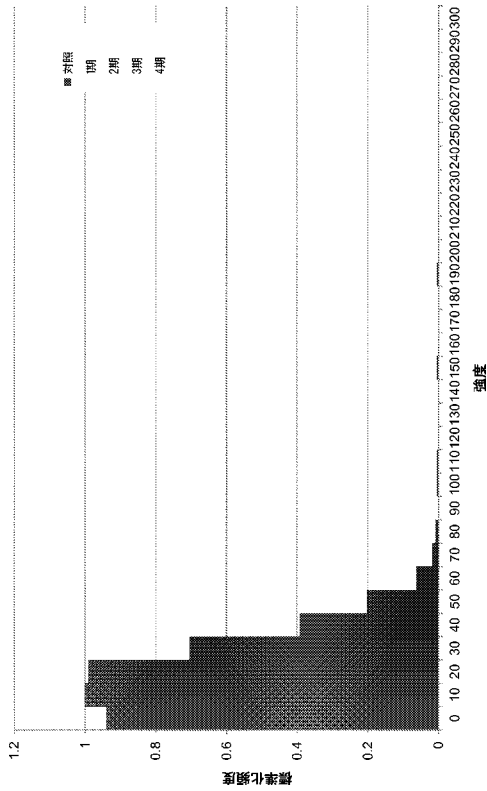
【図 7 1 E】



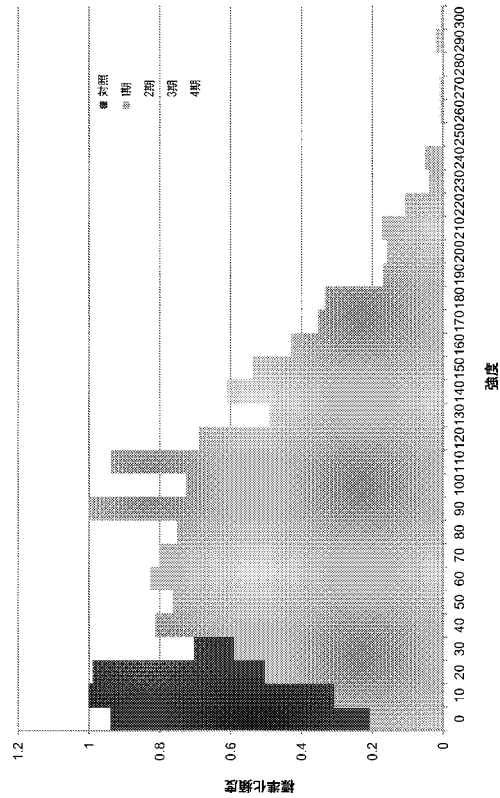
【図 7 1 F】



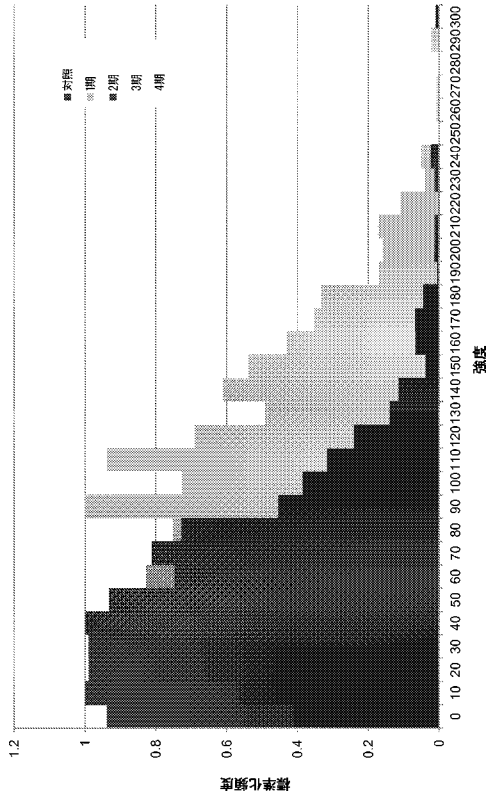
【図 7 2 A】



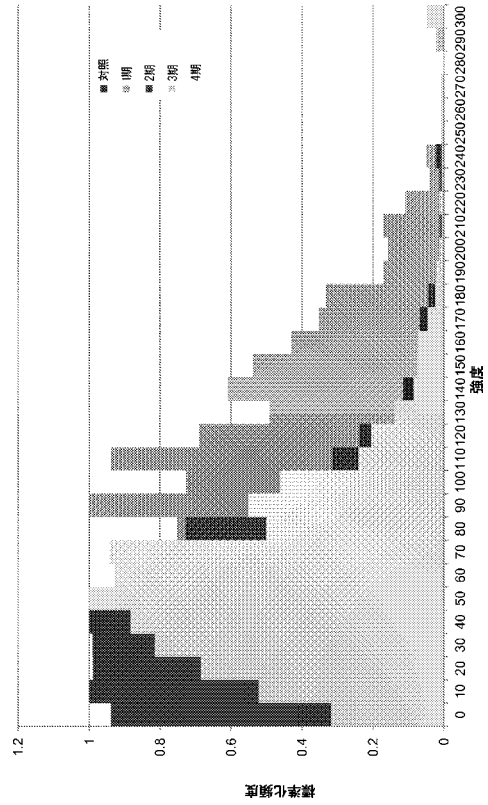
【図 7 2 B】



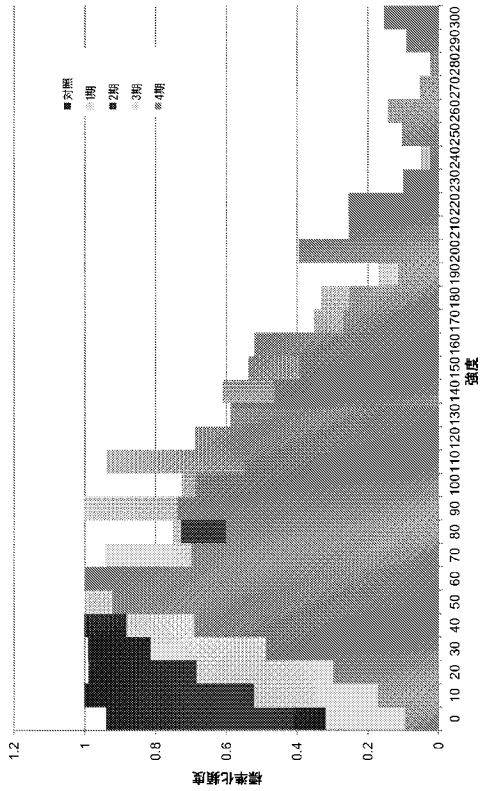
【図 7 2 C】



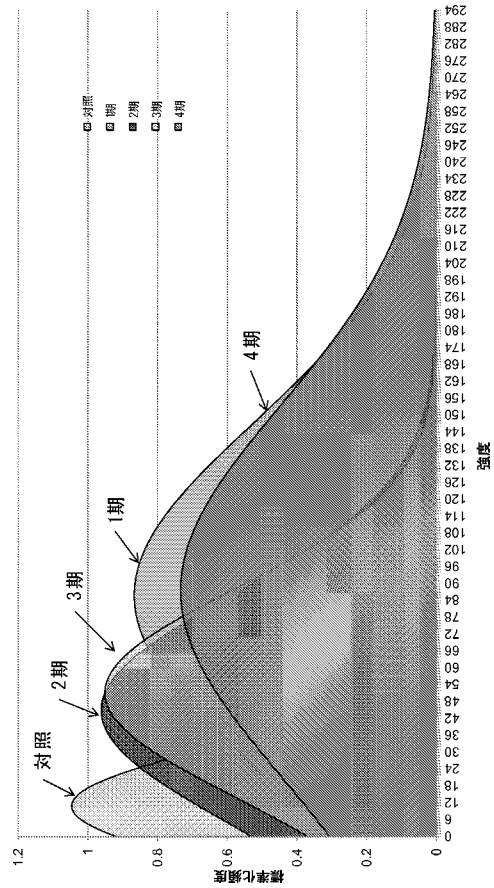
【図 7 2 D】



【図 7 2 E】



【図 7 2 F】



【図 7 3 A】

信頼度	99%	99%	99%	99%
特異度	80%	100%	80%	80%
感度	87.5%	90%	60%	60%
	EpCam 対 CD63	CD63 対 CD81	CD63 対 CD63	CD9 対 CD63

【図 7 3 B】

EpCam 対 CD63

真陽性	7	8	真陰性
偽陰性	1	2	偽陽性

【図 7 3 C】

CD81 対 CD63

真陽性	4	10	真陰性
偽陰性	1	0	偽陽性

【図 7 3 D】

CD63 対 CD63

真陽性	3	8	真陰性
偽陰性	2	2	偽陽性

【図 7 3 E】

CD9 対 CD63

真陽性	3	8	真陰性
偽陰性	2	2	偽陽性

【図 7 4 A】

信頼度	99%	99%	99%	99%	99%
特異度	ND	ND	ND	ND	ND
感度	95%	90%	100%	100%	85%
検出体 対 捕捉	Epcam 対 CD63	Epcam 対 CD9	CD63 対 CD63	CD9 対 CD63	CD66 対 CD9

【図 7 4 B】

EpCam 対 CD63

真陽性	19	6	真陰性
偽陰性	1	ND	偽陽性

【図 7 4 C】

CD81 対 CD63

真陽性	18	6	真陰性
偽陰性	2	ND	偽陽性

【図 7 4 D】

CD63 対 CD63

真陽性	20	6	真陰性
偽陰性	0	ND	偽陽性

【図 7 4 E】

CD9 対 CD63

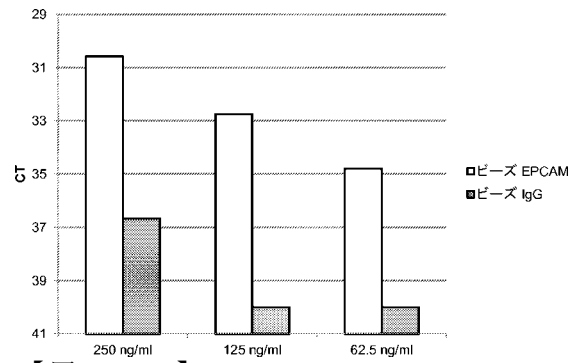
真陽性	20	6	真陰性
偽陰性	0	ND	偽陽性

【図 7 4 F】

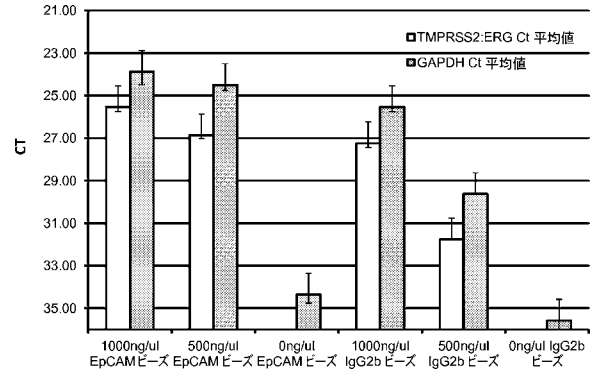
CD66 対 CD63

真陽性	17	6	真陰性
偽陰性	3	ND	偽陽性

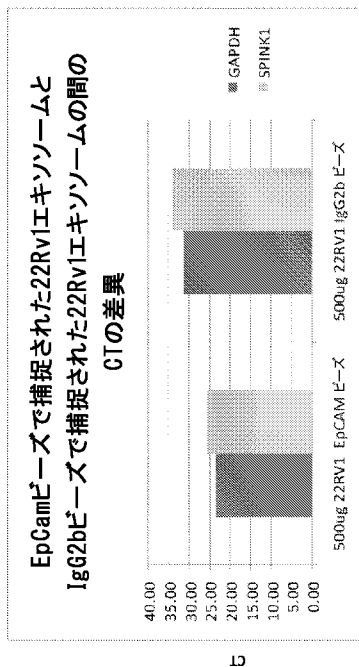
【図 7 5 A】



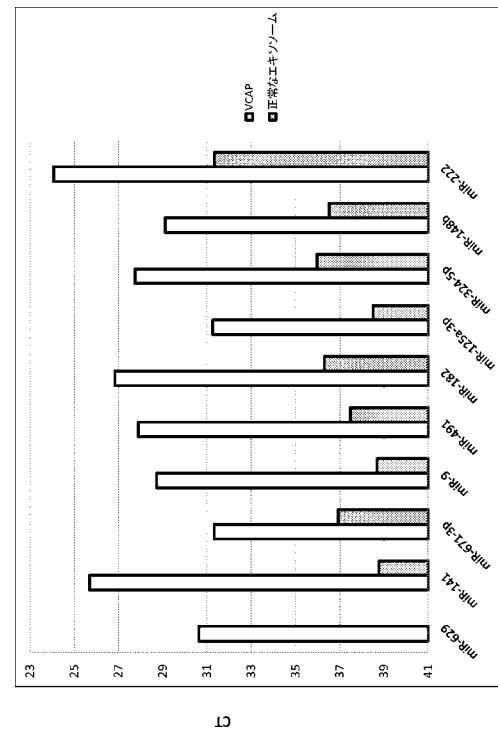
【図 7 5 B】



【図 7 5 C】

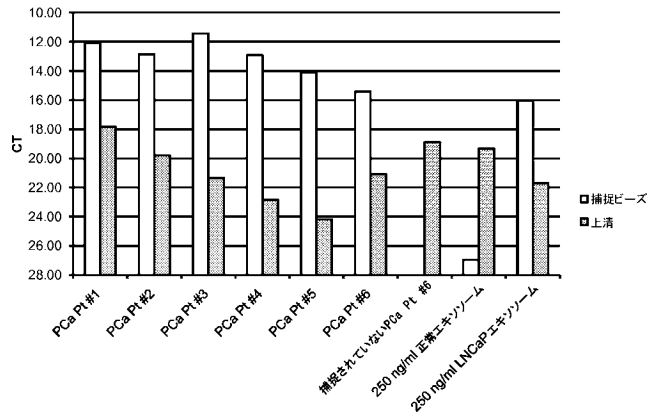


【図 7 6 A】



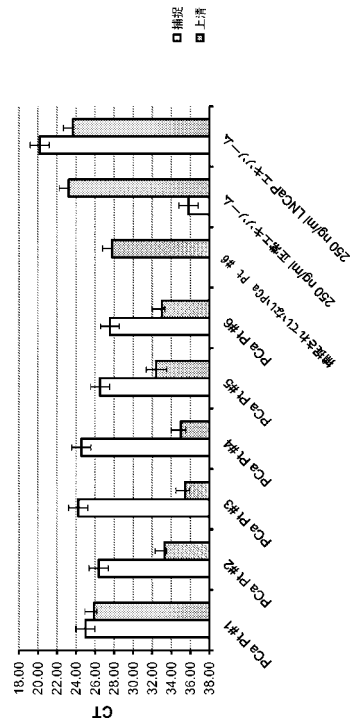
【図 77】

CD-9ビーズ捕捉によるmiR21発現

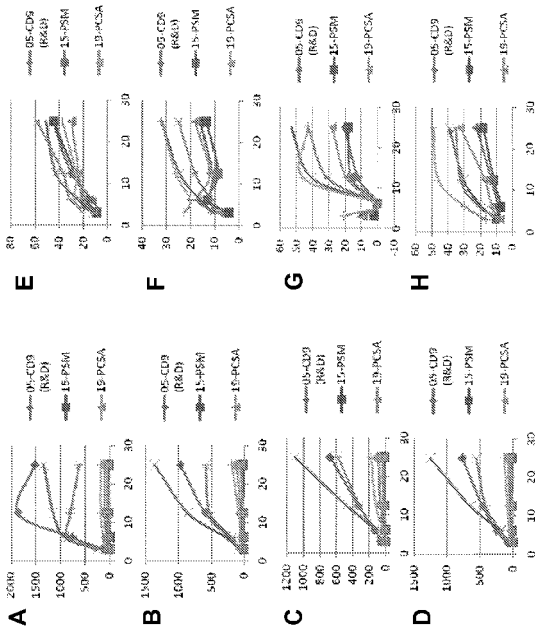


【図 78】

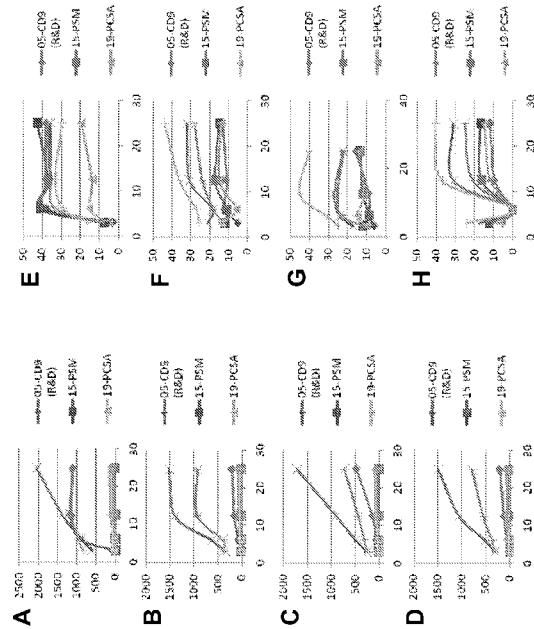
CD-9ビーズ捕捉によるmiR141の発現



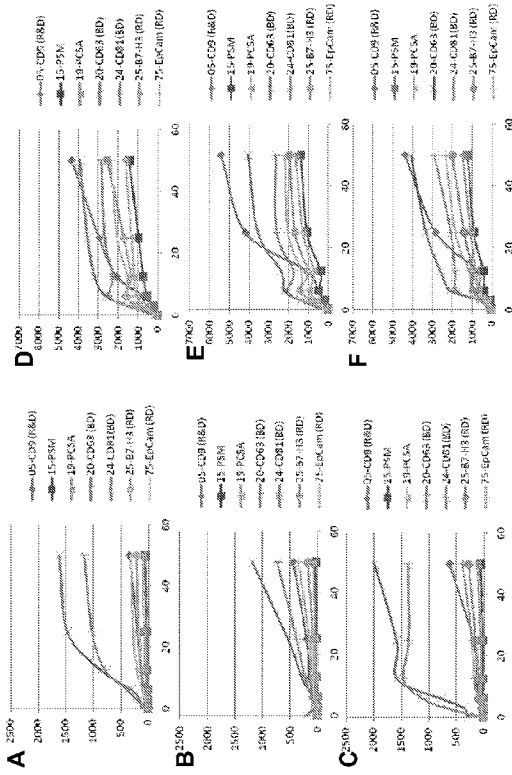
【図 79】



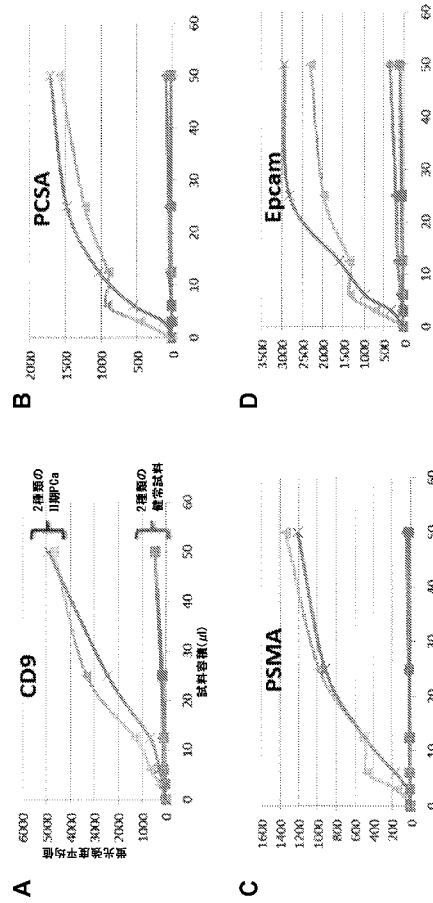
【図 80】



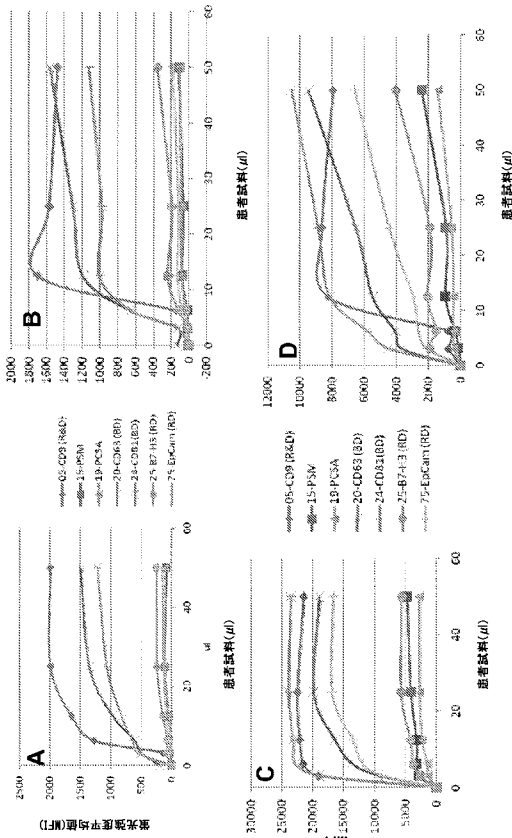
【図 8 1】



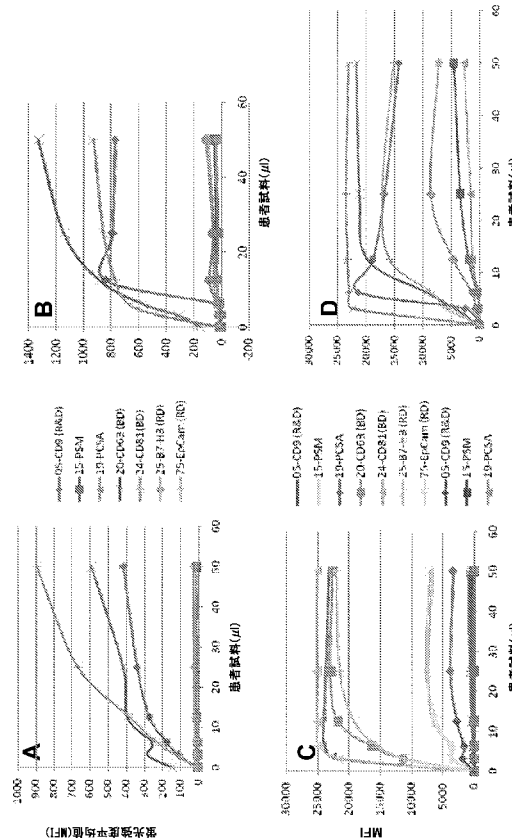
【図 8 2】



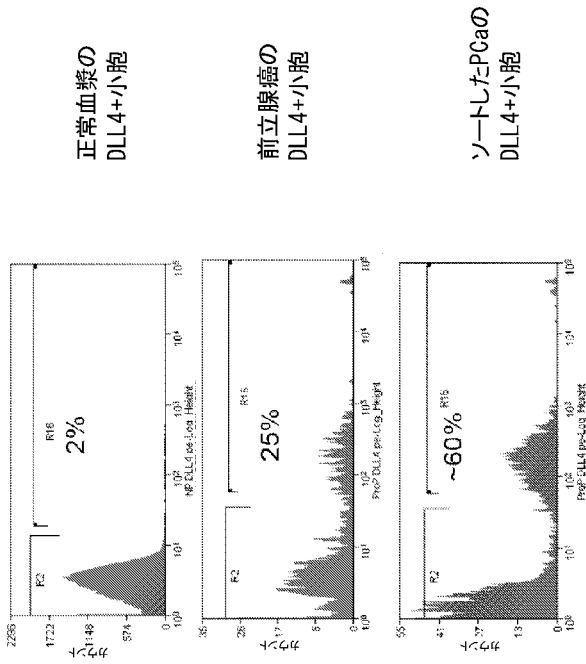
【図 8 3】



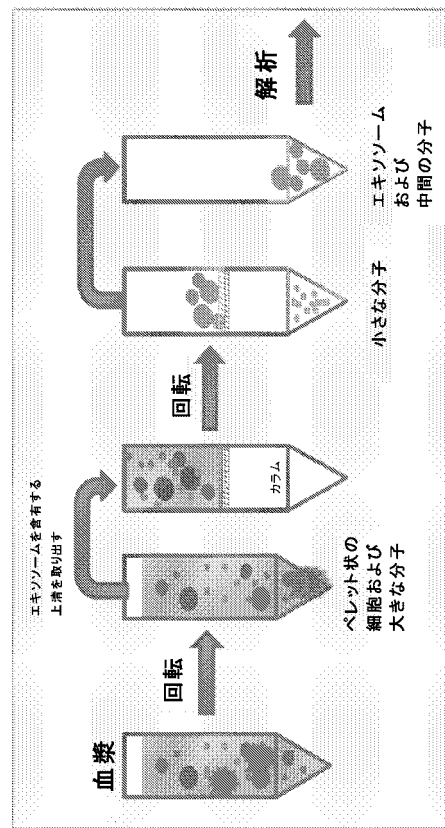
【図 8 4】



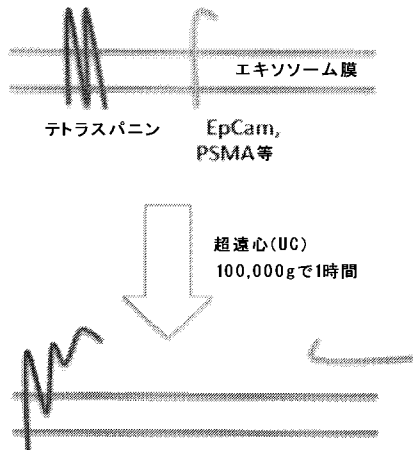
【図 8 6 D】



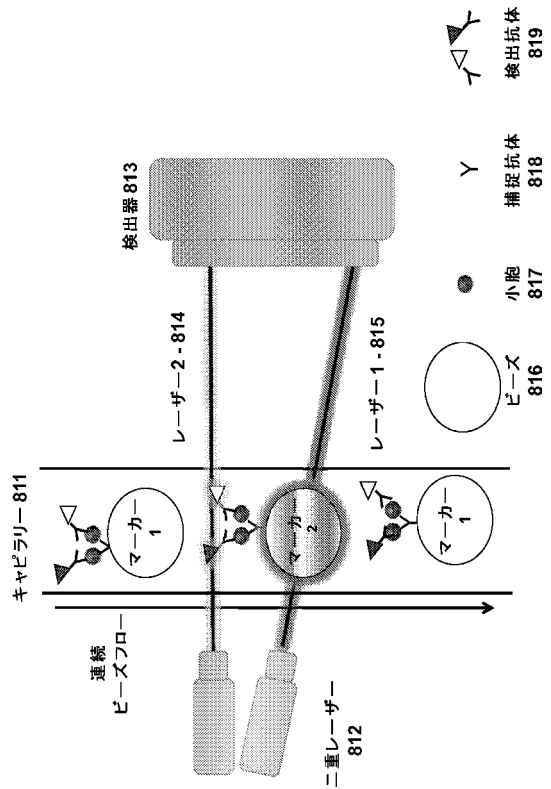
【図 8 7 A】



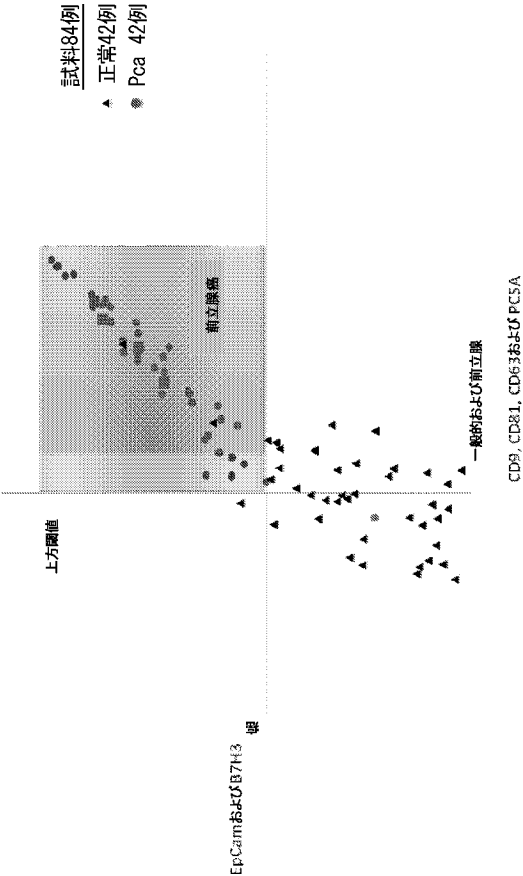
【図 8 7 B】



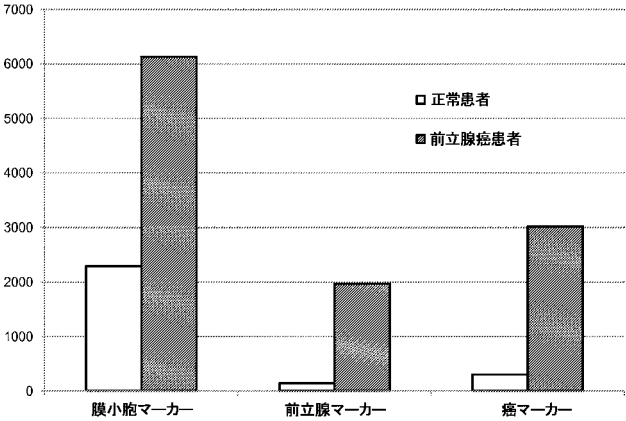
【図 8 7 C】



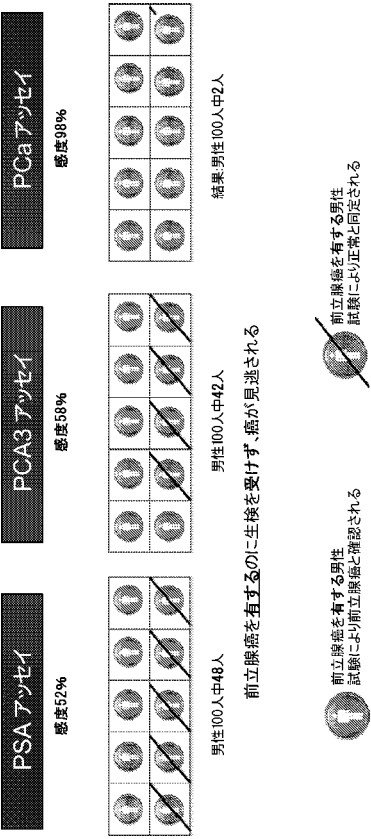
【図 8 8 A】



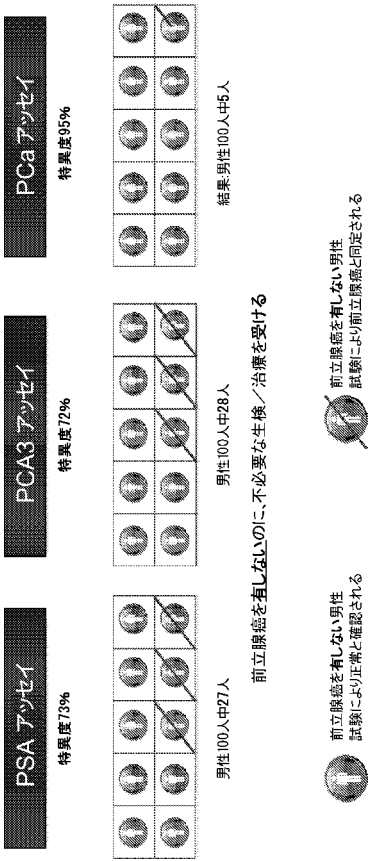
【図 8 8 B】



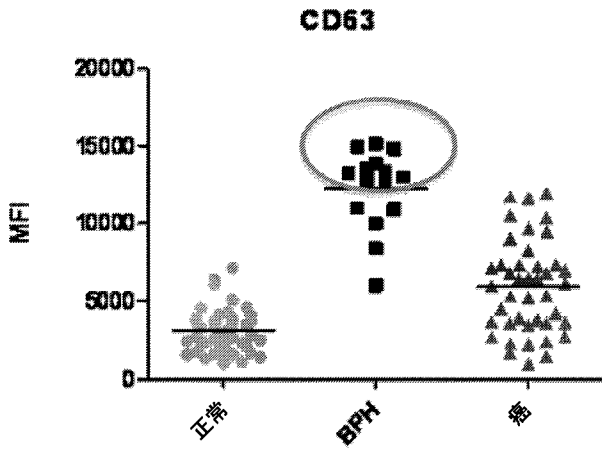
【図 8 9 A】



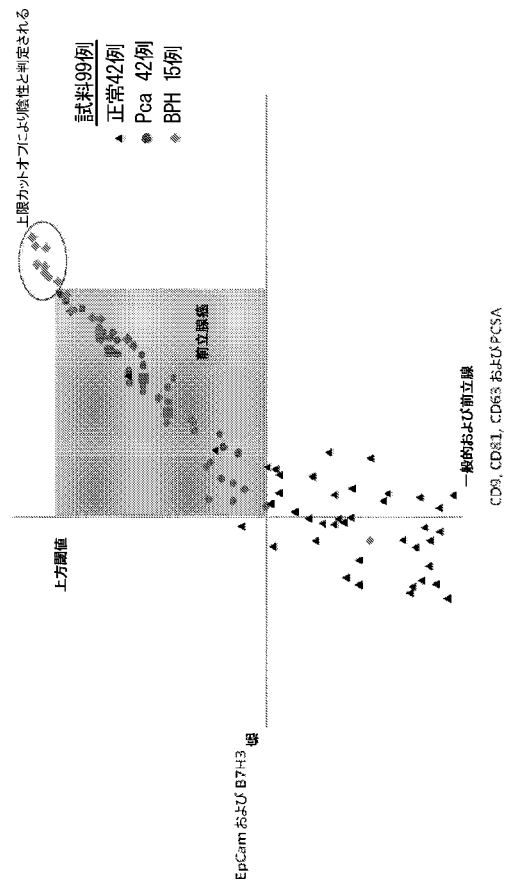
【図 8 9 B】



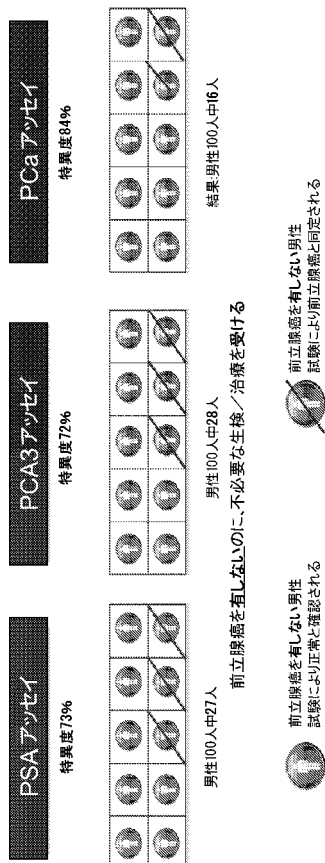
【図90】



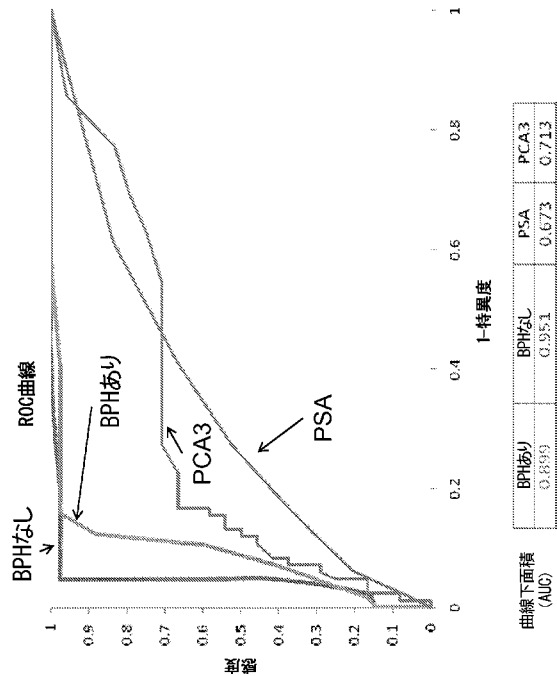
【図91】



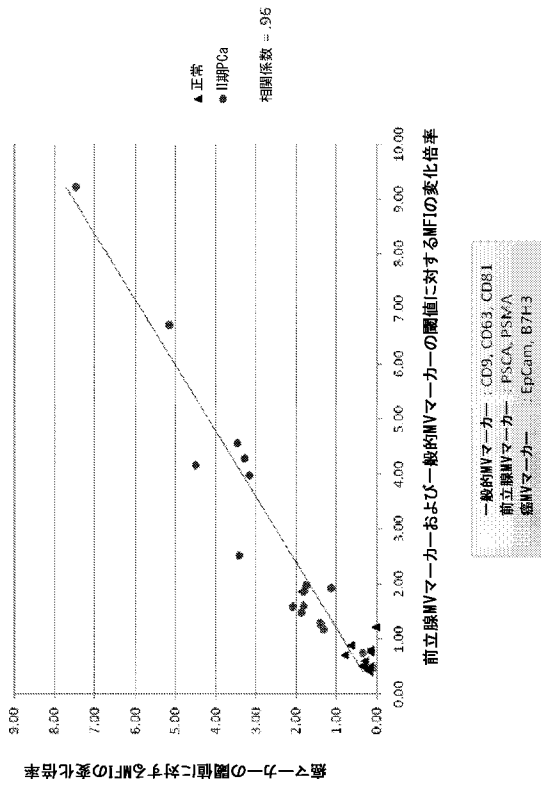
【図92】



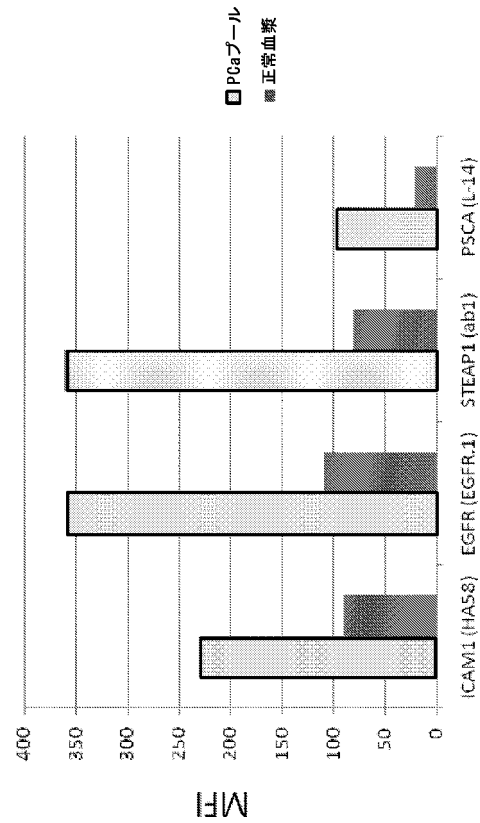
【図93】



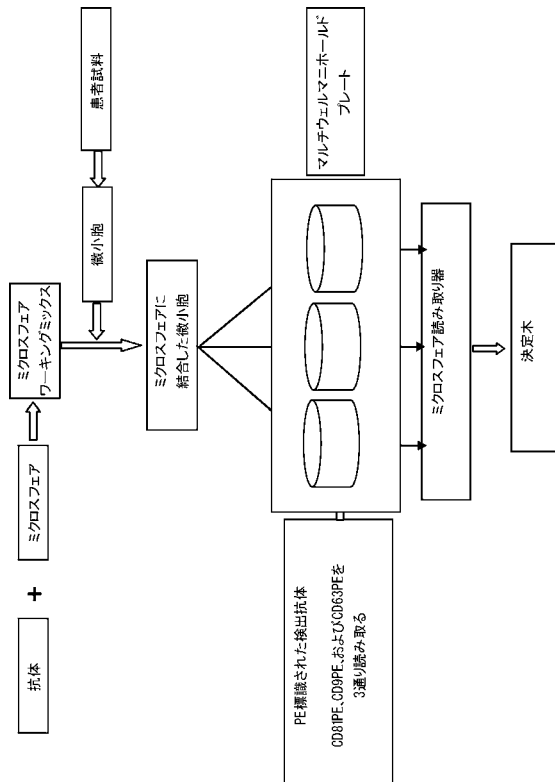
【図 9 4】



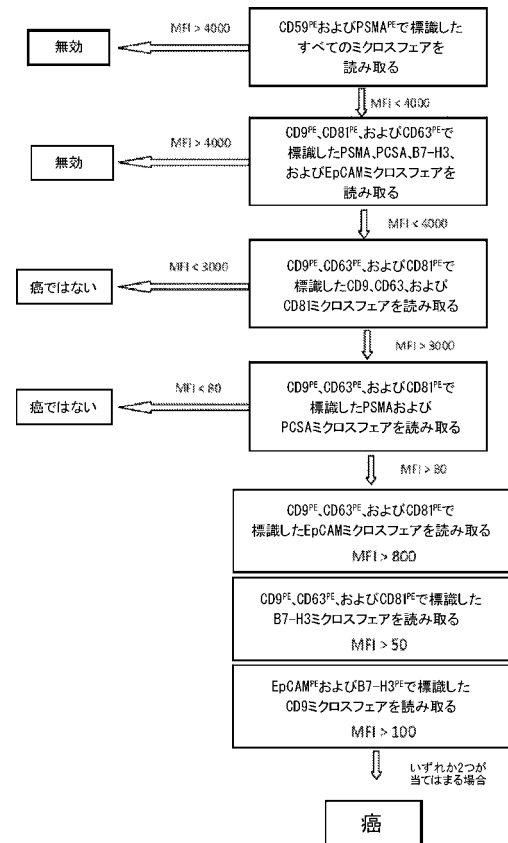
【図 9 5】



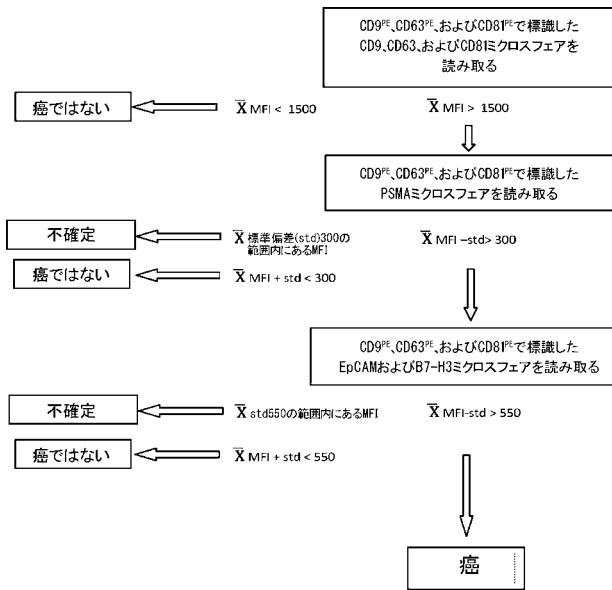
【図 9 6 A】



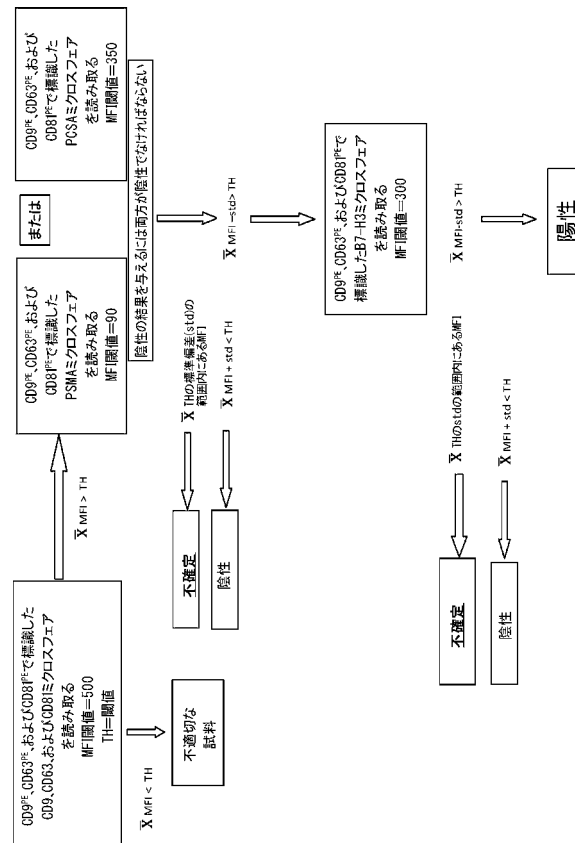
【図 9 6 B】



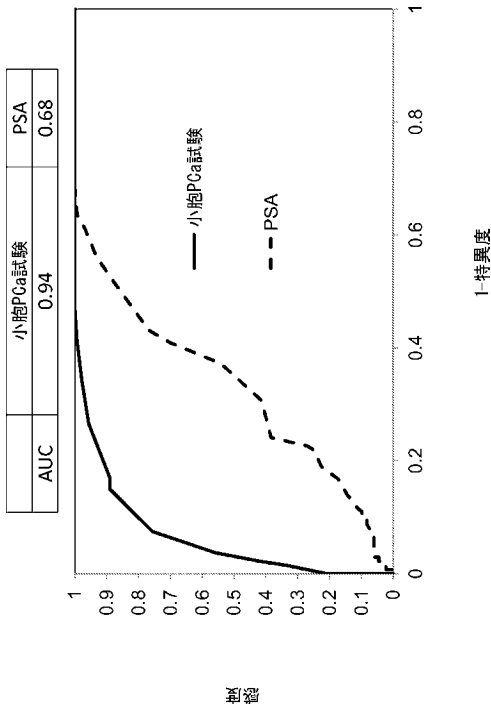
【図 96C】



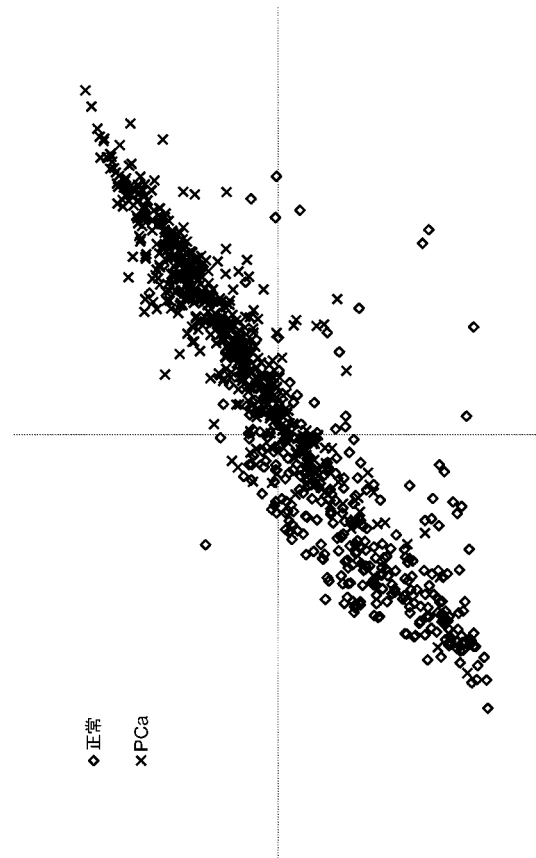
【図 96D】



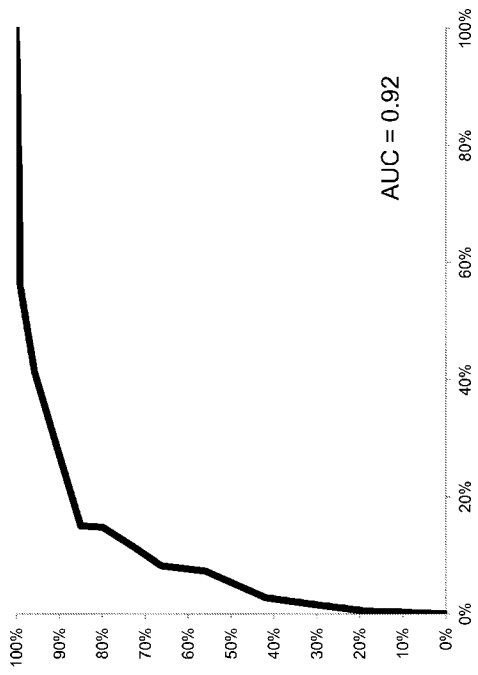
【図 97A】



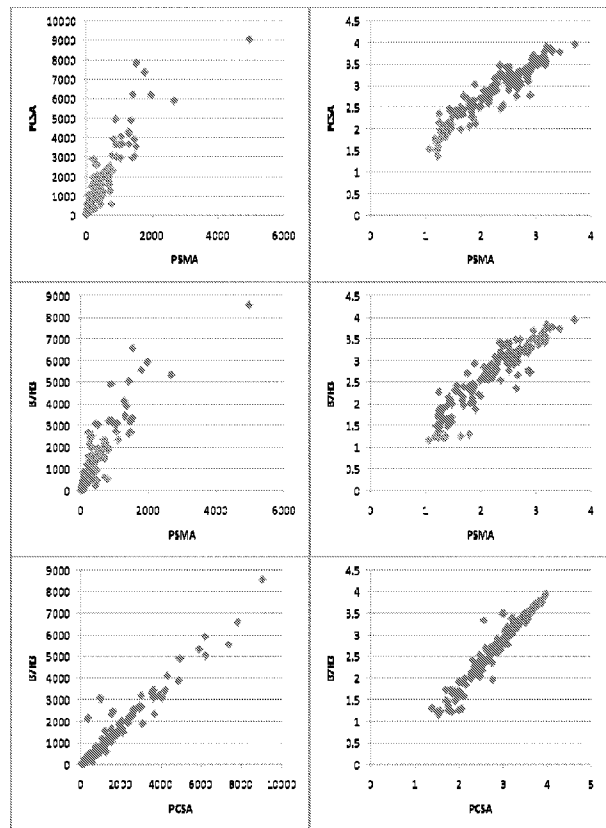
【図 97B】



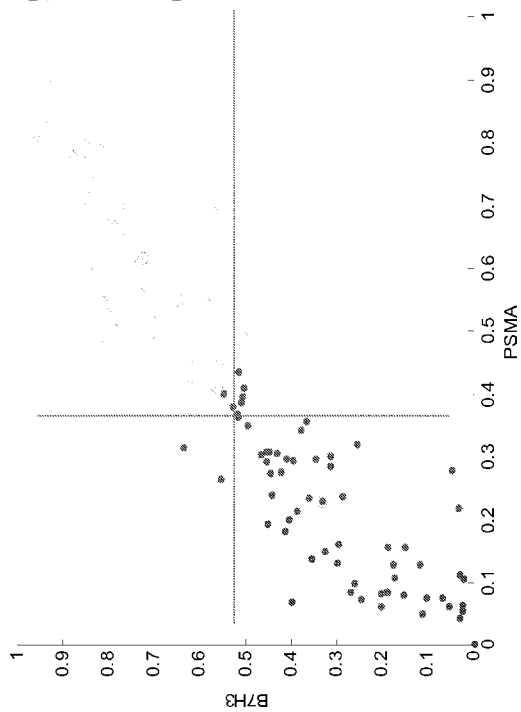
【図 9 7 C】



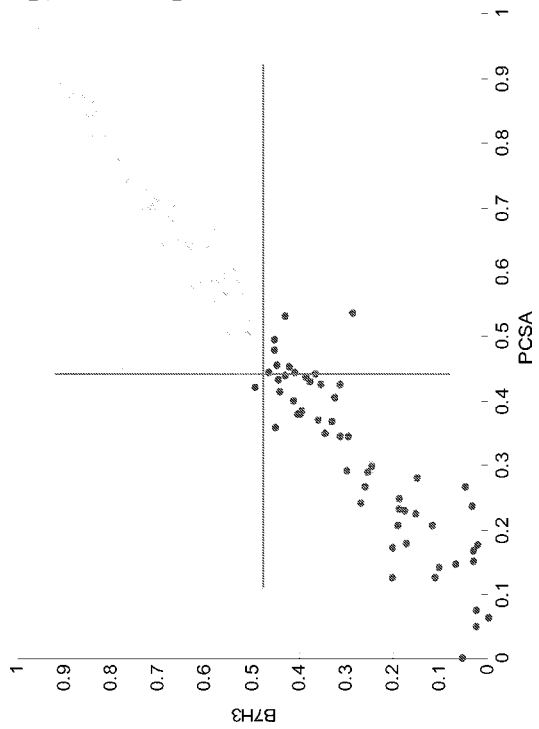
【図 9 8 A】



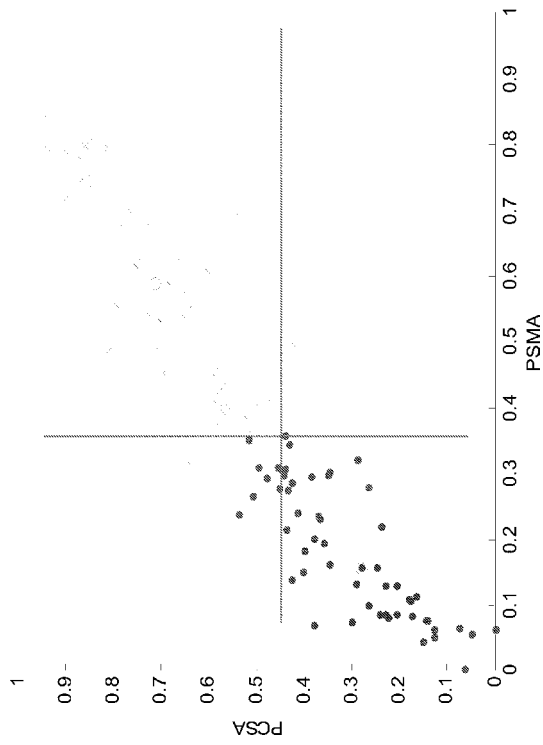
【図 9 8 B】



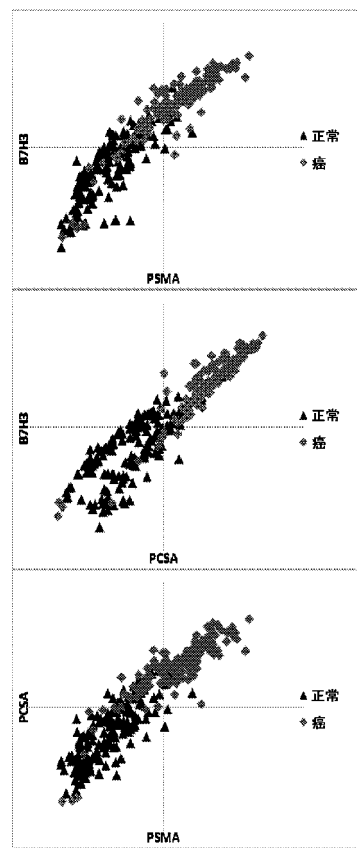
【図 9 8 C】



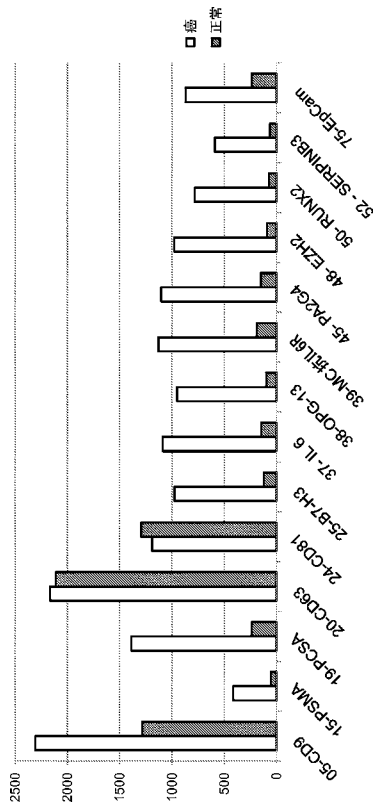
【図 98 D】



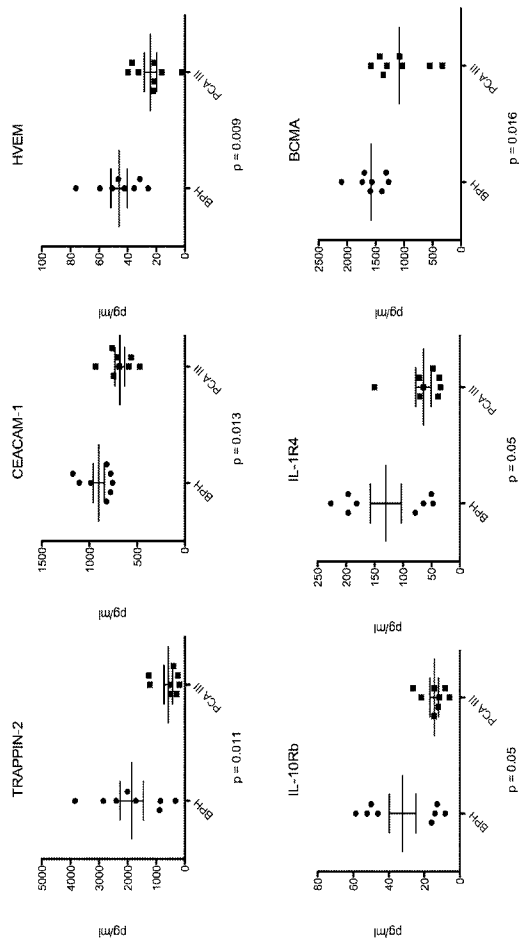
【図 98 E】



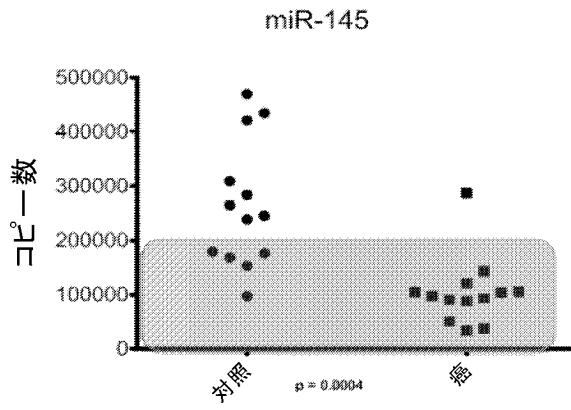
【図 99】



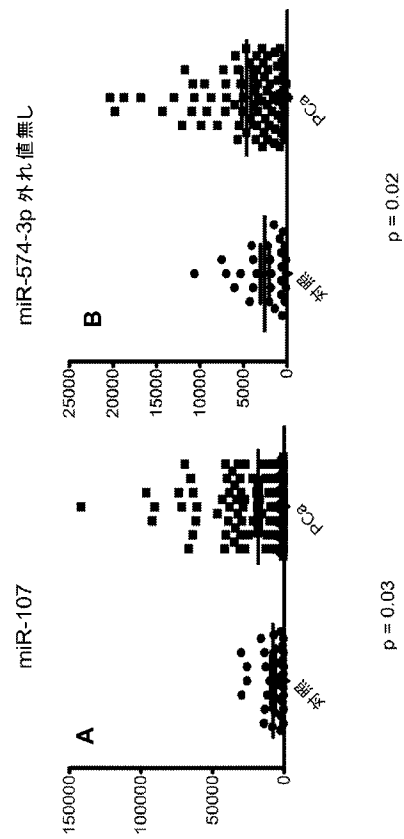
【図 100】



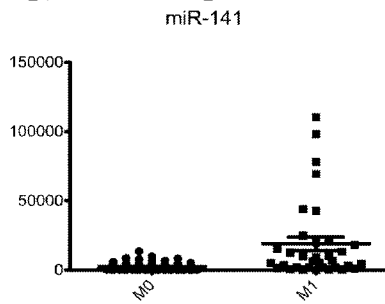
【図 1 0 1】



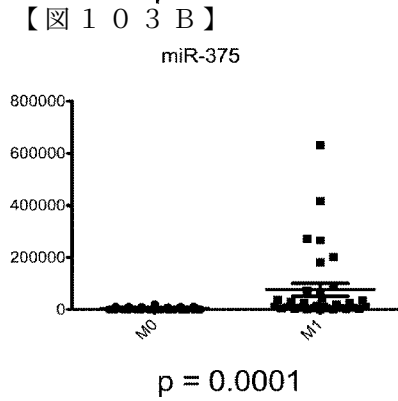
【図 1 0 2】



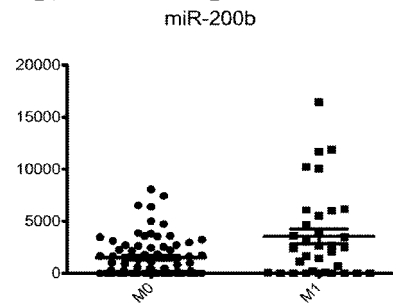
【図 1 0 3 A】



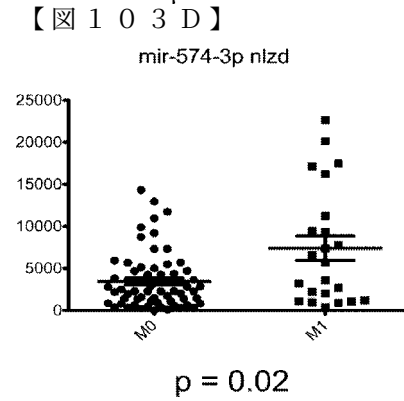
【図 1 0 3 B】



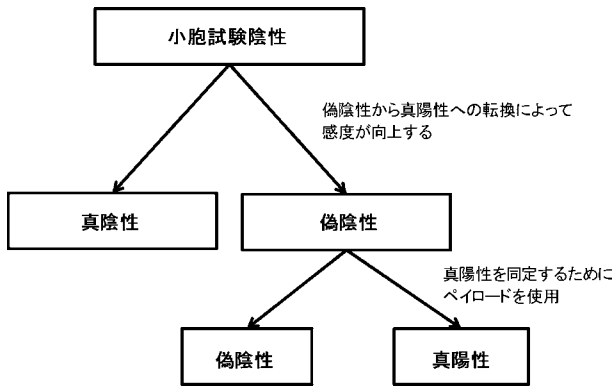
【図 1 0 3 C】



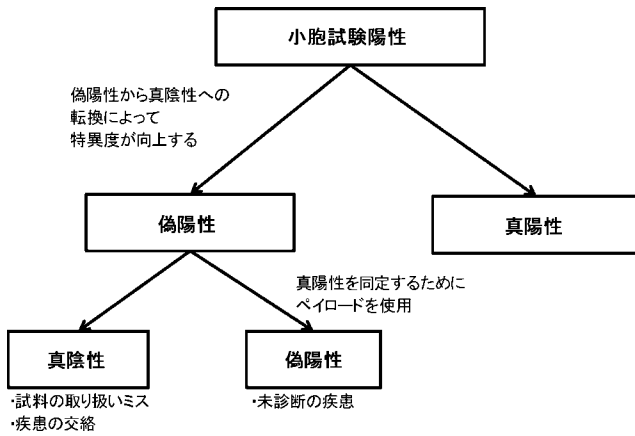
【図 1 0 3 D】



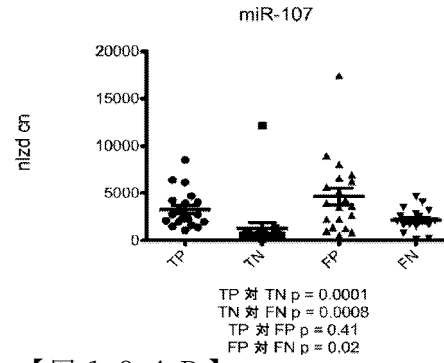
【図 104 A】



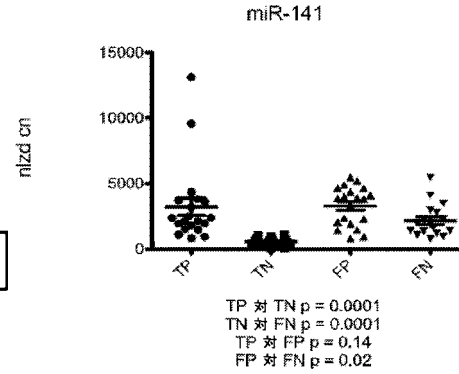
【図 104 B】



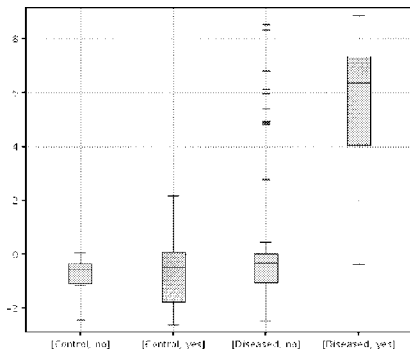
【図 104 C】



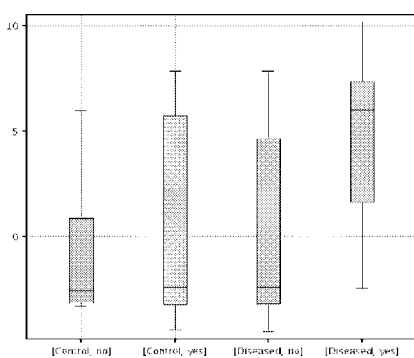
【図 104 D】



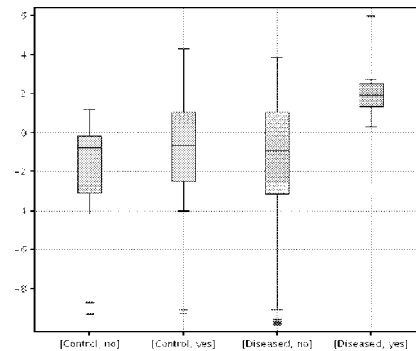
【図 105 A】



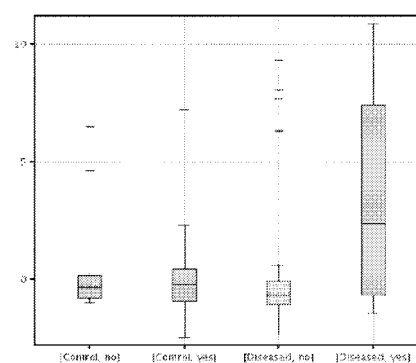
【図 105 B】



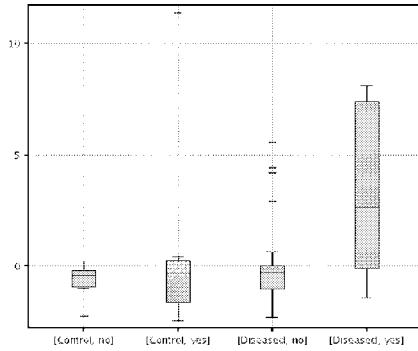
【図 105 C】



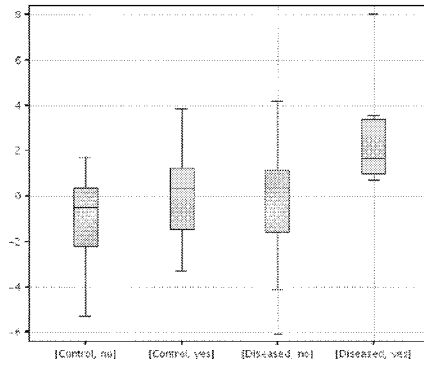
【図 105 D】



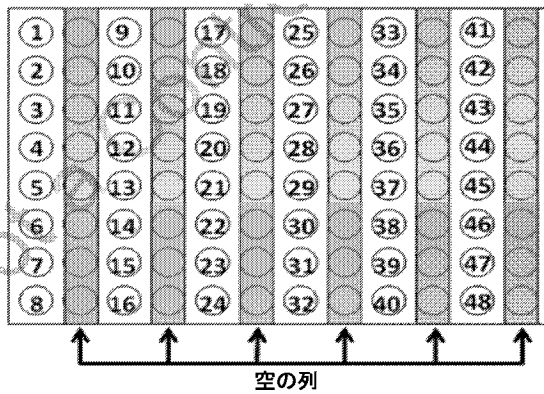
【図105E】



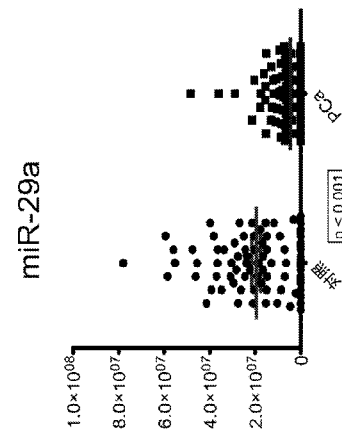
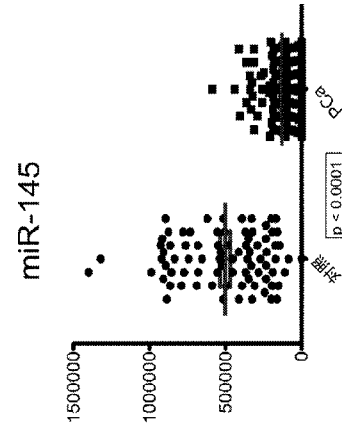
【図105F】



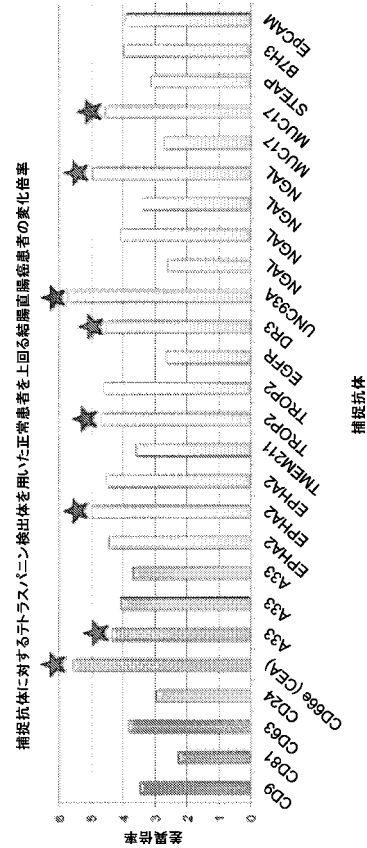
【図107】



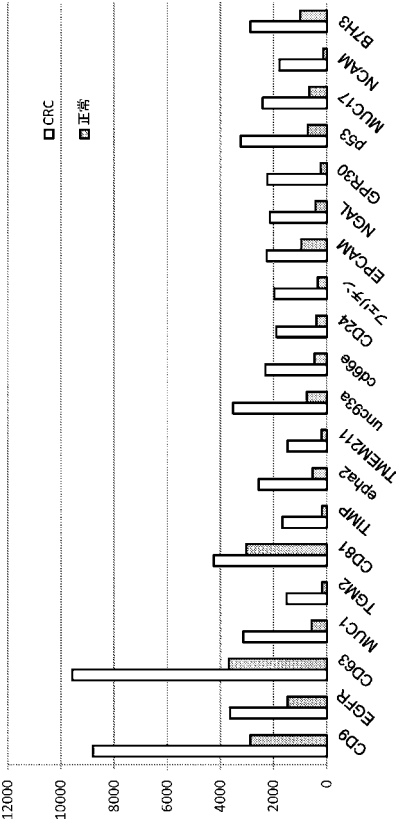
【図106】



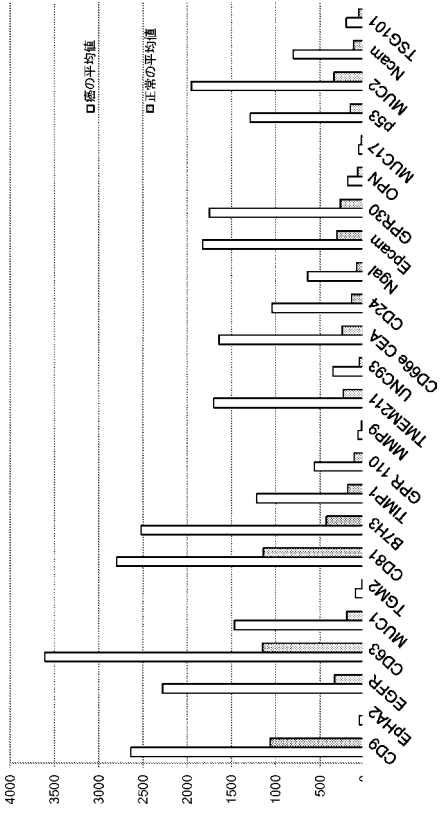
【図108A】



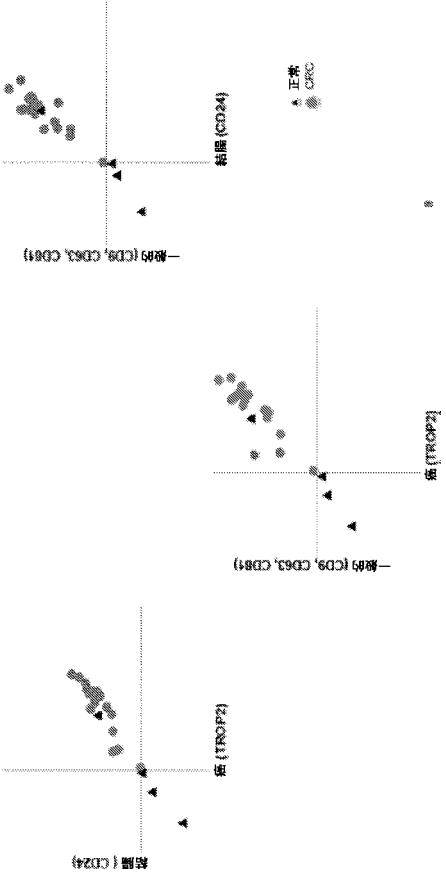
【図108B】



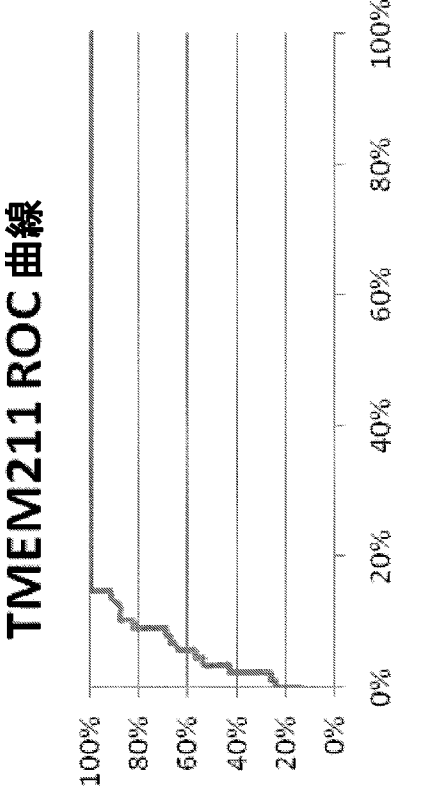
【図108C】



【図108D】



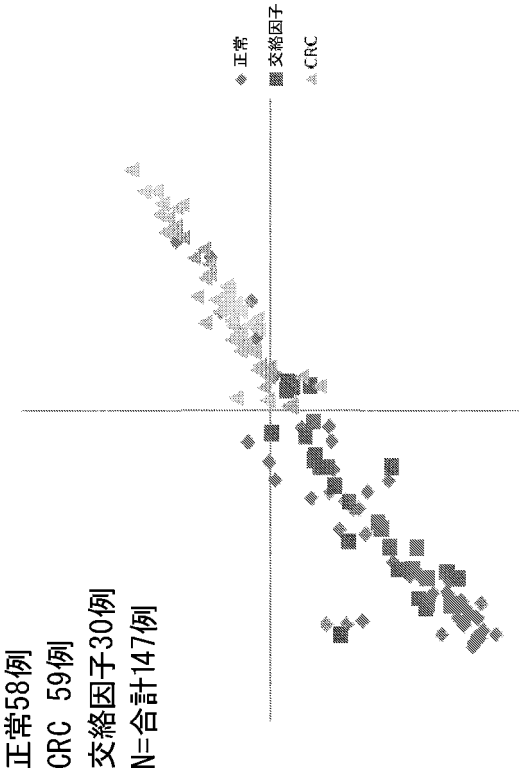
【図109A】



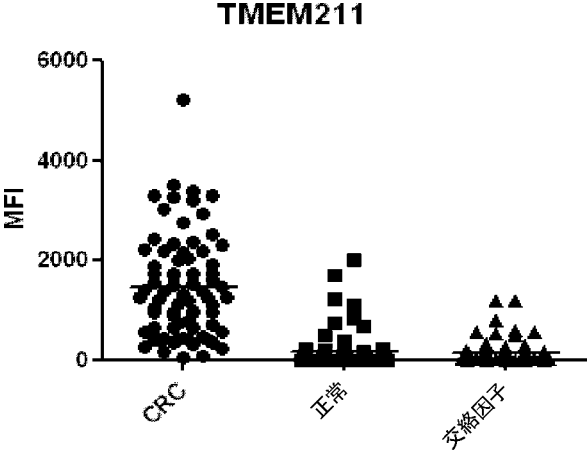
【図 1 0 9 B】



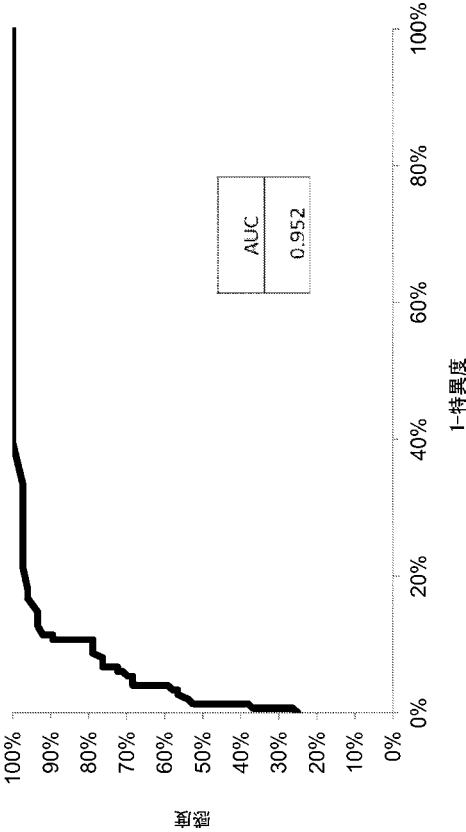
【図 1 0 9 C】



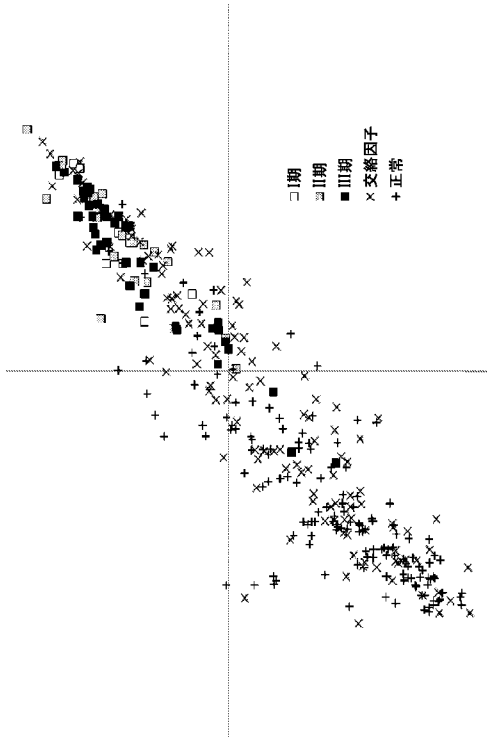
【図 1 0 9 D】



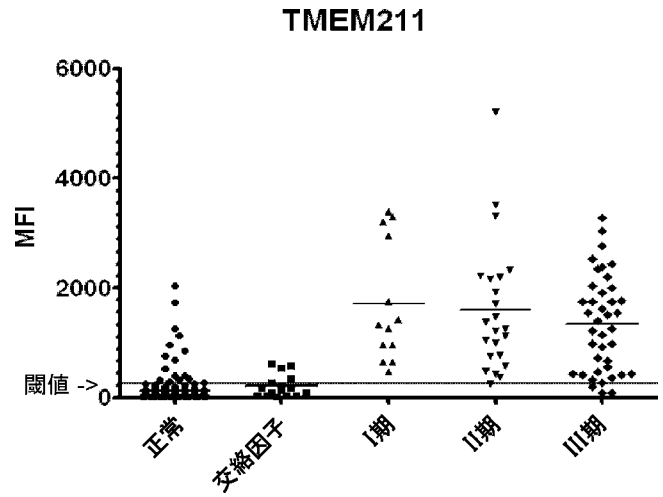
【図 1 0 9 E】



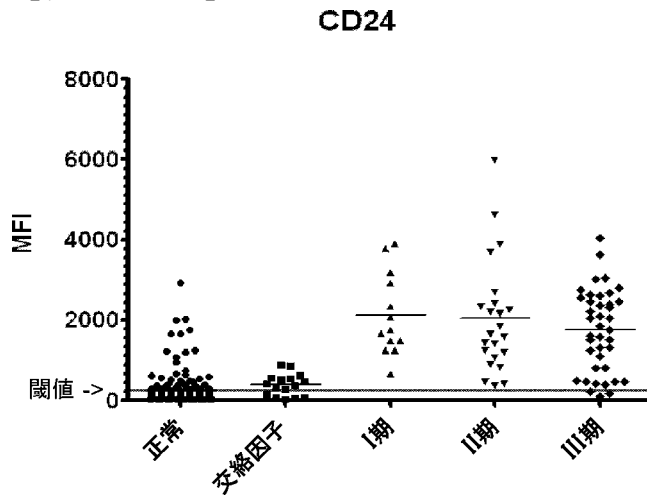
【図109F】



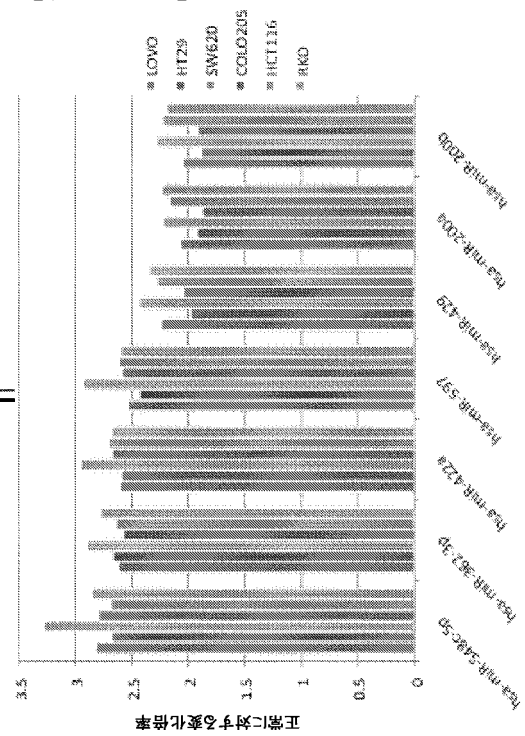
【図109G】



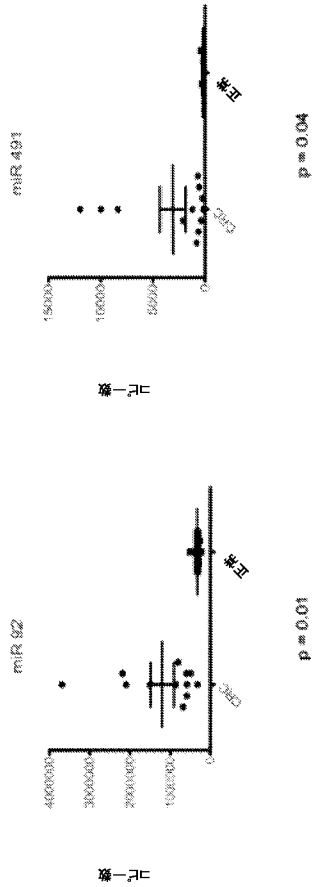
【図109H】



【図110】

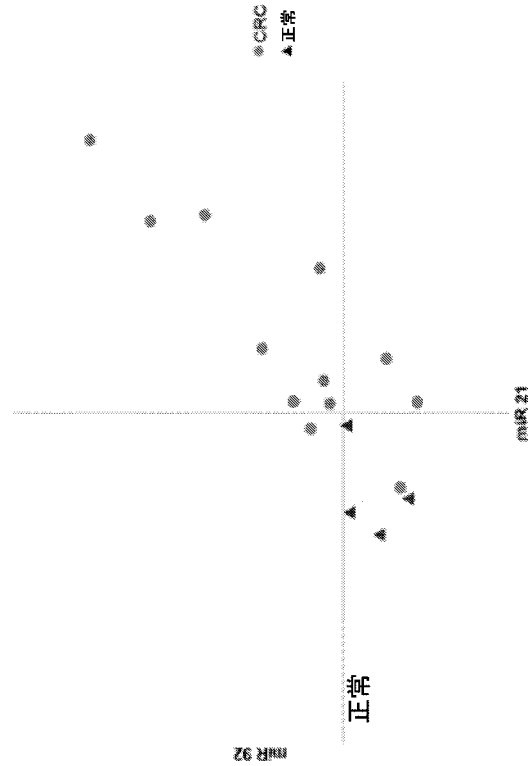


【図 1 1 1 A】

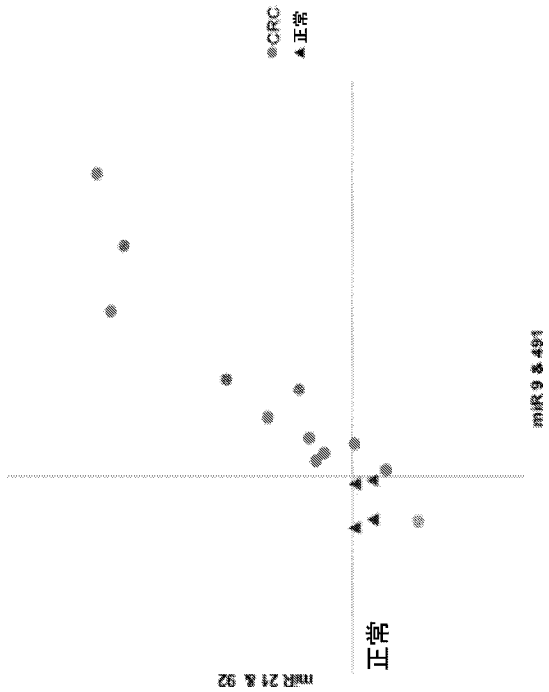
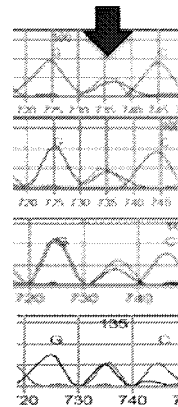


CRC患者12人および対照4人

【図 1 1 1 B】



【図 1 1 1 C】

【図 1 1 2】
13G>A

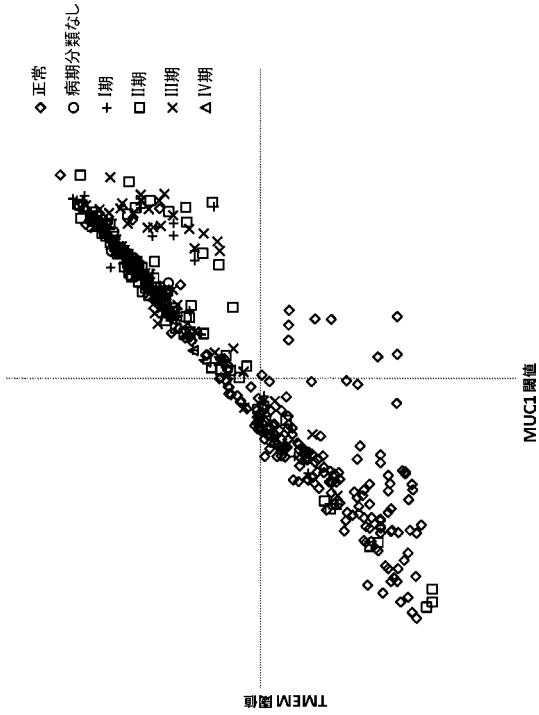
A. 小胞由来のCRC細胞株cDNA

B. 細胞由来のCRC細胞株cDNA

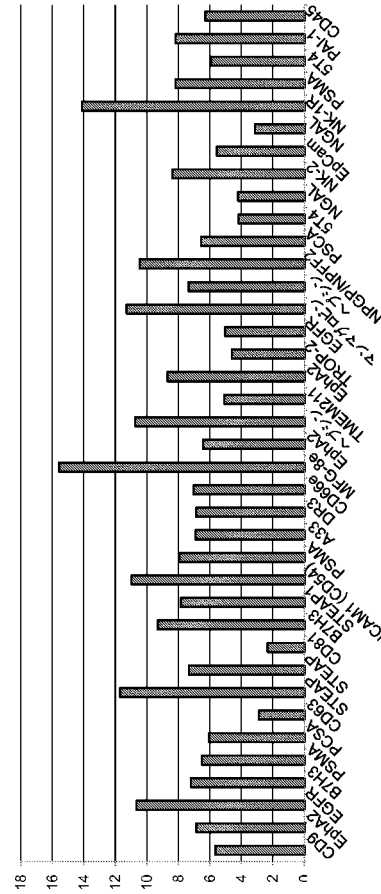
C. CRC患者由来の血漿由来小胞cDNA

D. CRC患者由来のFFPE DNA

【 図 1 1 3 】



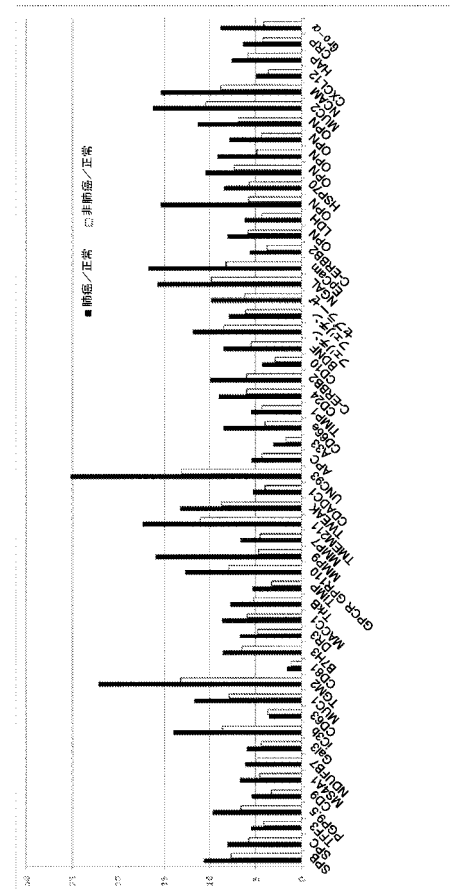
【图 1 1 4 A】



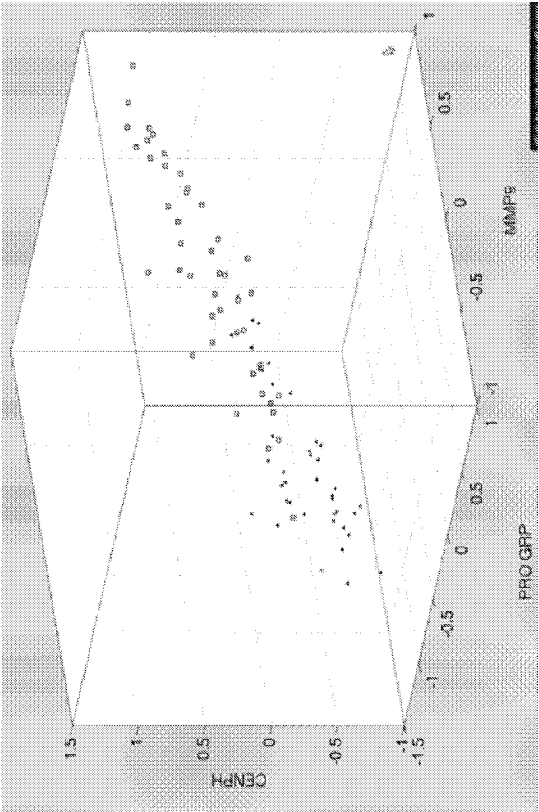
【图 1 1 4 B】



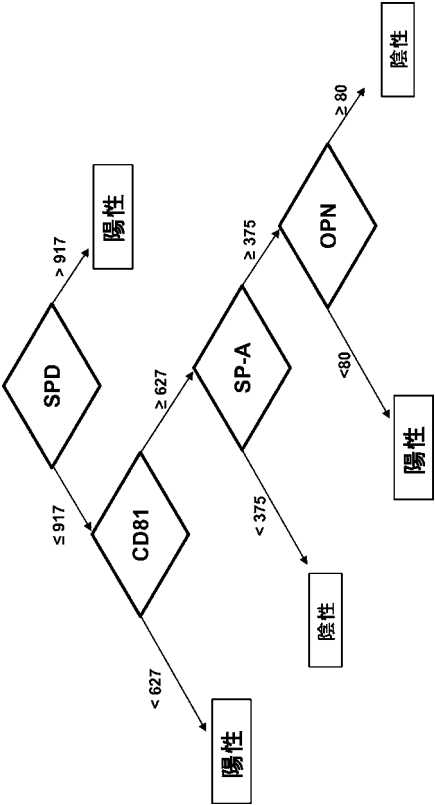
【図 1 1 5 A】



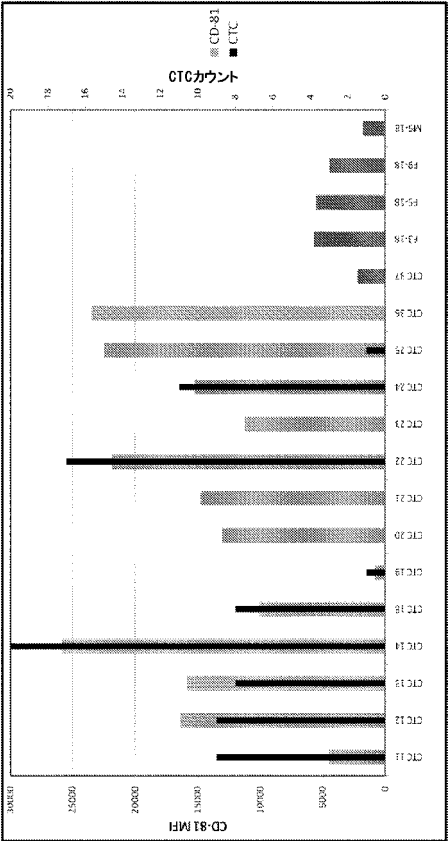
【図 1 1 5 F】



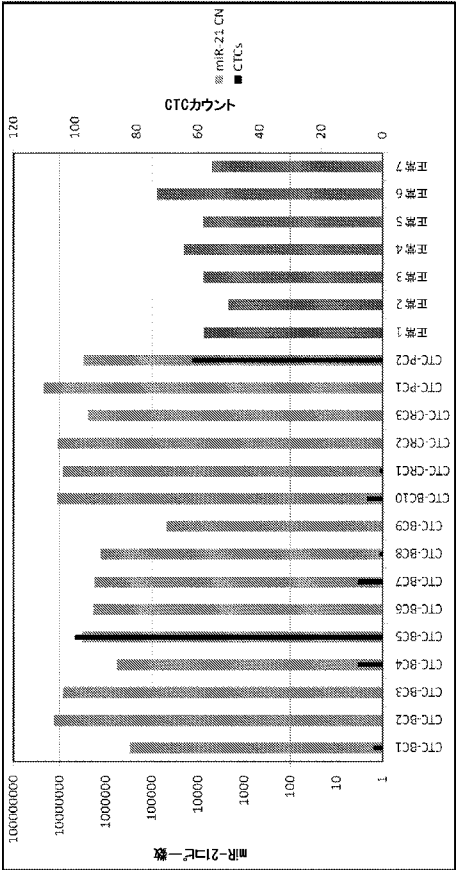
【図 1 1 6】

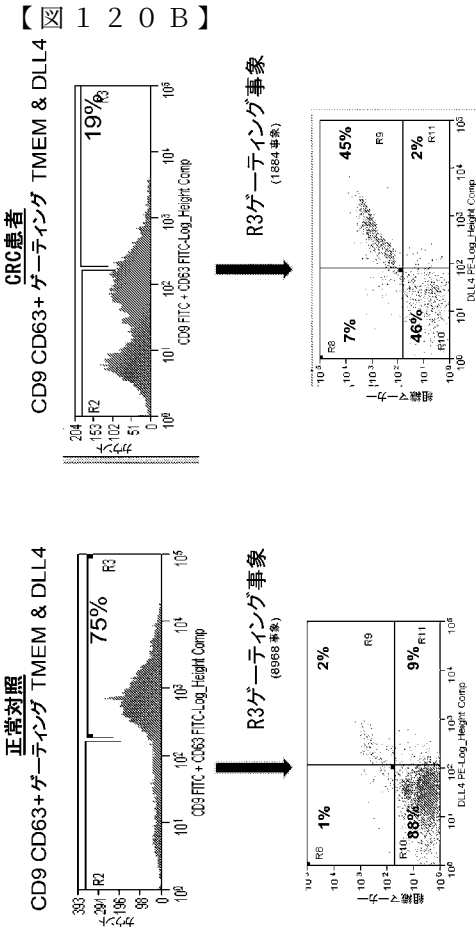
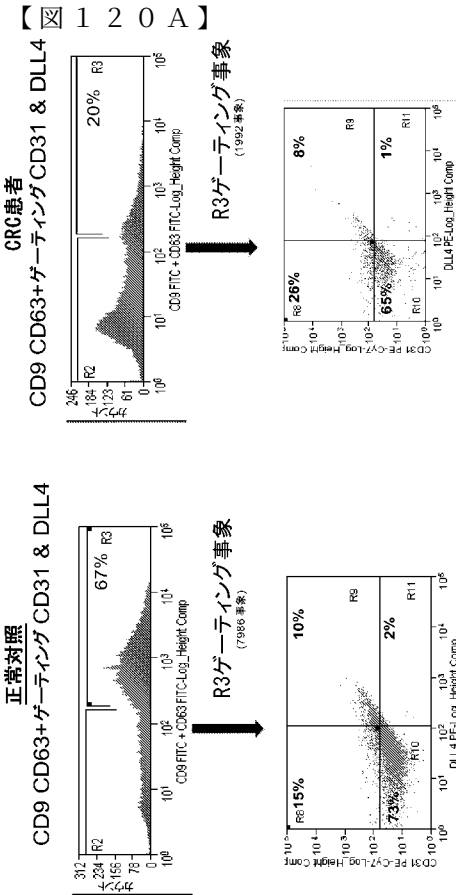
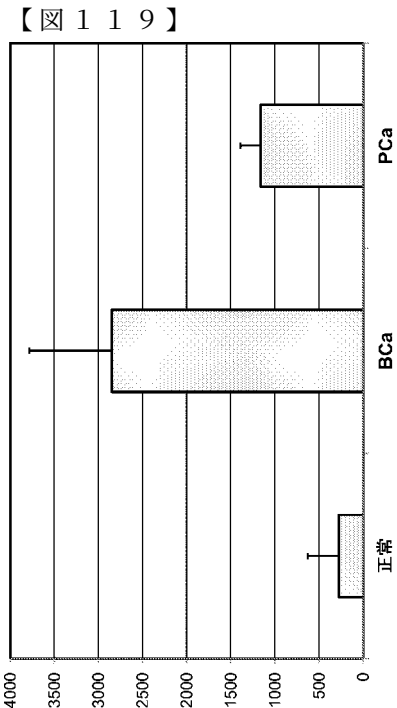
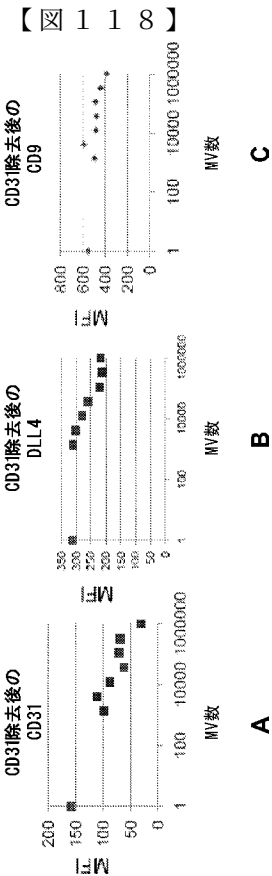


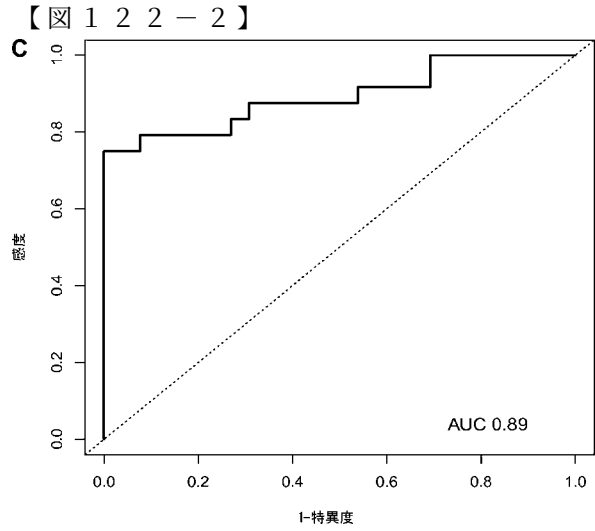
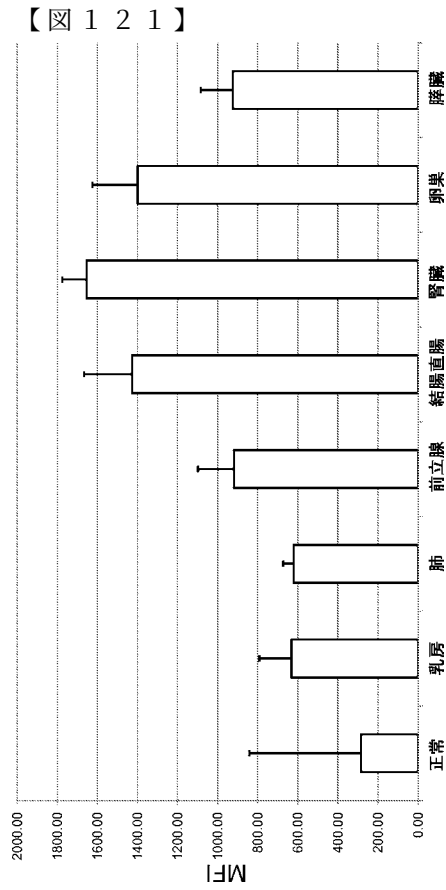
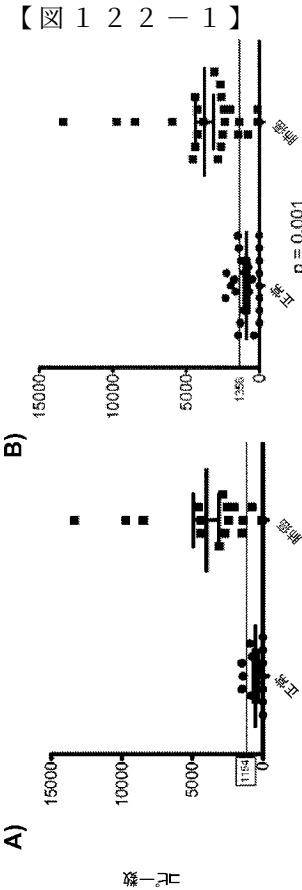
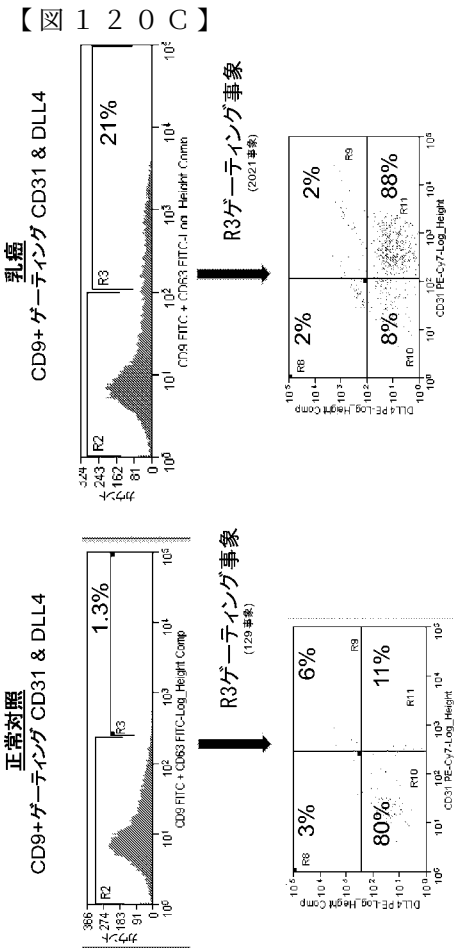
【図 1 1 7 A】



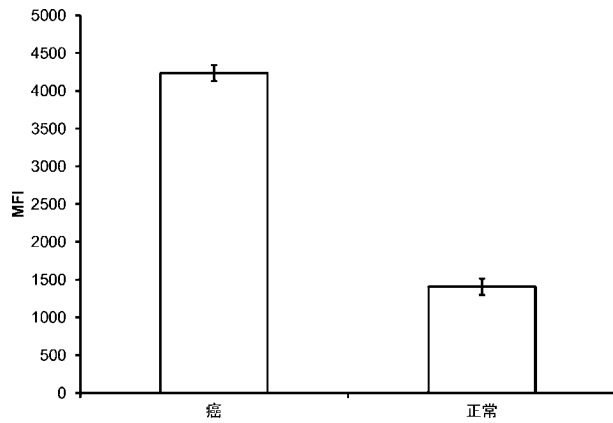
【図 1 1 7 B】



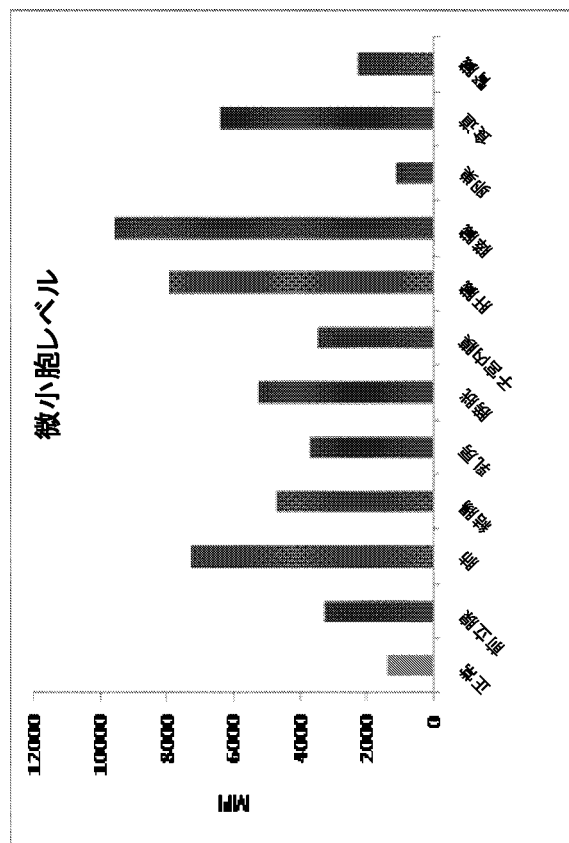




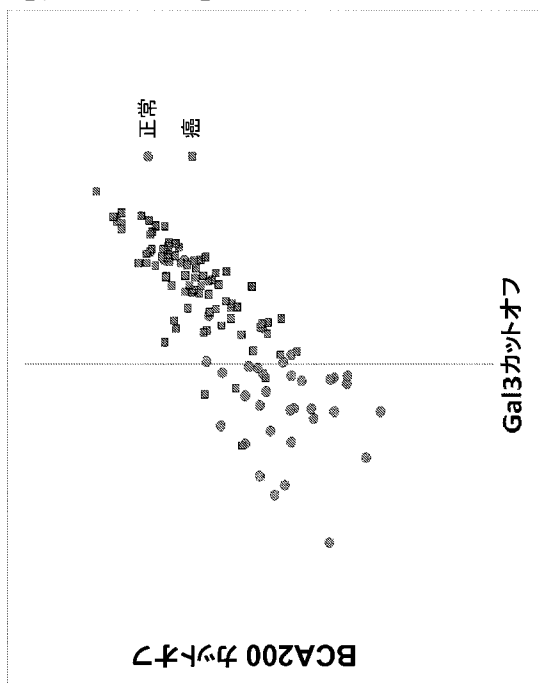
【図 1 2 3 A】



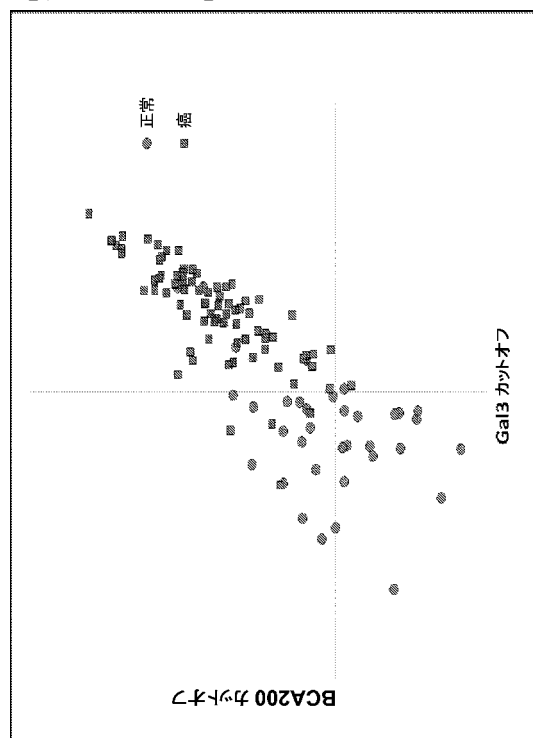
【図 1 2 3 B】



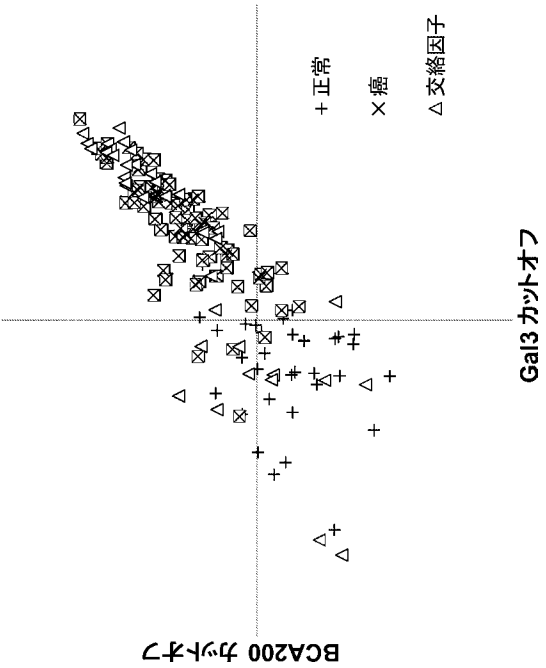
【図 1 2 4 A】



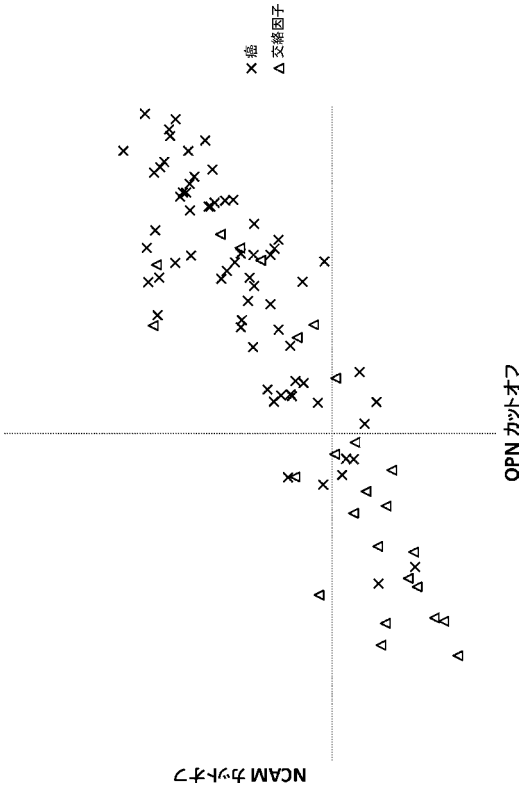
【図 1 2 4 B】



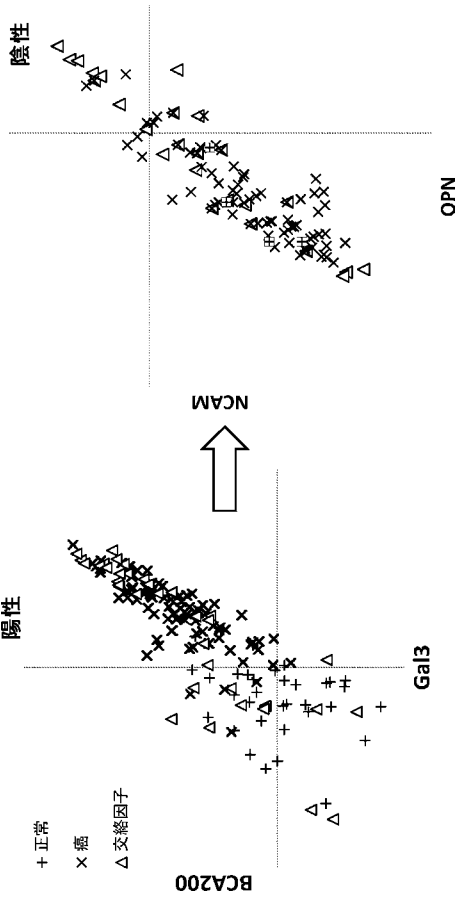
【図 1 2 4 C】



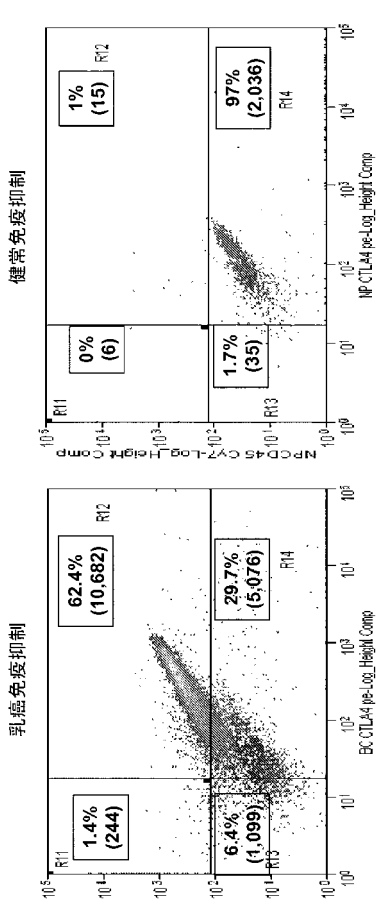
【図 1 2 4 D】



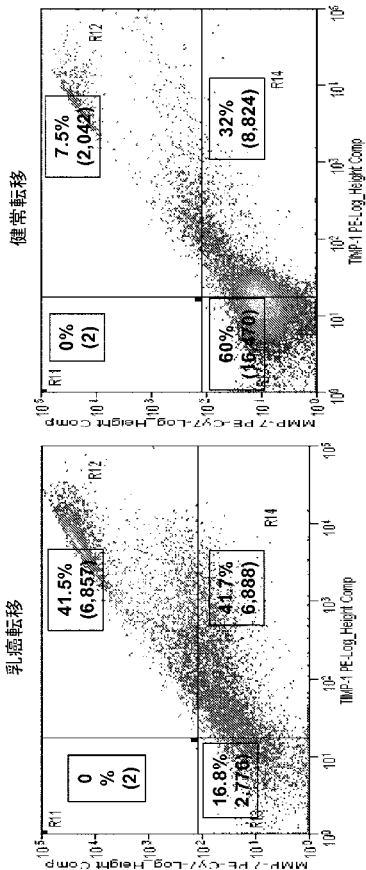
【図 1 2 4 E】



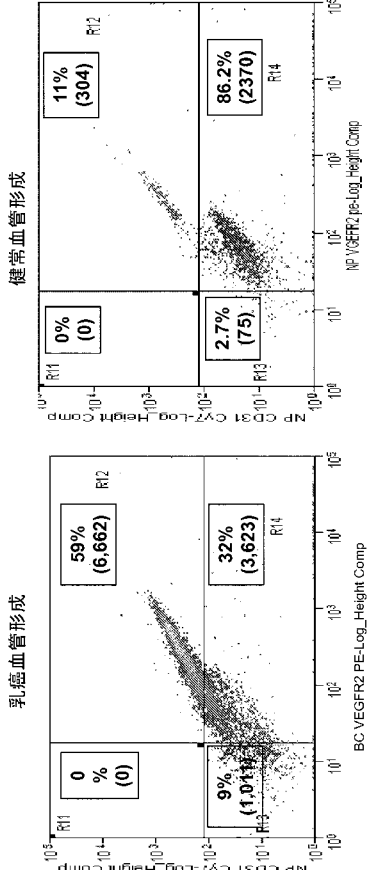
【図 1 2 5 A】



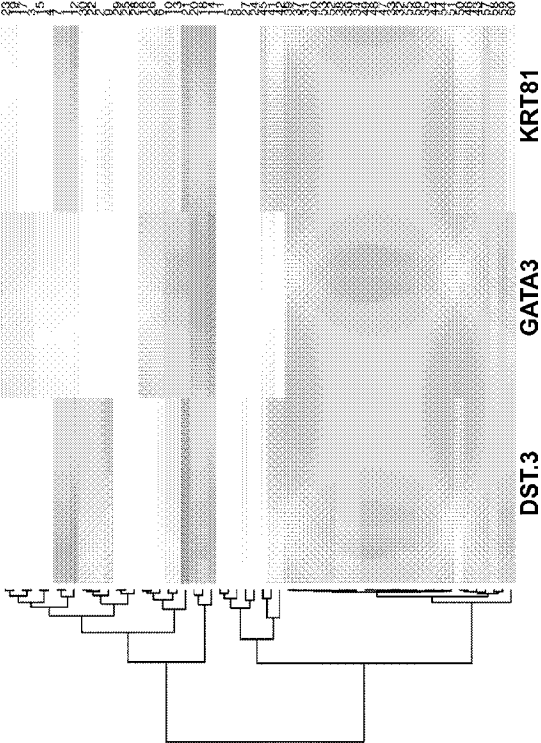
【図 1 2 5 B】



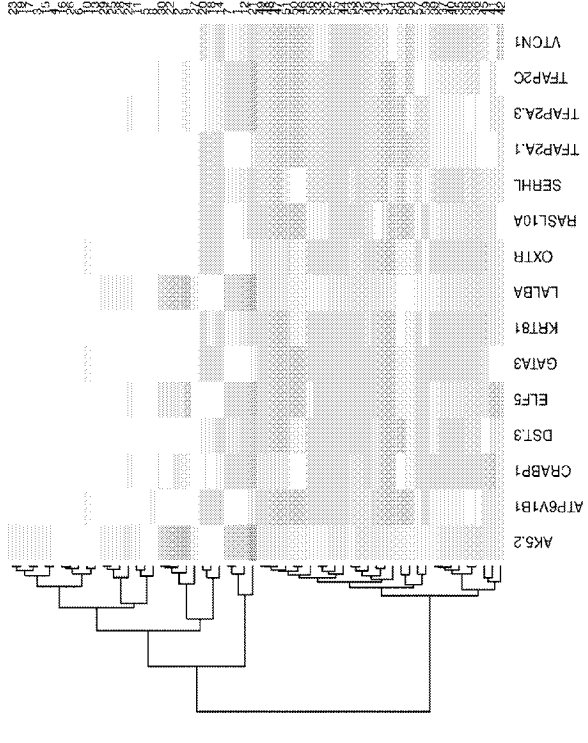
【図 1 2 5 C】



【図 1 2 6 A】



【図 1 2 6 B】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 12/25741

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12Q 1/68; G01N 33/53 (2012.01) USPC - 435/6.11; 435/7.2 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) IPC(8): C12Q 1/68; G01N 33/53 (2012.01) USPC: 435/6.11; 435/7.2 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 435/6.14; 435/7.23; 435/6.1 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (PGPB,USPT,EPAB,JPAB); Google Scholar; esp@cenet ----- Please see extra sheet for continuation -----		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2010/0203529 A1 (KUSLICH et al.) 12 August 2010 (12.08.2010), abstract, para [0077], [0106], [0111], [0112], [0121], [0123], [0130], [0131], [0133], [0164], [0182], [0259], [0260], [0281], [0297], [0304], [0305], [0320], [0321], [0325], [0334], [0339], [0677], [0775].	1-17, 44-45, 47-51, 67-69
A	US 2010/0184046 A1 (KLASS et al.) 22 July 2010 (22.07.2010), abstract	1
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* 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 22 May 2012 (22.05.2012)		Date of mailing of the international search report 14 JUN 2012
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/25741

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 18-43, 46, 52-66, and 70-78
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

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

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/25741

Continuation of (B): Fields Searched - Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PubWEST (PGPB.USPT,EPAB,JPAB): biomarker, microvesicle, exosome, nanovesicle, vesicle, dexosome, blebs, prolasoma, microparticles, intramural, vesicles, endosome vesicles, exocytosed vesicles, tetraspanin, CD9, CD31, CD63, CD81, CD82, CD37, CD53, annexin, MFG-E8, Rab-5b, binding agent, BCA, VEGFA, EGFR, PSA, PSMA, NGEP, GARP, BTS, sample, blood, fluid, diameter, substrate, well, microbead, array, payload, binding agent

Google Scholar: biomarker microvesicle blood binding agent microbead label payload tetraspanin microRNA CD9 CD31 CD63 CD81 CD82 CD37 annexin BCA VEGFA EGFR PSA PSMA NGEP GARP BTS

esp@cenet: Caris Life, Ramin Akhavan, David Spetzler

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
C 1 2 M	1/34	(2006.01)	G 0 1 N 37/00	1 0 2
C 1 2 N	5/09	(2010.01)	C 1 2 M 1/34	Z
			C 1 2 M 1/34	F
			C 1 2 N 5/00	2 0 2 U

(31)優先権主張番号 61/501,680
 (32)優先日 平成23年6月27日(2011.6.27)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 61/523,763
 (32)優先日 平成23年8月15日(2011.8.15)
 (33)優先権主張国 米国(US)

(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,MD,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,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,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,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

(74)代理人 100142929
 弁理士 井上 隆一
 (74)代理人 100148699
 弁理士 佐藤 利光
 (74)代理人 100128048
 弁理士 新見 浩一
 (74)代理人 100129506
 弁理士 小林 智彦
 (74)代理人 100130845
 弁理士 渡邊 伸一
 (74)代理人 100114340
 弁理士 大関 雅人
 (74)代理人 100114889
 弁理士 五十嵐 義弘
 (74)代理人 100121072
 弁理士 川本 和弥

(72)発明者 スペッツラー デービッド
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 スコッツデール ノース 第95 ウェイ 13539
 (72)発明者 ホルターマン ダニエル エイ.
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース 第14 ストリート 14465
 (72)発明者 パウロウスキ トレーシー
 アメリカ合衆国 アリゾナ州 フェニックス ノース ミルクウィード ループ 2014
 (72)発明者 タシナート アンドレア
 スイス連邦 ジメル ジュマン ドゥ シュヴルイユ

Fターム(参考) 4B029 AA07 BB11 BB15 BB17 BB20 CC02 CC08 FA04 FA12 FA15
 4B063 QA19 QQ03 QQ08 QQ52 QQ53 QQ79 QR35 QR36 QR48 QR72
 QR77 QS33 QS34 QX01 QX07

4B065 AA93X CA46

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2014507160A5	公开(公告)日	2015-04-02
申请号	JP2013555467	申请日	2012-02-17
[标]申请(专利权)人(译)	圣杯生命科学卢森堡ES啊耶鲁萨尔瓦多		
申请(专利权)人(译)	圣杯生命科学卢森堡控股上课啊，啤酒.埃尔.		
[标]发明人	スベッツラーデービッド ホルターマンダニエルエイ パウロウスキトレシー タシナートアンドレア		
发明人	スベッツラー デービッド ホルターマン ダニエル エイ. パウロウスキ トレーシー タシナート アンドレア		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/536 G01N33/574 G01N37/00 C12M1/34 C12N5/09		
CPC分类号	G01N33/57488 C12Q1/6886 C12Q2600/112 C12Q2600/178 G01N33/50 G01N2570/00		
FI分类号	C12Q1/68.A G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/536.E G01N33/574.A G01N37/00.102 C12M1/34.Z C12M1/34.F C12N5/00.202.U		
F-TERM分类号	4B029/AA07 4B029/BB11 4B029/BB15 4B029/BB17 4B029/BB20 4B029/CC02 4B029/CC08 4B029/FA04 4B029/FA12 4B029/FA15 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ52 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR35 4B063/QR36 4B063/QR48 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 4B063/QX07 4B065/AA93X 4B065/CA46		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 渡边真一 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/446313 2011-02-24 US 61/445273 2011-02-22 US 61/471417 2011-04-04 US 61/501680 2011-06-27 US 61/523763 2011-08-15 US		
其他公开文献	JP2014507160A		

摘要(译)

可以评估生物标志物的诊断，治疗相关或预后方法，以鉴定表型，例如病症或疾病，或疾病的阶段或进展。可以检测循环生物标志物并任选地用于生理状态的分析或确定表型。这些包括核酸，蛋白质和循环结构，例如囊泡。可以评估生物标志物的诊断，预后或治疗诊断目的，例如，选择疾病，病症，疾病阶段和病症阶段的候选治疗方案，并且还可以用于确定治疗功效。有用的循环生物标志物的实例包括多肽，核酸（例如DNA，mRNA，微小RNA）和囊泡。

