

(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2014-507163

(P2014-507163A)

(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 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/574 A	
G O 1 N 37/00 (2006.01)	G O 1 N 37/00 1 0 2	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 24 頁)

(21) 出願番号 特願2013-555605 (P2013-555605)
 (86) (22) 出願日 平成24年2月24日 (2012.2.24)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年10月22日 (2013.10.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/026551
 (87) 国際公開番号 W02012/116294
 (87) 国際公開日 平成24年8月30日 (2012.8.30)
 (31) 優先権主張番号 61/446,300
 (32) 優先日 平成23年2月24日 (2011.2.24)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 511286517
 ヴェンタナ メディカル システムズ,
 インク.
 アメリカ合衆国 アリゾナ 85755,
 ツーソン, イースト イノベーション
 パーク ドライブ 1910
 (74) 代理人 100109726
 弁理士 園田 吉隆
 (74) 代理人 100101199
 弁理士 小林 義敦
 (72) 発明者 ベスタノ, ゲイリー
 アメリカ合衆国 アリゾナ 85737,
 オロ ヴァレー, ノース ドラグーン
 スプリングス ドライブ 11630

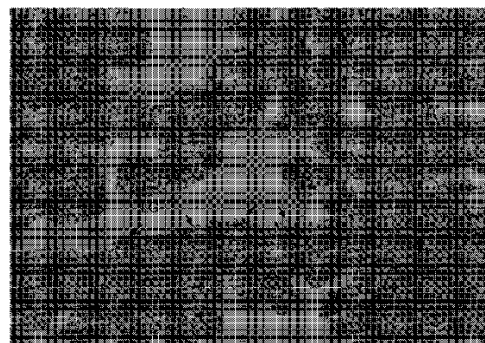
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 前立腺生検における低悪性度 P I N (L G - P I N) における E R G 遺伝子再構成の存在とタンパク質過剰発現

(57) 【要約】

本開示は、E R G の過剰発現、遺伝子再構成の早期の検出、及び/又は併用 E R G I H C - F I S H アッセイを用いた前立腺癌の予後のための方法に関する。典型的な方法は、被験者からの試料を提供し；核酸ハイブリダイゼーション技術を用いて、ゲノム DNA の染色体再構築を検出することによりアンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの 5 ' 部分及び E R G 遺伝子からの 3 ' 部分を有する遺伝子融合の試料の有無を決定し、免疫組織化学アッセイを用いて E R G タンパク質の過剰発現を検出することを含み、被験者の低悪性度前立腺上皮細胞内腫瘍 (L G - P I N) の存在を決定することを含む、前記被験者における前立腺癌の早期診断のための方法に関し、ここで遺伝子融合と E R G の過剰発現の両方の試料の存在が、癌の存在に関連する被験者における低悪性度の P I N を示し、又は癌を予測し、及び前記被験者が前立腺癌に対して陰性であると以前に決定されている。

FIGURE 1A



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験者における前立腺癌の早期診断のための方法であって、前記被験者における低悪性度前立腺上皮細胞内腫瘍 (L G - P I N) の存在を決定することを含み、

(a) 前立腺癌に対して陰性であると以前に決定されている被験者からの試料を提供し；
(b) 核酸ハイブリダイゼーション技術を用いて、ゲノム D N A の染色体再構築を検出することによりアンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの 5 ' 部分及び E R G 遺伝子からの 3 ' 部分を有する遺伝子融合の試料の有無を決定し、

(c) 免疫組織化学アッセイを用いて E R G の過剰発現を検出することを含み、

工程 (b) において決定された遺伝子融合と工程 (c) における E R G の過剰発現の両方の試料の存在が、被験者における低悪性度の P I N を示す方法。

10

【請求項 2】

アンドロゲン調節遺伝子が、 T M P R S S 2 、 N D R G 1 、 S L C 4 5 A 3 、 及び P S A を含む群から選択され得る、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

工程 (b) が、インサイトハイブリダイゼーション (I S H) 、マイクロアレイ及びサザンブロットからなる群から選択される核酸ハイブリダイゼーション技術を用いてゲノム D N A の染色体再構築を検出することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

工程 (b) が、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの 5 ' 部分と E R G からの 3 ' 部分とを有するキメラ m R N A を検出することを含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記インサイトハイブリダイゼーションが、 R P 1 1 - 9 5 I 2 1 及び C T D - 2 5 0 6 J 1 3 から開発され染色体 2 1 q 2 2 . 3 上に位置している 5 p プローブ、及び R P 1 1 - 4 7 6 D 1 7 及び R P 1 1 - 2 4 A 1 1 から開発され、染色体 2 1 q 2 2 . 3 上に位置している E R G 3 p プローブからなる群から選択されるプローブを利用する蛍光インサイトハイブリダイゼーション (F I S H) である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

工程 (c) が、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域の E R G 遺伝子への融合に起因するアミノ末端切断 E R G のタンパク質を検出することを含む、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 7】

工程 (c) が、アンドロゲン調節遺伝子の転写制御領域によりコードされるアミノ末端部分、及び E R G 遺伝子からのカルボキシ末端部分を有するキメラ部分を検出することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

試料が、組織、血液、尿、精液、前立腺分泌物及び前立腺細胞からなる群から選択される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

遺伝子融合が、 A R G 遺伝子と E R G 遺伝子の融合であり、方法が、遺伝子融合におけるゲノムの欠失の有無に基づいて、前立腺細胞を特徴付けるする工程を更に含む、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 10】

前記遺伝子再構成は、染色体 2 1 における T M P R S S 2 遺伝子及び E R G 遺伝子の間のゲノム D N A の欠失である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記欠失が E R G 遺伝子のエクソン 1 の欠失を含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記欠失が T M P R S S 2 遺伝子のエクソン 3 の欠失を含む、請求項 10 に記載の方法。

。

【請求項 13】

50

ゲノムDNAの2.8から2.85メガベースの間が欠失している、請求項10に記載の方法。

【請求項14】

前記欠失が、RP11-95I21、CTD-2506J13、RP11-476D17及びRP11-24A11からなる群から選択される少なくとも一の蛍光標識化プローブを用いるFISHアッセイを用いて検出される、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

被験者において、欠失の存在が転移性前立腺癌を示す、請求項13に記載の方法。

【請求項16】

正常な隣接細胞に比較して、目視可能な核小体が無く核の大きさが拡大した異型管腔細胞の存在を決定するために、ヘマトキシリンおよびエオシン染色を用いて前記前立腺細胞を染色することを更に含む、請求項1に記載の方法。

10

【請求項17】

前記試料中の前立腺細胞中の前立腺特異抗原(PSA)の存在を決定することを更に含む、請求項1に記載の方法。

【請求項18】

前記患者が、針生検により決定される場合に前立腺癌に対して陰性である、請求項1に記載の方法。

【請求項19】

LG-PINを有する被験者において、前立腺癌の進行を予知することを更に含む、請求項1から18の何れかに記載の方法。

20

【請求項20】

LG-PINの存在に対する前立腺癌細胞をアッセイするための方法であって、a)被験者からの前立腺細胞の検査試料を得る；b)免疫組織化学アッセイを用いるERGの発現を決定するために前立腺細胞の試料を分析する；c)工程b)で決定された発現レベルと対照試料におけるレベルとを比較する；d)アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分およびERG遺伝子からの3'部分を有する試料中で遺伝子融合の有無を決定するためにFISHアッセイを実施する、及びe)前記検査試料中の前立腺細胞におけるERGの発現のレベルが対照試料のそれよりも高く、そして工程e)で決定されるように、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分とERG遺伝子からの3'部分との遺伝子融合が存在する場合に、前記被験者において、前記前立腺細胞が癌化するか又は試料の遺伝子座に隣接した癌細胞の指標となることを決定する、ことを含む方法。

30

【請求項21】

請求項20に記載の方法に従って、低悪性度PINの有無を決定することを含む、被験者における前立腺癌の攻撃性を予知する方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の開示】

【0001】

関連出願

本出願は、2011年2月24日に提出された、米国仮特許出願第61/446,300号の利益を主張して提出される。

40

【技術分野】

【0002】

発明の分野

本開示は、以前に癌病変として検出可能とされている生物学的試料中の前立腺癌細胞の早期検出のための方法に関する。より具体的には、本開示は、癌に関連する可能性が大きく従って癌を予測する可能性が大きい低悪性度PIN(前立腺上皮細胞内腫瘍)の同定につながる、ERG FISHアッセイを伴った併用抗ERG免疫組織化学アッセイを開示する。

【背景技術】

50

【 0 0 0 3 】

発明の背景

癌の早期検出は、癌患者の治療における重要な特徴である。男性においては、前立腺癌は全ての人種において癌の最も高頻度に見られる形態である。毎年、米国だけで毎年30万人以上の男性が前立腺癌と診断されているが、現在利用可能な検査は、悪名高いほど不正確かつ主観的である。その結果、前立腺癌の多くの発生率は、病気が転移を含む後期にまで進行するまで診断未確定である。前立腺癌の発生率とそれに関連する死亡率の両方が過去10年間で増加している。前立腺癌の50 - 65%程度が局在し、9 ~ 17%は前立腺近傍に広がっており、20 - 25%は身体の他の部分に転移していると推定される。

【 0 0 0 4 】

前立腺癌のスクリーニングは、主として、PSA（前立腺特異抗原に対する血液検査）とDRE（直腸診）を検査することによる。癌の確証は、針生検に由来する組織試料の検査によって行われる。これらの方法論では、良性疾患と癌を識別することはできない。識別できないと、例えば、良性疾患の患者を、不要な、副作用（例えば、インポテンス及び失禁）がある処置に対して曝露することを結果的にもたらず可能性がある。更に、PSA検査は癌に罹患した全患者の20% - 30%を見逃すと推定される。より優れた感度および特異性を有する診断のための明確な必要性が存在する。

【 0 0 0 5 】

前立腺癌の発生率の増加及びこの障害が転移する高い割合に伴い、非常に早い段階でのこの疾患の検出のため、そして潜在的に転移性である前立腺癌細胞を標的とすることができる治療法についての重要な必要性がある。理想的には、これらのタイプの治療は、初期段階の限定された前立腺癌並びに転移性疾患の治療においての両方に対して適用されるであろう。

【 0 0 0 6 】

低悪性度前立腺上皮内腫瘍（LG-PIN）を検出するために使用することができる特異的な検出方法があった場合、男性の健康に大きく利益をもたらすであろう1つの領域がある。LG-PINは、最も一般的に辺縁部で見つかる、前立腺細胞における前癌性の増殖である。PINは、経直腸的超音波ガイド付き前立腺生検を受けた男性の最大16%において同定されるであろう。PINにおいて、細胞の配置は、間質の侵入が欠けている一方、PINのグレードが増加している基底細胞層の進行性の破壊を伴う導管及び腺の構築物の保存を示している。報告されている他の組織学的または生物学的変化には以下が含まれる：神経内分泌及び分泌性分化の消失、核及び核小体の異常、新生血管、増殖能の増加、DNA含有量の変化に伴う遺伝的不安定性。PINの程度の増大に伴い、核異常の程度の増加が基底細胞破壊の増加と共に見られる。癌（PC）は、基底細胞層を欠いているのに対し、PINは、インタクトな又は断片化した基底細胞層を有している。サイトケラチンに対する基底細胞特異的免疫染色は、PINには存在しているが、PCの領域では存在しない。

【 0 0 0 7 】

PINはほとんど変化が無い最低グレード（グレードI）から、最も深刻な変化を持つ最高グレード（グレードIII）へと類別される。大半の医学論文ではPINを高悪性度（high grade）又は低悪性度（low grade）の何れかとして分類している。高悪性度のPINとグレードIIIのPINは同意語として使用される。PCは低悪性度よりは高悪性度のPINにより関係する。PINはPCの出現よりも5年以上遡るよう見える。高悪性度のPINの所見とその後の生検における前立腺癌の診断との間に有意な相関関係がある。HG-PINは、様々な研究の症例の33 ~ 100%において、そのような後の診断に相関している。一研究において、PINは合計66人の男性に検出され：21人は低悪性度のPINで45人が高悪性度のPINであった。反復生検では、低悪性度群のうち5 / 21又は24%で、高悪性度群の26 / 45又は58%でPCを明らかにした。

【 0 0 0 8 】

10

20

30

40

50

従って、癌の増悪へと導くであろう高悪性度のPINに比較して疾患の進行サイクルにおいてなお早期である低悪性度のPINの検出の方法が、前立腺癌の早期段階の検出と診断のために用いられ、前立腺癌の優れた治療レジメンをもたらすことが可能であろう。

【発明の概要】

【0009】

発明の簡潔な概要

本開示は前立腺癌の診断のための改良された方法を提供する。例えば、本発明は、被験者からの試料を提供し；核酸ハイブリダイゼーション技術を用いて、ゲノムDNAの染色体再構築を検出することによりアンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分及びERG遺伝子からの3'部分を有する遺伝子融合の試料の有無を決定し、免疫組織化学アッセイを用いてERGタンパク質の過剰発現を検出することを含み、被験者の低悪性度前立腺上皮細胞内腫瘍(LG-PIN)の存在を決定することを含む、前記被験者における前立腺癌の早期診断のための方法に関し、ここで遺伝子融合とERGの過剰発現の両方の試料の存在が、癌の存在に関連する被験者における低悪性度のPINを示し、又は癌を予測し、及び前記被験者が前立腺癌に対して陰性であると以前に決定されている。

10

【0010】

好ましい実施態様では、アンドロゲン調節遺伝子は、TMPRSS2、NDRG1、SLC45A3、及びPSAを含む群から選択することができる。別の実施態様において、試料中の遺伝子融合の有無の検出は、インサイツハイブリダイゼーション(ISH)、マイクロアレイ及びサザンブロットからなる群から選択される核酸ハイブリダイゼーション技術を用いてゲノムDNAの染色体再構築を検出することを含む。

20

【0011】

ある実施態様において、そのような検出は、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分とERGからの3'部分を有するキメラmRNAを検出することを含む。

【0012】

本発明の診断方法において、インサイツハイブリダイゼーションは、RP11-95I21及びCTD-2506J13から開発され染色体21q22.3上に位置している5pプローブ、及びRP11-476D17及びRP11-24A11から開発され、染色体21q22.3上に位置しているERG 3pプローブからなる群から選択されるプローブを利用する蛍光インサイツハイブリダイゼーション(FISH)である。

30

【0013】

典型的な方法において、ERGタンパク質の過剰発現の検出は、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域のERG遺伝子への融合に起因するアミノ末端切断ERGのタンパク質を検出することを含む。更に別の実施態様において、過剰発現の検出は、アンドロゲン調節遺伝子の転写制御領域によりコードされるアミノ末端部分、及びERG遺伝子からのカルボキシ末端部分を有するキメラ部分を検出することを含む。

【0014】

本発明の診断方法は、前立腺癌を決定するためにスクリーニングされる任意の試料において行われ得る。例えば、試料は、組織、血液、尿、精液、前立腺分泌物及び前立腺細胞からなる群から選択され得る。

40

【0015】

特定の実施態様において、遺伝子融合はARG(限定されないがTMPRSS2を含む)遺伝子とERG遺伝子の融合であり、本方法は、遺伝子融合におけるゲノムの欠失の有無に基づいて、前立腺細胞を特徴付けるする工程を更に含む。TMPRSS2-ERGの再構成は、当業者に知られている。典型的な実施態様において、そのような遺伝子再構成は、染色体21におけるTMPRSS2遺伝子及びERG遺伝子の間のゲノムDNAの欠失である。より具体的には、欠失は、ERG遺伝子のエクソン1の欠失を含む、又はTMPRSS2遺伝子のエクソン3の欠失を含む。例えば、欠失はゲノムDNAの2.8から2.85メガベースの間が欠失している欠失を含む。

【0016】

50

欠失は、R P 1 1 - 9 5 I 2 1、C T D - 2 5 0 6 J 1 3、R P 1 1 - 4 7 6 D 1 7 及び R P 1 1 - 2 4 A 1 1 からなる群から選択される少なくとも一の蛍光標識化プローブを用いる F I S H アッセイを用いて検出され得る。典型的な実施態様において、欠失は被験者における転移性前立腺癌を示す。

【 0 0 1 7 】

本発明の診断方法は、正常な隣接細胞に比較して目視可能な核小体が無い核の大きさが拡大した異型管腔細胞の存在を決定するために、ヘマトキシリンおよびエオシン (H & E) 染色を用いた前記前立腺細胞を染色することを更に含み得る。あるいは、又は更に、診断方法は、前記前立腺細胞における前立腺特異抗原 (P S A) の存在を決定することをさらに含んでもよい。

10

【 0 0 1 8 】

述べたように、本発明の診断方法は、別の方法では、試料を前立腺癌に対して陰性と示した、前立腺癌の早期の同定を有利に与える。例えば、開示された方法は、針生検によって決定される場合および / または H & E 染色によって決定される場合に、前立腺癌に対して最初は陰性と検査された被験者に実施される。

【 0 0 1 9 】

また熟考されるのは、L G - P I N の存在に対する前立腺癌細胞のアッセイであり、a) 前立腺細胞の検査試料を得る ; b) 免疫組織化学アッセイを用いる E R G の発現を決定するために前立腺細胞の試料を分析する ; c) 工程 b) で決定された発現レベルと対照試料におけるレベルとを比較する ; d) アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの 5 ' 部分および E R G 遺伝子からの 3 ' 部分を有する試料中で遺伝子融合の有無を決定するために F I S H アッセイを実施する、及び e) 前記検査試料中の前立腺細胞における E R G の発現のレベルが対照試料のそれよりも高く、そして工程 e) で決定されるように、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの 5 ' 部分と E R G 遺伝子からの 3 ' 部分との遺伝子融合が存在する場合に、前記被験者において、前記前立腺細胞が癌を発症するか又は近接 [又は隣接] 癌細胞の指標となることを決定する、ことを含む。

20

【 0 0 2 0 】

更に熟考されるのは、本明細書に記載される方法に従って低悪性度 P I N の存在を決定すること、および前立腺癌を治療する薬剤を前記被験者に投与することを含む、被験者の前立腺癌を治療するための方法である。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 1 】

複数の図面の簡単な説明

【 図 1 】 図 1 : 2 つの症例における低悪性度の P I N、(1 A) 症例 1 の H & E 染色、及び (1 B) 症例 1 の連続切断スライド切片の I H C による E R G 過剰発現 ; (1 C) 症例 2 の H & E 染色、及び (1 D) 症例 2 の連続切断スライド切片の I H C による E R G 過剰発現。記 : L G - P I N は、正常な隣接細胞に比較して目視可能な核小体が無い核の大きさが拡大した異型管腔細胞により H & E で診断される。

【 図 2 】 図 2 : 前立腺ブレイクアパート (b r e a k - a p a r t) アッセイにおける E R G 再構成。

40

【 図 3 】 図 3 : H & E 及び E R G I H C により評価された前立腺癌に隣接する低悪性度 P I N。

【 0 0 2 2 】

発明の詳細な説明

現在、病理学のコミュニティは、低悪性度 P I N に関して報告しない。H & E 染色による診断は十分には特徴付けられておらず、大きく主観的であり、よって L G - P I N と前立腺癌への進行との間に直接的関連があるかどうかは未知のままである。本開示は、E T S 遺伝子再構成が前立腺癌に存在するという発見に拡張する。本開示された方法は、低悪性度の P I N において、E R G 遺伝子の再構成及び関連する E R G タンパク質の過剰発現に関する証拠を提供する。本開示は、前立腺癌に関連する又は前立腺癌に進行する可能性

50

が高い低悪性度 P I N の新規サブセットを同定する潜在能力があることを示す。これらの知見は、針生検では見逃されている可能性がある前立腺癌の男性のリスクを予知する方法を提供し、従って、前立腺癌を有するか、または発症する可能性についてより高感度かつ正確な予測を提供するため、臨床現場で有用である場合がある。

【 0 0 2 3 】

前立腺癌を評価するための現在の治療は、低悪性度 P I N について報告しないことである。実際、患者のこのカテゴリは、癌の決定的な証拠が発見されるまで必要とされる、P S A のモニタリング、反復される D R E 及び複数の再生検を用いた再スクリーニングに付される。

【 0 0 2 4 】

本開示の有利な点は、生検単独と比較して向上した癌の予測方法を提供し、それにより不要な生検の必要性を減らし、前立腺癌の早期診断を与えることである。

【 0 0 2 5 】

前立腺癌における T M P R S S 2 : E R G 遺伝子再構成と疾患増悪とのその関連の発見は、治療的および診断的意義の両方を有する。前腫瘍性 P I N 病変から前立腺癌への進行のリスクが増大する男性の同定は、針生検標本と P S A スクリーニングの実践に直接影響を与える可能性がある未だ対処されていない医学的必要性である。先の研究では、高悪性度の P I N のおよそ 1 5 % に E R G 再構成の存在を同定している。更に、E R G が再構成された H G P I N 病変は、前立腺切除標本における隣接腫瘍病巣の遺伝子再構成に非常に関連付けられている。本開示において、診断方法は、癌の相関としての L G - P I N において、E R G 遺伝子再構成とタンパク質過剰発現の両方の存在を決定することに焦点を当て、より迅速に前立腺癌を発症するリスクにさらされている男性を同定するために、同一物を使用する。

【 0 0 2 6 】

そのような診断目的のために、前立腺組織試料を個体から採取し、E R G 融合の存在および E R G の過剰発現について試験され得る。組織試料は、腺上皮を覆う細胞の単一細胞層を除外することができ、又は層の内側および外側の両方の細胞を含むことができる。非限定的な例として、試料は、組織（例えば、前立腺生検試料または前立腺切除術により得られた組織試料）、血液、尿、精液、前立腺分泌物又はその画分（例えば、血漿、血清、尿の上清、尿細胞ペレット又は前立腺細胞）であり得る。尿試料は、好ましくは、前立腺からの前立腺細胞を尿に流させる注意深い直腸診（D R E）の直後に採取される。ある実施態様において、前立腺組織試料は、生検方法の結果であり得る。前立腺組織試料は、複数の隣接する細胞及び / 又は前立腺からの一以上の別個の細胞であってもよい。

【 0 0 2 7 】

開示された診断 / 予後徴候の検査法は、P S A 試験及び / 又は D R E と組み合わせてもよい。前立腺特異抗原（P S A）の検査は、当該技術分野において周知である。上述の通り、前立腺癌を検出するための P S A のスクリーニングは、実際に前立腺癌を有する検査される個体の有意な割合を見逃す（すなわち、偽陰性）と推定される。本発明の利点は、前立腺癌のスクリーニングする本方法は、癌を有するが、P S A の検査で陰性の結果である個体における前立腺癌を検出することができ得るということである。本方法は、単独又は P S A の検査と組み合わせる用いることができる。

【 0 0 2 8 】

治療目的のために、診断された又は前立腺機能障害を呈する患者が良性前立腺疾患または前立腺癌を有するかどうかを決定することが望ましい。良性前立腺疾患には、良性前立腺肥大症（B P H）が含まれる。有利な点として、開示された方法において、L G - P I N の検出は前立腺癌と相関しており、それによって当業者が、前立腺機能障害と診断された又は呈する患者において、良性前立腺疾患と区別することを可能にしている。本明細書に説明される、併用 E R G I H C - F I S H アッセイにより決定される L G - P I N の存在は、前立腺癌と関連し、逆に、L G - P I N の欠損は、良性前立腺疾患の指標である。前立腺機能障害と診断された又は呈している患者は P S A についての検査で検査され

10

20

30

40

50

、結果は陰性であり得る。PSA検査と本明細書に記載されるERG IHC - FISHアッセイの併用により、前立腺癌の感度の高い初期の検出を与えることが可能である。

【0029】

前立腺癌の指標となる再発性遺伝子融合は現在、数年の間、特徴付けがなされてきた。遺伝子融合はアンドロゲン調節遺伝子(ARG)及び、例えばERG癌原遺伝子を含む、ETSファミリーメンバー遺伝子の染色体再構築の結果である。それらの再発にもかかわらず、ARGがETSファミリーメンバー遺伝子に融合する接合は変化する。遺伝子融合は、典型的には、ARGの転写調節領域からの5'部分及びETSファミリーメンバー遺伝子からの3'部分を含む。再発性遺伝子融合は、診断及び/又は予後徴候マーカー及び前立腺癌に対する臨床標的としての用途を有する。

10

【0030】

ARGはアンドロゲンホルモンによって調節されており、ヒト前立腺の正常な生理学的機能のために極めて重要である。それらはまた前立腺癌の発症と進行に寄与している。認識されたARGは、限定されないが、MPRSS2; PSA; PSMA; KLK2; SNRK; Seladin-1; 及びFKBP51を含む(Paoloni-Giacobino et al., Genomics 44:309(1997); Velasco et al., Endocrinology 145(8):3913(2004))。特に、TMPRSS2(NM.sub.-005656)は、前立腺上皮において、他の正常ヒト組織に比べて、高度に発現されていることが実証されている(Lin et al., Cancer Research 59:4180(1999))。TMPRSS2遺伝子は、染色体21上に位置している(51,151全塩基対; マイナス鎖配向)。

20

【0031】

ARGの転写調節領域は、プロモーター領域を含み、ARGのコード領域又は非コード領域を含み得る。

【0032】

転写因子のETSファミリーは、細胞内シグナル伝達調節遺伝子の発現を調節する。下流のエフェクターとして、それらは特定の標的遺伝子を活性化又は抑制する。上流のエフェクターとして、それらは、多くの成長因子受容体の空間的及び時間的発現に参与している。このファミリーのメンバーのほぼ30が同定され、生理学的および病理学的プロセスの広範囲に参与している。これらは、限定されないが、ERG; ETV1(ER81); FLI1; ETS1; ETS2; ELK1; ETV6(TEL1); ETV7(TEL2); GABP.アルファ.; ELF1; ETV4(E1AF; PEA3); ETV5(ERM); ERF; PEA3/E1AF; PU.1; ESE1/ESX; SAP1(ELK4); ETV3(METS); EWS/FLI1; ESE1; ESE2(ELF5); ESE3; PDEF; NET(ELK3; SAP2); NERF(ELF2); 及びFEVを含む。

30

【0033】

ARGのETSファミリーメンバー遺伝子への融合は、DNA、RNA又はタンパク質として検出可能である。最初に、遺伝子融合は、ARGの転写調節領域からの5'部分、及びETSファミリーメンバー遺伝子からの3'部分を有するゲノムDNAの染色体再構築として検出可能である。いったん転写されると、遺伝子融合は、ARGの転写調節領域からの5'部分、及びETSファミリーメンバー遺伝子からの3'部分を有するキメラmRNAとして検出可能である。ひとたび翻訳されると、ARGの転写調節領域のETSファミリーメンバータンパク質; ARGの転写調節領域からのアミノ末端部分とETSファミリーメンバー遺伝子からのカルボキシ末端部分を有するキメラタンパク質; 又は上方制御された、別の方法では区別できない、天然型ETSファミリーメンバータンパク質として検出可能である。切断されたETSファミリーメンバータンパク質及びキメラタンパク質は、それら各々の天然型タンパク質と、アミノ酸配列、翻訳後プロセッシング及び/又は二次、三

40

50

次又は四次構造において異なり得る。そのような違いは、もし存在すれば、遺伝子融合の存在を同定するために用いることができる。好ましい実施態様において、FISHが遺伝子融合の存在を検出するために用いられる。

【0034】

ERG免疫組織化学アッセイ

ERGタンパク質発現のIHCによる評価は、手動及び自動化方法を用いて達成することができる。以下の方法が、ERG IHC及びFISHの間の相関を示す、影響力の大きい出版物で参照されている(Neoplasia, 12巻 Number 7 July 2010 頁590 - 598より)。この参照は、ERG IHCを行う一例として引用されるだけである。代替的な自動化されたプラットフォーム、及び手動の方法は、同様の結果を生み出すかもしれないが、まだ、文献では実証されていない。

10

【0035】

パラフィン包埋ホルマリン固定腫瘍組織切片の免疫組織化学(IHC)分析は、Ventana Medical Systemsからの自動化されたDiscovery XT染色プラットフォームを用いて行った。一次ウサギモノクローナル抗体は、商業的供給源から入手した。抗原回復は、熱回復(heat retrieval)及びCC1スタンダード、高pHのトリス/ホウ酸/EDTAバッファー(VMSI, カタログ番号950 - 124)を用いて行った。スライドは室温で1時間、ERG一次抗体の1:100でインキュベートした。一次抗体は、ChromoMap DAB検出キット(VMSI, カタログ番号760 - 159)及びUltraMap抗Rb HRP(VMSI, カタログ番号760 - 4315)を用いて検出した。抗Rb HRP二次抗体を室温で16分間アプラインした。スライドをヘマトキシリンII(VMSI, カタログ番号790 - 2208)で8分間対比染色し、続いてBluing Reagent(VMSI, カタログ番号760 - 2037)で37°Cで4分間対比染色した。

20

【0036】

ERG融合の検出のためのFISHアッセイ

二色間期FISHを用いた遺伝子再構成状態の評価は、手動又は自動化方法を用いて行われうる。以下の方法が、ERG IHC及びFISHの間の相関を示す、影響力の大きい出版物で参照されている(Neoplasia, 12巻 Number 7 July 2010 頁590 - 598より)。この参照は、ERG FISHを行う一例として引用されるだけである。自動化されたプラットフォーム、および手動の方法は同様の結果をもたらし得る。四マイクロメートル厚のTMA切片を間期FISH分析のために使用した。再構成状態は、以前に説明されたデュアルカラーブレイクアパート(dual-color break-apart)間期FISHアッセイを用いて決定された[Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, Varambally S, Cao X, Tchinda J, Kuefer R, et al. (2005)。前立腺癌におけるTMPRSS2及びETS転写因子遺伝子の再発性融合。Science 310(5748), 644 - 648。及びPerner S, Demichelis F, Beroukhim R, Schmidt FH, Mosquera JM, Setlur S, Tchinda J, Tomlins SA, Hofer MD, Pienta KG, et al. (2006)。TMPRSS2: ERG融合に関連した欠失は、前立腺癌の異質性を知る上での手掛かりとなる。Cancer Res 66(17), 8337 - 8341]。

30

40

【0037】

更に、ERG 3pプローブと5p FISHプローブ及び量子ドット565と655を用いる自動化FISHアッセイは、遺伝子再構成の検出用のERG IHCアッセイと類似の高い相関を生じた。量子ドット検出を用いる方法の概要は以下に再現されるチャートで報告される：

3.5' 及び 3' ERG ブレーク-アパート自動化量子ドット FISH 法

プラットフォーム	ベンチマーク XT
脱パラフィン	伸展
細胞調整	伸展/反応緩衝液
プロテアーゼ消化	プロテアーゼ 3, 12 分
変性	90°C, 12 分
ハイブリダイゼーション	44°C, 8 時間
ストリンジェントな洗浄	72°C, 8 分 (3 サイクル)
5p ERG DIG/ 3p ERG DNP	各々 2 ドロップ
ブロッキング緩衝液	1 ドロップ, 室温で 32 分
検出	QD 565 及び QD 655, 32 分, 室温
対比染色: DAPI	室温で 4 分
カバーガラス	Cytoseal 60

10

【 0 0 3 8 】

再構成を示さないプローブ（すなわち、方の対立遺伝子は「正常」である）は、共局在化したままであろうし、一对の黄色のシグナルとして、又は非常に密接に並置べられた緑 / 赤のシグナルとしての何れかで視覚化される。ERG の再構成は、図 2 に示すように、蛍光プローブの「挿入」を生じるであろう、ブレークアパート (Break-apart) 事象は、ERG の 5 p 領域における「挿入」の結果として視覚化され得、5 p ERG (緑) シグナルの「欠損」、並びに 3 p ERG 遺伝子の重複が伴う場合がある。

20

【 実施例 】

【 0 0 3 9 】

本研究の目的は、前立腺の PIN 病変における ERG の再構成の範囲を特定することであった。発明者は、FISH アッセイにより検出された特異的遺伝子再構成と組み合わせ、免疫組織化学 (IHC) による ERG 過剰発現を検出するための自動化染色手順を開発した。この目的に対して、3' 及び 5' ERG を含む ERG 遺伝子再構成に特異的なプローブが量子ドット (Life Technologies, OR) バイオコンジュゲートで検出された。一般的に針生検の保存に使用される固定液並びに固定時間についても評価した。特異的 FISH シグナルを、干渉計と分光イメージングソフトウェアを使用してデコンボリューションした。

30

【 0 0 4 0 】

量子ドットによる、ホルマリン固定およびパラフィン包埋組織におけるスペクトル FISH を行うための具体的な方法は文献に記載されている。簡潔には、各ピクセルで高分解能の波長強度情報を含むスペクトル画像キューブが、改良型 SpectraView (ASI; Applied Spectral Imaging, Israel) 捕捉及び解析システムを用いて捕獲された。改良型システムは、コンピュータワークステーション、蛍光顕微鏡 (オリンパス BX 61)、干渉光学ヘッドからソニー ICX 285 デジタル CCD . 20 - 23 へのスペクトルを出力する、光のガイドが結合した、安定化されたメタルハライド励起源 (Exfo Exacte, Exfo, Ontario, CA, USA) を含む。スペクトルイメージング用の励起 / 発光フィルタ (Semrock, USA) は以下のとおりであった：励起用の 50 nm のバンド幅を持つ 377 nm 中心波長；410 nm 未満に反射バンドを持つ二色性ビームスプリッター、及び 409 nm で深いブロッキングトランジションを持つ長いパスフィルター。全てのスペクトル画像キューブは 40 x plan-fluor 対物 (開口数 0.75) 及び 1 x c マウントで捕捉された。データは、スペクトル処理のための干渉法による画像キューブを構築するために、一連の 100 ミリ秒の暴露を通じて収集された。これらの条件下で捕捉された画像キューブによ

40

50

り表される波長の範囲は、10 nm波長サンプリング分解能で410から900 nm間の可視波長を網羅した。組織の自発蛍光、DAPI、量子ドット565，及び量子ドット655に対応するシグナルを分離するためのスペクトル不混合化が、適切な参照スペクトル及びSpectraViewスペクトルデータ解析ソフトウェアに実装された線形非混合化アルゴリズムを用いて行われた。

【0041】

特徴的な狭いガウス波長分布とQD発光スペクトルの離散ピーク位置が、個々のプローブシグナルの信頼性の高い分離を可能にした。個々のモノクロのDAPI及びFISHシグナル強度の層は色付けされ、相対的なプローブ局在化の可視化のための重ね合わせ画像を提供するためにマージされた。

10

【0042】

結果は、異種移植モデルVcapは、H660およびLNCaPにおいて、並びに前立腺針生検及び前立腺全摘除術からの試料において、この検査法による遺伝子再構成の感受性で特異的な検出を示した。前立腺組織標本のコホートにおいて、ERGIHCは、H&E染色による初期の調査で見逃された低悪性度PINを診断した（n = 4 / 10又はLG-PIN標本の40%；表1）。LG-PINの癌との会合は比較的少なかったが（わずかに10%又は60のうち6つの標本が癌の近傍にLG-PINを有することが観察された）、ERGが再構成されるときに癌の近傍のLG-PINの頻度は75%である（つまり、4のうち3つのERG陽性であったLG-PIN標本が癌の近傍にあって、わずかに1つのLG-PIN/ERG陽性標本は癌の直ぐ近傍にはなかった（表1）。HG-PINにおいて同様に、癌との会合の頻度は25%（60のうち15）で比較的低かったが；ERGがHG-PINに発現されると、癌の近傍は100%（4の症例のうち4）であり；つまり、全ての症例のERG陽性HG-PINが近接する癌に会合していた（表1）。

20

表 1. P I N試料中のE R G再構成の発生。前立腺標本コホートにおける L G-PIN 及び H G-PIN を含む。(A) P I N についての全データ、癌及び癌でない標本、及び (B) L G-PIN についての概要、及び (C) 癌との H G-PIN の共起。

(A)

	症例数	ERG 陰性	ERG 陽性
総症例*	89	68	21
癌の総計	60	40	20
癌でない症例の総計 (PIN を含む)	29		
CA と PIN の共起の総計:	27	19	8
L G PIN に関する症例の総計	10	6	4
H G PIN に関する症例の総計	17	13	4
癌と L G PIN の共起	6	3	3
癌と H G PIN の共起	15	11	4
癌でない症例の総計 (PIN を含む)	29		
癌を伴わない L G PIN	4	3	1
癌を伴わない H G PIN	2	2	0

*一症例は H G-PIN, L G-PIN 及び癌を有していた

(B) 癌と L G-PIN との共起

	パーセンテージ	n
コホートにおける L G-PIN の頻度	11.24%	89 のうち n = 10
癌に会合した L G-PIN	10.00%	60 のうち n = 6
ERG 陽性の L G-PIN	40.00%	10 のうち n = 4
癌と共起する ERG 陽性 L G-PIN	75.00%	4 のうち n = 3
癌と共起しない ERG 陽性 L G-PIN	25.00%	4 のうち n = 1

(C) 癌と H G-PIN との共起

	パーセンテージ	n
コホートにおける H G-PIN の頻度	20.22%	89 のうち n = 18
癌に会合した H G-PIN	25.00%	60 のうち n = 15
ERG 陽性の H G-PIN	23.53%	17 のうち n = 4
癌と共起する ERG 陽性 H G-PIN	100.00%	4 のうち n = 4
癌と共起しない ERG 陽性 H G-PIN	0.00%	4 のうち n = 0

【 0 0 4 3 】

E R G の過剰発現は、E R G 遺伝子の 5 ' 領域における挿入及び欠失を含み、いかなる特定の型の遺伝子再構成とも有意に関連していなかった。E R G F I S H 検査が評価した再構成は、再構成無し (正常)、挿入を介した転座、及び欠失を介した転座を含んでいる。

下の表 2 は、前立腺組織試料の選択されたコホートにおける E R G の過剰発現と遺伝子再構成を示す。

表 2:

診断	症例 ID	H&E	ERG IHC	ERG FISH
正常	PR043	良性	-	-
	PR046	良性	-	-
	PR057	良性	-	-
	PR059	良性	-	-
	PR068	良性	-	-
新生物発生前	PR042	LG PIN	+	+
	PR052	LG PIN	-	-
	EU003	HG PIN	-	-
腫瘍/ 再構成無し	PR003	グリーソン 3+3	-	-
	PR004	グリーソン 3+3	-	-
	PR013	グリーソン 3+3	-	-
	PR024	グリーソン 3+3	-	-
	PR037	グリーソン 3+3	-	-
	EU018	グリーソン 4+3	-	-
	*PR036	グリーソン 3+3	+	-
腫瘍/ 再構成	PR005	グリーソン 3+3	+	+
	PR010	グリーソン 3+3	+	+
	PR014	グリーソン 3+4	+	+
	PR025	グリーソン 3+3	+	+
	PR028	グリーソン 3+4	+	+
	PR030	グリーソン 3+3	+	+
	PR032	グリーソン 5+5	++	+
	PR035	グリーソン 4+3	+	+
	PR038	グリーソン 3+3	+	+
	EU004	グリーソン 3+4	+	+
	EU007	グリーソン 4+3	+	+
	EU025	グリーソン 4+3	+	+
	EU026	グリーソン 4+4	+	+
	EU027	グリーソン 3+4	+	+
	EU029	グリーソン 4+3	+	+

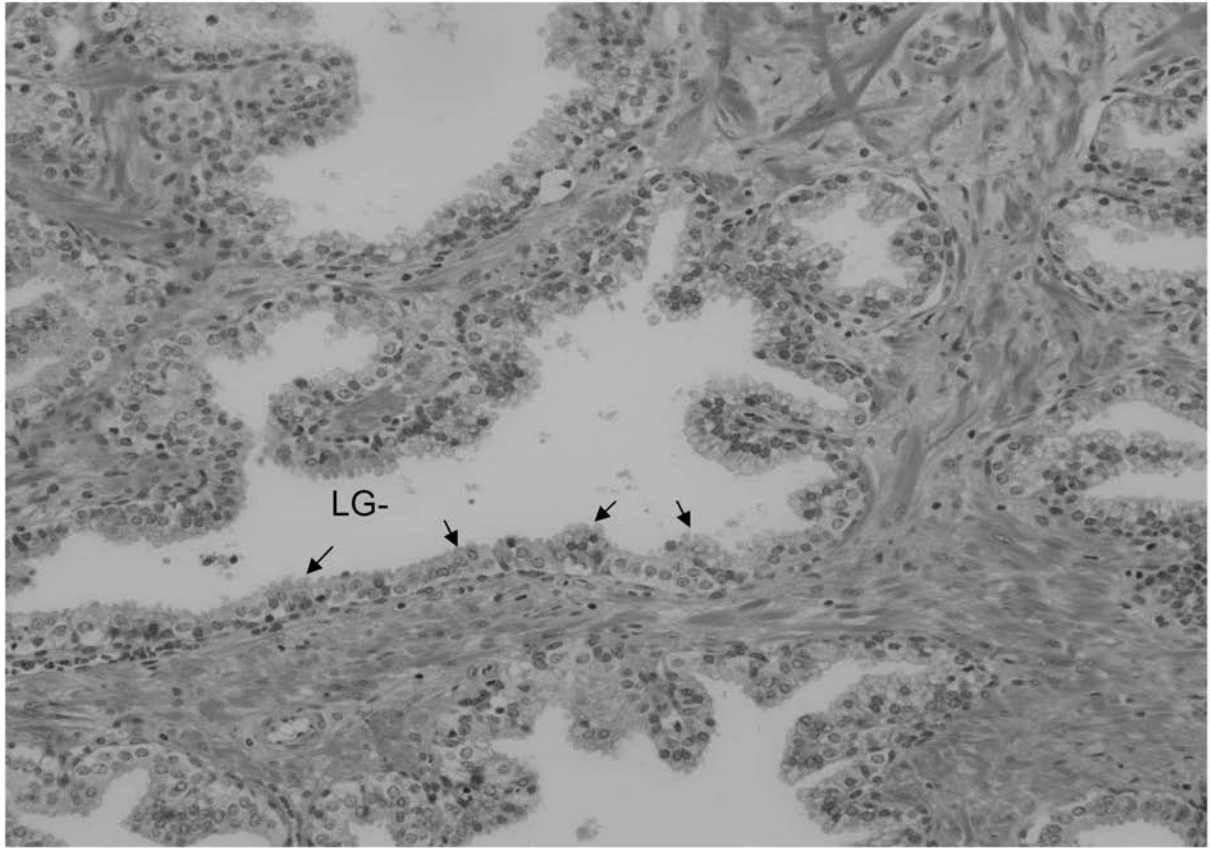
*調和しないERGの過剰発現と遺伝子再構成の例

【 0 0 4 4 】

簡潔にいうと、データは、ERG 量子ドットFISHと組み合わせた抗ERG免疫組織化学アッセイは、PIN病変において臨床的に意義のあるバイオマーカーを検出することにおいて、最初のH&E染色の後で、有用性を持ち得る、感受性のある特異的な反射試験形式を提供することを示している。低悪性度PINにおける遺伝子再構成及びERGタンパク質過剰発現の同定は、新規クラスのより高悪性度の前立腺疾患の定義付けに役にたつ。この検査形式は、例えば、再生検、活動性PSAスクリーニング、DRE及びMRI検査を通じて、より積極的なモニタリングを考慮されるべき男性を同定するに役にたつ場合がある。研究は、この検査戦略は、選択された前立腺癌及び生検のコホートにおけるLG-PINの発生率と関連した前立腺癌の進行の評価において診断的価値を与える。

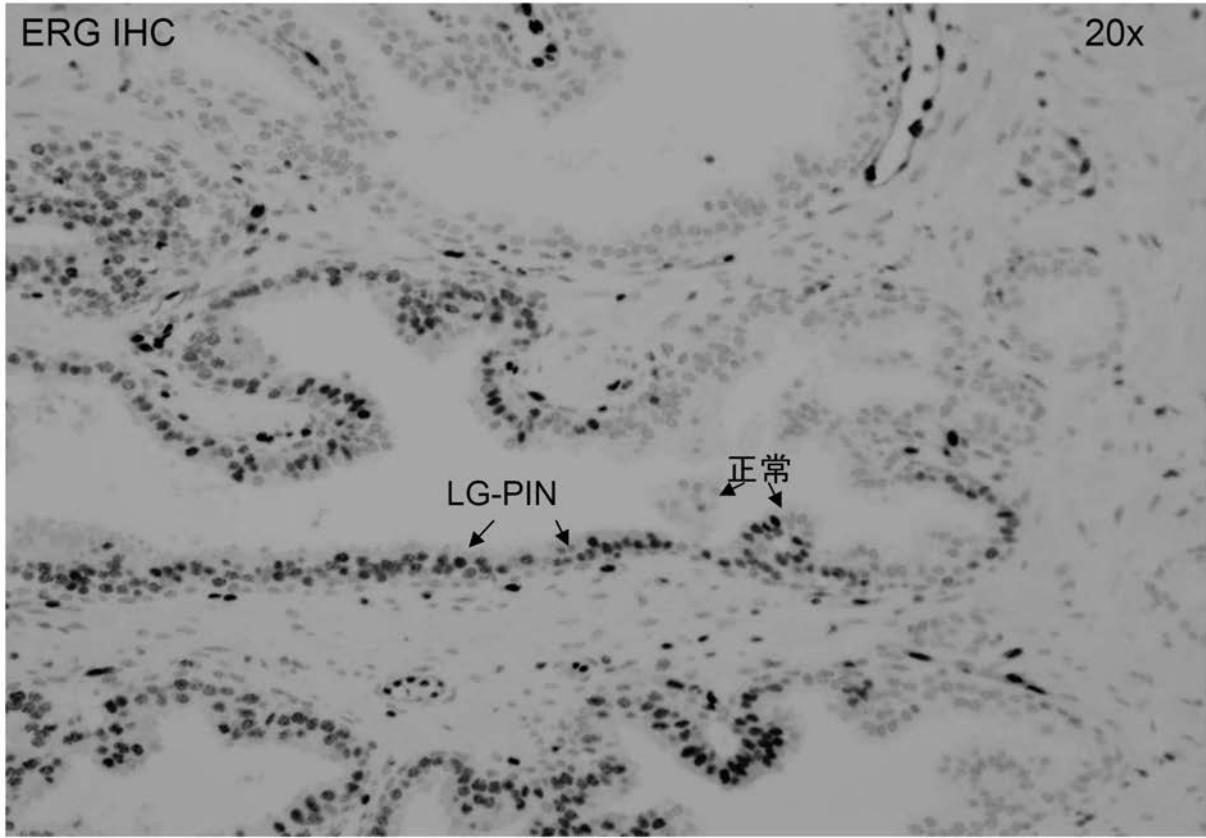
【図 1 A】

図 1A



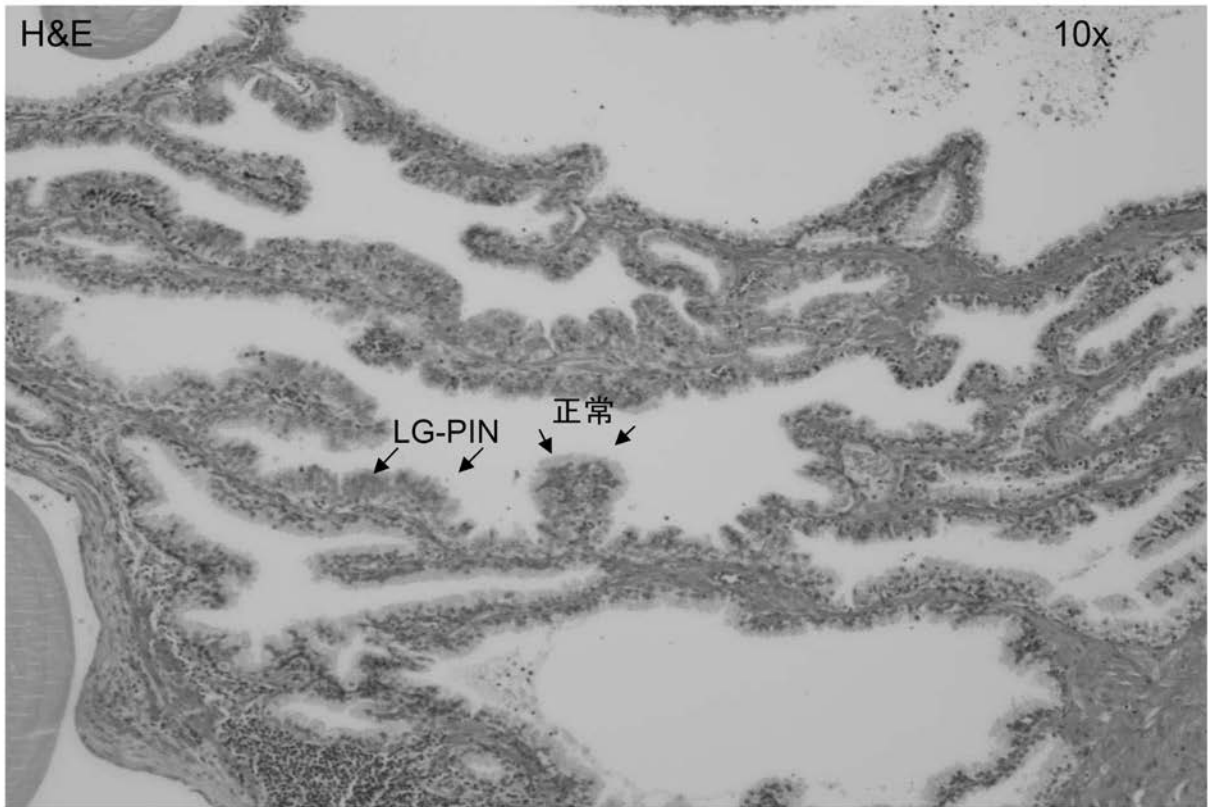
【 図 1 B 】

図 1B



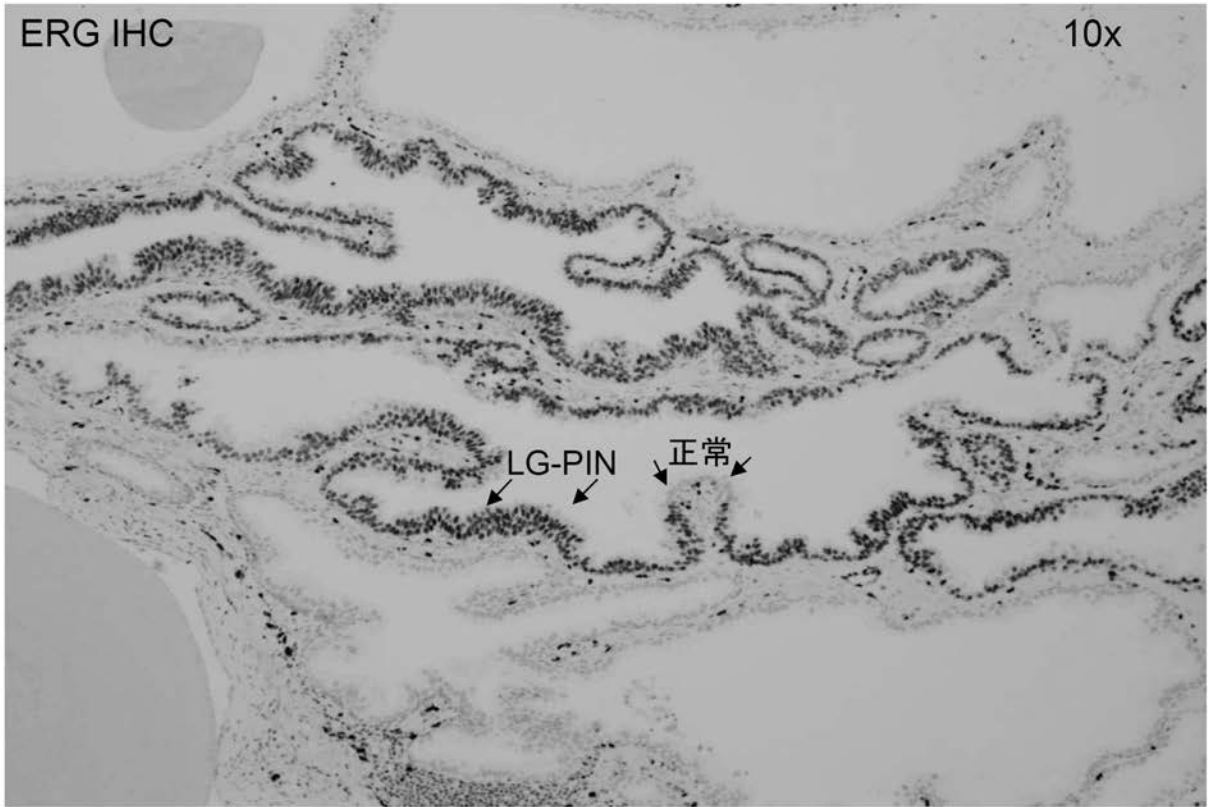
【 図 1 C 】

図 1C



【図 1 D】

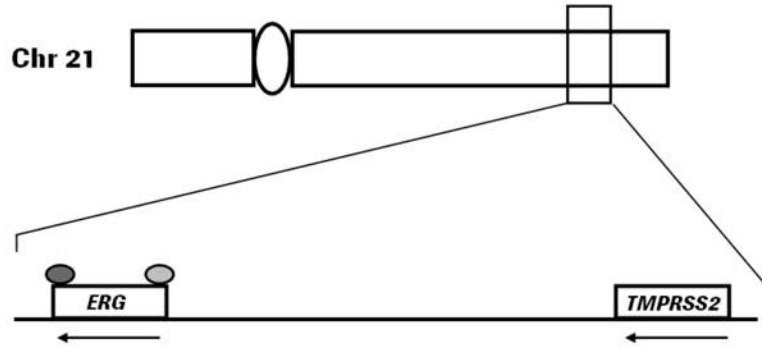
図 1D



【 図 2 】

図2

ブレークアパートアッセイ: 前立腺癌における ERG再構成

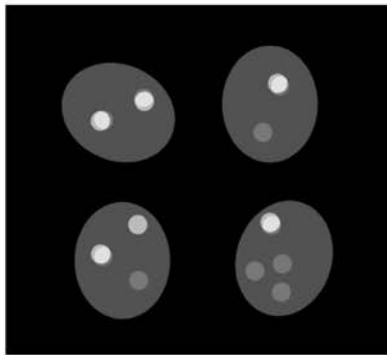


正常



5p ERG 欠失

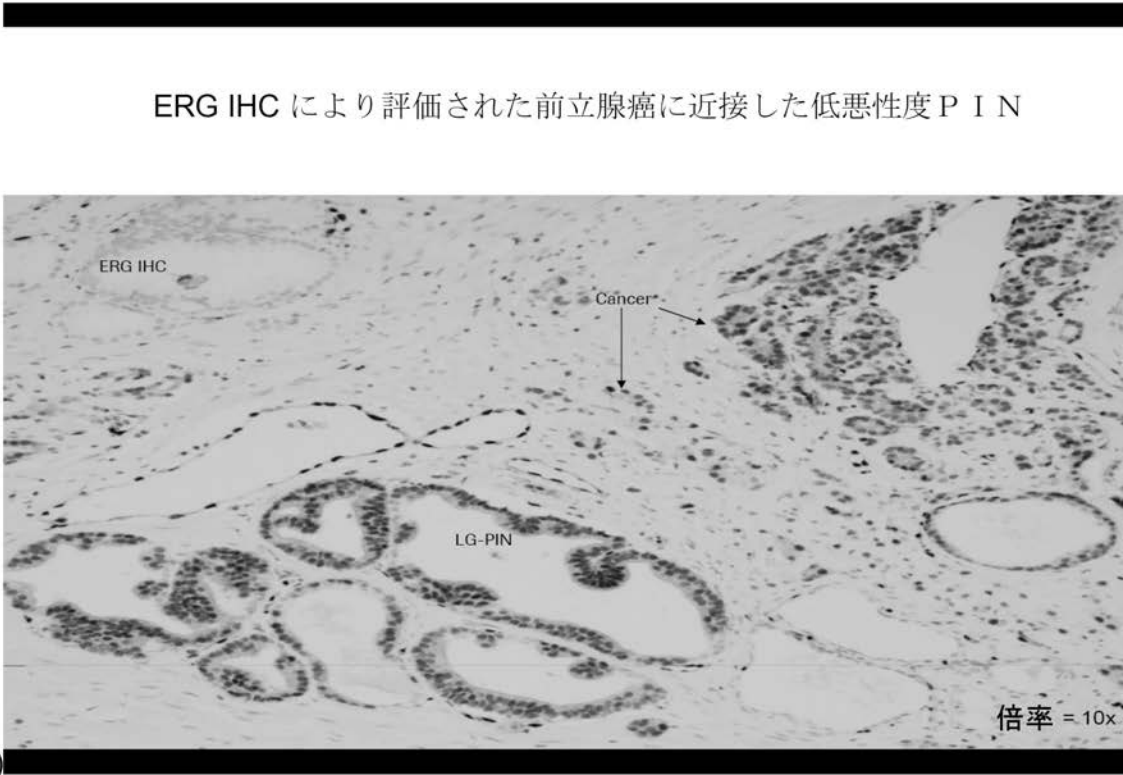
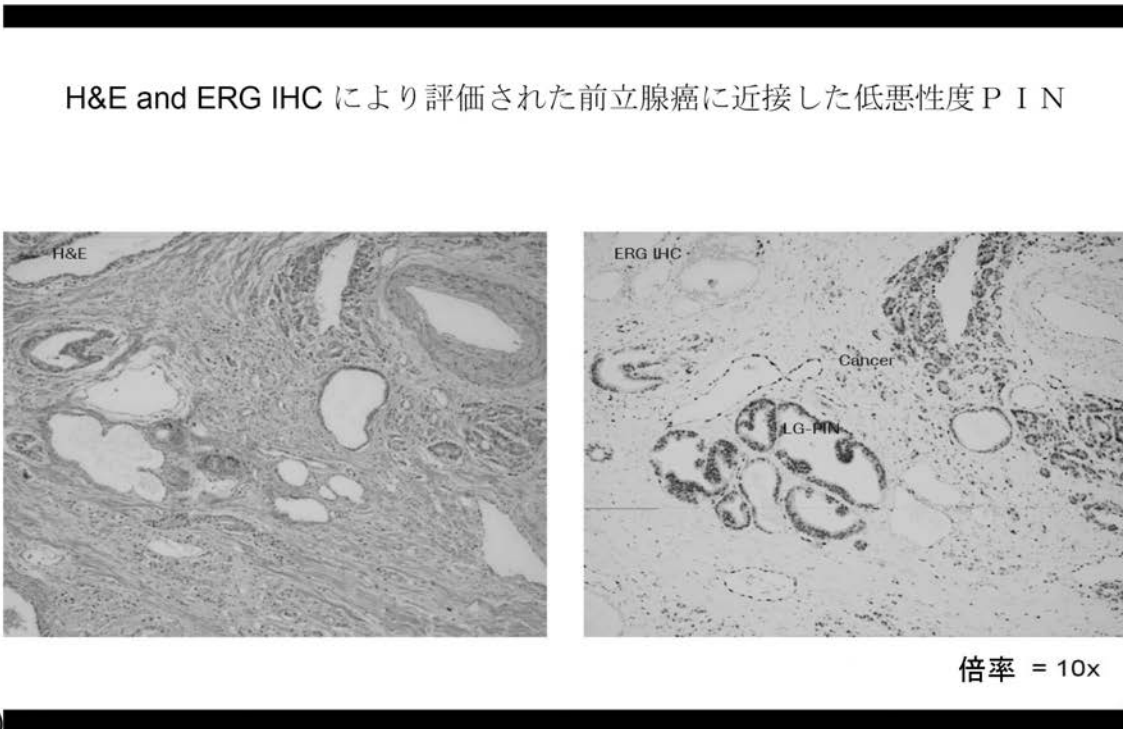
挿入



5p ERG 欠失 及び
3p ERG 複製

【 図 3 】

図 3. (A) H&E and ERG IHC により評価された前立腺癌に近接した低悪性度 P I N
(B) LG-PIN 及び近接の癌における ERG IHC の詳細な姿



【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成26年1月24日 (2014.1.24)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

被験者における前立腺癌の早期診断のための方法であって、前記被験者における低悪性度前立腺上皮細胞内腫瘍（L G - P I N）の存在を決定することを含み、

（a）前立腺癌に対して陰性であると以前に判断されている被験者からの試料を提供し；
（b）核酸ハイブリダイゼーション技術を用いて、ゲノムDNAの染色体再構築を検出することによりアンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分及びER G遺伝子からの3'部分を有する遺伝子融合の試料の有無を決定し、
（c）免疫組織化学アッセイを用いてER Gタンパク質の発現レベルを検出することを含み、

工程（b）において検出される遺伝子融合と工程（c）において検出されるER Gの過剰発現の両方の該試料における存在が、被験者における低悪性度のPINを示す方法。

【請求項2】

サンプルが前立腺細胞のサンプルであり、工程（b）においてインサイツハイブリダイゼーション（ISH）アッセイが実行され、

該方法が更に

（d）工程（c）において検出されるER Gタンパク質の発現レベルを対照試料におけるER Gタンパク質の発現レベルと比較し、

（e）前記検査試料中の前立腺細胞におけるER Gの発現のレベルが対照試料のそれよりも高く、工程（b）で決定されるように、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分とER G遺伝子からの3'部分の遺伝子融合が存在する場合に、前記被験者において、前記前立腺細胞が癌化するか又は試料の遺伝子座に隣接した癌細胞の指標となることを決定することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

アンドロゲン調節遺伝子が、TMPRSS2、NDRG1、SLC45A3、及びPSAを含む群から選択され得る、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

工程（b）がインサイツハイブリダイゼーション、マイクロアレイ及びサザンプロットからなる群から選択される核酸ハイブリダイゼーション技術を用いてゲノムDNAの染色体再構築を検出することを含み、又は工程（b）がアンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの5'部分とER Gからの3'部分を有するキメラmRNAを検出することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

前記インサイツハイブリダイゼーションが、RP11-95I21及びCTD-2506J13から開発され、染色体21q22.3上に位置している5pプローブ、及びRP11-476D17及びRP11-24A11から開発され、染色体21q22.3上に位置しているER G 3pプローブからなる群から選択されるプローブを利用する蛍光インサイツハイブリダイゼーション（FISH）である、請求項2又は4に記載の方法。

【請求項6】

工程（c）が、アンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域のER G遺伝子への融合に起因するアミノ末端切断ER Gのタンパク質を検出することを含み、又は工程（c）が、アンドロゲン調節遺伝子の転写制御領域によりコードされるアミノ末端部分とER G遺伝子からのカルボキシ末端部分を有するキメラタンパク質を検出することを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項7】

遺伝子融合が、アンドロゲン調節遺伝子とER G遺伝子の融合であり、方法が、遺伝子融合におけるゲノムの欠失の有無に基づいて、前立腺細胞を特徴付ける工程を更に含

む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ゲノムの欠失が、染色体 21 における T M P R S S 2 遺伝子及び E R G 遺伝子の間のゲノム DNA の欠失である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記欠失が、E R G 遺伝子のエクソン 1 の欠失を含む、又は前記欠失が T M P R S S 2 遺伝子のエクソン 3 の欠失を含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記欠失が、ゲノム DNA の 2 . 8 から 2 . 8 5 メガベースの間の欠失である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

前記欠失が、R P 1 1 - 9 5 I 2 1、C T D - 2 5 0 6 J 1 3、R P 1 1 - 4 7 6 D 1 7 及び R P 1 1 - 2 4 A 1 1 からなる群から選択される少なくとも一の蛍光標識化プローブを用いる F I S H アッセイを用いて検出される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

被験者において、欠失の存在が転移性前立腺癌を示す、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

正常な隣接細胞と比較して目視可能な核小体が無い核の大きさが拡大した異型管腔細胞の存在を決定するために、ヘマトキシリンおよびエオシン染色を用いた前記試料中の前立腺細胞を染色することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

前記試料中の前立腺細胞中の前立腺特異抗原 (P S A) の存在を決定することを更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

前記患者が、針生検により決定される場合に前立腺癌に対して陰性である、請求項 1 に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

発明の簡潔な概要

本開示は前立腺癌の診断のための改良された方法を提供する。例えば、本発明は、被験者からの試料を提供し；核酸ハイブリダイゼーション技術を用いて、ゲノム DNA の染色体再構築を検出することによりアンドロゲン調節遺伝子の転写調節領域からの 5' 部分及び E R G 遺伝子からの 3' 部分を有する遺伝子融合の試料の有無を決定し、免疫組織化学アッセイを用いて E R G タンパク質の過剰発現を検出することを含み、被験者の低悪性度前立腺上皮細胞内腫瘍 (L G - P I N) の存在を決定することを含む、前記被験者における前立腺癌の早期診断のための方法に関し、ここで遺伝子融合と E R G の過剰発現の両方の該試料における存在が、癌の存在に関連する被験者における低悪性度の P I N を示し、又は癌を予測し、及び前記被験者が前立腺癌に対して陰性であると以前に決定されている。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

典型的な方法において、E R G タンパク質の過剰発現の検出は、アンドロゲン調節遺伝

子の転写調節領域の E R G 遺伝子への融合に起因するアミノ末端切断 E R G のタンパク質を検出することを含む。更に別の実施態様において、過剰発現の検出は、アンドロゲン調節遺伝子の転写制御領域によりコードされるアミノ末端部分と E R G 遺伝子からのカルボキシ末端部分を有するキメラタンパク質を検出することを含む。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2012/026551
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12Q 1/68 (2012.01) USPC - 435/6.11 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, 33/574, 33/566 (2012.01) USPC - 435/6.11, 6.12, 7.1; 436/501, 64 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatBase, Google, Orbit.com, Google Patents, Proquest, Google Scholar.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2008/0254481 A1 (LOVE et al) 16 October 2008 (16.10.2008) entire document	1-4, 6-21
Y	US 2009/0208937 A1 (CHINNAIYAN et al) 20 August 2009 (20.08.2009) entire document	1-4, 6-21
A	JONIAU et al. Prostatic Intraepithelial neoplasia (PIN): importance and clinical management. European urology 48 (2005) 379-385. Retrieved from the internet. Retrieved on [11.05.2012] <URL: http://www.europeanurology.com/article/S0302-2838(05)00149-1/pdf/Prostatic+Intraepithelial+Neoplasia+(PIN)%3A+Importance+and+Clinical+Management >. Pages 379-381	1-21
A	US 6,054,320 A (PATIERNO et al) 25 April 2000 (25.04.2000) entire document	1-21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 14 May 2012		Date of mailing of the international search report 31 MAY 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: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

フロントページの続き

(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, T
J, 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, R
O, 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, H
U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI
, NO, NZ, OM, 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

(72) 発明者 ネーグル, レイ
アメリカ合衆国 アリゾナ 85719, ツーソン, イースト ヘレン ストリート 203
3

(72) 発明者 サティヤナーラーヤナ, ウバラッカ
アメリカ合衆国 アリゾナ 85755, ツーソン, ウエスト モンテルポ ドライブ 11
03

(72) 発明者 ナギー, アレクサンドラ ディア
アメリカ合衆国 アリゾナ 85737, オロ ヴァレー, ウエスト ウィンブルドン ウェ
イ 1787

(72) 発明者 コルテス, コニー
アメリカ合衆国 アリゾナ 85704, ツーソン, ノース オラクル ロード 6203
9901

(72) 発明者 ガルシャ, カール
アメリカ合衆国 アリゾナ 85629, サファリータ, サウス セオドア ルーズベルト
ウェイ 15058

(72) 発明者 ディッタモア, ライアン
アメリカ合衆国 アリゾナ 85755, ツーソン, ノース トール グラス ドライブ 1
2162

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ42 QQ53 QR32 QR36 QR40 QR48 QR55
QR72 QS33 QS34

专利名称(译)	前列腺活检中低级别PIN (LG-PIN) 中ERG基因重排和蛋白质过度表达的存在		
公开(公告)号	JP2014507163A	公开(公告)日	2014-03-27
申请号	JP2013555605	申请日	2012-02-24
[标]申请(专利权)人(译)	文塔纳医疗系统公司		
申请(专利权)人(译)	本塔纳医疗系统, 墨水.		
[标]发明人	ペスタノゲイリー ネーグルレイ サティヤナーラーヤナウバラッカ ナギーアレクサンドラディア コルテスコニー ガルシャカール ディッタモアライアン		
发明人	ペスタノ, ゲイリー ネーグル, レイ サティヤナーラーヤナ, ウバラッカ ナギー, アレクサンドラ ディア コルテス, コニー ガルシャ, カール ディッタモア, ライアン		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/574 G01N37/00		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q1/6841 C12Q2600/156 G01N33/57434 G01N2333/4703		
FI分类号	C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/574.A G01N37/00.102		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR40 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR72 4B063/QS33 4B063/QS34		
优先权	61/446300 2011-02-24 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本公开中, ERG的过表达, 早期发现与使用组合ERG IHC-FISH测定前列腺癌的预后基因重排, 和/或方法。一种示例性的方法提供来自所述受试者的样品;通过检测基因组DNA“部分的染色体重建和从ERG基因使用核酸杂交技术, 5从雄激素调节的基因的转录调控区3”确定具有部分包括使用免疫组织化学测定检测ERG蛋白的过表达的基因融合体的样品的存在或不存在, 所述受试者低档前列腺上皮细胞中的肿瘤 (LG-PIN) 其中基因融合和ERG过表达的样品的存在表明与癌症的存在相关的受试者的低等级, PIN或预测癌症, 并且该受试者先前已被确定为前列腺癌阴性。

FIGURE 1A

