

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2016-28584

(P2016-28584A)

(43) 公開日 平成28年3月3日 (2016. 3. 3)

(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
G O 1 N 33/68 (2006.01)	G O 1 N 33/68	
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

審査請求 有 請求項の数 25 O L (全 320 頁)

(21) 出願番号	特願2015-176236 (P2015-176236)	(71) 出願人	511107212
(22) 出願日	平成27年9月8日 (2015. 9. 8)		カリス ライフ サイエンス スウィッ
(62) 分割の表示	特願2012-556185 (P2012-556185)		ツァーランド ホールディングス ゲーエ
原出願日	平成23年3月1日 (2011. 3. 1)		ムペーハー
(31) 優先権主張番号	61/364, 785	(74) 代理人	100102978
(32) 優先日	平成22年7月15日 (2010. 7. 15)		弁理士 清水 初志
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100102118
(31) 優先権主張番号	61/357, 517		弁理士 春名 雅夫
(32) 優先日	平成22年6月22日 (2010. 6. 22)	(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	61/274, 124	(74) 代理人	100119507
(32) 優先日	平成22年3月1日 (2010. 3. 1)		弁理士 刑部 俊
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 セラノーシスのためのバイオマーカー

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】治療と可視化を同時に行うセラノーシス (theranosis) のためのバイオマーカーの提供。

【解決手段】診断方法、治療関連方法、又は予後判定方法に関して、生理学的状態のプロファイリング又は表現型の決定において、核酸、タンパク質及び小胞等の循環構造物等の体液由来の循環バイオマーカーを使用することができ、バイオマーカーを、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セラノーシス目的に使用することができ、かつ治療効果を決定するために使用することもできるバイオマーカー。前記バイオマーカーが、小胞及びマイクロRNAを含む循環バイオマーカーであってよい癌の検出を行う方法。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

以下の工程を含む、それを必要とする対象において癌の検出を行う方法：

(a) 対象由来の試料における小胞集団のバイオシグネチャーを同定する工程であって、該バイオシグネチャーが、小胞集団と関連しているMMP7タンパク質の存在もしくはレベルを含む、工程；ならびに

(b) 該バイオシグネチャーを参照と比較する工程であって、該参照と比較されたバイオシグネチャーの差異を用いて、検出が提供される、工程。

【請求項 2】

前記試料が体液を含む、請求項1記載の方法。

10

【請求項 3】

前記体液が、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、尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、涙液、囊胞液、胸膜液、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、膺分泌液、粘膜分泌液、水便、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、または臍帯血を含む、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

前記小胞集団が直径20nm～800nmの小胞を含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

20

【請求項 5】

前記小胞集団が直径20nm～200nmの小胞を含む、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

前記小胞集団を、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、イムノアッセイ法、マイクロ流体工学分離、またはこれらの組み合わせに供する、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

前記バイオシグネチャーが、1つもしくは複数の細胞特異的バイオマーカー、1つもしくは複数の癌特異的バイオマーカー、および／または1つもしくは複数の一般的小胞バイオマーカーの存在またはレベルをさらに含む、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

30

【請求項 8】

前記1つまたは複数の癌特異的バイオマーカーが、EpCAM、B7H3、CD24、Tissue Factor、またはこれらの組み合わせを含む、請求項7記載の方法。

【請求項 9】

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、1つまたは複数のテトラスパニンを含む、請求項7～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、MFG-E8、およびアネキシンVのうちの1つまたは複数、またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項7～9のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項 11】

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、表3に挙げられた1つまたは複数のマーカーを含む、請求項7～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 12】

前記バイオシグネチャーがMMP7に対する結合物質を用いた解析を含む、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項 13】

前記結合物質が、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体フラグメント、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸（PNA）、ロックド（locked）核酸（LNA）、レクチン、ペプチド

50

、デンドリマー、膜タンパク質標識物質、または化学物質を含む、請求項12記載の方法。

【請求項14】

前記バイオシグネチャーを同定する工程が、1つまたは複数の核酸の評価をさらに含む、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

前記1つまたは複数の核酸が、DNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、またはshRNAを含む、請求項14記載の方法。

【請求項16】

前記癌が前立腺癌、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、または黒色腫を含む、請求項1～15のいずれか一項記載の方法。

10

【請求項17】

前記癌が前立腺癌を含み、前記バイオシグネチャーが、PCSAおよびPSMAのうちの1つもしくは複数、ならびにB7H3およびEpCamのうちの1つもしくは複数、またはPCSA

の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項18】

前記癌が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーが、DR3、STEAP、Epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびTETSのうちの1つもしくは複数、または

20

CD9、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP、EPHA2、TMEM211、UNC93A、CD66e、CD24、フェリチン、EpCAM、NGAL、GPR30、p53、MUC17、NCAM、およびB7H3のうちの1つもしくは複数、または

CD9、EPHA2、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP1、GPR110、MMP9、TMEM211、UNC93、CD66e、CD24、Ngal、EpCAM、GPR30、OPN、MUC17、p53、MUC2、Ncam、およびTSG101のうちの1つもしくは複数、または

TMEM211およびCD24、または

EpCamおよびCD66、または

EGFR、EPHA2、p53、およびKRASのうちの1つもしくは複数

の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

30

【請求項19】

前記癌が乳癌を含み、前記バイオシグネチャーが、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のうちの1つもしくは複数、または

CD9、Epha2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1 (CD54)、A33、DR3、CD66e、MFG-e8、ヘプシン、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、5T4、PAI-1、およびCD45のうちの1つもしくは複数、または

BRCA、cMET、DLL4、Epha2、EGFR、ER、ERB2、ERB3、ERB4、およびVEGFのうちの1つもしくは複数

40

の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項20】

前記癌が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーが、SPB、SPC、TFF3、PGP9.5、CD9、MS4A1、NDUFB7、Cal3、iC3b、CD63、MUC1、TGM2、CD81、B7H3、DR3、MACC1、TrkB、Tissue Factor (TF)、TIMP1、GPCR (GPR110)、MMP9、TMEM211、TWEAK、CDADC1、UNC93、APC、A33、CD66e、CD24、ErbB2、CD10、BDNF、フェリチン、セプラーゼ、NGAL、EpCam、ErbB2、オステオポンチン (OPN)、LDH、HSP70、MUC2、NCAM、CXCL12、ハプトグロビン (HAP)、CRP、およびGro- α のうちの1つもしくは複数、または

50

EPHA2、CD24、EGFR、およびCEAのうちの1つもしくは複数、または
 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、DR
 3、PSMA、GPCR 110 (GPR110)、EPHA2、CEACAM、PTP、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93a
 、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびMUC2のうちの1つもしくは複数
 、または

SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、Gal3、iC3b、MUC1、GPCR 110、CABYR、およびMUC17のうちの1つもしくは複数、または

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、NACC1、MMP9、BRCA1、P27、NSE、M2PK、HCG、
 MUC1、CEA、CEACAM、CYTO 7、EPCAM、MS4A1、MUC1、MUC2、PGP9、SPA、SPA、SPD、P53、G
 PCR (GPR110)、SFTPC、UNC2R2、NSE、INGA3、INTG b4、MMP1、PNT、RACK1、NAP2、HLA、B
 MP2、PTH1R、PAN ADH、NCAM、CD151、CKS1、FSHR、HIF、KRAS、LAMP2、SNAIL、TRIM29、T
 SPAN1、TWIST1、ASPH、およびAURKBのうちの1つもしくは複数、または

ASPH、BRCA1、EGFR、EPHA2、ErbB2、HIF、KRAS、MS4A1、P27、P53、ADH、PGP9、PGP9.5
 、およびVEGFのうちの1つもしくは複数

の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項 2 1】

前記バイオシグネチャーがABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、AR、AREG、A
 SNS、BCL2、BCRP、BDCA1、 β IIIチューブリン、BIRC5、B-RAF、BRCA1、BRCA2、CA2、カベ
 オリソ、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、F
 SHPRH1、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、P
 I3K、POLA、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B
 、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイビン、TK1、TL
 E3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL
 、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数の存在またはレベルをさらに含む、請求項16
 記載の方法。

【請求項 2 2】

前記バイオシグネチャーがKRASにおける突然変異をさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項 2 3】

前記KRASにおける突然変異を、前記小胞集団内に由来するKRAS mRNAペイロードの配列
 決定によって判定する、請求項22記載の方法。

【請求項 2 4】

請求項1~23のいずれか一項記載の方法を実施するための試薬を含む、キット。

【請求項 2 5】

前記試薬が前記小胞集団を検出するための捕捉物質および／または検出物質を含む、請
 求項24記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

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

10

20

30

40

50

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。

【0002】

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）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、気管支肺胞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、疾患と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。

10

【0003】

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シスを提供することができる。

20

【0004】

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】

【0005】

概要

30

本明細書に開示されるものは、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である。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。

【0006】

ある局面において、本発明は、それを必要とする対象において疾患または障害のセラノーシスを行う方法であって、対象由来の試料における小胞集団のバイオシグネチャーを同定する工程であって、該バイオシグネチャーが、1つもしくは複数の細胞特異的バイオマーカーの存在もしくはレベル、および／または1つもしくは複数の疾患特異的バイオマーカーの存在もしくはレベル、および1つもしくは複数の一般的小胞バイオマーカーの存在もしくはレベルを含む、工程；ならびに、該バイオシグネチャーを参照と比較する工程であって、該比較が、該対象は治療剤に対する応答者と非応答者のどちらであるのかを示し、それによって、該疾患または障害のセラノーシスを行う工程を含む、方法を提供する。いくつかの態様において、対象は、前記治療剤に曝露されたことがない。他の態様において、セラノーシスは、治療効果を決定することを含む。本明細書に提供される方法はインビトロで実施することができ、バイオマーカーはインビトロ環境で評価される。

40

【0007】

いくつかの態様において、対象は、現在、疾患または障害に対する治療を受けていない

50

。他の態様において、対象は、疾患または障害に対する既存の治療を受けている。本方法はさらに、治療剤を対象に投与することを含むことができる。

【0008】

バイオシグネチャーを同定する方法は、一つのアッセイにおいて実施することができる。たとえば、多重法を使用して複数のバイオマーカーを評価することができる。いくつかの態様においては、バイオシグネチャー中のすべてのマーカーが多重化アッセイにおいて評価される。他の態様においては、バイオマーカーのいくつかが一つのアッセイにおいて評価され、一つまたは複数の他のバイオマーカーが、同じく多重化アッセイであることができる異なるアッセイにおいて評価される。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において評価し、複数のマイクロRNAを第二の多重アッセイにおいて評価することができる。第一および第二の多重アッセイの結果を組み合わせ、小胞表面バイオマーカーおよびマイクロRNAを含むバイオシグネチャーを同定することができる。

10

【0009】

いくつかの態様において、評価される試料は体液を含む、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、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、胚盤腔液、または臍帯血を非限定的に含む任意の適当な体液を含むことができる。いくつかの態様において、体液は血清または血漿を含む。

20

【0010】

小胞集団は任意の有用な小胞集団を含む。いくつかの態様において、小胞集団は20nm～1500nmの直径を有する。他の態様において、小胞集団は、20nm～800nmの直径を有する小胞を含む。他の態様において、小胞集団は、20nm～200nmの直径を有する小胞を含む。

【0011】

小胞集団は、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、アフィニティー精製、アフィニティー捕捉、イムノアッセイ、マイクロ流体工学分離、またはこれらの組み合わせに供することができる。これらの方法を試料に対して実施して、所望の小胞を単離または捕捉することができる。小胞集団はまた、はじめに小胞集団を単離または捕捉するための技術を実施することなく評価することもできる。

30

【0012】

一つまたは複数の細胞特異的バイオマーカー、一つまたは複数の疾患特異的バイオマーカーおよび一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーはタンパク質を含むことができる。タンパク質は小胞表面抗原および／または小胞ペイロードであることができる。いくつかの態様において、一つまたは複数の疾患特異的バイオマーカーは、EpCAM、B7H3、CD24、Tissue Factor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、一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーは、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、MFG-E8、アネキシンVまたはそれらの組み合わせを含む。

【0013】

本発明のバイオシグネチャーは、結合物質を使用して同定することができる。いくつかの態様において、バイオシグネチャーを同定することは、試料を、二種の異なる解析対象物に特異的な少なくとも二つの結合物質と接触させることを含む。たとえば、バイオシグネチャーを同定することは、試料を、三種の異なる解析対象物に特異的な少なくとも三つの結合物質と接触させることを含むことができる。結合物質は、関心対象のバイオマーカーに結合することができる任意の有用な実体であることができる。本発明で使用するための結合物質は、非限定的に、抗原、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体フラグメント、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または化学物質を含む。

40

【0014】

50

本発明のバイオシグネチャーを同定することは、一つまたは複数の核酸の評価を含むことができる。本発明のバイオシグネチャーを同定することはまた、一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の評価を含むことができる。一つまたは複数の核酸は、非限定的に、DNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNAまたはshRNAであることができる。いくつかの態様において、核酸は一つまたは複数のマイクロRNAを含む。マイクロRNAは、循環バイオマーカーであることもできるし、たとえば小胞ペイロードとして小胞と関連していることもできる。一つまたは複数の核酸は、miR-21、miR-205、miR-92、miR-147、miR-141またはmiR-574の一つまたは複数であることができる。一つまたは複数の核酸は、図3～6、19～24、26～30、32、33、36、40～42、47、51、53～57および／または60に記載された一つまたは複数のマイクロRNAであることができる。一つまたは複数の核酸は、miR-21、miR-205、miR-92、miR-147またはmiR-574から選択される一つまたは複数のマイクロRNAであることができる。

10

【0015】

対象が応答者であるのか非応答者であるのかを同定するためには、統計的弁別分析および分類法を使用することができる。本明細書において使用される応答者は、治療がその後に効果を示すかどうかにかかわらず、候補治療に応答すると予測される対象を含む。応答者はまた、現在の治療に対して部分的な応答を示す対象を含む。いくつかの態様において、対象を治療剤に対する非応答者または応答者として同定することは、対象のバイオシグネチャーを、治療剤に対して以前に同定された応答者および非応答者からのバイオシグネチャーのセットと関連させることを含む。対象者のバイオシグネチャーが、以前に同定された非応答者からのバイオシグネチャーのセットよりも密接に、以前に同定された応答者からのバイオシグネチャーのセットと関連しているならば、その対象を応答者として同定することができる。対象者のバイオシグネチャーが、以前に同定された応答者からのバイオシグネチャーのセットよりも密接に、以前に同定された非応答者からのバイオシグネチャーのセットと関連しているならば、その対象を非応答者として同定することができる。いくつかの態様において、対象を治療剤に対する非応答者または応答者として同定することは、以前に同定された応答者および非応答者を用いて訓練を受けた分類器を使用して対象のバイオシグネチャーを分類することを含む。

20

【0016】

本発明の方法は、癌のセラノーシスに使用することができる。たとえば、癌は、前立腺癌、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、卵巣癌または黒色腫であることができる。

30

【0017】

本発明の方法は、前立腺癌のセラノーシスを実施するために使用することができる。一つの態様において、疾患または障害は前立腺癌を含み、バイオシグネチャーは、PCSAおよびPSMAの一つまたは複数ならびにB7H3およびEpCamの一つまたは複数を含む。もう一つの態様において、疾患または障害は前立腺癌を含み、バイオシグネチャーはPCSAを含む。

【0018】

本発明の方法は、結腸直腸癌のセラノーシスを実施するために使用することができる。一つの態様において、疾患または障害は結腸直腸癌を含み、バイオシグネチャーは、DR3、STEAP、Epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2およびTETSの一つまたは複数を含む。もう一つの態様において、疾患または障害は結腸直腸癌を含み、バイオシグネチャーは、CD9、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP、EPHA2、TMEM211、UNC93A、CD66e、CD24、フェリチン、EpCAM、NGAL、GPR30、p53、MUC17、NCAMおよびB7H3の一つまたは複数を含む。さらに別の態様において、疾患または障害は結腸直腸癌を含み、バイオシグネチャーは、CD9、EPHA2、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP1、GPR110、MMP9、TMEM211、UNC93、CD66e、CD24、Ngal、EpCAM、GPR30、OPN、MUC17、p53、MUC2、NcamおよびTSG101の一つまたは複数を含む。態様において、疾患または障害は結腸直腸癌を含み、バイオシグネチャーはTMEM211およびCD24を含む。他の態様において、疾患または障害は結腸直腸癌を含み、バイオシグネチャーはEpCamおよびCD66を含む。一つの態

40

50

様において、疾患または障害は結腸直腸癌を含み、バイオシグネチャーは、EGFR、EPhA2、p53およびKRASの一つまたは複数を含む。

【0019】

本発明の方法は、乳癌のセラノースを実施するために使用することができる。一つの態様において、疾患または障害は乳癌を含み、バイオシグネチャーは、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およびERB4の一つまたは複数を含む。もう一つの態様において、疾患または障害は乳癌を含み、バイオシグネチャーは、CD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1 (CD54)、A33、DR3、CD66e、MFG-e8、ヘプシン、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、5T4、PAI-1およびCD45の一つまたは複数を含む。さらに他の態様において、疾患または障害は乳癌を含み、バイオシグネチャーは、BRCA、cMET、DLL4、EphA2、EGFR、ER、ERB2、ERB3、ERB4およびVEGFの一つまたは複数を含む。

【0020】

本発明の方法は、また肺癌のセラノースを実施するために使用することができる。本発明の態様において、疾患または障害は肺癌を含み、バイオシグネチャーは、SPB、SPC、TFF3、PGP9.5、CD9、MS4A1、NDUFB7、Gal3、iC3b、CD63、MUC1、TGM2、CD81、B7H3、DR3、MACC1、TrkB、Tissue Factor (TF)、TIMP1、GPCR (GPR110)、MMP9、MMP7、TMEM211、TWEAK、CDADC1、UNC93、APC、A33、CD66e、CD24、ErbB2、CD10、BDNF、フェリチン、セプラーゼ、NGAL、EpCam、ErbB2、オステオポンチン (OPN)、LDH、HSP70、MUC2、NCAM、CXC L12、ハプトグロビン (HAP)、CRPおよびGro α の一つまたは複数を含む。他の態様において、疾患または障害は肺癌を含み、バイオシグネチャーは、EPhA2、CD24、EGFRおよびCEAの一つまたは複数を含む。さらに他の態様において、疾患または障害は肺癌を含み、バイオシグネチャーは、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、GPCR110 (GPR110)、EPhA2、CEACAM、PTP、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93a、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2およびMUC2の一つまたは複数を含む。一つの態様において、疾患または障害は肺癌を含み、バイオシグネチャーは、SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、Gal3、iC3b、MUC1、GPCR110、CABYRおよびMUC17の一つまたは複数を含む。もう一つの態様において、疾患または障害は肺癌を含み、バイオシグネチャーは、CD9、CD63、CD81、B7H3、PRO GRP、CYT018、FTH1、TGM2、CENPH、アネキシンI、アネキシンV、ERB2、EGFR、CRP、VEGF、CYT019、CCL2、オステオポンチン (OST19)、オステオポンチン (OST22)、BTUB、CD45、TIMP、NACC1、MMP9、BRCA1、P27、NSE、M2PK、HCG、MUC1、CEA、CEACAM、CYT07、EPCAM、MS4A1、MUC1、MUC2、PGP9、SPA、SPA、SPD、P53、GPCR (GPR110)、SFTPC、UNC93、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の一つまたは複数を含む。疾患は肺癌であることができ、バイオシグネチャーは、ASPH、BRCA1、EGFR、EPhA2、ErbB2、HIF、KRAS、MS4A1、P27、P53、ADH、PGP9、PGP9.5、VEGFの一つまたは複数を含むことができる。

【0021】

本発明は、薬物関連バイオ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スを実施するために使用することができる。ある態様において、疾患または障害は癌を含み、バイオシグネチャーは、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、ERBB2、ERCC1、ERCC3、EREG、ESR1、FLT1、葉酸受容体、FOLR1、FOLR2、FSHB、FSHPRH1、FSHR、FYN、GART、GNRH1、GNRHR1、GSTP1、HCK、HDAC1、hENT-1、Her

10

20

30

40

50

2/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、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1およびZAP70の一つまたは複数ならびに一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーを含む。参照と比較した場合の一つまたは複数のマーカーの過剰発現、過小発現または突然変異を使用して治療剤を選択する。一つまたは複数のマーカーはKRASを含むことができる。野生型参照と比較した場合のKRASにおける突然変異を使用して治療剤を選択することができる。ある態様において、KRASにおける突然変異は、KRAS mRNAを配列決定することによって決定される。評価されるKRAS mRNAは、小胞集団内のペイロードであることができる。

10

【0022】

小胞集団を評価するために使用される一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーは、関心対象の小胞中に一般に見られる小胞マーカーを含む。たとえば、一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーは、一つまたは複数のテトラスパニン、たとえばCD9、CD63および/またはCD81であることができる。一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーは、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、MFG-E8およびアネキシンVの一つまたは複数であることができる。一つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーはまた、表3に記載された一つまたは複数のマーカーであることもできる。

20

【0023】

本発明の方法は、バイオマーカー解析、たとえば循環バイオマーカーおよび/または小胞の解析を通して評価することができる任意の疾患または障害のセラノースに使用することができる。疾患または障害は、非限定的に、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症または疼痛を含む。

【0024】

いくつかの態様において、癌は、乳癌、卵巣癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、結腸癌、過形成性ポリープ、腺腫、結腸直腸癌、高度異形成、低度異形成、前立腺肥大症、前立腺癌、黒色腫、膵臓癌、脳腫瘍、神経膠芽腫、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）、胃癌、結腸直腸癌（CRC）、CRCデュークスB、CRCデュークスC-D、血液悪性腫瘍、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、またはバーキットリンパ腫を含む。

30

【0025】

癌はまた、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；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；カボジ肉腫

40

50

；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；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；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癌；卵巣癌；卵巣上皮癌；卵巣胚細胞腫瘍；卵巣低悪性度腫瘍；脾臓癌；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ことができる。

10

【0026】

前癌状態は、非限定的に、日光角化症、萎縮性胃炎、白斑症、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、子宮頸異形成、色素性乾皮症、バレット食道、結腸直腸ポリープ、悪性転換性ウイルス感染症、HIV、HPVまたは悪性化するおそれのある他の増殖もしくは病変であることができる。

20

【0027】

いくつかの態様において、自己免疫疾患は、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を含む。

【0028】

いくつかの態様において、心血管疾患は、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、虚血、高血圧症、狭窄症、血管閉塞症または血栓症事象を含む。

30

【0029】

本方法によってセラノーシスを実施される神経学的疾患は、非限定的に、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、神経精神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を含む。

【0030】

いくつかの態様において、疼痛は、線維筋痛症、慢性神経因性疼痛または末梢神経因性疼痛を含む。他の態様において、感染症は、細菌感染、ウイルス感染、酵母感染、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、HCV、肝炎、梅毒、髄膜炎、マラリア、結核、インフルエンザを含む。

40

【0031】

もう一つの局面において、本発明は、それを必要とする対象において疾患または障害のセラノーシスを行う方法であって、対象由来の試料における小胞集団のバイオシグネチャーを同定する工程であって、該バイオシグネチャーがKRAS、BRAF、PIK3CA、および／またはc-kitの突然変異を含む工程；ならびに、該バイオシグネチャーを参照と比較して、KRAS、BRAF、PIK3CA、および／またはc-kitにおける突然変異の存在を同定し、それによって該疾患または障害のセラノーシスを行う工程を提供する。突然変異は、小胞集団から単離

50

されたmRNA中に検出することができる。いくつかの態様において、バイオシグネチャーはKRASの突然変異を含む。KRASの突然変異は、非限定的にパニツムバブおよびセツキシマブを含むEGFR阻害剤によって対象を治療すべきかどうかを決定する際に有用であることができる。KRASの突然変異は、EGFR阻害剤治療に対する耐性を示すことができる。

【0032】

もう一つの局面において、本発明は、本発明の方法のいずれかを実施するための試薬の使用を提供する。試薬は、疾患または障害のセラノーシスに使用することができる。関連する局面において、本発明はまた、本発明の方法のいずれかを実施するための試薬を含むキットを提供する。

[本発明1001]

以下の工程を含む、それを必要とする対象において疾患または障害のセラノーシス (theranosis) を行う方法：

(a) 対象由来の試料における小胞集団のバイオシグネチャーを同定する工程であって、該バイオシグネチャーが、1つもしくは複数の細胞特異的バイオマーカーの存在もしくはレベル、および／または1つもしくは複数の疾患特異的バイオマーカーの存在もしくはレベル、および1つもしくは複数の一般的小胞バイオマーカーの存在もしくはレベルを含む、工程；ならびに

(b) 該バイオシグネチャーを参照と比較する工程であって、該比較が、該対象は治療剤に対する応答者と非応答者のどちらであるのかを示し、それによって、該疾患または障害のセラノーシスを行う工程。

[本発明1002]

前記対象が前記治療剤に曝露されたことがない、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記セラノーシスが、治療効果を決定する工程を含む、本発明1001の方法。

[本発明1004]

前記同定する工程が1回のアッセイ法で行われる、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

前記試料が体液を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1006]

前記体液が、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、腓液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、胚盤胞腔液、または臍帯血を含む、本発明1005の方法。

[本発明1007]

前記体液が血清または血漿を含む、本発明1005の方法。

[本発明1008]

前記小胞集団が直径20nm～800nmの小胞を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1009]

前記小胞集団が直径20nm～200nmの小胞を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記小胞集団を、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、イムノアッセイ法、マイクロ流体工学分離、またはこれらの組み合わせに供する、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1011]

前記1つまたは複数の細胞特異的バイオマーカー、1つまたは複数の疾患特異的バイオマーカー、および1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーがタンパク質を含む、本発明1

10

20

30

40

50

001～1003のいずれかの方法。

[本発明1012]

前記1つまたは複数の疾患特異的バイオマーカーが、EpCAM、B7H3、CD24、Tissue Factor、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1013]

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、MFG-E8、アネキシンV、またはこれらの組み合わせを含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1014]

前記バイオシグネチャーが結合物質を用いた解析を含む、本発明1001の方法。

10

[本発明1015]

前記バイオシグネチャーを同定する工程が、前記試料を3種の異なる分析物に特異的な少なくとも3種の結合物質と接触させる工程を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1016]

前記結合物質が、抗原、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体フラグメント、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸（PNA）、ロックド（locked）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、または化学物質を含む、本発明1014または1015の方法。

[本発明1017]

20

前記バイオシグネチャーを同定する工程が、1つまたは複数の核酸の評価を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1018]

前記1つまたは複数の核酸が、DNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、またはshRNAを含む、本発明1017の方法。

[本発明1019]

前記1つまたは複数の核酸が、miR-21、miR-205、miR-92、miR-147、miR-141、またはmiR-574のうちの1つまたは複数を含む、本発明1017の方法。

[本発明1020]

前記バイオシグネチャーを同定する工程が、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の評価を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

30

[本発明1021]

前記1つまたは複数の核酸が、図3～6、19～24、26～30、32、33、36、40～42、47、51、53～57、および／または60におけるマイクロRNAのうち1つまたは複数を含む、本発明1017の方法。

[本発明1022]

前記1つまたは複数の核酸が、miR-21、miR-205、miR-92、miR-147、またはmiR-574より選択されるマイクロRNAのうち1つまたは複数を含む、本発明1017の方法。

[本発明1023]

40

前記対象が前記疾患または障害に対して現在治療を受けていない、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1024]

前記対象が前記疾患または障害に対して既存の治療を受けている、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1025]

前記対象に前記治療剤を投与する工程をさらに含む、本発明1002の方法。

[本発明1026]

前記対象を前記治療剤に対する非応答者または応答者として同定することが、該対象の前記小胞バイオシグネチャーを、該治療剤に対する以前に同定された応答者および非応答

50

者由来の小胞バイオシグネチャーのセットに関連付けることを含む、本発明1002の方法。

[本発明1027]

前記対象の小胞バイオシグネチャーが、以前に同定された非応答者由来の小胞バイオシグネチャーのセットよりも密接に、以前に同定された応答者由来の小胞バイオシグネチャーのセットと相関している場合、該対象が応答者として同定される、本発明1026の方法。

[本発明1028]

前記対象の小胞バイオシグネチャーが、以前に同定された応答者由来の小胞バイオシグネチャーのセットよりも密接に、以前に同定された非応答者からの小胞バイオシグネチャーのセットと相関している場合、該対象が非応答者として同定される、本発明1026の方法。

[本発明1029]

前記対象を前記治療剤に対する非応答者または応答者として同定することが、以前に同定された応答者および非応答者を用いて訓練を受けた分類器に対して、該対象の前記小胞バイオシグネチャーを分類することを含む、本発明1002の方法。

[本発明1030]

前記疾患または障害が、前立腺癌、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、または黒色腫を含む、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1031]

前記疾患または障害が前立腺癌を含み、前記バイオシグネチャーがPCSAおよびPSMAのうちの1つまたは複数、ならびにB7H3およびEpCamのうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1032]

前記疾患または障害が前立腺癌を含み、前記バイオシグネチャーがPCSAを含む、本発明1030の方法。

[本発明1033]

前記疾患または障害が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーがDR3、STEAP、Epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびTETSのうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1034]

前記疾患または障害が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーがCD9、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP、EPHA2、TMEM211、UNC93A、CD66e、CD24、フェリチン、EpCAM、NGAL、GPR30、p53、MUC17、NCAM、およびB7H3のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1035]

前記疾患または障害が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーがCD9、EPHA2、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP1、GPR110、MMP9、TMEM211、UNC93、CD66e、CD24、Ngal、EpCAM、GPR30、OPN、MUC17、p53、MUC2、Ncam、およびTSG101のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1036]

前記疾患または障害が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーがTMEM211およびCD24を含む、本発明1030の方法。

[本発明1037]

前記疾患または障害が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーがEpCamおよびCD66を含む、本発明1030の方法。

[本発明1038]

前記疾患または障害が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーがEGFR、EPHA2、p53、およびKRASのうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1039]

前記疾患または障害が乳癌を含み、前記バイオシグネチャーがCD9、HSP70、Gal3、MIS、EGFR、ER、ICB3、CD63、B7H4、MUC1、DLL4、CD81、ERB3、VEGF、BCA225、BRCA、CA125

10

20

30

40

50

、CD174、CD24、ERB2、NGAL、GPR30、CYFRA21、CD31、cMET、MUC2、およびERB4のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1040]

前記疾患または障害が乳癌を含み、前記バイオシグネチャーがCD9、EphA2、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1 (CD54)、A33、DR3、CD66e、MFG-e8、ヘプシン、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、5T4、PAI-1、およびCD45のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1041]

前記疾患または障害が乳癌を含み、前記バイオシグネチャーがBRCA、cMET、DLL4、EphA2、EGFR、ER、ERB2、ERB3、ERB4、およびVEGFのうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1042]

前記疾患または障害が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーがSPB、SPC、TFF3、PGP9.5、CD9、MS4A1、NDUFB7、Cal3、iC3b、CD63、MUC1、TGM2、CD81、B7H3、DR3、MACC1、TrkB、Tissue Factor (TF)、TIMP1、GPCR (GPR110)、MMP9、MMP7、TMEM211、TWEAK、CDADC1、UNC93、APC、A33、CD66e、CD24、ErbB2、CD10、BDNF、フェリチン、セプラーゼ、NGAL、EpCam、ErbB2、オステオポンチン (OPN)、LDH、HSP70、MUC2、NCAM、CXCL12、ハプトグロビン (HAP)、CRP、およびGro- α のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1043]

前記疾患または障害が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーがEPHA2、CD24、EGFR、およびCEAのうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1044]

前記疾患または障害が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーが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、およびMUC2のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1045]

前記疾患または障害が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーがSPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、Gal3、iC3b、MUC1、GPCR 110、CABYR、およびMUC17のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1046]

前記疾患または障害が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーが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、NACC1、MMP9、BRCA1、P27、NSE、M2PK、HCG、MUC1、CEA、CEACAM、CYTO 7、EPCAM、MS4A1、MUC1、MUC2、PGP9、SPA、SPA、SPD、P53、GPCR (GPR110)、SFTPC、UNC2、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のうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1047]

前記疾患または障害が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーがASPH、BRCA1、EGFR、EPHA2、ErbB2、HIF、KRAS、MS4A1、P27、P53、ADH、PGP9、PGP9.5、およびVEGFのうちの1つまたは複数を含む、本発明1030の方法。

[本発明1048]

前記疾患または障害が癌を含み、前記バイオシグネチャーが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、CDK

10

20

30

40

50

N1A、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、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、サバイピン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数を含む、本発明1002の方法。

10

[本発明1049]

参照と比較した(a)の1つまたは複数のマーカーの過剰発現、過小発現、または突然変異を用いて、前記治療剤を選択する、本発明1048の方法。

[本発明1050]

(a)の1つまたは複数のマーカーがKRASを含み、野生型参照と比較したKRASにおける突然変異を用いて、治療剤を選択する、本発明1048の方法。

[本発明1051]

KRASにおける突然変異を、KRAS mRNAの配列決定によって判定する、本発明1050の方法。

[本発明1052]

前記KRAS mRNAが前記小胞集団内に負荷されている、本発明1051の方法。

[本発明1053]

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、1つまたは複数のテトラスパニンを含む、本発明1001~1003のいずれかまたは本発明1031~1052のいずれかの方法。

[本発明1054]

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、CD9、CD63、およびCD81のうちの1つまたは複数を含む、本発明1001~1003のいずれかまたは本発明1031~1052のいずれかの方法。

[本発明1055]

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、MFG-E8、およびアネキシンVのうちの1つまたは複数を含む、本発明1001~1003のいずれかまたは本発明1031~1052のいずれかの方法。

[本発明1056]

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、表3に挙げられた1つまたは複数のマーカーを含む、本発明1001~1003のいずれかまたは本発明1031~1052のいずれかの方法。

[本発明1057]

前記前記疾患または障害が、癌、前癌状態、炎症性疾患、免疫疾患、自己免疫疾患もしくは障害、心血管疾患もしくは障害、神経疾患もしくは障害、感染症、または疼痛を含む、本発明1001~1003のいずれかの方法。

[本発明1058]

前記癌が、乳癌、卵巣癌、肺癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、結腸癌、過形成性ポリープ、腺腫、結腸直腸癌、高度異形成、低度異形成、前立腺肥大症、前立腺癌、黒色腫、膵臓癌、脳腫瘍、神経膠芽腫、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)、胃癌、結腸直腸癌(CRC)、CRCデュークスB、CRCデュークスC-D、血液悪性腫瘍、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、またはバーキット

40

50

リンパ腫を含む、本発明1057の方法。

[本発明1059]

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；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；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；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；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癌；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、本発明1057の方法。

10

20

30

[本発明1060]

前記前癌状態が、日光角化症、萎縮性胃炎、白斑症、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、悪性転換性ウイルス感染症、HIV、またはHPVを含む、本発明1057の方法。

[本発明1061]

前記自己免疫疾患が、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、または敗血症を含む、本発明1057の方法。

40

[本発明1062]

前記心血管疾患が、アテローム性動脈硬化症、鬱血性心不全、不安定プラーク、脳卒中、虚血、高血圧症、狭窄症、血管閉塞症、または血栓症事象を含む、本発明1057の方法。

[本発明1063]

前記神経疾患が、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、神経精神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、虚血再灌流障害（例えば脳卒中）、脳外傷、微生物感染症、または慢性疲労症候群を含む、

50

本発明1057の方法。

[本発明1064]

前記疼痛が、線維筋痛症、慢性神経因性疼痛、または末梢神経因性疼痛を含む、本発明1057の方法。

[本発明1065]

前記感染症が、細菌感染、ウイルス感染、酵母菌感染、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、HCV、肝炎、梅毒、髄膜炎、マラリア、結核、インフルエンザを含む、本発明1057の方法。

[本発明1066]

以下の工程を含む、それを必要とする対象において疾患または障害のセラノーシスを行う方法：

(a) 対象由来の試料における小胞集団のバイオシグネチャーを同定する工程であって、該バイオシグネチャーがKRAS、BRAF、PIK3CA、および／またはc-kitの突然変異を含む工程；ならびに

(b) 該バイオシグネチャーを参照と比較して、KRAS、BRAF、PIK3CA、および／またはc-kitにおける突然変異の存在を同定し、それによって該疾患または障害のセラノーシスを行う工程。

[本発明1067]

前記小胞集団から単離されたmRNAにおいて突然変異が検出される、本発明1066の方法。

[本発明1068]

前記バイオシグネチャーがKRASにおける突然変異を含む、本発明1066または1067の方法。

[本発明1069]

インビトロで行われる、前記本発明のいずれかの方法。

[本発明1070]

前記本発明のいずれかの方法を実施するための試薬の使用。

[本発明1071]

本発明1001～1069のいずれかの方法を実施するための試薬を含むキット。

【0033】

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。

【図面の簡単な説明】

【0034】

【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、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、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、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

20

30

40

50

【図 1 D】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、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 E】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、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 1 F】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、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 G】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、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 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。

30

【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。

40

【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】卵巣癌に固有のバイオシグネチャーを作製するために、卵巣癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な卵巣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4B】卵巣癌に固有のバイオシグネチャーを作製するために、卵巣癌に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的な卵巣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】肺癌に固有の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6A】結腸癌に固有の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6B】結腸癌に固有の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6C】結腸癌に固有の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6D】結腸癌に固有の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7-01】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7-02】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9A】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9B】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10】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11A】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

10

20

30

40

50

得る、CRCデュクスC-Dに対してCRCデュクス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デュクスC-Dに対してCRCデュクスBに固有の小胞に由来し、分析され得る、CRCデュクスC-Dに対してCRCデュクス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デュクスC-Dに対してCRCデュクスBに固有の小胞に由来し、分析され得る、CRCデュクスC-Dに対してCRCデュクス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1 2 B】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1 2 C】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1 2 D】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1 3 A】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1 3 B】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1 4】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1 5】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

10

20

30

40

50

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。

【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】前立腺癌に固有の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19B】前立腺癌に固有の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19C】前立腺癌に固有の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20A】黒色腫に固有の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20B】黒色腫に固有の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20C】黒色腫に固有の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21A】膵臓癌に固有の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21B】膵臓癌に固有の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22】脳腫瘍に固有のバイオシグネチャーを作製するために、脳腫瘍に固有の小胞に

10

20

30

40

50

由来し、分析され得る、脳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。

【図23A】乾癬に固有の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23B】乾癬に固有の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24A】心血管疾患に固有の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24B】心血管疾患に固有の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24C】心血管疾患に固有の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】血液悪性腫瘍に固有の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。

【図26A】B細胞慢性リンパ球性白血病に固有の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に固有の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

10

20

30

40

50

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29】パーキットリンパ腫に固有のバイオシグネチャーを作製するために、パーキットリンパ腫に固有の小胞に由来し、分析され得る、例示的なパ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】肝細胞癌に固有の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。

10

【図30B】肝細胞癌に固有の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32】子宮内膜癌に固有の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】頭頸部癌に固有の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。

30

【図33B】頭頸部癌に固有の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）に固有の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。

40

【図35】糖尿病に固有の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】バレット食道に固有の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

50

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 7】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 3 8】脳卒中に固有の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。

10

【図 3 9】多発性硬化症 (MS) に固有の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 4 0 A】パーキンソン病に固有の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、または後成的修飾もしくは翻訳後修飾等の修飾をされ得る。

20

【図 4 1】リウマチ性疾患に固有の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】アルツハイマー病に固有の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。

30

【図 4 2 B】アルツハイマー病に固有の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】プリオン病に固有の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。

40

【図 4 4】敗血症に固有の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。

50

【図46】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47】統合失調症に固有の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48】双極性障害に固有の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。

【図49】うつ病に固有の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50】消化管間質腫瘍（GIST）に固有のバイオシグネチャーを作製するために、GIST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51A】腎細胞癌（RCC）に固有の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51B】腎細胞癌（RCC）に固有の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52】肝硬変に固有の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53】食道癌に固有の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54】胃癌に固有の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55-01】自閉症に固有の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

10

20

30

40

50

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55-02】自閉症に固有の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56】臓器拒絶反応に固有の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57】メチシリン耐性黄色ブドウ球菌に固有の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58】不安定プラークに固有の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。

10

20

30

40

50

。

【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。

10

【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】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。

20

【図63】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64A】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、一般に小胞と関連しているかまたは起始細胞もしくは疾患、たとえば癌と関連している、抗原を検出することができる。

30

。

【図64B】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、一般に小胞と関連しているかまたは起始細胞もしくは疾患、たとえば癌と関連している、抗原を検出することができる。

40

【図64C】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。

【図64D】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64E】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65A】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。スライドガラスは、ポリ-L-リジンでコーティングされ、ビーズ溶液

50

と共にインキュベートされた。付着した後、ビーズは、(i) グルタルアルデヒドおよび四酸化オスミウムで順次固定し、各々の固定する工程は30分で、それらの工程の間に数回洗浄を行い、(ii) 1工程当たり約5～7分間、20%の増分にて、アセトン中で徐々に脱水し、(iii) 臨界点乾燥させ、(iv) 金でスパッタリングコーティングした。

【図 6 5 B】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。左：(A) のEpCamコーティングしたビーズ上において、より高倍率の小胞を示す。右：(A) の、超遠心分離法によって単離し、ポリ-L-リジンでコーティングされたスライドガラスに付着させ、固定し、染色した小胞を示す。

【図 6 6】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。

【図 6 7 A】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64B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。

【図 6 7 B】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つの曲線に、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 6 8 A】前立腺癌のバイオシグネチャーを示す。マイクロスフェアプラットフォームを用いて、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、(A) 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 (A) のマイ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。(B) 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1つの例であり、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関与する) 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されていることを示す。下列は、細胞株小胞をB7H3で捕捉し、CD63お

10

20

30

40

50

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69A】結腸癌のバイオシグネチャーを示す。マイ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。

10

【図69B】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69C】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70A】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。強度値の中央値は、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。

20

【図70B】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／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。強度値の中央値は、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。

30

【図71A】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71B】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1期に4人の患者がいる。

【図71C】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2期に5人の患者がいる。

40

【図71D】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3期に8人の患者がいる。

【図71E】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4期に4人の患者がいる。

【図71F】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

50

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1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2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3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4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らないことを示す。

【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

10

20

30

40

50

規分布とは異なることを示す。

【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ることを示す。

【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 6 B】上位10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、表に示されるように、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つの試料 (#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】異なる前立腺シグネチャーに対する感度および特異度の表を示す。「エキソソーム」は、小胞レベルの閾値または参照値を列記し、「前立腺」は、前立腺小胞に使用された閾値または参照値を列記し、「癌1」、「癌2」、および「癌3」は、前立腺癌について3つの異なるバイオシグネチャーの閾値または参照値を列記し、「QC-1」および「QC-2」の欄は、品質管理の閾値または参照値を列記し、最後の4つの欄は、良性前立腺肥大症 (BPH) における特異度および感度を列記する。

【図 8 0】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細胞株における発現の変化倍率を示す。調査されたmiRNAがX軸に示され、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miRNAに関して、バーは、左から右に、細胞株LOVO、HT29、SW260、COL0205、HCT116およびRKOに対応する。これらのmiRNAは、正常細胞または黒色腫細胞において過剰発現しなかった。

【図 8 1】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示す。

10

20

30

40

50

【図 8 2】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。このような高速遠心分離法は、膜中により固く係着したテトラスパニンとは違って、膜中に弱く係着したタンパク質標的を除去することができる。理論によって拘束される訳ではないが、結果として、超遠心分離法は、小胞中の細胞特異的標的を減らすことがあり、したがって、小胞のバイオシグネチャーの後続の解析において検出されない。

【図 8 3】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示す。小胞は、対照試料（健康な試料）および前立腺癌試料、II期前立腺癌（PCa）試料から単離した。カラムベースのろ過単離法を使用した場合、小胞の超遠心分離単離に比べて、PCaと対照との間の分離が改善されている。

10

【図 8 4】超遠心分離法を使用した場合と、100kDa分子量カットオフ（MWCO）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）から単離し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。

【図 8 5】超遠心分離法を使用した場合と、100kDa MWCO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）から単離し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。

20

【図 8 6】CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質の使用ならびに小胞のバイオマーカーCD9、CD81およびCD63（A、B）またはB7H3およびEpCam（B、D）の検出の場合の標準曲線を示す。

【図 8 7】100kDa MWCOの500 μ lカラム（Millipore, Billerica, MA）（A、E）、150kDa MWCOの7mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）（B、F）、100kDa MWCOの15mlカラム（Millipore, Billerica, MA）（C、G）または150kDa MWCOの20mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）（D、H）を使用して試料（#126）から単離した小胞に関して、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いたバイオマーカー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示す。

30

【図 8 8】100kDa MWCOの500 μ lカラム（Millipore, Billerica, MA）（A、E）、150kDa MWCOの7mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）（B、F）、100kDa MWCOの15mlカラム（Millipore, Billerica, MA）（C、G）または150kDa MWCOの20mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）（D、H）を使用して試料（#342）から単離した小胞に関して、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いたバイオマーカー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示す。

【図 8 9 A】150kDa MWCOの7mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）を使用して、試料（#126）から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いた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示す。

40

【図 8 9 B】100kDa MWCOの15mlカラム（Millipore, Billerica, MA）を使用して、試料（#126）から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いた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示す。

【図 8 9 C】150kDa MWCOの20mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）を使用して、試料（#126）から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いた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示す。

【図 8 9 D】150kDa MWCOの7mlカラム（Pierce（登録商標）Rockford, IL）を使用して、別の試料（#117）から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉

50

物質を用いた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示す。

【図 8 9 E】100kDa MWC0の15mlカラム (Millipore, Billerica, MA) を使用して、別の試料 (#117) から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いた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示す。

【図 8 9 F】150kDa MWC0の20mlカラム (Pierce (登録商標) Rockford, IL) を使用して、別の試料 (#117) から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いた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示す。

【図 8 9】150kDa MWC0の7mlカラム (Pierce (登録商標) Rockford, IL) (A、D)、100kDa MWC0の15mlカラム (Millipore, Billerica, MA) (B、E) または150kDa MWC0の20mlカラム (Pierce (登録商標) Rockford, IL) (C、F) を使用して、試料 (#126) (A~C) および別の試料 (#117) (D~F) から、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3およびEpCamに対する捕捉物質を用いた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示す。 10

【図 9 0】正常な前立腺試料とPCa試料とを弁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。

【図 9 1】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 9 2】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。 20

【図 9 3】CD63を使用した、正常者からのBPH試料とPCa試料との弁別を示す。

【図 9 4】正常な前立腺試料とPCa試料とを弁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。

【図 9 5】BPH試料が含まれる場合でさえ、PCaに関する、従来の試験に対して改善された本発明の小胞アッセイ法の感度を示す。

【図 9 6】本発明の小胞アッセイ法対従来の試験のROC曲線分析を示す。

【図 9 7】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。 30

【図 9 8 A】PCa試料と正常な試料とを識別する小胞マーカーを示す。

【図 9 8 B】一つの捕捉物質および一つの検出物質を使用する、正常対象および癌対象からの小胞の評価を示す。捕捉物質はEpCamに対する抗体であり、検出物質はCD81を検出する。

【図 9 8 C】一つの捕捉物質および一つの検出物質を使用する、正常対象および癌対象からの小胞の評価を示す。捕捉物質はEpCamに対する抗体であり、検出物質はEpCamを検出する。

【図 9 8 D】一つの捕捉物質および一つの検出物質を使用する、正常対象および癌対象からの小胞の評価を示す。捕捉物質はEpCamに対する抗体であり、検出物質はCD9を検出する。 40

【図 9 9 A】試料が前立腺癌に関して陽性であるかどうかを決定するための、小胞前立腺癌アッセイ (決定木 (B)、(C)、(D) に通じる) の略図である。

【図 9 9 B】決定木である。

【図 9 9 C】決定木である。

【図 9 9 D】決定木である。

【図 1 0 0 A】正常な試料に対して結腸直腸癌 (CRC) 試料を識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す。抗体アレイによって計測した、正常な試料に対する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 1 0 0 B】正常な試料に対して結腸直腸癌 (CRC) 試料を識別する小胞を捕捉するた 50

めに使用される様々な捕捉抗体の能力を示す。凡例によって示すようにY軸がCRC試料および正常な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100C】正常な試料に対して結腸直腸癌（CRC）試料を識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す。さらなる試料セットに対して実施した、図100Bに類似したものである。

【図101】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由来のcDNA（C）を含む。

【図102A】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の、正常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、ビーズに繫留された表記抗原に対する抗体によって捕捉した。捕捉した小胞は、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、正常試料と比較した場合の、乳癌試料中に検出された小胞の蛍光強度中央値（MFI）の変化倍率である。

【図103A】表記小胞抗原に対する抗体を使用して検出された、正常な試料と比較した場合の、肺癌試料由来の膜小胞中の様々なバイオマーカの変化倍率を示す。黒いバーは、正常試料に対する肺癌試料の比である。白いバーは、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103Bに示されている。

【図103B】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）および病期診断された肺癌試料（黒）からの平均である。

【図103C】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103D】肺癌対象および正常な（非肺癌）対象由来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。

【図103E】肺癌対象および正常な（非肺癌）対象由来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。

【図104】正常な（非癌）血漿試料、乳癌（BCa）血漿試料および前立腺癌（PCa）血漿試料由来の小胞中のTissue Factor（TF）の検出を示す。血漿試料中の小胞を、小球に繫留された抗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。

【発明を実施するための形態】

【0035】

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は、膜結合バイオマーカおよび可溶性バイオマーカの両方を含むことができる。バイオマーカはまた、体液中で評価される循環バイオマーカ、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。

【0036】

循環バイオマーカ、たとえば核酸バイオマーカ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、結合物質によって結合され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。

【0037】

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高いかどうかのバイオシグネチャーを提供する。

【0038】

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。

【0039】

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を特徴決定することは、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。表現型を特徴決定することはまた、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恵を提供することができる。

【0040】

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高い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。表現型を特徴決定することは、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。

【0041】

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高いという対象の身元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。

【0042】

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、脳腫瘍（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。

【0043】

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。

【0044】

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）、ろ胞性リンパ腫、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（髄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、髄膜腫、髄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。

10

20

30

【0045】

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、脳腫瘍、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。

40

【0046】

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、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；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；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

50

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；形質細胞腫瘍/多発性骨髄腫；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癌；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。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、表現型を特徴決定することは、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

【0047】

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。

【0048】

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

【0049】

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

【0050】

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。

【0051】

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。

【0052】

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。

【0053】

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1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。

【0054】

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。

【0055】

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)。

【0056】

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。

【0057】

(表1) 様々な疾患、病態または生物学的状態の小胞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、骨髓、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、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、腭液、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、CSF、尿	10
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、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、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、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、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、CSF、尿	20
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、CSF、尿	
皮膚の疾患および障害：乾癬	血液、血清、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、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、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、尿	30
子宮内膜症	血液、血清、尿、陰分泌液	
骨粗鬆症	血液、血清、尿、滑液	
膝炎	血液、血清、尿、膝液	
喘息	血液、血清、尿、痰、気管支肺胞洗浄液	
アレルギー	血液、血清、尿、痰、気管支肺胞洗浄液	40
プリオン関連疾患	血液、血清、CSF、尿	
ウイルス感染症；HIV/AIDS	血液、血清、尿	
敗血症	血液、血清、尿、涙、鼻洗浄	
臓器拒絶反応/移植	血液、血清、尿、様々な洗浄液	
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、尿、痰、大便、結腸洗浄液	40
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、羊水、臍帯血	

【0058】

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。

【0059】

バイオマーカー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。

【0060】

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決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。

10

【0061】

小胞

本発明の方法は、小胞集団を評価することを含め、一つまたは複数の小胞を評価すること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。事実、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。

20

30

【0062】

（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		

10

20

略号：ホスファチジルセリン (PPS)、電子顕微鏡法 (EM)

【0063】

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（ブレブ形成）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。ブレブおよびブレブ形成は、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

30

40

50

で入手可能なTissueDistributionDBsにおいてアクセスすることもできる。

【0064】

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。

【0065】

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決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。

【0066】

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。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。

【0067】

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。

【0068】

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。

【0069】

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。

【0070】

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。

【0071】

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

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。

【0072】

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。miRNA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。

10

【0073】

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。

【0074】

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。

20

【0075】

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およびバンタムは、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。

30

【0076】

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 nomenclature. NAR 2006 34(Database Issue):D140-D144およびGriffiths-Jones, S. The microRNA 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。

40

【0077】

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。

【0078】

循環バイオマーカー

50

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。

10

【0079】

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、PCT特許公開公報W0/2007/088537、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。これらの出願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。

20

【0080】

小胞単離

小胞は、解析の前に精製または濃縮することもできる。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。

30

【0081】

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。

40

【0082】

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

50

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。

【0083】

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。

10

【0084】

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。

【0085】

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。

20

【0086】

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。

30

【0087】

フィルタ

対象からの生物学的試料をろ過モジュールに通してろ過し、そのろ過モジュールから小胞を含む保持物を回収することにより、小胞を生物学的試料から単離することができる。方法は、対象からの生物学的試料を、フィルタを含むろ過モジュールに通してろ過すること、およびろ過モジュールから小胞を含む保持物を回収して、それによって小胞を生物学的試料から単離することを含むことができる。一つの態様において、フィルタは、約100キロダルトンよりも大きな分子を保持する。

40

【0088】

本方法はさらに、小胞のバイオシグネチャーを決定することを含むことができる。本方法はさらに、保持物を複数の基体に適用することを含むこともでき、各基体は一つまたは複数の捕捉物質に結合され、複数の基体の各サブセットは、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。

【0089】

同じく本明細書に提供されるものは、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ろ過モジュールに通してろ過する工

50

程、ろ過モジュールから一つまたは複数の小胞を含む保持物を回収する工程、および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工程を含む方法である。一つの態様において、ろ過モジュールは、約100または150キロダルトンよりも大きな分子を保持するフィルタを含む。

【0090】

本明細書に開示される方法はさらに、対象からの生物学的試料をろ過モジュールに通してろ過する工程、ろ過モジュールから一つまたは複数の小胞を含む保持物を回収する工程、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工程、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工程を含むことができ、特徴決定が少なくとも70%の感度である。いくつかの態様において、特徴決定は、バイオシグネチャーを有する一つまたは複数の小胞の量を測定することを含む。さらに、特徴決定は約80%~100%の感度であることができる。

【0091】

同じく本明細書に提供されるものは、複数の小胞の多重解析の方法である。いくつかの態様において、本方法は、対象からの生物学的試料をろ過モジュールに通してろ過する工程、ろ過モジュールから複数の小胞を含む保持物を回収する工程、複数の小胞を複数の捕捉物質に適用する工程であって、該複数の捕捉物質が複数の基体に結合され、該複数の基体の各サブセットが複数の基体の別のサブセットとは異なるように標識されている、工程、複数の小胞の少なくとも一つのサブセットを捕捉する工程、および捕捉した小胞の少なくとも一つのサブセットに関してバイオシグネチャーを決定する工程を含む。一つの態様において、各基体は一つまたは複数の捕捉物質に結合されており、複数の基体の各サブセットは、複数の基体の別のサブセットに比べて異なる捕捉物質または捕捉物質の組み合わせを含む。いくつかの態様において、複数の基体の少なくとも一つのサブセットは、一つまたは複数の標識を含むなど、固有に標識されている。基体は、粒子またはビーズまたはそれらの任意の組み合わせであることができる。一つの態様において、ろ過モジュールは、約100または150キロダルトンよりも大きな分子を保持するフィルタを含む。

【0092】

いくつかの態様において、複数の小胞の多重解析の方法は、対象からの生物学的試料を、約100キロダルトンよりも大きな分子を保持するフィルタを含むろ過モジュールに通してろ過する工程、ろ過モジュールから複数の小胞を含む保持物を回収する工程、複数の小胞を、マイクロアレイに結合されている複数の捕捉物質に適用する工程、複数の小胞の少なくとも一つのサブセットをマイクロアレイ上に捕捉する工程、および捕捉した小胞の少なくとも一つのサブセットに関してバイオシグネチャーを決定する工程を含む。一つの実施態様において、ろ過モジュールは、約100または150キロダルトンよりも大きな分子を保持するフィルタを含む。

【0093】

生物学的試料は、ろ過法による単離の前に清澄化することができる。たとえば、細胞屑のような非小胞成分を除去することができる。清澄化は、低速遠心分離法、たとえば約5,000×g、4,000×g、3,000×g、2,000×g、1,000×gまたはそれ未満での低速遠心分離法による清澄化であることができる。そして、小胞を含有する上清または清澄化された生物学的試料を回収し、ろ過して、清澄化された生物学的試料から小胞を単離することができる。いくつかの態様において、生物学的試料は、ろ過法による小胞の単離の前に清澄化されない。

【0094】

いくつかの態様において、試料からの小胞の単離は、超遠心分離法のような高速遠心分離法を使用しない。たとえば、単離は、約100,000×g以上のような遠心速度の使用を要しないこともある。いくつかの態様において、試料からの小胞の単離は、50,000×g、40,000×g、30,000×g、20,000×g、15,000×g、12,000×gまたは10,000×g未満の速度を使用する。

【0095】

小胞を生物学的試料から単離するために使用されるろ過モジュールは、繊維ベースのろ過カートリッジであることができる。たとえば、フィルタは、ポリプロピレン中空繊維のような中空のポリマー繊維であることができる。生物学的試料は、本明細書に開示される生物学的流体のような試料流体を、ぜん動ポンプのようなポンプ装置を備えたモジュールに注入することにより、ろ過モジュールに導入することができる。ポンプ流量は、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/分のように異なることができる。

【0096】

ろ過モジュールは膜ろ過モジュールであることができる。たとえば、膜ろ過モジュールは、攪拌セル装置（たとえば電磁攪拌機を含む）に収容された親水性ポリフッ化ビニリデン（PVDF）フィルタディスク膜のようなフィルタディスク膜を含むことができる。いくつかの態様において、試料は、フィルタ膜の各側で生じる圧力勾配の結果としてフィルタを透過する。

【0097】

フィルタは、低い疎水性吸収率および／または高い親水性を有する材料を含むことができる。たとえば、フィルタは、小胞の保持および大多数のタンパク質の透過のための平均孔径と、親水性であることによってタンパク質吸着を抑制する表面とを有することができる。たとえば、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、二次酢酸セルロース、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ことができる。フィルタに使用することができるさらなる材料は、ポリスルホンおよびポリエーテルスルホンを含むが、これらに限定されない。

【0098】

ろ過モジュールは、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）よりも大きな分子を保持するフィルタ、たとえば、約50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、400または500のMWCO（分子量カットオフ）を有するフィルタを有することができる。いくつかの態様において、ろ過モジュール内のフィルタは、約0.01 μm ～約0.15 μm 、いくつかの態様においては約0.05 μm ～約0.12 μm の平均孔径を有する。いくつかの態様において、フィルタは、約0.06 μm 、0.07 μm 、0.08 μm 、0.09 μm 、0.1 μm または0.11 μm の平均孔径を有する。

【0099】

ろ過モジュールは、市販のカラム、たとえばタンパク質を濃縮または単離するために一般に使用されるカラムであることができる。例は、Millipore（Billerica, MA）製のカラム、たとえばAmicon（登録商標）遠心フィルタまたはPierce（登録商標）（Rockford, IL）製のカラム、たとえばPierce Concentratorフィルタ装置を含むが、これらに限定されない。フィルタは、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6,269,957号または第6,357,601号に記載されているようなフィルタであることができる。

【0100】

単離された小胞を含む保持物をろ過モジュールから回収することができる。保持物は、保持物をフィルタから押し流すことによって回収することができる。理論によって拘束される訳ではないが、保持物をより容易に回収し、手荒で時間のかかる回収技術の使用を最小限にするために、親水性表面特性を有することによってタンパク質吸着を制限するフィルタ組成の選択を用いることができる。

【0101】

そして、回収した保持物を、その後の解析、たとえば、本明細書にさらに記載されるような、保持物中の一つまたは複数の小胞のバイオシグネチャーの評価に使用することができる。解析は、回収された保持物に対して直接実施することができる。または、一つまたは複数の小胞の解析の前に、回収された保持物をさらに濃縮または精製することもできる。たとえば、本明細書に記載されるように、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配遠

10

20

30

40

50

心分離法、分画遠心分離法、免役吸着捕捉法、アフィニティー精製法、マイクロ流体力学分離法またはそれらの組み合わせを使用して、保持物をさらに濃縮するか、または小胞を保持物からさらに単離することができる。いくつかの態様において、保持物を別のろ過工程に供することができる。または、フィルタを使用する小胞の単離の前に、小胞は、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、免役吸着捕捉法、アフィニティー精製法、マイクロ流体力学分離法またはそれらの組み合わせを使用して濃縮または単離される。

【0102】

たとえば、生物学的試料を、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) よりも大きな分子を保持するフィルタ、たとえば、約50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、250、300、400または500のMWCO（分子量カットオフ）を有するフィルタを有するろ過モジュールに通してろ過する前に、まず、生物学的試料を、約0.01 μm ～約2 μm 、約0.05 μm ～約1.5 μm の孔または孔径を有するフィルタに通してろ過することもできる。いくつかの態様において、フィルタは、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 μm の孔径を有する。フィルタはシリンジフィルタであってもよい。したがって、一つの態様において、方法は、生物学的試料を、約1 μm よりも大きい孔を有するシリンジフィルタのようなフィルタに通してろ過したのち、約100または150キロダルトンよりも大きな分子を保持するフィルタを含むろ過モジュールに通してろ過することを含む。

【0103】

ろ過モジュールはマイクロ流体力学デバイスの構成要素であることができる。「ラブオンチップ」システム、バイオメディカルマイクロエレクトロメカニカルシステム (Bio-MEMS) またはマルチコンポーネント集積システムと呼ばれることもあるマイクロ流体力学デバイスを小胞の単離および解析のため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本明細書にさらに記載されるような他のプロセスを小型化し、区画化する。

【0104】

ろ過モジュールを含めることにより、マイクロ流体力学デバイスを、小胞の単離に使用することもできる。たとえば、マイクロ流体力学デバイスは、サイズに基づいて小胞を生物学的試料から単離するための一つまたは複数のチャネルを使用することができる。生物学的試料は、小胞の通過を選択的に行うことができる一つまたは複数のマイクロ流体力学チャネルに導入することができる。マイクロ流体力学デバイスはさらに、小胞の性質、たとえばサイズ、形状、変形性、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に基づいて小胞を選択するために、結合物質または二つ以上のろ過モジュールを含むことができる。

【0105】

結合物質

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原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、標識を担持する抗原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。

【0106】

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。

【0107】

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。

【0108】

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である。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。

【0109】

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。

【0110】

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。

10

【0111】

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・プシュードナルシッソス (*Narcissus pseudonarcissus*) 由来のナルシッソス・プ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・エリブソスポルム (*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。

20

【0112】

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。

【0113】

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。

30

【0114】

結合物質は抗体であることができる。たとえば、小胞は、小胞表面に存在する一つ以上の抗原に特異的な一つ以上の抗体を使用して単離することもできる。たとえば、小胞は、その表面上にCD63を有することができ、CD63に対する抗体または捕捉抗体を使用して小胞を単離することができる。または、腫瘍細胞に由来する小胞はEpCamを発現することができ、EpCamおよびCD63に対する抗体を使用して小胞を単離することができる。小胞を単離するための他の抗体は、CD9、PSCA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PCSA、PSMAまたは5T4に対する抗体または捕捉抗体を含むことができる。小胞を単離するための他の抗体は、DR3、STEAP、epha2、TMEM211、MFG-E8、Tissue Factor (TF)、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2またはTETSに対する抗体または捕捉抗体を含むことができる。

40

【0115】

いくつかの態様において、捕捉物質は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、EpCam、

50

PSCA、ICAM、STEAPまたはEGFRに対する抗体である。捕捉物質はまた、小胞のバイオマーカーを同定するために使用することもできる。たとえば、CD9に対する抗体のような捕捉物質は、CD9を小胞のバイオマーカーとして同定するであろう。いくつかの態様においては、たとえば多重解析において、複数の捕捉物質を使用することができる。複数の捕捉物質は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、EpCam、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRの一つまたは複数に対する結合物質を含むことができる。いくつかの態様において、複数の捕捉物質は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、MFG-E8および／またはEpCamに対する結合物質を含む。さらに別の態様において、複数の捕捉物質は、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。複数の捕捉物質は、TMEM211、MFG-E8、Tissue Factor (TF) および／またはCD24に対する結合物質を含む。 10

【0116】

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」。 20

【0117】

また、結合物質は、ポリペプチドまたはペプチドであり得る。ポリペプチドは、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、R₁-CH₂-NH-R₂（R₁およびR₂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。 30 40

【0118】

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またはRab-5bであ 50

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を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種超のテトラスパニンが存在する。他の一般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。

【0119】

(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	CD9、CD37、CD63、CD81
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

【0120】

結合物質はまた、特定の細胞型、たとえば腫瘍細胞（たとえば、Tissue Factor、EpCam、B7H3またはCD24に対する結合物質）または特定の起始細胞に由来する小胞に結合する物質であることもできる。小胞を単離または検出するために使用される結合物質は、図1から選択される抗原に対する結合物質であり得る。小胞に対する結合物質はまた、図2に記載されたものから選択することもできる。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、TME M211、CD24、PSCA、PCSA、PSMA、Rab-5B、STEAP、TNFR1、CD81、EpCam、CD59、CD81、ICAM、EGFRまたはCD66のような抗原に対する結合物質であり得る。一つまたは複数の結合物質、たとえば二つ以上の抗原に対する一つまたは複数の結合物質を小胞の単離または検出のために使用することができる。使用される結合物質は、単離または検出したい特定の細胞型に由来する小胞または起始細胞特異的小胞に基づいて、選択することができる。

【0121】

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。

【0122】

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。

【0123】

また、結合物質は、ビーズまたはマイ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、マイクロスフェアは、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。

【0124】

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。

【0125】

小胞を単離するためには、結合物質が小胞の成分に結合するのに少なくとも十分な時間、関心対象の小胞を含む生体試料と抗体等の結合物質を接触させることが好ましい。例えば、約10分間、30分間、1時間、3時間、5時間、7時間、10時間、15時間、1日間、3日間、7日間、または10日間が挙げられるが、これらに限定されない、数秒間、数日間の範囲の様々な期間の間、生体試料と抗体を接触させ得る。

【0126】

図1に列記される抗原に特異的な抗体等の結合物質、または図2に列記される結合物質は、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、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、または量子ドットもしくは金粒子を含む他のナノ粒子が挙げられるがこれらに限定されないもので標識することができる。標識は、フルオロフォア、量子ドット、または放射性標識であり得るが、これらに限定されない。例えば、標識は、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{14}C 、 ^{18}F 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{64}Cu 、 ^8Ga 、 ^8Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{133}Xe 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 、または ^{213}Bi 等の放射性同位体（放射性核種）であり得る。標識は、希土類キレート（ユウロピウムキレート）等の蛍光標識、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等があるが、これらに限定されない、フルオレセイン型；TAMRA等があるが、これに限定されない、ローダミン型；ダンシル；リサミン；シアニン；フィコエリトリン；Texas Red；およびこれらの類似体であり得る。蛍光標識は、FAM、dRHO、5-FAM、6FAM、dR6G、JOE、HEX、VIC、TET、dTAMRA、TAMRA、NED、dROX、PET、BHQ、Gold540、およびLIZのうちの1つまたは複数であり得る。

【0127】

結合物質は、例えば、ビオチン-ストレプトアビジンを介して抗体に標識を付着させるように、直接的または間接的に標識することができる。あるいは、抗体は標識されないが、第1の抗体を関心対象の抗原に結合させた後、標識された第2の抗体と後で接触させる。

【0128】

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。

【0129】

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。

10

20

30

40

50

【0130】

フローサイトメトリー

ビーズまたはマイ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。

10

【0131】

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。

20

【0132】

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別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。

30

【0133】

フローサイトメーターは、一つまたは複数のレーザー、たとえば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10種またはより多くのレーザー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。

40

【0134】

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

50

ことができる。たとえば、二つの小胞集団はサイズが異なり、各集団内の小胞は、類似したサイズ範囲を有し、差次的に検出またはソートされることができる。もう一つの態様において、二種の異なる小胞集団は差次的に標識される。

【0135】

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。

【0136】

多重化

多重実験は、一つ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、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。生物学的試料中の各集団は、上記のような異なるシグナル伝達標識、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。

【0137】

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種の異なる小胞集団の多重化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つのアッセイにおいて評価される。

【0138】

一つの態様において、多重化分析は、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つ以上の捕捉物質が結合される。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。

【0139】

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を用いたビーズコーティングを用いるマルチパラメトリックイムノ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マイクロスフェア上に、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イムノアッセイ等）における各結合物質は、異なる型のマイクロスフェア（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、マイクロスフェアの表面上で起こる。マイクロスフェアは、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マイクロスフェアは、異なる捕捉物質を有する別のマイ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マイ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マイクロスフェアの蛍光強度とは異なるように、別個の蛍光強度でマイクロスフェアを染色することができる。

10

【0140】

少なくとも2つの異なる標識または染色を用いて、マイ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、マイクロスフェアは、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。複数のマイクロスフェア中の異なるマイクロスフェアは、2つ以上の標識または染色を有することができ、マイ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、異なるマイ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。マイクロスフェアは、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マイ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。

20

【0141】

別の態様において、平面基体を用いて多重化分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。

【0142】

新規な結合物質

小胞は、関心対象の小胞に特異的な新規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、有用なバイオマーカーであり得る。

30

【0143】

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み、小胞に対して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。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。

40

【0144】

試験化合物は、ペプチド、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

50

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、組み合わせてスポットするか、またはインサイチューで合成することができる。

【0145】

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。

【0146】

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63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。

【0147】

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。

【0148】

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。

10

【0149】

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。

20

【0150】

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。

30

【0151】

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

40

50

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。

【0152】

マイクロ流体工学

小胞を単離するまたは同定するための方法は、マイクロ流体工学デバイスと組み合わせて使用することができる。マイクロ流体工学デバイスを用いて、本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 (bioMEMS)、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。

【0153】

マイクロ流体工学デバイスはまた、サイズ分別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。

【0154】

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。

【0155】

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1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。

【0156】

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マイ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マイ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。

【0157】

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力学デバイスの例は、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号および国際特許公開公報WO2010/072410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。

【0158】

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力学デバイスは、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のチャネルを含む。マイクロチャネルは、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。マイクロ流体力学デバイスは、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。

【0159】

マイクロ流体力学デバイスは、チャネル中で表面に付着しているかまたはチャネル中に存在する、一つまたは複数の結合物質を有することができる。たとえば、マイクロチャネルは、一つまたは複数の捕捉物質、たとえばEpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRに対する捕捉物質を有することができる。一つの態様においては、マイクロチャネル表面をアビジンで処理して、たとえば抗体などのビオチン化されている捕捉物質を、該チャネルに注入して、アビジンに結合させることができる。

【0160】

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 μl 、たとえば毎分約1~50、5~40、5~30、3~20または5~15 μl の速度でマイクロ流体力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力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力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、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ン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。

【0161】

本明細書に記載されるような、単離された小胞を検出する方法、たとえば抗体アフィニティー単離法を用いる場合、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攪拌、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、
10
ろ過または他の工程の際の様々なレベルへ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により攪拌する。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により攪拌する。攪拌は、望ましいならば、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。

【0162】

望ましいならば、小胞含有試料を様々な剤で処理することによって、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、
20
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。
30
いくつかの態様においては、血小板凝集を低減する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／または検出の際に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）緩衝液を非限定的に含む様々な酸、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を0.1%～10%、たとえば1%、2.5%または5%の最終濃度で加える。いくつかの態様においては、Tween 20を0.005～2%、たとえば0.05%、0.25%または0.5%の最終濃度で加える。いくつかの態様においては、BSAを0.1%～10%、たとえば3%、3.5%または
40
7%の濃度で加える。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）を0.1%～10%、たとえば1.0%または5.0%の濃度で加える。

【0163】

望ましいならば、小胞を検出する方法は、本明細書に記載されるプロトコルおよび処理の様々な組み合わせによって最適化できることが理解されよう。検出プロトコルは、攪拌、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は、患者試料は、単離工程の前後でボルテックスにより攪拌され、BSAおよびF68を含むブロッキング剤で処理される。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低減させ、それにより、より一貫した検出読み取り値
50

を提供することができる。

【0164】

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。

【0165】

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、膵臓、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。

10

【0166】

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

20

【0167】

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。

【0168】

図61は、起始細胞特異的小胞を単離または同定する方法100を示すフローチャートを示す。まず、工程102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104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106において、単離した起始細胞特異的小胞を解析し、工程108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104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。

30

【0169】

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。

40

【0170】

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

50

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。

【0171】

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、疾患のマーカースとして働く細胞、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。

【0172】

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つい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す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。

【0173】

(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
卵巣癌	CA125、VEGFR2、HER2、MISIIR、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、HT156、DC-LAMP
結腸癌	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
前立腺癌	PSA、TMPRSS2、FASLG、TNFSF10、PSMA、NGEP、IL-7RI、CSCR4、CysLT1R、TRPM8、Kv1.3、TRPV6、TRPM8、PSGR、MISIIR、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マクログロビン
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、DNM1
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

10

20

30

40

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	$\alpha v \beta 3$ インテグリン、MMP9

10

【0174】

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、ハーセプチン（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。

20

【0175】

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。

30

【0176】

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。

40

【0177】

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、本発明と組み合わせ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

50

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。

【0178】

したがって、腫瘍、または自己免疫疾患、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の部位に由来する細胞から単離される小胞を単離することができる。いくつかの態様において、単離される小胞は、そのような疾患または障害に関連した細胞、たとえば疾患の原因において役割を有し、その解析が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疾患免疫細胞に由来する。小胞はさらに、バイオマーカーを発見するのに有用である。そして、本明細書に記載されるように、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。

10

【0179】

小胞評価

対象からの生物学的試料を解析し、その試料中の一つまたは複数の小胞集団のレベル、量または濃度を測定することにより、小胞の表現型を特徴決定することができる。小胞の量を測定する前に小胞を精製または濃縮することができる。または、事前の精製または濃縮なしに、小胞の量を試料から直接アッセイすることもできる。小胞は、起始細胞特異的な小胞または特異的なバイオシグネチャーを有する小胞であることができる。小胞の量は、診断、予後判定、セラノーシスまたは応答者／非応答者状態の予測のような表現型を特徴決定するとき使用することができる。いくつかの態様において、量は、妊娠または妊娠期のような生理学的または生物学的状態を決定するために使用される。小胞の量はまた、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を決定するために使用することもできる。たとえば、小胞の量は、疾患の病期または進行の増大に比例または反比例することができる。小胞の量はまた、疾患または病態の進行をモニターするかまたは治療に対する対象の応答をモニターするために、使用することもできる。

20

【0180】

小胞は、小胞のレベルを小胞の参照レベルまたは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、物理的または時間的終点に対して固有であることができる。たとえば、参照値は、試料が評価される同じ対象からの参照値であることもできるし、試料の代表的集団（たとえば、疾患の徴候を示さない正常な対象由来の試料）からの参照値であることもできる。したがって、参照値は、所与の試料においてアッセイされる小胞集団に関する対象試料の読み取り値と比較されるしきい計測値を提供することができる。そのような参照値は、年齢（たとえば、新生児、幼児、青少年、若年、中年、高齢者および様々な年齢の成人）、人種／民族群、正常対患者対象、喫煙者対非喫煙者、治療を受ける対象対非治療対象、同様な診断または治療を受けた特定の個人または対象の群に関する治療の異なる時点またはそれらの組み合わせを非限定的に含む、特定の cohorts に対応する試料の群からプールされたデータにしたがって確立することもできる。さらには、特定の個人に対する治療の様々な時点における小胞レベルを決定することにより、治療に対する個人の応答またはその個人が治療を受けている疾患もしくは病態の進行をモニターすることができる。

30

40

【0181】

参照値は、個別化された追跡を提供するために、同じ対象から評価された試料に基づくこともできる。患者の頻繁な試験により、特定の患者に関して以前に確立された参照値との比較がより良好になり得、医師は、患者の疾患の病期または進行をより正確に評価でき、かつ治療に関してより良い決定を知らせることができるようになる。小胞レベルの個人間での変動が低下することで、患者に対してより特異的で個別化されたしきい値を規定することができる。対象間での時間的変動により、各個人を、疾患または生理的状态の最適

50

な解析のための長期的対照とすることができる。

【0182】

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、非罹患者における小胞の量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小胞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。

【0183】

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、病期または進行のような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である可能性が高いのか、非応答者である可能性が高いの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。

【0184】

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小胞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、ウイ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。

【0185】

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。

【0186】

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、小胞から得られるマイクロRNA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。

【0187】

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。

【0188】

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。

【0189】

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。

【0190】

参照値は、データベースに記憶し、マイクロRNAのレベルもしくは量、たとえばマイクロRNAの全量または特定のマイクロRNA集団、たとえば起始細胞特異的マイクロ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マイクロRNA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。

【0191】

表現型を特徴決定するためのバイオシグネチャーは、マイクロRNAおよび／または小胞を検出することによって決定することができる。マイクロRNAは、小胞内で評価すること

ができる。または、試料中のマイクロRNAおよび小胞は、マイクロRNA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。

10

【0192】

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、結合された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。

20

【0193】

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。

30

【0194】

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ーカー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。

【0195】

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、関心対象のマイクロRNA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。

40

【0196】

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。

【0197】

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）

50

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。

【0198】

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。感度は、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。

10

【0199】

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。

【0200】

感度、特異度および精度は特定の弁別しきい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しきい値は、血清中、前立腺特異的抗原（PSA）4ng/mLである。このしきい値以上の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。しきい値が変化すると、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しきい値が高まると、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、その弁別しきい値が変化するときの真陽性率（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、しきい値が変化するとき、感度および特異度がどのように変化するのを示す。ROC曲線の曲線下面積（AUC）が、しきい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、弁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。

20

30

【0201】

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。

【0202】

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。

40

【0203】

本発明のバイオシグネチャーを使用して、たとえばマイクロRNA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、8

50

5、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。

【0204】

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。

【0205】

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。

【0206】

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。

【0207】

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。

【0208】

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。解析を弁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。多くの統計的分類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分類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。

10

【0209】

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。

20

【0210】

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。

【0211】

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。

【0212】

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。

30

【0213】

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、ベイス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。

【0214】

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。

40

【0215】

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进行分类することができる。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マイクロRNA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

50

るマイクロRNAレベルを評価し、分類器を使用して、その対象を有疾患患者または無疾患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、その対象を有疾患患者または無疾患患者として分類する。

【0216】

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。

【0217】

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。

【0218】

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。

【0219】

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。

【0220】

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。

【0221】

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。

10

【0222】

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。

20

【0223】

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、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。

30

【0224】

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。

【0225】

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。

40

【0226】

50

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。

10

【0227】

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。

【0228】

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、侵襲型の癌を示すマイクロRNA（miRNA）バイオシグネチャーにより、患者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。

20

【0229】

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である可能性が高いのか非応答者である可能性が高いの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および罹患率の犠牲を避ける。

30

40

【0230】

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

50

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、イムノアッセイ法、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。

【0231】

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。

【0232】

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決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。

【0233】

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。

【0234】

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しきい値または参照値または量を測定することができ、そのしきい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。

【0235】

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およびCD63を使用して、試料中の小胞の量を測定することができる。CD9、CD81、CD63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、そのレベルがしきい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、CD9、CD81、CD63またはそれらの組み合わせのレベルがしきい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、小胞の量がしきい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しきい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しきい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。量がしきい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、量がしきい値よりも高いならば、基準は満た

10

【0236】

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のレベルがしきい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。しきい値とは、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のレベルがしきい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。量がしきい値または参照値よりも低い、または高いならば、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。

20

【0237】

上記のように、複数のマーカーの解析を組み合わせ、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。

30

【0238】

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、一つの小胞集団と別の小胞集団との比率、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。

40

【0239】

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

50

）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、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。

【0240】

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んでもよい。そのレベルの積がしきい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しきい値と比較することができる。

10

【0241】

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。

20

【0242】

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。

【0243】

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、ヒオチン化、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。

30

40

【0244】

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に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決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的早期疾患を有する対象を含むことができる。

50

【0245】

バイオシグネチャーはまた、自己免疫疾患、炎症性腸疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症、敗血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に記載された任意の疾患、病態もしくは徴候に対する診断またはセラノーシス決定を提供するために使用することもできる。

【0246】

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。

10

【0247】

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。

【0248】

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。

20

【0249】

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。

30

【0250】

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。

40

【0251】

一つの局面において、本発明は、バイオマーカー発見およびバイオシグネチャー発見に関する。ある態様において、治療に応答する一つまたは複数の対象（応答者）および同じ治療に応答しない一つまたは複数の対象（非応答者）は、自らの小胞をインタロゲーションにかけることができる。インタロゲーションを実施して、本明細書に記載されるバイオマーカーのいずれかを含む一つまたは複数のバイオマーカーの存在を同定することができ

50

る。一つの局面においては、miRの存在、量、およびペイロードがアッセイされる。miRのペイロードは、たとえば、表面または内部タンパク質、核酸、脂質または糖質であることができる。

【0252】

非応答者ではなく応答者におけるバイオシグネチャーの存在または不在をセラノーシスに使用することができる。応答者からの試料を、小胞の量、小胞の固有のサブセットまたは種の量、そのような小胞中のバイオマーカー、そのような小胞のバイオシグネチャーなどの一つまたは複数に関して解析することができる。一例においては、小胞、たとえば応答者および非応答者からの微小小胞またはエキソソームが、一つまたは複数のmiRNA、たとえばmiRNA 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／または量に関して解析される。応答者と非応答者との間のバイオシグネチャーの差異をセラノーシスに使用することができる。もう一つの態様において、小胞は、疾患または病態を有する対象から得られる。小胞はまた、そのような疾患または病態を有しない対象から得られる。両方の対象群からの小胞は、その群中のすべての対象と関連するが、他方の群からの対象とは関連しない固有のバイオシグネチャーに関してアッセイされる。そして、そのようなバイオシグネチャーまたはバイオマーカーを、病態または疾患の存在または不在に関する診断として、または対象を群（有疾患群／無疾患群、侵襲性／非侵襲性疾患、応答者／非応答者など）の一つに属するものとして分類するために使用することができる。

【0253】

さらなる例において、小胞は、I期癌を有する患者およびII期またはIII期の同じ癌を有する患者からアッセイされる。患者の各群からの小胞の間のバイオシグネチャーまたはバイオマーカーにおける差異を同定し（たとえば、III期癌からの小胞は、一つまたは複数の遺伝子またはmiRの発現の増加を有することがある）、それにより、異なる病期を識別するバイオシグネチャーまたはバイオマーカーを同定する。そして、そのようなバイオシグネチャーを使用して、有疾患患者を予測することができる。

【0254】

いくつかの例において、バイオシグネチャーは、対象からの小胞をある期間にわたって（たとえば毎日、毎週、毎月、または毎年）アッセイすることによって決定される。したがって、I期およびII／III期の応答者および非応答者または患者は、自らの小胞をある期間にわたって（たとえば毎月）インタロゲーションにかけることができる。各時点における小胞のペイロードまたは物理的属性を比較することができる。このように、時間的パターンがバイオシグネチャーを形成することができ、それを、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／非応答者状態の予測に使用することができる。非限定的な例として、時間経過とともに起こる小胞中のバイオマーカー（たとえばmiR122）の増量を転移性癌と関連づけることができ、反対に、時間経過とともに起こる小胞中のバイオマーカーの量の停滞を非転移性癌と関連づけることができる。時間経過は、少なくとも1週、2週、3週、4週、1ヶ月、6週、8週、2ヶ月、10週、12週、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ヶ月または少なくとも12ヶ月続く場合がある。

【0255】

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、ペプトイド、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。

【0256】

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。

10

【0257】

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。

【0258】

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。

20

【0259】

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。

30

【0260】

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験設定内で、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、治験設計を最適化し、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、治験設計に関して、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、治験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。

40

【0261】

いくつかの態様において、本発明は、治験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、治験に登録された対象においてマイクロRNAを含む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

50

ッグナীব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、ドラッグナীব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治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、ドラッグナীবな対象は応答者であると予測される。逆に、ドラッグナীব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治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、そのドラッグナীব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決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、さらなる治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

10

20

【0262】

したがって、小胞のレベル、小胞のバイオシグネチャー、または両方は、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決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決定する。

30

【0263】

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。

40

【0264】

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。

【0265】

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

50

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。

【0266】

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、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の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ことを含む。

【0267】

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」を処方するのか、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できる。もう一つの態様において、分類器は、乳癌患者がタモキシフェンに応答する可能性が高いかどうかを決定するために使用され、それにより、医師が、患者をタモキシフェンまたは別の薬物で治療すべきかどうかを決定することを支援する。

【0268】

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。

【0269】

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、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-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-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。

【0270】

核酸バイオマーカ-は様々なRNAまたはDNA種を含む。たとえば、バイオマーカ-は、mRNA、マイクロRNA (miRNA)、核小体低分子RNA (snoRNA)、核内低分子RNA (snRNA)、リボソ-ムRNA (rRNA)、ヘテロ核RNA (hnRNA)、リボソ-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が何千もの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。

【0271】

本発明で使用するためのバイオマーカ-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-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と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。

【0272】

バイオシグネチャーは、複数の同じ種類のバイオマーカ- (たとえば二種の異なるマイクロRNA種) または一つまたは複数の異なる種類のバイオマーカ- (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。

【0273】

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-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-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-を記載する表を示す。バイオマーカ-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-はまた、アネキシン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-はまた、PCT公開公報第W02009/100029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。

【0274】

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-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12/524,4

32号、第12/524,398号、第12/524,462号、カナダ国特許CA2453198ならびに国際PCT特許出願公開公報第W01994022018号、第W02001036601号、第W02003063690号、第W02003044166号、第W02003076603号、第W02005121369号、第W02005118806号、第W0/2005/078124号、第W02007126386号、第W02007088537号、第W02007103572号、第W02009019215号、第W02009021322号、第W02009036236号、第W02009100029号、第W02009015357号、第W02009155505号、第W02010/065968号および第W02010/070276号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。

10

【0275】

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。

20

30

【0276】

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 complex 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.

40

50

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 lysis (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 107:563-571 (2007), Redman et al. Circulating microparticles in normal pregnancy and preeclampsia placenta. 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 Diff

erential 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。

【0277】

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、Pecche, 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ともできる。

【0278】

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) である。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) をも含む。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。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、存在または不在、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。

【0279】

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。

【0280】

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、PCT公開WO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、脾臓癌、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、骨髄線維症、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。

10

【0281】

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、上方制御または過剰発現され得る。

20

【0282】

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。

30

【0283】

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、骨髄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、骨髄線維症、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。

【0284】

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。

40

【0285】

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）、ロックド核酸（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

50

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。

【0286】

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。本発明の方法にしたがって評価することができる特定の疾患に対する例示的なバイオマーカーは以下を含む。

【0287】

乳癌

乳癌に固有のバイオマーカーは、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。

【0288】

1つ以上の乳癌に固有のバイオマーカーを評価して、乳癌に固有の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-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。

【0289】

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、let-7、let-7、let-7、miR-10b、miR-125a、miR-125b、もしくは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つ以上の過小発現miRを含むことができる。

【0290】

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、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。

【0291】

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つ以上の乳癌に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、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つ以上の乳癌に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、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つ以上の乳癌に固有の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。

【0292】

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つ以上の乳癌に固有の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つ以上の乳癌に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。

【0293】

卵巣癌

小胞からの、卵巣癌に固有のバイオマーカーは、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、卵巣癌に固有の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クラスター、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。

【0294】

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、卵巣癌細胞に特異的であり得るか、または卵巣癌細胞に由来し得る。

【0295】

本発明はまた、CD24、卵巣癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巣癌に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、CD24、卵巣癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巣癌に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、卵巣癌に固有の小胞、またはCD24、卵巣癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巣癌に固有の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。

【0296】

CD24、卵巣癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巣癌に固有のバイオマーカーはまた、卵巣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、卵巣癌について図4および図1に列記される、1つ以上の卵巣癌に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。

【0297】

肺癌

小胞からの、肺癌に固有のバイオマーカーは、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、肺癌に固有の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。

【0298】

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。

【0299】

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。

【0300】

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。

【0301】

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。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。

【0302】

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。

【0303】

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。

【0304】

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

10

20

30

40

50

、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剰発現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。

10

【0305】

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、下方制御または過剰発現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。

20

【0306】

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、Junction、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。

30

【0307】

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。

40

【0308】

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

50

含むことができる。

【0309】

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。

10

【0310】

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。

【0311】

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。

20

【0312】

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

【0313】

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。

40

【0314】

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。

【0315】

50

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。

【0316】

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、MSRB3、LATS2、MEF2C、IGFBP3、GNB4、RCN3、AKAP12、RFTN1、226834_at、COL5A1、GNG2、NR3C1*、SPARCL1、MAB21L2、AXIN2、236894_at、AEBP1、AP1S2、C10orf56、LPHN2、AKT3、FRMD6、COL15A1、CRYAB、COL14A1、LOC286167、QKI、WWTR1、GNG11、PAPPAもしくはELD T1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。

【0317】

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。

【0318】

図9に列記されるような、腺腫とCRC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。

【0319】

IBD 対 CRC

小胞からのCRCに対してIBDに固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

【0320】

本発明はまた、図10に列記されるような、IBDとCRC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。

【0321】

図10に列記されるような、IBDとCRC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。

【0322】

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に固有のバイオマーカーは、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に固有の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、VERSUSN L1、ESPN、APCDD1、C13orf18、CYP4X1、ATP2A3、LOC646627、MUPCDH、ANPEP、Clorf115、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。

【0323】

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。

【0324】

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。

【0325】

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に固有のバイオマーカーは、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に固有の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、A POD、TNFRSF17、CXCL10、CTSE、IGHA1、SLC9A3、SLC7A1、BATF2、SOCS1、DOCK2、NOS2A、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。

【0326】

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。

【0327】

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。

【0328】

潰瘍性大腸炎（UC） 対 クロウン病（CD）

小胞からの、クロウン病（CD）に対して潰瘍性大腸炎（UC）に固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

【0329】

小胞中で評価され得るUCとCD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。

【0330】

本発明はまた、図13に列記されるような、UCとCD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。

【0331】

図13に列記されるような、UCとCD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

10

20

30

40

50

ような、UCとCD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。

【0332】

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に固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

10

【0333】

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に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14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープに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、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に固有の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

【0334】

図14に列記されるような、1つ以上の過形成性ポリープに固有の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に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。

【0335】

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に固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有の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。

30

【0336】

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。

40

【0337】

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を識別するための1つ

50

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。

【0338】

腺腫 対 正常

小胞からの、正常なものに対して腺腫に固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

【0339】

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。

【0340】

図16に列記されるような、腺腫と正常なものを識別するための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。

【0341】

CRC 対 正常

小胞からの、正常なものに対してCRCに固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0342】

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。

【0343】

本発明はまた、図17に列記されるような、CRCと正常なものを識別するための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。

【0344】

図17に列記されるような、CRCと正常なものを識別するための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

【0345】

良性前立腺肥大症 (BPH)

小胞からの、良性前立腺肥大症 (BPH) に固有のバイオマーカーは、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に固有の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ができるが、これに限定されない。

【0346】

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に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、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に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、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に固有の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

【0347】

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に固有の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に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。

30

【0348】

前立腺癌

小胞からの、前立腺癌に固有のバイオマーカーは、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、前立腺癌に固有の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、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、もしくはmiR-141、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。

40

【0349】

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、mi

50

R-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つ以上の過小発現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小発現の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。

10

【0350】

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、前立腺癌に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0351】

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。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。

20

【0352】

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、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。

30

【0353】

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含む小胞集団を含むことができる。

40

50

SS2-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。

【0354】

黒色腫

小胞からの、黒色腫に固有のバイオマーカーは、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、黒色腫に固有の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-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。

【0355】

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、黒色腫に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0356】

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、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。

【0357】

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つ以上の黒色腫に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、黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の黒色腫に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、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つ以上の黒色腫に固有の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。

【0358】

黒色腫について図20および図1に列記されるような、1つ以上の黒色腫に固有の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つ以上の癌に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。

【0359】

膵臓癌

小胞からの、膵臓癌に固有のバイオマーカーは、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、膵臓癌に固有の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。

【0360】

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 or 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、膵臓癌に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0361】

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。

【0362】

本発明はまた、図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌に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21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌に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、膵臓癌に固有の小胞、または図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌に固有の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。

【0363】

図21に列記されるような、1つ以上の膵臓癌に固有の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つ以上の膵臓癌に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。

【0364】

脳腫瘍

小胞からの、脳腫瘍（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)に固有のバイオマーカーは、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、脳腫瘍に固有の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。

【0365】

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、脳腫瘍に固有の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。

【0366】

本発明はまた、GOPC-ROS1、または脳腫瘍について図22および図1に列記されるような、1つ以上の脳腫瘍に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、GOPC-ROS1、または脳腫瘍について図22および図1に列記されるような、1つ以上の脳腫瘍に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、脳腫瘍に固有の小胞、またはGOPC-ROS1、もしくは脳腫瘍について図22および図1に列記されるもののような、1つ以上の脳腫瘍に固有の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。

【0367】

脳腫瘍について図22および図1に列記されるような、1つ以上の脳腫瘍に固有のバイオマーカーはまた、脳腫瘍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、もしくは脳腫瘍について図22および図1に列記されるもののような、1つ以上の脳腫瘍に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。

【0368】

乾癬

小胞からの、乾癬に固有のバイオマーカーは、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、乾癬に固有の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。

【0369】

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、乾癬に固有の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。

【0370】

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つ以上の乾癬に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、乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬に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、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つ以上の乾癬に固有の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。

【0371】

乾癬について図23および図1に列記されるような、1つ以上の乾癬に固有の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つ以上の乾癬に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。

【0372】

心血管疾患 (CVD)

小胞からの、CVDに固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

【0373】

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、miR-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に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0374】

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。

【0375】

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。

【0376】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0377】

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に固有の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に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。

【0378】

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。

【0379】

血液癌

小胞からの、血液悪性腫瘍に固有のバイオマーカーは、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、RNA、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、血液悪性腫瘍に固有の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、LMO1、もしくはLMO2、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、血液悪性腫瘍に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0380】

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。

【0381】

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つ以上の血液癌に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、血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌に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、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つ以上の血液癌に固有の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。

【0382】

血液癌について図25および図1に列記されるような、1つ以上の血液癌に固有の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つ以上の血液癌に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】

1つ以上の血液癌に固有の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。

10

【0384】

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。

【0385】

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。

20

【0386】

B細胞慢性リンパ球性白血病（B-CLL）

小胞からの、B-CLLに固有のバイオマーカーは、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に固有の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、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。

30

【0387】

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に固有の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。

40

【0388】

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に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、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に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、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に固有の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。

50

【0389】

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に固有の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に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。

【0390】

B細胞リンパ腫

小胞からの、B細胞リンパ腫に固有のバイオマーカーは、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細胞リンパ腫に固有の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。

【0391】

本発明はまた、図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫に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27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫に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、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細胞リンパ腫に固有の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。

【0392】

図27に列記されるような、1つ以上のB細胞リンパ腫に固有の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細胞リンパ腫に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。

【0393】

びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）

小胞からの、DLBCLに固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0394】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0395】

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に固有の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に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。

【0396】

バーキットリンパ腫

小胞からの、バーキットリンパ腫に固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有の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。

【0397】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0398】

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に固有の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に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。

【0399】

肝細胞癌

小胞からの、肝細胞癌に固有のバイオマーカーは、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

10

20

30

40

50

、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、肝細胞癌に固有の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-7g、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。

【0400】

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。

【0401】

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つ以上の肝細胞癌に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、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つ以上の肝細胞癌に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、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つ以上の肝細胞癌に固有の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。

【0402】

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つ以上の肝細胞癌に固有の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つ以上の肝細胞癌に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。

【0403】

子宮頸癌

小胞からの、子宮頸癌に固有のバイオマーカーは、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、子宮頸癌に固有の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、子宮頸癌に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0404】

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つ以上の子宮頸癌に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、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つ以上の子宮頸癌に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、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つ以上の子宮頸癌に固有の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。

【0405】

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つ以上の子宮頸癌に固有のバ

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つ以上の子宮頸癌に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。

【0406】

子宮内膜癌

小胞からの、子宮内膜癌に固有のバイオマーカーは、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、子宮内膜癌に固有の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。

【0407】

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。

【0408】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0409】

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に固有の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に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。

【0410】

頭頸部癌

小胞からの、頭頸部癌に固有のバイオマーカーは、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、頭頸部癌に固有の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、頭頸部癌に固有のバイオマーカーとして使用す

ることができる。

【0411】

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。

【0412】

本発明はまた、一つまたは複数の頭頸部癌特異的バイオマーカー、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、頭頸部癌特異的小胞または一つまたは複数の頭頸部癌特異的バイオマーカー、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。

【0413】

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つ以上の頭頸部癌に固有の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つ以上の頭頸部癌に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。

【0414】

炎症性腸疾患（IBD）

小胞からの、IBDに固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0415】

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。

【0416】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0417】

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に固有の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に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。

【0418】

糖尿病

小胞からの、糖尿病に固有のバイオマーカーは、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、糖尿病に固有の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、糖尿病に固有の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。

【0419】

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つ以上の糖尿病に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、糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病に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、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つ以上の糖尿病に固有の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】

糖尿病について図35および図1に列記されるような、1つ以上の糖尿病に固有の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つ以上の糖尿病に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。

【0421】

バレット食道

小胞からの、バレット食道に固有のバイオマーカーは、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、バレット食道に固有の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、バレット食道に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0422】

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。

【0423】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0424】

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に固有の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に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。

【0425】

線維筋痛症

小胞からの、線維筋痛症に固有のバイオマーカーは、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、線維筋痛症に固有の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、線維筋痛症に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0426】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0427】

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に固有の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に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。

【0428】

脳卒中

小胞からの、脳卒中に固有のバイオマーカーは、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、脳卒中に固有の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

10

20

30

40

50

胞からの、脳卒中に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0429】

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つ以上の脳卒中に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、脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中に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、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つ以上の脳卒中に固有の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。

【0430】

脳卒中について図38および図1に列記されるような、1つ以上の脳卒中に固有の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つ以上の脳卒中に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。

【0431】

多発性硬化症 (MS)

小胞からの、MSに固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0432】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0433】

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に固有の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に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。

【0434】

パーキンソン病

小胞からの、パーキンソン病に固有のバイオマーカーは、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、パーキンソン病に固有の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S100 β 、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、パーキンソン病に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

10

20

30

40

50

【0435】

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、 β 2-ミクログロブリン、apoAII、tau、 $A\beta$ 1-42、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。

【0436】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0437】

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に固有の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に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。

【0438】

リウマチ性疾患

小胞からの、リウマチ性疾患に固有のバイオマーカーは、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、またはこれらの任意の組み合わせを含むことができ、リウマチ性疾患に固有の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、リウマチ性疾患に固有の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。

【0439】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0440】

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に固有の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に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。

【0441】

アルツハイマー病

小胞からの、アルツハイマー病に固有のバイオマーカーは、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、アルツハイマー病に固有の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。

【0442】

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、アルツハイマー病に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0443】

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。

【0444】

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に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、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に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、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に固有の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】

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に固有の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に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。

【0446】

プリオン病

小胞からの、プリオンに固有のバイオマーカーは、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、プリオンに固有の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、プリオンに固有の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。

【0447】

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に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、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に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、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に固有の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

【0448】

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に固有の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に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。

20

【0449】

敗血症

小胞からの、敗血症に固有のバイオマーカーは、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、敗血症に固有の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、TLR5、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、敗血症に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

30

【0450】

本発明はまた、図44に列記されるような、1つ以上の敗血症に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44に列記されるような、1つ以上の敗血症に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、敗血症に固有の小胞、または図44に列記されるような、1つ以上の敗血症に固有の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。

【0451】

図44に列記されるような、1つ以上の敗血症に固有の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つ以上の敗血症に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

【0452】

慢性神経因性疼痛

小胞からの、慢性神経因性疼痛（CNP）に固有のバイオマーカーは、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

50

これらの任意の組み合わせを含むことができ、CNPに固有の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に固有の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。

【0453】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0454】

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に固有の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に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。

【0455】

末梢神経因性疼痛

小胞からの、末梢神経因性疼痛（PNP）に固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

【0456】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0457】

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に固有の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に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。

【0458】

統合失調症

小胞からの、統合失調症に固有のバイオマーカーは、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、統合失調症に固有の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。

10

【0459】

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、統合失調症に固有の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。

【0460】

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。

20

【0461】

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に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、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に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、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に固有の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

【0462】

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に固有の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に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。

【0463】

双極性疾患

小胞からの、双極性疾患に固有のバイオマーカーは、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、双極性疾患に固有の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、双極性疾患に固有の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、ディスピンディン、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。

40

【0464】

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に固有のバイオマーカー

50

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に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、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に固有の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。

【0465】

図48に列記されるような、1つ以上の双極性疾患に固有の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に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

【0466】

うつ病

小胞からの、うつ病に固有のバイオマーカーは、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、うつ病に固有の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、うつ病に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

20

【0467】

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。

【0468】

図49に列記されるような、1つ以上のうつ病に固有の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つ以上のうつ病に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。

30

【0469】

消化管間質腫瘍（GIST）

小胞からの、GISTに固有のバイオマーカーは、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に固有の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に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

40

【0470】

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。

50

【0471】

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に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、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に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、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に固有の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。

【0472】

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に固有の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に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。

【0473】

腎細胞癌

小胞からの、腎細胞癌に固有のバイオマーカーは、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、腎細胞癌に固有の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。

【0474】

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、a-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-a1、補体成分、補体成分3、シトクロム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、腎細胞癌に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0475】

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。

【0476】

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。

【0477】

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に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、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に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、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

10

20

30

40

50

、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に固有の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。

【0478】

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に固有の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に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

【0479】

肝硬変

小胞からの、肝硬変に固有のバイオマーカーは、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、肝硬変に固有の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、肝硬変に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0480】

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。

20

【0481】

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つ以上の肝硬変に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、肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変に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、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つ以上の肝硬変に固有の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

【0482】

肝硬変について図52および図1に列記されるような、1つ以上の肝硬変に固有の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つ以上の肝硬変に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。

【0483】

食道癌

小胞からの、食道癌に固有のバイオマーカーは、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、食道癌に固有の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

40

50

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、食道癌に固有のバイオマーカーとして使用することができる。

【0484】

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つ以上の食道癌に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、食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌に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、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つ以上の食道癌に固有の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

【0485】

食道癌について図53および図1に列記されるような、1つ以上の食道癌に固有の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つ以上の食道癌に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。

【0486】

胃癌

小胞からの、胃癌に固有のバイオマーカーは、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、胃癌に固有の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。

20

【0487】

分析され得る1つ以上のmRNAとしては、RRM2、EphA4、もしくはスルビニン、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、胃癌に固有の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。

30

【0488】

本発明はまた、図54に列記されるような、1つ以上の胃癌に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54に列記されるような、1つ以上の胃癌に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、胃癌に固有の小胞、または図54に列記されるような、1つ以上の胃癌に固有の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

【0489】

図54に列記されるような、1つ以上の胃癌に固有の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つ以上の胃癌に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。

【0490】

自閉症

小胞からの、自閉症に固有のバイオマーカーは、図55に列記されるような、1つ以上（

50

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、自閉症に固有の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。

10

【0491】

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つ以上の自閉症に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、自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症に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、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つ以上の自閉症に固有の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

【0492】

自閉症について図55および図1に列記されるような、1つ以上の自閉症に固有の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つ以上の自閉症に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。

【0493】

臓器拒絶反応

小胞からの、臓器拒絶反応に固有のバイオマーカーは、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、臓器拒絶反応に固有の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。

30

40

【0494】

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に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56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応に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、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に固有のバイオマーカーを含む小胞について、実質的

50

に均質である。

【0495】

図56に列記されるような、1つ以上の臓器拒絶反応に固有の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に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。

【0496】

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に固有のバイオマーカーは、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に固有の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。

【0497】

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に固有の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。

【0498】

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に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に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、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に固有の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。

【0499】

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に固有の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に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。

【0500】

不安定プラーク

小胞からの、不安定プラークに固有のバイオマーカーは、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、不安定プラークに固有の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。

【0501】

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に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

10

20

30

40

50

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に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、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に固有の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。

【0502】

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に固有の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に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

【0503】

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に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、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に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、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に固有の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

【0504】

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に固有の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に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。

【0505】

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疾患に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、TB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患に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、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疾患に固有の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

【0506】

TB疾患について図1に列記されるような、1つ以上のTB疾患に固有の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疾患に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

【0507】

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疾患に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、HIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患に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、HIV疾患に固有の小胞、またはHIV

50

疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患に固有の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】

HIV疾患について図1に列記されるような、1つ以上のHIV疾患に固有の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疾患に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。

【0509】

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。

【0510】

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つ以上の喘息疾患に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、喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患に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、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つ以上の喘息疾患に固有の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。

【0511】

喘息疾患について図1に列記されるような、1つ以上の喘息疾患に固有の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つ以上の喘息疾患に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。

【0512】

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つ以上の狼瘡疾患に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、狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患に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、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つ以上の狼瘡疾患に固有の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。

【0513】

狼瘡疾患について図1に列記されるような、1つ以上の狼瘡疾患に固有の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つ以上の狼瘡疾患に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。

【0514】

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に固有の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に固有のバ

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、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に固有の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】

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に固有の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に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

【0516】

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つ以上の甲状腺癌に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、甲状腺癌について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌に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、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つ以上の甲状腺癌に固有の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

【0517】

甲状腺癌について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌に固有の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、甲状腺癌について図1に列記されるような、1つ以上の甲状腺癌に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。

30

【0518】

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。

40

【0519】

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

50

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)。

【0520】

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)。

【0521】

多くの再発融合遺伝子は、Mittlemanデータベース (<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>) 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。

【0522】

さらに、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Novartis社の薬物、メシル酸イマチニブ (グリベック) 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)。

【0523】

遺伝子融合の存在、不在、または発現レベルについて小胞を評価することは、遺伝子融合の存在、不在、または発現レベルについて、小胞の非均質集団を評価することによるものであり得る。あるいは、評価される該小胞は、上記の、起始細胞に固有の小胞等の特異的な細胞型に由来し得る。表現型を特徴決定するために評価され得る融合の使用の例示的な例は、以下を含む。

【0524】

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。

【0525】

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。

【0526】

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。

【0527】

脳腫瘍

脳腫瘍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つ以上の脳腫瘍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、脳腫瘍細胞に由来し得る。

【0528】

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-NFIB、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。 10

【0529】

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。

【0530】

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。 20

【0531】

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-MY01F、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-PDGFR α 、FLT3-ETV6、KIAA1509-PDGFR α 、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。 30 40 50

【0532】

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つ以上の遺伝子融合を含む小胞について、実質的に均質である。

【0533】

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、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、癌を特徴決定することができる。

10

【0534】

遺伝子に関連したMiRNAバイオマーカー

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）。さらに、1つ以上のバイオマーカーを使用して、前立腺癌を特徴決定することができる。

20

【0535】

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からなる1つ以上のバイオマーカー、または1つ以上の遺伝子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）。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、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、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。

30

【0536】

図60に列記されるような、1つ以上の前立腺癌に固有の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つ以上の前立腺癌に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。

【0537】

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。

40

【0538】

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

50

。また、単離された小胞を含む組成物も本明細書に提供される。したがって、幾つかの態様において、該組成物は、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。

【0539】

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。

【0540】

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。

【0541】

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。

【0542】

また、CENPFと相互作用する1つ以上のmiRNAを含む小胞も本明細書に提供される。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。

【0543】

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-620であり得る。

【0544】

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

【0545】

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。

【0546】

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であり得る。

【0547】

本発明はまた、AR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、AR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、AR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、AR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AR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

【0548】

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-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。

30

【0549】

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。

40

【0550】

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、m

50

iR-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。

【0551】

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。

10

【0552】

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。

【0553】

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。

20

【0554】

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、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-636、またはmiR-659であり得る。

30

【0555】

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。

40

【0556】

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。

50

【0557】

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。

10

【0558】

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。

【0559】

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。

20

【0560】

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、miR-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。

30

【0561】

同じく本明細書に提供されるものは、TOP2Bと相互作用する一つまたは複数のmiRNAを含む小胞である。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。

40

【0562】

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

50

できる他のマイクロRNAは、

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,
 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,
 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-30e-5p, hsa-miR-30e-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,

10

20

30

40

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-518e, 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-
 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,

10

20

30

40

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

を含むが、これらに限定されない。

【0563】

たとえば、理論によって拘束される訳ではないが、miR-128A5、miR-129およびmiR-128Bは脳内で高度に濃縮され、miR-194、miR-148およびmiR-192は肝臓内で高度に濃縮され、miR-96、miR-150、miR-205、miR-182およびmiR-183は胸腺内で高度に濃縮され、miR-204、miR-IOB5、miR-154およびmiR-134は精巣内で高度に濃縮され、miR-122、miR-210、miR-221、miR-141、miR-23A、miR-200CおよびmiR-136は胎盤内で高度に濃縮される。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、子宮頸癌、結腸癌または乳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ことができる。 10

【0564】

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。 20

【0565】

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。

【0566】

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-10b、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経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。 30

【0567】

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、巨核球形形成を特徴決定するために使用することができる。 40

【0568】

細胞増殖が、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-1 50

43、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の発現と相関すると考えられる。上記miRの一つまたは複数の検出を使用して癌を特徴決定することができる。

【0569】

小胞中に検出され、癌を特徴決定するために使用されるmiRの他の例が、前立腺癌と関連した3,765種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。

10

【0570】

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の一つまたは複数の小胞中に検出し、固形癌を特徴決定するために使用することができる。

【0571】

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PCT公開公報第WO2006126040号、第WO2006033020号、第WO2005116250号および第WO2005111211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。

20

【0572】

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、マイクロRNA、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、酵素の突然変異検出、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、イムノアッセイ法、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）、ラジオイムノアッセイ法（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。

30

40

【0573】

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

50

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US2005/015870 8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。

10

【0574】

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。

20

【0575】

バイオマーカーを検出する方法は、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、検出されることができる。PCT公開公報第W02009092386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テトラスパンニン、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ンニン、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ンニン、たとえばCD9、CD63およびCD81を含む。場合

30

40

50

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。

【0576】

いくつかの態様において、捕捉物質はEpCam、BTH3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、PSCA、TNFR、CD63、B7H3、MFG-E8、EpCam、Rab、CD81、STEAP、PSCA、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、epha2、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、PSCA、PSMA、B7H3、CD81、CD9およびCD63から選択される。

【0577】

他の態様において、捕捉物質はPSCA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PSCA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PSCA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；PSCA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、PSCA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PSCA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PSCA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PSCA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PSCA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PSCA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、epha2、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2およびTETSの一つまたは複数を含む小胞を捕捉する工程、ならびに捕捉された小胞の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すことにより、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。

【0578】

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識別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識別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TagMan（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。

【0579】

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。二種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。

【0580】

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。蛍光検出体が表示されている。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

【0581】

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

【0582】

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。

【0583】

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平方ミクロンから約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。

30

【0584】

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設された穴を有するガasketをその表面に配置することもできる。このようなガasketは好ましくは液密である。ガasket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。

40

【0585】

50

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。

【0586】

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)、10 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照文献、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

【0587】

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工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されている。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。30 40

【0588】

バイオチップは、マイクロ流体工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。マイクロ流体工学デバイスは、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。マイクロ流体工学システムは、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。マイクロ流体工学デバイスは、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50

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。

【0589】

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。ある状態においては、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。

【0590】

新規なナノ製造技術が、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。

【0591】

さらに本明細書に提供されるものは、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である。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 Phipps 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。

【0592】

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）をアドレス可能なマイ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マイクロスフェア（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64Bに示されるようにそのマイクロスフェアの表面で起こる。小胞に対する結合物質は、ビーズに結合され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マイ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。

【0593】

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64A～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マイ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、少なくとも二種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。

【0594】

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、異なるマイ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64Cに示すように、検出される五種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種のバイオマーカーの組み合わせは、約100種の検出される組み合わせを生じさせることができる。図64C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。

【0595】

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される。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。

【0596】

また、イムノ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64Aは、サンドイッチタイプのイムノ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イムノ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。

【0597】

図64D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64D(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（6400）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（6401）および／または疾患特異的バイオマーカー（6402）に対する検出物質で標識する。起始細胞検出物質（6401）のみが使用されるならば、表現型（6403）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（6400）および起始細胞バイオマーカー（6401）を含むことができる。疾患検出物質（6402）のみが使用されるならば、表現型（6403）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（6400）および疾患バイオマーカー（6402）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（6401）および疾患特異的バイオマーカー（6402）の両方を検出する。この場合、表現型（6403）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（6400）、起始細胞バイオマーカー（6401）および疾患バイオマーカー（6402）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。

【0598】

図64D(ii)に示すスキームにおいては、起始細胞バイオマーカー（6410）および／または疾患バイオマーカー（6411）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（6412）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（6410）のみが使用されるならば、表現型（6413）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（6410）および一般的小胞マーカー（6412）を含むことができる。疾患バイオマーカー捕捉物質（6411）のみが使用されるならば、表現型（6413）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（6411）および一般的小胞バイオマーカー（6412）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（6410）および一つまたは複数の疾患特異的バイオマーカー（6411）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（6413）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（6410）、疾患バイオマーカー（6411）および一般的小胞マーカー（6413）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。

【0599】

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64E(iii)に示すスキームにおいては、起始細胞バイオマーカー（6420）、疾患バイオマーカー（6421）および一般的小胞マーカー（6422）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（6420）。単離された小胞のペイロードを評価する（6423）。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（6424）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。

【0600】

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64E(iv)に示すスキームにおいては、小胞集団を単離し(6430)、単離された小胞のペイロードを評価する(6431)。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(6432)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。

【0601】

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、ウエスタンブロット法、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。

【0602】

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。

【0603】

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。

【0604】

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 (Metabometrix)、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。

【0605】

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。

【0606】

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。

【0607】

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。

【0608】

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。

【0609】

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（単一および多重分析を介する）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。

【0610】

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

10

20

30

40

50

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。

10

【0611】

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。

【0612】

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。

20

【0613】

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。

30

【0614】

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決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

40

50

の効果について、臨床的判断が行われる。

【0615】

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現をもたらす発現レベルを有している。

10

【0616】

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。

20

【0617】

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mRNAまたはmiRNA（バイオマーカー）の発現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。

30

【0618】

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、

$I(p_{sid})$ = 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

40

である。

【0619】

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。

【0620】

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

50

イオマーカ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イオマーカ群を考える場合、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。

【0621】

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ーは、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。

【0622】

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。

【0623】

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。

【0624】

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イオマーカ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、K

RAS遺伝子のエクソン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つのエク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のエクソン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。

【0625】

10

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。

20

【0626】

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アプタマ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アプタマーは、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。アプタマ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。

30

【0627】

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。

40

【0628】

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64E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（230）、その中に含まれるマイクロRNA種のレベルを測定して（231）、それによって表現型を特徴決定することにより（232）、表現型を特徴決定することを含む。

【0629】

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

50

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。

【0630】

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。

10

【0631】

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（IgG2a κ）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。

【0632】

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、アネキシニン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、アネキシニン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。

20

【0633】

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66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。

30

40

【0634】

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。

【0635】

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。

50

【0636】

結腸癌を特徴決定するための小胞は、アンギオポイエチン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、mAbgb3.1、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。

【0637】

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。

10

【0638】

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。

【0639】

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。

【0640】

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。

20

【0641】

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。

【0642】

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。

30

【0643】

脳腫瘍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。

【0644】

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、 $\alpha E\beta 7$ 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ることができる。

40

【0645】

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。

【0646】

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。

【0647】

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

50

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。

【0648】

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。

【0649】

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。

10

【0650】

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。

【0651】

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。

【0652】

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。

20

【0653】

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。

【0654】

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。

30

【0655】

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。

【0656】

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。

【0657】

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。

40

【0658】

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。

【0659】

プリオン特異的疾患を特徴決定するための小胞は、rhuPrR(c)アプタマー、DP7アプタマ

50

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。

【0660】

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。

【0661】

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。

10

【0662】

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。

【0663】

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。

【0664】

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。

20

【0665】

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。

【0666】

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。

30

【0667】

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。

【0668】

不安定プラークを特徴決定するための小胞は、Gd-DTPA-g-mimRGD（ $\alpha v \beta 3$ 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。

40

【0669】

卵巣癌を特徴決定するための小胞は、（90）Y-muHMFg1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。

【0670】

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

50

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。

【0671】

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。

【0672】

前立腺癌、結腸癌および卵巣癌のバイオシグネチャー

前立腺癌

バイオシグネチャー、たとえば特定のバイオシグネチャーを有する小胞のレベル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、前立腺癌と関連した結合物質（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セレクトイン、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、前立腺癌と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。

【0673】

前立腺癌のバイオシグネチャーは、前立腺癌と関連した抗原（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、TMPRSS2、FASLG、TNFSF10、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、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。

【0674】

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、TMPRSS2、FASLG、TNFSF10、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もしくは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。

【0675】

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、MGM2、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6

10

20

30

40

50

0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。

【0676】

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、TMPRSS2、FASLG、TNFSF10、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。

10

【0677】

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、TMPRSS-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。

【0678】

小胞を、前立腺癌に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。または、前立腺癌に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。

20

【0679】

図68に示すように、前立腺癌バイオシグネチャーは、小胞のEpCam、CD63、CD81、CD9またはそれらの任意の組み合わせをアッセイすることを含むことができる。前立腺癌バイオシグネチャーは、EpCam、CD9、CD63、CD81、PCSA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。たとえば、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を含むことができる（たとえば図70Aを参照）。前立腺癌バイオシグネチャーはまた、PCSA、PSMA、B7H3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70Bを参照）。

【0680】

さらには、複数のバイオマーカーを評価することが、複数よりも少ないバイオマーカーを評価する場合に比べて、感度、特異度またはシグナル強度の増大を提供することができる。たとえば、PSMAおよびB7H3を評価することは、PSMAまたはB7H3を単独で評価する場合に比べて、検出の感度の増大を提供することができる。CD9およびCD63を評価することは、CD9またはCD63を単独で評価する場合に比べて、検出の感度の増大を提供することができる。一つの態様において、以下のバイオマーカー：EpCam、CD9、PCSA、CD63、CD81、PSMA、B7H3、PSCA、ICAM、STEAPおよびEGFRの一つまたは複数が検出される。もう一つの態様において、EpCam+、CK+、CD45-小胞が検出される。

30

【0681】

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。

40

【0682】

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

50

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。

【0683】

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の一つまたは複数の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の一つまたは複数の含む。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。

10

【0684】

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、対象由来の試料中の小胞集団を捕捉する工程、(b) 小胞集団中の一つまたは複数の癌バイオマーカーのレベルを測定する工程、(c) 小胞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測定する工程、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しきい値を満たすならば、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の一つまたは複数の含む。いくつかの態様において、所定のしきい値は、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。

20

【0685】

もう一つの態様において、前立腺癌の予後は、EpCam、CK(サイトケラチン) およびCD45発現を検出することにより、EpCamおよびCKが検出される、または高い発現で検出され、CD45の検出が低い、または不在(すなわち、EpCam+、CK+、CD45-である小胞)である場合に不十分な予後が提供されるように決定される。

【0686】

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。

30

【0687】

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%の特異度などで、対象の前立腺癌を特徴決定することもできる。

40

【0688】

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

50

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。

【0689】

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。 10

【0690】

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。 20

【0691】

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。

【0692】

胃腸癌

胃腸管は、非限定的に、口腔、歯ぐき、咽頭、舌、唾液腺、食道、脾臓、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。 30

【0693】

結腸癌

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。

【0694】

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 40 50

、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。

【0695】

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TOPO1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。

10

【0696】

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、結腸癌に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。

【0697】

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80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。

20

【0698】

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、該結腸癌を特徴決定することができる。

30

【0699】

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、対象の結腸癌を特徴決定することもできる。

40

【0700】

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

50

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、結腸癌を特徴決定することもできる。

【0701】

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。 10

【0702】

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）卵巣癌と関連する抗原、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、卵巣癌と関連する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、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。 20

【0703】

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。 30

【0704】

診断、予後判定、またはセラノー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。 40

【0705】

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 50

、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。

【0706】

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。

10

【0707】

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。

【0708】

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。

20

【0709】

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。

30

【0710】

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。

【0711】

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。

40

【0712】

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な小胞を

50

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。

【0713】

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。

【0714】

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。

【0715】

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、チャージ・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。

【0716】

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。

【0717】

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、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。

【0718】

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。表現型を特徴決定することは、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

10

20

30

40

50

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

【0719】

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。

【0720】

20

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。

【0721】

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、非応答者である可能性が高いのか、応答者である可能性が高いのかを決定することができる。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。

30

40

【0722】

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

50

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。

【0723】

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。

【0724】

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決定する。

【0725】

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決定するために使用することができ、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。

【0726】

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。

【0727】

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）。

【0728】

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。

【0729】

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。

【0730】

いくつかの態様において、マイクロ小胞プロファイリングによって選択された候補治療は対象における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。

【0731】

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。

10

【0732】

本発明のバイオシグネチャーに基づくセラノースは、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スであることができる。表現型を特徴決定することは、対象に対するセラノースを決定すること、たとえば、対象が、治療に応答する可能性が高い（「応答者」）か、治療に対して非応答性である可能性が高い（「非応答者」）かを予測することを含む。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高いか、治療に応答しない可能性が高い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5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5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。

20

【0733】

（表5）病態に対するバイオマーカーおよび薬学的介入の例

30

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である可能性が高いのか、非応答者である可能性が高いの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、脳腫瘍、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。

10

【0735】

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、3、6、7、9～12、14～22、25～33、50～51、53～54、59および60に記載されたものを含むことができる。

【0736】

本発明は、癌を特徴決定するためのバイオシグネチャーを同定する数多くの方法を提供する。さらに本明細書に提供されるものは、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である。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。もう一つの態様において、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。もう一つの態様において、小細胞肺癌の小胞バイオシグネチャーは、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。

20

【0737】

癌：標準治療

癌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、対象に対する標準治療を選択することができる。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。標準治療または治療は、癌治療、たとえば放射線、手術、化学療法またはそれらの任意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。抗癌剤は、たとえば、抗CD52抗体（たとえばアレムツツマブ）、抗CD20抗体（たとえばリツキシマブ）および抗CD40抗体（たとえばSGN40）を含み、化学療法レジメンは、たとえば、CHOP（シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビ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、ビ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、エトポシド）、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+エトポシド、メチルプレドニゾン、シタラビン、シスプラチン）、ゲムシタビン、ビンクリスチン、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、ダウロルビシン、ビンクリスチン、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、テニポシドおよび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、ブレオマイシン、ドキソルビシン、エトポシド、メクロレタミン、プレドニゾン、ビンブラスチンおよびビンクリスチンを用いる併用治療、小分子阻害剤ならびにプロテオソーム阻害剤、たとえばボルテゾミブを含む。

30

40

50

【0738】

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治療法は、非限定的に、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）、アフィニトール（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、アテムツズマブ、ALIMTA、アリトレチノイン、アルカバン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、BEXXAR（登録商標）、ビカルタミド、BiCNU、ブレノキササン（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、カルシウムロイコボリン、カンパス（登録商標）、カンプトサル（登録商標）、カンプトテシン11、カペシタビン、Carac（商標）、カルボプラチン、カルムスチン、カルムスチンウェーハ、カソデックス（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、シトロボラム因子、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、シタラビンリポソーム、シトサルU（登録商標）、シトキササン（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、ダウノルビシンリポソーム、DaunoXome（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、ディフチトクス、Depo Cyt（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、デキスラゾキササン、DHAD、DIC、ディオデックス、ドセタキセル、ドキシル（登録商標）、ドキソルビシン、ドキソルビシンリポソーム、ドロキシア（商標）、DTIC、DTIC-Dome（登録商標）、デュロラン（登録商標）、エフデックス（登録商標）、エリガード（商標）、Ellence（商標）、エロキサチン（商標）、エルスパル（登録商標）、Emcyt（登録商標）、エピルビシン、エボエチン α 、エルビタックス、エルロチニブ、Erwinia由来Lアスパラギナーゼ、エストラムスチン、エチオールエトポフォス（登録商標）、エトポシド、リン酸エトポシド、オイレキシシン（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、フォルリン酸、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）ウェーハ、GM-CSF、ゴセレリン、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 α 2b（PEG結合物）、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 α 2b）、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、イクセムプラ（商標）、キドロラーゼ（t）、ラナコルト（登録商

10

20

30

40

50

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、ロイコボリン、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、ルプロン(登録商標)、ルプロンデポ(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(登録商標)、ネオサル(登録商標)、ニューラスト(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、ニベント(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)、オンコビン(登録商標)、オンタック(登録商標)、オンキサル(商標)、オプレベルキン、オラプレド(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、ペガスパルゲース、ペグフィルグラスチム、PEG-INTRON(商標)、PEG-Lアスパラギナーゼ、PEMETREXED、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、PROCRIT(登録商標)、プロロイキン(登録商標)、プロリフェブロスパン20カルムスチンインプラント、プリネトール(登録商標)、ラロキシフェン、レブリミド(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 α 2a)、ルベックス(登録商標)、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、SPRYCEL(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roid(登録商標)、チオホスホアミド、チオプレックス(登録商標)、チオテパ、TICE(登録商標)、トポサル(登録商標)、トポテカン、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、トレキサール(商標)、トリセノックス(登録商標)、TSPA、TYKERB(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)、ビアデュール(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、ビンカサル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、ポリノスタット、VP-16、Vumon(登録商標)、キセロダ(登録商標)、ザノサル(登録商標)、ゼバリン(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)およびそれらの任意の適切な組み合わせを含む。

【0739】

本方法にしたがって同定される候補治療は、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、内分泌療法ー酵素阻害剤、内分泌療法ー他のホルモン拮抗剤および関連する剤、葉酸アナログ(たとえばメトトレキサ

10

20

30

40

50

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、モノクロナール抗体(EGFR標的化、たとえばパニツムマブ、セツキシマブ)、モノクロナール抗体(Her2標的化、たとえばトラスツズマブ)、モノクロナール抗体(多重標的化、たとえばアレムツズマブ)、他のアルキル化剤、他の抗新生物剤(たとえばアスパラギナーゼ)、他の抗新生物剤(たとえばATRA)、他の抗新生物剤(たとえばベキサロテン)、他の抗新生物剤(たとえばセレコキシブ)、他の抗新生物剤(たとえばゲムシタビン)、他の抗新生物剤(たとえばヒドロキシ尿素)、他の抗新生物剤(たとえばイリノテカン、ポトテカン)、他の抗新生物剤(たとえばペントスタチン)、他の細胞毒性抗生物質、白金化合物、ポドフィロトキシシン誘導体(たとえばエトポシド)、プロゲストゲン、タンパク質キナーゼ阻害剤(EGFR標的化)、タンパク質キナーゼ阻害剤(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、タキサン類(たとえばnabパクリタキセル)、ビ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、モノクロナール抗体(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)として同定される治療剤のクラスから選択することができる。

【0740】

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、アバレリックス、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prog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、ペグアスパラガーゼ、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より選択される。

【0741】

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6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

10

20

30

40

50

び／またはパニツムマブが比較的効果がない可能性が高いことを示唆することもできる。

【 0 7 4 2 】

(表 6) 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 比較的効果が低い薬剤	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	
BRAF V600E (突然変異陰性)	結腸直腸		セツキシマブ、 パニツムマブ
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

10

20

30

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	10
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		20
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)	
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)	30
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	40
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
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	

10

20

30

40

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	10
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)	ドキシソルビン		
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)		ドキシソルビン	
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	ドキシソルビン		
p糖タンパク質 (低発現)	乳房		ドキシソルビン	20
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、 ドキシソルビン、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、 ドキシソルビン、パクリタキセル	30
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	40
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)	膵臓	ゲムシタビン	
RRM1 (低発現)	膵臓		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)	膵臓	フルオロピリミジン類	
TS (低発現)	膵臓		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
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、リボ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、リボ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、リボ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、リボソームドキソルビシン、エピルビシン	

10

20

30

40

50

【0743】

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7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。

【0744】

(表7) 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	
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、メゲストロール、タモキシフェン、メドロキシprogesterone、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、ドキシソルビシン
HER-2 (ERBB2)	過剰発現	トラスツズマブ、ラパチニブ	
HIF-1α	過剰発現	ソラフェニブ、スニチニブ、ベバシズマブ	

10

20

30

40

IκB-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		ドキソルビシン、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、リボソームドキソルビシン
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、メグエストロール、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 IIα	過剰発現	ドキソルビシン、エピルビシン、リボソームドキソルビシン	
TOPO IIβ	過剰発現	ドキソルビシン、エピルビシン、リボソームドキソルビシン	
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	

10

20

30

【0745】

40

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。

【0746】

任意の薬物関連標的が、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。

50

薬物関連標的はまた、表6および7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薬物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、一つまたは複数の薬物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。薬物関連標的は、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。

10

【0747】

本発明の方法を使用して評価される薬物関連標的は、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、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、たとえばセラノーシ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、一つまたは複数の薬物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。一つまたは複数の薬物関連標的は、上記または表6～8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、一つまたは複数の薬物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。一つまたは複数の薬物関連標的は、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、小胞と関連していることができる。いくつかの態様において、一つまたは複数の薬物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、一つまたは複数の薬物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、一つまたは複数の薬物関連標的のより低い発現、ひいては薬物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。一つまたは複数の薬物関連標的は循環バイオマーカーであることができる。一つまたは複数の薬物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、一つまたは複数の薬物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が、対象が応答者である可能性が高いことを示す。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

20

30

40

50

る一つまたは複数の薬物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。一つまたは複数の薬物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6～7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。

【0748】

表8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8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。

【0749】

（表8）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
<i>ABCB1</i> , <i>PGP</i>	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1	<i>ABCB1</i> , <i>MDR1</i> , <i>PGP</i>	Multidrug resistance protein 1; P-glycoprotein
<i>ABCC1</i> , <i>MRP1</i>	ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 1	<i>MRP1</i> , <i>ABCC1</i>	Multidrug resistance-associated protein 1
<i>ABCG2</i> , <i>BCRP</i>	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 2	<i>ABCG2</i>	ATP-binding cassette sub-family G member 2
<i>ACE2</i>	angiotensin I converting enzyme (peptidyl-dipeptidase A) 2	<i>ACE2</i>	Angiotensin-converting enzyme 2 precursor
<i>ADA</i>	adenosine deaminase	<i>ADA</i>	Adenosine deaminase
<i>ADH1C</i>	alcohol dehydrogenase 1C (class I), gamma polypeptide	<i>ADH1G</i>	Alcohol dehydrogenase 1C
<i>ADH4</i>	alcohol dehydrogenase 4 (class II), pi polypeptide	<i>ADH4</i>	Alcohol dehydrogenase 4
<i>AGT</i>	angiotensinogen (serpin peptidase inhibitor, clade A, member 8)	<i>ANGT</i> , <i>AGT</i>	Angiotensinogen precursor
<i>ALK</i>	anaplastic lymphoma receptor tyrosine kinase	<i>ALK</i>	ALK tyrosine kinase receptor precursor
<i>AR</i>	androgen receptor	<i>AR</i>	Androgen receptor
<i>AREG</i>	amphiregulin	<i>AREG</i>	Amphiregulin precursor
<i>ASNS</i>	asparagine synthetase	<i>ASNS</i>	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, MS4A1	membrane-spanning 4-domains, subfamily A, member 1	CD20	B-lymphocyte antigen CD20
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
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
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
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

10

20

30

40

EPHA2	EPH receptor A2	EPHA2	Ephrin type-A receptor 2 precursor	10
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	
ERCC1	excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1 (includes overlapping antisense sequence)	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	
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	20
FSHR	follicle stimulating hormone receptor	FSHR	Follicle-stimulating hormone receptor precursor	
FYN	FYN oncogene related to SRC, FGR, YES	FYN	Tyrosine-protein kinase Fyn	
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	Progonadoliberin-1 precursor	30
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	40
HGF	hepatocyte growth factor (hepapoietin A; scatter factor)	HGF	Hepatocyte growth factor precursor	
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	

IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	IL-13RA1	Interleukin-13 receptor subunit alpha-1 precursor	10
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	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	20
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	30
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	40
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	
PIK3CA	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide	PI3K subunit p110α	phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide	

PSMD9, P27	proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 9	p27	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 9	10
PTEN	phosphatase and tensin homolog			
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	
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	20
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	30
TLE3	transducin-like enhancer of split 3 (E(sp1) homolog, Drosophila)	TLE3	Transducin-like enhancer protein 3	
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	40
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

【 0 7 5 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、

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), BCEL, 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,

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-

10

20

30

40

50

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 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), OSTEOPONTIN (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 (PTH LH), 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, PTH LH, PTHrP, RAD51, RAD52, RAD54, RAP46, RECEPTOR-ASSOCIATED COACTIVATOR 3 (RAC3), REPRESSOR OF ESTROGEN RECEPTOR ACTIVITY (REA), S100A4, S100A6, S100A7, S6K, SART-1,

10

20

30

40

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

を含む。遺伝子および／または遺伝子産物は、癌のセラノー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。

【0751】

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)、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2 (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。

30

【0752】

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。

【0753】

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。

40

【0754】

上記のように、癌のセラノー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

50

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と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WO/2010/121238または「SYSTEMS AND METHODS OF CANCER STAGING AND TREATMENT」と題する2009年2月19日出願のWO/2009/105223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。

【0755】

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可能性が高いのか、応答しない可能性が高いのかを決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ことを含み、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）可能性が高いことを示す。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-モルホリニル)プロポキシ]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'-k]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

10

20

30

40

50

する。

【0756】

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。

【0757】

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。

【0758】

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。

【0759】

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。

【0760】

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。

10

【0761】

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。

20

【0762】

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、自己免疫または接続組織疾患の一つから生じる炎症病態と関連する）を含む。

30

【0763】

心血管：バイオシグネチャー

40

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。

【0764】

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。

50

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。

【0765】

10

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9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。

【0766】

（表9）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

10

20

30

40

50

【0767】

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・

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。

【0768】

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ネル、Kv1.5チャネルおよびアセチルコリン活性化カリウムチャ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、ピソプロロール、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、ベルナカラント、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。

【0769】

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。

【0770】

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。

【0771】

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。

【0772】

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。

【0773】

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。

【0774】

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。

【0775】

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。

【0776】

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。

【0777】

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ため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10のもの、多発性硬化症を患う対象に対する表11のものを含む。

【0778】

（表10）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、 ネットグリタゾン。 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。	グリメブリド、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、Qaralin、インスリンデテミル、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。	レパグリニド、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
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, デクスリポタム, 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

10

20

30

40

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

10

20

【0779】

(表11) 多発性硬化症治療に対する薬物のクラス

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

10

20

30

【0780】

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11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。

【0781】

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

40

50

ことができる。

【0782】

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。

【0783】

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

【0784】

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

【0785】

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

【0786】

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

【0787】

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。

【0788】

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

【0789】

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

【0790】

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、デュークレー桿菌、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

【0791】

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、レンサ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

【0792】

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。

【0793】

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

【0794】

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

【0795】

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。

【0796】

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ス）、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、GrmB（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（ジヒドロプロテオ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タンパ

30

40

50

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、エラストアーゼ（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（Vnh）、ヘキソンタンパク質（アデノウイルス）、ヘキソンタンパク質（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）、IcaA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、MS P（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 (NS5) (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 (SARS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 (外膜ポーリンタンパク質) (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 (プラスミノージェン活性化因子)、プラスミノージェン結合タンパク質、Pld、ニューモリシン、Pol、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)、RdRp (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)、Rev、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 (ペロ毒素)、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0、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)、TEMメタロー β ラクタマーゼ、TRAP (トロンプ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、ToxR (

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 (閉鎖帯毒素)、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 (オリエンティアツツガムシ)、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、ERG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 (BP0023)、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)

10

20

30

40

50

、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）、NS5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）、ORF3（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）、VNTR（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）（野兔病菌）、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）、blaIMP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（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）、blaSIM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）、blaVIM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）、cagA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）（野兔病菌）、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、gHお

10

20

30

40

50

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、ptx（プロモータ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トラーゼ）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。

10

20

30

【0797】

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。

【0798】

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、ドリペネム、イミペネム／シラスタチン、メロペネム、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、セフトジジム、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、セフトピブロール、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

40

50

、チカルシリン、バシトラシン、コリスチン、ポリミキシン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、スルフィソキサゾール、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12にも記載されている。

【0799】

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、アンブレナビル、アンプリゲン、アルビドール、アタザナビル、アトリプラ、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、ホスアンブレナビル、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α2A、ペンシクロビル、ペラミビル、プレコナリル、ボドフィロトキシン、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、チブラナビル、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、ビクリビロック、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。

【0800】

(表12) 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	ノボビオシン
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

【0801】

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、アンプレナビル、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。

【0802】

10

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。

【0803】

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

【0804】

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

【0805】

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

50

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。

【0806】

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。

【0807】

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。

【0808】

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。

【0809】

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。

【0810】

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、ドネペジル、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、エンタカポン、酢酸グラチラマー、ペモリン、ジバルプロックス、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、ホスプロポフォール二ナトリウム、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、臭化水素酸エレトリプタン、臭化水素酸ガランタミン、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、トルカポン、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

【0811】

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11、パーキンソン病の対象に関して表13、またはうつ病の対象に関して表14に記載されたものを含む。

【0812】

(表13) 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

【 0 8 1 3 】

(表 1 4) 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、 ドキシピン、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。	アブレピタント, 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

【0814】

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 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

定することができる。

【0815】

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13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

【0816】

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。

【0817】

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

【0818】

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

【0819】

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。

【0820】

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

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。

【0821】

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こと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弁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

【0822】

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、脳腫瘍、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

【0823】

本明細書に記載されるバイオマーカーまたは特異的バイオマーカーの型のいずれかを評価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。ある態様において、発見のために選択されるバイオマーカーは、図1～60、表6～8または表22に記載された遺伝子およびマイクロRNAを非限定的に含む、本明細書に記載されるような細胞特異的バイオマーカーを含む。バイオマーカーは、一つまたは複数の薬物関連標的、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-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、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。バイオ

40

50

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。

【0824】

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、PDCD61P、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。

【0825】

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、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、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、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、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、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100A～C、102Aおよび／または103A～Eに示されたものの一つまたは複数を含む。

【0826】

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。

【0827】

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シ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決定することができる。

10

【0828】

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

【0829】

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

【0830】

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。

【0831】

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る。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。

40

【0832】

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。

50

。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。

【0833】

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。

【0834】

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、ウエスタンブロット法、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。

【0835】

小胞はさらに、一つまたは複数の核酸、脂質、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。

【0836】

小胞組成物

同じく本明細書に提供されるものは、特定のバイオシグネチャーを有する単離された小胞である。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。

【0837】

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

10

20

30

40

50

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、PSCA、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。

10

【0838】

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。

【0839】

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。

【0840】

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

30

【0841】

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。

40

【0842】

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

50

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。

【0843】

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。

10

【0844】

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。

【0845】

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。

20

【0846】

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。

30

【0847】

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。

40

【0848】

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。

50

【0849】

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。

【0850】

多重分析を使用して、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。

【0851】

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。

【0852】

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。

【0853】

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。

【0854】

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。

【0855】

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。

【0856】

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。

【0857】

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。

【0858】

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。

【0859】

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ー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。

【0860】

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ーのうちの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。

【0861】

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。

【0862】

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。

【0863】

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

10

20

30

40

50

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種類の小胞、または非均質集団中の小胞等の複数種類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。

【0864】

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。

【0865】

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。

【0866】

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。

【0867】

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、

10

20

30

40

50

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決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、治療に反応する可能性が高いことを示すパターン、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決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／対照の小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

【0868】

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

【0869】

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。

- (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）。
- (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。
- (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。

30

40

【0870】

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

50

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态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

【0871】

診断、予後判定、および治療選択および／もしくは生理的状态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；固有行列（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

【0872】

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、存在または不在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62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

【0873】

図62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62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62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

【0874】

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62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

50

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。

【0875】

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。

【0876】

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能である。

【0877】

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

【0878】

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。

【0879】

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、Kh aoustov, 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

【0880】

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。

【0881】

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。

40

【実施例】

【0882】

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

50

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。

【0883】

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。

【0884】

収集カップ中の通過画分を注ぎ出す。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。

【0885】

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。

【0886】

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。

【0887】

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。

【0888】

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。

【0889】

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 µl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 µlをP-200ピペットで除去し、沈殿物を、約10 µl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 µl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 µg/mlの濃度まで、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中で懸濁した。

【0890】

実施例3: 血漿収集および小胞精製

10

20

30

40

50

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。

【0891】

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。

【0892】

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。

【0893】

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。

【0894】

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。

【0895】

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。

【0896】

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。

【0897】

実施例4：抗体が結合したマイ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64A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。

【0898】

まず、抗体が結合したマイクロスフェアセット（Luminex, Austin, TX）を選択する。マイ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。マイクロスフェアを、ボルテックスで再懸濁し、約20秒間、超音波処理する。作業用のマイクロスフェア混合物は、結合したマイクロスフェアの原液を、Startblock（Pierce（37538））中の各セットのマイクロスフェア100個/ μ Lの最終濃度まで希釈することによって調製する。（注記：各ウェルに対し、50 μ Lの作業用のマイクロスフェア混合物が必要とされる。）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。

【0899】

1.2 μ m ミリポアフィルタープレートを、100 μ l/ウェルのPBS-1% BSA（Sigma（P3688-10PAK+0.05% Naアジド（S8032）））で事前に湿潤し、真空マニホールドによって吸引する。50 μ lの作業用のマイクロスフェア混合物のアリコートを、フィルタープレート（ミリポアマルチスクリーン（Millipore Multiscreen）HTS（MSBVN1250））の適切な

10

20

30

40

50

ウェルに分注する。標準または試料の50 μ lのアリコートをし、適切なウェルに分注する。フィルタープレートを覆い、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。

【0900】

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 μ l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。マイクロスフェアは、50 μ L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 μ g/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 μ Lの希釈した検出抗体が必要とされる。）50 μ l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。フィルタープレートを覆い、プレート振盪器上で、室温で60分間培養する。フィルター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 μ l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。マイクロスフェアは、100 μ l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分析器上でマイクロスフェアを分析する。

【0901】

実施例5：抗体が結合したマイ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。

【0902】

まず、適切な抗体が結合したマイクロスフェアセット（Luminex, Austin, TX）を選択する。マイクロスフェアを、ボルテックスで再懸濁し、約20秒間、超音波処理する。作業用のマイクロスフェア混合物は、結合したマイクロスフェアの原液を、Startblock（Pierce（37538））中の各セットのマイクロスフェア50個/ μ Lの最終濃度まで希釈することによって調製される。（注記：各ウェルに対し、50 μ Lの作業用のマイ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。

【0903】

1.2 μ m ミリポアフィルタープレートを、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）））で事前に湿潤し、真空マニホールドによって吸引する。50 μ lの作業用のマイクロスフェア混合物のアリコートを、フィルタープレート（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。フィルター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。覆ったフィルター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。

【0904】

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）。パール真空マニホールドを用いて吸引を行うことができる。バルブは、プレートがマニホールド上に置かれる場合、完全にオフポジションに置く。ゆっくりと吸引するために、バルブは、ウェルから流体を出すように開口し、ウェルから十分に吸引するには100 μ lの試料およびビーズに対して約3秒かかる。試料が流出した時点で、マニホールド上のパージボタンを押し、プレートからの残存真空圧を放出させる。

【0905】

各ウェルは、100 μ lのPBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (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。マイクロスフェアは、50 μ lのPBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) 中で再懸濁される。

【0906】

ビオチン化検出抗体を、PBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (Sigma (P3688-10PAK+0.05% Naアジド (S8032))) 中で4 μ g/mLまで希釈する。(注記：各反応に対し、50 μ Lの希釈検出抗体が必要とされる。) 50 μ lの希釈検出抗体のアリコートをし、各ウェルに添加する。

10

【0907】

フィルタープレートを覆い、上記のように、振盪しながら培養する。上清は、上記のように真空マニホールドによって吸引する。ウェルを、上記のようにPBS-BNによって洗浄および再懸濁する。

【0908】

ストレプトアビジン-R-フィコエリトリンレポーター (分子プローブ 1mg/mL) を、PBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) 中で4 μ g/mLまで希釈する。各反応に対して50 μ Lのストレプトアビジン-R-フィコエリトリンが必要とされる。50 μ lの希釈ストレプトアビジン-R-フィコエリトリンのアリコートをし、各ウェルに添加する。

20

【0909】

フィルタープレートを覆い、上記のように、振盪しながら培養する。上清は、上記のように真空マニホールドによって吸引する。

【0910】

各ウェルは、100 μ lのPBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) (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。マイクロスフェアは、100 μ lのPBS-1% BSA+アジド (PBS-BN) 中で再懸濁し、システムマニュアルに従って、Luminex分析器上でマイクロスフェアを分析する。

【0911】

実施例6：多重化を用いた前立腺癌に対するバイオシグネチャーの決定

実施例1~3に記載される方法を用いて得られた試料は、実施例4および5に記載される、多重化アッセイに使用される。使用した検出抗体は、CD63、CD9、CD81、B7H3、およびEpCamである。使用した捕捉抗体は、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、これは、スクリーニングすべき100個の組み合わせをもたらす (図64B)。

30

【0912】

10人の前立腺癌患者および12人の正常対照患者をスクリーニングした。図68および図70Aに結果を示す。図70Bは、PSCA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、ならびに1つ以上の検出抗体を用いた検出を示す。異なる組み合わせの感度および特異度を図73に示す。

【0913】

実施例7：多重化を用いた結腸癌に対するバイオシグネチャーの決定

実施例3に記載される方法を用いて得られた小胞試料は、実施例4および5に記載される、多重化アッセイに使用される。使用した検出抗体は、CD63、CD9、CD81、B7H3、およびEpCamである。使用した捕捉抗体は、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、これは、スクリーニングすべき100個の組み合わせをもたらす。

40

【0914】

図69、71、および72に結果を示す。異なる組み合わせの感度を図74に示す。

【0915】

実施例8：磁気ビーズを用いた小胞の捕捉

50

実施例2に記載されるように単離した小胞を使用する。約40 µlの小胞を、約5 µg (約50 µl) の、EpCam抗体でコーティングしたDynaIビーズ (Invitrogen, Carlsbad, CA) 、および50 µlのStarting Blockと共に培養する。小胞およびビーズを、振盪培養器中で、45 °Cで2時間振盪させながら培養する。DynaIビーズを含むチューブを、磁気分離機上に1分間置き、上清を除去する。ビーズを2回洗浄し、上清を毎回除去する。ビーズを2回洗浄し、毎回上清を廃棄する。

【0916】

実施例9：小胞中のTMPRSS2：ERGの検出

実施例9のビーズに結合した小胞からのRNAを、製造業者からの説明書に従って、Qiagen miRneasy (商標) キット (Cat.No. 217061) を用いて単離した。

10

【0917】

小胞は、トリゾール抽出法 (QIAzol (商標) 溶解試薬 (Cat.No. 79306)) を使用してホモジナイズする。クロロホルムを添加した後、ホモジネートは、遠心分離によって水相と有機相に分離する。RNAは、上層の水相に分配され、一方DNAは中間層に、タンパク質は下層の有機相または中間層に分配される。上層の水相を抽出し、エタノールを添加して18ヌクレオチド (nt) 以上の全てのRNA分子に対して適切な結合条件を提供する。次いで、試料をRNeasy (商標) ミニスピンカラムに添加し、膜に結合した全RNA、およびフェノール、および他の混入物質を、効率的に洗い落とす。次いで、高品質のRNAを、RNaseを含まない水中で溶出させる。

【0918】

20

VCAPビーズで捕捉された小胞からのRNAは、Taqman TMPRSS:ERG融合転写物アッセイを用いて測定した (Kirsten D. Mertz et al. Neoplasia. 2007 March;9(3):200-206.) 。22Rv1ビーズで捕捉された小胞からのRNAは、Taqman SPINK1転写物アッセイを用いて測定した (Scott A. Tomlins et al. Cancer Cell 2008 June 13(6):519-528) 。また、GAPDH転写物 (対照転写物) は、エキソソームのRNAの両方のセットに対しても測定された。

【0919】

CT値が高いほど、転写物の発現が低いことを示す。サイクル閾値 (CT) の1の変化が2倍の変化と同等、3 CT差が4倍の変化と同等である等であり、これは、 $2^{CT_1 - CT_2}$ で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陰性対照ビーズを用いて捕捉された同等物の発現のCTにおける差異を示す (図75) 。22RV1小胞中のSPINK1転写物の同じ比較は、6.14のCT差を示し、70.5の倍率変化に対応する (図75C) 。

30

【0920】

実施例10：小胞におけるマイクロRNAプロファイル

小胞は、実施例1および2に記載される、22Rv1、LNCaP、Vcap、および正常血漿 (16人のドナーからプールした) からの超遠心分離によって収集した。RNAは、Exiqon miR単離キット (Cat. No. 300110、300111) を用いて抽出した。BCAアッセイによって決定される場合、同量の小胞 (30 µg) を使用した。

【0921】

同量 (5 µl) を、マイクロRNAのための逆転写反応に利用した。逆転写酵素反応物は、81 µlの、ヌクレアーゼを含まない水に希釈し、次いで、9 µlのこの溶液を各miRアッセイに加えた。MiR-629は、PCa (前立腺癌) 小胞にのみ発現されることが見出され、正常血漿小胞においては実質的には検出することができなかった。MiR-9は、全てのPCa細胞株において、高度に過剰発現することが見出され (コピー数別に測定される場合、正常を超える約704倍の増加) 、正常血漿小胞中では非常に低い発現を有する。miRNAを差次的に発現した上位10を図76に示す。

40

【0922】

実施例11：磁気EpCamで捕捉された小胞のマイクロRNAのプロファイル

実施例9のビーズに結合した小胞を、トリゾール抽出試薬 (QIAzol (商標) 溶解試薬 (Cat. #79306)) 中に置いた。125fmolのC.エレガンス (c. elegans) miR-39のアリコート

50

． #217061) を用いて単離し、30 μ l のRNaseを含まない水中で溶出させた。

【0923】

10 μ l の精製したRNAを、Veriti 96ウェルのサーモサイクラーを用いる、miR-9、miR-141、およびmiR-629のための事前増幅反応に入れた。事前に増幅した溶液の1:5の希釈を使用して、miR9 (ABI 4373285)、miR-141 (ABI 4373137)、およびmiR-629 (ABI 4380969)、ならびにC.エレガンスmiR-39 (ABI 4373455) のためのqRT-PCR反応を設定した。各試料に対するC.エレガンスの結果に対して、これらの結果を標準化した。

【0924】

実施例12: CD9で捕捉された小胞のマイクロRNAのプロファイル

実施例12のように、EpCamでコーティングしたビーズの代わりに、CD9でコーティングしたDynalビーズ (Invitrogen, Carlsbad, CA) を使用した。前立腺癌患者からの小胞、LNC aP、または正常の精製エキソソームを、CD9でコーティングしたビーズと共にインキュベートし、RNAを、実施例12に記載されるように単離した。miR-21およびmiR-141の発現を、qRT-PCRによって検出し、これらの結果を図77および78に示す。

【0925】

実施例13: 前立腺癌に対する参照値

14人の第3期の前立腺癌対象、11の良性前立腺肥大症 (BPH) の試料、および15個の正常試料を試験した。実施例3に記載される方法を用いて小胞試料を得、実施例4および5に記載されるように、多重化アッセイにおいて使用した。これらの試料を解析して、1) 試料が過剰発現した小胞を有するか、2) 試料が過剰発現した前立腺小胞を有するか、3) 試料が過剰発現した癌小胞を有するか、および4) 試料が信頼性を有するかの4つの判定基準を判定した。試料が全て4つの判定基準を満たした場合、前立腺癌に対して陽性であるとする試料の分類は、以下に記載される、試料について存在する異なるバイオシグネチャー (癌-1、癌-2、および癌-3、図79) に依存して、変動する感度および特異度を有した。4つの判定基準は以下の通りであった。

【0926】

小胞の過剰発現

3つのアッセイにおいて、試料に対する平均蛍光強度 (MFI) を平均化し、該試料に対する値を決定した。各アッセイは、異なる捕捉抗体を使用した。第1は、CD9捕捉抗体、第2は、CD81捕捉抗体、第3は、CD63抗体を使用した。CD9、CD81、およびCD63に対する抗体である、検出抗体の同じ組み合わせを各アッセイに対して使用した。3つのアッセイに対して得られた平均値が3000を超えた場合、該試料は、過剰発現小胞を有するものとして分類された (図79、エキソソーム)。

【0927】

前立腺小胞の過剰発現

2つのアッセイにおいて、試料に対するMFIを平均化し、該試料に対する値を決定した。各アッセイは、異なる捕捉抗体を使用した。第1は、PCSA捕捉抗体を使用し、第2は、PSMA捕捉抗体を使用した。CD9、CD81、およびCD63に対する抗体である、検出抗体の同じ組み合わせを各アッセイに対して使用した。2つのアッセイに対して得られた平均値が100を超えた場合、該試料は、過剰発現した前立腺小胞を有するものとして分類された (図79、前立腺)。

【0928】

癌小胞の過剰発現

3つの異なる癌のバイオシグネチャーを使用して、癌小胞が、試料中で過剰発現するかどうかを決定した。第1の癌-1は、EpCam捕捉抗体およびCD81、CD9、およびCD63に対する検出抗体を使用した。第2の癌-2は、EpCamおよびB7H3に対する検出抗体とCD9捕捉抗体を使用した。3つの癌バイオシグネチャーのうちのいずれか2つに対する試料のMFI値が参照値を超えた場合、該試料は、過剰発現癌を有するものとして分類された (図79、癌-1、癌-2、癌-3を参照のこと)。

【0929】

10

20

30

40

50

試料の信頼性

2つの品質管理基準のQC-1およびQC-2を各試料について決定した。この試料がこれらのうちの1つを満たした場合、試料は、信頼性があるものとして分類された。

【0930】

QC-1については、7つのアッセイの全てのMFIの合計が決定された。7つのアッセイのそれぞれは、CD59およびPSMAに対する検出抗体を使用した。各アッセイに使用された捕捉抗体は、CD63、CD81、PCSA、PSMA、STEAP、B7H3、およびEpCamであった。合計が4000を超えた場合、その試料は、信頼性がなく、含まれなかった。

【0931】

QC-2については、5つのアッセイの全てのMFIの合計が決定された。5つのアッセイのそれぞれは、CD9、CD81、およびCD63に対する検出抗体を使用した。各アッセイに使用された捕捉抗体は、PCSA、PSMA、STEAP、B7H3、およびEpCamであった。合計が8000を超えた場合、その試料は、信頼性がなく、含まれなかった。

10

【0932】

試料が、本明細書に記載される判定基準を満たした後の、BPHを有する試料、およびBPHを有さない試料に対する、感度および特異度を、図79に示す。

【0933】

実施例14：結腸直腸癌細胞株におけるマイクロRNAの過剰発現

TaqMan Low Density Array (TLDA) miRNAカードを用いて、CRC細胞株対正常小胞におけるmiRNAの発現を比較した。miRNAを回収し、Applied Biosystems, Foster City, CA製のTaqMan (登録商標) MicroRNA Assays and Arraysシステムを用いて解析した。Applied BiosystemsのTaqMan (登録商標) Human MicroRNA Arrayを、製造業者によって提供されているMegaplex (商標) Pools Quick Reference Cardプロトコールに従って使用した。

20

【0934】

図80は、結腸直腸癌 (CRC) 細胞株対正常小胞のTLDA miRNAカードの比較を図示している。プロットは、正常な対照と比較して、CRC細胞株における2~3倍の発現の増加を示している。これらのmiRNAは黒色腫細胞では過剰発現していなかった。

【0935】

実施例15：濾過モジュールを用いた小胞の単離

6mLのPBSを1mLの血漿に加える。次いで、試料を1.2ミクロン (μm) のPallシリンジフィルターに通して、100kDa MWCO (Millipore, Billerica, MA)、150kDa MWCOを有する7mLカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL)、100kDa MWCOを有する15mLカラム (Millipore, Billerica, MA)、または150kDa MWCOを有する20mLカラム (Pierce (登録商標), Rockford, IL) の中へ直接入れる。

30

【0936】

容量が約250 μL になるまで、チューブを60~90分の間で遠心分離する。残留物を回収し、試料が300 μL になるまでPBCを加える。次いで、試料の50 μL を、例えば以下の実施例でさらに記載された、さらなる解析のために使用する。

【0937】

実施例16：フィルターを用いて単離された小胞の多重解析

40

実施例15に記載されている方法を用いて得られた小胞試料を、実施例21に記載されている多重化アッセイ法に使用する。捕捉抗体は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、およびEpCamである。検出抗体は、図87、88、および89に描かれているバイオマーカーCD9、CD81、およびCD63、またはB7H3 およびEpCamに対するものである。

【0938】

実施例17：前立腺癌患者からのフィルターを用いた小胞単離

150kDa MWCO (Cat.#89920/89922) を有する7mL Pierce (登録商標) 濃縮器を用いることにより、実施例1に記載されている方法を用いて得られた小胞試料を、実施例21に記載されている多重化アッセイ法に使用する。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。結果を

50

図83に示す。

【0939】

実施例18：フィルターを用いて単離された小胞対超遠心分離を用いて単離された小胞の比較

100kDa MWCOを有する500 μ lカラムを用いることにより、実施例1に記載されている方法を用いて得られた小胞試料を、実施例21に記載されている多重化アッセイ法に使用する。捕捉抗体は、CD9、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、およびEpCamに対する抗体である。検出抗体は、CD63、CD9、およびCD81に対する抗体である。結果を図84および85に示す。

【0940】

実施例19：前立腺癌の検出

高品質の練習用セット試料を商業的供給業者から入手した。試料は、正常な前立腺の患者42名、PCa患者42名、およびBPH患者15名由来の血漿で構成されていた。PCa試料は、4例のIII期を含み、残りがII期であった。研究室でのすべての作業が完了するまで試料を盲検化した。

【0941】

1.5ミクロンより大きな粒子を取り除くための濾過、それに続くカラム濃縮、および中空糸膜チューブを用いた精製によって、試料から小胞を得た。試料を多重化ビーズに基づくアッセイシステムを用いて解析した。

【0942】

以下のタンパク質に対する抗体を解析した。

- 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

【0943】

試料は、以下のような品質試験に合格する必要があった：多重化蛍光強度（MFI）PCSA + MFI B7H3 + MFI EpCam < 200の場合、試料はバックグラウンドを上回るシグナルがないために不合格となる。練習用セットでは、6例の試料（正常3例および前立腺癌3例）が十分な品質スコアに到達せず、除外された。MFIの上限も以下のように設定された：EpCamのMFIが > 6300の場合、試験は上限スコアを超え、試料は癌ではないと見なされる（すなわち、試験の目的に対して「陰性」）。

【0944】

試料を、練習用セットのタンパク質に対する6種の抗体のMFIスコアの結果に従って分類し、ここで、PCa陽性として分類される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MFI平均値 > 1500
- b. PCSA MFI > 300
- c. B7H3 MFI > 550
- d. EpCam MFI 550 ~ 6300

【0945】

84例の正常試料およびPCa練習用データ試料を用いて、試験はPCa対正常試料に対して感度98%および特異度95%であることが分かった。図90を参照されたい。従来のPSAおよびPCA3と比較した試験の感度および特異度を、それぞれ図91および92に示す。PSAおよびPCA3試験と比較して、本実施例において示されるPCa試験は、スクリーニングされる正常な男性1000人あたり220人のPCaを有しない男性を不必要な生検から救うことになり得る。

【0946】

実施例20：BPHとPCaとの区別

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しかできず、BPHとPCaを効率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されることが分かっている転写産物のPCA3は、PCaに対してわずかに特異度が高いと考えられているが、これはPSAおよびPCA3に対して用いられるカットオフ、ならびに調査される集団に依存する。

【0947】

BPHを小胞（MV）解析によって特徴決定することができる。実施例19に記載された試料を調べたところ、15例のBPH試料のうち10例（67%）が、III期を含むPCa試料よりも高レベルのCD63+の小胞を有している。図93を参照されたい。また、15例のBPHのうちの14例（93%）が正常よりも高レベルのCD63+の小胞を有する。このことは、BPHをPCaと区別するのに、癌とは異なる炎症特異的シグネチャーを使用できることを示している。

【0948】

実施例19からのPCa試験を、15例のBPH試料を含めて繰り返した。99例の試料すべてを用いたところ、試験は感度98%および特異度84%であった。図94を参照されたい。したがって、該試験はPSAに対して15%の改善を提供する。PSAおよびPCA3に対する性能値は一般的に、それらのコホートにおいてBPHなしの設定で報告されるが、それにもかかわらず、本発明の小胞試験はBPHが含まれた場合でさえ、従来の試験よりも性能が優れている。図95を参照されたい。この設定では、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人あたり110人の男性を不必要な生検から救うことになる。また、該試験は正常な男性の同定に優れた性能を示すため（すなわち、その集団において特異度95%、実施例19を参照されたい）、該アッセイ法からの陽性の結果により生検を受けたそれらの男性のうち大部分は、前立腺に何らかの問題があると考えられる。

【0949】

図96は、本発明の小胞アッセイ法対従来の試験のROC曲線解析を示す。ROC曲線がグラフの左上隅に向かって急激に上昇する場合、真陽性率は高く、偽陽性率（1-特異度）は低い。図16に示したAUC比較は、本発明の試験が試料を正確に分類する可能性が従来のPSAまたはPCA3試験よりもはるかに高いことを示している。

【0950】

図97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伴うMVのレベルの間で相関関係があることを示しており、このことは、これらのマーカーが対象集団において相互に関連していることを示すものである。そのような癌特異的マーカーをさらに用いて、BPHとPCaを区別することができる。該図面では、一般的小胞マーカーにはCD9、CD63、およびCD81が含まれ；前立腺MVマーカーにはPCSAおよびPSMAが含まれ；かつ癌MVマーカーにはEpCamおよびB7H3が含まれる。小胞捕捉マーカーを用いないPCa試料の試験は、一般的小胞マーカーを用いたものとはほぼ同じ感度および特異度の値を表した。同様に、B7H3を使用しない癌の検出は、性能のごく僅かな低下をもたらすだけである。これらのデータは、本発明のマーカーを代わりに用いて様々な構成で試験し、最適なアッセイ性能をさらに達成することができることを表している。

【0951】

図98は、試験の性能を改善するのに加えることができる、PCaと正常試料を識別し得るさらなるマーカーを示している。図98Aは、ICAM1、EGFR、STEAP1、およびPSCAで捕捉されたテトラスパニン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）レベルを示している。図98B～Dは、1つの捕捉物質および1つの検出物質を用いた、正常対象および癌の対象由来の小胞の評価を図示している。捕捉物質はEpCamに対する抗体であり、検出物質はCD81（図98B）、EpCam（図98C）、またはCD9（図98D）を検出する。

【0952】

実施例21：小胞PCaアッセイ法／試験

本実施例において、小胞PCa試験は、前立腺癌を有する患者の血漿由来の小胞上に存在する一連のタンパク質バイオマーカーの検出のためのミクロスフェアベースのイムノアッセイ法である。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（図99A）に対する特異的抗体を利用する。抗体をコーティングしたミクロスフェアによる小胞の捕捉後、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抗体を使用する。患者の血漿由来の小胞に対するこれらの抗体の結合のレベルに応じて、前立腺癌の有無の判定がなされる。

【0953】

実施例1に記載されているように小胞を単離する。

【0954】

マイクロスフェア

以下のマイクロスフェアをLuminexから入手する。各マイクロスフェアを特異的抗体に結合させ、その後マイクロスフェアを組み合わせてマイクロスフェアマスターミックスを作製する：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。以下のマイクロスフェア（xMAP（登録商標）Classification Calibration Microspheres）をLuminexから入手し、Luminex LX200装置用の装置の校正試薬として使用する：L100-CAL1。以下のマイクロスフェア（xMAP（登録商標）Reporter Calibration Microspheres）をLuminexから入手し、Luminex LX200装置用の装置レポーター校正試薬として使用する：L100-CAL2。以下のマイクロスフェア（xMAP（登録商標）Classification Control Microspheres）をLuminexから入手し、Luminex LX200装置用の装置対照試薬として使用する：L100-CON1。以下のマイクロスフェア（xMAP Reporter Control Microspheres）をLuminexから入手し、Luminex LX200装置用のレポーター対照試薬として使用する：L100-CON2。

10

【0955】

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マイ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、マイクロスフェア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、マイクロスフェア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、マイクロスフェア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、マイクロスフェア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、マイクロスフェア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、マイクロスフェア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、マイクロスフェア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。

20

30

【0956】

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。

40

【0957】

試薬調製

抗体精製：表15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。

50

【0958】

(表15) 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

20

【0959】

抗体精製のプロトコル：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。フィルター付きのP-200チップから作製したマイクロマトグラフィーカラムを精製に使用する。

【0960】

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。数分待っ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

40

【0961】

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MWM101には、表16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。

【0962】

(表16) 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

【0963】

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。

【0964】

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

【0965】

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

【0966】

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

50

テ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。）

【0967】

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900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。）

【0968】

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）。

【0969】

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に記載されているとおりである。システムマニュアルに従って、100 μ lをLuminexアナライザー（Luminex 200、xMAP technologies）で解析する（高PMT設定）。

【0970】

決定木：決定木（図99B～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99B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99C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、個々のテトラスピニンで小胞を捕捉する際およびすべてのテトラスピ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99D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、個々のテトラスピニンで小胞を捕捉する際およびすべてのテトラスピ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。

【0971】

実施例22：小胞タンパク質アレイ

本実施例において、前立腺癌を有する患者の血漿由来の小胞上に存在する一連のタンパク質バイオマーカーの検出のために、タンパク質アレイ、より具体的には抗体アレイを用いて小胞PCa試験を行う。アレイには、以下のタンパク質バイオマーカーに特異的な捕捉抗体が含まれる：CD9、CD59、CD63、CD81、PSMA、PCSA、B7H3、およびEpCAM。本明細書に

において記載されているとおりに小胞を単離する。PCaの危険がある男性（50歳超）の血漿由来の小胞の濾過および単離の後、血漿試料を、種々の捕捉抗体を保持しているアレイとインキュベートする。アレイにハイブリダイズする患者の血漿由来の小胞に結合している一般的小胞マーカー（CD9、CD81、および／またはCD63）に対する、蛍光標識した検出抗体の結合のレベルに応じて、前立腺癌の有無の判定がなされる。試料検証および前立腺癌検出の判定は、図99の決定木を用いてなされ得る。同様の解析では、捕捉された抗体を膜表面タンパク質に対する標識物質で標識する。例えば、Alroy et al., US 2005/0158708を参照されたい。

【0972】

第二のアレイ形式では、小胞を血漿から単離し、前立腺特異的マーカーおよび癌特異的なマーカーのPSMA、PCSA、B7H3、およびEpCAMに対する結合物質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で標識された一般的小胞マーカー（CD9、CD59、CD63、CD81）に対する抗体で標識する。蛍光を検出する。結合のパターンに応じて、前立腺癌の有無の判定がなされる。試料検証および前立腺癌検出の判定は、図99の決定木を用いてなされ得る。

【0973】

第三のアレイ形式では、小胞を血漿から単離し、CD9、CD59、CD63、およびCD81に対する抗体を含む一般的小胞バイオマーカーへの結合物質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で標識された前立腺特異的（PSMA、PCSA）および癌特異的（B7H3およびEpCAM）抗体への結合物質でタグ付けする。蛍光を検出する。結合のパターンに応じて、前立腺癌の有無の判定がなされる。試料検証および前立腺癌検出の判定は、図99の決定木を用いてなされ得る。

【0974】

実施例23：FACS解析

精製した血漿小胞を、MoFlo XDP (BC, Fort Collins, CO, USA)を用いてアッセイし、蛍光強度中央値をSummit 4.3ソフトウェア (BC, Fort Collins, CO, USA)を用いて解析する。細胞を抗体で直接標識し、またはビーズもしくはミクロスフェア（例えば、BD FACS 7-color setup、カタログNo.335775を含む、磁性の、ポリスチレン）を組み込むことができる。Microplex MicrospheresをLuminex (Austin, TX, USA) から入手し、Pierce Thermoから入手したスルホ-NHSおよびEDC（それぞれCat.No.24510および22981、Rockford, Ill, USA）を用いて、以下の抗体：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EpCAM、MAB9601、R&D Systems, Minneapolis, MN, USA）に結合させる。

【0975】

精製した膜小胞（10 µg/ml）を、振とうしながら室温で1時間、5,000個のミクロスフェアと共にインキュベートする。試料を、1700rpmで10分間、FACS緩衝液（0.5% FBS/PBS）中で洗浄する。検出抗体を、振とうしながら室温で1時間、製造業者推奨の濃度でインキュベートする。FACS緩衝液を用いて1700rpmで10分間さらに洗浄した後、試料を100 µlのFACS緩衝液に再懸濁し、FACS機器にかける。ミクロスフェアは、検出抗体含有量に応じて4本の異なるチューブに選別される。1本目は検出剤を有しないミクロスフェア群、2本目はPE検出剤を有するミクロスフェア群、3本目はFITC検出剤を有するミクロスフェア群、4本目はPEおよびFITC両方の検出剤を有するミクロスフェア群を含有する。

【0976】

実施例24：対象からの血清試料の入手

対象（健常者および前立腺癌を有する対象の両方）から血液を採取してEDTAチューブ、クエン酸チューブ、または、10mlのVacutainer SST plus Blood Collection Tube (BD367

10

20

30

40

50

985またはBD366643、BD Biosciences)に入れる。採取から2時間以内に、血漿単離のために血液を処理する。

【0977】

試料を最短30分間～最長2時間、室温で放置する。4℃、1,000～1,300×gで15～20分間の遠心分離によって、血餅の分離を達成する。血清を取り出し、500～750 μlのクライオチューブ中に500 μlのアリコートで分注する。試料を-80℃で保存する。

【0978】

所定の設定では、採血量は約20から約90mlの範囲となり得る。数本のEDTAチューブからの血液をプールし、RNase/DNaseフリーの50mlコニカルチューブ (Greiner) に移し、Hettich Rotanta 460R卓上遠心分離機で、室温にて1,200×gで10分間遠心分離する。ペレットをかき乱すのを回避するため、ペレットの上方0.5cmという一定の高さの血漿上清を残して、血漿を新しいチューブに移す。各アリコート間で混合するために反転させながら血漿を分注し、-80℃で保存する。

10

【0979】

実施例25：ヒト血漿および血清試料からのRNAの単離

400 μlのヒト血漿または血清を氷上で融解させ、等量の2×変性溶液 (Ambion) で溶解させる。mirVana PARISキット (Ambion) を用いて、液体試料のための製造業者のプロトコールを、試料が等量の酸性フェノール-クロロホルム (Ambionキットによって提供されている) で2回抽出されるように改変して、RNAを単離する。製造業者のプロトコールに従って、RNAを105 μlのAmbionの溶出溶液で溶出させる。各カラムから回収される溶出液の容量平均値は約80 μlである。

20

【0980】

mirVana PARIS (Ambion) プロトコールのスケールアップ版も使用する：10mlの血漿を氷上で融解させ、2本の5mlアリコートを50mlチューブに移し、等量のmirVana PARIS 2×変性溶液で希釈し、30秒間のボルテックス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。次いで、等量 (10ml) の酸性/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ローターで20℃、8,000rpmで5分間回転させる。酸性/フェノール/クロロホルム抽出を3回繰り返す。得られた水性の容量を、1.25容量の100%分子グレードのエタノールと徹底的に混合し、連続的な700 μlアリコートでmirVana PARISカラムに通す。カラムを製造業者のプロトコールに従って洗浄し、RNAを105 μlの溶出緩衝液 (95℃) に溶出する。溶出液のうちの計1.5 μlをNanodropによって定量する。

30

【0981】

実施例26：qRT-PCRを用いた、血漿および血清由来のRNAにおけるmiRNAレベルの測定

所定の試料のRNA単離に由来する約80 μlの溶出液から、一定容量である1.67 μlのRNA溶液を、逆転写 (RT) 反応への投入物として用いる。RNAが400 μlの血漿試料または血清試料から単離された試料に関して、例えば1.67 μlのRNA溶液とは、 $(1.67/80) \times 400 = 8.3 \mu\text{l}$ の血漿または血清に相当するRNAを表す。既知のmiRNAに相当する化学的に合成されたRNAオリゴヌクレオチドの検量線の作成のために、RT反応への最終投入物が1.67 μlの容量を有するように、水を用いて各オリゴヌクレオチドの種々の希釈液を作製する。1.387 μlのH₂O、0.5 μlの10×逆転写緩衝液、0.063 μlのRNaseインヒビター (20単位/μl)、0.05 μlのdTTP含有100mM dNTP、0.33 μlのMultiscribe逆転写酵素、および1.67 μlの投入RNAから構成される小スケールのRT反応において、TaqMan miRNA Reverse TranscriptionキットおよびmiRNA特異的ステムループプライマー (Applied BioSystems) を用いることによって、投入RNAを逆転写する；投入RNA以外の成分は、16℃30分間、42℃30分間、および85℃5分間でTetrad2 Peltier Thermal Cycler (BioRad) を用いることによって、より大容量のマスターミックスとして調製することができる。リアルタイムPCRを、Applied BioSystems 7900HTサーマルサイクラーを用いて、95℃10分間に続いて、95℃15秒間および60℃1分間を40サイクルで行う。Ct決定用のベースラインおよび閾値の指定のための自動Ct設定を伴うSDS Relative Quantificationソフトウェア バージョン2.2.2 (Applied BioSystems)

40

50

ms) を用いてデータを解析する。

【0982】

例えばmiRNAを検出するために、前増幅工程を含むようにプロトコルを修正してもよい。希釈していないRT産物の1.25 μ lアリコート、3.75 μ lの前増幅PCR試薬 [1反応あたり2.5 μ lのTaqMan PreAmpマスターミックス (2 $\times$) および1.25 μ lの0.2 $\times$ TaqMan miRNA Assay (TEで希釈) から構成される] と混合して、5.0 μ lの前増幅PCRを作製し、Tetrad2 Peltier Thermal Cycler (BioRad) で95 $^{\circ}$ Cまで10分間加熱し、続いて、95 $^{\circ}$ C15秒間および60 $^{\circ}$ C4分間の14サイクルを行うことによって実施する。(5 μ lの前増幅反応産物に20 μ lのH2Oを加えることにより) 前増幅PCR産物を希釈し、続いて、2.25 μ lの希釈材料をリアルタイムPCRに導入し、記載したとおりに進める。

10

【0983】

実施例27: miRNAの絶対定量のための検量線の作成

成熟miRNA配列 (miRBase Release v.10.1) に相当する合成一本鎖RNAオリゴヌクレオチドをSigmaから購入する。合成miRNAを経験的に導かれたコピー数の範囲でRT反応に投入して、上記に挙げたmiRNA TaqManアッセイ法のそれぞれに対して検量線を作成する。一般に、各アッセイ法に関する正確な定量値の下限は、RT反応に投入される最小コピー数 (これは、検量線の直線範囲内にあるCt値をもたらし、かつまた、それより小さなコピー数のRT投入物から得られるCtに満たない) に基づいて定められる。ラインを、直線範囲内のCt値を用いることによって各希釈系列からのデータにフィットさせ、そこから、各試料のCt (y) から絶対的miRNAコピー数 (x) を定量するための方程式 $y = m \ln(x) + b$ が得られる。RT反応に投入される材料は血漿の開始総容量の2.1%からのRNAに対応する [すなわち、RNA総溶出量 (平均80 μ l) のうちの1.67 μ lがRT反応に投入されている] という知見に基づき、RT反応へのmiRNA投入物の絶対的コピー数は、血漿 (または血清) 1 μ lあたりのmiRNAのコピー数に変換される。合成miRNA配列の例は、Sigma (St. Louis, MO) 等から商業的に入手し得るmiR-141に対するものである。

20

【0984】

実施例28: 小胞からのマイクロRNAの抽出

マイクロRNAを、患者試料から単離した小胞から抽出する。小胞の単離および濃縮のための方法は、本明細書において示されている。本実施例における方法を用いて、最初に小胞を同様に単離することなく、患者試料からマイクロRNAを単離することができる。

30

【0985】

Trizolを用いるプロトコル

このプロトコルは、Qiagen Inc., Valencia CA製のQIAzol Lysis Reagent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。該方法の工程は、以下を含む。

1. 50 μ lの小胞濃縮液に2 μ lのRNase Aを加え、37 $^{\circ}$ Cで20分間インキュベートする。
2. 700 μ lのQIAzol Lysis Reagentを加え、1分間ボルテックスする。QIAzolの添加後、25 fmol/ μ Lの線虫 (C. elegans) マイクロRNA (1 μ L) を用いて試料をスパイクし、全試料各々 (組み合わせた3アリコート) に対して、75 fmol/ μ Lのスパイクを作製する。
3. 55 $^{\circ}$ Cで5分間インキュベートする。
4. 140 μ lのクロロホルムを加え、15秒間激しく振とうさせる。
5. 2~3分間氷上で冷却する。
6. 4 $^{\circ}$ Cにて12,000 $\times$ gで15分間遠心分離する。
7. 水相 (300 μ L) を新しいチューブに移し、1.5容量の100% EtOH (すなわち、450 μ L) を加える。
8. 15mlコレクションチューブ中のRNeasy Midiスピンカラム内へ、最大4mlの試料をピペットで入れる (350 μ lの濃縮液からの溶解物を組み合わせる)。
9. 室温にて2700 $\times$ gで5分間回転させる。
10. スピンからのフロースルーを捨てる。
11. カラムに1mlのRWT緩衝液を加え、室温にて2700 $\times$ gで5分間遠心分離する。Midiキット

40

50

で供給されるRW1緩衝液を使用しないこと。RW1緩衝液は、miRNAを洗い流す可能性がある。RWT緩衝液は、Qiagen Inc.製のMiniキットで供給されている。

12. フロースルーを捨てる。

13. カラム上に1mlのRPE緩衝液を加え、室温にて2700×gで2分間遠心分離する。

14. 工程12および13を繰り返す。

16. 新しい15mlコレクションチューブ内にカラムを置き、150 μlの溶出緩衝液を加える。室温で3分間インキュベートする。

17. 室温にて2700×gで3分間遠心分離する。

18. 試料をボルテックスし、1.7mLチューブに移す。抽出した試料を-80℃で保存する。

【0986】

MagMaxを用いるプロトコール

このプロトコールは、Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX製のMagMAX（商標）RNA Isolation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。該方法の工程は、以下を含む。

1. 700mlのQIAzol Lysis Reagentを加え、1分間ボルテックスする。

2. 室温で5分間、卓上でインキュベートする。

3. 140 μlのクロロホルムを加え、15秒間激しく振とうさせる。

4. 2～3分間卓上でインキュベートする。

5. 4℃にて12,000×g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、1.25容量の100%イソプロパノールを加える。

7. MagMAX（商標）結合ビーズを激しく振とうさせる。10 μlのRNA結合ビーズを各ウェル内にピペットで入れる。

8. 2枚の溶出プレートおよびさらに2枚のディープウェルプレートを集める。

9. 1枚の溶出プレートに「溶出」、もう1枚に「チップコーム」のラベルを付ける。

10. 1枚のディープウェルに「Wash2 1回目」、もう1枚に「Wash2 2回目」のラベルを付ける。

11. 事前に必ずエタノールを加えて洗浄し、両方のWash2ディープウェルプレートを150 μlのWash2で満たす。存在する試料と同じ数のウェルを満たす。

12. MagMax Particle Processorで適切なコレクションプログラムを選択する。

13. スタートを押し、それぞれ適切なプレートをのせる。

14. 試料を微量遠心チューブに移す。

15. ボルテックスし、-80℃で保存する。試料中には残存ビーズが見られる。

【0987】

実施例29：マイクロRNAアレイ

TaqMan Low Density Array

TaqMan Low Density Array (TLDA) miRNAカードを用いて、所望される種々の試料群におけるmiRNAの発現を比較する。miRNAを回収し、Applied Biosystems, Foster City, CA製のTaqMan（登録商標）MicroRNA Assays and Arraysシステムを用いて解析する。製造業者により提供されているMegaplex（商標）Pools Quick Reference Cardプロトコールに従って、Applied BiosystemsのTaqMan（登録商標）Human MicroRNA Arrayを使用する。

【0988】

Exiqon miRCURY LNA マイクロRNA

Exiqon miRCURY LNA（商標）Universal RT microRNA PCR Human Panels I and II（Exiqon, Inc, Woburn, MA）を用いて、所望される種々の試料群におけるmiRNAの発現を比較する。Exiqonの384ウェルパネルには750種のmiRが含まれる。Universal cDNA synthesis キット（UniSp6 CP）からの合成RNAスパイク（spike-in）に向けた対照プライマーに対して、試料を標準化する。結果をプレート内キャリブレータープローブに対して標準化した。

【0989】

いずれかのシステムを用いて、品質管理の規格を実行する。各指標に対する3つのデー

10

20

30

40

50

タセットにわたる各プローブに対する標準化値を平均する。CV%の平均値が20%より高いプローブは解析に用いない。結果を対応のあるt検定に供し、2つの試料群間で示差的に発現したmiRを見つける。Benjamini & Hochbergの偽発見率検定を用いてP値を補正する。GeneSpring GX 11.0ソフトウェア (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)を用いて、結果を解析する。

【0990】

実施例30：結腸直腸癌（CRC）に対する小胞バイオシグネチャー

濃縮した小胞血漿試料を、上記のビーズに基づく検出プラットフォームにかけた。種々の小胞表面抗原に対する抗体をビーズに付着させ、小胞を捕捉するために用いた。いくつかの抗体は、CRC由来試料と正常な患者由来試料の間に有意な差を示した。捕捉された小胞を、CD9、CD63、およびCD81に対するPE標識抗体で標識した。捕捉および標識された小胞を、レーザー蛍光を用いて検出した。

【0991】

49例の正常（すなわち、健常でありCRCでない）、20例の交絡因子（疾患を有するがCRCでない）、および59例のCRCの血漿から単離した小胞からなる合計128試料を用いて、小胞の抗体捕捉を用いたCRC検出を行った。交絡因子試料には、関節リウマチ、喘息、糖尿病、膀胱細胞癌腫、腎細胞癌、および慢性または急性憩室炎を有する人が含まれる。CRC試料のうち、16例はI期、19例はII期、および24例はIII期であった。図100Aは、捕捉用の複数のバイオマーカーに対する抗体、および小胞検出用の標識抗テトラスパニン抗体（CD9、CD63、およびCD81）を用いた、正常試料およびCRC試料の識別を示している。捕捉抗体をX軸に示し、正常と比較してCRC試料で検出された小胞の変化倍率をY軸に示す。捕捉抗体には、CD9、CD81、CD63、CD24、CD66e（CEA）、A33、EPhA2、TMEM211、TROP2、EGFR、DR3、UNC93A、NGAL、MUC17、STEAP、B7H3、およびEpCAMが含まれる。該図面に見られるように、複数の捕捉抗体を用いて、特定のマーカーを検出した。以下の表17は、種々の捕捉抗体を用いて得られた感度および特異度を示している。

【0992】

（表17）小胞の捕捉によるCRC検出

マーカー	DR3	STEAP	Epha2	TMEM211	UNC93A	A33	CD24	NGAL	EpCam	MUC17	TROP2	TETS
特異度	86%	71%	83%	84%	84%	75%	77%	81%	62%	77%	80%	80%
感度	82%	100%	90%	100%	86%	100%	98%	94%	90%	86%	96%	86%

【0993】

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。捕捉抗体としてTMEM211および検出抗体CD9、CD63、CD81を用いて、表18に示されるCRCの検出に関する性能値を得た。

【0994】

（表18）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%

【0995】

図100Bは、Y軸が凡例に示されるとおりCRCおよび正常試料における蛍光強度中央値（MFI）を表すという点以外は類似の実験からの、結果を示している。X軸に示される捕捉抗体は、CD9、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP、EPhA2、TMEM211、UNC93A、CD66e、CD24、フェリチン、EpCAM、NGAL、GPR30、p53、MUC17、NCAM、およびB7H3である。図100Bに示

される実験を、10例のCRC試料および10例の正常の第二の試料セットを用いて繰り返した。結果を図100Cに示す。X軸に示される捕捉抗体は、CD9、EPHA2、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP1、GPR110、MMP9、TMEM211、UNC93、CD66e、CD24、Ngal、EpCAM、GPR30、OPN、MUC17、p53、MUC2、Ncam、およびTSG101である。どちらの場合にも、捕捉抗体はX軸に示されており、検出抗体はCD9、CD63、およびCD81に対するPE標識抗体であった。

【0996】

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、結腸直腸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。

【0997】

実施例31A：CRC試料におけるKRASの配列決定

KRAS RNAをCRC細胞株由来の小胞から単離し、配列決定した。配列決定の前に、標準的な方法論を用いてRNAをcDNAに変換した。DNA配列決定（サンガー法）を表19に挙げた細胞株について行った。

【0998】

（表19）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	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

【0999】

表19および図101は、細胞株由来のゲノムDNAにおいて検出された突然変異が該細胞株由来のエキソソーム内に含有されるRNAにおいても検出されたことを示している。図101は、HCT116細胞におけるエキソソームmRNA由来のcDNA（図101A）およびゲノムDNA（図101B）の配列を示している。

【1000】

12例のCRC患者試料をKRASについて配列決定した。表20に示されているように、すべてがWTであった。すべての患者試料を、RNA抽出の間にDNase処理した。RNAを単離した小胞から抽出した。12例の患者全てをGAPDHについて増幅し、RNAがそれらの小胞中に存在することを実証した。

【1001】

（表20）CRC患者試料およびKRAS配列

10

20

30

40

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

【1002】

腫瘍試料においてKRAS 13G>A突然変異について陽性であることが分かっている別の患者試料で、CRC患者試料の腫瘍からのKRAS突然変異を、同じ患者からの血漿由来小胞においても同定することができる。図101は、この患者における血漿中のエキソソームmRNA由来のcDNA（図101C）および新鮮な凍結パラフィン包埋（FFPE）腫瘍試料由来のゲノムDNA（図101D）の配列も示している。

【1003】

実施例31B：乳癌（BCa）に対する小胞バイオシグネチャー

30

本明細書において記載されているように、関心対象の多数の抗原に対する抗体をビーズにつなぎ、乳癌を有する対象10人または健常者（すなわち、乳癌ではない）10人由来の血液試料中の小胞を捕捉するために用いた。捕捉抗体は、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。

【1004】

捕捉抗体のパネルを用いて解析を行った。以下の小胞抗原に対する以下の捕捉抗体：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を用いて解析を行った場合、検出された小胞のMFIには、乳癌と正常な血漿との間で有意差があった。

40

【1005】

後続の実験を、10例の乳癌試料および10例の正常試料、ならびにさらなる捕捉抗体を用いて行った。図102Aは、乳癌において発現した所与のバイオマーカーが正常を上回る変化倍率を示すグラフを示している。マーカーには、左から右に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。同じ抗原に対する複数のバーは、異なるエピトープを認識し

50

得る異なる捕捉抗体の使用を意味する。

【1006】

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、乳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。

【1007】

実施例32A：肺癌（LCa）に対する小胞バイオシグネチャー

10

本明細書において記載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。

【1008】

実験の第一セットでは、上記の方法論に従って、表21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。

【1009】

20

（表21）試料

診断	ステージ
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	ステージ分類 なし
類内膜腺癌	ステージ分類 なし
浸潤性乳管内癌	ステージ分類 なし
リンパ節の転移性癌（乳房から）	ステージ分類 なし
リンパ節の転移性癌（乳房から）	ステージ分類 なし
腎臓の腎細胞癌	ステージ分類 なし
腎臓の腎細胞癌	ステージ分類 なし
腎臓の腎細胞癌	ステージ分類 なし
卵巣の硬化性間質性腫瘍	ステージ分類 なし
卵巣の漿液性乳頭状嚢胞腺腫	ステージ分類 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

【1010】

ビーズに結合させた捕捉抗体を用いる図103Aおよび図103B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

【1011】

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103B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103Aに示す。図103C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。

【1012】

濃縮した、肺癌患者および正常患者由来の微小小胞血漿試料を、実施例1および2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103D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、A 10
DAM28、UNC93a、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびMUC2である。肺癌と正常な試料との間を最も識別し得る抗原には、SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、Gal3、iC 3b、MUC1、GPCR 110、CABYR、およびMUC17が含まれる。

【1013】

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22および図1 03Eに示す。左から右に、図103E中の抗原は：CD9、CD63、CD81、B7H3、PRO GRP、CYTO 18 20
、FTH1、TGM2、CENPH、アネキシンI、アネキシンV、ERB2、EGFR、CRP、VEGF、CYTO 19、C CL2、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、M UC1、MUC2、PGP9、SPA、SPA、SPD、P53、GPCR（GPR110）、SFTPC、UNCR2、NSE、INGA3、I NTG b4、MMP1、PNT、RACK1、NAP2、HLA、BMP2、PTH1R、PAN ADH、NCAM、CD151、CKS1、FS HR、HIF、KRAS、LAMP2、SNAIL、TRIM29、TSPAN1、TWIST1、ASPH、およびAURKBである。表 22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。

【1014】

（表22）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	正確性	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

10

20

30

40

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
PCSA	167	40.59	98.48	63.47	41	65	1	60
VEGF	193	37.39	100	62.69	43	78	0	72

10

20

30

40

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

【1015】

10

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。

【1016】

実施例32B：小胞癌マーカーとしてのTissue Factor

Tissue Factorは、癌に関連してその発現が注目されている血液凝固関連タンパク質である。腫瘍形成または癌の進行に関係したいくつかの生物学的過程は、TF発現とつながりがある。これらの過程には、血管新生、癌細胞浸潤、免疫回避、および循環腫瘍細胞生存が含まれる。TF発現とともに形成されるフィブリン血栓は癌細胞を被覆し、これらの細胞に保護的被覆を提供する。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。血栓塞栓症および脳卒中等の病的線維化事象は、患者における癌関連死、および、TFを発現する循環微小小胞（cMV）の存在の、主要な原因である。

20

【1017】

図104は、10例の正常（癌ではない）血漿試料、8例の乳癌（BCa）血漿試料、および2例の前立腺癌（PCa）血漿試料由来の小胞におけるTissue Factor（TF）の検出を図示している。本明細書において記載されているように、血漿試料中の小胞を、ミクロスフェアに連結した抗Tissue Factor抗体で捕捉した。方法論概略に関しては、実施例21を参照されたい。捕捉された小胞を、テトラスパニンCD9、CD63、およびCD81に対する標識抗体で検出した。該図面は、レーザー検出によって観察された蛍光強度中央値（MFI）を示している。BCaおよびPCa試料のMFIは、一貫して正常試料を上回った。多様な癌におけるTissue Factorの検出は、TFが癌小胞マーカーとして使用され得ることを示す。

30

【1018】

実施例33：癌に対する候補治療の選択

本発明の方法を用いて、癌のセラノースを行うための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には、本明細書において記載されているように評価され得る任意の数の有用なバイオマーカーが含まれてよい。バイオシグネチャーは、体液の試料、好ましくは血漿または血清等の血液試料においてバイオシグネチャーを決定することができる。本明細書において示されている方法論を用いて、癌を有する患者由来の体液の試料から小胞を得る。例えば、実施例3を参照されたい。異なる設定に対する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のに適したバイオマーカーを上記のように発見することができる。例えば、「バイオシグネチャーの発見」の項を参照されたい。実施例21に記載されているように、ミクロスフェアに結合させた結合物質を用いることによって、小胞を単離し、捕捉し、かつ／または、表面抗原について評価することができる。実施例22のアレイまたは実施例23のFACSを用いることによって、小胞を単離し、捕捉し、かつ／または、表面抗原について評価することもできる。免疫アッセイ技術を用いて、小胞を捕捉することもできる。所望であれば、単離／捕捉された小胞内のバイオマーカーペイロードを解析することができる。実施例30～32は、癌のセラノースを

40

50

行うための小胞バイオマーカーの同定をさらに記載している。レーザー検出技術を用いて、小胞をサイズについて評価することができる。

【1019】

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24（血清の入手）、実施例25（血清または血漿からのRNAの単離）、実施例28（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26、27を参照）、および／またはアレイ解析を用いて（実施例29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。

10

【1020】

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1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て、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。

【1021】

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6、9、19～22における前立腺癌に対するマーカー；実施例7、14、30、および31における結腸直腸癌に対するマーカー；実施例31における乳癌に対するマーカー；ならびに実施例32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。

20

【1022】

実施例34：薬物関連の標的

薬物関連の標的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、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、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、および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22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23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

30

40

50

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。

【1023】

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6～8、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薬物一標的の相関ルール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。

【1024】

実施例35：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16～21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。

- 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、PSMA
- c. 癌関連MVマーカー：B7H3、任意でEpCam

【1025】

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。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。

【1026】

実施例36：前立腺癌に対する候補治療の選択

生検によって前立腺癌と確認された患者由来の体液の試料から小胞を得る。試料には好ましくは血漿が含まれ、尿または精液も評価することができる。本明細書において記載されている方法論を用いることにより、基体に結合させた捕捉抗体のパネルを用いて、薬物関連のバイオマーカーの存在またはレベルについて小胞集団を評価する。マーカーには、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、NFKB1A、ODC1、OGFR、p16、p21、p27、p53、

p95、PARP-1、PDGFC、PDGFR、PDGFRA、PDGFRB、PGP、PGR、PI3K、POLA、POLA1、PPARG、PARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70が含まれる。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、マーカーを評価して、前立腺癌に対する候補治療をその起源とは無関係な癌自体の分子プロファイルに基づいて選択することができるが、治療にあたる医師は、候補治療を選択する際に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

【1027】

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6~8、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薬物-標的の相関ルール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。

20

【1028】

実施例37：結腸直腸癌の治療効果のモニタリング

結腸直腸癌に対する小胞バイオシグネチャーは、実施例30に示されている。バイオシグネチャーには、実施例30（例えば表17~18および図100）に挙げたバイオマーカーのうちの1つまたは複数が含まれる。TMEM211、CD24、CD9、CD81、およびCD63を含むCRCバイオシグネチャー、またはCD63、CD9、CD81、EpCam、およびCD66を含むCRCバイオシグネチャーを用いる、本明細書（例えば実施例16~21）において記載されている方法論を用いて、患者由来の血漿試料中の小胞を検出する。血漿中の小胞を、抗TMEM211および抗CD24抗体にそれぞれ結合させた、または、抗EpCamおよび抗CD66抗体にそれぞれ結合させた標識ミクロスフェアを用いて捕捉する。捕捉された小胞を、一般的小胞のCD9、CD63、およびCD81に対するPE標識抗体でさらに検出する。

30

【1029】

バイオシグネチャーを用いて、結腸直腸癌に対する治療の効果をモニターする。結腸内視鏡検査を用いて患者をスクリーニングし、疑いのあるポリープを生検のために採取する。小胞バイオシグネチャーが決定され、癌を示す。生検も悪性細胞に陽性である。治療にあたる医師は、5-フルオロウラシル（5-FU）およびフォリン酸を含むアジュバント療法で該患者を治療することを決める。患者の治療前およびその後経時的に、小胞バイオシグネチャーが決定される。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を意味する。

40

【1030】

実施例38：結腸直腸癌に対する候補治療の選択

結腸直腸癌患者由来の体液の試料から小胞を得る。試料には血漿が含まれ得る。本明細書において記載されている方法論を用いることにより、基体に結合させた捕捉抗体のパネルを用いて、薬物関連のバイオマーカーの存在またはレベルについて小胞集団を評価する。マーカーには、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、C

50

D20、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、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、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70が含まれる。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、マーカーを評価して、結腸直腸癌に対する候補治療をその起源とは無関係な癌自体の分子プロファイルに基づいて選択することができるが、治療にあたる医師は、候補治療を選択する際に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。好ましくは、マーカーには、EGFR、EPHA2、p53、KRASのうちの1つまたは複数が含まれる。バイオシグネチャーに含まれ得る他のマーカーには、miR-548c-5p、miR-362-3p、miR-422a、miR-597、miR-429、miR-200a、およびmiR-200bが含まれる。

【1031】

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6～8、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薬物一標的の相関ルール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。

【1032】

実施例39：乳癌に対する候補治療の選択

乳癌患者由来の体液の試料から小胞を得る。試料には血漿が含まれ得る。本明細書において記載されている方法論を用いることにより、基体に結合させた捕捉抗体のパネルを用いて、薬物関連のバイオマーカーの存在またはレベルについて小胞集団を評価する。マーカーには、ABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、AR、AREG、ASNS、BCL2、BCRP、BDCA1、βIII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、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、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70が含まれる。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、マーカーを評価して、乳癌に対する候補治療をその起源とは無関係な癌自体の分子プロファイルに基づいて選択することができるが、治療にあたる医師は、候補治療を選択する際に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。好ましくは、マーカーには、BRCA、cMET、DLL4、EphA2、EGFR、ER、ERB2、ERB3、ERB4、およびVEGFのうちの1つまたは複数が含まれる。

【1033】

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6～8、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薬物-標的の相関ルール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。

【1034】

実施例40：肺癌に対する候補治療の選択

肺癌患者由来の体液の試料から小胞を得る。試料には血漿が含まれ得る。本明細書において記載されている方法論を用いることにより、基体に結合させた捕捉抗体のパネルを用いて、薬物関連のバイオマーカーの存在またはレベルについて小胞集団を評価する。マーカーには、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、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、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70が含まれる。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、マーカーを評価して、肺癌に対する候補治療をその起源とは無関係な癌自体の分子プロファイルに基づいて選択することができるが、治療にあたる医師は、候補治療を選択する際に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。好ましくは、マーカーには、ASPH、BRCA1、EGFR、EPHA2

、ErbB2、HIF、KRAS、MS4A1、P27、P53、ADH、PGP9、PGP9.5、およびVEGFのうちの1つまたは複数が含まれる。チロシンキナーゼ阻害剤に対する感度を評価するためのバイオシグネチャーに含まれる他のマーカーには、miR-497、miR-21、miR-23a、miR-23b、miR-29b、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、VEGFR2、FGF1、HOXC10、および／またはLHFPが含まれる。

【1035】

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6～8、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薬物－標的の相関ルール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。

10

20

【1036】

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	HER2neu (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. 2006 Sep;389(9):1225-33.
肺	キニンb2 受容体	Chee J et al., Biol Chem. 2006 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	Na(+)-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	TMPSR2	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):3157-207.
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	エフリン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-IIフラグメント	Allard L, et al., 2003
脳卒中	Lp-PLA2	http://www.doctorslounge.com/neurology/news/stroke_lip- 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_lip- 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	Zheng 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 フィブリンα鎖	Skinner et al., 2006
リウマチ性疾患	CD5抗原様 フィブリン ゲンフラグメントb	Skinner et al., 2006
リウマチ性疾患	CD5抗原様 フィブリン 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 (コード因子) 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-エトロシオール	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	Hyie 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	Hyie 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	14-3-3α	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 (蓄滯類)	Blackbeard J et al., J Neurosci Methods. 2007 Aug 30;164(2):207-17
末梢神経因性疼痛	ED9 (蓄滯類)	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	Simonson 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 トレイノース 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	Sarrat-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(24):28-34, 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	Muc-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."
膵臓 対 CRC	種体C3	Qui et al., J of Proteome Res 7(4):1693-1703, 2008
膵臓 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
膵臓 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
膵臓 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 伴う膵臓 対 高度異形成を 伴う膵臓	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	Muc-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 2006, 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, supra.
B細胞 リンパ腫	抗CD20抗体	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫	アレムツズマブ	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫	ガリキシマブ	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫	抗CD40抗体	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫	エブラツズマブ	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫	ルミリキシマブ	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫	モノクローナル抗体 Hu1D10	Cheson BD, Leonard JP, supra.
B細胞 リンパ腫・ DLBCL	ガレクチン-3結合物質	O'Hare 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.
パーキネット リンパ腫	TD05 アプタマー	Malikaratchy P et al., Mol Cell Proteomics Dec; 5(12):2230-8, 2007.
パーキネット 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 Wolfmuth 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. Le Mercier et al., J Neuropathol Exp Neurol. 67(5):456-69, 2008.
黒色腫	ガレクチン-3結合物質	Prieto et al., Clin Cancer Res 12(22):6709-15, 2006; Vereecken et al., Arch Dermatol Res 296(8):353-8, 2005
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	Kleespeides 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	α E β 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	Proske 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):1001-14. 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	Krausemann 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
プリオン病	モノクローナル抗体 4F2	Krasemann S et al., Mol Med. 1996 Nov;2(6):725-34
プリオン病	モノクローナル抗体 8G8	Krasemann S et al., Mol Med. 1996 Nov;2(6):725-34
プリオン病	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, 49:597-606.
喘息	PACAP 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:597-606.
喘息	CGRP 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:597-606.
喘息	NT3 結合物質	Nelson KB et al. Annals of Neurology 2001, 49:597-606.
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-miR6D (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		Galmarini CM et al., Clin Cancer Res. 2008 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			Purgila 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					lorio et al., Cancer Research 65, 7065-7070, August 15, 2005.
乳癌	miR-155	miR-10b					lorio et al., supra.
乳癌	miR-206	miR-125a					lorio et al., supra.
乳癌	miR-122a	miR-125b					lorio et al., supra.
乳癌	miR-210	miR-145					lorio et al., supra.
乳癌		miR-143					Michael et al. Mol Cancer Res 1: 882-891, 2003.
乳癌		miR-145					Michael et al. supra.
乳癌		miR-16					Michael et al. supra.
乳癌		let-7					Michael et al. supra.
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. supra.
乳癌	miR-206	miR-125a					Volinia et al. supra.
乳癌	miR-122a	miR-125b					Volinia et al. supra.
乳癌	miR-210	miR-145					Volinia et al. supra.
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., supra.
乳癌					TRP		Koga et al., supra.
乳癌					HER2		Koga et al., supra.
乳癌					GASS		Mourtada-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., supra; Payne et al., supra.
乳癌			HER2				Oldenhuis et al., supra; Payne et al., supra.
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				Gestier 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					lorio et al. Cancer Res. 2007; 67: (18), September 15, 2007
肺癌	miR-141	miR-140					lorio et al. Supra.
肺癌	miR-200c	miR-145					lorio et al. Supra.
肺癌	miR-200b	miR-125b-1					lorio et al. Supra.
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):994-9.
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-85						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	snoRNA	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 バニン-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 バニン		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; Ciapronone M et al., Oncology, 2006. 70(5): p. 366-77
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	snoRNA	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, 2006 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, 2006. 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):899-906
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	snoRNA	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., 2009, 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;119(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	snoRNA	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	snoRNA	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			FAM129A			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-Gürpide 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-Gürpide J et al., <i>supra</i> .
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					カスノバーゼ -3		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i>
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					p53		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i>
CRCデュークスB 対 デュークス C-D					TRF1		Madoz-Gürpide 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-Gürpide 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			SOCs1				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			SOCs3				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			CDC42S2				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			Z15177.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			Z15177.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			Rasford-Smith et al 2007, Gastroenterology 132(7): 2313-9.
UC 対 CD				(P)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	snoRNA	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., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			ALS2				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			IL1RN				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			SPRY4				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			PTGER3				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			TRIM29				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			SERPINE5				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			1563327_at				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			ZAK				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			BAG4				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			TRI33				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			TTL				Galamb et al., <i>supra</i> .
過形成性ポリープ 対 正常			FOXQ1				Galamb et al., <i>supra</i> .

【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	snoRNA	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., <i>supra</i> .
低度異形成を伴う 腺腫 対 正常			KIAA1199				Galamb et al., <i>supra</i> .
低度異形成を伴う 腺腫 対 正常			FOXQ1				Galamb et al., <i>supra</i> .
高度異形成を伴う 腺腫 対 正常			CLDN8				Galamb et al., <i>supra</i> .
高度異形成を伴う 腺腫 対 正常			ABCA8				Galamb et al., <i>supra</i> .
高度異形成を伴う 腺腫 対 正常			PYY				Galamb et al., <i>supra</i> .

【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	snoRNA	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., <i>supra</i> .
腺腫 対 正常			CA7				Galamb et al., <i>supra</i> .
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	snoRNA	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., <i>supra</i> .
ORC 対 正常			CHI3L1				Galamb et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常			S100A8				Galamb et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常			GREM1				Galamb et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常			ODC				Hu HY et al., World J Gastroenterol. 2005 Apr 21;11(15):2244-8.
ORC 対 正常			KRAS				Amado 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 <i>supra</i> .
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., <i>supra</i> .
ORC 対 正常					CHK1		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常					クラスリン 経路		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常					ホスホ- ERK		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常					ホスホ- PIK2		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i> .
ORC 対 正常					MDM2		Madoz-Gürpide J et al., <i>supra</i> .

【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	snoRNA	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 19A】

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
前立腺					FASLG		Huber et al., 2005, Gastroenterol Nurs 28(6): 510-1.
前立腺					TNFSF10		Huber et al., 2005, <i>supra</i> .
前立腺					FASLG		Adreola et al., JEM 195:10 1303-1316 (2002)
前立腺					TNFSF10		Adreola et al., <i>supra</i> .
前立腺					FASLG		Abusamra et al., 2005, Blood Cells Mol Dis. 35(2): 169-73
前立腺					TNFSF10		Abusamra et al., 2005, <i>supra</i> .
前立腺					FASLG		Kim et al., Int J Cancer. 2008 Dec 1;123(11):2587-93.
前立腺					TNFSF10		Kim et al., <i>supra</i> .
前立腺					FASLG		Taylor et al., 2003, Int J Oncol 22(6): 1311-7
前立腺					TNFSF10		Taylor et al., <i>supra</i> .
前立腺		let-7a					Porkka et al., 2007, Cancer Res. 67(13): 6130-5
前立腺		let-7b					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		let-7c					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		let-7d					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		let-7g					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-16					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-23a					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-23b					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-26a					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-92					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-99a					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-103					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-125a					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-125b					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-143					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-145					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-195					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-199					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-221					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-222					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-497					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		let-7f					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-191b					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-22					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-26b					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-27a					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-27b					Porkka et al., <i>supra</i> .
前立腺		miR-29a					Porkka et al., <i>supra</i> .

【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-146a					Bloomston et al., <i>supra</i> .
肺癌		miR-146b					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(19):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-30e-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)		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 24C】

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						Ikeeda et al., <i>supra</i> .
心血管疾患				MYH7			Buyvoli 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 25】

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 26B】

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 27】

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 26A】

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 28】

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
子宮内頸癌	miR-185	miR-71				N/A	Boren T et al., Gynecologic Oncology 110 (2008) 206-215.
子宮内頸癌	miR-106a	miR-221					Boren et al., supra.
子宮内頸癌	miR-181a	miR-193					Boren et al., supra.
子宮内頸癌	miR-210	miR-152					Boren et al., supra.
子宮内頸癌	miR-423	miR-30c					Boren et al., supra.
子宮内頸癌	miR-103						Boren et al., supra.
子宮内頸癌	miR-107						Boren et al., supra.
子宮内頸癌	let-7c						Boren et al., supra.
子宮内頸癌				PTEN			Doll A et al., J Steroid Biochem Mol Biol. 2008 Feb;108(3-5):221-9.
子宮内頸癌				K-RAS			Doll et al., supra.
子宮内頸癌				B-カテニン			Doll et al., supra.
子宮内頸癌				p53			Doll et al., supra.
子宮内頸癌				Her2/neu			Doll et al., supra.
子宮内頸癌					NLRP7		Ohno S et al., Anticancer Res. 2008 Jul-Aug;28(4C): 2493-7.
子宮内頸癌					αVβ6 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., Postlepy Hg Med Dosw (Online). 2008 Sep 23;62:490-501.
頭頸部癌				GSTT1			Rusin P et al., Postlepy Hg 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 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		Glikman 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 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 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 ポーター				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 ノイラ 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): 8415-20
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			リーリン		リーリン		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 β 4				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 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</i> 614-619
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. 2006 Aug 1;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-a1				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 15;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 ホリ 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			Fc γ 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 と 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		Okii 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 1995, 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 55-02】

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 56】

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 58】

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 57】

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):479-84.

【図 59A】

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 芽球増殖性疾患 (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	動脈硬化骨髄腫
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)
CIT1A	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	動脈硬化骨髄腫
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	
	ABL2	
ETV6	ACSL6	真性赤血球増多症
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	
ETV6	MDS2	骨髄異形成症候群
ETV6	MN1	慢性骨髄性白血病 (CML)
ETV6	NTRK3	分泌性乳癌
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	TCEA1	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	
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)
MLL	ARHGAP26	急性単球性白血病 (急性骨髄性白血病 (AML)) (M5b)
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)
MLL	LASP1	乳児急性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病 (AML)-M4
MLL	LPP	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)
MLL	MLLT10	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	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	
FGFR10P2	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)
FHIT	HMGAA2	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球腫 (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)
HMGAI	LAMA4	肺軟骨肉性過誤腫
HMGAI	CCNB1IP1	良性間葉系腫瘍
HMGAI	COX6C	子宮筋腫
HMGAI	CXCR7	脂肪腫
HMGAI	FHIT	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
HMGAI	LHFP	孤立性脂肪腫
HMGAI		脂肪腫、軟骨肉性脂肪腫、および軟骨肉性過誤腫
HMGAI	NFIB	唾液腺多形腺腫 (PA) (頭頸部)
HMGAI	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
MLL	SEPT2	急性骨髄性白血病 (AML)、治療関連骨髄異形成症候群
MLL	SEPT5	新規急性非リンパ球性白血病
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	腎細胞癌
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)
NUP214	DEK	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CML様疾患
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	急性前骨髄性白血病 (APML)
ZMYM2	FGFR1	幹細胞白血病リンパ腫症候群 (SOLL)

【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	急性前骨髄性白血病 (APML)
TAF15	NR4A3	ユーイング肉腫/原始神経外胚性腫瘍
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

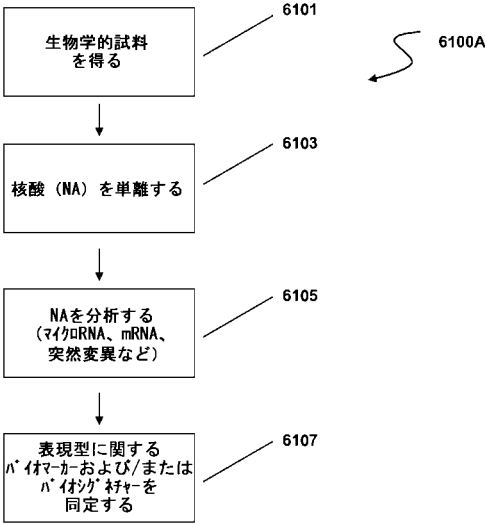
【図 6 0 A】

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-486, 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-548b, miR-567, miR-569, miR-580, miR-602, miR-651, miR-653, miR-758, miR-9*
SPARC	miR-789-5p, miR-203, miR-196, miR-569, miR-187, miR-641, miR-1275, miR-432, miR-622, miR-296-3p, miR-646, miR-96b, miR-499-5p, miR-500-5p, 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

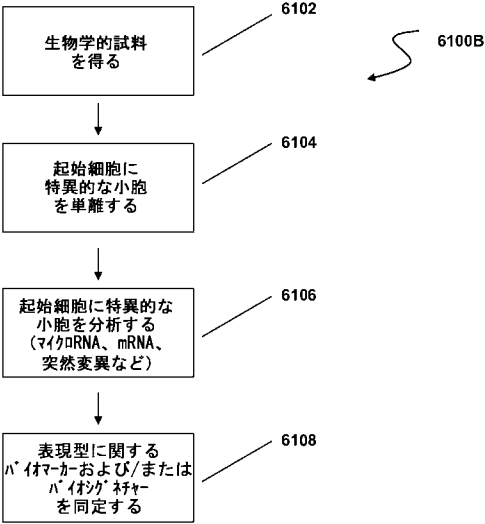
【図 6 0 B】

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-166, 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-596, 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

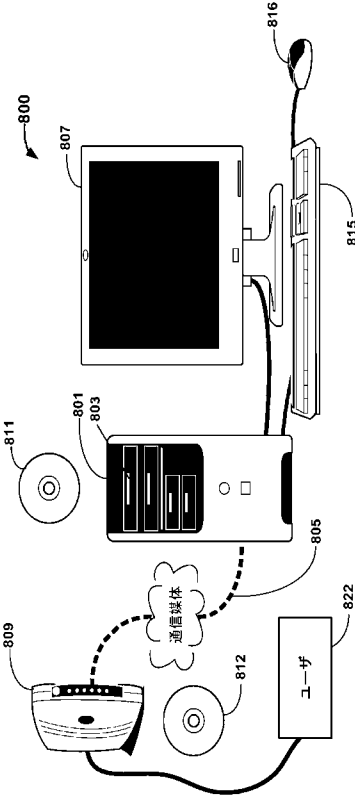
【図 6 1 A】



【図 6 1 B】



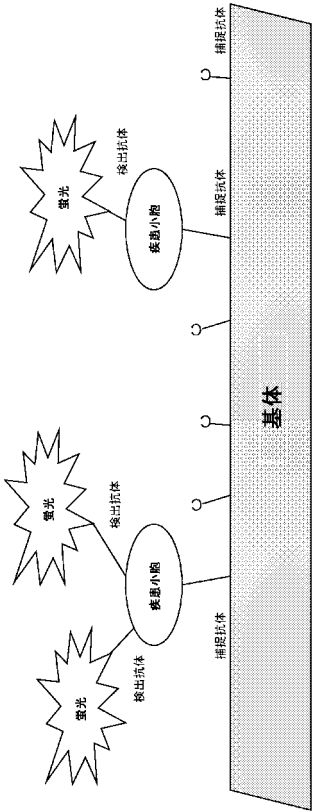
【図 6 2】



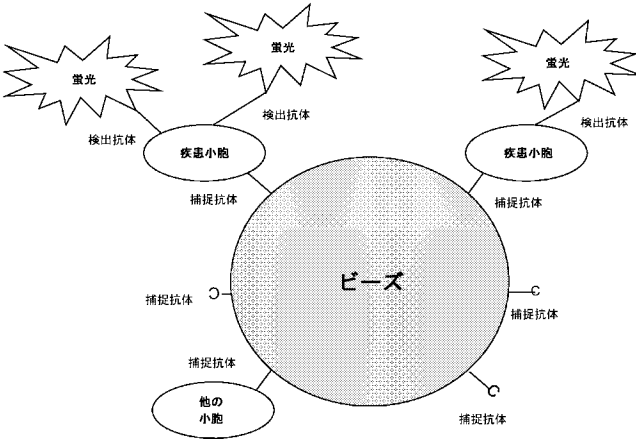
【図 6 3】

タンパク質名	vcap平均値	Incap平均値	標準平均値
タンパク質	33236	40207	52224
ピオニン	19205	24857	9458
Idol-XL	16066	23435	16560
エストロオール			
酸シヨクタンパク質27/hs27	10172	22822	43471
CD45RO	15037	20251	10114
CNPase	11269	19646	11675
ERCC1	15292	19036	1597
ケラチン15	13459	17590	9325
CD81/TAPA-1	4967	17031	194
ラミニンB1/b1	4609	14848	10241
MyoD1	7144	12472	15022
HPV 16	12742	11185	15094
GaII	4163	10716	1361
CD9	7009	10146	191
上皮特異的抗原	10850	9754	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β (APP)	4663	7896	5893
ストレプトアビジン	6348	7658	7909
肥満細胞キマーゼ	1818	7582	433
AIF (アポトーシス誘導因子)			
CD42b	4263	7322	7686
MHC II (HLA-DP およびDR)	1717	6787	10836
カルモジュリン	6936	8943	4757
	3353	4722	1861

【図 6 4 A】



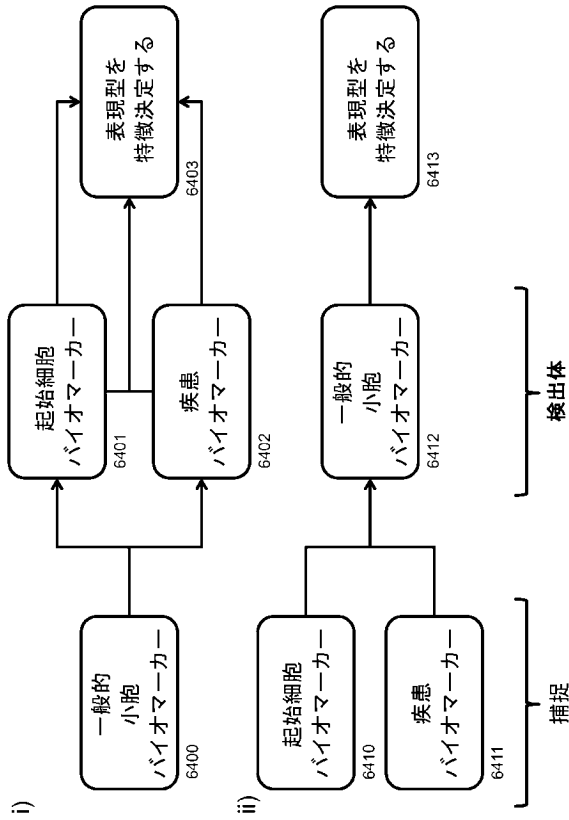
【図 6 4 B】



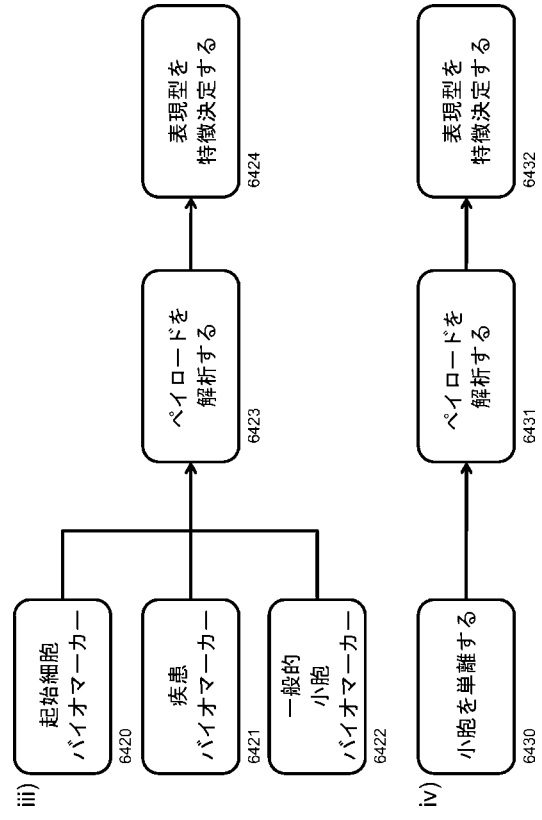
【図 6 4 C】

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	
一般的細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			

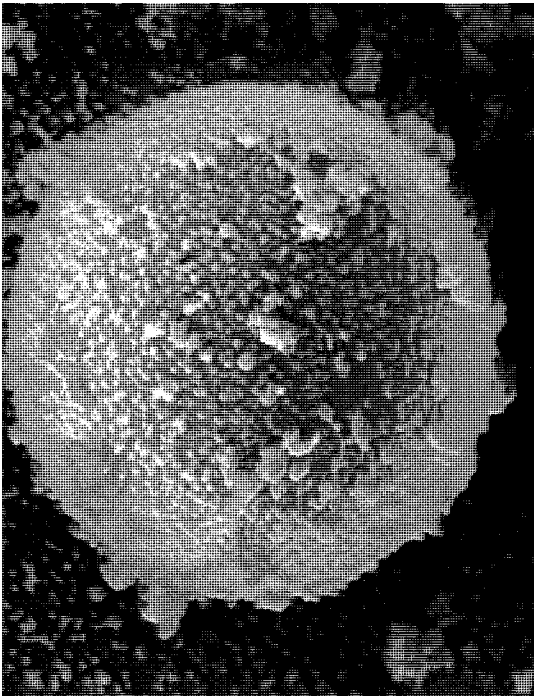
【図 6 4 D】



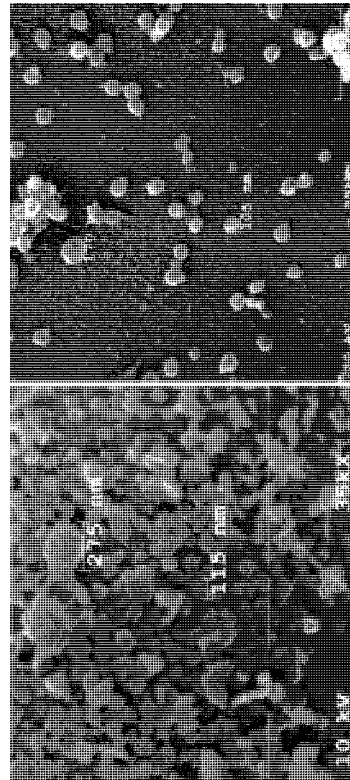
【図 6 4 E】



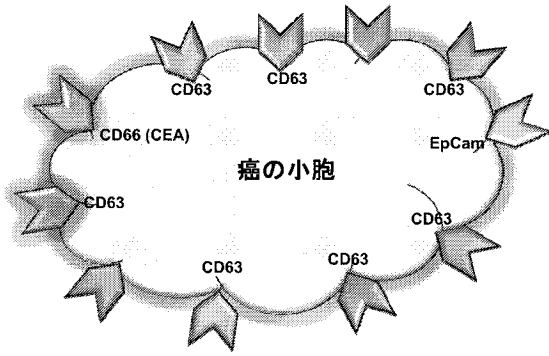
【図 6 5 A】



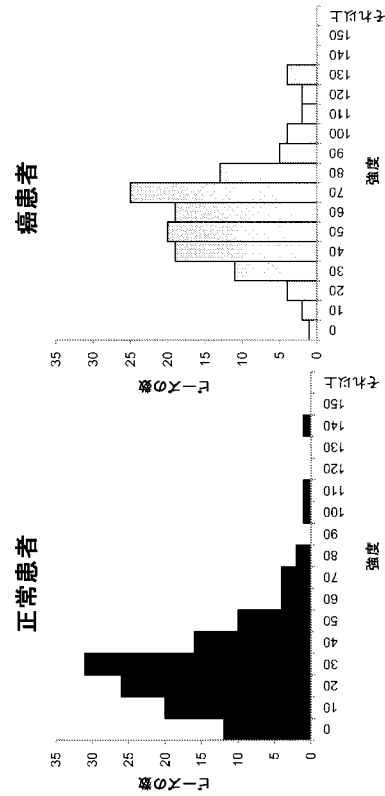
【図 6 5 B】



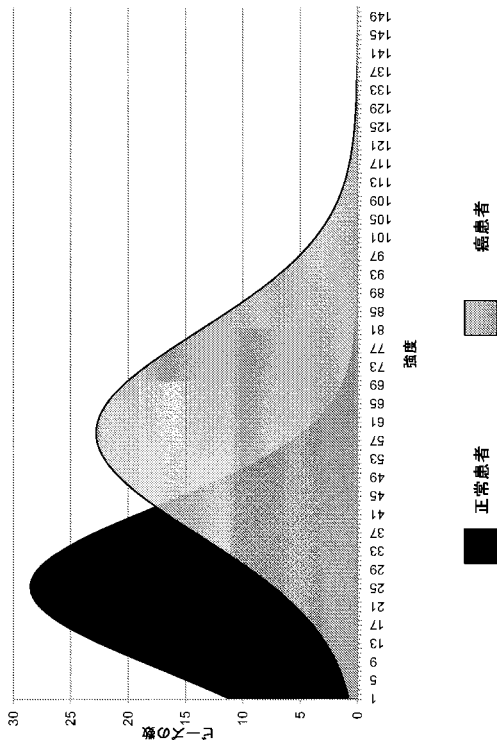
【図 6 6】



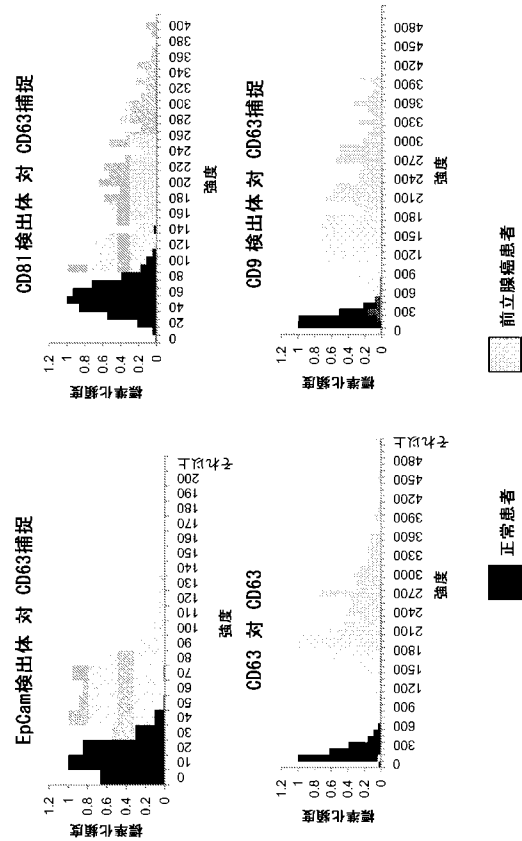
【図 6 7 A】



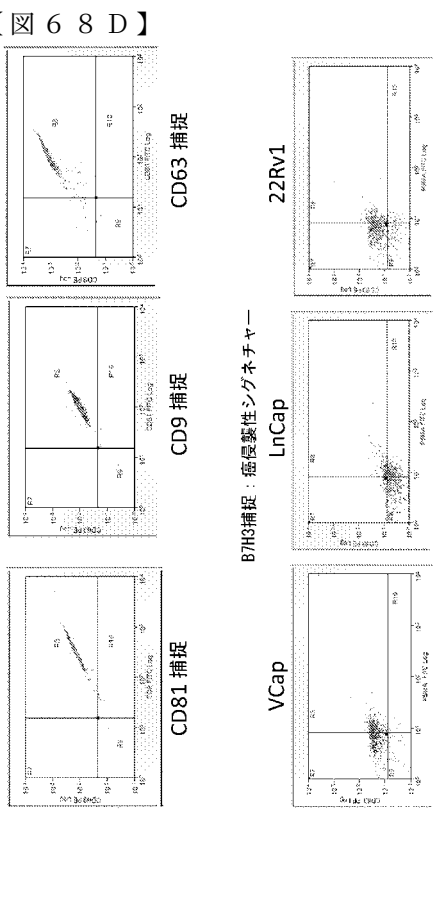
【図 6 7 B】



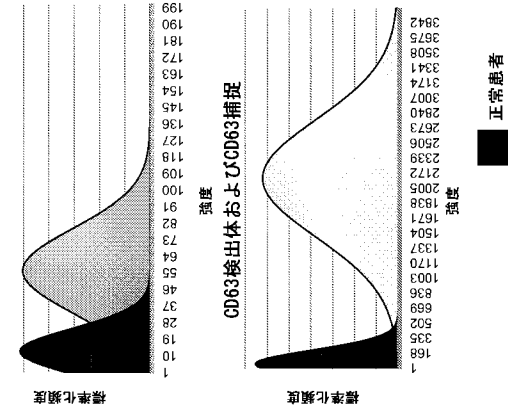
【図 6 8 A】



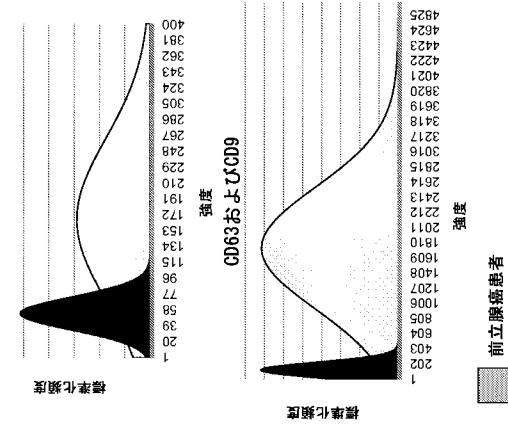
前立腺CA小胞：小胞特異的シグネチャー



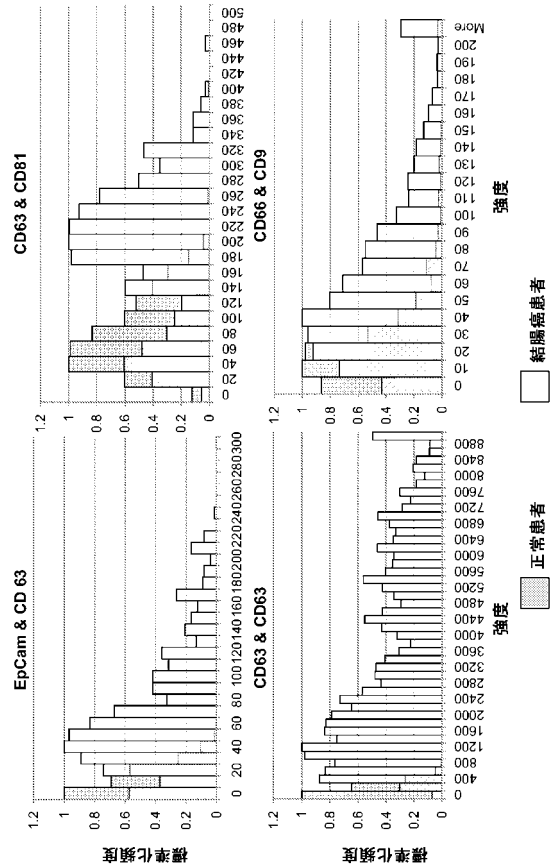
EpCam検出体およびCD63捕捉



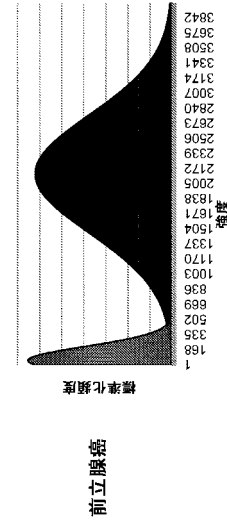
CD81検出体およびCD63捕捉



【図 6 9 A】

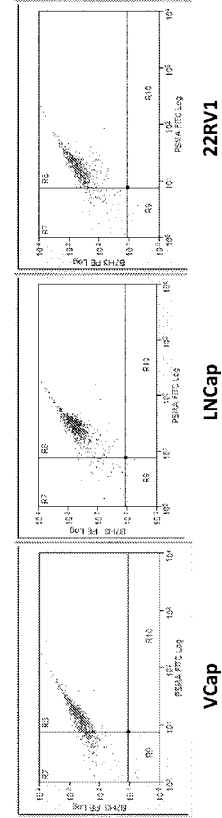


CD63検出体およびCD63捕捉

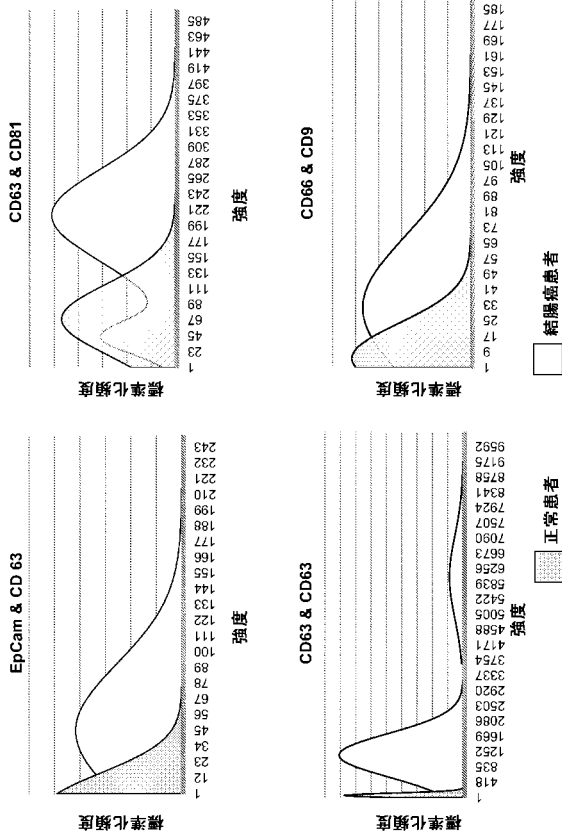


【図 6 8 C】

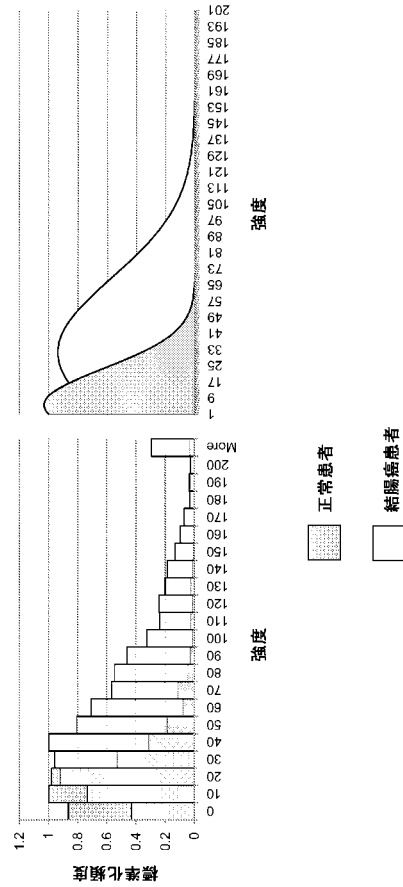
CD63捕捉



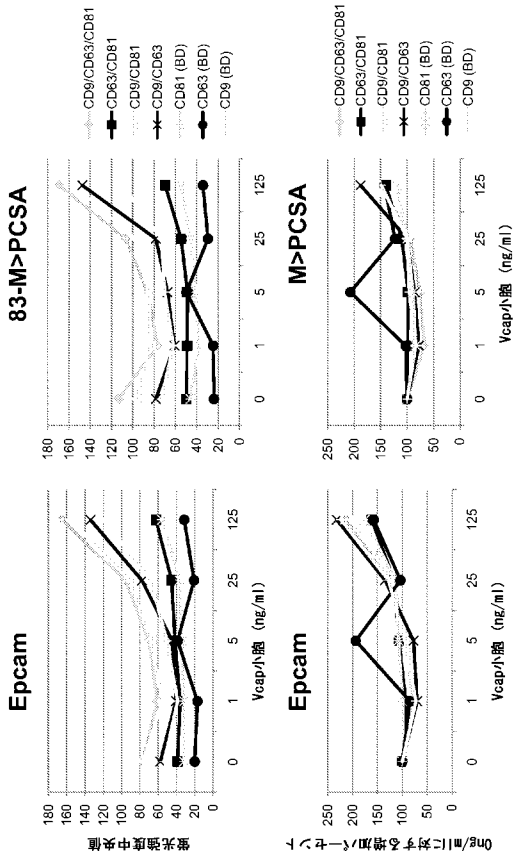
【図 69 B】



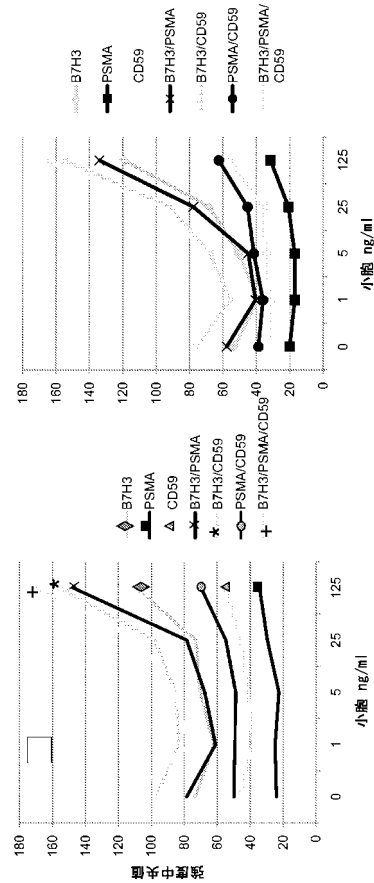
【図 69 C】



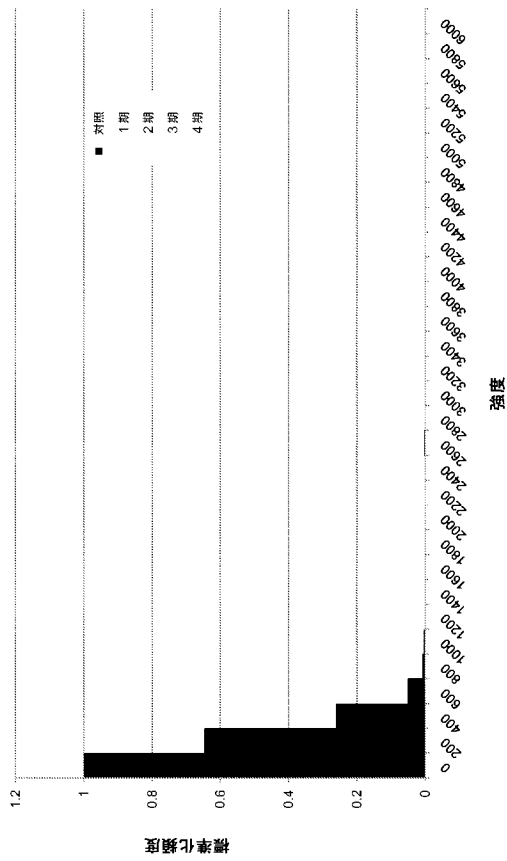
【図 70 A】



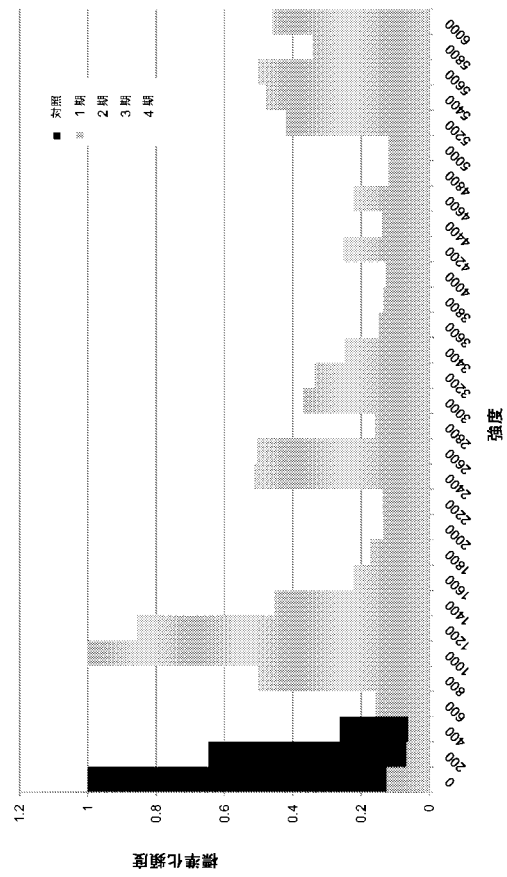
【図 70 B】



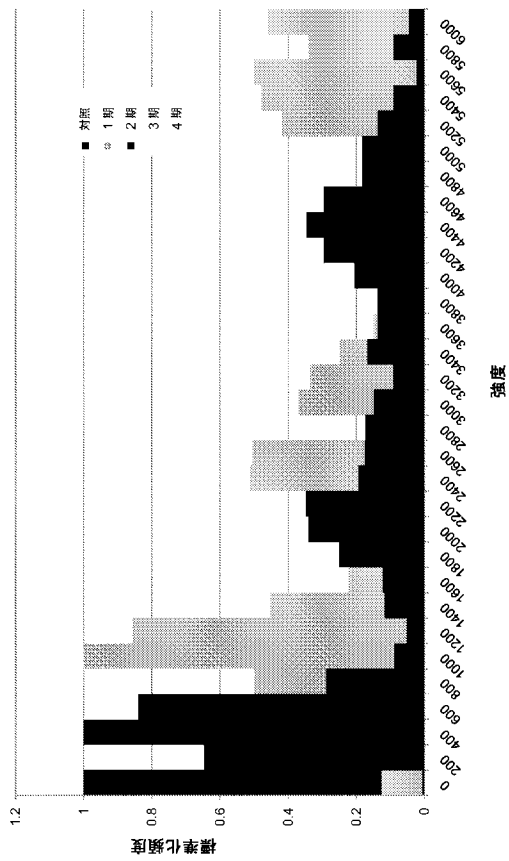
【図 7 1 A】



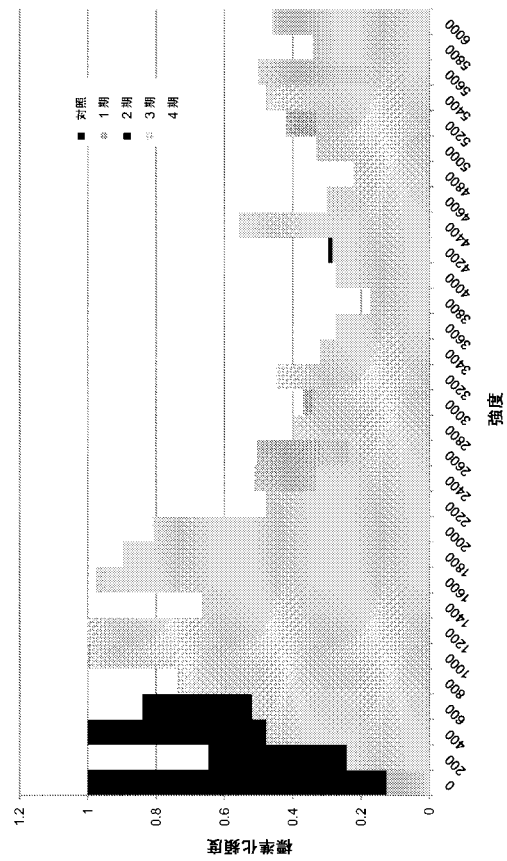
【図 7 1 B】



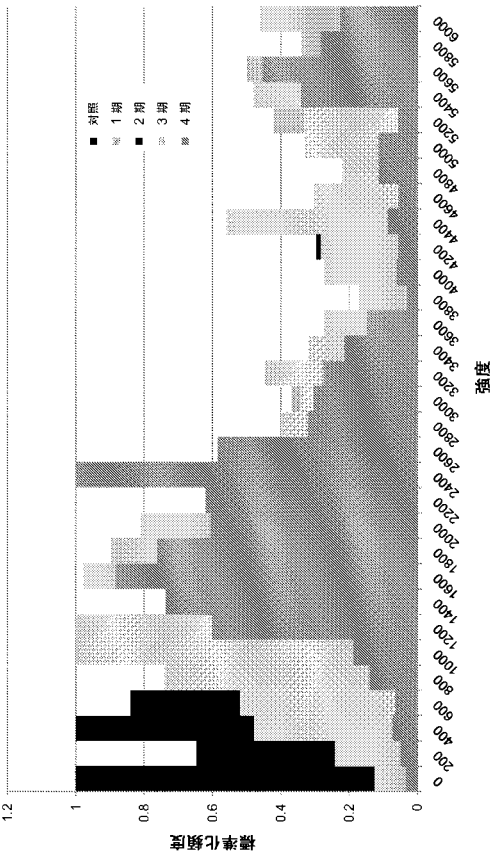
【図 7 1 C】



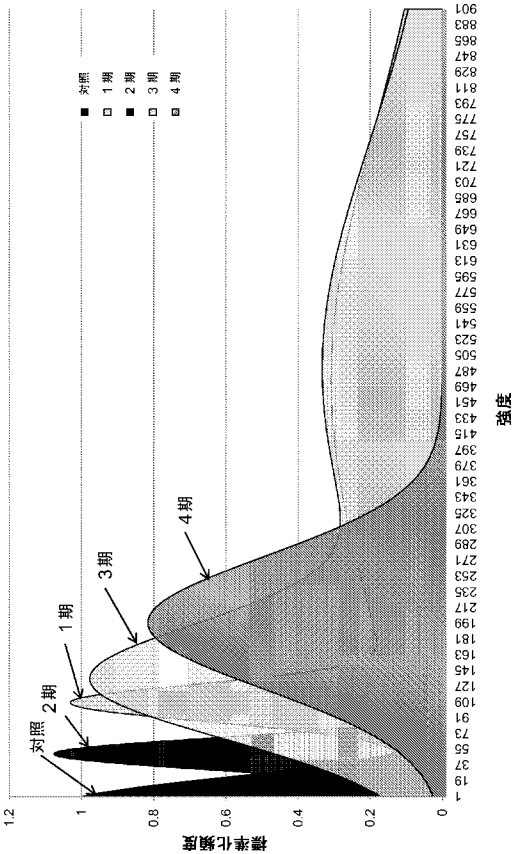
【図 7 1 D】



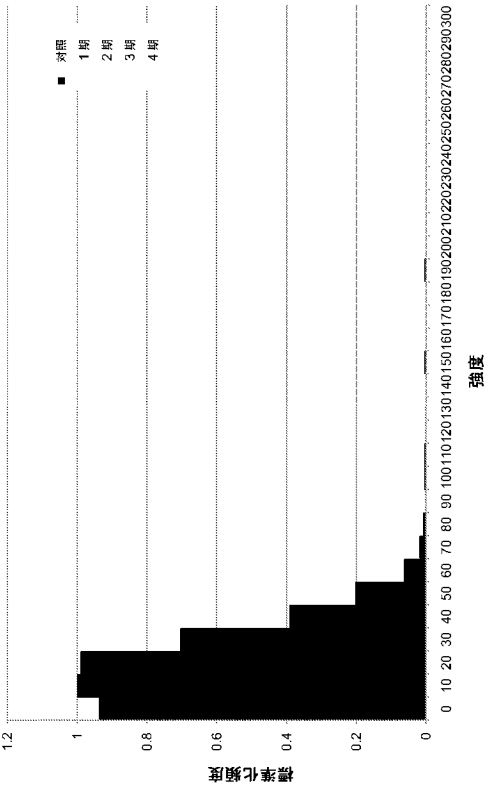
【図 7 1 E】



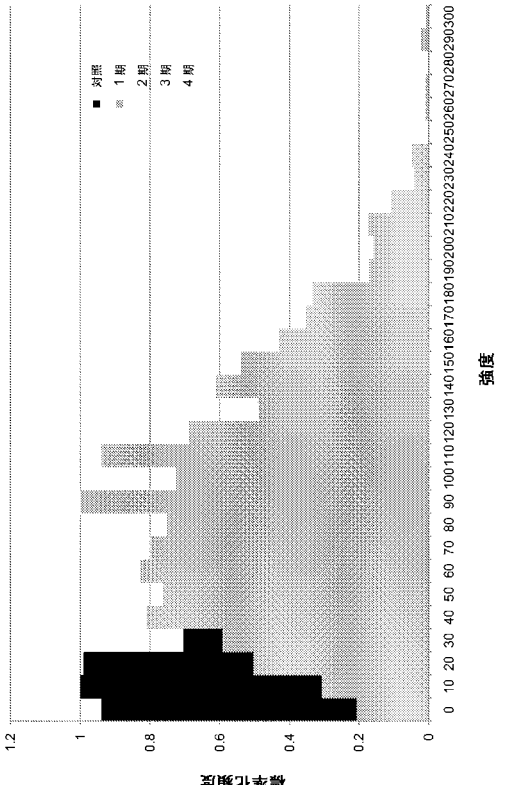
【図 7 1 F】



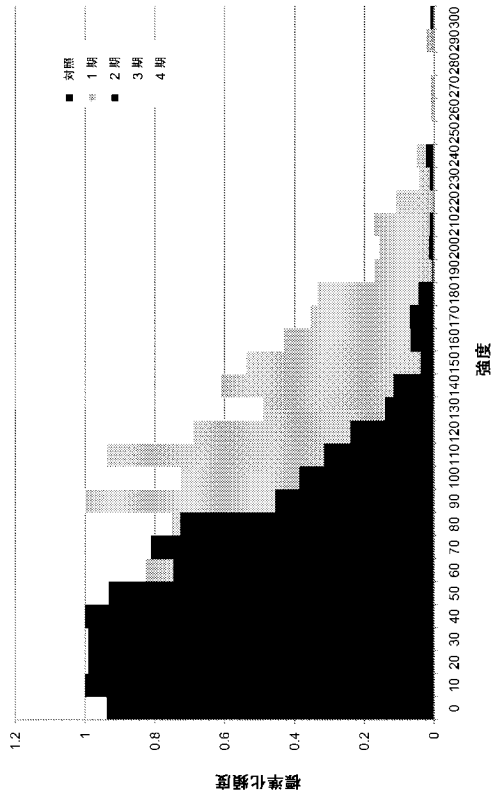
【図 7 2 A】



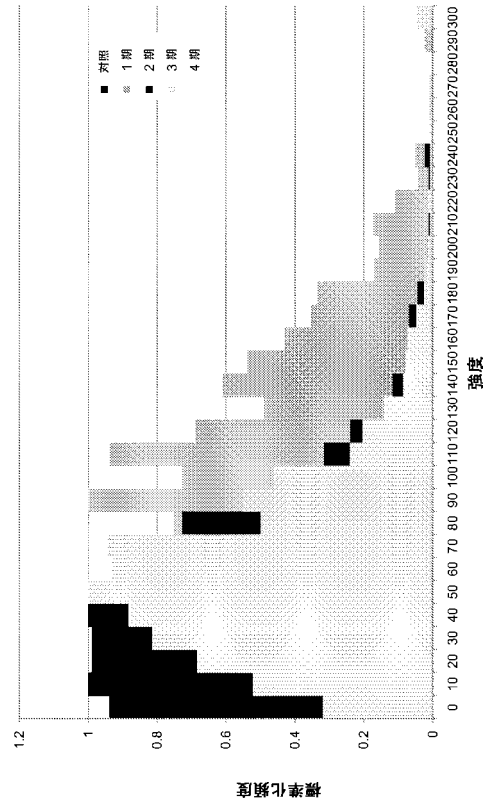
【図 7 2 B】



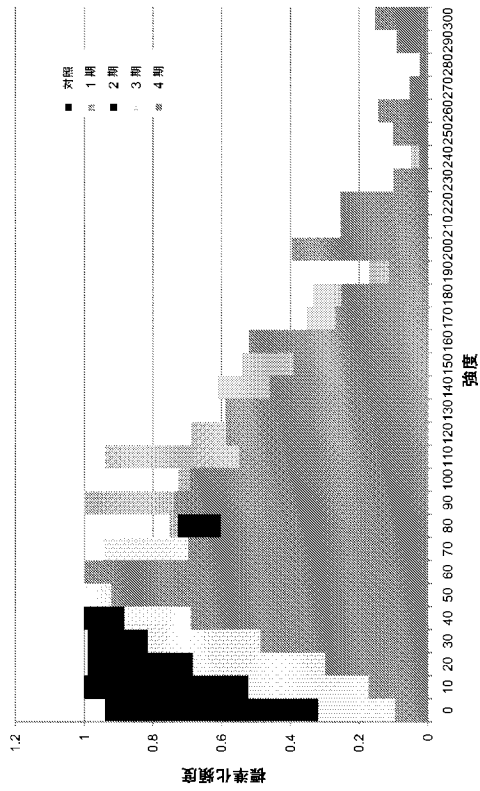
【図 7 2 C】



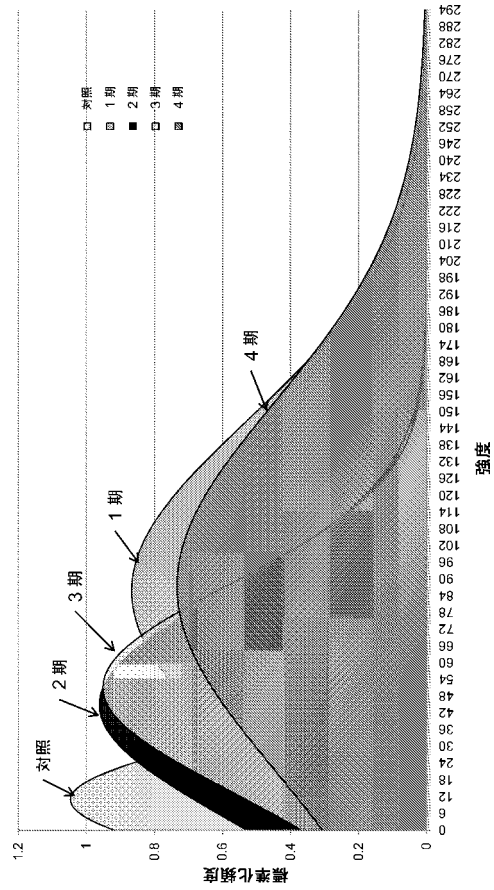
【図 7 2 D】



【図 7 2 E】



【図 7 2 F】



【図 7 3 A】

	信頼度	特異度	感度	
	99%	80%	87.5%	EpCam 対 CD63
	99%	100%	90%	CD63 対 CD81
	99%	80%	60%	CD63 対 CD63
	99%	80%	60%	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	特異度	感度	検出体 対 捕捉
	99%	ND	95%	Epcam 対 CD63
	99%	ND	90%	Epcam 対 CD9
	99%	ND	100%	CD63 対 CD63
	99%	ND	100%	CD9 対 CD63
	99%	ND	85%	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

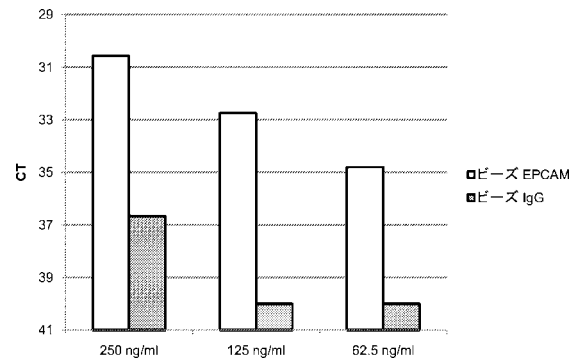
真陽性	20	6	真陰性
偽陰性	0	ND	偽陽性

【図 7 4 F】

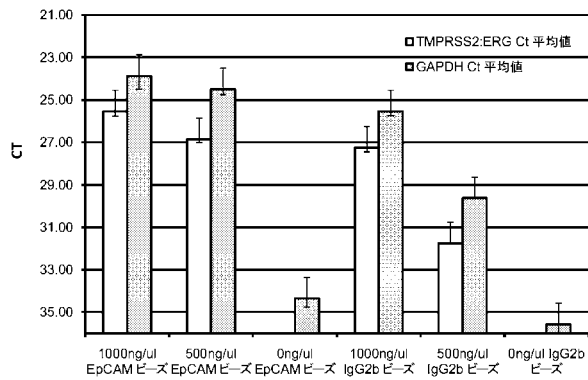
CD66 対 CD63

真陽性	17	6	真陰性
偽陰性	3	ND	偽陽性

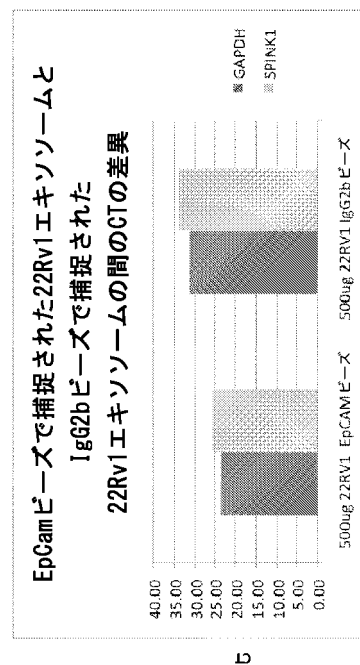
【図 7 5 A】



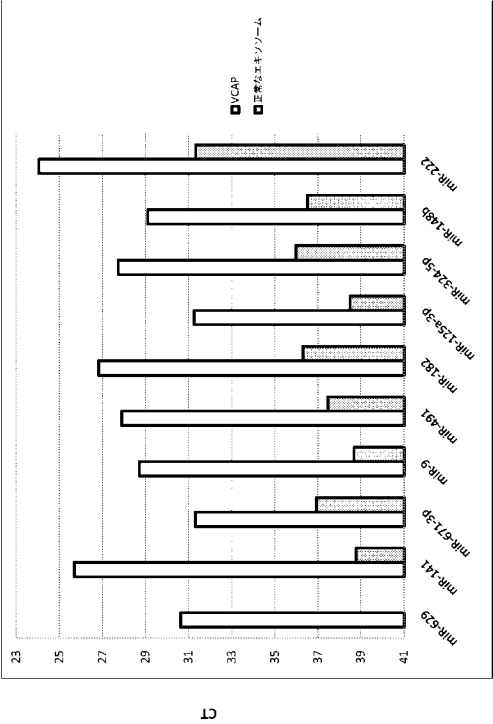
【図 7 5 B】



【図 7 5 C】



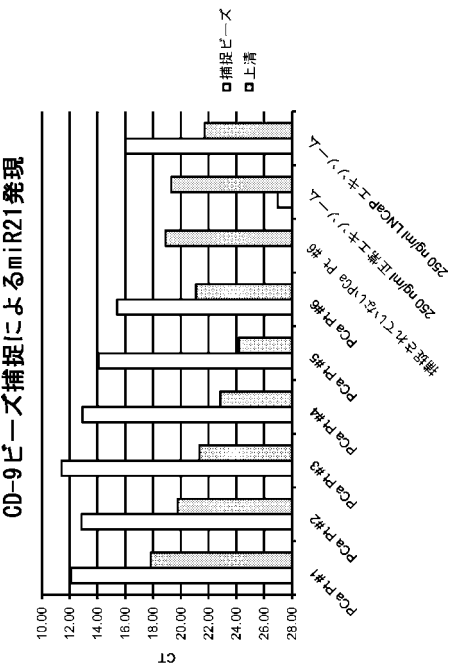
【図 7 6 A】



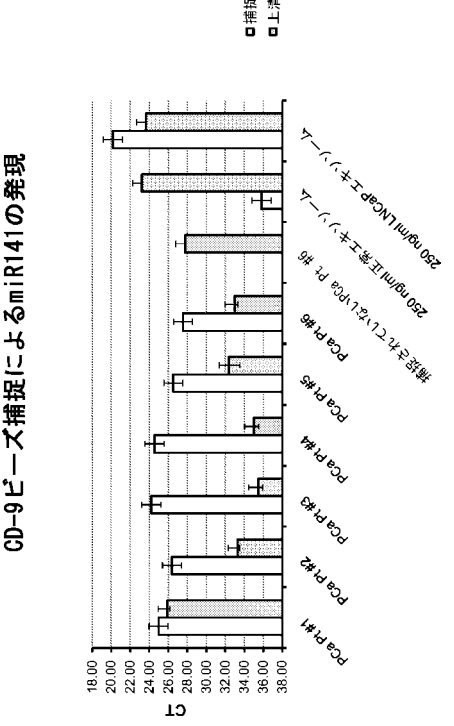
【図 7 6 B】

	VCAP エキソソーム CT平均値	正常血漿 エキソソーム CT平均値
miR-629	30.63	
miR-141	25.69	38.78
miR-671-3p	31.31	36.93
miR-9	28.72	38.69
miR-491	27.89	37.47
miR-182	26.83	36.3
miR-125a-3p	31.26	38.51
miR-324-5p	27.74	35.98
miR-148b	29.11	36.51
miR-222	24.06	31.33

【図 7 7】



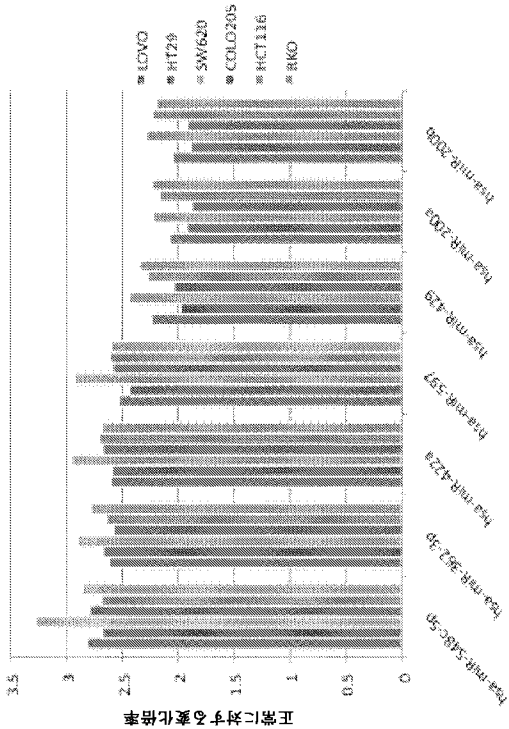
【図 7 8】



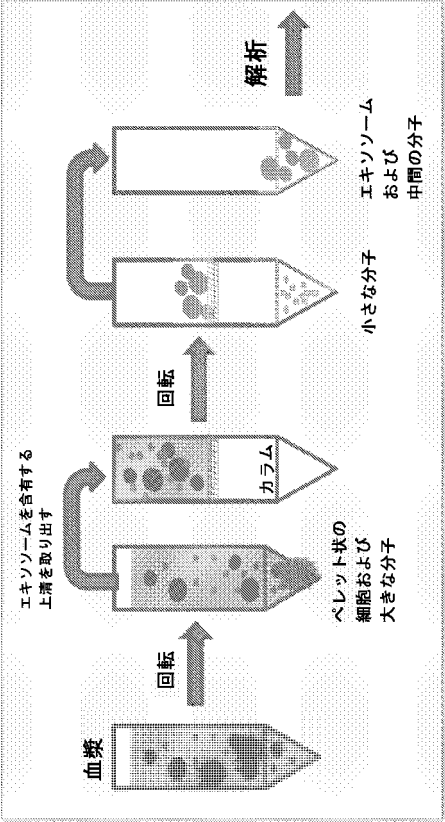
【図 79】

細胞	前立腺	癌-1	癌-2	癌-3	QC-1	QC-2	特異度	感度	特異度
							BPHなし	BPHなし	BPHなし
3000	100	na	200	na	4000	na	58.00%	85.70%	71.40%
3000	100	350	100	na	4000	na	74.10%	85.70%	85.70%
3000	100	125	125	50	4000	na	83.00%	71.40%	90.40%
3000	100	100	100	50	4000	8000	87.00%	71.40%	90.40%
3000	100	100	150	50	4000	na	90.30%	64.20%	90.40%
3000	100	100	150	150	4000	na	93.40%	35.70%	95.20%

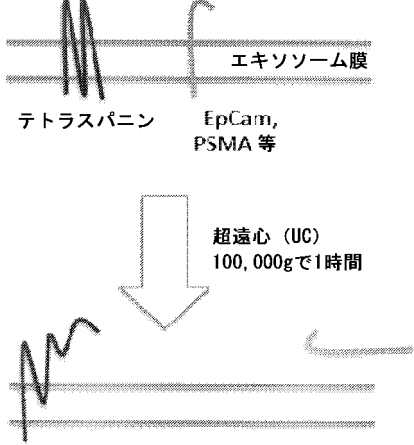
【図 80】



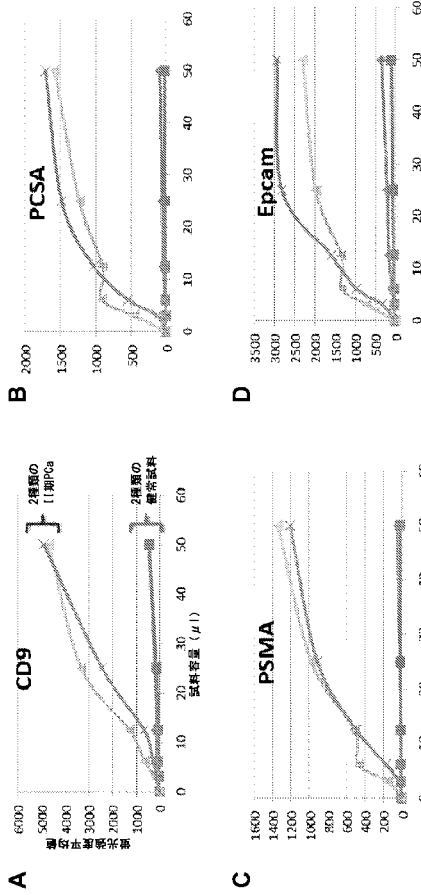
【図 81】



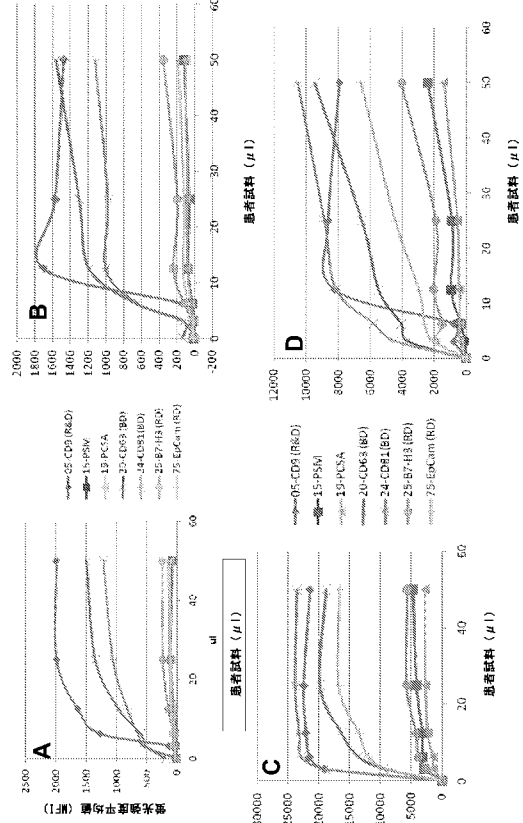
【図 82】



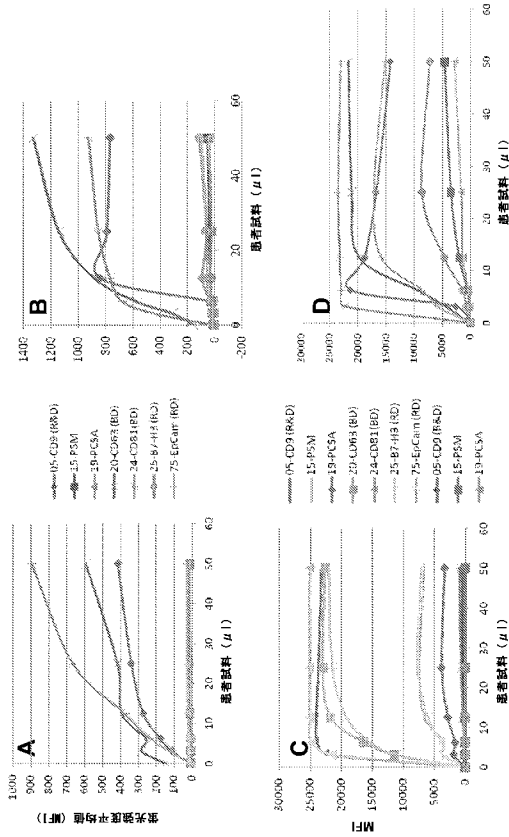
【図 8 3】



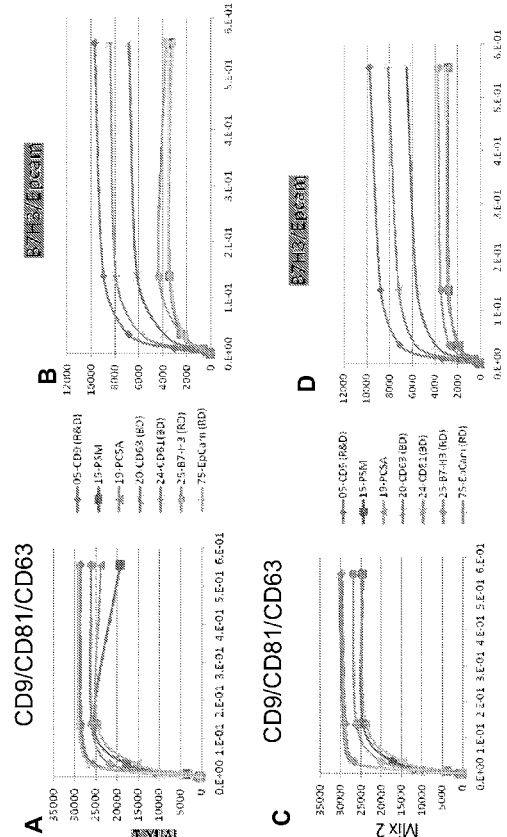
【図 8 4】



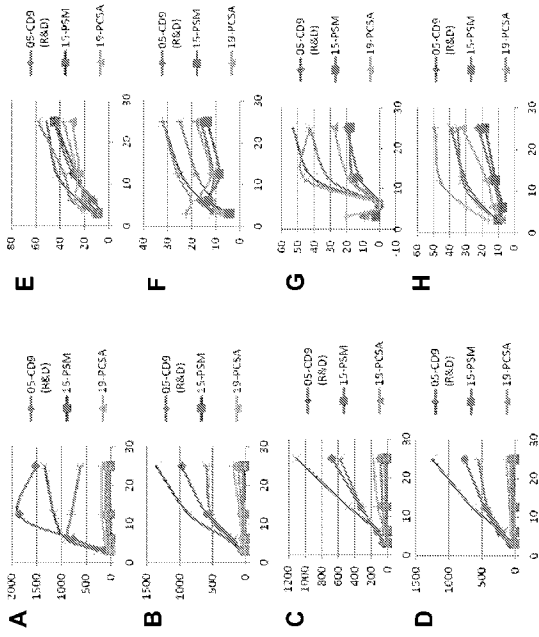
【図 8 5】



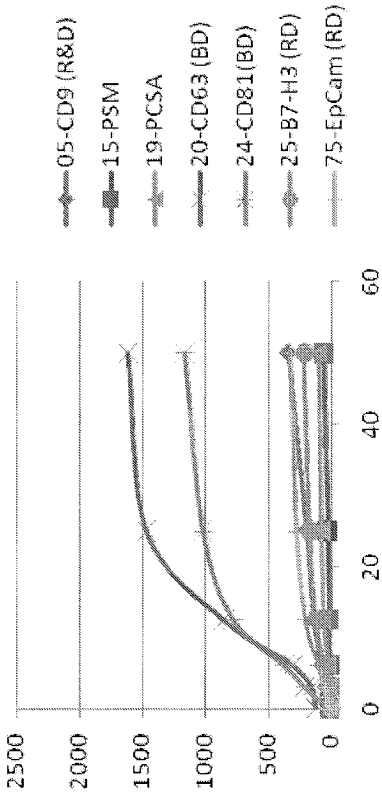
【図 8 6】



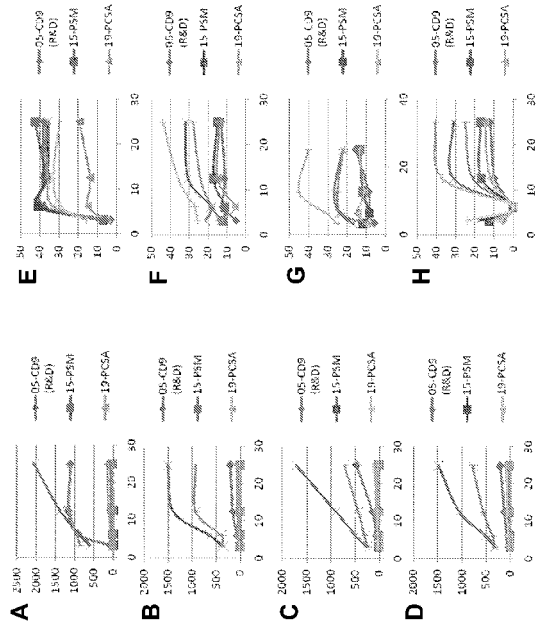
【図 8 7】



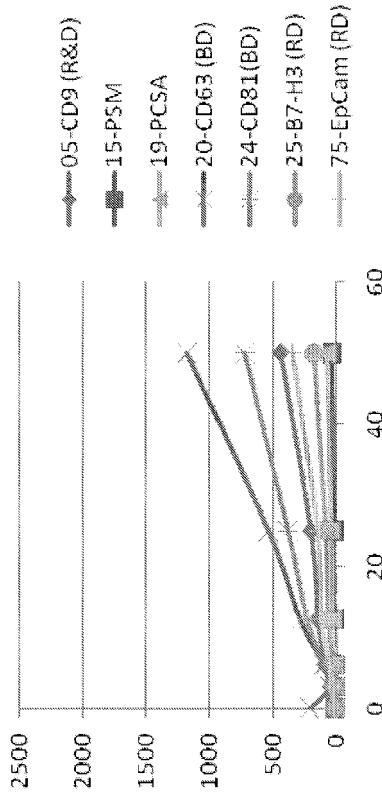
【図 8 9 A】



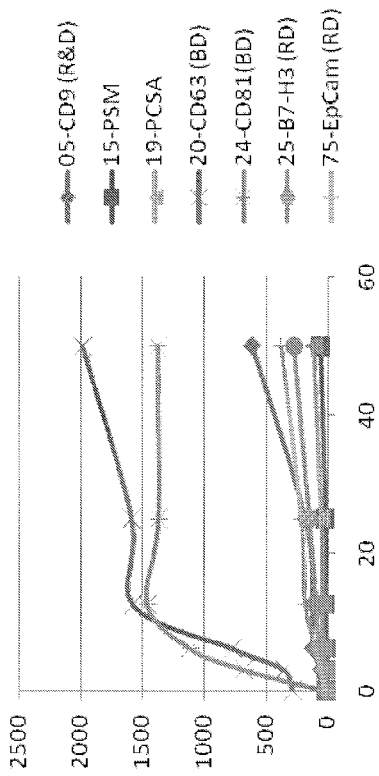
【図 8 8】



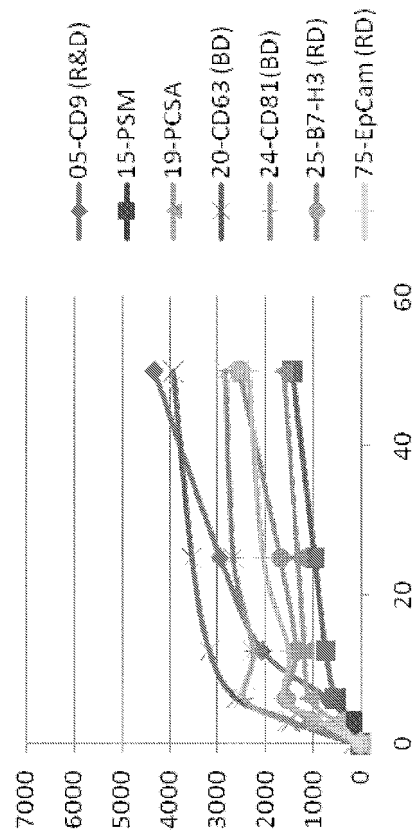
【図 8 9 B】



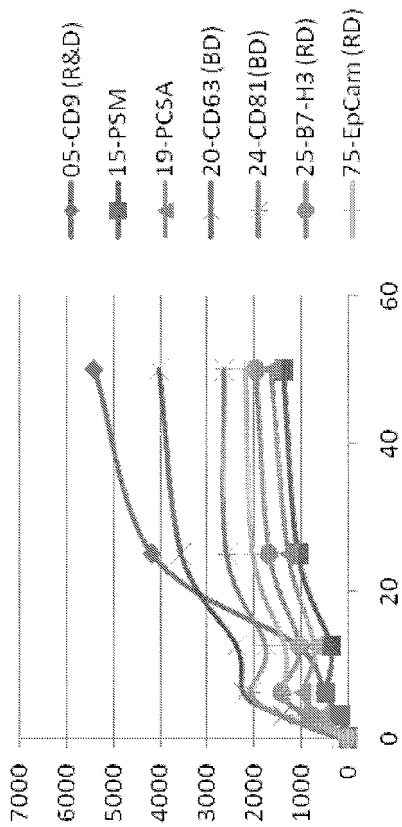
【図 8 9 C】



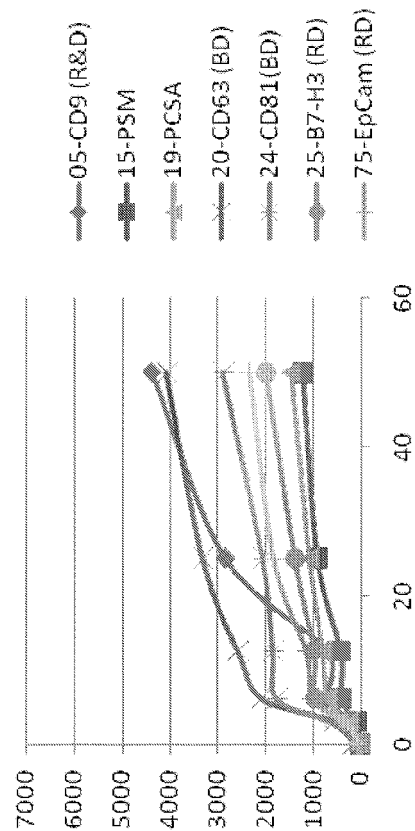
【図 8 9 D】



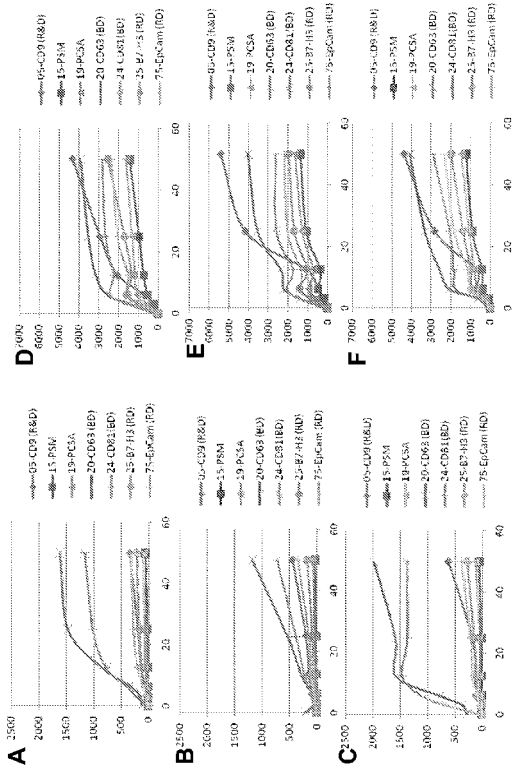
【図 8 9 E】



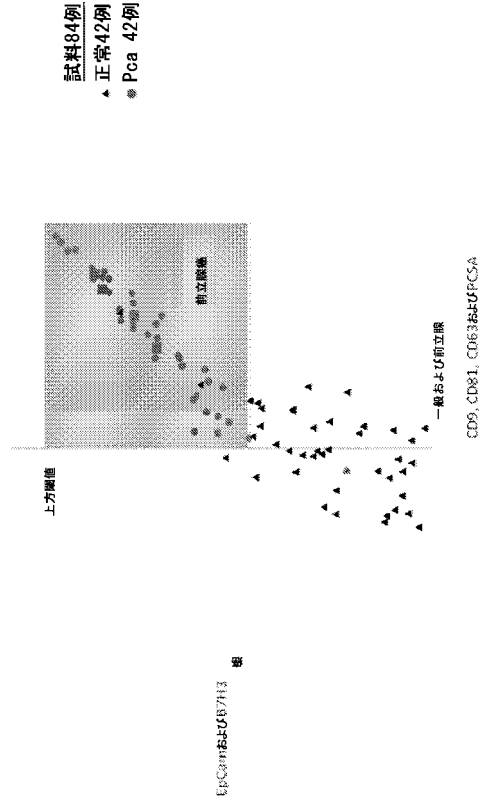
【図 8 9 F】



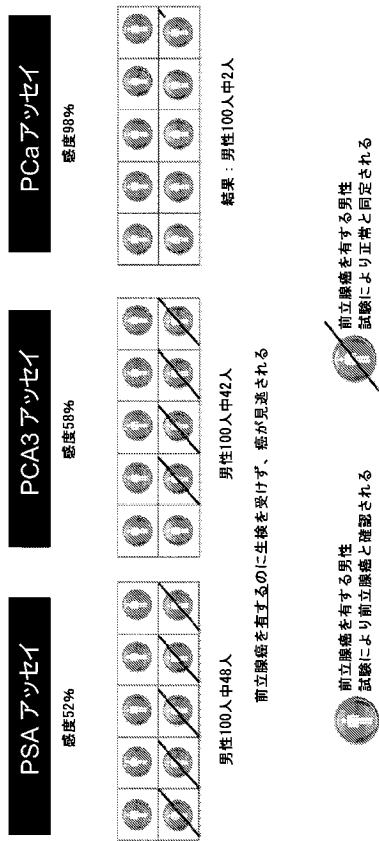
【図 89】



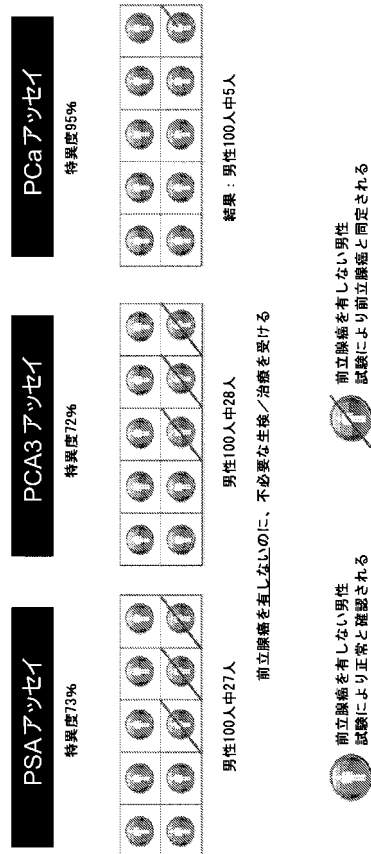
【図 90】



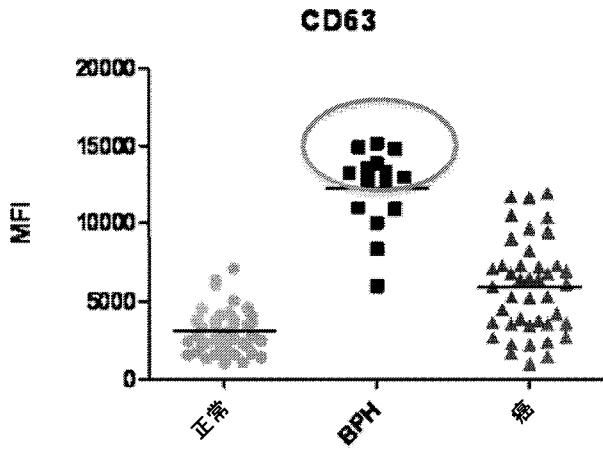
【図 91】



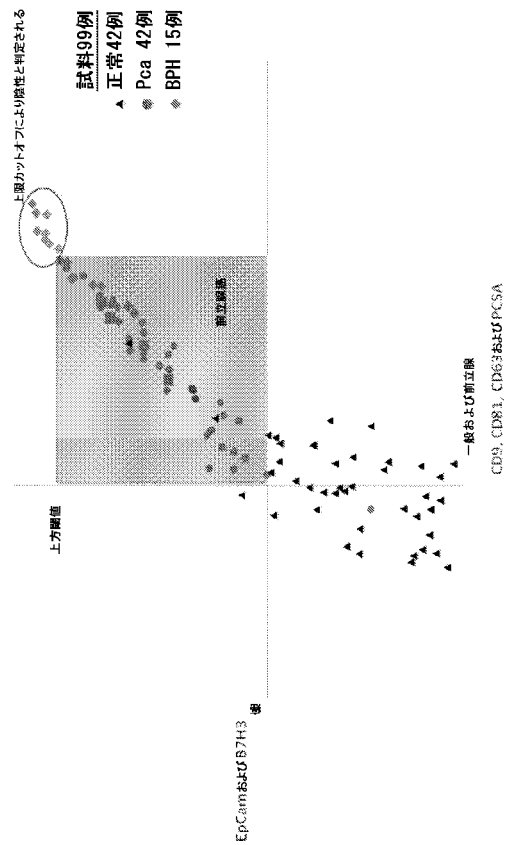
【図 92】



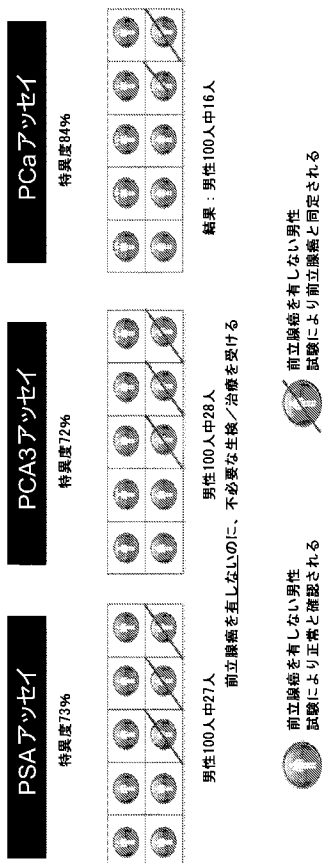
【図 9 3】



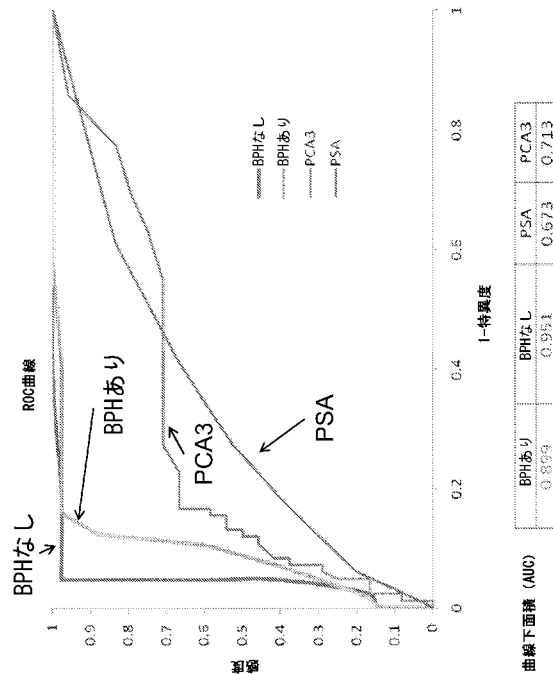
【図 9 4】



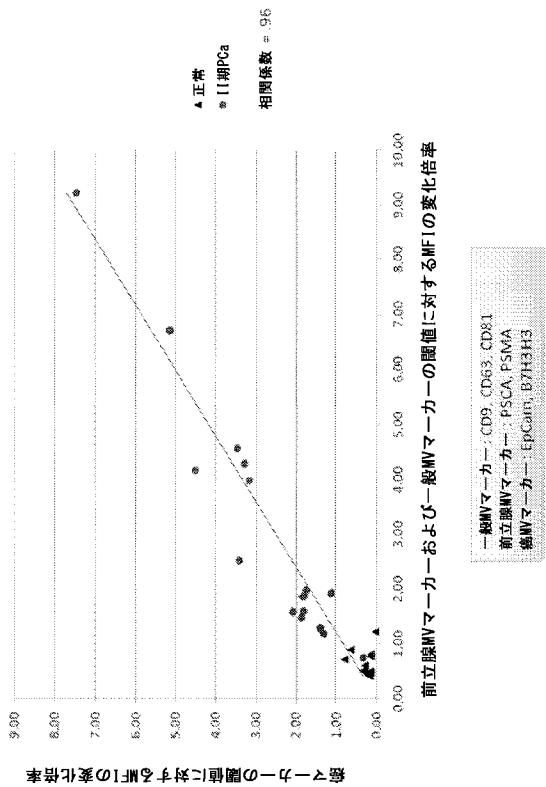
【図 9 5】



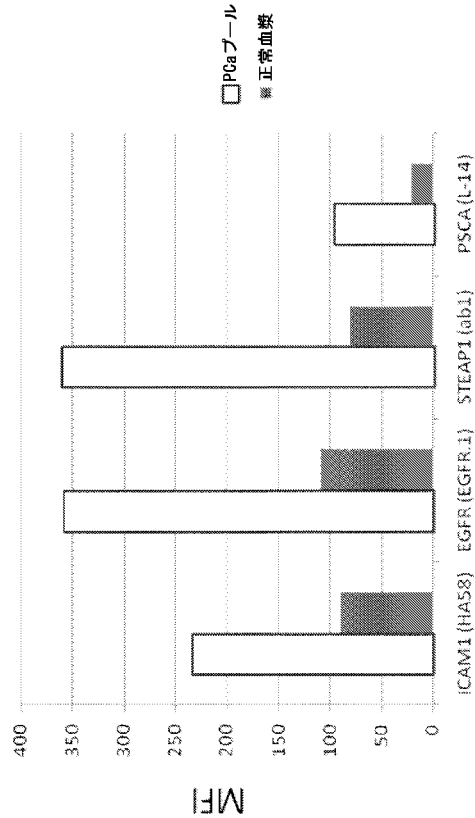
【図 9 6】



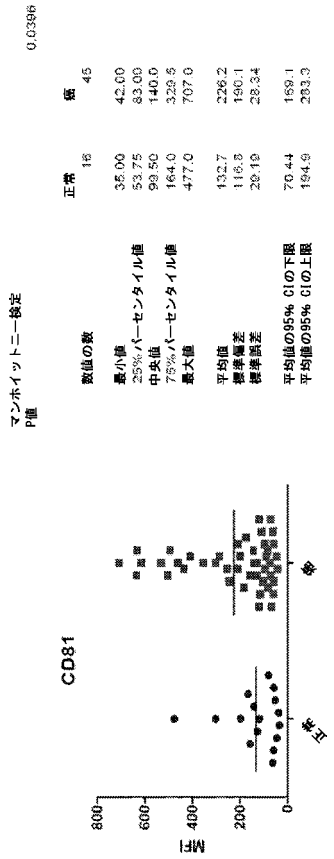
【図 9 7】



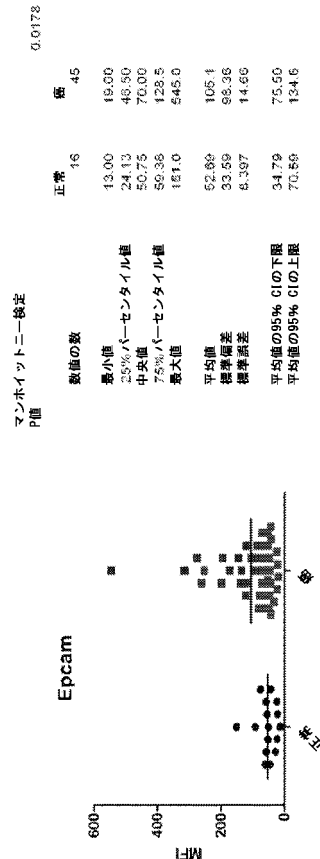
【図 9 8 A】



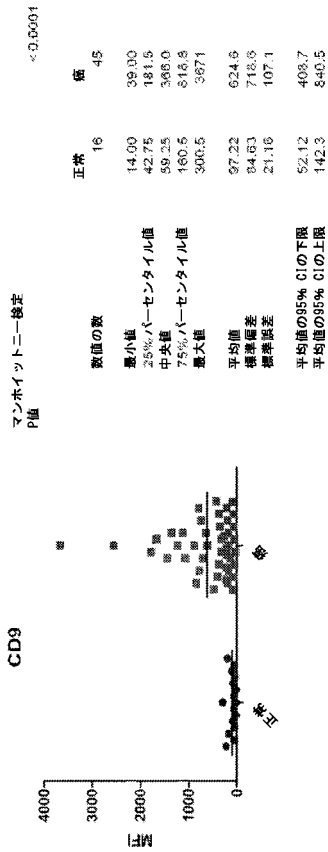
【図 9 8 B】



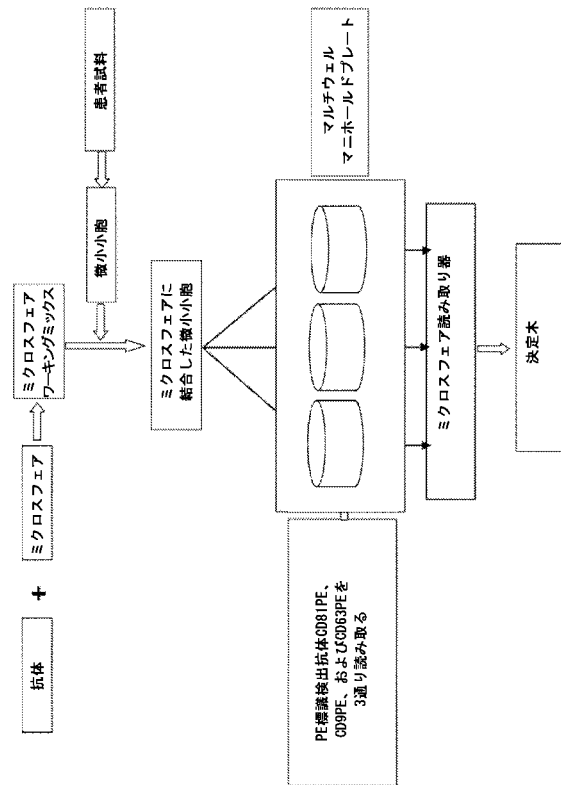
【図 9 8 C】



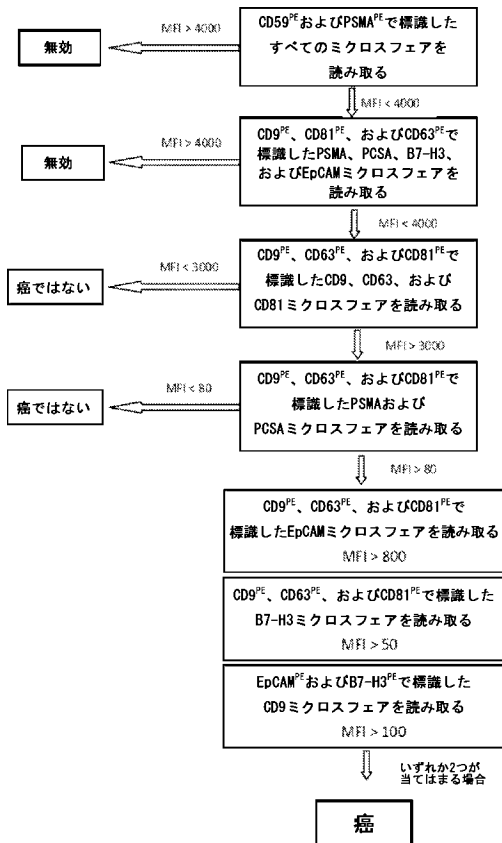
【図 98D】



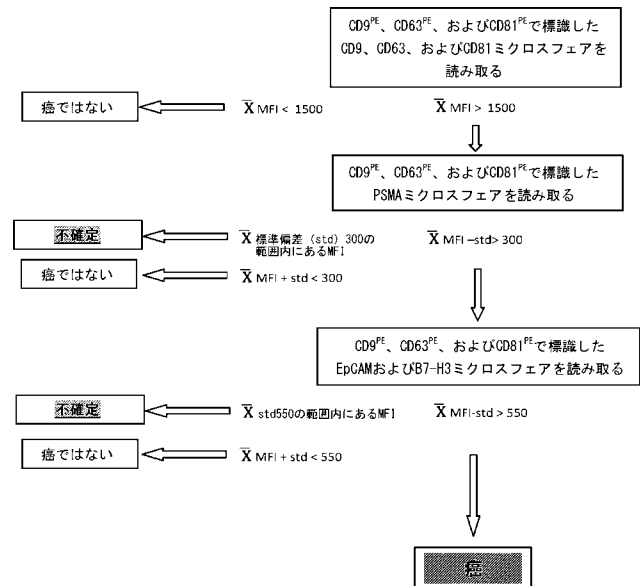
【図 99A】



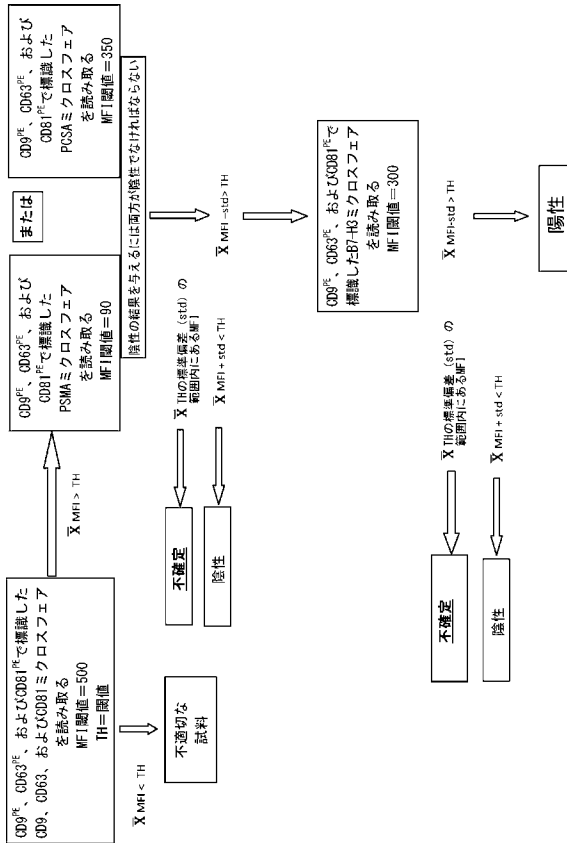
【図 99B】



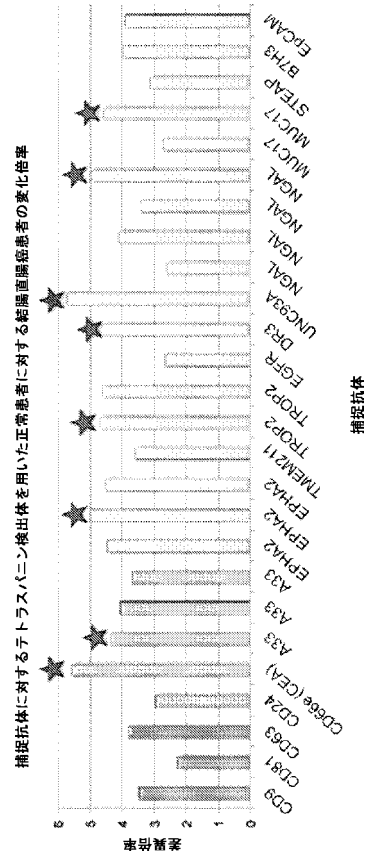
【図 99C】



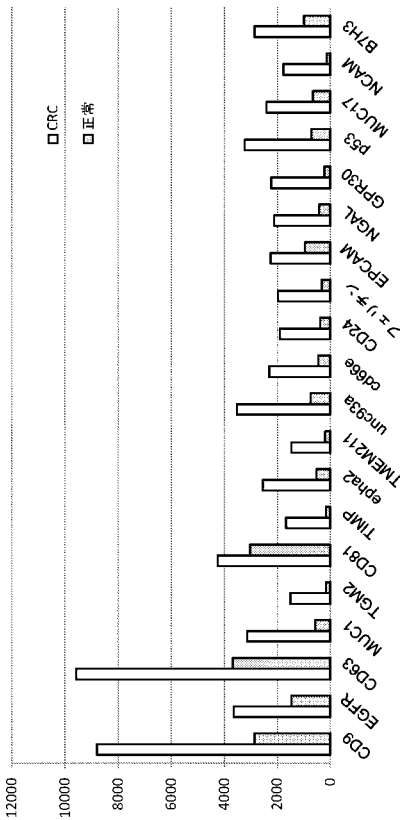
【図 99 D】



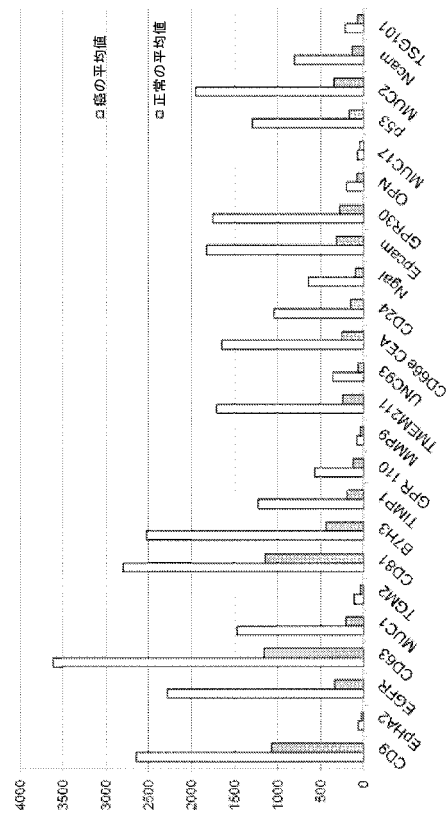
【図 100 A】



【図 100 B】



【図 100 C】

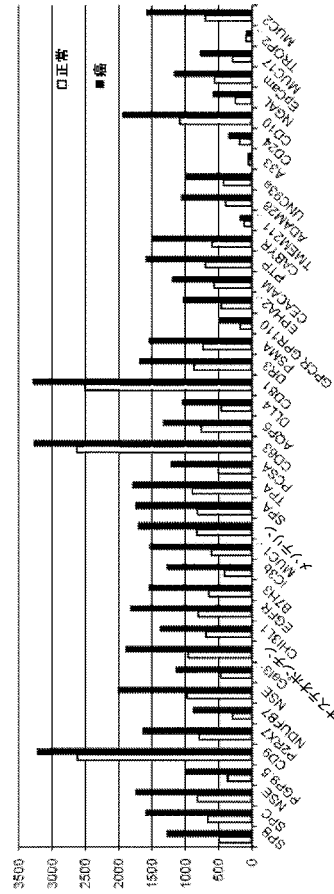


- [illegible]

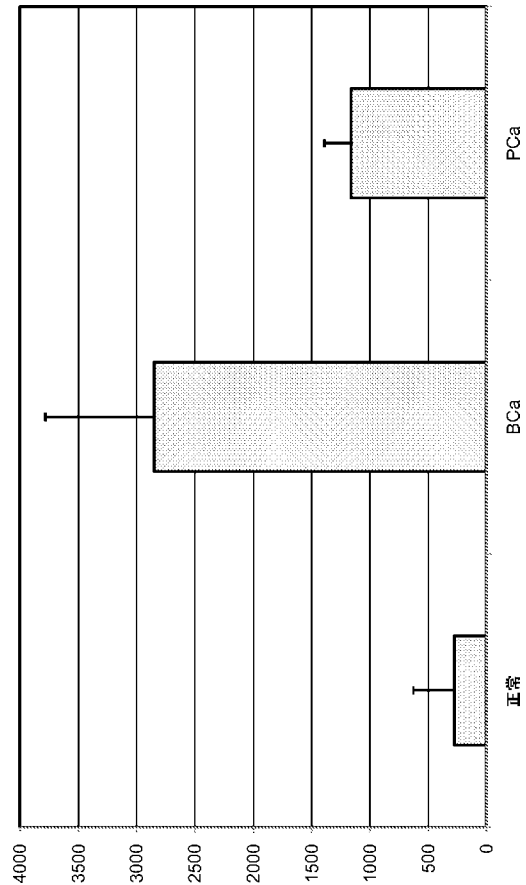
Country	Number of Publications	Number of Publications in the Field of 'Education'
USA	38	15
Canada	32	12
UK	28	10
France	25	8
Germany	22	7
Italy	20	6
Spain	18	5
Japan	15	4
Korea	12	3
China	10	2
India	8	1
Australia	7	1
New Zealand	6	1
South Africa	5	1
Brazil	4	1
Mexico	3	1
Argentina	2	1
Chile	1	1
Colombia	1	1
Venezuela	1	1
Ecuador	1	1
Peru	1	1
Bolivia	1	1
Paraguay	1	1
Uruguay	1	1
Cuba	1	1
Haiti	1	1
Dominican Republic	1	1
Puerto Rico	1	1
Mexico	1	1
Central America	1	1
Caribbean	1	1
Europe	1	1
Africa	1	1
Asia	1	1
Oceania	1	1
Other	1	1

[illegible]

【図 104】



【図 104】



【手続補正書】

【提出日】平成27年10月6日(2015.10.6)

【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】

以下の工程を含む、それを必要とする対象において癌の検出を行う方法：

(a) 対象由来の試料における小胞集団のバイオシグネチャーを同定する工程であって、該バイオシグネチャーが、小胞集団と関連しているEPHA2タンパク質の存在もしくはレベルを含む、工程；ならびに

(b) 該バイオシグネチャーを参照と比較する工程であって、該参照と比較されたバイオシグネチャーの差異を用いて、検出が提供される、工程。

【請求項 2】

前記試料が体液を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

前記体液が、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、尿道球腺液、女性射精液、汗、糞便、涙液、囊胞液、胸膜液、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、腭液、鼻腔からの洗浄液、気管支肺吸引液、または臍帯血を含む、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

前記小胞集団が直径20nm～800nmの小胞を含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。

【請求項 5】

前記小胞集団が直径20nm～200nmの小胞を含む、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

前記小胞集団を、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、イムノアッセイ法、マイクロ流体工学分離、またはこれらの組み合わせに供する、請求項1～5のいずれか一項記載の方法。

【請求項 7】

前記バイオシグネチャーが、1つもしくは複数の細胞特異的バイオマーカー、1つもしくは複数の癌特異的バイオマーカー、および／または1つもしくは複数の一般的小胞バイオマーカーの存在またはレベルをさらに含む、請求項1～6のいずれか一項記載の方法。

【請求項 8】

前記1つまたは複数の癌特異的バイオマーカーが、EpCAM、B7H3、CD24、Tissue Factor、またはこれらの組み合わせを含む、請求項7記載の方法。

【請求項 9】

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、1つまたは複数のテトラスパニンを含む、請求項7～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項 10】

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、CD63、CD9、CD81、CD82、CD37、CD53、Rab-5b、MFG-E8、およびアネキシンVのうちの1つまたは複数、またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項7～9のいずれか一項記載の方法。

【請求項 11】

前記1つまたは複数の一般的小胞バイオマーカーが、表3に挙げられた1つまたは複数の

マーカを含む、請求項7～8のいずれか一項記載の方法。

【請求項12】

前記バイオシグネチャーがEPHA2に対する結合物質を用いた解析を含む、請求項1～11のいずれか一項記載の方法。

【請求項13】

前記結合物質が、DNA分子、RNA分子、抗体、抗体フラグメント、アプタマー、ペプチド、zDNA、ペプチド核酸（PNA）、ロックド（locked）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、または化学物質を含む、請求項12記載の方法。

【請求項14】

前記バイオシグネチャーを同定する工程が、1つまたは複数の核酸の評価をさらに含む、請求項1～13のいずれか一項記載の方法。

【請求項15】

前記1つまたは複数の核酸が、DNA、mRNA、マイクロRNA、snoRNA、snRNA、rRNA、tRNA、siRNA、hnRNA、またはshRNAを含む、請求項14記載の方法。

【請求項16】

前記癌が前立腺癌、結腸直腸癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、または黒色腫を含む、請求項1～15のいずれか一項記載の方法。

【請求項17】

前記癌が前立腺癌を含み、前記バイオシグネチャーが、
PCSAおよびPSMAのうちの1つもしくは複数、ならびにB7H3およびEpCamのうちの1つもしくは複数、または
PCSA
の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項18】

前記癌が結腸直腸癌を含み、前記バイオシグネチャーが、
DR3、STEAP、TMEM211、unc93A、A33、CD24、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびTETS
のうちの1つもしくは複数、または
CD9、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP、TMEM211、UNC93A、CD66e、CD24、フェリチン、EpCAM、NGAL、GPR30、p53、MUC17、NCAM、およびB7H3のうちの1つもしくは複数、または
CD9、EGFR、CD63、MUC1、TGM2、CD81、TIMP1、GPR110、MMP9、TMEM211、UNC93、CD66e、CD24、Ngal、EpCAM、GPR30、OPN、MUC17、p53、MUC2、Ncam、およびTSG101のうちの1つもしくは複数、または
TMEM211およびCD24、または
EpCamおよびCD66、または
EGFR、p53、およびKRASのうちの1つもしくは複数
の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項19】

前記癌が乳癌を含み、前記バイオシグネチャーが、
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のうちの1つもしくは複数、または
CD9、EGFR、B7H3、PSMA、PCSA、CD63、STEAP、CD81、B7H3、STEAP1、ICAM1（CD54）、A33、DR3、CD66e、MFG-e8、ヘプシン、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、5T4、PAI-1、およびCD45のうちの1つもしくは複数、または
BRCA、cMET、DLL4、EGFR、ER、ERB2、ERB3、ERB4、およびVEGFのうちの1つもしくは複数
の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項20】

前記癌が肺癌を含み、前記バイオシグネチャーが、

SPB、SPC、TFF3、PGP9.5、CD9、MS4A1、NDUFB7、Cal3、iC3b、CD63、MUC1、TGM2、CD81、B7H3、DR3、MACC1、TrkB、Tissue Factor (TF)、TIMP1、GPCR (GPR110)、MMP9、MMP7、TMEM211、TWEAK、CDADC1、UNC93、APC、A33、CD66e、CD24、ErbB2、CD10、BDNF、フェリチン、セプラーゼ、NGAL、EpCam、ErbB2、オステオポンチン (OPN)、LDH、HSP70、MUC2、NCAM、CXCL12、ハプトグロビン (HAP)、CRP、およびGro- α のうちの1つもしくは複数、または

CD24、EGFR、およびCEAのうちの1つもしくは複数、または

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)、CEACAM、PTP、CABYR、TMEM211、ADAM28、UNC93a、A33、CD24、CD10、NGAL、EpCam、MUC17、TROP2、およびMUC2のうちの1つもしくは複数、または

SPB、SPC、PSP9.5、NDUFB7、Gal3、iC3b、MUC1、GPCR 110、CABYR、およびMUC17のうちの1つもしくは複数、または

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、NACC1、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のうちの1つもしくは複数、または

ASPH、BRCA1、EGFR、ErbB2、HIF、KRAS、MS4A1、P27、P53、ADH、PGP9、PGP9.5、およびVEGFのうちの1つもしくは複数

の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項 2 1】

前記バイオシグネチャーがABCC1、ABCG2、ACE2、ADA、ADH1C、ADH4、AGT、AR、AREG、A SNS、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、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、IL13R A1、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、POLA1、POLA1、PPARG、PPARGC1、PR、PTEN、PTGS2、RAF1、RARA、RRM1、RRM2、RRM2B、RXRB、RXRG、SPARC、SRC、SSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4、SSTR5、サバイビン、TK1、TLE3、TNF、TOP1、TOP2A、TOP2B、TS、TXN、TXNRD1、TYMS、VDR、VEGF、VEGFA、VEGFC、VHL、YES1、およびZAP70のうちの1つまたは複数の存在またはレベルをさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項 2 2】

前記バイオシグネチャーがKRASにおける突然変異をさらに含む、請求項16記載の方法。

【請求項 2 3】

前記KRASにおける突然変異を、前記小胞集団内に由来するKRAS mRNAペイロードの配列決定によって判定する、請求項22記載の方法。

【請求項 2 4】

請求項1～23のいずれか一項記載の方法を実施するための試薬を含む、キット。

【請求項 2 5】

前記試薬が前記小胞集団を検出するための捕捉物質および／または検出物質を含む、請

求項24記載のキット。

フロントページの続き

- (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 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 ハルバート デービッド ディー.
アメリカ合衆国 テキサス州 コリーヴィル カリスブルック コート 3103
- (72)発明者 クスリッチ クリステーション
アメリカ合衆国 アリゾナ州 パラダイス バレー イースト クラレモント ストリート 40
11
- (72)発明者 ポステ ジョージ
アメリカ合衆国 アリゾナ州 ケープ クリーク ピーオー ボックス 387
- (72)発明者 クラス マイケル
アメリカ合衆国 アリゾナ州 オロ バレー ノース ベーチ ウェイ 11554
- (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 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 タシナト アンドレア
スイス連邦 ギメル シェミン デ シェブルウイルス 1
- (72)発明者 ホルターマン ダニエル
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

专利名称(译)	用于治疗睫状体的生物标志物		
公开(公告)号	JP2016028584A	公开(公告)日	2016-03-03
申请号	JP2015176236	申请日	2015-09-08
[标]申请(专利权)人(译)	卡里斯生命科学瑞士控股有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	圣杯生命科学扫描排汗旅游地产控股有限公司		
[标]发明人	ハルバートデービッドディー クスリッチクリスティー ポステジョージ クラスマイケル スベッツラーデービッド パウロウスキトレシー タシナトアンドレア ホルターマンダニエル		
发明人	ハルバート デービッド ディー クスリッチ クリスティー ポステ ジョージ クラス マイケル スベッツラー デービッド パウロウスキ トレーシー タシナト アンドレア ホルターマン ダニエル		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/68 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	A61P1/16 A61P15/04 A61P17/00 A61P17/06 A61P19/02 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/06 A61P31/12 A61P31/14 A61P31/16 A61P31/18 A61P33/06 A61P35/00 A61P35/02 C12Q1/6883 C12Q2600/106 C12Q2600/112 C12Q2600/136 C12Q2600/158 C12Q2600/178 G01N33/57484 G01N33/6872 G01N2333/705 G01N2800/52 G01N2800/60 C40B30/00 G01N33/6893		
FI分类号	C12Q1/68.A G01N33/68 G01N33/53.M G01N33/574.A C12Q1/6883.C C12Q1/6883.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB03 2G045/CB07 2G045/CB08 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ52 4B063/QR55 4B063/QS24 4B063/QS36 4B063/QX02		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 正人大关 五十嵐弘		
优先权	61/364785 2010-07-15 US 61/357517 2010-06-22 US 61/274124 2010-03-01 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

要解决的问题：提供用于血液治疗的生物标志物，同时进行治疗和可视化。源自体液（例如核酸，蛋白质）和循环结构（例如小泡）的循环生物标记物在生理状况分析或表型测定中的用途，用于诊断，治疗或预后方法。 可以将生物标志物用于治疗疾病的目的，以选择用于疾病，病症，阶段和病症阶段的治疗方案的候选者，并确定治疗效果。 生物标志物也可以。 一种检测癌症的方法，其中所述生物标志物可以是包含囊泡和微小RNA的循环生物标志物。 [选择图]无

(21) 出願番号	特願2015-176236 (P2015-176236)	(71) 出願人	511107212
(22) 出願日	平成27年9月8日 (2015. 9. 8)		カリス ライフ サイエンシズ スウィツ
(62) 分割の表示	特願2012-556185 (P2012-556185)		ツァーランド ホールディングス ゲーエ
	の分割		ムバーハー
原出願日	平成23年3月1日 (2011. 3. 1)		スイス連邦 バーゼル シティゲイト セ
(31) 優先権主張番号	61/364, 785		イント ジェイコブス ストリート 19
(32) 優先日	平成22年7月15日 (2010. 7. 15)		9
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100102978
(31) 優先権主張番号	61/357, 517		弁理士 清水 初志
(32) 優先日	平成22年6月22日 (2010. 6. 22)	(74) 代理人	100102118
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 春名 雅夫
(31) 優先権主張番号	61/274, 124	(74) 代理人	100160923
(32) 優先日	平成22年3月1日 (2010. 3. 1)		弁理士 山口 裕孝
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
最終頁に続く			