

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА , ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(43) Дата международной публикации
06 декабря 2018 (06.12.2018)

WIPO IPCT

(10) Номер международной публикации
WO 2018/222069 A 1

- (51) Международная патентная классификация : SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
G01N 33/574 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
- (21) Номер международной заявки : PCT/RU2017/000386 (84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (22) Дата международной подачи : 02 июня 2017 (02.06.2017)
- (25) Язык подачи : Русский
- (26) Язык публикации : Русский
- (71) Заявитель : ОБЩЕСТВО С ОГРАНИ -
ЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ПРО -
СТАГНОСТ " (**LIMITED LIABILITY COMPANY**
"PROSTAGNOST") [RTJ/RU]; территория инноваци -
онного центра "Сколково ", ул. Нобеля , 7, часть пом . 14,
этаж 4 Москва , 143026, Moscow (RU). Опубликовано :
— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)
— с перечнем последовательностей в соответствии с
Правилом 5.2(a)
- (72) Изобретатель : ЗЕМСКОВА , Марина Юрьевна
(**ZEMSKOVA, Marina Yurievna**); микрорайон "Д ", 15,
кв.50 Московская обл., Пушкино , 142290, Moskovskaya
obi., Pushchino (RU).
- (74) Агент : КОТЛОВ , Дмитрий Владимирович и др.
(**KOTLOV, Dmitry Vladimirovich et al.**); ООО "ЦИС
"Сколково ", территория инновационного центра "Скол -
ково ", д. 4, офис 402.1 Москва , 143026, Moscow (RU).
- (81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны) : А Е, А G, А L, А M, А O, А T, А U, А Z, В A, В B, В G, В H, В N, В R, В W, В Y, В Z, С A, С H, С L, С N, С O, С R, С U, С Z, D E, D J, D K, D M, D O, D Z, E C, E E, E G, E S, F I, G B, G D, G E, G H, G M, G T, H N, H R, H U, I D, I L, I N, I R, I S, J P, K E, K G, K H, K N, K P, K R, K W, K Z, L A, L C, L K, L R, L S, L U, L Y, M A, M D, M E, M G, M K, M N, M W, M X, M Y, M Z, N A, N G, N I, N O, N Z, O M, P A, P E, P G, P H, P L, P T, Q A, R O, R S, R U, R W, S A, S C,

(54) Title: PROTEIN MARKER FOR DIAGNOSING PROSTATE CANCER, METHOD FOR MEASURING THE QUANTITY OF A MARKER AND ALGORITHM FOR INTERPRETING THE RESULT

(54) Название изобретения : БЕЛКОВЫЙ МАРКЕР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ , СПОСОБ ИЗМЕРЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА МАРКЕРА И АЛГОРИТМ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТА

(57) Abstract: The invention relates to the field of biology and medicine, specifically to oncology, and can be used for diagnosing prostate cancer. Use is made for this purpose of a novel prostate-cancer marker which can be identified in the undiluted urine of a patient and constitutes integrin-alpha V or a fragment thereof. A method of diagnosing prostate cancer, comprising identifying integrin-alpha V in the undiluted urine of a patient, and a kit for carrying out the diagnosis, comprising at least one antibody specific to integrin-alpha V, or a functional fragment thereof, are also proposed. The invention makes it possible to carry out a non-invasive diagnosis of prostate cancer using a simple, sensitive and reliable method which can be used under standard clinical laboratory conditions in inpatient or outpatient medical institutions.

(57) Реферат : Изобретение относится к области биологии и медицины , а именно , к онкологии , и может быть использовано для диагностики рака предстательной железы (РПЖ) . Для этого используют новый маркер РПЖ , выявляемый в цельной моче пациента , представляющий собой интегрин альфа V или его фрагмент . Предлагается также способ диагностики РПЖ , включающий выявление в цельной моче пациента интегрин альфа V и набор для проведения диагностики , включающий по меньшей мере одно антитело , специфичное к интегрину альфа V, или его функциональный фрагмент . Изобретение позволяет осуществлять неинвазивную диагностику РПЖ с использованием простого , чувствительного , надежного , применимого в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений .



WO 2018/222069 A1

Белковый маркер для диагностики рака предстательной железы , способ измерения количества маркера и алгоритм интерпретации результата

Изобретение относится к области биологии и медицины , а именно , к онкологии , и может быть использовано для диагностики рака предстательной железы .

Уровень техники

После рака кожи рак простаты (рак предстательной железы , РПЖ) - наиболее часто диагностируемая форма рака . Во многих странах РПЖ является второй / третьей по распространенности причин смерти мужчин в возрасте после 40 лет . В настоящее время считается , что важнейшим фактором борьбы с РПЖ является ранняя диагностика .

Традиционным и наиболее распространенным методом выявления РПЖ является тест на ПСА (простатспецифический антиген , prostate specific antigen PSA) в сыворотке крови (Stamey T.A. et al. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate // N Engl J Med. 1987 Oct 8; 317(15):909-16). Однако за 30 лет клинической практики накопился большой объем статистических данных , свидетельствующих о низкой специфичности ПСА как онкомаркера , что проявляется в виде значительного числа ложноположительных результатов . Поэтому внимание многих исследователей сосредоточено на поиске новых онкомаркеров .

Востребованными в медицинской практике могут быть два разных метода диагностики РПЖ : первый - неинвазивный , быстрый , легкий , реализуемый на стандартном для клинической лаборатории оборудовании , который может использоваться для рутинных / серийных анализов при диспансеризации , обследовании населения , мониторинге групп риска , мониторинге рецидивов , мониторинге хода болезни , мониторинге терапии и др.; второй - метод , необходимый для окончательного дифференциального анализа , для которого единственным важнейшим параметром является близкая к 100% точность .

В настоящее время активно исследуется ряд биомаркеров рака простаты (например PCA3 , TMPRSS2:ERG, PSCA (prostate stem cell antigen), AMCAR), которые определяются неинвазивными методиками за счет измерения их количества в моче (см., например , Koo K.M. et al. Colorimetric TMPRSS2-ERG Gene Fusion Detection in Prostate Cancer Urinary Samples via Recombinase Polymerase Amplification // Theranostics., 2016 Jun 15;6(9): 141 5-24; Deras I.L. et al., PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome // J Urol. 2008 Apr; 179(4):1587-92). Однако это маркеры требуют для своего обнаружения использования достаточно дорогостоящих методов , основанных на полимеразной цепной реакции и/или иммуногистохимическом исследовании , и эти анализы сложно произвести в рамках стандартной клинической лаборатории .

В последнее время активно исследуется возможность диагностики РПЖ по биомаркерам экзосом мочи. Так, например, патент US7897356B2 раскрывает способ диагностики РПЖ путем идентификации биосигнала на экзосомах, включающий захват и выделение экзосом с использованием обычных поверхностных белков экзосом CD63, CD9 или CD81, а затем качественный и количественный анализ уровня специфических для РПЖ маркеров PSMA, PCSA, EpCam, V7H3 (CD276). Также известен способ и набор для количественной оценки и определения экзосом для диагностики рака предстательной железы и гиперплазии предстательной железы (US20130196355A1), основанный на иммуноферментном анализе с использованием анти-RaB5 в качестве улавливающего антитела для выделения всех экзосом, из которых в последующем выделяют экзосомы с помощью анти-PSA детектирующего антитела и сравнивают уровень таких экзосом с эталонным. Однако, во-первых, биомаркер, подходящий для неинвазивной, быстрой, реализуемой на стандартном для клинической лаборатории оборудовании диагностики РПЖ, так и не был найден; а во-вторых, выделение экзосом, необходимое для реализации вышеупомянутых способов, - весьма нетривиальная задача, нерешаемая для большинства клинических лабораторий.

Таким образом, несмотря на существующие исследования по диагностике РПЖ, медицинская практика диспансеризации населения, а также задачи мониторинга групп риска, хода болезни, ее терапии и рецидивов нуждаются в рутинном методе анализа РПЖ, реализуемом на стандартном оборудовании.

Раскрытие изобретения

Задачей и техническим результатом изобретения является нахождение нового диагностического маркера рака предстательной железы (РПЖ), позволяющего осуществлять неинвазивную диагностику заболевания, а также разработка на его основе простого, чувствительного, надежного, применимого в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений способа диагностики РПЖ.

Поставленная задача решается за счет применения для диагностики РПЖ нового биомаркера, представляющего собой интегрин альфа V или его фрагмент, выявляемого в цельной моче пациента. Согласно изобретению, интегрин альфа V или его фрагмент могут быть использованы в качестве биомаркера путем их выявления как в виде отдельных субъединиц, так и в составе гетеродимеров интегринов, таких как $\alpha\nu\beta 1$, $\alpha\nu\beta 3$, $\alpha\nu\beta 5$, $\alpha\nu\beta 6$ и/или $\alpha\nu\beta 8$.

Задача также решается при осуществлении способа диагностики РПЖ, включающего выявление в цельной моче пациента интегрин альфа V или его фрагмента.

При этом, при обнаружении интегрин альфа V или его фрагмента в цельной моче в количестве от 20 нг/мл диагностируют отсутствие рака предстательной железы.

В некоторых вариантах изобретения при осуществлении способа диагностики РПЖ проводят дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные обследования.

В некоторых частных вариантах осуществления изобретения дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования проводят, если количество интегрин альфа V или его фрагмента, обнаруженного в моче пациента, составляет 20 нг/мл или менее этого уровня.

Также задача решается путем разработки набора для проведения диагностики рака предстательной железы в цельной моче пациента, который включает по меньшей мере одно антитело или его функциональный фрагмент, специфичное к интегрину альфа V или его фрагменту и не обладающее кросспецифичностью к другим пептидам мочи.

В некоторых вариантах изобретения набор представляет собой тест-систему для проведения твердофазного иммуноферментного анализа.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 Результаты измерений интегрин альфа V в утренней моче мужчин старше 50 лет: n - число измерений. Горизонтальная линия - 20 нг/мл биомаркера.

Фиг. 2. Результаты математической обработки данных, приведенных на Фиг. 1. По оси X - концентрация интегрин альфа V, нг/мл, По оси Y - вероятность обнаружения интегрин альфа V в моче различных групп обследуемых. Вертикальные линии - математические ожидания.

Термины и определения

В настоящем описании термины «включает» и «включающий» интерпретируются как означающие «включает, помимо всего прочего». Указанные термины не предназначены для того, чтобы их истолковывали как «состоит только из».

Термин РПЖ расшифровывается как рак предстательной железы, ДГПЖ - подразумевает доброкачественные образования простаты (аденома, простатит) и термин норма описывает образцы, полученные от индивидуумов старше 50 лет без патологий предстательной железы.

Под термином «цельная моча» подразумеваются образцы мочи как не подвергавшиеся никакой обработке, так и образцы, полученные после центрифугирования, фильтрации или других процедур, позволяющих отделить растворимые компоненты мочи от нерастворимой фракции.

Под «маркером» или «биомаркером», если не указано иное, в настоящем описании подразумевается интегрин альфа V (идентификационный номер UniProtKB P06756-1) и его изоформы (P06756-2; P06756-3). Интегрин альфа V (другие названия - α V, CD51, MSK8, vitronectin receptor α (VNR α)) - мембранный белок, гликопротеин из надсемейства интегринов, продукт гена ITGAV, находящегося на 2-й хромосоме в положении 2q31-q32.

Используемый здесь термин «антитело» касается целого иммуноглобулина или его фрагмента, например, типа Fab или (Fab')₂, сохраняющего антигенсвязывающую активность. Это может быть встречающееся в природе антитело или антитело, полученное путем иммунизации (в том числе, например, химерное антитело или гуманизованное антитело) или рекомбинантное антитело, построенное с помощью методов генной инженерии.

В настоящем описании под антителом или его фрагментом подразумевается антитело, специфически связывающиеся с интегрином альфа V или его фрагментом и не обладающее кросспецифичностью к другим белкам (пептидам, их фрагментам) мочи, т.е. такое антитело, которое обладает (значительно) большей аффинностью к интегрину альфа V или его фрагменту, чем к другим белкам (пептидам, их фрагментам) мочи.

В диагностическом наборе по настоящему изобретению могут быть использованы антитела, которые можно получить от поставщиков. Или же эти антитела могут быть получены упомянутыми выше или иными способами.

Без дальнейшего уточнения предполагается, что на основе приведенного выше описания квалифицированный в данной области специалист способен применить настоящее изобретение во всей его полноте. Приведенные далее варианты являются только иллюстративными. Они никаким образом не ограничивают раскрытие настоящего изобретения. Все цитируемые публикации включены в виде ссылок.

Возможность объективного проявления технического результата при использовании изобретения подтверждена достоверными данными, приведенными в примерах, содержащих сведения экспериментального характера, полученными в процессе проведения исследований по методикам, принятым в данной области. Сущность изобретения поясняется графическими материалами.

Нижеследующие примеры приведены в целях иллюстрирования способа согласно настоящему изобретению и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения.

Подробное раскрытие изобретения

Интегрин альфа V (HGNC: [6150](#); Entrez Gene: [3685](#); Ensembl: [ENSG00000138448](#); OMIM: [193210](#); UniProtKB: [P06756](#)) - мембранный белок, гликопротеин из надсемейства

интегринов, продукт гена ITGaV, находящегося на 2-й хромосоме в положении 2q31-q32. Интегрин альфа V состоит из 1048 аминокислот. Зрелая молекула интегрина альфа V представляет собой гликопротеин длиной 1018 аминокислот (см. SEQ NO: 1), молекулярная масса белковой части — 116,0 кДа.

Зрелая молекула интегрина альфа V образует гетеродимерный комплекс с интегринами бета -1, бета -3, бета -5, бета -6 или бета -8. Интегрины с альфа V являются рецепторами для ряда лигандов, распознавая последовательность аргинин-глицин-аспартат (R-G-D). Интегрины с альфа V участвуют во многих процессах развития эмбриона, в ангиогенезе и остеопорозе.

В ходе проведенных исследований неожиданно было обнаружено, что количественное содержание интегрина альфа V в цельной моче коррелирует с заболеванием раком предстательной железы, что позволило использовать его в качестве биомаркера для диагностики РПЖ, а также позволило разработать на основе нового биомаркера новый метод диагностики РПЖ. Количественное определение интегрина альфа V в цельной моче позволяет осуществлять неинвазивную диагностику заболевания, а простая методика проведения анализа позволяет использовать предлагаемый метод в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических медицинских учреждений.

Изобретением также охватываются наборы для проведения диагностики РПЖ по изобретению. Такие наборы включают антитела против интегрина альфа V или его фрагментов, которые могут быть выявлены как в виде отдельных субъединиц, так и в составе гетеродимеров, таких как гетеродимерные комплексы с интегринами бета -1, бета -3, бета -5, бета -6 и/или бета -8. Согласно изобретению, могут быть использованы любые антитела или их фрагменты, специфически связывающиеся с интегрином альфа V и не обладающее кросспецифичностью к другим пептидам мочи. К таким антителам могут относиться, но не ограничиваются ими, как любые известные из уровня техники антитела /фрагменты антител против интегрина альфа V (например, Polyclonal Antibody to Integrin Alpha V (ITGaV) http://www.elabscience.com/Manual/Antibody/_ENZENT2365.pdf, <http://cloud-clone.com/products/PAB282Hu01.html>, http://www.genetex.com/_Integrin-alpha-5-antibodv-C-term-GTX81964.html, Monoclonal Antibody to Integrin Alpha V (ITGaV) <http://www.abcam.com/integrin-alpha-5-antibodv-epr7854-ab150361.html>, <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/mm/mabt207?lang=en®ion=RU>, <http://cloud-clone.com/products/MAB282Hu22.html>, [http://www.antibodies-online.com/abstract/Integrin+alpha+V+\(ITGAV\)+Antibody/](http://www.antibodies-online.com/abstract/Integrin+alpha+V+(ITGAV)+Antibody/)), так и новые, не известные ранее антитела /фрагменты антител, в том числе антитела (фрагменты антител), модифицированные с целью повышения их аффинности известными способами, которые могут быть получены с использованием известных методов, таких как метод иммунизации (в том числе это могут

быть , например , химерные антитела или гуманизированные антитела) или метод получения рекомбинантных антител , построенных с помощью методов генной инженерии .

Диагностический набор включает в себя по меньшей мере одно антитело /фрагмент антитела , специфически связывающееся с интегрином альфа V (например , либо иммобилизованное на подложке , либо в лиофилизированной форме , либо в виде водного раствора) и один или более чем один реагент , полезный для проведения диагностического анализа . Когда антитело против интегрин альфа V мечено ферментом , набор может включать субстраты и кофакторы , требующиеся для данного фермента (например , субстрат -предшественник , который обеспечивает детектируемый хромофор или флуорофор) . Кроме того , в набор могут быть включены другие добавки , такие как стабилизаторы , буферы (например , блокирующий буфер или буфер для лизиса) и тому подобное . В определенных воплощениях антитело против интегрин альфа V , включенное в диагностический набор , иммобилизовано на твердой поверхности , или твердая поверхность (например , предметное стекло или пластиковая плашка , или диагностическая полоска и др.) , на которой можно иммобилизовать антитело , включена в набор . Относительные количества разных реагентов могут широко варьировать для обеспечения концентраций реагентов в растворе , которые существенно оптимизируют чувствительность анализа . В конкретном воплощении антитело и один или более чем один реагент могут быть предоставлены (по отдельности или совместно) в виде сухих порошков , обычно лиофилизированных , включающих эксципиенты , которые при растворении будут давать раствор реагента , имеющий подходящую концентрацию .

В некоторых вариантах набор для диагностики РПЖ может представлять собой тест -систему произвольной конструкции , например , диагностические полоски , массив , чип и пр. или набор реагентов , предназначенный для использования при ручном или автоматизированном анализе , или с частично / полностью автоматическим / роботизированным анализатором ; набор реагентов также может включать приспособление , например плашку , с иммобилизованными антителами , позволяющую провести твердофазный ИФА или любой другой анализ с чувствительностью не менее 0.2 нг /мл .

В некоторых вариантах изобретения при осуществлении способа диагностики РПЖ дополнительно проводят любые известные из уровня техники клинические , лабораторные и/или инструментальные методы обследования .

Оригинальный биомаркер интегрин альфа V детектируется в цельной или любой фракции мочи пациента , включая экзосомы , но не ограничиваясь ими .

В некоторых вариантах воплощения изобретения биомаркер интегрин альфа V может быть использован в диагностике РПЖ в комбинации с любыми другими

биомаркерами , повышающими качество (достоверность , точность и/или др.) диагностики РПЖ . К таким биомаркерам относятся , но не ограничиваются ими , такие как , например , простатспецифический антиген , PCA3 , TMPRSS2:ERG, PSCA (prostate stem cell antigen), AMCAR и/или другие .

Примеры воплощения изобретения

Диагностика РПЖ по изобретению может быть проведена любым методом анализа , способным определить содержание интегрин альфа V в моче пациента в диапазоне от 0 до 100 нг/мл. В нашем конкретном случае диагностика осуществлялась следующим образом .

У обследуемого брали 30 (можно до 50) мл первой порции утренней мочи .

Для проведения измерения уровня интегрин альфа V в моче использовали следующие процедуры :

- образец мочи осветляли центрифугированием 15 мин при скорости 2 000 оборотов в мин (можно использовать фильтрацию через мембраны с размером пор 0.22-0.45 мкм или любой другой доступный метод , позволяющий отделить растворимую фракцию белков мочи от нерастворимого осадка);

- содержание интегрин альфа V определяли в конкретном случае методом ИФА , используя коммерчески доступный «SEB282Hu 96 Tests. Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Integrin Alpha V (ITGaV)» фирмы *Cloud-Clone Corp.* (<http://cloud-clone.com/products/SEB282Hu.html>), строго следуя инструкции ([http://cloud-clone.com/manual/ELISA-Kit-for-Integrin-Alpha-V-\(ITGaV\)-SEB282Hu.pdf](http://cloud-clone.com/manual/ELISA-Kit-for-Integrin-Alpha-V-(ITGaV)-SEB282Hu.pdf)) .

Для этого :

- 25 мкл . мочи вносили в лунку 96-луночной плашки с иммобилизованными антителами ;
- инкубировали 1.5 часа при 37°C;
- жидкость удаляли и добавляли 100 мкл . детектирующего реагента А;
- инкубировали 1.5 часа при 37°C;
- жидкость удаляли , и лунка промывалась 3 раза промывающим раствором . После каждого промывания жидкость тщательно удалялась вытряхиванием на фильтровальную бумагу ;
- добавляли 100 мкл . детектирующего реагента В;
- плашка инкубировалась 0.5 часа при 37°C;
- жидкость удалялась , и лунка промывалась 5 раз промывающим раствором . После каждого промывания жидкость тщательно удалялась вытряхиванием на фильтровальную бумагу ;
- добавляли 90 мкл . субстрата ТМБ ;
- инкубировали 20 мин . при 37°C;

- добавляли 50 мкл . стоп -реагента
- результат измерялся немедленно фотометрически при 450 нм. Для определения уровня ITGAV в каждом экспериментальном образце мочи согласно инструкции производителя использовали калибровочную кривую полученную в результате измерения различных разведений чистого (гомогенного) белка .

При этом повышение точности анализа и воспроизводимости результатов возможно двумя путями :

- за счет контроля процесса сбора мочи : нужно именно 30-50 мл первой порции утренней мочи ;
- собирая 30-50 мл первой порции мочи после массажа простаты .

Моча может храниться при +4 °С в течение суток и 2-3 недели - при -18 °С .

В некоторых случаях также бывает целесообразным повторное проведение анализа . Изобретение также может быть использовано для контроля эффективности лечения РПЖ путем проведения повторных анализов с целью выявления уровня интегрин альфа V в цельной моче пациента в процессе , а также после завершения лечения .

На Фиг.1 показаны экспериментальные результаты измерений уровня интегрин альфа V в утренней моче здоровых людей , пациентов с доброкачественными образованиями и больных с РПЖ , полученные по вышеописанной методике .

На графике Фиг.2 показаны кривые вероятности распределения значений для трех наборов данных и математические ожидания соответствующих измерений (вертикальные линии). Как следует из графика , математические ожидания уровня биомаркера у здоровых людей и пациентов с доброкачественными образованиями (между 24 нг/мл и 32 нг/мл) существенно отличаются от математического ожидания уровня биомаркера у больных с РПЖ (~4 нг/мл). Обработка была проведена в предположении гауссова распределения исходных данных .

Как следует из полученных данных , уровень интегрин альфа V в моче выше 20 нг/мл свидетельствует об отсутствии РПЖ (100%), при этом пациент может быть здоров или иметь гиперплазию простаты (простатит / аденому). Уровень интегрин альфа V 20 нг/мл и менее требует дополнительного анализа , например , посредством взятия пункции и гистологического анализа .

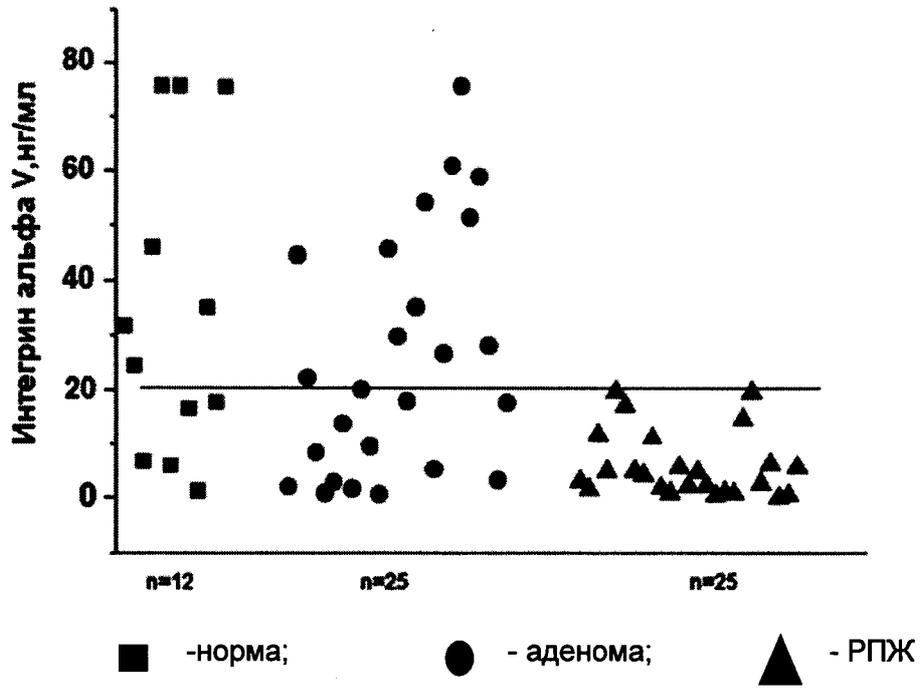
Приведенные данные свидетельствуют , что интегрин альфа V может быть использован в качестве нового биомаркера для диагностики РПЖ , а его определение в моче может быть использовано для проведения неинвазивной диагностики РПЖ , а также для разработки на его основе простого , чувствительного , надежного , применимого в условиях стандартной клинической лаборатории клинических или поликлинических

медицинских учреждений способа диагностики РПЖ. Предлагаемый способ диагностики может быть использован для обследования населения, мониторинга групп риска, мониторинга рецидивов, мониторинга хода болезни, мониторинга терапии.

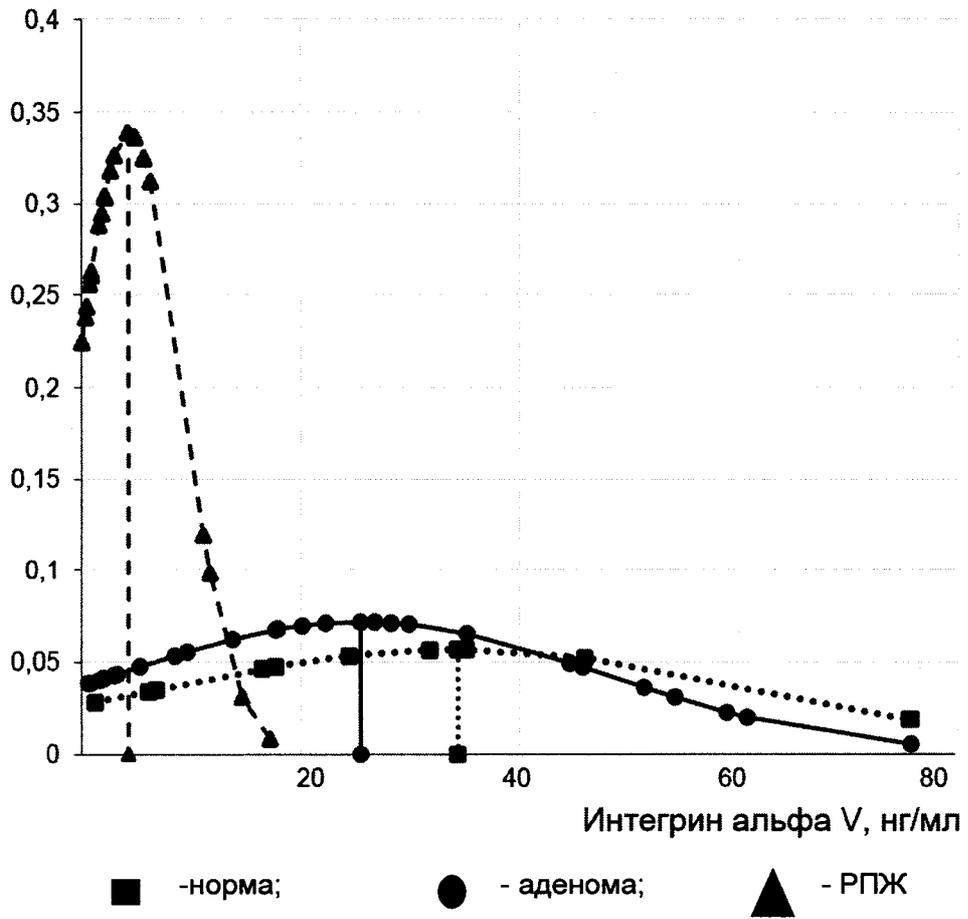
Несмотря на то, что изобретение описано со ссылкой на раскрываемые варианты воплощения, для специалистов в данной области должно быть очевидно, что конкретные подробно описанные эксперименты приведены лишь в целях иллюстрирования настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения. Должно быть понятно, что возможно осуществление различных модификаций без отступления от сути настоящего изобретения.

Формула изобретения

1. Применение интегрин альфа V или его фрагмента в качестве маркера, выявляемого в цельной моче, для диагностики рака предстательной железы.
2. Способ диагностики рака предстательной железы, включающий выявление в цельной моче пациента интегрин альфа V или его фрагмента.
3. Способ по п.2, в котором интегрин альфа V или его фрагмент выявляют в моче в виде отдельных субъединиц или в составе гетеродимеров интегринов $\alpha\nu\beta 1$, $\alpha\nu\beta 3$, $\alpha\nu\beta 5$, $\alpha\nu\beta 6$ и/или $\alpha\nu\beta 8$.
4. Способ по любому из п.п.2 или 3, в котором диагностируют отсутствие рака предстательной железы при обнаружении интегрин альфа V или его фрагмента в моче в количестве более 20 нг/мл.
5. Способ по п.2, включающий дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования.
6. Способ по п.5, в котором дополнительные клинические, лабораторные и/или инструментальные методы обследования проводят, если количество интегрин альфа V, обнаруженного в моче пациента, составляет не более 20 нг/мл.
7. Набор для проведения диагностики рака предстательной железы в цельной моче пациента, включающий по меньшей мере одно антитело или его функциональный фрагмент, специфичное к интегрину альфа V или его фрагменту.
8. Набор по п.7, представляющий собой тест-систему для проведения твердофазного иммуноферментного анализа.



Фиг.1



Фиг.2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/RU 2017/000386

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
G01 N 33/574 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
G01 N 33/574, C07K 16/28, 5/00, G09B 23/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
Esp@cenet, USPTO, RUPAT, PatSearch (RUPTO internal), PAJ, DWPI, NCBI, PubMed		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2014/0296096 A 1 (OSLO UNIVERSITETSSYKEHUS HF) 02.10.2014, p.5-6, example 2, table 5, the claims claims 1-3, 15, 16	1-8
A	ZHANG S. at al. "A Cystine Knot Peptide Targeting Integrin $\alpha\beta6$ for Photoacoustic and Fluorescence Imaging of Tumors in Living Subjects". J Nuc Med. 2016; 57(10), pp.1629-1634, especially p.1629	1-8
II Further documents are listed in the continuation of Box C. D See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
17 January 2018 (17.01.2018)	07 February 2018 (07.02.2018)	
Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

<p>А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ</p> <p style="text-align: right;">G01N 33/574 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)</p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>																
<p>В. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p style="text-align: center;">G01N 33/574, C07K 16/28, 5/00, G09B 23/00</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использованная при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p> <p style="text-align: center;">Esp@cenet, USPTO, RUPAT, PatSearch (RUPTO internal), PAJ, DWPI, NCBI, PubMed</p>																
<p>С. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ :</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория *</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>US 2014/0296096 A1 (OSLO UNIVERSITETSSYKEHUS HF) 02.10.2014, сс.5-6, пример 2, таблица 5, формула п.п.1-3, 15, 16</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>ZHANG C. at al. "A Cystine Knot Peptide Targeting Integrin $\alpha_v\beta_6$ for Photoacoustic and Fluorescence Imaging of Tumors in Living Subjects". J Nuc Med. 2016; 57(10), pp. 1629-1634, особенно с.1629</td> <td>1-8</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы С. <input type="checkbox"/> данные о патентах -аналогах указаны в приложении</p> <p>* Особые категории ссылок документов :</p> <p>"А" документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>"Е" более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>"L" документ, подвергающий сомнению притязание (я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссыльного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>"O" документ, относящийся кустному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>"P" документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p> <p>"T", более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>"X" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>"Y" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>"&" документ, являющийся патентом -аналогом</p> <table border="1"> <tr> <td>Дата действительного завершения международного поиска</td> <td>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">17 января 2018 (17.01.2018)</td> <td style="text-align: center;">07 февраля 2018 (07.02.2018)</td> </tr> <tr> <td>Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП -3, Россия, 125993 Факс : (8^95) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</td> <td>Уполномоченное лицо : В.Горшков -Кантакузен Телефон № 495 531 65 15</td> </tr> </table>		Категория *	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	X	US 2014/0296096 A1 (OSLO UNIVERSITETSSYKEHUS HF) 02.10.2014, сс.5-6, пример 2, таблица 5, формула п.п.1-3, 15, 16	1-8	A	ZHANG C. at al. "A Cystine Knot Peptide Targeting Integrin $\alpha_v\beta_6$ for Photoacoustic and Fluorescence Imaging of Tumors in Living Subjects". J Nuc Med. 2016; 57(10), pp. 1629-1634, особенно с.1629	1-8	Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске	17 января 2018 (17.01.2018)	07 февраля 2018 (07.02.2018)	Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП -3, Россия, 125993 Факс : (8^95) 531-63-18, (8-499) 243-33-37	Уполномоченное лицо : В.Горшков -Кантакузен Телефон № 495 531 65 15
Категория *	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №														
X	US 2014/0296096 A1 (OSLO UNIVERSITETSSYKEHUS HF) 02.10.2014, сс.5-6, пример 2, таблица 5, формула п.п.1-3, 15, 16	1-8														
A	ZHANG C. at al. "A Cystine Knot Peptide Targeting Integrin $\alpha_v\beta_6$ for Photoacoustic and Fluorescence Imaging of Tumors in Living Subjects". J Nuc Med. 2016; 57(10), pp. 1629-1634, особенно с.1629	1-8														
Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске															
17 января 2018 (17.01.2018)	07 февраля 2018 (07.02.2018)															
Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП -3, Россия, 125993 Факс : (8^95) 531-63-18, (8-499) 243-33-37	Уполномоченное лицо : В.Горшков -Кантакузен Телефон № 495 531 65 15															