

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02011/148668

発行日 平成25年7月25日 (2013. 7. 25)

(43) 国際公開日 平成23年12月1日 (2011. 12. 1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/68 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/68	2 GO 4 5
<b>GO 1 N 33/574 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/574	A
<b>GO 1 N 33/533 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/574	E
<b>GO 1 N 33/535 (2006. 01)</b>	GO 1 N 33/533	
	GO 1 N 33/535	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 34 頁)

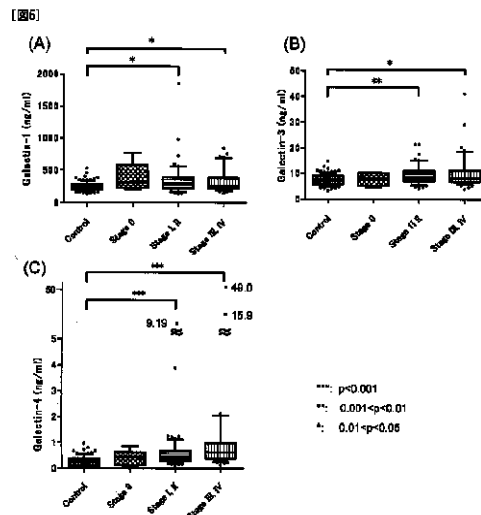
出願番号 特願2012-517162 (P2012-517162)	(71) 出願人 000001993 株式会社島津製作所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地
(21) 国際出願番号 PCT/JP2011/051760	
(22) 国際出願日 平成23年1月28日 (2011. 1. 28)	
(31) 優先権主張番号 特願2010-119420 (P2010-119420)	(71) 出願人 504176911 国立大学法人大阪大学 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号
(32) 優先日 平成22年5月25日 (2010. 5. 25)	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(74) 代理人 100100561 弁理士 岡田 正広
	(72) 発明者 渡辺 真 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内
	(72) 発明者 松尾 英一 京都府京都市中京区西ノ京桑原町 1 番地 株式会社島津製作所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 大腸がんマーカーガレクチン、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法及び大腸がんマーカーガレクチン検出キット

(57) 【要約】

臨床現場における実用途に供することができ、且つ、大腸がん検出のための存在診断マーカー、及びCEAやCA19-9を相補することができる病勢マーカーを提供する。大腸がんの存在診断マーカー及び病勢マーカーとして用いられるガレクチン - 1、存在診断マーカーとして用いられるガレクチン - 3、及び大腸がんの病勢マーカー、存在診断マーカー又は予後予測マーカーとして用いられるガレクチン - 4。上記ガレクチンを用いて、採血試料中のガレクチン濃度を分析する方法。蛍光標識されたガレクチン - 1 抗体、蛍光標識されたガレクチン - 3 抗体及び蛍光標識されたガレクチン - 4 抗体からなる群から選ばれる検出抗体を含む、大腸がんマーカー検出キット



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4 からなる群から選ばれる大腸がんマーカー。

## 【請求項 2】

前記ガレクチン - 4 が、病勢マーカー、存在診断マーカー又は予後予測マーカーとして用いられるものである、請求項 1 に記載の大腸がんマーカー。

## 【請求項 3】

前記ガレクチン - 3 が存在診断マーカーとして用いられるものである、請求項 1 に記載の大腸がんマーカー。

## 【請求項 4】

個体由来の採血試料 $S_n$ 中の、ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4 からなる群から選ばれる大腸がんマーカーの濃度を測定し測定値 $C_n[G3/G4]$ を得て、前記測定値 $C_n[G3/G4]$ と前記大腸がんマーカーの基準値 $C_{ref}[G3/G4]$ とを比較することによって分析を行う工程 $P_n$ を含む、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法。

## 【請求項 5】

前記工程 $P_n$  ( $n = 1$ ) の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G4]$ を得る工程 $P_{n-1}$ をさらに含み、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G4]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G4]$ が、前記測定値 $C_{n-1}[G4]$ 及びガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}[G4]$ からなる群から選ばれる値である、請求項 4

## 【請求項 6】

前記工程 $P_n$  ( $n = 2$ ) の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_1$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_1[G4]$ を得る工程 $P_1$ と、前記採血試料 $S_1$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_0[G4]$ を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_1$ との間において大腸がんに対する外科手術を受けたものであり、前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0[G4]$ がガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}[G4]$ を上回り、前記工程 $P_1$ における測定値 $C_1[G4]$ が前記閾値 $C_{th}[G4]$ を下回り、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G4]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G4]$ が、前記閾値 $C_{th}[G4]$ である、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記個体が、さらに、工程 $P_1$ と工程 $P_n$ との間において大腸がんに対する非外科的療法を受けたものである、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記個体が、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受けたものであり、

前記工程 $P_{n-1}$ における測定値 $C_{n-1}[G4]$ がガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}[G4]$ を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G4]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G4]$ が、前記閾値 $C_{th}[G4]$ 及び前記測定値 $C_{n-1}[G4]$ である、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記工程 $P_n$  ( $n = 2$ ) の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G4]$ を得る工程 $P_{n-1}$ と、前記採血試料 $S_{n-1}$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_0[G4]$ を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_{n-1}$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受け、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ との間においても前記非外科的療法を引き続いて受けたものであり、

前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0[G4]$ がガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}[G4]$ を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G4]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G4]$ が、前記閾値 $C_{th}[G4]$ 及び前

10

20

30

40

50

記測定値 $C_{n-1}[G4]$ である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 1 0】

前記大腸がんマーカーの基準値 $C_{ref}[G3/G4]$ が前記大腸がんマーカーの閾値 $C_{th}[G3/G4]$ である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 1 1】

大腸がんの存在診断マーカー又は病勢マーカーとして用いられるガレクチン - 1。

【請求項 1 2】

個体由来の採血試料中 $S_n$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し $C_n[G1]$ を得て、前記測定値 $C_n[G1]$ と前記ガレクチン - 1 の基準値 $C_{ref}[G1]$ とを比較することによって分析を行う工程 $P_n$ を含む、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法。

10

【請求項 1 3】

前記ガレクチン - 1 の基準値 $C_{ref}[G1]$ が前記ガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ である、請求項 1 2 に記載のガレクチン濃度の分析方法。

【請求項 1 4】

前記工程 $P_n (n - 1)$ の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G1]$ を得る工程 $P_{n-1}$ をさらに含み、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記測定値 $C_{n-1}[G1]$ 及びガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ からなる群から選ばれる値である、請求項 1 2 に記載の方法。

20

【請求項 1 5】

前記工程 $P_n (n - 2)$ の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_1$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_1[G1]$ を得る工程 $P_1$ と、前記採血試料 $S_1$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_0[G1]$ を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_1$ との間において大腸がんに対する外科手術による治療を受けたものであり、

前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0[G1]$ がガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ を上回り、前記工程 $P_1$ における測定値 $C_1[G1]$ が前記閾値 $C_{th}[G1]$ を下回り、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記閾値 $C_{th}[G1]$ である、請求項 1 4 に記載の方法。

30

【請求項 1 6】

前記個体が、さらに、工程 $P_1$ と工程 $P_n$ との間において大腸がんに対する非外科的療法を受けたものである、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記個体が、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受けたものであり、

前記工程 $P_{n-1}$ における測定値 $C_{n-1}[G1]$ がガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記閾値 $C_{th}[G1]$ 及び前記測定値 $C_{n-1}[G1]$ である、請求項 1 4 に記載の方法。

40

【請求項 1 8】

前記工程 $P_n (n - 2)$ の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G1]$ を得る工程 $P_{n-1}$ と、前記採血試料 $S_{n-1}$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_0[G1]$ を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_{n-1}$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受け、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ との間においても前記非外科的療法を引き続き受けたものであり、

前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0[G1]$ がガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記閾値 $C_{th}[G1]$ 及び前

50

記測定値 $C_{n-1}[G1]$ である、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記閾値として、特異度が 8 0 % 以上を示すガレクチン - 3 及び / 又はガレクチン - 4 の濃度値が選択される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記工程 $P_n$ において、他の大腸がん病勢マーカーの前記採血試料 $S_n$ 中の濃度を測定し測定値 $C_n[other]$ を得て、前記測定値 $C_n[other]$ と、前記他の大腸がん病勢マーカーの基準値 $C_{ref}[other]$ とを比較することによって分析を行うことをさらに含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記他の大腸がん病勢マーカーが、がん胎児性抗原、及び C A 1 9 - 9 からなる群から選ばれる、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記測定が、蛍光化合物及び / 又は酵素タンパク質により標識された、ガレクチン - 3 抗体及びガレクチン - 4 抗体からなる群から選ばれる検出用抗体を用いたイムノアッセイを用いて行われるものである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記閾値として、特異度が 8 0 % 以上を示すガレクチン - 1 の濃度値が選択される、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記工程 $P_n$ において、他の大腸がん病勢マーカーの前記採血試料 $S_n$ 中の濃度を測定し測定値 $C_n[other]$ を得て、前記測定値 $C_n[other]$ と、前記他の大腸がん病勢マーカーの基準値 $C_{ref}[other]$ とを比較することによって分析を行うことをさらに含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記他の大腸がん病勢マーカーが、がん胎児性抗原、及び C A 1 9 - 9 からなる群から選ばれる、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記測定が、蛍光化合物及び / 又は酵素タンパク質により標識されたガレクチン - 1 抗体を検出用抗体として用いたイムノアッセイを用いて行われるものである、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 7】

蛍光化合物及び / 又は酵素タンパク質により標識された、ガレクチン - 1 抗体、ガレクチン - 3 抗体及びガレクチン - 4 抗体からなる群から選ばれる検出抗体を含む、大腸がんマーカー検出キット。

【請求項 2 8】

前記酵素タンパク質が、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ及び - ガラク トシダ - ゼからなる群から選ばれる、請求項 2 7 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、大腸がんマーカーガレクチン、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法及び大腸がんマーカーガレクチン検出キット (Colon Cancer Marker Galectin, Method of Analyzing Galectin Concentration in Collected Blood Specimen and Kit for Detecting Colon Cancer Marker Galectin) に関する。本発明は、大腸がんの診断及び予後判定などが行われる臨床診断分野に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

大腸がん (Colorectal cancer: CRC) の診断・検診・経過観察のための手法の一つとして

10

20

30

40

50

、血液検査が行われうる。血液検査においては、患者の血液中に存在するある種のタンパク質（がんマーカー）の濃度を計測することで、がんの検出、進行推定や予後判定を可能にする。大腸がんのマーカーについては、例えば、Anticancer Research, 2004,24(4), 2519-2530（非特許文献1）などに記載されている。

【0003】

現在、代表的な大腸がんマーカーとしては、がん胎児性抗原（CEA）や糖鎖抗原19-9（CA19-9）が挙げられる。これらのマーカーはいずれも、特に早期ステージにおける陽性率が低いことから「存在診断マーカー」としては適していない。しかし、術後の経過観察等に使用する「病勢マーカー」としては優れた性能を発揮し、日本では大腸がん患者に対する保険適用が認められている。

10

ASCO (American Society of Clinical Oncology)では、CEAを存在診断マーカーではなく、予後診断、ステージング、薬効評価のための「病勢マーカー」として使用することを推奨している。また、CA19-9については、現時点でのデータでは裏づけが不十分であるとして、単独では大腸がんマーカーとしての使用には適さない、と結論づけられている。

アメリカFDAでも、CEAを大腸がんマーカーとして認可している。

【0004】

このように、CEA及びCA19-9が日米をはじめとする世界中で「病勢マーカー」として使用されている理由は、大腸がん患者では、これらのマーカー値が体内におけるがんの病勢を的確に反映しているからである。（がんの病勢は、大腸がんの場合、例えば、体内のがんの総存在量や転移の程度によって判定されるがんの進行度の違いによって表現されうる。）すなわち、大腸がん患者のうち、血液検査によってこれらマーカー値が閾値を越えたほとんど全ての症例において、手術後にその値が大きく低下し（すなわち閾値以下に戻り）、また、転移や再発を起こすとこれらのマーカー値が大きくなる（すなわち閾値を上回る）。このことを利用して、血液中のマーカー値測定による大腸がんのモニタリングが可能となる。

20

【0005】

ガレクチン（Galectins）は、 $\beta$ -結合型のガラクトースを特異的に認識するレクチンで、細胞の分化や増殖、アポトーシスを調節するほか、シグナル伝達にも関与することが知られている。日本国特開2008-14937号公報（特許文献1）において、大腸組織の非がん部位と比較して、がん部位においてガレクチンの高発現を検出したことが報告されている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】日本国特開2008-14937号公報

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】「アンチキャンサー・リサーチ（Anticancer Research）」、2004年、第24巻、第4号、p.2519-2530

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

大腸がん患者のうち、CEAやCA19-9の採血試料中濃度が閾値を越える値を示し、且つ、これらマーカーによるがんのモニターが可能になる患者は、CEAの場合で全体のたかだか30-60%、CA19-9の場合でたかだか11-34%といわれている。このように、CEAやCA19-9は、「病勢マーカー」として実用されているものではあるが、大腸がん患者によってはこれらのマーカー値が陽性を示さない場合も多いため、より網羅的な病勢観察を達成するためには、これらのマーカーの適用外となる多くの患者に対しても適用できる新たなマーカーが臨床現場で強く求められている。

また、CEAやCA19-9については、がん以外の要因によってマーカー値が変動する例も知

50

られている。従って、より正確な病勢観察をするためには、これらのマーカーを使用するだけでなく、これらのマーカーを相補することができる新たなマーカーが臨床現場で強く求められている。

さらに、血液検査によって簡易に大腸がん存在の有無を判定する「存在診断マーカー」も存在しない。

以上より、大腸がん検出のための「存在診断マーカー」、及びCEAやCA19-9を相補することができる「病勢マーカー」の開発が急務である。

【0009】

なお、採血試料中のガレクチン濃度測定による大腸がん患者検出の有効性については全く実証されていない。従って、ガレクチンについて、血液検査によって簡易に大腸がん存在の有無を有効に判定することができる可能性はこれまで示唆されていない。

10

【0010】

本発明は、臨床現場における実用途に供することができ、且つ、大腸がん検出のための「存在診断マーカー」、及びCEAやCA19-9を相補することができる「病勢マーカー」を提供することを目的とする。また、本発明は、それらマーカーを用いた採血試料の分析方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、鋭意検討の結果、採血試料におけるガレクチン測定の有効性、ガレクチン - 4 の病勢マーカー、存在診断マーカー及び予後予測マーカーとしての有用性、ガレクチン - 1 の存在診断マーカー及び病勢マーカーとしての有用性、及びガレクチン - 3 の存在診断マーカーとしての有用性を見出し、本発明を完成するに至った。

20

【0012】

下記は、新規の大腸がんマーカーに向けられる。

なお、本発明において「病勢マーカー」とは、がんの病態の進行に伴って濃度が増加する腫瘍マーカーをいう。病勢マーカーは、すでに存在していることがわかっているがんについて、進行度の判定や病態の経過観察を行う目的で用いられうる。

【0013】

本発明において「存在診断マーカー」とは、がんが存在する場合にその濃度が非存在時に比べて高い腫瘍マーカーをいう。存在診断マーカーは、体内のがんの存在が未知である場合に、がんの有無を識別する目的で用いられうる。存在診断マーカーの中でも、がんの早期ステージから血中濃度が亢進するものは、早期診断に適している点で好ましい。

30

【0014】

また、本発明において「予後予測マーカー」とは、ある時点（例えば治療開始時点など）から、疾患の予後（例えば治療開始から5年後など）を予測するために用いられるマーカーをいう。

【0015】

さらに、本明細書において、ある時点 $T_n$ で採血された血液に由来する採血試料を $S_n$ 、その試料 $S_n$ から得られた大腸がんマーカーの測定値を $C_n$ 、大腸がんマーカーの基準値を $C_{ref}$ 、試料 $S_n$ から測定値 $C_n$ を得て基準値 $C_{ref}$ と比較する工程を $P_n$ と表記する。また、大腸がんマーカーの閾値を $C_{th}$ と記載する。なお、以下本明細書中で「陽性率」と記載する場合、解析対象とした全患者のうち、 $C_{th}$ よりも高い値(すなわち陽性)を示す患者検体の割合(%)を指すものとする。

40

なお、例えば大腸がんマーカーがガレクチン - 1 と特定されている場合、ガレクチン - 1 の測定値を $C_n[G1]$ 、ガレクチン - 1 の基準値を $C_{ref}[G1]$ 、ガレクチン - 1 の閾値を $C_{th}[G1]$ と表記する。同様に、ガレクチン - 3 の測定値を $C_n[G3]$ 、ガレクチン - 3 の基準値を $C_{ref}[G3]$ 、ガレクチン - 3 の閾値を $C_{th}[G3]$ と表記し、ガレクチン - 4 の測定値を $C_n[G4]$ 、ガレクチン - 4 の基準値を $C_{ref}[G4]$ 、ガレクチン - 4 の閾値を $C_{th}[G4]$ と表記する。

また、例えば大腸がんマーカーがガレクチン - 3 又はガレクチン - 4 に特定されている場合、ガレクチン - 3 の測定値 $C_n[G3]$ 又はガレクチン - 4 の測定値 $C_n[G4]$ を、 $C_n[G3/G4]$

50

と記載する場合がある。その他の値についても同様である。

【0016】

本明細書においては、ガレクチンの種類（すなわちガレクチン - 1、ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4）について言及することなく単に「ガレクチン (Galectins)」と記載する場合は、ガレクチン - 1、ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4 を総称するものとする。

【0017】

(1)

ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4 からなる群から選ばれる大腸がんマーカー。

(2)

前記ガレクチン - 4 が、病勢マーカー、存在診断マーカー又は予後予測マーカーとして用いられるものである、(1)に記載の大腸がんマーカー。

(3)

前記ガレクチン - 3 が存在診断マーカーとして用いられるものである、(1)に記載の大腸がんマーカー。

【0018】

下記は、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法に向けられる。本発明の分析方法においては、採血試料中ガレクチン測定値とガレクチン基準値とが比較される。

本発明において、大腸がんマーカーの基準値には、別の採血試料において得られた大腸がんマーカーの測定値、及び各々の大腸がんマーカーに固有の閾値が含まれる。

【0019】

(4)

個体由来の採血試料 $S_n$ 中の、ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4 からなる群から選ばれる大腸がんマーカーの濃度を測定し測定値 $C_n[G3/G4]$ を得て、前記測定値 $C_n[G3/G4]$ と前記大腸がんマーカーの基準値 $C_{ref}[G3/G4]$ とを比較することによって分析を行う工程 $P_n$ を含む、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法。

【0020】

下記は、「病勢マーカー」としてのガレクチン - 4 を用いた方法の一態様に向けられる。当該態様においては、採血試料中ガレクチン測定値と、それに先立って採血した試料中のガレクチン測定値及び/又はガレクチン閾値とが比較される。

【0021】

(5)

前記工程 $P_n$  (  $n = 1$  ) の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G4]$ を得る工程 $P_{n-1}$ をさらに含み、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G4]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G4]$ が、前記測定値 $C_{n-1}[G4]$ 及びガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}[G4]$ からなる群から選ばれる値である、(4)に記載の方法。

上記(5)において、前記個体は、前記工程 $P_n$ より前に大腸がんに対する治療を受けたものでありうる。

上記(5)の態様の一例を模式的に図1に示す。

【0022】

下記は、「病勢マーカー」としてのガレクチン - 4 を用いた方法において、少なくとも外科手術により治療をした態様に向けられる。当該態様においては、外科手術により原発巣の大腸がんの遺残がないこと（すなわち根治度がA又はBであること）を確認できた症例が経過観察対象となり、大腸がん治療前に採血した試料中のガレクチン測定値が閾値を越え、当該治療後に採血した試料中のガレクチン測定値が閾値を下回ったことを条件とする。この条件の下、さらにその後採血した試料中のガレクチン測定値と閾値とが比較される。この態様の一例を模式的に図2に示す。

(6)

10

20

30

40

50

前記工程 $P_n$  ( $n \geq 2$ )の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_1$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_1$ [G4]を得る工程 $P_1$ と、前記採血試料 $S_1$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_0$ [G4]を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_1$ との間において大腸がんに対する外科手術を受けたものであり、前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0$ [G4]がガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}$ [G4]を上回り、前記工程 $P_1$ における測定値 $C_1$ [G4]が前記閾値 $C_{th}$ [G4]を下回り、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n$ [G4]と比較される前記基準値 $C_{ref}$ [G4]が、前記閾値 $C_{th}$ [G4]である、(5)に記載の方法。

【0023】

10

(7)

前記個体が、さらに、工程 $P_1$ と工程 $P_n$ との間において大腸がんに対する非外科的療法(例えば放射線療法や化学療法など)を受けたものである、(6)に記載の方法。

【0024】

下記は、「病勢マーカー」としてのガレクチン - 4 を用いた方法において、少なくとも非外科的療法(例えば放射線療法や化学療法など)により治療をした態様に向けられる。下記において、「少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受け」とは、前記個体が非外科的療法のみを受けた場合と、非外科的療法の前に外科的療法を受けた場合との両方を含む。

【0025】

20

さらに、下記態様は、非外科的療法が1回行われるものであり、大腸がんに対する非外科的療法による治療前( $T_{n-1}$ )に採血した試料中のガレクチン測定値( $C_{n-1}$ )が閾値を越えていたことを条件とする。(非外科的療法の前に外科的療法を行った場合においては、外科的療法後( $T_n$ )においてなおガレクチン測定値( $C_{n-1}$ )が閾値を上回っている場合が該当する。)この条件下、さらにその後( $T_n$ )に採血した試料中のガレクチン測定値( $C_n$ )と、前記測定値( $C_{n-1}$ )及び閾値( $C_{th}$ )とが比較される。

(8)

前記個体が、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受けたものであり、

前記工程 $P_{n-1}$ における測定値 $C_{n-1}$ [G4]がガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}$ [G4]を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n$ [G4]と比較される前記基準値 $C_{ref}$ [G4]が、前記閾値 $C_{th}$ [G4]及び前記測定値 $C_{n-1}$ [G4]である、(5)に記載の方法。

30

【0026】

一方、下記態様は、非外科的療法が複数回行われるものであり、大腸がんに対する非外科的療法による治療前( $T_0$ )に採血した試料中のガレクチン測定値が閾値を越えていたことを条件とする。(非外科的療法の前に外科的療法を行った場合においては、外科的療法後( $T_0$ )においてなおガレクチン測定値が閾値を上回っている場合が該当する。)この条件下、さらにその後( $T_n$ )に採血した試料中のガレクチン測定値( $C_n$ )と、前記測定値( $C_{n-1}$ )及び閾値( $C_{th}$ )とが比較される。この態様の一例を模式的に図3に示す。

(9)

40

前記工程 $P_n$  ( $n \geq 2$ )の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}$ [G4]を得る工程 $P_{n-1}$ と、前記採血試料 $S_{n-1}$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 4 の濃度を測定し測定値 $C_0$ [G4]を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_{n-1}$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受け、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ の間においても前記非外科的療法を引き続いて受けたものであり、

前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0$ [G4]がガレクチン - 4 の閾値 $C_{th}$ [G4]を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n$ [G4]と比較される前記基準値 $C_{ref}$ [G4]が、前記閾値 $C_{th}$ [G4]及び前記測定値 $C_{n-1}$ [G4]である、(5)に記載の方法。

50

## 【 0 0 2 7 】

下記は、「存在診断マーカー」としてのガレクチン - 3 又はガレクチン - 4 を用いた方法に向けられる。当該方法においては、採血試料中ガレクチン測定値とガレクチン閾値とが比較される。

( 1 0 )

前記大腸がんマーカーの基準値 $C_{ref}[G3/G4]$ が前記大腸がんマーカーの閾値 $C_{th}[G3/G4]$ である、( 4 )に記載の方法。

## 【 0 0 2 8 】

下記は、大腸がんマーカーガレクチン - 1 に向けられる。

( 1 1 )

大腸がんの存在診断マーカー又は病勢マーカーとして用いられるガレクチン - 1 。

下記は、採血試料中のガレクチン - 1 の濃度の分析方法に向けられる。本発明の分析方法においては、採血試料中ガレクチン測定値とガレクチン基準値とが比較される。

## 【 0 0 2 9 】

( 1 2 )

個体由来の採血試料中 $S_n$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し $C_n[G1]$ を得て、前記測定値 $C_n[G1]$ と前記ガレクチン - 1 の基準値 $C_{ref}[G1]$ とを比較することによって分析を行う工程 $P_n$ を含む、採血試料中のガレクチン濃度の分析方法。

## 【 0 0 3 0 】

下記は、「存在診断マーカー」としてのガレクチン - 1 を用いた方法に向けられる。当該方法においては、採血試料中ガレクチン測定値とガレクチン閾値とが比較される。

( 1 3 )

前記ガレクチン - 1 の基準値 $C_{ref}[G1]$ が前記ガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ である、( 1 2 )に記載のガレクチン濃度の分析方法。

## 【 0 0 3 1 】

下記は、「病勢マーカー」としてのガレクチン - 1 を用いた方法の一態様に向けられる。当該態様においては、採血試料中ガレクチン測定値と、それに先立って採血した試料中のガレクチン測定値及び / 又はガレクチン閾値とが比較される。

( 1 4 )

前記工程 $P_n$  (  $n - 1$  ) の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G1]$ を得る工程 $P_{n-1}$ をさらに含み、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記測定値 $C_{n-1}[G1]$ 及びガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ からなる群から選ばれる値である、( 1 2 )に記載の方法。

上記( 1 4 )において、前記個体は、前記工程 $P_n$ より前に大腸がんに対する治療を受けたものでありうる。

上記( 1 4 )の態様の一例を模式的に図 1 に示す。

## 【 0 0 3 2 】

下記は、「病勢マーカー」としてのガレクチン - 1 を用いた方法において、少なくともも外科手術により治療をした態様に向けられる。当該態様においては、外科手術により原発巣の大腸がんの遺残がないこと(すなわち根治度が A 又は B であること)を確認できた症例が経過観察対象となり、大腸がん治療前に採血した試料中のガレクチン測定値が閾値を越え、当該治療後に採血した試料中のガレクチン測定値が閾値を下回ったことを条件とする。この条件下、さらにその後に採血した試料中のガレクチン測定値と閾値とが比較される。この態様の一例を模式的に図 2 に示す。

( 1 5 )

前記工程 $P_n$  (  $n - 2$  ) の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_1$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_1[G1]$ を得る工程 $P_1$ と、前記採血試料 $S_1$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 1 の濃

10

20

30

40

50

度を測定し測定値 $C_0[G1]$ を得る工程 $P_0$ とを含み、

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_1$ との間において大腸がんに対する外科手術による治療を受けたものであり、

前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0[G1]$ がガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ を上回り、前記工程 $P_1$ における測定値 $C_1[G1]$ が前記閾値 $C_{th}[G1]$ を下回り、

前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記閾値 $C_{th}[G1]$ である、(14)に記載の方法。

【0033】

(16)

前記個体が、さらに、工程 $P_1$ と工程 $P_n$ との間において大腸がんに対する非外科的療法（例えば放射線療法や化学療法など）を受けたものである、(15)に記載の方法。

10

【0034】

下記は、「病勢マーカー」としてのガレクチン - 1 を用いた方法において、少なくとも非外科的療法（例えば放射線療法や化学療法など）により治療をした態様に向けられる。下記において、「少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受け」とは、前記個体が非外科的療法のみを受けた場合と、非外科的療法の前に外科的療法を受けた場合との両方を含む。

【0035】

さらに、下記態様は、非外科的療法が1回行われるものであり、大腸がんに対する非外科的療法による治療前( $T_{n-1}$ )に採血した試料中のガレクチン測定値( $C_{n-1}$ )が閾値を越えていたことを条件とする。(非外科的療法の前に外科的療法を行った場合においては、外科的療法後( $T_{n-1}$ )においてなおガレクチン測定値( $C_{n-1}$ )が閾値を上回っている場合が該当する。)この条件下、さらにその後( $T_n$ )に採血した試料中のガレクチン測定値( $C_n$ )と、前記測定値( $C_{n-1}$ )及び閾値( $C_{th}$ )とが比較される。

20

(17)

前記個体が、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受けたものであり、

前記工程 $P_{n-1}$ における測定値 $C_{n-1}[G1]$ がガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記閾値 $C_{th}[G1]$ 及び前記測定値 $C_{n-1}[G1]$ である、(14)に記載の方法。

30

【0036】

一方、下記態様は、非外科的療法が複数回行われるものであり、大腸がんに対する非外科的療法による治療前( $T_0$ )に採血した試料中のガレクチン測定値が閾値を越えていたことを条件とする。(非外科的療法の前に外科的療法を行った場合においては、外科的療法後( $T_0$ )においてなおガレクチン測定値が閾値を上回っている場合が該当する。)この条件下、さらにその後( $T_n$ )に採血した試料中のガレクチン測定値( $C_n$ )と、前記測定値( $C_{n-1}$ )及び閾値( $C_{th}$ )とが比較される。この態様の一例を模式的に図3に示す。

(18)

前記工程 $P_n$ ( $n \geq 2$ )の前に、前記採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_{n-1}[G1]$ を得る工程 $P_{n-1}$ と、前記採血試料 $S_{n-1}$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料 $S_0$ のガレクチン - 1 の濃度を測定し測定値 $C_0[G1]$ を得る工程 $P_0$ とを含み、

40

前記個体が、前記工程 $P_0$ と工程 $P_{n-1}$ との間において少なくとも大腸がんに対する非外科的療法を受け、前記工程 $P_{n-1}$ と前記工程 $P_n$ の間においても前記非外科的療法を引き続いて受けたものであり、

前記工程 $P_0$ における測定値 $C_0[G1]$ がガレクチン - 1 の閾値 $C_{th}[G1]$ を上回り、前記工程 $P_n$ において前記測定値 $C_n[G1]$ と比較される前記基準値 $C_{ref}[G1]$ が、前記閾値 $C_{th}[G1]$ 及び前記測定値 $C_{n-1}[G1]$ である、(14)に記載の方法。

【0037】

上記の方法における閾値としては、高い正診率を示す各ガレクチン - 3 及びノ又はガレ

50

クチン - 4 の濃度値が選択される。好ましくは、下記の特異度を示すガレクチン濃度値が選択される。

( 1 9 )

前記閾値として、特異度が 8 0 % 以上を示すガレクチン - 3 及び / 又はガレクチン - 4 の濃度値が選択される、( 5 ) ~ ( 1 0 ) のいずれかに記載の方法。

【 0 0 3 8 】

下記は、本発明の大腸がんマーカーと他の大腸がん病勢マーカーとを組み合わせる態様に向けられる。

( 2 0 )

前記工程P<sub>n</sub>において、他の大腸がん病勢マーカーの前記採血試料S<sub>n</sub>中の濃度を測定し測定値C<sub>n</sub>[other]を得て、前記測定値C<sub>n</sub>[other]と、前記他の大腸がん病勢マーカーの基準値C<sub>ref</sub>[other]とを比較することによって分析を行うことをさらに含む、( 5 ) ~ ( 9 ) のいずれかに記載の方法。

10

( 2 1 )

前記他の大腸がん病勢マーカーが、がん胎児性抗原 ( C E A )、及び C A 1 9 - 9 からなる群から選ばれる、( 2 0 ) に記載の方法。

【 0 0 3 9 】

下記は、ガレクチン - 3 及び / 又はガレクチン - 4 の測定法を特定した態様に向けられる。

( 2 2 )

前記測定が、蛍光化合物及び / 又は酵素タンパク質により標識された、ガレクチン - 3 抗体及びガレクチン - 4 抗体からなる群から選ばれる検出抗体を用いたイムノアッセイを用いて行われるものである、( 4 ) ~ ( 1 0 ) のいずれかに記載の方法。

20

上記方法において、前記酵素タンパク質は、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、及び - ガラクトシダ - ゼからなる群から選ばれうる。

【 0 0 4 0 】

上記の方法における閾値としては、高い正診率を示す各ガレクチン - 1 の濃度値が選択される。好ましくは、下記の特異度を示すガレクチン濃度値が選択される。

( 2 3 )

前記閾値として、特異度が 8 0 % 以上を示すガレクチン - 1 の濃度値が選択される、( 1 3 ) ~ ( 1 8 ) のいずれかに記載の方法。

30

【 0 0 4 1 】

下記は、本発明の大腸がんマーカーと他の大腸がん病勢マーカーとを組み合わせる態様に向けられる。

( 2 4 )

前記工程P<sub>n</sub>において、他の大腸がん病勢マーカーの前記採血試料S<sub>n</sub>中の濃度を測定し測定値C<sub>n</sub>[other]を得て、前記測定値C<sub>n</sub>[other]と、前記他の大腸がん病勢マーカーの基準値C<sub>ref</sub>[other]とを比較することによって分析を行うことをさらに含む、( 1 4 ) ~ ( 1 8 ) のいずれかに記載の方法。

( 2 5 )

前記他の大腸がん病勢マーカーが、がん胎児性抗原 ( C E A )、及び C A 1 9 - 9 からなる群から選ばれる、( 2 4 ) に記載の方法。

40

【 0 0 4 2 】

下記は、ガレクチン - 1 の測定法を特定した態様に向けられる。

( 2 6 )

前記測定が、蛍光化合物及び / 又は酵素タンパク質により標識されたガレクチン - 1 抗体を検出抗体として用いたイムノアッセイを用いて行われるものである、( 1 2 ) ~ ( 2 1 ) のいずれかに記載の方法。

上記方法において、前記酵素タンパク質は、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、及び - ガラクトシダ - ゼからなる群から選ばれうる。

50

## 【 0 0 4 3 】

下記は、本発明の大腸がんマーカーを検出するためのキットに向けられる。

## ( 2 7 )

蛍光化合物及び/又は酵素タンパク質により標識されたガレクチン - 1 抗体、ガレクチン - 3 抗体及びガレクチン - 4 抗体からなる群から選ばれる検出抗体を含む、大腸がんマーカー検出キット。

## ( 2 8 )

前記酵素タンパク質が、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ及び - ガラクトシダーゼからなる群から選ばれる、( 2 7 ) に記載のキット。

## 【 発明の効果 】

10

## 【 0 0 4 4 】

本発明によると、臨床現場における実用途に供することができ、且つ、大腸がん検出のための存在診断マーカー、CEAやCA19-9を相補することができる病勢マーカー、及び予後予測マーカーを提供することができる。より具体的には、存在診断マーカーとして、ガレクチン - 1、ガレクチン - 3 及びガレクチン - 4 を、病勢マーカーとしてガレクチン - 1 及びガレクチン - 4 を、予後予測マーカーとしてガレクチン 4 を提供することができる。

また、本発明によると、それらマーカーを用いた採血試料の分析方法を提供することができる。

特に、ガレクチン - 1 をマーカーとして用いることにより、早期ステージのがん患者を高い陽性率で検出が可能となる。また、ガレクチン - 1 及びガレクチン - 4 は、既存の大腸がんマーカーと併用することにより、既存の大腸がんマーカーのみで検出する場合と比べて、患者の捕捉率(すなわち陽性率)の向上を実現する。

20

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 4 5 】

【 図 1 】本発明の病勢マーカーを用いる態様を模式的に現したものである。

【 図 2 】本発明の病勢マーカーを外科手術により治療した患者に対して用いる態様を模式的に現したものである。

【 図 3 】本発明の病勢マーカーを、外科手術以外の非外科的療法(例えば放射線療法、化学療法など)により治療中の患者に対して用いる態様を模式的に現したものである。

【 図 4 】健常者と大腸がん患者とにおいて採血試料中ガレクチン濃度の比較を行った結果を示す。( A ) はガレクチン - 1、( B ) はガレクチン - 3、( C ) はガレクチン - 4 についての結果を示す。箱ひげ図において、箱で示した範囲は全検体のうち 2 5 - 7 5 % に当たる検体の濃度分布範囲、横線で示した範囲は全検体のうち 1 0 - 9 0 % に当たる検体の濃度分布範囲を示す。箱中の横棒は各集団(大腸がん患者(CRC)、健常者(control))での濃度の中央値を示す。

30

【 図 5 】健常者と大腸がん患者とにおいて各がんステージ別での採血試料中ガレクチン濃度の比較を行った結果を示す。( A ) はガレクチン - 1、( B ) はガレクチン - 3、( C ) はガレクチン - 4 についての結果を示す。箱ひげ図で示した範囲は、全検体のうち 1 0 - 9 0 % に当たる検体の濃度分布範囲を示す。箱中の横棒は各集団(大腸がん患者(CRC)、健常者(control))での濃度の中央値を示す。

40

【 図 6 】採血試料中ガレクチン濃度による大腸がん患者と健常者との識別における R O C 曲線を示す。縦軸は陽性率、横軸は偽陽性率(100-特異度)を示す。( A ) はガレクチン - 1、( B ) はガレクチン - 3、( C ) はガレクチン - 4 についての R O C 曲線である。

【 図 7 】ガレクチン濃度が閾値を越えていた(すなわち陽性を示していた)検体の手術前後の採血試料中ガレクチン濃度を比較した結果を示す。( A ) はガレクチン - 1、( B ) はガレクチン - 3、( C ) はガレクチン - 4 についての結果を示す。線で結ばれたプロットは、同一検体における術前及び術後における濃度を示す。

【 図 8 】ガレクチン - 1 及びガレクチン - 4 をマーカーとして用いた場合と、CEAのみ又はCA19-9のみをマーカーとして用いた場合とについて、がん患者捕捉率(すなわち陽性率)を病態別に調べ、比較した結果を示す。( A ) に C E A とガレクチン - 4 との

50

比較、(B)にCEAとガレクチン-1との比較、(C)にCA19-9とガレクチン-4との比較、(D)にCA19-9とガレクチン-1との比較の結果を示す。また、(A)ではCEAとガレクチン-4とを組み合わせた場合、(C)ではCA19-9とガレクチン-4とを組み合わせた場合(どちらかのマーカー値が閾値を越えている場合を陽性とする)の陽性率も併せて図示した。

【発明を実施するための形態】

【0046】

[1. 大腸がんマーカー]

本発明は、大腸がんマーカーとしてガレクチン1、3及びガレクチン4を提供する。これらのマーカーは、大腸がん患者グループと健常者グループとの間で、或いは大腸がんの病勢(大きさ)の異なる大腸がん患者グループの間で、採血試料中における濃度差を示すものである。すなわち、これらのマーカーは、大腸がんにおいて発現亢進を示すものである。

10

【0047】

本発明が提供する大腸がんマーカーは、病勢マーカー、存在診断マーカー及び予後予測マーカーとして用いることができる。

具体的には、病勢マーカーとして、ガレクチン1及びガレクチン4を用いることができる。また、存在診断マーカーとして、ガレクチン1、ガレクチン3、及びガレクチン4を用いることができる。さらに、予後予測マーカーとして、ガレクチン4を用いることができる。

20

【0048】

[2. 採血試料]

本発明の大腸がんマーカーは、採血試料中において検出・分析可能である。従って、本発明の方法においては、採血試料中の大腸がんマーカー濃度が分析される。

採血試料は、直接ガレクチン濃度測定に供される試料であり、全血、血漿、血清などが含まれる。個体から採取された全血を、適宜処理することによって調製することができる。採取された全血から採血試料の調製を行う場合に行われる処理としては特に限定されず、臨床学的に許容されるいかなる処理が行われてよい。例えば遠心分離などが行われうる。また、ガレクチン濃度測定に供される採血試料は、その調製工程の中途段階又は調製工程後に、適宜冷凍など低温下での保存が行われたものであってよい。なお、本発明において採血試料は、由来元の個体に戻すことなく破棄される。

30

【0049】

採血試料の由来元となる個体には、大腸がんの存在診断を必要とする者、大腸がん患者であって治療後の経過観察中などで病勢診断を必要とする者、予後予測を必要とする者が含まれる。

【0050】

[3. 採血試料中の大腸がんマーカーの濃度分析]

本発明による採血試料中のがんマーカーの濃度分析は、測定値と基準値との比較によって行われる。より正確な分析のため、比較される測定値と基準値とは、同じ条件(前処理条件や保存条件など)で用意された採血試料に基づく値であることが好ましい。

40

本発明の方法においては、ある時点で採血された血液に由来する採血試料 $S_n$ 中の大腸がんマーカーの濃度を測定し、大腸がんマーカーの測定値 $C_n$ を得て、大腸がんマーカーの測定値 $C_n$ とその大腸がんマーカーの基準値 $C_{ref}$ とを比較する工程 $P_n$ を含む。

【0051】

[4. 基準値]

基準値 $C_{ref}$ は、大腸がんの病態などの判断基準となる値である。前述のように、本発明の大腸がんマーカーは、大腸がん患者グループと健常者グループとの間で、或いは大腸がんの病勢(大きさ)の異なる大腸がん患者グループの間で、採血試料中における濃度差を示す。従って、適切な基準値 $C_{ref}$ を設定することで、それらグループを有効に識別することができる。

50

従って、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ より大きければ病態が悪い可能性が高く、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ より小さければ病態が悪くない可能性が高いと判断することができる。

【0052】

[4-1. 閾値]

基準値の具体例の一つとして、個々の大腸がんマーカー特有の閾値 $C_{th}$ が挙げられる。本発明における閾値 $C_{th}$ は、ガレクチンの種類ごとに、人種、年齢などに応じて予め設定することができる。閾値 $C_{th}$ は、後述の測定法により、健常者グループに属する個人及び大腸がん患者グループに属する個人に由来する採血試料中の大腸がんマーカーの存在量を測定し、各々のグループにおける測定値を参照することによって設定することができる。

【0053】

或いは、閾値 $C_{th}$ は、後述の測定法により、それぞれの大腸がん患者に由来する採血試料の大腸がんマーカーの存在量を測定し、大腸がんの病勢が異なる各々のグループにおける測定値を参照することによって設定することができる。なお、大腸がんの病勢の違いは、例えば、体内のがんの総存在量や転移の程度によって判定されるがんの進行度の違いによって表現することができる。がんの進行度は、例えばTMN分類に基づくことができる。すなわち、原発性がんをステージ0（上皮内がん）、ステージI及びIIと表記し、リンパ節転移がんをステージIIIと表記し、遠隔転移がんをステージIVと表記する。本明細書においては、特にステージについての表記が無い限り、当該ステージ0～IVまでの大腸がんを総括して大腸がんと表記する。

【0054】

閾値 $C_{th}$ は、高い正診率を示すカットオフ値が選択される。好ましくは、特異度が80%以上を示すカットオフ値の中から当業者が適宜決定する事ができる。上記特異度の範囲の上限は特に限定されないが、例えば95%とすることができる。

閾値 $C_{th}$ を設定する手法は、当業者によって適宜選択されるものである。一例として、ROC Curve（受信者動作特性曲線；Receiver Operating Characteristic Curve）分析などが挙げられる。

【0055】

[4-2. 事前測定値]

基準値の具体例の他の一つとしては、同一個体由来で事前に採血されていた採血試料における測定値が挙げられる。

【0056】

[5. 目的に応じた大腸がんマーカーの使用]

上記基準値として、閾値を用いるか事前測定値を用いるかは、使用する大腸がんマーカーの種類及び大腸がんマーカーの使用の目的に応じて決定される。

【0057】

[5-1. 存在診断マーカーの使用]

存在診断マーカー（すなわちガレクチン-1、ガレクチン-3及びガレクチン-4）を用いる場合、存在診断マーカーの基準値 $C_{ref}$ は、大腸がん患者由来の採血試料と健常者由来の採血試料との区別を行うための判断基準となるものである。具体的には、存在診断マーカーの基準値 $C_{ref}$ はその存在診断マーカーの閾値 $C_{th}$ である。

従って、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ より大きければ、採血試料 $S_n$ が由来する個人が大腸がんである可能性が高く（すなわち大腸がんの疑いが高い）、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ より小さければ、採血試料 $S_n$ が由来する個人が健常者である可能性が高い（すなわち大腸がんの疑いが低い）と判断することができる。

【0058】

[5-2. 予後予測マーカーの使用]

予後予測マーカー（すなわちガレクチン-4）を用いる場合、予後予測マーカーの基準値は、予後が悪い大腸がん患者由来の採血試料と予後が悪くない大腸がん患者由来の採血試料との区別を行うための判断基準となるものである。具体的には、予後予測マーカーの基準値 $C_{ref}[G4]$ はその予後予測マーカーの閾値 $C_{th}[G4]$ である。

10

20

30

40

50

従って、測定値 $C_0$ [G4]が基準値 $C_{ref}$ [G4]（すなわち閾値 $C_{th}$ [G4]）より大きければ、採血試料 $S_1$ が由来する個人の予後が悪い可能性が高く、測定値 $C_0$ [G4]が基準値 $C_{ref}$ [G4]（すなわち閾値 $C_{th}$ [G4]）より小さければ、採血試料 $S_0$ が由来する個人の予後が悪い可能性は低いと判断することができる。

【0059】

[5-3.病勢マーカーの使用]

病勢マーカー（すなわちガレクチン-4又はガレクチン-1）を用いる場合、病勢マーカーの基準値は、病態の経過状態（具体的には大腸がんの進行、及び体内のがん存在量）が異なる同一個体由来の採血試料の評価を行うための判断基準となるものである。従って、病勢マーカーを用いる場合は、工程 $P_n$ に供される採血試料 $S_n$ の採血時期より前に採血された同一個体由来の採血試料について、そのマーカー値が測定される。

ここで、ある時点 $T_n$ から経時的に（ $T_0, T_1, T_2, T_3, \dots, T_{n-1}, T_n$ ）大腸がん患者から採取した血液に由来する採血試料（ $S_0, S_1, S_2, S_3, \dots, S_{n-1}, S_n$ ）の大腸がんマーカー測定値（濃度）を、それぞれ $C_0, C_1, C_2, C_3, \dots, C_{n-1}, C_n$ とする。

【0060】

病勢マーカーを用いる方法においては、採血試料の由来元である個人が大腸がん罹患している可能性が高い（大腸がんの疑いがある）と既に判定がされている。その判定に、上述した本発明の存在診断マーカーを用いることができる。例えばガレクチン-1やガレクチン-4を用いることができる。この判定において、マーカーの測定値がそのマーカーの閾値を上回る、と判断された個人に由来する採血試料（採血時期が、当該判定に供された採血試料より後のもの）が、病勢マーカー用いた分析に供されうる。

【0061】

また、前述の判定において、マーカーの測定値がそのマーカーの閾値を上回る、と判断された個人が、当該判定に供された採血試料の採取時期と病勢マーカーを用いた分析に供される採血試料の取得時期との間で大腸がんに対する治療が行われた場合に、本発明の病勢マーカーを用いた方法が行われることが好ましい。

大腸がんに対する治療の例としては、外科手術や、非外科的療法の挙げられる。非外科的療法としては、例えば化学療法や放射線療法などの非侵襲的治療法が挙げられる。また、非外科的療法は、1回のみで終了する場合もあるが、しばしば複数回が継続して行われうる（継続的治療法）。これらの治療が行われる場合、本発明の病勢マーカーを用いた方法によって、治療効果の評価及び経過観察を行うことができる。

【0062】

[5-3-1.病勢マーカーの使用態様]

病勢マーカーを用いる態様の一例を模式的に図1に示す。

工程 $P_n$ （ $n-1$ ）の前に、採血試料 $S_n$ の採血時期 $T_n$ より前の時期 $T_{n-1}$ に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ を病勢マーカー濃度測定に供し、測定値 $C_{n-1}$ を得る工程 $P_{n-1}$ を行う。この測定値 $C_{n-1}$ が、その後に行われる工程 $P_n$ における基準値 $C_{ref}$ として採用される。すなわち、工程 $P_n$ において、採血試料 $S_{n-1}$ より後に採取された同一個体由来の採血試料 $S_n$ を病勢マーカー濃度測定に供し、測定値 $C_n$ を得て、基準値 $C_{ref}$ としての測定値 $C_{n-1}$ と比較する。

【0063】

従って、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ （すなわち測定値 $C_{n-1}$ ）より大きければ、採血試料 $S_n$ が由来する個人の病態は時期 $T_{n-1}$ におけるより時期 $T_n$ における方が悪化している可能性が高く、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ （すなわち測定値 $C_{n-1}$ ）より小さければ、採血試料 $S_n$ が由来する個人の病態は時期 $T_{n-1}$ におけるより時期 $T_n$ における方が改善されている可能性が高いと判断することができる。

【0064】

また、時期 $T_n$ より前の時点で大腸がんに対する治療が行われた場合、以下のように治療効果の評価をすることができる。例えば時期 $T_n$ と時期 $T_{n-1}$ との間で、大腸がんに対する非外科的療法が行われた場合、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ （すなわち測定値 $C_{n-1}$ ）より大きけれ

10

20

30

40

50

ば、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個体にとって当該治療の効果がでない可能性が高く、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ （すなわち測定値 $C_{n-1}$ ）より小さければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個体にとって当該治療の効果が高いと判断することができる。

従って、放射線療法や化学療法などの非外科的療法の効果に関するフォローアップを行うことが可能になる。

【 0 0 6 5 】

[ 5 - 3 - 2 . 病勢マーカーのより具体的な使用態様 1 ]

治療法として外科手術を適用した場合における、病勢マーカーを用いるより具体的な態様の一例を模式的に図 2 に示す。

時期 $T_0$ と時期 $T_1$ との間で、大腸がんに対して外科手術による治療が行われた場合であって、外科手術により原発巣の大腸がんの遺残がないこと（すなわち根治度がAもしくはBであること）を確認できている症例が前提である。さらには、手術前の時期 $T_0$ に採取された採血試料 $S_0$ における病勢マーカーの測定値 $C_0$ がその病勢マーカーの閾値 $C_{th}$ を上回り、手術後の時期 $T_1$ に採取された採血試料 $S_1$ における病勢マーカーの測定値 $C_1$ がその病勢マーカーの閾値 $C_{th}$ を下回った（すなわち大腸がんの存在量が減少した又は大腸がんが消失した）ことがわかっている場合に、この態様が実施される。

【 0 0 6 6 】

治療後の工程 $P_1$ では、上述のとおり採血試料 $S_1$ を病勢マーカー濃度測定に供し、その病勢マーカーの閾値 $C_{th}$ を下回る測定値 $C_1$ が得られる。その後に行われる工程 $P_n$ において、採血試料 $S_1$ と同一個体から、時期 $T_1$ よりさらに後の時期 $T_n$ に採取された採血試料 $S_n$ を病勢マーカー濃度測定に供し、測定値 $C_n$ を得て、基準値 $C_{ref}$ としての閾値 $C_{th}$ と比較する。

測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ （すなわち閾値 $C_{th}$ ）より大きければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個体での大腸がんの再発又は転移の疑いがあり、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{ref}$ （すなわち閾値 $C_{th}$ ）より小さければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個体での大腸がんの再発や転移の可能性が低いと判断することができる。

【 0 0 6 7 】

従って、外科手術による手術後における大腸がんの再発及び転移のフォローアップを行うことが可能になる。なお、外科手術による治療後においては、特別処置を施さない経過観察のみが行われてもよいし、非外科的療法が行われてもよい。外科手術による治療後における大腸がんの再発及び転移のフォローアップは、上記の特別処置を施さない経過観察又は非外科的療法によっても行われうる。

【 0 0 6 8 】

[ 5 - 3 - 3 . 病勢マーカーのより具体的な使用態様 2 ]

治療法として非外科的療法を適用した場合における、病勢マーカーを用いるより具体的な態様の一例を模式的に図 3 に示す。

この態様においては、工程 $P_0$ と工程 $P_{n-1}$ との間において大腸がんに対する少なくとも1回目の非外科的療法を受け、工程 $P_{n-1}$ と工程 $P_n$ の間においても非外科的療法を引き続いて受けた場合を想定する。また、この態様においては、非外科的療法による1回目の治療前の時期 $T_0$ に採取された採血試料 $S_0$ における病勢マーカーの測定値 $C_0$ がその病勢マーカーの閾値 $C_{th}$ を上回ることがわかっていることが前提である。1回目の非外科的療法の前に外科的療法を行った場合においては、外科的療法後（ $T_0$ ）においてなおその病勢マーカーの測定値 $C_{n-1}$ が閾値 $C_{th}$ を上回っている場合が該当する。

【 0 0 6 9 】

具体的には、上述の病勢マーカー使用態様 1 と同様に、採血試料 $S_n$ の採血時期 $T_n$ より前の時期 $T_{n-1}$ に採血された同一個体由来の採血試料 $S_{n-1}$ を病勢マーカー濃度測定に供し、測定値 $C_{n-1}$ を得る工程 $P_{n-1}$ を行う。この測定値 $C_{n-1}$ は、その後に行われる $P_n$ における基準値 $C_{ref}$ として採用することができる。

【 0 0 7 0 】

工程 $P_n$ においては、測定値 $C_n$ を、基準値 $C_{ref}$ としての測定値 $C_{n-1}$ 及び閾値 $C_{th}$ の両方と

10

20

30

40

50

比較する。

例えば、測定値 $C_n$ と基準値 $C_{n-1}$ との比較によれば、治療効果の有無を判断することができる。具体的には、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{n-1}$ より大きければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個体にとって治療の効果が出ていない可能性が高く、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{n-1}$ より小さければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個体にとって治療の効果が出ている可能性が高いと判断することができる。

【0071】

また、測定値 $C_n$ と閾値 $C_{th}$ との比較によれば、がんの有無を判断することができる。具体的には、測定値 $C_n$ が閾値 $C_{th}$ より大きければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個人にがんが残っている（がんが消失していない）可能性が高く、測定値 $C_n$ が閾値 $C_{th}$ より小ければ、時期 $T_n$ において、採血試料 $S_n$ が由来する個人にがんが残っていない（がんが消失した）可能性が高い。

10

【0072】

従って、上記両方の比較法を組み合わせることによって、治療継続の要否に関する判断を行うことができる。例えば、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{n-1}$ より大きく、且つ、測定値 $C_n$ が閾値 $C_{th}$ より大きければ、治療効果なしと判断することができる。また、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{n-1}$ より小さくなっているが、測定値 $C_n$ が閾値 $C_{th}$ より大きければ、治療効果はあるががんは根治していないとして、治療継続を要すると判断することができる。さらに、測定値 $C_n$ が基準値 $C_{n-1}$ より小さく、且つ、測定値 $C_n$ が閾値 $C_{th}$ より小さければ、治療効果により、がんがほぼ消滅したと判断することができる。

20

このように、測定値 $C_n$ と測定値 $C_{n-1}$ との比較によって、がんの治療効果に関するフォローアップを行うことが可能になる。また、測定値 $C_n$ と閾値 $C_{th}$ を比較することによって、治療継続の要否に関する判断も併せて行うことが可能となる。

【0073】

なお、上述の図3に例示される態様によって、非外科的療法が複数回継続して行われる場合を示したが、非外科的療法が一回で終了する場合も、同様に実施することができる。

非外科的療法が一回で終了する態様においては、工程 $P_{n-1}$ と工程 $P_n$ との間においてのみ大腸がんに対する非外科的療法を一回受けた場合を想定する。また、この態様においては、一回の非外科的療法による治療前の時期 $T_{n-1}$ に採取された採血試料 $S_{n-1}$ における病勢マーカーの測定値 $C_{n-1}$ がその病勢マーカーの閾値 $C_{th}$ を上回ることがわかっていることが前提である。一回の非外科的療法の前に外科的療法を行った場合においては、外科的療法後（ $T_{n-1}$ ）においてなおその病勢マーカーの測定値 $C_{n-1}$ が閾値 $C_{th}$ を上回っている場合が該当する。当業者であれば、上述の非外科的療法が複数回継続して行われる場合を参照して、非外科的療法が一回で終了する場合についても本発明を実施することができる。

30

【0074】

[5-4. 他の大腸がんマーカーとの組み合わせ]

病勢マーカーを用いた本発明の方法は、他の大腸がん病勢マーカーを相補するために行うことも有用である。他の大腸がん病勢マーカーとしては、例えばがん胎児性抗原（CEA）やCA19-9などが挙げられる。

この場合においては、工程 $P_n$ で、他の大腸がん病勢マーカーの採血試料 $S_n$ 中の濃度を測定し測定値 $C_n[\text{other}]$ を得て、測定値 $C_n[\text{other}]$ と、その病勢マーカーの基準値 $C_{ref}[\text{other}]$ とを比較することがさらに行われる。

40

【0075】

この結果、大腸がん患者に由来する採血試料であっても、測定値 $C_n[\text{other}]$ が基準値 $C_{ref}[\text{other}]$ を下回る（すなわち大腸がんの疑いなし）と判定される場合がある。しかしながらそのような場合であっても、本発明の病勢マーカーによって陽性と判断される場合がある。このように、他の病勢マーカーで偽陰性であった採血試料において、本発明の病勢マーカーによって正しい判定を行うことが可能になる。

一方、本発明の病勢マーカーによっても陰性と判定された場合には、他の病勢マーカーによる陰性判定結果（すなわち大腸がんの疑いなし）を真であるとサポートすることが可

50

能になる。

このように、本発明の病勢マーカーは、他の大腸がん病勢マーカーを相補することが可能になる。

【0076】

[5-5.測定方法]

本発明の大腸がんマーカーの測定は、好ましくは、生体特異的親和性に基づく検査によって行われる。生体特異的親和性に基づく検査は当業者に良く知られた方法であり、特に限定されないが、イムノアッセイが好ましい。具体的には、ウエスタンブロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay:サンドイッチイムノ法、競合法、直接吸着法を全て含む)、免疫沈降法、沈降反応、免疫拡散法、免疫凝集測定、補体結合反応分析、免疫放射定量法、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイなどの、競合及び非競合アッセイ系を含むイムノアッセイが含まれる。イムノアッセイにおいては、採血試料中の大腸がんマーカーに結合する抗体を検出する。

10

【0077】

大腸がんマーカーに結合する抗体は使用する当業者が適宜決定するものとする。例えば、ガレクチン抗体(モノクローナル抗体又はポリクローナル抗体)の標識体を用いる。標識体における標識は、蛍光化合物及び/又は酵素タンパク質による標識でありうる。蛍光化合物及び酵素タンパク質は、抗体を用いた測定系において許容されるものが当業者によって適宜選択される。例えば酵素タンパク質としては、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、及び -ガラクトシダーゼからなる群から選ばれうる。

20

【0078】

好ましくは、大腸がんマーカータンパク質の抗体は、ガレクチン-1抗体のアルカリホスファターゼ標識体、ガレクチン-3抗体のペルオキシダーゼ標識体、及びガレクチン-4抗体のペルオキシダーゼ標識体からなる群から選ばれうる。

なお、ガレクチン抗体の調製及び標識の具体的なプロトコルは、当業者であれば容易に選択することができるものである。

【0079】

大腸がんマーカー測定においては、測定すべき大腸がんマーカータンパク質と当該大腸がんマーカータンパク質の抗体とが免疫複合体を形成しうる条件のもと、採血試料を抗体に接触させることによって行われる。

30

イムノアッセイのより具体的なプロトコルは、当業者であれば容易に選択することができるものである。

【0080】

プロトコルの一例を挙げると、以下のとおりである。基板上又はウェル内壁に、キャプチャー抗体を吸着などにより固相化する。キャプチャー抗体としては、ガレクチンタンパク質において、上記標識ガレクチン抗体とは異なるエピトープを認識する、ガレクチンのポリクローナル(又はモノクローナル)抗体が好ましく用いられる。固相化に用いるキャプチャー抗体溶液の濃度は使用する当業者が適宜決定するものとする。例えば、ELISAキットの構築に用いたIMMUNO-TEK ELISA Construction System(ZeptoMetrix)のプロトコル中では1~10µg/mLの間で設定するように推奨されているので、これに基づくことができる。一例としては、キャプチャー抗体溶液の濃度を5µg/mLとすることができる。

40

【0081】

固相化されたキャプチャー抗体に採血試料を加え、キャプチャー抗体と採血試料中のガレクチンとが免疫複合体を形成しうる条件に供する。採血試料は、必要に応じて適宜希釈した後に、上述の処理を行うことができる。ガレクチン-1/-3/-4を検出する場合の希釈率は使用する当業者が適宜決定するものとする。例えば、測定するサンプルの種類や他の条件等を考慮して1~20倍、望ましくは5~10倍の範囲で決定することができる。例えばガレクチン-1を検出する場合は10倍とすることができ、ガレクチン-3を検出する場合は5倍とすることができ、ガレクチン-4を検出する場合は5倍とすること

50

ができる。

【0082】

基板又はウェルを洗浄し、その後、上記標識ガレクチン抗体を加え、キャプチャー抗体に結合した採血試料由来のガレクチンと標識ガレクチン抗体とが免疫複合体を形成しうる条件に供する。加えられる標識ガレクチン抗体の濃度は、測定するサンプルの種類や他の条件等を考慮して使用する当業者が適宜決定するものとする。例えば、 $0.1 \sim 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、望ましくは $0.1 \sim 2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で決定することができる。ガレクチン-1抗体の標識体では例えば $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、ガレクチン-3抗体の標識体では例えば $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、ガレクチン-3抗体の標識体では例えば $0.2 \mu\text{g}/\text{mL}$ とすることができる。

10

【0083】

さらに基板又はウェルを洗浄し、ガレクチンに結合した標識ガレクチン抗体に由来するシグナルを検出する。例えば、抗体が蛍光化合物で標識されている場合は、その標識に由来する蛍光の量を測定することができる。また、抗体が酵素タンパク質で標識されている場合は、酵素タンパク質に対する基質を添加し分解された化合物の化学発色に由来するシグナルを検出することによって測定することができる。

【0084】

[6. 採血試料中大腸がんマーカー検出キット]

本発明は、標識されたガレクチン-1抗体、標識されたガレクチン-3抗体、及び標識されたガレクチン-4抗体からなる群から選ばれる検出抗体を含む、大腸がんマーカー検出キットを提供する。標識されたガレクチンは、蛍光化合物、ペルオキシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、及び $\alpha$ -ガラクトシダーゼからなる群から選ばれる物質によってガレクチンが標識されたものである。本発明の大腸がんマーカー検出キットは、上述の大腸がんマーカー分析を行うために用いることができる。

20

【0085】

標識されたガレクチン-1抗体は、アルカリホスファターゼ標識されたガレクチン-1であってよく、標識されたガレクチン-3抗体はペルオキシダーゼ標識されたガレクチン-3抗体であってよく、前記標識されたガレクチン-4抗体はペルオキシダーゼ標識されたガレクチン-4であってよい。

これら検出抗体は、上述の濃度で調製された溶液として提供されてよい。

30

【0086】

大腸がんマーカー検出キットには、さらなるアイテムとして、上述のポリクローナル(又はモノクローナル)抗ガレクチン-1、ポリクローナル(又はモノクローナル)抗ガレクチン-3及びポリクローナル(又はモノクローナル)抗ガレクチン-4からなる群から選ばれるキャプチャー抗体が含まれてよい。キャプチャー抗体は、上述の濃度で調製された溶液として提供されてもよいし、基板表面又はウェル内壁に固相化された状態で提供されてよい。

【実施例】

【0087】

[参考例1：血漿サンプル調製]

実施例において、血漿サンプルが以下のように調製された。1人につき、約15 mLの血液をBDバキュテナ(Vacutainer)採血管CPTTMに採血した。採血後、直ちに遠心分離( $1700 \times g$ 、4分、20分)を行い、上清を血漿成分として得た(約5mL)。得られた血漿サンプルは、 $-80^\circ\text{C}$ にて保存した。

40

この血漿サンプルは測定時に解凍し、後述の表1に記載の希釈倍率で希釈されることによって、ガレクチン濃度が測定されるべき採血試料となる。

【0088】

[実施例1：ELISA測定系]

ガレクチン検出のためのELISA測定系(ガレクチン-1 ELISA、ガレクチン-3 ELISA、及びガレクチン-4 ELISA)には、表1に記載のキャプチャー

50

抗体、標識された検出抗体、及び検出試薬を用いた。標識された検出抗体は、未標識の検出抗体に標識タンパク質（アルカリフォスファターゼ又はペルオキシダーゼ）で標識することによって得た。

96ウェルプレート (Maxisorp社製) の各ウェルにキャプチャー抗体溶液 (5 µg/ml, 100 µl) を添加して抗体を固相化した。キャプチャー抗体の固相化には IMMUNO-TEK ELISA Construction System (ZeptoMetrix, Buffalo, NY) を用いた。

【 0 0 8 9 】

【表 1】

	ガレクチン-1 ELISA	ガレクチン-3 ELISA	ガレクチン-4 ELISA
リコンビナント蛋白質 入手メーカー	Abnova, Taiwan	R&D systems, Minneapolis, MN	R&D systems, Minneapolis, MN
キャブチャャー抗体 (メーカー名)	ポリクローナル抗ガレクチン-1抗 体(R&D systems)	ポリクローナル抗ガレクチン-3抗体 (R&D systems)	ポリクローナル抗ガレクチン-4抗体 (R&D systems)
キャブチャャー抗体濃 度	5 $\mu$ g/mL	5 $\mu$ g/mL	5 $\mu$ g/mL
検出抗体 (メーカー名)	モノクローナル抗ガレクチン-1抗 体(Abnova)	モノクローナル抗ガレクチン-3抗体 (R&D systems)	ポリクローナル抗ガレクチン-4抗体 (R&D systems)
標識検出抗体濃度	0.5 $\mu$ g/mL	0.1 $\mu$ g/mL	0.2 $\mu$ g/mL
標識タンパク質 (キット、メーカー名)	アルカリフォスファターゼ標識 (Alkaline Phosphatase Labeling Kit-NH2, Dojindo Molecular Technologies, Inc.)	ペルオキシダーゼ標識 (Peroxidase Labeling Kit-SH, Dojindo Molecular Technologies, Inc.)	ペルオキシダーゼ標識 (Peroxidase Labeling Kit-SH, Dojindo Molecular Technologies, Inc.)
測定サンプルの 希釈倍率	10倍	10倍	20倍
検出試薬(メーカー)	AP-Blue SpectraFX Microwell and/or Membrane Substrate (BioFX Laboratories, Inc., Owings Mills)	TMB Two Component HRP Microwell Substrate (BioFX Laboratories, Inc., Owings Mills)	TMB Two Component HRP Microwell Substrate (BioFX Laboratories, Inc., Owings Mills)

10

20

30

40

## 【0090】

## &lt; 交差反応性 &gt;

抗体の交差反応性のテストに用いる標準サンプルとして、表1に記載のリコンビナント蛋白質 (Recombinant Human Galectin) を用いた。リコンビナント蛋白質を、TBST溶液 (20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 400 mM NaCl, 0.1 % Tween 20) により希釈したサンプルを調

50

製した。

【 0 0 9 1 】

標準サンプルをウェルに添加(100  $\mu$ l/ウェル)した後、室温で一時間静置した。その後、TBST溶液により各ウェルを6回洗浄し、100  $\mu$ lの標識検出抗体溶液を各ウェルに添加し室温で一時間静置した。使用した標識検出抗体の濃度は表1のとおりである。ガレクチンの検出は、標識タンパク質が含まれていたキットのプロトコルに従って行った。具体的には、ガレクチン - 1 E L I S A 測定系における吸光度は595nm、ガレクチン - 3 E L I S A 測定系及びガレクチン - 4 E L I S A 測定系における測定時の吸光度は450nmとし、測定機器としてはTecan GENios (Tecan Group Ltd., Zurich, Switzerland)を用いた。

10

【 0 0 9 2 】

表2(a)は、血漿サンプルに既知量のリコンビナント蛋白質を添加した場合の添加回収率の測定実験の結果を示している。表2(a)に示されているように、本実施例において検討した全てのELISA測定系について回収率が84.4-108%の範囲に収まっており、測定系として問題がないことを確認した。

表2(b)は、既知量のリコンビナント蛋白質をE L I S A 測定系で測定して得られた実測値の、理論値(既知濃度)に対する割合(%)を示している。表2(b)に示すように、各ガレクチンのE L I S A 測定系について、標準サンプル(ガレクチン - 1、 - 2、 - 3、 - 4及び - 7のリコンビナント蛋白質)を用いた交差反応性テストにより、当該ガレクチン以外のガレクチンに対する反応性が無いことが確認された。

20

【 0 0 9 3 】

【表 2】

## (a) 添加回収率

	Galectin-1	Galectin-2	Galectin-3	Galectin-4	Galectin-7
回収率	108%	97.1%	89.8%	86.3%	84.4%

## (b) 交差反応性

	Recombinant Human Galectin-1	Recombinant Human Galectin-2	Recombinant Human Galectin-3	Recombinant Human Galectin-4	Recombinant Human Galectin-7
Galectin-1 ELISA		0%	0%	0%	0%
Galectin-2 ELISA	1%		0%	0%	0%
Galectin-3 ELISA	0%	0%		0%	0%
Galectin-4 ELISA	1%	0%	0%		0%
Galectin-7 ELISA	0%	0%	0%	0%	

10

20

30

40

【 0 0 9 4 】

&lt; 採血試料の測定条件 &gt;

測定サンプル（すなわちガレクチン濃度が測定されるべき採血試料）には、TBST溶液（20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 400 mM NaCl, 0.1 % Tween 20)により希釈した血漿サンプル

50

を使用した。希釈倍率は表 1 に示した通りである。

【 0 0 9 5 】

測定サンプルをウェルに添加(100 μ l /ウェル)した後、室温で一時間静置した。その後、TBST溶液により各ウェルを 6 回洗浄し、100 μ l の標識検出抗体溶液を各ウェルに添加し室温で一時間静置した。使用した標識検出抗体の濃度は表 1 のとおりである。ガレクチンの検出は、標識タンパク質が含まれていたキットのプロトコルに従って行った。具体的には、ガレクチン - 1 E L I S A 測定系における吸光度は595nm、ガレクチン - 3 E L I S A 測定系及びガレクチン - 4 E L I S A 測定系における測定時の吸光度は450nmとし、測定機器としてはTecan GENios (Tecan Group Ltd., Zurich, Switzerland)を用いた。

10

【 0 0 9 6 】

[ 実施例 2 ]

大阪大学医学部の倫理規定に沿って患者の同意が得られた採血試料(以下、血漿サンプルと記載する)について、以下の解析を行った。血漿サンプルは、大腸がん患者 1 0 5 名及び健常者 1 0 0 名から採取した血液から参考例 1 に従って調製した。表 3 に、この解析で用いた血漿サンプルの臨床情報を示す。実施例においては、既存のマーカー(具体的には、C E A、C A 1 9 - 9、S C C 抗原、C A 1 2 5、C A 1 5 - 3 及び P S A )の値が全て正常範囲である者を「健常者」として定義した。

【 0 0 9 7 】

【 表 3 】

20

		大腸ガン患者 (GRC)	健常者 (control)
<b>年齢</b>			
平均 (範囲, 標準偏差)		63.5 (28-88, 11.3)	61.2(40-86, 9.9)
検体数		105	100
<b>性別</b>			
男性		63	60
女性		42	40
<b>病勢</b>			
<b>TNM classification</b>			
Stage 0		6	
Stage I		28	
Stage II		25	
Stage III		27	
Stage IV		19	
<b>Cure (根治度)</b>			
Cure A		86	
Cure B		8	
Cure C		11	

30

40

【 0 0 9 8 】

健常者とがん患者における採血試料中濃度解析を行い、両者間の採血試料中ガレクチン濃度の比較を行った。図 4 ( A ) にガレクチン - 1、図 4 ( B ) にガレクチン - 3、及び図 4 ( C ) にガレクチン - 4 についての結果を示す。いずれも、縦軸はガレクチンの血漿サンプル中の濃度を表す。箱ひげ図において、箱で示した範囲は全検体のうち 2 5 - 7 5 % に当たる検体の濃度分布範囲、横線で示した範囲は全検体のうち 1 0 - 9 0 % に当たる

50

検体の濃度分布範囲を示す。箱中の横棒は、各集団（Control（健常者）、CRC（大腸がん患者））における濃度の中央値を示す。

図4が示すように、ガレクチン-1、-3及び-4全てについて、2群間で統計学的有意差(Mann-Whitney test:  $p$ 値 $< 0.001$ )を得た。これにより、ガレクチン-1、-3及び-4は大腸がん臨床マーカーとしての有用性が示された。

【0099】

[実施例3]

この105症例の大腸がん患者をTMN分類に基づき、3つのグループ（ステージ0、ステージI-II及びステージIII-VI）に分け、各グループ毎でのガレクチン濃度について比較検討した。図5（A）にガレクチン-1、図5（B）にガレクチン-3、及び図5（C）にガレクチン-4についての結果を示す。いずれも、縦軸はガレクチンの血漿サンプル中の濃度を表す。箱ひげ図において、箱で示した範囲は全検体のうち25-75%に当たる検体の濃度分布範囲、横線で示した範囲は全検体のうち10-90%に当たる検体の濃度分布範囲を示す。箱中の横棒は、各集団（Control（健常者）、CRC（大腸がん患者））における濃度の中央値を示す。

10

【0100】

図5が示すように、健常者と比較して、ステージI-IIとステージIII-IVとにおいてガレクチン濃度はいずれも統計学的有意(non-parametric Kruskal-Wallis with Dunn's post test:  $p$ 値 $< 0.05$ )に増加していた。

また、ガレクチン-4の採血試料中濃度は、がんのステージが進行するに伴って増加する傾向を示した(図5(C))。一方、ガレクチン-1及びガレクチン-3は、そのような傾向を示さなかった(図5(A)及び(B))。この結果から、ガレクチン-4が病勢マーカーとしての特徴を有していることが示された。

20

【0101】

[実施例4]

得られた各ガレクチン濃度を基に、大腸がんと健常者との識別におけるROC(receiver operating characteristic)曲線を作成した。図6(A)にガレクチン-1、図6(B)にガレクチン-3、及び図6(C)にガレクチン-4についてのROC曲線を示す。図6において、縦軸は陽性率を表し、横軸は偽陽性率を表す。このROC曲線より、Youden's Indexを用いて閾値を設定した。具体的には、ガレクチン1の閾値は339.5ng/mL、ガレクチン3の閾値は10.7ng/mL、ガレクチン4の閾値は0.525ng/mLと設定した。以下、この閾値を用いて詳細解析を行った。

30

【0102】

ガレクチン濃度が陽性を示した(閾値を越えていた)検体(根治度C症例については解析から除外した)について、術前と術後とにおけるガレクチン濃度比較を行った。図7(A)にガレクチン-1、図7(B)にガレクチン-3、及び図7(C)にガレクチン-4についての結果を示す。図7中、線で結ばれたプロットは、同一検体における術前及び術後における濃度を示す。また、破線は上記ROC曲線から決定した閾値を示している。図7が示すように、ガレクチン-1及びガレクチン-4については、手術後、有意に(Wilcoxon matched pairs test:  $p$ 値 $< 0.01$ )採血試料中濃度が減少していた(図7(A)及び(C))。

40

以上より、ガレクチン-1及びガレクチン-4は、経過観察マーカーとしての有用性が示された。

【0103】

[実施例5]

ガレクチン-1及びガレクチン-4をマーカーとして用いた場合と、CEAのみ又はCA19-9のみをマーカーとして用いた場合とについて、がん患者捕捉率(すなわち陽性率)の比較を病態別に調べた。図8(A)にCEAとガレクチン-4との比較、図8(B)にCEAとガレクチン-1との比較、図8(C)にCA19-9とガレクチン-4との比較、図8(D)にCA19-9とガレクチン-1との比較結果を示す。

50

## 【 0 1 0 4 】

図 8 が示すように、ガレクチン - 4 は、進行性である Metastatic stage の患者において陽性率が増加していた（図 8（A）及び（C））。一方、ガレクチン - 1 は、比較的進行ステージである Metastatic stage の患者においては陽性率が比較的低いことに対して、比較的早期ステージである Locoregional stage では陽性率が高いことが判った（図 8（B）及び（D））。また、（A）では CEA とガレクチン - 4 とを組み合わせた場合、（C）では CA19-9 とガレクチン - 4 とを組み合わせた場合（どちらかのマーカー値が閾値を越えている場合を陽性とする）の陽性率も併せて図示した。

以上より、ガレクチン - 1 は存在診断マーカーとして、ガレクチン - 4 は病勢マーカーとしての特徴を有していることが判った。

10

## 【 0 1 0 5 】

## [ 実施例 6 ]

ガレクチン - 4 と、既存の病勢マーカー CEA、CA19-9 との組み合わせ解析の結果を表 4 に示す。表 4 に示されるように、CEA、CA19-9 のみを用いた場合と比較して、ガレクチン - 4 が併用された場合には、十分な捕捉率（陽性率）の向上が見られた。このことから、ガレクチン - 4 が、既存の病勢マーカーを相補する病勢マーカーとしての有用性を持つことが示された。

## 【 0 1 0 6 】

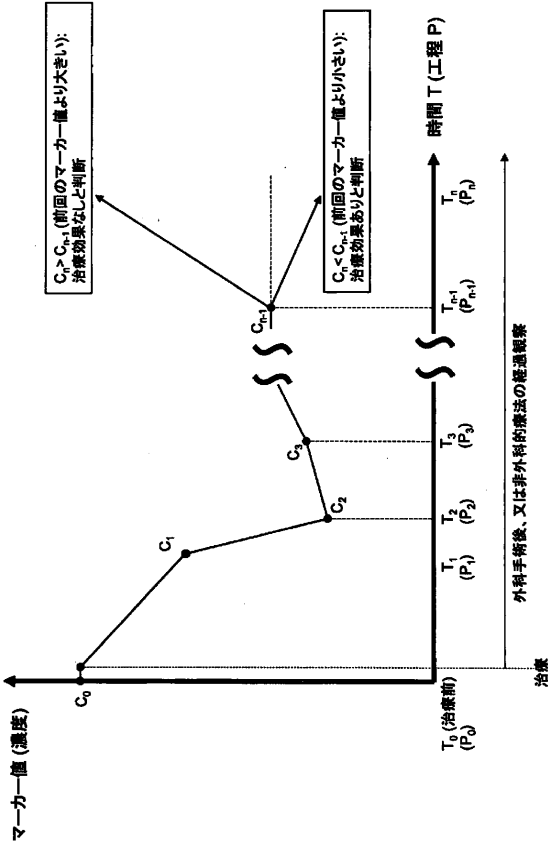
## 【 表 4 】

	<b>陽性率</b>
<b>CEA</b>	<b>33%</b>
<b>CA19-9</b>	<b>17%</b>
<b>Galectin-4</b>	<b>49%</b>
<b>CEA+CA19-9</b>	<b>36%</b>
<b>CEA+Galectin-4</b>	<b>59%</b>
<b>CA19-9+Galectin-4</b>	<b>53%</b>
<b>CEA+CA19-9+Galectin-4</b>	<b>60%</b>

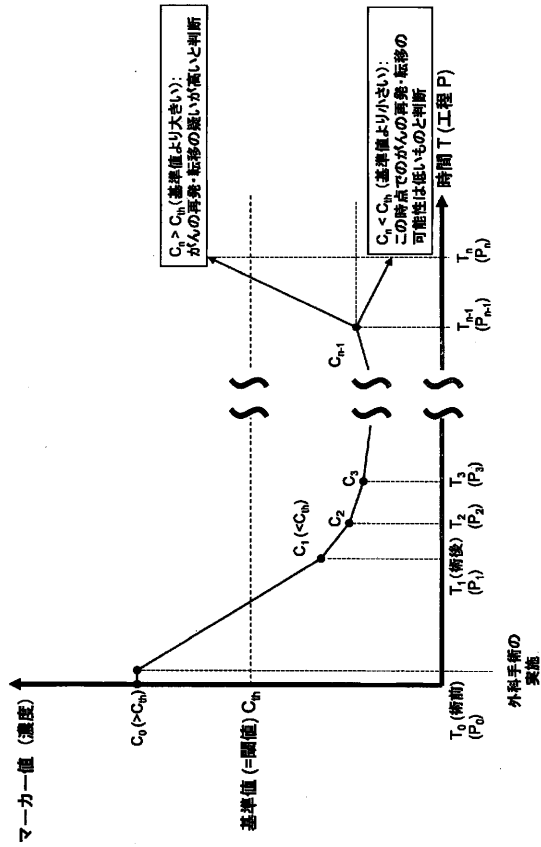
20

30

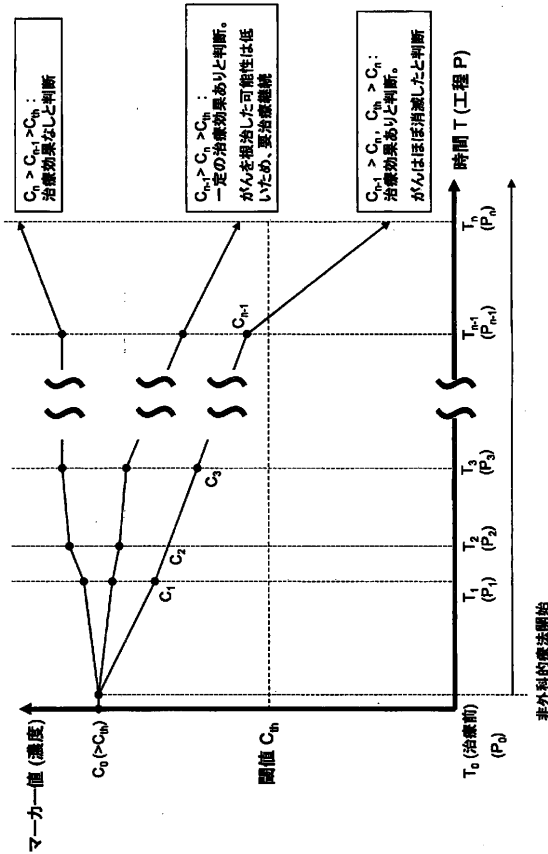
【 図 1 】



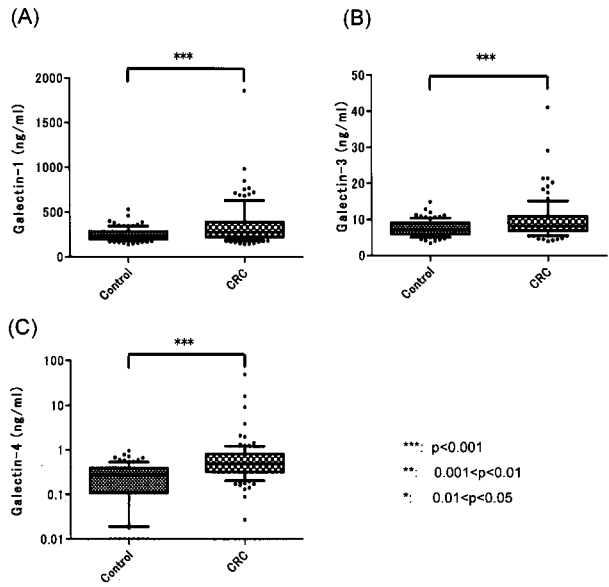
【 図 2 】



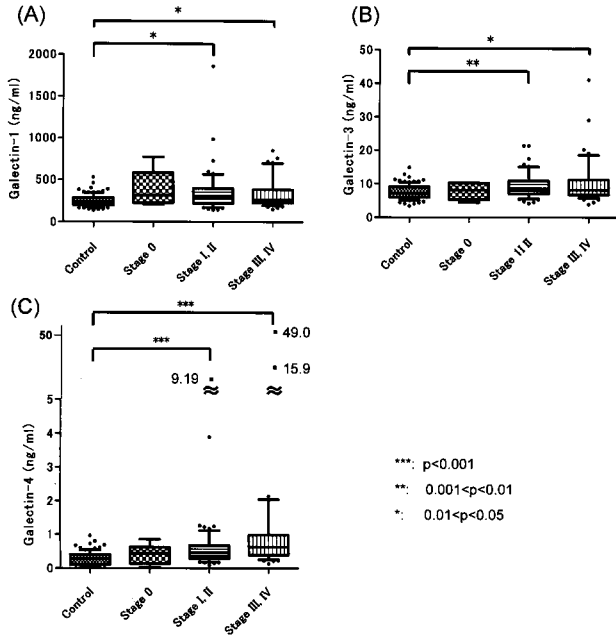
【 図 3 】



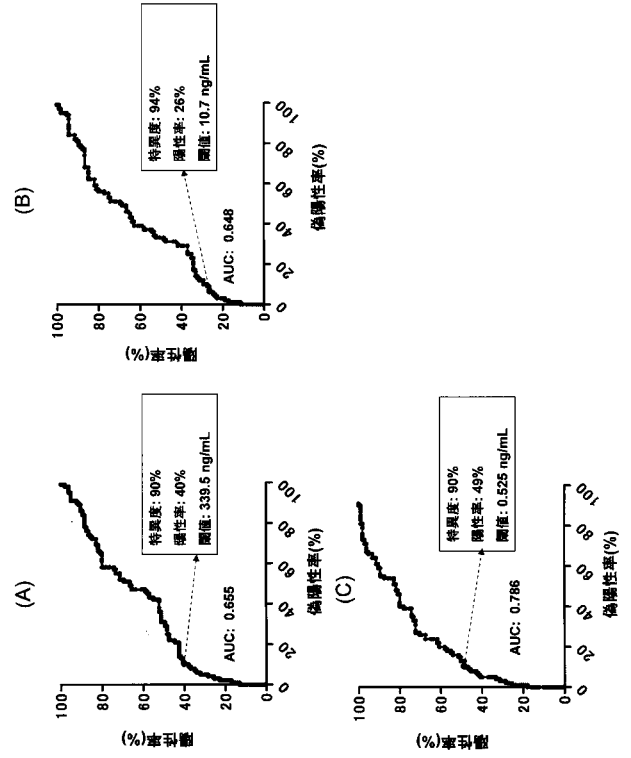
【 図 4 】



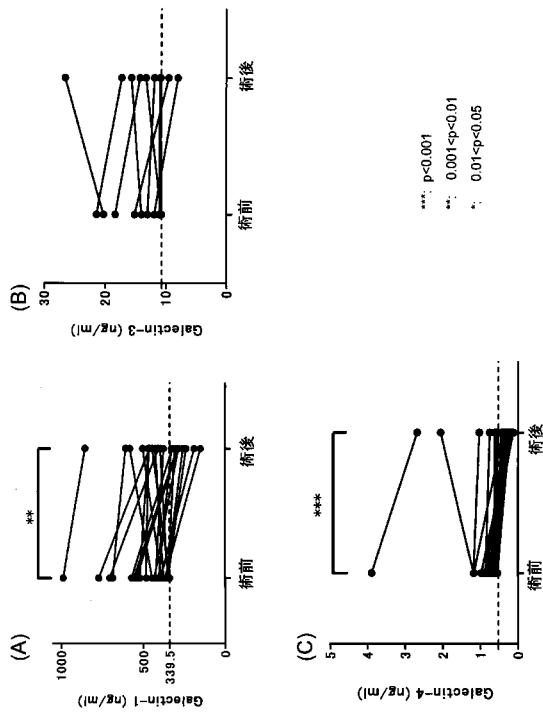
【 図 5 】



【 図 6 】

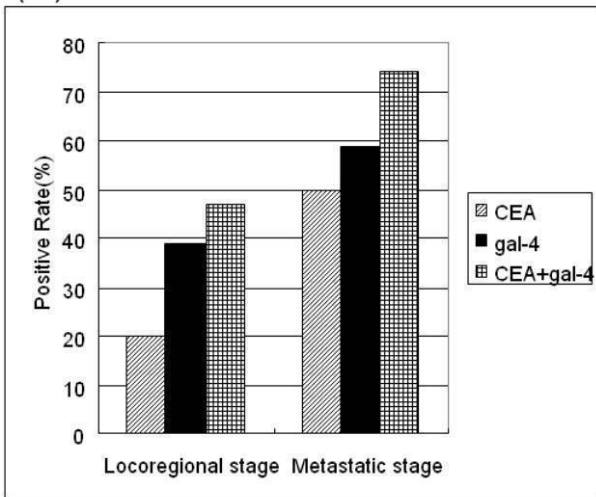


【 図 7 】

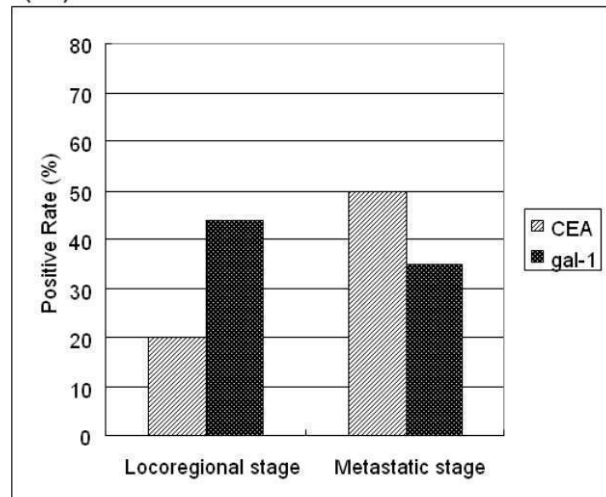


【 8 】

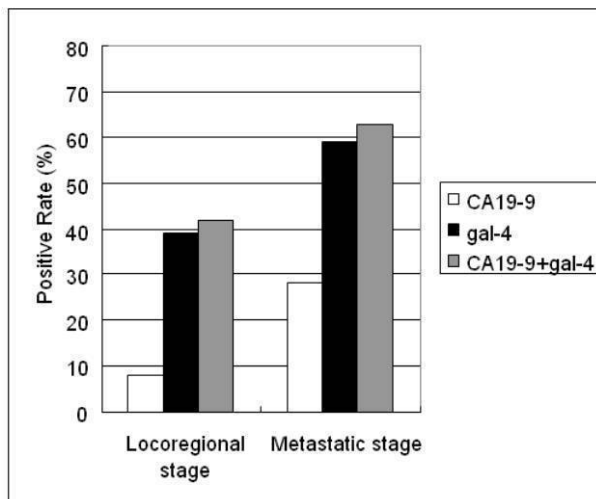
(A)



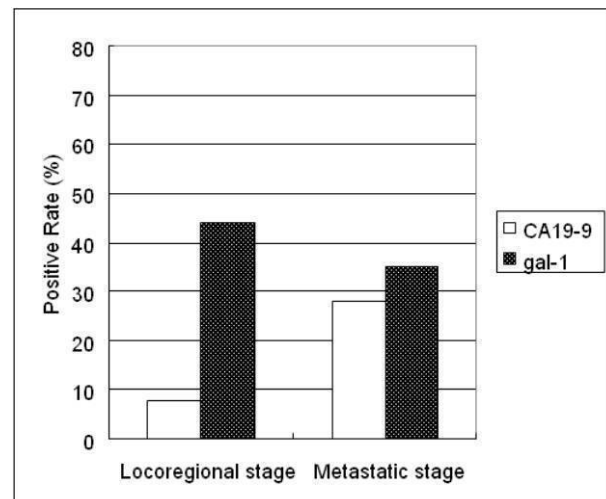
(B)



(C)



(D)



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2011/051760
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> G01N33/574(2006.01)i, G01N33/533(2006.01)i, G01N33/535(2006.01)i, G01N33/68(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/574, G01N33/533, G01N33/535, G01N33/68  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2011 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2011 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2011  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), PubMed		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2009/019368 A2 (BIOMERIEUX), 12 February 2009 (12.02.2009), entire text & US 2010/0151456 A & EP 2171467 A & CA 2693098 A & CN 101802616 A	1, 3, 4, 22 2, 5-10, 19-22 27, 28
X Y	Akira SEKO et al., "Galectin-4 no Toketsugo Tokusei Oyobi Daicho Gan Soshiki ni Okeru Bunpu", Proceedings of the Japanese Cancer Association, 26 September 2001 (26.09.2001), vol.60, 426	1, 2 4-10, 19-22, 27, 28
X Y	Koji NAGATA et al., "Hito Daichogan ni Okeru Galectin-4 Kogen Hatsugen no Tokucho", Proceedings of the Japanese Cancer Association, 26 September 2001 (26.09.2001), vol.60, 427	1, 2 4-10, 19-22, 27, 28
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 March, 2011 (10.03.11)		Date of mailing of the international search report 22 March, 2011 (22.03.11)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/051760

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 2007/142347 A1 (Shimadzu Corp.), 13 December 2007 (13.12.2007), entire text & US 2009/0191575 A1 & EP 2028492 A1 & EP 2180320 A1 & WO 2007/142347 A1	11-18, 23-26 27, 28
A	Nathalie Nagy, et al., Refined Prognostic Evaluation in Colon Carcinoma Using Immunohistochemical Galectin Fingerprinting, Cancer, 2003.04.15, Vol. 97, No. 8, 1849-1858	1-28
A	Hiroko Ideo, et al., Galectin-4 Binds to Sulfated Glycosphingolipids and Carcinoembryonic Antigen in Patches on the Cell Surface of Human Colon Adenocarcinoma Cells, The Journal of Biological Chemistry, 2005.02.11, Vol. 280, No. 6, 4730-4737	1-28
X Y	Claudia Greco, et al., Cell surface overexpression of galectin-3 and the presence of its ligand 90k in the blood plasma as determinants in colon neoplastic lesions, Glycobiology, 2004, Vol. 14, No. 9, 783-792	1, 3 4-10, 19-22, 27, 28
A	JP 2009-531332 A (Life Technologies Corp.), 03 September 2009 (03.09.2009), claims 3, 14 & EP 2005187 A & WO 2007/109809 A1	1-28
A	JP 2002-112780 A (Keio University), 16 April 2002 (16.04.2002), paragraph [0045] (Family: none)	1-28

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2011/051760									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/574(2006.01)i, G01N33/533(2006.01)i, G01N33/535(2006.01)i, G01N33/68(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/574, G01N33/533, G01N33/535, G01N33/68											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2011年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2011年	日本国実用新案登録公報	1996-2011年	日本国登録実用新案公報	1994-2011年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2011年										
日本国実用新案登録公報	1996-2011年										
日本国登録実用新案公報	1994-2011年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII) PubMed											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
X Y	WO 2009/019368 A2 (BIOMERIEUX) 2009.02.12, 全文 & US 2010/0151456 A & EP 2171467 A & CA 2693098 A & CN 101802616 A	1, 3, 4, 22 2, 5-10, 19-22 27, 28									
X Y	瀬古 玲, 他, ガレクチン-4 の糖結合特異性及び大腸癌組織にお ける分布, 日本癌学会総会記事, 2001.09.26, Vol. 60, 426	1, 2 4-10, 19-22, 27, 28									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 10.03.2011		国際調査報告の発送日 22.03.2011									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 浅野 美奈	2J 9312								
		電話番号 03-3581-1101	内線 3252								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 1 / 0 5 1 7 6 0
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	永田耕治, 他, ヒト大腸癌における Galectin-4 抗原発現の特徴, 日本癌学会総会記事, 2001.09.26, Vol. 60, 427	1, 2 4-10, 19-22, 27, 28
X Y	WO 2007/142347 A1 (株式会社島津製作所) 2007.12.13, 全文 & US 2009/0191575 A1 & EP 2028492 A1 & EP 2180320 A1 & WO 2007/142347 A1	11-18, 23-26 27, 28
A	Nathalie Nagy, et al., Refined Prognostic Evaluation in Colon Carcinoma Using Immunohistochemical Galectin Fingerprinting, Cancer, 2003.04.15, Vol. 97, No. 8, 1849-1858	1-28
A	Hiroko Ideo, et al., Galectin-4 Binds to Sulfated Glycosphingolipids and Carcinoembryonic Antigen in Patches on the Cell Surface of Human Colon Adenocarcinoma Cells, The Journal of Biological Chemistry, 2005.02.11, Vol. 280, No. 6, 4730-4737	1-28
X Y	Claudia Greco, et al., Cell surface overexpression of galectin-3 and the presence of its ligand 90k in the blood plasma as determinants in colon neoplastic lesions, Glycobiology, 2004, Vol. 14, No. 9, 783-792	1, 3 4-10, 19-22, 27, 28
A	JP 2009-531332 A (ライフ テクノロジーズ コーポレーション) 2009.09.03, 請求項3, 14 & EP 2005187 A & WO 2007/109809 A1	1-28
A	JP 2002-112780 A (学校法人 慶應義塾) 2002.04.16, 【0045】 (ファミリーなし)	1-28

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, 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

(72)発明者 金子 直樹

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

(72)発明者 松原 稔哉

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

(72)発明者 西村 紀

大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内

(72)発明者 森 正樹

大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内

(72)発明者 竹政 伊知朗

大阪府吹田市山田丘1番1号 国立大学法人大阪大学内

Fターム(参考) 2G045 AA26 BB10 CA25 CA26 DA36 DA78 FB03 FB07 FB12

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	结直肠癌标记物galectin , 分析血液样品中半乳糖凝集素浓度的方法和结直肠癌标记物galectin检测试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">JPWO2011148668A1</a>	公开(公告)日	2013-07-25
申请号	JP2012517162	申请日	2011-01-28
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社岛津制作所 国立大学法人大阪大学		
申请(专利权)人(译)	株式会社岛津制作所 国立大学法人大阪大学		
[标]发明人	渡边真 松尾英一 金子直樹 松原稔哉 西村紀 森正樹 竹政伊知朗		
发明人	渡边 真 松尾 英一 金子 直樹 松原 稔哉 西村 紀 森 正樹 竹政 伊知朗		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/574 G01N33/533 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/57419 G01N2333/4724		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/574.A G01N33/574.E G01N33/533 G01N33/535		
F-TERM分类号	2G045/AA26 2G045/BB10 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA36 2G045/DA78 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB12		
代理人(译)	冈田雅博		
优先权	2010119420 2010-05-25 JP		
其他公开文献	JP5904939B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了可在临床实践中实际用于检测大肠癌的肿瘤筛选标记, 以及可补充CEA或CA19-9的肿瘤进展标记。Galectin-1用作大肠癌的肿瘤筛查标记或肿瘤进展标记。Galectin-3用作肿瘤筛查标记。Galectin-4用作结直肠癌的肿瘤进展标志物, 肿瘤筛查标志物或预后预测标志物。一种使用半乳糖分析采集的血液样本中半乳糖浓度。一种结直肠癌标志物检测试剂盒, 其包含选自荧光标记的galectin-1抗体, 荧光标记的galectin-3抗体和荧光标记的galectin-4抗体的检测抗体。

