

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02015/163462

発行日 平成29年4月20日 (2017. 4. 20)

(43) 国際公開日 **平成27年10月29日 (2015. 10. 29)**

(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	Z N A A 4 B O 6 3
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/574	A 4 C O 8 5
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53	P
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	G O 1 N 33/53	N
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	H
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く		

出願番号	特願2016-515232 (P2016-515232)	(71) 出願人	599045903 学校法人 久留米大学 福岡県久留米市旭町 6 7 番地
(21) 国際出願番号	PCT/JP2015/062595	(71) 出願人	504409543 国立大学法人秋田大学 秋田県秋田市手形学園町 1 番 1 号
(22) 国際出願日	平成27年4月24日 (2015. 4. 24)	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
(31) 優先権主張番号	特願2014-91677 (P2014-91677)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 稜
(32) 優先日	平成26年4月25日 (2014. 4. 25)	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	笹田 哲朗 神奈川県横浜市旭区中尾 2 - 3 - 2 神奈川がんセンター臨床研究所内 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん免疫療法の治療効果予測に有用な遺伝子多型

(57) 【要約】

I L - 6 受容体遺伝子 (I L - 6 R 遺伝子) の遺伝子多型を検出することができるポリヌクレオチドを含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを提供する。また、I L - 6 R 遺伝子の遺伝子多型を検出することを含むがん免疫療法の治療効果の予測方法を提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) を検出することができるポリヌクレオチドを含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキット。

【請求項 2】

ポリヌクレオチドが、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) を含む、10 ~ 200 塩基のヒト I L - 6 R 遺伝子配列の部分配列またはその相補鎖配列からなるポリヌクレオチドである、請求項 1 に記載の組成物またはキット。

10

【請求項 3】

ポリヌクレオチドが、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) を含む 10 ~ 200 塩基の塩基配列またはその相補鎖配列からなるヒト I L - 6 R 遺伝子断片と特異的にハイブリダイズするプローブ、および / または該遺伝子断片を増幅できるプライマーである、請求項 1 または請求項 2 に記載の組成物またはキット。

【請求項 4】

ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子型 C / C、A / C および / または A / A を検出する、請求項 1 - 3 のいずれかに記載の組成物またはキット。

【請求項 5】

ヒト血液中の I L - 6、I P - 10 (interferon gamma-induced protein 10) および / または B A F F (B-cell activating factor) の蛋白質量を測定するための抗体を含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキット。

20

【請求項 6】

ヒト血液中の I L - 6、I P - 10 (interferon gamma-induced protein 10) および / または B A F F (B-cell activating factor) の蛋白質量を測定するための抗体をさらに含む、請求項 1 - 4 のいずれかに記載のキット。

【請求項 7】

請求項 1 - 6 のいずれかに記載の組成物またはキットを含み、さらに、がん免疫療法用組成物を含む、がん治療用キット。

30

【請求項 8】

がん免疫療法が、ペプチドワクチン免疫療法である、請求項 1 - 7 のいずれかに記載の組成物またはキット。

【請求項 9】

ペプチドワクチン免疫療法で投与したペプチドに対する抗体価を測定するための試薬をさらに含む、請求項 8 に記載の組成物またはキット。

【請求項 10】

がんが大腸がんである、請求項 1 - 9 のいずれかに記載の組成物またはキット。

【請求項 11】

被験者由来の試料から、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) を検出する工程を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法。

40

【請求項 12】

ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子型 C / C、A / C および / または A / A を検出する、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

被験者由来の試料が、がん免疫療法治療前の被験者由来の試料である、請求項 11 または請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

検出されたヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子型が C / C または A / C であるとき、被験者が、がん免疫療法が有効な被験者であると予測する、請求項 1

50

1 - 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 15】

検出されたヒト IL - 6 R 遺伝子の 48892 番目の遺伝子型が A / A であるとき、被験者が、がん免疫療法が有効でない被験者であると予測する、請求項 11 - 13 のいずれかに記載の方法。

【請求項 16】

がん免疫療法治療前の被験者の血中の IL - 6、IP - 10 および / または B A F F の蛋白質量を測定する工程を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法。

【請求項 17】

がん免疫療法治療前の被験者の血中の IL - 6、IP - 10 および / または B A F F の蛋白質量を測定することをさらに含む、請求項 11 - 15 のいずれかに記載の方法。

10

【請求項 18】

がん免疫療法治療前の被験者の血中において、
 (i) IL - 6 蛋白質が高い ;
 (i i) IP - 10 蛋白質が高い ; および / または
 (i i i) B A F F 蛋白質が低いとき、被験者が、がん免疫療法が有効でない被験者であると予測する、請求項 16 または請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

がん免疫療法治療前の被験者の血中において、
 (i) IL - 6 蛋白質が低い ;
 (i i) IP - 10 蛋白質が低い ; および / または
 (i i i) B A F F 蛋白質が高いとき、被験者が、がん免疫療法が有効である被験者であると予測する、請求項 16 または請求項 17 に記載の方法。

20

【請求項 20】

がん免疫療法が、ペプチドワクチン免疫療法である、請求項 11 - 19 のいずれかに記載の方法。

【請求項 21】

がんが、大腸がんである、請求項 11 - 20 のいずれかに記載の方法。

【請求項 22】

がんペプチドワクチン投与前および投与後の被験者由来の血中の該ペプチド特異的 I g G の量を測定することをさらに含む、請求項 11 - 21 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 23】

がんペプチドワクチン投与後の被験者由来の血中の該ペプチド特異的 I g G の量が、投与前に比較し増加したとき、被験者が、がん免疫療法が有効な被験者であると予測する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

がん免疫療法治療前の被験者の血中において IL - 6 蛋白質が高い患者に投与される、IL - 6 阻害剤を含む、がん免疫療法増強剤。

【請求項 25】

IL - 6 阻害剤が、ヒト化抗 IL - 6 R モノクローナル抗体である、請求項 24 に記載のがん免疫療法増強剤。

40

【請求項 26】

がん免疫療法が、ペプチドワクチン免疫療法である、請求項 24 または請求項 25 に記載の免疫療法増強剤。

【請求項 27】

請求項 1 - 10 のいずれかに記載の組成物またはキット、および請求項 24 - 26 のいずれかに記載の免疫療法増強剤を含む、がん治療用キット。

【請求項 28】

がんが大腸がんである、請求項 24 - 26 のいずれかに記載の免疫療法増強剤または請求項 27 に記載のキット。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、がん免疫療法の治療効果予測に有用な遺伝子多型とその使用等に関する。

【背景技術】

【0002】

悪性腫瘍は日本人の死亡原因の第1位を占め年間約33万人が死亡している。また、世界では年間約600万人ががんで死亡している。現在、がん治療法としては外科的切除、抗がん剤、放射線療法などが行われているが、これらの治療法ではQOLが低下することが多い。また、これらの治療法に対して耐性、再発をきたした場合には他に有効な治療法がないため、がんワクチン療法を含むがん免疫療法が第4の治療法として待望されている。しかしながら、がん免疫療法では、あらかじめその治療効果を予測する方法がなく、治療効果が期待できる患者を選別する方法が無いというのが現状である。

10

これまで、IL-6受容体遺伝子（以下、IL-6R遺伝子とも称す）の遺伝子多型については、（1）IL-6の遺伝子多型は食道がん患者（外科的手術後）の予後と関連するが、IL-6受容体の遺伝子多型IL-6R 48892A>Cは予後と関連しない；（2）脳腫瘍患者においてもIL-6の遺伝子多型は予後と関連するが、IL-6受容体遺伝子多型IL-6R 48892A>Cは予後と関連しない、と報告されている（非特許文献1および2）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

20

【0003】

【非特許文献1】Motoyama S, Nakatsu T, Miura M, Hinai Y, Minamiya Y, Ogawa J. Interleukin-6 -634G>C genetic polymorphism is associated with prognosis following surgery for advanced thoracic esophageal squamous cell carcinoma. Dig Surg. 2012;29(3):194-201

【非特許文献2】Lagmay JP, London WB, Gross TG, Termuhlen A, Sullivan N, Axel A, Mundy B, Ranalli M, Canner J, McGrady P, Hall B. Prognostic significance of interleukin-6 single nucleotide polymorphism genotypes in neuroblastoma: rs1800795 (promoter) and rs8192284 (receptor). Clin Cancer Res. 2009 Aug15;15(16):5234-9.

30

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

本発明の課題の一つは、がん免疫療法の治療効果予測に有用な遺伝子多型を同定し、これを用いてがん免疫療法の治療効果予測方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、第一の側面（aspect）において、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型（Reference SNP ID: rs8192284）を検出することができるポリヌクレオチドを含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを提供する。

【0006】

40

本発明は、第二の側面において、ヒトIL-6、ヒトIP-10（interferon gamma-induced protein 10）および/またはヒトBAFF（B-cell activating factor）の蛋白質量を測定するための試薬を含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを提供する。

【0007】

本発明は、第三の側面において、被験者由来の試料から、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型（Reference SNP ID: rs8192284）を検出する工程を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法を提供する。

【0008】

本発明は、第四の側面において、被験者由来の血液試料から、ヒトIL-6、ヒトIP

50

- 10 (interferon gamma-induced protein 10) および / またはヒト B A F F (B-cell activating factor) の蛋白質量を測定する工程を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法を提供する。

【0009】

本発明は、第五の側面において、IL-6阻害剤を含む、がん免疫療法増強剤またはがん免疫療法治療用キットを提供する。

【0010】

本発明は、第六の側面において、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID: rs8192284) を含む、がん免疫療法の治療効果を予測するための遺伝子マーカーを提供する。

【発明の効果】

【0011】

本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法により、被験者にとってがん免疫療法が有効であるか否かが予測される。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】結腸直腸がん (colorectal cancer) 組織に発現するがんワクチン抗原の免疫組織学的解析結果を示す。ワクチンを投与していない結腸直腸がん患者のがん組織におけるワクチン抗原の発現を免疫組織化学により検討した。代表的なデータを示す。全ての写真は $\times 200$ である。

【図2】Kaplan-Meier survival analysisの結果を示す。(A) 60名の患者のペプチドワクチン投与後の生存カーブをKaplan-Meier methodにより決定した(実線)。(B) ペプチドワクチン療法の開始前に、2つ以上の化学療法の治療歴があり、そして、イリノテカン、オキサリプラチンおよびフルオロピリミジンの全てに忍容性がなかった患者の生存カーブをKaplan-Meier methodにより決定した(実線)。破線は95%信頼区間を示す。

【図3】ペプチドワクチンを投与した結腸直腸がん患者におけるIL-6R 48892A>C遺伝子多型と予後との関係を示す。(A) IL-6R 48892A>C遺伝子多型 (IL-6R 48892A/CまたはC/C (n=40) vs IL-6R 48892A/A (n=20)) に基づいて、ペプチドワクチンで治療した患者を2つのサブグループに分けた。生存カーブをKaplan-Meier methodにより決定した。生存カーブ間の違いは、log-rank testを用いて統計的に解析した。(B) IL-6R 48892A>C遺伝子多型 (IL-6R 48892A/CまたはC/C vs IL-6R 48892A/A) およびワクチン投与前血漿のIL-6レベルに基づいて、ペプチドワクチンで治療した患者を4つのサブグループに分けた。生存カーブをKaplan-Meier methodにより決定した。生存カーブ間の違いは、log-rank testを用いて統計的に解析した。IL-6陰性の患者において、IL-6R 48892A/CまたはC/CおよびIL-6R 48892A/Aの遺伝子多型間で有意差があった (IL-6(-), IL-6R 48892A/CまたはC/C (n=18) vs IL-6(-), IL-6R 48892A/A (n=11); p=0.0252) が、IL-6陽性患者においては有意差がなかった (IL-6(+), IL-6R 48892A/CまたはC/C (n=21) vs IL-6(+), IL-6R 48892A/A (n=9); p=0.1184)。

【発明を実施するための形態】

【0013】

用語の説明

本明細書において、「ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型」は、NCBI (National Center for Biotechnology Information) のSNPデータバンクで用いられているReference SNP IDが、rs8192284と表示されている遺伝子多型である。この遺伝子多型は、配列番号1または配列番号2で表されるIL-6Rのアミノ酸配列において、358番目のアミノ酸残基がAspまたはAlaとなる相違に関係している。ヒトIL-6受容体遺伝子 (ヒトIL-6R遺伝子) の48892番目の遺伝子型 (Reference SNP ID: rs8192284) には、C/C、A/CおよびA/Aが挙げられる。

本明細書において、「がん免疫療法」とは、非特異的免疫療法 (例えば、免疫賦活剤投与による治療、免疫チェックポイント阻害剤による治療)、能動特異的免疫療法 (例えば

10

20

30

40

50

、ペプチドワクチン療法、自家がん細胞ワクチン療法、樹状細胞ワクチン療法)および受動特異的免疫療法(例えば、リンホカイン活性化キラー(LAK)細胞療法、腫瘍浸潤性リンパ球(TIL)療法、遺伝子改変T細胞療法)を含む。例えばがん免疫療法は、ペプチドワクチン療法、樹状細胞ワクチン療法、または免疫チェックポイント阻害剤による治療であり、好ましくはペプチドワクチン療法である。

本明細書において、「がん」は、がん免疫療法の対象となり得るものであり、例えば、がんの例としては、限定はされないが、前立腺がん、すい臓がん、肺がん、子宮頸がん、子宮体がん、胃がん、メラノーマ、甲状腺がん、脳腫瘍、造血器種、食道がん、肝臓がん、大腸がん(結腸直腸がん)、胆道がん、乳がん、膀胱がん、腎がん、骨軟部腫瘍、精巣がん、頭頸部がんおよび卵巣がんが挙げられる。また、がんは進行した(advanced)がんであり得る。

【0014】

がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキット

本発明は、第一の側面において、ヒトIL-6受容体遺伝子(ヒトIL-6R遺伝子)の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を検出することができるポリヌクレオチドを含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを提供する。

【0015】

本発明で使用されるヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を検出することができるポリヌクレオチドは、プライマーであっても、プローブであってもよく、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を含む、10~200塩基、好ましくは10~50塩基、より好ましくは15塩基~30塩基のヒトIL-6R遺伝子配列の部分配列またはその相補鎖配列からなるポリヌクレオチドであり得る。例えば、上記プローブは、配列番号3または配列番号4で表されるヒトIL-6R遺伝子またはその断片と特異的にハイブリダイズするプローブであってもよい。また、例えば、上記プライマーは、配列番号3または配列番号4で表されるヒトIL-6R遺伝子またはその断片をPCRにて増幅できるプライマーであってもよい。

特異的にハイブリダイズするプローブやプライマーは、該プローブやプライマーがハイブリダイズするオリゴヌクレオチドと100%相補的であるプローブやプライマーであってもよく、また、該プローブやプライマーがハイブリダイズするオリゴヌクレオチドとストリンジентな条件下でハイブリダイズするプローブやプライマーであってもよい。ハイブリダイゼーションは、例えば、Sambrook J., etc., Molecular Cloning, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, USA 2nd edition, 1989等に記載される方法に準じて行うことができる。ストリンジентな条件下でのハイブリダイゼーションには、ハイブリダイゼーション溶液(50%ホルムアミド、5×SSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハート液、10%硫酸デキストラン、および20μg/mLの変性剪断サケ精子DNAを含む)中にて42℃で一晩インキュベーションした後、約65℃にて0.1×SSC中でフィルターを洗浄する工程を含むハイブリダイゼーションが挙げられる。洗浄ステップにおける塩濃度や温度を適宜調整することにより、高ストリンジエンシーな条件(塩濃度が低く、高温)や低ストリンジエンシーな条件(塩濃度が高く、低温)とすることができる。高ストリンジエンシーでの洗浄条件では、例えば、0.1%SDSを含む0.5×SSC中にて65℃で洗浄(例えば15分間×2回)が実施され、低ストリンジエンシーでの洗浄条件では、例えば、0.1%SDSを含む2×SSC中にて室温で洗浄(例えば5分間×2回)が実施される。

プローブおよび/またはプライマーは、ヒトIL-6R遺伝子と同一性が無い、または低い(例えば、0~10%)配列からなる付加的配列を含んでもよく、放射性同位元素(例えば、¹²⁵I、³H、¹⁴C)、酵素(例えば、 α -ガラクトシダーゼ、ペルオキシダーゼ)、蛍光物質(例えば、フルオレセイン、SYBR(登録商標)Green)、発光物質(

10

20

30

40

50

例えば、ルミノール、ルシフェリン、イクオリン)、アビジン、ビオチン等の標識物質で標識されていてもよい。標識は、1物質による標識であっても、複数物質による標識であってもよく、例えば、蛍光物質(例えば、FAM、VIC)の近傍に該蛍光物質の発する蛍光エネルギーを吸収するクエンチャーが結合されていてもよい。

【0016】

遺伝子多型の検出方法によって、それに適したヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を検出することができるポリヌクレオチドであるプライマーやプローブが使用される。遺伝子多型の検出方法としては、限定はされないが、リアルタイムPCR検出法(例えば、TaqMan(登録商標)プローブ法)、Invaderプローブ法、DNAチップを用いたSNPタイピング法、PCR-RFLP法、PCR-SSCP法などが挙げられる。

10

【0017】

一つの実施態様として、遺伝子多型の検出方法としてリアルタイムPCR検出法を採用することができる。この場合、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の塩基を含むヒトIL-6R遺伝子断片を増幅することができるオリゴヌクレオチドであるフォワードプライマーとリバースプライマーが使用され得、そして、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の塩基を含む、該フォワードプライマーと該リバースプライマーで増幅されるヒトIL-6R遺伝子断片に結合するオリゴヌクレオチドであってレポーター蛍光色素とクエンチャー蛍光色素が結合したプローブが使用され得る。プライマーおよびプローブは、例えば10~50塩基、15~40塩基、15~35塩基のオリゴヌクレオチドである。レポーター蛍光色素としては、例えば、FAM(6-カルボキシ-フルオレセイン)のようなフルオレセイン系蛍光色素が使用でき、クエンチャー蛍光色素としては、TAMRA(6-カルボキシ-テトラメチル-ローダミン)のようなローダミン系蛍光色素が使用できる。リアルタイムPCR法としては、TaqMan(登録商標)プローブを用いた方法を使用でき、アプライドバイオシステムズ社から必要な試薬を入手することができる。

20

【0018】

一つの実施態様として、遺伝子多型の検出方法としてInvaderプローブ法を採用することができる。この場合、3種類のプローブ:アリルプローブ、インベダープローブおよび検出プローブを使用して、遺伝子多型を検出することができる。アリルプローブは、検出したいヒトIL-6R遺伝子の48892番目の型と違う塩基を含み、それより5'側はヒトIL-6R遺伝子と異なる配列からなる検出プローブに相補的な配列からなるフラップ配列からなり、検出したいヒトIL-6R遺伝子の48892番目の多型と違う塩基より3'側は、ヒトIL-6R遺伝子の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドであり得る。アリルプローブの塩基長は、例えば、15~数百塩基、15~50塩基、15~40塩基である。インベダープローブは、検出したいヒトIL-6R遺伝子の48892番目の型を含み、それより上流のヒトIL-6R遺伝子配列からなるオリゴヌクレオチドであり得る。インベダープローブの塩基長は、例えば、15~50塩基、15~40塩基である。検出プローブは、フラップ配列と相補的な塩基配列を一部に含むプローブであって、Cleavaseと呼ばれるエンドヌクレアーゼによりアリルプローブが切断されることにより生じるフラップ配列からなるオリゴヌクレオチドが結合するプローブである。該検出プローブは、例えば、15~数百塩基、15~100塩基、15~50塩基、15~40塩基のオリゴヌクレオチドである。

30

40

【0019】

一つの実施態様として、遺伝子多型の検出方法としてDNAチップを用いたSNPタイピング法を採用することができる。この場合、検出したいヒトIL-6R遺伝子の48892番目の塩基を含むヒトIL-6R遺伝子の部分配列からなるポリヌクレオチドをプローブとして採用することができる。該プローブの塩基長は、例えば、10~100塩基、15~50塩基、15~35塩基であり得る。Affymetrix, Inc.やIllumina, Inc.から入手できるDNAチップを用い、推奨されている方法で、遺伝子多型を検出することができる。

【0020】

50

一つの実施態様として、遺伝子多型の検出方法として、PCR-RFLP法やPCR-SSCP法を用いることができる。この場合、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の塩基を含むヒトIL-6R遺伝子断片を増幅することができる、例えば10~50塩基、15~40塩基、15~35塩基のオリゴヌクレオチドであるフォワードプライマーとリバースプライマーが使用され得る。

【0021】

本発明に使用されるヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を検出することができるポリヌクレオチド(例えば、プローブ、プライマー)は、各々別個に、または混合して、凍結乾燥状態で、適切な緩衝液(例えば、TE buffer)中に適当な濃度(例えば、1~50 μ M)で溶解し、-20 $^{\circ}$ Cで凍結した状態で、組成物として提供することができる。

10

ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を検出することができるポリヌクレオチドの他に、当業者は、採用する遺伝子多型の検出方法に適した試薬、器材等の物質を含めて、がん免疫療法の治療効果の予測用キットとして提供できる。例えば、遺伝子多型の検出方法としてリアルタイムPCR検出法を採用する場合には、10XPCR反応液、10XMgCl₂水溶液、Taq DNAポリメラーゼ等をキットに含めることができる。例えば、遺伝子多型の検出方法としてInvaderプローブ法を採用する場合には、Cleavase(エンドヌクレアーゼ)をキットに含めることができる。例えば、遺伝子多型の検出方法としてDNAチップを用いたSNPタイピング法を採用する場合には、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子多型(Reference SNP ID: rs8192284)を検出することができるポリヌクレオチドを含むDNAチップ、ハイブリダイゼーション用洗浄液(例えば、0.1% Tween 20を含む1XTBS)をキットに含めることができる。例えば、遺伝子多型の検出方法として、PCR-RFLP法やPCR-SSCP法を用いる場合には、制限酵素や電気泳動用ゲルをキットに含めることができる。

20

【0022】

本発明は、第二の側面において、被験者の血液試料中のヒトIL-6、ヒトIP-10(interferon gamma-induced protein 10)および/またはヒトBAFF(B-cell activating factor)の蛋白質量を測定するための試薬を含む、がん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを提供する。

血液試料は、血清または血漿であり得る。

30

被験者の血液中のIL-6、IP-10(interferon gamma-induced protein 10)および/またはBAFF(B-cell activating factor)を検出するための試薬は、例えば、抗ヒトIL-6抗体、抗ヒトIP-10抗体および/または抗ヒトBAFF抗体であり得る。抗体は、モノクローナル抗体でもポリクローナル抗体でもよい。

一つの実施態様として、がん免疫療法の治療開始前の被験者の血液中のIL-6、IP-10および/またはBAFFの蛋白質量が、本発明が提供するキットにより測定される。

本発明が提供するキットは、例えば、抗ヒトIL-6抗体、抗ヒトIP-10抗体および/または抗ヒトBAFF抗体を含む他、血液から血清を調製するために使用するEDTA、クエン酸またはヘパリンを含んだ溶液を含んでもよい。抗ヒトIL-6抗体、抗ヒトIP-10抗体および抗ヒトBAFF抗体は、凍結乾燥状態で、または、1~10mg/mlの濃度でPBS等の緩衝液に溶解した状態で提供され得る。本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用キットには、IL-6、IP-10および/またはBAFFの蛋白質量を測定するための試薬、器材等を含んだELISAキットであってもよい。このようなELISAキットには、上記抗体の他、プレート(例えば、96穴プレート)、ブロッキング溶液(例えば、BSA溶液、乳蛋白質溶液)および洗浄液(界面活性剤を含むリン酸緩衝液(例えば、Tween20を含むPBS))が含まれ得る。

40

【0023】

本発明が第一の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを、本発明が第二の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物ま

50

たはキットと組み合わせて使用することにより、がん免疫療法の治療効果をより正確に予測でき得る。よって、一つの実施態様において、本発明は、第一の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットに加え、さらに第二の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを含む、がん免疫療法の治療効果の予測用キットを提供する。

【0024】

がん免疫療法がペプチドワクチン療法である場合、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用キットは、さらに、被験者の血液中のペプチドワクチン免疫療法で投与したペプチドに対する抗体のレベルを測定するための試薬（例えば、ペプチドワクチン免疫療法で投与したペプチド）を含んでもよい。一つの実施態様として、ペプチドワクチン投与後の被験者の血液中における、ペプチドワクチン免疫療法で投与したペプチドに対するIgG抗体のレベルを測定してもよい。例えば、抗ペプチド抗体（IgG）のレベルは、Luminox（商標）法により既報のように測定できる（Komatsu N et al, Scand J Clin Invest 2004;64:1-11）。Luminex（商標）法を採用する場合、例えば、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用キットは、さらに、カラーコードビーズ（Luminex Corp., Austin, TX, USA）およびビオチン化ヤギ抗ヒトIgGを含んでもよい。

10

【0025】

本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットは、がん免疫療法剤とあわせて提供すれば、予測に基づいたがん治療ができる。よって、一つの実施態様として、本発明は、がん免疫療法剤および本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットを含む、がん治療用キットを提供する。

20

がん免疫療法剤に含まれる活性成分の例としては、限定はされないが、サイトカイン（例えば、インターフェロン、インターロイキン2）、免疫賦活剤（例えば、BCG、OK-432、レンチナン）、リンパ球（例えば、細胞傷害性T細胞（CTL）、NK細胞）、樹状細胞、ペプチドワクチンが挙げられる。

ペプチドワクチンに使用できるペプチドの例としては、CypB-129：KLKHYGPGWV（配列番号5）、EGFR-800：DYVREHKDNI（配列番号6）、EZH2-735：KYVGIEREM（配列番号7）、HNRPL-140：ALVEFEDVL（配列番号8）、HNRPL-501：NVLHFFNAPL（配列番号9）、Lck-90：ILEQSGEWWK（配列番号10）、Lck-208：HYTNASDGL（配列番号11）、Lck-246：KLVERLGA（配列番号12）、Lck-422：DWWSFGILL（配列番号13）、Lck-449：VIQNLERGYR（配列番号14）、Lck-486：TFDYLRVSL（配列番号15）、Lck-488：DYLRVLEDF（配列番号16）、MAP-432：DLLSHAFFA（配列番号17）、MRP3-503：LYAWEPSFL（配列番号18）、MRP3-1293：NYSVRYRPL（配列番号19）、PAP-213：LYCESVHNF（配列番号20）、PAP-248：GIHKQKEKSR（配列番号21）、PSA-248：HYRKWIKDTI（配列番号22）、PSMA-624：TYSVSFDSL（配列番号23）、PTHrP-102：RYLTQETNKV（配列番号24）、SART2-93：DYSARWNEI（配列番号25）、SART2-161：AYDFLYNYL（配列番号26）、SART3-109：VYDYNC HVDL（配列番号27）、SART3-302：LLQAEAPRL（配列番号28）、SART3-309：RLAEYQAYI（配列番号29）、SART3-511：WLEYNLER（配列番号30）、SART3-734：QIRPIFSNR（配列番号31）、UBE-43：RLQEWCSVI（配列番号32）、UBE-85：LIADFLSGL（配列番号33）、WHSC2-103：ASLSDPWV（配列番号34）、WHSC2-141：ILGELREKV（配列番号35）およびこれらの誘導体が挙げられる。

30

40

ペプチドの誘導体の例としては、ペプチドのアミノ酸配列において1または2個のアミノ酸の置換、欠失および/または付加が導入されたアミノ酸配列からなり、かつ患者にマッチしたHLA分子（例えば、HLA-A24分子）に結合でき、ペプチド特異的CTLを誘導する能力を有するペプチドが挙げられる。ペプチド特異的CTLを誘導する能力を有するか否かは、例えば、ペプチドで刺激した末梢血単核細胞（PBMC）が対応ペプチドをパルスした抗原提示細胞に反応してインターフェロン（IFN）- γ のようなサイトカインを産生するか否かをELISA法等で測定して調べることができる。また、誘導されたCTLの細胞傷害活性は、 ^{51}Cr 放出試験等により確認することができる。CTLによる認識性を考慮すると、ペプチドの誘導体のアミノ酸残基数は8～14個の範囲内であることが好ましく、より好ましくは8

50

～ 11個、特に好ましくは9または10個である。

ペプチドワクチンは、1種類のペプチドまたは誘導体を含むものであってもよく、2種類以上（例えば、2種、3種または4種）のペプチドおよび/または誘導体を組み合わせて含んでも良い。がん患者のCTLは相異なる癌抗原ペプチドを認識する細胞の集合なので、複数種類のペプチドおよび/また誘導体を組み合わせて使用してもよい。また、ペプチドワクチンに使用するペプチドは、投与対象となる患者の血中に結合する抗体が見いだされるペプチドを選択してもよい。

【0026】

がん免疫療法剤は、活性成分と、医薬として許容できる担体と共に製剤化され得る。医薬として許容できる担体としては、例えば、賦形剤（例えば、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等）、崩壊剤（例えば、カルボキシメチルセルロース等）、滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム等）、界面活性剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム等）、溶剤（例えば、水、食塩水、大豆油等）、保存剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸エステル等）などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

10

【0027】

がん免疫療法剤に含まれる活性成分の投与量は、疾患の状態、個々の患者の年齢、体重等により適宜調整することができる。例えば、がん患者に投与される医薬組成物中のペプチドまたは誘導体の量は、0.0001mg～1000mg、好ましくは0.001mg～100mg、より好ましくは0.01mg～10mg、より一層好ましくは0.1～5mgまたは0.5～3mgである。投与方法も適宜選択することができ、例えば、経口投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与または皮下投与により投与することができる。ペプチドワクチンであれば、好ましくは、皮内投与または皮下投与で投与される。

20

【0028】

活性成分が蛋白質またはペプチドの場合、それらをコードする遺伝子を含むベクターを調製し、それを患者に投与することにより、がん免疫療法を行うこともできる。よって、このようなベクターは、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用キットに含まれ得る。また、患者体外において例えば患者由来の樹状細胞にベクターを導入し、所望のペプチドを発現させた細胞を患者に戻しても良い。これら方法は当業界において周知である（Hrouda D, Dalgleish AG. Gene therapy for prostate cancer. Gene Ther 3: 845-52, 1996）。

30

ベクターとしては、各種プラスミドおよびウィルスベクター、例えばアデノウィルス、アデノ関連ウィルス、レトロウィルス、ワクシニアウィルス等が挙げられる（Liu M, Acres B, Balloul JM, Bizouarne N, Paul S, Slos P, Squiban P. Gene-based vaccines and immunotherapeutics. Proc Natl Acad Sci U S A 101 Suppl, 14567-71, 2004）。ベクターの調製方法は当業界にて周知である（Molecular Cloning: A laboratory manual, 2nd edn. New York, Cold Spring Harbor Laboratory）。

【0029】

ベクターを患者に投与する場合、投与量は疾患の状態、個々の患者の年齢、体重等により変化するが、例えばがん患者に投与されるDNA量として、0.1μg～100mg、好ましくは1μg～50mgである。投与方法には、静脈注射、皮下投与、皮内投与等が挙げられる。

40

【0030】

ペプチドワクチンに使用できるペプチドをin vitroでCTLを誘導するために用いてもよい。例えば、患者から採取されたPBMCを、in vitroでペプチドまたはその誘導体の存在下培養することによりCTLを誘導することができる。当該CTLを、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用キットに含ませてもよい。また、ペプチドワクチンに使用できるペプチドをin vitroで樹状細胞と培養し、得られたペプチドを提示した樹状細胞を本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用キットに含ませてもよい。

【0031】

がん免疫療法の治療効果の予測方法

50

本発明は、第三の側面において、被験者由来の試料から、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) を検出する工程を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法を提供する。

被験者は、がん患者であり得、例えば、がん免疫療法を受ける前のがん患者または既にごがん免疫療法を受けているがん患者であり得る。また、被験者は、化学療法 (例えば、イリノテカン、オキサリプラチンおよび/またはフルオロピリミジンによる化学療法) を受けており、当該化学療法が有効でなかったがん患者であってもよく、ペプチドワクチン療法に用いる予定のペプチドに対する抗体を血中に有するがん患者であってもよい。がん免疫療法は、能動免疫療法であっても受動免疫療法であってもよく、限定はされないが、ペプチドワクチン療法、樹状細胞ワクチン療法および免疫チェックポイント阻害剤による治療が例示され、好ましくは、ペプチドワクチン療法である。がんの例としては、限定はされないが、前立腺がん、すい臓がん、肺がん、子宮頸がん、子宮体がん、胃がん、メラノーマ、甲状腺がん、脳腫瘍、造血器種、食道がん、肝臓がん、大腸がん (結腸直腸がん)、胆道がん、乳がん、膀胱がん、腎がん、骨軟部腫瘍、精巣がん、頭頸部がん、卵巣がんが挙げられ、例えば、初期または進行した大腸がんが挙げられる。

被験者由来の試料は、がん患者由来の遺伝子サンプル (例えば、ゲノム DNA、RNA) であり得る。がん患者の組織由来の遺伝子サンプルの例には、限定はされないが、血液から得られた遺伝子サンプル、口腔粘膜から得られた遺伝子サンプルが挙げられる。被験者由来の試料は、例えば、被験者の末梢血単核球 (Peripheral blood mononuclear cells) から抽出された DNA であってもよい。

【0032】

ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) の検出は、リアルタイム PCR 検出法 (例えば、TaqMan (登録商標) プローブ法)、Invader プローブ法、DNA チップを用いた SNP タイピング法、PCR-RFLP 法、PCR-SSCP 法等の当業者に周知の方法により達成することができる。

【0033】

一つの実施態様では、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) の検出法としてリアルタイム PCR 検出法 (例えば、TaqMan (登録商標) プローブ法) を採用することができる。リアルタイム PCR 検出は、例えば以下の工程を含む：

(i) フォワードプライマー、リバースプライマーおよびプローブを用意する (ここで、フォワードプライマーとリバースプライマーは、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の塩基を含むヒト I L - 6 R 遺伝子断片を増幅することができる、例えば 10 ~ 50 塩基、15 ~ 40 塩基、15 ~ 35 塩基のオリゴヌクレオチドである；プローブは、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の塩基を含む、該フォワードプライマーと該リバースプライマーで増幅されるヒト I L - 6 R 遺伝子断片に結合する例えば 10 ~ 50 塩基、15 ~ 40 塩基、15 ~ 35 塩基のオリゴヌクレオチドであってレポーター蛍光色素 (例えば、FAM (6 - カルボキシ - フルオレセイン) のようなフルオレセイン系蛍光色素) とクエンチャー蛍光色素 (例えば、TAMRA (6 - カルボキシ - テトラメチル - ローダミン) のようなローダミン系蛍光色素) が結合する)、

(ii) (i) で用意したプライマーとプローブを用い、被験者由来の DNA を鋳型に PCR を行う。

上記 (i) ~ (ii) の工程を行うことにより、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型を検出することができる。

TaqMan (登録商標) プローブ法を採用する場合は、アプライドバイオシステムズ社が提供するキットを用いることができる。適切なフォワードプライマー、適切なリバースプライマーおよび適切な TaqMan プローブを用いた PCR を行うことにより、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型を検出することができる。

【0034】

一つの実施態様では、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Referenc

10

20

30

40

50

e SNP ID : rs8192284) の検出法として Invader プローブ法を採用することができる。Invader プローブ法は、例えば、J Hum Genet 2001;46:471-477、Nature Biotechnology 17, 292 - 296 (1999) および W09823774 号公報に記載の方法に準じて実施することができる。例えば、以下の工程を含む：

(i) アリルプローブ、インベータープローブおよび検出プローブを用意する（ここで、アリルプローブは、検出したいヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の型と違う塩基を含み、それより 5 ' 側はヒト I L - 6 R 遺伝子と異なる配列からなる検出プローブに相補的な配列からなるフラップ配列からなり、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の多型と違う塩基より 3 ' 側は、ヒト I L - 6 R 遺伝子の塩基配列からなるオリゴヌクレオチドであり（塩基長は、例えば、15 ~ 数百塩基、15 ~ 50 塩基、15 ~ 40 塩基であり得る）、インベータープローブは、検出したいヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の型を含み、それより上流のヒト I L - 6 R 遺伝子配列からなるオリゴヌクレオチドであり（塩基長は、例えば、15 ~ 50 塩基、15 ~ 40 塩基であり得る）、検出プローブは、一本鎖部分と二本鎖部分を有するオリゴヌクレオチドであって、一本鎖部分はフラップ配列と相補的な配列（例えば、15 ~ 50 塩基、15 ~ 35 塩基、20 ~ 30 残基）からなり、二本鎖部分はフラップ配列と相補的な数残基（例えば、1 ~ 10 残基、3 ~ 5 残基）の配列を 5 ' 側に含み、二本鎖部分に蛍光基とそれを消光するクエンチャーが結合しているオリゴヌクレオチドである（塩基長は、例えば、15 ~ 数百塩基、15 ~ 100 塩基、15 ~ 50 塩基、15 ~ 40 塩基））；

(i i) 被験者由来の DNA をアリルプローブとインベータープローブを混合し、二本鎖形成反応を行う；

(i i i) アリルプローブの二本鎖を形成していないフラップ配列部分をエンドヌクレアーゼ：Cleavase で切断する；

(i v) 切断されたフラップ配列からなるオリゴヌクレオチドを検出プローブと結合させる；

(v) 結合により、検出プローブ内の二本鎖の一部であって蛍光基を有する部分が一本鎖となり、生じた一本鎖部分が Cleavase で切断され、蛍光基がクエンチャーから乖離する；および

(v i) 乖離の結果生じた蛍光を検出する。

【 0 0 3 5 】

一つの実施態様では、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) の検出法として DNA チップを用いた SNP タイピング法を採用することができる。例えば、口腔粘膜、血液等の被験者由来の試料より mRNA を抽出し、抽出した mRNA より蛍光基を結合させた cDNA を調製し、調製した cDNA を DNA チップに添加し、DNA チップ上の検出したいヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子型を含むプローブとハイブリダイズさせ、洗浄後蛍光を測定することにより、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型を検出することができる。

【 0 0 3 6 】

一つの実施態様では、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型 (Reference SNP ID : rs8192284) の検出法として PCR-RFLP 法または PCR-SSCP 法を採用することができる。例えば、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の塩基を含むヒト I L - 6 R 遺伝子断片を増幅することができるフォワードプライマーとリバースプライマー（両プライマーは、例えば、10 ~ 50 塩基、15 ~ 40 塩基、15 ~ 35 塩基のオリゴヌクレオチドである）を用いて PCR を行い、得られた PCR 産物を、PCR-RFLP 法では適切な制限酵素で分解し、PCR-SSCP 法では、ホルムアミドの存在下で熱変性（加熱・急冷）させて、電気泳動（アガロースゲル電気泳動またはポリアクリルアミドゲル電気泳動）することにより、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型を検出することができる。

【 0 0 3 7 】

本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法において検出されるヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子多型は、C / C、A / C および / または A / A であり

得る。

検出されたヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型が、C/CまたはA/Cであるとき、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。この場合、医師は被験者にがん免疫療法による治療を選択することができる。ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型がC/CまたはA/Cであることはまた、被験者においてがん免疫療法が有効であることのひとつの指標として用いることができる。検出されたヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型が、A/Aであるとき、被験者はがん免疫療法が有効でないと予測される。この場合、医師は、がん免疫療法以外の治療法を選択できる。検出されたヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型がA/Aであることはまた、被験者においてがん免疫療法が有効でないことのひとつの指標として用いることができる。

10

【0038】

本発明は、第四の側面において、被験者由来の血液試料から、ヒトIL-6、ヒトIP-10 (interferon gamma-induced protein 10) および/またはヒトBAFF (B-cell activating factor) の蛋白質量を測定する工程を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法を提供する。

被験者は、がん患者であり得、例えば、がん免疫療法を受ける前のがん患者または既になん免疫療法を受けているがん患者であり得る。また、被験者は、化学療法(例えば、イリノテカン、オキサリプラチンおよび/またはフルオロピリミジンによる化学療法)を受けており、当該化学療法が有効でなかったがん患者であってもよく、ペプチドワクチン療法に用いる予定のペプチドに対する抗体を血中に有するがん患者であってもよい。がん免疫療法は、能動免疫療法であっても受動免疫療法であってもよく、限定はされないが、好ましくは、ペプチドワクチン療法である。がんの例としては、限定はされないが、大腸がん(例えば、結腸直腸がん)、例えば、初期または進行した大腸がんが挙げられる。血液試料は、例えば血清または血漿である。

20

ヒトIL-6、ヒトIP-10および/またはヒトBAFFの蛋白質量は、抗ヒトIL-6抗体、抗ヒトIP-10抗体および/または抗ヒトBAFF抗体を用いて測定できる。

被験者由来の血液試料から、ヒトIL-6、ヒトIP-10およびヒトBAFFからなる群から少なくとも1つの蛋白質量を測定した結果、がん免疫療法治療前の被験者の血液試料において、

(i) IL-6蛋白質量が高い；

30

(ii) IP-10蛋白質量が高い；および/または

(iii) BAFF蛋白質量が低いとき、被験者が、がん免疫療法が有効でない被験者であると予測される。かかる結果はまた、被験者においてがん免疫療法が有効でないことのひとつの指標として用いることができる。

また、がん免疫療法治療前の被験者の血液試料において、

(i) IL-6蛋白質量が低い；

(ii) IP-10蛋白質量が低い；および/または

(iii) BAFF蛋白質量が高いとき、被験者が、がん免疫療法が有効である被験者であると予測される。かかる結果はまた、被験者においてがん免疫療法が有効であることのひとつの指標として用いることができる。

40

一つの実施態様として、蛋白質量が高いまたは低いかな否かは、基準値と比較して判定され得、基準値の例としては、健常人の血液試料中の蛋白質量またはがん患者の血液試料中の蛋白質量の中央値が挙げられる。例えば、IL-6については、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中1.0 pg/ml以上存在すれば、IL-6蛋白質量が高いと判定されて、被験者はがん免疫療法が有効でないと予測され、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中1.0 pg/ml未満存在すれば、IL-6蛋白質量は低いと判定されて、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。IP-10については、例えば、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中170 pg/ml以上存在すれば、IP-10蛋白質量が高いと判定されて、被験者はがん免疫療法が有効でないと予測され、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中170 pg/ml未満存在すれば、IP-10蛋白質量は低いと判定されて、被験者はがん

50

免疫療法が有効であると予測される。B A F Fについては、例えば、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中1200 pg/ml以上存在すれば、B A F F蛋白質量が高いと判定されて、被験者はがん免疫療法が有効であると予測され、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中1200 pg/ml未満存在すれば、B A F F蛋白質量は低いと判定されて、被験者はがん免疫療法が有効でないと予測される。

【0039】

本発明が第三の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法を、本発明が第四の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法と組み合わせて使用することにより、がん免疫療法の治療効果をより正確に予測でき得る。よって、一つの実施態様において、本発明は、第三の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法に加え、さらに第四の側面において提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法を含む、がん免疫療法の治療効果の予測方法を提供する。この実施態様において、例えば、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中のIL-6量が低い；IP-10蛋白質量が高い；および/またはB A F F蛋白質量が低く、そして、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型がA/Aのとき、被験者はがん免疫療法が有効でないと予測され、がん免疫療法の治療前の血漿または血清中のIL-6量が低い；IP-10蛋白質量が低い；および/またはB A F F蛋白質量が高く、そして、ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型がC/CまたはA/Cのとき、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。

10

【0040】

がん免疫療法が、ペプチドワクチン療法の場合、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法は、さらに、ペプチドワクチン投与前および/または投与後の被験者由来の血液試料中の該ペプチド特異的IgGの量を測定することを含んでもよい。例えば、抗ペプチド抗体(IgG)のレベルは、Luminex(商標)法により既報のように測定できる(Komatsu *et al*, *Scand J Clin Invest* 2004;64:1-11)。一つの実施態様において、ペプチドワクチン投与後の血液試料中(血清または血漿中)の該ペプチド特異的IgGの量が、ペプチドワクチン投与前に比較し増加した場合には、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。かかる結果はまた、被験者において当該ペプチドワクチンによるがん免疫療法が有効であることのひとつの指標として用いることができる。例えば、ペプチドワクチン投与後の血液試料中(血清または血漿中)の該ペプチド特異的IgGの量が、ペプチドワクチン投与前に比較し2倍以上増加した場合には、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。一つの実施態様において、ペプチドワクチン投与直前の血清または血漿のペプチド特異的IgGの量と、1週間1回投与で6回投与後の血清または血漿のペプチド特異的IgGの量を比較し、2倍以上増加した場合には、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。

20

30

【0041】

よって、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法により、例えば、(i)ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型がC/CまたはA/Cであり、(ii)がん免疫療法の治療前の血漿または血清中のIL-6量が低い；IP-10蛋白質量が低い；および/またはB A F F蛋白質量が高い、そして、(iii)ペプチドワクチン投与後の血液試料中(血清または血漿中)の該ペプチド特異的IgGの量が、ペプチドワクチン投与前に比較し2倍以上増加したとき、被験者はがん免疫療法が有効であると予測される。一方、(i)ヒトIL-6R遺伝子の48892番目の遺伝子型がA/Aであり、(ii)がん免疫療法の治療前の血漿または血清中のIL-6量が高い；IP-10蛋白質量が高い；および/またはB A F F蛋白質量が低く、そして、(iii)ペプチドワクチン投与後の血液試料中(血清または血漿中)の該ペプチド特異的IgGの量が、ペプチドワクチン投与前に比較し2倍以上増加しなかったとき、被験者はがん免疫療法が有効でないと予測される。

40

【0042】

本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法は、*in vitro*で実施することができる。

50

【 0 0 4 3 】

一つの実施態様では、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法に基づき、がん免疫療法（例えば、ペプチドワクチン療法）が有効であると予想されるがん患者を選択することができる。

また、一つの実施態様では、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測方法の結果に基づき、医師は、がん免疫療法を選択するか否かを決定でき、患者を治療することができる。

【 0 0 4 4 】

がん免疫療法増強剤またはがん免疫療法治療用キット

本発明は、第五の側面において、IL - 6 阻害剤を含む、がん免疫療法増強剤またはがん免疫療法治療用キットを提供する。

IL - 6 阻害剤は、IL - 6 の作用を阻害するものであればよい。IL - 6 阻害剤の例としては、抗ヒトIL - 6 抗体、抗ヒトIL - 6 R 抗体（例えば、tocilizumab）が挙げられる。

IL - 6 阻害剤をがん患者に投与することにより、好ましくは、がん免疫療法の効果が増強される。がん患者は、血漿のIL - 6 蛋白質量が多い（例えば、1.0pg/ml 以上）患者であってもよい。がん免疫療法の治療前に血漿のIL - 6 蛋白質量を測定し、血漿のIL - 6 蛋白質量が多い（例えば、1.0pg/ml 以上）患者であることが判定されれば、がん免疫療法剤とあわせてIL - 6 阻害剤を投与してもよい。

一つの実施態様において、がん免疫療法はペプチドワクチン療法である。がんは、例えば、大腸がん（結腸直腸がん）である。

また、本発明が提供するがん免疫療法の治療効果の予測用組成物またはキットに、癌ペプチドワクチンおよびIL - 6 阻害剤を含めて、がん免疫療法治療用キットとして提供することができる。

【 0 0 4 5 】

がん免疫療法増強剤は、IL - 6 阻害剤と、医薬として許容できる担体と共に製剤化され得る。医薬として許容できる担体としては、例えば、賦形剤（例えば、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン等）、崩壊剤（例えば、カルボキシメチルセルロース等）、滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム等）、界面活性剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム等）、溶剤（例えば、水、食塩水、大豆油等）、保存剤（例えば、p - ヒドロキシ安息香酸エステル等）などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。IL - 6 阻害剤のがん患者への投与量は疾患の状態、個々の患者の年齢、体重等により変化するが、0.0001mg ~ 1000mg、好ましくは0.001mg ~ 100mg、より好ましくは0.01mg ~ 10mg、より一層好ましくは0.1 ~ 5mg または0.5 ~ 3mg である。投与方法は適宜選択することができ、例えば、経口投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮内投与または皮下投与により投与することができる。

【 0 0 4 6 】

がん免疫療法の治療効果を予測するための遺伝子マーカー

本発明は、第六の側面において、ヒトIL - 6 R 遺伝子の48892番目の遺伝子多型（Reference SNP ID : rs8192284）を含む、がん免疫療法の治療効果を予測するための遺伝子マーカーを提供する。

ヒトIL - 6 R 遺伝子の48892番目の遺伝子多型は、がん免疫療法の治療効果の予測マーカーとして有用である。

ヒトIL - 6 R 遺伝子の48892番目の遺伝子型が、C / C または A / C であるとき、当該遺伝子型を有する被験者は、がん免疫療法が有効な被験者である可能性が高い。ヒトIL - 6 R 遺伝子の48892番目の遺伝子型が、A / A であるとき、当該遺伝子型を有する被験者は、がん免疫療法が有効でない被験者である可能性が高い。

本発明が提供する遺伝子マーカーは、ヒトIL - 6 R 遺伝子の48892番目の遺伝子型のみからなっているとしてもよく、ヒトIL - 6 R 遺伝子の48892番目の遺伝子型を含む

10

20

30

40

50

配列またはその相補的な配列からなってもよく、例えば、ヒト I L - 6 R 遺伝子の 4 8 8 9 2 番目の遺伝子型を含む、5、8、10、15 または 20 塩基の配列からなる遺伝子マーカーであってもよい。

【0047】

以下、実施例により本発明をさらに説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【実施例】

【0048】

進行した結腸直腸がん (advanced colorectal cancer) 患者においてペプチドワクチン治療の臨床的有用性を明らかにし、治療前に治療効果を予測するために有用なバイオマーカーを特定するために、以下の phase II 試験を実施した。

10

【0049】

材料および方法

患者

標準的な化学療法および/または分子標的療法の少なくとも1つのレジメンが成功しなかった前治療歴のある進行した結腸直腸がん (以下 a C R C と称す) 患者のうち、31種の候補ワクチンペプチド (表1) の中で少なくとも2つに対して液性応答反応を有する (ペプチド特異的な IgG 力価の測定により判定) ならば、本試験における対象として適格である。その他の試験対象者選定基準は、次のとおりであった: 20歳以上; Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) の一般状態が 0 または 1; H L A - A 2、- A 3、- A 1 1、- A 2 4、- A 2 6、- A 3 1、または - A 3 3 が陽性; 少なくとも12週間の平均余命; 十分な血液学的機能、腎臓機能、および肝機能 (白血球細胞 $> 2,500/\mu\text{l}$ 、リンパ球 $> 1,000/\mu\text{l}$ 、血小板 $> 80,000/\mu\text{l}$ 、血清クレアチニン $< 1.5\text{ mg/dl}$ 、および全ビリルビン $< 2.5\text{ mg/dl}$)。排除基準としては、肺疾患、心臓疾患、またはその他の全身性疾患; 急性感染; 重度のアレルギー反応の既往; 妊娠中または授乳中; または臨床医により登録が不適切と判断されるような病状、などが含まれる。プロトコールは、久留米大学の倫理委員会にて承認されており、U M I N に臨床試験登録 (UMIN000006493) された。全てのプロトコールの説明後に、全ての患者から書面によるインフォームド・コンセントを登録前に得た。

20

【0050】

30

【表 1】

表 1 個人至適化ペプチドワクチンに用いたペプチド候補

ペプチドが由来する蛋白質	ペプチドの名前	ペプチドの位置	アミノ酸配列	HLA type	頻度 ^b (原発腫瘍)	頻度 ^c (転移性腫瘍)
Cyclophilin B	CypB-129	129-138	KLKHYGPGWV	A2, A3sup ^a	13/15 (87%)	5/5 (100%)
EGF-R	EGFR-800	800-809	DYVREHKDNI	A24	8/15 (53%)	4/5 (80%)
EZH2	EZH2-735	735-743	KYVGIEREM	A24	10/10 (100%)	5/5 (100%)
HNRPL	HNRPL-140	140-148	ALVEFEDVL	A2	10/10 (100%)	5/5 (100%)
	HNRPL-501	501-510	NVLHFFNAPL	A2, A26		
p56Lck	Lck-90	90-99	ILEQSGEWWK	A3sup ^a	4/15 (27%)	0/5 (0%)
	Lck-208	208-216	HYTNASDGL	A24		
	Lck-246	246-254	KLVERLGAA	A2		
	Lck-422	422-430	DVWSFGILL	A2, A3sup		
	Lck-449	449-458	VIQNLERGYR	A3sup ^a		
	Lck-486	486-494	TFDYLRSLV	A24		
	Lck-488	488-497	DYLRSVLEDF	A24		
ppMAPkkk	MAP-432	432-440	DLLSHAFFA	A2, A26	10/10 (100%)	5/5 (100%)
MRP3	MRP3-503	503-511	LYAWEPSFL	A24	9/15 (60%)	3/5 (60%)
	MRP3-1293	1293-1302	NYSVRYRPG	A24		
PAP	PAP-213	213-221	LYCESVHNF	A24	1/15 (7%)	1/5 (20%)
	PAP-248	248-257	GIHKQKEKSR	A3sup ^a		
PSA	PSA-248	248-257	HYRKWIKDTI	A24	0/15 (0%)	0/5 (0%)
PSMA	PSMA-624	624-632	TYSVSFDSL	A24	0/15 (0%)	0/5 (0%)
PTHrP	PTHrP-102	102-111	RYLTQETNKV	A24	10/10 (100%)	5/5 (100%)
SART2	SART2-93	93-101	DYSARWNEI	A24	8/10 (80%)	3/5 (60%)
	SART2-161	161-169	AYDFLYNYL	A24		
SART3	SART3-109	109-118	VYDYNCHVDL	A24, A3sup ^a , A26	10/10 (100%)	5/5 (100%)
	SART3-302	302-310	LLQAEAPRL	A2		
	SART3-309	309-317	RLAEYQAYI	A2		
	SART3-511	511-519	WLEYYNLER	A3sup ^a		
	SART3-734	734-742	QIRPIFSNR	A3sup ^a		
UBE2V	UBE-43	43-51	RLQEWCSVI	A2	9/10 (90%)	5/5 (100%)
	UBE-85	85-93	LIADFLSGL	A2		
WHSC2	WHSC2-103	103-111	ASLSDPWV	A2, A3sup ^a , A26	10/10 (100%)	5/5 (100%)
	WHSC2-141	141-149	ILGELREKV	A2		

^aA3sup, HLA-A3 supertype (A3, A11, A31, and A33)

^bペプチドが由来する蛋白質の発現の頻度[陽性検体/試験検体(パーセント)]は、ワクチンを接種していない aCRC 患者 (n=15) の原発腫瘍での免疫組織化学により決定した。

^cペプチドが由来する蛋白質の発現の頻度[陽性検体/試験検体(パーセント)]は、ワクチンを接種していない aCRC 患者 (n=5) の転移性肝臓腫瘍での免疫組織化学により決定した。

【0051】

臨床プロトコール

これはオープンラベル第 I I 相臨床試験であり、エンドポイントは、個人至適化ペプチドワクチン(以下、PPVと称す)の臨床的実用性および安全性を分析すること、ならびに aCRC 患者における PPV 後の生存期間(以下 OS と称す)予測に有用なバイオマーカーを同定することである。以前に実施された臨床試験において安全性および免疫学的効果が確認されている 31 種のワクチンペプチドを、ポリペプチド・ラボラトリー (Polypeptide Laboratories) (San Diego, CA) およびアメリカン・ペプチド社 (American Peptide Company) (Vista, CA) (表 1) により、グッド・マニファクチュアリング・プラクティス (Good Manufacturing Practice) (GMP) の条件下で調製した。既に報告されたとおり、個々の患者において各ペプチドに特異的な IgG の力価を測定し、ワクチン接種前に既存の宿主免疫を評価することにより、31 種のペプチドから 2-4 種のペプチドを選択した。PSA および PSMA を含む前立腺関連抗原の発現は aCRC 組織切片において検出できなかったため(表 1)、それらから得られた該ペプチドは、他のペプチドに対して既存の IgG 応答がなかった場合にのみ選択した。

【0052】

10

20

30

40

50

該選択されたペプチド(3 mg/各ペプチド)を、6週間連続して1週間に1回、不完全フロイントアジュバンド(Montanide ISA51; Seppic, Paris, France)と共に皮下投与した。第一サイクルとして6回のワクチン接種が終了した後は、ペプチド特異的なIgGの力価に従って4つまでの抗原ペプチドを再度選択し、2~4週毎に投与した。可能であれば、化学療法および/または分子標的療法をワクチン接種期間中に併用した。有害事象を、米国国立がん研究所の有害事象(NCI-CTCAE)共通用語規準第4.0版に従って追跡した。全血球計算値および血清生化学試験を、6回のワクチン接種の前後に行った。

【0053】

液性免疫応答の測定

ワクチンペプチドに特異的な液性免疫応答を検討するために、既に報告されたように、Luminex 200 system(Luminex, Austin, TX)を用いたビーズベースの多重アッセイを用いて、ペプチド特異的なIgG力価を測定した。ワクチン接種後の血漿中のペプチド特異的なIgG力価が、ワクチン接種前の血漿中のものより2倍以上高かった場合には、その変化は有意であると見なした。有意な増加が、少なくとも1つのワクチンペプチドにおいて観察された場合には、抗原特異的な液性免疫応答は増大したと見なした。

【0054】

免疫組織化学(IHC)

15種のワクチン抗原の発現を、ワクチン接種していないaCRC患者由来の20の腫瘍組織(15の原発性腫瘍および5つの転移性肝臓腫瘍)を用いてIHCにより検討した。パラフィン埋包組織サンプルから4 μm切片を作成して、被覆したスライドガラス上で解析した。ワクチン抗原に特異的な抗体を用いる免疫染色を、全自動Bond-Max system(Leica Microsystems, Newcastle, UK)で実施した。免疫染色における色原体としてDABを使用した。ワクチン抗原を検出するために使用した抗体は、既に記載されている。前立腺関連ワクチン抗原、即ちPSAおよびPSMAは、IHCにより検出できなかったため示さなかった。

【0055】

検査マーカーの測定

ワクチン接種前の血漿中のC反応性タンパク質(CRP)、血清アミロイドA(SAA)、およびIL-6のレベルを、R&D systems(Minneapolis, MN)、Invitrogen(Carlsbad, CA)およびeBioscience(San Diego, CA)由来のキットを用いて、ELISAにより測定した。Luminex 200 system(Luminex, Austin, TX)によるビーズベースの多重アッセイを用いて、サイトカイン、例えば、IL-4、IL-13、IL-21、IP-10(interferon gamma-induced protein 10)、BAFF(B-cell activating factor)、およびTGF-βを測定した。一人の患者からのワクチン接種前の血漿が、この分析には利用できなかった(n=59)。凍結した血漿サンプルを溶解し、希釈して、製造者の指示書に従って2連でアッセイを行った。2連のサンプルの平均を統計学的分析に使用した。

【0056】

IL-6、およびIL-6受容体(IL-6R)遺伝子多型

末梢血単核細胞(PBMC)を、ワクチン接種前に末梢血からFicoll-Paque Plus(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)密度遠心法により分離した。DNAを、QIAamp Blood kit(Qiagen, Hilden, Germany)を用いてPBMCから抽出して、分析まで-80℃で貯蔵した。抽出したDNAを用いて、IL-6 -634G>C(rs1800796)、IL-6R 48892A>C(rs8192284, Asp358Ala)遺伝子多型を調べた。遺伝子型判定は、Motoyama S, et al., Dig Surg. 2012;29: 194-201およびMotoyama S, et al., Ann Surg Oncol. 2013;20: 1978-1984に報告されたとおり、ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型方法を用いて行った。使用したオリゴヌクレオチドと制限酵素は以下のとおりである。

IL-6Rの遺伝子多型の検出に使用したオリゴヌクレオチドと制限酵素

CCT TTG AGG CTT TTG ACA G (配列番号36)

ACC CAT CTC ACC TCA GAA CAA (配列番号37)

制限酵素 Hind III

10

20

30

40

50

I L - 6 の遺伝子多型の検出に使用したオリゴヌクレオチドと制限酵素

GAG ACG CCT TGA AGT AAC TG (配列番号 3 8)

AAC CAA AGA TGT TCT GAA CTG A (配列番号 3 9)

制限酵素 Bsr BI

【 0 0 5 7 】

統計学的分析

OS 期間を、ペプチドワクチン接種または第一選択の化学療法の初日から死亡日までの期間と規定した。生存している患者では、連絡をとった最終日に打ち切りとした。OS についての予後因子を、コックス比例ハザード回帰モデルを用いる単変量および多変量解析により評価した。このコックス回帰を適用する際に、各バイオマーカーの分布が非常に歪んでいたため、 $\log(\text{バイオマーカー} + 1)$ の変換を用いた。単変量解析における統計学的に有意なバイオマーカー($P < 0.1$)を、多変量分析に含めた。スピアマンの順位相関係数を用いて、多変量分析に含める変数を選択した。全ての統計学的分析を、JMP version 10 または SAS version 9.3 software package (SAS Institute Inc., Cary, NC)を用いて行った。

【 0 0 5 8 】

結果

aCRC 組織中のワクチン抗原発現の免疫組織化学分析

PPV に用いるワクチン抗原の発現を、15 人のワクチン接種を受けていない aCRC 患者由来の 20 の腫瘍組織(15 の原発性腫瘍および 5 つの転移性肝臓腫瘍)において IHC により検討した。PPV に用いた 15 種のワクチン抗原のなかで、2 つの前立腺関連ワクチン抗原(PSA および PSMA)以外の 13 種のワクチン抗原が、aCRC 組織において検出できた。代表的な染色パターンを、図 1 に示した。それらのうち、11 種は大部分の癌細胞に様に発現したが、p561ck および PAP は局所的に発現していた。詳細な抗原発現の頻度を表 1 に示した。

【 0 0 5 9 】

患者の特徴

2009 年 1 月から 2012 年 11 月の期間、60 人の aCRC 患者をこの試験に登録した。登録患者の臨床病理的特徴を表 2 に要約する。年齢の中央値は 60 歳(35 ~ 83 歳)で、男性被験者 33 人および女性被験者 27 人であった。全ての患者(ステージ IV、 $n = 26$; 再発、 $n = 34$)は、化学療法および/または分子標的療法の少なくとも 1 つのレジメンに対して抵抗性であった。原発性腫瘍の位置は、右側の結腸($n = 14$)または左側の結腸/直腸($n = 46$)であった。全ての患者は、転移性腫瘍[肝臓($n = 33$)、肺($n = 31$)、腹膜播種($n = 23$)、またはリンパ節($n = 14$)]を有した。登録前に、化学療法、分子標的療法および/またはそれらの組合せの 1 つ($n = 17$)、2 つ($n = 15$)、3 つ($n = 9$)、4 つ($n = 13$)または 5 つ($n = 6$)のレジメンに抵抗性であった。PPV 治療開始前の治療期間の中央値は 552.5 日であり、9 ~ 1819 日の範囲にわたった。第一サイクル中にワクチン接種に使用したペプチドの数は、36 人の患者にて 4 つのペプチド、16 人の患者にて 3 つのペプチド、8 人の患者にて 2 つのペプチドであった。60 人の患者のうち、51 人(85%)は、第一サイクルの 6 回のワクチン接種を完了したが、残り 9 人の患者は、急速な疾患進行により完了しなかった。ワクチン接種回数の中央値は 12 であり、2 ~ 33 の範囲であった。PPV の期間に、49 人の患者(82%)は、化学療法および/または分子標的療法を、例えば FOLFFOX/XELOX とベバシズマブ($n = 10$)、FOLFIRI + ベバシズマブ($n = 5$)、FOLFIRI($n = 5$)、S-1($n = 5$)、イリノテンカン + セツキシマブ($n = 5$)、セツキシマブ($n = 5$)、FOLFFOX/XELOX($n = 2$)、FOLFIRI + セツキシマブ($n = 2$)、または他のレジメン($n = 10$)を併用した。残り 11 人の患者(18%)は、併用化学療法について選択肢をもたないか、またはそれらを耐容できなかった。

【 0 0 6 0 】

【表 2】

表2 患者プロフィール

因子	数値
年齢 (years)	中央値 (範囲) 60 (35 - 83)
性別	
男性	33
女性	27
ステージ	
IV	26
再発	34
原発腫瘍の場所	
右側結腸	14
左側結腸または直腸	46
転移性腫瘍の場所	
肝臓	33
肺	31
腹膜播種	23
リンパ節	14
過去に施された治療法の数	
1	17
2	15
3	9
4	13
5	6
過去の治療法の期間 (日)	中央値 (範囲) 552.5 (9 - 1819)
HLA type	
A2	19
A3	3
A11	16
A24	41
A26	10
A31	4
A33	11
ワクチン接種の数	中央値 (範囲) 12 (2 - 33)
総生存期間 (日)	中央値 (95% 信頼区間) 498 (223 - 654)

【0061】

有害事象

毒性を表3に示した。最も頻度が高い有害事象は、注射部位での皮膚反応(n = 55, 92%)、貧血(n = 27, 45%)、リンパ球減少症(n = 23, 38%)および低アルブミン血症(n = 20, 33%)であった。グレード4の貧血が、2人の患者において見られた。グレード3の重篤な有害事象(SAE)として、白血球減少症(n = 3)、リンパ球減少症(n = 2)、グルタミルトランスペプチダーゼ増加(n = 2)、低ナトリウム血症(n = 2)、腸閉塞(n = 2)、AST増加(n = 1)、高血糖(n = 1)、高コレステロール血症(n = 1)、および発疹(n = 1)を認めた。しかし、独立した安全性評価委員会では、これら全てのグレード3または4のSAEはワクチン接種とは直接関係せず、他の病因、例えば併用した化学療法および/または分子標的療法および癌の進行と関係すると評価された。

【0062】

40

50

【表 3】

表3 毒性

毒性タイプ	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4	合計 (%)
注射部位反応	25	30	0	0	55 (92%)
血液/骨髄					
白血球減少	8	3	3	0	14 (23%)
リンパ球減少	13	8	2	0	23 (38%)
貧血	19	6	0	2	27 (45%)
血小板減少症	8	0	0	0	8 (13%)
検査					
AST 増加	7	7	1	0	15 (25%)
ALT 増加	9	4	0	0	13 (22%)
Bilirubin 増加	2	3	0	0	5 (8%)
GGT 増加	7	4	2	0	13 (22%)
ALP 増加	10	3	0	0	13 (22%)
Amylase 増加	2	0	0	0	2 (3%)
Creatinine 増加	2	4	0	0	6 (10%)
低アルブミン血症	17	3	0	0	20 (33%)
高血糖症	3	1	1	0	5 (8%)
高コレステロール血症	10	0	1	0	11 (18%)
高カリウム血症	3	0	0	0	3 (5%)
低カリウム血症	2	0	0	0	2 (3%)
高ナトリウム血症	1	0	0	0	1 (2%)
低ナトリウム血症	2	0	2	0	4 (7%)
低カルシウム血症	1	0	0	0	1 (2%)
胃腸系障害					
吐き気/嘔吐	3	0	0	0	3 (5%)
腸閉塞	0	1	2	0	3 (5%)
腹部膨満	0	2	0	0	2 (3%)
腹痛	0	3	0	0	3 (5%)
肛門出血	0	1	0	0	1 (2%)
下痢	1	0	0	0	1 (2%)
結膜炎	0	1	0	0	1 (2%)
尿路狭窄/閉塞	0	2	0	0	2 (3%)
高血圧	0	4	0	0	4 (7%)
熱	3	0	0	0	3 (5%)
発疹	1	1	1	0	3 (5%)
四肢浮腫	2	2	0	0	4 (7%)

10

20

30

【0063】

ワクチンペプチドに対する免疫応答

ワクチン接種前およびワクチン接種後の血漿におけるワクチンペプチドに特異的な IgG 力価を測定し、液性応答反応を分析した。ワクチン接種後の血漿サンプルは、第一サイクル(6回のワクチン接種)および第二サイクル(12回のワクチン接種)各々の終了時に51人および35人の患者から採取した。少なくとも1つのワクチンペプチドに特異的な IgG 応答は、ワクチン接種の第一サイクル終了時には51人の患者の内24人(47%)で、第二サイクル終了時には35人の患者の内33人(94%)で増強された(表6-1~6)。

40

【0064】

臨床結果

60人の患者での最初のワクチン接種からのOS期間中央値(MST)は498日(95%信頼区間、233-654日数)で、1生存率53%および2年生存率22%であった(図2A)。第一選択の化学療法の初日から計算した場合、MSTは1179日(95%信頼区間、885-1272日数)で、1年生存率は97%、2年生存率は77%、3年生存率は53%、4年生存率は24%、5年生存率はであった(データ示さず)。注目すべきは、登録した60人の患者の中で、2つ以上の標準的な化学療法レジメンでの治療歴を有し、

50

かつ登録前にイリノテカン、オキサリプラチン、およびフルオロピリミジンの全てに対し抵抗性または非寛容であった32人の患者が、51%(図2B)の1年生存率で、最初のワクチン接種から375日のMST(95%信頼区間, 191-561日数)を示したことである。

【0065】

臨床的所見または検査値とOSとの相関

コックス比例ハザードモデルを使用して、ワクチン接種前の臨床的知見または検査値から、OSと有意に相関のある因子を同定した。表4に示したとおり、ワクチン接種前の臨床的所見を用いた単変量解析では、PPV治療前の化学療法レジメン数が、予後因子($P = 0.048$)である可能性があった。さらに、単変量解析ではワクチン接種前の血中のアルブミン、CEA、CRP、SAA、IL-6、IP-10、およびBAFFがOSと有意に相関した($P = 0.021$ 、 $P = 0.002$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、 $P = 0.005$ 、および $P = 0.005$ 、各々)。しかし、その他の因子は、OSとの有意な相関はなかった。

10

【0066】

多変量コックス回帰分析をさらに行い、単変量解析においてOSと有意に相関することが示された各因子の影響を評価した($P < 0.1$)。SAAおよびCRPのレベルがIL-6のレベルと高い相関を示したので、SAAおよびCRPをこの分析には含めなかった(SAA vs IL-6: スピアマンの順位相関係数 = 0.481; CRP vs IL-6: スピアマンの順位相関係数 = 0.651)。表4に示したとおり、ワクチン接種前の血漿中のより高いIL-6およびIP-10レベルならびにより低いBAFFレベルが、予後不良の予測因子として有意であった[1SDのユニットに対するハザード比(HR) = 1.503, 95%信頼区間(CI) = 1.008 - 2.241, $P = 0.045$; HR = 1.574, 95%CI = 1.060 - 2.338, $P = 0.025$; HR = 0.510, 95%CI = 0.330 - 0.788, $P = 0.002$; 各々]。しかし、他の因子は、有意に相関しなかった。

20

【0067】

【表 4】

表 4 ワクチン接種前の臨床的知見または検査値についての単変量解析および多変量解析

因子	単変量解析		多変量解析	
	危険率 (95% CI)	P value	危険率 (95% CI)	P value
年齢	1.002 (0.974 – 1.030)	0.889		
性別 (男性 vs 女性)	1.912 (0.953 – 3.836)	0.068	1.027 (0.454 – 2.325)	0.949
ステージ (ステージ IV vs 再発)	0.869 (0.442 – 1.710)	0.685		
過去に施された化学療法の数	1.276 (1.004 – 1.621)	0.046	1.271 (0.918 – 1.759)	0.149
リンパ球頻度 (%)	1.118 (0.829 – 1.508)	0.466		
ヘモグロビン (g/dl)	1.345 (1.008 – 1.796)	0.044		
アルブミン (g/dl)	1.581 (1.130 – 2.213)	0.008	0.817 (0.467 – 1.430)	0.480
クレアチニン (mg/dl)	1.364 (0.816 – 2.280)	0.237		
CEA (ng/dl)	1.795 (1.179 – 2.733)	0.006	1.412 (0.926 – 2.154)	0.109
CRP (ng/ml)	3.181 (1.787 – 5.665)	< 0.001		
SAA (ng/ml)	2.283 (1.492 – 3.495)	< 0.001		
IL-4 (pg/ml)	1.266 (0.902 – 1.775)	0.172		
IL-6 (pg/ml)	1.959 (1.382 – 2.777)	< 0.001	1.501 (1.003 – 2.245)	0.048
IL-13 (pg/ml)	1.225 (0.811 – 1.850)	0.335		
IL-21 (pg/ml)	1.187 (0.852 – 1.654)	0.311		
IP-10 (pg/ml)	1.421 (1.025 – 1.970)	0.035	1.577 (1.049 – 2.370)	0.029
BAFF (pg/ml)	1.565 (1.072 – 2.284)	0.020	0.512 (0.331 – 0.791)	0.003
TGF-β (pg/ml)	1.287 (0.889 – 1.863)	0.182		

略語: CI, 信頼区間; CEA, ガン胎児性抗原; CRP, C 反応性タンパク; SAA, 血清アミロイド A; IP-10, interferon gamma-induced protein 10; BAFF, B-cell activating factor

【 0 0 6 8 】

IL - 6 および IL - 6 R 遺伝子多型と OS との関係

PPVで治療した患者において炎症マーカーであるIL - 6が、予後因子である可能性があるため、我々は関連遺伝子であるIL - 6 - 634G > CおよびIL - 6 R 48892A > C (表5)の遺伝子多型を検討した(Motoyama S, et al., Dig Surg. 2012;29:194-201およびMotoyama S, et al., Ann Surg Oncol. 2013;20:1978-1984参照)。IL - 6 - 634G > Cの多形型とOS(各々P = 0.259およびP = 0.114)と間には有意な相関はなかった(P = 0.319)。しかし、IL - 6 R 48892A > Cの多形型は、OSに対して有意な相関を示した。図3Aに示したように、IL - 6 R 48892A / Cまたは48892C / C遺伝子型を有する患者は、IL - 6 R 48892A / A遺伝子型を有するものよりも良好な予後を示す傾向があった(P = 0.0583)。この遺伝子多型を、ワクチン接種前の血漿(図3B)中のIL - 6が陽性または陰性の患者においてさらに評価した。その結果、IL - 6 R 48892A / CまたはC / C遺伝子型を有する患者とIL - 6 R 48892A / A遺伝子型を有する患者との差異は、IL - 6陽性の患者では統計学的に有意ではなかった(P = 0.1184)が、IL - 6陰性の患者においては有意であった(P = 0.0252)。

【 0 0 6 9 】

10

20

30

40

【表 5】

表5 遺伝子多型

遺伝子多型	患者数 (%)
IL-6 -634G>C (rs1800796)	
G/G	3 (5%)
G/C	22 (37%)
C/C	35 (58%)
IL-6R 48892A>C (rs8192284, Asp358Ala)	
A/A	20 (33%)
A/C	30 (50%)
C/C	10 (17%)

10

【 0 0 7 0 】

結論

上記研究結果より、IL-6R 48892A>Cの遺伝子多型がペプチドワクチン投与後の生存期間に対して有意な効果を示した。すなわち、IL-6R 48892の遺伝子型A/CまたはC/Cを有する患者はIL-6R 48892A/Aを有する患者より予後が良い傾向にあり、特にワクチン投与前の患者血漿のIL-6が低濃度である患者では、その傾向が強かった。

また、上記研究は、PPVが重篤な副作用なしにワクチン抗原に対する免疫応答を惹起したこと、前治療歴を有するaCRC患者において、たとえがんが難治性ステージであるとしても、臨床的に有益である可能性を示した。さらに、統計学的解析により、ペプチドワクチン投与前の血漿において、低いIL-6と低いIP-10のレベルおよび高いBAFFのレベルがPPVのレスポンスを良くする可能性があることを示唆した。ワクチン投与前にこれらの因子を評価することは、aCRC患者においてペプチドワクチン療法の効果を期待できる患者を選択するのに有用である。

20

【 0 0 7 1 】

【表 6 - 1】

表 6. ワクチンに使用したペプチドに対する免疫反応

Patient No	Peptide	IgG response†		
		Pre-vaccination	After 1st cycle	After 2nd cycle
1	MRP3-503	3529	3356	4462
	SART2-161	3818	3784	3653
	SART3-109	4112	3776	8100
	SART3-734	2911	3998	5444
2	SART2-93	87	126	NA
	PSA-248	93	94	NA
	MRP3-503	224	308	NA
3	SART2-161	216	255	NA
	SART3-109	2614	243	NA
	PAP-213	247	0	NA
	SART2-161	2134	639	NA
4	PSMA-624	462	85	NA
	PAP-213	63	491	796
	EGF-R-800	66	77	807
	Lck-486	87	160	31805
5	Lck-488	24	5226	18200
	MRP3-1293	295	826	5023
	Lck-486	292	13556	17784
	SART3-734	3588	7478	20246
6	Lck-449	875	17481	22030
	<u>MRP3-503</u>	0	10258	18504
	PSA-248	17	15	1309
	MRP3-503	37	30	4731
	MRP3-1293	12	8	1289
	<u>SART2-93</u>	0	18	0
	<u>SART3-109</u>	0	32	1347
<u>PAP-213</u>	0	32	26297	
7	PSA-248	51	903	NA
	MRP3-503	40	168	NA
	MRP3-1293	38	59	NA
	Lck-486	32	91	NA
8	Lck-422	31	NA	NA
	ppMAPkkk-432	96	NA	NA
	HNRPL-501	27	NA	NA
9	SART3-734	16	0	NA
	Lck-449	17	0	NA
10	MRP3-503	39	18	12768
	Lck-486	11	13	14529
	<u>Lck-208</u>	0	95	25788
	<u>EGF-R-800</u>	0	87	0
	<u>EZH2-735</u>	0	42	1578
11	<u>PTHrP-102</u>	0	45	0
	SART3-511	168	NA	NA
	SART3-734	143	NA	NA

【表 6 - 2】

	Lck-90	151	NA	NA	
	Lck-449	160	NA	NA	
12	SART2-93	16	0	3705	
	Lck-208	14	0	0	
	EGF-R-800	19	0	0	
	MRP3-503	21	134	99184	
13	UBE2V-85	316	115	61	
	Lck-208	324	160	87	
	EGF-R-800	188	29	12	
	PTHrP-102	226	0	62	10
	<u>SART2-93</u>	0	103	56	
14	SART3-109	50	0	NA	
	SART3-511	47	93	NA	
	Lck-449	49	0	NA	
15	MRP3-503	20	91	254	
	SART2-161	23	32	36	
	<u>PSMA-624</u>	0	110	91	
	<u>PAP-213</u>	0	68	158	
	<u>PSA-248</u>	0	40	63	
16	Lck-422	13146	13263	NA	
	MRP3-503	12	27	NA	
	SART2-161	33	29	NA	20
	Lck-488	157	136	NA	
17	HNRPL-501	31	34	4855	
	UBE2V-43	259	305	188808	
	SART3-109	1376	1481	1381	
	SART3-511	246	233	181	
18	SART3-109	689	980	11485	
	SART3-511	174	492	0	
	Lck-422	18	0	0	
	<u>Lck-90</u>	0	19	21	
19	SART3-109	1761	1744	5836	
	Lck-208	49	0	0	
	SART2-161	18	27	26	30
	Lck-486	1460	1194	6195	
	<u>Lck-488</u>	0	44	413	
20	SART3-109	3505	7875	NA	
	SART3-511	184	153	NA	
	Lck-90	13	12	NA	
21	SART3-109	2738	4172	NA	
	SART2-161	30	25	NA	
	Lck-486	1803	1651	NA	
	SART3-511	1398	1463	NA	
22	SART3-109	1620	1369	16801	
	MRP3-503	90	68	1187	
	SART2-161	35	29	0	40
	Lck-486	620	795	1550	
23	CypB-129	16	0	0	
	Lck-422	109	0	0	

【表 6 - 3】

	ppMAPkkk-432	39	39	0	
	HNRPL-501	210	178	232	
24	SART3-109	3777	4351	60670	
	SART2-161	47	47	0	
	Lck-486	986	1044	137237	
	Lck-488	47	50	26997	
25	Lck-422	47	38	NA	
	HNRPL-501	130	0	NA	
	SART3-109	2085	48857	NA	
26	SART3-109	4809	4875	16759	
	Lck-486	850	1001	95149	10
	HNRPL-501	1163	1205	127363	
27	Lck-422	18	0	NA	
	ppMAPkkk-432	25	0	NA	
	HNRPL-501	47	133	NA	
	UBE2V-43	278	3142	NA	
28	SART2-93	153	194	291	
	MRP3-503	154	161	471	
	Lck-486	2226	2515	378139	
	Lck-488	214	276	37200	
	<u>SART3-109</u>	141	214	0	
29	SART3-109	74	NA	NA	
	ppMAPkkk-432	43	NA	NA	20
	HNRPL-501	14	NA	NA	
	WHSC2-103	15	NA	NA	
30	SART3-109	53	0	NA	
	PAP-213	32	37	NA	
	PSA-248	20	18	NA	
	Lck-486	773	3895	NA	
31	HNRPL-501	36	NA	NA	
	Lck-486	38	NA	NA	
	PSMA-624	12	NA	NA	
32	PAP-213	50	492	705	
	PSA-248	19	6380	12060	30
	Lck-486	14	323	13550	
	Lck-449	42	0	4986	
	<u>EGF-R-800</u>	0	37	1316	
33	CypB-129	60	63	NA	
	Lck-246	22	29	NA	
	UBE2V-43	23	0	NA	
	HNRPL-140	8643	13156	NA	
34	SART2-93	30	NA	NA	
	PAP-213	48	NA	NA	
	PSA-248	45	NA	NA	
	Lck-486	59	NA	NA	
35	CypB-129	129	104	202	40
	WHSC2-103	11	0	0	
	UBE2V-43	24	1568	8046	
	PAP-213	115	205	1693	

【表 6 - 4】

	<u>Lck-486</u>	0	15	348	
36	SART2-93	27	35	18	
	PAP-213	15	29	11793	
37	SART3-734	30	0	2936	
	PAP-248	15	13	322	
	Lck-422	11	0	0	
38	SART2-93	13	NA	NA	
	PAP-213	82	NA	NA	
	EGF-R-800	38	NA	NA	
	Lck-486	19	NA	NA	10
39	SART3-302	45	113	8146	
	SART2-93	24	0	28	
	Lck-486	226	215	137434	
	Lck-488	85	124	11223	
	<u>WHSC2-141</u>	40	34	11	
40	PSA-248	67	44	NA	
	EGF-R-800	30	27	NA	
	Lck-486	23	26	NA	
	EZH2-735	18	16	NA	
41	SART2-93	22	NA	NA	
	PAP-213	20	NA	NA	
	Lck-486	30	NA	NA	20
	PSMA-624	16	NA	NA	
42	ppMAPkkk-432	53	45	108	
	HNRPL-501	634	446	9295	
	WHSC2-141	35	0	0	
	Lck-486	17	25	97	
	<u>CypB-129</u>	13	13	20	
43	SART2-93	22	3707	NA	
	EGF-R-800	18	0	NA	
	Lck-486	23	165	NA	
	Lck-488	22	16	NA	
44	SART3-302	123	NA	NA	
	SART2-93	21	NA	NA	30
	PAP-213	34	NA	NA	
	Lck-486	43	NA	NA	
45	Lck-246	24	15	3176	
	HNRPL-501	157	241	1005	
	SART2-93	331	304	7708	
	Lck-486	21	26	5220	
46	SART2-93	44	52	5318	
	SART3-109	62	0	0	
	Lck-486	77	77	2885	
	EZH2-735	192	181	15366	
	<u>PSA-248</u>	21	37	3634	
47	SART2-93	46	37	19422	40
	Lck-208	5481	6223	21976	
	Lck-486	28	924	26660	
	Lck-488	42	35	11263	

【表 6 - 5】

48	SART3-511	19	17	474	
	SART3-734	23	0	356	
	Lck-90	20	30	9247	
	WHSC2-103	18	4103	3170	
49	SART2-93	47	41	NA	
	PAP-213	67	109	NA	
	Lck-486	62	49	NA	
	Lck-488	61	36	NA	
50	SART3-734	370	371	550	
	Lck-449	28	23	14874	10
	PAP-248	33	66	4131	
	WHSC2-103	621	575	542	
51	SART2-93	45	NA	NA	
	Lck-486	13	NA	NA	
	Lck-488	54	NA	NA	
	PAP-248	31	NA	NA	
52	SART3-109	17	18	365	
	SART3-734	54	52	7256	
	Lck-90	39	719	19176	
	PAP-248	18	119	18208	
53	WHSC2-103	31	128	1392	
	WHSC2-141	26	36	80	20
	SART3-302	501	19652	3214	
	SART3-109	7904	6643	19923	
54	SART3-302	385	9158	20572	
	SART3-109	203	300	19565	
	Lck-488	36	36	13709	
	PTHrP-102	40	2118	5562	
55	SART2-93	75	39	17186	
	Lck-486	33	26	20221	
	Lck-488	70	35	8663	
	PTHrP-102	66	66	304	
56	SART2-93	69	81	121	
	MRP3-1293	47	81	4107	30
	Lck-488	47	49	12403	
	PTHrP-102	108	505	4791	
57	SART3-109	17	19	6774	
	SART3-734	23	11	28	
	Lck-90	19	22	158	
	CypB-129	16	21	18441	
	HNRPL-501	0	13	88	
58	SART2-93	207	208	8115	
	PAP-213	178	656	16310	
	Lck-486	21	22	13409	
	Lck-488	36	37	5901	
59	WHSC2-141	41	322	NA	40
	HNRPL-140	40	46	NA	
	SART3-302	105	6071	NA	
	SART3-309	37	382	NA	

【表 6 - 6】

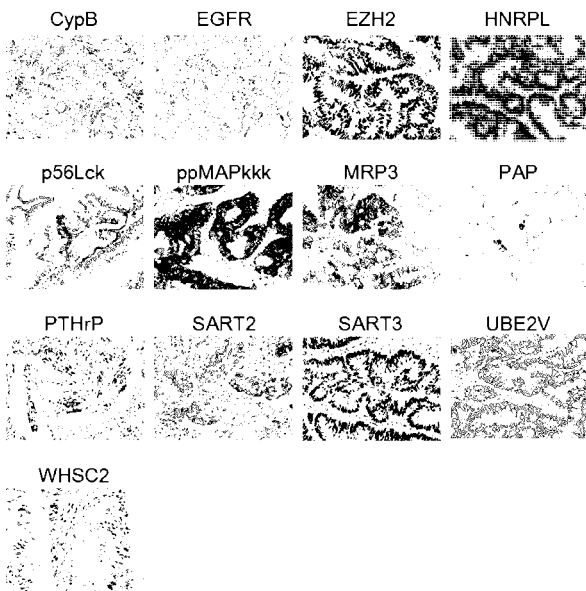
60	PAP-213	180	8179	15310
	EGF-R-800	253	349	274
	Lck-488	45	413	15390
	PTHrP-102	97	139	43150

略語: NA, 評価せず

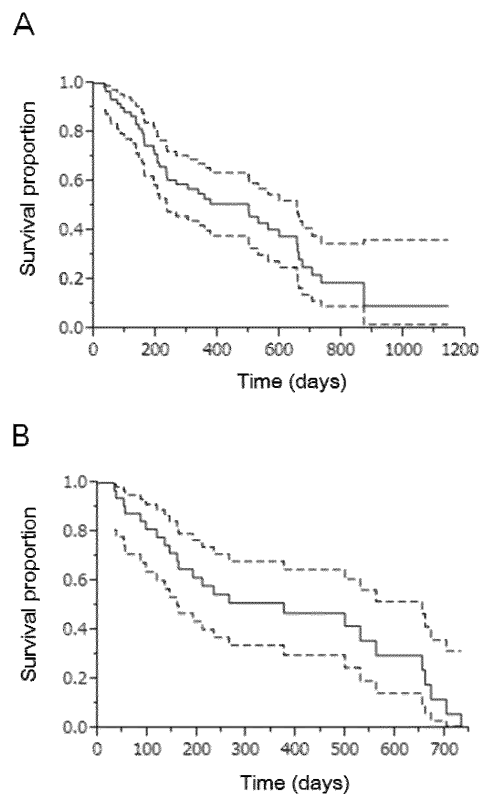
*第二サイクルのワクチン投与に使用したペプチドは下線を付した。

†値は第一サイクル、第二サイクルのワクチン投与の前と後における対応するペプチドへの血漿IgG反応の蛍光強度単位を示す。増加したIgG反応は太字で示される。

【図 1】

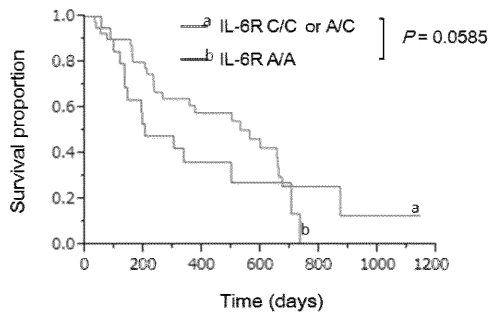


【図 2】

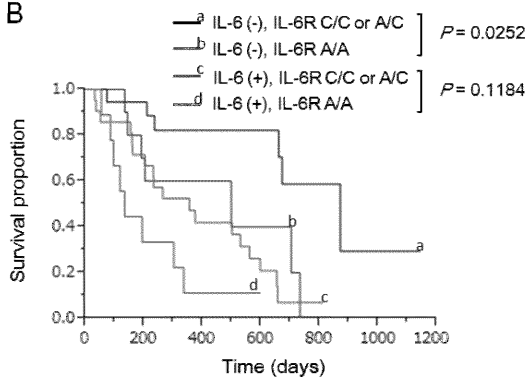


【 図 3 】

A



B



【 配 列 表 】

2015163462000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/062595

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12Q1/68(2006.01)i, A61K39/00(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i, C07K16/18(2006.01)n, C07K16/24(2006.01)n 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) C12Q1/68, A61K39/00, A61K39/395, A61P35/00, C12N15/09, G01N33/53, G01N33/574, C07K16/18, C07K16/24		
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 1996-2015 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Tetsuro SASADA, "Hyojun Chiryō Teikosei no Shinkosei Daichogan Kanja ni Taisuru Ko-Hito	5, 7-10, 16, 18-28
Y	IL-6 Receptor Kotai Heiyo Taylor Made Gan Peptide Vaccine Ryoho no Dai I So Rinsho Shiken", Advances in Cancer Treatment, 2014.03, vol.33, pages 34 to 41	1-28
X	WO 2012/002011 A1 (Kurume University), 05 January 2012 (05.01.2012),	5, 7, 8, 16, 18-20
Y	& US 2013/0157893 A1 & EP 2589665 A1	5, 7, 8, 16, 18-20
Y	Satoshi WADA et al., "Shuyo Shinsei Kekkan o Hyoteki to shita Gan Vaccine Ryoho ni Okeru Sayo Kijo no Kaiseki", Journal of Japan Surgical Society, 2005, vol.106, page 188, SF2209-5	5-10, 16-28
<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 13 July 2015 (13.07.15)		Date of mailing of the international search report 21 July 2015 (21.07.15)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/062595

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Toshiyuki HAMAOKA, "Gan Kanzen Kyozeitsu no Bunshi Kiko to Gan Men'eki Ryoho no Yochi Shihyo", Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2002, vol.201, no.3, pages 202 to 203	5-10,16-28
Y	JABLONSKA E. et al., Overexpression of B cell-activating factor (BAFF) in neutrophils of oral cavity cancer patients . preliminary study, Neoplasma, 2011, Vol.58, No.3, p.211-216	5-10,16-28
Y	WO 2014/034952 A1 (Kurume University), 06 March 2014 (06.03.2014), (Family: none)	1-4,6-15, 17-23,27,28
Y	WEI H. et al., Association of Polymorphisms in Oxidative Stress Genes with Clinical Outcomes for Bladder Cancer Treated with Bacillus Calmette-Guerin, PLoS ONE, 2012.06, Vol.7, No.6, e38533	1-4,6-15, 17-23,27, 28
Y	ITO N. et al., STAT3 Polymorphism Predicts Interferon-Alfa Response in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinom, JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 2007, Vol.25, No.19, p.2785-2791	1-4,6-15, 17-23,27, 28
Y	GALICIA J.C. et al., Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced, Genes and Immunity, 2004, Vol.5, p.513-516	1-4,6-15, 17-23,27, 28
P,X	Shiro KIBE et al., "Hyojun Chiryō Teikosei Daichogan eno Taylor Made Gan Peptide Vaccine Ryoho no Dai II So Rinsho Shiken", Journal of Japan Society of Coloproctology, 2014.09, vol. 67, no.9, page 748, O2-089	5,7,8,10, 16-21

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 5 / 0 6 2 5 9 5	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, A61K39/00(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i, C07K16/18(2006.01)n, C07K16/24(2006.01)n			
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. C12Q1/68, A61K39/00, A61K39/395, A61P35/00, C12N15/09, G01N33/53, G01N33/574, C07K16/18, C07K16/24			
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 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2015年 日本国実用新案登録公報 1996-2015年 日本国登録実用新案公報 1994-2015年			
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)			
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	笹田哲朗, 標準治療抵抗性の進行性大腸がん患者に対する抗ヒト IL-6 レセプター抗体併用テラーメイドがんペプチドワクチン療法 の第 I 相臨床試験, がん治療のあゆみ, 2014.03, Vol. 33, p. 34-41	5, 7-10, 16, 18-28	
-		-	
Y		1-28	
<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		の日の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 13.07.2015		国際調査報告の発送日 21.07.2015	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 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) 北村 悠美子 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	
		4N	4501

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 5 / 0 6 2 5 9 5
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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	WO 2012/002011 A1 (学校法人 久留米大学) 2012.01.05, & US 2013/0157893 A1 & EP 2589665 A1	5, 7, 8, 16, 18-20
-		-
Y		5, 7, 8, 16, 18-20
Y	和田聡 他, 腫瘍新生血管を標的としたがんワクチン療法における作用機序の解析, 日本外科学会雑誌, 2005, Vol.106, p.188, SF2209-5	5-10, 16-28
Y	濱岡利之, 癌完全拒絶の分子機構と癌免疫療法の予知指標, 医学のあゆみ, 2002, Vol.201, No.3, p.202-203	5-10, 16-28
Y	JABLONSKA E. et al., Overexpression of B cell-activating factor (BAFF) in neutrophils of oral cavity cancer patients . preliminary study, Neoplasma, 2011, Vol.58, No.3, p.211-216	5-10, 16-28
Y	WO 2014/034952 A1 (学校法人久留米大学) 2014.03.06, (ファミリーなし)	1-4, 6-15, 17-23, 27, 28
Y	WEI H. et al., Association of Polymorphisms in Oxidative Stress Genes with Clinical Outcomes for Bladder Cancer Treated with Bacillus Calmette-Guerin, PLoS ONE, 2012.06, Vol.7, No.6, e38533	1-4, 6-15, 17-23, 27, 28
Y	ITO N. et al., STAT3 Polymorphism Predicts Interferon-Alfa Response in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinom, JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, 2007, Vol.25, No.19, p.2785-2791	1-4, 6-15, 17-23, 27, 28
Y	GALICIA J.C. et al., Polymorphisms in the IL-6 receptor (IL-6R) gene: strong evidence that serum levels of soluble IL-6R are genetically influenced, Genes and Immunity, 2004, Vol.5, p.513-516	1-4, 6-15, 17-23, 27, 28
P, X	岐部史郎 他, 標準治療抵抗性大腸癌へのテーラーメイドがんペプチドワクチン療法の第II相臨床試験, 日本大腸肛門病学会雑誌, 2014.09, Vol.67, No.9, p.748, 02-089	5, 7, 8, 10, 16-21

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 37/04	
	C 1 2 N 15/00	A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72) 発明者 伊東 恭悟
福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内

(72) 発明者 本山 悟
秋田県秋田市本道一丁目 1 番 1 号 国立大学法人秋田大学医学部内

F ターム (参考) 4B063 QA07 QA19 QQ42 QR08 QR14 QR55 QR62 QS25 QS36 QX02
4C085 AA03 AA14 BB01 BB11 CC21 CC23 EE01 GG02 GG03 GG04
GG05 GG08

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) 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 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 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)	遗传多态性可用于预测癌症免疫疗法的治疗效果		
公开(公告)号	JPWO2015163462A1	公开(公告)日	2017-04-20
申请号	JP2016515232	申请日	2015-04-24
[标]申请(专利权)人(译)	久留米大学 国立大学法人秋田大学		
申请(专利权)人(译)	学校法人 久留米大学 国立大学法人秋田大学		
[标]发明人	笹田哲朗 伊東恭悟 本山悟		
发明人	笹田 哲朗 伊東 恭悟 本山 悟		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/574 G01N33/53 A61K39/00 A61K39/395 A61P1/00 A61P35/00 A61P37/04 C12N15/09		
CPC分类号	A61K39/00 A61K39/395 C07K16/18 C07K16/24 C12N15/09 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/574		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A G01N33/574.A G01N33/53.P G01N33/53.N A61K39/00.H A61K39/395.T A61K39/395.U A61P1/00 A61P35/00 A61P37/04 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B063/QA07 4B063/QA19 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR14 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS36 4B063/QX02 4C085/AA03 4C085/AA14 4C085/BB01 4C085/BB11 4C085/CC21 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG08		
代理人(译)	山田卓司		
优先权	2014091677 2014-04-25 JP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
 提供了用于预测癌症免疫疗法的治疗效果的组合物或试剂盒，其包含能够检测IL-6受体基因 (IL-6R基因) 的基因多态性的多核苷酸。还提供了预测癌症免疫疗法的治疗效果的方法，其包括检测IL-6R基因中的基因多态性。

(19) 日本国特許庁 (JP)	再公表特許(A1)	(11) 国際公開番号 WO2015/163462
発行日 平成29年4月20日 (2017. 4. 20)	(43) 国際公開日 平成27年10月29日 (2015. 10. 29)	
(51) Int. Cl.	FI	ターマコード (参考)
C12Q 1/68 (2006.01)	C12Q 1/68 ZNAA	4B063
GO1N 33/574 (2006.01)	GO1N 33/574 A	4C085
GO1N 33/53 (2006.01)	GO1N 33/53 P	
A61K 39/00 (2006.01)	GO1N 33/53 N	
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/00 H	
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁) 最終頁に続く	
出願番号 特願2016-515232 (P2016-515232)	(71) 出願人 599045903	
(21) 国際出願番号 PCT/JP2015/062595	学校法人 久留米大学	
(22) 国際公開日 平成27年4月24日 (2015. 4. 24)	福岡県久留米市旭町6-7番地	
(31) 優先権主張番号 特願2014-91677 (P2014-91677)	(71) 出願人 504409543	
(32) 優先日 平成26年4月25日 (2014. 4. 25)	国立大学法人秋田大学	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	秋田県秋田市手形学園町1番1号	
	(74) 代理人 100101454	
	弁護士 山田 卓二	
	(74) 代理人 100062144	
	弁護士 青山 篠	
	(74) 代理人 100106518	
	弁護士 松谷 道子	
	(72) 発明者 笹田 哲朗	
	伊東 恭悟	
	菅田 真樹	
	神奈川県横浜市旭区中尾2-3-2 神奈川がんセンター臨床研究所内	
	最終頁に続く	
(54) 【発明の名称】 がん免疫療法の治療効果予測に有用な遺伝子多型		