

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

WO2005/014819

発行日 平成18年10月5日(2006.10.5)

(43) 国際公開日 平成17年2月17日(2005.2.17)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 ZNAA	4B024
C07K 14/82 (2006.01)	C07K 14/82	4B065
C07K 16/30 (2006.01)	C07K 16/30	4C084
C12N 5/06 (2006.01)	C12N 5/00 E	4C085
A61K 39/00 (2006.01)	A61K 39/00 H	4C086
審査請求 未請求 予備審査請求 有		(全 44 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2005-513040 (P2005-513040)	(71) 出願人	801000050 財団法人くまもとテクノ産業財団 熊本県上益城郡益城町大字田原2081番 地10
(21) 国際出願番号	PCT/JP2004/011736	(74) 代理人	110000109 特許業務法人特許事務所サイクス
(22) 国際出願日	平成16年8月10日(2004.8.10)	(72) 発明者	中面 哲也 熊本県菊池郡合志町豊岡2527-464
(31) 優先権主張番号	特願2003-291073 (P2003-291073)	(72) 発明者	吉武 義泰 熊本県熊本市水道町13-10-1103
(32) 優先日	平成15年8月11日(2003.8.11)	(72) 発明者	中村 祐輔 神奈川県横浜市青葉区あざみ野1-17- 33
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(72) 発明者	西村 泰治 熊本県熊本市長嶺西2丁目9-52 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 食道癌の抗原およびその利用

(57) 【要約】

本発明の目的は、食道癌をはじめとする各種癌や腫瘍の診断・治療に応用することができるヒト食道癌抗原や、それをコードする遺伝子、それを用いた抗癌ワクチン等を提供することである。本発明によれば、配列番号1に示されるアミノ酸配列からなる蛋白質からなる抗原；上記の蛋白質の一部からなり、かつ免疫誘導活性を有するペプチド；該ペプチドを含む抗癌ワクチン；配列番号2に示される塩基配列又はその相補的配列並びにこれらの配列の一部または全部を含むDNA、該DNAを含む抗癌ワクチンが提供される。また、本発明の抗原蛋白は食道癌の悪性度に関係している可能性があり、その発現を抑制するRNAi（例えば、5'-GAACAGCACUCCUGGAUC-3'など（配列番号17））は、本発明の抗原蛋白を高発現している食道癌などの治療に使うことができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記 (A) 又は (B) の何れかの蛋白質。

(A) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質。

(B) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠損、挿入及び／又は付加を含むアミノ酸配列を有し、かつ免疫誘導活性を有する蛋白質。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の蛋白質の一部からなり、かつ免疫誘導活性を有するペプチド。

【請求項 3】

癌抗原蛋白質を認識する細胞傷害性 T 細胞を活性化しうる、請求項 2 に記載のペプチド。 10

【請求項 4】

下記 (1) ~ (10) の何れかに記載のアミノ酸配列からなる請求項 2 又は 3 に記載のペプチド。

Leu-Tyr-Pro-Pro-Pro-Pro-His-Thr-Leu (1)

Gly-Tyr-Ser-Val-Pro-Pro-Pro-Gly-Phe (2)

Ala-Tyr-Tyr-Gly-Arg-Ser-Val-Asp-Phe (3)

Glu-Phe-Tyr-Arg-Glu-Gln-Arg-Arg-Leu (4)

Arg-Tyr-Arg-Glu-Val-Pro-Pro-Pro-Tyr (5) 20

Gly-Tyr-Thr-Lys-Leu-Arg-Lys-Gln-Leu (6)

Gly-Tyr-Leu-Val-Ser-Pro-Pro-Gln-Gln-Ile (7)

Lys-Phe-Leu-Arg-Gln-Ala-Val-Asn-Asn-Phe (8)

Val-Phe-Val-Pro-Val-Pro-Pro-Pro-Pro-Leu (9)

Glu-Phe-Thr-Asn-Asp-Phe-Ala-Lys-Glu-Leu (10)

【請求項 5】 30

請求項 1 に記載の蛋白質をコードする哺乳動物の DNA。

【請求項 6】

哺乳動物がヒトまたはマウスであることを特徴とする請求項 5 記載の DNA。

【請求項 7】

下記 (a)、(b) 又は (c) の何れかの DNA。

(a) 配列番号 2 に記載の塩基配列を有する DNA。

(b) 配列番号 2 に記載の塩基配列を有する DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質をコードする DNA。

(c) 上記 (a) 又は (b) の DNA の部分配列を有し、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質をコードする DNA。 40

【請求項 8】

請求項 1 記載の蛋白質又は請求項 2 から 4 の何れかに記載のペプチドに対する抗体。

【請求項 9】

請求項 1 記載の蛋白質又は請求項 2 から 4 の何れかに記載のペプチドを用いてインビトロ刺激により誘導された細胞傷害性 T 細胞。

【請求項 10】

請求項 1 記載の蛋白質又は請求項 2 から 4 の何れかに記載のペプチドを含む癌ワクチン。

【請求項 11】

アジュバントをさらに含む請求項 10 に記載の癌ワクチン。

【請求項 12】 50

請求項 5～7 に記載の DNA、又は該 DNA を含む組換えウイルス若しくは組換え細菌を含む、癌ワクチン。

【請求項 13】

アジュバントをさらに含む請求項 12 に記載の癌ワクチン。

【請求項 14】

請求項 5 から 7 の何れかに記載の DNA を含む、癌診断用プローブ。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の癌診断用プローブ及び／又は請求項 8 に記載の抗体を含む、癌診断薬。

【請求項 16】

請求項 1 に記載の蛋白質、請求項 2 から 4 の何れかに記載のペプチド、請求項 8 に記載の抗体、及び／又は請求項 9 に記載の細胞傷害性 T 細胞を含む癌の予防・治療薬。

10

【請求項 17】

癌が食道癌、脳腫瘍、悪性黒色腫、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、リンパ腫、頭頸部癌、腎臓癌、前立腺癌、肺癌、甲状腺癌、乳癌、胃癌、大腸癌、膵癌、胆道癌、肝癌、胆嚢癌、精巣癌、子宮癌、卵巣癌、又は肉腫である、請求項 14 から 16 の何れかに記載のプローブ又は薬剤。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の蛋白質の発現を RNA i 現象により抑制できる核酸。

【請求項 19】

siRNA、shRNA 又はそれらの発現ベクターである、請求項 18 に記載の核酸。

20

【請求項 20】

配列番号 17 に記載の配列を有する RNA 又はそれを発現できる発現ベクター。

【請求項 21】

請求項 18 又は 19 に記載の核酸、又は請求項 20 に記載の RNA 又はそれを発現できる発現ベクターを含む、抗腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

本発明は、食道癌を含む各種癌の診断や免疫療法などに有用な新規なヒト食道癌抗原、及びその利用等に関する。より詳細には、本発明は、ヒト癌に特異的な蛋白質、その部分ペプチド、それらをコードする DNA、上記蛋白質をエピトープとする抗体、キラー T 細胞、癌ワクチン、癌診断用プローブ、癌診断薬および癌の予防・治療薬に関する。

30

【背景技術】

現在、死亡原因の第一位となっている癌においては、その発生機序、診断法、治療法が進歩したにもかかわらず、未だに多くの進行癌を治療できないのが現状である。これを改善するためには、新しい早期診断法と治療法の開発が必要とされている。

癌の治療法として免疫療法は古くから期待され、様々な試みがなされてきたが、まだ十分な抗腫瘍効果を示すには至っていない。特に食道癌においては、治療法として、主に放射線療法と外科療法が行なわれているが、その位置的な理由から患者への負担の大きさは、計り知れないところがある。従ってできるだけ副作用や侵襲が少ない治療法の確立が望まれている。従来、癌の免疫療法は非特異的免疫療法を中心として行われてきたが、近年、T 細胞が生体内での腫瘍拒絶に重要な役割を果たすことが明らかになり、細胞傷害性 T 細胞 (CTL: Cytotoxic T Lymphocyte) を誘導しうる T 細胞認識腫瘍抗原の単離と MHC クラス I 拘束性エピトープの決定に努力がそそがれている。

40

従来、多くの腫瘍抗原の単離として CTL を用いた cDNA 発現クローニング法で行われてきたが、腫瘍の細胞株化と CTL の樹立が必要であることから、メラノーマ以外の癌腫からの腫瘍抗原の単離は困難とされていた。

【発明の開示】

本発明の目的は、各種癌や腫瘍の診断・治療に応用することができるヒト食道癌抗原、それをコードする遺伝子、それを用いた抗癌ワクチン、抗体、上記抗原に特異的に反応す

50

るCTL（細胞傷害性T細胞）等を提供することである。本発明の第二の目的は、本発明はまた、上記抗原または細胞傷害性T細胞を用いた有効な抗原特異性免疫療法を提供することである。

本発明者らは上記課題を解決するために鋭意検討した結果、cDNAマイクロアレイ法を用いて、免疫治療法の効果が優れた蛋白質、並びに該蛋白質を構成する多くのペプチドからなる抗原を単離することに成功し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明によれば、下記（A）又は（B）の何れかの蛋白質が提供される。

（A）配列番号1に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質。

（B）配列番号1に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠損、挿入及び／又は付加を含むアミノ酸配列を有し、かつ免疫誘導活性を有する蛋白質。 10

本発明の別の側面によれば、上記の本発明の蛋白質の一部からなり、かつ免疫誘導活性を有するペプチドが提供される。本発明のペプチドは、好ましくは、癌抗原蛋白質を認識する細胞傷害性T細胞を活性化しうるペプチドである。

本発明のさらに別の側面によれば、下記（1）～（10）の何れかに記載のアミノ酸配列からなるペプチドが提供される。

Leu-Tyr-Pro-Pro-Pro-Pro-His-Thr-Leu (1)

Gly-Tyr-Ser-Val-Pro-Pro-Pro-Gly-Phe (2)

Ala-Tyr-Tyr-Gly-Arg-Ser-Val-Asp-Phe (3)

Glu-Phe-Tyr-Arg-Glu-Gln-Arg-Arg-Leu (4)

Arg-Tyr-Arg-Glu-Val-Pro-Pro-Pro-Tyr (5)

Gly-Tyr-Thr-Lys-Leu-Arg-Lys-Gln-Leu (6)

Gly-Tyr-Leu-Val-Ser-Pro-Pro-Gln-Gln-Ile (7)

Lys-Phe-Leu-Arg-Gln-Ala-Val-Asn-Asn-Phe (8)

Val-Phe-Val-Pro-Val-Pro-Pro-Pro-Pro-Leu (9)

Glu-Phe-Thr-Asn-Asp-Phe-Ala-Lys-Glu-Leu (10) 30

本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の蛋白質をコードする哺乳動物のDNAが提供される。好ましくは、哺乳動物はヒトまたはマウスである。

本発明のさらに別の側面によれば、下記（a）、（b）又は（c）の何れかのDNAが提供される。

（a）配列番号2に記載の塩基配列を有するDNA。

（b）配列番号2に記載の塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質をコードするDNA。

（c）上記（a）又は（b）のDNAの部分配列を有し、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質をコードするDNA。 40

本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の蛋白質又はペプチドに対する抗体が提供される。本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の蛋白質又はペプチドを用いてインビトロ刺激により誘導された細胞傷害性T細胞が提供される。本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の蛋白質又はペプチドを含む癌ワクチンが提供される。本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明のDNA、又は該DNAを含む組換えウイルス若しくは組換え細菌を含む、癌ワクチンが提供される。本発明の癌ワクチンは、好ましくはアジュバントをさらに含む。

本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明のDNAを含む、癌診断用プローブが提供される。本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の癌診断用プローブ及び／又は抗体を含む、癌診断薬が提供される。本発明のさらに別の側面によれば、上記し 50

た本発明の蛋白質、ペプチド、抗体、及び／又は細胞傷害性T細胞を含む癌の予防・治療薬が提供される。好ましくは、癌は食道癌、脳腫瘍、悪性黒色腫、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、リンパ腫、頭頸部癌、腎臓癌、前立腺癌、肺癌、甲状腺癌、乳癌、胃癌、大腸癌、膵癌、胆道癌、肝癌、胆嚢癌、精巣癌、子宮癌、卵巣癌、又は肉腫である。

本発明のさらに別の側面によれば、上記した本発明の蛋白質の発現をRNA i現象により抑制できる核酸が提供される。好ましくは、上記核酸は、siRNA、shRNA又はそれらの発現ベクターである。その具体例としては、配列番号17に記載の配列を有するRNA又はそれを発現できる発現ベクターが提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、上記した核酸、又はRNA又はそれを発現できる発現ベクターを含む、抗腫瘍剤が提供される。

10

【図面の簡単な説明】

図1は食道癌患者26例の癌部と非癌部の発現量のPP-RP発現の相対比を示したグラフである。

図2は、正常臓器におけるPP-RPの発現量を1としたときの他の臓器に発現する量の相対値を示したグラフである。図2のAは、食道癌患者26人の癌部・非癌部におけるPP-RP遺伝子の発現の相対比を示す。図2のBは、多様な正常臓器におけるPP-RP遺伝子の発現を示す。

図3は12の正常細胞と食道癌細胞株におけるノーザンブロット分析の結果を示す。

図4は、各種癌細胞株におけるPP-RP mRNAの発現をRT-PCRで解析した結果を示す。

20

図5は、goat polyclonal anti-RBQ-1 (Santa Cruz)を用いて正常と食道癌組織の免疫染色を行った結果を示す。

図6は、NIH3T3細胞株にPP-RPを遺伝子導入した細胞の変化を観察した結果を示す。NIH3T3細胞株にPP-RPを遺伝子導入すると、細胞のpile up像が観察される。

図7は、NIH3T3細胞株にPP-RPを遺伝子導入した細胞をヌードマウスに注入した2週間後のマウスの、注入部の状態を示す。3頭のマウスに 10^6 細胞を注入した。NIH3T3細胞株にPP-RPを遺伝子導入した細胞は、ヌードマウスでマスを形成した。

図8はPP-RP蛋白由来のペプチドワクチン10種類の混合物で誘導して得られたCTL株の各ペプチドに対する ^51Cr リリースアッセイ結果を示すグラフである。PP-RP蛋白由来のペプチドワクチン10種類の混合物で誘導して得られたCTLは、ペプチド7を特異的に認識する。

30

図9はPP-RPペプチド2で誘導して得られたCTL株の、C1R-A2402癌細胞株に対する細胞傷害活性を ^51Cr リリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。PP-RP由来p420-428GYSVPPPGFペプチドで誘導した食道癌患者のCTLは、ペプチド特異的に癌細胞株を傷害できる。

図10はPP-RPペプチド2で誘導して得られたCTL株の、TE9およびTE11に対する細胞傷害活性を、 ^51Cr リリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。PP-RP由来p420-428GYSVPPPGFペプチドで誘導した食道癌患者のCTLは、PP-RP抗原特異的に癌細胞株を傷害する。

40

図11はPP-RPペプチド3で誘導して得られたCTL株の、C1R-A2402癌細胞株に対する細胞傷害活性を ^51Cr リリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。PP-RP由来p634-642AYYGRSVDVDFペプチドで誘導した食道癌患者のCTLは、ペプチド特異的に癌細胞株を傷害できる。

図12はPP-RPペプチド3で誘導して得られたCTL株の、TE9およびTE11に対する細胞傷害活性を、 ^51Cr リリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。PP-RP由来p634-642AYYGRSVDVDFペプチドで誘導した食道癌患者のCTLは、PP-RP抗原特異的に癌細胞株を傷害する。

図13AはPP-RPペプチド3で誘導して得られたCTL株の、C1R-A2402

50

、およびSK-Hep1癌細胞株に対する細胞傷害活性を⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。図13BはPP-RPペプチド3で誘導して得られたCTL株の、TE13に対する細胞傷害活性を、⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。図13CはPP-RPペプチド3で誘導して得られたCTL株の、TE9、TE11、TE13およびSK-Hep1に対する細胞傷害活性を、⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。

TE11:HLA-A24、PP-RPの発現++

TE13:HLA-A24、PP-RPの発現++

TE9:HLA-A33、PP-RPの発現++

SK-Hep1:HLA-A24、PP-RPの発現-

10

PP-RP由来p634-642AYYGRSVDVペプチドで誘導した食道癌患者のCTLはペプチドを特異的に認識し、HLA-A24拘束性にPP-RPを発現している癌細胞株を傷害する。

図14AはPP-RPペプチド9で誘導して得られたCTL株の、C1R-A2402、およびSK-Hep1癌細胞株に対する細胞傷害活性を⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。図14BはPP-RPペプチド9で誘導して得られたCTL株の、TE13に対する細胞傷害活性を、⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。図14CはPP-RPペプチド9で誘導して得られたCTL株の、TE9、TE11、TE13およびSK-Hep1に対する細胞傷害活性を、⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。

20

TE11:HLA-A24、PP-RPの発現++

TE13:HLA-A24、PP-RPの発現++

TE9:HLA-A33、PP-RPの発現++

SK-Hep1:HLA-A24、PP-RPの発現-

PP-RP由来p379-388VFPVPPPLペプチドで誘導した食道癌患者のCTLはペプチドを特異的に認識し、HLA-A24拘束性にPP-RPを発現している癌細胞株を傷害する。

図15AはPP-RPペプチド10で誘導して得られたCTL株の、C1R-A2402、およびSK-Hep1癌細胞株に対する細胞傷害活性を⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。図15BはPP-RPペプチド10で誘導して得られたCTL株の、TE13に対する細胞傷害活性を、⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。図15CはPP-RPペプチド10で誘導して得られたCTL株の、TE9、TE11、TE13およびSK-Hep1に対する細胞傷害活性を、⁵¹Crリリースアッセイにより測定した結果を示すグラフである。

30

TE11:HLA-A24、PP-RPの発現++

TE13:HLA-A24、PP-RPの発現++

TE9:HLA-A33、PP-RPの発現++

SK-Hep1:HLA-A24、PP-RPの発現-

PP-RP由来p484-493EFTNDFAKELペプチドで誘導した食道癌患者のCTLはペプチドを特異的に認識し、HLA-A24拘束性にPP-RPを発現している癌細胞株を傷害する。

40

図16は、PP-RPを高発現している食道癌細胞株TE13においてRNAiによりPP-RPをノックダウンした場合の細胞の増殖速度を測定した結果を示す。

図17は、PP-RPが予後予測因子になることを示す生存曲線である。

【発明を実施するための最良の形態】

以下、本発明の実施の形態について詳しく説明する。

(1) 本発明の蛋白質及びペプチド

本発明の食道癌から採取された蛋白質は、下記(A)又は(B)の何れかの蛋白質である。

(A) 配列番号1に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質(以下「PP-RP」とも言う)

50

。(B) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入及び／又は付加を含むアミノ酸配列を有し、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質

。本明細書で言う免疫誘導活性を有する蛋白質とは、抗体産生、細胞性免疫等の免疫反応を誘導する活性を有する蛋白質を言うが、なかでも、細胞傷害性 T 細胞（キラー T 細胞／CTL）を刺激する T 細胞誘導活性を有する蛋白質が特に好ましい。

PP-RP (proliferation potential related protein) は、1616 アミノ酸残基の蛋白質（遺伝子の塩基数 5376 bp）で、RBBP6 (retinoblastoma binding protein 6) と呼ばれる 5926 bp で 1792 アミノ酸残基の分割変異体 a である。この PP-RP は Rb 蛋白質に直接結合し、更に DNA とも結合できるドメインを持つ核蛋白質である。

この蛋白質はノーザンブロット法によりヒト正常臓器において、胎盤と精巣以外ではほとんど発現が認められなかった。この PP-RP 遺伝子を NIH/3T3 細胞に発現させると形質変換した。また、この細胞をヌードマウスに移植すると生着して腫瘍を形成することより癌化と関連している可能性がある。

本発明の食道癌抗原である PP-RP は、例えば、食道癌患者から採取した癌細胞から本明細書の下記実施例のような cDNA マイクロアレイ解析により検出することができる

。このヒト蛋白質 PP-RP とアミノ酸配列が類似の蛋白質がマウスにも存在する。この蛋白質は P2P-R と名付けた。この P2P-R は p53 と Rb 蛋白質と結合する核蛋白質で、M 期に発現量が増加する。

本発明における cDNA マイクロアレイ法とは、公知のごとく、例えば癌患者から摘出された組織から、癌部と非癌部とに分けて mRNA を調製し、それから蛍光標識した cDNA を作成し、できた cDNA を全遺伝子の約 50% 以上、好ましくは 60% 以上、特に好ましくは約 70% 以上の遺伝子がスポットしてあるスライドガラスにのせ、ハイブリダイズさせ、スキャナーでシグナルを取込み、遺伝子発現を解析する方法である。

上記した「配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入及び／又は付加を含むアミノ酸配列」における「1 若しくは数個」の範囲は特には限定されないが、例えば、1 から 20 個、好ましくは 1 から 10 個、より好ましくは 1 から 7 個、更に好ましくは 1 から 5 個、特に好ましくは 1 から 3 個を意味する。

本発明の蛋白質の入手・製造方法は特に限定されず、天然由来の蛋白質でも、化学合成した蛋白質でも、遺伝子組み換え技術により作成した組み換え蛋白質の何れでもよい。比較的容易な操作でかつ大量に製造できるという点では、組み換え蛋白質が好ましい。

天然由来の蛋白質を入手する場合には、該蛋白質を発現している細胞又は組織から蛋白質の単離・精製方法を適宜組み合わせることで単離することができる。化学合成蛋白質を入手する場合には、例えば、Fmoc 法（フルオレニルメチルオキシカルボニル法）、tBoc 法（tert-ブチルオキシカルボニル法）等の化学合成法に従って本発明の蛋白質を合成することができる。また、各種の市販のペプチド合成機を利用して本発明の蛋白質を合成することもできる。

本発明の蛋白質を組み替え蛋白質として産生するには、該蛋白質をコードする塩基配列（例えば、配列番号 2 に記載の塩基配列）を有する DNA 又はその変異体又は相同体を入手し、これを好適な発現系に導入することにより本発明の蛋白質を製造することができる

。発現ベクターとしては、好ましくは宿主細胞において自立複製可能であるか、あるいは宿主細胞の染色体中へ組み込み可能であるものであればよく、本発明の遺伝子を発現できる位置にプロモーターを含有しているものが使用される。また、本発明の蛋白質をコードする遺伝子を有する形質転換体は、上記の発現ベクターを宿主に導入することにより作製することができる。宿主は、細菌、酵母、動物細胞、昆虫細胞のいずれでもよく、また宿主への発現ベクターの導入は、各宿主に応じた公知の手法により行えばよい。

本発明においては、上記のようにして作製した本発明の遺伝子を有する形質転換体を培養し、培養物中に本発明の蛋白質を生成蓄積させ、該培養物より本発明の蛋白質を採取することにより組み換え蛋白質を単離することができる。

本発明の形質転換体が大腸菌等の原核生物、酵母菌等の真核生物である場合、これら微生物を培養する培地は、該微生物が資化する炭素原、窒素源、無機塩類等を含み、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれでもよい。また培養条件も該微生物を培養するのに通常用いられる条件で行なえばよい。培養後、本発明の蛋白質を単離精製するには、通常の蛋白質の単離、精製法を用いればよい。

なお、配列番号1に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠損、挿入及び／又は付加を含むアミノ酸配列を有する蛋白質は、配列番号1に記載のアミノ酸配列をコードするDNA配列の1例を示す配列番号2に記載の塩基配列の情報に基づいて当業者であれば適宜製造または入手することができる。

即ち、配列番号1に記載のアミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠損、挿入及び／又は付加を含むアミノ酸配列を有する蛋白質をコードする塩基配列を有する遺伝子(変異遺伝子)は、化学合成、遺伝子工学的的手法又は突然変異誘発などの当業者に既知の任意の方法で作製することもできる。具体的には、配列番号2に記載の塩基配列を有するDNAを利用し、これらDNAに変異を導入することにより変異DNAを取得することができる。

例えば、配列番号2に記載の塩基配列を有するDNAに対し、変異原となる薬剤と接触作用させる方法、紫外線を照射する方法、遺伝子工学的的手法を用いて行なうことができる。遺伝子工学的的手法の一つである部位特異的変異誘発法は特定の位置に特定の変異を導入できる手法であることから有用であり、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY., 1989 (以下、モレキュラークローニング第2版と略す)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997) (以下、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジーと略す)等に記載の方法に準じて行なうことができる。

本発明は更に、上記した本発明の蛋白質の一部からなり、かつ免疫誘導活性を有するペプチドにも関する。本発明のペプチドは、癌抗原蛋白質を認識する細胞傷害性T細胞を活性化しうるものが好ましい。このようなペプチドの具体例としては、下記の何れかのアミノ酸配列を有するものが挙げられる。

Leu-Tyr-Pro-Pro-Pro-His-Thr-Leu (1)

Gly-Tyr-Ser-Val-Pro-Pro-Pro-Gly-Phe (2)

Ala-Tyr-Tyr-Gly-Arg-Ser-Val-Asp-Phe (3)

Glu-Phe-Tyr-Arg-Glu-Gln-Arg-Arg-Leu (4)

Arg-Tyr-Arg-Glu-Val-Pro-Pro-Pro-Tyr (5)

Gly-Tyr-Thr-Lys-Leu-Arg-Lys-Gln-Leu (6)

Gly-Tyr-Leu-Val-Ser-Pro-Pro-Gln-Gln-Ile (7)

Lys-Phe-Leu-Arg-Gln-Ala-Val-Asn-Asn-Phe (8)

Val-Phe-Val-Pro-Val-Pro-Pro-Pro-Pro-Leu (9)

Glu-Phe-Thr-Asn-Asp-Phe-Ala-Lys-Glu-Leu (10)

本発明のペプチドの合成は、通常のペプチド化学において用いられる方法に準じて行なう

ことができる。通常用いられる合成方法は、例えば *Peptide Synthesis, Interscience, New York, 1966*; *The Proteins, Vol 2, Academic Press Inc., New York, 1976*; ペプチド合成、丸善(株)、1975; ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株)、1985; 医薬品の開発 続 第14巻・ペプチド合成、広川書店、1991等の文献や国際公開WO99/67288号等の公報に記載されている。具体的には、例えば、Fmoc法(フルオレニルメチルオキシカルボニル法)、tBoc法(t-ブチルオキシカルボニル法)等の化学合成法に従って合成することができる。また、各種の市販のペプチド合成機を利用して本発明のペプチドを合成することもできる。

本発明のペプチドは、HLA-A24に対する結合モチーフを有する。このようなHLA-A24に対する結合モチーフを有するペプチドの選択は、例えば(J. Immunol., 152.3913.1994; J. Immunol., 155.4307.1994)に記載の方法に基づいて行うことができる。あるいはまた、インターネット上で利用可能となっているソフトウェア、例えばParker K. C., J. Immunol., 152, 1994に記載されているもの等を用いて、種々のペプチドとHLA抗原との結合親和性を *in silico* で計算することもできる。例えば(J. Immunol., 152.1994; Int. J. Cancer., 80, 1999. Nukaya,)に記載のように測定することができる。

(2) 本発明のDNA

本発明のDNAは、上記(1)に記載した本発明の蛋白質をコードするDNAであり、好ましくは、下記(a)、(b)又は(c)の何れかのDNAである。

(a) 配列番号2に記載の塩基配列を有するDNA。

(b) 配列番号2に記載の塩基配列を有するDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質をコードするDNA。

(c) 上記(a)又は(b)のDNAの部分配列を有し、かつ、免疫誘導活性を有する蛋白質をコードするDNA。

上記した「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」とは、DNAをプローブとして使用し、コロニー・ハイブリダイゼーション法、プラークハイブリダイゼーション法、あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより得られるDNAの塩基配列を意味し、例えば、コロニーあるいはプラーク由来のDNA又は該DNAの断片を固定化したフィルターを用いて、0.7~1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1~2×SSC溶液(1×SSC溶液は、150mM塩化ナトリウム、15mMクエン酸ナトリウム)を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるDNA等を挙げることができる。ハイブリダイゼーションは、モレキュラークロニング第2版等に記載されている方法に準じて行うことができる。

ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAとしては、プローブとして使用するDNAの塩基配列と一定以上の相同性を有するDNAが挙げられ、例えば70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは93%以上、特に好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の相同性を有するDNAが挙げられる。

本発明のDNAの取得方法は特に限定されない。本明細書中の配列表の配列番号1および配列番号2に記載したアミノ酸配列および塩基配列の情報に基づいて適当なプローブやプライマーを調製し、それらを用いてヒトなどのcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより本発明のDNAを単離することができる。cDNAライブラリーは、本発明のDNAを発現している細胞、器官又は組織から作製することが好ましい。

PCR法により配列番号2に記載した塩基配列を有するDNAを取得することもできる。ヒト染色体DNA又はcDNAライブラリーを鋳型として使用し、配列番号2に記載した塩基配列を増幅できるように設計した1対のプライマーを用いてPCRを行う。PCRの反応条件は適宜設定することができる。例えば、94℃で30秒間(変性)、55℃で

30秒～1分間（アニーリング）、72℃で2分間（伸長）からなる反応工程を1サイクルとして、例えば30サイクル行った後、72℃で7分間反応させる条件などを挙げる事ができる。次いで、増幅されたDNA断片を、大腸菌等の宿主で増幅可能な適切なベクター中にクローニングすることができる。

上記したプローブ又はプライマーの調製、cDNAライブラリーの構築、cDNAライブラリーのスクリーニング、並びに目的遺伝子のクローニングなどの操作は当業者に既知であり、例えば、モレキュラークローニング第2版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー等に記載された方法に準じて行うことができる。

(3) 本発明の抗体及び細胞傷害性細胞

本発明は、上記した本発明の蛋白質またはペプチドの一部もしくは全部をエピトープ（10 抗原）として認識する抗体、並びに該蛋白質又はペプチドを用いてインビトロ刺激により誘導された細胞傷害性（キラー）T細胞（CTL）にも関する。一般的には、CTLの方が抗体よりも強い抗腫瘍活性を示す。

本発明の抗体は、ポリクローナル抗体でもモノクローナル抗体でもよく、その作製は定法により行うことができる。

例えば、ポリクローナル抗体は、本発明の蛋白質を抗原として哺乳動物を免疫感作し、該哺乳動物から血液を採取し、採取した血液から抗体を分離・精製することにより得ることができる。例えば、マウス、ハムスター、モルモット、ニワトリ、ラット、ウサギ、イヌ、ヤギ、ヒツジ、ウシ等の哺乳動物を免疫することができる。免疫感作の方法は当業者に公知であり、例えば抗原を、例えば7～30日間隔で2～3回投与すればよい。投与量は1回につき、例えば抗原約0.05～2mg程度とすることができる。投与経路も特に20 限定されず、皮下投与、皮内投与、腹腔内投与、静脈内投与、筋肉内投与等を適宜選択することができる。また、抗原は適当な緩衝液、例えば完全フロイドアジュバント又は水酸化アルミニウム等の通常用いられるアジュバントを含有する適当な緩衝液に溶解して用いることができる。

免疫感作した哺乳動物を一定期間飼育した後、抗体価が上昇してきたら、例えば100 μg～1000 μgの抗原を用いて追加免疫を行うことができる。最後の投与から1～2ヶ月後に免疫感作した哺乳動物から血液を採取して、該血液を、例えば遠心分離、硫酸アンモニウム又はポリエチレングリコールを用いた沈殿、ゲルろ過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等のクロマトグラフィー30 等の常法によって分離・精製することにより、ポリクローナル抗血清として、本発明の蛋白質を認識するポリクローナル抗体を得ることができる。

一方、モノクローナル抗体はハイブリドーマを調製して得ることができる。例えば、抗体産生細胞とミエローマ細胞株との細胞融合によりハイブリドーマを得ることができる。本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマは、以下のような細胞融合法によって得ることができる。

抗体産生細胞としては、免疫された動物からの脾細胞、リンパ節細胞、Bリンパ球等を使用する。抗原としては、本発明の蛋白質又はその部分ペプチドを使用する。免疫動物としては、マウス、ラット等を使用でき、これらの動物への抗原の投与は常法により行う。例えば、完全フロイドアジュバント、不完全フロイドアジュバントなどのアジュバントと抗原である本発明の蛋白質又はペプチドとの懸濁液を動物の静脈、皮下、皮内、腹腔内に数回投与することによって動物を免疫化する。免疫化した動物から抗体産生細胞として例えば脾細胞を取得し、これとミエローマ細胞とを公知の方法により融合してハイブリドーマを作製することができる。40

細胞融合に使用するミエローマ細胞株としては、例えばマウスではP3X63Ag8、P3U1株、Sp2/0株などが挙げられる。細胞融合を行うに際しては、ポリエチレングリコール、センダイウイルスなどの融合促進剤を用い、細胞融合後のハイブリドーマの選択にはヒポキサンチン・アミノプテリン・チミジン（HAT）培地を常法に従って使用する。細胞融合により得られるハイブリドーマは限界希釈法等によりクローニングする。さらに必要に応じて、本発明の蛋白質を用いた酵素免疫測定法でスクリーニングを行うこ50

とにより、本発明の蛋白質を特異的に認識するモノクローナル抗体を産生する細胞株を得ることができる。

このようにして得られたハイブリドーマから目的とするモノクローナル抗体を製造するには、通常の細胞培養法や腹水形成法により該ハイブリドーマを培養し、培養上清あるいは腹水から該モノクローナル抗体を精製すればよい。培養上清もしくは腹水からのモノクローナル抗体の精製は、常法により行うことができる。例えば、硫酸分画、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィーなどを適宜組み合わせ使用できる。

また、上記した抗体の断片も本発明の範囲内である。抗体の断片としては、F (a b ') 2 フラグメント、F a b ' フラグメント等が挙げられる。

10

さらに、上記した抗体の標識抗体も本発明の範囲内である。即ち、上記のようにして作製した本発明の抗体は標識して使用することができる。抗体の標識の種類及び標識方法は当業者に公知である。例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ又はアルカリホスファターゼなどの酵素標識、F I T C (フルオレセインイソチオシアネート) 又はT R I T C (テトラメチルローダミンBイソチオシアネート) 等の蛍光標識、コロイド金属および着色ラテックスなどの呈色物質による標識、ビオチンなどのアフィニティ標識、あるいは^{1 2 5} I などの同位体標識などを挙げることができる。本発明の標識抗体を用いた本発明の蛋白質あるいはペプチド(即ち、癌抗原)の分析又は測定は、酵素抗体法、免疫組織染色法、免疫プロット法、直接蛍光抗体法又は間接蛍光抗体法等の当業者に周知の方法に従って行うことができる。

20

本発明はまた、本発明の蛋白質又はペプチドを用いたインビトロ刺激により誘導された活性化T細胞に関する。例えば、末梢血リンパ球や腫瘍浸潤リンパ球を本発明の蛋白質又はペプチドでインビトロ刺激すると腫瘍反応性活性化T細胞が誘導され、この活性化されたT細胞は養子免疫療法に有効に用いることができる。また本発明の蛋白質又はペプチドを強力な抗原提示細胞である樹状細胞にインビボあるいはインビトロで発現させて、その抗原発現樹状細胞投与により免疫誘導を行うことができる。

(4) 本発明の癌ワクチン

本発明のDNA、蛋白質及びペプチドは、抗原特異的に癌細胞株を傷害することのできるT細胞を誘導することができるので、癌の治療、予防剤として期待できる。例えば、本発明のDNAを適当なベクターに組み込み、この組換えDNAで形質転換されたBCG菌

30

の細菌、または本発明のDNAをゲノムに組込まれたワクシニアウイルス等のウイルスは、ヒト癌の治療・予防用生ワクチンとして有効に利用できる。なお、癌ワクチンの投与量及び投与法は通常の種痘やBCGワクチンと同様である。

即ち、本発明のDNA(そのまま、あるいは発現ベクターに組み込んだプラスミドDNAの形)、該DNAを含む組換えウイルス若しくは組換え細菌はそのまま、あるいはアジュバントに分散した状態で癌ワクチンとしてヒトを含む哺乳動物に投与することができる。本発明のペプチドも同様にアジュバントと分散した状態で癌ワクチンとして投与することができる。

40

(5) 本発明の癌診断用プローブ、癌診断薬、癌の予防・治療薬(DNAプローブ・診断薬)

本発明のDNAは各種ヒト癌のDNAを取り出してその相同性を調べることで診断用プローブとして使用することができる。また、このプローブや前記抗体を使用して癌診断薬として使用することができる。

即ち、本発明は、本発明の蛋白質をコードするDNA又はRNAのアンチセンス鎖の全部又は一部を含む癌診断用プローブに関する。さらに本発明は、上記の癌診断用プローブ又は本発明の蛋白質に対する抗体を含む、癌診断薬に関する。本発明の癌診断用プローブ

50

としては、本発明の蛋白質をコードするDNA (cDNA) 又はRNAのアンチセンス鎖の全部又は一部であり、プローブとして成立する程度の長さ (少なくとも20ベース以上) を有するものが好ましい。例えば、上記アンチセンス鎖を用いて検体から得られた本発明の蛋白質 (癌抗原) のmRNAを検出することにより、癌の診断が可能となる。検出に用いられる検体としては、被験者の細胞、例えば血液、尿、唾液、組織等の生検から得ることができるゲノムDNAや、RNA又はcDNAを挙げることができるがこれらに限定されるものではない。かかる検体を使用する場合、PCR等により増幅したものを用いてもよい。

本発明でいう癌の種類は特に限定されず、具体例としては、食道癌、脳腫瘍、悪性黒色腫、慢性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、リンパ腫、頭頸部癌、腎臓癌、前立腺癌、肺癌、甲状腺癌、乳癌、胃癌、大腸癌、膵癌、胆道癌、肝癌、胆嚢癌、精巣癌、子宮癌、卵巣癌、又は肉腫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

(蛋白・ペプチドからなる免疫予防・治療薬)

癌患者の癌細胞に対する免疫応答は予想以上に活発であり、多種多様な蛋白に対してIgG抗体が産生されていることを見出している。本発明の前記蛋白やその一部であるペプチドに特異的に結合する抗体としては、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、ヒト化抗体等の免疫特異的な抗体を具体的に挙げることができ、これらは上記食道癌抗原PP-RP等の蛋白又はその一部を抗原として用いて常法により作製ことができ、それらを用いて食道癌の診断に利用することができる。

本発明の蛋白質又はペプチドは、また、T細胞エピトープとして癌細胞特異的細胞傷害性T細胞を誘導できるので、ヒト癌の予防・治療剤として有用である。また、本発明の抗体は、癌の診断薬として有用である。実際の使用方法としては、本発明の蛋白質、ペプチドまたは抗体をそのまま、又は医薬的に許容される担体、及び/又は希釈剤とともに、必要に応じて下記の補助剤も加えて、注射液として投与することもできるし、噴霧などの方法で粘膜からの経皮吸収などで投与してもよい。なお、ここでいう担体としては、例えば、ヒト血清アルブミン等を挙げることができる。また、希釈剤としては、例えば、PBS、蒸留水等を挙げることが出来る。

20

投与量は成人一人当たり、本発明の蛋白質、ペプチド又は抗体を、例えば、1回当たり0.01mg~100mgの範囲になるよう投与することができるが、この範囲に限定されるものではない。製剤の形態も特に限定されず、凍結乾燥したものや、糖などの賦形剤を加えて顆粒にしたものでもよい。

30

本発明の薬剤に添加することができる細胞傷害性T細胞誘導活性を高めるための補助剤としては、BCG菌などの菌体成分、nature, vol. 344, p873 (1990) に掲載されるISCOM、J. Immunol. vol. 148, p1438 (1992) に記載されるサポニン系のQS-21、リポソーム、水酸化アルミニウムなどが挙げられる。また、レンチナン、シゾフィラン、ピシバーニールなどの免疫賦活剤を補助剤として用いることもできる。また、IL-2、IL-4、IL-12、IL-1、IL-6、TNFなどのT細胞の増殖、分化を増強するサイトカイン等も補助剤として用いることができる。

また、患者から採取した細胞または、同一のHLAパプロタイプを持つ細胞に試験管内で当該抗原ペプチドを加え、抗原提示させた後、患者血管内に投与し、患者体内で効果的に細胞障害性T細胞を誘導することもできる。また、患者末梢血リンパ球に当該ペプチドを加えて試験管内で培養することにより試験管内で細胞傷害性T細胞を誘導した後に患者血管内に戻すこともできる。このような細胞移入による治療は既に癌治療法として実施されており、当業者間ではよく知られた方法である。

40

(免疫療法の抗原)

特異的抗腫瘍免疫療法の標的抗原となるためには、その抗原が細胞傷害性T細胞 (キラーT細胞/CTL) の認識抗原であることが必要である。本発明の抗原は日本人に多いHLA-A24において、インビトロにおけるキラーT細胞誘導活性を増大させた。このことから本発明の抗原を体内に注入することにより、CTLを誘導活性化し、その結果、抗

50

腫瘍効果が期待できる。また、本発明の抗原で刺激するとインビトロにおいて活性化T細胞が誘導され、この活性化されたT細胞を体内に注入することによる養子免疫療法に有効に用いることができる。

(5) 本発明のRNAi

本発明はさらに、本発明の蛋白質の発現をRNAi現象により抑制できる核酸に関する。このような核酸としては、siRNA、shRNA又はそれらの発現ベクターなどが挙げられ、具体例としては、配列番号17に記載の配列を有するRNA又はそれを発現できる発現ベクターが挙げられる。これらの核酸(RNA又はその発現ベクターなど)は、以下の実施例で示す通り、本発明の蛋白質(PP-RP)を高発現している食道癌細胞の増殖速度を抑制することができることから、抗腫瘍剤として有用である。

10

本発明の抗腫瘍剤の投与方法は特に限定されず、経口投与、非経口投与(例えば、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与、粘膜投与、直腸内投与、膣内投与、患部への局所投与、皮膚投与など)、患部への直接投与などが挙げられる。

本発明の抗腫瘍剤は、医薬組成物として使用する場合、必要に応じて薬学的に許容可能な添加剤を配合することができる。薬学的に許容可能な添加剤の具体例としては、抗酸化剤、保存剤、着色料、風味料、および希釈剤、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィラー、増量剤、緩衝剤、送達ビヒクル、希釈剤、キャリア、賦形剤および/または薬学的アジュバントなどが挙げられるが、これらに限定されない。

本発明の抗腫瘍剤の有効成分である核酸の投与量は、使用目的、疾患の重篤度、患者の年齢、体重、性別、又は既往歴などを考慮して、当業者が決定することができる。有効成分である核酸の投与量は特に限定されないが、1回当たり、例えば約0.1ng~約100mg/kg、好ましくは約1ng~約10mgである。

20

以下、本発明の抗原、その製造方法、効果について実施例を挙げて説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

【実施例】

[実施例1] : cDNAマイクロアレイ法によるPP-RPのスクリーニング

インフォームドコンセントを行い、承諾を得た26人の食道癌患者から癌組織を採取した。採取後の癌組織は-80℃で保存した。この癌組織サンプルをレーザーマイクロビームマイクロディセクションシステムにより、癌部のみ若しくは非癌部のみをそれぞれ回収し、mRNAを調製し、それから蛍光標識したcDNAを作成し、できたcDNAを全遺伝子の70%にあたる23040遺伝子がスポットしてあるスライドガラスにのせ、ハイブリダイズさせ、スキャナーでシグナルを取込み、遺伝子発現を解析した。その結果、PP-RP遺伝子の発現は食道癌患者26例のうち21例において、非癌部に対する癌部の発現量の相対比が5倍以上であった。しかも正常胎盤以外での発現がほとんど認められない遺伝子、PP-RPを同定した。(図1、図2)

30

[実施例2] : ノーザンプロット解析

(試験法)

12の正常組織と食道癌・頭頸部癌細胞株におけるPP-RP遺伝子の発現をノーザンプロット解析にて確認した。ノーザンプロット法は次の方法で行った。すなわち、正常組織におけるPP-RP遺伝子の発現を確認するために、ヒト組織のポリ(A)⁺RNAプロット(ヒト12-lane MTNプロット, クロンテック社)を用いた。また正常食道、正常精巣、正常胎盤、癌細胞株の総RNAを用い、自作にてメンブレンを作成した。

40

これらのメンブレンに5'-TGCTGTTGTGATTCCTGCTG-3'(配列番号13)とアンチセンス5'-AGGAAACTGAGGAGAAACTG-3'(配列番号14)のプライマーで得られたPCR産物をPP-RPプローブとしてハイブリダイズさせた。

(結果)

結果を、図3に示す。この図から明らかなように、PP-RPは癌細胞株と12の正常組織では胎盤にのみ発現することが分かった。

[実施例3] : RT-PCRによる各種癌細胞株におけるPP-RP mRNAの発現解

50

析

Upper primer: 5'-TGCTGTTGTGATTCCCTGCTG-3' (配列番号15)、及び

Lower primer: 5'-AGGAACTGAGGAGAAAAGT-3' (配列番号16)

を用い、各種癌細胞株におけるPP-RP mRNAの発現解析を行った。PCRは、94℃1分、58℃1分、72℃1.5分を30サイクル行った。結果を図4に示す。図4の結果から分かるように、食道癌だけではなく、様々な癌細胞株でPP-RPの発現が認められた。

[実施例4]：免疫染色

ニチレイのヒストファイン・シンプルステイン法で行った。使用した抗体はgoat polyclonal anti-RBQ-1 (Santa Cruz)で正常と食道癌組織の免疫染色を行った。結果を図5に示す。図5の結果から分かるように、正常組織では、精巣、胎盤に発現が認められ、脾臓、リンパ節、脳、腎臓、肺、肝臓、食道組織には、発現は認められなかった(A~R)。正常食道組織では発現は認められないが、食道癌になると発現が認められるようになる(S~V)。また、その局在は染色体の周辺であった(W、X)。

[実施例5]：NIH3T3細胞への遺伝子導入

(試験方法)

宝ホールディング(株)よりPP-RP遺伝子の3056bp~4942bp部分(ORF 92bp~4942bp)の組み込まれたベクターを購入した。これとネオ耐性遺伝子発現ベクターpCI-ネオをリポフェクタミンTM 2000を用い、同時に遺伝子導入した。ネオにて細胞を選択し、その後限界希釈法にてクローン化した。その細胞をヌードマウスの皮下に1回接種し、盛り上がりかどうかを検証した。

(試験結果)

結果を、図6、図7に示す。図で明らかなように遺伝子導入された細胞において、盛り上がりか観察され、PP-RPが癌遺伝子様の機能を持つことが示された。

[実施例6]：PP-RPを構成するペプチドのスクリーニング

元来、種々のタンパク質が*in vivo*において抗原提示細胞上に提示される場合に、9量体のペプチドに分解されてから提示されることを考慮し、日本人全体の60%を占めるHLA-A24に対して結合モチーフを有するPP-RP由来の9もしくは10量体のペプチドを合成した。HLA-ペプチド結合予測を用いてHLA-A24とK^dの両方に結合すると予測されるヒトPP-RPとマウスP2P-Rに共通のペプチドをPP-RPのシークエンスより選び出し、9または10のアミノ酸からなる下記の10種類のペプチドを、自動ペプチド合成機(PSSM8, 島津製作所(株)製)にて、Fmoc(9-fluorenylmethyl oxycarbonyl)法で合成した。合成したペプチドは、高速液体クロマトグラフィーを用いて純粋なペプチドとした。

- Leu-Tyr-Pro-Pro-Pro-Pro-His-Thr-Leu (1) (配列番号 3)
- Gly-Tyr-Ser-Val-Pro-Pro-Pro-Gly-Phe (2) (配列番号 4)
- Ala-Tyr-Tyr-Gly-Arg-Ser-Val-Asp-Phe (3) (配列番号 5)
- Glu-Phe-Tyr-Arg-Glu-Gln-Arg-Arg-Leu (4) (配列番号 6)
- Arg-Tyr-Arg-Glu-Val-Pro-Pro-Pro-Tyr (5) (配列番号 7)
- Gly-Tyr-Thr-Lys-Leu-Arg-Lys-Gln-Leu (6) (配列番号 8)
- Gly-Tyr-Leu-Val-Ser-Pro-Pro-Gln-Gln-Ile (7) (配列番号 9)
- Lys-Phe-Leu-Arg-Gln-Ala-Val-Asn-Asn-Phe (8) (配列番号 10)
- Val-Phe-Val-Pro-Val-Pro-Pro-Pro-Pro-Leu (9) (配列番号 11)
- Glu-Phe-Thr-Asn-Asp-Phe-Ala-Lys-Glu-Leu (10) (配列番号 12)

10

[実施例 7] : ⁵¹Cr. リリースアッセイ
(試験方法)

末梢血単球から誘導した樹状細胞を抗原提示細胞として、合成 PP-RP ペプチドで CD8 陽性 T 細胞を刺激することで得られた T 細胞株を用い、そのペプチド特異性と癌細胞傷害活性を測定した。標的細胞としては、C1R-A2402 細胞にペプチド添加の有無、または TE11 (HLA-A24, PP-RP の発現 ++)、TE13 (HLA-A24, PP-RP の発現 ++)、TE9 (HLA-A33, PP-RP の発現 ++)、SK-Hep1 (HLA-A24, PP-RP の発現 -)、さらに PP-RP の siRNA (small interfering RNA) の発現ベクター pSilencerTM siRNA 発現ベクター (Ambion (登録商標)) にて PP-RP の発現を抑制した TE13 shPP-RP とそのコントロールとして TE13 shGFP というセルラインを作成し、それらに対してエフェクターとして上記の方法で誘導された CTL ラインを加え、活性を測定した。ペプチドとしては、上記 10 個のペプチドの混合物を用いた。

30

(試験結果)

結果を図 8 に示す。

[実施例 8] :

抗原ペプチドとしてペプチド 2 を用いる以外は実施例 7 と同様に行った。試験結果を図 9 及び図 10 に示す。

[実施例 9] :

抗原ペプチドとしてペプチド 3 を用いる以外は実施例 7 と同様に行った。試験結果を図 11 ~ 図 13 A、B、C に示す。

[実施例 10] :

抗原ペプチドとしてペプチド 9 を用いる以外は実施例 7 と同様に行った。試験結果を図 14 A、B、C に示す。

40

[実施例 11] :

抗原ペプチドとしてペプチド 10 を用いる以外は実施例 7 と同様に行った。試験結果を図 15 A、B、C に示す。

[実施例 12] : 増殖速度

PP-RP を高発現している食道癌細胞株 TE13 から RNAi 5' -GAACAGCACUCCUGGAUC-3' (配列番号 17) を用い、PP-RP を knock down した。実際に、TE13 細胞と比べ、PP-RP を knock down した細胞 TE13-shPP-RP 細胞では、PP-RP 蛋白質の発現量が減少していることを Western blot にて確認した。その細胞を 1×10^5 個 / plate で 1% ser

50

u m 中にて培養したところ、TE 1 3 と比べ TE 1 3 - s h P P - R P 細胞では、細胞増殖速度が有意 (p < 0 . 0 1) に遅くなった (図 1 6) 。この結果は、P P - R P が食道癌の悪性度に関係している可能性を示唆するだけでなく、ここで用いた RNA i 5 ' - G A A C A G C A C U C C U G G A A U C - 3 ' (配列番号 1 7) が P P - R P を高発現している食道癌などの治療に使える可能性も示唆している。

[実施例 1 3] : P P - R P の発現量と予後

食道癌の手術後、癌が全く残らなかった場合を R 0 、肉眼的に癌が残っている場合を R 2 、R 0 、R 2 以外の状態を R 1 とした場合に、R 1 の 1 5 症例について術後の生存期間を調べた。その結果を以下の表 1 に示す。

表 1 : R 1 食道癌患者 1 5 症例の臨床病理的特徴

10

性別	年齢 (歳)	癌組織中の PP-RP 遺伝子 の相対発現比	結果 a	生存期間 b (月)	TNM 期	組織病理 評価 c	残存腫瘍 d
男	43	>1000	死亡	24	IV	G2	R1
男	60	>1000	死亡	16	IV	G2	R1
男	55	>1000	死亡	16	IV	G1	R1
男	56	>1000	死亡	12	IV	G2	R1
男	60	>1000	死亡	4	IV	G1	R1
男	61	142.1	生存	>62	IV	G1	R1
男	61	48.6	生存	>98	IV	G2	R1
男	54	11	生存	>122	III	G2	R1
男	50	10.5	生存	>34	IV	G1	R1
男	58	10.2	死亡	19	IV	G2	R1
男	67	6.3	生存	>30	IV	G2	R1
男	67	6	生存	>30	IV	G2	R1
男	63	5	死亡	11	IV	G2	R1
男	57	2.2	生存	>30	IV	G2	R1
男	55	2.1	死亡	20	IV	G2	R1

20

30

40

注 a : 8 名の患者が食道癌に関連する原因で死亡した。

b : 追跡月数は、手術から死亡又は最終追跡日までの期間で求めた。

c : G 1 、 G 2 及び G 3 は各々、S C C の分化の度合いが十分、中程度又は弱いことを示す。

d : R 1 は R 0 でも R 2 でもないことを示し、R 0 は残存腫瘍がないことを示し、R 2 は肉眼で見える残存腫瘍があることを示す。

50

表1の結果から分かるように、PP-RPの発現量が非常に高かった（非癌部と比べ癌部において、 >1000 倍）5症例では、それ以外の10症例（非癌部と比べ癌部においてPP-RPの発現が <142.1 倍）と比べて、有意（ $p < 0.05$ ）に生存期間が短かった。

【実施例14】：予後予測因子としてのPP-RP

食道癌の手術後、癌が全く残らなかった場合をR0、肉眼的に癌が残っている場合をR2、R0、R2以外の状態をR1とした場合に、R1の15症例中PP-RPの発現量が非常に高かった（ >1000 倍）5症例では25ヶ月以内に全員死亡してしまったのに対し、それ以外の10症例（PP-RPの発現が <142.1 倍）中7症例では、30ヶ月以上の生存が確認された。それぞれの群においてKaplan-Meier法で生存曲線を作製したところ、図17のようになった。また、Breslow-Gehan-Wilcoxon検定により、この2群間に有意差（ $p < 0.05$ ）を認めた。以上の結果より、PP-RPの発現量が食道癌の予後予測因子として使用できる可能性が示唆された。

10

【産業上の利用可能性】

本発明の抗原蛋白、および抗原ペプチド、あるいは本発明の蛋白またはペプチドをコードするDNAは自己傷害性等の副作用が少なく優れた抗癌ワクチンとして使用することができる。また、抗体は診断薬として使用することができる。また本発明の抗原により刺激、活性化されたキラーT細胞は抗癌剤として使用できる。また、本発明の抗原蛋白は食道癌の悪性度に関係している可能性があり、その発現を抑制するRNAi（例えば、5'-GAACAGCACUCCUGGAUC-3'など（配列番号17））は、本発明の抗原蛋白を高発現している食道癌などの治療に使うことができる。

20

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Kumamoto Technology and Industry Foundation
 <120> An antigen of esophageal cancer and use thereof
 <130> A41550A
 <160> 17
 <210> 1
 <211> 1616 10
 <212> PRT
 <213> Human
 <400> 1

Met Gly Ile Lys Thr Leu Asn Leu Val Leu Gly Leu Lys Arg Ala Leu
 1 5 10 15
 Glu Phe Pro Glu Val Phe Met Met Glu Val Lys Asp Pro Asn Met Lys 20
 20 25 30
 Gly Ala Met Leu Thr Asn Thr Gly Lys Tyr Ala Ile Pro Thr Ile Asp
 35 40 45
 Ala Glu Ala Tyr Ala Ile Gly Lys Lys Glu Lys Pro Pro Phe Leu Pro
 50 55 60
 Glu Glu Pro Ser Ser Ser Ser Glu Glu Asp Asp Pro Ile Pro Asp Glu 30
 65 70 75 80
 Leu Leu Cys Leu Ile Cys Lys Asp Ile Met Thr Asp Ala Val Val Ile
 85 90 95
 Pro Cys Cys Gly Asn Ser Tyr Cys Asp Glu Cys Ile Arg Thr Ala Leu
 100 105 110
 Leu Glu Ser Asp Glu His Thr Cys Pro Thr Cys His Gln Asn Asp Val 40
 115 120 125
 Ser Pro Asp Ala Leu Ile Ala Asn Lys Phe Leu Arg Gln Ala Val Asn

130		135		140	
Asn Phe Lys Asn Glu Thr Gly Tyr Thr Lys Arg Leu Arg Lys Gln Leu					
145		150		155	160
Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ile Pro Pro Pro Arg Pro Leu Ile Gln Arg					
	165		170		175
Asn Leu Gln Pro Leu Met Arg Ser Pro Ile Ser Arg Gln Gln Asp Pro					
	180		185		190
Leu Met Ile Pro Val Thr Ser Ser Ser Thr His Pro Ala Pro Ser Ile					
	195		200		205
Ser Ser Leu Thr Ser Asn Gln Ser Ser Leu Ala Pro Pro Val Ser Gly					
	210		215		220
Asn Pro Ser Ser Ala Pro Ala Pro Val Pro Asp Ile Thr Ala Thr Val					
225		230		235	240
Ser Ile Ser Val His Ser Glu Lys Ser Asp Gly Pro Phe Arg Asp Ser					
	245		250		255
Asp Asn Lys Ile Leu Pro Ala Ala Ala Leu Ala Ser Glu His Ser Lys					
	260		265		270
Gly Thr Ser Ser Ile Ala Ile Thr Ala Leu Met Glu Glu Lys Gly Tyr					
	275		280		285
Gln Val Pro Val Leu Gly Thr Pro Ser Leu Leu Gly Gln Ser Leu Leu					
	290		295		300
His Gly Gln Leu Ile Pro Thr Thr Gly Pro Val Arg Ile Asn Thr Ala					
305		310		315	320
Arg Pro Gly Gly Gly Arg Pro Gly Trp Glu His Ser Asn Lys Leu Gly					
	325		330		335
Tyr Leu Val Ser Pro Pro Gln Gln Ile Arg Arg Gly Glu Arg Ser Cys					
	340		345		350

10

20

30

40

Tyr	Arg	Ser	Ile	Asn	Arg	Gly	Arg	His	His	Ser	Glu	Arg	Ser	Gln	Arg	
	355					360					365					
Thr	Gln	Gly	Pro	Ser	Leu	Pro	Ala	Thr	Pro	Val	Phe	Val	Pro	Val	Pro	
	370					375					380					
Pro	Pro	Pro	Leu	Tyr	Pro	Pro	Pro	Pro	His	Thr	Leu	Pro	Leu	Pro	Pro	
385					390					395					400	
Gly	Val	Pro	Pro	Pro	Gln	Phe	Ser	Pro	Gln	Phe	Pro	Pro	Gly	Gln	Pro	10
				405					410					415		
Pro	Pro	Ala	Gly	Tyr	Ser	Val	Pro	Pro	Pro	Gly	Phe	Pro	Pro	Ala	Pro	
		420							425					430		
Ala	Asn	Leu	Ser	Thr	Pro	Trp	Val	Ser	Ser	Gly	Val	Gln	Thr	Ala	His	
	435								440					445		
Ser	Asn	Thr	Ile	Pro	Thr	Thr	Gln	Ala	Pro	Pro	Leu	Ser	Arg	Glu	Glu	20
	450						455							460		
Phe	Tyr	Arg	Glu	Gln	Arg	Arg	Leu	Lys	Glu	Glu	Glu	Lys	Lys	Lys	Ser	
465					470						475				480	
Lys	Leu	Asp	Glu	Phe	Thr	Asn	Asp	Phe	Ala	Lys	Glu	Leu	Met	Glu	Tyr	
				485					490					495		
Lys	Lys	Ile	Gln	Lys	Glu	Arg	Arg	Arg	Ser	Phe	Ser	Arg	Ser	Lys	Ser	30
			500						505					510		
Pro	Tyr	Ser	Gly	Ser	Ser	Tyr	Ser	Arg	Ser	Ser	Tyr	Thr	Tyr	Ser	Lys	
	515								520					525		
Ser	Arg	Ser	Gly	Ser	Thr	Arg	Ser	Arg	Ser	Tyr	Ser	Arg	Ser	Phe	Ser	
	530								535					540		
Arg	Ser	His	Ser	Arg	Ser	Tyr	Ser	Arg	Ser	Pro	Pro	Tyr	Pro	Arg	Arg	40
545					550					555					560	
Gly	Arg	Gly	Lys	Ser	Arg	Asn	Tyr	Arg	Ser	Arg	Ser	Arg	Ser	His	Gly	

Arg	Glu	Pro	Thr	Gly	Val	Glu	Glu	Asn	Lys	Thr	Asp	Ser	Leu	Phe	Val	
785					790					795					800	
Leu	Pro	Ser	Arg	Asp	Asp	Ala	Thr	Pro	Val	Arg	Asp	Glu	Pro	Met	Asp	
				805						810					815	
Ala	Glu	Ser	Ile	Thr	Phe	Lys	Ser	Val	Ser	Glu	Lys	Asp	Lys	Arg	Glu	
				820						825					830	
Arg	Asp	Lys	Pro	Lys	Ala	Lys	Gly	Asp	Lys	Thr	Lys	Arg	Lys	Asn	Asp	10
				835						840					845	
Gly	Ser	Ala	Val	Ser	Lys	Lys	Glu	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Ala	Lys	Gly	
				850											860	
Pro	Gln	Glu	Lys	Val	Asp	Gly	Glu	Arg	Glu	Arg	Ser	Pro	Arg	Ser	Glu	
865					870										880	
Pro	Pro	Ile	Lys	Lys	Ala	Lys	Glu	Glu	Thr	Pro	Lys	Thr	Asp	Asn	Thr	20
					885										895	
Lys	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Gln	Lys	Asp	Glu	Lys	Ile	Thr	Gly	Thr	Pro	
					900										910	
Arg	Lys	Ala	His	Ser	Lys	Ser	Ala	Lys	Glu	His	Gln	Glu	Thr	Lys	Pro	
					915										925	
Val	Lys	Glu	Glu	Lys	Val	Lys	Lys	Asp	Tyr	Ser	Lys	Asp	Val	Lys	Ser	30
															940	
Glu	Lys	Leu	Thr	Thr	Lys	Glu	Glu	Lys	Ala	Lys	Lys	Pro	Asn	Glu	Lys	
945															960	
Asn	Lys	Pro	Leu	Asp	Asn	Lys	Gly	Glu	Lys	Arg	Lys	Arg	Lys	Thr	Glu	
															975	
Glu	Lys	Gly	Val	Asp	Lys	Asp	Phe	Glu	Ser	Ser	Ser	Met	Lys	Ile	Ser	40
															990	
Lys	Leu	Glu	Val	Thr	Glu	Ile	Val	Lys	Pro	Ser	Pro	Lys	Arg	Lys	Met	

995	1000	1005	
Glu Pro Asp Thr Glu Lys Met Asp Arg Thr Pro Glu Lys Asp Lys Ile			
1010	1015	1020	
Ser Leu Ser Ala Pro Ala Lys Lys Ile Lys Leu Asn Arg Glu Thr Gly			
1025	1030	1035	1040
Lys Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Ile Ser Asn Thr Lys Glu Pro Ser			
	1045	1050	1055
Glu Lys Leu Glu Ser Thr Ser Ser Lys Val Lys Gln Glu Lys Val Lys			
	1060	1065	1070
Gly Lys Val Arg Arg Lys Val Thr Gly Thr Glu Gly Ser Ser Ser Thr			
	1075	1080	1085
Leu Val Asp Tyr Thr Ser Thr Ser Ser Thr Gly Gly Ser Pro Val Arg			
	1090	1095	1100
Lys Ser Glu Glu Lys Thr Asp Thr Lys Arg Thr Val Ile Lys Thr Met			
1105	1110	1115	1120
Glu Glu Tyr Asn Asn Asp Asn Thr Ala Pro Ala Glu Asp Val Ile Ile			
	1125	1130	1135
Met Ile Gln Val Pro Gln Ser Lys Trp Asp Lys Asp Asp Phe Glu Ser			
	1140	1145	1150
Glu Glu Glu Asp Val Lys Ser Thr Gln Pro Ile Ser Ser Val Gly Lys			
	1155	1160	1165
Pro Ala Ser Val Ile Lys Asn Val Ser Thr Lys Pro Ser Asn Ile Val			
	1170	1175	1180
Lys Tyr Pro Glu Lys Glu Ser Glu Pro Ser Glu Lys Ile Gln Lys Phe			
1185	1190	1195	1200
Thr Lys Asp Val Ser His Glu Ile Ile Gln His Glu Val Lys Ser Ser			
	1205	1210	1215

10

20

30

40

Lys Asn Ser Ala Ser Ser Glu Lys Gly Lys Thr Lys Asp Arg Asp Tyr			
1220	1225	1230	
Ser Val Leu Glu Lys Glu Asn Pro Glu Lys Arg Lys Asn Ser Thr Gln			
1235	1240	1245	
Pro Glu Lys Glu Ser Asn Leu Asp Arg Leu Asn Glu Gln Gly Asn Phe			
1250	1255	1260	
Lys Ser Leu Ser Gln Ser Ser Lys Glu Ala Arg Thr Ser Asp Lys His			10
1265	1270	1275	1280
Asp Ser Thr Arg Ala Ser Ser Asn Lys Asp Phe Thr Pro Asn Arg Asp			
1285	1290	1295	
Lys Lys Thr Asp Tyr Asp Thr Arg Glu Tyr Ser Ser Ser Lys Arg Arg			
1300	1305	1310	
Asp Glu Lys Asn Glu Leu Thr Arg Arg Lys Asp Ser Pro Ser Arg Asn			20
1315	1320	1325	
Lys Asp Ser Ala Ser Gly Gln Lys Asn Lys Pro Arg Glu Glu Arg Asp			
1330	1335	1340	
Leu Pro Lys Lys Gly Thr Gly Asp Ser Lys Lys Ser Asn Ser Ser Pro			
1345	1350	1355	1360
Ser Arg Asp Arg Lys Pro His Asp His Lys Ala Thr Tyr Asp Thr Lys			30
1365	1370	1375	
Arg Pro Asn Glu Glu Thr Lys Ser Val Asp Lys Asn Pro Cys Lys Asp			
1380	1385	1390	
Arg Glu Lys His Val Leu Glu Ala Arg Asn Asn Lys Glu Ser Ser Gly			
1395	1400	1405	
Asn Lys Leu Leu Tyr Ile Leu Asn Pro Pro Glu Thr Gln Val Glu Lys			40
1410	1415	1420	
Glu Gln Ile Thr Gly Gln Ile Asp Lys Ser Thr Val Lys Pro Lys Pro			

1425	1430	1435	1440	
Gln Leu Ser His Ser Ser Arg Leu Ser Ser Asp Leu Thr Arg Glu Thr				
	1445	1450	1455	
Asp Glu Ala Ala Phe Glu Pro Asp Tyr Asn Glu Ser Asp Ser Glu Ser				
	1460	1465	1470	
Asn Val Ser Val Lys Glu Glu Glu Ser Ser Gly Asn Ile Ser Lys Asp				10
	1475	1480	1485	
Leu Lys Asp Lys Ile Val Glu Lys Ala Lys Glu Ser Leu Asp Thr Ala				
	1490	1495	1500	
Ala Val Val Gln Val Gly Ile Ser Arg Asn Gln Ser His Ser Ser Pro				
1505	1510	1515	1520	
Ser Val Ser Pro Ser Arg Ser His Ser Pro Ser Gly Ser Gln Thr Arg				
	1525	1530	1535	20
Ser His Ser Ser Ser Ala Ser Ser Ala Glu Ser Gln Asp Ser Lys Lys				
	1540	1545	1550	
Lys Lys Lys Lys Lys Glu Lys Lys Lys His Lys Lys His Lys Lys His				
	1555	1560	1565	
Lys Lys His Lys Lys His Ala Gly Thr Glu Val Glu Leu Glu Lys Ser				
	1570	1575	1580	30
Gln Lys His Lys His Lys Lys Lys Lys Ser Lys Lys Asn Lys Asp Lys				
1585	1590	1595	1600	
Glu Lys Glu Lys Glu Lys Asp Asp Gln Lys Val Lys Ser Val Thr Val				
	1605	1610	1615	
<210> 2				
<211> 5376				40
<212> DNA				
<213> Human				

<400> 2

ggcaogagga aacctctagg tccaccacct ccatcttaca cgtgtttccg ttgtggtaaa 60
 cctggacatt atattaagaa ttgcccaaca aatggggata aaaactttga atctggctct 120
 aggattaana agagcactgg aattcccaga agttttcatg atggaagtga aagatcctaa 180
 tatgaaaggt gcaatgctta ccaacactgg aaaatatgca ataccaacta tagatgcaga 240
 agcatatgca attgggaaga aagagaaacc tcccttctta ccagaggagc catcttcttc 300
 ctcaagaaga gatgatccta tcccagatga attgttgtgt ctcatctgca aggatattat 360
 gactgatgct gttgtgattc cctgctgtgg aaacagttac tgtgatgaat gtataagaac 420
 agcactcctg gaatcagatg agcacacatg tccgacgtgt catcaaatg atgtttctcc 480
 tgatgcttta attgccaata aatTTTTacg acaggctgta aataacttca aaaatgaaac 540
 tggctataca aaaagactac gaaaacagtt acctcttcca ccaccccaa taccacctcc 600
 gagaccactg attcagagga acctacaacc tctgatgaga tctccgatat caagacaaca 660
 agatcctctt atgattccag tgacatcttc atcaactcac ccagctccgt ctatatcttc 720
 attaacttct aatcagctctt ccttggcccc tctgtgtctt ggaaatccgt cttctgctcc 780
 agctcctgta cctgatataa ctgcaacagt atccatatca gttcattcag aaaaatcaga 840
 tggacctttt cgggattctg ataataaaat attgccagct gcagctcttg catcagagca 900
 ctcaaaggga acctctcaa ttgcaattac cgctcttatg gaagagaagg gttaccaggt 960
 gcctgttctt ggaaccccat ctttgccttg acagtcatta ttgcatggac agttgatccc 1020
 cacaactggt ccagtaagaa taaatactgc tegtccaggt ggtggtegac caggctggga 1080
 acattccaac aaacttggt atctggtttc tccaccacaa caaattagaa gaggggagag 1140
 gagctgctac agaagtataa accgtgggog acaccacagc gaaagatcac agaggactca 1200
 aggcccgtca ctaccagcaa ctccagtctt tgtacctgtt ccaccacctc ctttgtatcc 1260
 gcctctctcc cataeacttc ctctccctcc ggggtttcct cctccacagt tttctctca 1320
 gtttctctct gccagccac caccgctgg gtatagtgtc cctctccag ggttctctcc 1380
 agctcctgcc aatttataa caccttgggt atcatcagga gtgcagacag ctattcaaa 1440
 taccatcca acaacacaag caccacctt gtccaggga gaattctata gagagcagcg 1500
 acgactaaaa gaagaggaaa agaaaaagtc caagctagat gagtttaca atgattttgc 1560

taaggaattg atggaataca aaaagattca aaaggagcgt aggcgctcat tttccaggtc 1620
 taaatctccc tatagtgggtt cticgtatcc aagaagtcca tataacttatt ctaaatacaag 1680
 atctgggtca acacgttccac gctcttattc tccatcattc agccgctcac attctcgttc 1740
 ctattcaccg tccactccat accccagaag aggcagaggc aagagccgca attaccgttc 1800
 acggtctaga tctcatggat atcatcgatc taggtcaagg tcacccccctt acagacgcta 1860
 tcattcaccga tcaagatctc ctcaagcgtt taggggacag tctcctaata aacgtaatgt 1920
 acctcaaggg gaaacagAAC gtgaatattt taatagatac agagaagtcc caccaccata 1980
 tgacatgaaa gcatattatg ggagaagtgt tgactttaga gaccatttg aaaaagaacg 2040
 ctaccgagaa tgggagagaa aatatagaga gtggtatgaa aatattata aaggttatgc 2100
 tgctggagca cagcctagac cctcagcaaa tagagagaac tttctccag agagattttt 2160
 gccactaac atcaggaatt ctcccttcac aagaggccgc agagaagact atgttggtgg 2220
 gcaaagtcat agaagtccaa acataggtag caactatcca gaaaagcttt cagcaagaga 2280
 tggtcacaat cagaaggata atacaaagtc aaaagagaag gagagtgaaa acgctccagg 2340
 agatggtaaa ggaaataagc ataagaaaca cagaaaaaga agaaaagggg aggaaagtga 2400
 gggttttctg aaccagagt tattagagac ttctaggaaa tcaagagaac ctacaggtgt 2460
 tgaagaaaat aaaacagact cattgtttgt tctcccaagt agagatgatg ccacacctgt 2520
 tagagatgaa ccaatggatg cagaatcaat cacttttaaa tcagtgtctg aaaaagacaa 2580
 gagagaaagg gataaaccaa aagcaaaggg tgataaaacc aaacggaaga atgatggatc 2640
 tgctgtgtcc aaaaagaaa atattgtaaa acctgctaaa ggaccccaag aaaaagtaga 2700
 tggagaacgt gagagatctc ctccatctga acctccaatt aaaaagcca aagaggagac 2760
 tccgaagact gacaatacta aatcatcacc ttctctcag aaggatgaaa aatcactgg 2820
 aacccccaga aaagctcact ctaaatacagc aaaagaacac caagaacaa aaccagtcaa 2880
 agaggaaaaa gtgaagaagg actattccaa agatgtcaaa tcagaaaagc taacaactaa 2940
 ggaagaaaag gccagaagc ctaatgagaa aaacaaacca cttgataata agggagaaaa 3000
 aagaaaaaga aaaactgaag aaaaaggcgt agataaagat tttagtctt cttcaatgaa 3060
 aatctcgaaa ctagaagtga ctgaaatagt gaaaccatca ccaagcgcga aatggaacc 3120
 tgatactgaa aaaatggata ggaccctga aaaggacaaa atttctttaa gtgcgccagc 3180

10

20

30

40

caaaaaaatc aaactcaaca gagaaactgg gaagaaaatt ggaagtacag aaaatataatc 3240
aaacacaaaa gaaccctctg aaaaattgga gtcaacatct agcaaagtta aacaagaaaa 3300
agtcaaagga aaggtcagac gaaaagtgac tggaaactgaa ggatccagct caactctggt 3360
ggattacacc agtacgagct caactggagg cagtcctgtg cggaaatctg aagaaaaaac 3420
agatacaaag cgaactgtga ttaaaacgat ggaagaatat aataatgaca ataccgcgcc 3480
agctgaagat gttatcatta tgattcaggt tctcaatcc aatgggata aagatgactt 3540
tgaatctgaa gaagaagatg ttaaatccac acagcctata tcaagtgtag gaaaacctgc 3600
tagtgttata aaaaatgta gtacaaagcc atcaaatata gtcaagtatc ctgagaaaga 3660
aagtgagcca tccgagaaaa ttcagaaatt caccaaggac gtgagccatg aatcataca 3720
acatgaggtt aaaagttcaa aaaactctgc atctagtgaa aaagggaaaa ccaaagatcg 3780
agattattca gtgttgaaa aggagaaccc tgaaaagagg aagaacagca ctcagccaga 3840
gaaagagagt aatttgacc gtctgaatga acaaggaaat tttaaaagtc tgtctcaatc 3900
ttcaaagag gctagaacgt cagataaaca tgattccact cgtgcttctt caaataaaga 3960
cttcaactccc aatagagaca aaaaaactga ctatgacacc agagagtatt caagttccaa 4020
acgtagagat gaaaagaatg aattaacaag acgaaaagac tctccttctc ggaataaaga 4080
ttctgcatct ggacagaaaa ataaaccaag ggaagagaga gatttgcta aaaaaggaac 4140
aggagattcc aaaaaagta attctagtcc ctcaagagac agaaaacctc atgatcacia 4200
agccacttat gatactaaac ggccaaatga agagacaaaa tctgtagata aaaatccttg 4260
taaggatcgt gagaagcatg tattagaagc aaggaacaat aaagagtcaa gtggcaataa 4320
actactttat atacttaacc caccagagac acaggttgaa aaagagcaaa ttactgggca 4380
aattgacaag agtactgtca agcctaaacc ccagttaagt cattcctcta gacttctctc 4440
tgacttaact agagaaactg atgaagctgc ttttgaacca gactataatg aaagtacag 4500
tgaaagtaat gtttctgtaa aagaagagga atcttcagga aacatttcta aggacctgaa 4560
agataaaata gtggagaaaag cgaaaagagag cctggacaca gcagcagttg tccaggtggg 4620
cataagcagg aatcagagcc acagcagccc cagcgtcagc cccagcagaa gccacagtcc 4680
ttctggaagc cagacccgaa gccacagtag cagtgccagc tcagcagaaa gtcaggacag 4740
caagaagaag aagaaaaaga aggaaaagaa aaaacacaag aaacataaaa agcataagaa 4800

10

20

30

40

gcataagaaa catgcaggca ctgaagtgga attggaaaaa agccaaaaac acaaacacaa 4860
gaaaaagaag tcaaagaaga acaaagataa agagaaggag aaggagaaag atgaccaaaa 4920
agtgaaatct gtcactgtgt aaaaagacag attttttaaa ttgacttaat tactaagtca 4980
tctgtattaa attttgttat aatgtaaaga gattcaagcc ttgtaaataa tgacatggaa 5040
gacctgtgc tgcacttaaa atattgctgc ttgattattt gatttttaca tcagagcttt 5100
ataacacgaa cttttgtaca gaattgtgag ttgtgacat gtaacatgag aggttttgct 5160
agggctatt atttttaacc accattaatt agttggggtg gagtttactg taatgtgaaa 5220
ttttcacatt tgaatttttt aattgctgg caaaagctga tataagttct aaaatatcag 5280
cagaatgatt tgctgaattc attacatccc tgttatgtca ctttttgatt acaataaaag 5240
ttttcagtaa acttttcaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 5376

10

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

20

<213> Artificial Sequence

<400> 3

Leu Tyr Pro Pro Pro Pro His Thr Leu

1 5

<210> 4

<211> 9

30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 4

Gly Tyr Ser Val Pro Pro Pro Gly Phe

1 5

<210> 5

40

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 5

Ala Tyr Tyr Gly Arg Ser Val Asp Phe

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

10

<213> Artificial Sequence

<400> 6

Glu Phe Tyr Arg Glu Gln Arg Arg Leu

1 5

<210> 7

<211> 9

20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 7

Arg Tyr Arg Glu Val Pro Pro Pro Tyr

1 5

<210> 8

30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 8

Gly Tyr Thr Lys Leu Arg Lys Gln Leu

1 5

40

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 9

Gly Tyr Leu Val Ser Pro Pro Gln Gln Ile

1 5 10

<210> 10

10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 10

Lys Phe Leu Arg Gln Ala Val Asn Asn Phe

1 5 10

<210> 11

20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 11

Val Phe Val Pro Val Pro Pro Pro Pro Leu

1 5 10

30

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<400> 12

Glu Phe Thr Asn Asp Phe Ala Lys Glu Leu

1 5 10

40

<210> 13

<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer
<400> 13
tgctgttgctg attccctgct g 21 10
<210> 14
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer 20
<400> 14
aggaaactga ggagaaaact g 21
<210> 15
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence 30
<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer
<400> 15
tgctgttgctg attccctgct g 21
<210> 16
<211> 21 40
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer

<400> 16

aggaaactga ggagaaaact g

21

<210> 17

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer

<400> 17

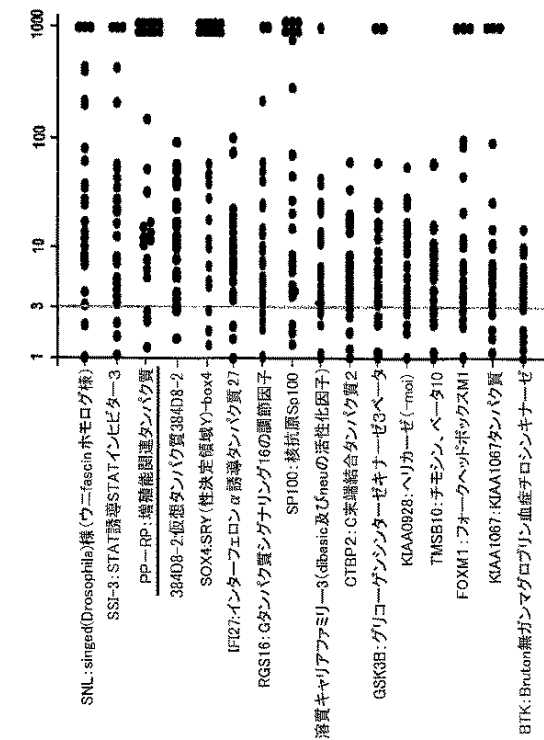
gaacagcacu ccuggaac

19

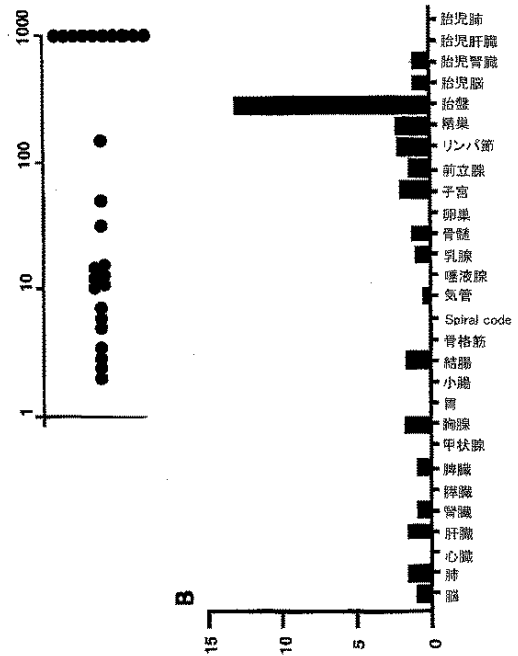
10

20

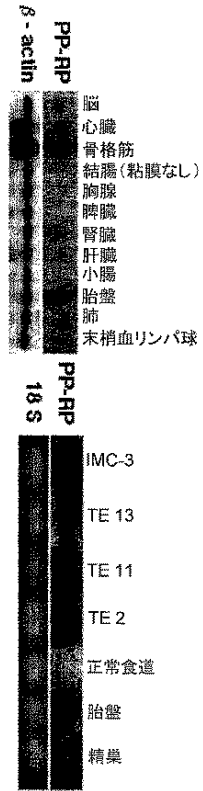
【図 1】



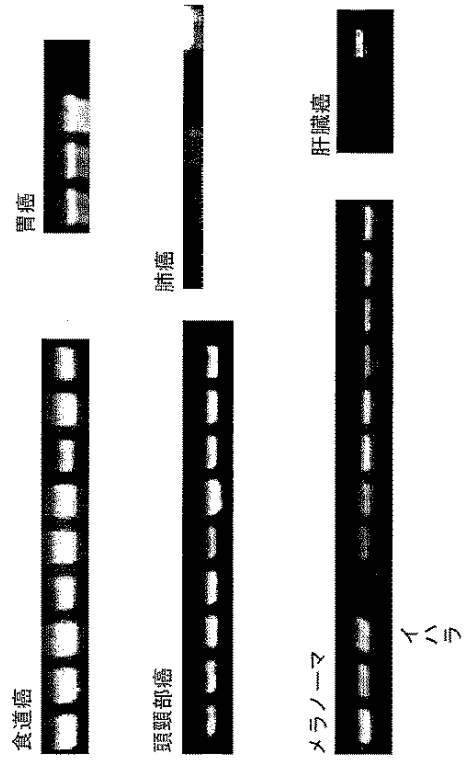
【図 2】



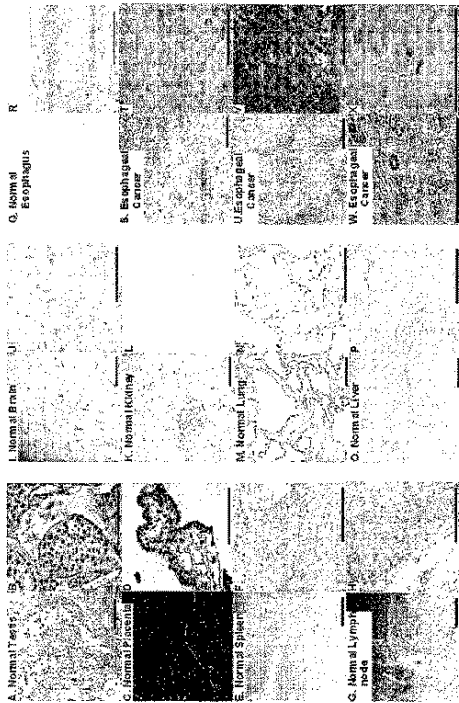
【図 3】
図 3



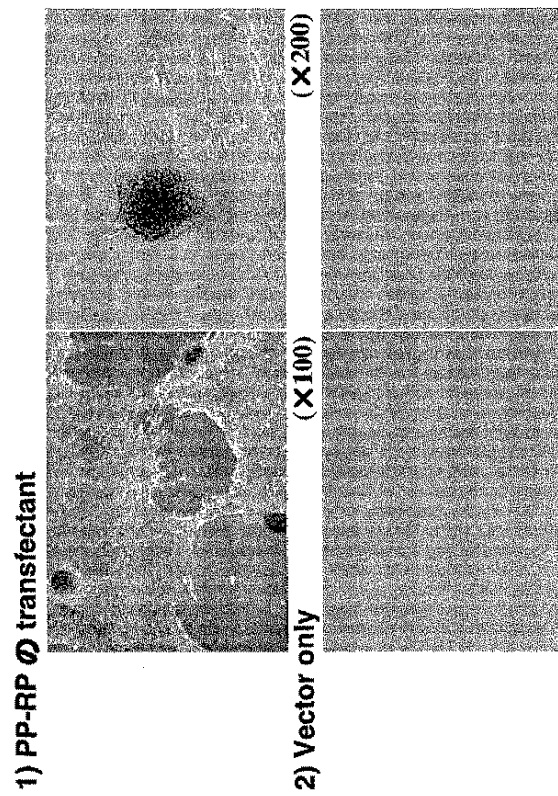
【図 4】
図 4



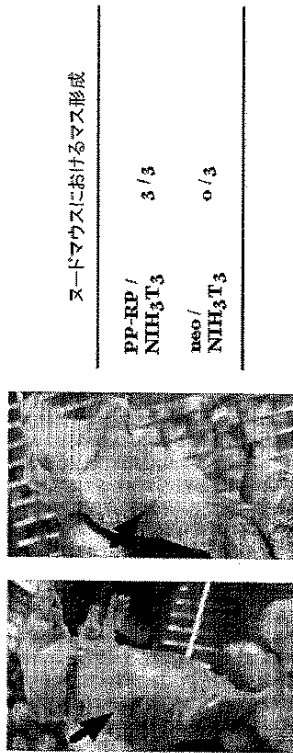
【図 5】
図 5



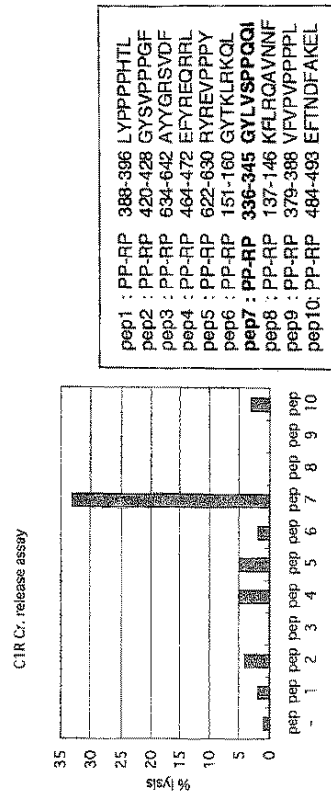
【図 6】
図 6



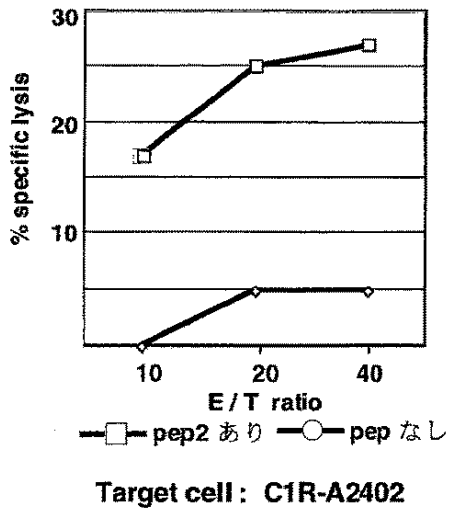
【図 7】
図 7



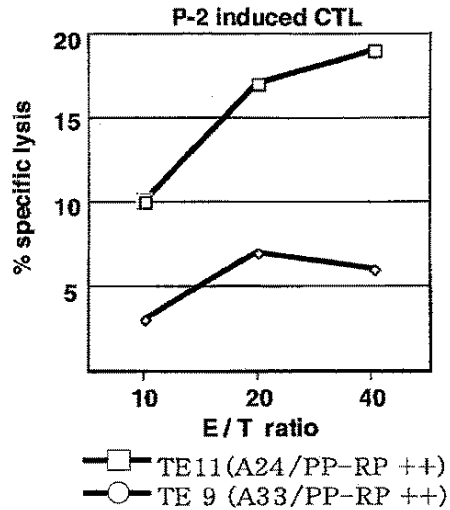
【図 8】
図 8



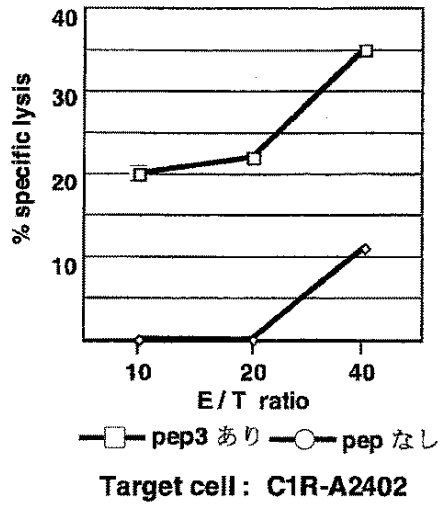
【図 9】
図 9



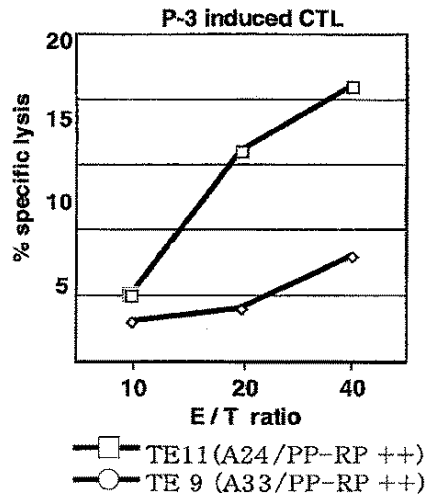
【図 10】
図 10



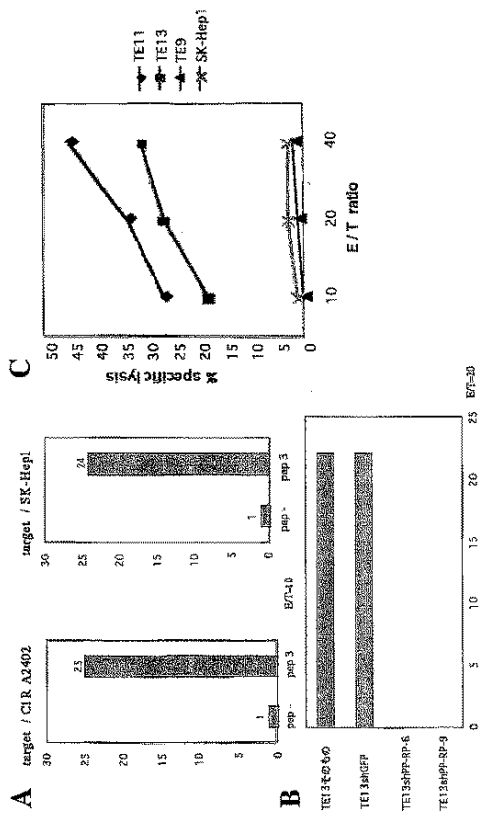
【図 1 1】
図 11



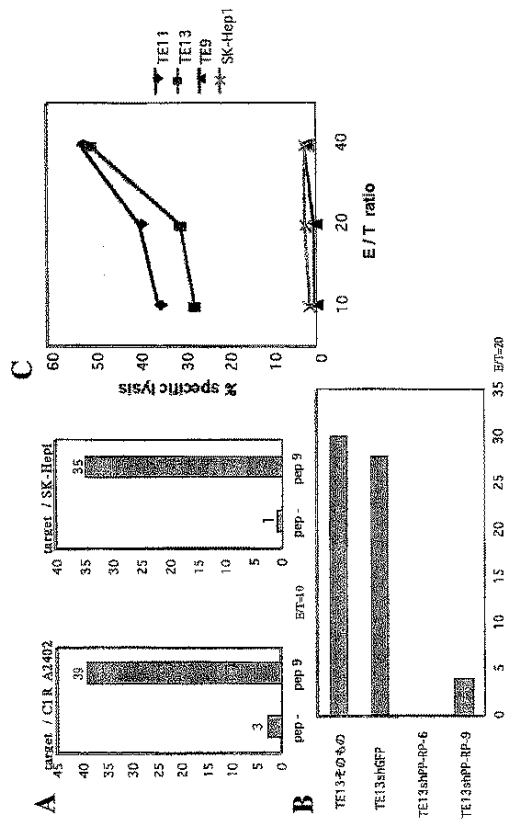
【図 1 2】
図 12



【図 1 3】
図 13

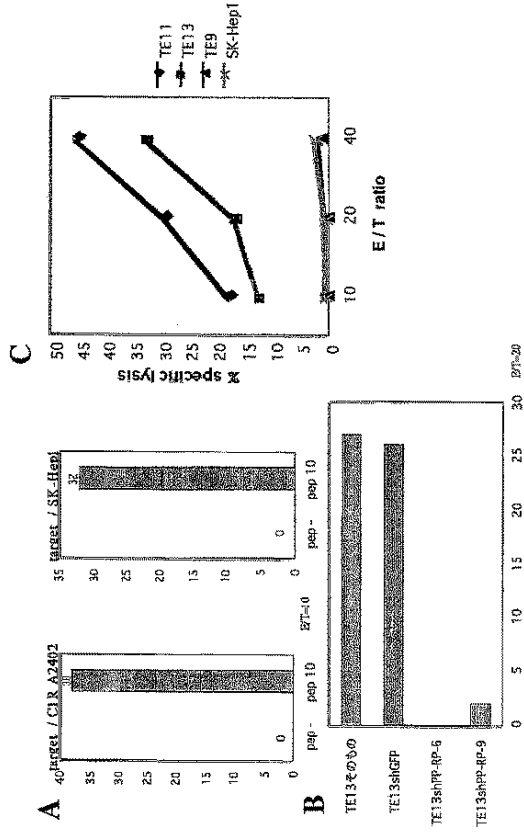


【図 1 4】
図 14



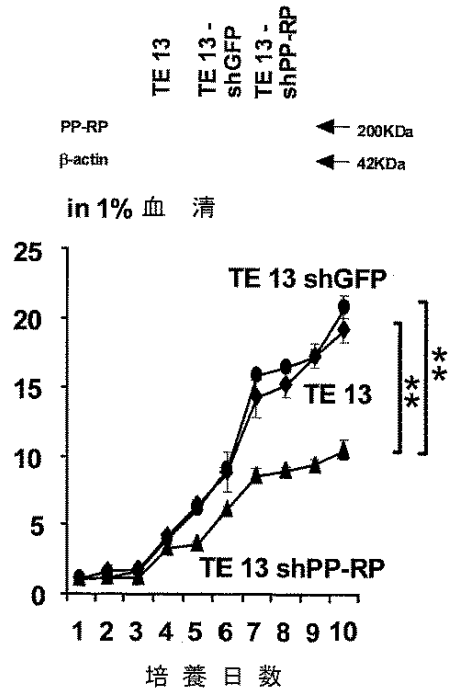
【**15**】

15



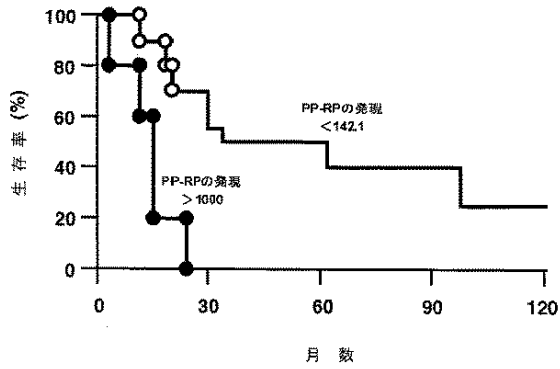
【**16**】

16



【**17**】

17



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2004/011736
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ C12N15/12, 5/06, C07K14/82, 16/32, C12Q1/68, A61K39/00, 39/395, A61P35/00, 35/02 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) Int.Cl ⁷ C12N15/12, 5/06, C07K14/82, 16/32, C12Q1/68, A61K39/00, 39/395, A61P35/00, 35/02 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq, WPI/BIOSIS (DIALOG), PubMed, JSTPlus (JOIS)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	CAMARGO A.A. et al., Homo sapiens proliferation potential-related protein mRNA, complete cds., 20 September, 2001 (20.09.01), Database GenBank accession No.AF352051	1-2,4-8, 18-20/3, 9-17,21
X/A	KUDO, E. et al., Homo Sapiens RBBP6 mRNA for retinoblastoma binding protein 6 isoform 1, complete cds., 13 June, 2003 (13.06.03), Database GenBank accession No.AB112074	1-2,4-8, 18-20/3, 9-17,21
X/A	SAKAI, Y. et al., cDNA sequence and chromosomal localization of a novel human protein, RBQ-1 (RBBP6), that binds to the retinoblastoma gene product. Genomics, 1995, 30(1), pages 98 to 101	1-2,4-8, 18-20/3, 9-17,21
<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 "pp" 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 25 October, 2004 (25.10.04)		Date of mailing of the international search report 09 November, 2004 (09.11.04)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2004/011736

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	FR 2836687 A1 (GENE SIGNAL), 05 September, 2003 (05.09.03), Particularly, SEQ ID No.37, 88 & WO 03/74073 A2	1-2, 4-8, 18-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/011736

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

a sequence listing

table(s) related to the sequence listing

b. format of material

in written format

in computer readable form

c. time of filing/furnishing

contained in the international application as filed

filed together with the international application in computer readable form

furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2004/011736	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ C12N15/12, 5/06, C07K14/82, 16/32, C12Q1/68, A61K39/00, 39/395, A61P35/00, 35/02			
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 ⁷ C12N15/12, 5/06, C07K14/82, 16/32, C12Q1/68, A61K39/00, 39/395, A61P35/00, 35/02			
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			
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) GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq, WPI/BIOSIS(DIALOG), PubMed, JSTPlus(JOIS)			
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 請求の範囲の番号	
X/A	CAMARGO A. A. et al., Homo sapiens proliferation potential-related protein mRNA, complete cds., September 20, 2001 Database GenBank accession No. AF352051	1-2, 4-8, 18-20/3, 9-17, 21	
X/A	Kudo E. et al., Homo Sapiens RBBP6 mRNA for retinoblastoma binding protein 6 isoform 1, complete cds., June 13, 2003 Database GenBank accession No. AB112074	1-2, 4-8, 18-20/3, 9-17, 21	
<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 25.10.2004		国際調査報告の発送日 09.11.2004	
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) 上後 肇	4B 3131
		電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2004/011736

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 請求の範囲の番号
X/A	SAKAI Y. et al., cDNA sequence and chromosomal localization of a novel human protein, RBQ-1 (RBBP6), that binds to the retinoblastoma gene product. Genomics, 1995, 30(1), p. 98-101	1-2, 4-8, 18-20/3, 9-17, 21
PX	FR 2836687 A1 (GENE SIGNAL) 2003.09.05 特に, SEQ ID No 37, 88参照 & WO 03/74073 A2	1-2, 4-8, 18-20

様式 PCT/ISA/210 (第2ページの続き) (2004年1月)

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2004/011736

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. b の続き)

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。
- a. タイプ 配列表
 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット 書面
 コンピュータ読み取り可能な形式
- c. 提出時期 出願時の国際出願に含まれる
 この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された
 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された
2. さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見:

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 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 7
A 6 1 K	35/74	(2006.01)	A 6 1 K	35/74	A 4 H 0 4 5
A 6 1 K	35/76	(2006.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 K	31/711	(2006.01)	A 6 1 K	31/711	
A 6 1 K	35/14	(2006.01)	A 6 1 K	35/14	Z
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	37/04	(2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	M
G 0 1 N	33/574	(2006.01)	G 0 1 N	33/574	A

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

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA12 BA36 CA02 CA05 CA09 CA11 DA03 EA04 HA12
 HA17
 4B065 AA91X AA93Y AB01 BA02 CA23 CA24 CA25 CA45 CA46
 4C084 AA02 AA13 BA01 BA08 BA17 BA22 CA18 CA23 CA53 CA59
 DA27 NA14 ZB02 ZB09 ZB26 ZB27
 4C085 AA03 BB01 CC03 CC07 CC08 CC21 DD62 EE01
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB02 ZB09 ZB26 ZB27
 4C087 AA01 AA02 BC30 BC83 CA12 NA14 ZB02 ZB09 ZB26 ZB27
 4H045 AA10 AA11 AA30 BA15 CA41 DA75 DA86 EA31 EA51 FA72
 FA74

(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)	食管癌的抗原及其应用		
公开(公告)号	JPWO2005014819A1	公开(公告)日	2006-10-05
申请号	JP2005513040	申请日	2004-08-10
申请(专利权)人(译)	熊本基金会技术和产业基础		
[标]发明人	中面哲也 吉武義泰 中村祐輔 西村泰治		
发明人	中面 哲也 吉武 義泰 中村 祐輔 西村 泰治		
IPC分类号	C12N15/09 C07K14/82 C07K16/30 C12N5/06 A61K39/00 A61K48/00 A61K35/74 A61K35/76 A61K31/711 A61K35/14 A61P35/02 A61P37/04 A61K31/7105 G01N33/53 G01N33/574 A61P35/00 C07K14/47 C12N15/12		
CPC分类号	A61K39/00 A61K39/0011 A61K2039/53 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/04 C07K14/4748 C07K16/3046		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/82 C07K16/30 C12N5/00.E A61K39/00.H A61K48/00 A61K35/74.A A61K35/76 A61K31/711 A61K35/14.Z A61P35/02 A61P37/04 A61K31/7105 G01N33/53.M G01N33/574.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/CA02 4B024/CA05 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA03 4B024/EA04 4B024/HA12 4B024/HA17 4B065/AA91X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA23 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/BA01 4C084/BA08 4C084/BA17 4C084/BA22 4C084/CA18 4C084/CA23 4C084/CA53 4C084/CA59 4C084/DA27 4C084/NA14 4C084/ZB02 4C084/ZB09 4C084/ZB26 4C084/ZB27 4C085/AA03 4C085/BB01 4C085/CC03 4C085/CC07 4C085/CC08 4C085/CC21 4C085/DD62 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB02 4C086/ZB09 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC30 4C087/BC83 4C087/CA12 4C087/NA14 4C087/ZB02 4C087/ZB09 4C087/ZB26 4C087/ZB27 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA15 4H045/CA41 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045/EA51 4H045/FA72 4H045/FA74		
优先权	2003291073 2003-08-11 JP		
其他公开文献	JP4557886B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明的目的是提供可用于诊断和治疗包括食道癌和肿瘤在内的各种癌症的人类食道癌抗原，编码该基因的基因，使用其的抗癌疫苗等。是的。根据本发明，抗原由以下组成：由SEQ ID NO：1所示的氨基酸序列组成的蛋白质；由上述蛋白质的一部分组成并具有免疫诱导活性的肽；含有该肽的抗癌疫苗；以及由该蛋白质组成的抗癌疫苗。提供所示的核苷酸序列或其互补序列，包含这些序列的一部分或全部的DNA以及包含该DNA的抗癌疫苗。此外，本发明的抗原蛋白可能与食道癌的恶性肿瘤，抑制其表达的RNAi有关（例如5''-GAACAGCACUCCUGGAAUC-3''（SEQ ID NO：17）），它可以用于食管癌的治疗，该食管癌的抗原蛋白高表达

