

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02018/131192

発行日 令和1年11月7日 (2019.11.7)

(43) 国際公開日 平成30年7月19日 (2018.7.19)

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|---------------------------------|----------------|-------------|
| GO 1 N 33/574 (2006.01) | GO 1 N 33/574 | B 2 G O 4 5 |
| GO 1 N 33/53 (2006.01) | GO 1 N 33/53 | Y 4 B O 6 3 |
| GO 1 N 33/48 (2006.01) | GO 1 N 33/48 | P |
| C 1 2 Q 1/6886 (2018.01) | C 1 2 Q 1/6886 | Z |
| C 1 2 N 15/12 (2006.01) | C 1 2 N 15/12 | |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 36 頁)

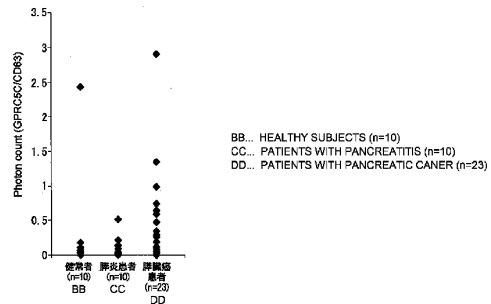
| | |
|---------------------------------------|---|
| 出願番号 特願2018-561792 (P2018-561792) | (71) 出願人 510097747 国立研究開発法人国立がん研究センター 東京都中央区築地五丁目1番1号 |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP2017/025115 | |
| (22) 国際出願日 平成29年7月10日 (2017.7.10) | |
| (31) 優先権主張番号 特願2017-3709 (P2017-3709) | (71) 出願人 513086728 テオリアサイエンス株式会社 東京都千代田区内神田1-13-12-1 204 |
| (32) 優先日 平成29年1月12日 (2017.1.12) | (71) 出願人 000162478 日立化成ダイアグノスティックス・システムズ株式会社 東京都中央区晴海一丁目8番10号 |
| (33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国 (JP) | (74) 代理人 100106909 弁理士 棚井 澄雄 |
| | (74) 代理人 100188558 弁理士 飯田 雅人 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法

(57) 【要約】

被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリーC、グループ5、メンバーC) を測定することを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) を測定することを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法。

【請求項 2】

以下の工程を含むことを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

- (1) 被検者より検体を採取する工程；
- (2) 工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定する工程；
- (3) 工程 (2) で測定した G P R C 5 C 濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定する工程

【請求項 3】

前記工程 (2) において、前記工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度の測定が、検体より単離されたエクソソームを用いて行われる、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記工程 (2) が免疫学的測定法によって行われる、請求項 2 又は 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソームに特異的に発現する抗原 (以下、エクソソーム特異的抗原という) に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 7】

前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1 (i n t e r c e l l u l a r a d h e s i o n m o l e c u l e - 1 : 細胞間接着分子 - 1)、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 (l y s o s o m e - a s s o c i a t e d m e m b r a n e p r o t e i n 1 : リソソーム膜タンパク質 1) である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記検体が、血液である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) を測定することを特徴とする、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別する方法。

【請求項 10】

以下の工程を含むことを特徴とする、請求項 9 に記載の方法。

- (1) 膵臓疾患患者より検体を採取する工程；
- (2) 工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定する工程；
- (3) 工程 (2) で測定した G P R C 5 C 濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取し

た検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定する工程

【請求項11】

前記工程(2)において、前記工程(1)で採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度の測定が、検体より単離されたエクソソームを用いて行われる、請求項10記載の方法。

【請求項12】

前記工程(2)が免疫学的測定法によって行われる、請求項10又は11に記載の方法

10

【請求項13】

前記免疫学的測定法が、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記免疫学的測定法が、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソームに特異的に発現する抗原(以下、エクソソーム特異的抗原という)に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

前記エクソソーム特異的抗原が、CD63、CD9、CD81、CD37、CD53、CD82、CD13、CD11、CD86、ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1:細胞間接着分子-1)、Rab5、Annexin V、又はLAMP1(lysosome-associated membrane protein 1:リソソーム膜タンパク質1)である、請求項14に記載の方法。

20

【請求項16】

前記膵臓癌以外の膵臓疾患が、膵炎である、請求項9~15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

前記検体が、血液である、請求項9~16のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項18】

被検者より経時的に採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C(G-protein coupled Receptor family C group 5 member C:Gタンパク質共役受容体、ファミリーC、グループ5、メンバーC)を測定することを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法。

【請求項19】

以下の工程を含むことを特徴とする、請求項18に記載の方法。

(1)被検者より経時的に検体を採取する工程；

(2)工程(1)で採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定する工程；

40

(3)工程(2)で測定したGPRC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定する工程。

【請求項20】

前記工程(2)において、前記工程(1)で採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度の測定が、検体より単離されたエクソソームを用いて行われる、請求項19記載の方法。

【請求項21】

50

前記工程(2)が免疫学的測定法によって行われる、請求項19又は20に記載の方法。

【請求項22】

前記免疫学的測定法が、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

前記免疫学的測定法が、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソームに特異的に発現する抗原(以下、エクソソーム特異的抗原という)に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、請求項21に記載の方法。

【請求項24】

前記エクソソーム特異的抗原が、CD63、CD9、CD81、CD37、CD53、CD82、CD13、CD11、CD86、ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1:細胞間接着分子-1)、Rab5、Annexin V、又はLAMP1(lysosome-associated membrane protein 1:リソソーム膜タンパク質1)である、請求項23に記載の方法。

【請求項25】

前記検体が、血液である、請求項18~24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項26】

被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C(G-protein coupled Receptor family C group 5 member C:Gタンパク質共役受容体、ファミリーC、グループ5、メンバーC)測定試薬を含むことを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬。

【請求項27】

前記GPRC5C測定試薬が、免疫学的測定試薬である、請求項26に記載の試薬。

【請求項28】

前記免疫学的測定試薬が、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を含む、請求項27に記載の試薬。

【請求項29】

前記免疫学的測定試薬が、さらに、エクソソームに特異的に発現する抗原(以下、エクソソーム特異的抗原という)に結合する抗体又は該抗体断片を含む、請求項28に記載の試薬。

【請求項30】

前記エクソソーム特異的抗原が、CD63、CD9、CD81、CD37、CD53、CD82、CD13、CD11、CD86、ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1:細胞間接着分子-1)、Rab5、Annexin V、又はLAMP1(lysosome-associated membrane protein 1:リソソーム膜タンパク質1)である、請求項29に記載の試薬。

【請求項31】

さらに、エクソソーム単離試薬を含む、請求項26~30のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項32】

前記検体が、血液である、請求項26~31のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項33】

膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C(G-protein coupled Receptor family C group 5 member C:Gタンパク質共役受容体、ファミリーC、グループ5、メンバーC)測定試薬を含むことを特徴とする、膵臓癌患者と膵臓癌以外の膵臓疾患患者とを鑑別するための試薬。

10

20

30

40

50

【請求項 34】

前記 G P R C 5 C 測定試薬が、免疫学的測定試薬である、請求項 33 に記載の試薬。

【請求項 35】

前記免疫学的測定試薬が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む、請求項 34 に記載の試薬。

【請求項 36】

前記免疫学的測定試薬が、さらに、エクソソームに特異的に発現する抗原（以下、エクソソーム特異的抗原という）に結合する抗体又は該抗体断片を含む、請求項 35 に記載の試薬。

【請求項 37】

前記エクソソーム特異的抗原が、CD 63、CD 9、CD 81、CD 37、CD 53、CD 82、CD 13、CD 11、CD 86、ICAM - 1 (intercellular adhesion molecule - 1 : 細胞間接着分子 - 1)、Rab 5、Annexin V、又は LAMP 1 (lysosome - associated membrane protein 1 : リソソーム膜タンパク質 1) である、請求項 36 に記載の試薬。

【請求項 38】

さらに、エクソソーム単離試薬を含む、請求項 33 ~ 37 のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項 39】

前記膵臓癌以外の膵臓疾患が、膵炎である、請求項 33 ~ 38 のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項 40】

前記検体が、血液である、請求項 33 ~ 39 のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項 41】

被検者より経時的に採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C (G - protein coupled Receptor family C group 5 member C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) 測定試薬を含むことを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬。

【請求項 42】

前記 G P R C 5 C 測定試薬が、免疫学的測定試薬である、請求項 41 に記載の試薬。

【請求項 43】

前記免疫学的測定試薬が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む、請求項 42 に記載の試薬。

【請求項 44】

前記免疫学的測定試薬が、さらに、エクソソームに特異的に発現する抗原（以下、エクソソーム特異的抗原という）に結合する抗体又は該抗体断片を含む、請求項 43 に記載の試薬。

【請求項 45】

前記エクソソーム特異的抗原が、CD 63、CD 9、CD 81、CD 37、CD 53、CD 82、CD 13、CD 11、CD 86、ICAM - 1 (intercellular adhesion molecule - 1 : 細胞間接着分子 - 1)、Rab 5、Annexin V、又は LAMP 1 (lysosome - associated membrane protein 1 : リソソーム膜タンパク質 1) である、請求項 44 に記載の試薬。

【請求項 46】

さらに、エクソソーム単離試薬を含む、請求項 41 ~ 45 のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項 47】

前記検体が、血液である、請求項 4 1 ~ 4 6 のいずれか一項に記載の試薬。

【請求項 4 8】

G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) 又は G P R C 5 C 遺伝子からなることを特徴とする、膵臓癌マーカー。

【請求項 4 9】

G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) に対する特異的結合物質、G P R C 5 C 遺伝子を増幅可能なプライマーセット、又は G P R C 5 C 遺伝子の mRNA に特異的にハイブリダイズするプローブを含むことを特徴とする、膵臓癌診断薬。

10

【請求項 5 0】

前記 G P R C 5 C に対する特異的結合物質が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片である、請求項 4 9 記載の診断薬。

【請求項 5 1】

生体試料中の G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) の存在量を測定する工程と、

測定された G P R C 5 C の存在量が、健常者又は膵臓癌以外の膵臓疾患患者の生体試料中の G P R C 5 C タンパク質の存在量と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者

20

のものであると判定する工程と、

を含むことを特徴とする、生体試料の判定方法。

【請求項 5 2】

生体試料中の G P R C 5 C (G - p r o t e i n c o u p l e d R e c e p t o r f a m i l y C g r o u p 5 m e m b e r C : G タンパク質共役受容体、ファミリー C、グループ 5、メンバー C) 遺伝子の発現量を測定する工程と、

測定された前記遺伝子の発現量が、健常者又は膵臓癌以外の膵臓疾患患者の生体試料中の G P R C 5 C 遺伝子の発現量と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者のもの

30

であると判定する工程と、

を含むことを特徴とする、生体試料の判定方法。

【請求項 5 3】

前記膵臓癌以外の膵臓疾患が、膵炎である、請求項 5 1 又は 5 2 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別する方法、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための試薬、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬、膵臓癌マーカー、膵臓癌診断薬、及び生体試料の判定方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

エクソソームは、生体内の体液中に存在する小胞顆粒である。エクソソーム表面には、一般的な細胞表面と同様に、種々の膜タンパク質が存在することが知られている。また、エクソソームは、種々の細胞、例えば免疫系の細胞や各種がん細胞から分泌されることが報告されており、生体内の細胞間コミュニケーションの媒介役として機能し生理現象と関連することや、がんなどの疾患との関連性が注目されている。

【0003】

50

近年、エクソソーム表面に特定抗原（CD9、CD63、CD147）を発現するエクソソーム量を測定することによる大腸がんの検出方法（特許文献1）、卵巣がん患者において、がんの進行に伴い血液中のエクソソーム量が増大すること（非特許文献1）等が報告されている。

【0004】

また、エクソソームが有する成分の測定方法としては、エクソソームが有する第1抗原と特異的に結合する第1抗体、及び、エクソソームが有する第2抗原と特異的に結合する第2抗体を用いる免疫測定方法が知られている（特許文献2）。

GPRC5C（G-protein coupled Receptor family C group 5 member C：Gタンパク質共役受容体、ファミリーC、グループ5、メンバーC）は、7回膜貫通型のGタンパク質共役受容体で、副腎、甲状腺、膵臓等の内分泌系で高発現しており、内分泌系疾患の診断に利用され得ることが報告されている（特許文献3）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開第2014/167969号

【特許文献2】国際公開第2013/094307号

【特許文献3】国際公開第2005/101001号

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Taylor., et al., Gynecologic Oncol, 100(2008) pp13-21

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための方法及び試薬、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための方法及び試薬、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための方法及び試薬、膵臓癌マーカー、膵臓癌診断薬、並びに生体試料の判定方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討した結果、被検者より採取した検体中の、GPRC5C、特にエクソソームが有するGPRC5Cを測定することにより、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定でき、さらに膵臓癌患者と膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cを測定することにより、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別でき、さらに、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングすることができることを見出し、本発明を完成した。すなわち、本発明は、以下の[1]～[53]に関する。

【0009】

[1]被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cを測定することを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法。

[2]以下の工程を含むことを特徴とする、[1]に記載の方法。

(1)被検者より検体を採取する工程；

(2)工程(1)で採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定する工程；

(3)工程(2)で測定したGPRC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定する工程

10

20

30

40

50

[3] 前記工程 (2) において、前記工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度の測定が、検体より単離されたエクソソームを用いて行われる、[2] に記載の方法。

[4] 前記工程 (2) が免疫学的測定法によって行われる、[2] 又は [3] に記載の方法。

[5] 前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、[4] に記載の方法。

[6] 前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソームに特異的に発現する抗原 (以下、エクソソーム特異的抗原という) に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、[4] に記載の方法。

[7] 前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1 (i n t e r c e l l u l a r a d h e s i o n m o l e c u l e - 1 : 細胞間接着分子 - 1)、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 (l y s o s o m e - a s s o c i a t e d m e m b r a n e p r o t e i n 1 : リソソーム膜タンパク質 1) である、[6] に記載の方法。

[8] 前記検体が、血液である、[1] ~ [7] のいずれか一つに記載の方法。

【 0 0 1 0 】

[9] 膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C を測定することを特徴とする、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別する方法。

[1 0] 以下の工程を含むことを特徴とする、[9] に記載の方法。

(1) 膵臓疾患患者より検体を採取する工程 ;

(2) 工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定する工程 ;

(3) 工程 (2) で測定した G P R C 5 C 濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定する工程

[1 1] 前記工程 (2) において、前記工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度の測定が、検体より単離されたエクソソームを用いて行われる、[1 0] 記載の方法。

[1 2] 前記工程 (2) が免疫学的測定法によって行われる、[1 0] 又は [1 1] に記載の方法。

[1 3] 前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、[1 2] に記載の方法。

[1 4] 前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、[1 2] に記載の方法。

[1 5] 前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 である、[1 4] に記載の方法。

[1 6] 前記膵臓癌以外の膵臓疾患が、膵炎である、[9] ~ [1 5] のいずれか一つに記載の方法。

[1 7] 前記検体が、血液である、[9] ~ [1 6] のいずれか一つに記載の方法。

【 0 0 1 1 】

[1 8] 被検者より経時的に採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C を測定することを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法。

。

10

20

30

40

50

[1 9] 以下の工程を含むことを特徴とする、[1 8] に記載の方法。

(1) 被検者より経時的に検体を採取する工程；

(2) 工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定する工程；

(3) 工程 (2) で測定した G P R C 5 C 濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定する工程。

[2 0] 前記工程 (2) において、前記工程 (1) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度の測定が、検体より単離されたエクソソームを用いて行われる、[1 9] 記載の方法。

[2 1] 前記工程 (2) が免疫学的測定法によって行われる、[1 9] 又は [2 0] に記載の方法。

[2 2] 前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、[2 1] に記載の方法。

[2 3] 前記免疫学的測定法が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いて行われる、[2 1] に記載の方法。

[2 4] 前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 である、[2 3] に記載の方法。

[2 5] 前記検体が、血液である、[1 8] ~ [2 4] のいずれか一つに記載の方法。

【 0 0 1 2 】

[2 6] 被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬を含むことを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬。

[2 7] 前記 G P R C 5 C 測定試薬が、免疫学的測定試薬である、[2 6] に記載の試薬。

[2 8] 前記免疫学的測定試薬が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む、[2 7] に記載の試薬。

[2 9] 前記免疫学的測定試薬が、さらに、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む、[2 8] に記載の試薬。

[3 0] 前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 である、[2 9] に記載の試薬。

[3 1] さらに、エクソソーム単離試薬を含む、[2 6] ~ [3 0] のいずれか一つに記載の試薬。

[3 2] 前記検体が、血液である、[2 6] ~ [3 1] のいずれか一つに記載の試薬。

【 0 0 1 3 】

[3 3] 被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬を含むことを特徴とする、膵臓癌患者と膵臓癌以外の膵臓疾患患者とを鑑別するための試薬。

[3 4] 前記 G P R C 5 C 測定試薬が、免疫学的測定試薬である、[3 3] に記載の試薬。

[3 5] 前記免疫学的測定試薬が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む、[3 4] に記載の試薬。

[3 6] 前記免疫学的測定試薬が、さらに、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む、[3 5] に記載の試薬。

[3 7] 前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 である、[3 6] に記載の試薬。

10

20

30

40

50

[3 8] さらに、エクソソーム単離試薬を含む、[3 3] ~ [3 7] のいずれか一つに記載の試薬。

[3 9] 前記膵臓癌以外の膵臓疾患が、膵炎である、[3 3] ~ [3 8] のいずれか一つに記載の試薬。

[4 0] 前記検体が、血液である、[3 3] ~ [3 9] のいずれか一つに記載の試薬。

【 0 0 1 4 】

[4 1] 被検者より経時的に採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬を含むことを特徴とする、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬。

[4 2] 前記 G P R C 5 C 測定試薬が、免疫学的測定試薬である、[4 1] に記載の試薬。

[4 3] 前記免疫学的測定試薬が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む、[4 2] に記載の試薬。

[4 4] 前記免疫学的測定試薬が、さらに、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む、[4 3] に記載の試薬。

[4 5] 前記エクソソーム特異的抗原が、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - 1、R a b 5、A n n e x i n V、又は L A M P 1 である、[4 4] に記載の試薬。

[4 6] さらに、エクソソーム単離試薬を含む、[4 1] ~ [4 5] のいずれか一つに記載の試薬。

[4 7] 前記検体が、血液である、[4 1] ~ [4 6] のいずれか一つに記載の試薬。

【 0 0 1 5 】

[4 8] G P R C 5 C 又は G P R C 5 C 遺伝子からなることを特徴とする、膵臓癌マーカー。

[4 9] G P R C 5 C に対する特異的結合物質、G P R C 5 C 遺伝子を増幅可能なプライマーセット、又は G P R C 5 C 遺伝子の m R N A に特異的にハイブリダイズするプローブを備えたことを特徴とする、膵臓癌診断薬。

[5 0] 前記 G P R C 5 C に対する特異的結合物質が、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片である、[4 9] 記載の診断薬。

[5 1] 生体試料中の G P R C 5 C の存在量を測定する工程と、測定された前記タンパク質の存在量が、健常者又は膵臓癌以外の膵臓疾患患者の生体試料中の G P R C 5 C の存在量と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者のものであると判定する工程と、を含むことを特徴とする、生体試料の判定方法。

[5 2] 生体試料中の G P R C 5 C 遺伝子の発現量を測定する工程と、測定された前記遺伝子の発現量が、健常者又は膵臓癌以外の膵臓疾患患者の生体試料中の G P R C 5 C 遺伝子の発現量と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者のものであると判定する工程と、を備えたことを特徴とする、生体試料の判定方法。

[5 3] 膵臓癌以外の膵臓疾患が、膵炎である、[5 1] 又は [5 2] 記載の方法。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 6 】

本発明により、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための方法及び試薬、膵臓癌と膵臓癌以外膵臓疾患とを鑑別する方法及び試薬、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法及び試薬、膵臓癌マーカー、膵臓癌診断薬、並びに生体試料の判定方法が提供される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 7 】

【 図 1 】 健常人 (4 検体)、膵炎患者 (4 検体)、膵臓癌患者 (4 検体) から採取された血清中のエクソソームを用いて、ウェスタンブロッティングにより、G P R C 5 C (4 8

10

20

30

40

50

k D)、及び、エクソソーム特異的抗原であるCD63を検出した結果である。

【図2】健常人(10検体)、膵炎患者(10検体)、及び膵臓癌患者(23検体)から採取した血清中のエクソソームを用いて、それぞれの血清中のエクソソームが有するGPCR5C濃度を比較した結果である。縦軸は、ウェスタンブロッティングで得られたGPCR5Cのシグナル及びCD63のシグナルから算出した、GPCR5C/CD63のシグナル比を示す。

【図3】手術前及び手術後の膵臓癌患者(ステージIB:1検体、ステージIIB:2検体、ステージIII:2検体)から採取した血清中のエクソソームを用いて、ウェスタンブロッティングにより、GPCR5C(48kD)を検出した結果である。

【図4】再発した膵臓癌患者(22検体)及び健常人(2検体)から採取した血清中のエクソソームを用いて、それぞれの血清中のエクソソームが有するGPCR5C濃度を比較した結果である。縦軸は、ウェスタンブロッティングで得られたGPCR5Cのシグナル及びCD9のシグナルから算出した、GPCR5C/CD9のシグナル比を示す。

【発明を実施するための形態】

【0018】

1. 被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法

本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法は、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5Cの濃度を測定することを特徴とする方法である。

【0019】

本発明におけるエクソソームとは、動物細胞から分泌される直径30~100nmの脂質二重膜で覆われた膜小胞である。

本発明における検体としては、エクソソームが有するGPCR5Cが測定され得る検体であれば特に制限はなく、例えば血液、尿、唾液、乳汁、鼻汁、脳脊髄液等が挙げられ、血液が好ましい。前記血液としては、例えば、全血、血清、血漿等が挙げられ、血清が好ましい。

【0020】

本発明において、エクソソームが有するGPCR5Cとは、エクソソームに内包されているGPCR5C、エクソソームの膜表面に存在しているGPCR5C、エクソソームの膜を貫通しているGPCR5C等の何れの形態のGPCR5Cをも意味する。

本発明において、エクソソームが有するGPCR5C濃度とは、単位容量あたりの量又はモル数のみならず、単位容量あたりのシグナル強度をも包含する。

【0021】

[測定方法1]

本発明において、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法は、以下の工程を含む方法により行うことができる。

(1) 被検者より検体を採取する工程；

(2) 工程(1)で採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5Cの濃度を測定する工程；

(3) 工程(2)で測定したGPCR5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度よりも高い場合には被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度と同じか又は低い場合には被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定する工程。

以下、各工程について詳細に説明する。

【0022】

<工程(1)>

工程(1)において、被検者より採取された検体としては、前述の検体等が挙げられる。

【0023】

10

20

30

40

50

< 工程 (2) >

工程 (2) は、工程 (1) で採取された検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を測定する工程である。工程 (1) で採取された検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度は、例えば、免疫学的測定法によって測定することができる。免疫学的測定法としては、検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を抗原抗体反応を用いて測定できる方法であれば如何なる方法でも用いることができ、例えば、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法、及び、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片と、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片とを用いる方法等が挙げられる。

【 0 0 2 4 】

工程 (2) における G P R C 5 C に結合する抗体としては、G P R C 5 C を測定できる抗体であれば特に制限はなく、例えば、A n t i - G P R C 5 C 抗体 - C - t e r m i n a l (a b 1 3 7 4 8 2) (アブカム社製)、G P R C 5 C A n t i b o d y (N - 1 4) (サンタクルズ バイオテクノロジー社製) 等が挙げられる。

【 0 0 2 5 】

工程 (2) におけるエクソソーム特異的抗原としては、例えば、C D 6 3、C D 9、C D 8 1、C D 3 7、C D 5 3、C D 8 2、C D 1 3、C D 1 1、C D 8 6、I C A M - I、R a b 5、A n n e x i n V、L A M P 1 等が挙げられる。

【 0 0 2 6 】

エクソソーム特異的抗原に結合する抗体としては、エクソソーム特異的抗原に結合できる抗体であれば特に制限はなく、例えば P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 6 3 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：H 5 C 6)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 9 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：M - L 1 3)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 8 1 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：J S - 8 1)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 3 7 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：M - B 3 7 1)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 5 3 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：H I 2 9)、A n t i - C D 8 2 a n t i b o d y [C 3 3] (アブカム社製)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 1 3 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：W M 1 5)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 1 1 a (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：2 7 / C D 1 1 a)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 1 1 b / M a c - 1 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：I C R F 4 4)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 1 1 c (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：3 . 9)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n C D 8 6 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：2 3 3 1 (F U N - 1))、A n t i - I C A M 1 a n t i b o d y [H M 1] (アブカム社製)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - R a b 5 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：1 / R a b 5)、A n t i - A n n e x i n V a n t i b o d y [E P R 3 9 7 9] (アブカム社製)、P u r i f i e d M o u s e A n t i - H u m a n L a m p - 1 (日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：2 5 / L a m p - 1) 等が挙げられる。

【 0 0 2 7 】

工程 (2) における G P R C 5 C に結合する抗体断片、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体断片としては、それぞれ G P R C 5 C、エクソソーム特異的抗原を測定できる抗体断片であれば特に制限はなく、例えば抗体をパイニン処理により得られる F a b、ペプシン処理により得られる F (a b ')₂、ペプシン処理 - 還元処理により得られる F a b ' 等の F c 部分が除去された抗体断片、遺伝子工学的的手法により F c 部分が除去された抗体断片等が挙げられる。

【 0 0 2 8 】

10

20

30

40

50

工程(2)の、検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度は、サンドイッチELISAや後述のエクソスクリーン法等により測定することができる。サンドイッチELISAにおいて、エクソソームが有するGPRC5C濃度の測定に用いる上記2種類の抗体のうち、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いることができる。あるいは、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いることもできる。固相用抗体及び標識用抗体の調製は、特に限定はなく、公知の方法に従って行うことができる。

【0029】

エクソソームが有するGPRC5Cの測定方法は、エクソソームが有するGPRC5Cを測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば免疫学的測定法等の方法を用いて行うことができる。

【0030】

具体的には、固相用抗体として、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用い、標識用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いる場合は、固相に固定化されたGPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片に、検体中の、GPRC5Cを有するエクソソームを結合させ、次いで、標識化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を添加して、固相上に、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、エクソソーム、及び、標識化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の複合体を形成させ、形成した該複合体中の該標識を測定することにより、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cを測定することができる。

また、固相用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用い、標識用抗体として、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いる場合は、固相に固定化されたエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片に、検体中のエクソソームを結合させ、次いで、標識化された、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を添加して、固相上に、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片、エクソソーム、及び、標識化された、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片の複合体を形成させ、形成した該複合体中の該標識を測定することにより、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cを測定することができる。

【0031】

上記において、固相としては、例えば、マイクロタイタープレート、ガラス製又は合成樹脂製の粒状物(ビーズ)、ガラス製又は合成樹脂製の球状物(ボール)、ラテックス、磁性粒子、ニトロセルロース膜等の各種メンブレン、合成樹脂製の試験管等を用いることができる。標識としては、例えば酵素、蛍光物質、発光物質、放射性同位元素、ビオチン、ジゴキシゲニン、タグ配列を含むポリペプチド、金属コロイド粒子、着色ラテックス粒子等を用いることができる。

【0032】

酵素としては、例えば、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ、グルクロニダーゼ、ルシフェラーゼ等が挙げられる。

蛍光物質としては、例えば、フルオレッセイン イソチオシアナート(FITC)、ローダミンB-イソチオシアナート(RITC)等が挙げられる。その他の蛍光物質としては、例えば、quantum dot (Science, 281, 2016-2018, 1998)、フィコエリスリン等のフィコビリ蛋白質、GFP (Green fluorescent Protein)、RFP (Red fluorescent Protein)、YFP (Yellow fluorescent Protein)、BFP (Blue fluorescent Protein)等の蛍光を発する蛋白質が挙げられる。

発光物質としては、例えば、アクリジニウム及びその誘導体、ルテニウム錯体化合物、ロフィン等が挙げられる。ルテニウム錯体化合物としては、電子供与体と共に電気化学的に発光する、Clin.Chem.37,9,1534-1539,1991に示されたもの

10

20

30

40

50

が好ましい。

放射性同位元素としては、例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{32}P 、 ^{125}I 、 ^{131}I 等が挙げられる。

タグ配列を含むポリペプチドとしては、FLAGペプチド(FLAGタグ、Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys)、ポリヒスチジン(Hisタグ、His His His His His His)、mycエピトープペプチド(mycタグ、Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu)、ヘマグルチニンエピトープペプチド(HAタグ、Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala)等が挙げられる。

【0033】

10

工程(2)において、検体中のエクソソームを破壊せずに、検体中の、エクソソームが有するGPCR5Cの濃度を測定する場合には、GPCR5Cに結合する抗体又は該抗体断片として、上記GPCR5Cに結合する抗体又は該抗体断片のうち、エクソソーム表面に存在するGPCR5Cのエピトープに結合する抗体又は抗体断片を用いることが好ましい。

【0034】

工程(2)における免疫学的測定法としては、前述のサンドイッチELISAの他に、エクソスクリーン法が挙げられる。エクソスクリーン法は、PerkinElmer社が開発したAlphaLISAを応用したものである。本方法においては、エピトープの異なる2種類の抗体を用いて、片方の抗体にはビオチンを結合させたビオチン化抗体を、もう片方にはAlphaLISAアクセプタービーズを結合させた抗体を用いて解析試料と反応させる。その後、ストレプトアビジンが結合したドナービーズを添加することで、ビオチン化抗体とドナービーズがストレプトアビジンを介して結合し、アクセプタービーズとドナービーズが隣接する。200nm以内に隣接した状態で、680nm励起により、ドナービーズから一重項酸素が発生し、アクセプタービーズに一重項酸素が到達すると615nmの光を発してシグナルとして検出することができる。

20

【0035】

具体的には、GPCR5Cに結合する抗体又は該抗体断片にビオチンを結合させたビオチン化抗体、及び、AlphaLISAアクセプタービーズを結合させた、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は抗体断片を、検体中の、エクソソームが有するGPCR5Cと反応させ、その後、ストレプトアビジンが結合したドナービーズを添加することで、該アクセプタービーズ、エクソソーム、及び、該ドナービーズの複合体を形成させる。該複合体のドナービーズに励起光を照射し一重項酸素を発生させ、発生した一重項酸素と該アクセプタービーズとの反応により生成する光を測定する。

30

また、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片にビオチンを結合させたビオチン化抗体、及びAlphaLISAアクセプタービーズを結合させたGPCR5Cに結合する抗体又は抗体断片を、検体中の、エクソソームが有するGPCR5Cと反応させ、その後、ストレプトアビジンが結合したドナービーズを添加することで、該アクセプタービーズ、エクソソーム、及び、該ドナービーズの複合体を形成させる。該複合体のドナービーズに励起光を照射し一重項酸素を発生させ、発生した一重項酸素と該アクセプタービーズとの反応により生成する光を測定する。

40

【0036】

<工程(3)>

工程(3)は、工程(2)で得られた、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度と、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度とを対比する工程であり、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPCR5C濃度と同じか又は低い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定される。

50

【 0 0 3 7 】

健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度は、該被検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定するための基準値であり、複数の健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を測定し、その統計から健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を設定することができる。

健常者より採取した検体としては、被検者より採取した検体と同種の試料であることが好ましく、例えば、被検者より採取した検体が血液である場合、健常者より採取した検体も血液を用いることが好ましい。

被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と、健常者より採取した検体中のエクソソームが有する G P R C 5 C 濃度とを対比する方法としては、特に限定はなく、公知の方法 (S t e e l 法、t 検定、W i l c o x o n 検定等)を用いることができる。該解析により、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定される。

また、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定するための基準値として、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の代わりに、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を用いることもできる。この場合、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と比較する。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

【 0 0 3 8 】

また、前記測定方法 1 の工程 (2) において、被検者より採取した検体より単離したエクソソームを用いて、検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を測定することもできる。具体的には、以下の工程を含む方法が挙げられる。

[測定方法 2]

(1 A) 被検者より検体を採取する工程 ;

(2 A) 工程 (1 A) で採取した検体からエクソソームを単離する工程 ;

(3 A) 工程 (2 A) で単離したエクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を測定する工程 ;

(4 A) 工程 (3 A) で測定した G P R C 5 C 濃度から、該検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を決定する工程 ;

(5 A) 工程 (4 A) で決定した G P R C 5 C 濃度が、健常者から採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者から採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定する工程。

以下、各工程について詳細に説明する。

【 0 0 3 9 】

< 工程 (1 A) >

工程 (1 A) において、被検者より採取された検体としては、前述の検体等が挙げられる。

【 0 0 4 0 】

< 工程 (2 A) >

工程 (2 A) における、エクソソームを単離する方法としては、検体中のエクソソームを単離できる方法であれば特に制限はなく、例えば超遠心法 (T r e n d s i n M o

10

20

30

40

50

l e c u l a r M e d i c i n e . 2 1 , 5 3 3 (2 0 1 5)) 、 エ ク ソ ソ ー ム 単 離 キ ッ ト E X O - P r e p (コ ス モ バ イ オ 社 製) を 用 い る 方 法 等 が 挙 げ ら れ る 。

【 0 0 4 1 】

< 工 程 (3 A) >

工 程 (3 A) に お け る エ ク ソ ソ ー ム が 有 す る G P R C 5 C 濃 度 の 測 定 方 法 は 、 エ ク ソ ソ ー ム が 有 す る G P R C 5 C の 濃 度 を 測 定 し 得 る 方 法 で あ れ ば 、 如 何 な る 方 法 を 用 い て 行 う こ と が 可 能 で 且 、 例 え ば 免 疫 学 的 測 定 法 等 の 方 法 を 用 い て 行 う こ と が 可 能 である。免疫学的測定法によるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法としては、以下の態様が挙げられる。

【 0 0 4 2 】

・ 態 様 1

G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 を 用 い る 方 法 。

・ 態 様 2

G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 、 及 び エ ク ソ ソ ー ム 特 異 的 抗 原 に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 を 用 い る 方 法 。

【 0 0 4 3 】

G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 と し て は 、 例 え ば 前 述 の G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 等 が 挙 げ ら れ る 。 エ ク ソ ソ ー ム 特 異 的 抗 原 に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 と し て は 、 例 え ば 、 前 述 の エ ク ソ ソ ー ム 特 異 的 抗 原 に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 等 が 挙 げ ら れ る 。

【 0 0 4 4 】

態 様 1 の 方 法 と し て は 、 例 え ば ウ ェ ス タ ン ブ ロ ッ テ ィ ン グ 等 が 挙 げ ら れ る 。 ウ ェ ス タ ン ブ ロ ッ テ ィ ン グ と し て は 、 例 え ば 、 M o n o c l o n a l A n t i b o d i e s - P r i n c i p l e s a n d p r a c t i c e , T h i r d e d i t i o n , A c a d e m i c P r e s s (1 9 9 6) に 記 載 の 方 法 等 が 挙 げ ら れ る 。

態 様 2 の 方 法 と し て は 、 単 離 し た エ ク ソ ソ ー ム を 破 壊 せ ず に 測 定 す る 場 合 に は 、 上 記 測 定 方 法 1 に 記 載 し た 免 疫 学 的 測 定 方 法 、 例 え ば 、 エ ク ソ ス ク リ ー ン 法 等 が 挙 げ ら れ 、 単 離 し た エ ク ソ ソ ー ム を 破 壊 し て 測 定 す る 場 合 に は 、 サ ン ド イ ッ チ E L I S A 法 等 が 挙 げ ら れ る 。 エ ク ソ ス ク リ ー ン 法 と し て は 、 例 え ば 、 前 述 の エ ク ソ ス ク リ ー ン 法 等 が 挙 げ ら れ る 。 単 離 し た エ ク ソ ソ ー ム を 破 壊 せ ず に 測 定 す る 場 合 は 、 G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 は 、 前 記 G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 の う ち 、 エ ク ソ ソ ー ム 表 面 に 存 在 す る G P R C 5 C の エ ピ ト ー プ に 結 合 す る 抗 体 又 は 抗 体 断 片 を 用 い る 。

単 離 し た エ ク ソ ソ ー ム を 破 壊 す る 方 法 と し て は 、 例 え ば 、 超 音 波 を 用 い る 方 法 等 が 挙 げ ら れ る 。 サ ン ド イ ッ チ E L I S A 法 と し て は 、 例 え ば 、 G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 を 固 相 用 抗 体 と し て 、 エ ク ソ ソ ー ム 特 異 的 抗 原 に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 を 標 識 用 抗 体 と し て 用 い て も 、 エ ク ソ ソ ー ム 特 異 的 抗 原 に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 を 固 相 用 抗 体 と し て 、 G P R C 5 C に 結 合 す る 抗 体 又 は 該 抗 体 断 片 を 標 識 用 抗 体 と し て 用 い て も よ い 。 固 相 及 び 標 識 と し て は 、 例 え ば 公 知 の 固 相 及 び 標 識 が 各 々 挙 げ ら れ 、 例 え ば 、 前 記 の 固 相 及 び 標 識 が 各 々 用 い ら れ る 。 固 相 用 抗 体 及 び 標 識 用 抗 体 の 調 製 方 法 と し て は 、 例 え ば 公 知 の 調 製 方 法 が 挙 げ ら れ る 。

【 0 0 4 5 】

< 工 程 (4 A) >

工 程 (4 A) は 、 工 程 (3 A) で 測 定 し た G P R C 5 C 濃 度 か ら 、 該 検 体 中 の 、 エ ク ソ ソ ー ム が 有 す る G P R C 5 C 濃 度 を 決 定 す る 工 程 である。該検体の容量と、工程(3A)で測定したGPRC5C濃度とから、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を決定することができる。

【 0 0 4 6 】

< 工 程 (5 A) >

工 程 (5 A) は 、 工 程 (4 A) で 決 定 さ れ た 、 該 被 検 者 よ り 採 取 し た 検 体 中 の 、 エ ク ソ ソ ー ム が 有 す る G P R C 5 C 濃 度 と 、 健 常 者 よ り 採 取 し た 検 体 中 の 、 エ ク ソ ソ ー ム が 有 す

10

20

30

40

50

る G P R C 5 C 濃度とを対比する工程であり、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定される。

【 0 0 4 7 】

健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度は、該被検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定するための基準値であり、複数の健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を測定し、その統計から健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を設定してもよい。

10

健常者の検体としては、被検者の検体と同種の試料であることが好ましく、例えば、被検者の検体が血液である場合、健常者の検体も血液を用いることが好ましい。

【 0 0 4 8 】

被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度とを対比する方法としては、前述の方法を用いることができる。該解析により、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性は低いと判定される。

20

また、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定するための基準値として、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の代わりに、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を用いることもできる。この場合、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と比較する。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

【 0 0 4 9 】

30

2 . 膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別する方法

本発明の、膵臓疾患患者より採取した検体中のエクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定することを特徴とする方法である。

本発明の鑑別方法における検体としては、エクソソームが有する G P R C 5 C が測定され得る検体であれば特に制限はなく、例えば前述の検体等が挙げられる。

本発明の鑑別方法において、エクソソームが有する G P R C 5 C は、エクソソームに内包されていても、エクソソームの膜表面に存在していても、エクソソームの膜を貫通していても、何れの形態で存在していてもよい。

本発明の鑑別方法において、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度とは、単位容量あたりの質量又はモル数のみならず、単位容量あたりのシグナル強度をも包含する。

40

【 0 0 5 0 】

[測定方法 3]

本発明の、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外膵臓疾患とを鑑別する方法は、以下の工程を含む方法により行うことができる。

(1 B) 被検者より検体を採取する工程 ;

(2 B) 工程 (1 B) で採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定する工程 ;

(3 B) 工程 (2 B) で測定した G P R C 5 C 濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検

50

体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定する工程。

以下、各工程について詳細に説明する。

【0051】

<工程(1B)>

工程(1B)において、被検者より採取された検体としては、前述の検体等が挙げられる。

【0052】

<工程(2B)>

工程(2B)におけるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法は、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば免疫学的測定法等の方法を用いて行うことができる。免疫学的測定法によるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法としては、以下の態様が挙げられる。

10

・態様1

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

・態様2

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

20

【0053】

工程(2B)におけるGPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片としては、GPRC5Cを測定できる抗体又は該抗体断片であれば特に制限はなく、例えば前述の抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

工程(2B)におけるエクソソーム特異的抗原としては、例えば前述の抗原等が挙げられる。

【0054】

工程(2B)におけるエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、エクソソーム特異的抗原に結合できる抗体又は該抗体断片であれば特に制限はなく、例えば前述の抗体又は該抗体断片等が挙げられる。工程(2B)において、上記2種類の抗体又は該抗体断片を用いる場合は、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いて、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することができる。または、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いて、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することもできる。固相用抗体及び標識用抗体の調製は、特に限定はなく、公知の方法に従って行うことができる。

30

【0055】

エクソソームが有するGPRC5Cの測定方法は、エクソソームが有するGPRC5Cを測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば前述のサンドイッチELISA、エクソスクリーン法等の免疫学的測定法等を用いて行うことができる。

40

工程(2B)において、検体中のエクソソームを破壊せずに、検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定する場合には、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片として、上記GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片のうち、エクソソーム表面に存在するGPRC5Cのエピトープに結合する抗体又は抗体断片を用いることが好ましい。

【0056】

<工程(3B)>

工程(3B)は、工程(2B)で得られた、膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の

50

、エクソソームが有するGPRC5C濃度とを対比する工程であり、膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、GPRC5C濃度よりも高い場合には該膵臓疾患患者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、GPRC5C濃度と同じか又は低い場合には該膵臓疾患患者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定する工程である。

【0057】

膵臓癌以外の膵臓疾患としては、膵炎が挙げられ、膵炎としては、急性膵炎、慢性膵炎が挙げられる。

【0058】

膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度は、該検者が膵臓癌に罹患しているか、膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患しているかを鑑別するための基準値であり、複数の膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定し、その統計から膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を設定することができる。

膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体としては、被検者より採取した検体と同種の試料であることが好ましく、例えば、被検者より採取した検体が血液である場合、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体も血液を用いることが好ましい。

被検者より採取した検体中のエクソソームが有するGPRC5C濃度と、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中のエクソソームが有するGPRC5C濃度とを対比する方法としては、特に限定はなく、例えば前述の方法等を用いることができる。該解析により、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定される。

また、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための基準値として、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の代わりに、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を用いることもできる。この場合、膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と比較する。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

【0059】

また、前記測定方法3の工程(2B)において、被検者より採取した検体より単離したエクソソームを用いて、検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することもできる。具体的には、以下の工程を含む方法が挙げられる。

[測定方法4]

- (1C) 膵臓疾患患者より検体を採取する工程；
- (2C) 工程(1C)で採取した検体からエクソソームを単離する工程；
- (3C) 工程(2C)で単離したエクソソームが有するGPRC5C濃度を測定する工程；
- (4C) 工程(3C)で測定したGPRC5C濃度から、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を決定する工程；
- (5C) 工程(4C)で決定したGPRC5C濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、膵臓癌以外の膵臓疾患より採取した検体中の、

10

20

30

40

50

エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定する工程。

【0060】

<工程(1C)>

工程(1C)において、被検者より採取された検体としては、前述の検体等が挙げられる。

【0061】

<工程(2C)>

工程(2C)における、エクソソームを単離する方法としては、検体中のエクソソームを単離できる方法であれば特に制限はなく、例えば前述の方法等が挙げられる。

10

【0062】

<工程(3C)>

工程(3C)におけるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法は、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば免疫学的測定法等の方法を用いて行うことができる。免疫学的測定法によるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法としては、以下の態様が挙げられる。

【0063】

・態様1

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

20

・態様2

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

【0064】

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片としては、例えば前述のGPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、例えば前述のエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

【0065】

態様1の方法としては、例えばウェスタンブロットング等が挙げられる。ウェスタンブロットングとしては、例えば前述の方法等が挙げられる。

30

態様2の方法としては、単離したエクソソームを破壊せずに測定する場合には、上記測定方法1に記載した免疫学的測定方法、例えば、エクソスクリーン法等が挙げられ、単離したエクソソームを破壊して測定する場合には、サンドイッチELISA法等が挙げられる。エクソスクリーン法としては、例えば前述のエクソスクリーン法等が挙げられる。

【0066】

単離したエクソソームを破壊せずに測定する場合は、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片は、前記GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片のうち、エクソソーム表面に存在するGPRC5Cのエピトープに結合する抗体又は抗体断片を用いる。

単離したエクソソームを破壊する方法としては、例えば前述の方法等が挙げられる。

40

サンドイッチELISA法としては、例えばGPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いても、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いてもよい。固相及び標識としては、例えば公知の固相及び標識がそれぞれ挙げられ、例えば前述の固相及び標識がそれぞれ用いられる。固相用抗体及び標識用抗体の調製方法としては、例えば公知の調製方法が挙げられる。

【0067】

<工程(4C)>

工程(4C)は、工程(3C)で測定したGPRC5C濃度から、該検体中の、エクソ

50

ソームが有する G P R C 5 C 濃度を決定する工程である。該検体の容量と、工程 (3 C) で測定した G P R C 5 C 濃度とから、該検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を決定することができる。

【 0 0 6 8 】

< 工程 (5 C) >

工程 (5 C) は、工程 (4 C) で決定された、該膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と、膵臓癌以外の膵臓疾患より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度とを対比する工程であり、膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高い場合には該膵臓疾患患者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、膵臓癌以外の膵臓疾患より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い場合には、該膵臓疾患患者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高いと判定される。

10

【 0 0 6 9 】

膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度は、該膵臓疾患患者が膵臓癌に罹患しているか、膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患しているかを鑑別するための基準値であり、複数の膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を測定し、その統計から膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度を設定することができる。

20

この場合、基準値を設定する際に用いた膵臓癌以外の膵臓疾患患者の検体は、被検者である膵臓疾患患者の検体と同種の試料であることが好ましく、例えば、被検者である膵臓疾患患者の検体が血液である場合、膵臓癌以外の膵臓疾患患者の検体も血液を用いることが好ましい。

被検者のエクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と、膵臓癌以外の膵臓疾患患者のエクソソームが有する G P R C 5 C 濃度とを対比する方法としては、前述の方法を用いることができる。該解析により、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度よりも高いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低いことが示された場合は、該被検者は膵臓癌以外の膵臓疾患患者に罹患している可能性が高いと判定される。

30

また、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための基準値として、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の代わりに、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を用いることもできる。この場合、膵臓疾患患者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と比較する。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

40

【 0 0 7 0 】

3 . 被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法

本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法は、被検者より経時的に採取した検体中のエクソソームが有する G P R C 5 C の濃度を測定することを特徴とする方法である。

【 0 0 7 1 】

本発明における検体としては、エクソソームが有する G P R C 5 C が測定され得る検体であれば特に制限はなく、例えば前述の検体等が挙げられる。

本発明において、エクソソームが有する G P R C 5 C は、エクソソームに内包されていても、エクソソームの膜表面に存在していても、エクソソームの膜を貫通していても、何

50

れの形態で存在していてもよい。

本発明において、エクソソームが有するGPRC5C濃度とは、単位容量あたりの質量又はモル数のみならず、単位容量あたりのシグナル強度をも包含する。

【0072】

[測定方法5]

本発明において、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法は、以下の工程を含む方法により行うことができる。

(1D) 被検者より経時的に検体を採取する工程；

(2D) 工程(1D)で採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定する工程；

(3D) 工程(2D)で測定したGPRC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低いと判定する工程。

【0073】

<工程(1D)>

工程(1D)において、被検者より採取された検体としては、前述の検体等が挙げられる。

【0074】

<工程(2D)>

工程(2D)におけるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法は、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば免疫学的測定法等の方法を用いて行うことができる。免疫学的測定法によるエクソソームが有するGPRC5C濃度の測定方法としては、以下の態様が挙げられる。

・態様1

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

・態様2

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

工程(2D)におけるGPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片としては、GPRC5Cを測定できる抗体又は該抗体断片であれば特に制限はなく、例えば前述の抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

工程(2D)におけるエクソソーム特異的抗原としては、例えば前述の抗原等が挙げられる。

【0075】

工程(2D)におけるエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、エクソソーム特異的抗原に結合できる抗体又は該抗体断片であれば特に制限はなく、例えば前述の抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

工程(2D)において、上記2種類の抗体又は該抗体断片を用いる場合は、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いて、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することができる。または、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いて、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することもできる。固相用抗体及び標識用抗体の調製は、特に限定はなく、公知の方法に従って行うことができる。

エクソソームが有するGPRC5Cの測定方法は、エクソソームが有するGPRC5Cを測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば前述のサンドイッチELISA、エクソスクリーン法等の免疫学的測定法等を用いて行うことができる

10

20

30

40

50

。

工程(2D)において、検体中のエクソソームを破壊せずに、検体中の、エクソソームが有するGPRC5Cの濃度を測定する場合には、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片として、上記GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片のうち、エクソソーム表面に存在するGPRC5Cのエピトープに結合する抗体又は抗体断片を用いることが好ましい。

【0076】

<工程(3D)>

工程(3D)は、工程(2D)で得られた、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度とを対比する工程であり、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低いと判定する。

10

【0077】

健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度は、該検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定するための基準値であり、複数の健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定し、その統計から健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を設定することができる。

20

健常者より採取した検体としては、被検者より採取した検体と同種の試料であることが好ましく、例えば、被検者より採取した検体が血液である場合、健常者より採取した検体も血液を用いることが好ましい。

被検者より経時的に採取した検体中のエクソソームが有するGPRC5C濃度と、健常者より採取した検体中のエクソソームが有するGPRC5C濃度とを対比する方法としては、特に限定はなく、例えば前述の方法等を用いることができる。該解析により、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、健常者により採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い濃度で維持されている場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低いと判定される。

30

また、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための基準値として、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の代わりに、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を用いることもできる。この場合、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と比較する。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

40

【0078】

また、前記測定方法5の工程(2D)において、被検者より採取した検体より単離したエクソソームを用いて、検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することもできる。具体的には、以下の工程を含む方法が挙げられる。

[測定方法6]

(1E) 被検者より経時的に検体を採取する工程；

(2E) 工程(1E)で採取した検体からエクソソームを単離する工程；

(3E) 工程(2E)で単離したエクソソームが有するGPRC5C濃度を測定する工程；

；

(4E) 工程(3E)で測定したGPRC5C濃度から、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を決定する工程；

50

(5E)工程(4E)で決定したGPC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPC5C濃度よりも高いで維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定し、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPC5C濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低いと判定する工程。

【0079】

<工程(1E)>

工程(1E)において、被検者より採取された検体としては、前述の検体等が挙げられる。

【0080】

<工程(2E)>

工程(2E)における、エクソソームを単離する方法としては、検体中のエクソソームを単離できる方法であれば特に制限はなく、例えば前述の方法等が挙げられる。

【0081】

<工程(3E)>

工程(3E)におけるエクソソームが有するGPC5C濃度の測定方法は、エクソソームが有するGPC5Cの濃度を測定し得る方法であれば、如何なる方法を用いて行うことができ、例えば免疫学的測定法等の方法を用いて行うことができる。免疫学的測定法によるエクソソームが有するGPC5C濃度の測定方法としては、以下の態様が挙げられる。

【0082】

・態様1

GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

・態様2

GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及びエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を用いる方法。

【0083】

GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片としては、例えば前述のGPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、例えば前述のエクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

【0084】

態様1の方法としては、例えばウェスタンブロッティング等が挙げられる。ウェスタンブロッティングとしては、例えば前述の方法等が挙げられる。

【0085】

態様2の方法としては、単離したエクソソームを破壊せずに測定する場合には、上記測定方法1に記載した免疫学的測定方法、例えば、エクソスクリーン法等が挙げられ、単離したエクソソームを破壊して測定する場合には、サンドイッチELISA法等が挙げられる。エクソスクリーン法としては、例えば前述のエクソスクリーン法等が挙げられる。

単離したエクソソームを破壊せずに測定する場合は、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片は、前記GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片のうち、エクソソーム表面に存在するGPC5Cのエピトープに結合する抗体又は抗体断片を用いる。

単離したエクソソームを破壊する方法としては、例えば前述の方法等が挙げられる。

サンドイッチELISA法としては、例えばGPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いても、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を固相用抗体として、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を標識用抗体として用いてもよい。固相及び標識としては、例えば公知の固相及び標識がそれぞれ挙げられ、例えば前述の固相及び標識がそれぞれ用いられる。固相用抗体及び標識用抗体の調製方法としては、例えば公知の調製方法が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0086】

<工程(4E)>

工程(4E)は、工程(3E)で測定したGPRC5C濃度から、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を決定する工程である。該検体の容量と、工程(3E)で測定したGPRC5C濃度とから、該検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を決定することができる。

【0087】

<工程(5E)>

工程(5E)は、工程(4E)で決定された、該被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度とを対比する工程であり、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い濃度で維持されている場合には該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低いと判定される。

10

【0088】

健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度は、該検者が膵臓癌に罹患している可能性を判定するための基準値であり、複数の健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定し、その統計から健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を設定することができる。

20

健常者の検体としては、被検者の検体と同種の試料であることが好ましく、例えば、被検者の検体が血液である場合、健常者の検体も血液を用いることが好ましい。

被検者のエクソソームが有するGPRC5C濃度と、健常者のエクソソームが有するGPRC5C濃度とを対比する方法としては、前述の方法を用いることができる。該解析により、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度よりも高い濃度で維持されている場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高いと判定され、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合は、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低いと判定される。

30

また、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための基準値として、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の代わりに、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を用いることもできる。この場合、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合を、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と比較する。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

【0089】

実施例にて後述するように、本発明によれば、手術前から手術後の膵臓癌患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することで、手術を施した際の治療効果、癌部の縮小等の膵臓癌患者の状態をモニタリングすることができる。

40

また、本発明によれば、治療中の膵臓癌患者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することで、膵臓癌の再発を予測することができる。

また、本発明によれば、被検者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度を測定することで、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングすることができる。

【0090】

4. 被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬

本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬は、エクソソ-

50

ムが有する G P R C 5 C 測定試薬を含有することを特徴とする試薬であり、本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験する方法に用いることができる。

【 0 0 9 1 】

また、本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬には、さらに、被検者より採取された検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度より高い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高く、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低い、という基準が記載された基準表が含まれていてもよい。この基準表に記載される基準として、被検者より採取された検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合より高い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高く、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と同じか又は低い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低い、という基準を用いることもできる。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

10

【 0 0 9 2 】

本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性を試験するための試薬における、エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬は、前述のエクソソームが有する G P R C 5 C の測定方法に使用される試薬である。エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬としては、検体中のエクソソームが有する G P R C 5 C を測定し得る試薬であれば特に制限はなく、例えば免疫学的測定試薬等が挙げられる。免疫学的測定試薬としては、例えば前述の免疫学的測定方法に基づく試薬等が挙げられる。

20

免疫学的測定法に基づいた、エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬の具体的態様を以下に示す。

【 0 0 9 3 】

・測定試薬 1

G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬 2

標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

30

・測定試薬 3

G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬 4

固相に固定化された、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬 5

固相に固定化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

40

・測定試薬 6

固相に固定化された、G P R C 5 C に結合する第 1 抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、G P R C 5 C に結合する第 2 抗体又は該抗体断片を含む試薬。

G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、それぞれ前述の G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

【 0 0 9 4 】

標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片における標識としては、例えば前述の標識等が挙げられる。標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断

50

片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の調製は、例えば公知の標識化抗体の調製方法に従って行うことができる。

固相に固定化された、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、固相に固定化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片における固相としては、例えば前述の固相等が挙げられる。GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片の固相への固定化、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の固相への固定化は、例えば公知の方法に従って行うことができる。

測定試薬6において、GPRC5Cに結合する第1抗体又は該抗体断片が結合するエピトープと、GPRC5Cに結合する第2抗体又は該抗体断片が結合するエピトープは異なっているとしても同じでもよいが、異なっている方が好ましい。

前記測定試薬1～6には、さらにエクソソーム単離試薬が含まれていてもよい。エクソソーム単離試薬としては、検体からエクソソームを単離できる試薬であれば特に制限はなく、例えば前述のエクソソーム単離キット等が挙げられる。

【0095】

5. 膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための試薬

本発明の、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための試薬は、エクソソームが有するGPRC5C測定試薬を含有することを特徴とする試薬であり、本発明の、膵臓疾患患者において、膵臓癌と、膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別する方法に用いることができる。

【0096】

また、本発明の、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための試薬には、さらに、膵臓疾患患者より採取された検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が、膵臓癌以外の膵臓疾患患者の検体中のエクソソームが有するGPRC5C濃度より高い場合には、該膵臓疾患患者は膵臓癌に罹患している可能性が高く、膵臓癌以外の膵臓疾患患者の検体中のエクソソームが有するGPRC5C濃度と同じか又は低い場合には、該膵臓疾患患者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高い、という基準が記載された基準表が含まれていてもよい。この基準表に記載される基準として、膵臓疾患患者より採取された検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合より高い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高く、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と同じか又は低い場合には、該膵臓疾患患者は膵臓癌以外の膵臓疾患に罹患している可能性が高い、という基準を用いることもできる。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

【0097】

本発明の、膵臓疾患患者において、膵臓癌と膵臓癌以外の膵臓疾患とを鑑別するための試薬における、エクソソームが有するGPRC5C測定試薬は、前述のエクソソームが有するGPRC5Cの測定方法に使用される試薬である。エクソソームが有するGPRC5C測定試薬としては、検体中のエクソソームが有するGPRC5Cを測定し得る試薬であれば特に制限はなく、例えば免疫学的測定試薬等が挙げられる。免疫学的測定試薬としては、例えば前述の免疫学的測定方法に基づく試薬等が挙げられる。

免疫学的測定法に基づいた、エクソソームが有するGPRC5C測定試薬の具体的態様を以下に示す。

【0098】

・測定試薬7

GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬8

標識が結合した、GPRC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬9

10

20

30

40

50

G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬 1 0

固相に固定化された、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬 1 1

固相に固定化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬 1 2

固相に固定化された、G P R C 5 C に結合する第 1 抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、G P R C 5 C に結合する第 2 抗体又は該抗体断片を含む試薬。

10

【 0 0 9 9 】

G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、それぞれ前述の G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片における標識としては、例えば前述の標識等が挙げられる。標識が結合した、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の調製は、例えば公知の標識化抗体の調製方法に従って行うことができる。

20

固相に固定化された、G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片、及び、固相に固定化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片における固相としては、例えば前述の固相等が挙げられる。G P R C 5 C に結合する抗体又は該抗体断片の固相への固定化、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の固相への固定化は、例えば公知の方法に従って行うことができる。

測定試薬 1 2 において、G P R C 5 C に結合する第 1 抗体又は該抗体断片が結合するエピトープと、G P R C 5 C に結合する第 2 抗体又は該抗体断片が結合するエピトープは異なっても同じでもよいが、異なっている方が好ましい。

前記測定試薬 7 ~ 1 2 には、さらにエクソソーム単離試薬が含まれていてもよい。エクソソーム単離試薬としては、検体からエクソソームを単離できる試薬であれば特に制限はなく、例えば前述のエクソソーム単離キット等が挙げられる。

30

【 0 1 0 0 】

6 . 被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬

本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬は、エクソソームが有する G P R C 5 C 測定試薬を含有することを特徴とする試薬であり、本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングする方法に用いることができる。

【 0 1 0 1 】

また、本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬には、さらに、被検者より経時的に採取された検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度が、健常者の検体中のエクソソームが有する G P R C 5 C 濃度より高い濃度で維持されている場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高く、健常者の検体中のエクソソームが有する G P R C 5 C 濃度と同じか又は低い濃度で維持されている場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が低い、という基準が記載された基準表が含まれていてもよい。この基準表に記載される基準として、被検者より採取された検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合が、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合より高い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患している可能性が高く、健常者より採取した検体中の、エクソソームが有する G P R C 5 C 濃度の、エクソソーム特異抗原濃度に対する割合と同じか又は低い場合には、該被検者は膵臓癌に罹患

40

50

している可能性が低い、という基準を用いることもできる。エクソソーム特異抗原としては、例えば前述のエクソソーム特異抗原等が挙げられる。

【0102】

本発明の、被検者が膵臓癌に罹患している可能性をモニタリングするための試薬における、エクソソームが有するGPC5C測定試薬は、前述のエクソソームが有するGPC5Cの測定方法に使用される試薬である。エクソソームが有するGPC5C測定試薬としては、検体中のエクソソームが有するGPC5Cを測定し得る試薬であれば特に制限はなく、例えば免疫学的測定試薬等が挙げられる。免疫学的測定試薬としては、例えば前述の免疫学的測定方法に基づく試薬等が挙げられる。

免疫学的測定法に基づいた、エクソソームが有するGPC5C測定試薬の具体的態様を以下に示す。

【0103】

・測定試薬13

GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬14

標識が結合した、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬15

GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬16

固相に固定化された、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬17

固相に固定化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片を含む試薬。

・測定試薬18

固相に固定化された、GPC5Cに結合する第1抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、GPC5Cに結合する第2抗体又は該抗体断片を含む試薬。

【0104】

GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片としては、それぞれ前述のGPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片等が挙げられる。

標識が結合した、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片における標識としては、例えば前述の標識等が挙げられる。標識が結合した、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、標識が結合した、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の調製は、例えば公知の標識化抗体の調製方法に従って行うことができる。

固相に固定化された、GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片、及び、固相に固定化された、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片における固相としては、例えば前述の固相等が挙げられる。GPC5Cに結合する抗体又は該抗体断片の固相への固定化、及び、エクソソーム特異的抗原に結合する抗体又は該抗体断片の固相への固定化は、例えば公知の方法に従って行うことができる。

測定試薬18において、GPC5Cに結合する第1抗体又は該抗体断片が結合するエピトープと、GPC5Cに結合する第2抗体又は該抗体断片が結合するエピトープは異なっても同じでもよいが、異なっている方が好ましい。

前記測定試薬13～18には、さらにエクソソーム単離試薬が含まれていてもよい。エクソソーム単離試薬としては、検体からエクソソームを単離できる試薬であれば特に制限はなく、例えば前述のエクソソーム単離キット等が挙げられる。

【0105】

7. 膵臓癌マーカー

10

20

30

40

50

本発明の膵臓癌マーカーは、GPRC5C又はGPRC5C遺伝子からなることを特徴とする。ヒトGPRC5CのGenBankのアクセッション番号は、NP_071319.2; NP_061123.3である。また、ヒトGPRC5CのmRNAのGenBankのアクセッション番号は、NM_022036.2; NM_018653.3である。

【0106】

8. 膵臓癌診断薬

本発明の膵臓癌診断薬は、GPRC5Cに対する特異的結合物質、GPRC5C遺伝子を増幅可能なプライマーセット、又はGPRC5C遺伝子のmRNAに特異的にハイブリダイズするプローブを備えたことを特徴とする。

【0107】

(特異的結合物質)

特異的結合物質としては、GPRC5Cに結合する抗体、該抗体断片、GPRC5Cに結合するアプタマー等が挙げられる。抗体又は該抗体断片としては、前述したものが挙げられる。

【0108】

アプタマーとは、標的物質に対する特異的結合能を有する物質である。アプタマーとしては、核酸アプタマー、ペプチドアプタマー等が挙げられる。標的ペプチドに特異的結合能を有する核酸アプタマーは、例えば、systematic evolution of ligand by exponential enrichment (SELEX) 法等により選別することができる。また、標的ペプチドに特異的結合能を有するペプチドアプタマーは、例えば酵母を用いたTwo-hybrid法等により選別することができる。

【0109】

(プライマーセット)

GPRC5C遺伝子を増幅可能なプライマーセットとは、これらの遺伝子のmRNAをRT-PCR等により増幅することができるものであれば特に制限されない。

【0110】

これらの遺伝子のmRNAは、上述したアクセッション番号で特定されるGenBankデータベースのエントリーに記載された塩基配列を有している。なお、mRNAにはスプライシングバリエーション等が存在する場合があるため、これらの遺伝子のmRNAは上述したアクセッション番号で特定されるものに限られるものではない。

【0111】

例えば、被検者の組織等を試料に用い、本プライマーセットを用いたRT-PCR等を行うことにより、試料中の、GPRC5C遺伝子のmRNAを検出することができる。

【0112】

(プローブ)

プローブとしては、GPRC5C遺伝子のmRNAに特異的にハイブリダイズするものであれば特に限定されない。プローブは、担体上に固定されてDNAマイクロアレイ等を構成していてもよい。例えば、上記のDNAマイクロアレイに、被検者の組織から抽出したmRNAを接触させ、プローブにハイブリダイズしたGPRC5C遺伝子のmRNAを検出することにより、被検者が膵臓癌に罹患しているか否かを判定することができる。担体としては、例えば前述の担体等が挙げられる。

【0113】

9. 生体試料の判定方法

本発明の生体試料の判定方法は、生体試料中のGPRC5Cの存在量を測定する工程と、測定されたGPRC5Cの存在量が、対照と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者より採取されたものであると判定する工程と、を含む。

【0114】

本発明の判定方法により、生体試料が膵臓癌患者より採取されたものであるか否かを判

10

20

30

40

50

定することができる。本発明の判定方法によれば、膵臓癌を特異的に検出することができる。

【0115】

本発明の判定方法において、生体試料は、前述のとおり、血清、血漿又は血清若しくは血漿から精製されたエクソソームであってもよい。生体試料中のGPRC5Cを測定する工程は、上述した特異的結合物質を用いた、サンドイッチELISA、ウェスタンブロッティング、逆相タンパク質アレイを用いた検出、免疫組織化学染色等により行うことができる。

ここで、測定したGPRC5Cは、段階希釈した既知濃度のGPRC5Cを標準品として用いて作成された検量線に基づいて、定量値に換算してもよい。

10

【0116】

本発明の判定方法では、生体試料中のGPRC5Cが、対照試料中のGPRC5Cの存在量と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者より採取されたものであると判定する。対照としては、例えば健常者又は膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取された生体試料が挙げられる。あるいは、予め健常人より採取された生体試料中に存在する、GPRC5Cの量に基づいて基準値を設定しておき、該基準値と比較してGPRC5Cの量が多い場合に、生体試料は膵臓癌患者より採取されたものであると判定してもよい。

【0117】

本発明の判定方法は、生体試料中のGPRC5C遺伝子の発現量を測定する工程と、測定された前記遺伝子の発現量が、対照と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者より採取されたものであると判定する工程と、を含むものであってもよい。

20

【0118】

本発明の判定方法において、生体試料は、被検者の組織等であってもよい。生体試料中のGPRC5C遺伝子の発現量を測定する工程は、上述したプライマーセットを用いたRT-PCR、定量的RT-PCR等により行うことができる。あるいは、上述したプローブを用いたDNAマイクロアレイ解析、ノーザンブロッティング等により、GPRC5C遺伝子の発現量を測定してもよい。ここで、測定したGPRC5C遺伝子の発現量は、段階希釈した既知濃度の各遺伝子の断片等を標準品として用いて作成された検量線に基づいて、定量値に換算してもよい。

【0119】

また、本発明の判定方法では、生体試料中のGPRC5C遺伝子の発現量が、対照試料中の上記遺伝子の発現量と比較して多い場合に、前記生体試料は膵臓癌患者より採取されたものであると判定する。対照としては、例えば健常者又は膵臓癌以外の膵臓疾患患者より採取された生体試料が挙げられる。あるいは、予め健常人より採取された生体試料におけるGPRC5C遺伝子の発現量に基づいて基準値を設定しておき、該基準値と比較して上記遺伝子の発現量が多い場合に、生体試料は膵臓癌患者より採取されたものであると判定してもよい。

30

【実施例】

【0120】

以下、実施例により本発明を説明するが、本発明はこの実施例に限定されるものではない。

40

【0121】

[実施例1]

各血清中のエクソソームが有するGPRC5Cの検出

健常人から採取した血清(4検体)、膵炎患者から採取した血清(4検体)、及び膵臓癌患者から採取した血清(4検体：ステージIIAが2種類、ステージIIBが1種類、ステージIIIが1種類)を、スイングロータにて100,000×g以上で(4)で70分間超遠心分離後、上清を捨てて、PBS[0.15 mol/L塩化ナトリウムを含有する10 mmol/Lリン酸緩衝液(pH7.2)]を加えて沈殿させ、この沈殿画分をエクソソーム画分とした。このエクソソーム画分をPBS(総量100 µL)で溶解した。1wellにつき血清100 µL相当量のエクソ

50

ソーム画分溶液に、該溶液と1/3量の4×サンプルバッファー（4%ドデシル硫酸ナトリウム、10% スクロース、0.01% プロモフェノールブルー、10% 2-メルカプトエタノールを含む、0.125 mol/L トリス緩衝液 [pH6.8]）を加えて混合し、95℃で5分間保温した後、氷冷した。該処理液を、4-15%ミニプロティアンTGXゲル（バイオラッド社製）のウェルにアプライし、SDS-PAGEを行った。SDS-PAGE後のゲルをPVDFメンブレンに転写した後、該メンブレンを、Nacalai Blocking One solution [ナカライテスク社製]を用いて、室温（25℃）で1時間ブロッキングした。次に、室温（25℃）で1時間、一次抗体反応を行った（Anti-GPRC5C antibody C-terminal Rabbit polyclonal [アブカム社製] 1:500）。続いて室温（25℃）で1時間、二次抗体反応を行った（Rabbit IgG HRP [GEヘルスケア社製] 1:5000）。最後に、ImmunoStar LD（和光純薬工業社製）を用いて発色反応（室温 [25℃] 5分）を行い、プロットング画像を撮影し、それぞれの血清中のエクソソームが有するGPRC5Cのシグナルを検出した。プロットング画像の結果を図1に示す。

10

【0122】

また、上記方法に従い、Purified Mouse Anti-Human CD63（日本ベクトン・ディッキンソン社製、クローン：H5C6）を用いて、各血清中のエクソソームが有するCD63の発現量をウェスタンプロットングにて評価した。その結果を図1に示す。

図1から明らかなように、健常人と膵臓癌患者と比較して、膵臓癌患者において、顕著に、エクソソームが有するGPRC5Cが高発現していることが判明した。

【0123】

[実施例2]

健常人から採取した血清（10検体）、膵炎患者から採取した血清（10検体）、及び膵臓癌患者から採取した血清（23検体）を用いて、それぞれの血清中のエクソソームが有するGPRC5C濃度を比較するため、実施例1の方法に従い、それぞれの血清中の、エクソソームが有するGPRC5Cのシグナル及びCD63のシグナルを、エクソソームが有するGPRC5C濃度及びCD63濃度として検出した。GPRC5C/CD63のシグナル比を図2に示す。

20

図2から明らかなように、健常人から採取した血清中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度に比べ、膵臓癌患者から採取した血清中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が高値であることが判明した。また、膵炎患者から採取した血清中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度に比べ、膵臓癌患者から採取した血清中の、エクソソームが有するGPRC5C濃度が高値であることが判明した。

30

【0124】

[実施例3]

膵臓癌患者（5症例）について、手術前と手術後における、それぞれの血清中のエクソソームが有するGPRC5C濃度を、実施例1の方法に従い、ウェスタンプロットングを用いて比較した。プロットング画像の結果を図3に示す。

図3から明らかなように、手術前に比較して、手術後では顕著に、エクソソームが有するGPRC5C濃度が低下していることが判明した。

【0125】

[実施例4]

再発した膵臓癌患者より採取した血清中のエクソソームが有するGPRC5C濃度、及び、健常人より採取した血清中のエクソソームが有するGPRC5C濃度を、ウェスタンプロットングを用いる実施例1の方法により測定し、両GPRC5C濃度を比較した。また、同時に、各血清中の、エクソソームが有するCD9濃度を、抗CD9抗体（8A12）（コスモバイオ社製）をビオチン化したビオチン化抗CD9抗体（1000倍希釈）及びHRP結合ストレプトアビジン（CST社製）（2000倍希釈）を用いる、ウェスタンプロットングにより測定した。測定したGPRC5C濃度及びCD9濃度から、CD9濃度に対するGPRC5C濃度の割合を算出し、GPRC5C/CD9のシグナル比とした。当該GPRC5C/CD9のシグナル比を図4に示す。

40

図4から明らかなように、健常人より採取した血清中の、エクソソームが有するGPR

50

【 国際調査報告 】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT | | International application No. PCT/JP2017/025115 |
|--|---|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/574(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(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) G01N33/574, C12Q1/68, C12N15/09 | | |
| 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 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017 | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CAPlus/MEDLINE/BIOSIS (STN) | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | Yusuke YOSHIOKA, Takahiro OCHIAI, "Circulating cancer-associated extracellular vesicles as early detection biomarkers for pancreatic ductal adenocarcinoma", Japan Society for Molecular Tumor Marker Research Program Koen Shoroku, 12 September 2016 (12.09.2016), vol.36, pages 70 to 71 | 1-53 |
| A | Masaharu SOMIYA, Yusuke YOSHIOKA, "Kecchu Exosome ni yoru Gan Shindan no Kanosei", Hematology Frontier, 30 September 2016 (30.09.2016), vol.26, no.10, pages 1379 to 1384 | 1-53 |
| <input 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 11 September 2017 (11.09.17) | | Date of mailing of the international search report 10 October 2017 (10.10.17) |
| Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan | | Authorized officer Telephone No. |

| | | | | | | | | | | | |
|---|--|--|----------|-----------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| 国際調査報告 | | 国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 2 5 1 1 5 | | | | | | | | | |
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/574(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(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. G01N33/574, C12Q1/68, C12N15/09 | | | | | | | | | | | |
| 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2017年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2017年</td> </tr> </table> | | | | 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 | 日本国公開実用新案公報 | 1971-2017年 | 日本国実用新案登録公報 | 1996-2017年 | 日本国登録実用新案公報 | 1994-2017年 |
| 日本国実用新案公報 | 1922-1996年 | | | | | | | | | | |
| 日本国公開実用新案公報 | 1971-2017年 | | | | | | | | | | |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2017年 | | | | | | | | | | |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2017年 | | | | | | | | | | |
| 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/MEDLINE/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 | | | | | | | | | |
| A | 吉岡祐亮、落合孝広、血中循環エクソソームを利用した隣臓がんバイオマーカーの開発、日本分子腫瘍マーカー研究会プログラム・講演抄録、2016.09.12, Vol.36, PP.70-71 | 1-53 | | | | | | | | | |
| A | 曾宮正晴、吉岡祐亮、血中エクソソームによるがん診断の可能性、血液フロンティア、2016.09.30, Vol.26, No.10, PP.1379-1384 | 1-53 | | | | | | | | | |
| ☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 | | ☐ 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、一般的な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 11.09.2017 | | 国際調査報告の発送日 10.10.2017 | | | | | | | | | |
| 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) 海野 佳子 | 2 J 3906 | | | | | | | | |
| | | 電話番号 03-3581-1101 内線 3252 | | | | | | | | | |

フロントページの続き

(81)指定国・地域 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(出願人による申告)平成28年度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構、次世代がん医療創生研究事業、がん特異的エクソソームの捕捉による新規体液診断の実用化研究、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

(74)代理人 100147267

弁理士 大槻 真紀子

(74)代理人 100181722

弁理士 春田 洋孝

(74)代理人 100106574

弁理士 岩橋 和幸

(72)発明者 落谷 孝広

東京都中央区築地五丁目1番1号 国立研究開発法人国立がん研究センター内

(72)発明者 吉岡 祐亮

東京都中央区築地五丁目1番1号 国立研究開発法人国立がん研究センター内

Fターム(参考) 2G045 AA01 AA13 AA16 AA24 AA25 AA26 BA13 BB03 BB10 CA25
CA26 CB03 CB07 DA14 DA36 FA19 FA29 FB01 FB02 FB03
FB08 FB12 FB13 FB15 GC15 JA01 JA06
4B063 QA19 QQ02 QQ03 QQ53 QR08 QR55 QR62 QS25 QX02

(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。

