

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02010/117010

発行日 平成24年10月18日(2012.10.18)

(43) 国際公開日 平成22年10月14日(2010.10.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/574 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/574 A	4 B O 2 4
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 M	4 B O 6 3
<b>GO 1 N 33/577 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/577 B	
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 A	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 21 頁)		

出願番号	特願2011-508374 (P2011-508374)	(71) 出願人	511031618 L S I P フ ェ ン ド 運 営 合 同 会 社 東京都千代田区丸の内一丁目7番12号
(21) 国際出願番号	PCT/JP2010/056293	(74) 代理人	100102842 弁理士 葛和 清司
(22) 国際出願日	平成22年4月7日(2010.4.7)	(72) 発明者	一宮 慎吾 日本国北海道札幌市中央区南1条西17丁目 北海道公立大学法人札幌医科大学内
(31) 優先権主張番号	特願2009-95561 (P2009-95561)	(72) 発明者	菊地 智樹 日本国北海道札幌市中央区南1条西17丁目 北海道公立大学法人札幌医科大学内
(32) 優先日	平成21年4月10日(2009.4.10)	(72) 発明者	外岡 暁子 日本国北海道札幌市中央区南1条西17丁目 北海道公立大学法人札幌医科大学内
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 腫瘍マーカーおよびその利用

(57) 【要約】

被験体サンプル中のSNX5を検出する。甲状腺乳頭癌に特異的な腫瘍マーカーとして用いることによって、甲状腺乳頭癌の診断を容易にする。また、当該腫瘍マーカーを用いた甲状腺乳頭癌の判別技術を提供する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

被験体サンプル中の S N X 5 タンパク質またはそのフラグメントを検出する工程を包含することを特徴とする甲状腺乳頭癌の腫瘍マーカーを検出する方法。

## 【請求項 2】

上記工程が、抗 S N X 5 抗体を用いる免疫アッセイによって行われることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

上記抗 S N X 5 抗体が、ハイブリドーマ 4 8 C 2 から産生されるマウス抗ヒト S N X 5 モノクローナル抗体または当該抗体と同等の結合活性を有するモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 2 に記載の方法。

10

## 【請求項 4】

被験体サンプル中の S N X 5 遺伝子またはそのフラグメントを検出する工程を包含することを特徴とする甲状腺乳頭癌の腫瘍マーカーを検出する方法。

## 【請求項 5】

上記工程が、核酸プローブを、S N X 5 遺伝子またはそのフラグメントにハイブリダイズさせることによって行われることを特徴とする請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

上記核酸プローブが、配列番号 4 ~ 9 のいずれかに示されるヌクレオチド配列またはその相補配列からなるオリゴヌクレオチドであることを特徴とする請求項 5 に記載の方法。

20

## 【請求項 7】

上記被験体サンプルが、被験体から採取した組織またはその細胞から調製された切片または細胞溶解物であることを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 8】

上記組織が甲状腺組織であることを特徴とする請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

上記被験体が、甲状腺疾患に罹患している可能性がある患者であることを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 10】

抗 S N X 5 抗体を備えていることを特徴とする甲状腺乳頭癌の腫瘍マーカーを検出するためのキット。

30

## 【請求項 11】

上記抗 S N X 5 抗体が、ハイブリドーマ 4 8 C 2 から産生されるマウス抗ヒト S N X 5 モノクローナル抗体または当該抗体と同等の結合活性を有するモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項 10 に記載のキット。

## 【請求項 12】

S N X 5 遺伝子またはそのフラグメントにハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドを備えていることを特徴とする甲状腺乳頭癌の腫瘍マーカーを検出するためのキット。

## 【請求項 13】

上記オリゴヌクレオチドが、配列番号 4 ~ 9 のいずれかに示されるヌクレオチド配列またはその相補配列からなることを特徴とする請求項 12 に記載のキット。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、腫瘍マーカーおよびその利用に関するものであり、より詳細には、甲状腺乳頭癌の診断に好適な腫瘍マーカーの検出方法および当該方法に用いられるツールに関するものである。

## 【背景技術】

## 【0002】

甲状腺乳頭癌は、甲状腺癌の中で最も発生頻度の高い悪性腫瘍であり、肺や頸部リンパ

50

節へ転移した場合は予後不良となり得る。よって、甲状腺乳頭癌の確定診断は非常に重要である。甲状腺乳頭癌の確定診断には、病理組織学的な検討が不可欠である。しかし、乳頭状の構築物を呈する悪性腫瘍は、甲状腺乳頭癌以外にも多く存在するため、病巣が原発性であるか否かを判断することだけでなく、リンパ節転移の腫瘍性病変を判定することが非常に困難である。

#### 【0003】

甲状腺乳頭癌の病理組織の特徴は、甲状腺組織に特異的な分子の発現様式によって評価される。既知の甲状腺マーカーとして、サイログロブリンや甲状腺転写因子1 (thyroid transcription factor 1: TTF-1) などが知られている。サイログロブリンは甲状腺組織から分泌される二量体の糖タンパク質であり、甲状腺疾患において、細胞中または血液中における濃度が上昇することが知られている。

10

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0004】

【特許文献1】W02006/133361(2006年12月14日国際公開)

【特許文献2】特表2008-500033号公表(2008年1月10日公表)

#### 【非特許文献】

#### 【0005】

【非特許文献1】Otsuki, T et al., SNX5, a New Member of the Sorting Nexin Family, Binds to the Fanconi Anemia Complementation Group A Protein. Biochemical and Biophysical Research Communications 265: 630-635 (1999)

20

【非特許文献2】Teasdale, R.D. et al., A large family of endosome-localized proteins related to sorting nexin 1. Biochem. J. 358: 7-16 (2001)

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0006】

血液中のサイログロブリン量の測定は、甲状腺癌の手術後における経過の観察(特に、転移の可能性の判断)に用いられている。しかし、サイログロブリンの測定からは、甲状腺癌が良性であるのか、それとも悪性であるのかを判別することができない。また、甲状腺組織に特異的に発現していると報告されている分子の中には他の臓器にも発現している分子がある。よって、甲状腺乳頭癌に特異的な、優れた腫瘍マーカーが切望されている。

30

#### 【0007】

本発明は、上記の問題点に鑑みてなされたものであり、その目的は、甲状腺乳頭癌に特異的な腫瘍マーカー、および当該腫瘍マーカーを用いた甲状腺乳頭癌の判別技術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、ヒトSNX5タンパク質に対する抗体を作製し、この抗ヒトSNX5抗体を用いて種々のヒト正常組織および腫瘍性病変に対する免疫組織化学染色を行った結果、SNX5が、甲状腺の濾胞上皮に特異的に反応し、特に甲状腺由来の悪性腫瘍である甲状腺乳頭癌に強い反応性を示したこと、ならびに他の組織型を示す甲状腺癌、消化管由来の乳頭状腺癌、および肺由来の乳頭状腺癌においてはSNX5の発現がほとんど認められないことを見出し、本発明を完成するに至った。

40

#### 【0009】

すなわち、本発明に係る方法は、腫瘍マーカーを検出する方法であって、被験体サンプル中のSNX5を検出する工程を包含することを特徴としている。

#### 【0010】

本発明に係る方法において、上記被験体サンプルは、被験体から採取した組織またはその培養物もしくは切片が好ましいが、被験体から採取した組織またはその培養物から調製された細胞溶解物であってもよい。また、上記組織は、甲状腺組織であることが好ましい

50

が、血液等の体液であってもよい。

【0011】

本発明に係る方法において、上記被験体は、甲状腺疾患に罹患している可能性がある患者であることが好ましいが、甲状腺乳頭癌をすでに発症している患者であってもよい。

【0012】

上記SNX5は、SNX5タンパク質またはそのフラグメントであることが好ましい。この場合、上記SNX5を検出する工程は、抗SNX5抗体を用いる免疫アッセイであることが好ましい。用いられる抗SNX5抗体としては、抗ヒトSNX5抗体であることが好ましく、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体であることがより好ましく、ハイブリドーマ48C2から産生されるマウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体または当該抗体と同等の結合活性を有するモノクローナル抗体であることが最も好ましい。

10

【0013】

また、上記SNX5は、SNX5遺伝子またはそのフラグメントであってもよい。この場合、上記SNX5を検出する工程は、核酸プローブを、SNX5遺伝子またはそのフラグメントにハイブリダイズさせる工程であることが好ましい。上記核酸プローブは、ハイブリダイゼーションプローブであることが好ましいが、PCRプライマーであってもよい。

【0014】

本発明に係る方法は、SNX5タンパク質またはそのフラグメントを検出する工程と、SNX5遺伝子またはそのフラグメントを検出する工程とをともに包含することがより好ましい。

20

【0015】

上記方法は、甲状腺乳頭癌の診断基準を提供する方法でもあり得、乳頭状形態を示す悪性腫瘍の鑑別の判断基準を提供する方法であり得る。また、上記方法は、甲状腺乳頭癌の病変が原発巣であるか否かの判定基準を提供する方法でもあり得る。さらに、上記方法は、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するの否かの判別基準を提供する方法でもあり得る。

【0016】

本発明に係るキットは、腫瘍マーカーを検出するためのキットであって、抗SNX5抗体を備えていることを特徴としている。本発明に係るキットは、上記抗体を検出するための試薬をさらに備えていることが好ましい。上記抗体は、抗ヒトSNX5抗体であることが好ましく、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体であることがより好ましく、ハイブリドーマ48C2から産生されるマウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体または当該抗体と同等の結合活性を有するモノクローナル抗体であることが最も好ましい。

30

【0017】

本発明に係るキットは、腫瘍マーカーを検出するためのキットであって、SNX5遺伝子またはそのフラグメントにハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドを備えていることを特徴としている。本発明に係るキットは、上記オリゴヌクレオチドを検出するための試薬をさらに備えていることが好ましい。上記オリゴヌクレオチドは、SNX5遺伝子またはそのフラグメントに対するハイブリダイゼーションプローブであることが好ましいが、PCRプライマーであってもよい。

40

【0018】

上記キットは、甲状腺乳頭癌の診断基準を提供するためのキットであることが好ましいが、乳頭状形態を示す悪性腫瘍の鑑別の判断基準を提供するためのキットでもあり得る。また、上記キットは、甲状腺乳頭癌の病変が原発巣であるか否かの判定基準を提供するためのキットでもあり得る。さらに、上記キットは、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するの否かの判別基準を提供するためのキットでもあり得る。

【0019】

本発明の他の目的、特徴、および優れた点は、以下に示す記載によって十分分かるであろう。また、本発明の利点は、添付図面を参照した次の説明によって明白になるであろう

50

。

## 【発明の効果】

## 【0020】

本発明を用いれば、甲状腺乳頭癌であるか否かの診断に好適な腫瘍マーカーを検出することができる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0021】

【図1】 pCMV-SNX5を導入したヒト293細胞の細胞可溶性画分に対する、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体によるウエスタンブロットの結果を示す図である。コントロールには、pCMV、pCMV-mutant AIRE#1またはpCMV-mutant AIRE#2を導入したヒト293細胞を用いた。

10

【図2】 pCMV-SNX5を導入したヒト293細胞に対する、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体による免疫組織化学染色の結果を示す図である。コントロールには、pCMVを導入したヒト293細胞を用いた。いずれの細胞も、パラホルムアルデヒドによって固定した。

【図3】 ヒト腺癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片に対する、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体による免疫組織化学染色の結果を示す図である。(a)は甲状腺乳頭癌における免疫組織化学染色の結果を示し、(b)は肺腺癌における免疫組織化学染色の結果を示し、(c)は乳癌における免疫組織化学染色の結果を示す。

【図4】 ヒト腺癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片に対する、抗ヒトSNX5ポリクローナル抗体による免疫組織化学染色の結果を示す図である。

20

【図5】 甲状腺の正常組織および癌組織における、ヒトSNX5遺伝子についての定量的RT-PCRの結果を示す図である。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0022】

上述したように、本発明者らは、SNX5が、甲状腺由来の悪性腫瘍である甲状腺乳頭癌に高度に発現しているが、他の組織型を示す甲状腺癌、消化管由来の乳頭状腺癌、および肺由来の乳頭状腺癌においては発現がほとんど認められないことを見出した。

## 【0023】

ヒト *sorting nexin-5* (SNX5) は、細胞内の小胞体輸送に關与する分子であり、細胞の遊走に深く関係していることが示唆されている(例えば、非特許文献1および2参照)。また、特許文献1には、多発性骨髄腫に關連する遺伝子の候補が多数列挙されており、その1つとしてSNX5が挙げられている。特許文献2には、MHC分子を結合する腫瘍關連ペプチド(抗原ペプチド)の候補が多数列挙されており、その1つとしてSNX5タンパク質の部分断片(アミノ酸292~300; 特許文献2の配列番号524)が挙げられている。しかし、甲状腺乳頭癌におけるSNX5の特異性は、いずれの文献にも開示も示唆もされていない。このように、本発明は、甲状腺乳頭癌についての優れた腫瘍マーカーを提供する。

30

## 【0024】

## 〔1. 腫瘍マーカー〕

本発明は、甲状腺乳頭癌についての優れた腫瘍マーカーを提供する。一実施形態において、本発明の腫瘍マーカーはSNX5タンパク質またはそのフラグメントである。他の実施形態において、本発明の腫瘍マーカーはSNX5遺伝子またはそのフラグメントである。

40

## 【0025】

本明細書中で使用される場合、SNX5タンパク質は、配列番号1に示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド;あるいは、配列番号1に示されるアミノ酸配列の1または数個のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなりかつSNX5活性を有するポリペプチド、である。また、SNX5タンパク質は、配列番号2に示されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド;配列番号2に

50

示されるヌクレオチド配列の1または数個の塩基が欠失、置換または付加されたヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドによってコードされかつSNX5活性を有するポリペプチド；配列番号2に示されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし得るポリヌクレオチドによってコードかつSNX5活性を有するポリペプチド；あるいは、配列番号2に示されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドと80%以上の相同性を有するポリヌクレオチドによってコードかつSNX5活性を有するポリペプチド、であってもよい。

【0026】

ポリペプチド（アミノ酸）の観点で用いられる場合、「1または数個」は、1～30個の範囲内であることが好ましく、1～20個の範囲内であることがより好ましく、1～10個の範囲内であることがさらに好ましく、1～5個の範囲内であることがなおさらに好ましい。なお、当業者は、目的のポリペプチドの長さに応じて、用語「1または数個」によって示されるアミノ酸数の範囲がどの程度であるのかを容易に理解し得る。

10

【0027】

ポリヌクレオチド（塩基）の観点で用いられる場合、「1または数個」は、1～100個の範囲内であることが好ましく、1～50個の範囲内であることがより好ましく、1～30個の範囲内であることがさらに好ましく、1～15個の範囲内であることがなおさらに好ましい。なお、当業者は、目的のポリヌクレオチドの長さに応じて、用語「1または数個」によって示される塩基数の範囲がどの程度であるのかを容易に理解し得る。例えば、後述するオリゴヌクレオチドの場合、用語「1または数個」は、1～10個の範囲内であることが好ましく、1～7個の範囲内であることがより好ましく、1～5個の範囲内であることがさらに好ましく、1～3個の範囲内であることがなおさらに好ましい。

20

【0028】

本明細書中で使用される場合、目的のポリペプチドまたはポリヌクレオチドについての相同性は、80%以上であることが好ましく、85%以上であることがより好ましく、90%以上であることがさらに好ましく、95%以上であることがなおさらに好ましい。

【0029】

本明細書中で使用される場合、用語「SNX5活性」は、配列番号1に示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドを抗原として用いて惹起される抗SNX抗体との結合能が意図される。上記SNX抗体は、後述する抗SNX5抗体であればよく、後述する48C2抗体が好ましい。また、上記ポリペプチドは、リコンビナントヒトSNX5タンパク質であっても単離精製された天然のヒトSNX5タンパク質であってもよい。

30

【0030】

本明細書中で使用される場合、SNX5遺伝子は、配列番号1に示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；あるいは、配列番号1に示されるアミノ酸配列の1または数個のアミノ酸が欠失、置換または付加されたアミノ酸配列からなりかつSNX5活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである。また、SNX5遺伝子は、配列番号2に示されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチド；配列番号2に示されるヌクレオチド配列の1または数個の塩基が欠失、置換または付加されたヌクレオチド配列からなりかつSNX5活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；配列番号2に示されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし得るポリヌクレオチドでありかつSNX5活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；あるいは、配列番号2に示されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドと80%以上の相同性を有するポリヌクレオチドでありかつSNX5活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、であってもよい。

40

【0031】

配列番号1は、GenBank（アクセッション番号AF121855）に登録されているSNX5のアミノ酸配列であり、配列番号2は、配列番号1に示されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列であり、GenBank（アクセッション番号AF121

50

855)に登録されているSNX5のヌクレオチド配列(配列番号3)のオープンリーディングフレーム(第181位~第1395位)に対応する。

【0032】

本明細書中で使用される場合、用語「ポリペプチド」は、「ペプチド」または「タンパク質」と交換可能に使用され、アミノ酸の重合体が意図される。また、ポリペプチドの「フラグメント」は、当該ポリペプチドの部分断片が意図される。本発明に係るポリペプチドはまた、組換え的に生成されても、化学合成されても、天然供給源より単離されてもよい。

【0033】

本明細書中で使用される場合、用語「ポリヌクレオチド」は、「遺伝子」、「核酸」または「核酸分子」と交換可能に使用され、ヌクレオチドの重合体が意図される。また、ポリヌクレオチドの「フラグメント」は、当該ポリヌクレオチドの部分断片が意図される。本明細書中で使用される場合、用語「ヌクレオチド配列」は、「核酸配列」または「塩基配列」と交換可能に使用される。

10

【0034】

本発明に係るポリヌクレオチドは、RNA(例えば、mRNA)の形態、またはDNAの形態(例えば、cDNAまたはゲノムDNA)で存在し得る。DNAは、二本鎖または一本鎖であり得る。一本鎖DNAまたはRNAは、コード鎖(センス鎖としても知られる)であり得るか、または、非コード鎖(アンチセンス鎖としても知られる)であり得る。

【0035】

本明細書中で使用される場合、用語「オリゴヌクレオチド」は、ヌクレオチドが数個ないし数十個結合したものが意図され、「ポリヌクレオチド」と交換可能に使用される。

20

【0036】

本明細書中で使用される場合、用語「ストリンジェントな(ハイブリダイゼーション)条件」は、ハイブリダイゼーション溶液(50%ホルムアミド、5×SSC(150mMのNaCl、15mMのクエン酸三ナトリウム)、50mMのリン酸ナトリウム(pH7.6)、5×デンハート液、10%硫酸デキストラン、および20μg/mlの変性剪断サケ精子DNAを含む)中にて42°Cで一晩インキュベーションした後、約65°Cにて0.1×SSC中でフィルターを洗浄することが意図されるが、ハイブリダイゼーションさせるポリヌクレオチドによって、高ストリンジェンシーでの洗浄条件は適宜変更され、例えば、哺乳類由来DNAを用いる場合は、0.1% SDSを含む0.5×SSC中にて65°Cでの洗浄(好ましくは15分間×2回)が好ましく、E.coli由来DNAを用いる場合は、0.1% SDSを含む0.1×SSC中にて68°Cでの洗浄(好ましくは15分間×2回)が好ましく、RNAを用いる場合は、0.1% SDSを含む0.1×SSC中にて68°Cでの洗浄(好ましくは15分間×2回)が好ましく、オリゴヌクレオチドを用いる場合は、0.1% SDSを含む0.1×SSC中にてハイブリダイゼーション温度での洗浄(好ましくは15分間×2回)が好ましい。

30

【0037】

本発明の腫瘍マーカーを用いることにより、乳頭状形態を示す悪性腫瘍の判断基準を提供することができるので、甲状腺乳頭癌であるか否かの診断が容易になる。また、本発明は、病変が原発巣であるか否かを判定する際に非常に有効である。さらに、本発明を用いれば、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するのか、あるいは他の組織(肺、乳腺など)に由来するのかを、より明確に判別し得る。

40

【0038】

〔2.腫瘍マーカーの検出方法〕

本発明は、腫瘍マーカーの検出方法を提供する。本発明に係る腫瘍マーカーの検出方法は、被験体サンプル中のSNX5を検出する工程を包含することを特徴としている。一実施形態において、本発明に係る検出方法は、SNX5タンパク質またはそのフラグメントを検出する工程を包含する。他の実施形態において、本発明に係る検出方法は、SNX5遺伝子またはそのフラグメントを検出する工程を包含する。

50

## 【 0 0 3 9 】

本明細書中において使用される場合、「被験体サンプル」は、被験体から採取された任意の組織（血液等の体液を含む。）または細胞が意図され、これらから調製された組織切片または細胞溶解物もまた被験体サンプルに包含され得る。本発明に用いるに好ましい被験体サンプルとしては、腫瘍組織および血清が挙げられるがこれらに限定されない。なお、サンプル取得の第一段階として組織または細胞を被験体から直接取り出す工程は、医師によるものであり、本発明の範囲外である。また、本発明の方法によって得られた結果を用いて、疾患が否かの判定を下す工程もまた、医師によるものであり、本発明の範囲外である。

## 【 0 0 4 0 】

本発明の対象とされるべき被験体は、甲状腺疾患に罹患している可能性がある患者が好ましく、甲状腺乳頭癌を発症している患者がより好ましいが、正常な患者であってもよい。本発明に係る方法において、上記被験体サンプルは甲状腺疾患に罹患している可能性がある患者から採取された甲状腺組織またはその培養物、あるいはこれらから調製された組織切片または細胞溶解物であることが好ましいが、これに限定されない。サンプルの取得手順は、所望される組織または細胞に応じて適宜選択され得ることを当業者は容易に理解する。

## 【 0 0 4 1 】

S N X 5 タンパク質を検出する実施形態において、S N X 5 を検出する工程は、抗 S N X 5 抗体を用いる免疫アッセイであり得る。本明細書中で使用される場合、用語「免疫アッセイ」は、抗原抗体反応に基づいた免疫学的な結合反応を利用して行われるアッセイが意図される。免疫学的な結合反応を利用したアッセイとしては、免疫組織化学、免疫電子顕微鏡法、ウエスタンブロット、免疫沈降法、サンドイッチ E L I S A アッセイ、放射性イムノアッセイ、および抗体アッセイ（例えば免疫拡散アッセイ）、ならびにアフィニティクロマトグラフィーなどが挙げられる。これらの技術は、当該分野において周知であり、当業者は、容易に本発明を実行し得る。

## 【 0 0 4 2 】

抗 S N X 5 抗体としては、抗ヒト S N X 5 抗体が好ましく、モノクローナル抗体であることがより好ましく、ハイブリドーマ 4 8 C 2 から産生されるマウス抗ヒト S N X 5 モノクローナル抗体（4 8 C 2 抗体ともいう。）であることがより好ましい。本発明者らは、4 8 C 2 抗体が、ヒト S N X 5 タンパク質の N 末端側（配列番号 1 の 1 ~ 1 7 7 位：配列番号 1 0）を認識することを見出している（結果は示さず）。すなわち、「S N X 5 タンパク質のフラグメント」は、配列番号 1 に示されるアミノ酸配列の部分配列からなるポリペプチドであり、配列番号 1 0 に示されるアミノ酸配列、またはその連続する 8 個以上のアミノ酸からなるアミノ酸配列を含んでいるポリペプチドであることが好ましい。なお、4 8 C 2 抗体と同等の結合特性を有するモノクローナル抗体もまた、本発明に好適に使用される抗体の範囲内であることを、本明細書を読んだ当業者は容易に理解する。

## 【 0 0 4 3 】

被験体サンプルが被験体から採取した組織またはその培養物もしくは切片である場合、上記免疫アッセイは、免疫組織化学染色であり得る。被験体から採取した組織またはその培養物から調製された細胞溶解物である場合、上記免疫アッセイはウエスタンブロットであってもよい。また、被験体サンプルが被験体から採取した血液である場合、上記免疫アッセイは E L I S A であり得る。これらの免疫アッセイは、術前の鑑別診断に用いられることが好ましいが、術後の転移の有無を調べる際に用いられてもよい。

## 【 0 0 4 4 】

ハイブリドーマ 4 8 C 2 から産生されるマウス抗ヒト S N X 5 モノクローナル抗体は、ウエスタンブロットによる S N X 5 タンパク質の検出や、ホルマリン固定パラフィン切片における S N X 5 タンパク質の検出に適しているだけでなく、パラホルム固定組織における S N X 5 タンパク質の同定も可能にした。これまでに、S N X 5 の細胞質における機能が報告されているが、このマウス抗ヒト S N X 5 モノクローナル抗体を用いた場合であっ

10

20

30

40

50

ても、SNX5が細胞質内に局在することを示した。このことは、このマウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体の特異性を支持する。なお、ハイブリドーマ48C2は、北海道公立大学法人札幌医科大学知的財産管理室(060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目)の管理下にて維持されており、必要に応じて分譲することが可能である。

【0045】

悪性腫瘍の病理組織診断を行う際に、免疫組織化学的な検討は非常に重要である。特定の臓器または組織に特異的な腫瘍マーカーを用いれば、原発巣が未だ確定されていない転移性病変の確定診断を行うことが容易になり、診断または治療の方針を速やかに決定し得る。これまでに種々の臓器特異的な分子マーカーが見出されているが、病理組織診断に実際に用いられている抗体は限られている。特に、甲状腺乳頭癌を鑑別するに好適な抗体は未だ見出されていない。

10

【0046】

通常病理組織検査で用いられているホルマリン固定パラフィン切片に対する、マウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色を行ったところ、甲状腺由来の乳頭癌においてはSNX5の強い発現が認められたが、他の腺癌の代表例である肺癌または乳癌由来の癌組織においては発現が全く認められなかった。この結果を検証する目的で、市販のウサギ抗ヒトSNX5ポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色を行ったところ、同様に腫瘍細胞におけるSNX5の高い発現が認められた。このように、SNX5は甲状腺乳頭癌の腫瘍マーカーとして非常に優れている。また、上記マウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体は、パラホルム固定組織の免疫組織的解析を可能にした、非常に優れた検出ツールである。

20

【0047】

SNX5遺伝子を検出する実施形態において、SNX5を検出する工程は、核酸プローブを、SNX5遺伝子またはそのフラグメントにハイブリダイズさせる工程であり得る。本明細書中で使用される場合、「核酸プローブ」は、目的の核酸にハイブリダイズし得るものであれば特に限定されず、いわゆるハイブリダイゼーションプローブであってもPCRプライマーであってもよい。ハイブリダイゼーション技術およびPCR技術は、当該分野において周知であり、当業者は、容易に本発明を実行し得る。被験体サンプルが被験体から採取した組織サンプルである場合、当該分野にて公知の種々の手法が採用され得、例えば、*in situ*ハイブリダイゼーション技術、*in situ* PCR技術等が採用され得る。また、被験体サンプルが被験体から採取した血液である場合、例えば、慣用的なPCR技術が採用され得る。

30

【0048】

核酸プローブは、SNX5遺伝子(またはその相補鎖)の部分配列を含むオリゴヌクレオチドであれば特に限定されず、配列番号4または5に示されるヌクレオチド配列またはその相補配列からなるオリゴヌクレオチドであっても、配列番号6~9に示されるヌクレオチド配列またはその相補配列からなるオリゴヌクレオチドであってもよい。また、48C2抗体が、ヒトSNX5タンパク質のN末端側を認識することから、核酸プローブは、上記「SNX5タンパク質のフラグメント」をコードするオリゴヌクレオチドであってもよい。

40

【0049】

*in situ*ハイブリダイゼーションの場合、核酸プローブは、配列番号1に示されるヌクレオチド配列またはその相補配列の、15~50個連続する塩基からなるオリゴヌクレオチドが好ましく、より好ましくは20~50個、さらに好ましくは20~45個、最も好ましくは25~40個連続する塩基からなるオリゴヌクレオチドである。また、PCR(*in situ* PCRを含む。)の場合、核酸プローブは、配列番号1に示されるヌクレオチド配列またはその相補配列の、15~50個連続する塩基からなるオリゴヌクレオチドが好ましく、より好ましくは15~40個、さらに好ましくは15~35個、最も好ましくは25~35個連続する塩基からなるオリゴヌクレオチドである。

【0050】

50

なお、本実施形態に係る検出方法は、SNX5遺伝子を検出する工程を包含することを特徴としているが、上述したSNX5タンパク質を検出する工程をさらに包含することがより好ましい。

#### 【0051】

このように、本発明に係る腫瘍マーカーの検出方法を用いることにより、乳頭状形態を示す悪性腫瘍の判断基準を提供することができるので、甲状腺乳頭癌であるか否かの診断が容易になる。また、本発明は、病変が原発巣であるか否かを判定する際に非常に有効である。さらに、本発明を用いれば、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するのか、あるいは他の組織（肺、乳腺など）に由来するのかを、より明確に判別し得る。すなわち、本発明に係る方法は、甲状腺乳頭癌の診断基準を提供する方法（例えば、甲状腺乳頭癌を診断するためのデータを取得する方法）でもあり得、乳頭状形態を示す悪性腫瘍の鑑別の判断基準を提供する方法（例えば、乳頭状形態を示す悪性腫瘍を鑑別するためのデータを取得する方法）でもあり得る。また、本発明に係る方法は、甲状腺乳頭癌の病変が原発巣であるか否かの判定基準を提供する方法（例えば、甲状腺乳頭癌の病変が原発巣であるか否かを判定するためのデータを取得する方法）でもあり得る。さらに、本発明に係る方法は、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するのか否かの判別基準を提供する方法（例えば、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するのか否かを判定するためのデータを取得する方法）でもあり得る。

10

#### 【0052】

##### 〔3. 腫瘍マーカーの検出ツール〕

本発明は、腫瘍マーカーを検出するためのキットを提供する。本発明に係るキットは、被験体サンプル中のSNX5を検出するためのツールを備えていることを特徴としている。

20

#### 【0053】

本明細書中において使用される場合、用語「キット」は、特定の材料を内包する容器（例えば、ボトル、プレート、チューブ、ディッシュなど）を備えた包装が意図されるが、組成物としての一物質中に材料を含有している形態もまた、用語「キット」に包含される。キットは、各材料を使用するための指示書を備えていることが好ましい。本明細書中においてキットの局面において使用される場合、「備えた（備えている）」は、キットを構成する個々の容器のいずれかの中に内包されている状態が意図される。また、本発明に係るキットは、複数の異なる組成物を1つに梱包した包装であり得、溶液形態の場合は容器中に内包されていてもよい。本発明に係るキットは、物質Aおよび物質Bを同一の容器に混合して備えていても別々の容器に備えていてもよい。「指示書」は、紙またはその他の媒体に書かれていても印刷されていてもよく、あるいは磁気テープ、コンピューター読み取り可能ディスクまたはテープ、CD-ROMなどのような電子媒体に付されてもよい。本発明に係るキットはまた、希釈剤、溶媒、洗浄液またはその他の試薬を内包した容器を備え得る。さらに、本発明に係るキットは、被験体サンプルを採取するために必要な器具および試薬を備えていてもよい。また、本発明に係るキットは、被験体サンプルから切片または細胞溶解物を調製するために必要な器具および試薬を備えていてもよい。

30

#### 【0054】

一実施形態において、本発明に係るキットは、SNX5タンパク質またはそのフラグメントを検出するための抗体を備えている。上記抗体は、抗ヒトSNX5抗体であることが好ましく、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体であることがより好ましく、ハイブリドーマ48C2から産生されるマウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体または当該抗体と同等の結合活性を有するモノクローナル抗体であることが最も好ましい。なお、本発明に係るキットは、上記抗体を検出するための試薬をさらに備えていることが好ましいが、上述したように、SNX5タンパク質またはそのフラグメントを検出するための抗体を含有している組成物として提供されてもよい。

40

#### 【0055】

他の実施形態において、本発明に係る検出キットは、SNX5遺伝子またはそのフラグ

50

メントを検出するためのオリゴヌクレオチドを備えている。上記オリゴヌクレオチドは、SNX5 遺伝子またはそのフラグメントにハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドであることが好ましく、SNX5 遺伝子またはそのフラグメントに対するハイブリダイゼーションプロブまたはPCRプライマーであることが好ましい。なお、本発明に係るキットは、上記オリゴヌクレオチドを検出するための試薬をさらに備えていることが好ましいが、上述したように、SNX5 遺伝子またはそのフラグメントを検出するためのオリゴヌクレオチドを含有している組成物として提供されてもよい。

#### 【0056】

本発明に係るキットは、甲状腺乳頭癌の診断基準を提供するためのキットであることが好ましいが、乳頭状形態を示す悪性腫瘍の鑑別の判断基準を提供するためのキットでもあり得る。また、本発明に係るキットは、甲状腺乳頭癌の病変が原発巣であるか否かの判定基準を提供するためのキットでもあり得る。さらに、本発明に係るキットは、頸部リンパ節転移した腫瘍が甲状腺に由来するの否かの判別基準を提供するためのキットでもあり得る。

10

#### 【0057】

このように、本発明の目的は、腫瘍マーカーを提供するとともに、当該腫瘍マーカーを検出することによる甲状腺乳頭癌の診断基準を提供することにある。本明細書を読んだ当業者は、本明細書中の記載および技術常識に基づいて、種々の形態にて本発明を実行し得ることを容易に理解する。

20

#### 【実施例】

#### 【0058】

##### 〔1. ヒトSNX5 cDNAの取得〕

ヒトHacaT細胞から抽出した総RNAをテンプレートにして、フォワードプライマー(pCMV-HA-SNX5 FW: 5'-CAGGCCCGAATTCGATGGCCGCGTTCCCGAG-3' (配列番号4))およびリバースプライマー(pCMV-HA-SNX5 RV: 5'-GATCTCGGTCGACCGTGAAGGCATATCAGTTAT-3' (配列番号5))を用いたRT-PCRを行い、ヒトSNX5 cDNAを得た。得られたヒトSNX5 cDNAを、大腸菌用発現ベクターpET3c (Novagen)および哺乳動物用発現ベクターpCMV-HA (BD Bioscience)に挿入して、それぞれpET3c-SNX5およびpCMV-HA-SNX5を作製した。なお、pCMV-HA-SNX5 FWは、ヒトSNX5 cDNAの5'領域の配列(ATGGCCGCGGTTCCCGAG (配列番号6))に制限酵素部位等を連結したものであり、pCMV-HA-SNX5 RVは、ヒトSNX5 cDNAの3'領域の配列(ataactgatatgccttcac (配列番号7))の相補配列に制限酵素部位等を連結したものである。

30

#### 【0059】

##### 〔2. 抗ヒトSNX5モノクローナル抗体の作製〕

pET3c-SNX5を導入した大腸菌BL21を培養し、IPTGによってタンパク質合成を誘導した。次いで、ヒトSNX5タンパク質を菌体成分から分離/濃縮した。得られたタンパク質を免疫原とし、アジュバントとして完全アジュバント(初回免疫のみ)または不完全アジュバント(2回目以降の免疫)を用いて、6~8週齢のBalb/cマウスを腹腔内免疫した(100μg/個体)。追加免疫を隔週にて2ヶ月間行い、脾細胞を採取する3日前に最終免疫を行った。採取した脾細胞を、ポリエチレングリコールを用いてNS0マウスミエロマ細胞と融合させ、この融合細胞を、96ウェルプレート中にて、HAT、10%FBSを含むRPMI1640培地中にて2~3週間培養した。培養上清を用いたウエスタンブロット法によって、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体をスクリーニングした。

40

#### 【0060】

##### 〔3. 哺乳動物細胞への遺伝子導入〕

10%FBS、ペニシリン/ストレプトマイシンを含むDMEMにて培養したヒト293細胞に、LF2000(インビトロジェン社)を製造業者の手引書に従って、pCMV-SNX5を導入した。なお、形質転換体におけるSNX5の発現を、形質転換体から抽

50

出した総RNAをテンプレートにして、フォワードプライマー（SNX5 AMP FW: 5'-ccggtt aaagagcaaagacg-3'（配列番号8））およびリバースプライマー（SNX5 AMP RV: 5'-agctc tgcaaaaggagaca-3'（配列番号9））を用いたRT-PCRによって確認した。

#### 【0061】

##### 〔4. ウェスタンブロット解析〕

pCMV-SNX5を導入したヒト293細胞を、3日間培養した後に0.5% NP-40を含む溶解用緩衝液を用いて可溶化した。可溶化した画分に含まれるタンパク質を5~20%のグラジエントゲルを用いたSDS-PAGEによって分離した。分離したタンパク質をナイロンメンブレンに転写し、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体による一次抗体反応、ペルオキシダーゼ複合体化ヤギ抗マウスIgG抗体による二次抗体反応を各々1時間行った。ECLキット（アマシャム社製）を用いて、シグナルを可視化した。

10

#### 【0062】

図1に示すように、50kDaの位置に非特異的なバンドが検出されるものの、SNX5（分子量47kDa）に特異的なシグナルがpCMV-SNX5を導入した細胞にのみ検出された。同様のシグナルはネガティブコントロール（CMV、pCMV-mutant AIRE#1、pCMV-mutant AIRE#2）を遺伝子導入した細胞には認められなかった。

#### 【0063】

##### 〔5. 免疫組織化学染色〕

pCMV-SNX5を導入したヒト293細胞を、3日間培養した後にパラホルムアルデヒドにて固定し、一次抗体として抗ヒトSNX5モノクローナル抗体を、2次抗体にはAlexa596を複合体化したヤギ抗マウスIgG抗体を用いて、室温で各々1時間反応させて免疫組織化学染色を行った。IX71蛍光顕微鏡（オリンパス社製）を使用して、シグナルを検出した。図2に、pCMV-SNX5を導入した細胞（左）、ネガティブコントロールとしてpCMVを導入した細胞（右）を示す。抗ヒトSNX5モノクローナル抗体がSNX5と特異的に反応していることがわかる。

20

#### 【0064】

また、腺癌組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体による免疫組織化学染色を行った。自動免疫染色装置（DAKO社製）を使用して、シグナルを検出した（図3）。図3（a）に示すように、甲状腺乳頭癌においてはSNX5の強い発現が認められた。しかし、肺腺癌（図3（b））および乳腺癌（図3（c））においてはSNX5の発現は認められなかった（図3（b））。

30

#### 【0065】

さらに、樹立した抗ヒトSNX5モノクローナル抗体を用いて調べた、腫瘍組織におけるSNX5発現分布を、市販のウサギ抗ヒトSNX5ポリクローナル抗体（H40: Santa Cruz Biotechnology）を用いて検証した（図4）。図4に示すように、甲状腺乳頭癌のホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫組織化学染色において、腫瘍細胞にSNX5の強い発現が認められた。

#### 【0066】

さらに、マウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体を用いて、乳頭状増殖を示す各種の悪性腫瘍におけるSNX5の発現を解析した。結果を表1に示す。表1に示すように、甲状腺以外での上皮性悪性腫瘍（胃癌、大腸癌および膵癌を含む）20例、および肉腫・非上皮性悪性腫瘍5例のいずれにおいても、SNX5の発現は全く見られなかった。

40

#### 【0067】

【表 1】

腫瘍組織	SNX5陽性症例	SNX5陰性症例	合計
甲状腺乳頭癌 (原発巣)	19	1	20
甲状腺乳頭癌 (リンパ節転移巣)	11	1	12
肺乳頭型腺癌	0	5	5
乳腺乳頭腺管癌	0	4	4
甲状腺以外での 上皮性悪性腫瘍	0	20	20
肉腫・非上皮性腫瘍	0	5	5

10

20

## 【0068】

## 〔6. 定量的PCR〕

被験体から生検によって取得した正常な甲状腺組織、あるいは甲状腺癌を発症している患者から手術によって摘出した甲状腺癌組織から総RNAを抽出し、逆転写酵素 (Invitrogen) を用いてcDNAを作製した。次いで、このcDNAを鋳型に用いて、PCRプローブ (製品番号: Hs00429583) を用いた定量的PCR (Applied Biosystems) を行った。得られた値を、ribosomal RNAを対照として解析し、delta delta CT法 (ABI 7000、Applied Biosystems) によって比較検討した。なお、ヒト組織の遺伝子解析は、SNX5の発現解析のみに限定し、ヒト組織の使用に際しては、十分なインフォームドコンセントの下で倫理委員会を通じて研究を行った。データの保護には万全の注意を払い、人権の保護および法令を遵守した。

30

## 【0069】

甲状腺癌3例についての結果を図5に示す。図に示すように、正常な甲状腺組織よりも甲状腺癌組織においてSNX5遺伝子の発現が高いことが確認された。

## 【0070】

このように、本発明者らは、SNX5が甲状腺乳頭癌に高発現することを初めて見出した。また、本発明者らが樹立したマウス抗ヒトSNX5モノクローナル抗体は、ホルマリン固定パラフィン切片だけでなくパラホルム固定組織の免疫組織的解析を可能にした。本発明によって得られた知見は、既知の甲状腺マーカーであるサイログロブリンやTTF-1などと比較して、SNX5は優れたマーカーであると考えられ、病理診断の際の有益な情報を提供し得ると考えられる。また、抗ヒトSNX5モノクローナル抗体を使用したELISA法などによって、甲状腺由来の腫瘍性病変の血清診断が可能であると考えられる。

40

## 【0071】

本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせ得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

50

## 【 0 0 7 2 】

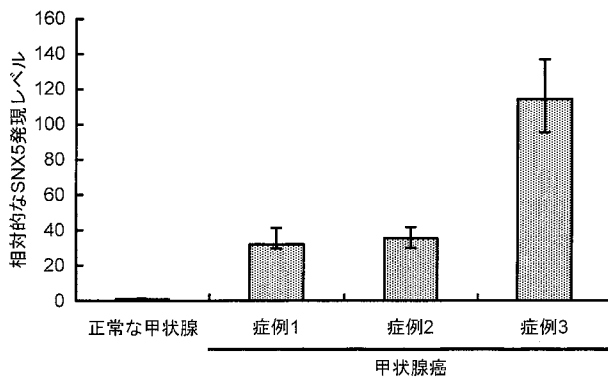
また、本明細書中に記載された学術文献および特許文献の全てが、本明細書中において参考として援用される。

## 【 産業上の利用可能性 】

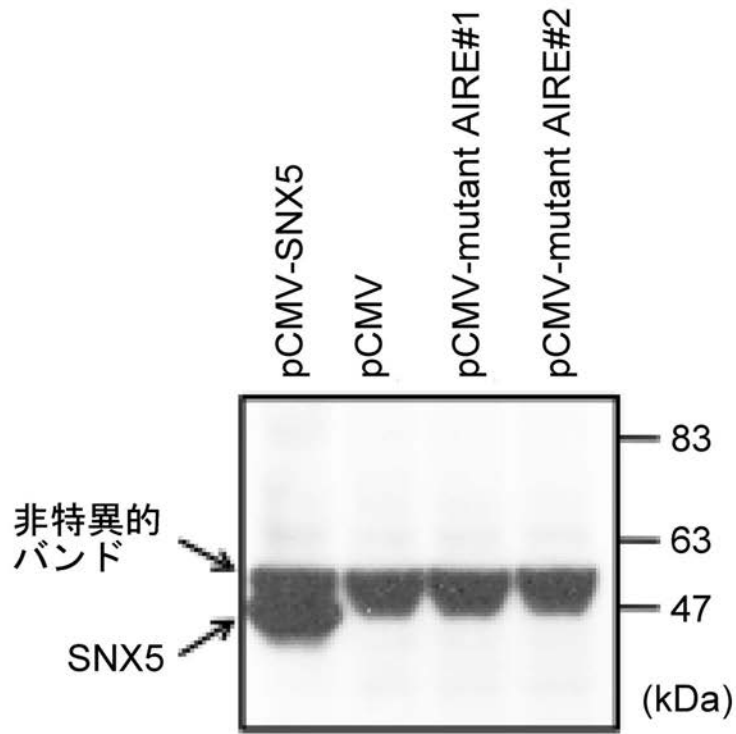
## 【 0 0 7 3 】

本発明を用いれば、甲状腺乳頭癌の早期診断および確定診断が容易になる。このように優れたツールを提供する本発明は、医学、薬学の分野において利用可能であり、医薬品、生化学試薬の開発に大いに寄与することができる。

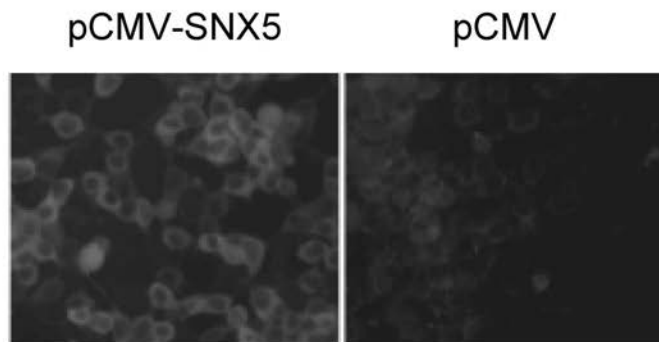
【 図 5 】



【 図 1 】

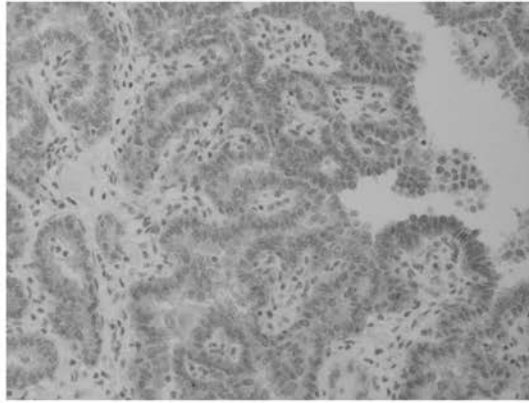


【 図 2 】

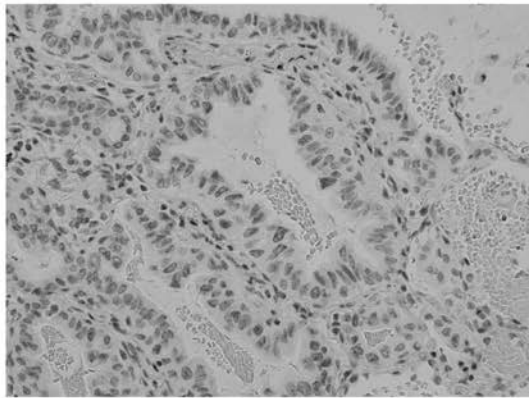


【 図 3 】

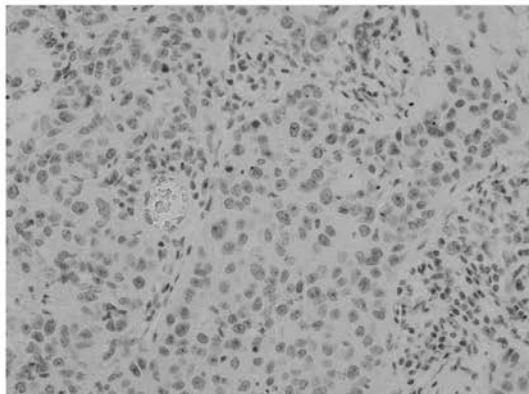
(a)



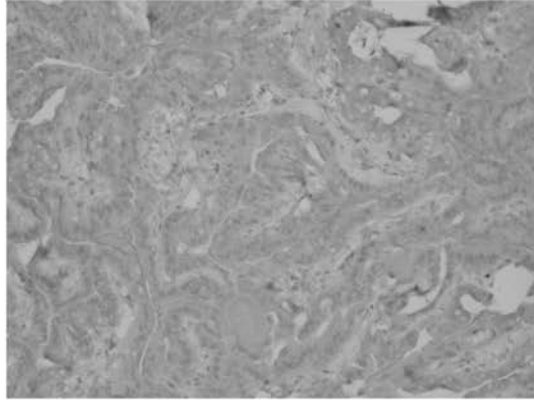
(b)



(c)



【 図 4 】



【 配列表 】

2010117010000001.app

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2010/056293
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> G01N33/574(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N33/574, C12Q1/68, G01N33/53, 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 1996-2010 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2010 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2010  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Hao Liu, Inhibitory regulation of EGF receptor degradation by sorting nexin 5, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006.04.07, Vol.342/No.2, 537-546	1-13
A	Ana Merino-Trigo, Sorting nexin 5 is localized to a subdomain of the early endosomes and is recruited to the plasma membrane following EGF stimulation, Journal of Cell Science, 2004.12.15, Vol.117/No.26, 6413-6424	1-13
A	Kyeong-Won Yoo, Snx5, as a Mind bomb-binding protein, is expressed in hematopoietic and endothelial precursor cells in zebrafish, FEBS Letters, 2006.08.07, Vol.580/No.18, 4409-4416	1-13
<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 06 May, 2010 (06.05.10)		Date of mailing of the international search report 18 May, 2010 (18.05.10)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2010/056293									
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, G01N33/53(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, G01N33/53, 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>1971-2010年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2010年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2010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	1971-2010年	日本国実用新案登録公報	1996-2010年	日本国登録実用新案公報	1994-2010年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2010年										
日本国実用新案登録公報	1996-2010年										
日本国登録実用新案公報	1994-2010年										
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)											
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	Hao Liu, Inhibitory regulation of EGF receptor degradation by sorting nexin 5, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006.04.07, Vol.342/No.2, 537-546	1-13									
A	Ana Merino-Trigo, Sorting nexin 5 is localized to a subdomain of the early endosomes and is recruited to the plasma membrane following EGF stimulation, Journal of Cell Science, 2004.12.15, Vol.117/No.26, 6413-6424	1-13									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 06.05.2010		国際調査報告の発送日 18.05.2010									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 浅野 美奈	2J 4636								
		電話番号 03-3581-1101	内線 3252								

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2010/056293

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	Kyeong-Won Yoo, Snx5, as a Mind bomb-binding protein, is expressed in hematopoietic and endothelial precursor cells in zebrafish, FEBS Letters, 2006.08.07, Vol.580/No.18, 4409-4416	1-13

## フロントページの続き

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

(72)発明者 佐藤 昇志

日本国北海道札幌市中央区南1条西17丁目 北海道公立大学法人札幌医科大学内

Fターム(参考) 4B024 AA12 BA80 CA04 CA09 DA02 DA06 EA04 GA11 HA14

4B063 QA19 QQ08 QQ42 QR32 QR55 QR77 QS34 QX01

(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)	肿瘤标志物及其用途		
公开(公告)号	<a href="#">JPWO2010117010A1</a>	公开(公告)日	2012-10-18
申请号	JP2011508374	申请日	2010-04-07
[标]申请(专利权)人(译)	LSIP基金运营联合公司		
申请(专利权)人(译)	LSIP基金管理公司联合		
[标]发明人	一宮慎吾 菊地智樹 外岡暁子 佐藤昇志		
发明人	一宮 慎吾 菊地 智樹 外岡 暁子 佐藤 昇志		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/53 G01N33/577 C12Q1/68 C12N15/09		
CPC分类号	G01N33/57407 C12Q1/6886 C12Q2600/112 G01N2800/046		
FI分类号	G01N33/574.A G01N33/53.M G01N33/577.B C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA12 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA14 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR77 4B063/QS34 4B063/QX01		
优先权	2009095561 2009-04-10 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本发明检测来自受试者的样品中的SNX5。SNX5用作甲状腺乳头状癌特有的肿瘤标志物，因此易于诊断甲状腺乳头状癌。本发明还提供了一种使用肿瘤标志物鉴别甲状腺乳头状癌的技术。

腫瘍組織	SNX5陽性症例	SNX5陰性症例	合計
甲状腺乳頭癌 (原発巣)	19	1	20
甲状腺乳頭癌 (リンパ節転移巣)	11	1	12
肺乳頭型腺癌	0	5	5
乳腺乳頭腺管癌	0	4	4
甲状腺以外での 上皮性悪性腫瘍	0	20	20
肉腫・非上皮性腫瘍	0	5	5