

(19) 日本国特許庁(JP)

再 公 表 特 許(A1)

(11) 国際公開番号

W02011/122634

発行日 平成25年7月8日 (2013.7.8)

(43) 国際公開日 平成23年10月6日 (2011.10.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	2 G 0 4 5
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 2 4
G O 1 N 33/48 (2006.01)	G O 1 N 33/48 P	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 Y	4 C 0 8 4
G O 1 N 33/574 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	4 C 0 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁) 最終頁に続く		

出願番号	特願2012-508349 (P2012-508349)	(71) 出願人	803000056
(21) 国際出願番号	PCT/JP2011/057866		公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団
(22) 国際出願日	平成23年3月29日 (2011.3.29)		東京都千代田区岩本町二丁目11番1号
(31) 優先権主張番号	特願2010-78772 (P2010-78772)	(74) 代理人	100095407
(32) 優先日	平成22年3月30日 (2010.3.30)		弁理士 木村 満
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	本田 一文
			日本国東京都中央区築地五丁目1番1号
			独立行政法人国立がん研究センター (研究所) 内
		(72) 発明者	山田 哲司
			日本国東京都中央区築地五丁目1番1号
			独立行政法人国立がん研究センター (研究所) 内
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 肺腺がんの予後予測方法、肺腺がんの検出キット、および、肺腺がんを治療するための医薬組成物

(57) 【要約】

哺乳動物において予後不良のⅠ期肺腺がんを検出することにより予後を予測する予後予測方法であって、前記哺乳動物から得られたⅠ期肺腺がん組織の細胞におけるA C T N 4のコピー数を測定する。そして、前記遺伝子のコピー数が4を超える場合に、前記哺乳動物からのⅠ期肺腺がんが予後不良のⅠ期肺腺がんであると予測する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物において予後不良のⅠ期肺腺がんを検出することにより予後を予測する予後予測方法であって、

前記哺乳動物から得られたⅠ期肺腺がん組織の細胞における α -アクチニン-4遺伝子(ACTN4)のコピー数を測定する工程、を含んでなり、

前記遺伝子のコピー数が4を超える場合に、前記哺乳動物からのⅠ期肺腺がんが予後不良のⅠ期肺腺がんであると予測する、

ことを特徴とする肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 2】

前記遺伝子のコピー数の測定は、ゲノム上の該遺伝子に特異的なプローブを用いるFISH法によって行われる、ことを特徴とする請求項1に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 3】

前記特異的プローブは、ヒト第19番染色体上の第43.81Mb～第44.02Mbの領域のヌクレオチド配列からなる、ことを特徴とする請求項2に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 4】

哺乳動物において予後不良のⅠ期肺腺がんを検出するための検出キットであって、細胞におけるACTN4遺伝子のコピー数を測定することのできる試薬を含んでなる、ことを特徴とする肺腺がんの検出キット。

【請求項 5】

前記試薬は、ゲノム上の前記遺伝子に特異的なプローブである、ことを特徴とする請求項4に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 6】

前記特異的プローブは、ヒト第19番染色体上の第43.81Mb～第44.02Mbの領域のヌクレオチド配列からなる、ことを特徴とする請求項5に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 7】

哺乳動物において予後不良のⅠ期肺腺がんを検出することにより予後を予測する予後予測方法であって、

(a) 前記哺乳動物から得られたⅠ期肺腺がんの組織または細胞において、ACTN4遺伝子の発現量を測定する工程、および

(b) 工程(a)で得られた発現量を、対応する正常な組織または細胞におけるACTN4遺伝子の発現量と比較する工程、を含んでなり、

前記正常な組織または細胞に対して前記Ⅰ期肺腺がんの組織または細胞における前記遺伝子の発現が増強されていた場合に、前記哺乳動物からのⅠ期肺腺がんが予後不良のⅠ期肺腺がんであると予測する、

ことを特徴とする肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 8】

前記工程(a)では、前記組織または細胞内の α -アクチニン-4タンパク質を検出する、ことを特徴とする請求項7に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 9】

α -アクチニン-4タンパク質は、配列番号2で表されるアミノ酸配列を含む、ことを特徴とする請求項8に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 10】

α -アクチニン-4タンパク質の検出は、特異的抗体を用いる免疫組織化学染色によって行われる、ことを特徴とする請求項8に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 11】

前記工程(a)では、前記組織または細胞内の α -アクチニン-4のmRNAを検出する、ことを特徴とする請求項7に記載の肺腺がんの予後予測方法。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2】

α -アクチニン-4 の mRNA は、配列番号 1 で表されるヌクレオチド配列（ただし、配列中の t は u に変換されている）を含む、ことを特徴とする請求項 1 1 に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 1 3】

以下の工程：

（c）前記哺乳動物から得られた血清において、癌胎児性抗原（CEA）の濃度を測定する工程、および

（d）工程（c）で得られた濃度を、正常な血清における癌胎児性抗原（CEA）の濃度と比較する工程、をさらに含んでなり、

前記正常な組織または細胞に対して前記 I 期肺腺がんの組織または細胞における前記遺伝子の発現が増強されており、かつ、前記正常な血清に対して前記哺乳動物から得られた血清における癌胎児性抗原（CEA）濃度が有意に高い場合に、前記哺乳動物からの I 期肺腺がんが予後不良の I 期肺腺がんであると予測する、

ことを特徴とする請求項 7 に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 1 4】

前記工程（c）で得られた濃度が 5.0 ng/mL を超える場合に、前記正常な血清に対して有意に高いと判断される、ことを特徴とする請求項 1 3 に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 1 5】

以下の工程：

（e）前記哺乳動物から得られた I 期肺腺がん組織の細胞における ACTN4 遺伝子のコピー数を測定する工程、をさらに含んでなり、

前記正常な組織または細胞に対して前記 I 期肺腺がんの組織または細胞における前記遺伝子の発現が増強されており、かつ、前記遺伝子のコピー数が 4 を超える場合に、前記哺乳動物からの I 期肺腺がんが予後不良の I 期肺腺がんであると予測する、

ことを特徴とする請求項 7 に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 1 6】

前記遺伝子のコピー数の測定は、ゲノム上の該遺伝子に特異的なプローブを用いる FISH 法によって行われる、ことを特徴とする請求項 1 5 に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 1 7】

前記特異的プローブは、ヒト第 19 番染色体上の第 43.81 Mb～第 44.02 Mb の領域のヌクレオチド配列からなる、ことを特徴とする請求項 1 6 に記載の肺腺がんの予後予測方法。

【請求項 1 8】

哺乳動物において予後不良の I 期肺腺がんを検出するための検出キットであって、組織または細胞内の ACTN4 遺伝子の発現量を測定することのできる試薬を含んでいる、ことを特徴とする肺腺がんの検出キット。

【請求項 1 9】

前記試薬は、前記組織または細胞内の α -アクチニン-4 タンパク質を定量するための試薬である、ことを特徴とする請求項 1 8 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 2 0】

α -アクチニン-4 タンパク質を定量するための試薬は、 α -アクチニン-4 タンパク質に特異的に結合する抗体である、請求項 1 9 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 2 1】

前記試薬は、前記組織または細胞内の α -アクチニン-4 の mRNA を定量するための試薬である、ことを特徴とする請求項 1 8 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 2 2】

血清中の癌胎児性抗原（CEA）の濃度を測定することのできる試薬をさらに含んでい

10

20

30

40

50

る、ことを特徴とする請求項 18 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 23】

細胞における A C T N 4 遺伝子のコピー数を測定することのできる試薬をさらに含んでいる、ことを特徴とする請求項 18 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 24】

前記試薬は、ゲノム上の前記遺伝子に特異的なプローブである、ことを特徴とする請求項 23 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 25】

前記特異的プローブは、ヒト第 19 番染色体上の第 43.81 Mb～第 44.02 Mb の領域のヌクレオチド配列からなるものである、ことを特徴とする請求項 24 に記載の肺腺がんの検出キット。

【請求項 26】

α -アクチニン-4 阻害剤および医薬上許容される担体を含んでなる、ことを特徴とする肺腺がんを治療するための医薬組成物。

【請求項 27】

α -アクチニン-4 阻害剤は、小分子である、ことを特徴とする請求項 26 に記載の肺腺がんを治療するための医薬組成物。

【請求項 28】

α -アクチニン-4 阻害剤は、 α -アクチニン-4 タンパク質に特異的に結合する抗体である、ことを特徴とする請求項 26 に記載の肺腺がんを治療するための医薬組成物。

【請求項 29】

α -アクチニン-4 阻害剤は、A C T N 4 遺伝子の発現を特異的に抑制するアンチセンス核酸分子である、ことを特徴とする請求項 26 に記載の肺腺がんを治療するための医薬組成物。

【請求項 30】

α -アクチニン-4 阻害剤は、A C T N 4 遺伝子の発現を特異的に抑制する s i R N A 核酸分子である、ことを特徴とする請求項 26 に記載の肺腺がんを治療するための医薬組成物。

【請求項 31】

α -アクチニン-4 阻害剤は、A C T N 4 遺伝子の発現を特異的に抑制する s i R N A 核酸分子を発現するベクターである、ことを特徴とする請求項 26 に記載の肺腺がんを治療するための医薬組成物。

【請求項 32】

ヒト細胞における A C T N 4 遺伝子のコピー数を測定するための検出キットであって、F I S H 法に利用可能な、ゲノム上の前記遺伝子に特異的なプローブを含んでなり、該特異的プローブは、ヒト第 19 番染色体上の第 43.81 Mb～第 44.02 Mb の領域のヌクレオチド配列からなる、ことを特徴とする肺腺がんの検出キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、肺腺がんの予後予測方法、肺腺がんの検出キット、および、肺腺がんを治療するための医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

肺腺がんの臨床病期 I 期は、原発巣以外の部位への転移がみられない早期病変である。現在の分類では、I 期肺腺がんはさらに I A 期（腫瘍径 3 c m 未満）と I B 期（腫瘍径 3 c m 以上）とに分類される。非特許文献 1 では、肺腺がんの臨床病期 I 期の術後五年生存率は 85% であり、術後化学療法（テガフル・ウラシル（U F T）二年間内服）は、I 期における予後の改善に有意に貢献することが報告されている。現在、I 期肺腺がん症例に対して術後化学療法を行うことが推奨されているが、I 期肺腺がんの全員が術後化学療法

10

20

30

40

50

により恩恵を受けるわけではない。よって I 期の術後予後予測をすることができれば、予後良好な患者群に不必要な化学療法を行うリスクを軽減できると考えられる。

【0003】

ここで、 α -アクチニン-4 は、癌細胞の浸潤・転移に関与するアクチン結合タンパク質として単離された分子である（非特許文献 2 参照）。また、 α -アクチニン-4 タンパク質の発現が細胞運動と浸潤性に関与することも報告されている（非特許文献 3 参照）。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献 1】 Kato H. et al., N. Engl. J. Med., 2004 Apr 22; 350(17): 1713-21

10

【非特許文献 2】 Honda et al., J Cell Biol. 1998 Mar 23;140(6):1383-93

【非特許文献 3】 Honda et al., Gastroenterology. 2005 Jan;128(1):51-62

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明者らは、I 期肺腺がん組織における α -アクチニン-4（ACTN4）タンパク質の発現が増強した症例は、そうではない症例に比べて統計学的な有意差をもって全生存期間（OS）が短いことを見出した。また、本発明者らは、I 期肺腺がん組織の細胞における α -アクチニン-4 遺伝子（ACTN4）のゲノム上のコピー数が増加している群は、非増加群に比べて OS が短いことを見出した。さらに、本発明者らは、ACTN4 遺伝子のゲノムのコピー数と α -アクチニン-4 タンパク質発現レベルとの組み合わせにより、遺伝子コピー数またはタンパク質発現それぞれの単独解析に比べて I 期肺腺がんの OS を厳密に予測できることを見出した。本発明は、これらの知見に基づくものである。

20

【0006】

従って、本発明の目的は、肺腺がんの予後予測方法、肺腺がんの検出キット、および、肺腺がんを治療するための医薬組成物を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明の第一の態様による肺腺がんの予後予測方法は、哺乳動物において予後不良の I 期肺腺がんを検出することにより予後を予測する予後予測方法であって、

30

前記哺乳動物から得られた I 期肺腺がん組織の細胞における α -アクチニン-4 遺伝子（ACTN4）のコピー数を測定する工程、を含んでなり、

前記遺伝子のコピー数が 4 を超える場合に、前記哺乳動物からの I 期肺腺がんが予後不良の I 期肺腺がんであると予測する、ことを特徴とする。

【0008】

本発明の第二の態様による肺腺がんの検出キットは、

哺乳動物において予後不良の I 期肺腺がんを検出するための検出キットであって、細胞における ACTN4 遺伝子のコピー数を測定することのできる試薬を含んでなる、ことを特徴とする。

40

【0009】

本発明の第三の態様による肺腺がんの予後予測方法は、

哺乳動物において予後不良の I 期肺腺がんを検出することにより予後を予測する予後予測方法であって、

（a）前記哺乳動物から得られた I 期肺腺がんの組織または細胞において、ACTN4 遺伝子の発現量を測定する工程、および

（b）工程（a）で得られた発現量を、対応する正常な組織または細胞における ACTN4 遺伝子の発現量と比較する工程、を含んでなり、

前記正常な組織または細胞に対して前記 I 期肺腺がんの組織または細胞における前記遺伝子の発現が増強されていた場合に、前記哺乳動物からの I 期肺腺がんが予後不良の I 期

50

肺腺がんであると予測する、ことを特徴とする。

【0010】

本発明の第四の態様による肺腺がんの検出キットは、

哺乳動物において予後不良のⅠ期肺腺がんを検出するための検出キットであって、組織または細胞内のACTN4遺伝子の発現量を測定することのできる試薬を含んでいる、ことを特徴とする。

【0011】

本発明の第五の態様による肺腺がんを治療のための医薬組成物は、

α-アクチニン-4阻害剤および医薬上許容される担体を含んでなる、ことを特徴とする。

【0012】

本発明の第六の態様による肺腺がんの検出キットは、

ヒト細胞におけるACTN4遺伝子のコピー数を測定するための検出キットであって、FISH法に利用可能な、ゲノム上の前記遺伝子に特異的なプローブを含んでなり、該特異的プローブは、ヒト第19番染色体上の第43.81Mb～第44.02Mbの領域のヌクレオチド配列からなる、ことを特徴とする。

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、Ⅰ期肺腺がんの予後を予測し、適切な治療法を選択することが可能となる。例えば、本発明においてそのⅠ期肺腺がんが予後不良であると判断された場合には、その摘出手術の後にテガフル・ウラシル配合剤、シスプラチンなどの薬剤を用いた化学療法を行うことが推奨される。一方で、本発明においてそのⅠ期肺腺がんが予後不良でないと判断された場合には、不必要な化学療法を回避することができる。さらに、本発明によれば、Ⅰ期肺腺がん、例えば予後不良のⅠ期肺腺がんを治療する手段が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】肺腺がん組織（Ⅰ期およびⅠA期）（コホート1）におけるα-アクチニン-4タンパク質発現亢進の陽性症例と陰性症例の2群について、Kaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【図2】肺腺がん組織（Ⅰ期およびⅠA期）（コホート2）におけるα-アクチニン-4タンパク質発現亢進の陽性症例と陰性症例の2群について、Kaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【図3】Ⅰ期肺腺がん患者を次の3群：血清CEA5ng/mL以下かつα-アクチニン-4陰性の群；血清CEA5ng/mL超またはα-アクチニン-4タンパク質陽性の群；および血清CEA5ng/mL超かつα-アクチニン-4タンパク質陽性の群に分割し、それぞれの群についてKaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【図4】Ⅰ期肺腺がん患者を次の3群：ACTN4増幅（-）かつα-アクチニン-4タンパク質発現陰性の群；ACTN4遺伝子増幅（-）かつα-アクチニン-4タンパク質発現陽性の群；およびACTN4遺伝子増幅（+）かつα-アクチニン-4タンパク質発現陽性の群に分割し、それぞれの群についてKaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【図5】免疫組織化学染色による発現状態を示す肺腺がん細胞の顕微鏡写真である。

【図6】肺腺がん組織（Ⅰ～ⅠⅠⅠ期およびⅠ期）（コホート1及び2）におけるα-アクチニン-4タンパク質発現亢進の陽性症例と陰性症例の2群について、Kaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【図7】蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）法により標識された肺腺がん細胞の顕微鏡写真である。

【図8】肺腺がん組織（Ⅰ期）における組織マイクロアレイの陽性症例と陰性症例の2群について、Kaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【図9】肺腺がん組織（Ⅰ期およびⅠA期）（コホート1及び2）における、α-アクチ

10

20

30

40

50

ニン-4タンパク質発現亢進、及び、組織マイクロアレイの陽性症例と陰性症例の群について、Kaplan-Meier法によって作成した生存曲線を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本発明の対象となる癌は、I期肺腺がんである。肺がんは非小細胞がんと小細胞がんとに大別される。肺腺がんは非小細胞がんに分類される。I期肺腺がんは、肺腺がんのうちの最も早期のがんであり、リンパ節や他の臓器への転移の無い肺腺がんである。本発明による方法によれば、哺乳動物が罹患したI期肺腺がんが予後不良のものであるか否かを判定することができる。また、本発明における治療の対象はI期肺腺がん、好ましくは予後不良のI期肺腺がんとされる。他の好ましい実施態様では、本発明における治療の対象は、その癌細胞におけるAC T N 4遺伝子の増幅または発現増強が見られるI期肺腺がん、特に、本発明による予後予測方法によって予後不良と判定されたI期肺腺がんとされる。

【0016】

本明細書において「予後不良」との用語は、例えば、癌の切除の5年後における生存率が90%未満、好ましくは85%未満、より好ましくは70%未満、最も好ましくは60%未満であることを意味する。また、本明細書において「予後不良」とは、癌の切除後において化学療法を必要とすることを意味する。よって、本発明の他の態様によれば、本発明による方法は、哺乳動物において術後の化学療法を必要とするI期肺腺がんを検出する方法、あるいは、I期肺腺がんの患者が術後の化学療法を必要とするか否かを判定する方法である。

【0017】

本発明において予測（診断）の指標とし、治療の標的とする「 α -アクチニン-4」または「AC T N 4」は、診断または治療の被検体となる哺乳動物に由来する α -アクチニン-4（AC T N 4遺伝子産物）とすることができる。AC T N 4遺伝子の配列およびこれによりコードされるアミノ酸配列は当技術分野において周知であり、例えば、配列番号1および配列番号2（Ensembl ID: ENSG00000130402およびENST00000252699）に示されるヒト由来AC T N 4の配列が挙げられる。ヒト由来AC T N 4の配列はまた、NCBI（National Center for Biotechnology Information）アクセス番号：NM_004924およびNP_004915にも登録されている。また、AC T N 4遺伝子の遺伝子座も当技術分野において周知であり、例えば、ヒトのAC T N 4遺伝子は、第19染色体の第43,830,167~43,913,010塩基に位置する。ヒト以外の哺乳動物についても、ヒト由来AC T N 4に対応する同様の遺伝子およびタンパク質を利用することが可能である。

【0018】

本明細書において、AC T N 4遺伝子の増幅（ゲノム上でのコピー数増加）およびその転写産物である α -アクチニン-4タンパク質の発現増強がI期肺腺がんの予後不良因子であることが実証されている。さらに、がん細胞内におけるAC T N 4遺伝子の増幅と同タンパク質の発現増強との組み合わせは、I期肺腺がんの予後をそれぞれ単独の予後予測に比べてより厳密に予後を予測しうる予後不良因子であることが実証されている。よって、被検体となる哺乳動物（ヒトまたはヒトを除く哺乳動物）から得られたI期肺腺がん組織の細胞におけるAC T N 4遺伝子のコピー数を調べることにより、そのI期肺腺がんが予後不良であるか否かを予測（診断）することができる。また、前記哺乳動物から得られたI期肺腺がんの組織または細胞における α -アクチニン-4タンパク質の発現増強を調べることにより、そのI期肺腺がんが予後不良であるか否かを予測（診断）することもできる。

【0019】

診断の対象とするI期肺腺がんの組織または細胞は、患者から外科手術により摘出された手術サンプルであってもよいし、内視鏡などによって得られる生検サンプルであってもよい。

【0020】

10

20

30

40

50

本発明の第一の態様による方法では、I期肺腺がん組織の細胞におけるACTN4遺伝子のコピー数を調べることにより、そのI期肺腺がんが予後不良であるか否かを判定し、これにより予後不良のI期肺腺がんを検出する。この方法は、I期肺腺がん組織の細胞におけるACTN4遺伝子のコピー数を測定する工程を含み、そのコピー数が4を超える場合には、被検体である哺乳動物のI期肺腺がんが予後不良であるものと判定（診断）する。

【0021】

ACTN4遺伝子のコピー数の測定には、当技術分野において公知の標準的な方法を用いることができる。ACTN4遺伝子の配列およびこれによりコードされるアミノ酸配列については上述した通りであり、当業者であれば、これらの配列を参照することにより、標準的な方法を用いてACTN4遺伝子のコピー数を測定することができる。遺伝子のコピー数の測定法としては、とりわけ、ハイブリダイゼーションおよび増幅に基づくアッセイが挙げられる。

【0022】

ハイブリダイゼーションに基づくアッセイとしては、サザンブロッティング法がある。この方法では、ゲノムDNAを断片化し、電気泳動で分離し、膜に転写し、ACTN4の特異的プローブにハイブリダイゼーションさせる。この特異的プローブからのハイブリダイゼーションシグナルの強度と、コピー数の増加のない同じゲノムの領域にハイブリダイズする対照プローブからのシグナル強度とを比較することにより、相対的なACTN4遺伝子のコピー数が得られる。

【0023】

本発明の好ましい実施態様によれば、ACTN4遺伝子のコピー数の測定は、ゲノム上の該遺伝子に特異的なプローブを用いる蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）法（Angerer, Meth. Enzymol. 152, 649, 1987参照）によって行われる。一般的に、in situハイブリダイゼーションは、主に、分析される組織または細胞を固定化し、この組織または細胞をプレハイブリダイゼーション処理し、この組織または細胞の中の核酸に対して特異的プローブをハイブリダイズさせ、結合しなかった特異的プローブを除去するための洗浄を行い、ハイブリダイズした特異的プローブを検出することによって行われる。このような用途に用いられる特異的プローブは、蛍光レポーターで標識されている。1個の細胞核内における蛍光の数を計数することにより、その細胞におけるACTN4遺伝子のコピー数が得られる。

【0024】

本発明の特に好ましい実施態様によれば、FISH法に用いられる前記特異的プローブは、ヒト第19番染色体上の第43.81Mb～第44.02Mbの領域のヌクレオチド配列からなるものとされる。ここで、この領域のヌクレオチド配列からなるプローブは、ゲノム上のACTN4遺伝子のコピー数を測定する上で特に有効であり、高感度で正確な測定を可能とするものである。よって、本発明の他の態様によれば、ヒト細胞におけるα-アクチニン-4遺伝子のコピー数を測定するためのキットが提供され、該キットは、FISH法に利用可能な、ゲノム上の前記遺伝子に特異的なプローブを含んでなり、該特異的プローブは、ヒト第19番染色体上の第43.81Mb～第44.02Mbの領域のヌクレオチド配列からなるものである。この特異的プローブは、一本のヌクレオチド分子からなるものであってもよいが、ヒト第19番染色体上の第43.81Mb～第44.02Mbの領域をカバーする2本以上（好ましくは2本）のヌクレオチド分子の組み合わせであってもよい。

【0025】

ハイブリダイゼーションに基づく他のアッセイとしては、比較ゲノムハイブリダイゼーション（CGH）法も利用することができる。CGH法では、分析される被験細胞と対照となる正常細胞からそれぞれDNAを抽出し、それぞれのDNAを異なる色の蛍光色素で標識し、これら標識DNAの等量からなる混合溶液を調製し、この混合溶液を37℃で2～3日間暗所で保管する。これにより、染色体の総ての部位に対して被験DNAと対照D

N Aとの間で競合的な結合が生じる。その結果、被験DNA中に遺伝子コピー数の増加があれば、スライド上のその遺伝子に対応する位置において被験DNAを標識した色の蛍光が強く観察され、逆に、被験DNA中に遺伝子コピー数の減少があれば、スライド上のその遺伝子に対応する位置において対照DNAを標識した色の蛍光が強く観察される。

【0026】

増幅に基づくアッセイとしては、定量的な核酸増幅法がある。この方法では、ゲノム中のACTN4遺伝子が増幅反応の鋳型となるため、そのコピー数に応じた量の増幅産物が得られる。具体的な核酸増幅法としては、定量的PCR法、例えば、リアルタイム定量的PCR法などが挙げられる。

【0027】

本発明の第二の態様による方法では、I期肺腺がんの組織または細胞における α -アクチニン-4タンパク質の発現増強を調べることにより、そのI期肺腺がんが予後不良のものであるか否かを判定し、これにより予後不良のI期肺腺がんを検出する。この方法は、前記I期肺腺がんの組織または細胞におけるACTN4遺伝子の発現量を測定する工程を含み、その発現量に対応する正常な組織または細胞のものよりも多い場合、すなわち、 α -アクチニン-4タンパク質の発現が増強されていた場合には、被検体である哺乳動物のI期肺腺がんが予後不良であるものと判定（診断）する。

【0028】

ACTN4遺伝子の発現量の測定には、当技術分野において公知の標準的な方法を用いることができる。一般的な遺伝子の発現量は、典型的にはmRNA量またはタンパク質量を指標として測定される。本発明においても同様に、ACTN4のmRNA量またはタンパク質量を指標として α -アクチニン-4タンパク質の発現量を測定することができる。ACTN4遺伝子の配列およびこれによりコードされるアミノ酸配列については上述した通りであり、当業者であれば、これらの配列を参照することにより、標準的な方法を用いて α -アクチニン-4タンパク質の発現量を測定することができる。

【0029】

本発明の好ましい実施態様によれば、遺伝子の発現量を測定する工程は、前記組織または細胞内の α -アクチニン-4タンパク質量を測定することを含んでなる。 α -アクチニン-4タンパク質量は、当技術分野において周知の方法により測定することができる。例えば、 α -アクチニン-4タンパク質のアミノ酸配列として配列番号2で表されるものを挙げることができ、当業者であればこの配列を参照することによって適切に同タンパク質量を測定することが可能である。

【0030】

α -アクチニン-4タンパク質量は、例えば、同タンパク質に結合する抗体を用いることによって好適に測定することができる。このような抗体は、好ましくは α -アクチニン-4タンパク質に特異的な抗体とされる。抗体はポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。 α -アクチニン-4タンパク質の定量は、好ましくはこのような抗体を用いる免疫組織化学染色によって行われる。あるいは、前記組織または細胞から得られるタンパク質抽出物を電気泳動した後に抗体を用いてこれを定量するイムノブロット法等を用いてもよい。

【0031】

本発明の他の好ましい実施態様によれば、遺伝子の発現量を測定する工程は、前記組織または細胞内のACTN4のmRNAを定量することを含んでなる。例えば、ACTN4のmRNAとして、配列番号1で表されるヌクレオチド配列（ただし、配列中のtはuに変換されている）を含むものを挙げることができ、当業者であればこの配列を参照することによって適切にACTN4のmRNAを定量することが可能である。定量のための具体的な方法としては、例えば、特異的なプライマーペアを用いるRT-PCRによる増幅の後に電気泳動を行なう方法等が挙げられる。

【0032】

比較対照となる正常な組織または細胞は、被検体となる同一の個体からの正常な組織ま

10

20

30

40

50

たは細胞であってもよいし、異なる個体からの正常な組織または細胞であってもよい。また、異なる複数の個体からの正常な組織または細胞について α -アクチニン-4タンパク質の発現量を測定し、その平均値を比較対照としてもよい。さらに、予め測定された複数の正常な組織または細胞における発現量のデータから、平均値+標準偏差などの適正值を設定しておき、被験組織または細胞の発現量がその適正值よりも高い場合にA C T N 4遺伝子の発現増強があるものと判断してもよい。「対応する正常な組織または細胞」としては正常な肺組織または細胞が挙げられる。

【0033】

本明細書では、 α -アクチニン-4タンパク質発現増強とともに、その被験哺乳動物の血清C E A濃度の上昇が認められる場合に、より顕著な有意差をもってそのI期肺腺がんが予後不良のI期肺腺がんであると判定できることが実証されている。よって、本発明の好ましい実施態様によれば、本発明の第二の態様による診断法は、以下の工程：(c)前記哺乳動物から得られた血清において、癌胎児性抗原(C E A)の濃度を測定する工程、および(d)工程(c)で得られた濃度を、正常な血清における癌胎児性抗原(C E A)の濃度と比較する工程をさらに含んでなる。この診断法では、前記正常な組織または細胞に対して前記I期肺腺がんの組織または細胞における α -アクチニン-4タンパク質の発現が増強されており、かつ、前記正常な血清に対して前記哺乳動物から得られた血清における癌胎児性抗原(C E A)濃度が有意に高い場合に、前記哺乳動物からのI期肺腺がんが予後不良のI期肺腺がんであることが示される。

【0034】

C E Aの血清濃度を測定する方法には、当技術分野において公知の標準的な方法を用いることができる。C E Aはよく知られた腫瘍マーカーであり、その血清濃度の測定法としては、E L I S A法やC L E I A法など、様々な方法が知られており、それぞれの方法を実施するためのキットも市販されている。比較対照となる正常な血清は、被検体となる同一の個体からの正常な血清であってもよいし、異なる個体からの正常な血清であってもよい。また、異なる複数の個体からの正常な血清についてC E Aの濃度を測定し、その平均値を比較対照としてもよい。さらに、予め測定された複数の正常な血清におけるC E A濃度のデータから、平均値+標準偏差などの適正值を設定しておき、被験血清のC E A濃度がその適正值よりも高い場合にC E A血清濃度の上昇があるものと判断してもよい。例えば、ヒト血清では、C E A濃度が5.0 ng/mLを超える場合に、正常な血清に対して有意に高いと判断することができる。

【0035】

本発明の好ましい実施態様によれば、本発明の第二の態様による方法は、本発明の第一の態様による方法と組み合わせて行われる。すなわち、この実施態様では、本発明の第二の態様による方法は、以下の工程：(e)前記哺乳動物から得られたI期肺腺がん組織の細胞におけるA C T N 4遺伝子のゲノム上のコピー数を測定する工程をさらに含んでなる。この方法では、前記正常な組織または細胞に対して前記I期肺腺がんの組織または細胞における α -アクチニン-4タンパク質の発現が増強されており、かつ、A C T N 4遺伝子のコピー数が4を超える場合に、前記哺乳動物からのI期肺腺がんが予後不良のI期肺腺がんであることが示される。

【0036】

以上のような本発明による検出／診断法を実施するために、必要な試薬をまとめてキットとすることができる。従って、本発明によれば、哺乳動物において予後不良のI期肺腺がんを検出するためのキットが提供され、該キットは、細胞におけるA C T N 4のゲノム上のコピー数を測定することのできる試薬を含んでなる。このような試薬は、実施しようとする具体的方法に応じて選択され、好ましくは、F I S H法に用いることのできる、ゲノム上の該遺伝子に特異的なプローブとされる。前記特異的プローブは、好ましくはヒト第19番染色体上の第43.81 Mb～第44.02 Mbの領域のヌクレオチド配列からなるものである。

【0037】

本発明の他の態様によるキットは、組織または細胞内の A C T N 4 遺伝子や α -アクチニン-4 タンパク質の発現量を測定することのできる試薬を含んでなる、哺乳動物において予後不良の I 期肺腺がんを検出するためのキットである。このような試薬としては、前記組織または細胞内の α -アクチニン-4 タンパク質を定量するための試薬、例えば、 α -アクチニン-4 タンパク質に特異的に結合する抗体を好適に用いることができる。あるいは、このような試薬は、前記組織または細胞内の A C T N 4 の m R N A を定量するための試薬、例えば、A C T N 4 の m R N A を鋳型とする R T - P C R に用いられる特異的プライマーおよび R T - P C R 用の他の試薬としてもよい。本発明の好ましい実施態様によれば、このキットは、血清中の癌胎児性抗原 (C E A) の濃度を測定することのできる試薬をさらに含んでなるものとされる。本発明の他の好ましい実施態様によれば、このキットは、細胞における A C T N 4 遺伝子のコピー数を測定することのできる試薬をさらに含んでなるものとされ、このような試薬は、好ましくは、F I S H 法に用いることのできる、ゲノム上の該遺伝子に特異的なプローブとされる。前記特異的プローブは、好ましくはヒト第 19 番染色体上の第 43.81 Mb ~ 第 44.02 Mb の領域のヌクレオチド配列からなるものである。

10

【0038】

本発明によるキットはさらに、実施しようとする具体的方法に応じて、他の試薬類、反応容器、説明書等を含んでいてもよい。

【0039】

本発明によれば、治療上有効な量の A C T N 4 阻害剤を被検者に投与することを含んでなる、I 期肺腺がんを治療または予防する方法が提供される。さらに、本発明によれば、I 期肺腺がんを治療するための薬剤の製造における、A C T N 4 阻害剤の使用が提供される。

20

【0040】

治療または予防の対象となる被検者は、好ましくは哺乳動物、例えば、ヒトまたは非ヒト哺乳動物とされる。

【0041】

本発明の好ましい実施態様によれば、A C T N 4 阻害剤は薬物などの小分子とされる。このような小分子は、A C T N 4 の阻害活性を指標として、当技術分野において公知の方法によりスクリーニングすることによって得ることができる。

30

【0042】

本発明の好ましい実施態様によれば、A C T N 4 阻害剤は、 α -アクチニン-4 タンパク質に特異的に結合する抗体とされる。抗体はポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよいが、好ましくはモノクローナル抗体とされる。

【0043】

本発明の好ましい実施態様によれば、A C T N 4 阻害剤は、A C T N 4 遺伝子の発現を特異的に抑制するアンチセンス核酸分子とされる。アンチセンス法は、特定の遺伝子の発現を抑制するための周知の技術である。一つの具体例では、前記アンチセンス核酸分子は、A C T N 4 遺伝子の 5' コード領域の配列に基づいて設計された、約 10 ~ 40 塩基長のアンチセンス R N A とされる。他の具体例では、前記アンチセンス核酸分子は、A C T N 4 遺伝子の転写に参与する領域の配列に相補的となるように設計された D N A オリゴヌクレオチドとされる。このようなアンチセンス核酸分子は、配列番号 1 に示されるような A C T N 4 遺伝子の配列に基づいて、容易に設計することができる。

40

【0044】

本発明の好ましい実施態様によれば、A C T N 4 阻害剤は、A C T N 4 遺伝子の発現を特異的に抑制する s i R N A 核酸分子とされる。本明細書において、「s i R N A 核酸分子」とは、s i R N A そのものだけでなく、標的細胞中に s i R N A を導入しうる、より長い二本鎖 R N A 分子をも意味する。s i R N A 核酸分子は、R N A 干渉 (R N A i) によって特定遺伝子の発現を抑制することができる、周知のツールである (Elbashir, S.M. et al., Nature 411, 494-498, 2001 参照)。s i R N A は、典型的には、標的遺伝子の

50

mRNAに特異的な配列に相同な、19～21塩基対のヌクレオチド配列を含んでなる。上記の二本鎖RNA分子は、典型的には、標的遺伝子のmRNAに特異的な配列に相同な、より長いヌクレオチド配列を含んでなる。このようなsiRNA核酸分子は、配列番号1に示されるようなACTN4遺伝子の配列に基づいて、容易に設計することができる。さらに、前記siRNA核酸分子は、細胞中に送達された適切なベクターによって発現させることもできる。従って、ACTN4阻害剤は、ACTN4遺伝子の発現を特異的に抑制するsiRNA核酸分子を発現するベクターとしてもよい。このようなベクターは、当技術分野において周知の標準的な手順により、容易に構築することができる (Bass, B.L., Cell 101, 235-238, 2000; Tavernarakis, N. et al., Nat. Genet. 24, 180-183, 2000; Malagon, F. et al., Mol. Gen. Genet. 259, 639-644, 1998; Parrish, S. et al., Mol. Cell 6, 1077-1087, 2000参照)。

【0045】

ACTN4阻害剤は、局所、静脈内、皮下、筋肉内、経口、直腸、粘膜など、適切な経路で投与することができる。また、その治療上の有効量は、症状の重篤度、被検者の年齢、用いられる具体的な薬物の有効性、投与経路、投与の頻度などに従って、医師または獣医によって適宜決定される。一般的には、前記治療上有効量は、一日当たり、約0.001～約1000mg/体重kg、好ましくは約0.01～約10mg/体重kg、より好ましくは約0.01～約1mg/体重kgである。

【0046】

ACTN4阻害剤は、医薬上許容される担体とともに投与することができる。従って、本発明によれば、ACTN4阻害剤および医薬上許容される担体を含んでなる、I期肺腺がんを治療するための医薬組成物が提供される。

【0047】

医薬上許容される担体、例えば、ベヒクル、賦形剤、希釈剤等は、投与経路、用いられる具体的な薬物の性質などに応じて、当業者により適宜選択される。

【0048】

さらに、本発明によれば、本発明の第一の態様による方法もしくは第二の態様による方法、またはこれらの方法の組み合わせによって、予後不良と判定されたI期肺腺がんの患者に、治療上有効な量の化学療法剤を投与する工程を含んでなる、I期肺腺がんを治療する方法が提供される。この化学療法剤としては、上述のACTN4阻害剤を用いてもよいし、あるいはテガフル・5-フルオロウラシル配合剤やシスプラチンなどの他の抗癌剤を用いてもよい。

【実施例】

【0049】

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。

【0050】

(実施例1：I期肺腺がんと α -アクチニン-4遺伝子の発現亢進との関連)

サンプルとして、1997年12月から2001年3月までに国立がんセンター中央病院（日本国）においてI期肺腺がんの切除手術を施行された372名の患者からの、ホルマリン固定パラフィン包埋された切除検体を用いた（以下「コホート1」という）。これらのサンプルについて、 α -アクチニン-4タンパク質の発現を免疫組織化学分析によって検討した。免疫組織化学分析に用いた一次抗体は、国立がんセンター研究所（日本国）で作製された抗ヒト α -アクチニン-4ウサギポリクローナル抗体とした。免疫染色は、アビジン・ビオチン複合体 (Avidin-Biotin Complex) を用いるABC法によって行った。

【0051】

α -アクチニン-4タンパク質発現の評価として、同一切片上の血管内皮と比べて、がん部で発現が亢進しており、かつ、その亢進部分の面積が腫瘍全体の面積の30%以上を占めるサンプルを陽性例と定義し、それ以外のサンプルを陰性例と定義した。

【0052】

次いで、 α -アクチニン-4タンパク質発現についての上記の分類と、I期肺腺がん患者の生存期間に対する各種臨床病理学的因子の危険率とを、Cox比例ハザードモデルの単変量解析および多変量解析によって分析した。変数としては、 α -アクチニン-4タンパク質発現（陽性／陰性）の他に、性別（男性／女性）、年齢（65以上／65未満）、喫煙（無／有）、ステージ（IA／IB）、血清CEA（5 ng/mLを超える／5 ng/mL以下）、リンパ管浸襲（陽性／陰性）および静脈浸襲（陽性／陰性）を用いた。その結果を以下の表1に示す。

【0053】

【表 1】

表 1 : Cox 比例ハザードモデルを用いた I 期肺癌がんの臨床病理学的な予後因子解析 (コホート 1 : α -アークチニン-4 タンパク質発現解析)

変数	N	単変量解析		多変量解析			
		ハザード比	95%信頼区間	P	ハザード比	95%信頼区間	P
性別							
(男性/女性)	182/190	2.1011	1.2388 - 3.5634	0.00588	1.581	0.8484 - 2.9462	0.149198
年齢							
(65 以上/65 未満)	200/172	2.5009	1.4286 - 4.3783	0.00134	2.3074	1.3012 - 4.0916	0.00422
喫煙							
(無/有)	165/207	2.3957	1.4203 - 4.0410	0.00106	1.7603	0.9562 - 3.2403	0.069338
ステージ							
(IA/IB)	295/77	2.6628	1.5773 - 4.4953	0.00025	1.9322	1.1150 - 3.3483	0.01887
血清 CEA							
(>5ng/mL /5ng/mL $\geq$)	62/310	3.0656	1.8055 - 5.2049	3.4E-05	2.1566	1.2491 - 3.7237	0.00581
リンパ管浸襲							
(陽性/陰性)	199/173	2.8852	1.7313 - 4.8082	4.8E-05	2.5613	1.5066 - 4.3616	0.00052
静脈浸襲							
(陽性/陰性)	106/263	2.5171	1.5221 - 4.1624	0.00032	1.4718	0.8629 - 2.5105	0.156032
α -アークチニン-4							
タンパク質発現	199/173	2.1146	1.2196 - 3.6664	0.00765	2.1153	1.1955 - 3.7425	0.01007
(陽性/陰性)							

10

20

30

40

【0054】

表 1 の左側に示す単変量解析の結果によれば、上記の全ての項目が予後不良の危険因子になり得ることが示された。

【0055】

50

さらに、表 1 の右側には、多変量解析によって分析した結果を示している。この結果によれば、年齢、ステージ、血清 C E A、リンパ管浸襲および α -アクチニン-4 タンパク質発現が統計学的な有意差を示し、これらが予後不良の危険因子であることが示された。すなわち、I 期肺腺がん細胞での α -アクチニン-4 タンパク質の発現強度は、今回調べた他の臨床病理学的因子とは独立した予後因子であることが示された。

【0056】

次いで、上述のようにして分類された α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例と陰性症例の 2 群について、Kaplan-Meier 法によって生存曲線を作成し、Log-rank 検定により検討した。得られた生存曲線を図 1 に示す。図 1 のパネル A は I 期全体の生存曲線を示している。I 期全体についての陰性症例の 5 年生存率は 92.7%であったのに対し、陽性症例の 5 年生存率は 82.1%であった。図 1 のパネル B は I A 期のみの生存曲線を示している。I A 期についての陰性症例の 5 年生存率は 94.4%であったのに対し、陽性症例の 5 年生存率は 86.5%であった。また、パネル A および B の双方において、陰性症例と陽性症例の生存率の差は、術後 5 年以降においてより大きくなることがわかる。よって、図 1 によれば、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陰性症例に比べて、陽性症例は統計学的な有意差をもって予後が不良であったことがわかる。

10

【0057】

さらに、サンプルとして、2001 年 3 月から 2003 年 1 月までに国立がんセンター中央病院（日本国）において I 期肺腺がんの切除手術を施行された 214 名の患者からの、ホルマリン固定パラフィン包埋された切除検体を用いて、上記と同様の検討を行った（以下「コホート 2」という）。結果を表 2 および図 2 に示す。

20

【0058】

【表 2】

表 2 : C o x 比例ハザードモデルを用いた I 期肺腺がんの臨床病理学的な予後因子解析 (コホート 2 : α -阿克チニン-4 タンパク質発現解析)

変数	N	単変量解析		多変量解析	
		ハザード比	95%信頼区間	ハザード比	95%信頼区間
性別					
(男性/女性)	100/114	0.8792	0.3990 - 1.9376	0.749496	
年齢					
(65 以上/65 未満)	115/99	1.8251	0.8177 - 4.0736	0.14192	
喫煙					
(無/有)	120/94	0.7797	0.3437 - 1.7690	0.55164	
ステージ					
(IA/IB)	162/52	2.1994	0.9871 - 4.9004	0.053825	
血清 CEA					
(>5ng/mL /5ng/mL $\geq$)	36/178	4.2755	1.9095 - 9.5731	0.00041	3.4228 1.4977 - 7.8222 0.00325
リンパ管浸襲					
(陽性/陰性)	57/157	3.8748	1.7566 - 8.5475	0.00079	1.9355 0.7042 - 5.3194 0.200464
静脈浸襲					
(陽性/陰性)	63/151	3.2821	1.4871 - 7.2441	0.00326	1.7957 0.6536 - 4.9336 0.256259
α -阿克チニン-4					
タンパク質発現	87/127	4.4238	1.7654 -11.0849	0.00151	3.5239 1.3904 - 8.9312 0.00794
(陽性/陰性)					

【0059】

表 2 の左側に示す単変量解析の結果によれば、血清 C E A、リンパ管浸襲、静脈浸襲および α -阿克チニン-4 タンパク質発現が、予後不良の危険因子になり得ることが示された。

10

20

30

40

50

【0060】

さらに、表2の右側には、単変量解析によって予後不良因子になり得ることが示された血清CEA、リンパ管浸襲、静脈浸襲および α -アクチニン-4タンパク質発現についてのみ、多変量解析によって分析した結果を示している。この結果によれば、血清CEAおよび α -アクチニン-4タンパク質発現が統計学的な有意差を示し、これらが予後不良の危険因子であることが示された。すなわち、I期肺腺がん細胞での α -アクチニン-4タンパク質の発現強度は、今回調べた他の臨床病理学的因子とは独立した予後因子であることが示された。

【0061】

図2のパネルAはI期全体の生存曲線を示している。I期全体についての α -アクチニン-4タンパク質陰性症例の5年生存率は95.9%であったのに対し、 α -アクチニン-4タンパク質陽性症例の5年生存率は87.9%であった。図2のパネルBはIA期のみの生存曲線を示している。IA期についての α -アクチニン-4タンパク質陰性症例の5年生存率は95.9%であったのに対し、 α -アクチニン-4タンパク質陽性症例の5年生存率は89.7%であった。また、パネルAおよびBの双方において、 α -アクチニン-4タンパク質陰性症例と α -アクチニン-4タンパク質陽性症例の生存率の差は、術後5年以降においてより大きくなることがわかる。よって、図2によれば、 α -アクチニン-4タンパク質発現の陰性症例に比べて、 α -アクチニン-4タンパク質陽性症例は統計学的な有意差をもって予後が不良であったことがわかる。

【0062】

(実施例2： α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進と血清CEA濃度との組み合わせによるI期肺腺がんの予後予測)

実施例1に記載のコホート1およびコホート2のそれぞれについて、 α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進と血清CEA濃度との組み合わせと、I期肺腺がんの予後との関連を調べた。具体的には、コホート1およびコホート2のそれぞれを、次の3群：血清CEA 5 ng/mL以下かつ α -アクチニン-4タンパク質陰性の群；血清CEA 5 ng/mL超または α -アクチニン-4タンパク質陽性の群；および血清CEA 5 ng/mL超かつ α -アクチニン-4タンパク質陽性の群に分割し、それぞれの群についてKaplan-Meier法によって生存曲線を作成し、Log-rank検定により検討した。

【0063】

得られた生存曲線を図3に示す。図3によれば、 α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進と血清CEA濃度との組み合わせはより厳密な予後不良の危険因子であり、すなわち、I期肺腺がんの細胞において α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進が認められ、かつ血清CEA濃度が5 ng/mLを超える患者では、術後の予後が顕著に不良であることがわかる。

【0064】

(実施例3：I期肺腺がんにおけるACTN4遺伝子のゲノムコピー数の増加)

ACTN4遺伝子のゲノム上のコピー数を調べるため、19番染色体の長腕上に存在するACTN4遺伝子に対する特異的プローブを作製し、I期肺腺がん切除標本のパラフィン切片に対してFISH (Fluorescence in Situ Hybridization) 法による分析を行った。

【0065】

実施例1に記載のコホート1のパラフィン切片について、FISH法を用いてACTN4遺伝子のコピー数を測定した。FISH法は、PathVysion DNAプローブキット (Abbott Molecular, Des Plaines, IL) を用いて行った。ハイブリダイゼーションに用いた特異的プローブは、ACTN4 (RP11-118P21) 遺伝子座を含むヒト第19番染色体上の第43.81 Mb～第44.02 Mbの領域を含有する変性させたバクテリア人工染色体 (BAC) プローブ (赤) とした。また、19番染色体傍セントロメアコントロールクロン (緑) も用いた。これらのプローブは、SpectrimOrange (Abbott Molecular, Des Plaines, IL) を用いて標識化した。ハイブリダイゼーションは、37℃において1

4～18時間行った。ハーセプチンテストの方法に準じ、20細胞核中の赤と緑の蛍光シグナルを計測し、赤シグナル数を緑シグナル数で除して得た数値が2を超えるサンプルをACTN4増幅(+) (FISH陽性)と定義し、該数値が2以下のものをACTN4増幅(-) (FISH陰性)と定義した。

【0066】

次いで、ACTN4遺伝子増幅についての上記の分類と、I期肺腺がん患者の生存期間に対する各種臨床病理学的因子の危険率とを、Cox比例ハザードモデルの単変量解析および多変量解析によって分析した。変数としては、ACTN4増幅(陽性/陰性)の他に、性別(男性/女性)、年齢(65以上/65未満)、喫煙(無/有)、ステージ(IA/IB)、血清CEA(5 ng/mLを超える/5 ng/mL以下)、リンパ管浸襲(陽性/陰性)および静脈浸襲(陽性/陰性)を用いた。その結果を以下の表3に示す。

10

【0067】

【表 3】

表 3 : C o x 比例ハザードモデルを用いた I 期肺癌がんの臨床病理学的な予後因子解析 (コホート 1 : A C T N 4 遺伝子コピー数解析)

変数	N	単変量解析		多変量解析			
		ハザード比	95%信頼区間	P	ハザード比	95%信頼区間	P
性別							
(男性/女性)	98/108	2.3951	1.1277 - 5.0868	0.02304	2.4325	1.1437 - 5.1738	0.02097
年齢							
(65 以上/65 未満)	86/120	2.2737	1.0167 - 5.0848	0.04548	2.7567	1.2133 - 6.2635	0.01545
喫煙							
(無/有)	123/83	1.8802	0.9266 - 3.8152	0.080346			
ステージ							
(IA/IB)	154/52	2.3146	1.1227 - 4.7718	0.023	2.5259	1.1998 - 5.3179	0.01471
血清 CEA							
(>5ng/mL /5ng/mL ≧)	34/172	1.8416	0.8234 - 4.1189	0.137092			
リンパ管浸襲							
(陽性/陰性)	36/170	2.5771	1.2117 - 5.4808	0.01394	2.8193	1.2814 - 6.2026	0.00998
静脈浸襲							
(陽性/陰性)	64/142	2.024	0.9973 - 4.1079	0.050897			
A C T N 4 遺伝子増幅							
(陽性/陰性)	20/186	4.2287	1.9445 - 9.1960	0.00028	3.9933	1.7878 - 8.9195	0.00073

10

20

30

40

【0068】

表 3 の左側に示す単変量解析の結果によれば、性別、年齢、ステージ、リンパ管浸襲および A C T N 4 増幅が、予後不良の危険因子になり得ることが示された。

【0069】

50

さらに、表3の右側には、単変量解析によって予後不良因子になり得ることが示された性別、年齢、ステージ、リンパ管浸襲およびA C T N 4増幅についてのみ、多変量解析によって分析した結果を示している。この結果によれば、性別、年齢、ステージ、リンパ管浸襲およびA C T N 4増幅が統計学的な有意差を示し、これらが予後不良の危険因子であることが示された。すなわち、I期肺腺がん細胞でのA C T N 4増幅は、今回調べた他の臨床病理学的因子とは独立した予後因子であることが示された。

【0070】

(実施例4： α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進とA C T N 4遺伝子増幅との組み合わせによるI期肺腺がんの予後予測)

実施例1に記載のコホート1について、 α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進とA C T N 4遺伝子増幅との組み合わせと、I期肺腺がんの予後との関連を調べた。具体的には、サンプルを次の3群：A C T N 4遺伝子増幅(−)かつ α -アクチニン-4タンパク質発現陰性の群；A C T N 4増幅(−)かつ α -アクチニン-4発現陽性の群；およびA C T N 4遺伝子増幅(+)かつ α -アクチニン-4タンパク質発現陽性の群に分割し、それぞれの群についてKaplan-Meier法によって生存曲線を作成し、Log-rank検定により検討した。

10

【0071】

得られた生存曲線を図4に示す。図4によれば、 α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進とA C T N 4遺伝子増幅との組み合わせはよりそれぞれ単独の因子にくらべ厳密な予後不良の危険因子であり、すなわち、I期肺腺がんの細胞において α -アクチニン-4タンパク質の発現亢進が認められ、かつA C T N 4遺伝子増幅が認められる患者では、術後の予後が顕著に不良であることがわかる。

20

【0072】

(実施例5：肺腺がんと α -アクチニン-4遺伝子の発現亢進との関連)

実施例1と同様に、 α -アクチニン-4タンパク質の発現を免疫組織化学分析によって検討した。サンプルとして、実施例1におけるコホート1に加えて、1997年から2001年までに国立がんセンター中央病院(日本国)において、II及びIII期肺腺がんの切除手術を施行された168名の患者からの、ホルマリン固定パラフィン包埋された切除検体(計540=372+168)を用いた(以下「コホート1」という)。また、実施例1におけるコホート2に加えて、1993年から2005年までに国立がんセンター東病院(日本国)において、I期肺腺がんの切除手術を施行された447名の患者からの、ホルマリン固定パラフィン包埋された切除検体(計661=214+447)を用いた(以下「コホート2」という)。免疫組織化学分析に用いた一次抗体、免疫染色法、陽性(IHC-positive)及び陰性(IHC-negative)の定義は、実施例1と同様である。

30

【0073】

α -アクチニン-4タンパク質発現について、実施例1と同様に、性別や年齢等の分類と、肺腺がん患者の生存期間に対する各種臨床病理学的因子の危険率とを、Cox比例ハザードモデルの単変量解析および多変量解析によって分析した。その結果を以下の表1に示す。

【0074】

40

【表 4】

Hazard Ratios for Death in 540 Cases of Cohort 1 (All Stages), According to Prognostic Factors					
Characteristics	Univariate analysis			Multivariate analysis	
	Hazard Ratio	[95% CI]	P Value*	Hazard Ratio	[95% CI] P Value*
Sex	1.37	[1.00-1.86]	0.05	1.06	[0.74-1.51] 0.76
Age	1.14	[0.84-1.55]	0.38		
Smoking history	1.49	[1.09-2.02]	0.01	1.06	[0.74-1.52] 0.76
Serum CEA† level	2.40	[1.75-3.30]	<0.001	1.50	[1.08-2.08] 0.02
Pathological stage‡	5.68	[4.13-7.81]	<0.001	4.01	[2.78-5.77] <0.001
Histological differentiation					
(Well differentiated§ vs. Moderately or poorly differentiated)	3.19	[2.32-4.41]	<0.001	1.57	[1.09-2.26] 0.02
Actinin-4 protein	1.86	[1.33-2.58]	<0.001	1.64	[1.17-2.29] 0.004
¶Abbreviations: CEA, carcinoembryonic antigen; CI, confidence interval.					
*Cox regression analysis. P values of <0.05 are shown in bold.					
†According to the International Union Against Cancer (UICC) TNM Classification of Malignant Tumours, 6th edition (2002).					
‡Includes bronchioloalveolar carcinoma [World Health Organization (WHO) Histological Typing of Lung and Pleural Tumours, 3rd edition (1995)].					

【0075】

表4の左側に示す単変量解析の結果によれば、上記の全ての項目が予後不良の危険因子になり得ることが示された。

【0076】

10

20

30

40

50

さらに、表4の右側は、多変量解析によって分析した結果を示している。この結果によれば、ステージ、血清CEA、および α -アクチニン-4タンパク質発現が統計学的な有意差を示し、これらが予後不良の危険因子であることが示された。すなわち、I～III期肺腺がん細胞での α -アクチニン-4タンパク質の発現強度は、今回調べた他の臨床病理学的因子とは独立した予後因子であることが示された。

【0077】

次に、上述のようにして分類された α -アクチニン-4タンパク質発現の陽性症例と陰性症例の2群について、肺腺がん組織の顕微鏡写真を図5に示す。図5の左側と中央は陽性症例(IHC-positive)、図5の右側は陰性症例(IHC-negative)の結果を示している。図5の下段の顕微鏡写真は、上段の顕微鏡写真の枠内を拡大した写真である。同図に示すように、アクチニン-4タンパク質(図中の「V」)は、肺胞隔壁に沿って広がり、線維間質に浸潤しているがん細胞の細胞膜と細胞質とに局在化していた。

10

【0078】

次いで、 α -アクチニン-4タンパク質発現の陽性症例と陰性症例の2群について、Kaplan-Meier法によって生存曲線を作成し、Log-rank検定により検討した。得られた生存曲線を図6に示す。図6のパネルAはI～III期の生存曲線を示している。I～III期についての陰性症例の5年生存率は82%であったのに対し、陽性症例の5年生存率は69%であった。図6のパネルBはI期の生存曲線を示している。I期についての陰性症例の5年生存率は92%であったのに対し、陽性症例の5年生存率は84%であった。また、パネルAおよびBの双方において、陰性症例と陽性症例の生存率の差は、術後5年以降においてより大きくなることがわかる。よって、図6によれば、 α -アクチニン-4タンパク質発現の陰性症例に比べて、陽性症例は統計学的な有意差をもって予後が不良であったことがわかる。

20

【0079】

(実施例6：I期肺腺がんにおけるACTN4遺伝子のゲノムコピー数の増加)

実施例3と同様に、ACTN4遺伝子のゲノム上のコピー数を調べるため、19番染色体の長腕上に存在するACTN4遺伝子に対する特異的プローブを作製し、I期肺腺がん切除標本のパラフィン切片に対してFISH(Fluorescence in Situ Hybridization)法による分析を行った。サンプルとして、1997年から2009年までに国立がんセンター中央病院(日本国)においてI～IV期肺腺がんの切除手術を施行された543名の患者からの、ホルマリン固定パラフィン包埋された切除検体を用いた。543の切除検体のうち、288検体は上皮成長因子受容体(FGFR)遺伝子の変異があり、255検体は変異がない。そして、これら543検体は、実施例5のコホート1及び2とは重複していない。使用した特異的プローブ、陽性(FISH-positive)及び陰性(FISH-negative)の定義は、実施例3と同様である。

30

【0080】

蛍光in situハイブリダイゼーション(FISH)法により標識された肺腺がん細胞の顕微鏡写真を図7に示す。図7の左側は陽性症例(FISH-positive)、図7の右側には陰性症例(FISH-negative)の結果を示している。同図に示すように、肺腺がん細胞中に、赤(図7中の○部)と緑(図7中の□部)の蛍光標識(蛍光シグナル)を付すことができた。そして、FISH陽性・陰性の定義に基づいて、I～IV期の543切除検体から、FISH陽性の79切除検体(15%)を検出した。

40

【0081】

次いで、FISH法により分類された陽性症例と陰性症例の2群について、Kaplan-Meier法によって生存曲線を作成し、Log-rank検定により検討した。得られた生存曲線を図8に示す。図8のパネルAはI期の生存曲線を示している。I期についての陰性症例の5年生存率は95%であったのに対し、陽性症例の5年生存率は57%であった。図8のパネルBはI期の生存曲線を示している。I期についての陰性症例の5年生存率は86%であったのに対し、陽性症例の5年生存率は37%であった。また、パネルAおよびBの双方において、陰性症例と陽性症例の生存率の差は、術後5年以降においてより大きくなるこ

50

とがわかる。よって、図 8 によれば、F I S H 法分析による陰性症例に比べて、陽性症例は統計学的な有意差をもって予後が不良であったことがわかる。

【0082】

(実施例 7：免疫組織化学分析と F I S H 法分析との組み合わせ)

サンプルとして、実施例 5 おいて用いたコホート 1 のうち、I 期肺腺がんの 206 切除検体、及び、実施例 5 おいて用いたコホート 2 のうち、I 期肺腺がんの 645 切除検体、を用いた。これらのサンプルについて、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例及び陰性症例と、F I S H 法分析の陽性症例及び陰性症例と、を組み合わせ、Kaplan-Meier 法によって生存曲線を作成し、Log-rank 検定により検討した。得られた生存曲線を図 9 に示す。図 9 のパネル A はコホート 1 の I 期の生存曲線を示している。 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陰性症例の 5 年生存率は 95% であり、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陰性症例の 5 年生存率は 87% であった。これに対し、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陽性症例の 5 年生存率は 58% であった。また、図 9 のパネル B はコホート 1 の I A 期の生存曲線を示している。 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陰性症例の 5 年生存率は 96% であり、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陰性症例の 5 年生存率は 92% であった。これに対し、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陽性症例の 5 年生存率は 57% であった。このため、図 9 のパネル A および B によれば、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性・陰性症例に比べて、F I S H 法分析の陽性・陰性症例は統計学的な有意差をもって予後が不良であったことがわかる。

【0083】

次に、図 9 のパネル C はコホート 2 の I 期の生存曲線を示している。 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陰性症例の 5 年生存率は 92% であり、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陰性症例の 5 年生存率は 89% であった。これに対し、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陽性症例の 5 年生存率は 59% であった。また、図 9 のパネル D はコホート 2 の I A 期の生存曲線を示している。 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陰性症例の 5 年生存率は 95% であり、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陰性症例の 5 年生存率は 91% であった。これに対し、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性症例、かつ、F I S H 法分析の陽性症例の 5 年生存率は 74% であった。このため、図 9 のパネル C および D によれば、 α -アクチニン-4 タンパク質発現の陽性・陰性症例に比べて、F I S H 法分析の陽性・陰性症例は統計学的な有意差をもって予後が不良であったことがわかる。

【0084】

本発明は、上記発明の実施の形態および実施例の説明に何ら限定されるものではない。特許請求の範囲の記載を逸脱せず、当業者が容易に想到できる範囲で種々の変形態様もこの発明に含まれる。

【0085】

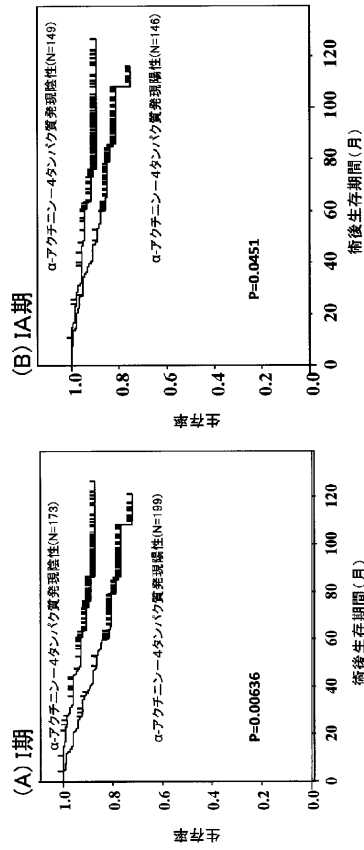
本出願は、2010 年 3 月 30 日に出願された日本国特許出願 2010-78772 号に基づくものであり、その明細書、特許請求の範囲、図面及び要約書を含むものである。上記日本国特許出願における開示は、その全体が本明細書中に参照として含まれる。

【産業上の利用可能性】

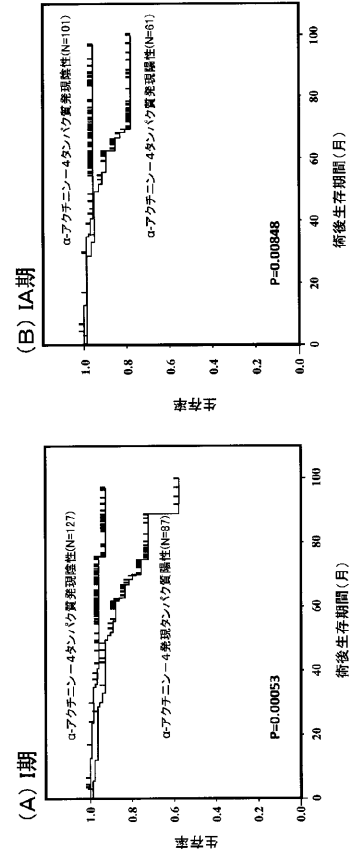
【0086】

本発明の肺腺がんの予後予測方法、及び、肺腺がんの検出キットは、I 期肺腺がんの予後を予測し、適切な治療法を選択するのに有用である。また、本発明の腺がんの治療のための医薬組成物は、予後不良の I 期肺腺がんを治療するのに有用である。

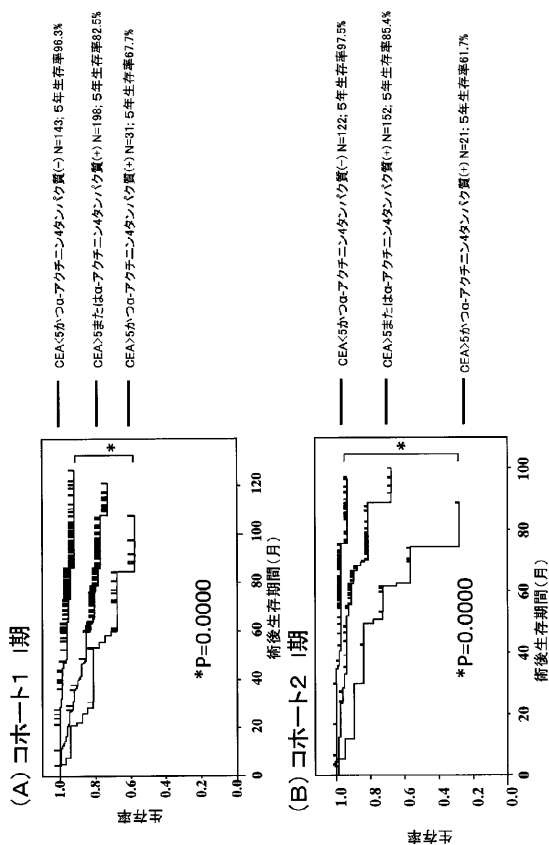
【図 1】



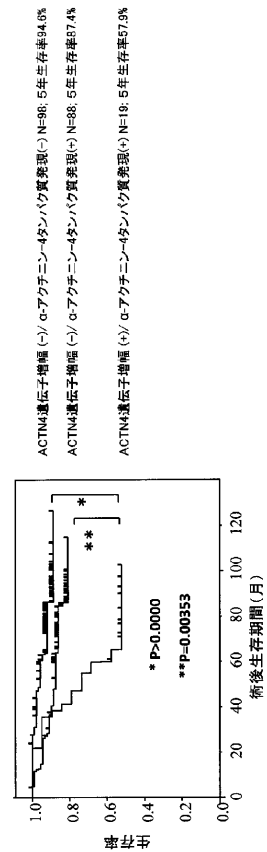
【図 2】



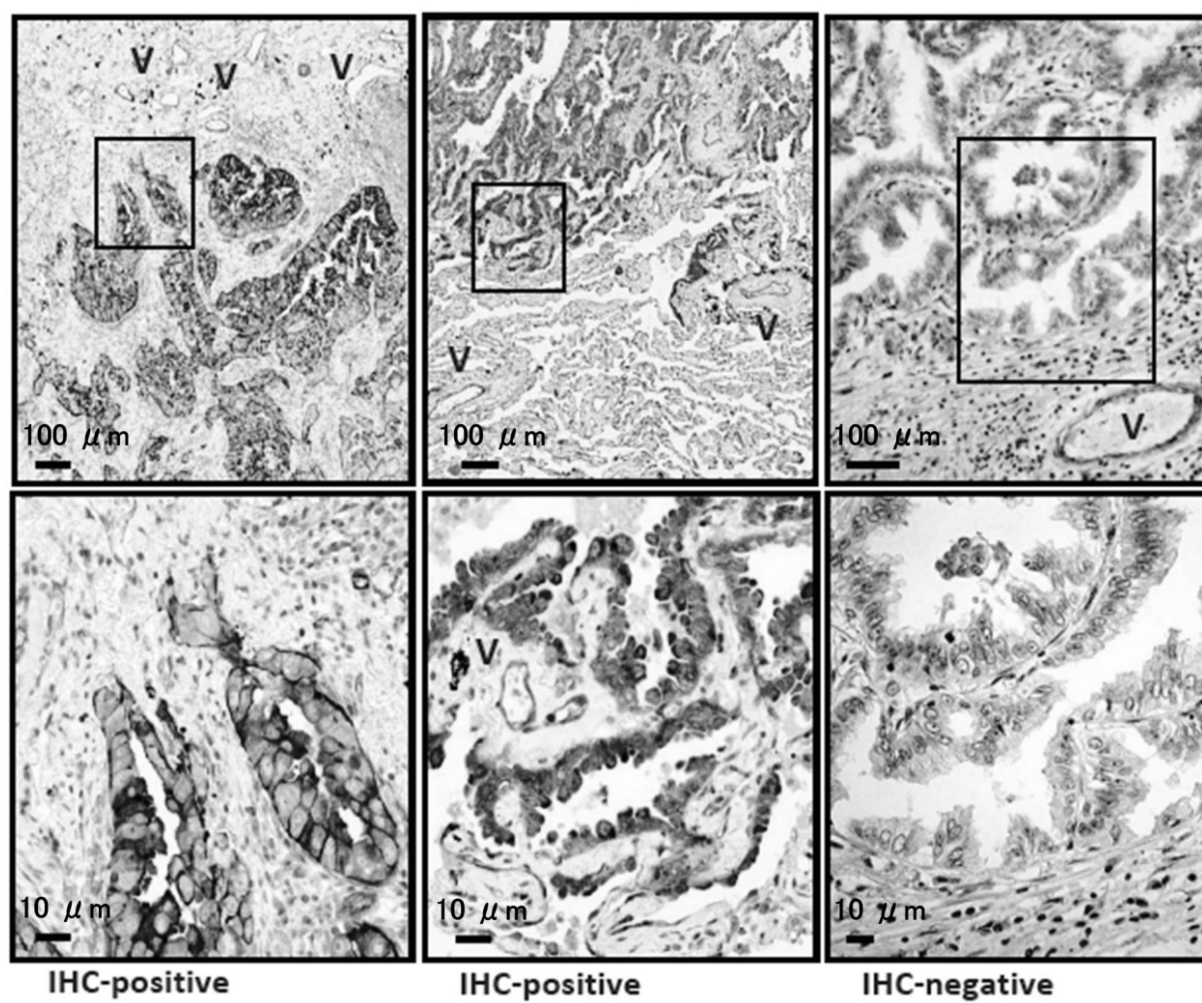
【図 3】



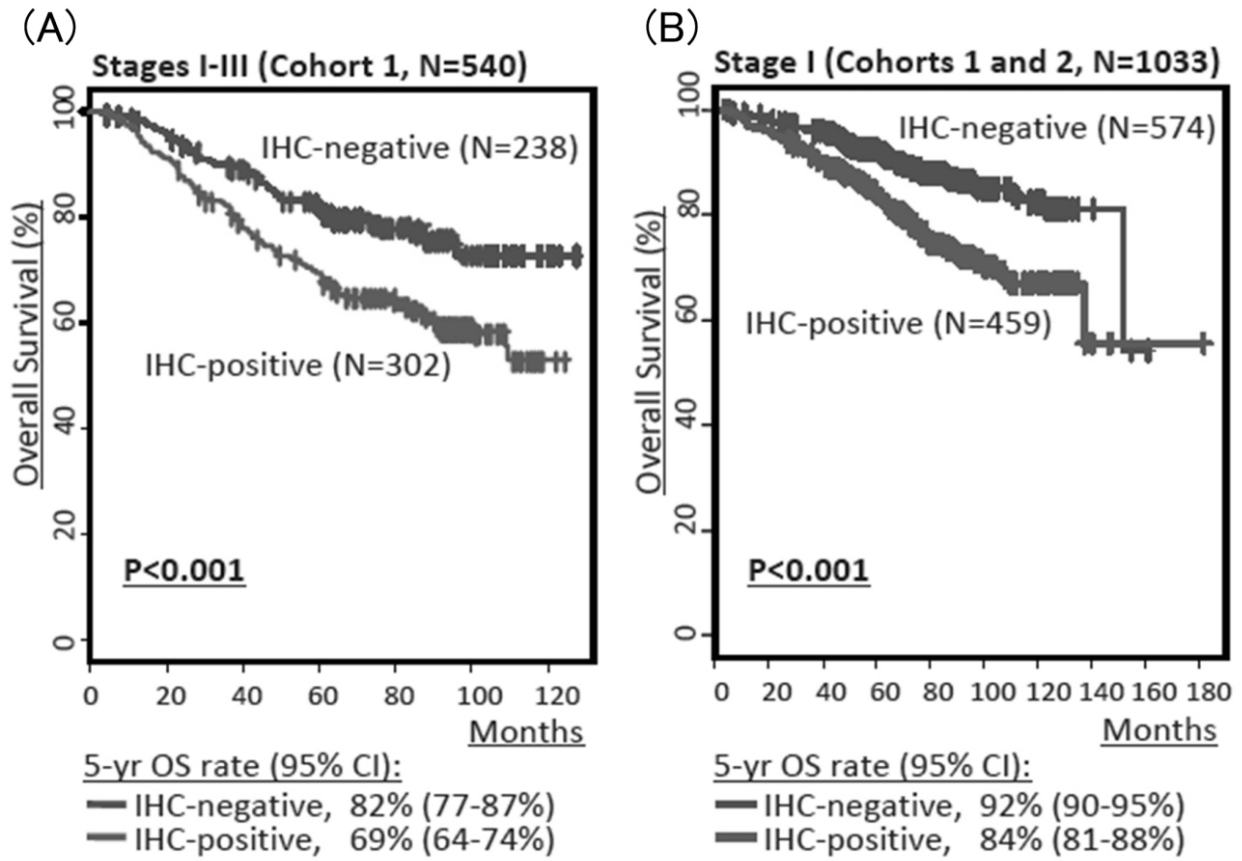
【図 4】



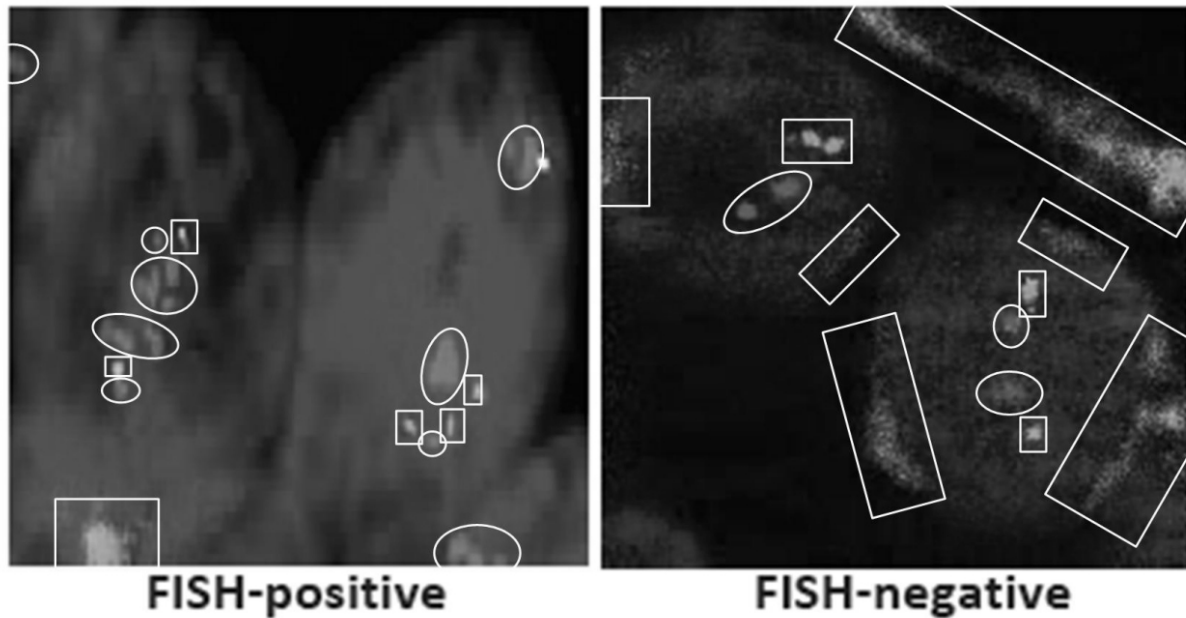
【図 5】



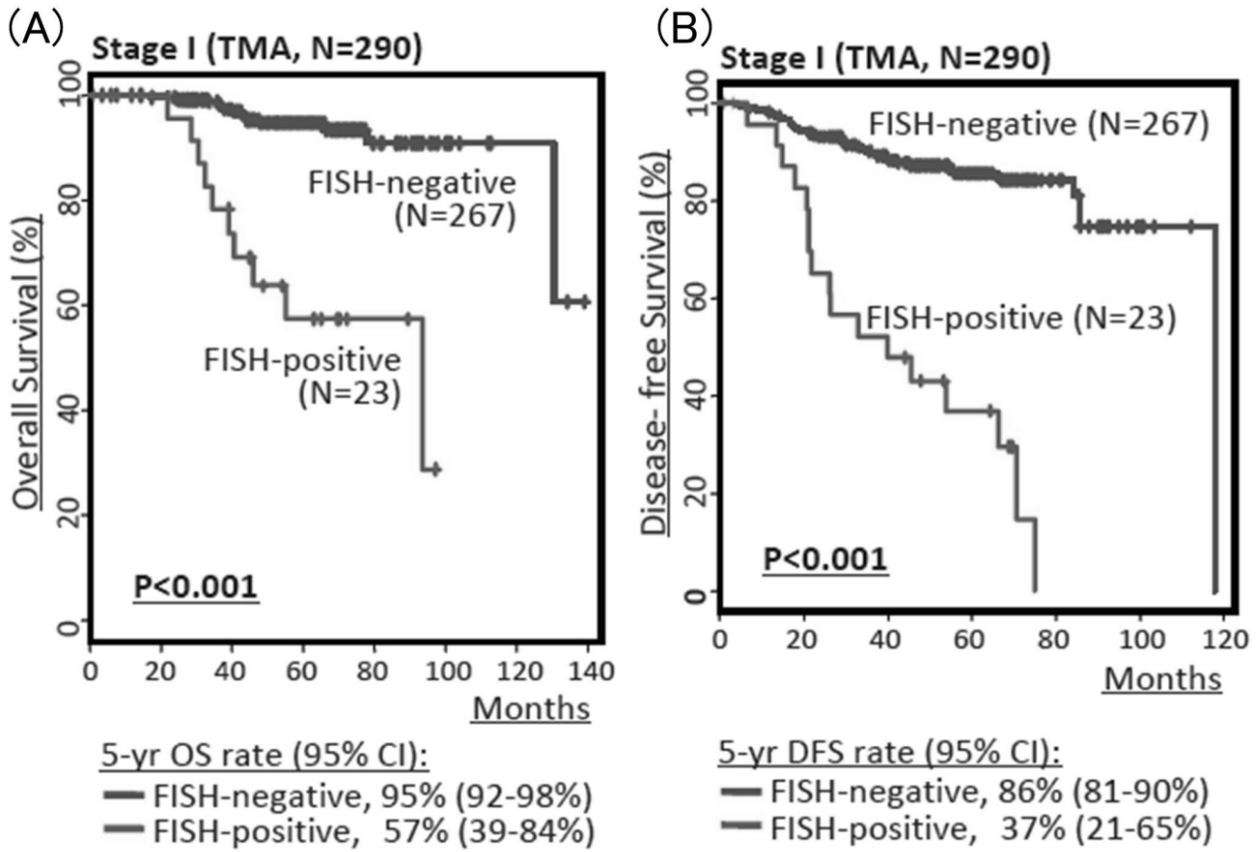
【図 6】



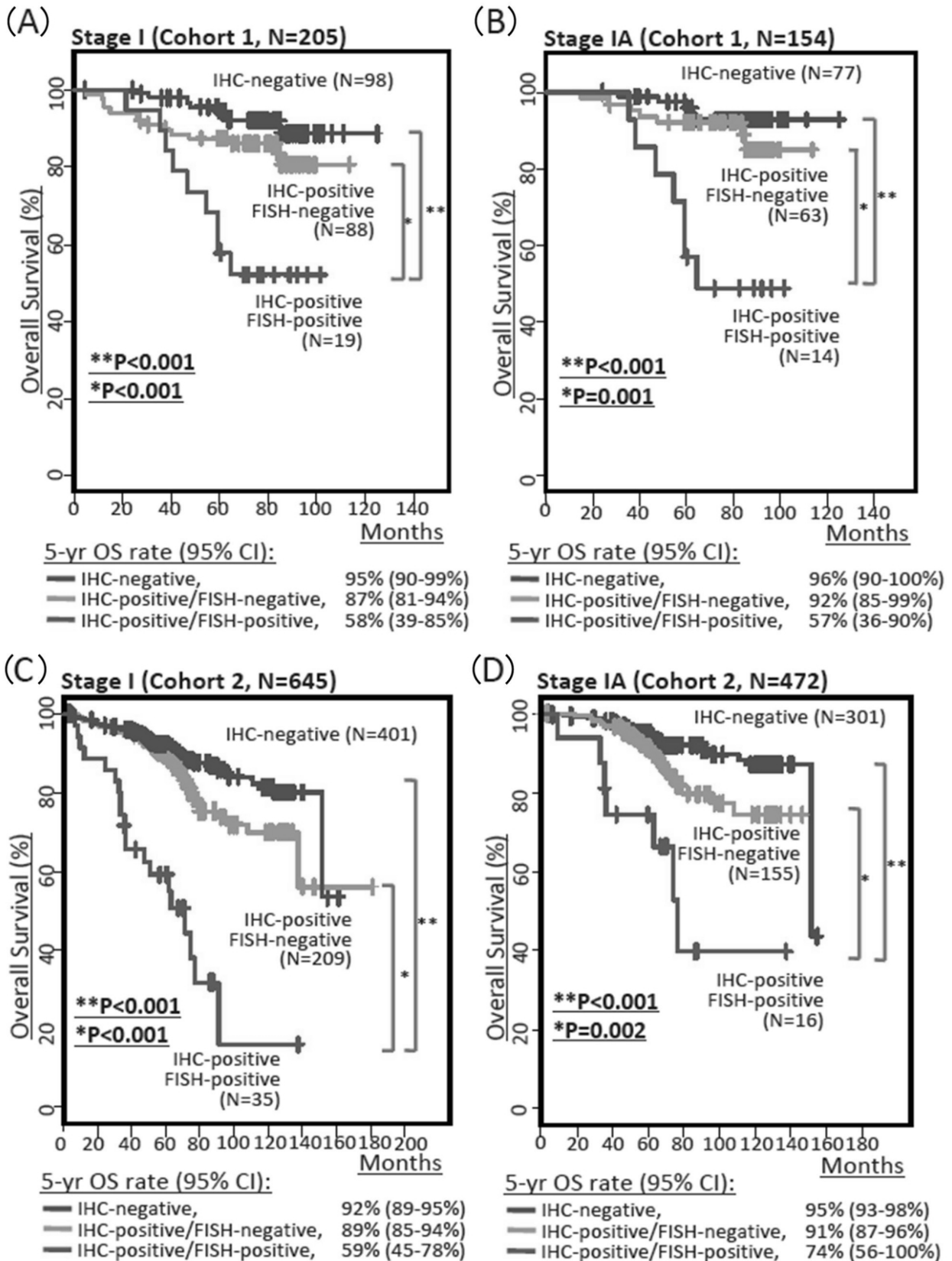
【図 7】



【図 8】



【図 9】



【配列表】

2011122634000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/057866

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/09(2006.01)i, A61K31/7105(2006.01)i, A61K31/713(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, 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)

C12N15/09, A61K31/7105, A61K31/713, A61K39/395, A61K45/00, A61K48/00, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/48, G01N33/53, G01N33/574

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)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII), PubMed, BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	YAMAGATA N. ET AL, A training-testing approach to the molecular classification of resected non-small cell lung cancer., Clin. Cancer Res., 2003, Vol.9, No.13, p.4695-4704, entire text, particularly, page 4700, left column, line 5 to right column, line 6, fig. 3	1-12,15-21, 23-25,32/13, 14,22,26-31
Y	Yasuo UESHIMA et al., "CEA Yosei Hishosaibo Haigan no Kento", Jpn J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 2002, vol.50, no. special extra issue (September), page 443(LP2-21), entire text	13,14,22
Y	YAMADA S. ET AL, RNAi-mediated down-regulation of alpha-actinin-4 decreases invasion potential in oral squamous cell carcinoma., Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 2010.01, Vol.39, No.1, p.61-67, entire text	26-31

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ 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
27 May, 2011 (27.05.11)

Date of mailing of the international search report
07 June, 2011 (07.06.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/057866

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

G01N33/574(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national
classification and IPC)

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 1 / 0 5 7 8 6 6	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))			
Int.Cl. C12N15/09(2006.01)i, A61K31/7105(2006.01)i, A61K31/713(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, C12Q1/68(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))			
Int.Cl. C12N15/09, A61K31/7105, A61K31/713, A61K39/395, A61K45/00, A61K48/00, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/48, G01N33/53, G01N33/574			
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)			
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII), PubMed, BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
X/Y	YAMAGATA N. ET AL, A training-testing approach to the molecular classification of resected non-small cell lung cancer., Clin. Cancer Res., 2003, Vol. 9, No. 13, p. 4695-4704, 全文、特に、p. 4700 左欄第 5 行目 - 右欄第 6 行目及び Fig. 3 参照	1-12, 15-21, 23-25, 32/13, 14, 22, 26-31	
Y	上島康生、外, CEA 陽性非小細胞肺癌の検討, Jpn J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 2002, Vol. 50 No. 増刊(9月), p. 443(LP2-21), 全文参照	13, 14, 22	
☒ 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 2 7 . 0 5 . 2 0 1 1		国際調査報告の発送日 0 7 . 0 6 . 2 0 1 1	
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 1 0 0 - 8 9 1 5 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) 柴原 直司	4 N 3 5 3 4
		電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線	3 4 8 8

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 1 / 0 5 7 8 6 6
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
Y	YAMADA S. ET AL, RNAi-mediated down-regulation of alpha-actinin-4 decreases invasion potential in oral squamous cell carcinoma., Int. J. Oral Maxillofac. Surg., 2010.01, Vol.39, No.1, p.61-67, 全文参照	26-31

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 45/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/574 E	4 C 0 8 6
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	G 0 1 N 33/574 D	
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 E	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	
	A 6 1 K 31/7105	
	A 6 1 K 31/713	
	A 6 1 K 48/00	

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

(72)発明者 野呂 林太郎

日本国東京都中央区築地五丁目1番1号 独立行政法人国立がん研究センター(研究所)内

(72)発明者 廣橋 説雄

日本国東京都中央区築地五丁目1番1号 独立行政法人国立がん研究センター(研究所)内

Fターム(参考) 2G045 AA13 AA24 AA26 BA14 BB22 BB24 CA26 CB01 CB02 CB26
 DA13 DA14 DA36 FA16 FB01 FB03 FB12 GC15 JA01
 4B024 AA12 CA09 HA12
 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ03 QQ43 QQ79 QQ96 QR08 QR32 QR42
 QR48 QR55 QR62 QS25 QS33 QS34 QS36 QX02
 4C084 AA13 AA17 NA14 ZB262 ZC412
 4C085 AA13 AA14 BB31 EE01
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB26

(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)	肺腺癌的预后方法，用于检测肺腺癌的试剂盒和用于治疗肺腺癌的药物组合物		
公开(公告)号	JPWO2011122634A1	公开(公告)日	2013-07-08
申请号	JP2012508349	申请日	2011-03-29
[标]申请(专利权)人(译)	NAT癌症CENT		
申请(专利权)人(译)	基金会人文科学基金会		
[标]发明人	本田一文 山田哲司 野呂林太郎 廣橋説雄		
发明人	本田 一文 山田 哲司 野呂 林太郎 廣橋 説雄		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/574 A61K45/00 A61K39/395 A61K31/7105 A61K31/713 A61K48/00		
CPC分类号	A61K31/7105 A61K31/713 A61P35/00 C12Q1/6886 C12Q2600/118 C12Q2600/156 G01N33/57423 G01N2800/56		
FI分类号	C12Q1/68.A C12N15/00.ZNA.A G01N33/48.P G01N33/53.Y G01N33/53.D G01N33/574.E G01N33/574.D A61K45/00 A61K39/395.E A61K39/395.T A61K31/7105 A61K31/713 A61K48/00		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA24 2G045/AA26 2G045/BA14 2G045/BB22 2G045/BB24 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/CB26 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FA16 2G045/FB01 2G045/FB03 2G045/FB12 2G045/GC15 2G045/JA01 4B024/AA12 4B024/CA09 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ43 4B063/QQ79 4B063/QQ96 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR42 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C084/ZC412 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB31 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB26		
代理人(译)	木村充		
优先权	2010078772 2010-03-30 JP		
其他公开文献	JP5858405B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

通过检测哺乳动物预后不良的I期肺腺癌，从哺乳动物获得的I期肺腺癌组织细胞中ACTN4的拷贝数来预测预后的预后方法 测量。然后，当基因的拷贝数超过4时，预测来自哺乳动物的I期肺腺癌是预后不良的I期肺癌。

発行日 平成25年7月8日 (2013. 7. 8)

(43) 国際公開日 平成23年10月6日 (2011. 10. 6)

(51) Int. Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68	A	2 G 0 4 5
C 1 2 N 15/00	Z N A A	4 B 0 2 4
G O 1 N 33/48	P	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/53	Y	4 C 0 8 4
G O 1 N 33/54	D	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求

(全 33 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2012-508349 (P2012-508349)	(71) 出願人	803000056
(21) 国際出願番号	PCT/JP2011/057866		公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団
(22) 国際出願日	平成23年3月29日 (2011. 3. 29)		東京都千代田区岩本町二丁目 1 1 番 1 号
(31) 優先権主張番号	特願2010-78772 (P2010-78772)	(74) 代理人	100095407
(32) 優先日	平成22年3月30日 (2010. 3. 30)		弁理士 木村 満
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	本田 一文
			日本国東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号
			独立行政法人国立がん研究センター (研究
			所) 内
		(72) 発明者	山田 哲司
			日本国東京都中央区築地五丁目 1 番 1 号
			独立行政法人国立がん研究センター (研究
			所) 内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 肺臓がんの予後予測方法、肺臓がんの検出キット、および、肺臓がんを治療するための医薬組成物