(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2010 年 7 月 1 日(01.07.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/074241 A1

(51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01) *A61K 33/24* (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2009/071626

(22) 国際出願日: 2009 年 12 月 25 日(25.12.2009)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2008-333267 2008 年 12 月 26 日(26.12.2008) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 大鵬薬品工業株式会社 **(TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.)** [JP/JP]; 〒1018444 東京都千代田区神田錦町１丁目２７番地 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 岡　俊範 **(OKA, Toshinori)** [JP/JP]; 〒7710194 徳島県徳島市川内町平石夷野２２４－２　大鵬薬品工業株式会社内 Tokushima (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所 **(Saegusa & Partners)**; 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町１－７－１　北浜ＴＮＫビル Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): 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.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則 5.2(a)）

WO 2010/074241 A1

(54) **Title**: METHOD FOR PREDICTING THERAPEUTIC EFFECT OF COMBINATION CHEMOTHERAPY

(54) 発明の名称 : 併用化学療法の治療効果予測方法

(57) **Abstract**: Disclosed is an anti-tumor agent which can exhibit a superior life-prolonging effect on progressive gastric cancer patients, on whom conventional therapy methods cannot exhibit a satisfactory life-prolonging effect, compared to those of the conventional therapy methods, when the patients are selected by employing a thymidylate synthase as a measure. The anti-tumor agent comprises a tegafur-gimeracil-(oteracil potassium) combination preparation and cisplatin.

(57) 要約:　本発明は、既存の治療法では延命効果が不十分な進行胃癌患者に対してチミジル酸合成酵素を指標として患者を選択することにより、既存の治療法よりも優れた延命効果を発揮することができる、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びシスプラチンからなる抗腫瘍剤を提供する。

明　細　書

発明の名称 ： 併用化学療法の治療効果予測方法

技術分野

[0001] 本発明は、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果を予測する方法、当該併用化学療法に十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された患者に投与するための抗腫瘍剤、プライマー対及びキットに関する。

背景技術

[0002] 進行胃癌に対する化学療法として、国内外において５－フルオロウラシル、シスプラチン、イリノテカン、ドセタキセル、テガフール・ウラシル配合剤（商品名：ユーエフティー（登録商標））、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤（商品名：ティーエスワン（登録商標）、以下、テガフール、ギメラシル、オテラシルカリウムがモル比１：０．４：１で配合された製剤をＴＳ－１と称す。）などの抗腫瘍剤が単剤でもしくは併用にて臨床応用されている。欧米においては５－ＦＵとシスプラチンの併用化学療法が標準的療法となっているが、延命効果においてはまだ満足できるものではなく、より強い延命効果を示す併用化学療法としてＴＳ－１とシスプラチンの併用化学療法が期待されている（非特許文献１）。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1：Ｃａｎｃｅｒ　２００７；１０９：３３－４０.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明は、進行胃癌患者に対して、強い延命効果を奏する併用化学療法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明者らは、進行胃癌に対する化学療法について研究を重ねた結果、チ

ミジル酸合成酵素遺伝子の発現量（ｍＲＮＡ量または酵素量）を指標とすることにより、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に十分な治療効果を示す可能性が高い患者を予測する方法を見出し、本発明は完成に至った。なお、チミジル酸合成酵素は、従来からＴＳ－１の治療効果規定因子として知られているが（例えば、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ：１１９，１９２７－１９３３（２００６））、当該併用化学療法の選択にチミジル酸合成酵素遺伝子の発現産物（ｍＲＮＡ、酵素）量を指標にできることは全く知られていない。

[0006] すなわち本発明は、以下のテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果を予測する方法、抗腫瘍剤、プライマー対及びキットを提供するものである。

項１.

下記工程（１）～（２）を含む、胃癌患者におけるテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果を予測する方法：

（１）患者から採取された癌細胞を含み得る生体試料に含まれるチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量を測定する工程、

（２）上記工程（１）で得られた発現量が、予め設定した対応するカットオフポイントと比較して低い場合、当該併用化学療法が患者に十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する工程。

項２.

テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤における各有効成分のモル比が、テガフール：ギメラシル：オテラシルカリウム＝１：０．４：１である、項１記載の方法。

項３.

項１又は２記載の方法により当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された癌患者に当該併用化学療法を実施することを特徴とする、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及

びシスプラチンからなる抗腫瘍剤。

項４.

項１又は２記載の方法により当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された癌患者に当該併用化学療法を実施することを特徴とする、胃癌の治療方法。

項５.

項１又は２記載の方法により当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された癌患者に当該併用化学療法を実施するための、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びシスプラチンからなる抗腫瘍剤の使用。

項６.

チミジル酸合成酵素の発現量測定用のプライマー対であって、配列番号１のフォワードプライマーと配列番号２のリバースプライマーを含む、プライマー対。

項７.

テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を含む化学療法に対する治療効果の予測に用いるための、項６記載のプライマー対。

項８.

胃癌患者におけるテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果の予測に用いるための、項７記載のプライマー対。

項９.

配列番号１のフォワードプライマーと配列番号２のリバースプライマーからなるチミジル酸合成酵素の発現量測定用のプライマー対を含む、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を含む化学療法に対する治療効果を予測するためのキット。

項１０.

胃癌患者におけるテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤と

シスプラチンの併用化学療法に対する治療効果を予測するため、項９記載のキット。

項１１.

さらに、配列番号３のプローブを含む、項１０記載のキット。

発明の効果

[0007] 本発明の予測方法は、胃癌患者において強い延命効果を有する有効な化学療法の選択を可能にするものである。つまり、胃癌において延命効果が高いと予測される患者に対し、より強い延命効果を示す併用化学療法を的確に提供することができ、不要な化学療法を省くことができることから、医療経済的にも好ましい。

[0008] 非特許文献１によると、ＴＳ－１とシスプラチンの併用化学療法は常に優れていると考えられるが、この併用化学療法の有効性はチミジル酸合成酵素遺伝子（TS）の発現量に大きく依存し、TS遺伝子の発現量が一定以下である場合にのみ有効であると考えられることが本発明により初めて示された。

発明を実施するための形態

[0009] 本発明の予測方法は、患者のチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量に基づき、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法による治療に対して、より強い延命効果を示す可能性が高い患者を予測するものである。

[0010] 本発明において「テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤にさらにシスプラチンを併用する化学療法」とは、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの両方の抗腫瘍剤を併用して投与する化学療法を意味する。なお、前記配合剤とシスプラチンを併用投与する場合、配合剤とシスプラチンは同時に投与してもよく、一定の間隔をあけて投与してもよい。

[0011] 本発明において、「テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤にさらにシスプラチンを併用する化学療法（以下、併用化学療法ということがある）を選択するのに十分な治療効果」とは、欧米などで使用されている

標準療法（例えば、５－ＦＵとシスプラチンの併用化学療法）より優れた延命効果を示すことを意味する。このような延命効果を示すか否かは、ＴＳ遺伝子の発現量がカットオフポイント以下か否かで判断でき、ＴＳ遺伝子の発現量がカットオフポイント以下であれば、併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を有すると判断される。

[0012] 本発明における有効成分であるテガフール（一般名、化学名：５－フルオロ－１－（２－テトラヒドロフリル）－２，４－（１Ｈ，３Ｈ）－ピリミジンジオン）は、公知の化合物であり、生体内で活性化を受けて抗腫瘍活性の本体である５－フルオロウラシルを放出する薬剤である。テガフールは、公知の方法、例えば特公昭４９－１０５１０号に記載されている方法に従って製造できる。

[0013] 本発明における有効成分であるギメラシル（一般名、化学名：２，４－ジヒドロキシ－５－クロロピリジン）も、公知の化合物であり、それ自身全く抗腫瘍活性を有さないものであるが、５－フルオロウラシルが生体内において代謝されて不活性化されることを抑制するものであり、抗腫瘍効果を増強させることができる。

[0014] 本発明における有効成分であるオテラシルカリウム（一般名、化学名：モノポタシウム　１，２，３，４－テトラヒドロ－２，４－ジオキソ－１，３，５－トリアジン－６－カルボキシレート）も公知の化合物であり、それ自身は抗腫瘍活性を有さないが、主に消化管に分布してその部位での５－フルオロウラシルの活性化を抑制することにより消化管障害を抑制するものである。

[0015] 本発明における有効成分であるシスプラチン（一般名、化学名：（ＳＰ－４－２）ジアミンジクロロプラチナム）は公知の白金錯体化合物であり、ＤＮＡ合成阻害作用により抗腫瘍効果を奏することが知られている。なお、シスプラチンは公知の方法により製造でき、さらにブリプラチン（登録商標、ブリストル・マイヤーズ社製）等の市販医薬品を用いても良い。

[0016] 本発明における治療効果は、生存期間などにより判定することができ、生

存期間は、生存期間の中央値（期間が長いほど治療効果が高い）、１年生存率及び２年生存率（割合が大きいほど治療効果が高い）などにより表すことができる。

[0017] 本発明において投与されるテガフール、ギメラシル及びオテラシルカリウムの割合は、それぞれの配合目的を奏する範囲であれば特に制限されず、例えば、特許第２６１４１６４号公報に記載されている公知の配合剤と同様の範囲で良く、テガフール１モルに対して、ギメラシルを０．１～５モル程度、好ましくは０．２～１．５モル程度とすればよく、オテラシルカリウムを０．１～５モル程度、好ましくは０．２～２モル程度とすればよい。特に好ましくは、テガフール：ギメラシル：オテラシルカリウム（モル比）＝１：０．４：１である。

[0018] 本発明において投与されるシスプラチンの割合は、抗腫瘍効果を奏する範囲であれば特に制限されず、例えば、１日量としてテガフール１モルに対して、シスプラチンを０．０１～５．０モル程度、好ましくは０．１～２．０モル程度、特に好ましくは０．２～１．５モル程度とすればよい。

[0019] 本発明における各有効成分の投与量は、用法、患者の年齢、性別、病期、転移の有無、治療暦、他の抗腫瘍剤の有無などの条件により適宜選択されるが、テガフールの量が０．１～１００ｍｇ／ｋｇ／日程度、好ましくは０．２～４０ｍｇ／ｋｇ／日程度、より好ましくは０．５～２０ｍｇ／ｋｇ／日程度、ギメラシルの量が、０．０２～３０ｍｇ／ｋｇ／日程度、好ましくは０．０５～１２ｍｇ／ｋｇ／日程度、より好ましくは０．１～６ｍｇ／ｋｇ／日程度、オテラシルカリウムの量が０．１～１００ｍｇ／ｋｇ／日程度、好ましくは０．２～４０ｍｇ／ｋｇ／日程度、より好ましくは０．５～２０ｍｇ／ｋｇ／日程度、シスプラチンの量が０．０８～２００ｍｇ／ｋｇ／日程度、好ましくは０．１５～８０ｍｇ／ｋｇ／日程度、より好ましくは０．４～４０ｍｇ／ｋｇ／日程度の範囲となる量を目安とするのが良い。また、各有効成分は１日に１回又は複数回に分けて投与される。また、各有効成分は同時又は間隔を空けて投与され、その投与順序は特に制限されない。

[0020] 本発明において、テガフール、ギメラシル、オテラシルカリウムは、一の剤型に製剤化した配合剤として提供される。また、本発明において、シスプラチンは、それだけを製剤化した単剤であってもよく、テガフール、ギメラシル、オテラシルカリウムと併せて一の剤型に製剤化した配合剤であってもよい。好ましくは、それぞれ一の剤型に製剤化した単剤である。

[0021] 本発明の製剤は、各有効成分が併用投与される限り、上記製剤ごとにそれぞれ個別に製造・包装・流通されるものでよく、また上記製剤のすべて又は一部を併用投与に適した単一のパッケージ（キット製剤）として製造・包装・流通されるものでもよい。

[0022] 本発明における製剤の投与形態としては特に制限は無く、具体的には経口剤（錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤など）、注射剤、坐剤、貼付剤、軟膏剤等が例示できる。本発明の各有効成分を複数の剤型に製剤化する場合は、当該製剤はそれぞれ異なる投与形態であっても同一の投与形態であってよい。例えば、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤は経口剤、シスプラチンを含有する製剤は注射剤とすることが好ましい。

[0023] 本発明の製剤は、薬理学的に許容される担体を用いて、それぞれの投与形態において通常公知の製剤化方法により製造される。かかる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、希釈剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、ｐＨ調整剤、緩衝剤、安定化剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤等を例示できる。

[0024] 賦形剤としては、例えば、乳糖、ショ糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、マルトース、マンニトール、エリスリトール、キシリトール、マルチトール、イノシトール、デキストラン、ソルビトール、アルブミン、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、メチルセルロース、グリセリン、アルギン酸ナトリウム、アラビアゴム及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0025] 滑沢剤としては、例えば、精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ砂、ポリエ

チレングリコール及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0026] 結合剤としては、例えば、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、エチルセルロース、水、エタノール、リン酸カリウム及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0027] 崩壊剤としては、例えば、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、デンプン、乳糖及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0028] 希釈剤としては、例えば、水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0029] 安定化剤としては、例えば、ピロ亜硫酸ナトリウム、エチレンジアミン四酢酸、チオグリコール酸、チオ乳酸及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0030] 等張化剤としては、例えば、塩化ナトリウム、ホウ酸、ブドウ糖、グリセリン及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0031] ｐＨ調整剤及び緩衝剤としては、例えば、クエン酸ナトリウム、クエン酸、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0032] 無痛化剤としては、例えば、塩酸プロカイン、塩酸リドカイン及びこれらの混合物等が挙げられる。

[0033] 着色剤としては、酸化チタン、酸化鉄等が挙げられる。

[0034] 矯味・矯臭剤としては白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸等が挙げられる。

[0035] 溶解補助剤としては、ポリエチレングリコール、Ｄ－マンニトール等が挙げられる。

[0036] 懸濁化剤としては、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム等が挙げられる。

[0037] 本発明における投与スケジュールは、患者の年齢、性別、病期、転移の有無、治療暦などの条件により適宜選択されるが、例えば、本発明の併用化学療法は、４週間のうちに、テガフール、ギメラシル及びオテラシルカリウムを２１日間連続投与し、その最初の投与日（１日目）にシスプラチンを投与することを１サイクルとして１回又は複数回行うことが好ましい。

[0038] 本発明の予測方法の対象となる患者は、胃癌を有する患者であるが、原発巣が胃癌であり、胃以外の臓器、組織に転移した胃癌を有する患者であっても良い。

[0039] 本発明のチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量測定において用いることができる生体試料としては、癌細胞を含む可能性がある試料であれば特に限定されず、体液（血液、尿等）、組織、その抽出物及び採取した組織の培養物などが例示できる。また、生体試料の採取方法は、生体試料の種類や癌種に応じた方法により適宜選択することができる。生体試料からのＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質の調製は、通常公知の方法により行うことができる。組織としては、特に胃が挙げられるが、胃から他の臓器や腹膜などに転移した場合には、転移した部位が対象の組織となる。

[0040] チミジル酸合成酵素は、ｄＵＭＰから葉酸を補酵素としてｄＴＭＰを合成する活性を有する酵素であり、ＤＮＡ合成時に必要な酵素として知られている。また、５－フルオロウラシルの標的酵素としても知られている。なお、ヒトのチミジル酸合成酵素の遺伝子の塩基配列やアミノ酸配列は公知である（Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１３：２０３５－２０４３（１９８５））。

[0041] 本発明の予測方法は、チミジル酸合成酵素遺伝子の発現量を指標とするが、その発現量としてはｍＲＮＡの発現量であっても、タンパク質の発現量であってもよい。ここでｍＲＮＡの発現量は、チミジル酸合成酵素遺伝子と特異的にハイブリダイズするプローブ又はプライマーを用いて、ノーザンブロット法、定量的又は半定量的ＰＣＲ法（例えばＲＴ－ＰＣＲ法、リアルタイムＰＣＲ法）、ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダーゼーション法など公知の遺伝子

発現量の測定法に従い測定することができる。前記発現量は、常に一定範囲の量を発現しているタンパク質／遺伝子（例えばβアクチンなどのハウスキーピング遺伝子又はその発現タンパク質）を基準として、比により評価することができる。

[0042] また、タンパク質発現量は、チミジル酸合成酵素を特異的に認識する抗体を用いて、酵素免疫測定法、放射性免疫測定法、蛍光免疫測定法、ＥＬＩＳＡ法、ウェスタン・ブロッティング法、免疫組織化学染色法など公知の免疫学的測定法を行うことにより測定することができる。

[0043] ノーザンブロット法、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダーゼーション法などの遺伝子発現量の測定法に用いられるプローブは、チミジル酸合成酵素遺伝子の塩基配列内の少なくとも１５塩基長～全塩基長、好ましくは２０塩基長～全塩基長、より好ましくは３０塩基長～全塩基長の連続した塩基配列と特異的にハイブリダイズするように、通常公知のプローブ設計方法に従い上記各塩基長を有するポリヌクレオチドとして設計される。

[0044] ＲＴ－ＰＣＲ法、リアルタイムＰＣＲ法などの定量的又は半定量的ＰＣＲ法に用いられるプライマー、プローブの設計は、例えば以下のようにして行うことができる。

[0045] 本発明のプライマー及びプローブは、チミジル酸合成酵素（ＴＳ）遺伝子の塩基配列内の少なくとも１０塩基長～全塩基長、好ましくは１０～１００塩基長、より好ましくは１０～５０塩基長、さらに好ましくは１０～３５塩基長の連続した塩基配列と特異的にハイブリダイズするように、通常公知のプライマー及びプローブ設計方法に従い上記各塩基長を有するポリヌクレオチドとして設計される。例えば、ＴＳ遺伝子の発現産物検出用のプライマー、すなわちＰＣＲのフォワードプライマー及びリバースプライマーは、ＴＳ遺伝子のうちエキソン領域から設計及び合成することができる。フォワードプライマー及びリバースプライマーは、ＴＳ遺伝子の各エキソン領域のうち、一方を上流側のエキソン領域の塩基配列に基づき設計し（フォワードプライマー）、他方をその下流側のエキソン領域の塩基配列に基づき設計する（

リバースプライマー）。例えば、ＴＳ遺伝子のプライマーをエキソン１～３に基づき設計する際において、フォワードプライマーをエキソン１領域の配列に基づいて設計する場合は、リバースプライマーは、その下流側のエキソン２又はエキソン３領域の配列に基づいて設計する。リバースプライマーは、ＴＳのｍＲＮＡの配列に相補的となるように設計する。また、このプライマーとしては、各エキソン領域を含むＴＳのｍＲＮＡの塩基配列の全て及びその一部の配列を用いることができるが、それぞれのエキソン領域からＰＣＲによる増幅効率を考慮してプライマーを設計するのが望ましい。より具体的には、ＴＳ遺伝子の発現産物検出用のフォワードプライマーとしては、配列番号１で示すプライマーが好ましく、リバースプライマーとしては、配列番号２で示すプライマーが好ましい。

[0046] ＴＳ遺伝子の発現産物検出用プローブとしては、上記プライマーを使用してＰＣＲ反応により、増幅されるＴＳ遺伝子の各一本鎖ＤＮＡとハイブリダイズ可能なものであれば特に制限されない。ＴＳ遺伝子の全エキソンの塩基配列あるいはその一部と相補的な配列を有するかあるいはストリンジェントな条件でハイブリダイズ可能なものであればよい。より具体的には、ＴＳ遺伝子の発現産物検出用のプローブとしては、配列番号３で示すプローブが好ましい。

[0047] なお、当該プローブは、ＴＳ遺伝子と特異的にハイブリダイズするものであれば、完全に相補的である必要はない。かかるポリヌクレオチドとして、好ましくはチミジル酸合成酵素遺伝子の塩基配列において連続する少なくとも１５塩基以上の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補ポリヌクレオチドと比較して、塩基配列において７０％以上、好ましくは８０％以上、より好ましくは９０％以上、さらに好ましくは９５％以上、特に好ましくは９８％以上の同一性を有するポリヌクレオチドである。

[0048] なお、本発明において「特異的にハイブリダイズする」とは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下において、特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されないことをいう。ストリンジ

ェントなハイブリダイゼーション条件は、通常公知の方法に従ってハイブリッドを形成する核酸の融解温度（Ｔｍ）などに基づいて決定することができる。具体的なハイブリダイズ状態を維持できる洗浄条件として通常「１×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、３７℃」程度の条件、より厳格には「０．５×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、４２℃」程度の条件、さらに厳格には「０．１×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ、６５℃」程度の条件が挙げられる。

[0049] また、ヒトにおけるチミジル酸合成酵素遺伝子の塩基配列が公知であるため、当該プローブ又はプライマーは、その塩基配列に基づいて、通常公知の合成方法、例えば市販のヌクレオチド合成機によって作製することができる。また、その塩基配列を鋳型としてＰＣＲ法によって調製することもできる。

[0050] また、当該プローブ又はプライマーは、チミジル酸合成酵素遺伝子を容易に検出できるように、通常慣用されている放射性物質、蛍光物質、化学発光物質、または酵素で標識されていてもよい。

[0051] 本発明の抗体は、チミジル酸合成酵素を特異的に認識するものであれば特に制限されず、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体のいずれであってもよく、Ｆａｂ断片やＦ（ａｂ’）２断片などの抗体断片であってもよい。また、当該抗体は、通常公知の方法に従って製造することができる（例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｅｄｉｔ．Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．（１９８７），Ｐｕｂｌｉｓｈ．Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ．Ｓｅｃｔｉｏｎ １１．１２－１１．１３）。

[0052] テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法による治療を実施すべきか否か予測する工程において、チミジル酸合成酵素遺伝子の発現量が、予め設定した各カットオフポイントと比較して、低い場合、患者が当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する。

[0053] 本発明におけるカットオフポイントは、測定対象や測定方法の種類などの

諸条件により変動するものであるため、条件に合わせて予め設定する必要がある。カットオフポイントは、測定対象（患者の数、年齢、性別、体重、健康状態、疾患の状態）や測定方法（遺伝子とタンパク質のいずれの発現産物を測定対象とするか）、測定条件（例えば遺伝子発現産物（ｍＲＮＡ）の測定におけるプライマー、プローブの配列、標識の種類、発現産物がタンパク質の場合の抗体の種類及び感度など）、統計的手法などにより変動するため、本発明は、これらの諸条件により変動し得る任意のカットオフポイントを用いた発明を広く包含し、特定の値に限定されない。ここでカットオフポイントは、予め測定しておいたチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量から種々の統計解析手法により求めることができる。例えば、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法を受けた患者におけるチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量の平均値や中央値；テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法を受けた患者におけるチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量と、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対し一定以上の治療効果（延命効果）の有無との関係から感度と特異度の和が最大となるようＲＯＣ（Ｒｅｃｅｉｖｅｒ　Ｏｐｅｒａｔｉｎｇ　Ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｓｔｉｃ）分析に基づき求められる値；テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法を受けた患者におけるチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量を用いて、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果（延命効果）との関係から、ログランク検定でＰ値が最小となる値（カイ二乗検定に基づき求められる値）が例示できる。

[0054] その結果、本併用化学療法におけるチミジル酸合成酵素遺伝子のカットオフポイント（ベータアクチンに対する比）は、例えばリアルタイムＰＣＲ法では４×１０$^{-3}$～１０×１０$^{-3}$が好ましく、５．３１×１０$^{-3}$～８．０２×１０$^{-3}$がより好ましく、５．９６×１０$^{-3}$～６．８０×１０$^{-3}$が特に好ましい。

[0055] 本発明のチミジル酸合成酵素の発現量測定用のプライマー対は、配列番号１のフォワードプライマーと配列番号２のリバースプライマーを含むものである。また本発明のチミジル酸合成酵素の発現量測定用のキットは、上記プライマー対を含むものであり、好ましくはさらに配列番号３のプローブを含むものである。

[0056] 本発明のチミジル酸合成酵素の発現量測定用のプライマー対及びキットは、チミジル酸合成酵素の発現量を正確に測定することができ、５－ＦＵ系抗腫瘍剤を含む化学療法に対する治療効果の予測に用いることができる。５－ＦＵ系抗腫瘍剤を含む化学療法としては、５－ＦＵ又はその誘導体を含むものであれば特に制限されず、例えば５－ＦＵ、テガフール・ウラシル配合剤、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を含む化学療法が例示でき、このうち好ましくはテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を含む化学療法、特に好ましくはテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法である。治療効果の予測を行う対象となる癌腫としては特に限定されないが、好ましくは胃癌、結腸・直腸癌、頭頸部癌、肺癌、乳癌、膵癌、胆道癌であり、特に好ましくは胃癌である。

実施例

[0057] 以下、本発明を実施例に基づきより詳細に説明するが、本発明がこれら実施例に限定されないことはいうまでもない。

実施例 1

[0058] チミジル酸合成酵素遺伝子の発現量測定

コーカシア人の未治療の進行胃癌患者を対象としたＴＳ－１／シスプラチン併用療法と５－ＦＵ／シスプラチン併用療法の第III相試験においてバイオマーカー研究（チミジル酸合成酵素の遺伝子発現量の測定）を実施した。

[0059] ＴＳ－１／シスプラチン併用療法は、ＴＳ－１をテガフール換算量で２５ｍｇ／ｍ^{2}を１日２回２１日間連日絶食時に経口投与し、その後７日間休薬した。シスプラチンはＴＳ－１投与開始日（Ｄａｙ１）のＴＳ－１の最初の投

与後、７５ｍｇ／ｍ²を１～３時間かけて静脈内投与した。この４週間（２８日間）毎の投与スケジュールを１サイクルとし、最大６サイクル繰り返し投与した。

[0060] ５－ＦＵ／シスプラチン併用療法は、５－ＦＵを１０００ｍｇ／ｍ²／２４時間を５日間持続的静脈内投与し、その後２３日間休薬した。シスプラチンは５－ＦＵ投与開始日（Ｄａｙ１）に５－ＦＵ投与前、１００ｍｇ／ｍ²を１～３時間かけて静脈内投与した。この４週間（２８日間）毎の投与スケジュールを１サイクルとし、最大６サイクル繰り返し投与した。

[0061] 生存期間はランダム化の日を起算日とし、死亡日までの期間とした。解析時点で死亡の確認が取れない、または生存している患者に関しては、最新の観察日をもって打ち切りとした。

[0062] チミジル酸合成酵素遺伝子の発現量は、薬剤の投与以前に得られた手術検体またはバイオプシー検体の腫瘍組織のホルマリン固定パラフィン包埋切片からトータルＲＮＡを抽出し、Ｔａｑｍａｎ（登録商標）リアルタイムＰＣＲ法によりベータアクチンに対する比として定量した。なお、チミジル酸合成酵素遺伝子の発現量測定用のプライマー及びプローブとして、以下の配列番号１～３で示すプライマー及びプローブを用いた。さらに、ベータアクチン遺伝子発現量の測定には、以下の配列番号４～６で示すプライマー及びプローブを用いた。

[0063] [表1]

遺伝子名	Ｆｏｒｗａｒｄ ｐｒｉｍｅｒ	Ｒｅｖｅｒｓｅ ｐｒｉｍｅｒ	Ｔａｑｍａｎ ＭＧＢ ｐｒｏｂｅ
チミジル酸合成酵素	ＧＡＡＴＣＡＣＡＴＣＧＡＧＣＣＡＣＴＧＡＡＡ（配列番号１）	ＧＡＡＧＡＡＴＣＣＴＧＡＧＣＴＴＴＧＧＧＡＡＡ（配列番号２）	ＣＡＧＣＴＴＣＡＧＣＧＡＧＡＡＣ（配列番号３）
ベータアクチン	ＡＡＧＧＣＣＡＡＣＣＧＣＧＡＧＡＡＧ（配列番号４）	ＡＴＡＧＣＡＡＣＧＴＡＣＡＴＧＧＣＴＧＧＧ（配列番号５）	ＡＣＣＣＡＧＡＴＣＡＴＧＴＴＴ（配列番号６）

[0064] 上記表１記載のプライマー及びプローブ以外に、公知のＴＳ遺伝子配列のオープンリーディングフレームをもとにして種々のフォワードプライマー、

リバースプライマー、プローブを設計できる。プライマー、プローブの配列、標識の種類などを変更するとカットオフポイントが多少変化し得るが、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示すか否かを予測できる本発明の効果に実質的な影響はない。

実施例 2

[0065] カットオフポイントの算出

カットオフポイントは、実施例１で測定した各患者のチミジル酸合成酵素の遺伝子発現量を次のような統計解析手法により求めた。

[0066] （１）ＴＳ－１／シスプラチン併用群において、ｄｉｓｅａｓｅ ｃｏｎｔｒｏｌ（ＰＲ＋ＳＤ）された症例を予測するために、ＲＯＣ分析を利用して感度と特異度の和が最大となる最適なカットオフポイントを算出したところ、６．８０×１０$^{-3}$であった。

[0067] （２）ＴＳ－１／シスプラチン併用群において、ｄｉｓｅａｓｅ ｃｏｎｔｒｏｌ（ＰＲ＋ＳＤ）の割合が統計学的に有意となるカットオフポイントを有意水準１％と５％で算出したところ、それぞれ５．９６×１０$^{-3}$～６．８０×１０$^{-3}$、５．３１×１０$^{-3}$～８．０２×１０$^{-3}$であった。

実施例 3

[0068] チミジル酸合成酵素を指標にして選択された患者での併用療法における治療効果

実施例２で算出したカットオフポイント値を用いてチミジル酸合成酵素の低発現群と高発現群の２群に分けて生存期間解析を実施した。結果を表２～表５に示す。

[0069] なお、５－ＦＵ／シスプラチン併用群は、ＴＳ低値とＴＳ高値のいずれも２年生存率は０％であり、治療効果が低いものであった。また、ＴＳ低値の５－ＦＵ／シスプラチン併用群の効果はＴＳ低値のＴＳ－１／シスプラチン併用群の生存期間よりも低かったため、５－ＦＵ／シスプラチン併用群（ＴＳ高値）の結果は示していない。

[0070] [表2]

カットオフポイント値：６．８０×１０$^{-3}$

対象	症例数	生存期間の中央値（月）
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	３９	９．９
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ高値	１５	３．６
５－ＦＵ／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	３３	７．０

[0071] [表3]

カットオフポイント値：５．９６×１０$^{-3}$

対象	症例数	生存期間の中央値（月）
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	３７	９．８
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ高値	１７	４．４
５－ＦＵ／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	３１	７．０

[0072] [表4]

カットオフポイント値：５．３１×１０$^{-3}$

対象	症例数	生存期間の中央値（月）
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	３３	９．８
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ高値	２１	５．３
５－ＦＵ／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	２９	６．９

[0073] [表5]

カットオフポイント値：８．０２×１０$^{-3}$

対象	症例数	生存期間の中央値（月）
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	４３	８．４
ＴＳ－１／シスプラチン併用群　ＴＳ高値	１１	３．６
５－ＦＵ／シスプラチン併用群　ＴＳ低値	３６	７．０

[0074] ＴＳ－１／シスプラチン併用療法では、腫瘍組織中チミジル酸合成酵素の遺伝子発現量の低い患者では、高い患者と比較し、生存期間の中央値に顕著な差があり、高い延命効果を示した。５－ＦＵ／シスプラチン併用療法でのチミジル酸合成酵素の遺伝子発現量の低い患者と比較してもＴＳ－１／シスプラチン併用療法の方が生存期間の中央値が長く、同様に高い延命効果を示した。

[0075] 以上のように、チミジル酸合成酵素（ＴＳ）遺伝子の発現量を指標として胃癌患者を選択することにより、ＴＳ－１／シスプラチン併用療法は従来の標準的とされる治療法に比べて高い延命効果を期待できることが明らかになった。

請求の範囲

[請求項1] 下記工程（１）～（２）を含む、胃癌患者におけるテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果を予測する方法：

（１）患者から採取された癌細胞を含み得る生体試料に含まれるチミジル酸合成酵素遺伝子の発現量を測定する工程、

（２）上記工程（１）で得られた発現量が、予め設定した対応するカットオフポイントと比較して低い場合、当該併用化学療法が患者に十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する工程。

[請求項2] テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤における各有効成分のモル比が、テガフール：ギメラシル：オテラシルカリウム＝１：０．４：１である、請求項１記載の方法。

[請求項3] 請求項１又は２記載の方法により当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された癌患者に当該併用化学療法を実施することを特徴とする、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びシスプラチンからなる抗腫瘍剤。

[請求項4] 請求項１又は２記載の方法により当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された癌患者に当該併用化学療法を実施することを特徴とする、胃癌の治療方法。

[請求項5] 請求項１又は２記載の方法により当該併用化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された癌患者に当該併用化学療法を実施するための、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びシスプラチンからなる抗腫瘍剤の使用。

[請求項6] チミジル酸合成酵素の発現量測定用のプライマー対であって、配列番号１のフォワードプライマーと配列番号２のリバースプライマーを含む、プライマー対。

[請求項7] テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を含む化学療法に対する治療効果の予測に用いるための、請求項６記載のプライマー

対。

[請求項8] 胃癌患者におけるテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果の予測に用いるための、請求項７記載のプライマー対。

[請求項9] 配列番号１のフォワードプライマーと配列番号２のリバースプライマーからなるチミジル酸合成酵素の発現量測定用のプライマー対を含む、テガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を含む化学療法に対する治療効果を予測するためのキット。

[請求項10] 胃癌患者におけるテガフール・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とシスプラチンの併用化学療法に対する治療効果を予測するため、請求項９記載のキット。

[請求項11] さらに、配列番号３のプローブを含む、請求項１０記載のキット。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2009/071626

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12Q1/68(2006.01)i, *A61K31/44*(2006.01)i, *A61K31/513*(2006.01)i, *A61K31/53*(2006.01)i, *A61K33/24*(2006.01)i, *A61P35/00*(2006.01)i, *C12N15/09*(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)
C12Q1/68, A61K31/44, A61K31/513, A61K31/53, A61K33/24, A61P35/00, C12N15/09

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)
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), JSTPlus(JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KOIZUMI, W., et al., S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. Lancet Oncology, February 18, 2008, Vol.9, pp.215-221	3
X/Y	SHIROTA, Y., et al., ERCC1 and Thymidylate Synthase mRNA Levels Predict Survival for Colorectal Cancer Patients Receiving Combination Oxaliplatin and Fluorouracil Chemotherapy. Journal of Clinical Oncology, 2001, Vol.19, No.23, pp.4298-4304	6-11/1,2

☒ 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	Date of mailing of the international search report
20 January, 2010 (20.01.10)	02 February, 2010 (02.02.10)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2007)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2009/071626

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Noriko YAMAMOTO et al., "Shinko Igan ni Taisuru Jutsumae Kagaku Ryoho (TS-1+CDDP) no Koka Yosoku Maker no Kento", Dai 67 Kai Nihon Gan Gakkai Gakujutsu Sokai Kiji, 30 September 2008 (30.09. 2008), page 74, O-129	1,2
Y	Yoichi SAKURAI et al., "Kagaku Ryoho no Koka Yosoku·Yogo Yosoku Koka Yosoku·Yogo Yosoku OPRT, TS, p53 no Hatsugen to Kagaku Ryoho no Koka Yosoku", Igan -Kiso·Rinsho Kenkyu no Update-, Japanese Journal of Clinical Medicine, vol.66, special extra issue 5 (whole no.939), 28 July 2008 (28.07.2008), pages 518 to 522	1,2
Y	KAMOSHIDA, S., et al., Immunostaining of thymidylate synthase and p53 for predicting chemoresistance to S-1/cisplatin in gastric cancer. British Journal of Cancer, 2007, Vol.96, No.2, pp.277-283	1,2
Y	Nobuhiro KURITA et al., "Shinko Saihatsu Igan ni Taisuru Kagaku Ryoho ni Okeru Yogo Yosoku Inshi no Kento", Dai 49 Kai Nippon Shokakibyo Gakkai Taikai Shorokushu, Japanese Journal of Gastroenterological Surgery, vol.104, special extra issue, 20 September 2007 (20.09.2007), page A602, Sho P-113	1,2
A	WEI, J., et al., ERCC1 mRNA levels and survival of advanced gastric cancer patients treated with a modified FOLFOX regimen. British Journal of Cancer, March 25, 2008, Vol.98, No.8, pp.1398-1402	1-3,6-11
A	YOSHIDA, K., et al., Challenge for a better combination with basic evidence. International Journal of Clinical Oncology, June 2008, Vol.13, No.3, pp.212-219	1-3,6-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2009/071626

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [x] Claims Nos.: 4, 5
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 4 and 5 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００９／０７１６２６

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12Q1/68(2006.01)i, A61K31/44(2006.01)i, A61K31/513(2006.01)i, A61K31/53(2006.01)i, A61K33/24(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C12N15/09(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.　C12Q1/68, A61K31/44, A61K31/513, A61K31/53, A61K33/24, A61P35/00, 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

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）

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)、JSTPlus(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
X	KOIZUMI, W., et al., S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. Lancet Oncology, February 18, 2008, Vol.9, pp.215-221	3

☑　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	国際調査報告の発送日
２０．０１．２０１０	０２．０２．２０１０

国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官（権限のある職員）	４Ｂ	３９６０
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	伊達　利奈 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８		

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
Ｘ／Ｙ	SHIROTA, Y., et al., ERCC1 and Thymidylate Synthase mRNA Levels Predict Survival for Colorectal Cancer Patients Receiving Combination Oxaliplatin and Fluorouracil Chemotherapy. Journal of Clinical Oncology, 2001, Vol.19, No.23, pp.4298-4304	6-11/1，2
Ｙ	山本　智理子、外４名、 進行胃癌に対する術前化学療法（TS-1+CDDP）の効果予測マーカーの検討. 第６７回日本癌学会学術総会記事、２００８年９月３０日、p.74、O-129	1，2
Ｙ	櫻井　洋一、外４名、 化学療法の効果予測・予後予測　効果予測・予後予測　OPRT, TS，ｐ５３の発現と化学療法の効果予測. 胃癌－基礎・臨床研究のアップデート－、日本臨床　第６６巻　増刊号５（通巻第９３９号）、２００８年７月２８日、pp.518-522	1，2
Ｙ	KAMOSHIDA, S., et al., Immunostaining of thymidylate synthase and p53 for predicting chemoresistance to S-1/cisplatin in gastric cancer. British Journal of Cancer, 2007, Vol.96, No.2, pp.277-283	1，2
Ｙ	栗田　信浩、外６名、 進行再発胃癌に対する化学療法における予後予測因子の検討. 第４９回日本消化器病学会大会抄録集、日本消化器病学会雑誌　第１０４巻　臨時増刊号、２００７年９月２０日、p.A602、消 P-113	1，2
Ａ	WEI, J., et al., ERCC1 mRNA levels and survival of advanced gastric cancer patients treated with a modified FOLFOX regimen. British Journal of Cancer, March 25, 2008, Vol.98, No.8, pp.1398-1402	1-3，6-11
Ａ	YOSHIDA, K., et al., Challenge for a better combination with basic evidence. International Journal of Clinical Oncology, June 2008, Vol.13, No.3, pp.212-219	1-3，6-11

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２００９／０７１６２６

第Ⅱ欄　請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第１ページの２の続き）

法第8条第3項（ＰＣＴ17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

１．☑ 請求項　４、５　は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求項４及び５は、治療方法に係るものであり、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。

２．☐ 請求項　　は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

３．☐ 請求項　　は、従属請求の範囲であってＰＣＴ規則6.4(a)の第２文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄　発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの３の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

１．☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。

２．☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

３．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。

４．☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。

☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。

☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。