

(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
2022年12月15日(15.12.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/260166 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/574 (2006.01) *C12Q 1/6886* (2018.01)
C07K 16/18 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
C12Q 1/6844 (2018.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2022/023474

(22) 国際出願日: 2022年6月10日(10.06.2022)

(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 2021-097456 2021年6月10日(10.06.2021) JP
特願 2021-201094 2021年12月10日(10.12.2021) JP

(71) 出願人: 学校法人北里研究所(**THE KITASATO INSTITUTE**) [JP/JP]; 〒1088641 東京都港区白金5丁目9番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 松本 和将(**MATSUMOTO Kazumasa**); 〒2520373 神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内 Kanagawa (JP). 佐藤 雄一(**SATO Yuichi**); 〒2520373 神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内 Kanagawa (JP). 天野 統之(**AMANO Noriyuki**); 〒2520373 神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内 Kanagawa (JP). 田代 ユリ子(**TASHIRO Yuriko**); 〒2520373 神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内 Kanagawa (JP). 岩村 正嗣(**IWAMURA Masatsugu**); 〒2520373 神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 棚井 澄雄, 外 (**TANAI Sumio et al.**); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 Tokyo (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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: KIT FOR DIAGNOSIS OF CANCER AND USE THEREOF

(54) 発明の名称: 癌診断用キット及びその使用

(57) Abstract: According to the present invention, a kit for diagnosis of cancer, a kit for determining prognosis of a patient with cancer, a method for assessing a biological sample, a method for collecting data for determining whether or not a subject is affected by cancer, and a method for predicting prognosis of a patient with cancer, use a substance that specifically binds to the SPRY domain-containing SOCS box 2 (SPSB2) protein, a primer set that is capable of amplifying cDNA of the SPSB2 gene, or a probe that specifically hybridizes with mRNA of the SPSB2 gene.

(57) 要約: SPRY domain-containing SOCS box protein 2 (SPSB2) タンパク質に対する特異的結合物質、SPSB2 遺伝子の cDNA を増幅可能なプライマーセット、又は、SPSB2 遺伝子の mRNA に特異的にハイブリダイズするプローブを含む、癌診断用キット、癌患者の予後判定用キット、生体試料の判定方法、被験者が癌に罹患しているかを判定するためのデータを収集する方法、及び、癌患者の予後を予測する方法。



WO 2022/260166 A1

明 細 書

発明の名称： 癌診断用キット及びその使用

技術分野

[0001] 本発明は、癌診断用キット及びその使用に関する。より詳細には、本発明は、癌診断用キット、癌患者の予後判定用キット、生体試料の判定方法、被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータを収集する方法、癌患者の予後を予測する方法、及び、抗癌剤のスクリーニング方法に関する。本願は、2021年6月10日に、日本に出願された特願2021-097456号、及び、2021年12月10日に、日本に出願された特願2021-201094号に基づき優先権を主張し、それらの内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 癌の中でも膀胱癌の罹患率、死亡率は増加の一途を辿っている（例えば、非特許文献1を参照。）。膀胱癌の治療法としては、手術、化学療法、放射線療法が挙げられる。しかしながら、膀胱癌の治療に対する奏効率は芳しいものではない。この原因として、有用な癌マーカー、フォローアップマーカーが存在しないことが挙げられる。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献1: Fitzmaurice C., et al., Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study, JAMA Oncol., 5 (12), 1749-1768, 2019.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 本発明は、新たな癌の診断技術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] 本発明は、以下の態様を含む。

[1] SPRY domain-containing SOCS box protein 2 (SPSB2) タンパク質に対する特異的結合物質、SPSB2 遺伝子の cDNA を増幅可能なプライマーセット、又は、SPSB2 遺伝子の mRNA に特異的にハイブリダイズするプローブ、を含む、癌診断用キット。

[2] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、[1] に記載の癌診断用キット。

[3] SPSB2 タンパク質に対する特異的結合物質、SPSB2 遺伝子の cDNA を増幅可能なプライマーセット、又は、SPSB2 遺伝子の mRNA に特異的にハイブリダイズするプローブ、を含む、癌患者の予後判定用キット。

[4] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、[3] に記載の予後判定用キット。

[5] 生体試料中の SPSB2 タンパク質又は SPSB2 遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことが、前記生体試料が癌患者由来のものであることを示す、生体試料の判定方法。

[6] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、[5] に記載の判定方法。

[7] 被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータを収集する方法であって、前記被験者由来の生体試料中の SPSB2 タンパク質又は SPSB2 遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量のデータが、前記被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータである、方法（医師による医療行為を除く。）。

[8] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、[7] に記載の方法。

〔 9 〕 癌患者の予後を予測する方法であって、前記癌患者由来の生体試料中の S P S B 2 タンパク質又は S P S B 2 遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことが、前記癌患者の予後が不良であることを示す、方法。

〔 1 0 〕 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、〔 9 〕 に記載の方法。

〔 1 1 〕 被験物質の存在下で培養した癌細胞における、 S P S B 2 タンパク質又は S P S B 2 遺伝子の発現量を測定する工程を含み、前記発現量が、前記被験物質の非存在下における S P S B 2 タンパク質又は S P S B 2 遺伝子の発現量と比較して有意に低下したことが、前記被験物質が抗癌剤であることを示す、抗癌剤のスクリーニング方法。

〔 1 2 〕 前記癌細胞が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌に由来する癌細胞である、〔 1 1 〕 に記載の方法。

発明の効果

〔 0006 〕 本発明により、新たな癌の診断技術を提供することができる。

図面の簡単な説明

〔 0007 〕 〔 図 1 〕 図 1 は、実験例 2 の結果を示すグラフである。

〔 図 2 〕 図 2 （ a ） ～ （ c ） は、実験例 3 における代表的な免疫染色の結果を示す写真である。

〔 図 3 〕 図 3 は、実験例 5 の結果を示すグラフである。

〔 図 4 〕 図 4 は、実験例 5 の結果を示すグラフである。

〔 図 5 〕 図 5 （ a ） ～ （ d ） は、実験例 6 における代表的な免疫染色の結果を示す写真である。

〔 図 6 〕 図 6 は、実験例 7 の結果を示すグラフである。

〔 図 7 〕 図 7 は、実験例 7 の結果を示すグラフである。

〔 図 8 〕 図 8 は、実験例 8 におけるウエスタンブロッティングの結果を示す写真である。

〔 図 9 〕 図 9 は、実験例 8 におけるウエスタンブロッティングの結果を示す写真

である。

[図10]図10は、実験例9において測定した、尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。

[図11]図11は、実験例9において測定した、尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。

[図12]図12は、実験例9において測定した、尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。

[図13]図13は、実験例9において測定した、尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。

[図14]図14は、実験例10で作成したROC曲線である。

[図15]図15は、実験例10で作成したROC曲線である。

[図16]図16は、実験例10において癌特異的生存率を解析した結果を示すグラフである。

[図17]図17は、実験例10において無増悪生存率を解析した結果を示すグラフである。

[図18]図18(a)は、実験例11におけるウェスタンブロッティングの結果を示す写真である。また、図18(b)は、図18(a)の結果を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0008] [癌診断用キット、癌患者の予後判定用キット]

1実施形態において、本発明は、SPSB2タンパク質に対する特異的結合物質、SPSB2遺伝子のcDNAを増幅可能なプライマーセット、又は、SPSB2遺伝子のmRNAに特異的にハイブリダイズするプローブ、を含む、癌診断用キットを提供する。

[0009] 実施例において後述するように、発明者らは、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子を癌のマーカーとして用いることができることを明らかにした。また、発明者らは、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子は、膀胱癌のみならず、膵臓癌、肝細胞癌のマーカーとしても有用であることを

明らかにした。したがって、本実施形態の癌診断用キットにおいて、癌としては、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌等が挙げられる。

[0010] 本実施形態のキットを用いて、被験者由来の生体試料中のSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を測定し、被験者が癌に罹患しているか否かを判定することができる。生体試料としては、血清、血漿、尿、組織等が挙げられる。また、特に、癌が膀胱癌である場合、生体試料としては、尿、組織等が挙げられる。ここで、尿については、尿中エクソソームを抽出して生体試料としてもよい。

[0011] また、実施例において後述するように、発明者らは、膀胱癌患者及び肝細胞癌患者を解析し、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子が高発現であると、予後が悪い傾向にあることを明らかにした。したがって、本実施形態の癌診断用キットは、予後判定用キットであるということもできる。本明細書において、予後が悪いとは、生存率が低いこと、無増悪生存期間が短いこと等であってよい。

[0012] すなわち、本発明は、SPSB2タンパク質に対する特異的結合物質、SPSB2遺伝子のcDNAを増幅可能なプライマーセット、又は、SPSB2遺伝子のmRNAに特異的にハイブリダイズするプローブ、を含む、癌患者の予後判定用キットを提供するものであるということもできる。癌患者の予後判定用キット（癌患者の予後予測用キット）において、癌としては、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌等が挙げられる。

[0013] ヒトSPSB2タンパク質のNCBIアクセッション番号は、NP__001139788.1、NP__001306599.1、NP__116030.1等である。また、ヒトSPSB2遺伝子のmDNAのNCBIアクセッション番号は、NM__001146316.2、NM__001146317.1、NM__001319670.2、NM__032641.4等である。

[0014] （特異的結合物質）

本実施形態のキットは、SPSB2タンパク質に対する特異的結合物質を含んでいてもよい。特異的結合物質としては、例えば、抗体、抗体断片、ア

プタマー等が挙げられる。抗体断片としては、 $F(a b')_2$ 、 $F a b'$ 、 $F a b$ 、 $F v$ 、 $s c F v$ 等が挙げられる。上記の抗体又は抗体断片は、ポリクローナルであってもよく、モノクローナルであってもよい。アプタマーとしては、SPSB2タンパク質に対する特異的結合能を有する物質であれば特に限定されず、核酸アプタマー、ペプチドアプタマー等が挙げられる。

[0015] 例えば、固定した組織切片を上記の特異的結合物質を用いて免疫染色することにより、SPSB2タンパク質の発現量を測定することができる。SPSB2タンパク質の発現量の測定は、免疫染色に限られず、被験試料からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロッティング法により行ってもよいし、ELISA法により行ってもよい。

[0016] 被験試料中のSPSB2タンパク質の発現量が、対照と比較して多いことは、被験試料が癌患者に由来することを示す。本明細書において、「対照と比較して多い」とは、対照と比較して統計学的に有意に多いことであることが好ましい。ここで、対照としては、例えば、正常組織由来試料を用いて測定したSPSB2タンパク質の発現量が挙げられる。

[0017] (プライマーセット)

本実施形態の癌診断用キットは、SPSB2遺伝子のcDNAを増幅するためのプライマーセットを含んでいてもよい。プライマーセットは、SPSB2遺伝子のcDNAの少なくとも1部を増幅することができれば、その配列は特に限定されない。

[0018] 被験試料中のSPSB2遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことは、被験試料が癌患者に由来することを示す。また、対照としては、例えば、正常組織由来試料を用いて測定したSPSB2遺伝子の発現量が挙げられる。

[0019] (プローブ)

本実施形態のキットは、SPSB2遺伝子のmRNAに特異的にハイブリダイズするプローブを含んでいてもよい。

[0020] プローブは、例えばSPSB2遺伝子のmRNAの少なくとも1部の塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸断片であってもよい。また、プローブ

は、安定性やハイブリダイゼーション時の特異性等を向上させる等の目的で、種々の化学修飾を有していてもよい。例えば、ヌクレアーゼ等の加水分解酵素による分解を抑制するために、リン酸残基を、例えば、ホスホロチオエート（P S）、メチルホスホネート、ホスホロジチオネート等の化学修飾リン酸残基に置換してもよい。また、少なくとも一部がペプチド核酸（P N A）等の核酸類似体により構成されていてもよい。

[0021] プローブは固相上に固定されていてもよい。固相としては、例えば、ビーズ、板状基板、膜等が挙げられる。プローブは、例えば、板状基板の表面に固定されてマイクロアレイを形成していてもよい。この場合、例えば、被験試料からRNAを抽出して蛍光物質で標識し、マイクロアレイとハイブリダイゼーションさせてマイクロアレイ上のプローブに結合したRNAを検出することにより、被験試料中のSPSB2遺伝子の発現を検出することができる。

[0022] 被験試料中のSPSB2遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことは、被験試料が癌患者に由来することを示す。ここで、対照としては、例えば、正常組織由来試料を用いて測定したSPSB2遺伝子の発現量が挙げられる。

[0023] [生体試料の判定方法、被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータを収集する方法、癌患者の予後を予測する方法]

1 実施形態において、本発明は、生体試料中のSPSB2タンパク質又は遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことが、前記生体試料が癌患者由来のものであることを示す、生体試料の判定方法を提供する。

[0024] 実施例において後述するように、発明者らは、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子を癌のマーカーとして用いることができることを明らかにした。また、発明者らは、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子は、膀胱癌のみならず、膵臓癌、肝細胞癌のマーカーとしても有用であることを明らかにした。したがって、本実施形態の方法により、生体試料が癌患者由

来のものであるか否かを判定することができる。本実施形態の判定方法において、癌としては、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌等が挙げられる。

[0025] 上述したように、生体試料としては、被験者由来の血清、血漿、尿、組織等を用いることができる。また、特に、癌が膀胱癌である場合、生体試料としては、尿、組織等が挙げられる。ここで、尿については、尿中エクソソームを抽出して生体試料としてもよい。また、「対照と比較して多い」とは、上述したものと同様に、対照と比較して統計学的に有意に多いことであることが好ましい。また、対照としては、例えば、正常組織由来試料を用いて測定した、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量が挙げられる。

[0026] 本実施形態の判定方法は、生体試料が癌患者由来のものであるか否かを判定するためのデータを収集する方法であるということもできる。データを収集する方法は、医師による医療行為を含まない。

[0027] すなわち、本発明は、生体試料が癌患者由来のものであるか否かを判定するためのデータを収集する方法であって、前記生体試料中のSPSB2タンパク質又は遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、生体試料が癌患者由来のものであるか否かを判定するためのデータである方法を提供するものであるということもできる。生体試料中のSPSB2タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことは、前記生体試料が癌患者由来のものであることを示す。

[0028] あるいは、本発明は、被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータを収集する方法であって、前記被験者由来の生体試料中のSPSB2タンパク質又は遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータである方法を提供するものであるということもできる。被験者由来の生体試料中のSPSB2タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことは、前記被験者が癌に罹患していることを示す。データを収集する方法において、癌としては、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌等が挙げられ

る。

[0029] また、実施例において後述するように、発明者らは、膀胱癌患者及び肝細胞癌患者を解析し、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子が高発現であると、予後が悪い傾向にあることを明らかにした。したがって、本実施形態の判定方法は、予後の予測方法であるということもできる。

[0030] すなわち、本発明は、癌患者の予後を予測する方法であって、前記癌患者由来の生体試料中のSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことが、前記癌患者の予後が不良であることを示す方法を提供するものであるということもできる。癌患者の予後を予測する方法において、癌としては、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌等が挙げられる。

[0031] [抗癌剤のスクリーニング方法]

1 実施形態において、本発明は、被験物質の存在下で培養した癌細胞における、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を測定する工程を含み、前記発現量が、前記被験物質の非存在下におけるSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量と比較して有意に低下したことが、前記被験物質が抗癌剤であることを示す、抗癌剤のスクリーニング方法を提供する。

[0032] 実施例において後述するように、悪性度が高い癌細胞ほど、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量が高い傾向にある。したがって、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を低下させる被験物質は、抗癌剤の候補物質であるということができる。

[0033] 本実施形態のスクリーニング方法において、被験物質としては特に制限されず、例えば、天然化合物ライブラリ、合成化合物ライブラリ、既存薬ライブラリ、代謝物ライブラリ等が挙げられる。

[0034] 本実施形態のスクリーニング方法において、癌細胞は、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌に由来する癌細胞等であってよい。

[0035] また、癌細胞は、濃度を漸増しながらシスプラチンの存在下で培養して得

たシスプラチン耐性株であってもよい。シスプラチン耐性株は、シスプラチン以外の抗癌剤に対しても耐性である傾向があり、悪性度が高い傾向がある。

[0036] [その他の実施形態]

一実施形態において、本発明は、被験者由来の生体試料中のSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を測定する工程であって、前記発現量が対照と比較して高いことが、前記被験者が癌に罹患していることを示す工程と、前記被験者が癌に罹患していた場合に、外科的手術により被験者から癌組織を摘出するか、又は、被験者に対して抗癌剤治療を行う工程と、を含む、癌の治療方法を提供する。

[0037] 本実施形態の治療方法において、癌としては、膀胱癌、膵臓癌、肝細胞癌等が挙げられる。また、生体試料としては、血清、血漿、尿、組織等が挙げられる。特に、癌が膀胱癌である場合、生体試料としては、尿、組織等が挙げられる。ここで、尿については、尿中エクソソームを抽出して生体試料としてもよい。

[0038] なお、実施例において後述するように、生体試料として、尿を利用する場合、癌患者だけでなく、尿路感染症患者においてもSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量が高値となる場合がある。この場合、尿培養試験等により、被験者が尿路感染症であるか否かを診断することができる。すなわち、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量が高値であり、尿路感染症でない被験者は、癌に罹患していると診断することができる。

[0039] 本実施形態の治療方法において、抗癌剤としては、シスプラチン、M-VAC（メソトレキセート、ビンブラスチン、アドリアマイシン、シスプラチンの組み合わせ）、GC（シスプラチンとジェムザールの組み合わせ）、ネクチン-4を標的とする抗体-薬物複合体（ADC）であるエンホルツマブ、ベドチン、パドセブ、キイトルーダ（ペンプロリズマブ）等が挙げられる。

[0040] これらの抗癌剤は、点滴静注されることが一般的である。また、これらの

抗癌剤の投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等により変動するが、当業者であれば適当な投与量を適宜選択することが可能である。

実施例

[0041] 次に実験例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実験例に限定されるものではない。

[0042] [実験例 1]

発明者らは、これまでの研究で、多数の膀胱癌特異的抗体をすでに作製済みである。また、ドットプロット法による血清中の自己抗体を用いた対象タンパク質の同定技術を確立済みであり、膀胱癌に対する多数の自己抗体の同定に成功している。これらの作製済みの膀胱癌特異的抗体及び膀胱癌に対する自己抗体に対して、収集済みの多数例の膀胱癌患者血清・腫瘍組織との反応性を検討した。その結果、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子を新たな癌マーカーの候補として特定した。

[0043] [実験例 2]

公開データベースであるThe Cancer Genome Atlas (TCGA) を用いて、膀胱癌組織におけるSPSB2遺伝子の発現量を検討した。図1は、検討結果を示すグラフである。図1中、縦軸はSPSB2遺伝子の発現量を示す。また、「Normal」は正常組織におけるSPSB2遺伝子の発現量であることを示し、「Primary tumor」は膀胱癌組織におけるSPSB2遺伝子の発現量であることを示す。その結果、膀胱癌組織において、SPSB2遺伝子の発現量が有意に増加していることが明らかとなった。

[0044] [実験例 3]

膀胱全摘標本から作製した組織切片を、抗SPSB2抗体で免疫染色した。膀胱全摘標本としては、1990年から2015年までに北里大学病院で膀胱全摘術を施行された126例の標本を対象とした。免疫染色には、Bond-MAX自動免疫染色装置（ライカ社）を使用した。

[0045] 組織切片における腫瘍細胞の抗SPSB2抗体による核染色の強度を周囲

細胞の抗SPSB2抗体による核染色の強度と比較し、以下の評価基準にしたがって3段階に評価した。評価基準0～1をSPSB2タンパク質低発現群に分類し、評価基準2をSPSB2タンパク質高発現群に分類して以下の解析を行った。

[0046] (評価基準)

0 : 低発現

1 : 同等

2 : 高発現

[0047] 図2(a)～(c)は代表的な免疫染色の結果を示す写真である。図2(a)は正常尿路上皮組織の免疫染色の結果を示す写真である。また、図2(b)は、SPSB2タンパク質低発現群と分類された膀胱癌組織の免疫染色の結果を示す写真である。また、図2(c)は、SPSB2タンパク質高発現群と分類された膀胱癌組織の免疫染色の結果を示す写真である。

[0048] [実験例4]

実験例3の結果に基づいて、SPSB2タンパク質の発現と臨床病理学的因子の関連性を解析した。下記表1に解析結果を示す。表1中、「p値」はフィッシャーの正確確率検定により算出されたp値を示す。 $p < 0.05$ を有意差ありと判断した。太字は有意差があることを示す。その結果、SPSB2タンパク質の発現は、性別、深達度(pTステージ)、異型度、脈管浸潤と相関があることが明らかとなった。

[0049]

[表1]

	患者の数 (%)	SPSB2タンパク質の発現		
		低発現群	高発現群	p値
合計 (%)	126	67 (53. 2)	59 (46. 8)	
年齢				
≤65	66 (52. 4)	37 (56. 1)	29 (43. 9)	
>65	60 (47. 6)	30 (50. 0)	30 (50. 0)	0. 592
性別				
男性	101 (80. 2)	59 (58. 4)	42 (41. 6)	
女性	25 (19. 8)	8 (32. 0)	17 (68. 0)	0. 025
pTステージ				
≤pT1	26 (20. 6)	21 (80. 8)	5 (19. 2)	
≥pT2	100 (79. 4)	46 (46. 0)	54 (54. 0)	0. 002
異型度				
グレード1及び2	37 (29. 6)	26 (70. 3)	11 (29. 7)	
グレード3	88 (70. 4)	41 (46. 6)	47 (53. 4)	0. 019
上皮内癌				
なし	108 (85. 7)	57 (52. 8)	51 (47. 2)	
あり	18 (14. 3)	10 (55. 6)	8 (44. 4)	>0. 99
脈管浸潤				
なし	42 (37. 2)	31 (73. 8)	11 (26. 2)	
あり	71 (62. 8)	31 (43. 7)	40 (56. 3)	0. 003
リンパ節転移				
N0	93 (77. 5)	53 (57. 0)	40 (43. 0)	
N1又はN2	27 (22. 5)	12 (44. 4)	15 (55. 6)	0. 279

[0050] 下記表2に、膀胱癌マーカーであることが報告されている、S100A8タンパク質、S100A9タンパク質、Uroplakin IIIタンパク質、HNRNPA3タンパク質の発現とSPSB2タンパク質の発現との相関を検討した結果を示す。表2中、「p値」はフィッシャーの正確確率検定により算出されたp値を示す。p<0. 05を有意差ありと判断した。太字は有意差があることを示す。

[0051] その結果、SPSB2タンパク質の発現は、S100A8タンパク質、S100A9タンパク質、Uroplakin IIIタンパク質、HNRNPA3タンパク質の発現とそれぞれ相関があることが明らかとなった。

[0052]

[表2]

	患者の数 (%)	SPSB2タンパク質の発現		
		低発現群	高発現群	p値
	126	67 (53. 2)	59 (46. 8)	
S100A8の発現				
正常	49 (62. 0)	30 (61. 2)	19 (38. 8)	
異常	30 (38. 0)	10 (33. 3)	20 (66. 7)	0. 021
S100A9の発現				
正常	54 (68. 4)	32 (59. 3)	22 (40. 7)	
異常	25 (31. 6)	8 (32. 0)	17 (68. 0)	0. 031
Uroplakin IIIの発現				
なし	51 (64. 6)	23 (45. 1)	28 (54. 9)	
あり	28 (35. 4)	20 (71. 4)	8 (28. 6)	0. 034
HNRNPA3の発現				
低発現	85 (69. 7)	54 (63. 5)	31 (36. 5)	
高発現	37 (30. 3)	11 (29. 7)	26 (70. 3)	0. 001

[0053] [実験例 5]

実験例 3 の結果に基づいて、SPSB 2 タンパク質の発現と予後との関連を解析した。図 3 は、カプラン・マイヤー法により、癌特異的生存率を解析した結果を示すグラフである。図 3 中、「SPSB 2 low」はSPSB 2 タンパク質低発現群の結果であることを示し、「SPSB 2 high」はSPSB 2 タンパク質高発現群の結果であることを示す。また、「Number at risk」は各時点における生存者の数を示す。その結果、SPSB 2 タンパク質高発現群は、膀胱癌による死亡のリスクが有意に高いことが明らかとなった。

[0054] 図 4 は、実験例 3 の結果に基づいて、カプラン・マイヤー法により、無増悪生存率を解析した結果を示すグラフである。図 4 中、「SPSB 2 low」はSPSB 2 タンパク質低発現群の結果であることを示し、「SPSB 2 high」はSPSB 2 タンパク質高発現群の結果であることを示す。また、「Number at risk」は各時点における無増悪生存者の数を示す。その結果、SPSB 2 タンパク質高発現群は、膀胱癌再発までの期間が有意に短いことが明らかとなった。

[0055] 下記表3に、癌特異的生存率について、C o x 比例ハザードモデルに基づく単変量解析及び多変量解析を行った結果を示す。また、下記表4に、無増悪生存率について、C o x 比例ハザードモデルに基づく単変量解析及び多変量解析を行った結果を示す。表3及び4中、「HR」はハザード比を示し、「95%CI」は95%信頼区間を示す。p<0.05を有意差ありと判断した。太字は有意差があることを示す。

[0056] その結果、SPSB2タンパク質の発現は、リンパ節転移と共に、癌特異的生存率及び無増悪生存率の独立した因子であることが明らかとなった。

[0057] [表3]

	癌特異的生存率					
	単変量解析			多変量解析		
	HR	95%CI	p値	HR	95%CI	p値
SPSB2の発現	2.47	1.40-4.37	0.002	2.26	1.15-4.44	0.018
病理学的ステージ	2.01	0.98-4.13	0.057	1.42	0.50-4.06	0.514
リンパ節転移	3.03	1.69-5.45	<0.001	2.76	1.38-5.52	0.004
脈管浸潤	2.43	1.23-4.80	0.010	1.08	0.47-2.47	0.86
異型度	1.65	0.87-3.15	0.128	1.13	0.51-2.49	0.772
上皮内癌	0.43	0.15-1.18	0.101	0.43	0.13-1.44	0.172

[0058] [表4]

	無増悪生存率					
	単変量解析			多変量解析		
	HR	95%CI	p値	HR	95%CI	p値
SPSB2の発現	2.58	1.54-4.33	<0.001	2.10	1.14-3.86	0.017
病理学的ステージ	2.24	1.14-4.41	0.019	1.58	0.61-4.08	0.348
リンパ節転移	2.86	1.67-4.89	<0.001	2.29	1.21-4.34	0.011
脈管浸潤	2.52	1.35-4.71	0.004	1.32	0.62-2.78	0.472
異型度	1.47	0.83-2.60	0.182	1.05	0.51-2.16	0.897
上皮内癌	0.64	0.29-1.41	0.273	0.87	0.36-2.12	0.766

[0059] [実験例6]

膀胱癌以外の癌種におけるSPSB2タンパク質の発現を検討した。図5(a)～(c)は、膵臓癌、肝細胞癌、卵巣癌の各組織切片を抗SPSB2抗体で免疫染色した代表的な結果を示す写真である。図5(a)は膵臓癌の

組織切片の結果であり、図5（b）は肝細胞癌の組織切片の結果であり、図5（c）は卵巣癌の組織切片の結果であり、図5（d）は膵臓の正常組織の組織切片の結果である。

[0060] その結果、SPSB2タンパク質は、膵臓癌で強発現が認められ、肝細胞癌、卵巣癌で中程度の発現が認められることが明らかとなった。一方で、SPSB2タンパク質は、腎癌、前立腺癌、食道癌、胃癌、大腸癌、乳癌、肺癌では、弱発現又は無発現であった。

[0061] [実験例7]

公開データベースであるThe Cancer Genome Atlas（TCGA）を用いて、肝細胞癌組織におけるSPSB2遺伝子の発現量を検討した。図6は、検討結果を示すグラフである。図6中、縦軸はSPSB2遺伝子の発現量を示す。また、「Normal」は正常組織におけるSPSB2遺伝子の発現量であることを示し、「Primary tumor」は肝細胞癌組織におけるSPSB2遺伝子の発現量であることを示す。

[0062] その結果、肝細胞癌組織において、SPSB2遺伝子の発現量が有意に増加していることが明らかとなった。

[0063] 図7は、TCGAサンプルにおける肝細胞癌でのSPSB2遺伝子の発現量と予後との関連を示すグラフである。図7中、「High expression」はSPSB2タンパク質高発現群の結果であることを示し、「Low/Medium-expression」はSPSB2タンパク質低発現～中発現群の結果であることを示す。その結果、肝細胞癌のSPSB2遺伝子高発現群は有意に予後が不良であることが明らかとなった。

[0064] [実験例8]

健常人及び膀胱癌患者由来の血清中エクソソーム及び尿中エクソソームにおける、SPSB2タンパク質の存在量を、ウエスタンブロッティングにより検討した。

[0065] まず、血清試料及び尿試料から、Total Exosome Isolation Reagent（サーモフィッシャーサイエンティフィック社

）を用いてエクソソームを抽出した。

[0066] 続いて、抽出したエクソソームを用いて、SPSB2タンパク質を検出した。また、エクソソームマーカーの1種であるCD9のウエスタンブロッティングにより、エクソソームを抽出できたことを確認した。なお、SPSB2タンパク質の分子量は約26kDaであり、CD9の分子量は約24kDaである。

[0067] 図8は、血清中エクソソームについてのウエスタンブロッティングの結果を示す写真である。図8中、「C」は健常人由来のエクソソームであることを示し、「T」は膀胱癌患者由来のエクソソームであることを示す。

[0068] その結果、CD9が検出できたことから、エクソソームが抽出できていることが確認された。また、健常人及び膀胱癌患者のいずれにおいても、血清中エクソソーム中にはSPSB2タンパク質の存在が認められないことが明らかとなった。

[0069] 図9は、尿中エクソソームについてのウエスタンブロッティングの結果を示す写真である。図9中、「C」は健常人由来のエクソソームであることを示し、「T」は膀胱癌患者由来のエクソソームであることを示す。

[0070] その結果、CD9が検出できたことから、エクソソームが抽出できていることが確認された。また、健常人由来の血清中エクソソーム中にはSPSB2タンパク質の存在が認められなかったのに対し、膀胱癌患者由来の尿中エクソソーム中にはSPSB2タンパク質の存在が検出された。

[0071] [実験例9]

健常人、尿路結石患者、尿路感染症患者及び膀胱癌患者由来の尿における、SPSB2タンパク質の存在量を、ELISA（酵素結合免疫吸着測定法）により定量し、検討した。

[0072] 膀胱癌患者としては、2009年から2015年までに北里大学病院において経尿道的膀胱腫瘍切除術直前に尿採取を行った91例を対象とした。下記表5に、膀胱癌患者の背景を示す。表5中、「NMIBC」は筋層非浸潤性膀胱癌を示し、「MIBC」は筋層浸潤膀胱癌を示す。全ての尿試料の尿

比重を1.002に補正し、ELISAによりSPSB2タンパク質の存在量を測定した。

[0073] [表5]

	患者の数 (%)
合計 (%)	91
SPSB2タンパク質の発現 (ng/mL)	
中央値	221.39
範囲	0.14~3468.40
年齢	
中央値	75
範囲	43~90
性別	
男性	67 (65.9)
女性	24 (26.4)
pTステージ	
NMIBC	60 (65.9)
MIBC	31 (34.1)
病理学的グレード	
グレード1及び2	46 (50.5)
グレード3	44 (48.4)
不明	1 (1.1)
尿細胞診	
陰性	39 (42.9)
陽性	49 (53.8)
不明	3 (3.3)

[0074] 図10は、各群の尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。また、図10には、マン・ホイットニーのU検定による解析結果も示す。図10中、「BC」は膀胱癌患者の結果であることを示し、「Healthy」は健常人の結果であることを示し、「Stone」は尿路結石患者の結果であることを示し、「UTI」は尿路感染症患者の結果であることを示す。

[0075] その結果、膀胱癌患者の尿中SPSB2タンパク質の存在量は、健常者及び尿路結石患者よりは高値であったが、尿路感染症患者よりは低い結果となった。なお、尿路感染症は尿培養試験等により診断可能である。

[0076] 図11は、筋層非浸潤性膀胱癌患者及び筋層浸潤膀胱癌患者の尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。また、図11には、マン・ホイットニーのU検定による解析結果も示す。図11中、「NMIBC」は筋層非浸潤性膀胱癌を示し、「MIBC」は筋層浸潤膀胱癌を示す。

[0077] その結果、膀胱癌患者の尿中SBSP2タンパク質の存在量は、筋層浸潤膀胱癌でより高値を示すことが明らかとなった。

[0078] 図12は、病理学的グレード1及び2の膀胱癌患者及び病理学的グレード3の膀胱癌患者の尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。また、図12には、マン・ホイットニーのU検定による解析結果も示す。

[0079] その結果、病理学的グレード3の膀胱癌患者の尿中SBSP2タンパク質の存在量は、病理学的グレード1及び2の膀胱癌患者よりも高値を示す傾向にあることが明らかとなった。

[0080] 図13は、筋層浸潤膀胱癌患者及び尿路感染症患者の尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値を示すグラフである。また、図13には、マン・ホイットニーのU検定による解析結果も示す。図13中、「MIBC」は筋層浸潤膀胱癌を示し、「UTI」は尿路感染症患者の結果であることを示す。

[0081] その結果、筋層浸潤膀胱癌及び尿路感染症患者の尿中SBSP2タンパク質の存在量には有意差は認められなかった。なお、尿路感染症は尿培養試験等により診断可能である。

[0082] [実験例10]

実験例9の結果に基づいて、SPSB2タンパク質の発現と予後との関連を解析した。図14は、実験例9で測定した、膀胱癌患者及び健常人の尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値に基づいて作成したROC曲線である。その結果、ROC曲線下面積(AUC: area under the curve)は0.7791であることが明らかとなった。

[0083] 図15は、実験例9で測定した、筋層浸潤膀胱癌患者及び健常人の尿試料中のSPSB2タンパク質の定量値に基づいて作成したROC曲線である。

その結果、ROC曲線下面積（AUC）は0.8699であることが明らかとなった。

[0084] 続いて、ROC曲線に基づいて、カットオフ値を162.8 ng/mL（感度58.2%、特異度80.0%）に設定し、尿中SPSB2タンパク質の存在量162.8 ng/mL未満をSPSB2タンパク質低発現群、162.8 ng/mL以上をSPSB2タンパク質高発現群として、生存分析を行った。

[0085] 図16は、カプラン・マイヤー法により、癌特異的生存率を解析した結果を示すグラフである。図16中、「SPSB2 Low」はSPSB2タンパク質低発現群の結果であることを示し、「SPSB2 High」はSPSB2タンパク質高発現群の結果であることを示す。また、「Number at risk」は各時点における生存者の数を示す。その結果、SPSB2タンパク質高発現群は、膀胱癌による死亡のリスクが有意に高いことが明らかとなった。

[0086] 図17は、カプラン・マイヤー法により、無増悪生存率を解析した結果を示すグラフである。図17中、「SPSB2 Low」はSPSB2タンパク質低発現群の結果であることを示し、「SPSB2 High」はSPSB2タンパク質高発現群の結果であることを示す。また、「Number at risk」は各時点における無増悪生存者の数を示す。その結果、SPSB2タンパク質低発現群とSPSB2タンパク質高発現群の間で、膀胱癌再発までの期間に有意な差は認められなかった。

[0087] 下記表6に、癌特異的生存率について、Cox比例ハザードモデルに基づく単変量解析及び多変量解析を行った結果を示す。表6中、「NMIBC」は筋層非浸潤性膀胱癌を示し、「MIBC」は筋層浸潤膀胱癌を示し、「G3」はグレード3を示し、「G1, 2」はグレード1又は2を示し、「HR」はハザード比を示し、「95%CI」は95%信頼区間を示す。p<0.05を有意差ありと判断した。太字は有意差があることを示す。

[0088] その結果、SPSB2タンパク質の発現は、癌の深達度と共に、癌特異的

生存率の予後因子であることが明らかとなった。

[0089] [表6]

		癌特異的生存率					
		単変量解析			多変量解析		
変数	カテゴリー	HR	95%CI	p値	HR	95%CI	p値
SPSB2の発現	High 対 Low	6.23	1.84-21.17	0.003	4.54	1.31-15.77	0.017
病理学的ステージ	MIBC 対 NMIBC	5.83	2.37-14.34	<0.001	4.40	1.65-11.75	0.003
病理学的グレード	G3 対 G1,2	2.58	1.05-6.34	0.039	1.06	0.35-3.18	0.917
尿細胞診	陽性 対 陰性	2.64	1.02-6.86	0.047	1.61	0.47-4.50	0.367

[0090] [実験例 1 1]

ヒト膀胱癌細胞株である T 2 4 及び 5 6 3 7 を、濃度を漸増しながらシスプラチンの存在下で培養し、それぞれシスプラチン耐性株である、T 2 4 CDDPR 及び 5 6 3 7 CDDPR を取得した。T 2 4 CDDPR 及び 5 6 3 7 CDDPR は、T 2 4 及び 5 6 3 7 と比較して、癌の悪性度が高いと考えられる。

[0091] 続いて、T 2 4、T 2 4 CDDPR、5 6 3 7、5 6 3 7 CDDPR の各細胞株のウェスタンブロッティングにより、SPSB2 タンパク質の発現量を測定した。また、対照として、 β -アクチンタンパク質の発現量を測定した。

[0092] 図 1 8 (a) は、ウェスタンブロッティングの結果を示す写真である。また、図 1 8 (b) は、図 1 8 (a) の結果をグラフにしたものである。図 1 8 (b) の縦軸は、 β -アクチンの発現量に対する SPSB2 の発現量を示し、「*」は $p < 0.05$ で有意差があることを示し、「**」は $p < 0.01$ で有意差があることを示す。

[0093] その結果、T 2 4 CDDPR 及び 5 6 3 7 CDDPR は、それぞれ T 2 4 及び 5 6 3 7 よりも SPSB2 の発現量が有意に高いことが明らかとなった。

[0094] この結果は、癌の悪性度が高いほど、癌細胞における SPSB2 の発現量が高いことを示す。

産業上の利用可能性

[0095] 本発明により、新たな癌の診断技術を提供することができる。

請求の範囲

- [請求項1] SPRY domain-containing SOCS box protein 2 (SPSB2) タンパク質に対する特異的結合物質、
- SPSB2 遺伝子の cDNA を増幅可能なプライマーセット、又は
- SPSB2 遺伝子の mRNA に特異的にハイブリダイズするプローブ、
- を含む、癌診断用キット。
- [請求項2] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、請求項 1 に記載の癌診断用キット。
- [請求項3] SPSB2 タンパク質に対する特異的結合物質、
- SPSB2 遺伝子の cDNA を増幅可能なプライマーセット、又は、
- SPSB2 遺伝子の mRNA に特異的にハイブリダイズするプローブ、
- を含む、癌患者の予後判定用キット。
- [請求項4] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、請求項 3 に記載の予後判定用キット。
- [請求項5] 生体試料中の SPSB2 タンパク質又は SPSB2 遺伝子の発現量を測定する工程を含み、
- 測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことが、前記生体試料が癌患者由来のものであることを示す、生体試料の判定方法。
- [請求項6] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、請求項 5 に記載の判定方法。
- [請求項7] 被験者が癌に罹患しているか否かを判定するためのデータを収集する方法であって、前記被験者由来の生体試料中の SPSB2 タンパク質又は SPSB2 遺伝子の発現量を測定する工程を含み、測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量のデータが、前記被験者が癌に罹

患しているか否かを判定するためのデータである、方法（医師による医療行為を除く。）。

[請求項8] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、請求項7に記載の方法。

[請求項9] 癌患者の予後を予測する方法であって、前記癌患者由来の生体試料中のSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を測定する工程を含み、

測定された前記タンパク質又は遺伝子の発現量が、対照と比較して多いことが、前記癌患者の予後が不良であることを示す、方法。

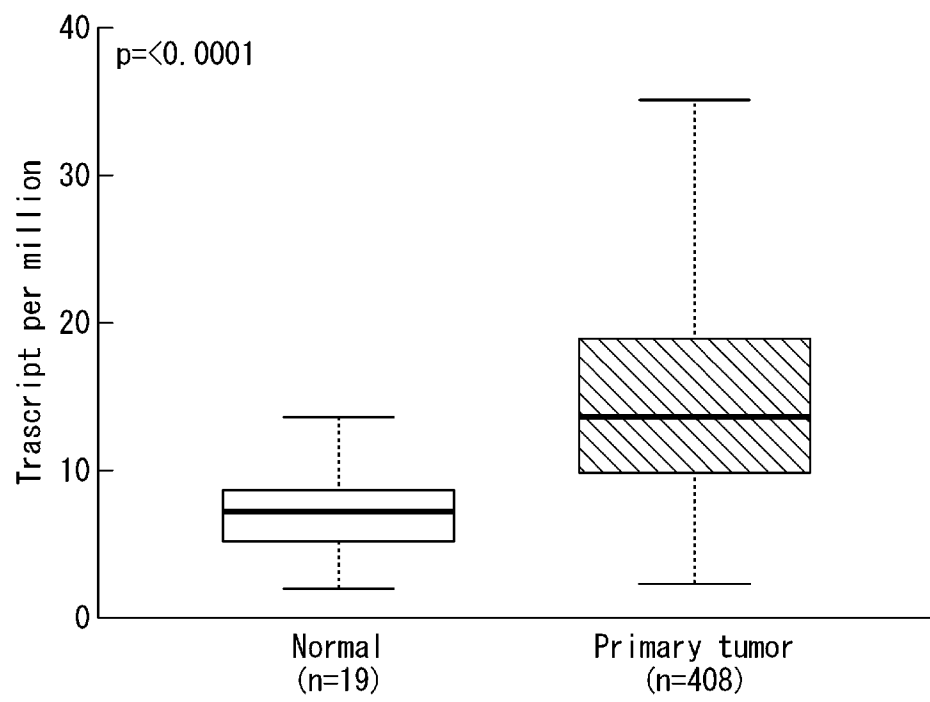
[請求項10] 前記癌が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌である、請求項9に記載の方法。

[請求項11] 被験物質の存在下で培養した癌細胞における、SPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量を測定する工程を含み、

前記発現量が、前記被験物質の非存在下におけるSPSB2タンパク質又はSPSB2遺伝子の発現量と比較して有意に低下したことが、前記被験物質が抗癌剤であることを示す、抗癌剤のスクリーニング方法。

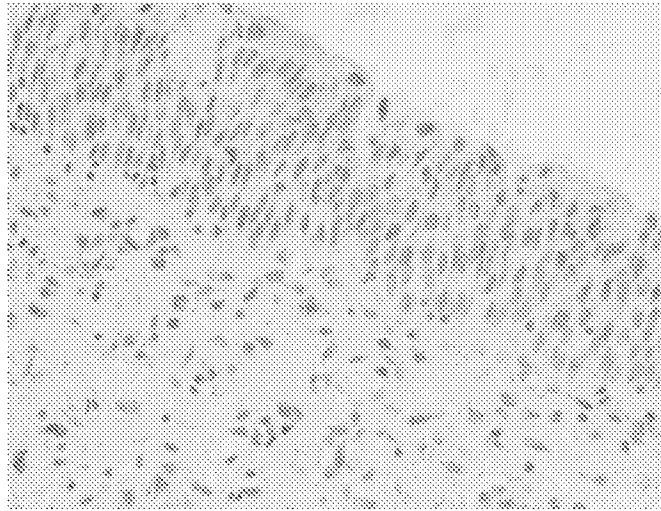
[請求項12] 前記癌細胞が、膀胱癌、膵臓癌又は肝細胞癌に由来する癌細胞である、請求項11に記載の方法。

[図1]

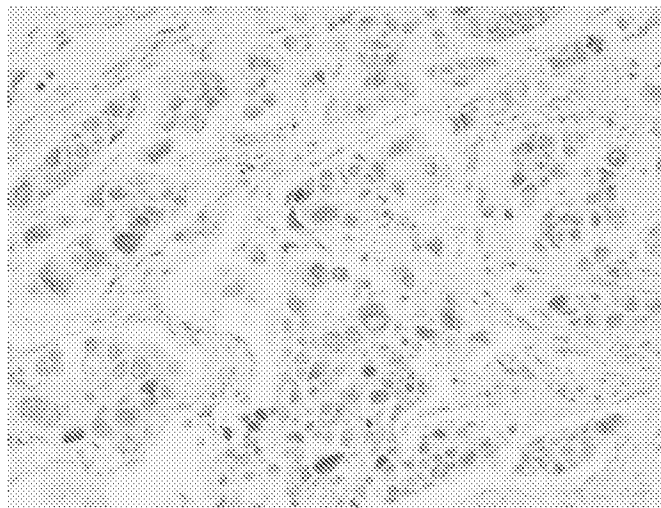


[図2]

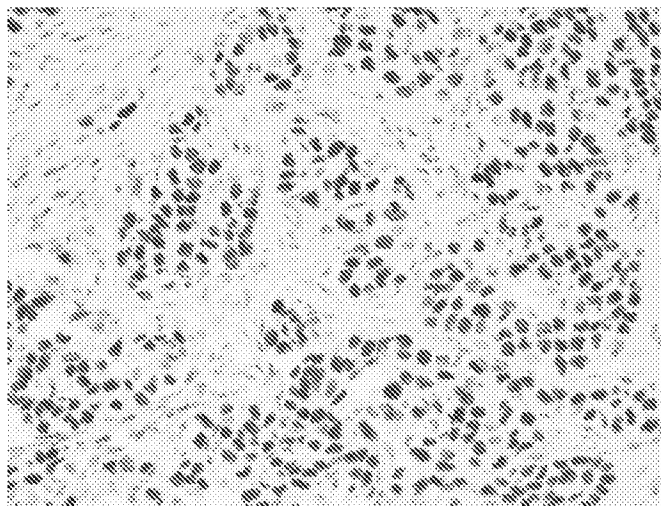
(a)



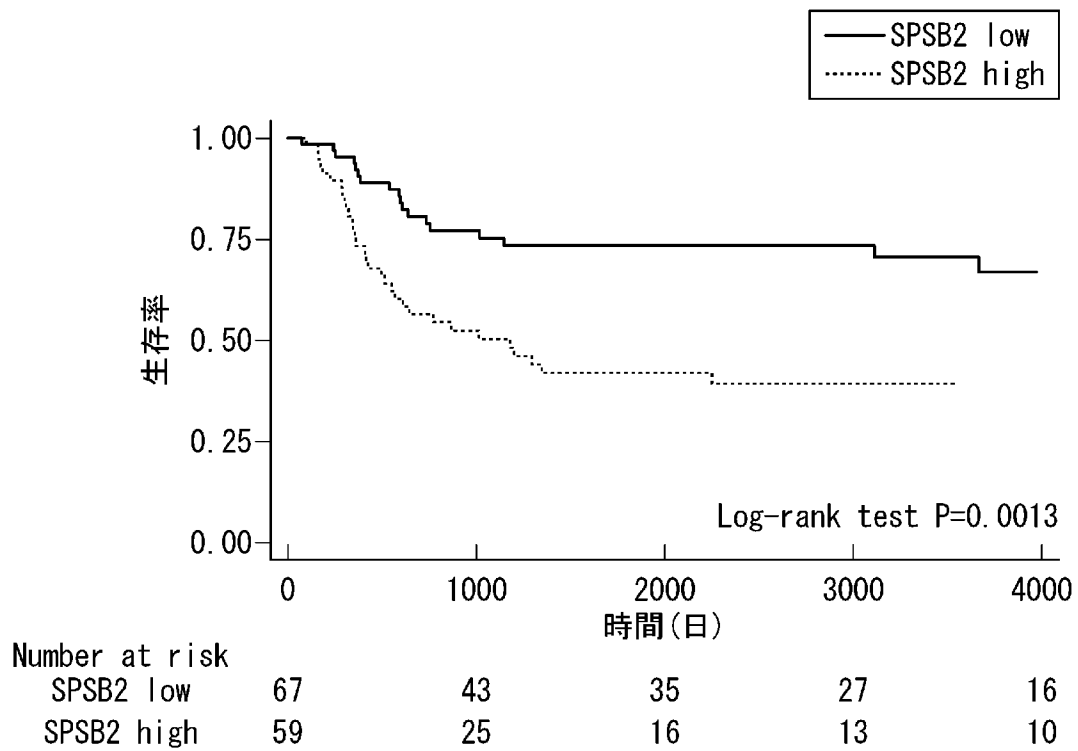
(b)



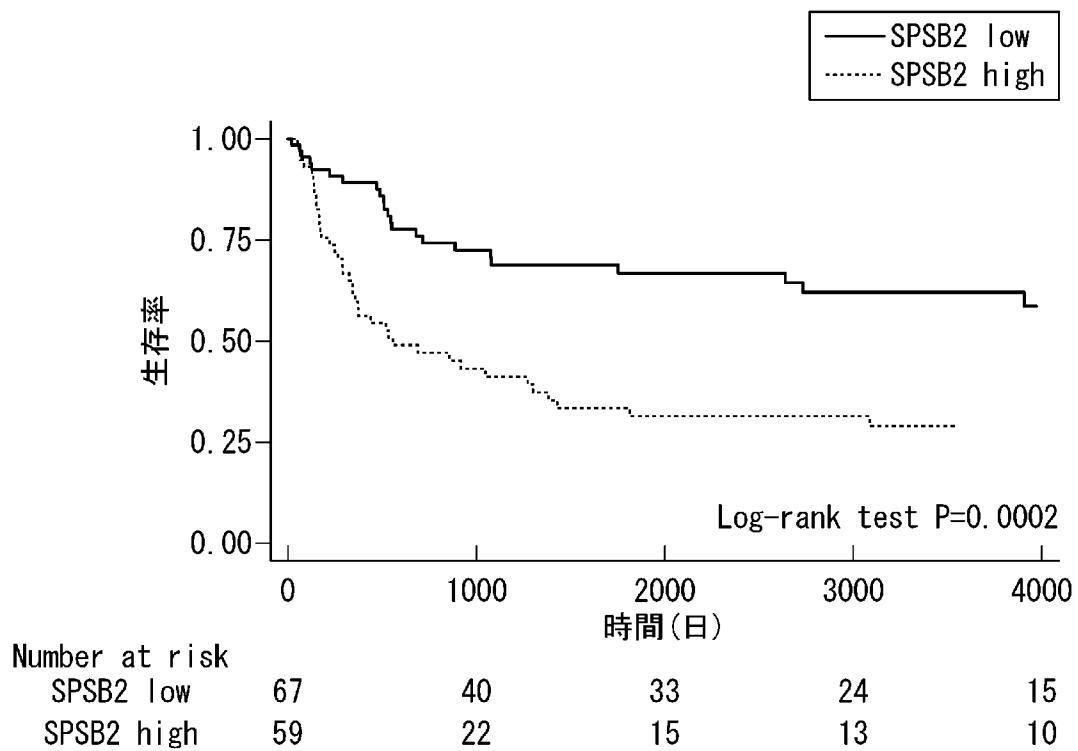
(c)



[図3]

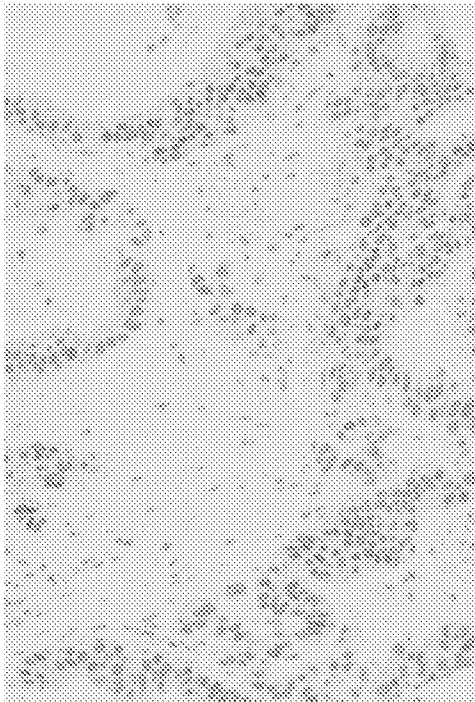


[図4]



[図5]

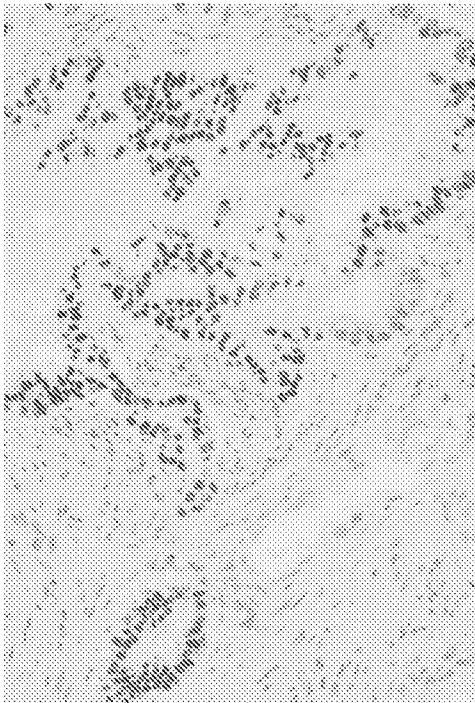
(b) 肝細胞癌



(d) 脾臓正常組織



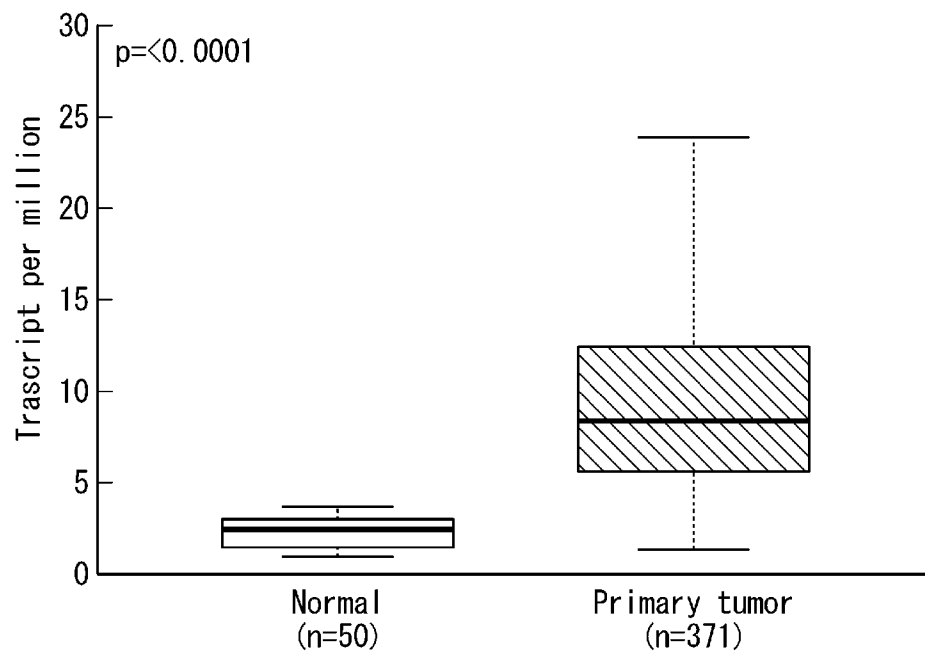
(a) 脾臓癌



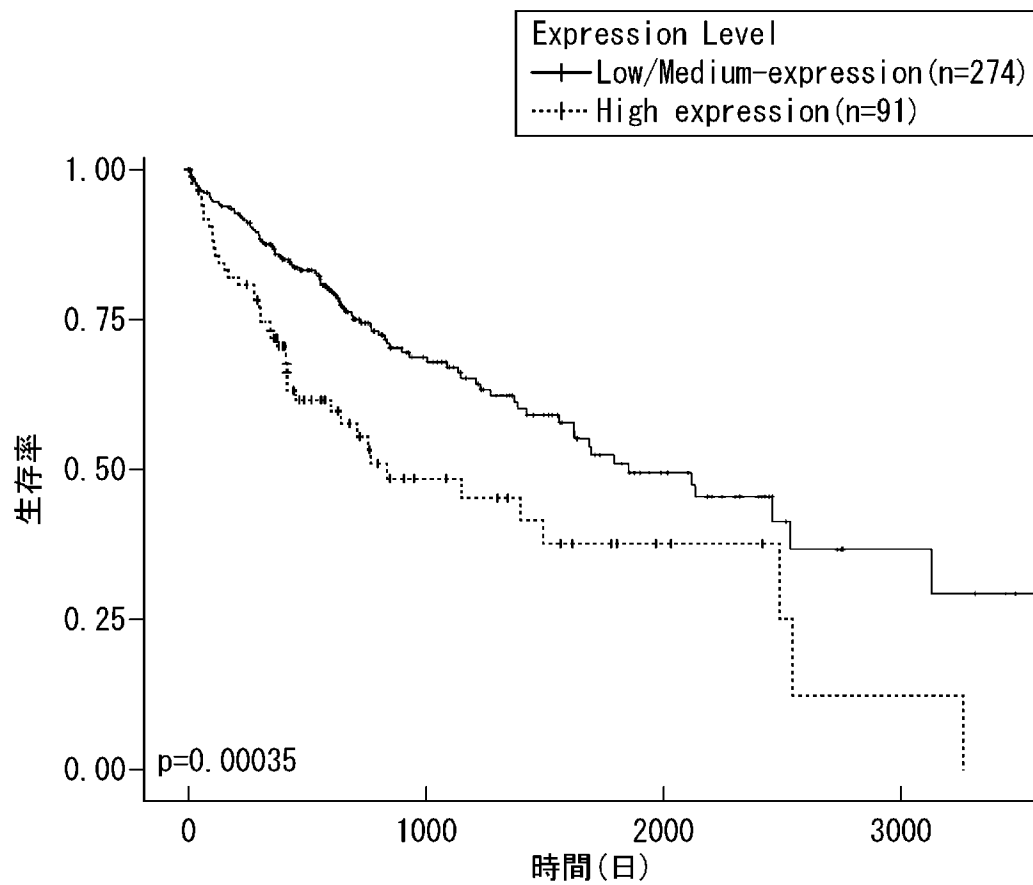
(c) 卵巣癌



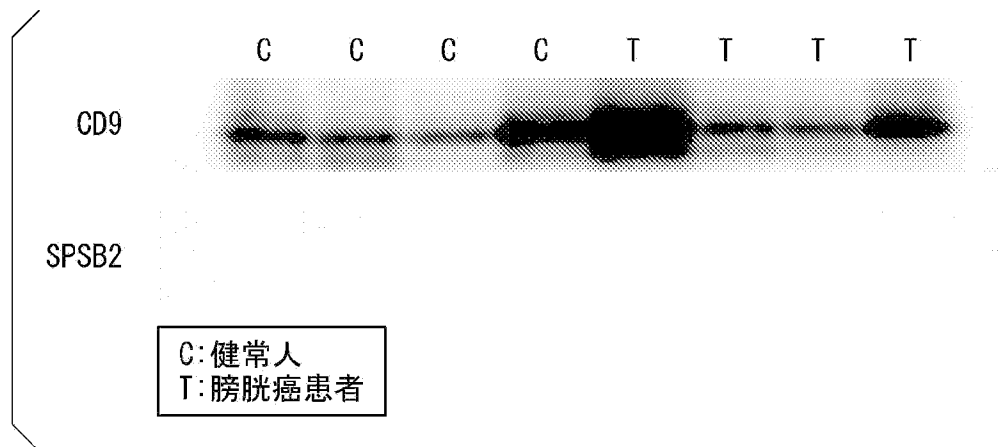
[図6]



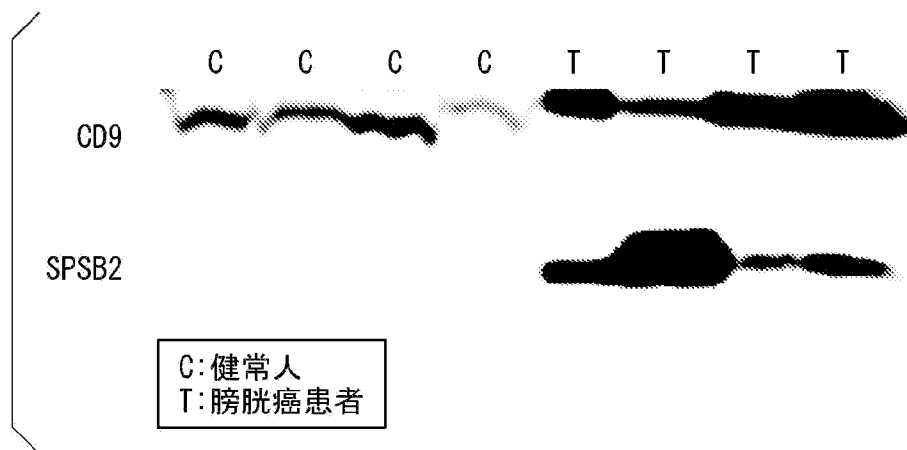
[図7]



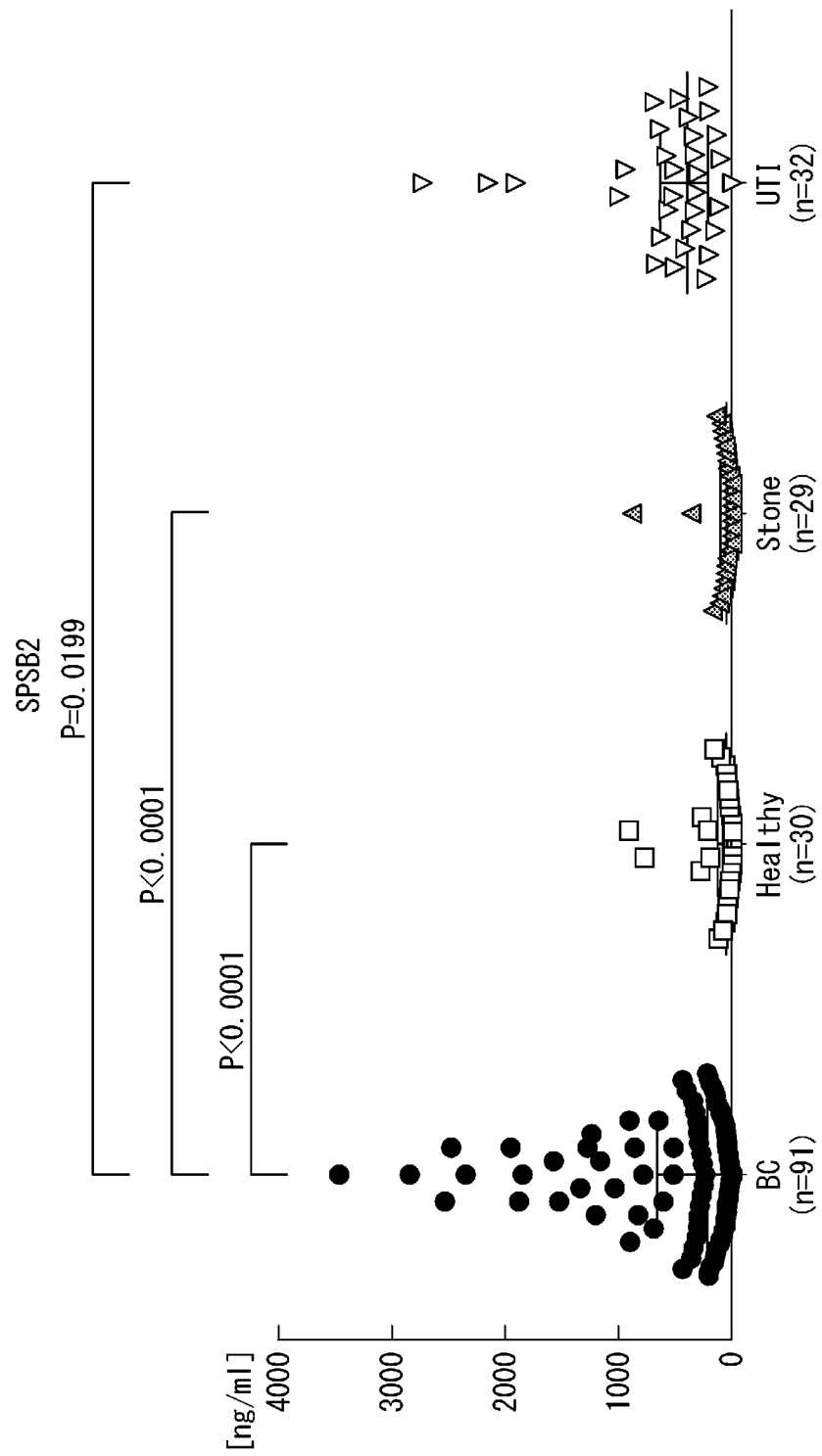
[図8]



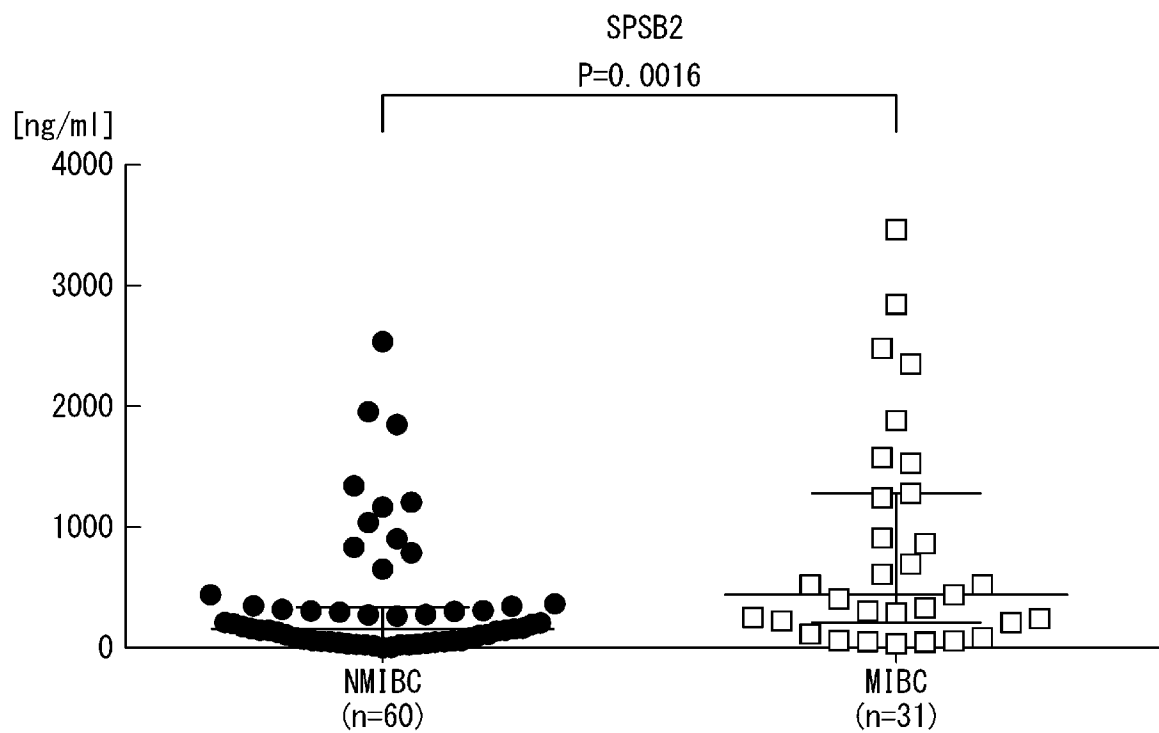
[図9]



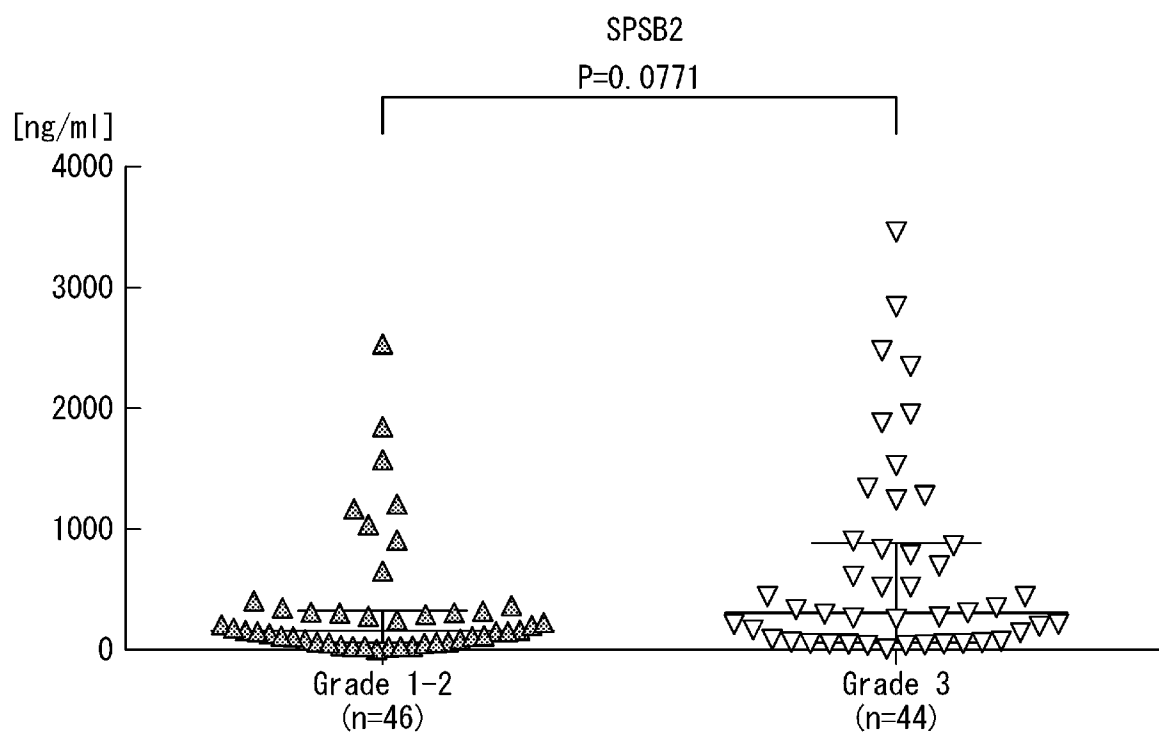
[図10]



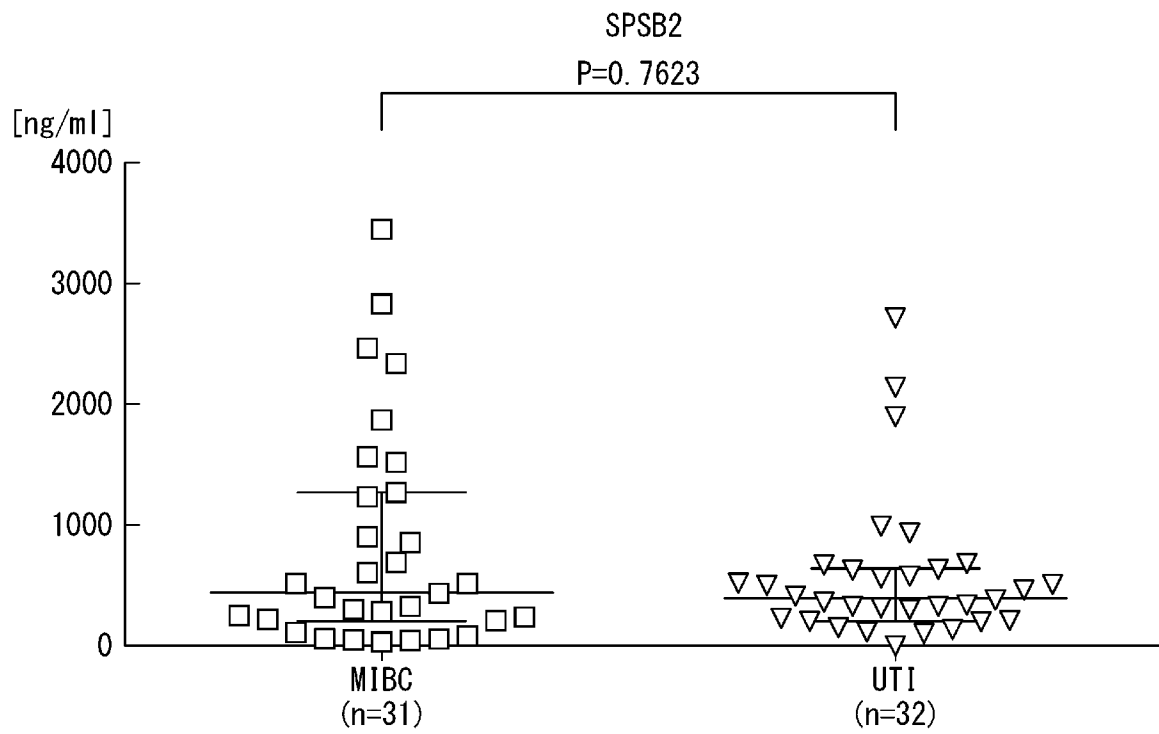
[図11]



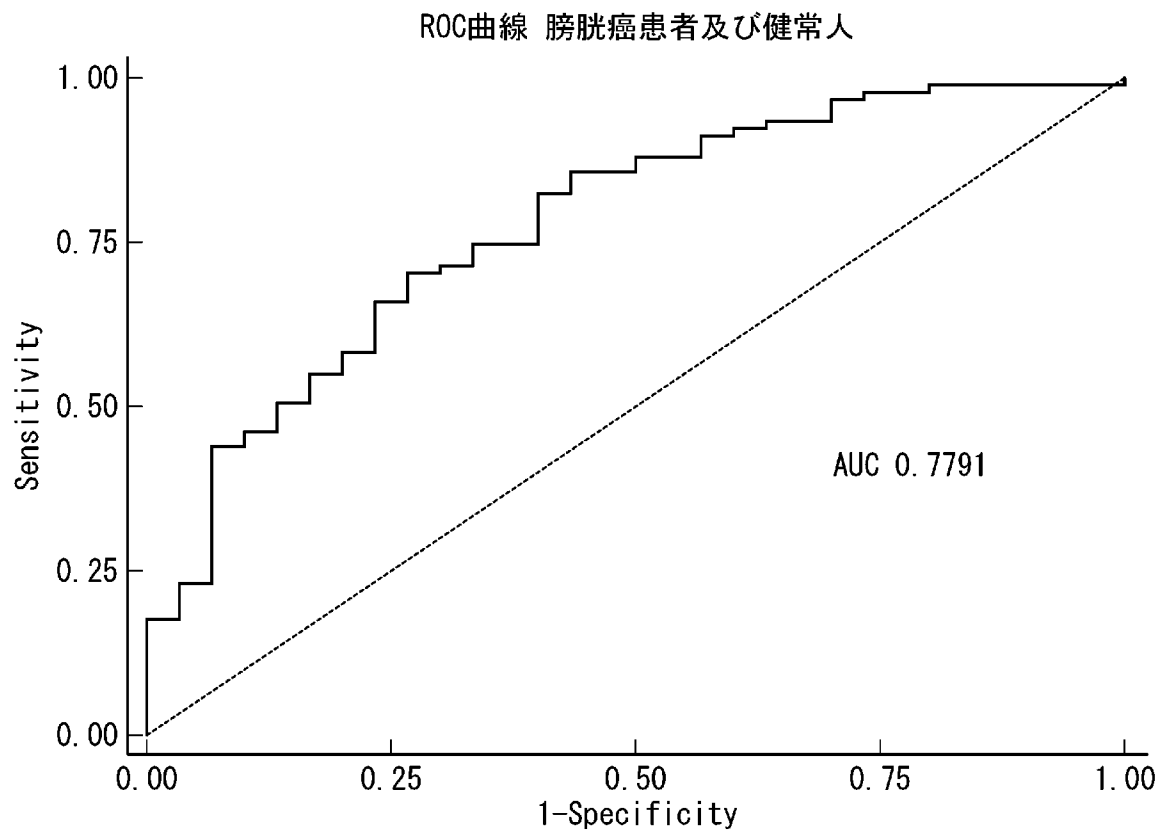
[図12]



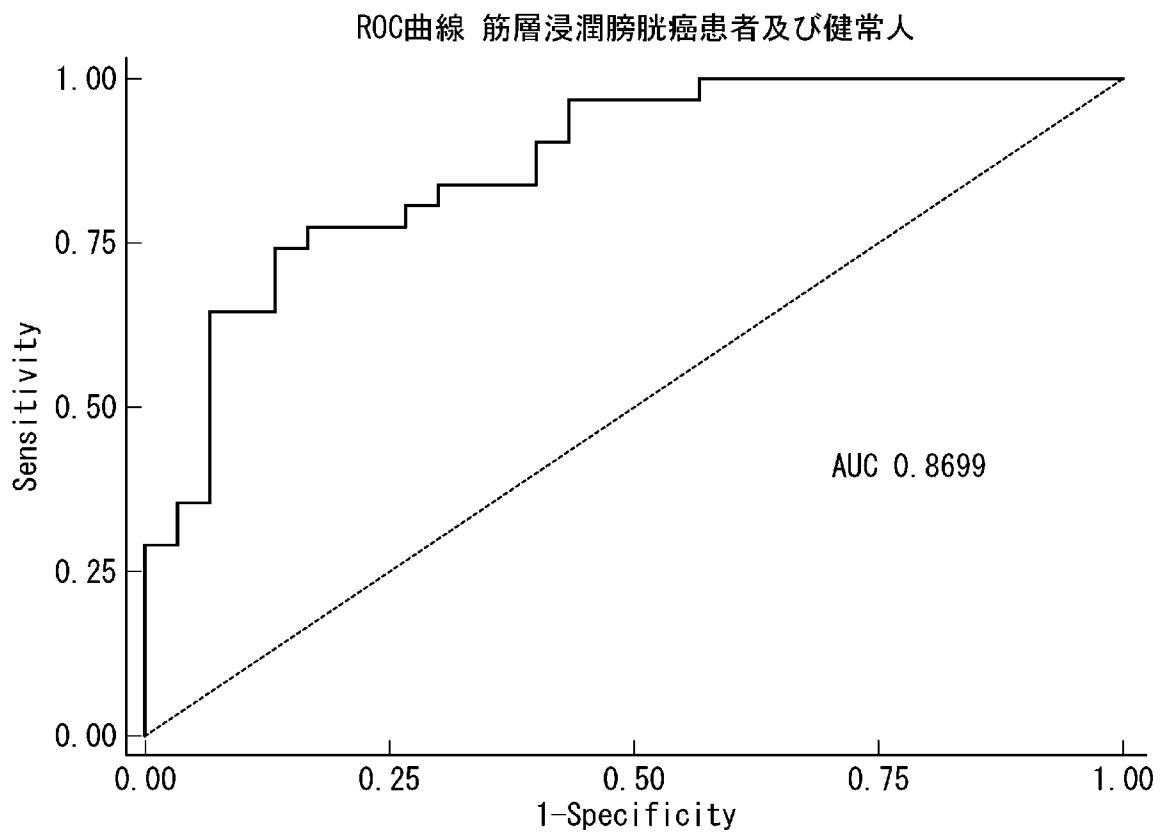
[図13]



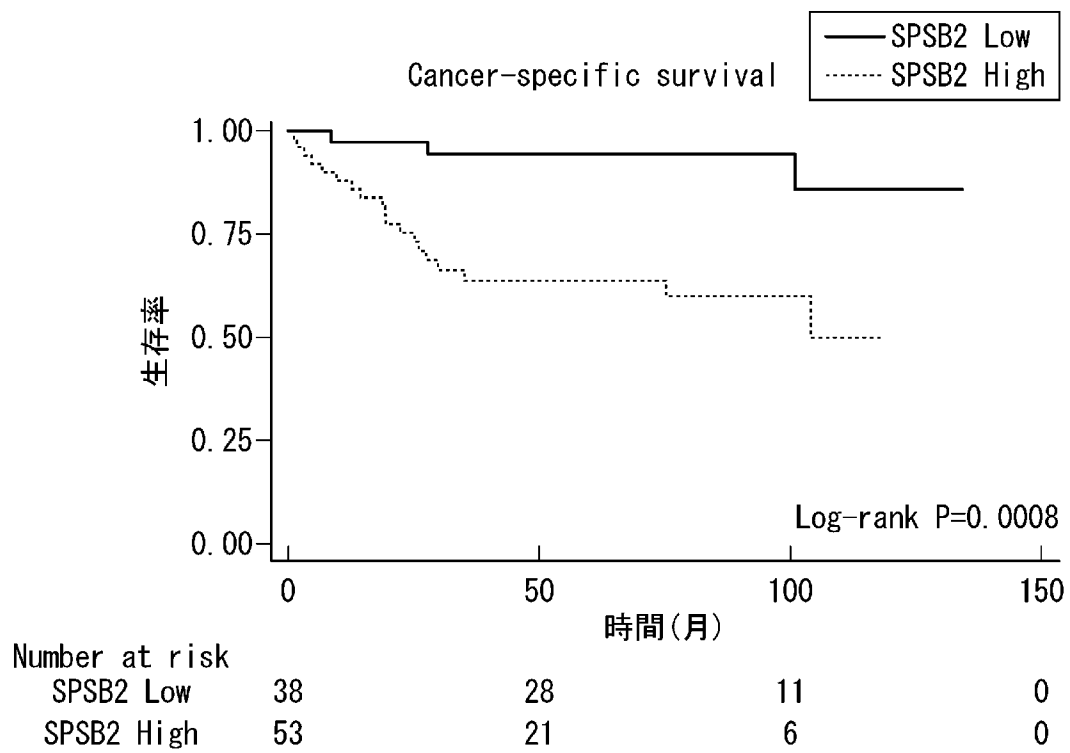
[図14]



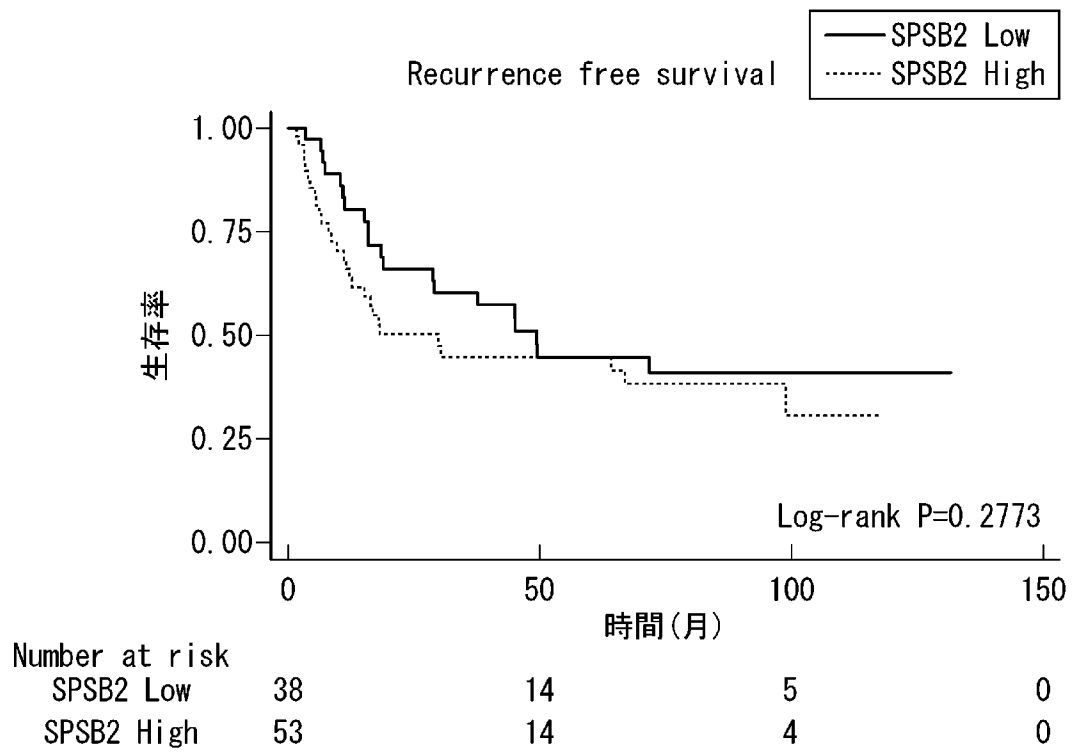
[図15]



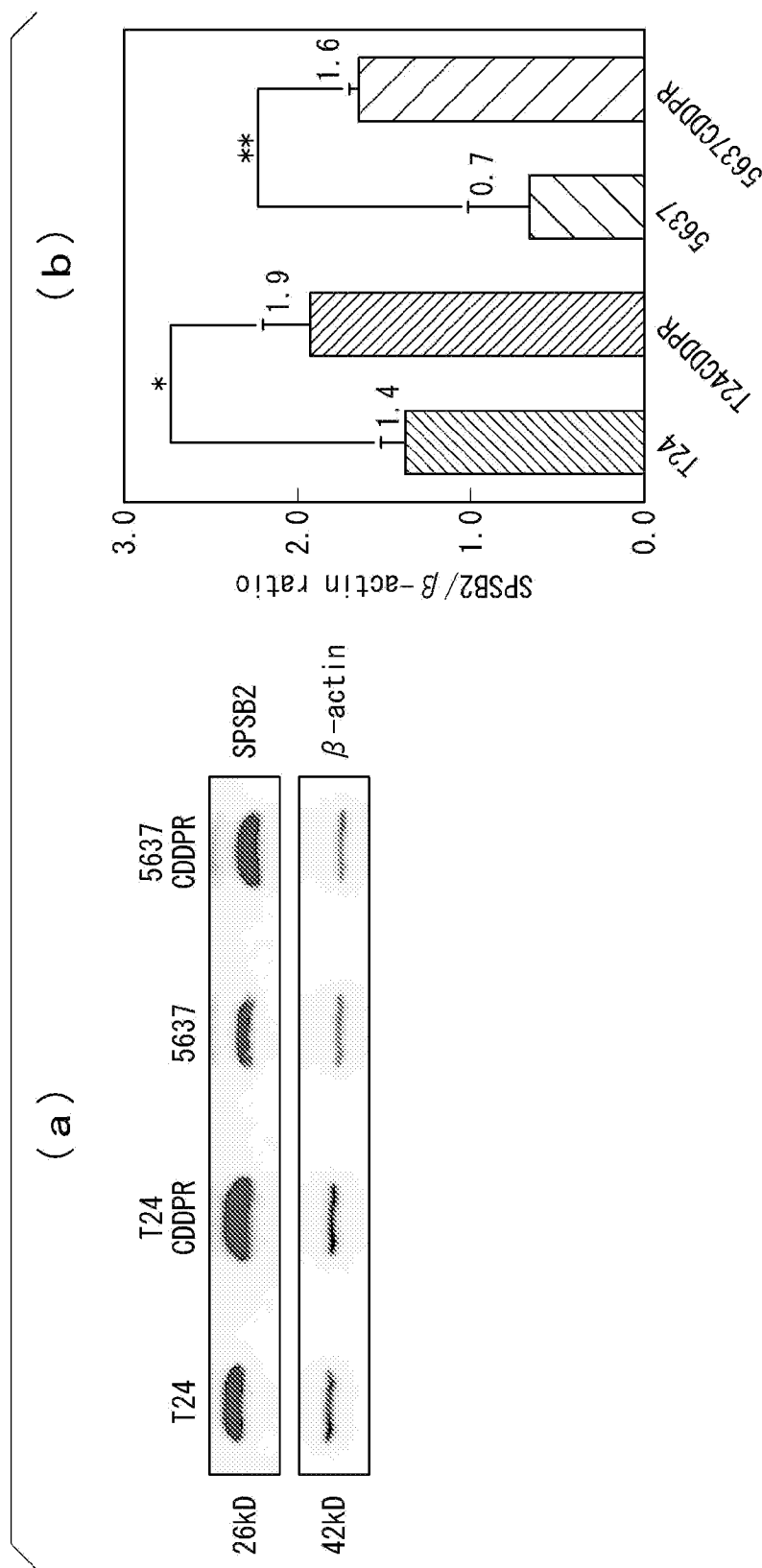
[図16]



[図17]



[図18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/023474

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/574(2006.01)i; **C07K 16/18**(2006.01)i; **C12Q 1/6844**(2018.01)i; **C12Q 1/6886**(2018.01)i; **G01N 33/53**(2006.01)i
 FI: G01N33/574 A; C12Q1/6844 Z; G01N33/574 Z; C07K16/18; G01N33/53 M; C12Q1/6886 Z

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/574; C07K16/18; C12Q1/6844; C12Q1/6886; G01N33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2013/0196876 A1 (HABERMANN, Jens) 01 August 2013 (2013-08-01) claims, paragraphs [0008]-[0039]	1-4, 7-8
A	WO 2009/113674 A1 (SCHOOL JURIDICAL PERSON KITASATO INST.) 17 September 2009 (2009-09-17) entire text, all drawings	1-12
A	JP 2016-211913 A (SCHOOL JURIDICAL PERSON KITASATO INST.) 15 December 2016 (2016-12-15) entire text, all drawings	1-12
A	JP 2018-533724 A (ABBOTT JAPAN CO., LTD.) 15 November 2018 (2018-11-15) entire text, all drawings	1-12
A	JP 2016-526009 A (VIVENTIA BIO INC.) 01 September 2016 (2016-09-01) entire text, all drawings	1-12



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

18 August 2022

Date of mailing of the international search report

30 August 2022

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/023474

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	YAP, B. K. et al. A Potent Cyclic Peptide Targeting SPSB2 Protein as a Potential Anti-infective Agent. Journal of Medicinal Chemistry. 28 July 2014, vol. 57, no. 16, pages 7006-7015 entire text, all drawings	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2022/023474

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US	2013/0196876	A1	01 August 2013	WO 2012/041494 A1	
				EP 2622353 B1	
				DE 102010047069 A1	
WO	2009/113674	A1	17 September 2009	(Family: none)	
JP	2016-211913	A	15 December 2016	(Family: none)	
JP	2018-533724	A	15 November 2018	WO 2017/057778 A2	
				entire text, all drawings	
				US 2017/0089905 A1	
				EP 3657174 A1	
				CN 108603882 A	
JP	2016-526009	A	01 September 2016	US 2016/0060352 A1	
				entire text, all drawings	
				WO 2014/166002 A1	
				CN 105188762 A	
				KR 10-2016-0006697 A	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） G01N 33/574(2006.01)i; C07K 16/18(2006.01)i; C12Q 1/6844(2018.01)i; C12Q 1/6886(2018.01)i; G01N 33/53(2006.01)i FI: G01N33/574 A; C12Q1/6844 Z; G01N33/574 Z; C07K16/18; G01N33/53 M; C12Q1/6886 Z		
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）） G01N33/574; C07K16/18; C12Q1/6844; C12Q1/6886; G01N33/53		
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 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2022年 日本国実用新案登録公報 1996-2022年 日本国登録実用新案公報 1994-2022年		
国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	US 2013/0196876 A1 (HABERMANN JENS) 01.08.2013 (2013-08-01) 請求の範囲, 段落0008-0039	1-4, 7-8
A	WO 2009/113674 A1 (学校法人北里研究所) 17.09.2009 (2009-09-17) 全文, 全図	1-12
A	JP 2016-211913 A (学校法人北里研究所) 15.12.2016 (2016-12-15) 全文, 全図	1-12
A	JP 2018-533724 A (アボットジャパン株式会社) 15.11.2018 (2018-11-15) 全文, 全図	1-12
A	JP 2016-526009 A (ヴィヴェンティア バイオ インコーポレイテッド) 01.09.2016 (2016-09-01) 全文, 全図	1-12
A	YAP, B. K. et al, A Potent Cyclic Peptide Targeting SPSB2 Protein as a Potential Anti-infective Agent, JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, 2014.07.28, Vol.57/No.16, p.7006-7015 全文, 全図	1-12
☐ 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、一般の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抵 触するものではなく、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 18.08.2022	国際調査報告の発送日 30.08.2022	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 西浦 昌哉 2J 5704 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2022/023474

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
US	2013/0196876	A1	01.08.2013	WO	2012/041494	A1	
				EP	2622353	B1	
				DE	102010047069	A1	
WO	2009/113674	A1	17.09.2009	(ファミリーなし)			
JP	2016-211913	A	15.12.2016	(ファミリーなし)			
JP	2018-533724	A	15.11.2018	WO	2017/057778	A2	
				全文, 全図			
				US	2017/0089905	A1	
				EP	3657174	A1	
				CN	108603882	A	
JP	2016-526009	A	01.09.2016	US	2016/0060352	A1	
				全文, 全図			
				WO	2014/166002	A1	
				CN	105188762	A	
				KR	10-2016-0006697	A	