

(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
2011年2月24日(24.02.2011)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2011/021508 A1

(51) 国際特許分類:

C12N 15/09 (2006.01) A61P 1/16 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2010/063262

(22) 国際出願日: 2010年8月5日(05.08.2010)

(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 2009-192615 2009年8月21日(21.08.2009) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団(JAPAN HEALTH SCIENCES FOUNDATION) [JP/JP]; 〒1030001 東京都中央区日本橋小伝馬町1-3-4 Tokyo (JP). 公立大学法人名古屋市立大学(NAGOYA CITY UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒4678601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1 Aichi (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 田中靖人(TANAKA, Yasuhito) [JP/JP]; 〒4678601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1 公立大学法人名古屋市立大学内 Aichi (JP). 溝上雅史(MIZOKAMI, Masashi) [JP/JP]; 〒2728516 千葉県市川市国府台1-7-1 国立国際医療研究センター国府台病院内 Chiba (JP). 徳永勝士(TOKUNAGA, Katsushi) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷7-3-1 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

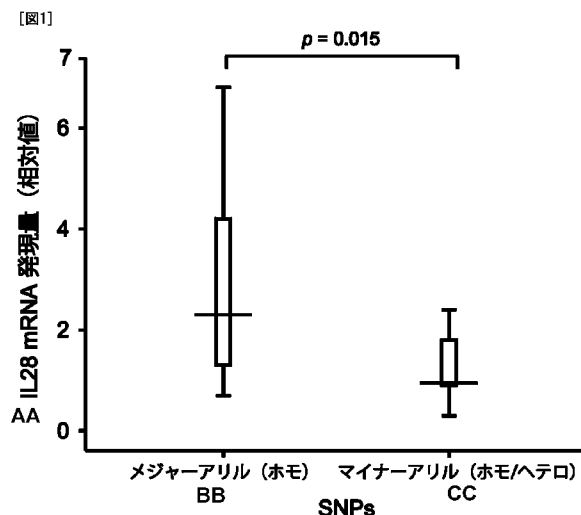
(74) 代理人: 庄司隆, 外(SHOJI, Takashi et al.); 〒1030004 東京都中央区東日本橋3-4-1 6階 Tokyo (JP).

(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, 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, 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,

[続葉有]

(54) Title: MARKER FOR PREDICTING THERAPEUTIC EFFECT ON HEPATITIS C, METHOD FOR PREDICTING THERAPEUTIC EFFECT ON HEPATITIS C, AND PROPHYLAXIS OR THERAPEUTIC AGENT FOR HEPATITIS C

(54) 発明の名称: C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー及びC型肝炎の治療効果の予測を行う方法並びにC型肝炎の予防又は治療剤



AA IL28 mRNA Expression Level (Relative Value)
BB Major Allele (Homo)
CC Minor Allele (Homo/Hetero)

(57) Abstract: Disclosed are a marker for higher accuracy prediction of therapeutic effect, and a higher accuracy prediction method for the therapeutic effect on hepatitis C using the marker in a peg-IFN/RBV combination therapy. Specifically disclosed are a marker for predicting the therapeutic effect on hepatitis C that is characterized by being an oligonucleotide or a polynucleotide present in the human genome and by comprising one or more types selected from among the genetic polymorphism indicated below or those in a state of linkage disequilibrium ($R^2 > 0.8$) with the same, and a prediction method for the therapeutic effect on hepatitis C using the marker. The genetic polymorphism present within a polynucleotide represented by rs12043519, rs1986953, rs13392065, rs16987149, rs16987155, rs2374341, rs2374342, rs7566701, rs12713624, rs10208788, rs10208883, rs9876122, rs2036081, rs13122167, rs4488950, rs13150115, rs7663113, rs1379606, rs913500, rs6458003, rs6906840, rs2224068, rs9390164, rs4512312, rs757844, rs4876271, rs7942675, rs17787293, rs917334, rs6489019, rs6489020, rs6489021, rs11610391, rs9528038, rs341554, rs2325219, rs1353348, rs2076954, rs12907066, rs8075713, rs4795794, rs955155, rs12972991, rs12980275, rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668, rs10853728, rs4803223, rs12980602, rs4803224, and sequence 59.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2011/021508 A1



SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, ZA, ZM, ZW.

BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

- (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, 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 (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, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF,

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))

より精度の高い治療効果予測マーカー、及びそれを用いた、「PEG 化 IFN/RBV 併用療法」における、より精度の高い C 型肝炎治療効果の予測方法等を提供する。ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって、下記に示す遺伝子多型、又はこれらと連鎖不平衡状態 ($R^2 > 0.8$) にあるものから選択される 1 種又は 2 種以上を含むものであることを特徴とする、C 型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー、及びそれを用いた C 型肝炎の治療効果予測方法。 rs12043519, rs1986953, rs13392065, rs16987149, rs16987155, rs2374341, rs2374342, rs7566701, rs12713624, rs10208788, rs10208883, rs9876122, rs2036081, rs13122167, rs4488950, rs13150115, rs7663113, rs1379606, rs913500, rs6458003, rs6906840, rs2224068, rs9390164, rs4512312, rs757844, rs4876271, rs7942675, rs17787293, rs917334, rs6489019, rs6489020, rs6489021, rs11610391, rs9528038, rs341554, rs2325219, rs1353348, rs2076954, rs12907066, rs8075713, rs4795794, rs955155, rs12972991, rs12980275, rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668, rs10853728, rs4803223, rs12980602, rs4803224, 配列番号 59 で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型。

明 細 書

発明の名称：

C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー及びC型肝炎の治療効果の予測を行う方法並びにC型肝炎の予防又は治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、宿主ゲノム全体に亘って網羅的に検証した、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー、及びそれを用いた、より精度の高い、C型肝炎の治療効果の予測を行う方法、並びに当該予測に用いるプローブ、プライマー、もしくはそれらを含むキット、並びにC型肝炎の予防又は治療剤等に関するものである。

[0002] 本出願は、参照によりここに援用されるところの日本出願特願2009-192615号優先権を請求する。

背景技術

[0003] C型肝炎に対する治療効果を予測する方法は、従来、種々検討されてきたが、その多くは、患者が罹患した“ウイルス側因子”をもとに判断するものが主流であった。

具体的には、ウイルス遺伝子型や特定の領域（コア領域や非構造領域(NS5A)）の変異によりインターフェロン(IFN)の治療効果を予測してきた。

[0004] 近年、“患者（宿主）自身の一塩基多型（SNP）”を利用する方法が報告されているが、いずれも「IFN単独療法」における治療効果を予測するものであって、現在主流となっている、「PEG化IFN／RBV併用療法」を基準としたものではなく、そのまま転用することは不可能であった（特許文献1，非特許文献1，2等）。

「IFN単独療法」と「PEG化IFN／RBV併用療法」では、SNPの判断基準となる治癒効率（著効率）自体が全く異なるため、「IFN単独療法」に対して導きだされたSNPを「PEG化IFN／RBV併用療法」を対象とするSNPに転用することはできないからである。

[0005] また、これら従来の方法は、特定の遺伝子を候補として検討したに過ぎず、宿主ゲノム全体に亘る網羅的な検証では無かったため、精度の点で問題が残っていた。

薬物による治療効果には、複数の要因が関連していることが多く、ゲノム全体に亘る網羅的なSNP検証をしないと、正確な治療効果の予測とは言えないからである。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2004-298011号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Matsuyama, N. et al. Hepatol Res 25, 221-225, 2003

非特許文献2：Tsukada, H. et al. Gastroenterology 136, 1796-1805, 2009

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明者等は、上記問題を解決すべく、日本人を中心とするアジア系集団において、「PEG化IFN／RBV併用療法」についてのSNP解析を、宿主ゲノム全体に亘って網羅的に実施（Genome-Wide Association Study：GWAS）した結果、危険率の高い（治療効果が得られ難い）SNPを多数発見するとともに、当該SNPの集中している遺伝子領域を見出し、本発明に到達したものであって、その目的とするところは、SNPやその他の遺伝子多型を利用した、より精度の高いC型肝炎治療効果予測用マーカー、当該予測に用いるプローブ、プライマー、又はキット、当該マーカーを用いたC型肝炎治療効果の予測方法、及びその治療効果予測マーカーの探索用遺伝子、更には本発明のSNPやその他の遺伝子多型の集中する領域がコードするタンパク質を用いたC型肝炎の予防又は治療剤を提供するにある。

課題を解決するための手段

[0009] 上記の目的は、下記第一の発明乃至第十四の発明によって達成される。

[0010] <第一の発明>

ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって、下記に示す遺伝子多型、又はこれらと連鎖不平衡状態 ($R^2 > 0.8$)にあるものから選択される1種又は2種以上を含むものであることを特徴とする、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。

rs12043519, rs1986953, rs13392065, rs16987149, rs16987155, rs2374341, rs2374342, rs7566701, rs12713624, rs10208788, rs10208883, rs9876122, rs2036081, rs13122167, rs4488950, rs13150115, rs7663113, rs1379606, rs913500, rs6458003, rs6906840, rs2224068, rs9390164, rs4512312, rs757844, rs4876271, rs7942675, rs17787293, rs917334, rs6489019, rs6489020, rs6489021, rs11610391, rs9528038, rs341554, rs2325219, rs1353348, rs2076954, rs12907066, rs8075713, rs4795794, rs955155, rs12972991, rs12980275, rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668, rs10853728, rs4803223, rs12980602, rs4803224, 配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型

[0011] <第二の発明>

オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの長さが、40k塩基長以下であることを特徴とする、第一の発明に記載の、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。

[0012] <第三の発明>

C型肝炎の治療効果が、インターフェロン及び／又はPEG化インターフェロンを用いた治療による治療効果であることを特徴とする、第一の発明又は第二の発明に記載の、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。

[0013] <第四の発明>

C型肝炎の治療効果が、PEG化インターフェロン／RBV併用療法による治療効果であることを特徴とする、第一の発明乃至第三の発明のいずれかに記載の、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。

[0014] <第五の発明>

ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって第一の発明に記載の遺伝子多型から選択される 1 種又は 2 種以上を含むものに、ハイブリダイズするオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物。

[0015] <第六の発明>

第五の発明に記載のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物からなるプローブ。

[0016] <第七の発明>

第五の発明に記載のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物からなるプライマー。

[0017] <第八の発明>

第六の発明に記載のプローブ及び／又は第七の発明に記載のプライマーを含むことを特徴とする、C型肝炎の治療効果予測用キット。

[0018] <第九の発明>

下記（１）及び（２）の工程を有することを特徴とする、C型肝炎の治療効果の予測を行う方法。

（１）患者から得たサンプルにより、下記（X）の遺伝子型を決定する工程。

（X）第一の発明に記載の遺伝子多型の少なくとも 1 種

（２）（１）で決定された遺伝子型から、C型肝炎の治療効果の予測を行う工程。

[0019] <第十の発明>

C型肝炎の治療効果が、インターフェロン及び／又はPEG化インターフェロンを用いた治療による治療効果であることを特徴とする、第九の発明に記載の、C型肝炎の治療効果の予測を行う方法。

[0020] <第十一の発明>

C型肝炎の治療効果が、PEG化インターフェロン／RBV併用療法による治療効果であることを特徴とする、第十の発明に記載の、C型肝炎の治療効果の

予測を行う方法。

[0021] <第十二の発明>

下記の（Ａ）又は（Ｂ）の配列を有することを特徴とする、Ｃ型肝炎の治療効果予測マーカーの探索用遺伝子。

（Ａ）配列番号５９で表されるポリヌクレオチドの少なくとも一部を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

（Ｂ）（Ａ）のうち、１乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

[0022] <第十三の発明>

下記（Ａ）乃至（Ｃ）の少なくとも１種を用いることを特徴とする、Ｃ型肝炎治療薬のスクリーニング方法。

（Ａ）配列番号５９で表されるポリヌクレオチドの少なくとも一部を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

（Ｂ）（Ａ）のうち、１乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

（Ｃ）ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであってrs8103142を含むもの

[0023] <第十四の発明>

IL28Bタンパク質及び／又はそれをコードする遺伝子を含むことを特徴とする、Ｃ型肝炎の予防又は治療剤。

発明の効果

[0024] 本発明の「Ｃ型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー」は、宿主ゲノム全体に亘って網羅的に検証した結果に基づくため、Ｃ型肝炎の治療、特にインターフェロン療法、中でも、最新治療である「PEG化IFN／RBV併用療法」の治療効果をより正確に予測できる指標となる。

また、危険度の値が、従来のマーカーより明確で（Ｐ値がかなり小さい）、判断が容易である。

本発明の「プローブ」、 「プライマー」、 それらを用いた「Ｃ型肝炎の治療

療効果予測用キット」，及び「C型肝炎の治療効果の予測を行う方法」によって、C型肝炎の治療，特にインターフェロン療法，中でも、最新治療である「PEG化IFN／RBV併用療法」の治療効果をより正確に予測できる。

本発明の「C型肝炎の治療効果予測マーカーの探索用遺伝子」内を、更に綿密に調査することによって、より迅速に、C型肝炎治療効果予測用の、新たなマーカーを発見し得る。

本発明の「C型肝炎治療薬のスクリーニング方法」によって、インターフェロンやRBV以外の、C型肝炎治療薬のスクリーニングも可能となる。

本発明の予防又は治療剤によって、C型肝炎の効果的な予防又は治療が期待できる。

図面の簡単な説明

[0025] [図1]PEG-IFN/RBV併用療法において治療が無効であった患者及び有効であった患者それぞれの末梢血単核球から抽出したRNA中の、IL28 mRNAレベルを比較した図である。

[図2]配列番号59で表されるポリヌクレオチドの一部であって、「TATAの繰り返し配列（IL28Bの開始コドンを開始とした、-595～-568位）」の位置及びこの配列中にある2つのSNPの位置（メジャーアリル）を示した図である。

[図3]配列番号59で表されるポリヌクレオチド中的一部分であって、2つのSNPの位置（メジャーアリル）の位置を示した図（図2の続き）である。

発明を実施するための形態

[0026] 以下、本発明について詳細に説明する。

尚、本発明において、「遺伝子」，「オリゴヌクレオチド」，及び「ポリヌクレオチド」とは、アデニン（A），グアニン（G）等のプリン塩基や、チミン（T），ウラシル（U），シトシン（C）等のピリミジン塩基やそれらの修飾塩基を構成要素として含むものであり、一本鎖又は二本鎖のDNA，一本鎖又は二本鎖のRNA，一本鎖DNAと一本鎖RNAからなるハイブリッド体，RNAとDNAが結合して一本鎖となったキメラ体のいずれか、又は複数を意味するものである。また、DNAには、cDNAも含まれる。

[0027] [本発明のC型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー]

《マーカーの定義》

本発明の「C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー」は、C型肝炎の治療効果を予測するための指標となるものであって、ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって、下記に示す遺伝子多型、又はこれらと連鎖不平衡状態 ($R^2 > 0.8$)にあるものから選択される1種又は2種以上を含むものである。

[0028] 尚、特定の遺伝子多型と「連鎖不平衡状態 ($R^2 > 0.8$)にあるもの」は、当該特定の遺伝子多型と同様の治療効果予測が可能なものであるが、例えばHaploviewソフトウェア等によって、公知の方法に従って検出できる。

[0029] 具体的には、マーカーとは、C型肝炎の感染者又は感染が疑われる対象者の、血液等のサンプル中に存在している遺伝子又は遺伝子断片であって、後述するプローブ等によって検出され、その遺伝子型 (SNP等の遺伝子多型) を調べることによってC型肝炎の治療効果を予測するための試料となるものである。

[0030] rs12043519, rs1986953, rs13392065, rs16987149, rs16987155, rs2374341, rs2374342, rs7566701, rs12713624, rs10208788, rs10208883, rs9876122, rs2036081, rs13122167, rs4488950, rs13150115, rs7663113, rs1379606, rs913500, rs6458003, rs6906840, rs2224068, rs9390164, rs4512312, rs757844, rs4876271, rs7942675, rs17787293, rs917334, rs6489019, rs6489020, rs6489021, rs11610391, rs9528038, rs341554, rs2325219, rs1353348, rs2076954, rs12907066, rs8075713, rs4795794, rs955155, rs12972991, rs12980275, rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668, rs10853728, rs4803223, rs12980602, rs4803224 : (SNP番号1~55 : 表1, 3参照), 配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型

[0031] 上記のrs番号で示されている遺伝子多型は、SNPを表す。

また、配列番号59とは、ヒトゲノムに存在するIL28Bをコードする遺伝子

及びその周辺を含む配列の一例である。

[0032] 尚、1L28Bは、2本の染色体中、いわゆるアンチセンス鎖に載っている遺伝子である。

一方、表3においては、アリルは、染色体のセンス鎖で表現している。

従って、配列番号59内に存在する4つのSNP (rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219) のメジャーアリルの記載 (図2, 3の枠で囲った部位) は、表3で示したメジャーアリルと、相補的になっている。

[0033] 上記の「遺伝子多型」とは、普通とは違った遺伝子型であって、その頻度が母集団の1%以上であるものを意味し、SNPのみならず、1乃至数個のヌクレオチドの欠失、置換、付加、及び／又は挿入等の変異の他、VNTR (variable number of tandem repeat: 反復配列多型) やSTRP (short tandem repeat polymorphism: マイクロサテライト多型) 等をも含むものであり、反復多型部分の一部が、欠失、置換、付加、及び／又は挿入等の変異を受けているものも含む。

[0034] このような、SNP以外の遺伝子多型をも本発明のマーカーに含めたのは、配列番号59で表されるポリヌクレオチドのプロモーター領域に、数個のヌクレオチドの欠失が存在する場合があります、この欠失は、上述のSNPのうち一部のSNPのリスクアリルとの連鎖が見られ、C型肝炎治療への抵抗性に関連する遺伝子多型である可能性が高いと考えられるからである。

具体的には、配列番号59内に存在する、1L28B遺伝子の、開始コドン上流のプロモーター領域に存在する「TATAの繰り返し配列 (-595~-568位)」 (図2の、枠で囲った300番目~327番目の配列) 中に、4個の欠失が見られる場合があります、しかも、この欠失は、上述のSNPのうちP値のかなり低い、rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219のマイナーアリル (リスクアリル) との連鎖が見られた。

[0035] 尚、「配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型」とは、「配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する各種の遺伝子多型のうち、上記で列挙したSNPを除くもの」であり、他の公知の又は未

知の、SNPその他の遺伝子多型を意味する。

[0036] このような遺伝子多型を含めたのは、上記したSNPの多くが配列番号59のポリヌクレオチド領域内に存在していることから、配列番号59自体がC型肝炎の治療効果に関わっている可能性が高く、この領域内の遺伝子多型であれば、C型肝炎の治療効果予測に関与している可能性が高いと考えられるからである。

[0037] また、「配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型」を含む本発明のマーカーには、当然ながら、配列番号59で表されるポリヌクレオチドのうち、（遺伝子多型を示す部分以外の）1乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドも含まれる。

[0038] 配列番号59で表される遺伝子は、あくまでもヒトゲノムに存在するIL28Bをコードする遺伝子及びその周辺を含む配列の一例（染色体のアンチセンス鎖）であり、ヒトゲノム上では、これらの変異体（欠失、置換、付加、及び／又は挿入）が個人差として存在するからである。

[0039] 尚、上記SNPを表す数値（rs番号）や、配列表に記載の配列は、NCBIのデータベース（Build 35）に掲載されているヒトの遺伝子情報を参酌したものである。

[0040] 上記の中でも、

rs955155, rs12972991, rs12980275, rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668, rs10853728 : (SNP番号42～52 : 表3参照)

の11 SNPsが、治療効果の重要な指標であるいわゆるP値（P value）が小さく（＝「 $-\log P$ 」が大）、C型肝炎の治療効果に差が出やすいと考えられるため、マーカーとしては好ましく、中でも

rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668 : (SNP番号45～51 : 表3参照)

の7 SNPsは、ゲノムワイド関連解析の有意水準(Bonferroni criterion $P <$

8.05×10^{-8} ($0.05/621,220$))を満たし、かつ同じハプロブロック内に存在することより、重要なマーカーとして特に好ましい。

[0041] P値とは、有意確率と同一の意味であり、統計学的検定の有意性を示すための確率値である。

[0042] この他、配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドが、好ましいマーカーの一例として挙げられる。

[0043] 配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドを、好ましいマーカーの一例として選んだのは、上述した通り、SNP番号1～55のSNPのうち多数（SNP番号42～55）が、配列59で表されるポリヌクレオチド、つまりIL28B領域内及びその近傍で見つかったからである。

[0044] SNP等の遺伝子多型は連鎖することが多いため、1つのSNP等の遺伝子多型だけでなく近接し連鎖する複数のSNP等の遺伝子多型を組み合わせ、ハプロタイプを作った上で、検討することが重要である。例えば、このマーカー（遺伝子）内のハプロタイプを表現するタグ（代表）SNP等の遺伝子多型を組み合わせで検査することで、C型肝炎の治療効果の予測が、より一層、効率的かつ確実となる可能性が高いからである。

[0045] これらのオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドを含むC型肝炎の治療効果予測マーカーは、患者サンプルから抽出及び必要に応じて精製して得られるオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドを利用できるが、得られたサンプル中に存在している遺伝子又は遺伝子断片がmRNAである場合には、逆転写酵素でcDNAとして、C型肝炎の治療効果のマーカーとして用いることができる。

[0046] 《マーカーの大きさ》

上記の本発明のマーカーとしてのオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの大きさは、～40k塩基長（又は塩基対（bp））が好ましく、より好ましくは、～16k塩基長（又はbp）、更に好ましくは1500～300

0塩基長（又はbp）である。

[0047] 《マーカの種類》

上記から選択される1種又は2種以上の遺伝子多型を含む、ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドは、遺伝子多型を少なくとも1種含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであれば良く、複数の遺伝子多型が、1つのオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド中に存在していても、複数のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド中に分かれて存在していても良い。

[0048] 《マーカによって治療効果を予測する対象となる治療方法》

本発明のC型肝炎の治療効果を予測するためのマーカを使用して、治療効果を予測する対象となる、具体的な治療方法は、IFN単独療法、PEG化IFN単独療法、PEG化IFN/RBV（2剤併用）療法、PEG化IFN/RBV/その他の薬剤（3剤、あるいは4剤併用）療法等の、IFN又はPEG化IFNを用いた治療等が挙げられる。

[0049] というのも、本発明のマーカは、2剤併用療法の実際の結果から見いだしたものであるが、これらのマーカのいくつかは、IL28B蛋白質の遺伝子領域にあり、このIL28Bは、ISG（interferon-stimulated genes）誘導及びTLR（Toll-Like Receptor）を介した抗ウイルス効果を発揮することが報告されていることから（Ank, N. et al. J Immunol 180, 2474-2485 (2008); Marcellino, T. et al. Gastroenterology 131, 1887-1898 (2006)）、IFNを基軸とする治療全般に影響を与える可能性が高く、IFNを用いた治療方法の効果確認に有用である可能性が非常に高いからである。

[0050] 本発明のマーカに含まれる遺伝子多型の中でも、IL28B領域内及びその周辺に存在する、SNP（SNP番号42～55）やその他の遺伝子多型の場合は特に、その可能性が高い。

[0051] 尚、「PEG化IFN/RBV/その他の薬剤1種又は2種」を用いた3剤併用療法や4剤併用療法は、PEG化IFN/RBV 2剤併用療法が基盤となる治療法であり、その意味では、PEG化IFN/RBV 2剤併用療法の一種である。

[0052] 但し、本発明のマーカが、上述するIL28B関連オリゴ（orポリ）ヌクレオチドその他の、蛋白質をコードする領域を含むものである場合には、IFN以外の、他のC型肝炎治療薬の効果の判定にも使用できる可能性がある。

これらの遺伝子多型のコードする蛋白質自体が、C型肝炎に関係している可能性があるからである。

[0053] [本発明のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物]

本発明の「オリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物」とは、ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって上述の遺伝子多型から選択される1種又は2種以上を含むものに、ハイブリダイズするものである。

「上述の遺伝子多型」とは、本発明のマーカにおいて含まれる各種の遺伝子多型を意味する。

[0054] これらのオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物とは、上記の遺伝子多型を含む領域にハイブリダイズする性質を有することから、C型肝炎の治療効果を予測する際に、患者サンプル中の遺伝子を増幅する際に用いるプライマーや、増幅された遺伝子から、本発明の予測マーカを釣り上げるためのプローブとして使用できる。

[0055] 標識物とは、プローブやプライマー等に結合させることによって、目的とするマーカ遺伝子の検出を容易にするものである。

標識物としては、ビオチン、ジゴキシゲニン、放射性標識、酵素標識、蛍光標識等が挙げられる。

[0056] [本発明のプローブ]

本発明のプローブは、上記本発明のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物からなるものである。

[0057] オリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチドへの標識物の結合は、公知の方法に従って行うことができる。

[0058] 《プローブの定義》

プローブとは、特定のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド（本件の場合、遺伝子多型を含むマーカーに相当するもの）を釣り上げるのに用いられるものであって、検出の標的となるオリゴ（orポリ）ヌクレオチドと、特異的にハイブリダイズするものを言う。

プローブの配列は、標的の塩基配列と、完全に相補対を形成するものが好ましいが、ハイブリダイズする程度に、完全な相補対と相同性があれば良い。

[0059] 《プローブの役割》

本発明のプローブは、C型肝炎の治療効果を予測する際に、マーカーに相当するオリゴ（orポリ）ヌクレオチドを検出するために用いることができる。

[0060] 《プローブの決定方法》

プローブは、検出の標的となるオリゴ（orポリ）ヌクレオチド（マーカー）の塩基配列に合わせて、それとハイブリダイズするように、適宜デザインすることができる。

[0061] 《プローブの大きさ》

プローブの大きさは、検出の標的となるオリゴ（orポリ）ヌクレオチドによって、様々で一概には言えないが、例えば、～1000塩基長、好ましくは5～500塩基長、より好ましくは10～40塩基長程度とすれば良い。

[0062] 尚、通常、プローブとしては、核酸分子の安定性の点等から、DNAが適しているが、リアルタイムPCR法のうち一種のサイクリングプローブ法を用いて標的を増幅する際には、キメラプローブが用いられる。

[0063] 《プローブの例》

具体的なプローブとしては、例えば、検出の標的であるオリゴ（orポリ）ヌクレオチドが、IL28B関連オリゴ（orポリ）ヌクレオチドである場合には、例えば、下記表3に示したようなものが挙げられる。

[0064] [本発明のプライマー]

本発明のプライマーは、上記本発明のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物からなるものである。

[0065] 《プライマーの定義》

プライマーとは、特定のオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド（本件の場合、遺伝子多型を含むマーカーに相当するもの）を増幅する際に用いられるものであって、検出の標的となるオリゴ（orポリ）ヌクレオチドの、アンチセンス鎖及びセンス鎖の3'末端と、それぞれ特異的にハイブリダイズする、センス（フォワード）プライマーとアンチセンス（リバーズ）プライマーを言う。

プライマーの配列は、標的の塩基配列と、完全に相補対を形成するものが好ましいが、標的とハイブリダイズする程度に、完全な相補対と相同性があれば良い。

[0066] 《プライマーの役割》

本発明のプライマーは、C型肝炎の治療効果を予測する際に、サンプル中の、マーカーに相当するオリゴ（orポリ）ヌクレオチドを増幅し、検出を容易にするために用いることができる。

[0067] 《プライマーの決定方法》

プライマーは、検出の標的となるオリゴ（orポリ）ヌクレオチド（マーカー）の末端の塩基配列に合わせて、適宜デザインすることができる。

[0068] 《プライマーの大きさ》

プライマーの大きさは、検出の標的となるオリゴ（orポリ）ヌクレオチドによって、様々で一概には言えないが、例えば、5～100塩基長、好ましくは10～70塩基長、より好ましくは15～50塩基長程度とすれば良い。

[0069] 尚、通常、プライマーとしては、核酸分子の安定性の点等から、DNAが適しているが、等温遺伝子増幅法（ICAN法）にはキメラプライマーが用いられる。

[0070] 《プライマーの例》

具体的なプライマーとしては、例えば、検出の標的であるオリゴ（orポリ）ヌクレオチドが、IL28B関連オリゴ（orポリ）ヌクレオチドである場合には

、例えば、下記表 3 に示したようなものが挙げられる。

[0071] [本発明の C 型肝炎の治療効果予測用キット]

本発明の C 型肝炎の治療効果予測用キットは、上記本発明のプローブ及び／又はプライマーを含むことを特徴とするものである。

[0072] 《キットの役割》

C 型肝炎の治療効果予測用キットは、C 型肝炎の治療効果を予測するのに用いるキットである。

[0073] 《キットの構成要素》

本発明のキットには、プローブ、プライマー、その他の PCR に必要な試薬（耐熱性 DNA ポリメラーゼ）、genotyping に一般に必要とされる、装置・試薬・ソフト・コンピューター等が挙げられ、これらのうち、適宜、必要なものが選択される。

[0074] [本発明の C 型肝炎の治療効果の予測を行う方法]

本発明の C 型肝炎の治療効果の予測を行う方法は、下記（１）及び（２）の工程を有することを特徴とするものである。

[0075] （１）患者から得たサンプルにより、下記（X）の遺伝子型を決定する工程。

（X）上述の遺伝子多型の少なくとも 1 種

（２）（１）で決定された遺伝子型から、C 型肝炎の治療効果の予測を行う工程。

[0076] （X）において、「上述の遺伝子多型」とは、本発明のマーカーにおいて含まれる各種の遺伝子多型を意味する。

[0077] 尚、（X）に含まれる、「配列番号 59 で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型」とは、上述した SNP 以外の、配列番号 59 のポリヌクレオチド内に存在する、他の公知の又は未知の、SNP その他の遺伝子多型（多型部分の欠失、置換、付加、及び／又は挿入を含む）を含むものとする。

[0078] SNP の集中する配列番号 59 のポリヌクレオチド領域内の遺伝子多型であれば、C 型肝炎の治療効果に関与している可能性が高いからである。

[0079] 《患者の定義》

患者とは、C型肝炎に感染している、あるいは感染の疑われる患者を意味し、ヒト以外にもチンパンジーやヒト肝細胞置換キメラマウス等を含むものであるが、本発明のマーカーは、ヒトを対象としたGWASによって得られたものであるため、ヒトが最も好ましい。

[0080] 《患者からのサンプル収集方法》

上記の患者から、例えば下記に挙げたようなサンプルを採取する。

[0081] 《サンプルの定義》

サンプルとは、血液、血清、リンパ液、精液、尿、唾液（含：口内粘膜細胞）、その他の体液、及び生体組織等を意味するが、血液（リンパ球）が最も採取が容易で、侵襲性が低いという点で好ましい。

[0082] 《サンプルからのオリゴ（orポリ）ヌクレオチド又は蛋白質の調製》

上記サンプルから、オリゴ（orポリ）ヌクレオチドを調製する。オリゴ（orポリ）ヌクレオチドとしては、ゲノムDNA、又はmRNAを元に逆転写酵素によって調製したcDNA等が挙げられる。

[0083] 尚、遺伝子多型がアミノ酸置換を伴うものである場合には、上記の核酸をもとに得られた蛋白質を用いて遺伝子型の確認を行うことも可能である。

[0084] オリゴ（orポリ）ヌクレオチドの調製は、公知の方法に従って行えば良いが、オリゴ（orポリ）ヌクレオチドがDNAの場合には、例えば、サンプルである血液中のリンパ球や顆粒球等の血球細胞から、塩析、PCI（フェノールクロロホルム抽出）法、市販のDNA抽出キット等を用いる方法、その他公知の方法によって行うことができる。

[0085] 尚、オリゴ（orポリ）ヌクレオチドがmRNAの場合には、PCI法において溶液を酸性にして水層から抽出する方法、オリゴdTカラム等を利用する方法、市販のRNA抽出キットを用いる方法、その他の公知の方法を使用することができる。

[0086] 《核酸の増幅》

サンプルから得られた核酸の量が少ない場合には、必要に応じて、公知の

方法によって増幅することができる。

[0087] 核酸がDNAの場合には、PCR法等を用いることができる。

核酸がmRNAの場合には、RT-PCR法を用いることができる。

尚、定量PCR法としては、TaqManプローブやSYBR Green (Power SYBR) を用いたリアルタイムPCR法等も使用することができる。

[0088] 《遺伝子型の決定方法》

得られた核酸を用いて、遺伝子多型部分の遺伝子型を決定する。

[0089] 遺伝子型の決定方法は、公知の配列決定法等を用いることができ、例えば、シーケンサー等を用いて直接塩基配列を決定するダイレクトシーケンス法（ジデオキシ法）の他、RELP（制限酵素断片長多型性）を利用するPCR-RELP法、TaqMan法、DigiTag2法、シングルヌクレオチドプライマー伸長法、Sn aPshot法（ABI）、ASP-PCR法、PCR-SSO（sequence specific oligonucleotide）法、PCR-SSP（specific sequence primer）法、PCR-SSCP（single-stranded conformational polymorphism analysis）法、電気泳動等による核酸の長さの確認、及びDNAチップ等の遺伝子多型検査用器具等を用いる方法等が挙げられるが、これらに限られるものではない。

[0090] 《遺伝子型による治療効果の予測方法》

上記で得られた遺伝子型の情報を元に、後述する表1～表3等を参照することで、C型肝炎の治療効果を予測することができる。

[0091] 即ち、患者から得たサンプルにおいて、各遺伝子多型のリスクアレルが検出された場合、治療効果が低い可能性が高く、特に、それが、P値の低い遺伝子多型のリスクアレルであればある程、治療効果が低い確率が高いと考えられる。

[0092] 《本発明の方法によって、治療効果の予測を行う対象となる治療方法》

本発明のC型肝炎の治療効果の予測を行う方法によって治療効果を予測する対象となる、具体的な治療方法は、IFN単独療法、PEG化IFN単独療法、PEG化IFN／RBV（2剤併用）療法、PEG化IFN／RBV／その他の薬剤（3剤、あるいは4剤併用）療法等の、IFN又はPEG化IFNを用いた治療等が挙げられる。

[0093] 但し、本発明のマーカが、上述するIL28B関連オリゴ（orポリ）ヌクレオチドその他の、蛋白質をコードする領域を含むものである場合には、IFN以外の他のC型肝炎治療薬の効果の判定にも使用できる可能性がある。

これらの遺伝子多型のコードする蛋白質自体が、C型肝炎に関係している可能性があるからである。

[0094] [本発明のC型肝炎の治療効果予測マーカの探索用遺伝子]

本発明の「C型肝炎の治療効果予測マーカの探索用遺伝子」は、下記の（A）又は（B）の配列を有することを特徴とするものである。

[0095] （A）配列番号59で表されるポリヌクレオチドの少なくとも一部を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

（B）（A）のうち、1乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

[0096] 配列番号59で表される遺伝子は、L28Bをコードする遺伝子及びその周辺を含む配列（IL28B関連オリゴ（orポリ）ヌクレオチド）である。

[0097] これをマーカ探索用遺伝子に選んだのは、上述のSNPのうち多数が、IL28Bを含む当該領域内で見つかったからである。SNPは連鎖することが多いため、C型肝炎の治療効果を左右する未発見の遺伝子多型がこの領域に集中している可能性が非常に高いと考えられるからである。

（B）の変異体をも含めたのは、患者によっては、IL28Bをコードする遺伝子及びその周辺を含む配列が、遺伝子多型やその他の変異等によって、配列番号59のものと多少異なる場合があるからである。

[0098] 「本発明のC型肝炎治療薬のスクリーニング方法」

本発明のC型肝炎治療薬のスクリーニング方法は、下記（A）乃至（C）の少なくとも1種を用いることを特徴とするものである。

[0099] （A）配列番号59で表されるポリヌクレオチドの少なくとも一部を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

（B）（A）のうち、1乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

(C) ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであってrs8103142を含むもの

[0100] SNPであるrs8103142の存在している遺伝子のコードする蛋白質 (IL28B) 自体が、C型肝炎に関係している可能性があることから、IL28B等のrs8103142を含むオリゴ (orポリ) ヌクレオチドが、他のC型肝炎治療薬の効果の判定にも使用できる可能性があるからである。

[0101] 尚、スクリーニング方法としては、遺伝子や蛋白質の発現量や蛋白質の活性を増減する物質を選択する、各種公知の方法を用いることができ、「in vivo」, 「ex vivo」, 「cell-free-system」等のいずれの実験系で行っても良い。

[0102] 「本発明のC型肝炎の予防又は治療剤」

本発明のC型肝炎の予防又は治療剤は、IL28Bタンパク質及び／又はそれをコードする遺伝子を含むことを特徴とするものである。

[0103] 本発明のSNPマーカーのマイナーアليل (リスクアليل) をホモ又はヘテロで有する患者 (治療効果の低い群) において、メジャーアليلをホモで有する患者 (治療効果の高い群) に比べて、有意に、IL28のmRNA発現レベルが低下していることから、IL28Bの発現量も有意に低下している可能性が高く、また上述した通り、IL28B自体が、C型肝炎に関係している可能性が高いことから、IL28B又はそれをコードする遺伝子の投与が、C型肝炎の治療に役立つ可能性が高いと考えられるからである。

実施例

[0104] [GWASによるC型肝炎の治療効果予測]

90万種以上のSNP解析用プローブが搭載されたAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (以下、SNP Array 6.0) を用いて、C型慢性肝炎に対してPEG-IFN/RBV併用療法が施行された154人のSNPタイピングを行い、薬剤応答性に応じてサブグループ (GWAS Stage: 1stパネル: 無効 (NVR) 群82人 vs. 有効 (VR) 群72人) に分類してゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行った。

[0105] P値が 10^{-5} レベルあるいはそれ以下のものを選択した結果を表 1 に示す。

[0106] 尚、P値は、主にカイ二乗検定によって算出した。

また、無効群とは、治療中ウイルスが一度も消失しなかった例を意味する。

[0107] その結果、特に染色体 1 9 番目に位置する IL28B 近傍の SNPs (rs12980275 and rs8099917) マイナーアリルが、P値が低く、治療無効に寄与することがわかった(表 2)。

($P=1.93 \times 10^{-13}$; OR=20.3 and 3.11×10^{-15} ; OR=30.0, respectively)。

[0108] そこで、別のサンプルセットを用いて、下記の 1 4 の SNP (配列番号 4 2 ~ 5 5) に関して、検証を行った。

[0109] (M) IL28遺伝子近傍のHapMapデータから得られた、上記の 2 つ (rs12980275 and rs8099917) の SNPs を含む 1 1 SNPs
及び

(N) IL28Bを含む領域のシーケンスにより確認された 3 SNPs

[0110] 上記のGWAS Stageの 1 5 4 人と、それとは別に、DigiTag2法を用いたReplication Stageとして 1 7 2 人 (NVR: 5 0 人 vs. VR: 1 2 2 人) の 2nd パネルを用い、それらを併せた 3 1 4 人の、combinedのP値を算出し、表 3 に示した。

合計が 3 1 4 人となっているのは、GWAS Stageの 1 5 4 人中、QCコールレートが 9 5 %未満であった 1 2 人 (NVR: 4 人+VR: 8 人) は、GWAS Stageから除かれ、Replication Stageの 1 7 2 人に含められたためである。

[0111] QCコールレート (QC call rate) とは、解析可能SNPの割合を意味する。

[0112] これらの結果を表 3 に示す。

表 3 に示す複数の SNPs が、 $P = 10^{-5}$ 以下で治療無効に関連していた。

[0113] これらの 1 4 SNPs の検証の結果、rs12980275 (SNP44) , 及びrs8099917 (SNP50) に加えて、新たに、IL28B に位置する 9 SNPs (rs955155 (SNP42) , rs12972991 (SNP43) , rs8105790 (SNP45) , rs11881222 (SNP46) , rs8103142 (SNP47) , rs28416813 (SNP48) , rs480321 (SNP49) , rs7248668 (SNP51) , rs10853728 (SNP52)) が、C型肝炎の治療無効に、特に強く関連すること

が示された。

[0114] 尚、上記の検証では、GWASデータのValidationおよびReplicationを目的として、DigiTag2法を用いてSNPの遺伝子型を決定した。

[0115] DigiTag2法は、解析対象となるSNP毎にSNP特異的なcommon probeと、アリル特異的なquery probeを用いて、一度に複数か所のSNPについて遺伝子型を決定することのできるマルチプレックスSNPタイピング法的一种である (Analytical Biochemistry vol. 364, No. 1, 2007, P. 78-85等)。

[0116] 検出用プローブは、SNP位置と隣接して下流に存在する3'側プローブ (common probe) とSNPを3'末端に含む上流に存在する5'側プローブ (query probe) に分かれている。

[0117] query probeはSNP毎にアリルに対応した2種類を用意する。query probeの3'末端に対応するSNPの遺伝子型に応じて、それと相補的な塩基を持つquery probeだけが、3'側に隣接して存在するcommon probeと結合することができる。

[0118] アンチセンス鎖に設計したquery probeは、NCBIデータベースのFasta sequenceと相同な塩基配列となり、センス鎖に設計した場合には相補的な塩基配列となる。

[0119] 尚、検出のために各query probeの5'末端にはアリルに対応して2種類のquery tagが連結されており、またcommon probeの3'末端にはSNPごとに異なるcommon tagが連結されている。

[0120] common probeに連結されたcommon tagと相補的な塩基配列を持つオリゴDNAを固定したDNAチップを用いて検出を行う。検体の遺伝子型に応じて生成されたquery probeとcommon probeの結合産物は、DNAチップ上のcommon tagと相補的な塩基配列を持つオリゴDNAに捕獲される。アリルに対応するquery tagに対応して2種類の蛍光分子を導入することで、各SNPの遺伝子型が決定される。

[0121]

[表1]

SNP番号	NCBI rs番号	アリル		リスクアリル	P値	染色体上位置		SNP type
		A型	G型			Gene	annotation	
SNP01	rs12043519	A	G	A	8.84×10^{-5}	PRDM16	intron	iSNP
SNP02	rs1986953	A	G	G	7.75×10^{-5}	OSR1	upstream	gSNP
SNP03	rs13392065	A	C	A	5.69×10^{-5}	OSR1	upstream	gSNP
SNP04	rs16987149	C	T	T	5.69×10^{-5}	TTC32	downstream	gSNP
SNP05	rs16987155	A	G	A	6.67×10^{-5}	TTC32	downstream	gSNP
SNP06	rs2374341	C	T	C	3.65×10^{-5}	—	downstream	gSNP
SNP07	rs2374342	A	C	A	3.65×10^{-5}	—	downstream	gSNP
SNP08	rs7566701	C	T	C	6.39×10^{-5}	C1D	downstream	gSNP
SNP09	rs12713624	A	C	C	3.36×10^{-5}	C1D	downstream	gSNP
SNP10	rs10208788	A	G	A	3.36×10^{-5}	C1D	downstream	gSNP
SNP11	rs10208883	C	T	T	5.22×10^{-6}	ETAA1	downstream	gSNP
SNP12	rs9876122	A	G	G	9.71×10^{-5}	ERC2	intron	iSNP
SNP13	rs2036081	A	G	G	8.24×10^{-5}	SNCA	downstream	gSNP
SNP14	rs13122167	A	T	A	7.66×10^{-5}	PCDH10	upstream	gSNP
SNP15	rs4488950	C	T	C	4.94×10^{-5}	PCDH10	upstream	gSNP
SNP16	rs13150115	C	T	C	3.19×10^{-5}	—	downstream	gSNP
SNP17	rs7663113	A	G	A	7.56×10^{-5}	—	downstream	gSNP
SNP18	rs1379606	C	T	C	1.67×10^{-5}	—	upstream	gSNP
SNP19	rs913500	C	G	C	8.41×10^{-5}	—	downstream	gSNP
SNP20	rs6458003	C	T	C	4.19×10^{-5}	FLJ45825	downstream	gSNP
SNP21	rs6906840	A	G	G	4.19×10^{-5}	FLJ45825	downstream	gSNP
SNP22	rs2224068	C	T	T	6.83×10^{-5}	SIM1	downstream	gSNP
SNP23	rs9390164	A	G	G	1.18×10^{-5}	SIM1	downstream	gSNP
SNP24	rs4512312	A	G	G	7.14×10^{-5}	—	upstream	gSNP
SNP25	rs757844	A	G	G	7.14×10^{-5}	STEAP2	upstream	gSNP
SNP26	rs4876271	A	G	A	3.28×10^{-5}	ARHGEF10	intron	iSNP
SNP27	rs7942675	C	T	T	7.66×10^{-5}	C11orf39	downstream	gSNP
SNP28	rs17787293	C	G	G	4.80×10^{-5}	TMEM16B	downstream	gSNP
SNP29	rs917334	C	T	T	7.90×10^{-5}	TMEM132B	downstream	gSNP
SNP30	rs6489019	C	T	C	5.02×10^{-5}	TMEM132B	downstream	gSNP
SNP31	rs6489020	C	T	T	7.90×10^{-5}	TMEM132B	downstream	gSNP
SNP32	rs6489021	G	T	G	4.77×10^{-5}	TMEM132B	downstream	gSNP
SNP33	rs11610391	G	T	G	4.53×10^{-5}	TMEM132B	downstream	gSNP
SNP34	rs9528038	A	C	C	8.27×10^{-5}	DIAPH3	intron	iSNP
SNP35	rs341554	A	G	A	4.11×10^{-5}	DIAPH3	intron	iSNP
SNP36	rs2325219	C	T	T	8.30×10^{-5}	KLHL1	downstream	gSNP
SNP37	rs1353348	A	G	G	4.62×10^{-5}	RYR3	intron	iSNP
SNP38	rs2076954	A	G	A	3.86×10^{-5}	RYR3	intron	iSNP
SNP39	rs12907066	A	G	A	9.26×10^{-5}	RYR3	intron	iSNP
SNP40	rs8075713	G	T	G	1.79×10^{-5}	ACCN1	intron	iSNP
SNP41	rs4795794	A	G	G	1.79×10^{-5}	ACCN1	intron	iSNP

[0122]

[表2]

dbSNP rsID	Nearest gene	MAF ^a (allele)	Allele (1/2)	Stage	null responder (NVR)			responder (VR)			OR (95% CI) ^b	P-value ^c
					11	12	22	11	12	22		
rs12980275	IL28B	0.15 (G)	A/G	GWAS	20	54	4	56	8	0	20.3 (8.3-49.9)	1.93×10^{-13}
				Replication	10	37	3	101	21	0	19.2 (8.3-44.4)	5.46×10^{-15}
				Combined	30	91	7	157	29	0	17.7 (10.0-31.3)	2.84×10^{-27}
					(25.6) (20.0)	(69.2) (74.0)	(5.1) (6.0)	(87.5) (82.8)	(12.5) (17.2)	(0.0) (0.0)		
rs8099917	IL28B	0.12 (G)	T/G	GWAS	19	56	3	58	6	0	30.0 (11.2-80.5)	3.11×10^{-15}
				Replication	11	37	2	108	14	0	27.4 (11.5-65.3)	9.47×10^{-18}
				Combined	30	93	5	166	20	0	27.1 (14.6-50.3)	2.68×10^{-32}
					(24.4) (22.0)	(71.8) (74.0)	(3.8) (4.0)	(90.6) (88.5)	(9.4) (11.5)	(0.0) (0.0)		

[0123] 尚、表2中のaは、Nishida, N. et al. Evaluating the performance of Affymetrix SNP Array 6.0 platform with 400 Japanese individuals. BMC Genomics 9, 431 (2008). から引用した、日本人健常者184人における各SNPのマイナーアレルの頻度 (MAF: Minor Allele Frequency) を意味する。

[0124] 表2中のbは、優性モデルにおける2×2分割表から得たマイナーアレルのOdds ratio (オッズ比) を意味し、ある疾患が起こるリスクを X とするとオッズ比は次のように表される。

$$\text{Odds} = X(1-X)$$

[0125] 表2中のcは、優性効果モデルにおける、Pearsonのカイ二乗検定によって算出したP値を意味する。

[0126]

[表3]

SNP番号	NCBI rs番号	アリル		リスクアليل	P値	染色体上位置		SNP type	プライマー例			プローブ例		
		A型	B型			Gene	annotation		ゼノスプライマー	アンチセンスプライマー	産物長 (bp)	query probe	common probe	プローブ設計鎮
SNP42	rs955155	C	T	T	2.35×10^{-11}	IL28B	downstream	gSNP	配列番号1	配列番号2	937	配列番号17, 18	配列番号45	アンチセンス
SNP43	rs12972991	A	C	C	5.48×10^{-11}	IL28B	downstream	gSNP	配列番号3	配列番号4	954	配列番号19, 20	配列番号46	アンチセンス
SNP44	rs12980275	A	G	G	2.84×10^{-27}	IL28B	downstream	gSNP	配列番号3	配列番号4	954	配列番号21, 22	配列番号47	アンチセンス
SNP45	rs8105790	T	C	C	1.98×10^{-31}	IL28B	downstream	gSNP	配列番号3	配列番号4	954	配列番号23, 24	配列番号48	センス
SNP46	rs11881222	A	G	G	2.84×10^{-31}	IL28B	intron	SNP	配列番号5	配列番号6	970	配列番号25, 26	配列番号49	アンチセンス
SNP47	rs8103142	T	C	C	1.40×10^{-29}	IL28B	exon	nsSNP	配列番号7	配列番号8	1108	配列番号27, 28	配列番号50	センス
SNP48	rs28416813	C	G	G	5.52×10^{-28}	IL28B	intron	SNP	配列番号7	配列番号8	1108	配列番号29, 30	配列番号51	センス
SNP49	rs4803219	C	T	T	2.45×10^{-29}	IL28B	promoter	rSNP	配列番号7	配列番号8	1108	配列番号31, 32	配列番号52	センス
SNP50	rs8099917	T	G	G	2.68×10^{-32}	IL28B	upstream	gSNP	配列番号9	配列番号10	982	配列番号33, 34	配列番号53	センス
SNP51	rs7248668	G	A	A	1.84×10^{-30}	IL28B	upstream	gSNP	配列番号9	配列番号10	982	配列番号35, 36	配列番号54	センス
SNP52	rs10853728	C	G	G	1.23×10^{-16}	IL28B	upstream	gSNP	配列番号11	配列番号12	554	配列番号37, 38	配列番号55	センス
SNP53	rs4803223	A	G	G	5.04×10^{-6}	IL28B	upstream	gSNP	配列番号13	配列番号14	615	配列番号39, 40	配列番号56	アンチセンス
SNP54	rs12980602	T	C	C	8.00×10^{-7}	IL28B	upstream	gSNP	配列番号15	配列番号16	829	配列番号41, 42	配列番号57	センス
SNP55	rs4803224	G	C	C	7.00×10^{-4}	IL28B	upstream	gSNP	配列番号15	配列番号16	829	配列番号43, 44	配列番号58	アンチセンス

[0127] 尚、この表3では、アリルは、染色体のセンス鎖で表現している。

そのため、実際にIL28B遺伝子が載っているアンチセンス鎖で表した配列番号59と、この表3とでは、rs11881222, rs8103142, rs28416813, 及びrs4803219の4 SNPsのメジャーアリルが、相補的になっている（図2, 3の枠で囲った部位参照）。

[0128] 表3中の「SNP type」は、下記を意味する。

gSNP : genomic SNP, 発現遺伝子領域以外の領域にあるSNP

iSNP : intron SNP, インترون領域にあるSNP

nsSNP : nonsynonymous SNP, 翻訳領域内にあり、アミノ酸置換を生じるSNP

rSNP : regulatory SNP, 発現遺伝子のプロモーター領域にあるSNP

[0129] 尚、表3に示す通り、具体的なプライマーやプローブの配列を、配列番号1～58として例示したが、本発明のプライマーやプローブはこれらに限られるものではなく、これらの配列のうち1乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入されたものであって、本発明のマーカースとハイブリダイズ可能なものも、本発明のプライマーやプローブに含まれることは、言うまでも無い。

また、表3のプライマーやプローブは、配列表にも示した通りDNAであるが、同じ塩基を有するRNAや、DNAとRNAのキメラであっても良い。但し、安定性等の点からDNAが好ましい。

[0130] 上述の表1～3等から明らかな通り、本発明のマーカースは、従来のC型肝炎の治療効果予測マーカースに比べても、P値がかなり小さく、予測的中率が高いものであるとすることができる。

その中でも表3で示したSNP番号42～52の11 SNPsは特にP値が小さく、中でもSNP45～51の7 SNPsは格段にP値が小さく、これらのものは、予測的中率が、極めて高いものである。

[0131] [C型肝炎の予防又は治療剤]

SNP番号42～51のマイナーアリル（リスクアリル）を、ホモあるいはヘテロで有する患者10人（主にPEG-IFN/RBV併用療法において治療が無効であった

患者：NVR）及びメジャーアリルをホモで有する患者１０人（主にPEG-IFN/RB V併用療法において治療が有効であった患者：VR）の治療前の末梢血単核球から、それぞれRNAを抽出し、リアルタイムRT-PCR法によりIL28 mRNAレベルを検討した結果を、図１に示す。

[0132] 図１から分かる通り、マイナーアリルをホモあるいはヘテロで有する群（主にNVR）では、メジャーアリルをホモで有する群（主にVR）に比べて、有意にIL28のmRNA発現レベルが低下していたことから、IL28Bの発現量も有意に低下している可能性が高い。

[0133] つまりこのことは、IL28B又はその遺伝子等が、C型肝炎の予防又は治療剤として役立つ可能性が高いことを意味している。

産業上の利用可能性

[0134] 本発明は、より精度の高い、C型肝炎の治療効果の予測を行うことが可能であり、特に「IFN療法」、中でも、昨今の主流となっている「PEG化IFN/RB V併用療法」における、従来にない正確な予測が可能となるため、臨床的な意義は大きい。

配列表フリーテキスト

[0135] （配列番号５９においては、小文字は非翻訳領域、大文字は、翻訳領域のDNAを表す。）

配列番号１：sense primer for SNP42：5' TATAAAGAAAAGGACAGGCCACTTTGGTACGCCAA 3'

配列番号２：antisense primer for SNP42：5' TAACCTCTCTGAGTACCAGCTTCTTCATTTTCAAGGTAGAA 3'

配列番号３：sense primer for SNP43：5' TGGGTTGTCCACCTGGACCCAATGTCATCACAAAA 3'

配列番号４：antisense primer for SNP43：5' GGAGGGAAGGAAGTTCTGACACATGCTACAATAAAAATGAA 3'

配列番号５：sense primer for SNP44, 45, 46：5' GTCAGCCATCCTCCAATCCCATCAGAGTGGTCTAA 3'

配列番号 6 : antisense primer for SNP44, 45, 46 : 5' TCTCAGGTTGCATGACTGGC
GGAAGGGTCAGACACA 3'

配列番号 7 : sense primer for SNP47, 48, 49 : 5' TCAGTTTCTCTTTCCCTCCAGCTG
CTCATCTGGCTCA 3'

配列番号 8 : antisense primer for SNP47, 48, 49 : 5' GAGGGACAATGGAGAAGGAG
AAGGTGAAGGGGCCA 3'

配列番号 9 : sense primer for SNP50, 51 : 5' CCAACAAAGTGAGACTGCATCTCTGGG
GAAAAAAA 3'

配列番号 10 : antisense primer for SNP50, 51 : 5' AGTAACACTTGTCCTTGTA
AAGATTCCATCCATACAAAAA 3'

配列番号 11 : sense primer for SNP52 : 5' CGCAGCTCTGAACAAGATCTTGTCTT
GGAAAAGTCA 3'

配列番号 12 : antisense primer for SNP52 : 5' TGGGTAAAGTAATGAAGCAACAGC
CGCTTTCCTAA 3'

配列番号 13 : sense primer for SNP53 : 5' TGGCCAACGTGGTGAAACCCCATCTGTA
CTAAAAATA 3'

配列番号 14 : antisense primer for SNP53 : 5' TTCTTACAATTGCACGTGAATCCA
CAATTATGTCAAAGTA 3'

配列番号 15 : sense primer for SNP54, 55 : 5' ATATCCTGTTTTACTTACATTGAGT
GTGTGTGCAGATGAA 3'

配列番号 16 : antisense primer for SNP54, 55 : 5' ATACACACACAAAACAGTAGT
TGAGAAAAACATGTCTGTA 3'

配列番号 17 : query probe for SNP42 : 5' ATTTTGTGTATTTTGTCTCTGC 3'

配列番号 18 : query probe for SNP42 : 5' GAATTTTGTGTATTTTGTCTCTGT 3'

配列番号 19 : query probe for SNP43 : 5' ATGCTGTATGATTCCCCCTA 3'

配列番号 20 : query probe for SNP43 : 5' GCTGTATGATTCCCCCTC 3'

配列番号 21 : query probe for SNP44 : 5' GAGAAGTCAAATTCCTAGAAACA 3'

配列番号 22 : query probe for SNP44 : 5' AGAAGTCAAATTCCTAGAAACG 3'

配列番号 2 3 : query probe for SNP45 : 5' CGGAAGATGTAACCACAGAAG 3'
配列番号 2 4 : query probe for SNP45 : 5' CGGAAGATGTAACCACAGAAA 3'
配列番号 2 5 : query probe for SNP46 : 5' AGCCAGTGTGGTCAGGTA 3'
配列番号 2 6 : query probe for SNP46 : 5' CCAGTGTGGTCAGGTG 3'
配列番号 2 7 : query probe for SNP47 : 5' TCTGCTGAAGGACTGCAG 3'
配列番号 2 8 : query probe for SNP47 : 5' TCTGCTGAAGGACTGCAA 3'
配列番号 2 9 : query probe for SNP48 : 5' GTGGGCAGCCTCTG 3'
配列番号 3 0 : query probe for SNP48 : 5' GTGGGCAGCCTCTC 3'
配列番号 3 1 : query probe for SNP49 : 5' CTGCCCTTCTGTCAGG 3'
配列番号 3 2 : query probe for SNP49 : 5' ACTGCCCTTCTGTCAGA 3'
配列番号 3 3 : query probe for SNP50 : 5' GGTTCCAATTTGGGTGAC 3'
配列番号 3 4 : query probe for SNP50 : 5' GGTTCCAATTTGGGTGAA 3'
配列番号 3 5 : query probe for SNP51 : 5' TGTGCCACTACTATGCTCT 3'
配列番号 3 6 : query probe for SNP51 : 5' TGCCACTACTATGCTCC 3'
配列番号 3 7 : query probe for SNP52 : 5' CATCCTCACCAAAGCTTAG 3'
配列番号 3 8 : query probe for SNP52 : 5' CATCCTCACCAAAGCTTAC 3'
配列番号 3 9 : query probe for SNP53 : 5' CCTAAATATGATTTCTAAATCATACA 3
,
配列番号 4 0 : query probe for SNP53 : 5' CCTAAATATGATTTCTAAATCATACG 3
,
配列番号 4 1 : query probe for SNP54 : 5' TGTCTCAGACGAGCTG 3'
配列番号 4 2 : query probe for SNP54 : 5' GTGTCTCAGACGAGCTA 3'
配列番号 4 3 : query probe for SNP55 : 5' AGAATTATCTGGGCATGC 3'
配列番号 4 4 : query probe for SNP55 : 5' AGAATTATCTGGGCATGG 3'
配列番号 4 5 : common probe for SNP42 : 5' TGGGCCCTCAGTGCACAGGAC 3'
配列番号 4 6 : common probe for SNP43 : 5' CATGAGGTGCTGAGAGAAGTCAAATTC
CTAGAAAC 3'
配列番号 4 7 : common probe for SNP44 : 5' GACGTGTCTAAATATTTGCCGGGGTAG

CG 3'

配列番号 48 : common probe for SNP45 : 5' CAGGACATTGGAGTGATGTCAGGAAGG

G 3'

配列番号 49 : common probe for SNP46 : 5' GGAGCAGAGGGAAGGGGTAGCAG 3'

配列番号 50 : common probe for SNP47 : 5' GTGCCGCTCCCGCCTCTTCC 3'

配列番号 51 : common probe for SNP48 : 5' CATTCCCTCAGCTCCCTTTCTCTCTGT
GACACA 3'

配列番号 52 : common probe for SNP49 : 5' GATAAAAGCTGCCCCATGGAGCTCAGG
3'

配列番号 53 : common probe for SNP50 : 5' ATTGCTCACAGAAAGGAAAACAAAAGG
AGGAAC 3'

配列番号 54 : common probe for SNP51 : 5' AGCTTGGGCTACAGACTGAGACCAT 3
,

配列番号 55 : common probe for SNP52 : 5' GCCCACATCTCCAGGCTGCT 3'

配列番号 56 : common probe for SNP53 : 5' GACATATTTCTTGGGAGCTATACATG
CATTATGCA 3'

配列番号 57 : common probe for SNP54 : 5' TCTCTGGCTTTCATATTGTTATATGAA
TATAATATTTATT 3'

配列番号 58 : common probe for SNP55 : 5' TGGTGGGTGCCTGCAGCTCC 3'

配列番号 59 : ヒト第 19 染色体の44425112-44428451位 : 5' attaagaaatattg
gcctctgggcatggtggctcacactgaaatcccagcaatttgggaggcctagacagagagatgacttga
catcaggaatttgagaccagccttgccaacatggtgaaacgccatctctactaaaaatataaaaattag
ctgggaatggtggcacaaatctgtaatctcagctacttgggaggctaaggcaagagaattgcttgaacc
caggaggcggaggttgcagttagccaagattttgcactgcactccagcctgggtgaccgaacaagaccc
tgtctcaaaatatatatatatatatatatatatatgccaggagtgggtggctcaggcctgtaatctca
gcactttaataggctgggtgaggaggatggcttgagcccaggagtttgaggctgcagtgagctgtgatc
atgccattgcactgcagtgcagagtgagaccctgtcttaaacacaacaaaaccagagcaggtggaat
cctcttgggaacataccttctgttaggttaccctgagctotccatcagtttctctttccctccagctgc

tcacatctggctcactagccctgcccctgctctgggctttcccagcctggggctcccctgggtggccggtgtc
ttacctgaggctgtgttttcacttttctacatcagctgggactgcccttctgtcagggataaaagctg
ccccatggagctcaggcaggaattacatcccagacagagctcaaaaactgacagaaagagtcaaagccag
gacacagctctgagatccagaagaggggactgaaaagaacagagactccagacaagacccaaacagaccc
tggttgacagcctcagagtgtttcttctgtctgacaaagaccagagatcaggaATGAAACTAGgtgagtc
ccacatctctgtccgtgctcagctcctgcagccccctgccctcagtgggcagcctctgcattccctcagc
tccctttctctctgtgacacagACATGACCGGGGACTGCATGCCAGTGCTGGTGCTGATGGCCGCAGTG
CTGACCGTGACTGGAGCAGTTCCTGTGCCAGGCTCCGCGGGGCTCTCCCGGATGCAAGGGGCTGCCAC
ATAGCCCAGTTC AAGTCCCTGTCTCCACAGGAGCTGCAGGCCCTTAAGAGGGCCAAAGATGCCTTAgtg
agtctccccctgccctcctgcatggactagcctccaccgcactccaagggtcaccatgctttccac
tcccagcttcccttcaactgggctagcctccaccctccctgcagtgggctatctcatgctcctactgcagg
gactgactcatgttttctgaagaagaggggtcctctaccatcctcccagcagttaacctcccctatcct
gttgtcagccatcctccaatcccatcagagtgggtotaacctccaccctcctgctggggctaacctgtg
cctttgtgtcttagGAAGAGTCGCTTCTGCTGAAGGACTGCAAGTGCCGCTCCCGCCTCTTCCCCAGGA
CCTGGGACCTGAGGCAGCTGCAGgtgagagggggagtcaggccccccctgccctcccagccctgtca
cctggctctgtagtggcccccttcaacttctccttctccattgtccctctctcctctccccacacctgt
accccttccctctgtcctacctgaccacactggctgtgccctctccctgtgcctgtcaccttcaatt
gttctctctatcctcctcccccaacctgttccctcacctccccctcacctgtcttttctcacctct
cctcagGTGAGGGAGCGCCCGTGGCTTTGGAGGCTGAGCTGGCCCTGACGCTGAAGGTTCTGGAGGCC
ACCGCTGACACTGACCCAGCCCTGGGGGATGTCTTGACACAGCCCTTCACACCCTGCACCATATCCTC
TCCCAGCTCCGGGCCTGTgtgagtcgtcagggcccgggcaccaggtctgtgagctctgagcagcgtcc
ttcccctggccaaggccccggctcacacaccgccctcctctgccacagATCCAGCCTCAGCCCACGGC
AGGGCCCAGGACCCGGGGCGCCTCCACCATTGGCTGCACCGGCTCCAGGAGGCCCCAAAAAAGgtgag
tgacccgggaagagaggggactgaggtctggggagccactgggagcccagaacccagacagcccctgacc
catccctcctccctacagGAGTCCCTGGCTGCCTCGAGGCCTCTGTACCTTCAACCTCTTCCGCCT
CCTCACGCGAGACCTGAATTGTGTTGCCAGCGGGGACCTGTGTGTCTGAaccttccgccagtcatgcaa
cctgagatttttatttataaattagccacttggcttaattttattgtcaccagtcgctatttatgtat
gtgtatgtaaatccaactcacctccaggaaaatgtttatttttctactttttgaaatccttgttgaaat

aaacaatgaggaaaagacacccatgacgtgggactgtgtgtgcgttggtgtgtatttcctttgcattgc
tgccataacaaattaccctaaaagtagcatctagaacagcaggttcattgagtctgtgctgtccactgg
ggtccccagggtcacatgtcactatcgagcacctggaatgtaggtggtgcaacctcattttttcagtgag
tgtaaaacataccccagaatttgaagatttactgtggagaaaaaaaaaaaaagtaaacagcttaattat
aatttatatattcattagatgttgaaatgatagcactttggatgtattgggtgaaatgaagcatcttta
aaattaatttagagcctggatgtgattgctcaagcctgtaatcacagcactttgggtggctgagttggg
aggatcacttgagcccagaccagcctgggcaacatagcaagatcctgtctctataaaaaattagagaat
tggctgggtgtggtggcacaagcccataatcccagctactggtggaagctgagatgggaggactgtttg
aggtcaggagttcacgaccagcctgagcaacagcaagatcctgtctcttgctgatcacatctcactgt
agcctcaaactcctgggctcaagtgattctctctctctcctggcaccatcctccaccctctccagcccctcc
ccgaactgggattacaggcttgagtcaccgggtccagcccattctctttccaagaagcccctgaattgt
ataagcaaacatgaggtctcactaaccctggataagcccctacagatgaggaggacaacttggtcagg
gaccctgctgagt 3'

請求の範囲

- [請求項1] ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって、下記に示す遺伝子多型、又はこれらと連鎖不平衡状態 ($R^2 > 0.8$)にあるものから選択される1種又は2種以上を含むものであることを特徴とする、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。
rs12043519, rs1986953, rs13392065, rs16987149, rs16987155, rs2374341, rs2374342, rs7566701, rs12713624, rs10208788, rs10208883, rs9876122, rs2036081, rs13122167, rs4488950, rs13150115, rs7663113, rs1379606, rs913500, rs6458003, rs6906840, rs2224068, rs9390164, rs4512312, rs757844, rs4876271, rs7942675, rs17787293, rs917334, rs6489019, rs6489020, rs6489021, rs11610391, rs9528038, rs341554, rs2325219, rs1353348, rs2076954, rs12907066, rs8075713, rs4795794, rs955155, rs12972991, rs12980275, rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917, rs7248668, rs10853728, rs4803223, rs12980602, rs4803224, 配列番号59で表されるポリヌクレオチド内に存在する遺伝子多型
- [請求項2] オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドの長さが、40k塩基長以下であることを特徴とする、請求項1記載の、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。
- [請求項3] C型肝炎の治療効果が、インターフェロン及び／又はPEG化インターフェロンを用いた治療による治療効果であることを特徴とする、請求項1又は2に記載の、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。
- [請求項4] C型肝炎の治療効果が、PEG化インターフェロン／RBV併用療法による治療効果であることを特徴とする、請求項1乃至3のいずれかに記載の、C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー。
- [請求項5] ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドであって請求項1記載の遺伝子多型から選択される1種又は2種以上を

含むものに、ハイブリダイズするオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物。

[請求項6] 請求項5記載のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物からなるプローブ。

[請求項7] 請求項5記載のオリゴヌクレオチド若しくはポリヌクレオチド、又はその標識物からなるプライマー。

[請求項8] 請求項6記載のプローブ及び／又は請求項7記載のプライマーを含むことを特徴とする、C型肝炎の治療効果予測用キット。

[請求項9] 下記(1)及び(2)の工程を有することを特徴とする、C型肝炎の治療効果の予測を行う方法。

(1) 患者から得たサンプルにより、下記(X)の遺伝子型を決定する工程。

(X) 請求項1記載の遺伝子多型の少なくとも1種

(2) (1)で決定された遺伝子型から、C型肝炎の治療効果の予測を行う工程。

[請求項10] C型肝炎の治療効果が、インターフェロン及び／又はPEG化インターフェロンを用いた治療による治療効果であることを特徴とする、請求項9記載の、C型肝炎の治療効果の予測を行う方法。

[請求項11] C型肝炎の治療効果が、PEG化インターフェロン／RBV併用療法による治療効果であることを特徴とする、請求項10記載の、C型肝炎の治療効果の予測を行う方法。

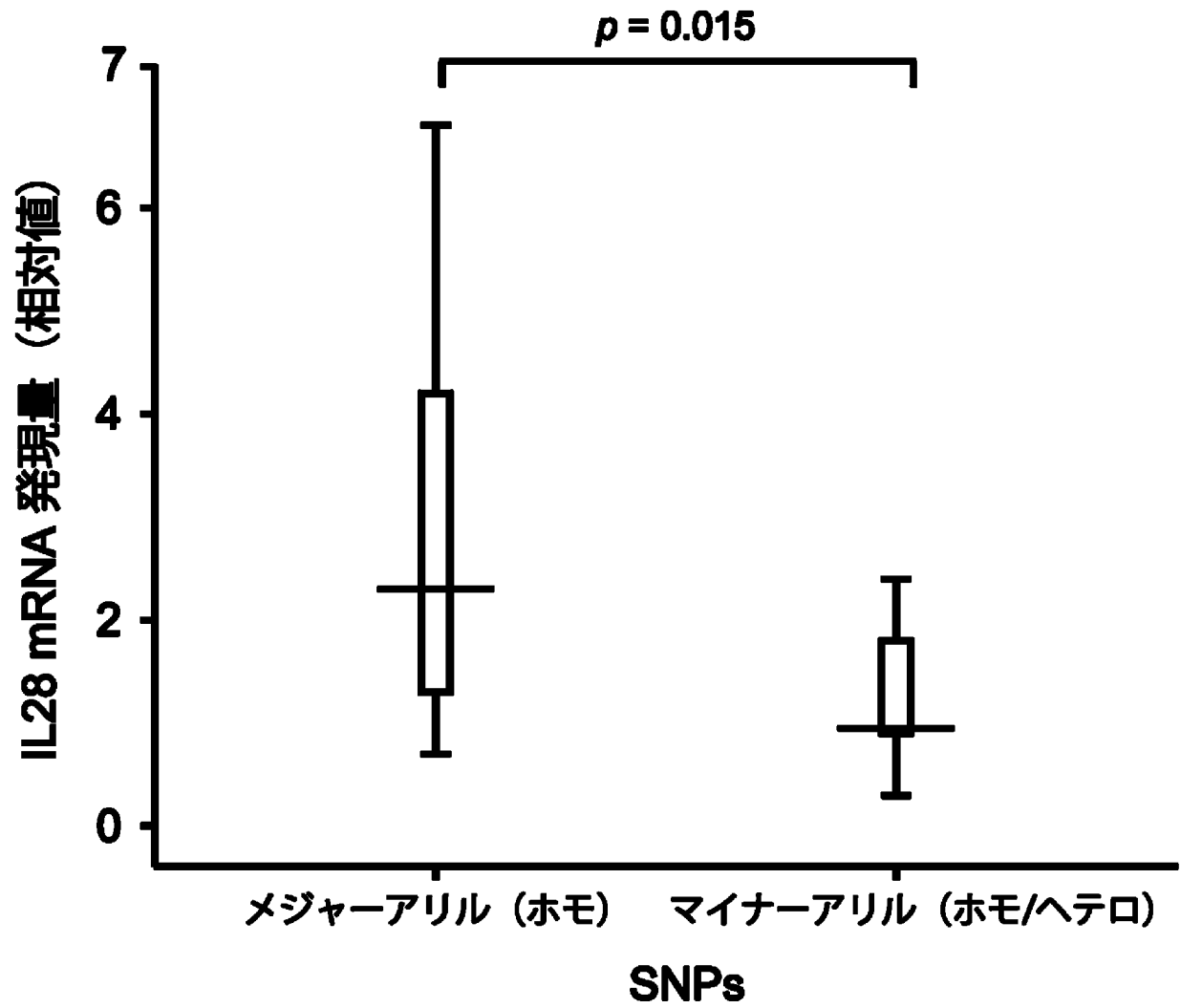
[請求項12] 下記の(A)又は(B)の配列を有することを特徴とする、C型肝炎の治療効果予測マーカーの探索用遺伝子。

(A) 配列番号59で表されるポリヌクレオチドの少なくとも一部を含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

(B) (A)のうち、1乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド

- [請求項13] 下記（A）乃至（C）の少なくとも1種を用いることを特徴とする、
C型肝炎治療薬のスクリーニング方法。
- （A）配列番号59で表されるポリヌクレオチドの少なくとも一部を
含むオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチド
- （B）（A）のうち、1乃至数個のヌクレオチドが、欠失、置換、付
加、及び／又は挿入された、オリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチ
ド
- （C）ヒトゲノム上に存在するオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオ
チドであってrs8103142を含むもの
- [請求項14] IL28Bタンパク質及び／又はそれをコードする遺伝子を含むことを特
徴とする、C型肝炎の予防又は治療剤。

[図1]



[図2]

IL28Bfullstream	1	attaagaaatattggcctctgggcatggtggctcactgaatcccagcaatttgggag	60

IL28Bfullstream	61	gcctagacagagagatgacttgacatcaggaatttgagaccagccttgccaacatggtga	120

IL28Bfullstream	121	aacgccatctctactaaaaatataaaaattagctgggaatggtggcacaaatctgtaatc	180

IL28Bfullstream	181	tcagctacttgggaggctaaggcaagagaattgcttgaaccaggaggcgagggtgcag	240

IL28Bfullstream	241	ttagccaagatttgcactgcactccagcctgggtgacggaacaagaccctgtctcaaaa	300

IL28Bfullstream	301	tatatatatatatatatatatatatgcccaggagtgggtggctcaggcctgtaatctcag	360

IL28Bfullstream	361	cactttaataggctgggtgaggaggatggcttgagcccaggagtgtgaggtgcagtgag	420

IL28Bfullstream	421	ctgtgatcatgccattgcactgcagtgcagagtgagaccctgtcttaaacacaacacaa	480

IL28Bfullstream	481	accagagcagggtggaatcctcttgggaacataccttcctgtaggttaccctgagctccc	540

IL28Bfullstream	541	atcagtttctctttccctccagctgctcatctggctcactagccctgcctgtctgggc	600

IL28Bfullstream	601	tttccagcctggggctcccttggtggccggtgtcttacctgaggctgtgtttcacttt	660

		rs4803219	
IL28Bfullstream	661	tcctacatcagctgggactgcccttctgtcagggataaaagctgccccatggagctcagg	720

IL28Bfullstream	721	caggaattacatcccagacagagctcaaaactgacagaagagtc aaagccaggacacag	780

IL28Bfullstream	781	tctgagatccagaagaggggactgaaagaacagagactccagacaagaccacacagac	840

IL28Bfullstream	841	cctgggtgacagcctcagagtgtttcttctgctgacaaagaccagagatcagggaATGAAA	900

IL28Bfullstream	901	CTAGgtgagtccacatctctgtccgtgctcagctcctgcagccctgcctcagtgggc	960

		rs28416813	
IL28Bfullstream	961	agcctctgattccctcagctccctttctctctgtgacacagACATGACCGGGGACTGCA	1020

IL28Bfullstream	1021	TGCCAGTGCTGGTGCTGATGGCCGCAGTGCTGACCGTGACTGGAGCAGTTCCTGTCGCCA	1080

IL28Bfullstream	1081	GGCTCCGCGGGGCTCTCCCGGATGCAAGGGGCTGCCACATAGCCAGTTC AAGTCCCTGT	1140

[図3]

```

IL28Bfullstream 1141 CTCCACAGGAGCTGCAGGCCTTTAAGAGGGCCAAAGATGCCTTAgtgagtcctccccctgc 1200
*****

IL28Bfullstream 1201 cctcctgccatggactagcctccacccgcactccaagggtcaccatgctttccactccc 1260
*****

IL28Bfullstream 1261 agcttccttcactgggctagcctccacccctccctgcagtgggctatctcatgctcctact 1320
*****

IL28Bfullstream 1321 gcagggactgactcatgttttcctgaagaaggagggtcctctaccatcctcccagcagtta 1380
*****

IL28Bfullstream 1381 acctccctatacctgttgctcagccatcctccaatcccatcagagtggtctaacctccacc 1440
*****

IL28Bfullstream 1441 cctcctgctggggctaacctgtgcctttgctgtctagGAAGAGTCGTTCTGCTGAAGGA 1500
*****
rs8103142
IL28Bfullstream 1501 CTGCAAGTGCCGCTCCCGCCTCTTCCCCAGGACCTGGGACCTGAGGCAGCTGCAGgtgag 1560
*****

IL28Bfullstream 1561 agggggagtcaggccccccctgcccctccagccctgctcacctggctctgtagtggccc 1620
*****

IL28Bfullstream 1621 cttcaccttctccttctccattgtccctctctcctctccccacacctgctaccccttccc 1680
*****
rs11881222
IL28Bfullstream 1681 tctgctcctacctgaccacactggctgtgcccctctcccctgtgacctgtcaccttcacttg 1740
*****

IL28Bfullstream 1741 ttccctctctatacctcctcccccaacctgttccctcacctccccctcacctgctctttc 1800
*****

IL28Bfullstream 1801 tcacctctcctcagGTGAGGGAGCGCCCCGTGGCTTTGGAGGCTGAGCTGGCCCTGACGC 1860
*****

IL28Bfullstream 1861 TGAAGGTTCTGGAGGCCACCGCTGACACTGACCCAGCCCTGGGGGATGTCTTGACCAGC 1920
*****

IL28Bfullstream 1921 CCCTTCACACCCTGCACCATATCCTCTCCAGCTCCGGGCCTGTgtgagtcgtcagggccc 1980
*****

IL28Bfullstream 1981 cgggcacccagggtctgtgagctctgagcagcgtccttcccctggccaaggccccggctca 2040
*****

IL28Bfullstream 2041 cacacgcacctcctctgcccacagATCCAGCCTCAGCCCACGGCAGGGCCCAGGACCCGG 2100
*****

IL28Bfullstream 2101 GGCCGCTCCACCATTTGGCTGCACCGGCTCCAGGAGCCCCAAAAAGgtgagtgaccgc 2160
*****

IL28Bfullstream 2161 ggaagagaggggactgagggtctggggagccactgggagcccagaaaccagacagcccctga 2220
*****

IL28Bfullstream 2221 cccatccccctcctccctacagGAGTCCCCTGGCTGCCTCGAGGCCTCTGTACCTTCAAC 2280
*****

IL28Bfullstream 2281 CTCTTCGCCTCCTCACGCGAGACCTGAATTGTGTTGCCAGCGGGACCTGTGTGTCTGA 2340
*****

```


INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/063262

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N15/09(2006.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i,
A61K48/00(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P31/14(2006.01)i, C12Q1/68
(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, A61K31/7088, A61K38/00, A61K48/00, A61P1/16, A61P31/14,
C12Q1/68

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GE D. et al., Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance, Nature, 2009.08.16, Vol.461, No.7262, pp.399-401	1-11
X	SELZNER N. and MCGILVRAY I., Can genetic variations predict HCV treatment outcomes?, J. Hepatol., 2008.07.21, Vol.49, No.4, pp.494-497	1-11
X	MORGAN T. R. et al., DNA polymorphisms and response to treatment in patients with chronic hepatitis C: results from the HALT-C trial, J. Hepatol., 2008.05.05, Vol.49, No.4, pp.548-556	1-11



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
19 October, 2010 (19.10.10)

Date of mailing of the international search report
26 October, 2010 (26.10.10)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/063262

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	TANAKA Y. et al., Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C, Nat. Genet., 2009.09.13, Vol.41, No.10, pp.1105-1109	1-11
P,X	SUPPIAH V. et al., IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy, Nat. Genet., 2009.09.13, Vol.41, No.10, pp.1100-1104	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/063262

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. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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:
See extra sheet.

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.:
the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from PRFM16

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/063262

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

The inventions in claims 1 - 14 have such a common technical feature as "marker for predicting the therapy effect of hepatitis C". however, the above-said technical feature does not make contribution over the prior art in the light of the contents disclosed in the following documents 1 - 3, and therefore cannot be regarded to be a special technical feature. Furthermore, there is no other same or corresponding special technical feature among those inventions.

The following twenty seven inventions (invention groups) are involved in clams.

Document 1: Nature, 2009.08.16, Vol.461, No.7262, pp.399-401

Document 2: J. Hepatol., 2008.07.21, Vol.49, No.4, pp.494-497

Document 3: J. Hepatol., 2008.05.05, Vol.49, No.4, pp.548-556

(Invention 1) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from PRFM16

(Invention 2) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from OSR1

(Invention 3) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from TTC32

(Invention 4) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from re2374341

(Invention 5) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from re2374342

(Invention 6) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from C1D

(Invention 7) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from ETAA1

(Invention 8) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from ERC2

(Invention 9) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from SNCA

(Invention 10) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from PCDH10

(Invention 11) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from rs13150115

(Invention 12) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from rs7663113

(Invention 13) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from rs1379606

(Invention 14) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from rs913500

(Invention 15) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from FLJ45825

(Invention 16) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from SIM1

(Invention 17) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from rs4512312

(Invention 18) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from STEAP2

(Invention 19) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from ARHGEF10

(continued to next extra sheet)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/063262

(Invention 20) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from C11orf39

(Invention 21) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from TMEM16B

(Invention 22) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from TMEM132B

(Invention 23) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from DIAPH3

(Invention 24) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from KLHL1

(Invention 25) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from RYR3

(Invention 26) the inventions in claims 1 - 11 relating to a marker derived from ACCN1

(Invention 27) the inventions in claims 1 - 14 relating to a marker derived from IL28B

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C12N15/09(2006.01)i, A61K31/7088(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P1/16(2006.01)i, A61P31/14(2006.01)i, C12Q1/68(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 (I P C))

Int.Cl. C12N15/09, A61K31/7088, A61K38/00, A61K48/00, A61P1/16, A61P31/14, C12Q1/68

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

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

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	GE D. et al., Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance, Nature, 2009.08.16, Vol.461, No.7262, pp.399-401	1-11
X	SELZNER N. and MCGILVRAY I., Can genetic variations predict HCV treatment outcomes?, J. Hepatol., 2008.07.21, Vol.49, No.4, pp.494-497	1-11

☒ 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

1 9 . 1 0 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

2 6 . 1 0 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / 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)

小金井 悟

4 N

3 9 6 1

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 8 8

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	MORGAN T. R. et al., DNA polymorphisms and response to treatment in patients with chronic hepatitis C: results from the HALT-C trial, J. Hepatol., 2008.05.05, Vol.49, No.4, pp.548-556	1-11
P, X	TANAKA Y. et al., Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C, Nat. Genet., 2009.09.13, Vol.41, No.10, pp.1105-1109	1-11
P, X	SUPPIAH V. et al., IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy, Nat. Genet., 2009.09.13, Vol.41, No.10, pp.1100-1104	1-11

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（P C T 17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 _____ 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、
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P C T 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ろの国際調査機関は認めた。

特別ページ参照

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ため、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ため、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。

請求項 1 - 1 1 において P R F M 1 6 に由来するマーカに関する発明。

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。

請求項 1－1 4に係る発明は、「C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー」という共通の技術的特徴を有している。しかしながら、当該技術的特徴は、下記の文献 1－3 の開示に照らして、先行技術に対する貢献をもたらすものではないから、当該技術的特徴は、特別な技術的特徴であるとはいえない。また、これらの発明の間には、ほかに同一の又は対応する特別な技術的特徴は存在しない。

そして、請求の範囲には、以下に示す 2 7 の発明（群）が含まれる。

文献 1 : Nature, 2009.08.16, Vol.461, No.7262, pp.399-401

文献 2 : J. Hepatol., 2008.07.21, Vol.49, No.4, pp.494-497

文献 3 : J. Hepatol., 2008.05.05, Vol.49, No.4, pp.548-556

- (発明 1) 請求項 1－1 1において P R F M 1 6 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2) 請求項 1－1 1において O S R 1 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 3) 請求項 1－1 1において T T C 3 2 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 4) 請求項 1－1 1において r e 2 3 7 4 3 4 1 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 5) 請求項 1－1 1において r e 2 3 7 4 3 4 2 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 6) 請求項 1－1 1において C 1 D に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 7) 請求項 1－1 1において E T A A 1 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 8) 請求項 1－1 1において E R C 2 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 9) 請求項 1－1 1において S N C A に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 0) 請求項 1－1 1において P C D H 1 0 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 1) 請求項 1－1 1において r s 1 3 1 5 0 1 1 5 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 2) 請求項 1－1 1において r s 7 6 6 3 1 1 3 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 3) 請求項 1－1 1において r s 1 3 7 9 6 0 6 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 4) 請求項 1－1 1において r s 9 1 3 5 0 0 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 5) 請求項 1－1 1において F L J 4 5 8 2 5 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 6) 請求項 1－1 1において S I M 1 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 7) 請求項 1－1 1において r s 4 5 1 2 3 1 2 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 8) 請求項 1－1 1において S T E A P 2 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 1 9) 請求項 1－1 1において A R H G E F 1 0 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 0) : 請求項 1－1 1において C 1 1 o r f 3 9 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 1) 請求項 1－1 1において T M E M 1 6 B に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 2) 請求項 1－1 1において T M E M 1 3 2 B に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 3) 請求項 1－1 1において D I A P H 3 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 4) 請求項 1－1 1において K L H L 1 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 5) 請求項 1－1 1において R Y R 3 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 6) 請求項 1－1 1において A C C N 1 に由来するマーカーに関する発明。
- (発明 2 7) 請求項 1－1 4において I L 2 8 B に由来するマーカーに関する発明。