(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
2019年3月28日(28.03.2019)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2019/059349 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/68 (2006.01) *G01N 33/50* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2018/035043

(22) 国際出願日： 2018年9月21日(21.09.2018)

(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 2017-182683 2017年9月22日(22.09.2017) JP

(71) 出願人: 国立大学法人大阪大学 (**OSAKA UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘１番１号 Osaka (JP). 株式会社明治 (**MEIJI CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒1048306 東京都中央区京橋二丁目２番１号 Tokyo (JP).

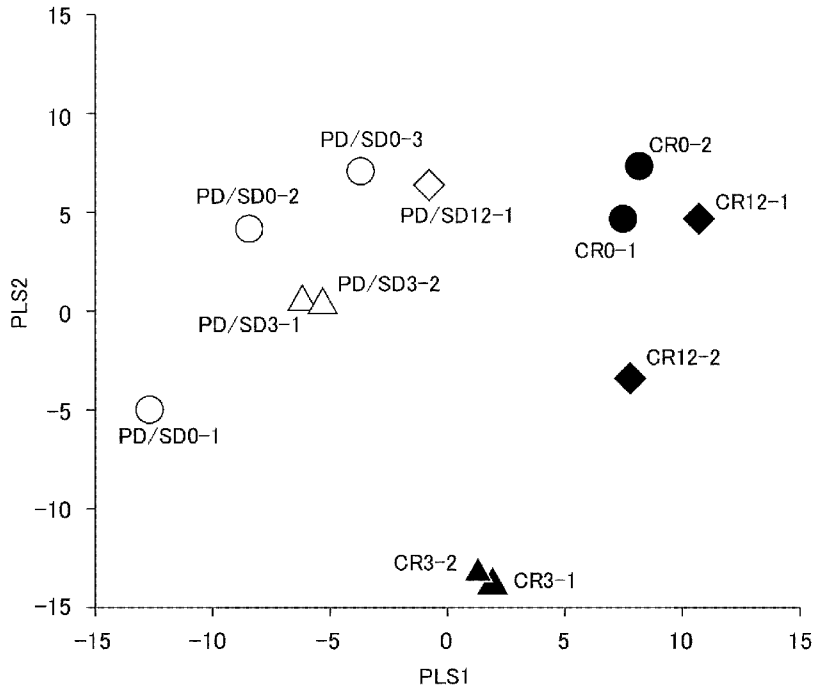
(72) 発明者: 萩原 圭祐 (**HAGIHARA Keisuke**); 〒5650871 大阪府吹田市山田丘１番１号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP). 芦田 欣也 (**ASHIDA Kinya**); 〒2500862 神奈川県小田原市成田５４０ 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP). 中村 健太郎 (**NAKAMURA Kentaro**); 〒2500862 神奈川県小田原市成田５４０ 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人ドライト国際特許事務所 (**DORAIT IP LAW FIRM**); 〒1600023 東京都新宿区西新宿六丁目１５番１号 ラ・トゥール新宿４１１号 Tokyo (JP).

(54) **Title:** DEVELOPMENT OF BIOMARKER FOR KETOGENIC DIET–BASED CANCER TREATMENT

(54) 発明の名称： 癌ケトン食治療におけるバイオマーカーの開発

[図1]



(57) **Abstract:** Provided are a method for selecting cancer patients for which ketogenic diet therapy would be effective, and a method for predicting the effectiveness of ketogenic diet therapy on cancer patients. The selection method is characterized by obtaining, from blood serum derived from a cancer patient prior to ingesting a ketogenic diet, analysis results for at least one pre-ingestion candidate substance selected from the group consisting of acylcarnitine(12:0), acylcarnitine(12:1)-2, acylcarnitine(12:1)-3, acylcarnitine(14:1)-1, acylcarnitine(14:2)-1, acylcarnitine(14:2)-2, acylcarnitine(14:3)-2, acylcar-

WO 2019/059349 A1

［続葉有］

(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, IR, IS, 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, 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, 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))

nitine(16:1), acylcarnitine(16:2), anandamide, heptadecenoic acid, hypotaurine, linoleoylethanolamide, palmitoleic acid, palmitoylcarnitine, phytosphingosine, quinic acid, uric acid, alanine, citrulline, tryptophan, and lysine, and using the analysis results as an indicator.

(57) 要約：ケトン食療法が有効な癌患者の選択方法および癌患者におけるケトン食療法の有効性の予測方法を提供する。ケトン食を摂取前の癌患者に由来する血清について、アシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、尿酸、アラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンからなる群から選択される少なくとも１種の摂取前候補物質の分析結果を得、前記分析結果を指標とすることを特徴とする。

明　細　書

発明の名称 ： 癌ケトン食治療におけるバイオマーカーの開発

技術分野

[0001] 本発明は、癌ケトン食治療におけるバイオマーカーの開発に関する。具体的には、ケトン食療法が有効な癌患者の選択方法、および癌患者におけるケトン食療法の有効性の予測方法に関する。

背景技術

[0002] 食事療法の一種として、「ケトン食」が知られている。「ケトン食」は、糖質制限高脂肪食であり、摂取エネルギーの６０～９０％を脂肪で摂るというものである。したがって、「ケトン食」は、糖質を制限した食事を必要とする患者、例えば小児のてんかんを治療するための食事として利用されている（例えば、特許文献１）。

[0003] 近年、この「ケトン食」を用いた食事療法が、癌患者の治療方法となり得ることが提案されている（例えば、特許文献２）。ケトン食療法によって、劇的な臨床効果を示した症例が認められている。しかしながら、必ずしも全ての癌患者にケトン食療法の有効性が確認されたわけではなく、癌患者におけるケトン食の効果の作用機序の詳細は知られていない。その作用機序の解明の一環として、治療マーカーや反応性予測マーカーの探索が必要とされている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特許第５９３７７７１号公報

特許文献2：国際公開第２０１７／０３８１０１号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] ケトン食は、高脂質である故、ケトン食を摂取する癌患者は少なからぬ負担を強いられる。癌患者の負担を軽減するためには、ケトン食が有効な癌患

者を高確率で選択することが求められる。ケトン食療法を実施した場合においても、ケトン食療法の効果が発現するか否かを完遂前に予測できれば、患者の負担の軽減に繋がる。

[0006] そこで本発明は、ケトン食療法を実施する前に、ケトン食療法が有効な癌患者を簡便に選択できる選択方法を提供することを目的とする。また本発明は、癌患者のケトン食療法を完遂する前に、ケトン食療法の有効性の予測方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

[0007] 本発明に係るケトン食療法が有効な癌患者の選択方法は、ケトン食を摂取前の癌患者に由来する血清について、アシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、尿酸、アラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンからなる群から選択される少なくとも１種の摂取前候補物質の分析結果を得、前記分析結果を指標とすることを特徴とする。

[0008] 本発明に係る癌患者におけるケトン食療法の有効性の予測方法は、ケトン食を摂取した癌患者に由来する血清について、ジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、スチグマステロール、シスチンおよびチロシンからなる群から選択される少なくとも１種の摂取後候補物質の分析結果を得、前記分析結果を指標とすることを特徴とする。

発明の効果

[0009] 本発明の選択方法によれば、ケトン食を摂取前の癌患者に由来する血清について、摂取前候補物質の少なくとも１種の分析結果を得る。得られた分析

結果を指標とすることによって、ケトン食を摂取する前に、ケトン食療法が有効な癌患者を選択することができる。

[0010] また、本発明の予測方法によれば、ケトン食を摂取した癌患者に由来する血清について、摂取後候補物質の少なくとも１種の分析結果を得る。得られた分析結果を指標とすることによって、ケトン食療法を完遂する前に、癌患者におけるケトン食療法の有効性を予測することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]メタボローム解析の結果を用いて実施した部分最小自乗法（ＰＬＳ：Partial least squares）解析の結果である。

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の実施形態について詳細に説明する。

[0013] 本発明において、ケトン食とは、ケトン比（脂質：（蛋白質＋炭水化物））が重量比で２：１～１：１程度の食事をさす。ケトン食療法とは、こうしたケトン食を所定期間（例えば３ヶ月間）摂取すればよく、他の栄養素については特に制限されない。ケトン食療法中、必要な微量元素やビタミンは、サプリメントなどを使用して適宜摂取することができる。

[0014] 本明細書において使用される「癌」は、例えば、正常な細胞が突然変異を起こして発生する腫瘍を含む。悪性腫瘍は、全身のあらゆる臓器や組織から生じ得る。本明細書における癌患者としては、例えば、肺癌、卵巣癌、膀胱癌、口唇腺様嚢胞癌、腎癌、尿路上皮癌、大腸癌、前立腺癌、多形神経膠芽腫、膵癌、乳癌、メラノーマ、肝癌、胃癌、および食道癌等の癌に罹患した患者が挙げられる。ケトン食を摂取可能であれば、性別および年齢は特に制限されず、任意の癌患者が本発明の対象となる。

[0015] 本発明の選択方法においては、ケトン食を摂取前の癌患者から採取した血清を検体として用いる。検体中の物質のうち、予め決定された摂取前候補物質の少なくとも１種の分析結果を指標として、ケトン食療法が有効な癌患者を選択する。摂取前候補物質は、アシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカ

ルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、尿酸、アラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンである。

[0016] 検体は、例えば、後述するメタボローム解析により分析することができる。検体中の摂取前候補物質は、例えば高速液体クロマトグラフ（ＨＰＬＣ）を用いたアミノ酸測定等により個別に分析することが好ましい。少なくとも１種の摂取前候補物質の分析結果を指標として、ケトン食療法が有効な癌患者を選択することができる。摂取前候補物質の数が多いほど、ケトン食療法が有効な癌患者を高い精度で選択できる。

[0017] 本発明の予測方法においては、ケトン食を摂取した癌患者から採取した血清を検体として用いる。「ケトン食を摂取した癌患者」とは、ケトン食療法が完遂する前のケトン食療法を実施中の癌患者をさす。検体中の物質のうち、予め決定された摂取後候補物質の少なくとも１種の分析結果を指標として、ケトン食療法の有効性を予測する。摂取後候補物質は、ジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、スチグマステロール、シスチンおよびチロシンである。

[0018] 検体中の摂取後候補物質は、上述したようにＨＰＬＣを用いたアミノ酸測定等により分析して、分析結果を得ることが好ましい。少なくとも１種の摂取後候補物質の分析結果を指標とすることで、ケトン食療法の有効性を予測することができる。摂取後候補物質の数が多いほど、癌患者におけるケトン食療法の有効性を高い精度で予測できる。

[0019] 摂取前候補物質および摂取後候補物質は、被験患者群にケトン食療法を実施した結果に基づいて決定することができる。被験患者とは、上述したような癌に罹患した患者をさす。被験患者は、ケトン食を摂取可能であれば、性別および年齢は特に制限されない。

[0020] 摂取前候補物質は、以下に説明する方法により決定することができる。まず、ケトン食を摂取前の被験患者群に由来する血清をメタボローム解析により分析して、血清中の多数の物質の分析結果を得る。メタボローム解析には、例えば、キャピラリー電気泳動－飛行時間型質量分析計（ＣＥ－ＴＯＦ／ＭＳ）、および液体クロマトグラフ－飛行時間型質量分析計（ＬＣ－ＴＯＦ／ＭＳ）を用いることができる。

[0021] 各物質について検出されたピークに対し、代謝物質ライブラリーによるアノテーション付けを行って統計解析を実施して、分析結果が得られる。一般的には、メタボローム解析によって血清中の２００種程度の物質を分析することができる。それぞれの被験患者に由来する血清中の各物質についての分析結果は、「ケトン食摂取前の分析結果」として記録しておく。

[0022] 被験患者群には、所定のケトン食を摂取させてケトン食療法を実施する。３ヶ月後、臨床評価が可能な被験患者について治療効果を評価する。なお、「臨床評価が可能な被験患者」とは、「少なくともケトン食を３ヶ月摂取した被験患者」を指す。治療効果は、ＣＴ画像における腫瘍の大きさに基づいて以下のように判定する。

完全寛解（ＣＲ） 腫瘍が完全に消失

進行（ＰＤ） 腫瘍の大きさの和が２０％以上増加かつ絶対値でも５ｍｍ以上増加、あるいは新病変が出現

維持（ＳＤ） 腫瘍の大きさに変化なし

[0023] 完全寛解と判定された被験患者を寛解群（以下、ＣＲ群とも称する）とし、進行と判定された被験患者と維持と判定された被験患者とを合わせて進行維持群（以下、ＰＤ／ＳＤ群とも称する）とする。記録されている「ケトン食摂取前の分析結果」を、ＣＲ群の結果とＰＤ／ＳＤ群の結果とに分ける。

[0024] ＣＲ群の結果とＰＤ／ＳＤ群の結果とを物質毎に比較して、ウェルチのｔ－検定により両者の間の有意差を判定する。有意差の認められた物質を、摂取前候補物質として抽出する。

[0025] 摂取後候補物質は、以下に説明する方法により決定することができる。所

定のケトン食を摂取して３ヶ月後の被験患者群のうち、臨床評価が可能な被験患者について、上述と同様に治療効果を評価する。治療効果の評価結果に基づいて、上述したようにＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とを被験患者から選択する。

[0026] ＣＲ群およびＰＤ／ＳＤ群に由来する血清をメタボローム解析して、血清中の多数の物質の分析結果を得る。血清中の各物質についての分析結果は、「ケトン食摂取後の分析結果」となる。「ケトン食摂取後の分析結果」を、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とで物質毎に比較して、上述と同様に両者の間の有意差を判定する。

[0027] 多数の物質のなかから、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群との間に有意差の認められた物質を、摂取後候補物質として抽出する。

[0028] ＜作用および効果＞

本実施形態の選択方法では、血清中の所定の物質を摂取前候補物質として用いている。ケトン食を摂取前の癌患者に由来する血清について、摂取前候補物質の少なくとも１種の分析結果を指標とすることによって、ケトン食を摂取する前に、ケトン食療法が有効な癌患者を選択することができる。

[0029] 本実施形態の予測方法では、摂取前候補物質とは異なる所定の物質を、摂取後候補物質として用いている。ケトン食を摂取した癌患者に由来する血清について、摂取後候補物質の少なくとも１種の分析結果を指標とすることによって、癌患者におけるケトン食療法の有効性を予測することができる。

[0030] ＜実施例＞

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例により限定されるものではない。

[0031] 被験患者群の人数は、５名（女性２名、男性３名）とした。患者背景は、女性については、ともに肺癌、１例は５６才、１５９ｃｍ、４９．８ｋｇ、もう１例は５３才、１５１ｃｍ、４４．３ｋｇであり、男性については、肺癌１例、膀胱癌１例、口唇腺様嚢胞癌１例、６０．６±１３．０才、１７４．１±０．２３ｃｍ、６１．５±５．８ｋｇ、ＢＭＩ ２０．３±１．９で

ある。

[0032] ケトン食を摂取する前の被験患者群から採取した血清５検体を、上述したようにＣＥ－ＴＯＦ／ＭＳおよびＬＣ－ＴＯＦ／ＭＳを用いたメタボローム解析により分析して、血清中の多数の物質について統計解析を行った。用いた分析計は、ＣＥ－ＴＯＦ／ＭＳについてはAgilent CE-TOFMS system (Agilent Technologies社製、Capillary:Fused silica capillary i.d. 50μm×80cm およびＬＣ－ＴＯＦ／ＭＳについてはLC system: Agilent 1200 series RPLC system SL (Agilent Technologies社製）、Column: ODS Column 2×50mm, 2μm, MS system: Agilent LC/MSD TOF (Agilent Technologies社製）である。

[0033] ＣＥ－ＴＯＦ／ＭＳでの分析では、合計１７３のピーク（うち、カチオンモードで１０８、アニオンモードで６５）が検出された。ＬＣ－ＴＯＦ／ＭＳの分析では、合計１６９のピーク（うち、ポジティブモードで８０、ネガティブモードで８９）が検出された。各物質についての分析結果は、それぞれの被験患者について、「ケトン食摂取前の分析結果」として記録しておいた。

[0034] ケトン食摂取前に分析された物質の中には、アシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、および尿酸等が含まれていた。

[0035] 被験患者群に対しては、以下のようなケトン食療法を行う。本臨床研究は、大阪大学ゲノム審査委員会の承認を得て実施した。

（１）最初の１週間は、カロリーは、実質体重をもとに３０ｋｃａｌ／ｋｇとし、脂質制限なし、蛋白質制限なし、炭水化物１０ｇ以下を目標とした。

具体的には、例えば、実質体重を５０ｋｇとすると、１日カロリー１５００ｋｃａｌ、脂質１４０ｇ、蛋白質６０ｇ、炭水化物１０ｇとした。

[0036] ケトン食におけるケトン比（脂質：（蛋白質＋炭水化物））は２：１を目標とした。その他の栄養素は制限なく摂取可能とし、必要な微量元素やビタミンは、サプリメントなどを用いて適宜摂取させた。

[0037] （２）２週目～３ヶ月の間は、血中ケトン体の値を参考に食事内容を設定した。血中ケトン体は、アセト酢酸、β－ヒドロキシ酪酸の濃度を測定した。炭水化物の１日摂取量は２０ｇ以下とし、１日カロリー１４００～１６００ｋｃａｌ、脂質１２０～１４０ｇ、蛋白質７０ｇ、炭水化物２０ｇとし、ケトン比は２：１～１：１を目標とした。カロリー補給に際しては、「ＭＣＴオイル」（日清オイリオグループ株式会社製）または「ケトンフォーミュラ」（株式会社明治製）を使用した。

[0038] ケトン食療法の実施に際しては、被験患者群に対し、一時的な低血糖、嘔気、倦怠感などが発現する可能性を説明し、実際の栄養学的な指導は、栄養士の指導の下で行った。

[0039] ケトン食を摂取して３ヶ月後の被験患者群に由来する血清５検体を、上述と同様にメタボローム解析により分析して、血清中の多数の物質について統計解析を行った。各物質についての分析結果は、それぞれの被験患者について、「ケトン食摂取後の分析結果」として記録しておいた。

[0040] ケトン食摂取後に分析された物質の中には、ジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、およびスチグマステロール等が含まれていた。

[0041] さらに、ケトン食を摂取して３ヶ月後の被験患者群について、ケトン食療法の治療効果を評価した。治療効果は、上述した基準に基づいて、完全寛解（ＣＲ）、進行（ＰＤ）、および維持（ＳＤ）に分類した。

[0042] 寛解群（ＣＲ群）および進行維持群（ＰＤ／ＳＤ群）は、以下のとおりであった。

ＣＲ群： ２例（女性２名、ともに肺癌、１例は５６才、１５９ｃｍ、４９

．８ｋｇ、もう１例は５３才、１５１ｃｍ、４４．３ｋｇ）

ＰＤ／ＳＤ群：　３例（男性３名、肺癌１例、膀胱癌１例、口唇腺様嚢胞癌１例、５０．６±１３．０才、１７４．１±０．２３ｃｍ、６１．５±５．８ｋｇ、ＢＭＩ　２０．３±１．９）

[0043] 記録されている「ケトン食摂取前の分析結果」をＣＲ群（２検体）とＰＤ／ＳＤ群（３検体）とに分けて、物質毎にピーク面積の平均値および標準偏差を算出した。さらに、各物質についてピーク面積比（ＣＲ／（ＰＤ／ＳＤ））を求めるとともに、ｐ値により有意差を判定した。有意差判定は、ウェルチのｔ－検定で実施した。ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群との間に有意差の認められた物質を、算出結果とともに下記表１にまとめる。

[0044] 「ケトン食摂取後の分析結果」も同様に、ＣＲ群（２検体）とＰＤ／ＳＤ群（３検体）とに分けて、物質毎にピーク面積の平均値および標準偏差を算出した。さらに、各物質についてピーク面積比（ＣＲ／（ＰＤ／ＳＤ））を求めるとともに、ｐ値により有意差を判定した。ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群との間に有意差の認められた物質を、算出結果とともに下記表２にまとめる。

[0045]

[表1]

表 1

物質名	CR		PD/SD		CR/(PD/SD)	p 値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		
アシルカルニチン(12:0)	9.8E-06	6.8E-06	4.0E-05	1.1E-05	0.2	0.031
アシルカルニチン(12:1)-2	3.4E-06	1.0E-06	1.5E-05	9.9E-07	0.2	0.004
アシルカルニチン(12:1)-3	4.1E-06	4.4E-07	1.9E-05	5.5E-06	0.2	0.040
アシルカルニチン(14:1)-1	1.9E-05	6.3E-06	9.7E-05	1.3E-05	0.2	0.004
アシルカルニチン(14:2)-1	2.4E-06	5.4E-07	9.4E-06	1.9E-06	0.3	0.017
アシルカルニチン(14:2)-2	7.0E-06	3.3E-06	4.0E-05	4.5E-06	0.2	0.003
アシルカルニチン(14:3)-2	1.1E-06	5.5E-07	5.4E-06	1.2E-06	0.2	0.013
アシルカルニチン(16:1)	1.8E-05	3.3E-06	3.9E-05	4.3E-06	0.5	0.011
アシルカルニチン(16:2)	1.9E-06	7.3E-07	7.7E-06	8.0E-07	0.3	0.007
アナンダミド	2.5E-06	1.4E-08	2.0E-06	1.3E-07	1.2	0.022
ヘプタデセン酸	5.6E-06	4.6E-07	1.4E-05	2.6E-06	0.4	0.025
ヒポタウリン	3.4E-04	1.1E-05	5.6E-04	5.5E-05	0.6	0.015
リノレールエタノールアミド	3.8E-05	1.5E-07	3.0E-05	2.1E-06	1.3	0.022
パルミトレイン酸	4.7E-05	1.3E-05	1.3E-04	2.9E-05	0.3	0.022
パルミトイルカルニチン	7.1E-05	7.8E-06	1.4E-04	1.4E-05	0.5	0.005
フィトスフィンゴシン	5.5E-06	4.0E-07	8.6E-06	6.9E-07	0.6	0.008
キナ酸	9.4E-04	9.7E-05	2.5E-04	9.4E-05	3.8	0.012
尿酸	2.2E-02	1.9E-03	3.2E-02	2.6E-03	0.7	0.016

[0046]

[表2]

表　2

物質名	CR		PD/SD		CR/(PD/SD)	p値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		
ジエタノールアミン	7.0E-04	1.2E-05	2.8E-04	2.5E-05	2.5	0.009
ヒスチジン	3.1E-02	1.0E-03	2.1E-02	8.2E-04	1.5	0.009
ヒドロキシプロリン	4.4E-03	3.3E-04	2.3E-03	2.2E-04	1.9	0.025
ステアロイルエタノールアミド	1.1E-05	3.4E-07	8.3E-06	6.0E-07	1.3	0.048
スチグマステロール	7.0E-06	3.1E-07	3.8E-06	3.5E-07	1.8	0.011

[0047] 上記表１および表２には、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とで、血清中の物質の分析結果に違いがあることが示されている。上記表１によれば、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とで、ケトン食摂取前に有意差が認められた物質は、アシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、および尿酸である。

[0048] ケトン食摂取前の血清中のアシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、および尿酸は、ケトン食療法が有効な患者であるか否かの指標となる。すなわち、これら１８種の物質は、摂取前候補物質である。

[0049] したがって、ケトン食摂取前の癌患者に由来する血清を分析し、アシルカ

ルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、および尿酸の少なくとも１種の分析結果を指標として、ケトン食療法が有効な癌患者を選択することができる。

[0050] また、上記表２によれば、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とで、３ヶ月間のケトン食摂取後に有意差が認められた物質は、ジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、およびスチグマステロールである。

[0051] ケトン食摂取後の血清中のジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、およびスチグマステロールは、ケトン食療法が有効に作用したか否かの指標となる。すなわち、これら５種の物質は、摂取後候補物質である。

[0052] したがって、ケトン食を摂取した癌患者に由来する血清を分析し、ジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、およびスチグマステロールの少なくとも１種の分析結果を指標として、癌患者におけるケトン食療法の有効性を予測することができる。

[0053] なお、ＣＲ群で２例、ＰＤ／ＳＤ群で１例、ケトン食療法を１２か月間実施した被験患者があり、その患者から得られた血清も上記と同様にメタボローム解析を実施し、上記の開始前と３ヶ月のデータと合わせて、主成分分析、および群情報を与えたＰＬＳ解析を行った。図１に、その結果を示す。

[0054] 図１中、黒丸印（CR0-1，CR0-2）がＣＲ群の開始前の検体、黒三角印（CR3-1，CR3-2）がＣＲ群の３か月後の検体、黒菱形印（CR12-1，CR12-2）がＣＲ群の１２か月後の検体、白丸印（PD/SD0-1，PD/SD0-2，PD/SD0-3）がＰＤ／ＳＤ群の開始前の検体、白三角印（PD/SD3-1,PD/SD3-2）がＰＤ／ＳＤ群の３

か月後の検体、白菱形印（PD/SD12-1）がＰＤ／ＳＤ群の１２か月後の検体を示している。

[0055] ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群の検体の結果が、ＰＬＳ１軸方向に乖離していることから、ＰＬＳ１軸と検体の群との間に相関があることが見出された。ＰＬＳ１軸に対応する因子負荷量を調べることで、相関の高い物質を抽出することができる。ＰＬＳ１軸に相関の高い物質は、キナ酸、カフェイン、パラキサンチン、トリゴネリン、テオブロミン、Ｎ－アセチルスフィンゴシン、アナンダミドであった。したがって、キナ酸、カフェイン、パラキサンチン、トリゴネリン、テオブロミン、Ｎ－アセチルスフィンゴシン、アナンダミドについても、ケトン食療法を評価する何らかのバイオマーカーになる可能性が示唆された。

[0056] ＜他の分析法による検証例＞

ケトン食摂取前後の癌患者から採取された血清を、ＨＰＬＣを用いたアミノ酸測定により分析し、得られたピーク面積を用いて統計解析を実施した。

[0057] 癌患者の人数は、１３名（女性９名、男性４名）とした。患者背景は、肺腺癌１例、卵巣癌１例、非小細胞肺癌１例、乳癌２例、左口唇腺様嚢胞癌、盲腸癌腹膜播腫、乳癌直腸癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、直腸Ｓ状結腸癌、左副咽頭間隙悪性腫瘍、転移性肺腫瘍が各１例である。

[0058] ケトン食を摂取する前の癌患者から採取した血清１３検体を、ＨＰＬＣを用いたアミノ酸測定により分析して、血清中の多数の物質について統計解析を行った。用いた分析計は、Ｌ－８８００形高速アミノ酸分析計（株式会社日立製作所製）である。各物質についての分析結果を、それぞれの癌患者について「ケトン食摂取前の分析結果」として記録した。

[0059] 大阪大学ゲノム審査委員会の承認を得て実施した臨床研究において、同意を取得した症例のうち、ケトン食療法を３か月完遂し、臨床評価が可能であった症例を対象とした。ケトン食療法の内容は、上述したとおりである。

[0060] ケトン食を摂取して３ヶ月後の癌患者から採取した血清１３検体を、上述と同様にＨＰＬＣを用いたアミノ酸測定により分析して、血清中の多数の物

質について統計解析を行った。各物質についての分析結果は、それぞれの癌患者について「ケトン食摂取後の分析結果」として記録した。

[0061] ケトン食摂取後、寛解群（ＣＲ群）および進行維持群（ＰＤ／ＳＤ群）は、以下のとおりであった。

ＣＲ群： ３例（女性３名、肺腺癌１例、卵巣癌１例、非小細胞肺癌１例、５５．０±１．７才、１５５±４．０ｃｍ、４６．５±２．９ｋｇ）

ＰＤ／ＳＤ群： １０例（女性６名、男性４名、乳癌２例、左口唇腺様嚢胞癌、盲腸癌腹膜播腫、乳癌直腸癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、直腸Ｓ状結腸癌、左副咽頭間隙悪性腫瘍、転移性肺腫瘍が各１例、５８．５±１５．５才、１６２．１±７．７ｃｍ、５４．４±９．５ｋｇ）

[0062] 記録されている「ケトン食摂取前の分析結果」をＣＲ群（３検体）とＰＤ／ＳＤ群（１０検体）とに分けて、物質毎にピーク面積の平均値および標準偏差を算出した。さらに、各物質についてピーク面積比（ＣＲ／（ＰＤ／ＳＤ））を求めるとともに、ｐ値により有意差を判定した。有意差判定は、ウェルチのｔ－検定で実施した。ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群との間に有意差の認められた物質を、算出結果とともに下記表３にまとめる。

[0063] 「ケトン食摂取後の分析結果」も同様に、ＣＲ群（３検体）とＰＤ／ＳＤ群（１０検体）とに分けて、物質毎にピーク面積の平均値および標準偏差を算出した。さらに、各物質についてピーク面積比（ＣＲ／（ＰＤ／ＳＤ））を求めるとともに、ｐ値により有意差を判定した。ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群との間に有意差の認められた物質を、算出結果とともに下記表４にまとめる。

[0064]

[表3]

表　3

物質名	CR		PD/SD		CR/(PD/SD)	p値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		
アラニン	4.0E+02	3.7E+01	3.2E+02	4.7E+01	1.2	0.025
シトルリン	1.1E+01	3.9E+00	3.2E+01	9.1E+00	0.3	0.003
トリプトファン	4.7E+01	7.2E+00	3.3E+01	7.1E+00	1.4	0.015
リシン	2.4E+02	3.1E+01	1.8E+02	3.0E+01	1.4	0.007

[0065] [表4]

表　4

物質名	CR		PD/SD		CR/(PD/SD)	p値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		
シスチン	3.9E+01	2.0E+01	6.0E+01	9.7E+00	0.7	0.025
チロシン	7.2E+01	1.2E+01	5.3E+01	1.1E+01	1.3	0.033
ヒスチジン	8.0E+01	1.0E+01	6.5E+01	9.0E+00	1.2	0.029

[0066] 上記表３によれば、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とで、ケトン食摂取前にピーク面積値に有意差が認められた物質は、アラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンである。ケトン食摂取前の血清中のアラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンは、ケトン食療法が有効な患者であるか否かの指標となる。これら４種の物質は、前述の１８種の物質と同様、摂取前候補物質である。

[0067] ケトン食摂取前の癌患者に由来する血清を分析して、アラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンの少なくとも１種の分析結果を指標とした場合も、ケトン食療法が有効な癌患者を選択することができる。

[0068] また、上記表４によれば、ＣＲ群とＰＤ／ＳＤ群とで、３ヶ月間のケトン食摂取後にピーク面積値に有意差が認められた物質は、シスチン、チロシン、およびヒスチジンである。ケトン食摂取後の血清中のシスチン、チロシン、およびヒスチジンは、ケトン食療法が有効に作用したか否かの指標となる

。ヒスチジンについては既に述べたが、残りの２種の物質も同様に摂取後候補物質である。

[0069] ケトン食を摂取した癌患者に由来する血清を分析して、シスチンおよびチロシンの少なくとも１種の分析結果を指標とした場合も、癌患者におけるケトン食療法の有効性を予測することができる。

請求の範囲

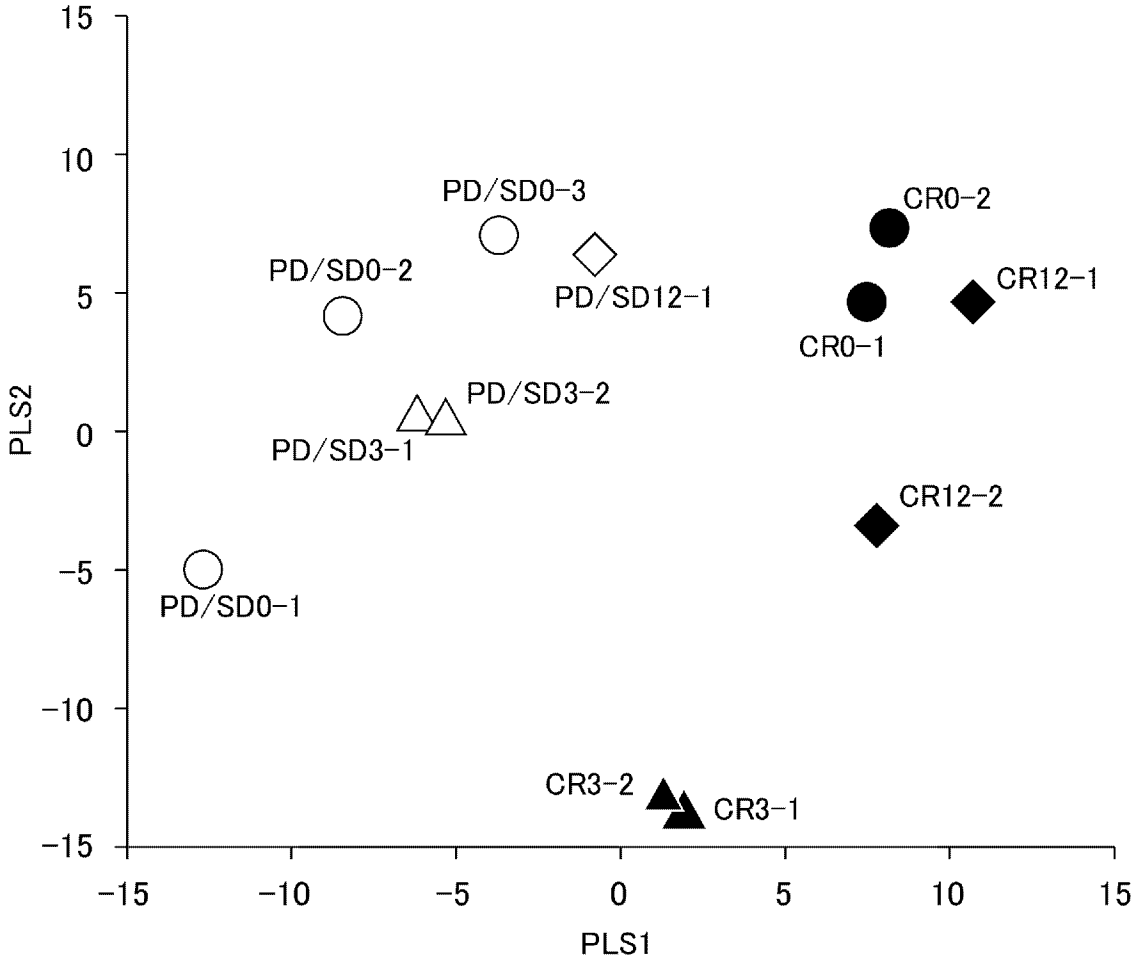
[請求項1] ケトン食療法が有効な癌患者の選択方法であって、

ケトン食を摂取前の癌患者に由来する血清について、アシルカルニチン（１２：０）、アシルカルニチン（１２：１）－２、アシルカルニチン（１２：１）－３、アシルカルニチン（１４：１）－１、アシルカルニチン（１４：２）－１、アシルカルニチン（１４：２）－２、アシルカルニチン（１４：３）－２、アシルカルニチン（１６：１）、アシルカルニチン（１６：２）、アナンダミド、ヘプタデセン酸、ヒポタウリン、リノレールエタノールアミド、パルミトレイン酸、パルミトイルカルニチン、フィトスフィンゴシン、キナ酸、尿酸、アラニン、シトルリン、トリプトファン、およびリシンからなる群から選択される少なくとも１種の摂取前候補物質の分析結果を得、前記分析結果を指標とすることを特徴とするケトン食療法が有効な癌患者の選択方法。

[請求項2] 癌患者におけるケトン食療法の有効性の予測方法であって、

ケトン食を摂取した癌患者に由来する血清について、ジエタノールアミン、ヒスチジン、ヒドロキシプロリン、ステアロイルエタノールアミド、スチグマステロール、シスチンおよびチロシンからなる群から選択される少なくとも１種の摂取後候補物質の分析結果を得、前記分析結果を指標とすることを特徴とする癌患者におけるケトン食療法の有効性の予測方法。

[図1]


15
10
5
0
−5
−10
−15
PLS2
−15
−10
−5
0
5
10
15
PLS1
PD/SD0-3
PD/SD0-2
PD/SD12-1
CR0-2
CR12-1
CR0-1
PD/SD3-2
PD/SD3-1
CR12-2
PD/SD0-1
CR3-2
CR3-1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2018/035043

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl. G01N33/68(2006.01)i, G01N33/50(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)
Int.Cl. G01N33/68, G01N33/50

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	1971-2018
Registered utility model specifications of Japan	1996-2018
Published registered utility model applications of Japan	1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/WPIDS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
医中誌WEB (Ichushi WEB)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2017/038101 A1 (OSAKA UNIVERSITY) 09 March 2017, entire text, all drawings & US 2018/0214410 A1 & EP 3360572 A1 & CN 107921133 A	1-2
A	US 2016/0078782 A1 (THE TRUSTEES OF BOSTON COLLEGE) 17 March 2016, entire text, all drawings (Family: none)	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
06 December 2018 (06.12.2018)	25 December 2018 (25.12.2018)

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2018/035043

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	O'MAHONY, C. et al., "Altered Immunometabolism As a Result of Colonic Inflammation and Westernized Diet in Experimental Models of Colitis and Colitis-Associated Colorectal Cancer", Gastroenterology, April 2015, vol. 148, no. 4, supplement 1, S-335	1-2
A	古川健司ほか, ステージIV進行再発大腸がん、乳がんに対する修正MCTケトン食による安全性と有効性の評価(pilot study), 日本静脈経腸栄養学会雑誌, 25 August 2017, vol. 32, no. 3, pp. 1154-1161, (FURUKAWA, Kenji et al., "An evaluation of safety and the efficacy of the modified MCT ketogenic diet in advanced colorectal cancer and breast cancer of stage IV (pilot study)", Journal of Japanese Society for Parenteral and Enteral Nutrition)	1-2
PA	萩原圭祐ほか, メタボローム解析を用いた癌ケトン食治療の作用機序の探索, 第55回日本癌治療学会学術集会抄録, October 2017, WS9-2, non-official translation (HAGIWARA, Keisuke et al., "Search for working mechanism of cancer ketone food treatment using metabolome analysis", Abstracts of the 55th Annual Meeting of Japan Society of Clinical Oncology)	1-2

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１８／０３５０４３

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N33/68(2006.01)i, G01N33/50(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.　G01N33/68, G01N33/50

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	１９７１－２０１８年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１８年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１８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）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580（JDreamIII）
CAplus/WPIDS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS（STN）
医中誌 WEB（Ichushi WEB）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	WO 2017/038101 A1（国立大学法人大阪大学）2017.03.09, 全文全図 & US 2018/0214410 A1 & EP 3360572 A1 & CN 107921133 A	1-2
A	US 2016/0078782 A1（THE TRUSTEES OF BOSTON COLLEGE）2016.03.17, 全文全図（ファミリーなし）	1-2

☑　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
０６．１２．２０１８	２５．１２．２０１８

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　２Ｊ　６２０２
磯田　真美
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２５２

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Ａ	O'MAHONY, C. et al., Altered Immunometabolism As a Result of Colonic Inflammation and Westernized Diet in Experimental Models of Colitis and Colitis-Associated Colorectal Cancer, Gastroenterology, 2015.04, Vol. 148, No. 4, Supplement 1, S-335	1-2
Ａ	古川健司ほか, ステージIV進行再発大腸がん、乳がんに対する修正MCTケトン食による安全性と有効性の評価（pilot study）, 日本静脈経腸栄養学会雑誌, 2017.08.25, Vol. 32, No. 3, pp. 1154-1161	1-2
ＰＡ	萩原圭祐ほか, メタボローム解析を用いた癌ケトン食治療の作用機序の探索, 第55回日本癌治療学会学術集会抄録, 2017.10, WS9-2	1-2