(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
2016 年 6 月 2 日(02.06.2016)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2016/084883 A1

(51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
C12N 9/12 (2006.01)
C12N 15/09 (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2015/083186

(22) 国際出願日: 2015 年 11 月 26 日(26.11.2015)

(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 2014-238811 2014 年 11 月 26 日(26.11.2014) JP

(71) 出願人: 国立研究開発法人国立がん研究センター (**NATIONAL CANCER CENTER**) [JP/JP]; 〒1040045 東京都中央区築地五丁目１番１号 Tokyo (JP). ＬＳＩＰファンド運営合同会社(**LSIP, LLC**) [JP/JP]; 〒1000005 東京都千代田区丸の内一丁目７番１２号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 柴田 龍弘 (**SHIBATA, Tatsuhiro**); 〒1040045 東京都中央区築地五丁目１番１号 国立研究開発法人国立がん研究センター内 Tokyo (JP). 新井 康仁(**ARAI, Yasuhito**); 〒1040045 東京都中央区築地五丁目１番１号 国立研究開発法人国立がん研究センター内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 小野 新次郎, 外(**ONO, Shinjiro** et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目２番１号 新大手町ビル２０６区 ユアサハラ法律特許事務所 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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.

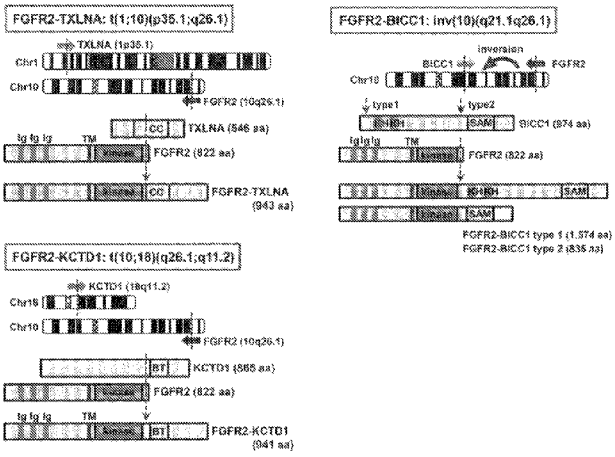
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユー

[続葉有]

(54) **Title**: NOVEL THERAPEUTIC TARGET FUSION GENE IN BILIARY TRACT CANCER

(54) 発明の名称 : 胆道がんにおける新規治療標的融合遺伝子

[図1]



(57) **Abstract**: [Problem] To identify a mutation which can serve as a target for a molecular therapy for cancer such as biliary tract cancer and which can also serve as an indicator for predicting the efficacy of a therapy with a medicine; to provide a means for detecting the mutation; to provide a means for identifying a cancer patient or a subject at risk for cancer on whom a medicine targeting a gene having the mutation or a protein encoded by the gene can exert a therapeutic effect, on the basis of the mutation; and others. [Solution] A method for detecting gene fusion that is a cancer driver mutation, said method comprising a step of detecting a fusion polynucleotide selected from a FGFR2-TXLNA fusion polynucleotide, a FGFR2-KCTD1 fusion polynucleotide and a FGFR2-BICC1 type 2 fusion polynucleotide or a polypeptide encoded by the fusion polynucleotide in a sample isolated from a subject with cancer.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2016/084883 A1

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)）

— 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)）

[課題] 胆道がんなどのがんにおいて、分子治療の標的となり、また薬剤による治療の有効性を予測する指標となりうる変異を同定すること、当該変異を検出する手段を提供すること、当該変異に基づき、当該変異を有する遺伝子またはそれにコードされるタンパク質を標的とする薬剤が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する手段を提供することなど。 [解決手段] がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出方法であって、がんを有する被験者由来の単離された試料における FGFR2-TXLNA 融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1 融合ポリヌクレオチド、もしくは FGFR2-BICC1 type 2 融合ポリヌクレオチドのいずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する工程を含む、方法。

明　細　書

発明の名称 ： 胆道がんにおける新規治療標的融合遺伝子

技術分野

[0001] 本発明は、がんの責任変異である遺伝子融合の検出方法、該遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する方法などに関する。

背景技術

[0002] 胆道がんは、肝臓内（肝内胆道がん）および肝臓外（肝外胆道がん）の胆管上皮細胞から発生する非常に浸潤性の高いがんである。東アジアを中心に発生頻度が高いが、近年欧米を含めて全世界的に発生頻度が増加している。発症早期の臨床症状に乏しいことから多くの症例では進行期で発見されることが多く、その予後は不良である。手術切除が唯一の完全治癒治療であるが、再発率が高く、５年生存率は手術可能症例の１５～２５％である。手術不能例あるいは再発症例に対して、既存の化学療法で明らかな著効を示すものは知られていないが、最近、塩酸ゲムシタビン単独あるいは塩酸ゲムシタビンとプラチナ製剤との併用が他の化学療法と比較してやや有効な成績を示すという報告がある。従って、胆道がんに対し、分子標的治療を含む新たな有効な治療法が強く求められており、これまでに標的分子の候補としてＥＧＦＲ、ＶＥＧＦＲ、ｃ－ＭＥＴといったものが報告されている。

[0003] 胆道がんにおける責任変異（ドライバー変異）としては、ＫＲＡＳ及びＢＲＡＦ遺伝子変異が報告されており、また最近チロシンキナーゼの融合遺伝子として脳腫瘍で同定されたＧＯＰＣ－ＲＯＳ１が胆道がんでも報告された。これらの異常が見られない症例におけるドライバー変異は未同定のままである。

[0004] ＦＧＦＲ（Fibroblast growth factor receptor：繊維芽細胞増殖因子受容体）ファミリーはＦＧＦ（Fibroblast growth factor：繊維芽細胞増殖因子

）の受容体として機能する膜貫通型チロシンキナーゼ分子の総称である。ＦＧＦＲファミリーに属する分子は、ヒトではＦＧＦＲ１～４の４種類が知られている。細胞外領域に３つのＩｇ－ｌｉｋｅ（イムノグロブロン様）領域、１カ所の膜貫通領域、細胞内領域にチロシンキナーゼ領域を有する。ＦＧＦＲファミリーは、胃がん、乳がん、子宮がん、膀胱がんを含む多くのがんの発生や進展に寄与していることが知られており、がんにおいて様々な種類のゲノム異常による活性化を起こしていることが報告されている（非特許文献１）。

[0005] 例えば、ＦＧＦＲ１に関しては、乳がんや卵巣がんにおいて遺伝子増幅が、メラノーマにおいて遺伝子変異が、白血病や乳がんにおいて遺伝子転座が生じることが知られている。また、ＦＧＦＲ２に関しては、胃がんや乳がんにおいて遺伝子増幅が、子宮がんや胃がんにおいて遺伝子変異が生じることが知られている。また、ＦＧＦＲ３に関しては、膀胱がんや唾液腺がんにおいて遺伝子増幅が、膀胱がん、子宮がん、ミエローマ、及び前立腺がんにおいて遺伝子変異が生じることが知られている。

[0006] ＦＧＦＲが関与する融合遺伝子に関しては、これまで多くは血液腫瘍で同定されている。血液腫瘍ではＦＧＦＲ１ＯＰ２－ＦＧＦＲ１（非特許文献２）、ＺＮＦ１９８－ＦＧＦＲ１（非特許文献３）といったものが報告されている。最近、固形腫瘍での発見も報告されており、乳がんにおいてERLIN2-FGFR1、FGFR2-AFF3、FGFR2-CASP7、およびFGFR2-CCDC6、肺がんにおいてBAG4-FGFR1およびFGFR2-KIAA1967、脳腫瘍や膀胱がんにおいてFGFR3-TACC3が報告されている（非特許文献４）。胆道がんにおけるＦＧＦＲシグナルの異常に関しては、そのリガンドであるＦＧＦの発現が文献的に報告されている（非特許文献５）。

[0007] 最近になって、本発明者らの研究グループによる胆道がんの解析において、FGFR2遺伝子のエクソン1～19にBICC1遺伝子のエクソン3～21がインフレームで融合したFGFR2-BICC1遺伝子融合（以下、FGFR2-BICC1 type 1ともいう）とFGFR2遺伝子のエクソン1～19にAHCYL1遺伝子のエクソン5～21がインフレー

ムで融合したFGFR2-AHCYL1遺伝子融合が検出されている（特許文献１）。当該遺伝子融合は、FGFR2タンパク質の活性化をもたらし、細胞をがん化させること、およびFGFRキナーゼ阻害剤によってがん化を抑制できることが実証されている。現在更に他の研究グループから、FGFR2-TACC3、FGFR2-MGEA5、およびFGFR2-KIAA1598遺伝子融合が報告されている（非特許文献６および７）。

[0008] ＦＧＦＲを標的とした低分子阻害化合物としては、現在、ＡＺＤ４５４７、ＴＫＩ２５８、Ｅ３８１０、Ｅ７０９０、ＢＩＢＦ１１２０、Ｍａｓｉｔｉｎｉｂ、ＢＧＪ３９８、ＰＤ１７３０７４といったものについて臨床開発が進められている。またＦＧＦＲを標的とした抗体治療薬の開発も現在進行中である（非特許文献１）。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：国際公開第2014/007369号

非特許文献

[0010] 非特許文献1：Ahmad I.ら, Biochim Biophys Acta., 2012, 1823, 850-860

非特許文献2：Popovici C.ら, Blood, 1999, 93, 1381-1389

非特許文献3：Xiao S.ら, Nature Genet., 1998, 18, 84-87

非特許文献4：Wu YM.ら, Cancer Discovery, 2013, 3, 636-647

非特許文献5：Ogasawara S.ら, Hepatol Res., 2001, 20, 97-113

非特許文献6：Borad MJ.ら, Plos Genetics, 2014, 10, e1004135

非特許文献7：Ross JS.ら, The Oncologist, 2014, 19, 235-242

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] 胆道がんなどのがんにおける変異の同定はいまだ十分になされているとはいえず、分子治療の標的となり、また薬剤による治療の有効性を予測する指標となりうる変異のさらなる同定が望まれているのが現状である。例えば、

特定の2つの遺伝子から生じる融合遺伝子には、融合点の異なる複数のバリアントが存在する可能性があり、そのような個々のバリアントが同定されることにより、個別化医療における患者の層別化の精度をより一層高めることが可能となる。

[0012] したがって本発明は、胆道がんなどのがんにおいて、分子治療の標的となり、また薬剤による治療の有効性を予測する指標となりうる変異を同定すること、当該変異を検出する手段を提供すること、当該変異に基づき、当該変異を有する遺伝子またはそれにコードされるタンパク質を標的とする薬剤が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する手段を提供することなどを目的とする。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明者らは、前記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、高速DNAシークエンス解析技術を用いて、胆道がんにおいてFGFR2-TXLNA融合遺伝子、FGFR2-KCTD1融合遺伝子、およびFGFR2-BICC1融合遺伝子の新しいバリアント（FGFR2-BICC1 type 2）を新規キナーゼ融合遺伝子として見出した。また、そのようにして見出されたFGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type2融合遺伝子を安定的に発現する細胞株について解析を行い、これらの融合遺伝子にコードされる融合ポリペプチドが、FGFR2キナーゼ活性依存的にMAPKシグナル伝達経路を活性化すること、またFGFR2キナーゼ活性依存的な形質転換能（がん化能）を有すること、を見出した。すなわち、これらの融合遺伝子が、がんの責任変異（ドライバー変異）であることを見出した。

[0014] 本発明者らは、さらに研究を重ねた結果、胆道がんなどのがんにおいて、当該遺伝子融合に基づき、当該遺伝子またはそれにコードされるタンパク質を標的とする薬剤が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定することが可能であることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0015] 即ち、本発明は以下の通りである。

［１］がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出方法であ

って、がんを有する被験者由来の単離された試料における下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する工程を含む、方法：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

［２］融合ポリヌクレオチドが下記（a）～（c）のいずれかである、［１］に記載の方法：

（a）下記のポリペプチドをコードするFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド：

（i）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号2で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；

（b）下記のポリペプチドをコードするFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド：

（i）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列から

なり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号4で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；および

（c）下記のポリペプチドをコードするFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチド：

（i）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号6で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド。

［３］融合ポリヌクレオチドが下記（a）～（c）のいずれかである、［１］または［２］に記載の方法：

（a）（i）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

（b）（i）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダ

イズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；および

（c）（i）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

［４］がんが胆道がんである、［１］～［３］のいずれかに記載の方法。

［５］がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する方法であって、下記の工程を含む、方法：

（1）被験者由来の単離された試料における下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する

工程：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；ならびに

（2）前記融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、前記ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が前記被験者において治療効果をもたらすと判定する工程。

［６］がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出用キットであって、下記（A）～（C）のいずれかまたはそれらの組合せを含む、キット：

（A）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを特異的に認識するように設計されたプローブであるポリヌクレオチド；

（B）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを特異的に増幅できるように設計された一対のプライマーであるポリヌクレオチド；あるいは

（C）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチド、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体。

［７］FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびに

TXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-TXLNA融合ポリペプチドまたはその断片。

［８］FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-KCTD1融合ポリペプチドまたはその断片。

［９］FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドまたはその断片。

［１０］［７］～［９］のいずれかに記載の融合ポリペプチドまたはその断片をコードするポリヌクレオチド。

［１１］FGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合陽性がんの治療剤。

［１２］下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質を有効成分として含む、［１１］に記載の治療剤：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

［１３］がんが胆道がんである、［１１］または［１２］に記載の治療剤。

［１４］前記（a）～（c）のいずれかの融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が、FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質である、［１１］～［１３］のいずれかに記載の治療剤。

［１５］FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質が、３－［２，４－ジメチル－５－［［（Ｚ）－２，３－ジヒドロ－２－オキソ－１Ｈ－インドール－３－イリデン］メチル］－１Ｈ－ピロール－３－イル］プロパン酸、Ｎ－｛５－［２－（３，５－ジメトキシフェニル）エチル］－１Ｈ－ピラゾール－３－イル｝－４－［（３Ｒ，５Ｓ）－３，５－ジメチルピペラジン－１－イル］ベンズアミド、１－［（２Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－４－アジド－５－（ヒドロキシメチル）オキソラン－２－イル］－５－メチルピリミジン－２，４－ジオン、ＦＧＦＲ２－IIIｂ特異的抗体、３－（２，６－ジクロロ－３，５－ジメトキシフェニル）－１－［６－［［４－（４－エチルピペラジン－１－イル）フェニル］アミノ］ピリミジン－４－イル］－１－メチルウレア、（Ｓ）－（Ｒ）－１－（（４－（（４－フルオロ－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－イル）オキシ）－５－メチルピロロ［２，１－ｆ］［１，２，４］トリアジン－６－イル）オキシ）プロパン－２－イル　２－アミノプロピオン酸、Ｎ－［２－［［４－（ジエチルアミノ）ブチル］アミノ］－６－（３，５－ジメトキシフェニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－イル］－Ｎ’－（１，１－ジメチルエチル）－ウレアである、［１４］に記載の治療剤。

［１６］がん治療剤のスクリーニング方法であって、下記の工程を含む、方法：

（1）下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリペプチドを発現している細胞に被験物質を接触させる工程：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；

（2）前記融合ポリペプチドの発現および／または活性が抑制されるか否かを決定する工程；ならびに

（3）前記融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制すると決定された物質をがん治療剤として選択する工程。

発明の効果

[0016] 本発明によれば、本願発明によりはじめて明らかとなった特定のがんの未知の責任変異を検出することが可能となり、当該責任変異の存在に基づくがん治療が効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定すること、さらには当該がん患者を治療することが可能となる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]図１は、FGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1及びFGFR2-BICC1 type2融合タンパク質のドメイン構造の一例を示す概略図である。Ig：Ig様ドメイン；TM：膜貫通領域；CC：コイルドコイルドメイン；BT：BTB/POZドメイン；KH：KHドメイン；SAM：SAMドメイン。下向き矢印は融合点を示す。

[図2]図２は、マウス線維芽細胞株NIH3T3にFGFR2融合遺伝子の野性型またはキナーゼ活性変異体（KD）を発現させ、MAPKの活性化を解析した結果を示す。アステリスクはリン酸化されたFGFR2融合タンパク質を示す。

[図3]図３は、FGFR2融合遺伝子を発現したNIH3T3細胞の足場非依存性増殖、およびそのFGFR阻害薬（BGJ398またはPD173074）による抑制を示す。バー：100μm。

[図4]図４は、本発明の融合ポリペプチドのin vivo造腫瘍能を調べた結果を示す。矢頭は腫瘍形成を示す。各パネルの左下の値は、野生型FGFR2融合遺伝

子を発現させた細胞を移植した場合は4箇所全てにおいて腫瘍が形成されたこと（4/4）およびKD変異型のFGFR2融合遺伝子の場合は4箇所全てにおいて腫瘍が形成されなかったこと（0/4）を示す。

発明を実施するための形態

[0018] 後述の実施例において示す通り、本発明者らは、がん組織において、がんの責任変異（ドライバー変異）として3種の新規遺伝子融合、すなわちFGFR2-TXLNA遺伝子融合、FGFR2-KCTD1遺伝子融合、及び新規な融合型のFGFR2-BICC1遺伝子融合を見出した。本発明はかかる知見に基づき、当該遺伝子融合の検出方法、当該責任変異の存在に基づくがん治療が効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者の同定方法、がんの治療方法およびがん治療剤、がん治療剤のスクリーニング方法等を提供する。

[0019] 本発明において「がんの責任変異」とは、ドライバー変異と互換的に使用される用語であるが、がん組織に存在する変異であって、細胞に対するがん化能を有する変異をいう。典型的には、ある変異が見出されたがん組織において、既知のがん遺伝子変異がいずれも存在しない場合（すなわち、当該変異が前記既知のがん遺伝子変異と相互排他的に存在する場合）、当該変異はがんの責任変異であるということができる。

[0020] ＜具体的ながんの責任変異＞

以下、各遺伝子融合について説明する。なお本明細書中、融合ポリヌクレオチドにおける「融合点」とは、5’側の遺伝子部分と3’側の遺伝子部分とが接続される境界を意味し、これは2つのヌクレオチド残基の間の境界である。また融合ポリペプチドにおける「融合点」とは、N末端側のポリペプチドとC末端側のポリペプチドとが接続される境界を意味し、これは2つのアミノ酸残基の間の境界であるか、または遺伝子融合が1つのコドン内で生じた場合には当該コドンによりコードされる1つのアミノ酸残基自体である。

[0021] （1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合

本遺伝子融合は、FGFR2タンパク質とTXLNAタンパク質の融合タンパク質（以下、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドとも称する）の発現を生じる変異であり

、ヒト染色体においては10q26.1および1p35.1の領域内に切断点を有する転座（t(1;10)）により生じる変異である。

[0022] FGFR2タンパク質は、ヒトにおいては10q26.1に存在する遺伝子にコードされるタンパク質である。本発明において、「FGFR2タンパク質」は、ヒト由来のものであれば、例えば、NCBIアクセッション番号NP_000132.3（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム1）、NP_075259.4（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム2）、NP_001138385.1（10-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム3）、NP_001138386.1（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム4）、NP_001138387.1（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム5）、NP_001138388.1（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム6）、NP_001138389.1（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム7）、NP_001138390.1（25-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム8）、およびNP_001138391.1（10-May-2014）で特定されるタンパク質（アイソフォーム9）が挙げられる。これらFGFR2タンパク質のアイソフォームは、膜外ドメインの構造において互いに少し異なる構造を有している。本発明における「FGFR2タンパク質」は、ヒト由来のものであれば、典型的には配列番号8で表されるアミノ酸配列からなるタンパク質（アイソフォーム２）である。FGFR2タンパク質は、Ig様ドメイン、膜貫通領域、およびキナーゼドメインを有することを特徴としている（図１）。配列番号8で表されるアミノ酸配列であれば、Ig様ドメインは53～347位のアミノ酸配列に該当し、膜貫通領域は376～398位のアミノ酸配列に該当し、キナーゼドメインは482～758位のアミノ酸配列に該当する。

[0023] TXLNAタンパク質は、ヒトにおいては1p35.1に存在する遺伝子にコードされるタンパク質であり、典型的には配列番号10で表されるアミノ酸配列（NCBIアクセッション番号NP_787048.1）からなるタンパク質である。TXLNAタンパク質は、コイルドコイルドメインを有することを特徴としており（図１）、これは配列番号10で表されるアミノ酸配列の186～491位のアミノ酸配列に該

当する。

[0024] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドは、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドである。

[0025] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドには、FGFR2タンパク質のキナーゼドメインの全部が含まれてもよいし、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドがキナーゼ活性を有する限り、キナーゼドメインの一部が含まれてもよい。

[0026] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドが「キナーゼ活性を有する」とは、FGFR2タンパク質由来のキナーゼドメインに起因してチロシンをリン酸化する酵素としての活性を有することを意味する。FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドのキナーゼ活性は、定法により測定され、通常、適切な条件下で基質（合成ペプチド基質など）及びATPと共にインキュベーションした後、基質のリン酸化チロシンを検出する。また市販の測定キットを用いて測定することもできる。

[0027] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドには、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドがキナーゼ活性を有する限り、TXLNAタンパク質のコイルドコイルドメインの全部が含まれてもよいし、一部が含まれてもよい。

[0028] 本発明において、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（以下、FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドとも称する）は、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである。FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドは、mRNA、cDNAおよびゲノムDNAのいずれであってもよい。

[0029] 本発明におけるFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドは、例えば、下記のポリペプチドをコードするFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであり得る：

（i）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号2で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド。

[0030] 配列番号2で表されるアミノ酸配列は、後述の実施例において示すように、ヒトがん組織由来のサンプル中に見出されたFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列である。なお、配列番号2で表されるアミノ酸配列中、融合点は、653位のグルタミン酸と654位のグルタミン酸の間に位置する。

[0031] 上記(ii)において、「1若しくは複数のアミノ酸」とは、通常、1～50個、好ましくは1～30個、より好ましくは1～10個、さらにより好ましくは1～数個（例えば、1～5個、1～4個、1～3個、1若しくは2個、または1個）のアミノ酸を意味する。

[0032] 上記(iii)において、「80％以上の配列同一性」とは、好ましくは８５％以上、より好ましくは９０％以上、９５％以上、さらにより好ましくは９７％以上、９８％以上、９９％以上の配列同一性を意味する。アミノ酸配列の同一性は、カーリンおよびアルチュールによるアルゴリズムBLAST（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268, 1990、Proc Natl Acad Sci USA 90: 5873, 1993）に基づくBLASTXまたはBLASTPと呼ばれるプログラム（Altschul SF, et al : J Mol Biol 215: 403, 1990）を利用して決定することができる。BLASTXを用いてアミノ酸配列を解析する場合は、パラメーターは、例えばscore＝50、wordlength＝3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合は、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は当業者にはよく知られている（例えば、http://www.ncbi.nlm.nih.gov/）。

[0033] また本発明におけるFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドは、例えば、下記のいずれかのポリヌクレオチドであり得る：

（i）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダ

イズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[0034] 配列番号1で表される塩基配列は、後述の実施例において示すように、ヒトがん組織由来のサンプル中に見出されたFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドの塩基配列である。配列番号1で表される塩基配列中、融合点は、1959位のGTPと1960位のGTPの間に位置する。

[0035] 上記(ii)において、「ストリンジェントな条件下」とは、特に記載した場合を除き、中程度または高程度にストリンジェントな条件をいう。

[0036] 中程度にストリンジェントな条件は、例えば、対象となるポリヌクレオチドの長さに基づき、当業者であれば容易に設計することができる。基本的な条件は、Sambrookら, Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第3版、第6～7章、Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001に示されている。典型的には、中程度にストリンジェントな条件は、ニトロセルロースフィルターに関し、5×SSC、0.5％SDS、1.0 mM EDTA（pH8.0）の前洗浄条件；約40～50℃での、約50％ホルムアミド、2～6×SSC（または、約42℃での、約50％ホルムアミド中のStark's solutionなどの他の同様のハイブリダイゼーション溶液）のハイブリダイゼーション条件；および約40℃～60℃、0.5～6×SSC、0.1％ SDSの洗浄条件を含む。中程度にストリンジェントな条件は、好ましくは、約50℃、6×SSCのハイブリダイゼーション条件を含み、前述の洗浄条件および／または洗浄条件を含んでいてもよい。

[0037] 高程度にストリンジェントな条件（高ストリンジェントな条件）もまた、

例えば、対象となるポリヌクレオチドの長さに基づき、当業者であれば容易に設計することができる。高ストリンジェントな条件は、中程度にストリンジェントな条件よりも高い温度および／または低い塩濃度が含まれる。典型的には、約65℃、0.2～6×SSC、好ましくは6×SSC、より好ましくは2×SSC、さらに好ましくは0.2×SSCのハイブリダイゼーション条件を含む。いずれの場合も、約65～68℃、0.2×SSC、0.1% SDSの洗浄条件を含むことが好ましい。

[0038] いずれの場合も、ハイブリダイゼーション、前洗浄および洗浄のための緩衝液として、SSC（1×SSCは、0.15 M NaClおよび15 mM クエン酸ナトリウムである。）の代わりにSSPE（1×SSPEは、0.15 M NaCl、10 mM NaH2PO4、および1.25 mM EDTA、pH7.4である。）を代用することができる。いずれの場合も、洗浄は、ハイブリダイゼーションが完了した後、約15分間行うことができる。

[0039] 上記(iii)において、「1若しくは複数のヌクレオチド」とは、通常、1～50個、好ましくは1～30個、より好ましくは1～10個、さらにより好ましくは1～数個（例えば、1～5個、1～4個、1～3個、1若しくは2個、または1個）のヌクレオチドを意味する。

[0040] 上記(iv)において、「80%以上の配列同一性」とは、好ましくは８５%以上、より好ましくは９０%以上、９５%以上、さらにより好ましくは９７%以上、９８%以上、９９%以上の配列同一性を意味する。塩基配列の同一性は、前記アルゴリズムBLASTに基づくBLASTNと呼ばれるプログラム（Altschul SF, et al: J Mol Biol 215: 403, 1990）を利用して決定することができる。BLASTNを用いて塩基配列を解析する場合は、パラメーターは、例えばscore＝100、wordlength＝12とする。

[0041] (2) FGFR2-KCTD1遺伝子融合

本遺伝子融合は、FGFR2タンパク質とKCTD1タンパク質の融合タンパク質（以下、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドとも称する）の発現を生じる変異であり、ヒト染色体においては18q11.2および10q26.1の領域内に切断点を有する転

座（t(10;18)）により生じる変異である。

[0042] FGFR2タンパク質は、上記「（1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合」に記載した通りである。

[0043] KCTD1タンパク質は、ヒトにおいては18q11.2に存在する遺伝子にコードされるタンパク質であり、典型的には配列番号12で表されるアミノ酸配列（NCBIアクセッション番号NP_001136202.1）からなるタンパク質である。KCTD1タンパク質は、BTB/POZドメインを有することを特徴としており（図１）、これは配列番号12で表されるアミノ酸配列の638～740位のアミノ酸配列に該当する。

[0044] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドは、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドである。

[0045] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドには、FGFR2タンパク質のキナーゼドメインの全部が含まれてもよいし、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドがキナーゼ活性を有する限り、キナーゼドメインの一部が含まれてもよい。

[0046] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドが「キナーゼ活性を有する」とは、FGFR2タンパク質由来のキナーゼドメインに起因してチロシンをリン酸化する酵素としての活性を有することを意味する。FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドのキナーゼ活性は、定法により測定され、通常、適切な条件下で基質（合成ペプチド基質など）及びATPと共にインキュベーションした後、基質のリン酸化チロシンを検出する。また市販の測定キットを用いて測定することもできる。

[0047] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドには、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドがキナーゼ活性を有する限り、KCTD1タンパク質のBTB/POZドメインの全部が含まれてもよいし、一部が含まれてもよい。

[0048] 本発明において、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（以下、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドとも称する）は、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌ

クレオチドである。FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドは、mRNA、cDNAおよびゲノムDNAのいずれであってもよい。

[0049] 本発明におけるFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドは、例えば、下記のポリペプチドをコードするFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであり得る：

（i）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号4で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド。

[0050] 配列番号4で表されるアミノ酸配列は、後述の実施例において示すように、ヒトがん組織由来のサンプル中に見出されたFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列である。なお、配列番号4で表されるアミノ酸配列中、融合点は、679位のグルタミン酸と680位のアスパラギン酸の間に位置する。

[0051] 上記(ii)における「1若しくは複数のアミノ酸」、および上記(iii)における「80％以上の配列同一性」の意味は、上記「（1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合」に記載した通りである。

[0052] また本発明におけるFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドは、例えば、下記のいずれかのポリヌクレオチドであり得る：

（i）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチ

ド、または

（iv）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[0053] 配列番号3で表される塩基配列は、後述の実施例において示すように、ヒトがん組織由来のサンプル中に見出されたFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドの塩基配列である。配列番号3で表される塩基配列中、融合点は、2037位のGTPと2038位のGTPの間に位置する。

[0054] 上記(ii)における「ストリンジェントな条件下」、上記(iii)における「1若しくは複数のヌクレオチド」、および上記(iv)における「80％以上の配列同一性」の意味は、上記「（1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合」に記載した通りである。

[0055] （3）FGFR2-BICC1 type2遺伝子融合

本遺伝子融合は、FGFR2タンパク質とBICC1タンパク質の融合タンパク質（以下、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドとも称する）の発現を生じる変異であり、ヒト染色体においては10q21.1および10q26.1の領域内に切断点を有する逆位（inv(10)）により生じる変異である。

[0056] FGFR2タンパク質は、上記「（1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合」に記載した通りである。

[0057] BICC1タンパク質は、ヒトにおいては10q21.1に存在する遺伝子にコードされるタンパク質であり、典型的には配列番号14で表されるアミノ酸配列（NCBIアクセッション番号NP_001073981.1）からなるタンパク質である。BICC1タンパク質は、RNA結合領域であるKHドメインおよびタンパク質相互作用に関与するSAM（ステライル（sterile）αモチーフ）ドメインを有することを特徴としている（図１）。配列番号14で表されるアミノ酸配列であれば、KHドメインは131～204位と283～353位のアミノ酸配列に該当し、SAMドメインは871～936位のアミノ酸配列に該当する。BICC1タンパク質は、Wnt経路を負に制御することが知られており、また、このタンパク質の機能異常により、腎多発

嚢胞と膵臓発生異常とを来すことが報告されている（Kraus MR.ら、Hum Mutat., 2012, 33, 86-90）。

[0058] FGFR2-BICC1 type2融合ポリペプチドは、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドである。FGFR2タンパク質とBICC1タンパク質の融合タンパク質としては、FGFR2遺伝子のエクソン1～19とBICC1遺伝子のエクソン3～21とがインフレームで融合することにより生じた融合ポリペプチドが知られているが（国際公開第2014/007369号）、当該融合ポリペプチドはBICC1のKHドメインを含んでいるため本発明におけるFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドには含まれない。なお本明細書中、本発明におけるFGFR2-BICC1遺伝子融合をFGFR2-BICC1 type 2、国際公開第2014/007369号に開示されたFGFR2-BICC1遺伝子融合をFGFR2-BICC1 type 1という。

[0059] FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドには、FGFR2タンパク質のキナーゼドメインの全部が含まれてもよいし、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドがキナーゼ活性を有する限り、キナーゼドメインの一部が含まれてもよい。

[0060] FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドが「キナーゼ活性を有する」とは、FGFR2タンパク質由来のキナーゼドメインに起因してチロシンをリン酸化する酵素としての活性を有することを意味する。FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドのキナーゼ活性は、定法により測定され、通常、適切な条件下で基質（合成ペプチド基質など）及びATPと共にインキュベーションした後、基質のリン酸化チロシンを検出する。また市販の測定キットを用いて測定することもできる。

[0061] FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドには、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドがキナーゼ活性を有する限り、BICC1タンパク質のSAMドメインの全部が含まれてもよいし、一部がふくまれてもよい。

[0062] 本発明において、FGFR2-BICC1 type2融合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド（以下、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドとも称する）

は、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドである。FGFR2-BICC1 type2融合ポリヌクレオチドは、mRNA、cDNAおよびゲノムDNAのいずれであってもよい。

[0063] 本発明におけるFGFR2-BICC1 type2融合ポリヌクレオチドは、例えば、下記のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドであり得る：

（i）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号6で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド。

[0064] 配列番号6で表されるアミノ酸配列は、後述の実施例において示すように、ヒトがん組織由来のサンプル中に見出されたFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドによってコードされるアミノ酸配列である。なお、配列番号6で表されるアミノ酸配列中、融合点は、653位のグルタミン酸と654位のグリシンの間に位置する。

[0065] 上記(ii)における「1若しくは複数のアミノ酸」、および上記(iii)における「80％以上の配列同一性」の意味は、上記「（1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合」に記載した通りである。

[0066] また本発明におけるFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドは、例えば、下記のいずれかのポリヌクレオチドであり得る：

（i）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[0067] 配列番号5で表される塩基配列は、後述の実施例において示すように、ヒトがん組織由来のサンプル中に見出されたFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドの塩基配列である。配列番号5で表される塩基配列中、融合点は、1959位のGTPと1960位のGTPの間に位置する。

[0068] 上記(ii)における「ストリンジェントな条件下」、上記(iii)における「1若しくは複数のヌクレオチド」、および上記(iv)における「80％以上の配列同一性」の意味は、上記「（1）FGFR2-TXLNA遺伝子融合」に記載した通りである。

[0069] ＜がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出方法＞

本発明は、前記3種の遺伝子融合の検出方法（以下、本発明の検出方法とも称する）を提供する。本発明の検出方法は、がんを有する被験者由来の単離された試料における前記いずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する工程を含む。

[0070] 本発明の検出方法において、被験者は、哺乳動物であれば特に限定されない。哺乳動物としては、例えば、マウス、ラット、ハムスター、シマリス、モルモット等のげっ歯類、ウサギ、ブタ、ウシ、ヤギ、ウマ、ヒツジ、ミンク、イヌ、ネコ、ヒト、サル、カニクイザル、アカゲザル、マーモセット、オランウータン、チンパンジーなどの霊長類等を挙げることができるが、ヒトが好ましい。

[0071] がんを有する被験者は、がんに罹患している被験者のみならず、がんに罹患している疑いのある被験者、又は将来がんになるリスクを有する被験者で

あってもよい。本発明の検出方法を適用する対象となる「がん」としては、前記3種の遺伝子融合のうちいずれかが検出され得るがんであれば特に限定されないが、好ましくは胆道がんである。

[0072] 被験者由来の「単離された試料」は、生体試料（例えば、細胞、組織、臓器、体液（血液、リンパ液等）、消化液、喀痰、肺胞・気管支洗浄液、尿、便）のみならず、これらの生体試料から得られる核酸抽出物（ゲノムDNA抽出物、mRNA抽出物、mRNA抽出物から調製されたcDNA調製物やcRNA調製物等）やタンパク質抽出物も含む。ゲノムDNA、mRNA、cDNA又はタンパク質は、当業者であれば、前記試料の種類及び状態等を考慮し、それに適した公知の手法を選択して調製することが可能である。また、前記試料は、ホルマリン固定処理、アルコール固定処理、凍結処理又はパラフィン包埋処理が施してあるものでもよい。

[0073] また「単離された試料」は、前記がんが存在するか又は存在すると疑われる臓器由来であることが好ましく、例えば、小腸、脾臓、腎臓、肝臓、胆道、胃、肺、副腎、心臓、脳、膵臓、大動脈等に由来するものが挙げられるが、より好ましくは胆道由来である。

[0074] 本発明の検出方法において、融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドの検出は、自体公知の手法を用いて行なうことができる。

[0075] ゲノムDNAからの転写産物（mRNAまたはmRNAから調製したcDNA）を対象とする場合、例えば、RT-PCR法、シークエンシング、TaqManプローブ法、ノーザンブロッティング、ドットブロット法、cDNAマイクロアレイ解析等を利用してmRNA又はcDNAである融合ポリヌクレオチドを検出することができる。

[0076] またゲノムDNAを対象とする場合、例えば、in situハイブリダイゼーション（ISH）、ゲノムPCR法、シークエンシング、TaqManプローブ法、サザンブロッティング、ゲノムマイクロアレイ解析等を利用してゲノムDNAである融合ポリヌクレオチドを検出することができる。

[0077] これらの手法はそれぞれ単独で利用することができるが、組み合わせて利

用してもよい。例えば、前記3種の遺伝子融合は、融合ポリペプチドを発現することによりがん化に寄与すると考えられることから、ゲノムDNAである融合ポリヌクレオチドを検出する場合（例えばin situハイブリダイゼーション等による）には、転写産物またはタンパク質が生成することをさらに確認すること（例えばRT-PCR、免疫染色法等による）も好ましい。

[0078] ハイブリダイゼーション技術（例えば、TaqManプローブ法、ノーザンブロッティング、サザンブロッティング、ドットブロット法、マイクロアレイ解析、in situハイブリダイゼーション（ISH）など）により融合ポリヌクレオチドを検出する場合には、前記融合ポリヌクレオチドを特異的に認識するように設計されたプローブであるポリヌクレオチドを使用することができる。ここで「融合ポリヌクレオチドを特異的に認識する」とは、ストリンジェントな条件で、当該融合ポリヌクレオチドの融合点から5’末端側及び3’末端側の部分が由来する野生型遺伝子を含めて当該融合ポリヌクレオチド以外のポリヌクレオチドから、当該融合ポリヌクレオチドを識別して認識することをいう。

[0079] 本発明の検出方法においては、治療又は診断の過程で得られる生体試料（生検サンプル等）は、ホルマリン固定されていることが多いため、検出対象であるゲノムＤＮＡがホルマリン固定下においても安定しており、検出感度が高いという観点から、in situハイブリダイゼーションを用いることが好適である。

[0080] in situハイブリダイゼーションにおいては、前記生体試料に、融合ポリヌクレオチドを特異的に認識するように設計されたプローブであるポリヌクレオチドとして少なくとも１５塩基の鎖長を有する下記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドをハイブリダイズさせることにより、融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡ（融合ポリヌクレオチド）を検出することができる。

（ａ）各融合遺伝子について、5’側融合パートナー遺伝子（FGFR2遺伝子）の塩基配列にハイブリダイズするプローブ及び3’側融合パートナー遺伝子（

TXLNA、KCTD1またはBICC1遺伝子）の塩基配列にハイブリダイズするプローブからなる群から選択される少なくとも一つのプローブであるポリヌクレオチド

（ｂ）各融合遺伝子について、5’側融合パートナー遺伝子と3’側融合パートナー遺伝子との融合点を含む塩基配列にハイブリダイズするプローブであるポリヌクレオチド。

[0081] 本発明にかかる5’側融合パートナー遺伝子であるFGFR2遺伝子は、ヒト由来のものであれば、典型的にはＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号 NC_000010.11で特定されるゲノムの配列のうち121478330～121598458番目のＤＮＡ配列（相補鎖）からなる遺伝子である。

[0082] 本発明にかかる3’側融合パートナー遺伝子であるTXLNA遺伝子は、ヒト由来のものであれば、典型的にはＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号 NC_000001.11で特定されるゲノムの配列のうち32179695～32198285番目のＤＮＡ配列からなる遺伝子である。

[0083] 本発明にかかる3’側融合パートナー遺伝子であるKCTD1遺伝子は、ヒト由来のものであれば、典型的にはＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号 NC_000018.10で特定されるゲノムの配列のうち26454910～26657401番目のＤＮＡ配列（相補鎖）からなる遺伝子である。

[0084] 本発明にかかる3’側融合パートナー遺伝子であるBICC1遺伝子は、ヒト由来のものであれば、典型的にはＧｅｎｂａｎｋアクセッション番号 NC_000010.11で特定されるゲノムの配列のうち58513016～58831435番目のＤＮＡ配列からなる遺伝子である。

[0085] しかしながら、遺伝子のＤＮＡ配列は、その変異等により、自然界において（すなわち、非人工的に）変化しうる。従って、このような天然の変異体も本発明の対象になりうる（以下、同様）。

[0086] 本発明の（ａ）に記載のポリヌクレオチドは、該ポリヌクレオチドの標的塩基配列である、5’側融合パートナー遺伝子（FGFR2遺伝子）の塩基配列および／または3’側融合パートナー遺伝子（TXLNA、KCTD1またはBICC1遺伝子

）の塩基配列にハイブリダイズすることにより、前記生体試料における融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡの存在を検出できるものであればよいが、好ましくは、下記（ａ１）～（ａ３）に記載のポリヌクレオチドである：

（ａ１）　5’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも5’側の上流領域の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチド（以下、「5’融合パートナー遺伝子プローブ１」とも称する）と、3’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも3’側の下流領域の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチド（以下、「3’融合パートナー遺伝子プローブ１」とも称する）との組み合わせ；

（ａ２）　5’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも5’側の上流領域の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチド（以下、「5’融合パートナー遺伝子プローブ１」とも称する）と、5’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも3’側の下流領域の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチド（以下、「5’融合パートナー遺伝子プローブ２」とも称する）との組み合わせ；

（ａ３）　3’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも5’側の上流領域の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチド（以下、「3’融合パートナー遺伝子プローブ２」とも称する）と、3’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも3’側の下流領域の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチド（以下、「3’融合パートナー遺伝子プローブ１」とも称する）との組み合わせ。

[0087]　上記（ａ１）～（ａ３）において、5’側融合パートナー遺伝子の切断点よりも5’側の上流領域の塩基配列には、FGFR2タンパク質のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメインの全部または一部のコード領域が含まれる。

[0088]　上記（ａ１）～（ａ３）において、3’側融合パートナー遺伝子がTXLNA遺伝子である場合、当該遺伝子の切断点よりも3’側の下流領域の塩基配列には、TXLNAのコイルドコイルドメインの全部または一部のコード領域が含まれる。

[0089]　上記（ａ１）～（ａ３）において、3’側融合パートナー遺伝子がKCTD1遺

伝子である場合、当該遺伝子の切断点よりも3’側の上流領域の塩基配列にはKCTD1のBTB/POZドメインの全部または一部のコード領域が含まれる。

[0090] 上記（ａ１）～（ａ３）において、3’側融合パートナー遺伝子がBICC1遺伝子である場合、当該遺伝子の切断点よりも3’側の下流領域の塩基配列には、BICC1のSAMドメインの全部または一部のコード領域が含まれるが、KHドメインのコード領域は含まれない。

[0091] 前記（ａ１）に記載のポリヌクレオチドとしては、例えば、以下の(a1-1)～(a1-3)のポリヌクレオチドの組み合わせが挙げられる：

(a1-1)FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメインの全部または一部のコード領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドと、TXLNAのコイルドコイルドメインの全部または一部のコード領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドの組み合わせ、

(a1-2)FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメインの全部または一部のコード領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドと、KCTD1のBTB/POZドメインの全部または一部のコード領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドの組み合わせ、ならびに

(a1-3)FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメインの全部または一部のコード領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドと、BICC1のSAMドメインの全部または一部のコード領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドの組み合わせ。

[0092] 本発明の検出方法において検出される融合遺伝子について、融合点の異なる既知のバリアントが存在する場合には、「融合ポリヌクレオチドを特異的に認識するように設計されたプローブ」には、当該融合遺伝子と当該バリアントとを識別するためのプローブがさらに含まれてもよい。そのようなプローブとしては、当該融合遺伝子と当該バリアントのいずれか一方にのみ含まれる領域にハイブリダイズするポリヌクレオチドが挙げられる。例えば、FGFR2-BICC1 type 2遺伝子のバリアントとしてFGFR2-BICC1 type 1遺伝子が知られているが、これらを識別するためには、BICC1のエクソン3～17の領域（例

えばKHドメインのコード領域）にハイブリダイズするポリヌクレオチドを使用することができる。

[0093] 本発明において、in situハイブリダイゼーションに用いられる前記（ａ）に記載のポリヌクレオチドがハイブリダイズする領域（標的塩基配列）としては、標的塩基配列に対する特異性及び検出の感度の観点から、5’側融合パートナー遺伝子（FGFR2遺伝子）と3’側融合パートナー遺伝子（TXLNA、KCTD1またはBICC1遺伝子）との融合点から１０００００００塩基以内の領域であることが好ましい。

[0094] また、本発明において、in situハイブリダイゼーションに用いられる前記（ｂ）に記載のポリヌクレオチドは、該ポリヌクレオチドの標的塩基配列である、5’側融合パートナー遺伝子と3’側融合パートナー遺伝子との融合点を含む塩基配列にハイブリダイズすることにより、前記生体試料における融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡの存在を検出できるものであればよいが、典型例としては、配列番号：1、3、または5に記載の塩基配列中の融合点を含む塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチドである。

[0095] また、本発明において、in situハイブリダイゼーションに用いられる前記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドは、標的塩基配列に対する特異性及び検出の感度の観点から、前記標的塩基配列全体をカバーすることのできる、複数種のポリヌクレオチドからなる集団であることが好ましい。かかる場合、該集団を構成するポリヌクレオチドの長さは少なくとも１５塩基であるが、１００～１０００塩基であることが好ましい。

[0096] in situハイブリダイゼーションに用いられる前記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドは、検出のため、蛍光色素等によって標識されていることが好ましい。かかる蛍光色素としては、例えば、ＤＥＡＣ、ＦＩＴＣ、Ｒ６Ｇ、ＴｅｘＲｅｄ、Ｃｙ５が挙げられるが、これらに制限されない。また、蛍光色素以外に放射性同位元素（例：^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{33}Ｐ、^{32}Ｐ等）、酵素（例：β－ガラクトシダーゼ、β－グルコシダーゼ、アルカリホスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素等）、発光物質（例：

ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニン、3,3’-ジアミノベンジジン（DAB）等）、によって、前記ポリヌクレオチドを標識してもよい。

[0097] in situハイブリダイゼーションにおいて、5’側融合パートナー遺伝子プローブ１と3’側融合パートナー遺伝子プローブ１とを用いる場合、5’側融合パートナー遺伝子プローブ１と5’側融合パートナー遺伝子２とを用いる場合、または3’融合パートナー遺伝子プローブ２と3’融合パートナー遺伝子プローブ１とを用いる場合、これらプローブは互いに異なる色素にて標識されていることが好ましい。そして、このように異なる色素にて標識したプローブの組み合わせを用いてin situハイブリダイゼーションを行った場合、5’側融合パートナー遺伝子プローブ１の標識が発するシグナル（例えば、蛍光）と3’側融合パートナー遺伝子プローブ１の標識が発するシグナルとの重なりが観察された際に融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡを検出できたと判定することができる。一方、5’側融合パートナー遺伝子プローブ１の標識が発するシグナルと5’側融合パートナー遺伝子プローブ２の標識が発するシグナルとの分離、3’側融合パートナー遺伝子プローブ２の標識が発するシグナルと3’側融合パートナー遺伝子プローブ１の標識が発するシグナルとの分離が観察された際に融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡを検出できたと判定することができる。

[0098] なお、ポリヌクレオチドの標識は、公知の手法により行うことができる。例えば、ニックトランスレーション法やランダムプライム法により、蛍光色素等によって標識された基質塩基をポリヌクレオチドに取り込ませ、該ポリヌクレオチドを標識することができる。

[0099] in situハイブリダイゼーションにおいて、前記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドと前記生体試料とをハイブリダイズさせる際の条件は、当該ポリヌクレオチドの長さ等の諸要因により変動し得るが、高ストリンジェンシーなハイブリダイズの条件として、例えば、０．２ｘＳＳＣ、６５℃という条件が挙げられ、低ストリンジェンシーなハイブリダイズの条件とし

て、例えば、２．０ｘＳＳＣ、５０℃という条件が挙げられる。なお、当業者であれば、塩濃度（ＳＳＣの希釈率等）と温度の他、例えば、界面活性剤（ＮＰ－４０等）の濃度、ホルムアミドの濃度、ｐＨ等の諸条件を適宜選択することで、前記条件と同様のストリンジェントなハイブリダイゼーションの条件を実現することができる。

[0100] 前記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドを用いて、融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡを検出する方法としては、前記in situハイブリダイゼーション以外に、サザンブロッティング、ノーザンブロッティング及びドットブロッティングが挙げられる。これら方法においては、前記生体試料から得られる核酸抽出物を転写したメンブレンに、前記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドをハイブリダイズさせることにより、前記融合遺伝子を検出する。前記（ａ）のポリヌクレオチドを用いた場合、5’側融合パートナー遺伝子の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチドと3’側融合パートナー遺伝子の塩基配列にハイブリダイズするポリヌクレオチドとが、メンブレンにおいて展開された同一のバンドを認識した場合に、融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡを検出することができたと判定することができる。

[0101] 前記（ｂ）のポリヌクレオチドを用いて融合ポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡを検出する方法としては、さらに、ゲノムマイクロアレイ解析やＤＮＡマイクロアレイ解析が挙げられる。これら方法においては、前記（ｂ）のポリヌクレオチドを基板に固定したアレイを作製し、当該アレイ上のポリヌクレオチドに前記生体試料を接触させることにより、当該ゲノムＤＮＡを検出する。基板としては、オリゴまたはポリヌクレオチドを固相化できるものであれば特に限定されず、例えばガラス板、ナイロンメンブレン、マイクロビーズ、シリコンチップ、キャピラリーなどを挙げることができる。

[0102] 本発明の検出方法においては、PCRを利用して融合ポリヌクレオチドを検出することも好ましい。

[0103] PCRにおいては、前記生体試料から調製したDNA（ゲノムDNA、cDNA）やRNA

を鋳型として融合ポリヌクレオチドを特異的に増幅できるように設計された一対のプライマーであるポリヌクレオチドを使用することができる。ここで「融合ポリヌクレオチドを特異的に増幅できる」とは、当該融合ポリヌクレオチドの融合点から5’末端側及び3’末端側の部分が由来する野生型遺伝子を増幅することなく、当該融合ポリヌクレオチドのみを増幅できることをいい、当該融合ポリヌクレオチドの全部が増幅されてもよいし、融合点を含む当該融合ポリヌクレオチドの一部が増幅されてもよい。

[0104] PCR等で利用する「一対のプライマーであるポリヌクレオチド」は、標的となる融合ポリヌクレオチドを特異的に増幅するセンスプライマー（フォワードプライマー）とアンチセンスプライマー（リバースプライマー）とからなり、センスプライマーは当該融合ポリヌクレオチドの融合点から5’末端側の塩基配列から設計し、アンチセンスプライマーは当該融合ポリヌクレオチドの融合点から3’末端側の塩基配列から設計する。またこれらのプライマーは、PCR法による検出の精度や感度の観点から、通常PCR産物が5 kb以下になるよう設計される。プライマーの設計は、公知の手法により適宜行なうことができ、例えば、Primer Express（登録商標）ソフトウェア（Applied Biosystems）を利用することができる。これらのポリヌクレオチドの長さは、通常15塩基以上（好ましくは16、17、18、19または20塩基以上、より好ましくは21塩基以上）であり、100塩基以下（好ましくは90、80、70、60、50または40塩基以下、より好ましくは30塩基以下）である。

[0105] 「一対のプライマーであるポリヌクレオチド」の好適な例としては、FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドに対しては配列番号15で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと配列番号16で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドとからなるプライマーセット、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドに対しては配列番号15で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと配列番号17で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドとからなるプライマーセット、そしてFGFR2-BICC1 type2融合ポリヌクレオチドに対しては配列番号15で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと配列番号18で表される塩基配列

からなるポリヌクレオチドとからなるプライマーセットが挙げられる（後述の表１を参照のこと）。

[0106] PCRを利用して融合ポリヌクレオチドを検出する場合、PCR産物を対象としてダイレクトシークエンシングを行い、融合点を含む塩基配列を決定することで、5’側の遺伝子部分と3’側の遺伝子部分とがインフレームで連結されていることおよび／または融合ポリヌクレオチド中に所定のドメインが含まれていることを確認することができる。シークエンシングは公知の手法により行うことができ、シークエンサー（例えば、ABI-PRISM 310 Genetic Analyzer（Applied Biosystems Inc.）などを）を取扱説明書に従って使用することにより、簡単に実施することができる。

[0107] またPCRを利用して融合ポリヌクレオチドを検出する場合、TaqManプローブ法をにより、5’側の遺伝子部分と3’側の遺伝子部分とがインフレームで連結されていることおよび／または融合ポリヌクレオチド中に所定のドメインが含まれていることを確認することができる。TaqManプローブ法において使用するプローブとしては、例えば前記（ａ）または（ｂ）に記載のポリヌクレオチドが挙げられる。プローブは、レポーター色素（例えば、FAM、FITC、VIC等）とクエンチャー（例えば、TAMRA、Eclipse、DABCYL、MGBなど）で標識される。

[0108] 上記プライマー及びプローブは、DNAであってもRNAであってもよく、あるいはDNA/RNAキメラであってもよいが、好ましくはDNAである。またその一部又は全部において、PNA（polyamide nucleic acid、ペプチド核酸）、LNA（登録商標、locked nucleic acid、Bridged Nucleic Acid、架橋化核酸）、ENA（登録商標、2’-O,4’-C-Ethylene-bridged nucleic acids）、GNA（Glycerol nucleic acid、グリセロール核酸）、TNA（Threose nucleic acid、トレオース核酸）等の人工核酸によって、ヌクレオチドが置換されているものであってもよい。また上記プライマー及びプローブは、二本鎖であっても一本鎖であってもよいが、好ましくは一本鎖である。

[0109] また上記プライマーおよびプローブは、標的配列に特異的にハイブリダイ

ズし得る限り、1又は複数のヌクレオチドのミスマッチを含んでいてもよく、標的配列の相補配列に対して通常80%以上、好ましくは90、91、92、93、94%以上、より好ましくは95、96、97、98、99%以上の同一性を有し、最も好ましくは100%の同一性を有する。

[0110] 上記プライマー及びプローブは、例えば、本明細書に記載された塩基配列の情報に基づいて、DNA/RNA自動合成機を用いて常法に従って合成することができる。

[0111] 本発明の検出方法においては、全トランスクリプトームシークエンシング（RNAシークエンシング）またはゲノムシークエンシングにより融合ポリヌクレオチドを検出してもよい。これらの手法は、例えば、次世代シークエンサー（例えば、ゲノムアナライザーIIx（Illumina社）、ハイセックシークエンサー(HiSeq2000、イルミナ社）ゲノムシークエンサー FLX System（Roche社）など）を使用して製造者の説明書に従って行なうことができる。RNAシークエンシングは、例えば、市販のキット（例えば、mRNA-Seqサンプル調製キット（Illumina社）など）を用いて製造者の説明書に従ってトータルRNAからcDNAライブラリーを調製し、これを次世代シークエンサーを使用するシークエンシングに供することにより行なうことができる。

[0112] 本発明の検出方法において、融合ポリヌクレオチドの翻訳産物（すなわち、融合ポリヌクレオチド）を対象とする場合、例えば、免疫染色法、ウェスタンブロッティング法、RIA法、ELISA法、フローサイトメトリー法、免疫沈降法、抗体アレイ解析などを利用して当該翻訳産物を検出することができる。これらの方法においては、融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体が用いられる。ここで「融合ポリペプチドを特異的に認識する」とは、当該融合ポリペプチドの融合点からN末端側及びC末端側の部分が由来する野生型タンパク質を含めて当該融合ポリペプチド以外のタンパク質を認識することなく、当該融合ポリペプチドのみを認識することをいう。本発明の検出方法において使用される「融合ポリペプチドを特異的に認識する」抗体は、1つの抗体であってもよいし、2つ以上の抗体の組み合わせであってもよい。

[0113] 「融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体」としては、融合ポリペプチドの融合点を含むポリペプチドに特異的な抗体（以下、「融合点特異的抗体」とも称する）が挙げられる。ここで、「融合点特異的抗体」とは、前記融合点を含むポリペプチドに特異的に結合するが、N末端側及びC末端側の部分が由来する野生型タンパク質には結合しない抗体を意味する。

[0114] また「融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体」としては、融合ポリペプチドの融合点からN末端側の領域からなるポリペプチドに結合する抗体と融合ポリペプチドの融合点からC末端側の領域からなるポリペプチドに結合する抗体の組み合わせも挙げられる。これら2つの抗体を用いてサンドイッチELISA、免疫染色法、免疫沈降法、ウェスタンブロッティング法などを行なうことにより、融合ポリペプチドを検出することができる。

[0115] さらに、本発明の検出方法において検出される融合遺伝子について、融合点の異なる既知のバリアントが存在する場合には、「融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体」には、当該融合遺伝子と当該バリアントとを識別するための抗体がさらに含まれてもよい。そのような抗体としては、当該融合遺伝子によってコードされるポリペプチドと当該バリアントによってコードされるペプチドのいずれか一方にのみ含まれる領域に結合する抗体が挙げられる。例えば、FGFR2-BICC1 type 2遺伝子のバリアントとしてFGFR2-BICC1 type 1遺伝子が知られているが、これらを識別するためには、BICC1のエクソン3～17の領域にコードされる領域（例えばKHドメイン）に結合する抗体を使用することができる。

[0116] 本発明において、抗体には、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体（mAb）等の天然型抗体、遺伝子組換え技術を用いて製造され得るキメラ抗体、ヒト化抗体、一本鎖抗体、およびこれらの結合性断片が含まれるが、これらに限定されない。結合性断片とは、特異的結合活性を有する前記抗体の一部分の領域を意味し、具体的には例えばFab、Fab’、$F(ab')_2$、Fv、及び単鎖抗体などが挙げられる。抗体のクラスは、特に限定されず、IgG、IgM、IgA、IgDまたはIgEなどのいずれのアイソタイプを有する抗体であってもよいが、精

製の容易性等を考慮するとより好ましくはIgGである。

[0117] 「融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体」は、当業者であれば適宜公知の手法を選択して調製することができる。かかる公知の手法としては、前記融合ポリペプチドの融合点を含むポリペプチド、前記融合ポリペプチドの融合点からN末端側の領域からなるポリペプチド、または前記融合ポリペプチドの融合点からC末端側の領域からなるポリペプチドを免疫動物に接種し、該動物の免疫系を活性化させた後、該動物の血清（ポリクローナル抗体）を回収する方法や、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法等のモノクローナル抗体の作製方法が挙げられる。市販の抗体を利用してもよい。また標識物質を結合させた抗体を用いれば、当該標識を検出することにより、標的蛋白質を直接検出することが可能である。標識物質としては、抗体に結合することができ、検出可能なものであれば特に制限されることはなく、例えば、ペルオキシダーゼ、β-D-ガラクトシダーゼ、マイクロペルオキシダーゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、ローダミンイソチオシアネート（RITC）、アルカリホスファターゼ、ビオチン、及び放射性物質などが挙げられる。さらに、標識物質を結合させた抗体を用いて標的タンパク質を直接検出する方法以外に、標識物質を結合させた二次抗体、プロテインGまたはプロテインA等を用いて標的タンパク質を間接的に検出する方法を利用することもできる。

[0118] ＜がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出用キット＞

以上のように、がんの責任変異である遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを、前記プライマー、プローブ、または抗体、あるいはそれらの組み合わせを用いて検出することができ、それにより当該遺伝子融合を検出することができる。したがって、本発明は、下記のいずれかまたはそれらの組み合わせを含む、がんの責任変異である遺伝子融合の検出用キット（以下、本発明のキットとも称する）を提供する：

（A）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド

、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを特異的に認識するように設計されたプローブであるポリヌクレオチド；

（B）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを特異的に増幅できるように設計された一対のプライマーであるポリヌクレオチド；あるいは

（C）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチド、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体。

[0119] 本発明のキットには、ポリヌクレオチドや抗体に加えて、ポリヌクレオチドや抗体に付加した標識の検出に必要な基質、陽性対照（例えば、FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチド、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチド、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチド、あるいはこれらを保持する細胞等）や陰性対照、PCR用試薬、in situハイブリダイゼーション等において用いられる対比染色用試薬（DAPI等）、抗体の検出に必要な分子（例えば、二次抗体、プロテインG、プロテインA）、試料の希釈や洗浄に用いる緩衝液等を適宜組み合わせて含めることができる。本発明のキットには、使用説明書を含めることもできる。本発明のキットを使用することにより、上記本発明の検出方法を容易に実施することが可能である。

[0120] 本発明の検出方法及び検出用キットは、がんの責任変異として新たに見出した遺伝子融合の検出を可能にするものであり、後述のように当該遺伝子融合の陽性例を同定し個別化医療を適用する上で極めて有用である。

[0121] ＜がんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する方法＞

前記3種の遺伝子融合は、がんの責任変異であり、それぞれFGFR2キナーゼの恒常活性化により、細胞のがん化に寄与していると考えられる。そのため、このような遺伝子融合が検出されるがん患者においては、当該遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質による治療が有効である蓋然性が高い。

[0122] したがって、本発明は、がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子

融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する方法（以下、本発明の同定方法とも称する）を提供する。

[0123] 本発明の同定方法は、下記の工程を含む：

（1）被験者由来の単離された試料における下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する工程：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；ならびに

（2）前記融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、前記ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が前記被験者において治療効果をもたらすと判定する工程。

[0124] 本発明の同定方法において、「がんの患者またはがんのリスクを有する被験者」は、がんに罹患しているか、またはがんに罹患している疑いのある哺乳動物、好ましくはヒトである。本発明の同定方法を適用する対象となる「がん」としては、前記3種の遺伝子融合のうちいずれかが検出され得るがんであれば特に限定されないが、好ましくは胆道がんである。

[0125] 本発明の同定方法において、「治療効果」とは、がん治療の効果であって、患者に対する有益な効果であれば特に限定されず、例えば、腫瘍縮小効果、無増悪生存期間延長効果、延命効果などが挙げられる。

[0126] 本発明の同定方法において、FGFR2-TXLNA遺伝子融合に関してがん治療の有効性を評価する対象となる「がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質」（以下、本発明の同定方法における対象物質とも称する）としては、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの発現および／またはその機能を直接または間接的に阻害する物質であれば特に限定されない。

[0127] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの発現を阻害する物質としては、例えば、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの発現を抑制するsiRNA（small interfering RNA）、shRNA（short hairpin RNA）、miRNA（micro RNA)、アンチセンス核酸、これらのポリヌクレオチドを発現し得る発現ベクター、低分子化合物などが挙げられる。

[0128] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの機能を阻害する物質としては、例えば、FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質（例えば、低分子化合物等）、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドに結合する抗体等が挙げられる。

[0129] これらの物質は、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの発現および／または活性を特異的に抑制する物質であってもよいし、野生型FGFR2タンパク質の発現および／または活性をも抑制する物質であってもよい。このような物質の具体例としては、３－［２，４－ジメチル－５－［［（Ｚ）－２，３－ジヒドロ－２－オキソ－１Ｈ－インドール－３－イリデン］メチル］－１Ｈ－ピロール－３－イル］プロパン酸（例えば、ＳＵ６６６８（一般名称；オランチニブ（ｏｒａｎｔｉｎｉｂ））、Ｎ－｛５－［２－（３，５－ジメトキシフェニル）エチル］－１Ｈ－ピラゾール－３－イル｝－４－［（３Ｒ，５Ｓ）－３，５－ジメチルピペラジン－１－イル］ベンズアミド（例えば、ＡＺＤ４５４７）、１－［（２Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－４－アジド－５－（ヒドロキシ

メチル）オキソラン－２－イル］－５－メチルピリミジン－２，４－ジオン（例えば、ＤＳ４１５２（一般名称；テコガランナトリウム（ｔｅｃｏｇａｌａｎ　ｓｏｄｉｕｍ））、ＦＧＦＲ２－IIIｂ特異的抗体（例えば、ＡＶ３６９ｂ）、３－（２，６－ジクロロ－３，５－ジメトキシフェニル）－１－［６－［［４－（４－エチルピペラジン－１－イル）フェニル］アミノ］ピリミジン－４－イル］－１－メチルウレア（例えば、ＢＧＪ３９８）、（Ｓ）－（Ｒ）－１－（（４－（（４－フルオロ－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－イル）オキシ）－５－メチルピロロ［２，１－ｆ］［１，２，４］トリアジン－６－イル）オキシ）プロパン－２－イル　２－アミノプロピオン酸（例えば、ＢＭＳ－５８２６６４（一般名称；ブリバニブアラニナート（ｂｒｉｖａｎｉｂ　ａｌａｎｉｎａｔｅ））、Ｎ－［２－［［４－（ジエチルアミノ）ブチル］アミノ］－６－（３，５－ジメトキシフェニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－イル］－Ｎ’－（１，１－ジメチルエチル）－ウレア（例えば、ＰＤ１７３０７４）が挙げられる。

[0130] これらの物質は、本明細書中に開示されたFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドおよび／またはFGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの配列情報等に基づいて、自体公知の方法により調製することができる。また市販の物質を利用してもよい。

[0131] これらの物質は、がんを有する被験者由来の単離された試料においてFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、当該被験者に対してがん治療剤として有効である。

[0132] FGFR2-KCTD1遺伝子融合に関して、本発明の同定方法における対象物質としては、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドの発現および／またはその機能を直接または間接的に阻害する物質であれば特に限定されない。

[0133] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドの発現を阻害する物質としては、例えば、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドの発現を抑制するsiRNA（small interfering RNA）、shRNA（short hairpin RNA）、miRNA（micro RNA)、アンチセンス核酸、これらのポリヌクレオチドを発現し得る発現ベクター、低分子化合物などが

挙げられる。

[0134] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドの機能を阻害する物質としては、例えば、FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質（例えば、低分子化合物等）、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドに結合する抗体等が挙げられる。

[0135] これらの物質は、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドの発現および／または活性を特異的に抑制する物質であってもよいし、野生型FGFR2タンパク質の発現および／または活性をも抑制する物質であってもよい。このような物質の具体例としては、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質として上述したものが挙げられる。

[0136] これらの物質は、本明細書中に開示されたFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドおよび／またはFGFR2-KCTD1融合ポリペプチドの配列情報等に基づいて、自体公知の方法により調製することができる。また市販の物質を利用してもよい。

[0137] これらの物質は、がんを有する被験者由来の単離された試料においてFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、当該被験者に対してがん治療剤として有効である。

[0138] FGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合に関して、本発明の同定方法における対象物質としては、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドの発現および／またはその機能を直接または間接的に阻害する物質であれば特に限定されない。

[0139] FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドの発現を阻害する物質としては、例えば、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドの発現を抑制するsiRNA（small interfering RNA）、shRNA（short hairpin RNA）、miRNA（micro RNA)、アンチセンス核酸、これらのポリヌクレオチドを発現し得る発現ベクター、低分子化合物などが挙げられる。

[0140] FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドの機能を阻害する物質としては、例えば、FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質（例えば、低分子化合物等）、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドに結合する抗体等が挙げられる。

[0141] これらの物質は、FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドの発現および／ま

たは活性を特異的に抑制する物質であってもよいし、野生型FGFR2タンパク質の発現および／または活性をも抑制する物質であってもよい。このような物質の具体例としては、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質として上述したものが挙げられる。

[0142] これらの物質は、本明細書中に開示されたFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドおよび／またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドの配列情報等に基づいて、自体公知の方法により調製することができる。また市販の物質を利用してもよい。

[0143] これらの物質は、がんを有する被験者由来の単離された試料においてFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、当該被験者に対してがん治療剤として有効である。

[0144] 本発明の同定方法における工程(1)は、前記本発明の検出方法に含まれる工程と同様に実施することができる。

[0145] 本発明の同定方法における工程(2)では、工程(1)でがんを有する被験者（すなわちがんの患者またはがんのリスクを有する被験者）由来の単離された試料において融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、本発明の同定方法における対象物質が前記被験者において治療効果をもたらすと判定され、一方、融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出されなかった場合には、本発明の同定方法における対象物質が前記被験者において治療効果をもたらす可能性が低いと判定される。

[0146] 本発明の同定方法によれば、がんの患者またはがんのリスクを有する被験者の中からがんの責任変異として新たに見出した遺伝子融合の陽性例を検出し、当該遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定することが可能であり、本発明はそのような対象に適した治療を行うことが可能になる点で有用

である。

[0147] ＜がんの治療方法およびがん治療剤＞

上記の通り、本発明の同定方法により、前記3種の遺伝子融合のいずれかにより生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがん患者が同定される。そのため、がん患者のうち、当該融合遺伝子を保持する患者に選択的に当該物質を投与することにより、効率的にがんの治療を行うことが可能である。従って、本発明は、がんの治療方法であって、被験者に、当該物質を投与する工程を含む方法（以下、本発明の治療方法とも称する）を提供する。

[0148] 本発明の治療方法において、被験者は、典型的にはFGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合陽性がん患者である。がんは、特に限定されないが、胆道がんであることが望ましい。ここで、FGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合陽性がんとは、本発明の検出方法によってそれぞれの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出されるがんを意味する。

[0149] また本発明は、FGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合陽性がんの治療剤（以下、本発明のがん治療剤とも称する）を提供する。前記3種の遺伝子融合陽性がんに対しては、これまで当該遺伝子融合を標的とする治療は行われていなかった。またこれらの遺伝子融合の存在については、いずれの先行技術文献等を考慮しても全く予想できないものであった。したがって、本発明のがん治療剤は、前記3種の遺伝子融合陽性がんに対して有効な新規の治療手段を提供するものである。

[0150] 本発明のがん治療剤において、がんは、特に限定されないが、胆道がんであることが望ましい。

[0151] 本発明のがん治療剤は、典型的には下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質を有効成分として含む：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜

貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[0152] 上記（a）～（c）中の各用語の意味については、上記＜具体的ながんの責任変異＞において記載した通りである。

[0153] 本発明の治療方法およびがん治療剤において、前記3種の遺伝子融合のいずれかにより生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質としては、上記＜がんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する方法＞において記載した物質が挙げられ、好ましくはFGFR2キナーゼ活性を阻害する物質であり、より好ましくは３－［２，４－ジメチル－５－［［（Ｚ）－２，３－ジヒドロ－２－オキソ－１Ｈ－インドール－３－イリデン］メチル］－１Ｈ－ピロール－３－イル］プロパン酸（例えば、ＳＵ６６６８（一般名称；オランチニブ（ｏｒａｎｔｉｎｉｂ））、Ｎ－｛５－［２－（３，５－ジメトキシフェニル）エチル］－１Ｈ－ピラゾール－３－イル｝－４－［（３Ｒ，５Ｓ）－３，５－ジメチルピペラジン－１－イル］ベンズアミド（例えば、ＡＺＤ４５４７）、１－［（２Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－４－アジド－５－（ヒドロキシメチル）オキソラン－２－イル］－５－メチルピリミジン－２，４－ジオン（例えば、ＤＳ４１５２（一般名称；テコガランナトリウム（ｔｅｃｏｇａｌａｎ　ｓｏｄｉｕｍ））、ＦＧＦＲ２－IIIｂ特異的抗体（例えば、ＡＶ３６９ｂ）、３

－（２，６－ジクロロ－３，５－ジメトキシフェニル）－１－［６－［［４－（４－エチルピペラジン－１－イル）フェニル］アミノ］ピリミジン－４－イル］－１－メチルウレア（例えば、ＢＧＪ３９８）、（Ｓ）－（Ｒ）－１－（（４－（（４－フルオロ－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－イル）オキシ）－５－メチルピロロ［２，１－ｆ］［１，２，４］トリアジン－６－イル）オキシ）プロパン－２－イル　２－アミノプロピオン酸（例えば、ＢＭＳ－５８２６６４（一般名称；ブリバニブアラニナート（ｂｒｉｖａｎｉｂ　ａｌａｎｉｎａｔｅ））、Ｎ－［２－［［４－（ジエチルアミノ）ブチル］アミノ］－６－（３，５－ジメトキシフェニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－イル］－Ｎ’－（１，１－ジメチルエチル）－ウレア（例えば、ＰＤ１７３０７４）である。

[0154] 本発明のがん治療剤は、それらの製剤化に通常用いられる薬理学上許容される担体、賦形剤、および／またはその他の添加剤を用いて、医薬組成物として調製することができる。

[0155] 本発明のがん治療剤の投与方法は、当該阻害剤の種類やがんの種類などに応じて適宜選択されるが、例えば、経口、静脈内、腹腔内、経皮、筋肉内、気管内（エアゾール）、直腸内、膣内等の投与形態を採用することができる。

[0156] 本発明のがん治療剤の投与量は、有効成分の活性や種類、投与様式（例、経口、非経口）、病気の重篤度、投与対象となる動物種、投与対象の薬物受容性、体重、年齢等を考慮して、適宜決定することができる。

[0157] 本発明の治療方法およびがん治療剤は、従来知られておらず本願発明により明らかとなった特定のがんの責任変異を有する患者の治療を可能にするため有用である。

[0158] ＜がん治療剤のスクリーニング方法＞

本発明は、前記3種の遺伝子融合のいずれかを有するがん患者に対して治療効果をもたらすがん治療剤のスクリーニング方法（以下、本発明のスクリーニング方法とも称する）を提供する。本発明のスクリーニング方法により、

前記3種の融合ポリペプチド（すなわち、FGFR2-TXLNA融合ポリペプチド、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチド、およびFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチド）のうちいずれかの発現および／または活性を抑制する物質を、がん治療剤として得ることができる。

[0159] 本発明のスクリーニング方法に供される被験物質は、いかなる化合物又は組成物であってもよく、例えば、核酸（例、ヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド）、糖質（例、単糖、二糖、オリゴ糖、多糖）、脂質（例、飽和又は不飽和の直鎖、分岐鎖及び／又は環を含む脂肪酸）、アミノ酸、タンパク質（例、オリゴペプチド、ポリペプチド）、低分子化合物、化合物ライブラリー、ランダムペプチドライブラリー、天然成分（例、微生物、動植物、海洋生物等由来の成分）、あるいは食品等が挙げられる。

[0160] 本発明のスクリーニング方法は、被験物質が前記3種の融合ポリペプチドのうちいずれかの発現および／または活性を抑制するか否かを評価可能である限り、いかなる形態であってもよい。典型的には、本発明のスクリーニング方法は、下記の工程を含む：

（1）下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリペプチドを発現している細胞に被験物質を接触させる工程：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；

（2）前記融合ポリペプチドの発現および／または活性が抑制されるか否かを決定する工程；ならびに

（3）前記融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制すると決定された物質をがん治療剤として選択する工程。

[0161] 上記（a）～（c）中の各用語の意味については、上記＜具体的ながんの責任変異＞において記載した通りである。

[0162] 工程（1）では、前記3種の融合ポリペプチドのうちいずれかを発現している細胞と被験物質を接触させる。対照として、被験物質を含まない溶媒（例えば、DMSOなど）を用いることができる。当該接触は、培地中で行うことができる。培地は、用いられる細胞の種類などに応じて適宜選択されるが、例えば、約5～20％のウシ胎仔血清を含む最少必須培地（MEM）、ダルベッコ改変最少必須培地（DMEM）、RPMI1640培地、199培地などである。培養条件もまた、用いられる細胞の種類などに応じて適宜決定されるが、例えば、培地のpHは約6～約8であり、培養温度は約30～約40℃であり、培養時間は約12～約72時間である。

[0163] 前記3種の融合ポリペプチドのうちいずれかを発現している細胞としては、例えば、内在的に当該融合ポリペプチドを発現しているがん組織由来の細胞、当該細胞から誘導された細胞株、遺伝子工学的に作製された細胞株などが挙げられるが、これらに限定されない。ある細胞が前記3種の融合ポリペプチドのうちいずれかを発現しているか否かは、上記本発明の検出方法を利用して確認することもできる。また細胞は、通常哺乳動物の細胞であり、好ましくはヒトの細胞である。

[0164] 工程（2）では、前記融合ポリペプチドの発現および／または活性が抑制されるか否かが決定される。融合ポリペプチドの発現は、細胞におけるmRNAレベルまたはタンパク質レベルを公知の分析方法、例えば、ノーザンブロット法、定量的PCR法、イムノブロット法、ELISA法等を用いて決定することにより測定することができる。また融合ポリペプチドの活性も、公知の分析方法（例えば、キナーゼ活性測定など）により測定することができる。得られた測定値を被験物質と接触させない対照細胞における測定値と比較する。測定値の比較は、好ましくは有意差の有無に基づいて行われる。被験物質と接触

させた細胞における測定値が対照と比較して有意に低い場合、当該被験物質が融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制すると決定することができる。

[0165] あるいは、これらの融合ポリペプチドを発現している細胞は、増殖が亢進していることから、当該細胞の増殖を本工程における決定のための指標とすることができる。この場合、まず、被験物質と接触させた当該細胞の増殖を測定する。細胞増殖の測定は、セルカウント、^{3}Hチミジンの取り込み、BRDU法等の自体公知の方法により行うことができる。次に、被験物質と接触させた当該細胞の増殖を、被験物質と接触させない対照細胞の増殖と比較する。増殖レベルの比較は、好ましくは、有意差の有無に基づいて行なわれる。被験物質と接触させない対照細胞の増殖は、被験物質と接触させた細胞の増殖の測定に対し、事前に測定した値であっても、同時に測定した値であってもよいが、実験の精度、再現性の観点から同時に測定した値であることが好ましい。比較の結果、被験物質と接触させた当該細胞の増殖が抑制された場合に、当該被験物質が融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制すると決定することができる。

[0166] 工程（3）では、工程（2）において融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制すると決定された被験物質をがん治療剤として選択する。

[0167] 以上のように、本発明のスクリーニング方法によれば、従来知られていなかったがんの責任変異を有する患者の治療に適用可能ながん治療剤を取得することが可能となる。

[0168] ＜単離された融合ポリペプチドまたはその断片、およびそれらをコードするポリヌクレオチド＞

本発明は、以下の単離された融合ポリペプチド（以下、本発明の融合ポリペプチドとも称する）またはその断片を提供する：

（1）FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-TXLNA融合ポリペプチド、

（2）FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-KCTD1融合ポリペプチド、ならびに

（3）FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチド。

[0169] 本明細書中、「単離された」物質とは、ある物質が天然に存在する環境（例えば、生物体の細胞内）の他の物質（好ましくは、生物学的因子）（例えば、核酸である場合、核酸以外の因子および目的とする核酸以外の核酸配列を含む核酸；タンパク質である場合、タンパク質以外の因子および目的とするタンパク質以外のアミノ酸配列を含むタンパク質など）から実質的に分離または精製されたものをいう。本明細書において「単離された」とは、好ましくは７５重量％以上、より好ましくは８５重量％以上、よりさらに好ましくは９５重量％以上、そして最も好ましくは９６重量％以上、９７重量％以上、９８重量％以上、９９重量％以上、又は１００％の純度を有することを意味する。「単離された」ポリヌクレオチドおよびポリペプチドには、標準的な精製方法によって精製されたポリヌクレオチドおよびポリペプチドが含まれ、また化学的に合成したポリヌクレオチドおよびポリペプチドも含まれる。

[0170] 上記（1）～（3）中のその他の各用語の意味については、上記＜具体的ながんの責任変異＞において記載した通りである。

[0171] 「断片」とは、本発明の融合ポリペプチドの断片であって、融合点の上流および下流の配列を含む連続した部分配列からなるものをいう。当該部分配列に含まれる融合点の上流の配列は、融合点から1アミノ酸残基以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、100アミノ酸残基以上）を含み、本発明の融合ポリペプチドのN末端までを含みうる。当該部分配列に含まれる融合点の下流の配列は、融合点から1アミノ酸残基以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、100アミノ酸残基以上）を含み、

本発明の融合ポリペプチドのC末端までを含みうる。断片の長さは、特に限定されないが、通常8アミノ酸残基以上（例えば、9、10、11、12、13、14、15、20、25、50、100アミノ酸残基以上）である。

[0172] また本発明の融合ポリペプチドは、例えば下記の単離された融合ポリペプチドであり得る。

（1）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドに関して、

（i）配列番号2で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、あるいは

（iii）配列番号2で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；

（2）FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドに関して、

（i）配列番号4で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、あるいは

（iii）配列番号4で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；ならびに

（3）FGFR2-BICC1type 2融合ポリペプチドに関して、

（i）配列番号6で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、あるいは

（iii）配列番号6で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド。

[0173] 上記(i)～(iii)中の各用語の意味については、上記＜具体的ながんの責任変異＞において記載した通りである。

[0174] さらに本発明は、上記本発明の融合ポリペプチドまたはその断片をコードする単離されたポリヌクレオチド（以下、本発明のポリヌクレオチドとも称する）を提供する。本発明のポリヌクレオチドは、mRNA、cDNAおよびゲノムDNAのいずれであってもよい。また二本鎖であっても一本鎖であってもよい。

[0175] FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドをコードするcDNAの典型例は、配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドである。

[0176] FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドをコードするcDNAの典型例は、配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドである。

[0177] FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドをコードするcDNAの典型例は、配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドである。

[0178] 本発明のポリヌクレオチドは、自体公知の方法により作製することができる。例えば、FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを保持するがん組織等から調製したcDNAライブラリーまたはゲノムライブラリーから公知のハイブリダイゼーション技術を利用して抽出することができる。また、前記がん組織等から調製したmRNA、cDNAまたはゲノムDNAを鋳型として公知の遺伝子増幅技術（PCR）を用いて増幅することにより調製することもできる。さらに、各融合ポリヌクレオチドの5’末端側及び3’末端側の部分が由来する野生型遺伝子のcDNAを材料とし、PCR、制限酵素処理、部位特異的変異誘発（site-directed mutagenesis）法（Kramer, W. & Fritz, HJ., Methods Enzymol, 1987, 154, 350.）等の公知の遺伝子増幅技術や組換え技術を利用して調製することもできる。

[0179] 本発明の融合ポリペプチドまたはその断片も、自体公知の方法により作製することができる。例えば、上記のようにして調製したポリヌクレオチドを適当な発現ベクターに挿入し、該ベクターを無細胞タンパク質合成系（例えば、網状赤血球抽出液、小麦胚芽抽出液）に導入してインキュベーションすることにより、また該ベクターを適当な細胞（例えば、大腸菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞）に導入し、得られた形質転換体を培養することにより、本

発明の融合ポリペプチドを調製することができる。

[0180] 本発明の融合ポリペプチドまたはその断片は、本発明の検出方法等におけるマーカーとして使用することができ、また本発明の融合ポリペプチドに対する抗体の作製等にも使用することができる。

実施例

[0181] 以下、実施例に基づいて本発明をより具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0182] ＜サンプル＞

RNAシークエンシング、RT-PCRおよびサンガーシークエンシング用サンプルとして、胆道がん患者（190症例）から摘出した腫瘍組織から定法により全RNAを調製した。なお、この研究は、本研究に係る組織の倫理審査員会の承認を得て進められた。

[0183] ＜RNAシークエンシング＞

RNAシークエンシングライブラリーは製造者の標準プロトコールに従い、アジレント社SureSelct strand specific kitを用いて作製した。このライブラリーについて、次世代シークエンサー、Hiseq2000またはGAIIxで、100 bpのペアエンドリードを行なった。得られたペアエンドリードをRefSeq（NCBI Reference Sequence）データベースに参照することにより、融合遺伝子候補を検出した。

[0184] ＜RT-PCR、サンガーシークエンシング＞

全RNAから、逆転写酵素法によりcDNAを合成した。得られたcDNAをPCR増幅に供した。得られたPCR産物の塩基配列は、BigDyeターミネーターキットとABI 3130xl DNAシークエンサー（アプライドバイオシステムス社製）とを用いて直接決定した。なお、本研究で用いたプライマーを表１に示す。

[0185]

[表1]

融合遺伝子	センスプライマー	アンチセンスプライマー	RT-PCR 産物のサイズ(bp)
FGFR2-TXLNA	GGACTCGCCAGAGATATCAACAAATATAGAC (配列番号 15)	TTCAGTGTCACCTGGAAGTGCGAG (配列番号 16)	443
FGFR2-KCTD1	GGACTCGCCAGAGATATCAACAAATATAGAC (配列番号 15)	CGCATTGGATTTTGTGAGTTGTGCT (配列番号 17)	471
FGFR2-BICC1 type 2	GGACTCGCCAGAGATATCAACAAATATAGAC (配列番号 15)	AGGTCCAATTCCATTTCGGTCTCT (配列番号 18)	462

[0186] ＜ウェスタンブロット解析＞

野性型または変異型のFGFR2融合ポリペプチドのカルボキシ末端にFLAGエピトープタグが付加されたポリペプチドをコードするcDNAを調製し、pMXsレトロウイルスベクターにそれぞれをクローニングした。これらのレトロウイルスをマウス繊維芽細胞株NIH-3T3細胞に感染させて野性型もしくは変異型のFGFR2融合遺伝子を発現する安定発現細胞株を得た。G418（700μg/ml)存在下で培養した細胞から、protease阻害剤(Sigma, P8340)とphosphatase阻害剤(Nacalai tesque, #7574-61)を添加した細胞溶解液(Sigma, CelLytic-M)を用いてタンパク質を抽出し、以下の抗体を使用して定法によりウェスタンブロット解析を行った：抗FLAG抗体（Takara Bio, #635691）；抗p-FGFR（Y653/Y654)抗体（CST, #3476）；抗p-MAPK（T202/Y204)抗体（CST, #9106）；抗MAPK抗体（CST, #4695）；および抗β-アクチン抗体（Sigma, A5441）。

[0187] （実施例１）

本実施例は、胆道がん組織における新規融合転写産物の同定について記載する。

[0188] 治療標的となりうる新規融合転写産物を同定するため、胆道がん患者から摘出した腫瘍組織の全トランスクリプトームシークエンシング（RNAシークエンシング、Meyerson, M. et al., Nat Rev Genet, 2010, 11, 685-696）を行った。

[0189] RNAシークエンシングで得られたペアエンドリードを解析し、逆転写（RT)-PCR産物のサンガーシークエンシングを行った。その結果、表２及び図１に示すように、3つの新規融合遺伝子産物が同定された。

[0190] [表2]

融合遺伝子	5'側遺伝子の位置	3'側遺伝子の位置	原因となる染色体異常
FGFR2-TXLNA	10q26.1	1p35.1	染色体転座（t(1;10)）
FGFR2-KCTD1	10q26.1	18q11.2	染色体転座（t(10;18)）
FGFR2-BICC1 type 2	10q26.1	10q21.1	染色体逆位（inv(10)）

[0191] FGFR2-TXLNAは、染色体転座t(1;10)により生じた、染色体10q26.1に存在するFGFR2-TXLNA遺伝子と染色体1p35.1に存在するTXLNA遺伝子とが、読み枠にずれを生じることなく直接結合した融合遺伝子である。

[0192] FGFR2-KCTD1は、染色体転座t(10;18)により生じた、染色体10q26.1に存在するFGFR2遺伝子と染色体18q11.2に存在するKCTD1遺伝子が、読み枠にずれを生じることなく直接結合した融合遺伝子である。

[0193] FGFR2-BICC1 type 2は、染色体逆位inv(10)により生じた、染色体10q26.1に存在するFGFR2遺伝子と染色体10q21.1に存在するBICC1遺伝子が、読み枠にずれを生じることなく直接結合した融合遺伝子である。本実施例において見出されたFGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合は、FGFR2遺伝子のエクソン1～19とBICC1遺伝子のエクソン18～21とがインフレームで融合することにより生じたものである。一方、既知のFGFR2-BICC1遺伝子融合（FGFR2-BICC1 type 1）は、FGFR2遺伝子のエクソン1～19とBICC1遺伝子のエクソン3～21とがインフレームで融合することにより生じたものである。すなわち、FGFR2-BICC1 type 2は、FGFR2-BICC1 type 1とは融合点が全く異なる新規の遺伝子融合である。

[0194]（実施例２）

本実施例は、実施例１で見出された融合遺伝子にコードされるポリペプチドの機能、および当該ポリペプチドを発現しているがん細胞に対するFGFRキナーゼ阻害剤の有効性について解析した結果を示す。

[0195] まず、胆道がん患者由来のがん組織より得たFGFR2融合遺伝子のcDNA（FGFR2-TXLNAのcDNA、FGFR2-KCTD1のcDNA、またはFGFR2-BICC1 type 2のcDNA）の5’側に、FLAGエピトープタグをコードするcDNAを翻訳の読み枠を合わせて連結し、pMXsレトロウイルスベクターにクローニングした。

[0196] また、このベクターに部位特異的な変異を導入し、FGFR2キナーゼドメイン内の2アミノ酸を置換したキナーゼ活性変異体（KD変異型FGFR2融合ポリペプチド：Y568F/Y569F）をコードするベクターも作製した。

[0197] 次に、このように調製して得られたレトロウイルスベクターを、マウス正常繊維芽細胞株NIH-3T3細胞に各々感染させ、野性型または変異型のFGFR2融

合ポリペプチドを安定的に発現する細胞株を得た。

[0198] 対照として、FGFR2-BICC1 type 1についても、前記と同様に野生型または変異型の融合ポリペプチドをコードするベクターを作製した。当該ベクターをＮＩＨ－３Ｔ３細胞に感染させ、FGFR2-BICC1 type 1融合ポリペプチドを安定的に発現する細胞株を調製した。

[0199] FGFRシグナルはMAPK経路を活性化することが知られていることから、これらの細胞株についてリン酸化MAPKまたは非リン酸化MAPKに対する抗体を用いたウェスタンブロット解析を行い、FGFR2を介したシグナル伝達の活性化を解析した。

[0200] 結果を図２に示す。野生型FGFR2融合ポリペプチドの発現によってMAPKのリン酸化が引き起こされることが確認された一方で、キナーゼ活性変異体を発現させた細胞株では、MAPKのリン酸化レベルが顕著に低下した。したがって、本発明の融合ポリペプチドが、FGFR2キナーゼ活性依存的にMAPK経路を活性化することが示された。

[0201] また本発明の融合ポリペプチドの形質転換能（がん化能）を調べるために、野性型のFGFR2融合ポリペプチドを安定的に発現する細胞株をソフトアガー培地（培地中のアガーの濃度：4 mg/mL、以下同じ）に播種し、これら細胞株の足場非依存性コロニー形成能を評価した。

[0202] 結果を図３（薬無し）に示す。野生型のFGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type 2の発現によって、NIH3T3細胞の足場非依存性増殖が誘導されることが明らかになった。

[0203] さらに、低分子FGFRキナーゼ阻害剤（BGJ398またはPD173074）を添加したソフトアガー培地を使用して同様に足場非依存性コロニー形成能を評価することによって、FGFR2融合ポリペプチドによる形質転換に対するFGFRキナーゼ阻害剤の効果を調べた。

[0204] 結果を図３に示す。FGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、およびFGFR2-BICC1 type 2のFGFR2融合ポリペプチドによる足場非依存性コロニー形成能は、FGFRキナーゼ阻害剤によって著しく阻害された。

[0205] さらに、本発明の融合ポリペプチドのin vivo造腫瘍能を調べた。

[0206] 野生型またはKD変異型FGFR2融合遺伝子を発現するNIH3T3細胞1x10^{6}個を6週齢の免疫不全マウス（BALB/c-nu/nu、日本クレア株式会社、東京、日本）2匹にそれぞれ2箇所（合計4箇所）、皮下移植した。移植から10日後、腫瘍形成の有無を観察した。Krasがん遺伝子G12V変異を発現するNIH３T３細胞を陽性コントロールとして用いた。

[0207] 結果を図４に示す。野性型FGFR2融合遺伝子を発現させた細胞では腫瘍形成が観察されたが、KD変異型を用いた場合は移植から30日後の観察においても腫瘍形成は全く認められなかった。

[0208] 以上の結果から、本発明の融合ポリペプチドが形質転換能を有していること、および当該形質転換能にはFGFR2キナーゼ活性が必要であることが示された。さらに、本発明の融合ポリペプチドを発現する細胞の足場非依存性コロニー形成を抑制するためにはFGFRキナーゼ阻害剤が有効であることが示された。

産業上の利用可能性

[0209] 本発明によれば、がんの責任変異として新たに見出した遺伝子融合を検出すること、当該遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定すること、さらにはそのようながんの患者に適した治療（個別化医療）を行うことが可能となる。

配列表フリーテキスト

[0210] 配列番号1：FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド

配列番号2：FGFR2-TXLNA融合ポリペプチド

配列番号3：FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド

配列番号4：FGFR2-KCTD1融合ポリペプチド

配列番号5：FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチド

配列番号6：FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチド

配列番号7：FGFR2 cDNA

配列番号8：FGFR2ポリペプチド

配列番号9：TXLNA cDNA

配列番号10：TXLNAポリペプチド

配列番号11：KCTD1 cDNA

配列番号12：KCTD1ポリペプチド

配列番号13：BICC1 cDNA

配列番号14：BICC1ポリペプチド

配列番号15：FGFR2センスプライマー

配列番号16：TXLNAアンチセンスプライマー

配列番号17：KCTD1アンチセンスプライマー

配列番号18：BICC1アンチセンスプライマー

請求の範囲

[請求項1] がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出方法であって、がんを有する被験者由来の単離された試料における下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する工程を含む、方法：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[請求項2] 融合ポリヌクレオチドが下記（a）～（c）のいずれかである、請求項１に記載の方法：

（a）下記のポリペプチドをコードするFGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド：

（i）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号2で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号2で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチ

ド；

（b）下記のポリペプチドをコードするFGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド：

（i）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号4で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号4で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；および

（c）下記のポリペプチドをコードするFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチド：

（i）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、

（ii）配列番号6で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドにおいて、1若しくは複数のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド、または

（iii）配列番号6で表されるアミノ酸配列と80％以上の配列同一性を有するアミノ酸配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド。

[請求項3] 融合ポリヌクレオチドが下記（a）～（c）のいずれかである、請求項１または２に記載の方法：

（a）（i）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコ

ードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号1で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；

（b）（i）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにおいて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号3で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；および

（c）（i）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチド、

（ii）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと相補的な塩基配列からなるポリヌクレオチドとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（iii）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドにお

いて、1若しくは複数のヌクレオチドが欠失、置換若しくは付加された塩基配列からなり、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または

（iv）配列番号5で表される塩基配列からなるポリヌクレオチドと80％以上の配列同一性を有し、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[請求項4] がんが胆道がんである、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。

[請求項5] がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合により生じる融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が治療効果をもたらすがんの患者またはがんのリスクを有する被験者を同定する方法であって、下記の工程を含む、方法：

（1）被験者由来の単離された試料における下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドを検出する工程：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；ならびに

（2）前記融合ポリヌクレオチドまたはそれによりコードされるポリペプチドが検出された場合に、前記ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が前記被験者において治療効果をもたらすと判定する工程。

[請求項6] がんの責任変異（ドライバー変異）である遺伝子融合の検出用キットであって、下記（A）～（C）のいずれかまたはそれらの組合せを含む、キット：

（A）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを特異的に認識するように設計されたプローブであるポリヌクレオチド；

（B）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチド、FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドを特異的に増幅できるように設計された一対のプライマーであるポリヌクレオチド；あるいは

（C）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチド、FGFR2-KCTD1融合ポリペプチド、またはFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドを特異的に認識する抗体。

[請求項7] FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-TXLNA融合ポリペプチドまたはその断片。

[請求項8] FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-KCTD1融合ポリペプチドまたはその断片。

[請求項9] FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有する、単離されたFGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドまたはその断片。

[請求項10] 請求項７～９のいずれか一項に記載の融合ポリペプチドまたはその

断片をコードするポリヌクレオチド。

[請求項11] FGFR2-TXLNA、FGFR2-KCTD1、またはFGFR2-BICC1 type 2遺伝子融合陽性がんの治療剤。

[請求項12] 下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質を有効成分として含む、請求項１１に記載の治療剤：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、

（b）FGFR2-KCTD1融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリヌクレオチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド。

[請求項13] がんが胆道がんである、請求項１１または１２に記載の治療剤。

[請求項14] 前記（a）～（c）のいずれかの融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制する物質が、FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質である、請求項１１～１３のいずれか一項に記載の治療剤。

[請求項15] FGFR2キナーゼ活性を阻害する物質が、３－［２，４－ジメチル－５－［［（Ｚ）－２，３－ジヒドロ－２－オキソ－１Ｈ－インドール－３－イリデン］メチル］－１Ｈ－ピロール－３－イル］プロパン酸、Ｎ－｛５－［２－（３，５－ジメトキシフェニル）エチル］－１Ｈ－ピラゾール－３－イル｝－４－［（３Ｒ，５Ｓ）－３，５－ジメチルピペラジン－１－イル］ベンズアミド、１－［（２Ｒ，４Ｓ，５Ｓ

）－４－アジド－５－（ヒドロキシメチル）オキソラン－２－イル］－５－メチルピリミジン－２，４－ジオン、ＦＧＦＲ２－IIIｂ特異的抗体、３－（２，６－ジクロロ－３，５－ジメトキシフェニル）－１－［６－［［４－（４－エチルピペラジン－１－イル）フェニル］アミノ］ピリミジン－４－イル］－１－メチルウレア、（Ｓ）－（Ｒ）－１－（（４－（（４－フルオロ－２－メチル－１Ｈ－インドール－５－イル）オキシ）－５－メチルピロロ［２，１－ｆ］［１，２，４］トリアジン－６－イル）オキシ）プロパン－２－イル　２－アミノプロピオン酸、Ｎ－［２－［［４－（ジエチルアミノ）ブチル］アミノ］－６－（３，５－ジメトキシフェニル）ピリド［２，３－ｄ］ピリミジン－７－イル］－Ｎ’－（１，１－ジメチルエチル）－ウレアである、請求項１４に記載の治療剤。

[請求項16] がん治療剤のスクリーニング方法であって、下記の工程を含む、方法：

（1）下記（a）～（c）のいずれかの融合ポリペプチドを発現している細胞に被験物質を接触させる工程：

（a）FGFR2-TXLNA融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにTXLNAのコイルドコイルドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチド、

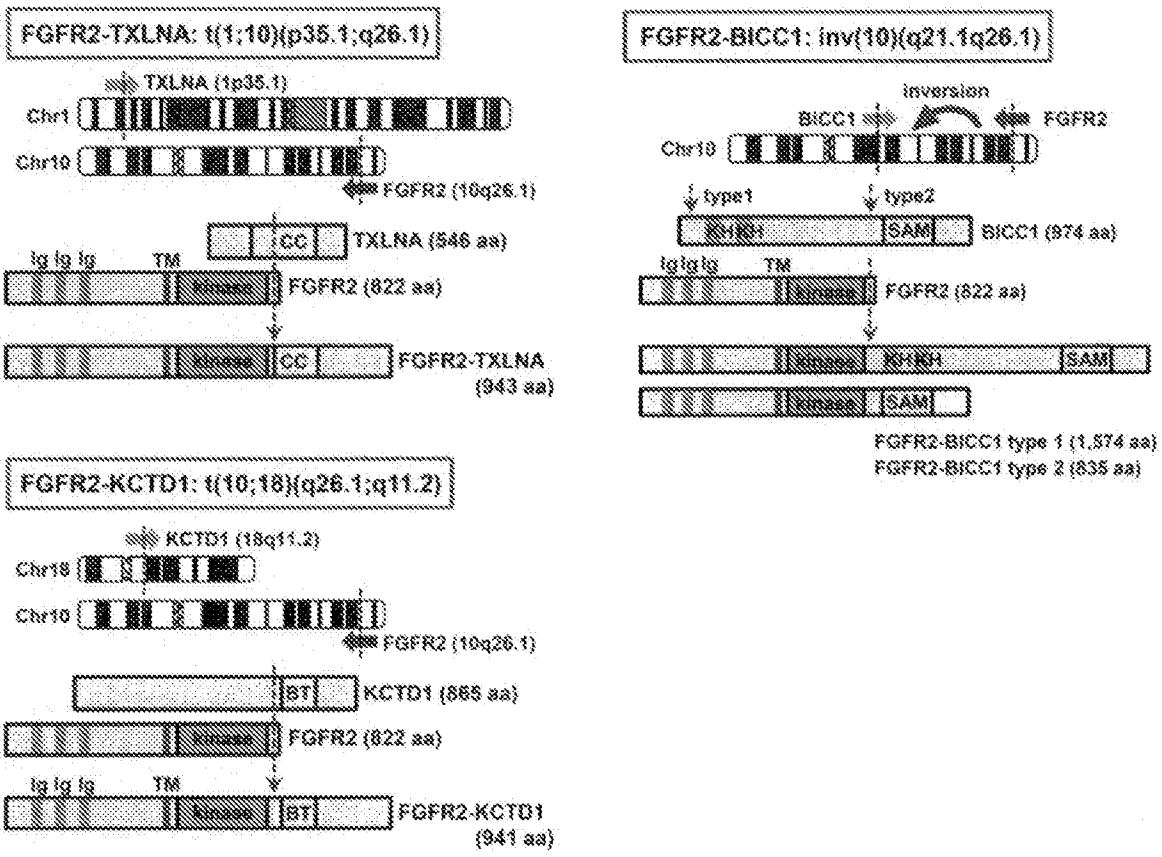
（b）FGFR2-KCTD1融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにKCTD1のBTB/POZドメインを含みかつキナーゼ活性を有するポリペプチド、ならびに

（c）FGFR2-BICC1 type 2融合ポリペプチドであって、FGFR2のIg様ドメイン、膜貫通領域、及びキナーゼドメイン、ならびにBICC1のSAMドメインを含むが、BICC1のKHドメインを含まず、かつキナーゼ活性を有するポリペプチド；

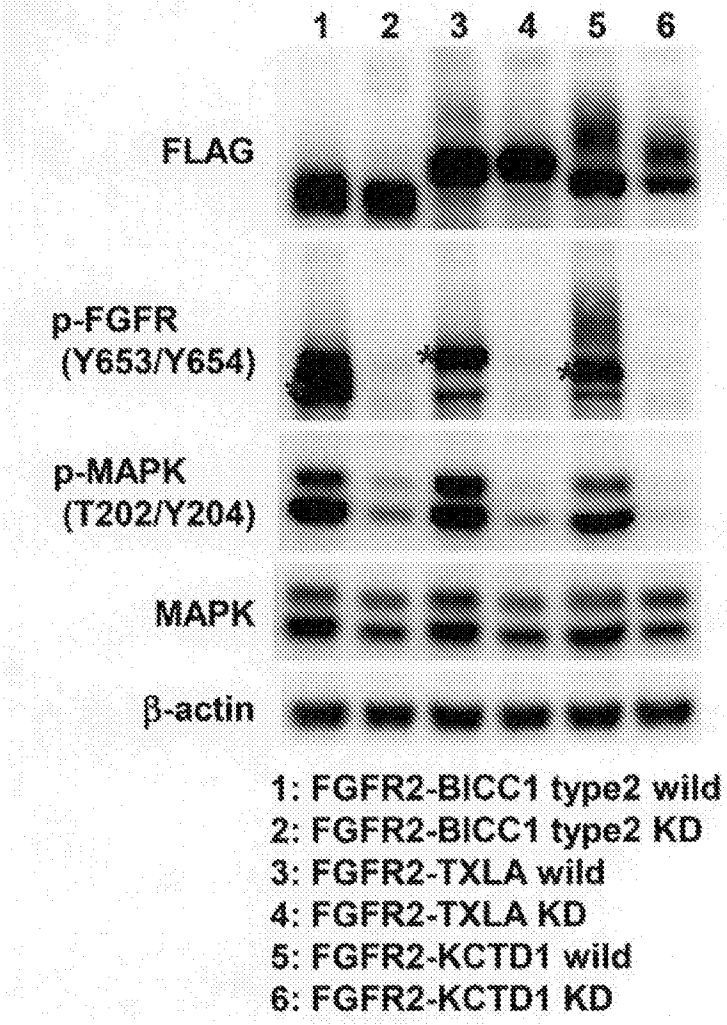
（2）前記融合ポリペプチドの発現および／または活性が抑制されるか否かを決定する工程；ならびに

（3）前記融合ポリペプチドの発現および／または活性を抑制すると決定された物質をがん治療剤として選択する工程。

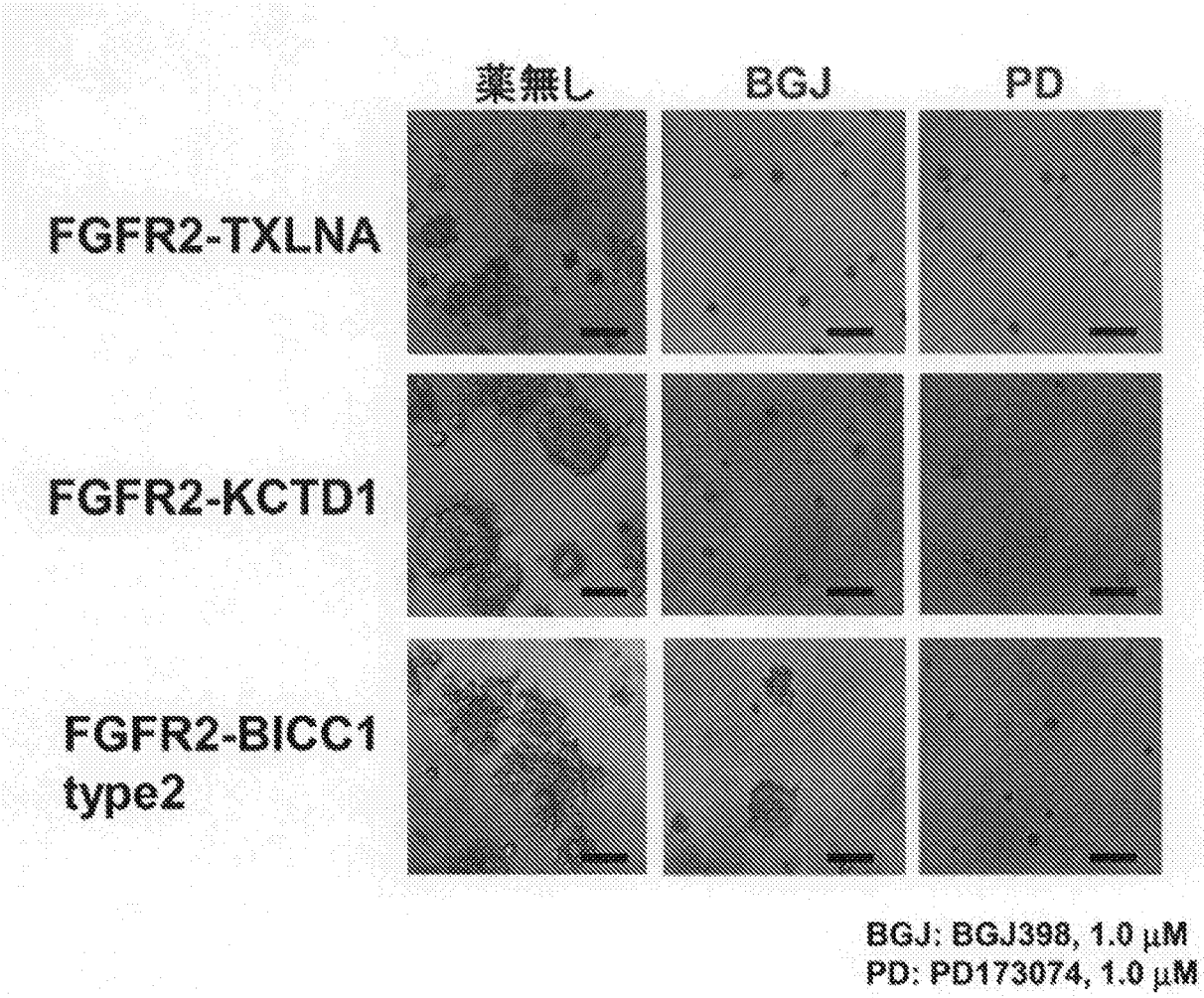
[図1]


FGFR2-TXLNA: t(1;10)(p35.1;q26.1)
TXLNA (1p35.1)
Chr1
Chr10
FGFR2 (10q26.1)
CC
TXLNA (546 aa)
Ig Ig Ig
TM
Kinase
FGFR2 (822 aa)
FGFR2-TXLNA
(943 aa)
FGFR2-BICC1: inv(10)(q21.1q26.1)
inversion
BICC1
FGFR2
Chr10
type1
type2
KH-like
SAM
BICC1 (974 aa)
FGFR2 (822 aa)
KH-like
SAM
FGFR2-BICC1 type 1 (1,374 aa)
FGFR2-BICC1 type 2 (835 aa)
FGFR2-KCTD1: t(10;18)(q26.1;q11.2)
KCTD1 (18q11.2)
Chr18
Chr10
FGFR2 (10q26.1)
BT
KCTD1 (865 aa)
FGFR2 (822 aa)
FGFR2-KCTD1
(941 aa)

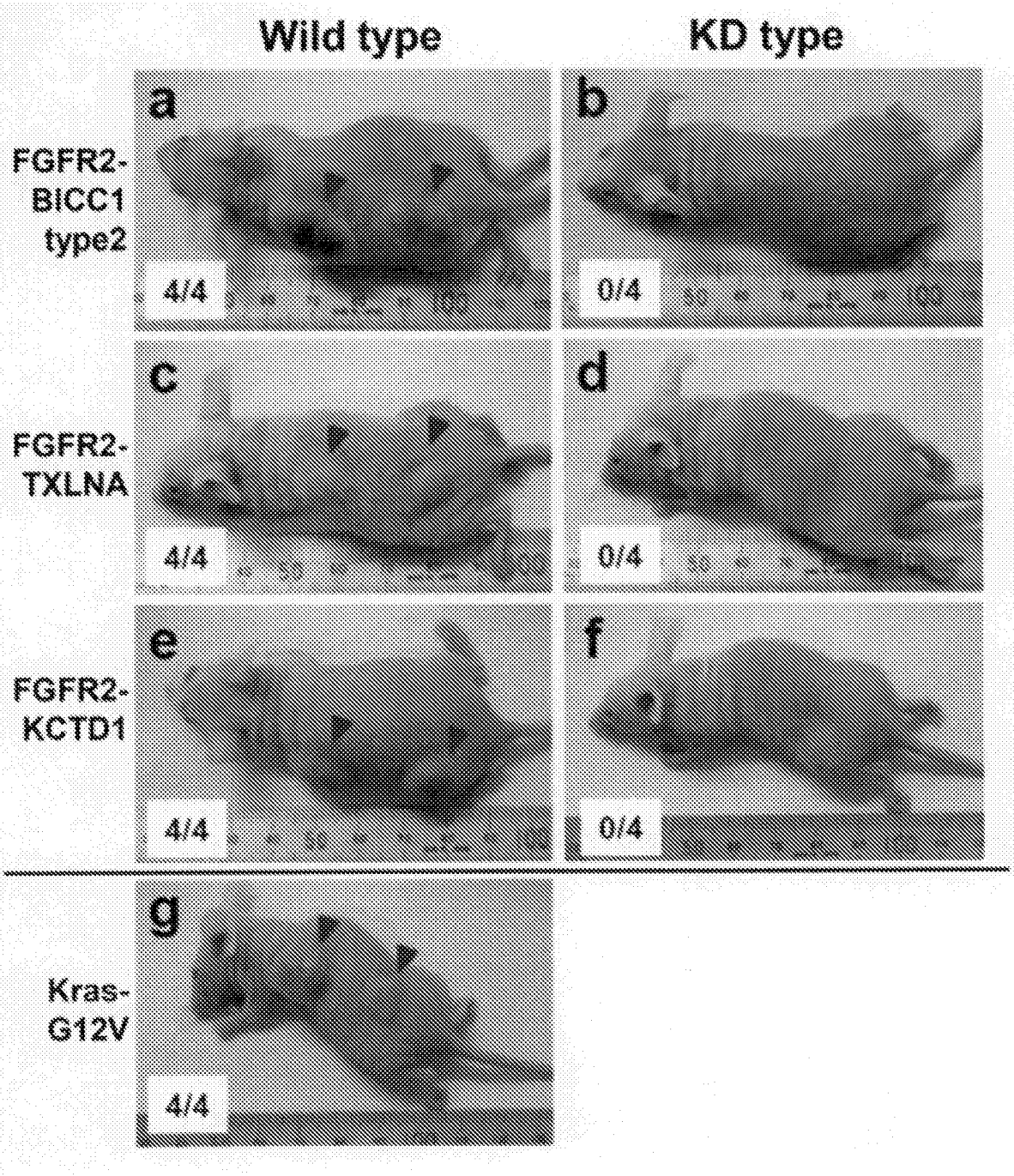
[図2]


1 2 3 4 5 6
FLAG
p-FGFR
(Y653/Y654)
p-MAPK
(T202/Y204)
MAPK
β-actin
1: FGFR2-BICC1 type2 wild
2: FGFR2-BICC1 type2 KD
3: FGFR2-TXLA wild
4: FGFR2-TXLA KD
5: FGFR2-KCTD1 wild
6: FGFR2-KCTD1 KD

[図3]


薬無し
BGJ
PD
FGFR2-TXLNA
FGFR2-KCTD1
FGFR2-BICC1
type2
BGJ: BGJ398, 1.0 μM
PD: PD173074, 1.0 μM

[図4]


Wild type
KD type
a
b
FGFR2-BICC1 type2
4/4
0/4
c
d
FGFR2-TXLNA
4/4
0/4
e
f
FGFR2-KCTD1
4/4
0/4
g
Kras-G12V
4/4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/083186

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
See extra sheet.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q1/6, A61K, A61P, C07K, C12N, G01N

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 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	WO 2014/071419 A2 (FOUNDATION MEDICINE, INC.), 08 May 2014 (08.05.2014), claims; page 1, line 20 to page 2, line 12; page 450, line 28 to page 466, line 13; page 602, line 5 to page 610, line 10; page 672, line 27 to page 716, line 18; fig. 1A, 108A to C & US 2015/0073036 A1 & EP 2914622 A & EP 2914621 A	1-6,9-16/ 1-16

☒ 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
03 February 2016 (03.02.16)	16 February 2016 (16.02.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/083186

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2014/007369 A1 (National Cancer Center), 09 January 2014 (09.01.2014), claims; paragraphs [0001] to [0009], [0011] to [0018], [0030] to [0127] & US 2015/0191791 A1 claims; paragraphs [0001] to [0009], [0017] to [0024], [0056] to [0185] & EP 2871236 A1 & CN 104619840 A	1-16
Y	Yasuhito ARAI, "Fusion gene discovery for target therapy in solid tumor", Journal of Clinical and Experimental Medicine, 07 June 2014 (07.06.2014), vol.249, no.10, pages 1107 to 1112, ISSN: 0039-2359, particularly, page 1108, right column to page 1109, right column, page 1110, right column to page 1111, left column, fig. 2, 5	1-16
A	National Cancer Center, Tando Gan de Kokunai Hatsu Bunshi Hyoteki-yaku Kaihatsu ni Muketa Rinsho Kenkyu Kaishi, 06 June 2014 (06.06.2014)	1-16
A	Chigusa MORIZANE, Takuji OKUSAKA, Tatsuhiro SHIBATA, "Tando Gan ni Taisuru Chiryo Kaihatsu o Nento ni Oita FGFR2 Yugo Idenshi no Screening Kenkyu", Journal of Japan Biliary Association, 31 August 2014 (31.08.2014), vol.28, no.3, PO-52, ISSN: 0914-0077	1-16
A	WO 2014/145751 A2 (THE TRANSLATIONAL GENOMICS RESEARCH INSTITUTE), 18 September 2014 (18.09.2014), claims; paragraphs [0020] to [0077] (Family: none)	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/083186

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

C12Q1/68(2006.01)i, *A61K31/404*(2006.01)i, *A61K31/496*(2006.01)i, *A61K31/506*(2006.01)i, *A61K31/519*(2006.01)i, *A61K31/53*(2006.01)i, *A61K45/00*(2006.01)i, *A61P35/00*(2006.01)i, *C07K14/47*(2006.01)i, *C07K14/705*(2006.01)i, *C07K19/00*(2006.01)i, *C12N9/12*(2006.01)i, *C12N15/09*(2006.01)i, *G01N33/15*(2006.01)i, *G01N33/50*(2006.01)i, *G01N33/574*(2006.01)i

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

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１５／０８３１８６

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　特別ページ参照

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12Q1/6, A61K, A61P, C07K, C12N, G01N

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	１９７１－２０１６年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１６年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１６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/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), UniProt/GeneSeq

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X/Y	WO 2014/071419 A2 (FOUNDATION MEDICINE, INC.) 2014.05.08, Claims, 第１頁第２０行－第２頁第１２行、第４５０頁第２８行－第４６６頁第１３行、第６０２頁第５行－第６１０頁第１０行, 第６７２頁第２７行－第７１６頁第１８行, FIGS, 1A, 108A-C & US 2015/0073036 A1 & EP 2914622 A & EP 2914621 A	1－6, 9－16/1－16

☑　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
０３．０２．２０１６	１６．０２．２０１６

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）　４Ｎ　３３４１
山本　晋也
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４８８

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WO 2014/007369 A1 (独立行政法人国立がん研究センター) 2014.01.09, 請求の範囲、［０００１］－［０００９］、［００１１］－［００１８］、［００３０］－［０１２７］ & US 2015/0191791 A1, Claims, [0001]-[0009], [0017]-[0024], [0056]-[0185] & EP 2871236 A1 & CN 104619840 A	1 - 16
Y	新井　康仁, 固形がんにおける融合遺伝子の解析と治療への展開, 医学のあゆみ, 2014.06.07, Vol. 249, No. 10, p. 1107-1112, ISSN: 0039-2359、特に第１１０８頁右側欄－第１１０９頁右側欄、第１１１０頁右側欄－第１１１１頁左側欄、図２，５	1 - 16
A	独立行政法人国立がん研究センター, 胆道がんで国内初　分子標的薬開発に向けた臨床研究開始, 2014.06.06	1 - 16
A	森実　千種,　奥坂　拓志,　柴田　龍弘, 胆道癌に対する治療開発を念頭に置いたＦＧＦＲ２融合遺伝子のスクリーニング研究, 胆道, 2014.08.31, Vol. 28, No. 3, PO-52, ISSN: 0914-0077	1 - 16
A	WO 2014/145751 A2 (THE TRANSLATIONAL GENOMICS RESEARCH INSTITUTE) 2014.09.18, Claims, [0020]-[0077] (ファミリーなし)	1 - 16

発明の属する分野の分類
C12Q1/68(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/496(2006.01)i,
A61K31/506(2006.01)i, A61K31/519(2006.01)i, A61K31/53(2006.01)i,
A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C07K14/47(2006.01)i, C07K14/705(2006.01)i,
C07K19/00(2006.01)i, C12N9/12(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/15(2006.01)i,
G01N33/50(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i