

(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8月25日(25.08.2016)



(10) 国際公開番号
WO 2016/132736 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/000793
- (22) 国際出願日: 2016年2月16日(16.02.2016)
- (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 2015-028813 2015年2月17日(17.02.2015) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人山口大学(YAMAGUCHI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒7538511 山口県山口市吉田1677-1 Yamaguchi (JP). 東洋鋼板株式会社(TOYO KOHAN CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1028447 東京都千代田区四番町2番地12 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 岡 正朗(OKA, Masaaki); 〒7538511 山口県山口市吉田1677-1 国立大学法人山口大学内 Yamaguchi (JP). 碓 彰一(HAZAMA, Shoichi); 〒7558505 山口県宇部市南小串1丁目1-1 国立大学法人山口大学医学部内 Yamaguchi (JP). 恒富 亮一(TSUNEDOMI, Ryouichi); 〒7558505 山口県宇部市南小串1丁目1-1 国立大学法人山口大学医学部内 Yamaguchi (JP).
- (74) 代理人: 廣田 雅紀(HIROTA, Masanori); 〒1070052 東京都港区赤坂二丁目2番19号アドレビル6階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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))

(54) Title: METHOD FOR ASSISTING PREDICTION OF RISK OF OCCURRENCE OF SIDE EFFECT OF IRINOTECAN

(54) 発明の名称: イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a simple and efficient means for predicting the risk of occurrence of a side effect of irinotecan by analyzing a single nucleotide polymorphism in a region encoding a specific gene. The prediction of the risk of occurrence of a side effect of irinotecan is assisted by analyzing: a single nucleotide polymorphism in a region encoding the APCDD1L gene, the R3HCC1 gene, the OR51I2 gene, the MKKS gene, the EDEM3 gene, or the ACOX1 gene which are present on genomic DNA in a biological sample collected from a subject; or a single nucleotide polymorphism which is in linkage disequilibrium with or genetically linked to said single nucleotide polymorphism, and thereby determining whether the single nucleotide polymorphism is homozygous or heterozygous for a variant-type, or homozygous for a wild-type.

(57) 要約: 特定の遺伝子をコードする領域における一塩基多型を分析することによりイリノテカンによる副作用の発生リスクを予測するための簡便かつ効率的な手段を提供することを課題とする。被検者から採取された生体試料中のゲノムDNA上に存在するAPCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR51I2遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型を分析し、一塩基多型としてバリエーション型をホモとして有しているか、ヘテロとして有しているか、野生型をホモとして有しているかを判定し、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する。



WO 2016/132736 A1

明 細 書

発明の名称：

イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法

技術分野

[0001] 本発明は、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法や、かかる方法における一塩基多型の分析で用いるためのプローブ又はプライマーに関する。

背景技術

[0002] イリノテカン（CPT-11：1,4'-ビピペリジン-1'-カルボン酸（S）-4,11-ジエチル-3,4,12,14-テトラヒドロ-4-ヒドロキシ-3,14-ジオキソ-1H-ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-9-イルエステル（CAS NO:97682-44-5））は、カンレンボク由来の抗腫瘍性アルカロイドであるカンプトテシンから合成された抗癌剤であり、肺癌や転移性大腸癌等の癌を治療するのに有用であることが知られている。イリノテカンは、DNA複製を促進する酵素トポイソメラーゼを阻害することにより優れた抗癌作用を示す。しかしながら、白血球減少、好中球減少、下痢等の重篤な副作用が報告されている。

[0003] 近年、患者個人に最適な治療方法を計画するオーダーメイド医療、すなわち個別化医療が一部で実用化されている。イリノテカンに関しても、グルクロン酸抱合酵素(UDP-glucuronosyltransferase:UGT)をコードする遺伝子の一つであるUGT1A1の遺伝子多型（UGT1A1*28、UGT1A1*6、UGT1A1*27、UGT1A1*60等）を検出することで、イリノテカンの副作用を予測する方法（特許文献1～4、非特許文献1、2参照）が提案されており、かかる方法を用いてイリノテカンの副作用を予測し、個別化医療の指標として利用されている。

[0004] また、イリノテカンの副作用の有無を予測することを目的として、UGT1A1*28、UGT1A1*6を判定するキット（積水メディカル社製）が販売されている。

[0005] しかしながら、UGT1A遺伝子多型に基づいて非ハイリスクとされる患者、例えばUGT1A*28、UGT1A*6において、いずれかがバリエーション型又はいずれもヘテロ型として有する患者においても、およそ43%の患者においてイリノテカンによる副作用がみられるのが現状であり、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する新たな方法が求められていた。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2002-048400号パンフレット

特許文献2：特開2011-250726号公報

特許文献3：特開2010-000018号公報

特許文献4：特開2008-072913号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Hazama et al., Cancer Science, 104:1662-9(2013)

非特許文献2：Tsunedomi et al., International Journal of Oncology, 45(4):1381-1390(2014)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 抗癌剤イリノテカンによる癌治療において、個々の患者での副作用の発生リスクの予測を可能として、個々の癌患者に適切な抗癌剤による治療、いわゆる個別化医療が求められている。そこで、本発明の課題は、特定の遺伝子をコードする領域における一塩基多型を分析することによりイリノテカンによる副作用の発生リスクを予測するための簡便かつ効率的な手段を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 臨床情報（イリノテカン副作用発生の有無）及びUGT1A遺伝子多型情報に基づいて群分けした患者ゲノムを網羅的に解析（エクソーム解析）する

ことによって、UGT1A遺伝子多型を原因としない新規のイリノテカンの副作用関連因子の探索を行った。その結果、APCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR51I2遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型がイリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する因子であること、かかる一塩基多型とUGT1A遺伝子多型とは連鎖（相関）しないことを見だし、本発明を完成した。

[0010] すなわち、本発明は、以下に示すとおりのものである。

(1) 被検者から採取された生体試料中のゲノムDNA上に存在するAPCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR51I2遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型を分析し、バリエーション型をホモとして有しているか、野生型をホモとして有しているか、又はヘテロとして有しているかを判定し、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法。

(2) APCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR51I2遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型が以下の(a)～(g)のいずれかであることを特徴とする上記(1)記載の方法。

(a) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の186番目の塩基に存在する一塩基多型；

(b) 配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型；

(c) 配列番号3に示されるOR51I2遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型；

(d) 配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型；

(e) 配列番号 5 に示される E D E M 3 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 2 4 5 9 番目の塩基に存在する一塩基多型；

(f) 配列番号 1 に示される A P C D D 1 L 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 2 3 8 番目の塩基に存在する一塩基多型；

(g) 配列番号 6 に示される A C O X 1 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 9 3 6 番目の塩基に存在する一塩基多型；

(3) (a)、(b) 又は (d) に記載の一塩基多型においてバリエーション型をホモとして有している場合、又は (c)、(e) ~ (g) に記載の一塩基多型において野生型をホモとして有している場合にはイリノテカンによる副作用の発生リスクが高いとの予測を補助することを特徴とする上記 (2) 記載の方法。

(4) 副作用が、白血球減少又は好中球減少であることを特徴とする上記 (1) ~ (3) のいずれか記載の方法。

(5) 以下の (h) ~ (n) のいずれかであって、上記 (1) ~ (4) のいずれかに記載の方法における一塩基多型の分析で用いるためのプローブ。

(h) 配列番号 1 に示される A P C D D 1 L 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 1 8 6 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する 5 ~ 5 0 塩基の配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(i) 配列番号 2 に示される R 3 H C C 1 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 3 5 8 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する 5 ~ 5 0 塩基の配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(j) 配列番号 3 に示される O R 5 1 I 2 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 4 0 0 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する 5 ~ 5 0 塩基の配列とストリンジентな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(k) 配列番号 4 に示される M K K S 遺伝子をコードする塩基配列、又はそ

の相補配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(l) 配列番号5に示されるEDM3遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(m) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の238番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(n) 配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(6) 以下の(o)～(u)のいずれかであって、上記(1)～(4)のいずれかに記載の方法における一塩基多型の分析で用いるためのプライマー。

(o) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の186番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(p) 配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(q) 配列番号3に示されるOR51I2遺伝子をコードする塩基配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(r) 配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を

増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(s) 配列番号5に示されるEDEM3遺伝子をコードする塩基配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(t) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の238番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(u) 配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(7) 上記(5)記載のプローブ、又は上記(6)記載のプライマーを含むことを特徴とするイリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助するためのキット。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助することが可能となる。かかる方法を用いて個々の患者での副作用を予測することで、個々の癌患者に適切な抗癌剤による治療、いわゆる個別化医療を行うことが可能となる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1] APCDD1L遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図である。

[図2] R3HCC1遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図である。

[図3] OR51I2遺伝子及びMKKS遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図である。

[図4] CSMD2遺伝子及びEDEM3遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図である。

[図5] GATA2遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図で

ある。

[図6] T R I M 6 5 遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図である。

[図7] F B F 1 遺伝子及び A C O X 1 遺伝子をコードする領域のエクソーム解析の結果を示す図である。

[図8] A P C D D 1 L 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 1 9 8 0 5 7 6、R 3 H C C 1 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 2 2 7 2 7 6 1、O R 5 1 1 2 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 1 2 5 7 7 1 6 7、M K K S 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 1 5 4 7 について、T a q M a n p r o b e 法により解析した結果を示す図である。

[図9] E D E M 3 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 9 4 2 5 3 4 3、A P C D D 1 L 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 7 2 6 5 8 5 4、A C O X 1 遺伝子をコードする領域における一塩基多型 r s 1 1 3 5 6 4 0 について、T a q M a n p r o b e 法により解析した結果を示す図である。

[図10] r s 9 4 2 5 3 4 3、r s 2 2 7 2 7 6 1、r s 1 2 5 7 7 1 6 7、r s 1 1 3 5 6 4 0、r s 1 5 4 7、r s 7 2 6 5 8 5 4、r s 1 9 8 0 5 7 6 と U G T 1 A 遺伝子変異における連鎖不平衡解析及び L D 解析を行った結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 本発明におけるイリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法としては、被検者から採取された生体試料中のゲノム DNA 上に存在する A P C D D 1 L 遺伝子、R 3 H C C 1 遺伝子、O R 5 1 1 2 遺伝子、M K K S 遺伝子、E D E M 3 遺伝子、又は A C O X 1 遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型を分析し、バリエーション型 (minor allele) をホモとして有しているか、野生型 (major allele) をホモとして有しているか、又はヘテロと

して有しているかを判定し、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法であれば特に制限されず、イリノテカンには、その塩及びそれらの溶媒和物、特に水和物（例えば、CAS NO:136572-09-3）も包含される。イリノテカンの塩としては、薬学的に許容される酸を作用させた酸付加塩が抗癌剤として好ましく用いられる。そのような酸付加塩としては、例えば塩酸、硫酸、リン酸、臭化水素酸等の無機酸との塩；シュウ酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、酢酸、p-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸等の有機酸との塩が挙げられ、特に塩酸塩（塩酸イリノテカン；CAS NO:136572-09-3）を挙げることができる。

[0014] 被検者から採取された生体試料としては、ゲノムDNAを含むものであれば特に制限されず、血液及びこれに由来する血液関連試料（血液、血清及び血漿等）、リンパ液、汗、涙、唾液、尿、糞便、腹水及び髄液等の体液、ならびに細胞、組織又は臓器の破碎物及び抽出液等を挙げることができ、血液関連試料を好適に挙げることができる。

[0015] 被検者から採取した生体試料からゲノムDNAを抽出する抽出手段としては、特に限定されず、前記生体試料から直接的にDNA成分を分離し、精製して回収できる手段であることが好ましい。

[0016] APCDD1L遺伝子（NCBIアクセッション番号 NM_153360.1 更新日 2014年1月26日）をコードする領域における一塩基多型としては、配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の186番目若しくは238番目の塩基に存在する一塩基多型であることが好ましく、かかる一塩基多型はNCBI SNP データベース（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>）のリファレンス番号であるrs番号（Reference SNP ID number）により特定でき、それぞれrs1980576（配列番号7）、rs7265854（配列番号8）として登録されている。なお、以下、本発明においては、特定の一塩基多型を、上記NCBI SNP データベースのrs番号で記載する場合がある。

[0017] R3HCC1遺伝子（NCBIアクセッション番号 NM_001136

108. 1 更新日 2014年1月27日) をコードする領域における一塩基多型としては、配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型であることが好ましく、かかる一塩基多型はrs2272761 (配列番号9) として登録されている。

[0018] OR5112遺伝子 (NCBIアクセッション番号 NM_001004754. 2 更新日 2014年5月16日) をコードする領域における一塩基多型としては、配列番号3に示されるOR5112遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型であることが好ましく、かかる一塩基多型はrs12577167 (配列番号10) として登録されている。

[0019] MKKS遺伝子 (NCBIアクセッション番号 NM_018848. 3 更新日 2014年5月5日) をコードする領域における一塩基多型としては、配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型であることが好ましく、かかる一塩基多型はrs1547 (配列番号11) として登録されている。

[0020] EDEM3遺伝子 (NCBIアクセッション番号 NM_025191. 3 更新日 2014年2月26日) をコードする領域における一塩基多型としては、配列番号5に示されるEDEM3遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型であることが好ましく、かかる一塩基多型はrs9425343 (配列番号12) として登録されている。

[0021] ACOX1遺伝子 (NCBIアクセッション番号 NM_004035. 6 更新日 2014年5月5日) をコードする領域における一塩基多型としては、配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型であることが好ましく、かかる一塩基多型はrs1135640 (配列番号13) として登録

されている。

[0022] 上記配列番号 7 ～ 13 の塩基配列を表 1 に示す。それぞれ、ゲノム上での一塩基多型部位及びその上流及び下流 25 塩基の相補配列に相当する。また、配列番号 7 及び 8、9、11、13 の塩基配列は、それぞれ NM__153360.1、NM__001136108.1、NM__018848.3、NM__025191.3 における一塩基多型部位及びその上流及び下流 25 塩基の相補配列に相当する。なお、配列番号 7 の配列は、配列番号 1 に示した mRNA 配列 (NM__153360.1) の 347 番目から 374 番目の相補鎖と重複し、配列番号 1 との重複が見られない残りの 23 塩基 (一塩基多型部位の上流 25 塩基から上流 23 塩基) はイントロン配列に相当し、配列番号 1 上にはみられない。また、配列表において、シトシン (C) 又はチミン (T) ([C/T]) を Y、アデニン (A) 又はグアニン ([A/G]) を R、A 又は C ([A/C]) を M、C 又は G ([C/G]) を S で表す。

[0023] [表 1]

配列番号 7	rs1980378	APCDD1L	GTCAAGATGACCTGAAGTCTTAAGC[C/T]GTGGAGATCGAAGGTCCATTAAAGG
配列番号 8	rs7285854	APCDD1L	TGGGCTGGAAGAGGCGGCTGAGGT[A/G]GAAAGTGTAGCGCGGCGTGAAGAA
配列番号 9	rs2272761	RSHCC1	TGCTTCTCTCCAGGCACTCTCTGCA[C/T]GAAAGAGGATGTGTCCAAATGGATG
配列番号 10	rs12577187	OR51L2	CATTGTGAGCCCTTGGGCTATGCA[A/G]CTGTCTCACCACCTGAAGTCATTGC
配列番号 11	rs1547	MRS	CAGCTTTGTGCGACAAATGGACGAC[A/G]TGTGCTTTTAAAGAAAGACCACTTG
配列番号 12	rs9425343	EDEM3	ATCAACCTCTTGAGAACTTGATGAA[A/C]TGTGTTCACCACCTGTGATTGTGAGA
配列番号 13	rs1135640	AOX4	CGGCTGTGAGGCAACCACTGTGAAATTC/GAAGCCAGGCTAAGGATACGGTCTTA

[0024] 配列番号 1 に示される APCDD1L 遺伝子をコードする塩基配列の 186 番目の塩基は、野生型では A、バリエーション型では G であり、配列番号 1 に示される APCDD1L 遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の 186 番目の塩基は、野生型では T、バリエーション型では C である。

[0025] 配列番号 2 に示される RSHCC1 遺伝子をコードする塩基配列の 358 番目の塩基は、野生型では G、バリエーション型では A であり、配列番号 2 に示される RSHCC1 遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の 358 番目の塩基は、野生型では C、バリエーション型では T である。

[0026] 配列番号 3 に示される OR51L2 遺伝子をコードする塩基配列の 400 番目の塩基は、は、野生型では A、バリエーション型では G であり、配列番号 3 に示される OR51L2 遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の 400 番

目の塩基としては、野生型ではT、バリエーション型ではCである。

[0027] 配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列の1549番目の塩基は、野生型ではC、バリエーション型ではTであり、配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の1549番目の塩基は、野生型ではG、バリエーション型ではAである。

[0028] 配列番号5に示されるEDM3遺伝子をコードする塩基配列の2459番目の塩基は、野生型ではT、バリエーション型ではGであり、配列番号5に示されるEDM3遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の2459番目の塩基は、野生型ではA、バリエーション型ではCである。

[0029] 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の238番目の塩基は、野生型ではT、バリエーション型ではCであり、配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の238番目の塩基は、野生型ではA、バリエーション型ではGである。

[0030] 配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列の936番目の塩基は、野生型ではC、バリエーション型ではGであり、配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列の相補配列の936番目の塩基は、野生型ではG、バリエーション型ではCである。

[0031] 本発明において、「連鎖不平衡」とは、生物の集団において、複数の遺伝子座の対立遺伝子又は遺伝的マーカー（多型）の間にランダムでない相関が見られる、すなわちそれらの特定の組合せ（ハプロタイプ）の頻度が有意に高くなる集団遺伝学的な現象を意味し、「遺伝的連鎖」とは、特定の対立遺伝子の組合せが、メンデルの独立の法則に従わずに親から子へ一緒に遺伝する遺伝学的現象を意味する。

[0032] 本発明において、副作用としては特に制限されないが、白血球減少、好中球減少、下痢、嘔吐、全身倦怠感、食欲不振、脱毛等を挙げることができ、白血球減少又は好中球減少を好適に挙げることができる。

[0033] 本発明において、一塩基多型を分析する方法としては、公知の一塩基多型を分析する方法を用いることができ、リアルタイムPCR法、ダイレクトシ

ーケンシング法、Taqman（登録商標）PCR法、インベーター（登録商標）法、ルミネックス（登録商標）法、クエンチングプライマー／プローブ（QP）法、MALDI-TOF法、分子ビーコン法等を挙げることができる。具体的には、被検者（通常、ヒト被検者をさす）から採取した生体試料のゲノムDNAを鋳型とする増幅反応によって測定対象の一塩基多型部位を含む核酸断片を、プライマーを用いてPCRで増幅し、得られた核酸断片と、野生型及びバリエーション型に対応する一対のプローブとのハイブリダイゼーションを検出する方法や、上記PCR増幅過程において、該一塩基多型部位に特異的なプローブを用いることで、野生型及びバリエーション型を検出する方法を挙げることができる。

[0034] 上記一塩基多型を分析する方法において用いる本発明のプローブとしては、分析対象の一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブであればよく、配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の186番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号3に示されるOR5112遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号5に示されるEDM3遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号6に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の238番目の塩基に存在する一塩基多型部位、又は配列番号7に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基、好ましくは10～40塩基、より好ましくは15塩基～30塩基の配列とストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからな

るプローブを挙げることができる。また、プローブとしてLocked Nucleic Acid (LNA) 等の人工核酸を用いて合成したオリゴプローブを用いることで、短い塩基でも特異的にハイブリダイズするプローブとすることが可能となる。

[0035] 本発明において、ストリンジェントな条件下としては、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいい、具体的には、 $6\times\text{SSC}$ (1.5M NaCl , 0.15M クエン酸三ナトリウムを含む溶液を $10\times\text{SSC}$ とする)、 50% フォルムアミドを含む溶液中で 45°C にてハイブリッドを形成させた後、 $2\times\text{SSC}$ で 50°C にて洗浄するような条件 (Molecular Biology, John Wiley & Sons, N. Y. (1989), 6.3.1-6.3.6) や、 $3\times\text{SSC}/0.3\times\text{SDS}$ を含む溶液中で 54°C にてハイブリッドを形成させた後、洗浄液A ($10\times\text{SSC}/1\%\text{SDS}$ 溶液)、洗浄液B ($20\times\text{SSC}$) 及び洗浄液C ($5\times\text{SSC}$) で順次洗浄するような条件 (上記特許文献2 参照) 等を挙げることができる。

[0036] また、本発明のプローブは、担体上に固定して用いてもよく、担体としては、平面状の基板やビーズ状の球状担体を挙げることができ、具体的には、上記特許文献2 に記載された担体を挙げることができる。また、野生型を検出するプローブとバリエーション型を検出するプローブとを同一の担体に固定してもよいし、異なる担体に固定してもよい。

[0037] 上記一塩基多型を分析する方法において用いる本発明のプライマーとしては、ゲノムDNAを鋳型として、分析対象の一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を核酸断片として増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマーであればよく、配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の186番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号3に示されるOR5112遺伝子をコードする塩基配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列の1549番

目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号5に示されるEDEM3遺伝子をコードする塩基配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型部位、配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の238番目の塩基に存在する一塩基多型部位、又は配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基、好ましくは10～500塩基、より好ましくは20～200塩基、さらに好ましくは50～100塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマーを挙げることができる。

[0038] また、分析対象の一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅する際に、あらかじめ標識したプライマーを用いるか、増幅反応に標識ヌクレオチドを基質として用いることで、増幅した配列を識別することが可能となる。標識物質としては特に限定されないが、放射性同位元素、蛍光色素、又はジゴキシゲニン（DIG）やビオチン等の有機化合物等を挙げることができる。

[0039] 上記プローブ又はプライマーは、例えば、核酸合成装置によって化学的に合成することで取得することができる。核酸合成装置としては、DNAシンセサイザー、全自動核酸合成装置等を使用することができる。

[0040] 増幅した核酸断片が標識を有する場合、標識を検出することで各プローブにハイブリダイズした核酸断片を測定することができる。例えば、蛍光色素を標識として使用した場合には、当該蛍光色素に由来する蛍光強度を測定することによって、プローブにハイブリダイズした核酸断片を測定することができる。具体的には、野生型を検出するプローブにハイブリダイズした核酸断片と、バリエーション型を検出するプローブにハイブリダイズした核酸断片との比を算出するには、野生型を検出するプローブにおける標識を検出したときの出力値と、バリエーション型を検出するプローブにおける標識を検出したときの出力値とから算出することができる。

[0041] より具体的に、バリエーション型に対応するプローブにハイブリダイズした核

酸断片に由来する強度値を、バリエーション型に対応するプローブにハイブリダイズした核酸断片に由来する強度値及び野生型に対応するプローブにハイブリダイズした核酸断片に由来する強度値の平均値で除算することで判定値を算出することができる。この判定値は、核酸断片に含まれるバリエーション型の存在量を正規化した値に近似する。よって、当該判定値の高さによって、被検者における一塩基多型を分析しバリエーション型をホモとして有しているか、野生型をホモとして有しているか、又はヘテロとして有しているかを判別することができる。

[0042] 当該判定値を使用する場合、被検者における一塩基多型を分析してバリエーション型をホモとして有しているか、野生型をホモとして有しているか、又はヘテロとして有しているかを判別するため、予め二段階の閾値（閾値A及び閾値B）を設定することが好ましい。なお、ここで、閾値A及び閾値Bは、（閾値A>閾値B）の関係を有しているものとする。すなわち、上述のように算出された判定値が閾値Aを超えるとバリエーション型をホモとして有していると判断し、当該判定値が閾値A以下であり閾値Bを超えるとヘテロとして有していると判断し、当該判定値が閾値B以下であると野生型をホモとして有していると判断できる。

[0043] これら閾値A及び閾値Bは、上述した一塩基多型について設定する。閾値A及び閾値Bの設定方法としては、特に限定されないが、予め遺伝子型が判別している試料を用いて上述のように判定値を算出し、上記バリエーション型をホモとして有している場合、野生型をホモとして有している場合、又はヘテロとして有している場合についてそれぞれ確率密度を正規分布として算出する方法を挙げることができる。このとき、確率密度が互いに重なる交点（確率密度の大小が入れ替わる位置で、それぞれの極大値の間）を求め、また、上記バリエーション型をホモとして有している場合、野生型をホモとして有している場合、又はヘテロとして有している場合それぞれ平均値を求める。そして、バリエーション型をホモとして有している場合とヘテロとして有している場合の閾値としては、（バリエーション型をホモとして有している場合の平均値と

ヘテロとして有している場合の平均値)の平均値と交点の平均値として算出することができる。同様にヘテロとして有している場合と野生型をホモとして有している場合の閾値としては、(ヘテロとして有している場合の平均値と野生型をホモとして有している場合の平均値)の平均値と交点の平均値として算出することができる。

[0044] 上記方法でAPCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR5112遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型を分析し、バリエーション型をホモとして有しているか、野生型をホモとして有しているか、又はヘテロとして有しているかを判定することで、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助することができる。たとえば、予めイリノテカンの副作用の発生が生じた患者と生じなかった患者におけるAPCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR5112遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型との関係を調べる。次に、対象となる患者の一塩基多型を調べ、予め調べた患者のデータと比較することで、対象となる患者においてイリノテカンの副作用の発生リスクの予測を補助することができる。

[0045] 具体的には、上記(a)、(b)、(d)から選ばれる1種以上、好ましくは2種以上、より好ましくは3種の一塩基多型においてバリエーション型をホモとして有している場合、及び／又は(c)、(e)～(g)から選ばれる1種以上、好ましくは2種以上、より好ましくは3種以上、最も好ましくは4種の一塩基多型において野生型をホモとして有している場合には、イリノテカンによる副作用の発生リスクが高いとの予測を補助することができる。逆に、上記(a)、(b)、(d)から選ばれる1種以上、好ましくは2種以上、より好ましくは3種の一塩基多型において野生型をホモとして有している場合、及び／又は(c)、(e)～(g)から選ばれる1種以上、好ま

しくは2種以上、より好ましくは3種以上、最も好ましくは4種の一塩基多型においてバリエーション型をホモとして有している場合には、イリノテカンによる副作用の発生リスクが低いとの予測を補助することができる。

[0046] さらに、上記(a)～(g)から選ばれる2種以上、好ましくは3種以上、より好ましくは5種以上、さらに好ましくは7種の一塩基多型において、すべてヘテロとして有している場合、イリノテカンによる副作用の発生リスクが高いとの予測を補助することもできる。

[0047] 本発明のイリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助するためのキットとしては、本発明のプロブ又は本発明のプライマーを含んでいれば特に制限されず、さらに一塩基多型を分析するための緩衝液、酵素等の試薬や、イリノテカンによる副作用の発生リスクが高いとの予測を補助するための説明書を含んでもよい。

実施例 1

[0048] [イリノテカンの副作用関連因子の探索]

イリノテカンの重篤な副作用は、UGT1A遺伝子に副作用と関連する多型(UGT1A1*6、*27、*28、UGT1A7(387T>G、622T>C)、UGT1A9*1b、UGT1A1*60の7ヶ所)を全く持っていない患者においてさえも散見される。そこで、新たなイリノテカンの副作用関連因子の探索を以下の方法で行った。

[0049] (解析対象)

コントロール群として上述の7ヶ所の多型が全て副作用リスクの低い遺伝子型であって、副作用がみられなかった症例群(グループ1:n=5)、ケース群として上述のUGT1A遺伝子の7ヶ所の多型が全て副作用リスクの低い遺伝子型であったにもかかわらず副作用(Grade3:白血球減少、好中球減少)がみられた症例群(グループ2:n=5)、上記7ヶ所のいずれかの多型をヘテロに有し、初回投与時から極めて重篤な副作用(Grade4:白血球減少、好中球減少)がみられた症例群(グループ3:n=5)の末梢血より調製したゲノムDNAを用いて次世代シーケンサーによるエク

ソーム解析を行った。なお、いずれの症例群も日本人である。

[0050] (ゲノムDNAの調製)

ゲノムDNAは、EDTA含有チューブに採取した被検者の末梢血を用い、ヨウ化ナトリウム法 (Wang et al., Nucleic Acids Res 34:195-201(2014)) に基づいて調製した。調製したDNAは、1 mM EDTA・2 Naを含む10 mM Tris-塩酸緩衝液 (pH 8.0) に溶解し、使用するまで、4℃又は-20℃で保存した。

[0051] (次世代シーケンサーによるエクソーム解析)

次世代シーケンサーによるエクソーム解析は、次の方法で行った。まず、調製したゲノムDNAを分光光度計 (Nanodrop (登録商標) : スクラム社製) を用いて吸光度から濃度を定量し、アガロースゲル電気泳動により品質検定を行った。その後、ゲノムDNAをアコースティックソルバイザー (コバリス社製) を用いて150~200 bpに断片化し、アダプターをライゲートした。次いで、断片化したゲノムDNAをPCRで増幅し、SureSelect (登録商標) Oligo Captureライブラリー (アジレント・テクノロジー社製) とハイブリダイゼーションさせ、ストレプトアビジン磁気ビーズにより回収して濃縮した。回収したDNAライブラリーを鋳型として、Index付きプライマーを使用してPCRによる増幅を行い、Indexを付加し、シーケンスライブラリーとした。作製されたシーケンスライブラリーの品質をAgilent 2100 Bioanalyzer (アジレント・テクノロジー社製) を用いて測定した。シーケンスライブラリーをHiSeq 2000 (イルミナ社製) を用いて解析することで、鋳型DNA塩基配列を取得した。得られた塩基配列について、クリーンリードを抽出し、Burrows-Wheeler Aligner (BWA) (0.7.12) を用いて参照配列 (UCSC hg19 : ヒトリファレンスゲノム) にマッピングした。

[0052] 次にエクソーム解析から得られた各検体における各遺伝子多型について、The Genome Analysis Toolkit (GATK) (3.4-46) によって遺伝子多型を抽出し、さらにsnpEff (v4.1k) によってアミノ酸配列への影響等のアノテーションを付与し、アミノ酸配列への影響が推定される遺伝子多型をSnEff、sorts intol

erant from tolerant(SIFT)、polymorphism Phenotyping (PolyPhen)に基づいて抽出した。コントロール群とケース群との違いは次の式 (I) による標準化平均値差 (d:standardized difference) を用いてランキングを行った。式中、 P_T はケース (テスト) 群における該遺伝子多型アレルの割合、 P_C はコントロール群における該遺伝子多型アレルの割合である。

[0053] [数1]

$$d = |P_T - P_C| / \text{SQRT}[(P_T \times (1 - P_T) + P_C \times (1 - P_C)) / 2] \quad \text{式(I)}$$

[0054] その結果、APCDD1L遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs3946003、rs1980576、rs7265854、R3HCC1遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs2272761、rs2272762、rs13530、OR5112遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs12577167、MKKS遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs1545、rs1547、CSMD2遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs474474、EDEM3遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs9425343、GATA2遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs2335052、TRIM65遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs3760128、rs7222755、rs7222757、FBF1遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs2305913、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型 rs1135640の一塩基多型をイリノテカンの副作用因子の候補として得た。それぞれの遺伝子のエクソーム解析の結果をIntegrative Genomics Viewer (IGV, Broad Institute社製)ソフトウェアにより可視化したものを図1～7に示す。図中、一塩基多型の位置を四角で囲んでおり、太線が野生型をホモとして有している場合、点線がヘテロとして有している場合、細線がバリエーション型をホモとして有している場合である。また、本実施例において、rs1980576とrs3946003 (図1)、rs2272761とrs2272762及びrs13530 (図2)、rs1545とrs1547 (図3)、rs1135640とrs3760128、rs

7 2 2 2 7 5 5、rs 7 2 2 2 7 5 7、及びrs 2 3 0 5 9 1 3（図6、7）は完全連鎖を示した。

実施例 2

[0055] [エクソーム解析結果の検証]

（エクソーム解析結果の検証の手法）

実施例1の結果によって得られたイリノテカンの副作用因子の候補のうち、APCDD1L遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 1 9 8 0 5 7 6、R3HCC1遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 2 2 7 2 7 6 1、OR51I2遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 1 2 5 7 7 1 6 7、MKKS遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 1 5 4 7、EDEM3遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 9 4 2 5 3 4 3、APCDD1L遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 7 2 6 5 8 5 4、ACOX1遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs 1 1 3 5 6 4 0について、さらにTaqMan（登録商標）probe法により、日本人のイリノテカン投与大腸癌患者75症例の臨床サンプルにて検証を行った。ゲノムDNA 10 ngにTaqMan SNP Assays_Human（Applied Biosystems社製）及びLightCycler（登録商標）480 Probe Master（Roche Diagnostics社製）、Universal ProbeLibrary（Roche Diagnostics社製）、LightCycler480 System II（Roche Diagnostics社製）を用いてジェノタイピングを行った。95℃10分間のインキュベーションの後、PCRをrs 1 9 8 0 5 7 6、rs 2 2 7 2 7 6 1、rs 9 4 2 5 3 4 3については55サイクル、rs 1 2 5 7 7 1 6 7、rs 7 2 6 5 8 5 4、rs 1 1 3 5 6 4 0については45サイクル、rs 1 5 4 7については40サイクル（1サイクルあたり92℃15秒、60℃60秒）行い、PCR産物の蛍光を測定した。

[0056] （結果）

図8、9に、上記TaqMan probe法により解析した結果を示す。rs 1 1 3 5 6 4 0のみ74症例での解析となったことから、図8、9にはすべてのジェノタイピングについて74症例での解析結果を示す。横軸及

び縦軸はそれぞれのアレルに対する蛍光標識（FAM及びVIC）プローブからの蛍光値であり、黒丸、濃灰色丸、薄灰色（ドット柄）丸はそれぞれエクソーム解析においてバリエーション型をホモとして有していた症例、野生型をホモとして有していた症例、ヘテロとして有していた症例を表し、白丸はエクソーム解析未実施の症例である。図8、9より、TaqMan probe法により明瞭にジェノタイプを区別できることが確認され、また、エクソーム解析の結果がTaqMan probe法によっても再現された。

実施例 3

[0057] [UGT1A遺伝子変異との連鎖]

実施例2における74症例について、rs9425343、rs2272761、rs12577167、rs1135640、rs1547、rs7265854、rs1980576や、UGT1A遺伝子変異であるUGT1A9*1b、UGT1A7[387]、UGT1A7[622]、UGT1A1*60、UGT1A1*28、UGT1A1*6又はUGT1A1*27におけるTaqMan probe法及びダイレクトシーケンス法により各UGT遺伝子のジェノタイプを決定し、さらに連鎖不平衡解析及びLD解析をHaploview4.2ソフトウェアで実施した。結果を図10に示す。図10において、数値は相関係数（ r^2 ）である。図10に示すように、rs9425343、rs2272761、rs12577167、rs1135640、rs1547、rs7265854、rs1980576はUGT1A遺伝子変異との連鎖（相関）はみられなかった。また、rs9425343、rs2272761、rs12577167、rs1135640、rs1547、rs7265854、rs1980576間においても連鎖は見られなかったことから、これらの一塩基多型（マーカー部位）は相補的にイリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法に用いることができることが明らかとなった。

実施例 4

[0058] 実施例2における75症例のうち、UGT1A1*6（ホモ）（2症例）

、UGT1A1*28（ホモ）（2症例）、UGT1A1*6（ヘテロ）及び*28（ヘテロ）（3症例）を除いた68症例について、それぞれの変異と副作用（血液毒性：Toxicity）の発生頻度との関係を表2に示す。表2におけるP値（P value/C. - A.）はコ克蘭・アーミテージ傾向検定の結果である。さらに、上記68症例のうち1症例を除いた67症例について、フィッシャーの正確確率検定（Fisher's Exact Test）を行った結果を表3に示す。表3中、Odds ratioはフィッシャーの正確確率検定により野生型ホモ若しくはバリエーション型ホモにおける副作用発生のオッズ比を算出したものである。

[0059]

[表2]

UGT1A1*28 homo, *6 homo, and compound hetero 除外症例での統計解析 (N = 68)

Rank (st. dif)		Toxicity			P value
		Yes	No	(% of Yes)	C.-A. **
Rank_1	APCDD1L; rs1980576 (A>G): Exome解析からのrs3946003の代替				
(2.16)	A/A	5	16	(23.8)	0.008
	A/G	16	20	(44.4)	
	G/G	8	3	(72.7)	
Rank_2,3	R3HCC1; rs2272761 (G>A): Exome解析ではrs13530と連鎖				
(1.98)	G/G	0	6	(0.0)	0.049
	G/A	8	11	(42.1)	
	A/A	21	22	(48.8)	
Rank_4	OR51H2; rs12577167 (A>G)				
(1.81)	A/A	20	19	(51.3)	0.052
	A/G	8	14	(36.4)	
	G/G	1	6	(14.3)	
Rank_5,6	MKKS; rs1547 (C>T): Exome解析ではrs1545と連鎖				
(1.73)	C/C	8	20	(28.6)	0.042
	C/T	16	16	(50.0)	
	T/T	5	3	(62.5)	
Rank_7	CSMD2; rs474474 (A>G)				
(1.71)	A/A	17	16	(51.5)	0.334
	A/G	8	18	(30.8)	
	G/G	4	5	(44.4)	
Rank_8	EDEM3; rs9425343 (T>G)				
(1.71)	T/T	12	8	(60.0)	0.032
	T/G	14	21	(40.0)	
	G/G	3	10	(23.1)	
Rank_9	GATA2; rs2335052 (G>A)				
(1.71)	G/G	16	14	(53.3)	0.188
	G/A	10	20	(33.3)	
	A/A	3	5	(37.5)	
Rank_10	APCDD1L; rs7263854 (A>G)				
(1.50)	A/A	13	13	(50.0)	0.083
	A/G	15	18	(45.5)	
	G/G	1	8	(11.1)	
Rank_11	ACOX1; rs1135640 (C>G)***: N = 67				
(1.38)	C/C	6	3	(66.7)	0.018
	C/G	15	14	(51.7)	
	G/G	8	21	(27.6)	

**, Cochran-Armitage trend test.

***, Exome (N = 15) では、TRIM65 (rs3760128), TRIM65 (rs7222757), FBF1 (rs2305913) と連鎖

[0060] [表3]

<i>N</i> = 67 (UGT1A1*28 homo, *6 homo, and compound hetero 除外)						
		Toxicity			Fisher's Exact Test	
		Yes	No	(% of Yes)	<i>P</i> value	Odds ratio
Rank_1	APCDD1L; rs1980576 (A>G): Exome解析からのrs3946003の代替					
	A/A	5	16	(23.8)	0.036	0.292
	A/G, G/G	24	22	(52.2)		
	A/A, A/G	21	35	(37.5)		
	G/G	8	3	(72.7)	0.046	4.344
Rank_2,3	R3HCC1; rs2272761 (G>A): Exome解析ではrs13530と連鎖					
	G/G	0	6	(0.0)	0.032	0.000
	G/A, A/A	29	32	(47.5)		
Rank_8	EDMB; rs9425343 (T>G)					
	T/T	12	7	(63.2)	0.056	3.070
	T/G, G/G	17	31	(35.4)		
Rank_10	APCDD1L; rs7265854 (T>C)					
	T/T, T/C	28	30	(48.3)		
	C/C	1	8	(11.1)	0.0667	0.1372
Rank_11	ACOX1; rs1135640 (C>G)***					
	C/C, C/G	21	17	(55.3)		
	G/G	8	21	(27.6)	0.028	0.314
***, Exome (<i>N</i> = 15) では、TRIM65 (rs3760128), TRIM65 (rs7222757), FBX1 (rs2305913) と連鎖						

***, Exome (*N* = 15) では、TRIM65 (rs3760128), TRIM65 (rs7222757), FBF1 (rs2305913) と連鎖

[0061] 表2に示すように、従来のイリノテカン副作用リスクの判定に用いられる UGT1A 遺伝子多型から低副作用リスクと判断される68症例において、42.6%の症例(29症例)ではイリノテカン副作用が観察された。一方、rs1980576、rs2272761、rs1547、rs9425343、rs1135640は、UGT1A 遺伝子多型から低副作用リスクと判断される症例においてイリノテカンの副作用発生頻度との有意な線形傾向がみられた。また、表3より、rs2272761において野生型をホモとして有している(G/G)症例は1例も血液毒性を示さないことが明らかとなった。

[0062] 次に、実施例2における75症例のうち、UGT1A1*6(ホモ)(2症例)を除いた73症例について、それぞれの変異と副作用(血液毒性: Toxicity)の発生頻度との関係を表4に示す。表4における(*P* value/C. - A.)は表2と同様である。さらに、上記73症例のうち

1 症例を除いた 7 2 症例について、フィッシャーの正確確率検定を行った結果を表 5 に示す。表 5 中、O d d s r a t i o は表 3 と同様である。

[0063]

[表4]

UGT1A1*28 homo; イリノテカン減量投与症例のみ除外での統計解析 (N = 73)					
Rank (st. dif.)		Toxicity			P value
		Yes	No	(% of Yes)	C.-A. **
Rank_1	APCDD1L; rs1980576 (A>G); Exome解析からのrs3946003の代替				
(2.16)	A/A	6	16	(27.3)	0.011
	A/G	20	20	(50.0)	
	G/G	8	3	(72.7)	
Rank_2, 3	R3HCC1; rs2272761 (G>A); Exome解析ではrs13530と連鎖				
(1.98)	G/G	0	6	(0.0)	0.050
	G/A	10	11	(47.6)	
	A/A	24	22	(52.2)	
Rank_4	OR5112; rs12577167 (A>G)				
(1.81)	A/A	23	19	(54.8)	0.044
	A/G	10	14	(41.7)	
	G/G	1	6	(14.3)	
Rank_5, 6	MKKS; rs1547 (C>T); Exome解析ではrs1545と連鎖				
(1.73)	C/C	10	20	(33.3)	0.060
	C/T	19	16	(54.3)	
	T/T	5	3	(62.5)	
Rank_7	CSMD2; rs474474 (A>G)				
(1.71)	A/A	22	16	(57.9)	0.131
	A/G	8	18	(30.8)	
	G/G	4	5	(44.4)	
Rank_8	EDEM3; rs9425343 (T>G)				
(1.71)	T/T	13	8	(61.9)	0.080
	T/G	16	21	(43.2)	
	G/G	5	10	(33.3)	
Rank_9	GATA2; rs2335052 (G>A)				
(1.71)	G/G	17	14	(54.8)	0.452
	G/A	12	20	(37.5)	
	A/A	5	5	(50.0)	
Rank_10	APCDD1L; rs7265854 (A>G)				
(1.50)	A/A	18	13	(58.1)	0.019
	A/G	15	18	(45.5)	
	G/G	1	8	(11.1)	
Rank_11	ACOX1; rs1135640 (C>G)***; N = 72				
(1.38)	C/C	8	3	(72.7)	0.004
	C/G	18	14	(56.3)	
	G/G	8	21	(27.6)	

**, Cochran-Armitage trend test.

***, Exome (N = 15) では、TRIM65 (rs3760128), TRIM65 (rs7222757), FBF1 (rs2305913) と連鎖

[0064] [表5]

N = 72 (UGT1A1*28 homo 除外)						
		Toxicity			Fisher's Exact Test	
		Yes	No	(% of Yes)	P value	Odds ratio
Rank_1	APCDD1L; rs1980576 (A>G): Exome解析からのrs3946003の代替					
	A/A	6	16	(27.3)	0.039	0.300
	A/G, G/G	28	22	(56.0)		
	A/A, A/G	26	35	(42.6)	0.101	3.527
	G/G	8	3	(72.7)		
Rank_2,3	R3HCC1; rs2272761 (C>A): Exome解析ではrs13530と連鎖					
	G/G	0	6	(0.0)	0.026	0.000
	G/A, A/A	34	32	(51.5)		
Rank_8	EDEM3; rs9425343 (T>G)					
	T/T	13	7	(65.0)	0.071	2.702
	T/G, G/G	21	31	(40.4)		
Rank_10	APCDD1L; rs7265854 (T>C)					
	T/T, T/C	33	30	(52.4)	0.030	0.116
	C/C	1	8	(11.1)		
Rank_11	ACOX1; rs1135640 (C>G)***					
	C/C, C/G	26	17	(60.5)	0.008	0.254
	G/G	8	21	(27.6)		
***, Exome (N = 15) では、TRIM65 (rs3760128), TRIM65 (rs7222757), FBF1 (rs2305913) と連鎖						

***, Exome (N = 15) では、TRIM65 (rs3760128), TRIM65 (rs7222757), FBF1 (rs2305913) と連鎖

[0065] 表4に示すように、rs1980576、rs2272761、rs1135640に加えてrs12577167及びrs7265854は、UGT1A遺伝子多型から高副作用リスクと判断される症例も含めた73症例において、イリノテカンの副作用発生頻度との有意な線形傾向がみられた。さらに、表5より、rs7265854においてバリエーション型をホモとして有している(C/C)症例は血液毒性発生オッズ比が0.1であることが明らかとなった。

[0066] したがって、APCDD1L遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs1980576、rs7265854、R3HCC1遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs2272761、OR5112遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs12577167、MKKS遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs1547、EDEM3遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs9425343、ACOX1遺伝子をコードする領域の一塩基多型rs11

35640を分析し、バリエーション型をホモとして有しているか、野生型をホモとして有しているか、ヘテロとして有しているかを判定することで、従来のUGT1A遺伝子多型からは予測出来なかったイリノテカンの副作用の発生リスクの予測を精度よく補助できることが明らかとなった。

実施例 5

[0067] 実施例2における75症例のうち3症例を除いたイリノテカン投与大腸癌患者（FOLFIRI; 72症例）、及び、イリノテカン非投与大腸癌患者（FOLFOX; 44症例）について、rs2272761を解析した。結果を表6に示す。

[0068] [表6]

R3HCC1; rs2272761 (G>A)			
	Hematologic Toxicity		
	Yes	No	(% of Yes)
FOLFIRI (n=72)			
G/G	0	6	(0.0)
G/A	10	10	(50.0)
A/A	24	22	(52.2)
FOLFOX (n = 44)			
G/G	0	3	(0.0)
G/A	5	16	(23.8)
A/A	2	18	(10.0)
Total (N = 116)			
G/G	0	9	(0.0)
G/A	15	26	(36.6)
A/A	26	40	(39.4)

[0069] 表6の結果から、イリノテカンの有無によらず、rs2272761において野生型をホモとして有している（G/G）症例は、1例も血液毒性を示さないことが明らかとなった。

産業上の利用可能性

[0070] 本発明によると、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助することが可能となることから、医療分野で利用可能である。

請求の範囲

- [請求項1] 被検者から採取された生体試料中のゲノムDNA上に存在するAPCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR51I2遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型、又は該一塩基多型と連鎖不平衡若しくは遺伝的連鎖にある一塩基多型を分析し、バリエーション型をホモとして有しているか、野生型をホモとして有しているか、又はヘテロとして有しているかを判定し、イリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助する方法。
- [請求項2] APCDD1L遺伝子、R3HCC1遺伝子、OR51I2遺伝子、MKKS遺伝子、EDEM3遺伝子、又はACOX1遺伝子をコードする領域における一塩基多型が以下の(a)～(g)のいずれかであることを特徴とする請求項1記載の方法。
- (a) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の186番目の塩基に存在する一塩基多型；
 - (b) 配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型；
 - (c) 配列番号3に示されるOR51I2遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型；
 - (d) 配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型；
 - (e) 配列番号5に示されるEDEM3遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型；
 - (f) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の238番目の塩基に存在する一塩基多型；
 - (g) 配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型；
- [請求項3] (a)、(b)又は(d)に記載の一塩基多型においてバリエーション型

をホモとして有している場合、又は（c）、（e）～（g）に記載の一塩基多型において野生型をホモとして有している場合にはイリノテカンによる副作用の発生リスクが高いとの予測を補助することを特徴とする請求項2記載の方法。

[請求項4] 副作用が、白血球減少又は好中球減少であることを特徴とする請求項1～3のいずれか記載の方法。

[請求項5] 以下の（h）～（n）のいずれかであって、請求項1～4のいずれかに記載の方法における一塩基多型の分析で用いるためのプローブ。

（h）配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の186番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

（i）配列番号2に示されるR3HCC1遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の358番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

（j）配列番号3に示されるOR51I2遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の400番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

（k）配列番号4に示されるMKKS遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の1549番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

（l）配列番号5に示されるEDEM3遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の2459番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する5～50塩基の配列とストリンジントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(m) 配列番号 1 に示される A P C D D 1 L 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 2 3 8 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する 5 ～ 5 0 塩基の配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

(n) 配列番号 6 に示される A C O X 1 遺伝子をコードする塩基配列、又はその相補配列の 9 3 6 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する 5 ～ 5 0 塩基の配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドからなるプローブ；

[請求項6]

以下の (o) ～ (u) のいずれかであって、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の方法における一塩基多型の分析で用いるためのプライマー。

(o) 配列番号 1 に示される A P C D D 1 L 遺伝子をコードする塩基配列の 1 8 6 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも 5 塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(p) 配列番号 2 に示される R 3 H C C 1 遺伝子をコードする塩基配列の 3 5 8 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも 5 塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(q) 配列番号 3 に示される O R 5 1 I 2 遺伝子をコードする塩基配列の 4 0 0 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも 5 塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(r) 配列番号 4 に示される M K K S 遺伝子をコードする塩基配列の 1 5 4 9 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも 5 塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(s) 配列番号 5 に示される E D E M 3 遺伝子をコードする塩基配列の 2 4 5 9 番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少な

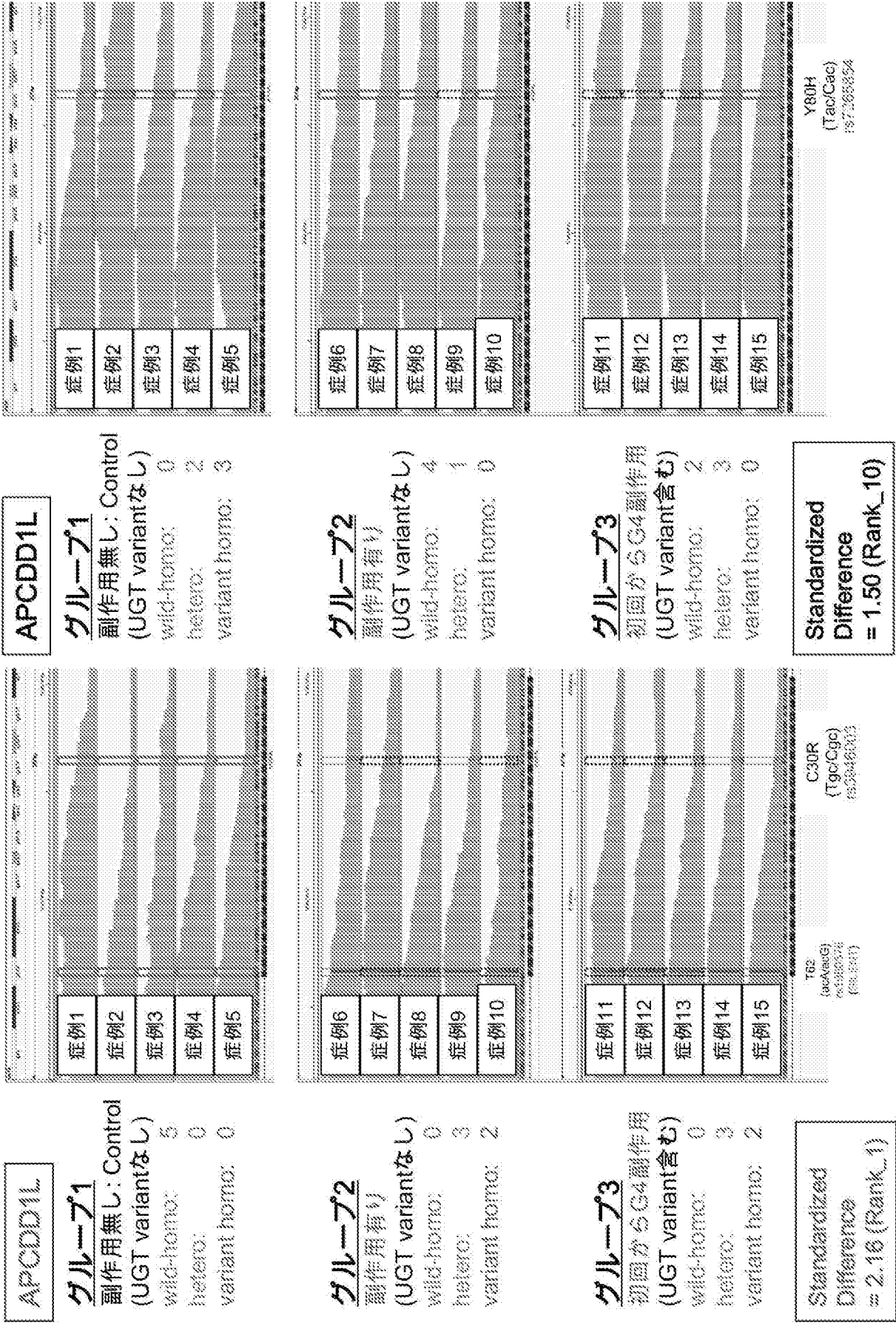
くとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

(t) 配列番号1に示されるAPCDD1L遺伝子をコードする塩基配列の238番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

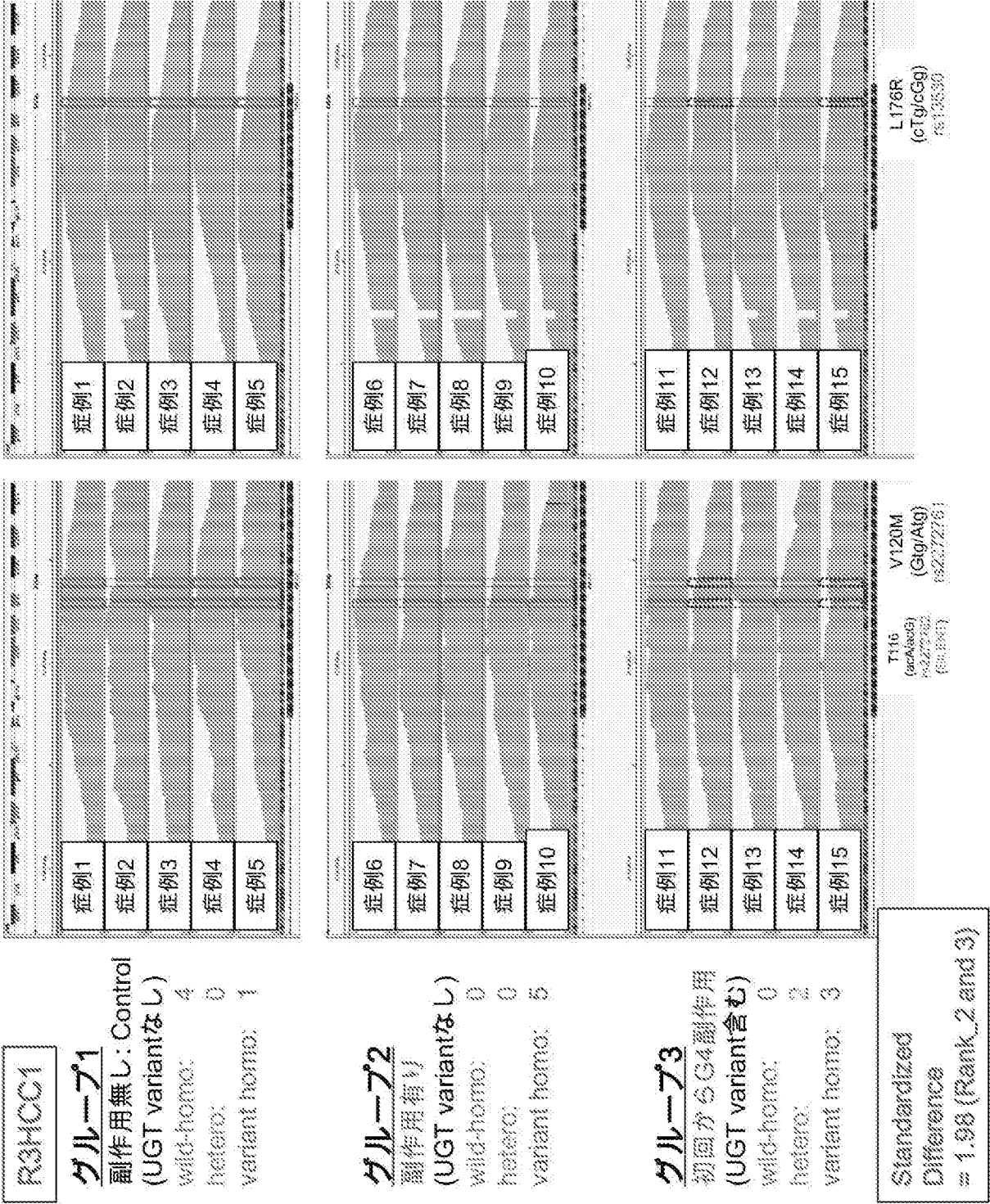
(u) 配列番号6に示されるACOX1遺伝子をコードする塩基配列の936番目の塩基に存在する一塩基多型部位を含む連続する少なくとも5塩基を増幅することができるオリゴヌクレオチドからなるプライマー；

[請求項7] 請求項5記載のプローブ、又は請求項6記載のプライマーを含むことを特徴とするイリノテカンによる副作用の発生リスクの予測を補助するためのキット。

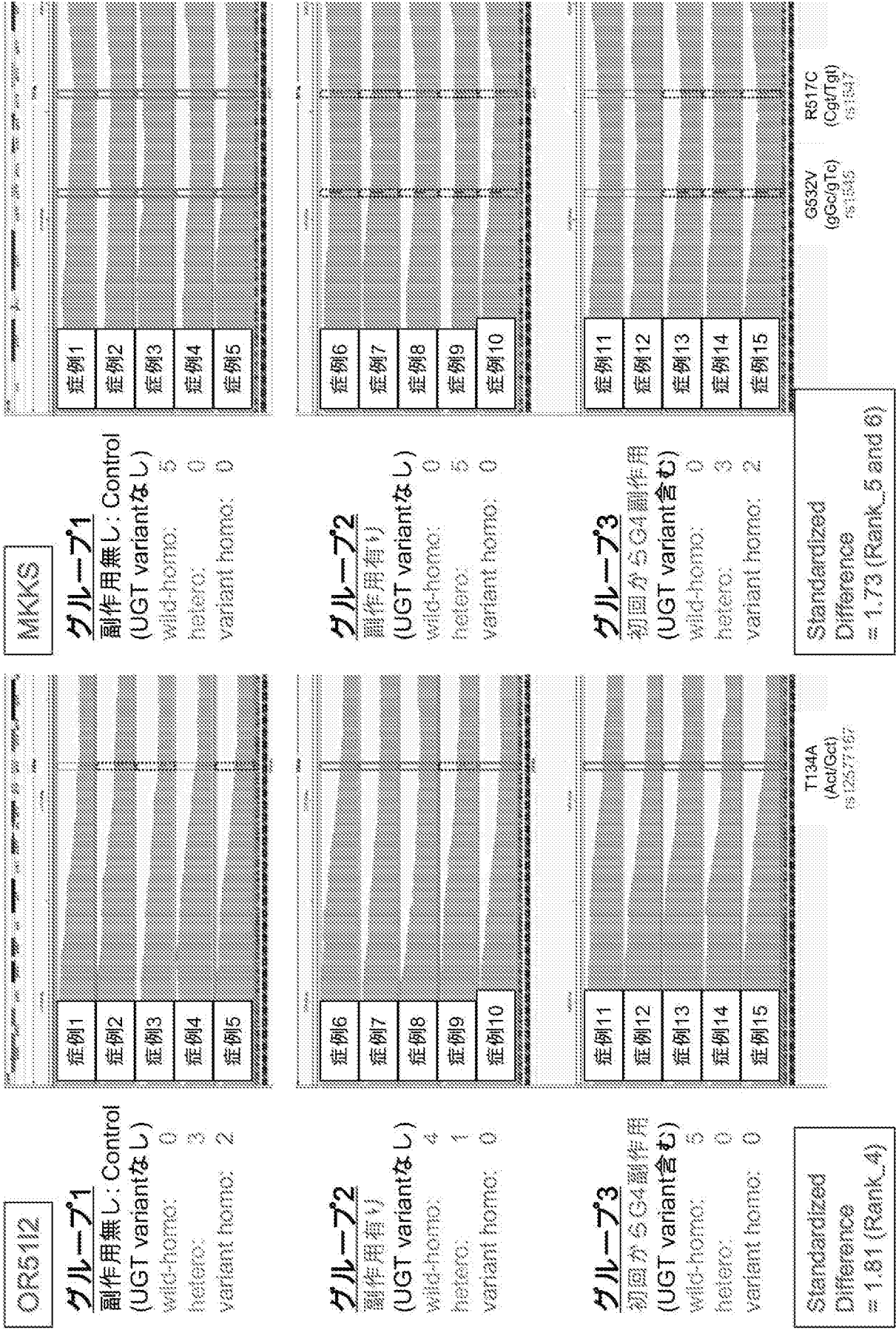
[図1]



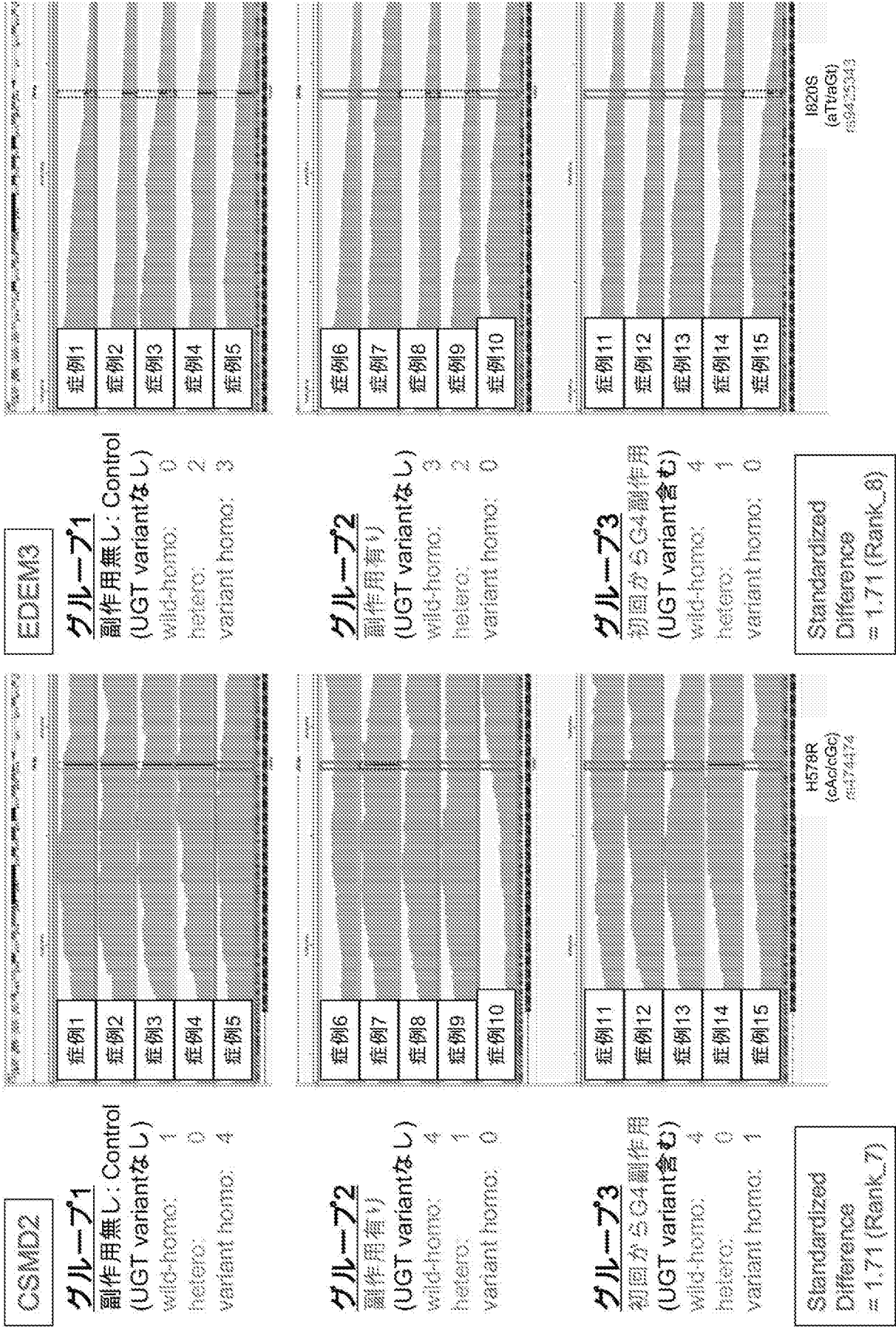
[図2]



[図3]



[図4]



グループ2

副作用有り

(UGT variantなし)

wild-homo: 3
hetero: 2
variant homo: 0

症例6

症例7

症例8

症例9

症例10

グループ3

初回からG4副作用
(UGT variant含む)

wild-homo: 4
hetero: 1
variant homo: 0

症例11

症例12

症例13

症例14

症例15

Standardized
Difference
= 1.71 (Rank_8)

H578R
(cAc/cGc)
rs4744174

症例11

症例12

症例13

症例14

症例15

H520S
(aT/aG)
rs9425343

症例11

症例12

症例13

症例14

症例15

[図5]

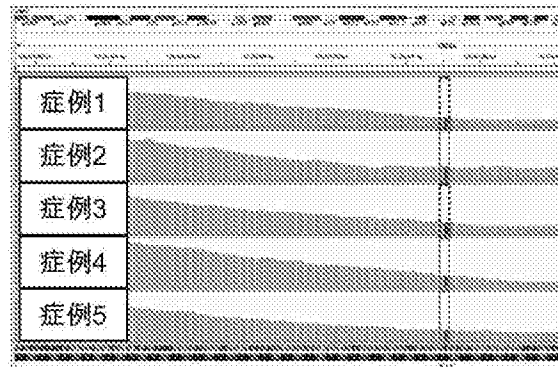
GATA2**グループ1**

副作用無し: Control
(UGT variantなし)

wild-homo: 0

hetero: 2

variant homo: 3

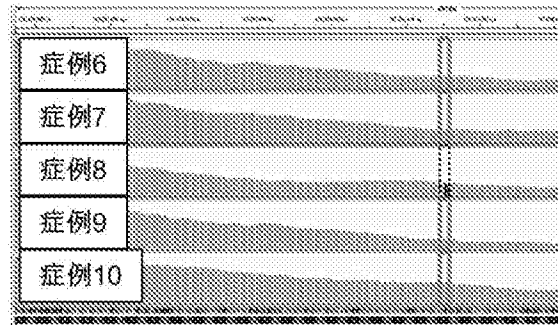
**グループ2**

副作用有り
(UGT variantなし)

wild-homo: 4

hetero: 1

variant homo: 0

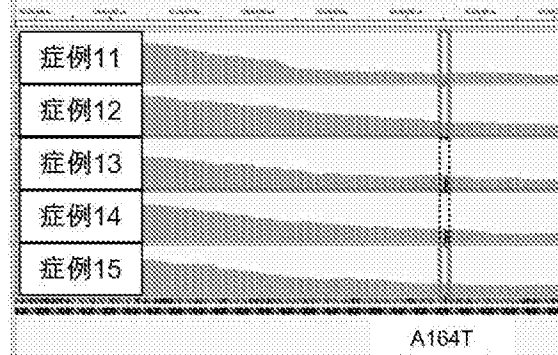
**グループ3**

初回からG4副作用
(UGT variant含む)

wild-homo: 3

hetero: 2

variant homo: 0



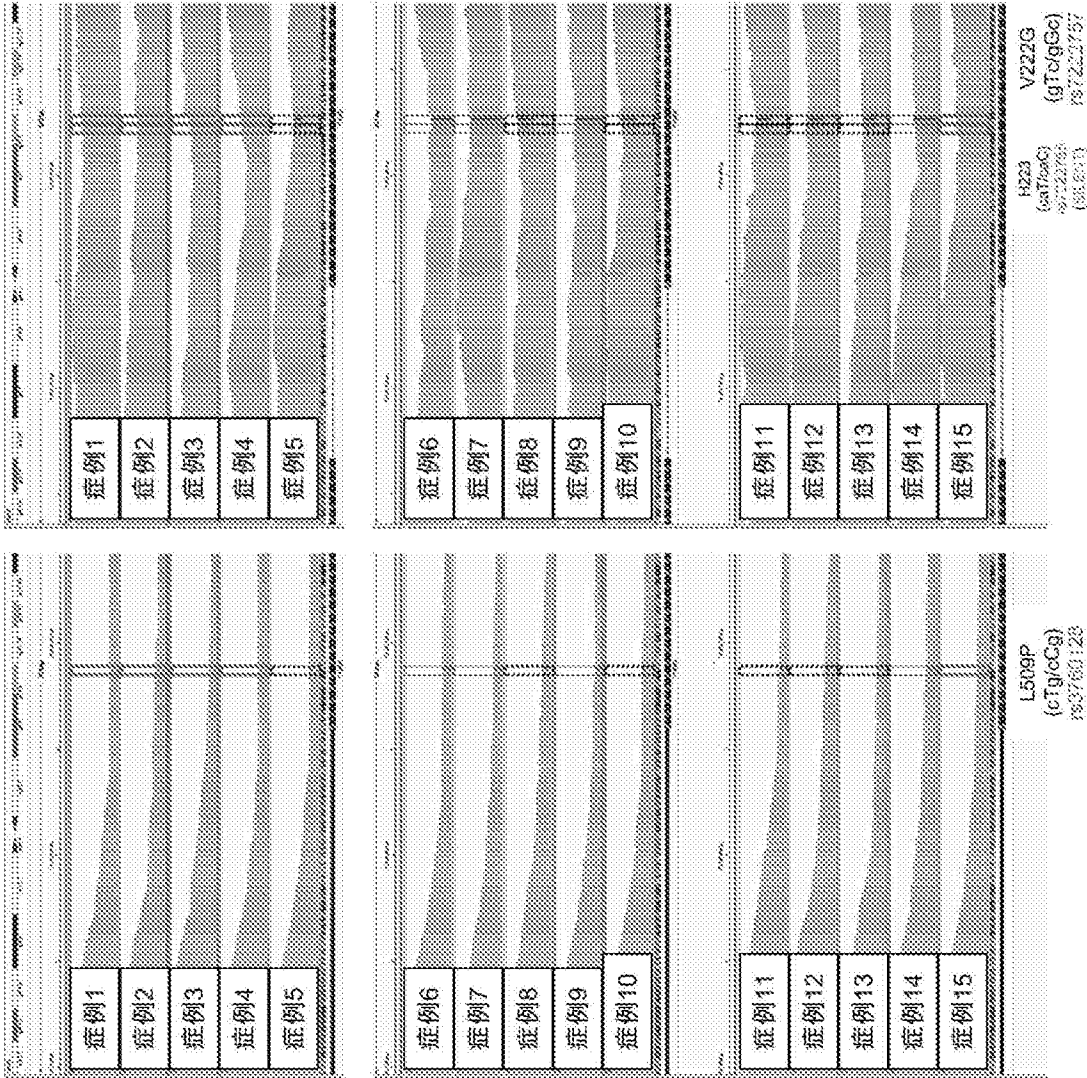
Standardized
Difference
= 1.71 (Rank_9)

A164T
(Gcc/Acc)
m2335052

完全に連鎖している [図6]

TRIM65
FBF1
ACOX1

どれもChr. 17



TRIM65
グループ1
副作用無し: Control
(UGT variantなし)
wild-homo: 4
hetero: 1
variant homo: 0

グループ2
副作用有り
(UGT variantなし)
wild-homo: 0
hetero: 2
variant homo: 3

グループ3
初回からG4副作用
(UGT variant含む)
wild-homo: 1
hetero: 3
variant homo: 1

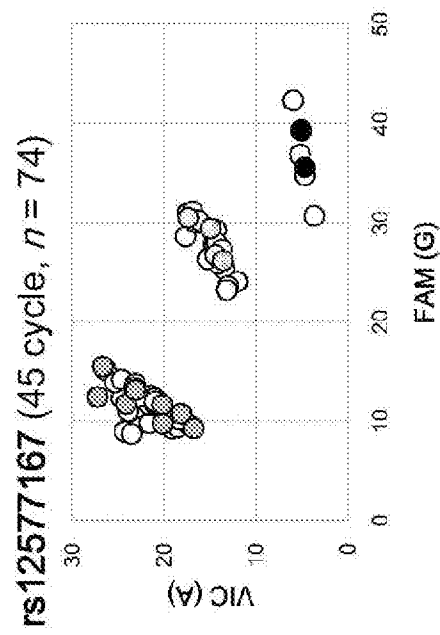
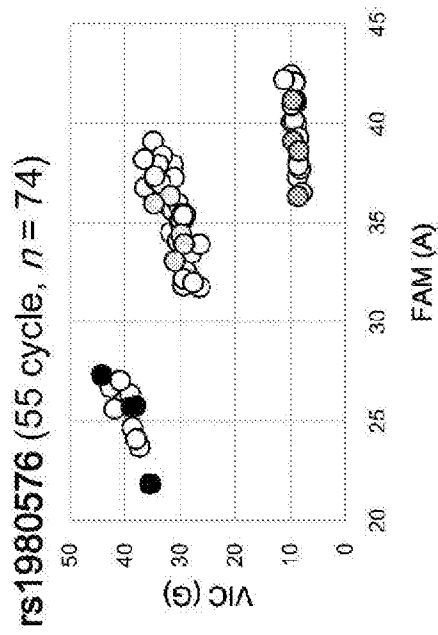
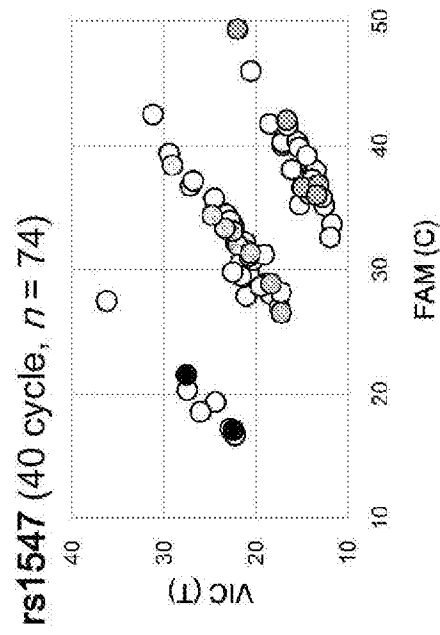
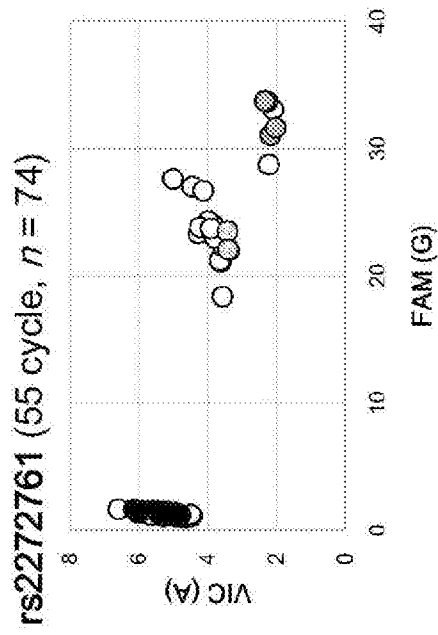
Standardized
Difference
= 1.38 (Rank_11)

= 1.38 (Rank_11)

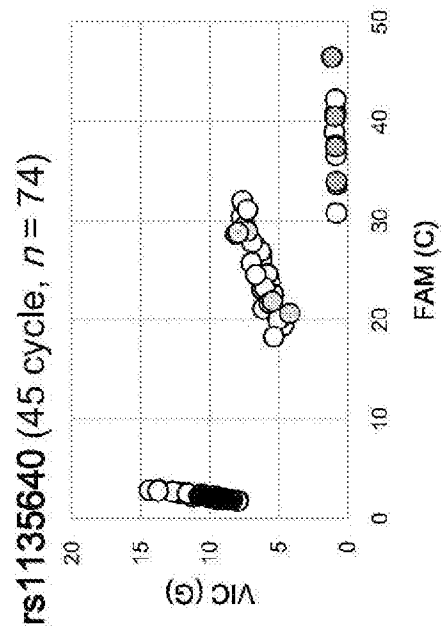
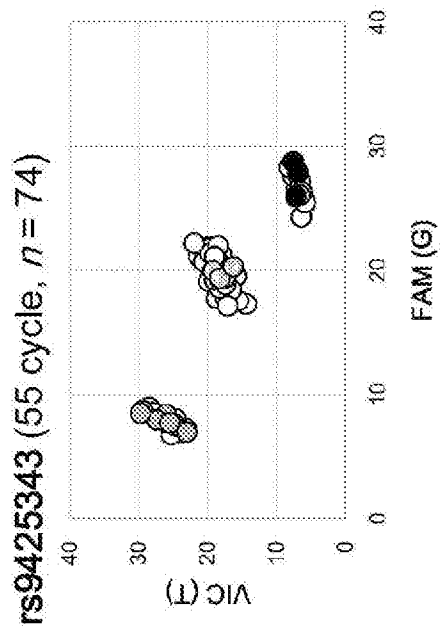
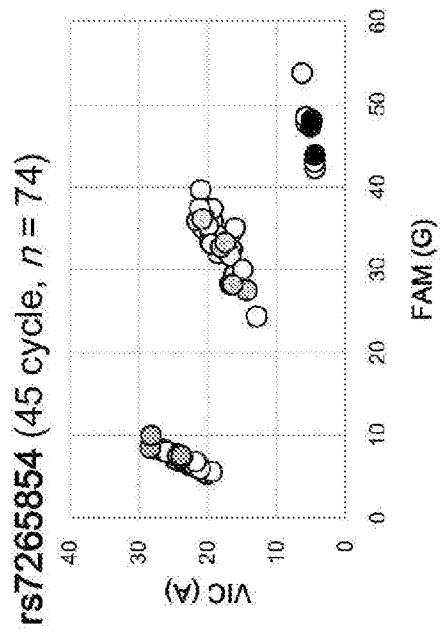
$$= 1.38 (\text{Rank}_{11})$$

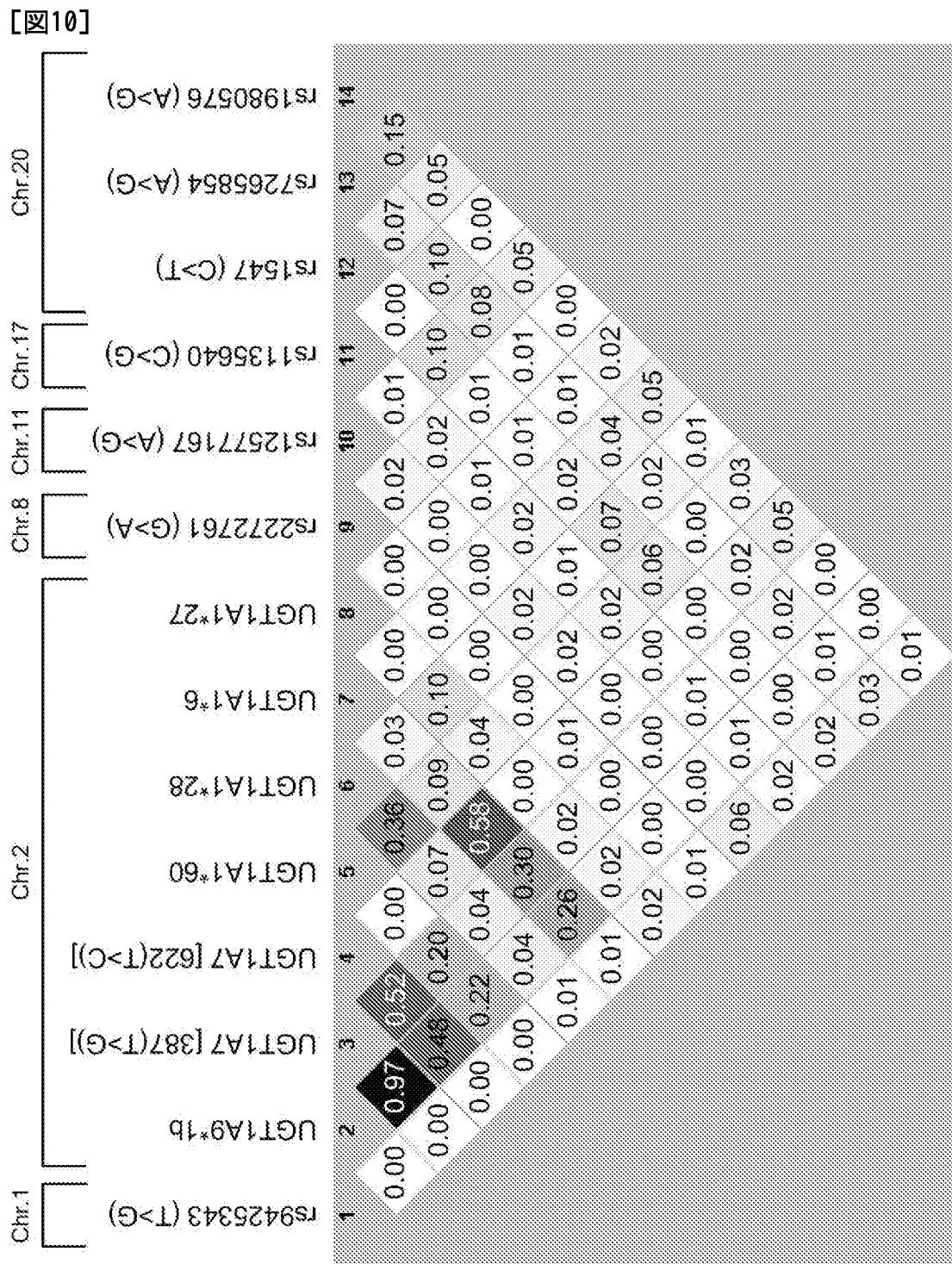
1312M
(atC/atG)
131125640

[8]



[図9]





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/000793

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q1/68, C12N15/09

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), CApus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HAN J. Y. et al., A genome-wide association study for irinotecan-related severe toxicities in patients with advanced non-small-cell lung cancer, The Pharmacogenomics Journal, 2013, Vol.13, p.417-422, Abstract, INTRODUCTION, RESULTS, paragraph 1	1-7
Y	TAKAHASHI H. et al., Application of a Combination of a Knowledge-Based Algorithm and 2-Stage Screening to Hypothesis-Free Genomic Data on Irinotecan-Treated Patients for Identification of a Candidate Single Nucleotide Polymorphism Related to an Adverse Effect, PLOS ONE, 2014, Vol.9, No.8, e105160, Abstract, Figure 3	1-7

☒ 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
25 April 2016 (25.04.16)

Date of mailing of the international search report
17 May 2016 (17.05.16)

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/JP2016/000793

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHA P. C. et al., Single nucleotide polymorphism in ABCG2 is associated with irinotecan-induced severe myelosuppression, Journal of Human Genetics, 2009, Vol.54, p.572-580, Abstract, Table 3	1-7
Y	DI MARTINO M. T. et al., Cancer Biology & Therapy, Single nucleotide polymorphisms of ABCC5 and ABCG1 transporter genes correlate to irinotecan-associated gastrointestinal toxicity in colorectal cancer patients, 2011, Vol.12, No.9, p.780-787, Abstract, Table 2	1-7
A	HOSKINS J. M. et al., Irinotecan Pharmacogenetics: Influence of Pharmacodynamic Genes, Clinical Cancer Research, 2008, Vol.14, No.6, p.1788-1796	1-7
A	JP 2005-504759 A (Epidauros Biotechnologie AG.), 17 February 2005 (17.02.2005), & WO 2003/013534 A2	1-7
A	JP 2005-506971 A (Epidauros Biotechnologie AG.), 10 March 2005 (10.03.2005), & WO 2003/013533 A2	1-7
A	JP 2005-508312 A (Epidauros Biotechnologie AG.), 31 March 2005 (31.03.2005), & WO 2003/013535 A2	1-7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C12Q1/68, C12N15/09

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

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), Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	HAN J. Y. et al., A genome-wide association study for irinotecan-related severe toxicities in patients with advanced non-small-cell lung cancer, The Pharmacogenomics Journal, 2013, Vol.13, p.417-422, Abstract, INTRODUCTION, RESULTS の第1項等	1-7

☒ 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

25.04.2016

国際調査報告の発送日

17.05.2016

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

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)

北村 悠美子

4N

4501

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	TAKAHASHI H. et al., Application of a Combination of a Knowledge-Based Algorithm and 2-Stage Screening to Hypothesis-Free Genomic Data on Irinotecan-Treated Patients for Identification of a Candidate Single Nucleotide Polymorphism Related to an Adverse Effect, PLOS ONE, 2014, Vol.9, No.8, e105160, Abstract, Figure 3 等	1-7
Y	CHA P. C. et al., Single nucleotide polymorphism in ABCG2 is associated with irinotecan-induced severe myelosuppression, Journal of Human Genetics, 2009, Vol.54, p.572-580, Abstract, Table 3 等	1-7
Y	DI MARTINO M. T. et al., Cancer Biology & Therapy, Single nucleotide polymorphisms of ABCC5 and ABCG1 transporter genes correlate to irinotecan-associated gastrointestinal toxicity in colorectal cancer patients, 2011, Vol.12, No.9, p.780-787, Abstract, Table 2 等	1-7
A	HOSKINS J. M. et al., Irinotecan Pharmacogenetics: Influence of Pharmacodynamic Genes, Clinical Cancer Research, 2008, Vol.14, No.6, p.1788-1796	1-7
A	JP 2005-504759 A (エピダウロス・バイオテクノロジー・アクチェンゲゼルシャフト) 2005.02.17, & WO 2003/013534 A2	1-7
A	JP 2005-506971 A (エピダウロス・バイオテクノロジー・アクチェンゲゼルシャフト) 2005.03.10, & WO 2003/013533 A2	1-7
A	JP 2005-508312 A (エピダウロス・バイオテクノロジー・アクチェンゲゼルシャフト) 2005.03.31, & WO 2003/013535 A2	1-7