(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
2021年4月1日(01.04.2021)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2021/060311 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 15/113 (2010.01) ***C12Q 1/6809*** (2018.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2020/035899

(22) 国際出願日： 2020年9月24日(24.09.2020)

(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 2019-177615 2019年9月27日(27.09.2019) JP

(71) 出願人: 国立大学法人東海国立大学機構 (**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION TOKAI NATIONAL HIGHER EDUCATION AND RESEARCH SYSTEM**) [JP/JP]; 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 Aichi (JP).

(72) 発明者: 安井 隆雄(**YASUI, Takao**); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人東海国立大学機構内 Aichi (JP). 馬場 嘉信(**BABA, Yoshinobu**); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人東海国立大学機構内 Aichi (JP). 夏目 敦至(**NATSUME, Atsushi**); 〒4648601 愛知県名古屋市千種区不老町１番 国立大学法人東海国立大学機構内 Aichi (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所(**SAEGUSA & PARTNERS**); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町１－７－１ 北浜コニシビル Osaka (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：
— 国際調査報告（条約第21条(3)）

WO 2021/060311 A1

(54) **Title:** METHOD FOR DETECTING BRAIN TUMOR

(54) 発明の名称： 脳腫瘍を検査する方法

(57) **Abstract:** Provided are a novel biomarker for a brain tumor and a method for using the same. A method for detecting a brain tumor includes a step for detecting a specific miRNA as a biomarker.

(57) 要約：脳腫瘍の新規バイオマーカー及びその利用方法を提供すること。 脳腫瘍を検査する方法であって、特定のmiRNAをバイオマーカーとして検出 する工程、を含む、検査方法。

明　細　書

発明の名称 ： 脳腫瘍を検査する方法

技術分野

[0001]　本発明は、脳腫瘍を検査する方法等に関する。

背景技術

[0002]　脳腫瘍は、頭蓋骨の中にできる腫瘍の総称であり、原発性脳腫瘍と転移性脳腫瘍の2つに分けられる。通常、脳腫瘍は、頭痛、嘔吐、麻痺、失語・構音障害、意識障害などの自覚症状を訴える患者や軽微な頭部外傷の画像検査、脳ドックのような健康診断における画像検査などにより発見される。画像診断では、CT、MRI、脳血管造影などが利用される。

画像診断によって脳腫瘍が発見された場合には、開頭手術により腫瘍を摘出し、摘出した組織を用いて、病理診断を行う。現時点では悪性脳腫瘍を血液中のマーカーで発見するための腫瘍マーカーは、臨床現場において普及していない。

[0003]　マイクロRNAは20-25塩基で構成される生体内小分子であり、疾患発症を予測するバイオマーカーとして有望視されている。特許文献１では、低侵襲に採取できる血液から悪性脳腫瘍のバイオマーカーに使用可能な複数のmiRNAが報告されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：国際公開第2017/171039号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005]　本発明は、脳腫瘍の新規バイオマーカー及びその利用方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0006]　本発明者は上記課題に鑑みて鋭意研究した結果、被検体から採取された体

液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種をバイオマーカーとして脳腫瘍を検査できることを見出した。本発明者は、この知見に基づいてさらに研究を進めた結果、本発明を完成させた。即ち、本発明は、下記の態様を包含する。

[0007] 項１． 脳腫瘍を検査する方法であって、

（1）被検体から採取された体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される

少なくとも1種のバイオマーカーを検出する工程、

を含む、検査方法。

[0008] 項２． (2) 前記工程 (1) で検出された前記バイオマーカーの量又は濃度に基づいて、前記被検体が脳腫瘍に罹患しているか否かを判定する工程、

を含む、項１に記載の検査方法。

[0009] 項３． 前記バイオマーカーがmiR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、及びmiR-509-5pからなる群より選択される少なくとも1種である、項１又は２に記載の検査方法。

[0010] 項４． 前記バイオマーカーがmiR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、及びmiR-483-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、項１～３のいずれかに記載の検査方法。

[0011] 項５． 前記バイオマーカーが3種以上である、項３又は４に記載の検査方法。

[0012] 項６． 前記脳腫瘍が神経膠腫である、項３～５のいずれかに記載の検査方法。

[0013] 項７． 前記バイオマーカーがmiR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、項１又は２に記載の検査方法。

[0014] 項８． 前記バイオマーカーがmiR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、及びmiR-20a-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、項１、２及び７のいずれかに記載の検査方法。

[0015] 項９． 前記バイオマーカーが3種以上である、項７又は８に記載の検査方法。

[0016] 項１０． 前記体液が尿である、項１～９のいずれかに記載の検査方法。

[0017] 項１１． 前記体液試料が尿の細胞外小胞である、項１～１０のいずれかに記載の検査方法。

[0018] 項１２． 前記被検体がヒトである、項１～１１のいずれかに記載の検査方法。

[0019] 項１３． miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの検出剤を含む、脳腫瘍の検査薬。

[0020] 項１４． miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a

-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの検出剤を含む、脳腫瘍の検査キット。

[0021] 項１５． 被検物質で処理された動物から採取された体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの量又は濃度を指標とする、脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分のスクリーニング方法。

[0022] 項１６． 被検物質で処理された動物から採取された体液由来試料体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-

301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの量又は濃度を指標とする、脳腫瘍の誘発性又は増悪性の評価方法。

発明の効果

[0023] 本発明によれば、脳腫瘍のバイオマーカーを提供することができる。該バイオマーカーを利用することにより、脳腫瘍の検査、脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分のスクリーニング、脳腫瘍の誘発性又は増悪性の評価等が可能になり得る。

発明を実施するための形態

[0024] 本明細書中において、「含有」及び「含む」なる表現については、「含有」、「含む」、「実質的にからなる」及び「のみからなる」という概念を含む。

[0025] 1. 脳腫瘍の検査方法

本発明は、その一態様において、脳腫瘍を検査する方法であって、(1)被検体から採取された体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638

-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーを検出する工程、を含む、検査方法（本明細書において、「本発明の検査方法」と示すこともある。）に関する。以下、これについて説明する。

[0026] 1-1．工程（1）

検査対象である脳腫瘍の種類は、特に制限されない。脳腫瘍としては、例えば神経膠腫、髄膜腫、中枢神経系原発悪性リンパ腫、下垂体腺腫、神経鞘腫、頭蓋咽頭腫等が挙げられる。これらの中でも、本発明の検査方法の対象として、好適には、神経膠腫、髄膜腫等が挙げられる。脳腫瘍の各種分類基準における全てのクラス、グレード、ステージの脳腫瘍が検査対象となる。

[0027] 被検体は、本発明の検査方法の対象生物であり、その生物種は特に制限されない。被検体の生物種としては、例えばヒト、サル、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウサギなどの種々の哺乳類動物が挙げられ、好ましくはヒトが挙げられる。

[0028] 被検体の状態は、特に制限されない。被検体としては、例えば脳腫瘍に罹患しているかどうか不明な検体、脳腫瘍に罹患していると既に別の方法により判定されている検体、脳腫瘍に罹患していないと既に別の方法により判定されている検体、脳腫瘍の治療中の検体等が挙げられる。

[0029] 体液は、特に制限されない。体液としては、例えば尿、全血、血清、血漿、髄液、唾液、関節液、組織液（気管支肺胞洗浄液を含む）、汗、涙、喀痰、鼻汁などが挙げられ、好ましくは尿が挙げられる。

[0030] 体液由来試料は、体液そのものであってもよいし、体液に何らからの操作（分離、精製、薬剤添加等）をして得られた試料であってもよい。体液由来試料としては、体液の細胞外小胞が好ましい、尿の細胞外小胞が特に好ましい。体液由来試料は、1種単独で採用してもよいし、2種以上を組み合わせて採用してもよい。

[0031] 細胞外小胞は、細胞から分泌、放出等される膜小胞である限り特に制限されない。細胞外小胞は、通常は、細胞内のタンパク質や遺伝情報（mRNA, microRNA等）を細胞外に運搬することにより、局所や全身における細胞間の情報伝達を担っている膜小胞として定義される。細胞外小胞としては、例えばエクソソーム、微小小胞体、アポトーシス小体、エクトソーム、マイクロパーティクル、分泌マイクロベシクル等が挙げられる。これらの中でもエクソソームが好ましい。

[0032] 細胞外小胞は、尿から、公知の方法に従って又は準じて、精製、分離、濃縮等することができる。細胞外小胞を精製、分離、濃縮等する方法としては、例えばナノワイヤを利用した方法、超遠心法（例えばペレットダウン法、スクロースクッション法、密度勾配遠心法等）、イムノアフィニティー担体を用いる方法、ゲルろ過法、フィールド・フロー分画法、FACS法等が挙げられる。また、細胞外小胞の精製、分離、濃縮等は、市販のキットを用いて行うことも可能である。これらの中でも、尿中細胞外小胞体を効率よく捕捉することができるという観点から、ナノワイヤを利用した方法が特に好ましい。ナノワイヤを利用した方法については、例えば、国際公開第2015／137427号に記載されている。これらの方法は、1種単独で採用してもよいし、2種以上を組み合わせて採用してもよい。

[0033] 工程（1）の検出対象は、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p

、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（本明細書において、これらをまとめて「対象バイオマーカー」と示すこともある。）である。

[0034] 対象バイオマーカーは、脳腫瘍において発現量が変化しているバイオマーカーであり、これを指標とすることにより脳腫瘍を鑑別可能である。

[0035] 対象バイオマーカー中、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、及びmiR-509-5pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（BM1）は、好ましくは神経膠腫のバイオマーカーとして利用することができる。

[0036] BM1の中でも、miR-122-5p、miR-124-3p、miR-1251-5p、miR-125b-2-3p、miR-140-3p、miR-143-3p、miR-144-5p、miR-146a-3p、miR-148a-5p、miR-181b-2-3p、miR-188-3p、miR-196a-5p、miR-202-5p、miR-204-3p、miR-20b-3p、miR-216a-5p、miR-224-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-296-3p、miR-29a-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-32-3p、miR-335-3p、miR-338-5p、miR-363-5p、miR-367-5p、miR-374b-5p、miR-376b-5p、miR-411-3p、miR-504-5p、miR-539-5p、miR-541-3p、miR-598-5p、miR-93-3p、及びmiR-99a-5pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（BM1A）は、脳腫瘍検体における量が健常検体における量よりも高い傾向にある対象バイオマーカーである。

[0037] BM1の中でも、miR-199a-5p、miR-208a-5p、miR-30c-2-3p、miR-328-5p、mi

R-345-3p、miR-483-3p、及びmiR-509-5pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（BM1B）は、脳腫瘍検体における量が健常検体における量よりも低い傾向にある対象バイオマーカーである。

[0038] BM1の中でも、判定時のAUC（Area Under the Curve）がより高いという観点から、好ましくはmiR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p等が挙げられ、より好ましくはmiR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p等が挙げられる。

[0039] BM1の中でも、判定時の感度がより高いという観点から、好ましくはmiR-509-5p、miR-208a-5p、miR-345-3p、miR-30c-2-3p、miR-199a-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-188-3p、miR-328-5p、miR-504-5p、miR-224-3p等が挙げられ、より好ましくはmiR-509-5p、miR-208a-5p、miR-345-3p、miR-30c-2-3p、miR-199a-5p等が挙げられる。

[0040] BM1の中でも、判定時の特異度がより高いという観点から、好ましくはmiR-140-3p、miR-144-5p、miR-148a-5p、miR-202-5p、miR-20b-3p、miR-539-5p、miR-99a-5p、miR-181b-2-3p、miR-29a-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-376b-5p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-363-5p、miR-367-5p、miR-504-5p、miR-122-5p、miR-196a-5p、miR-335-3p、miR-1251-5p、miR-125b-2-3p、miR-93-3p、miR-143-3p、miR-188-3p、miR-541-3p、miR-124-3p、miR-338-5p、miR-374b-5p、miR-296-3p、miR-411-3p、miR-26a-1-3p等が挙げられ、より好ましくはmiR-140-3p、miR-144-5p、miR-148a-5p、miR-202-5p、miR-20b-3p、miR-539-5p、miR-99a-5p、miR-181b-2-3p、miR-29a-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-376b-5p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-363-5p、miR-367-5p、miR-504-5p、miR-122-5p、miR-196a-5p、miR-335-3p、miR-1251-5p、miR-125b-2-3p、miR-93-3p、miR-143-3p等が挙げられる。

[0041] 対象バイオマーカー中、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（BM2）は、好ましくは神経膠腫及び髄膜腫を含む脳腫瘍のバイオマーカーとして利用することができる。

[0042] BM2の中でも、miR-151a-5p、miR-151b、miR-4428、miR-4482-5p、miR-4538、miR-4638-3p、miR-4768-3p、miR-5095、及びmiR-6070からなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（BM2A）は、脳腫瘍検体における量が健常検体における量よりも高い傾向にある対象バイオマーカーである。

[0043] BM2の中でも、miR-146a-5p、miR-193a-3p、miR-20a-3p、miR-21-3p、miR-371a-3p、miR-450a-2-3p、miR-492、miR-578、及びmiR-646からなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカー（BM2B）は、脳腫瘍検体における量が健常検体における量よりも低い傾向にある対象バイオマーカーである。

[0044] BM2の中でも、判定時の診断率がより高いという観点から、好ましくはmiR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p等が挙げられる。

[0045] BM2の中でも、判定時の感度がより高いという観点から、好ましくはmiR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-193a-3p、miR-4428、miR-578、miR-4538、miR-646、miR-5095、miR-371a-3p等が挙げられ、より好ましくはmiR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-193a-3p、miR-4428等が挙げられる。

[0046] BM2の中でも、判定時の特異度がより高いという観点から、好ましくはmiR-151b、miR-6070、miR-151a-5p、miR-20a-3p、miR-21-3p、miR-4482-5p、miR-146a-5p、miR-646、miR-371a-3p、miR-4638-3p等が挙げられ、より好ましくはmiR-151b、miR-6070、miR-151a-5p
、miR-20a-3p、miR-21-3p等が挙げられる。

[0047] 対象バイオマーカーは、公知のデータベース（例えば、miRBase：http://www.mirbase.org/）でその塩基配列等を特定することができる。

[0048] 工程（1）における対象バイオマーカーの数は、1種のみでもよいが、2種以

上、3種以上、4種以上、5種以上、6種以上、7種以上、8種以上、9種以上、10種以上、11種以上、12種以上、13種以上、14種以上、15種以上、16種以上、17種以上、18種以上、19種以上、20種以上、21種以上、22種以上、23種以上、24種以上、25種以上、26種以上、27種以上、28種以上、29種以上、30種以上、31種以上、32種以上、33種以上、34種以上、35種以上、36種以上、37種以上、38種以上、39種以上、40種以上、41種以上、42種以上、43種以上、44種以上、45種以上、46種以上、47種以上、48種以上、49種以上、50種以上、51種以上、52種以上、53種以上、54種以上、55種以上、56種以上、57種以上、58種以上、59種以上、60種以上、61種以上、又は62種であることができる。より多くの対象バイオマーカーを組み合わせることにより、脳腫瘍の検査等を、より正確に行うことが可能になる。

[0049] 本発明の好ましい一態様においては、BM1の2種以上、3種以上、4種以上、5種以上、6種以上、7種以上、8種以上、9種以上、10種以上、11種以上、12種以上、13種以上、14種以上、15種以上、16種以上、17種以上、18種以上、19種以上、20種以上、21種以上、22種以上、23種以上、24種以上、25種以上、26種以上、27種以上、28種以上、29種以上、30種以上、31種以上、32種以上、33種以上、34種以上、35種以上、36種以上、37種以上、38種以上、39種以上、40種以上、41種以上、42種以上、43種以上、若しくは44種、及び／又はBM2の2種以上、3種以上、4種以上、5種以上、6種以上、7種以上、8種以上、9種以上、10種以上、11種以上、12種以上、13種以上、14種以上、15種以上、16種以上、17種以上、若しくは18種を対象バイオマーカーとすることができる。

[0050] 検出は、通常は、対象バイオマーカーの量又は濃度を測定することによって行われる。「濃度」とは、絶対濃度に限らず、相対濃度や、単位体積辺りの重量や、絶対濃度を知るために測定した生データなどでもよい。

[0051] 対象バイオマーカーを検出する方法としては、対象バイオマーカーの一部又は全部を特異的に検出できる方法であれば特に制限されない。検出方法としては、具体的には、例えば、RNA-seq解析法、RT-PCR法、核酸チップ解析法

、ノーザンブロット法等を挙げることができる。

[0052] RNA-seq解析法を利用する場合は、具体的には、被検体由来のRNAから常法に従ってcDNAを調製して、次世代シークエンサー等を用いてシークエンス解析を行い、得られたデータに基づいてマッピング、遺伝子発現解析、発現量解析等を行い、発現量情報を得る方法が挙げられる。

[0053] RT-PCR法を利用する場合は、具体的には、被検体由来のRNAから常法に従ってcDNAを調製して、これを鋳型として標的領域が増幅できるように、一対のプライマー（上記cDNA（－鎖）に結合する正鎖、＋鎖に結合する逆鎖）をこれとハイブリダイズさせて、常法に従ってPCR法を行い、得られた増幅二本鎖DNAを検出する方法を例示することができる。なお、増幅された二本鎖DNAの検出は、上記PCRを予めRIや蛍光物質で標識しておいたプライマーを用いて行うことによって産生される標識二本鎖DNAを検出する方法、産生された二本鎖DNAを常法に従ってナイロンメンブレン等にトランスファーさせて、標識プローブを使用してこれとハイブリダイズさせて検出する方法などを用いることができる。

[0054] 核酸チップ解析を利用する場合は、核酸プローブ（1本鎖又は2本鎖）を貼り付けた核酸チップを用意し、これに被検体由来のRNAまたは該RNAから常法によって調製された核酸とハイブリダイズさせて、形成された二本鎖を検出する方法を挙げることができる。

[0055] ノーザンブロット法を利用する場合は、具体的には、プローブを放射性同位元素（32P、33Pなど：RI）や蛍光物質などで標識し、それを、常法に従ってナイロンメンブレン等にトランスファーした上記発現系由来のmRNAとハイブリダイズさせた後、形成された診断薬と被検者の試料由来のmRNAとの二重鎖を、プローブの標識物（RI若しくは蛍光物質などの標識物質）に由来するシグナルを放射線検出器又は蛍光検出器などで検出、測定する方法を例示することができる。

[0056] 工程（1）を含む本発明の検査方法によれば、脳腫瘍の検出指標である対象バイオマーカーの量及び／又は濃度を提供することができ、これにより脳腫

瘍の検出などを補助することができる。

[0057] 工程（1）を含む本発明の検査方法による検査結果は、治療効果判定、脳腫瘍の病態解明、脳腫瘍の予後予測、患者層別化、治療方法の選択（個別化医療、治療反応性）等に利用し得る。

[0058] 1-2. 工程（2）

本発明の検査方法は、一態様として、さらに、（2）前記工程（1）で検出された前記バイオマーカーの量又は濃度に基づいて、前記被検体が脳腫瘍に罹患しているか否かを判定する工程、を含む。該工程2を含む本発明の検査方法によれば、脳腫瘍を判定することが可能となる。

[0059] 検出したバイオマーカーがBM1A及び／又はBM2A含む場合、工程（2）は、

（2a）前記工程（1）で検出された前記BM1A及び／又はBM2Aの量又は濃度がカットオフ値上である場合に、前記被検体が脳腫瘍に罹患していると判定する工程、

を含むことが好ましい。

[0060] 検出したバイオマーカーがBM1B及び／又はBM2Bを含む場合、工程（2）は、

（2b）前記工程（1）で検出された前記BM1B及び／又はBM2Bの量又は濃度がカットオフ値以下である場合に、前記被検体が脳腫瘍に罹患していると判定する工程、

を含むことが好ましい。

[0061] 検出したバイオマーカーがBM1A及び／又はBM2A、並びにBM1B及び／又はBM2Bを含む場合、工程（2）は、

（2c）前記工程（1）で検出された前記BM1A及び／又はBM2Aの量又は濃度がカットオフ値以上であり、且つ前記工程（1）で検出された前記BM1B及び／又はBM2Bの量又は濃度がカットオフ値以下である場合に、前記被検体が脳腫瘍に罹患していると判定する工程、

を含むことが好ましい。

[0062] カットオフ値は、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率などの観点から当業者が適宜設定することができ、例えば、脳腫瘍に罹患していない被検体

から採取された体液における対象バイオマーカーの量及び／又は濃度に基づいて、その都度定められた値、或いは予め定められた値とすることができる。カットオフ値は、例えば、脳腫瘍に罹患していない被検体から採取された体液における対象バイオマーカーの量及び／又は濃度（被検体が複数の場合は、平均値、中央値など）の、例えば0.7～1.5倍の値とすることができる。

[0063] また、工程（2）においては、判別式を用いた方法で判定することもできる。判別式は、悪性脳腫瘍と健常とを区別的に判別する判別式を作成することができる任意の判別分析法、例えばフィッシャーの判別分析、マハラノビス距離による非線形判別分析、ニューラルネットワーク、Support Vector Machine（SVM）などを用いて作成できるが、これらの具体例に限定されない。

[0064] さらに、工程（2）において、例えばニューラルネットワーク、k-近傍法、決定木、ロジスティック回帰分析などの手法を利用して判定することもできる。

[0065] 工程（2）の好ましい一態様においては、被検体が脳腫瘍の治療中の検体である場合、

カットオフ値を、例えば同一検体についての過去の試料における対象バイオマーカーの量及び／又は濃度に基づいた値とすることにより、治療効果を判定することができる。

[0066] 2. 脳腫瘍のより高い精度での診断

工程（2）を含む本発明の検査方法により、被検体が脳腫瘍に罹患していると判定された場合、本発明の検査方法に、さらに脳腫瘍の医師による診断を適用する工程を組み合わせることによって、より高い精度で脳腫瘍を診断することができる。また、本発明の検査方法はより正確に脳腫瘍を検出できるので、本発明の検査方法に上記工程を組み合わせることによって、より効率的且つより正確に「脳腫瘍に罹患している」と診断できる。

[0067] 3. 脳腫瘍の治療

工程（2）を含む本発明の検査方法により被検体が脳腫瘍に罹患していると判定された場合は本発明の検査方法に対してさらに、或いは上記「2. 脳腫瘍

のより高い精度での診断」に記載の様に脳腫瘍に罹患していると診断された場合は本発明の検査方法と医師による診断を適用する工程との組合せに対してさらに、（3）脳腫瘍に罹患していると判定又は診断された被検体に対して、該疾患の治療を行う工程を行うことによって、被検体の該疾患を治療することが可能となる。また、本発明の検査方法はより正確に脳腫瘍を検出できるので、本発明の検査方法に対して、或いは本発明の検査方法と医師による診断を適用する工程との組合せに対して工程3を組み合わせることによって、脳腫瘍に罹患している被検体をより効率的に、より確実に治療できる。

[0068] 脳腫瘍の治療方法としては、特に制限されないが、例えば投薬治療、外科治療、放射線治療等が挙げられる。治療方法は1種又は2種以上を組み合わせて用いることができる。投薬治療に用いる医薬としては、特に制限されないが、例えば生物学的製剤（バイオ医薬品）、非ステロイド性抗炎症薬、ステロイド（副腎皮質ステロイド）等が挙げられる。医薬は、1種、2種、又は3種以上を組み合わせて用いることができる。

[0069] 4．脳腫瘍の検査薬

本発明は、その一態様において、対象バイオマーカーの検出剤（本明細書において、「本発明の検査薬」と示すこともある。）を含む、脳腫瘍の検査薬（本明細書において、「本発明の検査薬」と示すこともある。）に関する。以下、これについて説明する。

[0070] 対象バイオマーカー、脳腫瘍等については、上記「1．脳腫瘍の検査方法」における定義と同様である。

[0071] 本発明の検出剤は、対象バイオマーカーを特異的に検出できるものである限り特に制限されない。該検出剤としては、例えば対象バイオマーカーに対するプライマー、プローブ等が挙げられる。

[0072] 本発明の検出剤は、その機能が著しく損なわれない限りにおいて、修飾が施されていてもよい。修飾としては、例えば、標識物、例えば蛍光色素、酵素、タンパク質、放射性同位体、化学発光物質、ビオチン等の付加が挙げられる。

[0073] 本発明において用いられる蛍光色素としては、一般にヌクレオチドを標識して、核酸の検出や定量に用いられるものが好適に使用でき、例えば、HEX（4,7,2’,4’,5’,7’-hexachloro-6-carboxylfluorescein、緑色蛍光色素）、フルオレセイン（fluorescein）、NED（商品名、アプライドバイオシステムズ社製、黄色蛍光色素）、あるいは、6-FAM（商品名、アプライドバイオシステムズ社製、黄緑色蛍光色素）、ローダミン（rhodamin）またはその誘導体〔例えば、テトラメチルローダミン（TMR）〕を挙げることができるが、これらに限定されない。蛍光色素でヌクレオチドを標識する方法は、公知の標識法のうち適当なものを使用することができる〔Nature Biotechnology, 14, 303-308（1996)参照〕。また、市販の蛍光標識キットを使用することもできる（例えば、アマシャム・ファルマシア社製、オリゴヌクレオチドECL 3’-オリゴラベリングシステム等）。

[0074] 本発明の検出剤は、任意の固相に固定化して用いることもできる。このため本発明の検査薬は、検出剤を固定化した基板（例えばプローブを固定化したマイクロアレイチップ等。）の形態として提供することができる。

[0075] 固定化に使用される固相は、ポリヌクレオチド等を固定化できるものであれば特に制限されることなく、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、キャピラリーまたはその他の基板等を挙げることができる。固相への検出剤の固定は、特に制限されない。固定方法は、例えばマイクロアレイであれば、市販のスポッター（Amersham社製など）を利用するなど、固定化プローブの種類に応じて当該技術分野で周知である〔例えば、photolithographic技術(Affymetrix社)、インクジェット技術(Rosetta Inpharmatics社)によるオリゴヌクレオチドのin situ合成等〕。

[0076] プライマーやプローブ等は、対象バイオマーカーやそれに由来する核酸等を選択的に（特異的に）認識するものであれば、特に限定されない。ここで、「選択的に（特異的に）認識する」とは、例えばノーザンブロット法においては、対象バイオマーカーが特異的に検出できること、またRT-PCR法においては対象バイオマーカー若しくはそれに由来する核酸（cDNA等）が特異的

に増幅されることを意味するが、それに限定されることなく、当業者が上記検出物または増幅物が対象バイオマーカーに由来するものであると判断できるものであればよい。

[0077] プライマーやプローブの具体例としては、下記（a）に記載するポリヌクレオチド並びに下記（b）に記載するポリヌクレオチド：

（a）対象バイオマーカーの塩基配列において連続する少なくとも15塩基を有するポリヌクレオチド及び／若しくは当該ポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチド、並びに

（b）対象バイオマーカーの塩基配列若しくはそれに相補的な塩基配列にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする、少なくとも15塩基を有するポリヌクレオチド

からなる群より選択される少なくとも１種が挙げられる。

[0078] 相補的なポリヌクレオチド又は相補的な塩基配列（相補鎖、逆鎖）とは、対象バイオマーカーの塩基配列からなるポリヌクレオチドの全長配列、または該塩基配列において少なくとも連続した15塩基長の塩基配列を有するその部分配列（ここでは便宜上、これらを「正鎖」ともいう）に対して、A:TおよびG:Cといった塩基対関係に基づいて、塩基的に相補的な関係にあるポリヌクレオチド又は塩基配列を意味するものである。ただし、かかる相補鎖は、対象とする正鎖の塩基配列と完全に相補配列を形成する場合に限らず、対象とする正鎖とストリンジェントな条件でハイブリダイズすることができる程度の相補関係を有するものであってもよい。なお、ここでストリンジェントな条件は、Berger and Kimmel (1987, Guide to Molecular Cloning Techniques Methods in Enzymology, Vol. 152, Academic Press, San Diego CA) に教示されるように、複合体或いはプローブを結合する核酸の融解温度(Tm)に基づいて決定することができる。例えばハイブリダイズ後の洗浄条件として、通常「1×SSC、0.1%SDS、37℃」程度の条件を挙げることができる。相補鎖はかかる条件で洗浄しても対象とする正鎖とハイブリダイズ状態を維持するものであることが好ましい。特に制限されないが、より厳しいハイブリダイズ

条件として「0.5×SSC、0.1%SDS、42℃」程度、さらに厳しいハイブリダイズ条件として「0.1×SSC、0.1%SDS、65℃」程度の洗浄条件を挙げることができる。具体的には、このような相補鎖として、対象の正鎖の塩基配列と完全に相補的な関係にある塩基配列からなる鎖、並びに該鎖と少なくとも90%、好ましくは95%、より好ましくは98%以上、さらに好ましくは99%以上の同一性を有する塩基配列からなる鎖を例示することができる。

[0079] プライマーやプローブ等は、例えば対象バイオマーカーの塩基配列をもとに、例えば各種設計プログラムを利用して設計することができる。具体的には前記対象バイオマーカーの塩基配列を設計プログラムにかけて得られる、プライマーまたはプローブの候補配列、若しくは少なくとも該配列を一部に含む配列を、プライマーまたはプローブとして使用することができる。

[0080] プライマーやプローブ等の塩基長は、上述のように連続する少なくとも15塩基の長さを有するものであれば特に制限されず、用途に応じて適宜設定することができる。塩基長としては、例えばプライマーとして用いる場合であれば、例えば15塩基～35塩基が例示でき、例えばプローブとして用いる場合であれば、例えば15塩基～35塩基が例示できる。

[0081] 本発明の検査薬には、本発明の検出剤以外の、他の検出剤（例えば、他のmiRNA等の核酸を検出するためのプローブや、抗体等）が含まれていてもよい。この場合の本発明の検査薬は、脳腫瘍の他に、他の疾患や状態も検査することができる検査薬であってもよい。この場合、本発明の検出剤は、脳腫瘍検査用の検出剤として含まれている。この観点から、本発明の検査薬は、その一態様において、本発明の検出剤からなる脳腫瘍検査用検出剤を含む、脳腫瘍の検査薬である。

[0082] 本発明の検査薬は、組成物の形態であってもよい。該組成物には、必要に応じて他の成分が含まれていてもよい。他の成分としては、例えば基剤、担体、溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、増粘剤、保湿剤、着色料、香料、キレート剤等が挙げられる。

[0083] 本発明の検査薬は、キットの形態であってもよい。該キットには、上記検

出剤或いはこれを含む上記組成物のほかに、被検体の体液における対象バイオマーカーの検出に使用し得るものを含んでいてもよい。このようなものの具体例としては、各種試薬（例えば緩衝液等）、器具（例えば体液の精製、分離用器具）等が挙げられる。

[0084] 5. 脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分のスクリーニング方法

本発明は、その一態様において、被検物質で処理された動物から採取された体液由来試料における、対象バイオマーカーの量又は濃度を指標とする、脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分のスクリーニング方法（本明細書において、「本発明の有効成分スクリーニング方法」と示すこともある。）に関する。以下、これについて説明する。

[0085] 体液由来試料、対象バイオマーカー、脳腫瘍、対象バイオマーカーの量又は濃度の測定等については、上記「1. 脳腫瘍の検査方法」における定義と同様である。

[0086] 動物の生物種は特に制限されない。動物の生物種としては、例えばヒト、サル、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウサギなどの種々の哺乳類動物が挙げられる。好適には脳腫瘍モデル動物を使用することができる。

[0087] 被検物質としては、天然に存在する化合物又は人工に作られた化合物を問わず広く使用することができる。また、精製された化合物に限らず、多種の化合物を混合した組成物や、動植物の抽出液も使用することができる。化合物には、低分子化合物に限らず、タンパク質、核酸、多糖類等の高分子化合物も包含される。

[0088] 本発明の有効成分スクリーニング方法は、より具体的には、指標とするバイオマーカーが、BM1A及び／又はBM2Aである場合、上記指標の値が、被検物質で処理されていない動物から採取された体液における対応バイオマーカーの量又は濃度（対照値）よりも低い場合に、前記被検物質を脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分（或いは、脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分の候補物質）として選択する工程を含む。

[0089] 本発明の有効成分スクリーニング方法は、別の具体例として、指標とする

バイオマーカーが、BM1B及び／又はBM2Bである場合、上記指標の値が、被検物質で処理されていない動物から採取された体液における対応バイオマーカーの量又は濃度（対照値）よりも高い場合に、前記被検物質を脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分（或いは、脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分の候補物質）として選択する工程を含む。

[0090] 対応バイオマーカーとは、指標としている対象バイオマーカーと同じmiRNAを意味する。

[0091] 「高い」とは、例えば指標の値が、対照値の2倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍であることを意味する。

[0092] 「低い」とは、例えば指標の値が、対照値の1/2、1/5、1/10、1/20、1/50、1/100であることを意味する。

[0093] 6. 脳腫瘍の誘発性又は増悪性の評価方法

本発明は、その一態様において、被検物質で処理された動物から採取された体液由来試料における、対象バイオマーカーの量又は濃度を指標とする、脳腫瘍の誘発性又は増悪性の評価方法（本明細書において、「本発明の毒性評価方法」と示すこともある。）に関する。以下、これについて説明する。

[0094] 体液由来試料、対象バイオマーカー、脳腫瘍、対象バイオマーカーの量又は濃度の測定、動物の生物種、被検物質等については、上記「1. 脳腫瘍の検査方法」及び「5. 脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分のスクリーニング方法」における定義と同様である。

[0095] 本発明の毒性評価方法は、より具体的には、指標とするバイオマーカーが、BM1A及び／又はBM2Aである場合、上記指標の値が、被検物質で処理されていない動物から採取された体液における対応バイオマーカーの量又は濃度（対照値）よりも高い場合に、前記被検物質を脳腫瘍の誘発性又は増悪性があると判定する工程を含む。

[0096] 本発明の毒性評価方法は、別の具体例として、指標とするバイオマーカーが、BM1B及び／又はBM2Bである場合、上記指標の値が、被検物質で処理されていない動物から採取された体液における対応バイオマーカーの量又は濃度

（対照値）よりも低い場合に、前記被検物質を脳腫瘍の誘発性又は増悪性があると判定する工程を含む。

[0097] 対応バイオマーカーとは、指標としている対象バイオマーカーと同じmiRNAを意味する。

[0098] 「高い」とは、例えば指標の値が、対照値の2倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍であることを意味する。

[0099] 「低い」とは、例えば指標の値が、対照値の1/2、1/5、1/10、1/20、1/50、1/100であることを意味する。

実施例

[0100] 以下に、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

[0101] 試験例1．脳腫瘍バイオマーカーの探索及び脳腫瘍判定1

神経膠腫患者の尿62検体および健常者の尿100検体から、miRNAを抽出した。miRNA抽出は、以前開発したナノスケールの棒（ナノワイヤ）を用いて行った。この方法については、国際公開第2015／137427号に記載されている。本法は、従来法に比べ尿中細胞外小胞体を効率よく捕捉することが確認されている。マイクロアレイ解析（東レ社製、miRNA Oligo chip、3D-Gene（登録商標））を行い、健常者と比較し、神経膠腫患者において、発現レベルが1.5倍以上異なり、かつ統計学的に有意差（Wilcoxonの順位和検定にてp値0.05未満）が認められるヒトmiRNA（hsa-miR)を選定した。

[0102] miRNAによる標的mRNAの認識は、主にseed配列と呼ばれる5′末端のわずか7～8塩基と標的mRNAの主に3′非翻訳領域の相補的塩基配列との間における塩基対形成によって行われる。このseed配列は一部のmiRNAで異なる種間でも保存されており、そのためseed配列が保存されているmiRNAは種を超えて同様の機能を有すると考えられている。そこで、マイクロアレイ解析（東レ社製、miRNA Oligo chip、3D-Gene（登録商標））を行い、健常マウスに比較し、脳腫瘍モデルマウスにおいて、発現レベルが1.5倍以上異なるマウスmiRNA(mmu-miR)を選定した。最初に選定したhsa-miRのうち、ヒトとマ

ウスで保存性が確認されているhsa-miRで、mmu-miRと同様の発現挙動を示したhsa-miRを44種類認めた。この44種類のhsa-miRを用いて神経膠腫の判定を行なった。判定対象は、上記の神経膠腫患者の尿62検体および健常者の尿100検体とした。

[0103] 判定に用いた44種類のhsa-miRを以下に記載する。hsa-miR-122-5p、hsa-miR-124-3p、hsa-miR-1251-5p、hsa-miR-125b-2-3p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-143-3p、hsa-miR-144-5p、hsa-miR-146a-3p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-181b-2-3p、hsa-miR-188-3p、hsa-miR-196a-5p、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-202-5p、hsa-miR-204-3p、hsa-miR-208a-5p、hsa-miR-20b-3p、hsa-miR-216a-5p、hsa-miR-224-3p、hsa-miR-26a-1-3p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-296-3p、hsa-miR-29a-3p、hsa-miR-29b-2-5p、hsa-miR-301a-5p、hsa-miR-30c-2-3p、hsa-miR-32-3p、hsa-miR-328-5p、hsa-miR-335-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-345-3p、hsa-miR-363-5p、hsa-miR-367-5p、hsa-miR-374b-5p、hsa-miR-376b-5p、hsa-miR-411-3p、hsa-miR-483-3p、hsa-miR-504-5p、hsa-miR-509-5p、hsa-miR-539-5p、hsa-miR-541-3p、hsa-miR-598-5p、hsa-miR-93-3p、hsa-miR-99a-5p。

[0104] なお、これらの内、hsa-miR-122-5p、hsa-miR-124-3p、hsa-miR-1251-5p、hsa-miR-125b-2-3p、hsa-miR-140-3p、hsa-miR-143-3p、hsa-miR-144-5p、hsa-miR-146a-3p、hsa-miR-148a-5p、hsa-miR-181b-2-3p、hsa-miR-188-3p、hsa-miR-196a-5p、hsa-miR-202-5p、hsa-miR-204-3p、hsa-miR-20b-3p、hsa-miR-216a-5p、hsa-miR-224-3p、hsa-miR-26a-1-3p、hsa-miR-27b-3p、hsa-miR-296-3p、hsa-miR-29a-3p、hsa-miR-29b-2-5p、hsa-miR-301a-5p、hsa-miR-32-3p、hsa-miR-335-3p、hsa-miR-338-5p、hsa-miR-363-5p、hsa-miR-367-5p、hsa-miR-374b-5p、hsa-miR-376b-5p、hsa-miR-411-3p、hsa-miR-504-5p、hsa-miR-539-5p、hsa-miR-541-3p、hsa-miR-598-5p、hsa-miR-93-3p、及びhsa-miR-99a-5pは、神経膠腫患者における発現レベル（発現量平均値）が、健常者における発現レベル（発現量平均値）よりも高かった。

[0105] 一方、hsa-miR-199a-5p、hsa-miR-208a-5p、hsa-miR-30c-2-3p、hsa-miR-3

28-5p、hsa-miR-345-3p、hsa-miR-483-3p、及びhsa-miR-509-5p、神経膠腫患者における発現レベル（発現量平均値）が、健常者における発現レベル（発現量平均値）よりも低かった。

[0106] これらのmiRNAを、単独で又は組み合わせ、ロジスティック回帰解析にて神経膠腫の有無の判定式を作成した。なお、データの正規化はglobal normalization法により行い、正規化後のデータをそのまま使用した。作成された判定式を用いた神経膠腫判定の感度、特異度、及びAUCを表１に示す。なおカットオフ値はYouden indexにて設定した。

[0107] [表1]

miRNAの種類	AUC	感度(%)	特異度(%)	miRNAの種類	AUC	感度(%)	特異度(%)
hsa-miR-122-5p	0.595	23	97	hsa-miR-29a-3p	0.559	13	99
hsa-miR-124-3p	0.570	21	93	hsa-miR-29b-2-5p	0.607	23	99
hsa-miR-1251-5p	0.666	39	96	hsa-miR-301a-5p	0.599	21	99
hsa-miR-125b-2-3p	0.619	29	96	hsa-miR-30c-2-3p	0.664	73	55
hsa-miR-140-3p	0.597	19	100	hsa-miR-32-3p	0.633	42	89
hsa-miR-143-3p	0.637	34	95	hsa-miR-328-5p	0.703	61	73
hsa-miR-144-5p	0.573	15	100	hsa-miR-335-3p	0.595	23	97
hsa-miR-146a-3p	0.545	11	98	hsa-miR-338-5p	0.649	39	93
hsa-miR-148a-5p	0.532	6	100	hsa-miR-345-3p	0.802	85	69
hsa-miR-181b-2-3p	0.607	23	99	hsa-miR-363-5p	0.569	16	98
hsa-miR-188-3p	0.759	61	94	hsa-miR-367-5p	0.561	15	98
hsa-miR-196a-5p	0.571	18	97	hsa-miR-374b-5p	0.587	26	93
hsa-miR-199a-5p	0.715	71	67	hsa-miR-376b-5p	0.567	15	99
hsa-miR-202-5p	0.629	26	100	hsa-miR-411-3p	0.669	45	92
hsa-miR-204-3p	0.680	68	65	hsa-miR-483-3p	0.701	69	68
hsa-miR-208a-5p	0.783	90	59	hsa-miR-504-5p	0.743	52	98
hsa-miR-20b-3p	0.613	23	100	hsa-miR-509-5p	0.450	100	4
hsa-miR-216a-5p	0.537	10	98	hsa-miR-539-5p	0.589	18	100
hsa-miR-224-3p	0.638	50	84	hsa-miR-541-3p	0.640	35	94
hsa-miR-26a-1-3p	0.657	45	90	hsa-miR-598-5p	0.621	37	89
hsa-miR-27b-3p	0.654	48	88	hsa-miR-93-3p	0.712	48	96
hsa-miR-296-3p	0.623	32	92	hsa-miR-99a-5p	0.532	6	100
				44種組合せ	0.985	98	91

[0108] 試験例2．脳腫瘍バイオマーカーの探索及び脳腫瘍判定2

脳腫瘍患者（神経膠腫患者及び髄膜種患者の両方を含む）の尿110検体および健常者の尿100検体を対象として、試験例1の方法と同様にしてmiRNA発現量

を解析し、バイオマーカーの探索及び判定を行った。なお、本試験例では、データの正規化はglobal normalization法により行い、データの正規化後に0の値を全て1とし、log変換（底2）し、3以下の値は0に切り捨てた。また、本試験例では、L1正則化でmiRNAの絞り込みを行ってから判定式を作成し、その後cross validationも行って判定式の確認をした。本試験例の判定式を以下に示す。

[0109] [数1]

$$Pr(Y=1|X)=\frac{1}{1+e^{-(\alpha+\beta_1\cdot x_1+\beta_2\cdot x_2+\beta_3\cdot x_3+\cdots)}}$$

Y ：予測する目的変数（スカラ値）。値域0～1。
【0.5未満：負例（健常）、0.5以上：正例（肺ガン）】とタグ付けする。

$X=[x_1,x_2,x_3,\cdots]$ ：説明変数ベクトル。
今回は、被験者のmiRNA検査データ（規格化済み）。

$[\beta_1,\beta_2,\beta_3,\cdots]$ ：偏回帰係数ベクトル。説明属性の重み。
今回は、被験者のmiRNAデータ項目ごとの重み。
過去データから推定する必要がある。

α ：切片（スカラ値）。偏回帰係数と同時に過去データから推定する。

e ：ネイピア定数 $e=2.71828\cdots$。

[0110] 判定に用いた18種類のhsa-miRを以下に記載する。hsa-miR-146a-5p、hsa-miR-151a-5p、hsa-miR-151b、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-20a-3p、hsa-miR-21-3p、hsa-miR-371a-3p、hsa-miR-4428、hsa-miR-4482-5p、hsa-miR-450a-2-3p、hsa-miR-4538、hsa-miR-4638-3p、hsa-miR-4768-3p、hsa-miR-492、hsa-miR-5095、hsa-miR-578、hsa-miR-6070、hsa-miR-646。

[0111] なお、これらの内、hsa-miR-151a-5p、hsa-miR-151b、hsa-miR-4428、hsa-miR-4482-5p、hsa-miR-4538、hsa-miR-4638-3p、hsa-miR-4768-3p、hsa-miR-5095、及びhsa-miR-6070は、脳腫瘍患者における発現レベル（発現量平均値）が、健常者における発現レベル（発現量平均値）よりも高かった。

[0112] 一方、hsa-miR-146a-5p、hsa-miR-193a-3p、hsa-miR-20a-3p、hsa-miR-21-3p、hsa-miR-371a-3p、hsa-miR-450a-2-3p、hsa-miR-492、hsa-miR-578、及びhsa-miR-646は、脳腫瘍患者における発現レベル（発現量平均値）が、健常者における発現レベル（発現量平均値）よりも低かった。

[0113] 脳腫瘍判定の感度、特異度、及び診断率を表２に示す。

[0114] [表2]

miRNA種類	診断率	感度(%)	特異度(%)
hsa-miR-146a-5p	67	66.7	67.4
hsa-miR-151a-5p	67.6	55.5	81
hsa-miR-151b	67.6	52.7	84
hsa-miR-193a-3p	60.9	83.5	36
hsa-miR-20a-3p	72.6	69.6	75.8
hsa-miR-21-3p	65.9	62	70.2
hsa-miR-371a-3p	66.4	70.4	62
hsa-miR-4428	61.7	82	39.4
hsa-miR-4482-5p	55.2	42.9	68.8
hsa-miR-450a-2-3p	74.3	96.4	50
hsa-miR-4538	60.6	78.4	41
hsa-miR-4638-3p	73	84.7	60.2
hsa-miR-4768-3p	52.9	53.8	51.8
hsa-miR-492	57.3	63.6	50.4
hsa-miR-5095	61.4	70.9	51
hsa-miR-578	64.3	79.1	48
hsa-miR-6070	76.1	69.8	83
hsa-miR-646	68.8	72.2	65
18種組合せ	96.2	97.8	94.4

請求の範囲

[請求項1] 脳腫瘍を検査する方法であって、

（1）被検体から採取された体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーを検出する工程、

を含む、検査方法。

[請求項2] （2）前記工程（1）で検出された前記バイオマーカーの量又は濃度に基づいて、前記被検体が脳腫瘍に罹患しているか否かを判定する工程、

を含む、請求項１に記載の検査方法。

[請求項3] 前記バイオマーカーがmiR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、mi

R-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、及びmiR-509-5pからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項１又は２に記載の検査方法。

[請求項4] 前記バイオマーカーがmiR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、及びmiR-483-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項１～３のいずれかに記載の検査方法。

[請求項5] 前記バイオマーカーが3種以上である、請求項３又は４に記載の検査方法。

[請求項6] 前記脳腫瘍が神経膠腫である、請求項３～５のいずれかに記載の検査方法。

[請求項7] 前記バイオマーカーがmiR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項１又は２に記載の検査方法。

[請求項8] 前記バイオマーカーがmiR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、及びmiR-20a-3pからなる群より選択される少なくとも1種である、請求項１、２及び７のいずれかに記載の検査方法。

[請求項9] 前記バイオマーカーが3種以上である、請求項７又は８に記載の検査方法。

[請求項10] 前記体液が尿である、請求項１～９のいずれかに記載の検査方法。

[請求項11] 前記体液試料が尿の細胞外小胞である、請求項１～１０のいずれかに記載の検査方法。

[請求項12] 前記被検体がヒトである、請求項１～１１のいずれかに記載の検査方法。

[請求項13] miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの検出剤を含む、脳腫瘍の検査薬。

[請求項14] miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの検出剤を含む、脳腫瘍の検査キット。

[請求項15] 被検物質で処理された動物から採取された体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-578、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの量又は濃度を指標とする、脳腫瘍の予防又は治療剤の有効成分のスクリーニング方法。

[請求項16] 被検物質で処理された動物から採取された体液由来試料体液由来試料における、miR-345-3p、miR-208a-5p、miR-188-3p、miR-504-5p、miR-199a-5p、miR-93-3p、miR-328-5p、miR-483-3p、miR-204-3p、miR-411-3p、miR-1251-5p、miR-30c-2-3p、miR-26a-1-3p、miR-27b-3p、miR-338-5p、miR-541-3p、miR-224-3p、miR-143-3p、miR-32-3p、miR-202-5p、miR-296-3p、miR-598-5p、miR-125b-2-3p、miR-20b-3p、miR-181b-2-3p、miR-29b-2-5p、miR-301a-5p、miR-140-3p、miR-122-5p、miR-335-3p、miR-539-5p、miR-374b-5p、miR-144-5p、miR-196a-5p、miR-124-3p、miR-363-5p、miR-376b-5p、miR-367-5p、miR-29a-3p、miR-146a-3p、miR-216a-5p、miR-148a-5p、miR-99a-5p、miR-509-5p、miR-6070、miR-450a-2-3p、miR-4638-3p、miR-20a-3p、miR-646、miR-151a-5p、miR-151b、miR-146a-5p、miR-371a-3p、miR-21-3p、miR-5

78、miR-4428、miR-5095、miR-193a-3p、miR-4538、miR-492、miR-4482-5p、及びmiR-4768-3pからなる群より選択される少なくとも1種のバイオマーカーの量又は濃度を指標とする、脳腫瘍の誘発性又は増悪性の評価方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2020/035899

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12N 15/113(2010.01)n; C12Q 1/6809(2018.01)i
FI: C12Q1/6809 Z; C12N15/113 Z

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N15/113; C12Q1/6809

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

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	北野 詳太郎 他，機械学習による神経膠腫尿中バイオマーカーの探索，第37回日本脳腫瘍学会学術集会プログラム・抄録集，15 November 2019, p. 217, P11-1-11, entire text, non-official translation (KITANO, Shotaro et al., "Search for urinary biomarkers of glioma by machine learning", Programs and abstracts of the 37th Annual Meeting of the Japan Society for Neuro-Oncology)	1-16
Y	WO 2017/171039 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 05 October 2017 (2017-10-05) claims 15, 17, 18, paragraphs [0024], [0025], [0045], [0126], examples, etc.	1-16
Y	US 2011/0301221 A1 (LIN BIAOYANC. et al.) 08 December 2011 (2011-12-08) claims 1, 4, examples, etc.	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 17 November 2020 (17.11.2020)	Date of mailing of the international search report 08 December 2020 (08.12.2020)
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/JP2020/035899

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2015/0368724 A1 (ROSETTA CENOMICS LTD.) 24 December 2015 (2015-12-24) tables 8, 9	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2020/035899

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2017/171039 A1	05 Oct. 2017	US 2019/0112668 A1 EP 3438266 A1 claims 15, 17, 18 examples CN 108884463 A KR 10-2018-0132748 A	
US 2011/0301221 A1	08 Dec. 2011	WO 2010/042831 A2	
US 2015/0368724 A1	24 Dec. 2015	WO 2012/070037 A2	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2020/035899

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N 15/113(2010.01)n; C12Q 1/6809(2018.01)i
FI: C12Q1/6809 Z; C12N15/113 Z

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

C12N15/113; C12Q1/6809

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	１９７１－２０２０年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２０年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２０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/WPIDS (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
P, X	北野 詳太郎 他, 機械学習による神経膠腫尿中バイオマーカーの探索, 第37回日本脳腫瘍学会学術集会プログラム・抄録集, 2019.11.15, p.217, P11-1-11 全文	1-16
Y	WO 2017/171039 A1 (東レ株式会社) 05.10.2017 (2017-10-05) 請求項１５、１７、１８、段落0024, 0025, 0045, 0126, 実施例等	1-16
Y	US 2011/0301221 A1 (LIN BIAOYANG. et al.) 08.12.2011 (2011-12-08) 請求項１、４、実施例等	1-16
Y	US 2015/0368724 A1 (ROSETTA GENOMICS LTD.) 24.12.2015 (2015-12-24) 表８、表９	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抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
17.11.2020	08.12.2020

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
北村　悠美子 4B 4501
電話番号 03-3581-1101 内線 3448

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2020/035899

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2017/171039 A1	05.10.2017	US 2019/0112668 A1 EP 3438266 A1 claim 15, 17, 18 Examples CN 108884463 A KR 10-2018-0132748 A	
US 2011/0301221 A1	08.12.2011	WO 2010/042831 A2	
US 2015/0368724 A1	24.12.2015	WO 2012/070037 A2	