

(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
2013 年 12 月 5 日(05.12.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/180274 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01) *A61K 45/00* (2006.01)
A61K 31/4412 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01) *G01N 33/53* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/065209
- (22) 国際出願日: 2013 年 5 月 31 日(31.05.2013)
- (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 2012-125554 2012 年 6 月 1 日(01.06.2012) JP
- (71) 出願人: 大鵬薬品工業株式会社(TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1018444 東京都千代田区神田錦町 1 丁目 2 7 番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 武知 貞士(TAKECHI, Teiji); 〒1018444 東京都千代田区神田錦町 1 丁目 2 7 番地 大鵬薬品工業株式会社内 Tokyo (JP). 小武内 尚(KOBUNAI, Takashi); 〒1018444 東京都千代田区神田錦町 1 丁目 2 7 番地 大鵬薬品工業株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所(SAE-GUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町 1-7-1 北浜 T N K 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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, 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: CHEMOTHERAPY SELECTION METHOD FOR STOMACH CANCER PATIENTS

(54) 発明の名称: 胃癌患者に対する化学療法の選択方法

(57) Abstract: The purpose of the invention is to provide chemotherapy having a strong life-prolonging effect and few adverse effects for stomach cancer patients. Provided to achieve this purpose is a method for predicting the therapeutic effect of chemotherapy using tegafur-gimeracil-oteracil potassium compounding agent in stomach cancer patients, including the following steps (1)-(3): (1) a step for measuring the HER2 mRNA expression level contained in a biological sample collected from the patient; (2) a step for comparing the HER2 mRNA expression level obtained in step (1) with a cut-off point that is the pre-set median value of the HER2 mRNA expression level contained in biological samples from stomach cancer patients; and (3) a step for predicting that there is a high likelihood that selection of chemotherapy combining tegafur-gimeracil-oteracil potassium compounding agent and an HER2 inhibitor will have an adequate therapeutic effect in the patient when the expression level of HER2 mRNA is at or above the cut-off point in the result of the comparison in step (2), and to predict that there is a high likelihood that selection of chemotherapy using tegafur-gimeracil-oteracil potassium compounding agent alone will have an adequate therapeutic effect when the HER2 mRNA expression level is below the cut-off point.

(57) 要約: 本発明は、胃癌患者に対して、強い延命効果を奏し、且つ副作用が少ない化学療法を提供することを課題とする。斯かる課題を解決する手段として、下記工程(1)～(3)を含む、胃癌患者におけるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法の治療効果を予測する方法:
(1) 該患者から採取された生体試料に含まれる HER2 mRNA の発現量を測定する工程、(2) 上記工程(1)で得られた HER2 mRNA の発現量を、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれる HER2 mRNA の発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び (3) 上記工程(2)における比較の結果、HER2 mRNA の発現量が該カットオフポイント以上の場合、該患者に対してテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及び HER2 阻害剤を併用した化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測し、HER2 mRNA の発現量が該カットオフポイント未満の場合、該患者に対するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する工程、を提供する。

WO 2013/180274 A1

明 細 書

発明の名称：胃癌患者に対する化学療法を選択方法

技術分野

[0001] [関連出願の相互参照]

本願は、2012年6月1日出願した日本国特許出願2012-125554号の明細書（その開示全体が参照により本明細書中に援用される。）に基づく優先権を主張する。

[0002] 本発明は、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を少なくとも使用する化学療法に対する治療効果を予測する方法、当該配合剤を用いた化学療法に十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された患者に投与するための抗腫瘍剤に関する。

背景技術

[0003] 進行胃癌に対する化学療法として、5-フルオロウラシル、シスプラチン、イリノテカン、ドセタキセル、テガフル・ウラシル配合剤（商品名：ユーエフティー（登録商標））、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤（商品名：ティーエスワン（登録商標）、以下、テガフル、ギメラシル、オテラシルカリウムがモル比1：0.4：1で配合された製剤をTS-1と称することがある。）などの抗腫瘍剤が臨床応用されてきた。

[0004] 一方、胃癌腫瘍組織を切除後に再発・転移の防止を目的に行われる胃癌の術後補助化学療法としては、1000症例を超す症例を集積した第III相試験ACTS-GC研究により、TS-1投与群は手術単独群に比し、全生存期間および無再発生存期間いずれにおいても有意な生存期間の延長が得られたこと、またその安全性にも問題なかったことから、日本における標準治療として認知されるまでに至っている（非特許文献1）。

[0005] しかしながら、術後補助化学療法が奏功するか否かは患者の遺伝的要因によるところが大きいため実際に抗腫瘍剤を投与してみなければわからないといった問題があった。そこで、抗腫瘍剤の投与前に、その抗腫瘍剤が奏効す

るかどうか予測するバイオマーカーの探索が盛んに行われている。胃癌患者に対する T S - 1 を単独で用いた術後補助化学療法においては、T S、D P D（非特許文献2）、E R C C 1（非特許文献3）、E G F R（非特許文献4）がバイオマーカーとなる可能性が示唆されている。一方、H E R 2は、タンパク質の発現量と治療効果に相関が認められなかったことが報告されている（非特許文献4、5）。

[0006] 以上のとおり、胃癌に対する術後補助化学療法が精力的に開発されているが、現状においてその治療効果は満足できるものではない。

先行技術文献

非特許文献

[0007] 非特許文献1：N E n g l J M e d. 2007；357（18）：1810-20.

非特許文献2：J C l i n O n c o l. 2012；30（Suppl. 4；a b s t r 52）

非特許文献3：J C l i n O n c o l. 2012；30（Suppl. 4；a b s t r 53），

非特許文献4：J C l i n O n c o l. 2011；29（Suppl；a b s t r 4013）

非特許文献5：J C l i n O n c o l. 2011；29（Suppl；a b s t r e 14501）

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、胃癌患者に対して、強い延命効果を奏し、且つ副作用が少ない化学療法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、胃癌患者に対する化学療法について研究を重ねた結果、H E R 2 m R N Aの発現量が中央値未満の場合、テガフル・ギメラシル・

オテラシルカリウム配合剤を単独で用いる化学療法が奏効しやすいこと、及びHER2 mRNAの発現量が中央値以上の場合、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法が奏効しやすいことを見出し、本発明は完成に至った。

[0010] なお、切除不能進行・再発胃癌の患者を対象に行われたT o G A試験では、HER2が高発現の患者（IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが3+である患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つFISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陽性である患者）において、5-FU又はカペシタビンとシスプラチンの併用化学療法に対するトラスツズマブの上乗せ効果が示唆されている（Lancet, 2010; 376(9742): 687-97.）。しかしながら、非特許文献4及び5のとおり、胃癌患者に対するTS-1を用いた術後補助化学療法においては、HER2タンパク質が高発現している群と低発現している群の間で治療効果に有意な差が無く、トラスツズマブの上乗せ効果が低いことが示唆されている。

[0011] また、胃癌患者に対するTS-1を用いた術後補助化学療法では、HER2 mRNAの発現量が中央値以上の患者においてトラスツズマブの上乗せ効果があること、特に上乗せ効果が期待できないため、トラスツズマブが投与されていなかったT o G A試験の判定法におけるHER2が低発現の患者（IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが0又は1+である患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つFISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である患者）であって、且つHER2 mRNAの発現量が中央値以上の患者においてトラスツズマブの上乗せ効果があることは知られていない。

[0012] すなわち本発明は、以下の態様を含む。

[0013] 項1.

下記工程（1）～（3）を含む、胃癌患者におけるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法の治療効果を予測する方法

:

(1) 該患者から採取された生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量を測定する工程、

(2) 上記工程(1)で得られたHER2 mRNAの発現量を、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び

(3) 上記工程(2)における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント以上の場合、該患者に対してテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測し、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント未満の場合、該患者に対するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する工程。

[0014] 項2.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項1記載の方法。

[0015] 項3.

HER2阻害剤が、トラスツズマブである項1又は2に記載の方法。

[0016] 項4.

化学療法が、術後補助化学療法である項1～3のいずれか1項記載の方法。

[0017] 項5.

胃癌患者が、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが0又は1+である患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である患者である項1～4のいずれか1項記載の方法。

[0018] 項6.

項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及び H E R 2 阻害剤を併用した化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及び H E R 2 阻害剤からなる抗腫瘍剤。

[0019] 項 7.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項 6 記載の抗腫瘍剤。

[0020] 項 8.

H E R 2 阻害剤が、トラスツズマブである項 6 又は 7 に記載の抗腫瘍剤。

[0021] 項 9.

項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤からなる抗腫瘍剤。

[0022] 項 10.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項 9 記載の抗腫瘍剤。

[0023] 項 11.

術後補助化学療法に用いるための、項 6 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の抗腫瘍剤。

[0024] 項 12.

下記工程（1）～（3）を含む、胃癌の治療方法：

（1）胃癌患者から採取された生体試料に含まれる H E R 2 mRNA の発現量を測定する工程、

（2）上記工程（1）で得られた H E R 2 mRNA の発現量を、予め設

定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び

(3) 上記工程(2)における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント以上の場合、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法を実施する工程。

[0025] 項13.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項12記載の方法。

[0026] 項14.

下記工程(1)～(3)を含む、胃癌の治療方法：

(1) 胃癌患者から採取された生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量を測定する工程、

(2) 上記工程(1)で得られたHER2 mRNAの発現量を、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び

(3) 上記工程(2)における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント未満の場合、該患者に対するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を実施する工程。

[0027] 項15.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項14記載の方法。

[0028] 項16.

HER2阻害剤が、トラスツズマブである項14又は15に記載の方法。

[0029] 項17.

化学療法が、術後補助化学療法である項12～16のいずれか1項記載の方法。

[0030] 項 1 8.

胃癌患者が、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが0又は1+である患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である患者である項12～17のいずれか1項記載の方法。

[0031] 項 1 9.

項1～5のいずれか1項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる抗腫瘍剤を製造するための、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤の使用。

[0032] 項 2 0.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項19記載の使用。

[0033] 項 2 1.

HER2阻害剤が、トラスツズマブである項19又は20に記載の使用。

[0034] 項 2 2.

項1～5のいずれか1項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる抗腫瘍剤を製造するための、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の使用。

[0035] 項 2 3.

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である項22記載の使用。

[0036] 項 2 4.

術後補助化学療法に用いるための、項19～23のいずれか1項に記載の使用。

[0037] 項25.

配列番号3に示す塩基配列からなるプライマー、配列番号4に示す塩基配列からなるプライマー、及び配列番号5に示す塩基配列からなるのプローブを含む胃癌患者におけるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法の治療効果を予測するための試薬。

発明の効果

[0038] 本発明の予測方法は、胃癌患者においてより延命効果の高い化学療法の選択を可能にするものである。つまり、胃癌におけるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤単剤による化学療法では相対的に延命効果が低い患者に対し、強い延命効果を奏するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤の併用化学療法を提供することができる。

[0039] また、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤の併用化学療法よりも、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤単剤の化学療法の方が高い治療効果を示す胃癌患者においては、不要なHER2阻害剤を省くことができるため、HER2阻害剤に起因する副作用を軽減できると共に、医療経済的にも好ましい。

図面の簡単な説明

[0040] [図1]HER2のIHCスコア(IHC score)とHER2 mRNAの発現量(HER2/ACTB, log2変換値(ratio))を示す。群ごとに、症例数及びHER2 mRNAの発現量の中央値(median、HER2/ACTB)を併せて示す。

[図2]免疫組織化学染色法(IHC法)により、ヒト胃癌由来株GC1YのHER2タンパク質の発現量を測定した結果を示す。

[図3]TS-1およびHerceptin併用効果を、薬剤非投与対照群の腫瘍体積に対する薬剤投与群の腫瘍体積の縮小割合(腫瘍体積増加比率(R e

l a t i v e T u m o r V o l u m e, R T V)) の平均値 (m e a n) により示す。図中、**は、薬剤非投与対照群 (C o n t r o l) に対する有意差ありを示す ($P < 0.01$ 、A s p i n - W e l c h の t 検定 (A s p i n - W e l c h ' s t t e s t)) 。##は、全比較対に対する有意差あり (全比較対で得られる有意水準の最大値が $P < 0.01$ (O v e r a l l m a x i m a l $P < 0.01$) 、 I n t e r s e c t i o n U n i o n t e s t) を示す。

発明を実施するための形態

[0041] (i) 本発明の予測方法

本発明の予測方法は、胃癌患者においてテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法が十分な治療効果を示すか否かを、当該患者のHER2の発現量に基づき予測するものである。

[0042] 本発明において指標であるHER2は、別名ERBB2とも呼ばれ、上皮成長因子受容体ファミリーに属するチロシンキナーゼ型の受容体タンパク質であり、細胞膜を貫通して存在している。上皮成長因子のシグナルを伝達して細胞の増殖や成長を制御しており、乳癌、胃癌など多くの癌腫で過剰発現していることが知られている。ヒトHER2の塩基配列及びアミノ酸配列は、それぞれアクセッション番号NM004448.2及びNP004439.2としてGenBankに登録されており、本発明においては、これらの配列情報を利用することができる。好ましくは、本発明においてヒトHER2の塩基配列及びアミノ酸配列はそれぞれ、配列番号1及び配列番号2で示され、これを利用することができる。

[0043] 本発明の対象となる患者は、胃癌患者である。本発明において「胃癌」には、原発性胃癌のほか、局所的に再発した胃癌や他の組織（例えば、リンパ節）に転移した転移性胃癌も含まれるが、好ましくは原発性胃癌である。なお、ここで胃癌患者には、胃癌腫瘍組織を現に有する患者のみならず、胃癌腫瘍組織の切除を受けた患者も含む。

[0044] また、本発明の対象となる患者は、IHC法によるHER2タンパク質の

判定スコアが0又は1+である胃癌患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である胃癌患者が好ましく、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが0又は1+である胃癌患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つFISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である胃癌患者がより好ましく、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが1+である胃癌患者が特に好ましい。

[0045] IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアは、IHC法によるHER2検査を行い、HER2タンパクの発現強度を評価することで求めることができる。ここでIHC法 (Immunohistochemistry) とは、抗原抗体反応により目的のタンパク質を検出し、タンパク質の発現強度を判定する免疫組織化学染色方法である。IHC法の判定スコアはHER2タンパク質の発現強度に応じて0、1+、2+、3+の4段階で示される (Histopathology 2008; 52: 797-805.)。IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアは、通常公知の手法に基づき汎用される抗HER2抗体を用いた検査により求めることができる。当該検査は、市販されている検査キット (例えば、HercepTest™ キット (DACO社製)) を用いて行うこともできる。

[0046] また、ISH法によるHER2遺伝子の判定スコアは、ISH法によるHER2検査を行い、HER2遺伝子のコピー数を評価することで求めることができる。ISH法 (in situ hybridization) とは、プローブを用い目的の遺伝子とハイブリダイゼーションさせ、遺伝子の増幅を検出する方法であり、蛍光プローブを用いるFISH法 (Fluorescence in situ hybridization)、2種類の標識プローブを用いるDISH法 (Dual color in situ hybridization)、DAB等の色素で標識したプローブを用いるCISH法 (Chromogen in situ hybridization) などが使用でき、好ましくFISH法及びDISH法である。

I S H法の判定スコアはH E R 2 遺伝子のコピー数に応じて陽性、陰性の2段階で示される (H i s t o p a t h o l o g y 2 0 0 8 ; 5 2 : 7 9 7 - 8 0 5 .) 。

[0047] F I S H法によるH E R 2 遺伝子の判定スコアは、通常公知の手法に基づき汎用されるH E R 2 遺伝子とハイブリダイズする蛍光プローブを用いた検査により求めることができる。当該検査は、市販されている検査キット (例えば、p h a r m D x TMキット (D A C O社製)) を用いて行うこともできる。

[0048] D I S H法によるH E R 2 遺伝子の判定スコアは、通常公知の手法に基づき汎用されるH E R 2 遺伝子とハイブリダイズする2種のプローブを用いた検査により求めることができる。当該検査は、市販されている検査キット (例えば、ベンタナ インフォーム D U A L I S H H E R 2 キット (ロシュ・ダイアグノスティックス社製)) を用いて行うこともできる。

[0049] 本発明における「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤」とは、テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3剤配合剤を意味する。「テガフル」 (一般名、化学名: 5-フルオロ-1-(2-テトラヒドロフリル)-2, 4-(1H, 3H)-ピリミジンジオン) とは公知の化合物であり、生体内で活性化を受けて抗腫瘍活性の本体である5-フルオロウラシルを放出する薬剤である。テガフルは、公知の方法、例えば特公昭49-10510号に記載されている方法に従って製造できる。

[0050] また、「ギメラシル」 (一般名、化学名: 2, 4-ジヒドロキシー5-クロロピリジン) も、公知の化合物であり、それ自身は抗腫瘍活性を有さないが、5-フルオロウラシルが生体内において代謝されて不活性化されることを抑制するものであり、抗腫瘍効果を増強させることができる。

[0051] また、「オテラシルカリウム」 (一般名、化学名: モノポタシウム 1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-2, 4-ジオキソ-1, 3, 5-トリアジン-6-カルボキシレート) も公知の化合物であり、それ自身は抗腫瘍活性を有さないが、主に消化管に分布してその部位での5-フルオロウラシルの活性

化を抑制することにより消化管障害を抑制するものである。

[0052] 本発明における「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤」の各有効成分の割合は、それぞれの配合目的を奏する範囲であれば特に制限されず、例えば、日本国特許第2614164号公報に記載されている公知の配合剤と同様の範囲で良く、テガフル1モルに対して、ギメラシルを0.1～5モル程度、好ましくは0.2～1.5モル程度とすればよく、オテラシルカリウムを0.1～5モル程度、好ましくは0.2～2モル程度とすればよい。特に好ましくは、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム（モル比）＝1：0.4：1である。なお、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム（モル比）＝1：0.4：1のテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤は、「ティーエスワン」（商品名、大鵬薬品工業）として入手することができる。

[0053] 本発明における「HER2阻害剤」は、HER2の発現や活性を阻害する薬剤であれば特に制限されず、ラパチニブ等のHER2を標的とした低分子化合物、トラスツズマブ、ペルツズマブ等の抗HER2抗体、HER2に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA、shRNA、miRNA、アプタマー等のいずれであってもよく、このうち抗HER2抗体が好ましく、トラスツズマブが特に好ましい。

[0054] 「トラスツズマブ」とは、HER2を特異的に認識するヒト化モノクローナル抗体であり、抗体依存性細胞障害作用（ADCC）により抗腫瘍効果を発揮する。HER2が過剰発現した乳癌や胃癌に奏効することが知られている。なお、トラスツズマブは、公知の方法、例えば日本国特許第3040121号公報や日本国特許第4124480号公報に記載の方法により製造できる。市販品（「ハーセプチン」（商品名、中外製薬））を使用しても良い。

[0055] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤は、テガフル、ギメラシル、オテラシルカリウム及びHER2阻害剤を配合剤（複数の有効成分を含有する製剤）として一の剤型に製剤化したもの（

1 剤型形態) でも、上記有効成分を単剤として複数の剤型に製剤化したもの (多剤型形態) であってもよい。このうち、テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムは配合剤として製剤化し、HER2 阻害剤は単剤として製剤化した多剤型形態で用いることが好ましい。

[0056] 抗腫瘍剤の投与形態に特に制限は無く、治療目的に応じて適宜選択でき、具体的には経口剤 (錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤など)、注射剤、坐剤、貼付剤、軟膏剤等が例示できる。このうち、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤は経口剤の形態が好ましい。各抗腫瘍剤は、それぞれの投与形態に応じ薬理学的に許容される担体を用いて、通常公知の方法により調製することができる。斯かる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、希釈剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、pH調整剤、緩衝剤、安定化剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤等を例示できる。

[0057] 本発明における「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法」とは、少なくともテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を投与する化学療法を意味し、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法のみならず、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤と他の抗腫瘍剤を併用した化学療法をも含むものである。

[0058] また、「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2 阻害剤を併用した化学療法」とは、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2 阻害剤を組み合わせることを含む化学療法を意味し、より好ましくは、モル比がテガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム=1：0.4：1であるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤、及びHER2 阻害剤を組み合わせることを含む化学療法であり、特に好ましくは、モル比がテガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム=1：0.4：1であるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤、及びトラスツズマブを組み合わせることを含む化

学療法である。その併用効果の存する限り、上記薬剤は同時に投与されても、異なる日時に投与されてもよい。

[0059] 本発明の「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法」における投与スケジュールは患者の年齢、性別、病期、転移の有無、治療暦などの条件により適宜選択されるが、例えば、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤（テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム（モル比）＝1：0.4：1）を $80\text{ mg}/\text{m}^2$ （テガフル換算、体表面積あたり）／day、4週間連日投与し、その後2週間休薬する計6週間を1コースとして、当該コースを1回又は複数回繰り返す投与スケジュールが例示できる。

[0060] 本発明の「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法」における投与スケジュールは患者の年齢、性別、病期、転移の有無、治療暦などの条件により適宜選択されるが、例えば、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤（テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム（モル比）＝1：0.4：1）を $80\text{ mg}/\text{m}^2$ （テガフル換算、体表面積あたり）／day、4週間連日投与し、その後2週間休薬し、トラスツズマブを $2\text{ mg}/\text{kg}$ で1週間毎（計6回）に投与する計6週間を1コースとして、当該コースを1回又は複数回繰り返す投与スケジュール（ただし、各コースの初日におけるトラスツズマブの投与量は $4\text{ mg}/\text{kg}$ とする）が例示できる。

[0061] 本発明における化学療法は、当該化学療法の後に腫瘍の摘出を行う術前補助化学療法であっても、腫瘍の摘出の後に当該化学療法を行う術後補助化学療法であってもよい。

[0062] 本発明において「治療効果」は、腫瘍縮小効果や生存期間延長効果などにより評価することができ、生存期間は全生存期間や無増悪生存期間の中央値などにより表すことができる。「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法を選択するのに十分な治療効果」とは、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独

で用いた化学療法による治療効果を上回る程度の治療効果をいい、「テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を選択するのに十分な治療効果」とは、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法による治療効果を上回る程度の治療効果をいう。

[0063] 本発明の予測方法は、後述の（１）～（３）の工程を含むものである。

[0064] 工程（１）は、患者から採取された生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量を測定する工程である。

[0065] 生体試料としては、癌患者から採取したものであり癌細胞を含む試料であれば特に限定されず、体液（血液、尿等）、組織、その抽出物及び採取した組織の培養物などが例示でき、組織が好ましい。また、生体試料の採取方法は、生体試料の種類に応じ適宜選択することができる。入手の容易さ及び癌細胞を多く含むとの観点から、癌患者から手術摘出した胃癌腫瘍組織を好適である。生体試料は、HER2 mRNAの発現量を測定することができる限り、ホルマリン固定パラフィン包埋病理標本などの保存処理を施した病理検査標本であってもよい。

[0066] 本発明の測定方法は、mRNAの量を定量できる測定方法であれば特に限定されず、公知の測定方法を使用することができる。このような測定方法としては、例えばPCR法、RT-PCR法、ノーザンブロット法、FISH法、マイクロアレイ法、DTP法（Danenberg Tumor Profile法）等が挙げられる。このうち簡便性等の観点からDTP法が好ましい。DTP法は、通常の病理検査標本であるホルマリン固定パラフィン包埋病理標本の腫瘍部位から効率よくmRNAを抽出し、TaqMan™ PCR法により発現量を測定する方法である（米国特許第6248535号）。

[0067] 生体試料は、これらの測定方法に応じて、適切な処理をされることにより調製される。また、測定に用いられるプライマー又はプローブを含む試薬として、後述される本発明に係る試薬を用いることができる。

[0068] 工程(2)は、上記工程(1)で得られたHER2の発現量を、予め設定したカットオフポイントと比較する工程である。カットオフポイントは、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値である。

[0069] より具体的には、配列番号3及び4のプライマーと配列番号5のプロープを用いてDTP法により測定した場合、0.0503(内部標準遺伝子ACTBにより正規化した値)、プライマー・プロープとしてHs00170433_m1(Applied Biosystems製)を用いてTaqMan™ Low Density Arrayにより測定した場合、0.0437(内部標準遺伝子(ACTB、GAPDH、RPLP0)の幾何平均により補正した値)が例示できる。「ACTB」はβアクチン遺伝子、「GAPDH」はGlyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase遺伝子、「RPLP0」はRibosomal protein LPO遺伝子をそれぞれ示す。

[0070] 工程(3)は、上記工程(2)における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイントよりも高い場合、該患者に対してテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測し、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント以下の場合、該患者に対するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する工程である。

[0071] (ii) 本発明の試薬

本発明の試薬は、上記の本発明の予測方法に用いるための試薬であり、HER2 mRNAと特異的にハイブリダイズするプライマー及び／又はプロープを含むものである。

[0072] 本発明のプライマー又はプロープは、配列番号1に示される塩基配列内の少なくとも15塩基長の連続した塩基配列と特異的にハイブリダイズする、

15塩基長以上の塩基配列を有するポリヌクレオチドからなるプローブ又はプライマーである。かかるプライマー又はプローブの配列長は15塩基長以上であるが、HER2のmRNAと特異的にハイブリダイズするものであれば特に制限されるものではない。プライマー及びプローブの好ましい配列長は、15～30塩基長、好ましくは16～25塩基長である。具体的には、プライマーの塩基配列としては配列番号3及び配列番号4に示される塩基配列が好ましく、プローブの塩基配列としては配列番号5に示される塩基配列が好ましい。プローブは蛍光プローブが好ましい。中でも、ポリヌクレオチドの5'末端に6-カルボキシフルオロセイン(FAM)、テトラクロロフルオレセイン(TET)などの蛍光化合物が結合し、3'末端にテトラメチルローダミン(TAMRA)などのクエンチャー化合物がそれぞれ結合した、TaqMan™PCR法に用いることができるプローブが特に好ましい。

[0073] ここで特異的にハイブリダイズするとは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下において、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ことをいう。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、常法に従ってハイブリッドを形成する核酸の融解温度(T_m)などに基づいて決定することができる。具体的なハイブリダイズ状態を維持できる洗浄条件として通常「 $1\times$ SSC、0.1%SDS、 37°C 」程度の条件、より厳格には「 $0.5\times$ SSC、0.1%SDS、 42°C 」程度の条件、さらに厳格には「 $0.1\times$ SSC、0.1%SDS、 65°C 」程度の条件が挙げられる。

[0074] なお、ポリヌクレオチドは、配列番号1に示される塩基配列の少なくとも15塩基長の連続する塩基配列に対して相補的な塩基配列を有することが好ましいが、上記特異的なハイブリダイゼーションが可能であれば、完全に相補的である必要はない。かかるポリヌクレオチドとして、好ましくは配列番号1に示される塩基配列において連続する少なくとも15塩基以上の塩基配列からなるポリヌクレオチド又はその相補ポリヌクレオチドと比較して、塩

基配列において70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは98%以上の同一性を有するポリヌクレオチドである。ここで、塩基配列の同一性は、同一性検索、配列アラインメントプログラム、BLAST、FASTA、Clustal Wなどにて計算することができる。

[0075] なお、これらのポリヌクレオチドは、配列番号1に示される塩基配列の全塩基長に基づいて、例えば市販のヌクレオチド合成機によって常法に従って作製することができる。また配列番号1に示される塩基配列の全塩基長を鋳型としてPCR法によって調製することもできる。

[0076] [実施例]

以下、本発明を実施例に基づきより詳細に説明するが、本発明がこれら実施例に限定されないことはいうまでもない。

[0077] 〔実施例1〕胃癌患者におけるHER2発現量

ステージⅠⅠ～ⅠⅠⅠの胃癌患者（1059例）において、胃癌腫瘍組織を切除した後、手術単独群とTS-1治療群に分けて、TS-1治療群においては、TS-1を80～120mg/day（テガフル換算、体表面積1.25m²未満：80mg/day、1.25m²以上1.5m²未満；100mg/day、1.5m²以上；120mg/day）、4週間連日投与し、その後2週間休薬する計6週間を1コースとして、当該コースを術後1年間繰り返し実施した。

[0078] 全症例のうち、手術摘出した胃癌腫瘍組織からホルマリン固定パラフィン包埋病理標本を作成できた809例において、パラフィン包埋病理標本からIHC法によってHER2タンパク質の発現量を測定し、配列番号3及び配列番号4のプライマー及び配列番号5のプロブ（Hs00170433__m1、Applied Biosystems製）を用いたTaqManTM PCR法によってHER2 mRNAの発現量を測定した（DTP法）。また、DISH法によってHER2遺伝子の増幅を測定した。HER2のIHCスコア及びDISH法により測定されるHER2遺伝子の増幅の有無に

に基づき、全症例を群分けした（0、1+、2+／DISH（-）、2+／DISH（+）、3+）。

[0079] 図1にHER2のIHCスコアとHER2 mRNAの発現量（HER2／ACTB、 $\times 1000$ 、 $\log_2$ 変換値）を示す。なお、全症例におけるHER2 mRNAの発現量（HER2／ACTB、 $\times 1000$ ）の中央値は、0.0503であった（ $\log_2$ 変換値では-4.31）。

[0080] 〔実施例2〕TS-1（S-1）の治療効果とHER2 mRNA発現量の関係

次に、TS-1（S-1）投与群（413例）において、ホルマリン固定パラフィン包埋病理標本から抽出したRNAから逆転写によりcDNAを作成し、TaqMan™ Low-density array（Applied Biosystems製）を用いて、HER2 mRNAの発現量を測定した。なお、プライマー及びプローブはHs00170433_m1（Applied Biosystems製）を使用した。TS-1（S-1）投与群におけるHER2 mRNA発現量の中央値を計算すると、0.0439（ACTB、GAPDH、RPLP0の幾何平均により補正した値）であった。

[0081] 続いて、この値をカットオフポイントとして、HER2 mRNAの発現量が中央値未満の患者を低発現群、中央値以上の患者を高発現群に分類し、各群における全生存期間を用い生存時間解析を実施した。

[0082] その結果、TS-1（S-1）投与群において、低発現群（5年生存率：77.7%）は、高発現群（5年生存率：69.5%）と比べ、統計上有意に予後が良好であった（LogRank Test $P=0.047$ ）。

[0083] また、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが0又は1+である患者、及びIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つDISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である患者を低発現群に、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが3+である患者、及びIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つD

I S H法によるH E R 2 遺伝子の判定スコアが陽性である患者を高発現群に分類し、各群における全生存期間を用い生存時間解析を実施した。その結果、低発現群と高発現群において全生存期間に統計上有意な差はなかった。

[0084] 以上から、胃癌患者に対する術後補助化学療法として、H E R 2 m R N Aの発現に関わらずT S - 1 が有効であることが示されたが、H E R 2 m R N Aの低発現群においてはT S - 1 が特に有効であり、H E R 2 m R N Aの高発現群においては、T S - 1に加えて、高発現しているH E R 2を阻害する薬剤を併用させたほうが良いことが示唆された。

[0085] 〔実施例3〕 H E R 2 発現ヒト胃癌株を用いたT S - 1 およびH e r c e p t i n 併用効果の検証

（1）ヒト胃癌由来株G C I Y

ヒト胃癌由来株G C I YのH E R 2 タンパク質の発現量を免疫組織化学染色法（I H C法）により測定した。I H C法による測定は、下記の操作を順次行った：ホルマリン固定パラフィン包埋したG C I Yの薄切切片を脱パラフィン処理；D a k o R E A L P e r o x i d a s e - B l o c k i n g S o l u t i o nを用いて内因性ペルオキシダーゼの阻止；一次抗体反応（抗ヒトH E R 2 ウサギモノクローナル抗体（4 B 5））；ビオチン標識抗ウサギI g Gヤギポリクローナル抗体、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを用いた二次抗体反応；及び発色基質（3 , 3' -D i a m i n o b e n z i d i n e T e t r a h y d r o c h l o r i d e + C H R O M O G E N : D a k o 社製）にて発色。結果を図2に示す。I H C法において、G C I Y株が、I H Cスコア1+に相当するH E R 2 タンパク質が低～中程度の発現株であることを確認した。

[0086] （2）ヒト胃癌株のヌードマウス皮下移植モデル

胃癌におけるT S - 1 及びハーセプチン（トラスツズマブ）併用化学療法の有用性を検証すべく、ヒト胃癌株のヌードマウス皮下移植モデルでのi n v i v o 効力試験を実施した。ヌードマウス皮下移植モデルの作製は、ヒト胃癌由来株G C I Yを用いる以外は、W O 2 0 1 1 / 1 5 2 5 1 6 号公報

に記載の方法に準じて行った。

[0087] ヒト胃癌由来GC1Y腫瘍を常法に則りヌードマウス皮下に移植した。TS-1 (S-1) 投与群として、TS-1を10mg/kg/dayにてDay 1-28まで連日経口投与を行った (n=8)。ハーセプチン (Herceptin) 投与群として、ハーセプチンを20mg/kgの投与量 (トラスツズマブ量として。) にて、day 1, 8, 15及び22に腹腔内投与を行った (n=8)。また、薬剤併用 (Combination) 群として、単独投与と同様の投与量、投与経路、投与スケジュールにてTS-1及びハーセプチンを併用投与した (n=8)。経日的に腫瘍の長径と短径をデジタルノギスにて測定することにより腫瘍体積 (長径×短径²÷2) を算出し、群分け日の腫瘍堆積に対する各群の相対腫瘍体積 (Relative Tumor Volume, RTV) を算出した。同時に、副作用の指標として体重を計測した。薬剤非投与対照群 (n=8) の平均相対腫瘍体積に対する薬剤投与群の平均相対腫瘍体積の縮小割合を計算で求め、in vivo 効力とした。

[0088] 図3にRTVの経日的な変化を示す。Day 29単独投与における腫瘍増殖抑制効果はTS-1 10mg/kg/dayでは29%、ハーセプチン単独投与では25%であったのに対し、両者を併用することによりその抑制効果は54%と増強することが確認できた。また単独投与での効力、および併用投与での効力については、Intersection-Union test手順により統計学的に検定を行い、その有意性を確認できた。すなわち、TS-1 (S-1) とハーセプチンの併用はTS-1 (S-1) およびハーセプチン単剤での治療に比べ、有意な併用効果を認めた。さらに、フラクションプロダクトコンセプトによる相乗効果判定によれば、両者の併用効果は相乗的であると推定された。体重を指標とした副作用面での検討においては、ハーセプチンとTS-1併用群での体重抑制は認められず十分許容されるものであった。

[0089] 以上から、上乘せ効果が期待できないため、ハーセプチンが投与されてい

なかったT o G A試験の判定法におけるH E R 2が低発現の患者（特にI H C法によるH E R 2タンパク質の判定スコアが1 +の患者）において、ハーセプチンはT S - 1（S - 1）に対する優れた上乗せ効果を有することが示された。

請求の範囲

- [請求項1] 下記工程（１）～（３）を含む、胃癌患者におけるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法の治療効果を予測する方法：
- （１）該患者から採取された生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量を測定する工程、
- （２）上記工程（１）で得られたHER2 mRNAの発現量を、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び
- （３）上記工程（２）における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント以上の場合、該患者に対してテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測し、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント未満の場合、該患者に対するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を選択するのに十分な治療効果を示す可能性が高いと予測する工程。
- [請求項2] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝１：０．４：１である請求項１記載の方法。
- [請求項3] HER2阻害剤が、トラスツズマブである請求項１又は２に記載の方法。
- [請求項4] 化学療法が、術後補助化学療法である請求項１～３のいずれか１項記載の方法。
- [請求項5] 胃癌患者が、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが０又は１＋である患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが２＋であり且つISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である患者である請求項１～４のいずれか１項記載の方法。

- [請求項6] 請求項1～5のいずれか1項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤からなる抗腫瘍剤。
- [請求項7] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である請求項6記載の抗腫瘍剤。
- [請求項8] HER2阻害剤が、トラスツズマブである請求項6又は7に記載の抗腫瘍剤。
- [請求項9] 請求項1～5のいずれか1項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤からなる抗腫瘍剤。
- [請求項10] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である請求項9記載の抗腫瘍剤。
- [請求項11] 術後補助化学療法に用いるための、請求項6～10のいずれか1項に記載の抗腫瘍剤。
- [請求項12] 下記工程（1）～（3）を含む、胃癌の治療方法：
- （1）胃癌患者から採取された生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量を測定する工程、
- （2）上記工程（1）で得られたHER2 mRNAの発現量を、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び
- （3）上記工程（2）における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント以上の場合、テガフル・ギメラシル

・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法を実施する工程。

[請求項13] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である請求項12記載の方法。

[請求項14] 下記工程（1）～（3）を含む、胃癌の治療方法：

（1）胃癌患者から採取された生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量を測定する工程、

（2）上記工程（1）で得られたHER2 mRNAの発現量を、予め設定した胃癌患者の生体試料に含まれるHER2 mRNAの発現量の中央値であるカットオフポイントと比較する工程、及び

（3）上記工程（2）における比較の結果、HER2 mRNAの発現量が該カットオフポイント未満の場合、該患者に対するテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法を実施する工程。

[請求項15] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である請求項14記載の方法。

[請求項16] HER2阻害剤が、トラスツズマブである請求項14又は15に記載の方法。

[請求項17] 化学療法が、術後補助化学療法である請求項12～16のいずれか1項記載の方法。

[請求項18] 胃癌患者が、IHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが0又は1+である患者、又はIHC法によるHER2タンパク質の判定スコアが2+であり且つISH法によるHER2遺伝子の判定スコアが陰性である患者である請求項12～17のいずれか1項記載の方法。

[請求項19] 請求項1～5のいずれか1項に記載の方法において、テガフル・

ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤を併用した化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる抗腫瘍剤を製造するための、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤及びHER2阻害剤の使用。

[請求項20] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である請求項19記載の使用。

[請求項21] HER2阻害剤が、トラスツズマブである請求項19又は20に記載の使用。

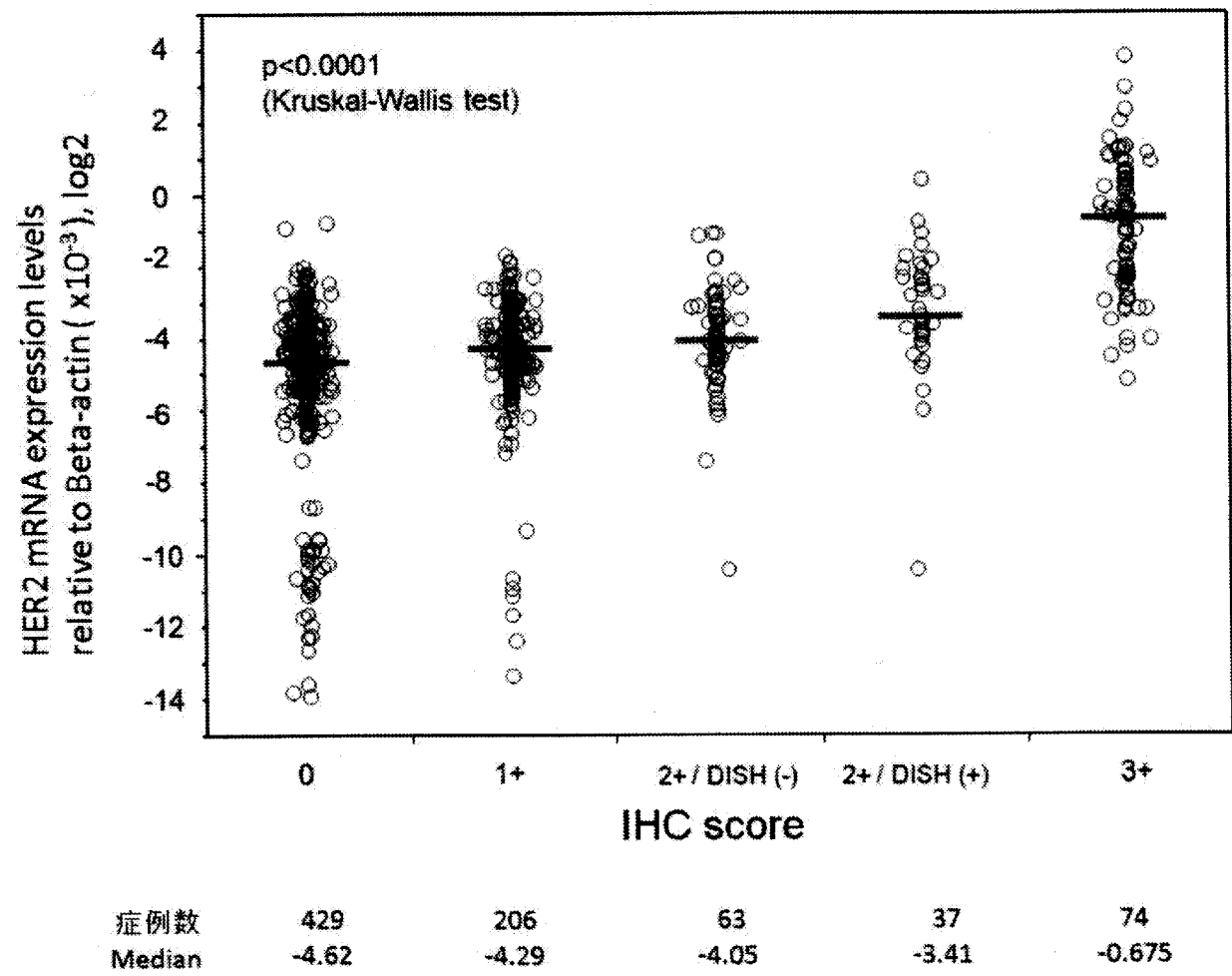
[請求項22] 請求項1～5のいずれか1項に記載の方法において、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を単独で用いた化学療法が十分な治療効果を示す可能性が高いと予測された胃癌患者を治療するために用いる抗腫瘍剤を製造するための、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の使用。

[請求項23] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の各有効成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム＝1：0.4：1である請求項22記載の使用。

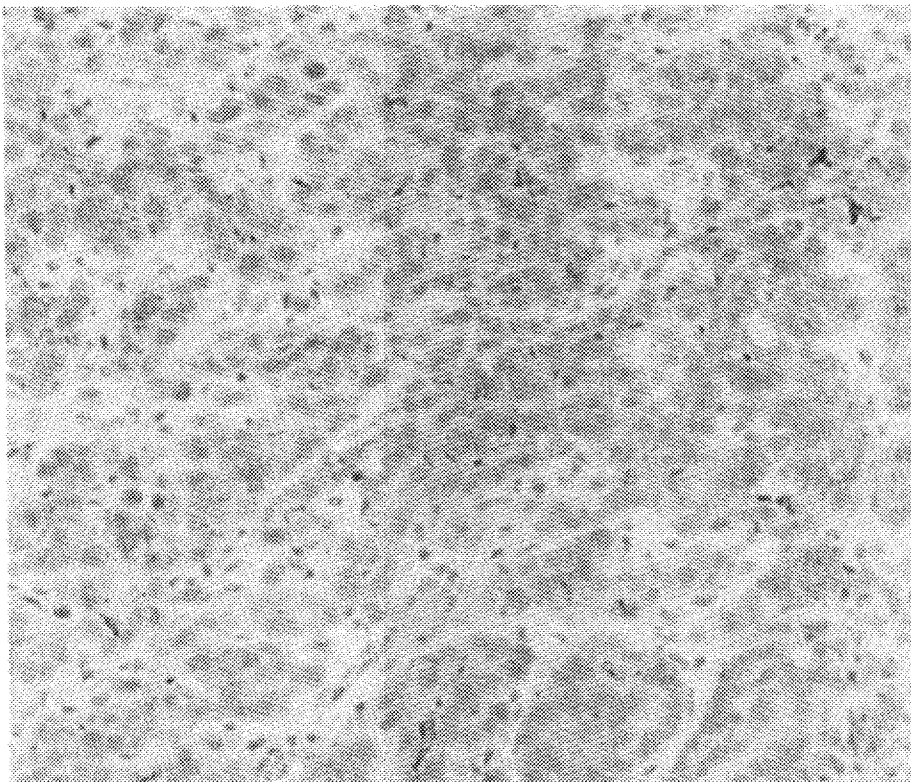
[請求項24] 術後補助化学療法に用いるための、請求項19～23のいずれか1項に記載の使用。

[請求項25] 配列番号3に示す塩基配列からなるプライマー、配列番号4に示す塩基配列からなるプライマー、及び配列番号5に示す塩基配列からなるプローブを含む、胃癌患者におけるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤を用いた化学療法の治療効果を予測するための試薬。

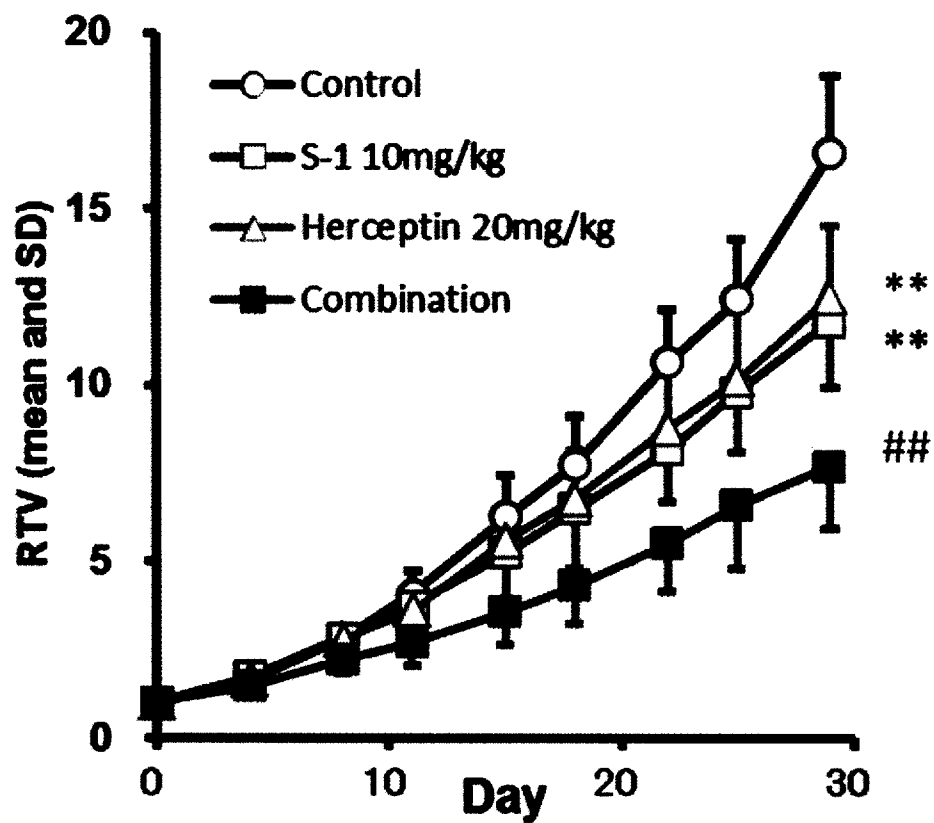
[図1]



[図2]



[図3]



Values are mean and SD of RTV (n = 8)

** P<0.01 v.s Control (Aspin-Welch's *t* test)

Overall maximal P<0.01 (Intersection Union test)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/065209

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q1/68(2006.01)i, A61K31/4412(2006.01)i, A61K31/513(2006.01)i,
A61K31/53(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i,
A61P35/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i,
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q1/68, A61K31/4412, A61K31/513, A61K31/53, A61K39/395, A61K45/00,
A61P35/00, C12N15/09, G01N33/53, G01N33/574

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

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

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII),
Thomson Innovation, GenBank/EMBL/DDBJ/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	TANIZAKI J., et al., Synergistic antitumor effect of S-1 and HER2-targeting agents in gastric cancer with HER2 amplification, Mol. Cancer Ther., 2010, vol.9, no.5, p.1198-1207	6-8, 19-21/ 1-11, 19-25
X	WO 1992/021345 A1 (TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 10 December 1992 (10.12.1992), & EP 0543015 A1 & US 05525603 A	9-11, 22-24
Y	JP 2004-536561 A (Response Genetics, Inc.), 09 December 2004 (09.12.2004), & WO 2002/044413 A2 & EP 1379686 A2 & US 2002/0192652 A1	1-11, 19-25

☒ 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
01 August, 2013 (01.08.13)

Date of mailing of the international search report
13 August, 2013 (13.08.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/065209

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SAEKI H., et al., Antitumor activity of a combination of trastuzumab (Herceptin) and oral fluoropyrimidine S-1 on human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing pancreatic cancer, Oncol. Rep., 2007, vol.18, no.2, p.433-439	1-11,19-25
A	Muneharu FIJISAKI et al., "Shinko Saihatsu Igan ni Taisuru Toka ni Okeru Trastuzumab no Shiyo Keiken", Journal of Japan Surgical Society, Mar-2012, vol.113, special extra issue(2), page 516(PS-012-1)	1-11,19-25
A	CUTSEM EV., et al., Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC), J. Clin. Oncol., 2009, vol.27, no.18S(June 20 Supplement), LBA4509	1-11,19-25
A	Kaoru OGURA et al., "HER2 Yosei Shinko Saihatsu Nyugan ni Taisuru Trastuzumab, S-1 Heiyo Ryoho no Chiryo Seiseki", The Journal of the Japan Society for Cancer Therapy, 2010, vol.45, no.2, page 977(PS074-02)	1-11,19-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/065209

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

G01N33/574(2006.01) i

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/065209

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 12-18
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions of claims 12 to 18 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））			
Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, A61K31/4412(2006.01)i, A61K31/513(2006.01)i, A61K31/53(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61K45/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））			
Int.Cl. C12Q1/68, A61K31/4412, A61K31/513, A61K31/53, A61K39/395, A61K45/00, A61P35/00, C12N15/09, G01N33/53, G01N33/574			
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			
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）			
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)、JSTplus/JMEDplus/JST7580(JDreamIII)、Thomson Innovation、GenBank/EMBL/DDBJ/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	TANIZAKI J., et al., Synergistic antitumor effect of S-1 and HER2-targeting agents in gastric cancer with HER2 amplification, Mol. Cancer Ther., 2010, vol.9, no.5, p.1198-1207	6-8, 19-21 / 1-11, 19-25	
X	WO 1992/021345 A1 (TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 1992.12.10 & EP 0543015 A1 & US 05525603 A	9-11, 22-24	
☒ 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 0 1 . 0 8 . 2 0 1 3		国際調査報告の発送日 1 3 . 0 8 . 2 0 1 3	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 池上 文緒 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8	4 B 3 7 6 5

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	JP 2004-536561 A (レスポンス ジェネティクス, インコーポレイティド) 2004.12.09 & WO 2002/044413 A2 & EP 1379686 A2 & US 2002/0192652 A1	1-11, 19-25
Y	SAEKI H., et al., Antitumor activity of a combination of trastuzumab (Herceptin) and oral fluoropyrimidine S-1 on human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing pancreatic cancer, Oncol. Rep., 2007, vol.18, no.2, p.433-439	1-11, 19-25
A	藤崎宗春ほか, 進行再発胃癌に対する当科における Trastuzumab の使用経験, 日本外科学会雑誌, Mar-2012, vol.113, 臨時増刊号(2), p.516(PS-012-1)	1-11, 19-25
A	CUTSEM EV., et al., Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC) , J. Clin. Oncol., 2009, vol.27, no.18S(June 20 Supplement), LBA4509	1-11, 19-25
A	小倉薫ほか, HER2 陽性進行再発乳癌に対する Trastuzumab, S-1 併用療法の治 療成績, 日本癌治療学会誌, 2010, vol.45, no.2, p.977(PS074-02)	1-11, 19-25

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（P C T 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求項 1 2 - 1 8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求項 1 2 乃至 1 8 に記載された発明は、治療による人体の処置方法に関するものであるから、PCT 第 17 条(2)(a)(i)及び PCT 規則 39.1(iv)により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求項 _____ は、従属請求の範囲であって P C T 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。