

(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  
2014年9月4日(04.09.2014)



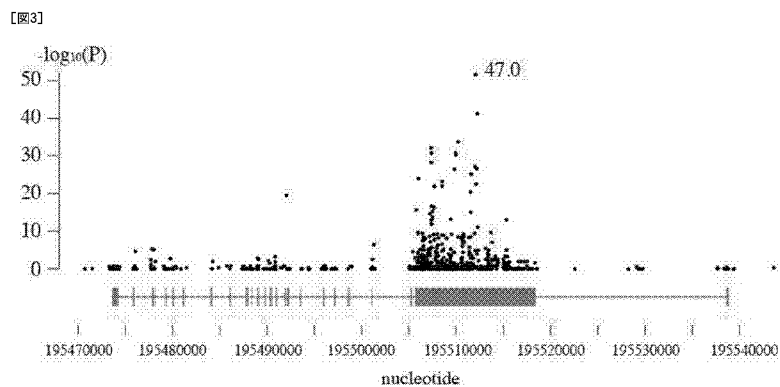
(10) 国際公開番号  
WO 2014/133055 A1

- (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/JP2014/054796
- (22) 国際出願日: 2014年2月27日(27.02.2014)
- (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 2013-041305 2013年3月1日(01.03.2013) JP
- (71) 出願人: 学校法人埼玉医科大学(SAITAMA MEDICAL UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒3500495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 Saitama (JP).
- (72) 発明者: 萩原 弘一 (HAGIWARA, Koichi); 〒3500495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人埼玉医科大学内 Saitama (JP). 宮澤 仁志 (MIYAZAWA, Hitoshi); 〒3500495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人埼玉医科大学内 Saitama (JP). 椎原 淳 (SHIHHARA, Jun); 〒3500495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人埼玉医科大学内 Saitama (JP). 田中 知明 (TANAKA, Tomoaki); 〒3500495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人埼玉医科大学内 Saitama (JP). 井上 慶明 (INOUE, Yoshiaki); 〒3500495 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38 学校法人埼玉医科大学内 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 南条 雅裕, 外(NANJO, Masahiro et al.); 〒1070052 東京都港区赤坂9-7-2-1416 東京ACTi国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, 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, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロパ (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).

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR EVALUATING SIDE-EFFECT ONSET RISK IN ANTICANCER DRUG TREATMENT, INCLUDING DETECTING MUC4 GENE POLYMORPHISM

(54) 発明の名称: MUC4 遺伝子多型を検出することを含む、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法



(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide an evaluation method and evaluation kit for evaluating the risk of onset of diffuse alveolar damage due to such factors as anticancer drug administration. The purpose of the present invention is also to provide a method for evaluating the risk of onset of side effects in anticancer drug treatment. An evaluation method and evaluation kit for evaluating the risk of onset of diffuse alveolar damage, including detecting gene polymorphism present in the MUC4 gene. A method for evaluating the risk of onset of side effects in anticancer drug treatment, including detecting gene polymorphism present in the MUC4 gene of a patient scheduled for anticancer drug administration.

(57) 要約: 抗癌剤の投与等に起因するびまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法および判定キットを提供することを目的とする。また、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法を提供することを目的とする。MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法および判定キットである。また、抗癌剤の投与が予定される患者における、MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法である。



WO 2014/133055 A1

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))

## 明 細 書

発明の名称：

**MUC4 遺伝子多型を検出することを含む、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法**

### 技術分野

[0001] 本発明は、(1) MUC4 遺伝子多型を検出することを含む、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法、(2) MUC4 遺伝子多型を検出することを含む、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法、および、(3) それらの判定に用いるキット、などに関する。

### 背景技術

[0002] イレッサ（一般名：ゲフィチニブ）やタルセバ（一般名：エルロチニブ）といった抗癌剤投与は、びまん性肺胞障害と呼ばれる重大な副作用を引き起こす場合がある。また、特発性肺線維症の急性増悪においても、びまん性肺胞障害と呼ばれる重大な副作用を引き起こす場合がある。びまん性肺胞障害は、治療に抵抗性を示し、また再発性があり、さらに治療中に増悪を繰り返して早期に悪化して重篤化するため、非常に注意が必要な症状の一つである。

[0003] このようなびまん性肺胞障害は、日本人において高頻度で発症していることが報告されている（非特許文献1）。例えば、ゲフィチニブによるケースは海外での調査における頻度は0.3%であるのに対し、日本人における頻度は3.98%と10倍以上の頻度となっている。また、エルロチニブによるケースは、アジア人を対象とした調査では0.2%であるのに対し、日本人を対象とした調査では2.7%であり、これも10倍以上の頻度となっている。また、特発性肺線維症患者において、他国より高頻度に急性増悪が起こり、高い致死率を示すことが報告されている（非特許文献2）。びまん性肺胞障害による日本人死者は、年間数千人に及ぶと推定されている。もっとも、日本人に限らず、海外においても、頻度はともかくとしても、薬剤の副

作用により死亡するケースが存在するという事は、重大な問題である。

## 先行技術文献

## 非特許文献

[0004] 非特許文献1：JMAJ (Japan Medical Association) 50巻107頁 (2007年)

非特許文献2：Am J Respir Crit Care Med. 177 (12) 巻1397頁-1398頁 (2008年)

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0005] 抗癌剤療法は、当然のことながら、癌を治療するために行われる。しかしながら、上述したように、抗癌剤投与に起因してびまん性肺胞障害となるケースが存在する。びまん性肺胞障害は、その重篤化の進行が早いことや、致死率が高いことから、抗癌剤投与に起因してびまん性肺胞障害となる発症リスクを事前に判定する方法が提供できれば、極めて有用である。なぜなら、本来、癌患者の命を救う目的で投与されるべき抗癌剤によって、皮肉にも、患者を死に至らしめることを未然に防ぐことができるからである。

[0006] また、抗癌剤投与に起因するびまん性肺胞障害に限らず、びまん性肺胞障害は、一般的に、その初期症状は通常の肺炎との区別がつきにくいいため、医療現場では、どちらの症状なのか初診時に判断できない場合が多く、その場合、肺炎とびまん性肺胞障害の両方の観点からの治療が行われている。びまん性肺胞障害は、その重篤化の進行が早いことや、致死率が高いことから、その初期症状が見られる時点において、びまん性肺胞障害の発症リスクを事前に判定する方法が提供できれば、極めて有用である。

[0007] しかしながら、これまでの世界中の研究機関の努力にもかかわらず、びまん性肺胞障害に関連する遺伝子多型は、何ら発見されなかった。したがって、いうまでもなく、びまん性肺胞障害と、極めて強い相関を有する遺伝子多型は、これまで、一切報告されていない。その理由は、数多くあると考えら

れるが、そのひとつの理由は、病状が急激に悪化し早期に死に至るため、患者からのサンプルの取得が困難であることが挙げられる。

[0008] そこで、本発明は、(1) MUC4 遺伝子多型を検出することを含む、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法、(2) MUC4 遺伝子多型を検出することを含む、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法、および、(3) それらの判定に用いるキット、を提供すること、などを目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0009] 上述の課題を解決するために、本発明は、以下の特徴を備える。

[0010] すなわち、本発明は、一態様において、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法であって、MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む判定方法に関する。

[0011] 本発明の一態様においては、前記「MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型」は、MUC4 遺伝子のエクソン2に存在する遺伝子多型であり得る。

[0012] 本発明の一態様においては、前記「MUC4 遺伝子のエクソン2に存在する遺伝子多型」は、以下の(1)から(6)よりなる群；

(1) rs150551454 (染色体3番、塩基番号195507491番目の塩基におけるC/T多型)、

(2) rs62282480 (染色体3番、塩基番号195510749番目の塩基におけるC/A多型)、

(3) rs2911272 (染色体3番、塩基番号195510773番目の塩基におけるA/G多型)、

(4) rs413807 (染色体3番、塩基番号195510827番目の塩基におけるC/T多型)、

(5) rs6805660 (染色体3番、塩基番号195512042番目の塩基におけるT/C多型)、および、

(6) rs62282486 (染色体3番、塩基配列195512245番目の塩基におけるT/C多型)

より選択される少なくとも一つの一塩基多型であり得る。

[0013] 本発明の一態様においては、前記「MUC4 遺伝子のエクソン2に存在する遺伝子多型」は、以下の(5)および(6)；

(5) rs6805660 (染色体3番、塩基番号195512042番目の塩基におけるT/C多型)、

(6) rs62282486 (染色体3番、塩基配列195512245番目の塩基におけるT/C多型)

の一塩基多型であり得る。

[0014] 本発明の一態様においては、前記びまん性肺胞障害は、薬剤の投与に起因するものであり得る。前記薬剤は、抗癌剤であり得る。そのような抗癌剤は、分子標的薬、代謝拮抗剤、および、微小管脱重合阻害薬からなる群より選択され得る。そのような抗癌剤の具体例としては、ゲフィチニブ、エルロチニブ、クリゾチニブ、ゲムシタビン、イリノテカン、ペメトレキセド、および、ドセタキセルが挙げられ得る。

[0015] 本発明の一態様においては、前記びまん性肺胞障害は、特発性肺線維症の急性増悪に起因するものであり得る。

[0016] また、本発明は、一態様において、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法であって、抗癌剤の投与が予定される患者における、MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む方法に関する。ここで、前記副作用は、びまん性肺胞障害であり得る。そのような抗癌剤の具体例としては、ゲフィチニブ、エルロチニブ、クリゾチニブ、ゲムシタビン、イリノテカン、ペメトレキセド、および、ドセタキセルが挙げられ得る。

[0017] また、本発明は、一態様において、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定キットであって、MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを特徴とする、判定キットに関する。

### 発明の効果

[0018] 本発明によれば、抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法を提供することができる。これにより、抗癌剤の投与前に、副作用の発症リスクを

判定することができ、適切な治療法を選択して、癌患者の命を救うことができる可能性がある。例えば、ある抗癌剤によって、びまん性肺胞障害という副作用の発症リスクが極めて高いことが判明した場合には、当該抗癌剤の投与を中止することや、低容量により投与することができる。また、当該抗癌剤の使用をすでに開始している患者に対しても、本発明の抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法は有用であり得る。

[0019] また、本発明によれば、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法および判定キットを提供することができる。これにより、びまん性肺胞障害の発症リスクを判定して、患者に対して適切な処置を行なうことが可能となる。

### 図面の簡単な説明

[0020] [図1]全遺伝子コード領域の変異に関する、「イレッサ | LD + タルセバ | LD」患者と一般日本人との間における関連解析を示す図である。

[図2]各多型が疫学データを満たす確率を示す図である。

[図3]MUC4領域の変異に関する、「イレッサ | LD + タルセバ | LD」患者と一般日本人との間における関連解析を示す図である。

[図4]全遺伝子コード領域の変異に関する、IPF急性増悪患者と一般日本人との間における関連解析を示す図である。

[図5]MUC4領域の変異に関する、IPF急性増悪患者と一般日本人との間における関連解析を示す図である。

### 発明を実施するための形態

[0021] 本発明は、MUC4遺伝子多型を検出することを含む、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法および判定キット、ならびに抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法に関する。

[0022] <びまん性肺胞障害>

びまん性肺胞障害 (DAD: diffuse alveolar damage) は、その最も特徴的な症状の一つとして、肺全体がただれた状態になる。

[0023] びまん性肺胞障害は、薬剤の投与に起因するものであり得る。また、びま

ん性肺胞障害は、特発性肺線維症の急性増悪に起因するものであり得る。

[0024] また、びまん性肺胞障害のその他の原因としては、以下のものが挙げられる。

- (1) 照射野以外の肺に広範に広がる放射線肺臓炎
- (2) 肺線維症合併患者への抗癌剤投与や手術後に見られる急速進行性間質性肺炎 (RPIP: rapid progressive interstitial pneumonia)
- (3) 皮膚筋炎患者に見られる致死性急速進行性間質性肺炎、
- (4) 特発性肺線維症 (IPF: idiopathic pulmonary fibrosis) 以外の間質性肺炎患者に見られる急速進行性間質性肺炎、
- (5) 急性呼吸窮迫症候群 (ARDS: acute respiratory distress syndrome)。

[0025] <抗癌剤>

上述のとおり、びまん性肺胞障害は、抗癌剤によって引き起こされ得る。そのような抗癌剤の具体例としては、ゲフィチニブ (商品名: イレッサ等)、エルロチニブ (商品名: タルセバ等)、クリゾチニブ (商品名: ザーコリ等)、ゲムシタピン、イリノテカン、ペメトレキセド (商品名: アリムタ等)、および、ドセタキセル (商品名: タキソテール等) などを挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

[0026] これらのうち、ゲフィチニブ、エルロチニブ、および、クリゾチニブは、いわゆる分子標的薬のうち、チロシンキナーゼ阻害剤に分類される抗癌剤である。また、ゲムシタピン、イリノテカン、および、ペメトレキセドは、いわゆる代謝拮抗剤に分類される抗癌剤である。また、ドセタキセルは、微小管脱重合阻害薬に分類される抗癌剤である。

[0027] <分子標的薬>

分子標的薬とは、腫瘍の増殖、浸潤、転移に関わる分子を標的にして、その分子を阻害することにより、腫瘍の増殖等を抑制する抗癌剤である。大き



く分けると低分子化合物とモノクローナル抗体に分類される。低分子化合物である分子標的薬は、さらに細かく、チロシンキナーゼ阻害剤、R a f キナーゼ阻害薬、T N F -  $\alpha$  阻害剤、および、プロテアソーム阻害剤に分類される。

[0028] <チロシンキナーゼ阻害剤>

チロシンキナーゼ阻害剤としては、上記のゲフィチニブ、エルロチニブ、および、クリゾチニブの他、例えば、イマチニブ、ダサチニブ、バンデタニブ、スニチニブ、ラパチニブ、および、ニロチニブなどが知られている。ゲフィチニブおよびエルロチニブは、ともに、上皮成長因子受容体のチロシンキナーゼを選択的に阻害し、シグナル伝達を遮断することにより腫瘍の増殖等を抑制する抗癌剤として知られている。クリゾチニブは、受容体型チロシンキナーゼである未分化リンパ種キナーゼ (A L K) のチロシンキナーゼ活性を阻害することにより、腫瘍の増殖等を抑制する抗癌剤として知られている。

[0029] <代謝拮抗剤>

代謝拮抗剤は核酸塩基アナログ (類似体) であり、D N A 鎖に取り込まれることにより、D N A 鎖の伸長を停止させたり、D N A 鎖を切断したりすることにより、腫瘍の増殖等を抑制する抗癌剤である。ゲムシタビンは核酸塩基シチジンのアナログであり、D N A 鎖に取り込まれて別の核酸塩基が1つ付くと、D N A 鎖の伸長が停止する。イリノテカン、植物アルカロイドの一種であるカンプトテカンの誘導体であり、トポイソメラーゼ I による一本鎖D N A 切断後の再結合を阻害して腫瘍の増殖等を抑制する抗癌剤である。ペメトレキセドは、葉酸に分子構造が類似している葉酸代謝拮抗剤であり、チミジル酸生成酵素、ジヒドロフォレート還元酵素、および、グリシンアミドリボヌクレオチド・ホルミル基転移酵素を阻害することにより、プリンおよびピリミジン・ヌクレオチド前駆体の合成を阻害する。

[0030] <微小管脱重合阻害薬>

微小管の脱重合を阻害することにより腫瘍の増殖等を抑制する抗癌剤であ

る。細胞分裂の際に形成される分裂装置の主体である微小管に結合し、微小管が脱重合してチューブリンに戻るのを阻害して微小管を安定化・過剰形成させることにより、細胞周期をG2/M期で停止させて細胞分裂を阻害するものである。代表的なものとして、ドセタキセルやパクリタキセルがある。

[0031] <特発性肺線維症及びその急性増悪>

特発性肺線維症 (IPF: idiopathic pulmonary fibrosis) は、厚生労働省特定疾患 (難病) のうちの一つであり、慢性的に肺が崩壊し、呼吸不全、感染症、急性増悪などにより死亡する、慢性疾患である。IPF患者のうち、1/3は慢性であった病態が突然変わり、急速に進行する呼吸不全を起こして死亡する。これが特発性肺線維症の急性増悪 (IPF AE) である。死亡率は70%と非常に高い。また、IPF患者に対して抗癌剤の投与や、放射線治療、外科手術などを施した場合に、高率にIPF AEを起こして死亡することが知られている。

[0032] <MUC4 遺伝子>

本発明の判定方法は、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法として、MUC4 遺伝子に存在する少なくとも一種の遺伝子多型を検出することによる判定方法である。

[0033] MUC4 遺伝子は、気道上皮に発現するムチンのコアタンパク質をコードする遺伝子として知られている。MUC4 遺伝子の塩基配列は公知であり、例えば、The National Center for Biotechnology Information (NCBI) にNM\_018406で登録されており、ヒトゲノムUCSC hg19 NCBI b37.3において、染色体3番の塩基番号195473636-195541844 (塩基番号はプロモーター領域3000塩基対を含む。) に存在する。最も典型的なMUC4 遺伝子のコード配列 (cDNA配列) として、NM\_018406に登録されている塩基配列を配列番号1に示し、コードされるタンパク質のアミノ酸配列を配列番号2に示す。

[0034] 本発明において、びまん性肺胞障害の発症リスクを判定する方法は、MU

C4 遺伝子多型を検出することを含む方法である。ここで、「含む」とは、MUC4 遺伝子多型を検出する工程が、びまん性肺胞障害の発症リスクを判定する方法の本質的部分であることを意味し、その他の工程をも含み得ることを意味する。

[0035] MUC4 遺伝子多型の検出は、MUC4 遺伝子のエクソン2（染色体3番の塩基番号195518368-195505661）に存在する一つ又は複数の一塩基多型の検出であることが好ましく、その中でも特に、以下の（1）から（6）の一塩基多型のうちの少なくとも一つの一塩基多型の検出であることが、より好ましい（なお、以下で、rsは、reference SNP IDを意味する。）。

[0036] （1）rs150551454（染色体3番、塩基番号195507491番目の塩基におけるC/T多型）

（2）rs62282480（染色体3番、塩基番号195510749番目の塩基におけるC/A多型）

（3）rs2911272（染色体3番、塩基番号195510773番目の塩基におけるA/G多型）

（4）rs413807（染色体3番、塩基番号195510827番目の塩基におけるC/T多型）

（5）rs6805660（染色体3番、塩基番号195512042番目の塩基におけるT/C多型）

（6）rs62282486（染色体3番、塩基配列195512245番目の塩基におけるT/C多型）

[0037] <遺伝子多型の検出方法>

MUC4 遺伝子において、上記（1）から（6）よりなる群より選択された少なくとも一つの一塩基多型を検出するための方法としては、核酸を複製又は増幅する方法、プローブを用いたハイブリダイゼーション法やシーケンス法など、核酸配列の多型を検出する方法として一般的に用いられている公知の方法を適宜用いることができる。

[0038] 例えば、MUC4 遺伝子の上記多型が存在する位置を含む核酸断片を増幅し、その核酸増幅産物についてシーケンサーを用いて配列決定することにより、MUC4 遺伝子の多型を直接検出することができる。核酸を複製又は増幅する方法としては、PCR法を好適に例示できるが、これに限定されることはなく、LAMP法、NASBA法、LCR法、SDA法など公知の方法を用いることができる。また、TaqManプローブによるリアルタイムPCR法を用いて、MUC4 遺伝子の多型を含む特定の断片に対するTaqManプローブのハイブリダイゼーションを検出することにより、MUC4 遺伝子の多型を検出することもできる。

[0039] PCR法では、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを用いる。これらのプライマーは、MUC4 遺伝子の多型を検出することができるような位置のDNA配列に基づいて設計することができる。たとえば、本発明において同定された一塩基多型(1)から(6)のいずれかをフォワードプライマーとリバースプライマーの間に挟むように設計することができる。また、遺伝子多型を有する場合にのみ増幅する(あるいは増幅しない)ように、フォワードプライマーおよびリバースプライマーのうち少なくとも一方を、一塩基多型を有する位置に設計することもできる。

プライマーの長さは、十分なDNA増幅断片が得られれば良く、選択する配列のGC含量などにもよるが、10~100塩基程度の配列であることが好ましく、10~50塩基の配列であることがより好ましい。

[0040] プローブを用いたハイブリダイゼーション法では、前記の一塩基多型(1)から(6)のいずれか一つ以上の一塩基多型部位を含む部分をプローブとして用いることができる。プローブは、必要に応じて、蛍光物質や放射性物質等により標識することができる。プローブについては、一塩基多型を検出することが可能である限り特に制限はない。すなわち、一塩基多型の有無をプローブのハイブリダイゼーションの有無あるいは検出強度の差で判断し得る限り、プローブの長さに特に制限はなく、また、ハイブリダイズする対象配列に対して1又はそれ以上の置換、欠失、不可を含んでいてもよい。ハイ

ブリダイゼーションの条件は、プローブの長さやGC含量などに合わせて、適宜決定することができる。

[0041] 一塩基多型の検出は、制限酵素断片長多型分析法 (RFLP: Restriction fragment length polymorphism) や電気泳動法によっても行なうことができる。一塩基多型の位置を含む配列を認識して特異的に切断する制限酵素を用いて消化し、得られた断片の大きさを電気泳動法によって調べることにより、制限酵素による切断の有無を検出することができ、これにより、多型を検出することができる。また、一本鎖コンフォメーション多型解析 (SSCP: single strand conformation polymorphism) や、キャピラリー電気泳動法を用いることもできる。

[0042] <びまん性肺胞障害の発症リスクの判定キット>

本発明において、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定キットとは、上述したMUC4遺伝子の多型を検出するための方法に用いられる試薬を含む判定キットである。試薬とは、上記の遺伝子多型の検出方法において一般的に用いられるものであり、市販され購入可能のものや、合成オリゴDNAなどを含む。例えば、PCR法による判定の場合は、目的とするDNA断片を増幅するためのフォワードプライマーおよびリバースプライマー、4種類のデオキシヌクレオシド三リン酸、DNAポリメラーゼなどを含む。

[0043] なお、本明細書において用いられる用語は、特定の実施形態を説明するために用いられるのであり、発明を限定する意図ではない。

[0044] また、本明細書において用いられる「含む」との用語は、文脈上明らかに異なる理解をすべき場合を除き、記述された事項（部材、ステップ、要素、数字など）が存在することを意図するものであり、それ以外の事項（部材、ステップ、要素、数字など）が存在することを排除しない。

[0045] 異なる定義が無い限り、ここに用いられるすべての用語（技術用語及び科学用語を含む。）は、本発明が属する技術の当業者によって広く理解されるのと同じ意味を有する。ここに用いられる用語は、異なる定義が明示されて

いない限り、本明細書及び関連技術分野における意味と整合的な意味を有するものとして解釈されるべきであり、理想化され、又は、過度に形式的な意味において解釈されるべきではない。

[0046] 第一の、第二のなどの用語が種々の要素を表現するために用いられる場合があるが、これらの要素はそれらの用語によって限定されるべきではないことが理解される。これらの用語は一つの要素を他の要素と区別するためのみに用いられているのであり、例えば、第一の要素を第二の要素と記し、同様に、第二の要素は第一の要素と記すことは、本発明の範囲を逸脱することなく可能である。

[0047] 以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、しかしながら、本発明はいろいろな形態により具現化することができ、ここに記載される実施例に限定されるものとして解釈されてはならない。

## 実施例

[0048] (実施例 1)

### 〈患者検体〉

全国 30 の協力医療機関より、薬剤性肺障害とされた患者 262 例および間質性肺疾患とされた 180 例の合計 442 例の患者検体を収集した。

ここで、間質性肺疾患とされた患者 180 例には、IPF 急性増悪患者 141 例を含む。

また、薬剤性肺障害とされた患者 262 例には、以下の症例を含む。

- ・ イレッサまたはタルセバによる間質性肺疾患 (ILD) (以下、「イレッサILD+タルセバILD」) 患者 49 例、
- ・ ザーコリによる間質性肺疾患 (ILD) (以下、ザーコリILD) 患者 3 例、
- ・ タキソテールによる間質性肺疾患 (ILD) (以下、タキソテールILD) 患者 38 例

[0049] 〈エキソーム解析〉

上記 442 例のうち、患者データ+患者画像を 279 例収集して診断の確

認を行った。そのうち、診断確実例のうち劇症例や死亡例（びまん性肺胞障害を発症した患者であると考えられる。）を中心に、ヒト全遺伝子コード領域シーケンス解析（エキソーム解析）を98名（「イレッサILD+タルセバILD」患者36名、IPF急性増悪患者45名、ザーコリILD患者2名、タキソテールILD患者15名）に対して施行した。

[0050] 対照として、コーカシアン（53名）、中国漢人（68名）、日本人（70名）についてのエキソームfastqデータをsequence read archiveデータベース（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>）より取得した。全てのデータは、CLC Genomics Workbench（CLC bio）にてヒトゲノム標準配列（hg19）にマッピングした。各患者で、90%以上のエクソン領域が10回以上読まれていることを確認したのち、Probabilistic variant detectionアルゴリズムにて遺伝子変異の情報を取得した。

[0051] その結果、日本人（患者98名+対照70名）の何れか1名以上で検出された変異のうち、アミノ酸変化を生じる変異（non-synonymous変異）が全ゲノムで180215カ所存在した。

[0052] （実施例2）〈「イレッサILD+タルセバILD」患者〉

[0053] （実施例2-1）〈関連解析〉

上記180215の多型全てについて、「イレッサILD+タルセバILD」患者合計36名と、一般日本人70名との間における関連解析を行った。結果を図1に示す。Bonferroniの補正を行い、P値が $0.001/180215$ 以下のものを有意とした。

[0054] 図1において、孤立した点は、エクソン補足効率のキット毎の違いによるartifactの可能性も考えられる。また、点が尖塔状に集合している部分に含まれる点（たとえば、図1に矢印で示した位置）は、広い染色体領域において両群間の多型に頻度差があることを示しており、真の関連を示している可能性が高いと考えられる。

[0055] (実施例 2 - 2) <遺伝子多型の同定>

実施例 2 - 1 の<関連解析>において有意な P 値を示した多型のみを選択し、国際頻度の比較をした。

[0056] イレッサ I LD、および、タルセバ I LD については、以下の疫学データが知られている。

- (1) 日本人での発症頻度は約 4 % である。
- (2) 西洋人での発症頻度は日本人の 1 / 10 以下である。
- (3) 中国人での発症頻度は日本人の発症頻度以下である。

[0057] 上述の疫学データに基づいて、各多型について、

- ・日本人の遺伝子保有者頻度が 4 % 以上の確率 ( P 1 )
- ・西洋人での遺伝子保有頻度が日本人の 1 / 10 以下の確率 ( P 2 )
- ・中国人での遺伝子保有頻度が日本人以下の確率 ( P 3 )

を、実施例 1 において得られた日本人 ( 70 名 )、コーカシアン ( 53 名 )、中国漢人 ( 68 名 ) についてのエキソームデータより計算し、すべてを満たす確率 P ( P 1 × P 2 × P 3 ) を算出した。

[0058] 確率 P は、各多型が上記の疫学データに一致する確率として捉えることができる。結果を図 2 に示す。

図 2 における P > 0. 1 以上の点全てに関して、所属する遺伝子機能および遺伝子発現部位を検討した結果、肺で発現しており、間質性肺疾患と関連があり得る機能を有する遺伝子は MUC 4 ( 図 2 中、矢印で示した位置 ) のみであった。

[0059] (実施例 2 - 3) <MUC 4 における遺伝子多型の同定>

実施例 1 の<エキソーム解析>と同様の手法により、MUC 4 遺伝子領域における全ての変異を特定した。

[0060] これら全ての変異に関して、「イレッサ I LD + タルセバ I LD」患者合計 36 名と一般日本人 70 名について関連解析を行った。なお、実施例 2 - 1 の<関連解析>においてはアミノ酸変化を生じる変異 ( non-synonymous 変異 ) のみを用いたが、ここではアミノ酸変化を生じる変異 ( n



on-synonymous 変異) であるか否かに関わらず、全ての変異を用いた。

[0061] 結果を図3に示す。MUC4はreserve strandに存在するため、図3において、右側が5'側である。特に、エクソン2(塩基番号195505661-195518368)に相当する部分に、多くの変異が含まれていた。

エクソン2の中で特に関連の強い位置は、rs150551454(塩基番号195507491)、rs62282480(塩基番号195510749)、rs2911272(塩基番号195510773)、rs413807(塩基番号195510827)、rs6805660(塩基番号195512042)、および、rs62282486(塩基配列195512245)であった。その中でも、極めて関連の強い位置は、rs6805660(塩基番号195512042)およびrs62282486(塩基配列195512245)であった。

[0062] (実施例2-4) <遺伝子多型と疾患との相関関係>

最も強い関連が示されたrs6805660およびrs62282486についての多型頻度を検証した。その結果を表1に示す。表1において、Ref/Refはヒトゲノム標準配列のホモ接合、Alt/Altは変異配列のホモ接合、Ref/Altはヘテロ接合を示す。

[0063] [表1]

表 1

|            | コーカシアン  |         |         | 中国漢人    |         |         | 日本人     |         |         | 「イレッサILD+タルセバILD」患者 |         |         |
|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------------------|---------|---------|
|            | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref             | Ref/Alt | Alt/Alt |
| rs6805660  | 51      | 0       | 2       | 68      | 0       | 0       | 65      | 0       | 5       | 0                   | 0       | 36      |
| rs62282486 | 53      | 0       | 0       | 68      | 0       | 0       | 67      | 0       | 3       | 2                   | 0       | 34      |

[0064] 表1から明らかとなっており、驚くべきことに、「イレッサILD+タルセバILD」患者(すなわち、実施例1において記載のとおり、びまん性肺胞障

害を発症した患者である。)においては、全ての患者が rs 6 8 0 5 6 6 0 の変異配列をホモで有しており、rs 6 2 2 8 2 4 8 6 についても2例を除いた全ての患者が変異配列をホモで有していた。すなわち、これらの薬剤に起因するびまん性肺胞障害患者のうち、100% (36 / 36) が rs 6 8 0 5 6 6 0 の変異配列を有しており、約95% (34 / 36) が rs 6 2 2 8 2 4 8 6 の変異配列を有していた。このような極めて強い相関が発見されることは、極めて驚くべきことである。

[0065] 念のために、一般日本人70人のうち、rs 6 8 0 5 6 6 0 の変異配列をホモで有している者はたったの5名であり、rs 6 2 2 8 2 4 8 6 についてはたったの3名であった。いずれの変異についても、一般日本人は、約4% ~ 約7%しか保有していない変異である。

[0066] なお、エクソン2はMUC4のvariable number of tandem repeat (VNTR) 領域である。上記のrs 6 8 0 5 6 6 0 およびrs 6 2 2 8 2 4 8 6 はアミノ酸変異を生じるが、アミノ酸変異ではなくVNTRの数と関連している可能性も考えられる。

[0067] (実施例3) <IPF急性増悪患者>

[0068] 実施例2-1の<関連解析>と同様の方法により、IPF急性増悪患者45名と一般日本人70名との間における関連解析を行った。結果を図4に示す。

[0069] また、実施例2-3<MUC4における遺伝子多型の同定>と同様の方法により、IPF急性増悪患者45名と一般日本人70名との間における関連解析を行った。結果を図5に示す。MUC4はreserve strand に存在するため、図5において、右側が5'側である。特に、エクソン2 (塩基番号195505661-195518368) に相当する部分に、多くの変異が含まれていた。

エクソン2の中で極めて関連の強い位置は、rs 6 8 0 5 6 6 0 (塩基番号195512042) およびrs 6 2 2 8 2 4 8 6 (塩基配列195512245) であった。

[0070] また、実施例 2 - 4 <遺伝子多型と疾患との相関関係>と同様の方法により、最も強い関連が示された rs 6 8 0 5 6 6 0 および rs 6 2 2 8 2 4 8 6 についての多型頻度を検証した。その結果を表 2 に示す。表 2 において、R e f / R e f はヒトゲノム標準配列のホモ接合、A l t / A l t は変異配列のホモ接合、R e f / A l t はヘテロ接合を示す。

[0071] [表2]

表 2

|            | コーカシアン  |         |         | 中国漢人    |         |         | 日本人     |         |         | IPF急性増悪患者 |         |         |
|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|
|            | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref   | Ref/Alt | Alt/Alt |
| rs6805660  | 51      | 0       | 2       | 68      | 0       | 0       | 65      | 0       | 5       | 0         | 0       | 45      |
| rs62282486 | 53      | 0       | 0       | 68      | 0       | 0       | 67      | 0       | 3       | 5         | 0       | 40      |

[0072] 表 2 から明らかなおとおり、驚くべきことに、I P F 急性増悪患者（すなわち、実施例 1 において記載のとおり、びまん性肺胞障害を発症した患者である。）においては、全ての患者が rs 6 8 0 5 6 6 0 の変異配列をホモで有しており、rs 6 2 2 8 2 4 8 6 についても 5 例を除いた全ての患者が変異配列をホモで有していた。すなわち、これらの薬剤に起因するびまん性肺胞障害患者のうち、100%（45 / 45）が rs 6 8 0 5 6 6 0 の変異配列を有しており、約 89%（40 / 45）が rs 6 2 2 8 2 4 8 6 の変異配列を有していた。このような極めて強い相関が発見されることは、極めて驚くべきことである。

[0073] 既に述べたとおり、一般日本人 70 人のうち、rs 6 8 0 5 6 6 0 の変異配列をホモで有している者はたったの 5 名であり、rs 6 2 2 8 2 4 8 6 についてはたったの 3 名であった。いずれの変異についても、一般日本人は、約 4% ~ 約 7% しか保有していない変異である。

[0074] （実施例 4）<タキソテール I L D 患者およびザーコリ I L D 患者>

さらに、実施例 2 - 4 <遺伝子多型と疾患との相関関係>と同様の方法により、タキソテール I L D 患者 15 名およびザーコリ I L D 患者 2 名についても、rs 6 8 0 5 6 6 0 および rs 6 2 2 8 2 4 8 6 における多型頻度を検

証した。結果を表3に示す。

[0075] [表3]

表3

|            | 日本人     |         |         | タキソテールILD患者 |         |         | ザーコリILD患者 |         |         |
|------------|---------|---------|---------|-------------|---------|---------|-----------|---------|---------|
|            | Ref/Ref | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref     | Ref/Alt | Alt/Alt | Ref/Ref   | Ref/Alt | Alt/Alt |
| rs6805660  | 65      | 0       | 5       | 0           | 0       | 15      | 0         | 0       | 2       |
| rs62282486 | 67      | 0       | 3       | 1           | 0       | 14      | 0         | 0       | 2       |

[0076] 表3から明らかなおりに、驚くべきことに、タキソテールILD患者（すなわち、実施例1において記載のとおり、びまん性肺胞障害を発症した患者である。）においては、全ての患者がrs6805660の変異配列をホモで有しており、rs62282486についても1例を除いた全ての患者が変異配列をホモで有していた。すなわち、これらの薬剤に起因するびまん性肺胞障害患者のうち、100%（15／15）がrs6805660の変異配列を有しており、約93%（14／15）がrs62282486の変異配列を有していた。このような極めて強い相関が発見されることは、極めて驚くべきことである。

[0077] さらに、表3から明らかなおりに、驚くべきことに、ザーコリILD患者（すなわち、実施例1において記載のとおり、びまん性肺胞障害を発症した患者である。）においては、全ての患者がrs6805660およびrs62282486の変異配列をホモで有していた。このような極めて強い相関が発見されることは、極めて驚くべきことである。

[0078] （総括）

以上のとおり、本件発明者らが鋭意研究の結果、「イレッサILD+タルセバILD」患者、タキソテールILD患者、ザーコリILD患者、IPF急性増悪患者であって、びまん性肺胞障害に罹患した患者は、それ以外のポピュレーションとは全く異なり、極めて高い確率で、MUC4遺伝子に所定

の遺伝子多型を有していることが、発見された。

[0079] これまでの世界中の研究機関の努力にもかかわらず、びまん性肺胞障害に関連する遺伝子多型は、何ら発見されなかった。したがって、いうまでもなく、びまん性肺胞障害と、極めて強い相関を有する遺伝子多型は、これまで、一切報告されていない。

[0080] なお、イレッサ、タルセバ、ザーコリといったチロシンキナーゼ阻害剤に属する抗癌剤のみならず、タキソテールのような微小管脱重合阻害薬に属する抗癌剤についても、全く同様の結果が得られたことは、びまん性肺胞障害が、薬剤の作用機序に関わらず、所定の遺伝子多型と極めて強い相関を有していることに起因するであろう。したがって、いかなる抗癌剤、あるいは、薬剤一般についても、本件発明の判定方法は、びまん性肺胞障害の発症リスクの判定のための、極めて有用な手段となるであろう。そうすることにより、本来、癌患者の命を救う目的で投与されるべき抗癌剤によって、皮肉にも、患者を死に至らしめることを未然に防ぐことができるからである。

## 請求の範囲

- [請求項1] びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法であって、  
MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む  
判定方法。
- [請求項2] 請求項1に記載の判定方法であって、  
前記「MUC4 遺伝子に存在する遺伝子多型」が、前記MUC4 遺  
伝子のエクソン2に存在する遺伝子多型であること  
を特徴とする判定方法。
- [請求項3] 請求項2に記載の判定方法であって、  
前記検出する遺伝子多型が、下記の(1)から(6)よりなる群よ  
り選択される少なくとも一つの一塩基多型；  
(1) rs150551454 (染色体3番、塩基番号19550  
7491番目の塩基におけるC/T多型)、  
(2) rs62282480 (染色体3番、塩基番号195510  
749番目の塩基におけるC/A多型)、  
(3) rs2911272 (染色体3番、塩基番号1955107  
73番目の塩基におけるA/G多型)、  
(4) rs413807 (染色体3番、塩基番号19551082  
7番目の塩基におけるC/T多型)、  
(5) rs6805660 (染色体3番、塩基番号1955120  
42番目の塩基におけるT/C多型)、および、  
(6) rs62282486 (染色体3番、塩基配列195512  
245番目の塩基におけるT/C多型)、  
であること  
を特徴とする判定方法。
- [請求項4] 請求項2に記載の判定方法であって、  
前記検出する遺伝子多型が、下記の(5)および(6)の一塩基多  
型；

(5) rs6805660 (染色体3番、塩基番号19551204番目の塩基におけるT/C多型)、

(6) rs62282486 (染色体3番、塩基配列195512245番目の塩基におけるT/C多型)、

を含むこと

を特徴とする判定方法。

[請求項5] 請求項1から4のいずれか一項に記載の判定方法であって、前記びまん性肺胞障害が、薬剤の投与に起因することを特徴とする判定方法。

[請求項6] 請求項5に記載の判定方法であって、前記薬剤が、抗癌剤であることを特徴とする判定方法。

[請求項7] 請求項6に記載の判定方法であって、前記抗癌剤が、分子標的薬、代謝拮抗剤、および、微小管脱重合阻害薬からなる群より選択される少なくとも一種であることを特徴とする判定方法。

[請求項8] 請求項6に記載の判定方法であって、前記抗癌剤が、ゲフィチニブ、エルロチニブ、クリゾチニブ、ゲムシタピン、イリノテカン、ペメトレキセド、および、ドセタキセルからなる群より選択されるいずれか一種であることを特徴とする判定方法。

[請求項9] 請求項1から4のいずれか一項に記載の判定方法であって、前記びまん性肺胞障害が、特発性肺線維症の急性増悪に起因することとを特徴とする判定方法。

[請求項10] 抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法であって、抗癌剤の投与が予定される患者における、MUC4遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む

方法。

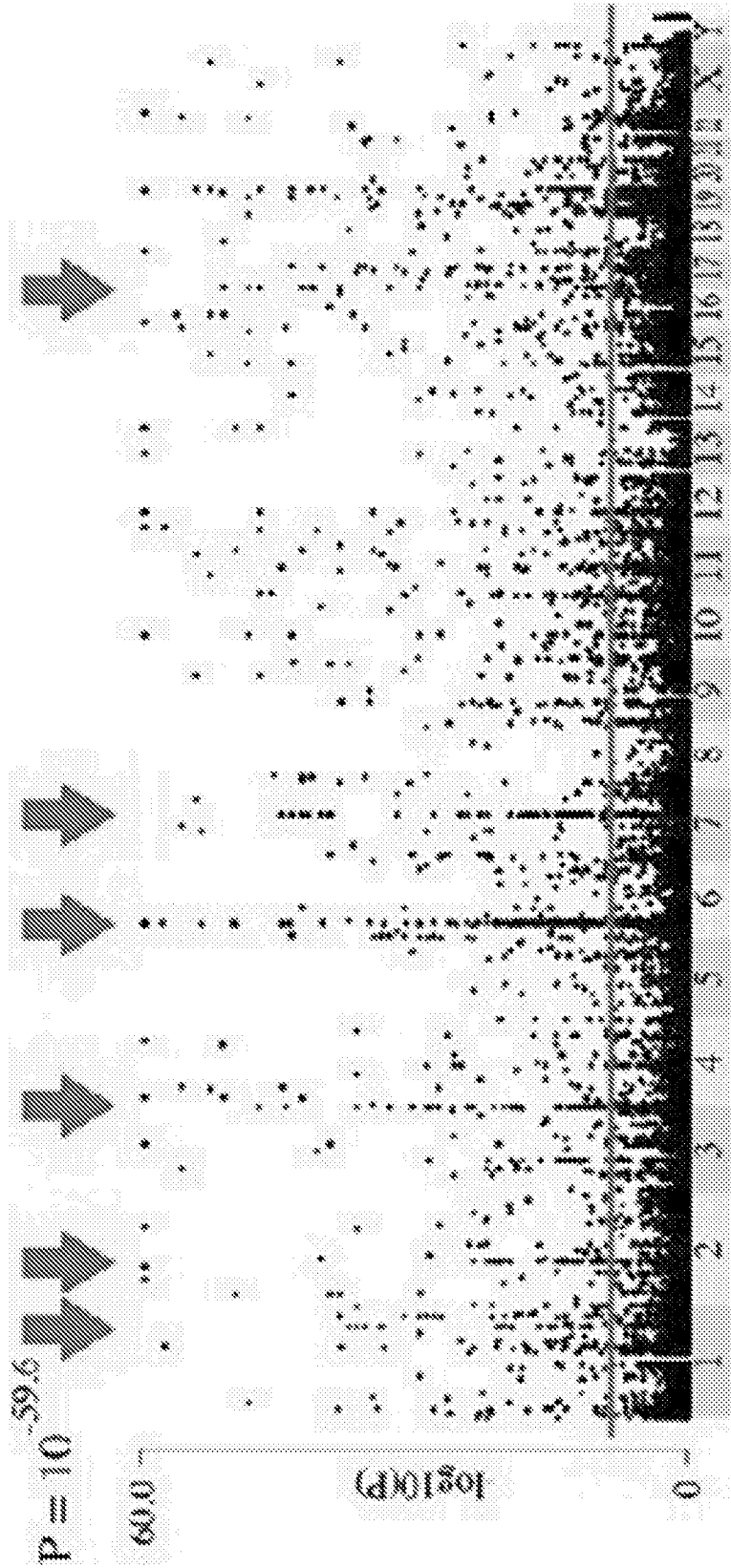
[請求項11] 請求項10に記載の方法であって、  
前記副作用が、びまん性肺胞障害であることを  
特徴とする方法。

[請求項12] 請求項10に記載の方法であって、  
前記抗癌剤が、ゲフィチニブ、エルロチニブ、クリゾチニブ、ゲム  
シタビン、イリノテカン、ペメトレキセド、および、ドセタキセルか  
らなる群より選択されるいずれか一種であることを  
特徴とする方法。

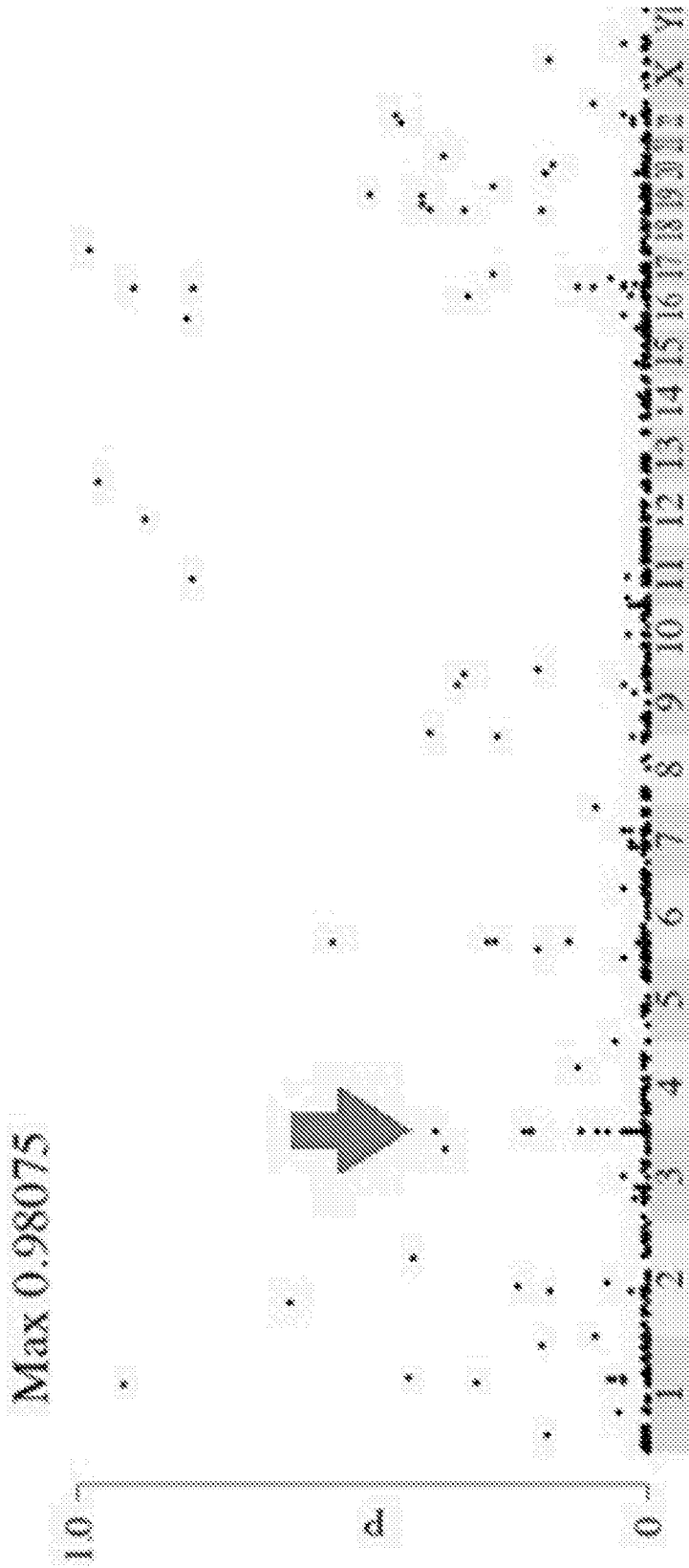
[請求項13] MUC4遺伝子に存在する遺伝子多型を検出するための、びまん性  
肺胞障害の発症リスクの判定用キット。



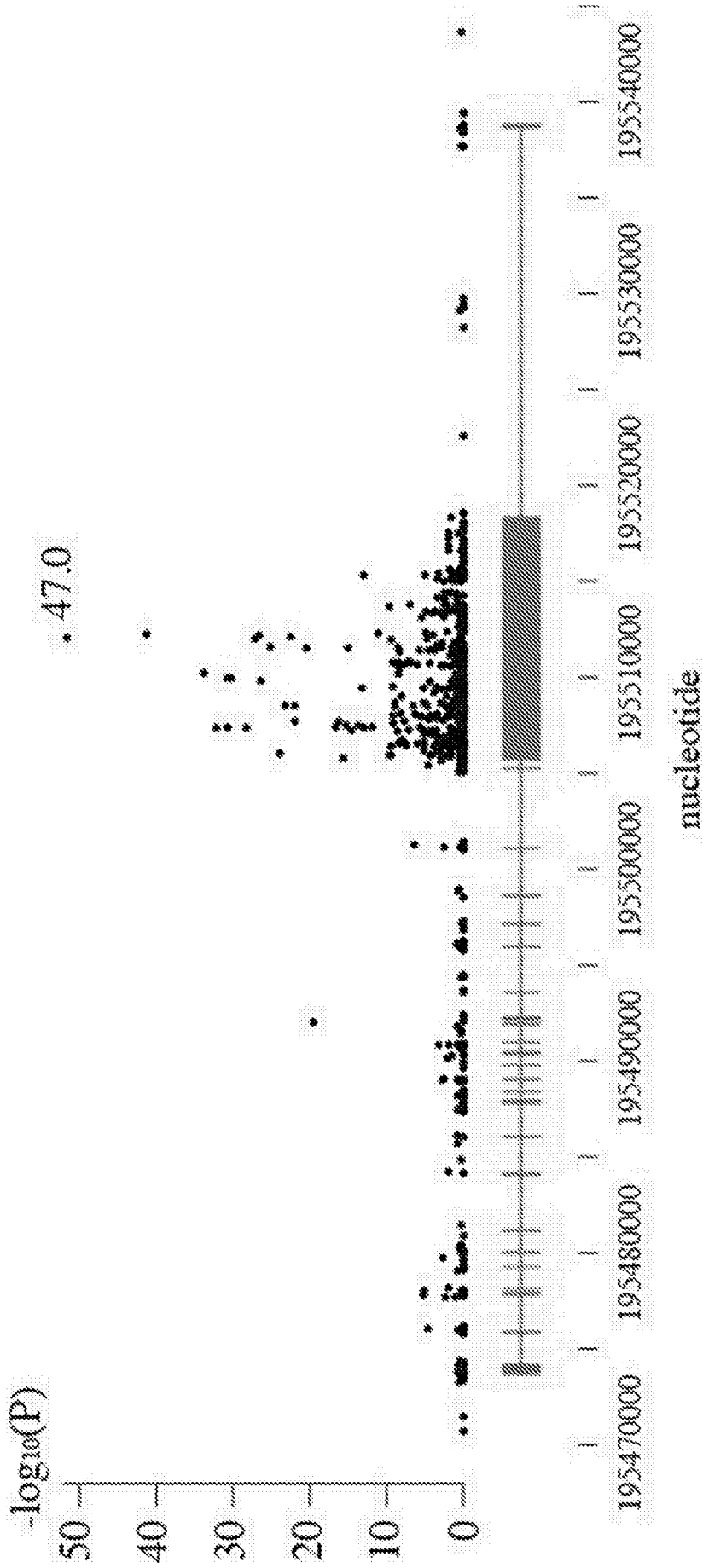
[図1]



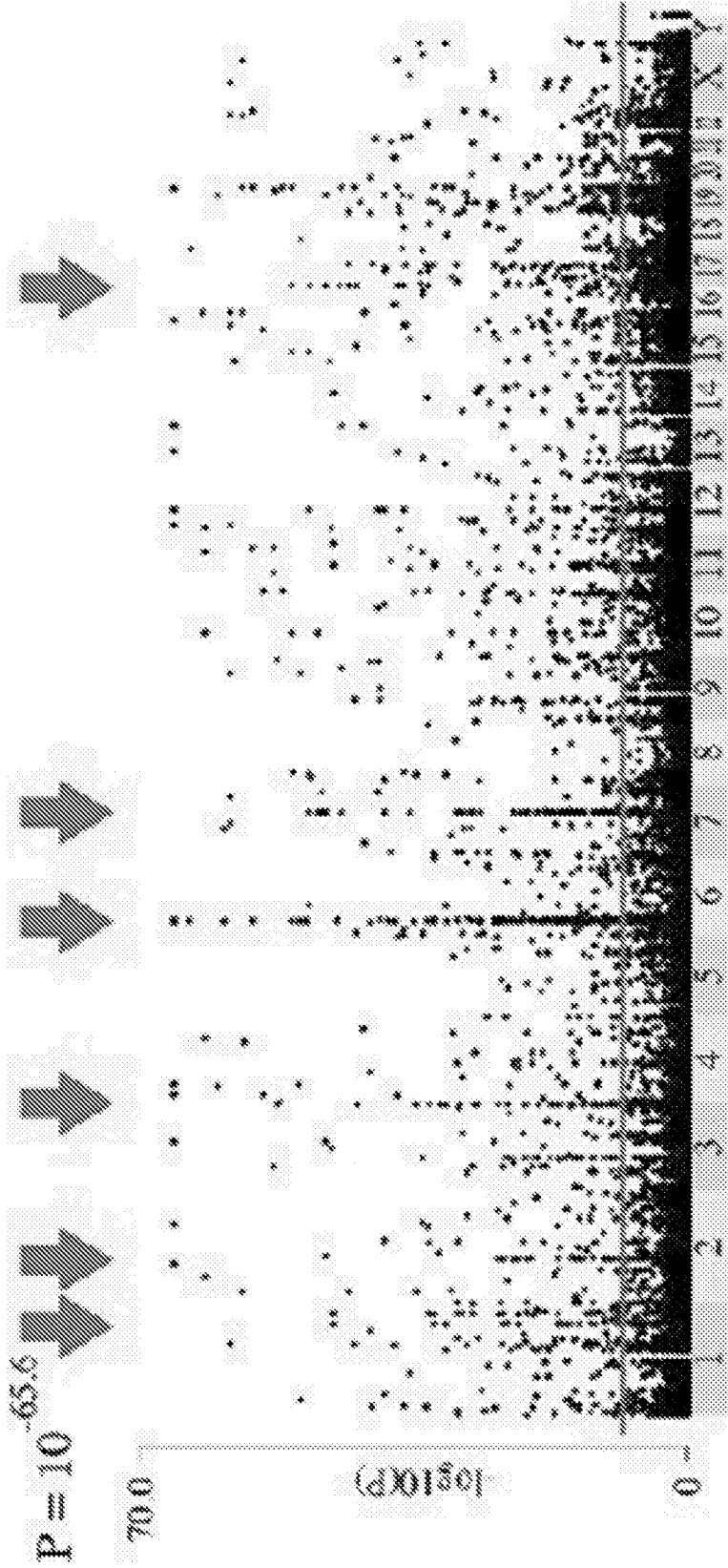
[図2]



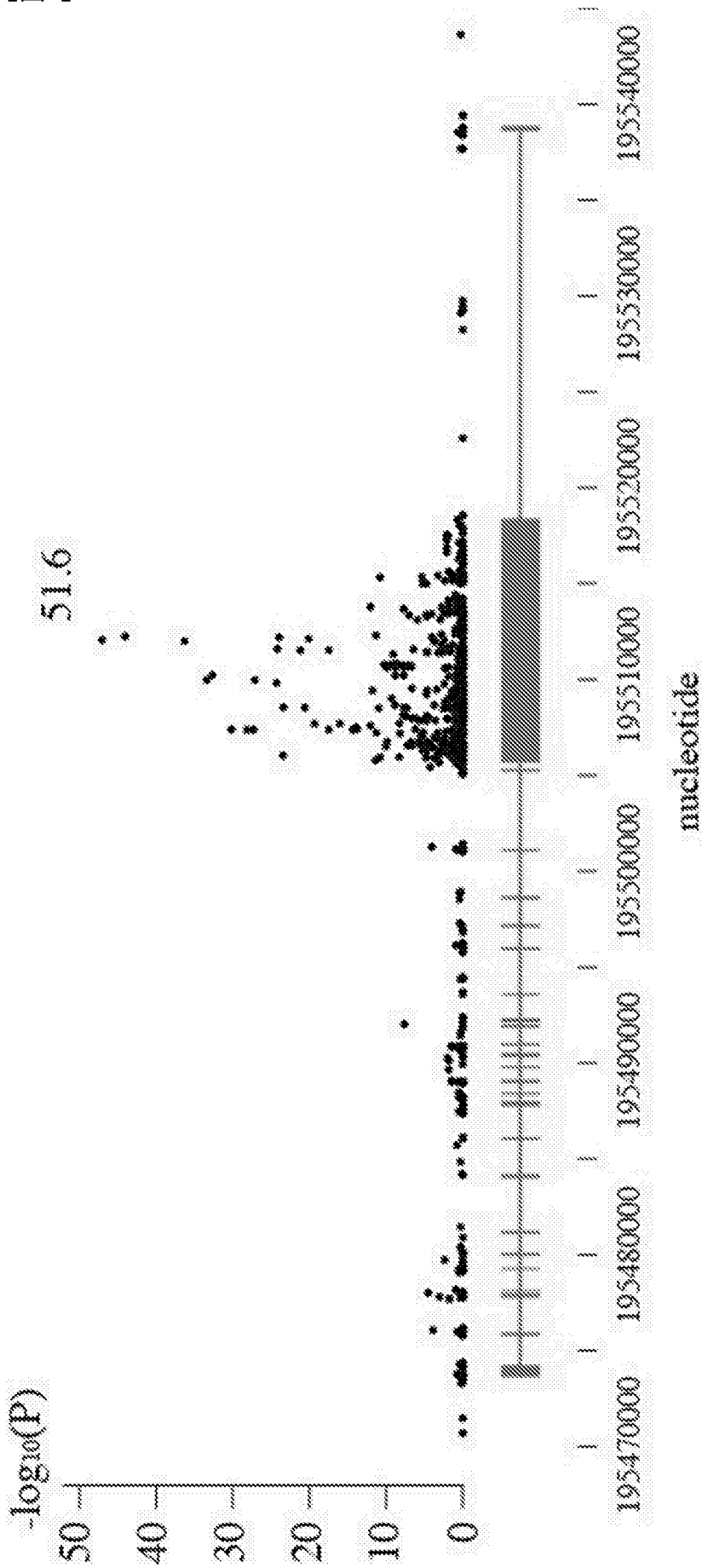
[図3]



[図4]



[図5]



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/054796

**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)  
*C12Q, C12N*

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

|                                  |                  |                                   |                  |
|----------------------------------|------------------|-----------------------------------|------------------|
| <i>Jitsuyo Shinan Koho</i>       | <i>1922-1996</i> | <i>Jitsuyo Shinan Toroku Koho</i> | <i>1996-2014</i> |
| <i>Kokai Jitsuyo Shinan Koho</i> | <i>1971-2014</i> | <i>Toroku Jitsuyo Shinan Koho</i> | <i>1994-2014</i> |

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)*

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y         | <i>Koichi HAGIWARA, "Genetic studies for the drug-induced interstitial lung disease and the acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis", Grants-in-Aid for Scientific Research (Kagaku Kenkyuhi Hojokin) Kenkyu Seika Hokokusho, 31 March 2012 (31.03.2012)</i> | 13                    |
| Y         | <i>Koichi HAGIWARA, "Tokuhatsusei Hai Sen'isho Kyusei Zoaku Oyobi Yakuzaisei Hai Shogai ni Kan'yo suru Nipponjin Tokuiteki Iden Soin ni Kansuru Kenkyu", Heisei 23 Nendo Sokatsu Kenkyu Hokokusho, 2012.03, pages 3 to 8, 15 to 17, 19 to 21</i>                         | 13                    |

Further documents are listed in the continuation of Box C.       See patent family annex.

|   |  |
|---|--|
| * Special categories of cited documents:  | "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  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  | "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   |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date   | "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 |
| "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) | "&" document member of the same patent family  |
| "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  |  |

|   |  |
|---|--|
| Date of the actual completion of the international search<br><i>12 May, 2014 (12.05.14)</i> | Date of mailing of the international search report<br><i>27 May, 2014 (27.05.14)</i> |
|---|--|

|   |                    |
|---|--------------------|
| Name and mailing address of the ISA/<br><i>Japanese Patent Office</i> | Authorized officer |
| Facsimile No.   | Telephone No.      |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/054796

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages  | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| Y         | JP 2005-505253 A (F. Hoffmann-La Roche AG.),<br>24 February 2005 (24.02.2005),<br>paragraphs [0002] to [0011]<br>& US 2004/0203144 A1 & EP 1395611 A<br>& WO 2002/094876 A2   | 13                    |
| Y         | JP 2013-500703 A (Glycotope GmbH),<br>10 January 2013 (10.01.2013),<br>paragraphs [0008] to [0009]<br>& WO 2011/012309 A1 & US 2012/0128676 A1<br>& EP 2281844 A1 & EP 2459595 A<br>& KR 10-2012-0051724 A & CN 102574926 A     | 13                    |
| Y         | Chin J Lab Med, 2009.02, Vol. 32, No. 2, p. 187<br>-189   | 13                    |
| A         | WO 2011/155531 A1 (National Cancer Center),<br>15 December 2011 (15.12.2011),<br>claims; paragraphs [0001] to [0007]<br>& US 2013/0085081 A1  | 13                    |
| A         | Koscinski et al, Human Reproduction, 2006,<br>Vol. 21, No. 9, p. 2238-2245  | 13                    |
| A         | Debailleul et al, The Journal of Biological<br>Chemistry, 1998.01.09, Vol. 273, No. 2, p. 881-<br>890   | 13                    |
| A         | KAMIO et al., "Mansei Kidoenshosei Shikkan ni<br>Okeru Mucin Idenshigun no Promoter Tagata no<br>Kento", The Journal of the Japanese Respiratory<br>Society, 10 March 2002 (10.03.2002), vol.40<br>special extra issue, page 83 | 13                    |
| A         | Koichi HAGIWARA, "Kanshitsuisei Haien o Meguru<br>Saikin no Wadai Tokuhatsusei Hai Sen'isho no<br>Hatsugen Kaiseki", Iden Kaiseki, The Lung<br>Perspect, 10 October 2007 (10.10.2007), vol.15,<br>no.4, pages 435 to 439        | 13                    |
| P,A       | Zhang et al, PLOS ONE, 2013.10.21, Vol. 8,<br>Issue 10, e77723  | 13                    |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/054796

**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.: 1 - 12  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
See extra sheet.
  
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.



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/054796

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet(2)

(1) The invention according to claim 1 relates to "an estimation method for estimating the onset risk of diffuse alveolar damage, which comprises detecting genetic polymorphism occurring in MUC4 gene".

However, the aforesaid claim does not clearly describe criteria in accordance with which the onset risk of diffuse alveolar damage is to be estimated by detecting genetic polymorphism occurring in MUC4 gene. Therefore, it is admitted that the invention according to the aforesaid claim likely includes a step where a doctor determines the estimation criteria.

Therefore, since the invention of claim 1 involves also a diagnostic procedure, the invention of claim 1 pertains to a diagnostic method for the human body, and thus relates 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).

The above-said opinion may be also applied to the inventions of claims 2-9 which are dependent on claim 1.

(2) The invention according to claim 10 relates to "a method for estimating the onset risk of a side effect of an anticancer drug treatment, which comprises detecting genetic polymorphism occurring in MUC4 gene of a patient for whom the administration of an anticancer drug is scheduled".

However, the aforesaid claim does not clearly describe criteria in accordance with which the onset risk of a side effect of an anticancer drug treatment is to be estimated by detecting genetic polymorphism occurring in MUC4 gene. Therefore, it is admitted that the invention according to the aforesaid claim likely includes a step where a doctor determines the estimation criteria.

Consequently, since the invention of claim 10 involves also a diagnostic procedure, the invention of claim 10 pertains to a diagnostic method for the human body, and thus relates 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).

The above-said opinion may be also applied to the inventions of claims 11 and 12 which are dependent on claim 10.

|  |   |                |
|--|---|----------------|
| A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））<br>Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)n   |   |                |
| B. 調査を行った分野<br>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））<br>Int.Cl. C12Q, C12N  |   |                |
| 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<br>日本国実用新案公報 1922-1996年<br>日本国公開実用新案公報 1971-2014年<br>日本国実用新案登録公報 1996-2014年<br>日本国登録実用新案公報 1994-2014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）<br>CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)   |   |                |
| C. 関連すると認められる文献  |   |                |
| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号 |
| Y  | 萩原弘一，薬剤性肺障害・特発性肺線維症急性増悪の遺伝学的研究，科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書，2012.03.31                      | 13             |
| Y  | 萩原弘一，特発性肺線維症急性増悪及び薬剤性肺障害に関与する日本人特異的遺伝素因に関する研究 平成23年度総括研究報告書，2012.03, p. 3-8, 15-17, 19-21 | 13             |
| <input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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<br>「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<br>「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<br>「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）<br>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献<br>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献<br>「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<br>「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<br>「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<br>「&」同一パテントファミリー文献 |   |                |
| 国際調査を完了した日<br>12.05.2014   | 国際調査報告の発送日<br>27.05.2014  |                |
| 国際調査機関の名称及びあて先<br>日本国特許庁（ISA/J P）<br>郵便番号100-8915<br>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）<br>山本 晋也<br>電話番号 03-3581-1101 内線 3488                                     | 4 N    3 3 4 1 |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |   |                |
|-----------------------|---|----------------|
| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号 |
| Y                     | JP 2005-505253 A (エフ. ホフマンーラ ロシュ アーゲー)<br>2005.02.24, 【0002】 - 【0011】 & US 2004/0203144 A1 &<br>EP 1395611 A & WO 2002/094876 A2  | 13             |
| Y                     | JP 2013-500703 A (グリコトープ ゲーエムベーハー) 2013.01.10,<br>【0008】 - 【0009】 & WO 2011/012309 A1 & US 2012/0128676<br>A1 & EP 2281844 A1 & EP 2459595 A & KR 10-2012-0051724 A & CN<br>102574926 A | 13             |
| Y                     | Chin J Lab Med, 2009.02, Vol. 32, No. 2, p. 187-189   | 13             |
| A                     | WO 2011/155531 A1 (独立行政法人国立がん研究センター)<br>2011.12.15, 請求の範囲、[0001] - [0007] & US<br>2013/0085081 A1   | 13             |
| A                     | Koscinski et al, Human Reproduction, 2006, Vol. 21, No. 9, p.<br>2238-2245  | 13             |
| A                     | Debailleul et al, The Journal of Biological Chemistry,<br>1998.01.09, Vol. 273, No. 2, p. 881-890   | 13             |
| A                     | 神尾 他, 慢性気道炎症性疾患におけるムチン遺伝子群のプロモー<br>ター多型の検討, 日本呼吸器学会雑誌, 2002.03.10, Vol. 40 増刊<br>号, p. 83   | 13             |
| A                     | 萩原弘一, 間質性肺炎をめぐる最近の話題 特発性肺線維症の発現<br>解析, 遺伝解析, The Lung Perspect, 2007.10.10, Vol. 15, No. 4,<br>p. 435-439   | 13             |
| P, A                  | Zhang et al, PLOS ONE, 2013.10.21, Vol. 8, Issue 10, e77723   | 13             |

## 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 (PCT17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 - 12 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、特別ページ参照。
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PCT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。

## &lt;第 I I 欄の続き&gt;

## (1)

請求項 1 に係る発明は、「びまん性肺胞障害の発症リスクの判定方法であって、MUC 4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む判定方法。」の発明である。

ここで、当該請求項には、MUC 4 遺伝子に存在する多型を検出することからどのような判定基準によってびまん性肺胞障害の発症リスクを判定するのかという点について明確に記載されていないので、当該請求項に係る発明が当該判定基準に対して医師が判断する工程が含まれる余地のあるものと解釈できる。したがって、請求項 1 に係る発明は診断行為に関するものも含むから、請求項 1 に係る発明は人の身体の診断方法に該当するものであって、PCT17 条(2)(a)(i)及びPCT規則 39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査をすることを要しない対象に係るものである。

請求項 1 の従属請求項である請求項 2 - 9 に係る発明についても同様である。

## (2)

請求項 10 に係る発明は、「抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定する方法であって、抗癌剤の投与が予定される患者における、MUC 4 遺伝子に存在する遺伝子多型を検出することを含む方法。」の発明である。

ここで、当該請求項には、MUC 4 遺伝子に存在する多型を検出することからどのような判定基準によって抗癌剤療法の副作用の発症リスクを判定するのかということが明確に記載されていないので、当該判定基準に対して医師が判断する工程が含まれる余地のあるものと解釈できる。したがって、請求項 10 に係る発明は診断行為に関するものも含むから、請求項 10 に係る発明は、人の身体の診断方法に該当するものであって、PCT17 条(2)(a)(i)及びPCT規則 39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査をすることを要しない対象に係るものである。

請求項 10 の従属請求項である請求項 11, 12 に係る発明についても同様である。