

(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10月2日(02.10.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/156527 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01) C12N 15/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/055698
- (22) 国際出願日: 2014年3月5日(05.03.2014)
- (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 2013-068907 2013年3月28日(28.03.2013) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人東北大学(TOHOKU UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 Miyagi (JP).
- (72) 発明者: 森 隆弘(MORI, Takahiro); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (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TNK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, 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))



WO 2014/156527 A1

(54) Title: METHOD AND KIT FOR DETERMINING ONSET RISK OF ESOPHAGEAL CANCER

(54) 発明の名称: 食道癌の発症リスクを判定する方法及びキット

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a novel index for determining the onset risk of esophageal cancer in a subject through gene diagnosis. Provided is a method for determining the onset risk of esophageal cancer, said method comprising detecting a mutation in BAP1 gene in a subject and, when the mutation is detected, determining the subject as having the onset risk of esophageal cancer.

(57) 要約: 本発明が解決すべき課題は、遺伝子診断により被験者における食道癌の発症リスクを判定するための新規の指標を提供することである。本発明は、被験者のBAP1遺伝子における変異を検出し、該変異が検出された被験者を食道癌の発症リスクが存在すると判定する、食道癌の発症リスクを判定する方法を提供する。

明 細 書

発明の名称：食道癌の発症リスクを判定する方法及びキット

技術分野

[0001] 本発明は、食道癌の発症リスクを判定する方法及びそのキットに関する。

背景技術

[0002] 遺伝子診断は、癌、糖尿病等の疾患のリスクを判定するのに有用であり、疾患の予防、早期発見の観点から非常に重要である。

[0003] BAP1 (BRCA1 associated protein-1) は細胞周期に関与する蛋白質であり、癌抑制遺伝子として知られている。特許文献1には、BAP1遺伝子の変異によって、癌になりやすい旨が記載されている。乳癌患者、腎臓明細胞癌患者、卵巣癌患者において、BAP1遺伝子のイントロン部分に生殖細胞系列変異が見つかった旨が開示されている。また、イントロン6の変異によって、スプライシング工程でエクソン7が転写されなくなる（スキップされる）ことが開示されている。しかし、BAP1と悪性黒色腫、乳癌、腎臓明細胞癌、卵巣癌以外の癌との関連性については知られていない。

[0004] 一方、食道癌のリスクファクターとしてはアルコール等が知られており、アルコール分解酵素の活性が低いと食道癌のリスクが高くなることが知られている。

[0005] しかし、食道癌は自覚症状があまりなく早期発見の困難な癌種であり、また現在知られている遺伝子診断法でも食道癌の十分なリスク評価はできず、例えば、複数の診断法を組み合わせることにより精度の高いリスク評価が可能となるため、食道癌のリスクを評価するための新たな指標の開発が所望されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：WO2012/112846

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明が解決すべき課題は、遺伝子診断により被験者における食道癌の発症リスクを判定するための新規の指標を提供することである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者は、上記のような状況の下、鋭意研究を重ねた結果、多種多様な遺伝子のなかから、BAP1遺伝子上の変異が食道癌のリスク判定の指標となり得ることを見出した。本発明は当該新規の知見に基づくものである。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、これまで知られていた食道癌のリスク判定で用いられてきたものとは全く異なるBAP1遺伝子上の変異を指標として用いた、食道癌のリスク判定法を提供することができる。食道がんは初期症状に乏しく、早期発見が難しいため、本発明の方法は、非常に有用である。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]実施例1において発見されたBAP1遺伝子のイントロン領域にある2塩基欠失を示す

[図2]実施例3におけるReal time PCRの結果を示す

[図3]実施例5のfunctional splicing assay法におけるプラスミド設計の概略を示す

[図4]実施例5のfunctional splicing assay法の結果を示す。(ヒト293T細胞におけるファンクショナルスプライシングアッセイの結果(3つの独立した試験))

[図5]実施例5のfunctional splicing assay法の結果を示す。図5上:ファンクショナルスプライシングアッセイ及び各々の転写産物の予想されるサイズ。図5下: TaqMan probeを用いたエクソン10の転写の定量

[図6]図6～9は、BAP1遺伝子の塩基配列を示す(配列番号1)

[図7]図6～9は、BAP1遺伝子の塩基配列を示す(配列番号1)

[図8]図6～9は、BAP1遺伝子の塩基配列を示す(配列番号1)

[図9]図6～9は、BAP1遺伝子の塩基配列を示す（配列番号1）

発明を実施するための形態

[0011] 食道癌の発症リスクを判定する方法

本発明は、被験者のBAP1遺伝子における変異を検出し、該変異が検出された被験者を食道癌の発症リスクが存在すると判定する、食道癌の発症リスクを判定する方法を提供する。

[0012] 本発明において、「（食道癌の）発症リスクの判定」とは、将来食道癌を発症する可能性の有無の判定することを意味する。「判定」は、「検査」と換言することもできる。

[0013] 被験者（被験対象）は、特に限定されるものではないが、ヒトを含む哺乳類が例示される。非ヒト哺乳類としては、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ウマ等が挙げられる。本発明の判定方法の好ましい被験対象は、ヒトである。被験対象の性別、年齢、人種は特に限定されない。

[0014] 本発明において「遺伝子」とは、特に言及しない限り、2本鎖DNA、1本鎖DNA(センス鎖又はアンチセンス鎖)、及びそれらの断片が含まれる。また、本発明において「遺伝子」とは、特に言及しない限り、調節領域、コード領域、エクソン、及びイントロンを区別することなく示すものとする。

[0015] また、本明細書中において、「ヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は、核酸と同義であって、DNAおよびRNAの両方を含むものとする。また、これらは2本鎖であっても1本鎖であってもよく、ある配列を有する「ヌクレオチド」（または「オリゴヌクレオチド」、「ポリヌクレオチド」）といった場合、特に言及しない限り、これに相補的な配列を有する「ヌクレオチド」（または「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」）も包括的に意味するものとする。さらに、「ヌクレオチド」（または「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」）がRNAである場合、配列表に示される塩基記号「T」は「U」と読み替えられるものとする。

[0016] 本発明において、BAP1遺伝子としては、配列番号1で表される塩基配

列が挙げられる（図6～9）。本発明において、食道癌の発症リスクの指標となるBAP1遺伝子の変異とは、配列番号1で表される塩基配列に対し少なくとも1個（好ましくは1～3個）の塩基が欠失、置換、付加及び／又は挿入されていること、好ましくは少なくとも1個（好ましくは1～3個）の塩基が欠失していることを意味する。食道癌の発症リスクの指標となるBAP1遺伝子の変異が2個以上の塩基の場合、それらの塩基は連続していることが好ましい。BAP1遺伝子の変異としては、将来の悪性腫瘍発生のリスク診断の観点からは生殖細胞系列の遺伝子変異を指標とすることが好ましい。

[0017] BAP1遺伝子は、17個のエクソン及び16個のイントロンを有し、本発明の好ましい実施形態において、当該BAP1遺伝子の変異としては、9番目のイントロンであるイントロン9における変異が挙げられる。本発明の好ましい実施形態において、当該BAP1遺伝子の変異としては、当該BAP1遺伝子のイントロン9内の塩基配列ctctから塩基配列ctまたはtcが欠失したものが挙げられる。また当該変異は、Human Genome variation societyが規定する表記（<http://www.hgvs.org/mutnomen/examplesDNA.html#del>）のうち、nucleotide numbering coding DNA Reference Sequenceに従えば、c.784-26～c.784-23の塩基配列ctctから塩基配列ctまたはtcが欠失したものと換言することができる。当該欠失は、塩基配列ctctの5'の塩基配列ctが欠失したものであるも、塩基配列ctctの3'の塩基配列ctが欠失したものであるも、塩基配列ctctの中央の塩基配列tcが欠失したものであるもよい。これらの欠失により、いずれの場合もBAP1遺伝子のイントロン9内の塩基配列ctctは、塩基配列ctとなる。

[0018] 本発明において、特に明記しない限り、塩基配列及び遺伝子変異の記載法についてはHuman Genome Variation Societyが2013年1月26日に改訂したDescription of sequence changes: examples DNA-levelのnucleotide numbering coding DNA Reference Sequenceに従った。ここで、nucleotide numbering coding DNA Reference Sequenceの表記法に従うと、エクソンに含まれる

塩基配列Xは、5' UTR及びイントロンを除いたコーディング領域の塩基のうちX番目であることを意味する。ここでBAP1遺伝子のコーディング領域は、配列番号1でいう116~152番目、251~280番目、386~440番目、1388~1520番目、1917~2036番目、2534~2595番目、2678~2820番目、3087~3165番目、3618~3741番目、4082~4229番目、4700~4884番目、5408~5541番目、6100~6578番目、6696~6856番目、7123~7215番目、7320~7392番目、及び7573~7706番目の塩基配列で表される。従って、例えば、エクソン3の最初の塩基（配列番号1でいう386番目の塩基g）は、nucleotide numbering coding DNA Reference Sequenceの表記法に従うと、c.68と表記される。イントロンの場合、直前のエクソンの最後の塩基よりいくつ後にあるか、または直後のエクソンの最初の塩基よりいくつ前にあるかで示される。例えば、イントロン2のうち最後から10個目の塩基（配列番号1でいう376番目の塩基c）は、c.68-10と表記される。

[0019] また、本発明において、BAP1遺伝子中の塩基は、特に明記しない限り、nucleotide numbering coding DNA Reference Sequenceを参照配列として特定した塩基を示す。従って、被験者の検体におけるBAP1遺伝子に、本発明で食道癌の発症リスク判定の指標とする変異以外にも1個又は複数の塩基の付加、欠失、置換等の変異が存在する場合も、配列番号1を参照配列として特定した遺伝子座にある塩基に対応する塩基を示す。例えば、検体のBAP1遺伝子において配列番号1でいう4059~4081番目の塩基配列の領域に1個又は複数の塩基の付加、欠失等があっても、「検体のBAP1におけるnucleotide numbering coding DNA Reference Sequenceの表記法でc.784-26~c.784-23の塩基配列」とは、配列番号1でいう4056~4059番目のctctに対応する塩基配列を意味する（図6）。

[0020] BAP1遺伝子のイントロン9内の塩基配列ctctとは、BAP1遺伝子のイントロン9内の塩基配列tttctcctctgagcc（配列番号2）における7~10番目の塩基配列ctctと換言できる。

[0021] BAP1における変異を検出する方法としては、特に限定されず、例えば

、サザンブロット法、ノーザンブロット法、PCRを使用する方法等が挙げられる。PCRを使用する方法としては、変異を含むオリゴヌクレオチドをプライマーとして用いる方法、PCRとシーケンスとを組み合わせる方法、PCR-SSCP法、PCR後に制限酵素を利用する方法、対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドプローブ（ASO）を利用する方法等が挙げられ、real time PCR法、PCRとシーケンスとを組み合わせる方法等が好ましい。

[0022] 変異を含むオリゴヌクレオチドをプライマーとして用いるPCR法を用いる場合、BAP1遺伝子中における所定の変異部位を含むオリゴヌクレオチドをプライマーの一方に用いる。そして、当該プライマーを用い、BAP1遺伝子が所定の変異部位を有する場合に、BAP1遺伝子中の当該変異部位を含む部分が増幅され、かつ、BAP1遺伝子が所定の変異部位を有さない場合に当該部分が有意に増幅されないような条件をあらかじめ設定しておく。当該設定された条件で検体をPCRにかけ、BAP1遺伝子中の当該変異部位を含む部分が増幅されるか否かで変異の有無を決定する。当該方法においてreal time PCR法を用いると、短時間で評価ができ、簡便なため、特に初期のスクリーニング等として有効である。real time PCR法を用いる場合には、例えば、RFU（相対蛍光単位）等により示される目的のヌクレオチドの濃度が閾値を超えるまでのサイクル数を指標とし、当該サイクル数があらかじめ設定したcut off値よりも小さい場合に変異を有するとし、当該サイクル数があらかじめ設定したcut off値以上の場合もしくは目的のヌクレオチドの濃度が閾値を超えなかった場合に変異を無とする。

[0023] PCRとシーケンスとを組み合わせる方法としては、所定の変異をはさむ位置にプライマーセットを設計し、当該プライマーを用いて検体をPCRにかけ、増幅したヌクレオチドの塩基配列をシーケンスにより決定する方法が挙げられる。

[0024] 本発明において、変異の検出に用いるプローブ又はプライマーとして用いられるオリゴヌクレオチドの塩基数は、15～50塩基、好ましくは、15～40塩基、より好ましくは18～23塩基、より好ましくは19～22塩基である。

[0025] 各検出方法に用いる検体は、本発明の判定方法の被験対象に由来する。検体は被験対象に由来する血液検体を好適に使用することができ、血液検体には、例えば血液（全血）及び血液に由来する血清、血漿、白血球などが含まれる。本発明の好ましい態様の一つにおいて、検体は全血または白血球である。

[0026] 検体は、当業者に公知の方法で採取することができる。例えば、血液は、注射器などを用いた採血によって採取することができる。なお、採血は、医師、看護師などの医療従事者が行うことが望ましい。血清は、血液から血球及び特定の血液凝固因子を除去した部分であり、例えば、血液を凝固させた後の上澄みとして得ることができる。血漿は、血液から血球を除去した部分であり、例えば、血液を凝固させない条件下で遠心分離に供した際の上澄みとして得ることができる。白血球は、血液から血清および血餅を除去した部分であり、例えば、全血を遠心分離し、中間層としてのbuffy coatとして得ることができる。検体はこれらのものに限られず、公知の方法により全血から抽出されたgenomic DNAも対象となり得る。検体は、被験対象の動脈由来、静脈由来、末梢血管由来のいずれであってもよい。

上記方法により、食道癌の発症リスクが存在すると判定された被験者には、上記BAP遺伝子の変異を検出する方法以外の方法で食道癌の診断を行うことが有効である。例えば、上部消化管内視鏡検査、上部消化管透視（バリウム）検査等の診断方法を行うことが有効であり、これらの診断方法を定期的に行うことにより食道癌の早期発見が期待できる。

従って、本発明は、被験者のBAP1遺伝子における変異を検出し、該変異が検出された被験者を食道癌の発症リスクが存在すると判定する、食道癌の発症リスクを判定する工程、及び前記工程により、食道癌の発症リスクが存在すると判定された被験者に、食道癌を発見するための診断を行う工程を含む、食道癌の診断方法も提供する。

[0027] 食道癌の発症リスクを判定するためのキット

本発明は、BAP1遺伝子における変異を検出するための手段を含む、食道癌の発症リスクを判定するためのキットを提供する。

[0028] BAP1遺伝子における変異を検出するための手段としては、特に限定されないが、例えば、前述したサザンブロット法、ノーザンブロット法、PCRを使用する方法等に用いる手段を挙げることができる。好ましくは、当該BAP1遺伝子における変異を検出するための手段には、プライマー又はプローブとして、変異を有するBAP1遺伝子における当該変異部位を含むオリゴヌクレオチドが含まれ得る。

[0029] また、本発明のキットには、必要に応じて他の成分を含めることができる。他の成分は、例えば検体を採取するための道具（例えば、注射器等）、ポジティブコントロール試料及びネガティブコントロール試料などが挙げられるが、これに限定されない。上記判定方法を行うための手順を書き記した書面等を含むこともできる。

実施例

[0030] 実施例 1

本発明者は、倫理委員会承認の元に（承認番号；2005-124、2008-31、2011-80、2011-432、2012-442）食道扁平上皮癌患者69名の切除標本（腫瘍部および正常粘膜部）からgenomic DNAを抽出し研究を行ってきた。具体的には、直接シーケンス法により、上記末梢血白血球由来または切除標本中のBAP1遺伝子中の変異を調べた。

[0031] この研究の結果、これまでに報告の無い、BAP1遺伝子のイントロン領域にある2塩基欠失を発見した（図1）。これはイントロン9に存在し、イントロン9とエクソン10のexon-intron junctionの上流23塩基のCTの欠失である。尚、25塩基上流のCTまたは24塩基上流のTCの欠失でも結果として同じ塩基配列になるため、これら3種類のいずれかの欠失が生じていることが分かる。

[0032] 実施例 2 real time PCR法によるスクリーニング法の確立

real time PCR法（Biorad社）を応用した迅速で簡便なスクリーニング法を

確立した。具体的には、実施例1で示した2塩基欠失に特異的に反応するPCRプライマー（5' -GGGTCTACCCTTTCTCCTGA-3'（配列番号3）及び5' -GTCCACAAGAGGTCCCAAAC-3'（配列番号4））を作成し、この変異を有するDNA（ポジティブコントロール、No. 122の検体）又はこの変異を有さない正常配列のDNA（No. 170の検体）をtemplateとして、アニール温度を60℃から75℃まで変動させて、realtimePCR解析をおこなった。その結果、RFUが閾値を超えるまでのサイクル数を30回でcut offとするとアニール温度が69℃で変異ありのDNAで陽性、変異無しの正常塩基配列のDNAで陰性の結果を得た。なお、このスクリーニング方法が有用であることは直接シーケンシング法によって確認することが出来た。すなわち、下記実施例3において2例のPCR陽性例ではいずれも当該2塩基欠失を確認し、PCR陰性のうち、ランダムに抽出した29例はいずれも正常の塩基配列であった。

[0033] なお、このRealtimePCRの詳細は以下の通りである：

反応液：10 μ l

反応液組成：テンプレートDNA20ng（ナノグラム）、プライマーDNA（20microM）各々0.25 μ L、SsoAdvanced SYBR Green Supermix 5 microL（Bio-rad 社製）

温度設定：

1: 95.0℃ for 3:00

2: 95.0℃ for 0:01

3: 69.0℃ for 0:30

Plate Read

4: GOTO 2, 39 more times

実施例3

上記条件に従い、実施例1及び2で検査したのとは別の食道扁平上皮癌患者217例（各検体をST1～ST217とする）の末梢血白血球由来のgenomic DNAをスクリーニングした。Real time PCRの結果を図2に示す。その結果、上記ポジティブコントロールとしたNo. 122の検体と、ほぼ同じサ

イクル数でST28とST166で陽性の結果を得た。尚、この2例についてはdirect sequence法により、2塩基欠失を持つことを確認した。食道扁平上皮癌患者217例中、ST28及びST166以外の215例については、Real time PCRの結果、陰性であった。陰性例はランダムに選択した29例で同様にシーケンスを行い、2塩基欠失を持たないことを確認した。

[0034] 実施例4

前述の実施例1～3に示すように、食道扁平上皮癌患者286名中、4名において、イントロン9とエクソン10のexon-intron junctionの上流23塩基のCTの欠失が見られた。

[0035] 一方、米国政府機関 (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA、以下NCBI) の発行する遺伝子多型の検索サイト (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_SPEC=SNP&BLAST_PROGRAM=S=megaBlast&PAGE_TYPE=BlastSearch&SHOW_DEFAULTS=on&LINK_LOC=blasthome) で検索したが、この変異の報告は正常人1089名ではない。この情報から統計学的解析を行うとChi二乗検定では $p < 0.001$ 、Fisherの正確法検定では $p = 0.002$ で有意に食道扁平上皮癌患者と相関があるとの結果であった。

[0036] 以上の結果から、この遺伝子変異 (あるいは多型) を上記に示した迅速かつ簡便な方法で末梢血白血球由来のgenomic DNAで検出することにより、将来の食道扁平上皮癌発生のリスクを明らかにすることが出来ることが分かる。高リスクと診断されれば、内視鏡検査などにより早期発見が可能となり、その結果として、リスクが高く、また術後の愁訴も極めて多い食道切除術の回避、あるいは副作用のリスクも高く、そのための支持療法や抗がん薬や分子標的薬に代表される高額医薬品による医療費の高騰に繋がる放射線化学療法の抑制も可能となる。個人および社会にとって、極めて意義の大きい発見であると考えられる。

[0037] 実施例5

前述のイントロン9における変異は、Genomeにおける位置からはsplicing

に影響を与える可能性が予想される。これを直接、評価するために、functional splicing assay法を使用し（図3 および参考文献；Determination of splice-site mutations in Lynch syndrome (hereditary non-polyposis colorectal cancer) patients using functional splicing assay Hiromu Naruse et al. Familial Cancer DOI 10.1007/s10689-009-9280-6）、このイントロン内の2塩基欠失の生物学的意義を評価した。上記文献に沿って、functional splicing assayを行い、電気泳動で評価したところ、2塩基欠失を導入した場合、正常の塩基配列をもつプラスミドに比べて、エクソン10の転写効率が著しく低下することが示された（図4及び5）。

以上から病的な意義、すなわち、2塩基欠失ではエクソン10の転写効率が低下しているために食道扁平上皮癌発癌の可能性が高まっていると考えられる。

産業上の利用可能性

[0038] 食道癌を含め癌の早期発見に対する要望は非常に大きいところ、本発明は、新規な食道癌リスクの判定方法を提供するものであるため、産業利用上、非常に有用である。

配列表フリーテキスト

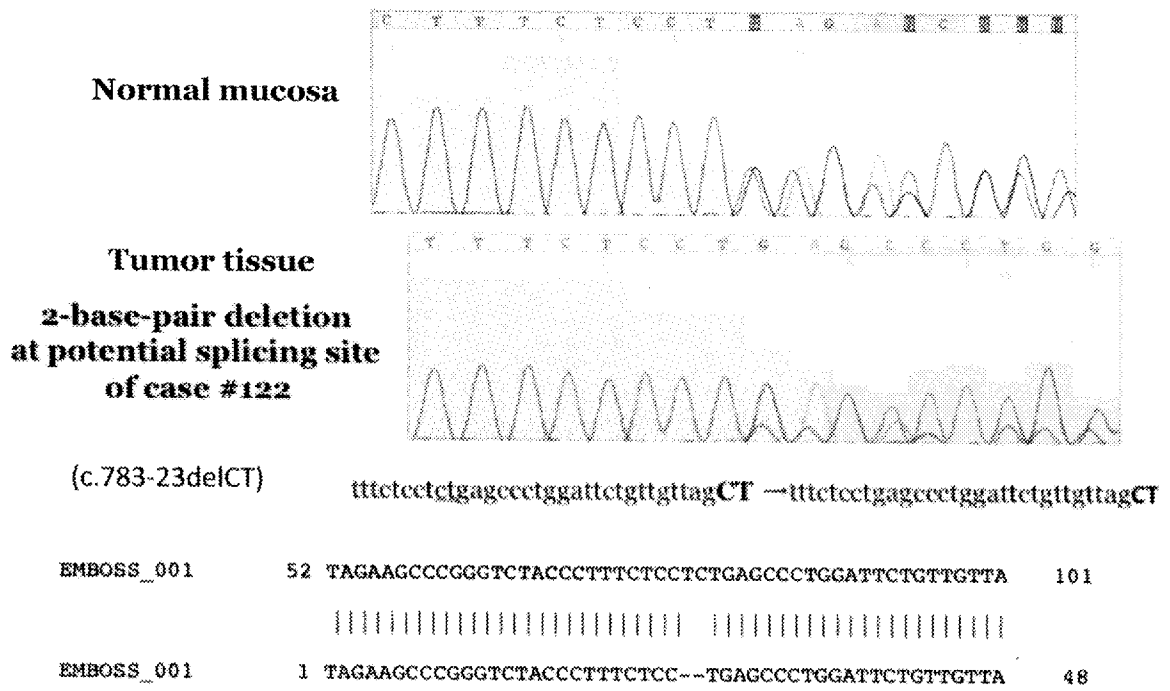
[0039] 配列番号3はプライマーである。

[0040] 配列番号4はプライマーである。

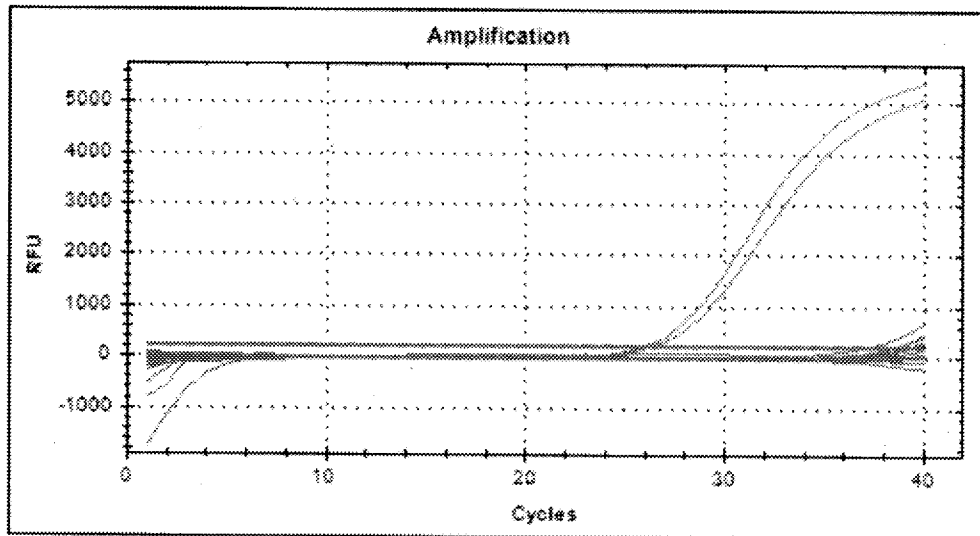
請求の範囲

- [請求項1] 被験者のB A P 1 遺伝子における変異を検出し、該変異が検出された被験者を食道癌の発症リスクが存在すると判定する、食道癌の発症リスクを判定する方法。
- [請求項2] 前記変異が、B A P 1 遺伝子のイントロン9の塩基配列ctctから塩基配列ctまたはtcが欠失したものである、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記B A P 1 遺伝子の変異が、生殖細胞系列の遺伝子変異である、請求項1又は2に記載の方法。
- [請求項4] B A P 1 遺伝子における変異を検出するための手段を含む、食道癌の発症リスクを判定するためのキット。
- [請求項5] 前記変異が、B A P 1 遺伝子のイントロン9内の塩基配列ctctから塩基配列ctまたはtcが欠失したものである、請求項4に記載のキット。
- [請求項6] 被験者のB A P 1 遺伝子における変異を検出し、該変異が検出された被験者を食道癌の発症リスクが存在すると判定する、食道癌の発症リスクを判定する工程、及び
前記工程により、食道癌の発症リスクが存在すると判定された被験者に、食道癌を発見するための診断を行う工程
を含む、食道癌の診断方法。

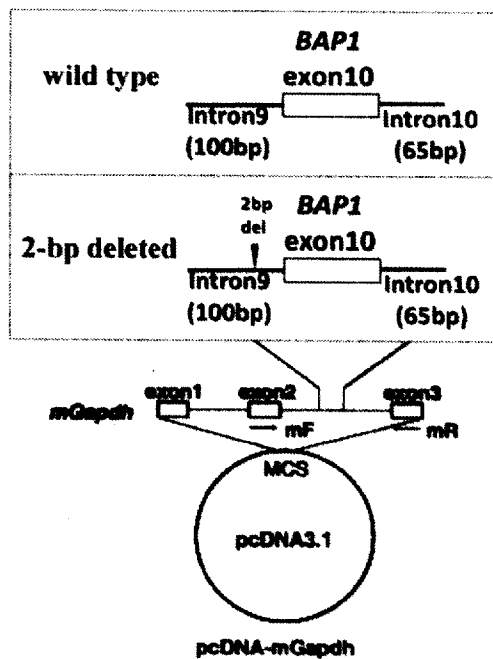
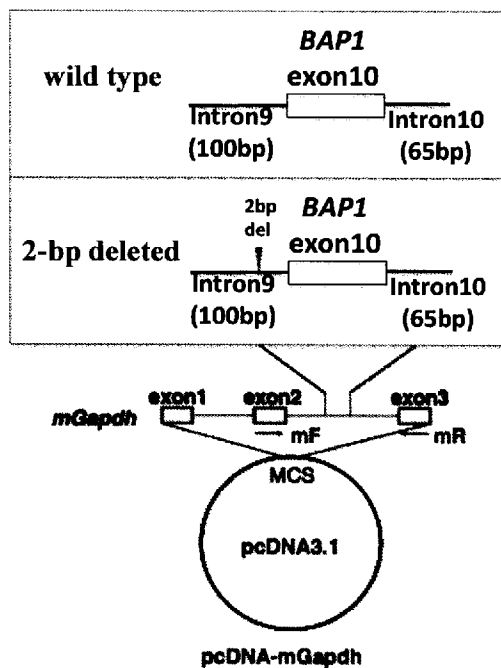
[図1]



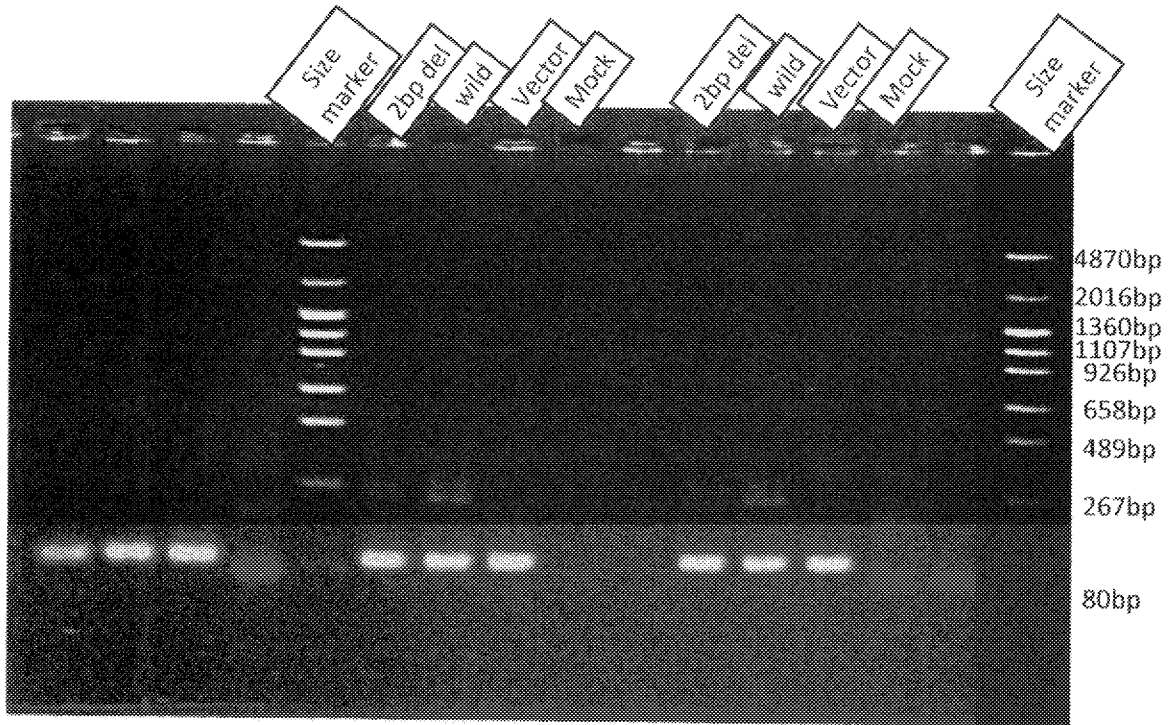
[図2]



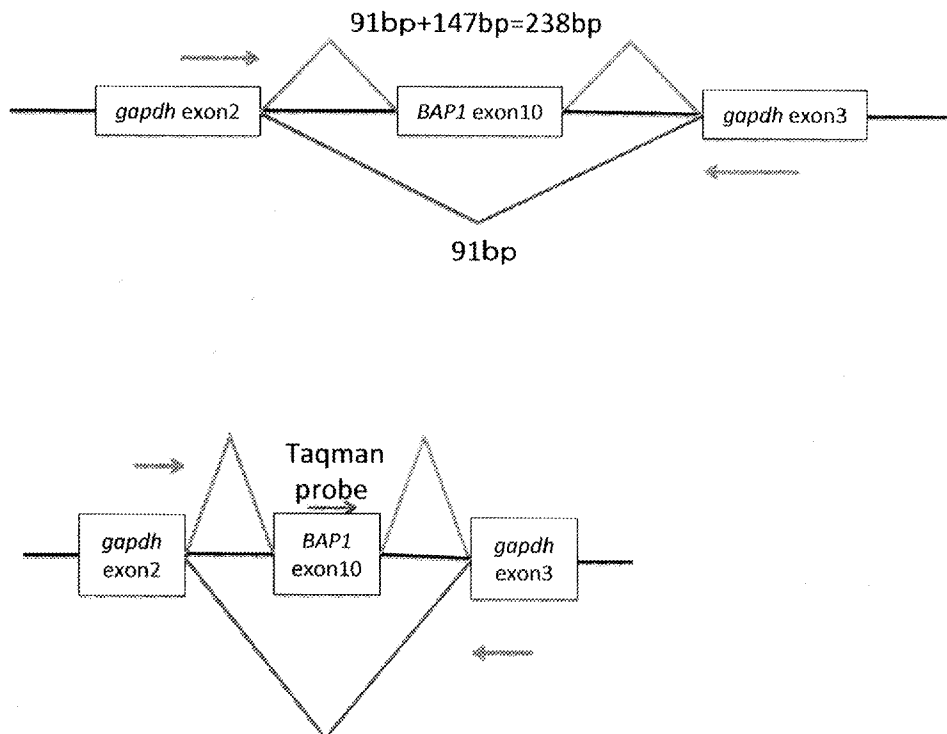
[図3]



[図4]



[図5]



[図6]

1 gcccgttgtc tgtgtgtggg actgaggggc cccgggggcg gtgggggctc ccggtggggg
 61 cagcgggtggg gagggagggc ctggacatgg cgctgagggg ccgccccgcg ggaagatgaa
 121 taagggctgg ctggagctgg agagcgaccc aggtgaggag gggaccggga gggccagggg
 181 ctggggagggc cggatgggccc cgggacgcgc ctgcctgacc atcaccocct cctcttgtcg
 241 ccccaccag gccctttcac cctgctcgtg gaagatttcg gtaagagcct tttctccctg
 301 ccggaccggg gctgtggcgg cccaccctg cgcctcact catcaggggc tgtccttccc
 361 tactgctttc ctttcctcat cgcaggtgtc aaggggggtgc aagtggagga gatctacgac
 421 cttcagagca aatgtcaggg gtgagtggct gtacaccagg gctgcccctt acaccagag
 481 tgctggggaa ggtcccagag aacagggccc cttagggag acagtgccag gaacctacg
 541 ttgtaaaatc tcacagaaa cagcagcctt gctctctgag tgcccgctcc tgatcaaact
 601 gatactttct tttctcccaa actttcctta gccttccct tttttagca gccccctccc
 661 caccctaag catcctttgg ttcagctgct ttctggcct tgcagcggga agaccocggt
 721 cacacaatgt cttttgtgca gttgtgtaat gtattaatt tagtgtgccc atgtgtcctt
 781 ggctttaatc ctgacacaaa gtcatcctgt attgattggg tggggtgaca aggccctcc
 841 tgggtgccc cacttagagt cttttcccag tggctctgca gaatagatgt gtaagagagt
 901 agcaacagta gcaaccgtga ctgaaccaag aagtctactt taatttctg gaacaaaaga
 961 gactgggtg ggtgttcatt tgctttcctg actgcattgg ggcccacaag tgagaaggag
 1021 tgccctcagtt cctcatcaga gttttgttc ttgtcttact ttgtgttcc accctgtccc
 1081 atccttggcc ctacagttcca gcttttcttc tcttaccag aactatagac ttcataagga
 1141 gactgggtg actcctggag catcacagtc agaggcttat gctttgctct gcctgtggca
 1201 ggcctttggg gtgtgagggc acaaggccac ttcagacaca gtgttgggaa gaagccaggg
 1261 gagagggggg atcacagcaa ggacacctga gtgatgacgc agtgcaaagg ataatggga
 1321 gaaagaaggg aatgctgatt gtcttctccc ctttggctga tctggctctg ccccttactt
 1381 ccccagccc tgtatatgga tttatcttcc tgttcaaag gatcgaagag cgccggtccc
 1441 ggcgaaagg ctctaccttg gtggatgata cgtccgtgat tgatgatgat attgtgaata
 1501 acatgttctt tgcccaccag gtctgctgga ctctgtgctt tgtttggagg gtgggatgct
 1561 gccatgtttt tgcttgggaa gtggaaatgg aggaagacag gaggaggaga taggcagatt
 1621 ctaggggtgg tagctacaga aatcctctgg cagaacgaac tgaactctta attcattaaa
 1681 gggaacagct ttagagtagg aggggtgctg agtccactct ctgtgtcctc agatatccag
 1741 tgggtatttg gtaggtgctt gttaaagaa taacattag gcaaagatga aaggagctga
 1801 gaaggggagt tgtccagata tgactgacct gctctggatc ccattcttg atgtatatg
 1861 gcttggggct tgcagtgagg ggtgctgtgt atgggtgact attcttgggt tcacagctga
 1921 taccoaactc ttgtgcaact catgccttgc tgagcgtgct cctgaactgc agcagcgtgg
 1981 acctgggacc caccctgagt cgcaggaagg acttcaccaa gggtttcagc cctgaggtag
 2041 gctgcagtgc cttcatcctg gctcacagcc aactgggcag atctgacct gagggccact
 2101 gggaatgcta ccacatgata ttgggtacta ttaggctggt tcttttcaa atgattgttt
 2161 atgttacatt tgactcttaa ataaattgtg taaggccatt gtttttagat gcagttgcgg
 2221 ggaaaggaca caggcctagg gagggaggag agtttctta agtcagacca tgtcagaacc
 2281 ttctctgtca ggacttttcc tctcaggcca tgttgcctcc tagtgtccac taattaccat
 2341 gcaaggccag cacagtccat ctctttgggg ctccagagct cttttctgcc cccaccagcc
 2401 ttttaagaaa gttcgtctgt gttccttccg attcctggaa tgccctcagg ctgctctctg
 2461 aagctttgcc ttccaccat agtccctacc gaggagaaat tattctgata cggccttatt
 2521 ttcttccccg tagagcaaa gatatgcgat tggcaatgcc ccggagttgg ccaaggccca
 2581 taatagccat gccagggtgtg tgggagctgt gggagctgat gtgggggtggg agtaggggga
 2641 gtatcatttt ttgggcccctg actctgtttt tcccaggcc cgagccacgc cacctcctg
 2701 agaagcagaa tggccttagt gcagtgcgga ccatggaggc gttccacttt gtcagctatg
 2761 tgctatcac aggccggctc tttgagctgg atgggctgaa ggtctacccc attgaccatg
 2821 gtaggcacca tgagctggag gcctgttggg tgtctctgcc tacctcctag ggagctgggg

[図7]

続き

2881 ctcaagggccc tctgggatgt ggtaccocagt ggcagggggt gtccgtaaccg acaccocggct
 2941 ctggctgggg ttccacccta caccatattg cccgaccago tectgattcc ctggctcaac
 3001 tgcctctctc tgtcttctct cccactcctg gectgcccac actcaggggtt tccctctcgc
 3061 tgattccttg tcttggtctc cactagggcc ctggggggag gacgaggagt ggacagacaa
 3121 ggccocgggg gtcateatgg agcgtatcgg cctcgcact gcagggttaag ggccctgtgc
 3181 ctgcoctggt ctactctctg gagctgtacc tactttggga gggacagaga gtatccaggt
 3241 gatttgtaaa ttgcaaggcc atatggtgaa tctggcaaga tcaggcttag atcatggggt
 3301 ctcaacttgt tgtcttattt cctgcctggg ctgcctgtgg cctgctcctg ggtgggctgg
 3361 gggaggggca ggcctcagtg gagccttagg cagcccaggt ctgctggttc acttccagat
 3421 agcccccctc tacagcttgt tgggaaggta cagctcaggt gectggcatg tatggctagt
 3481 cgtgcctgc ctggtggggg ggggectata cctacagctg caggtgtgac tgcagggagc
 3541 cctgccagga tatctgcctc aacctgatgg cggggccggg ggggagctg ctctcagggc
 3601 tgggctgtg actgcaggga gccctaccac gacatccgt tcaacctgat ggcagtgggtg
 3661 cccgaccgca ggatcaagta tgaggccagg ctgcatgtgc tgaagggtgaa ccgtcagaca
 3721 gtactagagg ctctgcagca ggtagggtgc cttctctctt ggcctctgoc cagcccaccc

|→intron 9

3781 ctccctgcat tctcctccc ttccccaca gcatttgtct ctgattcgtg aacatactct
 3841 cttgtagatc tgggcttcag ctaaccacat ctttctctt ccccattgt gggaaagggtg
 3901 ggacttgag tggggagggga gaatagcttc taaaaggaag tttgggtttg ggtgttttat
 3961 tccctgtga gtgaatgggt agagccaagg ccattattcc tttaggtcct cagcccttag
 4021 ctatttaagg tagaagccc ggtctaccct tctctctg agctctggat tctgttgtta
 4081 ctgataaga gtaacacagc cagagctgat tcagaccac aagtctcaag agtcacagct

intron 9→|

4141 gectgaggag tccaagtccg ccagcaacaa gtccccgctg gtgctggaag caaacagggc
 4201 ccctgcagcc tctgagggca accacacagg tactgggggg tttgggacct cttgtggacc
 4261 tcagagccac ccgctaattg ctgacatggg aggcctaac agggaaagtc ttttctggg
 4321 gatgtecttg ggcagtgttc ttccccgctc agaaggtaga gggagagcag tccctcccta
 4381 aagaaaggca cctgtaaagg gccctgttta ccacaggccc ctgggcccct ctctgtaaatg
 4441 tacactccct ttcttgtttt ctctagaggc ggttttttt tttttttttt tttttttttt
 4501 tcttctctgct tcttttttcc catctcattc fttgcctgt ctctattgcg gatcatgact
 4561 tagagcttgc tgactcccat tgcaccagct ggcgggctg ttcttctctg ggaagtgtctg
 4621 gttcacaggg ccggggagac tgtgagcttt tcttgagat cctactggag gtcctgocctg
 4681 tgttcttgc ctgtctcaga ttgtgcagag gagggcctg gttcatgcgc acaagcccca
 4741 tcccacagcc ctcccacaaa acccaagcta gtggtgaagc ctccaggcag cagcctcaat
 4801 ggggttcacc ccaaccccac tcccattgtc cagcggctgc cggcctttct agacaatcac
 4861 aattatgcca agtcccccat gcaggtaagc tgggagcacc cttgcaggat tctctacttg
 4921 attctcttga gaggctgcaa caggcaattt tccatgtgg ttccttgggt tctatccttg
 4981 gcatggctgg gtcaagctgc ctgggocctg gttgctaggt tccctgect gatatgaaaa
 5041 ggccccaca acagcaggag cttagggagg cagggagagc tcccttgaat ttaatctagt
 5101 tacgtggctg tgggattaaa tgtttaggtc acgctccttg gtacaacttc atgggttggg
 5161 ttttactggc aaaataaagg catgtgtttc agggcactct gtttctctta aaaccctctc
 5221 gtggggttct atccagtgtc agtgggtggc agcctcccca caagccaagg acagggcctg
 5281 gaacagctgg aggggttccg ctgactcagt ctggaaaacc atgttggctt tctctctggc
 5341 tgtgagtgtc taggctcagc ctgggcccag cagcacttgt ttgtaactgc cctggctctt
 5401 gtcccaggag gaagaagacc tggcggcagg tgtgggccc agccaggttc cagtcocccc
 5461 accccagcag tactcagatg atgaggatga ctatgaggat gacgaggagg atgacgtgca
 5521 gaacaccaac tctgcctta ggtcagccca gctttctaa gctaccaggt tctaggtgct

[図8]

続き

5581 tcggatccca tcctgaatat ctcagtctgt gtctgagaat gccctgcagc agataatggt
 5641 gagcacctgc ggagtttggg gccctggggg aggctggcat gatggggctg accccaggtc
 5701 cccaggaagt ttttgggtggg ctggggggta aggctgagca cgtaagctta tatcatgtcc
 5761 tattggaagt ggccttttag ccaggccttg aaggattggt tggggcaggg atggaggaga
 5821 tgtgggtggt ggggaggcag ctttgctgga acacagggca ttggcaaaag gccaggagtg
 5881 ggatggctgg aatagaggaa gtgtcttttg aggacacttg gctgcagctg tcagaacttg
 5941 atgccaggct tagcatggct agttcaagtt gcttggacca agtataagga gttttagggt
 6001 cagcccctgg aggtcgggat gtatttaagc cattctgggt actgctgggt atggtcacct
 6061 ggcccgttcc cttgcttcac atcttctcgg gcccacagg tataagggga agggaacagg
 6121 gaagccaggg gcattgagcg gttctgctga tgggcaactg tcagtctgc agcccaacac
 6181 catcaacgtc ttggctgaga agctcaaaga gtcccagaag gacctctcaa ttctctgtc
 6241 catcaagact agcagcgggg ctgggagtcc ggctgtggca gtgccacac actcgcagcc
 6301 ctcaccacc cccagcaatg agagtacaga cacggcctct gagatcggca gtgctttcaa
 6361 ctgccactg cgctcgcta tccgctcagc caaccgcagc cggccctcca gccctgtcac
 6421 ctcccacatc tccaaggtgc tttttggaga ggatgacagc ctgctgcgtg ttgactgat
 6481 acgtacaac cgtgctgtcc gtgatctggg tctgtcatc agcacaggcc tgetgcacct
 6541 ggctgaggat ggggtgctga gtcccctggc gctgacaggt gggccttggga ctggctcact
 6601 ggccacttgg tgcaccagc agggaggagg gaagtggcca agtgaccaca aagtgtctg
 6661 cactctgatg attttcttgt gacctctctt cccagagggg ggaaggggtt cctcgcctc
 6721 catcagacca atccaaggca gccaggggtc cagcagcca gtggagaagg aggtcgtgga
 6781 agccacggac agcagagaga agacgggat ggtgaggcct ggcgagcctt tgagtgggga
 6841 gaaataactca cccaaggtga gcctccgttg tggttttctc ctttaatect ggcagagggg
 6901 aaggcctgag ctctctctgc ccaggtgcca agttcttgat tggaaacttg gtgtgaagat
 6961 tgggtgctgg agccatgtgc cagaagactt tctgggttgg gtgggtggcag gggccttgat
 7021 aggeatggac tegtgtctca tecttgctc tagctgccta ttgctcgtgg gctttgttg
 7081 ctggcccgc ccgatcagag gtgcaatgct gggttttggc aggagctgct ggcactgctg
 7141 aagtgtgtgg aggctgagat tgcaaaactat gaggcgtgcc tcaaggagga ggtagagaag
 7201 aggaagaagt tcaaggtggg tgatttctcc agttgcctga tctggcctct cccgaggtcc
 7261 actggtggct gctctggcaa gattggctcc agtgctctca gtcttcttct ctctacaga
 7321 ttgatgacca gagaaggacc cacaactacg atgagttcat ctgcacctt atctccatgc
 7381 tggtcagga aggtgagggg atgcgctgct gtcttaactg gaatgcctg ctgagggccg
 7441 tgtcctcag ctcccctccc ctggcctctc ctgaggcttg agcagacctt ggggcacagc
 7501 gagggccatg agagcctcag ctctggcct gaggcagcca gcacctgctc aagggtctct
 7561 acctcttgc aggcattgctg gccaacctag tggagcagaa catctcctg cgggcgcc
 7621 aaggggtcag catcgcccg ctccacaagc agcgggaagc tgaccggcg aaacgctctc
 7681 gccctacaa ggccaagcgc cagtgaggac tgctggcct gactctgcag cccactcttg
 7741 cegtgtggcc ctaccaggg tcttccctg cccacttcc ctttttccca gtattactga
 7801 atagtcccag ctggagagtc caggccctgg gaatgggagg aaccaggcca cattccttcc
 7861 atcgtgcctt gaggcctgac acggcagatc agcccatag tgctcaggag gcagcatctg
 7921 gagttggggc acagcgaggt actgcagctt cctccacagc cggctgtgga gcagcaggac
 7981 ctggcccttc tgctgggca gcagaatata tattttacct atcagagaca tctattttc
 8041 tgggtccaa cccaacatgc caccatgttg acataagttc ctacctgact atgctttctc
 8101 tctaggagc tgtcctggtg ggcccaggtc cttgtatcat gccacggctc caactacagg
 8161 gtcttagctg gggcctggg tgggcctgg gctctgggccc ctgctgctct agccccagcc
 8221 accagcctgt cctgttgta aggaagccag gtcttctctc ttacttctc ttaggagagt
 8281 gccaaactca gggaccagc actgggctgg gttgggagta ggggtgcecca gtggggttg
 8341 ggtgagcagg ctgctgggat cccatggcct gagcagagca tgtgggaact gttcagtggc

[図9]

続き

8401 ctgtgaactg ttttccttgt tctagccagg ctgttcaaga ctgctctcca tagcaaggtt
8461 ctagggctct tcgccttcag tgttgtggcc ctagctatgg gcctaaattg ggctctaggt
8521 ctctgtccct ggcgcttgag gctcagaaga gcctctgtcc agcccctcag tattaccatg
8581 tctccctctc aggggtagca gagacagggt tgcttatagg aagctggcac cactcagctc
8641 ttctgtctac tccagtttcc tcagcctctg caaggcactc aggggtggggg acagcaggat
8701 caagacaacc cgttggagcc cctgtgttcc agaggacctg atgccaaagg gtaatgggcc
8761 cagcagtgcc tctggagccc aggccccaac acagcccat ggctctgcc agatggcttt
8821 gaaaaagggtg atccaagcag gccctttat ctgtacatag tgactgagtg ggggggtgctg
8881 gcaagtgtgg cagctgcctc tgggctgagc acagcttgac cctctagcc cctgtaaata
8941 ctggatcaat gaatgaataa aactctccta agaattctct gagaaa

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/055698

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/00(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)

C12Q1/00-3/00, C12N15/00-15/90

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, CAPplus/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.
X	WO 2012/112846 A2 (FOX CHASE CANCER CENTER), 23 August 2012 (23.08.2012), claims; page 13, line 31 to page 14, line 2 (Family: none)	1-5
A	ABDEL-RAHMAN et al., Germline BAP1 mutation predisposes to uveal melanoma, lung adenocarcinoma, meningioma, and other cancers, Journal of Medical Genetics, 2011, Vol.48, p.856-859	1-5
A	TESTA et al., Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma, Nature Genetics, 2011, Vol.43, No.10, p.1022-1025	1-5

 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

16 May, 2014 (16.05.14)

Date of mailing of the international search report

27 May, 2014 (27.05.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/055698

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PENA-LLOPIS et al., BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma, Nature Genetics, 2012, Vol.44, No.7, p.751-759	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/055698

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.: 6
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 6 pertains to a method for diagnosing esophageal cancer and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
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 (IPC)) Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/00(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 (IPC)) Int.Cl. C12Q1/00-3/00, C12N15/00-15/90		
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 1971-2014年 日本国実用新案登録公報 1996-2014年 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) GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, CAlus/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 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	WO 2012/112846 A2 (FOX CHASE CANCER CENTER) 2012.08.23, 請求の範囲、第13頁第31行-第14頁第2行 (ファミリーなし)	1-5
A	ABDEL-RAHMAN et al., Germline BAP1 mutation predisposes to uveal melanoma, lung adenocarcinoma, meningioma, and other cancers, Journal of Medical Genetics, 2011, Vol.48, p.856-859	1-5
<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 「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 16.05.2014	国際調査報告の発送日 27.05.2014	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 中根 知大 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	4 N 4047

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
A	TESTA et al., Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma, Nature Genetics, 2011, Vol.43, No.10, p.1022-1025	1 - 5
A	PENA-LLOPIS et al., BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma, Nature Genetics, 2012, Vol.44, No.7, p.751-759	1 - 5

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 6 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 6 は、食道癌の診断方法に関するものであって、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。
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。