

(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  
2012年10月4日(04.10.2012)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号

WO 2012/133814 A1

- (51) 国際特許分類:  
A61K 39/395 (2006.01) G01N 33/53 (2006.01)  
A61P 1/00 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)  
G01N 33/48 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/058668
- (22) 国際出願日: 2012年3月30日(30.03.2012)
- (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 2011-080261 2011年3月31日(31.03.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立  
大学法人京都大学 (Kyoto University) [JP/JP]; 〒  
6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地  
1 Kyoto (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 土屋 創健  
(TSUCHIYA, Soken) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京  
都市左京区吉田下阿達町4-6-29 国立大学法  
人京都大学最先端創薬研究センター内 Kyoto  
(JP). 辻本 豪三 (TSUJIMOTO, Gozoh) [JP/JP]; 〒  
6068501 京都府京都市左京区吉田下阿達町4-6

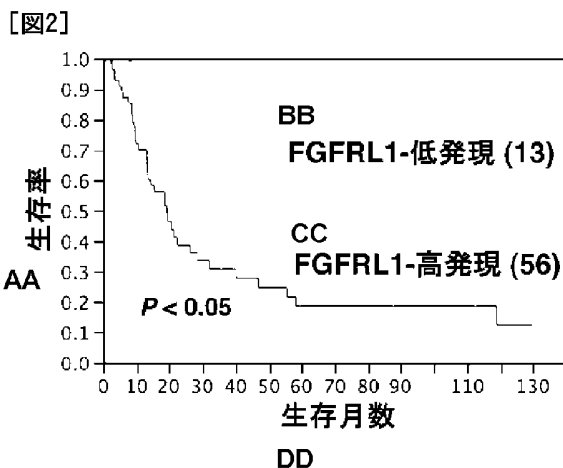
— 29 国立大学法人京都大学最先端創薬研究  
センター内 Kyoto (JP). 清水 一治 (SHIMIZU,  
Kazuharu) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区  
吉田下阿達町4-6-29 国立大学法人京都大  
学最先端創薬研究センター内 Kyoto (JP). 嶋田  
裕 (SHIMADA, Yutaka) [JP/JP]; 〒9300194 富山県富  
山市杉谷2-6-30 国立大学法人富山大学医学  
部内 Toyama (JP). 塚田 一博 (TSUKADA,  
Kazuhiro) [JP/JP]; 〒9300194 富山県富山市杉谷2  
-6-30 国立大学法人富山大学医学部内 Toy-  
ama (JP).

- (74) 代理人: 谷川 英次郎 (TANIGAWA, Hidejiro); 〒  
1020072 東京都千代田区飯田橋4丁目5番12  
号 SK飯田橋ビル6階 谷川国際特許事務所  
内 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, 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, KM, 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, PE, PG, PH, PL, PT,  
QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,

[続葉有]

(54) Title: THERAPEUTIC AGENT FOR CANCER, AND METHOD FOR DETERMINING PROGNOSIS OF CANCER

(54) 発明の名称: 癌治療剤及び癌の予後判定方法



AA Survival rate  
 BB FGFRL1 is expressed at low level (13)  
 CC FGFRL1 is expressed at high level (56)  
 DD Survival time, month

(57) Abstract: Disclosed are: a novel therapeutic agent for cancer such as esophageal squamous cell carcinoma; a method for determining the prognosis of cancer; and a method for detecting cancer such as esophageal squamous cell carcinoma or determining the prognosis of the cancer using a sample that can be collected non-invasively. The therapeutic agent for cancer comprises an antibody capable of performing an antigen-antibody reaction with FGFRL1 to inhibit the proliferation of cancer cells or an antigen-binding fragment thereof as an active ingredient. The method for determining the prognosis of cancer comprises determining the amount of expressed FGFRL1 in a cancer tissue separated from a living body, wherein it is determined that the prognosis is bad when the amount of expressed FGFRL1 is large. The method for detecting cancer comprises measuring FGFRL1 or a fragment thereof extracted from a biological tissue or FGFRL1 or a fragment thereof in blood separated from a living body, wherein it is determined that cancer is developed when the concentration of FGFRL1 or the fragment thereof is higher than that in a tissue or blood from a normal person.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2012/133814 A1



SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,  
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(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, MD, 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,

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))

要約 食道扁平上皮癌のような癌の新規な治療剤、癌の予後の判定方法及び低侵襲的に採取可能な試料を用いて食道扁平上皮癌のような癌のような癌の検出又は予後の判定を行う方法が開示されている。癌治療剤は、FGFR1 と抗原抗体反応し、癌細胞の増殖を抑制する抗体又はその抗原結合性断片を有効成分として含有する。癌の予後の判定方法は、生体から分離した癌組織中の FGFR1 の発現量を調べることを含み、FGFR1 の発現量が多いことが、予後が悪いであろうことを示す。癌の検出方法は、生体組織から抽出した FGFR1 若しくはその断片又は生体から分離した血液中の FGFR1 若しくはその断片を測定することを含み、FGFR1 又はその断片の存在濃度が健常人の組織又は血中の FGFR1 又はその断片の濃度よりも高いことが、癌の存在を示す。

## 明 細 書

発明の名称： 癌治療剤及び癌の予後判定方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、癌治療剤、癌の予後判定方法及び癌の検出方法に関する。

### 背景技術

[0002] 食道癌は、発生頻度で8番目、死亡者数で6番目に多い癌である。我国においては、食道癌の9割以上が食道扁平上皮癌(esophageal squamous cell carcinoma (ESCC))である。ESCCは高頻度に遠隔転移、再発を起こす、悪性度の高い癌であり、一般的に予後が悪い。

[0003] 一方、卵巣がんにおいて、線維芽細胞成長因子レセプター様タンパク質1 (fibroblast growth factor receptor like-1、以下、「FGFRL1」)の異常発現が観察されることが報告されている(非特許文献1)。しかしながら、この報告ではFGFRL1の発現量に関する統計的な解析は行われておらず、FGFRL1の機能に関する解析も行われていない。したがって、この報告はFGFRL1による細胞増殖の促進やその発現量を用いた予後予測への関連性さらには、産業上の利用性については何ら類推させるものではない。また、マイクロRNA(micro RNA, miRNA)-210が、腫瘍形成に関与し、そのターゲット遺伝子の1つがFGFRL1であることも報告されているが(非特許文献2)。この報告に関しても、予後予測やFGFRL1の治療薬用途への利用に関して明示しているものではない。さらに、本願発明者らは先に、食道扁平上皮癌において、マイクロRNA-210が、FGFRL1を介して癌細胞の増殖を調節していることを見出した(非特許文献3)。しかしながら、当該報告ではマイクロRNA-210の標的遺伝子がFGFRL1であることを解明し、その後のパスウェイを論じた報告であり、抗FGFRL1抗体を癌の治療薬や予後予測のツールとして用いることを示唆するものではない。

[0004] 一方、FGFRL1は線維芽細胞成長因子受容体 (FGFRs)に類似する分子という名称が付されているが、他のFGFRsとは異なり、細胞内のシグナル伝達領域で

あるチロシンキナーゼドメインが欠損しており、他のFGFRsとの構造上の違いは明らかであり（非特許文献4）、かつ機能面に関しても他のFGFRsと異なり、細胞増殖の抑制に働くものと考えられてきた（非特許文献5）。したがって、他のFGFRsとは明確に区別され得る分子であり、その生物学的役割とそこから導かれる産業上の利用性に関してもFGFRL1はFGFRsとは明確に区別されるというべきである。

[0005] 非特許文献1：International Journal of Molecular Medicine 16, 1169-1173, 2005

非特許文献2：Molecular Cell 35, 856-867, 2009.

非特許文献3：Journal of Biological Chemistry 286, 420-428, 2011

非特許文献4：Genomics 69, 275-279, 2000

非特許文献5：Journal of Biological Chemistry 278, 33857-33865, 2003

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明の目的は、食道扁平上皮癌のような癌の新規な治療剤を提供することである。また、本発明の目的は、食道扁平上皮癌のような癌の予後の判定方法を提供することである。さらに、本発明の目的は、低侵襲的に採取可能な試料を用いて食道扁平上皮癌のような癌のような癌の検出又は予後の判定を行う方法を提供することである。

[0007] 本願発明者らは、下記実施例に具体的に記載する通り、多数の食道扁平上皮癌患者から食道扁平上皮癌組織を採取し、FGFRL1の発現を調べ、その発現量と予後の関連を追跡調査した結果、FGFRL1の発現量が多いと予後が悪いことを見出した。さらに、抗FGFRL1抗体を食道扁平上皮癌細胞に作用させることにより、癌細胞の増殖を抑制できることを見出した。

[0008] すなわち、本発明は、FGFRL1と抗原抗体反応し、癌細胞の増殖を抑制する抗体又はその抗原結合性断片を有効成分として含有する癌治療剤を提供する。また、本発明は、FGFRL1と抗原抗体反応し、癌細胞の増殖を抑制する抗体又はその抗原結合性断片の有効量を癌患者に投与することを含む、癌の治療

方法を提供する。また、本発明は、生体から分離した癌組織中のFGFRL1の発現量を調べることを含み、FGFRL1の発現量が多いことが、予後が悪いであろうことを示す、癌の予後の判定方法を提供する。さらに、本発明は、生体組織から抽出したFGFRL1若しくはその断片又は生体から分離した血液中のFGFRL1若しくはその断片を測定することを含み、FGFRL1又はその断片の存在濃度が健常人の組織又は血中のFGFRL1又はその断片の濃度よりも高いことが、癌の存在を示す、癌の検出方法を提供する。さらに本発明は、癌患者から分離した組織中又は血液中のFGFRL1若しくはその断片を測定することを含み、FGFRL1又はその断片の存在濃度が高いことが、予後が悪いであろうことを示す、癌の予後の判定方法を提供する。

### 発明の効果

[0009] 本発明により、食道扁平上皮癌のような癌の新規な治療剤が提供された。また、本発明により、食道扁平上皮癌のような癌の予後の新規な判定方法が提供された。この方法によれば、悪性度の高い食道扁平上皮癌のような癌の予後を判定することができるので、的確な治療方法を選択することが可能となり、癌の治療に寄与する。さらに、本発明により、低侵襲的に採取可能な試料を用いて食道扁平上皮癌のような癌のような癌の検出を行う方法が提供された。この方法は、低侵襲的であるので被検者の負担が少なく、健康診断等においても容易に癌の検出を行うことができ、癌の早期発見、早期治療が可能になる。

### 図面の簡単な説明

[0010] [図1]下記実施例で行った、食道扁平上皮癌の免疫組織化学の結果を正常組織と比較して示す写真である。

[図2]下記実施例において測定した、食道扁平上皮癌組織中のFGFRL1の発現量と、患者の生存率及び生存月数の関係を示す図である。

[図3]下記実施例において測定した、食道扁平上皮癌細胞に抗FGFRL1抗体を作用させた際の細胞の増殖力を、対照抗体処理と比較して示す図である。

### 発明を実施するための形態

- [0011] 上記の通り、本発明の癌治療剤は、FGFRL1と抗原抗体反応する抗体又はその抗原結合性断片を有効成分として含有する。FGFRL1は、そのアミノ酸配列も遺伝子の塩基配列も公知である。FGFRL1のcDNAの塩基配列及びそれがコードするアミノ酸配列は、例えばNCBI Accession NO. NM\_001004356.2に記載されている。ここに記載されているFGFRL1遺伝子のcDNAの塩基配列及びそれがコードするアミノ酸配列を配列番号1に、該アミノ酸配列を取り出したものを配列番号2に示す。FGFRL1は、1回膜貫通型タンパク質である。
- [0012] ここで用いられる抗体は、癌細胞の増殖を抑制する抗体であり、FGFRL1のN末端領域と抗原抗体反応する抗体、すなわち、FGFRL1のN末端領域中、又はN末端領域を全部若しくは一部含む領域中（すなわち、N末端領域とそれ以外の領域に跨がる領域等）に対応エピトープを有する抗体が好ましい。ここで、N末端領域は、FGFRL1の細胞外領域、すなわち、配列番号2に示されるアミノ酸配列のN末端から378番目のアミノ酸までの領域を意味する。抗体は、ポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよい。なお、FGFRL1のN末端領域を対応エピトープとするポリクローナル抗体は市販もされているので、このような市販品を好ましく用いることができる。また、上記抗体の断片であって、抗原結合性を有する断片、例えば、Fab断片やF(ab')<sub>2</sub>断片等を用いることもできる。なお、癌細胞の増殖抑制効果の有無は、例えば下記実施例に記載するように、周知のWST1法等により行うことができる。
- [0013] 抗体は、遺伝子工学的に作製されたものであってもよく、ヒトにおける拒絶反応を抑制するためにFc領域をヒト抗体に置き換えたヒト化抗体等でもよい。さらに、抗体医薬においては、生体内でのプロテアーゼによる分解を受けにくくするために抗体の一端にポリエチレングリコール(PEG)鎖等を結合したものが広く用いられている。本発明の癌治療剤においても、同様に、上記した抗体又はその抗原結合性断片をそっくり含み、その一端にPEG鎖等の安定化構造を付加したものを有効成分として用いることができる。なお、PEG化により抗体又はその抗原結合性断片を安定化する場合には、PEGのサイズは分子量数千～5万、好ましくは1万～5万程度である。また、ポリペプチドの一

端にPEGを結合する方法は周知である。このような安定化構造を付加したのも本発明でいう「抗体又はその抗原結合性断片」に包含される。

[0014] さらに本抗体は、癌に対する低分子抗腫瘍剤や細胞毒性を有する化合物を化学的に結合させて、複合的な抗腫瘍剤として利用することや、本抗体を癌細胞に対する薬物送達システム (Drug delivery system, DDS) のナビゲーターとして利用することにも利用できる。

[0015] 本発明の癌治療剤の投与経路は、非経口投与でも経口投与でもよいが、癌組織への注射、静脈注射、筋肉注射等の非経口投与が好ましい。投与量は、病態や対象疾患の程度に応じて適宜設定することができるが、例えば、体重1 kgあたり0.1~20 mg/回の投与量で投与され、好ましくは1~10 mg/回で投与される。また、本発明の癌治療剤は、周知の方法により製剤することができるが、例えば、生理緩衝液中に溶解した溶液の形態とすることができる。また、これに周知の添加剤を添加したものであってよい。

[0016] 本発明の癌治療剤の治療対象となる癌としては、特に限定されないが、上皮の固形癌が好ましく、特に食道扁平上皮癌が好ましい。

[0017] 本願発明者らは、下記実施例において具体的に記載するように、癌組織中のFGFRL1の発現量を指標として癌の予後、すなわち、癌治療開始後の生存率を判定することが可能であることを見出した。従って、本発明は、生体から分離した癌組織中のFGFRL1の発現量を調べることを含み、FGFRL1の発現量が多いことが、予後が悪いであろうことを示す、癌の予後の判定方法をも提供する。FGFRL1の発現量は、免疫組織化学等の免疫測定により行うことができる。免疫測定には、上記した抗FGFRL1抗体又はその抗原結合性断片を用いることができ、FGFRL1の細胞外領域にエピトープを有するポリクローナル抗体若しくはモノクローナル抗体を好ましく用いることができる。上記の通り、このようなポリクローナル抗体は市販もされているので、市販品を用いることも可能である。FGFRL1は、膜に貫通した状態で発現しているため、免疫測定としては下記実施例に記載するような免疫組織化学染色が好ましいがこれに限定されるものではない。

[0018] 予後は、FGFRL1の発現量が多いほど悪い可能性が高い。従って、多数の同一種類の癌患者についてFGFRL1の発現量とその予後を予め調べておくことにより、FGFRL1の発現量がどの程度であればどのような予後になる可能性が高いかを判定することができる。例えば、免疫組織化学染色により発現量を調べる場合には、下記実施例に具体的に記載するように、癌組織当たりの染色面積（0%： -、1-50%： +、51-100%： ++）、細胞あたりの強陽性レベルを（++）、陰性を（-）とし、正常組織に対するFGFRL1の発現程度を勘案して、合算して（++）以上を陽性（すなわち、予後が悪い）と判定することができる。

[0019] 上記の通り、FGFRL1は、1回膜貫通型タンパク質であり、プロテアーゼの作用を受ける構造を細胞外領域に有しているので、組織から抽出した組織液や血液中にFGFRL1又はその断片が遊離している可能性があると考えられる。本願発明者らは、組織から抽出した組織液や血液中に遊離しているFGFRL1又はその断片を定量することにより、癌の検出が可能であることに想到した。本発明は、生体組織から抽出したFGFRL1若しくはその断片又は生体から分離した血液中のFGFRL1若しくはその断片を測定することを含み、FGFRL1又はその断片の存在濃度が健常人の組織又は血中のFGFRL1又はその断片の濃度よりも高いことが、癌の存在を示す、癌の検出方法をも提供する。この場合、組織抽出液や血液中のFGFRL1又はその断片は、FGFRL1の細胞外領域と抗原抗体反応する抗体を用いた免疫測定により定量することが可能である。この場合の免疫測定としては、体液中の各種タンパク質の定量に広く用いられているELISAや、蛍光標識又は化学発光標識を用いたサンドイッチ法や、ラテックス粒子上に抗体を固定化した感作粒子を用いる免疫凝集法等の周知の方法により行うことができる。この場合のカットオフ値は、健常人の平均値に対して有意な値とすることができる。例えば、1.0ユニット/mLとすることができる。この場合のユニット値は、類似疾患との分別と患者背景因子によって変動し得るが、健常人の組織あるいは血中の存在濃度を基準として決定される。

[0020] また、組織から抽出した組織液や血液中にFGFRL1又はその断片の存在量に



に基づき、上記した癌組織中でのFGFRL1の発現量に基づく場合と同様、癌の予後の判定を行うことができる。この場合、予後評価の判定基準は生存率あるいは再発率の場合に異なり、疾患に応じて判断される。

[0021] 以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

## 実施例

[0022] 実施例 1 免疫組織化学染色

69名の食道扁平上皮癌患者から採取した食道扁平上皮癌組織の組織切片を作製し、脱パラフィン（キシレン浸漬5分・3回、100% エタノール浸漬3分・2回、95% エタノール浸漬3分、90% エタノール浸漬3分、85% エタノール浸漬3分、流水水洗5分、蒸留水浸漬5分）後、熱処理による抗原賦活化処理（0.1 mM EDTA含有 1 mM トリス緩衝液（pH 9.0）中にて95°Cで40分処理し、室温で20分冷却後、流水水洗し、蒸留水浸漬）を行った。次に3% 過酸化水素水（室温10分）で内因性ペルオキシダーゼをブロックし、蒸留水で3回洗浄後、0.005% Tween 20、15 mM NaCl 含有 5 mM トリス緩衝液（pH 7.2）に室温で5分浸漬し、平衡化する。Dako REAL 抗体希釈液（Dako）で抗FGFRL1抗体 H-300（Santa cruse）を50倍に希釈し、室温で30分処理した。0.005% Tween 20（商品名）、15 mM NaCl 含有 5 mM トリス緩衝液（pH 7.2）にて3回洗浄後、Dako ChemMate ENVISIONキット（Dako）を用いて、DAB（ジアミノベンジジン）発色させ、蒸留水で洗浄後、Dako REAL Hematoxylin（蒸留水で4倍希釈し、Tween 20を加えて0.01% Tween 20（商品名）に調整）にて室温で3分間対比染色を行った。その後、水洗、脱水、透徹、封入（水洗5分、80% エタノール浸漬5分、90% エタノール浸漬5分、95% エタノール浸漬5分、100% エタノール浸漬5分・2回、キシレン浸漬5分・3回後、Leica CV5030にて封入）を行った。癌組織当たりの染色面積（0%: 0、1-50%: 1、51-100%: 2）と染色強度（no signal: 0、weak: 1、moderate: 2、marked: 3）によりスコア化を行い、合算して4以上をFGFRL1タンパク質高発現、4未満をFGFRL1タンパク質低発現と定義し、Kaplan-Meier法及びログランク検定により両者の患者の生存率を比

較した。

[0023] 免疫組織化学染色の結果を図1、FGFRL1の発現量の高低と生存率及び生存月数との関係を図2に示す。図2から明らかなように、FGFRL1の発現量が多い場合に予後が悪く、60ヶ月後の生存率はFGFRL1の発現量が少ない場合の1/3強であった。

[0024] 実施例2 薬理効果

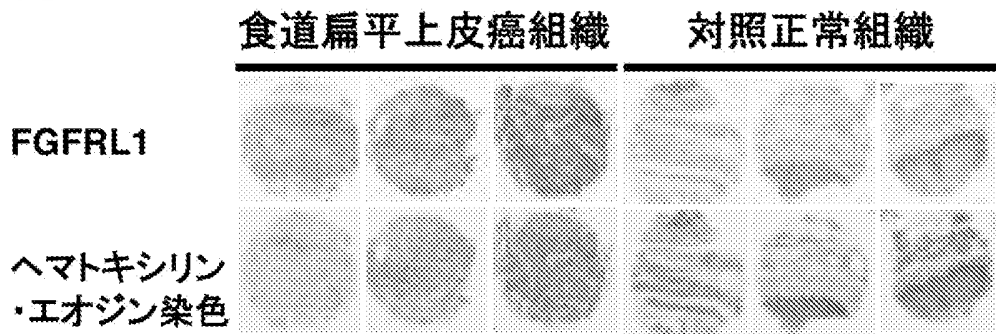
0.22 $\mu$ mのPVDF膜のフィルター (Millipore) で濾過されたウシ胎仔血清 (5%、Equitech-Bio)、ペニシリン (100 unit/ml、Meiji)、ゲンタシン (4.44 mg/l、Schering)、炭酸水素ナトリウム (0.2%) を含むHam F12 (Nissui) / RPMI1640 (Gibco) 培地 (pH 6.8) 中、食道扁平上皮癌由来細胞株KYSE-170を96穴ディッシュ上に播種し (5X10<sup>3</sup> cells/100 $\mu$ L/well)、5% CO<sub>2</sub>、湿度100%、37 $^{\circ}$ Cの条件下で培養した。24時間後、上述のHam F12/RPMI1640培地で希釈された抗FGFRL1抗体 H-300 (認識部位: N末・細胞外領域) もしくはC-20 (認識部位: C末・細胞内領域) (Santa cruse) 及びそれぞれが由来する動物のコントロールIgG (Santa cruse) で処理し (最終濃度 20 $\mu$ g/ml)、24時間培養後に市販の試薬を用いた周知のWST1法により細胞増殖を評価した。

[0025] 結果を図3に示す。図3に示されるように、FGFRL1のN末端領域、すなわち、細胞外領域をエピトープとするモノクローナル抗体を用いた場合には、食道扁平上皮癌細胞の増殖は、対照抗体処理に比べて有意に抑制された。従って、このような抗体は、食道扁平上皮癌の治療薬として有用である。

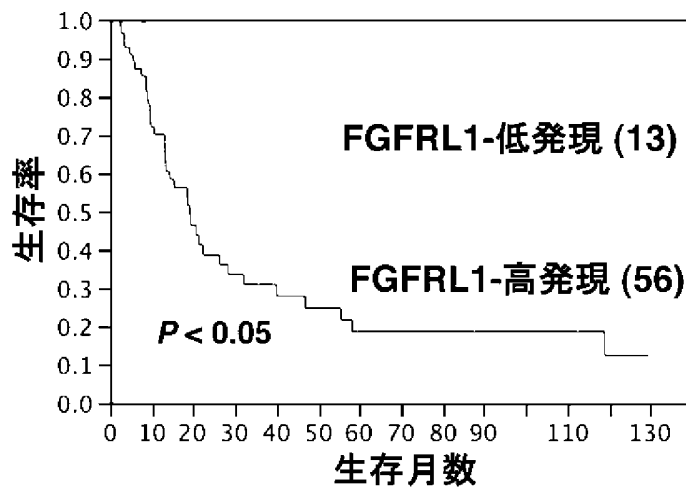
## 請求の範囲

- [請求項1] FGFRL1と抗原抗体反応し、癌細胞の増殖を抑制する抗体又はその抗原結合性断片を有効成分として含有する癌治療剤。
- [請求項2] 前記抗体が、FGFRL1のN末端領域と抗原抗体反応する抗体である請求項1記載の癌治療剤。
- [請求項3] 前記癌が食道扁平上皮癌である請求項1又は2記載の癌治療剤。
- [請求項4] FGFRL1と抗原抗体反応し、癌細胞の増殖を抑制する抗体又はその抗原結合性断片の有効量を癌患者に投与することを含む、癌の治療方法。
- [請求項5] 前記抗体が、FGFRL1のN末端領域と抗原抗体反応する抗体である請求項4記載の方法。
- [請求項6] 前記癌が食道扁平上皮癌である請求項4又は5記載の方法。
- [請求項7] 生体から分離した癌組織中のFGFRL1の発現量を調べることを含み、FGFRL1の発現量が多いことが、予後が悪いであろうことを示す、癌の予後の判定方法。
- [請求項8] 前記癌が食道扁平上皮癌である請求項7記載の方法。
- [請求項9] FGFRL1の発現量を免疫組織化学により調べる請求項7又は8記載の方法。
- [請求項10] 生体組織から抽出したFGFRL1若しくはその断片又は生体から分離した血液中のFGFRL1若しくはその断片を測定することを含み、FGFRL1又はその断片の存在濃度が健常人の組織又は血中のFGFRL1又はその断片の濃度よりも高いことが、癌の存在を示す、癌の検出方法。
- [請求項11] 前記癌が食道扁平上皮癌である請求項10記載の方法。
- [請求項12] 癌患者から分離した組織中又は血液中のFGFRL1若しくはその断片を測定することを含み、FGFRL1又はその断片の存在濃度が高いことが、予後が悪いであろうことを示す、癌の予後の判定方法。
- [請求項13] 前記癌が食道扁平上皮癌である請求項12記載の方法。

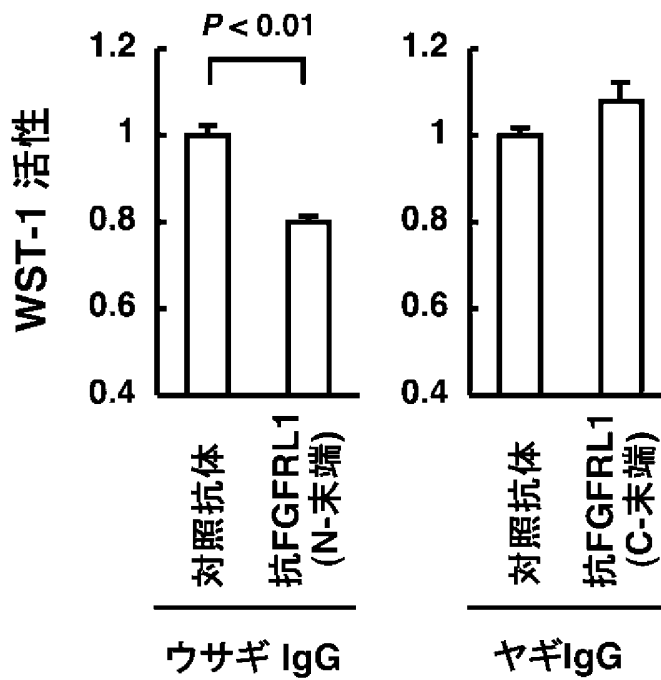
[図1]



[図2]



[図3]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/058668

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <i>A61K39/395</i> (2006.01) <i>i</i> , <i>A61P1/00</i> (2006.01) <i>i</i> , <i>A61P35/00</i> (2006.01) <i>i</i> , <i>G01N33/48</i> (2006.01) <i>i</i> , <i>G01N33/53</i> (2006.01) <i>i</i> , <i>G01N33/574</i> (2006.01) <i>i</i> , <i>C07K16/28</i> (2006.01) <i>n</i> According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <i>A61K39/395</i> , <i>A61P1/00</i> , <i>A61P35/00</i> , <i>G01N33/48</i> , <i>G01N33/53</i> , <i>G01N33/574</i> , <i>C07K16/28</i> 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 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2003-527858 A (Amgen Inc.), 24 September 2003 (24.09.2003), claims 19 to 33; paragraphs [0151] to [0166], [0252], [0289], [0290]; fig. 2 & US 2008/0044859 A1 & EP 1268793 A1 & WO 2001/070977 A2	1, 2 3
X Y	JP 2005-537786 A (Genesis Research & Development Corp.), 15 December 2005 (15.12.2005), claims 25 to 27; paragraphs [0193] to [0197] & US 2002/0058335 A1 & EP 1511759 A1 & WO 2000/058463 A1 & CN 1358228 A	1, 2 3
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 May, 2012 (01.05.12)		Date of mailing of the international search report 15 May, 2012 (15.05.12)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/058668

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	TSUCHIYA, S. et al, MicroRNA-210 regulates cancer cell proliferation through targeting fibroblast growth factor receptor-like 1 (FGFRL1), The Journal of biological chemistry, 2011.01, Vol.286, No.1, p.420-428	7-13 3
X	SCHILD, C. et al, Aberrant expression of FGFRL1, a novel FGF receptor, in ovarian tumors, International journal of molecular medicine, 2005, Vol.16, No.6, p.1169-1173	7, 9, 10, 12
A	TRUEB, B. et al, Biology of FGFRL1, the fifth fibroblast growth factor receptor, Cellular and Molecular Life Sciences, 2010.11, Vol.68, No.6, p.951-964	1-13

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2012/058668

**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.: 4-6  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
"Methods for treatment of cancers" set forth in claims 4 to 6 pertain to "methods for treatment of the human body by therapy" and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of PCT Rule 39.1(iv), 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. A61K39/395(2006.01)i, A61P1/00(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, G01N33/48(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i, C07K16/28(2006.01)n

B. 調査を行った分野  
 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
 Int.Cl. A61K39/395, A61P1/00, A61P35/00, G01N33/48, G01N33/53, G01N33/574, C07K16/28

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 1971-2012年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2012年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2012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)  
 CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

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	JP 2003-527858 A (アムジェン インコーポレイテッド)	1, 2
Y	2003.09.24, 請求項 19-33、【0151】-【0166】、 【0252】、【0289】、【0290】、図2 & US 2008/0044859 A1 & EP 1268793 A1 & WO 2001/070977 A2	3

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 01.05.2012	国際調査報告の発送日 15.05.2012
--------------------------	--------------------------

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) 安居 拓哉 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 4865
---	--	---------



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
X Y	JP 2005-537786 A (ジェネシス リサーチ アンド デベロップメント コーポレイション リミテッド) 2005. 12. 15, 請求項 2 5 - 2 7、【0 1 9 3】 - 【0 1 9 7】 & US 2002/0058335 A1 & EP 1511759 A1 & WO 2000/058463 A1 & CN 1358228 A	1, 2 3
X Y	TSUCHIYA, S. et al, MicroRNA-210 regulates cancer cell proliferation through targeting fibroblast growth factor receptor-like 1 (FGFRL1), The Journal of biological chemistry, 2011. 01, Vol. 286, No. 1, p. 420-428	7-13 3
X	SCHILD, C. et al, Aberrant expression of FGFRL1, a novel FGF receptor, in ovarian tumors, International journal of molecular medicine, 2005, Vol. 16, No. 6, p. 1169-1173	7, 9, 10, 12
A	TRUEB, B. et al, Biology of FGFRL1, the fifth fibroblast growth factor receptor, Cellular and Molecular Life Sciences, 2010. 11, Vol. 68, No. 6, p. 951-964	1-13

## 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 4-6 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4-6の「癌の治療方法」は「治療による人体の処置方法に関するもの」であって、PCT規則39.1(iv)の規定により、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そ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。