

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-61484

(P2018-61484A)

(43) 公開日 平成30年4月19日(2018.4.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N</b> 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B 0 2 9
<b>C 1 2 Q</b> 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A Z	4 B 0 6 3
<b>C 1 2 M</b> 1/00 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	
<b>C 1 2 M</b> 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A	
	C 1 2 M 1/34 Z	

審査請求 未請求 請求項の数 14 O L (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2016-202287 (P2016-202287)	(71) 出願人 504132272 国立大学法人京都大学 京都府京都市左京区吉田本町36番地1
(22) 出願日 平成28年10月14日(2016.10.14)	(74) 代理人 110000796 特許業務法人三枝国際特許事務所
(出願人による申告)平成27年度文部科学省 科学技術試験研究「効果的な複合免疫療法の確立」(抗PD-1抗体免疫療法における有効性・非有効性の原因解明とその克服に向けた手法の開発)の委託事業、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願	(72) 発明者 ▲濱▼西 潤三 京都府京都市左京区吉田本町36番地1 国立大学法人京都大学内
	(72) 発明者 村上 隆介 京都府京都市左京区吉田本町36番地1 国立大学法人京都大学内
	Fターム(参考) 4B029 AA07 BB20 FA12 4B063 QA01 QA05 QA11 QA13 QA17 QA19 QQ02 QQ08 QQ12 QQ42 QQ53 QR32 QR36 QR55 QR62 QR72 QR77 QS34 QS36 QX02

(54) 【発明の名称】 PD-1経路阻害薬の薬剤感受性を判定する方法

(57) 【要約】

【課題】PD-1経路阻害薬の治療効果の予測に利用できる新たな因子を見出し、当該因子を利用した悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定方法を提供する。

【解決手段】被験対象から採取された生体試料における、発現する融合遺伝子の数を指標とする、該被験対象における悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

被験対象から採取された生体試料における、発現する融合遺伝子の数を指標とする、該被験対象における悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法。

## 【請求項 2】

被験対象から採取された生体試料における、AKR1E2-TAKR、NFIA-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子の発現を指標とする、該被験対象における悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法。

10

## 【請求項 3】

CCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123010.4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子の発現を指標とする、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記PD-1経路阻害薬が抗PD-1抗体である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【請求項 5】

前記悪性腫瘍が卵巣癌である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

AKR1E2-TAKR、NFIA-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子を含む、

30

悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用のバイオマーカー。

## 【請求項 7】

CCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123010.4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子を含む、請求項 6 に記載のバイオマーカー。

## 【請求項 8】

前記PD-1経路阻害薬が抗PD-1抗体である、請求項 6 又は 7 に記載のバイオマーカー。

## 【請求項 9】

前記悪性腫瘍が卵巣癌である、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載のバイオマーカー。

40

## 【請求項 10】

AKR1E2-TAKR、NFIA-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子に結合する核酸を含む、

50

悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用キット。

【請求項 1 1】

CCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123010、4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1- KPNA7、COL18A1-APOL4、及びERI1-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子に結合する核酸を含む、請求項 1 0 に記載のキット。

【請求項 1 2】

前記核酸が、PCRプライマー又はプローブとして使用される、請求項 1 0 又は 1 1 に記載のキット。

【請求項 1 3】

前記PD-1経路阻害薬が抗PD-1抗体である、請求項 1 0 ~ 1 2 のいずれか一項に記載のキット。

【請求項 1 4】

前記悪性腫瘍が卵巣癌である、請求項 1 0 ~ 1 3 のいずれか一項に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、PD-1経路阻害薬の薬剤感受性を判定する方法、PD-1経路阻害薬の薬剤感受性の判定用のバイオマーカー、及びPD-1経路阻害薬の薬剤感受性の判定用キットに関する。

【背景技術】

【0002】

PD-1 (Programmed Cell Death -1)は、T細胞などに発現する、がん細胞に対する免疫を抑制する免疫抑制性補助シグナルの受容体であり、リガンドとしてはPD-L1及びPD-L2が知られている。近年、このPD-1経路を阻害する抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体などを用いた新しいがん治療が注目されている。このような抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体などを利用することによりPD-1経路を阻害することで、がん細胞に対する免疫応答を増強できると考えられている。

【0003】

例えば、特許文献 1 ではPD-1と特異的に結合するヒトモノクローナル抗体を単離したことが報告されている。そして、抗PD-1抗体としては、ニボルマブ(nivolumab)、ペンブロリズマブ(pembrolizumab)などが知られている。

【0004】

このようなPD-1経路を阻害する抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体などを用いた、がん治療が有効な患者を予測するためのバイオマーカーの探索が世界中で行われている。当該バイオマーカーを利用することで、PD-1経路阻害薬の効果が期待できる患者に効率的に当該医薬を処方することができるようになる。

【0005】

このようなPD-1経路阻害薬に関するバイオマーカーについては、例えば、非特許文献 1、2 及び特許文献 2 で報告されている。

【0006】

非特許文献 1 によれば、数多くの臨床試験にて、腫瘍によるPD-L1の発現が、PD-1経路阻害薬の治療効果にある程度相関すると報告されているが、その発現の流動性、採取時期、採取法、解析方法及び評価法の不統一など、まだ問題点が多い。

【0007】

非特許文献 2 によれば、抗PD-1抗体を投与した悪性黒色腫の遺伝子変異の解析の結果から、単に遺伝子変異数だけでは抗PD-1抗体による治療効果を予測できないことが述べられている。

【0008】

特許文献 2 では、抗PD-1抗体の投与による治療効果が、血清中のIgM、CD5L及びIgG<sub>4</sub>濃度の増加と関連性があることが報告されている。

10

20

30

40

50

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特許第4361545号公報

【特許文献2】特開2015-61844号公報

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】Patel SP, Kurzrock R, Mol Cancer Ther, 14(4), 847-856. 2015 Apr

【非特許文献2】Hugo W et al., Cell, 165, 35-44. 2016 March

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

しかしながら、従来のPD-1経路阻害薬に関するバイオマーカーについては、精度の点で未だ改善の余地がある。

【0012】

本発明は、PD-1経路阻害薬の治療効果の予測に利用できる新たな因子を見出し、当該因子を利用した悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定方法、悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の薬剤感受性の判定用のバイオマーカー、及びPD-1経路阻害薬の薬剤感受性の判定用キットを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

20

【0013】

本発明者らは、京都大学病院産科婦人科において再発卵巣癌患者20人を対象に、抗PD-1抗体薬を用いた第II相医師主導治験を行い、15%の患者に腫瘍縮小を認め、45%の患者に治療効果(不変含む)を認めた。そこで、これらの患者から手術検体(パラフィン包埋腫瘍組織)を入手し、腫瘍のRNAを抽出後に全RNAシーケンス解析を行った結果、抗PD-1抗体薬による治療効果を認めた患者では、融合遺伝子数に特徴があることを認めた。PD-1経路阻害薬の治療効果の予測に融合遺伝子を利用できることは、本発明者らにより初めて見出された。

【0014】

本発明は、これら知見に基づき、更に検討を重ねて完成されたものであり、次の悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定方法、悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性判定用のバイオマーカー、及びPD-1経路阻害薬の薬剤感受性の判定用キットを提供するものである。

30

【0015】

(1) 悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法

(1-1) 被験対象から採取された生体試料における、発現する融合遺伝子の数を指標とする、該被験対象における悪性腫瘍のPD-1経路阻害薬に対する感受性を判定する方法。

(1-2) 被験対象から採取された生体試料における、AKR1E2-TAKR、NF1A-INADL、DNMT3B-MA PRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123O10.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf1194、C TD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子の発現を指標とする、該被験対象における悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法。

40

(1-3) CCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123O10.4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子の発現を指標とする、(1-2)に記載の方法。

50

(I-4) 前記PD-1経路阻害薬が抗PD-1抗体である、(I-1)～(I-3)のいずれか一項に記載の方法。

(I-5) 前記悪性腫瘍が卵巣癌である、(I-1)～(I-4)のいずれか一項に記載の方法。

(I-6) 前記生体試料がパラフィン包埋検体であり、該パラフィン包埋検体からRNAを抽出し、該RNAを用いて融合遺伝子の検出を行う、(I-1)～(I-5)のいずれか一項に記載の方法。

(I-7) (I-1)～(I-6)のいずれか一項に記載の方法により悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を有すると判定された被験対象に対して、PD-1経路阻害薬の有効量を投与する工程を含む、悪性腫瘍の治療方法。

#### 【0016】

##### (II) 悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用のバイオマーカー

(II-1) AKR1E2-TAKR、NFIA-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子を含む、

悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用のバイオマーカー。

(II-2) CCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123010.4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子を含む、(II-1)に記載のバイオマーカー。

(II-3) 前記PD-1経路阻害薬が抗PD-1抗体である、(II-1)又は(II-2)に記載のバイオマーカー。

(II-4) 前記悪性腫瘍が卵巣癌である、(II-1)～(II-3)のいずれか一項に記載のバイオマーカー。

#### 【0017】

##### (III) 悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用キット

(III-1) AKR1E2-TAKR、NFIA-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子に結合する核酸を含む、

悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用キット。

(III-2) CCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123010.4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子に結合する核酸を含む、(III-1)に記載のキット。

(III-3) 前記核酸が、PCRプライマー又はプローブとして使用される、(III-1)又は(III-2)に記載のキット。

(III-4) 前記PD-1経路阻害薬が抗PD-1抗体である、(III-1)～(III-3)のいずれか一項に記載のキット。

(III-5) 前記悪性腫瘍が卵巣癌である、(III-1)～(III-4)のいずれか一項に記載のキット。

#### 【発明の効果】

## 【0018】

本発明により、PD-1経路阻害薬の治療効果の予測に利用できる新たな因子として融合遺伝子が見出され、発現する融合遺伝子の数及び特定の融合遺伝子の発現を指標にすることで、PD-1経路阻害薬に対する感受性を示す悪性腫瘍であるか否かを高精度に判定することができる。

## 【0019】

そのため、本発明により、PD-1経路阻害薬による効果が期待できる患者を効率的に選別することが可能となる。結果として、PD-1経路阻害薬による治療を適切に実施できる患者に効率的に当該PD-1経路阻害剤を投与することが可能となる。

## 【図面の簡単な説明】

10

## 【0020】

【図1】奏効例の融合遺伝子の一覧を示す図である。各項目はそれぞれ、左から3列目から、融合パターン(染色体番号-染色体番号 f:forward, r:reverse)、(1)遺伝子名、(1)染色体番号、(1)融合ポイント、(2)遺伝子名、(2)染色体番号、(2)融合ポイントを示す。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0021】

以下、本発明について詳細に説明する。

## 【0022】

なお、本明細書において「含む(comprise)」とは、「本質的にかつらなる(essentially consist of)」という意味と、「からなる(consist of)」という意味をも包含する。

20

## 【0023】

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。

## 【0024】

また、本発明において、「核酸」、「ヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」は同義であって、これらはDNA及びRNAの両方を含み、2本鎖であっても1本鎖であってもよい。

## 【0025】

本発明において「発現」とは、遺伝子からタンパク質が合成されること及びRNAが合成されることの両方を意味する。

30

## 【0026】

本発明において「融合遺伝子」とは、染色体の転座、挿入、逆位などの組換えの結果、複数の遺伝子が連結されて生じる新たな遺伝子のことをいう。また、融合遺伝子は、融合タンパク質をコードしていることもある。融合遺伝子において、遺伝子同士が連結した部位を「融合点」という。本発明における「融合遺伝子」とは、好ましくは2つの遺伝子が融合した物のことをいい、各遺伝子の向きも特に限定されず、全てがフォワード(forward、本来の転写の向き)、全てがリバース(reverse、本来の転写の向きと逆向き)、及びフォワードとリバースとの組み合わせのいずれでもよい。また、融合点の位置も特に限定されず、各遺伝子はいずれの位置で連結されていてもよい。本発明における「融合遺伝子」は、異なる遺伝子が連結している物だけでなく、同一の遺伝子同士が連結している物も包含する。

40

## 【0027】

本明細書において、融合遺伝子はA-Bのようにハイフンで区切った形で表記する(なお、融合遺伝子中のハイフンは遺伝子名に含まれたものである場合もある)。

## 【0028】

以下、本発明で使用する各融合遺伝子に含まれる遺伝子について説明する。なお、以下に示すRefSeq IDはNCBIのweb siteに登録されているものであり、Ensemble gene IDはEnsembleのweb siteに登録されているものであり、UniProt accession numberはUniProtのweb siteに登録されているものである。また、以下のRefSeq ID及びUniProt accession num

50

berで示されるタンパク質が、シグナル配列を含む場合は、成熟タンパク質の意味も包含しているものとする。

【 0 0 2 9 】

AKR1E2 (aldo-keto reductase family 1 member E2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001040177 (配列番号 1), NM\_001271021, NM\_001271025として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001035267 (配列番号 2), NP\_01257950, NP\_001257954として登録されている。

【 0 0 3 0 】

TAKR (AKR1C6P, aldo-keto reductase family 1 member C6) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NR\_026743 (配列番号 3)として登録されている。

10

【 0 0 3 1 】

NFIA (nuclear factor I A) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001134673 (配列番号 4), NM\_001145511, NM\_001145512, NM\_005595として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001128145 (配列番号 5), NP\_001138983, NP\_001138984, NP\_005586として登録されている。

【 0 0 3 2 】

INADL (PATJ, crumbs cell polarity complex component) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_176877 (配列番号 6)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_795352 (配列番号 7)として登録されている。

20

【 0 0 3 3 】

DNMT3B (DNA methyltransferase 3 beta) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_006892 (配列番号 8), NM\_001207055, NM\_001207056, NM\_175848, NM\_175849, NM\_175850として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_008823 (配列番号 9), NP\_001193984, NP\_001193985, NP\_787044, NP\_787045, NP\_787046として登録されている。

【 0 0 3 4 】

MAPRE1 (microtubule associated protein RP/EB family member 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_012325 (配列番号 10)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_036457 (配列番号 11)として登録されている。

30

【 0 0 3 5 】

AP2A2 (adaptor related protein complex 2 alpha 2 subunit) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001242837 (配列番号 12), NM\_012305として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001229766 (配列番号 13), NP\_036437として登録されている。

【 0 0 3 6 】

CIT (citron rho-interacting serine/threonine kinase) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001206999 (配列番号 14), NM\_007174として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001193928 (配列番号 15), NP\_009105として登録されている。

40

【 0 0 3 7 】

GCN1L1 (GCN1, eIF2 alpha kinase activator homolog) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_006836 (配列番号 16)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_006827 (配列番号 17)として登録されている。

【 0 0 3 8 】

CCDC7 (coiled-coil domain containing 7, C10orf68) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001026383 (配列番号 18), NM\_001321115, NM\_145023として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001021554 (配列番号 19), NP\_001308044, NP\_659460として登録されている。

【 0 0 3 9 】

50

RHPN2 (rhophilin Rho GTPase binding protein 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_033103 (配列番号 20) として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_149094 (配列番号 21) として登録されている。

【 0 0 4 0 】

FAM49B (family with sequence similarity 49 member B) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001256763 (配列番号 22), NM\_001330612, NM\_016623 として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_001243692 (配列番号 23), NP\_001317541, NP\_057707 として登録されている。

【 0 0 4 1 】

ASAP1 (ArfGAP with SH3 domain, ankyrin repeat and PH domain 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_018482 (配列番号 24), NM\_001247996 として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_060952 (配列番号 25), NP\_001234925 として登録されている。

【 0 0 4 2 】

TTLL5 (tubulin tyrosine ligase like 5) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_015072 (配列番号 26) として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_055887 (配列番号 27) として登録されている。

【 0 0 4 3 】

IIFT43 (intraflagellar transport 43) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_052873 (配列番号 28), NM\_001102564, NM\_001255995 として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_443105 (配列番号 29), NP\_001096034, NP\_001242924 として登録されている。

【 0 0 4 4 】

RBPMS-AS1 (RBPMS antisense RNA 1, LOC100128750) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NR\_046205 (配列番号 30) として登録されている。

【 0 0 4 5 】

RBPMS (RNA binding protein with multiple splicing) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001008710 (配列番号 31), NM\_001008711, NM\_001008712, NM\_006867 として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_001008710 (配列番号 32), NP\_001008711, NP\_001008712, NP\_006858 として登録されている。

【 0 0 4 6 】

VPS13A (vacuolar protein sorting 13 homolog A) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_033305 (配列番号 33), NM\_001018037, NM\_001018038, NM\_015186 として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_150648 (配列番号 34), NP\_001018047, NP\_001018048, NP\_056001 として登録されている。

【 0 0 4 7 】

RP11-498P14.4 遺伝子の塩基配列は、Ensemble ID: ENSG00000235494 (配列番号 35) として登録されている。

【 0 0 4 8 】

LHFPL3-AS2 (LHFPL3 antisense RNA 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NR\_027374 (配列番号 36) として登録されている。

【 0 0 4 9 】

MLL5 (KMT2E, lysine methyltransferase 2E) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_018682 (配列番号 37), NM\_182931 として登録されており、アミノ酸配列についても RefSeq Accession No. NP\_061152 (配列番号 38), NP\_891847 として登録されている。

【 0 0 5 0 】

IGLV2-14 (immunoglobulin lambda variable 2-14) 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000211666 (配列番号 39) として登録されており、アミノ酸配列についても UniProt Accession No. A0A075B6K1 (配列番号 40) として登録されている。

10

20

30

40

50



## 【 0 0 5 1 】

IPLL5 (immunoglobulin lambda like polypeptide 5) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001178126 (配列番号 4 1), NM\_001256296として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001171597 (配列番号 4 2), NP\_001243225として登録されている。

## 【 0 0 5 2 】

APLP2 (amyloide beta precursor like protein 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001642 (配列番号 4 3), NM\_001142276, NM\_001142277, NM\_001142278, NM\_001243299, NM\_001328682, NM\_001328684, NM\_001328685, NM\_001328686として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001633 (配列番号 4 4), NP\_001135748, NP\_001135749, NP\_001135750, NP\_001230228, NP\_001315611, NP\_001315613, NP\_001315614, NP\_001315615として登録されている。

10

## 【 0 0 5 3 】

ST14 (suppression of tumorigenicity 14) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_021978 (配列番号 4 5)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_068813 (配列番号 4 6)として登録されている。

## 【 0 0 5 4 】

AC098614.2 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000213846 (配列番号 4 7)として登録されている。

## 【 0 0 5 5 】

TPM4 (tropomyosin 4) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001145160 (配列番号 4 8), NM\_003290として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001138632 (配列番号 4 9), NP\_003281として登録されている。

20

## 【 0 0 5 6 】

SYDE1 (synapse defective Rho GTPase homolog 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_0033025 (配列番号 5 0), NM\_001300910として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_149014 (配列番号 5 1), NP\_001287839として登録されている。

## 【 0 0 5 7 】

ILVBL (ilvB acetolactate synthase like) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_006844 (配列番号 5 2)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_006835 (配列番号 5 3)として登録されている。

30

## 【 0 0 5 8 】

RP11-346K17.4 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000225065 (配列番号 5 4)として登録されている。

## 【 0 0 5 9 】

NCOA6 (nuclear receptor coactivator 6) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001318240 (配列番号 5 5), NM\_014071, NM\_001242539として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001305169 (配列番号 5 6), NP\_054790, NP\_001229468として登録されている。

40

## 【 0 0 6 0 】

GRIP1 (glutamate receptor interacting protein 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_021150 (配列番号 5 7), NM\_001178074として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_066973 (配列番号 5 8), NP\_001171545として登録されている。

## 【 0 0 6 1 】

RP11-123010.4 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000256248 (配列番号 5 9)として登録されている。

## 【 0 0 6 2 】

RP11-634B7.4 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000235749 (配列番号 6

50

0)として登録されている。

【0063】

TRIM58 (tripartite motif containing 58) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_015431 (配列番号 6 1)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_056246 (配列番号 6 2)として登録されている。

【0064】

EYA2 (EYA transcriptional coactivator and phosphatase 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_005244 (配列番号 6 3), NM\_172110として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_005235 (配列番号 6 4), NP\_742108として登録されている。

10

【0065】

NCOA3 (nuclear receptor coactivator 3) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_181659 (配列番号 6 5), NM\_001174087, NM\_001174088, NM\_006534として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_858045 (配列番号 6 6), NP\_001167558, NP\_001167559, NP\_006525として登録されている。

【0066】

NAALADL2 (N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase like 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_207015 (配列番号 6 7)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_996898 (配列番号 6 8)として登録されている。

20

【0067】

ZMIZ1 (zinc finger MIZ-type containing 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_020338 (配列番号 6 9)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_065071 (配列番号 7 0)として登録されている。

【0068】

CSNK2A1 (casein kinase 2 alpha 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_01895 (配列番号 7 1), NM\_177559, NM\_177560として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001886 (配列番号 7 2), NP\_808227, NP\_808228として登録されている。

【0069】

ITPA (inosine triphosphatase) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_033453 (配列番号 7 3), NM\_001267623, NM\_001324236, NM\_001324237, NM\_001324238, NM\_001324240, NM\_181493として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_258412 (配列番号 7 4), NP\_001254552, NP\_001311165, NP\_001311166, NP\_001311167, NP\_001311169, NP\_852470として登録されている。

30

【0070】

LOC100507557 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NR\_038244 (配列番号 7 5), NR\_038245, NR\_038246として登録されている。

【0071】

SHPRH (SNF2 histone linker PHD RING helicase) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001042683 (配列番号 7 6), NM\_173082として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001036148 (配列番号 7 7), NP\_775105として登録されている。

40

【0072】

CPVL (carboxypeptidase, vitellogenic like) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_031311 (配列番号 7 8), NM\_019029として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_112601 (配列番号 7 9), NP\_061902として登録されている。また、Ensemble gene ID: ENSG00000106066としても登録されている。

【0073】

CHN2 (chimerin 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001039936 (配列番

50

号 8 0 ), NM\_001293069, NM\_001293070, NM\_001293071, NM\_001293072, NM\_001293073, NM\_001293075, NM\_001293076, NM\_001293077, NM\_001293078, NM\_001293079, NM\_001293080, NM\_001290381, NM\_004067として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001035025 (配列番号 8 1 ), NP\_001279998, NP\_001279999, NP\_001280000, NP\_001280001, NP\_001280002, NP\_001280004, NP\_001280005, NP\_001280006, NP\_001280007, NP\_001280008, NP\_001280009, NP\_001280010, NP\_004058として登録されている。

【 0 0 7 4 】

NOL11 (nucleolar protein 11) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_015462 (配列番号 8 2 ), NM\_001303272として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_056277 (配列番号 8 3 ), NP\_001290201として登録されている。

10

【 0 0 7 5 】

RP11-49C9.2 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000183171 (配列番号 8 4 )として登録されている。

【 0 0 7 6 】

C10orf11 (chromosome 10 open reading frame 11) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001305581 (配列番号 8 5 ), NM\_032024として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001292510 (配列番号 8 6 ), NP\_114413として登録されている。

【 0 0 7 7 】

ARFGAP1 (ADP ribosylation factor GTPase activating protein 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_018209 (配列番号 8 7 ), NM\_001281482, NM\_001281483, NM\_001281484, NM\_175609として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_060679 (配列番号 8 8 ), NP\_001268411, NP\_001268412, NP\_001268413, NP\_783202として登録されている。

20

【 0 0 7 8 】

RP4-576H24.2 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000242324 (配列番号 8 9 )として登録されている。

【 0 0 7 9 】

C20orf194 (chromosome 20 open reading frame 194) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001009984 (配列番号 9 0 )として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001009984 (配列番号 9 1 )として登録されている。

30

【 0 0 8 0 】

CTD-2337A12.1 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000251314 (配列番号 9 2 )として登録されている。

【 0 0 8 1 】

CAST (calpastatin) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001750 (配列番号 9 3 ), NM\_001042440, NM\_001042441, NM\_001042442, NM\_001042443, NM\_001042444, NM\_001042445, NM\_001042446, NM\_001190442, NM\_001284212, NM\_001284213, NM\_001330626, NM\_001330627, NM\_001330628, NM\_001330629, NM\_001330630, NM\_001330631, NM\_001330632, NM\_001330633, NM\_001330634, NM\_173060として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001741 (配列番号 9 4 ), NP\_001035905, NP\_001035906, NP\_001035907, NP\_001035908, NP\_001035909, NP\_001035910, NP\_001035911, NP\_001177371, NP\_001271141, NP\_001271142, NP\_001317555, NP\_001317556, NP\_001317557, NP\_001317558, NP\_001317559, NP\_001317560, NP\_001317561, NP\_001317562, NP\_001317563, NP\_775083として登録されている。

40

【 0 0 8 2 】

RP11-732M18.3 遺伝子の塩基配列は、Ensemble gene ID: ENSG00000236537 (配列番号 9 5 )として登録されている。

【 0 0 8 3 】

TULP4 (tubby like protein 4) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_020245

50

(配列番号 9 6), NM\_001007466として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_064630 (配列番号 9 7), NP\_001007467として登録されている。

【 0 0 8 4 】

USP4 (ubiquitin specific peptidase 4) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_003363 (配列番号 9 8), NM\_001251877, NM\_199443として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_003354 (配列番号 9 9), NP\_001238806, NP\_955475として登録されている。

【 0 0 8 5 】

RHOA (ras homolog family member A) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001313941 (配列番号 1 0 0), NM\_001313943, NM\_001313944, NM\_001313945, NM\_001313946, NM\_001313947, NM\_001664として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001300870 (配列番号 1 0 1), NP\_001300872, NP\_001300873, NP\_001300874, NP\_001300875, NP\_001300876, NP\_001655として登録されている。

10

【 0 0 8 6 】

SMURF1 (SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_020429 (配列番号 1 0 2), NM\_001199847, NM\_181349として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_065162 (配列番号 1 0 3), NP\_001186776, NP\_851994として登録されている。

【 0 0 8 7 】

KPNA7 (karyopherin subunit alpha 7) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001145715 (配列番号 1 0 4)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001139187 (配列番号 1 0 5)として登録されている。また、Ensemble gene ID: ENSG00000185467としても登録されている。

20

【 0 0 8 8 】

COL18A1 (collagen type XVIII alpha 1 chain) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_030582 (配列番号 1 0 6), NM\_130444, NM\_130445として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_085059 (配列番号 1 0 7), NP\_569711, NP\_569712として登録されている。

【 0 0 8 9 】

APOL4 (apolipoprotein L4) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_030643 (配列番号 1 0 8), NM\_145660として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_085146 (配列番号 1 0 9), NP\_663693として登録されている。

30

【 0 0 9 0 】

ERI1 (exoribonuclease 1) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_153332 (配列番号 1 1 0)として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_699163 (配列番号 1 1 1)として登録されている。

【 0 0 9 1 】

NCOA2 (nuclear receptor coactivator 2) 遺伝子の塩基配列は、RefSeq Accession No. NM\_001321703 (配列番号 1 1 2), NM\_001321707, NM\_001321711, NM\_001321712, NM\_001321713, NM\_006540として登録されており、アミノ酸配列についてもRefSeq Accession No. NP\_001308632 (配列番号 1 1 3), NP\_001308636, NP\_001308640, NP\_001308641, NP\_001308642, NP\_006531として登録されている。

40

【 0 0 9 2 】

本発明においては、上記遺伝子には、前述するようなデータベースに登録されている塩基配列を有するもの以外であっても、その縮重物及び変異体も含まれ、縮重物及び変異体としては上記アミノ酸配列からなるタンパク質と同等の生物学的活性を有するタンパク質をコードするものが望ましい。同等の生物学的活性を有するタンパク質に関しては、例えば、他の生物由来の同種のタンパク質のアミノ酸配列との比較から類推することができる。

【 0 0 9 3 】

変異体としては、例えば、(a) 前述するようなデータベースに登録されているアミノ酸

50

配列において、1又は2個以上、例えば1～50個、1～25個、1～12個、1～9個、1～5個のアミノ酸が置換、欠失又は付加されたアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする遺伝子、(b)前述するようなデータベースに登録されている塩基配列と70%以上、80%以上、90%以上、95%以上の同一性を有する塩基配列からなる遺伝子などが挙げられる。

#### 【0094】

塩基配列の同一性は、市販の又は電気通信回線(インターネット)を通じて利用可能な解析ツールを用いて算出することができる。塩基配列の同一性(%)は、当該分野で慣用のプログラム(例えば、BLAST、FASTA等)を初期設定で用いて決定することができる。

#### 【0095】

##### 悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法

本発明の被験対象における悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法の実施態様は、該被験対象から採取された生体試料における、発現する融合遺伝子の数を指標とすることを特徴とする。

10

#### 【0096】

ここで、融合遺伝子の種類は特に制限されず、中でも以下に記載の融合遺伝子が好ましい。

#### 【0097】

発現する融合遺伝子の検出は、各種公知の融合遺伝子の解析手法を利用するにより行うことができる。或いは、以下に記載されているような特定の融合遺伝子の発現を検出する場合は、後述する方法により検出を行うことができる。

20

#### 【0098】

本発明の方法では、発現する融合遺伝子の数を指標として、被験対象の悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬に対する感受性を有するか否かを判定する。この場合、例えば、融合遺伝子の数が、予め設定されたカットオフ値以上の場合、被験対象の悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬の感受性を有すると判定する。当該カットオフ値は、当業者が適宜設定することができるものであり、好ましくは2以上、より好ましくは3以上、更に好ましくは4以上、特に好ましくは5以上である。

#### 【0099】

本発明の被験対象における悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性を判定する方法の他の実施態様は、該被験対象から採取された生体試料における、AKR1E2-TAKR、NF1A-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子の発現を指標とすることを特徴とする。

30

#### 【0100】

上記融合遺伝子としては、好ましくはCCDC7-C10orf68、RBPMS-AS1-RBPMS、IGLV2-14-IGLL5、CPVL-CHN2、GRIP1-RP11-123010.4、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7)、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子である。

40

#### 【0101】

なお、本発明の方法において、上記の融合遺伝子に加えて上記以外の融合遺伝子の発現を指標とすることを排除するものではなく、上記以外の融合遺伝子の発現をPD-1経路阻害薬の感受性の判定に利用することができる。

#### 【0102】

本発明における被験対象は、悪性腫瘍に罹患している哺乳動物(ヒト、マウス、ラット、サル、イヌ、ネコ、ウサギ、ブタ、ウマ、ウシ等)であり、好ましくはヒト、特にヒト

50

の女性である。生体試料は、被験対象から単離された細胞、組織(バイオプシー試料、手術により摘出された検体、組織標本など)、体液(血液、血漿、血清、リンパ液、唾液、尿、髄液など)、便等であり、好ましくは腫瘍の細胞又は組織、特に卵巣癌の細胞又は組織である。生体試料としては、生の物(例えば、摘出後未処理のまま組織片)、凍結された物、パラフィン包埋を行った物などのいずれの状態の物も使用できる。

【0103】

本発明における悪性腫瘍としては、特に制限されず、例えば、胃癌、直腸癌、結腸癌、小腸癌、肝臓癌、膵臓癌、肺癌(例えば、非小細胞肺癌)、咽頭癌、食道癌、腎癌、胆のう及び胆管癌、頭頸部癌、食道癌、膀胱癌、前立腺癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌、皮膚癌、悪性黒色腫、脳腫瘍、白血病、悪性リンパ腫等が挙げられ、特に卵巣癌が好適である。

10

【0104】

また、本発明において、卵巣癌の種類は特に限定されず、粘液性腺癌、明細胞腺癌、類内膜腺癌、漿液性腺癌等のいずれの組織型であっても適用することができる。

【0105】

PD-1経路阻害薬としては、PD-1経路を阻害することが可能な薬剤であれば特に制限なく使用することができる。本発明におけるPD-1経路阻害薬としては、特にヒトに対して使用されるものが望ましい。PD-1経路阻害薬は、PD-1経路を阻害することで、悪性腫瘍に対する免疫抑制を阻害することができ、悪性腫瘍に対する免疫応答を増強できると考えられる。

【0106】

PD-1経路阻害薬としては、PD-L1及び/又はPD-L2のPD-1に対する結合を阻害する薬剤を挙げることができる。そのような薬剤としては、例えば、PD-L1、PD-L2又はPD-1に結合する化合物(例えば、抗体)を挙げることができる。本発明におけるPD-1経路阻害薬としては、好ましくは抗PD-1抗体である。そのような抗PD-1抗体としては、ニボルマブ、ペンブロリズマブ等が知られており、前述する特許文献1(特許第4361545号公報)に記載の抗体も挙げられる。抗体はモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体のいずれでもよく、またヒト化されたキメラ抗体であってもよい。抗体のアイソタイプは、IgG(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、IgM、IgA、IgDなどが存在するが、制限無くいずれのものであってもよい。抗体はまた抗体断片であってもよく、そのような抗体断片としてはFab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv、sc(Fv)<sub>2</sub>、ダイヤボディ等が挙げられる。

20

30

【0107】

融合遺伝子の発現を検出する方法としては、上記融合遺伝子のmRNA、又は当該遺伝子にコードされるタンパク質を検出することにより行うことが挙げられ、各種公知の融合遺伝子の解析方法を使用することができる。生体試料中からのmRNA又はタンパク質の抽出は常法に従い行うことができる。また、発現するmRNAの網羅的なシーケンス及びシーケンス結果の解析により融合遺伝子の発現を検出することも可能である。

【0108】

上記生体試料がパラフィン包埋検体である場合には、該パラフィン包埋検体からRNAを抽出し、該RNAを用いて融合遺伝子の検出を行うこともできる。このようなパラフィン包埋検体からのRNA抽出は、公知の方法に従って実施でき、例えば、Qiagen社のAllPrep(登録商標)DNA/RNA FFPE Kitを使用することにより実施できる。パラフィン包埋検体における組織中のRNAは、分解し断片化しているため、生又は凍結された生体試料と比べて融合遺伝子の検出は難易度が高くなる。

40

【0109】

mRNAを検出する方法としては、mRNAを検出できる方法であれば特に限定されず使用することができる。当該検出方法としては、例えば、DNAチップ(又はマイクロアレイ)法、PCR法、DNA配列決定法、ノーザンブロット法等が挙げられる。ここでのmRNAを検出する方法は、mRNAに対応するcDNAを検出することも含む。また、融合遺伝子における融合点をプローブなどを用いて検出することは、融合遺伝子の存在を効果的に判断することができる。

【0110】

50

タンパク質を検出する方法としては、タンパク質を検出できる方法であれば特に限定されず使用することができる。当該検出方法としては、例えば、免疫組織染色、免疫細胞染色、フローサイトメトリー、プロテインチップ、ELISA法、ウェスタンブロッティング法による解析法等が挙げられる。本来発現していないタンパク質が融合遺伝子となることで発現してくる場合は、該タンパク質を検出することにより融合遺伝子の存在を効果的に判断することができる。

【0111】

また、染色体上における融合遺伝子の存在の検出は、例えば、FISH (蛍光in situハイブリダイゼーション)法、PCR法、DNA配列決定法、サザンブロット法等により行うことができる。また、融合遺伝子における融合点をプローブなどを用いて検出することは、融合遺伝子の存在を効果的に判断することができる。なお、染色体上における融合遺伝子の存在は、融合遺伝子の発現を強く示唆する要素である。

10

【0112】

本発明の方法では、上記融合遺伝子の発現を指標として、被験対象の悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬の感受性を有するか否かを判定する。なお、上記融合遺伝子の群の内の1種の融合遺伝子において発現が見られた場合に、被験対象の悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬の感受性を有するとの判定を行ってもよいが、2種以上の融合遺伝子が発現している場合にPD-1経路阻害薬の感受性を有するとの判定を行うことが望ましい。

【0113】

本発明において、悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬の感受性を有すると判定された場合、悪性腫瘍はPD-1経路阻害薬による治療効果が高いと予測される。すなわち、本発明の感受性の判定方法は、治療効果を予測する方法との意味をも包含するものである。本発明において感受性が高いと判定された場合に予想される治療効果は、完全奏功(CR)、部分奏功(PR)又は不変(SD)のいずれであってもよいが、好ましくは完全奏功(CR)である。

20

【0114】

本発明において、悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬の感受性を有すると判定された場合は、悪性腫瘍に対する治療効果が高いと考えられるため、被験対象に対してPD-1経路阻害薬を投与することにより悪性腫瘍の治療が行われることが望ましい。

【0115】

PD-1経路阻害薬の投与方法は特に限定されず、例えば、動脈内投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮膚内投与、腹腔内投与、皮下投与、口腔内投与、直腸投与、経腸投与、経皮投与、経口投与などにより行うことができる。

30

【0116】

PD-1経路阻害薬は、有効成分をそのまま使用するか、又は医薬品において許容される無毒性の担体、希釈剤若しくは賦形剤とともに、タブレット(素錠、糖衣錠、発泡錠、フィルムコート錠、チュアブル錠、トローチ剤などを含む)、カプセル剤、丸剤、粉末剤(散剤)、細粒剤、顆粒剤、液剤、懸濁液、乳濁液、シロップ、ペースト、注射剤(使用時に、蒸留水又はアミノ酸輸液や電解質輸液等の輸液に配合して液剤として調製する場合を含む)などの形態に調製して使用される。

【0117】

被験対象に投与されるPD-1経路阻害薬中の有効成分の含量は、医薬製剤全量中0.0001~100重量%、好ましくは0.001~99.9重量%、より好ましくは0.01~99重量%の範囲から適宜選択することが可能である。

40

【0118】

PD-1経路阻害薬の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状などの種々の条件に応じて適宜決定することができる。

【0119】

悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用のバイオマーカー

本発明の悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用のバイオマーカーは、AKR1E2-TAKR、NF1A-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、C1T-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN

50

2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子を含むことを特徴とする。

【0120】

上記融合遺伝子の発現を指標にすることで、悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬の感受性を示すか否かを判定することができることから、上記融合遺伝子は悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用のバイオマーカーとなり得る。

10

【0121】

なお、悪性腫瘍、PD-1経路阻害薬、感受性の判定方法等は前述するものと同様である。

【0122】

悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用キット

本発明の悪性腫瘍に対するPD-1経路阻害薬の感受性の判定用キットは、AKR1E2-TAKR、NFIA-INADL、DNMT3B-MAPRE1、AP2A2-MAP6、CIT-GCN1L1、CCDC7-C10orf68、RHPN2-SLC7A10、FAM49B-ASAP1、TTLL5-IFT43、RBPMS-AS1-RBPMS、VPS13A-RP11-498P14.4、LHFPL3-AS2-MLL5、IGLV2-14-IGLL5、APLP2-ST14、AC098614.2-TPM4、SYDE1-ILVBL、RP11-346K17.4-NCOA6、GRIP1-RP11-123010.4、RP11-634B7.4-TRIM58、EYA2-NCOA3、NAALADL2-ZMIZ1、CSNK2A1-ITPA、LOC100507557-SHPRH、CPVL-CHN2、NOL11-RP11-49C9.2、C10orf11-ARFGAP1、RP4-576H24.2-C20orf194、CTD-2337A12.1-CAST、RP11-732M18.3-TULP4、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2からなる群から選択される少なくとも1種の融合遺伝子に結合する核酸を含むことを特徴とする。

20

【0123】

上記融合遺伝子に結合する核酸とは、当該融合遺伝子にハイブリダイズできるポリヌクレオチドのことであり、例えば、DNAチップ(又はマイクロアレイ)法、PCR法、DNA配列決定法、ノーザンブロット法等にPCRプライマー、プローブ等として使用することで当該融合遺伝子のmRNAの発現を検出することができる。また、FISH法、PCR法、DNA配列決定法、サザンブロット法等にPCRプライマー、プローブ等として使用することで染色体上における融合遺伝子の存在を検出することもできる。

30

【0124】

本発明において、上記感受性判定用キットを使用して、前述するのと同様な方法で、被験対照の生体試料における上記融合遺伝子の発現を検出し、当該発現を指標として、悪性腫瘍がPD-1経路阻害薬に対する感受性を有するか否かを判定することができる。

【0125】

また、本発明のキットには、必要により上記以外の追加物が含まれていてもよい。そのような追加物としては、例えば、ポジティブコントロール、ネガティブコントロール、本発明のキットを使用した上記融合遺伝子の検出方法を記載したインストラクションなどが挙げられる。

40

【0126】

なお、悪性腫瘍、PD-1経路阻害薬、感受性の判定方法等は前述するものと同様である。

【0127】

本発明により、発現する融合遺伝子の数及び特定の融合遺伝子の発現を指標にすることで、PD-1経路阻害薬(特に、抗PD-1抗体)に対する感受性を示す悪性腫瘍であるか否かを高精度に判定することが可能となる。そのため、本発明により、融合遺伝子の数及び特定の融合遺伝子を利用することで、PD-1経路阻害薬(特に、抗PD-1抗体)による効果が期待できる患者(著効を示す患者)を効率的に選別することが可能となる。結果として、PD-1経路阻害薬(特に、抗PD-1抗体)による治療を適切に実施できる患者に効率的に当該PD-1経路阻害薬を投与することが可能となる。

50



## 【実施例】

## 【0128】

以下、本発明を更に詳しく説明するため実施例を挙げる。しかし、本発明はこれら実施例等になんら限定されるものではない。

## 【0129】

試験例

## &lt;対象&gt;

京都大学医学部附属病院産科婦人科にて行われたプラチナ抵抗性再発卵巣癌に対する抗PD-1抗体(nivolumab)を用いた医師主導治験を受けた患者20例(\*)のうち、倫理委員会の承認のもと患者若しくはその家族に同意を得た後に、下記のRNAシーケンシング解析が可能であった17例を対象とした。

10

## 【0130】

(\*)当該治験では、有効性評価にて完全奏効CR 2例、部分奏効PR 1例、CRに近いSD (SD[CR]) 1例、不変SD 5例、増悪PD 10例、評価不能NE 1例との結果を得た。

## 【0131】

## &lt;方法&gt;

1. 上記治験を受けた患者の、ホルマリン固定後にパラフィン包埋処理された卵巣癌腫瘍組織検体から、顕微鏡下にごん病巣部分のみ切り出した後、Qiagen社のAllPrep (登録商標) DNA/RNA FFPE Kitを用いてRNAを抽出した。その際、抽出されたRNA量が超微量であるため、抽出したRNAをAgilent Technologies社のTapeStation High Sensitivity RNA ScreenTape (登録商標)、Sample Buffer及びLadderを用いてQuality判定を行なった。

20

## 【0132】

2. その後にillumina社のTruSeq (登録商標) RNA Access Library Prep Kitを用いて、ライブラリー調製を行った。RNAシーケンシングライブラリー(ショットガンライブラリー)を作製した後、2回の濃縮反応を実施し、コーディング領域にフォーカスしたライブラリーを取得した。取得ライブラリーはillumina社のNextSeq (登録商標) 500 [High output v2]を用いてシーケンスし、2x75 bpのペアエンドシーケンスデータを取得した。

## 【0133】

3. シーケンスデータは、illumina社のBaseSpace TopHat Alignment App (version 1.0.0)で解析した。遺伝子発現解析と合わせて融合遺伝子の候補を抽出した。

30

## 【0134】

4. 融合遺伝子の数と有効例との相関を調べた。さらに、有効例に特異的な融合遺伝子の探索を行った。

## 【0135】

## &lt;結果1&gt;

20人のプラチナ抵抗性再発卵巣癌を対象に抗PD-1抗体(nivolumab)を用いた医師主導治験に参加した患者のうち解析可能であった19例のパラフィン包埋腫瘍検体から、RNAを抽出しRNAシーケンシングを行った。その結果、17例が解析可能(2例はサンプルエラー)であった。TopHat fusion解析(\*\*)にて、各サンプル当たりそれぞれ0~15個の融合遺伝子の候補を抽出した。さらに、融合遺伝子数と治療効果との関係を解析した。結果を表1及び表2に示す。

40

(\*\*)TopHatは、既知のmRNAアノテーション情報を利用せずにスプライシングジャンクションを検出できる解析手法を備えたジャンクションマッピングソフトウェアであり、未知の融合遺伝子の検出が可能となる(\*\*\*)。

(\*\*\*)Trapnell et al. TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. (Bioinformatics 2009.25:1105-1111).

## 【0136】

【表 1】

サンプル番号	有効性評価	融合遺伝子の数
2	PD	0
3	SD	0
5	PR	15
6	PD	1
7	SD[CR]	3
8	SD	4
9	PD	0
10	PD	0
12	CR	5
13	PD	1
14	SD	12
15	CR	5
16	PD	0
17	PD	0
18	PD	0
19	PD	0
20	PD	0

10

20

【 0 1 3 7 】

【表 2】

融合遺伝子数	奏効例	非奏効例
<2	1	10
≥ 2	6	0

30

奏効例 (n=7; 2CR, 1PR, 1SD[CR], 3SD)

非奏効例 (n=10; 10PD)

【 0 1 3 8 】

表 2 に示されているように、カットオフ値を2とした場合に、奏効例で有意に融合遺伝子の数が多いことが分かった (p=0.0003)。

【 0 1 3 9 】

< 結果 2 >

奏効例に特異的な融合遺伝子として、のべ33個の融合遺伝子が抽出された。奏効例の遺伝子の一覧を図 1 に示す。

40

【 0 1 4 0 】

上記の33個の融合遺伝子の中から2例以上で共通した融合遺伝子として、CCDC7-C10orf6 8、RBPMS-AS1(LOC100128750)-RBPMS、IGLV2-14(ENSG00000211666)-IGLL5、CPVL(ENSG00000106066)-CHN2、及びGRIP1-RP11-123010.4(ENSG00000256248)を抽出した。

【 0 1 4 1 】

また、上記の33個の融合遺伝子の中から1例しか無いがCRに認めた融合遺伝子として、EYA2-NCOA3、USP4-RHOA、SMURF1-KPNA7(ENSG00000185467)、COL18A1-APOL4、及びER11-NCOA2を抽出した。

【 図 1 】

5PR	1	chr10-chr10 re	AK01162	chr10	4872886	TAOR	chr10	4850811
	2	chr1-chr1 re	NFA1	chr1	81798183	INADE	chr1	82241005
	3	chr20-chr20 re	DNMT3B	chr20	31372583	MAPRE1	chr20	31421687
	4	chr11-chr11 fr	AP3A2	chr11	984749	MAP9	chr11	75319389
	5	chr12-chr12 fr	OST	chr12	12E+06	GON1L1	chr12	1.21E+08
	6	chr10-chr10 re	CCDC1	chr10	32754403	CFI6ar18	chr10	23727281
	7	chr19-chr19 re	RHYN2	chr19	33489091	SLC7A10	chr19	33708784
	8	chr8-chr8 re	FAM48B	chr8	1.31E+08	ASAP1	chr8	1.31E+08
	9	chr14-chr14 re	TTL5	chr14	76420768	IFT43	chr14	76488736
	10	chr8-chr8 re	LOC100128250	chr8	30247059	DDP761	chr8	30322266
	11	chr9-chr9 re	VPS13A	chr9	78997002	ENG00000235484	chr9	89995483
	12	chr7-chr7 re	LHFPL3-AS2	chr7	1.05E+08	MLL5	chr7	1.05E+08
7SD (CR)	1	chr22-chr22 re	ENG00000211886	chr22	23101895	IGLL5	chr22	23235980
	2	chr11-chr11 re	APLP2	chr11	1.3E+08	ST14	chr11	1.3E+08
	3	chr3-chr3 re	ENG00000213848	chr3	27675042	TPM4	chr3	18212387
8 SD	1	chr19-chr19 re	SYDE1	chr19	15225759	ILMBL	chr19	15228921
	2	chr20-chr20 re	ENG000002123085	chr20	33302393	NCOA8	chr20	33303189
	3	chr12-chr12 re	GRP1	chr12	86990706	ENG00000218248	chr12	67462829
	4	chr1-chr1 re	ENG000002125749	chr1	2.48E+08	TRM5B	chr1	2.48E+08
12 CR	1	chr22-chr22 re	ENG00000211886	chr22	23101895	IGLL5	chr22	23235980
	2	chr8-chr8 re	LOC100128250	chr8	30247072	DDP761	chr8	30321802
	3	chr12-chr12 re	GRP1	chr12	86990706	ENG00000218248	chr12	67462829
	4	chr20-chr20 re	EYAZ	chr20	45816897	NCOA3	chr20	46212001
14 SD	1	chr10-chr10 re	CCDC1	chr10	32754403	CFI6ar18	chr10	23727281
	2	chr3-chr3 re	NANLAC2	chr3	1.75E+08	ZM21	chr10	80978030
	3	chr20-chr20 re	CSNK2A1	chr20	489084	ITPA	chr20	3183814
	4	chr6-chr6 re	LOC100507353	chr6	1.48E+08	DHFR4	chr6	1.48E+08
	5	chr7-chr7 re	ENG000002108088	chr7	29186574	CHN2	chr7	29284239
	6	chr17-chr17 re	NOL11	chr17	65732030	ENG00000183171	chrX	1.48E+08
	7	chr10-chr10 re	C10orf11	chr10	78318866	ARFGAP1	chr20	61917783
	8	chr20-chr20 re	ENG000002142224	chr20	1514581	C20orf194	chr20	3295679
	9	chr12-chr12 re	GRP1	chr12	86990706	ENG00000218248	chr12	67462829
	10	chr5-chr5 re	ENG000002031314	chr5	95715355	CAST	chr5	96011242
	11	chr8-chr8 re	ENG000002038537	chr8	1.58E+08	TULP4	chr8	1.58E+08
15 CR	1	chr3-chr3 re	USP4	chr3	49385118	RNOA	chr3	49297814
	2	chr7-chr7 re	ENG000002108088	chr7	29186574	CHN2	chr7	29284239
	3	chr7-chr7 re	SMURF1	chr7	98741348	ENG00000185487	chr7	98805111
	4	chr21-chr22 re	COL18A1	chr21	48625385	APOLA4	chr22	38591484
	5	chr8-chr8 re	IRE1	chr8	8875805	NCOA2	chr8	71315935

【 配 列 表 】

201806148400001.app