

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02019/131552

発行日 令和3年1月28日(2021.1.28)

(43) 国際公開日 令和1年7月4日(2019.7.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68 Z N A	2 G O 4 1
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A	2 G O 4 5
GO 1 N 27/62 (2021.01)	GO 1 N 27/62 V	4 H O 4 5
CO 7 K 14/82 (2006.01)	CO 7 K 14/82	
CO 7 K 14/46 (2006.01)	CO 7 K 14/46	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 39 頁)

出願番号 特願2019-561671 (P2019-561671)	(71) 出願人 504159235 国立大学法人 熊本大学 熊本県熊本市中央区黒髪二丁目39番1号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2018/047362	
(22) 国際出願日 平成30年12月21日(2018.12.21)	
(31) 優先権主張番号 特願2017-251593 (P2017-251593)	(74) 代理人 100107984 弁理士 廣田 雅紀
(32) 優先日 平成29年12月27日(2017.12.27)	(74) 代理人 100182305 弁理士 廣田 鉄平
(33) 優先権主張国・地域又は機関 日本国(JP)	(74) 代理人 100102255 弁理士 小澤 誠次
	(74) 代理人 100096482 弁理士 東海 裕作
	(74) 代理人 100113860 弁理士 松橋 泰典
	(74) 代理人 100131093 弁理士 堀内 真

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 膵がん等のがんの判定用バイオマーカー

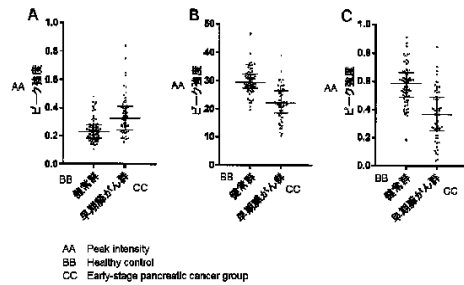
(57) 【要約】

本発明の課題は、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがん(好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん)の有無又は発症リスクを精度よく判定できる判定方法や、判定用バイオマーカー等を提供することにある。

本発明は、以下の[Aグループ]及び[Bグループ]に記載される物質群から選択される1又は2種以上の物質を、早期膵がんを含む膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん、胆管がんの有無又は発症リスクを精度よく判定できるバイオマーカーとして用いる。

[Aグループ] APOA4の部分ペプチド、APOA1の部分ペプチド、TTHYの部分ペプチド、Q5VY30の部分ペプチド、HOYAC1の部分ペプチド、BTDの部分ペプチド、APOA4、APOA1、TTHY、Q5VY30、HOYAC1、BTD

[Bグループ] ITIH3の部分ペプチド、ITIH3



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがんの有無又は発症リスクの判定方法であって、

前記判定方法が以下の工程 (a) ~ (c) を含むことを特徴とする、前記判定方法。

(a) 被検者から採取された判定用血液試料中の、以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質の濃度を測定する工程；

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H O Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H O Y A C 1、B T D

10

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

(b) 工程 (a) で測定した物質の濃度を、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較する工程；

(c) 工程 (a) で測定した物質が [A グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価し、及び / 又は、

工程 (a) で測定した物質が [B グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程；

20

【請求項 2】

工程 (b) が、工程 (a) で測定した 2 種以上の物質の各濃度と、対照となる健常血液試料中の 2 種以上の物質の各濃度とを、2 種以上の物質の各濃度を変数とする多変量解析における予測式に代入して得た予測値と比較する工程であり、

前記予測式が、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い場合に予測値が高くなる予測式である場合には、工程 (c) は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも高いときに、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であり、

30

前記予測式が、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い場合に予測値が低くなる予測式である場合には、工程 (c) は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも低いときに、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であることを特徴とする請求項 1 に記載の判定方法。

【請求項 3】

物質が、A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、I T I H 3 の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1 及び I T I H 3 からなる群から選択される 1 種又は 2 種以上である請求項 1 又は 2 に記載の判定方法。

40

【請求項 4】

部分ペプチドがプロテアーゼで消化されたペプチドであることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 5】

多変量解析が、ロジスティック回帰分析又は重回帰分析であることを特徴とする請求項 2 ~ 4 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 6】

[B グループ] がさらに C A 1 9 - 9 抗原を含んでおり、

工程 (a) で濃度を測定する物質が、[A グループ] 及び [B グループ] に記載される

50

物質群から選択される２種以上の物質であって、少なくともC A 1 9 - 9 抗原を含んでいることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 7】

工程 (a) における物質の濃度の測定を質量分析法により行うことを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 8】

物質が、A P O A 4 の部分ペプチド又はA P O A 1 の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

判定方法が、工程 (a) で測定したA P O A 4 の部分ペプチド又はA P O A 1 の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中のA P O A 4 の部分ペプチド又はA P O A 1 の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いと評価する工程 (d) をさらに含むことを特徴とする請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の判定方法。

10

【請求項 9】

がんが、早期膵がんであることを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 1 0】

以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質からなることを特徴とする、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがんの有無又は発症リスクの判定用バイオマーカーであって、

20

物質が [A グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示され、

物質が [B グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示される、

前記判定用バイオマーカー。

30

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H 0 Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H 0 Y A C 1、B T D

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

【請求項 1 1】

物質が、A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、I T I H 3 の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1 及び I T I H 3 からなる群から選択される 1 種又は 2 種以上である請求項 1 0 に記載の判定用バイオマーカー。

40

【請求項 1 2】

物質が、A P O A 4 の部分ペプチド又はA P O A 1 の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

被検者から採取された判定用血液試料中のA P O A 4 の部分ペプチド又はA P O A 1 の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中のA P O A 4 の部分ペプチド又はA P O A 1 の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される請求項 1 0 又は 1 1 に記載の判定用バイオマーカー。

【請求項 1 3】

がんが、早期膵がんであることを特徴とする請求項 1 0 ~ 1 2 のいずれかに記載の判定

50

用バイオマーカー。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがん（以下、「本発明におけるがん」とも表示する。）の有無又は発症リスクの判定方法であって、被検者から採取された判定用血液試料中の特定の物質群から選択される1又は2種以上の物質の濃度を測定する工程（a）を含む判定方法や、前述の特定の物質群からなる前述のがんの有無の判定用バイオマーカー等に関する。

【背景技術】

【0002】

がんは死亡原因の高い割合を占めており、その状況は長らく続いている。様々な抗がん剤の開発がこれまでに進められており、免疫チェックポイント阻害剤など、以前より効果の高い抗がん剤も実用化されているものの、得られる抗がん作用の程度には個人差やがんの種類による差も大きく、がんは依然として人類にとっての脅威であり続けている。ただ、がんは早期に発見することができれば、早期に治療を開始することで、がんによる死亡率を大きく低下させることができる。そのため、より精度の高い又はより多様な、がんの判定・診断方法、特に、早期のがんの判定・診断方法の開発が進められている。

【0003】

ところで、がんの中でも、膵がんは難治性がんの一つであり、外科的手術以外の有効な治療法は確立されてない。膵がんが難治性がんであることの本質的要因の一つとして、膵臓が胃の裏側、すなわち、体の深部に位置しており、がんが発生しても症状が現れにくく、早期発見が非常に難しいことということが挙げられる。実際、膵がんの5年生存率は約9%と極めて予後が悪いものの、早期の膵がん（ステージⅠ）の5年生存率は41%と比較的予後がよい。このように、膵がんにおいては早期発見、早期治療が特に重要であり、膵がんを現在よりも早期に発見することができれば、膵がん患者の5年生存率を大幅にあるいは劇的に向上させることが可能になると期待できる。

【0004】

膵がんの診断手法としては、血清腫瘍マーカーであるCA19-9を用いられることが知られている。また、最近では、膵がんの診断において、ヘリカルCT、磁気共鳴装置（MRI）、内視鏡的超音波検査法（EUS）などが用いられている。しかしながら、これらのいずれの診断手法も、膵がんの診断手法として十分とは言えず、特に、早期の膵がんの診断手法としては全く不十分であった。

【0005】

早期の膵がんの診断に関して、特許文献1には、放射性核種で標識されたc(RGDfK)ペプチドを、哺乳動物に投与する工程、及び、投与後の哺乳動物の膵臓における前記放射性核種を検出する工程を含む、早期膵がんの検出方法が開示されている。しかし、この方法は、放射性核種で標識されたペプチドの取り扱いに注意が必要であり、実用性は高くない。一方、本発明者らはこれまでに、血漿中に存在するバイオマーカーであるinsulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) 2及びIGFBP 3が、膵がんの早期発見に有用であることを見いだしている（非特許文献1）。しかし、本発明の特定の物質群から選択される1又は2種以上の物質が、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがんの有無又は発症リスクを判定できるバイオマーカーであること、特に、早期の膵がんの有無又は発症リスクを判定できるバイオマーカーであることについては、これまで知られていなかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開2012-042215号公報

【非特許文献】

10

20

30

40

50

【 0 0 0 7 】

【非特許文献 1】PLoS One. 2016 Aug 31;11(8):e0161009

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 8 】

本発明の課題は、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがん（好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん）の有無又は発症リスクを精度よく判定できる判定方法や、判定用バイオマーカー等を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

10

【 0 0 0 9 】

本発明者らは、上記課題を解決するため、早期膵がんの患者（早期膵がん群）と、胃がんの患者と、大腸がんの患者と、十二指腸がんの患者と、胆管がんの患者と、健常者（健常群）のそれぞれについて採取した血清をトリプシンで処理し、得られたペプチド試料について質量分析を行ったところ、後述の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群（以下、「本件物質群」とも表示する。）から選択される 1 又は 2 種以上の物質が、早期膵がんを含む膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん、胆管がんの有無や発症リスクを精度よく判定できるバイオマーカーであることを見だし、本発明を完成するに至った。また、本発明者らは、早期膵がん群と健常群における本件物質群の各濃度を変数とする多重ロジスティック回帰分析を行ったところ、本発明におけるがんの有無や発症リスクをより高精度で判定できることを見だし、本発明を完成するに至った。

20

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H 0 Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H 0 Y A C 1、B T D

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

【 0 0 1 0 】

また、本発明者らは、A P O A 4 ペプチドの部分ペプチドが、膵がん、他のがん（すなわち、胆管がん、結腸がん、十二指腸がん、及び胃がん）を判別するバイオマーカーであり、中でも、膵がん、胃がん、肝細胞癌、食道がんとをより高精度で判別することができるバイオマーカーであることを見だし、本発明を完成するに至った。

30

【 0 0 1 1 】

すなわち、本発明は、以下のとおりである。

(1) 膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがんの有無又は発症リスクの判定方法であって、

前記判定方法が以下の工程 (a) ~ (c) を含むことを特徴とする、前記判定方法。

(a) 被検者から採取された判定用血液試料中の、以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質の濃度を測定する工程；

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H 0 Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H 0 Y A C 1、B T D

40

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

(b) 工程 (a) で測定した物質の濃度を、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較する工程；

(c) 工程 (a) で測定した物質が [A グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における

50

前記がんの発症リスクが高いと評価し、及び/又は、工程(a)で測定した物質が[Bグループ]の物質である場合、工程(a)で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して高いとき、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程；

(2) 工程(b)が、工程(a)で測定した2種以上の物質の各濃度と、対照となる健常血液試料中の2種以上の物質の各濃度とを、2種以上の物質の各濃度を変数とする多変量解析における予測式に代入して得た予測値と比較する工程であり、

前記予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合に予測値が高くなる予測式である場合には、工程(c)は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも高いときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であり、

前記予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合に予測値が低くなる予測式である場合には、工程(c)は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも低いときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であることを特徴とする上記(1)に記載の判定方法や、

(3) 物質が、APOA4の部分ペプチド、APOA1の部分ペプチド、ITH3の部分ペプチド、APOA4、APOA1及びITH3からなる群から選択される1種又は2種以上である上記(1)又は(2)に記載の判定方法。

(4) 部分ペプチドがプロテアーゼで消化されたペプチドであることを特徴とする上記(1)~(3)のいずれかに記載の判定方法。

(5) 多変量解析が、ロジスティック回帰分析又は重回帰分析であることを特徴とする上記(2)~(4)のいずれかに記載の判定方法。

(6) [Bグループ]がさらにCA19-9抗原を含んでおり、

工程(a)で濃度を測定する物質が、[Aグループ]及び[Bグループ]に記載される物質群から選択される2種以上の物質であって、少なくともCA19-9抗原を含んでいることを特徴とする上記(1)~(5)のいずれかに記載の判定方法。

(7) 工程(a)における物質の濃度の測定を質量分析法により行うことを特徴とする上記(1)~(6)のいずれかに記載の判定方法。

(8) 物質が、APOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

判定方法が、工程(a)で測定したAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中のAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いと評価する工程(d)をさらに含むことを特徴とする上記(1)~(7)のいずれかに記載の判定方法。

(9) がん又は膵がんが、早期膵がんであることを特徴とする上記(1)~(8)のいずれかに記載の判定方法。

(10) 以下の[Aグループ]及び[Bグループ]に記載される物質群から選択される1種又は2種以上の物質からなることを特徴とする、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがんの有無又は発症リスクの判定用バイオマーカーであって、

物質が[Aグループ]の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて低いとき、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示され、

物質が[Bグループ]の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて高いとき、前記被検者

10

20

30

40

50

が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示される、前記判定用バイオマーカー。

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H O Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H O Y A C 1、B T D

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

(1 1) 物質が、A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、I T I H 3 の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1 及び I T I H 3 からなる群から選択される 1 種又は 2 種以上である上記 (1 0) に記載の判定用バイオマーカー。

(1 2) 物質が、A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

被検者から採取された判定用血液試料中の A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中の A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される上記 (1 0) 又は (1 1) に記載の判定用バイオマーカー。

(1 3)

がん又は膵がんが、早期膵がんであることを特徴とする上記 (1 0) ~ (1 2) のいずれかに記載の判定用バイオマーカー。

【 0 0 1 2 】

また本発明の実施の他の形態として、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがん (好ましくは膵がん) の有無又は発症リスクの診断方法であって、

前記診断方法が上記工程 (a) ~ (c) (好ましくは上記工程 (a) ~ (d)) を含むことを特徴とする、前記診断方法 ; や、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがん (好ましくは膵がん) の有無又は発症リスクの診断方法であって、

上記工程 (a) ~ (c) (好ましくは上記工程 (a) ~ (d)) を含み、さらに、工程 (c) において、がんを有している可能性が高いと評価 (診断) された被検者に対して、がんの治療剤を投与する工程 (p)、又は、工程 (d) において、膵がんを有している可能性が高いと評価 (診断) された被検者に対して、膵がんの治療剤を投与する工程 (q) を任意で含む、前記診断方法 ; や、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがん (好ましくは膵がん) の有無又は発症リスクを診断するためのデータを収集する方法であって、

前記方法が上記工程 (a) ~ (c) (好ましくは上記工程 (a) ~ (d)) を含むことを特徴とする、前記方法 ; や、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがん (好ましくは膵がん) の有無又は発症リスクの判定 (診断) 方法におけるバイオマーカーとして使用するための、本件物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質であって、

物質が [A グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示され、

物質が [B グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記が

10

20

30

40

50

んの発症リスクが高いことが示され、

被検者から採取された判定用血液試料中のAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中のAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される、前記物質；

を挙げることができる。

【発明の効果】

【0013】

本発明によると、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがん（好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん）の有無又は発症リスクを精度よく判定できる判定方法や、判定用バイオマーカー等を提供することができる。本発明によって膵がんを早期に発見することができれば、早期の段階での治療が可能となり、進行してから発見する場合に比べて5年生存率の大幅な向上が期待できる。

10

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】健常群（66例）及び早期膵がん群（59例）における血漿中のITH3ペプチド（EHLVQATPENLQEAR [配列番号2]）（図1A）、APOA1ペプチド（THLAPYSDELR [配列番号5]）（図1B）、及びAPOA4ペプチド（LLPHANEVSQK [配列番号12]）（図1C）の濃度を、質量分析法により定量した結果を示す図である。図中の黒丸は、個々の測定対象者の結果を示す。図中の一番長い横棒線は、中央値を示し、その上下にある横棒線は四分位値（25%、75%）を示す。

20

【図2】図2Aは、3種類の群（健常群（66例）、早期膵がん群（59例）、及び前膵がん病変・慢性膵炎群（30例））における血漿中の上記3種類のペプチドの定量結果を基に、多重ロジスティック回帰分析を用いて予測式（式（1））を設定し、早期膵がん又は前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率（図中の縦軸参照）を予測した結果を示す図である。図2Bは、上記3種類の群における血漿中の上記3種類のペプチドの定量結果に加えて、CA19-9濃度の測定値も組み合わせた多重ロジスティック回帰分析を用いて予測式（式（2））を設定し、早期膵がん又は前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率（図中の縦軸参照）を予測した結果を示す図である。図中の黒丸又は灰色丸は、個々の測定対象者の結果を示す。図中の一番長い横棒線は、中央値を示し、その上下にある横棒線は四分位値（25%、75%）を示す。

30

【図3】図3Aは、5種類の群（健常群（44例）、ステージI膵がん群（4例）、ステージII膵がん群（19例）、ステージIII膵がん群（26例）、及びステージIV膵がん群（51例））における血漿中の上記3種類のペプチドの定量結果を基に、図2Aにおいて多重ロジスティック回帰分析によって設定した式（1）を用いて、各ステージの膵がんの発生確率（図中の縦軸参照）を予測した結果を示す図である。図3Bは、図2Bの式（2）を用いて血漿中の上記3種類のペプチドの定量結果に加えて、CA19-9濃度の測定値も組み合わせて算出し、各ステージの膵がんの発生確率（図中の縦軸参照）を予測した結果を示す図である。図中の黒丸は、個々の測定対象者の結果を示す。図中の一番長い横棒線は、中央値を示し、その上下にある横棒線は四分位値（25%、75%）を示す。

40

【図4】図4Aは、11種類の群（健常群 [n = 43]、膵がん群 [n = 80]、前膵がん病変・慢性膵炎群 [n = 29]、良性腫瘍群 [n = 43]、肝外胆管がん群 [n = 16]、結腸がん群 [n = 126]、十二指腸がん群 [n = 8]、食道がん群 [n = 10]、肝細胞がん群 [n = 12]、肝内胆管がん群 [n = 9]、及び胃がん群 [n = 119]）における血漿中の上記3種類のペプチドの定量結果を基に、式（1）を用いて、各種がん、良性腫瘍、又は前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率（図中の縦軸参照）を予測した結果を示す図である。図4Bは、上記11種類の群における血漿中の上記3種類のペプチドの

50

定量結果に加えて、C A 1 9 - 9 濃度の測定値も組み合わせた式 (2) を用いて、各種がん、良性腫瘍、又は前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率 (図中の縦軸参照) を予測した結果を示す図である。図中の黒丸又は灰色丸は、個々の測定対象者の結果を示す。図中の一番長い横棒線は、中央値を示し、その上下にある横棒線は四分位値 (2 5 % , 7 5 %) を示す。

【図 5】図 5 は、健常群 n = 1 0 9、早期膵がん群 n = 1 3 9、前膵がん病変群 n = 5 6、膵炎群 n = 5、良性腫瘍群 n = 4 1、結腸がん群 n = 1 2 6、食道がん群 n = 1 0、肝細胞がん群 n = 1 2、胃がん群 n = 1 1 9 における血漿中の A P O A 4 ペプチド (L L P H A N E V S Q K [配列番号 1 2]) の濃度を、質量分析法により定量した結果を示す図である。図中の黒丸は、個々の測定対象者の結果を示す。図中の一番長い横棒線は、中央値を示し、その上下にある横棒線は四分位値 (2 5 % , 7 5 %) を示す。

10

【図 6】図 6 は、2 種類の群 (健常群 (4 5 例)、並びにステージ III 及び IV の膵がん群 (4 3 例)) における血漿中の上記 3 種類のペプチドの定量結果を基に、式 (1) を用いて、ステージ III 又は IV の膵がんの発生確率 (図中の縦軸参照) を予測した結果を示す図である。図中の黒丸は、個々の測定対象者の結果を示す。図中の一番長い横棒線は、その群の中央値を示し、その上下にある横棒線は四分位値 (2 5 % , 7 5 %) を示す。

【図 7】図 7 は、図 6 の結果を基に作成した R O C 曲線を表す。図 7 のグラフの横軸は、「1 0 0 % - 特異度 (%)」(偽陽性率 (%)) を表し、縦軸は、「感度 (%)」(真陽性率 (%)) を表す。

20

【発明を実施するための形態】

【0 0 1 5】

本発明におけるがんの有無又は発症リスクの判定方法としては、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがんの有無又は発症リスクの判定方法であって、

以下の工程 (a) ~ (c) を含むことを特徴とする判定方法 (以下、「本件判定方法」とも表示する。) である限り特に制限されない。

(a) 被検者から採取された判定用血液試料中の、以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質の濃度 (以下、「被検者における物質濃度」とも表示する。) を測定する工程 ;

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H O Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H O Y A C 1、B T D

30

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

(b) 工程 (a) で測定した物質の濃度を、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度 (以下、「対照試料における物質濃度」とも表示する。) と比較する工程 ;

(c) 工程 (a) で測定した物質が [A グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価し、及び / 又は、

40

工程 (a) で測定した物質が [B グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程 ;

【0 0 1 6】

本件判定方法は、本発明におけるがんの有無又は発症リスクの高低の、医師による診断を補助する方法であって、医師による診断行為を含まない。

【0 0 1 7】

また、本発明におけるがんの有無の判定用バイオマーカーとしては、

50

以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質からなることを特徴とする、

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがんの有無又は発症リスクの判定用バイオマーカーであって、

物質が [A グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示され、

物質が [B グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示される、

前記判定用バイオマーカー（以下、「本件判定用バイオマーカー」とも表示する。）である限り特に制限されない。

【 0 0 1 8 】

本発明における工程（ a ）としては、被検者から採取された判定用血液試料中の、以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質の濃度を測定する工程である限り特に制限されない。

【 0 0 1 9 】

A P O A 4 はアポリポプロテイン A - 4 を表す。ヒトの A P O A 4 のアミノ酸配列は配列番号 2 5（UniProt のアクセッションナンバー P06727）に示される。A P O A 1 はアポリポプロテイン A - 1 を表す。ヒトの A P O A 1 のアミノ酸配列は配列番号 2 6（UniProt のアクセッションナンバー P02647）に示される。T T H Y はトランスサイレチンを表す。ヒトの T T H Y のアミノ酸配列は配列番号 2 7（UniProt のアクセッションナンバー P02766）に示される。Q 5 V Y 3 0 はレチノール結合タンパク質 4 を表す。ヒトのレチノール結合タンパク質 4 のアミノ酸配列は配列番号 2 8（UniProt のアクセッションナンバー P02753）に示されるほか、UniProt アクセッションナンバー Q5VY30（ヒトのレチノール結合タンパク質 4 のアイソフォーム）にも示される。H 0 Y A C 1 は血漿カリクレイン重鎖 1 を表す。ヒトの血漿カリクレイン重鎖 1 のアミノ酸配列は配列番号 2 9（UniProt のアクセッションナンバー P03952）に示されるほか、UniProt アクセッションナンバー H0YAC 1 にも示され、また、ヒトの血漿カリクレイン重鎖 1 の一部のアミノ酸配列を含むアミノ酸配列が UniProt アクセッションナンバー E9PBC5、B4DMX2、A8K9A9 にも示される。B T D はビオチダーゼを表す。ヒトビオチダーゼのアミノ酸配列は配列番号 3 0（UniProt のアクセッションナンバー P43251）に示される。I T I H 3 はインター トリプシンインヒビター重鎖 3 を表す。ヒトのインター トリプシンインヒビター重鎖 3 のアミノ酸配列は配列番号 3 1（UniProt のアクセッションナンバー Q06033）に示される。

【 0 0 2 0 】

本発明における「部分ペプチド」とは、一般的に「部分タンパク質」と呼ばれるものをも含む。本発明において、あるタンパク質の「部分ペプチド」とは、そのタンパク質のアミノ酸配列中の任意の連続する 5 個以上（好ましくは 7 個以上、より好ましくは 9 個以上、さらに好ましくは 1 1 個以上）のアミノ酸からなるペプチドを意味する。本発明における「部分ペプチド」としては、対応する特定のタンパク質の全長のアミノ酸配列（以下、「対応する全長アミノ酸配列」とも表示する。）のうち、一部のアミノ酸配列からなる限り、アミノ酸数の上限に特に制限はなく、対応する全長アミノ酸配列のアミノ酸数よりも 1 個又は 2 個以上少ないアミノ酸数であればよいが、対応する全長アミノ酸配列のアミノ酸数に対して 9 0 % 以下、7 0 % 以下、5 0 % 以下、3 0 % 以下、2 0 % 以下、1 0 % 以下のアミノ酸数が挙げられる。なお、対応する全長アミノ酸配列のアミノ酸数に対して特定の割合（%）のアミノ酸数を算出する場合、小数点以下の数値は切り捨てることとする。本発明における「部分ペプチド」のアミノ酸数の上限の具体例としては、1 0 0 個以下、5 0 個以下、3 0 個以下、2 0 個以下、1 8 個以下、1 5 個以下が挙げられる。本発明

10

20

30

40

50

における「部分ペプチド」のアミノ酸数の好適な範囲の具体例として、5～100個、5～50個、7～30個、7～20個、9～18個、11～15個が好ましく挙げられる。

【0021】

本発明における「部分ペプチド」のアミノ酸配列は、対応する全長アミノ酸配列に基づいて適宜設定することができる。例えば、APOA4の部分ペプチドは、APOA4の全長アミノ酸配列（配列番号25）中の任意の連続する5個以上（好ましくは7個以上、より好ましくは9個以上、さらに好ましくは11個以上）のアミノ酸を選択することにより適宜設定することができる。

【0022】

本発明における「部分ペプチド」としては、プロテアーゼで消化されたペプチド（本明細書において「プロテアーゼ消化ペプチド」とも表示する。）が好ましく挙げられ、かかるペプチドは、物質の濃度を質量分析法で測定する場合に特に好ましく挙げられる。上記プロテアーゼとしては、トリプシン、キモトリプシン、ペプシン、プロメライン、エラスターゼ、クロストリパイン、V8プロテアーゼ、サーモリシン、リシルエンドペプチダーゼ、アルギニンエンドペプチダーゼ、プロリルエンドペプチダーゼ、アスパラギン酸-Nプロテアーゼ等が挙げられ、中でも、トリプシンが特に好ましく挙げられる。

10

【0023】

本発明における「部分ペプチド」として、具体的には、以下の表1～7に記載のトリプシン消化ペプチドが特に好ましく挙げられる。

【0024】

20

【表1】

APOA4のトリプシン消化ペプチド
SELTQQLNALFQDK [配列番号6]
LGEVNTYAGDLQK [配列番号7]
EAVEHLQK [配列番号8]
SLAPYAQDTQEK [配列番号9]
SLAELGGHLDQQVEEFR [配列番号10]
ISASAEELR [配列番号11]
LLPHANEVSQK [配列番号12]
LAPLAEDVR [配列番号13]
IDQTVEELR [配列番号14]

30

40

【0025】

【表2】

APOA1のトリプシン消化ペプチド
THLAPYSDELR [配列番号5]

【0026】

50

【表 3】

ITIH3のトリプシン消化ペプチド
EHLVQATPENLQEAR [配列番号2]
DYIFGNYIER [配列番号3]

【0027】

【表 4】

10

TTHYのトリプシン消化ペプチド
AADDTWEPFASGK [配列番号23]
GSPAINVAVHVFR [配列番号24]

【0028】

【表 5】

20

Q5VY30のトリプシン消化ペプチド
YWGVASFLQK [配列番号4]

【0029】

【表 6】

30

HOYAC1のトリプシン消化ペプチド
IAYGTQGS SGLR [配列番号16]

【0030】

【表 7】

BTDのトリプシン消化ペプチド
LSSGLVTAALYGR [配列番号15]

【0031】

40

本発明において、物質としては、本件物質群から選択される1又は2種以上（例えば3種以上、4種以上又は5種以上）の物質であればよいが、より高い判定精度を得る観点から、APOA4の部分ペプチド、APOA1の部分ペプチド、ITIH3の部分ペプチド、APOA4、APOA1及びITIH3からなる群から選択される1種又は2種以上（例えば3種以上、4種以上又は5種以上）や、APOA4の部分ペプチド、APOA1の部分ペプチド、TTHYの部分ペプチド、Q5VY30の部分ペプチド、HOYAC1の部分ペプチド、BTDの部分ペプチド及びITIH3の部分ペプチドからなる群から選択される1種又は2種以上（例えば3種以上、4種以上又は5種）が好ましく挙げられ、APOA4の部分ペプチド、APOA1の部分ペプチド及びITIH3の部分ペプチドからなる群から選択される1種、好ましくは2種、より好ましくは3種がより好ましく挙げら

50

れ、A P O A 4 のプロテアーゼ消化ペプチド、A P O A 1 のプロテアーゼ消化ペプチド及び I T I H 3 プロテアーゼ消化ペプチドからなる群から選択される 1 種、好ましくは 2 種、より好ましくは 3 種がさらに好ましく挙げられ、A P O A 4 のトリプシン消化ペプチド、A P O A 1 のトリプシン消化ペプチド及び I T I H 3 トリプシン消化ペプチドからなる群から選択される 1 種、好ましくは 2 種、より好ましくは 3 種がさらにより好ましく挙げられる。

【 0 0 3 2 】

A P O A 4 のトリプシン消化ペプチドとして、具体的には、配列番号 5 ~ 1 4 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが挙げられ、より高い判定精度を得る観点から、配列番号 6 ~ 1 4 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが好ましく、配列番号 9 ~ 1 4 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドがより好ましく、配列番号 1 0、1 2 ~ 1 4 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドがさらに好ましく、配列番号 1 2 又は 1 4 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドがさらにより好ましく、配列番号 1 2 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが最も好ましく挙げられる。また、膵がんと、他のがん（胆管がん、結腸がん、十二指腸がん、及び胃がん）を判別する観点からは、配列番号 9、1 0、1 2 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが好ましい。I T I H 3 のトリプシン消化ペプチドとして、具体的には、配列番号 1 ~ 3 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが挙げられ、より高い判定精度を得る観点から、配列番号 2 又は 3 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが好ましく挙げられ、配列番号 2 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドがより好ましく挙げられる。T T H Y のトリプシン消化ペプチドとして、具体的には、配列番号 2 3 又は 2 4 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが挙げられ、より高い判定精度を得る観点から、配列番号 2 3 に示されるアミノ酸配列からなるペプチドが好ましく挙げられる。

10

20

【 0 0 3 3 】

本発明において判定や診断の対象となる本発明におけるがんとしては、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上（例えば 3 種以上、4 種以上又は 5 種）のがんである限り特に制限されないが、中でも、膵がん、又は膵がんを含む 2 種以上（例えば 3 種以上、4 種以上又は 5 種）のがんであることが好ましく、中でも、膵がんがより好ましく、中でも、早期膵がんが特に好ましい。早期膵がんとは、ステージ 0、ステージ I 又はステージ II の膵がんを意味する。

30

【 0 0 3 4 】

上記被検者としては、ヒトである限り特に制限されないが、本発明におけるがんのうち、少なくとも 1 種のがん（好ましくは膵がん）の有無又は発症リスクが不明であるヒトであることが好ましく、本発明におけるがんのうち、好ましくは 2 種以上（好ましくは、膵がんを含む 2 種以上のがん）、より好ましくは 3 種以上（好ましくは、膵がんを含む 3 種以上のがん）、さらに好ましくは 4 種以上（好ましくは、膵がんを含む 4 種以上のがん）、より好ましくは 5 種のがんの有無又は発症リスクが不明であるヒトが好ましく挙げられる。

【 0 0 3 5 】

本発明において測定の対象とする判定用血液試料としては、被検者から採取された血清、血漿、全血などが挙げられ、中でも血清が好ましく挙げられる。

40

【 0 0 3 6 】

本発明における工程（b）としては、工程（a）で測定した物質の濃度を、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較する工程である限り特に制限されない。

【 0 0 3 7 】

本発明において、判定用血液試料中の本件物質群の濃度は、採取された判定用血液試料中の本件物質群を特異的に検出できる公知の方法、例えば、質量分析法を用いて測定することができる。かかる質量分析法とは、判定用血液試料中に含まれる本件物質群を、イオン源を用いて気体状のイオンとし（イオン化）、分析部において、真空中で運動させ電磁気力を用いて、或いは飛行時間差によりイオン化した血液試料を質量電荷比に応じて分離

50

し、検出できる質量分析計を用いた測定方法のことをいう。上記のイオン源を用いてイオン化する方法としては、例えば、電子イオン化（E I）法、化学イオン化（C I）法、電界脱離イオン化（F D）法、高速原子衝撃（F A B）法、マトリックス支援レーザー脱離イオン化（M A L D I）法、エレクトロスプレーイオン化（E S I）法を挙げることができる。また、分析部において、各種イオン化法によりイオン化した本件物質群は、アナライザーで質量に応じて分離される。かかるアナライザーとしては、例えば、磁場型質量分離装置（S e c t o r M S）、四重極型質量分離装置（Q M S）、飛行時間型質量分離装置（T O F M S）、フーリエ変換イオンサイクロトロン型質量分離装置（F T - I C R M S）を挙げることができ、さらにこれらを組み合わせたものでもよい。また、2以上の質量分析法を組み合わせたタンデム型質量分析（M S / M S）を利用することができる。また、ガスクロマトグラフ（G C）、液体クロマトグラフ（L C）、高速液体クロマトグラフ（H P L C）、超高速液体クロマトグラフ（U H P L C）により、判定用血液試料中に含まれる本件物質群を、夾雑物から分離・精製して分析することができる。かかるL C、H P L C、及びU H P L Cとしては、陽イオン又は陰イオン交換クロマトグラフや、順相又は逆相クロマトグラフを挙げることができ、これらを組み合わせたものであってもよい。

10

【0038】

本発明において、判定用血液試料中の本件物質群の濃度は、絶対値であっても、相対値であってもよく、相対値とする場合、例えば、濃度が既知の本件物質群（内部標準）を基準とした相対値を挙げることができる。

20

【0039】

本発明において、「対照となる健常血液試料中のその物質の濃度」（「対照試料における物質濃度」）は、比較対象である「被検者における物質濃度」に対応するものを用いる。このため、「被検者における物質濃度」が絶対値である場合は、「対照試料における物質濃度」も絶対値を用い、「被検者における物質濃度」が相対値である場合は、「対照試料における物質濃度」も相対値を用いる。上記「対照となる健常血液試料中のその物質の濃度」は、本件判定方法等を実施する際、健常者（対照者）から採取された血液試料（すなわち「健常血液試料」）を用いてその都度測定してもよいが、予め測定したものを用いてもよい。また、上記健常血液試料は、被検者由来の判定用血液試料と同種の血液試料を用いることが好ましく、例えば、被検者由来の判定用血液試料が血清、血漿又は全血である場合は、健常血液試料もそれと同種の血液試料を用いることが好ましい。また、健常血液試料は、健常者から採取された後に、被検者由来の判定用血液試料と同様の処理が施されたものが好ましい。

30

【0040】

本発明における工程（b）の好ましい態様としては、工程（a）で測定した2種以上の物質の各濃度と、対照となる健常血液試料中の2種以上の物質の各濃度とを、2種以上の物質の各濃度を変数とする多変量解析における予測式（以下、「多変量解析方程式」とも表示する。）に代入して得た予測値を比較する工程が好ましく挙げられる。

【0041】

上記の「多変量解析」としては、多変量解析が、多重ロジスティック回帰分析又は重回帰分析が好ましく挙げられ、中でも、多重ロジスティック回帰分析がより好ましく挙げられ、ステップワイズ法の多重ロジスティック回帰分析がさらに好ましく挙げられる。これらの多変量解析により、上記の予測式を算出することや、その予測式に物質の各濃度を代入して予測値を得ること等は、市販のデータ解析ソフトウェアを用いて行うことができる。早期膵がん群と健常群における、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるペプチド（すなわち、A P O A 4のトリプシン消化ペプチド）、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド（すなわち、A P O A 1のトリプシン消化ペプチド）、及び、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド（すなわち、I T I H 3トリプシン消化ペプチド）の3種の濃度（ピーク強度）を、多重ロジスティック回帰分析して算出した予測式（式（1））を以下に示す。

40

50

【 0 0 4 2 】

【 数 1 】

$$P = \frac{\exp(5.21614 + 9.14064 * SEQ.2 - 0.21407 * SEQ.5 - 4.61268 * SEQ.12)}{1 + \exp(5.21614 + 9.14064 * SEQ.2 - 0.21407 * SEQ.5 - 4.61268 * SEQ.12)}$$

・・・式(1)

【 0 0 4 3 】

なお、式(1)中、「SEQ.2」は、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、I T I H 3トリプシン消化ペプチド)のピーク強度を示し、「SEQ.5」は、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、A P O A 1のトリプシン消化ペプチド)のピーク強度を示し、「SEQ.12」は、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、A P O A 4のトリプシン消化ペプチド)のピーク強度を示す。被検者における上記3種のペプチドのピーク強度をこの予測式に代入した場合、その被検者が本発明におけるがん(好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん)である確率が高いほど、又は、かかるがんの発症リスクが高いほど、予測式により得られる予測値の値が高くなる。

10

【 0 0 4 4 】

本発明における工程(c)において、

工程(a)で測定した物質が上記[Aグループ]の物質である場合、工程(a)で測定した「被検者における物質濃度」が、「対照試料における物質濃度」よりも低いとき、前記被検者が本発明におけるがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価(判定)し、及び/又は、

20

工程(a)で測定した物質が上記[Bグループ]の物質である場合、工程(a)で測定した「被検者における物質濃度」が、「対照試料における物質濃度」よりも高いとき、前記被検者が本発明におけるがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価(判定)する。

【 0 0 4 5 】

「被検者における物質濃度」が、「対照試料における物質濃度」よりも低いか否か、或いは高いか否かを判定するための閾値(カットオフ値)は、当業者であれば、物質の種類等に応じて適宜設定することができる。かかる閾値としては、例えば、「対照試料における物質濃度」の平均値(以下、単に「平均値」とも表示する。)、「平均値+標準偏差(SD)」、「平均値+2SD」、「平均値+3SD」、「対照試料における物質濃度」の中央値(以下、単に「中央値」とも表示する。)、「中央値+SD」、「中央値+2SD」、「中央値+3SD」、「対照試料における物質濃度」の四分位値(25%値又は75%値)等を挙げることができる。また、その他の閾値として、対照試料群(例えば10~20名の健常者からなる健常者群)における物質の濃度の平均値と、本発明におけるがんのいずれか1種の患者群(例えば10~20名の患者からなる患者群)におけるその物質の濃度の平均値とを平均した値;や、対照試料群(例えば10~20名の健常者からなる健常者群)における物質の濃度の中央値と、本発明におけるがんのいずれか1種の患者群(例えば10~20名の患者からなる患者群)におけるその物質の濃度の中央値とを平均した値;も挙げることができる。また、閾値は、「感度」(本発明におけるがんを有している者を、陽性(がんを有している可能性が高い)と正しく判定できる割合)と、「特異度」(本発明におけるがんを有していない者を、陰性(がんを有している可能性が低い)と正しく判定できる割合)とが高くなるように、「被検者における物質濃度」のデータと、「対照試料における物質濃度」のデータを基に、統計解析ソフトウェアを用いたROC(Receiver Operating Characteristic)曲線を用いて算出することもできる。ROC曲線を用いて閾値を算出する具体的な方法は例えば以下のとおりである。

30

40

統計解析ソフトウェア等を用いてROC曲線を描く際に、感度と特異度が変化する全ての測定値(ペプチド濃度の測定値)を提示することができる。その全ての測定値における感度、特異度について、ROC曲線のグラフの左上の端の点(感度=1、1-特異度=0)

50

からの距離を以下の式で算出し、その距離が最も小さい測定値を閾値として採用することができる。

$$(ROC \text{ 曲線のグラフの左上の端の点からの距離})^2 = (1 - \text{感度})^2 + (1 - \text{特異度})^2$$

また、感度と特異度の和が最大となる値 (Youden's index) を閾値として採用することもできる。

【0046】

本発明において、本発明におけるがんの判定精度 (診断制度) としては、本発明におけるがんのうち、少なくともいずれか1種のがん (好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん) の感度及び特異度が共に、0.6以上、好ましくは0.65以上、より好ましくは0.7以上、さらに好ましくは0.75以上、より好ましくは0.8以上、さらに好ましくは0.85以上、より好ましくは0.9以上であることが好適に挙げられる

10

【0047】

本発明において、物質が上記 [Aグループ] の物質である場合、被検者におけるその物質の濃度が、「対照試料における物質濃度」よりもどの程度低下したときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価することができるかは、本発明におけるがんの種類やその者の個人的な特徴等により異なるため、一概に特定することはできないが、好ましくは10%以上の減少、より好ましくは15%以上の減少、さらに好ましくは20%以上の減少、さらにより好ましくは30%以上の減少が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん (好ましくは、早期膵がん) である場合に好適に適用できる。より具体的には、[Aグループ] の物質がAPOA1の部分ペプチド、又は、APOA1である場合の、上記の低下する程度としては、好ましくは10%以上の減少、より好ましくは15%以上の減少、さらに好ましくは20%以上の減少、さらにより好ましくは30%以上の減少、より好ましくは35%以上の減少が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん (好ましくは、早期膵がん) である場合に好適に適用できる。また、[Aグループ] の物質がAPOA4の部分ペプチド、又は、APOA4である場合の、上記の低下する程度としては、好ましくは10%以上の減少、より好ましくは15%以上の減少、さらに好ましくは20%以上の減少、さらにより好ましくは30%以上の減少、より好ましくは35%以上の減少が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん (好ましくは、早期膵がん) である場合に好適に適用できる。

20

30

【0048】

本発明において、物質が上記 [Bグループ] の物質である場合、被検者におけるその物質の濃度が、「対照試料における物質濃度」よりもどの程度上昇したときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価することができるかは、本発明におけるがんの種類やその者の個人的な特徴等により異なるため、一概に特定することはできないが、好ましくは10%以上の上昇、より好ましくは15%以上の上昇、さらに好ましくは20%以上の上昇、さらにより好ましくは30%以上の上昇、より好ましくは35%以上の上昇が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん (好ましくは、早期膵がん) である場合に好適に適用できる。より具体的には、[Bグループ] の物質がITH3の部分ペプチド、又は、ITH3である場合の、上記の上昇する程度としては、好ましくは10%以上の上昇、より好ましくは15%以上の上昇、さらに好ましくは20%以上の上昇、さらにより好ましくは30%以上の上昇、より好ましくは35%以上の上昇が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん (好ましくは、早期膵がん) である場合に好適に適用できる。

40

【0049】

本発明において、工程 (b) が、工程 (a) で測定した2種以上の物質の各濃度と、対照となる健常血液試料中の2種以上の物質の各濃度とを、2種以上の物質の各濃度を変数とする多変量解析における予測式に代入して得た予測値を比較する工程である場合は、工

50

程(c)として以下の工程が好ましく挙げられる。

工程(b)における予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合又は前記がんの発症リスクが高い場合に予測値が高くなる予測式である場合には、工程(c)は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも高いときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であり、

工程(b)における予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合又は前記がんの発症リスクが高い場合に予測値が低くなる予測式である場合には、工程(c)は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも低いときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程；

10

【0050】

本発明のより好適な態様として、

[Bグループ]がさらにCA19-9抗原を含んでおり、

工程(a)で濃度を測定する物質が、[Aグループ]及び[Bグループ]に記載される物質群から選択される2種以上の物質であって、少なくともCA19-9抗原を含んでいることが挙げられる。判定にさらにCA19-9抗原の濃度を用いると、膵がんの判定精度をより高めることができる場合がある。

【0051】

早期膵がん群と健常群における、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、APOA4のトリプシン消化ペプチド)、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、APOA1のトリプシン消化ペプチド)、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、ITH3トリプシン消化ペプチド)、及び、CA19-9抗原の4種の濃度(ピーク強度)を、多重ロジスティック回帰分析して算出した予測式(式(2))を以下に示す。

20

【0052】

【数2】

$$P = \frac{\exp(2.48848 + 6.65456 \cdot SEQ.2 - 0.17282 \cdot SEQ.5 - 4.97801 \cdot SEQ.12 + 1.95471 \cdot \log_{10} CA19.9)}{1 + \exp(2.48848 + 6.65456 \cdot SEQ.2 - 0.17282 \cdot SEQ.5 - 4.97801 \cdot SEQ.12 + 1.95471 \cdot \log_{10} CA19.9)}$$

・・・式(2)

30

【0053】

なお、式(2)中、「SEQ.2」は、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、ITH3トリプシン消化ペプチド)のピーク強度を示し、「SEQ.5」は、配列番号5に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、APOA1のトリプシン消化ペプチド)のピーク強度を示し、「SEQ.12」は、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるペプチド(すなわち、APOA4のトリプシン消化ペプチド)のピーク強度を示し、「CA19.9」は、CA19-9のピーク強度を示す。被検者における上記4種のピーク強度をこの予測式に代入した場合、その被検者が本発明におけるがん(好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん)である確率が高いほど、又は、かかるがんの発症リスクが高いほど、予測式により得られる予測値の値が高くなる。また、式(2)の予測式は、前述の式(1)の予測式よりも本発明におけるがん(好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん)の判定精度が高い点で好ましく挙げられる。

40

【0054】

工程(b)における予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合又は前記がんの発症リスクが高い場合に予測値が高くなる予測式である場合には、工程(c)において、本発明におけるがんのいずれか1種を有する者におけるその予測値が、対照試料におけるその予測値よりも上昇する程度としては、本発明におけるがんの種類や、その者の個人的な特徴や、予測式の内容等により異なるため、一概に特定することはできないが、好ましくは10%以上の上昇、より好ましくは30%以上の上

50

昇、さらに好ましくは50%以上の上昇、さらにより好ましくは80%以上の上昇、より好ましくは100%以上の上昇、さらに好ましくは150%以上の上昇、さらにより好ましくは200%以上の上昇、より好ましくは300%以上の上昇が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん（好ましくは、早期膵がん）である場合に好適に適用できる。

【0055】

工程（b）における予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合又は前記がんの発症リスクが高い場合に予測値が低くなる予測式である場合には、工程（c）において、本発明におけるがんのいずれか1種を有する者におけるその予測値が、対照試料におけるその予測値よりも減少する程度としては、本発明におけるがんの種類や、その者の個人的な特徴や、予測式の内容等により異なるため、一概に特定することはできないが、好ましくは10%以上の減少、より好ましくは30%以上の減少、さらに好ましくは50%以上の減少、さらにより好ましくは80%以上の減少、より好ましくは100%以上の減少、さらに好ましくは150%以上の減少、さらにより好ましくは200%以上の減少、より好ましくは300%以上の減少が挙げられ、これらの数値は本発明におけるがんが膵がん（好ましくは、早期膵がん）である場合に好適に適用できる。

10

【0056】

本発明における判定方法等のより好適な態様として、物質が、APOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

20

判定方法等が、工程（a）で測定したAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中のAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いと評価する（好ましくは、被検者が、胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がんではなく、膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いと評価する、より好ましくは、被検者が、胃がん、肝細胞癌、食道がんではなく、膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いと評価する）工程（d）をさらに含む判定方法等が挙げられる。また、本発明における判定用バイオマーカーのより好適な態様として、物質が、APOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

30

被検者から採取された判定用血液試料中のAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中のAPOA4の部分ペプチド又はAPOA1の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される（好ましくは、被検者が、胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がんではなく、膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される、より好ましくは、被検者が、胃がん、肝細胞癌、食道がんではなく、膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される）判定用バイオマーカーが挙げられる。

40

【0057】

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

【実施例1】

【0058】

1. ヒト血清からのペプチド試料の調製

以下の方法で、ヒト血清からペプチド試料を調製した。

【0059】

1-1 方法

ヒトから血清を採取し、尿素溶液中でタンパク質変性処理を行った後、ペプチダーゼに

50

よる消化処理を行い、ペプチド試料を調製した。より具体的には、ヒトから採取した血清を10分の1に希釈した希釈血清10 μ Lに、8M尿素溶液15 μ Lを添加して、タンパク質変性処理を行った後、還元アルキル化を行い、次いで、リジルエンドペプチダーゼ及びトリプシンで処理して、ペプチド試料を調製した。

【実施例2】

【0060】

2. 早期膵がんの判定用バイオマーカーの候補のスクリーニング

早期膵がんの判定用バイオマーカーの候補をスクリーニングするために、早期膵がん患者由来の血清試料を用いたSWATH-MS測定法を行った。

【0061】

2-1 方法

早期膵がん群（ステージI [6名] 及びステージII [24名] の早期膵がん患者30名 [男性18名、女性12名]）と、比較対照として健常群（健常者30名 [男性13名、女性17名]）から血清を採取し、上記実施例1の「方法」の項目に記載の方法に従ってペプチド試料を調製した。ナノLCシステム（Ultimate 3000 RSLCnano; DIONEX社製）を、正イオン化モードで作動させたナノESI-質量分析計（TripleTOF 5600; SCIEX社製）に接続し、IDA測定法及びSWATH-MS測定法を用いて、調製したペプチド試料を分析した。

【0062】

2-2 結果

早期膵がん群と、健常群との間で発現が変動するペプチドとして、11種類のタンパク質（ITIH3、Q5VY30、APOA1、APOA4、BTD、H0YAC1、KNG1、APOB、FETUA、APOE、及びTTHY）を構成する、以下の24種類のペプチドが同定された。

3種類のITIH3ペプチド（EVSFDVELPK [配列番号1]、EHLVQATPENLQEAR [配列番号2]、及びDYIFGN YIER [配列番号3]）；

1種類のQ5VY30ペプチド（YWGVASFLQK [配列番号4]）；

1種類のAPOA1ペプチド（THLAPYSDELRL [配列番号5]）；

9種類のAPOA4ペプチド（SELTQQQLNALFQDK [配列番号6]、LGEVNTYAGDLQK [配列番号7]、EAVEHLQK [配列番号8]、SLAPYAQDTQEK [配列番号9]、SLAELGGHLDQQVEEFR [配列番号10]、ISASAEELR [配列番号11]、LLPHANEVSQK [配列番号12]、LAPLAEDVR [配列番号13]、及びIDQTV EELR [配列番号14]）；

1種類のBTDペプチド（LSSGLVTAALYGR [配列番号15]）；

1種類のH0YAC1ペプチド（IAYGTQGS S GYS LR [配列番号16]）；

1種類のKNG1ペプチド（YFIDFVAR [配列番号17]）；

3種類のAPOBペプチド（ALVDTLK [配列番号18]、LSLPDFK [配列番号19]、及びITLPDFR [配列番号20]）；

1種類のFETUAペプチド（AHYDLR [配列番号21]）；

1種類のAPOEペプチド（LAVYQAGAR [配列番号22]）；

2種類のTTHYペプチド（AADDTWEPFASGK [配列番号23]、及びGSPA INVAHVFR [配列番号24]）；

【実施例3】

【0063】

3. 早期膵がんの判定用バイオマーカーの同定

実施例2のスクリーニングにより得られた24種類のペプチドの中から、早期膵がんの判定用バイオマーカーを同定するために、MRM測定法による定量解析を行った。その際、測定対象の早期膵がん患者と、比較対照の健常者の人数も増やして解析を行った。

【0064】

3-1 方法

10

20

30

40

50

早期膵がん群（ステージⅠ [8 名] 及びステージⅡ [5 1 名] の早期膵がん患者 5 9 名 [男性 3 7 名、女性 2 2 名] ）と、比較対照として健常群（健常者 6 6 名 [男性 3 1 名、女性 3 5 名] ）から血漿を採取し、上記実施例 1 の「方法」の項目に記載の方法に従ってペプチド試料を調製し、マイクロ LC システム（microLC200；eksigent 社製）を、正イオン化モードで作動させたナノ E S I - 三連四重極型質量分析計（QTRAP6500；SCIEX 社製）に接続し、M R M 測定法を用いて、調製したペプチド試料中の上記 2 4 種類のペプチドのピーク強度（すなわちピーク面積）を測定し、既知の濃度のペプチド（測定対象のペプチドと同じアミノ酸配列からなる、安定同位体標識ペプチド）のピーク強度（すなわちピーク面積）に対する相対値（例えば、図 1 の縦軸の「ピーク強度」に相当）を算出した。また、算出した定量値を基に、OriginPro（Light Stone 株式会社製）を用いて R O C 曲線を作成し、早期膵がん群と健常群の間で、A U C 値が 0 . 7 超を示すペプチドを、早期膵がんの判定用バイオマーカーとして同定した。また、早期膵がんの判定用バイオマーカーとして同定した各ペプチドのそれぞれについて閾値を設定し、早期膵がんの感度と特異度を算出した。

【 0 0 6 5 】

3 - 2 結果

実施例 2 のスクリーニングにより得られた 2 4 種類のペプチドのうち、7 種類のタンパク質（I T I H 3、Q 5 V Y 3 0、A P O A 1、A P O A 4、B T D、H O Y A C 1、及び T T H Y）を構成する、以下の 1 7 種類のペプチドが、早期膵がんの判定用バイオマーカーとして同定された（表 8 参照）。

2 種類の I T I H 3 ペプチド（E H L V Q A T P E N L Q E A R [配列番号 2]、及び D Y I F G N Y I E R [配列番号 3]）；

1 種類の Q 5 V Y 3 0 ペプチド（Y W G V A S F L Q K [配列番号 4]）；

1 種類の A P O A 1 ペプチド（T H L A P Y S D E L R [配列番号 5]）；

9 種類の A P O A 4 ペプチド（S E L T Q Q L N A L F Q D K [配列番号 6]、L G E V N T Y A G D L Q K [配列番号 7]、E A V E H L Q K [配列番号 8]、S L A P Y A Q D T Q E K [配列番号 9]、S L A E L G G H L D Q Q V E E F R [配列番号 1 0]、I S A S A E E L R [配列番号 1 1]、L L P H A N E V S Q K [配列番号 1 2]、L A P L A E D V R [配列番号 1 3]、及び I D Q T V E E L R [配列番号 1 4]）；

1 種類の B T D ペプチド（L S S G L V T A A L Y G R [配列番号 1 5]）；

1 種類の H O Y A C 1 ペプチド（I A Y G T Q G S S G Y S L R [配列番号 1 6]）；

2 種類の T T H Y ペプチド（A A D D T W E P F A S G K [配列番号 2 3]、及び G S P A I N V A V H V F R [配列番号 2 4]）；

【 0 0 6 6 】

かかる 7 種類のバイオマーカータンパク質のうち、I T I H 3 は、健常者と比べ早期膵がん患者において増加するのに対して、残りの 6 種類のタンパク質（Q 5 V Y 3 0、A P O A 1、A P O A 4、B T D、H O Y A C 1、及び T T H Y）は、健常者と比べ早期膵がん患者において減少するバイオマーカーである（表 8 参照）。早期膵がんの判定用バイオマーカーとして同定した各ペプチドのうち、血漿中の I T I H 3 ペプチド（E H L V Q A T P E N L Q E A R [配列番号 2]）（図 1 A）、A P O A 1 ペプチド（T H L A P Y S D E L R [配列番号 5]）（図 1 B）、及び A P O A 4 ペプチド（L L P H A N E V S Q K [配列番号 1 2]）（図 1 C）の濃度を、質量分析法により定量した結果をそれぞれ、図 1 A、図 1 B 及び図 1 C に示す。また、早期膵がんの判定用バイオマーカーとして同定した各ペプチドのそれぞれについて閾値を設定し、早期膵がんの判定における感度と特異度を算出した結果も表 8 に示す。早期膵がんの判定用バイオマーカーとして同定した各ペプチドは、早期膵がんの判定において、好適な感度と特異度を示した。なお、上記の閾値は以下のように算出した。OriginPro（Light Stone 株式会社製）を用いて R O C 曲線を描く際に、感度と特異度が変化する全ての測定値（ペプチド濃度の測定値）が提示される。その全ての測定値における感度、特異度について、R O C 曲線のグラフの左上の端の点（感度 = 1、1 - 特異度 = 0）からの距離を以下の式で算出し、その距離が最も小さい測定

10

20

30

40

50

値を表 8 における閾値として採用した。

$$\left(\text{ROC 曲線のグラフの左上の端の点からの距離} \right)^2 = (1 - \text{感度})^2 + (1 - \text{特異度})^2$$

【 0 0 6 7 】

【表 8】

タンパク質	ペプチド (配列番号)	比率	P 値	AUC 値	閾値	感度	特異度
ITIH3	1	1.16	2.1E-02	0.645	-	-	-
	2	1.44	8.0E-07	0.752	0.26405	0.72881	0.71212
	3	1.39	6.1E-06	0.724	0.20375	0.62712	0.77273
Q5VY30	4	0.72	4.7E-08	0.762	0.96115	0.77966	0.60606
APOA1	5	0.74	6.1E-14	0.871	27.2373	0.84746	0.77273
APOA4	6	0.64	9.5E-10	0.795	0.24955	0.76271	0.71212
	7	0.67	2.0E-09	0.799	0.21765	0.67797	0.81818
	8	0.64	1.1E-10	0.811	0.10785	0.67797	0.81818
	9	0.63	1.2E-11	0.819	0.49475	0.67797	0.86364
	10	0.62	9.7E-12	0.822	0.1858	0.76271	0.75758
	11	0.64	4.8E-11	0.814	0.99475	0.77966	0.72727
	12	0.63	1.2E-11	0.827	0.48955	0.76271	0.75758
	13	0.63	5.0E-11	0.821	0.86305	0.69492	0.81818
	14	0.61	1.1E-10	0.831	0.12775	0.77966	0.74242
BTD	15	0.84	8.4E-06	0.724	0.0931	0.57627	0.80303
HOYAC1	16	0.8	8.9E-08	0.762	0.0829	0.77966	0.69697
KNG1	17	0.95	1.8E-01	0.573	-	-	-
APOB	18	0.88	1.2E-02	0.649	-	-	-
	19	0.87	4.8E-03	0.654	-	-	-
	20	1.19	8.9E-03	0.384	-	-	-
FETUA	21	0.93	3.6E-02	0.607	-	-	-
APOE	22	0.89	3.8E-02	0.650	-	-	-
TTHY	23	0.68	1.1E-08	0.832	1.87005	0.77966	0.75758
	24	0.71	6.5E-05	0.703	2.25075	0.64407	0.71212

10

20

30

40

【 0 0 6 8 】

表 8 中の「比率」は、各ペプチドについて、健常群に対する早期膀胱がん群の定量値の比率を示す。

【実施例 4】

50

【 0 0 6 9 】

4 . バイオマーカーペプチドの組合せによる早期膵がんの判定

早期膵がん群及び健常群から採取した血漿を用いて、腫瘍マーカー（C A 1 9 - 9）測定 E L I S A キットにより C A 1 9 - 9 濃度を測定し、両群を判別すると、A U C 値は 0 . 8 6 1 9 であり、また、閾値を 2 4 . 9 に設定した場合の感度及び特異度は、それぞれ 7 7 . 9 7 % 及び 8 1 . 5 4 % であった。すなわち、本実施例で同定された 1 7 種類のペプチド（表 8 参照）単独では、既存のがんマーカー（C A 1 9 - 9）よりも、早期膵がんの精度を上回るものはなかった。そこで、C A 1 9 - 9 よりも精度よく早期膵がんを判定できるペプチドの組合せの探索を試みた。なお、感度や特異度の数値から、C A 1 9 - 9 が早期膵がんの判定マーカーとして十分な精度を持っているようにも見えるがそれは正しくない。C A 1 9 - 9 は消化器系のがんのマーカーとして人間ドック等の検診などでも用いられており、血液中の C A 1 9 - 9 濃度が高い被検者がその後精密検査を受けて、消化器のいずれかにがんがあるかを調べる。すなわち、現状では、数少ない早期膵がん患者の多くは、C A 1 9 - 9 濃度が高いことをきっかけに早期膵がんを発見した者であるため、早期膵がんと C A 1 9 - 9 濃度の相関関係が見かけ上、高くなっていると考えられる。しかし、実際は、膵がんは早期ではほとんどが見過ごされており、C A 1 9 - 9 は早期膵がんのマーカーとしての実用性は低いと考えられる。

10

【 0 0 7 0 】

4 - 1 方法

表 8 に示す 1 7 種類のペプチドについて、実施例 3 で得られた早期膵がん群及び健常群における定量結果を基に、或いは、かかる定量結果に加えて、血漿中の C A 1 9 - 9 濃度の測定値を基に、統計解析ソフト（「EZ R on R commander」、Version 1.33）を用いた多重ロジスティック回帰分析を行い、早期膵がんの発生確率（P）を予測した。

20

【 0 0 7 1 】

4 - 2 結果

I T I H 3 ペプチド（E H L V Q A T P E N L Q E A R [配列番号 2]）、A P O A 1 ペプチド（T H L A P Y S D E L R [配列番号 5]）、及び A P O A 4 ペプチド（L L P H A N E V S Q K [配列番号 1 2]）の 3 種類のペプチドを組み合わせ、早期膵がん群及び健常群を判別すると、A U C 値は 0 . 9 0 0 7 であり、また、閾値を 0 . 6 1 2 8 に設定した場合の感度及び特異度は、それぞれ 7 4 . 5 8 % 及び 9 3 . 8 5 % であり、C A 1 9 - 9 よりも精度よく早期膵がんを判定できることが示された（図 2 A 参照）。なお、上記 3 種類のペプチドの組合せを用いた早期膵がんの発生確率は、以下の式（1）に示す多重ロジスティック回帰方程式を用いて算出した。

30

【 0 0 7 2 】

【 数 3 】

$$P = \frac{\exp(5.21614 + 9.14064 * SEQ.2 - 0.21407 * SEQ.5 - 4.61268 * SEQ.12)}{1 + \exp(5.21614 + 9.14064 * SEQ.2 - 0.21407 * SEQ.5 - 4.61268 * SEQ.12)}$$

・・・式(1)

【 0 0 7 3 】

[式（1）中、「SEQ . 2」は、I T I H 3 ペプチド（E H L V Q A T P E N L Q E A R [配列番号 2]）のピーク強度（図 1 A 参照）を示し、「SEQ . 5」は、A P O A 1 ペプチド（T H L A P Y S D E L R [配列番号 5]）のピーク強度（図 1 B 参照）を示し、「SEQ . 1 2」は、A P O A 4 ペプチド（L L P H A N E V S Q K [配列番号 1 2]）のピーク強度（図 1 C 参照）を示す。]

40

【 0 0 7 4 】

また、上記 3 種類のペプチドと、C A 1 9 - 9 とを組み合わせ、早期膵がん群及び健常群を判別すると、A U C 値は 0 . 9 3 4 3 であり、また、閾値を 0 . 4 7 6 7 に設定した場合の感度及び特異度は、それぞれ 8 4 . 7 5 % 及び 9 3 . 8 5 % であり、上記 3 種類のペプチドの組合せよりも精度よく早期膵がんを判定できることが示された（図 2 B 参照

50

)。なお、上記3種類のペプチドと、CA19-9との組合せを用いた早期膵がんの発生確率は、以下の式(2)に示す多重ロジスティック回帰方程式を用いて算出した。

【0075】

【数4】

$$P = \frac{\exp(2.48848 + 6.65456 \cdot \text{SEQ.2} - 0.17282 \cdot \text{SEQ.5} - 4.97801 \cdot \text{SEQ.12} + 1.95471 \cdot \log_{10}\text{CA19.9})}{1 + \exp(2.48848 + 6.65456 \cdot \text{SEQ.2} - 0.17282 \cdot \text{SEQ.5} - 4.97801 \cdot \text{SEQ.12} + 1.95471 \cdot \log_{10}\text{CA19.9})}$$

・・・式(2)

【0076】

[式(2)中、「SEQ.2」は、ITIH3ペプチド(EHLVQATPENLQEAR [配列番号2])のピーク強度(図1A参照)を示し、「SEQ.5」は、APOA1ペプチド(THLAPYSDELRL [配列番号5])のピーク強度(図1B参照)を示し、「SEQ.12」は、APOA4ペプチド(LLPHANEVSQK [配列番号12])のピーク強度(図1C参照)を示し、「CA19.9」は、CA19-9濃度の測定値を示す。]

10

【0077】

なお、同じタンパク質由来のペプチドであれば、別のアミノ酸配列のペプチドであっても、ある程度類似した診断性能を持つかを調べるために、同じタンパク質由来のペプチド間のシグナル強度の相関係数を算出した。その結果を表9~12に示す。

【0078】

20

【表9】

APOA4	Seq 14	Seq 13	Seq 6	Seq 10	Seq 7	Seq 9	Seq 12	Seq 11	Seq 8
Seq 14	1	0.8878	0.8261	0.8257	0.8495	0.8824	0.9038	0.8872	0.8977
Seq 13	0.8878	1	0.9543	0.9542	0.9299	0.9891	0.9899	0.9904	0.9734
Seq 6	0.8261	0.9543	1	0.9623	0.8958	0.9533	0.9558	0.9535	0.9268
Seq 10	0.8257	0.9542	0.9623	1	0.8905	0.9606	0.9586	0.9559	0.9380
Seq 7	0.8495	0.9299	0.8958	0.8905	1	0.9293	0.9350	0.9372	0.9413
Seq 9	0.8824	0.9891	0.9533	0.9606	0.9293	1	0.9934	0.9963	0.9840
Seq 12	0.9038	0.9899	0.9558	0.9586	0.9350	0.9934	1	0.9947	0.9784
Seq 11	0.8872	0.9904	0.9535	0.9559	0.9372	0.9963	0.9947	1	0.9866
Seq 8	0.8977	0.9735	0.9268	0.9380	0.9413	0.9840	0.9784	0.9866	1

30

40

【0079】

【表 1 0】

APOB	Seq 19	Seq 18	Seq 20
Seq 19	1	0.9747	0.6374
Seq 18	0.9747	1	0.6428
Seq 20	0.6374	0.6428	1

10

【 0 0 8 0】

【表 1 1】

ITIH3	Seq 2	Seq 1	Seq 3
Seq 2	1	0.5133	0.9769
Seq 1	0.5133	1	0.5544
Seq 3	0.9769	0.5544	1

20

【 0 0 8 1】

【表 1 2】

TTHY	Seq 23	Seq 24
Seq 23	1	0.7507
Seq 24	0.7507	1

30

【 0 0 8 2】

表 9 ~ 1 2 から分かるように、同じタンパク質由来のペプチド間ではシグナル強度の相関性が比較的高いことが示された。したがって、同じタンパク質由来のペプチドであれば、別のアミノ酸配列のペプチドであっても、おおむね類似した診断性能を有する傾向が示された。ただし、表 8 に示されているように、同じタンパク質由来のペプチドであっても、診断性能が優れている程度には差もあった。

【実施例 5】

【 0 0 8 3】

5 . バイオマーカーペプチドの組合せによる膵がん発症リスクの判定

本実施例で同定した早期膵がんの判定用バイオマーカーが、（早期）膵がん発症リスクの判定にも有効であるか否かを検証した。

40

【 0 0 8 4】

5 - 1 方法

慢性膵炎患者や前膵がん病変患者は、膵がんを発症するリスクが健常人よりも高いと一般的にされている。慢性膵炎患者（3名）及び前膵がん病変患者（27名）を、前膵がん病変・慢性膵炎群とした。かかる前膵がん病変・慢性膵炎群から血漿を採取し、実施例 1 の「方法」の項目に記載の方法に従って、ペプチド試料を調製し、上記 3 種類のペプチド、すなわち、ITIH3 ペプチド（EHLVQATPENLQEAR [配列番号 2]）、APOA1 ペプチド（THLAPYSDELR [配列番号 5]）、及び APOA4 ペプチド（LLPHANEVSQK [配列番号 1 2]）の濃度を定量した。得られた定量結果を

50

基に、あるいは、かかる定量結果に加えて、血漿中のCA19-9濃度の測定値を基に、実施例4の「方法」の項目に記載の多重ロジスティック回帰分析を行い、前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率を予測した。なお、上記3種類のペプチドの組合せを用いた前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率は、上記式(1)に示す多重ロジスティック回帰方程式を用いて算出し、上記3種類のペプチドと、CA19-9との組合せを用いた前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率は、上記式(2)に示す多重ロジスティック回帰方程式を用いて算出した。

【0085】

上記3種類のペプチドを組み合わせて、前膵がん病変・慢性膵炎群及び健常群を判別すると、前膵がん病変・慢性膵炎群における前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率は、0.6029であり、健常群における前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率(0.2338)と比べ高かった(図2A参照)。また、上記3種類のペプチドと、CA19-9とを組み合わせて前膵がん病変・慢性膵炎群及び健常群を判別した場合も同様に、前膵がん病変・慢性膵炎群における前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率(0.4953)は、健常群における前膵がん病変・慢性膵炎の発生確率(0.1704)と比べ高かった(図2B参照)。

これらの結果は、膵がんを将来発症するリスクが健常人よりも高い者から採取された血漿中の上記3種類のペプチド濃度は、健常人における上記3種類のペプチド濃度と比べ、変動することを示している。

【0086】

また、前膵がん病変・慢性膵炎群及び健常群の血漿中の上記3種類のペプチド濃度を基に、ROC曲線を作成したところ、AUC値は、0.8116と高い値を示した。また、前膵がん病変・慢性膵炎群と、健常群とを区別するためのカットオフ値として、0.4481を設定したところ、前膵がん病変・慢性膵炎患者の感度(前膵がん病変・慢性膵炎群の中で検査陽性者の割合)及び特異度(健常群の中で検査陰性の割合)は、それぞれ0.7667及び0.8030であった。

これらの結果は、膵がん発症前の対象者から採取された血漿中の上記3種類のペプチド濃度を測定し、適切なカットオフ値を設定すると、上記3種類のペプチド濃度を指標として、前膵がん病変・慢性膵炎を判定できる、すなわち、膵がんを発症するリスクの高低を判定できることを示している。前膵がん病変・慢性膵炎である可能性が高い場合は、膵がんを発症するリスクが高いと判定することができ、膵がん病変・慢性膵炎である可能性が低い場合は、膵がんを発症するリスクが低いと判定することができる。

【実施例6】

【0087】

6.異なるステージの膵がんの判定

本実施例で同定した早期膵がんの判定用バイオマーカーが、中期～末期(ステージIII～IV)の膵がんの判定にも有効か否かを検討した。

【0088】

6-1 方法

ステージI膵がん群(ステージIの膵がん患者4名[男性1名、女性3名])、ステージII膵がん群(ステージIIの膵がん患者19名[男性13名、女性6名])、ステージIII膵がん群(ステージIIIの膵がん患者26名[男性13名、女性13名])、及びステージIV膵がん群(ステージIVの膵がん患者51名[男性32名、女性19名])と、比較対照として健常群(健常者44名[男性29名、女性15名])から血漿を採取し、実施例5の「方法」の項目に記載の方法に従って、上記3種類のペプチド(ITIH3ペプチド、APOA1ペプチド、及びAPOA4ペプチド)の濃度の定量と、得られた定量結果を基にした多重ロジスティック回帰分析を行い、各ステージの膵がんの発生確率を予測した。

【0089】

6-2 結果

上記3種類のペプチドを組み合わせて、ステージI～IV膵がん群及び健常群を判別すると、いずれのステージの膵がんについても、CA19-9よりも精度よく判定できること

10

20

30

40

50

が示された（図 3 及び表 1 3 参照）。

【 0 0 9 0 】

【 表 1 3 】

膵がん群	3 種類のペプチド	3 種類のペプチド +CA19-9	CA19-9
ステージ I	0.9830	0.9830	0.8494
ステージ II	0.9761	1.000	0.9258
ステージ III	0.965	0.9703	0.8877
ステージ IV	0.9768	0.9938	0.9031

10

【 0 0 9 1 】

20

表 1 3 中の数値は、上記 3 種類のペプチド（表 1 3 中の「3 種類のペプチド」）、上記 3 種類のペプチド、及び C A 1 9 - 9（表 1 3 中の「3 種類のペプチド + C A 1 9 - 9」）、並びに C A 1 9 - 9（表中の「C A 1 9 - 9」）の定量結果をもとに、各ステージの膵がん群と健常群とを判別したときの A U C 値を示す。

【 実施例 7 】

【 0 0 9 2 】

7 . 膵がん以外のがんの判定

本実施例で同定した早期膵がんの判定用バイオマーカーが、膵がん以外のがんの判定にも有効であるか否かを検証した。

【 0 0 9 3 】

30

7 - 1 方法

7 種類のがん群、すなわち、肝外胆管がん群（胆管がん患者 1 6 名 [男性 1 0 名、女性 6 名] ）、結腸がん群（結腸がん患者 1 2 6 名 [男性 7 6 名、女性 5 0 名] ）、十二指腸がん群（十二指腸がん患者 8 名 [男性 3 名、女性 5 名] ）、食道がん群（食道がん患者 1 0 名 [男性 9 名、女性 1 名] ）、肝細胞がん群（肝細胞がん患者 1 2 名 [男性 1 0 名、女性 2 名] ）、肝内胆管がん群（肝内胆管がん患者 9 名 [男性 5 名、女性 4 名] ）、及び胃がん群（胃がん患者 1 1 9 名 [男性 8 4 名、女性 3 5 名] ）と、比較対照として健常群（健常者 4 4 名 [男性 2 9 名、女性 1 5 名] ）、膵がん群（膵がん患者 1 0 1 名 [男性 6 0 名、女性 4 1 名] ）、前膵がん病変・慢性膵炎群（前がん病変の状態の慢性膵炎患者 4 9 名 [男性 2 4 名、女性 2 5 名] ）、及び良性腫瘍群（良性腫瘍患者 4 4 名 [男性 2 2 名、女性 2 2 名] ）とから血漿を採取し、実施例 5 の「方法」の項目に記載の方法に従って、上記 3 種類のペプチド（ I T I H 3 ペプチド、 A P O A 1 ペプチド、及び A P O A 4 ペプチド）の濃度の定量と、得られた定量結果を基にした多重ロジスティック回帰分析を行い、上記 7 種類のがんの発生確率を予測した。

40

【 0 0 9 4 】

7 - 2 結果

上記 3 種類のペプチドを組み合わせて、各種がん群及び健常群を判別すると、7 種類のがん群のうち、4 種類のがん群（胆管がん群、結腸がん群、十二指腸がん群、及び胃がん群）における各がんの発生確率は、それぞれ、0 . 7 2 4 8、0 . 6 9 3 7、0 . 8 5 3 2 及び 0 . 6 1 0 8 であり、非がん群である健常群及び良性腫瘍群における各がんの発生

50

確率（0.0949及び0.4249）と比べ高かった（図4A参照）。また、上記3種類のペプチドと、CA19-9とを組み合わせることで各種がん群及び健常群を判別した場合も同様に、上記4種類のがん群における各がんの発生確率は、それぞれ、0.6891、0.5840、0.8293、及び0.5134であり、非がん群である健常群及び良性腫瘍群における各がんの発生確率（0.07918及び0.3393）と比べ高かった（図4B参照）。

これらの結果は、胆管がん、結腸がん、十二指腸がん、及び胃がんを発症している者から採取された血漿中の上記3種類のペプチド濃度は、かかるがんを発症しない者における上記3種類のペプチド濃度と比べ、変動することを示している。

また、各群の血漿中の上記3種類のペプチド濃度を基に、健常群を判別するためのROC曲線を作成したところ、上記4種類のがん群におけるAUC値は、CA19-9を用いた場合と比べ、高い値を示した（表14参照）。

これらの結果は、上記3種類のペプチドを組み合わせると、膵がんに加えて、4種類のがん（胆管がん、結腸がん、十二指腸がん、及び胃がん）を精度よく判定できることを示している。

【0095】

【表14】

がん群	3種類のペプチド	3種類のペプチド +CA19-9	CA19-9
膵がん群	0.9555	0.9802	0.9068
前膵がん病変・慢性膵炎群	0.8655	0.8284	0.5371
良性腫瘍群	0.8373	0.8378	0.5018
肝外胆管がん群	0.8921	0.8438	0.6591
結腸がん群	0.9264	0.8784	0.5810
十二指腸がん群	0.9261	0.9403	0.7756
食道がん群	0.6591	0.6818	0.6477
肝細胞がん群	0.8750	0.8447	0.5682
肝内胆管がん群	0.8283	0.9394	0.9697
胃がん群	0.9290	0.9085	0.5407

【0096】

表 1 4 中の数値は、上記 3 種類のペプチド（表中の「3 種類のペプチド」）、上記 3 種類のペプチド、及び C A 1 9 - 9（表 1 4 中の「3 種類のペプチド + C A 1 9 - 9」）、並びに C A 1 9 - 9（表 1 4 中の「C A 1 9 - 9」）の定量結果をもとに、各がん群と健常群とを判別したときの A U C 値を示す。

【実施例 8】

【0097】

8. 膵がんと、他のがんととの判別

膵がんと、他のがん（胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がん）とを判別可能なバイオマーカーの候補をスクリーニングするために、実施例 7 で用いた、膵がん以外の各がんの検体（各がんにつき 10 検体）と、実施例 6 で用いた膵がん（10 検体）について、実施例 3 と同様の方法による定量プロテオーム解析により網羅的な探索を行った。その結果、膵がんと、他のがん（胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がん）との判別能が最も高い分子として、A P O A 4 が同定された。この解析には A P O A 4 ペプチドとして、配列番号 9、10、12 を用いた。

【0098】

各がん群における血漿中の各 A P O A 4 ペプチド（配列番号 9、10 又は 12）の濃度を定量した。A P O A 4 ペプチド濃度は、膵がんで最も低下し、他のがん（胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がん）では膵がんほどは低下しないため、膵がんと他のがんとを判別することができることが示された。さらに、他のがんの中でも、特に、胃がん、肝細胞癌、食道がんでは、A P O A 4 ペプチド濃度があまり低下しないため、A P O A 4 ペプチド濃度により、膵がんとこれらの 3 種のがんとを、より精度よく判別することができる。

【0099】

また、各がん群における A P O A 4 ペプチド濃度のデータを基に、膵がんと他のいずれかのがんとを判別する R O C 曲線をそれぞれ作成し、各 A U C を算出した。その結果を表 1 5 に示す。なお、A P O A 4 配列番号 9、A P O A 4 配列番号 10、A P O A 4 配列番号 12 の上段においては、膵がん群として、実施例 6 の膵がん群（n = 100）を用い、A P O A 4 配列番号 12 の下段においては、膵がん群として実施例 3 の早期膵がん群のうち 38 名（n = 38）と、実施例 6 の膵がん群（n = 100）を合わせた膵がん群を用い、胃がん群についてはいずれも実施例 7 の胃がん群（n = 119）を用い、肝細胞がん群についてはいずれも実施例 7 の肝細胞がん群（n = 12）を用い、食道がん群についてはいずれも実施例 7 の食道がん群（n = 10）を用い、大腸がん群としてはいずれも実施例 7 の結腸がん群（n = 126）を用いた。

【0100】

【表 15】

	AUC			
	膵がん vs 胃がん	膵がん vs 肝細胞がん	膵がん vs 食道がん	膵がん vs 大腸がん
APOA4 配列番号 9	0.768	0.765	0.867	0.640
APOA4 配列番号 10	0.785	0.804	0.888	0.656
APOA4 配列番号 12	0.725	0.801	0.882	0.617
	0.695	0.773	0.87	0.59

【0101】

表15の結果から、APOA4ペプチド(好ましくは配列番号9、10、12)を利用すると、膵がんと、他のがん(胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がん)とを判別することができ、中でも、膵がんと、胃がん、肝細胞癌、食道がんとをより高精度で判別することができることが示された。

【0102】

なお、各がん群(健常群n=109、早期膵がん群n=139、前膵がん病変群n=56、膵炎群n=5、良性腫瘍群n=41、結腸がん群n=126、食道がん群n=10、肝細胞がん群n=12、胃がん群n=119)における血漿中のAPOA4ペプチド(配列番号12)の濃度を定量した結果を図5に示す。図5から、APOA4ペプチド濃度は、膵がんで最も低下し、他のがん(胃がん、肝細胞癌、食道がん、結腸がん)では膵がんほど低下しないため、膵がんと他のがんとを判別することができることが示された。さらに、他のがんの中でも、特に、胃がん、肝細胞癌、食道がんでは、APOA4ペプチド濃度があまり低下しないため、APOA4ペプチド濃度により、膵がんとこれらの3種のがんとを、より精度よく判別することができることが示された。

10

【実施例9】

【0103】

9. 単一施設の症例における中期～末期の膵がんの判定

本実施例で同定した早期膵がんの判定用バイオマーカーが、中期～末期(ステージIII～IV)の膵がんの判定にも有効であることは上記の実施例6においてすでに示した。ただし、この実験では複数の医療施設の患者の検体を使用していた。本実施例で同定した早期膵がんの判定用バイオマーカーが単一の医療施設の症例における中期～末期(ステージIII～IV)の膵がんの判定にも有効であることを念のため確認した。なお、単一の医療施設として、神戸大学医学部附属病院の膵がん患者の検体を使用した。

20

【0104】

9-1 方法

ステージIII及びIVの膵がん群(ステージIII及びIVの膵がん患者43名と、比較対照として健常群(健常者45名から血漿を採取し、実施例5の「方法」の項目に記載の方法に従って、上記3種類のペプチド(ITIH3ペプチド、APOA1ペプチド、及びAPOA4ペプチド)の濃度の定量と、得られた定量結果を基にした多重ロジスティック回帰分析を行い、ステージIII又はIVの膵がんの発生確率を予測した。

30

【0105】

9-2 結果

このような方法で予測したステージIII又はIVの膵がんの発生確率を図6に示す。また、図6の結果を基に作成したROC曲線を図7に示す。このように、上記3種類のペプチドを組み合わせて、ステージIII及びIVの膵がん群と健常群とを判別すると、AUC値は0.851と高い値を示した。また、ステージIII又はIVの膵がん群と、健常群とを区別するためのカットオフ値として、Youden's index(感度と特異度の和が最大となる値)である0.426を設定した場合の感度及び特異度は、それぞれ69.8%及び93.3%であった。これらの結果から、上記3種類のペプチド(ITIH3ペプチド、APOA1ペプチド、及びAPOA4ペプチド)を組み合わせると、ステージIII及びIVの膵がんについても、精度よく判定できることが示された(図6、図7)。

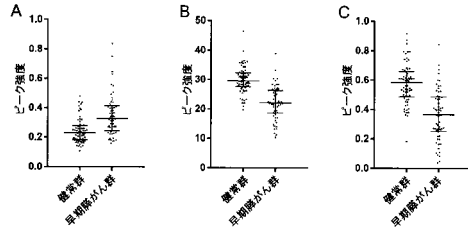
40

【産業上の利用可能性】

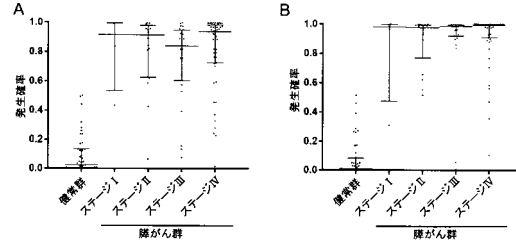
【0106】

本発明によれば、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがん(好ましくは膵がん、より好ましくは早期膵がん)の有無や発症リスクを精度よく判定できる判定方法や、判定用バイオマーカー等を提供することができる。本発明によって膵がんを早期に発見することができれば、早期の段階での治療が可能となり、進行してから発見する場合に比べて5年生存率の大幅な向上が期待できる。

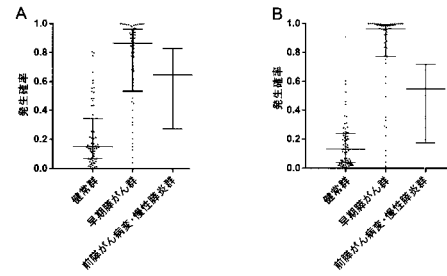
【 図 1 】



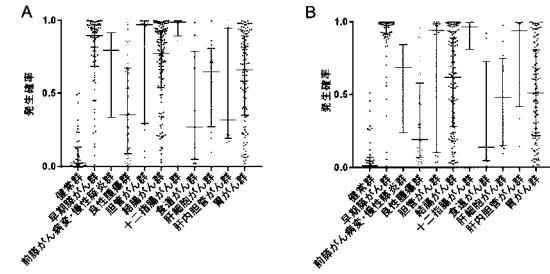
【 図 3 】



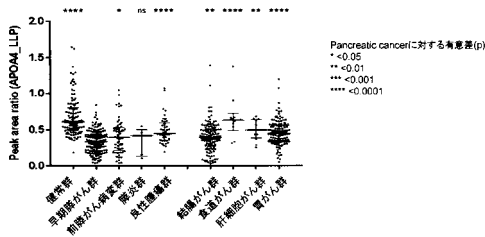
【 図 2 】



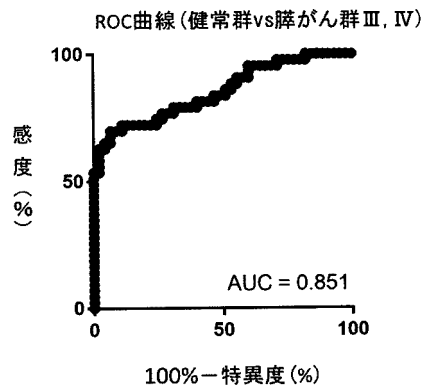
【 図 4 】



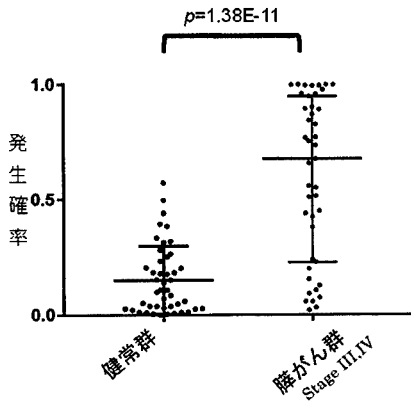
【 図 5 】



【 図 7 】



【 図 6 】



【配列表】

2019131552000001.app

【手続補正書】

【提出日】令和1年6月3日(2019.6.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される1種又は2種以上のがんの有無又は発症リスクの判定方法であって、

前記判定方法が以下の工程(a)～(c)を含むことを特徴とする、前記判定方法。

(a)被検者から採取された判定用血液試料中の、以下の[Aグループ]及び[Bグループ]に記載される物質群から選択される1又は2種以上の物質の濃度を測定する工程であって、前記物質がI T I H 3の部分ペプチド、I T I H 3のいずれか一方、又はその両方を含んでいる場合は、前記物質は、前記物質群のうち、I T I H 3の部分ペプチド、I T I H 3のいずれでもない物質を少なくとも1種をさらに含んでいる、前記工程；

[Aグループ]

A P O A 4の部分ペプチド、A P O A 1の部分ペプチド、T T H Yの部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0の部分ペプチド、H 0 Y A C 1の部分ペプチド、B T Dの部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H 0 Y A C 1、B T D

[Bグループ]

I T I H 3の部分ペプチド、I T I H 3

(b)工程(a)で測定した物質の濃度を、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較する工程；

(c)工程(a)で測定した物質が[Aグループ]の物質である場合、工程(a)で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して低いとき、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価し、及び/又は、

工程(a)で測定した物質が[Bグループ]の物質である場合、工程(a)で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して高いとき、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程；

【請求項2】

工程(b)が、工程(a)で測定した2種以上の物質の各濃度と、対照となる健常血液試料中の2種以上の物質の各濃度を、2種以上の物質の各濃度を変数とする多変量解析における予測式に代入して得た予測値と比較する工程であり、

前記予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合に予測値が高くなる予測式である場合には、工程(c)は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも高いときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であり、

前記予測式が、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い場合に予測値が低くなる予測式である場合には、工程(c)は、被検者について得られた予測値が健常血液試料について得られた予測値よりも低いときに、前記被検者が前記1種又は2種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程であることを特徴とする請求項1に記載の判定方法。

【請求項3】

物質が、A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、I T I H 3 の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1 及び I T I H 3 からなる群から選択される 1 種又は 2 種以上である請求項 1 又は 2 に記載の判定方法。

【請求項 4】

部分ペプチドがプロテアーゼで消化されたペプチドであることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 5】

多変量解析が、ロジスティック回帰分析又は重回帰分析であることを特徴とする請求項 2 ~ 4 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 6】

[B グループ] がさらに C A 1 9 - 9 抗原を含んでおり、
工程 (a) で濃度を測定する物質が、[A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 2 種以上の物質であって、少なくとも C A 1 9 - 9 抗原を含んでいることを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 7】

物質が、A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、
判定方法が、工程 (a) で測定した A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中の A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いと評価する工程 (d) をさらに含むことを特徴とする請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 8】

がんが、早期膵がんであることを特徴とする請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 9】

早期膵がんの有無又は発症リスクの判定方法であって、
前記判定方法が以下の工程 (a) ~ (c) を含むことを特徴とする、前記判定方法。
(a) 被検者から採取された判定用血液試料中の、以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質の濃度を測定する工程；

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H O Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H O Y A C 1、B T D

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

(b) 工程 (a) で測定した物質の濃度を、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較する工程；

(c) 工程 (a) で測定した物質が [A グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価し、及び / 又は、

工程 (a) で測定した物質が [B グループ] の物質である場合、工程 (a) で測定した物質の濃度が、対照となる健常血液試料中のその物質の濃度と比較して高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いと評価する工程；

【請求項 10】

工程 (a) における物質の濃度の測定を質量分析法により行うことを特徴とする請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の判定方法。

【請求項 11】

以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質からなることを特徴とする、膵がん、胃がん、大腸がん、十二指腸がん及び胆管がんからなる群から選択される 1 種又は 2 種以上のがんの有無又は発症リスクの判定用バイオマーカーであって、

前記バイオマーカーが、 I T I H 3 の部分ペプチド、 I T I H 3 のいずれか一方、又はその両方を含んでいる場合は、前記バイオマーカーは、前記物質群のうち、 I T I H 3 の部分ペプチド、 I T I H 3 のいずれでもない物質を少なくとも 1 種をさらに含んでおり、物質が [A グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示され、

物質が [B グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示される、

前記判定用バイオマーカー。

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、 A P O A 1 の部分ペプチド、 T T H Y の部分ペプチド、 Q 5 V Y 3 0 の部分ペプチド、 H O Y A C 1 の部分ペプチド、 B T D の部分ペプチド、 A P O A 4、 A P O A 1、 T T H Y、 Q 5 V Y 3 0、 H O Y A C 1、 B T D

[B グループ]

I T I H 3 の部分ペプチド、 I T I H 3

【請求項 1 2】

物質が、 A P O A 4 の部分ペプチド、 A P O A 1 の部分ペプチド、 I T I H 3 の部分ペプチド、 A P O A 4、 A P O A 1 及び I T I H 3 からなる群から選択される 1 種又は 2 種以上である請求項 1 1 に記載の判定用バイオマーカー。

【請求項 1 3】

物質が、 A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドを少なくとも含んでおり、

被検者から採取された判定用血液試料中の A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドの濃度が、対照となる健常血液試料中の A P O A 4 の部分ペプチド又は A P O A 1 の部分ペプチドの濃度と比較して低い程度がより大きいとき、前記被検者が膵がんを有している可能性が高い又は前記被験者における膵がんの発症リスクが高いことが示される請求項 1 1 又は 1 2 に記載の判定用バイオマーカー。

【請求項 1 4】

がんが、早期膵がんであることを特徴とする請求項 1 1 ~ 1 3 のいずれかに記載の判定用バイオマーカー。

【請求項 1 5】

以下の [A グループ] 及び [B グループ] に記載される物質群から選択される 1 又は 2 種以上の物質からなることを特徴とする、早期膵がんの有無又は発症リスクの判定用バイオマーカーであって、

物質が [A グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて低いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示され、

物質が [B グループ] の物質である場合、被検者から採取された判定用血液試料中の前記物質の濃度が、対照となる健常者における前記物質の濃度と比べて高いとき、前記被検者が前記 1 種又は 2 種以上のがんを有している可能性が高い又は前記被験者における前記がんの発症リスクが高いことが示される、前記判定用バイオマーカー。

[A グループ]

A P O A 4 の部分ペプチド、A P O A 1 の部分ペプチド、T T H Y の部分ペプチド、Q
5 V Y 3 0 の部分ペプチド、H 0 Y A C 1 の部分ペプチド、B T D の部分ペプチド、A P
O A 4、A P O A 1、T T H Y、Q 5 V Y 3 0、H 0 Y A C 1、B T D
[B グループ]
I T I H 3 の部分ペプチド、I T I H 3

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2018/047326
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int.Cl. G01N33/68(2006.01) i, C07K14/82(2006.01) i, C12Q1/02(2006.01) i, G01N33/574(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) Int.Cl. G01N33/68, C07K14/82, C12Q1/02, G01N33/574		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Published examined utility model applications of Japan		1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan		1971-2019
Registered utility model specifications of Japan		1996-2019
Published registered utility model applications of Japan		1994-2019
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPplus/REGISTRY/MEDLINE/BIOSIS (STN), GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y/A	ILIES, M. et al., "Plasma protein profiling of patients with intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas as potential precursor lesions of pancreatic cancer", Clinica Chemica Acta, 06 December 2017, vol. 477, pp. 127-134	1, 3-4, 7, 9-11, 13/6/2, 5, 8, 12
Y	YONEYAMA, T. et al., "Identification of IGFBP2 and IGFBP3 as compensatory biomarkers for CA19-9 in early-stage pancreatic cancer using a combination of antibody-based and LC-MS/MS-based proteomics", PLOS one, 31 August 2016, vol. 11, no. 8, e0161009	6
<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 15 March 2019 (15.03.2019)		Date of mailing of the international search report 02 April 2019 (02.04.2019)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2018/047326

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/A	US 2012/0028269 A1 (NATIONAL UNIVERSITY OF SINGAPORE) 02 February 2012, claims (Family: none)	1, 3-4, 7, 10-11/2, 5-6, 8-9, 12-13
A	WO 2015/050107 A1 (TORAY INDUSTRIES, INC.) 09 April 2015 & US 2016/0245815 A1 A & EP 3054298 A1 & CA 2925099 A1 & CN 105637366 A & KR 10-2016-0065876 A	1-13
A	谷内田真一, 膵臓がんのバイオマーカーの実状, 膵・胆道癌, 31 May 2017, vol. 6, no. 2, pp. 38-42, non-official translation (YACHIDA, Shinichi, "The actual condition of biomarkers of pancreatic cancer", Pancreato-Biliary Cancer)	1-13

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 8 / 0 4 7 3 6 2												
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/68(2006.01)i, C07K14/82(2006.01)i, C12Q1/02(2006.01)i, G01N33/574(2006.01)i														
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N33/68, C07K14/82, C12Q1/02, G01N33/574														
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2019年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2019年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2019年	日本国実用新案登録公報	1996-2019年	日本国登録実用新案公報	1994-2019年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2019年													
日本国実用新案登録公報	1996-2019年													
日本国登録実用新案公報	1994-2019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) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/REGISTRY/MEDLINE/BIOSIS (STN), GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq														
C. 関連すると認められる文献														
引用文献の カテゴリ*	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/A	ILIES M. et al., Plasma protein profiling of patients with intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas as potential precursor lesions of pancreatic cancer, Clinica Chemica Acta, 2017.12.06, Vol.477, PP.127-134	1,3-4,7,9-11 ,13/6/2,5,8, 12												
Y	YONEYAMA T. et al., Identification of IGFBP2 and IGFBP3 as compensatory biomarkers for CA19-9 in early-stage pancreatic cancer using a combination of antibody-based and LC-MS/MS-based proteomics, PLOS one, 2016.08.31, Vol.11, No.8, e0161009	6												
<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。														
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリ</td> <td>の日の後に公表された文献</td> </tr> <tr> <td>「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</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「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</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「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)</td> <td>「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</td> </tr> <tr> <td>「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td>「&」同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリ	の日の後に公表された文献	「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	「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	「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	「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	「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)	「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	「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献	「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	
* 引用文献のカテゴリ	の日の後に公表された文献													
「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	「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													
「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	「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													
「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)	「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													
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献													
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願														
国際調査を完了した日 15.03.2019	国際調査報告の発送日 02.04.2019													
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) 海野 佳子 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 3906												

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2018/047362

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/A	US 2012/0028269 A1 (NATIONAL UNIVERSITY OF SINGAPORE) 2012.02.02, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1, 3-4, 7, 10-1 1/2, 5-6, 8-9, 12-13
A	WO 2015/050107 A1 (東レ株式会社) 2015.04.09, & US 2016/0245815 A1 A & EP 3054298 A1 & CA 2925099 A1 & CN 105637366 A & KR 10-2016-0065876 A	1-13
A	谷内田真一, 膵臓がんのバイオマーカーの実状, 膵・胆道癌, 2017.05.31, Vol. 6, No. 2, PP. 38-42	1-13

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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

(出願人による申告)平成30年度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構、「次世代がん医療創生研究事業」「タンパク質・ペプチド修飾解析による早期がん・リスク疾患診断のための血液バイオマーカーの開発」委託研究開発、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

(74)代理人 100150902

弁理士 山内 正子

(74)代理人 100141391

弁理士 園元 修一

(74)代理人 100198074

弁理士 山村 昭裕

(74)代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74)代理人 100221958

弁理士 篠田 真希恵

(72)発明者 大槻 純男

熊本県熊本市中央区大江本町5番1号 国立大学法人熊本大学大学院生命科学研究部内

(72)発明者 伊藤 慎悟

熊本県熊本市中央区大江本町5番1号 国立大学法人熊本大学大学院生命科学研究部内

Fターム(参考) 2G041 CA01 DA05 FA12 GA09 LA08

2G045 AA26 CA26 DA36 FB03

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA15 BA16 BA17 CA40 CA41 EA50

FA70

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。