

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-500948

(P2006-500948A)

(43) 公表日 平成18年1月12日(2006.1.12)

|                                     |                      |             |
|-------------------------------------|----------------------|-------------|
| (51) Int.Cl.                        | F I                  | テーマコード (参考) |
| <b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>       | C 1 2 Q 1/68 Z N A A | 2 G O 4 5   |
| <b>A 6 1 K 31/711 (2006.01)</b>     | A 6 1 K 31/711       | 4 B O 2 4   |
| <b>A 6 1 K 39/00 (2006.01)</b>      | A 6 1 K 39/00 H      | 4 B O 6 3   |
| <b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>     | A 6 1 K 39/395 D     | 4 C O 8 4   |
| <b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>      | A 6 1 K 45/00        | 4 C O 8 5   |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 95 頁) 最終頁に続く |                      |             |

|               |                              |          |                         |
|---------------|------------------------------|----------|-------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2004-541226 (P2004-541226) | (71) 出願人 | 504445356               |
| (86) (22) 出願日 | 平成15年9月17日 (2003. 9. 17)     |          | オンコセラピー・サイエンス株式会社       |
| (85) 翻訳文提出日   | 平成17年3月24日 (2005. 3. 24)     |          | 神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2-1      |
| (86) 国際出願番号   | PCT/JP2003/011817            | (71) 出願人 | 504137912               |
| (87) 国際公開番号   | W02004/031412                |          | 国立大学法人 東京大学             |
| (87) 国際公開日    | 平成16年4月15日 (2004. 4. 15)     |          | 東京都文京区本郷7丁目3番1号         |
| (31) 優先権主張番号  | 60/414, 872                  | (74) 代理人 | 100102978               |
| (32) 優先日      | 平成14年9月30日 (2002. 9. 30)     |          | 弁理士 清水 初志               |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                      | (74) 代理人 | 100128048               |
| (31) 優先権主張番号  | 60/450, 889                  |          | 弁理士 新見 浩一               |
| (32) 優先日      | 平成15年2月28日 (2003. 2. 28)     | (72) 発明者 | 中村 祐輔                   |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                      |          | 神奈川県横浜市青葉区あざみ野1丁目17番33号 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 膵臓癌を診断する方法

## (57) 【要約】

膵臓癌 (PNC) を検出および診断する客観的な方法を本明細書において記述する。一つの態様において、本診断法は、PNC細胞と正常細胞とを識別するPNC関連遺伝子の発現レベルを決定する段階を含む。本発明は、膵臓癌の治療において有用な治療薬剤をスクリーニングする方法、膵臓癌を治療する方法、および膵臓癌に対するワクチンを被験者に接種する方法をさらに提供する。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

患者由来の生物学的試料においてPNC関連遺伝子の発現レベルを決定する段階を含む、被験者におけるPNCを診断するか、またはPNC発症の素因を診断する方法であって、該遺伝子の正常対照レベルと比較して該レベルが増加または減少すれば、該被験者がPNCを有するか、またはPNC発症のリスクを有することを示す方法。

**【請求項 2】**

PNC関連遺伝子がPNC 1～259からなる群より選択され、正常対照レベルと比較してレベルが増加すれば、被験者がPNCを有するか、またはPNC発症のリスクを有することを示す、請求項1記載の方法。

10

**【請求項 3】**

増加が正常対照レベルより少なくとも10%大きい、請求項1記載の方法。

**【請求項 4】**

PNC関連遺伝子が、PNC 260～605からなる群より選択され、正常対照レベルと比較してレベルが減少すれば、被験者がPNCを有するか、または発症のリスクを有することを示す、請求項1記載の方法。

**【請求項 5】**

減少が正常対照レベルより少なくとも10%低い、請求項4記載の方法。

**【請求項 6】**

複数のPNC関連遺伝子の発現レベルを決定する段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

20

**【請求項 7】**

発現レベルが、以下からなる群より選択されるいずれか一つの方法によって決定される、請求項1記載の方法：

(a) PNC関連遺伝子のmRNAを検出する段階；

(b) PNC関連遺伝子にコードされるタンパク質を検出する段階；および

(c) PNC関連遺伝子にコードされるタンパク質の生物学的活性を検出する段階。

**【請求項 8】**

ハイブリダイゼーション段階がDNAアレイ上で行われる、請求項1記載の方法。

**【請求項 9】**

生物学的試料が上皮細胞を含む、請求項1記載の方法。

30

**【請求項 10】**

生物学的試料が膵管腺癌細胞を含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 11】**

生物学的試料が膵管腺癌由来の上皮細胞を含む、請求項7記載の方法。

**【請求項 12】**

PNC 1～605からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、PNC参照発現プロファイル。

**【請求項 13】**

PNC 1～259からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、PNC参照発現プロファイル。

40

**【請求項 14】**

PNC 260～605からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、PNC参照発現プロファイル。

**【請求項 15】**

以下の段階を含む、膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

a) PNC 1～605からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；

b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および

c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

50

## 【請求項 16】

以下の段階を含む、膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 1～605からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞に候補化合物を接触させる段階；および
- b) PNC 1～259からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを低下させるか、またはPNC 260～605からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる化合物を選択する段階。

## 【請求項 17】

細胞が膵臓癌細胞を含む、請求項16記載の方法。

10

## 【請求項 18】

以下の段階を含む、膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 1～605からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) 段階(a)のポリペプチドの生物学的活性を検出する段階；および
- c) 被験化合物の非存在下において検出される生物学的活性と比較して、PNC 1～259からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドの生物学的活性を抑制するか、または被験化合物の非存在下において検出される生物学的活性と比較して、PNC 260～605からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドの生物学的活性を増強する化合物を選択する段階。

20

## 【請求項 19】

以下の段階を含む、膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 1～605からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の転写調節領域と、転写調節領域の制御下で発現されるレポーター遺伝子とを含むベクターが導入されている細胞に候補化合物を接触させる段階；
- b) レポーター遺伝子の活性を測定する段階；および
- c) 対照と比較して、該マーカー遺伝子がPNC 1～259からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子である場合には、該レポーター遺伝子の発現レベルを低下させる化合物、または該マーカー遺伝子がPNC 260～605からなる群より選択される下方制御されたマーカー遺伝子である場合には、該レポーター遺伝子の発現レベルを増強する化合物を選択する段階。

30

## 【請求項 20】

PNC 1～605からなる群より選択される二つもしくはそれ以上の核酸配列、またはそれにコードされるポリペプチドに結合する検出試薬を含むキット。

## 【請求項 21】

PNC 1～605からなる群より選択される一つまたは複数の核酸配列に結合する二つまたはそれ以上の核酸を含むアレイ。

## 【請求項 22】

PNC 1～259からなる群より選択されるコード配列と相補的なヌクレオチド配列を含むアンチセンス組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

40

## 【請求項 23】

PNC 1～259からなる群より選択される核酸配列の発現を低下させるsiRNA組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

## 【請求項 24】

PNC 1～259からなる群より選択されるいずれか一つの遺伝子にコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

50

## 【請求項 2 5】

PNC 1~259からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチドもしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを被験者に投与することを含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

## 【請求項 2 6】

PNC 260~605からなる群より選択されるポリヌクレオチドの発現または活性を増加させる化合物を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

## 【請求項 2 7】

請求項15~19のいずれか一項記載の方法によって得られる化合物を投与する段階を含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

## 【請求項 2 8】

PNC 260~605からなる群より選択されるポリヌクレオチドまたはそれにコードされるポリペプチドの薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌を治療または予防する方法。

## 【請求項 2 9】

PNC 1~259からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの薬学的有効量を含む、膵臓癌を治療または予防するための組成物。

## 【請求項 3 0】

PNC 1~259からなる群より選択されるいずれか一つの遺伝子にコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を含む、膵臓癌を治療または予防するための組成物。

## 【請求項 3 1】

活性成分として請求項15~19のいずれか一項記載の方法によって選択される化合物の薬学的有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、膵臓癌を治療または予防するための組成物。

## 【請求項 3 2】

以下の段階を含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 606~681およびPNC 682~849からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および
- c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

## 【請求項 3 3】

以下の段階を含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 606~681およびPNC 682~849からなる群より選択される、一つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞に候補化合物を接触させる段階；および
- b) PNC 606~640およびPNC 682~741からなる群より選択される一つもしくは複数の上方制御されたマーカー遺伝子の発現レベルを低下させる化合物、またはPNC 641~681およびPNC 742~849からなる群より選択される一つもしくは複数の下方制御されたマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる化合物を選択する段階。

## 【請求項 3 4】

細胞が悪性膵臓癌細胞を含む、請求項33記載の方法。

## 【請求項 3 5】

以下の段階を含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 606~681およびPNC 682~849からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコー

10

20

30

40

50

ドされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；

b) 段階 (a) のポリペプチドの生物学的活性を検出する段階；および

c) 被験化合物の非存在下で検出される生物学的活性と比較して、PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子にコードされるポリペプチドの生物学的活性を抑制する化合物、または被験化合物の非存在下で検出される生物学的活性と比較して、PNC 641～681およびPNC 742～849からなる群より選択される下方制御されたマーカー遺伝子にコードされるポリペプチドの生物学的活性を増強する化合物を選択する段階。

【請求項 3 6】

以下の段階を含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法；

a) PNC 606～681およびPNC 682～849からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の転写調節領域と、転写調節領域の制御下で発現されるレポーター遺伝子とを含むベクターが導入されている細胞に候補化合物を接触させる段階；

b) 該レポーター遺伝子の活性を測定する段階；および

c) 対照と比較して、該マーカー遺伝子がPNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子である場合に、該レポーター遺伝子の発現レベルを低下させる化合物、または該マーカー遺伝子がPNC 641～681およびPNC 742～849からなる群より選択される下方制御されたマーカー遺伝子である場合に、該レポーター遺伝子の発現レベルを増強する化合物を選択する段階。

【請求項 3 7】

PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子のコード配列と相補的なヌクレオチド配列を含むアンチセンス組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 3 8】

PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子の核酸配列の発現を低下させるsiRNA組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 3 9】

PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子のいずれか一つにコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 4 0】

PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子にコードされるポリペプチドもしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを被験者に投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 4 1】

PNC 641～681およびPNC 742～849からなる群より選択される下方制御された遺伝子の発現または活性を増加させる化合物を被験者に投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 4 2】

請求項32～36のいずれか一項記載の方法によって得られる化合物を投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 4 3】

PNC 641～681およびPNC 742～849からなる群より選択される下方制御された遺伝子、またはそれにコードされるポリペプチドの薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者における悪性膵臓癌を治療または予防する方法。

【請求項 4 4】

PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子に対

10

20

30

40

50

するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの薬学的有効量を含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための組成物。

【請求項 4 5】

PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子のいずれか一つにコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための組成物。

【請求項 4 6】

請求項32～36のいずれか一項記載の方法によって選択される化合物の薬学的有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、悪性膵臓癌を治療または予防するための組成物。

【請求項 4 7】

以下の段階を含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 850～933からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および
- c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

【請求項 4 8】

以下の段階を含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 850～933からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞に候補化合物を接触させる段階；および
- b) PNC 894～933からなる群より選択される一つもしくは複数の上方制御されたマーカー遺伝子の発現レベルを低下させる化合物、またはPNC 850～893からなる群より選択される再発遅延症例において上方制御された一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる化合物を選択する段階。

【請求項 4 9】

細胞が再発性の膵臓癌細胞を含む、請求項48記載の方法。

【請求項 5 0】

以下の段階を含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 850～933からなる群より選択されるポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) 段階(a)のポリペプチドの生物学的活性を検出する段階；および
- c) 被験化合物の非存在下で検出される生物学的活性と比較して、PNC 894～933からなる群より選択されるマーカー遺伝子にコードされるポリペプチドの生物学的活性を抑制する化合物、または被験化合物の非存在下で検出される生物学的活性と比較して、PNC 850～893からなる群より選択される再発遅延症例において上方制御されたマーカー遺伝子にコードされるポリペプチドの生物学的活性を増強する化合物を選択する段階。

【請求項 5 1】

以下の段階を含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法：

- a) PNC 850～993からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の転写調節領域と、転写調節領域の制御下で発現されるレポーター遺伝子とを含むベクターが導入されている細胞に候補化合物を接触させる段階；
- b) 該レポーター遺伝子の活性を測定する段階；および
- c) 対照と比較して、マーカー遺伝子がPNC 894～933からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子である場合には、該レポーター遺伝子の発現レベルを低下させる化合物、または該マーカー遺伝子がPNC 850～893からなる群より選択される再発遅延症例において上方制御されたマーカー遺伝子である場合には、該レポーター遺伝子の発現レベルを増強する化合物を選択する段階。

10

20

30

40

50

## 【請求項 5 2】

PNC 894～933からなる群より選択される上方制御された遺伝子のコード配列と相補的なヌクレオチド配列を含むアンチセンス組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

## 【請求項 5 3】

PNC 894～933からなる群より選択される上方制御された遺伝子の核酸配列の発現を低下させるsiRNA組成物を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

## 【請求項 5 4】

PNC 894～933からなる群より選択される上方制御された遺伝子のいずれか一つにコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

10

## 【請求項 5 5】

PNC 894～933からなる群より選択される上方制御された遺伝子にコードされるポリペプチドもしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

## 【請求項 5 6】

PNC 850～893からなる群より選択される再発遅延症例において上方制御された遺伝子の発現または活性を増加させる化合物を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

20

## 【請求項 5 7】

請求項47～51のいずれか一項記載の方法によって得られる化合物を投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

## 【請求項 5 8】

PNC 850～893からなる群より選択される再発遅延症例において上方制御された遺伝子またはそれにコードされるポリペプチドの薬学的有効量を被験者に投与する段階を含む、被験者における膵臓癌の再発を治療または予防する方法。

## 【請求項 5 9】

PNC 894～933からなる群より選択される上方制御された遺伝子に対するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの薬学的有効量を含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための組成物。

30

## 【請求項 6 0】

PNC 894～933からなる群より選択される上方制御された遺伝子のいずれか一つにコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための組成物。

## 【請求項 6 1】

活性成分として請求項47～51のいずれか一項記載の方法によって選択される化合物の薬学的有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、膵臓癌の再発を治療または予防するための組成物。

40

## 【請求項 6 2】

以下の段階を含む、PNCの再発を予測する方法：

(a) 予測すべき被験者から採取した標本において、PNC 850～866 (ARGBP2、CBARA1、EEF1G、LCAT、RPL23A、RPL17、ATP1A1、QARS、BZRP、TUFM、SERPINA4、SCAP、HK1、RPS11、SYNGR2、FLOT2、PSMB4)、894～906 (MTMR1、HT010、NPD002、YME1L1、CCT6A、HSPD1、TIMM9、GRB14、FLJ10803、LAMP1、MLLT4、CTSB、RALY) からなる群より選択される、一つまたは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを検出する段階；

(b) 一つまたは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを、早期再発症例と再発遅延症例の発現レベルと比較する段階；および

(c) 一つまたは複数のマーカー遺伝子の発現レベルが早期再発症例の発現レベルに近け

50

れば、PNC再発のリスクを示し、一つまたは複数のマーカー遺伝子の発現レベルが再発遅延症例の発現レベルに近ければ、PNCの再発のリスクが低いことを示す段階。

【請求項 6 3】

段階 (c) が、以下の段階を含む予測スコアを計算する段階をさらに含む、請求項 62 記載の方法：

i) 以下の式によって割付強度 ( $V_i$ ) を計算する段階：

$$V_i = |x_i - (\mu_r + \mu_n) / 2|$$

(式中、 $x_i$  は、試料中の発現レベルであり、 $\mu_r$  は早期再発症例における発現レベル、および  $\mu_n$  は再発遅延症例における発現レベルである)；

ii) 以下の式によって PS 値を計算する段階：

$$PS = ((V_r - V_n) / (V_r + V_n)) \times 100$$

(式中、 $V_r$  および  $V_n$  はそれぞれ、早期再発症例および再発遅延症例における割付総数である)；ならびに

iii) PS 値が 0 より大きければ、被験者は PNC 再発のリスクを有すると決定され、PS 値が 0 より小さければ、被験者が PNC を再発するリスクは低いと決定される段階。

10

【請求項 6 4】

PNC 850 ~ 866、894 ~ 906 からなる群より選択される二つまたはそれ以上の遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、PNC 参照発現プロファイル。

【請求項 6 5】

遺伝子発現が早期再発または再発遅延患者の膵臓癌細胞に由来する、請求項 64 記載の発現プロファイル。

20

【請求項 6 6】

PNC 850 ~ 866、894 ~ 906 からなる群より選択される二つもしくはそれ以上の核酸配列、またはそれにコードされるポリペプチドに結合する検出試薬を含むキット。

【請求項 6 7】

PNC 850 ~ 866、894 ~ 906 からなる群より選択される一つまたは複数の核酸配列に結合する二つまたはそれ以上の核酸を含むアレイ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

30

優先権に関する情報

本出願は、2002 年 9 月 30 日に提出された米国特許仮出願第 60/414,872 号および 2003 年 2 月 28 日に提出された米国特許仮出願第 60/450,889 号に対する優先権を主張し、それらは参照として本明細書に組み入れられる。

【0 0 0 2】

技術分野

本発明は、膵臓癌を診断する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

発明の背景

40

膵臓癌は、如何なる悪性癌の中でも最も高い死亡率の一つを有し、患者の 5 年生存率は 4 % である。毎年膵臓癌患者 28000 人が診断され、ほぼ全ての患者がこの疾患のために死亡する (1)。この悪性疾患の予後が不良であることは、初期診断が難しいこと、および現行の治療法に対する応答が不良であることの結果である (1,2)。特に、現在、疾患の初期のおそらく治癒可能な段階で信頼できるスクリーニングを行うことができる腫瘍マーカーは同定されていない。

【0 0 0 4】

cDNA マイクロアレイ技術によって、正常および悪性細胞における包括的遺伝子発現プロファイルを得て、悪性細胞および対応する正常細胞における遺伝子発現を比較することが可能となった (Okabe ら、Cancer Res. 61: 2129 ~ 37 (2001) ; Kitahara ら、Cancer Res.

50

61: 3544~9 (2001) ; Linら、Oncogene 21: 4120~8 (2002) ; Hasegawaら、Cancer Res. 62: 7012~7 (2002) )。このアプローチにより、癌細胞の複雑な特性を明らかにすることが可能となり、これは発癌のメカニズムを理解するために役立つ。腫瘍において脱制御される遺伝子を同定することによって、個々の癌のより精密で正確な診断を得ることができ、新規治療標的を開発することができる (Bienz and Clevers、Cell 103: 311~20 (2000) )。ゲノム全体での観点から腫瘍の基礎となるメカニズムを明らかにするため、そして新規治療薬を診断および開発するための標的分子を発見するために、本発明者らは、遺伝子23040個のcDNAマイクロアレイを用いて腫瘍細胞の発現プロファイルを解析している (Okabeら、Cancer Res. 61: 2129~37 (2001) ; Kitaharaら、Cancer Res. 61: 3544~9 (2001) ; Linら、Oncogene 21: 4120~8 (2002) ; Hasegawaら、Cancer Res. 62: 7012~7 (2002) )。 10

#### 【0005】

発癌メカニズムを解明するように計画された研究によって、抗腫瘍薬剤の分子標的の同定が既に促進されている。例えば、Rasに関連する増殖-シグナル伝達経路を阻害するように当初開発されたファルネキシルトランスフェラーゼインヒビター (FTI) (この活性は翻訳後のファルネシル化に依存する) は、動物モデルにおいてRas依存的腫瘍を治療するために有効である (Heら、Cell 99: 335~45 (1999) )。抗癌剤と、原癌遺伝子受容体HER2/neuに拮抗するための抗HER-2モノクローナル抗体であるトラスツズマブとの組み合わせを用いるヒトに対する臨床試験が実施されており、乳癌患者の臨床応答および総生存率の改善が得られている (Linら、Cancer Res. 61: 6345~9 (2001) )。bcr-abl融合タンパク質を選択的に不活化するチロシンキナーゼインヒビターSTI-571は、bcr-ablチロシンキナーゼの構成的活性化が白血球の形質転換において重要な役割を果たしている慢性骨髄性白血病を治療するために開発されている。これらの種類の薬剤は、特定の遺伝子産物の発癌活性を抑制するように設計されている (Fujitaら、Cancer Res. 61: 7722~6 (2001) )。したがって、癌性細胞において一般的に上方制御されている遺伝子産物は、新規抗癌剤を開発するための潜在的な標的として役立つ可能性がある。 20

#### 【0006】

CD8+細胞障害性Tリンパ球 (CTL) は、MHCクラスI分子上に提示された腫瘍関連抗原 (TAA) に由来するエピトープペプチドを認識して、腫瘍細胞を溶解することが証明されている。TAAの最初の例としてMAGEファミリーが発見されて以来、免疫学的アプローチを用いて他にも多くのTAAが発見されている (Boon、Int. J. Cancer 54: 177~80 (1993) ; Boonおよびvan der Bruggen、J. Exp. Med. 183: 725~9 (1996) ; van der Bruggenら、Science 254: 1643~7 (1991) ; Brichardら、J. Exp. Med. 178: 489~95 (1993) ; Kawakamiら、J. Exp. Med. 180: 347~52 (1994) )。発見されたTAAのいくつかは、現在免疫治療の標的として臨床開発段階にある。これまで発見されたTAAには、MAGE (van der Bruggenら、Science 254: 1643~7 (1991) )、gp100 (Kawakamiら、J. Exp. Med. 180: 347~52 (1994) )、SART (Shichijoら、J. Exp. Med. 187: 277~88 (1998) )、およびNY-ESO-1 (Chenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1914~8 (1997) ) が含まれる。一方、腫瘍細胞において特に過剰発現されることが示されている遺伝子産物は、細胞性免疫応答を誘導する標的として認識されることが示されている。そのような遺伝子産物には、p53 (Umanoら、Brit. J. Cancer 84: 1052~7 (2001) )、HER2/neu (Tanakaら、Brit. J. Cancer 84: 94~9 (2001) )、CEA (Nukayaら、Int. J. Cancer 80: 92~7 (1999) ) 等が含まれる。 40

#### 【0007】

TAAに関する基礎および臨床研究における著しい進歩にもかかわらず (Rosenbergら、Nature Med. 4: 321~7 (1998) ; Mukherjiら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 8078~82 (1995) ; Huら、Cancer Res. 56: 2479~83 (1996) )、結腸癌を含む腺癌の治療に利用できるのは、ごく限られた数の候補TAAに過ぎない。癌細胞において豊富に発現されると共にその発現が癌細胞に限定されるTAAは、免疫療法の標的として有望な候補薬剤となるであろう。さらに、強力で特異的な抗腫瘍免疫応答を誘導する新規TAAが同定されれば、 50

様々なタイプの癌におけるペプチドワクチン法の臨床利用を促進すると期待される (Boon および van der Bruggen、J. Exp. Med. 183: 725~9 (1996) ; van der Bruggenら、Science 254: 1643~7 (1991) ; Brichardら、J. Exp. Med. 178: 489~95 (1993) ; Kawakamiら、J. Exp. Med. 180: 347~52 (1994) ; Shichijoら、J. Exp. Med. 187: 277~88 (1998) ; Chenら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 1914~8 (1997) ; Harris、J. Natl. Cancer Inst. 88: 1442~5 (1996) ; Butterfieldら、Cancer Res. 59: 3134~42 (1999) ; Visserら、Cancer Res. 59: 5554~9 (1999) ; van der Burgら、J. Immunol. 156: 3308~14 (1996) ; Tanakaら、Cancer Res. 57: 4465~8 (1997) ; Fujieら、Int. J. Cancer 80: 169~72 (1999) ; Kikuchiら、Int. J. Cancer 81: 459~66 (1999) ; Oisoら、Int. J. Cancer 81: 387~94 (1999) )。

10

#### 【0008】

特定の健康なドナーからのペプチド刺激された末梢血単核細胞 (PBMC) は、ペプチドに応答して著しいレベルの IFN- $\gamma$  を産生するが、<sup>51</sup>Cr-放出アッセイにおいて HLA-A24 または -A0201 拘束的に腫瘍細胞に対して細胞障害性を発揮することはまれであることは繰り返し報告されている (Kawanoら、Cancer Res. 60: 3550~8 (2000) ; Nishizakaら、Cancer Res. 60: 4830~7 (2000) ; Tamuraら、Jpn. J. Cancer Res. 92: 762~7 (2001) )。しかし、HLA-A24 および HLA-A0201 はいずれも、白人のみならず、日本人における一般的な HLA 対立遺伝子の一つである (Dateら、Tissue Antigens 47: 93~101 (1996) ; Kondoら、J. Immunol. 155: 4307~12 (1995) ; Kuboら、J. Immunol. 152: 3913~24 (1994) ; Imanishiら、Proceeding of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference、オックスフォード大学出版、オックスフォード、1065 (1992) ; Williamsら、Tissue Antigen 49: 129 (1997) )。このように、これらの HLA によって提示される癌の抗原性ペプチドは、日本人および白人における癌の治療において特に有用となる可能性がある。さらに、インビトロでの低親和性 CTL の誘導は、通常、高濃度のペプチドの使用によって、高レベルの特異的なペプチド/MHC 複合体を、CTL を効果的に活性化する抗原提示細胞 (APCs) 上に生成する結果であろうことは知られている (Alexander-Millerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 4102~7 (1996) )。

20

#### 【発明の開示】

#### 【0009】

##### 発明の概要

本発明は、膵臓癌 (PNC) に関連した遺伝子発現パターンの発見に基づく。膵臓癌において発現に差のある遺伝子は、本明細書において集合的に「PNC 核酸」または「PNC ポリヌクレオチド」と呼ばれ、対応するコードされたポリペプチドは、「PNC ポリペプチド」または「PNC タンパク質」と呼ばれる。

30

#### 【0010】

したがって、本発明は、組織試料のような患者に由来する生物学的試料において PNC 関連遺伝子の発現レベルを決定することによって、被験者における膵臓癌に対する素因を診断または決定する方法を特徴とする。PNC 関連遺伝子とは、正常細胞と比較して PNC 細胞から得られた細胞において発現レベルが異なることを特徴とする遺伝子を意味する。正常細胞は、膵臓組織から得られた細胞である。PNC 関連遺伝子は、PNC 1~605 の一つまたは複数である。変化、例えば遺伝子の正常対照レベルと比較して遺伝子の発現レベルが増加または減少すれば、被験者が PNC を有するか、または発症のリスクを有することを示している。

40

#### 【0011】

正常な対照レベルとは、正常な健康個体または膵臓癌を有しないことがわかっている個体集団において検出された遺伝子発現レベルを意味する。対照レベルは、単一の参照集団または複数の発現パターンに由来する単一の発現パターンである。例えば、対照レベルは、既に試験された細胞からの発現パターンのデータベースでありうる。正常な個体は、膵臓癌の臨床症状を有しない個体である。

#### 【0012】

50

正常対照レベルと比較して被験試料においてPNC 1～259のレベルの増加が検出されれば、（試料を採取した）被験者がPNCを有するか、または発症するリスクを有することを示している。対照的に、正常な対照レベルと比較して被験試料においてPNC 260～605のレベルの減少が検出されれば、被験者がPNCを有するか、または発症のリスクを有することを示している。

【0013】

または、試料におけるPNC関連遺伝子パネルの発現を、同じ遺伝子パネルのPNC対照レベルと比較する。PNC対照レベルとは、PNCを有する集団において認められるPNC関連遺伝子の発現プロファイルを意味する。

【0014】

遺伝子発現は、対照レベルと比較して10%、25%、50%増加または減少する。または、遺伝子発現は、対照レベルと比較して1、2、5倍またはそれ以上増加または減少する。発現は、例えばアレイ上で、PNC関連遺伝子プローブと患者由来組織試料の遺伝子転写物とのハイブリダイゼーションによって検出することによって決定される。

【0015】

患者由来組織試料は、試験被験者、例えばPNCを有することがわかっているかまたは疑われる患者からの任意の組織である。例えば、組織は上皮細胞を含む。例えば、組織は、膵臓の膵管腺癌からの上皮細胞である。

【0016】

本発明はまた、PNC 1～605の二つまたはそれ以上の遺伝子発現レベルのPNC参照発現プロファイルを提供する。または、本発明は、PNC 1～259またはPNC 260～605の二つまたはそれ以上の発現レベルのPNC参照発現プロファイルを提供する。

【0017】

本発明はさらに、PNC関連遺伝子を発現する被験細胞を被験薬剤に接触させる段階、およびPNC関連遺伝子の発現レベルを決定する段階によって、PNC関連遺伝子、例えばPNC 1～605の発現または活性を阻害または増強する薬剤を同定する方法を提供する。被験細胞は、膵臓腺癌からの上皮細胞のような上皮細胞である。対照レベルと比較して、遺伝子のレベルが減少すれば、被験薬剤がPNC関連遺伝子のインヒビターであり、PNCの症状、例えばPNC 1～259を減少させることを示している。または、対照のレベルまたは活性と比較して、遺伝子のレベルまたは活性が増加すれば、被験薬剤がPNC関連遺伝子の発現または機能のエンハンサーであり、PNCの症状を減少させる（例えばPNC 260～605を増加させる）ことを示している。

【0018】

本発明はまた、一つもしくは複数のPNC核酸に結合するか、または核酸配列にコードされる遺伝子産物に結合する検出試薬を有するキットを提供する。同様に、一つまたは複数のPNC核酸に結合する核酸のアレイも提供する。

【0019】

治療法には、被験者にアンチセンス組成物を投与することによって被験者における膵臓癌を治療または予防する方法が含まれる。アンチセンス組成物は、特異的標的遺伝子の発現を減少させる。例えばアンチセンス組成物は、PNC 1～259からなる群より選択される配列と相補的であるヌクレオチドを含む。もう一つの方法には、短鎖干渉RNA ( siRNA ) 組成物を被験者に投与する段階が含まれる。siRNA組成物は、PNC 1～259からなる群より選択される核酸の発現を減少させる。もう一つの方法において、被験者におけるPNCの治療または予防は、被験者にリボザイム組成物を投与することによって行われる。核酸特異的リボザイム組成物は、PNC 1～259からなる群より選択される核酸の発現を減少させる。他の治療法には、PNC 260～605の発現またはPNC 260～605にコードされるポリペプチドの活性を増加させる化合物を被験者に投与する方法が含まれる。

【0020】

本発明にはまた、ワクチンおよびワクチン接種法が含まれる。例えば、被験者におけるPNCを治療または予防する方法は、PNC 1～259からなる群より選択される核酸にコードさ

10

20

30

40

50

れるポリペプチドまたはそのようなポリペプチドの免疫学的活性断片を含むワクチンを被験者に投与することによって行われる。免疫学的活性断片は、完全長の天然に存在するタンパク質より長さが短く、免疫応答を誘導するポリペプチドである。例えば、免疫学的活性断片は、長さが少なくとも8残基であって、T細胞またはB細胞のような免疫細胞を刺激する。免疫細胞の刺激は、細胞増殖、サイトカイン（例えば、IL-2）の産生、または抗体の産生を検出することによって測定される。

#### 【0021】

または、本発明は、悪性膵臓癌を治療または予防する標的分子を提供する。本発明に従って、リンパ節転移、肝転移、および早期再発をともなう膵臓癌細胞で独自の発現パターンの変化を示す遺伝子としてそれぞれ、遺伝子76個（PNC 606～681）、168個（PNC 682～849）および84個（850～933）が同定された。このように、悪性膵臓癌は、PNC 606～640およびPNC 682～741からなる群より選択される上方制御された遺伝子の発現または活性の抑制によって治療または予防することができる。さらに、膵臓癌の再発は、PNC 850～893からなる群より選択される上方制御された遺伝子の発現または活性の抑制によって治療または予防することができる。その上、悪性膵臓癌はまた、癌性細胞において下方制御された遺伝子の発現または活性を増強することによって治療または予防することができる。

10

#### 【0022】

本発明はまた、膵臓癌の再発を予測する方法も提供する。この方法は、PNC 850～879からなる群より選択されるマーカー遺伝子の発現レベルを測定する段階を含む。マーカー遺伝子は、術後12ヶ月以内に再発した患者の膵臓癌細胞において発現パターンの独自の変化を示す遺伝子として同定された。したがって、被験者における膵臓癌の再発は、被験者に由来する試料において検出された発現レベルが参照試料における早期再発症例または再発遅延症例の平均発現レベルのいずれにより近いかを決定することによって予測することができる。

20

#### 【0023】

特に定義していなければ、本明細書において用いた科学技術用語は全て、本発明が属する当業者によって一般的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記述の方法および材料と類似または同等の方法および材料を、本発明の実践または試験において用いることができるが、適した方法および材料を下記に記述する。本明細書において言及した全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献はその全体が参照として本明細書に組み入れられる。矛盾する場合には、定義を含めて本明細書が優先する。さらに、材料、方法、および例は、説明するために限られ、制限することを意図しない。

30

#### 【0024】

本明細書に記述の方法の一つの長所は、膵臓癌の明白な臨床症状を検出する前に疾患が同定されることである。本発明のその他の特徴および長所は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかとなるであろう。

#### 【0025】

詳細な説明

一般的に、膵管腺癌は、非常に線維性間質形成反応の特徴を有し、腫瘍塊に含まれるのは癌細胞のごく低い割合（約30％）に過ぎない。さらに、近年膵臓腺癌の正常な対照組織であると考えられている正常な膵管上皮細胞は、臓器「膵臓」を構成する細胞の全集団の5%未満を占めるに過ぎない（7,8）。したがって、組織全体を用いて正常な膵臓と比較するPNCの遺伝子発現解析は、線維芽細胞、炎症細胞、腺房細胞等のような不必要な細胞の混入によって歪曲され、「ノイズの多いデータ」が得られる。したがって、純粋な細胞集団を単離する方法である、レーザービームを用いた微小切除法（LCM）、またはレーザーマイクロビーム微小切除法（LMM）を用いて、癌細胞と正常上皮細胞とを特異的に得た（9,10）。

40

#### 【0026】

本発明は、PNCを有する患者の腺癌からの上皮細胞において複数の核酸発現パターンの変化を発見したことに一部基づいている。遺伝子発現の差は、包括的なcDNAマイクロアレ

50

イシステムを用いて同定した。

【0027】

PNC 18例からの癌細胞の遺伝子発現プロファイルを、レーザー微小切除法とともに遺伝子23,040個を提示するcDNAマイクロアレイを用いて解析した。レーザー微小切除法によって純粋に選択したPNCと診断された患者からの癌細胞と正常膵管上皮細胞との発現パターンを比較することによって、遺伝子259個がPNC細胞において一般的に上方制御されていると同定され、遺伝子346個がPNC細胞において一般的に下方制御されていると同定された。さらに、患者の血清または喀痰において癌関連タンパク質を検出する可能性を有する候補分子マーカーの選択を行い、ヒトPNCにおいてシグナル抑制戦略を開発するための潜在的ないくつかの標的を発見した。

10

【0028】

本明細書において同定された発現差のある遺伝子は、PNCのマーカーとして、およびその発現がPNCの症状を治療または軽減するために改変される遺伝子標的として、診断目的のために用いられる。

【0029】

PNC患者においてその発現レベルが調節されている（すなわち、増加または減少している）遺伝子を、表3～4に要約し、本明細書において集合的に「PNC関連遺伝子」「PNC核酸」、または「PNCポリヌクレオチド」と呼び、対応するコードされたポリペプチドを「PNCポリペプチド」または「PNCタンパク質」と呼ぶ。特に明記していなければ、「PNC」は、本明細書に開示の任意の配列（例えば、PNC 1～605）を指すことを意味する。遺伝子は、

20

【0030】

細胞試料における様々な遺伝子の発現を測定することによって、PNCが診断される。同様に、様々な薬剤に応答したこれらの遺伝子の発現を測定することによって、PNCを治療するための薬剤を同定することができる。

【0031】

本発明は、表3～4に記載したPNC配列の少なくとも一つから全てまでの発現を決定する（例えば、測定する）ことを含む。既知の配列に関するGenBank（登録商標）データベース登録項目に提供された配列情報を用いて、PNC関連遺伝子を当業者に周知である技術を用いて検出および測定する。例えば、PNC配列に対応する配列データベース登録項目内の配列を用いて、例えばノーザンブロットハイブリダイゼーション解析においてPNC RNA配列を検出するためのプローブを構築する。プローブには、参照配列の少なくとも10、20、50、100、200ヌクレオチドが含まれる。もう一つの例として、配列を用いて、例えば、逆転写を利用したポリメラーゼ連鎖反応のような増幅に基づく検出法においてPNC核酸を特異的に増幅するためのプライマーを構築することができる。

30

【0032】

次に、被験細胞集団、例えば患者由来の組織試料におけるPNC関連遺伝子の一つまたは複数の発現レベルを、参照集団におけるいくつかの遺伝子の発現レベルと比較する。参照細胞集団には、比較されるパラメータが既知である一つまたは複数の細胞、すなわち、膵管腺癌細胞または正常膵管上皮細胞が含まれる。

40

【0033】

参照細胞集団と比較した被験細胞集団における遺伝子発現レベルがPNCまたはそれに対する素因を示すか否かは、参照細胞集団の組成に依存する。例えば、参照細胞集団が非PNC細胞からなる場合、被験細胞集団と参照細胞集団とにおける遺伝子発現パターンが類似であれば、被験細胞集団が非PNCであることを示している。逆に、参照細胞集団がPNC細胞で構成されている場合、被験細胞集団と参照細胞集団のあいだの遺伝子発現プロファイルが類似であれば、被験細胞集団にPNC細胞が含まれることを示している。

【0034】

被験細胞集団におけるPNCマーカー遺伝子の発現レベルは、発現レベルが、参照細胞集団における対応するPNCマーカー遺伝子の発現レベルから1.0、1.5、2.0、5.0、10.0倍ま

50

たはそれ以上参照細胞集団と異なる場合、発現レベルが変化していると見なされる。

【0035】

被験細胞集団と参照細胞集団との遺伝子発現の差を、対照核酸、例えばハウスキーピング遺伝子に対して標準化する。例えば、対照核酸は、細胞の癌性または非癌性状態に応じて差がないことが知られている核酸である。被験核酸および参照核酸における対照核酸の発現レベルを用いて、比較される集団におけるシグナルレベルを標準化することができる。対照遺伝子には、例えばβ-アクチン、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、またはリボソームタンパク質P1が含まれる。

【0036】

被験細胞集団を複数の参照細胞集団と比較する。複数の参照集団のそれぞれは、既知のパラメータが異なってもよい。このように、被験細胞集団を、例えばPNC細胞を含むことがわかっている第二の参照細胞集団と共に、例えば非PNC細胞（正常細胞）を含むことがわかっている第二の参照集団と比較してもよい。被験細胞は、PNC細胞を含むことがわかっているか、または含むことが疑われる被験者からの組織タイプまたは細胞試料に含まれる。

10

【0037】

被験細胞は、生体組織または体液、例えば生物学的液体（血液または喀痰）から得る。例えば、被験細胞は、膵臓組織から精製される。好ましくは、被験細胞集団は上皮細胞を含む。上皮細胞は、膵臓腺癌であることがわかっているか、または疑われる組織から得る。

20

【0038】

参照細胞集団における細胞は、被験細胞と類似の組織タイプに由来する。選択的に、参照細胞集団は、細胞株、例えばPNC細胞株（陽性対照）または正常な非PNC細胞株（陰性対照）である。または、対照細胞集団は、アッセイされるパラメータまたは条件が既知である細胞に由来する分子情報のデータベースに由来する。

【0039】

被験対象は好ましくは哺乳類である。哺乳類は、例えばヒト、ヒト以外の霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、またはウシでありうる。

【0040】

本明細書に開示される遺伝子の発現は、当技術分野において既知の方法を用いてタンパク質または核酸レベルで決定される。例えば、これらの核酸配列の一つまたは複数の特異的に認識するプローブを用いるノーザンハイブリダイゼーション解析を用いて、遺伝子発現を決定することができる。または、発現は、例えば発現に差のある遺伝子配列に対して特異的なプライマーを用いて、逆転写を利用したPCRアッセイを用いて測定される。発現はまた、タンパク質レベルで、すなわち本明細書に記載の遺伝子産物にコードされるポリペプチドのレベルまたはその生物学的活性を測定することによって決定される。そのような方法は当技術分野で周知であり、例えば遺伝子にコードされるタンパク質に対する抗体を利用したイムノアッセイが含まれる。遺伝子にコードされるタンパク質の生物学的活性も同様に周知である。

30

【0041】

膵臓癌の診断

PNCは、被験細胞集団（すなわち患者に由来する生物学的試料）からの一つまたは複数のPNC核酸配列の発現レベルを測定することによって診断される。好ましくは、被験細胞集団は、上皮細胞、例えば膵臓組織から得た細胞を含む。遺伝子発現はまた、血液、または尿のような他の体液から測定される。他の生物学的試料は、タンパク質レベルを測定するために用いることができる。例えば、診断される被験者に由来する血液、血清、または膵液におけるタンパク質レベルは、イムノアッセイまたは生物学的アッセイによって測定することができる。

40

【0042】

一つまたは複数のPNC関連遺伝子、例えばPNC 1~605の発現を、被験細胞または生物学

50

的試料において決定して、正常対照レベルの発現と比較する。正常対照レベルは、PNCを有しないことがわかっている集団において典型的に認められるPNC関連遺伝子の発現プロフィールである。PNC関連遺伝子の患者由来組織試料における発現レベルが増加または減少すれば、被験者がPNCを有するか、またはPNC発症のリスクを有することを示している。例えば、正常対照レベルと比較して被験集団におけるPNC 1～259のレベルが増加すれば、被験者がPNCを有するか、またはPNC発症のリスクを有することを示している。逆に、正常対照レベルと比較して被験集団におけるPNC 260～605の発現が減少すれば、被験者がPNCを有するか、または発症のリスクを有することを示している。

#### 【0043】

一つまたは複数のPNC関連遺伝子が、正常対照レベルと比較して被験集団において変化している場合、被験者がPNCを有するか、またはPNC発症のリスクを有することを示している。例えば、PNC関連遺伝子のパネル（PNC 1～259、PNC 260～605、またはPNC 1～605）の少なくとも1%、5%、25%、50%、60%、80%、90%またはそれ以上が変化している。

#### 【0044】

#### PNCの予後の予測

本発明は、以下の段階を含む、被験者におけるPNCの予後を予測する方法を提供する：

- (a) 予測すべき被験者から採取した標本において、PNC 850～866、894～906からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを検出する段階；
- (b) 一つまたは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを、早期再発症例と再発遅延症例の発現レベルと比較する段階；および
- (c) 一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルが早期再発症例の発現レベルに近い場合、被験者はPNC再発のリスクを有すると決定され、一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルが再発遅延症例の発現レベルに近い場合、被験者がPNCを再発するリスクが低いと決定される段階。

#### 【0045】

本発明において、PNCの予後を予測するためのマーカー遺伝子は、PNC 850～933（表8に示される遺伝子84個）からなる群より選択される少なくとも一つの遺伝子であってよい。遺伝子のヌクレオチド配列およびそれにコードされるアミノ酸配列は、当技術分野で既知である。遺伝子のアクセッション番号に関しては表8を参照されたい。

#### 【0046】

本発明によると、予後の予測は、PNC再発の確率の予測を含む。PNCの再発が術後12ヶ月以内に認められる場合、被験者は予後が不良であると決定される。一つの態様において、PNC 850～866、894～906からなる群より選択される複数のマーカー遺伝子の発現レベルを、予測のために測定することができる。好ましくは、再発遅延症例において上方制御された遺伝子の上位17個（ARGBP2、CBARA1、EEF1G、LCAT、RPL23A、RPL17、ATP1A1、QARS、BZRP、TUFG、SERPINA4、SCAP、HK1、RPS11、SYNGR2、FLOT2、PSMB4）および早期再発症例において上方制御された表8の遺伝子の上位13個（MTMR1、HT010、NPD002、YME1L1、CCT6A、HSPD1、TIMM9、GRB14、FLJ10803、LAMP1、MLLT4、CTSB、RALY）からなる遺伝子30個が、予測に有用である。本発明の方法において、標本は被験者から採取する。好ましい標本には、膵臓癌患者に由来する膵臓組織が含まれる。マーカー遺伝子の発現レベルを測定する方法は当技術分野で周知である。例えば、DNAアレイは、複数のマーカー遺伝子の発現レベルを測定するのに有用である。本発明に従って、第一に、標本におけるそれぞれのマーカー遺伝子の発現レベルを測定して、その後早期再発症例および再発遅延症例の発現レベルと比較する。それぞれの症例のマーカー遺伝子の発現レベルを、発現レベルの比較前に測定することができる。次に、上記の比較に基づいて、一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルが早期再発症例の発現レベルに近ければ、被験者はPNC再発のリスクを有すると決定され、一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルが再発遅延症例のレベルに近ければ、被験者がPNCを再発するリスクは低いと決定される。本発明において、PNCの再発は、統計学的方法によって計算可能な予測スコアを用いて予測することができる。予測スコアを計算する方法は当技術分野で周知である（T.R. Golubら、Science 286：531

10

20

30

40

50

～7、1999；T.J. MacDonaldら、Nat. Genet. 29：143～52、2001）。さらに、本発明における予測スコアを用いた再発の予測は、実施例に開示される方法に従って行ってもよい。

【0047】

PNC関連遺伝子の発現を阻害または増強する薬剤の同定

PNC関連遺伝子の発現または活性を阻害する薬剤は、上方制御されたPNC関連遺伝子を発現する被験細胞集団を被験薬剤に接触させ、PNC関連遺伝子の発現レベルを決定することによって同定される。正常対照レベルと比較して（または被験薬剤の非存在下でのレベルと比較して）薬剤の存在下で発現が減少すれば、その薬剤が上方制御されたPNC関連遺伝子のインヒビターであり、PNCを阻害するのに有用であることを示している。

【0048】

または、下方制御されたPNC関連遺伝子の発現または活性を増強する薬剤は、PNC関連遺伝子を発現する被験細胞集団を被験薬剤に接触させ、下方制御されたPNC関連遺伝子の発現レベルまたは活性を決定することによって同定される。PNC関連遺伝子の正常対照発現レベルまたは活性と比較して発現または活性が増加すれば、被験薬剤が下方制御されたPNC関連遺伝子の発現または活性を増強することを示している。

【0049】

被験細胞集団は、PNC関連遺伝子を発現する任意の細胞である。例えば、被験細胞集団は、細胞が膵臓組織であるか、または膵臓組織に由来する場合のように、上皮細胞を含む。例えば、被験細胞は、腺癌細胞に由来する不死化細胞株である。または、被験細胞は、PNC関連遺伝子をトランスフェクトした細胞、またはレポーター遺伝子に機能的に結合したPNC関連遺伝子の調節配列（例えば、プロモーター配列）をトランスフェクトした細胞である。

【0050】

被験者におけるPNC治療の有効性の評価

本明細書において同定された発現差のあるPNC関連遺伝子によって、PNCの治療経過をモニターすることもできる。この方法において、被験細胞集団は、PNCの治療を受けている被験者から提供される。望ましければ、被験細胞集団は、治療前、治療中、または治療後の様々な時点で被験者から得られる。次に、細胞集団における一つまたは複数のPNC関連遺伝子の発現を決定して、PNC状態が既知である細胞を含む参照細胞集団と比較する。参照細胞は治療に曝露されていない。

【0051】

参照細胞集団がPNC細胞を含まない場合、被験細胞集団と参照細胞集団におけるPNC関連遺伝子の発現が類似であれば、治療が有効であることを示している。しかし、被験集団と正常対照参照細胞集団におけるPNC関連遺伝子の発現に差があれば、あまり好ましくない臨床転帰または予後を示している。

【0052】

「有効」とは、治療によって、病理学的に上方制御された遺伝子の発現が減少するか、病理学的に下方制御された遺伝子の発現が増加するか、または被験者における膵管腺癌の大きさ、発生率、もしくは転移能が減少することを意味する。治療を予防的に適用する場合、「有効である」とは、治療が膵臓腫瘍の形成を遅らせるかもしくは防止すること、または臨床的なPNCの症状を遅らせるか、予防するか、もしくは軽減することを意味する。膵臓腫瘍の評価は、標準的な臨床プロトコルを用いて行われる。

【0053】

有効性は、PNCを診断または治療する任意の既知の方法に関連して決定される。PNCは、例えば症候性の異常、例えば体重の減少、腹痛、背部痛、食欲不振、悪心、嘔吐および全身倦怠感、虚弱、ならびに黄疸を同定することによって診断される。

【0054】

特定の個体にとって適切なPNC治療用の治療薬剤の選択

個体における遺伝的構成の差によって、個体が様々な薬剤を代謝する相対的能力に差が起こりうる。被験者において代謝されて抗PNC薬剤として作用する薬剤は、被験者の細胞

10

20

30

40

50

において、癌性状態に特徴的な遺伝子発現パターンから非癌性状態に特徴的な遺伝子発現パターンへの変化を誘導することによって顕在化しうる。したがって、薬剤が被験者において適したPNCインヒビターであるか否かを決定するために、本明細書に開示される発現差のあるPNC関連遺伝子によって、選択された被験者からの被験細胞集団において、治療効果があるまたは予防効果があると推定されるPNCインヒビターが適切かどうかを調べることができる。

【0055】

特定の被験者にとって適当であるPNCのインヒビターを同定するために、被験者からの被験細胞集団を治療薬剤に曝露して、PNC 1～605遺伝子の一つまたは複数の発現を決定する。

10

【0056】

被験細胞集団は、PNC関連遺伝子を発現するPNC細胞を含む。好ましくは、被験細胞は上皮細胞である。例えば、被験細胞集団を候補薬剤の存在下でインキュベートし、被験試料の遺伝子発現パターンを測定して、一つまたは複数の参照プロファイル、例えばPNC参照発現プロファイルまたは非PNC参照発現プロファイルと比較する。

【0057】

PNCを含む参照細胞集団と比較して、被験細胞集団におけるPNC 1～259の一つもしくは複数の発現が減少するか、またはPNC 260～605の一つもしくは複数の発現が増加すれば、薬剤が治療効果があることを示している。

【0058】

被験薬剤はいかなる化合物または組成物であってよい。例えば、被験薬剤は免疫調節剤である。

20

【0059】

治療薬剤を同定するためのスクリーニングアッセイ

本明細書に開示される発現差のある遺伝子はまた、PNCを治療するための候補治療薬剤を同定するためにも用いることができる。この方法は、候補治療薬剤をスクリーニングし、その薬剤がPNC状態に特徴的なPNC 1～605の発現プロファイルを非PNC状態を示すパターンに変換させるか否かを決定することに基づく。

【0060】

この方法において、細胞を、被験薬剤または被験薬剤の組み合わせ（連続的または結果的に）に曝露して、細胞における一つまたは複数のPNC 1～605の発現を測定する。被験集団におけるPNC関連遺伝子の発現プロファイルを、被験薬剤に曝露していない参照細胞集団におけるPNC関連遺伝子の発現レベルと比較する。

30

【0061】

過小発現された遺伝子の発現を刺激するために、または過剰発現された遺伝子の発現を抑制するために有効な薬剤は、臨床上の利益をもたらすと思われ、そのような化合物を、動物または試験被験者における膵管腺癌の増殖の予防能に関してさらに試験する。

【0062】

さらなる態様において、本発明は、PNCの治療における潜在的な標的である候補薬剤をスクリーニングする方法を提供する。先に詳細に考察したように、マーカー遺伝子の発現レベルまたは活性を制御することによって、PNCの発症および進行を制御することができる。このように、PNCの治療における潜在的な標的である候補薬剤は、マーカー遺伝子の発現レベルおよび活性を指標として用いるスクリーニングによって同定することができる。本発明の状況において、そのようなスクリーニングは、例えば以下の段階を含んでよい：

40

- a) PNC 1～605にコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および
- c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

【0063】

または、本発明のスクリーニング法は、以下の段階を含んでもよい：

50

a) PNC 1～605からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞に候補化合物を接触させる段階；および

b) PNC 1～259からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを減少させるか、またはPNC 260～605からなる群より選択される一つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる化合物を選択する段階。

マーカー遺伝子を発現する細胞には、例えばPNCから確立された細胞株が含まれ；そのような細胞は本発明の上記のスクリーニングに用いることができる。

【0064】

または、本発明のスクリーニング法は、以下の段階を含んでもよい：

a) PNC 1～605からなる群より選択される遺伝子にコードされるポリペプチドに被験化合物を接触させる段階；

b) 段階(a)のポリペプチドの生物学的活性を検出する段階；および

c) 被験化合物の非存在下で検出された生物学的活性と比較して、PNC 1～259にコードされるポリペプチドの生物学的活性を抑制するか、または被験化合物の非存在下で検出された生物学的活性と比較して、PNC 260～605にコードされるポリペプチドの生物学的活性を増強する化合物を選択する段階。

スクリーニングに必要なタンパク質は、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列を用いて、組み換え型タンパク質として得ることができる。マーカー遺伝子の情報に基づいて、当業者は、タンパク質の任意の生物学的活性を選択し、選択された生物学的活性に基づいて、スクリーニングおよび測定法を行うことができる。

【0065】

または、本発明のスクリーニング法は以下の段階を含んでもよい：

a) PNC 1～605からなる群より選択される一つまたは複数のマーカー遺伝子の転写調節領域と、転写調節領域の制御下で発現されるレポーター遺伝子とを含むベクターが導入されている細胞に候補化合物を接触させる段階；

b) 該レポーター遺伝子の活性を測定する段階；および

c) 該マーカー遺伝子がPNC 1～259からなる群より選択される上方制御されたマーカー遺伝子である場合には、対照と比較して該レポーター遺伝子の発現レベルを減少させる化合物、または該マーカー遺伝子がPNC 260～605からなる群より選択される下方制御されたマーカー遺伝子である場合には、対照と比較して該レポーター遺伝子の発現レベルを増強する化合物を選択する段階。

適したレポーター遺伝子および宿主細胞は当技術分野で周知である。スクリーニングのために必要なレポーター構築物は、マーカー遺伝子の転写調節領域を用いて調製することができる。マーカー遺伝子の転写調節領域が当業者に既知である場合、レポーター構築物は、これまでの配列情報を用いて調製することができる。マーカー遺伝子の転写調節領域がまだ同定されていない場合、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列情報に基づいて、転写調節領域を含むヌクレオチドセグメントをゲノムライブラリから単離することができる。

【0066】

スクリーニングによって単離された化合物は、マーカー遺伝子にコードされるタンパク質の活性を阻害し、かつ膀胱癌の治療または予防に適用することができる候補薬物である。

【0067】

その上、マーカー遺伝子にコードされるタンパク質の活性を阻害する化合物の構造の一部が、付加、欠失、および/または置換によって変換されている化合物も同様に、本発明のスクリーニング法によって得ることができる化合物に含まれる。

【0068】

本発明の方法によって単離された化合物をヒト、ならびにマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、サル、ヒヒ、およびチンパンジーのような他の哺乳類のための薬剤として投与する場合、単離された化合物を直接投与してもよく、または既知の薬学的調製法を用いて投与剤形に調製してもよい。例えば、必要に応じて、

10

20

30

40

50

薬物は、糖衣錠、カプセル剤、エリキシル剤およびマイクロカプセルとして経口摂取されるか、または水もしくは他の任意の薬学的に許容される液体との滅菌溶液もしくは懸濁液の注射剤形で非経口摂取されうる。例えば、化合物は、薬学的に許容される担体または媒体、具体的には滅菌水、生理食塩液、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定化剤、着香料、賦形剤、溶剤、保存剤、結合剤などと共に、一般的に許容される投薬実施に必要な単位投与剤形で混合することができる。これらの調製物における活性成分の量によって、指示範囲内の適した用量を得ることができる。

#### 【0069】

錠剤およびカプセル剤に混合することができる添加剤の例は、ゼラチン、コーンスターチ、トラガカントゴム、およびアラビアゴムのような結合剤；結晶セルロースのような賦形剤；コーンスターチ、ゼラチンおよびアルギン酸のような膨張剤；ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤；ショ糖、乳糖、またはサッカリンのような甘味料；ならびにペパーミント、アカモノ油、およびチェリーのような着香料である。単位投与剤形がカプセル剤である場合、油のような液体担体も同様に上記の成分にさらに含めることができる。注射用滅菌組成物は、注射用蒸留水のような溶剤を用いて通常の投薬実施に従って調製することができる。

10

#### 【0070】

生理食塩液、グルコース、ならびにD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、および塩化ナトリウムのような補助剤を含む他の等張液は、注射用水溶液として用いることができる。これらは、アルコール、特にエタノール、プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールのような多価アルコール、ポリソルベート80（商標）およびHCO-50のような非イオン性界面活性剤のような適した溶解剤と共に用いることができる。

20

#### 【0071】

ゴマ油または大豆油を油脂性液体として用いることができ、かつ安息香酸ベンジルまたはベンジルアルコールを溶解剤として共に用いてもよく、リン酸緩衝液および酢酸ナトリウム緩衝液のような緩衝液；塩酸プロカインのような鎮痛剤；ベンジルアルコールおよびフェノールのような安定化剤、ならびに抗酸化剤と共に調製してもよい。調製された注射剤は適したアンプルに充填してもよい。

#### 【0072】

当業者に周知の方法を用いて、本発明の薬学的組成物を患者に、例えば動脈内、静脈内、または経皮注射として投与してもよく、同様に鼻腔内、気管支内、筋肉内、または経口投与としても投与してもよい。投与の用量および方法は、患者の体重および年齢ならびに投与法に応じて変化する；しかし、当業者は、適した投与法を日常的に選択することができる。該化合物がDNAによってコードされうる場合、DNAを遺伝子治療のベクターに挿入して、治療を行うためにベクターを患者に投与することができる。投与の用量および方法は、患者の体重、年齢、および症状に応じて変化するが、当業者はそれらを適切に選択することができる。

30

#### 【0073】

例えば、本発明のタンパク質に結合してその活性を調節する化合物の用量は、症状に依存するが、用量は、正常な成人（体重60 kg）に経口投与する場合、約0.1 mg～約100 mg/日、好ましくは約1.0 mg～約50 mg/日、より好ましくは約1.0 mg～約20 mg/日である。

40

#### 【0074】

正常な成人（体重60 kg）に注射剤形で非経口投与する場合、患者、標的臓器、症状および投与法によって多少の差があるが、約0.01 mg～約30 mg/日、好ましくは約0.1～約20 mg/日、およびより好ましくは約0.1～約10 mg/日を静脈内注射することが都合がよい。同様に、他の動物の場合においても、体重60 kgに変換した量を投与することが可能である。

#### 【0075】

悪性膵臓癌の治療薬剤を同定するスクリーニングアッセイ

本発明は、悪性膵臓癌を治療または予防するための標的分子を提供する。本発明におい

50

て、悪性癌には、以下のような特性を有する癌が含まれる：

- 局所浸潤；
- 侵襲性増殖；および
- 転移。

【0076】

したがって、本発明によると、悪性膵臓癌には、転移を伴う膵臓癌が含まれる。本発明の悪性PNCに関するスクリーニングアッセイは、悪性膵臓癌のマーカー遺伝子を用いて上記のPNCに関する方法に従って行うことができる。

【0077】

本発明において、PNC 606～681、および682～849からなる群より選択されるマーカー遺伝子は、スクリーニングに有用である。表6に示す遺伝子76個（PNC 606～681）は、リンパ節転移に関連した。その遺伝子の中で、遺伝子35個（PNC 606～640）は、リンパ節陽性腫瘍において相対的に上方制御され、遺伝子41個（PNC 641～681）は下方制御された（図3）。さらに、遺伝子168個（PNC 682～849）は、肝転移を伴う膵臓癌細胞（表7）において固有の発現パターンの変化を示し、その遺伝子のうち60個（PNC 682～741）は相対的に上方制御された。本発明によって得られたこれらの上方制御遺伝子の活性または発現を抑制する薬剤は、リンパ節転移または肝転移を伴う悪性膵臓癌を治療または予防するのに有用である。または、本発明によって得られた下方制御された遺伝子の活性または発現を増強する薬剤も同様に、悪性膵臓癌の治療または予防にとって有用である。

【0078】

さらに、本発明は、膵臓癌の再発を治療または予防するための標的分子を提供する。本明細書において、膵臓癌の再発は、術後の膵臓における癌の再発を示す。例えば、術後12ヶ月以内の癌の再発は本発明によって予測することができる。本発明によると、早期再発には術後12ヶ月以内の再発が含まれ、ある症例において再発が術後12ヶ月以内に認められなければ、その症例は、「再発遅延」の膵臓癌であると見なされる。表8に示す遺伝子84個（PNC 850～933）は、本発明のスクリーニングのためのマーカー遺伝子として有用である。それらの中で、図5A-1に示す遺伝子は早期再発症例において上方制御され（PNC 894～933）、図5A-2に示す遺伝子は、再発遅延症例において上方制御される（PNC 850～893）。したがって、早期再発症例において上方制御された遺伝子を抑制する薬剤は、再発を治療または予防するのに有用である。または、再発遅延症例において上方制御された遺伝子を増強する薬剤も同様に、再発を治療または予防するのに有用である。

【0079】

膵臓癌を有する被験者の予後の評価

被験細胞集団における一つまたは複数のPNC関連遺伝子の発現を、患者に由来する参照細胞集団における遺伝子の発現と、病期のスペクトルについて比較することによって、被験者の予後を評価する方法も同様に提供される。被験細胞集団と参照細胞集団における一つもしくは複数のPNC関連遺伝子の遺伝子発現を比較することによって、または被験者に由来する被験細胞集団における経時的な遺伝子発現パターンを比較することによって、被験者の予後を評価することができる。

【0080】

正常対照と比較してPNC 260～605の一つもしくは複数の発現の減少、または正常対照と比較してPNC 1～259の一つもしくは複数の発現の増加は、予後があまり好ましくないことを示している。PNC 1～605の一つまたは複数の発現がより好ましい予後を示している正常対照と比較して類似であれば、被験者にとってより好ましい予後を示している。好ましくは、被験者の予後は、PNC 1～605の発現プロファイルと比較することによって評価することができる。分類スコア（CS）は、発現プロファイルを比較するために用いてもよい。

【0081】

キット

本発明にはまた、PNC検出試薬、例えばオリゴヌクレオチド配列のような一つまたは複数のPNC核酸に特異的に結合するか、またはこれを同定する核酸であって、PNC核酸または

10

20

30

40

50

PNC核酸にコードされるタンパク質に結合する抗体の一部と相補的である核酸が含まれる。試薬は、キットの形で共に包装される。試薬、例えば核酸または抗体（固相マトリクスに結合させるか、またはそれらをマトリクスに結合させるための試薬とは別に包装される）、対照試薬（陽性および/または陰性）、ならびに/または検出標識は異なる容器に包装される。アッセイを行うための説明書（例えば、書面、テープ、VCR、CD-ROM等）がキットに含まれる。キットのアッセイフォーマットは、当技術分野で既知のノーザンハイブリダイゼーションまたはサンドイッチELISAである。

#### 【0082】

例えば、PNC検出試薬は、少なくとも一つのPNC検出部位を形成するために多孔性ストリップのような固相マトリクスに固定する。多孔性ストリップの測定または検出領域には、核酸を含む多数の部位が含まれてもよい。試験ストリップはまた、陰性および/または陽性対照のための部位を含んでもよい。または、対照部位は、試験ストリップとは異なるストリップに存在する。任意で、異なる検出部位は、異なる量の固定された核酸を含んでもよく、すなわち第一の検出部位はより多い量を含み、それに続く部位ではより少ない量を含んでもよい。被験試料を加えると、検出可能なシグナルを示す部位の数が、試料に存在するPNCの量の定量的指標を提供する。検出部位は、任意の適した検出可能な形状で構成されてもよく、典型的に試験ストリップの幅に及ぶバーまたはドットの形状である。

10

#### 【0083】

または、キットは、一つまたは複数の核酸を含む核酸基質アレイを含む。アレイ上の核酸は、PNC 1~605によって示される一つまたは複数の核酸配列を特異的に同定する。PNC 1~605によって表される核酸の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個またはそれ以上の発現は、アレイ試験小片またはチップへの結合レベルによって同定される。基質アレイは、例えば固相基質上、例えば米国特許第5,744,305号に記載される「チップ」上に存在しうる。

20

#### 【0084】

アレイと複数性

本発明にはまた、一つまたは複数の核酸を含む核酸基質アレイも含まれる。アレイ上の核酸は、PNC 1~605によって示される一つまたは複数の核酸配列に特異的に対応する。PNC 1~605によって表される核酸の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個またはそれ以上の発現レベルは、アレイに結合する核酸を検出することによって同定される。

30

#### 【0085】

本発明にはまた、単離された複数の核酸（すなわち、二つまたはそれ以上の核酸の混合物）が含まれる。核酸は、液相または固相に存在し、例えばニトロセルロースメンブレンのような固相支持体に固定される。複数には、PNC 1~605によって示される核酸の一つまたは複数が含まれる。様々な態様において、複数には、PNC 1~605によって表される核酸の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個またはそれ以上が含まれる。

#### 【0086】

膵臓癌を阻害する方法

40

本発明は、PNC 1~259の発現もしくは活性を減少させること、またはPNC 260~605の発現もしくは活性を増加させることによって、被験者におけるPNCの症状を治療または軽減する方法を提供する。治療化合物は、PNCを有するか、または発症のリスクを有する（または感受性がある）被験者に対して予防的または治療的に投与される。そのような被験者は、標準的な臨床的方法を用いて、またはPNC 1~605の発現もしくは活性の異常なレベルを検出することによって同定される。治療薬剤には、細胞周期調節、細胞増殖、およびタンパク質キナーゼ活性のインヒビターが含まれる。

#### 【0087】

治療法には、PNC細胞が由来する同じ組織型の正常細胞と比較して、PNC細胞において発現が減少している遺伝子（「過小発現遺伝子」）の一つまたは複数の遺伝子産物の発現、

50

機能、またはその両者を増加させることが含まれる。これらの方法において、被験者において過小発現されている遺伝子の一つまたは複数の量を増加させる化合物の有効量によって被験者を治療する。投与は全身または局所的となりうる。治療化合物には、過小発現遺伝子のポリペプチド産物、またはその生物学的活性断片、過小発現遺伝子をコードし、PNC細胞における発現を許容する発現制御要素を有する核酸、例えばPNC細胞に対して内因性のそのような遺伝子の発現レベルを増加させる（すなわち、過小発現遺伝子または複数の遺伝子の発現を上方制御する）薬剤が含まれる。そのような化合物の投与は、被験者の膵細胞における異常に過小発現された遺伝子または複数の遺伝子の効果に対抗して、被験者の臨床状態を改善する。

【0088】

10

本方法にはまた、膵癌細胞においてその発現が異常に増加している遺伝子（「過剰発現遺伝子」）の一つまたは複数の遺伝子産物の発現、機能、またはその双方を減少させることが含まれる。発現は、当業者に既知のいくつかの任意の方法によって阻害される。例えば、過剰発現された遺伝子または複数の遺伝子の発現を阻害またはこれに拮抗する核酸、例えば過剰発現された遺伝子または複数の遺伝子の発現を妨害するアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは低分子干渉RNAを被験者に投与することによって発現は阻害される。

【0089】

先に述べたように、PNC 1~259のヌクレオチド配列に対応するアンチセンス核酸を用いて、PNC 1~259の発現レベルを減少させることができる。膵臓癌において上方制御されるPNC 1~259に対応するアンチセンス核酸は、膵臓癌の治療において有用である。具体的には、本発明のアンチセンス核酸は、PNC 1~259またはそれに対応するmRNAに結合して、それによって遺伝子の転写もしくは翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、かつ/またはPNC 1~259にコードされるタンパク質の発現を阻害して、最終的にタンパク質の機能を阻害することによって作用してもよい。本明細書において用いられる「アンチセンス核酸」という用語は、アンチセンス核酸が標的配列に特異的にハイブリダイズすることができる限り、標的配列と完全に相補的であるヌクレオチドおよび一つまたは複数のヌクレオチドのミスマッチを有するヌクレオチドの双方を含む。例えば、本発明のアンチセンス核酸には、少なくとも15連続ヌクレオチドの長さにならなくても少なくとも70%またはそれ以上、好ましくは80%またはそれ以上、より好ましくは90%またはそれ以上、さらにより好ましくは95%またはそれ以上の相同性を有するポリヌクレオチドが含まれる。当技術分野で既知のアルゴリズムを用いて相同性を決定することができる。

20

30

【0090】

本発明のアンチセンス核酸誘導体は、タンパク質をコードするDNAまたはmRNAに結合し、転写または翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、かつタンパク質の発現を阻害し、それによってタンパク質の機能を阻害することによって、マーカー遺伝子にコードされるタンパク質を産生する細胞に作用する。

【0091】

本発明のアンチセンス核酸誘導体は、誘導体に対して不活性な適した基剤と混合することによって、リニメントまたは湿布剤のような外用調製物に調製することができる。

【0092】

40

同様に、必要に応じて、誘導体は、賦形剤、等張剤、溶解剤、安定化剤、保存剤、鎮痛剤等を加えることによって、錠剤、粉剤、顆粒剤、カプセル剤、リポソームカプセル、注射剤、溶液、点鼻液、および凍結乾燥剤に調製することができる。これらは以下の既知の方法によって調製することができる。

【0093】

アンチセンス核酸誘導体は、患部に直接適用することによって、または患部に達するように血管に注入することによって、患者に投与される。アンチセンス封入剤も、持続性および膜透過性を増加するために用いることができる。例としては、リポソーム、ポリ-L-リジン、脂質、コレステロール、リポフェクチンまたはこれらの誘導体である。

【0094】

50

本発明のアンチセンス核酸誘導体の用量は、患者の病態に応じて適切に調節して、所望の量で用いることができる。例えば、0.1~100 mg/kg、好ましくは0.1~50 mg/kgの用量範囲を投与することができる。

【0095】

本発明のアンチセンス核酸は、本発明のタンパク質の発現を阻害するので、本発明のタンパク質の生物学的活性を抑制するのに有用である。同様に、本発明のアンチセンス核酸を含む発現インヒビターは、それらが本発明のタンパク質の生物学的活性を阻害できることから有用である。

【0096】

本発明のアンチセンス核酸には、修飾オリゴヌクレオチドが含まれる。例えば、チオエート型オリゴヌクレオチドを用いて、オリゴヌクレオチドにヌクレアーゼ抵抗性を付与してもよい。

【0097】

同様に、マーカー遺伝子に対するsiRNAを用いて、マーカー遺伝子の発現レベルを減少させることができる。「siRNA」という用語は、標的mRNAの翻訳を防止する二本鎖RNA分子を意味する。DNAがRNAを転写する鋳型となる技術を含む、siRNAを細胞に導入する標準的な方法が用いられる。本発明の状況において、siRNAは、PNC 1~259のような、上方制御されたマーカー遺伝子に対するセンス核酸配列およびアンチセンス核酸配列を含む。siRNAは、単一の転写物が、標的遺伝子からのセンス配列および相補的アンチセンス配列の双方を有するように、例えばヘアピンを有するように構築される。

【0098】

この方法は、例えば細胞の悪性形質転換の結果として上方制御された細胞内の発現を変化させるために用いられる。標的細胞におけるPNC 1~259の一つに対応する転写物に対するsiRNAの結合によって、細胞によるタンパク質産生の減少が起こる。オリゴヌクレオチドの長さは少なくとも10ヌクレオチドであり、天然に存在する転写物と同じ長さであってもよい。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、長さが19~25ヌクレオチドである。最も好ましくは、オリゴヌクレオチドが長さが75、50、25ヌクレオチド未満である。

【0099】

siRNAのヌクレオチド配列は、アンピオン (Ambion) のウェブサイト ([http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA\\_finder.html](http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html)) から入手できるsiRNA設計コンピュータプログラムを用いて設計した。コンピュータプログラムは、以下のプロトコールに基づいてsiRNA合成のためのヌクレオチド配列を選択する。

【0100】

siRNA標的部位の選択：

1. 対象となる転写物のAUG開始コドンから始めて、AAジヌクレオチド配列を求めて下流にスキャンする。潜在的なsiRNA標的部位として、各AAおよび3'隣接ヌクレオチド19個の出現を記録する。Tuschlらは、5'および3'非翻訳領域 (UTR) および開始コドン近傍 (75塩基以内) の領域が、調節タンパク質結合部位により富んでいる可能性があることから、これらに対してsiRNAを設計しないことを推奨している。UTR-結合タンパク質および/または翻訳開始複合体は、siRNAエンドヌクレアーゼ複合体の結合を妨害しうる。
2. 潜在的な標的部位をヒトゲノムデータベースと比較して、他のコード配列と有意な相同性を有する如何なる標的配列も検討から除外する。相同性検索は、NCBIサーバー、[www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)において認められうるBLASTを用いて行うことができる。
3. 合成のために適格な標的配列を選択する。アンピオンでは、好ましくは、評価すべき遺伝子の長さに沿っていくつかの標的配列を選択することができる。

【0101】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAは、本発明のポリペプチドの発現を阻害するので、本発明のポリペプチドの生物学的活性を抑制するのに有用である。同様に、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む発現インヒビターは、それらが本発明のポリペプチドの生物学的活性を阻害できるという点において有用であ

10

20

30

40

50

る。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む組成物は、膵臓癌を治療するのに有用である。

【0102】

または、過剰発現された遺伝子の一つまたは複数の遺伝子産物の機能は、遺伝子産物に結合する化合物、さもなければ遺伝子産物の機能を阻害する化合物を投与することによって阻害される。例えば、化合物は、過剰発現された遺伝子産物または複数の遺伝子産物に結合する抗体である。

【0103】

本発明は、抗体、特に上方制御されたマーカー遺伝子にコードされるタンパク質に対する抗体、または抗体の断片を用いることに言及する。本明細書において用いられるように、「抗体」という用語は、抗体を合成するために用いられる抗原（すなわち、上方制御されたマーカー遺伝子産物）またはそれに近縁の抗原のみと相互作用する（すなわち結合する）、特異的構造を有する免疫グロブリン分子を指す。さらに抗体は、それがマーカー遺伝子にコードされるタンパク質の一つまたは複数の結合する限り、抗体断片または修飾抗体であってもよい。例えば、抗体断片は、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、またはHおよびL鎖からのFv断片が適当なリンカーによって連結されている一本鎖Fv（scFv）であってもよい（Huston, J.S.ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85: 5879~5883 (1988)）。より詳しく述べると、抗体断片は、抗体をパパインまたはペプシンのような酵素によって処理することによって産生してもよい。または、抗体断片をコードする遺伝子を構築して、発現ベクターに挿入し、適当な宿主細胞において発現させてもよい（例えば、Co M.S.ら、J. Immunol. 152: 2968~2976 (1994) ; Better M.およびHorwitz A.H.、Methods Enzymol. 178: 476~496 (1989) ; Pluckthun A.およびSkerra A.、Methods Enzymol. 178: 497~515 (1989) ; Lamoyi E.、Methods Enzymol. 121: 652~663 (1986) ; Rousseaux J.ら、Methods Enzymol. 121: 663~669 (1986) ; Bird R.E.およびWalker B.W.、Trends Biotechnol. 9: 132~137 (1991) を参照されたい）。

10

20

【0104】

抗体は、ポリエチレングリコール（PEG）のような多様な分子に結合させることによって修飾してもよい。本発明は、そのような修飾抗体を提供する。修飾抗体は、抗体を化学修飾することによって得ることができる。これらの修飾法は、当技術分野で慣例的である。

30

【0105】

または、抗体は、ヒト以外の抗体に由来する可変領域とヒト抗体に由来する定常領域とのキメラ抗体として、またはヒト以外の抗体に由来する相補性決定領域（CDR）、ヒト抗体に由来するフレームワーク領域（FR）、および定常領域を含むヒト化抗体として得てもよい。そのような抗体は、既知の技術を用いて調製することができる。

【0106】

癌細胞において起こる特異的な分子変化に対する癌治療は、進行乳癌を治療するためのトラスツズマブ（ヘルセプチン）、慢性骨髄性白血病のためのイマチニブメチレート（グリーベック）、非小細胞肺癌（NSCLC）のためのゲフィチニブ（イレッサ）、ならびにB細胞リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫のためのリツキシマブ（抗CD20 mAb）のような抗癌剤の臨床開発および規制認可によって確認されている（Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. Clin Cancer Res. 2001 10月; 7(10): 2958~70. Review.; Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. N Engl J Med. 2001 3月15日; 344(11): 783~92.; Rehwald U, Schulz H, Reiser M, Sieber M, Staak JO, Morschhauser F, Driessen C, Rudiger T, Muller-Hermelink K, Diehl V, Engert A. Treatment of relapsed CD20+ Hodgkin lymphoma with the monoclonal antibody rituximab is effective and well tolerated: results of a phase 2 trial of the Germ

40

50

an Hodgkin Lymphoma Study Group. Blood. 2003 1月15日 ; 101(2) : 420 ~ 424. ; Fang G, Kim CN, Perkins CL, Ramadevi N, Winton E, Wittmann SおよびBhalla KN. (2000). Blood, 96, 2246 ~ 2253. )。これらの薬剤は、形質転換した細胞のみを標的とすることから、臨床的に有効であり、従来の抗癌剤より許容性が良好である。したがって、そのような薬剤は、癌患者の生存および生活の質を改善するのみならず、分子標的癌治療の考え方が正当であることを証明している。さらに、標的特異的薬剤は、標準的な化学療法と併用して用いた場合に、その有効性を増強することができる (Gianni, L. (2002)、Oncology 63 補遺1、47 ~ 56 ; Klejman A., Rushen L., Morrione A., Slupianek AおよびSkorski T. (2002)、Oncogene 21 : 5868 ~ 5876)。したがって、将来の癌治療はおそらく、従来の薬剤を血管新生および浸潤性のような腫瘍細胞の異なる特徴をねらった標的特異的薬剤と併用することを含むであろう。 10

#### 【0107】

これらの調節法は、エキスピボまたはインピトロで (例えば、細胞を薬剤と共に培養することによって)、またはインピボで (例えば被験者に薬剤を投与することによって) 行われる。この方法は、発現差のある遺伝子の異常な発現または活性を相殺する治療として、タンパク質もしくはタンパク質の組み合わせ、または核酸分子もしくは核酸分子の組み合わせを投与することを含む。

#### 【0108】

遺伝子のレベルまたは生物学的活性の増加 (疾患または障害を有しない被験者と比較して) を特徴とする疾患または障害は、過剰発現された遺伝子または複数の遺伝子の活性に拮抗する (すなわち、減少または阻害する) 治療物質によって治療してもよい。活性に拮抗する治療物質を治療的または予防的に投与する。 20

#### 【0109】

利用してもよい治療物質には、例えば、(i) 過剰発現または過小発現された遺伝子または複数の遺伝子のポリペプチド、またはその類似体、誘導體、断片、もしくは相同体、(ii) 過剰発現または過小発現された遺伝子または複数の遺伝子に対する抗体、(iii) 過剰発現または過小発現された遺伝子または複数の遺伝子をコードする核酸、(iv) アンチセンス核酸または「機能欠損」核酸 (すなわち、一つまたは複数の過剰発現または過小発現遺伝子の核酸内への異種挿入による) ; (v) 低分子干渉RNA (siRNA) ; または (vi) 調節因子 (すなわち、過剰 / 過小発現ポリペプチドとその結合パートナーとの相互作用を変化させるインヒビター、アゴニスト、およびアンタゴニスト)。機能欠損アンチセンス分子は、相同的組み換えによってポリペプチドの内因性の機能を「ロックアウト」するために利用される (例えば、Capecchi、Science 244 : 1288 ~ 1292 (1989) を参照されたい)。 30

#### 【0110】

レベルまたは生物学的活性の減少 (疾患または障害を有しない被験者と比較して) を特徴とする疾患および障害は、活性を増加させる (すなわちアゴニストである) 治療物質によって治療してもよい。活性を上方制御する治療物質は、治療的または予防的に投与してもよい。利用してもよい治療物質には、ポリペプチド (またはその類似体、誘導體、断片もしくは相同体) または生物学的利用能を増加させるアゴニストが含まれるがこれらに限定されない。 40

#### 【0111】

レベルの増加または減少は、ペプチドおよび / またはRNAを定量することによって、患者の組織試料を得て (例えば、生検組織から)、これをRNAまたはペプチドレベル、発現されたペプチドの構造および / または活性 (またはその発現が変化している遺伝子のmRNA) に関してインピトロでアッセイすることによって、容易に検出することができる。当技術分野において周知である方法には、イムノアッセイ (例えば、ウェスタンブロット解析、免疫沈降後のドデシル硫酸ナトリウム (SDS) ポリアクリルアミドゲル電気泳動、免疫細胞化学等)、および / またはmRNAの発現を検出するハイブリダイゼーションアッセイ (例えば、ノーザンアッセイ、ドットブロット、インサイチュハイブリダイゼーション等 50

）が含まれるがこれらに限定されない。

【0112】

予防的投与は、疾患もしくは障害が予防されるように、またはその進行が遅れるように、疾患の明白な臨床症状が発現する前に行われる。

【0113】

治療法には、発現差のある遺伝子の遺伝子産物の活性の一つまたは複数を調節する薬剤に細胞を接触させることが含まれる。タンパク質活性を調節する薬剤には、核酸またはタンパク質、これらのタンパク質、ペプチド、ペプチド模倣体、または他の小分子の、天然に存在する同起源のリガンドが含まれる。例えば、薬剤は、一つまたは複数の異なるように過小発現された遺伝子の一つまたは複数のタンパク質活性を刺激する。

10

【0114】

本発明はまた、PNC 1~259からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチド、もしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドもしくはその断片をコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを被験者に投与する段階を含む、被験者における膀胱癌を治療または予防する方法にも関する。ポリペプチドの投与は、被験者において抗腫瘍免疫を誘導する。抗腫瘍免疫を誘導するために、PNC 1~259からなる群より選択される核酸にコードされるポリペプチド、もしくは該ポリペプチドの免疫学的活性断片、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを投与する。ポリペプチドまたはその免疫学的活性断片はPNCに対するワクチンとして有用である。場合によっては、タンパク質またはその断片は、T細胞受容体（TCR）に結合した形で投与してもよく、またはマクロファージ、樹状細胞（DC）、もしくはB-細胞のような抗原提示細胞（APC）によって提示された形で投与してもよい。DCの強い抗原提示能のため、APCの中では、DCを用いることが最も好ましい。

20

【0115】

本発明において、PNCに対するワクチンとは、動物に接種すると抗腫瘍免疫を誘導する機能を有する物質を指す。本発明によると、PNC 1~259にコードされるポリペプチドまたはその断片は、PNC 1~259を発現するPNC細胞に対して強力かつ特異的な免疫応答を誘導する可能性があるHLA-A24またはHLA-A\*0201拘束性エピトープであることが示唆された。このように、本発明はまた、ポリペプチドを用いて抗腫瘍免疫を誘導する方法も含む。一般的に、抗腫瘍免疫には、以下のような免疫応答が含まれる：

30

- 腫瘍に対する細胞障害性リンパ球の誘導、
- 腫瘍を認識する抗体の誘導、および
- 抗腫瘍サイトカイン産生の誘導。

【0116】

したがって、あるタンパク質が、動物への接種時にこれらの免疫応答のいずれか一つを誘導する場合、そのタンパク質は、抗腫瘍免疫誘導効果を有すると判定される。タンパク質による抗腫瘍免疫の誘導は、宿主におけるタンパク質に対する免疫系の反応をインビボまたはインビトロで観察することによって検出することができる。

【0117】

例えば、細胞障害性Tリンパ球の誘導を検出する方法は周知である。生体内に入る外来物質は、抗原提示細胞（APC）の作用によってT細胞およびB細胞に提示される。APCによって提示された抗原に対して抗原特異的に応答するT細胞は、抗原による刺激によって細胞障害性T細胞（または細胞障害性Tリンパ球；CTL）に分化した後増殖する（これはT細胞の活性化と呼ばれる）。したがって、あるペプチドによるCTL誘導は、APCによるT細胞へのペプチドの提示およびCTLの誘導を検出することによって評価することができる。さらに、APCは、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、マクロファージ、好酸球、およびNK細胞を活性化する効果を有する。CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞も同様に抗腫瘍免疫において重要であることから、ペプチドの抗腫瘍免疫誘導作用は、これらの細胞の活性化効果を指標として用いて評価することができる。

40

【0118】

50

APCとして樹状細胞（DC）を用いてCTLの誘導作用を評価する方法は、当技術分野で周知である。DCは、APCの中でも最も強力なCTL誘導作用を有する代表的なAPCである。この方法では、被験ポリペプチドをまずDCに接触させて、このDCをT細胞に接触させる。DCに接触させた後に、対象細胞に対して細胞障害作用を有するT細胞が検出されれば、被験ポリペプチドが細胞障害性T細胞の誘導活性を有することを示している。腫瘍に対するCTLの活性は、例えば $^{51}\text{Cr}$ 標識腫瘍細胞の溶解を指標として用いて検出することができる。または、 $^3\text{H}$ -チミジン取り込み活性またはLDH（乳糖デヒドロゲナーゼ）放出を指標として用いて腫瘍細胞の損傷の程度を評価する方法も同様に周知である。

#### 【0119】

DCとは別に、末梢血単核球（PBMC）も同様にAPCとして用いてもよい。CTLの誘導は、GM-CSFおよびIL-4の存在下でPBMCを培養することによって増強されることが報告されている。同様に、CTLは、キーホールリンベットヘモシアニン（KLH）およびIL-7の存在下でPBMCを培養することによって誘導されることが示されている。

#### 【0120】

これらの方法によってCTL誘導活性を有することが確認された被験ポリペプチドは、DC活性化効果およびその後のCTL誘導活性を有するポリペプチドである。したがって、腫瘍細胞に対してCTLを誘導するポリペプチドは、腫瘍に対するワクチンとして有用である。さらに、ポリペプチドに接触させることによって腫瘍に対するCTLの誘導能を獲得したAPCは、腫瘍に対するワクチンとして有用である。さらに、APCによるポリペプチド抗原の提示により細胞障害性を獲得したCTLも同様に、腫瘍に対するワクチンとして用いることができる。APCおよびCTLによる抗腫瘍免疫を用いるそのような腫瘍の治療法は、細胞免疫療法と呼ばれる。

#### 【0121】

一般的に、細胞免疫療法のためにポリペプチドを用いる場合、CTL誘導効率は、異なる構造を有する複数のポリペプチドを組み合わせ、それらをDCに接触させることによって増加することが知られている。したがって、DCをタンパク質断片によって刺激する場合、複数のタイプの断片の混合物を用いることが有利である。

#### 【0122】

または、ポリペプチドによる抗腫瘍免疫の誘導は、腫瘍に対する抗体産生の誘導を観察することによって確認することができる。例えば、ポリペプチドに対する抗体が、そのポリペプチドで免疫した実験動物において誘導される場合、そして腫瘍細胞の増殖がそれらの抗体によって抑制される場合、ポリペプチドは、抗腫瘍免疫の誘導能を有すると判定することができる。

#### 【0123】

抗腫瘍免疫は本発明のワクチンを投与することによって誘導され、抗腫瘍免疫の誘導によって、PNCを治療および予防することができる。癌の治療または癌の発症の予防には、癌性細胞の増殖の阻害、癌の退縮、および癌の発生抑制のような段階のいずれかが含まれる。癌を有する個体の死亡率の低下、血液中の腫瘍マーカーの減少、癌に伴う検出可能な症状の軽減等も同様に、癌の治療または予防に含まれる。そのような治療および予防効果は好ましくは統計学的に有意である。例えば、細胞増殖疾患に対するワクチンの治療または予防効果を、ワクチン投与を行わない対照と比較する観察において、5%またはそれ未満は有意水準である。例えば、スチューデントのt-検定、マン-ホイットニーのU検定、またはANOVAを統計解析に用いてもよい。

#### 【0124】

免疫学的活性を有する上記のタンパク質またはそのタンパク質をコードするベクターをアジュバントと併用してもよい。アジュバントは、免疫学的活性を有するタンパク質と共に（または連続して）投与した場合にタンパク質に対する免疫応答を増強する化合物を指す。アジュバントの例には、コレラ毒素、サルモネラ毒素、ミョウバン等が含まれるがこれらに限定されない。さらに、本発明のワクチンは、薬学的に許容される担体と適当に組み合わせてもよい。そのような担体の例は、滅菌水、生理食塩液、リン酸緩衝液、培養液

等である。さらに、ワクチンは必要に応じて、安定化剤、懸濁剤、保存剤、界面活性剤等を含んでもよい。ワクチンは、全身または局所投与される。ワクチン投与は、1回投与によって行ってもよく、または複数回投与によって追加刺激してもよい。

#### 【0125】

本発明のワクチンとしてAPCまたはCTLを用いる場合、腫瘍を例えばエキスピボ法によって治療または予防することができる。より詳しく述べると、治療または予防を受ける被験者のPBMCを採取して、細胞をエキスピボでポリペプチドに接触させて、APCまたはCTLの誘導後、細胞を被験者に投与してもよい。APCはまた、ポリペプチドをコードするベクターをエキスピボでPBMCに導入することによって誘導することができる。インビトロで誘導されたAPCまたはCTLは、投与前にクローニングすることができる。標的細胞を障害する高い活性を有する細胞をクローニングして増殖させることによって、細胞免疫療法をより効率よく行うことができる。さらに、このようにして単離されたAPCおよびCTLを用いて、細胞が由来する個体に対してのみならず、他の個体からの類似のタイプの腫瘍に対する細胞免疫療法のために用いてもよい。

10

#### 【0126】

さらに、本発明のポリペプチドの薬学的有効量を含む、癌のような細胞増殖疾患を治療または予防するための薬学的組成物が提供される。薬学的組成物は、抗腫瘍免疫を惹起するために用いてもよい。

#### 【0127】

悪性膵臓癌の発症または再発を阻害する方法

20

本発明は、マーカー遺伝子の発現もしくは活性を増加または減少させることによって、悪性膵臓癌を治療もしくは予防する方法、または膵臓癌の再発を治療もしくは予防する方法を提供する。本発明によると、悪性膵臓癌の治療または予防に用いることができるマーカー遺伝子は、PNC 606～681（表6）およびPNC 682～849（表7）である。または、再発を治療または予防するためのマーカー遺伝子はPNC 850～933（表8）である。PNC 606～640の遺伝子35個（図3）およびPNC 682～741の遺伝子60個（図4）は、悪性癌細胞において上方制御され、PNC 894～933の遺伝子40個は、早期再発症例において上方制御されている。上方制御されたマーカー遺伝子の任意の一つに対するアンチセンスヌクレオチドおよびsiRNAは、上方制御された遺伝子の発現を抑制するのに有用である。または、上方制御されたマーカー遺伝子の任意の一つにコードされるタンパク質の活性は、そのタンパク質に結合する抗体を投与することによって阻害することができる。さらに、上方制御されたマーカー遺伝子の任意の一つにコードされるタンパク質に対するワクチンは、抗腫瘍免疫を誘導するのに有用である。その上、下方制御された遺伝子またはそれにコードされるタンパク質の投与も同様に、悪性膵臓癌またはその再発を治療または予防するために有効である。

30

#### 【0128】

PNC、悪性PNC、またはPNCの再発を阻害するための薬学的組成物

薬学的製剤には、経口、直腸内、鼻腔内、局所（口腔内および舌下を含む）、腔内、もしくは非経口（筋肉内、皮下、および静脈内を含む）投与に適した製剤、または吸入もしくは吹入による投与に適した製剤が含まれる。好ましくは、投与は静脈内である。製剤は任意で個別の用量単位に包装される。

40

#### 【0129】

経口投与に適した薬学的製剤には、それぞれが活性成分の規定量を含むカプセル剤、カシエ剤、または錠剤が含まれる。製剤にはまた、粉剤、顆粒剤、または溶液、懸濁液、または乳液が含まれる。活性成分は、任意でボラス舐剤またはペーストとして投与される。経口投与用の錠剤およびカプセル剤は、結合剤、充填剤、潤滑剤、崩壊剤、または湿潤剤のような通常の賦形剤を含んでもよい。錠剤は、任意で一つまたは複数の製剤成分との圧縮または成形によって作製してもよい。圧縮錠は、粉剤または顆粒剤のような流動状の活性成分を、任意で結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、潤滑剤、表面活性剤、または分散剤と混合して、適した装置において圧縮することによって調製してもよい。成形錠剤は、不

50

活性液体希釈剤によって湿らせた粉末化合物の混合物を適した機械において成形することによって作製してもよい。錠剤は、当技術分野で周知の方法に従ってコーティングしてもよい。経口液体調製物は、例えば、水性もしくは油性懸濁液、溶液、乳液、シロップ剤、もしくはエリキシル剤の形であってもよく、または使用前に水もしくは他の適した溶剤によって構成するための乾燥製品として提供してもよい。そのような液体調製物は、懸濁剤、乳化剤、非水性溶剤（食用油が含まれてもよい）、または保存剤のような通常の添加剤を含んでもよい。錠剤は任意で、活性成分の徐放または制御放出を提供するように調製してもよい。錠剤の包装は、毎月服用される錠剤1錠を含んでもよい。

#### 【0130】

非経口投与用製剤には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤および意図するレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を含んでもよい水性および非水性滅菌注射剤、ならびに懸濁剤および濃化剤を含んでもよい水性および非水性滅菌懸濁液が含まれる。製剤は、単位用量または複数回用量容器、例えば密封アンプルおよびバイアルに入れてもよく、滅菌液体担体、例えば生理食塩液、注射用水を使用直前に加えるだけでよい凍結乾燥状態で保存してもよい。または、製剤は、連続注入用であってもよい。即時調合注射溶液および懸濁液は、既に記述した種類の滅菌粉末、顆粒、および錠剤から調製してもよい。

10

#### 【0131】

直腸投与用製剤には、カカオバターまたはポリエチレングリコールのような標準的な担体を含む坐剤が含まれる。口内への、例えば口腔内または舌下への局所投与用製剤には、ショ糖およびアカシアまたはトラガカントのような着香基剤に活性成分を含むトローチ剤、ならびにゼラチンとグリセリンまたはショ糖とアカシアのような基剤に活性成分を含む香錠が含まれる。鼻腔内投与の場合、本発明の化合物を液体スプレー、もしくは分散性の粉末として、または点鼻剤の形態で用いてもよい。点鼻剤は、一つまたは複数の分散剤、溶解剤、または懸濁剤も含む水性または非水性基剤によって調製してもよい。

20

#### 【0132】

吸入による投与の場合、吸入器、ネブライザー、加圧バックまたはエアロゾルスプレーを送達するための他の都合のよい手段によって化合物を送達することが都合がよい。加圧バックは、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、または他の適したガスのような適した噴射剤を含んでもよい。加圧エアロゾルの場合、用量単位は、一定量を送達するための弁を提供することによって決定してもよい。

30

#### 【0133】

あるいは、吸入または吹入による投与の場合、化合物は、乾燥粉末組成物、例えば化合物と、乳糖またはデンプンのような適した粉末基剤との粉末混合物の形状をとってもよい。粉末組成物は、単位投与剤形、例えば、粉末が吸入器または吹入器を利用して投与されるカプセル剤、カートリッジ、ゼラチンまたはプリスターパックの形としてもよい。

#### 【0134】

他の製剤には、治療薬剤を放出する埋め込み可能装置および接着パッチが含まれる。

#### 【0135】

望ましければ、活性成分を持続的に放出するように適合された上記の製剤を用いてもよい。薬学的組成物はまた、抗菌剤、免疫抑制剤、または保存剤のような他の活性成分を含んでもよい。

40

#### 【0136】

上記で特に言及した成分の他に、本発明の製剤には、当該製剤のタイプに関して当技術分野において通常の他の薬剤が含まれてもよいと理解すべきであり、例えば経口投与に適した製剤は着香料を含んでもよい。

#### 【0137】

好ましい単位投与製剤は、下記に引用するように、活性成分またはその適当な分画の有効量を含む製剤である。

#### 【0138】

50

上記の条件のそれぞれに関して、組成物、例えばポリペプチドおよび有機化合物は、約0.1～約250 mg/kg/日の用量で経口または注射によって投与される。成人ヒトの用量範囲は一般的に、約5 mg～約17.5 g/日、好ましくは約5 mg～約10 g/日、および最も好ましくは約100 mg～約3 g/日である。錠剤または個別の単位で提供される他の単位投与剤形は、便宜上、同一単位量を複数回投与した量で有効性を示すような単位量、例えば約5 mg～約500 mg、通常約100 mg～約500 mgを含みうる。

#### 【0139】

用いられる用量は、被験者の年齢および性別、治療される正確な障害、およびその重症度を含む多数の要因によって左右されると考えられる。同様に、投与経路も、病態およびその重症度に依存して変化してもよい。

10

#### 【0140】

本発明はさらに、添付の請求の範囲に記述される本発明の範囲を制限しない以下の実施例において説明される。以下の実施例は、PNC細胞において発現に差のある遺伝子の同定および特徴付けを説明する。

#### 【0141】

レーザー微小切除を用いて純粋に選択された癌および正常膵管上皮細胞を用いた、膵臓癌の遺伝子発現プロファイルのゲノム全体のcDNAマイクロアレイ解析

腫瘍マーカーおよび治療行為の標的は、遺伝子23,040個を提示するcDNAマイクロアレイを用いて遺伝子発現プロファイルを解析することによって同定された。高度に繊維性間質形成反応の特徴を有する膵管腺癌は、腫瘍塊において癌細胞を含む割合が低かった。さらに、膵臓癌の発生源である正常膵管上皮細胞は、膵臓組織の数パーセントに相当する。そのため、レーザーマイクロビームによる微小切除(LMM)によって、膵臓癌18例から癌細胞を精製した。遺伝子発現プロファイルを調べて、正常な精製膵管上皮細胞のプロファイルと比較した。これらの細胞集団は均一にされていた(細胞は95%以上に精製された)。その結果として、遺伝子259個が、膵臓癌細胞において一般的に上方制御されていると同定された；それらの中でも遺伝子64個(EST 30個を含む)の疾患との相関および/または機能は、本発明の以前には知られていなかった。上方制御された遺伝子には、インターフェロン誘導性膜貫通タンパク質1(IFITM1)、プラスミノゲン活性化因子、ウロキナーゼ(PLAU)、前立腺幹細胞抗原(PSCA)、S100カルシウム結合タンパク質P(S100P)、およびバキュロウイルスIAPリピート含有5(BIRC5)のような、膵臓癌において既に過剰発現されていることが報告されている遺伝子が含まれた。遺伝子346個は、膵臓癌細胞において一般的に下方制御されていると同定された。それらの中で遺伝子211個は、機能的に特徴づけられ、それらには、AXIN1上方制御1(AXIN1 up-regulated 1)(AXUD1)、肝癌において欠失1(deleted in liver cancer 1)(DLC1)、増殖停止DNA損傷誘導性β(growth arrest and DNA-damage-inducible, beta)(GADD45B)、p53誘導性p53DINP1(p53-inducible p53DINP1)(p53DINP1)のようないくつかの腫瘍抑制遺伝子が含まれた。

20

30

#### 【0142】

本発明の遺伝子発現プロファイルは、初期の方法の多くの制限を克服したことから、非常に正確な癌の参照となる。第一に、臨床試料を用いるマイクロアレイ解析は、様々な細胞成分が癌組織のみならず正常組織にも存在するために困難であった。特に、高度に繊維性間質形成反応を特徴とする膵管腺癌は、腫瘍塊において癌細胞を含む割合が低かった。さらに、正常な膵臓は、ほとんどが膵臓全体の95%以上を占める腺房細胞および島から構成され、膵臓癌の発生源である正常な膵管上皮細胞は膵臓の数%に相当する。したがって、大量の膵臓癌および正常な膵臓組織全体を用いた遺伝子発現プロファイルの解析は、調べた組織に混合している細胞の割合によって有意に影響される；腺房細胞、島細胞、線維芽細胞、および炎症細胞の比率の差は、膵臓の発癌に関与する遺伝子の有意な増加または減少を隠す可能性がある。したがって、本研究において、LMMシステムを用いて、外科標本から癌および正常上皮細胞を非常に高い純度まで(95%またはそれ以上)精製した。LMMによって単一の細胞でさえも微小切除することが可能であるため、この技術は、膵臓癌標本の正確なマイクロアレイ解析にとって重要である。微小切除した膵臓癌および正常膵

40

50

管細胞の純度を評価するために、腺房細胞において特異的に発現されることが知られているAMY1A遺伝子の発現プロファイル解析した。その結果、切除した正常膵管上皮細胞に腺房細胞が混入する比率は、0.29%より低いと推定された。AMY1Aの他に、エラスターゼ1、トリプシン1、および膵リパーゼのような、腺房細胞において高度に発現されている他の遺伝子の発現レベルを調べた。同様の結果が得られ、このことは、LMM技術による細胞集団の精製度が99.2%～99.7%もの高率であったことを示している。

#### 【0143】

第二に、臨床組織、特に膵臓から抽出したRNAの質は、最も重要な要因の一つである。膵臓は、RNアーゼに富む臓器であることが知られており、RNAの分解は非常に迅速に起こる。本研究において、標本から抽出したRNAの質を、変性アガロースゲル電気泳動を用いて28Sおよび18SリボソームRNAを可視化することにより調べた。電気泳動解析の後、二つのリボソームRNAに対応するバンドが明瞭に認められた試料を選択した。例えば、手術切除例56例から選択されたのは18例（32%）であり、すなわち多くは、RNAの質が不良であるために解析に含まれなかった。

10

#### 【0144】

癌細胞ならびに正常膵管上皮細胞を注意深く精製して、その後RNAを単離し、そしてcDNAマイクロアレイ解析を行って、発現が一般的に上方制御された遺伝子（50%を超える癌症例において発現データを得ることができた遺伝子で、その発現比（Cy5/Cy3強度比）が5.0より大きい遺伝子、および症例の33～50%において計算することが可能な遺伝子で、同様に評価したその症例の全てにおいて5.0より大きい発現比を示した遺伝子）259個が同定された。

20

#### 【0145】

90%を超える膵臓癌の遺伝子発現プロファイルは、レーザー微小切除技術を用いて患者の組織から得た高度に精製された細胞集団を試験することによって発現データを得たことから、これまでの膵臓癌発現プロファイルとは異なっていた。本明細書において得られ、記述されたプロファイルは、高度に精製された癌性細胞（膵管腺癌）の集団を解析して、最も関連する正常対照、すなわち高度に精製された正常膵管上皮細胞の集団と比較することによって得られたことから、初期のプロファイルと比較して改善を示す。初期の方法およびプロファイルは、初期のプロファイルの精度および信頼性を減少させる混入細胞の割合が高いことによって妨害された。本発明のプロファイルは、大規模な膵臓癌に関する最初の正確かつゲノム全体の遺伝子発現プロファイルである。これらのデータは、膵臓癌を治療するための治療的調節のための分子標的、および癌または前癌状態の早期の正確な診断のための特異的新規腫瘍マーカーを同定する。

30

#### 【0146】

実施例1：被験試料の調製

疾患組織から得た組織（例えば、PNCからの上皮細胞）および正常組織を、疾患状態、例えばPNCの状態において発現に差のある遺伝子を同定するために評価した。アッセイは以下のように行った。

#### 【0147】

患者、組織試料、およびレーザー微小切除

40

膵臓癌（n=18）および正常膵臓（n=7）の組織試料は、インフォームドコンセントを得た患者からの外科標本から得た。膵臓癌組織は全て浸潤性膵管癌であることを組織学的に確認した。本試験において本発明者らが用いた患者の臨床病理学的特徴を表1に要約する。対応する正常組織ブロックからのほぼ全ての膵管細胞が、主に下流の膵管閉塞のために異形成変化を示したことから、膵臓癌組織18例中4例の膵管細胞しか正常対照として用いるために適していなかった。したがって、さらなる対照膵管細胞を、胆管癌、十二指腸平滑筋肉腫、または膨大部腫瘍のため手術を受けた患者からの正常膵臓組織3例から得た。それぞれの場合において、標本は、手術による切除後直ちに採取して、TissueTek OCT培地（サクラ、東京、日本）に抱埋してから-80℃で保存した。凍結組織を低温槽を用いて8μmの切片に切断して、ヘマトキシリン-エオジンで染色して、組織学的状態をチェッ

50

クした。膵臓癌細胞および正常膵管上皮細胞は、パルス紫外線ナロービームフォーカスレーザー（SL Microtest GmbH、ドイツ）を備えたEZ切断システムを用いて、製造元のプロトコルに従って選択的に単離した。微小切除後、正常症例7例を混合して「正常膵管上皮細胞の普遍的な対照（universal control）」を作製し、これを癌試料18個全ての対照として用いた。

【0148】

（表1）膵臓癌患者の臨床病理学的特徴

| 患者番号 | 年齢 | 性別 | 位置   | pT | pN | M | 病期  | 組織病理学    | 状態 |
|------|----|----|------|----|----|---|-----|----------|----|
| 1    | 74 | M  | pb   | 1  | 0  | 0 | I   | por      | 生存 |
| 2    | 56 | F  | ph   | 2  | 0  | 0 | I   | pap      | 生存 |
| 3    | 61 | M  | ph   | 1  | 0  | 0 | I   | mod      | 生存 |
| 4    | 75 | M  | ph   | 2  | 0  | 0 | I   | pap      | 生存 |
| 5    | 不明 | M  | ph   | 3  | 1  | 0 | III | mod      | 生存 |
| 6    | 不明 | M  | pb   | 4  | 0  | 0 | IVA | well     | 生存 |
| 7    | 77 | M  | phpb | 4  | 0  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 8    | 73 | F  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 9    | 75 | M  | pb   | 4  | 1  | 0 | IVA | adenoscc | 生存 |
| 10   | 61 | M  | ph   | 4  | 0  | 0 | IVA | mod      | 生存 |
| 11   | 64 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | well     | 死亡 |
| 12   | 61 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 13   | 65 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 14   | 46 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 15   | 59 | M  | ph   | 4  | 0  | 0 | IVA | mod=por  | 生存 |
| 16   | 58 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 17   | 74 | F  | pb   | 4  | 1  | 1 | IVB | mod      | 死亡 |
| 18   | 69 | F  | ph   | 4  | 1  | 1 | IVB | mod      | 死亡 |

10

20

臨床病期は、UICC TNM分類に従って判断した。

位置：腫瘍の位置、ph：膵臓頭部、pb：膵臓体部

30

患者は全員、浸潤性膵管腺癌であった、well：分化型の管状腺癌

mod：中等度型の管状腺癌、por：低分化型の管状腺癌、pap：乳頭腺癌

adenoscc：腺扁平上皮癌

【0149】

LMMを用いた膵臓癌細胞および正常膵管上皮細胞の単離

膵臓癌細胞の正確な発現プロファイルを得るために、LMMを用いて癌細胞を精製し、非癌性細胞の混入を防止した。さらに、膵臓癌は膵管細胞に由来するため、膵管上皮細胞を対照として用いた。膵臓における細胞の大部分は腺房細胞であり、膵臓全体を用いることは膵臓の発癌に関連した遺伝子をスクリーニングするのに不适当であると判定された。図1に示すように、代表的な癌の症例（図1Aおよび1B）および正常膵管（図1Cおよび1D）を微小切除した。図1Aおよび1Bは、浸潤性膵管腺癌の分化型と硬性型を示し、癌細胞の比率はそれぞれ約30%および10%であった。LMMによる膵臓癌細胞の単離後、本発明者らは、本試験において用いた膵臓癌細胞の割合は少なくとも95%であると推定した。

40

【0150】

混入する腺房細胞の割合を、普遍的対照として用いた微小切除した正常膵管上皮細胞において調べた（図1Cおよび1D）。正常腺房細胞に限って発現されることが知られているAMY1A遺伝子のシグナル強度を調べた。細胞の>90%が腺房細胞である膵臓組織全体のシグナル強度を調べたところ、ACTBの平均シグナル強度に対する膵アミラーゼ遺伝子の強度の比は、約96.7であったが、本試験における微小切除した正常膵管上皮細胞の強度の比は約0.28であると計算された。この結果は、微小切除した正常膵管上皮細胞における腺房細胞

50

の混入の割合が平均で0.29%であると推定されることを示した(図1)。さらに、腺房細胞の混入の程度を、微小切除した正常膵管上皮細胞において決定した。膵臓の腺房細胞に限って発現される膵アミラーゼ遺伝子(AMY1A)を用いて、微小切除した正常膵管上皮細胞における腺房細胞の比率を評価した。それぞれの強度は $\beta$ -アクチン遺伝子(ACTB)の強度によって以下のように標準化した:

(比率A) 膵臓全体(細胞のほとんどが腺房細胞に相当する)におけるAMY1A / ACTB強度比 = 96.74

(比率B) 微小切除した正常膵管上皮細胞におけるAMY1A / ACTB強度比 = 0.28

混入の割合(%) : (比率B) / (比率A)  $\times$  100 = 0.29%

【0151】

RNAの抽出およびT7ベースのRNA増幅

レーザー微小切除した細胞のそれぞれの試料から、総RNAをRLT溶解緩衝液(QIAGEN、ヒルデン、ドイツ) 350  $\mu$ lに抽出した。混入している如何なるゲノムDNAも除去するために、抽出されたRNAをRNアーゼインヒビター(TOYOBO、大阪、日本) 1単位の存在下でDNアーゼI(Roche、バーゼル、スイス) 30単位で室温で30分間処置した。70  $^{\circ}$ Cで10分間不活化した後、RNAをRNeasyミニキット(QIAGEN)によって、製造元の推奨に従って精製した。DNアーゼI処理したRNAは全て、以前に記述されているようにT7ベースのRNA増幅に供した。ニラウンドの増幅によって、各試料からaRNA 50~100  $\mu$ gが得られた。癌および正常膵管上皮細胞からのaRNAのアリコート2.5  $\mu$ gを、他所で記述されているプロトコールによってそれぞれ、Cy5-dCTPまたはCy3-dCTPによって標識した。ハイブリダイゼーション、洗浄、およびスキャニングは、既に記述されている方法に従って実施した(11)。

【0152】

cDNAマイクロアレイの調製

米国国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)のUniGeneデータベース(ビルド#131)から選択したcDNA 23,040個によるゲノム全体に及ぶcDNAマイクロアレイを構築した。簡単に説明すると、様々なヒト臓器から単離したポリ(A)<sup>+</sup>RNAを鋳型として用いて、cDNAをRT-PCRによって増幅した。反復配列またはポリ(A)配列を含まないアンプリコンの長さは、200~1,100 bpの範囲であった。cDNAマイクロアレイシステムは、本質的に既に記述されているとおりに構築した(11)。

【0153】

データの取得

スポット23,040個からのCy3およびCy5のシグナル強度を定量して、バックグラウンドを差し引き、ArrayVisionソフトウェア(Imaging Research Inc.、セントキャサリンズ、オンタリオ州、カナダ)を用いて解析した。次に、それぞれの標的スポットのCy5(腫瘍)およびCy3(対照)の蛍光強度を、ハウスキーピング遺伝子52個の平均Cy3/Cy5比が1に等しくなるように調整した。低いシグナル強度に由来するデータは信頼性が低いことから、シグナル強度のカットオフ値をそれぞれのスライドガラスについて決定して、Cy3およびCy5色素がいずれも既に記述されたカットオフ値(12)より低いシグナル強度を提供する場合には、さらなる解析から遺伝子を除外した。他の遺伝子に関して、本発明者らは、それぞれの試料の生データを用いてCy5/Cy3比を計算した。

【0154】

半定量的RT-PCR

高度に上方制御された遺伝子58個を選択して、半定量的RT-PCR実験を応用することによってその発現レベルを調べた。それぞれの試料からのaRNAの少量3  $\mu$ gを、ランダムプライマー(Roche)およびSuperscript II(Life Technologies Inc.)を用いて一本鎖cDNAに逆転写した。それぞれのcDNA混合物は、標的DNAまたはチューブリン $\alpha$ 特異的反応のために調製したものと同一プライマーセットを用いるその後のPCR増幅のために希釈した。プライマー配列を表2に記載する。チューブリン- $\alpha$ の発現を内部対照とした。PCR反応のサイクル数を、増幅の直線相に産物の強度がくるように最適化した。

【0155】

10

20

30

40

50

(表2) 半定量的RT-PCR実験のためのプライマー配列

| PNC<br>割付 | アク<br>セッ<br>ション<br>番号 | シン<br>ボル                             | フォワードプライマー                             | 配<br>列<br>番<br>号 | リバースプライマー                               | 配<br>列<br>番<br>号 |    |
|-----------|-----------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|------------------|-----------------------------------------|------------------|----|
| 12        | AA9<br>1682<br>6      | <i>APP</i>                           | 5'-<br>CTGCTGGTCTTCAATTACC<br>AAG-3'   | No.<br>1         | 5'-<br>CTCATCCCCTTATATTGC<br>CACTT-3'   | No.<br>2         |    |
| 13        | L206<br>88            | <i>ARH</i><br><i>GDI</i><br><i>B</i> | 5'-<br>CTCCCTCTGATCCTCCATC<br>AG-3'    | No.<br>3         | 5'-<br>TCTTGTTCTCTTGTGTCGT<br>TTACAG-3' | No.<br>4         | 10 |
| 15        | L242<br>03            | <i>ATD</i><br><i>C</i>               | 5'-<br>CATTCTCTCTGGCGATGGA<br>GTG-3'   | No.<br>5         | 5'-<br>ACCAATGGTTTATTCCAA<br>AGGG-3'    | No.<br>6         |    |
| 16        | U51<br>478            | <i>ATP1</i><br><i>B3</i>             | 5'-<br>CAGTGTACAGTCGCCAGA<br>TAG-3'    | No.<br>7         | 5'-<br>TCCTCACATACAGAACTT<br>CTCCAC-3'  | No.<br>8         |    |
| 19        | U75<br>285            | <i>BIRC</i><br><i>5</i>              | 5'-<br>CTCCCTCAGAAAAAGGCA<br>GTG-3'    | No.<br>9         | 5'-<br>GAAGCTGTAAACAATCCA<br>CCCTG-3'   | No.<br>10        |    |
| 22        | AF0<br>6876<br>0      | <i>BUB</i><br><i>1B</i>              | 5'-<br>AGCTAGGCAATCAAGTCT<br>CAC-3'    | No.<br>11        | 5'-<br>AGGGAAAAGTAGAGACA<br>AATGGG-3'   | No.<br>12        | 20 |
| 33        | AB0<br>1153<br>6      | <i>CEL</i><br><i>SR3</i>             | 5'-<br>AAGCAGCTTCCTGGGAGA<br>TT-3'     | No.<br>13        | 5'-<br>ACGGAACAATTTACACA<br>GACAGG-3'   | No.<br>14        |    |
| 35        | X54<br>941            | <i>CKS</i><br><i>1</i>               | 5'-<br>ACTATTCGGACAAATACG<br>ACGAC-3'  | No.<br>15        | 5'-<br>CACTGTTTGAATGTGCTG<br>GTAAC-3'   | No.<br>16        |    |
| 36        | X54<br>942            | <i>CKS</i><br><i>2</i>               | 5'-<br>CAAGCAGATCTACTACTCG<br>GACAA-3' | No.<br>17        | 5'-<br>CAGTAACCTACTTGCAGT<br>TGCATT-3'  | No.<br>18        |    |
| 48        | AA5<br>7995<br>9      | <i>CYP</i><br><i>2S1</i>             | 5'-<br>CACCTGATTCTACCAAAT<br>GC-3'     | No.<br>19        | 5'-<br>CCTTAAGTCACAAGGAA<br>CGTCAG-3'   | No.<br>20        | 30 |
| 54        | M91<br>670            | <i>E2-</i><br><i>EPF</i>             | 5'-<br>TCTGCTCACAGAGATCCAC<br>G-3'     | No.<br>21        | 5'-<br>TTAGAGACAGAGTTGGA<br>GGGAGG-3'   | No.<br>22        |    |
| 56        | U32<br>645            | <i>ELF4</i>                          | 5'-<br>AGAAATGTCAGCCACGGA<br>AAC-3'    | No.<br>23        | 5'-<br>AAAGGCACTTTAATGCC<br>AACTG-3'    | No.<br>24        |    |
| 57        | AF0<br>1031<br>4      | <i>ENC</i><br><i>1</i>               | 5'-<br>CGATATAGGCATTTGGTCT<br>CAC-3'   | No.<br>25        | 5'-<br>TTTCTCTTCATTAGACTT<br>GGCCTCT-3' | No.<br>26        |    |
| 59        | L366<br>45            | <i>EPH</i><br><i>A4</i>              | 5'-<br>GAAGGCGTGGTCACTAAA<br>TGTA-3'   | No.<br>27        | 5'-<br>CTTTAATTTAGAGGGCG<br>AAGAC-3'    | No.<br>28        |    |
| 61        | AI62<br>7919          | <i>Evi-1</i>                         | 5'-<br>GCAAGCTTGTGCGATGTTA<br>TGT-3'   | No.<br>29        | 5'-<br>CTCCTCCCATAGTAATGC<br>ACTGA-3'   | No.<br>30        | 40 |
| 63        | L167<br>83            | <i>FOX</i><br><i>M1</i>              | 5'-<br>GATGGATGCAACTGAAGC<br>AGAG-3'   | No.<br>31        | 5'-<br>GTCCACCTTCGCTTTTAT<br>TGAGT-3'   | No.<br>32        |    |
| 73        | AA6                   | <i>GW1</i>                           | 5'-                                    | No.              | 5'-                                     | No.              |    |

|     |                  |                                     |                                |           |                                  |           |
|-----|------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|
|     | 5219<br>7        | 12                                  | GAAAATCTGATGGCAGTG<br>ACAA-3'  | 33        | AAGGTTTCCAACACTACTGC<br>ACTGA-3' | 34        |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 74  | J045<br>01       | <i>GYS1</i>                         | TGCCCCACTGTGAAACCACT<br>AG-3'  | No.<br>35 | CATCTCATCTCCGGACAC<br>ACT-3'     | No.<br>36 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 77  | D16<br>431       | <i>HDG<br/>F</i>                    | TATCCCAGCTGCCTAGATT<br>C-3'    | No.<br>37 | GAGTCTTCCCAAGCATCC<br>TATTT-3'   | No.<br>38 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 83  | M16<br>937       | <i>HOX<br/>B7</i>                   | GTACCTATAGGAAAGTCT<br>GTC-3'   | No.<br>39 | AACACGCGAGTGGTAGG<br>TTTT-3'     | No.<br>40 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 84  | AA4<br>9586<br>8 | <i>hPA<br/>D-<br/>colon<br/>y10</i> | CACTGAGCCAACTACTGTC<br>ACTG-3' | No.<br>41 | CTTCCTACCCACAGCTCT<br>TTCTC-3'   | No.<br>42 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 102 | U63<br>743       | <i>KNS<br/>L6</i>                   | ACTCTAGGACTTGCATGAT<br>TGCC-3' | No.<br>43 | TCCTCTAGGACTCTAGGG<br>AGACA-3'   | No.<br>44 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 103 | U70<br>322       | <i>KPN<br/>B2</i>                   | TCTTGAGACTATAAGGG<br>AGCC-3'   | No.<br>45 | TTTGCTTCTTCACATCC<br>ACTG-3'     | No.<br>46 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 115 | X57<br>766       | <i>MMP<br/>11</i>                   | GCACTGAAGCAAGGGTGC<br>TG-3'    | No.<br>47 | GACAGGATTGAGGTATG<br>TTGCAG-3'   | No.<br>48 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 120 | X13<br>293       | <i>MYB<br/>L2</i>                   | TCCTGAGGTGTTGAGGGTG<br>TC-3'   | No.<br>49 | ATCCTAAGCAGGGTCTG<br>AGATG-3'    | No.<br>50 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 125 | X04<br>371       | <i>OAS<br/>I</i>                    | TTTCAGGATCAGTTAAATC<br>GCC-3'  | No.<br>51 | GGCCTGGCTGAATTACCC<br>ATG-3'     | No.<br>52 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 127 | U65<br>785       | <i>ORP<br/>150</i>                  | GTTCTGCTCCTCCAGACA<br>G-3'     | No.<br>53 | GCCCTAGCTCCTGCTACA<br>GA-3'      | No.<br>54 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 132 | D38<br>554       | <i>PCO<br/>LN3</i>                  | GCTCACTGCGTTTGGTTTT<br>C-3'    | No.<br>55 | CAGCATTCTAGGAGAAA<br>GGTGAA-3'   | No.<br>56 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 141 | AA9<br>3198<br>1 | <i>PPM<br/>1B</i>                   | CTGTAACGTTTTCTGAAG<br>CTGT-3'  | No.<br>57 | TCAGTACAGGGTTGGATC<br>AGAGT-3'   | No.<br>58 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 143 | AF0<br>4458<br>8 | <i>PRC<br/>I</i>                    | GTGCCTACTTTGCCTGAGT<br>TC-3'   | No.<br>59 | CAGGACACGTACTGTAT<br>GAGGTAAA-3' | No.<br>60 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 149 | AF0<br>4349<br>8 | <i>PSC<br/>A</i>                    | GACCATGTATGTTTGCACC<br>C-3'    | No.<br>61 | AACTCACGTCAACTCTTG<br>TCCTC-3'   | No.<br>62 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 152 | M77<br>836       | <i>PYC<br/>R1</i>                   | ATCCCAAGTCCAGCGTGA<br>AG-3'    | No.<br>63 | TCCACTATTCCACCCACA<br>GTAAC-3'   | No.<br>64 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 155 | X64<br>652       | <i>RBM<br/>S1</i>                   | CTGTCGAGACGTCTAATGA<br>CC-3'   | No.<br>65 | TTACTAAAATAAACCTGT<br>TCGGGGG-3' | No.<br>66 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 157 | AA3<br>1652<br>5 | <i>REGI<br/>V</i>                   | CCAGTAGTGGCTTCTAGCT<br>C-3'    | No.<br>67 | GAAAAACAAGCAGGAGT<br>TGAGTG-3'   | No.<br>68 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 164 | AA3<br>0806<br>2 | <i>S100<br/>P</i>                   | GCATGATCATAGACGTCTT<br>TTCC-3' | No.<br>69 | GATGAACTCACTGAAGT<br>CCACCT-3'   | No.<br>70 |
|     |                  |                                     | 5'-                            |           | 5'-                              |           |
| 169 | AF0              | <i>SFN</i>                          |                                | No.       |                                  | No.       |

10

20

30

40

|     |      |             |                     |     |                    |     |
|-----|------|-------------|---------------------|-----|--------------------|-----|
|     | 2908 |             | GAGCGCACCTAACCACTG  | 71  | TGAGTGTACAGGGGAA   | 72  |
|     | 2    |             | GTC-3'              |     | CTTTAT-3'          |     |
|     | AA6  |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 170 | 3959 | <i>SLC1</i> | AACCGAAGTCTCCATACA  | No. | GTTCGTGGGAATCATCAG | No. |
|     | 9    | <i>2A2</i>  | CG-3'               | 73  | AG-3'              | 74  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 173 | K03  | <i>SLC2</i> | AACCGAAGTCTCCATACA  | No. | GTTCGTGGGAATCATCAG | No. |
|     | 195  | <i>A1</i>   | CG-3'               | 75  | AG-3'              | 76  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 178 | M32  | <i>SRD</i>  | TCTGTAACAATAACAAGA  | No. | CCAGATGAGATGATAAG  | No. |
|     | 313  | <i>5A1</i>  | CC-3'               | 77  | GCAAAG-3'          | 78  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 180 | M81  | <i>TCE</i>  | TGTCCCAAGTCTTATTTGC | No. | GCAACAGTGGCCTTTAA  | No. |
|     | 601  | <i>A1</i>   | TGA-3'              | 79  | AGTATG-3'          | 80  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 184 | K02  | <i>TK1</i>  | GTAATTGTGGCTGCACTGG | No. | ATTCATAAGCTACAGCA  | No. |
|     | 581  |             | AT-3'               | 81  | GAGGC-3'           | 82  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 188 | U73  | <i>UBC</i>  | ACACACATGCTGCCGAGC  | No. | TAATATACAAGGGCTCA  | No. |
|     | 379  | <i>H10</i>  | TC-3'               | 83  | ACCGAG-3'          | 84  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 196 | AA5  | <i>WHS</i>  | CCTATGAGTGTAGTTGATG | No. | CAACTGGCAAGTCTCAA  | No. |
|     | 8194 | <i>C1</i>   | AC-3'               | 85  | CTCTCT-3'          | 86  |
|     | 0    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 198 | AA7  | <i>FLJ1</i> | TCCAGATGGATTTGTCCTG | No. | TAGTAGCAAGCCCAGTA  | No. |
|     | 0915 | <i>0134</i> | TATC-3'             | 87  | ACCTTG-3'          | 88  |
|     | 5    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 199 | AA8  | <i>FLJ1</i> | GCTTACCATTGAAACTTAA | No. | CTCATTACAGTAGCCCA  | No. |
|     | 0663 | <i>0540</i> | CCCC-3'             | 89  | GTGGT-3'           | 90  |
|     | 0    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 203 | AA9  | <i>FLJ2</i> | GACTTCCACAATGAACAG  | No. | ATTGGAATAAGAGGAAC  | No. |
|     | 1881 | <i>0225</i> | GGTAA-3'            | 91  | AGGAGC-3'          | 92  |
|     | 1    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 208 | D14  | <i>KIAA</i> | CCAATTAGCTTTGTTGAAC | No. | GGCAGCAGTACAACAAT  | No. |
|     | 657  | <i>0101</i> | AGGC-3'             | 93  | CTAAGC-3'          | 94  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 217 | R39  | <i>KIAA</i> | CAGTGCTACACCCACTTCT | No. | ATACCACCAATGGTTCTG | No. |
|     | 794  | <i>1624</i> | TG-3'               | 95  | CTATG-3'           | 96  |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 218 | AA4  | <i>KIAA</i> | CTCATCTTTGAAGCCAGCA | No. | GACTCACAGGCAGGAAC  | No. |
|     | 3404 | <i>1808</i> | G-3'                | 97  | ATC-3'             | 98  |
|     | 5    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 225 | AA5  | <i>FLJ2</i> | GGATAGCTGGGGCATTGT  | No. | TCCATAAAAGAGTTTGGC | No. |
|     | 2311 | <i>1504</i> | CTAG-3'             | 99  | AGTC-3'            | 100 |
|     | 7    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 231 | AA7  | <i>VAN</i>  | GAGTTGTATTATGAAGAG  | No. | ATGTCTCAGACTGTAAGC | No. |
|     | 8933 | <i>GL1</i>  | GCCGA-3'            | 101 | GAAGG-3'           | 102 |
|     | 2    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 234 | AI34 | <i>EST</i>  | GTAGATGTGGGGACAACA  | No. | TTTAAAGTCACCTTAGGT | No. |
|     | 9804 |             | GAGAG-3'            | 103 | TGGGG-3'           | 104 |
|     |      |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 239 | AA8  | <i>EST</i>  | CACCTATCCCTATTACCTG | No. | TCTGAGGGTTTACATTGA | No. |
|     | 0611 |             | ACCC-3'             | 105 | CGACT-3'           | 106 |
|     | 4    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 242 | AA4  | <i>EST</i>  | GAGTCCAGGTAAGTGAAT  | No. | ATTCCACCGAGACCTCT  | No. |
|     | 1956 |             | CTGTCC-3'           | 107 | CATC-3'            | 108 |
|     | 8    |             | 5'-                 |     | 5'-                |     |
| 245 | AA5  | <i>EST</i>  | GTCTATCTGTGCTGGAACC | No. | GTGTAGGTGAGTGCTTTC | No. |
|     | 7018 |             |                     | 109 |                    | 110 |

10

20

30

40

|     |      |            |                      |     |                    |     |    |
|-----|------|------------|----------------------|-----|--------------------|-----|----|
|     | 6    |            | TGAG-3'              |     | TCCA-3'            |     |    |
|     | AA8  |            | 5'-                  |     | 5'-                |     |    |
| 253 | 3032 | <i>EST</i> | ACTCCCGAGTAAATCATA   | No. | GACTGTTTCTACTCCAGA | No. |    |
|     | 6    |            | GAGCC-3'             | 111 | GGGGT-3'           | 112 |    |
|     |      |            | 5'-                  |     | 5'-                |     |    |
| 254 | AI24 | <i>FXV</i> | AAAGCTGATGAGGACAGA   | No. | GGCAGAGGCACAATCAT  | No. |    |
|     | 0520 | <i>D3</i>  | CCAG-3'              | 113 | TTTAG-3'           | 114 |    |
|     |      |            | 5'-                  |     | 5'-                |     |    |
| 259 | AI02 | <i>EST</i> | TGGTGTCTTTCTACCATTC  | No. | AAAAGGCTAGTCCCCTTC | No. |    |
|     | 7791 |            | AAGG-3'              | 115 | TACCT-3'           | 116 |    |
|     |      |            | 5'-                  |     | 5'-                |     |    |
|     | AF1  | <i>TUB</i> | CTTGGGTCTGTAAACAAAGC | No. | AAGGATTATGAGGAGGT  | No. |    |
|     | 4134 | <i>A</i>   | ATTC-3'              | 117 | TGGTGT-3'          | 118 | 10 |
|     | 7    |            |                      |     |                    |     |    |

アクセッション番号および遺伝子シンボルは、UniGeneデータベース（ビルド#131）から検索した。

#### 【0156】

実施例2：PNC関連遺伝子の同定

以下の基準を用いて、膵臓癌に共通して上方制御または下方制御された遺伝子が同定された；1）50%を超える癌症例において発現データを得ることができた遺伝子、および2）その発現比が膵臓癌細胞において5.0より大きい遺伝子（上方制御された遺伝子として定義される）、または情報が得られた症例の50%以上でその発現比が0.2を下回る遺伝子（下方制御された遺伝子として定義される）。その上、3）症例の33～50%において計算することが可能で、その症例の全てにおいて5.0より大きい発現比を発現する遺伝子も同様に、上方制御された遺伝子として評価した。

#### 【0157】

PNC細胞において臨床的に関連する発現パターンを有する遺伝子の同定

膵臓癌患者18人における遺伝子約23,000個の発現を、cDNAマイクロアレイを用いて調べた。個々のデータは、Cy5およびCy3シグナルの双方がカットオフ値より低い場合に除外した。PNC細胞において発現比が5.0より高い上方制御された遺伝子259個を同定した（表3を参照されたい）。それらのうち167個は、正常膵管細胞と比較して10倍より高く発現された。発現比が0.2未満である下方制御された遺伝子346個を同定した（表4を参照されたい）。

#### 【0158】

上方制御された遺伝子の中で、インターフェロン誘導性膜貫通タンパク質1（IFITM1）、プラスミノーゲン活性化因子、ウロキナーゼ（PLAU）、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、S100カルシウム結合タンパク質P（S100P）、RNA結合モチーフ一本鎖相互作用タンパク質1（RBMS1）、およびバキュロウイルスIAPリピート含有5（BIRC5）は、膵臓癌において過剰発現されることが報告されている（5,6）。さらに、これらの上方制御された遺伝子には、シグナル伝達経路、転写因子、細胞周期、および細胞接着に関係するタンパク質をコードする遺伝子が含まれる（表5）。

#### 【0159】

有意に過剰発現された遺伝子は、診断可能性を有し、それらの中で腫瘍の増殖にとって重要である遺伝子は治療可能性も有する。特に、再生遺伝子IV型（REGIV）、エフリンA型受容体4前駆体（EphA4）、およびvang（van gogh、ショウジョウバエ）様1（VANGL1）は、新しい治療薬剤の潜在的な分子標的として有用である。

#### 【0160】

REGIVは、情報が得られた膵臓癌症例の全てにおいて過剰発現され、過剰発現は、半定量的RT-PCRによって膵臓癌症例12例中7例において確認された。REGIVタンパク質は、アミノ酸配列から分泌型タンパク質であると考えられ、実際にその分泌が、HT29-5M12細胞の培養培地において検出されたことから（22）、これは腫瘍マーカーの候補である。

#### 【0161】

10

20

30

40

50

EphA4は、マイクロアレイにおいて情報が得られた膵臓癌症例14例中12例において過剰発現されることが示され、半定量的RT-PCRによって調べた症例12例中9例において確認された。EphA4は、細胞内チロシンキナーゼ触媒ドメインを含むエフリンファミリーに属する膜受容体であることが知られている(23)。如何なるヒト癌においてもEphA4の関与は報告されていない。しかし、癌細胞における高レベル発現と共に、チロシンキナーゼ活性を有する可能性がある細胞質膜受容体タンパク質であるというその特性は、EphA4が治療薬剤の候補遺伝子であることを示唆している。

#### 【0162】

VANGL1は、マイクロアレイデータにおいて情報が得られた膵臓癌症例の全てにおいて過剰発現され、半定量的RT-PCRによって症例12例中9例においてその高い発現が確認された。推定の膜貫通ドメイン4個を含むVANGL1は、調べた正常組織29例中、精巣および卵巣において特異的に発現された(4)。この遺伝子はまた、肝細胞癌においても高度にかつ頻繁に転写活性化された。肝細胞癌においてこの遺伝子発現を強制的に減少させるとアポトーシスを誘導することから(4)、この遺伝子産物は新規抗癌剤を開発するための良好な候補である。上記の遺伝子のような膵臓癌において機能的に高度に過剰発現された遺伝子の中で、その産物が膜性または分泌型と推定される遺伝子は、新規抗癌剤として、または早期検出のための血清学的診断マーカーとしての可能性に関して重要である。

10

#### 【0163】

マイクロアレイ解析によって示される発現プロファイルの信頼性を確認するために、半定量的RT-PCR実験を行った。癌/正常比が情報が得られた遺伝子の中で最高であった他の55個の遺伝子、APP、ARHGD1B、ATDC、ATP1B3、BIRC5、BUB1B、CELSR3、CKS1、CKS2、CYP2S1、E2-EPF、ELF4、ENC1、Evi-1、FOXM1、GW112、GYS1、HDGF、HOXB7、hPAD-colony10、KNSL6、KPNB2、MMP11、MYBL2、OAS1、ORP150、PCOLN3、PPM1B、PRC1、PSCA、PYCR1、RBMS1、S100P、SFN、SLC12A2、SLC2A1、SRD5A1、TCEA1、TK1、UBCH10、WHSC1、FLJ10134、FLJ10540、FLJ20225、KIAA0101、KIAA1624、KIAA1808、FLJ21504、FXVD3、および6個のEST(アクセッション番号AI349804、AA806114、AA419568、AA570186、AA830326、AI027791)をPCR増幅してマイクロアレイデータと比較した。図2に示すように、cDNAマイクロアレイの結果は、調べた症例の大多数においてRT-PCR解析の結果と非常に類似していた。

20

#### 【0164】

APPIは、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 ARHGD1Bは、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 ATDCは、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 ATP1B3は、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 BIRC5は、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 BUB1Bは、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 CELSR3は、その過剰発現が症例12例中9例において確認され、  
 CKS1は、その過剰発現が症例12例中7例において確認され、  
 CKS2は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 CYP2S1は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 E2-EPFは、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 ELF4は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 ENC1は、その過剰発現が症例12例中7例において確認され、  
 Evi-1は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 FOXM1は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 GW112は、その過剰発現が症例12例中7例において確認され、  
 GYS1は、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 HDGFは、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 HOXB7は、その過剰発現が症例12例中6例において確認され、  
 hPAD-colony10は、その過剰発現が症例12例中6例において確認され、  
 KNSL6は、その過剰発現が症例12例において確認され、

30

40

50

KPNB2は、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 MMP11は、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 MYBL2は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 OAS1は、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 ORP150は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 PCOLN3は、その過剰発現が症例12例中4例において確認され、  
 PPM1Bは、その過剰発現が症例12例中3例において確認され、  
 PRC1は、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 PSCAは、その過剰発現が症例12例中6例において確認され、  
 PYCR1は、その過剰発現が症例12例中9例において確認され、  
 RBMS1は、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 S100Pは、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 SFNは、その過剰発現が症例12例中9例において確認され、  
 SLC12A2は、その過剰発現が症例12例中5例において確認され、  
 SLC2A1は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 SRD5A1は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 TCEA1は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 TK1は、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 UBCH10は、その過剰発現が症例12例中10例において確認され、  
 WHSC1は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 FLJ10134は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 FLJ10540は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 FLJ20225は、その過剰発現が症例12例中5例において確認され、  
 KIAA0101は、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 KIAA1624は、その過剰発現が症例12例中9例において確認され、  
 KIAA1808は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 FLJ21504は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 FXYD3は、その過剰発現が症例12例中9例において確認され、  
 アクセション番号AI349804は、その過剰発現が症例12例中11例において確認され、  
 AA806114は、その過剰発現が症例12例中8例において確認され、  
 AA419568は、その過剰発現が症例12例中9例において確認され、  
 AA570186は、その過剰発現が症例12例中6例において確認され、  
 AA830326は、その過剰発現が症例12例において確認され、  
 AI027791は、その過剰発現が症例12例中6例において確認された。

10

20

30

40

50

#### 【0165】

これらのデータは、PNC細胞において一般的に上方制御された遺伝子を同定するための本発明者らの手法の信頼性を確認した。

#### 【0166】

膵臓癌細胞において下方制御された346個の遺伝子のうち、遺伝子211個の機能の特徴を調べた。これらには、AXIN1上方制御1 (AXUD1)、肝癌において欠失1 (DLC1)、増殖停止DNA損傷誘導性β (GADD45B)、p53誘導性p53DINP1 (p53DINP1)のような増殖抑制 (24、27、28、29)に關与することが報告されている遺伝子が含まれる。

#### 【0167】

下方制御された遺伝子は、腫瘍の抑制機能を有する可能性がある。SMAD4、TP53、INK4A、およびBRCA2 (24、25)のような膵臓癌の代表的な腫瘍抑制遺伝子は、下方制御された遺伝子のリストに認められなかったが、AXIN1上方制御1 (AXUD1)、肝癌において欠失1 (DLC1)、増殖停止DNA損傷誘導性β (GADD45B)、p53誘導性p53DINP1 (p53DINP1)のような腫瘍の抑制またはアポトーシスに關与することが報告されている他の遺伝子はこれらのデータに含まれた。

#### 【0168】

核タンパク質であるAXUD1は、Wntシグナル伝達経路の重要なメディエータであるアキシン ( axin ) の上昇に応答して誘導され、初期発生における軸形成において重要である。Wnt-シグナル伝達経路の機能障害または下方制御がヒト腫瘍において認められ、この遺伝子産物が腫瘍抑制機能を有することを示唆している ( 26、27 )。したがって、これらのデータは、AXUD1の下方制御によって、このシグナル伝達経路の下方制御が起こり、それによって膀胱の発癌が起こることを意味している。肝癌において欠失している遺伝子1 ( DLC1 ) は、前立腺、肺、結腸直腸、および乳癌のみならず、ヒト肝臓癌の腫瘍抑制遺伝子の候補であることが示唆されている。DLC1は、Rho GTPアーゼを負に調節するラットp122 RhoG apと高度の配列類似性を有する。したがって、DLC1の下方制御によって、Rho-Rhoキナーゼ経路の構成的活性化が起こり、その後腫瘍形成性の悪性形質転換が起こると考えられる ( 28、29 )。

10

【 0 1 6 9 】

( 表 3 ) 上方制御された遺伝子のリスト

| PNC<br>割付 | アクセッション<br>番号 | シンボル           | 遺伝子名                                                                                           |    |
|-----------|---------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1         | V00478        | <i>ACTB</i>    | アクチン、 $\beta$                                                                                  |    |
| 2         | D26579        | <i>ADAM8</i>   | ディスインテグリンおよびメタロプロテイナーゼドメイン 8                                                                   |    |
| 3         | D14874        | <i>ADM</i>     | アドレノメジュリン                                                                                      |    |
| 4         | H78430        | <i>AHSG</i>    | $\alpha$ -2-HS-糖タンパク質                                                                          |    |
| 5         | W92633        | <i>AIB3</i>    | 甲状腺ホルモン受容体結合タンパク質                                                                              |    |
| 6         | AF024714      | <i>AIM2</i>    | 黒色腫に存在しない(absent in melanoma) 2                                                                |    |
| 7         | X60673        | <i>AK3</i>     | アデニレートキナーゼ 3                                                                                   | 10 |
| 8         | AF047002      | <i>ALY</i>     | 転写活性化補助因子                                                                                      |    |
| 9         | AI341261      | <i>ANLN</i>    | アニリン(anillin) (ショウジョウバエ ( <i>Drosophila</i> ) Scraps の<br>相同体)、アクチン結合タンパク質                     |    |
| 10        | J03578        | <i>ANXA6</i>   | アネキシン A6                                                                                       |    |
| 11        | U81504        | <i>AP3B1</i>   | アダプター関連タンパク質複合体 3、 $\beta$ 1 サブユニット<br>アミロイド $\beta$ (A4)前駆体タンパク質(プロテアーゼネキシン-II、<br>アルツハイマー病)  |    |
| 12        | AA916826      | <i>APP</i>     |                                                                                                |    |
| 13        | L20688        | <i>ARHGDI3</i> | Rho GDP 解離インヒビター(GDI) $\beta$                                                                  |    |
| 14        | AF006086      | <i>ARPC3</i>   | アクチン関連タンパク質 2/3 複合体、サブユニット 3 (21 kD)                                                           | 20 |
| 15        | L24203        | <i>ATDC</i>    | 運動失調-毛細血管拡張 D 群関連タンパク質                                                                         |    |
| 16        | U51478        | <i>ATP1B3</i>  | ATP アーゼ、Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> 輸送、 $\beta$ 3 ポリペプチド                                   |    |
| 17        | AA148566      | <i>ATP2B4</i>  | ATP アーゼ、Ca <sup>++</sup> 輸送、細胞質膜 4<br>ATP アーゼ、H <sup>+</sup> 輸送、リソソーム (空胞プロトンポンプ)、<br>サブユニット 1 |    |
| 18        | W27948        | <i>ATP6S1</i>  |                                                                                                |    |
| 19        | U75285        | <i>BIRC5</i>   | バキュロウイルス IAP リピート含有 5 (サバイビン)                                                                  |    |
| 20        | L13689        | <i>BMI1</i>    | マウス白血病ウイルス(bmi) 腫瘍遺伝子相同体                                                                       |    |
| 21        | W91908        | <i>BRAG</i>    | B 細胞 RAG 関連タンパク質<br>ベンズイミダゾールによって阻害されない出芽 1                                                    |    |
| 22        | AF068760      | <i>BUB1B</i>   | (酵母の相同体)、 $\beta$                                                                              | 30 |
| 23        | AF028824      | <i>C19ORF3</i> | 第 19 染色体オープンリーディングフレーム 3                                                                       |    |
| 24        | J04080        | <i>C1S</i>     | 補体成分 1、s 副成分                                                                                   |    |
| 25        | M15082        | <i>C2</i>      | 補体成分 2                                                                                         |    |
| 26        | AA600048      | <i>CALD1</i>   | カルデスモン 1                                                                                       |    |
| 27        | AA621719      | <i>CAP-C</i>   | 染色体関連ポリペプチド C                                                                                  |    |
| 28        | AA557142      | <i>CD2AP</i>   | CD2 関連タンパク質                                                                                    |    |
| 29        | Z11697        | <i>CD83</i>    | CD83 抗原(活性化 B リンパ球、<br>免疫グロブリンスーパーファミリー)                                                       |    |
| 30        | H52870        | <i>CDC10</i>   | CDC10 (細胞分裂周期 10、出芽酵母 ( <i>S. cerevisiae</i> )、相同体)                                            | 40 |
| 31        | AA421724      | <i>CDC20</i>   | CDC20 (細胞分裂周期 20、出芽酵母、相同体)                                                                     |    |

|    |          |                |                                                                      |    |
|----|----------|----------------|----------------------------------------------------------------------|----|
| 32 | X63629   | <i>CDH3</i>    | カドヘリン 3、I 型、P-カドヘリン(胎盤)                                              |    |
| 33 | AB011536 | <i>CELSR3</i>  | カドヘリン、EGF LAG 7 回貫通 G 型受容体 3、<br>flamingo (ショウジョウバエ) 相同体             |    |
| 34 | X95404   | <i>CFL1</i>    | コフィリン 1 (非筋肉)                                                        |    |
| 35 | X54941   | <i>CKS1</i>    | CDC28 プロテインキナーゼ 1                                                    |    |
| 36 | X54942   | <i>CKS2</i>    | CDC28 プロテインキナーゼ 2                                                    |    |
| 37 | AA001074 | <i>CNNM4</i>   | サイクリン M4                                                             |    |
| 38 | AA977821 | <i>COL1A1</i>  | コラーゲン、I 型、 $\alpha$ 1                                                | 10 |
| 39 | J03464   | <i>COL1A2</i>  | コラーゲン、I 型、 $\alpha$ 2                                                |    |
| 40 | X14420   | <i>COL3A1</i>  | コラーゲン III 型、 $\alpha$ 1 (エーラーズ-ダニロフ症候群 IV 型、<br>常染色体優性)              |    |
| 41 | AI140851 | <i>COL6A1</i>  | コラーゲン VI 型、 $\alpha$ 1                                               |    |
| 42 | J04823   | <i>COX8</i>    | シトクロム c オキシダーゼサブユニット VIII                                            |    |
| 43 | AA523543 | <i>CRABP1</i>  | 細胞レチノイン酸結合タンパク質 1                                                    |    |
| 44 | AA905901 | <i>CRSP3</i>   | Sp1 転写活性化に必要な補助因子、サブユニット 3 (130kD)                                   |    |
| 45 | X16312   | <i>CSNK2B</i>  | カゼインキナーゼ 2、 $\beta$ ポリペプチド                                           | 20 |
| 46 | U16306   | <i>CSPG2</i>   | コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 2 (バーシカン)                                          |    |
| 47 | U40763   | <i>CYP</i>     | Clk 関連 RS シクロフィリン                                                    |    |
| 48 | AA579959 | <i>CYP2S1</i>  | EST から予想されるシトクロム P540 ファミリーメンバー                                      |    |
| 49 | AA863145 | <i>DAO</i>     | D-アミノ酸オキシダーゼ                                                         |    |
| 50 | AI287670 | <i>DDEF1</i>   | 発生分化増強因子 1                                                           |    |
| 51 | AI159886 | <i>DDX21</i>   | DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) ボックスポリペプチド 21                           |    |
| 52 | U90426   | <i>DDXL</i>    | 核 RNA ヘリカーゼ、DEAD ボックスファミリーの DECD 変異体                                 |    |
| 53 | AA921756 | <i>DIA4</i>    | ジアホラーゼ(NADH/NADPH) (シトクロム b-5 レダクターゼ)                                |    |
| 54 | M91670   | <i>E2-EPF</i>  | ユビキチン担体タンパク質                                                         | 30 |
| 55 | AA457022 | <i>E2IG5</i>   | 仮説上のタンパク質、エストラジオール誘導型                                                |    |
| 56 | U32645   | <i>ELF4</i>    | E74-様因子 4 (ets ドメイン転写因子)                                             |    |
| 57 | AF010314 | <i>ENC1</i>    | 外胚葉-神経皮質 (BTB 様ドメインを有する)                                             |    |
| 58 | AF027299 | <i>EPB41L2</i> | 赤血球膜タンパク質バンド 4.1-様 2                                                 |    |
| 59 | L36645   | <i>EPHA4</i>   | EphA4                                                                |    |
| 60 | AA983304 | <i>ERH</i>     | rudimentary (ショウジョウバエ) の相同体のエンハンサー                                   |    |
| 61 | AI627919 | <i>Evi-1</i>   | エコトロピックウイルス組み込み部位 1                                                  |    |
| 62 | X02761   | <i>FN1</i>     | フィブロネクチン 1                                                           | 40 |
| 63 | L16783   | <i>FOXMI</i>   | フォークヘッドボックス M1                                                       |    |
| 64 | M14333   | <i>FYN</i>     | SRC、FGR、YES に関連した FYN 腫瘍遺伝子                                          |    |
| 65 | N36998   | <i>GALNT2</i>  | UDP-N-アセチル- $\alpha$ -D-ガラクトサミン:ポリペプチド N-アセチル<br>ガラクトサミニルトランスフェラーゼ 2 |    |

|     |          |                                |                                                                           |    |
|-----|----------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 66  | AA418167 | <i>GATA3</i>                   | GATA-結合タンパク質 3                                                            |    |
| 67  | U78027   | <i>GLA</i>                     | ガラクトシダーゼ、 $\alpha$                                                        |    |
| 68  | AF040260 | <i>GMDS</i>                    | GDP-マンノース 4,6-デヒドラターゼ<br>グアニンヌクレオチド結合タンパク質(G タンパク質)、<br>$\alpha$ z ポリペプチド |    |
| 69  | J03260   | <i>GNAZ</i>                    |                                                                           |    |
| 70  | D63997   | <i>GOLGA3</i>                  | ゴルジ自己抗原、ゴルジサブファミリー a、3                                                    |    |
| 71  | X62320   | <i>GRN</i>                     | グラニューリン                                                                   |    |
| 72  | D87119   | <i>GS3955</i>                  | GS3955 タンパク質                                                              |    |
| 73  | AA652197 | <i>GW112</i>                   | 造血系列において発現に差がある                                                           | 10 |
| 74  | J04501   | <i>GYS1</i>                    | グリコーゲンシンターゼ 1 (筋肉)                                                        |    |
| 75  | M60756   | <i>H2BFQ</i>                   | H2B ヒストンファミリー、メンバー Q                                                      |    |
| 76  | AA608605 | <i>HCS</i>                     | シトクロム c                                                                   |    |
| 77  | D16431   | <i>HDGF</i>                    | 肝癌由来増殖因子(高移動度群タンパク質 1-様)                                                  |    |
| 78  | X63187   | <i>HE4</i>                     | 精巢上体特異的乳清酸性タンパク質型、4 つのジスルフィドコア                                            |    |
| 79  | AA714394 | <i>HMG2</i>                    | 高移動度群(非ヒストン染色体)タンパク質 2                                                    |    |
| 80  | X92518   | <i>HMGIC</i>                   | 高移動度群(非ヒストン染色体)タンパク質アイソフォーム I-C                                           |    |
| 81  | X06985   | <i>HMOX1</i>                   | ヘムオキシゲナーゼ(デサイクリング) 1                                                      | 20 |
| 82  | N92060   | <i>HNRPL</i>                   | ヘテロ核内リボ核タンパク質 L                                                           |    |
| 83  | M16937   | <i>HOXB7</i>                   | ホメオボックス B7                                                                |    |
| 84  | AA495868 | <i>hPAD-colony10</i>           | ペプチジルアルギニンデイミナーゼ I 型                                                      |    |
| 85  | AF070616 | <i>HPCAL1</i>                  | ヒポカルシン様 1                                                                 |    |
| 86  | AF064084 | <i>ICMT</i>                    | イソプレニルシステインカルボキシリメチルトランスフェラーゼ                                             |    |
| 87  | AA328385 | <i>ICSBP1</i>                  | インターフェロンコンセンサス配列結合タンパク質 1                                                 |    |
| 88  | AA573936 | <i>IDH2</i>                    | イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 2 (NADP+)、ミトコンドリア                                          |    |
| 89  | AI341760 | <i>IFI27</i>                   | インターフェロン $\alpha$ 誘導性タンパク質 27                                             | 30 |
| 90  | AI081175 | <i>IFITM1</i>                  | インターフェロン誘導性膜貫通タンパク質 1 (9~27)                                              |    |
| 91  | X16302   | <i>IGFBP2</i>                  | インスリン様成長因子結合タンパク質 2 (36 kD)                                               |    |
| 92  | M87789   | <i>IGHG3</i>                   | 免疫グロブリン重鎖定常 $\gamma$ 3 (G3m マーカー)                                         |    |
| 93  | M87790   | <i>Igl<math>\lambda</math></i> | 免疫グロブリン $\lambda$ 座                                                       |    |
| 94  | S74221   | <i>IK</i>                      | IK サイトカイン、HLA II の下方制御因子                                                  |    |
| 95  | X59770   | <i>IL1R2</i>                   | インターロイキン 1 受容体、II 型                                                       |    |
| 96  | J05272   | <i>IMPDH1</i>                  | IMP (イノシンーリン酸) デヒドロゲナーゼ 1                                                 |    |
| 97  | AB003184 | <i>ISLR</i>                    | ロイシンリッチリピートを含む免疫グロブリンスーパーファミリー                                            | 40 |
| 98  | M15395   | <i>ITGB2</i>                   | インテグリン、 $\beta$ 2                                                         |    |
| 99  | L38961   | <i>ITM1</i>                    | 組込型膜タンパク質 1                                                               |    |
| 100 | AA574178 | <i>KAI1</i>                    | カンガイ (Kangai) 1                                                           |    |

|     |          |                   |                                                                              |    |
|-----|----------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|----|
|     |          |                   | カリウム電位依存性チャンネル、<br>シェーカー関連スーパーファミリー、メンバー5                                    |    |
| 101 | M55513   | <i>KCNA5</i>      |                                                                              |    |
| 102 | U63743   | <i>KNSL6</i>      | キネシン様 6 (細胞分裂セントロメア関連キネシン)                                                   |    |
| 103 | U70322   | <i>KPNB2</i>      | カリオフィリン (インポーチン) $\beta$ 2                                                   |    |
| 104 | J00269   | <i>KRT6A</i>      | ケラチン 6A                                                                      |    |
| 105 | X53305   | <i>LAP18</i>      | 白血病関連リンタンパク質 p18 (スタスミン)                                                     |    |
| 106 | AA742701 | <i>LCPI</i>       | リンパ球細胞質タンパク質 1 (L-プラスチン)                                                     |    |
| 107 | AA826336 | <i>LHFPL2</i>     | 脂肪腫 HMGIC 融合パートナー様 2                                                         |    |
| 108 | U24576   | <i>LMO4</i>       | LIMドメインオンリー4                                                                 | 10 |
| 109 | AA555023 | <i>LOC51191</i>   | サイクリン-E 結合タンパク質 1                                                            |    |
| 110 | AI299952 | <i>LOC51765</i>   | セリン/トレオニンタンパク質キナーゼ MASK                                                      |    |
| 111 | U89942   | <i>LOXL2</i>      | リシルオキシダーゼ様 2                                                                 |    |
|     |          |                   | マンノシル ( $\alpha$ , 6-) 糖タンパク質 $\beta$ 、2-N-アセチルグルコサミニル<br>トランスフェラーゼ          |    |
| 112 | U15128   | <i>MGAT2</i>      |                                                                              |    |
| 113 | J03746   | <i>MGST1</i>      | ミクロソームグルタチオン S-トランスフェラーゼ 1                                                   |    |
|     |          |                   | 骨髄/リンパ性または混合系統白血病(trithorax (ショウジョウバ<br>エ) 相同体); 転座 (translocated to), 4     |    |
| 114 | AA531437 | <i>MLLT4</i>      |                                                                              |    |
| 115 | X57766   | <i>MMP11</i>      | マトリクスメタロプロテナーゼ 11 (ストロメリシン 3)                                                | 20 |
|     |          |                   | マトリクスメタロプロテナーゼ 9 (ゼラチナーゼ B、92 kD ゼラチナ<br>ーゼ、92 kD IV 型コラゲナーゼ)                |    |
| 116 | J05070   | <i>MMP9</i>       |                                                                              |    |
|     |          |                   | モリブデン補助因子生合成タンパク質 A;<br>モリブデン補助因子生合成タンパク質 C                                  |    |
| 117 | AF034374 | <i>MOCS1</i>      |                                                                              |    |
| 118 | M74905   | <i>MPG</i>        | N-メチルプリン-DNA グリコシラーゼ                                                         |    |
| 119 | AA458825 | <i>MTIF2</i>      | ミトコンドリア転写開始因子 2                                                              |    |
| 120 | X13293   | <i>MYBL2</i>      | v-myb トリ骨髄芽球症ウイルス腫瘍遺伝子相同体様 2                                                 |    |
| 121 | D32002   | <i>NCBP1</i>      | 核キャップ結合タンパク質サブユニット 1、80 kD                                                   |    |
| 122 | AA729022 | <i>NCOA3</i>      | 核受容体活性化補助因子 3                                                                | 30 |
|     |          |                   | NADH デヒドロゲナーゼ (ユビキノン) Fe-S タンパク質 5 (15 kD)<br>(NADH-コエンザイム Q レダクターゼ)         |    |
| 123 | AF047434 | <i>NDUFS5</i>     |                                                                              |    |
| 124 | AA602490 | <i>NOP5/NOP58</i> | 核タンパク質 NOP5/NOP58                                                            |    |
| 125 | X04371   | <i>OAS1</i>       | 2',5'-オリゴアデニレートシンセターゼ 1 (40~46 kD)                                           |    |
| 126 | M23204   | <i>OAT</i>        | オルニチンアミノトランスフェラーゼ (脳回転状萎縮)                                                   |    |
| 127 | U65785   | <i>ORP150</i>     | 酸素調節タンパク質 (150 kD)                                                           |    |
| 128 | AI223298 | <i>P125</i>       | Sec23-相互作用タンパク質 p125                                                         |    |
|     |          |                   | プロコラーゲン-プロリン、2-オキソグルタレート 4-ジオキシゲナー<br>ゼ (プロリン 4-ヒドロキシラーゼ)、 $\alpha$ ポリペプチド I | 40 |
| 129 | M24486   | <i>P4HA1</i>      |                                                                              |    |
| 130 | M80482   | <i>PACE4</i>      | 塩基性アミノ酸対切断系 4                                                                |    |
| 131 | L11370   | <i>PCDH1</i>      | プロトカドヘリン 1 (カドヘリン様 1)                                                        |    |
| 132 | D38554   | <i>PCOLN3</i>     | プロコラーゲン (III 型) N-エンドペプチダーゼ                                                  |    |

|     |          |                 |                                                                                     |    |
|-----|----------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 133 | AA034069 | <i>PDK1</i>     | ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ、インソ酵素 1                                                           |    |
| 134 | AA586974 | <i>PI3</i>      | プロテアーゼインヒビター3、皮膚由来(SKALP)                                                           |    |
| 135 | M16750   | <i>PIM1</i>     | pim 腫瘍遺伝子                                                                           |    |
| 136 | AA234962 | <i>PKP3</i>     | プラコフィリン 3                                                                           |    |
| 137 | X02419   | <i>PLAU</i>     | プラスミノゲン活性化因子、ウロキナーゼ                                                                 |    |
| 138 | AA308562 | <i>PLEK2</i>    | プレックストリン 2(マウス)相同体                                                                  |    |
| 139 | U97519   | <i>PODXL</i>    | ポドカリキシン様                                                                            |    |
| 140 | AI185998 | <i>PPIC</i>     | ペプチジルプロリルイソメラーゼ C(シクロフィリン C)                                                        | 10 |
| 141 | AA931981 | <i>PPM1B</i>    | タンパク質ホスファターゼ 1B(以前の 2C)、<br>マグネシウム依存性、 $\beta$ アイソフォーム                              |    |
| 142 | L42373   | <i>PPP2R5A</i>  | タンパク質ホスファターゼ 2、調節サブユニット B(B56)、<br>$\alpha$ アイソフォーム                                 |    |
| 143 | AF044588 | <i>PRC1</i>     | 細胞質分裂のタンパク質制御因子 1                                                                   |    |
| 144 | X74496   | <i>PREP</i>     | プロリルエンドペプチダーゼ                                                                       |    |
| 145 | M65066   | <i>PRKAR1B</i>  | タンパク質キナーゼ、cAMP 依存性、調節、I 型、 $\beta$                                                  |    |
| 146 | AA972414 | <i>PRO2975</i>  | 仮説上のタンパク質 PRO2975                                                                   |    |
| 147 | D00860   | <i>PRPS1</i>    | ホスホリボシルピロホスフェートシンセターゼ I                                                             |    |
| 148 | D87258   | <i>PRSS11</i>   | プロテアーゼ、セリン、11(IGF 結合)                                                               | 20 |
| 149 | AF043498 | <i>PSCA</i>     | 前立腺幹細胞抗原                                                                            |    |
| 150 | D26598   | <i>PSMB3</i>    | プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン)サブユニット、 $\beta$ 型、3<br>ポリピリミジントラクト結合タンパク質<br>(ヘテロ核内リボ核タンパク質 I) |    |
| 151 | X62006   | <i>PTB</i>      |                                                                                     |    |
| 152 | M77836   | <i>PYCR1</i>    | ピロリン-5-カルボキシレートレダクターゼ 1                                                             |    |
| 153 | X12953   | <i>RAB2</i>     | RAB2、RAS 腫瘍遺伝子ファミリーメンバー                                                             |    |
| 154 | AA346311 | <i>RAI3</i>     | レチノイン酸誘導性 3                                                                         |    |
| 155 | X64652   | <i>RBMS1</i>    | RNA 結合モチーフ、一本鎖相互作用タンパク質 1                                                           | 30 |
| 156 | S45545   | <i>RCV1</i>     | リカバリン                                                                               |    |
| 157 | AA316525 | <i>REGIV</i>    | 再生遺伝子 IV 型                                                                          |    |
| 158 | AB008109 | <i>RGS5</i>     | G タンパク質シグナル伝達制御因子 5                                                                 |    |
| 159 | AA778308 | <i>RNASE1</i>   | リボヌクレアーゼ、RNA アーゼ A ファミリー、1(脾臓)                                                      |    |
| 160 | AA811043 | <i>RNASE6PL</i> | リボヌクレアーゼ 6 前駆体                                                                      |    |
| 161 | L05096   | <i>RPL39</i>    | ヒト(Homo sapiens)リボソームタンパク質 L39 mRNA、完全 cds                                          |    |
| 162 | X76302   | <i>RY1</i>      | 推定核酸結合タンパク質 RY                                                                      |    |
| 163 | D38583   | <i>S100A11</i>  | S100 カルシウム結合タンパク質 A11(カルギザリン)                                                       |    |
| 164 | AA308062 | <i>S100P</i>    | S100-カルシウム結合タンパク質 P                                                                 | 40 |
| 165 | AA452018 | <i>SCD</i>      | ステアロイル-CoA デサチュラーゼ( $\delta$ -9-デサチュラーゼ)                                            |    |
| 166 | D49737   | <i>SDHC</i>     | コハク酸デヒドロゲナーゼ複合体、サブユニット C、組込型膜タン<br>パク質、15 kD                                        |    |

|     |          |          |                                              |    |
|-----|----------|----------|----------------------------------------------|----|
| 167 | AA579861 | SEC23A   | Sec23 (出芽酵母) 相同体 A                           |    |
| 168 | AA430643 | SEPW1    | セレノプロテイン W、1                                 |    |
| 169 | AF029082 | SFN      | ストラチフィン (stratifin)                          |    |
| 170 | AA639599 | SLC12A2  | 溶質担体ファミリー12 (ナトリウム/カリウム/塩素輸送体)、<br>メンバー2     |    |
| 171 | L20859   | SLC20A1  | 溶質担体ファミリー20 (リン酸輸送体)、メンバー1                   |    |
| 172 | L02785   | SLC26A3  | 溶質担体ファミリー26、メンバー3                            |    |
| 173 | K03195   | SLC2A1   | 溶質担体ファミリー2 (促進性グルコース輸送体)、メンバー1               |    |
| 174 | U09873   | SNL      | singed (ショウジョウバエ) 様 (ウニのファスシン相同体様)           | 10 |
| 175 | X13482   | SNRPA1   | 核内低分子リボ核タンパク質ポリペプチド A                        |    |
| 176 | M37716   | SNRPE    | 核内低分子リボ核タンパク質ポリペプチド E                        |    |
| 177 | J03040   | SPARC    | 分泌型タンパク質、酸性、システインリッチ (オステオネクチン)              |    |
| 178 | M32313   | SRD5A1   | ステロイド-5- $\alpha$ -レダクターゼ、 $\alpha$ ポリペプチド 1 |    |
| 179 | M95787   | TAGLN    | トランスゲリン (transgelin)                         |    |
| 180 | M81601   | TCEA1    | 転写伸長因子 A (SII)、1                             |    |
| 181 | AF033095 | TEGT     | 精巢増強遺伝子転写物 (BAX インヒビター1)                     |    |
| 182 | L12350   | THBS2    | トロンボスポンジン 2                                  | 20 |
| 183 | M77142   | TIA1     | TIA1 細胞障害性顆粒関連 RNA 結合タンパク質                   |    |
| 184 | K02581   | TK1      | チミジンキナーゼ 1、可溶性                               |    |
| 185 | AA429631 | TK2      | チミジンキナーゼ 2、ミトコンドリア                           |    |
| 186 | U09087   | TMPO     | サイモポエチン                                      |    |
| 187 | AF065388 | TSPAN    | テトラスパン 1                                     |    |
| 188 | U73379   | UBCH10   | ユビキチン担体タンパク質 E2-C                            |    |
| 189 | AA977545 | UBE2D2   | ユビキチン結合酵素 E2D 2 (酵母 UBC 4/5 と相同)             |    |
| 190 | U45328   | UBE2I    | ユビキチン結合酵素 E2I (酵母 UBC 9 と相同)                 | 30 |
| 191 | M57899   | UGT1A1   | UDP グリコシルトランスフェラーゼ 1 ファミリー、ポリペプチド A1         |    |
| 192 | AA315189 | UQCRB    | ユビキノール-シトクロム C レダクターゼ結合タンパク質                 |    |
| 193 | AB000450 | VRK2     | ワクシニア関連キナーゼ 2                                |    |
| 194 | AA079060 | WFDC2    | WAP 4 ジスルフィドコアドメイン 2                         |    |
| 195 | AA043277 | WFS1     | ウォルフラム症候群 1 (ウォルフラミン)                        |    |
| 196 | AA581940 | WHSC1    | ウルフ-ヒルシュホルン症候群 候補 1                          |    |
| 197 | AI185056 | ZNF134   | ジンクフィンガータンパク質 134 (クローン pHZ5)                |    |
| 198 | AA709155 | FLJ10134 | 仮説上のタンパク質 FLJ10134                           | 40 |
| 199 | AA806630 | FLJ10540 | 仮説上のタンパク質 FLJ10540                           |    |
| 200 | AA115015 | FLJ10633 | 仮説上のタンパク質 FLJ10633                           |    |
| 201 | AA394229 | FLJ10637 | 仮説上のタンパク質 FLJ10637                           |    |

|     |          |                 |                                                        |    |
|-----|----------|-----------------|--------------------------------------------------------|----|
| 202 | AA633302 | <i>FLJ20063</i> | 仮説上のタンパク質 FLJ20063                                     |    |
| 203 | AA918811 | <i>FLJ20225</i> | 仮説上のタンパク質                                              |    |
| 204 | R09189   | <i>FLJ20281</i> | 仮説上のタンパク質 FLJ20281                                     |    |
| 205 | AA112198 | <i>FLJ20296</i> | 仮説上のタンパク質 FLJ20296                                     |    |
| 206 | AI033837 | <i>FLJ20406</i> | 仮説上のタンパク質 FLJ20406                                     |    |
| 207 | AA974462 | <i>FLJ23053</i> | 仮説上のタンパク質 FLJ23053                                     |    |
| 208 | D14657   | <i>KIAA0101</i> | KIAA0101 遺伝子産物                                         |    |
| 209 | D61862   | <i>KIAA0332</i> | KIAA0332 タンパク質                                         | 10 |
| 210 | AB014566 | <i>KIAA0666</i> | KIAA0666 タンパク質                                         |    |
| 211 | AB014570 | <i>KIAA0670</i> | KIAA0670 タンパク質/acinus                                  |    |
| 212 | AA665890 | <i>KIAA0729</i> | KIAA0729 タンパク質                                         |    |
| 213 | W80765   | <i>KIAA0731</i> | KIAA0731 タンパク質                                         |    |
| 214 | AF052170 | <i>KIAA0750</i> | KIAA0750 遺伝子産物                                         |    |
| 215 | D20853   | <i>KIAA0776</i> | KIAA0776 タンパク質                                         |    |
| 216 | AA031775 | <i>KIAA0990</i> | KIAA0990 タンパク質                                         |    |
| 217 | R39794   | <i>KIAA1624</i> | KIAA1624 タンパク質                                         |    |
| 218 | AA434045 | <i>KIAA1808</i> | EST                                                    | 20 |
| 219 | AI074410 | <i>KIAA1863</i> | ヒト cDNA FLJ13996 fis, クローン Y79AA1002211                |    |
| 220 | AF070638 | <i>CGI-57</i>   | 仮説上のタンパク質                                              |    |
| 221 | N38882   |                 | PAC 106H8 からのヒト遺伝子                                     |    |
| 222 | AI142828 |                 | ヒト アドリカン mRNA, 完全 cds                                  |    |
| 223 | AA028961 |                 | ヒト cDNA FLJ12150 fis, クローン MAMMA1000422                |    |
| 224 | AA933635 |                 | ヒト cDNA FLJ13154 fis, クローン NT2RP3003427                |    |
| 225 | AA523117 | <i>FLJ21504</i> | ヒト cDNA: FLJ21504 fis, クローン COL05662                   |    |
| 226 | AA555187 |                 | ヒト cDNA: FLJ22277 fis, クローン HRC03740                   |    |
| 227 | AF035315 |                 | ヒト クローン 23664 および 23905 mRNA 配列                        | 30 |
| 228 | AA968840 |                 | ヒト HSPC285 mRNA, 部分 cds                                |    |
| 229 | R55322   |                 | ヒト mRNA; cDNA DKFZp547K204<br>(クローン DKFZp547K204 由来)   |    |
| 230 | W55876   |                 | ヒト mRNA; cDNA DKFZp586A0424<br>(クローン DKFZp586A0424 由来) |    |
| 231 | AA789332 | <i>VANGL1</i>   | EST、KIAA1215 タンパク質 [ヒト]と中程度の<br>類似性を示す                 |    |
| 232 | AI310156 |                 | EST、ヒト腸管膜 A4 タンパク質[ヒト]と弱い類似性を示す                        |    |
| 233 | C01335   |                 | EST、FLDED [ヒト]と弱い類似性を示す                                | 40 |
| 234 | AI349804 |                 | EST、IQGA_ヒト RAS GTP アーゼ活性様タンパク質 IQGAP1 と<br>弱い類似性を示す   |    |
| 235 | AA683373 |                 | EST                                                    |    |

|     |          |     |    |
|-----|----------|-----|----|
| 236 | H28960   | EST |    |
| 237 | AA429665 | EST |    |
| 238 | R17093   | EST |    |
| 239 | AA806114 | EST |    |
| 240 | AA707966 | EST |    |
| 241 | D85376   | EST |    |
| 242 | AA419568 | EST |    |
| 243 | AA251355 | EST | 10 |
| 244 | W63676   | EST |    |
| 245 | AA570186 | EST |    |
| 246 | AI239432 | EST |    |
| 247 | AI264318 | EST |    |
| 248 | AA553741 | EST |    |
| 249 | N70804   | EST |    |
| 250 | R61891   | EST |    |
| 251 | W01507   | EST | 20 |
| 252 | AA587884 | EST |    |
| 253 | AA830326 | EST |    |
| 254 | AI240520 | EST |    |
| 255 | AA453716 | EST |    |
| 256 | AI199761 | EST |    |
| 257 | AI271678 | EST |    |
| 258 | AA242941 | EST |    |
| 259 | AI027791 | EST | 30 |

【 0 1 7 0 】

( 表 4 ) 下方制御された遺伝子のリスト

| PNC<br>割付 | アクセシ<br>ョン番号 | シンボル           | 遺伝子名                                                            |    |
|-----------|--------------|----------------|-----------------------------------------------------------------|----|
| 260       | D16294       | <i>ACAA2</i>   | アセチルコエンザイム A アシルトランスフェラーゼ 2<br>(ミトコンドリア 3-オキソアシルコエンザイム A チオラーゼ) |    |
| 261       | M12963       | <i>ADH1</i>    | アルコールデヒドロゲナーゼ 1 (クラス I)、 $\alpha$ ポリペプチド                        |    |
| 262       | X04299       | <i>ADH3</i>    | アルコールデヒドロゲナーゼ 3 (クラス I)、 $\gamma$ ポリペプチド                        |    |
| 263       | L22214       | <i>ADORA1</i>  | アデノシン A1 受容体                                                    |    |
| 264       | U04241       | <i>AES</i>     | スプリット(split)のアミノ末端エンハンサー                                        |    |
| 265       | AF044961     | <i>AKR1B11</i> | アルド-ケトレダクターゼファミリー1、メンバーB11                                      | 10 |
| 266       | U05861       | <i>AKR1C1</i>  | アルド-ケトレダクターゼファミリー1、メンバーC1                                       |    |
| 267       | D26125       | <i>AKR1C4</i>  | アルド-ケトレダクターゼファミリー1、メンバーC4                                       |    |
| 268       | AI765873     | <i>ALDH10</i>  | アルデヒドデヒドロゲナーゼ 10<br>(脂肪アルデヒドデヒドロゲナーゼ)                           |    |
| 269       | X02747       | <i>ALDOB</i>   | アルドラーゼ B、フルクトース二リン酸                                             |    |
| 270       | M18786       | <i>AMY1A</i>   | アミラーゼ、 $\alpha$ 1A; 唾液                                          |    |
| 271       | M28443       | <i>AMY2A</i>   | アミラーゼ、 $\alpha$ 2A; 膵臓                                          |    |
| 272       | M22324       | <i>ANPEP</i>   | アラニル(膜)アミノペプチダーゼ                                                |    |
| 273       | Z11502       | <i>ANXA13</i>  | アネキシン A13                                                       | 20 |
| 274       | M82809       | <i>ANXA4</i>   | アネキシン A4                                                        |    |
| 275       | D00097       | <i>APCS</i>    | アミロイド P 成分、血清                                                   |    |
| 276       | M30704       | <i>AREG</i>    | アミフィレグリン(神経鞘腫由来増殖因子)                                            |    |
| 277       | AB007884     | <i>ARHGEF9</i> | Cdc42 グアニン交換因子(GEF)9                                            |    |
| 278       | AI147612     | <i>ARL7</i>    | ADP-リボシル化因子様 7                                                  |    |
| 279       | X83573       | <i>ARSE</i>    | アリールスルファターゼ E (点状軟骨異形成 1)                                       |    |
| 280       | L19871       | <i>ATF3</i>    | 転写活性化因子 3                                                       |    |
| 281       | Y15724       | <i>ATP2A3</i>  | ATP アーゼ、 $\text{Ca}^{++}$ 輸送、遍在                                 | 30 |
| 282       | AI091372     | <i>AXUD1</i>   | AXIN1 上方制御                                                      |    |
| 283       | X83107       | <i>BMX</i>     | BMX 非受容体チロシンキナーゼ                                                |    |
| 284       | AA468538     | <i>BRPF3</i>   | プロモドメインおよび PHD フィンガー含有 3                                        |    |
| 285       | U03274       | <i>BTD</i>     | ビオチニダーゼ                                                         |    |
| 286       | D31716       | <i>BTEB1</i>   | 塩基性転写エレメント結合タンパク質 1                                             |    |
| 287       | W45244       | <i>C3</i>      | 補体成分 3                                                          |    |
| 288       | J03037       | <i>CA2</i>     | カーボニックアンヒドラーゼ II                                                |    |
| 289       | U36448       | <i>CADPS</i>   | 分泌のための $\text{Ca}^{2+}$ 依存性活性化タンパク質                             | 40 |
| 290       | AI085802     | <i>CAV2</i>    | カベオリン 2                                                         |    |
| 291       | J02988       | <i>CD28</i>    | CD28 抗原(Tp44)                                                   |    |

|     |          |                |                                                       |    |
|-----|----------|----------------|-------------------------------------------------------|----|
| 292 | M55509   | <i>CES1</i>    | カルボキシルエステラーゼ 1<br>(単球/マクロファージセリンエステラーゼ 1)             |    |
| 293 | U91543   | <i>CHD3</i>    | クロモドメインヘリカーゼ DNA 結合タンパク質 3                            |    |
| 294 | AA417345 | <i>CHP1</i>    | コードドメイン含有タンパク質 1                                      |    |
| 295 | U62431   | <i>CHRNA2</i>  | コリン作動性受容体、ニコチン性、 $\alpha$ ポリペプチド 2<br>(ニューロン)         |    |
| 296 | U89916   | <i>CLDN10</i>  | クロージン (claudin) 10                                    |    |
| 297 | AA885961 | <i>CLDN2</i>   | クロージン 2                                               |    |
| 298 | J02883   | <i>CLPS</i>    | コリパーゼ、膵臓                                              | 10 |
| 299 | M64722   | <i>CLU</i>     | クラステリン                                                |    |
| 300 | X67318   | <i>CPA1</i>    | カルボキシペプチダーゼ A1 (膵臓)                                   |    |
| 301 | U19977   | <i>CPA2</i>    | カルボキシペプチダーゼ A2 (膵臓)                                   |    |
| 302 | AA780301 | <i>CTSF</i>    | カテプシン F                                               |    |
| 303 | T84490   | <i>CUGBP2</i>  | CUGトリプレット反復配列、RNA 結合タンパク質 2                           |    |
| 304 | M22865   | <i>CYB5</i>    | シトクロム b-5                                             |    |
| 305 | Y00498   | <i>CYP2C8</i>  | シトクロム P450、サブファミリーIIC(メフェニトイン-4-ヒドロキシラ<br>ーゼ)ポリペプチド 8 | 20 |
| 306 | J04813   | <i>CYP3A5</i>  | シトクロム P450、サブファミリーIIIA(ニフェジピンオキシダー<br>ゼ)、ポリペプチド 5     |    |
| 307 | D00408   | <i>CYP3A7</i>  | シトクロム P450、サブファミリーIIIA、ポリペプチド 7                       |    |
| 308 | AA316159 | <i>DC11</i>    | DC11 タンパク質                                            |    |
| 309 | AA640753 | <i>DDAH1</i>   | ジメチルアルギニンジメチルアミノヒドロラーゼ 1                              |    |
| 310 | X96484   | <i>DGCR6</i>   | ディジョージ症候群必須領域遺伝子 6                                    |    |
| 311 | W76197   | <i>DLC1</i>    | 肝臓において欠失 1                                            |    |
| 312 | X68277   | <i>DUSP1</i>   | 二重特異性ホスファターゼ 1                                        |    |
| 313 | M62829   | <i>EGR1</i>    | 初期増殖応答 1                                              | 30 |
| 314 | M16652   | <i>ELA1</i>    | エラスターゼ 1、膵臓                                           |    |
| 315 | AA845162 | <i>ELA3</i>    | エラスターゼ 3、膵臓(プロテアーゼ E)                                 |    |
| 316 | M81635   | <i>EPB72</i>   | 赤血球膜タンパク質バンド 7.2 (ストマチン)                              |    |
| 317 | M16967   | <i>F5</i>      | 凝固因子 V(プロアクセレリン、不安定因子)                                |    |
| 318 | AA573905 | <i>FCGBP</i>   | IgG 結合タンパク質の Fc 断片                                    |    |
| 319 | AA033657 | <i>FGFR2</i>   | 線維芽細胞増殖因子受容体 2                                        |    |
| 320 | U20391   | <i>FOLR1</i>   | 葉酸受容体 1(成人)                                           |    |
| 321 | U50743   | <i>FXYD2</i>   | FXYDドメイン含有イオン輸送制御因子 2                                 | 40 |
| 322 | M11321   | <i>GC</i>      | 群特異的成分(GC)の mRNA                                      |    |
| 323 | Y15409   | <i>G6PT1</i>   | グルコース 6-ホスファターゼ、輸送(グルコース-6-リン酸)<br>タンパク質 1            |    |
| 324 | AA279817 | <i>GADD45B</i> | 増殖停止および DNA 損傷誘導性、 $\beta$                            |    |
| 325 | L13720   | <i>GAS6</i>    | 増殖停止特異的 6                                             |    |

|     |          |                 |                                                               |    |
|-----|----------|-----------------|---------------------------------------------------------------|----|
| 326 | S68805   | <i>GATM</i>     | グリシンアミジノトランスフェラーゼ<br>(L-アルギニン:グリシンアミジノトランスフェラーゼ)              |    |
| 327 | M24903   | <i>GGT1</i>     | $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ 1                                    |    |
| 328 | AW008481 | <i>GLUD1</i>    | グルタミン酸デヒドロゲナーゼ 1                                              |    |
| 329 | T79836   | <i>GPS2</i>     | G タンパク質経路抑制因子 2                                               |    |
| 330 | D86962   | <i>GRB10</i>    | 増殖因子受容体結合タンパク質 10                                             |    |
| 331 | L76687   | <i>GRB14</i>    | 増殖因子受容体結合タンパク質 14                                             |    |
| 332 | D49742   | <i>HABP2</i>    | ヒアルロナン結合タンパク質 2                                               | 10 |
| 333 | W37916   | <i>HCF-2</i>    | 宿主細胞因子 2                                                      |    |
| 334 | U63008   | <i>HGD</i>      | ホモゲンチシン酸 1,2-ジオキシゲナーゼ<br>(ホモゲンチシン酸オキシダーゼ)                     |    |
| 335 | W95267   | <i>HIBADH</i>   | 3-ヒドロキシイソ酪酸デヒドロゲナーゼ                                           |    |
| 336 | K01505   | <i>HLA-DQA1</i> | DC クラス II 組織適合性抗原 $\alpha$ 鎖                                  |    |
| 337 | M81141   | <i>HLA-DQB1</i> | 主要組織適合性複合体、クラス II、DQ $\beta$ 1                                |    |
| 338 | J03048   | <i>HPX</i>      | ヘモペキシン                                                        |    |
| 339 | T55714   | <i>HS3ST1</i>   | ヘパラン硫酸(グルコサミン) 3-O-スルホトランスフェラーゼ 1                             |    |
| 340 | AA206625 | <i>HS6ST</i>    | ヘパラン硫酸 6-O-スルホトランスフェラーゼ                                       | 20 |
| 341 | U14631   | <i>HSD11B2</i>  | ヒドロキシステロイド(11- $\beta$ )デヒドロゲナーゼ 2                            |    |
| 342 | M11717   | <i>HSPA1A</i>   | 熱ショック 70kD タンパク質 1A                                           |    |
| 343 | D49547   | <i>HSPF1</i>    | 熱ショック 40kD タンパク質 1                                            |    |
| 344 | AA885758 | <i>HTATIP</i>   | HIV Tat 相互作用タンパク質、60 kDa                                      |    |
| 345 | M27492   | <i>IL1R1</i>    | インターロイキン 1 受容体、1 型                                            |    |
| 346 | AF014398 | <i>IMPA2</i>    | イノシトール(ミオ)(または 4-)モノホスファターゼ 2                                 |    |
| 347 | U84400   | <i>INPP5D</i>   | イノシトールポリホスフェート-5-ホスファターゼ、145 kD                               |    |
| 348 | AA345854 | <i>ITGA3</i>    | インテグリン、 $\alpha$ 3 (抗原 CD49C、VLA-3 受容体の<br>$\alpha$ 3 サブユニット) | 30 |
| 349 | AA845511 | <i>KCNJ16</i>   | カリウム内向き整流(inwardly-rectifying)チャンネル、<br>サブファミリーJ、メンバー16       |    |
| 350 | AI025297 | <i>KLF7</i>     | Kruppel 様因子 7(遍在)                                             |    |
| 351 | X79683   | <i>LAMB2</i>    | ラミニン、 $\beta$ 2 (ラミニン S)                                      |    |
| 352 | X77196   | <i>LAMP2</i>    | リソソーム関連膜タンパク質 2                                               |    |
| 353 | M87842   | <i>LGALS2</i>   | レクチン、ガラクトシド結合、可溶性、2 (ガレクチン 2)                                 |    |
| 354 | AI160184 | <i>LOC51673</i> | 脳特異的タンパク質                                                     |    |
| 355 | AI093595 | <i>LOC55895</i> | 22 kDa ペルオキシソーム膜タンパク質様                                        | 40 |
| 356 | AA347844 | <i>LOC56908</i> | Meis (マウス) 相同体 2                                              |    |
| 357 | AK025620 | <i>LOC56990</i> | 非キナーゼ Cdc42 エフェクタータンパク質 SPEC2                                 |    |
| 358 | AA461526 | <i>LRRFIP2</i>  | ロイシンリッチリピート (FL II) 相互作用タンパク質 2                               |    |
| 359 | H17536   | <i>LSM4</i>     | U6 snRNA 関連 Sm 様タンパク質                                         |    |

|     |          |                 |                                                           |    |
|-----|----------|-----------------|-----------------------------------------------------------|----|
| 360 | AI092885 | <i>LSM6</i>     | Sm タンパク質 F                                                |    |
| 361 | AA157731 | <i>MAP1ALC3</i> | 微小管関連タンパク質 1A および 1B、軽鎖 3                                 |    |
| 362 | X69078   | <i>MAT1A</i>    | メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ 1 $\alpha$                            |    |
| 363 | X63380   | <i>MEF2B</i>    | MADS ボックス転写エンハンサー因子 2、ポリペプチド B<br>(筋細胞エンハンサー因子 2B)        |    |
| 364 | L08895   | <i>MEF2C</i>    | MADS ボックス転写エンハンサー因子 2、ポリペプチド C<br>(筋細胞エンハンサー因子 2C)        |    |
| 365 | X56741   | <i>MEL</i>      | mel 形質転換腫瘍遺伝子(細胞株 NK14 に由来)-RAB8<br>相同体                   | 10 |
| 366 | AI037890 | <i>MMP1</i>     | マトリクスメタロプロテナーゼ 1(間質コラゲナーゼ)                                |    |
| 367 | R59292   | <i>MS4A8B</i>   | 膜貫通 4-ドメイン、サブファミリー A、メンバー 8B                              |    |
| 368 | AL022315 | <i>MSE55</i>    | 血清構成成分タンパク質                                               |    |
| 369 | D49441   | <i>MSLN</i>     | メゾテリン(mesothelin)                                         |    |
| 370 | M74178   | <i>MST1</i>     | マクロファージ刺激 1                                               |    |
| 371 | U35113   | <i>MTA1</i>     | 転移関連 1                                                    |    |
| 372 | Y09788   | <i>MUC5B</i>    | ムチン 5、サブタイプ B、気管気管支                                       |    |
| 373 | AI745345 | <i>MVP</i>      | 主要ボールド(vault)タンパク質                                        | 20 |
| 374 | X69090   | <i>MYOM1</i>    | ミオメシン 1(スケレミン)(185 kD)                                    |    |
| 375 | AA497062 | <i>NFIC</i>     | 核因子 I/C(CCAAT-結合転写因子)                                     |    |
| 376 | AI309212 | <i>NLGN1</i>    | ニューロリジン 1                                                 |    |
| 377 | AJ005282 | <i>NPR2</i>     | ナトリウム利尿性ペプチド受容体 B/グアニレートシクラーゼ B<br>(心房性ナトリウム利尿性ペプチド受容体 B) |    |
| 378 | AA340728 | <i>NR2F2</i>    | 核受容体サブファミリー 2、F 群、メンバー 2                                  |    |
| 379 | L13740   | <i>NR4A1</i>    | 核受容体サブファミリー 4、A 群、メンバー 1                                  |    |
| 380 | X75918   | <i>NR4A2</i>    | 核受容体サブファミリー 4、A 群、メンバー 2                                  |    |
| 381 | AB002341 | <i>NRCAM</i>    | 神経細胞接着分子                                                  | 30 |
| 382 | AA435678 | <i>P28</i>      | ダイニン、軸糸、軽い中間ポリペプチド                                        |    |
| 383 | AA576089 | <i>p53DINP1</i> | P53 誘導性 p53DINP1                                          |    |
| 384 | L15533   | <i>PAP</i>      | 肺炎関連タンパク質                                                 |    |
| 385 | T56982   | <i>PDE7A</i>    | ホスホジエステラーゼ 7A                                             |    |
| 386 | C05229   | <i>PDK4</i>     | ピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ、イソ酵素 4                                  |    |
| 387 | N47861   | <i>PDP</i>      | ピルビン酸デヒドロゲナーゼホスファターゼ                                      |    |
| 388 | AF012281 | <i>PDZK1</i>    | PDZドメイン含有 1                                               |    |
| 389 | AA220941 | <i>PHB</i>      | プロヒビチン                                                    | 40 |
| 390 | D38616   | <i>PHKA2</i>    | ホスホリラーゼキナーゼ、 $\alpha$ 2(肝臓)                               |    |
| 391 | L47738   | <i>PIR121</i>   | p53 誘導性タンパク質                                              |    |
| 392 | X98654   | <i>PITPNM</i>   | ホスファチジルイノシトール転移タンパク質、膜結合                                  |    |
| 393 | W19216   | <i>PKIG</i>     | タンパク質キナーゼ(cAMP 依存的、触媒的)インヒビター、 $\gamma$                   |    |

|     |          |                 |                                                            |    |
|-----|----------|-----------------|------------------------------------------------------------|----|
| 394 | AF064594 | <i>PLA2G6</i>   | ホスホリパーゼ A2、VI 群 (細胞質、カルシウム非依存性)                            |    |
| 395 | AF038440 | <i>PLD2</i>     | ホスホリパーゼ D2                                                 |    |
| 396 | D87810   | <i>PMM1</i>     | ホスホマンノムターゼ 1                                               |    |
| 397 | J05125   | <i>PNLIP</i>    | 腓リパーゼ                                                      |    |
| 398 | Z11898   | <i>POU5F1</i>   | POUドメイン、クラス 5、転写因子 1                                       |    |
| 399 | AI343963 | <i>PP2135</i>   | PP2135 タンパク質                                               |    |
| 400 | U57961   | <i>13CDNA73</i> | 推定の遺伝子産物                                                   |    |
| 401 | AI094447 | <i>PP5395</i>   | 仮説上のタンパク質 PP5395                                           | 10 |
| 402 | S74349   | <i>PPARA</i>    | ペルオキシソーム増殖活性化受容体、 $\alpha$                                 |    |
| 403 | AB007851 | <i>PRPSAP2</i>  | ホスホリボシルピロリン酸シンテターゼ関連タンパク質 2                                |    |
| 404 | AA845165 | <i>PRSS1</i>    | プロテアーゼ、セリン、1 (トリプシン 1)                                     |    |
| 405 | D88378   | <i>PSMF1</i>    | プロテアソーム (プロソーム、マクロペイン) インヒビター、サブユニット 1 (PI31)              |    |
| 406 | U68142   | <i>RAB2L</i>    | RAB2、メンバー RAS 腫瘍遺伝子ファミリー様                                  |    |
| 407 | AI277086 | <i>RAGB</i>     | GTP-結合タンパク質 ragB                                           |    |
| 408 | AA972852 | <i>RBP1</i>     | レチノール結合タンパク質 1、細胞                                          |    |
| 409 | X00129   | <i>RBP4</i>     | レチノール結合タンパク質 4、腸                                           | 20 |
| 410 | AA807607 | <i>RDGBB</i>    | 網膜変性 B $\beta$                                             |    |
| 411 | AA428540 | <i>REC8</i>     | Rec8p                                                      |    |
| 412 | M18963   | <i>REG1A</i>    | 再生島由来 1 $\alpha$ (腓石タンパク質、腓系タンパク質)                         |    |
| 413 | AC004003 | <i>RIPK2</i>    | 受容体相互作用セリントレオニンキナーゼ 2                                      |    |
| 414 | AI341482 | <i>RNB6</i>     | RNB6                                                       |    |
| 415 | AW510670 | <i>RNF3</i>     | リングフィンガータンパク質 3                                            |    |
| 416 | U38894   | <i>ROR1</i>     | 受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体 1                                     | 30 |
| 417 | X65463   | <i>RXRB</i>     | レチノイド X 受容体、 $\beta$                                       |    |
| 418 | U72355   | <i>SAFB</i>     | 足場結合因子 B                                                   |    |
| 419 | AI338007 | <i>SCDGF-B</i>  | 脊髄由来増殖因子-B                                                 |    |
| 420 | AA911283 | <i>SCMH1</i>    | 中脚の性腺相同体 1                                                 |    |
| 421 | U84487   | <i>SCYD1</i>    | 小誘導性サイトカインサブファミリー D (Cys-X3-Cys)、メンバー 1 (フラクタルキン、ニューロタクチン) |    |
| 422 | W73992   | <i>SDCCAG43</i> | 血清学的に定義された結腸癌抗原 43                                         |    |
| 423 | U28369   | <i>SEMA3B</i>   | sema ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型 (セマフォリン) 3B       | 40 |
| 424 | U38276   | <i>SEMA3F</i>   | sema ドメイン、免疫グロブリンドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、分泌型 (セマフォリン) 3F       |    |
| 425 | AI026695 | <i>SENP1</i>    | セントリン/SUMO-特異的プロテアーゼ                                       |    |
| 426 | Z11793   | <i>SEPP1</i>    | セレノプロテイン P、血漿、1                                            |    |

|     |           |                 |                                                                             |    |
|-----|-----------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 427 | H89783    | <i>SERPINA4</i> | セリン(またはシステイン)プロテナーゼインヒビター、クレード A<br>( $\alpha$ アンチプロテナーゼ、アンチトリプシン)、メンバー4    |    |
| 428 | J02943    | <i>SERPINA6</i> | セリン(またはシステイン)プロテナーゼインヒビター、クレード A<br>( $\alpha$ アンチプロテナーゼ、アンチトリプシン)、メンバー6    |    |
| 429 | M13690    | <i>SERPING1</i> | セリン(またはシステイン)プロテナーゼインヒビター、クレード G<br>(C1 インヒビター)、メンバー1                       |    |
| 430 | AF017988  | <i>SFRP5</i>    | 分泌型 frizzled 関連タンパク質 5                                                      |    |
| 431 | N56912    | <i>SFTPC</i>    | 界面活性剤、肺関連タンパク質 C                                                            |    |
| 432 | Y10032    | <i>SGK</i>      | 血清/グルココルチコイド調節キナーゼ                                                          | 10 |
| 433 | AI198522  | <i>SLC11A3</i>  | 溶質担体ファミリー 11、メンバー3                                                          |    |
| 434 | U59299    | <i>SLC16A5</i>  | 溶質担体ファミリー 16、メンバー5                                                          |    |
| 435 | AA243675  | <i>SLC1A1</i>   | 溶質担体ファミリー 1、メンバー1                                                           |    |
| 436 | AA435777  | <i>SLC25A1</i>  | 溶質担体ファミリー 25 (ミトコンドリア担体;クエン酸輸送体)、<br>メンバー1                                  |    |
| 437 | NM_000340 | <i>SLC2A2</i>   | 溶質担体ファミリー 2 (促進性グルコース輸送体)、メンバー2                                             |    |
| 438 | M95548    | <i>SLC3A1</i>   | 溶質担体ファミリー3(システイン、二塩基性および中性アミノ酸<br>輸送体、シスチン、二塩基性および中性アミノ酸輸送の活性化<br>因子)、メンバー1 | 20 |
| 439 | AF007216  | <i>SLC4A4</i>   | 溶質担体ファミリー4、重炭酸ナトリウム共輸送体、メンバー4                                               |    |
| 440 | M24847    | <i>SLC5A1</i>   | 溶質担体ファミリー5(ナトリウム/グルコース共輸送体)、<br>メンバー1                                       |    |
| 441 | AA902273  | <i>SMARCD3</i>  | SWI/SNF 関連、マトリクス関連、染色質のアクチン依存的制御<br>因子、メンバー3                                |    |
| 442 | U41303    | <i>SNRPN</i>    | 核内低分子リボ核タンパク質ポリペプチド N                                                       |    |
| 443 | AA604446  | <i>SPINK5</i>   | セリンプロテアーゼインヒビター、Kazal 型、5                                                   |    |
| 444 | J04765    | <i>SPP1</i>     | 分泌型リンタンパク質 1(オステオポンチン、骨シアロタンパク質<br>I、初期 T-リンパ球活性化 1)                        | 30 |
| 445 | L14865    | <i>SSTR5</i>    | ソマトスタチン受容体 5                                                                |    |
| 446 | R60028    | <i>TAB1</i>     | 形質転換増殖因子 $\beta$ -活性化キナーゼ結合タンパク質 1                                          |    |
| 447 | X58840    | <i>TCF2</i>     | 転写因子 2、肝臓;LF-B3;変異型肝臓核因子                                                    |    |
| 448 | J05068    | <i>TCN1</i>     | トランスコバラミン I(ビタミン B12 結合タンパク質、R バインダー<br>ファミリー)                              |    |
| 449 | L15203    | <i>TFF3</i>     | トレフォイル因子 3(腸)                                                               |    |
| 450 | D29992    | <i>TFPI2</i>    | 組織因子経路インヒビター2                                                               |    |
| 451 | AA403273  | <i>TLE1</i>     | split 1、ショウジョウバエの相同体のトランスデューシン様<br>エンハンサー E(sp1)                            | 40 |
| 452 | U31449    | <i>TM4SF4</i>   | 膜貫通 4 スーパーファミリーメンバー4                                                        |    |
| 453 | AA131918  | <i>TMEM3</i>    | 膜貫通タンパク質 3                                                                  |    |
| 454 | U70321    | <i>TNFRSF14</i> | 腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー、メンバー14(ヘルペス<br>ウイルス流入メディエータ)                             |    |
| 455 | L21715    | <i>TNNI2</i>    | トロポニン I、骨格、高速                                                               |    |

|     |          |               |                                              |    |
|-----|----------|---------------|----------------------------------------------|----|
| 456 | AI091425 | TONDU         | TONDU                                        |    |
| 457 | U54831   | TOP2B         | トポイソメラーゼ (DNA) II $\beta$ (180 kD)           |    |
| 458 | U44427   | TPD52L1       | 腫瘍タンパク質 D52-様 1                              |    |
| 459 | M10605   | TTR           | トランスチレチン (プレアルブミン、アミロイドーシス I 型)              |    |
| 460 | AI090567 | TUBB2         | チューブリン、 $\beta$ 2                            |    |
| 461 | L13852   | UBE1L         | ユビキチン活性化酵素 E1-様                              |    |
| 462 | X63359   | UGT2B10       | UDP-グリコシルトランスフェラーゼ 2 ファミリー、ポリペプチド B10        |    |
| 463 | J05428   | UGT2B7        | UDP-グリコシルトランスフェラーゼ 2 ファミリー、ポリペプチド B7         | 10 |
| 464 | AA446913 | USP11         | ユビキチン特異的プロテアーゼ 11                            |    |
| 465 | L13288   | VIPR1         | 血管活性腸ペプチド受容体 1                               |    |
| 466 | D78298   | VLCAD         | 超長鎖アシル-CoA デヒドロゲナーゼ                          |    |
| 467 | AA769424 | VNN2          | バニン (vanin) 2                                |    |
| 468 | AF039022 | XPOT          | エキスポーチン、tRNA (tRNAs の核輸送受容体)                 |    |
| 469 | D83407   | ZAKI4         | ダウン症候群必須領域遺伝子 1-様 1                          |    |
| 470 | Z19002   | ZNF145        | ジンクフィンガータンパク質 145<br>(Kruppel 様、前骨髄球性白血病で発現) | 20 |
| 471 | M58297   | ZNF42         | ジンクフィンガータンパク質 42<br>(骨髄特異的レチノイン酸応答性)         |    |
| 472 | N24911   | C11ORF2       | 第 11 染色体オープンリーディングフレーム 2                     |    |
| 473 | AI186263 | C21ORF11      | 第 21 染色体オープンリーディングフレーム 11                    |    |
| 474 | Y11392   | C21ORF2       | 第 21 染色体 オープンリーディングフレーム 2                    |    |
| 475 | H16793   | C8ORF4        | 第 8 染色体オープンリーディングフレーム 4                      |    |
| 476 | AI160590 | DKFZp434G0522 | 仮説上のタンパク質 DKFZp434G0522                      |    |
| 477 | T65389   | DKFZP434J214  | DKFZP434J214 タンパク質                           | 30 |
| 478 | H61870   | DKFZP564F1123 | DKFZP564F1123 タンパク質                          |    |
| 479 | AI218000 | DKFZP564K1964 | DKFZP564K1964 タンパク質                          |    |
| 480 | AI306435 | DKFZP586A0522 | DKFZP586A0522 タンパク質                          |    |
| 481 | W05570   | DKFZP586B0621 | DKFZP586B0621 タンパク質                          |    |
| 482 | N92489   | FLJ10103      | 仮説上のタンパク質 FLJ10103                           |    |
| 483 | AA933772 | FLJ10252      | 仮説上のタンパク質 FLJ10252                           | 40 |
| 484 | AA452368 | FLJ10582      | 仮説上のタンパク質 FLJ10582                           |    |
| 485 | AA481246 | FLJ12287      | セマフォリンと類似性を示す仮説上のタンパク質 FLJ12287              |    |
| 486 | AI042204 | FLJ12895      | 仮説上のタンパク質 FLJ12895                           |    |
| 487 | AI342612 | FLJ20011      | 仮説上のタンパク質 FLJ20011                           |    |
| 488 | AA708532 | FLJ20041      | 仮説上のタンパク質 FLJ20041                           |    |

|     |           |          |                                                         |    |
|-----|-----------|----------|---------------------------------------------------------|----|
| 489 | AI016890  | FLJ20542 | 仮説上のタンパク質 FLJ20542                                      |    |
| 490 | AA593701  | FLJ21817 | Rhoip2 と類似性を示す仮説上のタンパク質 FLJ21817                        |    |
| 491 | NM_022493 | FLJ21988 | 仮説上のタンパク質 FLJ21988                                      |    |
| 492 | N30915    | FLJ22649 | シグナルペプチダーゼ SPC22/23 と類似性を示す<br>仮説上のタンパク質 FLJ22649       |    |
| 493 | AA650281  | FLJ23153 | マウス腫瘍壊死- $\alpha$ -誘導脂肪関連タンパク質のオルトログの可能性                |    |
| 494 | AA522448  | FLJ23239 | 仮説上のタンパク質 FLJ23239                                      |    |
| 495 | AA403120  | HT014    | HT014                                                   | 10 |
| 496 | D31884    | KIAA0063 | KIAA0063 遺伝子産物                                          |    |
| 497 | D87465    | KIAA0275 | KIAA0275 遺伝子産物                                          |    |
| 498 | AI190847  | KIAA0397 | KIAA0397 遺伝子産物                                          |    |
| 499 | AB011115  | KIAA0543 | KIAA0543 タンパク質                                          |    |
| 500 | AA910738  | KIAA0579 | KIAA0579 タンパク質                                          |    |
| 501 | AA156717  | KIAA0668 | KIAA0668 タンパク質                                          |    |
| 502 | W56303    | KIAA0802 | KIAA0802 タンパク質                                          |    |
| 503 | AA127777  | KIAA1071 | KIAA1071 タンパク質                                          | 20 |
| 504 | AI148832  | KIAA1209 | KIAA1209 タンパク質                                          |    |
| 505 | AA573892  | KIAA1359 | KIAA1359 タンパク質                                          |    |
| 506 | N54300    | KIAA1500 | KIAA1500 タンパク質                                          |    |
| 507 | N36929    | KIAA1954 | KIAA1954 タンパク質                                          |    |
| 508 | AA477232  | LOC56997 | 仮説上のタンパク質、クローン<br>Telethon(Italy_B41)_Strait02270_FL142 |    |
| 509 | AF001550  | LOC57146 | クローン 24796 由来の仮説上のタンパク質                                 |    |
| 510 | AA303231  | LOC64744 | 仮説上のタンパク質 AL133206                                      |    |
| 511 | AA044186  |          | ヒト cDNA FLJ11410 fis、クローン HEMBA1000852                  | 30 |
| 512 | D62873    |          | ヒト cDNA FLJ12900 fis、クローン NT2RP2004321                  |    |
| 513 | AA858162  |          | ヒト cDNA FLJ13005 fis、クローン NT2RP3000441                  |    |
| 514 | AA327291  |          | ヒト cDNA FLJ13322 fis、クローン OVARC1001713                  |    |
| 515 | AI096874  |          | ヒト cDNA FLJ14115 fis、クローン MAMMA1001760                  |    |
| 516 | H28758    |          | ヒト cDNA: FLJ20925 fis、クローン ADSE00963                    |    |
| 517 | T04932    |          | ヒト cDNA: FLJ21545 fis、クローン COL06195                     |    |
| 518 | AK025906  |          | ヒト cDNA: FLJ22253 fis、クローン HRC02763                     |    |
| 519 | AI344138  |          | ヒト cDNA: FLJ22288 fis、クローン HRC04157                     | 40 |
| 520 | AA206578  |          | ヒト cDNA: FLJ22316 fis、クローン HRC05262                     |    |
| 521 | R89624    |          | ヒト cDNA: FLJ22386 fis、クローン HRC07619                     |    |
| 522 | AA404225  |          | ヒト cDNA: FLJ22418 fis、クローン HRC08590                     |    |
| 523 | AI089485  |          | ヒト cDNA: FLJ22479 fis、クローン HRC10831                     |    |

|     |          |                                                          |    |
|-----|----------|----------------------------------------------------------|----|
| 524 | AA505312 | ヒト cDNA: FLJ22648 fis、クローン HSI07329                      |    |
| 525 | R72460   | ヒト cDNA: FLJ22807 fis、クローン KAIA2887                      |    |
| 526 | AA019961 | ヒト cDNA: FLJ22811 fis、クローン KAIA2944                      |    |
| 527 | N46856   | ヒト cDNA: FLJ23091 fis、クローン LNG07220                      |    |
| 528 | AA321321 | ヒト cDNA: FLJ23091 fis、クローン LNG07220                      |    |
| 529 | AI084531 | ヒト cDNA: FLJ23093 fis、クローン LNG07264                      |    |
| 530 | AA543086 | ヒト cDNA: FLJ23270 fis、クローン COL10309                      |    |
| 531 | AA741042 | ヒト cDNA: FLJ23527 fis、クローン LNG05966                      | 10 |
| 532 | AF009314 | ヒト クローン TUA8 ネコ鳴き症候群関連領域 mRNA                            |    |
| 533 | AA293837 | ヒト GKAP42 (FKSG21) mRNA、完全 cds                           |    |
| 534 | AA195740 | ヒト mRNA 完全長インサート cDNA クローン EUROIMAGE 41832               |    |
| 535 | AA829835 | ヒト mRNA; cDNA DKFZp434M229 (クローン DKFZp434M229 由来)        |    |
| 536 | AA985007 | ヒト mRNA; cDNA DKFZp564A026 (クローン DKFZp564A026 由来)        |    |
| 537 | AA938345 | ヒト mRNA; cDNA DKFZp564N1116 (クローン DKFZp564N1116 由来)      | 20 |
| 538 | AA129758 | ヒト mRNA; cDNA DKFZp761K2024 (クローン DKFZp761K2024 由来)      |    |
| 539 | AI276126 | 染色体 22q13.313.33 上のクローン RP4-756G23 からのヒト DNA 配列          |    |
| 540 | AI301241 | EST、AF172268 1 Traf2 および NCK 相互作用キナーゼと高い類似性を示すスプライス変異体 5 |    |
| 541 | AI291118 | EST、AF219140 1 胃癌関連タンパク質 GCYS-20[ヒト]と高い類似性を示す            |    |
| 542 | AA143060 | EST、I38945 黒色腫汎在変異タンパク質[ヒト]と高い類似性を示す                     | 30 |
| 543 | AI304351 | EST、NFY-C[ヒト]と中程度の類似性を示す                                 |    |
| 544 | AA923049 | EST、サイトカイン受容体様因子 2; サイトカイン受容体 CRL2 前駆体と弱い類似性を示す          |    |
| 545 | AA604003 | EST、CTL1 タンパク質[ヒト]と弱い類似性を示す                              |    |
| 546 | AA847242 | EST、G786_ヒトタンパク質 GS3786[ヒト]と弱い類似性を示す                     |    |
| 547 | AI274179 | EST、LIV タンパク質[ヒト]と弱い類似性を示す                               |    |
| 548 | R87741   | EST、RAB8_ヒト RAS 関連タンパク質 RAB-8 [ヒト]に弱い類似性を示す              | 40 |
| 549 | AA465193 | EST、名称未定タンパク質産物[ヒト]と弱い類似性を示す                             |    |
| 550 | AI266124 | EST、名称未定タンパク質産物[ヒト]と弱い類似性を示す                             |    |
| 551 | AA777360 | <i>KLAA1002</i> EST                                      |    |
| 552 | AA358397 | EST                                                      |    |

|     |          |     |    |
|-----|----------|-----|----|
| 553 | AA129817 | EST |    |
| 554 | F06091   | EST |    |
| 555 | H42099   | EST |    |
| 556 | AI090386 | EST |    |
| 557 | AA449335 | EST |    |
| 558 | AI243456 | EST |    |
| 559 | AI355928 | EST |    |
| 560 | R45502   | EST | 10 |
| 561 | AA630642 | EST |    |
| 562 | AA781393 | EST |    |
| 563 | AA528243 | EST |    |
| 564 | AA430699 | EST |    |
| 565 | AA528190 | EST |    |
| 566 | AA369905 | EST |    |
| 567 | AI201894 | EST |    |
| 568 | AI342469 | EST | 20 |
| 569 | AA313152 | EST |    |
| 570 | AI299327 | EST |    |
| 571 | AI341332 | EST |    |
| 572 | N33189   | EST |    |
| 573 | W37776   | EST |    |
| 574 | AI023557 | EST |    |
| 575 | AA418448 | EST |    |
| 576 | AA458558 | EST | 30 |
| 577 | H52704   | EST |    |
| 578 | AA142875 | EST |    |
| 579 | AI366443 | EST |    |
| 580 | H96559   | EST |    |
| 581 | H98777   | EST |    |
| 582 | AA989233 | EST |    |
| 583 | AI032354 | EST |    |
| 584 | W93000   | EST | 40 |
| 585 | AA446184 | EST |    |
| 586 | AI291207 | EST |    |
| 587 | AA699359 | EST |    |
| 588 | AA447217 | EST |    |
| 589 | AA769604 | EST |    |

|     |          |     |    |
|-----|----------|-----|----|
| 590 | AI208970 | EST |    |
| 591 | N93057   | EST |    |
| 592 | AI225224 | EST |    |
| 593 | W67193   | EST |    |
| 594 | AI022649 | EST |    |
| 595 | AA625553 | EST |    |
| 596 | AA446064 | EST |    |
| 597 | D61466   | EST | 10 |
| 598 | H05777   | EST |    |
| 599 | N30923   | EST |    |
| 600 | AA135406 | EST |    |
| 601 | AA661636 | EST |    |
| 602 | H98796   | EST |    |
| 603 | AI927063 | EST |    |
| 604 | AA687594 | EST |    |
| 605 | AA879280 | EST | 20 |

---

【 0 1 7 1 】

( 表 5 ) 膵臓癌において上方制御された機能既知の代表的な遺伝子

| PNC 割付           | アクセシ<br>ョン番号 | シンボル           | 遺伝子名                                                 |    |
|------------------|--------------|----------------|------------------------------------------------------|----|
| シグナル伝達経路に関与する遺伝子 |              |                |                                                      |    |
| 12               | AA916826     | <i>APP</i>     | アミロイド $\beta$ (A4) 前駆体タンパク質 (プロテアーゼネキシン-II、アルツハイマー病) | 10 |
| 13               | L20688       | <i>ARHGDIB</i> | Rho GDP 解離インヒビター (GDI) $\beta$                       |    |
| 59               | L36645       | <i>EPHA4</i>   | EphA4                                                |    |
| 69               | J03260       | <i>GNAZ</i>    | グアニンスクレオチド結合タンパク質 (G タンパク質)、 $\alpha$ z ポリペプチド       |    |
| 100              | AA574178     | <i>KAI1</i>    | カンガイ (Kangai) 1                                      |    |
| 119              | AA458825     | <i>MTIF2</i>   | ミトコンドリア翻訳開始因子 2                                      |    |
| 130              | M80482       | <i>PACE4</i>   | 塩基性アミノ酸対切断系 4                                        |    |
| 135              | M16750       | <i>PIM1</i>    | pim 腫瘍遺伝子                                            |    |
| 151              | X62006       | <i>PTB</i>     | ポリピリミジントラクト結合タンパク質 (ヘテロ核内リボ核タンパク質 I)                 |    |
| 154              | AA346311     | <i>RAI3</i>    | レチノイン酸誘導性 3                                          |    |
| 156              | S45545       | <i>RCV1</i>    | リカバリン                                                | 20 |
| 163              | D38583       | <i>S100A11</i> | S100 カルシウム結合タンパク質 A11 (カルギザリン)                       |    |
| 164              | AA308062     | <i>S100P</i>   | S100 カルシウム結合タンパク質 P                                  |    |
| 169              | AF029082     | <i>SFN</i>     | ストラチフィン                                              |    |
| 177              | J03040       | <i>SPARC</i>   | 分泌タンパク質、酸性、システインリッチ (オステオネクチン)                       |    |
| 転写因子             |              |                |                                                      |    |
| 8                | AF047002     | <i>ALY</i>     | 転写活性化補助因子                                            | 30 |
| 44               | AA905901     | <i>CRSP3</i>   | Sp1 転写活性化に必要な補助因子、サブユニット 3 (130 kD)                  |    |
| 63               | L16783       | <i>FOXMI</i>   | フォークヘッドボックス M1                                       |    |
| 66               | AA418167     | <i>GATA3</i>   | GATA-結合タンパク質 3                                       |    |
| 80               | X92518       | <i>HMGIC</i>   | 高移動度群 (非ヒストン染色体) タンパク質アイソフォーム I-C                    |    |
| 83               | M16937       | <i>HOXB7</i>   | ホメオボックス B7                                           |    |
| 108              | U24576       | <i>LMO4</i>    | LIM ドメインオンリー4                                        |    |
| 120              | X13293       | <i>MYBL2</i>   | v-myb トリ骨髄芽球症ウイルス腫瘍遺伝子相同体様 2                         |    |
| 155              | X64652       | <i>RBMS1</i>   | RNA 結合モチーフ、一本鎖相互作用タンパク質 1                            |    |
| 180              | M81601       | <i>TCEA1</i>   | 転写伸長因子 A (SII)、1                                     |    |
| 細胞接着および細胞骨格      |              |                |                                                      |    |
| 14               | AF006086     | <i>ARPC3</i>   | アクチン関連タンパク質 2/3 複合体、サブユニット 3 (21 kD)                 | 40 |

|     |          |        |                                                                                  |
|-----|----------|--------|----------------------------------------------------------------------------------|
| 28  | AA557142 | CD2AP  | CD2-関連タンパク質                                                                      |
| 32  | X63629   | CDH3   | カドヘリン 3、1 型 P-カドヘリン(胎盤)                                                          |
| 38  | AA977821 | COL1A1 | コラーゲン、I 型、 $\alpha$ 1                                                            |
| 39  | J03464   | COL1A2 | コラーゲン、I 型、 $\alpha$ 2                                                            |
| 40  | X14420   | COL3A1 | コラーゲン、III 型、 $\alpha$ 1 (エーラーズ-ダンロス症候群 IV 型、常染色体優性)                              |
| 41  | AI140851 | COL6A1 | コラーゲン、VI 型、 $\alpha$ 1                                                           |
| 46  | U16306   | CSPG2  | コンドロイチン硫酸プロテオグリカン 2 (バーシカン)                                                      |
| 62  | X02761   | FN1    | フィブロネクチン 1                                                                       |
| 98  | M15395   | ITGB2  | インテグリン、 $\beta$ 2 (抗原 CD18 (p95)、リンパ球機能関連抗原 1; マクロファージ抗原 1 (mac) $\beta$ サブユニット) |
| 104 | J00269   | KRT6A  | ケラチン 6A                                                                          |
| 131 | L11370   | PCDH1  | プロトカドヘリン 1 (カドヘリン様 1)                                                            |
| 136 | AA234962 | PKP3   | プラコフィリン 3                                                                        |

10

## 細胞周期

|     |          |       |                            |
|-----|----------|-------|----------------------------|
| 35  | X54941   | CKS1  | CDC28 タンパク質キナーゼ I          |
| 63  | L16783   | FOXMI | フォークヘッドボックス M1             |
| 102 | U63743   | KNSL6 | キネシン様 6 (細胞分裂セントロメア関連キネシン) |
| 143 | AF044588 | PRC1  | 細胞質分裂のタンパク質制御因子 1          |
| 184 | K02581   | TK1   | チミジンキナーゼ 1、可溶性             |

20

## 【 0 1 7 2 】

臨床病理学的パラメータを発現プロファイルと比較すると、遺伝子 76 個の発現の変化がリンパ節転移に関連し、遺伝子 168 個の発現の変化が肝転移に関連することが示された。さらに、遺伝子 84 個の発現レベルは、疾患の再発に関連した。これらのゲノム全体の発現プロファイルは、産物が特異的腫瘍マーカーとして、および / または脾臓癌患者の治療のための分子標的として役立つ可能性がある候補遺伝子を発見するのに有用な情報を提供するはずである。

30

## 【 0 1 7 3 】

材料および方法

臨床病理学的データに関連する遺伝子の同定

リンパ節陽性 (r) および陰性 (n)、肝転移陽性 (r) および陰性 (n)、ならびに早期再発 (r) および再発遅延 (n) のような臨床病理学的特徴に関連する遺伝子を、以下の二つの基準に従って選択した; (i) シグナル強度が、症例の少なくとも 80% においてカットオフ値より高い; (ii)  $|Med_r - Med_n| \geq 0.5$ 、式中、Med は、二つの群における対数変換した相対的発現比に由来する中央値を示す。遺伝子は、それぞれの臨床病理状態において並べ替え検定の p 値 (permutation p-value) が 0.05 より小さいという基準を満たす場合に候補として選択した。

40

## 【 0 1 7 4 】

第一に、本発明者らは、以下の二群において異なって発現された遺伝子を同定するために無作為並べ替え検定を適用した。平均値 ( $\mu$ ) および標準偏差 ( $\sigma$ ) はそれぞれ、リンパ節陽性 (r) および陰性 (n) 症例、肝転移陽性 (r) および陰性 (n)、ならびに早期再発 (r) および再発遅延 (n) における各遺伝子の、対数変換した相対的発現比から計算した。各遺伝子の識別スコア (DS) は、以下のように定義された。

$$DS = (\mu_r - \mu_n) / (\sigma_r + \sigma_n)$$

本発明者らは、個々の遺伝子が二つの群を識別する能力を推定するために並べ替え検定を

50

行った；試料を二つのクラスのあいだで無作為に10,000回置換した。各遺伝子のDSデータセットは正規分布を示したことから、本発明者らは、ユーザー定義分類のP値を計算した（Golubら、1999）。この解析に関して、本発明者らは、リンパ節陽性症例9例および陰性症例4例からなる13例、肝転移陽性症例5例および陰性症例6例からなる11例、ならびに早期再発症例7例および再発遅延症例6例からなる13例の発現データを適用した。これらの解析は、UICC TNM分類に従ってIV期症例のみを用いて行った。

#### 【0175】

##### 予測スコアの計算

本発明者らはさらに、既に記述されている技法（Golubら、1999）に従って再発の予測スコアを計算した。各遺伝子（ $g_i$ ）を、試料中のその発現レベル（ $x_i$ ）が参照試料中の早期再発症例または再発遅延症例の平均発現レベルのどちらに近いかに基づいて、早期再発症例または再発遅延症例のいずれかに割付（vote）する。割付強度（magnitude of the vote）（ $v_i$ ）は、二つのクラスの平均値からの試料中の発現レベルの偏差を反映する。

$$V_i = |x_i - (\mu_r + \mu_n) / 2|$$

本発明者らは、割付数を合計して早期再発症例（ $V_r$ ）と再発遅延症例（ $V_n$ ）の全割付数を得て、以下のようにPS値を計算した。

$$PS = ((V_r - V_n) / (V_r + V_n)) \times 100$$

これは、早期再発症例または再発遅延症例のいずれかの方向に判定される限界を反映している。PS値の範囲は-100から100である；PSのより高い絶対値は、より強い予測を反映する。

#### 【0176】

##### 分類およびリーブワンアウト（leave-one-out）検定の評価

本発明者らは、以下のように、それぞれの遺伝子において早期再発（ $PS_r$ ）および再発遅延症例（ $PS_n$ ）の予測スコアを用いて分類スコア（CS）を計算した。

$$CS = (\mu_{PS_r} - \mu_{PS_n}) / (\sigma_{PS_r} + \sigma_{PS_n})$$

CSがより大きい値であれば、この予測スコアリングシステムによって二つの群がより良好に分離されることを示している。リーブワンアウト検定では、一つの試料を除き、並び替え検定のp値および平均発現レベルを、残りの試料を用いて計算し、次に、除いた試料のクラスをその予測スコアを計算することによって評価する。本発明者らは、この技法を試料13個のそれぞれについて繰り返した。

#### 【0177】

##### 結果

##### 臨床病理学的特徴に 관련된 遺伝子の同定

##### リンパ節転移と肝転移

遺伝子発現プロファイルと臨床病理学的パラメータとの関連を調べるために、本発明者らは、患者の予後の重要な決定因子であるリンパ節転移と肝転移に関連する可能性のある遺伝子を検索した。本発明者らは最初に、リンパ節陽性症例9例とリンパ節陰性症例4例の発現プロファイルおよびリンパ節転移の状態を調べて、無作為並べ替えによってリンパ節状態に関連する遺伝子76個を同定した（ $p$ 値 < 0.05）（表6）。それらの中で、遺伝子35個は、対照であるリンパ節陰性腫瘍と比較してリンパ節陽性腫瘍において相対的に上方制御され、遺伝子41個は下方制御された（図3）。さらに、本発明者らは、肝臓において主に再発した症例5例の発現プロファイルを、他の部位（局所、腹腔、および胸部）への転移を有する症例6例と比較した。本発明者らは、肝転移を示した症例において固有の発現パターンの変化を示した遺伝子168個を同定し（表7）、それらのうち60個は腫瘍において比較的上方制御された（図4）。これらの遺伝子には、腫瘍細胞の増殖、浸潤、および転移において重要な役割を果たすことが提唱されているいくつかの重要な因子が含まれた：インテグリン、 $\beta 4$ （ITGB4）（Shawら、1997）、コロニー刺激因子1（CSF1）（Chambersら、1997）、ベイシジン（BSG）（Guoら、2000）、およびキネシン様6（KNSL6）（Scanlan MJら、2002）。また、これらの同定された遺伝子セットを用いる階層クラスター解析により、リンパ節状態に関する群または肝転移を有する群をそれぞれ明確に分類することも可

10

20

30

40

50

能であった（図3、4）。

【0178】

予後

予後に関連する可能性のある遺伝子をさらに調べるために、本発明者らは、術後12ヶ月以内（無病期間<12ヶ月；中央値、6.4ヶ月）に再発した7例の発現プロファイルを、無病期間>12ヶ月（中央値、17.0ヶ月）の6例と比較した。図5Aに示すように、本発明者らは、無作為並べ替え法を用いてこれらの二群のあいだで異なって発現された（ $p < 0.05$ ）遺伝子84個を同定した。

【0179】

術後の再発に関する遺伝子発現パターンを用いて予測スコアリングシステムを確立する試みにおいて、本発明者らは、その並べ替え検定のp値の程度に基づいて上記の予後的候補遺伝子84個を順位付けし、順位リストの上位の遺伝子5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、および84個を用いて交差検証法のためのリーブワンアウト検定によって予測スコアを計算した。二つの群を最もよく分離する識別遺伝子の数を決定するために、本発明者らは、それぞれの遺伝子セットに関して分類スコア（CS）を計算した（図5B）。図5Cに示すように、スコア計算のための本発明者らの候補リストにおいて、再発遅延症例遺伝子において上方制御された遺伝子の上位17個と早期再発症例遺伝子において上方制御された遺伝子の上位13個からなる遺伝子30個を用いた場合に、最もよい分離が得られた。

【0180】

考察

膵臓癌は、非常に侵襲的な進行と外科治療後の早期再発とを特徴とする。累積的な1年、3年、および5年無病生存率はそれぞれ、66%、7%、および3%であることが報告されており、無病生存期間の中央値は、わずか8ヶ月に過ぎなかった（Spertiら、1997）。最も一般的な再発部位は局所領域と肝臓であり、遠位転移が腹腔に現れる。しかし、腫瘍の特徴と再発パターンとの関連は未だにほとんど理解されていないことから、本発明者らは、発現プロファイルをリンパ節の状態または肝転移と比較した。本発明者らは、リンパ節状態に関連する可能性のある遺伝子76個および肝転移に関連する遺伝子168個を同定した。これらの遺伝子には、腫瘍の進行において役割を果たす可能性があることが既に報告されているいくつかの重要な分子が含まれた。ITGB4およびBSGは、リンパ節陽性症例において上方制御されており、KNL6およびKRT8は、肝転移症例において相対的に上方制御された。ITGB4は、ホスホイノシチド-3 OHキナーゼ活性の選択的および局所ターゲティングを通して癌の浸潤を促進することが報告され（Shawら、1997）、リンパ節転移においてITGB4がおそらく関与することを支持している。運動タンパク質のキネシンファミリーメンバーであるKNL6は、有糸分裂の際の染色体分離に関与することが知られている（Maney Tら、1998）。KNL6の転写物は、結腸癌において高度に発現され、癌関連血清IgG応答に関連する癌抗原として同定された（Scanlan MJら、2002）。このように、この抗原は、診断および再発部位のモニタリングのための生物学的マーカーとなりうるであろう。

【0181】

さらに、本発明者らは、膵臓癌の腫瘍再発に関連する可能性のある遺伝子84個を同定した。これらの遺伝子84個から選択した遺伝子30個のサブセットの発現レベルは、外科手術後の無病期間を予測するのに有用となると考えられる（図5）。本発明者らの予測システムをさらに評価するためには大規模試験が必要であるが、これらの結果は、アジュバント活性化療法を行う患者を選択するのに有用となる可能性がある。

【0182】

（表6）リンパ節転移に関する候補遺伝子76個のリスト

| PNC<br>割付  | GenBank<br>ID | シンボル                           | 遺伝子名                                        |    |
|------------|---------------|--------------------------------|---------------------------------------------|----|
| 上方制御された遺伝子 |               |                                |                                             |    |
| 606        | D16480        | <i>HADHA</i>                   | ヒドロキシアシルデヒドロゲナーゼ、サブユニット A                   |    |
| 607        | AF015767      | <i>BRE</i>                     | 脳および生殖器発現 (TNFRSF1A 調節因子)                   |    |
| 608        | D49742        | <i>HABP2</i>                   | ヒアルロナン結合タンパク質 2                             |    |
| 609        | M37400        | <i>GOT1</i>                    | グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ 1                    |    |
| 610        | Z11502        | <i>ANXA13</i>                  | アネキシン A13                                   |    |
| 611        | D32050        | <i>AARS</i>                    | アラニル-tRNA シンセターゼ                            | 10 |
| 612        | U42376        | <i>LY6E</i>                    | リンパ球抗原 6 複合体、E 座                            |    |
| 613        | U68019        | <i>MADH3</i>                   | MAD (decapentaplegic に対する母親、ショウジョウバエ) 相同体 3 |    |
| 614        | AI248620      | <i>AP3D1</i>                   | アダプター関連タンパク質複合体 3、 $\delta$ 1 サブユニット        |    |
| 615        | U24183        | <i>PFKM</i>                    | ホスホフルクトキナーゼ、筋肉                              |    |
| 616        | AA193416      |                                | EST                                         |    |
| 617        | AA911109      | <i>FLJ20254</i>                | 仮説上のタンパク質 FLJ20254                          |    |
| 618        | AF070616      | <i>HPCAL1</i>                  | ヒポカルシン様 1                                   |    |
| 619        | AI143127      |                                | ダイナクチン 4                                    |    |
| 620        | AA412250      | <i>PYGB</i>                    | ホスホリラーゼ、グリコーゲン; 脳                           |    |
| 621        | D45131        | <i>BSG</i>                     | ベシジジン (basigin)                             |    |
| 622        | AB010427      | <i>WDR1</i>                    | WD リピードドメイン 1                               | 20 |
| 623        | H20386        | <i>MYG1</i>                    | MYG1 タンパク質                                  |    |
| 624        | AA371593      | <i>GCN1L1</i>                  | GCN1 (アミノ酸合成の全般的制御 1、酵母) 様 1                |    |
| 625        | L31581        | <i>CCR7</i>                    | ケモカイン (C-C モチーフ) 受容体 7                      |    |
| 626        | AA922357      |                                | DKFZp586A0618                               |    |
| 627        | U07424        | <i>FARSL</i>                   | フェニルアラニン-tRNA シンセターゼ様                       |    |
| 628        | AI248327      |                                | FLJ22233                                    |    |
| 629        | AF055022      | <i>DKFZP727</i><br><i>M231</i> | DKFZP727M231 タンパク質                          |    |
| 630        | M37435        | <i>CSF1</i>                    | コロニー刺激因子 1 (マクロファージ)                        |    |
| 631        | U34683        | <i>GSS</i>                     | グルタチオンシンセターゼ                                |    |
| 632        | L41351        | <i>PRSS8</i>                   | プロテアーゼ、セリン 8 (プロスタシン)                       |    |
| 633        | X52186        | <i>ITGB4</i>                   | インテグリン、 $\beta$ 4                           | 30 |
| 634        | R52161        |                                | DKFZp434A2410                               |    |
| 635        | U23028        | <i>EIF2B5</i>                  | 真核細胞翻訳開始因子 2B、サブユニット 5 ( $\epsilon$ 、82 kD) |    |
| 636        | AI336230      | <i>RPS8</i>                    | リボソームタンパク質 S8                               |    |
| 637        | AI268861      |                                | EST                                         |    |
| 638        | U73036        | <i>IRF7</i>                    | インターフェロン制御因子 7                              |    |
| 639        | AI097058      |                                | FLJ23538                                    |    |
| 640        | L36151        | <i>PIK4CA</i>                  | ホスファチジルイノシトール 4-キナーゼ、触媒、 $\alpha$ ポリペプチド    |    |
| 下方制御された遺伝子 |               |                                |                                             |    |
| 641        | AA747290      | <i>RPS15A</i>                  | リボソームタンパク質 S15a                             |    |
| 642        | AA641744      | <i>RPA2</i>                    | 複製タンパク質 A2 (32 kD)                          |    |
| 643        | AI188196      | <i>USP22</i>                   | ユビキチン特異的プロテアーゼ 22                           | 40 |
| 644        | AI222007      |                                | EST                                         |    |
| 645        | AA192445      | <i>TMEPAI</i>                  | 膜貫通、前立腺アンドロゲン誘導性 RNA                        |    |
| 646        | AW069055      | <i>FLJ10773</i>                | マウス NPC 由来プロリンリッチタンパク質 1 のオルトログの可能性         |    |
| 647        | AI365733      |                                | EST                                         |    |

|     |           |                      |                                                     |    |
|-----|-----------|----------------------|-----------------------------------------------------|----|
| 648 | AF017418  | <i>MEIS2</i>         | Meis(マウス)相同体 2                                      |    |
| 649 | AF024714  | <i>AIM2</i>          | 黒色腫に存在しない 2                                         |    |
| 650 | AU155489  | <i>MMP7</i>          | マトリクスメタロプロテナーゼ 7(マトリリシン、子宮)                         |    |
| 651 | AW779142  | <i>HUMAGCG<br/>B</i> | 染色体 3p21.1 遺伝子配列                                    |    |
| 652 | AA487669  | <i>GSTM1</i>         | グルタチオン S-トランスフェラーゼ M1                               |    |
| 653 | AA601564  | <i>DLG5</i>          | discs, large (ショウジョウバエ)相同体 5                        |    |
| 654 | AI042204  | <i>FLJ12895</i>      | 仮説上のタンパク質 FLJ12895                                  |    |
| 655 | D14662    | <i>KIAA0106</i>      | 抗酸化タンパク質 2                                          |    |
| 656 | BF059178  | <i>NONO</i>          | 非 POUドメイン含有、8 量体結合                                  |    |
| 657 | U70063    | <i>ASAH</i>          | N-アシルスフィンゴシンアミドヒドロラーゼ (酸セラミダーゼ)                     | 10 |
| 658 | AA091553  | <i>UBE2H</i>         | ユビキチン結合酵素 E2H(酵母 UBC8 と相同性を示す)                      |    |
| 659 | L12350    | <i>THBS2</i>         | トロンプスポンジン 2                                         |    |
| 660 | AA324335  | <i>ERF</i>           | Ets2 リプレッサー因子                                       |    |
| 661 | AI626007  | <i>NTRK1</i>         | 神経栄養性チロシンキナーゼ、受容体、1 型                               |    |
| 662 | AI261382  | <i>SH120</i>         | 推定の G-タンパク質共役受容体                                    |    |
| 663 | AF046024  | <i>UBE1C</i>         | ユビキチン活性化酵素 E1C(酵母 UBA3 と相同性を示す)                     |    |
| 664 | AI299911  | <i>PPP3CA</i>        | タンパク質ホスファターゼ 3(これまでの 2B)、触媒サブユニット、 $\alpha$ アイソフォーム |    |
| 665 | X07979    | <i>ITGB1</i>         | インテグリン、 $\beta$ I                                   |    |
| 666 | W45244    | <i>C3</i>            | 補体成分 3                                              |    |
| 667 | AI245516  |                      | EST                                                 | 20 |
| 668 | AA907519  | <i>C3ORF4</i>        | 第 3 染色体 オープンリーディングフレーム 4                            |    |
| 669 | D42041    | <i>KIAA0088</i>      | タンパク質                                               |    |
| 670 | AI300002  | <i>CCNI</i>          | サイクリン I                                             |    |
| 671 | AI338165  | <i>HEF1</i>          | フィラメント形成のエンハンサー1(cas 様ドッキング; Crk-関連基質関連)            |    |
| 672 | AI312689  | <i>HE1</i>           | 精巣上体分泌タンパク質 (19.5 kD)                               |    |
| 673 | NM_006077 | <i>CBARA1</i>        | カルシウム結合アトピー関連自己抗原 1                                 |    |
| 674 | AF131847  | <i>MRG15</i>         | MORF-関連遺伝子 15                                       |    |
| 675 | AA676585  | <i>NPM1</i>          | ヌクレオホスミン(核リンタンパク質 B23、ヌマトリン)                        |    |
| 676 | U85658    | <i>TFAP2C</i>        | 転写因子 AP-2 $\gamma$ (エンハンサー結合タンパク質 2 $\gamma$ の活性化)  | 30 |
| 677 | AB011090  | <i>KIAA0518</i>      | Max-相互作用タンパク質                                       |    |
| 678 | U93867    | <i>RPC62</i>         | ポリメラーゼ (RNA) III (DNA 依存性) (62 kD)                  |    |
| 679 | Z11531    | <i>EEF1G</i>         | 真核細胞翻訳伸長因子 1 $\gamma$                               |    |
| 680 | AA676322  | <i>MTF1</i>          | 金属調節転写因子 1                                          |    |
| 681 | AI339006  |                      | DKFZp586L1121                                       |    |

## 【 0 1 8 3 】

(表 7) 肝転移に関する候補遺伝子 168 個のリスト

| PNC<br>割付  | GenBank<br>ID | シンボル            | 遺伝子名                                              |    |
|------------|---------------|-----------------|---------------------------------------------------|----|
| 上方制御された遺伝子 |               |                 |                                                   |    |
| 682        | U63743        | <i>KNSL6</i>    | キネシン様 6 (細胞分裂セントロメア関連キネシン)                        |    |
| 683        | U12707        | <i>WAS</i>      | ウィスコット-アルドリッチ症候群 (湿疹-血小板減少症)                      |    |
| 684        | AA904028      | <i>PAPPA</i>    | 妊娠関連血漿タンパク質 1                                     |    |
| 685        | T69711        |                 | EST                                               |    |
| 686        | AI338282      | <i>TIGA1</i>    | ヒト mRNA; cDNA DKFZp566L203 (クローン DKFZp566L203 由来) | 10 |
| 687        | AA843756      | <i>ID2</i>      | DNA 結合インヒビター 2、ドミナントネガティブヘリックス-ループ-ヘリックスタンパク質     |    |
| 688        | AF076483      | <i>PGLYRP</i>   | ペプチドグリカン認識タンパク質                                   |    |
| 689        | AA447852      | <i>PC326</i>    | PC326 タンパク質                                       |    |
| 690        | L13939        | <i>AP1B1</i>    | アダプター関連タンパク質複合体 1、 $\beta$ 1 サブユニット               |    |
| 691        | AI344213      | <i>CCS</i>      | スーパーオキシドジスムターゼの銅シャペロン                             |    |
| 692        | X74929        | <i>KRT8</i>     | ケラチン 8                                            |    |
| 693        | U92459        | <i>GRM8</i>     | グルタミン酸受容体、代謝調節型 8                                 |    |
| 694        | AA078295      |                 | EST                                               |    |
| 695        | AA084871      | <i>YKT6</i>     | SNARE タンパク質                                       |    |
| 696        | M26252        | <i>PKM2</i>     | ピルビン酸キナーゼ、筋肉                                      | 20 |
| 697        | AI280555      | <i>KIAA0860</i> | KIAA0860 タンパク質                                    |    |
| 698        | U09278        | <i>FAP</i>      | 線維芽細胞活性化タンパク質、 $\alpha$                           |    |
| 699        | AA989386      |                 | EST                                               |    |
| 700        | U01184        | <i>FLII</i>     | flightless I (ショウジョウバエ) 相同体                       |    |
| 701        | NM_016401     | <i>HSPC138</i>  | 仮説上のタンパク質                                         |    |
| 702        | AW245101      | <i>E2IG3</i>    | 推定のヌクレオチド結合タンパク質、エストラジオール誘導性                      |    |
| 703        | U47025        | <i>PYGB</i>     | ホスホリラーゼ、グリコーゲン; 脳                                 |    |
| 704        | Z21507        | <i>EEF1D</i>    | 真核細胞翻訳伸長因子 1 $\delta$                             |    |
| 705        | U38320        | <i>MMP19</i>    | マトリクスメタロプロテナーゼ 19                                 | 30 |
| 706        | AA233644      | <i>PPP1CC</i>   | タンパク質ホスファターゼ 1、触媒サブユニット、 $\gamma$ アイソフォーム         |    |
| 707        | L40401        | <i>ZAP128</i>   | ペルオキシソーム長鎖アシル-coA チオエステラーゼ; 推定のタンパク質              |    |
| 708        | AI365683      |                 | 7q35-qter 由来のヒト PAC クローン RP4-751H13               |    |
| 709        | AF039690      | <i>SDCCAG8</i>  | 血清学的に定義された結腸癌抗原 8                                 |    |
| 710        | L19067        | <i>RELA</i>     | v-rel トリ細網内皮症ウイルス腫瘍遺伝子相同体 A                       |    |
| 711        | U48734        | <i>ACTN4</i>    | アクチニン、 $\alpha$ 4                                 |    |
| 712        | M22324        | <i>ANPEP</i>    | アラニル (膜) アミノペプチダーゼ                                |    |
| 713        | AA921921      | <i>KIAA0414</i> | KIAA0414 タンパク質                                    |    |
| 714        | X97630        | <i>EMK1</i>     | ELKL モチーフキナーゼ                                     | 40 |
| 715        | AJ002308      | <i>SYNGR2</i>   | シナプトジリン (synaptogyrin) 2                          |    |
| 716        | AA447019      | <i>MAN1B1</i>   | マンノシダーゼ、 $\alpha$ 、クラス 1B、メンバー 1                  |    |
| 717        | M98252        | <i>PLOD</i>     | プロコラーゲン-リジン、2-オキシグルタラート 5-ジオキシゲナーゼ                |    |

|            |          |                           |                                                    |    |
|------------|----------|---------------------------|----------------------------------------------------|----|
| 718        | H48649   | <i>FGG</i>                | フィブリノーゲン、 $\gamma$ ポリペプチド                          |    |
| 719        | AI139231 | <i>FBL</i>                | フィブリラリン                                            |    |
| 720        | AA249454 |                           | EST、KIAA0227[ヒト]と弱い類似性を示す                          |    |
| 721        | U89278   | <i>EDR2</i>               | 初期発生制御因子 2 (ポリホメオティック 2 の相同体)                      |    |
| 722        | M24398   | <i>PTMS</i>               | パラサイモシン                                            |    |
| 723        | L41668   | <i>GALE</i>               | ガラクトース-4-エピメラーゼ、UDP-                               |    |
| 724        | D78298   | <i>VLCAD</i>              | 超長鎖アシル-CoA デヒドロゲナーゼ                                |    |
| 725        | X89602   | <i>HSRTSBET<br/>A</i>     | rTS $\beta$ タンパク質                                  |    |
| 726        | M91029   | <i>AMPD2</i>              | アデノシンーリン酸デアミナーゼ 2 (アイソフォーム L)                      | 10 |
| 727        | X73478   | <i>PPP2R4</i>             | タンパク質ホスファターゼ 2A、調節サブユニット B' (PR 53)                |    |
| 728        | AI189477 | <i>IDH2</i>               | イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 2 (NADP+)、ミトコンドリア                   |    |
| 729        | D30612   | <i>ZNF282</i>             | ジンクフィンガータンパク質 282                                  |    |
| 730        | AA506972 | <i>KIAA0668</i>           | KIAA0668 タンパク質                                     |    |
| 731        | AA404724 | <i>GPRK7</i>              | G-タンパク質共役受容体キナーゼ 7                                 |    |
| 732        | AB001451 | <i>SLI</i>                | 神経 Shc アダプター相同体                                    |    |
| 733        | AL120683 | <i>LASS2</i>              | LAG1 長寿保証 (longevity assurance) 相同体 2 (酵母)         |    |
| 734        | H20386   | <i>MYG1</i>               | MYG1 タンパク質                                         |    |
| 735        | AA477862 | <i>KIAA0974</i>           | KIAA0974 タンパク質                                     |    |
| 736        | AF075590 | <i>BZRP</i>               | ベンゾジアゼピン受容体 (末梢)                                   |    |
| 737        | AA748421 | <i>TFR2</i>               | トランスフェリン受容体 2                                      | 20 |
| 738        | AA639771 | <i>MMP12</i>              | マトリクスメタロプロテナーゼ 12 (マクロファージエラスターゼ)                  |    |
| 739        | AI218495 |                           | EST、組込型内部核膜タンパク質 MAN1 と中等度の類似性を示す                  |    |
| 740        | N80334   | <i>DKFZP586<br/>O0223</i> | 仮説上のタンパク質                                          |    |
| 741        | AA847660 | <i>HEXA</i>               | ヘキソサミニダーゼ A ( $\alpha$ ポリペプチド)                     |    |
| 下方制御された遺伝子 |          |                           |                                                    |    |
| 742        | S74678   | <i>HNRPK</i>              | ヘテロ核内リボ核タンパク質 K                                    |    |
| 743        | D56784   | <i>DEK</i>                | DEK 腫瘍遺伝子 (DNA 結合)                                 |    |
| 744        | U31383   | <i>GNG10</i>              | グアニンヌクレオチド結合タンパク質 10                               |    |
| 745        | H06970   | <i>STK24</i>              | セリン/トレオニンキナーゼ 24 (Ste20、酵母相同体)                     |    |
| 746        | AF038954 | <i>ATP6J</i>              | ATP アーゼ、H <sup>+</sup> 輸送、リソソーム (液胞プロトンポンプ)、メンバー J | 30 |
| 747        | W19984   | <i>DREV1</i>              | CGI-81 タンパク質                                       |    |
| 748        | AA282650 | <i>SAC1</i>               | アクチンのサブプレッサー 1                                     |    |
| 749        | U16738   | <i>RPL14</i>              | リボソームタンパク質 L14                                     |    |
| 750        | AA614311 | <i>VCP</i>                | バロシン (valosin) 含有タンパク質                             |    |
| 751        | AF006088 | <i>ARPC5</i>              | アクチン関連タンパク質 2/3 複合体、サブユニット 5 (16 kD)               |    |
| 752        | AF007871 | <i>DYT1</i>               | ジストニア 1、捻転性 (常染色体優性; 捻転性 A)                        |    |
| 753        | D21090   | <i>RAD23B</i>             | RAD23 (酵母) 相同体 B                                   |    |
| 754        | AA910279 | <i>STAU</i>               | スタウフェン (staufen) (ショウジョウバエ、RNA 結合タンパク質)            |    |
| 755        | AA226073 | <i>ITM2C</i>              | 組込型膜タンパク質 2C                                       |    |
| 756        | AA583455 | <i>RNF7</i>               | リングフィンガータンパク質 7                                    | 40 |
| 757        | AA731151 | <i>KIAA1085</i>           | KIAA1085 タンパク質                                     |    |
| 758        | U14575   | <i>PPP1R8</i>             | タンパク質ホスファターゼ 1、調節 (インヒビター) サブユニット 8                |    |
| 759        | M81637   | <i>GCL</i>                | グランカルシン (grancalcin)                               |    |
| 760        | L37368   | <i>RNPS1</i>              | RNA-結合タンパク質 S1、セリンリッチドメイン                          |    |
| 761        | AK000403 | <i>FLJ20396</i>           | 仮説上のタンパク質 FLJ20396                                 |    |
| 762        | D13315   | <i>GLO1</i>               | グリオキサラーゼ I                                         |    |
| 763        | U66818   | <i>UBE2I</i>              | ユビキチン結合酵素 E2I (酵母 UBC9 と相同)                        |    |

|     |          |                     |                                              |
|-----|----------|---------------------|----------------------------------------------|
| 764 | X56351   | <i>ALAS1</i>        | アミノレブリン酸、 $\delta$ -、シンターゼ I                 |
| 765 | L08424   | <i>ASCL1</i>        | achaete-scute 複合体(ショウジョウバエ)相同体様 1            |
| 766 | X15187   | <i>TRA1</i>         | 腫瘍拒絶抗原(gp96) 1                               |
| 767 | U33286   | <i>CSE1L</i>        | 染色体分離 1(酵母の相同体)様                             |
| 768 | AA747290 | <i>RPS15A</i>       | リボソームタンパク質 S15a                              |
| 769 | AI148832 | <i>KIAA1209</i>     | KIAA1209 プロテイン                               |
| 770 | S65738   | <i>ADF</i>          | デストリン(アクチン脱分極因子)                             |
| 771 | X53586   | <i>ITGA6</i>        | インテグリン、 $\alpha$ 6                           |
| 772 | U31906   | <i>GOLGA4</i>       | ゴルジ自己抗原、ゴルジンスーパーファミリーa、4                     |
| 773 | AA664213 | <i>DKC1</i>         | 先天性異常角化症 1、ジスケリン(dyskerin)                   |
| 774 | AI338165 | <i>HEF1</i>         | フィラメント形成のエンハンサー1(cas 様ドッキング; Crk-関連基質<br>関連) |
| 775 | W74416   | <i>LOC51126</i>     | N-末端アセチルトランスフェラーゼ複合体 ard1 サブユニット             |
| 776 | AI125978 | <i>SNX2</i>         | ソーティングネキシン 2                                 |
| 777 | H96478   |                     | EST                                          |
| 778 | U46570   | <i>TTC1</i>         | テトラトリコペプチドリピードドメイン 1                         |
| 779 | U21242   | <i>GTF2A2</i>       | 一般的転写因子 IIA、2(12 kD サブユニット)                  |
| 780 | W95089   | <i>HSPC033</i>      | HSPC033 タンパク質                                |
| 781 | D55654   | <i>MDH1</i>         | リンゴ酸デヒドロゲナーゼ 1、NAD(可溶性)                      |
| 782 | AF072860 | <i>PRKRA</i>        | タンパク質キナーゼ、インターフェロン誘導性二本鎖 RNA 依存性<br>活性化因子    |
| 783 | AF042081 | <i>SH3BGRL</i>      | SH3ドメイン結合グルタミン酸リッチタンパク質様                     |
| 784 | D63881   | <i>KIAA0160</i>     | KIAA0160 タンパク質                               |
| 785 | AA195740 |                     | ヒト mRNA 完全長インサート cDNA クローン EUROIMAGE 41832   |
| 786 | M36341   | <i>ARF4</i>         | ADP-リボシル化因子 4                                |
| 787 | C06051   | <i>JAK1</i>         | ヤーヌス(Janus)キナーゼ 1(タンパク質チロシンキナーゼ)             |
| 788 | D28473   | <i>IARS</i>         | イソロイシン-tRNA シンセターゼ                           |
| 789 | R23830   |                     | EST                                          |
| 790 | U51166   | <i>TDG</i>          | チミン-DNA グリコシラーゼ                              |
| 791 | AA128470 | <i>DSP</i>          | デスモプラキン(DPI、DPII)                            |
| 792 | M77698   | <i>YY1</i>          | YY1 転写因子                                     |
| 793 | AI272932 | <i>BAG5</i>         | BCL2-関連アサノジーン(athanogene)5                   |
| 794 | U45879   | <i>BIRC2</i>        | バキュロウイルス IAP リピード含有 2                        |
| 795 | Z35491   | <i>BAG1</i>         | BCL2-関連アサノジーン I                              |
| 796 | AF016507 | <i>CTBP2</i>        | C-末端結合タンパク質 2                                |
| 797 | X89478   | <i>HRB</i>          | HIC Rev 結合タンパク質                              |
| 798 | X06323   | <i>MRPL3</i>        | ミトコンドリアリボソームタンパク質 L3                         |
| 799 | M29065   | <i>HNRPA2B1</i>     | ヘテロ核内リボ核タンパク質 A2/B1                          |
| 800 | AA431846 | <i>LOC51187</i>     | 60S リボソームタンパク質 L30 アイソログ                     |
| 801 | E02628   |                     | ポリペプチド鎖伸長因子 1 $\alpha$                       |
| 802 | AI349804 |                     | EST                                          |
| 803 | X99584   | <i>SMT3H1</i>       | SMT3(mif two 3 の抑制因子、酵母)相同体 1                |
| 804 | D13630   | <i>KIAA0005</i>     | KIAA0005 遺伝子産物                               |
| 805 | U24223   | <i>PCBP1</i>        | ポリ(rC)-結合タンパク質 1                             |
| 806 | AA315729 |                     | FLJ23197                                     |
| 807 | AA401318 | <i>DKFZP566D193</i> | DKFZP566D193 タンパク質                           |
| 808 | AA524350 | <i>LOC51719</i>     | MO25 タンパク質                                   |
| 809 | AB004857 | <i>SLC11A2</i>      | 溶質担体ファミリー 11、メンバー2                           |

10

20

30

40

|     |              |                      |                                             |    |
|-----|--------------|----------------------|---------------------------------------------|----|
| 810 | AA379042     | <i>PUM2</i>          | Pumilio (ショウジョウバエ)相同体 2                     |    |
| 811 | AW77914<br>2 | <i>HUMAGCG<br/>B</i> | 染色体 3p21.1 遺伝子配列                            |    |
| 812 | R39044       |                      | ヒトクローン 25194 mRNA 配列                        |    |
| 813 | M58458       | <i>RPS4X</i>         | リボソームタンパク質 S4、X-連鎖                          |    |
| 814 | H89110       |                      | EST                                         |    |
| 815 | U47077       | <i>PRKDC</i>         | タンパク質キナーゼ、DNA 活性化、触媒ポリペプチド                  |    |
| 816 | AA236252     | <i>ASH2L</i>         | ash2 (非存在、小さい、またはホメオティック、ショウジョウバエ、相同体)様     |    |
| 817 | D50683       | <i>TGFBR2</i>        | 形質転換増殖因子、 $\beta$ 受容体 II (70~80 kDa)        | 10 |
| 818 | M61199       | <i>SSFA2</i>         | 精子特異的抗原 2                                   |    |
| 819 | U56637       | <i>CAPZA1</i>        | キャッピングタンパク質 (アクチンフィラメント) 筋 Z-線、 $\alpha$ 1  |    |
| 820 | AA514818     | <i>KIAA0068</i>      | KIAA0068 タンパク質                              |    |
| 821 | N45298       | <i>ARHGEF12</i>      | Rho グアニン交換因子 (GEF) 12                       |    |
| 822 | X76104       | <i>DAPK1</i>         | 死関連タンパク質キナーゼ 1                              |    |
| 823 | D14812       | <i>KIAA0026</i>      | MORF 関連遺伝子 X                                |    |
| 824 | AA357508     |                      | ヒトクローン 24711 mRNA 配列                        |    |
| 825 | U96915       | <i>SAP18</i>         | sin3-関連ポリペプチド、18 kD                         |    |
| 826 | D10522       | <i>MACS</i>          | ミリストイル化アラニンリッチタンパク質キナーゼ C 基質 (MARCKS、80K-L) |    |
| 827 | N46856       |                      | ヒト cDNA: FLJ23091 fis, クローン LNG07220        | 20 |
| 828 | D26125       | <i>AKR1C4</i>        | アルド-ケトレダクターゼファミリー1、メンバーC4                   |    |
| 829 | AI085802     | <i>CAV2</i>          | カベオリン 2                                     |    |
| 830 | AI289407     | <i>ZNF207</i>        | ジンクフィンガータンパク質 207                           |    |
| 831 | U54831       | <i>TOP2B</i>         | トポイソメラーゼ (DNA) II $\beta$ (180 kD)          |    |
| 832 | AA281115     | <i>UBQLN1</i>        | ユビキチン 1                                     |    |
| 833 | N41902       | <i>CLTH</i>          | クラスリン (Clathrin) 集合リンパ性骨髄性白血病遺伝子            |    |
| 834 | AA432312     | <i>TSPYL</i>         | TSPY-様                                      |    |
| 835 | AF006516     | <i>SSH3BP1</i>       | スペクトリン SH3 ドメイン結合タンパク質 1                    |    |
| 836 | AA706503     | <i>EEF1A1</i>        | 真核細胞翻訳伸長因子 1 $\alpha$ 1                     |    |
| 837 | N95414       |                      | EST                                         |    |
| 838 | M20472       | <i>CLTA</i>          | クラスリン、軽鎖ポリペプチド (Lca)                        | 30 |
| 839 | AI078833     | <i>TAX1BP1</i>       | Tax1 (ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型) 結合タンパク質 1         |    |
| 840 | U09953       | <i>RPL9</i>          | リボソームタンパク質 L9                               |    |
| 841 | U44772       | <i>PPT1</i>          | パルミトイル-タンパク質チオエステラーゼ 1                      |    |
| 842 | AA973853     |                      | ヒト cDNA FLJ20532 fis, クローン KAT10877         |    |
| 843 | U81504       | <i>AP3B1</i>         | アダプター関連タンパク質複合体 3、 $\beta$ 1 サブユニット         |    |
| 844 | AA634090     | <i>HNRPA1</i>        | ヘテロ核内リボ核タンパク質 A1                            |    |
| 845 | U83463       | <i>SDCBP</i>         | シンデカン結合タンパク質 (シンデニン)                        |    |
| 846 | AI092703     | <i>FBXW1B</i>        | f-ボックスおよび WD-40 ドメインタンパク質 1B                |    |
| 847 | AF052113     | <i>Rab14</i>         | GTP アーゼ Rab 14                              |    |
| 848 | AF007216     | <i>SLC4A4</i>        | 溶質担体ファミリー4、重炭酸ナトリウム共輸送体、メンバー4               | 40 |
| 849 | AA809819     | <i>CREG</i>          | E1A 刺激遺伝子の細胞抑制因子                            |    |

【 0 1 8 4 】

( 表 8 ) 予後に関する候補遺伝子84個のリスト

| PNC<br>割付         | GenBank<br>ID | シンボル            | 遺伝子名                                                                    |    |
|-------------------|---------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 再発遅延症例において上方制御される |               |                 |                                                                         |    |
| 850               | AF049884      | <i>ARGBP2</i>   | Arg/Abl-相互作用タンパク質 ArgBP2                                                |    |
| 851               | NM_006077     | <i>CBARA1</i>   | カルシウム結合アトピー関連自己抗原 1                                                     |    |
| 852               | Z11531        | <i>EEF1G</i>    | 真核細胞翻訳伸長因子 1 $\gamma$                                                   |    |
| 853               | AW157203      | <i>LCAT</i>     | レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ                                                |    |
| 854               | AI123363      | <i>RPL23A</i>   | リボソームタンパク質 L23a                                                         | 10 |
| 855               | X53777        | <i>RPL17</i>    | リボソームタンパク質 L17                                                          |    |
| 856               | U16798        | <i>ATP1A1</i>   | ATP アーゼ、Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> 輸送、 $\alpha$ 1 ポリペプチド           |    |
| 857               | X76013        | <i>QARS</i>     | グルタミル-tRNA シンテターゼ                                                       |    |
| 858               | AF075590      | <i>BZRP</i>     | ベンゾジアゼピン受容体(末梢)                                                         |    |
| 859               | L38995        | <i>TUFM</i>     | Tu 翻訳伸長因子、ミトコンドリア                                                       |    |
| 860               | H89783        | <i>SERPINA4</i> | セリン(またはシステイン)プロテナーゼインヒビター、クレード A、メンバー4                                  |    |
| 861               | D83782        | <i>SCAP</i>     | SREBP 切断-活性化タンパク質                                                       |    |
| 862               | M75126        | <i>HK1</i>      | ヘキソキナーゼ 1                                                               |    |
| 863               | AA936173      | <i>RPS11</i>    | リボソームタンパク質 S11                                                          | 20 |
| 864               | AA488766      | <i>SYNGR2</i>   | シナプトジリン 2                                                               |    |
| 865               | M60922        | <i>FLOT2</i>    | フロチリン(flotillin)2                                                       |    |
| 866               | D26600        | <i>PSMB4</i>    | プロテアソーム(プロソーム、マクロペイン)サブユニット、 $\beta$ 型、4                                |    |
| 867               | L19711        | <i>DAG1</i>     | ジストログリカン 1(ジストロフィン-関連糖タンパク質 1)                                          |    |
| 868               | AI148194      |                 | 第 22 染色体にマッピングされる新規ヒト遺伝子                                                |    |
| 869               | X57398        | <i>PM5</i>      | pM5 タンパク質                                                               |    |
| 870               | M17886        | <i>RPLP1</i>    | リボソームタンパク質, ラージ, P1                                                     |    |
| 871               | L14778        | <i>PPP3CA</i>   | タンパク質ホスファターゼ 3(以前の 2B)、触媒サブユニット、 $\alpha$ アイソフォーム(カルシニューリン A $\alpha$ ) |    |
| 872               | AA156481      | <i>RPL13A</i>   | リボソームタンパク質 L13a                                                         |    |
| 873               | AA083406      | <i>EIF3S8</i>   | 真核細胞翻訳開始因子 3、サブユニット 8(110 kD)                                           | 30 |
| 874               | AF000984      | <i>DBY</i>      | DEAD/H(Asp-Glu-Ala-Asp/His) ボックスポリペプチド、Y 染色体                            |    |
| 875               | X17206        | <i>RPS2</i>     | リボソームタンパク質 S2                                                           |    |
| 876               | W45522        | <i>LOC51189</i> | ATP アーゼインヒビター前駆体                                                        |    |
| 877               | X83218        | <i>ATP5O</i>    | ATP シンターゼ、H <sup>+</sup> 輸送、ミトコンドリア F1 複合体、O-サブユニット                     |    |
| 878               | AI246699      | <i>CATX-8</i>   | CATX-8 タンパク質                                                            |    |
| 879               | AA029875      | <i>CASP4</i>    | カスパーゼ 4、アポトーシス関連システインプロテアーゼ                                             |    |
| 880               | AI366139      | <i>MAC30</i>    | 仮説上のタンパク質                                                               |    |
| 881               | U46191        | <i>RAGE</i>     | 腎臓腫瘍抗原                                                                  |    |
| 882               | AA487669      | <i>GSTM1</i>    | グルタチオン S-トランスフェラーゼ M1                                                   |    |
| 883               | AI131289      | <i>RPLP2</i>    | リボソームタンパク質、ラージ P2                                                       | 40 |
| 884               | AI299327      |                 | EST                                                                     |    |
| 885               | AA922716      | <i>PRKACB</i>   | タンパク質キナーゼ、cAMP-依存性、触媒性、 $\beta$                                         |    |
| 886               | AA845165      | <i>PRSSI</i>    | プロテアーゼ、セリン、1(トリプシン 1)                                                   |    |
| 887               | AA877534      | <i>GPRC5C</i>   | G-タンパク質共役受容体、ファミリーC、5 群、メンバーC                                           |    |
| 888               | C01335        |                 | EST、FLDED[ヒト]と弱い類似性を示す                                                  |    |

|                   |          |                     |                                                                      |    |
|-------------------|----------|---------------------|----------------------------------------------------------------------|----|
| 889               | Z26876   | <i>RPL38</i>        | リボソームタンパク質 L38                                                       |    |
| 890               | AI080640 | <i>AGR2</i>         | anterior gradient 2 (アフリカツメガエル( <i>Xenopus laevis</i> )) 相同志体        |    |
| 891               | X04588   | <i>TPM3</i>         | 細胞骨格トロポミオシン TM30 の 2.5 kb mRNA                                       |    |
| 892               | D30949   |                     | ヒト cDNA FLJ12750 fis、クローン NT2RP2001168、ベルプロリン (VERPROLIN) と弱い相同志性を示す |    |
| 893               | Z11559   | <i>ACO1</i>         | アコニターゼ 1、可溶性                                                         |    |
| 早期再発症例において上方制御される |          |                     |                                                                      |    |
| 894               | AA700379 | <i>MTMR1</i>        | ミオチューブラリン関連タンパク質 1                                                   |    |
| 895               | AI340331 | <i>HT010</i>        | 特徴未決定視床下部タンパク質 HT010                                                 |    |
| 896               | AA459167 | <i>NPD002</i>       | NPD002 タンパク質                                                         | 10 |
| 897               | AI014395 | <i>YME1L1</i>       | YME1 (酵母)-様 1                                                        |    |
| 898               | M94083   | <i>CCT6A</i>        | シャペロニン含有 TCP1、サブユニット 6A (ζ 1)                                        |    |
| 899               | M22382   | <i>HSPD1</i>        | 熱ショック 60 kD タンパク質 1 (シャペロニン)                                         |    |
| 900               | AA150867 | <i>TIMM9</i>        | 内部ミトコンドリア膜 9 のトランスロカーゼ (酵母) 相同志体                                     |    |
| 901               | L76687   | <i>GRB14</i>        | 増殖因子受容体結合タンパク質 14                                                    |    |
| 902               | T70782   | <i>FLJ10803</i>     | 仮説上のタンパク質 FLJ10803                                                   |    |
| 903               | AI018632 | <i>LAMP1</i>        | リソソーム関連膜タンパク質 1                                                      |    |
| 904               | AA531437 | <i>MLLT4</i>        | 転座した骨髓/リンパ球または混合系統白血病、4                                              |    |
| 905               | AI075048 | <i>CTSB</i>         | カテプシン B                                                              |    |
| 906               | AL031668 | <i>RALY</i>         | RNA-結合タンパク質 (自己抗原)                                                   |    |
| 907               | AI357601 | <i>RPL37A</i>       | リボソームタンパク質 L37a                                                      | 20 |
| 908               | U51586   | <i>SLAHBP1</i>      | siah 結合タンパク質 1                                                       |    |
| 909               | AF004430 | <i>TPD52L2</i>      | 腫瘍タンパク質 D52-様 2                                                      |    |
| 910               | AI279562 | <i>KIAA0469</i>     | KIAA0469 遺伝子産物                                                       |    |
| 911               | M11717   | <i>HSPA1A</i>       | 熱ショック 70 kD タンパク質 1A                                                 |    |
| 912               | AF015767 | <i>BRE</i>          | 脳および生殖器発現 (TNFRSF1A 調節因子)                                            |    |
| 913               | X06323   | <i>MRPL3</i>        | ミトコンドリアリボソームタンパク質 L3                                                 |    |
| 914               | AI305234 |                     | EST                                                                  |    |
| 915               | W24533   | <i>GRB10</i>        | 増殖因子受容体結合タンパク質 10                                                    |    |
| 916               | AA504081 | <i>CSH2</i>         | 絨毛性ソマトマンモトロピンホルモン 2                                                  |    |
| 917               | AA778572 | <i>HSPC164</i>      | 仮説上のタンパク質                                                            | 30 |
| 918               | D11999   | <i>GLS</i>          | グルタミナーゼ                                                              |    |
| 919               | D32050   | <i>AARS</i>         | アラニル-tRNA シンセターゼ                                                     |    |
| 920               | D63997   | <i>GOLGA3</i>       | ゴルジ自己抗原、ゴルジサブファミリー a、3                                               |    |
| 921               | R64726   |                     | ヒト cDNA: FLJ23591 fis、クローン LNG14729                                  |    |
| 922               | M61715   | <i>WARS</i>         | トリプトファン-tRNA シンセターゼ                                                  |    |
| 923               | AI090753 | <i>SHMT2</i>        | セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ 2 (ミトコンドリア)                                     |    |
| 924               | AI289991 | <i>DKFZP761C169</i> | 仮説上のタンパク質 DKFZp761C169                                               |    |
| 925               | AA345061 | <i>KIAA0903</i>     | KIAA0903 タンパク質                                                       |    |
| 926               | AA255699 |                     | 第 20 染色体上のクローン RP3-32O17 由来ヒト DNA 配列                                 |    |
| 927               | H73961   | <i>ARPC3</i>        | アクチン関連タンパク質 2/3 複合体、サブユニット 3 (21 kD)                                 | 40 |
| 928               | D87666   | <i>GPI</i>          | グルコースホスフェートイソメラーゼ                                                    |    |
| 929               | AI075943 | <i>SENP2</i>        | セントリン特異的プロテアーゼ                                                       |    |
| 930               | D87989   | <i>UGTREL1</i>      | UDP-ガラクトース輸送体関連                                                      |    |
| 931               | D86956   | <i>HSP105B</i>      | 熱ショック 105 kD                                                         |    |
| 932               | L13740   | <i>NR4A1</i>        | 核受容体サブファミリー 4、A 群、メンバー 1                                             |    |
| 933               | AA320379 | <i>POH1</i>         | 26S プロテアソーム関連 pad1 相同志体                                              |    |

## 【 0 1 8 5 】

産業上の利用可能性

レーザービームを用いた切除法 (laser-capture dissection) とゲノム全体の cDNA マイクロアレイとの組み合わせによって得られた、本明細書に記載の膀胱癌の遺伝子発現解析

によって、癌の予防および治療の標的となる特異的遺伝子が同定された。これらの発現差のある遺伝子サブセットの発現に基づいて、本発明は、膵臓癌を同定または検出するための分子診断マーカーを提供する。

#### 【0186】

本明細書に記載の方法はまた、膵臓癌の予防、診断、および治療のさらなる分子標的の同定に有用である。本明細書において報告したデータは、膵臓癌の包括的な理解を増大させて、新規診断戦略の開発を促進し、治療薬および予防剤の分子標的を同定する手がかりを提供する。そのような情報は、膵臓の腫瘍形成のより深い理解に寄与し、膵臓癌を診断、治療、および究極的には予防するための新規戦略を開発するための指標を提供する。

#### 【0187】

本明細書において引用した全ての特許、特許出願、および刊行物は、その全体が参照として本明細書に組み入れられる。さらに、特定の態様を参照して本発明を詳細に説明してきたが、本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく様々な変更および改変を本発明に加えることができることは、当業者に明らかであると考えられる。

#### 【0188】

#### 参考文献

1. Greenlee, R. T., Hill-Harmon, M. B., Murray, T., and Thun, M. Cancer statistics, 2001. *CA Cancer J Clin*, 51: 15-36, 2001.
2. Klinkenbijl, J. H., Jeekel, J., Sahmoud, T., van Pel, R., Couvreur, M. L., Veenhof, C. H., Arnaud, J. P., Gonzalez, D. G., de Wit, L. T., Hennisman, A., and Wils, J. Adjuvant radiotherapy and 5-fluorouracil after curative resection of cancer of the pancreas and periampullary region: phase III trial of the EORTC gastrointestinal tract cancer cooperative group. *Ann Surg*, 230: 776-782; discussion 782-774, 1999.
3. Ishiguro, H., Shimokawa, T., Tsunoda, T., Tanaka, T., Fujii, Y., Nakamura, Y., and Furukawa, Y. Isolation of HELAD1, a novel human helicase gene up-regulated in colorectal carcinomas. *Oncogene*, 21: 6387-6394, 2002.
4. Yagyu, R., Hamamoto, R., Furukawa, Y., Okabe, H., Yamamura, T., and Nakamura, Y. Isolation and characterization of a novel human gene, VANG1, as a therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol*, 20: 1173-1178, 2002.
5. Iacobuzio-Donahue, C. A., Maitra, A., Shen-Ong, G. L., van Heek, T., Ashfaq, R., Meyer, R., Walter, K., Berg, K., Hollingsworth, M. A., Cameron, J. L., Yeo, C. J., Kern, S. E., Goggins, M., and Hruban, R. H. Discovery of novel tumor markers of PNC using global gene expression technology. *Am J Pathol*, 160: 1239-1249, 2002.
6. Han, H., Bearss, D. J., Browne, L. W., Calaluce, R., Nagle, R. B., and Von Hoff, D. D. Identification of differentially expressed genes in PNC cells using cDNA microarray. *Cancer Res*, 62: 2890-2896, 2002.
7. Bockman, D. E., Boydston, W. R., and Parsa, I. Architecture of human pancreas: implications for early changes in pancreatic disease. *Gastroenterology*, 85: 55-61, 1983.
8. Hruban, R. H., Wilentz, R. E., and Kern, S. E. Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am J Pathol*, 156: 1821-1825, 2000.
9. Kitahara, O., Furukawa, Y., Tanaka, T., Kihara, C., Ono, K., Yanagawa, R., Nita, M. E., Takagi, T., Nakamura, Y., and Tsunoda, T. Alterations of gene expression during colorectal carcinogenesis revealed by cDNA microarrays after laser-capture microdissection of tumor tissues and normal epithelia. *Cancer Res*, 61: 3544-3549, 2001.
10. Gjerdrum, L. M., Lielpetere, I., Rasmussen, L. M., Bendix, K., and Hamilton-Dutoit, S. Laser-assisted microdissection of membrane-mounted paraffin sections

10

20

30

40

50

- for polymerase chain reaction analysis: identification of cell populations using immunohistochemistry and in situ hybridization. *J Mol Diagn*, 3: 105-110, 2001.
11. Ono, K., Tanaka, T., Tsunoda, T., Kitahara, O., Kihara, C., Okamoto, A., Ochiai, K., Takagi, T., and Nakamura, Y. Identification by cDNA microarray of genes involved in ovarian carcinogenesis. *Cancer Res*, 60: 5007-5011, 2000.
  12. Saito-Hisaminato, A., Katagiri, T., Kakiuchi, S., Nakamura, T., Tsunoda, T., and Nakamura, Y. Genome-wide profiling of gene expression in 29 normal human tissues with a cDNA microarray. *DNA Res*, 9: 35-45, 2002.
  13. DiMagno EP, Reber HA, Tempero MA. AGA technical review on the epidemiology, diagnosis, and treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *American Gastroenterological Association. Gastroenterology*. 1999 Dec;117(6):1464-84. Review. 10
  14. Brentnall TA, Bronner MP, Byrd DR, Haggitt RC, Kimmey MB. Early diagnosis and treatment of pancreatic dysplasia in patients with a family history of pancreatic cancer. *Ann Intern Med*. 1999 Aug 17;131(4):247-55.
  15. Rosenberg L. Pancreatic cancer: a review of emerging therapies. *Drugs*. 2000 May;59(5):1071-89. Review.
  16. Hao D, Rowinsky EK. Inhibiting signal transduction: recent advances in the development of receptor tyrosine kinase and Ras inhibitors. *Cancer Invest*. 2002; 20(3):387-404. Review.
  17. Laheru D, Biedrzycki B, Jaffee EM. Immunologic approaches to the management of pancreatic cancer. *Cancer J*. 2001 Jul-Aug;7(4):324-37. Review. 20
  18. Crnogorac-Jurcevic T, Efthimiou E, Nielsen T, Loader J, Terris B, Stamp G, Baron A, Scarpa A, Lemoine NR. Expression profiling of microdissected pancreatic adenocarcinomas. *Oncogene*. 2002 Jul 4;21(29):4587-94.
  19. Ciardiello F, Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res*. 2001 Oct;7(10):2958-70. Review.
  20. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001 Mar 15;344(11):783-92. 30
  21. Rehwald U, Schulz H, Reiser M, Sieber M, Staak JO, Morschhauser F, Driessen C, Rudiger T, Muller-Hermelink K, Diehl V, Engert A. Treatment of relapsed CD20 + Hodgkin lymphoma with the monoclonal antibody rituximab is effective and well tolerated: results of a phase 2 trial of the German Hodgkin Lymphoma Study Group. *Blood*. 2003 Jan 15;101(2):420-424.
  22. Violette S, Festor E, Pandrea-Vasile I, Mitchell V, Adida C, Dussaulx E, Lacorte JM, Chambaz J, Lacasa M, Lesuffleur T. Reg IV, a new member of the regenerating gene family, is overexpressed in colorectal carcinomas. *Int J Cancer*. 2003 Jan 10;103(2):185-93. 40
  23. Kullander K, Mather NK, Diella F, Dottori M, Boyd AW, Klein R. Kinase-dependent and kinase-independent functions of EphA4 receptors in major axon tract formation in vivo. *Neuron*. 2001 Jan;29(1):73-84.
  24. Rozenblum E, Schutte M, Goggins M, Hahn SA, Panzer S, Zahurak M, Goodman SN, Sohn TA, Hruban RH, Yeo CJ, Kern SE. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma. *Cancer Res*. 1997 May 1;57(9):1731-4.
  25. Goggins M, Hruban RH, Kern SE. BRCA2 is inactivated late in the development of pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence and implications. *Am J Pathol*. 2000 May;156(5):1767-71.
  26. Ishiguro H, Tsunoda T, Tanaka T, Fujii Y, Nakamura Y, Furukawa Y. Identific 50

ation of AXUD1, a novel human gene induced by AXIN1 and its reduced expression in human carcinomas of the lung, liver, colon and kidney. *Oncogene*. 2001 Aug 16;20(36):5062-6.

27. Satoh S, Daigo Y, Furukawa Y, Kato T, Miwa N, Nishiwaki T, Kawasoe T, Ishiguro H, Fujita M, Tokino T, Sasaki Y, Imaoka S, Murata M, Shimano T, Yamaoka Y, Nakamura Y. AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nat Genet*. 2000 Mar;24(3):245-50.

28. Yuan BZ, Miller MJ, Keck CL, Zimonjic DB, Thorgeirsson SS, Popescu NC. Cloning, characterization, and chromosomal localization of a gene frequently deleted in human liver cancer (DLC-1) homologous to rat RhoGAP. *Cancer Res*. 1998 May 15;58(10):2196-9. 10

29. Ng IO, Liang ZD, Cao L, Lee TK. DLC-1 is deleted in primary hepatocellular carcinoma and exerts inhibitory effects on the proliferation of hepatoma cell lines with deleted DLC-1. *Cancer Res*. 2000 Dec 1;60(23):6581-4.

30. Fang G, Kim CN, Perkins CL, Ramadevi N, Winton E, Wittmann S and Bhalla KN. (2000). *Blood*, 96, 2246-2253.

31. Gianni L. (2002). *Oncology*, 63 Suppl 1, 47-56.

32. Klejman A, Rushen L, Morrione A, Slupianek A and Skorski T. (2002). *Oncogene*, 21, 5868-5876. 20

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0189】

【図1A】ヘマトキシリン-エオジンで染色した微小切除前の膵臓癌（分化型）の写真である。1A1は、微小切除後の同じ切片である。1A2は、回収キャップ上に捕獲した微小切除した癌細胞の写真である。

【図1B】ヘマトキシリン-エオジンで染色した微小切除前の膵臓癌（硬性型）の写真である。1B1は、微小切除後の同じ切片である。1B2は、回収キャップ上に捕獲した微小切除した癌細胞の写真である。

【図1C】90%より多い腺房細胞を含む正常な膵臓の写真である。

【図1D】微小切除した正常な膵管上皮細胞の写真である。 30

【図2】増幅したRNAから調製したcDNAを用いる半定量的RT-PCRによって調べた代表的な遺伝子58個およびTUBAの発現を示すDNAアガロースゲルの写真である。レーン1～12はそれぞれ、異なるPNC患者における遺伝子の発現レベルを示す。遺伝子には遺伝子シンボルが記される。最後のレーンは、正常な個体における各遺伝子の発現レベルを示す。

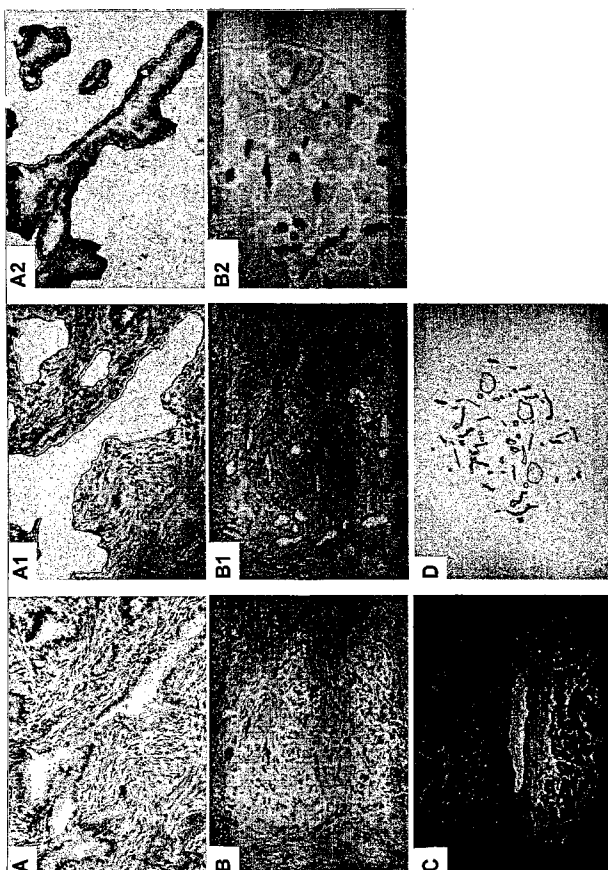
【図3】リンパ節陽性症例9例の発現プロファイルと、リンパ節陰性症例4例の発現プロファイルとを比較する無作為並べ替え検定によって選択した遺伝子76個を用いた二次元階層クラスタ解析の樹状図。縦軸において、遺伝子35個が上側分岐に集合し、リンパ節陽性症例において相対的に高レベルで発現されることを示している。

【図4】肝転移陽性症例5例の発現プロファイルを陰性症例6例と比較する無作為並べ替え検定によって選択した遺伝子168個を用いる二次元階層クラスタ解析の樹状図。縦軸において、肝転移陽性症例においてより高度に発現される遺伝子60個が、上側分岐に集合した。 40

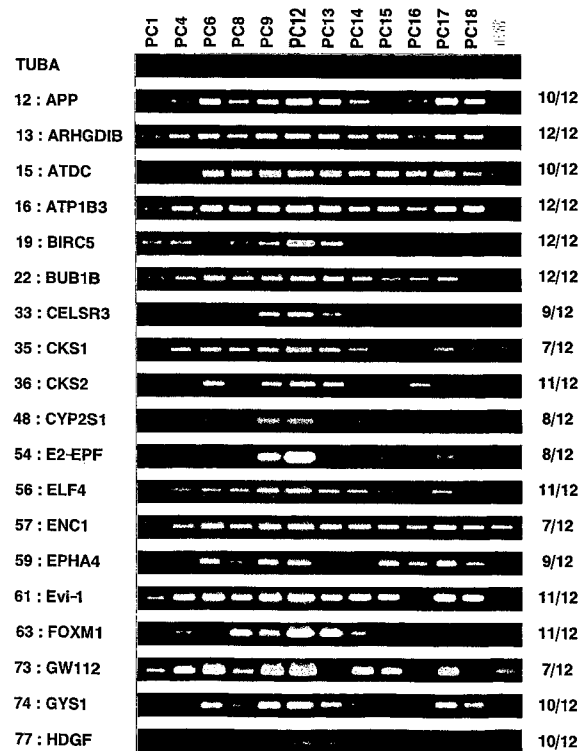
【図5】（A）早期再発症例（術後12ヶ月以内）7例の発現プロファイルを、再発遅延症例（術後12ヶ月超）6例と比較する無作為並べ替え検定によって選択された遺伝子84個を用いる二次元階層クラスタ解析の結果。縦軸において、相対的発現比の類似性に従って、遺伝子84個が異なる枝に集合した。（B）識別遺伝子の数の最適化。分類スコア（CS）を、それぞれの遺伝子セットにおいて早期再発症例（PSr）および再発遅延症例（PSn）の予測スコアを用いることによって以下のように計算した。 $CS = (\mu_{PSr} - \mu_{PSn}) / (\sigma_{PSr} + \sigma_{PSn})$ 。CSの値がより大きければ、予測スコアリングシステムによる二群間の分離がより良好であることを示す。（C）識別遺伝子の数が変化すれば、異なる予測スコアが出現する 50

。白い菱形は、早期再発症例を表し、黒い菱形は再発遅延症例を表す。

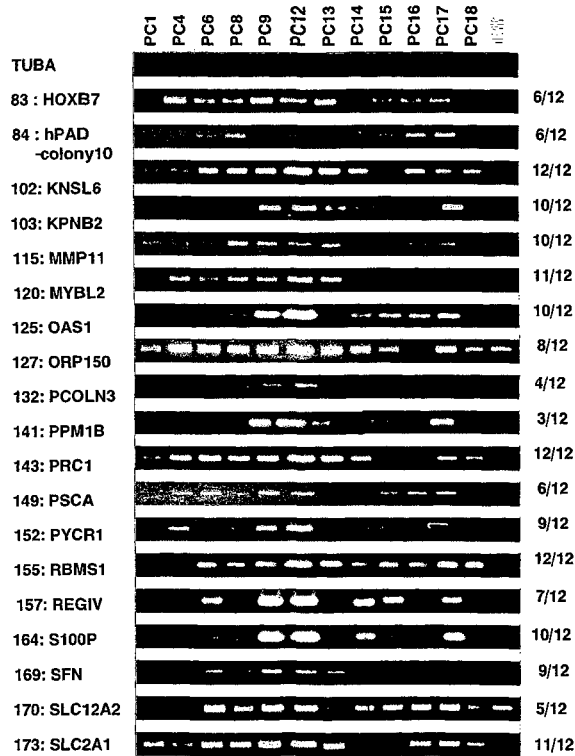
【図 1】



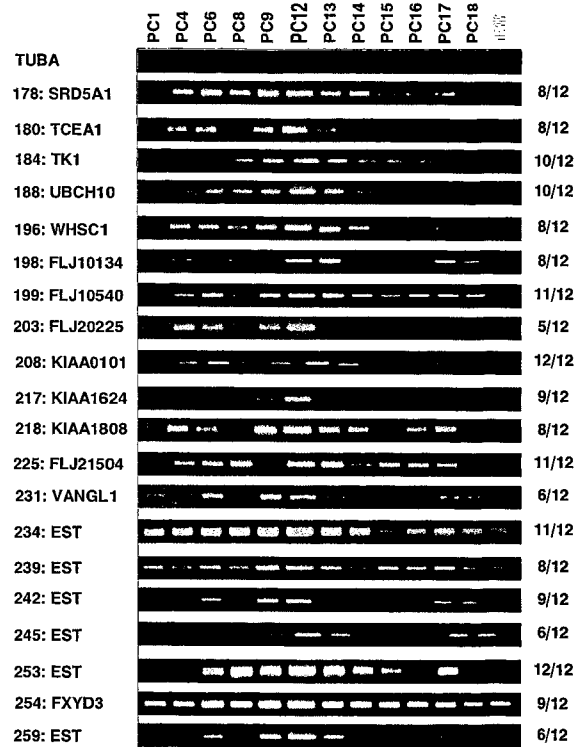
【図 2 - 1】



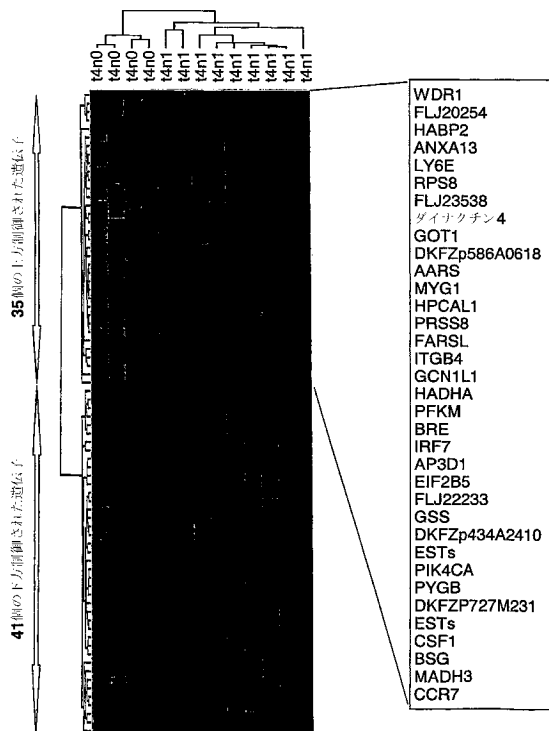
【 図 2 - 2 】



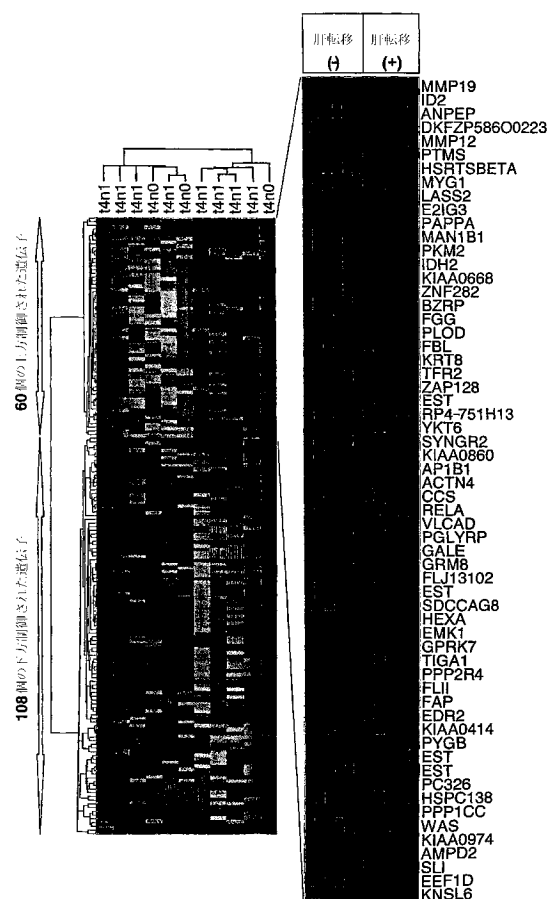
【 図 2 - 3 】



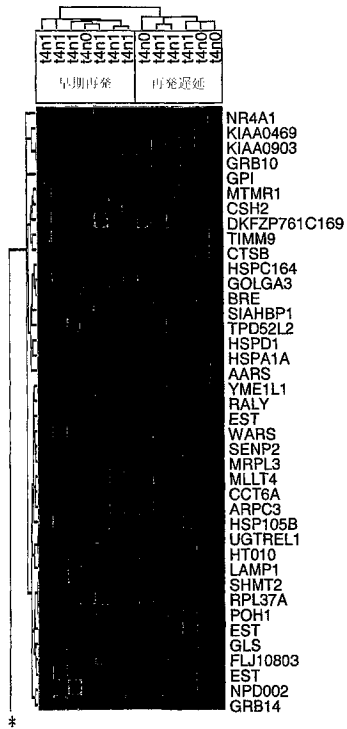
【 図 3 】



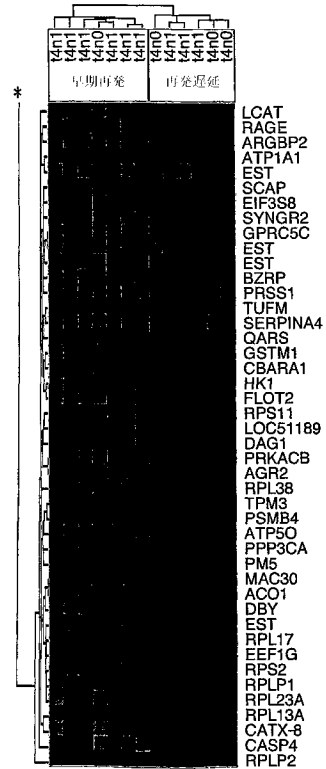
【 図 4 】



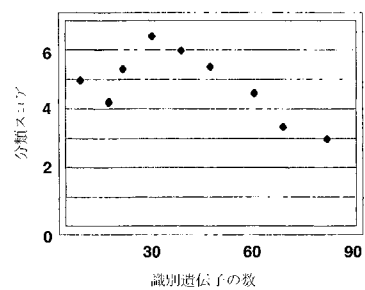
【図 5 A - 1】



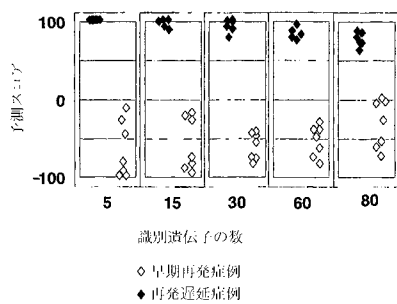
【図 5 A - 2】



【図 5 B】



【図 5 C】



【配列表】

2006500948000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/JP 03/11817A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12Q1/68

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)

IPC 7 C12Q C12N C07K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                     | Relevant to claim No.               |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| X          | GRESS TM ET AL: "A PANCREATIC<br>CANCER-SPECIFIC EXPRESSION PROFILE"<br>ONCOGENE, BASINGSTOKE, HANTS, GB,<br>vol. 13, 1996, pages 1819-1830,<br>XP002916550<br>ISSN: 0950-9232<br>the whole document<br>Table 3, xs403 | 1-3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | WO 01/094629 A (AVALON PHARMACEUTICALS)<br>13 December 2001 (2001-12-13)<br><br>abstract; claim 38<br>SEQ ID NO: 8131, 794-1573 bp<br>-----<br>-/--                                                                    | 1-3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in 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 document 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.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 January 2004

Date of mailing of the international search report

27. 04. 2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Aguilera, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/JP 03/11817

| C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                     |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| Category *                                           | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Relevant to claim No.               |
| X                                                    | WO 00/55350 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC<br>;ROSEN CRAIG A (US); RUBEN STEVEN M (US))<br>21 September 2000 (2000-09-21)<br><br>abstract<br>claim 1<br>SEQ ID NO: 594, 867-1646 bp<br>-----                                                                                                                                                                                                                              | 1-3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X                                                    | WO 02/29103 A (ALVARES CHRISTOPHER ;HORNE<br>DARCI (US); GENE LOGIC INC (US); PERES)<br>11 April 2002 (2002-04-11)<br><br>abstract<br>claim 1<br>SEQ ID NO: 3668, 794-1573 bp<br>-----                                                                                                                                                                                                                                  | 1-3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X                                                    | DATABASE BIOSIS [Online]<br>BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,<br>PHILADELPHIA, PA, US; 1990,<br>SILVERMAN J A ET AL: "EXPRESSION OF C-MYC<br>C-RAF-1 AND C-KI-RAS IN AZASERINE-INDUCED<br>PANCREATIC CARCINOMAS AND GROWING PANCREAS<br>IN RATS"<br>XP002267298<br>Database accession no. PREV199191074872<br>abstract<br>& MOLECULAR CARCINOGENESIS,<br>vol. 3, no. 6, 1990, pages 379-386,<br>ISSN: 0899-1987<br>----- | 1-3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X                                                    | CRNOGORAC-JURCEVIC TATJANA ET AL:<br>"Expression profiling of microdissected<br>pancreatic adenocarcinomas"<br>ONCOGENE,<br>vol. 21, no. 29, 4 July 2002 (2002-07-04),<br>pages 4587-4594, XP002267283<br>ISSN: 0950-9232<br>-----                                                                                                                                                                                      | 1                                   |
| Y                                                    | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X                                                    | CRNOGORAC-JURCEVIC TATJANA ET AL: "Gene<br>expression profiles of pancreatic cancer<br>and stromal desmoplasia"<br>ONCOGENE,<br>vol. 20, no. 50,<br>1 November 2001 (2001-11-01), pages<br>7437-7446, XP002267284<br>ISSN: 0950-9232<br>-----                                                                                                                                                                           | 1                                   |
| Y                                                    | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| -----<br>-/--                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                     |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/JP 03/11817

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

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                            | Relevant to claim No.               |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| X          | US 6 429 302 B1 (KENNEDY GIULIA)<br>6 August 2002 (2002-08-06)                                                                                                                                                                                                                                | 1                                   |
| Y          | column 3, line 45 - column 4, line 50<br>column 6, line 50 - column 7, line 14<br>column 25, line 34 - column 35, line 36<br>table 1                                                                                                                                                          | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | WO 99/67386 A (CHIRON CORP)<br>29 December 1999 (1999-12-29)                                                                                                                                                                                                                                  | 1                                   |
| Y          | example 1                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | WO 98/53319 A (KINZLER KENNETH W<br>;VOGELSTEIN BERT (US); UNIV JOHNS HOPKINS<br>(US)) 26 November 1998 (1998-11-26)                                                                                                                                                                          | 1                                   |
| Y          | table 4                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | WO 99/31274 A (ABBOTT LAB)<br>24 June 1999 (1999-06-24)                                                                                                                                                                                                                                       | 1                                   |
| Y          | abstract                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | LACOBUZIO-DONAHUE C A ET AL: "DISCOVERY<br>OF NOVEL TUMOR MARKERS OF PANCREATIC<br>CANCER USING GLOBAL GENE EXPRESSION<br>TECHNOLOGY"<br>AMERICAN JOURNAL OF PATHOLOGY,<br>PHILADELPHIA, PA, US,<br>vol. 160, no. 4, April 2002 (2002-04),<br>pages 1239-1249, XP008003747<br>ISSN: 0002-9440 | 1                                   |
| Y          | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                            | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/JP 03/11817

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

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                        | Relevant to claim No.               |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| X          | HAN HAIYONG ET AL: "Identification of differentially expressed genes in pancreatic cancer cells using cDNA microarray"<br>CANCER RESEARCH,<br>vol. 62, no. 10, 15 May 2002 (2002-05-15),<br>pages 2890-2896, XP002267297<br>ISSN: 0008-5472                                                                                                               | 1                                   |
| Y          | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | -----<br>ZHANG L ET AL: "Gene expression profiles in normal and cancer cells"<br>SCIENCE, AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, US,<br>vol. 276, 23 May 1997 (1997-05-23), pages<br>1268-1272, XP002083785<br>ISSN: 0036-8075                                                                                                             | 1                                   |
| Y          | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | -----<br>RYU BYUNGWOO ET AL: "Relationships and differentially expressed genes among pancreatic cancers examined by large-scale serial analysis of gene expression"<br>CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US,<br>vol. 62, no. 3,<br>1 February 2002 (2002-02-01), pages<br>819-826, XP002251739<br>ISSN: 0008-5472 | 1                                   |
| Y          | the whole document                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 2,3,<br>6-11,<br>15-19,<br>21,29,30 |
| X          | -----<br>JORDAN M A ET AL: "MICROTUBULES AND ACTIN FILAMENTS: DYNAMIC TARGETS FOR CANCER CHEMOTHERAPY"<br>CURRENT OPINION IN CELL BIOLOGY, CURRENT SCIENCE, LONDON, GB,<br>vol. 10, no. 1, 1998, pages 123-130,<br>XP000939151<br>ISSN: 0955-0674                                                                                                         | 15-18                               |
|            | the whole document<br>-----                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                     |

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (January 2004)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP 03/11817**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 12-14, 22-28  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
2. ☒ Claims Nos.: 20, 31  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-3, 6-11, 15-19, 21, 29, 30; all partially

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/ JP 03/11817

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Claims Nos.: 12-14, 22-28

Claims 12-14 are directed to "expression profiles", which are considered mere presentations of information in the sense of Rule 39 (v), PCT. According to Article 17(2)(a)(i) PCT, claims 12-14 are not subject of this International Search Report.

Although claims 22-28 are directed to methods of treatment of the human body in the sense of Rule 39 (iv) PCT, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compounds/compositions.

-----

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 20, 31

Present claim 20 refers to a "detection reagent" defined by reference to a desirable characteristic or property, namely "a reagent which binds to two or more nucleic acid sequences selected from the group consisting of PNC 1-605 or polypeptides encoded thereby". The claims cover all products having this characteristic or property, whereas the application provides support within the meaning of PCT Article 6 and disclosure within the meaning of PCT Article 5 for only a very limited number of such products, i.e. nucleic acids complementary to said sequences and antibodies or antibody fragments directed to said polypeptides. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole scope of claims 20 is impossible.

Present claim 31 relates to a product defined by reference to a desirable characteristic or property, namely "a compound selected by the [screening] method...". The claims cover all products having this characteristic or property, whereas the application provides no support within the meaning of PCT Article 6 nor disclosure within the meaning of PCT Article 5 for any of such products. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search of claim 31 impossible.

Independent of the above reasoning, claims 20 and 31 also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the product by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/JP 03 11817

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, and which relate to Invention 1 (see Invitation to pay additional fees), namely:

Methods of diagnosing pancreatic cancer comprising detecting altered level of expression of ACTB gene (PNC 1, GenBank AccNr: V00478). Methods of screening for compounds for treating pancreatic cancer comprising the use of nucleic acids, regulatory regions, or polypeptide products of said gene. Kits comprising nucleic acids, antibodies and antibody fragments binding the products of said gene. Arrays comprising nucleic acids of said gene. Compositions comprising antisense polynucleotides, siRNAs or antibodies directed against products of said gene.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/ JP 03/11817

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-3, 6-11, 15-19, 21, 29, 30; all partially

Inventions 1-259:

Methods of diagnosing pancreatic cancer comprising detecting altered level of expression of ACTB gene (PNC 1, GenBank AccNr: V00478). Pancreatic cancer expression profiles comprising patterns of expression of said gene. Methods of screening for compounds for treating pancreatic cancer comprising the use of nucleic acids, regulatory regions, or polypeptide products of said gene. Kits comprising reagents which bind nucleic acids or polypeptide products of said gene. Arrays comprising nucleic acids of said gene. Methods of treating pancreatic cancer comprising administering to a patient compounds that modulate the expression or activity of said gene. Compositions comprising antisense polynucleotides, siRNAs or antibodies directed against products of said gene. Compositions comprising compounds selected by the above mentioned screening methods.  
1-3, 6-11, 15-19, 21, 29, 30; all partially

[ idem for each one of the genes listed in Table 3 ]

---

2. claims: 1, 4-11, 15-19, 21, 29, 30; all partially

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/JP 03 11817

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Inventions 260-605:

Methods of diagnosing pancreatic cancer comprising detecting altered level of expression of ACAA2 gene (PNC 260, GenBank AccNr: D16294). Pancreatic cancer expression profiles comprising patterns of expression of said gene. Methods of screening for compounds for treating pancreatic cancer comprising the use of nucleic acids, regulatory regions, or polypeptide products of said gene. Kits comprising reagents which bind nucleic acids or polypeptide products of said gene. Arrays comprising nucleic acids of said gene. Methods of treating pancreatic cancer comprising administering to a patient compounds that modulate the expression or activity of said gene. Compositions comprising antisense polynucleotides, siRNAs or antibodies directed against products of said gene. Compositions comprising compounds selected by the above mentioned screening methods.  
1-3, 6-11, 15-19, 21, 29, 30; all partially

[ idem for each one of the genes listed in Table 4 ]

---

3. claims: 32-46, all partially

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/JP 03 11817

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Inventions 606-849:

Methods of screening for compounds for treating malignant pancreatic cancer comprising the use of nucleic acids, regulatory regions, or polypeptide products of HADHA gene (PNC 606, GenBank AccNr: D16480). Methods of treating malignant pancreatic cancer comprising administering to a patient compounds that modulate the expression or activity of said gene. Compositions comprising antisense polynucleotides, siRNAs or antibodies directed against products of said gene. Compositions comprising compounds selected by the above mentioned screening methods.  
32-46, all partially

[ idem for each one of the genes listed in Tables 6 and 7  
]

---

4. claims: 47-67, all partially

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/JP 03 11817

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Inventions 850-933:

Methods of screening for compounds for preventing recurrence of pancreatic cancer comprising the use of nucleic acids, regulatory regions, or polypeptide products of ARGBP2 (PNC 850, GenBank AccNr: AF049884). Methods of treating recurrence of pancreatic cancer comprising administering to a patient compounds that modulate the expression or activity of said gene. Compositions comprising antisense polynucleotides, siRNAs or antibodies directed against products of said gene. Compositions comprising compounds selected by the above mentioned screening methods. Methods of predicting recurrence of pancreatic cancer comprising the detection of altered expression levels of said gene. Pancreatic cancer expression profiles comprising patterns of expression of said gene. Kits comprising reagents which bind nucleic acids or polypeptide products of said gene. Arrays comprising nucleic acids of said gene.  
47-67, all partially

[idem for each one of the genes listed in Table 8]

---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/JP 03/11817

| Patent document<br>cited in search report |    | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|----|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 0194629                                | A  | 13-12-2001          | AU 6455901 A               | 17-12-2001          |
|                                           |    |                     | CA 2411601 A1              | 13-12-2001          |
|                                           |    |                     | EP 1358349 A2              | 05-11-2003          |
|                                           |    |                     | WO 0194629 A2              | 13-12-2001          |
|                                           |    |                     | US 2003165839 A1           | 04-09-2003          |
|                                           |    |                     | US 2002165180 A1           | 07-11-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002115057 A1           | 22-08-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002081301 A1           | 27-06-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002110821 A1           | 15-08-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002102531 A1           | 01-08-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002150877 A1           | 17-10-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002102532 A1           | 01-08-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002115085 A1           | 22-08-2002          |
| WO 0055350                                | A  | 21-09-2000          | AU 3395900 A               | 04-10-2000          |
|                                           |    |                     | AU 3617600 A               | 04-10-2000          |
|                                           |    |                     | AU 3617700 A               | 04-10-2000          |
|                                           |    |                     | AU 3619400 A               | 04-10-2000          |
|                                           |    |                     | AU 3619500 A               | 04-10-2000          |
|                                           |    |                     | AU 3669400 A               | 04-10-2000          |
|                                           |    |                     | CA 2364567 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | CA 2364590 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | CA 2364629 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | CA 2366130 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | CA 2366174 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | CA 2366195 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | EP 1168917 A2              | 09-01-2002          |
|                                           |    |                     | EP 1165588 A1              | 02-01-2002          |
|                                           |    |                     | EP 1169469 A1              | 09-01-2002          |
|                                           |    |                     | EP 1165589 A1              | 02-01-2002          |
|                                           |    |                     | EP 1159420 A1              | 05-12-2001          |
|                                           |    |                     | EP 1163358 A1              | 19-12-2001          |
|                                           |    |                     | JP 2003512815 T            | 08-04-2003          |
|                                           |    |                     | JP 2003512816 T            | 08-04-2003          |
|                                           |    |                     | JP 2003513610 T            | 15-04-2003          |
|                                           |    |                     | JP 2003514510 T            | 22-04-2003          |
|                                           |    |                     | JP 2003514511 T            | 22-04-2003          |
|                                           |    |                     | WO 0055173 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | WO 0055350 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | WO 0055351 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | WO 0055180 A2              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | WO 0055174 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | WO 0055320 A1              | 21-09-2000          |
|                                           |    |                     | US 2003054421 A1           | 20-03-2003          |
|                                           |    |                     | US 2002081659 A1           | 27-06-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002039764 A1           | 04-04-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002055627 A1           | 09-05-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002151681 A1           | 17-10-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002052308 A1           | 02-05-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002044941 A1           | 18-04-2002          |
| WO 0229103                                | A  | 11-04-2002          | AU 1131302 A               | 15-04-2002          |
|                                           |    |                     | WO 0229103 A2              | 11-04-2002          |
|                                           |    |                     | US 2002142981 A1           | 03-10-2002          |
| US 6429302                                | B1 | 06-08-2002          | US 2002187507 A1           | 12-12-2002          |
|                                           |    |                     | AU 2981100 A               | 25-08-2000          |
|                                           |    |                     | WO 0046369 A2              | 10-08-2000          |

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2003)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/JP 03/11817

| Patent document<br>cited in search report |   | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9967386                                | A | 29-12-1999          | US 6262249 B1              | 17-07-2001          |
|                                           |   |                     | AU 4705199 A               | 10-01-2000          |
|                                           |   |                     | EP 1090117 A2              | 11-04-2001          |
|                                           |   |                     | WO 9967386 A2              | 29-12-1999          |
|                                           |   |                     | US 2003212264 A1           | 13-11-2003          |
|                                           |   |                     | US 2001016651 A1           | 23-08-2001          |
| WO 9853319                                | A | 26-11-1998          | AU 7499198 A               | 11-12-1998          |
|                                           |   |                     | US 6333152 B1              | 25-12-2001          |
|                                           |   |                     | WO 9853319 A2              | 26-11-1998          |
| WO 9931274                                | A | 24-06-1999          | CA 2315263 A1              | 24-06-1999          |
|                                           |   |                     | EP 1038030 A2              | 27-09-2000          |
|                                           |   |                     | WO 9931274 A2              | 24-06-1999          |

WO 2004/031412

PCT/JP2003/011817

## PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 16.09.2003 05:06:53 PM

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VIII-3-1         | <b>Declaration: Entitlement to claim priority</b><br>Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)): Name: | in relation to this international application<br><br>ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.<br>is entitled to claim priority of earlier application No. 60/414,872 by virtue of the following:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| VIII-3-1<br>(iv) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | an assignment from NAKAMURA, Yusuke to ONCOTHERAPY SCIENCE, INC., dated 30 September 2002 (30.09.2002)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| VIII-3-1<br>(iv) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | an assignment from KATAGIRI, Toyomasa to ONCOTHERAPY SCIENCE, INC., dated 30 September 2002 (30.09.2002)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| VIII-3-1<br>(ix) | This declaration is made for the purposes of:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | AP: (GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZM ZW); EA: (AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM); EP: (AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR); OA: (BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG); AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DZ EC EE EG ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NI NO NZ OM PG PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL SY TJ TM TN TR TT TZ UA UG UZ VC VN XU ZA ZM ZW CS |

WO 2004/031412

PCT/JP2003/011817

## PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 16.09.2003 05:06:53 PM

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VIII-3-2         | <b>Declaration: Entitlement to claim priority</b><br>Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)): Name: | in relation to this international application<br><br>ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.<br>is entitled to claim priority of earlier application No. 60/450,889 by virtue of the following:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| VIII-3-2<br>(iv) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | an assignment from NAKAMURA, Yusuke to ONCOTHERAPY SCIENCE, INC., dated 31 January 2003 (31.01.2003)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| VIII-3-2<br>(iv) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | an assignment from KATAGIRI, Toyomasa to ONCOTHERAPY SCIENCE, INC., dated 31 January 2003 (31.01.2003)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| VIII-3-2<br>(ix) | This declaration is made for the purposes of:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | AP: (GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZM ZW); EA: (AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM); EP: (AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR); OA: (BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG); AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DZ EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NI NO NZ OM PG PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL SY TJ TM TN TR TT TZ UA UG UZ VC VN <del>YU</del> ZA ZM ZW <sub>CS</sub> |

WO 2004/031412

PCT/JP2003/011817

## PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 16.09.2003 05:06:53 PM

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VIII-3-3         | <b>Declaration: Entitlement to claim priority</b><br>Declaration as to the applicant's entitlement, as at the International filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii)): Name: | <b>in relation to this international application</b><br><br>JAPAN AS REPRESENTED BY THE PRESIDENT OF THE UNIVERSITY OF TOKYO is entitled to claim priority of earlier application No. 60/414,872 by virtue of the following:                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| VIII-3-3<br>(iv) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | an assignment from NAKAMURA, Yusuke to JAPAN AS REPRESENTED BY THE PRESIDENT OF THE UNIVERSITY OF TOKYO, dated 30 September 2002 (30.09.2002)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| VIII-3-3<br>(iv) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | an assignment from KATAGIRI, Toyomasa to JAPAN AS REPRESENTED BY THE PRESIDENT OF THE UNIVERSITY OF TOKYO, dated 30 September 2002 (30.09.2002)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| VIII-3-3<br>(ix) | This declaration is made for the purposes of:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | AP: (GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZM ZW); EA: (AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM); EP: (AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR); OA: (BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG); AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DZ EC EE EG ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NI NO NZ OM PG PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL SY TJ TM TN TR TT TZ UA UG UZ VC VN XU ZA ZM ZW CS |

## フロントページの続き

| (51) Int.Cl.                   | F I           | テーマコード (参考) |
|--------------------------------|---------------|-------------|
| <b>A 6 1 K 48/00 (2006.01)</b> | A 6 1 K 48/00 | 4 C 0 8 6   |
| <b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b> | A 6 1 P 35/00 |             |
| <b>C 1 2 Q 1/02 (2006.01)</b>  | C 1 2 Q 1/02  |             |
| <b>G 0 1 N 33/15 (2006.01)</b> | G 0 1 N 33/15 | Z           |
| <b>G 0 1 N 33/50 (2006.01)</b> | G 0 1 N 33/50 | Z           |
| <b>G 0 1 N 33/53 (2006.01)</b> | G 0 1 N 33/53 | M           |
| <b>G 0 1 N 37/00 (2006.01)</b> | G 0 1 N 37/00 | 1 0 2       |
| <b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b> | C 1 2 N 15/00 | A           |
| <b>A 6 1 K 38/00 (2006.01)</b> | C 1 2 N 15/00 | F           |
|                                | A 6 1 K 37/02 |             |

(81) 指定国 AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 片桐 豊雅

東京都品川区東五反田 2 - 1 0 - 1 1 - 3 0 5

F ターム(参考) 2G045 AA34 AA35 CB01 DA13 DA36 FB02 FB03  
 4B024 AA01 AA12 BA36 CA01 CA09 CA12 HA12  
 4B063 QA19 QQ08 QQ42 QQ53 QR32 QR55 QR62 QR82 QS25 QS34  
 4C084 AA02 AA13 AA17 BA03 CA53 DC50 NA14 ZB262  
 4C085 AA03 AA13 BB01 DD61  
 4C086 AA01 AA02 AA04 EA16 MA01 MA04 NA14 ZB26

|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |         |            |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 诊断胰腺癌的方法                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">JP2006500948A</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 公开(公告)日 | 2006-01-12 |
| 申请号            | JP2004541226                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 申请日     | 2003-09-17 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 肿瘤疗法科学股份有限公司<br>国立大学法人 东京大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | ONCO疗法科学股份有限公司<br>东京大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |         |            |
| [标]发明人         | 中村祐輔<br>片桐豊雅                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |         |            |
| 发明人            | 中村 祐輔<br>片桐 豊雅                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |         |            |
| IPC分类号         | C12Q1/68 A61K31/711 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53 G01N37/00 C12N15/09 A61K38/00 C07K14/47 G01N33/574                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |         |            |
| CPC分类号         | A61K38/00 A61P1/16 A61P1/18 C07K14/47 C07K14/82 C12Q1/6837 C12Q1/6886 C12Q2600/112 C12Q2600/118 C12Q2600/136 C12Q2600/158 G01N33/57438 Y02A90/26                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |         |            |
| FI分类号          | C12Q1/68.ZNA.A A61K31/711 A61K39/00.H A61K39/395.D A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.M G01N37/00.102 C12N15/00.A C12N15/00.F A61K37/02                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |         |            |
| F-TERM分类号      | 2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/CB01 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/HA12 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR82 4B063/QS25 4B063/QS34 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA03 4C084/CA53 4C084/DC50 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/BB01 4C085/DD61 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA04 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB26 |         |            |
| 代理人(译)         | 清水初衷                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |         |            |
| 优先权            | 60/414872 2002-09-30 US<br>60/450889 2003-02-28 US                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |         |            |
| 其他公开文献         | JP2006500948A5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |         |            |

# 摘要(译)

本文描述了用于检测和诊断胰腺癌 ( PNC ) 的客观方法。在一个实施方案中, 诊断方法包括确定PNC相关基因的表达水平, 其区分PNC细胞和正常细胞。本发明进一步提供筛选可用于治疗胰腺癌的治疗剂的方法, 治疗胰腺癌的方法和接种抗胰腺癌的受试者的方法。

| 患者番号 | 年齢 | 性別 | 位置   | pT | pN | M | 病期  | 組織病理学    | 状態 |
|------|----|----|------|----|----|---|-----|----------|----|
| 1    | 74 | M  | pb   | 1  | 0  | 0 | I   | por      | 生存 |
| 2    | 56 | F  | ph   | 2  | 0  | 0 | I   | pap      | 生存 |
| 3    | 61 | M  | ph   | 1  | 0  | 0 | I   | mod      | 生存 |
| 4    | 75 | M  | ph   | 2  | 0  | 0 | I   | pap      | 生存 |
| 5    | 不明 | M  | ph   | 3  | 1  | 0 | III | mod      | 生存 |
| 6    | 不明 | M  | pb   | 4  | 0  | 0 | IVA | well     | 生存 |
| 7    | 77 | M  | phpb | 4  | 0  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 8    | 73 | F  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 9    | 75 | M  | pb   | 4  | 1  | 0 | IVA | adenoscc | 生存 |
| 10   | 61 | M  | ph   | 4  | 0  | 0 | IVA | mod      | 生存 |
| 11   | 64 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | well     | 死亡 |
| 12   | 61 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 13   | 65 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 14   | 46 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 15   | 59 | M  | ph   | 4  | 0  | 0 | IVA | mod=por  | 生存 |
| 16   | 58 | M  | ph   | 4  | 1  | 0 | IVA | mod      | 死亡 |
| 17   | 74 | F  | pb   | 4  | 1  | 1 | IVB | mod      | 死亡 |
| 18   | 69 | F  | ph   | 4  | 1  | 1 | IVB | mod      | 死亡 |