

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年3月30日(30.03.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/051542 A1

- (51) 国際特許分類:
C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/004327
- (22) 国際出願日: 2016年9月23日(23.09.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-187300 2015年9月24日(24.09.2015) JP
- (71) 出願人: 株式会社ヤクルト本社(YAKULT HONSHA CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1058660 東京都港区東新橋1丁目1番19号 Tokyo (JP). 学校法人近畿大学(KINKI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5778502 大阪府東大阪市小若江3丁目4番1号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 西尾 和人(NISHIO, Kazuto); 〒5898511 大阪府大阪狭山市大野東377-2 学校法人近畿大学医学部 Osaka (JP). 藤田 至彦(FUJITA, Yoshihiko); 〒5898511 大阪府大阪狭山市大野東377-2 学校法人近畿大学医学部 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 廣幸 正樹(HIROKOH, Masaki); 〒5300047 大阪府大阪市北区西天満3丁目1番6号辰野西天満ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: TREATMENT SELECTION METHOD AND BIOMARKER INDICATING SELECTION

(54) 発明の名称: 治療法の選択方法およびそれを示すバイオマーカー

(57) Abstract: Systemic chemotherapy by either FOLFOX or FOLFIRI is used in the treatment of stage IV colorectal cancer. However, there was no way to predict which treatment would be effective for an individual patient. Whether it would be advantageous to select FOLFIRI or FOLFOX can be assessed by using a biomarker that indicates which of FOLFOX or FOLFIRI would be advantageous to select for colorectal cancer in a patient, the biomarker being characterized by the existence of an increase in the number of copies of at least one region among 7p15.3, 7q34, 8q24.1, 8q24.2, 8q24.1-q24.2, 9q34.3, 13q12.2, 13q14.1, 13q22.1, 13q32.1, 13q32.2, 13q34.2, 20q12, 20q13.1, 20q13.2, and 20q13.3 on the human chromosome.

(57) 要約: ステージIVの大腸癌の治療には、FOLFOX療法もしくはFOLFIRI療法のいずれかの全身化学療法が用いられる。しかし、どちらの療法が個々の患者にとって、効果的かを予測する方法はなかった。大腸癌に対してFOLFOX治療とFOLFIRI治療のうち、いずれの療法を選択するのが患者にとって有利であることを示すバイオマーカーであって、前記バイオマーカーは、ヒト染色体上の7p15.3, 7q34, 8q24.1, 8q24.2, 8q24.1-q24.2, 9q34.3, 13q12.2, 13q14.1, 13q22.1, 13q32.1, 13q32.2, 13q32.3, 13q34.2, 20q12, 20q13.1, 20q13.2, 20q13.3のうち、少なくとも1領域のコピー数の増加の有無であることを特徴とするバイオマーカーを用いることで、FOLFIRI療法若しくはFOLFOX療法を選択した方が有利なることを判断することができる。

WO 2017/051542 A1

明 細 書

発明の名称：治療法の選択方法およびそれを示すバイオマーカー
技術分野

[0001] 本発明は、大腸癌に対してFOLFFOX療法とFOLFIRI療法のいずれを選択するのが患者に対して有利であるかを示すバイオマーカーと、それを用いた療法の選択方法に関する。

背景技術

[0002] 大腸癌研究会の大腸癌治療ガイドラインでは、大腸癌は、進行度を5つの段階（ステージ）で表される。ステージが進むに従い、癌の進行度は進む。このステージの判断は、大腸壁への侵入度、リンパ節への転移の有無、他の臓器への転移有無で判断される。ステージIVは最も進行した大腸癌で、他の臓器への転移が認められる段階である。このようなステージでは、外科的な切除は困難で専ら全身化学療法が施される。

[0003] この進行・転移性結腸直腸癌に対する治療として、ファーストラインにFOLFFOX療法+ベバシズマブ、あるいはFOLFIRI療法+ベバシズマブが広く推奨されている。このうちベバシズマブ（BEV）はVEGF-A（vascular endothelial growth factor A：血管内皮増殖因子A）に対するヒト化モノクローナル抗体として開発され、VEGF-VEGFR結合を阻害する薬剤である。腫瘍血管の血管内皮細胞は薬剤暴露によりVEGFR（Vascular Endothelial Growth Factor Receptor：血管内皮細胞増殖因子受容体）シグナル伝達を遮断され、結果的に腫瘍血管は強力な血管新生阻害作用を受ける。

[0004] BEVの有用性は切除不能・再発結腸直腸がんに対して確立しており、臨床の場に登場して数年経過している。BEVの薬理作用メカニズムは創薬の時点で明確であり、BEVを含めた血管新生阻害薬に対するバイオマーカー研究は精力的に早期の臨床開発段階から行われている。しかしながら臨床実

地上有用な再現性があり、簡便で、測定値に施設間格差がなく、非侵襲的な、バイオマーカーは現時点では特定されていない。

[0005] 同様に、FOLFOX (5-fluorouracil (5-FU) / levofolinate calcium (L-LV) + oxaliplatin (L-OHP)) 療法およびFOLFIRI (5-fluorouracil (5-FU) / levofolinate calcium (L-LV) + irinotecan (CPT-11)) 療法両レジメンの効果予測因子についても、臨床実地上有用と証明されているバイオマーカーは現時点で特定されていない。

[0006] DNAのコピー数を、発症した患者に対する最適な薬剤治療法の選択に利用可能なマーカーとしては、特許文献1 (特開2011-135838号公報) が知られている。これは、著しい視力低下をきたす加齢黄斑変性症の発症及び進行を、高い精度及び確率で予測可能であり、加齢黄斑変性症の早期予防や、既に発症した患者に対する最適な薬剤治療法の選択に好適に利用可能な加齢黄斑変性症易罹患性判定用マーカーを提供するものである。

[0007] 大腸癌に対してDNAのコピー数をマーカーとして用いた例として、特許文献2 (特開2010-162029号公報) がある。ここでは、2つの非常に異なるタイプのアレイを組み合わせて、癌およびトリソミーのようなさまざまな遺伝障害のマーカーとなり得る遺伝子のコピー数の変化を、高い解像度で迅速かつ正確に検出する方法を提供している。この方法では、対象となる疾患として、乳癌、肺癌、大腸癌、精巣癌、子宮内膜癌、または膀胱癌が上げられている。

[0008] また、特許文献3 (特表2008-524986号公報) では、遺伝子のコピー数の変化を、乳癌、卵巣癌、胃癌、大腸癌、食道癌、間葉癌、膀胱癌または非小細胞肺癌の診断、予後、予測、予防および治療に利用する方法が開示されており、より具体的には、タキソール (商標) またはタキソテール (商標) などのタキサンまたはその他のタキサンに基づく誘導体を含む様々な治療計画に対する腫瘍性病変の応答予測を、遺伝子のコピー数の変化で行

おうとするものである。

先行技術文献

特許文献

- [0009] 特許文献1：特開2011-135838号公報
特許文献2：特開2010-162029号公報
特許文献3：特表2008-524986号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0010] 特許文献3で開示されているように、癌の治療法に対する応答予測に遺伝子のコピー数の増加を用いる点については、すでに公開されている。しかし、より具体的に大腸癌に対するFOLFEX療法およびFOLFIRI療法のどちらを選択するのが、個々の患者に対して有利かを判断するためのマーカーを開示するものではない。
- [0011] これらの療法は、一般的に交差耐性がないと考えられており、一方の薬物療法で効果が出ない場合は、他方の薬物療法を行うことができる。しかし、一方の薬物療法で効果が出なかった後に他方の薬物療法を行うのは、さらなる副作用に対する忍容性が要求される点と、治療コストの点からも患者にとっては、大きな負担となる。
- [0012] 大腸癌の患者数は、日本国内だけでも10万人を越えており、今後、FOLFEX療法およびFOLFIRI療法に対し、抗腫瘍薬の効果予測因子を特定し、治療対象の層別化を行うことは、医療経済面から有益である。また医療経済面だけでなく、患者にとっても無効な薬剤投与による有害事象の出現および無効な薬剤による無駄な治療期間の回避などの有益性をもたらす。したがって、FOLFEX療法とFOLFIRI療法のどちらがその患者にとって有利かを予見する必要性は高い。

課題を解決するための手段

- [0013] 本発明は上記の課題に鑑みて想到されたものであり、ヒト染色体上の特定

領域のコピー数の増加の有無に基づいて、FOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を行うことがその患者に対しては有利であることを示すバイオマーカーおよび治療法の選択方法を提供するものである。

[0014] より具体的に本発明に係るバイオマーカーは、大腸癌に対してFOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を行うに際し、患者にとってどちらが有利であることを示すバイオマーカーであって、前記バイオマーカーは、ヒト染色体上の7p15.3、7q34、8q24.1、8q24.2、8q24.1-q24.2、9q34.3、13q12.2、13q14.11、13q22.1、13q32.2-q32.3、13q34、20q12、20q13.13、20q13.2、20q13.3のうち、少なくとも1領域のコピー数の増加の有無であることを特徴とする。

[0015] また、大腸癌に対してFOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を行うに際し、患者にとってどちらが有利であることを示すバイオマーカーであって、前記バイオマーカーは、ヒト染色体上の7q34、8q24.1、8q24.2、8q24.1-q24.2、9q34.3、13q12.2、13q14.11のうち、いずれかの領域のコピー数の増加の有無であることを特徴とする。

[0016] また、本発明に係る治療法の選択方法は、大腸癌に対してFOLFFOX療法またはFOLFIRI療法のいずれかを選択する選択方法であって、前記大腸癌の腫瘍組織検体のヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無を測定する工程と、前記コピー数の増加の有無に基づいて前記FOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程を含み、前記ヒト染色体上の特定領域が、7p15.3、7q34、8q24.1、8q24.2、8q24.1-q24.2、9q34.3、13q12.

2、13q14.11、13q22.1、13q32.2-q32.3、13q34、20q12、20q13.13、20q13.2、20q13.3のうち、少なくとも1領域であることを特徴とする。

[0017] さらに、本発明に係る治療法の選択方法は、

前記ヒト染色体上の特定領域が、7q34、8q24.1、8q24.2、8q24.1-q24.2、13q12.2、13q14.11のうち、少なくとも1領域であり、

前記FOLFOTX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程は、

前記特定領域のコピー数が増加している場合にFOLFIRI療法を選択することを特徴とする。

[0018] また、本発明の治療法の選択方法は、

前記ヒト染色体上の特定領域が、9q34.3領域であり、

前記FOLFOTX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程は、

前記特定領域のコピー数が増加していない場合にFOLFIRI療法を選択することを特徴とする。

[0019] また、本発明の治療法の選択方法は、

前記ヒト染色体上の特定領域が7p15.3と8q24.1であり、

前記FOLFOTX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程は、

前記7q15.3でコピー数の増加が認められ、前記8q24.1ではコピー数の増加が認められない場合にFOLFOTX療法を選択することを特徴とする。

発明の効果

[0020] 本発明に係るバイオマーカーおよび治療法の選択方法によって、統計的な効果としてほぼ等しいとされているFOLFOTX療法およびFOLFIRI療法について、患者毎にいずれの療法の方が有利であるか否かを選択できる。したがって、患者にとっては、一方の療法を受けた後、他方の療法をやり直す必要がなくなるという効果が奏される。

図面の簡単な説明

[0021] [図1]アジレント社 genomic Workbench 6.5 Lite ソフトウェアによる染色体全領域とその領域にコードされている遺伝子のリストアップの例を示した図である。

[図2] 7番、8番、13番、20番染色体で増幅領域があった箇所を示した図である。

[図3] 7番染色体長腕34 (7q34) の領域におけるコピー数の増加の有無による生存率曲線を示すグラフである。

[図4] 7番染色体長腕にある計4個の増幅領域についてコピー数の増加の有無による生存率曲線を示すグラフである。

[図5] 13番染色体長腕にある5個の増幅領域についてコピー数の増加の有無による生存率曲線を示すグラフである。

[図6] 20番染色体長腕にある4個の増幅領域についてコピー数の増加の有無による生存率曲線を示すグラフである。

[図7] 7番、13番、20番にある増幅領域についてETSの結果を示すグラフである。

[図8] OS、ETS両方に有意差を認めた7q34の領域について、(1) FOLFOTX療法+ベバシズマブのFOLFOTX群 75例、(2) FOLFIRI療法+ベバシズマブのFOLFIRI群79例に分けて、それぞれ増幅有りの症例、無しの場合間におけるOSを(log-rank)検定して、計4群で比較した結果(Kaplan-Meier曲線)である。

[図9] 13番染色体での結果(Kaplan-Meier曲線)を示すグラフである。

[図10] 13番染色体での結果(Kaplan-Meier曲線)を示すグラフである。

[図11] 20番染色体での結果(Kaplan-Meier曲線)を示すグラフである。

[図12] 20番染色体での結果(Kaplan-Meier曲線)を示すグラフである。

[図13] 7番染色体領域における全患者（154名）のコピー数増加（CNG）あり、なし間のOS、PFSにおける差およびCNGあり（+）、なし（-）の2群におけるFOLFOX群、FOLFIRI群間のOS、PFSにおける差（p値）を表す図である。

[図14] 8番染色体領域における全患者（154名）のコピー数増加（CNG）あり、なし間のOS、PFSにおける差およびCNGあり（+）、なし（-）の2群におけるFOLFOX群、FOLFIRI群間のOS、PFSにおける差（p値）を表す図である。

[図15] 13番、20番染色体領域における全患者（154名）のコピー数増加（CNG）あり、なし間のOS、PFSにおける差およびCNGあり（+）、なし（-）の2群におけるFOLFOX群、FOLFIRI群間のOS、PFSにおける差（p値）を表す図である。

[図16] 7p15.3の領域におけるPFSのカプラン・マイヤー曲線を示すグラフである。

[図17] 8q24.1の領域におけるOSのカプラン・マイヤー曲線を示すグラフである。

[図18] 8q24.1の領域におけるPFSのカプラン・マイヤー曲線を示すグラフである。

[図19] 7p15.3および8q24.1の領域におけるCNGのステータスに基づいてグループ分けしたPFSおよびOSのカプラン・マイヤー曲線を示すグラフである。

[図20] 7p15.3および8q24.1の領域におけるCNGのステータスに基づいてグループ分けしたPFSおよびOSのカプラン・マイヤー曲線を示すグラフである。

[図21] 7番、8番、13番、20番以外の染色体増幅領域における全患者（154名）、FOLFOX群（75名）、FOLFIRI群（79名）のコピー数増加あり、なし間のOS、PFSにおける差（p値）を表す図である。

[図22] 9 q 3 4. 3領域のFOLF OX群、FOLF I R I群におけるコピー数増加あり、なし間およびCNGあり (+)、なし (-) の2群におけるFOLF OX群、FOLF I R I群間のカプラー・マイヤ曲線を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0022] 以下に本発明に係るバイオマーカーおよび治療法の選択方法について図面および実施例を示し説明を行う。なお、以下の説明は、本発明の一実施形態および一実施例を例示するものであり、本発明が以下の説明に限定されるものではない。以下の説明は本発明の趣旨を逸脱しない範囲で改変することができる。

[0023] ステージIVで用いられる化学療法には、FOLF OX療法とFOLF I R I療法が使われている。FOLF OX療法とは、フルオロウラシル (5-fluorouracil (5-FU)) と、フォリン酸 (levofolinate calcium (L-LV)) と、オキサリプラチン (oxaliplatin (L-OHP)) の3剤を併用する治療法である。FOLF OX療法にはさらにベバシズマブ (bevacizumab (BEV)) を併用することを含めることもできる。

[0024] FOLF I R I療法とは、フルオロウラシル (5-fluorouracil (5-FU)) と、フォリン酸 (levofolinate calcium (L-LV)) と、イリノテカン塩酸塩 (irinotecan (CPT-11)) (以後単に「イリノテカン」と呼ぶ。) の3剤を併用する治療法である。FOLF I R I療法にはさらにベバシズマブ (bevacizumab (BEV)) を併用することを含めることもできる。

[0025] したがって、FOLF OX療法とFOLF I R I療法との相違点は、オキサリプラチンとイリノテカンの違いである。しかし、個々の患者にとって、どちらの療法が適しているかを予見することは従来できなかった。以下の実施例が示すように、本発明では、各患者の腫瘍組織検体中の染色体において、ヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無を調べることで、どちら

の療法を選択するのが有利になるのかを判断することができる。

[0026] なお、ここで「有利になる」とは、治療後の生存期間が長くなることが高い確率で期待できるという意味である。また、ここでヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無は、後述するCGH法、PCR法、RT-PCR法等の方法により測定することができる。

実施例

[0027] (実施例1)

以下の実施例に関して用いた対象症例は、切除不能・再発結腸／直腸がん初回化学療法例に該当し、2008年9月から2012年12月までに西日本がん研究機構 (West Japan Oncology Group) の「切除不能・再発結腸／直腸がん初回化学療法例に対する5-fluorouracil (5-FU) / levofolinate calcium (L-LV) + oxaliplatin (L-OHP) + bevacizumab (BEV) 併用療法 対 5FU / L-LV + irinotecan (CPT-11) + BEV 併用療法のランダム化比較第III相試験 (WJOG4407G)」に登録され、かつWJOG4407GTRに同意が得られた患者のデータである。

[0028] 検体は、治療前に得られた腫瘍組織検体から作成した病理スライド (FFPEスライド) を使用した。腫瘍組織検体とは手術検体もしくは内視鏡下生検組織であり、スライドはパラフィン包埋、5ミクロンの切片での薄切を経て、スライドガラス上に固定し作成したものである。したがって、手術時に検体を採取する若しくは内視鏡によって生検組織を採取するのは、腫瘍組織検体を採取する工程といえる。なお、臨床試験登録以前に採取された検体も使用可能とした。

[0029] 腫瘍組織中のヒト染色体上の特定領域のコピー数変化は、Comparative Genomic Hybridization (CGH) 法を用いて測定した。CGH法は、全染色体を対象にしてゲノムDNAの過剰、欠失、増幅などのコピー数異常を短時間で検出する方法である。染色体コピー

数変化の検出が可能であるため、従来の染色体分析法では詳細な解析が困難であった固形腫瘍のゲノム異常解析法として、現在、広く利用されている。

[0030] 染色体レベルの物理サイズで起きたコピー数の減少 (loss)、増加 (gain)、増幅 (amplification) を決定することができるが、本技術によりコピー数の変化を伴わない均衡型染色体転座を検出することは不可能である。例えば、転座のように染色体自体の数が増えない場合等である。

[0031] 新しく同定された増幅領域に含まれるがん関連遺伝子は、遺伝子増幅に伴い発現量も増加していることが予想されることから、新規がん治療標的となる遺伝子探索を目的として、CGH解析は頻繁に行われている。今回の研究では、パラフィン切片より抽出したゲノムDNAを用い、市販の正常組織由来DNAと競合させることにより解析をおこなった。

[0032] CGH解析の手順は以下の通りである。

まず、FFPEスライド検体からDNA抽出を行った。全部で154サンプルのDNA抽出を行った。

[0033] 次にがん部より抽出したDNAの蛍光ラベルおよびハイブリダイゼーションの準備を行った。具体的には、癌部DNAはcyanine 5 (Cy5)、リファレンスDNA (正常組織由来DNA) はcyanine 3 (Cy3) で蛍光ラベルした。

[0034] ハイブリダイゼーションは以下のように行った。処理済みサンプル (Cy5ラベル化がん部DNA + Cy3ラベル化リファレンスDNA) 110 μ lのうち100 μ lをアジレント社CGHマイクロアレイ、4 X 44 Kに対応するガセットスライドガラスにアプライした。次に、4 X 44 Kマイクロアレイスライドガラスにおけるプローブのコーティング面に触れるように、両スライドを重ね合わせたのち、チャンバーにセット (固定) した。回転式オープンにて65 $^{\circ}$ Cでハイブリダイゼーション反応を40時間行った。

[0035] 実際の解析は以下の手順で行った。まず、2枚重ねになったガセットおよびアレイスライドの間にピンセットを入れ、はがした。アレイスライドを

アジレント社C G H洗浄用バッファー1で満たされたガラス容器中のスライドラックに差し込んだ。その後室温で、5分放置した。

[0036] 次に、アジレント社C G H洗浄用洗浄バッファー2で満たされた別のガラス容器中へ、アレイをスライドラックごと移した。その後37℃で、1分放置した。

[0037] 次に、アレイを取り出し、スライドホルダーへセットした。そして、アジレント社オゾン除去フィルター付きスキャナーにセットしてスキャンを行った。

[0038] PC（コンピュータ）上で、アジレント社スキャナコントロールソフトウェアを立ち上げ、アレイの画像を取り込んだ。

[0039] 次に、アジレント社Feature extractionソフトウェアを用いて、さきに取り込んだ画像から、アレイ上にそれぞれのプローブが結合しているスポット（約44,000か所）についてCy3、Cy5の蛍光強度を得た。Cy5/Cy3のlog₂比を算出して、各スポット（○番染色体の○ローカス）におけるヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無を見積もった。

[0040] ヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無はaberrationという。何番染色体のどの領域にaberrationがあるかは、アジレント社genomic Workbench 6.5 Liteソフトウェアをもちいて解析した。図1（a）（各染色体の全領域を図示したもの）と、図1（b）（各染色体上の領域にコードされている遺伝子をリストアップした表）はこのソフトウェアがはじき出したものを例示したものである。このようなデータに基づいて、各症例の全染色体におけるaberrationを知ることができる。

[0041] 図1の表（図1（b））については、サンプル名、染色体番号、ローカス、増幅か欠失、当該ローカスに含まれる遺伝子名などの情報が出力されている。本実施例では、全154検体のすべてにおいて、aberrationを認めた染色体とそのローカスを記録した。今回は特に、Cy5/Cy3の

\log_2 比 >0.25 すなわち正常と比べて $2^{0.25} = 1.19$ 倍以上増幅を認められたローカスのみを探索した。このように正常組織と比較してコピー数の増減を求めるのは、大腸癌の腫瘍組織検体のヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無を測定する工程といえる。

[0042] なお、増幅が 1.19 倍というように、整数倍にしないのは、正常細胞の混入や腫瘍細胞の不均一性など、DNAを収集した腫瘍組織における細胞の異質性 (heterogeneity) を想定しているからである。

[0043] また、ほとんどのヒト遺伝子について、あらゆる組織における遺伝子コピー数の測定が簡便に行えるライフテクノロジーズ社「Taqman (登録商標) Copy Number Assay」を用いることもできる。

[0044] 今回 (1) FOLFOX療法+ベバシズマブ、(2) FOLFIRI療法+ベバシズマブ両併用療法の対象となった154名の大腸がん患者の治療前の手術検体、あるいはバイオプシー (内視鏡下生検組織) のパラフィン包埋切片から抽出したがん部ゲノムDNAについて、アジレント社のキット「Agilent Oligo CGH Microarray Kit」を用いてCGH解析を行った。なお、各患者の観察期間は1600日である。

[0045] ヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加のカットオフ値を \log_2 比 >0.25 に設定し、もとの約 1.2 倍以上、つまり 2.4 コピー以上に増幅した領域を探した。すると、7番、8番、13番、20番染色体に増幅をもつ症例が集中していた。30症例以上が増幅を示す領域を表1に示す。

[0046]

[表1]

Chr	locus	例数	PFS(p値)	OS(p値)
<u>7</u>	q11.21	37	0.51	<u>0.0027</u>
<u>7</u>	q11.22-23	44	0.26	<u>0.0029</u>
<u>7</u>	q34	35	0.37	<u>0.0069</u>
<u>7</u>	q36.2	34	0.74	<u>0.0068</u>
8	p11.1	35	0.71	0.46
8	p11.23	31	0.78	0.69
8	q22.2	52	0.16	0.63
8	q24.2	63	0.26	0.36
<u>13</u>	q12.2	74	0.36	<u>0.0097</u>
<u>13</u>	q14.11	64	0.26	<u>0.0197</u>
<u>13</u>	q22.1	67	0.35	<u>0.0289</u>
<u>13</u>	q32.2-q32.3	66	0.25	<u>0.0127</u>
<u>13</u>	q34	64	0.33	<u>0.0246</u>
<u>20</u>	p13	43	0.64	<u>0.0011</u>
<u>20</u>	p12.1-p11.23	44	0.77	<u>0.0015</u>
<u>20</u>	p11.2	52	0.81	<u>0.0027</u>
<u>20</u>	q12	97	0.67	<u>0.0056</u>
<u>20</u>	q13.13	101	0.56	<u>0.0091</u>
<u>20</u>	q13.2	105	0.79	<u>0.0096</u>
<u>20</u>	q13.3	84	0.57	<u>0.0183</u>

[0047] 表1では、「Chr」は染色体番号、「locus」は遺伝子座を表す。これらの各領域についてコピー数の増加ありの症例（患者）、なしの症例（患者）の2群間でPFS（Progression-free survival：無増悪生存期間）およびOS（Overall Survival：全生存期間）のlog-rank検定を行った。その結果、いずれの領域もPFSに有意差を認めなかった。しかし、8番染色体を除くすべての領域でOSに有意差を認めた（ $p < 0.05$ ）。このようなOSに有意差のあるヒト染色体上の特定領域は予後規定因子を含む可能性が示唆される。表1では、OSに有意差のあるヒト染色体上の特定領域にアンダーラインを付した。

[0048] 図2は7番、8番、13番、20番染色体で増幅領域を示したものである。矢印の部分は増幅を示した領域を示しており、実際に増幅領域はこの部分を中心にしてある程度の幅をもつ。なお、7番、13番、20番の長腕の領域番号は引き出し線で示した。

[0049] このうち7番染色体長腕34（7q34）の領域における結果（生存率曲線）を図3に示す。図3（a）は、PFSの結果であり、図3（b）はOSの結果である。図3（a）、（b）共に、横軸は観察期間（日：目盛りは0日から1600日）であり、縦軸は生存率（無単位：目盛りは0から1）である。また、四角印はこれらの領域で増幅あり（Amplification+）であり、菱形印はこれらの領域で増幅無し（Amplification-）である。この領域に増幅のある患者（amplification+）の方が増幅のない患者（amplification-）よりOSで有意に予後良好を示した。

[0050] 図4は7番染色体長腕にある計4個の増幅領域について示したものである。図4（a）は7q11.21、図4（b）は7q11.22-23、図4（c）は7q34、図4（d）は7q36.2の場合を示す。何れのグラフも横軸は観察期間（日：目盛りは0日から1600日）であり、縦軸は生存率（無単位：目盛りは0から1）である。また、四角印はこれらの領域で増幅あり（Amplification+）であり、菱形印はこれらの領域で増幅無し（Amplification-）である。いずれも増幅のある患者の方が増幅のない患者と比べてOSで有意に予後良好であった。また、これらの領域は同一染色体の同じアーム（長腕）にあることから、増幅あり、なしのいずれかに割り当てられた患者の組み合わせが互いに近いので、似た曲線を示す。

[0051] 図5に13番、図6に20番染色体のOSの結果（生存率曲線）を示す。図5（a）は、13q12.2、図5（b）は13q14.11、図5（c）は13q22.1、図5（d）は13q32.2-q32.3、図5（e）は13q34の増幅領域を示す。また図6（a）は20q12、図6（b）

)は20q13.13、図6(c)は20q13.2、図6(d)は20q13.3の増幅領域を示す。

[0052] 何れのグラフも横軸は観察期間(日:目盛りは0日から1600日)であり、縦軸は生存率(無単位:目盛りは0から1)である。また、四角印はこれらの領域で増幅あり(Amplification+)であり、菱形印はこれらの領域で増幅無し(Amplification-)である。これらの染色体における増幅領域も、いずれも増幅のある患者が予後良好で、さらに同じ染色体アーム上、つまり13番長腕、20番長腕においても類似した生存率曲線を示した。

[0053] 次にETS(early tumor shrinkage=早期における腫瘍の縮み具合)の影響を検討した。登録時から8週時点における腫瘍の大きさ、つまり元の大きさと比較したパーセンテージについて、増幅ありの症例、なしの症例の2群間における平均値の差を各染色体領域で検定(t-test)した。結果を表2に示す。表2では、ESTの検定結果が5%未満になったヒト染色体上の特定領域にアンダーラインを付した。また、OSに有意差のあるものにもアンダーラインを付した。ETSの結果を図7に示す。

[0054]

[表2]

Chr	locus	例数	OS(p値)	ETS
7	q11.21	37	<u>0.0027</u>	0.1259
7	q11.22-23	44	<u>0.0029</u>	0.1390
7	q34	35	<u>0.0069</u>	<u>0.0044</u>
7	q36.2	34	<u>0.0068</u>	0.1610
13	q12.2	74	<u>0.0097</u>	<u>0.00032</u>
13	q14.11	64	<u>0.0197</u>	<u>0.00019</u>
13	q22.1	67	<u>0.0289</u>	<u>0.00022</u>
13	q32.2-q32.3	66	<u>0.0127</u>	<u>0.00067</u>
13	q34	64	<u>0.0246</u>	<u>0.00226</u>
20	p13	43	<u>0.0011</u>	0.1046
20	p12.1-p11.23	44	<u>0.0015</u>	0.1084
20	p11.2	52	<u>0.0027</u>	0.0736
20	q12	97	<u>0.0056</u>	<u>0.0027</u>
20	q13.13	101	<u>0.0091</u>	<u>0.0098</u>
20	q13.2	105	<u>0.0096</u>	<u>0.0052</u>
20	q13.3	84	<u>0.0183</u>	<u>0.0028</u>

[0055] 図7は、7番(図7(a))、13番(図7(b))、20番(図7(c))の各染色体におけるETSの結果を示す。それぞれ横軸方向には各染色体の増幅の有無(Amplificationの±)およびETSに対するp値を示す。縦軸には腫瘍の登録時と比べた大きさの割合(%)を示す。なおp値が5%未満のものはp値の下に下線を引いてある。

[0056] 図7(a)に示すように7番染色体長腕では1か所(q34)でETSに有意差があった。また図7(b)に示すように13番長腕では5か所(q12.2、q14.11、q22.1、q32.2-q32.3、q34)すべて、図7(c)に示すように20番では長腕にある4か所(q12、q13.13、q13.2、q13.3)でETSに有意差があった(短腕3か所にはなかった)。つまり、全部で10か所の領域でETSに有意差があった。ここで重要なのは、ヒト染色体上の特定領域のコピー数に増幅ありの症例で腫瘍の有意な縮小がみられたことである。これは増幅ありの症例でOS

の予後が良かった結果（図3から図6の結果）と矛盾しない結果といえる。

[0057] したがって、OSのみならずETSでも有意差をみとめたこれら計10か所の染色体領域は、多剤併用化学療法（1）FOLFFOX療法+ベバシズマブあるいは（2）FOLFIRI療法+ベバシズマブの効果予測因子を含む可能性が考えられる。

[0058] すなわち、7番、13番、20番の上記10箇所のうち、少なくとも1箇所の染色体領域にコピー数の増加が認められれば、FOLFFOX療法若しくはFOLFIRI療法を行うことが患者に有利に働くことが分かる。つまり、ヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加が、FOLFFOX療法若しくはFOLFIRI療法を行うことが有利であることを示すマーカーとして利用できる。また、この時コピー数の増加とは、少なくとも正常組織の2.4コピー以上に増幅していれば足りる。

[0059] 以下、この（1）および（2）の2種の併用療法間で治療効果に差を示す領域の有無についての結果を示す。

[0060] 図8から図12はOS、ETS両方に有意差を認めた10個の領域（7q34、13q12.2、13q14.11、13q22.1、13q32.2-q32.3、13q34、20q12、20q13.13、20q13.2、20q13.3）について、（1）FOLFFOX療法+ベバシズマブのFOLFFOX群75例、（2）FOLFIRI療法+ベバシズマブのFOLFIRI群79例に分けて、それぞれ増幅有りの症例、無しの症例間におけるOSを（log-rank）検定して、計4群で比較した結果（Kaplan-Meier曲線）である。図8から図12において、p値が5%（0.05）未満になったものは下線を引いた。

[0061] 図8では、横軸が観察期間（日：目盛りは0日から1600日）であり、縦軸は生存率（無単位0から1）である。「X+」はFOLFFOX療法+ベバシズマブでヒト染色体上の特定領域のコピー数の増幅があったもの、「X-」はFOLFFOX療法+ベバシズマブで増幅がなかったものである。「R+」はFOLFIRI療法+ベバシズマブで増幅があったもの、「R-」は

FOLFIRI療法+ベバズマブで増幅がなかったものである。

以後図9から図12も同様である。

[0062] 図8を参照して、7番染色体q34では、FOLFIRI群(R+とR-)の方がFOLFOX群(X+とX-)よりも増幅有り、なしの症例間における効果の差が大きいことがわかる。P値でもFOLFIRI療法の場合0.0128となり、R+とR-の間で有意差を示している(p=0.0128)。したがって、この領域にはoxaliplatinには影響しないが、irinotecanの感受性をあげる遺伝子を含む可能性がある。

[0063] この領域(7q34)にコピー数の増幅を認める症例(35例)に共通の(7q34に含まれる増幅した)遺伝子は、HIPK2, TBXAS1, PARP12, JHDM1D, LOC100134229, SLC37A3, RAB19, MKRN1である(後述の表3参照)。

[0064] 7q34の増幅の有無によりFOLFOX療法とFOLFIRI療法のいずれかを選択することができるが、7q34に含まれる上記遺伝子のコピー数を測定することによってもFOLFOX療法とFOLFIRI療法のいずれかを選択することができる可能性がある。

[0065] 図9および図10には13番染色体での結果を示す。図9および図10で示されるように13番染色体も同様に、FOLFIRI群の方が増幅有り無しの差が大きかった。しかも増幅ありの場合、FOLFIRI群がFOLFOX群より感受性が高い傾向がみられる(p=0.2前後)。したがって、この領域にもoxaliplatinには影響しないが、irinotecanの感受性をあげる遺伝子を含む可能性がある。

[0066] 特に13q12.2、13q14.11、13q22.1の3領域でirinotecanとoxaliplatinの差が顕著に示された。

[0067] 13q12.2領域にコピー数の増幅を認める症例(74例)に共通の(13q12.2に含まれる増幅した)遺伝子は、USP12、RPL21、RPL21P28、SNORD102、SNORA27、RASL11A、GTF3A、MTIF3、LNX2、POLR1D、GSX1、PDX1、

ATP5EP2、CDX2、PRHOXNB、FLT3、LOC100288730、PAN3、FLT1、POMP、SLC46A3の21遺伝子である（後述の表3参照）。

[0068] また、13q14.11領域にコピー数の増幅を認める症例（64例）に共通の（13q14.11に含まれる増幅した）遺伝子は、LOC646982、FOXO1、MIR320D1、MRPS31、SLC25A15、SUGT1L1、MIR621、ELF1、WBP4、KBTBD6、KBTBD7、MTRF1、NAA16、OR7E37P、C13orf15、KIAA0564、DGKH、AKAP11、TNFSF11、C13orf30、EPSTI1、DNAJC15、ENOX1、CCDC122、C13orf31、LOC121838、SERP2の27遺伝子である（後述の表3参照）。

[0069] 13q22.1領域にコピー数の増幅を認める症例（67例）に共通の（13q22.1に含まれる増幅した）遺伝子はPIFB1、KLF5の2遺伝子である（後述の表3参照）。

[0070] 13q12.2、13q14.11、13q22.1のコピー数の増幅の有無によりFOLFOX療法とFOLFIRI療法のいずれかを選択することができるが、これら3領域に含まれる上記遺伝子のコピー数を測定することによってもFOLFOX療法とFOLFIRI療法のいずれかを選択することができる可能性がある。

[0071] 図11および図12には、20番染色体での結果を示す。図11および図12に示すように20番染色体でも似た傾向はあるが、FOLFOX群も増幅あるなしの間で効果の異なる傾向が出ており（X+ vs. X-; $p=0.06-0.2$ ）、これら4領域にはoxaliplatin、irinotecanのいずれかの感受性に特異的に影響を与える遺伝子を含む可能性は低い。

[0072] 以上より、両併用療法の効果を差別化するバイオマーカーとして7q34、13q12.2、13q14.11、13q22.1の4領域が挙げられ

、表3に示すこれら4領域の増幅領域内に含まれる遺伝子もバイオマーカー候補となる可能性がある。

[0073] [表3]

7q34	HIPK2	TBXAS1	PARP12	JHDM1D	LOC100134229	SLC37A3	RAB19	MKRN1	
13q12.2	USP12	RPL21	RPL21P28	SNORD102	SNORA27	RASL11A	GTF3A		
	MTIF3	LNx2	POLR1D	GSX1	PDX1	ATP5EP2	CDX2		
	PRHOXNB	FLT3	LOC100288730	PAN3	FLT1	POMP	SLC46A3		
13q14.11	LOC646982	FOXO1	MIR320D1	MRPS31	SLC25A15	SUGT1L1	MIR621	ELF1	WBP4
	KBTBD6	KBTBD7	MTRF1	NAA16	OR7E37P	C13orf15	KIAA0564	DGKH	AKAP11
	TNFSF11	C13orf30	EPSTI1	DNAJC15	ENOX1	CCDC122	C13orf31	LOC121838	SERP2
13q22.1	PIBF1	KLF5							

[0074] 大腸がん細胞株をもちいて表3に示すこれらの候補遺伝子の大量発現、あるいはsiRNAによるノックダウンを行い、irinotecanおよびoxaliplatinの感受性の変化を測定すれば、効果予測因子（遺伝子）が見つかることが期待され、表3に示す遺伝子のコピー数（発現量）測定によって、個々の大腸癌の患者でbevacizumabの併用薬としてどちらの療法が有利か予測可能となる。

[0075] また、効果予測因子（遺伝子）を特定しなくても、7q34、13q12.2、13q14.11、13q22.1の4箇所のうち、少なくとも1つの領域において、コピー数の増幅があれば、FOLFIRI療法を行うことがその患者にとって、治療効果の上がる療法であると予見することができる。

[0076] 特に13q12.2、13q14.11、13q22.1の3領域は、irinotecanとoxaliplatinの差が顕著に示された。したがって、これらの3領域の少なくとも1つの領域のコピー数の増加を調べることで、高い確度でFOLFIRI療法を行うことがその患者にとって有利となるということが予見できる。

[0077] また、FOLFOX療法とFOLFIRI療法との相違点は、オキサリプラチンとイリノテカンの違いであるので、7q34、13q12.2、13q14.11、13q22.1の4箇所のいずれかの領域のコピー数の増幅は、イリノテカンの治療効果を予見するマーカーとしても利用することができる。

[0078] なお、ここで、コピー数の増加とは、少なくとも正常組織の2.4コピー以上に増幅していれば足りる。

[0079] (実施例2)

次に実施例1でWJOG4407GRTに同意を得られた患者の観察期間70か月までをまとめた結果を示す。実施例1の場合より観察期間が長いので、より確度の高い結果が得られた。

[0080] 実施例1同様に、ヒト染色体上の特定領域のコピー数の増幅のカットオフ値を \log_2 比 >0.25 に設定し、もとの約1.2倍以上、つまり2.4コピー以上に増幅した領域を探した。すると、7番、8番長腕、13番、20番染色体に増幅をもつ症例が集中していた。7番、8番、13番、20番染色体における増幅領域は図2に示した通りである。

[0081] 染色体バンドで区切ったこれらの各染色体領域における全患者(154名)、FOLFOX療法群(75名)、FOLFIRI療法群(79名)のコピー数増加(CNG: Copy Number Gain)あり、なし間のOS、PFSにおける差(p値)およびCNGあり(+)、なし(-)の2群におけるFOLFOX療法群、FOLFIRI療法群間のOS、PFSにおける差(p値)を表にしたものを、図13(7番)、図14(8番)、図15(13番、20番)に示す。

[0082] これらの各領域について全患者(154名)のうち、ヒト染色体上の特定領域のコピー数の増幅ありの症例(患者)、なしの症例(患者)の2群間でPFS(無増悪生存期間)およびOS(全生存期間)の \log -rank検定を行うと、いずれの領域もPFSに有意差を認めなかった。しかし、7q、13q、20番染色体の多くの領域でOSに有意差を認めた(図13、14、15の「total(154)欄の「OS」欄参照)。つまり、p値が0.05より小さくなった($p < 0.05$)。このようなOSに有意差のある遺伝子増幅領域は予後規定因子を含む可能性が示唆される。

[0083] 図13を参照すると、7番染色体短腕7pのほとんどの領域におけるCNG(-)群で、PFSに準有意な差($p < 0.1$)が見られた。なかでも最

も p 値の小さい $p = 1.5 \times 10^{-3}$ の領域における PFS の Kaplan-Meier 曲線を図 16 に示す。

[0084] 図 16 (a) は、FOLFOX 療法に関して、増加あり (CNG (+))、なし (CNG (-)) についてのグラフである。図 16 (b) は FOLFIRI 療法に関して増加あり (CNG (+))、なし (CNG (-)) についてのグラフである。図 16 (c) は増加あり (CNG (+)) に関して、FOLFOX 療法と FOLFIRI 療法についてのグラフである。また、図 16 (d) は増加なし (CNG (-)) に関して、FOLFOX 療法と FOLFIRI 療法についてのグラフである。

[0085] 全てのグラフに関して、横軸は観測期間 (「Time (months)」と記載した。) であり、縦軸は PFS についての生存確率 (「PFS Probability」と記載した。) である。なお、各グラフ横軸は 0 から 70 (か月)、縦軸は 0 から 1 までの目盛りが記載されている。

[0086] 図 16 を参照すると、図 16 (d) において p 値が 0.059 と準有意差が見られた。すなわち、この領域に遺伝子の増幅のない患者では、FOLFOX 療法より FOLFIRI 療法の方が高い治療効果を示したといえる。

[0087] 次に図 14 を参照する。8 番染色体長腕 24.1 から 24.2 (8q24.1-q24.2) にかけて、CNG (+) 群における PFS に有意差 ($p = 0.037$) または、準有意差 ($p = 0.053$) が見られた。8q24.1 における OS の Kaplan-Meier 曲線を図 17 に、PFS を図 18 にそれぞれ示す。

[0088] 各図において、横軸が観察期間 (Time (months)) と記載) であり、縦軸が生存確率 (OS 若しくは PFS Probability) と記載) であるのは図 16 の場合と同じである。また、各図において、(a) は、FOLFOX 療法に関して、増加あり (CNG (+))、なし (CNG (-)) についてのグラフであり、(b) は FOLFIRI 療法に関して増加あり (CNG (+))、なし (CNG (-)) についてのグラフであり、(c) は増加あり (CNG (+)) に関して、FOLFOX 療法と FOLFIRI

R I療法についてのグラフであり、また(d)は増加なし(CNG(-))に関して、FOLFOX療法とFOLFIRI療法についてのグラフであるのも、図16と同じである。なお、各グラフ横軸は0から70(か月)、縦軸は0から1までの目盛りが記載されている。

[0089] 図17(a)、図17(b)を参照して、FOLFOX療法群ではCNG(-)、FOLFIRI療法群ではCNG(+)でOSが有意に長かった(いずれのp値も0.05より小さかった。)。さらに、CNG(+)群(図17(c)参照)では、FOLFIRI療法群がFOLFOX療法群よりも大きく予後良好であった($p=0.004$)。

[0090] 図18を参照する。図17の結果を反映して、PFSにおいてもCNG(+)群(図18(c)参照)ではFOLFIRI療法群の方がFOLFOX療法群よりも有意に治療効果が高かった($p=0.037$)。

[0091] 7p15.3および8q24.1におけるCNGのステータスに基づいてグループ分けした4群におけるPFSおよびOSのカプラン・マイヤー曲線を図19、図20に示す。図19(a)、図19(b)は、7p15.3および8q24.1のCNGがともに増加あり(CNG(+))の場合である。図19(a)はPFSについて、図19(b)はOSについてのプロットである。

[0092] 図19(c)、図19(d)は、7p15.3のCNGが増加あり(CNG(+))であり、8q24.1のCNGが増加なし(CNG(-))の場合である。図19(c)はPFSについて、図19(d)はOSについてのプロットである。

[0093] 図20(a)、図20(b)は、7p15.3のCNGが増加なし(CNG(-))であり、8q24.1のCNGが増加あり(CNG(+))の場合である。図20(a)はPFSについて、図20(b)はOSについてのプロットである。

[0094] 図20(c)、図20(d)は、7p15.3および8q24.1のCNGがともに増加なし(CNG(-))の場合である。図20(c)はPFS

について、図20(d)はOSについてのプロットである。

- [0095] また、それぞれのグラフで、横軸は観察期間（Time (months)）と記載）であり、縦軸は生存確率（「OS若しくはPFS Probability」と記載）である。また、各グラフ横軸は0から70（か月）、縦軸は0から1までの目盛りが記載されている。
- [0096] 7p15.3でCNG(-)、8q24.1でCNG(+)の場合（つまりCNG(-,+)：図20(a)、(b)参照）、FOLFIRI療法群で大きく治療効果の優位性が示された。
- [0097] CNG(+,+)（図19(a)、(b)）およびCNG(+,-)（図19(c)、(d)）の場合は、OSのカプラン・マイヤー曲線（図19(b)および(d)）より、それぞれFOLFIRI療法、FOLFOX療法の有利性が示唆された。
- [0098] つまり、図19(a)、(b)は、7p15.3および8q24.1のそれぞれの領域で共に遺伝子コピーの増加が認められれば、FOLFIRI療法が有利との示唆である。また、図19(c)、(d)は、7p15.3で遺伝子の増加があり、8q24.1で遺伝子の増加がなければ、FOLFOX療法が有利との示唆である。
- [0099] 再び図14を参照する。8q24.1から8q24.2領域にかけてCNG増加ありを認める症例のうち、NSMMCE2、TRBI、FAM84B、POU5F1B、LOC727677、MYC、PVT1が最も頻繁にかつ共通してCNG増加ありを示す（コピー増加が認められる）遺伝子群であった。以上のことより、この領域にFOLFIRI療法の効果を引き上げる因子を含む可能性が示唆された。
- [0100] もし、FOLFIRI（イリノテカン）療法の感受性を引き上げる遺伝子Aが見つければ、個々の進行・転移性結腸直腸癌の患者について、遺伝子Aのコピー数を測定することにより、増加が認められれば、FOLFIRI療法とベバシズマブの併用治療を積極的に選択することができる。
- [0101] また、図13を参照して、7p15.3を含む7p全領域には、FOLF

O X療法の効果を引き上げる因子を含む可能性がある。

[0102] 7番、8番、13番、20番以外の染色体増幅領域における全患者（154名）、FOLF O X療法群（75名）、FOLF I R I療法群（79名）のコピー数増加あり、なし間のOS、PFSにおける差（p値）を図21に示す。

[0103] このうち、特にPFSに低いp値（0.11）が認められた9q34.3領域のFOLF O X療法群、FOLF I R I療法群におけるコピー数増加あり、なし間およびCNGあり（+）、なし（-）の2群におけるFOLF O X療法群、FOLF I R I療法群間のカプラー・マイヤ曲線を図22に示す。

[0104] 図22（a）は、FOLF O X療法に関して、増加あり（CNG（+））、なし（CNG（-））についてのグラフである。図22（b）はFOLF I R I療法に関して増加あり（CNG（+））、なし（CNG（-））についてのグラフである。図22（c）は増加あり（CNG（+））に関して、FOLF O X療法とFOLF I R I療法についてのグラフである。また、図22（d）は増加なし（CNG（-））に関して、FOLF O X療法とFOLF I R I療法についてのグラフである。

[0105] 全てのグラフに関して、横軸は観察期間（「Time（months）」と記載）であり、縦軸はPFSの生存確率（「PFS Probability」と記載）である。また、各グラフ横軸は0から70（か月）、縦軸は0から1までの目盛りが記載されている。

[0106] 図22（d）を参照すると、全154症例中、この領域にコピー数増加のない137例でFOLF I R I療法の治療効果が有意に良好であった。

[0107] 9q34.3領域にCNG増加ありを認める患者のうち、最も頻繁に共通してCNG増加ありを示す遺伝子群はNOTCH1、EGFL7、MIR126、AGPAT2、FAM69B、SNHG7であった。これらの中にFOLF O X療法の治療効果を上げるか、またはFOLF I R I療法の治療効果を下げる因子が含まれる可能性がある。

- [0108] もしそのような因子Bが見つければ、個々の進行・移転性結腸直腸癌の患者について、遺伝子Bのコピー数を測定することで、遺伝子Bのコピー数の増加の見られない患者に対して、ベバシズマブの併用療法としてFOLFIRI（イリノテカン）療法を優先的に選択することができる。もちろん、そのような遺伝子Bを特定していなくても、9q34.3領域のCNGの増加がなければ、ベバシズマブの併用療法としてFOLFIRI（イリノテカン療法）を優先的に選択することができる。
- [0109] 以上のことより両併用療法の効果を差別化するバイオマーカー候補として、8q24.1-q24.2、9q34.3の2か所の増幅領域内に含まれる遺伝子があげられ、8q24.1-q24.2、9q34.3の2か所の増幅領域のコピー数の増加の有無を調べることで、併用治療の選択をすることができる。
- [0110] より具体的には、8q24.1-q24.2の増幅領域内で遺伝子の増幅がある場合は、ベバシズマブの併用としてFOLFIRI療法を選択するのがよい。なお、8q24.1-q24.2の増加領域とは、8q24.1領域若しくは8q24.2領域だけで遺伝子のコピー数の増加があった場合を含む。また、9q34.3増幅領域内で遺伝子の増幅がない場合は、ベバシズマブの併用としてFOLFIRI療法を選択するのがよい。

産業上の利用可能性

- [0111] 本発明に係るバイオマーカーは、大腸癌の治療法としてFOLFOX療法とFOLFIRI療法のどちらを選択するかを判断する際に好適に利用することができる。

請求の範囲

[請求項1] 大腸癌に対してFOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を行うに際し、患者にとってどちらが有利であることを示すバイオマーカーであって、

前記バイオマーカーは、ヒト染色体上の7 p 15. 3、7 q 34、8 q 24. 1、8 q 24. 2、8 q 24. 1-q 24. 2、9 q 34. 3、13 q 12. 2、13 q 14. 11、13 q 22. 1、13 q 32. 2-q 32. 3、13 q 34、20 q 12、20 q 13. 13、20 q 13. 2、20 q 13. 3のうち、少なくとも1領域のコピー数の増加の有無であることを特徴とするバイオマーカー。

[請求項2] 大腸癌に対してFOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を行うに際し、患者にとってどちらが有利であることを示すバイオマーカーであって、

前記バイオマーカーは、ヒト染色体上の7 q 34、8 q 24. 1、8 q 24. 2、8 q 24. 1-q 24. 2、9 q 34. 3、13 q 12. 2、13 q 14. 11のうち、いずれかの領域のコピー数の増加の有無であることを特徴とするバイオマーカー。

[請求項3] 大腸癌に対してFOLFFOX療法またはFOLFIRI療法のいずれかを選択する選択方法であって、

前記大腸癌の腫瘍組織検体のヒト染色体上の特定領域のコピー数の増加の有無を測定する工程と、

前記コピー数の増加の有無に基づいて前記FOLFFOX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程を含み、

前記ヒト染色体上の特定領域が、7 p 15. 3、7 q 34、8 q 24. 1、8 q 24. 2、8 q 24. 1-q 24. 2、9 q 34. 3、13 q 12. 2、13 q 14. 11、13 q 22. 1、13 q 32. 2-q 32. 3、13 q 34、20 q 12、20 q 13. 13、20 q 13. 2、20 q 13. 3のうち、少なくとも1領域であることを

特徴とする治療法の選択方法。

[請求項4] 前記ヒト染色体上の特定領域が、7 q 3 4、8 q 2 4. 1、8 q 2 4. 2、8 q 2 4. 1 - q 2 4. 2、1 3 q 1 2. 2、1 3 q 1 4. 1 1のうち、少なくとも1領域であり、

前記FOLFOTX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程は、

前記特定領域のコピー数が増加している場合にFOLFIRI療法を選択することを特徴とする請求項3に記載された治療法の選択方法。

[請求項5] 前記ヒト染色体上の特定領域が、9 q 3 4. 3領域であり、

前記FOLFOTX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程は、

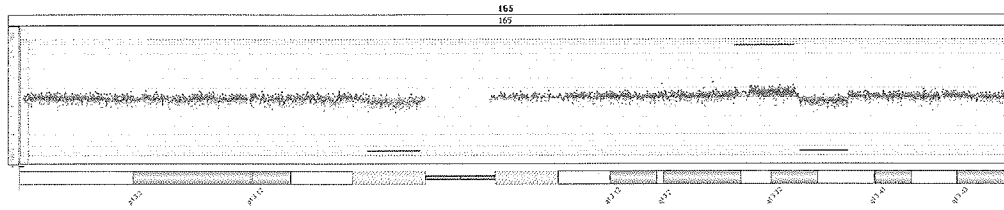
前記特定領域のコピー数が増加していない場合にFOLFIRI療法を選択することを特徴とする請求項3に記載された治療法の選択方法。

[請求項6] 前記ヒト染色体上の特定領域が7 p 1 5. 3と8 q 2 4. 1であり

、

前記FOLFOTX療法またはFOLFIRI療法を選択する工程は、

前記7 q 1 5. 3でコピー数の増加が認められ、前記8 q 2 4. 1ではコピー数の増加が認められない場合にFOLFOTX療法を選択することを特徴とする請求項3に記載された治療法の選択方法。

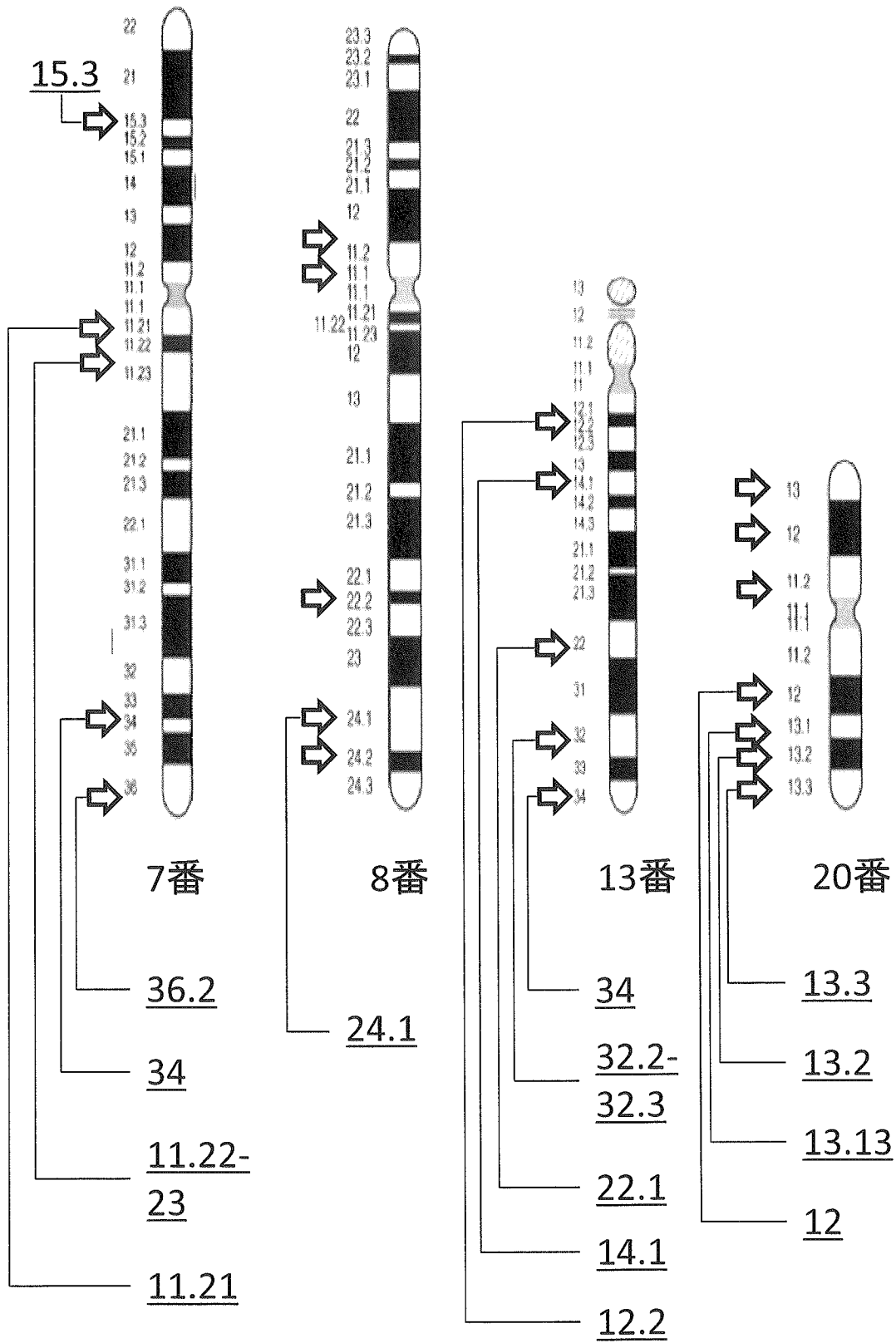


(a)

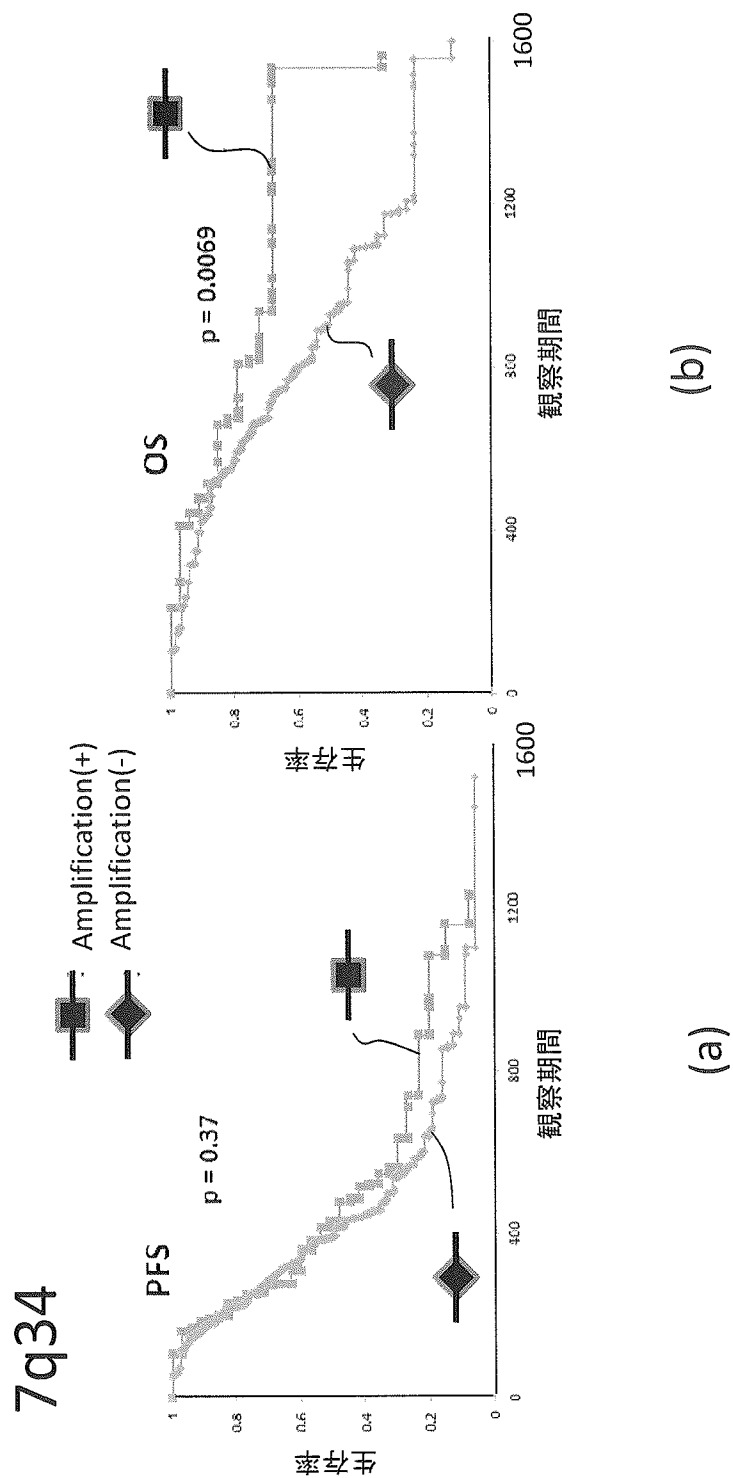
Aberration/Chr	Cytoband	Start	Stop	#Probes	Amplification	Deletion	pval	Gene Names
22q11.23								
1 chr1	p36.21	13895132	14890172	53	0	-0.54055	8.35E-14	PRDM2, KIAA1028
2 chr1	p34.3	38293439	38220157	125	1.561294	0	0	EIP2C3, TEK2, ADPRHL2, COL8A2, TRAPPC3, MAP7D1, THRAP3, C1orf113, FAM176B, STK40, LSM10, C1orf102, MRPS15, CSF1
3 chr1	p34.3	38298610	37926666	100	1.621386	0	1.65E-34	ADPRHL2, COL8A2, TRAPPC3, MAP7D1, THRAP3, C1orf113, FAM176B, STK40, LSM10, C1orf102, MRPS15, CSF1
4 chr1	p34.3 - p3	38220217	42516696	301	1.348407	0	0	SF3A3, FHL3, UTP11L, POU3F1, RRAG, MYCBP, GJA9, RHBDL2, AKIRIN1, NDUFS5, MACF1, KIAA0754, BMP8A
5 chr1	p34.2 - p3	42516755	49226814	503	1.206663	0	0	FOXJ3, RIMKLA, ZMYND12, PPCS, LOC728621, PPIH, YBX1, CLDN19, LEPRE1, C1orf50, CDDC23, ERMAP, ZNF61
6 chr1	p33	46873284	48649723	119	0.876439	0	1.55E-68	ATPAF1, C1orf223, KIAA0494, CYP4B1, CYP422P, CYP4A11, CYP4X1, CYP4Z1, CYP4A22, PDZK1P1, TAL1, STIL
7 chr1	p21.3	97958607	97987795	5	0	-1.19097	8.77E-19	DPYD
8 chr1	q25.2	1.79E+08	1.79E+08	11	0.499259	0	1.55E-10	QSOX1, FLJ23867, LHX4
9 chr2	p24.1	21073900	22225597	35	0	-0.31499	7.00E-13	APOB
10 chr2	p11.2	85346737	86382427	80	0.33211	0	6.90E-30	TOF1L1, TGOLN2, RETSAT, ELMOD3, CAPG, SH2D6, MAT2A, GGCX, VAMP9, VAMP5, RNF181, TMEM150, C2orf6
11 chr2	q14.2	1.21E+08	1.22E+08	38	0.307284	0	2.99E-13	GLJ2, TFPC2L1, CLASP1
12 chr3	q26.1	1.64E+08	1.64E+08	6	0	-3.63802	3.01E-100	
13 chr4	p15.1 - p1	28114310	35888708	225	0	-0.42994	1.11E-34	PODH7, ARAP2
14 chr4	q12 - q13	58164089	66922262	294	0	-0.37319	1.30E-23	LPHN3, SRD5A2L2, EPHA5
15 chr4	q13.2	69075140	69109871	4	0	-3.86693	8.51E-41	UGT2B17
16 chr5	p15.33	216401	1543921	94	0.376227	0	4.74E-44	PLEKHG4B, LOC389257, CDDC127, SDHA, PDCD8, AHRR, C5orf55, EXOC3, LOC25845, SLC9A3, CEP72, TPPP, PDE4D, PART1, DEPOC18, ELOVL7, ERCC8, NDUFAF2, C5orf43, ZSWH6, FLJ37543, KIF2A, DMT1L, IPO11, LRR
17 chr5	q12.1 - q1	59031890	94998499	1912	0	-0.61112	0	DUSP22, IRF4, EXOC2, HUS1B, LOC285768, FOXQ1, FOXF2, FOXQ1, GMSD, C5orf195, MYLK4, WRNIP1, SERPIN
18 chr6	p25.3 - p2	99130	9490261	590	0.463892	0	0	TFAP2A, C6orf218, GCNT2, C6orf52, PAK1IP1, TMEM140, TMEM14B, MAK, GCM2, SYCP2L, ELOVL2, LOC22171, HLA-H, HCG2P7, HCG4P6
19 chr6	p24.3 - p1	10492784	57754769	3166	0.442834	0	0	TRIM31, TRIM40, TRIM10, TRIM15, TRIM26, FLJ45422, HCG18, TRIM38, RPP21, HLA-E, GNL1, PRR3, ABCF1, PPI
20 chr6	p21.33	29862949	30004689	5	0	-3.96922	2.40E-82	HLA-H, HCG2P7, HCG4P6
21 chr6	p21.33 - p	30178750	44385984	1114	0.594374	0	2.20E-80	TRIM31, TRIM40, TRIM10, TRIM15, TRIM26, FLJ45422, HCG18, TRIM38, RPP21, HLA-E, GNL1, PRR3, ABCF1, PPI
22 chr6	p21.32	32558677	32650731	5	0	-0.74676	2.27E-19	HLA-DRB5, HLA-DRB8
23 chr6	p21.2	37916898	40524289	185	0.410038	0	7.60E-22	ZFAND3, BTBD9, GLO1, DNAH8, GLP1R, C6orf64, KCNK5, KCN17, KCN16, KIF6, DAAM2, MOC51, TDRG1, LRF
24 chr6	p21.1 - p1	44856727	57754769	802	0.312244	0	1.29E-46	SUPT3H, RUNX2, CLIC5, ENPP4, ENPP5, RCAN2, CYP39A1, SLC25A27, TDRD6, PLA2G7, MEPIA, GPR116, GPR1
25 chr6	q21	1.06E+08	1.13E+08	477	0.450519	0	3.34E-45	PREP, PRDM1, ATG5, AIM1, RTN4IP1, QRS1L1, LOC353137, C6orf203, BEND3, PDSS2, SOBP, SCML4, SEC83, OS
26 chr7	p22.3 - p2	138059	7195219	460	0.683379	0	0	FAM20C, PDGFA, PRKAR1B, HEATR2, UNC84A, C7orf20, ADAP1, COX19, CYP2W1, C7orf50, GPR146, GPER, ZFA
27 chr7	p22.3 - p2	173408	6837468	419	0.589598	0	1.31E-95	FAM20C, PDGFA, PRKAR1B, HEATR2, UNC84A, C7orf20, ADAP1, COX19, CYP2W1, C7orf50, GPR146, GPER, ZFA
28 chr7	p15.3 - p1	21750644	53501164	1882	0.447941	0	0	DNHAH1, CDC42L, RAPGEF5, IL6, TOMM7, SNORD93, FAM126A, KLHL7, NUPL2, GPNMB, C7orf30, IGF2BP3, RP
29 chr7	p13	43788129	45728079	125	0.721234	0	3.67E-35	BLVRA, MRPS24, URG4, UBE2D4, POLR2J4, SPDYE1, RASA4P, FLJ35390, DBNL, PGAM2, POLM, AESP1, POLD2
30 chr7	p11.2 - p1	54403181	57548660	132	0.462584	0	0	VSTM2A, SEC81G, EGFR, LANCL2, ECOP, LOC442308, FKBP9L, SEPT14, ZNF713, MRPS17, GBAS, PSPH, OCT6F
31 chr7	q11.21 - q	62098100	77610237	775	0.534546	0	0	LOC643955, ZNF735, ZNF679, ZNF680, ZNF107, ZNF138, LOC168474, ZNF273, ZNF117, INTS4L1, ZNF92, INTS4
32 chr7	q11.22 - q	71029344	75982676	246	0.724528	0	3.71E-86	CALN1, TYW1B, SBOSP, SPDYE7P, POM121, NSUN5C, TRIM74, STAG3L3, PMS2L2, SPDYE8P, LOC100093631, C

(b)

[図2]



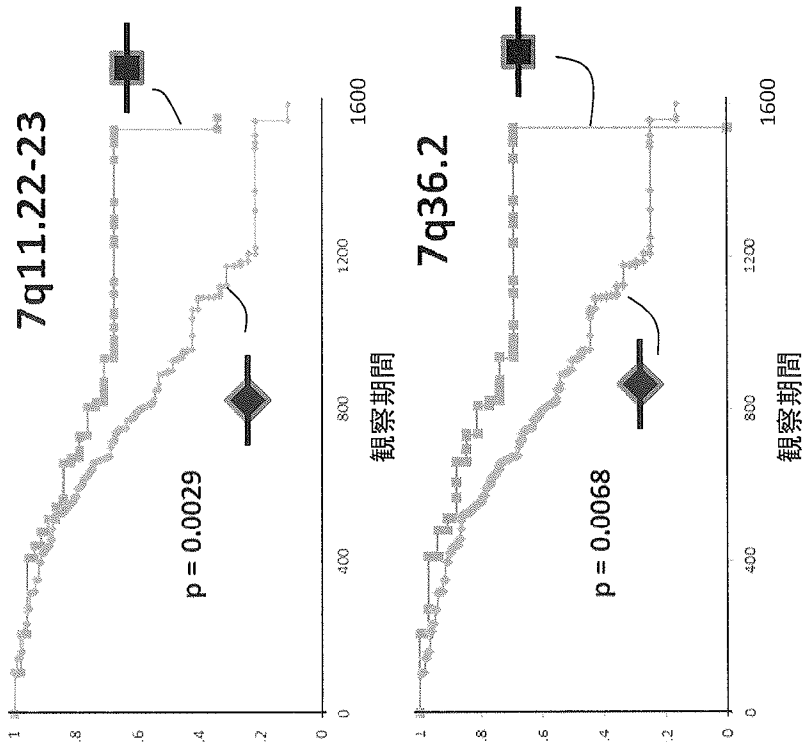
[図3]



[図4]

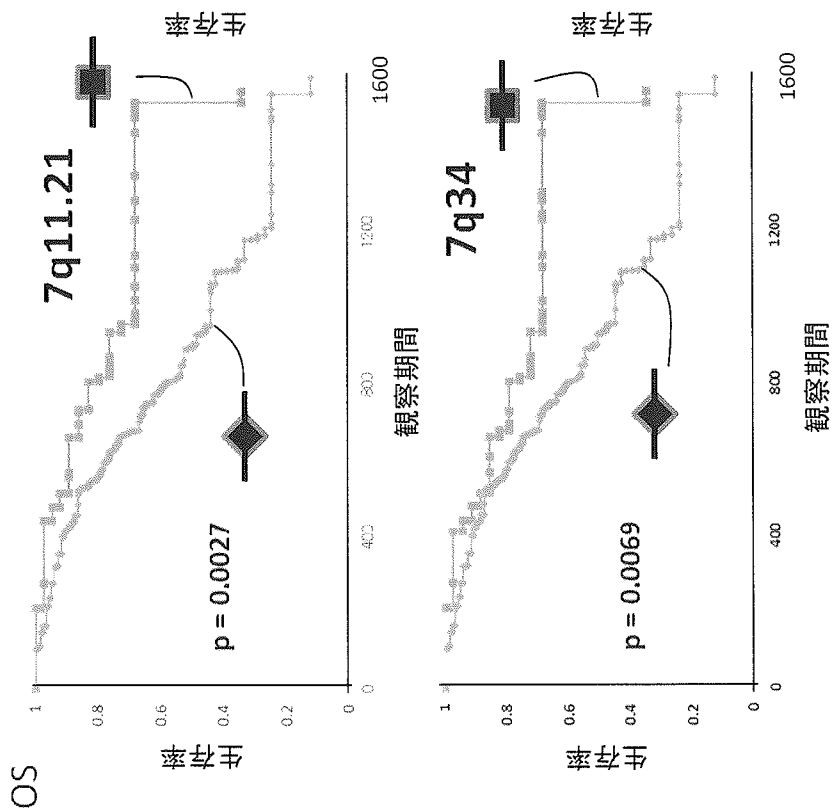
Amplification(+)
Amplification(-)

(b)



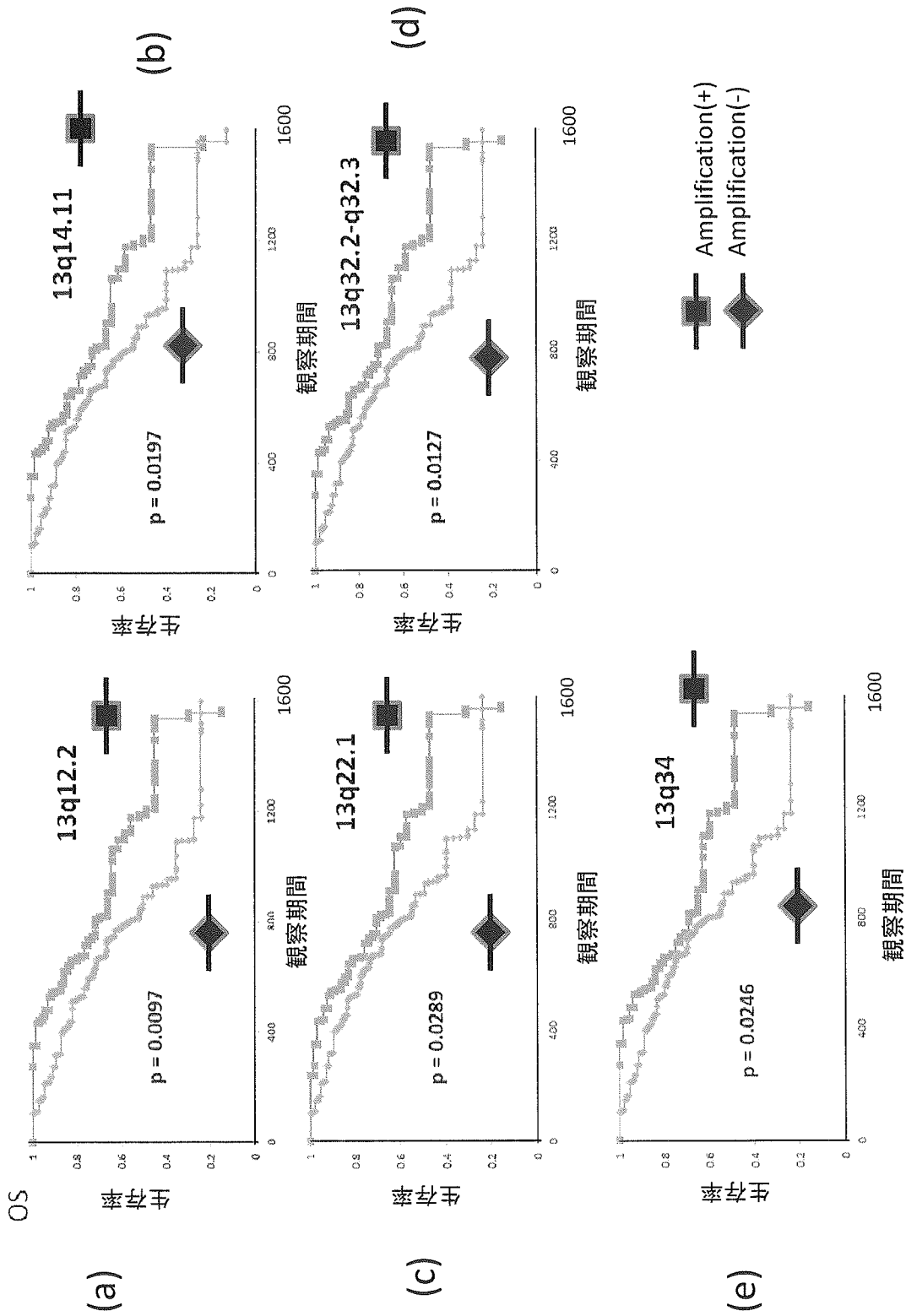
(d)

(a)



(c)

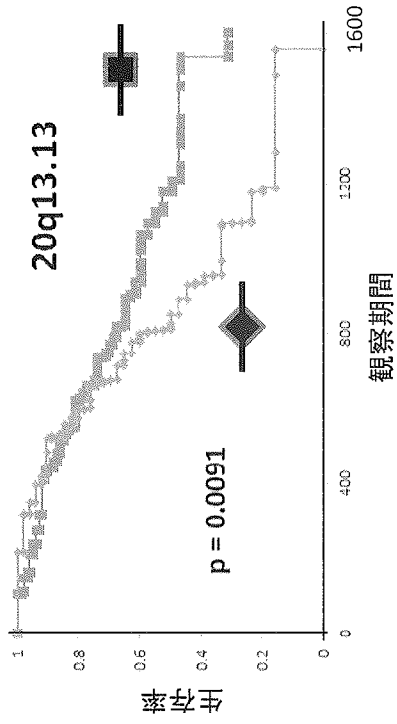
[図5]



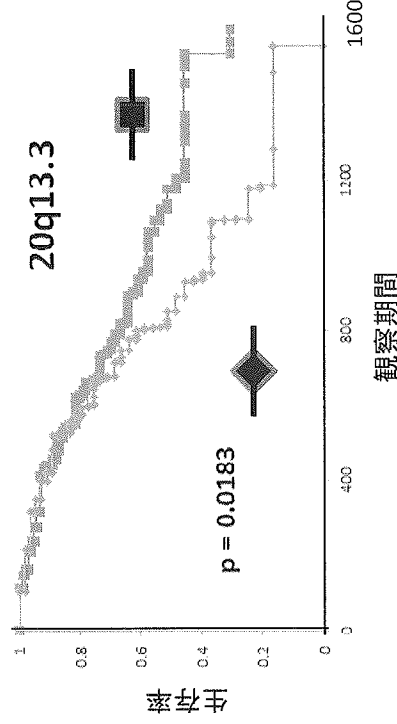
[図6]

Amplification(+)
Amplification(-)

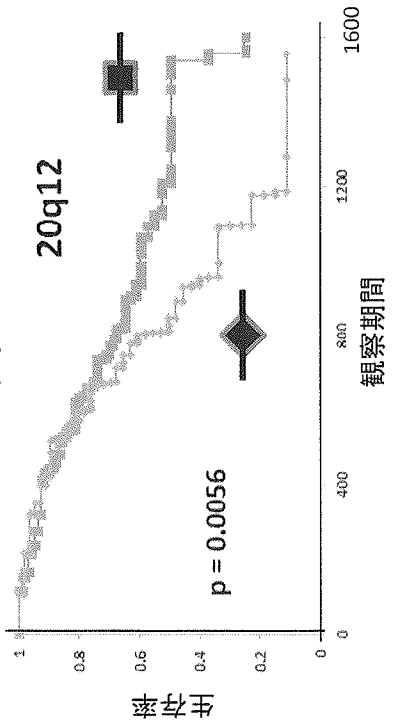
(b)



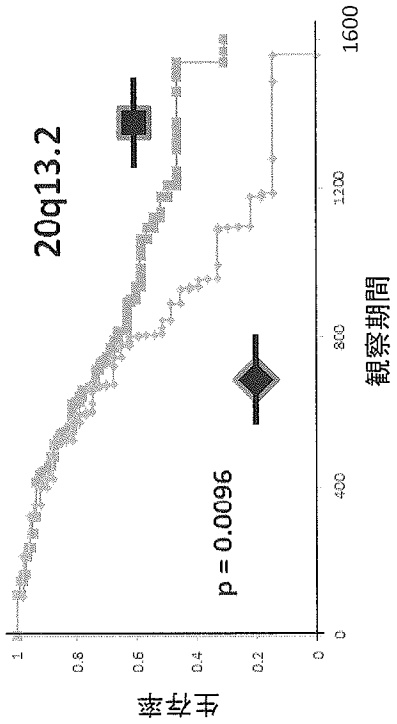
(d)



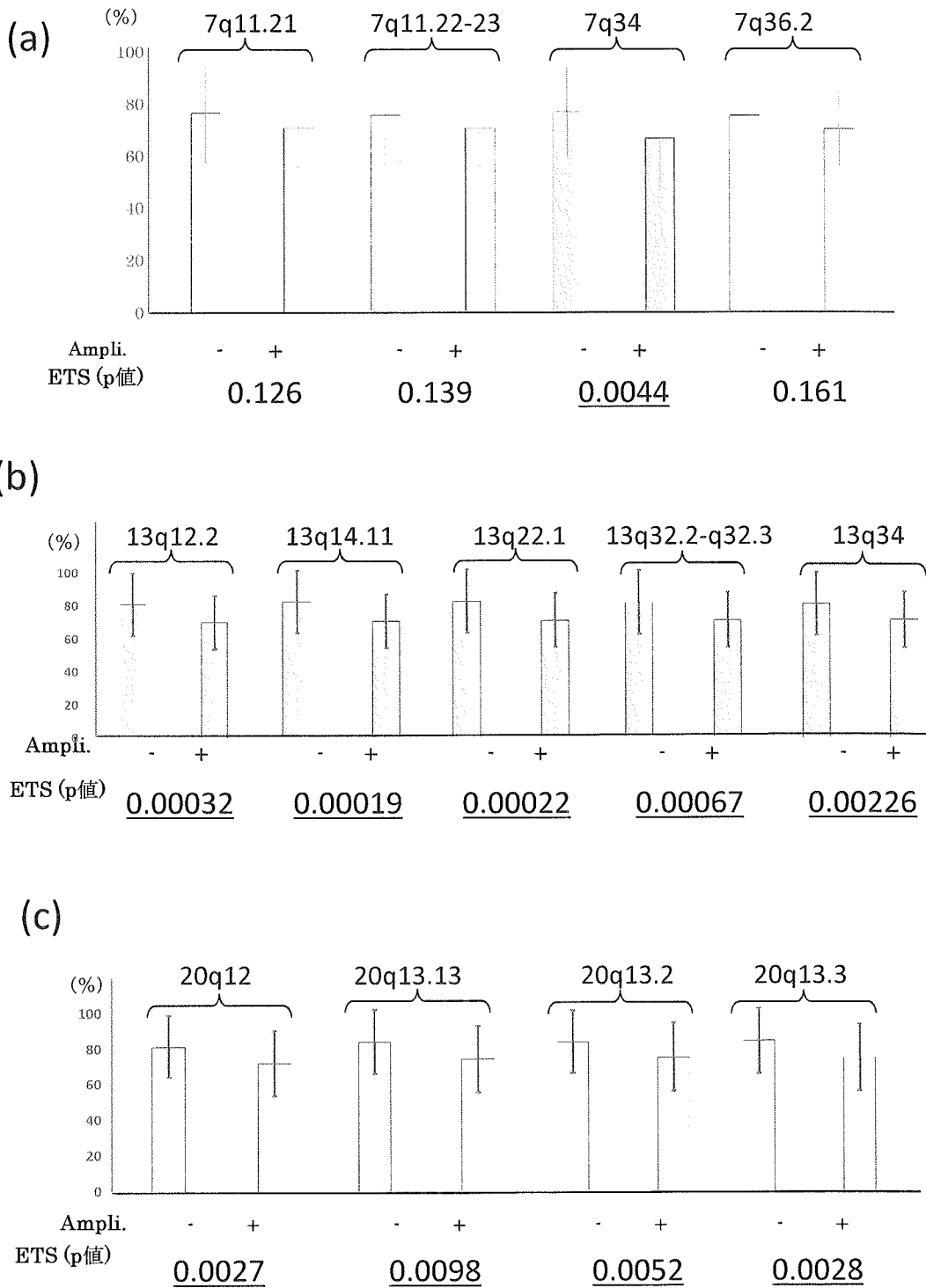
(a)



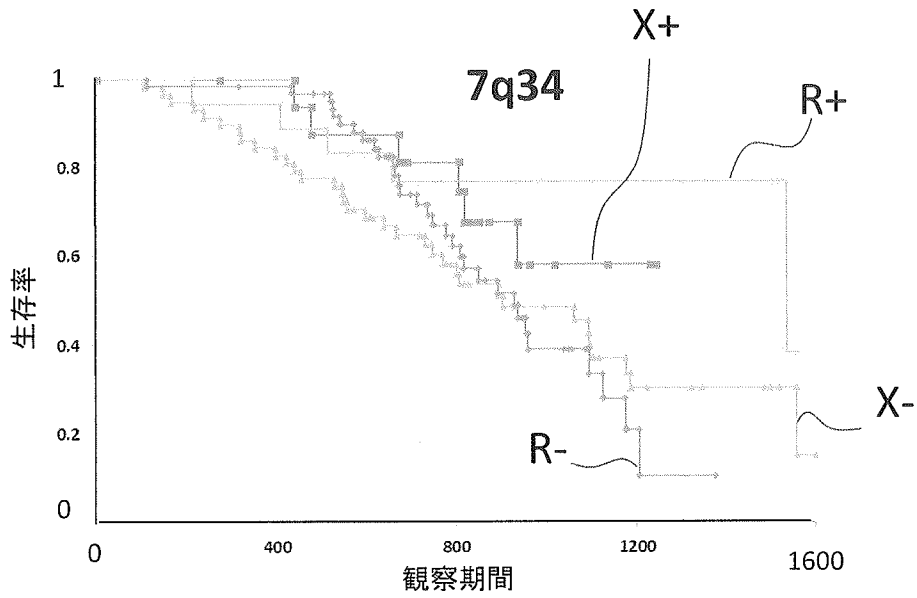
(c)



[図7]

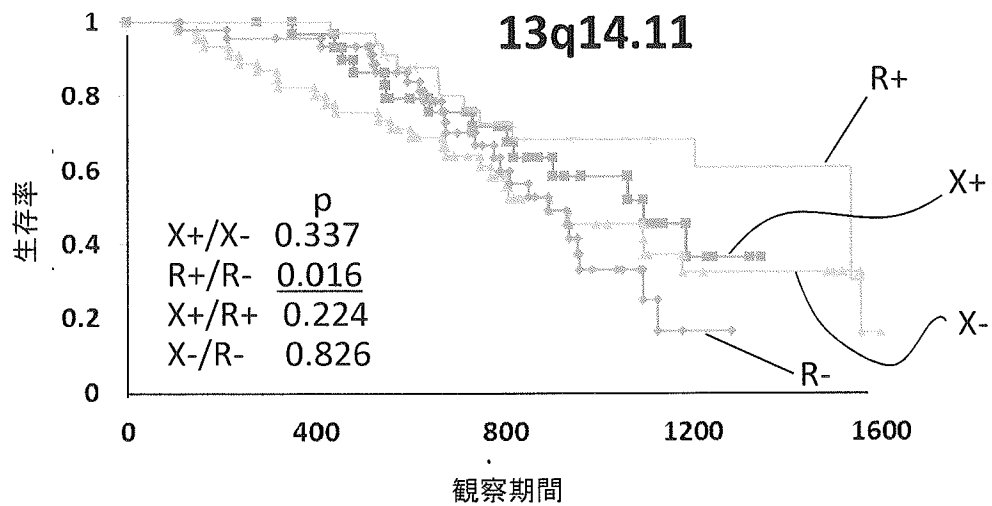
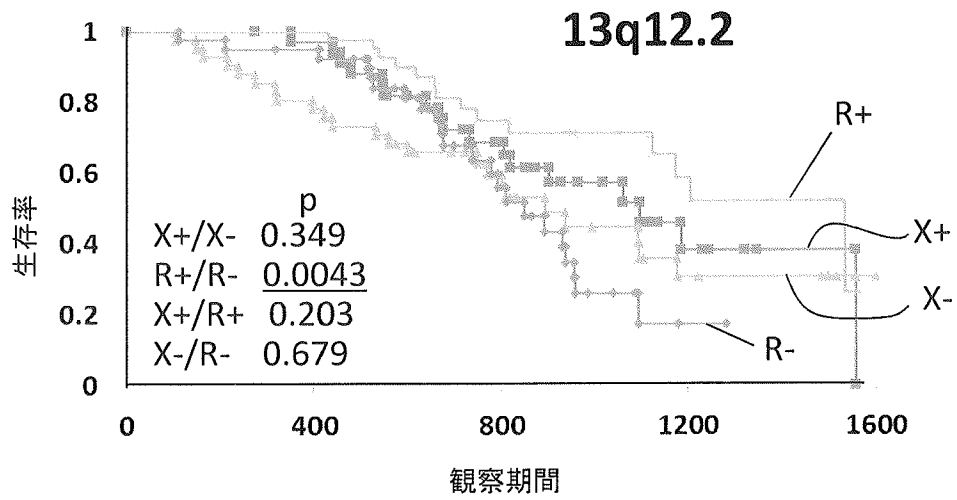


[図8]

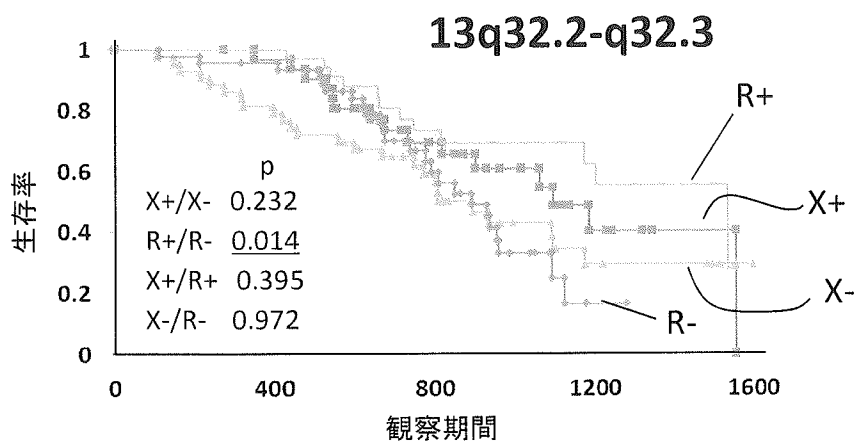
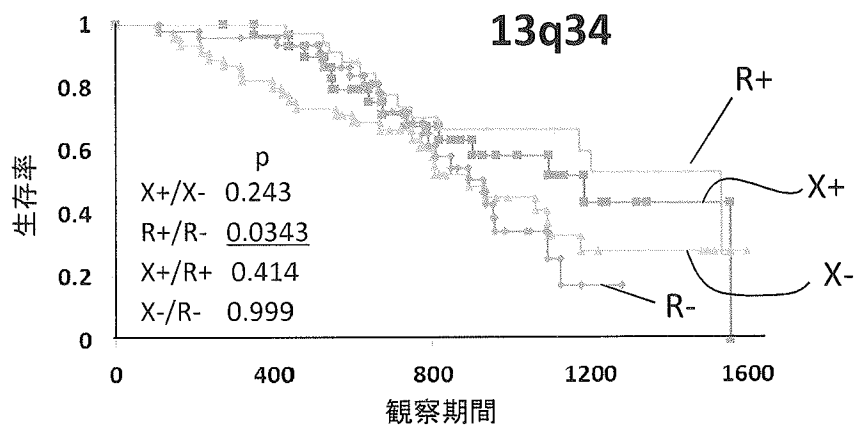
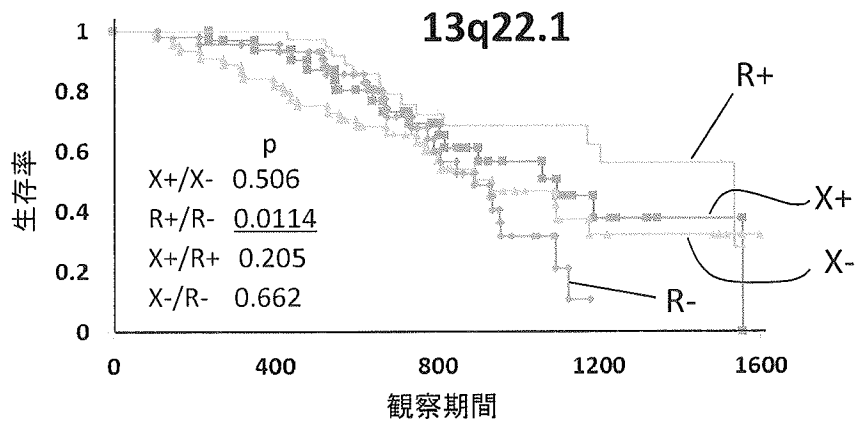


	p値
X+ / X-	0.168
R+ / R-	<u>0.0128</u>
X- / R+	0.500
X+ / R-	0.933

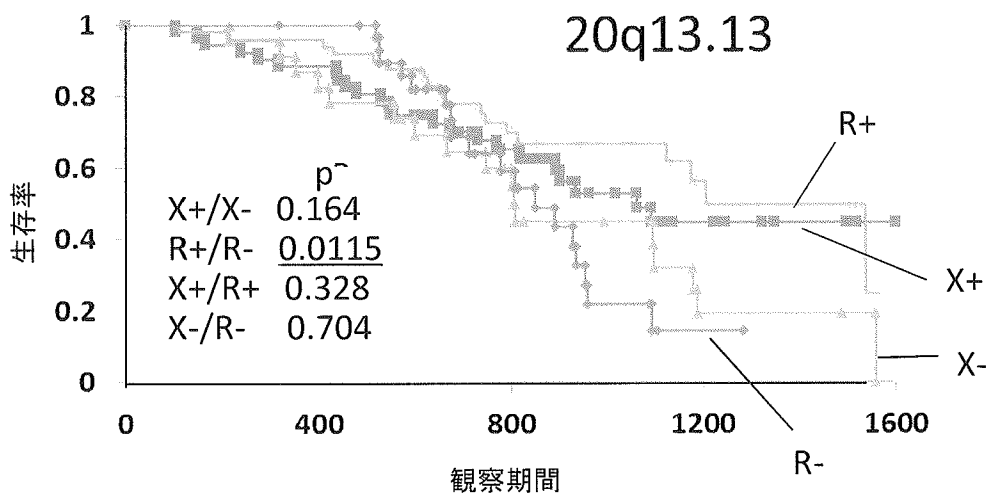
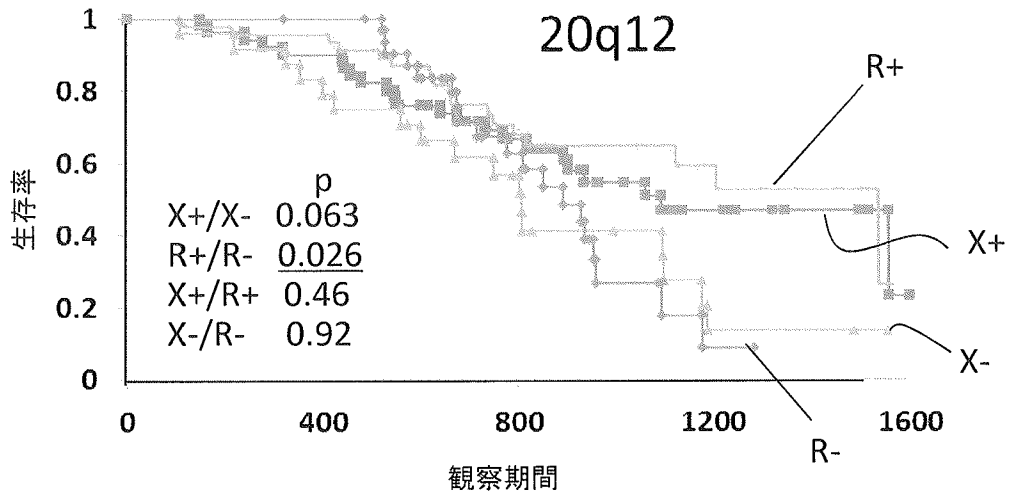
[図9]



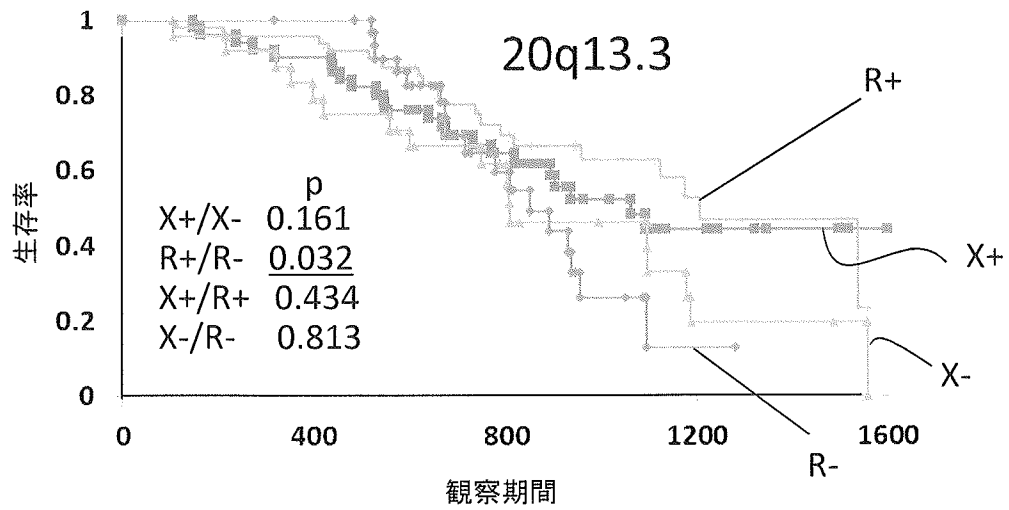
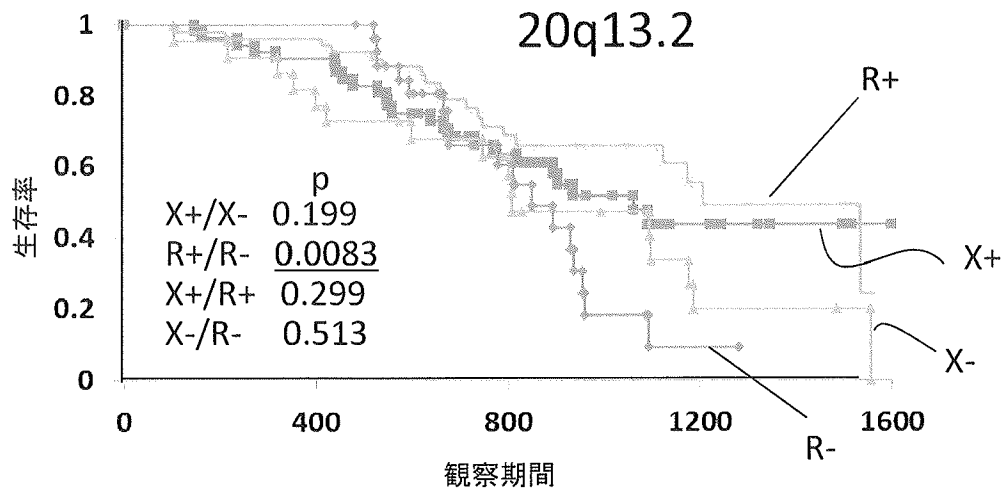
[図10]



[図11]



[図12]



[13]

Chr	Sub-region	total (154)			ox-arm (75)			iri-arm (79)			GNG (+)			GNG (-)		
		n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS
7	p22.3	64	0.923	0.307	29	0.597	0.066	35	0.637	0.625	29:35	0.744	0.457	46:44	0.070	0.062
7	22.2-p22.	67	0.987	0.415	31	0.649	0.129	36	0.639	0.667	31:36	0.628	0.649	44:43	0.091	0.087
7	p21	54	0.571	0.375	26	0.870	0.235	28	0.611	0.943	25:28	0.412	0.849	49:51	0.141	0.187
7	p15.3	54	0.997	0.197	26	0.547	0.081	28	0.611	0.943	26:28	0.821	0.604	49:51	0.059	0.112
7	p15.2	64	0.771	0.501	32	0.707	0.523	32	0.915	0.740	32:32	0.263	0.766	43:47	0.249	0.354
7	p15.1	55	0.894	0.214	27	0.671	0.090	28	0.611	0.942	27:28	0.731	0.657	48:51	0.070	0.111
7	p14	56	0.863	0.265	28	0.698	0.125	28	0.611	0.942	28:28	0.721	0.730	47:51	0.074	0.130
7	p13	57	0.977	0.249	27	0.665	0.076	30	0.670	0.877	27:30	0.684	0.546	48:49	0.077	0.088
7	p12	54	0.867	0.092	26	0.527	0.051	28	0.759	0.665	26:28	0.712	0.670	49:51	0.068	0.125
7	p11.2	53	0.742	0.109	25	0.395	0.067	28	0.759	0.665	25:28	0.818	0.696	50:51	0.055	0.196
7	q11.21	39	0.234	0.005	18	0.656	0.103	21	0.254	0.014	18:21	0.220	0.487	57:58	0.266	0.607
7	q11.22	42	0.264	0.011	20	0.403	0.062	22	0.467	0.069	20:22	0.488	0.905	55:57	0.149	0.419
7	q11.23	44	0.235	0.016	20	0.497	0.100	23	0.344	0.065	21:23	0.385	0.773	55:56	0.207	0.487
7	q21.1	37	0.277	0.007	18	0.529	0.194	19	0.351	0.010	18:19	0.315	0.301	57:60	0.206	0.806
7	q21.2	33	0.585	0.012	16	0.923	0.261	17	0.352	0.012	16:17	0.107	0.266	59:62	0.328	0.810
7	q21.3	41	0.406	0.029	21	0.497	0.100	20	0.563	0.124	21:20	0.497	0.846	54:59	0.134	0.391
7	q22	46	0.241	0.020	23	0.353	0.096	23	0.471	0.085	23:23	0.493	0.761	52:56	0.173	0.441
7	q31.1	33	0.186	0.006	15	0.368	0.216	18	0.356	0.007	15:18	0.470	0.255	60:61	0.174	0.845
7	q31.2	34	0.419	0.026	15	0.938	0.510	19	0.341	0.014	15:19	0.120	0.177	60:60	0.344	0.962
7	q31.3	33	0.254	0.005	16	0.369	0.092	17	0.430	0.021	16:17	0.499	0.535	59:62	0.142	0.599
7	q32	44	0.831	0.098	23	0.673	0.776	21	0.508	0.034	23:21	0.122	0.148	52:58	0.397	0.975
7	q33	36	0.465	0.013	18	0.656	0.103	18	0.515	0.048	18:18	0.370	0.618	57:61	0.179	0.467
7	q34	39	0.316	0.005	20	0.403	0.062	19	0.516	0.030	20:19	0.478	0.657	55:60	0.130	0.471
7	q35	32	0.348	0.020	16	0.523	0.209	16	0.426	0.034	16:16	0.448	0.388	59:63	0.156	0.642
7	q36	40	0.443	0.023	18	0.996	0.252	22	0.411	0.036	18:22	0.232	0.458	57:57	0.279	0.688

[14]

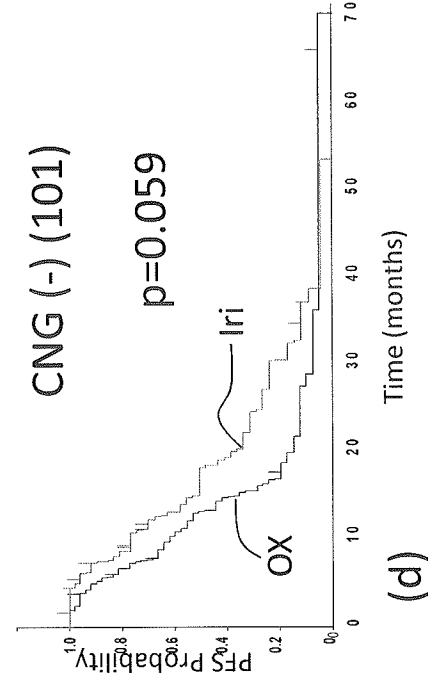
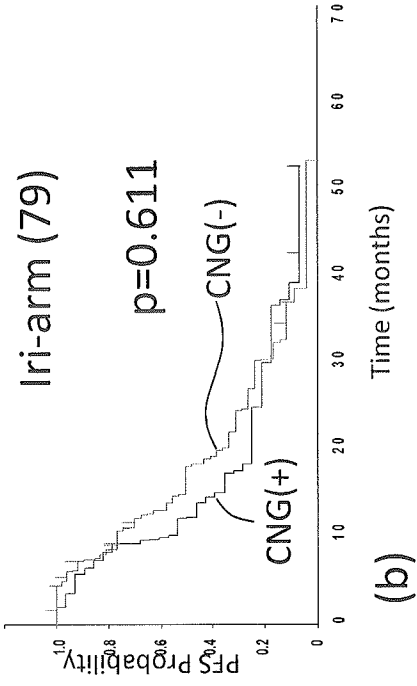
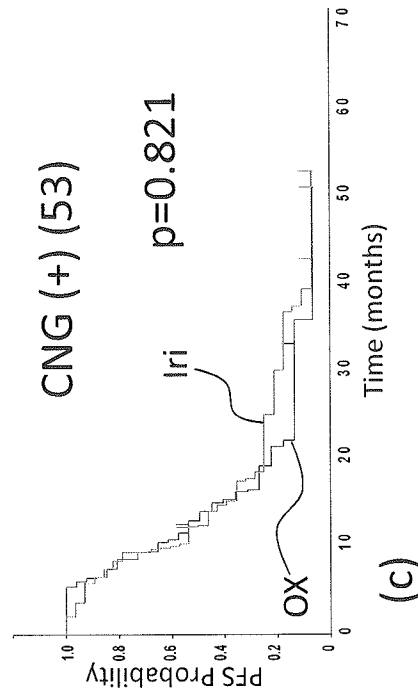
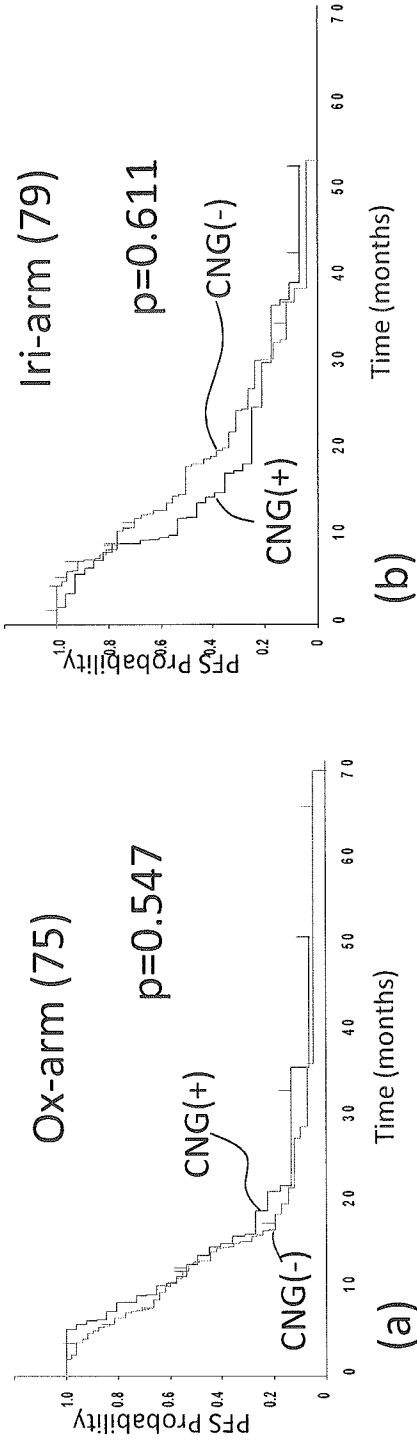
Chr	Sub-region	total (154)			ox-arm (75)			iri-arm (79)			CNG (+)			CNG (-)		
		n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS
8	q11.1	30	0.385	0.098	15	0.491	0.347	15	0.438	0.164	15:15	0.597	0.472	60:64	0.113	0.454
8	q11.21	35	0.579	0.179	18	0.848	0.712	17	0.431	0.119	18:17	0.374	0.223	57:62	0.180	0.655
8	q11.22	33	0.436	0.112	16	0.643	0.506	17	0.431	0.119	16:17	0.456	0.360	59:62	0.148	0.587
8	q11.23	33	0.436	0.112	16	0.643	0.506	17	0.431	0.119	16:17	0.456	0.360	59:62	0.148	0.587
8	q12	42	0.617	0.518	23	0.990	0.604	19	0.307	0.122	23:19	0.210	0.068	52:60	0.278	0.957
8	q13	41	0.947	0.614	22	0.913	0.678	19	0.628	0.227	22:19	0.349	0.141	53:60	0.204	0.840
8	q21.1	43	0.963	0.569	23	0.706	0.477	20	0.561	0.114	23:20	0.250	0.074	52:59	0.260	0.942
8	q21.2	43	0.930	0.440	23	0.706	0.477	20	0.588	0.061	23:20	0.271	0.046	52:59	0.248	0.867
8	q21.3	43	0.946	0.519	24	0.555	0.399	19	0.419	0.062	24:19	0.163	0.037	51:60	0.338	0.820
8	q22.1	49	0.544	0.792	26	0.479	0.293	23	0.901	0.130	26:23	0.247	0.045	49:56	0.285	0.798
8	q22.2	50	0.380	0.788	29	0.228	0.135	21	0.704	0.193	29:21	0.145	0.036	46:58	0.452	0.697
8	q22.3	52	0.344	0.790	29	0.228	0.135	23	0.858	0.214	29:23	0.149	0.040	46:56	0.428	0.691
8	q23	51	0.297	0.655	30	0.152	0.079	21	0.694	0.186	30:21	0.116	0.026	45:58	0.523	0.600
8	q24.1	62	0.316	0.915	32	0.060	0.026	30	0.717	0.037	32:30	0.037	0.004	43:49	0.787	0.233
8	q24.2	66	0.307	0.689	35	0.091	0.015	31	0.783	0.045	35:31	0.053	0.004	40:48	0.801	0.200
8	q24.3	61	0.860	0.765	33	0.249	0.120	28	0.357	0.039	33:28	0.068	0.018	42:51	0.625	0.360

[15]

Chr	Sub-region	total (154)			ox-arm (75)			iri-arm (79)			CNG (+)			CNG (-)		
		n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS
13	q12.1	74	0.353	0.050	34	0.447	0.225	40	0.772	0.112	34:40	0.275	0.474	41:49	0.258	0.715
13	q12.3	74	0.353	0.050	34	0.447	0.225	40	0.772	0.112	34:40	0.275	0.474	41:39	0.258	0.715
13	q13	69	0.310	0.024	32	0.377	0.201	37	0.765	0.047	32:37	0.340	0.404	43:42	0.209	0.810
13	q14.1	65	0.196	0.016	29	0.232	0.100	36	0.755	0.070	29:36	0.496	0.673	46:43	0.162	0.602
13	q14.2	65	0.207	0.022	29	0.232	0.100	36	0.792	0.108	29:36	0.515	0.707	46:43	0.157	0.550
13	q14.3	65	0.171	0.013	30	0.207	0.082	35	0.670	0.071	30:35	0.433	0.636	45:44	0.175	0.528
13	q21.1	59	0.290	0.029	27	0.274	0.116	35	0.900	0.127	27:35	0.444	0.712	48:44	0.165	0.513
13	q21.2	61	0.325	0.015	27	0.324	0.097	34	0.836	0.078	27:34	0.273	0.700	48:45	0.196	0.571
13	q21.3	64	0.307	0.027	29	0.409	0.177	35	0.670	0.071	29:35	0.169	0.519	46:44	0.271	0.686
13	q31	63	0.155	0.008	29	0.136	0.070	34	0.728	0.048	29:34	0.575	0.627	46:45	0.124	0.569
13	q33	64	0.271	0.078	30	0.117	0.299	34	0.917	0.127	30:34	0.696	0.454	45:45	0.083	0.680
20	p13	44	0.550	0.072	22	0.435	0.171	22	0.997	0.216	22:22	0.565	0.776	53:57	0.147	0.353
20	p12	50	0.430	0.046	23	0.329	0.046	27	0.948	0.441	23:27	0.607	0.648	52:52	0.119	0.182
20	p11.2	64	0.533	0.003	31	0.662	0.017	33	0.757	0.056	31:33	0.284	0.928	44:46	0.272	0.251
20	p11.1	65	0.679	0.008	29	0.670	0.058	36	0.555	0.062	29:26	0.142	0.777	46:43	0.497	0.400
20	q11.2	100	0.572	0.042	51	0.878	0.222	49	0.683	0.071	51:49	0.129	0.410	24:30	0.550	0.591
20	q13.1	104	0.836	0.008	52	0.618	0.074	52	0.770	0.042	52:52	0.207	0.494	23:27	0.370	0.482

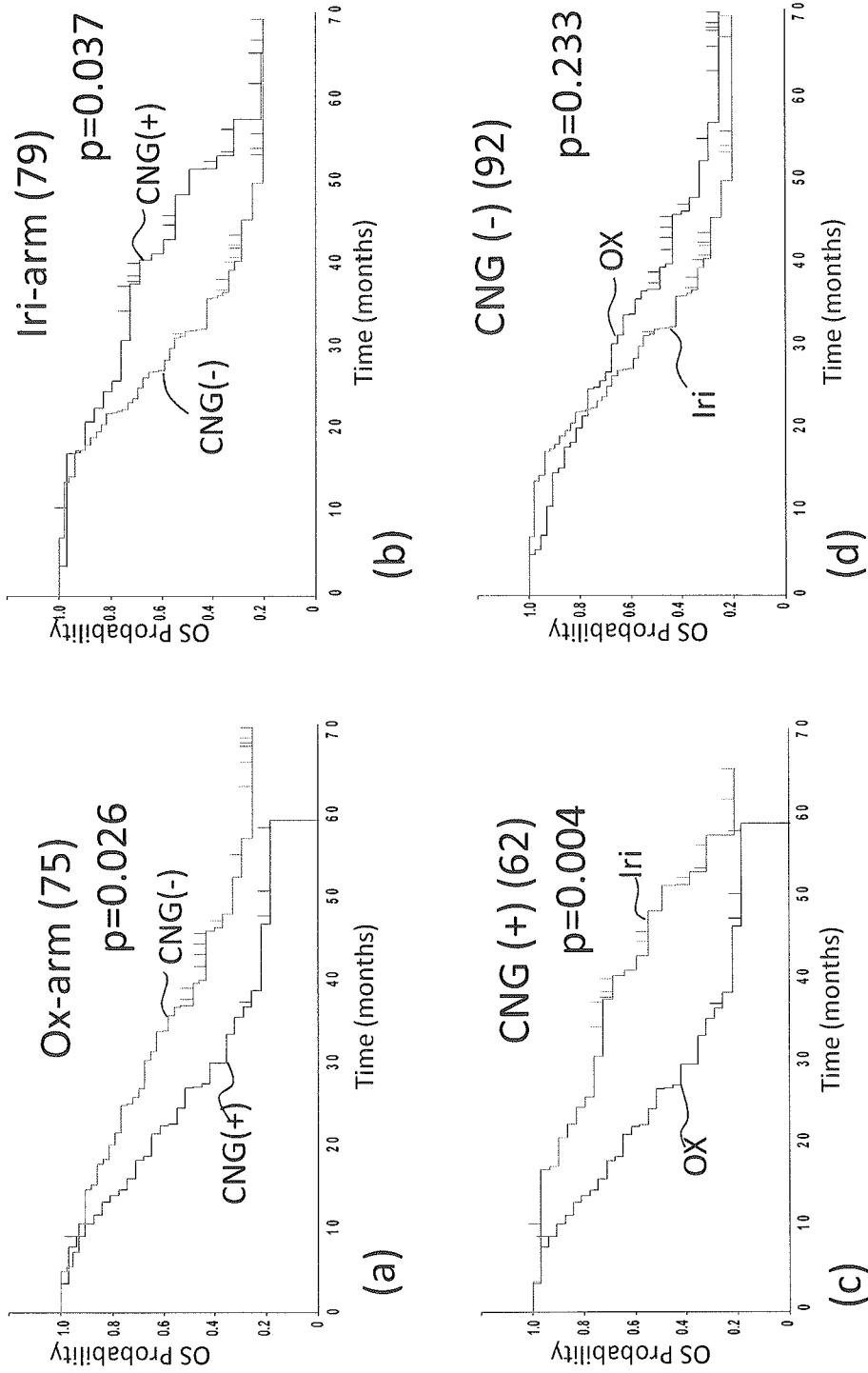
[16]

Ch7p15.3/PFS



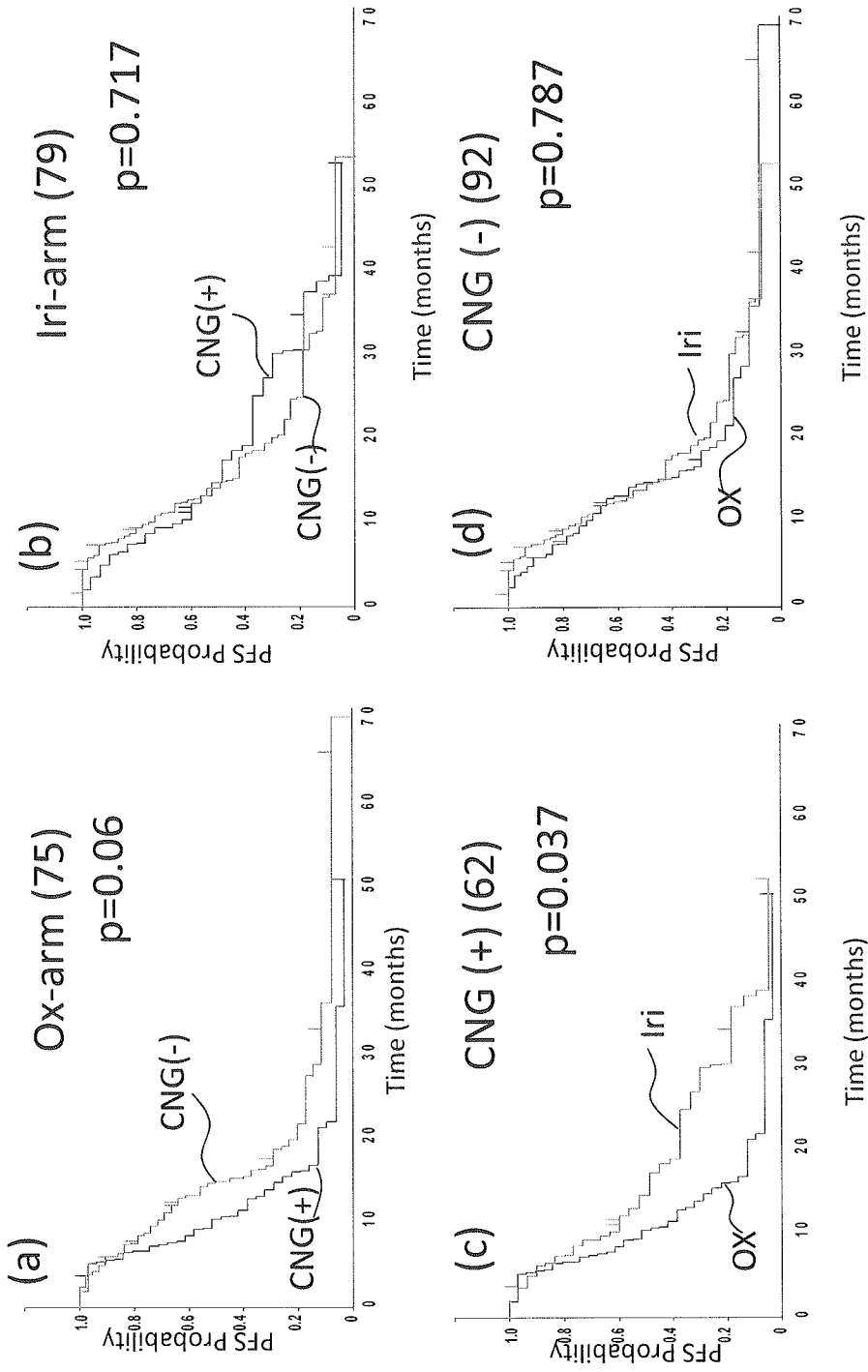
[17]

Ch8q24.1/OS



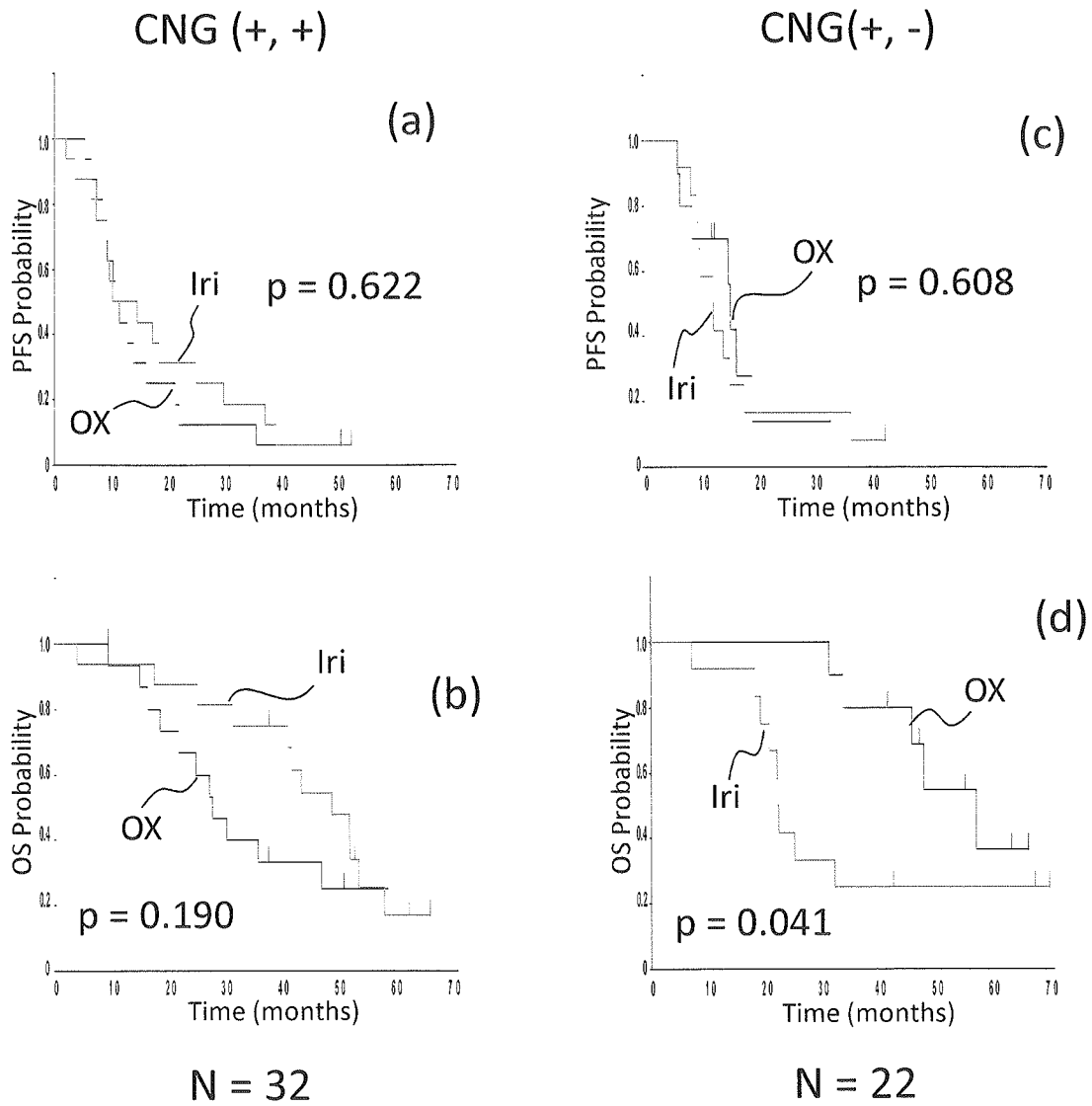
[18]

Ch8q24.1/PFS



[19]

7p15.3 vs 8q24.1

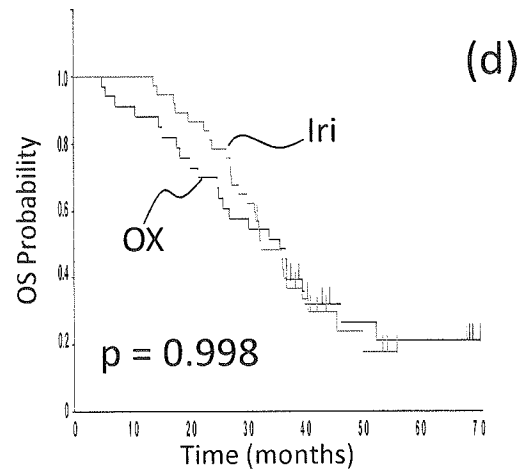
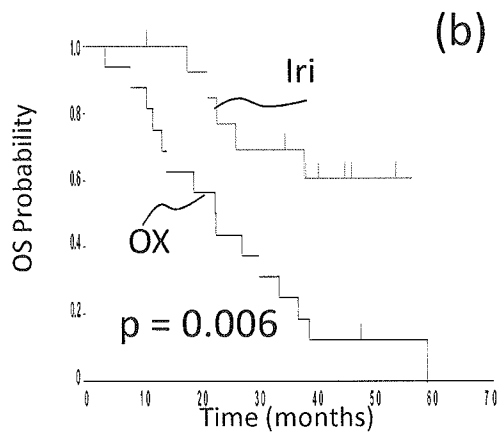
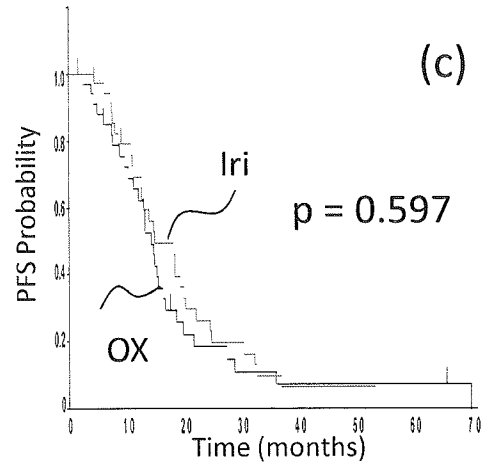
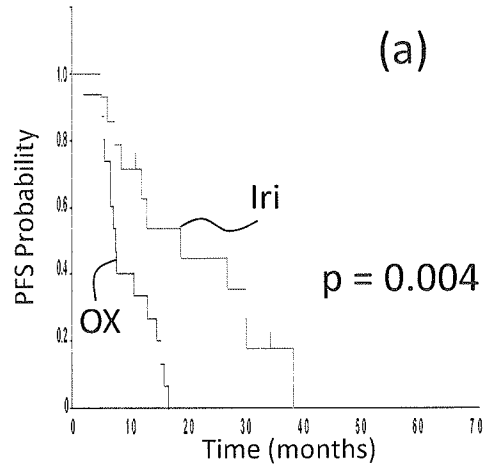


[20]

7p15.3 vs 8q24.1

CNG (-, +)

CNG(-, -)



N = 30

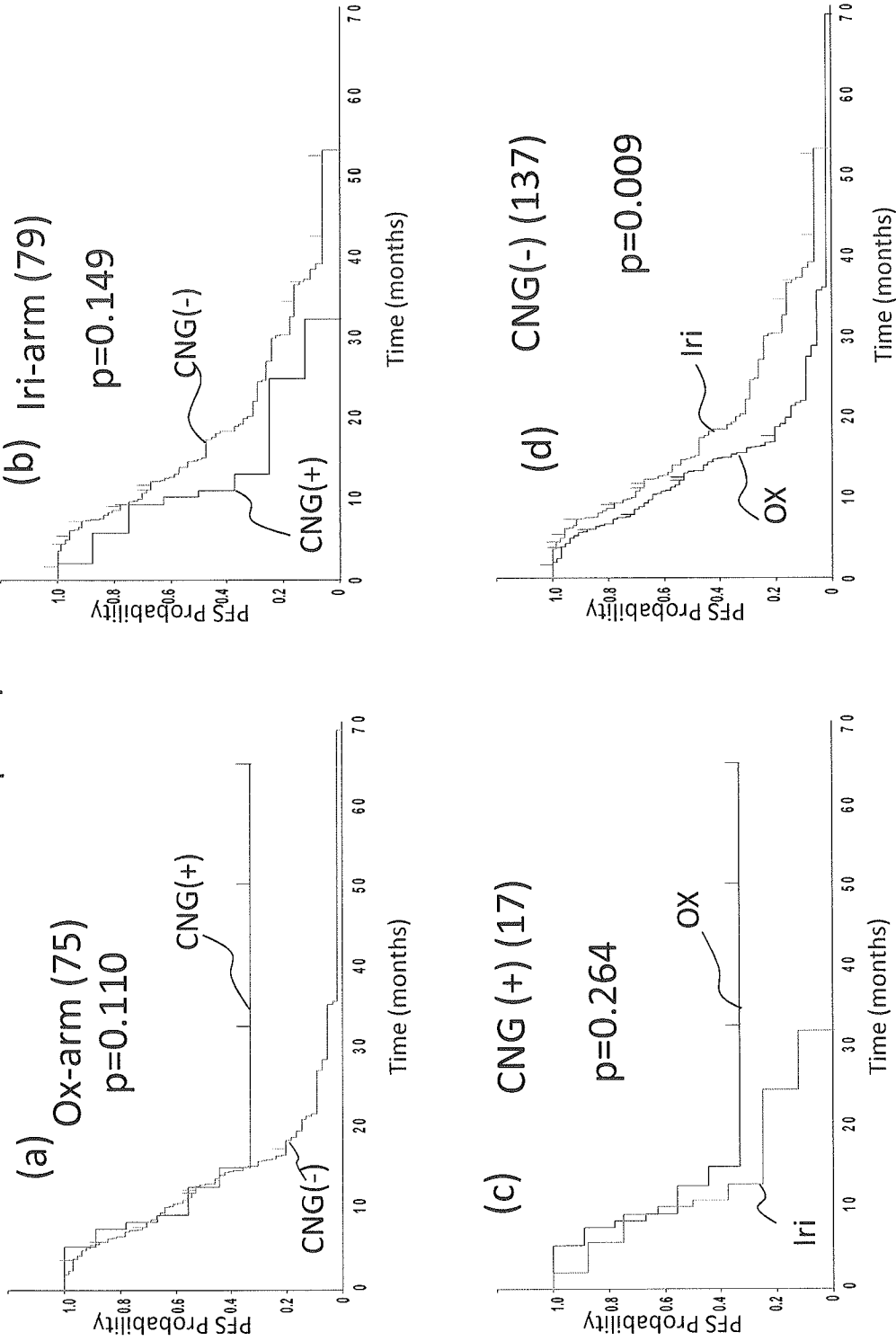
N = 70

[21]

Chr	Sub-region	total (154)			ox-arm (75)			iri-arm (79)		
		n	PFS	OS	n	PFS	OS	n	PFS	OS
1	q21.1-q21.2	26	0.956	0.428	11	0.879	0.965	15	0.896	0.311
1	q32.7	25	0.868	0.560	12	0.796	0.916	13	0.945	0.369
1	q42.12	26	0.448	0.589	12	0.962	0.887	14	0.195	0.390
1	q42.3	32	0.144	0.731	16	0.231	0.472	16	0.293	0.243
3	q29	37	0.919	0.767	15	0.935	0.234	22	0.716	0.101
5	p15.33	34	0.460	0.661	19	0.403	0.418	15	0.958	0.862
6	p21.1	22	0.404	0.236	11	0.399	0.593	11	0.742	0.225
9	p13.3-p13.2	15	0.467	0.610	8	0.724	0.090	7	0.162	0.144
9	q34.3	17	0.555	0.817	9	0.110	0.094	8	0.149	0.083
11	p15.5	19	0.500	0.283	13	0.553	0.465	6	0.630	0.293
12	p13.31	22	0.166	0.773	12	0.399	0.687	10	0.297	0.954
16	p11.2	26	0.293	0.275	10	0.834	0.536	16	0.246	0.363
16	p12.1	28	0.708	0.476	13	0.390	0.782	15	0.571	0.413
16	p12.3	27	0.736	0.440	13	0.390	0.782	14	0.545	0.352
16	p13.2	25	0.929	0.558	13	0.390	0.782	12	0.372	0.469
16	p13.3	23	0.824	0.888	12	0.927	0.831	11	0.544	0.905
16	q21-q22.1	19	0.472	0.516	8	0.824	0.886	11	0.589	0.432
17	q21.2	17	0.462	0.933	6	0.268	0.192	11	0.632	0.366
17	q22	18	0.274	0.882	7	0.335	0.616	19	0.343	0.621
17	q23.1	20	0.747	0.841	6	0.343	0.190	14	0.892	0.366
19	p13.11	27	0.961	0.384	14	0.944	0.140	13	0.691	0.863
19	p13.12	18	0.853	0.343	10	0.457	0.514	8	0.526	0.569
19	q12	22	0.389	0.754	10	0.453	0.834	12	0.490	0.527
19	q13.11	26	0.099	0.333	11	0.152	0.757	15	0.290	0.303
19	q13.12	25	0.110	0.532	11	0.256	0.901	14	0.218	0.461
19	q13.2	26	0.309	0.450	12	0.287	0.728	14	0.649	0.437
19	q13.31-q13.41	20	0.378	0.628	10	0.168	0.631	10	0.927	0.759

[22]

9q34.3/PFS



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/004327

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12Q1/68 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q1/68

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2016	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>Y</u> <u>A</u>	US 2012/0231020 A1 (ARANGO DEL CORRO, D. et al.), 13 September 2012 (13.09.2012), claims 1 to 25 & JP 2013-503616 A & WO 2011/027018 A2 & EP 2474621 A1	<u>1-3</u> <u>4-6</u>
<u>Y</u> <u>A</u>	MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, B. et al., "FOLFOX/FOLFIRI pharmacogenetics: the call for a personalized approach in colorectal cancer therapy.", WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2014.08.14, Vol.20, No.30, pp.10316-10330, ISSN 1007-9327, particularly, abstract, tables 2 to 3	<u>1-3</u> <u>4-6</u>

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 14 December 2016 (14.12.16)	Date of mailing of the international search report 27 December 2016 (27.12.16)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/004327

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
$\frac{Y}{A}$	MIYAKI, Y. et al., "Identification of a potent epigenetic biomarker for resistance to camptothecin and poor outcome to irinotecan-based chemotherapy in colon cancer.", INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY, 2012.01, Vol.40, No.1, pp.217-226, ISSN 1019-6439, particularly, abstract, table 2	$\frac{1-3}{4-6}$
$\frac{Y}{A}$	KIM, D.Y. et al., "Pretreatment selection of regimen according to genetic analysis improves the efficacy of chemotherapy in the first line treatment of metastatic colorectal cancer.", JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY, 2014.03, Vol.109, No.3, pp.250-254, ISSN 0022-4790, particularly, abstract	$\frac{1-3}{4-6}$
$\frac{Y}{A}$	YUAN, Y. et al., "Identification of the biomarkers for the prediction of efficacy in first-line chemotherapy of metastatic colorectal cancer patients using SELDI-TOF-MS and artificial neural networks.", HEPATOGASTROENTEROLOGY, 2012.11, Vol.59, No.120, pp.2461-2465, ISSN 0172-6390, particularly, abstract	$\frac{1-3}{4-6}$
$\frac{Y}{A}$	JP 2008-048689 A (Aichi-Ken), 06 March 2008 (06.03.2008), claims 1 to 30 (Family: none)	$\frac{1-3}{4-6}$
$\frac{Y}{A}$	WO 2010/040124 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.), 08 April 2010 (08.04.2010), claims 1 to 153 & JP 2012-504426 A & US 2011/0262464 A1 & EP 2342352 A1	$\frac{1-3}{4-6}$
$\frac{Y}{A}$	WO 2011/056489 A2 (ABBOTT LABORATORIES), 12 May 2011 (12.05.2011), claims 1 to 110 & JP 2013-507987 A & US 2010/0294415 A1 & EP 2494360 A2	$\frac{1-3}{4-6}$

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. C12Q1/68		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2016年 日本国実用新案登録公報 1996-2016年 日本国登録実用新案公報 1994-2016年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), MEDLINE		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	US 2012/0231020 A1 (ARANGO DEL CORRO, D. et al.) 2012.09.13, 請求項1-25 & JP 2013-503616 A & WO 2011/027018 A2 & EP 2474621 A1	1-3 4-6
Y A	MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, B. et al., "FOLFOX/FOLFIRI pharmacogenetics: the call for a personalized approach in colorectal cancer therapy.", WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, 2014.08.14, Vol.20, No.30, pp.10316-10330, ISSN 1007-9327, 特 にアブストラクト、表2-3	1-3 4-6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		
の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 14.12.2016	国際調査報告の発送日 27.12.2016	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ISA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 野村 英雄 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4 B 4155

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
<u>Y</u> A	MIYAKI, Y. et al., "Identification of a potent epigenetic biomarker for resistance to camptothecin and poor outcome to irinotecan-based chemotherapy in colon cancer.", INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY, 2012.01, Vol.40, No.1, pp.217-226, ISSN 1019-6439, 特にアブストラクト、表2	<u>1 - 3</u> 4 - 6
<u>Y</u> A	KIM, D.Y. et al., "Pretreatment selection of regimen according to genetic analysis improves the efficacy of chemotherapy in the first line treatment of metastatic colorectal cancer.", JOURNAL OF SURGICAL ONCOLOGY, 2014.03, Vol.109, No.3, pp.250-254, ISSN 0022-4790, 特にアブストラクト	<u>1 - 3</u> 4 - 6
<u>Y</u> A	YUAN, Y. et al., "Identification of the biomarkers for the prediction of efficacy in first-line chemotherapy of metastatic colorectal cancer patients using SELDI-TOF-MS and artificial neural networks.", HEPATOGASTROENTEROLOGY, 2012.11, Vol.59, No.120, pp.2461-2465, ISSN 0172-6390, 特にアブストラクト	<u>1 - 3</u> 4 - 6
<u>Y</u> A	JP 2008-048689 A (愛知県) 2008.03.06, 請求項1 - 3 0 (ファミリーなし)	<u>1 - 3</u> 4 - 6
<u>Y</u> A	WO 2010/040124 A1 (DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC.) 2010.04.08, 請求項1 - 1 5 3 & JP 2012-504426 A & US 2011/0262464 A1 & EP 2342352 A1	<u>1 - 3</u> 4 - 6
<u>Y</u> A	WO 2011/056489 A2 (ABBOTT LABORATORIES) 2011.05.12, 請求項1 - 1 1 0 & JP 2013-507987 A & US 2010/0294415 A1 & EP 2494360 A2	<u>1 - 3</u> 4 - 6