



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108883115 A

(43)申请公布日 2018.11.23

(21)申请号 201680076067.0

(22)申请日 2016.10.26

(30)优先权数据

62/246,538 2015.10.26 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.06.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/058928 2016.10.26

(87)PCT国际申请的公布数据

WO2017/075091 EN 2017.05.04

(71)申请人 麦迪韦逊科技有限责任公司

地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 Y·冯 L·E·波斯特 Y·沈

Y·茹 E·王 K·于

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

A61K 31/535(2006.01)

C12Q 1/6886(2018.01)

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书2页 说明书32页 附图20页

(54)发明名称

用PARP抑制剂治疗小细胞肺癌

(57)摘要

本文描述了用聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂或其药学上可接受的盐治疗表达Schlafen-11(SLFN11)的小细胞肺癌受试者的方法。具体地,所述方法包括在来自所述受试者的肿瘤细胞样品中检测SLFN 11,并且向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂,诸如talazoparib或talazoparib的甲苯磺酸盐。

1. 一种在表达SLFN11的受试者中治疗小细胞肺癌的方法,包括向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂。

2. 一种治疗小细胞肺癌受试者的方法,包括在来自所述受试者的肿瘤细胞样品中检测SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种,和向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂。

3. 一种选择用于进行PARP抑制剂化疗的小细胞肺癌受试者的方法,包括在所述受试者的小细胞肺癌肿瘤样品中检测SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1中的一种或多种,和向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂。

4. 权利要求1-3中任一项的方法,其中所述PARP抑制剂为Talazoparib、奥拉帕尼、鲁卡帕尼、维利帕尼、CEP9722、MK4827或BGB-290或其药学上可接受的盐。

5. 权利要求4的方法,其中所述PARP抑制剂为Talazoparib或其药学上可接受的盐。

6. 权利要求5的方法,其中所述PARP抑制剂为Talazoparib的甲苯磺酸盐。

7. 一种在表达SLFN11的受试者中治疗小细胞肺癌的方法,包括向所述受试者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。

8. 权利要求1-7中任一项的方法,其中Talazoparib或其药学上可接受的盐以约0.5至约2mg/天,或约1mg/天,或约0.10-0.75mg/kg/天,或约0.25-0.30mg/kg/天的剂量,每天一次口服施用。

9. 权利要求1-8中任一项的方法,其中所述受试者表达SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。

10. 权利要求1-9中任一项的方法,其中所述受试者具有增加的表达水平的SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。

11. 权利要求1-10中任一项的方法,其中所述PARP抑制剂或Talazoparib或其药学上可接受的盐与一种或多种化学治疗剂、手术和/或放射组合施用。

12. 权利要求11的方法,其中所述一种或多种化学治疗剂为DNA损伤剂、替莫唑胺、拓扑异构酶1抑制剂、伊立替康、拓扑替康、拓扑异构酶2抑制剂、依托泊苷、恩杂鲁胺、ATR抑制剂、EGFR抑制剂、铂类药物、顺铂、卡铂或依托泊苷。

13. 权利要求1-12中任一项的方法,其中所述受试者先前已经用铂类药物,或用顺铂,或用卡铂,任选与依托泊苷组合治疗。

14. 权利要求1-13中任一项的方法,其中所述受试者表达降低水平的ATM。

15. 权利要求2或权利要求3的方法,其中所检测的生物标志物之一为SLFN11。

16. 权利要求2-6或8-15中任一项的方法,其中所述检测步骤包括通过免疫组织学测定、免疫组织化学染色(IHC)测定、原位LC/MS测定、启动子甲基化测定、细胞学测定、mRNA表达测定、RT-PCR测定、Northern印迹测定、蛋白质表达免疫吸附测定(ELISA)、酶联免疫斑点测定(ELISPOT)、侧流测试测定、酶免疫测定、荧光偏振免疫测定、化学发光免疫测定(CLIA)或荧光激活分选测定(FACS)检测。

17. 权利要求1或4-16中任一项的方法,其中所述受试者表达增加水平的SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。

18. 权利要求2-6或8-16中任一项的方法,其中所述检测步骤包括检测增加水平的SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。

19. 权利要求17的方法,其中所述受试者表达降低水平的ATM。
20. 权利要求18的方法,其中所述检测步骤还包括检测ATM或检测降低水平的ATM表达。
21. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述受试者表达TP53和/或RB1突变。
22. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述受试者中SLFN11的RMA评分为4或更高,或为5或更高,或为6或更高,或为7或更高,或为8或更高。
23. 前述权利要求中任一项的方法,其中所述受试者具有40或更低,或35或更低,或30或更低,或25或更低,或20或更低的Myriad HRD评分。

用PARP抑制剂治疗小细胞肺癌

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年10月26日提交的题为“用PARP抑制剂治疗小细胞肺癌”的第62/246,538号美国临时申请的优先权,其全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本文描述了用PARP抑制剂或用Talazoparib或其药学上可接受的盐治疗表达Schlafen-11 (SLFN11)的小细胞肺癌受试者的方法。

背景技术

[0004] 小细胞肺癌 (SCLC) 是一种肺癌侵袭性亚型,约占美国所有肺癌病例的15%。SCLC的特征在于限定不清的细胞边界和极少细胞质、罕见核仁和细颗粒状染色质。由于该疾病的侵袭性,早期诊断率低以及缺乏有效的治疗方法,预后通常较差。未经治疗的SCLC患者的从诊断开始的中位生存期仅为2至4个月。当使用化疗和/或放射方式时,SCLC患者对于该疗法的初始响应率高(大约60%至80%),但大部分接受治疗的患者出现复发,然后这些患者对于进一步的全身治疗很大程度上是难治疗的。因此,即使采用目前的治疗方式,患有局限期的患者的中位生存期为16至24个月,而患有广泛期的患者的中位生存期为7至12个月。为了提高患者的存活率,有必要用该患者的肿瘤对其敏感的化学治疗剂对患者进行治疗。使用靶向药物治疗SCLC代表了一种主要的未得到满足的医学需求。与非小细胞肺癌 (NSCLC) 不同,目前没有证实针对患有该疾病的患者有益的靶向治疗。因此,需要根据其个体的基因特征 (genetic profile) 将SCLC患者与合适的治疗对齐。了解给定的肿瘤的基因特征还能够进行早期诊断、检测和治疗选择。

[0005] 据报道,增加的SLFN11表达与SCLC细胞对拓扑异构酶抑制剂、烷化剂和DNA损伤剂的敏感性增加正相关。参见Zoppoli et al.,PNAS USA2012,109(37),15030-15035; Zoppoli et al.,Cancer Res.2012,72(8Supplement):4693。聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂是抗癌库的最新增加物。某些PARP抑制剂通过捕获PARP-DNA复合物而起到催化抑制剂以及PARP毒物的作用(Murai et al.,Cancer Res.2012:72:5588-99)。Talazoparib (BMN 673) 是迄今为止报道的在肿瘤细胞毒性和PARP捕获活性方面最有效的PARP抑制剂(Shen et al.,Clin.Cancer Res.2013:19:5003-15;Murai et al.,Mol.Cancer Ther.2014:13:433-43)。已经证实Talazoparib在具有有害生殖系BRCA1/2突变的卵巢癌和乳腺癌患者中表现出显著的临床活性(De Bono et al.,ASCO 2013,摘要2580)。然而,并未显示出BRCA突变预测SCLC对PARP抑制剂更高的敏感性。在SCLC患者中也报道了对Talazoparib的抗肿瘤响应(Wainberg et al.,ASCO 2014,Abstract 7522)。先前的研究鉴定了SCLC中一系列与Talazoparib敏感性相关的DNA修复蛋白标志物(Cardnell et al.,Clin.Cancer Res.2013,19(22),6322-6328),但是这些尚未在临床上验证。此外,NCI60细胞系小组的体外筛选显示,在一系列肿瘤细胞系中Schlafen 11 (SLFN11) 的表达增加与对Talazoparib暴露的细胞敏感性增加相关(Murai et al.,AACR 2014,Abstract 1718)。然而,NCI60小组缺

乏任何SCLC来源的细胞系,因此是否任何特定的基因特征与SCLC细胞对PARP抑制剂或Talazoparib的敏感性增加相关的问题尚未得到解答。总之,不存在在SCLC患者中预测对PARP抑制剂的响应的经验证的基因特征。鉴定这些决定因素将允许鉴定可对PARP抑制剂或特别是对Talazoparib响应良好的患者。

[0006] 仍存在对于用PARP抑制剂治疗某些遗传敏感性SCLC患者的方法的需求。此外,鉴定用于SCLC的经验证的临床相关的生物标志物将允许早期检测和适当的治疗靶向。

发明内容

[0007] 对一批38个SCLC细胞系的研究表明,对Talazoparib的单药治疗的敏感性与以下每个基因的表达很好地相关:SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1。在几种SCLC细胞系衍生的异种移植物(CDX)模型中体外证实了该体内敏感性结果。值得注意的是,使用SCLC的12个患者衍生的异种移植物(PDX)样品的体内研究揭示了SLFN11表达(在信使RNA水平和蛋白质水平两者)与肿瘤对PARP抑制剂治疗的敏感性之间的相关性。

[0008] 因此,本发明包括治疗SLFN11-、SIL1-、SLC25A3-、MAF-、AP3B1-、C1orf50-、BCL2-、DDX6-和/或GULP1-阳性的SCLC患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的PARP抑制剂。在另一个方面,本发明涉及治疗SLFN11-阳性的SCLC患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的PARP抑制剂。在其他方面,本发明涉及治疗SLFN11-、SIL1-、SLC25A3-、MAF-、AP3B1-、C1orf50-、BCL2-、DDX6-和/或GULP1-阳性的SCLC患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。在另一个方面,本发明涉及治疗SLFN11-阳性的SCLC患者的方法,所述方法包括向所述患者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。

[0009] 在一个方面,本发明涉及一种治疗表达SLFN11的受试者中SCLC的方法,包括向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂。在另一个方面,本发明涉及一种治疗表达SLFN11的受试者中SCLC的方法,包括向所述受试者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。

[0010] 在另一个方面,本发明涉及一种治疗受试者中SCLC的方法,所述受试者表达SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和/或GULP1中的一种或多种,所述方法包括向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂,或有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。在一些方面,所述受试者表达SLFN11,并且任选地表达SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。

[0011] 本发明还涉及一种治疗小细胞肺癌受试者的方法,所述方法包括在来自受试者的肿瘤细胞样品中检测SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1中的一种或多种,以及向受试者施用有效量的PARP抑制剂。

[0012] 在另一个方面,本发明涉及一种选择用于进行PARP抑制剂化疗小细胞肺癌受试者的方法,包括在受试者的小细胞肺癌肿瘤样品中检测SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。所述方法任选进一步包括向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂。在其他方面,本发明涉及一种选择用于进行PARP抑制剂化疗的小细胞肺癌受试者的方法,包括检测受试者中的SLFN11表达,并且任选进一步包括向受试者施用有效量的PARP抑制剂。在另一个方面,本发明涉及一种选择用于进行Talazoparib化疗的

小细胞肺癌受试者的方法,包括在来自受试者的SCLC肿瘤样品中检测SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。所述方法任选进一步包括向所述受试者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。在其他方面,本发明涉及一种选择用于进行Talazoparib化疗的小细胞肺癌受试者的方法,包括检测受试者中的SLFN11表达,并且任选进一步包括向所述受试者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。

[0013] 在另一个方面,本发明涉及一种用PARP抑制剂治疗患有小细胞肺癌的人受试者的方法,包括:

[0014] (a) 进行基于核酸的检测测定以通过检测mRNA表达而检测来自人受试者的生物样品的细胞中选自由SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1组成的组中的一种或多种基因的mRNA表达水平;

[0015] (b) 确定来自人受试者的细胞以高于来自健康人对照的生物样品的细胞中各个基因的表达水平的水平表达所述一种或多种基因;和

[0016] (c) 向以高于来自健康人对照的生物样品的细胞中各个基因的表达水平的水平表达所述一种或多种基因的人受试者施用有效量的PARP抑制剂,从而在所述人受试者中治疗小细胞肺癌。

[0017] 在另一个方面,本发明涉及一种在人受试者中诊断和治疗SCLC的方法,所述方法包括:

[0018] (a) 进行基于核酸的检测测定以通过检测mRNA表达而检测来自人受试者的生物样品的细胞中选自由SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1组成的组中的一种或多种基因的mRNA表达水平;

[0019] (b) 确定来自人受试者的细胞以高于来自健康人对照的生物样品的细胞中各个基因的表达水平的水平表达所述一种或多种基因;和

[0020] (c) 向以高于来自健康人对照的生物样品的细胞中各个基因的表达水平的水平表达所述一种或多种基因的人受试者施用有效量的PARP抑制剂,从而在所述人受试者中治疗小细胞肺癌。

[0021] 在另一个方面,本发明涉及一种在受试者中诊断SCLC的方法,包括检测所述受试者中的SLFN11的表达。所述方法任选进一步包括检测受试者中的SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。

[0022] 在其他方面,本发明涉及一种治疗ATM表达水平降低的小细胞肺癌患者的方法,包括向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂或Talazoparib或其药学上可接受的盐。在其他方面,除了本文描述的所述一个或多个检测目标之外,还检测受试者中的ATM表达。在其他方面,受试者中的ATM表达降低。

[0023] 从以下详细描述并通过实践本发明,本发明的其他实施方案、特征和优点将变得显而易见。

[0024] 为了简洁起见,本说明书中引用的出版物(包括专利)的公开内容通过引用并入本文。

附图说明

[0025] 参考以下结合附图的描述可理解本申请。

[0026] 图1说明各个小细胞肺癌 (SCLC) 细胞系中Talazoparib和顺铂敏感性GI₅₀值之间的相关性。Talazoparib的log₁₀尺度的GI₅₀值沿着x轴出现,顺铂的log₁₀尺度的GI₅₀值则沿着y轴出现。示出线性回归线,并且Spearman相关性和p值分别被列为R和P。

[0027] 图2说明细胞系对Talazoparib的敏感性。没有箭头的圆形表示研究了5天的细胞系;带箭头的圆圈表示研究了7天的细胞系。数据点的大小基于log₁₀(GI₅₀)设置(较低GI₅₀=较小尺寸的圆圈)。

[0028] 图3A说明各种小细胞肺癌细胞系中SLFN11表达的稳健稳健多元阵列平均(RMA)评分。将RMA评分高于6(在该线以上,被称为“高”RMA)的细胞系与RMA评分低于6(低于该线,被称为“低”RMA)的细胞系区分。图3B说明用Talazoparib处理的细胞系的最大生长抑制和GI₅₀的箱线图,其通过高或低RMA评分汇集。显示的p值基于Anova测试。图3C说明通过Talazoparib最大生长抑制排序的小细胞肺癌(SCLC)细胞系的瀑布图(Waterfall plot)。没有箭头的条对应于称为“高”RMA的细胞系,带箭头的条对应于称为“低”RMA的细胞系。图3D说明对于测试的细胞系,SLFN11RMA表达评分和Talazoparib的GI₅₀之间的相关性。示出线性回归线,并且Spearman相关性和p值分别被列为R和P。图3E说明对于测试的细胞系,SLFN11 RMA表达评分与最大生长抑制之间的相关性。示出线性回归线,并且Spearman相关性和p值分别被列为R和P。

[0029] 图4说明在38个NCI SCLC细胞系中与Talazoparib敏感性相关的顶级基因表达特征。标称p值<0.001的那些突出显示在表的框中。表列包括:基因名称=entrez基因符号;logFC=敏感/耐药细胞系组的倍数变化的对数;t=t统计量;P值- =基于温和t检验的标称p值;调整的P值=基于FDR调整的p值。框中突出显示的基因通过热图绘制,显示使用前9个基因的层次聚类(hierarchical clustering)。热图上面的栏标识细胞系敏感性组,其中“R”是耐药组,并且“S”是敏感组。

[0030] 图5说明12个小细胞肺癌(SCLC)细胞系中SLFN11蛋白的蛋白质印迹。来自CCLE的SLFN11基因表达数据列于图下面的表中以与蛋白质水平相关。

[0031] 图6A、6B和6C说明用媒介物(三角形)、顺铂(圆形,仅图6A和6B)和Talazoparib(BMN 673;正方形)处理的NCI-H1048(图6A)、NCI-H209(图6B)和NCI-H69(图6C)小细胞肺癌(SCLC)异种移植物随时间的平均肿瘤体积。

[0032] 图7说明对于12个SCLC PDX异种移植物模型,Talazoparib每天给药对平均肿瘤体积(测量为自基线的变化)的影响。

[0033] 图8A-8F说明每天用媒介物(带实线的圆圈)或BMN 673(带虚线的三角形)后具有部分响应(图8A、8B)、稳定性疾病(图8C、8D)和进行性疾病(图8E、8F)的个体动物的肿瘤生长曲线。

[0034] 图9A说明12个PDX异种移植物模型的单一药剂Talazoparib治疗的回归分析。用Talazoparib治疗将结果分为进行性疾病(PD, n=6)、稳定性疾病(SD, n=3)或部分响应(PR, n=3)。对角线表示正值,而没有对角线表示负值。图9B说明具有用Talazoparib的进行性疾病(PD, n=6)、稳定性疾病(SD, n=3)或部分响应(PR, n=3)的12个PDX模型的SLFN11蛋白的表达。所示p值基于Anova检验。图9C说明遍及具有用Talazoparib治疗的进行性疾病(PD, n=6)、稳定性疾病(SD, n=3)或部分响应(PR, n=3)的12个PDX异种移植物模型的通过

RNA测序分析(标称化计数(log2))的SLFN11的表达。所示p值基于Anova检验。

[0035] 图10A说明PDX异种移植物模型的PD、SD和PR组的ATM蛋白的表达。图10B说明通过RNA-seq分析在12个PDX异种移植物模型中ATM的表达。

[0036] 图11说明HRD评分和Talazoparib敏感性(GI₅₀)之间的相关性。示出线性回归线,并且Spearman相关性和p值分别被列为R和P。

具体实施方式

[0037] 在进一步描述本发明之前,应该理解,本发明不限于所描述的特定实施方案,因此当然可以变化。还应该理解的是,本文使用的术语仅用于描述特定实施方案的目的,而不是限制性的,因为本发明的范围将仅由所附权利要求限制。

[0038] 在一个方面,本发明涉及一种在表达SLFN11的受试者中治疗小细胞肺癌的方法,包括向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂。

[0039] 在另一个方面,本发明涉及一种在表达SLFN11的受试者中治疗小细胞肺癌的方法,包括向所述受试者施用有效量的Talazoparib或其药学上可接受的盐。

[0040] 在另一个方面,本发明涉及一种选择用于进行PARP抑制剂化疗的小细胞肺癌受试者的方法,包括检测受试者的SCLC肿瘤样品中的SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、Clorf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种,以及向受试者施用有效量的PARP抑制剂。在选择方法的一些实施方案中,检测SLFN11。

[0041] 在一些实施方案中,受试者表达SLFN11。在其他实施方案中,受试者表达SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、Clorf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种。在一些实施方案中,受试者的SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、Clorf50、BCL2、DDX6或GULP1中的一种或多种的表达水平增加。在一些实施方案中,受试者表达ATM。在其他实施方案中,受试者表现出降低水平的ATM表达。在某些实施方案中,受试者表达TP53和/或RB1突变。在一些实施方案中,本文描述的检测步骤还包括检测ATM或检测降低水平的ATM表达。

[0042] 在一些实施方案中,受试者中SLFN11的RMA评分为4或更高,或为5或更高,或为6或更高,或为7或更高,或为8或更高。基于本领域普通技术人员已知的方法,特别是通过使用本文实施例中描述的方法确定RMA评分。

[0043] 在一些实施方案中,所述受试者具有40或更低,或35或更低,或30或更低,或25或更低,或20或更低的Myriad HRD评分。确定Myriad HRD评分是使用本领域普通技术人员已知的方法任选使用市售测试试剂盒完成的。

[0044] 在本发明方法的一些实施方案中,受试者患有晚期SCLC。在其他实施方案中,受试者先前已经被治疗或正在同时用铂类药物诸如顺铂或卡铂治疗,任选与依托泊苷组合。

[0045] 在一些实施方案中,PARP抑制剂是抑制PARP活性的任何化合物。在其他实施方案中,PARP抑制剂是Talazoparib、奥拉帕尼(olaparib)、鲁卡帕尼(rucaparib)、维利帕尼(veliparib)、CEP9722、MK4827或BGB-290或其药学上可接受的盐。在其他实施方案中,PARP抑制剂是Talazoparib或其药学上可接受的盐。在其它实施方案中,PARP抑制剂是Talazoparib的甲苯磺酸盐。Talazoparib具有下文所示结构:



[0047] 在一些实施方案中, Talazoparib或其药学上可接受的盐以如下剂量每天一次口服施用: 约25至约1100 μ g/天, 或约0.5至约2mg/天, 或约1mg/天, 或约0.10至0.75mg/kg/天, 或约0.25-0.30mg/kg/天。本文提供的剂量数是指Talazoparib的游离碱形式的剂量, 或者被计算成施用的Talazoparib盐形式的游离碱当量。例如, 1mg剂量的Talazoparib甲苯磺酸盐指等于1mgTalazoparib游离碱当量的量的Talazoparib甲苯磺酸盐。

[0048] 在一些实施方案中, PARP抑制剂与一种或多种化疗剂、手术和/或放射组合施用。在其他实施方案中, 所述一种或多种化疗剂选自DNA损伤剂、替莫唑胺 (temozolomide)、拓扑异构酶1抑制剂、伊立替康 (irinotecan)、拓扑替康 (topotecan)、拓扑异构酶2抑制剂、依托泊苷 (etoposide)、恩杂鲁胺 (enzalutamide)、ATR抑制剂、EGFR抑制剂、铂类药物、顺铂、卡铂和依托泊苷。

[0049] 在一些实施方案中, 通过免疫组织学测定、免疫组织化学染色 (IHC) 测定、原位LC/MS测定、启动子甲基化测定、细胞学测定、mRNA表达测定、RT-PCR测定、DNA印迹测定、蛋白质表达免疫吸附测定 (ELISA)、酶联免疫斑点测定 (ELISPOT)、侧流测试测定、酶免疫测定、荧光偏振免疫测定、化学发光免疫测定 (CLIA) 或荧光激活分选测定 (FACS) 检测所述一种或多种生物标志物。

[0050] 在一些实施方案中, 使用本领域普通技术人员已知的方法确定来自受试者的测试样品中的一种或多种生物标志物的表达水平, 并将每种生物标志物的表达水平与正常样品或标准样品中相应生物标志物的表达水平比较。在一些实施方案中, 测试样品相对于正常样品或标准样品的表达水平的增加表明受试者可能对PARP抑制剂疗法有响应。在一些实施方案中, 一种或多种基因或蛋白质的表达水平增加表明对PARP抑制剂疗法的响应性, 其中所述一种或多种基因或蛋白质选自SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1。在其他实施方案中, 一种基因或蛋白质是SLFN11。

[0051] 除非另外定义, 否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同的含义。尽管与本文描述的相似或等同的任何方法和材料也可用于本发明的实践或测试中, 但现在描述优选的方法和材料。本文提及的所有出版物均通过引用并入本文, 以公开和描述与所引用出版物相关的方法和/或材料。

[0052] 必须注意的是, 除非上下文另外清楚地指出, 否则如本文和所附权利要求中使用的单数形式“一”、“一个”和“该”包括复数指示物。进一步注意的是, 权利要求可以被撰写成排除任何任选元素。因此, 该陈述旨在用作与陈述权利要求元素有关的使用“单独”, “仅仅”等专有术语或使用“否定”限制的前置基础。

[0053] 本文使用的术语“包括”、“含有”和“包含”以其开放、非限制性的含义使用。

[0054] 为了提供更简洁的描述, 本文给出的一些定量表达不用术语“约”来限定。应该理解, 无论术语“约”是否明确地使用, 本文中给出的每个量都意指实际给定值, 并且还意指基

于本领域普通技术人员合理推断的这种给定值的近似值,包括由于这种给定值的实验和/或测量条件而产生的等同物和近似值。除非另有说明,否则以百分比给出的浓度指的是质量比。

[0055] 本文使用的“受试者”是指人或动物,包括所有哺乳动物诸如灵长类(特别是高等灵长类)、绵羊、犬、啮齿动物(例如小鼠或大鼠)、豚鼠、山羊、猪、猫、兔和牛。在一些实施方案中,受试者是人。在其他实施方案中,受试者是可能被认为对发展SCLC具有高风险的人,包括作为现在或曾经吸烟者的个体。在某些实施方案中,受试者患有或已经被诊断患有SCLC。本文使用的“个体”是指受试者或患者。健康或正常的个体是通过常规诊断方法不能检测到感兴趣的疾病或病症(包括例如肺病、肺相关疾病或其他肺病症)的个体。

[0056] “生物样品”、“样品”和“测试样品”在本文中可互换使用,并且可以是受试者分离的任何器官、组织、细胞或细胞提取物,诸如从患有肺癌或处于肺癌风险中的哺乳动物(例如,基于家族史或个人史,诸如重度吸烟)。例如,样品可包括但不限于来自实体肺肿瘤的细胞或组织(例如来自活检或尸检)、从患有肺癌的哺乳动物中分离的痰、咳嗽、支气管肺泡灌洗、支气管刷取物、颊粘膜、外周血、全血、红细胞浓缩物、血小板浓缩物、白细胞浓缩物、血细胞蛋白质、血浆、富含血小板的血浆、血浆浓缩物、来自血浆的任何级分的沉淀物、来自血浆的任何分级的上清液、血浆蛋白级分、纯化的或部分纯化的血液蛋白质或其他组分、血清、组织或细针活检样品,以及胸膜液等,或从患者(人或动物)、测试受试者、健康志愿者或实验动物获得的任何其他样品或其任何提取物。样品来源包括血液(包括全血、白细胞、外周血单核细胞、血沉棕黄层、血浆和血清)、痰、眼泪、粘液、鼻洗液、鼻吸出物、呼吸、尿液、精液、唾液、腹膜洗液、囊液(cystic fluid)、脑膜液、羊水、腺液、淋巴液、细胞液、腹水、胸膜液、乳头抽吸液、支气管抽吸液、支气管刷洗物、滑液、关节抽吸液、器官分泌物、细胞、细胞提取物和脑脊液。样品还包括所有前述生物来源的实验分离的级分。例如,可将血液样品分级成血清或血浆,或分级成含有特定类型的血细胞诸如红细胞或白血细胞(白血球)的级分。如果需要,样品可以是来自个体的样品的组合,诸如组织和流体样品的组合。术语“生物样品”还包括例如含有均化固体材料的材料,诸如来自粪便样品、组织样品或组织活检物的材料。术语“生物样品”还包括来源于组织培养物或细胞培养物的材料。可采用任何合适的获得生物样品的方法;示例性方法包括例如静脉切开术、拭子(例如口腔拭子)、手术、活检和细针抽吸活检程序。易受细针抽吸的示例性组织包括淋巴结、肺、肺洗物、BAL(支气管-肺泡灌洗物)、胸膜、甲状腺、乳房、胰腺和肝脏。也可通过例如显微解剖(例如激光捕获显微解剖(LCM)或激光显微解剖(LMD))、膀胱冲洗、涂片(例如PAP涂片)或导管灌洗来收集样品。从个体获得或衍生的“生物样品”包括从个人获得后以任何适当方式处理的任何这种样品。样本还可包括组织切片,诸如为了组织学目的而采取的冷冻切片。“样品”也可为在实验条件下产生并非直接从受试者中分离的细胞或细胞系。“对照”或“参考”包括用于确定基线表达或活性而获得的样品。因此,对照样品可以通过许多手段获得,包括获自非癌性细胞或组织,例如,获自受试者的肿瘤周围的细胞或癌细胞;获自未患癌症的受试者;获自不怀疑有癌症风险的受试者;或获自来源于这些受试者的细胞或细胞系。对照还包括先前建立的标准,诸如先前表征的SCLC。因此,可以将根据本发明进行的任何测试或测定与已建立的标准进行比较,并且可能不需要每次都获得用于比较的对照样品。

[0057] 此外,应该认识到,可通过从许多个体获取生物样品并汇集它们或汇集每个个体

的生物样品的等分试样来获得生物样品。汇集的样品可作为来自单一个体的样品处理,如果确定汇集的样品中存在癌症,则可对每个单独的生物样品进行重新测试以获得相关结果。

[0058] 本文使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用以指代任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可为线性的或分支的,它可包含经修饰的氨基酸,并且它可被非氨基酸中断。这些术语还包括已被天然或通过干预修饰的氨基酸聚合物;例如形成二硫键、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作或修饰,诸如与标记组分缀合。定义中还包例如含有一个或多个氨基酸类似物(包括例如非天然氨基酸)的多肽,以及本领域已知的其他修饰。多肽可为单链或相关链。定义中还包前蛋白质和完整成熟蛋白质;衍生自成熟蛋白质的肽或多肽;蛋白质的片段;剪接变体;重组形式的蛋白质;具有氨基酸修饰、缺失或置换的蛋白质变体;消化物(digest);和翻译后修饰,诸如糖基化、乙酰化、磷酸化等。

[0059] 本发明提供了与源自不患癌症的受试者的正常细胞相比,在源自患有肺癌的受试者的组织学正常细胞和/或恶性肺癌细胞中差异表达的生物标志物,例如核酸分子及其表达产物。

[0060] “生物标志物”是特定生物学特性的分子指示物,并且在本文中使用时是核酸分子(例如,基因或基因片段)或其表达产物(例如,其多肽或肽片段或变体),其在细胞或组织内的差异表达(相对于参考的存在、不存在、过表达或表达不足)表明存在或不存在小细胞肺癌,或者对PARP抑制剂暴露的敏感性增加或降低。本文使用的“表达产物”是对应于或衍生自多核苷酸序列的转录的有义或反义RNA分子(例如mRNA)或翻译的多肽。在一些实施方案中,表达产物可以指对应于从多核苷酸序列转录的RNA表达产物的扩增产物(扩增子)或cDNA。生物标志物可通过多种方法检测和测量,包括实验室测定和医学成像。当生物标志物是蛋白质时,也可使用相应基因的表达作为生物样品中相应蛋白质生物标志物的量或存在或不存在或者控制生物标志物表达的编码生物标志物或蛋白质的基因的甲基化状态的替代测量。

[0061] “差异表达”或“差异表达的”是指与参照细胞或组织或样品相比,源自患有肺癌的受试者的细胞或组织或样品中生物标志物的频率或数量或两者的差异,例如与参照细胞或正常细胞(例如源自不患癌症或患有检测不到的癌症的受试者的细胞或源自自己成功切除肺癌的受试者的正常细胞)相比,在源自患有肺癌的受试者的恶性肺癌细胞和/或正常细胞(即具有恶性相关变化的细胞)中生物标志物的频率或数量或两者的差异。在一些实施方案中,对照或参照细胞可为SCLC或NSCLC。在一些实施方案中,差异表达是指与参照细胞相比,恶性肺癌细胞中生物标志物的频率或数量或两者的差异。例如,生物标志物的差异表达可以指与参照受试者的样品相比,肺癌患者的样品中生物标志物的表达水平升高或降低,例如将取自肺癌患者的血液、尿液、唾液、血清、胸膜积液或支气管肺泡灌洗液样品中的蛋白质水平或抗体滴度的测量结果与取自非肺癌对照的血液、尿液、唾液、血清、胸腔积液或支气管肺泡灌洗液样品中的蛋白质水平或抗体滴度的测量结果相比,所述非肺癌对照包括健康受试者和患有呼吸道感染诸如支气管炎和细支气管炎的受试者。可选地或另外地,生物标志物的差异表达可以指与参考对象的样品相比,在肺癌患者的样品中以更高频率或更低频率检测到生物标志物。生物标志物可在数量、频率或两者方面差异存在。在一些实施方案中,可在不同时间点,例如治疗前后,测量本发明的生物标志物的差异表达。“表达的水

平”或“表达水平”是指细胞中由基因编码的mRNA以及前体mRNA新生转录物、转录物加工中间体、成熟mRNA和降解产物的水平,和/或细胞中蛋白质,蛋白质片段和降解产物的水平。也可与同一患者的正常细胞中的检测产物水平或者通过与历史数据库比较进行合适的比较。

[0062] 生物标志物的量或频率或两者的差异可通过任何合适的技术来测量,诸如统计技术。例如,如果如通过标准统计分析诸如学生t检验或Anova检验所测量的,在肺癌样品中检测到生物标志物的频率显著高于或低于在参考样品,其中 $p < 0.05$ 通常被认为是统计学显著的,则生物标志物可在肺癌样品与参考样品之间差异表达。在一些实施方案中,如果与参考样品相比,生物标志物在小细胞肺癌中以更高频率或更低频率被检测到,则生物标志物差异表达;例如,检测结果可以是与参考样品相比,在肺癌中以至少约1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更多的频率,或2倍、5倍、10倍或更多倍的频率,以更高频率或更低频率发生。可选地或另外地,如果肺癌中的生物标志物的量在统计学上显著不同,例如多于或少于参考样品中生物标志物的量,例如当与参考样品中的生物标志物的量相比至少约1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更多,或2倍、5倍、10倍或更多倍,或者如果它在一个样品中可检测到而在另一个样品中不可检测到,则生物标志物差异表达。在一些实施方案中,差异表达可以指表达的增加或减少,其可以是相对于参照样品在测试样品中增加或减少至少1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%或更多,或2倍、5倍、10倍或更多倍。

[0063] 根据本发明,用于鉴定对PARP抑制剂敏感的小细胞肺癌受试者的生物标志物包括SLFN11、SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1。这些生物标志物中的两种或更多种,例如2、3、4、5、6、7、8或9种生物标志物,可以在根据本发明的测定法中以任何组合一起使用。在一些实施方案中,一种或多种生物标志物可特定地从测定中排除。在一些实施方案中,特定的组合将用于例如区分SCLC和NSCLC或确定对PARP抑制剂或Talazoparib的敏感性。在本发明的一个具体实施方案中,使用SLFN11,或将SLFN11与选自SIL1、SLC25A3、MAF、AP3B1、C1orf50、BCL2、DDX6和GULP1的至少一种或多种生物标志物组合使用。

[0064] 根据本发明的生物标志物包括本文描述的核酸分子及其表达产物的基本上相同的同源物和变体,例如包括编码与本发明的生物标志物功能上等同的多肽的核苷酸序列的分子,例如所述核苷酸序列具有一个或多个核苷酸置换、添加或缺失,诸如等位变体或剪接变体或物种变体或因为遗传密码的简并性而不同于本文提到的核酸分子和多肽的分子。物种变体是多种物种之间不同的核酸序列,尽管所得多肽通常相对于彼此具有显著的氨基酸同一性和功能相似性。多态性变体(例如单核苷酸多态性或SNP)是给定物种的个体之间特定基因的核酸序列的变异。

[0065] “基本上相同的”序列是如本文讨论的仅通过一个或多个保守置换,或者在位于不破坏氨基酸或核酸分子的生物学功能的序列的位置通过一个或多个非保守置换、缺失或插入,而与参考序列不同的氨基酸或核苷酸序列。当使用例如Align Program(Myers and Miller, CABIOS, 1989, 4: 11-17)或FASTA在氨基酸或核苷酸水平上与用于比较的序列进行最佳比对时,这样的序列可以是10%至99%的任何整数,或更一般地是至少10%、20%、30%、40%、50%、55%或60%,或至少65%、75%、80%、85%、90%或95%,或多至96%、97%、98%或99%同一性。对于多肽,比较序列的长度可以是至少2、5、10或15个氨基酸,或至少20、25或30个氨基酸。在替代实施方案中,比较序列的长度可以是至少35、40或50个氨

氨基酸,或超过60、80或100个氨基酸,或者对于蛋白质的整个长度。对于核酸分子,比较序列的长度可以是至少5、10、15、20或25个核苷酸,或至少30、40或50个核苷酸。在替代实施方案中,比较序列的长度可以是至少60、70、80或90个核苷酸,或者超过100、200或500个核苷酸。可以使用公众可用的序列分析软件(例如,University of Wisconsin Biotechnology Center,1710University Avenue,Madison,Wis.53705的Genetics Computer Group的序列分析软件包,或可从National Library of Medicine得到BLAST软件,或如本文所述)容易地测量序列同一性。有用软件的实例包括Pile-up和PrettyBox程序。这些软件通过对各种缺失、置换和其他修饰赋予同源性程度来匹配相似的序列。可选地或另外地,如果两个核酸序列在高严格性条件下杂交,则它们可以是“基本上相同的”。在一些实施方案中,高严格性条件例如是允许与在以下条件下发生的杂交相当的杂交:使用长度为至少500个核苷酸的DNA探针,在含有0.5M NaHPO₄,pH 7.2、7%SDS、1mM EDTA和1%BSA(级分V)的缓冲液中,在65°C的温度下,或者在含有48%甲酰胺、4.8x SSC、0.2M Tris-Cl,pH 7.6、1x Denhardt溶液、10%硫酸葡聚糖、10%SDS的缓冲液中,在42°C的温度下。(这些是高严格性Northern或Southern杂交的典型条件)。杂交可进行约20至30分钟,或约2至6小时,或约10至15小时,或超过24小时或更长的时间。高严格性杂交还依赖于分子生物学家常规执行的多种技术的成功,诸如高严格性PCR、DNA测序、单链构象多态性分析和原位杂交。与Northern和Southern杂交相比,这些技术通常用相对短的探针进行(例如对于PCR或测序,通常约16个核苷酸或更长,对于原位杂交约40个核苷酸或更长)。这些技术中使用的高严格性条件对于分子生物学领域的技术人员是公知的,并且它们的实例可在例如Ausubel et al,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,New York,N.Y.,1998中找到,其在此通过引用并入。

[0066] 使用生物标志物制备试剂

[0067] 本文描述的生物标志物可用于制备与本文描述的生物标志物杂交或特异性结合的寡核苷酸探针和抗体及其同源物和变体。

[0068] • 抗体

[0069] “抗体”包括具有抗原结合区的分子,诸如任何同种型的全抗体(IgG、IgA、IgM、IgE等)、多克隆抗体及其片段。抗体片段包括Fab’、Fab、F(ab’)₂、单域抗体、Fv、scFv等。可使用例如Harlow和Lane(Harlow and Lane Antibodies;A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,Cold Spring Harbor,N.Y.,1988)中所述的标准制备技术或本领域技术人员已知的标准制备技术制备抗体。例如,本发明的多肽生物标志物的编码序列可纯化至免疫兔所需的程度。为了试图最小化抗血清的低亲和力或特异性的潜在问题,可针对每种蛋白质产生两种或三种多肽构建体,并且可将每种构建体注射到至少两只兔中。通过一系列注射可提高抗血清,优选包括至少三次加强注射。初次免疫可用弗氏完全佐剂进行并随后用弗氏不完全佐剂进行免疫。可通过使用经纯化的蛋白质的Western印迹和免疫沉淀分析来监测抗体滴度。免疫血清可使用CNBr-琼脂糖偶联蛋白进行亲和纯化。可使用一组不相关蛋白质确定抗血清特异性。抗体片段可重组制备或通过蛋白水解切割制备。可产生对应于本发明多肽生物标志物的相对独特的免疫原性区域的肽,并通过引入的C-末端赖氨酸与钥孔虫血蓝蛋白(KLH)偶联。这些肽中的每一种的抗血清可在缀合至BSA的肽上进行亲和纯化,并且在使用肽缀合物的ELISA和Western印迹中以及通过Western印迹和免疫沉淀

进行特异性测试。

[0070] 根据标准杂交瘤技术(参见,例如,Kohler et al.,Nature 256:495,1975;Kohler et al.,Eur.J.Immunol.6:511,1976;Kohler et al.,Eur.J.Immunol.6:292,1976;Hammerling et al.,In Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas,Elsevier,N.Y.,1981)制备与本发明的任何一种多肽生物标志物特异性结合的单克隆抗体。或者,可使用本发明的多肽和噬菌体展示文库制备单克隆抗体(Vaughan et al.,Nature Biotech 14:309-314,1996)。一旦产生,也可通过Western印迹或免疫沉淀测试单克隆抗体的特异性识别。

[0071] 在一些实施方案中,抗体可使用可能具有免疫原性的多肽片段通过诸如高频率的带电残基的标准来产生。通过例如使用含有来自一个物种的抗原结合结构域和来自另一物种的Fc部分的嵌合抗体,或者通过使用由适当物种的杂交瘤制备的抗体,可剪裁抗体以使得不利的宿主免疫应答最小化。例如,使用SLFN11,抗体被剪裁为对某个SLFN11区域具有特异性。

[0072] 当抗体识别并结合抗原(例如,如本文描述的生物标志物),但基本上不识别并结合样品中的其他分子时,抗体“特异性结合”该抗原。这样的抗体具有例如对该抗原的亲合力,其比抗体对样品中另一参照分子的亲合力大至少2、5、10、100、1000或10000倍。在这样的条件下与抗体的特异性结合可能需要针对其对于特定生物标志物的特异性而选择的抗体。例如,可仅针对与生物标志物而不与除了该生物标志物的多态性变体和等位基因之外的其他蛋白质特异性免疫反应的那些多克隆抗体来对从特定物种诸如大鼠、小鼠或人生成的该生物标志物的多克隆抗体进行选择。在一些实施方案中,可仅针对与来自该物种的生物标志物而不与其他蛋白质(包括生物标志物的多态性变体和等位基因)特异性免疫反应的那些多克隆抗体选择从特定物种诸如大鼠、小鼠或人产生至生物标志物的多克隆抗体。可通过使样品与该抗体接触并检测与样品中该生物标志物结合的该抗体的复合物的存在,而将特异性结合本文描述的任何生物标志物的抗体用于免疫测定中。免疫测定中使用的抗体可如本文所述或本领域已知产生,或者可从供应商例如Dako Canada, Inc., Mississauga, ON商购获得。在与样品接触之前,可将抗体固定到固体基质(例如,尼龙、玻璃、陶瓷、塑料等)上,以促进随后的测定程序。可使用多种标准程序(诸如检测放射性、荧光、发光、化学发光、吸光度或通过显微术、成像等)来可视化或检测抗体-生物标志物复合物。免疫测定包括免疫组织化学、酶联免疫吸附测定(ELISA)、Western印迹、免疫放射测定(IRMA)、横向流动、消逝(efanescence)(DiaMed AG,Cressier surMorat,瑞士,如欧洲专利公开EP1371967、EP1079226和EP1204856中所述)、免疫组织/细胞化学以及本领域技术人员已知的其他方法。免疫测定可用于确定样品中生物标志物的存在或不存在以及样品中生物标志物的量。抗体-生物标志物复合物的量可通过与参考或标准(诸如已知存在于样品中的多肽)比较来确定。抗体-生物标志物复合物的量也可通过与参考或标准比较(诸如参考或对照样品中该生物标志物的量)来确定。因此,样品中生物标志物的量不需要以绝对值来量化,而是可相对于参考或对照以相对值来测量。

[0073] • 探针和引物

[0074] “探针”或“引物”是可与含有互补序列的第二DNA或RNA分子(靶标)碱基配对的具有确定序列的单链DNA或RNA分子。所得杂交分子的稳定性取决于发生的碱基配对的程度,

并受参数诸如探针和靶分子之间的互补程度以及杂交条件的严格程度的影响。杂交严格程度受诸如温度、盐浓度和有机分子诸如甲酰胺浓度等参数影响,并且通过本领域技术人员已知的方法确定。对于本文描述的核酸生物标志物或其部分具有特异性的探针或引物可在长度上从至少8个核苷酸至超过500个核苷酸的任何整数变化(包括其间的任何值),这取决于使用探针或引物的目的和条件。例如,探针或引物的长度可为8、10、15、20或25个核苷酸,或者长度可为至少30、40、50或60个核苷酸,或长度可超过100、200、500或1000个核苷酸。对本文描述的核酸生物标志物具有特异性的探针或引物可与本文描述的核酸生物标志物具有大于20-30%序列同一性,或至少55-75%序列同一性,或至少75-85%序列同一性,或至少85-99%序列同一性或100%序列同一性。探针或引物可例如通过扩增而源自基因组DNA或cDNA,或源自克隆的DNA片段,并且可含有代表来自单个个体的全部或部分单一基因的基因组DNA或cDNA序列。探针可具有独特序列(例如,与核酸生物标志物100%同一性)和/或具有已知序列。探针或引物可为化学合成的。探针或引物可在如本文所述的高严格性条件下与核酸生物标志物杂交。

[0075] 探针或引物可通过本领域技术人员已知的方法被放射性或非放射性地可检测地标记。探针或引物可用于涉及核酸杂交的肺癌检测方法,诸如核酸测序、通过聚合酶链式反应(例如RT-PCR)的核酸扩增、单链构象多态性(SSCP)分析、限制性片段多态性(RFLP)分析、Southern杂交、Northern杂交、原位杂交、电泳迁移率变动测定(EMSA)、荧光原位杂交(FISH)以及本领域技术人员已知的其他方法。

[0076] “可检测地标记”是指用于标记并鉴定分子(例如寡核苷酸探针或引物、基因或其片段、或cDNA分子)存在的任何手段。用于可检测地标记分子的方法是本领域公知的,包括但不限于放射性标记(例如用同位素诸如 ^{32}P 或 ^{35}S)和非放射性标记诸如酶标记(例如使用辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶)、化学发光标记、荧光标记(例如使用荧光素)、生物发光标记或衔接至探针的配体的抗体检测。该定义中还包括通过间接方式可检测地标记的分子,例如与第一部分(诸如生物素)结合的分子,所述第一部分又与可被观察或测定的第二部分(诸如荧光素标记的链霉亲和素)结合。标记物还包括洋地黄毒苷、荧光素酶和水母发光蛋白。

[0077] • 阵列和试剂盒

[0078] 使用本发明的生物标志物制备的抗体、探针、引物和其他试剂可用于制备用于检测肺癌的阵列。“阵列(array)”或“矩阵(matrix)”是指表面上的可寻址位置或“地址”的样式(pattern)或排列,每个可寻址位置或“地址”代表独立的点。阵列通常需要核酸分子、多肽、抗体、组织等以特定的维度排列与其连接的固体支持物(例如尼龙、玻璃、陶瓷、塑料等),使得与探针杂交的样式可容易确定。

[0079] 通常,将探针(例如,抗体、核酸探针或引物、多肽等)固定在阵列表面上并在适合于结合的条件下与含有靶结合配偶体(partner)(例如在抗体的情况下,靶结合配偶体为特异性结合该抗体的多肽,或者在探针的情况下,靶结合配偶体为与该探针杂交的核酸分子)的样品接触。如果需要,样品中的未结合物质可被除去。检测结合的靶标并使用适当的统计或其他方法分析结合结果。探针或靶标可被可检测地标记以便于检测和随后的分析。可使用对应于本文描述的生物标志物的多重探针。多重探针可对应于本文描述的一种或多种生物标志物。除了能够结合本文描述的生物标志物的探针之外,阵列可控制和参考核酸分子、

多肽或抗体,以允许从一个实验到另一个实验的结果的归一化,并且在定量水平上比较多个实验。因此,本发明提供了使用核酸、多肽、抗体或细胞学阵列的生物测定。

[0080] 本发明还提供用于检测小细胞肺癌,特别是关于本文鉴定的基因表达基序的试剂盒。试剂盒可包括对应于本文描述的生物标志物的一种或多种试剂,例如特异性结合作为体液中抗原分泌的生物标志物的抗体、结合生物标志物特异性抗体的重组蛋白质、与生物标志物杂交的核酸探针或引物。在一些实施方案中,试剂盒可(例如在阵列上)包括对应于本文描述的生物标志物的多个试剂。试剂盒可包括检测试剂,例如可检测地标记的试剂。试剂盒可包括在肺癌的(早期)检测和亚型分型中使用试剂盒的书面说明,并可包括其他试剂和信息,诸如对照或参考标准、洗涤溶液、分析软件等。

[0081] 诊断及其他方法

[0082] 可通过免疫测定法诸如免疫组织化学、ELISA、Western印迹或诊断领域技术人员已知的任何其他方法检测本文鉴定的一种或多种生物标志物的差异表达来诊断表达该一种或多种生物标志物的小细胞肺癌受试者。检测可以在体外或体内进行。

[0083] 单个生物标志物和多个生物标志物的组合是有用的诊断方法。具体而言,本文描述的一种或多种生物标志物的组合能够实现肺癌的准确(早期)诊断和亚型分型。不同样品中多种生物标志物的差异表达的变化可诊断或预测特定类型肺癌的存在或不存在,对特定肺癌疗法的响应,或更好地评估肺癌发展的风险。例如,SLFN11的表达可用于检测样品中SCLC的存在或选择用于进行PARP抑制剂疗法或Talazoparib疗法的患者。合适的统计学方法和算法,例如逻辑回归算法,可用于分析和使用多种生物标志物用于诊断、预后、治疗诊断或其他目的。例如在治疗小细胞肺癌之前、期间和之后,可多次检测和测量生物标志物(或任何一种或多种生物标志物的特定组合)。

[0084] 本文描述的生物标志物的检测可作为用于肺癌的(早期)检测和亚型分型的初始筛选和/或可与常规肺癌诊断方法诸如痰细胞学、胸部X射线、CT扫描、螺旋CT、PET、使用特定示踪剂例如⁸⁹Zr、¹¹C、荧光染料的PET-CT,闪烁扫描、活检、传统形态MAC分析等。本文描述的生物标志物的检测还可与先前识别的肺癌生物标志物诸如pRb2/p130、p53和/或ras结合进行。本文描述的生物标志物的检测可作为(例如超过特定年龄(例如超过60岁)的重度吸烟者)的常规检查的一部分进行,或者可进行以确定处于患肺癌风险中的受试者(例如重度吸烟者)中的生物标志物的基线水平。

[0085] 通常,本发明的生物标志物组将用于分子诊断和/或检测的分子成像(包括前述体内成像技术)和/或用于监测肺癌的治疗和/或用于鉴定用于进行PARP抑制剂疗法的受试者。本文描述的生物标志物的检测可使医师能够基于诊断确定受试者的适当的行动过程(例如,进一步测试、手术、不采取行动等)。本文描述的生物标志物的检测还可帮助确定小细胞肺癌的存在或不存在、小细胞肺癌的早期诊断、小细胞肺癌的预后、小细胞肺癌的亚型分型、评价小细胞肺癌疗法的功效、监测受试者中的小细胞肺癌疗法,或检测已接受小细胞肺癌治疗且有所缓解的受试者中小细胞肺癌的复发。在另外的方面,生物标志物和使用生物标志物制备的试剂可用于鉴定SCLC疗法。试剂盒和阵列可用于测量根据本发明的生物标志物,以进行肺癌的诊断和亚型分型。该试剂盒还可用于监测受试者对SCLC疗法的响应,从而使医师能根据测试结果修改治疗。试剂盒还可用于鉴定和验证肺癌疗法,诸如小分子、肽等。

[0086] 本文使用的“生物标志物值”、“值”、“生物标志物水平”和“水平”可互换使用,是指使用用于检测生物样品中的生物标志物的任何分析方法进行的测量,并且其指示对于或对应于生物样品中生物标志物的存在、不存在、绝对量或浓度、相对量或浓度、滴度、水平、表达水平、测量水平的比率等。“值”或“水平”的确切性质取决于用于检测生物标志物的特定分析方法的具体设计和组分。

[0087] 当生物标志物指示或是个体中异常过程或疾病或其他病症的体征时,该生物标志物通常被描述为与指示或是个体中正常过程或不存在疾病或其他病症的体征的生物标志物的表达水平或值相比过表达或低表达。“上调”、“上调的”、“过表达”、“过表达的”及其任何变体可互换使用,是指大于通常在来自健康或正常个体的类似生物样品中检测到的生物标志物的值或水平(或值或水平的范围)的生物样品中生物标志物的值或水平。该术语还可以指大于可在特定疾病的不同阶段检测到的生物标志物的值或水平(或值或水平的范围)的生物样品中生物标志物的值或水平。

[0088] “下调”、“下调的”、“低表达”、“低表达的”及其任何变体可互换地用于指小于通常在来自健康或正常个体的类似生物样品中检测到的生物标志物的值或水平(或值或水平的范围)的生物样品中生物标志物的值或水平。该术语还可以指小于可在特定疾病的不同阶段检测到的生物标志物的值或水平(或值或水平的范围)的生物样品中生物标志物的值或水平。

[0089] 进一步地,过表达或低表达的生物标志物也可被称为与指示或是个体中正常过程或不存在疾病或其他病症的体征的生物标志物的“正常”表达水平或值相比“差异表达”或被称为具有“差异水平”或“差异值”。因此,生物标志物的“差异表达”也可被称为与生物标志物的“正常”表达水平相比的变化。

[0090] 术语“差异基因表达”和“差异表达”可互换使用,是指相对于其在正常或对照受试者中的表达,在患有特定疾病的受试者中其表达被激活至更高或更低水平的基因(或其相应蛋白质表达产物)。该术语还包括在同一疾病的不同阶段其表达被激活至更高或更低水平的基因(或相应的蛋白质表达产物)。还应该理解,差异表达的基因可在核酸水平或蛋白质水平上被激活或抑制,或者可经受选择性剪接以产生不同的多肽产物。这些差异可通过多种改变来证明,包括mRNA水平、表面表达、分泌或多肽的其他分配。差异基因表达可包括两种或更多种基因或其基因产物之间的表达的比较;或两种或更多种基因或其基因产物之间的表达比率的比较;或者甚至是比较同一基因的两种不同加工产物的比较,其在正常受试者和患有疾病的受试者之间不同;或同一疾病的各个阶段之间不同。差异表达包括在例如正常细胞和患病细胞,或已经历不同疾病事件或疾病阶段的细胞中,基因或其表达产物中的时间或细胞表达模式的定量差异以及定性差异。

[0091] 本文使用的关于生物标志物值的“检测”或“确定”包括使用观察和记录对应于生物标志物值的信号所需的仪器和生成该信号所需的材料。在多个实施方案中,使用任何核实的方法检测生物标志物值,包括荧光、化学发光、表面等离子体共振、表面声波、质谱、红外光谱、拉曼光谱、原子力显微镜、扫描隧道显微镜、电化学检测方法、核磁共振、量子点等。

[0092] “诊断(diagnose或diagnosing或diagnosis)”及其变化是指基于涉及所述个体的一种或多种体征、症状、数据或其他信息,检测、确定或识别个体的健康状态或状况。个体的健康状态可被诊断为健康/正常(例如,诊断为不存在疾病或病症)或被诊断为患病/异常

(例如诊断为存在疾病或病症,或评价为疾病或病症的特征)。术语“诊断(diagnose或diagnosing或diagnosis)”等涵盖关于特定疾病或病症的疾病的初始检测;疾病的表征或分类;检测疾病的发展、缓解或复发;以及在对个体施用治疗或疗法后检测疾病响应。SCLC的诊断包括将患有癌症的个体与不患有癌症的个体区分开来。

[0093] “预后(Prognose或prognosing或prognosis)”及其变化是指预测患有疾病或病症的个体的疾病或病症的未来过程(例如,预测患者存活),并且这样的术语涵盖在对个体施用治疗或疗法之后评价疾病响应。

[0094] 生物标志物的示例性用途

[0095] 在多种示例性实施方案中,提供了用于通过许多分析方法(包括本文描述的任何分析方法)通过检测一种或多种生物标志物值而诊断个体中的SCLC的方法,所述一种或多种生物标志物值对应于存在于个体循环(诸如血清或血浆)中的一种或多种生物标志物。例如,这些生物标志物,与不患有SCLC的个体相比在患有SCLC的个体中差异表达,或者在更可能对PARP抑制剂治疗敏感的SCLC患者中差异表达。例如,个体中生物标志物的差异表达的检测可用于允许SCLC的早期诊断,或监测SCLC复发,或用于开具PARP抑制剂疗法的处方,或用于其他临床适应症。

[0096] 本文描述的任何生物标志物可用于SCLC的多种临床适应症,包括以下任何一种:检测SCLC(诸如在高风险个体或群体中);表征SCLC(例如,确定SCLC类型、亚型或阶段),诸如通过区分非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC);确定SCLC预后;监测SCLC发展或缓解;监测SCLC复发;监测转移;治疗选择,特别是用PARP抑制剂或Talazoparib治疗;监测对治疗剂或其他治疗的响应;用于进行计算机断层扫描(CT)筛选的个体分层(例如,鉴定那些处于较高SCLC风险并且因此最有可能受益于螺旋CT筛选的个体,从而增加CT的阳性预测值);将生物标志物测试与其他生物医学信息(诸如吸烟史等)或与结节大小、形态学等相结合(诸如与单独的CT测试或生物标志物测试相比提供具有增加的诊断性能的测定);有利于将肺结节诊断为恶性或良性;一旦在CT上观察到肺结节,便于临床决策制定(例如,如果结节被认为是低风险的,诸如如果在进行或未进行结节大小分类的情况下基于生物标志物的检验是阴性的,则命令重复CT扫描;或如果结节被认为是中至高风险,诸如在进行或未进行结节大小分类的情况下基于生物标志物的检测是阳性的,则考虑活检);并有利于关于临床随访的决定(例如,在观察CT上的非钙化结节之后是否实施重复CT扫描,细针活检,结节切除或开胸术)。生物标志物检测可相对于高风险个体的单独的CT或胸部X射线筛选改善阳性预测值(PPV)。除了它们与CT筛选结合的效用之外,本文描述的生物标志物还可与用于SCLC的任何其他成像方法(诸如胸部X射线、支气管镜检或荧光支气管镜检、MRI或PET扫描)结合使用。此外,所描述的生物标志物也可用于在通过成像方法或其他临床相关性检测到SCLC的指征之前,或在症状出现之前,允许这些用途。它还包括区分具有用CT扫描或其他成像方法鉴定的不确定肺结节的个体,筛选患SCLC的高风险吸烟者,以及诊断患有SCLC的个体。

[0097] 作为本文描述的任何生物标志物可用于诊断SCLC的方式的实例,在不知晓患有SCLC的个体中一种或多种所述生物标志物的差异表达可表明该个体患有SCLC,由此在治疗最有效的疾病早期阶段,可以在其他方式检测到SCLC之前或症状出现之前,检测到SCLC。SCLC过程中一种或多种生物标志物的过表达可能指示SCLC发展,例如,SCLC肿瘤正在生长和/或转移(因此表明预后不良),而在一种或多种生物标志物差异表达的程度的降低(例

如,在随后的生物标志物测试中,个体中的表达水平正在朝向“正常”表达水平移动或接近“正常”表达水平),可以指示SCLC缓解,例如SCLC肿瘤正在萎缩(因此表明预后良好或更好)。类似地,在SCLC治疗过程期间,一种或多种生物标志物差异表达的程度的增加(例如,在随后的生物标志物测试中,个体中的表达水平进一步偏离“正常”表达水平移动),可能表明SCLC正在发展,并因此表明治疗无效,而在SCLC治疗过程中一种或多种生物标志物的差异表达的降低可以指示SCLC缓解,并因此表明治疗正在成功起效。此外,个体明显已经治愈SCLC后,一种或多种生物标志物的差异表达的增加或降低可以指示SCLC复发。在诸如此类的情况下,例如,可在比直到后来才检测到SCLC复发的情况更早的阶段使个体重新开始治疗(或者修改治疗方案,如此以增加剂量和/或频率,如果个体已经维持治疗的话)。此外,个体中一种或多种生物标志物的差异表达水平可预测个体对特定治疗剂的响应。在监测SCLC复发或发展时,生物标志物表达水平的变化可能表明需要重复成像(例如,重复CT扫描),如此以确定SCLC活性或确定治疗变化的需要。

[0098] 本文描述的任何生物标志物的检测可在SCLC治疗之后或与SCLC治疗联合使用,如此以评价治疗的成功或监测治疗后的SCLC缓解、复发和/或发展(包括转移)。SCLC治疗可包括例如向个体施用治疗剂,进行手术(例如手术切除SCLC肿瘤的至少一部分或除去SCLC和周围组织),施用放射疗法,或本领域中使用的任何其他类型的SCLC治疗,以及这些治疗的任何组合。肺癌治疗可包括例如向个体施用治疗剂,进行手术(例如手术切除肺肿瘤的至少一部分),施用放射疗法,或本领域使用的任何其他类型的SCLC治疗,以及这些治疗的任何组合。例如,siRNA分子是抑制基因表达的合成双链RNA分子,并可用作靶向肺癌疗法。例如,所述生物标志物中的任一个可在治疗后至少检测一次或者可在治疗后检测多次(例如以周期性间隔),或者可在治疗之前和之后检测。个体随时间推移的所述生物标志物中的任一个的差异表达水平可指示SCLC发展、缓解或复发,其实例包括以下任何一项:与治疗前生物标志物的表达水平相比,治疗后该生物标志物表达水平增加或降低;与治疗较早时间点的生物标志物表达水平相比,治疗后较晚时间点的生物标志物表达水平增加或降低;和与生物标志物的正常水平相比,在治疗后的单个时间点的生物标志物的差异表达水平。

[0099] 作为具体实例,本文描述的任何生物标志物的生物标志物水平可在手术前和手术后(例如手术后2-16周)血清或血浆样品中确定。与手术前样品相比,手术后样品中生物标志物表达水平的增加可指示SCLC的发展(例如,不成功的手术),而与手术前样本相比,手术后样品中生物标志物表达水平的降低可指示SCLC的消退(例如,手术成功地除去了肺肿瘤)。生物标志物水平的类似分析可在其他形式的治疗之前和之后进行,诸如在放射疗法或施用治疗剂或癌症疫苗之前和之后。

[0100] 除了测试生物标志物水平作为独立诊断测试之外,生物标志物水平还可与确定SNP或指示疾病易感性风险增加的其他遗传损伤或变异性结合进行。(参见例如Amos et al., Nature Genetics 40,616-622(2009))。

[0101] 除了测试生物标记物水平作为独立的诊断测试之外,生物标记物水平还可与放射性筛选诸如CT筛选结合进行。例如,生物标志物可增加实施CT筛选的医学和经济理由,诸如用于筛选处于SCLC风险的大型无症状群体(例如吸烟者)。例如,可使用生物标志物水平的“CT前”测试将高风险个体分层用于进行CT筛选,诸如根据其生物标志物水平鉴定SCLC风险最高并且应该优先进行CT筛选的那些。如果实施CT测试,则可测量一种或多种生物标志物

的生物标志物水平(例如,如通过血清或血浆样品的适配体测定法所确定的)并且可结合另外的生物医学信息(例如由CT测试确定的肿瘤参数)评价诊断评分,以相对于单独的CT或生物标志物测试而增强阳性预测值(PPV)。可使用用于确定生物标志物水平的“CT后”适配体组来确定由CT(或其他成像方式)观察到的肺结节是恶性还是良性的可能性。

[0102] 本文描述的任何生物标志物的检测可用于CT后测试。例如,生物标志物测试可相对于单独的CT而消除或减少大量的假阳性测试。此外,生物标志物测试可促进患者的治疗。举例来说,如果肺结节的大小小于5mm,则生物标志物测试的结果可以使患者在较早时间从“观察和等待”提前到活检;如果肺结节为5-9mm,则生物标志物检测可以在假阳性扫描中消除活检或开胸术的使用;并且如果肺结节大于10mm,则生物标志物检测可以消除这些具有良性结节的患者的亚群的手术。根据生物标志物检测,消除一些患者对活检的需要可能是有益的,因为取决于结节的位置,存在与结节活检相关的显著发病率和获得结节组织的困难。类似地,消除一些患者(诸如那些结节实际上是良性的患者)对手术的需要将会避免与手术相关的不必要的风险和费用。

[0103] 除了在高风险个体中测试生物标志物水平结合放射学筛选(例如,评估生物标志物水平结合在成像扫描中观察到的肺结节或肿块的大小或其他特征)之外,关于生物标志物的信息也可与其他类型的数据结合进行评价,特别是指示个体患SCLC的风险的数据(例如,患者临床病史、职业暴露史、症状、癌症家族史、风险因素(诸如个体是否是吸烟者),和/或其他生物标志物的状态等)。这些各种数据可通过自动化方法评估,诸如可包含在计算机或其他装置/设备中的计算机程序/软件。

[0104] 任何所述的生物标志物也可用于成像测试。例如,可以将成像剂与任何所述的生物标志物偶联,所述生物标志物可用于辅助SCLC诊断,监测疾病发展/缓解或转移,监测疾病复发,或监测对治疗的响应等用途。

[0105] 生物标志物和生物标志物值的检测和确定

[0106] 本文描述的生物标志物的生物标志物值可使用任何各种已知的分析方法检测。在一个实施方案中,使用捕获试剂检测生物标志物值。本文使用的“捕获剂”或“捕获试剂”是指能够特异性结合生物标志物的分子。在多个实施方案中,捕获试剂可在溶液中暴露于生物标志物,或者可在捕获试剂固定在固体支持物上时暴露于生物标志物。在其他实施方案中,捕获试剂含有与固体支持物上的次要特征反应的特征。在这些实施方案中,捕获试剂可在溶液中暴露于生物标记物,然后捕获试剂上的特征可与固体支持物上的次要特征结合使用,以将生物标记物固定在固体支持物上。基于待进行的分析类型选择捕获试剂。捕获试剂包括但不限于适配体、抗体、抗原、adnectin、锚蛋白(ankyrin)、其他抗体模拟物及其他蛋白质骨架、自身抗体、嵌合体、小分子、F(ab')₂片段、单链抗体片段、Fv片段、单链Fv片段、核酸、凝集素、配体结合受体、亲和体(affibody)、纳米抗体、印迹聚合物、avimer、肽模拟物、激素受体、细胞因子受体和合成受体,以及它们的修饰和片段。

[0107] 在一些实施方案中,使用生物标志物/捕获试剂复合物检测生物标志物值。在其他实施方案中,生物标志物值源自生物标志物/捕获试剂复合物并且间接检测,例如作为生物标志物/捕获试剂相互作用之后的反应的结果,但依赖于生物标志物/捕获试剂复合物的形成。

[0108] 在一些实施方案中,直接从生物样品中的生物标志物检测生物标志物值。在一个

实施方案中,使用允许在生物样品中同时检测两种或更多种生物标志物的多路复用形式来检测生物标志物。在多路复用形式的一个实施方案中,捕获试剂直接或间接地、共价或非共价固定在固体支持物上的分散位置。在另一个实施方案中,多路复用形式使用分散的固体支持物,其中每个固体支持物具有与该固体支持物相关联的独特的捕获试剂,例如量子点。在另一个实施方案中,单个装置用于检测生物样品中待检测的多种生物标志物中的每一种。可配置单个装置以允许生物样品中的每个生物标志物被同时处理。例如,可使用微量滴定板,使得板中的每个孔用于唯一地分析生物样品中待检测的多种生物标志物中的一种。

[0109] 在一个或多个前述实施方案中,荧光标签可用于标记生物标志物/捕获复合物的组分以使得能够检测生物标志物值。在多个实施方案中,可使用已知技术将荧光标记缀合至对本文描述的任何生物标志物具有特异性的捕获试剂,然后可使用荧光标记来检测相应的生物标志物值。合适的荧光标记包括稀土螯合物、荧光素及其衍生物、若丹明及其衍生物、丹酰(dansyl)、别藻蓝蛋白、PBXL-3、Qdot 605、丽丝胺、藻红蛋白、德克萨斯红及其他这类化合物。

[0110] 在一个实施方案中,荧光标记是荧光染料分子。在一些实施方案中,荧光染料分子包括至少一个取代的吡啶鎓环系统,其中吡啶鎓环的3-碳上的取代基含有化学反应性基团或缀合物。在一些实施方案中,染料分子包括AlexaFluor分子,例如AlexaFluor 488、AlexaFluor 532、AlexaFluor 647、AlexaFluor 680或AlexaFluor 700。在其他实施方案中,染料分子包括第一类型和第二类型的染料分子,例如两种不同的AlexaFluor分子。在其他实施方案中,染料分子包括第一类型和第二类型的染料分子,并且这两种染料分子具有不同的发射光谱。

[0111] 可用多种与大范围测定形式兼容的仪器来测量荧光。例如,荧光分光光度计被设计用于分析微量滴定板、显微镜载玻片、印刷阵列(printed array)、比色皿等。参见Principles of Fluorescence Spectroscopy, by J.R.Lakowicz, Springer Science+Business Media, Inc., 2004。参见Bioluminescence&Chemiluminescence:Progress&Current Applications; Philip E.Stanley and Larry J.Kricka editors, World Scientific Publishing Company, January 2002。

[0112] 在一个或多个前述实施方案中,化学发光标签可任选用于标记生物标志物/捕获复合物的组分以使得能够检测生物标志物值。合适的化学发光材料包括草酰氯、若丹明6G、Ru(bipy) 32+、TMAE(四(二甲基氨基)乙烯),邻苯三酚(1,2,3-三羟基苯)、光泽精、过氧化草酸酯、草酸芳基酯、吡啶鎓酯、1,2-二氧烷(dioxetane)等。

[0113] 在其他实施方案中,检测方法包括产生对应于生物标志物值的可检测信号的酶/底物组合。通常,酶催化发色底物的化学变化,该化学变化其可使用包括分光光度法、荧光和化学发光在内的多种技术进行测量。合适的酶包括例如荧光素酶、荧光素、苹果酸脱氢酶、脲酶、辣根过氧化物酶(HRPO)、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、尿酸氧化酶、黄嘌呤氧化酶、乳过氧化物酶、微过氧化物酶等。

[0114] 在其他实施方案中,检测方法可为产生可测量信号的荧光、化学发光、放射性核素或酶/底物组合的组合。多元信号可在生物标志物测定形式中具有独特且有利的特征。

[0115] 更具体地,如本文详述的,可使用已知的分析方法检测本文描述的生物标志物的

生物标志物值,所述分析方法包括单重适配体测定法、多重适配体测定法、单重或多重免疫测定法、mRNA表达谱分析、miRNA表达谱分析、质谱分析、组织学/细胞学方法等。

[0116] 使用体内分子成像技术检测生物标志物

[0117] 任何所述的生物标志物也可用于分子成像测试。例如,成像剂可与任何所述的生物标志物偶联,所述生物标志物可用于辅助SCLC诊断,监测疾病发展/缓解或转移,监测疾病复发,或监测对治疗的响应等用途。

[0118] 体内成像技术提供了用于确定个体体内特定疾病状态的非侵入性方法。例如,身体的整个部位或者甚至整个身体可以作为三维图像被观察,由此提供关于身体中的形态和结构的有价值的信息。这些技术可与本文描述的生物标志物的检测相结合以提供关于个体的癌症状态特别是SCLC状态的信息。

[0119] 由于技术的多种进展,体内分子成像技术的用途正在不断扩大。这些进展包括开发新的造影剂或标记,诸如放射性标记和/或荧光标记,其可在体内提供强烈的信号;以及开发强大的新型成像技术,其可从身体外部检测和分析这些信号,并具有足够的灵敏度和准确性以提供有用的信息。造影剂可在适当的成像系统中可视化,从而提供造影剂位于其中的身体的一部分或多个部分的图像。造影剂可与捕获试剂(诸如适配体或抗体),和/或与肽或蛋白质或寡核苷酸(例如,用于检测基因表达)或含有任何这些与一种或多种大分子和/或其他颗粒形式的复合物结合或相关联。

[0120] 造影剂特征还可在于可用于成像的放射性原子。合适的放射性原子包括镓-99m或碘-123,用于闪烁扫描研究。其他易于检测的部分包括例如用于磁共振成像(MRI)的自旋标记,例如碘-123、碘-131、镉-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。这样的标记是在本领域公知的,并且可由本领域普通技术人员容易地选择。

[0121] 标准成像技术包括但不限于磁共振成像、计算机断层扫描、正电子发射断层摄影术(PET)、单光子发射计算机断层摄影术(SPECT)等。对于体内成像诊断,可用的检测仪器的类型是选择给定造影剂(诸如给定放射性核素)和其用于靶向的特定生物标志物(蛋白质、mRNA等)的主要因素。选择的放射性核素通常具有可由给定类型的仪器检测到的衰变类型。另外,当选择放射性核素用于体内诊断时,其半衰期应足够长以在被靶标组织最大摄取时能够检测,但足够短以至于使主体的有害辐射最小化。

[0122] 示例性成像技术包括但不限于PET和SPECT,其为其中放射性核素合成(synthetically)或局部施用至个体的成像技术。随着时间的推移测量放射性示踪剂的随后摄取并且用于获得关于靶标组织和生物标志物的信息。由于所使用的特定同位素的高能量(γ 射线)发射以及用于检测它们的仪器的灵敏度和先进,可从身体外部推断放射性的二维分布。

[0123] PET中常用的发射正电子的核素包括例如碳-11、氮-13、氧-15和氟-18。通过电子捕获和/或 γ 发射衰变的同位素被用于SPECT中,并且包括例如碘-123和镓-99m。用镓-99m标记氨基酸的示例性方法是在螯合前体的存在下还原高镓酸根离子以形成不稳定的镓-99m-前体复合物,其又与双官能团修饰的趋化肽的金属结合基团反应以形成镓-99m-趋化肽缀合物。

[0124] 抗体经常用于这种体内成像诊断方法。用于体内诊断的抗体的制备和使用是本领域公知的。可将特异性结合本文描述的任何生物标志物的标记抗体注射至怀疑患有根据所

使用的特定生物标志物可检测的某种类型的癌症(例如SCLC)的个体中,以诊断或评价该个体的疾病状态。如前所述,使用的标记将根据待使用的成像方式进行选择。标记的定位允许确定癌症的扩散。器官或组织内标记的量也允许确定该器官或组织中是否存在癌症。

[0125] 类似地,适配体可用于这种体内成像诊断方法。例如,用于识别本文描述的特定生物标志物(并且因此特异性结合该特定生物标志物)的适配体可被适当地标记并注射至怀疑患有根据特定生物标志物可检测的SCLC的个体,以诊断或评价个体的SCLC状态。如前所述,使用的标记将根据待使用的成像方式进行选择。标记的定位允许确定癌症的扩散。器官或组织内标记的量也允许确定该器官或组织中是否存在癌症。与其他成像剂相比,适配体定向成像剂可具有与组织渗透、组织分布、动力学、消除、效能和选择性有关的独特且有利的特征。

[0126] 这样的技术也可任选用标记的寡核苷酸进行,例如用于通过使用反义寡核苷酸的成像来检测基因表达。这些方法用于原位杂交,例如使用荧光分子或放射性核素作为标记。检测基因表达的其他方法包括例如检测报道基因的活性。

[0127] 另一种一般类型的成像技术是光学成像,其中受试者内的荧光信号由受试者外部的光学装置检测。这些信号可以是由于实际的荧光和/或生物发光。光学检测设备的灵敏度的改善已经增加了光学成像用于体内诊断测定的有用性。

[0128] 体内分子生物标志物成像的用途正在增加,包括用于临床试验,例如,以更快速地测量新癌症疗法试验中的临床疗效和/或以避免用安慰剂延长这些疾病诸如多发性硬化症的治疗,其中这种延长的治疗可能被认为是伦理上有问题的。

[0129] 使用组织学/细胞学方法确定生物标志物值

[0130] 为了评价SCLC,多种组织样本可在组织学或细胞学方法中使用。样品选择取决于原发肿瘤的位置和转移部位。例如,支气管内和经支气管活检、细针抽吸、切割针和核心活检可用于组织学。支气管冲洗和刷涂、胸腔抽吸、胸腔积液和痰可用于细胞学。虽然细胞学分析仍然用于SCLC的诊断,但已知组织学方法为检测癌症提供了更好的灵敏度。本文中鉴定的任何显示在患有SCLC的个体中被上调或下调的生物标志物可用于染色组织学样品以作为疾病的指征。

[0131] 在一个实施方案中,对相应的生物标志物具有特异性的一种或多种捕获试剂用于对肺组织细胞样品进行细胞学评价,并且可包括以下一个或多个步骤:收集细胞样品,固定细胞样品,将细胞样品在显微镜载玻片上脱水、透明、固定,使细胞样品透化,处理用于分析物回收,染色,脱色,洗涤,封闭,和在缓冲溶液中与一种或多种捕获试剂反应。在另一个实施方案中,细胞样品由细胞块(cell block)产生。

[0132] 在另一个实施方案中,对相应的生物标志物具有特异性的一种或多种捕获试剂用于对肺组织样品进行组织学评价,并可包括以下一个或多个步骤:收集组织样品,固定组织样品,将组织样品在显微镜载玻片上脱水、透明、固定,使组织样品透化,处理用于分析物取回,染色,脱色,洗涤,封闭,再水化(rehydrate),和在缓冲溶液中与一种或多种捕获试剂反应。在另一个实施方案中,固定和脱水用冷冻代替。

[0133] 在另一个实施方案中,对相应的生物标志物具有特异性的一种或多种适配体与组织学或细胞学样品反应并可用作核酸扩增方法中的核酸靶标。合适的核酸扩增方法包括例如PCR、q-β复制酶、滚环扩增、链置换、解旋酶依赖性扩增、环介导的等温扩增、连接酶链式

反应,以及限制和环化辅助的滚环扩增(restriction and circularization aided rolling circle amplification)。

[0134] 在一个实施方案中,将用于组织学或细胞学评价的对相应的生物标志物具有特异性的一种或多种捕获试剂在缓冲溶液中混合,所述缓冲溶液可包括以下任一种:封闭材料、竞争剂、除垢剂、稳定剂、载体核酸、聚阴离子材料等。

[0135] “细胞学实验方案”通常包括样品收集、样品固定(fixation)、样品固定(immobilization)和染色。“细胞制备”可包括样品收集后的若干处理步骤,包括使用一种或多种缓释适配体来染色所制备的细胞。

[0136] 样品收集可包括将样品直接放置在未经处理的运输容器中,将样品放置在含有某种类型的介质的运输容器中,或者将样品直接放置在载玻片上(固定(immobilization))而不进行任何处理或固定(fixation)。

[0137] 通过将一部分收集的样品应用于用聚赖氨酸、明胶或硅烷处理的载玻片可改进样品固定。可通过在载玻片上涂抹薄而均匀的一层细胞来制备载玻片。通常需要小心以最小化机械变形和干燥人为现象(artifact)。液体样品可以用细胞块方法处理。或者,液体样品可在室温下与固定剂(fixative)溶液1:1混合持续约10分钟。

[0138] 细胞块可从残余渗出液、痰、尿沉积物、胃肠液、肺液、细胞刮擦物(cell scraping)或细针吸出物制备。细胞通过离心或膜过滤浓缩或包装。已经开发了许多用于细胞块制备的方法。代表性程序包括固定沉积物(fixed sediment)、细菌琼脂或膜过滤方法。在固定沉积法中,将细胞沉积物与固定剂(如Bouins、苦味酸或福尔马林缓冲液)混合,然后将混合物离心以使固定的细胞成为片状沉淀。除去上清液,尽可能完全干燥细胞片状沉淀。收集片状沉淀并包裹在镜头纸中,然后放入组织盒中。将组织盒置于具有额外的固定剂的罐中并作为组织样品处理。琼脂法非常相似,但将片状沉淀取出并在纸巾上干燥,然后切成两半。切下的一面放在玻璃载玻片上的一滴熔化的琼脂上,然后用琼脂覆盖片状沉淀,确保琼脂中没有形成气泡。让琼脂硬化,然后将任何多余的琼脂削减掉。将其置于组织盒中并完成组织处理。或者,可将片状沉淀直接悬浮在65℃的2%液体琼脂中,并将样品离心。使琼脂细胞片状沉淀在4℃固化1小时。可从离心管中取出固体琼脂并切成两半。将琼脂包裹在滤纸中,然后包裹在组织盒中。从这一点开始的处理如上所述。在任何这些程序中都可用膜过滤来代替离心。任何这些过程都可用于生成“细胞块样品”。

[0139] 可使用包括Lowicryl树脂、LR White、LR Gold、Unicryl和MonoStep在内的专用树脂来制备细胞块。这些树脂具有低粘度,并且可在低温下并以紫外(UV)光聚合。包埋过程依赖于在脱水过程中逐渐冷却样品,将样品转移至树脂,并在最终的低温下以适当的UV波长将块聚合。

[0140] 细胞块切片可用苏木精-伊红染色进行细胞形态学检查,而另外的切片用于检查特定标志物。

[0141] 无论该方法是细胞学还是组织学的,可在额外处理之前固定(fix)样品以防止样品降解。该过程被称为“固定(fixation)”,并描述了可互换使用的范围广泛的材料和程序。最好以经验为主地基于待检测的靶标和待分析的特定细胞/组织类型来选择样品固定(fixation)方案和试剂。样品固定依赖于试剂,诸如乙醇、聚乙二醇、甲醇、福尔马林或异丙醇。应该在收集和固定至载玻片后尽快固定样本。然而,所选择的固定剂可将结构变化引入

各种分子靶标,使得其后续检测更加困难。固定 (fixation) 和固定 (immobilization) 过程及这两个过程的顺序可改变细胞的外观,并且这些变化必须由细胞技术专家预测和认可。固定剂可导致某些细胞类型皱缩并导致细胞质出现颗粒状或网状。许多固定剂通过交联细胞组分而起作用。这可破坏或改变特定的表位,产生新的表位,引起分子缔合,并降低膜通透性。福尔马林固定是最常见的细胞学/组织学方法之一。福尔马林在相邻蛋白质之间或蛋白质内部形成甲基桥。沉淀或凝固也可用于固定 (fixation), 并且乙醇常用于此类型的固定 (fixation)。交联和沉淀的组合也可用于固定 (fixation)。较强的固定方法最适合保存形态信息,而较弱的固定方法最适合保存分子靶标。

[0142] 代表性固定剂是50%纯乙醇、2mM聚乙二醇 (PEG)、1.85%甲醛。该制剂的变化包括仅乙醇 (50%至95%), 甲醇 (20%至50%) 和福尔马林 (甲醛)。另一种常见的固定剂是2% PEG 1500、50%乙醇和3%甲醇。在室温将载玻片置于固定剂中持续约10至15分钟,然后取出并使其干燥。一旦载玻片被固定 (fix), 可用缓冲溶液如PBS冲洗它们。

[0143] 范围广泛的染料可用于区别地突出和对比或“染色”细胞、亚细胞和组织特征或形态结构。苏木精用于将核染成蓝色或黑色。橙黄G-6和Eosin Azure两者均染色细胞的胞质。橙黄G将含角蛋白和糖原的细胞染成黄色。曙红Y用于染色核仁、纤毛、红细胞和浅表上皮鳞状细胞。Romanowsky染色剂用于空气干燥的载玻片,并且可用于增强多形性 (pleomorphism) 并区分细胞外和胞质内物质。

[0144] 染色过程可包括增加细胞对染色剂的通透性的处理。用除垢剂处理细胞可用于增加通透性。为了增加细胞和组织的通透性,可进一步用溶剂、皂苷或非离子除垢剂处理固定的 (fixed) 样品。酶消化也可改善组织样品中特定靶标的可接近性。

[0145] 染色后,使用增加酒精浓度的一连串乙醇冲洗使样品脱水。最后的洗涤用二甲苯或二甲苯替代物诸如柑桔萜烯 (citrus terpene) 完成,其折射指数接近于待应用于载玻片上的盖玻片的折射率。这最后一步被称为透明 (clearing)。一旦样品脱水并透明,就应用封固剂。封固剂被选择为具有接近玻璃的折射率并且能够将盖玻片粘接到载玻片上。它也会抑制细胞样品的额外干燥、皱缩或褪色。

[0146] 无论使用何种染色或加工方法,都可以通过某种类型的显微镜检查对肺细胞学样品进行最终评价,以允许对形态进行目视检查并确定标志物的存在或不存在。示例性的显微镜法包括明场、相差、荧光和微分干涉相差。

[0147] 如果检查后需要对样品进行二次测试,可取下盖玻片并使载玻片脱色。脱色涉及与最初染色程序相反的顺序使用最初用于染色载玻片最初溶剂体系而不添加染料。脱色也可通过将载玻片浸泡在酸性醇中直至细胞无色来完成。一旦无色,将载玻片在水浴中很好地冲洗并且应用第二染色程序。

[0148] 此外,通过使用特定的分子试剂诸如抗体或核酸探针或适配体,特异性的分子区分可能与细胞形态分析结合。这改善了诊断细胞学的准确性。显微解剖可用于分离细胞亚组以进行额外的评价,特别是用于异常染色体、基因表达或突变的遗传评价。

[0149] 用于组织学评价的组织样品的制备包括固定 (fixation)、脱水、浸润、包埋和切片。组织学中使用的固定试剂与细胞学中使用的固定试剂非常相似或相同,并具有相同的在损失分子学特征诸如个体蛋白质的情况下保留形态学特征的问题。如果组织样品不固定并脱水,而是冷冻,然后在冷冻时进行切片,则可节省时间。这是一个更温和的处理程序,并

且可保留更多的个体标志物。然而,由于冰晶的引入导致亚细胞信息丢失,因此对于组织样品的长期储存来说冷冻是不可接受的。冰冻组织样品中的冰还使切片过程不能产生非常薄的切片,因此亚细胞结构的一些显微分辨率和成像可能会丢失。除福尔马林固定(fixation)外,四氧化锇也用于固定和染色磷脂(膜)。

[0150] 使用增加醇浓度的连续洗涤完成组织的脱水。透明采用与醇和包埋材料混溶的材料,并且涉及以50:50醇透明剂开始,然后使用100%透明剂(二甲苯或二甲苯替代物)的逐步过程。浸润涉及将组织与液体形式的包埋剂(温热蜡、硝化纤维溶液)首先以50:50包埋剂/透明剂然后100%包埋剂一起孵育。通过将组织置于模具或盒子中并填充熔化的包埋剂(诸如蜡、琼脂或明胶)完成包埋。使包埋剂硬化。然后可将硬化的组织样品切成薄片以进行染色和随后的检查。

[0151] 在染色之前,将组织切片脱蜡并再水化。使用二甲苯使切片脱蜡,可使用二甲苯的一种或多种变化,并且通过在浓度降低的醇中连续洗涤来使组织再水化。在脱蜡之前,可将组织切片在约80°C下热固定(immobilize)到载玻片上持续约20分钟。

[0152] 激光捕获显微解剖允许从组织切片中分离一个亚组(subset)细胞用于进一步分析。

[0153] 与细胞学中的一样,为了增强显微特征的可视化,组织切片(section)或切片(slice)可用多种染色剂染色。可使用大量市售染色剂来增强或鉴定特定的特征。

[0154] 为了进一步增加分子试剂与细胞学/组织学样品之间的相互作用,已经开发了許多用于“分析物修复(analyte retrieval)”的技术。第一种此类技术使用固定(fixed)样品的高温加热。该方法也被称为热诱导的表位修复或HIER。已经使用多种加热技术,包括蒸汽加热、微波、高压灭菌、水浴和加压蒸煮,或这些加热方法的组合。分析物修复溶液包括例如水、柠檬酸盐和生理盐水缓冲液。分析物修复的关键是高温时间,而持续较长时间的较低温度也已成功使用。分析物修复的另一个关键是加热溶液的pH值。已发现低pH值可提供最佳的免疫染色,但也会产生背景,其通常需要使用第二组织切片作为阴性对照。无论缓冲液的组成如何,最一致的益处(增加免疫染色而不增加背景)通常是用高pH溶液获得的。针对特定靶标的分析物修复过程是使用热、时间、pH和缓冲液组成作为过程优化的变量针对靶标进行经验优化的。使用微波分析物修复方法允许用抗体试剂对不同靶标进行连续染色。已经表明,在染色步骤之间实现抗体与酶复合物所需的时间会降解细胞膜分析物。微波加热方法也改善了原位杂交方法。

[0155] 为了启动分析物修复过程,首先将切片脱蜡和水化。然后将载玻片置于皿或罐中的pH 6.0的10mM柠檬酸钠缓冲液中。一个代表性程序使用1100W微波并以100%功率将载玻片微波处理持续2分钟,然后在检查以确保载玻片保持在液体中被覆盖之后,使用20%功率将载玻片微波处理持续18分钟。然后使载玻片在未覆盖的容器中冷却,然后用蒸馏水冲洗。HIER可与酶消化组合使用以改善靶标与免疫化学试剂的反应性。

[0156] 一种这样的酶消化方案使用蛋白酶K。在50mM Tris碱、1mM EDTA、0.5% Triton X-100, pH 8.0的缓冲液中制备20g/mL浓度的蛋白酶K。该过程首先涉及在二甲苯的两个变化中使该部分脱蜡,每次5分钟。然后在两个变化的100%乙醇中各持续3分钟,95%和80%乙醇中各持续1分钟而将样品水化,然后在蒸馏水中冲洗。用蛋白酶K工作溶液覆盖切片,并在37°C在加湿室中孵育10-20分钟(最佳孵育时间可根据组织类型和固定程度而变化)。将切

片在室温下冷却10分钟,然后在PBS吐温20中冲洗2x2分钟。如果需要,可封闭切片以消除来自内源性化合物和酶的潜在干扰。然后将该切片在一级抗体稀释缓冲液中与适当稀释度的第一抗体在室温下孵育1小时或在4℃下过夜。然后用PBS吐温20冲洗切片2x2分钟。如果特定应用需要,可进行额外的封闭,然后再用PBS吐温20额外冲洗3x2分钟,最后完成免疫染色方案。

[0157] 在室温下用1% SDS进行的简单处理也已被证明可改善免疫组织化学染色。分析物修复方法已应用于载玻片封固的切片以及自由浮动的切片。另一个处理选择是将载玻片置于pH 6.0的含有柠檬酸和0.1 Nonident P40的罐中并加热至95℃。然后用缓冲溶液如PBS洗涤载玻片。

[0158] 对于组织的免疫学染色,其可用于通过将切片浸泡在蛋白质溶液(如血清或脱脂奶粉)中以阻断抗体与组织蛋白的非特异性结合。

[0159] 封闭反应可包括需要降低内源性生物素的水平;消除内源性电荷效应;使内源性核酸酶失活;和/或使内源性酶如过氧化物酶和碱性磷酸酶失活。内源性核酸酶可通过以下方式失活:用蛋白酶K降解,通过热处理,使用螯合剂诸如EDTA或EGTA,引入载体DNA或RNA,用离液剂诸如尿素、硫脲、盐酸胍、硫氰酸胍、高氯酸锂等,或焦碳酸二乙酯。碱性磷酸酶可通过在室温下用0.1N HCl处理5分钟或用1mM左旋咪唑处理来失活。过氧化物酶活性可通过用0.03%过氧化氢处理来消除。可通过在室温下将载玻片或切片浸入亲和素(链霉亲和素、中性亲和素可被替换)溶液中至少15分钟而封闭内源性生物素。然后将载玻片或切片在缓冲液中洗涤至少10分钟。这可以重复至少三次。然后将载玻片或切片浸入生物素溶液中10分钟。这可以重复至少三次,每次用新鲜的生物素溶液。重复缓冲液洗涤程序。封闭方案应被最小化,以防止破坏细胞或组织结构或感兴趣的一个或多个靶标,但可以将一种或多种这些方案结合以在与一种或多种缓释适配体反应之前“封闭”载玻片或切片。参见Basic Medical Histology: the Biology of Cells, Tissues and Organs, 作者为Richard G. Kessel, Oxford University Press, 1998。

[0160] 使用质谱法确定生物标志物值

[0161] 可使用多种质谱仪配置来检测生物标志物值。有几种类型的质谱仪是可得的,或者可以使用多种配置生产。通常,质谱仪具有以下主要组件:样品入口、离子源、质量分析仪、检测器、真空系统和仪器控制系统以及数据系统。样品入口、离子源和质量分析器的差异通常决定了仪器的类型及其性能。例如,入口可为毛细管柱液相色谱源,或者可为直接探针或诸如用于基质辅助激光解吸的阶段。常见的离子源是例如电喷雾,包括纳喷雾和微喷雾或基质辅助激光解吸。常见的质量分析器包括四极滤质器、离子阱质量分析器和飞行时间质量分析器。另外的质谱方法是本领域公知的(参见Burlingame et al. Anal. Chem. 70: 647R-716R (1998); Kinter and Sherman, New York (2000))。

[0162] 蛋白质生物标志物和生物标志物值可通过以下任何方法检测和测量:电喷雾电离质谱(ESI-MS)、ESI-MS/MS、ESI-MS/(MS)_n、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)、表面增强激光解吸/电离飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)、硅上解吸/电离(DIOS)、二次离子质谱(SIMS)、四极飞行时间(Q-TOF)、串联飞行时间(TOF/TOF)技术(称为Ultraflex III TOF/TOF)、大气压化学电离质谱(APCI-MS)、APCI-MS/MS、APCI-(MS)_N、大气压光电离质谱(APPI-MS)、APPI-MS/MS和APPI-(MS)_N、四极质谱、傅里叶变换质谱(FTMS)、定

量质谱和离子阱质谱。

[0163] 样品制备策略用于在质谱表征蛋白质生物标志物和确定生物标志物值之前标记和富集样品。标记方法包括但不限于用于相对和绝对定量的等量异位标签 (iTRAQ) 和细胞培养应用氨基酸的稳定同位素标记 (SILAC)。在质谱分析之前用于选择性富集样品中候选生物标志物蛋白质的捕获试剂包括但不限于适配体、抗体、核酸探针、嵌合体、小分子、F(ab')₂ 片段、单链抗体片段、Fv 片段、单链 Fv 片段、核酸、凝集素、配体结合受体、亲和体、纳米抗体、锚蛋白、结构域抗体、替代性抗体骨架 (例如双抗体)、印迹聚合物、avimer、肽模拟物、拟肽、肽核酸、苏糖核酸、激素受体、细胞因子受体和合成受体, 以及这些的修饰和片段。

[0164] 使用邻位连接测定 (Proximity Ligation Assay) 确定生物标志物值

[0165] 邻位连接测定可用于确定生物标志物值。简言之, 使测试样品与一对亲和探针接触, 所述亲和探针可为一对抗体或一对适配体, 其中该对的每个成员用寡核苷酸延伸。这对亲和探针的靶标可为对一种蛋白质上的两个不同的决定簇, 或者是两种不同蛋白质中的每种蛋白质上的一个决定簇, 其可以作为同源多体复合物或异源多体复合物的形式存在。当探针与靶标决定簇结合时, 寡核苷酸延伸的游离末端进入足够接近的位置以杂交在一起。寡核苷酸延伸的杂交由常用的连接寡核苷酸促进, 所述连接寡核苷酸用于在寡核苷酸延伸定位足够接近时将它们桥接在一起。一旦探针的寡核苷酸延伸被杂交, 延伸的末端通过酶促 DNA 连接而连接在一起。

[0166] 每个寡核苷酸延伸包含用于 PCR 扩增的引物位点。一旦寡核苷酸延伸连接在一起, 寡核苷酸形成连续的 DNA 序列, 其通过 PCR 扩增揭示出关于靶标蛋白的同一性和数量的信息, 并且当靶标决定簇在两个不同蛋白质上时, 揭示出关于蛋白质-蛋白质相互作用的信息。邻位连接可通过使用实时 PCR 为实时蛋白质浓度和相互作用信息提供高灵敏度和特异性的测定。未结合感兴趣的决定簇的探针不具有进入邻位的相应寡核苷酸延伸, 并且不可进行连接或 PCR 扩增, 导致不产生信号。

[0167] 前述测定使得能够检测在本文描述的方法中有用的生物标志物值, 其中所述方法包括在来自个体的生物样品中检测至少 N 个生物标志物值, 每个对应于选自本文提供的生物标志物组成的组的生物标志物, 其中如下面详细描述的使用生物标记值的分类, 指示个体是否患有 SCLC 或个体是否可能从 PARP 抑制剂化疗中受益。尽管某些描述的 SCLC 生物标志物可单独用于指定受试者接受 PARP 抑制剂化疗, 但它们也可以单独或作为多个亚组的 SCLC 生物标志物的组合用于检测和诊断 SCLC, 所述每个亚组作为两个或更多个生物标志物的组使用。因此, 本申请的多个实施方案提供了包含本文描述的一种或多种生物标志物的组合。在其他实施方案中, N 被选择为 1-10 个生物标志物中的任何数字。应该理解, N 可被选择为来自任何上述范围以及相似但更高阶范围的任何数字。根据本文描述的任何方法, 生物标志物值可被单独检测和分类, 或者它们可被共同检测和分类, 例如以多重测定形式。

[0168] 在另一个方面, 提供了用于检测对 PARP 抑制剂具有敏感性的可能性增加或 SCLC 的存在或不存在的方法, 所述方法包括在来自个体的生物样品中检测至少 N 个生物标志物值, 每个对应于选自本文提供的生物标志物组成的组的生物标志物, 其中如下详细描述的生物标志物值的分类表明个体中不存在 SCLC。

[0169] 除非另有说明, 否则本实施方案的方法和技术通常根据本领域公知和如本说明书通篇引用和讨论的多个一般和更具体的参考文献中所述的常规方法进行。

[0170] 应该理解,为了清楚起见,在单独实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征也可在单个实施方案中以组合的方式提供。相反地,为了简洁起见,在单个实施方案的上下文中描述的本发明的多个特征也可单独提供或以任何合适的亚组合的方式提供。涉及由变量代表的化学基团的实施方案的所有组合都被本发明具体包含,并且在本文中公开,正如每个组合都被单独和明确公开一样,达到这种程度以至这种组合涵盖作为稳定化合物的化合物(即,可被分离、表征和测试生物活性的化合物)。此外,描述这些变量的实施方案中列出的化学基团的所有亚组合也被本发明具体包含,并且在本文中公开,正如化学基团的每个这样的亚组合在本文中被单独和明确公开一样。

[0171] 在一些实施方案中,测试样品可从肺组织、支气管活检物、痰和/或血清中获得。

[0172] 本领域技术人员将认识到,本文列出或举例示出的种类不是穷尽的,并且还可选择在这些定义的术语范围内的其它种类。

[0173] 本文描述的任何式旨在表示该结构式的化合物以及某些变化或形式。例如,本文给出的式旨在包括外消旋形式,或一种或多种对映异构体、非对映异构体或几何异构体,或其混合物。此外,本文给出的任何式旨在还表示此类化合物的水合物、溶剂化物或多晶型物,或其混合物。

[0174] 本文给出的任何式还旨在表示化合物的未标记形式以及化合物的同位素标记形式。同位素标记的化合物具有由本文给出的式所描述的结构,除了一个或多个原子被具有选定的原子量或质量数的原子替换。可引入实施方案的化合物中的同位素的实例分别包括氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯和碘的同位素,诸如²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F、³⁶Cl和¹²⁵I。

[0175] “药学上可接受的盐”旨在表示无毒的、生物学上可耐受的或以其他方式生物学上适合施用于受试者的本文所示的化合物的游离酸或碱的盐。一般参见S.M.Berge, et al., “Pharmaceutical Salts,” J.Pharm.Sci., 1977, 66, 1-19。优选的药学上可接受的盐是那些药理学上有效且适于与受试者的组织接触而没有过度的毒性、刺激或变态反应的盐。本文描述的化合物可具有足够酸性的基团、足够碱性的基团、两种类型的官能团或多于一种的每种类型,并因此与许多无机碱或有机碱以及无机酸和有机酸反应,以形成药学上可接受的盐。

[0176] 药物组合物和治疗方法

[0177] 为了治疗目的,包含本文描述的化合物的药物组合物可进一步包含一种或多种药学上可接受的赋形剂。药学上可接受的赋形剂是无毒且以其他方式在生物学上适合施用于受试者的物质。这样的赋形剂有助于施用本文描述的化合物并且与活性成分相容。药学上可接受的赋形剂的实例包括稳定剂、润滑剂、表面活性剂、稀释剂、抗氧化剂、粘合剂、着色剂、填充剂、乳化剂或调味剂。在优选的实施方案中,根据本发明的药物组合物为无菌组合物。药物组合物可使用本领域技术人员已知的或可用的配合技术制备。

[0178] 本发明还包括无菌组合物,包括符合管理这类组合物的国家和地方法规的组合物。

[0179] 可根据本领域已知的用于制备各种剂型的常规方法,将本文描述的药物组合物和化合物在合适的药用溶剂或载体中配制成溶液剂、乳剂、混悬剂或分散剂,或者与固体载体一起配制成丸剂、片剂、锭剂、栓剂、小药囊、糖锭剂、颗粒、粉末、复原用粉末或胶囊。本发明

的药物组合物可通过合适的递送途径施用,诸如口服、胃肠外、直肠、鼻腔、局部或眼部途径,或通过吸入。优选地,组合物被配制用于静脉内或口服施用。

[0180] 对于口服施用,PARP抑制剂或Talazoparib可以固体形式,诸如片剂或胶囊,或者以溶液剂、乳剂或混悬剂提供。为了制备口服组合物,活性剂可以被配制成以产生例如每天约0.01至约50mg/kg或每天约0.05至约20mg/kg或每天约0.1至约10mg/kg的剂量。在一些实施方案中,口服剂型提供约25至约1100 μ g/天,或约0.5至约2mg/天,或约1mg/天或约0.10至0.75mg/kg/天,或约0.25-0.30mg/kg/天的剂量。口服片剂可包括与相容性药学上可接受的赋形剂混合的活性成分,所述赋形剂诸如稀释剂、崩解剂、粘合剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂。合适的惰性填充剂包括碳酸钠和碳酸钙、磷酸钠和磷酸钙、乳糖、淀粉、糖、葡萄糖、甲基纤维素、硬脂酸镁、甘露醇、山梨醇等。示例性液体口服赋形剂包括乙醇、甘油、水等。淀粉、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、淀粉乙醇酸钠、微晶纤维素和海藻酸是示例性崩解剂。结合剂可包括淀粉和明胶。润滑剂(如果存在的话)可为硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。如果需要,片剂可用诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯的材料包衣以延迟在胃肠道中的吸收,或者可用肠溶衣包衣。

[0181] 用于口服施用的胶囊包括硬明胶胶囊和软明胶胶囊。为了制备硬明胶胶囊,可将活性成分与固体、半固体或液体稀释剂混合。软明胶胶囊可通过将活性成分与以下物质混合来制备:水、油(诸如花生油或橄榄油)、液体石蜡、短链脂肪酸的单甘油酯和二甘油酯的混合物、聚乙二醇400或丙二醇。

[0182] 用于口服施用的液体可为混悬剂、溶液剂、乳剂或糖浆的形式,或者可被冻干或作为干燥产品呈现,用于在使用前用水或其他合适的媒介物复原(reconstitution)。这样的液体组合物可任选含有:药学上可接受的赋形剂,诸如混悬剂(例如山梨醇、甲基纤维素、海藻酸钠、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶等);非水性媒介物,例如油(例如杏仁油或分馏的椰子油)、丙二醇、乙醇或水;防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸);润湿剂诸如卵磷脂;和如果需要的话,调味剂或着色剂。

[0183] 本发明的组合物可被配制成栓剂用于直肠施用。对于胃肠外使用,包括静脉内、肌肉内、腹膜内、鼻内或皮下途径,可在无菌水溶液或混悬液中,缓冲至合适的pH和等渗性或在胃肠外可接受的油中提供本发明的剂。合适的水性媒介物包括林格溶液和等渗氯化钠。这类形式可以单位剂量形式(诸如安瓿或一次性注射装置),以多剂量形式(诸如可从中抽出合适剂量的小瓶),或以可用于制备可注射制剂的固体形式或预浓缩物呈现。示例性的输注剂量范围是约1至1000 μ g/kg/分钟的与药物载体混合的剂,持续几分钟至几天的时间范围。

[0184] 对于经鼻、吸入或口服施用,本发明的药物组合物可使用例如还含有合适载体的喷雾制剂施用。

[0185] 对于局部应用,本发明化合物优选配制成适用于局部施用的乳膏或软膏或类似的媒介物。对于局部施用,本发明化合物可与药物载体以约0.1%至约10%的药物/媒介物的浓度混合。施用本发明的剂的另一种方式可利用贴剂制剂来实现透皮递送。

[0186] 本文使用的术语“治疗”、“处理”和“处置”是指用于获得有益或期望的结果(包括临床结果)的方法。为了本发明的目的,有益的或期望的结果包括但不限于缓解症状和/或减轻症状的程度和/或预防与疾病或病症相关的症状的恶化和/或降低现有疾病、症状或病

症的严重度或抑制现有疾病、症状或病症的恶化。因此,治疗包括改善或预防现有疾病症状的恶化,预防其他症状的出现,改善或预防潜在的全身症状原因,抑制病症或疾病,例如阻止病症或疾病的发展,缓解病症或疾病,导致病症或疾病消退,缓解疾病或病症引起的病症,或停止疾病或病症的症状。在一个变体中,通过例如减小肿瘤大小、减缓肿瘤生长或减少转移指示SCLC的治疗。

[0187] 在根据本发明的治疗方法中,“有效量”意指足以在需要这种治疗的受试者中通常产生期望的治疗益处的量或剂量。可考虑常规因素诸如施用或药物递送的方式或途径、药剂的药代动力学、感染的严重程度和过程、受试者的健康状态、状况和体重以及主治医生的判断,通过常规方法诸如建模、剂量递增或临床试验来确定本发明化合物的有效量或剂量。示例性剂量的范围为每天每千克受试者体重约1 μ g至2mg活性剂,优选约0.05至100mg/kg/天,或约1至35mg/kg/天,或约0.1至10mg/kg/天。总剂量可以单剂量单位或分剂量单位给出(例如BID、TID、QID)。在一些实施方案中,剂量为每天约0.01至约50mg/kg,或每天约0.05至约20mg/kg,或每天约0.1至约10mg/kg。在一些实施方案中,剂型提供约25至约1100 μ g/天,或约0.5至约2mg/天,或约1mg/天,或约0.10至0.75mg/kg/天,或约0.25-0.30mg/kg/天的剂量。在一些实施方案中,总日剂量以单次剂量或单次口服剂量施用。

[0188] 一旦发生患者疾病改善,可调整剂量以进行预防或维持治疗。例如,施用的剂量或频率或两者可作为症状的函数降低至维持期望治疗或预防效果的水平。当然,如果症状已经缓解到适当水平,治疗可以停止。然而,当症状复发时,患者可能需要长期进行间歇治疗。患者也可能需要长期的慢性治疗。

[0189] 实施例

[0190] 提供本文描述的实施例仅用于说明本发明的代表性实施方案。因此,应该理解,本发明不限于在本文讨论的这些或任何其他实施例中描述的具体条件或细节,并且这些实施例不应被解释为以任何方式限制本发明的范围。提供以下实施例来说明而不是限制本发明。

[0191] 实施例1:用单一药剂Talazoparib进行细胞系细胞毒性测定

[0192] 从ATCC(美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection))、ECACC(欧洲细胞培养物保藏中心(European Collection of Cell Cultures))、JCRB(日本细胞库(Japanese Collection of Research Bioresources))和CLS细胞系服务获得如表1所示的各种SCLC细胞系(38)。

[0193] 表1:

[0194]

名称	供应商	目录号	名称	供应商	目录号	名称	供应商	目录号
COR-L88	ECACC	92031917	NCI-H211	ATCC	CRL-5824	NCI-H1618	ATCC	CRL-5879
SBC-5	JCRB	JCRB0819	NCI-H2141	ATCC	CRL-5927	NCI-H1694	ATCC	CRL-5888
DMS 114	ATCC	CRL-2066	NCI-H2171	ATCC	CRL-5929	NCI-H1930	ATCC	CRL-5906
DMS 79	ATCC	CRL-2049	NCI-H446	ATCC	HTB-171	NCI-H2081	ATCC	CRL-5920
NCI-H1836	ATCC	CRL-5898	NCI-H82	ATCC	HTB-175	SCLC-21H	CLS	300225
NCI-H1876	ATCC	CRL-5902	NCI-H889	ATCC	CRL-5817	NCI-H524	ATCC	CRL-5831
NCI-H1963	ATCC	CRL-5982	SHP-77	ATCC	CRL-2195	NCI-H526	ATCC	CRL-5811
NCI-H69	ATCC	HTB-119	NCI-H1105	ATCC	CRL-5856	NCI-H841	ATCC	CRL-5845
NCI-H1048	ATCC	CRL-5853	NCI-H2066	ATCC	CRL-5917	NCI-H2107	ATCC	CRL-5983
NCI-H1341	ATCC	CRL-5864	COR-L279	ECACC	96020724	NCI-H748	ATCC	CRL-5841
NCI-H146	ATCC	HTB-173	DMS-153	ATCC	CRL-2064			
NCI-H196	ATCC	CRL-5823	DMS-53	ATCC	CRL-2062			
NCI-H2029	ATCC	CRL-5913	NCI-H1092	ATCC	CRL-5855			
NCI-H209	ATCC	HTB-172	NCI-H1436	ATCC	CRL-5871			

[0195] 在建议的培养基中培养细胞并以预定的细胞密度接种在96孔板中。24小时后，一式两份地添加在0.2% DMSO中的2000nM、400nM、80nM、16nM、3.2nM或0.64nM的Talazoparib，或100,000nM、2000nM、400nM、80nM、16nM或3.2nM的顺铂，并孵育另外5或7天。通过CellTiter Glo测定 (Promega) 确定细胞存活。通过两种方法计算细胞生长抑制：(a) 对经处理的细胞计数相对于未处理的对照，获得IC₅₀ (常规存活分数方法)，或 (b) 经处理的基线倍增相对于未处理的基线倍增，使用GraphPad Prism5获得GI₅₀ (增代 (generational) 方法)。还获得每种方法的最大抑制水平。

[0196] 38个SCLC细胞系对Talazoparib (GI₅₀范围从2nM至>2000nM，其中中位GI₅₀=56nM) 和顺铂处理 (GI₅₀范围从10nM至>10,000nM) 显示出宽范围的敏感性。如图1所示，对Talazoparib和顺铂的敏感性具有很好地相关性 (Spearman相关性=0.756)。

[0197] 如图2所示，为了鉴定与对Talazoparib敏感的细胞系相关的基因表达特征，基于其中位GI₅₀和Talazoparib的90%实验最大GI抑制，使用以下标准将细胞系分类为敏感性组：敏感：最大GI抑制>190且GI₅₀<56nM (遍及筛选的SCLC细胞系的平均值)；耐药：最大GI抑制<190且GI₅₀>56nM，以及其余细胞系为中间的。

[0198] SCLC细胞系的基因表达数据从CCLE入口 (CCLE_Expression_Entrez_2012-09-29.gct; 参见Barretina Caponigro Stransky et al., Nature 483, 603-307, 2012) 获得。36个SCLC细胞系的平均SLFN11表达水平是5.78。将SLFN11表达大于6.0的16个细胞系标记为高SLFN11组 (6.4至9.5)，并将剩余的20个SCLC细胞系标记为低SLFN11组 (3.6至5.0)。

[0199] 标准统计分析，包括Spearman相关性和ANOVA检验，被应用到得到的数据中。通过R语言limma软件包鉴定敏感细胞系组和耐药细胞系组之间的差异表达基因 (参见Ritchie et al., Nucleic Acids Res. 2015, 43 (7): e47)。使用R中的limma软件包进行缓和t检验用于敏感细胞系组和耐药细胞系组之间的差异基因表达分析，并且使用R语言FDR方法调整标称p值 (nominal p-value) 用于多重假设检验。SLFN11是基于该分析的最显著的特征，其中调整后的p值<0.5且标称p值为 2.3×10^{-5} 。基于对Talazoparib的敏感性的差异基因表达分析将SLFN11鉴定为顶级 (top) 基因表达特征，如图3A-3E所示。

[0200] 图4示出与敏感性相关的顶级基因表达特征，并且标称p值<0.001的那些特征在框中突出显示，并通过热图绘制在左侧，其显示使用前9个基因的层次聚类 (hierarchical clustering)。这9个鉴定的基因包括SLFN11，以及涉及凋亡调控 (BCL2、GULP1)、癌基因 (MAF)、DNA/RNA调节 (DDX6)、未折叠蛋白响应 (SIL1)、细胞器生物合成 (AP3B1) 和磷转运

(SLC25A3)的基因,及具有未知功能的基因(C1orf50),这些都是与对Talazoparib的细胞系敏感性的相关性上标称显著的。

[0201] 使用SLFN11抗体对从12个SCLC细胞系提取的细胞裂解物进行蛋白质印迹;使用 β -微管蛋白作为上样对照。如图5所示,SLFN11蛋白质水平与来自CCLE数据库的基因表达RMA数据密切相关,表明SLFN11蛋白质表达通过转录(可能通过启动子甲基化)被表观遗传学控制。

[0202] 实施例2:细胞系衍生的异种移植模型

[0203] 将人NCI-H1048、NCI-H209和NCI-H69 SCLC肿瘤细胞皮下注射至BALB/c裸鼠的肋腹。当肿瘤达到大约130mm³平均体积时,用媒介物(Q1D x 28, p.o.)、顺铂(6mg/kg, Q6D x 2 i.p.)或Talazoparib(0.33mg/kg, Q1D x 28p.o.)处理动物(每组n=8)。通过标准方法每周两次监测肿瘤生长和动物体重。

[0204] 对高表达SLFN11的SCLC异种移植模型NCI-H1048(图6A)和NCI-H209(图6B)以及低表达SLFN11的模型NCI-H69(图6C)评价它们Talazoparib单一药剂治疗的响应性。肿瘤生长数据证实,在类似的实验条件下H209和H1048模型比H69模型对Talazoparib敏感得多,并且响应与RMA水平相关(表2)。

[0205] 表2:

SCLC 细胞系	SLFN11 RMA	BMN 673 敏感性	
		体外 GI ₅₀ (nM)	体内肿瘤生长
NCI-H209	8.794	2.03	延迟
NCI-H1048	7.583	14.4	延迟
NCI-H69	3.981	190.2	无延迟

[0207] 实施例3:人类患者衍生的异种移植(PDX)模型

[0208] 对12个人SCLC PDX模型(从Crown Biosciences, OncoTest, WuxiAppTec获得)评价它们对Talazoparib单一药剂治疗的响应。在第3至13代,PDX肿瘤在免疫受损小鼠中皮下增殖。当肿瘤达到大约150mm³平均体积时,对动物(每组n=5)口服施用媒介物(每日一次剂量)或最大耐受剂量的Talazoparib(MTD;0.25-0.3mg/kg,每日一次)。每周两次测量肿瘤体积和动物体重直至研究结束或直至肿瘤尺寸超过2000mm³。从小鼠收集未处理的肿瘤样品。首次治疗后第21天及以后的中位肿瘤体积用于计算自基线的变化,以评价响应。

[0209] 与媒介物对照相比,用最大耐受剂量的Talazoparib进一步对12个人SCLC PDX模型测试。12个PDX模型中的3个在Talazoparib治疗期间显示出与基线相比30%或更多的肿瘤消退,并被定义为部分响应者(PR);在第一次给药后第21天或以后,12个PDX肿瘤中的三个表现出稳定性疾病(SD)样响应,肿瘤生长小于100%,而其余的PDX模型对Talazoparib治疗有耐药性,并被指定为进行性疾病(PD)(图7)。代表性的单个肿瘤生长曲线示于图8A-8F中。

[0210] 反相蛋白质阵列(RPPA)

[0211] 使用Byers et al., Cancer Discovery 2012.2, 798描述的方法在PDX肿瘤样品上

进行RPPA。用于RPPA测定的SLFN11抗体从anta Cruz Biotechnology (Cat#sc-374339) 获得。RPPA分析显示PR和SD响应组表达比PD响应组更高的平均SLFN11蛋白质,其中p值为0.049 (图9A、9B)。在RNA水平,PR和SD组中SLFN11也较高,其中p值为0.046 (图9C)。

[0212] RNA-Seq转录组测序和分析

[0213] 从每个PDX模型收集两个异种移植肿瘤,并使用AllPrep DNA/RNA Mini试剂盒 (Qiagen) 处理以提取总RNA。在文库构建之前使用Ribo-zero试剂盒 (Illumina) 将RNA样品去除核糖体RNA。用HiSeq4000 PE100进行RNA测序。使用STAR (版本2.4.1b; 参见Dobin et al., Bioinformatics 2012, 29 (1) :15-21), 将RNA-Seq配对末端读段与来自人 (GRCh38, 来自GENCODE的release 20; 参见Harrow et al., Genome Res. 2012, 22 (9) :1760-74) 和小鼠 (GRCm38.p3, 来自GENCODE的release M4) 的组合基因组对齐。使用Samtools (版本1.2; 参见Li et al., Bioinformatics 2009, 25:2078-9) 通过读段名称对得到的比对BAM文件进行分类。通过HTSeq (版本0.6.1p1; 参见Anders et al., Bioinformatics 2015, 31 (2) :166-9) 计数与组合的人和小鼠注释 (分别为来自GENCODE的release 20和release M4) 中的每个基因对齐的读段的数目。能够唯一地与人对齐的读段对, 用于检查基因表达与Talazoparib敏感性之间的关系。

[0214] 通过RPPA和RNA-Seq的生物标志物分析显示,低表达ATM的PDX模型对Talazoparib更敏感,如图10A和10B所示。

[0215] 基因突变分析

[0216] 基因突变分析表明,所有12个SCLC PDX肿瘤均具有TP53或/和RB1突变,如对于SCLC所预期的 (参见表3)。

[0217] 表3:

[0218]

SCLC PDX 肿瘤	先前治疗	RB1	TP53	*最佳响应: 自基线的变化 (%)	Myriad HRD 评分
LU-01-0547	否	突变	突变	-95 (D83)	33
CTG-0198	是	Wt	突变	-55 (D29)	18
LU1267	N/A	丢失	Wt	-30 (D38)	11
LU67	N/A	突变	突变	-29 (D25)	29
LU65	是	突变	Wt	17 (D21)	31
LXFS 615	N/A	丢失	突变	83 (D21)	24
LXFS 1129	N/A	突变	突变	260 (D21)	20
LU2514	N/A	突变	突变	262 (D21)	24
LXFS 650	是	突变	突变	314 (D21)	17
CTG-0199	是	突变	丢失	318 (D21)	17
LXFS 573	N/A	突变	突变	351 (D21)	14
LXFS 2156	N/A	突变	突变	615 (D21)	43

[0219] N/A: 未得到Wt野生型

[0220] *中位肿瘤体积 (n=5) .

[0221] 实施例4:与Myriad HRD评分进行比较

[0222] 在测试的SCLC细胞系或这些SCLC PDX模型中,Talazoparib响应和Myriad HRD(同源重组缺陷)评分之间没有明显的关系,如图11所示。

[0223] 全文中的所有参考文献,诸如出版物、专利、专利申请和公开的专利申请,均通过引用整体并入本文。

[0224] 尽管为了清楚理解的目的已经通过说明和实施例详细描述了前述发明,但是对于本领域技术人员显而易见的是,会实践某些微小的变化和修改。因此,描述和实施例不应被解释为限制本发明的范围。

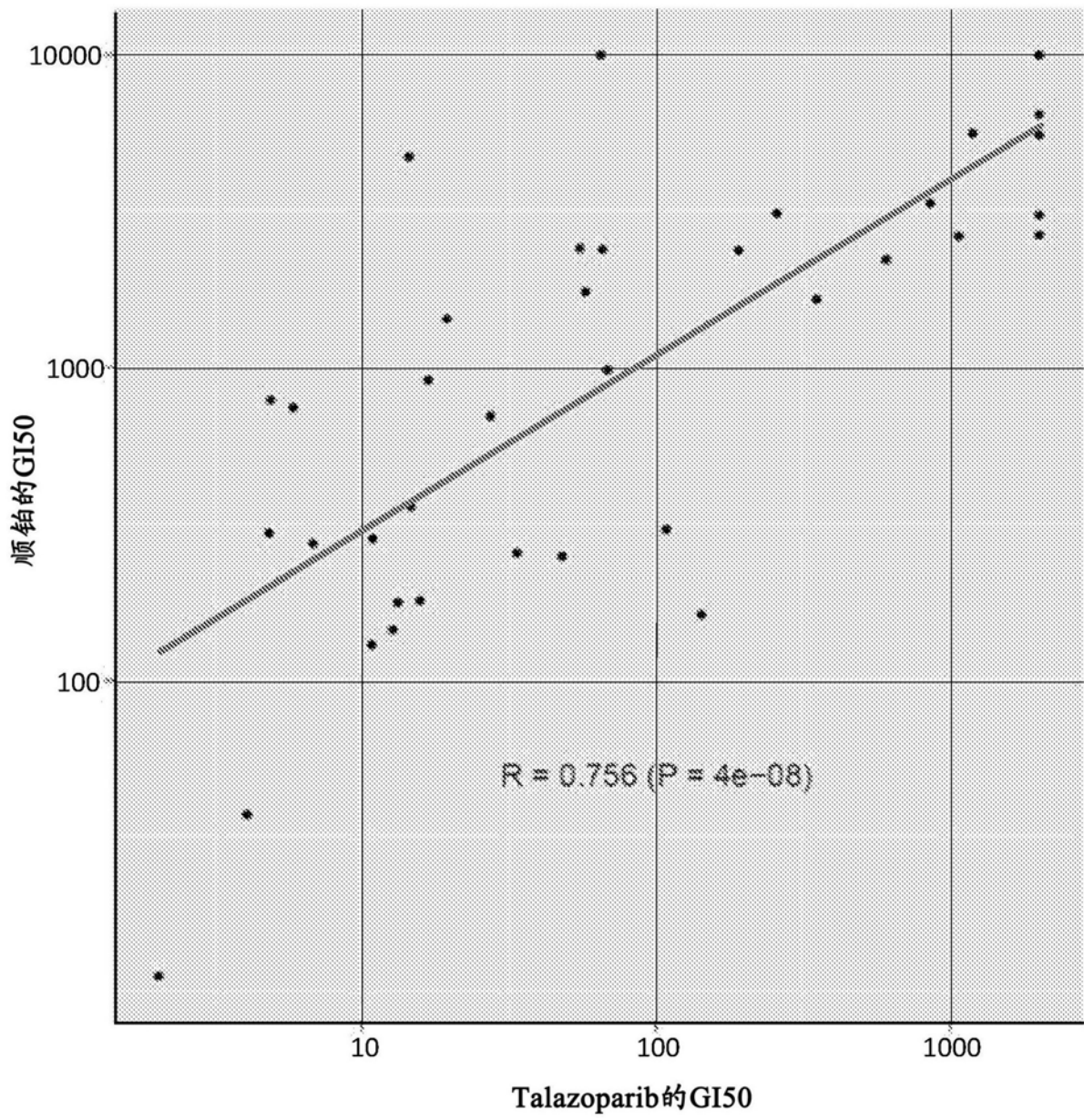


图1

细胞系的敏感性分组

使用以增代方法计算的绝对GI50和最大生长抑制

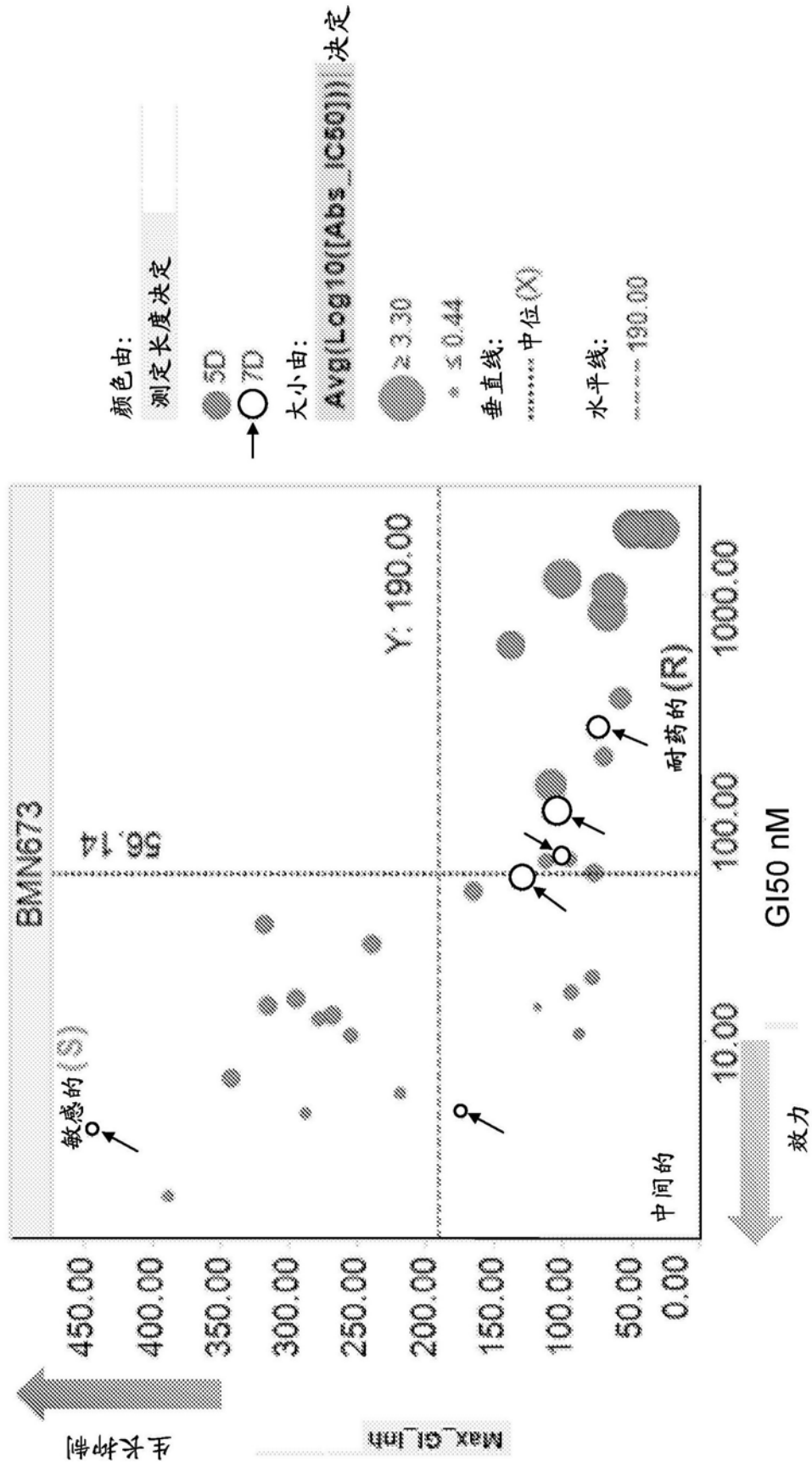


图2

SCLC系中的SLFN11表达

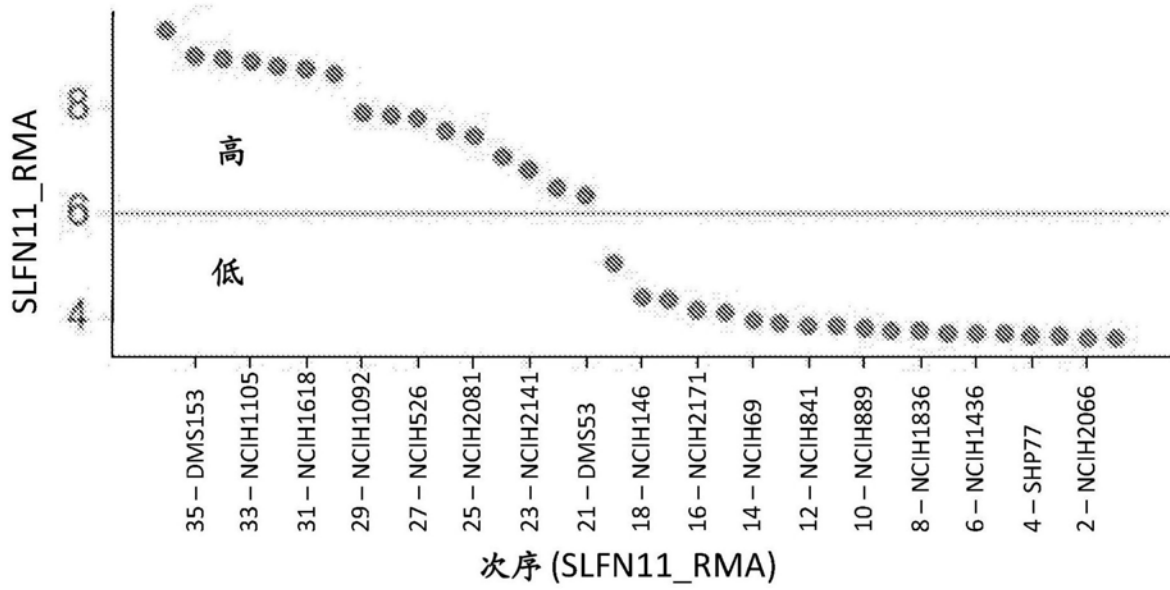


图3A

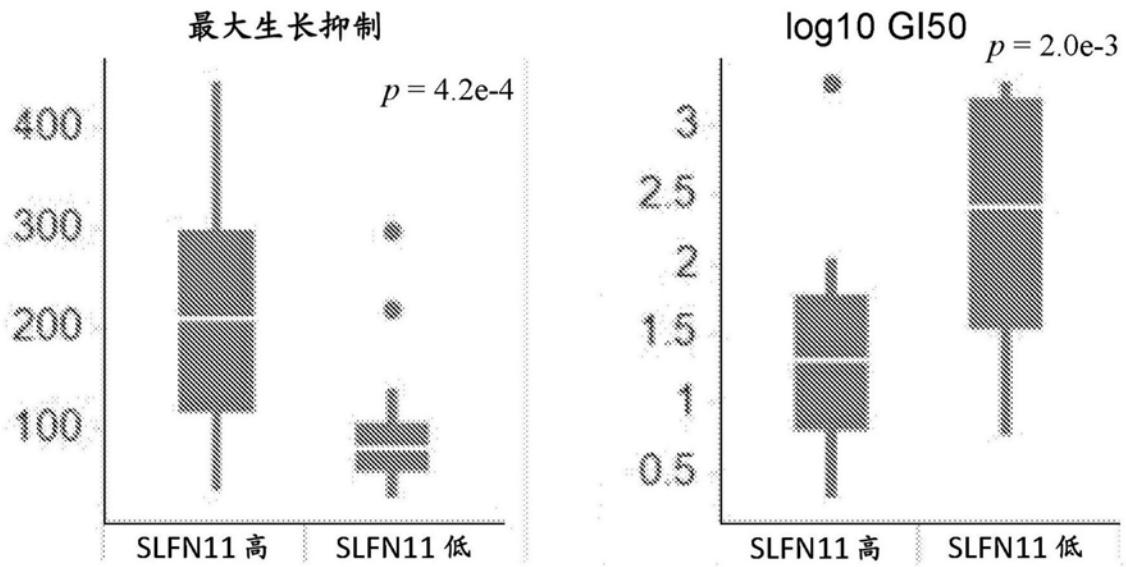


图3B

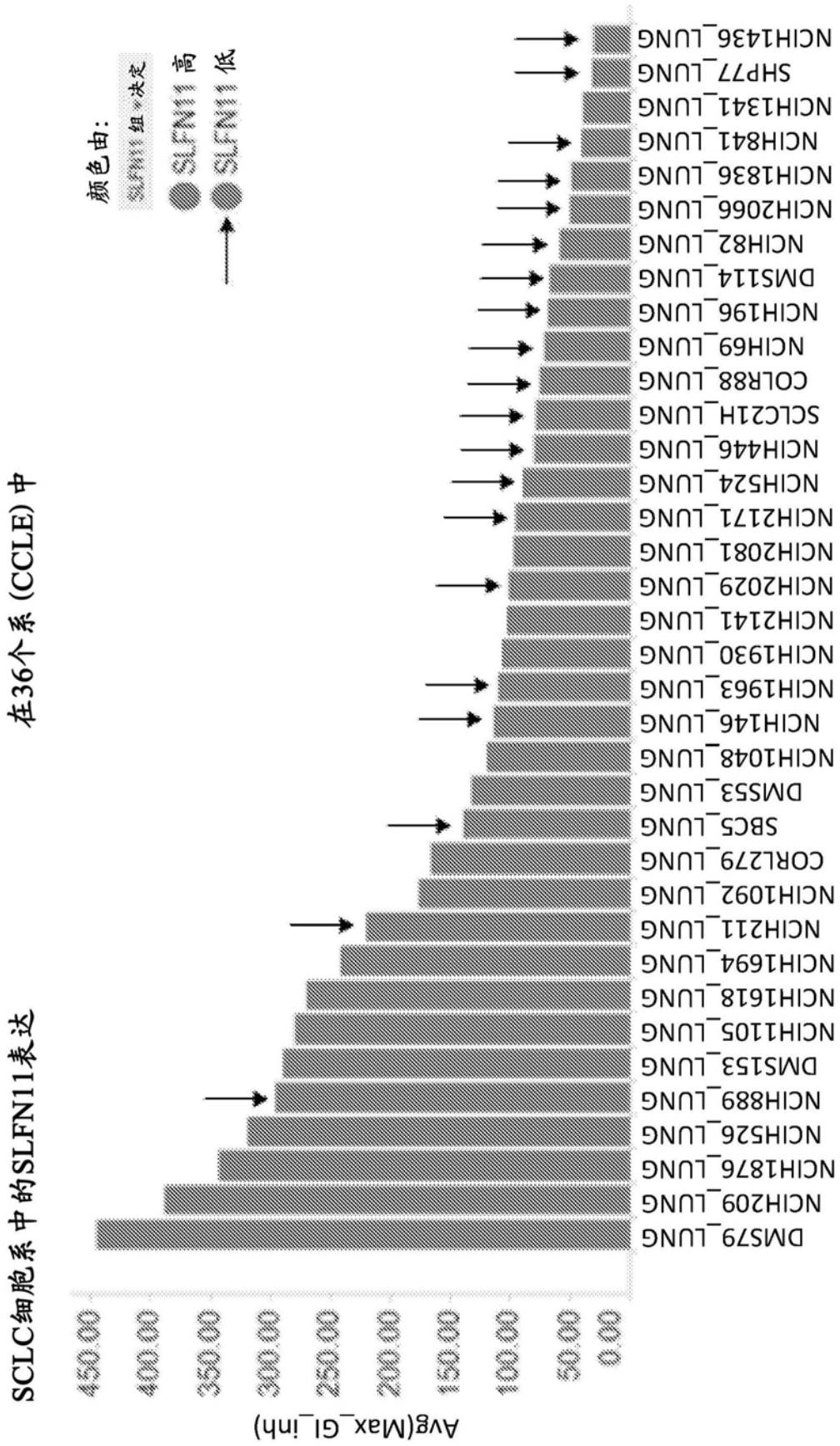
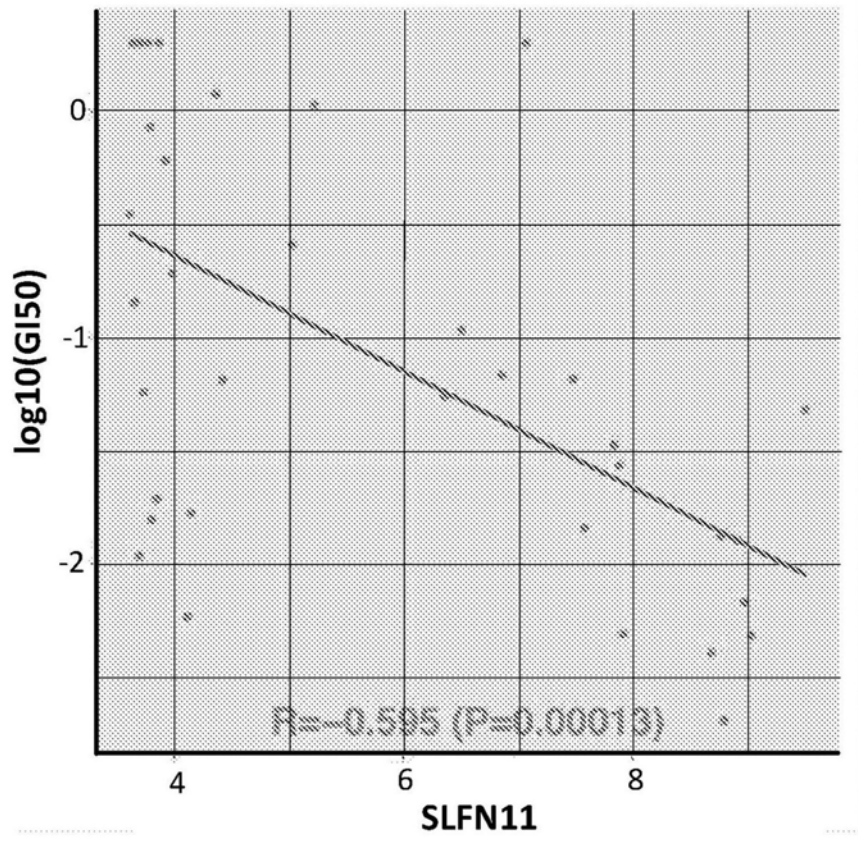


图3C



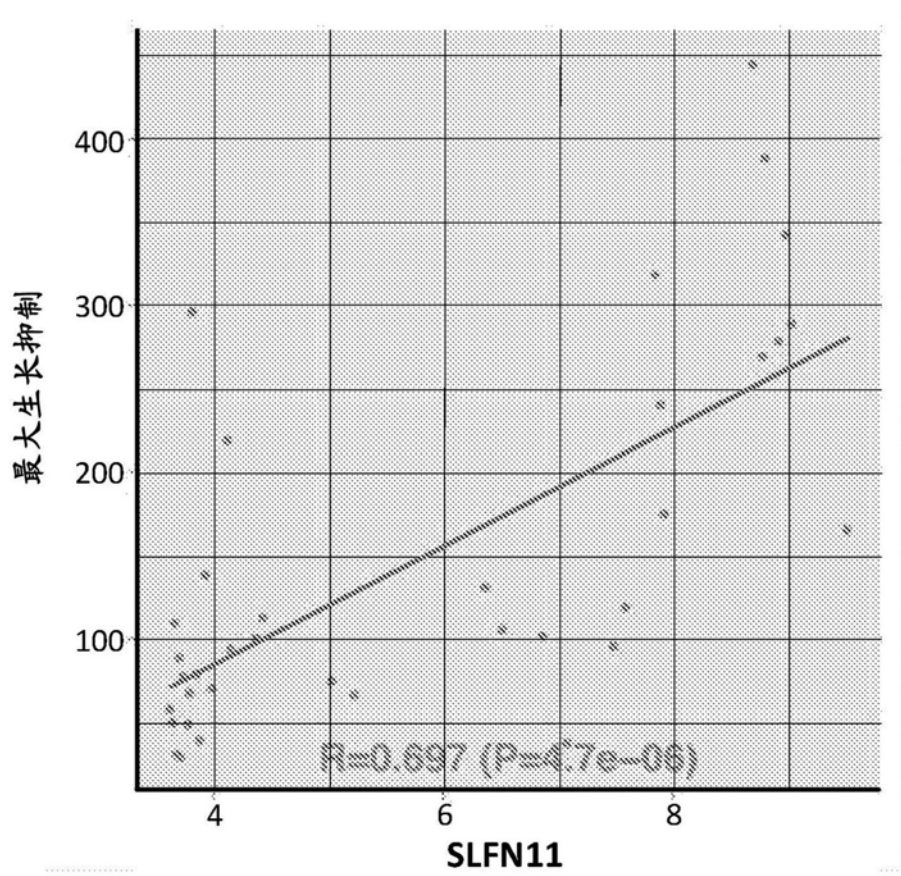


图3E

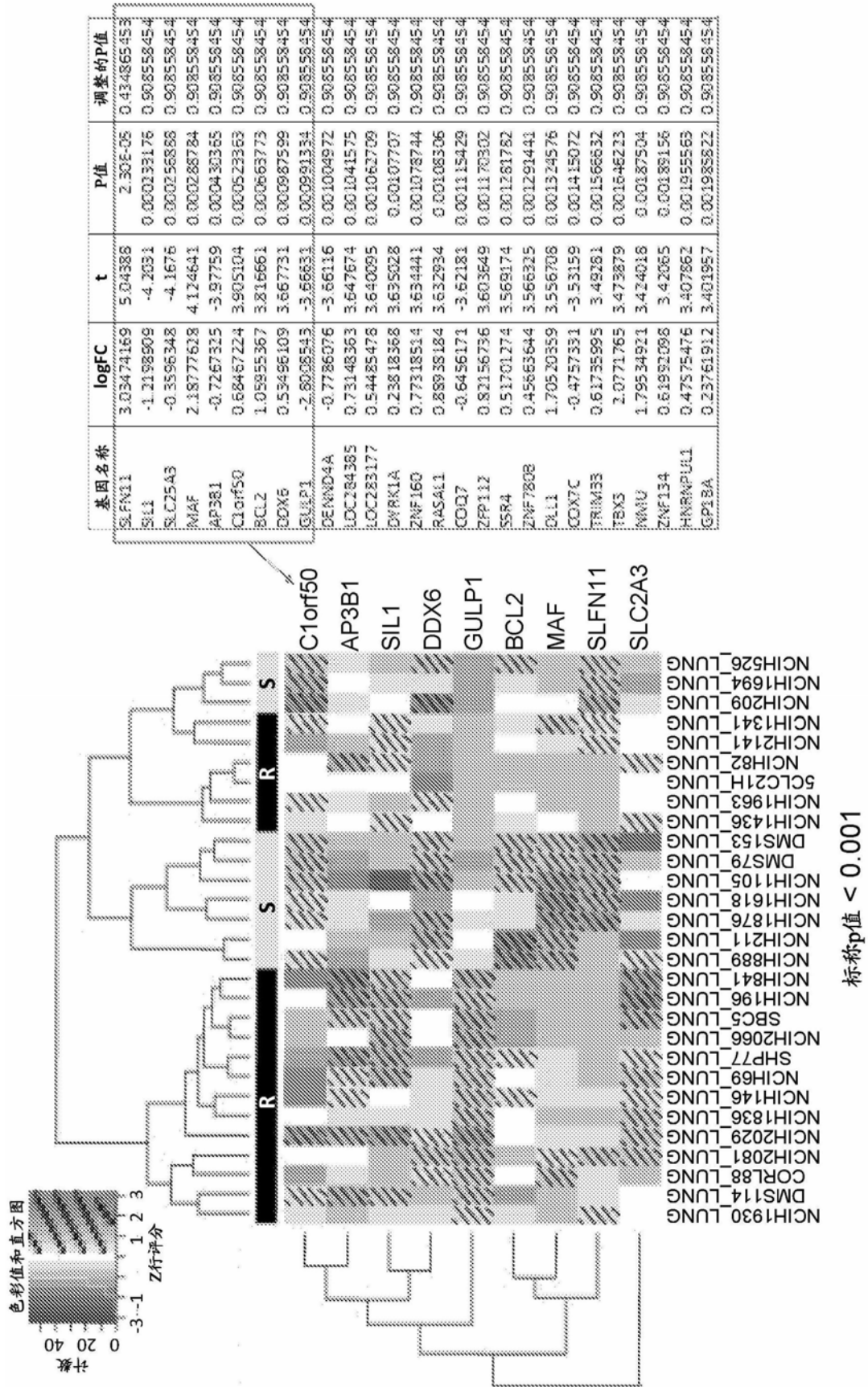
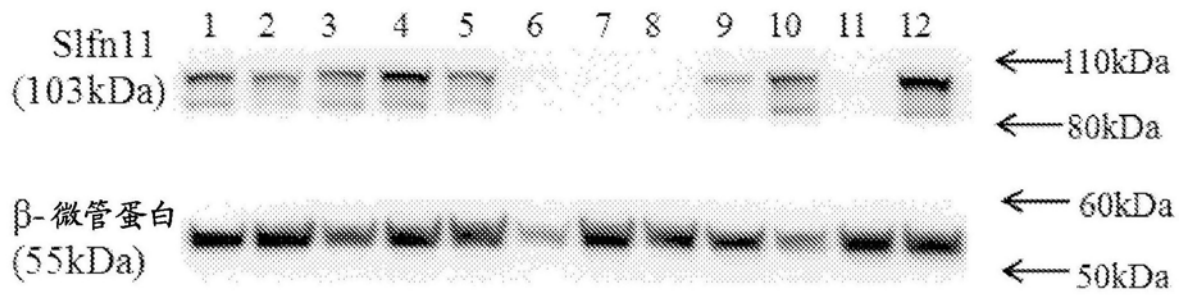


图4



	1	2	3	4	5	6
细胞系	H209	H2081	H1048	DMS-79	H1092	H446
RMA	8.8	7.5	7.6	8.7	7.9	3.8

	7	8	9	10	11	12
细胞系	H524	H841	DMS-53	H526	H69	COR-L279
RMA	3.7	3.8	6.4	7.8	3.9	9.5

图5

NCI-H1048 异种移植

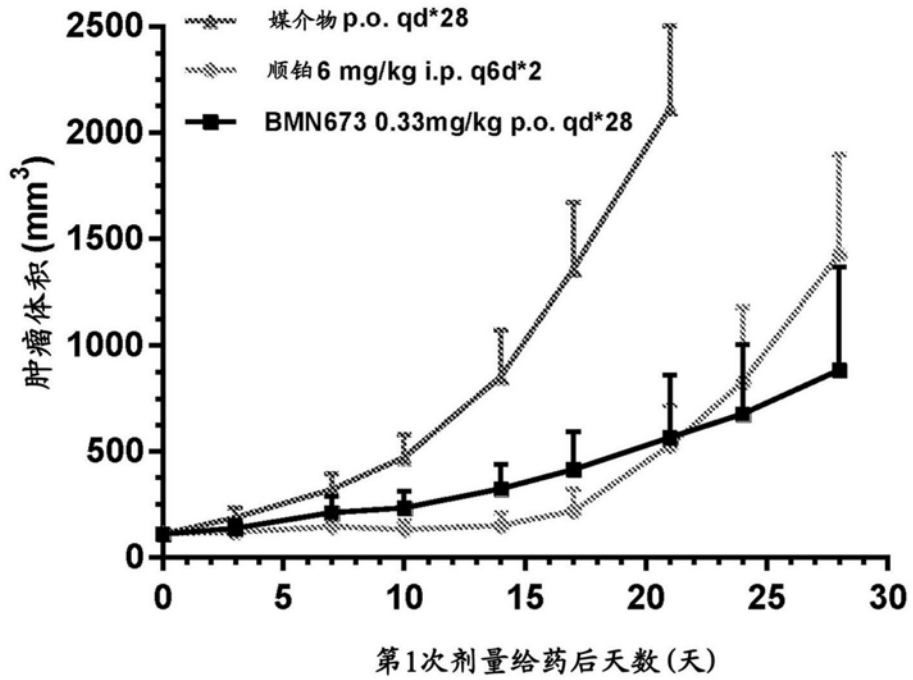


图6A

NCI-H209 异种移植

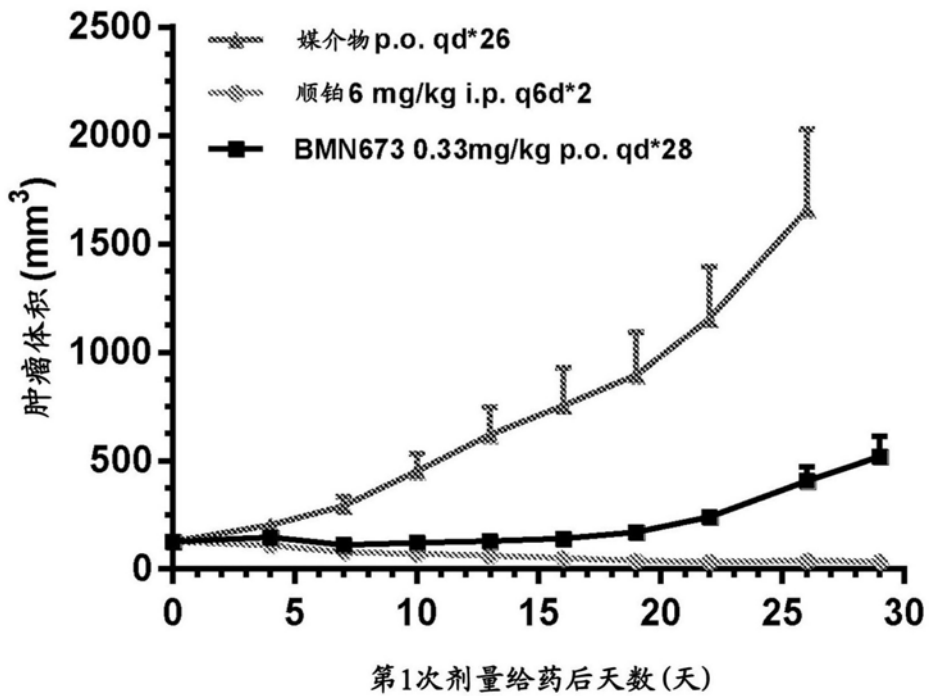


图6B

NCI-H69 SCLC 异种移植

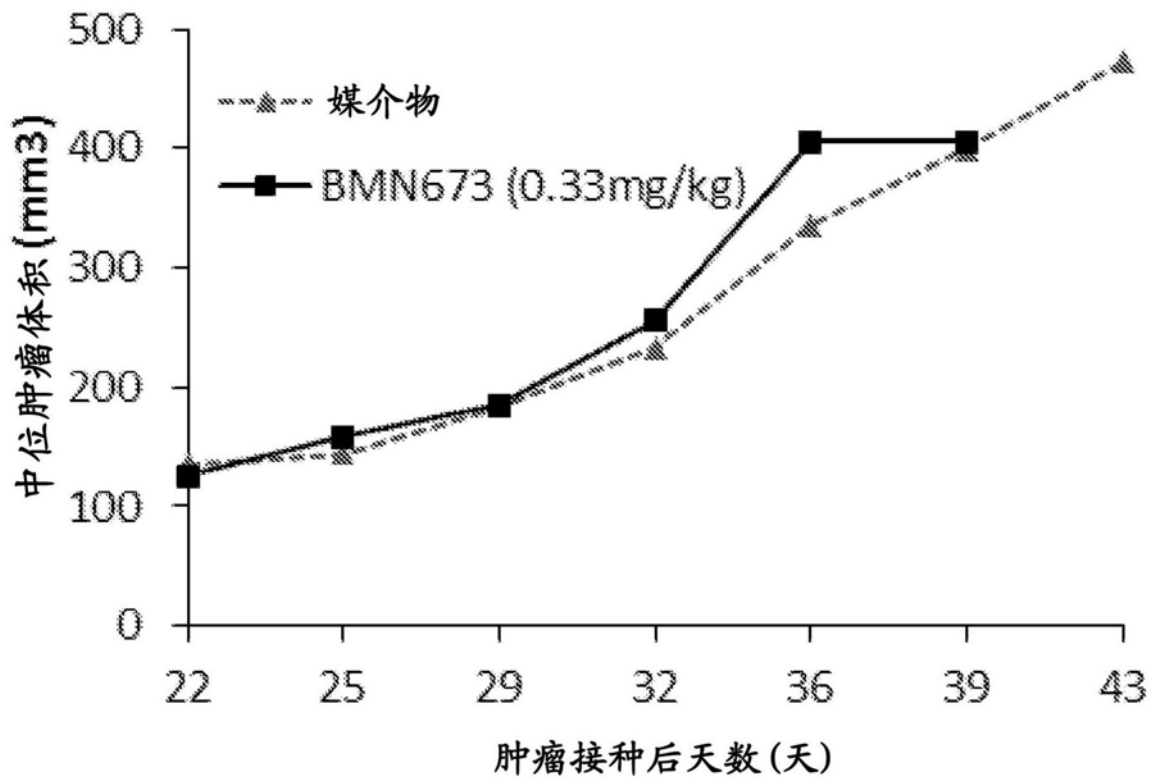


图6C

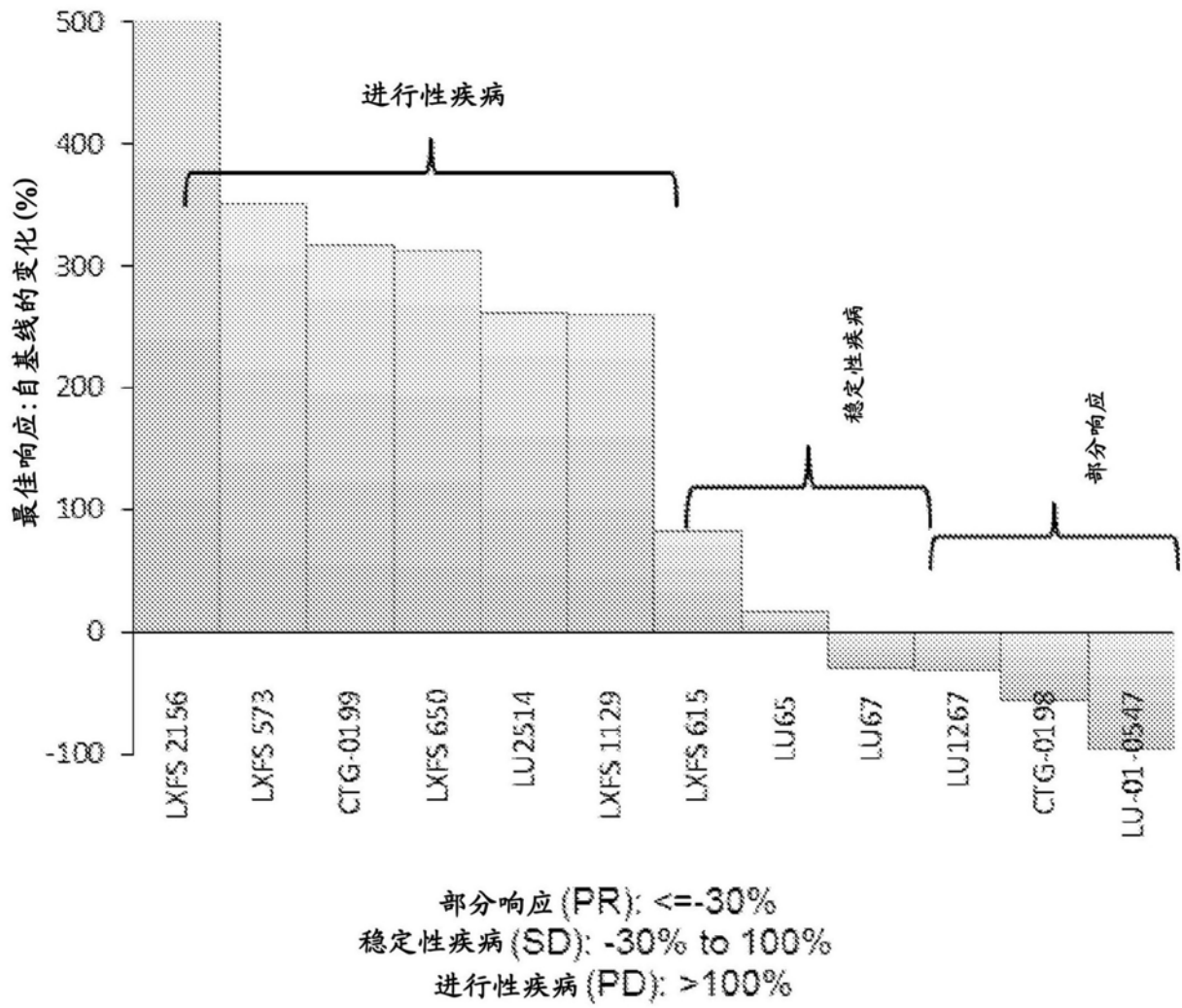


图7

SCLC PDX: LU-01-0547

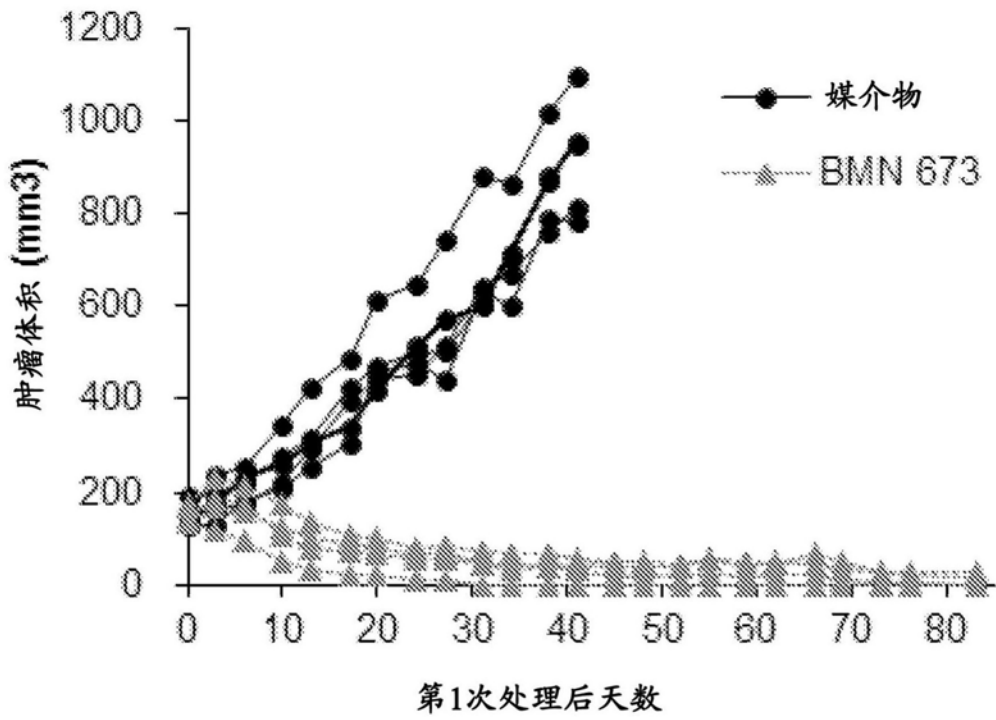


图8A

SCLC PDX: CTG-0198

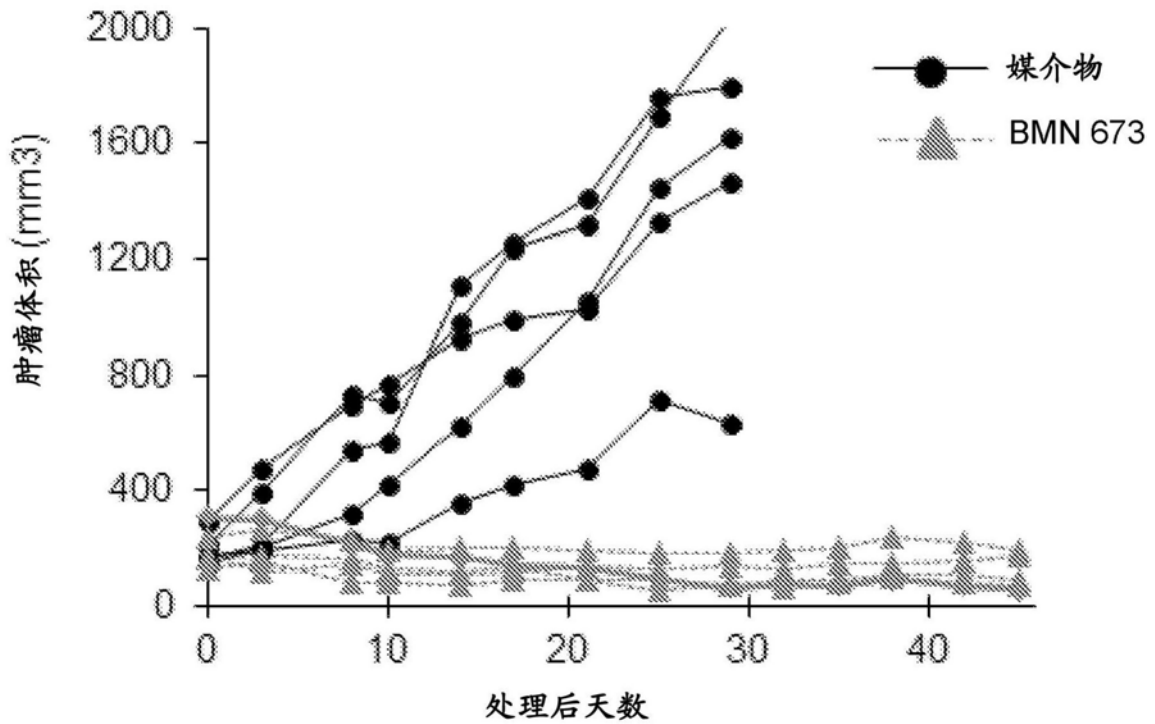


图8B

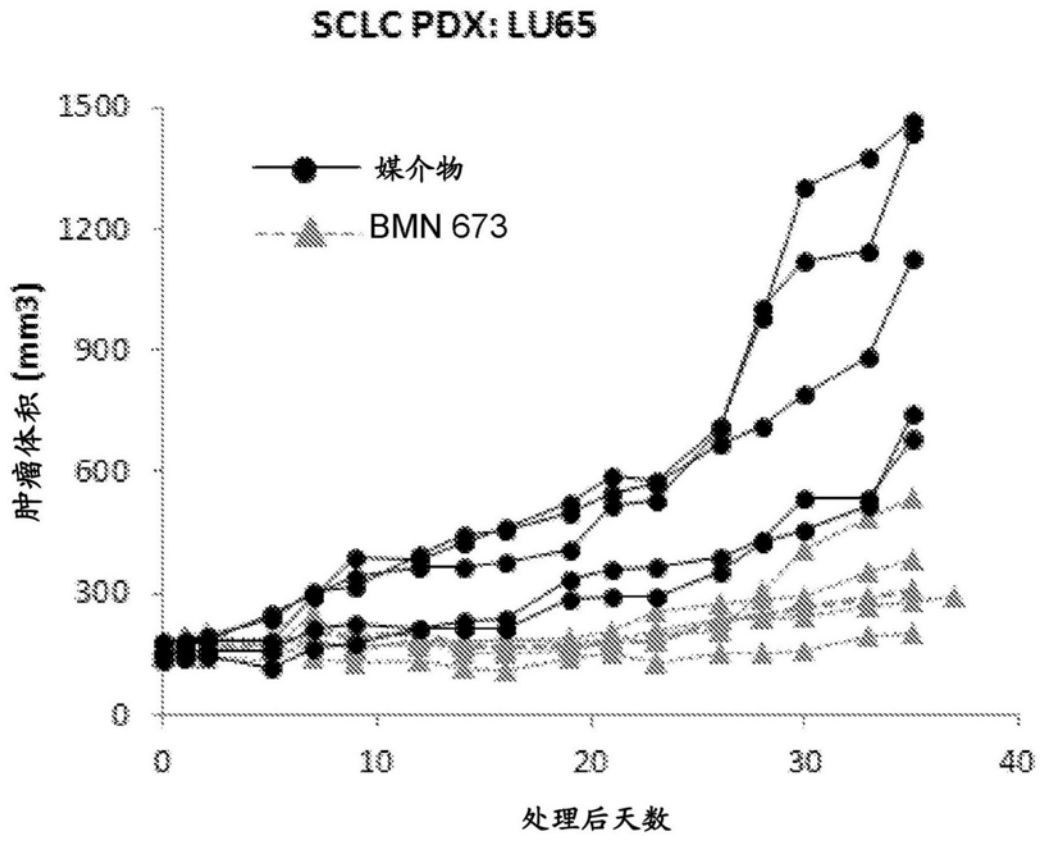


图8C

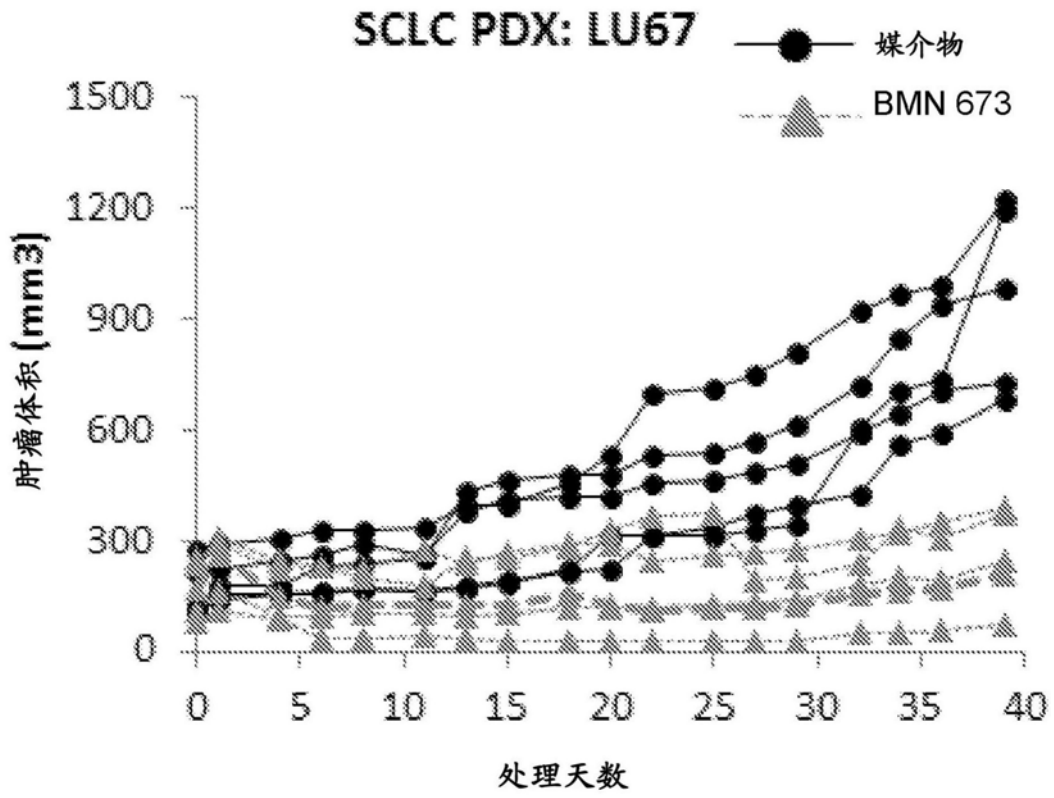


图8D

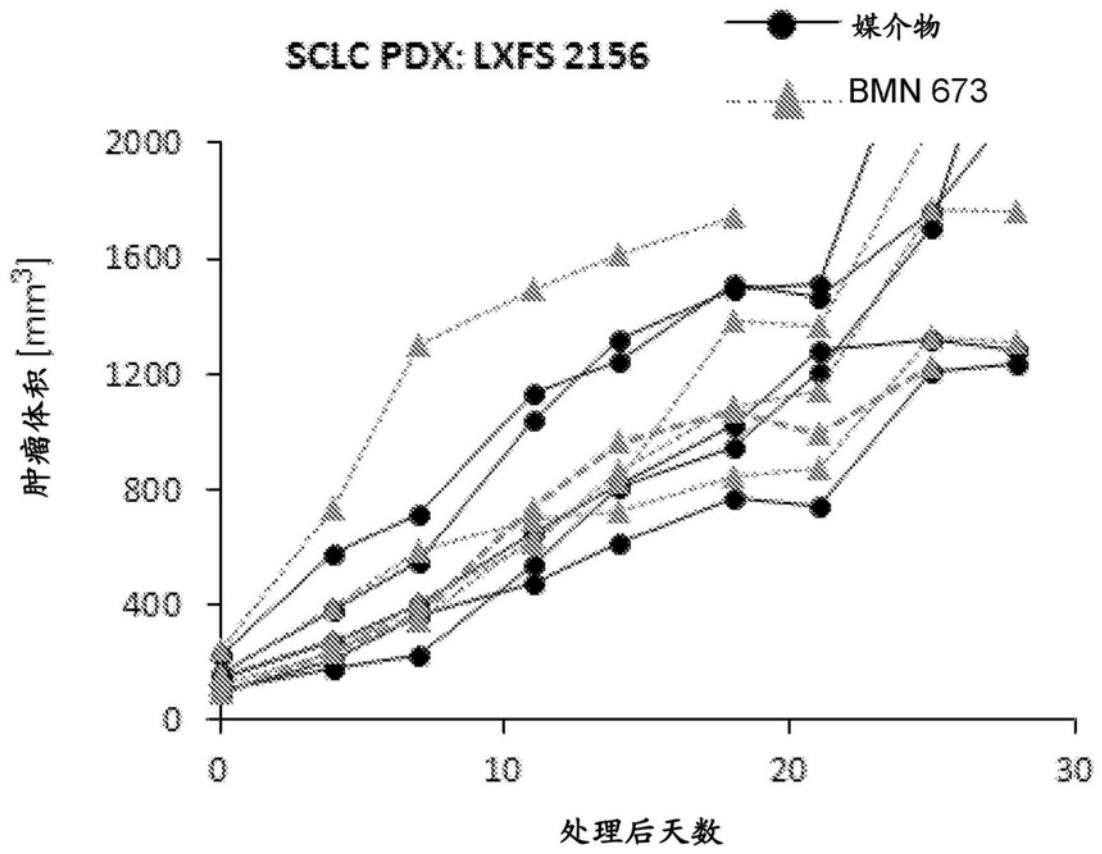


图8E

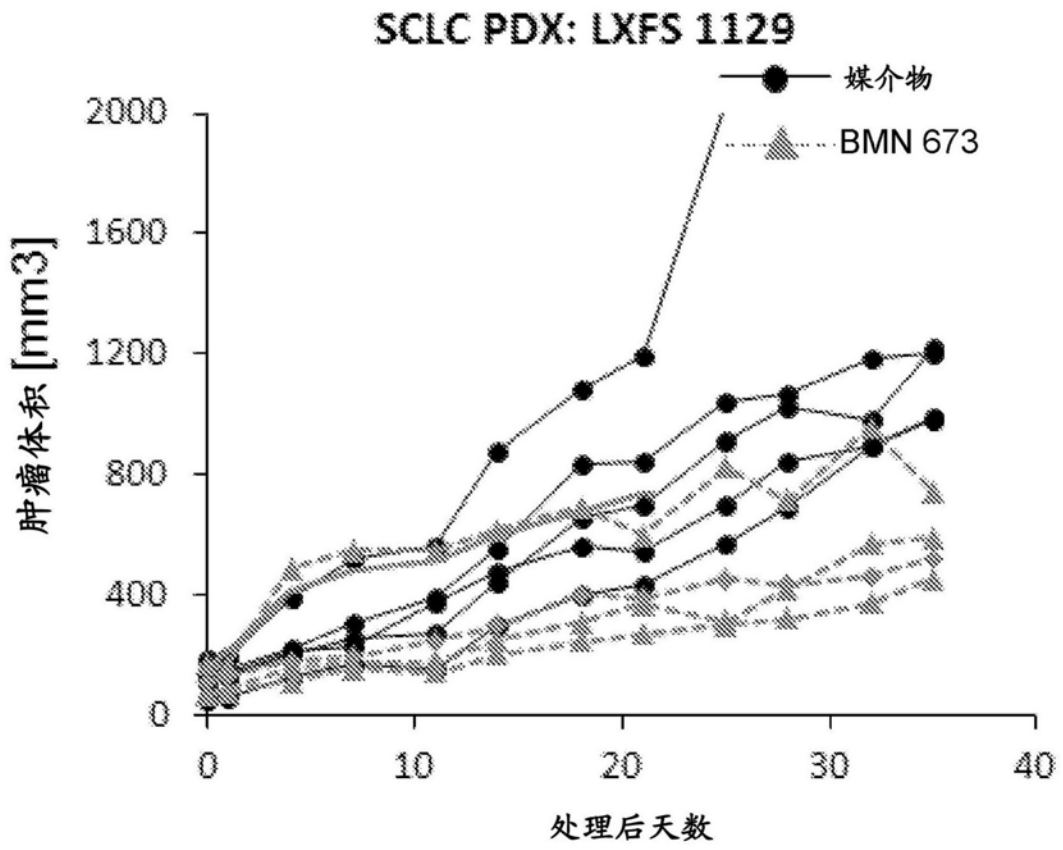


图8F

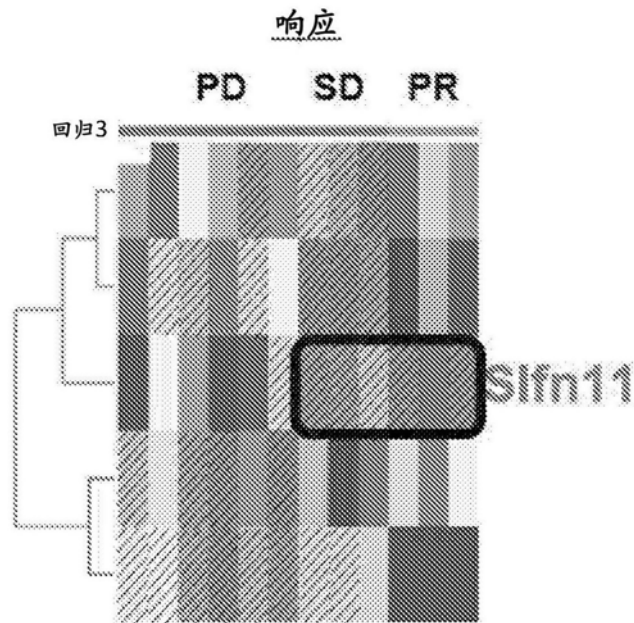


图9A

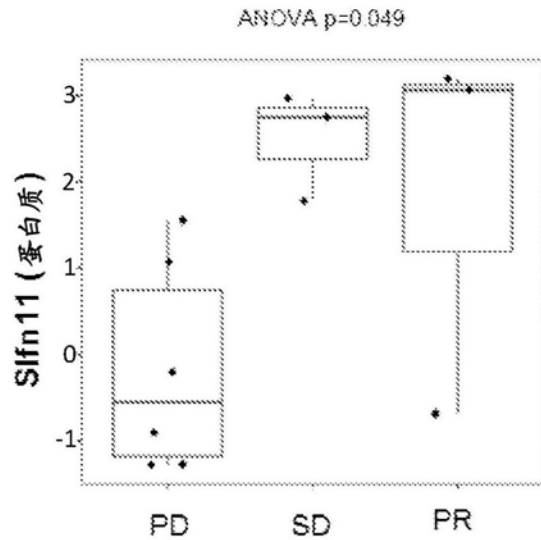


图9B

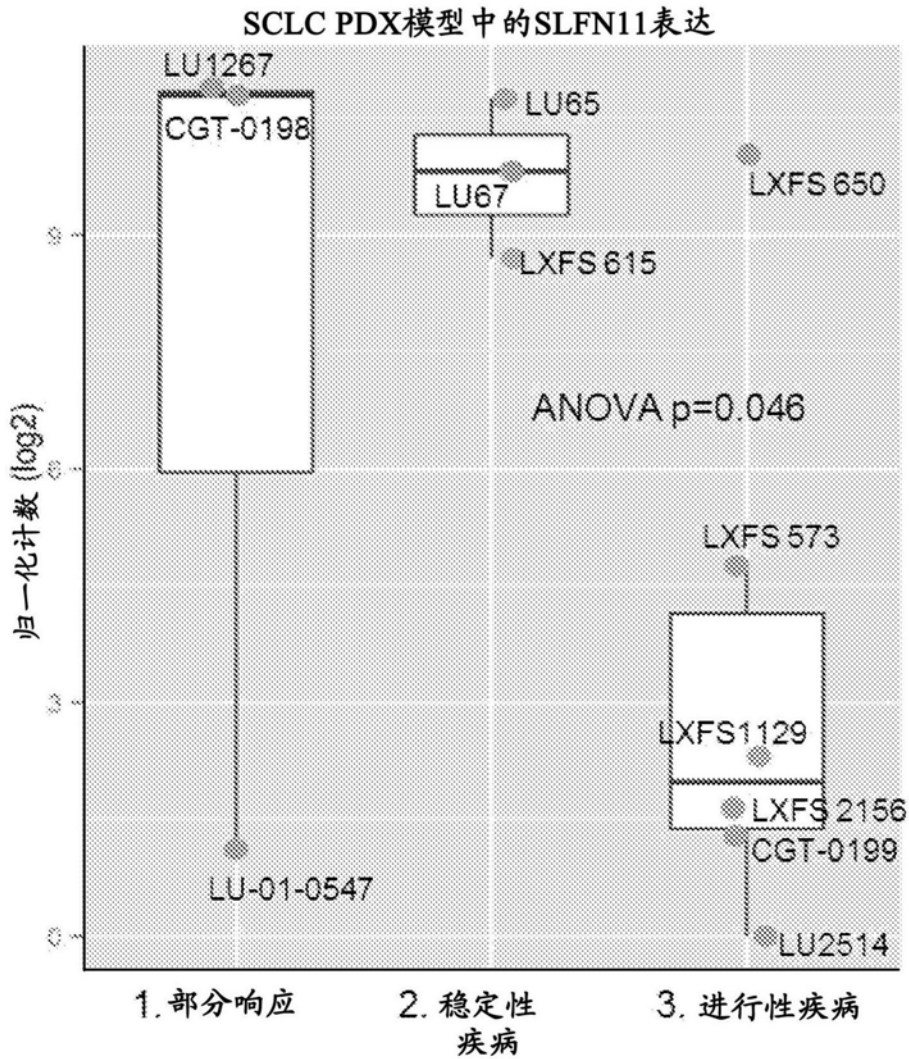


图9C

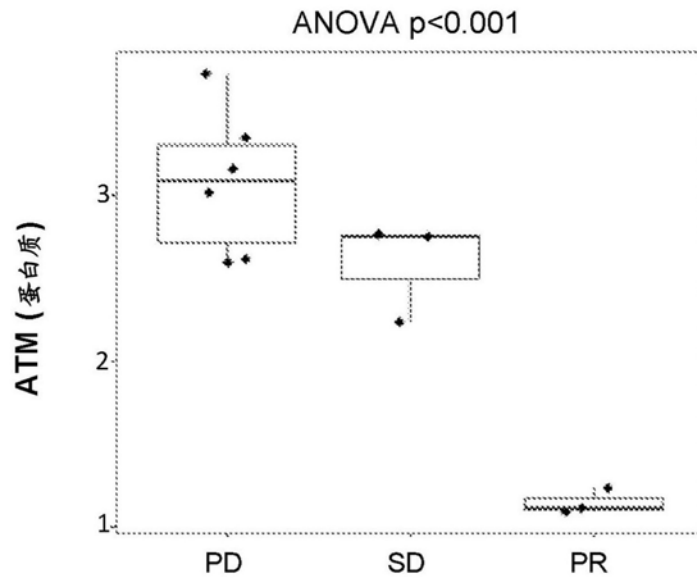


图10A

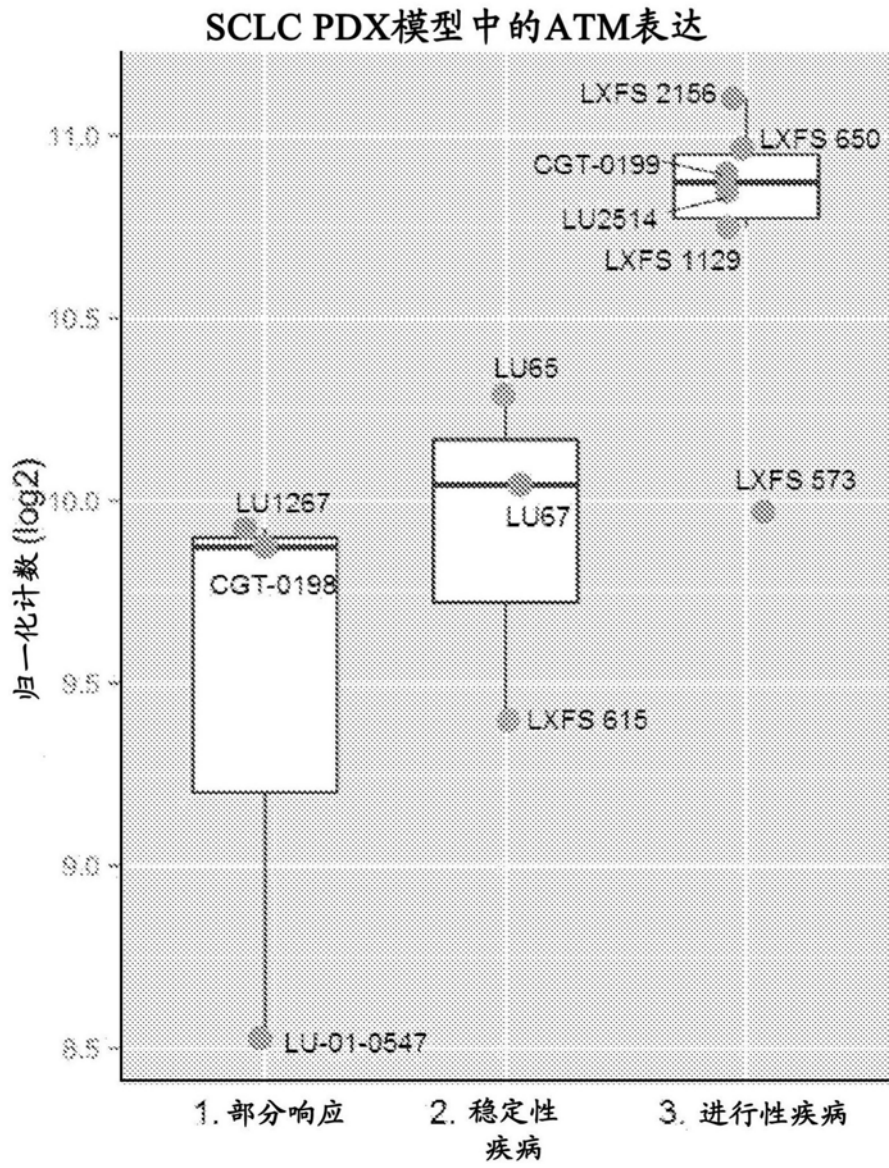


图10B

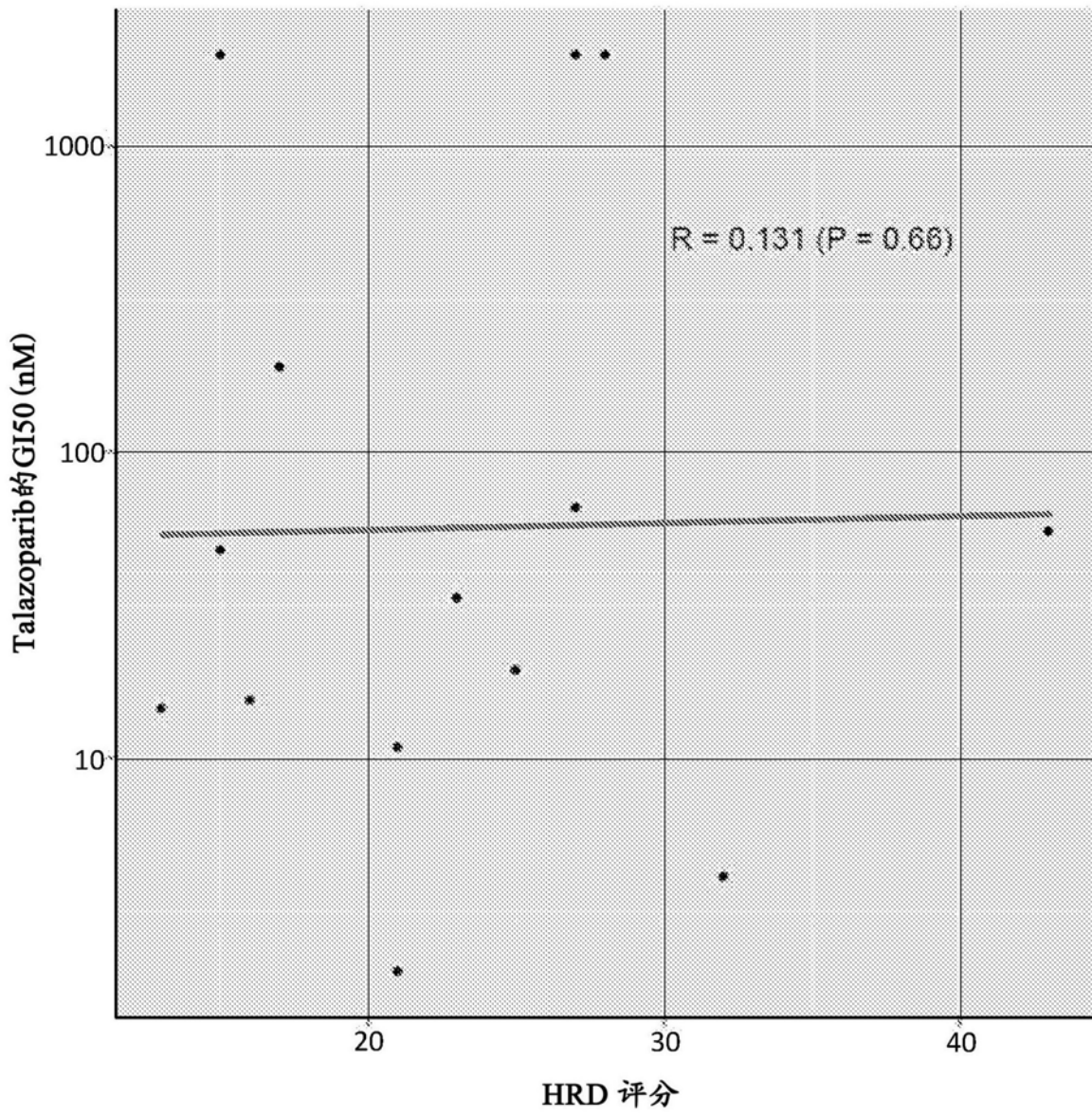


图11

专利名称(译)	用PARP抑制剂治疗小细胞肺癌		
公开(公告)号	CN108883115A	公开(公告)日	2018-11-23
申请号	CN201680076067.0	申请日	2016-10-26
[标]发明人	Y·冯 Y·沈 E·王 K·于		
发明人	Y·冯 L·E·波斯特 Y·沈 Y·茹 E·王 K·于		
IPC分类号	A61K31/535 C12Q1/6886 G01N33/574 G01N33/53		
CPC分类号	A61K31/4184 A61K31/454 A61K31/496 A61K31/502 A61K31/5025 A61K31/55 A61K31/551 A61K45/06 A61P35/00 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/158 G01N33/57423 A61K2300/00 A61K9/0053		
优先权	62/246538 2015-10-26 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本文描述了用聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制剂或其药学上可接受的盐治疗表达Schlafen-11(SLFN11)的小细胞肺癌受试者的方法。具体地,所述方法包括在来自所述受试者的肿瘤细胞样品中检测SLFN 11,并且向所述受试者施用有效量的PARP抑制剂,诸如talazoparib或talazoparib的甲苯磺酸盐。

