



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1721554 B

(45) 授权公告日 2010.05.26

- (21) 申请号 200510086015.5 (56) 对比文件
WO 9507276 A1, 1995.03.16, 全文.
(22) 申请日 2001.11.26
审查员 魏春宝
(30) 优先权数据
357398/00 2000.11.24 JP
(62) 分案原申请数据
01822240.4 2001.11.26
(73) 专利权人 卫材 R & D 管理有限公司
地址 日本东京都
(72) 发明人 大和隆志 横井晃 黑光淳郎
河合隆利 加藤弘之 长洲毅志
(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001
代理人 郭广迅 王景朝
(51) Int. Cl.
C12Q 1/68 (2006.01)
G01N 33/566 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 37/00 (2006.01)

权利要求书 3 页 说明书 27 页 附图 3 页

(54) 发明名称

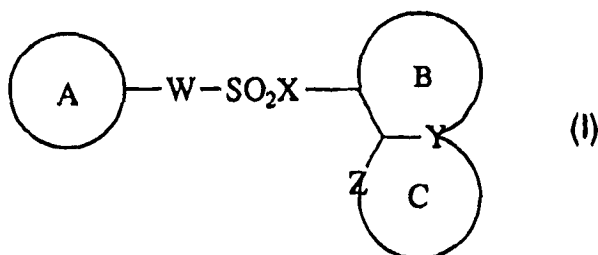
试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法

(57) 摘要

从给予了抗癌药剂 (E7070 及类似的化合物) 的癌症病人取出肿瘤细胞, 然后测定列举于表 3 和表 4 中基因的表达量。按另一种方式是, 用抗癌药剂处理从癌症病人取出的肿瘤细胞, 然后测定列举于表 3 和表 4 中基因的表达量。在列举于表 3 中基因的表达量增加, 或者列举于表 4 中基因的表达量减少的情况下, 可判定此相应的肿瘤细胞对相应的抗癌药剂是敏感的。因此, 可检测肿瘤细胞对于抗癌药剂的敏感性。

1. 与作为 DNA 拓扑异构酶 II (top2) 的基因的转录产物的一种或多种 RNA 相互补的寡核苷酸在制备用于检测肿瘤细胞对抗癌剂敏感性的试剂方面的应用, 其中所述检测包括:

1) 测定肿瘤细胞中所述基因的表达水平, 该肿瘤细胞是从经如下通式 (I) 表示的抗癌剂治疗的癌症病人采集的:



其中

A 代表未取代的或被 1-3 个选自氰基和以化学式 $-a-e-f$ 表示的基团的取代基取代的苯, 其中 a 代表单键, e 代表 $-S(O)_2-$, f 代表氨基,

B 代表未取代的或被 1 或 2 个选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的取代基取代的苯,

C 代表未取代的或被 1 或 2 个选自氰基和氯原子的取代基取代的吡咯,

W 代表一个单键,

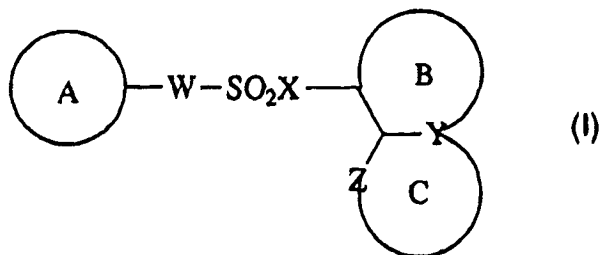
Y 代表碳原子, 和

X 和 Z 都代表 $-NH-$, 以及

2) 与用该抗癌剂治疗前从癌症病人采集的肿瘤细胞中基因的表达水平相比较, 当所述基因的表达水平降低时, 能确定该肿瘤细胞对此抗癌剂是敏感的。

2. 与作为 DNA 拓扑异构酶 II (top2) 的基因的转录产物的一种或多种 RNA 相互补的寡核苷酸在制备用于检测肿瘤细胞对抗癌剂敏感性的试剂方面的应用, 其中所述检测包括:

1) 使抗癌剂作用于从癌症病人采集的肿瘤细胞, 所述抗癌剂由如下通式 (I) 表示:



其中

A 代表未取代的或被 1-3 个选自氰基和以化学式 $-a-e-f$ 表示的基团的取代基取代的苯, 其中 a 代表单键, e 代表 $-S(O)_2-$, f 代表氨基,

B 代表未取代的或被 1 或 2 个选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的取代基取代的苯,

C 代表未取代的或被 1 或 2 个选自氰基和氯原子的取代基取代的吡咯,

W 代表一个单键,

Y 代表碳原子, 和

X 和 Z 都代表 $-NH-$,

2) 测定肿瘤细胞中所述基因的表达水平, 以及

3) 与未被处理的肿瘤细胞的基因表达水平相比较, 当所述基因的表达水平降低时, 能确定该肿瘤细胞对此抗癌剂是敏感的。

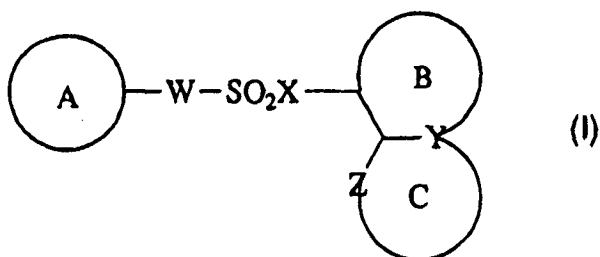
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的应用,其中所述基因的表达水平使用 DNA 微阵列,通过定量作为所述基因的转录产物的 RNA 来测定。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的应用,其中所述基因的表达水平借助于定量 PCR 法,通过定量作为所述基因的转录产物的 RNA 来测定。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的应用,其中,所述的抗癌剂是 N-(3-氯-7-咪唑基)-1,4-苯二磺酰胺。

6. 针对 DNA 拓扑异构酶 II (top2) 的基因所编码蛋白的抗体在制备用于检测肿瘤细胞对抗癌剂敏感性的试剂中的应用,其中所述检测包括:

1) 测定肿瘤细胞中所述基因的表达水平,该肿瘤细胞是从经以如下通式 (I) 表示的抗癌剂治疗的癌症病人采集的:



其中

A 代表未取代的或被 1-3 个选自氰基和以化学式 $-a-e-f$ 表示的基团的取代基取代的苯,其中 a 代表单键, e 代表 $-S(O)_2-$, f 代表氨基,

B 代表未取代的或被 1 或 2 个选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的取代基取代的苯,

C 代表未取代的或被 1 或 2 个选自氰基和氯原子的取代基取代的吡咯,

W 代表一个单键,

Y 代表碳原子,和

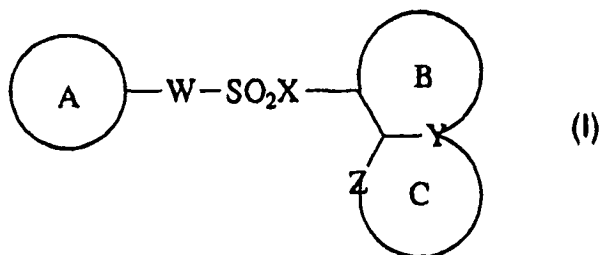
X 和 Z 都代表 $-NH-$,

以及

2) 与用该抗癌剂治疗前从癌症病人采集的肿瘤细胞中基因的表达水平相比较,当所述基因的表达水平降低时,能确定该肿瘤细胞对此抗癌剂是敏感的。

7. 针对 DNA 拓扑异构酶 II (top2) 的基因所编码蛋白的抗体在制备用于检测肿瘤细胞对抗癌剂敏感性的试剂方面的应用,其中所述检测包括:

1) 使抗癌剂作用于从癌症病人采集的肿瘤细胞,所述抗癌剂由如下通式 (I) 表示:



其中

A 代表未取代的或被 1-3 个选自氰基和以化学式 $-a-e-f$ 表示的基团的取代基取代的苯,其中 a 代表单键, e 代表 $-S(O)_2-$, f 代表氨基,

B 代表未取代的或被 1 或 2 个选自甲基、乙基、正丙基和异丙基的取代基取代的苯,

C 代表未取代的或被 1 或 2 个选自氨基和氯原子的取代基取代的吡咯，

W 代表一个单键，

Y 代表碳原子，和

X 和 Z 都代表 -NH-，

2) 测定肿瘤细胞中所述基因的表达水平，以及

3) 与未被处理的肿瘤细胞的基因表达水平相比较，当所述基因的表达水平降低时，能确定该肿瘤细胞对此抗癌剂是敏感的。

8. 根据权利要求 6 或 7 所述的应用，其中所述基因的表达水平借助于免疫化学方法，通过定量所述基因所编码的蛋白质来测定。

9. 根据权利要求 8 所述的应用，其中所述基因的表达水平借助于酶联免疫吸附测定法，通过定量所述基因所编码的蛋白质来测定。

10. 根据权利要求 8 所述的应用，其中所述基因的表达水平借助于蛋白质印迹试验，通过定量所述基因所编码的蛋白质来测定。

11. 根据权利要求 6 或 7 所述的应用，其中，所述的抗癌剂是 N-(3-氯-7-咪唑基)-1,4-苯二磺酰胺。

试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法

[0001] 本申请是申请日为 2001 年 11 月 26 日,申请号为 01822240.4,发明名称为“试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法”的发明专利申请的分案申请。

技术领域:

[0002] 本发明涉及用于试验肿瘤细胞对于抗癌药剂是否敏感的一种方法。

背景技术:

[0003] 在抗癌药剂的传统临床研究中,首先是在 I 期临床研究中确定该药剂的毒性概况和最大推荐剂量,然后在 II 期临床研究中应用肿瘤缩小率作为效力标准,根据反应率对该药剂作为药物进行评价。与此同时,随着近几年来癌生物学的研究进展,具有抑制细胞内信号转导系统和血管形成等新颖作用机理的药物正处于被积极地探索和开发的过程中。对于这些新颖的抗癌药剂,有可能不必要给予接近毒性剂量的最大推荐剂量。并且预计,通过应用与肿瘤生长抑制有关的 QOL(生命质量)改善或生命延长而不是用肿瘤缩小作为指标,可以更恰当地判断药效。在这种情况下,为了更合理更明确地证实其药效,理想的是利用与肿瘤生长抑制机制密切相关的生物标志的改变作为一种替代性标志。

[0004] 总的来说,在抗癌治疗的过程中,当给予一种抗癌药剂时,生命机体的反应性主要取决于作为药剂靶标的肿瘤细胞对该药剂的敏感性。肿瘤细胞对药物的这种敏感性,对于各种类型的肿瘤细胞通常都有明显的改变。这种敏感性的差异可归因于药物靶分子或与这些分子相关的因子的数量或者质量差异,以及药物抗性的获得等因素。考虑到这种基本情况,如果当作为靶标的肿瘤细胞表现出对某种药物的敏感性而特异性引起的肿瘤细胞改变,可以通过使用由活组织检查等方法得到的肿瘤组织来测定,将是非常有用的,因为通过应用这种改变作为替代性标志,使较早地确定药效、建立治疗方法或者选择新的治疗方法等成为可能。而且,如果在治疗前从按常规方式通过活组织检查等方法得到的肿瘤组织分离出肿瘤细胞,然后用药物处理,并根据上述替代性标志的改变确定这种肿瘤细胞是否对该药物敏感,这样就有可能初步预测使用该药物的治疗是否有效,这在临床实践中是十分有用的。重要的是这种替代性标志的改变对于抗肿瘤作用应该是特异性的,并且对这种改变足以进行高灵敏度的检测。更具体地说,定量测定对药物抗肿瘤作用具有特异性的基因表达改变,分析与基因表达改变同时发生的蛋白质质量的改变,以及分析与这些改变相关的功能性改变等都可以被用作替代性标志。

[0005] E7070(N-(3-氯-7-吡啶基)-1,4-苯二磺酰胺)是一种以细胞周期 G1 期为靶标的,具有抗肿瘤作用的化合物,正在被临床开发研究中(Takashi Owa, Hiroshi Yoshino, Tatsuo Okauchi, Kentaro Yoshimatsu, Yoichi Ozawa, Naoko Hata Sugi, Takeshi Nagasu, Nozomu Koyanagi and Kyosuke Kitoh, 医学化学杂志 1999, 42, 3789-3799)。

[0006] 这种化合物对不同肿瘤细胞生长抑制作用的强度频谱与任何现存的抗癌药剂都不同,预期这种化合物具有作为抗癌药剂的作用,并具有一种新颖的作用机制。为了加速对这种药物的临床开发研究并尽快地建立一种临床治疗方法,以及根据所确定的治疗方法,

通过有效地促进治疗来帮助改善病人的 QOL, 期望发现和应用一种可以被特定地用于该药物给药的替代性标志。

[0007] 在最近几年, 已经建立了使用不同的 DNA 微阵列 (microarrays) 同时测定大量基因表达水平的方法并广泛地被应用 (sчена M, shalonD, Davis RW, Brown PO, 科学 1995, 270, 467-70 ; Lockhart, D. J. , Dong H. , Byren M. C. , Follettie M. T. , Gallo M. V. , Chee M. S. , Mittmann M. , Wang C. , Kobayashi, M. , HortonH. , Brown E. L. , 自然生物技术, 1996, 14, 1675-1680)。

[0008] 在癌症研究领域, 应用此类 DNA 微阵列的研究也正在积极地进行。例如, 在通过使用 DNA 微阵列的表达分析对扩散性大 B- 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 进行的研究中, 根据基因表达表观的差异, DLBCL 已被分类成二种不同的类型, 并且表明, 这种分类可指导对预后的推测 (Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, RosenwaldA, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell Ji, Yang I, MartiGE, Moore T, Hudson J Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, SherlockG, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, WarnkeR, Staudt LM, 等, 自然, 2000, 403, 503-11)。此外, 在一篇报导中通过分析来自美国国家癌症研究所的 60 种类型癌细胞系的一种镶嵌板 (panel) 的基因表达表观, 对这些细胞系作了重新分类, 并且检测了它们的特征 (Ross DT, Scherf U, Eisen MB, Perou CM, ReesC, Spellman P, Iyer V, Jeffrey SS, Van de Rijn M, Waltham M, Pergamenschikov A, Lee JC, Lashkari D, Sbalon D, Myers TG, Weinstein JN, Botstein D, Brown PO, 自然遗传, 2000, 24, 227-35), 另一篇报导论述了这 60 种类型癌细胞系镶嵌板的基因表达表观的相互关系, 以及每个细胞系对不同抗癌药剂的敏感性 (Scherf U, Ross Dt, Waltham M, Smith LH, Lee JK, Tanabe L, Kohn KW, Reinhold WC, Myers TG, Andrews DT, Scudiero DA, Eisen MB, Sausville EA, Pommier Y, Botstein D, Brown PO, Weinstein JN, 自然遗传, 2000, 24, 236-44), 还有其它报导。

[0009] 并且还有几篇报导, 通过类似地使用一种 DNA 微阵列 (部分是使用滤膜的大型阵列) 检测了使抗癌药剂对肿瘤细胞起作用时出现的基因表达改变 (Rhee CH, Ruan S, Chen S, Chenchik A, Levin VA, YungAW, Fuller GN, Zhang W, 肿瘤学报, 1999, 6, 393-401 ; Zimmermann J, Erdmann D, Lalande, Grossenbacher R, NooraniM, Furst P, 癌基因, 2000, 19, 2913-20 ; Kudoh K, Ramanna M, Ravatn R, Elkahloun AG, Bittner ML, Meltzer PS, Trent JM, Dalton WS, Chin KV, 癌研究, 2000, 4161-6)。这些报导表明, 在比较二个或更多细胞群的特征时, 以及在以分子水平综合研究药物治疗等因素引起的细胞生物学改变时, 分析基因表达变异是非常有用的。

发明内容 :

[0010] 本发明的目的是, 在使 E7070 及其相关化合物对肿瘤细胞起作用的情况下, 为这些化合物的抗肿瘤作用提供替代性标志。

[0011] 本发明人借助于 DNA 微阵列法, 分析了在使 E7070 及其相关化合物作用于对这些抗癌药剂敏感的肿瘤细胞时引起的基因表达改变, 并发现了由这些抗癌药剂共同引起的基因表达改变。

[0012] 进而他们还发现, 在这些基因中, 存在显示出三种癌共有的表达改变的基因, 并发

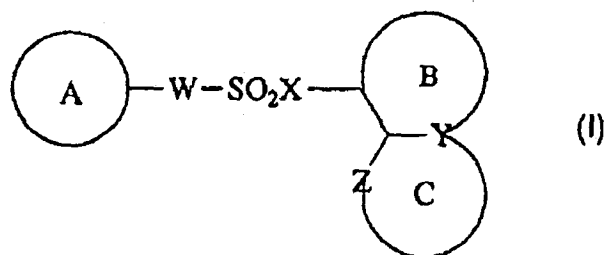
现这些基因的表达改变,可以为 E7070 及其相关化合物的抗肿瘤作用用作替代性标志,至此完成了本发明。

[0013] 本发明提供了如下内容。

[0014] 1. 一种试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法,它包括:

[0015] 1) 测定肿瘤细胞中选自列举于表 3 和表 4 中的一种或多种基因的表达水平,该肿瘤细胞是从以如下通式 (I) 表示的抗癌药剂治疗的癌症病人采集的:

[0016]



[0017] 其中 A 代表单环或双环芳香族环,它可被取代, B 代表 6 元不饱和烃环,或者是含有 1 个氮原子作为杂原子的 6 元不饱和杂环,此二种环都可被取代,

[0018] C 代表含有 1 个或 2 个氮原子的 5 元杂环,它可被取代,

[0019] W 代表一个单键或 $-\text{CH}=\text{CH}-$,

[0020] X 代表 $-\text{N}(\text{R}^1)-$ 或氧原子,

[0021] Y 代表碳原子或氮原子,

[0022] Z 代表 $-\text{N}(\text{R}^2)-$ 或氮原子,以及

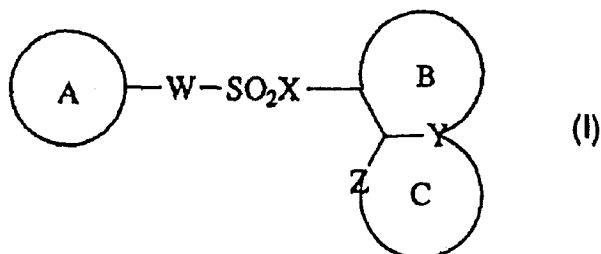
[0023] R^1 和 R^2 可以相同或者不同,各代表一个氢原子或低级烷基,以及

[0024] 2) 与用该抗癌药剂治疗前从癌症病人采集的肿瘤细胞中基因的表达水平相比较,当列举于表 3 中的一种或多种基因的表达水平提高时,或者当列举于表 4 中的一种或多种基因的表达水平降低时,可确定该肿瘤细胞对此抗癌药剂是敏感的。

[0025] 2. 一种试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法,它包括:

[0026] 1) 使抗癌药剂作用于从癌症病人采集的肿瘤细胞,该抗癌药剂可用如下通式 (I) 表示:

[0027]



[0028] 其中 A 代表单环或双环芳香族环,它可被取代, B 代表 6 元不饱和烃环,或者是含有 1 个氮原子作为杂原子的 6 元不饱和杂环,此二种环都可被取代,

[0029] C 代表含有 1 个或 2 个氮原子的 5 元杂环,它可被取代,

[0030] W 代表一个单键或 $-\text{CH}=\text{CH}-$,

[0031] X 代表 $-\text{N}(\text{R}^1)-$ 或氧原子,

- [0032] Y 代表碳原子或氮原子,
- [0033] Z 代表 $-N(R^2)-$ 或氮原子, 以及
- [0034] R^1 和 R^2 可以相同或者不同, 各代表一个氢原子或低级烷基,
- [0035] 2) 测定肿瘤细胞中选自列举于表 3 和表 4 中的一种或多种基因的表达水平, 以及
- [0036] 3) 与未被处理的肿瘤细胞的基因表达水平相比较, 当列举于表 3 中的一种或多种基因的表达水平提高时, 或者当列举于表 4 中的一种或多种基因的表达水平降低时, 可确定该肿瘤细胞对此抗癌药剂是敏感的。
- [0037] 3. 根据 1 或 2 的方法, 其中是使用 DNA 微阵列, 通过定量一种或多种 RNA 来测定一种或多种基因的表达水平, 此 RNA 是该一种或多种基因的转录产物。
- [0038] 4. 根据 1 或 2 的方法, 其中是借助于定量 PCR 法, 通过定量一种或多种 RNA 来测定一种或多种基因的表达水平, 此 RNA 是该一种或多种基因的转录产物。
- [0039] 5. 一种用于定量 RNA 的试剂, 该 RNA 在 4 中规定的方法中使用, 所述试剂包含与此 RNA 互补的寡核苷酸作为成分。
- [0040] 6. 根据 1 或 2 的方法, 其中是借助于免疫化学方法, 通过定量一种或多种蛋白质来测定一种或多种基因的表达水平, 此蛋白质是该一种或多种基因的基因产物。
- [0041] 7. 根据 6 的方法, 其中是借助于酶联免疫吸附测定法, 通过定量一种或多种蛋白质来测定一种或多种基因的表达水平, 此蛋白质是该一种或多种基因的基因产物。
- [0042] 8. 根据 6 的方法, 其中是借助于蛋白质印迹试验, 通过定量一种或多种蛋白质来测定一种或多种基因的表达水平, 此蛋白质是该一种或多种基因的基因产物。
- [0043] 9. 一种用于在 6 中所规定方法的免疫检测试剂, 它包含一种针对所述蛋白质的抗体作为成分。
- [0044] 10. 根据 1 或 2 的方法, 其中 A 代表可被取代的苯或吡啶, B 代表可被取代的苯, C 代表可被取代的吡咯, W 代表一个单键, 以及 X 和 Z 都代表 $-NH-$ 。

附图说明:

- [0045] 图 1 显示使用 E7070 得到的, 细胞株 HCT116-C9, HCT116-C9-C1, LX-1 和 LX-1-E2 的细胞生长抑制曲线。
- [0046] 图 2 显示借助于定量 PCR 法对 E7070 敏感株 HCT116-C9 的基因表达变异的分析结果。
- [0047] 图 3 显示借助于定量 PCR 法对 E7070 敏感株 LX-1 的基因表达变异的分析结果。
- [0048] 图 4 显示借助于定量 PCR 法对 E7070 抗性株 HCT116-C9-C1 的基因表达变异的分析结果。
- [0049] 图 5 显示借助于定量 PCR 法对 E7070 抗性株 LX-1-E2 的基因表达变异的分析结果。

具体实施方式:

- [0050] 随后将详细论述本发明的实施方案。
- [0051] 本发明的试验方法其特征在于, 当肿瘤细胞以体内或体外试验被暴露于抗癌药剂时, 将所引起的肿瘤细胞中基因的表达水平改变用作该肿瘤细胞对该抗癌药剂敏感性的指标。

[0052] 因此,本发明第一个实施方案的试验方法包括如下步骤,1) 测定选自列举于表 3 和表 4 中肿瘤细胞的一种或多种基因的表达水平,该肿瘤细胞是从以通式 (I) 表示的抗癌药剂治疗的癌症病人采集的,以及 2) 与用该抗癌药剂治疗前从癌症病人采集的肿瘤细胞的基因表达水平相比较,当列举于表 3 中的一种或多种基因的表达水平提高时,或者当列举于表 4 中的一种或多种基因的表达水平降低时,可确定该肿瘤细胞对此抗癌药剂是敏感的。

[0053] 更进一步地,本发明第二实施方案的试验方法包括如下步骤,1) 使以通式 (I) 表示的抗癌药剂作用于从癌症病人采集的肿瘤细胞,2) 测定肿瘤细胞中选自列举于表 3 和表 4 中的一种或多种基因的表达水平,以及 3) 与未被治疗的肿瘤细胞的基因表达水平相比较,当列举于表 3 中的一种或多种基因的表达水平提高时,或者当列举于表 4 中的一种或多种基因的表达水平降低时,可确定该肿瘤细胞对此抗癌药剂是敏感的。

[0054] 用于本发明的抗癌药剂是一种以通式 (I) 表示的磺酰胺衍生物或磺酸酯衍生物。

[0055] 通式 (I) 中,以 A 表示的“可被取代的单环或双环的芳香族环”是芳香烃环或者是含有至少一个氮、氧和硫原子的芳香杂环,其每种环上可有 1-3 个取代基。包含在环 A 中的这类芳香族环的实例包括:吡咯、吡唑、咪唑、噁吩、呋喃、噻唑、噁唑、苯、吡啶、嘧啶、吡嗪、哒嗪、萘、喹啉、异喹啉、2,3-二氮杂萘、1,5-二氮杂萘、喹喔啉、喹唑啉、肉啉、吡啶、异吡啶、中氮茛、吡啶、苯并呋喃、苯并噁吩、苯并噁唑、苯并咪唑、苯并吡唑、苯并噻唑等等。它们可有 1-3 个取代基。当存在二个以上取代基时,它们可以相同或不同。取代基的实例包括:可被低级烷基或低级环烷基取代的氨基;低级烷基;低级烷氧基;羟基;硝基;巯基;氰基;低级硫代烷基;卤素;以化学式 $-a-b$ 表示的基团 [其中 a 代表单键, $-(CH_2)_k-$, $-O-(CH_2)_k-$, $-S-(CH_2)_k-$ 或 $-N(R^3)-(CH_2)_k-$ (k 是 1-5 的整数, R^3 代表一个氢原子或低级烷基), b 代表 $-CH_2-d$ (其中 d 代表可被低级烷基取代的氨基,卤素,羟基,低级硫代烷基,氰基或低级烷氧基)];以化学式 $-a-e-f$ 表示的基团 [其中 a 具有同上规定的含义, e 代表 $-S(O)-$ 或 $-S(O)_2-$, f 代表可被低级烷基或低级烷氧基取代的氨基,低级烷基,三氟甲基, $-(CH_2)_m-b$ 或 $-N(R^4)-(CH_2)_m-b$ (其中 b 具有同上规定的含义, R^4 代表一个氢原子或低级烷基, m 是 1-5 的整数)];以化学式 $-a-g-h$ 表示的基团 [其中 a 具有同上规定的含义, g 代表 $-C(O)-$ 或 $-C(S)-$, h 代表可被低级烷基取代的氨基,羟基,低级烷基,低级烷氧基, $-(CH_2)_n-b$ 或 $-N(R^5)-(CH_2)_n-b$ (其中 b 具有同上规定的含义, R^5 代表一个氢原子或低级烷基, n 是 1-5 的整数)];以化学式 $-a-N(R^6)-g-i$ 表示的基团 [其中 a 和 g 具有同上规定的含义, R^6 代表一个氢原子或低级烷基, i 代表一个氢原子,低级烷氧基或 f (f 具有同上规定的含义)];以化学式 $-a-N(R^7)-e-f$ 表示的基团 (其中 a, e 和 f 具有同上规定的含义, R^7 代表一个氢原子或低级烷基);以及以化学式 $-(CH_2)_p-j-(CH_2)_q-b$ 表示的基团 (其中 j 代表一个氧原子或硫原子, b 具有同上规定的含义, p 和 q 可以相同或不同,各代表 1-5 的整数) 等等。

[0056] 当取代基是一个以二个烷基取代的氨基时,此二个烷基可能结合形成 5- 或 6- 元环。并且,为 A 是带有羟基或巯基的含氮杂环时,这些基团通过共振可能以氧代基团或硫代基团的形式存在。

[0057] 以 B 表示的“可被取代的 6- 元不饱和烃环或含有 1 个氮原子作杂原子的 6- 元不饱和杂环”,指的是可被部分氢化的苯或吡啶。在这种环上可有 1 个或 2 个取代基,当存在二个取代基时,它们可以相同或不同。

[0058] 以 C 表示的“可被取代的含有 1 个或 2 个氮原子的 5-元杂环”，指的是可被部分氢化的吡咯，吡唑或咪唑。在这种环上可有 1 个或 2 个取代基，当存在二个取代基时，它们可以相同或不同。

[0059] 环 B 和 C 可能具有的取代基包括例如：卤素；氰基；低级烷基；低级烷氧基；羟基；氧基；以化学式 $-C(O)-r$ 表示的基团（其中 r 代表氢原子，可被低级烷基取代的氨基，低级烷基，低级烷氧基或羟基）；被低级烷基取代的氨基；以及三氟甲基等。

[0060] 在通式 (I)，以 R^1 和 R^2 限定的低级烷基以及环 A、B 和 C 可具有的取代基，指的是具有 1-6 个碳原子的线性或支链烷基，其例子包括：甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基，异丁基，仲丁基，叔丁基，正戊基，异戊基，新戊基，叔戊基，1-甲基丁基，2-甲基丁基，1,2-二甲基丙基，正己基，异己基，1-甲基戊基，2-甲基戊基，3-甲基戊基，1,1-二甲基丁基，1,2-二甲基丁基，2,2-二甲基丁基，1,3-二甲基丁基，2,3-二甲基丁基，3,3-二甲基丁基，1-乙基丁基，2-乙基丁基，1,1,2-三甲基丙基，1,2,2-三甲基丙基，1-乙基-1-甲基丙基，以及 1-乙基-2-甲基丙基等。其中优选的是甲基，乙基，正丙基，异丙基，正丁基和异丁基，而最优选的是甲基，乙基，正丙基和异丙基。

[0061] 在 A 环可能具有的取代基限定中所叙述的低级环烷基，指的是具有 3-8 个碳原子的环烷基，其实例包括环丙基，环戊基和环己基等。

[0062] 在 A、B 和 C 环可能具有的取代基限定中所叙述的低级烷氧基，指的是从上述低级烷基衍生的烷氧基，例如甲氧基，乙氧基，正丙氧基，异丙氧基，正丁氧基，异丁氧基和叔丁氧基。其中甲氧基和乙氧基是最优选的。低级硫代烷基指的是从上述低级烷基衍生的硫代烷基。此外，卤素的实例包括氟、氯和溴等。

[0063] 以通式 (I) 表示的磺酰胺衍生物或磺酸酯衍生物可同酸或碱形成盐。用于本发明的抗癌药剂也包括以通式 (I) 表示的化合物的盐。与酸所形成盐的实例包括与无机酸的盐例如盐酸盐，氢溴酸盐和硫酸盐，与有机酸例如乙酸，乳酸，琥珀酸，富马酸，马来酸，柠檬酸，苯甲酸，甲磺酸和对甲苯磺酸的盐，与碱所形成盐的实例包括与无机碱的盐例如钠盐，钾盐和钙盐，以及与有机碱例如三乙胺，精氨酸和赖氨酸的盐。

[0064] 不用说，该化合物包括这些化合物的水合物和光学异构体，如果它们存在。用于本发明的抗癌药剂显示出高度抗肿瘤活性，并且该抗癌药剂还包括在体内经过代谢作用如氧化，还原，水解和共轭结合而表现出抗肿瘤活性的化合物。此外，用于本发明的抗癌药剂还包括在体内经过代谢作用如氧化、还原和水解而形成以通式 (I) 所表示化合物的那些化合物。

[0065] 测定其敏感性的肿瘤细胞并不特别局限，只要它们对以通式 (I) 表示的抗癌药剂是敏感的。其实例包括从如下肿瘤获得的肿瘤细胞：结肠癌，肺癌，乳腺癌，白血病，胰腺癌，肾癌，黑素瘤，恶性淋巴瘤，头部和颈部癌，以及胃癌等。

[0066] 从癌症病人采集的肿瘤细胞，包括包含在从该癌症病人分离出的癌组织中的肿瘤细胞。

[0067] 在第一实施方案的试验方法中，从癌症病人采集的肿瘤细胞，可以是使用通式 (I) 表示的抗癌药剂治疗的癌症病人采集的肿瘤细胞，在此是用可以测定该肿瘤细胞敏感性的剂量进行治疗。通常使用从以 100-1500mg 剂量治疗 1-14 天的癌症病人采集的肿瘤细胞。

[0068] 在第二实施方案的试验方法中，只要可以测定肿瘤细胞的敏感性，用于使通

式 (I) 表示的抗癌药剂作用于从癌症病人采集的肿瘤细胞的条件下不受限制,通常在含有 0.01-10 μ M 浓度该抗癌药剂的培养基中实施培养 6-72 小时。

[0069] 通过定量作为基因转录产物的 RNA 或者定量作为基因产物的蛋白质,可以测定基因表达水平。通常,通过从肿瘤细胞中提取 RNA 或蛋白质并定量测定提取物中的 RNA 或蛋白质,可以对此 RNA 或蛋白质作定量分析。随后,如下实例:1. RNA 或蛋白质的提取,2. RNA 的定量,3. 蛋白质的定量,将按此顺序加以详细说明。

[0070] 1. RNA 或蛋白质的提取

[0071] 1) 从以通式 (I) 表示的抗癌药剂治疗的病人癌组织中提取 RNA 或蛋白质。

[0072] 通过活组织检查或类似方法从以通式 (I) 表示的抗癌药剂治疗的病人采集癌组织,然后通过下述方法从癌组织中提取 RNA 或蛋白质。

[0073] 可按照通常的 RNA 提取法提取 RNA。例如,可通过使用 TRIZOL 试剂(东方生命技术公司)或类似试剂,按照所附的操作手册进行提取。具体地说,以每 50-100mg 癌组织/1ml TRIZOL 试剂,用 Teflon 匀浆器将癌组织作成匀浆。离心此混合液(4°C, 12000xg, 10 分钟),将所得到的上清液在室温下放置 5 分钟,然后对每 1ml 所使用的 TRIZOL 试剂加入氧仿 0.2ml。通过震荡强烈地搅拌所形成的溶液 15 秒,在室温下放置 2-3 分钟,然后离心(4°C, 12000xg, 15 分钟)。离心之后将含水层转移至另一试管,并对每 1ml 所使用的 TRIZOL 试剂加入异丙醇 0.5ml。将此混合液在室温下放置 10 分钟后离心(4°C, 12000xg, 10 分钟)。用 75% 乙醇洗涤所得到的沉淀物,空气干燥后可作为总 RNA 用于随后的操作。

[0074] 可按照在如下著作中所叙述的方法从癌组织中提取蛋白质: Bollag, D. M., Rozycki, M. D., Edelstein S. J, 蛋白质方法, 1996, Wiley-Liss, 公司 New York, U. S. A.; Walker, J. M, 蛋白质手册, 1996, Humana 出版社, New Jersey, USA, ; 以及其它。

[0075] 2) 从存在通式 (I) 所表示的抗癌药剂时培养的癌细胞中提取 RNA 或蛋白质。

[0076] 按常规方法通过活组织检查或类似途径从病人获得的癌组织中分离出癌细胞(肿瘤细胞)。例如,按照 Hamburger 等的方法(Hamburger A, Salmon S. E, Kim M. B, Trent J. m, Soehnlen B. J, Alberts D. S 和 Schmidt H. T. 癌研究 38, 3438-3443, 1978), 先无菌绞碎获得的组织,然后通过使用不锈钢网,注射针,尼龙网等制备细胞悬液。将获得的细胞在适当的培养基(例如含有 10-15% 胎牛血清(FCS)的 RPMI-1640, MEM, McCoy 培养基等)中培养。在 5% CO₂ 的条件下,在有通式 (I) 所表示的抗癌药剂存在时,将获得的癌细胞 37°C 培养适当的时间,优选的是 3, 6, 12 或 24 小时,更优选的是 12 小时,然后通过下述方法提取 RNA 或蛋白质。并且还可以通过采用软琼脂培养法,只从借助活组织检查或类似途径获得的组织中特异性地分离出癌细胞供使用(Hamburger A, 和 Salmon S. E. 科学 197, 461-463, 1977; Hamburger A, 和 Salmon S. E. 临床研究杂志 60, 846-854, 1977; VonHoff D. D. 和 Johnson. G. E, 美国癌症研究协会报告 20, 51, 1979)。

[0077] 可以按照通常的 RNA 提取法,像从癌组织中提取 RNA 一样从癌细胞中提取 RNA。例如,当使用 TRIZOL 试剂(东方生命技术公司)时,可按照所附的操作手册进行提取。具体地说,每 5-10 \times 10⁶ 个癌细胞加入 1ml TRIZOL 试剂,然后可以像从癌组织中提取 RNA 一样进行同样的操作。

[0078] 也可以按照文献中所述的方法,像从癌组织中提取一样实施从癌细胞中提取蛋白质。

[0079] 2. RNA 的定量

[0080] 借助于 RNA 印迹分析, DNA 微阵列分析, RT-PCR 和定量 PCR 等技术可对 RNA 作定量分析。优选的是使用 DNA 微阵列或定量 PCR。下面将对这些技术进行说明, 但是本发明并不局限于这些技术。

[0081] 按如下所述通过使用 DNA 微阵列进行定量。首先, 通过使用所获得的 RNA 作模板, 并使用 SuperScript 选择系 (东方生命技术公司) 和 T7-d(T)₂₄ 引物合成双链 cDNA。随后, 通过使用此 cDNA 作模板合成生物素化的 cRNA。

[0082] 更具体地说, 首先通过使用 T7-d(T)₂₄ 引物从所获得的 RNA 合成单链 DNA。然后对其加入 dNTP, DNA 连接酶, DNA 聚合酶 I 和 RNA 酶 H, 使它们起反应, 并且对其再加入 T4DNA 聚合酶 I 以便完成双链 cDNA 的合成。先纯化所获得的 cDNA, 然后通过使用 RNA 转录标记试剂盒 (Enzo 诊断试剂) 加入生物素化的 UTP 和 CTP, 使之进行标记反应。纯化此反应产物, 在 200mM Tris/ 乙酸 (PH8. 1), 150mM 乙酸镁, 50mM 乙酸钾内 94°C 加热 35 分钟, 以便获得成为片段的 cRNA。

[0083] 使此成为片段的 cRNA 与 Gene Chip (基因芯片) Hu6800 (Affymetrix) 或更新产物杂交, 例如, 在 100mM MES, 1M 钠盐, 20mM EDTA, 0. 01% 吐温 20 内 45°C 杂交 16 小时。杂交之后, 洗涤此基因芯片并按照联接在 Affymetrix 流控技术站 (Affymetrix Fluidics Station) 的 EUKGE-WS2 方案染色。链霉亲和素-藻红素以及生物素化羊抗链霉亲和素抗体被用于染色。可通过使用 HP 氩离子激光共聚焦扫描仪 (Hewlett packard) 扫描被染色的基因芯片来测定其荧光强度。当使用这种荧光染料时, 通过使用 488nm 激发光在 570nm 测定荧光。

[0084] 优选的是应用基因芯片软件 (Affymetrix) 作定量数据分析处理。为了定量分析 RNA, 对于每个探针系列可得到一个“差异 [(完美匹配杂交信号) - 错配信号]”的平均值。当此值为 50 或高于 50 时, 并且在二种状态下获得的 RNA 定量值发生偏离, 优选地是当它们偏离 1. 8 倍或更多时, 则可确定该基因表达已显著“提高”或“降低”。

[0085] 当列举于表 3 中的一种或多种基因的 RNA 水平提高时, 或者当列举于表 4 中的一种或多种基因的 RNA 水平降低时, 则可确定此肿瘤细胞对该抗癌药剂是敏感的。

[0086] 此外, 通过使用 SYBR Green 和 ABI Prism 7700 序列检测系统 (Perkin Elmer 应用生物系统) 按如下所述实施定量 PCR。

[0087] 按逆转录反应和 PCR 反应二步进行操作。通过对所获得的 RNA 加入 dNTP, 寡 d(T)₁₆ 引物, RNA 酶抑制剂混合物和多录逆转录酶 (Perkin-Elmer 应用生物系统), 将此混合物保持在 25°C 10 分钟, 然后在 48°C 加热混合物 30 分钟, 这样就实施了作为第一步的逆转录反应。在 95°C 加热 5 分钟使反应终止。

[0088] 使获得的 cDNA 进行作为第二步的 PCR 反应。例如, 在由如下成分组成的反应系统中进行此 PCR 反应: 4ng cDNA, 1×SYBR PCR 缓冲液, 3mM MgCl₂, dATP, dCTP 和 dGTP 各 200 μ M, 400 μ M dUTP, 200nm 引物对 0. 01U/μ l AmpEr 酶 UNG, 以及 0. 025U/μ l AmpliTaq Gold DNA 聚合酶 (Perkin-Elmer 应用生物系统)。例如, 可按如下程序实施此 PCR 反应, 先在 50°C 反应 2 分钟, 在 95°C 反应 10 分钟, 随后进行 95°C 20 秒, 55°C 20 秒和 72°C 30 秒的反应循环, 循环重复 40 次。例如, 可通过使用 Primer Expression (Perkin-Elmer 应用生物系统) 来设计引物和探针。为了比较二个或更多的样品, 对于每个样品都通过应用持家基因的 mRNA 水平将定量值校正成为转录量后再使用, 这种基因表现出很小的转录量变异, 优

选地是应用 GAPDH 的 mRNA 水平。

[0089] 当列举于表 3 中的一个或几个基因的 RNA 水平提高,或者列举于表 4 中的一个或几个基因的 RNA 水平降低时,可确定该肿瘤细胞对此抗癌药剂是敏感的。

[0090] 本发明还提供了一种本发明试验方法中使用的定量 RNA 的试剂,它包含互补于一种 RNA 的寡核苷酸作为一种成分,此 RNA 是其表达水平将被测定的一种基因的转录产物。作为成分包含的这种寡核苷酸是用于定量 PCR 的引物和 / 或探针,并且可以如上所述被设计。除了上述寡核苷酸之外,本发明的 RNA-定量试剂还可以包含常规用于普通定量试剂的成分。

[0091] 3. 蛋白质的定量

[0092] 虽然基于其活性或抗原性都可以定量分析蛋白质,但优选的是基于抗原性的定量法,即免疫化学定量法,免疫化学定量法可被方便、广泛地应用于蛋白质。

[0093] 至于针对蛋白质的抗体,根据 Parker 等的报导 (parker. J. M. R, Guo D, Hodges R. S, 生物化学 25,5425,1986) 或 Karplus 等的报导 (Karplus P. A, Schulz G. E, Naturwissenschaften72,212,1985),从氨基酸序列可预测抗原决定簇来合成肽。另一方面是融合蛋白,例如,可表达与谷胱甘肽合成酶 (GST) 的融合蛋白,并可通过使用谷胱甘肽柱纯化来产生抗原,然后用获得的抗原免疫家兔或小鼠等动物来产生多克隆抗体或优选地产生单克隆抗体 (Harlow E, Lane D, 抗体:实验室手册,1988,冷泉港实验室出版社,纽约)。并且,当有市场上能买到的抗体可利用时,在证实了它们的特异性之后也可以使用。

[0094] 通过使用所获得的抗体,可实施酶联免疫吸附测定 (ELISA) 或放射免疫测定 (RIA) 来定量蛋白质,例如借助于酶免疫测定法 (IshikawaE 等, Igakushoin,1982) 或在 Ishikawa E, Kawai T, Miyai K, 酶免疫测定, Igekushoin, Tokyo, New York, 1981 中所述的方法。当蛋白质是从肿瘤细胞分泌出时,可以不用从肿瘤细胞中提取蛋白质而定量培养基中的蛋白质。

[0095] 当列举于表 3 中的一种或多种基因的蛋白质水平提高,或者列举于表 4 中的一种或多种基因的蛋白质水平降低时,可确定该肿瘤细胞对此抗癌药剂是敏感的。

[0096] 本发明还提供了用于本发明试验方法的免疫测定试剂,它包含一种针对该蛋白质的抗体作为成分。用作成分的抗体可如上所述获得。除了上述抗体之外,本发明的免疫测定试剂还可含有常规用于普通的免疫测定试剂中的成分。

[0097] 实施例

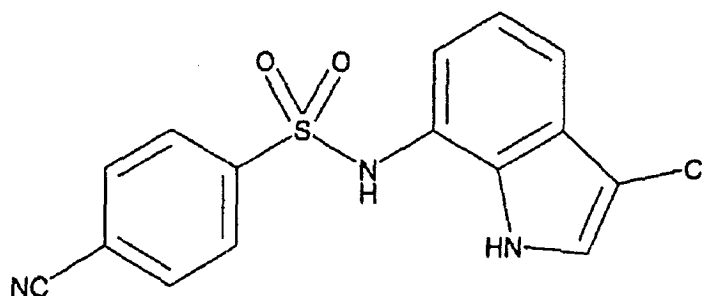
[0098] 此后,将参照下面特定的实施例对本发明作更具体的说明。但是,本发明并不局限于这些实施例。

[0099] 实施例 1 E7070 敏感株和 E7070-抗性株的培养以及 RNA 的提取

[0100] 所有的细胞都是在补充了 10%胎牛血清,100 单位 /ml 青霉素和 100 μ g/ml 链霉素的 RPMI-1640 培养基中 5% CO₂ 之下 37°C 培养。

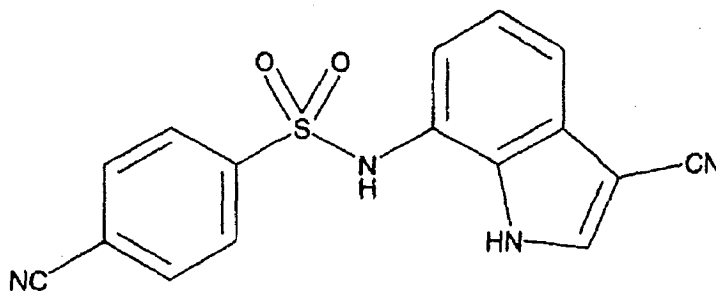
[0101] 将 E7070 或者如下所示结构式表示的 ER-35748 或 ER-68487 以 8 μ M 的浓度加到 E7070-敏感株 HCT116-C9 和 E7070-抗性株 HCT116-C9-C1 的培养基中,培养这些细胞。然后在 0、3、6 和 12 小时之后收获细胞。而且还在不加入药物时将这此细胞培养 12 小时,并收获细胞。

[0102]



[0103] ER-35748

[0104]



[0105] ER-68487

[0106] 从这些细胞中提取出总 RNA, 并随后对此 RNA 进行分析。应用实施例 2 中所述的 DNA 微阵列法, 将从与药物共同培养 12 小时的细胞中提取的 RNA, 以及从不加入药物培养 12 小时的细胞中提取的 RNA 用于基因表达分析。HCT116-C9 是从来源于人结肠癌的 HCT116 中分离出的亚株 (美国模式菌种保藏中心), 而 HCT116-C9-C1 是 E7070 抗性亚株, 是通过在有逐渐增加浓度的 E7070 存在时培养这种 HCT116-C9 得到的。

[0107] 类似地, 将 E7070 以 $8\ \mu\text{M}$ 的浓度加到 E7070-敏感株 LX-1 和 E7070-抗性株 LX-1-E2 的培养基中, 培养这些细胞。在 0, 3, 6 和 12 小时之后收获细胞。从这些细胞中提取出总 RNA, 并随后对此 RNA 进行分析。LX-1 (日本癌研究基地化学治疗中心, 日本东京) 是来源于人小细胞肺癌的细胞, 而 LX-1-E2 是 E7070-抗性亚株, 是通过在有逐渐增加浓度的 E7070 存在时培养这种 LX-1 得到的。

[0108] 将这些有效的细胞株 HCT-116-C9, HCT116-C9-C1, LX-1 和 LX-1-E2 加入 E7070 培养 72 小时。借助于 MTT 法 (Mosmann T. 免疫学方法杂志 65, 55 (1983)) 测定的细胞生长抑制曲线被显示在图 1 中。实际操作是通过应用 96 孔滴定板非放射性细胞增殖测定法 (Promeg, Madison, WI), 按照所附的操作手册进行。

[0109] 总 RNA 是通过使用 TRIZOL 试剂 (东方生命技术公司), 按照所附的操作手册从收获的细胞中提取出。

[0110] 实施例 2 使用 DNA 微阵列作基因表达分析

[0111] 1) 合成 cDNA 和生物素化的 cDNA

[0112] 将实施例 1 中获得的每种 RNA 溶解于以二乙基焦碳酸盐 (DEPC) 处理的无菌水 $100\ \mu\text{l}$ 中, 并通过使用 Rneasy 柱 (QIAGEN) 作进一步纯化, 而且通过使用 Superscript 选择系统 (东方生命技术公司) 和 T7-d(T)₂₄ 引物合成了双链 cDNA。

[0113] 首先, 将 $5\ \mu\text{M}$ T7-d(T)₂₄ 引物, 1X 第一链缓冲液, 10mM DTT, $500\ \mu\text{M}$ dNTP 混合物和 20 单位 / μl Super Script II 逆转录酶加到 $10\ \mu\text{g}$ RNA 中, 使此混合物在 42°C 反应 1 小

时以便合成单链 DNA。随后,对此 DNA 加入 1X 第二链缓冲液,200 μ M dNTP 混合物,67U/ml DNA 连接酶,270U/ml DNA 聚合酶 I 和 13U/ml RNA 酶 H,使此混合物在 16°C 反应 2 小时以便合成双链 cDNA。进而,对此 cDNA 加入 67U/ml T4DNA 聚合酶 I,并使该混合物在 16°C 反应 5 分钟,然后加入 10 μ l 0.5M EDTA 终止反应。

[0114] 用酚/氯仿纯化获得的 cDNA,并通过使用 RNA 转录标记试剂盒 (Enzo 诊断),按照所附的操作手册以生物素化的 UTP 和 CTP 实施标记反应。用 Rneasy 柱纯化此反应产物,并在 200mM Tris/ 乙酸盐缓冲液 (pH8.1),150mM 乙酸镁,50mM 乙酸钾中 94°C 加热 35 分钟以便获得 cRNA 片段。

[0115] 2) 与 DNA 微阵列 (基因芯片) 杂交并进行测定

[0116] 在 100mM MES,1M 钠盐,20mM EDTA 和 0.01% 吐温 20 中使已经成为片段的 cRNA 与基因芯片 Hu6800 (Affymetrix) 45°C 杂交 16 小时。杂交之后,洗涤此基因芯片并按照联接在 Affymetrix 流控技术站的 EuKGE-WS2 方案染色。链霉亲和素-藻红素以及生物素化羊抗链霉亲和素抗体被用于染色。通过使用 HP 氢离子激光共聚焦扫描仪 (HewlettPackard) 扫描被染色的基因芯片以便测定其荧光强度。使用 488nm 激发光在 570nm 测定荧光。

[0117] 通过使用基因芯片软件 (Affymetrix) 进行全部定量数据分析。

[0118] 为了定量分析 RNA,对于每个探针系列获得了一个“差异 [(完美匹配杂交信号)-错配信号]”的平均值。当此值为 50 或高于 50 时,并在二种状态下测定的 RNA 定量值发生偏离,优选地是它们偏离了 1.8 倍或更多时,可确定该基因表达已显著“提高”或“降低”。

[0119] 以 8 μ M 的浓度将 E7070 或者 ER-35748 或 ER-68487,加到用于 HCT116-C9 的培养基中并进行培养。将从培养 12 小时的这种细胞中提取的 RNA 通过使用基因芯片的分析结果,同除了不加入药物之外其余以相同方式获得的 HCT116-C9 细胞的 RNA 分析结果作了比较。结果,通过以 3 种类型的药物, E7070, ER-35748 和 ER-68487 处理,其表达水平都提高的基因名单被显示在表 1 中 (基因库注册号也被显示 (相同的情况将用于在下面显示的其它表格中))。类似地,通过以此 3 种类型药物处理,其表达水平都降低的基因名单被显示在表 2 中。

[0120] 表 1

[0121]

注册号	基因名称
D59253	NCBP 相互作用蛋白 1
D78514	遍在蛋白-共轭结合酶
D83767	Rep-8
HG1139-HT4910	Fk506 结合蛋白
HG3484-HT3678	Cdc 样激酶 1 (clk1)
J04152	肿瘤相关抗原 GA733-1, M1S1
M21154	S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶
M60724	P70 核蛋白体 S6 激酶 α -1
M84349	跨膜蛋白 CD59
S61953	C-ErbB3 受体酪氨酸激酶
U52960	RNA 聚合酶 II 配位成分 SRB7
U84720	输出蛋白 RAE1
U92014	缺损海员转座子 Hsmar2 (Defective mariner transposon)
Z18951	凹陷蛋白

[0122] 表 2

[0123]

注册号	基因名称
AB000409	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 MNK1
AB000450	推定的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 VRK2
AB002380	白血病相关的 Rho GEF
AB003102	蛋白体 26S 亚单位 P44.5
AC002045	CIT987SK-A-589H1
AF002020	Niemann-Pick C 病蛋白 (Npc1)
AF008445	磷脂翻转酶 (Scramblase)
D00723	氨载体蛋白, 甘氨酸合成酶
D14659	KIAA0103
D21852	KIAA0029

[0124] 表 2(续)

[0125]

注册号	基因名称
D26535	二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶
D28364	Annexin II
D29677	KIAA0054
D29810	无名产物
D29956	遍在蛋白特异性蛋白酶 8
D30756	KIAA0049
D31883	连接肌动蛋白的 LIM 蛋白
D32002	核帽结合蛋白
D38521	KIAA0077
D38552	KIAA0073
D38553	KIAA0074
D43947	KIAA0100
D43948	Ch-TOG
D50645	SDF2
D50663	Dynein (TCTEL1)
D50912	RNA 结合基元蛋白 10
D50916	遍在蛋白作用因子 E4A
D61391	PAP39
D63480	KIAA0146
D63506	突触前膜蛋白结合蛋白 3
D63875	含 TPR 的 /SH ₂ -结合蛋白
D63880	KIAA0159
D78586	多功能蛋白 CAD
D79983	KIAA0161
D79987	KIAA0165
D79988	KIAA0166
D79991	KIAA0169
D83776	KIAA0191
D83781	KIAA0197
D84307	磷酸乙醇胺胞苷基转移酶

[0126] 表 2(续)

[0127]

注册号	基因名称
D86981	淀粉样前体蛋白结合蛋白 2
D87435	KIAA0248
D87446	KIAA0257
D87448	DNA 拓扑异构酶 II 结合蛋白
D87743	溶质载体系列 9
HG1869-HT1904	雄性增强抗原
HG2379-HT3996	丝氨酸羟甲基转移酶 (细胞液的)
HG4094-HT4364	转录因子 Lsf-Id
J04088	DNA 拓扑异构酶 II (top2)
J04501	肌糖原合成酶
J04543	会合素 (Synexin)
L06845	磺基 tRNA 合成酶
L07033	羟甲基戊二酰-辅酶 A 裂合酶
L07540	复制因子 C, 36-KDa 亚单位
L07597	核糖体蛋白 S6 激酶 2
L07758	IEF SSP 9502
L21936	琥珀酸脱氢酶黄素蛋白亚单位
L25444	TAFII70- α
L25931	野芝麻花碱 B 受体 (Lamin)
L33075	Ras GTP 酶激活样蛋白 IQGAP1
L33881	蛋白激酶 C1 异型
L38810	蛋白体 26S 亚单位 P45 (proteasome)
L40395	真核起源因子 2B- β
L41870	成视网膜细胞瘤敏感性蛋白 (RB1)
L47276	平截形 α -拓扑异构酶
M15796	PCNA
M19267	原肌球蛋白
M22632	线粒体天冬氨酸氨基转移酶
M23379	GTP 激活蛋白 ras P21
M24486	脯氨酰基 4-羧基酶 α 亚单位

[0128] 表 2(续)

[0129]

注册号	基因名称
M29204	DNA 结合因子
M29550	钙调神经磷酸酶 A1
M30496	遍在蛋白羧基末端水解酶
M33518	HLA-B 相关的转录物 2 (BAT2)
M34309	表皮生长因子受体 HER3
M37400	细胞液天冬氨酸氨基转移酶
M55905	线粒体 NAD (P) + 依赖性苹果酸酶
M58525	儿茶酚-O-甲基转移酶
M59911	整合素 α -3
M61764	r-微管蛋白
M62994	微丝蛋白 B
M74089	TB1
M85085	裂解刺激因子
M86707	肉豆蔻酰辅酶 A: 蛋白 N-肉豆蔻酰转移酶
M87338	复制因子 C, 40-KDa 亚单位 (A1)
M87339	复制因子 C, 37-KDa 亚单位 (RFC4)
M88163	全局转录激活子 (hsNF2/SWI2)
M91432	中间链酰基辅酶 A 脱氢酶 (MCAD)
M92439	亮氨酸富集蛋白
M93056	单核细胞/嗜中性细胞弹性蛋白酶抑制因子
M95809	基础转录因子 62KD 亚单位 (BTF2)
M95929	同源盒蛋白 PHOX1
M97935	转录因子 ISGF-3
S58544	75KDa 不育相关的精子蛋白
S59184	RYK=与受体酪氨酸激酶有关的
S72904	APK1 抗原=MAb KI 识别的
S78085	PDCD2, RP8 相似物
S80343	精氨酰基-tRNA 合成酶 (Arg RS)
U01062	3 型肌醇 1, 4, 5-三磷酸受体

[0130] 表 2(续)

[0131]

注册号	基因名称
U02566	受体酪氨酸激酶 tif
U04285	溶酶体酸脂酶
U06631	H326
U07231	G-富有序列因子-1
U07681	异柠檬酸脱氢酶 3 (NAD ⁺) α
U07919	醛脱氢酶 6 (ALDH6)
U08815	剪接体蛋白 SAP61
U10324	核因子 NF90
U11791	细胞周期蛋白 H
U15174	Nip3
U15306	DNA 结合蛋白 NFX1
U18291	CDC16Hs
U18934	受体酪氨酸激酶 DTK
U20979	染色质集合因子-I p150 亚单位
U22233	甲硫腺苷磷酸化酶
U23028	真核起始因子 2B- ϵ
U23946	LUCA15
U26648	突触前膜蛋白 5A
U27459	起源识别复合蛋白 2 相似物
U27460	尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶
U28413	Cockayne 综合症互补群 A
U28811	半胱氨酸富有成纤维细胞生长因子受体
U28831	具有抗-PTH 免疫活性的 Ab
U28963	Gps2
U30313	二腺苷四磷酸酶
U30521	P311 HUM-3.1
U30827	剪接因子 SRp40-3 (SRp40)
U30828	剪接因子 SRp55-2 (SRp55)
U34252	r-氨基丁醛脱氢酶
U34683	谷胱甘肽合成酶

[0132] 表 2(续)

[0133]

注册号	基因名称
U36341	SLC6A8
U40282	整合素连接的激酶
U46006	平滑肌 LIM 蛋白 (h-SmLIM)
U49844	FRAP 相关的蛋白 (FRP1/ATR)
U50078	鸟嘌呤核苷酸交换因子 P532
U50939	淀粉样蛋白前体蛋白结合蛋白 1
U53468	NADH: 辅酶 Q 氧化还原酶亚单位 B13
U57629	色素性视网膜炎 GTP 酶调节因基
U60808	CDP-二酰基甘油合成酶
U61145	香味增强子相似物 2
U61263	乙酰乳酸合成酶相似物
U63743	有丝分裂着丝粒相关的驱动蛋白 (MCAK)
U65785	氧调节的蛋白 ORP150
U72514	C2f
U72515	C3f
U76764	CD97
U77413	O 连接的 GlcNAc 转移酶
U77949	Cdc6 相关的蛋白 (HsCDC6)
U79241	克隆 23759
U80034	线粒体中介肽酶前体
U81554	CaM 激酶 II 异型
U85611	DNA-PK 相互作用蛋白 (KIP)
U89606	吡哆醛激酶
U90426	核 RNA 蜗牛酶
U94319	转录共激活子 P75 (DFS70)
U95740	362G6.1
U97188	推定的 RNA 结合蛋白 KOC
X06745	DNA 聚合酶 α -亚单位
X13482	U2 snRNP 特异性 A 蛋白
X51956	神经元特异性 (τ) 烯醇酶

[0134] 表 2(续)

[0135]

注册号	基因名称
X53587	整合素 β -4
X54199	GARS-AIRS-GART
X54867	NKG2-A
X59871	T 细胞因子 1
X61100	75KDa 亚单位 NADH 脱氢酶前体
X66364	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 PSSALRE
X68836	S-腺苷甲硫氨酸合成酶
X70476	(外被体) 复合物亚单位
X75535	PxF
X81003	HCG V
X84740	DNA 连接酶 III
X94754	酵母菌甲硫氨酰 tRNA 合成酶相似物
X98248	Sortilin
X99209	精氨酸甲基转移酶
Y08612	Nup88
Y08682	I 型肉碱棕榈酰基转移酶 I
Y13115	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SAK
Z11518	组氨酰 tRNA 合成酶
Z17227	跨膜受体蛋白 CRF2-4
Z46629	SOX9
Z68747	Imogen38

[0136] 对二种 E7070 抗性株 (C9-C1 和另一种用与 C9-C1 相同的方法获得的抗性株 (C9-C4)), 按与上述相同的方式用 $8\mu\text{M}$ E7070 处理 12 小时, 然后通过使用基因芯片对列举于表 1 和表 2 中的基因分析其基因表达的变异。结果, 在此二株细胞中没有观察到提高或降低 1.8 倍或更多一点的基因。

[0137] 根据上述结果, 显然, 通过检测它们每种基因的改变或者它们的二种或更多组合的改变, 可以将以这三种类型抗癌药剂处理其表达水平都发生改变的基因, 用作 E7070 及其相关化合物抗肿瘤作用的替代性标志。

[0138] 实施例 3 借助于定量 PCR 的基因表达分析

[0139] 为了证实实施例 2 中得到的基因表达变异反映了肿瘤细胞对 E7070 的敏感性, 使用实施例 1 中显示的 RNA 以及 SYBR Green 和 ABI 引物 7700 序列检测系统 (Perkin-Elmer 应用生物系统), 通过定量 PCR 测定了 E7070- 敏感细胞和 E7070- 抗性细胞基因表达的改变。

[0140] 操作按逆转录反应和 PCR 反应二步进行。通过如下操作实施作为第一步骤的逆转录反应：先对 1 μ g 总 RNA 加入 1 \times TaqMan RT 缓冲液, 5.5mM MgCl₂, 500 μ M dNTP 混合物, 2.5 μ M 寡 d(T)₁₆ 引物, 0.4U/ μ l RNA 酶抑制剂和 1.25U/ μ l 多录逆转录酶 (Perkin-Elmer 应用生物系统), 将此混合物在 25 $^{\circ}$ C 保持 10 分钟, 然后在 48 $^{\circ}$ C 加热 30 分钟。通过在 95 $^{\circ}$ C 加热 5 分钟终止反应。

[0141] 使所获得的 cDNA 进行作为第二步骤的 PCR 反应, 在由如下组成的反应系统中进行 PCR 反应: 4ng cDNA, 1 \times SYBR PCR 缓冲液, 3mM MgCl₂, dATP、dCTP 和 dGTP 各 200 μ M, 400 μ M dUTP, 200nM 引物对, 0.01U/ μ l AmpEr 酶 UNG 以及 0.025U/ μ l AmpliTaq Gold DNA 聚合酶 (Perkin-Elmer 应用生物系统)。按如下程序实施此 PCR 反应, 先在 50 $^{\circ}$ C 反应 2 分钟, 在 95 $^{\circ}$ C 反应 10 分钟, 随后进行 95 $^{\circ}$ C 20 秒, 55 $^{\circ}$ C 20 秒和 72 $^{\circ}$ C 30 秒的反应循环, 循环重复 40 次。作为其引物, 具有 SEQ ID NOS :1 和 2 核苷酸序列的寡核苷酸被用于 GAPDH, SEQ ID NOS :3 和 4 核苷酸序列被用于 S80343, SEQ ID NOS :5 和 6 核苷酸序列被用于 U07919, SEQ ID NOS :7 和 8 核苷酸序列被用于 U11791, SEQ ID NOS :9 和 10 核苷酸序列被用于 M95809, SEQ ID NOS :11 和 12 核苷酸序列被用于 U18291, SEQ ID NOS :13 和 14 核苷酸序列被用于 U63743, 以及 SEQ ID NOS :15 和 16 核苷酸序列被用于 M61764。

[0142] 通过测定荧光强度定量分析了每个样品中的 mRNA 水平。为了比较二个或更多的样品, 根据每个样品中 GAPDH 的 mRNA 水平对定量值作了校正。在图 2- 图 5 显示出药物处理时间与各 mRNA 水平之间的相互关系, 图中药物处理后 0 小时的定量值被用作对照 (100%)。在具有最高敏感性的 HCT 116-C9 中, 其基因显示出最大的表达变异 (图 2), 而在敏感株 LX-1 中, 除 S80343 外的所有基因都显示出表达变异, 尽管其变异量小于 HCT 116-C9 中的变异量 (图 3)。另一方面, 对于抗性株 HCT 116-C9-C1 未观察到表达变异 (图 4), 而在抗性株 LX-1-E2 中, U11791 显示出表达改变, M95809 和 U18291 显示出轻微的表达改变 (图 5), 此细胞株实验中在 8 μ M 药物浓度下显示出某些生长抑制作用。

[0143] 在实施例 2 中取回的基因, 其表达变异与对 E7070 的敏感性相关连, 并且证实, 实施例 2 中取回的基因可被单独或组合地用作 E7070 及其相关化合物抗肿瘤作用的替代性标志。

[0144] 实施例 4 用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 分析

[0145] 借助于已被报导的 ELISA 法, 检测了在列举于实施例 2 表 2 的基因中 X51956 (对于神经元特异性 (r) 烯醇酶的人 ENO2 基因) 的表达水平, 已报导此基因从细胞中被分泌出 (Duncan M. E, MeAleese S. M, Booth N. A, Melvin W. T, 和 Fothergill J. E, 免疫学方法杂志 151, 227-236, 1992 ; Yamaguchi K Aoyagi K, UrQkami K, Fukutani T., Maki N., Yamamoto S, Otsubo K, Miyake Y, 和 Kodama T. 日本癌研究杂志, 86, 698-705, 1995)。通过使用 Eiken Chemical (东京) 生产的 NSE ELISA 试剂盒, 按照所附的参考资料进行实际检测。

[0146] 实施例 5 三种癌中的基因表达分析

[0147] 通过使用基因芯片, 按照与实施例 2 中相同的方式检测了由 E7070 引起的 (以 8 μ M 处理 12 小时), HCT 116-C9 (人结肠癌细胞株), MDA-MB-435 (人乳癌细胞株) 和 MDLT-4 (人 T 淋巴母细胞的血病细胞株) 三种癌细胞中基因表达的改变。

[0148] 在此三种癌细胞中其表达都提高了 1.8 倍或更多的基因名单被显示在表 3 中。并且, 在此三种癌细胞中其表达都被抑制了 1.8 倍或更多的基因名单被显示在表 4 中。因为,

在从具有完全不同遗传背景的癌症病人建立的这三种癌细胞株中,其表达都发生改变(增强或减弱)的基因很可能与对肿瘤细胞所共有的 E7070 抗肿瘤作用机制较密切地相联系,所以认为,在测定肿瘤细胞对 E7070 及其相关化合物的敏感性时可以将它们用作有效的标记。

[0149] 表 3

[0150]

注册号	基因名称
D78514	遍在蛋白共轭结合酶
D83767	Rep-8
HG1139-HT4910	FK506 结合蛋白
HG3484-HT3678	Cdc 样激酶 1 (C1K1)
M21154	S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶
M60724	P70 核蛋白体 S6 激酶 α -1
S61953	c-ErbB3 受体酪氨酸激酶
U52960	RNA 聚合酶 II 配位成分 SRB7
U84720	输出蛋白 RAE1
U92014	缺损海员转座子 Hsmar2

[0151] 表 4

[0152]

注册号	基因名称
AB000409	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 MNK1
AB000450	推定的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 VRK2
AC002045	CIT987SK-A-589H1
AF008445	磷脂 scramblase (Scramblase)
D00723	氨载体蛋白, 甘氨酸合成酶
D14659	KIAA0103
D21852	KIAA0029
D26535	二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶
D32002	核帽结合蛋白
D38521	KIAA0077
D38553	KIAA0074
D43947	KIAA0100
D50912	RNA 结合基元蛋白 10
D61391	PAP39
D63480	KIAA0146
D63880	KIAA0159
D78586	多功能蛋白 CAD

[0153] 表 4(续)

[0154]

注册号	基因名称
D79983	KIAA0161
D79991	KIAA0169
D83781	KIAA0197
D84307	磷酸乙醇胺胞苷基转移酶
D87446	KIAA0257
HG1869-HT1904	雄性增强抗原
HG2379-HT3996	丝氨酸羟甲基转移酶 (细胞液的)
HG4094-HT4364	转录因子 Lsf-Id
J04088	DNA 拓扑异构酶 II (top2)
L07758	IEF SSP 9502
L21936	琥珀酸脱氢酶黄素蛋白亚单位
L25931	野芝麻花碱 B 受体
L38810	蛋白体 26S 亚单位 P45
L41870	成视网膜细胞瘤敏感性蛋白 (RB1)
L47276	平截形 α -拓扑异构酶
M19267	原肌球蛋白
M22632	线粒体天冬氨酸氨基转移酶
M29204	DNA 结合因子
M29550	钙调神经磷酸酶
M30496	遍在蛋白羧基末端水解酶
M34309	表皮生长因子受体 HER3
M55905	线粒体 NAD (P) + 依赖性苹果酸酶
M61764	γ -微管蛋白
M85085	裂解刺激因子
M87338	复制因子 C, 40-KDa 亚单位 (A1)
M91432	中间链酰基辅酶 A 脱氢酶 (MCAD)
M92439	亮氨酸富集蛋白
M93056	单核细胞/嗜中性细胞弹性蛋白酶抑制因子
M95809	基础转录因子 62KD 亚单位 (BTF2)
M97935	转录因子 ISGF-3

[0155] 表 4(续)

[0156]

注册号	基因名称
S72904	APK1 抗原=Mab KI 识别的
S78085	PDCD2, RP8 相似物
U01062	3 型肌醇 1, 4, 5-三磷酸受体
U07231	G-富有序列因子-1
U08815	剪接体蛋白 SAP61
U11791	细胞周期蛋白 H
U15306	DNA 结合蛋白 NFX1
U18291	CDC 16Hs
U18934	受体酪氨酸激酶 DTK
U20979	染色质集合因子-I P150 亚单位
U22233	甲硫腺苷磷酸化酶
U23028	真核起始因子 2B-ε
U23946	LUCA15
U28831	具有抗-PTH 免疫活性的 Ab
U28963	Gps2
U30828	剪接因子 SRP 55-2 (SRp55)
U34683	谷胱甘肽合成酶
U40282	整合素连接的激酶
U49844	FRAP 相关的蛋白 (FRP ¹ /ATR)
U50939	淀粉样蛋白前体蛋白结合蛋白 1
U57629	色素性视网膜炎 GTP 酶调节基因
U61145	香味增强子相似物 2
U72514	C2f
U77413	O 连接的 GlcNAC 转移酶
U77949	Cdc6 相关的蛋白 (HSCDC6)
U79241	克隆 23759
U80034	线粒体中介肽酶前体
U81554	CaM 激酶 II 异构型
U89606	吡哆醛激酶
U94319	转录共激活子 P75 (DFS70)

[0157] 表 4(续)

[0158]

注册号	基因名称
X06745	DNA 聚合酶 α -亚单位
X13482	U2 snRNP 特异性 A 蛋白
X51956	神经元特异性 (r) 烯醇酶
X54199	GARS-AIRS-GART
X61100	75KDa 亚单位 NADH 脱氢酶前体
X68836	S-腺苷甲硫氨酸合成酶
X70476	外被体复合物亚单位
X75535	P \times F
X99209	精氨酸甲基转移酶
Y08612	Nup88
Y08682	I 型肉毒碱棕榈酰基转移酶 I
Z17227	跨膜受体蛋白 CRF2-4

[0159] 产业可应用性

[0160] 按照本发明,通过测定肿瘤细胞中列举于表 3 和表 4 中的一种或多种基因的表达水平,其中该肿瘤细胞是从以通式 (I) 表示的抗癌药剂治疗的癌症病人采集的,或者通过使以通式 (I) 表示的抗癌药剂作用于从癌症病人采集的肿瘤细胞,然后测定列举于表 3 和表 4 中的一种或多种基因的表达水平,都可以检测肿瘤细胞对这种抗癌药剂的敏感性。

[0161] 序列表

[0162] <110> 卫材株式会社

[0163] <120> 试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法

[0164] <130>0124W00P1251

[0165] <150>JP 2000-357398

[0166] <151>2000-11-24

[0167] <160>16

[0168] <210>1

[0169] <211>19

[0170] <212>DNA

[0171] <213> 人工序列

[0172] <220>

[0173] <223> 引物

[0174] <400>1

[0175] gaaggtgaag gtcggagtc 19

[0176] <210>2

[0177] <211>20

[0178] <212>DNA

[0179]	<213> 人工序列	
[0180]	<220>	
[0181]	<223> 引物	
[0182]	<400>2	
[0183]	gaagatggtg atgggatttc	20
[0184]	<210>3	
[0185]	<211>22	
[0186]	<212>DNA	
[0187]	<213> 人工序列	
[0188]	<220>	
[0189]	<223> 引物	
[0190]	<400>3	
[0191]	gcattttacg gttccctgag at	22
[0192]	<210>4	
[0193]	<211>22	
[0194]	<212>DNA	
[0195]	<213> 人工序列	
[0196]	<220>	
[0197]	<223> 引物	
[0198]	<400>4	
[0199]	gatacgccac atgt teacct tc	22
[0200]	<210>5	
[0201]	<211>24	
[0202]	<212>DNA	
[0203]	<213> 人工序列	
[0204]	<220>	
[0205]	<223> 引物	
[0206]	<400>5	
[0207]	cagaatcaat agcccagaga gctt	24
[0208]	<210>6	
[0209]	<211>24	
[0210]	<212>DNA	
[0211]	<213> 人工序列	
[0212]	<220>	
[0213]	<223> 引物	
[0214]	<400>6	
[0215]	gttgtg'gcgt tagaagattg gatc	24
[0216]	<210>7	
[0217]	<211>24	

[0218]	<212>DNA	
[0219]	<213> 人工序列	
[0220]	<220>	
[0221]	<223> 引物	
[0222]	<400>7	
[0223]	gtcattctgc tgagcttgcaact ta	24
[0224]	<210>8	
[0225]	<211>25	
[0226]	<212>DNA	
[0227]	<213> 人工序列	
[0228]	<220>	
[0229]	<223> 引物	
[0230]	<400>8	
[0231]	gagagattct accaggtcgt catca	25
[0232]	<210>9	
[0233]	<211>23	
[0234]	<212>DNA	
[0235]	<213> 人工序列	
[0236]	<220>	
[0237]	<223> 引物	
[0238]	<400>9	
[0239]	ccaagttacg aagctctgtc cat	23
[0240]	<210>10	
[0241]	<211>23	
[0242]	<212>DNA	
[0243]	<213> 人工序列	
[0244]	<220>	
[0245]	<223> 引物	
[0246]	<400>10	
[0247]	tgtaggctgt ctggagcate tct	23
[0248]	<210>11	
[0249]	<211>22	
[0250]	<212>DNA	
[0251]	<213> 人工序列	
[0252]	<220>	
[0253]	<223> 引物	
[0254]	<400>11	
[0255]	tgttgattcc tcagaacgca tc	22
[0256]	<210>12	

[0257]	<211>24	
[0258]	<212>DNA	
[0259]	<213> 人工序列	
[0260]	<220>	
[0261]	<223> 引物	
[0262]	<400>12	
[0263]	tgtatcatct cgcctaagac caag	24
[0264]	<210>13	
[0265]	<211>22	
[0266]	<212>DNA	
[0267]	<213> 人工序列	
[0268]	<220>	
[0269]	<223> 引物	
[0270]	<400>13	
[0271]	atctcaccag gcataagctc ct	22
[0272]	<210>14	
[0273]	<211>23	
[0274]	<212>DNA	
[0275]	<213> 人工序列	
[0276]	<220>	
[0277]	<223> 引物	
[0278]	<400>14	
[0279]	acagttcctc ctcttccttg gat	23
[0280]	<210>15	
[0281]	<211>21	
[0282]	<212>DNA	
[0283]	<213> 人工序列	
[0284]	<220>	
[0285]	<223> 引物	
[0286]	<400>15	
[0287]	ctcaagagge tgacgcagaa t	21
[0288]	<210>16	
[0289]	<211>23	
[0290]	<212>DNA	
[0291]	<213> 人工序列	
[0292]	<220>	
[0293]	<223> 引物	
[0294]	<400>16	
[0295]	ctggctgaca tgatggtaga cac	23

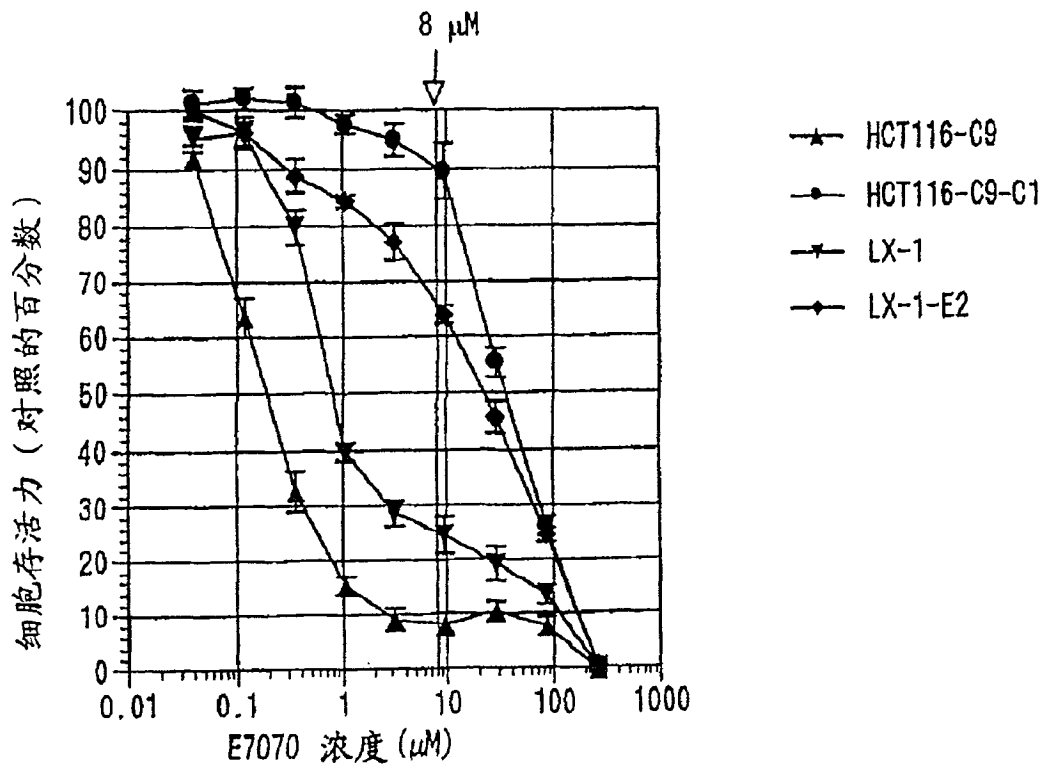


图 1

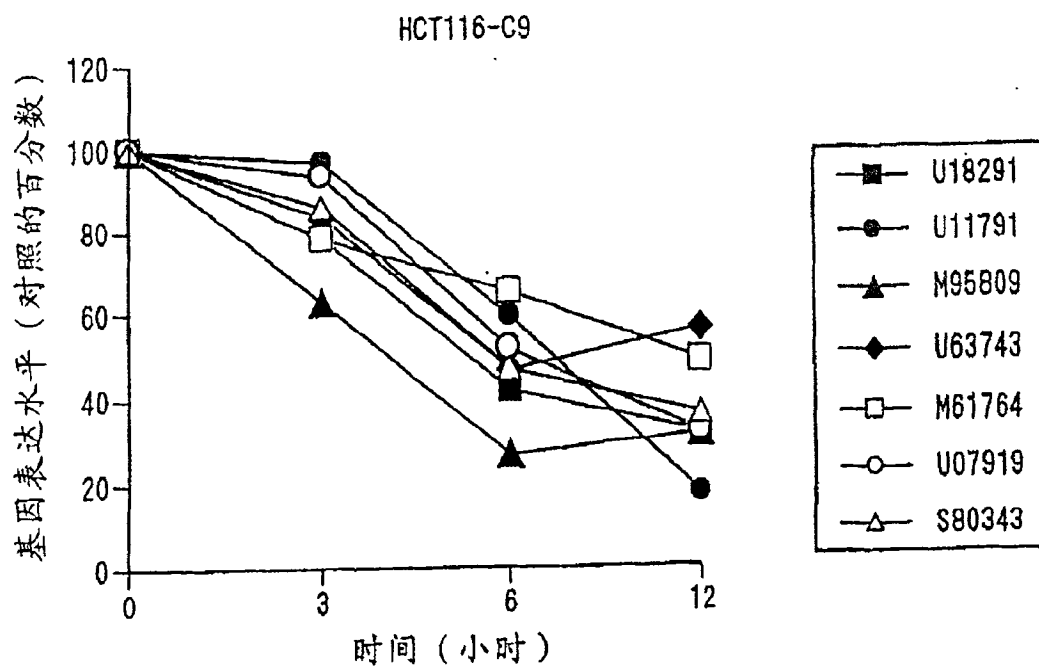


图 2

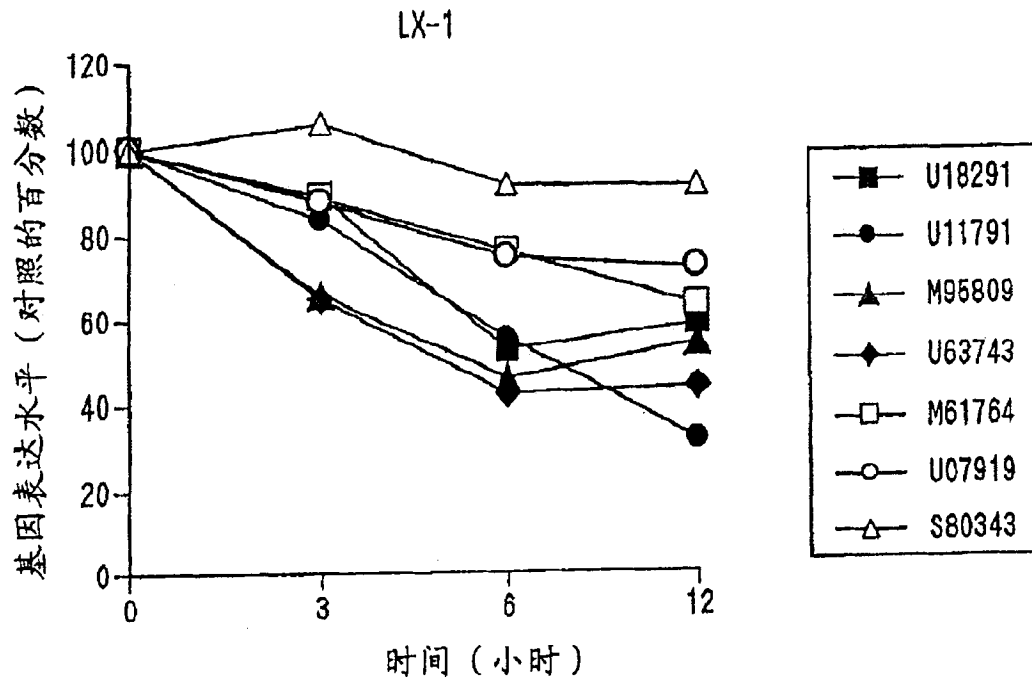


图 3

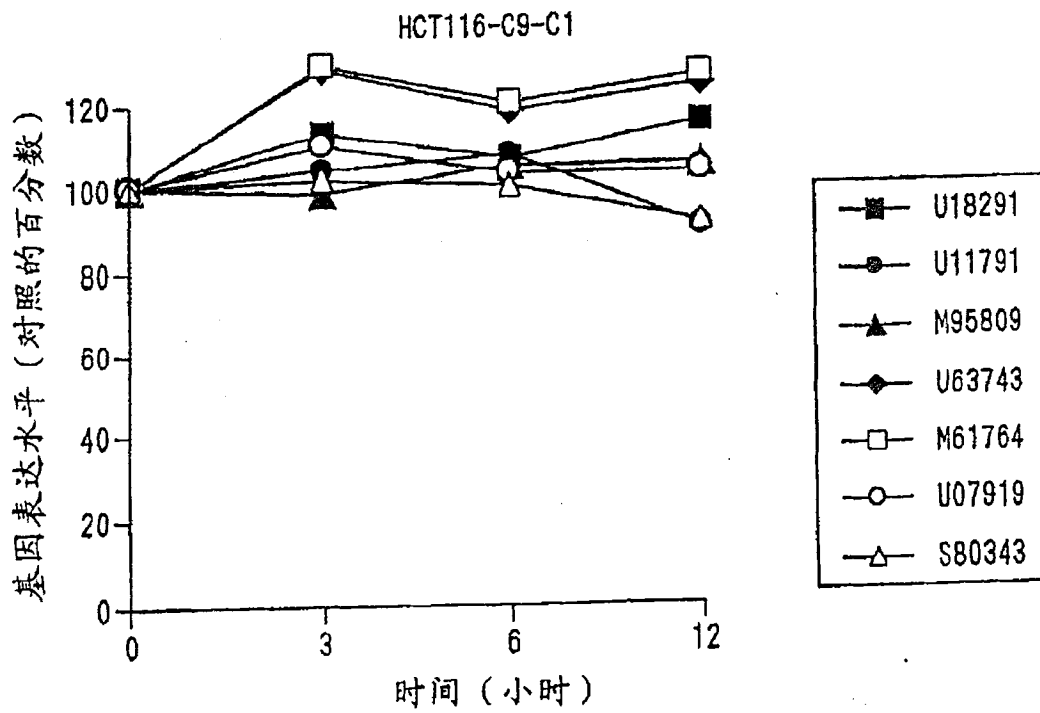


图 4

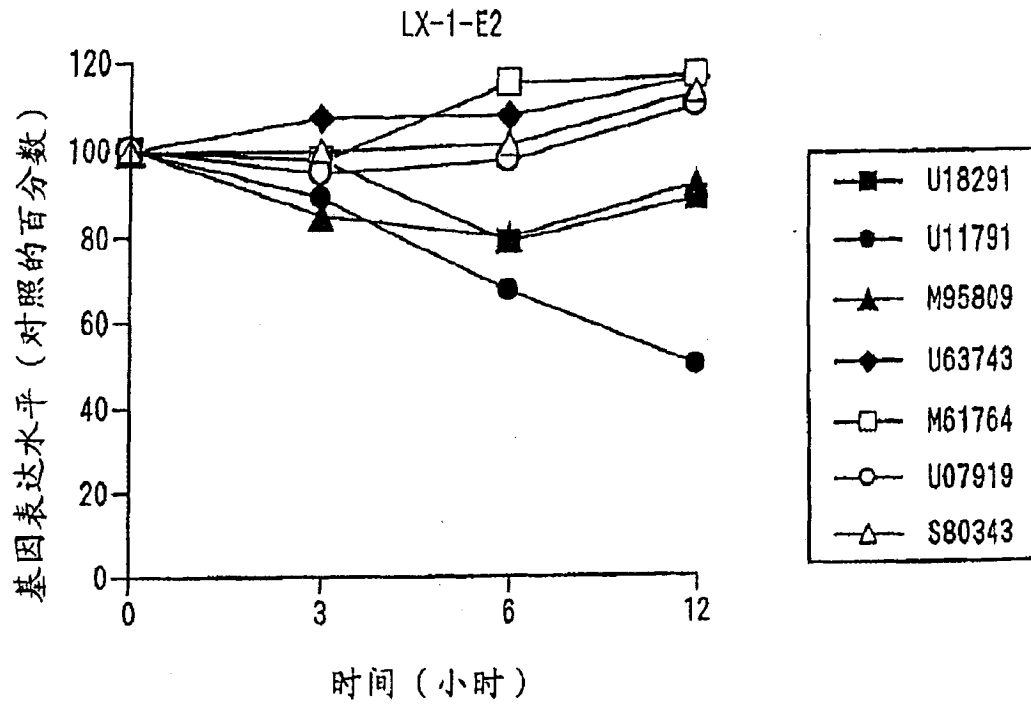


图 5

专利名称(译)	试验肿瘤细胞对于抗癌药剂敏感性的方法		
公开(公告)号	CN1721554B	公开(公告)日	2010-05-26
申请号	CN200510086015.5	申请日	2001-11-26
[标]申请(专利权)人(译)	卫材株式会社		
申请(专利权)人(译)	卫材株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	卫材R&D管理有限公司		
[标]发明人	大和隆志 横井晃 黑光淳郎 河合隆利 加藤弘之 长洲毅志		
发明人	大和隆志 横井晃 黑光淳郎 河合隆利 加藤弘之 长洲毅志		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/566 G01N33/53 G01N37/00 C12Q1/6886 G01N33/50		
CPC分类号	C12Q1/6837 G01N33/5011 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/158		
代理人(译)	王景朝		
优先权	2000357398 2000-11-24 JP		
其他公开文献	CN1721554A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

从给予了抗癌药剂(E7070及类似的化合物)的癌症病人取出肿瘤细胞，然后测定列举于表3和表4中基因的表达量。按另一种方式是，用抗癌药剂处理从癌症病人取出的肿瘤细胞，然后测定列举于表3和表4中基因的表达量。在列举于表3中基因的表达量增加，或者列举于表4中基因的表达量减少的情况下，可判定此相应的肿瘤细胞对相应的抗癌药剂是敏感的。因此，可检测肿瘤细胞对于抗癌药剂的敏感性。

