

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-522879

(P2016-522879A)

(43) 公表日 平成28年8月4日(2016.8.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 A	4 C 0 8 6
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	4 H 0 4 5
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 O 1 A	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 31/47 (2006.01)	A 6 1 K 31/47	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-555882 (P2015-555882)	(71) 出願人	506137147 エーザイ・アール・アンド・ディー・マネジメント株式会社 東京都文京区小石川四丁目6番10号
(86) (22) 出願日	平成26年5月12日 (2014.5.12)	(74) 代理人	100088155 弁理士 長谷川 芳樹
(85) 翻訳文提出日	平成28年1月12日 (2016.1.12)	(74) 代理人	100128381 弁理士 清水 義憲
(86) 国際出願番号	PCT/JP2014/063134	(74) 代理人	100126653 弁理士 木元 克輔
(87) 国際公開番号	W02014/185540	(72) 発明者	船橋 泰博 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 アンドーバー, コーポレート ドライブ 4 エーザイ インク内
(87) 国際公開日	平成26年11月20日 (2014.11.20)		
(31) 優先権主張番号	61/823034		
(32) 優先日	平成25年5月14日 (2013.5.14)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レンバチニブ化合物に対する子宮内膜がん対象の応答性を予測及び評価するためのバイオマーカー

(57) 【要約】

子宮内膜がんを有する対象が、レンバチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンバチニブメシル酸塩）を含む治療に応答するか否かを予測するバイオマーカーを提供する。本明細書に記載されているバイオマーカー、組成物及び方法は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象について適切な治療法を選択し治療するために有用である。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法であって、

前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定するステップと、

前記生体試料において低濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高いと認定するステップと

を含む、方法。

【請求項 2】

子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法であって、

前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて高いことを決定するステップと、

前記生体試料において高濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が低いと認定するステップと

を含む、方法。

【請求項 3】

前記生体試料が、血液試料、血清試料、血漿試料、子宮内膜保管腫瘍試料、及び子宮内膜生検試料からなる群から選択される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記生体試料が血漿試料である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記子宮内膜がんが進行子宮内膜がんである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記子宮内膜がんが、切除不能なステージ I I I 又はステージ I V の子宮内膜がんである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記子宮内膜がんが再発子宮内膜がんである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記対照が、予め設定されたカットオフ値である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記予め設定されたカットオフ値が、カットオフなしに比べてより高い陽性的中率で腫瘍応答を予測する、受信者動作特性解析に基づいて決定される A n g 2 タンパク質濃度であり、前記予め設定されたカットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

腫瘍応答が奏効率、臨床的有用率、又は少なくとも 30% の最大腫瘍縮小率 (%) である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記予め設定されたカットオフ値が、カットオフで分けられた 2 群へと分離するシミュレーションモデルを使用して生存期間を予測することに基づいて決定される A n g 2 タン

10

20

30

40

50

パク質濃度であり、前記予め設定されたカットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、前記予め設定されたカットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記生存期間が無増悪生存期間又は全生存期間である、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記予め設定されたカットオフ値が、1866.5～6024.5 pg/ml の範囲内の A n g 2 タンパク質濃度であり、前記予め設定されたカットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、前記予め設定されたカットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である、請求項 8 に記載の方法。

10

【請求項 1 4】

タンパク質の濃度が免疫学的方法で測定される、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記免疫学的方法が、酵素免疫アッセイ、ラジオ免疫アッセイ、化学発光免疫アッセイ、電気化学発光免疫アッセイ、ラテックス比濁免疫アッセイ、ラテックス光学免疫アッセイ、免疫クロマトグラフィーアッセイ及びウェスタンブロットティングからなる群から選択される、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

タンパク質濃度が質量分析法によって測定される、請求項 1～13 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 1 7】

レンパチニブの薬学的に許容される前記塩がレンパチニブメシル酸塩である、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

ヒト対象における子宮内膜がん治療に使用するためのレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩であって、前記ヒト対象が、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高い対象として、請求項 1 に記載の方法により認定される、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 9】

子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測に使用するための A n g 2 タンパク質検出剤。

30

【請求項 2 0】

抗 A n g 2 抗体である、請求項 1 9 に記載の A n g 2 タンパク質検出剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、全体として、バイオマーカー及び子宮内膜がんに関する。

【背景技術】

40

【0002】

抗腫瘍剤として幾つものキナーゼ阻害剤が開発されてきた。例えば、血管内皮増殖因子受容体 (V E G F R) などの受容体型チロシンキナーゼに対し阻害活性を有する一群の化合物は血管新生を阻害することが知られており、新しいクラスの抗腫瘍剤と考えられている。レンパチニブメシル酸塩 (E 7 0 8 0 としても知られる) は、 V E G F R 1 ~ 3、線維芽細胞増殖因子受容体 (F G F R) 1 ~ 4、rearranged during transfection 受容体 (R E T)、K I T 及び血小板由来増殖因子受容体 (P D G F R) を標的とする経口チロシンキナーゼ阻害剤である。レンパチニブメシル酸塩の第 I 相臨床試験では、様々な腫瘍型、例えば子宮内膜がんなどで、治療に対する応答が観察された。

50

【0003】

ほとんどの抗腫瘍治療には残念ながら、著しい悪心、嘔吐、又は重度の疲労などの望ましくない副作用が伴う。また抗腫瘍治療は成果を挙げてきたものの、治療を受ける全ての患者で顕著な臨床応答を生ずるわけではなく、治療が有効でないことに関連する、望ましくない副作用、遅延及び費用をもたらす。そのため、抗腫瘍剤に対する対象の応答を、その投与に先立って予測するために使用できるバイオマーカーが、大いに必要とされている。

【0004】

国際公開第2012/157672号パンフレットは、野生型B - r a f及びP T E N、又は変異B - r a f及びP T E Nのいずれかを有する黒色腫患者のサブグループにおいて、高レベルのA n g 2、I L 6、C X C R 4、C O L 4 A 3、M E I S 1、F G F 9、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4又はV E G F R 1、及び低レベルのS H C 1、N R P 2、A R H G A P 2 2、S C G 2又はP M Lが、レンパチニブ化合物に対する応答性を予測することを開示している。

10

【0005】

国際公開第2012/166899号パンフレットは、甲状腺がん又は腎がんを有する対象において、低レベルのA n g 2、V E G F A、I F N G若しくは可溶性K D R、又は高レベルのI L - 6、I L - 13、P D G F A B、C S F 3、C C L 3、C C L 4、F L T 4若しくはF G F 2が、レンパチニブ化合物に対する応答性を予測することを開示している。しかし国際公開第2012/166899号パンフレットは、子宮内膜がん患者において、レンパチニブ化合物に対する応答性を予測するものとしてA n g 2を使用できるとは、開示も示唆もしていない。

20

【0006】

L l o v e t ら、C l i n . C a n c e r R e s .、18(8):2290~2300ページ(2012)、進行肝細胞癌患者においては、血管新生バイオマーカーのA n g 2及びV E G Fは生存期間の予測因子ではあったが、これらのバイオマーカーからは血管新生阻害剤ソラフェニブに対する応答性は予測されなかったと報告している。

【0007】

このように、A n g 2のような血管新生バイオマーカーは、全てのがんで、血管新生阻害剤に対する応答性についてのバイオマーカーとなると予想されているわけではない。

30

【発明の概要】

【0008】

本出願は、少なくとも部分的には、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に対する、子宮内膜がん対象の応答性を予測するバイオマーカーの同定に基づく。治療する前の、ある特定の遺伝子の発現レベル(例えば、表1に列挙した遺伝子のタンパク質及びmRNA)は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に対する応答性(例えば、生存期間及び/又は腫瘍応答)の有用な予測因子として同定される。したがって、本明細書に記載されているバイオマーカー及び組成物は、例えば、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)による治療の利益を得る可能性のある子宮内膜がんを有する患者又は患者の部分集合を同定、階層化及び/又は選択する際に有用である。加えて、本明細書に記載されている方法は、例えば、子宮内膜がんを患う、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象について適切な治療法(例えば、レンパチニブ若しくはその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療、又は代替の子宮内膜がん治療)を選択する際に有用である。

40

【0009】

一態様では、本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法を提供する。前記方法は、前記対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料におけるA n g 2タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定する

50

ステップを伴う。前記生体試料において低濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記対象は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高いと認定される。

【0010】

加えて本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法を提供する。前記方法は、前記対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1、P G F、s I L - 2 R、T i e - 2、T N F - 又は V E G F A タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定するステップを伴う。前記生体試料において低濃度の H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1、P G F、s I L - 2 R、T i e - 2、T N F - 又は V E G F A タンパク質を有する前記対象は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高いと認定される。

10

【0011】

第2の態様では、本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法を提供する。前記方法は、前記対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて高いことを決定するステップを伴う。前記生体試料において高濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記対象は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が低いと認定される。

20

【0012】

加えて本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法を提供する。前記方法は、前記対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1、P G F、s I L - 2 R、T i e - 2、T N F - 又は V E G F A タンパク質の濃度が、対照に比べて高いことを決定するステップを伴う。前記生体試料において高濃度の H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1、P G F、s I L - 2 R、T i e - 2、T N F - 又は V E G F A タンパク質を有する前記対象は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が低いと認定される。

30

【0013】

第3の態様では、本開示は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療のために、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象を選択する方法を提供する。この方法は、前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定するステップを伴う。前記方法は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療のために、前記生体試料において低濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を選択するステップをさらに伴う。

【0014】

加えて本開示は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療のために、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象を選択する方法を提供する。この方法は、前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1、P G F、s I L - 2 R、T i e - 2、T N F - 又は V E G F A タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定するステップを伴う。前記方法は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療のために、前記生体試料において低濃度の H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1、P G F、s I L - 2 R、T i e - 2、T N F - 又は V E G F A タンパク質を有する前記ヒト対象を選択するステップをさらに伴う。

40

【0015】

50

第4の態様では、本開示は、子宮内膜がんを治療する方法を提供する。前記方法は、子宮内膜がんを有する対象から得られた生体試料を用意するステップと、前記生体試料において、対照に比べて低いAng2タンパク質の発現レベルを測定するステップと、治療有効量のレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を前記対象に投与するステップとを伴う。

【0016】

加えて前記方法は、子宮内膜がんを有する対象から得られた生体試料を用意するステップと、前記生体試料において、対照に比べて低いHGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF- α 又はVEGFAタンパク質の発現レベルを測定するステップと、治療有効量のレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を前記対象に投与するステップとを伴う。

10

【0017】

第5の態様では、本開示は、子宮内膜がんを治療する方法を提供する。前記方法は、治療有効量のレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を、子宮内膜がんを有する対象に投与するステップを伴い、ここで前記対象は、対照に比べて低いAng2タンパク質の発現レベルを有すると認定されている。ある特定の実施形態では、前記対象は、低濃度のAng2タンパク質を、前記ヒト対象から得られた生体試料において有すると認定されている。

【0018】

加えて前記方法は、治療有効量のレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を、子宮内膜がんを有する対象に投与するステップを伴い、ここで前記対象は、対照に比べて低いHGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF- α 又はVEGFAタンパク質の発現レベルを有すると認定されている。ある特定の実施形態では、前記対象は、低濃度のHGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF- α 又はVEGFAタンパク質を、前記ヒト対象から得られた生体試料において有すると認定されている。

20

【0019】

以下の実施形態は、上記の全態様について想定する。

【0020】

一実施形態では、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩がレンパチニブメシル酸塩である。

30

【0021】

一実施形態では、前記子宮内膜がんが進行子宮内膜がんである。別の実施形態では、前記子宮内膜がんが再発子宮内膜がんである。一実施形態では、前記子宮内膜がんが、ステージIIIの子宮内膜がんである。一実施形態では、前記子宮内膜がんが、ステージIVの子宮内膜がんである。一実施形態では、前記子宮内膜がんが、切除不能な形態のステージIII又はステージIVの子宮内膜がんである。

【0022】

一部の実施形態では、前記生体試料が、血液試料、血清試料、血漿試料、子宮液試料、尿試料、子宮内膜保管腫瘍試料、及び子宮内膜生検試料からなる群から選択される。

40

【0023】

一部の実施形態では、前記対照が、予め設定されたカットオフ値である。一実施形態では、予め設定された前記カットオフ値が、カットオフなしに比べてより高い陽性的中率で腫瘍応答を予測する、受信者動作特性(ROC)解析に基づいて決定されるAng2タンパク質濃度であり、ここで、予め設定された前記カットオフ値以下のAng2タンパク質の濃度が低濃度のAng2であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度のAng2である。腫瘍応答は奏効率(ORR)、臨床的有用率(CBR)、又は最大腫瘍縮小率(%)である。別の実施形態では、予め設定された前記カットオフ値が、生存期間を予測するシミュレーションモデルに基づいて決定されるAng2タンパク質濃度であ

50

り、ここで、予め設定された前記カットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である。この文脈では、生存期間が無増悪生存期間 (P F S) 又は全生存期間 (O S) である。特定の実施形態では、予め設定された前記カットオフ値が、1866.5 ~ 6024.5 (例えば、2082.5 pg / ml) の範囲内の A n g 2 タンパク質濃度であり、ここで、予め設定された前記カットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である。

【0024】

一部の実施形態では、前記方法は、対象の医療提供者に検査結果を伝えるステップをさらに含む。ある特定の実施形態では、前記方法は、前記対象の医療記録を修正して、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に、前記対象が応答する可能性が高い又は高くないことを示すようにするステップをさらに含む。特定の実施形態では、記録をコンピュータ可読媒体上に作成する。ある特定の実施形態では、前記方法は、バイオマーカーの発現プロファイルから、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に、前記対象が応答するであろうことが予測された場合に、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療を前記対象に処方するステップをさらに含む。ある特定の実施形態では、前記方法は、バイオマーカーの発現プロファイルから、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に、前記対象が応答しないであろうことが予測された場合に、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含まない治療を前記対象に処方するステップをさらに含む。一部の実施形態では、前記方法は、バイオマーカーの発現プロファイルから、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に、前記対象が応答するであろうことが予測された場合に、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療を前記対象に投与するステップをさらに含む。一部の実施形態では、前記方法は、バイオマーカーの発現プロファイルから、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に、前記対象が応答しないであろうことが予測された場合に、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含まない治療を前記対象に投与するステップをさらに含む。

10

20

【0025】

一実施形態では、タンパク質の濃度が免疫学的方法で測定される。一部の実施形態では、前記免疫学的方法が、酵素イムノアッセイ、ラジオイムノアッセイ、化学発光イムノアッセイ、電気化学発光イムノアッセイ、ラテックス比濁イムノアッセイ、ラテックス光学イムノアッセイ、イムノクロマトグラフィーアッセイ及びウェスタンブロッティングからなる群から選択される。別の実施形態では、タンパク質濃度が質量分析法によって測定される。

30

【0026】

第6の態様では、本開示は、ヒト対象における子宮内膜がん治療に使用するためのレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩であって、前記ヒト対象が、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高い対象として、上記の方法により認定される、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を提供する。一部の実施形態では、レンパチニブの薬学的に許容される前記塩がレンパチニブメシル酸塩である。一実施形態では、前記子宮内膜がんが進行子宮内膜がんである。別の実施形態では、前記子宮内膜がんが再発子宮内膜がんである。一実施形態では、前記子宮内膜がんが、ステージ I I I の子宮内膜がんである。一実施形態では、前記子宮内膜がんが、ステージ I V の子宮内膜がんである。一実施形態では、前記子宮内膜がんが、切除不能な形態のステージ I I I 又はステージ I V の子宮内膜がんである。

40

【0027】

第7の態様では、本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測に使用するための A n g 2 タンパク質検出剤を提供する。一実施形態では、A n g 2 タンパク質検出剤が抗 A n g 2 抗体である。

【0028】

50

加えて本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測に使用するためのHGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFAタンパク質検出剤を提供する。一実施形態では、HGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFAタンパク質検出剤が、抗HGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFA抗体である。

【0029】

第8の実施形態では、本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測に使用するためのAng2タンパク質検出剤を含むキットを特徴とする。ある特定の実施形態では、Ang2タンパク質検出剤が抗Ang2抗体である。ある特定の実施形態では、抗Ang2抗体がモノクローナル抗体である。他の実施形態では、抗Ang2抗体がポリクローナル抗体である。ある特定の実施形態では、抗体が、検出可能な作用剤にコンジュゲートされている。一実施形態では、検出可能な作用剤が西洋ワサビペルオキシダーゼ、ビオチン、蛍光部分、放射性部分、ヒスチジntag又はペプチドntagである。一実施形態では、検出可能に標識された抗体を、マイクロプレート上にコーティングしている。ある特定の実施形態では、前記マイクロプレートが96ウェルマイクロプレートである。ある特定の実施形態では、キットが、1個又は複数の濃度標準、1個又は複数の緩衝液(例えば、洗浄緩衝液)、1個又は複数の希釈液(例えば、アッセイ用希釈液及び/又は較正用希釈液)、及び対象から得られた生体試料においてAng2タンパク質検出剤がAng2に特異的に結合するか否かを検出するのを容易にする1個又は複数の試薬(例えば、呈色試薬、停止溶液)を任意選択で含む。

【0030】

加えて本開示は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測に使用するためのHGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFAタンパク質検出剤を含むキットを特徴とする。ある特定の実施形態では、HGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFAタンパク質検出剤が、抗HGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFA抗体である。ある特定の実施形態では、抗体がモノクローナル抗体である。他の実施形態では、抗体がポリクローナル抗体である。ある特定の実施形態では、抗体が、検出可能な作用剤にコンジュゲートされている。一実施形態では、検出可能な作用剤が西洋ワサビペルオキシダーゼ、ビオチン、蛍光部分、放射性部分、ヒスチジntag又はペプチドntagである。一実施形態では、検出可能に標識された抗体を、マイクロプレート上にコーティングしている。ある特定の実施形態では、前記マイクロプレートが96ウェルマイクロプレートである。ある特定の実施形態では、キットは、1個又は複数の濃度標準、1個又は複数の緩衝液(例えば、洗浄緩衝液)、1個又は複数の希釈液(例えば、アッセイ用希釈液及び/又は較正用希釈液)、及び対象から得られた生体試料においてタンパク質検出剤が、HGF、IL-8、IP-10、MCP-1、MIP-1、PGF、sIL-2R、Tie-2、TNF-又はVEGFAに特異的に結合するか否かを検出するのを容易にする1個又は複数の試薬(例えば、呈色試薬、停止溶液)を任意選択で含む。

【0031】

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、本発明の属する分野の通常の実験技能を有する者が一般に理解するのと同じ意味を有する。本明細書に記載されているのと類似した、又は同等の方法及び材料を、本発明を実施又は試験するのに使用してもよいが、以下に例示的方法及び材料を記載する。本明細書で言及する全ての公

10

20

30

40

50

表資料、特許出願、特許及び他の参考文献は、参照により全体が組み込まれている。矛盾がある場合、定義を含めて、本出願を優先するものとする。材料、方法及び例は説明だけのためのものであり、限定を意図しない。

【0032】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の詳細な記載、及び特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】 E7080治療後の、血中バイオマーカのレベルの変化を示すグラフである。

【図2】 ベースラインのサイトカイン、ケモカイン及び血管新生因子(CAF)の、腫瘍応答との相関を示す、一連のグラフである。

【図3】 体重、年齢及び組織診断は、無増悪生存期間(PFS)及び全生存期間(OS)との間に有意な相関がないことを示す、一連のグラフである。

【図4】 臨床的アウトカムの予測を向上させるようなAng-2との組合せ因子の候補を同定しない、多変量解析の結果を示す図である。

【図5】 ベースラインAng-2レベルにより層別化した子宮内膜がん患者のサブグループのPFS中央値及びOS中央値を示す2つのグラフを含む図である。

【図6】 奏効率(ORR)のより良い患者集団の、ベースラインAng-2レベルに基づく濃縮を示す、2つのグラフを含む図である。

【発明を実施するための形態】

【0034】

本開示は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に対する、子宮内膜がん対象(ヒト患者など)の応答を予測するための方法及び組成物を提供する。本開示は、子宮内膜がん(例えば、進行子宮内膜がん又は再発子宮内膜がん)を有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象であって、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療の投与が有効である、又は有効でない可能性の高い、対象を同定するための予測バイオマーカ(例えば、タンパク質又はRNA発現レベル)を提供する。本明細書に記載されているバイオマーカ、組成物及び方法は、子宮内膜がんを患う、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象について適切な治療法(例えば、レンパチニブ若しくはその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)治療、又は代替の治療)を選択する際に有用である。さらに本出願は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある患者であって、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療の利益を得る可能性のある患者を選択する方法、及び治療方法を提供する。

【0035】

定義

「減少した/低減された発現レベル」という用語は、対照における発現レベルより低い発現レベル(量)を意味する。

【0036】

「上昇した発現レベル」という用語は、対照における発現レベルより高い発現レベル(量)を意味する。

【0037】

「遺伝子の発現レベル」という用語は、その遺伝子にコードされるタンパク質、又はその遺伝子から転写されるRNAの発現レベル(量)を意味する。

【0038】

「低濃度」という用語は、解析している物質の濃度であって、対照におけるその物質の濃度より低い濃度を意味する。

【0039】

「高濃度」という用語は、解析している物質の濃度であって、対照におけるその物質の

10

20

30

40

50

濃度より高い濃度を意味する。

【0040】

「レンパチニブ」という用語は、4 - (3 - クロロ - 4 - (シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミドを指す。この化合物は、米国特許第7253286号明細書の実施例368 (第270欄を参照されたい)に開示されている。米国特許第7253286号明細書は、参照により全体が本明細書に組み込まれている。「レンパチニブ化合物」という用語は、「レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩」を指す。レンパチニブの薬学的に許容される塩の一例はレンパチニブメシル酸塩である。レンパチニブメシル酸塩はE7080とも称する。

【0041】

「薬学的に許容される塩」という用語は、塩の種類に関しては特に限定されない。このような塩の例としては、それだけに限らないが、塩酸塩、硫酸塩、炭酸塩、重炭酸塩、臭化水素酸塩及びヨウ化水素酸塩などの無機酸付加塩；酢酸塩、マレイン酸塩、乳酸塩、酒石酸塩及びトリフルオロ酢酸塩などの有機カルボン酸付加塩；メタンスルホン酸塩、ヒドロキシメタンスルホン酸塩、ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩及びタウリン塩などの有機スルホン酸付加塩；トリメチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ピリジン塩、プロカイン塩、ピコリン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、N, N' - ジベンジルエチレンジアミン塩、N - メチルグルカミン塩、ジエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩、トリス (ヒドロキシメチルアミノ) メタン塩及びフェネチルベンジルアミン塩などのアミン付加塩；並びにアルギニン塩、リシン塩、セリン塩、グリシン塩、アスパラギン酸塩及びグルタミン酸塩などのアミノ酸付加塩が挙げられる。一実施形態では、薬学的に許容される塩がメタンスルホン酸塩 (「メシル酸塩」) である。メタンスルホン酸塩型 (すなわち、メシル酸塩) の4 - (3 - クロロ - 4 - (シクロプロピルアミノカルボニル)アミノフェノキシ) - 7 - メトキシ - 6 - キノリンカルボキサミドは、参照により開示全体が本明細書に組み込まれている米国特許第7612208号明細書に開示されている。

【0042】

本明細書では「ポリペプチド」と「タンパク質」とは互換的に使用し、長さ又は翻訳後修飾に無関係に、アミノ酸のあらゆるペプチド連結鎖を意味する。通常、本明細書に記載されているポリペプチドは、調製物中の全タンパク質のうち重量において少なくとも60%、例えば試料中の全タンパク質のうち60%、を占めるなら、そのポリペプチドは「単離」されている。一部の実施形態では、本明細書に記載されているポリペプチドが、調製物中の全タンパク質のうち重量において少なくとも75%、少なくとも90%、又は少なくとも99%を占める。

【0043】

「治療に応答/応答性」という用語は、治療の投与を受けた対象が、与えたその治療に、陽性の応答を示すことを意味する。このような陽性の応答の非限定的な例は、腫瘍の大きさの減少、腫瘍転移の減少、又は治療後の生存期間延長である。

【0044】

「対象」という用語は、それだけに限らないが、ヒト、チンパンジー、オランウータン、ゴリラ、ヒヒ、サル、マウス、ラット、ブタ、ウマ、イヌ及びウシを含めた哺乳動物を意味する。

【0045】

子宮内膜がん

子宮内膜がんとは、子宮の子宮内膜又は内壁から生じる、数種類の悪性病変を指す。大半の子宮内膜がんは癌腫 (一般には腺癌) である。換言すれば子宮内膜がんは、子宮内膜を覆い、子宮筋層腺を形成する1層の上皮細胞に由来する。子宮内膜癌は、以下の2群に分類されることがある：I型は、閉経前及び閉経期の女性に見られるがんを含み、一般に低侵襲である；II型は、より年配の、閉経後の女性で起き、I型よりも予後の悪いがんを含む。まれに見られる子宮内膜間質肉腫は、子宮内膜癌とは対照的に、子宮内膜の非腺

10

20

30

40

50

部の結合組織に由来するがんである。

【 0 0 4 6 】

医師は患者の治療計画を選択するために、子宮内膜がんが患者においてどのように広がっているのかを決定する、又は換言すれば、その子宮内膜がんの「ステージを決定」する必要がある。子宮内膜がんは、手術時に取り除いた組織を調べることによって、そのステージを決定する（外科的ステージ決定）。ステージングシステムは、がんがどこまで広がっているのかに着目する。子宮内膜がんは局所的に、子宮頸部及び子宮の他の部分に広がることもある。子宮内膜がんは、その領域内にある近傍リンパ節に広がることもある。加えてこのがんは、遠くのリンパ節、上腹部、網、又はその他の器官、例えば肺、肝臓、骨及び脳などに転移することがある。

10

【 0 0 4 7 】

子宮内膜がんのステージを決定するために使用される2つのシステムは、FIGO（世界産婦人科連合）システム及び対がん米国合同委員会（AJCC）ステージングシステムである。これらのシステムは基本的に同じである；AJCCシステムとFIGOシステムとの違いは、FIGOシステムはステージ0を含まない点である。いずれのステージングシステムも、以下の3つの因子に基づいて子宮内膜がんを分類する：腫瘍の程度（T）、がんがリンパ節まで広がっているか否か（N）及びがんが遠くの部位まで広がっているか否か（M）。次に情報を、腫瘍及びリンパ節に関し、またがんが広がっていればそれに関しても組み合わせて、疾患のステージを割り当てる。これは、ステージ分けと称する過程である。諸ステージは数字の0、及びローマ数字のI～IVを使用して記載する。いくつかのステージは、文字と数字で示すサブステージに分けられる。

20

【 0 0 4 8 】

ステージ0：Tis、N0、M0。このステージは上皮内癌としても知られる。がん細胞は子宮内膜の細胞の表層にだけ見出され、それより下の細胞の層へとは増殖していない。がんは近傍リンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。これは前がん病変である。このステージは、FIGOステージングシステムには含まれていない。

【 0 0 4 9 】

ステージI：T1、N0、M0。がんは子宮本体においてだけ増殖している。がんは子宮頸部の腺内へと増殖していることもあるが、子宮頸部の支持結合組織内へとは増殖していない。がんはリンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。

30

【 0 0 5 0 】

ステージIA：T1a、N0、M0。ステージIの、この最初期の形態では、がんは子宮内膜内にあり、また子宮内膜から、子宮底部筋層（子宮筋層）の半分未満まで増殖していることもある。がんはリンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。

【 0 0 5 1 】

ステージIB：T1b、N0、M0。がんは子宮内膜から子宮筋層内へと増殖し、子宮筋層の半分を超えて増殖している。がんは、子宮本体を超えて広がっていない。

【 0 0 5 2 】

ステージII：T2、N0、M0。がんは子宮本体から広がり、子宮頸部の支持結合組織（子宮頸部間質）内へと増殖している。がんは、子宮の外側では広がっていない。がんはリンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。

40

【 0 0 5 3 】

ステージIII：T3、N0、M0。がんは子宮の外側で広がっているか、又は骨盤部分における近傍組織内へと広がっているかのいずれかである。

【 0 0 5 4 】

ステージIIIA：T3a、N0、M0。がんは子宮の外表面（漿膜と称する）及び/又はファロピウス管若しくは卵巣（付属器）に広がっている。がんはリンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。

【 0 0 5 5 】

ステージIIIB：T3b、N0、M0。がんは膣へ、又は子宮周辺組織（子宮傍結合

50

織)に広がっている。がんはリンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。

【0056】

ステージ I I I C 1 : T 1 ~ T 3、N 1、M 0。がんは子宮本体において増殖している。がんは、一部の近傍組織に広がっていることがあるが、膀胱又は直腸内部へとは増殖していない。がんは骨盤リンパ節には広がっているが、大動脈周辺のリンパ節にも、遠くの部位にも広がっていない。

【0057】

ステージ I I I C 2 : T 1 ~ T 3、N 2、M 0。がんは子宮本体において増殖している。がんは、一部の近傍組織に広がっていることがあるが、膀胱又は直腸内部へとは増殖していない。がんは、大動脈周辺のリンパ節(傍大動脈リンパ節)まで広がっているが、遠くの部位には広がっていない。

10

【0058】

ステージ I V : がんは、膀胱若しくは直腸の内表面、鼠径部のリンパ節、及びノ又は遠くの器官、例えば骨、網若しくは肺などに広がっている。

【0059】

ステージ I V A : T 4、いずれかのN、M 0。がんは、直腸又は膀胱の内壁(粘膜と称する)に広がっている。がんは近傍リンパ節に広がっていることも、広がっていないこともあるが、遠くの部位には広がっていない。

【0060】

ステージ I V B : いずれかのT、いずれかのN、M 1。がんは、遠くのリンパ節、上腹部、網、又は子宮から離れた器官、例えば骨、網若しくは肺などに広がっている。がんは、いかなる大きさの可能性もあり、リンパ節に広がっていることも、広がっていないこともある。

20

【0061】

レンパチニブ化合物を含む治療に対する応答性を予測する方法

レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に対する、子宮内膜がんを有する対象の応答性を予測する際に発現レベル(例えば、mRNA又はタンパク質発現レベル)が有用なくつかの遺伝子が同定されている。遺伝子ID、関連するURL、タンパク質ID及びUniProtKB受託番号により特定されるこれらの遺伝子を表1に列挙する。

30

【0062】

【表1】

表1:バイオマーカーのリスト

公式 遺伝子 記号	遺伝子 ID	URL	代替記号	UniProtKB 受託番号
Ang2	285	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/285	Ang-2/ANG-2/ANG2 (90)/ ANG290/ ANGPT2	O15123
HGF	3082	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3082	HGF (86)	P14210
IL-8	3576	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3576	IL-8 (40)	P10145
IP-10	3627	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3627	CXCL10	P02778
MCP-1	6347	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6347	CCL2	P13500
MIP-1a	6348	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6348	CCL3/MIP1a/MIP-1 α	P10147
PGF	5228	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5228	PGF (91)	P49763
sIL2-Ra	3559	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3559	sIL2-Ra(76)	P01589
TIE-2	7010	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7010	TEK/CD202B/TIE2/ VMCM/VMCM1	Q02763
TNF	7124	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7124	TNF α /TNF- α	P01375
VEGFA	7422	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7422	VEGF/VEGFA (100)/VEGFA100	P15692

40

【0063】

50

アンジオポエチンは、血管新生（既にあった血管からの血管形成）及び腫瘍血管の成熟を促進するタンパク質増殖因子である。ノックアウトマウスによる研究から、アンジオポエチン2（Ang2）は成熟血管の形成に必要なことが示されている。内皮細胞でのAng2の発現は、たとえ先立つ炎症促進性刺激がなくても、骨髄系細胞を動員し、炎症を誘導するのに十分である。

【0064】

肝細胞増殖因子（HGF）は、傍分泌型の細胞増殖、運動性及び形態形成因子である。HGFは間葉系細胞により分泌され、主に上皮細胞及び内皮細胞を標的とし作用するが、造血前駆細胞にも作用する。HGFは、胚の器官発生、成体での器官再生、及び創傷治療において主要な役割を担う。HGFは、癌原遺伝子のc-Met受容体に結合した後、チロシンキナーゼシグナル伝達カスケードを活性化することによって、細胞増殖、細胞運動及び形態形成を制御する。

10

【0065】

インターロイキン8（IL-8）は、マクロファージ並びに他の細胞種、例えば上皮細胞及び内皮細胞などで産生されるケモカインである。IL-8は、CXCR1及びCXCR2を含めたいくつかの受容体に結合できる。

【0066】

インターフェロンガンマ誘導タンパク質10（IP-10）は、CXCKeモカインファミリーに属する低分子サイトカインである。IP-10は、いくつかの細胞種（例えば、単球、内皮細胞及び線維芽細胞）によって、IFN- γ に应答し分泌される。このタンパク質は、単球/マクロファージ、T細胞、NK細胞及び樹状細胞の化学誘引、T細胞が内皮細胞に接着することの促進、抗腫瘍活性、並びに骨髄コロニー形成及び血管新生の阻害などいくつかの役割を担うとされている。

20

【0067】

単球走化性タンパク質-1（MCP-1）はCCケモカインファミリーに属する低分子サイトカインである。MCP-1は、組織傷害又は感染のいずれかにより生じた炎症部位へと、単球、メモリーT細胞及び樹状細胞を動員する際にある役割を担う。

【0068】

マクロファージ炎症性タンパク質-1a（MIP-1a）は、走化性サイトカインのファミリーに属する。このタンパク質は、感染及び炎症に対する免疫応答にとって極めて重要である。MIP-1aは顆粒球（好中球、好酸球及び好塩基球）を活性化し、これは急性好中球性炎症につながり得る。加えてMIP-1aは、線維芽細胞及びマクロファージからの、他の炎症促進性サイトカイン、例えばインターロイキン1（IL-1）、IL-6及びTNF- α の合成及び放出を誘導する。

30

【0069】

胎盤増殖因子（PGF）は血管内皮増殖因子サブファミリーの一員である。ヒト動脈硬化病変内での胎盤増殖因子の発現は、プラーク炎症及び新生血管増殖に関連する。

【0070】

可溶性インターロイキン-2受容体アルファ（sIL-2Ra）はIL-2Rアルファの細胞外ドメインが分泌されたもので、白血病細胞、リンパ腫細胞、一部のNK細胞、並びに活性化されたばかりのT細胞及びB細胞で発現する。

40

【0071】

TIE-2は、アンジオポエチン（Ang1、Ang2、Ang3、Ang4）に結合し制御を受ける、細胞表面の受容体型チロシンキナーゼである。この受容体は、ヒトでは主に内皮細胞で発現する。TIE-2は、フィブロネクチンIII型様の3個の反復に連結した上皮増殖因子様の3個の反復により隔てられた、2個の免疫グロブリン様ループを含む特別な細胞外ドメインを有する。TIE-2シグナル伝達経路は静脈の形態形成において、内皮細胞と平滑筋細胞との間のコミュニケーションに重要なようである。TIE-2の欠損は遺伝性の静脈奇形に関連する。

【0072】

50

腫瘍壊死因子アルファ (T N F -) は腫瘍縮小、敗血症性ショック及び悪液質への関与を示唆されてきた単球由来の細胞毒である。

【 0 0 7 3 】

血管内皮増殖因子 A (V E G F - A) は内皮細胞に特異的に作用する、グリコシル化された分裂促進因子であり、血管透過性上昇の媒介、血管新生、脈管形成及び内皮細胞成長の誘導、細胞移動の促進、及びアポトーシスの阻害を含めた多様な効果を有する。

【 0 0 7 4 】

表 1 に列挙する 1 個又は複数 (例えば、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個又は 1 1 個) の遺伝子の対照に比べて低い発現 (例えば、タンパク質又は m R N A 発現) レベルからは、対象がレンパチニブ化合物 (例えば、レンパチニブメシル酸塩) を含む治療に应答するであろうことが示される / 予測される。例えば、レンパチニブ化合物を含む治療により治療する前に対象から得られた生体試料における低濃度 (対照に比べて) の A n g 2 タンパク質からは、前記対象がレンパチニブ化合物 (例えば、レンパチニブメシル酸塩) を含む治療に应答するであろうことが予測される。

【 0 0 7 5 】

ある特定の実施形態では、レンパチニブ化合物 (例えば、レンパチニブメシル酸塩) を含む治療による処置後に対象が部分奏効を示す場合、前記対象は、前記治療に应答すると判定される。「部分奏効」とは、ベースラインの最長径 (L D) の合計を参照とした、標的病変の L D の合計における少なくとも 3 0 % の減少を意味する。一部の実施形態では、レンパチニブ化合物を含む治療による処置後に対象が腫瘍縮小を示す場合、前記対象は、レンパチニブ化合物を含む治療に应答すると判定される。「最大腫瘍縮小率 (%) 」 (M T S) とは、ベースライン合計直径を参照とした、標的病変の直径の合計の百分率変化を意味する。他の実施形態では、対象が無増悪生存期間を示す場合、前記対象は、レンパチニブ化合物を含む治療に应答すると判定される。「無増悪生存期間」 (P F S) とは、治療の開始日から、進行疾患 (P D) 状態に入る前の最終日までの期間を指す。P D とは、治療開始からの記録された L D の最小の合計を参照とした、標的病変の L D の合計における少なくとも 2 0 % の増加、又は 1 個若しくは複数の新しい病変の出現を意味する。一部の実施形態では、対象が無増悪生存期間及び腫瘍縮小の両方を示す場合、前記対象は、レンパチニブ化合物を含む治療に应答すると判定される。

【 0 0 7 6 】

本開示は、レンパチニブ化合物 (例えば、レンパチニブメシル酸塩) を含む治療の後に、生存利益 (例えば、P F S) 及び腫瘍縮小の両方を得る可能性が高い、子宮内膜がんを有する対象を同定する方法を提供する。この方法では、レンパチニブ化合物を含む治療により処置する前に得られた、対象の生体試料をアッセイし、A n g 2 タンパク質のレベルを測定する。対照に比べて低濃度の A n g 2 タンパク質からは、レンパチニブ化合物を含む治療の後に前記対象が生存利益 (例えば、P F S) 及び腫瘍縮小の両方を得る可能性が高いことが示される。逆に、対照に比べて高濃度の A n g 2 タンパク質からは、レンパチニブ化合物を含む治療の後に前記対象が生存利益 (例えば、P F S) 及び腫瘍縮小の両方を得ることにはならない可能性が高いことが示される。

【 0 0 7 7 】

本明細書に記載されている方法は、レンパチニブ化合物 (例えば、レンパチニブメシル酸塩) を含む治療の後に、生存利益 (例えば、P F S) を得る可能性が高い、子宮内膜がんを有する対象の同定も可能にする。この方法では、レンパチニブ化合物を含む治療により処置する前に得られた、対象の生体試料をアッセイし、A n g 2、H G F、I L - 8、I P - 1 0、M C P - 1、M I P - 1 a、P G F、s I L - 2 R a、T i e - 2、T N F 及び V E G F A タンパク質のうち少なくとも 1 個、少なくとも 2 個、少なくとも 3 個、少なくとも 4 個、少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、少なくとも 1 0 個、又は 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、1 0 個若しくは 1 1 個のレベルを測定する。これらのタンパク質のうち、対照に比べて低濃度のタンパク質があれば (単独、又は上に列挙した他のタンパク質との組

10

20

30

40

50

合せのいずれかで)、レンパチニブ化合物を含む治療の後に前記対象が生存利益(例えば、PFS)を得る可能性が高いことが示される。逆に、これらのタンパク質のうち、対照に比べて高濃度のタンパク質があれば(単独、又は上に列挙した他のタンパク質との組合せのいずれかで)、レンパチニブ化合物を含む治療の後に前記対象が生存利益(例えば、PFS)を得ることはない可能性が高いことが示される。ある特定の実施形態では、上に列挙したタンパク質のうち、低濃度のタンパク質が1個又は複数ある対象は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22若しくは23ヶ月、又は24ヶ月の無増悪生存期間を得る可能性が高い。

【0078】

本開示は、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療の後に、腫瘍縮小を得る可能性が高い、子宮内膜がんを有する対象を同定する方法も提供する。この方法では、対象の生体試料をアッセイし、Ang2及び/又はIL-8タンパク質の濃度を測定する。対照に比べて低濃度のAng2及び/又はIL-8からは、前記対象が腫瘍縮小を得る可能性が高いことが示される。逆に、対照に比べて高濃度のAng2及び/又はIL-8からは、前記対象が腫瘍縮小を示すことにはならない可能性が高いことが示される。

【0079】

一実施形態では、対象が子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクがある。一部の実施形態では、前記子宮内膜がんが進行子宮内膜がんである。他の実施形態では、前記子宮内膜がんが再発子宮内膜がんである。ある特定の実施形態では、前記子宮内膜がんが、ステージIIIのがんである。一部の実施形態では、前記子宮内膜がんが、ステージIVのがんである。ある特定の実施形態では、前記子宮内膜がんが、切除不能なステージIII又はステージIVのがんである。

【0080】

目的の1種又は複数のタンパク質の濃度は、免疫学的アッセイなど、当技術分野で既知のいずれの方法を使用して測定してもよい。このような方法の非限定的な例としては、酵素免疫アッセイ、ラジオ免疫アッセイ、化学発光免疫アッセイ、電気化学発光免疫アッセイ、ラテックス比濁免疫アッセイ、ラテックス光学免疫アッセイ、免疫クロマトグラフィアッセイ及びウェスタンブロッティングが挙げられる。ある特定の実施形態では、前記タンパク質又は目的のタンパク質の濃度は、質量分析法によって測定する。

【0081】

対照

上記のように、本発明の方法は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象由来の生体試料において、1個又は複数の遺伝子(例えば、表1に示す1個又は複数の遺伝子)の発現レベル(例えば、mRNA又はタンパク質濃度)を測定するステップを伴うことがあり、ここで、1個又は複数の前記遺伝子の発現レベルは、それを対照と比べることで、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に対する対象の応答を予測する。ある特定の実施形態では、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象由来の生体試料における、表1のタンパク質の濃度が対照より低い場合、前記対象は、レンパチニブ化合物を含む治療に応答する可能性が高いと認定される。この文脈では「対照」という用語は、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に応答しないと分かっている対象から得られた試料(同一組織由来)を含む。「対照」という用語は、レンパチニブ化合物を含む治療に応答しないと分かっている対象から過去に得られた試料(同一組織由来)であって、治療応答性を予測しようとする対象から採られる検査試料と後に比較するための参照として使用される試料も含む。特定の細胞種又は組織での、特定のタンパク質についての「対照」発現レベル/濃度は、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)による治療に応答しなかった1又は複数の(例えば、2、3、4、5、6、7、

10

20

30

40

50

8、9、10、15、20、25、30、35若しくは40個体、又はそれを越える)同種の対象におけるタンパク質発現解析によって、予め設定しておいてもよい。この予め設定された参照値(治療に应答しなかった複数個体の対象から得た発現レベル/濃度の平均又は中央値であってよい)は次に、タンパク質又は核酸の「対照」濃度/発現レベルとして、検査試料との比較に使用することができる。このような比較では、解析している遺伝子の発現レベルが、予め設定された参照より低い場合、対象は、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に应答すると予測される。

【0082】

特定の細胞種又は組織での、特定のタンパク質についての「対照」濃度は、代わりに、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)による治療に应答した1又は複数の対象における遺伝子発現解析によって、予め設定しておいてもよい。この予め設定された参照値(治療に应答した複数個体の対象から得た発現レベルの平均又は中央値であってよい)は次に、「対照」発現レベルとして、検査試料との比較に使用することができる。このような比較では、解析しているタンパク質の濃度が、予め設定された参照と同じ又は同等(少なくとも85%だが、100%未満)な場合、対象は、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に应答すると予測される。

10

【0083】

ある特定の実施形態では、前記「対照」が、所定のカットオフ値である。

【0084】

カットオフ値

20

一部の実施形態では、本明細書に記載されている方法は、目的のタンパク質(複数可)の濃度(例えば、表1に列挙した1個又は複数のタンパク質)が所定のカットオフ値を超えるか又は下回るかを決定するステップを含む。

【0085】

カットオフ値は通常、あるタンパク質の濃度であって、それを越えるか又は下回るかすると目的の治療に対する対象の应答性が予測されると考えられる、タンパク質の濃度である。したがって、本明細書に記載されている方法及び組成物では、参照濃度(例えば、表1のタンパク質の参照濃度)は、あるカットオフ値であって、それを越えるか又は下回るかするとレンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に対する应答性が予測される、カットオフ値として同定する。一部のカットオフ値は、その両側で、ある値域にわたって臨床相関が依然として有意であり得るという意味において、絶対的なものではない;しかし、特定の試料種に対し、タンパク質の濃度の至適カットオフ値(例えば、様々なHスコア)を選択することは可能である。本明細書に記載されている方法で使用するために決定するカットオフ値は、例えば公表されている濃度範囲と比較し得るが、使用する方法及び患者集団に対し個別に設定することができる。至適カットオフ値の改善は、使用する統計手法の精巧化と、異なる遺伝子及び試料種について参照レベル値を決定するために使用する試料の数及び供給源とに応じて決定され得ることが理解されている。したがって、確立されたカットオフ値は、定期的再評価、又は方法若しくは集団の分布の変化に基づいて上下に調整することが可能である。

30

【0086】

1個又は複数のタンパク質の参照濃度は、様々な方法によって決定できる。参照レベルは、目的のタンパク質の濃度を、例えば、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に应答性の、又はレンパチニブ化合物を含む治療に应答性でない、対象の諸集団(例えば、患者)において比較することによって決定できる。これは、例えば、患者の全コホートがグラフで表現されているヒストグラム解析であって、その第1の軸は目的のタンパク質の濃度を表し、第2の軸はコホート中の対象の数を表し、そのコホートの試料は1個又は複数の濃度を含む、ヒストグラム解析によって達成できる。次に、タンパク質の参照濃度は、これら別個の群を最もよく区別する量又は濃度に基づいて決定できる。参照レベルは、全対象に一律に適用できる単一の数なことも、対象の特定の部分集団に応じて変更することもある。例えば、同一のがんについて、より高年齢の対象は、

40

50

より低年齢の対象とは、参照レベルが異なることがある。加えて、疾患のより進行した（例えば、より進行した形態の子宮内膜がん）対象は、その疾患がより軽度な形態の対象とは、参照値が異なることがある。

【0087】

予め設定された前記カットオフ値が、受信者動作特性（ROC）解析に基づいて決定されるタンパク質濃度であってもよい。ROC曲線を使用して、臨床試験のためのカットオフ値を決定する。患者が2群に分かれていて、確立された標準手法を使用することによって、片方の群はレンパチニブ化合物に応答性であると分かっており、もう片方はレンパチニブ化合物に応答しないと分かっている状況を考慮されたい。2群の全員に由来する生体試料を使用した測定値を、レンパチニブ化合物に対する応答性について検査するために使用する。この検査は、レンパチニブ化合物に応答する応答者の一部を見つけ出すが、応答者の全てを、ではない。検査により見つけ出される応答者の、応答者（確立された標準手法によりそうと分かる）の総数に対する比は、真陽性率（感度としても知られる）である。この検査は、レンパチニブ化合物に応答しない無応答者の全てではないが一部を見つけ出す。検査により見つけ出される無応答者の、無応答者（確立された標準手法によりそうと分かる）の総数に対する比は、真陰性率（特異度としても知られる）である。期待されるのは、レンパチニブ応答性検査のROC曲線解析が、偽陽性及び偽陰性の数を最小とするようなカットオフ値を見つけ出してくれることである。ROCとは、識別閾値を変化させた際の、2値クラスによる層別化システムの成績をグラフに示したプロットのことである。これは、様々な閾値設定のもとで、陽性のうちの真陽性の割合を、陰性のうちの偽陽性の割合に対してプロットすることによって作成する。

10

20

【0088】

一実施形態では、前記タンパク質濃度が、ある陽性的中率で腫瘍応答を予測する、ROC解析に基づいて決定され、ここで、予め設定された前記カットオフ値以下の目的のタンパク質（例えば、Ang 2）の濃度が低濃度の目的のタンパク質であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度の目的のタンパク質である。陽性的中率とは、陽性検査結果のうち真陽性である結果の割合のことであり；陽性となった検査が、検査しようとしている基礎状態を反映する確立を反映する。ROC曲線を構築し、陽性的中率を決定する方法は、当技術分野ではよく知られている。ある特定の実施形態では、腫瘍応答が奏効率（ORR）、臨床的有用率（CBR）、又は最大腫瘍縮小率（%）である。

30

【0089】

別の実施形態では、予め設定された前記カットオフ値が、生存期間を予測するシミュレーションモデルに基づいて決定されるタンパク質濃度であってもよく、ここで、予め設定された前記カットオフ値以下の目的のタンパク質（例えば、Ang 2）の濃度が低濃度の目的のタンパク質であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度の目的のタンパク質である。一部の実施形態では、生存期間が無増悪生存期間（PFS）である。他の実施形態では、生存期間が全生存期間（OS）である。

【0090】

ある特定の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、1866.5～6024.5 pg/mlの濃度範囲内である。一部の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、1866.5～2500 pg/mlの濃度範囲内である。一部の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、1866.5～3000 pg/mlの濃度範囲内である。一部の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、1866.5～3500 pg/mlの濃度範囲内である。他の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、2000～3000 pg/mlの濃度範囲内である。他の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、2000～4000 pg/mlの濃度範囲内である。他の実施形態では、Ang 2タン

40

50

パク質についての予め設定された前記カットオフ値が、3000～4000 pg/mlの濃度範囲内である。ある特定の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、3000～5000 pg/mlの濃度範囲内である。他の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、3000～6000 pg/mlの濃度範囲内である。他の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、4000～5000 pg/mlの濃度範囲内である。他の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、4000～6000 pg/mlの濃度範囲内である。一部の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、5000～6000 pg/mlの濃度範囲内である。ある特定の実施形態では、Ang 2タンパク質についての予め設定された前記カットオフ値が、約2082.5 pg/mlである。これら全ての実施形態で、予め設定された前記カットオフ値以下のAng 2タンパク質の濃度が低濃度のAng 2であり、予め設定された前記カットオフ値より高い値が高濃度のAng 2である。この文脈では、「約」とは±10%のことを意味する。

【0091】

生体試料

本明細書に記載されている方法に適した生体試料としては、目的の検体生体分子、例えばタンパク質又は核酸（例えば、DNA又はmRNA）などを含むあらゆる体液、細胞、組織又はその画分が挙げられる。生体試料は、例えば、対象（例えば、ヒトなどの哺乳動物）から得られた検体であってもよいし、このような対象に由来していてもよい。試料は、例えば、生検により得られた組織切片、保管腫瘍組織、又は組織培養されている、若しくは組織培養に適合させた細胞であってもよい。生体試料は、血液、血漿、血清若しくは尿などの体液、又はこのような試料を基材（例えば、ガラス、ポリマー、紙）に吸収させたものとすることもできる。生体試料としては、子宮内膜組織試料を挙げることもできる。特定の実施形態では、前記生体試料が、腫瘍又は前がん病変を含むと疑われる対象の領域から得られた腫瘍細胞（複数可）又は腫瘍組織である。例えば、前記生体試料が子宮内膜腫瘍試料であってもよい。必要に応じて、生体試料は、特定の細胞種を含む画分へとさらに分画することができる。血液試料は、例えば、血清へと分画することも、赤血球細胞又は白血球細胞（白血球）などの特定の種類の血球細胞を含む諸画分へと分画することもできる。必要に応じて、試料は、対象由来の諸試料の組合せ、例えば、組織試料及び液体試料の組合せとしてもよい。

【0092】

生体試料は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象から得ることができる。ある特定の実施形態では、対象が進行子宮内膜がんを有する。一部の実施形態では、対象が再発子宮内膜がんを有する。他の実施形態では、対象がステージIIIの子宮内膜がんを有する。ある特定の実施形態では、対象がステージIVの子宮内膜がんを有する。他の実施形態では、対象が、切除不能なステージIII又はステージIVの子宮内膜がんを有する。

【0093】

例示的方法としては、例えば、静脈切開及び細針吸引生検法が挙げられるが、生体試料を得るための、適切でないかなる方法でも利用できる。試料は、例えば、マイクロダイセクション（例えば、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション（LCM）又はレーザーマイクロダイセクション（LMD））により採取することもできる。

【0094】

試料中の分子（例えば、核酸又はタンパク質）の活性を保持する、又はそれらの分子が損なわれないようにする、試料を得るため及び/又は保存するための方法は、当業者にはよく知られている。生体試料は、例えば、前記試料中の分子（例えば、核酸又はタンパク質）を保存する、又はそれらの分子の変化を最小にする1個又は複数のヌクレアーゼ阻害剤、プロテアーゼ阻害剤及びホスファターゼ阻害剤を含めた、緩衝液及び/又は阻害剤などの1個又は複数の追加の作用剤とさらに接触させることができる。このような阻害剤と

10

20

30

40

50

しては、例えば、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 及びエチレングリコールビス (- アミノエチルエーテル) N, N, N', N' - 四酢酸 (EGTA) などのキレート剤、フッ化フェニルメチルスルホニル (PMSF)、アプロチニン、ロイペプチン及びアンチパインなどのプロテアーゼ阻害剤、並びにリン酸、フッ化ナトリウム及びバナデートなどのホスファターゼ阻害剤が挙げられる。分子を単離するのに適した緩衝液及び条件は、当分野の技術者によく知られており、例えば、特徴付けようとしている試料中の分子の種類に応じて変更することができる (例えば、Ausubelら、Current Protocols in Molecular Biology (Supplement 47)、John Wiley & Sons、New York (1999); Harlow and Lane、Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988); Harlow and Lane、Using Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Press (1999); Tietz Textbook of Clinical Chemistry、第3版、Burtis and Ashwood編、W. B. Saunders、Philadelphia、(1999)を参照されたい)。試料を処理して、妨害物質を除去する、又は妨害物質の存在を最小にすることもできる。例えば、生体試料を分画又は精製して、目的のものではない1個又は複数の物質を除去することができる。生体試料を分画又は精製する方法としては、それだけに限らないが、液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー又はアフィニティークロマトグラフィーなどのクロマトグラフ法が挙げられる。本明細書に記載されている方法における使用では、試料は様々な物理的状态にあってよい。例えば試料は液体又は固体であっても、液体に溶解又は懸濁しても、乳剤又はゲルであっても、材料に吸収されていてもよい。

【0095】

バイオマーカーの発現レベル/濃度の決定

遺伝子発現は、標的遺伝子の例えばタンパク質又はRNA発現として検出することができる。つまり、遺伝子の存在又は発現レベル(量)は、その遺伝子のmRNA又はタンパク質発現のレベルを検出及び/又は測定することによって決定できる。一部の実施形態では、遺伝子発現は、ある遺伝子、例えば表1に示す遺伝子にコードされるタンパク質の活性として検出することができる。

【0096】

一実施形態では、遺伝子の発現は、その遺伝子にコードされるタンパク質の発現又は濃度を検出及び/又は測定することによって決定できる。タンパク質発現/濃度を決定する方法は、当技術分野ではよく知られている。一般に使用される方法は、目的の標的タンパク質に特異的な抗体の使用を伴う。タンパク質発現を決定する方法としては、例えば、それだけに限らないが、ウェスタンブロットイング又はドットブロット解析、免疫組織化学(例えば、定量的免疫組織化学)、免疫細胞化学、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、酵素結合免疫吸着スポット(ELISPOT; Coligan, J. E. 他編。(1995) Current Protocols in Immunology. Wiley, New York)、ラジオイムノアッセイ、化学発光イムノアッセイ、電気化学発光イムノアッセイ、ラテックス比濁イムノアッセイ、ラテックス光学イムノアッセイ、イムノクロマトグラフィーアッセイ及び抗体アレイ解析(例えば、参照により開示全体が本明細書にそれぞれ組み込まれている米国特許出願公開第2003/0013208号明細書及び米国特許出願公開第2004/171068号明細書を参照されたい)が挙げられる。タンパク質発現を検出するための上記の方法及び追加の方法の多くに関するさらなる記載は、例えばSambrookら(前掲)に見出すことができる。

【0097】

一例を挙げるなら、遺伝子(例えば、表1に示す遺伝子)からのタンパク質発現の存在又は量は、ウェスタンブロットイング法を使用して決定できる。例えば、生体試料から溶

解液を調製することができ、この溶解液を、又は生体試料そのものをレムリ (L a e m m l i) 緩衝液と接触させ、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (S D S - P A G E) に供することができる。S D S - P A G E で分けられた、サイズにより分離したタンパク質は次に、フィルター膜 (例えば、ニトロセルロース) に転写し、目的のタンパク質に特異的な、検出可能に標識された抗体を使用するイムノプロット法に供することができる。結合した、検出可能に標識された抗体の存在又は量は、生体試料におけるタンパク質の存在又は量を示す。

【0098】

別の例を挙げるなら、遺伝子 (例えば、表1に示す遺伝子) からのタンパク質発現を検出及び/又は測定するために、イムノアッセイを使用できる。上記のようにイムノアッセイは、検出目的では、検出部分 (例えば、蛍光剤又は酵素) を有する抗体を用いて行うことができる。生体試料由来のタンパク質は、固相マトリックス (例えば、マルチウェルアッセイプレート、ニトロセルロース、アガロース、セファロース、コード化粒子又は磁気ビーズ) に直接コンジュゲートしてもよいし、特異的結合対の片方に結合 (例えば、ストレプトアビジン又はビオチン) すると固相マトリックスに付着する、特異的結合対のもう片方 (例えば、ビオチン又はストレプトアビジン) にコンジュゲートしてもよい。固相マトリックスにこのように付着するために前記タンパク質は、検出抗体との接触の前に、生体試料の他の妨害物質又は無関係な成分から分けて精製することが可能となり、また接触の後には、結合しなかった抗体を洗浄して除去することも可能となる。この場合も上記と同様に、結合した、検出可能に標識された抗体の存在又は量は、生体試料におけるタンパク質の存在又は量を示す。

10

20

【0099】

抗体の形態に関して特定の制限はなく、本開示には、ポリクローナル抗体も、そしてモノクローナル抗体も含まれる。本発明のタンパク質又はその断片 (すなわち、表1のタンパク質又はその免疫断片) でウサギなどの動物を免疫することにより得られる抗血清、並びに全てのクラスのポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体、ヒト抗体、並びに遺伝的組換えにより産生されるヒト化抗体も含まれる。

【0100】

免疫するための抗原として、全長タンパク質又はその部分ペプチドを使用できる。タンパク質の部分ペプチドとしては、例えば、そのタンパク質のアミノ (N) 末端断片及びカルボキシ (C) 末端断片を用意してもよい。

30

【0101】

目的のタンパク質又はその断片 (例えば、免疫断片) をコードする遺伝子を、既知の発現ベクターに挿入する。本明細書に記載されているベクターを宿主細胞に形質転換することによって、宿主細胞外又は宿主細胞内から、所望のタンパク質又はその断片を、標準の方法を使用して回収する。このタンパク質を感作抗原として使用できる。さらに、前記タンパク質を発現する細胞、細胞溶解液、又は化学的に合成された本発明のタンパク質を感作抗原として使用することもできる。

【0102】

感作抗原で免疫する哺乳動物に制限はないが、細胞融合に使用する親細胞との適合性を考慮することによって動物を選択するのが好ましい。一般には、齧歯目、ウサギ目又は霊長目に属する動物を使用する。使用することのできる、齧歯目に属する動物の例としては、マウス、ラット及びハムスターが例えば挙げられる。使用することのできる、ウサギ目に属する動物の例としては、例えばウサギが挙げられる。使用することのできる、霊長目に属する動物の例としては、例えばサルが挙げられる。使用するためのサルの例としては、狭鼻下目 (旧世界ザル)、例えばカニクイザル (マカク・ファシクラリス (M a c a c a f a s c i c u l a r i s))、アカゲザル、マントヒヒ及びチンパンジーが挙げられる。

40

【0103】

感作抗原で動物を免疫するためには、よく知られた方法を使用することができる。例え

50

ば、感作抗原を哺乳動物に腹腔内注入又は皮下注入する。詳細には、感作抗原を生理食塩水及びリン酸緩衝食塩水（PBS）などに適宜希釈及び懸濁し、必要に応じて、適量の一般的なアジュバント、例えばフロイント完全アジュバントと混合する。次いでこの液体を乳化し、哺乳動物に注入する。その後、フロイント不完全アジュバントと適宜混合した感作抗原を、4～21日ごとに数回与えるのが好ましい。感作抗原で動物を免疫する際、適切な担体も使用することができる。免疫後、血清抗体のレベルが上昇するのを、通常の方法によって検出する。

【0104】

本開示のタンパク質に対するポリクローナル抗体は、以下のように調製できる。所望の血清抗体レベルが達成されていることを確かめた後、抗原で感作した哺乳動物から血液を抜く。通常の方法を使用して、この血液から血清を単離する。ポリクローナル抗体を含む血清をポリクローナル抗体として使用してもよいし、必要に応じてこの血清から、ポリクローナル抗体を含む画分をさらに単離してもよい。例えば、本発明のタンパク質を特異的に認識する抗体の画分は、タンパク質を結合させたアフィニティークラムを使用することによって調製することができる。次いで、免疫グロブリンG又はMを調製するために、プロテインAカラム又はプロテインGカラムを使用してこの画分をさらに精製してもよい。

10

【0105】

モノクローナル抗体を得るには、上記の抗原で感作した哺乳動物で、所望の血清抗体レベルが達成されていることを確かめた後、免疫細胞をこの哺乳動物から採り、細胞融合に使用する。この目的では、好ましい免疫細胞として脾細胞を挙げることができる。上記の免疫細胞と融合させる親細胞としては、哺乳動物の骨髄腫細胞が好んで使用される。融合細胞を作用剤により区別するために使用できる特性を獲得した骨髄腫細胞を、親細胞として使用するのがより好ましい。

20

【0106】

上記の免疫細胞と骨髄腫細胞との細胞融合は、既知の方法、例えばGalfré及びMilstein (Methods Enzymol. 73: 3～46ページ、1981年) による方法に従って行うことができる。

【0107】

細胞融合により得られたハイブリドーマは、標準的な選択培地、例えばHAT培養液（ヒポキサンチン、アミノプテリン及びチミジンを含む培地）で細胞を培養することによって選択する。このHAT培地での培養は、目的とするハイブリドーマ以外の細胞（非融合細胞）が死滅するのに十分な期間、通常は短い日数～数週間、継続する。次に通常の限界希釈法を実行し、目的とする抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニング及びクローニングする。

30

【0108】

ヒト以外の動物を抗原で免疫することによる、ハイブリドーマを得るための上記の方法以外では、タンパク質に結合する活性を有する、目的とするヒト抗体を産生するハイブリドーマは、*in vitro*でヒトリンパ球、例えば、EBウイルスに感染させたヒトリンパ球を、タンパク質、タンパク質を発現する細胞、又はその溶解液で感作し、この感作したリンパ球を、永久に細胞分裂する能力を有するヒト由来の骨髄腫細胞、例えばU266と融合する方法により得ることができる。

40

【0109】

得られたハイブリドーマをマウスの腹腔に移植し、腹水を抽出することにより得たモノクローナル抗体は、例えば、硫酸沈澱、プロテインAカラム又はプロテインGカラム、DEAEイオン交換クロマトグラフィー、及び本開示のタンパク質を結合させたアフィニティークラムなどによって精製できる。

【0110】

モノクローナル抗体は、遺伝子工学の手法を使用することにより産生した組換え抗体として得ることもできる（例えば、Borrebaeck C. A. K. and Larrick, J. W., THERAPEUTIC MONOCLONAL ANTIBOD

50

IES、英国でMACMILLAN PUBLISHERS LTDにより出版(1990)を参照されたい)。組換え抗体は、コードするDNAを免疫細胞、例えばハイブリドーマ、又は抗体を産生する感作リンパ球などからクローニングし、適切なベクターに組み込み、このベクターを宿主に導入して抗体を産生することによって産生する。本開示はこのような組換え抗体も包含する。

【0111】

1個又は複数のバイオマーカーによりコードされるタンパク質に特異的な抗体又は抗体断片は、ファージディスプレイなどの*in vitro*の方法によって作製することもできる。

【0112】

さらに、本開示の抗体は、本発明のバイオマーカーによりコードされるタンパク質に結合する限り、抗体断片又は改変抗体であってよい。例えば、Fab、F(ab')₂、Fv、又はH鎖FvとL鎖Fvとが適切にリンカーで連結されている一本鎖Fv(scFv)(Houstonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、85:5879~5883ページ、(1988))を抗体断片として与えることができる。詳細には、抗体断片は、酵素、例えば、パイン又はペプシンで抗体を処理することによって作製する。代わりに抗体断片は、それをコードする遺伝子を構築し、この構築物を発現ベクターに導入し、このベクターを適切な宿主細胞で発現させることによって作製してもよい(例えば、Coら、J. Immunol.、152:2968~2976ページ、1994年; Betterら、Methods Enzymol.、178:476~496ページ、1989年; Pluckthunら、Methods Enzymol.、178:497~515ページ、1989年; Lamoyi、Methods Enzymol.、121:652~663ページ、1986年; Rousseauxら、Methods Enzymol.、121:663~669ページ、1986年; Birdら、Trends Biotechnol.、9:132~137ページ、1991年を参照されたい)。

【0113】

抗体は、蛍光物質、放射性物質及び発光物質などの多様な分子とコンジュゲートすることができる。このような部分を抗体に付与する方法は既に確立されており、当該分野では一般に行われている(例えば、米国特許第5057313号明細書及び米国特許第5156840号明細書を参照されたい)。

【0114】

抗体の抗原結合活性をアッセイする方法の例としては、吸光度測定、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、酵素イムノアッセイ(EIA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)及び/又は免疫蛍光が例えば挙げられる。ELISAを使用する際には、例えば、本発明のバイオマーカーによりコードされるタンパク質を、本開示の抗体でコートしたプレートに添加し、次いで抗体試料、例えば、抗体産生細胞の培養上清、又は精製抗体を添加する。次に、アルカリホスファターゼなどの酵素で標識された、一次抗体を認識する二次抗体を添加し、プレートをインキュベート及び洗浄し、p-ニトロフェニルリン酸などの酵素基質を添加後、吸光度を測定して抗原結合活性を評価する。タンパク質としては、タンパク質断片、例えばC末端を含む断片、又はN末端を含む断片を使用してもよい。本発明の抗体の活性を評価するために、ピアコア(GE Healthcare)を使用することができる。

【0115】

これらの方法を使用することによって、本発明の抗体と、本発明のタンパク質を含むと推定される試料とを接触させ、本発明のバイオマーカーによりコードされるタンパク質を、上述の抗体と前記タンパク質との間で形成される免疫複合体を検出又はアッセイすることにより、検出又はアッセイする。

【0116】

それだけに限らないが、例えば、安定同位体標識された内部標準と組み合わせた、多重

10

20

30

40

50

反応モニタリング (MRM) に基づくアプローチなどの、質量分析法に基づく定量アッセイの方法は、タンパク質を定量的に測定するためのイムノアッセイに代わる方法である。これらのアプローチでは抗体を使用する必要がないため、費用効率及び時間効率の高い形で分析を行うことができる (例えば、Addonaら、*Nat. Biotechnol.*、27:633~641ページ、2009年; Kuzykら、*Mol. Cell Proteomics*、8:1860~1877ページ、2009年; Paulovichら、*Proteomics Clin. Appl.*、2:1386~1402ページ、2008年を参照されたい)。加えて、MRMでは優れたマルチプレックス能力が利用でき、多数のタンパク質を同時並行で定量することが可能となる。これらの方法の基礎理論は確固たるものになっており、薬物代謝、及び低分子の薬物動態解析に広く利用されている。

10

【0117】

別の実施形態では、目的の遺伝子の発現レベルは、RNAレベルを測定することによって決定する。適切な種々の方法を利用して、遺伝子のmRNA発現のレベルを検出及び/又は測定できる。mRNA発現は、例えば、ノーザンブロット又はドットブロット解析、逆転写酵素PCR (RT-PCR; 例えば、定量的RT-PCR)、*in situ*ハイブリダイゼーション (例えば、定量的*in situ*ハイブリダイゼーション) 又は核酸アレイ (例えば、オリゴヌクレオチドアレイ又は遺伝子チップ) 解析を使用して決定できる。このような方法の詳細は以下に記載し、また例えばSambrookら、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 第2版第1、2及び3巻、Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, New York, USA、1989年11月; Gibsonら、(1999) *Genome Res.*、6(10):995~1001ページ; 及びZhangら、(2005) *Environ. Sci. Technol.*、39(8):2777~2785ページ; 並びに参照により開示全体が本明細書にそれぞれ組み込まれている米国特許出願公開第2004/086915号明細書; 欧州特許第0543942号明細書; 及び米国特許第7101663号明細書に記載されている。

20

【0118】

一例を挙げるなら、生体試料における1個又は複数の別個のmRNA集団の存在又は量は、生体試料から全mRNAを単離し (例えば、Sambrookら (前掲) 及び米国特許第6812341号明細書を参照されたい)、単離したmRNAをアガロースゲル電気泳動に供して、サイズによりmRNAを分離することによって決定することができる。サイズにより分離したmRNAを次に、ニトロセルロース膜などの固体支持体に (例えば拡散により) 転写する。生体試料における1個又は複数のmRNA集団の存在又は量は次に、目的のmRNA配列と相補的な、検出可能に標識されたポリヌクレオチドプローブを1個又は複数使用して決定することができる。このポリヌクレオチドプローブは、対応するmRNA集団に結合することによって、これらのmRNA集団を検出可能にする。検出可能な標識としては、例えば、蛍光標識 (例えば、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド、アロフィコシアニン (APC) 又はフィコエリトリン)、発光標識 (例えば、ユウロピウム、テルビウム、Quantum Dot Corporation、Palo Alto, CAの供給するQdot (商標) ナノ粒子)、放射線標識 (例えば、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^{32}P 、 ^{33}P 又は ^3H)、及び酵素標識 (西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ又はアセチルコリンエステラーゼ) が挙げられる。

30

40

【0119】

別の例を挙げるなら、生体試料におけるmRNAの別個の諸集団 (例えば、表1に示す1個又は複数の遺伝子にコードされるmRNA) の存在又は量は、核酸 (又はオリゴヌクレオチド) アレイ (例えば、後に「アレイ」の項目の下に記載するアレイ) を使用して決定することができる。例えば、生体試料から単離したmRNAは、例えばランダムヘキサマー又はオリゴ (dT) プライマーによって第1鎖合成を媒介し、RT-PCRを使用し

50

て増幅することができる。増幅産物は、より短いセグメントに断片化してもよい。増幅産物を検出可能に標識するためにRT-PCRステップを使用することも、又は任意選択で、RT-PCRステップに続いて増幅産物を検出可能に標識することもできる。検出可能な標識は、例えば、適切な種々の手法（例えば、Sambrookら、前掲を参照されたい）のうちのいずれかを使用して、酵素的（例えば、ニックトランスレーションにより、又はT4ポリヌクレオチドキナーゼなどのキナーゼにより）又は化学的に増幅産物とコンジュゲートしてもよい。検出可能に標識された増幅産物を次に、ポリヌクレオチドプローブの複数セットと接触させる。ここで各セットは、対応する増幅産物に特異的な（そして、この増幅産物に結合する能力のある）1個又は複数のポリヌクレオチド（例えば、オリゴヌクレオチド）プローブを含み、前記複数セットは、各セットが異なる増幅産物に対応するプローブのセットを多数含む。一般には、プローブのセットは固体支持体に結合しており、プローブの各セットの位置は、固体支持体上において予め決定されている。検出可能に標識された増幅産物が、プローブのセットのうち対応するプローブに結合すると、生体試料における標的mRNAの存在又は量が示される。核酸アレイを使用してmRNA発現を検出するための他の方法は、例えば、参照により開示全体が本明細書にそれぞれ組み込まれている米国特許第5445934号明細書；米国特許第6027880号明細書；米国特許第6057100号明細書；米国特許第6156501号明細書；米国特許第6261776号明細書；及び米国特許第6576424号明細書に記載されている。

10

【0120】

検出可能な標識を検出及び/又は定量する方法は、その標識の性質によって決まる。適切な酵素（検出可能な標識が酵素の場合；上記参照）により触媒された反応の産物は、それだけに限らないが、蛍光性、発光性若しくは放射性であってよく、又は可視光若しくは紫外光を吸収してもよい。このような検出可能な標識を検出するのに適した検出器の例としては、それだけに限らないが、X線フィルム、放射能計数器、シンチレーション計数器、分光光度計、比色計、蛍光光度計、ルミノメーター及び濃度計が挙げられる。

20

【0121】

遺伝子発現（例えば、タンパク質又はmRNA発現）を検出又は測定するための方法は、任意選択で、複数試料の迅速な調製、処理及び解析を可能にする形式において行うことができる。これは例えばマルチウェルのアッセイプレート（例えば、96ウェル又は386ウェル）又はアレイ（例えば、核酸チップ又はタンパク質チップ）においてであってもよい。種々の試薬の保存溶液は、手作業又はロボットにより用意でき、これに続く試料調製（例えば、RT-PCR、標識又は細胞固定）、ピペット操作、希釈、混合、分配、洗浄、インキュベート（例えば、ハイブリダイゼーション）、試料読取り、データ収集（光学的データ）及び/又は解析（コンピュータ支援画像解析）は、市販の解析ソフトウェア、ロボット工学、及びアッセイで生じるシグナルを検出できる検出機器を使用して、ロボットにより行うことが可能である。このような検出器の例としては、それだけに限らないが、分光光度計、ルミノメーター、蛍光計、及び放射性同位体の崩壊を測定する装置が挙げられる。例示的な高スループット細胞ベースアッセイ（例えば、細胞における標的タンパク質の存在又はレベルを検出するアッセイなど）は、アレイスキャン（Array Scan）（登録商標）VTI HCS Reader又はキネティックスキャン（Kinetic Scan）（登録商標）HCS Reader技術（Cellomics Inc.、Pittsburg、PA）を利用できる。

30

40

【0122】

一部の実施形態では、表1の2個の遺伝子、3個の遺伝子、4個の遺伝子、5個の遺伝子、6個の遺伝子、7個の遺伝子、8個の遺伝子、9個の遺伝子、10個の遺伝子、11個の遺伝子、又は少なくとも2個の遺伝子、少なくとも3個の遺伝子、少なくとも4個の遺伝子、少なくとも5個の遺伝子、少なくとも6個の遺伝子、少なくとも7個の遺伝子、少なくとも8個の遺伝子、少なくとも9個の遺伝子、若しくは少なくとも10個の遺伝子の発現レベルを評価及び/又は測定することができる。

【0123】

50

表 1 に示す 1 個又は複数の遺伝子の発現の存在又はレベルを検出するのを補助するために、例えばハイブリダイゼーションポリヌクレオチドプローブ又はプライマー（例えば、増幅又は逆転写用）として、遺伝子の核酸配列のどの部分を使用してもよい。プローブ及びプライマーは、生体試料から単離された RNA、DNA、cDNA 又はその断片との特異的ハイブリダイゼーションを可能にするのに十分な長さのオリゴヌクレオチドであってよい。特定の用途に応じハイブリダイゼーション条件を変更して、標的配列に対するプローブ又はプライマーの選択性の程度を変更するために用いることができる。プライマー及びプローブは、検出を容易にする試薬（例えば、蛍光標識、化学標識（例えば、米国特許第 4 5 8 2 7 8 9 号明細書及び米国特許第 4 5 6 3 4 1 7 号明細書を参照されたい）、又は修飾塩基）により、検出可能に標識することができる。

10

【0124】

標準的なストリンジェンシーの条件は、Sambrookら（前掲）及びHaymesら、Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach, IRL Press, Washington, D.C. (1985) により記載されている。核酸分子がプライマー又はプローブとして働くためには、用いる特定のハイブリダイゼーション条件下（例えば、溶媒及び塩濃度）で安定な二重鎖構造を形成できるよう、配列が十分相補的になっているだけでよい。

【0125】

2 個の核酸配列間の相同性を評価するために、ハイブリダイゼーションを使用することができる。本明細書に記載されている核酸配列又はその断片は、標準的なハイブリダイゼーション手法に従ってハイブリダイゼーションプローブとして使用できる。目的のプローブ（例えば、本明細書に記載されているヌクレオチド配列又はその相補配列の一部を含むプローブ）が、検査供給源由来の DNA、RNA、cDNA 又はその断片とハイブリダイズすると、プローブに対応する DNA 又は RNA が、検査供給源において存在することが示される。ハイブリダイゼーション条件は当分野の技術者にとっては既知であり、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y., 6.3.1~6.3.6、1991 年に見出すことができる。穏やかなハイブリダイゼーション条件は、30 における 2X 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム (SSC) でのハイブリダイゼーション、及びそれに続く、50 における 1X SSC、0.1% SDS による洗浄として定義される。高いストリンジェント条件は、45 における 6X SSC でのハイブリダイゼーション、及びそれに続く、65 における 0.2X SSC、0.1% SDS による洗浄として定義される。

20

30

【0126】

プライマーは、PCR 様式の様々な方法で使用できる。例えば、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法を使用して、全ゲノム配列 DNA 又は全細胞 RNA からの配列を含め、DNA 及び RNA から特定の配列を増幅することができる。PCR プライマーは、増幅を目的とする領域の両側に設計する。プライマーは、増幅しようとするヌクレオチド配列の 5' 末端若しくは 3' 末端の近傍、又はその内部のどこに位置していてもよい。増幅産物の長さは実験の目的により決まる。標的の長さは、qPCR の場合は 100 bp により近く、標準的な PCR の場合は約 500 bp である。一般に、目的の領域の末端、又はその外側の配列情報を利用して、増幅しようとする鋳型の逆鎖と配列が同一又は類似のオリゴヌクレオチドプライマーを設計する。PCR プライマーは、単一の核酸分子として（例えば、ホスホラミダイト技術を使用した、3' から 5' の方向の自動 DNA 合成を使用して）、又は一連のオリゴヌクレオチドとしてのいずれかで化学合成できる。例えば、1 対又は複数対の、所望の配列を含む長いオリゴヌクレオチド（例えば、> 100 ヌクレオチド）を合成することができる。ここで、オリゴヌクレオチド対をアニールすると二本鎖が形成されるように、各対は、相補的な短いセグメント（例えば、約 15 ヌクレオチド）を含む。DNA ポリメラーゼを使用してオリゴヌクレオチドを伸長し、その結果、各オリゴヌクレオチド対につき 1 個の二重鎖核酸分子が得られる。

40

【0127】

50

加えて、核酸配列又はその断片（例えば、オリゴヌクレオチドプローブ）は、遺伝子発現を検出及び/又は定量するために、核酸アレイ（後に「アレイ」の項目の下に記載する核酸アレイなど）において使用できる。

【0128】

応答プロファイルの作成

本明細書に記載の方法は、子宮内膜がんを有する対象についてのレンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）治療応答プロファイルを作成するためにも使用され得る。このプロファイルは、例えば、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩での治療の前及び後の1種又は複数の遺伝子（例えば、表1に示されている1種又は複数の遺伝子）の発現レベルを示す情報；並びに/又は任意の子宮内膜腫瘍の組織学的分析を含み得る。本明細書に記載の応答プロファイルは、表1に列挙した少なくとも2種、少なくとも3種、少なくとも4種、少なくとも5種、少なくとも6種、少なくとも7種、少なくとも8種、少なくとも9種又は少なくとも10種の遺伝子の発現又は発現レベルについての情報を含み得る。結果として得られる情報（レンパチニブ治療応答プロファイル）は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象（例えば、ヒト患者）の、レンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療に対する応答を予測するために使用され得る。

10

【0129】

レンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）応答プロファイルは、電子的形態（例えば、コンピュータ又は他の電子的（コンピュータで読み出し可能な）媒体、例えば、DVD、CD又はフロッピー（登録商標）ディスク等に保存される電子的患者記録）又は書面による形態であってもよいことが理解される。レンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）応答プロファイルは、数名（例えば、2、3、4、5、10、20、30、50若しくは100名又はそれより多くの）対象（例えば、ヒト患者）についての情報も含み得る。こうした複数対象応答プロファイルは、例えば、対象コホートの特定の特性の分析（例えば、統計解析）において使用され得る。

20

【0130】

レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療に対する対象の応答性は数種類の方法で分類することができ、分類は、対象の疾患（例えば、進行又は再発子宮内膜がん）、疾患の重症度、及び対象に投与される特定の医薬に依存する。最も単純な意味では、応答性とは、治療前と比較して疾患状態における何らかの減少であり、非応答性とは、治療前と比較して疾患状態にいかなる変化もないことである。子宮内膜がんを有する対象（例えば、ヒト）の応答性は、これらに限定されないが、腫瘍サイズ、臨床的有用性（CB）、無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）、最大腫瘍縮小率（%）（MTS）又は奏効率（ORR）等のいくつかの客観的臨床徴候のうちの1つ又は複数に基づいて分類され得る。

30

【0131】

「臨床的有用性」とは、以下の状態のうちの1つを有することを指す - 完全奏効（CR）、部分奏効（PR）；又は6ヶ月以上の無増悪生存期間（PFS）を伴う安定疾患（SD）。「完全奏効」とは、全標的病変の完全消失を意味する。「部分奏効」とは、ベースラインの最長径（LD）の合計を参照とした、標的病変のLDの合計における少なくとも30%の減少を意味する。「進行疾患」（PD）とは、治療開始からの記録されたLDの最小の合計を参照とした、標的病変のLDの合計における少なくとも20%の増加、又は1個若しくは複数の新しい病変の出現を意味する。「安定疾患」とは、治療開始からのLDの最小の合計を参照として、PRの認定に十分な標的病変の縮小も、進行疾患（PD）の認定に十分な増加もないことを意味する。

40

【0132】

「全生存期間」（OS）は、無作為化から何らかの原因による死亡までの時間として定義される。「無作為化」とは、患者の治療計画が決定されるとき、試験群又は対照群への患者の無作為化を意味する。

50

【0133】

「無増悪生存期間」(PFS)とは、治療の開始日からPD状態に入る前の最終日までの期間を指す。

【0134】

「最大腫瘍縮小率(%)」(MTS)とは、ベースライン合計直径を参照とした、標的病変の直径の合計の百分率変化を意味する。

【0135】

「奏効率」(ORR)は、完全奏効(CR)又は部分奏効(PR)のいずれかを有する対象を、安定疾患(SD)又は進行疾患(PD)のいずれかを有する対象と比較する。

【0136】

治療の方法

本明細書に開示の方法は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象が、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に応答する可能性が高いかどうかの評価を可能にする。子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある、レンパチニブ化合物に応答する可能性が高い対象は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を投与され得る。逆に、レンパチニブ化合物に応答する可能性が低い、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象には、子宮内膜がんの治療に好適な別の治療が行われ得る。

【0137】

本開示の方法は、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象を、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療から利益を得る可能性がより高い対象の群と、利益を得る可能性がより低い対象の群とに層別化することも可能にする。レンパチニブ化合物での治療に向けて考慮されている子宮内膜がん対象のプールからこうした患者を選択できることは、対象に有効な治療を行うために有益である。

【0138】

レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)は、部分的には、血管新生を抑制することによって、強力な抗腫瘍効果を示す。レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療に向けて考慮されている対象には、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い対象が含まれるが、これらに限定されない。一実施形態では、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩(例えば、レンパチニブメシル酸塩)で治療される対象は、進行子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い。ある特定の実施形態では、レンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を含む治療で治療される対象は、再発子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い。他の実施形態では、レンパチニブ化合物を含む治療で治療される対象は、ステージIの子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い。一実施形態では、レンパチニブ化合物を含む治療で治療される対象は、ステージIIの子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い。別の実施形態では、レンパチニブ化合物を含む治療で治療される対象は、ステージIIIの子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い。別の実施形態では、レンパチニブ化合物を含む治療で治療される対象は、ステージIVの子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症する可能性が高い。一部の実施形態では、子宮内膜がんは、切除不能なステージIII又はステージIVのがんである。

【0139】

子宮内膜がんを有する対象がレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が(上記の1種又は複数のバイオマーカー(例えば、Ang2タンパク質)の濃度に基づいて)より高い場合には、次いで、この対象に、有効量のレンパチニブ化合物(例えば、レンパチニブメシル酸塩)を投与することができる。化合物の有効量は、

10

20

30

40

50

医療関係者が、例えば、患者の特性（年齢、性別、体重、人種等）、疾患の進行及び薬物に対する事前の曝露を考慮して、適切に決定することができる。対象がレンパチニブ化合物を含む治療に応答する可能性がより低い場合には、次いで、この対象に、レンパチニブを含まない治療を任意選択で行うことができる。これらの治療には、放射性ヨウ素、ドキシソルピシン、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ソラフェニブ、ドセタキセル、トラスツズマブ、インターロイキン-2、インターフェロン、エベロリムス、スニチニブ、パゾパニブ、バンデタニブ、並びに治験薬及び化学療法等の「ケアの標準」治療（すなわち、医療関係者によって決定される又は臨床試験において定められているような一般的なケアの標準）が含まれるが、これらに限定されない。

【0140】

あらゆる年齢の対象が、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）によって治療可能な障害を罹患する恐れがある。したがって、本明細書に記載の方法において使用される生体試料は、小児、青年又は成体、例えば、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある成体を含む、あらゆる年齢の対象（例えば、ヒト）から得ることができる。

【0141】

この方法は、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）によって治療可能な子宮内膜がんを発症するリスクのある個体にも適用され得る。こうした個体には、(i)こうした障害の家族歴（遺伝的素因）又は(ii)こうした障害を発症する1つ又は複数の危険因子を有する個体が含まれる。

【0142】

レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）に応答する可能性がより高くなるか又はより低くなるかどうかに基づいて対象を層別化又は選択した後に、医療関係者（例えば、医者）は、対象に適切な治療法を施すことができる。レンパチニブ治療を行う方法は、当技術分野においてよく知られている。

【0143】

本明細書に記載のいかなる治療（例えば、レンパチニブを含む治療又はレンパチニブを含まない治療）も、1種又は複数のさらなる治療剤を含み得ることが理解される。すなわち、本明細書に記載のいかなる治療も、これらに限定されないが、ドキシソルピシン、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ドセタキセル、トラスツズマブ及びエベロリムス等の1種又は複数のさらなる治療剤と共投与（組合せで投与）されてもよい。さらに、本明細書に記載のいかなる治療も、例えば、疼痛、悪心、及び/又はレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療の1種又は複数の副作用を、治療するための1種又は複数の作用剤を含んでいてもよい。

【0144】

組合せ治療（例えば、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）と、1種又は複数のさらなる治療剤とを含む治療の共投与）は、例えば、同時又は連続であってもよい。例えば、レンパチニブ若しくはその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）と1種又は複数のさらなる治療剤とが同時に投与されてもよく、又は最初にレンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）が適時に投与され、次に1種又は複数のさらなる治療剤が適時に投与されてもよい。一部の実施形態では、最初に1種又は複数のさらなる治療剤が適時に投与され、次にレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）が適時に投与されてもよい。

【0145】

対象が子宮内膜がんを有していてレンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）に対して応答することが予測されている場合には、治療は、レンパチニブ以外の1種又は複数の治療を以前に投与して、レンパチニブ化合物を含む治療は、以前に行われた又は現在行われている治療を置き換える又は増強することができる。例えば、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療で治

10

20

30

40

50

療することにより、レンパチニブ以外の1種又は複数の治療の投与を中止又は低減、例えば、より低いレベルで投与することができる。レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療を投与すると同時に、従来の治療の投与を維持することもできる。一部の実施形態では、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療のレベルが治療効果をもたらすのに十分なレベルに達するまで、従来の治療を維持することもできる。

【0146】

アレイ

本明細書に開示の核酸バイオマーカーを含む核酸アレイは、例えば、遺伝子発現の検出及び/又は遺伝子発現レベルの測定に有用である。このアレイは、例えば、子宮内膜がんを有する対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療に対する応答を予測すること、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療から利益を受け得る、子宮内膜がんを有する対象を認定すること、及びレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療から利益を受ける可能性が低い、子宮内膜がんを有する対象を他のがん治療に導くことにも有用である。

【0147】

アレイは、塩基対形成則（例えば、チミン又はウラシルとのアデノシン対；シトシンとのグアノシン対）に基づいて既知及び未知のDNA試料の一致判定が行われる、順序正しい配置の試料である。典型的なマイクロアレイ実験は、mRNA、cDNA分子又はその断片の、それらに起原又は由来する鋳型DNAへのハイブリダイゼーションを含む。アレイを構築するために多くのDNA試料が使用される。表1にある遺伝子のうちの少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は11種からのDNAをアレイの構築に使用することができる。アレイ実験では、マイクロプレート又は標準的なプロットング膜等の一般的なアッセイ系を使用する。試料スポットサイズは、典型的には、直径で200ミクロン未満であり、アレイは、通常、何千ものスポットを含んでいる。（既知の識別情報を有する）プローブとして知られる数千のスポットされた試料が、基質（例えば、顕微鏡ガラススライド、シリコンチップ、ナイロン膜）上に固定化される。これらのスポットは、DNA、cDNA又はオリゴヌクレオチドであってもよい。これらは、未知の配列の相補的な結合を決定するために使用され、したがって、遺伝子発現及び遺伝子発見の並行解析を可能にする。単一のDNAチップを用いた実験では、何千もの遺伝子の情報を同時に提供することができる。アレイ上の各スポットの位置は遺伝子の同定に使用されるので、支持材上のプローブの順序正しい配置が重要である。アレイの各部位に結合したmRNAの量は、アレイに含まれる多様な遺伝子の発現レベルを示す。多くのDNA試料を含むアレイを使用することにより、単回の実験で、アレイ上の各部位に結合したmRNAの量を測定することによって何百又は何千もの遺伝子の発現レベルを決定することができる。コンピュータの助けにより、マイクロアレイ上のスポットに結合したmRNAの量を正確に測定することができ、細胞内の遺伝子発現のプロファイルが生成される。

【0148】

一般に使用される2種の主なDNAマイクロアレイのプラットフォームは、cDNA及びオリゴヌクレオチドのマイクロアレイである。cDNAマイクロアレイは、PCR等の酵素反応によって生成される長い二本鎖DNA分子で作製されるのに対して（Schen a, M.ら、Science、270:467-470（1995））、オリゴヌクレオチドマイクロアレイは、機械的な沈着又は*in situ*での合成のいずれかによって基質上にスポットされたオリゴヌクレオチドプローブを採用する（Lockhart, D. J.ら、Nat. Biotechnol.、14、1675-1680（1996））。

【0149】

キット

本出願は、キットも提供する。ある特定の実施形態では、キットは、表1に列挙したバイオマーカーのうちの1種又は複数又はそれらの濃度若しくは発現レベルの検出に使用可

10

20

30

40

50

能な1種又は複数の抗体を含んでいてもよい。例えば、キットは、特異的にAng 2を結合する抗体を含んでいてもよい。キット中の抗体は、モノクローナル又はポリクローナルであってもよく、検出可能な標識とさらにコンジュゲートされていてもよい。一部の実施形態では、キットは、表1のうちの任意のバイオマーカーの同定又は検出に使用可能なプローブを含む。一部の実施形態では、キットは、本明細書に記載の任意の核酸アレイを含む。一部の実施形態では、キットは、表1のうちの任意のバイオマーカー又はそれらの発現若しくは発現レベルの同定又は検出に使用可能なプローブ及び抗体を含む。キットは、任意選択で、生体試料中の1種又は複数のタンパク質の濃度又はmRNAのレベルを検出及び/又は測定するための説明書を含んでいてもよい。

【0150】

キットは、例えば、対照（例えば、評価しているタンパク質の濃度標準）、又はアレイの核酸プローブによって認識される1種又は複数のアンプリコンの既知量を含む対照標識化アンプリコンセットを任意選択で含み得る。一部の例では、対照は、レンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療に対する応答を予示する1種又は複数のタンパク質又はRNAの発現レベル又は発現レベル範囲を含む挿入物（例えば、紙の挿入物又はCD、DVD若しくはフロッピーディスク等の電子的な媒体）であってもよい。

【0151】

一部の実施形態では、キットは、生体試料を処理するための1種又は複数の試薬（例えば、校正試薬、緩衝液、賦形剤、呈色試薬、反応を停止するための試薬）を含み得る。例えば、キットは、生体試料からタンパク質を単離するための試薬並びに/又は生体試料におけるタンパク質の存在及び/若しくは量を検出するための試薬（例えば、検出アッセイの対象であるタンパク質に結合する抗体及び/又はそのタンパク質に結合する抗体を結合する抗体）を含んでいてもよい。

【0152】

ある特定の実施形態では、キットは、少なくとも1種のマイクロプレート（例えば、96ウェルプレート；すなわち、8ウェルの12ストリップ）を含む。マイクロプレートは、対応するそのプレートカバーと共に提供されてもよい。マイクロプレートは、ポリスチレン又は他の任意の好適な材料製であり得る。マイクロプレートは、各ウェルの内側にコーティングされた、特定のバイオマーカーの存在を認定するために使用される抗体を有していてもよい。抗体は、検出可能な標識にコンジュゲートされていてもよい。キットは、少なくとも1種の接着性ストリップも含んでいてもよい。

【0153】

一部の実施形態では、キットは、例えば、発現プロファイル又はマイクロアレイ解析の結果を解析するためのソフトウェアパッケージを含んでいてもよい。

【0154】

キットは、本明細書に記載の任意の遺伝子のタンパク質発現を検出するための1種又は複数の抗体も含んでいてもよい。例えば、キットは、表1に示されている任意の遺伝子によってコードされている1種又は複数のタンパク質に特異的に結合する能力がある1種又は複数の抗体並びに任意選択で、1種又は複数のタンパク質の濃度を検出及び/若しくは測定するための説明書並びに/又は複数の抗体のうちの少なくとも1種の抗体に結合する能力がある検出可能な程度に標識された抗体を含む検出抗体を含んで（又は場合によっては、からなって）いてもよい。一部の実施形態では、キットは、表1に列挙した遺伝子によってコードされるタンパク質のうちの1種、少なくとも2種、少なくとも3種、少なくとも4種、少なくとも5種、少なくとも6種、少なくとも7種、少なくとも8種、少なくとも9種、少なくとも10種又は11種を認識する抗体を含んでいてもよい。

【0155】

ある特定の実施形態では、キットは、1つ又は複数の単位用量のレンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）も任意選択で含んでいてもよい。

【0156】

本明細書に記載のキットは、1種又は複数のタンパク質の濃度又は1種又は複数のRN

10

20

30

40

50

Aの発現レベルにより、子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのある対象が、レンパチニブ化合物（例えば、レンパチニブメシル酸塩）を含む治療に応答すると予測される、レンパチニブ化合物を含む治療を行うための説明書も、任意選択で、含んでいてもよい。

【0157】

特定の実施形態では、キットは、以下のうちの1つ又は複数を含む：

(i) マイクロプレート（例えば、96ウェルプレート）。このマイクロプレートは、検出可能な標識とコンジュゲートされている抗Ang2抗体でコーティングされていてもよい。抗Ang2抗体は、モノクローナル又はポリクローナルであってもよい。抗体は、例えば、マウス、ウサギ、ラット又はモルモット由来であってもよい。検出可能な標識は、例えば、ワサビペルオキシダーゼ、ビオチン、蛍光部分、放射性部分、ヒスチジンタグ又はペプチドタグであってもよい。マイクロプレートは、カバー及び任意選択で、1種又は複数の接着性ストリップと共に提供されてもよい。

(ii) 検出可能な標識とコンジュゲートされている抗Ang2を含んでいるバイアル。検出可能な標識は、例えば、ワサビペルオキシダーゼ、ビオチン、蛍光部分、ヒスチジンタグ、ペプチドタグであってもよい。このバイアルは、保存剤も含んでいてもよい。

(iii) 既知の濃度のAng2標準を含んでいるバイアル。Ang2は、組換えヒトAng2であってもよい。

(iv) アッセイ希釈液を含んでいるバイアル。

(v) キャリブレーター希釈液を含んでいるバイアル。

(vi) 洗浄緩衝液を含んでいるバイアル。この緩衝液は、濃縮物として提供されてもよい。

(vii) 呈色試薬を含んでいる1本又は複数のバイアル

(viii) 比色反応を停止するための停止液を含んでいるバイアル。

【0158】

以下は、本発明の実施の例である。これらの例は、いかなる形であれ本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

【実施例】

【0159】

実施例1：E7080（レンパチニブメシル酸塩）での治療に向けて子宮内膜がん患者を選択するための予測バイオマーカーの認定

【0160】

目的：血管新生は、VEGF受容体及びFGF受容体等の、複数の増殖因子受容体を介したシグナル伝達によって調整されている。VEGF受容体シグナル伝達は、免疫細胞機能にも関連する。E7080は、複数の受容体チロシンキナーゼ；VEGFR1~3、FGFR1~4、RET、KIT及びPDGFRを標的としている経口血管新生抑制剤である。1回又は2回の事前の白金に基づく治療（Tx）の後に、進行又は再発子宮内膜がん（EC）を有する患者において、第II相試験が行われた。ECにおける血管新生の重要性は、抗血管新生治療からの漏出の臨床的機序を理解することの必要性を強調している。この臨床的バイオマーカー分析は、E7080治療を受けているEC患者において臨床的有用性の予測マーカーを認定するために行われた。血液試料において、ELISA及びマルチプレックスアッセイプラットフォームを使用して、流れているサイトカイン及び血管新生因子（CAF）を測定することができる。この試験において検査したCAFを、以下の表2に列挙する。括弧内の数は、各検体のためのビーズ領域（bead region）を示す。

【0161】

10

20

30

40

【表 2】

表2:検査したCAFのリスト

Ang-1	sTie-2	G-CSF(12)	IL-1 β (24)	MIP-1 β (66)
Ang-2	EGF(2)	GM-CSF(14)	IL-1ra(26)	PDGFAB(68)
FGF-23	ANG2(90)	HGF(86)	IL-2(28)	PDGFBB(73)
PDGF-AA	EGF(80)	IFN- γ (20)	IL-4(32)	PGF(91)
RANTES	エオタキシン(4)	IL-10(44)	IL-6(36)	sIL-2R α (76)
sCD40L	FGF-2(6)	IL-12(p40)(46)	IL-7(38)	TGF α (78)
SDF-1 α	FGF2(79)	IL-12(p70)(48)	IL-8(40)	TNF α (80)
sVEGFR1	FGF4(75)	IL-13(50)	IP-10(56)	VEGF(86)
sVEGFR2	FLT3LG(89)	IL-17(54)	MCP-1(58)	VEGFA(100)
sVEGFR3	フラクタルカイン(10)	IL-1 α (22)	MIP-1 α (64)	VEGFD(78)

10

【0162】

この分析の目的は、臨床試験でE7080での治療前及び治療後の双方において患者から得られる、血漿及び血清等の、血液試料においてサイトカイン、ケモカイン及び血管新生因子を測定すること並びに患者がE7080での治療に应答するかどうかを予測するのに使用することができる血液バイオマーカーを認定することであった。これらの分析のために、以下の应答の判定基準を採用した。すなわち：

【0163】

- (a) 腫瘍应答：奏効率(ORR)及び最大腫瘍縮小率(%) (MTS)；並びに
(b) 生存利益：無増悪生存期間(PFS) / 全生存期間(OS)。

20

【0164】

应答の判定基準は、以下に定義される。

【0165】

「完全奏効」とは、全標的病変の完全消失を意味する。

【0166】

「部分奏効」とは、ベースラインの最長径(LD)の合計を参照とした、標的病変のLDの合計における少なくとも30%の減少を意味する。

【0167】

「進行疾患」(PD)とは、治療開始からの記録されたLDの最小の合計を参照とした、標的病変のLDの合計における少なくとも20%の増加、又は1個若しくは複数の新しい病変の出現を意味する。

30

【0168】

「安定疾患」とは、治療開始からのLDの最小の合計を参照として、PRの認定に十分な標的病変の縮小も、進行疾患(PD)の認定に十分な増加もないことを意味する。

【0169】

「奏効率」(ORR)は、「完全奏効(CR)又は「部分奏効」(PR)のいずれかを有する対象を、安定疾患(SD)又は進行疾患(PD)のいずれかを有する対象と比較する。

【0170】

「最大腫瘍縮小率(%)」(MTS)とは、ベースライン合計直径を参照とした、標的病変の直径の合計の百分率変化を意味し、TSとの遺伝子変異の相関は、ピアソンの積率相関係数及びスピアマンの順位相関係数検定によって解析される。

40

【0171】

「無増悪生存期間」(PFS)とは、治療の開始日からPD状態に入る前の最終日までの期間を指し、PFSとの遺伝子変異の相関は、ログランク検定及びコックス比例ハザードモデルによって解析される。

【0172】

「全生存期間」(OS)とは、無作為化から何らかの原因による死亡までの時間を指す。「無作為化」とは、患者の治療計画が決定されるとき、試験群又は対照群への患者の

50

無作為化を意味する。

【0173】

材料及び方法：1回又は2回の事前の白金に基づく治療の後に転移性/切除不能の子宮内膜がんを有していた患者に、疾患進行又は手の打ちようがない毒性の発現までレンパチニブを投与した。患者に、24mgの開始用量で28日サイクルで1日1回経口でE7080を投与した。133名の患者を治療し、効力及び分子的な相関性の解析について評価した。この試験は、レンパチニブの第2相多施設試験の一部であった(Clinical Trial.gov Identifier: NCT01111461)。分子的な分析のために、ベースライン及び治療後の血漿試料を採取した。血漿試料は、サイクル1の1日目(治療前)及びサイクル2の1日目(すなわち、治療後39日目)に採取された。6mLの静脈内の血液を、EDTAパキュテーナーチューブの中に採血した。このチューブを、穏やかに6~8回逆さにし、次いで、3000RPMで10分間遠心分離して、赤血球層から血漿を分離した。ホールピペットを使用して、血漿をチューブから回収して3.5mLの凍結バイアルに分注し、次いで、直ちに-20で保存した。この血漿試料を、ドライアイス上で輸送し、次いで、最終的に-80保存に移す。122名の患者からの血漿試料を血液バイオマーカー分析に使用した。サイクル1の1日目(ベースライン)、及びサイクル2の1日目からの血清をこの分析で使用した。無増悪生存期間(PFS)と全生存期間(OS)との関連を分析した。同一の対象から全ての時点を同一の日にアッセイするバッチ形式で血漿試料を試験した。アッセイの日に、試料を-80から取り出し、自然解凍して室温にする。この血漿試料を、一区画のELISA及びマルチプレックスキットで製造業者の説明書に従って試験した。表3に、この分析で使用するアッセイキットが記載されている。Molecular DevicesのUVmaxキネティックマイクロプレートリーダーを使用してSoftMax Pro 5.2ソフトウェアを用いてELISAプレートを測定した。Bio-RadのBio-Plexシステムを使用してBio-Plex Manager 4.1ソフトウェアを用いてマルチプレックスアッセイを行った。最終タンパク質濃度(pg/mL)を、アッセイごとに標準曲線から算出した。アッセイによっては、血漿試料を、試験前にアッセイ緩衝液中に希釈しておくこともできる。これらの場合には、希釈比によってタンパク質濃度を乗算した。

【0174】

10

20

【表3】

表3.アッセイキット

名称	製造者	カタログ#	測定される検体
Angiopoietin-1 ELISA	R&D Systems Inc.	DANG10	Ang-1
Angiopoietin-2 ELISA	R&D Systems Inc.	DANG20	Ang-2
FGF-23 ELISA	Millipore Inc.	EZHFGF23-32k	FGF-23
SDF-1a ELISA	R&D Systems Inc.	DSA00	SDF-1 アルファ
Tie-2 ELISA	R&D Systems Inc.	DTE200	Tie-2
Human cytokine multiplex	Millipore Inc.	MPXHCYTO-60k-03	sCD40L, PDGFAA, RANTES
VEGF receptor multiplex	Millipore Inc.	HSCR-32k	VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3
Human growth factor multiplex	Origene Inc.	AM100096	PDGF-AB (68), PDGF-BB (73), FGF4 (75), VEGF-D (78), FGF2 (79), EGF (80), HGF (86), FLT3 LG (89), ANG2 (90), PGF (91), VEGF-A (100)
Human cytokine multiplex	Millipore Inc.	MPXHCYTO-60k-28	EGF, エオタキシン, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, IFN-g, IL-1a, IL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70), IL-13, IL-17, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b, TGFa, TNFa, VEGF, フラクタルカイン, sIL-2Ra

10

20

30

40

括弧内の数は、各検体のためのビーズ領域を示す。

【0175】

結果及び考察：133名の患者試料から、122名の患者からの試料を分析に使用した。E7080で治療した患者からの血漿において、治療前のレベル（サイクル1の1日目）（ベースライン）と比較して、治療後（サイクル2の1日目）に、試験した50種のCAFの中で19種のCAFのレベルに有意な変化が認められた（図1）。

【0176】

CAFのベースラインレベルによって無増悪生存期間を予測する血液バイオマーカーを認定するためにコックス比例ハザードモデルを行った。ANG2(90)、Ang-2、HGF(86)、IL-8(40)、MCP-1(58)、MIP-1a(58)、PGF(91)、sIL-2Ra(76)、Tie-2、TNFa(80)及びVEGFA(100)のベースラインレベルは、より長いOSと有意に関連しており、これらの因子を、疾患の予後又はE7080治療に対する応答の予想のためのバイオマーカーとして使用できることが示された（表4）。

【0177】

【表4】

表4.OSに関連する血液バイオマーカーのベースラインレベル

パラメータ	N	N.OOR	%OOR	尤度比 p	ワルド p	スコア p	HRperSD	HRpersD.CI
ANG2(90)	122	0	0	<0.001	<0.001	<0.001	1.612716	1.2541-2.0738
Ang-2	122	0	0	<0.001	<0.001	<0.001	1.7951	1.4163-2.2751
HGF(86)	122	0	0	<0.001	<0.001	<0.001	1.498094	1.2195-1.8403
IL-8(40)	122	12	9.8	<0.001	<0.001	<0.001	1.873316	1.485-2.3631
MCP-1 (58)	122	0	0	0.006	0.005	0.005	1.449622	1.1178-1.8799
MIP-1a(64)	122	20	16.4	0.042	0.049	0.048	1.297641	1.0007-1.6826
PGF(91)	122	7	5.7	0.001	0.001	0.001	1.450188	1.1731-1.7927
sIL-2Ra (76)	122	16	13.1	0.001	0.001	0.001	1.611362	1.2029-2.1585
Tie-2	122	0	0	0.008	0.007	0.007	1.397993	1.094-1.7865
TNFa(80)	122	5	4.1	<0.001	<0.001	<0.001	1.7863	1.3194-2.4183
VEGFA (100)	122	0	0	0.006	0.004	0.004	1.377439	1.1069-1.714

OS:単変量コックス比例ハザードモデル、HRperSD:S.D.の1増加についてのハザード比
OOR=範囲外

【0178】

ベースラインCAFレベルに基づいた四分位サブグループ解析により、ANG2(90)、Ang-2、HGF(86)、IL-8(40)、MCP-1(58)、MIP-1a(58)、PGF(91)、sIL-2Ra(76)、Tie-2及びTNFa(80)の最低のベースライン群が最長の中央値OSを有したことが示されたのに対し、Ang-2、HGF(86)、IL-8(40)、MCP-1(58)、MIP-1a(58)、PGF(91)、sIL-2Ra(76)、Tie-2、TNFa(80)及びVEGFA(100)の最高のベースライン群は最短の中央値OSを有した(表5)。

【0179】

10

20

【表5】

表5.ベースライン CAF に基づいた4つのサブグループでの中央値 OS

	各四分位における mOS(日)			
	第1(低)	第2	第3	第4(高)
ANG2(90)	541	353	256	260
Ang-2	541	289	268	173
IL-8(40)	NA	315	340	127
HGF(86)	567	452	273	253
PGF(91)	NA	350	393	173
VEGFA(100)	350	541	365	260
Tie-2	541	282	291	192
MCP-1(58)	463	393	340	192
MIP-1a(64)	NA	293	353	264
sIL-2Ra(76)	562	295	387	161
TNFa(80)	654	353	393	218

10

20

【0180】

CAFのベースラインレベルによって無増悪生存期間を予測する血液バイオマーカーを認定するためにコックス比例ハザードモデルを行った。ANG2(90)、Ang-2、HGF(86)、IL-8(40)、IP-10(56)、MCP-1(58)、MIP-1a(64)、PGF(91)、sIL-2Ra(76)、Tie-2、TNFa(80)、VEGFA(100)の低いベースラインレベルは、より長いPFSと有意に関連した(表6)。

30

【0181】

【表6】

表6.PFSに関連する血液バイオマーカーのベースラインレベル

PFS:単変量コックス比例ハザードモデル、HRperSD:S.D.の1増加についてのハザード比
OOR=範囲外

パラメータ	N	N.OOR	%OOR	尤度比 p	ワルド p	スコア p	HRperSD	HRpersD.CI
ANG2(90)	122	0	0.0	<0.001	<0.001	<0.001	1.644414	1.3148-2.0567
Ang-2	122	0	0.0	<0.001	<0.001	<0.001	1.906941	1.5092-2.4095
HGF(86)	122	0	0.0	0.002	0.001	0.001	1.382498	1.139-1.6781
IL-8(40)	122	12	9.8	<0.001	<0.001	<0.001	1.715626	1.3841-2.1266
IP-10(56)	122	0	0.0	0.010	0.012	0.012	1.401204	1.0772-1.8226
MCP-1(58)	122	0	0.0	0.004	0.003	0.004	1.38988	1.1144-1.7335
MIP-1a(64)	122	20	16.4	0.032	0.036	0.036	1.265194	1.0149-1.5772
PGF(91)	122	7	5.7	0.024	0.019	0.022	1.273256	1.0405-1.5581
sIL-2Ra(76)	122	16	13.1	0.006	0.009	0.008	1.392149	1.0861-1.7844
Tie-2	122	0	0.0	0.007	0.006	0.006	1.35561	1.0925-1.6821
TNFa(80)	122	5	4.1	0.000	0.001	0.001	1.529567	1.1894-1.9671
VEGFA(100)	122	0	0.0	0.038	0.033	0.033	1.255744	1.0183-1.5486

40

【0182】

50

ベースラインCAFレベルに基づいた四分位サブグループ解析により、ANG2(90)、Ang-2、HGF(86)、IL-8(40)、MCP-1(58)、MIP-1a(64)、sIL-2Ra(76)、Tie-2及びTNFa(80)の最低のベースライン群が最長の中央値PFSを有したことが示されたのに対し、ANG2(90)、Ang-2、HGF(86)、IL-8(40)、IP-10(56)、MCP-1(58)、PGF(91)、sIL-2Ra(76)、Tie-2、TNFa(80)、VEGFA(100)の最高のベースライン群は最短の中央値PFSを有した(表7)。

【0183】

【表7】

表7.ベースラインCAF発現に基づいた4つのサブグループでの中央値PFS

10

	PFS(日)			
	0~25%	25~50%	50~75%	75~100%
ANG2(90)	225	167	145	77
Ang-2	284	167	112	77
IL-8(40)	281	222	145	71
HGF(86)	225	205	145	109
PGF(91)	170	174	218	77
VEGFA(100)	158	205	165	83
Tie-2	273	165	155	112
MCP-1(58)	227	155	167	111
MIP-1a(64)	210	155	117	166
sIL-2Ra(76)	210	161	177	72.5
TNFa(80)	282	117	166	112
IP-10(56)	167	174	220	77

20

30

【0184】

ベースラインCAFレベルが腫瘍応答(ORR及びMTS)に関連しているかどうかを次に評価した。正確ウィルコックス検定(Exact Wilcoxon test)により、E7080治療に应答した患者(CR群又はPR群)において、「その他」の群(SD又はPDを有する患者)と比較して、Ang-2及びANG-2(90)の中央値ベースラインレベルが有意に異なったことが示された(表8及び図2)。

40

【0185】

【表8】

表8. ORRに関連する血液バイオマーカーのベースラインレベル

N;数、NN(ORR+:ORR-);中央値.差(ORR+:ORR-);

0OR=範囲外

パラメータ	N	N.0OR	%0OR	NN	NN.0OR	p	中央値.差
Ang-2	96	0	0.0	27:69	0:0	0.001	-0.1458
AMG2(90)	96	0	0.0	27:69	0:0	0.006	-0.06585

【0186】

50

スピアマンの順位相関検定により、Ang-2、ANG-2及びIL-8の中央値ベースラインレベルがMTSと有意に関連したことが示された(表9及び図2)。

【0187】

【表9】

表9. MTSに関連する血液バイオマーカーのベースラインレベル

MTS:スピアマンの順位相関検定

パラメータ	N	N.00R	%00R	p	R
Ang-2	100	0	0.0	0.000	0.360922
AMG2(90)	100	0	0.0	0.000	0.358635
IL-8(40)	100	12	12.0	0.034	0.212644

10

【0188】

コックス比例ハザードモデル並びに年齢、体重及び組織学的検査に基づいた四分位サブグループ解析により、これらの変量と生存利益との間に関連がなかったことが実証された(図3)。

【0189】

表10に、腫瘍応答及び生存利益の双方の臨床的アウトカムを有するベースラインCAFの相関解析をまとめている。11種のCAF(Ang-2、IL-8、HGF、VEGFA、PLGF、Tie-2、MCP-1、MIP1a、sIL2Ra、TNFa、IP-10)のベースラインレベルは、生存利益と有意に関連した。しかし、アンジオポエチン-2のベースラインレベルのみは、腫瘍応答(ORR及びMTS)及び生存利益(OS及びPFS)の双方に関連した。これらのデータは、ベースラインのアンジオポエチン-2レベルがE7080治療での臨床的アウトカムを予測すること及び他のCAFの他のベースラインレベルはECにおける予後に関連していたことを示している。

20

【0190】

【表10】

表10.ベースラインCAFレベルは臨床的アウトカムに関連する

パラメータ	OS	PFS	ORR	%MTS
ANG2(90)	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
Ang-2	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
IL-8(40)	p<0.01	p<0.01		p<0.05
HGF(86)	p<0.01	p<0.01		
PGF(91)	p<0.01	p<0.05		
VEGFA(100)	p<0.01	p<0.05		
Tie-2	p<0.01	p<0.01		
MCP-1(58)	p<0.01	p<0.01		
MIP-1a(64)	p<0.05	p<0.05		
sIL-2Ra(76)	p<0.01	p<0.01		
TNFa(80)	p<0.01	p<0.01		
IP-10(56)		p<0.05		

30

40

OS:全生存期間-単変量コックス比例ハザードモデル;PFS:無増悪生存期間-単変量コックス比例ハザードモデル;ORR:奏効率-正確ウィルコックス検定;%MTS:最大腫瘍縮小率(%)-スピアマンの順位相関検定。

【0191】

多変量解析を行い、2種以上の因子を組み合わせることによって臨床的アウトカムの予想が向上されたかどうかを調べた。全ての因子(すなわち、体重、年齢、Ang-1、Ang-2、ANG2(90)、FGF-2(6)、FGF4(75)、HGF(86)、IL-8(40)、PDGF-AA、PDGFAB(68)、PDGFBB(73)、P

50

G F (9 1)、T i e - 2、V E G F (8 6)、V E G F A (1 0 0)、V E G F D (7 8) を、目的の独立変量として、すなわち、バイオマーカー候補として使用した。モデルは、前進選択法を用いて、単変量解析及び生物学的洞察によって特定された変量を使用して、コックス比例ハザードモデルによって認定された。この解析では、P F S 及び O S を従属変量として、すなわち、臨床的アウトカムの中の1つとして使用した。最初に、全ての因子を、一要因でのコックス比例ハザードモデルによって算出された p 値によってスクリーニングした。次に、スクリーニングされた因子の全ての組合せを、それらの因子の全ての組合せにおける重要な因子を見つけるために、コックス比例ハザードモデルによって検定した。P F S モデルは、一要因として A n g - 2 を認定した。O S モデルはさらなる因子として F G F - 2、P G F 及び H G F を認定したが、A n g - 2 ははるかにより重要な因子として選択された (図 4)。

10

20

30

40

50

【 0 1 9 2 】

ベースライン A n g - 2 レベルを有する患者がより良い臨床的アウトカム、例えば O R R、P F S 及び O S 等を有するかどうかを検定するために、A n g - 2 のカットオフ値を使用した。O R R を使用する場合には、受信者動作特性 (R O C) 解析を適用することができる。R O C における所定のインデックスでは、陽性的中率 (P P V) は、より良い臨床的アウトカムを有するサブグループにおいて性能を示す。可能性のあるカットオフ値は、標的 P P V を、例えば 3 0 % 以上に、設定することによって定義される A n g - 2 の範囲から選択することができる。さらに、P F S を使用している場合、カットオフ、例えばログランク検定からの p 値、によって分けられる 2 つの群のカプランマイヤー曲線の分離を尺度として適用することができる。可能性のあるカットオフ値は、標的 p 値を、例えば P = 0 . 0 0 1 に、設定することによって定義される A n g - 2 の範囲から選択することができる。さらに、A n g - 2 の範囲は、O R R 及び P F S のための 2 つの方法を組み合わせることによって定義され得る。O R R のための第 1 の方法は、A n g - 2 の上限を 6 0 2 4 . 5 p g / m l として特定し、P F S のための第 2 の方法は、A n g - 2 の下限値を 1 8 6 6 . 5 p g / m l として特定した。所定の範囲内で、R O C 解析及びその後の Y o u d e n 及び M C C インデックスにより、より良い O R R を有するサブグループを予測するための最適な A n g - 2 カットオフ値を、2 0 8 2 . 5 p g / m l として、得ることができる (表 1 1)。

【 0 1 9 3 】

【表 1 1】

表11.受診者動作特性解析及びその後のOSのログランク検定

パラメータ	N	N.OOR	%OOR	AUC	ROC. 相関	ROC.youden. カットオフ
Ang-2	122	0	0.0	0.724	-0.279	2082.5
	ROC.youden. OS.N	ROC.youden. OS. N high Gr	ROC.youden. OS.% high Gr	ROC.youden. OS.p.logrank	ROC.youden. OS.HR	ROC.youden. OS.HR.Cl
	122	98	80.3	0.001	3.223	1.5372-6.7562

【 0 1 9 4 】

低いベースライン A n g - 2 血漿レベル (すなわち、 < 2 0 8 2 p g / m l) を有する 2 4 名の患者を、高いベースライン A n g - 2 (すなわち、 > 2 0 8 2 p g / m l) を有する 9 8 名の患者と比較した。定義されたカットオフ値を使用したログランク検定により、低いベースライン A n g - 2 レベルを有するサブグループにおいて、高いベースライン A n g - 2 レベルを有するサブグループと比較して、向上した平均 P F S (9 . 5 ヶ月対 3 . 7 ヶ月) 及び平均 O S (2 3 ヶ月対 8 . 9 ヶ月) が実証された (図 5)。低いベースライン A n g - 2 を有するサブグループにおいて、高いベースライン A n g - 2 を有するサブグループと比較して、向上した O R R (6 1 % 対 1 8 %) も実証された (図 6)。これらの分析により、ベースライン A n g - 2 レベルが、E 7 0 8 0 治療で明らかな利益がある E C を有する患者を認定することが示される。これに関して、A n g - 2 レベルに基

づいた層別化なしのORR、mPFS及びmOSは、それぞれ21.1%、5.4ヶ月及び10.6ヶ月であるのは注目すべきことである(表12)。

【0195】

【表12】

表12. EC患者の低Ang-2サブグループ及び高Ang-2サブグループの臨床的アウトカム

臨床的アウトカムカテゴリー	最大対象集団解析 (N = 133)	低 Ang-2 < 2082.51 (N = 24)	高 Ang-2 ≥ 2082.51 (N = 98)
奏効(CR+PR)	21.8%	60.9%	17.8%
無増悪生存期間(月)			
中央値	5.4	9.5	3.7
全生存期間(月)			
中央値	10.6	23	8.9

10

【0196】

結論：11種のCAFのベースラインレベルは、OS及びPFSの双方に関連していた。Ang-2のベースラインレベルのみは、生存利益(OS及びPFS)及び腫瘍応答(ORR)の双方に関連した。したがって、Ang-2の低いベースラインレベルは、子宮内膜がん患者の中でE7080治療に対する感受性を予測するのに独立した役割を有する。

20

【0197】

実施例2：E7080(レンパチニブメシル酸塩)での治療に向けて甲状腺がん患者及び子宮内膜がん患者を選択するための特異的な予測バイオマーカーとしてのAng2の確認

【0198】

目的：Ang2の予測的役割は、甲状腺がん及び子宮内膜がんについて実証されている。他のがんの徴候についての予測的役割は、評価されていない。Ang2ががんの強力なバイオマーカーであること又は特定のがんの特異的なバイオマーカーであることはいずれも確認されていない。この分析の目的は、Ang2が、E7080治療に向けて患者を選択するための、甲状腺がん及び子宮内膜がんの特異的なバイオマーカーであることを確認することであった。これらの分析のために、以下の応答の判定基準を採用した。すなわち：

30

(a) 腫瘍応答：奏効率(ORR)；及び

(b) 生存利益：全生存期間(OS)。

【0199】

応答の判定基準は、以下に定義される。

【0200】

「完全奏効」とは、全標的病変の完全消失を意味する。

40

【0201】

「部分奏効」とは、ベースラインの最長径(LD)の合計を参照とした、標的病変のLDの合計における少なくとも30%の減少を意味する。

【0202】

「進行疾患」(PD)とは、治療開始からの記録されたLDの最小の合計を参照とした、標的病変のLDの合計における少なくとも20%の増加、又は1個若しくは複数の新しい病変の出現を意味する。

【0203】

「安定疾患」とは、治療開始からのLDの最小の合計を参照として、PRの認定に十分な標的病変の縮小も、進行疾患(PD)の認定に十分な増加もないことを意味する。

50

【0204】

「奏効率」(ORR)は、「完全奏効(CR)又は「部分奏効」(PR)のいずれかを有する対象を、安定疾患(SD)又は進行疾患(PD)のいずれかを有する対象と比較する。

【0205】

「全生存期間」(OS)とは、無作為化から何らかの原因による死亡までの時間を指す。「無作為化」とは、患者の治療計画が決定されるとき、試験群又は対照群への患者の無作為化を意味する。

【0206】

材料及び方法：患者に、疾患進行又は手の打ちようがない毒性の発現までレンパチニブを投与した。この試験は、以下のレンパチニブの第2相試験の一部であった：

Evaluating the Safety and Efficacy of Oral E7080 in Medullary and Iodine-131 Refractory, Unresectable Differentiated Thyroid Cancers, Stratified by Histology (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00784303)

Study of E7080 in Patients With Advanced Hepatocellular Carcinoma (HCC) (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00946153)

A Study in Subjects With Recurrent Malignant Glioma (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01137604)

Study of E7080 in Subjects With Advanced Endometrial Cancer and Disease Progression (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT0111461)

An Open-Label, 2-Cohort, Multicenter, Study of E7080 in Previously Treated Subjects With Unresectable Stage III or Stage IV Melanoma (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01136967)

【0207】

分子的な分析のために、ベースライン及び治療後の血漿又は血清の試料を採取し、ベースライン試料をこの分析で使用した。この試料を、ELISA及びマルチプレックスキットで製造業者の説明書に従って試験した。表13に、この分析で使用するアッセイキットが記載されている。Molecular DevicesのUVmaxキネティックマイクロプレートリーダーを使用してSoftMax Pro 5.2ソフトウェアを用いてELISAプレートを測定した。Bio-RadのBio-Plexシステムを使用してBio-Plex Manager 4.1ソフトウェアを用いてマルチプレックスアッセイを行った。最終Ang2濃度(pg/mL)を、アッセイごとに標準曲線から算出した。アッセイによっては、試料を、試験前にアッセイ緩衝液中に希釈しておくこともできる。これらの場合には、希釈比によって濃度を乗算した。奏効率(ORR)及び全生存期間(OS)とベースラインAng2濃度の間の関連を分析した。

【0208】

10

20

30

40

【表 1 3】

表13.アッセイキット

名称	製造者	カタログ#	測定される検体
Angiopoietin-2 ELISA	R&D Systems Inc.	DANG20	Ang-2
Human growth factor multiplex	Origene Inc.	AM100096	ANG2 (90)又は ANG2(76)

括弧内の数は、各検体のためのビーズ領域を示す。

【0209】

結果及び考察：分析した5つの第2相試験（7コホート）から、483名の患者からの試料を分析に使用した。ORR及びOSとベースラインAng2の有意な関連は、甲状腺がん（分化型甲状腺がん（DTC）及び甲状腺髄様がん（MTC）の双方）及び子宮内膜がんについて認められた（表14）。肝細胞癌（HCC）及び神経膠芽腫（GBM）におけるAng2レベルは、ORRにもOSにも有意な関連を示さなかった。メラノーマ（野生型（wt）及び変異体（mut）の双方のBRAF）において、Ang2ベースラインレベルは、ORRではなくOSに関連している。

【0210】

【表 1 4】

表14. ORR及びOSとのAng2のベースラインレベルの関連

	アッセイ	N(ORR:その他)	ORR		OS	
			p値	差 (ORR-その他)	p値	ハザード比/標準偏差 (95% CI)
甲状腺DTC	Ang-2	53 (27:26)	0.239	-0.048	0.001	3.20 (1.56-6.56)
	ANG2(90)	51 (25:26)	0.046	-0.127	0.044	1.94 (1.02-3.71)
甲状腺MTC	Ang-2	55 (18:37)	0.019	-0.159	<0.001	3.16 (1.84-5.41)
	ANG2(90)	53 (18:35)	0.207	-0.089	0.005	2.05 (1.24-3.40)
HCC	アンジオポエチン-2	46 (17:29)	0.652	-0.014	0.437	1.15 (0.81-1.64)
	ANGPT2	46 (17:29)	0.543	0.033	0.821	0.96 (0.67-1.38)
GBM	Ang-2	39 (8:31)	0.798	0.029	0.635	0.89 (0.57-1.42)
	ANG2(76)	39 (8:31)	0.209	0.090	0.857	0.97 (0.67-1.40)
子宮内膜	Ang-2	122 (26:96)	<0.001	-0.166	<0.001	1.80 (1.42-2.28)
	ANG2(90)	122 (26:96)	0.004	-0.083	<0.001	1.62 (1.26-2.08)
メラノーマ (BRAF野生型)	Ang-2	88 (8:80)	0.112	-0.094	0.002	1.51 (1.17-1.97)
	ANG2(76)	87 (8:79)	0.098	-0.113	0.001	1.69 (1.23-2.31)
メラノーマ (BRAF変異体)	Ang-2	78 (8:70)	0.548	-0.030	<0.001	2.18 (1.61-2.94)
	ANG2(90)	80 (8:72)	0.161	-0.067	<0.001	2.13 (1.57-2.87)

ORR:ウィルコクソンの符号順位検定

OS:単変量コックス比例ハザードモデル

【0211】

結論：Ang2ベースラインレベルは、甲状腺がん及び子宮内膜がんにおいてORR及びOSの双方に関連した。試験した他のがん種（HCC、GBM及びメラノーマ）は、ORR及びOSの双方に有意な関連を示さなかった。この知見は、Ang2が特定のがん（例えば甲状腺及び子宮内膜がん）の特定のバイオマーカーであることを意味する。

【0212】

特定の実施形態

本発明の特定の実施形態は、以下の通りである：

[1] 子宮内膜がんを治療する方法であって、子宮内膜がんを有するヒト対象に治療有効量のレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を投与するステップを含み、前記ヒト対象が、対照に比べて低いAng2タンパク質発現レベルを有すると認定されている、方

10

20

30

40

50

法。

[2] 前記ヒト対象が、前記ヒト対象から得られた生体試料において低濃度の A n g 2 タンパク質を有すると認定されている、[1] に記載の方法。

[3] 子宮内膜がんを治療する方法であって、子宮内膜がんを有するヒト対象から得られる生体試料を用意するステップと、前記生体試料において、対照に比べて低い A n g 2 タンパク質発現レベルを測定するステップと、前記ヒト対象に治療有効量のレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を投与するステップとを含む、方法。

[4] 子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法であって、前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定するステップと、前記生体試料において低濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高いと認定するステップとを含む、方法。

[5] 子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答を予測する方法であって、前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて高いことを決定するステップと、前記生体試料において高濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が低いと認定するステップとを含む、方法。

[6] 子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測を補助する方法であって、前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて低いことを決定するステップと、前記生体試料において低濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高いと認定するステップとを含む、方法。

[7] 子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測を補助する方法であって、前記ヒト対象から得られた生体試料をアッセイし、前記生体試料における A n g 2 タンパク質の濃度が、対照に比べて高いことを決定するステップと、前記生体試料において高濃度の A n g 2 タンパク質を有する前記ヒト対象を、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が低いと認定するステップとを含む、方法。

[8] 前記生体試料が、血液試料、血清試料、血漿試料、子宮内膜保管腫瘍試料、及び子宮内膜生検試料からなる群から選択される、[2] ~ [7] のいずれか一項に記載の方法。

[9] 前記生体試料が血漿試料である、[2] ~ [7] のいずれか一項に記載の方法。

[10] 前記子宮内膜がんが進行子宮内膜がんである、[1] ~ [9] のいずれか一項に記載の方法。

[11] 前記子宮内膜がんが、切除不能なステージ I I I 又はステージ I V の子宮内膜がんである、[1] ~ [9] のいずれか一項に記載の方法。

[12] 前記子宮内膜がんが再発子宮内膜がんである、[1] ~ [9] のいずれか一項に記載の方法。

[13] 前記対照が、予め設定されたカットオフ値である、[1] ~ [12] のいずれか一項に記載の方法。

[14] 前記予め設定されたカットオフ値が、カットオフなしに比べてより高い陽性的中率で腫瘍応答を予測する、受信者動作特性解析に基づいて決定される A n g 2 タンパク質濃度であり、前記予め設定されたカットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃

10

20

30

40

50

度の A n g 2 であり、前記予め設定されたカットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である、[1 3] に記載の方法。

[1 5] 腫瘍応答が奏効率、臨床的有用率、又は少なくとも 3 0 % の最大腫瘍縮小率 (%) である、[1 4] に記載の方法。

[1 6] 前記予め設定されたカットオフ値が、カットオフで分けられた 2 群へと分離するシミュレーションモデルを使用して生存期間を予測することに基づいて決定される A n g 2 タンパク質濃度であり、前記予め設定されたカットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、前記予め設定されたカットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である、[1 3] に記載の方法。

[1 7] 生存期間が無増悪生存期間又は全生存期間である、[1 6] に記載の方法。

[1 8] 前記予め設定されたカットオフ値が、1 8 6 6 . 5 ~ 6 0 2 4 . 5 p g / m l の範囲内の A n g 2 タンパク質濃度であり、前記予め設定されたカットオフ値以下の A n g 2 タンパク質の濃度が低濃度の A n g 2 であり、前記予め設定されたカットオフ値より高い値が高濃度の A n g 2 である、[1 3] に記載の方法。

[1 9] タンパク質の濃度が免疫学的方法で測定される、[1] ~ [1 8] のいずれか一項に記載の方法。

[2 0] 前記免疫学的方法が、酵素イムノアッセイ、ラジオイムノアッセイ、化学発光イムノアッセイ、電気化学発光イムノアッセイ、ラテックス比濁イムノアッセイ、ラテックス光学イムノアッセイ、イムノクロマトグラフィアッセイ及びウェスタンブロッティングからなる群から選択される、[1 9] に記載の方法。

[2 1] タンパク質濃度が質量分析法によって測定される、[1] ~ [1 8] のいずれか一項に記載の方法。

[2 2] レンパチニブの薬学的に許容される前記塩がレンパチニブメシル酸塩である、[1] ~ [2 1] のいずれか一項に記載の方法。

[2 3] ヒト対象における子宮内膜がん治療に使用するためのレンパチニブ又はその薬学的に許容される塩であって、前記ヒト対象が、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高い対象として、[4] に記載の方法により認定される、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩。

[2 4] 子宮内膜がんを有する、有することが疑われる、又は発症するリスクのあるヒト対象の、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に対する応答の予測に使用するための A n g 2 タンパク質検出剤。

[2 5] 抗 A n g 2 抗体である、[2 4] に記載の A n g 2 タンパク質検出剤。

[2 6] レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む、ヒト対象において子宮内膜がんを治療するための医薬組成物であって、前記ヒト対象が、レンパチニブ又はその薬学的に許容される塩を含む治療に応答する可能性が高い対象として、[4] に記載の方法により認定される、医薬組成物。

【 0 2 1 3 】

他の実施形態

本発明は、その詳細な説明と併せて記載されているが、上記の記載は、例示することが意図されるものであり、添付の特許請求の範囲の範囲によって規定される、本発明の範囲を制限するものではない。他の態様、利点及び改変形態は、添付の特許請求の範囲の範囲内である。

【 0 2 1 4 】

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 3 年 5 月 1 4 日に出願された米国特許仮出願第 6 1 / 8 2 3 0 3 4 号の利益を主張するものであり、参照によりその開示全体が本明細書に組み込まれている。

10

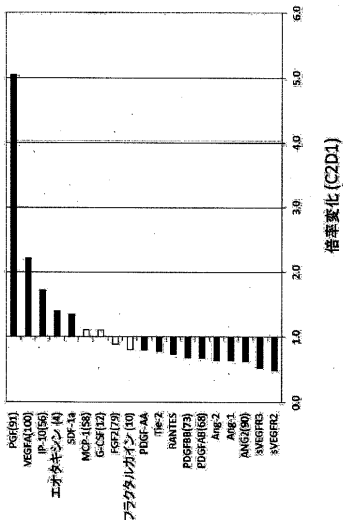
20

30

40

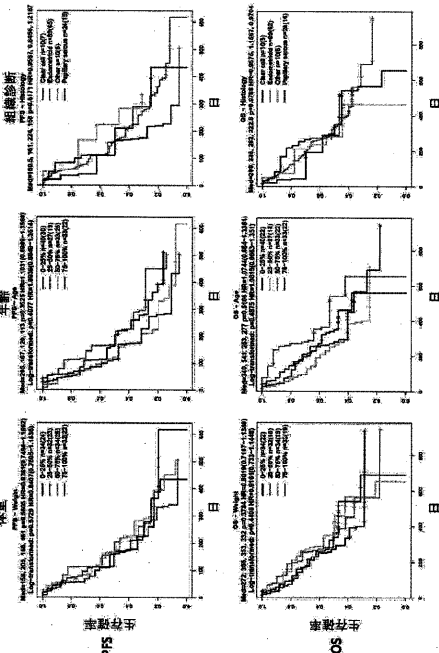
【 図 1 】

E7080処置後の、血中バイオマーカーのレベルの変化



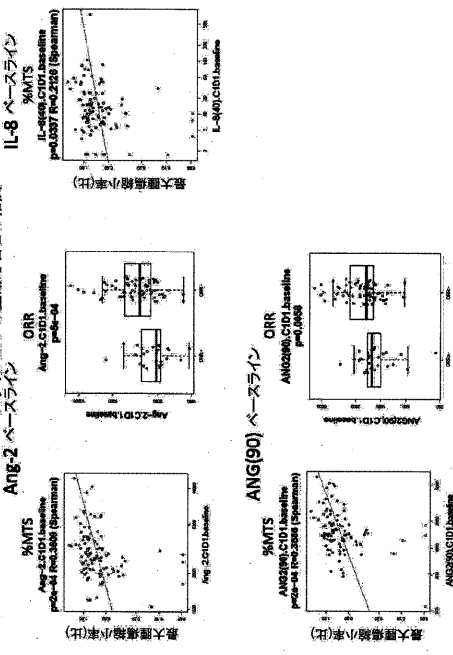
【 図 3 】

体重、年齢及び組織診断は、PFS及OSとの間に有意な相関がない



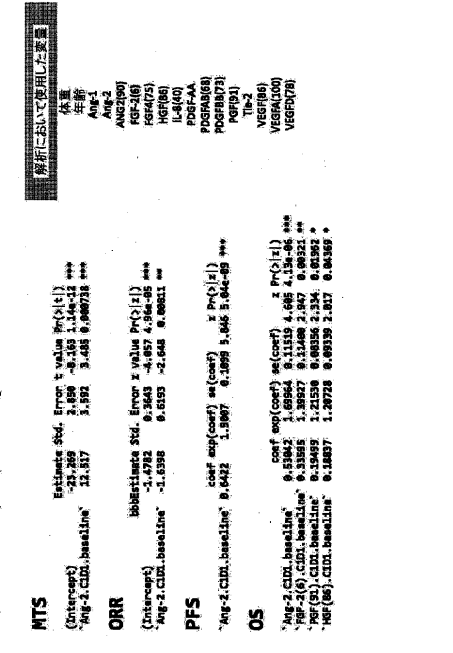
【 図 2 】

ベースラインCAFの腫瘍応答との相関



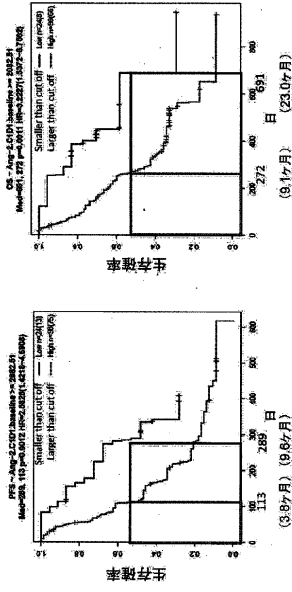
【 図 4 】

多変量解析は、Ang-2との組合せ因子の候補を同定しない。



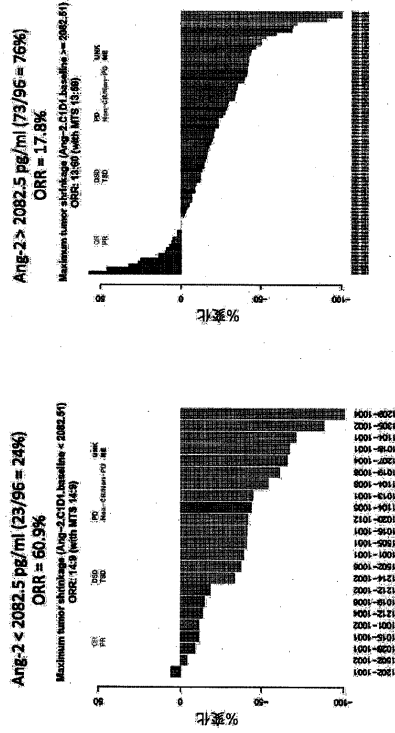
【 図 5 】

ベースラインAng-2レベルにより層別化したサブグループのmPFS及びmOS
PFS及びOS:カットオフ(2082.5pg/ml)に基づく



【 図 6 】

ORRのより良い患者集団の、ベースラインAng-2レベルに基づく濃縮



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/JP2014/063134

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/574 ADD.		
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) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	I. Vergote et al: "A phase II trial of lenvatinib in patients with advanced or recurrent endometrial cancer: Angiotensin-2 as a predictive marker for clinical outcomes.", online 20 May 2013 (2013-05-20), XP002728918, Retrieved from the Internet: URL:http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/31/15_suppl/5520?sid=f58f65eb-312-4ba6-9d8c-bfcef5cbbcc [retrieved on 2014-07-25] abstract -/--	1-19
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
26 August 2014		09/09/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Hoesele, Heidi

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/JP2014/063134

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>& I. VERGOTE ET AL: "plasma levels of angiopoietin 2 (ANG2) correlate with tumor shrinkage in patients suffering from unresectable, metastatic endometrial cancer. Low levels indicate high probability of response and , additionally prolonged overall survival. Cutoff level 2082 pg/ml.", JOURNAL OF CLINICAL ONOLOGY, vol. 31, no. 15 supplement, 5520, 20 May 2013 (2013-05-20), -----</p>	
X,P	EP 2 711 433 A1 (EISAI R&D MAN CO LTD [JP]) 26 March 2014 (2014-03-26)	19,20
A,P	p. 27, table 4, par. 0282 - 0301;claims 1, 6, 7, 9, 10 -----	1-18
X	EP 2 293 071 A1 (UNIV ZU KOELN [DE]) 9 March 2011 (2011-03-09)	19,20
A	the whole document particularly par. 0074-0076, claims -----	1-18
X	WO 2012/154935 A1 (EISAI R&D MAN CO LTD [JP]; EISEN ANDREW [US]; FUNAHASHI YASUHIRO [JP];) 15 November 2012 (2012-11-15)	18
A	example 3 -----	1-17,19, 20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/JP2014/063134

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 2711433	A1	26-03-2014	EP 2711433 A1	26-03-2014
			US 2014148483 A1	29-05-2014
			WO 2012157672 A1	22-11-2012

EP 2293071	A1	09-03-2011	EP 2293071 A1	09-03-2011
			EP 2475998 A1	18-07-2012
			US 2012142012 A1	07-06-2012
			WO 2011026962 A1	10-03-2011

WO 2012154935	A1	15-11-2012	NONE	

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
 C 0 7 K 16/18 (2006.01) C 0 7 K 16/18

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, 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, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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

(72) 発明者 門脇 正史

茨城県つくば市東光台 5 丁目 1 番地 3 エーザイ株式会社 筑波研究所内

(72) 発明者 サチデーヴ パーラヴィ

アメリカ合衆国 ニュー ジャージー州 ウッドクリフ レイク , ティス ブールバード 3 0 0
 エーザイ インク内

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BC28 GA14 MA01 MA04 NA05 ZB26
 4H045 AA30 BA10 DA76 EA51 FA74

专利名称(译)	用于预测和评估子宫内膜癌受试者对liblatinib化合物的反应性的生物标志物		
公开(公告)号	JP2016522879A	公开(公告)日	2016-08-04
申请号	JP2015555882	申请日	2014-05-12
[标]申请(专利权)人(译)	卫材株式会社		
申请(专利权)人(译)	卫材研发管理有限公司		
[标]发明人	船橋泰博 門脇正史 サチデーヴパーラヴィ		
发明人	船橋 泰博 門脇 正史 サチデーヴ パーラヴィ		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/53 G01N33/543 A61P35/00 A61K31/47 C07K16/18		
CPC分类号	A61K31/47 A61P35/00 G01N33/57442 G01N2333/475 G01N2800/52 G01N2333/515		
FI分类号	G01N33/574.A G01N33/53.D G01N33/543.501.A A61P35/00 A61K31/47 C07K16/18		
F-TERM分类号	4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC28 4C086/GA14 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/ZB26 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/DA76 4H045/EA51 4H045/FA74		
代理人(译)	长谷川良树 清水义		
优先权	61/823034 2013-05-14 US		
其他公开文献	JP6411379B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了一种生物标志物，其预测患有子宫内膜癌的受试者是否会对包含libertinib或其药学上可接受的盐（例如，甲磺酸雷伐他尼）的治疗产生反应。本文中所描述的生物标志物，组合物和方法具有子宫内膜癌，疑似患有，或在的风险发展为受试者选择适当的疗法治疗有用。

表1:バイオマーカーのリスト

公式 遺伝子 記号	遺伝子 ID	URL	代替記号	UniProtKB 受託番号
Ang2	285	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/285	Ang-2/ANG-2/ANG2 (90)/ ANG290/ ANGPT2	O15123
HGF	3082	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3082	HGF (86)	P14210
IL-8	3576	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3576	IL-8 (40)	P10145
IP-10	3627	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3627	CXCL10	P02778
MCP-1	6347	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6347	CCL2	P13500
MIP-1a	6348	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6348	CCL3/MIP1a/MIP-1 α	P10147
PGF	5228	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5228	PGF (91)	P49763
sIL2-Ra	3559	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3559	sIL2-Ra(76)	P01589
TIE-2	7010	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7010	TEK/CD202B/TIE2/ VMCM/VMCM1	Q02763
TNF	7124	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7124	TNF α /TNF- α	P01375
VEGFA	7422	www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7422	VEGF/VEGFA (100)/VEGFA100	P15692