(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2013-510585
(P2013-510585A)
(43)公表日　平成25年3月28日(2013.3.28)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	ZNAA	4B024
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	D	4B063
G01N 33/574	(2006.01)	G01N	33/574	Z	4C084
C12Q 1/04	(2006.01)	C12Q	1/04		4C086
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 218 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2012-539043 (P2012-539043)
(86)(22)出願日　平成22年11月12日 (2010.11.12)
(85)翻訳文提出日　平成24年6月29日 (2012.6.29)
(86)国際出願番号　PCT/US2010/056621
(87)国際公開番号　WO2011/060328
(87)国際公開日　平成23年5月19日 (2011.5.19)
(31)優先権主張番号　61/283,150
(32)優先日　平成21年11月30日 (2009.11.30)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/382,447
(32)優先日　平成22年9月13日 (2010.9.13)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　61/313,594
(32)優先日　平成22年3月12日 (2010.3.12)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　509101882
インフィニティー　ファーマシューティカルズ，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１３９，　ケンブリッジ，　メモリアル　ドライブ　７８０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】癌の同定、評価、予防および治療のための組成物、キットおよび方法

(57)【要約】
本明細書に記載されているのは、がん（複数可）を有する対象が、単一の薬剤として、または併用療法において、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に反応する可能性が高いかについて決定するための組成物、キット、および方法である。さらに記載されているのは、このようながんを有する対象において疾患の時間経過を予測する方法である。例えば、腫瘍もしくはがん細胞、または該腫瘍もしくはがん細胞を有する、もしくは有する危険性のある対象における、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を決定する方法が提供される。

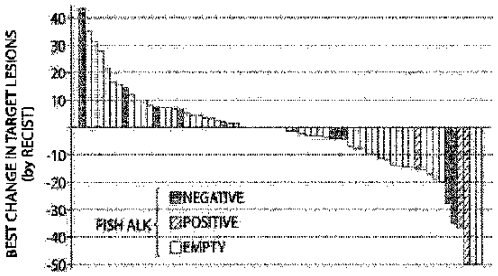


Fig. 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
腫瘍もしくはがん細胞、または該腫瘍もしくはがん細胞を有する、もしくは有する危険性のある対象における、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を決定する方法であって、
（ｉ）該腫瘍またはがん細胞におけるＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子または遺伝子産物の変化を検出すること；ならびに／あるいは
（ｉｉ）ａ）該腫瘍またはがん細胞のヒストロジー、ｂ）該対象の喫煙状況、またはｃ）該腫瘍またはがん細胞におけるＨＳＰ９０のレベルまたは発現の１つまたは複数を判定し、それによって該ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する該腫瘍または該がん細胞の反応性を決定すること
を含む、方法。
【請求項２】
がんまたは腫瘍を有する、または有する危険性のある対象を、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性を有するものとして同定する方法であって、
（ｉ）該対象からの試料中のＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦの遺伝子または遺伝子の変化の存在または不存在を検出すること；
（ｉｉ）該対象からの試料におけるがんのヒストロジーの存在または不存在を検出すること；
（ｉｉｉ）該対象の喫煙状況を決定すること；あるいは
（ｉｖ）該対象からの試料におけるＨＳＰ９０のレベルまたは発現を決定し、それによって該対象を、該ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性が高いまたは低いものとして同定すること
の１つ、２つ、３つまたは４つを含む、方法。
【請求項３】
対象におけるがんまたは腫瘍への、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療の有効性をモニターし、または有効性を予測する方法であって、
（ｉ）該対象から得た試料におけるＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子もしくは遺伝子産物の変化の存在または不存在を検出すること；および／または
（ｉｉ）ａ）該対象からの試料におけるがんのヒストロジーの存在または不存在；ｂ）該対象の喫煙状況；またはｃ）ＨＳＰ９０のレベルまたは発現の１つまたは複数を判定すること；および
（ｉｉｉ）（ｉ）および／または（ｉｉ）における検出した変化または判定と、参照試料とを比較すること
を含み、
該参照試料に対する、該試料において検出した該変化または判定における差異の程度が、該治療の有効性を示すかまたは予測する、方法。
【請求項４】
（ｉ）前記ヒストロジーにおいて非小細胞肺がん、扁平上皮細胞または結腸直腸がん細胞もしくは組織の存在を検出すること；（ｉｉ）前記対象を例えば、少なくとも５、１０、１５またはそれを超えるパックイヤーの喫煙歴を有する喫煙者として同定すること；または（ｉｉｉ）ＨＳＰ９０の上昇したレベルまたは発現を検出すること
の１つまたは複数が、前記ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性の増加を示す、請求項１から３のいずれかに記載の方法。
【請求項５】
ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の前記変化の検出または存在が、前記腫瘍、前記がん細胞、または前記対象が、前記ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性の増加を有することを示す、請求項１から３のいずれかに記載の方法。
【請求項６】
前記ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物が、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、Ｋ－Ｒａｓ、

Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）、Ｃ－Ｒａｆ、Ｍｅｋ、またはＥｒｋの１つまたは複数から選択される、請求項１から３のいずれかに記載の方法。

【請求項７】

ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１から選択される１種または複数の遺伝子産物の変化の検出をさらに含む、請求項１から３のいずれかに記載の方法。

【請求項８】

ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の前記変化の前記検出または存在は、前記腫瘍またはがん細胞が、単一の薬剤として前記ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性の増加を有することを示す、請求項６に記載の方法。

【請求項９】

ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の前記変化の前記検出または存在は、前記腫瘍またはがん細胞が、第２の薬剤と組み合わせた前記ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性の増加を有することを示す、請求項６に記載の方法。

【請求項１０】

ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の前記変化の前記検出または存在が、単一の薬剤として、または組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応して、ＮＳＣＬＣ腫瘍またはがん細胞を阻害、減少、または治療する可能性の増加を示す、請求項５に記載の方法。

【請求項１１】

Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の前記変化の前記検出または存在が、単一の薬剤として、または組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応して、直腸結腸腫瘍またはがん細胞を阻害、減少、または治療する可能性の増加を示す、請求項６に記載の方法。

【請求項１２】

Ｂ－Ｒａｆ遺伝子または遺伝子産物の前記変化の前記検出または存在が、単一の薬剤として、または組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応して、直腸結腸腫瘍またはがん細胞を阻害、減少、または治療する可能性の増加を示す、請求項６に記載の方法。

【請求項１３】

任意選択でｐ５３遺伝子または遺伝子産物の変化を検出することと組み合わせた、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の前記変化の前記検出または存在が、ＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲ阻害剤を含む治療に対して反応して、ＮＳＣＬＣ腫瘍またはがん細胞を阻害、減少、または治療する可能性の増加を示す、請求項６に記載の方法。

【請求項１４】

前記ＡＬＫおよび／または前記ＭＡＰＫ経路の遺伝子または遺伝子産物の変化を持つがんまたは腫瘍を治療または予防することをさらに含み、前記治療が、ＨＳＰ９０治療を必要とする対象に、ＨＳＰ９０阻害剤を単一の薬剤としてまたは組み合わせて投与することを含む、請求項１から３のいずれかに記載の方法。

【請求項１５】

ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路の変化を持つがんもしくは腫瘍を有する、または有する危険性がある対象を治療する方法であって、ＨＳＰ９０阻害剤治療の恩恵を受ける可能性が高いことが同定されている対象、またはそれについて検討もしくは判定されている対象に、単一の薬剤として、または組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を、前記対象において前記腫瘍の細胞増殖を減少もしくは阻害し、かつ／または前記がんを治療もしくは予防するのに十分な量で投与することを含む、方法。

【請求項１６】

前記対象が、喫煙歴；ＨＳＰ９０の上昇したレベルもしくは発現；ＮＳＣＬＣ（例えば、再発性および／または難治性ＮＳＣＬＣ）；ＮＳＣＬＣもしくはＳＣＣ細胞もしくは腫

瘍の１つもしくは複数を有するものとして同定される；または少なくとも１つの事前の化学療法レジメンを受けている間もしくは後に疾患の悪化を経験している；もしくは少なくとも１つの事前の白金含有化学療法レジメンを受けている間もしくは後に疾患の悪化を経験しているＮＳＣＬＣ患者である、請求項１５に記載の方法。

【請求項１７】

前記対象から得た試料を判定して、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子または遺伝子産物の存在を検出することによって、前記対象が、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療で治療するために選択される、請求項１５に記載の方法。

【請求項１８】

検出された差異に応じて、単独の、または組み合わせたＨＳＰ９０阻害剤の用量または投与スケジュールを変化させることをさらに含む、請求項３に記載の方法。

【請求項１９】

前記ＨＳＰ９０阻害剤による治療の間、または治療が中断した後に前記対象から得た前記試料において、前記ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子または遺伝子産物の変化の存在、またはがん細胞もしくは組織の存在が、単一の薬剤として、または組み合わせた、前記ＨＳＰ９０阻害剤の用量または投与の頻度を増加させる必要性を示す、請求項１８に記載の方法。

【請求項２０】

前記試料を、前記対象から集め、または得る、請求項２から３に記載の方法。

【請求項２１】

前記遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、細胞遺伝学的異常、非相互転座、再配列、染色体内逆位、点変異、欠失、遺伝子コピー数の変化、遺伝子または遺伝子産物の発現の変化の少なくとも１つを含む、請求項１から３のいずれかに記載の方法。

【請求項２２】

前記遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、１つまたは複数の発癌性ポリペプチドの発現レベルまたは構造または活性の変化の少なくとも１つを含む、請求項１から３のいずれかに記載の方法。

【請求項２３】

前記遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、選択的スプライシング、フレームシフト、翻訳事象または翻訳後事象の１つまたは複数から生じる変異体発癌性アイソフォームの発現レベル、構造、または活性の変化を含む、請求項１から３のいずれかに記載の方法。

【請求項２４】

前記ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、１つもしくは複数の変異体ＡＬＫポリヌクレオチド分子、または表１に一覧表示されているポリペプチドから選択される、請求項５に記載の方法。

【請求項２５】

前記ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合体、ＫＩＦ５Ｂ－ＡＬＫ融合体、ＴＧＦ－ＡＬＫ融合体、ＮＰＭ－ＡＬＫ融合体、またはＦ１２４５Ｉ／Ｌ、Ｌ１２０４Ｆ、Ａ１２００Ｖ、Ｌ１１９６Ｍ、Ｉ１１７０Ｓ、Ｔ１１５１Ｍ、Ｒ１２７５Ｑ、Ｆ１１７４Ｖ／Ｃ／Ｌ、Ｔ１０８７Ｉ、またはＫ１０６２Ｍの１つまたは複数を含めたＡＬＫ点変異を含む、請求項５に記載の方法。

【請求項２６】

前記１つまたは複数の変化が、ＡＬＫ遺伝子再配列である、請求項５に記載の方法。

【請求項２７】

前記ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、１つもしくは複数の変異体Ｋ－ＲａｓもしくはＢ－Ｒａｆポリヌクレオチド分子、または表５に一覧表示されているポリペプチドから選択される、請求項６に記載の方法。

【請求項２８】

前記ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、コドン１２、１３および／または６１の１つまたは複数のＫ－Ｒａｓ変異から選択される、請求項６に記載の方法。

【請求項２９】
前記１つまたは複数のＫ－Ｒａｓ変異が、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｎ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＮまたはＱ６１Ｒの１つまたは複数から選択される、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
前記１つまたは複数のＫ－Ｒａｓ変異が、
【化５０】

KRAS_Gl2C, KRAS_G12R, KRAS_G12D,. KRAS_G12A,
KRAS_G12S, KRAS_G12V, KRAS_G13D, KRAS_G13S, KRAS_G13C,
KRAS_G13V, KRAS_Q61H, KRAS_Q61R, KRAS_Q61P, KRAS_Q61L,
KRAS_Q61K, KRAS_Q61E, KRAS_A59T **または** KRAS_G12F.

の１つもしくは複数から選択される、請求項２８に記載の方法。
【請求項３１】
前記ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、コドン４６４、４６６、４６８、４６９、５９４、５９５、５９６、５９７、５９９、６００、または６０１におけるＢ－Ｒａｆ変異から選択される、請求項６に記載の方法。
【請求項３２】
前記ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の前記変化が、
【化５１】

BRAF_D594G, BRAF_D594V, BRAF_F468C,
BRAF_F595L, BRAF G464E, BRAF_G464R, BRAF_G464V, BRAF_G466A,
BRAF_G466E, BRAF_G466R, BRAF_G466V, BRAF_G469A, BRAF_G469E,
BRAF_G469R, BRAF_G469R, BRAF_G469S, BRAF_G469V, BRAF_G596R,
BRAF_K601E, BRAF_K601N, BRAF_L597Q, BRAF_L597R, BRAF_L597S,
BRAF_L597V, BRAF_T599I, BRAF_V600E, BRAF_V600K, BRAF_V600L,
または BRAF_V600R..

から選択される、請求項６に記載の方法。
【請求項３３】
前記変化を、核酸ハイブリダイゼーションアッセイ、増幅をベースとするアッセイ、配列決定、スクリーニング分析、標準的核型法による分裂中期細胞遺伝学分析、ＦＩＳＨ、スペクトル核型決定またはＭＦＩＳＨ、および／または比較ゲノムハイブリダイゼーション、またはｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションの１つまたは複数によって検出する、請求項１から３のいずれかに記載の方法。
【請求項３４】
前記変化を所定の間隔で評価し、前記所定の間隔が、前記ＨＳＰ９０治療の前、間、停止後の１つもしくは複数に関して、または全生存率、無増悪期間に従って、またはＲＥＣＩＳＴを使用して測定する時間経過を含む、請求項１から３のいずれかに記載の方法。
【請求項３５】
ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの変異陽性がんを有する対象が前記ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性が高いかどうかについて決定すること；治療の経過、投与、治療スケジュールもしくは時間経過、併用療法を変化させること；前記対象において前記がんの前記時間経過を決定すること；または前記対象において有意事象の確率を決定することの１つまたは複数をさらに含む、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
同定または治療される前記がん細胞または腫瘍が、肺がん（例えば、小細胞肺がん（Ｓ

ＣＬＣ）、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、または扁平上皮細胞がん（ＳＣＣ））、結腸直腸がん（ＣＲＣ）、乳がん、髄芽腫、軟骨肉腫、骨肉腫、膵臓がん、卵巣がん、頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、多発性骨髄腫、前立腺がん、未分化大細胞リンパ腫、神経芽細胞腫、神経内分泌またはカルチノイドの１つまたは複数から選択される、請求項１から３または１５のいずれかに記載の方法。

【請求項３７】

同定または治療される前記がん細胞または腫瘍が、再発性もしくは難治性ＮＳＣＬＣ、扁平上皮細胞癌、または結腸直腸がんである、請求項３６に記載の方法。

【請求項３８】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、ＩＰＩ－４９３、ＩＰＩ－５０４、１７－ＡＡＧ（タネスピマイシンまたはＣＮＦ－１０１０としてもまた公知である）、ＢＩＩＢ－０２１（ＣＮＦ－２０２４）、ＢＩＩＢ－０２８、ＡＵＹ－９２２（ＶＥＲ－４９００９としてもまた公知である）、ＳＮＸ－５４２２、ＳＴＡ－９０９０、ＡＴ－１３３８７、ＸＬ－８８８、ＭＰＣ－３１００、ＣＵ－０３０５、１７－ＤＭＡＧ、ＣＮＦ－１０１０、Ｍａｃｂｅｃｉｎ（例えば、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　Ｉ、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　ＩＩ）、ＣＣＴ－０１８１５９、ＣＣＴ－１２９３９７、ＰＵ－Ｈ７１、またはＰＦ－０４９２８４７３（ＳＮＸ－２１１２）の１つまたは複数から選択される、請求項１から３または１５のいずれかに記載の方法。

【請求項３９】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、ＩＰＩ－４９３またはＩＰＩ－５０４である、請求項３８に記載の方法。

【請求項４０】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、ラパマイシン、テムシロリムス（ＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標））、エベロリムス（ＲＡＤ００１、ＡＦＩＮＩＴＯＲ（登録商標））、リダホロリムス、ＡＰ２３５７３、ＡＺＤ８０５５、ＢＥＺ２３５、ＢＧＴ２２６、ＸＬ７６５、ＰＦ－４６９１５０２、ＧＤＣ０９８０、ＳＦ１１２６またはＯＳＩ－０２７の１つまたは複数から選択されるｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせて投与される、請求項１５に記載の方法。

【請求項４１】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、ＡＬＫキナーゼ阻害剤と組み合わせて投与される、請求項１５に記載の方法。

【請求項４２】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、ゲフィチニブと組み合わせて投与される、請求項１５に記載の方法。

【請求項４３】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、イリノテカンと組み合わせて投与される、請求項１５に記載の方法。

【請求項４４】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、ドセタキセルと組み合わせて投与される、請求項１５に記載の方法。

【請求項４５】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、抗がん剤、外科的または放射線手順から選択される１つまたは複数の他の治療モダリティと組み合わせて投与される、請求項１５のいずれかに記載の方法。

【請求項４６】

前記ＨＳＰ９０阻害剤が、チロシンキナーゼ阻害剤またはトポイソメラーゼ阻害剤と組み合わせて投与される、請求項１５に記載の方法。

【請求項４７】

前記ＨＳＰ９０阻害剤を、活性障害の時期に、寛解の、または疾患がそれほど活性でな

い時期に、別の治療モダリティによる治療の前に、別の治療モダリティのための治療と同時的に、別の治療モダリティによる治療の後に、または障害の寛解の間に投与する、請求項１５に記載の方法。

【請求項４８】

前記ＨＳＰ９０阻害剤を、化学療法剤、放射線療法および／または手術による治療を受けている、または受けたがん患者に投与する、請求項１５のいずれかに記載の方法。

【請求項４９】

ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化を持つがんまたは腫瘍を治療する方法であって、該変化の１つまたは複数を有する、または有する危険性がある対象に、単独の、またはＡＬＫ阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、タキソイドもしくはトポイソメラーゼ阻害剤から選択される第２の阻害剤と組み合わせたＨＳＰ９０阻害剤を、該対象において該腫瘍の細胞増殖を減少もしくは阻害し、かつ／または該がんを治療または予防するのに十分な量で投与することを含み、該対象は、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子または遺伝子産物の該１つまたは複数の変化を検出することによって、判定されている、または判定される、方法。

【請求項５０】

機能性または非機能性神経内分泌腫瘍を有する対象を治療する方法であって、前記対象に、前記腫瘍の成長を減少または阻害するのに十分な量で、Ｈｓｐ９０阻害剤を投与し、それによって前記神経内分泌腫瘍を治療することを含み、前記神経内分泌腫瘍が、膵内分泌腫瘍；神経内分泌肺腫瘍；または副腎髄質、下垂体、副甲状腺、甲状腺の内分泌島、膵臓の内分泌島、または気道もしくは消化管における分散した内分泌細胞からの神経内分泌がんの１つまたは複数から選択される、方法。

【請求項５１】

ＨＳＰ９０阻害剤による治療に対するがん患者の化学受容性を決定するためのキットまたはアッセイであって、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、またはＦＬＴ３の１つまたは複数と任意選択で組み合わせた、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲの遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化に特異的に結合する試薬を含む、キットまたはアッセイ。

【請求項５２】

ＨＳＰ９０阻害剤をさらに含む、請求項５１に記載のキット。

【請求項５３】

前記試薬が、約５０～１０^{7}ヌクレオチド長のポリヌクレオチドを含む１つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを含む、請求項５１に記載のキット。

【請求項５４】

前記プローブの各々が、表１または表５に一覧表示されているヌクレオチド配列に対して相補的なポリヌクレオチド配列、あるいは表１または表５に一覧表示されているポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に対して相補的なポリヌクレオチド配列を含む、請求項５１に記載のキット。

【請求項５５】

前記プローブが、オリゴヌクレオチド、ｃＤＮＡ分子、ＲＮＡ分子、および核酸塩基を含む合成遺伝子プローブからなる群から選択される、請求項５１に記載のキット。

【請求項５６】

前記試薬が、表１または表５に一覧表示されている１つまたは複数のポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドに対する、抗体および抗体誘導体および抗体フラグメントを含む、請求項５１に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の引用

本願は、２００９年１１月１３日に出願された米国仮出願第６１／２６１，０６４号；２００９年１１月３０日に出願された米国仮出願第６１／２８３，１５０号；２０１０年３月１２日に出願された米国仮出願第６１／３１３，３６４号；２０１０年3月１２日に出願された米国仮出願第６１／３１３，５９４号；２０１０年５月２０日に出願された米国仮出願第６１／３４６，８７３号；２０１０年９月１３日に出願された米国仮出願第６１／３８２，４４７号；２０１０年１０月５日に出願された米国仮出願第６１／３９０，１３６号；および２０１０年１０月１９日に出願された米国仮出願第６１／３９４，７３５号に対する優先権の利益を主張する。上記の全ての出願の内容は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【０００２】

配列表

本出願は、ＥＦＳ－Ｗｅｂを介してＡＳＣＩＩフォーマットで提出され、かつ参照によりその全体が組み込まれている配列表を有する。２０１０年１１月１２日に作製された前記ＡＳＣＩＩのコピーはＩ２０４１７ＷＯ．ｔｘｔと命名され、サイズが２４９，０９６バイトである。

【背景技術】

【０００３】

がんは、腫瘍化のために必要なあらゆる生物学的特性を細胞に与える複数の遺伝的病変の表現型のエンドポイントを表す。実際、例えば、Ｂ細胞がん、肺がん、乳がん、卵巣がん、膵臓がん、および結腸がんを含めた多くのがんにおける顕著なゲノムの特徴は、多数の複雑な染色体構造の異常（非相互転座、染色体内逆位、点変異、欠失、遺伝子コピー数の変化、遺伝子発現レベルの変化、および生殖細胞系列変異を含める）が存在することである。

【０００４】

核型分析（非特許文献１；非特許文献２；非特許文献３；非特許文献４；非特許文献５；非特許文献６）、染色体ＣＧＨおよびアレイＣＧＨ（非特許文献７；非特許文献８；非特許文献９；非特許文献１０；非特許文献１１；非特許文献１２；非特許文献１３；非特許文献１４；非特許文献１５；非特許文献１６）、蛍光ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション法（ＦＩＳＨ）分析（非特許文献１７；非特許文献１８）、ならびにヘテロ接合性消失（ＬＯＨ）マッピング（非特許文献１９；非特許文献２０；非特許文献２１；非特許文献２２）が、様々ながんの病因と関連するバイオマーカー（例えば、染色体異常）を同定するために使用されてきた。

【０００５】

細胞間シグナル伝達成分の発現レベルは、がん療法の有効性のバイオマーカーおよび予測の判断材料として有用であることが見出されてきた。例えば、シグナル伝達成分（タンパク質キナーゼおよび受容体チロシンキナーゼなど）の発現レベルは、バイオマーカーとして使用されてきた。

【０００６】

がんのバイオマーカーの同定にも関わらず、このようなバイオマーカーの存在とがん療法の有効性の可能性との間の理解、特にがんを有する対象が、ＨＳＰ９０阻害剤による治療に対して反応する可能性が高いかまたは低いかについての理解が一般に欠如している。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Ｊｏｈａｎｓｓｏｎ，　Ｂ．ら、（１９９２年）Ｃａｎｃｅｒ、６９巻、１６７４～８１頁

【非特許文献２】Ｂａｒｄｉ，　Ｇ．ら、（１９９３年）Ｂｒ　Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ、６７巻、１１０６～１２頁

【非特許文献３】Ｇｒｉｆｆｉｎ，　Ｃ．　Ａ．ら、（１９９４年）Ｇｅｎｅｓ　Ｃｈｒ

ｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、９巻、９３～１００頁
【非特許文献４】Ｇｒｉｆｆｉｎ, Ｃ. Ａ.ら、（１９９５年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、５５巻、２３９４～９頁
【非特許文献５】Ｇｏｒｕｎｏｖａ, Ｌ.ら、（１９９５年）Ｇｅｎｅｓ Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、１４巻、２５９～６６頁
【非特許文献６】Ｇｏｒｕｎｏｖａ, Ｌ.ら、（１９９８年）Ｇｅｎｅｓ Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、２３巻、８１～９９頁
【非特許文献７】Ｗｏｌｆ Ｍら、（２００４年）Ｎｅｏｐｌａｓｉａ、６巻（３号）２４０頁
【非特許文献８】Ｋｉｍｕｒａ Ｙら、（２００４年）Ｍｏｄ. Ｐａｔｈｏｌ.、５月２１日（ｅｐｕｂ）
【非特許文献９】Ｐｉｎｋｅｌら、（１９９８年）Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、２０巻：２１１頁
【非特許文献１０】Ｓｏｌｉｎａｓ－Ｔｏｌｄｏ, Ｓ.ら、（１９９６年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、５６巻、３８０３～７頁
【非特許文献１１】Ｍａｈｌａｍａｋｉ, Ｅ. Ｈ.ら、（１９９７年）Ｇｅｎｅｓ Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、２０巻、３８３～９１頁
【非特許文献１２】Ｍａｈｌａｍａｋｉ, Ｅ. Ｈ.ら、（２００２年）Ｇｅｎｅｓ Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、３５巻、３５３～８頁
【非特許文献１３】Ｆｕｋｕｓｈｉｇｅ, Ｓ.ら、（１９９７年）Ｇｅｎｅｓ Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、１９巻：１６１～９頁
【非特許文献１４】Ｃｕｒｔｉｓ, Ｌ. Ｊ.ら、（１９９８年）Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、５３巻、４２～５５頁
【非特許文献１５】Ｇｈａｄｉｍｉ, Ｂ. Ｍ.ら、（１９９９年）Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ、１５４巻、５２５～３６頁
【非特許文献１６】Ａｒｍｅｎｇｏｌ, Ｇ.ら、（２０００年）Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅｔ Ｃｙｔｏｇｅｎｅｔ、１１６巻、１３３～４１頁
【非特許文献１７】Ｎｉｌｓｓｏｎ Ｍら、（２００４年）Ｉｎｔ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ、１０９巻（３号）：３６３～９頁
【非特許文献１８】Ｋａｗａｓａｋｉ Ｋら、（２００３年）Ｉｎｔ ＪＭｏｌ Ｍｅｄ.、１２巻（５号）：７２７～３１頁
【非特許文献１９】Ｗａｎｇ ＺＣら、（２００４年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、６４巻（１号）：６４～７１頁
【非特許文献２０】Ｓｅｙｍｏｕｒ, Ａ. Ｂ.ら、（１９９４年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、５４巻、２７６１～４頁
【非特許文献２１】Ｈａｈｎ, Ｓ. Ａ.ら、（１９９５年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、５５巻、４６７０～５頁
【非特許文献２２】Ｋｉｍｕｒａ, Ｍ.ら、（１９９６年）Ｇｅｎｅｓ Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ Ｃａｎｃｅｒ、１７巻、８８～９３頁

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００８】

本発明は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（ドセタキセルまたはイリノテカンなど）と組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療）に対して反応性のがんもしくは腫瘍（例えば、癌遺伝子に関連するがんまたは腫瘍）の同定、評価および／または治療のための組成物、方法、およびキットを少なくとも部分的に提供する。

【０００９】

一実施形態では、未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）遺伝子または遺伝子産物の変化、

例えば、ＡＬＫ再配列の存在は、肺がん、例えば、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）におけるＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を示すことを出願人等は発見した。他の実施形態では、任意選択でｐ５３の変化と組み合わせた、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化の存在は、肺がん、例えば、ＮＳＣＬＣにおけるＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲ阻害剤の組合せに対する反応性を示すものとして同定されてきた。他の実施形態では、例えば、チロシンキナーゼ阻害剤で事前に治療されたＮＳＣＬＣにおいて、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、変異）の存在は、ＨＳＰ９０阻害剤に対する反応性を示すものとして同定されてきた。他の実施形態では、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、変異）の存在は、結腸直腸がん（ＣＲＣ）におけるＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を示すものとして同定されてきた。また他の実施形態では、Ｒａｆ、例えば、Ｂ－Ｒａｆ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、変異）の存在は、結腸直腸がんにおけるＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を示すものとして同定されてきた。

【００１０】

他の実施形態では、本発明は、対象のヒストロジー（ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ）（例えば、ＮＳＣＬＣまたは扁平上皮細胞のヒストロジーの存在の検出）；対象の喫煙状況；ＨＳＰ９０のレベルもしくは発現、および／または本明細書に記載の変化（例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化）の１つまたは複数を判定することによって、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性が高いまたは低いものとして、対象を同定または選択する方法をさらに提供する。

【００１１】

また他の実施形態では、本発明には、本明細書に記載されている変化（例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の発癌性変化）を持つがんもしくは腫瘍を、ＨＳＰ９０阻害剤（単独で、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）と組み合わせた）で寛解または治療する方法が含まれる。特定の実施形態では、がんまたは腫瘍は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（または併用療法、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）との組合せ）を必要とする対象、それについて検討または判定されている対象中に存在する。

【００１２】

したがって、本発明は、ＨＳＰ９０阻害を伴う治療（併用療法を含めた）に対する反応性を判定し、または治療をモニターし；患者集団を層別化し；このような薬剤から恩恵を受ける可能性が高い対象を同定し、このような対象についての疾患の時間経過または疾患における有意事象の確率を予測し、および／またはがんもしくは腫瘍をより効果的にモニター、治療または予防するための手段を提供する。

【００１３】

したがって、一態様では、本発明は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（ドセタキセルまたはイリノテカンなど）と組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療）に対する、腫瘍またはがん細胞（例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｅｘ　ｖｉｖｏの腫瘍またはがん細胞）、または前記腫瘍もしくはがん細胞を有する対象の反応性を決定する方法を特徴とする。方法には、下記の１つまたは複数が含まれる。

（ｉ）ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、１つまたは複数の発癌性変化）を検出すること；および／または

（ｉｉ）ａ）対象のヒストロジー（例えば、がんのヒストロジーの存在、例えば、固形腫瘍、軟部組織腫瘍、または転移病変の存在を検出すること）（例えば、対象の試料においてＮＳＣＬＣ、ＳＣＣまたはＣＲＣ細胞または組織の存在を検出すること）；ｂ）対象の喫煙状況（例えば、対象を喫煙者または非喫煙者として同定すること；対象が少なくとも

５、１０、１５パックイヤー（ｐａｃｋ　ｙｅａｒ）またはそれを超える喫煙歴を有するかについて決定すること）；またはｃ）ＨＳＰ９０のレベルまたは発現の１つまたは複数を判定し、それによってＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する腫瘍、がん細胞または対象の反応性を決定すること。

【００１４】

別の態様では、本発明は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／または他の化学療法剤（ドセタキセルまたはイリノテカンなど）と組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療）に対して反応する可能性（例えば、増加または減少した可能性）を有するものとして、腫瘍、がん細胞、もしくは対象（例えば、がんもしくは腫瘍を有する対象、またはがんもしくは腫瘍を発症する危険性がある対象）を同定または選択する方法を特徴とする。この方法には、下記の１つ、２つ、３つまたは４つが含まれる：

（ｉ）腫瘍、がん細胞または対象からの試料を判定すること、例えば、本明細書に記載の変化（例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の発癌性変化）の存在または不存在を検出すること；

（ｉｉ）対象のヒストロジーを判定すること（例えば、がんのヒストロジーの存在または不存在、例えば、固形腫瘍、軟部組織腫瘍、または転移病変の存在または不存在を検出すること）（例えば、対象の試料におけるＮＳＣＬＣ、ＳＣＣもしくはＣＲＣ細胞または組織の存在または不存在を検出すること）；

ｉｉｉ）対象の喫煙状況を判定すること（例えば、対象を喫煙者または非喫煙者として同定すること；対象が少なくとも５、１０、１５パックイヤーまたはそれを超える喫煙歴を有するかについて決定すること）；または

ｉｖ）試料中のＨＳＰ９０のレベルまたは発現を決定すること；および

（任意選択で）腫瘍、がん細胞または対象を、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性が高いまたは低いものとして同定すること。

【００１５】

さらに別の態様では、本発明は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（ドセタキセルまたはイリノテカンなど）と組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療）が、対象において本明細書に記載の変化（例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の発癌性変化）を持つがんまたは腫瘍を治療する有効性をモニターし、または有効性を予測する方法を特徴とする。方法には、以下が含まれる：

（ｉ）対象から得た試料中の変化（例えば、本明細書に記載のＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の発癌性変化）を検出すること；および／または

（ｉｉ）ａ）対象のヒストロジー（例えば、がんのヒストロジーの存在、例えば、固形腫瘍、軟部組織腫瘍、または転移病変の存在を検出すること）（例えば、対象の試料中のＮＳＣＬＣ、ＳＣＣまたはＣＲＣ細胞または組織の存在を検出すること）；またはｂ）ＨＳＰ９０のレベルまたは発現の１つまたは複数を判定すること；

（ｉｉｉ）試料において検出した変化と、所定の値、例えば、参照試料（例えば、正常な対照；血液が一致する対照試料（例えば、正常な隣接する腫瘍；または異なる時間間隔で、例えば、ＨＳＰ９０阻害剤および／もしくは他の抗がん療法による治療の前、間もしくは後）において対象から集めた試料）とを比較すること。所定の値に関して試料において検出された変化の差異の程度は、治療の有効性を示し、または予測する。一実施形態では、方法には、検出した差異に応じて、用量または治療的レジメン（例えば、単独で、または組み合わせた、例えば、ＡＬＫ阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは化学療法剤と組み合わせたＨＳＰ９０阻害剤の用量または投与スケジュール）を変更することがさらに含まれてもよい。ＨＳＰ９０阻害剤による治療の間、または

治療が中断した後、例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、ＮＳＣＬＣおよび／またはＳＣＣ試料におけるＡＬＫ再配列もしくはＥＧＦＲ変異、または結腸直腸癌試料における変異体Ｋ－Ｒａｓもしくは Ｂ－Ｒａｆ）の存在、または対象から得た試料におけるがん細胞または組織の存在は、単一の薬剤として、または組み合わせた、ＨＳＰ９０阻害剤の用量または投与の頻度を増加させる必要性を示す。

【００１６】

本発明の方法の特定の実施形態では、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変化の存在は、腫瘍またはがん細胞がＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性の増加を有することを示す。特定の実施形態では、ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物には、Ｒａｓ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つまたは複数）、Ｒａｆ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）、Ｍｅｋ、および／またはＥｒｋの１つまたは複数が含まれる。本明細書に記載の方法は、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１から選択される１つまたは複数の遺伝子産物の変化を検出することを任意選択でさらに含むことができる。

【００１７】

他の実施形態では、下記の１つまたは複数は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、ＨＳＰ９０阻害剤およびドセタキセルまたはイリノテカンの組合せを含む治療）に対して反応する可能性の増加を示す。（ｉ）ＮＳＣＬＣ、ＣＲＣまたは扁平上皮細胞のヒストロジー（例えば、対象のヒストロジーにおいてＮＳＣＬＣ、ＣＲＣおよび／またはＳＣＣ細胞または組織）の存在を検出すること；（ｉｉ）対象を喫煙者（例えば、少なくとも５、１０、１５パックイヤーまたはそれを超える喫煙歴を有する対象）として同定すること；または（ｉｉｉ）ＨＳＰ９０の上昇したレベルまたは発現（例えば、ＨＳＰ９０遺伝子または遺伝子産物の上昇したレベル）を検出すること。一実施形態では、方法には、対象の試料におけるＮＳＣＬＣ、ＳＣＣまたは結腸直腸癌（ＣＲＣ）細胞または組織の存在を検出すること、および任意選択で、ＮＳＣＬＣ、ＣＲＣまたはＳＣＣのヒストロジーの存在を、他のヒストロジー（肺腫瘍については腺癌など）と比較することがさらに含まれる。

【００１８】

一実施形態では、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、ＡＬＫ再配列）の検出またはそれらが存在することは、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤として、または組み合わせた）に対して反応し、肺腫瘍またはがん細胞、例えば、ＮＳＣＬＣ（例えば、再発性および／または難治性ＮＳＣＬＣ）、またはＳＣＣの腫瘍もしくはがん細胞を阻害、減少、または治療する可能性の増加を示す。

【００１９】

また他の実施形態では、ｐ５３遺伝子または遺伝子産物の変化の検出と任意選択で組み合わせた、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化の検出または存在は、ＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲ阻害剤の組合せを含む治療に対して反応し、肺腫瘍またはがん細胞、例えば、ＮＳＣＬＣ（例えば、再発性および／または難治性ＮＳＣＬＣ）、またはＳＣＣの腫瘍またはがん細胞を阻害、減少、または治療する可能性の増加を示す。

【００２０】

別の実施形態では、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化を検出すること、またはその存在は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤として、または組み合わせた）に対して反応する可能性が増加し、直腸結腸腫瘍またはがん細胞（例えば、結腸直腸癌腫瘍またはがん細胞）を阻害、減少、または治療することを示す。

【００２１】

さらに別の実施形態では、Ｒａｆ、例えば、Ｂ－Ｒａｆ遺伝子または遺伝子産物の変化を検出すること、またはその存在は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、単一の薬剤

として、または組み合わせた）に対して反応する可能性が増加し、直腸結腸腫瘍またはがん細胞（例えば、結腸直腸癌腫瘍またはがん細胞）を阻害、減少、または治療することを示す。

【００２２】

また他の実施形態では、本発明の方法には、本明細書に記載されている変化（例えば、１つもしくは複数のＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路もしくはＥＧＦＲ変化；がんのヒストロジーの存在；またはＨＳＰ９０の発現の上昇）を持つがんまたは腫瘍を治療または予防することがさらに含まれる。方法には、対象に、ＨＳＰ９０阻害剤、例えば、本明細書に記載の１種もしくは複数のＨＳＰ９０阻害剤（単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）と組み合わせた）を、対象において腫瘍細胞増殖を減少もしくは阻害し、かつ／またはがん（複数可）を治療もしくは予防するのに十分な量で投与することが含まれる。

【００２３】

代わりに、または本明細書に記載の方法と組み合わせて、本発明は、対象においてがんもしくは腫瘍（例えば、１つまたは複数のがんまたは腫瘍）の増殖を減少もしくは阻害する方法を特徴とする。本発明はまた、がんもしくは腫瘍（例えば、１つまたは複数のがんまたは腫瘍）を有する、または有する危険性がある対象を治療する方法を特徴とする。特定の実施形態では、腫瘍またはがんは、本明細書に記載の変化（例えば、１つもしくは複数のＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、ＥＧＦＲの変化；がんのヒストロジーの存在；またはＨＳＰ９０の発現の上昇）を持つ。方法には、対象に、ＨＳＰ９０阻害剤、例えば、本明細書に記載の１種もしくは複数のＨＳＰ９０阻害剤（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）と組み合わせた）を、対象において腫瘍細胞増殖を減少もしくは阻害し、かつ／またはがん（複数可）を治療もしくは予防するのに十分な量で投与することが含まれる。

【００２４】

特定の実施形態では、変化を持つがんもしくは腫瘍は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（または、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは化学療法剤、例えば、ドセタキセルもしくはイリノテカンとの併用療法）を必要とする、それから恩恵を受ける可能性が高いことが同定されている対象、またはそれについて検討もしくは判定されている対象において存在する。例えば、本発明の治療方法によって治療される対象は、喫煙歴；ＨＳＰ９０の上昇したレベルもしくは発現；ＮＳＣＬＣ（例えば、再発性および／または難治性ＮＳＣＬＣ）またはＳＣＣ細胞もしくは腫瘍の１つもしくは複数を有し得る、もしくは有することが同定されている；または少なくとも１つの事前の化学療法レジメンを受けている間もしくは後の疾患の悪化を経験している；少なくとも１つの事前の白金含有化学療法レジメンを受けている間もしくは後の疾患の悪化を経験しているＮＳＣＬＣ患者である。

【００２５】

特定の実施形態では、対象は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療で治療をされるように以前に選択または同定され、例えば、喫煙歴；ＮＳＣＬＣもしくはＳＣＣを有すること；ＨＳＰ９０の上昇したレベルもしくは発現を有することの１つまたは複数を有することについて以前に判定される。他の実施形態では、本明細書に記載の１つもしくは複数の発癌性変化（例えば、変異体ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物）の存在を検出して、対象から得た試料を判定することによって、対象は、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療による治療をされるように以前に選択される。また他の実施形態では、対象はＥＧＦＲ変異（例えば、Ｔ７９０Ｍ）を有し、チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、ゲフィチニブで事前の治療を受けている。

【００２６】

特定の実施形態では、治療の方法には、対象からの試料を判定して、本明細書に記載さ

れている遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化を検出すること、または喫煙歴；ＮＳＣＬＣ、ＳＣＣまたはＣＲＣを有すること；ＨＳＰ９０の上昇したレベルまたは発現を有することの１つまたは複数を有するものとして対象を同定することが、（任意選択で）さらに含まれる。

【００２７】

治療には、これらに限定されないが、腫瘍増殖を阻害すること、腫瘍体積を減少させること、転移病変のサイズまたは数を減少させること、新しい転移病変の発生を阻害すること、生存を延長させること、無増悪生存期間を延長させること、無増悪期間を延長させること、および／または生活の質を増強させることが含まれてもよい。

【００２８】

特定の実施形態では、本発明の方法によって判定および／または治療されるがんまたは腫瘍には、これらに限定されないが、固形腫瘍、軟部組織腫瘍、および転移病変（例えば、本明細書に記載のがんまたは腫瘍）が含まれる。いくつかの実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、ＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つまたは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１の１つまたは複数から選択される遺伝子または遺伝子産物の変化を持つ。一実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化、例えば、ＡＬＫ再配列を有する。別の実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－ＲａｓまたはＢ－Ｒａｆ）遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化を有する。特定の実施形態では、がんまたは腫瘍は、肺がん（例えば、小細胞肺がん（ＳＣＬＣ）、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）、または扁平上皮細胞がん（ＳＣＣ））、結腸直腸がん、乳がん、髄芽腫、軟骨肉腫、骨肉腫、膵臓がん、卵巣がん、頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、多発性骨髄腫、前立腺がん、未分化大細胞リンパ腫、または神経芽細胞腫の１つまたは複数から選択される。

【００２９】

いくつかの実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）（例えば、再発性および／もしくは難治性ＮＳＣＬＣ）、ＳＣＣ、または結腸直腸がんである。一実施形態では、ＮＳＣＬＣは、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変異を持つ（例えば、ＮＳＣＬＣは、ＡＬＫ再配列を有し；ＮＳＣＬＣは、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合体を発現し；ＮＳＣＬＣは、ヌクレオフォスミン－未分化リンパ腫キナーゼ融合体（ＮＰＭ－ＡＬＫ融合体）を発現する）。一実施形態では、腫瘍またはがんは、ＡＬＫ阻害剤に耐性（例えば、部分的または完全に耐性）であるが、本明細書に記載されているＨＳＰ９０阻害剤に対して感受性を保持する。他の実施形態では、ＮＳＣＬＣは、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変異を持つ。また他の実施形態では、ＮＳＣＬＣは、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物、およびｐ５３遺伝子または遺伝子産物の変異を持つ。また他の実施形態では、ＮＳＣＬＣは、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物、およびＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変異を持つ。また他の実施形態では、ＮＳＣＬＣは、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変異を有する。また他の実施形態では、ＮＳＣＬＣは、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変異を有し、チロシンキナーゼ阻害剤で事前に治療されてきた。一実施形態では、腫瘍またはがんは、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ゲフィチニブ）に耐性（例えば、部分的または完全に耐性）であるが、本明細書に記載されているＨＳＰ９０阻害剤に対して感受性を保持する。また他の実施形態では、ＮＳＣＬＣは、野生型ＥＧＦＲおよび／またはＫ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物を有する。また他の実施形態では、判定または治療されるがんまたは腫瘍は、扁平上皮細胞癌（ＳＣＣ）である。また他の実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、肺の大

細胞癌または腺癌である。他の実施形態では、判定または治療されるがんまたは腫瘍は、少なくとも２０％、３０％、５０％、７０％のＮＳＣＬＣまたはＳＣＣのヒストロジーを示す細胞を有する。

【００３０】

他の実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、結腸直腸がんである。一実施形態では、結腸直腸がんは、ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物（例えば、Ｒａｓ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つまたは複数）、Ｒａｆ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）、Ｍｅｋ、および／またはＥｒｋ）の変異を持つ。一実施形態では、結腸直腸がんは、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓの変異を持つ。別の実施形態では、結腸直腸がんは、Ｒａｆ、例えば、Ｂ－Ｒａｆの変異を持つ。

【００３１】

特定の実施形態では、同定または治療されるがんまたは腫瘍は、神経内分泌がんまたはカルチノイド腫瘍（例えば、機能性もしくは非機能性神経内分泌またはカルチノイド腫瘍）である。

【００３２】

本発明のさらなる実施形態または特徴は、下記の通りである。

【００３３】

特定の実施形態では、遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、１つまたは複数の発癌性変化）には、これらに限定されないが、細胞遺伝学的異常、非相互転座、再配列、染色体内逆位、変異、点変異、欠失、遺伝子コピー数の変化、転写物の変異、および遺伝子または遺伝子産物の発現の変化が含まれる。特定の実施形態では、転写物の変異は、ｍＲＮＡ変異、ｒＲＮＡ変異またはｔＲＮＡ変異である。特定の実施形態では、発現レベル、構造（例えば、リン酸化などの翻訳後修飾）および／または１つもしくは複数の発癌性ポリペプチドの活性を判定する。関連する実施形態では、１つもしくは複数の変異体発癌性アイソフォーム、例えば、細胞、例えば、過剰増殖性細胞（例えば、がんまたは腫瘍細胞）における様々な癌原遺伝子発現産物の選択的スプライシング、フレームシフト、翻訳および／または翻訳後事象の１つまたは複数から生じたアイソフォームの発現レベル、構造、および／または活性を検出する。

【００３４】

一実施形態では、方法には、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変化を検出することが含まれる。他の実施形態では、検出される変化には、ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物（Ｒａｓ、Ｒａｆ、Ｍｅｋ、および／またはＥｒｋを含めた）の１つまたは複数の変化が含まれる。一実施形態では、ＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の変化には、Ｒａｓ（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）またはＲａｆ（例えば、Ｂ－Ｒａｆ）遺伝子または遺伝子産物の１つもしくは複数の変化が含まれる。

【００３５】

別の実施形態では、方法には、例えば、ＭＡＰＫ（ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＭＥＫ－Ｅｒｋ）経路の遺伝子（「ＭＡＰＫ経路遺伝子」）もしくはその転写物の変異の検出によって、その経路のタンパク質の変異の検出によって、またはその経路の非リン酸化および／もしくはリン酸化タンパク質（「経路タンパク質」）の上昇したレベルの検出などによって、ＭＡＰＫ（ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＭＥＫ－Ｅｒｋ）経路の異常な活性化（「ＭＡＰＫ経路活性化」）を検出することが含まれる。特定の実施形態では、ＭＡＰＫ経路活性化の検出は、ＭＡＰＫ経路遺伝子またはその転写物の変異の検出、ＭＡＰＫ経路タンパク質の変異の検出、またはＭＡＰＫ経路タンパク質の上昇したレベルの検出を含む。特定の実施形態では、ＭＡＰＫ経路遺伝子は、Ｒａｓ遺伝子、Ｒａｆ遺伝子、Ｍｅｋ遺伝子またはＥｒｋ遺伝子である。特定の実施形態では、Ｒａｓ遺伝子は、Ｈ－Ｒａｓ遺伝子、Ｎ－Ｒａｓ遺伝子またはＫ－Ｒａｓ遺伝子である。特定の実施形態では、Ｒａｆ遺伝子は、Ａ－Ｒａｆ遺伝子、Ｂ－Ｒａｆ遺伝子またはＣ－Ｒａｆ遺伝子である。

【００３６】

他の実施形態では、ＭＡＰＫ経路タンパク質は、Ｒａｓタンパク質、Ｒａｆタンパク質、Ｍｅｋタンパク質、Ｅｒｋタンパク質、Ｍｋ１タンパク質、ＲＳＫタンパク質、Ｅｔｓタンパク質、Ｅｌｋ－１タンパク質またはＳＡＰ－１タンパク質である。特定の実施形態では、Ｒａｓタンパク質は、Ｈ－Ｒａｓタンパク質、Ｎ－Ｒａｓタンパク質またはＫ－Ｒａｓタンパク質である。特定の実施形態では、Ｒａｆタンパク質は、Ａ－Ｒａｆタンパク質、Ｂ－Ｒａｆタンパク質またはＣ－Ｒａｆタンパク質である。特定の実施形態では、Ｍｅｋタンパク質は、Ｍｅｋ－１またはＭｅｋ－２である。特定の実施形態では、Ｅｒｋタンパク質は、Ｅｒｋ－１またはＥｒｋ－２である。特定の実施形態では、ＭＡＰＫ経路タンパク質は、非リン酸化ＭＡＰＫ経路タンパク質である。特定の実施形態では、ＭＡＰＫ経路タンパク質は、リン酸化ＭＡＰＫ経路タンパク質である。特定の実施形態では、リン酸化ＭＡＰＫ経路タンパク質は、リン酸化Ｍｅｋタンパク質である。

【００３７】

他の実施形態では、判定および／または治療される遺伝子または遺伝子産物の変化は、ＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つまたは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１の１つまたは複数から選択される。単一の遺伝子もしくは遺伝子産物、または前述の遺伝子もしくは遺伝子産物の２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、１０もしくはそれを超えるの任意の組合せを、判定または治療することができる。例えば、前述の遺伝子または遺伝子産物のいずれかの２つの変化を判定することができる（例えば、ＡＬＫおよびＫ－Ｒａｓ、ＡＬＫおよびＥＧＦＲ、Ｋ－ＲａｓおよびＥＧＦＲ、ＥＧＦＲおよびＢＲＡＦ、Ｋ－Ｒａｓおよびｐ５３の変化を判定することができる）。他の実施形態では、前述の遺伝子または遺伝子産物の３つのいずれかの変化を判定する（例えば、ＡＬＫ、Ｋ－Ｒａｓ、およびＥＧＦＲ；またはＥＧＦＲ、Ｋ－Ｒａｓおよびｐ５３の変化を判定する）。

【００３８】

一実施形態では、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、１つまたは複数の発癌性変化）を、判定および／または治療する。特定の実施形態では、変異体ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変化は、表１（配列番号：１～１３）に一覧表示されている変異体ＡＬＫポリヌクレオチド分子またはポリペプチドから選択される。ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変化の非限定的例には、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合体、ＫＩＦ５Ｂ－ＡＬＫ融合体、ＴＧＦ－ＡＬＫ融合体、ＮＰＭ－ＡＬＫ融合体、およびＡＬＫ点変異（本明細書に記載のＦ１２４５Ｉ／Ｌ、Ｌ１２０４Ｆ、Ａ１２００Ｖ、Ｌ１１９６Ｍ、Ｉ１１７０Ｓ、Ｔ１１５１Ｍ、Ｒ１２７５Ｑ、Ｆ１１７４Ｖ／Ｃ／Ｌ、Ｔ１０８７Ｉ、およびＫ１０６２Ｍの１つまたは複数を含めた）が含まれる。一実施形態では、変化には、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質を産生するＥＬＭ４のＮ末端とＡＬＫのＣ末端との間の染色体内逆位が含まれる。

【００３９】

他の実施形態では、Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、１つまたは複数の発癌性変化）を、判定および／または治療する。特定の実施形態では、変異体Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物は、表５（配列番号：１４～１６および配列番号：２０～２２）に一覧表示されている１つまたは複数の変異体Ｒａｓポリヌクレオチド分子またはポリペプチドから選択される。一実施形態では、Ｋ－Ｒａｓ、Ｈ－Ｒａｓおよび／またはＮ－Ｒａｓのいずれかの１つまたは複数の変異には、例えば、コドン１２、１３および／または６１（これらに限定されないが、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｎ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＮおよびＱ６１Ｒを含めた）の変異が含まれる。一実施形態では、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化は、判定または治療される。ＫＲＡＳ遺伝子の変化の非限定的例は、

【００４０】

【化１】

KRAS_Gl2C, KRAS_G12R, KRAS_G12D, KRAS_G12A, KRAS_G12S, KRAS_G12V,
KRAS_G13D, KRAS_G13S, KRAS_G13C, KRAS_G13V, KRAS_Q61H,
KRAS_Q61R, KRAS_Q61P, KRAS_Q61L, KRAS_Q61K, KRAS_Q61E, KRAS_A59T
および KRAS_G12F.

からなる群から選択される。

【００４１】

また他の実施形態では、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、１つまたは複数の発癌性変化）は、判定または治療される。特定の実施形態では、変異体Ｒａｆ遺伝子または遺伝子産物の変化は、表５（配列番号１７～１９および配列番号：２３～２５）に一覧表示されている変異体Ｒａｆポリヌクレオチド分子もしくはポリペプチド、またはＢ－Ｒａｆのコドン４６４、４６６、４６８、４６９、５９４、５９５、５９６、５９７、５９９、６００、もしくは６０１の変異から選択される。ＲＡＦ遺伝子または遺伝子産物の例示的な変化には、これらに限定されないが、

【００４２】

【化２】

BRAF_D594G,
BRAF_D594V, BRAF_F468C, BRAF_F595L, BRAF G464E, BRAF_G464R,
BRAF_G464V, BRAF_G466A, BRAF_G466E, BRAF_G466R, BRAF_G466V,
BRAF_G469A, BRAF_G469E, BRAF_G469R, BRAF_G469R, BRAF_G469S,
BRAF_G469V, BRAF_G596R, BRAF_K601E, BRAF_K601N, BRAF L597Q,
BRAF_L597R, BRAF_L597S, BRAF L597V, BRAF_T599I, BRAF_V600E,
BRAF_V600K, BRAF_V600L, **および** BRAF_V600R.

が含まれる。

【００４３】

他の実施形態では、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、１つまたは複数の発癌性変化）は、判定または治療される。ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の例示的な変化には、これらに限定されないが、ＥＧＦＲエキソン欠失（例えば、ＥＧＦＲエキソン１９欠失）、および／またはエキソン変異（例えば、Ｌ８５８Ｒ／Ｔ７９０Ｍ　ＥＧＦＲ変異）が含まれる。他の例示的な変化には、これらに限定されないが、

【００４４】

【化３】

EGFR_ D770_N771>AGG;
EGFR_D770_N771insG; EGFR_D770_N771insG; EGFR_D770_N771insN:
EGFR_E709A; EGFR E709G: EGFR_709H; EGFR_E709K: EGFR_E709V;
EGFR_E746_A750del: EGFR_E746_A750del, T751A; EGFR_E746_A750del, V ins;
EGFR_E746_T751del, I ins; EGFR_E746_T751del, S752A; EGFR_E746_T751del,
S752D; EGFR_E746_T751 del, V ins; EGFR__G719A; EGFR_G719C; EGFR_G719S:
EGFR_H773_V774insH; EGFR__H773_V774insNPH; EGFR_H773_V774insPH;
EGFR_H773>NPY; EGFR_L747_E749del; EGFR_L747_E749del, A750P;
EGFR_L747_S752del: EGFR_L747_S752del, P753S; EGFR_L747_S752del, Q ins;
EGFR_L747_T750del, P ins; EGFR_L747_T751del; EGFR_L858R; EGFR_L861Q;
EGFR_M766_A767insAI; EGFR_P772_H773insV; EGFR S752_1759del;
EGFR_S768I; EGFR_T790M: EGFR_V769_D770insASV; EGFR_V769_D770insASV:
および EGFR_V774_C775insHV.

が含まれる。

【００４５】

特定の実施形態では、判定および／または治療される対象は、哺乳動物、例えば、霊長類、典型的にはヒト（例えば、本明細書に記載されているがんもしくは腫瘍を有する、または有する危険性がある患者）である。対象は、障害を有する危険性がある対象、例えば、がんに相対的に罹患している対象、またはがんの危険性と関連する遺伝形質を有する対象でよい。一実施形態では、対象は、症候性または無症候性でよい。特定の実施形態では、対象は、遺伝子または遺伝子産物の発癌性変化を有する患者である。例えば、対象は、ＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つまたは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１の１つまたは複数から選択される遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化を有し得る。一実施形態では、対象は、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物、例えば、ＡＬＫ遺伝子再配列の変化（例えば、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合体）；またはＭＡＰＫ経路遺伝子または遺伝子産物の変化（Ｒａｓ（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）またはＲａｆ（例えば、Ｂ－Ｒａｆ）遺伝子または遺伝子産物（例えば、Ｋ－ＲａｓまたはＢ－Ｒａｆ遺伝子の活性化変異）など）を有する患者である。一実施形態では、対象は、ＮＳＣＬＣ（例えば、再発性および／または難治性ＮＳＣＬＣ）またはＳＣＣを有する、またはそれらであると診断されている。他の実施形態では、対象は、結腸直腸がんを有する、またはそれであると診断されている。特定の実施形態では、同定または治療される対象は、ＨＳＰ９０阻害剤（単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤および／もしくは他の化学療法剤と組み合わせた）で治療されてきた、または現在治療されている。特定の実施形態では、対象は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（または、他の化学療法剤、例えば、ドセタキセルもしくはイリノテカンとの併用療法）を必要とし、その恩恵を受ける可能性が高いことが同定されており、またはそれについて検討している。例えば、対象は、喫煙歴；ＮＳＣＬＣもしくはＳＣＣを有する患者；またはＨＳＰ９０の上昇したレベルもしくは発現を有する患者の１つまたは複数を有する患者であり得る。一実施形態では、対象は、ＡＬＫキナーゼ阻害剤に対して耐性（例えば、部分的または完全に耐性）である。別の実施形態では、対象は、事前の化学療法レジメン（例えば、白金含有化学療法レジメン）に対して耐

性（例えば、部分的または完全に耐性）である。さらに別の実施形態では、対象は、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変異を有する。さらに別の実施形態では、対象（例えば、ＮＳＣＬＣ患者）は、ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変異を有し、かつチロシンキナーゼ阻害剤で事前治療されてきた。一実施形態では、対象は、チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、ゲフィチニブ（ｇｅｆｔｉｎｉｂ）に対して耐性（例えば、部分的にまたは完全に耐性）である。

【００４６】

一実施形態では、本発明の方法において判定される試料は、対象から集め、または得られ、または代わりに、方法には、対象から試料を得ることまたは集めることがさらに含まれる。試料は、組織（例えば、組織生検）、全血、血清、血漿、口腔掻取片、痰、唾液、脳脊髄液、尿、便、循環性腫瘍細胞、循環核酸、または骨髄の１つまたは複数から選択することができる。

【００４７】

他の実施形態では、これらに限定されないが、核酸ハイブリダイゼーションアッセイ、増幅をベースとするアッセイ（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ））、ＰＣＲ－ＲＦＬＰアッセイ、リアルタイムＰＣＲ、配列決定、スクリーニング分析（標準的核型法による分裂中期細胞遺伝学分析、ＦＩＳＨ、スペクトル核型決定またはＭＦＩＳＨ、比較ゲノムハイブリダイゼーションを含めた）、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション、ＳＳＰ、ＨＰＬＣまたは質量分析ジェノタイピングの１つまたは複数を含めた当技術分野で利用可能な任意の検出方法によって、変化を検出する。

【００４８】

また他の実施形態では、本明細書に記載されている１つまたは複数の発癌性ポリペプチド、例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、またはＥＧＦＲポリペプチドの発現レベルを検出する。例えば、ポリペプチドは、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、またはＥＧＦＲポリペプチドに特異的に結合する試薬を使用して検出することができる。別の実施形態では、試薬は、抗体、および抗体誘導体、および抗体フラグメントからなる群から選択される。さらに別の実施形態では、発癌性ポリペプチド、例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路またはＥＧＦＲポリペプチドの量、構造および／または活性を、所定の値、例えば、参照値（例えば、対照試料）と比較する。

【００４９】

一実施形態では、この方法には、ハイブリダイゼーションに適した条件下で、対象から得た試料、例えば、ゲノムＤＮＡ試料（例えば、染色体試料、または分画、濃縮もしくは別の方法で事前処理した試料）または遺伝子産物（ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ）と、プローブ（例えば、エキソン特異的プローブ、所望の配列に対して特異的なプローブ）とを接触させることと、遺伝子または遺伝子産物（例えば、細胞遺伝学的異常（例えば、本明細書に記載されているＡＬＫ、ＭＡＰＫまたはＥＧＦＲ経路変異の１つまたは複数）と関連する染色体領域におけるゲノムＤＮＡ）における異常の１つまたは複数が存在または不存在するかについて決定することとが含まれる。方法には、遺伝子または遺伝子産物についての試料を濃縮することを任意選択で含むことができる。

【００５０】

さらに別の実施形態では、変化、例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－ＲａｓまたはＢ－Ｒａｆ）またはＥＧＦＲ、腫瘍のヒストロジー、またはＨＳＰ９０レベルの１つまたは複数の変化を、所定の間隔で、例えば、第１の時点および少なくともそれに続く時点で評価する。一実施形態では、時間経過を、患者の疾患の経過中の有意事象の間の時間を決定することによって測定し、測定によって、患者が長い時間経過を有するかについて予測する。別の実施形態では、有意事象は、一次診断から死亡への進行である。別の実施形態では、有意事象は、一次診断から転移性疾患への進行である。別の実施形態では、有意事象は、一次診断から再発への進行である。別の実施形態では、有意事象は、転移性疾患から死亡への進行である。別の実施形態では、有意事象は、転移性疾患から再発への進行である。別の実施形態では、有意事象は、再発から死亡への進行である。特定の実施

形態では、時間経過は、全生存率、無増悪期間および／またはＲＥＣＩＳＴもしくは他の反応基準の使用の１つまたは複数に関して測定する。

【００５１】

特定の実施形態では、所定の値を、患者試料を少なくとも２つの患者の亜群に分けることによって得る。特定の実施形態では、亜群の数は、２つであり、患者試料を、発癌性変化、例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路もしくはＥＧＦＲ（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）変異（複数可）、または喫煙状況あり、腫瘍のヒストロジー、またはＨＳＰ９０の発現の上昇の１つまたは複数を有する第１の亜群；および発癌性異常、非喫煙者、良性腫瘍のヒストロジー、またはＨＳＰ９０発現の対照レベルを有さない第２の亜群の患者に分割する。特定の実施形態では、対象における、ＡＬＫ変異、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－ＲａｓまたはＢ－Ｒａｆ）またはＥＧＦＲ状態、または１つもしくは複数の喫煙状況、腫瘍のヒストロジー、ＨＳＰ９０の発現の上昇を、第１または第２の亜群と比較する。患者が、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－ＲａｓまたはＢ－Ｒａｆ）またはＥＧＦＲの変異（複数可）、喫煙者であること、上昇したＨＳＰ９０レベルを有すること、またはがんのヒストロジーの１つまたは複数を有する場合、患者は、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）（単一の薬剤として、または組み合わせた）に対して反応する可能性が高い。特定の実施形態では、反応者は、長い時間経過を有する可能性が増加するか、または有する可能性が高い。特定の実施形態では、亜群の数は、本明細書に記載されている特定の発癌性変化、喫煙状況、ヒストロジーおよびＨＳＰ９０レベルと相関する、予測されたＨＳＰ９０および／またはｍＴＯＲ、ＡＬＫ、チロシンキナーゼ阻害剤の有効性の層別化に応じて、これらだけに限定されないが、３つの亜群、４つの亜群、５つの亜群および６つの亜群を含めて２を超える。特定の実施形態では、反応する可能性は、全生存率、無増悪期間に関して、および／またはＲＥＣＩＳＴ基準を使用して測定される。

【００５２】

他の実施形態では、方法には、本明細書に記載されている変化、または喫煙状況、ヒストロジーおよび本明細書に記載されているＨＳＰ９０レベルを有する、がんもしくは腫瘍を有する対象が、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）（単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、単独で、またはＡＬＫ阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）と組み合わせた）に対して反応する可能性が高いかについて決定すること；治療レジメンを決定すること（例えば、治療の経過、投与、治療スケジュールまたは時間経過、併用療法を変化させること）の１つまたは複数がさらに含まれる。方法を使用して、対象におけるがんの時間経過を予測することができる。他の実施形態では、方法を使用して、がんを有する対象における有意事象の確率を予測する。

【００５３】

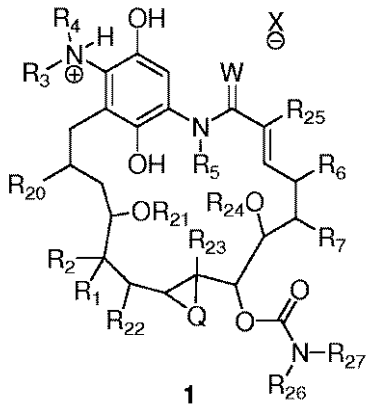
一実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ゲルダナマイシン誘導体、例えば、ベンゾキノンまたはヒドロキノン（ｈｙｇｒｏｑｕｉｎｏｎｅ）アンサマイシンＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／もしくはＩＰＩ－５０４）である。例えば、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＩＰＩ－４９３、ＩＰＩ－５０４、１７－ＡＡＧ（タネスピマイシンもしくはＣＮＦ－１０１０としてもまた公知である）、ＢＩＩＢ－０２１（ＣＮＦ－２０２４）、ＢＩＩＢ－０２８、ＡＵＹ－９２２（ＶＥＲ－４９００９としてもまた公知である）、ＳＮＸ－５４２２、ＳＴＡ－９０９０、ＡＴ－１３３８７、ＸＬ－８８８、ＭＰＣ－３１００、ＣＵ－０３０５、１７－ＤＭＡＧ、ＣＮＦ－１０１０、Ｍａｃｂｅｃｉｎ（例えば、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　Ｉ、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　ＩＩ）、ＣＣＴ－０１８１５９、ＣＣＴ－１２９３９７、ＰＵ－Ｈ７１、またはＰＦ－０４９２８４７３（ＳＮＸ－２１１２）の１つもしくは複数から選択することができる。

【００５４】

一実施形態では、Ｈｓｐ９０阻害剤は、式１の化合物、またはその遊離塩であり、

【００５５】

【化４】

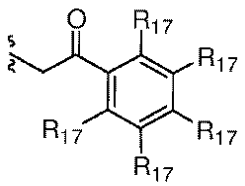


1

式中、出現する毎に独立に、
Ｗは、酸素または硫黄であり、
Ｑは、酸素、ＮＲ、Ｎ（アシル）または結合であり、
Ｘ$^{-}$は、薬学的に許容される酸の共役塩基であり、
Ｒは、出現する毎に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
R_1は、ヒドロキシル、アルコキシル、－ＯＣ（Ｏ）R_8、－ＯＣ（Ｏ）ＯR_9、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ$R_{10}R_{11}$、－ＯＳＯ$_2$$R_{12}$、－ＯＣ（Ｏ）ＮＨＳＯ$_2$Ｎ$R_{13}R_{14}$、－Ｎ$R_{13}R_{14}$、もしくはハロゲン化物であり、$R_2$は、水素、アルキル、もしくはアラルキルであり、またはR_1およびR_2は、それらが結合している炭素と一緒になって、－（Ｃ＝Ｏ）－、－（Ｃ＝Ｎ－ＯＲ）－、－（Ｃ＝Ｎ－ＮＨＲ）－、もしくは－（Ｃ＝Ｎ－Ｒ）－を表し、
R_3およびR_4は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（ＣR_2）$_p$］－R_{16}からなる群から各々独立に選択され、またはR_3はR_4と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_5は、Ｈ、アルキル、アラルキル、および式１ａを有する基からなる群から選択され、

【００５６】

【化５】



1a

式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－ＣOR_{18}、－ＣO_2R_{18}、－Ｎ（R_{18}）ＣO_2R_{19}、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、－Ｎ（R_{18}）ＳO_2R_{19}、－Ｎ（R_{18}）Ｃ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、および－ＣH_2Ｏ－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、
R_6およびR_7は、両方とも水素であり、またはR_6およびR_7は、一緒になって結合を形成し、
R_8は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（ＣR_2）$_p$］－R_{16}であり、
R_9は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロ

アルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$であり、
Ｒ$_{10}$およびＲ$_{11}$は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$からなる群から各々独立に選択され、またはＲ$_{10}$およびＲ$_{11}$はそれらが結合している窒素と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
Ｒ$_{12}$は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$であり、
Ｒ$_{13}$およびＲ$_{14}$は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$からなる群から各々独立に選択され、またはＲ$_{13}$およびＲ$_{14}$はそれらが結合している窒素と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
Ｒ$_{16}$は、出現する毎に、水素、ヒドロキシル、アシルアミノ、

【００５７】
【化６】

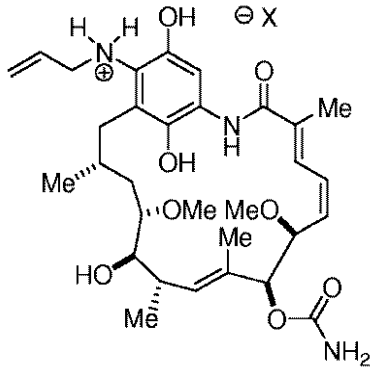
$$-N(R_{18})COR_{19},\ -N(R_{18})C(O)OR_{19},\ -N(R_{18})SO_2(R_{19}),$$
$$-CON(R_{18})(R_{19}),\ -OC(O)N(R_{18})(R_{19}),\ -SO_2N(R_{18})(R_{19}),\ -N(R_{18})(R_{19}),\ -OC(O)OR_{18},$$
$$-COOR_{18},\ -C(O)N(OH)(R_{18}),\ -OS(O)_2OR_{18},\ -S(O)_2OR_{18},\ -OP(O)(OR_{18})(OR_{19}),$$
$$-N(R_{18})P(O)(OR_{18})(OR_{19}),\ \text{および}\ -P(O)(OR_{18})(OR_{19});$$

からなる群から独立に選択され、
ｐは、１、２、３、４、５、または６であり、
Ｒ$_{18}$は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
Ｒ$_{19}$は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、またはＲ$_{18}$はＲ$_{19}$と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている環を表し、
Ｒ$_{20}$、Ｒ$_{21}$、Ｒ$_{22}$、Ｒ$_{24}$、およびＲ$_{25}$は、出現する毎に独立に、アルキルであり、
Ｒ$_{23}$は、アルキル、－ＣＨ$_2$ＯＨ、－ＣＨＯ、－ＣＯＯＲ$_{18}$、または－ＣＨ（ＯＲ$_{18}$）$_2$であり、
Ｒ$_{26}$およびＲ$_{27}$は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
ただし、Ｒ$_1$がヒドロキシルであり、Ｒ$_2$が水素であり、Ｒ$_6$およびＲ$_7$が一緒になって、二重結合を形成し、Ｒ$_{20}$がメチルであり、Ｒ$_{21}$がメチルであり、Ｒ$_{22}$がメチルであり、Ｒ$_{23}$がメチルであり、Ｒ$_{24}$がメチルであり、Ｒ$_{25}$がメチルであり、Ｒ$_{26}$が水素であり、Ｒ$_{27}$が水素であり、Ｑが結合であり、Ｗが酸素であるとき、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は、両方とも水素ではなく、一緒になったときに、非置換アゼチジンを表さず、
式１の不斉中心における絶対立体化学は、ＲもしくはＳ、またはこれらの混合物でよく、二重結合の立体化学は、ＥもしくはＺ、またはこれらの混合物でよい。

【００５８】
他の実施形態では、Ｈｓｐ９０阻害剤は、式３の化合物、

【００５９】

【化７】



3

またはその遊離塩基であり、
式中、X^-は、薬学的に許容される酸の共役塩基である。特定の実施形態では、薬学的に許容される酸は、約－１０～約３のｐＫａを有する。X^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラメート、チオシアネート、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択することができる。一実施形態では、X^-は、クロリドである。

【００６０】
特定の実施形態では、Ｈｓｐ９０阻害剤は、１７－ＡＧである。他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＩＰＩ－４９３である。他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＩＰＩ－５０４である。

【００６１】
特定の実施形態では、１種もしくは複数のＨＳＰ９０阻害剤は、単独療法として、または例えば、組成物、例えば、医薬組成物中に存在する単一の薬剤として（１種のＨＳＰ９０阻害剤を含めた）投与する。

【００６２】
他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、第２の治療剤もしくは異なる治療モダリティ、例えば、抗がん剤と組み合わせて、かつ／または外科的および／もしくは放射線手順と組み合わせて投与する。

【００６３】
他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、１７－ＡＡＧ（タネスピマイシンもしくはＣＮＦ－１０１０としてもまた公知である）、ＢＩＩＢ－０２１（ＣＮＦ－２０２４）、ＢＩＩＢ－０２８、ＡＵＹ－９２２（ＶＥＲ－４９００９としてもまた公知である）、ＳＮＸ－５４２２、ＳＴＡ－９０９０、ＡＴ－１３３８７、ＸＬ－８８８、ＭＰＣ－３１００、ＣＵ－０３０５、１７－ＤＭＡＧ、ＣＮＦ－１０１０、Ｍａｃｂｅｃｉｎ（例えば、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　Ｉ、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　ＩＩ）、ＣＣＴ－０１８１５９、ＣＣＴ－１２９３９７、ＰＵ－Ｈ７１、またはＰＦ－０４９２８４７３（ＳＮＸ－２１１２）の１つもしくは複数と組み合わせた他のＨＳＰ阻害剤、例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４と組み合わせて投与される。

【００６４】
本明細書に記載されているＨＳＰ９０阻害剤は、全身的（例えば、経口的、非経口的、皮下、静脈内、直腸、筋肉内、腹腔内、鼻腔内、経皮的、または吸入もしくは腔内留置によって）に対象に投与することができる。典型的には、ＨＳＰ９０阻害剤は、皮下、静脈内または経口的に投与される。

【００６５】

一実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＩＰＩ－５０４である。ＩＰＩ－５０４は、単独で、または本明細書に記載の第２の薬剤と組み合わせて、約３００～５００ｍｇ／ｍ^2、典型的には約３５０～５００ｍｇ／ｍ^2、およびより典型的には４５０ｍｇ／ｍ^{2}の用量で静脈内に毎週投与することができる。

【００６６】

一実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用される第２の薬剤または抗がん剤は、細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤である。例示的な細胞毒性剤には、微小管阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、イリノテカン）、またはタキサン（例えば、ドセタキセル）、代謝拮抗剤、有糸分裂阻害剤、アルキル化剤、挿入剤、シグナル伝達経路を干渉することができる薬剤、アポトーシスを促進する薬剤、および放射線が含まれる。また他の実施形態では、方法は、免疫調節剤（ｉｍｍｕｎｏｄｕｌａｔｏｒｙ　ａｇｅｎｔｓ）、例えば、ＩＬ－１、２、４、６、もしくは１２、またはインターフェロンアルファもしくはガンマ、または免疫細胞増殖因子（ＧＭ－ＣＳＦなど）と組み合わせて使用することができる。一実施形態では、抗がん剤は、トポイソメラーゼ阻害剤、例えば、イリノテカンである。

【００６７】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用される抗がん剤は、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）阻害剤、例えば、ゲフィチニブ）、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、イリノテカン）、またはタキサン（例えば、ドセタキセル）である。他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤の組合せ（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）阻害剤、例えば、ゲフィチニブ）、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、イリノテカン）、および／またはタキサン（例えば、ドセタキセル）と組み合わせた）を、使用することができる。

【００６８】

ＨＳＰ９０阻害剤の任意の組合せ（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤もしくはＡＬＫ阻害剤、および他の治療モダリティと組み合わせた）を、使用することができる。例えば、ＨＳＰ９０阻害剤および他の治療モダリティを、活性障害の時期に、または寛解もしくは疾患がより活性でない時期に投与することができる。ＨＳＰ９０阻害剤は（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤もしくはＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および他の治療モダリティと組み合わせた）を、治療の前に、治療と同時的に、治療の後に、または障害の寛解の間に投与することができる。一実施形態では、抗がん剤を、ＨＳＰ９０阻害剤および／またはｍＴＯＲ阻害剤またはＡＬＫ阻害剤と同時または順次に投与する。

【００６９】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、および／または抗がん剤は、別々の組成物、例えば、医薬組成物として投与される。他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／または抗がん剤は、別々に投与されるが、同じ経路（例えば、両方とも経口的または両方とも静脈内）によって投与される。また他の例では、ＨＳＰ９０阻害剤、ｍＴＯＲ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／または抗がん剤は、同じ組成物、例えば、同じ医薬組成物中で投与される。

【００７０】

一実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤、例えば、ラパマイシン、テムシロリムス（ＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標））、エベロリムス（ＲＡＤ００１、ＡＦＩＮＩＴＯＲ（登録商標））、リダホロリムス、ＡＰ２３５７３、ＡＺＤ８０５５、ＢＥＺ２３５、ＢＧＴ２２６、ＸＬ７６５、ＰＦ－０４６９１５０２、ＧＤＣ０９８０、ＳＦ１１２６、ＯＳＩ－０２７、ＧＳＫ１０５９６１５、ＫＵ－００６３７９４、ＷＹＥ－３５４、ＩＮＫ１２８、テムシロリムス（ＣＣＩ－７７９）、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９（Ｐ５２９）、ＰＦ－０４６９１５０２、またはＰＫＩ－５８７の１つもしくは複数から選択される１種もしくは複数のｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせて投与される。一実施形態では、ｍＴＯＲ阻

害剤は、ＴＯＲＣ１およびＴＯＲＣ２を阻害する。ＴＯＲＣ１およびＴＯＲＣ２デュアル阻害剤の例には、例えば、ＯＳＩ－０２７、ＸＬ７６５、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９、およびＩＮＫ１２８が含まれる。ＨＳＰ９０阻害剤は、ｍＴＯＲ阻害剤と同じまたは異なる経路を介して投与することができる。一実施形態では、ｍＴＯＲ阻害剤は、全身的、例えば、経口的、皮下、または静脈内に投与される。

【００７１】

さらに別の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＡＬＫキナーゼ阻害剤（複数可）と組み合わせて投与される。例示的なＡＬＫ阻害剤には、ＴＡＥ－６８４（また、本明細書において「ＮＶＰ－ＴＡＥ６９４」と称される）、ＰＦ０２３４１０６６（また、本明細書において「クリゾチニブ」または「１０６６」と称される）、およびＡＰ２６１１３が含まれる。ＡＬＫキナーゼ阻害剤のさらなる例は、Ｇａｒｃｉａ－ＥｃｈｅｖｅｒｒｉａＣらによるＷＯ２００５０１６８９４の実施例３～３９において記載されている。

【００７２】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、フォルフィリノックスと組み合わせて投与される。フォルフィリノックスは、オキサリプラチン（８５ｍｇ／ｍ２）およびイリノテカン（１８０ｍｇ／ｍ２）およびロイコボリン（４００ｍｇ／ｍ２）を含み、それに１日目にボーラスのフルオロウラシル（５－ＦＵ）（４００ｍｇ／ｍ２）、次いで４６時間の持続注入として５－ＦＵ（２，４００ｍｇ／ｍ２）が続く。

【００７３】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、ゲフィチニブと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、チロシンキナーゼ阻害剤による治療の後に投与する。

【００７４】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＰＩ３Ｋ阻害剤と組み合わせて投与される。一実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＰＩ３Ｋのデルタおよびガンマアイソフォームの阻害剤である。ＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用することができる例示的なＰＩ３Ｋ阻害剤には、これらに限定されないが、ＧＳＫ２１２６４５８、ＧＤＣ－０９８０、ＧＤＣ－０９４１、Ｓａｎｏｆｉ　ＸＬ１４７、ＸＬ７５６、ＸＬ１４７、ＰＦ－４６９１５０３２、ＢＫＭ１２０、ＣＡＬ－１０１、ＣＡＬ２６３、ＳＦ１１２６、ＰＸ－８８６、およびデュアルＰＩ３Ｋ阻害剤（例えば、Ｎｏｖａｒｔｉｓ　ＢＥＺ２３５）が含まれる。一実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、イソキノリノンである。一実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＩＮＫ１１９７またはその誘導体である。他の実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＩＮＫ１１１７またはその誘導体である。

【００７５】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＢＲＡＦ阻害剤、例えば、ＧＳＫ２１１８４３６、ＲＧ７２０４、ＰＬＸ４０３２、ＧＤＣ－０８７９、ＰＬＸ４７２０、およびソラフェニブトシレート（Ｂａｙ４３－９００６）と組み合わせて投与される。

【００７６】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＭＥＫ阻害剤、例えば、ＡＲＲＹ－１４２８８６、ＧＳＫ１１２０２１２、ＲＤＥＡ４３６、ＲＤＥＡ１１９／ＢＡＹ８６９７６６、ＡＳ７０３０２６、ＡＺＤ６２４４（セルメチニブ）、ＢＩＸ０２１８８、ＢＩＸ０２１８９、ＣＩ－１０４０（ＰＤ１８４３５２）、ＰＤ０３２５９０１、ＰＤ９８０５９、およびＵ０１２６と組み合わせて投与される。

【００７７】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＪＡＫ２阻害剤、例えば、ＣＥＰ－７０１、ＩＮＣＢ１８４２４、ＣＰ－６９０５５０（タソシチニブ）と組み合わせて投与される。

【００７８】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、血管破壊剤（例えば、ＤＭＸＡＡ、バディメザン）と組み合わせて投与される。

【００７９】
いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、がんもしくは腫瘍についての一次治療であり、すなわち、がんを治療することを意図した別の薬物を以前に投与されてこなかった対象において使用される。
【００８０】
他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、がんについての二次治療であり、すなわち、がんを治療することを意図した別の薬物を以前に投与されてきた対象において使用される。
【００８１】
他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、がんについての三次または四次治療であり、すなわち、がんを治療することを意図した２種または３種の他の薬物を以前に投与されてきた対象において使用される。
【００８２】
いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、がんの外科的切除／除去の前または後に、対象に投与する。
【００８３】
いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、がんの放射線療法の前、間、および／または後に、対象に投与する。
【００８４】
いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、対象、例えば、がん療法（例えば、化学療法剤、放射線療法および／もしくは手術による治療）を受けている、または受けたがん患者に投与する。例えば、ＨＳＰ９０阻害剤を、第２の薬剤、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、および／またはチロシンキナーゼ阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、イリノテカン）、またはタキサン（例えば、ドセタキセル）による治療を受けている患者に投与することができる。他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、第２の薬剤と同時的に投与する。同時的投与の場合、ＨＳＰ９０阻害剤を、第２の薬剤による治療が終了した後に投与し続けることができる。他の実施形態では、ＨＳＰ９０を、第２の薬剤による治療が終了した後に投与する（すなわち、がん治療と重複する期間がない）。
【００８５】
一実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用する第２の薬剤は、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）阻害剤）である。
【００８６】
また他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは抗がん剤（例えば、トポイソメラーゼ阻害剤もしくはＲＴＫ阻害剤、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、イリノテカン）、もしくはタキサン（例えば、ドセタキセル））と組み合わせた）を、例えば、所定の投与スケジュールで、治療有効量で投与する。
【００８７】
例えば、結腸直腸がんの治療のために、ＨＳＰ９０阻害剤を、トポイソメラーゼ阻害剤、例えば、イリノテカンと組み合わせて投与することができる。
【００８８】
例えば、ＮＳＣＬＣまたはＳＣＣがんの治療のために、ＨＳＰ９０阻害剤を、タキサン、例えば、ドセタキセル（例えば、ドセタキセル注射（Ｔａｘｏｔｅｒｅ（登録商標））として）と組み合わせて投与することができる。一実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＩＰＩ－５０４である。ＩＰＩ－５０４は、単独で、または標準的な二次用量のドセタキセル（７５ｍｇ／ｍ^2）と組み合わせて、４５０ｍｇ／ｍ^{2}の用量で毎週投与することができる。ドセタキセル（Ｔａｘｏｔｅｒｅ（登録商標））は、３週間毎（各々２１日のサイクルの１日目）に７５ｍｇ／ｍ^{2}の用量で概ね６０分に亘り静脈内（ＩＶ）注入によって投与することができる。
【００８９】

他の実施形態では、乳がんの治療は、対象（例えば、進行または転移性乳がんを有する患者；ＨＥＲ２陽性乳がんを有する患者）に、ＨＥＲ２阻害剤、例えば、トラスツズマブ（ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標））などの抗ＨＥＲ２抗体と組み合わせたＨＳＰ９０阻害剤を投与することによって行うことができる。一実施形態では、ＨＳＰ－９０阻害剤、例えば、ＩＰＩ－５０４を、転移性ＨＥＲ２陽性乳がんを有する患者に毎週投与し（例えば、約３００ｍｇ／ｍ２の用量で）、ＨＥＲ２阻害剤（例えば、トラスツズマブ）を、３週間毎に投与する。

【００９０】

他の実施形態では、本明細書に記載されている方法および／またはキットには、情報、例えば、本明細書に記載の方法および／またはキットによって決定される判定または治療のパラメーターを含有する報告を、報告受領団体または実体、例えば、患者、医療提供者、診断提供者、および／もしくは監督機関、例えば、ＦＤＡに提供および／もしくは伝えること、または本明細書において開示されている方法およびキットについての情報を別の団体に別の方法で提示することがさらに含まれる。方法は、規制基準、例えば、監督機関、例えば、ＦＤＡの承認前もしくは承認後基準のコンプライアンスに関してもよい。

【００９１】

一実施形態では、報告受領団体または実体は、所定の基準または参照値をデータが満たしているか、および任意選択で、報告受領実体または団体からの反応を、例えば、医師、患者、診断提供者が受けたかについて決定することができる。

【００９２】

別の態様では、本発明は、１つもしくは複数の発癌性変化、例えば、変異体ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）、ＥＧＦＲポリヌクレオチド分子またはポリペプチドに特異的に結合する試薬を含む、ＨＳＰ９０阻害剤による治療に対するがん患者の化学受容性を決定するためのキットを特徴とする。特定の実施形態では、キットには、ＨＳＰ９０阻害剤（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤と組み合わせた）が含まれる。一実施形態では、試薬は、１種もしくは複数のポリヌクレオチドプローブを含む。一実施形態では、プローブの各々は、表１もしくは表５に一覧表示されているヌクレオチド配列、または本明細書において開示されている配列、またはその相補配列に相補的なポリヌクレオチド配列を含む。別の実施形態では、プローブは、５０～10^7ヌクレオチド長のポリヌクレオチドを含む。さらに別の実施形態では、プローブは、約１０～10^7ヌクレオチド長のポリヌクレオチドを含む。さらに別の実施形態では、プローブは、オリゴヌクレオチド、ｃＤＮＡ分子、ＲＮＡ分子、および核酸塩基を含む合成遺伝子プローブからなる群から選択される。他の実施形態では、プローブには、エキソン配列、またはそれに相補的な配列が含まれる。さらに別の実施形態では、試薬は、表１もしくは表５に一覧表示されている１つもしくは複数のポリヌクレオチド配列、または本明細書において開示されている配列にコードされるポリペプチドに対する、抗体、および抗体誘導体、および抗体フラグメントを含む。実施形態では、試料を、参照値、例えば、対照試料に関して判定する。キットには、発癌性変化の検出、および／または結果の判定における使用説明書を任意選択で含むことができる。

【００９３】

別段の定義がない限り、本明細書において使用される全ての技術および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業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ものと同様または等しい方法および材料を本発明の実施または試験において使用することができるが、適切な方法および材料を、下記に記載する。全ての公開資料、特許出願、特許、および本明細書において言及される他の参照文献は、その全体が参照により組み込まれている。さらに、材料、方法、および実施例は、単に例示であり、限定的なものではない。

【００９４】

本発明の他の特徴および利点は、詳細な説明、図面から、および特許請求の範囲から明らかである。

【図面の簡単な説明】
【００９５】
【図１】図１は、ＡＬＫ状態による標的病変反応のサイズにおける最良変化パーセントを示す瀑状プロットを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。各患者（各バー）について、最良反応における測定可能な腫瘍における変化パーセントが、患者の遺伝子型、すなわちＡＬＫ再配列状態によって示される。黒色（また矢印で示される）：ＡＬＫ変異体；濃い灰色（またアスタリスクで示される）：ＡＬＫ野生型；薄い灰色：ＡＬＫ状態不明。
【図２】図２は、研究の日数を示す。ｙ軸は、最初の投与からの日数を表す。各バーは、患者を表す。黒色（また矢印で示される）：ＡＬＫ変異体；濃い灰色（またアスタリスクで示される）：ＡＬＫ野生型；薄い灰色：ＡＬＫ状態不明。
【図３Ａ】図３Ａは、ＥＧＦＲ状態による反応を示す瀑状プロットを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。各バーは、患者を表す。ＥＧＦＲ変異体は、矢印によって示される。
【図３Ｂ】図３Ｂは、ＫＲＡＳ状態による反応を示す瀑状プロットを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。各バーは、患者を表す。ＫＲＡＳ変異体は、矢印によって示される。
【図３Ｃ】図３Ｃは、ＡＬＫ　ＦＩＳＨ状態による反応を示す瀑状プロットを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。各バーは、患者を表す。ＡＬＫ再配列は、矢印によって示される。
【図４】図４は、ＡＬＫ再配列について試験した患者についての長期に亘る標的病変のサイズの変化を示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表し、ｘ軸は、研究月数を表す。各点は、患者を表す。
【図５】図５は、ＩＰＩ－５０４（白い丸）またはＰｆ－０２３４１０６６（黒い丸）で処理されたＨ３１２２細胞における細胞増殖阻害（対照の％）の相対的用量反応曲線を示す。
【図６Ａ】図６Ａは、ＩＰＩ－５０４で処理された、または処理されていない、生存Ｈ３１２２細胞の百分率を示す棒グラフである。
【図６Ｂ】図６Ｂは、ＩＰＩ－５０４またはＰｆ－０２３４１０６６で処理されたＨ３１２２細胞における細胞生存率の相対的用量反応曲線を示す。
【図７Ａ】図７Ａ～７Ｃは、ＥＭＬ４－ＡＬＫが、Ｈｅｒ２またはｍＥＧＦＲよりもＨｓｐ９０阻害に対してより感受性であるＨｓｐ９０クライアントタンパク質であることを示す。図７Ａは、増加する濃度のＩＰＩ－５０４で７２時間処理したＨ３１２２細胞における、ＥＬＩＳＡを使用してモニターした、ＥＭＬ－ＡＬＫ（白い丸）およびホスホ－ＥＭＬ４－ＡＬＫ（黒い四角）のレベルの相対的用量反応曲線を示す。結果を、未処理細胞の百分率として示す。
【図７Ｂ】図７Ａ～７Ｃは、ＥＭＬ４－ＡＬＫが、Ｈｅｒ２またはｍＥＧＦＲよりもＨｓｐ９０阻害に対してより感受性であるＨｓｐ９０クライアントタンパク質であることを示す。図７Ｂは、ＩＰＩ－５０４（１μＭ）処理の後の様々な時点での、Ｈ３１２２細胞におけるＡＬＫ、ホスホ－ＡＬＫおよび切断された－ＰＡＲＰ、ＢＴ４７４細胞におけるＨＥＲ２、ならびにＨ１６５０細胞におけるＥＧＦＲのレベルを示すイムノブロット画像のパネルである。タンパク質レベルは、免疫ブロット法によってモニターした。
【図７Ｃ】図７Ａ～７Ｃは、ＥＭＬ４－ＡＬＫが、Ｈｅｒ２またはｍＥＧＦＲよりもＨｓｐ９０阻害に対してより感受性であるＨｓｐ９０クライアントタンパク質であることを示す。図７Ｃは、異なる細胞ライセート中のＨｓｐ９０によるＥＭＬ４－ＡＬＫの免疫共沈降法の結果を示す。
【図８Ａ】図８Ａ～８Ｂは、ＩＰＩ－５０４による処理が、ＥＭＬ４－ＡＬＫの分解、下流の経路阻害および細胞増殖停止を誘発したことを示す。図８Ａは、ＩＰＩ－５０４（１μＭ）による処理の後の様々な時点における、Ｈ３１２２細胞におけるＡＬＫ、ホスホ－ＡＬＫ、ＡＫＴ、ホスホ－ＥＲＫ１／２、ＥＲＫ１／２、ホスホ－ＳＴＡＴ３、およびＳ

ＴＡＴ３のレベルを示すイムノブロット画像である。
【図８Ｂ】図８Ａ～８Ｂは、ＩＰＩ－５０４による処理が、ＥＭＬ４－ＡＬＫの分解、下流の経路阻害および細胞増殖停止を誘発したことを示す。図８Ｂは、増加する濃度のＩＰＩ－５０４と共に７２時間インキュベートしたＨ３１２２細胞の増殖における効果を示す線形グラフである。Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏを使用して細胞増殖をモニターした。
【図９Ａ】図９Ａ～９Ｃは、２９３ＦＴにおけるＥＭＬ４－ＡＬＫ発現が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏの両方でＩＰＩ－５０４に対する感受性を与えることを示す。図９Ａは、ＩＰＩ－５０４による処理に応じた、２９３ＦＴ親細胞（２９３ＦＴ^{ＷＴ}）、ＥＭＬ４－ＡＬＫを過剰発現している２９３ＦＴ細胞（２９３ＦＴ^{ＡＬＫ}）、およびキナーゼ不活型ＥＭＬ４－ＡＬＫを過剰発現している２９３ＦＴ（２９３ＦＴ$^{ＡＬＫ－ＫＤ}$）からのライセート中の総およびホスホ－ＥＭＬ４－ＡＬＫのレベルを示すイムノブロット画像である。ライセートを、ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分離し、ＡＬＫまたはｐＡＬＫ抗体を使用してイムノブロットした。
【図９Ｂ】図９Ａ～９Ｃは、２９３ＦＴにおけるＥＭＬ４－ＡＬＫ発現が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏの両方でＩＰＩ－５０４に対する感受性を与えることを示す。図９Ｂは、ＩＰＩ－５０４後の、生存２９３ＦＴ$^{ＡＬＫ－ＫＤ}$および２９３ＦＴ^{ＡＬＫ}細胞の百分率を示す棒グラフである。
【図９Ｃ】図９Ａ～９Ｃは、２９３ＦＴにおけるＥＭＬ４－ＡＬＫ発現が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏの両方でＩＰＩ－５０４に対する感受性を与えることを示す。図９Ｃは、ヌードマウスおよび担癌動物の右脇腹における注射、ならびにビヒクルまたはＩＰＩ－５０４（１００ｍｇ／ｋｇ）による２週間の週２回の処理の後の、ＥＭＬ４－ＡＬＫを過剰発現している２９３ＦＴ細胞（２９３ＦＴ^{ＡＬＫ}）またはＹＦＰを過剰発現している２９３ＦＴ細胞（２９３ＦＴ^{ＹＦＰ}）の腫瘍体積の変化を示す棒グラフである。結果を平均およびＳＥＭとして表す（ｎ＝８）。
【図１０Ａ】図１０Ａ～１０Ｄは、ＩＰＩ－５０４による処理がｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍退縮をもたらすことを示す。図１０Ａは、ＩＰＩ－５０４、ＰＦ０２３４１０６６で処理した試料、またはビヒクル処理対照中での、Ｈ３１２２異種移植モデルにおける、腫瘍退縮についてのＩＰＩ－５０４による処理の効果を示す線形グラフである。Ｈ３１２２異種移植（療法群毎にｎ＝１０）を、７５ｍｇ／ｋｇのＩＰＩ－５０４（腹腔内週２回）（白い丸）、ビヒクル（白い四角）またはＰＦ－１０６６（５０ｍｇ／ｋｇ、経口、ＱＤ）（黒い三角）で処理した。
【図１０Ｂ】図１０Ａ～１０Ｄは、ＩＰＩ－５０４による処理がｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍退縮をもたらすことを示す。図１０Ｂは、図１０Ａにおけるボックスの拡大である。結果を、平均およびＳＥＭとして表す。
【図１０Ｃ】図１０Ａ～１０Ｄは、ＩＰＩ－５０４による処理がｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍退縮をもたらすことを示す。図１０Ｃは、Ｈ３１２２異種移植モデルでの腫瘍サイズにおけるＩＰＩ－５０４およびＰＦ－１０６６の組合せの効果を示す線形グラフである。処理日に応じた腫瘍体積（ｍｍ^{3}）を示す。ＩＰＩ－５０４およびＰＦ－１０６６の組合せは、腫瘍サイズの６６％の退縮をもたらした。ＩＰＩ－５０４およびＰＦ－１０６６の組合せ。Ｈ３１２２異種移植（療法群毎にｎ＝１０）を、ＩＰＩ－５０４（５０ｍｇ／ｋｇ、ＢＩＷ）（白い丸）、ＰＦ－１０６６（３７．５ｍｇ／ｋｇ、ＱＤ）（黒い三角）または両方の組合せ（黒い四角）で処理した。
【図１０Ｄ】図１０Ａ～１０Ｄは、ＩＰＩ－５０４による処理がｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍退縮をもたらすことを示す。図１０Ｄは、組合せ療法群における腫瘍の退縮を示す、図１０Ｃにおけるボックスの拡大である。
【図１１】図１１は、ＩＰＩ－５０４による処理の後の、２９３ＦＴＥＭＬ４ＡＬＫｖｌまたは２９３ＦＴ－ＹＦＰ細胞を移植されたヌードマウスにおける腫瘍サイズを示す棒グラフである。
【図１２Ａ】図１２Ａ～１２Ｂは、ＩＰＩ－５０４による処理の後の、ＰＤの時間経過を示す。１００ｍｇ／ｋｇのＩＰＩ－５０４の単一の注射の後、腫瘍を様々な時間で集め、

各々、ＥＬＩＳＡおよび免疫ブロット法を使用して、ＡＬＫ（図１２Ａ）および切断されたＰＡＲＰ（図１２Ｂ）のレベルをモニターした。
【図１２Ｂ】図１２Ａ～１２Ｂは、ＩＰＩ－５０４による処理の後の、ＰＤの時間経過を示す。１００ｍｇ／ｋｇのＩＰＩ－５０４の単一の注射の後、腫瘍を様々な時間で集め、各々、ＥＬＩＳＡおよび免疫ブロット法を使用して、ＡＬＫ（図１２Ａ）および切断されたＰＡＲＰ（図１２Ｂ）のレベルをモニターした。
【図１３Ａ】図１３Ａ～１３Ｂは、ヒストロジーによって分析したがんのサブタイプによるＩＰＩ－５０４への反応を示す瀑状プロットを示す。試験したがんは、腺癌（＃１として示す）、細気管支肺胞癌（ＢＡＣ）（＃２として示す）、肺大細胞癌（＃３として示す）、扁平上皮細胞癌（＃４として示す）、不明（＃５として示す）および対照（＃６として示す）であった。各バーは、１人の患者を表す。
【図１３Ｂ】図１３Ａ～１３Ｂは、ヒストロジーによって分析したがんのサブタイプによるＩＰＩ－５０４への反応を示す瀑状プロットを示す。試験したがんは、腺癌（＃１として示す）、細気管支肺胞癌（ＢＡＣ）（＃２として示す）、肺大細胞癌（＃３として示す）、扁平上皮細胞癌（＃４として示す）、不明（＃５として示す）および対照（＃６として示す）であった。各バーは、１人の患者を表す。
【図１４】図１４は、喫煙状況によるＩＰＩ－５０４への反応を示す瀑状プロットを示す。非喫煙者は＃１として示し、喫煙者は＃２として示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。各バーは、１人の患者を表す。
【図１５】図１５は、ＮＳＣＬＣを有する患者においてタバコへの曝露（パックイヤー数によって評価）が増加するにつれ、腫瘍体積の減少％によって決定されるＩＰＩ－５０４の有効性の増加を示すグラフを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。
【図１６】図１６は、ＳＣＣおよび他の肺がんのヒストロジーを有する患者においてタバコへの曝露（パックイヤー数によって評価）が増加するにつれ、腫瘍体積の減少％によって決定されるＩＰＩ－５０４の有効性の増加を示すグラフを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍の体積変化％を表す。
【図１７】図１７は、ＮＳＣＬＣを有する患者におけるＩＰＩ－５０４およびドセタキセルの組合せの有効性を要約した棒グラフである。
【図１８Ａ】図１８Ａ～１８Ｂは、ＩＰＩ－５０４およびドセタキセルの組合せを判定する２つの臨床試験の試験デザインを要約したフローチャートである。
【図１８Ｂ】図１８Ａ～１８Ｂは、ＩＰＩ－５０４およびドセタキセルの組合せを判定する２つの臨床試験の試験デザインを要約したフローチャートである。
【図１９】図１９は、ＭＡＰＫ（Ｒａｓ－Ｒａｆ－Ｍｅｋ－Ｅｒｋ）経路を示す。
【図２０Ａ】図２０Ａ～２０Ｄは、変異体Ｂ－Ｒａｆ結腸直腸がんモデルであるＣｏｌｏ２０５（図２０Ａ）、Ｃｏｌｏ２０１（図２０Ｂ）、Ｃｏｌｏ７４１（図２０Ｃ）およびＨＴ５５（図２０Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（本明細書において「ＩＰＩ－４９３」とまた称される）の有効性を示す。
【図２０Ｂ】図２０Ａ～２０Ｄは、変異体Ｂ－Ｒａｆ結腸直腸がんモデルであるＣｏｌｏ２０５（図２０Ａ）、Ｃｏｌｏ２０１（図２０Ｂ）、Ｃｏｌｏ７４１（図２０Ｃ）およびＨＴ５５（図２０Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（本明細書において「ＩＰＩ－４９３」とまた称される）の有効性を示す。
【図２０Ｃ】図２０Ａ～２０Ｄは、変異体Ｂ－Ｒａｆ結腸直腸がんモデルであるＣｏｌｏ２０５（図２０Ａ）、Ｃｏｌｏ２０１（図２０Ｂ）、Ｃｏｌｏ７４１（図２０Ｃ）およびＨＴ５５（図２０Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（本明細書において「ＩＰＩ－４９３」とまた称される）の有効性を示す。
【図２０Ｄ】図２０Ａ～２０Ｄは、変異体Ｂ－Ｒａｆ結腸直腸がんモデルであるＣｏｌｏ２０５（図２０Ａ）、Ｃｏｌｏ２０１（図２０Ｂ）、Ｃｏｌｏ７４１（図２０Ｃ）およびＨＴ５５（図２０Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（本明細書において「ＩＰＩ－４９３」とまた称される）の有効性を示す。

【図２１Ａ】図２１Ａ～２１Ｃは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデルであるＨＣＴ－１１６（図２１Ａ）、ＳＷ４８０（図２１Ｂ）およびＤｕＤｕ－１（図２１Ｃ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧの有効性を示す。
【図２１Ｂ】図２１Ａ～２１Ｃは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデルであるＨＣＴ－１１６（図２１Ａ）、ＳＷ４８０（図２１Ｂ）およびＤｕＤｕ－１（図２１Ｃ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧの有効性を示す。
【図２１Ｃ】図２１Ａ～２１Ｃは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデルであるＨＣＴ－１１６（図２１Ａ）、ＳＷ４８０（図２１Ｂ）およびＤｕＤｕ－１（図２１Ｃ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧの有効性を示す。
【図２２Ａ】図２２Ａ～２２Ｄは、Ｋ－ＲａｓおよびＢ－Ｒａｆ両方についての結腸直腸がんモデル野生型（ｗｔ）であるＣｏｌｏ３２０ＨＳＲ（図２２Ａ）、ＮＣＩ－Ｈ７１６（図２２Ｂ）、ＳＮＵ－Ｃ１（図２２Ｃ）およびＣ２ＢＢｅｌ（図２２Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）の有効性の欠如を示す。
【図２２Ｂ】図２２Ａ～２２Ｄは、Ｋ－ＲａｓおよびＢ－Ｒａｆ両方についての結腸直腸がんモデル野生型（ｗｔ）であるＣｏｌｏ３２０ＨＳＲ（図２２Ａ）、ＮＣＩ－Ｈ７１６（図２２Ｂ）、ＳＮＵ－Ｃ１（図２２Ｃ）およびＣ２ＢＢｅｌ（図２２Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）の有効性の欠如を示す。
【図２２Ｃ】図２２Ａ～２２Ｄは、Ｋ－ＲａｓおよびＢ－Ｒａｆ両方についての結腸直腸がんモデル野生型（ｗｔ）であるＣｏｌｏ３２０ＨＳＲ（図２２Ａ）、ＮＣＩ－Ｈ７１６（図２２Ｂ）、ＳＮＵ－Ｃ１（図２２Ｃ）およびＣ２ＢＢｅｌ（図２２Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）の有効性の欠如を示す。
【図２２Ｄ】図２２Ａ～２２Ｄは、Ｋ－ＲａｓおよびＢ－Ｒａｆ両方についての結腸直腸がんモデル野生型（ｗｔ）であるＣｏｌｏ３２０ＨＳＲ（図２２Ａ）、ＮＣＩ－Ｈ７１６（図２２Ｂ）、ＳＮＵ－Ｃ１（図２２Ｃ）およびＣ２ＢＢｅｌ（図２２Ｄ）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）の有効性の欠如を示す。
【図２３Ａ】図２３Ａは、ＩＰＩ－４９３の単回用量（１００ｍｐｋ）によって、変異体Ｃｏｌｏ２０１およびＣｏｌｏ２０５異種移植でのリン酸化ＢＲＡＦにおける時間依存性減少を示すイムノブロットのパネルを示す。同様の変化が、ＫＲＡＳ変異体モデルにおいて観察された。リン酸化ＢＲＡＦ活性における最小の変化が、野生型Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲにおいて検出された。
【図２３Ｂ】図２３Ｂは、変異体Ｃｏｌｏ２０１およびＣｏｌｏ２０５異種移植でのリン酸化ＭＥＫにおける時間依存性減少を示す棒グラフのパネルを示す。同様の変化が、ＫＲＡＳ変異体モデルにおいて観察された。ＩＰＩ－４９３の単回用量（１００ｍｐｋ）によって、リン酸化ＢＲＡＦ活性における最小の変化が、野生型Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲにおいて検出された。
【図２３Ｃ】図２３Ｃは、変異体Ｃｏｌｏ２０１およびＣｏｌｏ２０５異種移植での切断されたカスパーゼ３活性における時間依存性増加を示す棒グラフのパネルを示す（蛍光体ＭＥＫの減少と相関する）。ＩＰＩ－４９３の単回用量（１００ｍｐｋ）によって、最小の変化が、野生型Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲにおいて検出された。
【図２４Ａ】図２４Ａ～２４Ｂは、野生型（ｗｔ／ｗｔ）の一次モデルおよび変異体（ｍｕｔ）Ｋ－ＲａｓモデルであるＣＸＦ－１７２９（図２４Ａ）およびＣＸＦ－２６０（図２４Ｂ）におけるＨｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧの有効性を示す。
【図２４Ｂ】図２４Ａ～２４Ｂは、野生型（ｗｔ／ｗｔ）の一次モデルおよび変異体（ｍｕｔ）Ｋ－ＲａｓモデルであるＣＸＦ－１７２９（図２４Ａ）およびＣＸＦ－２６０（図２４Ｂ）におけるＨｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧの有効性を示す。
【図２５】図２５は、ＭＡＰＫ経路の活性化が、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧに対する感受性を予測することを示す。
【図２６Ａ】図２６Ａ～２６Ｂは、変異体Ｂ－Ｒａｆ結腸直腸がんモデル（Ｃｏｌｏ－２０１）におけるＨｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの効果的な組合せを示す。図２６Ｂは、図２６Ａの拡大部分である。

【図２６Ｂ】図２６Ａ～２６Ｂは、変異体Ｂ－Ｒａｆ結腸直腸がんモデル（Ｃｏｌｏ－２０１）におけるＨｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの効果的な組合せを示す。図２６Ｂは、図２６Ａの拡大部分である。
【図２７Ａ】図２７Ａ～２７Ｂは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデル（ＨＣＴ－１１６）におけるＨｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの効果的な組合せを示す。図２７Ｂは、図２７Ａの拡大部分である。
【図２７Ｂ】図２７Ａ～２７Ｂは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデル（ＨＣＴ－１１６）におけるＨｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの効果的な組合せを示す。図２７Ｂは、図２７Ａの拡大部分である。
【図２８Ａ】図２８Ａ～２８Ｂは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデル（ＤｕＤｕ－１）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの効果的な組合せを示す。図２１Ｂは、図２１Ａの拡大部分である。
【図２８Ｂ】図２８Ａ～２８Ｂは、変異体Ｋ－Ｒａｓ結腸直腸がんモデル（ＤｕＤｕ－１）における、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの効果的な組合せを示す。図２１Ｂは、図２１Ａの拡大部分である。
【図２９Ａ】図２９Ａは、様々な濃度の１７－ＡＧと共にインキュベートした３つの細胞系（ＢＯＮ－１、ＱＧＰ－１およびＨ－７２０）についての増殖阻害パーセントを示すグラフである。
【図２９Ｂ】図２９Ｂは、様々な濃度のＩＰＩ－５０４と共にインキュベートした３つの細胞系（ＢＯＮ－１、ＱＧＰ－１およびＨ－７２０）についての増殖阻害パーセントを示すグラフである。
【図３０】図３０は、腹腔内に週２回投与されるＩＰＩ－５０４（１５ｍｇ／ｋｇ）およびビヒクルで処理されたマウスにおけるＢＯＮ－１異種移植腫瘍サイズの変化を示すグラフである（療法群毎にｎ＝１０）。
【図３１】図３１は、ＩＰＩ－５０４による処理によるＢＯＮ－１細胞におけるホスホ－ＩＧＦ－１Ｒの分解を示すグラフである。
【図３２】図３２は、１μＭのＩＰＩ－５０４、１００ｎＭのラパマイシン、または両方の組合せと共に６時間もしくは２４時間インキュベートした、ＢＯＮ－１細胞のウエスタンブロットである。ｐＡＫＴ、総ＡＫＴ、ｐＳ６、総Ｓ６、ｐＥＲＫ１／２、ＩＧＦ－１Ｒｂ、Ｈｓｐ７０、およびｂ－アクチンについて、５０ｕｇの細胞ライセートをイムノブロットした。
【発明を実施するための形態】
【００９６】
表の簡単な説明
表１は、様々な野生型もしくは変異体ＡＬＫまたはＡＬＫ融合体のヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す。
【００９７】
表２は、ＥＧＦＲ、ＫＲＡＳおよびＡＬＫ遺伝子型による、人口統計、ベースライン特性および化学療法による治療歴を示す。
【００９８】
表３は、最も一般に報告された有害事象を示す。
【００９９】
表４は、ＥＧＦＲ、ＫＲＡＳおよびＡＬＫ遺伝子型によるＩＰＩ－５０４の有効性を示す。
【０１００】
表５は、様々な野生型または変異体ＭＡＰＫ経路遺伝子および遺伝子産物のヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す。
【０１０１】
表６～７については、添付の実施例において記載する。
【０１０２】

表８は、ＣＲＣ細胞系におけるｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＩＰＩ－５０４およびＩＰＩ－４９３の活性を要約する。

【０１０３】

発明の詳細な説明

付録の表１は、ＥＧＦＲ、ＫＲＡＳ、ＢＲＡＦ、ＡＬＫ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＴＰ５３およびＣＴＮＮＢ１の変異についての、スナップショット、Ｏｎｃｏｍａｐ、ＤｘＳおよびＳａｎｇｅｒ配列決定からの遺伝学的結果を要約する表である。

【０１０４】

本発明は、少なくとも部分的に、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療（例えば、ＨＳＰ９０阻害剤（単一の薬剤として、または組み合わせた、例えば、単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルもしくはイリノテカン）と組み合わせた）に対して反応性のがんもしくは腫瘍（例えば、癌遺伝子が関連するがんもしくは腫瘍）の同定、評価および／または治療のための組成物、方法、およびキットを提供する。

【０１０５】

一実施形態では、本発明は、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路、および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の変化を検出することによって（例えば、遺伝子変異；ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物（Ｒａｓ、Ｒａｆ、Ｍｅｋ、および／またはＥｒｋなど）の遺伝子発現、転写物またはタンパク質レベルの変化の１つもしくは複数を検出することによって）、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する、腫瘍、がん細胞、および／または前記腫瘍もしくはがん細胞を有する対象の反応性を判定するための方法を提供する。一実施形態では、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の変化、例えば、ＡＬＫ再配列の存在は、肺がん、例えば、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）における、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を示す。他の実施形態では、ｐ５３の変化と任意選択で組み合わせた、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化の存在は、肺がん、例えば、ＮＳＣＬＣにおける、ＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲ阻害剤の組合せに対する反応性を示す。他の実施形態では、Ｒａｓ、例えば、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、変異）の存在は、結腸直腸がん（ＣＲＣ）における、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を示す。また他の実施形態では、Ｒａｆ、例えば、Ｂ－Ｒａｆ遺伝子または遺伝子産物の変化（例えば、変異）の存在は、結腸直腸がんにおけるＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対する反応性を示す。

【０１０６】

別の実施形態では、本発明は、対象のヒストロジー（例えば、ＮＳＣＬＣまたは扁平上皮細胞のヒストロジーの存在を検出すること（例えば、対象からの試料においてＮＳＣＬＣまたはＳＣＣ細胞または組織を検出すること）；対象の喫煙状況（例えば、少なくとも５、１０、１５パックイヤーまたはそれを超える喫煙歴を有する対象）；ＨＳＰ９０遺伝子もしくは遺伝子産物のレベルもしくは発現、および／または本明細書に記載されている変化（例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物における１つまたは複数の変化）の１つまたは複数を判定することによって、ＨＳＰ９０阻害剤を含む治療に対して反応する可能性が高いまたは低いものとして対象を同定または選択する方法をさらに提供する。

【０１０７】

また他の実施形態では、本発明には、ＨＳＰ９０阻害剤（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ゲフィチニブ）、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）と組み合わせた）によって、本明細書に記載されている発癌性変化（例えば、ＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路および／またはＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物の１つまたは複数の変化）を持つがんまたは腫瘍を寛解または治療する方法が含まれる。特定の実施形態では、がんまたは腫瘍は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（または、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤（例えば、ドセタキセルまたはイリノテカン）との併用

療法）を必要とする対象、それについて検討または判定されている対象において存在する。

【０１０８】

このように、本発明は、したがって、ＨＳＰ９０阻害、および／もしくはＴＯＲおよび／もしくはＡＬＫ阻害を含む治療に対する反応性を判定し、または治療をモニターし、患者集団を層別化し、このような薬剤の恩恵を受ける可能性が高い患者を同定し、このような患者についての疾患の時間経過もしくは疾患における有意事象の確率を予測し、かつ／またはがんもしくは腫瘍をより効果的にモニター、治療もしくは予防する手段として使用することができる。

【０１０９】

添付の実施例に開示されている本発明の特定の実施形態を、下記で要約する。

【０１１０】

特定の実施形態では、特定のゲノム領域を同定する方法を開示する。このような方法は、これらに限定されないが、オリゴヌクレオチドをベースとするマイクロアレイ（Ｂｒｅｎｎａｎら、（２００４年）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．、６４巻（１４号）：４７４４～８頁；Ｌｕｃｉｔｏら、（２００３年）Ｇｅｎｏｍｅ　Ｒｅｓ．、１３巻：２２９１～２３０５頁；Ｂｉｇｎｅｌｌら、（２００４年）Ｇｅｎｏｍｅ　Ｒｅｓ．、１４巻：２８７～２９５頁；Ｚｈａｏら（２００４年）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ、６４巻（９号）：３０６０～７１頁）、ならびに本明細書に記載の他の方法（例えば、ハイブリダイゼーション法（例えば、ＦＩＳＨ、およびＦＩＳＨおよびスペクトル核型（ＳＫＹ）など）を含めた）を含めた当技術分野で公知の技術を使用する。さらに、組成物およびキットを、本発明の方法を実施するために提供する。

【０１１１】

例えば、本発明は、ＡＬＫ遺伝子座におけるゲノム再配列を判定し、本明細書において同定されているＡＬＫ遺伝子、変異および／または遺伝子産物（例えば、表１に記載されているマーカー）の存在、不存在もしくはコピー数の変化を判定し、またはＡＬＫ遺伝子産物（例えば、表１に記載されているマーカー）の活性に影響を与えるコピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性、変異（例えば、置換、欠失、または付加変異）の存在を判定する方法を提供する。

【０１１２】

他の実施形態では、本発明は、例えば、例えば、ＭＡＰＫ（ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＭＥＫ－Ｅｒｋ）経路の遺伝子（「ＭＡＰＫ経路遺伝子」）またはその転写物の変異の検出による、その経路のタンパク質の変異の検出による、その経路の非リン酸化および／もしくはリン酸化タンパク質（「経路タンパク質」）のレベルの上昇の検出による、ＭＡＰＫ（ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＭＥＫ－Ｅｒｋ）経路の異常な活性化（「ＭＡＰＫ経路活性化」）を検出する方法を提供する。

【０１１３】

他の実施形態では、出願人等は、１）ＥＭＬ４－ＡＬＫは、非常に感受性であるＨｓｐ９０クライアントタンパク質であること；２）ＥＭＬ４－ＡＬＫの発現は、細胞をＩＰＩ－５０４治療に対して感作させること；３）ＩＰＩ－５０４およびＡＬＫキナーゼ阻害剤の組合せは、ヒトＮＳＣＬＣの異種移植モデルにおいて明白な腫瘍退縮をもたらすこと；４）ＡＬＫキナーゼ阻害剤への耐性について選択される細胞は、ＩＰＩ－５０４への感受性を保持すること；ならびに５）患者のＡＬＫ遺伝子座における再配列は、単一の薬剤としてのＩＰＩ－５０４への反応に関連することを発見した。したがって、本発明は、ＨＳＰ－９０阻害剤（単一の薬剤として、または併用療法において、例えば、ＡＬＫキナーゼ阻害剤と組み合わせた）によって、ＮＳＣＬＣおよびＡＬＫ再配列を有する患者を治療する方法および組成物を提供する。

【０１１４】

別の実施形態では、出願人等は、単独で、またはｐ５３と組み合わせて、Ｋ－Ｒａｓの変異の存在を検出することは、ＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲ阻害剤の併用療法に対す

る反応性を示すが、単一の薬剤としてのＨＳＰ９０阻害剤による治療に対する反応性を予測しないことを発見した。

【０１１５】

さらに別の実施形態では、出願人等は、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧが、ＫＲＡＳおよびＢＲＡＦ変異体ＣＲＣのｉｎ ｖｉｔｒｏおよびｉｎ ｖｉｖｏモデルの両方において劇的な有効性を示すことを発見した。対照的に、ＫＲＡＳおよびＢＲＡＦの両方についてのモデルｗｔ／ｗｔの大部分は、Ｈｓｐ９０阻害に対して感受性を皆無かそれに近く示さなかった。Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの組合せ（ＣＲＣにおけるＳＯＣ）は、単独で投与されたいずれかの薬剤よりも有効性を示すことがまた観察された。さらに、変異体Ｋ－Ｒａｓ／Ｂ－Ｒａｆおよびｗｔ／ｗｔモデルからの腫瘍の経路分析は、ＭＡＰＫ経路活性がＨｓｐ９０感受性の良好な予測の判断材料であることを示した。したがって、ＨＳＰ９０阻害はＳＯＣと匹敵し、ＨＳＰ９０ｉとＳＯＣの組合せは、ＣＲＣの治療のためのより効果的なアプローチであり得る。

【０１１６】

本発明の様々な態様を、下記のサブ項においてさらに詳細に記載する。

【０１１７】

Ｉ．定義

本明細書において使用する場合、下記の用語の各々は、この項において下記の用語の各々に関連する意味を有する。

【０１１８】

化学的定義

特定の官能基および化学用語の定義を、下記で詳細に記載する。本発明の目的のために、化学元素は、元素周期表、ＣＡＳ版、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｐｈｙｓｉｃｓ、第７５版、内表紙によって同定され、特定の官能基は一般に、その中に記載されているように定義される。さらに、有機化学の一般原則、ならびに特定の官能基および反応性は、例えば、Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、Ｔｈｏｍａｓ Ｓｏｒｒｅｌｌ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｂｏｏｋｓ、Ｓａｕｓａｌｉｔｏ、１９９９年；Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｍａｒｃｈ Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、第５版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、２００１年；Ｌａｒｏｃｋ、Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ、ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８９年；およびＣａｒｒｕｔｈｅｒｓ、Ｓｏｍｅ Ｍｏｄｅｒｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、第３版、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、１９８７年に記載されている。

【０１１９】

本発明の特定の化合物は、１つもしくは複数の不斉中心を含むことができ、したがって様々な異性体形態、すなわち、立体異性体（エナンチオマー、ジアステレオマー、シストランス異性体、Ｅ／Ｚ異性体など）で存在することができる。したがって、本発明の化合物およびその医薬組成物は、個々のエナンチオマー、ジアステレオマーもしくは他の幾何異性体の形態でよく、または立体異性体の混合物の形態でよい。エナンチオマー、ジアステレオマーおよび他の幾何異性体は、キラル高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、ならびにキラル塩の形成および結晶化を含めた当業者に公知の任意の方法によって、混合物（ラセミ混合物を含めた）から単離することができ、または不斉合成によって調製することができる。例えば、Ｊａｃｑｕｅｓら、Ｅｎａｎｔｉｏｍｅｒｓ，Ｒａｃｅｍａｔｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ（Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８１年）；Ｗｉｌｅｎ，Ｓ．Ｈ．ら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ、３３巻：２７２５頁（１９７７年）；Ｅｌｉｅｌ，Ｅ．Ｌ．、Ｓｔｅｒｅｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｃａｒｂｏｎ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ（ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ、ＮＹ、１９６２年）；Ｗｉｌｅｎ，Ｓ．Ｈ．、Ｔａｂｌｅｓ ｏｆ Ｒｅｓｏｌｖｉｎｇ Ａｇ

ｅｎｔｓ ａｎｄ Ｏｐｔｉｃａｌ Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ、２６８頁（Ｅ．Ｌ． Ｅｌｉｅｌ編、Ｕｎｉｖ． ｏｆ Ｎｏｔｒｅ Ｄａｍｅ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｏｔｒｅ Ｄａｍｅ、１９７２年）を参照されたい。

【０１２０】

炭素原子は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換することができる。置換基の数は典型的には、炭素原子上の利用可能な原子価の数によって制限され、非置換基上で利用可能な水素原子の１つもしくは複数を置き換えることによって置換することができる。適切な置換基は当技術分野において公知であり、これらに限定されないが、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコキシ、アリール、アリールオキシ、アリールチオ、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、ハロ、アジド、ヒドロキシル、チオ、アルクチオオキシ（ａｌｋｔｈｉｏｏｘｙ）、アミノ、ニトロ、ニトリル、イミノ、アミド、カルボン酸、アルデヒド、カルボニル、エステル、シリル、アルキルチオ、ハロアルキル（例えば、－ＣＦ$_3$などのペルフルオロアルキル）、＝Ｏ、＝Ｓなどが含まれる。

【０１２１】

値の範囲が一覧表示されているとき、範囲内の各値および部分範囲を包含することを意図する。例えば、１～６個の炭素原子を含有するアルキル基（Ｃ$_{1～6}$アルキル）には、Ｃ$_1$、Ｃ$_2$、Ｃ$_3$、Ｃ$_4$、Ｃ$_5$、Ｃ$_6$、Ｃ$_{1～6}$、Ｃ$_{2～6}$、Ｃ$_{3～6}$、Ｃ$_{4～6}$、Ｃ$_{5～6}$、Ｃ$_{1～5}$、Ｃ$_{2～5}$、Ｃ$_{3～5}$、Ｃ$_{4～5}$、Ｃ$_{1～4}$、Ｃ$_{2～4}$、Ｃ$_{3～4}$、Ｃ$_{1～3}$、Ｃ$_{2～3}$、およびＣ$_{1～2}$アルキルを包含することを意図する。

【０１２２】

「アルキル」という用語は、本明細書において使用する場合、１個～３０個の炭素原子を含有する飽和、直鎖または分岐鎖の炭化水素基を意味する。特定の実施形態では、アルキル基は、１～２０個の炭素原子を含有する。アルキル基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換することができる。特定の実施形態では、アルキル基は、１～１０個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキル基は、１～６個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキル基は、１～５個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキル基は、１～４個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキル基は、１～３個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキル基は、１～２個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキル基は、１個の炭素原子を含有する。アルキル基の例には、これらに限定されないが、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｓｅｃ－ペンチル、イソ－ペンチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル、ｓｅｃ－ヘキシル、ｎ－ヘプチル、ｎ－オクチル、ｎ－デシル、ｎ－ウンデシル、ドデシルなどが含まれる。

【０１２３】

「アルケニル」という用語は、本明細書において使用する場合、単一の水素原子の除去によって少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を有し、かつ２～３０個の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖の炭化水素基を表す。アルケニル基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換されていてもよい。特定の実施形態では、アルケニル基は、２～２０個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルケニル基は、２～１０個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルケニル基は、２～６個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルケニル基は、２～５個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルケニル基は、２～４個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルケニル基は、２～３個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルケニル基は、２個の炭素原子を含有する。アルケニル基には、例えば、エテニル、プロペニル、ブテニル、１－メチル－２－ブテン－１－イルなどが含まれる。

【０１２４】

「アルキニル」という用語は、本明細書において使用する場合、単一の水素原子の除去によって少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を有し、かつ２～３０個の炭素原子を含有

する直鎖または分岐鎖の炭化水素基を表す。アルキニル基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換されていてもよい。特定の実施形態では、アルキニル基は、２～２０個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキニル基は、２～１０個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキニル基は、２～６個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキニル基は、２～５個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキニル基は、２～４個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキニル基は、２～３個の炭素原子を含有する。特定の実施形態では、アルキニル基は、２個の炭素原子を含有する。代表的なアルキニル基には、これらに限定されないが、エチニル、２－プロピニル（プロパルギル）、１－プロピニルなどが含まれる。

【０１２５】

「シクロアルキル」という用語は、単独でまたはより大きな部分の一部として使用されて、３～１５個の炭素環員を有する飽和単環式または二環式炭化水素環系を意味する。シクロアルキル基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換されていてもよい。特定の実施形態では、シクロアルキル基は、３～１０個の炭素環員を含有する。特定の実施形態では、シクロアルキル基は、３～９個の炭素環員を含有する。特定の実施形態では、シクロアルキル基は、３～８個の炭素環員を含有する。特定の実施形態では、シクロアルキル基は、３～７個の炭素環員を含有する。特定の実施形態では、シクロアルキル基は、３～６個の炭素環員を含有する。特定の実施形態では、シクロアルキル基は、３～５個の炭素環員を含有する。シクロアルキル基には、これらに限定されないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、およびシクロオクチルが含まれる。「シクロアルキル」という用語にはまた、１つもしくは複数のアリールまたはヘテロアリール環に縮合した飽和炭化水素環系が含まれ（デカヒドロナフチルまたはテトラヒドロナフチルなど）、結合点は、飽和炭化水素環上にある。

【０１２６】

「アリール」という用語は、単独でまたはより大きな部分の一部として使用されて（「アラルキル」におけるように）、全部で６～１０個の炭素環員を有する芳香族の単環式および二環式炭化水素系を意味する。アリール基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換されていてもよい。本発明の特定の実施形態では、「アリール」には、これらだけに限定されないが、フェニル、ビフェニル、ナフチル、アントラシル（ａｎｔｈｒａｎｃｙｌ）などが含まれ、１個もしくは複数の置換基を担持することができる芳香環系を意味する。「アリール」という用語の範囲内にまた含まれるのは、本明細書において使用されているように、アリール環が１つもしくは複数の非芳香環に縮合している基であり（インダニル、フタルイミジルまたはテトラヒドロナフタリルなど）、結合点は、アリール環上にある。

【０１２７】

「アラルキル」という用語は、本明細書に定義されているアリール基で置換されている本明細書に定義されているアルキル基を意味し、結合点は、アルキル基上にある。

【０１２８】

「ヘテロ原子」という用語は、ホウ素、リン、セレン、窒素、酸素、または硫黄を意味し、窒素または硫黄の任意の酸化された形態、および脱塩基窒素の任意の四級化形態が含まれる。

【０１２９】

「ヘテロアリール」という用語は、単独でまたはより大きな部分の一部として使用されて（例えば、「ヘテロアラルキル」）、５～１０個の環原子（環原子は、炭素原子に加えて、１～５個のヘテロ原子を含む）を有する芳香族単環式または二環式炭化水素環系を意味する。ヘテロアリール基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換されていてもよい。ヘテロアリール基の環原子に関して使用するとき、「窒素」という用語には、置換窒素が含まれる。ヘテロアリール基には、これらに限定されないが、チエニル、フラニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾ

リル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、インドリジニル、プリニル、ナフチリジニル、およびプテリジニルが含まれる。「ヘテロアリール」および「ヘテロアルー」という用語にはまた、本明細書において使用する場合、ヘテロアリール環が、１つもしくは複数のアリール、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキル環に縮合しており、結合点がヘテロアリール環上にある基が含まれる。非限定的例には、インドリル、イソインドリル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、ジベンゾフラニル、インダゾリル、ベンゾイミダゾリル、ベンズチアゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、フタラジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、４Ｈ－キノリジニル、カルバゾリル、アクリジニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、テトラヒドロキノリニル、およびテトラヒドロイソキノリニルが含まれる。

【０１３０】

「ヘテロアラルキル」という用語は、本明細書に定義されているヘテロアリール基で置換されている本明細書に定義されているアルキル基を意味し、結合点は、アルキル基上にある。

【０１３１】

本明細書において使用する場合、「ヘテロシクロアルキル」または「ヘテロシクリル」という用語は、飽和もしくは部分不飽和であり、かつ炭素原子に加えて、１個もしくは複数のヘテロ原子を有する、安定的な非芳香族５～７員の単環式炭化水素または安定的な非芳香族７～１０員の二環式炭化水素を意味する。ヘテロシクロアルキルまたはヘテロシクリル基は、他に特定しない限り、１個もしくは複数の置換基で任意選択で置換されていてもよい。ヘテロシクロアルキル基の環原子に関して使用するとき、「窒素」という用語には、置換窒素が含まれる。ヘテロシクロアルキル基の結合点は、そのヘテロ原子または炭素環原子のいずれかにおいてでよく、それによって安定的な構造がもたらされる。ヘテロシクロアルキル基の例には、これらに限定されないが、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、ピロリジニル、ピロリドニル、ピペリジニル、ピロリニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オキサゾリジニル、ピペラジニル、ジオキサニル、ジオキソラニル、ジアゼピニル、オキサゼピニル、チアゼピニル、モルホリニル、およびキヌクリジニルが含まれる。「ヘテロシクロアルキル」にはまた、ヘテロシクロアルキル環が１つもしくは複数のアリール、ヘテロアリールまたはシクロアルキル環に縮合している基が含まれ（インドリニル、クロマニル、フェナントリジニル、またはテトラヒドロキノリニルなど）、基または結合点は、ヘテロシクロアルキル環上にある。

【０１３２】

「不飽和」という用語は、本明細書において使用する場合、部分が１つもしくは複数の二重または三重結合を有することを意味する。

【０１３３】

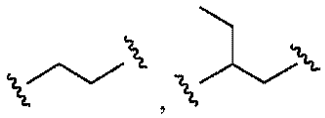
本明細書において使用する場合、「部分不飽和」という用語は、少なくとも１つの二重または三重結合を含む環部分を意味する。「部分不飽和」という用語は、不飽和の複数の部位を有する環を包含することを意図するが、本明細書に定義されている芳香族基（アリールまたはヘテロアリール部分など）を含むことを意図しない。

【０１３４】

「ジラジカル」という用語は、本明細書において使用する場合、本明細書に記載のアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキル基を意味し、２個の水素原子が除去され、二価部分が形成される。ジラジカルは典型的には、最後に接尾辞「－エン」が付いている。例えば、アルキルジラジカルは、アルキレン（例えば、

【０１３５】

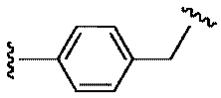
【化８】



および－（ＣＲ’$_2$）$_x$－（Ｒ’は、水素または他の置換基であり、ｘは、１、２、３、４、５または６である））と称され、アルケニルジラジカルは、「アルケニレン」と称され、アルキニルジラジカルは、「アルキニレン」と称され、アリールおよびアラルキルジラジカルは、各々「アリーレン」および「アラルキレン」（例えば、

【０１３６】

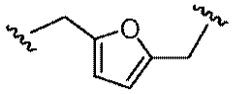
【化９】



）と称され、ヘテロアリールおよびヘテロアラルキルジラジカルは、各々「ヘテロアリーレン」および「ヘテロアラルキレン」（例えば、

【０１３７】

【化１０】



）と称され、シクロアルキルジラジカルは、「シクロアルキレン」と称され、ヘテロシクロアルキルジラジカルは、「ヘテロシクロアルキレン」と称されるなどである。

【０１３８】

「ハロ」、「ハロゲン」および「ハロゲン化物」という用語は、本明細書において使用する場合、フッ素（フルオロ、Ｆ）、塩素（クロロ、Ｃｌ）、臭素（ブロモ、Ｂｒ）、およびヨウ素（ヨード、Ｉ）から選択される原子を意味する。

【０１３９】

本明細書において使用する場合、「ハロアルキル」という用語は、本明細書に記載のアルキル基を意味し、アルキル基の水素原子の１つもしくは複数が、１個もしくは複数のハロゲン原子で置き換えられている。特定の実施形態では、ハロアルキル基は、ペルハロアルキル基であり、すなわち、アルキル基の水素原子の全てがハロゲンで置き換えられている（例えば、ペルフルオロアルキル基－ＣＦ$_3$など）。

【０１４０】

本明細書において使用する場合、「アジド」という用語は、基－Ｎ$_3$を意味する。

【０１４１】

本明細書において使用する場合、「ニトリル」という用語は、基－ＣＮを意味する。

【０１４２】

本明細書において使用する場合、「ニトロ」という用語は、基－ＮＯ$_2$を意味する。

【０１４３】

本明細書において使用する場合、「ヒドロキシル」または「ヒドロキシ」という用語は、基－ＯＨを意味する。

【０１４４】

本明細書において使用する場合、「チオール」または「チオ」という用語は、基－ＳＨを意味する。

【０１４５】

本明細書において使用する場合、「カルボン酸」という用語は、基－ＣＯ$_2$Ｈを意味する。

【０１４６】
本明細書において使用する場合、「アルデヒド」という用語は、基－ＣＨＯを意味する。
【０１４７】
本明細書において使用する場合、「アルコキシ」という用語は、基－ＯＲ’を意味し、Ｒ’は、本明細書に定義されているアルキル、アルケニルまたはアルキニル基である。
【０１４８】
本明細書において使用する場合、「アリールオキシ」という用語は、基－ＯＲ’を意味し、各Ｒ’は、本明細書に定義されているアリールまたはヘテロアリール基である。
【０１４９】
本明細書において使用する場合、「アルクチオオキシ」という用語は、基－ＳＲ’を意味し、各Ｒ’は、独立に、炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、またはアルキニル基など）である。
【０１５０】
本明細書において使用する場合、「アリールチオ」という用語は、基－ＳＲ’を意味し、各Ｒ’は、本明細書に定義されているアリールまたはヘテロアリール基である。
【０１５１】
本明細書において使用する場合、「アミノ」という用語は、基－ＮＲ’$_2$を意味し、各Ｒ’は、独立に、水素、炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールもしくはヘテロアリール基など）であり、または２つのＲ’基は、それらが結合している窒素原子と一緒になって、５～８員環を形成する。
【０１５２】
本明細書において使用する場合、「カルボニル」という用語は、基－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ’を意味し、Ｒ’は、独立に、炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはヘテロアリール基など）である。
【０１５３】
本明細書において使用する場合、「エステル」という用語は、基－Ｃ（＝Ｏ）ＯＲ’または－ＯＣ（＝Ｏ）Ｒ’を意味し、各Ｒ’は、独立に、炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはヘテロアリール基など）である。
【０１５４】
本明細書において使用する場合、「アミド（ａｍｉｄｅ）」または「アミド（ａｍｉｄｏ）」という用語は、基－Ｃ（＝Ｏ）Ｎ（Ｒ’）$_2$または－ＮＲ’Ｃ（＝Ｏ）Ｒ’を意味し、各Ｒ’は、独立に、水素または炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールもしくはヘテロアリール基など）であり、または２つのＲ’基は、それらが結合している窒素原子と一緒になって、５～８員環を形成する。
【０１５５】
「スルホンアミド（ｓｕｌｆｏｎａｍｉｄｏ）」または「スルホンアミド（ｓｕｌｆｏｎａｍｉｄｅ）」という用語は、基－Ｎ（Ｒ’）ＳＯ$_2$Ｒ’または－ＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$を意味し、各Ｒ’は、独立に、水素または炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールもしくはヘテロアリール基など）であり、または２つのＲ’基は、それらが結合している窒素原子と一緒になって、５～８員環を形成する。
【０１５６】
「スルファミド（ｓｕｌｆａｍｉｄｏ）」または「スルファミド（ｓｕｌｆａｍｉｄｅ）」という用語は、基－ＮＲ’ＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ’）$_2$を意味し、各Ｒ’は、独立に、水素または炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールもしくはヘテロアリール基など）であり、または２つのＲ’基は、それらが結合している窒素原子と一緒になって、５～８員環を形成する。

【０１５７】
本明細書において使用する場合、「イミド（ｉｍｉｄｅ）」または「イミド（ｉｍｉｄｏ）」という用語は、基－Ｃ（＝ＮＲ’）Ｎ（Ｒ’）$_2$または－ＮＲ’Ｃ（＝ＮＲ’）Ｒ’を意味し、各Ｒ’は、独立に、水素または炭素部分（例えば、本明細書に定義されているアルキル、アルケニル、アルキニル、アリールもしくはヘテロアリール基など）であり、または２つのＲ’基は、それらが結合している窒素原子と一緒になって、５～８員環を形成する。
【０１５８】
本明細書において使用する場合、「シリル」は、基－ＳｉＲ’を意味し、Ｒ’は、炭素部分（例えば、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールまたはヘテロアリール基など）である。
【０１５９】
場合によっては、ＨＳＰ９０阻害剤は、１つもしくは複数の塩基性官能基（例えば、アミノ基など）を含有してもよく、したがって薬学的に許容される酸と薬学的に許容される塩を形成することができる。「薬学的に許容される塩」という用語は、これらの例では、相対的に無毒性の無機および有機の酸付加塩を意味する。これらの塩は、投与ビヒクルもしくは剤形製造工程において、またはその遊離塩基の形態の化合物を適切な酸で別々に処理することによって、ｉｎ　ｓｉｔｕで調製することができる。無機酸からの薬学的に許容される無毒性酸付加塩の例には、これらに限定されないが、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸、硝酸および過塩素酸が含まれ、または有機酸からの薬学的に許容される無毒性酸付加塩の例には、これらに限定されないが、酢酸、アジピン酸、アルギン酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、２－アセトキシ安息香酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、ビスルホン酸、ホウ酸、酪酸、ショウノウ酸、カンファースルホン酸、クエン酸、シクロペンタンプロピオン酸、ジグルコン酸、ドデシルスルホン酸、エタンスルホン酸、１，２－エタンジスルホン酸、ギ酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グリセロホスホン酸、グルコン酸、ヘミスルホン酸、ヘプタン酸、ヘキサン酸、ヨウ化水素酸、２－ヒドロキシエタンスルホン酸、ヒドロキシマレイン酸、イソチオン酸、ラクトビオン酸、乳酸、ラウリン酸、ラウリルスルホン酸、リンゴ酸、マレイン酸、マロン酸、メタンスルホン酸、２－ナフタリンスルホン酸、ナフチル酸（ｎａｐｔｈｙｌｉｃ）、ニコチン酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモ酸、ペクチン酸、ペルスルホン酸、３－フェニルプロピオン酸、ピクリン酸、ピバル酸、プロピオン酸、フェニル酢酸、ステアリン酸、コハク酸、サリチル酸（ｓａｌｉｃｙｃｌｉｃ）、スルファニル酸、酒石酸、チオシアン酸、ｐ－トルエンスルホン酸、ウンデカン酸、および吉草酸付加塩などが含まれる。他の例では、ＨＳＰ９０阻害剤は、１つもしくは複数の酸性官能基を含有してもよく、したがって薬学的に許容される塩基と薬学的に許容される塩を形成することができる。「薬学的に許容される塩」という用語は、これらの例では、相対的に無毒性の無機および有機の塩基付加塩を意味する。これらの塩は同様に、投与ビヒクルもしくは剤形製造工程において、またはその遊離酸の形態の化合物を適切な塩基で別々に処理することによって、ｉｎ　ｓｉｔｕで調製することができる。適切な塩基の例には、これらに限定されないが、金属水酸化物、金属カーボネートまたは金属バイカーボネートが含まれ、金属は、アルカリまたはアルカリ土類金属（リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、またはアルミニウムなど）である。適切な塩基にはまた、アンモニアまたは有機第一級、第二級もしくは第三級アミンが含まれてもよい。塩基付加塩の形成に有用な代表的な有機アミンには、例えば、エチルアミン、ジエチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジンなどが含まれる（例えば、Ｂｅｒｇｅら（上記）を参照されたい）。
【０１６０】
「溶媒和物」という用語は、化合物と関連する化学量論量または非化学量論量の溶媒を有する本発明の化合物を意味する。溶媒は水でよく（すなわち、水和物）、阻害剤の各分子は、水の１つもしくは複数の分子と会合していてもよい（例えば、一水和物、二水和物

、三水和物など）。溶媒はまた、アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノールなど）、グリコール（例えば、プロピレングリコール）、エーテル（例えば、ジエチルエーテル）、エステル（例えば、酢酸エチル）、または任意の他の適切な溶媒でよい。ＨＳＰ９０阻害剤はまた、混合した溶媒和物として存在することができる（すなわち、２種以上の異なる溶媒と会合している）。

【０１６１】

「糖」という用語は、本明細書において使用する場合、１つもしくは複数のピラノースまたはフラノース環を含む、天然もしくは非天然の単糖類、二糖類またはオリゴ糖を意味する。糖は、エーテル結合を介して、またはアルキル連結を介して、本発明のステロイドアルカロイドに共有結合することができる。特定の実施形態では、サッカライド部分は、サッカライド環のアノマー中心において、本発明のステロイドアルカロイドに共有結合することができる。糖は、これらに限定されないが、リボース、アラビノース、キシロース、リキソース、アロース、アルトロース、ブドウ糖、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロース、ブドウ糖、およびトレハロースを含むことができる。

【０１６２】

非化学的定義

本明細書において使用する場合、冠詞「ａ」および「ａｎ」は、冠詞の文法的目的物の１つもしくは複数（例えば、少なくとも１つ）を意味する。

【０１６３】

「または」という用語は、本明細書において使用され、文脈が明らかにその他のことを示さない限り、「および／または」という用語を意味し、「および／または」と互換的に使用される。

【０１６４】

「約」および「概ね」は、測定の性質または正確さを考慮して、測定した量についての許容される程度の誤差を一般に意味する。例示的な程度の誤差は、所与の値または値の範囲の２０パーセント（％）以内、典型的には１０％以内、より典型的には５％以内である。

【０１６５】

マーカー、遺伝子または遺伝子産物の「変化」または「変化した構造」という用語は、正常もしくは野生型遺伝子またはタンパク質と比較して、変異が存在すること、マーカー遺伝子またはマーカータンパク質内の変異、例えば、マーカーの発現または活性に影響を与える変異を意味する。例えば、変異には、これらに限定されないが、染色体間および染色体内再配列、置換、欠失、ならびに挿入変異が含まれる。変異は、マーカーのコード領域または非コード領域において存在し得る。

【０１６６】

マーカーの「量の変化」またはマーカーの「レベルの変化」という用語は、対照試料におけるマーカーの発現レベルまたはコピー数と比較した、マーカーまたは染色体領域、例えば、本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）、またはＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つもしくは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つもしくは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１から選択される１つもしくは複数の遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物のコピー数の増加もしくは減少、ならびに／またはがん試料における特定のマーカー遺伝子（複数可）の発現レベルの増加もしくは減少を意味する。マーカーの「量の変化」という用語にはまた、正常な対照試料におけるマーカーのタンパク質レベルと比較した、試料、例えばがん試料におけるマーカーのタンパク質レベルの増加もしくは減少が含まれる。

【０１６７】

発癌性変化、例えば、本明細書に記載されているＡＬＫ遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）、またはＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つもしくは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つもしくは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１から選択される１つもしくは複数の遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物の「発現のレベルの変化」という用語は、発現またはコピー数を評価するために用いたアッセイの標準誤差を超えるまたはそれ未満である、試験試料（がんを患っている患者由来の試料など）におけるマーカーの発現レベルまたはコピー数を意味する。実施形態では、変化は、対照試料（例えば、関連する疾患を有さない健康な対象からの試料）の変化、例えば、本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物の発現レベルもしくはコピー数、またはいくつかの対照試料の変化、例えば、本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物の平均発現レベルもしくはコピー数の、少なくとも２倍、少なくとも３の２倍、少なくとも４の２倍、少なくとも５の２倍、または少なくとも１０の２倍もしくはそれを超えていてもよい。発現のレベルの変化は、発現またはコピー数を評価するために用いたアッセイの標準誤差を超えるかまたはそれ未満である。実施形態では、変化は、対照試料（例えば、関連する疾患を有さない健康な対象からの試料）の変化、例えば、本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物の発現レベルもしくはコピー数、またはいくつかの対照試料の変化、例えば、本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物の平均発現レベルもしくはコピー数の、少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、少なくとも１０倍またはそれを超えている。

【０１６８】

マーカーの「活性の変化」という用語は、正常な対照試料におけるマーカーの活性と比較した、例えば、がん試料での、病態において増加もしくは減少するマーカーの活性を意味する。マーカーの活性の変化は、例えば、マーカーの発現の変化、マーカーのタンパク質レベルの変化、マーカーの構造の変化、または例えば、マーカーとして同じもしくは異なる経路において関与する他のタンパク質との相互作用の変化の結果であり得る。

【０１６９】

「未分化リンパ腫キナーゼ」および「ＡＬＫ」は、本明細書において互換的に使用され、本明細書に記載の任意の源（例えば、げっ歯類、ヒト、および他の哺乳動物）に由来する天然未分化リンパ腫キナーゼ、およびその特定の変異を意味する。いくつかの実施形態では、ＡＬＫタンパク質は、ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＰ＿００４２９５によって表される。他に示さない限り、この用語は、ヒトタンパク質を意味する。ＡＬＫをコードする遺伝子もまた、本明細書において「ＡＬＫ」と称される。いくつかの実施形態では、ＡＬＫヌクレオチド配列は、ＮＣＢＩ参照配列番号ＮＭ＿００４３０４．３およびＧｅｎＢａｎｋ受託番号２９０２９６３１、その中の関連する配列（例えば、コーディング、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、転写開始、翻訳開始、転写停止、翻訳停止などの配列）（当業者は容易に同定することができる）によって表される。対照的に、「ＡＬＫ変異」は、本明細書に記載のＨＳＰ９０阻害薬剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）による治療に対する陽性反応を予測する変異および変異体を意味する。スクリーニングされる細胞遺伝学的異常の代表的な非限定的例には、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合体、ＫＩＦ５Ｂ－ＡＬＫ融合体、ＴＧＦ－ＡＬＫ融合体、ＮＰＭ－ＡＬＫ融合体、およびＡＬＫ点変異（本明細書に記載のＦ１２４５Ｉ／Ｌ、Ｌ１２０４Ｆ、Ａ１２００Ｖ、Ｌ１１９６Ｍ、Ｉ１１７０Ｓ、Ｔ１１５１Ｍ、Ｒ１２７５Ｑ、Ｆ１１７４Ｖ／Ｃ／Ｌ、Ｔ１０８７Ｉ、およびＫ１０６２Ｍの１つもしくは複数を含む）が含まれる。

【０１７０】

「結合化合物」は、結合組成物、例えば、標的タンパク質もしくは分子に特異的に結合することができ、または対象の分析物（タンパク質の複合体など）と安定的な複合体を形

成することができる、小分子、抗体、ペプチド、ペプチドリガンドもしくは非ペプチドリガンド、タンパク質、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド類似体（ペプチド核酸など）、レクチン、または任意の他の分子的実体を意味する。

【０１７１】

「結合部分」とは、分析物に特異的に結合することができる分子タグが、直接的または間接的に付着することができる任意の分子を意味する。結合部分には、これらに限定されないが、約１０００ダルトンまでの分子量を有し、かつ水素、炭素、酸素、窒素、硫黄およびリンからなる群から選択される原子を含有する、抗体、抗体結合組成物、ペプチド、タンパク質、核酸および有機分子が含まれる。

【０１７２】

「バイオマーカー」または「マーカー」は、変化することができる遺伝子、ｍＲＮＡ、またはタンパク質であり、前記変化はがんと関連する。変化は、正常または健常な組織または細胞（例えば、対照）におけるその量、構造、および／または活性と比較した、がん組織またはがん細胞における量、構造、および／または活性でよく、がんなどの病態と関連する。例えば、がんと関連し、または抗がん療法薬に対する反応性を予測する本発明のマーカーは、正常な健常組織または細胞と比較した、がん組織またはがん細胞における、変化したヌクレオチド配列、アミノ酸配列、染色体転座、染色体内逆位、コピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性、またはメチル化状態を有することができる。さらに、「マーカー」には、がんなどの病態と関連する組織または細胞において存在するときに、その構造が変化、例えば、変異しており（変異を含有し）、例えば、置換、欠失、または挿入によって、例えば、ヌクレオチドまたはアミノ酸レベルで、野生型配列と異なる分子が含まれる。

【０１７３】

「がん」または「腫瘍」という用語は、がんをもたらす細胞に特有である特徴（制御されない拡散、不死性、転移能、急速な増殖および拡散速度など）、ならびに特定の特有な形態学的特徴を有する細胞の存在を意味する。がん細胞は腫瘍の形態であることが多いが、このような細胞は、動物内で単独で存在することができ、または白血病細胞などの非腫瘍形成性がん細胞でよい。本明細書において使用する場合、「がん」という用語には、前悪性および悪性のがんが含まれる。がんには、これらに限定されないが、Ｂ細胞がん、例えば、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、重鎖病（例えば、アルファ鎖病、ガンマ鎖病、ミュー鎖病など）、良性単クローン性ガンマグロブリン血症、免疫細胞性アミロイドーシス、黒色腫、乳がん、肺がん（非小細胞肺癌またはＮＳＣＬＣなど）、気管支がん、結腸直腸がん、前立腺がん、膵臓がん、胃がん、卵巣がん、膀胱がん、脳もしくは中枢神経系がん、末梢神経系がん、食道がん、子宮頸がん、子宮もしくは子宮内膜がん、口腔もしくは咽頭のがん、肝臓がん、腎臓がん、睾丸がん、胆道がん、小腸もしくは虫垂がん、唾液腺がん、甲状腺がん、副腎がん、骨肉腫、軟骨肉腫、血液学的組織のがん、腺癌、炎症性筋線維芽細胞腫瘍、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）、結腸がん、多発性骨髄腫（ＭＭ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、骨髄増殖性障害（ＭＰＤ）、急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄球性白血病（ＡＭＬ）、慢性骨髄球性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、真性赤血球増加症、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、重鎖病、軟部組織肉腫、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌（ｓｔａｄｅｎｏｃａｒｃｉｎｏｍａ）、髄様癌、気管支癌、腎細胞癌、肝細胞腫、胆管癌、胆管細胞癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、肝細胞癌、甲状腺がん、胃がん、頭頸部がん、小細胞がん、本態性血小板血症、原因不明性骨髄様化生、好酸球増加症候群、全

身性肥満細胞症、家族性（ｆａｍｉｌｉａｒ）過好酸球増加症、慢性好酸球性白血病、神経内分泌がん、カルチノイド腫瘍などが含まれる。

【０１７４】

「化学療法剤」とは、状態、特にがんを治療するために使用される、細胞毒性剤または細胞増殖抑制剤などの化学物質を意味する。

【０１７５】

本明細書において使用する場合、「がん」および「腫瘍」は、同義語である。

【０１７６】

本明細書において使用する場合、「がん療法」および「がん治療」は、同義語である。

【０１７７】

本明細書において使用する場合、「化学療法」および「化学療法の」および「化学療法剤」は、同義語である。

【０１７８】

「相補的」は、２つの核酸鎖の領域の間の、または同じ核酸鎖の２つの領域の間の広い概念の配列相補性を意味する。第１の核酸領域のアデニン残基は、第１の領域と逆平行である第２の核酸領域の残基（残基がチミンまたはウラシルである場合）と特異的水素結合（「塩基対形成」）を形成することができることは公知である。同様に、第１の核酸鎖のシトシン残基は、第１の鎖と逆平行である第２の核酸鎖の残基（残基がグアニンである場合）と塩基対形成できることは公知である。２つの領域が逆平行の様式で配置されるとき、第１の領域の少なくとも１つのヌクレオチド残基が、第２の領域の残基と塩基対形成できる場合、核酸の第１の領域は、同じまたは異なる核酸の第２の領域に対して相補的である。特定の実施形態では、第１の領域は、第１の部分を含み、かつ第２の領域は、第２の部分を含み、それによって、第１および第２の部分が逆平行の様式で配置されるとき、第１の部分のヌクレオチド残基の少なくとも約５０％、少なくとも約７５％、少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％は、第２の部分におけるヌクレオチド残基と塩基対形成ができる。他の実施形態では、第１の部分の全てのヌクレオチド残基は、第２の部分におけるヌクレオチド残基と塩基対形成できる。

【０１７９】

「遺伝子のコピー数」または「マーカーのコピー数」とは、特定の遺伝子産物をコードする細胞におけるＤＮＡ配列の数を意味する。一般に、所与の遺伝子について、哺乳動物は、各遺伝子の２つのコピーを有する。しかし、コピー数は、遺伝子増幅もしくは重複によって増加し、または欠失によって減少し得る。

【０１８０】

マーカーが、共有結合的または非共有結合的に基質と会合している場合、マーカーは、マーカーの相当な画分が基質から解離することなく液体（例えば、標準クエン酸添加生理食塩水、ｐＨ７．４）で基質をすすぐことができるように基質に「固定」されている。

【０１８１】

「危険率」は、本明細書において使用する場合、相対危険度についての推定を得るために使用する統計的方法を意味する。「危険率」は、１つの群対別の群の予測される危険の間の比である。例えば、ＨＳＰ９０阻害薬剤で治療されない患者集団に対してＨＳＰ９０阻害薬剤で治療された患者集団について、ＨＳＰ９０阻害薬剤が、特に、ＡＬＫ変異状態に関して、疾患の遠隔再発への時間を増加させるのに有効であるかどうかについて評価することができる。例えば、本明細書に記載のがん組織におけるＡＬＫ変異を持つ対象を治療することは、がん組織において前記ＡＬＫ変異を有しない対象に対して、ＨＳＰ９０阻害薬剤からの治療上の利点の増加をもたらす。

【０１８２】

「熱ショックタンパク質（Ｈｓｐ）９０」または「ＨＳＰ９０」には、本明細書において使用する場合、約９０キロダルトンの質量を有する熱ショックタンパク質のファミリーの各メンバーが含まれる。例えば、ヒトにおいて、高度に保存されたＨｓｐ９０ファミリーには、細胞質Ｈｓｐ９０αおよびＨｓｐ９０βアイソフォーム、ならびにＧＲＰ９４（

小胞体に見出される）、ならびにＨＳＰ７５／ＴＲＡＰ１（ミトコンドリアのマトリックスに見出される）が含まれる。Ｈｓｐ９０はタンパク質恒常性において不可欠な役割を果たし、タンパク質シャペロンとしてのその役割によって腫瘍形成、がん細胞拡散、および生存に関与している重要なタンパク質の安定性をレギュレートする（Ｋａｎｅｌａｋｉｓ Ｋ．Ｃ．ら、（２００３年）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．、３６４巻：１５９～１７３頁；Ｈａｎａｈａｎ Ｄ．ら、（２０００年）Ｃｅｌｌ．、１００巻（１号）：５７～７０頁）。Ｈｓｐ９０は、野生型バージョンよりも変異体腫瘍性タンパク質を優先的にシャペロンすることができ、治療標的としてのその誘引性をさらに増加させる（Ｎａｔｈａｎ Ｄ．Ｆ．ら、（１９９５年）Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．、１５巻（７号）：３９１７～３９２５頁；Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ Ｓ．Ｌ．ら、（１９９８年）Ｎａｔｕｒｅ、３９６巻（６７０９号）：３３６～３４２頁；Ｇｒｂｏｖｉｃ Ｏ．Ｍ．ら、（２００６年）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．、１０３巻（１号）：５７～６２頁；Ｓｈｉｍａｍｕｒａ Ｔ．ら、（２００５年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、６５巻（１４号）：６４０１～６４０８頁）。

【０１８３】

「ＨＳＰ９０阻害薬剤」または「ＨＳＰ９０阻害剤」とは、本明細書において使用する場合、ＨＳＰ９０の生物活性を阻害することができる化合物を意味する。生物活性にはまた、本出願に記載の患者の反応を含むことができる。例示的なＨＳＰ９０阻害薬剤には、これらに限定されないが、ＩＰＩ－４９３（Ｉｎｆｉｎｉｔｙ Ｐｈａｒｍ．）、ＩＰＩ－５０４（Ｉｎｆｉｎｉｔｙ Ｐｈａｒｍ．）、１７－ＡＡＧ（タネスピマイシンもしくはＣＮＦ－１０１０；ＢＭＳとしてもまた公知である）、ＢＩＩＢ－０２１（ＣＮＦ－２０２４、Ｂｉｏｇｅｎ ＩＤＥＣとしてもまた公知である）、ＢＩＩＢ－０２８（Ｂｉｏｇｅｎ ＩＤＥＣ）、ＡＵＹ－９２２（ＶＥＲ－４９００９、Ｎｏｖａｒｔｉｓとしてもまた公知である）、ＳＮＸ－５４２２（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＳＴＡ－９０９０、ＡＴ－１３３８７（Ａｓｔｅｘ）、ＸＬ－８８８（Ｅｘｅｌｉｘｉｓ）、ＭＰＣ－３１００（Ｍｙｒｉａｄ）、ＣＵ－０３０５（Ｃｕｒｉｓ）、１７－ＤＭＡＧ、ＣＮＦ－１０１０、Ｍａｃｂｅｃｉｎ（例えば、Ｍａｃｂｅｃｉｎ Ｉ、Ｍａｃｂｅｃｉｎ ＩＩ）、ＣＣＴ－０１８１５９、ＣＣＴ－１２９３９７、ＰＵ－Ｈ７１（Ｍｅｍｏｒｉａｌ Ｓｌｏａｎ Ｋｅｔｔｅｒｉｎｇ Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｎｔｅｒ）、ＰＦ－０４９２８４７３（ＳＮＸ－２１１２）、ＴＡＥ６８４、およびＰＦ－０２３４１０６６が含まれる。他のＨＳＰ９０阻害剤は、それらの内容全体が参照により本明細書中に組み込まれているＺｈａｎｇ，Ｍ－Ｑ．ら、Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ、５１巻（１８号）：５４９４～５４９７頁（２００８年）およびＭｅｎｚｅｌｌａ，Ｈ．ら、Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．、５２巻（６号）：１５１２８～１５２１頁（２００９年）に開示されている。

【０１８４】

「相同性」または「同一性」という用語は、本明細書において互換的に使用されるように、２つのポリヌクレオチド配列の間または２つのポリペプチド配列の間の配列類似性を意味し、同一性はより厳しい比較である。「同一性または相同性パーセント」および「同一性または相同性％」という語句は、２つ以上のポリヌクレオチド配列または２つ以上のポリペプチド配列の比較において見出される配列類似性の百分率を意味する。「配列類似性」とは、（任意の適切な方法によって決定した）２つ以上のポリヌクレオチド配列の間の塩基対配列の類似性パーセントを意味する。２つ以上の配列は、０～１００％の類似のいずれか、またはその間の任意の整数値でよい。同一性または類似性は、比較の目的のために整列させることができる各配列における位置を比較することによって決定することができる。比較した配列における位置が同じヌクレオチド塩基またはアミノ酸によって占められているとき、分子はその位置において同一である。ポリヌクレオチド配列の間の類似性または同一性の程度は、ポリヌクレオチド配列によって共有される位置における同一またはマッチングするヌクレオチドの数の関数である。ポリペプチド配列の同一性の程度は、ポリペプチド配列によって共有される位置における同一のアミノ酸の数の関数である。ポリペプチド配列の相同性または類似性の程度は、ポリペプチド配列によって共有される

位置におけるアミノ酸の数の関数である。「実質的な相同性」という用語は、本明細書において使用する場合、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％またはそれを超えるの相同性を意味する。

【０１８５】

がんの少なくとも１つの症状が軽減、終結、遅延、または予防される場合、がんは「阻害される」。本明細書において使用する場合、がんの再発または転移が減少、遅延、遅滞、または予防される場合、がんはまた、「阻害される」。

【０１８６】

「可能性が高い」または「可能性の増加」とは、本明細書において使用する場合、項目、対象、事柄または人が起こる確率の増加を意味する。したがって、一例では、参照対象または対象の群に対して、ＨＳＰ９０阻害薬剤による治療（単独でまたはｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせた）に対して反応する可能性が高い対象は、ＨＳＰ９０阻害薬剤による治療（単独でまたはｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせた）に対して反応する確率が増加する。

【０１８７】

「長い」とは、本明細書において使用する場合、正常を超え、別の亜群尺度より相対的に長い所定の尺度または亜群尺度などの標準を超える時間の尺度を意味する。例えば、患者の長寿命に関して、長い時間進行とは、正常な時間進行より長い時間進行を意味する。時間進行が長いか否かは、当業者が利用可能な任意の方法によって決定することができる。長いには、例えば、進行がないことを含むことができる。

【０１８８】

「マーカー核酸」は、本発明のマーカーによってコードされる、または本発明のマーカーに相当する核酸（例えば、ＤＮＡ、ｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ）である。例えば、このようなマーカー核酸分子には、本明細書において（例えば、表１もしくは表５において）記載されている核酸配列のいずれかの全体的もしくは部分的配列、またはこのような配列の補体もしくはハイブリダイズする断片を含むＤＮＡ（例えば、ゲノムＤＮＡおよびｃＤＮＡ）が含まれる。マーカー核酸分子にはまた、本明細書において（例えば、表１もしくは表５において）記載されている核酸配列のいずれかの全体的もしくは部分的配列、またはこのような配列の補体を含むＲＮＡが含まれ、全てのチミジン残基は、ウリジン残基で置き換えられている。「マーカータンパク質」は、本発明のマーカーによってコードされる、または本発明のマーカーに相当するタンパク質である。マーカータンパク質は、本明細書において（例えば、表１もしくは表５において）記載されている配列、またはその断片のいずれかによってコードされているタンパク質の全体的もしくは部分的配列を含む。「タンパク質」および「ポリペプチド」という用語は、本明細書において互換的に使用される。

【０１８９】

「ＭＡＰＫ経路遺伝子（複数可）」とは、本明細書において使用する場合、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ（ＭＡＰＫ）を介して細胞内シグナル伝達に直接的および／または間接的に関与する遺伝子を意味する。いくつかの実施形態では、この直接的および／または間接的な関与は、ＭＡＰＫの上流および／または下流の遺伝子を含むことができる。ＭＡＰキナーゼが、がんが関連する疾患機序の重要なメディエーターを含むことは当技術分野で周知である（Ｃｈｅｎら、Ｃｈｅｍ Ｒｅｖ（２００１年）１０１巻：２４４９～７６頁；Ｐｅａｒｓｏｎら、Ｅｎｄｏｃｒ Ｒｅｖ（２００１年）２２巻：１５３～８３頁；Ｅｎｇｌｉｓｈら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｓｃｉ（２００２年）２３巻：４０～４５頁；Ｋｏｈｎｏら、Ｐｒｏｇ Ｃｅｌｌ Ｃｙｃｌｅ Ｒｅｓ（２００３年）５巻：２１９～２４頁；およびＳｅｂｏｌｔ－Ｌｅｏｐｏｌｄ、Ｏｎｃｏｇｅｎｅ（２０００年）１９巻：６５９４～９９頁）。ＭＡＰＫ経路の１つは、各々、細胞膜における相当する受容体であるＥＧＦＲ、ＨＥＲ、およびＶＥＧＦＲに結合する細胞外シグナル（上皮増殖因子（ＥＧＦ）および血管内皮由来増殖因子（ＶＥＧＦ）など）からのシグナルの伝達を可能とし、相当する受容体は、中間キナーゼおよびキナーゼ標的を介して細胞核にシグナルを送る。一実施形態では、ＭＡＰＫ経路は、ＲＡＳ、ＲＡＦ、ＭＥＫ、

およびＥＲＫ（ＭＡＰＫ）（例えば、Ｒａｓ、Ｒａｆ－１、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）、ＭＥＫ１および／またはＭＥＫ２（集団的に本明細書においてＭＥＫ１／２と称する）、ならびにＥＲＫ１および／またはＥＲＫ２（集団的に本明細書においてＥＲＫ１／２と称する））を含む。いくつかの実施形態では、このようなＭＡＰＫ経路は、Ｍｎｋ１、Ｒｓｋ、Ｅｔｓ、Ｅｌｋ－１、およびＳａｐ－１としてＭＡＰＫ標的遺伝子をさらに含む（例えば、図１９を参照されたい）。後者のタンパク質は、例えば、致命的な細胞機能（拡散、増殖、運動性および生存など）を制御する遺伝子の発現を究極的に支配する。ＭＡＰＫ経路遺伝子についての核酸およびタンパク質配列は、当業者には周知であり、特異的ＭＡＰＫ経路遺伝子についての遺伝子およびタンパク質受託番号の代表的な非限定的例には、

【０１９０】

【化１１】

Kras (NM_033360.2; NP_203524.1), Hras (NM_176795.3; NP_789765.1), Nras (NM_002524.3; NP_002515.1), Braf (BC101757.1; AAI01758), Craf (X03484.1; CAA27204.1), Araf (X04790.1; CAA28476.1), Nk1 (NM_003684.4; NP_003675.2), Rsk (NM_002953.3; NP_002944.2; NM_021135.4; NP_066958.2; NM_004586.2; NP_004577.1; NM_003942.2; **および** NP_003933.1), Ets (NM_005238.3; NP_005229.1), Elk1 (NM_005229.3; NP_005220.2), **および** Sap-1 (NM_002351.3; NP_002342.1).

が含まれる。いくつかの実施形態では、ＭＡＰＫ経路遺伝子（複数可）はまた、野生型または天然遺伝子のいずれかもしくは両方、ならびにまたは代わりに、その特定の変異を意味することができ、本明細書に記載の任意の源（例えば、げっ歯類、ヒト、および他の哺乳動物）に由来する。いくつかの実施形態では、ＭＡＰＫ経路遺伝子産物（複数可）は、コードするＭＡＰＫ経路遺伝子（複数可）のポリペプチドおよび／またはその断片を意味する。表５は、ＭＡＰＫ経路遺伝子（複数可）および／または遺伝子産物（複数可）の非限定的な一覧を提供する。いくつかの実施形態では、ＭＡＰＫ経路遺伝子（複数可）および／または遺伝子産物（複数可）は、ＮＣＢＩ参照配列番号によって表され、そこから関連する配列（例えば、コーディング、５’ＵＴＲ、３’ＵＴＲ、転写開始、翻訳開始、転写停止、翻訳停止、変異部位などの配列）を、当業者は容易に同定することができる。いくつかの実施形態では、「ＭＡＰＫ経路遺伝子（複数可）および／または遺伝子産物（複数可）」とは、Ｈｓｐ９０阻害剤（例えば、本発明の化合物）による治療（単独で、または本明細書に記載のｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせた）に対する陽性反応を予測する変異および変異体を特に意味する。このような変異の代表的な非限定的例を、明細書に亘りおよび表５において提供する。

【０１９１】

「ｍＴＯＲ阻害剤」とは、本明細書において使用する場合、ｍＴＯＲキナーゼ（哺乳類ラパマイシン標的タンパク質）の活性／機能を直接的または間接的に標的、減少もしくは阻害する薬剤を意味する。例示的なｍＴＯＲ阻害剤には、これらに限定されないが、ｍＴＯＲキナーゼファミリーのメンバーを標的とする化合物、タンパク質または抗体、例えば、ラパマイシン（シロリムス）、テムシロリムス（ＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標））、エベロリムス（ＲＡＤ００１、ＡＦＩＮＩＴＯＲ（登録商標））、リダホロリムス、ＡＰ２３５７３、ＡＰ２３８４１、ＡＺＤ８０５５、ＢＥＺ２３５、ＢＧＴ２２６、ＸＬ７６５、ＰＦ－４６９１５０２、ＧＤＣ０９８０、ＳＦ１１２６、ＯＳＩ－０２７、ＧＳＫ１０５９６１５、ＫＵ－００６３７９４、ＷＹＥ－３５４、ＩＮＫ１２８、テムシロリムス（ＣＣＩ－７７９）、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９（Ｐ５２９）、ＰＦ－０４６９１５０２、ＰＫＩ－５８７、ＡＢＴ５７８、ＳＡＲ５４３、およびアスコマイシンの１つもしくは複数から選択される１種もしくは複数のｍＴＯＲ阻害剤が含まれる。一実施形態では、ｍＴＯＲ阻

害剤は、ＴＯＲＣ１およびＴＯＲＣ２を阻害する。ＴＯＲＣ１およびＴＯＲＣ２デュアル阻害剤の例には、例えば、ＯＳＩ－０２７、ＸＬ７６５、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９、およびＩＮＫ１２８が含まれる。

【０１９２】

マーカーの「正常な」コピー数、またはマーカーの発現の「正常な」レベルは、生体試料、例えば、がんに罹患していない対象、例えば、ヒトからの組織、全血、血清、血漿、口腔掻取片、唾液、脳脊髄液、尿、便、および骨髄を含有する試料中のマーカーの発現のレベル、コピー数である。

【０１９３】

遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／または遺伝子産物（例えば、表１および表５に記載されているマーカー）の「過剰発現」または「有意により高い発現のレベルもしくはコピー数」とは、発現またはコピー数を評価するために用いたアッセイの標準誤差を超える、試験試料における発現レベルまたはコピー数を意味する。実施形態では、過剰発現は、対照試料（例えば、がんに罹患していない健康な対象からの試料）における遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１および表５に記載されているマーカー）の発現レベルもしくはコピー数、またはいくつかの対照試料における遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１および表５に記載されているマーカー）の平均発現レベルもしくはコピー数の少なくとも２倍、少なくとも３倍、少なくとも４倍、少なくとも５倍、または少なくとも１０倍またはそれを超えてもよい。

【０１９４】

「プローブ」という用語は、特に意図した標的分子、例えば、本発明のマーカーに選択的に結合することができる任意の分子を意味する。プローブは、当業者が合成できるか、または適当な生物学的製剤に由来し得る。標的分子の検出の目的のために、プローブは、本明細書に記載のように標識されるように特に設計することができる。プローブとして利用することができる分子の例には、これらに限定されないが、ＲＮＡ、ＤＮＡ、タンパク質、抗体、および有機モノマーが含まれる。

【０１９５】

「ＲＥＣＩＳＴ」は、「固形腫瘍治療効果判定基準」を意味する頭字語を意味し、治療の間にがん患者が改善（「反応」）、同じ状態（「安定的」）または悪化（「進行」）するときを定義する一連の規則書である。ＲＥＣＩＳＴ基準によって定義されるような反応は、例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ、第９２巻、第３号、２０００年２月２日において発表されており、ＲＥＣＩＳＴ基準には、他の同様の発表された定義および規則のセットを含めることができる。当業者であれば、本明細書において使用する場合、ＲＥＣＩＳＴ基準と調和する定義（「ＰＲ」、「ＣＲ」、「ＳＤ」および「ＰＤ」など）を理解するであろう。

【０１９６】

治療に対して「反応する」「反応性」、およびこの動詞の他の形態は、本明細書において使用する場合、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（単独で、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ、ＡＬＫ阻害剤、もしくは化学療法剤と組み合わせた）に対する対象の反応を意味する。一例として、対象における腫瘍の増殖が約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％またはそれを超えて遅延する場合、対象は、ＨＳＰ９０阻害薬剤による治療に反応する。別の例では、任意の適当な尺度によって、例えば、質量または容量によって決定して、対象における腫瘍が約５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％またはそれを超えて収縮する場合、対象は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（単独で、または組み合わせた）に対して反応する。別の例では、対象が、治療が投与されない場合に予測される平均余命より約５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％またはそれを超えて延長した平均余命を経験する場合、対象は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（単独で、または組み合わせた）に反応する。別の例では、対象が無病生存率、

全生存率の増加、または無増悪期間の増加を有する場合、対象は、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（単独で、または組み合わせた）に反応する。ＲＥＣＩＳＴ基準を含めていくつかの方法を使用して、患者が上記に記載の治療に対して反応するかについて決定することができる。

【０１９７】

「試料」、「組織試料」、「患者試料」、「患者細胞もしくは組織試料」または「標本」は各々、対象または患者の組織から得た同様の細胞の収集物を意味する。組織試料の源は、新鮮な、冷凍および／もしくは保存した器官、組織試料、生検材料、または吸引物からの固形組織；血液もしくは任意の血液成分；体液（脳脊髄液、羊水、腹水もしくは間質液など）；または対象の妊娠期間もしくは発生におけるいずれかの時からの細胞でよい。組織試料は、組織と天然では混合されていない化合物を含有することができる（保存剤、抗凝血剤、緩衝液、固定剤、栄養素、抗生物質または同様のものなど）。

【０１９８】

「短い」とは、本明細書において使用する場合、正常より短い、別の亜群尺度より相対的に短い所定の尺度または亜群尺度などの標準より短い時間の尺度を意味する。例えば、患者の長寿命に関して、短い時間進行とは、正常な時間進行より短い時間進行を意味する。時間進行が短いか否かは、当業者が利用可能な任意の方法によって決定することができる。

【０１９９】

対象における遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／または遺伝子産物のマーカー（例えば、表１、表５に記載され、または本明細書に記載されているマーカーの１つもしくは複数）の量、例えば、発現またはコピー数は、マーカーの量が、各々、量を評価するために用いたアッセイの標準誤差を超える量だけ、またはその量の少なくとも２倍、３倍、４倍、５倍、１０倍もしくはそれを超えて、正常なレベルより多いまたは少ない場合、マーカーの正常量より「有意に」多いまたは少ない。代わりに、対象におけるマーカーの量は、その量が、各々、マーカーの正常量より、少なくとも約２倍、少なくとも約３倍、少なくとも約４倍、もしくは少なくとも約５倍多い、または少なくとも約２分の１、少なくとも約３分の１、少なくとも約４分の１、もしくは少なくとも約５分の１少ない場合、正常量より「有意に」多いまたは少ないと考えることができる。

【０２００】

本明細書において使用する場合、「有意事象」とは、当業者によって決定すると重要である、患者の疾患における事象を意味する。有意事象の例には、例えば、これらだけに限定されないが、一次診断、死亡、再発、患者の疾患が転移性であるという決定、患者の疾患の再発、または患者の疾患の上記のステージのいずれかの１つから別のステージへの進行が含まれる。有意事象は、当業者が決定するような、ＯＳ、ＴＴＰを評価するために使用される、および／またはＲＥＣＩＳＴもしくは他の反応基準を使用した任意の重要な事象でよい。

【０２０１】

本明細書において使用する場合、「時間経過」は、最初の事象とそれに続く事象の間の時間を意味すべきである。例えば、患者のがんに関して、時間経過は、患者の疾患に関していてもよく、疾患の経過中の有意事象を計測することによって測定することができ、第１の事象は診断でよく、それに続く事象は、例えば転移でよい。

【０２０２】

「無増悪期間」または「ＴＴＰ」とは、治療の開始から、進行またはがんまたは検定までに測定した時間を意味する。検定は、研究の終わりから、または治療の変化から起こり得る。無増悪期間はまた、例えば、Ｋａｐｌｅｉｎ－Ｍｅｉｅｒプロットにおけるように、確率として表すことができ、無増悪期間は、特定の時間に亘って進行しない確率を表すことができ、その時間は治療の開始と進行または検定との間の時間である。

【０２０３】

「転写ポリヌクレオチド」は、本発明のマーカーの転写、ならびにもしあれば、転写物

、および転写物の逆転写の正常な転写後プロセッシング（例えば、スプライシング）によって作製された成熟ＲＮＡの全部または一部に対して相補的または相同であるポリヌクレオチド（例えば、ＲＮＡ、ｃＤＮＡ、またはＲＮＡもしくはｃＤＮＡの１つの類似体）である。

【０２０４】

遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）の「低発現」または「有意により低い発現のレベルもしくはコピー数」とは、発現またはコピー数を評価するために用いたアッセイの標準誤差を超える試験試料における発現レベルまたはコピー数を意味し、対照試料（例えば、がんに罹患していない健康な対象からの試料）における、遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）の発現レベルもしくはコピー数より、またはいくつかの対照試料における、遺伝子（例えば、ＡＬＫもしくはＭＡＰＫ経路遺伝子）変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）の平均発現レベルもしくはコピー数より、例えば、少なくとも２分の１、少なくとも３分の１、少なくとも４分の１、少なくとも５分の１、または少なくとも１０分の１またはそれより少ない。

【０２０５】

「可能性が低い」とは、参照に関して、事象、項目、対象、事柄または人が起こる確率の減少を意味する。したがって、ＨＳＰ９０阻害薬剤による治療に対して反応する可能性が低い対象は、参照対象または対象の群に対して、ＨＳＰ９０阻害薬剤による治療に反応する確率が低い。

【０２０６】

本発明の様々な態様を、下記にさらに詳細に記載する。さらなる定義は、明細書を通して説明する。

【０２０７】

ＩＩ．本発明の方法

ＡＬＫおよびＭＡＰＫ経路遺伝子および／または遺伝子産物の活性化変異、コピー数および／または発現のレベルおよび／または活性の分析は、対象においてがんを治療することにおける、ＨＳＰ９０阻害剤（単独で、または組み合わせた、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせた）の有効性と相関する、本明細書に記載されている個々のバイオマーカーおよびバイオマーカーの組合せの同定をもたらした。例えば、本発明は、本明細書において同定されているＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１および表５に記載されているマーカー）、ＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つもしくは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つもしくは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１から選択される１つもしくは複数の遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物の、コピー数、発現レベル、タンパク質レベル、タンパク質活性、変異（例えば、染色体間および染色体内再配列、置換、欠失、挿入、または付加変異）の存在を判定するための方法を提供する。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、本発明の方法を使用して、対象におけるがんの進行をモニターすることができ、対象中の試料が、がんの進行の間、例えば、第１の時点およびそれに続く時点で、本明細書において開示されている（例えば、表１もしくは表５に一覧表示されている）マーカーの量、例えば、発現、および／または活性が有意に増加する場合、がんは、ＨＳＰ９０阻害剤による治療（単独で、または組み合わせた）に対して反応する可能性がより高い（逆の場合も同じ）。さらに別の実施形態では、最初の時点とそれに続く時点の間に、対象は、治療、例えば、化学療法、放射線療法、手術、またはがんを阻害す

るのに有用な任意の他の治療的なアプローチを受けている、治療を完了している、または寛解状態にある。

【０２０９】

ＩＩＩ．単離された核酸分子

本発明の一態様は、本発明のマーカーに相当するポリペプチドまたはこのようなポリペプチドの一部をコードする核酸を含めた、本発明のマーカーに相当する単離された核酸分子に関する。本発明の核酸分子には、本明細書において同定されているゲノム領域において存在するそれらの核酸分子が含まれる。本発明の単離された核酸分子にはまた、本発明のマーカーに相当する核酸分子を同定するためのハイブリダイゼーションプローブとして使用するために十分な核酸分子（本発明のマーカーに相当するポリペプチドをコードする核酸分子、およびこのような核酸分子の断片、例えば、核酸分子の増幅または変異のためのＰＣＲプライマーとして使用するのに適したものを含めた）が含まれる。本明細書において使用する場合、「核酸分子」という用語は、ＤＮＡ分子（例えば、ｃＤＮＡまたはゲノムＤＮＡ）、およびＲＮＡ分子（例えば、ｍＲＮＡ）、およびヌクレオチド類似体を使用して生じさせたＤＮＡまたはＲＮＡの類似体が含まれることを意図する。核酸分子は一本鎖または二本鎖でよく、特定の実施形態では、核酸分子は、二本鎖ＤＮＡである。

【０２１０】

「単離された」核酸分子は、核酸分子の自然源において存在する他の核酸分子から分離したものである。特定の実施形態では、「単離された」核酸分子は、核酸が由来する生物のゲノムＤＮＡ中の核酸に天然で隣接する配列（すなわち、核酸の５’および３’末端に位置する配列）（タンパク質をコードする配列など）が存在しない。例えば、様々な実施形態では、単離された核酸分子は、核酸が由来する細胞のゲノムＤＮＡ中の核酸分子に天然で隣接する、約５ｋＢ未満、約４ｋＢ未満、約３ｋＢ未満、約２ｋＢ未満、約１ｋＢ未満、約０．５ｋＢ未満または約０．１ｋＢ未満のヌクレオチド配列を含有することができる。さらに、ｃＤＮＡ分子などの「単離された」核酸分子は、組換え技術によって生成されるとき他の細胞材料もしくは培地が実質的に存在しないでもよく、または化学的に合成されるとき化学的前駆体もしくは他の化学物質が実質的に存在しないでもよい。

【０２１１】

「他の細胞材料または培地が実質的に存在しない」という言葉には、核酸分子の調製物が含まれ、核酸分子は、核酸分子がそこから単離または組換え技術によって産生された細胞の細胞成分から分離されている。したがって、細胞材料が実質的に存在しない核酸分子には、（乾重量で）約３０％未満、約２０％未満、約１０％未満、または約５％未満の他の細胞材料または培地を有する核酸分子の調製物が含まれる。

【０２１２】

本発明の核酸分子、例えば、本明細書において同定されているＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）は、標準的分子生物学技術、および本明細書に記載されているデータベース記録における配列情報を使用して単離することができる。このような核酸配列の全てまたは一部を使用して、本発明の核酸分子は、標準的ハイブリダイゼーションおよびクローニング技術を使用して単離することができる（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら編、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ、１９８９年に記載されているように）。

【０２１３】

本発明の核酸分子は、標準的ＰＣＲ増幅技術によって、鋳型としてｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、またはゲノムＤＮＡ、および適当なオリゴヌクレオチドプライマーを使用して増幅させることができる。このように増幅させた核酸分子は、適当なベクター中にクローニングすることができ、ＤＮＡ配列分析によって特徴付けることができる。さらに、本発明の核酸分子の全てまたは一部に相当するオリゴヌクレオチドは、標準的合成技術によって、例えば、ＤＮＡ自動合成機を使用して調製することができる。

【０２１４】
別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、本発明のマーカーに相当する核酸のヌクレオチド配列に相補的な、または本発明のマーカーに相当するタンパク質をコードする核酸のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を有する核酸分子を含む。所与のヌクレオチド配列に相補的な核酸分子は、所与のヌクレオチド配列に対して十分に相補的であり、所与のヌクレオチド配列にハイブリダイズさせ、それによって安定的な二重鎖を形成することができる核酸分子である。
【０２１５】
さらに、本発明の核酸分子は、核酸配列の一部のみを含むことができ、完全長核酸配列は、本発明のマーカーを含み、本発明のマーカーに相当するポリペプチドをコードする。このような核酸分子は、例えば、プローブまたはプライマーとして使用することができる。プローブ／プライマーは典型的には、１種または複数の実質的に精製したオリゴヌクレオチドとして使用される。オリゴヌクレオチドは典型的には、ストリンジェントな条件下にて、本発明の核酸の少なくとも約７、少なくとも約１５、少なくとも約２５、少なくとも約５０、少なくとも約７５、少なくとも約１００、少なくとも約１２５、少なくとも約１５０、少なくとも約１７５、少なくとも約２００、少なくとも約２５０、少なくとも約３００、少なくとも約３５０、少なくとも約４００、少なくとも約５００、少なくとも約６００、少なくとも約７００、少なくとも約８００、少なくとも約９００、少なくとも約１ｋｂ、少なくとも約２ｋｂ、少なくとも約３ｋｂ、少なくとも約４ｋｂ、少なくとも約５ｋｂ、少なくとも約６ｋｂ、少なくとも約７ｋｂ、少なくとも約８ｋｂ、少なくとも約９ｋｂ、少なくとも約１０ｋｂ、少なくとも約１５ｋｂ、少なくとも約２０ｋｂ、少なくとも約２５ｋｂ、少なくとも約３０ｋｂ、少なくとも約３５ｋｂ、少なくとも約４０ｋｂ、少なくとも約４５ｋｂ、少なくとも約５０ｋｂ、少なくとも約６０ｋｂ、少なくとも約７０ｋｂ、少なくとも約８０ｋｂ、少なくとも約９０ｋｂ、少なくとも約１００ｋｂ、少なくとも約２００ｋｂ、少なくとも約３００ｋｂ、少なくとも約４００ｋｂ、少なくとも約５００ｋｂ、少なくとも約６００ｋｂ、少なくとも約７００ｋｂ、少なくとも約８００ｋｂ、少なくとも約９００ｋｂ、少なくとも約１ｍｂ、少なくとも約２ｍｂ、少なくとも約３ｍｂ、少なくとも約４ｍｂ、少なくとも約５ｍｂ、少なくとも約６ｍｂ、少なくとも約７ｍｂ、少なくとも約８ｍｂ、少なくとも約９ｍｂ、少なくとも約１０ｍｂまたはそれを超える連続したヌクレオチドにハイブリダイズするヌクレオチド配列の領域を含む。
【０２１６】
本発明の核酸分子の配列をベースとするプローブを使用して、本発明の１つもしくは複数のマーカーに相当する転写物またはゲノム配列を検出することができる。プローブは、そこに結合した標識基、例えば、放射性同位体、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子を含む。このようなプローブは、タンパク質を異所性発現している細胞または組織を同定するために、対象からの細胞の試料においてタンパク質をコードする核酸分子のレベルを測定することによって、例えば、ｍＲＮＡレベルを検出すること、またはタンパク質をコードする遺伝子が変異もしくは欠失したかについて決定することなどによって、診断試験キットの一部として使用することができる。
【０２１７】
本発明は、核酸分子が、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．５％またはそれを超えて相同であるように、本明細書に記載されている遺伝子変異および／または遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されているＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）と実質的に相同な核酸分子をさらに包含する。他の実施形態では、本発明は、核酸分子が、少なくとも１、少なくとも２、少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５

、少なくとも６、少なくとも７、少なくとも８、少なくとも９、少なくとも１０、少なくとも１１、少なくとも１２、少なくとも１３、少なくとも１４、少なくとも１５、少なくとも１６、少なくとも１７、少なくとも１８、少なくとも１９、少なくとも２０、少なくとも３０、少なくとも４０、少なくとも５０、少なくとも６０、少なくとも７０、少なくとも８０、少なくとも９０、少なくとも１００、少なくとも２００、少なくとも３００、少なくとも４００、少なくとも５００、少なくとも６００、少なくとも７００、少なくとも８００、少なくとも９００、少なくとも１ｋｂ、少なくとも２ｋｂ、少なくとも３ｋｂ、少なくとも４ｋｂ、少なくとも５ｋｂ、少なくとも６ｋｂ、少なくとも７ｋｂ、少なくとも８ｋｂ、少なくとも９ｋｂ、少なくとも１０ｋｂ、少なくとも１５ｋｂ、少なくとも２０ｋｂ、少なくとも２５ｋｂ、少なくとも３０ｋｂ、少なくとも３５ｋｂ、少なくとも４０ｋｂ、少なくとも４５ｋｂ、少なくとも５０ｋｂのヌクレオチドまたは任意の中間の範囲でのみ異なるように、本明細書に記載されている遺伝子変異および／または遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されているＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）と実質的に相同な核酸分子をさらに包含する。

【０２１８】

「一塩基多型」（ＳＮＰ）という用語は、対立遺伝子配列の間のバリエーションの部位である、単一のヌクレオチドに占められている多形部位を意味する。この部位は通常、対立遺伝子の高度に保存された配列（例えば、集団の１／１００未満または１／１０００未満のメンバーにおいて異なる配列）が先行し、かつ後に続く。ＳＮＰは通常、多形部位において１つのヌクレオチドを別のヌクレオチドに置換することによって生じる。ＳＮＰはまた、参照対立遺伝子に対して、ヌクレオチドの欠失またはヌクレオチドの挿入から生じ得る。典型的には、多形部位は、参照塩基以外の塩基によって占められている。例えば、参照対立遺伝子が、多形部位において塩基「Ｔ」（チミジン）を含有する場合、変化した対立遺伝子は、多形部位において「Ｃ」（シチジン）、「Ｇ」（グアニン）、または「Ａ」（アデニン）を含有し得る。ＳＮＰは、タンパク質をコードする核酸配列において起こってもよく、その場合、ＳＮＰは、欠陥のあるもしくはその他の点で変種のタンパク質、または遺伝性疾患を生じ得る。このようなＳＮＰは、遺伝子のコード配列を変化させることができ、したがって別のアミノ酸を特定化（「ミスセンス」ＳＮＰ）することができ、またはＳＮＰは終止コドンを導入することができる（「ナンセンス」ＳＮＰ）。ＳＮＰがタンパク質のアミノ酸配列を変化させないとき、ＳＮＰは、「サイレント」と称される。ＳＮＰはまた、ヌクレオチド配列の非コード領域において生じ得る。これによって、例えば、選択的スプライシングの結果として欠陥のあるタンパク質発現をもたらすことができ、またはタンパク質の機能には何ら影響を生じ得ない。

【０２１９】

別の実施形態では、本発明の単離された核酸分子は、少なくとも７、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも３５、少なくとも４０、少なくとも４５、少なくとも５０、少なくとも５５、少なくとも６０、少なくとも６５、少なくとも７０、少なくとも７５、少なくとも８０、少なくとも８５、少なくとも９０、少なくとも９５、少なくとも１００、少なくとも１２５、少なくとも１５０、少なくとも１７５、少なくとも２００、少なくとも２５０、少なくとも３００、少なくとも３５０、少なくとも４００、少なくとも４５０、少なくとも５５０、少なくとも６５０、少なくとも７００、少なくとも８００、少なくとも９００、少なくとも１０００、少なくとも１２００、少なくとも１４００、少なくとも１６００、少なくとも１８００、少なくとも２０００、少なくとも２２００、少なくとも２４００、少なくとも２６００、少なくとも２８００、少なくとも３０００、少なくとも３５００、少なくとも４０００、少なくとも４５００、またはそれを超えるヌクレオチド長であり、本発明のマーカーに相当する核酸分子に、または本発明のマーカーに相当するタンパク質をコードする核酸分子にストリンジェントな条件下にてハイブリダイズする。本明細書において使用する場合、「ストリンジェントな条件下にてハイブリダイズする」という用語は、少なくとも６０％、少なくとも６

５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、または少なくとも８５％互いに同一であるヌクレオチド配列が、典型的には互いに対してハイブリダイズされたままである、ハイブリダイゼーションおよび洗浄についての条件を記載することを意図する。このようなストリンジェントな条件は当業者には公知であり、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、Ｎ．Ｙ．（１９８９年）の項６．３．１～６．３．６に見出すことができる。別のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非限定的例は、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中の約４５℃でのハイブリダイゼーション、それに続く１回もしくは複数の０．２×ＳＳＣ、０．１％ＳＤＳ中の５０～６５℃での洗浄である。

【０２２０】

本発明にはまた、分子ビーコンが試料中の本発明の核酸分子の存在を定量化するのに有用であるように、本発明の核酸分子に相補的な少なくとも１つの領域を有する分子ビーコン核酸分子が含まれる。「分子ビーコン」核酸は、１対の相補的領域を含み、かつそれと関連するフルオロフォアおよび蛍光クエンチャーを有する核酸分子である。フルオロフォアおよびクエンチャーは、相補的領域が互いにアニーリングするとき、フルオロフォアの蛍光がクエンチャーによってクエンチされるような配向で核酸の異なる部分と会合している。核酸分子の相補的領域が互いにアニーリングされていないとき、フルオロフォアの蛍光はより少ない程度にクエンチされる。分子ビーコン核酸分子は、例えば、米国特許第５，８７６，９３０号に記載されている。

【０２２１】

ＩＶ．単離されたタンパク質および抗体

本発明の一態様は、本発明の個々のマーカー、およびその生物活性部分に相当する単離されたタンパク質に関する。一実施形態では、マーカーに相当する天然ポリペプチドは、標準的なタンパク質精製技術を使用した適当な精製スキームによって細胞または組織源から単離することができる。別の実施形態では、本発明のマーカーに相当するポリペプチドは、組換えＤＮＡ技術によって生成される。組換え発現に代わるものとして、本発明のマーカーに相当するポリペプチドは、標準的ペプチド合成技術を使用して化学的に合成することができる。

【０２２２】

「単離された」もしくは「精製された」タンパク質、またはその生物活性部分は、タンパク質が由来する細胞または組織源からの細胞材料もしくは他の汚染タンパク質が実質的に存在せず、または化学的に合成されたとき、化学的前駆体もしくは他の化学物質が実質的に存在しない。「細胞材料を実質的に含まない」という言葉には、タンパク質の調製物が含まれ、タンパク質が、タンパク質がそこから単離または組換え技術によって産生される細胞の細胞成分から分離している。したがって、細胞材料を実質的に含まないタンパク質には、（乾重量で）約３０％未満、約２０％未満、約１０％未満、または約５％未満の異種タンパク質（本明細書においてまた「汚染タンパク質」と称される）を有するタンパク質の調製物が含まれる。タンパク質またはその生物活性部分が組換え技術によって産生されるとき、タンパク質またはその生物活性部分は培地が実質的に存在しなくてもよく、すなわち、培地は、タンパク質調製物の容量の約２０％未満、約１０％未満、または約５％未満を表す。タンパク質が化学合成によって生成されるとき、これは化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まなくてもよく、すなわち、化学的前駆体、またはタンパク質の合成に関与する他の化学物質から分離している。したがって、タンパク質のこのような調製物は、（乾重量で）約３０％未満、約２０％未満、約１０％未満、約５％未満の対象のポリペプチド以外の化学的前駆体または化合物を有する。

【０２２３】

本発明のマーカーに相当するポリペプチドの生物活性部分には、全長タンパク質より少ないアミノ酸を含み、かつ相当する完全長タンパク質の少なくとも１つの活性を示す、本発明の本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物、例えば、本明

細書において同定されたＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）に相当するタンパク質のアミノ酸配列と十分に同一な、またはそれから由来するアミノ酸配列を含むポリペプチドが含まれる。典型的には、生物活性部分は、相当するタンパク質の少なくとも１つの活性を有するドメインまたはモチーフを含む。本発明のタンパク質の生物活性部分は、例えば、１０、２５、５０、１００またはそれを超えるアミノ酸長のポリペプチドでよい。さらに、タンパク質の他の領域が欠失している他の生物活性部分を組換え技術によって調製することができ、本発明のポリペプチドの天然形態の機能活性の１つもしくは複数について判定することができる。

【０２２４】

特定の実施形態では、ポリペプチドは、本明細書において開示されている核酸分子によってコードされるタンパク質のアミノ酸配列を有する。他の有用なタンパク質は、これらの配列の１つと実質的に同一（例えば、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８６％、少なくとも８７％、少なくとも８８％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、少なくとも９９．５％またはそれを超える）であり、相当する完全長タンパク質のタンパク質の機能活性を保持するが、アミノ酸配列が異なる。

【０２２５】

２つのアミノ酸配列または２つの核酸の同一性パーセントを決定するために、配列を、最適な比較をする目的のために整列させる（例えば、第２のアミノまたは核酸配列との最適な整列のために、ギャップを、第１のアミノ酸の配列または核酸配列中に導入することができる）。次いで、相当するアミノ酸の位置またはヌクレオチドの位置におけるアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第１の配列における位置が、第２の配列における相当する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占められているとき、分子は、その位置において同一である。２つの配列の間の同一性パーセントは、配列によって共有されている同一の位置の数の関数である（すなわち、同一性％＝同一の位置の数／位置（例えば、重複位置）の総数×１００）。一実施形態では、２つの配列は、同じ長さである。

【０２２６】

２つの配列の間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。２つの配列の比較のために利用される数学的アルゴリズムの別の非限定的例は、ＫａｒｌｉｎおよびＡｌｔｓｃｈｕｌ（１９９０年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８７巻：２２６４～２２６８頁のアルゴリズムである（ＫａｒｌｉｎおよびＡｌｔｓｃｈｕｌ（１９９３年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０巻：５８７３～５８７７頁におけるように変更されている）。このようなアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌら、（１９９０年）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２１５巻：４０３～４１０頁のＮＢＬＡＳＴおよびＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれる。ＢＬＡＳＴヌクレオチドサーチは、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝１００、ワード長＝１２で行い、本発明の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得ることができる。ＢＬＡＳＴタンパク質サーチは、ＸＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝５０、ワード長＝３で行い、本発明のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較の目的のためのギャップ入りの整列を得るために、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴは、Ａｌｔｓｃｈｕｌら、（１９９７年）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、２５巻：３３８９～３４０２頁に記載されているように利用することができる。代わりに、ＰＳＩ－Ｂｌａｓｔを使用して、分子間の遠位の関係を検出する繰り返しサーチを行うことができる。ＢＬＡＳＴ、Ｇａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴ、およびＰＳＩ－Ｂｌａｓｔプログラムを利用するとき、各々のプログラム（例えば、ＸＢＬＡＳＴおよびＮＢＬＡＳＴ）のデフォルトパラメーターを使用することができる。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ

．ｇｏｖを参照されたい。配列の比較のために利用する数学的アルゴリズムの別の非限定的例は、ＭｙｅｒｓおよびＭｉｌｌｅｒ、（１９８８年）Ｃｏｍｐｕｔ Ａｐｐｌ Ｂｉｏｓｃｉ、４巻：１１～７頁のアルゴリズムである。このようなアルゴリズムは、ＧＣＧ配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部であるＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれている。アミノ酸配列を比較するためのＡＬＩＧＮプログラムを利用するとき、ＰＡＭ１２０重量残基表、１２のギャップ長さペナルティー、および４のギャップペナルティーを使用することができる。局所配列類似性および整列の領域を同定するためのまた別の有用なアルゴリズムは、ＰｅａｒｓｏｎおよびＬｉｐｍａｎ（１９８８年）Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． ＵＳＡ、８５巻：２４４４～２４４８頁に記載されているようなＦＡＳＴＡアルゴリズムである。ヌクレオチドまたはアミノ酸配列を比較するためのＦＡＳＴＡアルゴリズムを使用するとき、例えば、ＰＡＭ１２０重量残基表を、２のｋ－ｔｕｐｌｅ値で使用することができる。

【０２２７】

２つの配列の間の同一性パーセントは、ギャップを許容し、または許容することなく、上記のものと同様の技術を使用して決定することができる。同一性パーセントの計算において、正確なマッチのみを計数する。

【０２２８】

本発明のマーカーに相当する単離されたポリペプチド、またはその断片を、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体調製のための標準的な技術を使用して、抗体を生じさせるための免疫原として使用することができる。完全長ポリペプチドもしくはタンパク質を使用することができ、または代わりに、本発明は、免疫原として使用するための抗原ペプチド断片を提供する。本発明のタンパク質の抗原ペプチドは、本発明のポリペプチドの１つのアミノ酸配列の少なくとも８の（または少なくとも１０の、少なくとも１５の、少なくとも２０の、または少なくとも３０またはそれを超える）アミノ酸残基を含み、ペプチドに対して産生される抗体が、タンパク質が相当する本発明のマーカーと特異的免疫複合体を形成するように、タンパク質のエピトープを包含する。抗原ペプチドに包含される例示的なエピトープは、タンパク質の表面上に位置する領域、例えば、親水性領域である。疎水性配列分析、親水性配列分析、または同様の分析を使用して、親水性領域を同定することができる。

【０２２９】

免疫原を典型的には使用して、適切な（すなわち、免疫適格性の）対象（ウサギ、ヤギ、マウス、もしくは他の哺乳動物、または脊椎動物など）を免疫化することによって、抗体を調製する。適当な免疫原性調製物は、例えば、組換え技術によって発現した、または化学的に合成されたポリペプチドを含有することができる。調製物には、アジュバント（フロイント完全もしくは不完全アジュバントなど）、または同様の免疫賦活性剤をさらに含むことができる。

【０２３０】

したがって、本発明の別の態様は、本発明のポリペプチドに対して作られる抗体に関する。「抗体」および「抗体物質」という用語は、本明細書において互換的に使用されるように、免疫グロブリン分子、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、本発明のポリペプチドなどの、抗原に特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子を意味する。本発明の所与のポリペプチドに特異的に結合する分子は、ポリペプチドに結合するが、試料中、例えば、ポリペプチドを天然で含有する生体試料中の他の分子に実質的に結合しない分子である。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例には、抗体をペプシンなどの酵素によって処理することによって生じさせることができるＦ（ａｂ）およびＦ（ａｂ’）$_2$断片が含まれる。本発明は、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体を提供する。「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」という用語は、本明細書において使用する場合、特定のエピトープと免疫反応することができる抗原結合部位の１つの種のみを含有する抗体分子の集団を意味する。

【０２３１】

ポリクローナル抗体は、適切な対象を、免疫原として本発明のポリペプチドで免疫化することによって上記のように調製することができる。抗体産生細胞は、対象から得ることができ、これを使用して、KohlerおよびMilstein（1975年）Nature、256巻：495～497頁によって最初に記載されたハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術（Kozborら、1983年、Immunol. Today、4巻：72頁を参照されたい）、EBV－ハイブリドーマ技術（Coleら、77～96頁、Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy、Alan R. Liss, Inc.、1985年を参照されたい）、またはトリオーマ技術などの標準的な技術によってモノクローナル抗体を調製することができる。ハイブリドーマを産生するための技術は、周知である（一般に、Current Protocols in Immunology、Coliganら編、John Wiley & Sons、New York、1994年を参照されたい）。本発明のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞は、例えば、標準的ELISAアッセイを使用して、対象のポリペプチドに結合する抗体についてハイブリドーマ培養上清をスクリーニングすることによって検出される。

【0232】

モノクローナル抗体分泌ハイブリドーマの調製に代わるものとして、モノクローナル抗体は、対象のポリペプチドを有する組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリー（例えば、抗体ファージディスプレイライブラリー）をスクリーニングすることによって、同定および単離することができる。ファージディスプレイライブラリーを生じさせ、スクリーニングするためのキットは市販である（例えば、Pharmacia Recombinant Phage Antibody System、カタログ番号27－9400－01；およびStratagene SurfZAPファージディスプレイキット、カタログ番号240612）。さらに、抗体ディスプレイライブラリーを生じさせ、スクリーニングすることにおいて使用するために特に適している方法および試薬の例は、例えば、米国特許第5，223，409号；PCT出願公開第WO92／18619号；PCT出願公開第WO91／17271号；PCT出願公開第WO92／20791号；PCT出願公開第WO92／15679号；PCT出願公開第WO93／01288号；PCT出願公開第WO92／01047号；PCT出願公開第WO92／09690号；PCT出願公開第WO90／02809号；Fuchsら、（1991年）Bio／Technology、9巻：1370～1372頁；Hayら、（1992年）Hum. Antibod. Hybridomas、3巻：81～85頁；Huseら、（1989年）Science、246巻：1275～1281頁；Griffithsら、（1993年）EMBO J.、12巻：725～734頁に見出すことができる。

【0233】

さらに、ヒトおよび非ヒト部分の両方を含む組換え抗体（キメラおよびヒト化モノクローナル抗体など）は、標準的組換えDNA技術を使用して作製することができる。このようなキメラおよびヒト化モノクローナル抗体は、当技術分野で公知の組換えDNA技術によって、例えば、PCT出願公開第WO87／02671号；欧州特許出願第184，187号；欧州特許出願第171，496号；欧州特許出願第173，494号；PCT出願公開第WO86／01533号；米国特許第4，816，567号；欧州特許出願第125，023号；Betterら、（1988年）Science、240巻：1041～1043頁；Liuら、（1987年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84巻：3439～3443頁；Liuら、（1987年）J. Immunol.、139巻：3521～3526頁；Sunら、（1987年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84巻：214～218頁；Nishimuraら、（1987年）Cancer Res.、47巻：999～1005頁；Woodら、（1985年）Nature、314巻：446～449頁；およびShawら、（1988年）J. Natl. Cancer Inst.、80巻：1553～1559頁；Morrison（1985年）Science、229巻：1202～120

７頁；Ｏｉら、（１９８６年）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、４巻：２１４頁；米国特許第５，２２５，５３９号；Ｊｏｎｅｓら、（１９８６年）Ｎａｔｕｒｅ、３２１巻：５５２～５２５頁；Ｖｅｒｈｏｅｙａｎら、（１９８８年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、２３９巻：１５３４頁；およびＢｅｉｄｌｅｒら、（１９８８年）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４１巻：４０５３～４０６０頁に記載されている方法を使用して生成することができる。

【０２３４】

完全ヒト抗体は、内在性免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子を発現できないが、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを使用して生成することができる。ヒト抗体を生成するためのこの技術の概要については、ＬｏｎｂｅｒｇおよびＨｕｓｚａｒ（１９９５年）Ｉｎｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１３巻：６５～９３頁を参照されたい。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を生成するためのこの技術、ならびにこのような抗体を生成するためのプロトコールの詳細な考察については、例えば、米国特許第５，６２５，１２６号；米国特許第５，６３３，４２５号；米国特許第５，５６９，８２５号；米国特許第５，６６１，０１６号；および米国特許第５，５４５，８０６号を参照されたい。さらに、Ａｂｇｅｎｉｘ、Ｉｎｃ．（Ｆｒｅｅｍｏｎｔ、ＣＡ）などの会社に、上記のものと同様の技術を使用して選択した抗原に対して作られるヒト抗体を提供させることができる。

【０２３５】

本発明のマーカーに相当するポリペプチドに対して作られる抗体（例えば、モノクローナル抗体）を使用して、標準的な技術（アフィニティークロマトグラフィーまたは免疫沈降法など）によってポリペプチドを単離することができる。さらに、マーカー発現のレベルおよびパターンを判定するために、このような抗体を使用して、（例えば、細胞ライセートまたは細胞上清中の）マーカーを検出することができる。抗体をまた診断的に使用して、臨床試験手順の一部として組織または体液中（例えば、腫瘍細胞を含有する体液中）のタンパク質レベルをモニターすることができ、例えば、所与の治療レジメンの有効性を例えば決定することができる。抗体を検出可能な物質にカップリングすることによって、検出を促進することができる。検出可能な物質の例には、これらに限定されないが、様々な酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、生物発光材料、および放射性物質が含まれる。適切な酵素の例には、これらに限定されないが、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼが含まれ、適切な補欠分子族複合体の例には、これらに限定されないが、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが含まれ、適切な蛍光材料の例には、これらに限定されないが、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、塩化ダンシルまたはフィコエリトリンが含まれ、発光材料の例には、これらに限定されないが、ルミノールが含まれ、生物発光材料の例には、これらに限定されないが、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンが含まれ、適切な放射性物質の例には、これらに限定されないが、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{35}Ｓまたは^{3}Ｈが含まれる。

【０２３６】

Ｖ．キット

キットは、本発明のマーカーを特に検出するための、少なくとも１つの試薬、例えば、プローブを含む、任意の製品（例えば、パッケージまたは容器）であり、製品は、本発明の方法を行うためにユニットとして販売促進、分配、または販売される。本発明の組成物、キット、および方法を本発明の方法を行うために使用されるとき、本発明の本明細書に記載されている遺伝子変異および／または遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されるＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）は、陽性結果が、相当する段階、グレード、組織学的タイプ、または良性／前悪性／悪性の性質の、がんに罹患している対象の少なくとも約２０％、少なくとも約４０％、少なくとも約６０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９９％または１００％において得られるよ

うに選択することができる。特定の実施形態では、本発明のマーカーまたはマーカーのパネルは、母集団について約１０％超のＰＰＶ（陽性的中度）が得られるように選択することができる（例えば、９９．５％超のアッセイ特異性とカップリングさせる）。

【０２３７】

本明細書に記載されている複数の遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されるＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）が、本発明の組成物、キット、および方法において使用されるとき、各マーカーの量、構造、および／もしくは活性、または発現のレベルもしくはコピー数は、単一の反応混合物中で（すなわち、各マーカーについて異なる蛍光プローブなどの試薬を使用して）、または本明細書に記載されている遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されているＡＬＫもしくはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／もしくは遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）の１つもしくは複数に相当する個々の反応混合物中で、同じタイプの非がん性試料における複数のマーカーの各々の正常な量、構造、および／もしくは活性、または発現のレベルもしくはコピー数と比較することができる。複数の遺伝子（例えば、ＡＬＫ遺伝子）変異および／または遺伝子産物（例えば、表１に記載されている、または本明細書に記載されているマーカー）が使用される場合、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、１０、またはそれを超える個々のマーカーを使用または同定することができる。

【０２３８】

本発明には、試料（例えば、保管された組織試料、または対象から得た試料）中のがん細胞をアッセイするための組成物、キット、および方法が含まれる。これらの組成物、キット、および方法は、必要に応じ、組成物、キット、および方法が、特定のタイプの試料で使用するために適合されることを除いて上記のものと実質的に同じである。例えば、試料がパラフィン処理された保管されたヒト組織試料であるとき、本発明の組成物、本発明のキット、または使用される方法において、化合物の比を調節することが必要であり得る。このような方法は、当技術分野で周知であり、当業者の技術の範囲内である。

【０２３９】

したがって、本発明には、（例えば、対象試料などの試料中の）がん細胞の存在を評価するためのキットが含まれる。キットは、本明細書に記載されている遺伝子変異および／または遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されるＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）を同定することができる、例えば、本明細書に記載されている遺伝子変異および／または遺伝子産物、例えば、本明細書において同定されるＡＬＫまたはＭＡＰＫ活性化遺伝子変異および／または遺伝子産物（例えば、表１もしくは表５に記載されているマーカー）に相当する核酸またはポリペプチドと特異的に結合することができる、１つもしくは複数の試薬を含むことができる。本発明のマーカーに相当するポリペプチドと結合するための適切な試薬には、抗体、抗体誘導体、抗体フラグメントなどが含まれる。核酸（例えば、ゲノムＤＮＡ、ｍＲＮＡ、スプライシングされたｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、または同様のもの）と結合するための適切な試薬には、相補的核酸が含まれる。例えば、核酸試薬には、基質に固定したオリゴヌクレオチド（標識または非標識）、基質と結合していない標識されたオリゴヌクレオチド、ＰＣＲプライマーの対、分子ビーコンプローブなどを含むことができる。

【０２４０】

本発明のキットは、本発明の方法を行うために有用なさらなる成分を任意選択で含むことができる。例示として、キットは、相補的核酸をアニーリングするため、または抗体とそれが特異的に結合するタンパク質とを結合するために適した液体（例えば、ＳＳＣ緩衝液）、１つもしくは複数の試料コンパートメント、本発明の方法の実行について記載した教材、正常細胞の試料、がん細胞の試料などを含むことができる。

【０２４１】

本発明のキットは、マーカーのタンパク質レベルまたはタンパク質活性を決定するために有用な試薬を含むことができる。別の実施形態では、本発明のキットは、マーカーのメチル化状態を決定するための試薬を含むことができ、またはマーカーの構造の変化、例えば、変異の存在を決定するための試薬を含むことができる。

【０２４２】

ＶＩ．予測的医薬品

本発明はまた、診断アッセイ、薬理ゲノミクス、および臨床試験のモニタリングが予測の目的のために使用され、それにより予防的に個体を治療する、予測的医薬品の分野に関する。したがって、本発明の一態様は、がんを有する、またはがんを発症する危険性がある個体が、ＨＳＰ９０阻害剤が媒介する治療に対して反応する可能性がより高いかについて決定するために、本発明の１つもしくは複数のマーカーに相当するポリペプチドまたは核酸の量、構造、および／または活性を決定するためのアッセイに関する。

【０２４３】

したがって、一態様では、本発明は、がんを有する対象がＨＳＰ９０阻害薬剤（単独で、または組み合わせた）による治療に対して反応する可能性が高いかについて決定するための方法に関する。別の態様では、本発明は、疾患の時間経過を予測する方法に関する。また別の態様では、方法は、疾患の時間経過における有意事象の確率を予測する方法に関する。特定の実施形態では、方法は、本明細書に記載のＨＳＰ９０阻害薬剤による治療（単独で、または組み合わせた）に対する反応性と関連するバイオマーカーまたはバイオマーカーの組合せを検出することと、対象がＨＳＰ９０阻害薬剤による治療（単独で、または組み合わせた）に対して反応する可能性が高いかについて決定することとを含む。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、方法は、１つもしくは複数のＡＬＫ変化、例えば、ＡＬＫ変異を検出するための、対象、例えば、がんと診断された、またはがんを有すると疑われる患者（例えば、がんの症状を示す）からの生物学的組織試料の判定、例えば、細胞遺伝学的スクリーニングを伴う。スクリーニングされる細胞遺伝学的異常の代表的な非限定的例には、下記の１つもしくは複数が含まれる。ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合体、ＫＩＦ５Ｂ－ＡＬＫ融合体、ＴＧＦ－ＡＬＫ融合体、ＮＰＭ－ＡＬＫ融合体、ＡＬＫ遺伝子コピー数の変化、およびＡＬＫ点変異（本明細書に記載のＦ１２４５Ｉ／Ｌ、Ｌ１２０４Ｆ、Ａ１２００Ｖ、Ｌ１１９６Ｍ、Ｉ１１７０Ｓ、Ｔ１１５１Ｍ、Ｒ１２７５Ｑ、Ｆ１１７４Ｖ／Ｃ／Ｌ、Ｔ１０８７Ｉ、およびＫ１０６２Ｍの１つもしくは複数を含む）。

【０２４５】

他の実施形態では、方法は、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つもしくは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つもしくは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１における１つもしくは複数の変化を検出するための、対象、例えば、がんと診断された、またはがんを有すると疑われる患者（例えば、がんの症状を示す）からの生物学的組織試料の判定、例えば、細胞遺伝学的スクリーニングを伴う。遺伝子変異の例は、例えば、Ｃａｔａｌｏｇｕｅ ｏｆ Ｓｏｍａｔｉｃ Ｍｕｔａｔｉｏｎｓ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ（ＣＯＳＭＩＣ）（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｓａｎｇｅｒ．ａｃ．ｕｋ／ｇｅｎｅｔｉｃｓ／ＣＧＰ／ｃｏｓｍｉｃ／）に記載されている。

【０２４６】

ＥＧＦＲ変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２４７】

【数１】

Couzin J., (2004) *Science* 305:1222-1223; Fukuoka, M. et al., (2003) *J. Clin. Oncol.* 21:2237-46; Lynch et al., (2004) *NEJM* 350(21):2129-2139; Paez et al. (2004) *Science* 304:1497-1500; Pao, W. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2004) 101(36):13306-11; Gazdar A. F. et al., *Trends Mol Med.* (2004) 10(10):481-6; Huang S. F. et al. (2004) *Clin Cancer Res.* 10(24):8195-203; Couzin J. *Science* (2004) 305(5688):1222-3; Sordella R. et al. (2004) 305(5687):1163-7; Kosaka T. et al. (2004) *Cancer Res.* 64(24):8919-23; Marchetti A. et al. *J Clin Oncol.* (2005) 23(4):857-65; Tokumo M. et al. (2005) *Clin Cancer Res.* 11(3):1167-1173; Han S. W. et al. (2005) *J Clin Oncol.* 23(11):2493-501; Mitsudomi T. et al. (2005) *J Clin Oncol.* 23(11):2513-20; Shigematsu H. et al. *J Natl Cancer Inst.* 97(5):339-46; Kim K. S. et al., (2005) *Clin Cancer Res.* 11(6):2244-51; Cappuzzo F. et al. (2005) *J Natl Cancer*

【０２４８】
【数２】

Inst. 97(9):643-55; Cortes-Funes H. et al. *Ann Oncol.* (2005) 16(7):1081-6; Sasaki H. et al. (2005) *Clin Cancer Res.* 11(8):2924-9; Chou T. Y. et al., (2005) *Clin Cancer Res.* 11(10):3750-7; Pao W. et al. (2005) *PLoS Med.* 2(3):e73; Sasaki H. et al. (2005) *Int J Cancer.* 118(1):180-4; Eberhard D. A. et al. (2005) *J Clin Oncol.* 23(25):5900-9; Takano T. et al. (2005) *J Clin Oncol.* 23(28):6829-37; Tsao M. S. et al., (2005) *N Engl J Med.* 353(2):133-44; Mu X. L. et al. (2005) *Clin Cancer Res.* 11(12):4289-94; Sonobe M. et al. (2005) *Br J Cancer.* 93(3):355-63; Taron M. et al. (2005) *Clin Cancer Res.* 11(16):5878-85; Mukohara T. et al., (2005) *J Natl Cancer Inst.* 97(16):1185-94; Zhang X. T. et al. (2005) *Oncol.* 16(8):1334-42.

ＥＧＦＲ遺伝子または遺伝子産物における例示的な変化としては、ＥＧＦＲエキソンの欠失（例えば、ＥＧＦＲエキソン１９の欠失）および／またはエキソンの変異（例えば、Ｌ８５８Ｒ／Ｔ７９０Ｍ　ＥＧＦＲ変異）が挙げられるがこれらに限定されない。他の例示的な変化としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：

【０２４９】

【化１２】

EGFR_ D770_N771>AGG;

EGFR_D770_N771insG; EGFR_D770_N771insG; EGFR_D770_N771insN;

EGFR_E709A; EGFR E709G; EGFR_709H; EGFR_E709K; EGFR_E709V;

EGFR_E746_A750del; EGFR_E746_A750del, T751A; EGFR_E746_A750del, V ins;

EGFR_E746_T751del, I ins; EGFR_E746_T751del, S752A; EGFR_E746_T751del,

S752D; EGFR_E746_T751 del, V ins; EGFR__G719A; EGFR_G719C; EGFR_G719S:

EGFR_H773_V774insH; EGFR__H773_V774insNPH; EGFR_H773_V774insPH;

EGFR_H773>NPY; EGFR_L747_E749del; EGFR_L747_E749del, A750P;

EGFR_L747_S752del; EGFR_L747_S752del, P753S; EGFR_L747_S752del, Q ins;

EGFR_L747_T750del, P ins; EGFR_L747_T751del; EGFR_L858R; EGFR_L861Q;

EGFR_M766_A767insAI; EGFR_P772_H773insV; EGFR S752_1759del;

EGFR_S768I; EGFR_T790M; EGFR_V769_D770insASV; EGFR_V769_D770insASV:

および EGFR_V774_C775insHV.

Ｋ－Ｒａｓ、Ｈ－ＲａｓおよびＮ－Ｒａｓが挙げられるがこれらに限定されないＲａｓ変異の例としては、例えば、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｎ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３ＮおよびＱ６１Ｒが挙げられるがこれらに限定されない、コドン１２、１３および／または６１における変異が挙げられる。ＮＲＡＳ変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５０】

【数３】

Bacher U. et al. (2006) *Blood* 107:3847-53;

Banerji U. et al. (2008) *Mol Cancer Ther.* 7:737-9. **KRAS 変異の例は、例えば以下に記載される：** Tang W. Y. et al. (1999) *Br J Cancer* 81(2):237-41; Burmer G. C. et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86(7): 2403–7; Almoguera C. et al. (1988) *Cell* 53(4): 549–54; Tam I. Y. et al. (2006), *Clin. Cancer Res.* 12(5): 1647–53;およびRatner, E. et al. (2010) *Cancer Res* 70(16): OF1-OF7..

ＫＲＡＳ遺伝子における変化の非限定的な例は、以下からなる群より選択される：

【０２５１】

【化１３】

KRAS_Gl2C, KRAS_G12R,

KRAS_G12D,. KRAS_G12A, KRAS_G12S, KRAS_G12V, KRAS_G13D,

KRAS_G13S, KRAS_G13C, KRAS_G13V, KRAS_Q61H, KRAS_Q61R, KRAS_Q61P,

KRAS_Q61L, KRAS_Q61K, KRAS_Q61E, KRAS_A59T **および** KRAS_G12F.

ＰＩＫ３ＣＡ変異の例は、例えば、以下に記載されている：Ｓａｍｕｅｌｓ Ｙ．ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０４（５６７０）：５５４；Ｋｕｒｔｉｓ Ｅ．ｅｔ ａｌ．（２００４）Ｃａｎｃｅｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ＆ Ｔｈｅｒａｐｙ ３（８）：７７２－７７５；Ｓｔｅｍｋｅ－Ｈａｌｅ Ｋ．ｅｔ ａｌ．（２００８）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６８（１５）：６０８４－９１。

【０２５２】

ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆのうちの１つまたは複数）遺伝子または遺伝子産物における変異の例としては、Ｂ－Ｒａｆのコドン６００における変異が挙げられるがこれに限定されない。ＢＲＡＦ変異の例は、例えばＤａｖｉｅｓ Ｈ．ｅｔ ａｌ．（２００２）Ｎａｔｕｒｅ ４１７：９４９－９５４に記載されている。ＢＲＡＦ遺伝子または遺伝子産物における例示的な変化としては、以下が挙げられるがこれらに限定されない：

【０２５３】

【化１４】

BRAF_D594G, BRAF_D594V, BRAF_F468C, BRAF_F595L, BRAF G464E, BRAF_G464R, BRAF_G464V, BRAF_G466A, BRAF_G466E, BRAF_G466R, BRAF_G466V, BRAF_G469A, BRAF_G469E, BRAF_G469R, BRAF_G469R, BRAF_G469S, BRAF_G469V, BRAF_G596R, BRAF_K601E, BRAF_K601N, BRAF L597Q, BRAF_L597R, BRAF_L597S, BRAF_L597V, BRAF_T599I, BRAF_V600E, BRAF_V600K, BRAF_V600L, **および** BRAF_V600R.

ＰＴＥＮ変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５４】

【数４】

Minaguchi T. et al. (2001) *Clin Cancer Res.* 7(9):2636-42; Latta E. et al. (2002) *Curr Opin Obstet Gynecol.* 14(1):59-65; Eng C. (2003) *Hum Mutat.* 22(3):183-98; Konopka B. et al. (2002) *Cancer Lett.* 178(1):43-51; Stemke-Hale K. et al. (2008) *Cancer Res.* 68(15):6084-91.

ＡＫＴ変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５５】

【数５】

Stemke-Hale K. et al. (2008) *Cancer Res.* 68(15):6084-91; Davies M. A. et al. (2008) *Br J Cancer.* 99(8):1265-8; Askham J. M. (2010) *Oncogene* 29(1):150-5; Shoji K. et al (2009) *Br J Cancer.* 101(1):145-8.

ＴＰ５３変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５６】

【数６】

Soussi T. (2007) *Cancer Cell* 12(4):303-12; Cheung K. J. (2009) *Br J Haematol.* 146(3):257-69; Pfeifer G. P. et al. (2009) *Hum Genet.* 125(5-6):493-506; Petitjean A. et al. (2007) *Oncogene* 26(15):2157-65.

ＣＴＮＮＢ１（β－カテニン）変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５７】

【数７】

Polakis P. et al. (2000) *Genes Dev.* 14(15):1837-51; Miyaki M. et al. (1999) *Cancer Res.* 59(18):4506-9; Tejpar S. et al. (1999) *Oncogene* 18(47):6615-20; Garcia-Rostan G. et al. (1999) *Cancer Res.* 59(8):1811-5; Chan E. F. et al. (1999) *Nat Genet.* 21(4):410-3; Legoix P. et al. (1999) *Oncogene* 18(27):4044-6; Mirabelli-Primdahl L. et al. (1999) *Cancer Res.* 59(14):3346-51.

ＮＯＴＣＨ変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５８】

【数８】

Collins B. J. et al. (2004) *Semin Cancer Biol.* 14(5):357-64; Callahan R. et al. (2001) *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 6(1):23-36; Mansour M. R. et al. (2006) *Leukemia* 20:537-539; de Celis J. F. et al. (1993) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90(9):4037-41.

ＦＬＴ３変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２５９】

【数９】

Kiyoi H. et al. (2006) *Methods Mol Med.* 125:189-97; Small D. (2006) *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006:178-84; Kiyoi H. et al. (2006) *Int J Hematol.* 2006 May;83(4):301-8; Schnittger S. et al. (2004) *Acta Haematol.* 112(1-2):68-78.

ＥＲＢＢ２変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２６０】

【数１０】

米国特許出願公開第2008/0206248**号**; Lee J. W. et al. (2006) *Clin Cancer Res.* 12(1):57-61; Lee J. W. et al. (2006) *Cancer Lett.* 237(1):89-94; Cancer Genome Atlas Research Network (2008) *Nature* 455(7216):1061-8.

ＨＳＰ９０ＡＡ１変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２６１】

【数１１】

Cancer Genome Atlas Research Network (2008) *Nature* 455(7216):1061-8; Parsons D. W. et al. (2008) *Science* 321;1807-12; Sjöblom T. et al. (2006) *Science* 314;268-74.

ＨＳＰ９０ＡＢ１変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２６２】

【数１２】

Dalgliesh G. L. et al. (2010) *Nature* 463;360-3; Parsons D. W. et al. (2008) *Science* 321;1807-12; Sjöblom T. et al. (2006) *Science* 314;268-74.

ＮＦ１変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２６３】

【数１３】

Thomson S. A. et al. (2002) *J Child Neurol.* 17(8):555-61; Bottillo I. et al. (2009) *J Pathol.* 217(5):693-701; Kluwe L. et al. (2003) *J Med Genet.* 40(5):368-71.

ＳＴＫ１１変異の例は、例えば以下に記載されている：

【０２６４】

【数１４】

Resta N. et al. (1998) Cancer Res. 58(21):4799-801; Nishioka Y. et al. (1999) *Jpn J Cancer Res.* 90(6):629-32; Marignani P. A. (2005) *J Clin Pathol.* 58(1):15-9; Katajisto P. et al. (2007) *Biochim Biophys Acta.* 1775(1):63-75.

当技術分野において公知の任意の発癌性変化は、当技術分野において公知の本発明の方法を使用して判定または治療することができる。

【０２６５】

スクリーニング方法の結果およびその解釈は、ＨＳＰ９０阻害薬剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）による治療（単独でまたは組み合わせた）に対する患者の反応を予測する。本発明によれば、遺伝子または遺伝子産物、例えば、ＡＬＫおよび／またはＭＡＰＫ経路変異における１つもしくは複数の発癌性変化の存在は、ＨＳＰ９０阻害薬剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）による治療（単独で、または組み合わせた）が、変異を有さない患者のそれらに対して、がん細胞に対する増強した治療上の利点を実現することを示す。

【０２６６】

本明細書においてさらに考察するように、当技術分野で周知の種々の方法および技術は、スクリーニング分析（標準的核型法による分裂中期細胞遺伝学分析、ＦＩＳＨ、スペクトル核型決定またはＭＦＩＳＨ、および比較ゲノムハイブリダイゼーションを含めた）のために使用することができる。

【０２６７】

一実施形態では、本発明の方法は、患者から単離した細胞から得たＤＮＡ試料、例えば、ゲノムＤＮＡ試料（染色体の試料など）と、細胞遺伝学的異常（例えば、本明細書に記載されている変異）と関連する染色体領域におけるゲノムＤＮＡに対して特異的であり、かつストリンジェントな条件下にてそのゲノムＤＮＡにハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブとを接触させ、患者の細胞における異常の１つもしくは複数の存在もしくは不存在を決定することを含む。分析の結果は、治療剤、特に、ＨＳＰ９０を阻害する薬剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）による治療（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせた）に対する患者の予想される反応を予測する。

【０２６８】

さらに別の実施形態では、１つもしくは複数の変化、例えば、ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）の変化を、所定の間隔、例えば、第１の時点および少なくとも

それに続く時点で評価する。一実施形態では、時間経過を、患者の疾患の経過中の有意事象の間の時間を決定することによって測定し、測定によって、患者が長い時間経過を有するかについて予測する。別の実施形態では、有意事象は、一次診断から死亡への進行である。別の実施形態では、有意事象は、一次診断から転移性疾患への進行である。別の実施形態では、有意事象は、一次診断から再発への進行である。別の実施形態では、有意事象は、転移性疾患から死亡への進行である。別の実施形態では、有意事象は、転移性疾患から再発への進行である。別の実施形態では、有意事象は、再発から死亡への進行である。特定の実施形態では、時間経過は、１つもしくは複数の全生存率、無増悪期間および／またはＲＥＣＩＳＴもしくは他の反応基準の使用に関して測定する。

【０２６９】

特定の実施形態では、所定の尺度または値を、患者試料を少なくとも２つの患者亜群に分けることによって得る。特定の実施形態では、亜群の数は２つであり、患者試料を１つもしくは複数の発癌性異常、例えば、ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）変異（複数可）を有する患者の亜群、および発癌性異常を有さない亜群に分ける。特定の実施形態では、対象におけるＡＬＫ変異またはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）の状態を、ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）変異（複数可）を有する亜群、または有さない亜群と比較する。患者が、ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）において変異（複数可）を有する場合、患者は、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）（単独で、または組み合わせた）に対して反応する可能性が高く、かつ／または患者は、長い時間経過を有する可能性の増加を有し、もしくはそれを有する可能性が高い。特定の実施形態では、亜群の数は、特定の発癌性異常、例えば、ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）変異と相関する予測されるＨＳＰ９０阻害剤の有効性の層別化によって、これらだけに限定されないが、３つの亜群、４つの亜群、５つの亜群および６つの亜群を含めて２超である。特定の実施形態では、反応する可能性は、全生存率、無増悪期間および／またはＲＥＣＩＳＴ基準の使用に関して測定する。

【０２７０】

他の実施形態では、方法には、本明細書に記載されている変化、例えば、ＡＬＫまたはＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）の変化を有するがんまたは腫瘍を有する対象が、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３および／またはＩＰＩ－５０４）による治療（単独で、または組み合わせた）に対して反応する可能性が高いかについて決定すること；治療レジメンを決定すること（例えば、治療の経過、投与、治療スケジュールまたは時間経過、併用療法を変化させること）の１つもしくは複数がさらに含まれる。方法を使用して、対象におけるがんの時間経過を予測することができる。他の実施形態では、方法を使用して、がんを有する対象において有意事象の確率を予測する。

【０２７１】

１．遺伝子変異の検出方法

遺伝子、変異および／または遺伝子産物（例えば、表１、表５に記載され、または本明細書に開示されているマーカーの１つもしくは複数）を判定する方法は、ハイブリダイゼーションをベースとするアッセイを含めて当業者には周知である。例えば、試料におけるコードする核酸のコピー数を判定するための１つの方法は、サザンブロットを伴う。サザンブロットにおいて、ゲノムＤＮＡ（典型的には、電気泳動ゲル上で断片化および分離される）は、標的領域に対して特異的なプローブにハイブリダイズされる。標的領域のためのプローブからのハイブリダイゼーションシグナルの強度と、正常なゲノムＤＮＡ（例えば、同じまたは関連する細胞、組織、器官などの増幅されていない部分）の分析からの対照プローブシグナルとの比較は、標的核酸の存在／不存在および相対的コピー数についての推定を提供する。代わりに、ノーザンブロットは、試料中のコードする核酸のコピー数を判定するために利用することができる。ノーザンブロットにおいて、ｍＲＮＡを、標的領域に対して特異的なプローブにハイブリダイズする。標的領域のためのプローブからのハイブリダイゼーションシグナルの強度と、正常なｍＲＮＡ（例えば、同じまたは関連す

る細胞、組織、器官などの増幅されていない部分）の分析からの対照プローブシグナルの比較は、標的核酸の存在／不存在および相対的コピー数についての推定を提供する。

【０２７２】

コピー数を決定するための代替手段は、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションである（例えば、Ａｎｇｅｒｅｒ（１９８７年）Ｍｅｔｈ．　Ｅｎｚｙｍｏｌ、１５２巻：、６４９頁）。一般に、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションは、下記のステップを含む。（１）分析する組織または生物学的構造の固定；（２）標的ＤＮＡの接触性を増加させ、および非特異的結合を減少させるための生物学的構造のプレハイブリダイゼーション処理；（３）生物学的構造または組織中の核酸への、核酸の混合物のハイブリダイゼーション；（４）ハイブリダイゼーションにおいて結合しなかった核酸断片を除去するためのハイブリダイゼーション後の洗浄、ならびに（５）ハイブリダイズさせた核酸断片の検出。これらのステップの各々において使用した試薬、および使用条件は、特定の用途によって変化する。

【０２７３】

例示的なハイブリダイゼーションをベースとするアッセイには、これらに限定されないが、伝統的な「直接プローブ」法（サザンブロットまたはｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（例えば、ＦＩＳＨおよびＦＩＳＨとＳＫＹ）など）、ならびに「比較プローブ」法（比較ゲノムハイブリダイゼーション（ＣＧＨ）、例えば、ｃＤＮＡをベースとする、またはオリゴヌクレオチドをベースとするＣＧＨなど）が含まれる。方法は、これらに限定されないが、基質（例えば、膜もしくはガラス）結合法またはアレイをベースとするアプローチを含めて多種多様のフォーマットにおいて使用することができる。

【０２７４】

一態様では、ＦＩＳＨ分析を使用する。当技術分野において公知の適当な細胞遺伝学的試験方法、例えば、ＦＩＳＨ法によって試験するために、細胞試料を当技術分野で周知の方法によって患者から得る。一実施形態では、ＦＩＳＨは、Ｖｙｓｉｓ（商標）システム（Ａｂｂｏｔｔ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ）（そのメーカーのプロトコールは参照により本明細書中に組み込まれている）によって行うことができる。

【０２７５】

染色体の異なる部分において存在するＤＮＡ塩基配列に本質的に相補的なＤＮＡセグメントを含有するプローブを使用する。本発明によって有用なプローブの例、ならびに試料へのプローブの標識化およびハイブリダイゼーションは、２つの米国特許（Ｖｙｓｉｓ，Ｉｎｃ．への米国特許第５，４９１，２２４号、およびＢｉｔｔｎｅｒらへの同第６，２７７，５６９号）に記載されている。

【０２７６】

染色体プローブは典型的には、約５０～約10^5ヌクレオチド長である。より長いプローブは典型的には、約１００～約５００ヌクレオチド長のより小さな断片を含む。セントロメアＤＮＡおよび遺伝子座特異的ＤＮＡとハイブリダイズするプローブは、例えば、Ｖｙｓｉｓ、Ｉｎｃ．（Ｄｏｗｎｅｒｓ　Ｇｒｏｖｅ、Ｉｌｌ．）、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ、Ｉｎｃ．（Ｅｕｇｅｎｅ、Ｏｒｅｇ．）またはＣｙｔｏｃｅｌｌ（Ｏｘｆｏｒｄｓｈｉｒｅ、ＵＫ）から市販されている。代わりに、プローブは、標準的な技術によって染色体またはゲノムＤＮＡから非商業的に作製することができる。例えば、使用することができるＤＮＡの源には、ゲノムＤＮＡ、クローン化ＤＮＡ配列、宿主の正常な染色体補体と共に染色体（例えば、ヒト染色体（ｃｈｒｏｍｓｏｍｅ））の１つもしくは一部を含有する体細胞雑種、およびフローサイトメトリーまたは顕微解剖によって精製した染色体が含まれる。対象の領域は、クローニングによって、またはポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）を介した部位特異的増幅によって単離することができる。例えば、ＮａｔｈおよびＪｏｈｎｓｏｎ、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｃ　Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．、１９９８年、７３巻（１号）：６～２２頁、Ｗｈｅｅｌｅｓｓら、Ｃｙｔｏｍｅｔｒｙ、１９９４年、１７巻：３１９～３２６頁、および米国特許第５，４９１，２２４号を参照されたい。

【０２７７】

使用されるプローブを、染色体の特定の領域にハイブリダイズさせ、細胞遺伝学的異常がこの領域において存在するかについて決定する。細胞遺伝学的異常の１タイプは、欠失である。欠失は１つもしくは複数の染色体全体の欠失であり得るが、欠失は１つもしくは複数の染色体の一部の喪失を通常伴う。プローブに含有される染色体の領域全体が細胞から欠失している場合、その細胞からのＤＮＡへのそのプローブのハイブリダイゼーションは通常起こらなく、その染色体上にシグナルは存在しない。プローブ中に部分的に含有されている染色体の領域が細胞から欠失している場合、細胞からのＤＮＡへのそのプローブのハイブリダイゼーションはまだ起こり得るが、より少ないシグナルが存在し得る。例えば、シグナルの喪失を、プローブによって検出することを意図する遺伝子異常を含有しない対照細胞からのＤＮＡへのプローブのハイブリダイゼーションと比較する。いくつかの実施形態では、少なくとも１個、５個、１０個、２０個、３０個、４０個、５０個、６０個、７０個、８０個、９０個、１００個、１１０個、１２０個、１３０個、１４０個、１５０個、１６０個、１７０個、１８０個、１９０個、２００個、またはそれを超える細胞を、細胞遺伝学的異常の存在について計数する。

【０２７８】

検出される細胞遺伝学的異常には、これらに限定されないが、非相互転座、染色体内逆位、点変異、欠失、遺伝子コピー数の変化、遺伝子発現レベルの変化、および生殖細胞系列変異が含まれてもよい。特に、細胞遺伝学的異常の１タイプは、重複である。重複は、染色体全体の重複、または染色体全体より小さい領域の重複であり得る。プローブに含有される染色体の領域が細胞中で複製される場合、細胞からのＤＮＡへのそのプローブのハイブリダイゼーションは通常、プローブ中に含有される染色体領域の異常がない対照細胞において存在するシグナルの数と比較して、少なくとも１つのさらなるシグナルを生じさせる。しかし、ヒト染色体２ｐ２３もしくはそのオーソログ、または２ｐ２３のＡＬＫ遺伝子もしくはそのオーソログによる転座を含む任意の染色体領域を検出する任意のプローブを使用することができる。適切なプローブは、当技術分野で周知である（例えば、Ｖｙｓｉｓ，Ｉｎｃ．（Ｄｏｗｎｅｒｓ　Ｇｒｏｖｅ、Ｉｌｌ．から入手可能）。

【０２７９】

染色体プローブがハイブリダイズする染色体領域を検出することができるように、染色体プローブを標識する。プローブは典型的には、より低い波長／より高いエネルギーの光を吸収した後に蛍光を発する有機分子であるフルオロフォアで直接標識する。フルオロフォアによって、第２の検出分子なしに、プローブが可視化されることが可能となる。ヌクレオチドへのフルオロフォアの共有結合の後、標準的な技術（ニックトランスレーション、ランダムプライミング、およびＰＣＲ標識化など）によって、ヌクレオチドをプローブに直接組み込むことができる。代わりに、プローブ内のデオキシシチジンヌクレオチドは、リンカーによりアミノ基転移することができる。次いで、フルオロフォアは、アミノ基転移したデオキシシチジンヌクレオチドに共有結合する。米国特許第５，４９１，２２４号を参照されたい。

【０２８０】

米国特許第５，４９１，２２４号は、そこに共有結合した蛍光標識を有するいくつかのシトシン残基としてのプローブ標識化について記載している。蛍光標識されたシトシン塩基の数は、検出可能な蛍光シグナルを生じさせるのに十分であり、一方、個々のこのように標識されたＤＮＡセグメントは本質的に、検出される染色体または染色体領域に関して、それらの特異的相補的結合（ハイブリダイズ）特性を保持する。このようなプローブは、標識されていないＤＮＡプローブセグメントを取り、連結基でセグメント中のいくつかのデオキシシチジンヌクレオチドをアミノ基転移し、アミノ基転移したデオキシシチジン塩基の少なくとも一部に蛍光標識を共有結合させることによって作製される。

【０２８１】

プローブはまた、ニックトランスレーション、ランダムプライマー標識化またはＰＣＲ標識化によって標識することができる。標識化は、蛍光（直接）標識またはハプテン（間接）標識されたヌクレオチドを使用して行う。標識の代表的な非限定的例には、ＡＭＣＡ

－６－ｄＵＴＰ、ＣａｓｃａｄｅＢｌｕｅ－４－ｄＵＴＰ、フルオレセイン－１２－ｄＵＴＰ、ローダミン－６－ｄＵＴＰ、ＴｅｘａｓＲｅｄ－６－ｄＵＴＰ、Ｃｙ３－６－ｄＵＴＰ、Ｃｙ５－ｄＵＴＰ、ビオチン（ＢＩＯ）－１１－ｄＵＴＰ、ジゴキシゲニン（Ｄｉｇｏｘｙｇｅｎｉｎ）（ＤＩＧ）－１１－ｄＵＴＰまたはジニトロフェニル（ＤＮＰ）－１１－ｄＵＴＰが含まれる。

【０２８２】

プローブはまた、ビオチンもしくはジゴキシゲニンで間接的に標識することができ、または放射性同位体（^{32}ｐおよび^{3}Ｈなど）で標識することができるが、プローブを可視化するために、二次検出分子またはさらなる処理が次いで必要である。例えば、ビオチンで標識したプローブは、検出可能なマーカーにコンジュゲートしたアビジンによって検出することができる。例えば、アビジンは、酵素マーカー（アルカリホスファターゼまたは西洋ワサビペルオキシダーゼなど）にコンジュゲートすることができる。酵素マーカーを、標準的比色反応において、酵素のための基質および／または触媒を使用して検出することができる。アルカリホスファターゼのための触媒には、５－ブロモ－４－クロロ－３－インドリルホスフェートおよびニトロブルーテトラゾリウムが含まれる。ジアミノベンゾエートを、西洋ワサビペルオキシダーゼのための触媒として使用することができる。

【０２８３】

蛍光または他の標識は、ハイブリダイゼーションの前もしくは間はＤＮＡの部分ではなく、ハイブリダイゼーション後に加え、染色体にハイブリダイズしたプローブを検出するように、プローブをまた調製することができる。例えば、ＤＮＡに組み込まれた抗原分子を有するプローブを使用することができる。ハイブリダイゼーション後、これらの抗原分子を、抗原分子と反応性の特異的抗体を使用して検出する。このような抗体はそれ自体に蛍光色素を組み込むことができ、または結合した蛍光色素を有する二次抗体を使用して検出することができる。

【０２８４】

どのように処理または修飾しようとも、プローブＤＮＡを、ハイブリダイゼーションにおいて使用する前に、未反応の残留生成物（例えば、ＤＮＡに組み込まれない蛍光色素分子）を除去するために一般に精製する。

【０２８５】

ハイブリダイゼーションの前に、染色体プローブを、当技術分野で周知の方法によって変性させる。一般に、ハイブリダイゼーションステップは、過剰なブロッキングＤＮＡを標識されたプローブ組成物に加えることと、例えば、ＤＮＡが変性されたスライド上で、ハイブリダイズ条件下でブロックされたプローブ組成物を検出される染色体領域と接触させることと、ハイブリダイズしていないプローブを洗い流すことと、染色体または染色体領域へのプローブ組成物の結合を検出することとを含む。

【０２８６】

プローブは、ハイブリダイズ条件下で染色体ＤＮＡにハイブリダイズまたはアニーリングする。「ハイブリダイズ条件」は、プローブと標的染色体ＤＮＡとの間のアニーリングを促進する条件である。異なるプローブのアニーリングはプローブの長さ、塩基濃度などによって変化するため、アニーリングは、プローブ濃度、ハイブリダイゼーション温度、塩濃度および当技術分野で周知の他の要因を変化させることによって促進させる。

【０２８７】

ハイブリダイゼーション条件は、濃度、塩基組成物、複雑さ、およびプローブの長さ、ならびに塩濃度、温度、およびインキュベーションの長さを変化させることによって促進させる。例えば、ｉｎ　ｓｉｔｕのハイブリダイゼーションは典型的には、１～２×ＳＳＣ、５０～６５％ホルムアミドおよびブロッキングＤＮＡを含有するハイブリダイゼーション緩衝液中で行い、非特異的ハイブリダイゼーションを抑制する。一般に、上記のハイブリダイゼーション条件には、約２５℃～約５５℃の温度、および約０．５時間～約９６時間のインキュベーションの長さが含まれる。

【０２８８】

標的領域外のＤＮＡへの染色体プローブの非特異的結合は、一連の洗浄によって除去することができる。各洗浄における温度および塩の濃度は、洗浄のストリンジェンシーを制御するため変化に富む。例えば、高いストリンジェンシー条件のために、洗浄は、約６５℃～約８０℃で、０．２×～約２×ＳＳＣ、および約０．１％～約１％の非イオン系洗剤（Ｎｏｎｉｄｅｔ　Ｐ－４０（ＮＰ４０）など）を使用して行うことができる。ストリンジェンシーは、洗浄の温度を低下させることによって、または洗浄における塩の濃度を増加させることによって、低下させることができる。いくつかの用途において、反復配列のハイブリダイゼーション能力を遮断することが必要である。したがって、いくつかの実施形態では、ｔＲＮＡ、ヒトゲノムＤＮＡ、またはＣｏｔ－Ｉ　ＤＮＡを使用して、非特異的ハイブリダイゼーションを遮断する。

【０２８９】

洗浄後、スライドの水気を切り、空気乾燥させ、次いで、封入剤、対比染色剤（ＤＡＰＩなど）、およびカバーガラスをスライドに加える。スライドを直ちに見て、または試験の前に－２０℃で保存することができる。

【０２９０】

蛍光ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション法（ＦＩＳＨ）技術において使用される蛍光プローブについて、各フルオロフォアのための適当なフィルターを備えた蛍光顕微鏡で、またはデュアルもしくはトリプルバンドパスフィルターセットを使用することによって蛍光を見て、複数のフルオロフォアを観察することができる。例えば、米国特許第５，７７６，６８８号を参照されたい。代わりに、フローサイトメトリーなどの技術を使用して、染色体プローブのハイブリダイゼーションパターンを試験することができる。ＦＩＳＨを使用して、染色体コピー数または染色体の領域の再配列を検出することができる。これらのプローブは、相補的ＤＮＡにハイブリダイズまたは結合し、蛍光タグで標識されているため、研究者は蛍光顕微鏡を使用してＤＮＡのそれらの配列の場所を見ることができる。細胞が活発に分裂することを必要とする染色体を研究するために使用される大部分の他の技術とは異なり、ＦＩＳＨはまた非分裂細胞上で行うことができ、これは非常に多用途な手順となる。したがって、ＦＩＳＨは、間期細胞、または細胞分裂周期の分裂中期の細胞を使用して行うことができる。ＦＩＳＨ分析に関与する技術の多くは、ＧｒａｙおよびＰｉｎｋｅｌによる米国特許第５，４４７，８４１号に記載されている。

【０２９１】

ＦＩＳＨの結果は、プローブが検出するように設計された特異的細胞遺伝学的異常を含有していないことが知られている対照細胞を基準として解釈することができる。対照細胞からのＤＮＡへの、プローブのＦＩＳＨハイブリダイゼーションパターンを、特異的細胞遺伝学的異常について試験またはアッセイした細胞からのＤＮＡへの、同じプローブのハイブリダイゼーションと比較する。プローブが、染色体または染色体領域の欠失を検出するように設計されているとき、対照細胞からよりも、試験される細胞からのＤＮＡへの、プローブのハイブリダイゼーションは通常より少ない。通常、試験した細胞においてプローブシグナルが存在せず、これはプローブが通常ハイブリダイズする染色体の領域の喪失を示す。プローブが染色体の重複または付加を検出するように設計されるとき、対照細胞からよりも、試験される細胞からのＤＮＡへの、プローブのハイブリダイゼーションが通常より存在する。通常、試験した細胞においてプローブシグナルの付加が存在し、これはプローブが通常ハイブリダイズするさらなる染色体領域の存在を示す。

【０２９２】

ＣＧＨ法において、（例えば、試料、例えば、可能な腫瘍からの）核酸の第１の収集物を第１の標識で標識し、一方、（例えば、対照、例えば、健康な細胞／組織からの）核酸の第２の収集物を、第２の標識で標識する。核酸のハイブリダイゼーションの比を、アレイ中の各繊維に結合している２つ（第１および第２）の標識の比によって決定する。染色体の欠失または増殖がある場合、２つの標識からのシグナルの比の差異を検出し、その比は、コピー数の尺度を提供する。アレイをベースとするＣＧＨはまた、（２種の異なる色素で対照および可能な腫瘍試料を標識し、それらを混合し、その後ハイブリダイゼーショ

ンを行い、アレイ上のプローブの競合ハイブリダイゼーションによる比を生じさせるのとは対照的に）単色標識化で行うことができる。単色ＣＧＨにおいて、対照を標識し、１つのアレイにハイブリダイズさせ、絶対シグナルを読み取り、可能な腫瘍試料を標識し、第２のアレイ（同一の内容を有する）にハイブリダイズさせ、絶対シグナルを読み取る。２つのアレイからの絶対シグナルに基づいて、コピー数の差異を計算する。本発明の方法による使用に適切なハイブリダイゼーションプロトコールは、例えば、Ａｌｂｅｒｔｓｏｎ（１９８４年）ＥＭＢＯ Ｊ．、３巻：１２２７～１２３４頁；Ｐｉｎｋｅｌ（１９８８年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８５巻：９１３８～９１４２頁；ＥＰＯ Ｐｕｂ．、第４３０，４０２号；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、第３３号：Ｉｎ ｓｉｔｕ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、Ｃｈｏｏ編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ、Ｎ．Ｊ．（１９９４年）などに記載されている。一実施形態では、Ｐｉｎｋｅｌら、（１９９８年）Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ、２０巻：２０７～２１１頁、またはＫａｌｌｉｏｎｉｅｍｉ（１９９２年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ、８９巻：５３２１～５３２５頁（１９９２年）のハイブリダイゼーションプロトコールを使用する。アレイをベースとするＣＧＨは、米国特許第６，４５５，２５８号に記載されている（各々の内容は、参照により本明細書中に組み込まれている）。

【０２９３】

さらに別の実施形態では、増幅をベースとするアッセイを使用して、存在／不存在およびコピー数を測定することができる。このような増幅をベースとするアッセイにおいて、核酸配列は、増幅反応（例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ））における鋳型として作用する。定量的増幅において、増幅産物の量は、当初の試料中の鋳型の量に比例する。適当な対照、例えば、健常組織との比較によって、コピー数の測定が実現する。

【０２９４】

「定量的」増幅の方法は、当業者には周知である。例えば、定量的ＰＣＲは、同じプライマーを使用した既知量の対照配列を同時に共増幅することを伴う。これによって、ＰＣＲ反応を較正するために使用することができる内部標準を提供する。定量的ＰＣＲについての詳細なプロトコールは、Ｉｎｎｉｓら、（１９９０年）ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，Ａ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．Ｎ．Ｙ．に提供されている。定量的ＰＣＲ分析を使用したマイクロサテライト領域におけるＤＮＡコピー数の測定は、Ｇｉｎｚｏｎｇｅｒら、（２０００年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、６０巻：５４０５～５４０９頁に記載されている。遺伝子についての公知の核酸配列は、遺伝子の任意の部分を増幅するためのプライマーを当業者が通常通りに選択することができるのに十分である。蛍光発生定量的ＰＣＲをまた、本発明の方法において使用することができる。蛍光発生定量的ＰＣＲにおいて、定量化は、蛍光シグナル、例えば、ＴａｑＭａｎおよびｓｙｂｒ ｇｒｅｅｎの量に基づく。

【０２９５】

他の適切な増幅方法には、これらに限定されないが、リガーゼ連鎖反応（ＬＣＲ）（ＷｕおよびＷａｌｌａｃｅ（１９８９年）Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、４巻：５６０頁、Ｌａｎｄｅｇｒｅｎら、（１９８８年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４１巻：１０７７頁、およびＢａｒｒｉｎｇｅｒら、（１９９０年）Ｇｅｎｅ、８９巻：１１７頁を参照されたい）、転写増幅（Ｋｗｏｈら、（１９８９年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８６巻：１１７３頁）、自家持続配列複製（Ｇｕａｔｅｌｌｉら、（１９９０年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８７巻：１８７４頁）、ドットＰＣＲ、およびリンカーアダプターＰＣＲなどが含まれる。

【０２９６】

ヘテロ接合性消失（ＬＯＨ）マッピング（Ｗａｎｇ，Ｚ．Ｃ．ら、（２００４年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、６４巻（１号）：６４～７１頁；Ｓｅｙｍｏｕｒ，Ａ．Ｂ．ら、（１９９４年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、５４巻、２７６１～４頁；Ｈａｈｎ，Ｓ．

Ａ．ら、（１９９５年）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ、５５巻、４６７０～５頁；Ｋｉｍｕｒａ，　Ｍ．ら、（１９９６年）Ｇｅｎｅｓ　Ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅｓ　Ｃａｎｃｅｒ、１７巻、８８～９３頁）をまた使用して、増幅または欠失の領域を同定することができる。

【０２９７】

２．遺伝子発現の検出方法

マーカー発現レベルをまたアッセイすることができる。本発明のマーカーの発現は、転写分子またはタンパク質の発現を検出するための多種多様の周知の方法のいずれかによって評価することができる。このような方法の非限定的例には、分泌された細胞表面、細胞質、または核タンパク質の検出のための免疫学的方法、タンパク質精製法、タンパク質機能または活性アッセイ、核酸ハイブリダイゼーション法、核酸逆転写法、および核酸増幅法が含まれる。

【０２９８】

特定の実施形態では、特定の遺伝子の活性は、遺伝子転写物（例えば、ｍＲＮＡ）の測定によって、翻訳されたタンパク質の量の測定によって、または遺伝子産物活性の測定によって特徴付けられる。マーカー発現は、ｍＲＮＡレベル、タンパク質レベル、またはタンパク質活性（これらはいずれも標準的な技術を使用して測定することができる）を検出することを含めた種々の方法によってモニターすることができる。検出は、遺伝子発現（例えば、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、タンパク質、もしくは酵素活性）のレベルの定量化を伴うことができ、または代わりに、特に対照のレベルと比較した遺伝子発現のレベルの定性的評価でよい。検出されるレベルのタイプは、文脈より明らかであろう。

【０２９９】

核酸ハイブリダイゼーション技術を使用した遺伝子転写物（ｍＲＮＡ、またはそれから作製されたｃＤＮＡ）を検出および／または定量化する方法は、当業者には公知である（Ｓａｍｂｒｏｏｋら（上記）を参照されたい）。例えば、ｃＤＮＡの存在、不存在、または量を判定するための１つの方法は、上記のサザン法を伴う。手短に言えば、ｍＲＮＡを単離し（例えば、酸グアニジニウム－フェノール－クロロホルム抽出方法、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（上記）を使用）、逆転写し、ｃＤＮＡを得る。次いで、ｃＤＮＡを任意選択で消化し、緩衝液中のゲル上で泳動させ、膜に移す。次いで、標的ｃＤＮＡに対して特異的な核酸プローブを使用してハイブリダイゼーションを行う。

【０３００】

このような診断および予後アッセイの一般原則は、適当な条件下で、マーカーおよびプローブが相互作用および結合することを可能にするのに十分な時間、マーカーおよびプローブを含有することができる試料または反応混合物を調製し、したがって反応混合物中で除去および／または検出することができる複合体を形成することを伴う。これらのアッセイは、種々の方法で行うことができる。

【０３０１】

例えば、このようなアッセイを行う１つの方法は、基質ともまた称される固相支持体上にマーカーまたはプローブを固着させ、反応の終わりに固相上に固着させた標的マーカー／プローブ複合体を検出することを伴う。このような方法の一実施形態では、マーカーの存在および／または濃度についてアッセイする対象からの試料を、担体または固相支持体上に固着させることができる。別の実施形態では、逆の状況が可能であり、そこではプローブを固相に固着させることができ、対象からの試料をアッセイの固着されていない成分として反応させることができる。

【０３０２】

アッセイ成分を固相に固着させるための多くの確立した方法が存在する。これらには、これらに限定されないが、ビオチンおよびストレプトアビジンのコンジュゲーションによって固定化されるマーカーまたはプローブ分子が含まれる。このようなビオチン化アッセイ成分は、当技術分野で公知の技術（例えば、ビオチン化キット、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）を使用して、ビオチン－ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシ－スクシンイミド）から調製し、ストレプトアビジンでコーティングした９６ウェルプ

レートのウェル（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ）中で固定化することができる。特定の実施形態では、固定化アッセイ成分を有する表面を予め調製し、保存することができる。

【０３０３】

このようなアッセイのための他の適切な担体または固相支持体には、マーカーまたはプローブが属する分子のクラスを結合することができる任意の材料が含まれる。周知の支持体または担体には、これらに限定されないが、ガラス、ポリスチレン、ナイロン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、アミラーゼ、天然および修飾されたセルロース、ポリアクリルアミド、斑れい岩、ならびにマグネタイトが含まれる。

【０３０４】

上記のアプローチによってアッセイを行うために、固定化されていない成分を固相に加え、それによって第２の成分を固着させる。反応が完了した後、非複合成分を、形成される任意の複合体が固相上に固定化されたまま残る条件下で、（例えば、洗浄によって）除去することができる。固相に固着させたマーカー／プローブ複合体の検出は、本明細書において概要を述べたいくつかの方法で達成することができる。

【０３０５】

別の実施形態では、プローブは、それが固着されていないアッセイ成分であるとき、アッセイの検出および読出しの目的で、本明細書において考察し、かつ当業者に周知である検出可能な標識で直接的または間接的に標識することができる。

【０３０６】

例えば、蛍光エネルギー移動の技術を利用することによって、いずれかの成分（マーカーまたはプローブ）をさらに操作または標識化することなしに、マーカー／プローブ複合体形成を直接的に検出することがまた可能である（例えば、Ｌａｋｏｗｉｃｚら、米国特許第５，６３１，１６９号；Ｓｔａｖｒｉａｎｏｐｏｕｌｏｓら、米国特許第４，８６８，１０３号を参照されたい）。第１の「ドナー」分子上のフルオロフォア標識は、適当な波長の入射光による励起によって、その放射された蛍光エネルギーが第２の「アクセプター」分子上の蛍光標識によって吸収され、それは吸収されたエネルギーのために蛍光を発することができるように選択される。代わりに、「ドナー」タンパク質分子は、トリプトファン残基の自然蛍光エネルギーを単純に利用することができる。「アクセプター」分子標識が「ドナー」のそれとは区別することができるように、異なる波長の光を発する標識を選択する。標識の間のエネルギー移動の効率は分子を隔てている距離に関連するため、分子の間の空間的関係を評価することができる。分子間に結合が起こる状況において、アッセイにおける「アクセプター」分子標識の蛍光発光は、最大であるべきである。ＦＥＴ結合事象は、当技術分野で周知の標準的蛍光定量的検出手段（例えば、螢光計を使用した）によって好都合に測定することができる。

【０３０７】

別の実施形態では、マーカーを認識するプローブの能力の決定は、リアルタイム生体分子相互作用分析（ＢＩＡ）などの技術を利用することによって、いずれかのアッセイ成分（プローブまたはマーカー）を標識することなく達成することができる（例えば、Ｓｊｏｌａｎｄｅｒ，　Ｓ．およびＵｒｂａｎｉｃｚｋｙ，　Ｃ．、１９９１年、Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．、６３巻：２３３８～２３４５頁およびＳｚａｂｏら、１９９５年、Ｃｕｒｒ．　Ｏｐｉｎ．　Ｓｔｒｕｃｔ．　Ｂｉｏｌ．、５巻：６９９～７０５頁を参照されたい）。本明細書において使用する場合、「ＢＩＡ」または「表面プラズモン共鳴」は、相互作用物のいずれか（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ）を標識することなく、リアルタイムで生体分子特異的相互作用を研究するための技術である。（結合事象を示す）結合表面における質量の変化は、表面近くの光の屈折率の変化（表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）の光学現象）をもたらし、生体分子間のリアルタイムの反応の徴候として使用することができる検出可能なシグナルを生じさせる。

【０３０８】

代わりに、別の実施形態では、類似の診断および予後アッセイを、マーカーおよびプロ

ーブを液相中の溶質として行うことができる。このようなアッセイにおいて、複合マーカーおよびプローブを、これらに限定されないが、分画遠心分離、クロマトグラフィー、電気泳動および免疫沈降を含めたいくつかの標準的な技術のいずれかによって非複合成分から分離する。分画遠心分離において、マーカー／プローブ複合体は、それらの異なるサイズおよび密度に基づいた複合体の異なる沈降平衡によって、一連の遠心ステップによって非複合アッセイ成分から分離することができる（例えば、Ｒｉｖａｓ，　Ｇ．、およびＭｉｎｔｏｎ，　Ａ．　Ｐ．、１９９３年、Ｔｒｅｎｄｓ　Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｓｃｉ．、１８巻（８号）：２８４～７頁を参照されたい）。標準的クロマトグラフ技術をまた利用して、複合分子を非複合分子から分離することができる。例えば、ゲル濾過クロマトグラフィーは、サイズに基づいて分子を分離し、カラムフォーマットの適当なゲル濾過樹脂を利用することによって、例えば、相対的に大きな複合体を、相対的により小さな非複合成分から分離することができる。同様に、非複合成分と比較したマーカー／プローブ複合体の相対的に異なる電荷特性を利用して、例えば、イオン交換クロマトグラフィー樹脂を利用することによって、複合体を非複合成分から区別することができる。このような樹脂およびクロマトグラフ技術は当業者に周知である（例えば、Ｈｅｅｇａａｒｄ，　Ｎ．Ｈ．、１９９８年、Ｊ．　Ｍｏｌ．　Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．　Ｗｉｎｔｅｒ、１１巻（１～６号）：１４１～８頁；Ｈａｇｅ，　Ｄ．Ｓ．、およびＴｗｅｅｄ，　Ｓ．Ａ．、Ｊ　Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ　Ｂ　Ｂｉｏｍｅｄ　Ｓｃｉ　Ａｐｐｌ、１９９７年１０月１０日；６９９巻（１～２号）：４９９～５２５頁を参照されたい）。ゲル電気泳動をまた用いて、複合アッセイ成分を非結合成分から分離することができる（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９８７～１９９９頁を参照されたい）。この技術では、例えば、サイズまたは電荷に基づいて、タンパク質または核酸複合体を分離する。電気泳動工程の間に結合相互作用を維持するために、非変性ゲルマトリックス材料および還元剤の非存在下での条件が典型的である。特定のアッセイおよびその成分に対する適当な条件は、当業者に周知である。

【０３０９】

特定の実施形態では、マーカーに相当するｍＲＮＡのレベルは、当技術分野において公知の方法を使用して、生体試料においてｉｎ　ｓｉｔｕおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏのフォーマットの両方によって決定することができる。「生体試料」という用語は、対象から単離した組織、細胞、体液およびその単離物、ならびに対象中に存在する組織、細胞および体液が含まれることを意図する。多くの発現検出方法は、単離されたＲＮＡを使用する。ｉｎ　ｖｉｔｒｏの方法のために、ｍＲＮＡの単離に対して選択しない任意のＲＮＡ単離技術を、細胞からのＲＮＡの精製のために利用し得る（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９８７～１９９９頁を参照されたい）。さらに、多数の組織試料は、例えば、Ｃｈｏｍｃｚｙｎｓｋｉの単一ステップＲＮＡ単離方法など（１９８９年、米国特許第４，８４３，１５５号）の当業者には周知の技術を使用して容易に加工することができる。

【０３１０】

単離された核酸は、ハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイ（これらに限定されないが、サザンまたはノーザン分析、ポリメラーゼ連鎖反応分析およびプローブアレイが含まれる）において使用することができる。ｍＲＮＡレベルの検出のための１つの診断法は、単離されたｍＲＮＡを、検出される遺伝子によってコードされるｍＲＮＡにハイブリダイズできる核酸分子（プローブ）と接触させることを伴う。核酸プローブは、例えば、完全長ｃＤＮＡでよく、または少なくとも７、１５、３０、５０、１００、２５０もしくは５００ヌクレオチド長の、および本発明のマーカーをコードするｍＲＮＡもしくはゲノムＤＮＡに、ストリンジェントな条件下にて特異的にハイブリダイズするのに十分な、オリゴヌクレオチドなどの完全長ｃＤＮＡの部分でよい。本発明の診断アッセイにおいて使用するための他の適切なプローブは、本明細書に記載されている。プローブとのｍＲＮＡの

ハイブリダイゼーションは、問題のマーカーが発現していることを示す。

【０３１１】

１つのフォーマットでは、例えば、単離されたｍＲＮＡをアガロースゲル上で泳動させ、ｍＲＮＡをゲルから膜（ニトロセルロースなど）に移すことによって、ｍＲＮＡを固体表面上に固定化し、プローブと接触させる。代替フォーマットでは、プローブ（複数可）を固体表面上に固定化し、例えば、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ遺伝子チップアレイにおいてｍＲＮＡをプローブ（複数可）と接触させる。当業者は、本発明のマーカーによってコードされるｍＲＮＡのレベルの検出における使用のために、公知のｍＲＮＡ検出方法を容易に適合させることができる。

【０３１２】

プローブは、タンパク質をコードする核酸配列の完全長または完全長未満でよい。より短いプローブを特異性について経験的に試験する。例示的な核酸プローブは、２０塩基長またはより長い（核酸ハイブリダイゼーションにおいて使用するための核酸プローブ配列を選択する方法について、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋらを参照されたい）。ハイブリダイズさせた部分の可視化によって、ｃＤＮＡの存在もしくは不存在の定性的決定が可能となる。

【０３１３】

試料中の本発明のマーカーに相当する転写物のレベルを決定するための代替方法は、核酸増幅の方法、例えば、ｒｔＰＣＲ（Ｍｕｌｌｉｓ、１９８７年、米国特許第４，６８３，２０２号に記載されている実験の実施形態）、リガーゼ連鎖反応（Ｂａｒａｎｙ、１９９１年、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８８巻：１８９～１９３頁）、自家持続配列複製（Ｇｕａｔｅｌｌｉら、１９９０年、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８７巻：１８７４～１８７８頁）、転写増幅システム（Ｋｗｏｈら、１９８９年、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８６巻：１１７３～１１７７頁）、Ｑ－ベータレプリカーゼ（Ｌｉｚａｒｄｉら、１９８８年、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、６巻：１１９７頁）、ローリングサークル複製（Ｌｉｚａｒｄｉら、米国特許第５，８５４，０３３号）または任意の他の核酸増幅方法、それに続く当業者には周知である技術を使用した増幅された分子の検出を伴う。蛍光発生ｒｔＰＣＲをまた、本発明の方法において使用することができる。蛍光発生ｒｔＰＣＲにおいて、定量化は、蛍光シグナル、例えば、ＴａｑＭａｎおよびｓｙｂｒ ｇｒｅｅｎの量に基づく。このような分子が非常に少ない数で存在する場合、これらの検出スキームは、核酸分子の検出のために特に有用である。本明細書において使用する場合、増幅プライマーは、遺伝子の５’または３’領域にアニーリングすることができる１対の核酸分子（各々、プラス鎖およびマイナス鎖、またはその反対）として定義され、間に短い領域を含有する。一般に、増幅プライマーは、約１０～３０ヌクレオチド長であり、約５０～２００ヌクレオチド長の領域に隣接する。適当な条件下で、および適当な試薬によって、このようなプライマーによって、プライマーが隣接するヌクレオチド配列を含む核酸分子の増幅が可能となる。

【０３１４】

ｉｎ ｓｉｔｕ方法のために、ｍＲＮＡを検出の前に細胞から単離する必要はない。このような方法において、細胞または組織試料は、公知の組織学的方法を使用して調製／加工する。次いで、試料を支持体、典型的にはスライドガラス上に固定化し、次いで、マーカーをコードするｍＲＮＡにハイブリダイズすることができるプローブと接触させる。

【０３１５】

マーカーの絶対発現レベルに基づいた決定の代替として、決定は、マーカーの標準化された発現レベルに基づくことができる。マーカーの絶対発現と、マーカーではない遺伝子、例えば、恒常的に発現しているハウスキーピング遺伝子の発現とを比較することによって、マーカーの絶対発現レベルを補正することによって、発現レベルを標準化する。標準化のために適切な遺伝子には、ハウスキーピング遺伝子（アクチン遺伝子など）、または上皮細胞特異的遺伝子が含まれる。この標準化によって、別の試料、例えば、がんではな

い試料に対する、１つの試料、例えば対象試料における発現レベルの比較、または異なる源からの試料の間の比較が可能となる。

【０３１６】

代わりに、発現レベルを相対的発現レベルとして提供することができる。マーカーの相対的発現レベルを決定するために、問題となっている試料についての発現レベルの決定の前に、マーカーの発現のレベルを、正常対がん細胞単離物の１０以上の試料、または５０以上の試料について決定する。より多数の試料においてアッセイした遺伝子の各々の平均発現レベルを決定し、これをマーカーについてのベースライン発現レベルとして使用する。次いで、試験試料について決定したマーカーの発現レベル（発現の絶対レベル）を、そのマーカーについて得られた平均発現値で割る。これによって、相対的発現レベルを提供する。

【０３１７】

特定の実施形態では、ベースライン決定において使用される試料は、同じ組織タイプのがん細胞または正常細胞からである。細胞源の選択は、相対的発現レベルの使用によって決まる。平均発現スコアとして正常組織において見出される発現を使用することは、アッセイされたマーカーが、（正常細胞に対して）細胞が由来する組織に対して特異的であるかについて検証する助けとなる。さらに、さらなるデータが蓄積されると、平均発現値を修正することができ、蓄積されたデータに基づいて改善された相対的発現値が提供される。正常細胞からの発現データは、がんの状態の重症度を類別する手段を提供する。

【０３１８】

別の実施形態では、対象試料中の細胞からゲノムＤＮＡまたはｍＲＮＡ／ｃＤＮＡ（すなわち、転写ポリヌクレオチド）を調製することによって、およびゲノムＤＮＡまたはｍＲＮＡ／ｃＤＮＡを、マーカー、およびその断片を含むポリヌクレオチドの補体である参照ポリヌクレオチドとハイブリダイズすることによって、マーカーの発現を評価する。参照ポリヌクレオチドとのハイブリダイゼーションの前に、ｃＤＮＡを種々のポリメラーゼ連鎖反応法のいずれかを使用して任意選択で増幅することができる。１つもしくは複数のマーカーの発現は同様に、マーカー（複数可）の発現のレベルを評価するための定量的ＰＣＲ（ＱＰＣＲ）を使用して検出することができる。代わりに、本発明のマーカーの変異または変種（例えば、一塩基多型、欠失など）を検出する多くの公知の方法のいずれかを使用して、対象における変異したマーカーの出現を検出することができる。

【０３１９】

関連する実施形態では、試料から得られる転写ポリヌクレオチドの混合物を、そこに固定された本発明のマーカーの少なくとも一部（例えば、少なくとも７、少なくとも１０、少なくとも１５、少なくとも２０、少なくとも２５、少なくとも３０、少なくとも４０、少なくとも５０、少なくとも１００、少なくとも５００、またはそれを超えるヌクレオチド残基）と相補的または相同的なポリヌクレオチドを有する基質と接触させる。本発明のマーカーと相補的または相同的なポリヌクレオチドが、基質上で異なって検出可能である場合（例えば、異なる発色団またはフルオロフォアを使用して検出可能であり、または異なる選択した位置に固定される）、複数のマーカーの発現のレベルを、単一の基質（例えば、選択した位置において固定したポリヌクレオチドの「遺伝子チップ」マイクロアレイ）を使用して同時に評価することができる。１つの核酸と別の核酸のハイブリダイゼーションが関与するマーカー発現を評価する方法を使用するとき、ハイブリダイゼーションは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下にて行うことができる。

【０３２０】

別の実施形態では、マーカーの発現を評価する方法の組合せを利用する。

【０３２１】

本発明の組成物、キット、および方法は、本発明の１種もしくは複数のマーカーの発現レベルまたはコピー数の差異の検出に依存しているため、特定の実施形態では、マーカーの発現のレベルまたはコピー数は、正常細胞およびがん細胞の少なくとも１つにおける発現またはコピー数を評価するために使用される方法の最小検出限界より有意により多い。

【０３２２】
３．発現しているタンパク質の検出方法
発現しているポリペプチドを検出または定量化することによって、マーカータンパク質の活性またはレベルをまた検出および／または定量化することができる。ポリペプチドは、当業者には周知であるいくつかの手段のいずれかによって検出および定量化することができる。これらには、分析的生化学的手法（電気泳動、キャピラリー電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）、超拡散クロマトグラフィーなど）、または様々な免疫学的方法（流体もしくはゲル沈降反応、免疫拡散（一次元もしくは二次元）、免疫電気泳動、放射線免疫アッセイ（ＲＩＡ）、酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）、免疫蛍光アッセイ、ウエスタンブロッティング、免疫組織化学など）を含むことができる。当業者は、細胞が本発明のマーカーを発現しているかについて決定するのに使用するための公知のタンパク質／抗体検出方法を容易に適合させることができる。
【０３２３】
本発明のポリペプチドを検出するための別の薬剤は、本発明のマーカーに相当するポリペプチドに結合することができる抗体、例えば、検出可能な標識を有する抗体である。抗体は、ポリクローナルまたはモノクローナルでよい。完全な抗体、またはその断片（例えば、ＦａｂまたはＦ（ａｂ’）$_2$）を使用することができる。「標識された」という用語は、プローブまたは抗体に関して、検出可能な物質をプローブまたは抗体にカップリング（すなわち、物理的に連結）することによるプローブまたは抗体の直接標識化、ならびに直接標識されている別の試薬との反応性によるプローブまたは抗体の間接標識化を包含することを意図する。間接標識化の例には、蛍光標識された二次抗体を使用した一次抗体の検出、および蛍光標識されたストレプトアビジンによって検出することができるようなビオチンによるＤＮＡプローブの末端標識化が含まれる。
【０３２４】
別の実施形態では、抗体は、例えば、放射性標識された、発色団標識された、フルオロフォア標識された、または酵素標識された抗体である。別の実施形態では、抗体誘導体（例えば、基質と、またはタンパク質－リガンド対｛例えば、ビオチン－ストレプトアビジン｝のタンパク質もしくはリガンドとコンジュゲートする抗体）、またはマーカーに相当するタンパク質（マーカーに相当するオープンリーディングフレームによってコードされるタンパク質、もしくはその正常な翻訳後修飾の全てもしくは一部を受けたそのようなタンパク質など）に特異的に結合する抗体フラグメント（例えば、単鎖抗体、単離された抗体高頻度可変ドメインなど）を使用する。
【０３２５】
免疫組織化学またはＩＨＣとは、生物学的組織中の抗原に特異的に結合する抗体の原理を利用した、組織切片の細胞中の抗原（例えば、タンパク質）を局在化させる方法を意味する。免疫組織化学染色は、がん性腫瘍において見出されるものなどの異常細胞の診断において広範に使用されている。特異的分子マーカーは、拡散または細胞死（アポトーシス）などの特定の細胞事象の特徴を示す。ＩＨＣはまた、生物組織の異なる部分におけるバイオマーカーならびに異なって発現したタンパク質の分布および局在性を理解するための研究おいて広範に使用される。抗体－抗原相互作用の可視化は、多くの方法で行うことができる。最も一般的な例では、抗体を、呈色反応を触媒することができるペルオキシダーゼなどの酵素にコンジュゲートさせる。代わりに、抗体はまた、フルオロフォア（フルオレセイン、ローダミン、ＤｙＬｉｇｈｔ　ＦｌｕｏｒまたはＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒなど）にタグ付けすることができる。
【０３２６】
細胞からのタンパク質を、当業者には周知である技術を使用して単離することができる。例えば、用いるタンパク質単離方法は、ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ（ＨａｒｌｏｗおよびＬａｎｅ、１９８８年、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、

Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）において記載されたものなどでよい。

【０３２７】

１つのフォーマットにおいて、抗体、または抗体フラグメントを、ウエスタンブロットまたは免疫蛍光技術などの方法において使用し、発現したタンパク質を検出することができる。このような使用において、固体支持体上に抗体またはタンパク質を固定化することができる。適切な固相支持体または担体には、抗原または抗体を結合することができる任意の支持体が含まれる。周知の支持体または担体には、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、アミラーゼ、天然および修飾セルロース、ポリアクリルアミド、斑れい岩、ならびにマグネタイトが含まれる。

【０３２８】

抗体または抗原を結合するための多くの他の適切な担体が当業者にとって公知であり、本発明による使用のためにこのような支持体を適合させることができる。例えば、細胞から単離したタンパク質を、ポリアクリルアミドゲル電気泳動で泳動させ、固相支持体（ニトロセルロースなど）上に固定化することができる。次いで、支持体を適切な緩衝液で洗浄し、それに続いて検出可能な程度に標識された抗体によって処理することができる。次いで、固相支持体を緩衝液で２度目に洗浄して、非結合抗体を除去することができる。次いで、固体支持体上の結合した標識の量を、従来の手段によって検出することができる。電気泳動技術を使用したタンパク質を検出する手段は、当業者には周知である（一般に、Ｒ．Ｓｃｏｐｅｓ（１９８２年）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、Ｎ．Ｙ．；Ｄｅｕｔｓｃｈｅｒ（１９９０年）Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、第１８２巻：Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｎ．Ｙ．を参照されたい）。

【０３２９】

別の実施形態では、ウエスタンブロット（イムノブロット）分析を使用して、試料中のポリペプチドの存在を検出および定量化する。この技術は一般に、分子量に基づいてゲル電気泳動によって試料タンパク質を分離することと、分離したタンパク質を適切な固体支持体（ニトロセルロースフィルター、ナイロンフィルター、または誘導体化されたナイロンフィルターなど）に移すことと、試料を、ポリペプチドを特異的に結合する抗体と共にインキュベートすることとを含む。抗ポリペプチド抗体は、固体支持体上でポリペプチドに特異的に結合する。これらの抗体は直接的に標識することができるか、または代わりに、抗ポリペプチドに特異的に結合する標識された抗体（例えば、標識されたヒツジ抗ヒト抗体）を使用してそれに続いて検出することができる。

【０３３０】

別の実施形態では、ポリペプチドを、免疫アッセイを使用して検出する。本明細書において使用する場合、免疫アッセイは、分析物に特異的に結合する抗体を利用するアッセイである。したがって、免疫アッセイは、分析物を単離、標的化、および定量化するための他の物理的または化学的性質の使用とは反対に、抗抗体へのポリペプチドの特異的結合の検出によって特徴付けられる。

【０３３１】

ポリペプチドは、いくつかのよく認識された免疫学的結合アッセイのいずれかを使用して検出および／または定量化する（例えば、米国特許第４，３６６，２４１号；同第４，３７６，１１０号；同第４，５１７，２８８号；および同第４，８３７，１６８号を参照されたい）。一般的な免疫アッセイの概説については、Ａｓａｉ（１９９３年）Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ、第３７巻：Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ；ＳｔｉｔｅｓおよびＴｅｒｒ（１９９１年）Ｂａｓｉｃ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第７版をまた参照されたい。

【０３３２】

免疫学的結合アッセイ（または、免疫アッセイ）は典型的には、「捕獲剤」を利用し、分析物（ポリペプチドまたはサブ配列）を特異的に結合し、固定化することが多い。捕獲剤は、分析物に特異的に結合する部分である。別の実施形態では、捕獲剤は、ポリペプチドに特異的に結合する抗体である。抗体（抗ペプチド）は、当業者には周知であるいくつかの手段のいずれかによって産生することができる。

【０３３３】

免疫アッセイはまた、捕獲剤および分析物によって形成される結合複合体を特異的に結合し、標識するために標識剤を利用することが多い。標識剤自体は、抗体／分析物複合体を含む部分の１つでよい。したがって、標識剤は、標識されたポリペプチドまたは標識された抗抗体でよい。代わりに、標識剤は、抗体／ポリペプチド複合体に特異的に結合する別の抗体などの第３の部分でよい。

【０３３４】

一実施形態では、標識剤は、標識を担持する二次ヒト抗体である。代わりに、二次抗体は標識を欠いていてもよいが、二次抗体は、二次抗体が由来する種の抗体に特異的な標識された三次抗体に結合されていてもよい。二次抗体は、酵素標識されたストレプトアビジンなどの、例えば、三次標識分子が特異的に結合することができるビオチンとして、検出可能な部分で修飾することができる。

【０３３５】

免疫グロブリン定常領域（タンパク質Ａまたはタンパク質Ｇなど）に特異的に結合することができる他のタンパク質をまた、標識剤として使用することができる。これらのタンパク質は、連鎖球菌細菌の細胞壁の通常の構成要素である。これらのタンパク質は、種々の種からの免疫グロブリン定常領域との強力な非免疫原性の反応性を示す（一般に、Ｋｒｏｎｖａｌら、（１９７３年）Ｊ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１１１巻：１４０１～１４０６頁、およびＡｋｅｒｓｔｒｏｍ（１９８５年）Ｊ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１３５巻：２５８９～２５４２頁を参照されたい）。

【０３３６】

上記に示すように、ポリペプチドの検出および／または定量化のための免疫アッセイは、当業者には周知である多種多様のフォーマットを取ることができる。

【０３３７】

ポリペプチドを検出するための例示的な免疫アッセイは、競合または非競合でよい。非競合免疫アッセイは、捕獲した分析物の量を直接的に測定するアッセイである。１つの「サンドイッチ」アッセイにおいて、例えば、捕獲剤（抗ペプチド抗体）を固体基質に直接的に結合することができ、そこで捕獲剤が固定化される。次いで、これらの固定化された抗体は、試験試料中に存在するポリペプチドを捕獲する。次いで、このように固定化されたポリペプチドを、標識剤（標識を担持する二次ヒト抗体など）によって結合させる。

【０３３８】

競合アッセイにおいて、試料中に存在する分析物（ポリペプチド）の量は、試料中に存在する分析物によって捕獲剤（抗ペプチド抗体）から置き換えられた（または競合から離れた）加えられた（外因性）分析物（ポリペプチド）の量を測定することによって間接的に測定される。１つの競合アッセイにおいて、（この場合は）既知量のポリペプチドを試料に加え、次いで、試料を捕獲剤と接触させる。抗体に結合したポリペプチドの量は、試料に存在するポリペプチドの濃度に反比例する。

【０３３９】

別の実施形態では、抗体を、固体基質上で固定化する。抗体に結合したポリペプチドの量は、ポリペプチド／抗体複合体中に存在するポリペプチドの量を測定することによって、または代わりに残存する非複合ポリペプチドの量を測定することによって決定することができる。ポリペプチドの量は、標識されたポリペプチドを提供することによって検出することができる。

【０３４０】

本明細書に記載されているアッセイを、当業者には周知である標準的方法によって（ポ

リペプチドの陽性もしくは陰性または量として）スコア化する。スコア化の特定の方法は、アッセイフォーマットおよび標識の選択によって決まる。例えば、ウエスタンブロットアッセイは、酵素標識によって生じた有色の生成物を可視化することによってスコア化することができる。正しい分子量における明確に可視の有色バンドまたはスポットを、陽性結果としてスコア化し、一方明確に可視のスポットまたはバンドが存在しないことを、陰性としてスコア化する。バンドまたはスポットの強度は、ポリペプチドの定量的尺度を提供することができる。

【０３４１】

本明細書に記載されている様々な免疫アッセイにおいて使用するための抗体は、本明細書に記載のように産生することができる。

【０３４２】

別の実施形態では、遺伝子産物の酵素活性を測定することによって、レベル（活性）をアッセイする。酵素の活性をアッセイする方法は、当業者には周知である。

【０３４３】

マーカータンパク質の検出のためのＩｎ　ｖｉｖｏの技術には、対象に、タンパク質に対して作られる標識された抗体を導入することが含まれる。例えば、対象におけるその存在および場所が標準的イメージング技術によって検出することができる放射性マーカーで抗体を標識することができる。

【０３４４】

本発明の方法によって同定される特定のマーカーは、分泌されたタンパク質でよい。任意の特定のマーカータンパク質が分泌されたタンパク質であるかについて決定するのは、当業者にとって簡単な事柄である。この決定をするために、マーカータンパク質を、例えば、哺乳動物細胞、例えば、ヒト細胞系において発現させ、細胞外液を集め、細胞外液中のタンパク質の存在もしくは不存在を評価する（例えば、タンパク質と特異的に結合する標識された抗体を使用して）。

【０３４５】

下記は、タンパク質分泌を検出するために使用することができる方法の例である。約８×１０^{5}の２９３Ｔ細胞を、３７℃にて５％（ｖ／ｖ）CO_2、９５％空気雰囲気下で増殖培地（１０％ウシ胎仔血清を補足したダルベッコ変法イーグル培地｛ＤＭＥＭ｝）を含有するウェル中で約６０～７０％コンフルエントまでインキュベートする。次いで、タンパク質をコードする発現ベクターを含む２マイクログラムのＤＮＡ、および１０マイクロリットルのＬｉｐｏｆｅｃｔＡＭＩＮＥ（商標）（ＧＩＢＣＯ／ＢＲＬカタログ番号１８３４２－０１２）をウェル毎に含む標準的トランスフェクション混合物を使用して、細胞をトランスフェクトする。トランスフェクション混合物を約５時間維持し、次いで新鮮な増殖培地と置き換え、空気雰囲気中で維持する。各ウェルをメチオニンまたはシステインを含有しないＤＭＥＭ（ＤＭＥＭ－ＭＣ；ＩＣＮカタログ番号１６－４２４－５４）で穏やかに２回すすぐ。約１ミリリットルのＤＭＥＭ－ＭＣおよび約５０マイクロキュリーのＴｒａｎｓ－^{35}Ｓ（商標）試薬（ＩＣＮカタログ番号５１００６）を、各ウェルに加える。ウェルを上記の５％CO_2雰囲気下で維持し、３７℃で選択した期間インキュベートする。インキュベーションに続いて、１５０マイクロリットルの馴化培地を除去し、遠心分離し、浮かんでいる細胞およびデブリを除去する。上清中のタンパク質の存在は、タンパク質が分泌されたことを示す。

【０３４６】

対象試料、例えば、組織、全血、血清、血漿、口腔掻取片、唾液、脳脊髄液、尿、便、および骨髄を含有する試料は、特に、細胞ががんであるとき、より特定すると、がんが転移性であるとき、その中に細胞を含有することができ、したがって本発明の方法において使用することができることを理解されたい。細胞試料は、当然ながら、試料中のマーカーの発現のレベルを評価する前に、種々の周知の収集後の調製および保存技術（例えば、核酸および／またはタンパク質抽出、固定、保存、冷凍、限外濾過、濃縮、蒸発、遠心分離など）に供することができる。したがって、本発明の組成物、キット、および方法を使用

して、マーカーを発現している細胞の表面上に提示された少なくとも１つの部分を有するタンパク質に相当するマーカーの発現を検出することができる。任意の特定のマーカーに相当するタンパク質が、細胞表面タンパク質を含むかについて決定することは、当業者にとって簡単な事柄である。例えば、免疫学的方法を使用して、全細胞上のこのようなタンパク質を検出することができ、または周知のコンピュータをベースとする配列分析方法（例えば、ＳＩＧＮＡＬＰプログラム；Ｎｉｅｌｓｅｎら、１９９７年、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、１０巻：１～６頁）を使用して、（すなわち、分泌されたタンパク質、および少なくとも１つの細胞表面ドメインを有するタンパク質の両方を含めた）少なくとも１つの細胞外ドメインの存在を予測することができる。マーカーを発現している細胞の表面上に提示された少なくとも１つの部分を有するタンパク質に相当するマーカーの発現は、（例えば、タンパク質の細胞表面ドメインと特異的に結合する標識された抗体を使用して）細胞を必ずしも溶解せずに検出することができる。

【０３４７】

本発明はまた、生体試料、例えば、組織、全血、血清、血漿、口腔掻取片、唾液、脳脊髄液、尿、便、および骨髄を含有する試料中の、本発明のマーカーに相当するポリペプチドまたは核酸の存在を検出するためのキットを包含する。このようなキットを使用して、対象ががんを患っているか、またはがんを発生する危険性が高いかについて決定することができる。例えば、キットは、生体試料において本発明のマーカーに相当するポリペプチドまたはポリペプチドコードするｍＲＮＡを検出することができる標識された化合物または薬剤、ならびに試料（例えば、ポリペプチドを結合する抗体、またはポリペプチドをコードするＤＮＡまたはｍＲＮＡに結合するオリゴヌクレオチドプローブ）においてポリペプチドまたはｍＲＮＡの量を決定するための手段を含むことができる。キットにはまた、キットを使用して得た結果を解釈するための説明書を含むことができる。

【０３４８】

抗体をベースとするキットについて、キットは、例えば、（１）本発明のマーカーに相当するポリペプチドに結合する（例えば、固体支持体に付着した）第１の抗体、および任意選択で、（２）ポリペプチドまたは第１の抗体に結合し、かつ検出可能な標識にコンジュゲートしている異なる二次抗体を含むことができる。

【０３４９】

オリゴヌクレオチドをベースとするキットについて、キットは、例えば、（１）本発明のマーカーに相当するポリペプチドをコードする核酸配列にハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、例えば、検出可能な程度に標識されたオリゴヌクレオチド、または（２）本発明のマーカーに相当する核酸分子を増幅するのに有用な１対のプライマーを含むことができる。キットはまた、例えば、緩衝剤、保存剤、またはタンパク質安定化剤を含むことができる。キットは、検出可能な標識（例えば、酵素または基質）を検出するのに必要な成分をさらに含むことができる。キットはまた、アッセイし、かつ試験試料と比較することができる対照試料または一連の対照試料を含有することができる。キットの各成分は個々の容器内に封入することができ、様々な容器の全ては、キットを使用して行ったアッセイの結果を解釈するための説明書と一緒に単一のパッケージ内にあってよい。

【０３５０】

４．構造的変化を検出する方法

本発明はまた、構造的変化、例えば、変異の存在を評価する方法を提供する。

【０３５１】

別の検出方法は、多形部位と重複し、かつ多型領域の周りに約５、約１０、約２０、約２５、または約３０つのヌクレオチドを有するプローブを使用した対立遺伝子特異的ハイブリダイゼーションである。本発明の別の実施形態では、変異に特異的にハイブリダイズすることができるいくつかのプローブを、固相支持体、例えば、「チップ」に付着させる。オリゴヌクレオチドは、リソグラフィーを含めた種々の方法によって固体支持体に結合することができる。例えば、チップは、２５０，０００までのオリゴヌクレオチドを保持することができる（ＧｅｎｅＣｈｉｐ、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ（商標））。オリゴヌクレ

オチドを含むこれらのチップを使用した変異検出分析（また「ＤＮＡプローブアレイ」と称される）は、例えば、Ｃｒｏｎｉｎら、（１９９６年）Ｈｕｍａｎ Ｍｕｔａｔｉｏｎ、７巻：２４４頁に記載されている。一実施形態では、チップは、遺伝子の少なくとも１つの多型領域の全ての変異を含む。次いで、固相支持体を試験核酸と接触させ、特定のプローブへのハイブリダイゼーションを検出する。したがって、１つもしくは複数の遺伝子の多数の変異の同一性を、単純なハイブリダイゼーション実験において同定することができる。例えば、５’上流調節エレメントにおけるヌクレオチド多型の変異の同一性は、単一のハイブリダイゼーション実験において決定することができる。

【０３５２】

他の検出方法において、変異を同定する前に、マーカーの少なくとも一部を最初に増幅することが必要である。増幅は、当技術分野において公知の方法によって、例えば、ＰＣＲおよび／またはＬＣＲによって行うことができる（ＷｕおよびＷａｌｌａｃｅ（１９８９年）Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、４巻：５６０頁を参照されたい）。一実施形態では、細胞のゲノムＤＮＡを、２つのＰＣＲプライマー、および必要とされる量の増幅されたＤＮＡを産生するのに十分な数のサイクルの増幅に曝露させる。特定の実施形態では、プライマーは、１５０～３５０塩基対離れて位置する。

【０３５３】

代わりの増幅方法には、自家持続配列複製（Ｇｕａｔｅｌｌｉ，Ｊ．Ｃ．ら、（１９９０年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８７巻：１８７４～１８７８頁）、転写増幅システム（Ｋｗｏｈ，Ｄ．Ｙ．ら、（１９８９年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８６巻：１１７３～１１７７頁）、Ｑベータレプリカーゼ（Ｌｉｚａｒｄｉ，Ｐ．Ｍ．ら、（１９８８年）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、６巻：１１９７頁）、および自家持続配列複製（Ｇｕａｔｅｌｌｉら、（１９８９年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、８７巻：１８７４頁）、および核酸をベースとする配列増幅（ＮＡＢＳＡ）、または任意の他の核酸増幅方法、それに続く当業者には周知である技術を使用した増幅された分子の検出が含まれる。このような分子が非常に少ない数で存在する場合、これらの検出スキームは、核酸分子の検出のために特に有用である。

【０３５４】

一実施形態では、当技術分野において公知の種々の配列決定反応のいずれかを使用して、マーカーの少なくとも一部を直接的に配列決定し、試料配列の配列と相当する参照（対照）配列を比較することによって、変異を検出することができる。例示的な配列決定反応には、ＭａｘａｍおよびＧｉｌｂｅｒｔ（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ（１９７７年）７４巻：５６０頁）またはＳａｎｇｅｒ（Ｓａｎｇｅｒら、（１９７７年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ、７４巻：５４６３頁）によって開発された技術に基づいたものが含まれる。対象アッセイ（Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ（１９９５年）１９巻：４４８頁）を行うときに、質量分析法による配列決定を含めた種々の自動化配列決定手順のいずれかを利用できることがまた意図される（例えば、Ｈ．ＫｏｓｔｅｒによるＤＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｂｙ Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙと題された米国特許第５，５４７，８３５号、および国際特許出願公開第ＷＯ９４／１６１０１号；Ｈ．ＫｏｓｔｅｒによるＤＮＡ Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｂｙ Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙ Ｖｉａ Ｅｘｏｎｕｃｌｅａｓｅ Ｄｅｇｒａｄａｔｉｏｎと題された米国特許第５，５４７，８３５号および国際特許出願公開第ＷＯ９４／２１８２２号、ならびにＨ．ＫｏｓｔｅｒによるＤＮＡ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ Ｂａｓｅｄ ｏｎ Ｍａｓｓ Ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙと題された米国特許第５，６０５，７９８号および国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ９６／０３６５１号；Ｃｏｈｅｎら、（１９９６年）Ａｄｖ Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ、３６巻：１２７～１６２頁；ならびにＧｒｉｆｆｉｎら、（１９９３年）Ａｐｐｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ、３８巻：１４７～１５９頁を参照されたい）。特定の実施形態のために、配列決定反応において、１つ、２つまたは３つのみの核酸塩基の出現を決定する必要があることを当業者であれば明らかで

あろう。例えば、Ａ－トラックまたは同様のものを、例えば、１つのみのヌクレオチドが検出される場合に行うことができる。

【０３５５】

また他の配列決定法は、例えば、「Ｍｅｔｈｏｄ ｏｆ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｅｍｐｌｏｙｉｎｇ ａ ｍｉｘｅｄ ＤＮＡ－ｐｏｌｙｍｅｒ ｃｈａｉｎ ｐｒｏｂｅ」と題された米国特許第５，５８０，７３２号、および「Ｍｅｔｈｏｄ ｆｏｒ ｍｉｓｍａｔｃｈ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｉｎ ｖｉｔｒｏ ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ」と題された米国特許第５，５７１，６７６号に開示されている。

【０３５６】

他の配列決定法には、これらだけに限らないが、ｉｎ ｖｉｔｒｏのクローン増幅（例えば、Ｍａｒｇｕｌｉｅｓ Ｍ．ら、（２００５年）Ｎａｔｕｒｅ、４３７巻（７０５７号）：３７６～３８０頁；Ｓｈｅｎｄｕｒｅ Ｊ．（２００５年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、３０９巻：１７２８頁に記載されている通り（Ｐｏｌｏｎｙ配列決定としてもまた公知である）；ＳＯＬｉｄ（商標）配列決定（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍ、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ａｐｐｌｉｅｄｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ．ｃｏｍ／ａｂｓｉｔｅ／ｕｓ／ｅｎ／ｈｏｍｅ／ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ－ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ／ｓｏｌｉｄ－ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ－ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ．ｈｔｍｌ）；ブリッジ増幅（Ｉｌｌｕｍｉｎａ、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｉｌｌｕｍｉｎａ．ｃｏｍ／ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ／ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ＿ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ．ｈｔｍｌ）；Ｂｒａｓｌａｖｓｋｙ Ｉ．ら、（２００３年）Ｐｒｏｃ． Ｎａｔｌ． Ａｃａｄ． Ｓｃｉ． Ｕ．Ｓ．Ａ．、１００巻（７号）：３９６０～３９６４頁）、並列処理配列決定（例えば、Ｍａｒｇｕｌｉｅｓ Ｍ．ら、（２００５年）Ｎａｔｕｒｅ、４３７巻（７０５７号）：３７６～３８０頁；Ｒｏｎａｇｈｉ Ｍ．ら、（１９９６年）Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、２４２巻（１号）：８４～８９頁に記載されている通り；可逆的ターミネーター法（例えば、ＩｌｌｕｍｉｎａおよびＨｅｌｉｃｏｓによって使用される）；ピロシーケンス（例えば、４５４Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓによって使用される）、ライゲーションによる配列決定（例えば、Ｓｈｅｎｄｕｒｅ Ｊ．（２００５年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、３０９巻：１７２８頁に記載されている通り；ＳＯＬｉｄ（商標）配列決定（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍ、ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ａｐｐｌｉｅｄｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ．ｃｏｍ／ａｂｓｉｔｅ／ｕｓ／ｅｎ／ｈｏｍｅ／ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ－ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ／ｓｏｌｉｄ－ｎｅｘｔ－ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ－ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ．ｈｔｍｌ）；「ＤＮＡ ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ ｂｙ ｐａｒａｌｌｅｌ ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ｅｘｔｅｎｔｉｏｎｓ」と題された米国特許第５，７５０，３４１号）、マイクロ流体Ｓａｎｇｅｒ配列決定、ハイブリダイゼーションによる配列決定（例えば、Ｈａｎｎａ Ｇ． Ｊ．ら、（２０００年）Ｊ． Ｃｌｉｎ． Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．、３８巻（７号）：２７１５～２７２１頁に記載されているようなＤＮＡマイクロアレイを使用する非酵素方法）；顕微鏡観察をベースとする技術（例えば、米国特許出願公開第２００６／００２９９５７号に記載されている）が含まれる。

【０３５７】

場合によっては、対象からのＤＮＡ中のマーカーの特定の対立遺伝子の存在は、制限酵素分析によって示すことができる。例えば、特定のヌクレオチド多型は、別の変異のヌクレオチド配列が存在しない制限部位を含むヌクレオチド配列をもたらし得る。

【０３５８】

さらなる実施形態では、切断剤（ヌクレアーゼ、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウムなど、およびピペリジンと共に）からの保護を使用して、ＲＮＡ／ＲＮＡ、ＤＮＡ／ＤＮＡ、またはＲＮＡ／ＤＮＡヘテロ二重鎖におけるミスマッチ塩基を検出することができる（Ｍｙｅｒｓら、（１９８５年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、２３０巻：１２４２頁）。一般に、「ミスマッチ切断」の技術は、任意選択で標識された対照核酸、例えば、マーカー変異のヌクレオチド配列を含むＲＮＡまたはＤＮＡと、組織試料から得た試料核酸、例えば、ＲＮＡまたはＤＮＡとをハイブリダイズすることによって形成されるヘテロ二重鎖を提

供することによって開始する。二本鎖の二重鎖を、対照および試料鎖の間の塩基対ミスマッチに基づいて形成された二重鎖などの二重鎖の一本鎖領域を切断する薬剤で処理する。例えば、ＲＮＡ／ＤＮＡ二重鎖をＲＮアーゼで処理し、ＤＮＡ／ＤＮＡハイブリッドをＳ１ヌクレアーゼで処理し、ミスマッチ領域を酵素的に消化することができる。他の実施形態では、ＤＮＡ／ＤＮＡまたはＲＮＡ／ＤＮＡ二重鎖は、ミスマッチ領域を消化するために、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウムで、およびピペリジンで処理することができる。ミスマッチ領域の消化後に、このように得られた材料を次いで、変性ポリアクリルアミドゲル上のサイズによって分離し、対照および試料核酸が同一のヌクレオチド配列を有するかについて、またはどのヌクレオチドにおいてそれらが異なるかについて決定する。例えば、Ｃｏｔｔｏｎら（１９８８年）Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ、８５巻：４３９７頁；Ｓａｌｅｅｂａら（１９９２年）Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．、２１７巻：２８６～２９５頁を参照されたい。別の実施形態では、対照または試料核酸を、検出のために標識する。

【０３５９】

別の実施形態では、変異は、変性高速液体クロマトグラフィー（ＤＨＰＬＣ）によって同定することができる（ＯｅｆｎｅｒおよびＵｎｄｅｒｈｉｌｌ、（１９９５年）Ａｍ．Ｊ．　Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎ．、５７巻：補遺Ａ２６６）。ＤＨＰＬＣは逆相イオン対クロマトグラフィーを使用して、ＰＣＲ断片内の特定のヌクレオチド遺伝子座においてヘテロ接合性である個体からのその断片の増幅の間に生じたヘテロ二重鎖を検出する（ＯｅｆｎｅｒおよびＵｎｄｅｒｈｉｌｌ（１９９５年）Ａｍ．Ｊ．Ｈｕｍａｎ　Ｇｅｎ．、５７巻：補遺Ａ２６６）。一般に、ＰＣＲ産物は、対象のＤＮＡに隣接したＰＣＲプライマーを使用して産生する。ＤＨＰＬＣ分析を行い、このように得られたクロマトグラムを分析し、特定のクロマトグラフィープロファイルに基づいた塩基対の変化または欠失を同定する（Ｏ’Ｄｏｎｏｖａｎら、（１９９８年）Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、５２巻：４４～４９頁を参照されたい）。

【０３６０】

他の実施形態では、電気泳動移動度の変化を使用して、マーカー変異のタイプを同定する。例えば、一本鎖高次構造多型（ＳＳＣＰ）を使用して、変異体と野生型核酸との間の電気泳動移動度の差異を検出することができる（Ｏｒｉｔａら、（１９８９年）Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ　ＵＳＡ、８６巻：２７６６頁、Ｃｏｔｔｏｎ（１９９３年）Ｍｕｔａｔ　Ｒｅｓ、２８５巻：１２５～１４４頁、およびＨａｙａｓｈｉ（１９９２年）Ｇｅｎｅｔ　Ａｎａｌ　Ｔｅｃｈ　Ａｐｐｌ、９巻：７３～７９頁をまた参照されたい）。試料および対照核酸の一本鎖ＤＮＡ断片を変性させ、再生させる。一本鎖核酸の二次構造は配列によって変化し、電気泳動移動度におけるこのように得られた変化によって、単一の塩基の変化の検出でさえ可能となる。ＤＮＡ断片は、標識されたプローブで標識または検出することができる。アッセイの感受性は、（ＤＮＡよりむしろ）ＲＮＡを使用することによって増強することができ、ここでは二次構造は配列の変化に対してより感受性である。別の実施形態では、対象方法は、ヘテロ二重鎖分析を利用し、電気泳動移動度の変化に基づいて二本鎖のヘテロ二重鎖分子を分離する（Ｋｅｅｎら、（１９９１年）Ｔｒｅｎｄｓ　Ｇｅｎｅｔ、７巻：５頁）。

【０３６１】

さらに別の実施形態では、多型領域の変異の同一性は、変性剤の勾配を含有するポリアクリルアミドゲル中の多型領域を含む核酸の動きを分析することによって得られ、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動（ＤＧＧＥ）を使用してアッセイする（Ｍｙｅｒｓら、（１９８５年）Ｎａｔｕｒｅ、３１３巻：４９５頁）。ＤＧＧＥが分析の方法として使用されるとき、ＤＮＡを修飾して、例えば、ＰＣＲによって、概ね４０ｂｐの高融解のＧＣに富んだＤＮＡのＧＣクランプを加えることによって、完全に変性しないことを確実にする。さらなる実施形態では、変性剤濃度勾配の代わりに温度勾配を使用し、対照および試料ＤＮＡの移動性の差異を同定する（ＲｏｓｅｎｂａｕｍおよびＲｅｉｓｓｎｅｒ（１９８７年）Ｂｉｏｐｈｙｓ　Ｃｈｅｍ、２６５巻：１２７５頁）。

【０３６２】
２つの核酸の間の少なくとも１つのヌクレオチドの差異を検出するための技術の例には、これらに限定されないが、選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、または選択的プライマー伸長が含まれる。例えば、オリゴヌクレオチドプローブを調製することができ、ここでは公知の多形ヌクレオチドが中央に置かれ（対立遺伝子特異的プローブ）、次いで完全なマッチが見出される場合に限りハイブリダイゼーションを可能にする条件下で、標的ＤＮＡにハイブリダイズさせる（Ｓａｉｋｉら、（１９８６年）Ｎａｔｕｒｅ、３２４巻：１６３頁）；Ｓａｉｋｉら（１９８９年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ＵＳＡ、８６巻：６２３０頁；およびＷａｌｌａｃｅら、（１９７９年）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、６巻：３５４３頁）。このような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション技術は、マーカーの異なる多型領域におけるいくつかのヌクレオチドの変化の同時検出のために使用することができる。例えば、特異的変異のヌクレオチド配列を有するオリゴヌクレオチドをハイブリダイゼーション用膜に付着させ、次いでこの膜を標識された試料核酸とハイブリダイズさせる。次いで、ハイブリダイゼーションシグナルの分析によって、試料核酸のヌクレオチドの同一性が明らかとなる。

【０３６３】
代わりに、選択的ＰＣＲ増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術を、本発明と併せて使用することができる。特異的増幅のためのプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、（増幅が、ディファレンシャルハイブリダイゼーションに依存するように）分子の中央に（Ｇｉｂｂｓら（１９８９年）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、１７巻：２４３７～２４４８頁）、または１つのプライマーの端の３’末端において対象の変異を運ぶことができ、ここでは適当な条件下で、ミスマッチは、ポリメラーゼ伸長を防止、または減少させることができる（Ｐｒｏｓｓｎｅｒ（１９９３年）Ｔｉｂｔｅｃｈ、１１巻：２３８頁；Ｎｅｗｔｏｎら、（１９８９年）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、１７巻：２５０３頁）。この技術はまた、プローブオリゴ塩基延長を表す「ＰＲＯＢＥ」と称される。さらに、変異の領域において新規な制限部位を導入して、切断をベースとする検出を生じさせることが望ましい（Ｇａｓｐａｒｉｎｉら（１９９２年）Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ Ｐｒｏｂｅｓ、６巻：１号）。

【０３６４】
別の実施形態では、例えば、米国特許第４，９９８，６１７号およびＬａｎｄｅｇｒｅｎ，Ｕ．ら、（１９８８年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４１巻：１０７７～１０８０頁に記載されているように、変異の同定は、オリゴヌクレオチドライゲーションアッセイ（ＯＬＡ）を使用して行う。ＯＬＡプロトコールは、標的の一本鎖の隣接する配列にハイブリダイズすることができるように設計された２つのオリゴヌクレオチドを使用する。オリゴヌクレオチドの１つは、分離マーカー、例えば、ビオチン化マーカーに連結され、およびもう一方のオリゴヌクレオチドは検出可能に標識される。正確な相補配列が標的分子において見出される場合、オリゴヌクレオチドは、それらの末端が隣接し、ライゲーション基質を生じさせるようにハイブリダイズする。次いで、ライゲーションによって、アビジン、または別のビオチンリガンドを使用して、標識されたオリゴヌクレオチドが回復することを可能とする。Ｎｉｃｋｅｒｓｏｎ、Ｄ．Ａ．らは、ＰＣＲおよびＯＬＡの属性を合わせる核酸検出アッセイについて記載した（Ｎｉｃｋｅｒｓｏｎ，Ｄ．Ａ．ら、（１９９０年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（Ｕ．Ｓ．Ａ．）８７巻：８９２３～８９２７頁。この方法において、ＰＣＲを使用して、標的ＤＮＡの指数関数的増幅が達成され、次いでＯＬＡを使用してそれを検出する。

【０３６５】
本発明は、マーカーにおいて一塩基多型を検出するための方法をさらに提供する。一塩基多型は、不変配列の領域に隣接するバリエーションの部位を構成するため、それらの分析は、バリエーションの部位において存在する単一のヌクレオチドの同一性の決定のみを必要とし、各対象についての完全な遺伝子配列を決定する必要がない。いくつかの方法が

、このような一塩基多型の分析を容易にするために開発されてきた。

【０３６６】

一実施形態では、一塩基多型は、例えば、Ｍｕｎｄｙ，Ｃ．Ｒ．（米国特許第４，６５６，１２７号）に開示されているように、特殊化したエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチドを使用することによって検出することができる。この方法によれば、多形部位に対して直ちに３’の対立遺伝子配列に相補的なプライマーは、特定の動物またはヒトから得た標的分子にハイブリダイズすることが可能となる。標的分子上の多形部位が、存在する特定のエキソヌクレアーゼ耐性ヌクレオチド誘導体に相補的なヌクレオチドを含有する場合、その誘導体は、ハイブリダイズされたプライマーの末端上に組み込まれる。このような組込みによって、プライマーはエキソヌクレアーゼに対して耐性となり、それによってその検出が可能となる。試料のエキソヌクレアーゼ耐性誘導体の同一性が公知であるため、プライマーがエキソヌクレアーゼに対して耐性となるという知見によって、標的分子の多形部位において存在するヌクレオチドは、反応において使用されるヌクレオチド誘導体のヌクレオチドに対して相補的であったことが明らかになる。この方法は、大量の外来性配列データの決定を必要としない利点を有する。

【０３６７】

本発明の別の実施形態では、溶液ベースの方法を、多形部位のヌクレオチドの同一性を決定するために使用する（Ｃｏｈｅｎ，Ｄ．ら、仏国特許第２，６５０，８４０号；ＰＣＴ出願公開第ＷＯ９１／０２０８７号）。米国特許第４，６５６，１２７号のＭｕｎｄｙの方法におけるように、多形部位に対して直ちに３’の対立遺伝子配列に対して相補的であるプライマーを用いる。この方法は、標識されたジデオキシヌクレオチド誘導体を使用して、その部位のヌクレオチドの同一性を決定し、多形部位のヌクレオチドに対して相補的である場合、プライマーの末端に組み込まれる。

【０３６８】

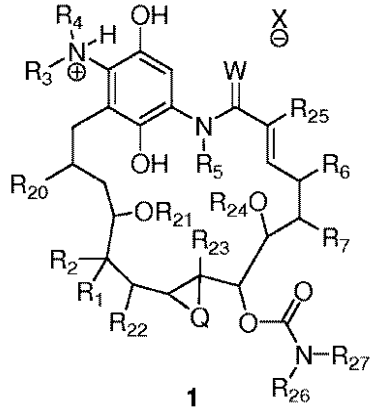
遺伝子ビット分析またはＧＢＡとして公知の代替方法は、Ｇｏｅｌｅｔ，Ｐ．らによって記載されている（ＰＣＴ出願公開第９２／１５７１２号）。Ｇｏｅｌｅｔ，Ｐ．らのこの方法は、標識されたターミネーター、および多形部位に対して３’の配列に対して相補的なプライマーの混合物を使用する。したがって、組み込まれている標識されたターミネーターは、判定される標的分子の多形部位中に存在するヌクレオチドによって決定され、かつヌクレオチドに対して相補的である。Ｃｏｈｅｎらの方法（仏国特許第２，６５０，８４０号；ＰＣＴ出願公開第ＷＯ９１／０２０８７号）と対照的に、Ｇｏｅｌｅｔ，Ｐ．らの方法は、プライマーまたは標的分子が固相に固定化されている不均一相アッセイである。

【０３６９】

ＤＮＡ中の多形部位をアッセイするためのいくつかのプライマーがガイドするヌクレオチド組込み手順が記載されてきた（Ｋｏｍｈｅｒ，Ｊ．Ｓ．ら、（１９８９年）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ．Ｒｅｓ．、１７巻：７７７９～７７８４頁；Ｓｏｋｏｌｏｖ，Ｂ．Ｐ．、（１９９０年）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．、１８巻：３６７１頁；Ｓｙｖａｎｅｎ，Ａ．－Ｃ．ら、（１９９０年）Ｇｅｎｏｍｉｃｓ、８巻：６８４～６９２頁；Ｋｕｐｐｕｓｗａｍｙ，Ｍ．Ｎ．ら、（１９９１年）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（Ｕ．Ｓ．Ａ．）８８巻：１１４３～１１４７頁；Ｐｒｅｚａｎｔ，Ｔ．Ｒ．ら、（１９９２年）Ｈｕｍ．Ｍｕｔａｔ．、１巻：１５９～１６４頁；Ｕｇｏｚｚｏｌｉ，Ｌ．ら、（１９９２年）ＧＡＴＡ、９巻：１０７～１１２頁；Ｎｙｒｅｎ，Ｐ．（１９９３年）ら、Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．、２０８巻：１７１～１７５頁）。これらの方法は、それらが全て、多形部位における塩基を識別するための標識されたデオキシヌクレオチドの組込みに依存するという点でＧＢＡとは異なる。このようなフォーマットにおいて、シグナルは組み込まれているデオキシヌクレオチドの数に比例しているため、同じヌクレオチドの実行において起こる多形は、実行の長さに比例したシグナルをもたらすことができる（Ｓｙｖａｎｅｎ，Ａ．Ｃ．ら、（１９９３年）Ａｍｅｒ．Ｊ．Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅｔ．、５２巻：４６～５９頁）。

【０３７０】
マーカーのコード領域に位置している多型領域の変異の同一性を決定するために、また上記のものとは異なる方法を使用することができる。例えば、変異したマーカーをコードする変異の同定を、例えば、免疫組織化学または免疫沈降において変異タンパク質を特異的に認識する抗体を使用することによって行うことができる。野生型マーカーまたはマーカーの変異した形態に対する抗体は、当技術分野において公知の方法によって調製することができる。
【０３７１】
代わりに、マーカーリガンドへの結合などのマーカーの活性をまた測定することができる。結合アッセイは当技術分野において公知であり、例えば、対象から細胞を得て、標識されたリガンドで結合実験を行い、変異した形態のタンパク質への結合が野生型のタンパク質への結合と異なるかどうかについて決定することを伴う。
【０３７２】
ＶＩＩ．ＨＳＰ９０阻害治療剤、組成物および投与
治療目的のためのＨＳＰ９０阻害薬剤は、当技術分野において公知である。ＨＳＰ９０阻害薬剤には、約９０キロダルトンの質量を有する熱ショックタンパク質のファミリーの各メンバーが含まれる。例えば、ヒトにおいて、高度に保存されたＨｓｐ９０ファミリーには、細胞質Ｈｓｐ９０αおよびＨｓｐ９０βアイソフォーム、ならびにＧＲＰ９４（小胞体に見出される）、ならびにＨＳＰ７５／ＴＲＡＰ１（ミトコンドリアのマトリックスに見出される）が含まれる。
【０３７３】
代表的な非限定的例には、ＩＰＩ－４９３（Ｉｎｆｉｎｉｔｙ　Ｐｈａｒｍ．）、ＩＰＩ－５０４（Ｉｎｆｉｎｉｔｙ　Ｐｈａｒｍ．）、１７－ＡＡＧ（タネスピマイシンまたはＣＮＦ－１０１０としてもまた公知である；ＢＭＳ）、ＢＩＩＢ－０２１（ＣＮＦ－２０２４としてもまた公知である、Ｂｉｏｇｅｎ　ＩＤＥＣ）、ＢＩＩＢ－０２８（Ｂｉｏｇｅｎ　ＩＤＥＣ）、ＡＵＹ－９２２（ＶＥＲ－４９００９としてもまた公知である、Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ＳＮＸ－５４２２（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＳＴＡ－９０９０、ＡＴ－１３３８７（Ａｓｔｅｘ）、ＸＬ－８８８（Ｅｘｅｌｉｘｉｓ）、ＭＰＣ－３１００（Ｍｙｒｉａｄ）、ＣＵ－０３０５（Ｃｕｒｉｓ）、１７－ＤＭＡＧ、ＣＮＦ－１０１０、Ｍａｃｂｅｃｉｎ（例えば、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　Ｉ、Ｍａｃｂｅｃｉｎ　ＩＩ）、ＣＣＴ－０１８１５９、ＣＣＴ－１２９３９７、ＰＵ－Ｈ７１（Ｍｅｍｏｒｉａｌ　Ｓｌｏａｎ　Ｋｅｔｔｅｒｉｎｇ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｎｔｅｒ）、およびＰＦ－０４９２８４７３（ＳＮＸ－２１１２）からなる群から選択されるＨＳＰ９０阻害剤が含まれる。他のＨＳＰ９０阻害剤は、Ｚｈａｎｇ，　Ｍ－Ｑ．ら、Ｊ．　Ｍｅｄ．　Ｃｈｅｍ、５１巻（１８号）：５４９４～５４９７頁（２００８年）およびＭｅｎｚｅｌｌａ，　Ｈ．ら、Ｊ．　Ｍｅｄ．　Ｃｈｅｍ．、５２巻（６号）：１５１２８～１５２１頁（２００９年）に開示されており、それらの内容全体は参照により本明細書中に組み込まれている。
【０３７４】
１．ＩＰＩ－５０４
ＩＰＩ－５０４についての組成物、合成の方法、投与の方法などは、当技術分野でその内容全体が参照により組み込まれているＰＣＴ出願ＷＯ２００５／０６３７１４に見出すことができる。
【０３７５】
本発明はまた、ベンゾキノン含有アンサマイシンの単離された類似体を提供し、ベンゾキノンは、ヒドロキノンに還元され、ヒドロキノンと適切な有機酸または無機酸との反応によってアンモニウム塩として捕捉される。
【０３７６】
一実施形態では、本発明は、式１の純粋で単離された化合物、
【０３７７】

【化１５】

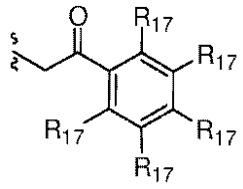


1

またはその遊離塩基を提供し、
式中、出現する毎に独立に、
Ｗは、酸素または硫黄であり、
Ｑは、酸素、ＮＲ、Ｎ（アシル）または結合であり、
Ｘ$^{-}$は、薬学的に許容される酸の共役塩基であり、
Ｒは、出現する毎に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
R_1は、ヒドロキシル、アルコキシル、－ＯＣ（Ｏ）R_8、－ＯＣ（Ｏ）OR_9、－ＯＣ（Ｏ）$NR_{10}R_{11}$、－OSO_2R_{12}、－ＯＣ（Ｏ）$NHSO_2NR_{13}R_{14}$、－$NR_{13}R_{14}$、もしくはハロゲン化物であり、R_2は、水素、アルキル、もしくはアラルキルであり、またはR_1およびR_2は、それらが結合している炭素と一緒になって、－（Ｃ＝Ｏ）－、－（Ｃ＝Ｎ－ＯＲ）－、－（Ｃ＝Ｎ－ＮＨＲ）－、もしくは－（Ｃ＝Ｎ－Ｒ）－を表し、
R_3およびR_4は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（CR_2）$_p$］－R_{16}からなる群から各々独立に選択され、またはR_3はR_4と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_5は、Ｈ、アルキル、アラルキル、および式１ａを有する基からなる群から選択され、

【０３７８】

【化１６】



1a

式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、
R_6およびR_7は、両方とも水素であり、またはR_6およびR_7は、一緒になって結合を形成し、
R_8は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2

）$_p$］－R_{16}であり、
R_9は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、
R_{10}およびR_{11}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（CR_2）$_p$］－R_{16}からなる群から各々独立に選択され、またはR_{10}およびR_{11}はそれらが結合している窒素と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_{12}は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、
R_{13}およびR_{14}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（CR_2）$_p$］－R_{16}からなる群から各々独立に選択され、またはR_{13}およびR_{14}はそれらが結合している窒素と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_{16}は、出現する毎に、水素、ヒドロキシル、アシルアミノ、－N（R_{18}）COR_{19}、－N（R_{18}）C（O）OR_{19}、－N（R_{18}）SO_2（R_{19}）、－CON（R_{18}）（R_{19}）、－OC（O）N（R_{18}）（R_{19}）、－SO_2N（R_{18}）（R_{19}）、－N（R_{18}）（R_{19}）、－OC（O）OR_{18}、－$COOR_{18}$、－C（O）N（OH）（R_{18}）、－OS（O）$_2OR_{18}$、－S（O）$_2OR_{18}$、－OP（O）（OR_{18}）（OR_{19}）、－N（R_{18}）P（O）（OR_{18}）（OR_{19}）、および－P（O）（OR_{18}）（OR_{19}）からなる群から独立に選択され、
pは、１、２、３、４、５、または６であり、
R_{18}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
R_{19}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、またはR_{18}はR_{19}と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている環を表し、
R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{24}、およびR_{25}は、出現する毎に独立に、アルキルであり、
R_{23}は、アルキル、－CH_2OH、－CHO、－$COOR_{18}$、または－CH（OR_{18}）$_2$であり、
R_{26}およびR_{27}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
ただし、R_1がヒドロキシルであり、R_2が水素であり、R_6およびR_7が一緒になって、二重結合を形成し、R_{20}がメチルであり、R_{21}がメチルであり、R_{22}がメチルであり、R_{23}がメチルであり、R_{24}がメチルであり、R_{25}がメチルであり、R_{26}が水素であり、R_{27}が水素であり、Qが結合であり、Wが酸素であるとき、R_3およびR_4は、両方とも水素ではなく、一緒になったときに、非置換アゼチジンを表さず、
式１の不斉中心における絶対立体化学は、ＲもしくはＳ、またはこれらの混合物でよく、二重結合の立体化学は、ＥもしくはＺ、またはこれらの混合物でよい。

【０３７９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、ただし、R_1がヒドロキシルであり、R_2が水素であり、R_5が水素であり、R_6およびR_7が一緒になって、二重結合を形成し、R_{20}がメチルであり、R_{21}がメチルであり、R_{22}がメ

チルであり、R_{23}がメチルであり、R_{24}がメチルであり、R_{25}がメチルであり、R_{26}が水素であり、R_{27}が水素であり、Qが結合であり、Wが酸素であるとき、R_3およびR_4は、両方とも水素ではなく、一緒になったときに、非置換アゼチジンを表さない。

【０３８０】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、およびR_{25}は、メチルであり、R_{26}は、水素であり、Qは、結合であり、Wは、酸素である。

【０３８１】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、前記薬学的に許容される酸は、水中で約－１０～約７のｐＫａを有する。

【０３８２】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、前記薬学的に許容される酸は、水中で約－１０～約４のｐＫａを有する。

【０３８３】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、前記薬学的に許容される酸は、水中で約－１０～約１のｐＫａを有する。

【０３８４】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、前記薬学的に許容される酸は、水中で約－１０～約－３のｐＫａを有する。

【０３８５】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、X^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択される。

【０３８６】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8である。

【０３８７】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_2は、水素である。

【０３８８】

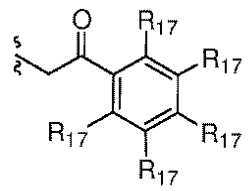
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_3およびR_4は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}である。

【０３８９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_5は、水素であり、または式１ａを有し、

【０３９０】

【化１７】



1a

式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、

アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－ＣＯＲ$_{18}$、－ＣＯ$_2$Ｒ$_{18}$、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）ＣＯ$_2$Ｒ$_{19}$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）ＳＯ$_2$Ｒ$_{19}$、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、および－ＣＨ$_2$Ｏ－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択される。

【０３９１】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_6$およびＲ$_7$は、一緒になって、二重結合を形成する。

【０３９２】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_{27}$は、水素である。

【０３９３】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_1$は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）Ｒ$_8$であり、Ｒ$_2$は、水素である。

【０３９４】

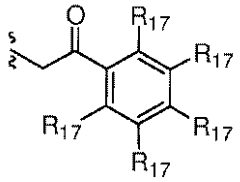
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_1$は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）Ｒ$_8$であり、Ｒ$_2$は、水素であり、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$である。

【０３９５】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_1$は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）Ｒ$_8$であり、Ｒ$_2$は、水素であり、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$であり、Ｒ$_5$は、水素であり、または式１ａを有し、

【０３９６】

【化１８】



1a

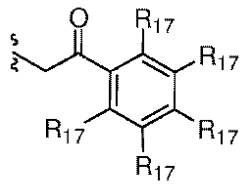
式中、Ｒ$_{17}$は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－ＣＯＲ$_{18}$、－ＣＯ$_2$Ｒ$_{18}$、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）ＣＯ$_2$Ｒ$_{19}$、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）ＳＯ$_2$Ｒ$_{19}$、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）Ｃ（Ｏ）Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、および－ＣＨ$_2$Ｏ－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択される。

【０３９７】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_1$は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）Ｒ$_8$であり、Ｒ$_2$は、水素であり、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$であり、Ｒ$_5$は、水素であり、または式１ａを有し、

【０３９８】

【化１９】



1a

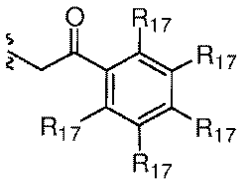
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、$R_6$および$R_7$は一緒になって、二重結合を形成する。

【０３９９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－$OC(O)R_8$であり、R_2は、水素であり、R_3およびR_4は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－$[(CR_2)_p]-R_{16}$であり、R_5は、水素であり、または式１ａを有し、

【０４００】

【化２０】



1a

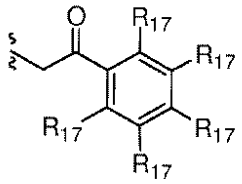
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、$R_6$および$R_7$は一緒になって、二重結合を形成し、$R_{27}$は、水素である。

【０４０１】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－$OC(O)R_8$であり、R_2は、水素であり、R_3およびR_4は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－$[(CR_2)_p]-R_{16}$であり、R_5は、水素であり、または式１ａを有し、

【０４０２】

【化２１】



1a

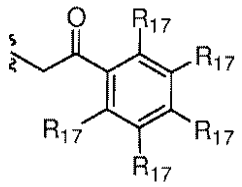
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、$R_6$および$R_7$は一緒になって、二重結合を形成し、$R_{27}$は、水素であり、$X^-$は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、$HSO_4^-$、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択される。

【０４０３】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－$OC(O)R_8$であり、R_2は、水素であり、R_3およびR_4は、独立に、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－$[(CR_2)_p]$－R_{16}であり、R_5は、水素であり、または式１ａを有し、

【０４０４】

【化２２】



1a

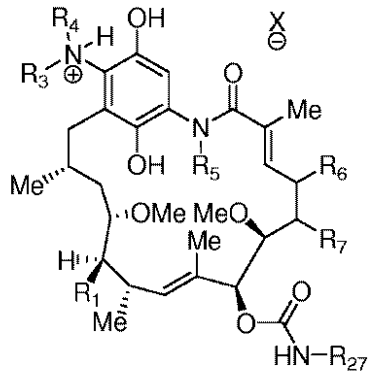
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、$R_6$および$R_7$は一緒になって、二重結合を形成し、$R_{27}$は、水素であり、$X^-$は、クロリドおよびブロミドからなる群から選択される。

【０４０５】

一実施形態では、本発明は、式２に示したような絶対立体化学を有する純粋で単離された化合物、またはその遊離塩基を提供し、

【０４０６】

【化２３】

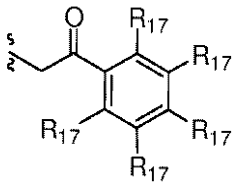


2

式中、出現する毎に独立に、
X^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択され、
R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8であり、
R_3およびR_4は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、もしくは－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、またはR_3はR_4と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_5は、水素であり、または式１ａを有し、

【０４０７】

【化２４】



1a

式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－N（R_{18}）CO_2R_{19}、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、－N（R_{18}）SO_2R_{19}、－N（R_{18}）Ｃ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、および－CH_2O－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、
R_6およびR_7は、両方とも水素であり、またはR_6およびR_7は、一緒になって結合を形成し、
R_8は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、
R_{16}は、出現する毎に、水素、ヒドロキシル、アシルアミノ、

【０４０８】

【化２５】

$-N(R_{18})COR_{19}$, $-N(R_{18})C(O)OR_{19}$, $-N(R_{18})SO_2(R_{19})$,
$-CON(R_{18})(R_{19})$, $-OC(O)N(R_{18})(R_{19})$, $-SO_2N(R_{18})(R_{19})$, $-N(R_{18})(R_{19})$, $-OC(O)OR_{18}$,
$-COOR_{18}$, $-C(O)N(OH)(R_{18})$, $-OS(O)_2OR_{18}$, $-S(O)_2OR_{18}$, $-OP(O)(OR_{18})(OR_{19})$,
$-N(R_{18})P(O)(OR_{18})(OR_{19})$, **および** $-P(O)(OR_{18})(OR_{19})$;

からなる群から独立に選択され、
ｐは、１、２、３、４、５、または６であり、
R_{18}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
R_{19}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、またはR_{18}はR_{19}と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている環を表し、
R_{27}は、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、
ただし、R_1がヒドロキシルであり、R_2が水素であり、R_6およびR_7が一緒になって、二重結合を形成し、R_{27}が水素であるとき、R_3およびR_4は両方とも水素ではなく、一緒になったときに、非置換アゼチジンを表さず、
二重結合の立体化学は、ＥもしくはＺ、またはこれらの混合物でよい。

【０４０９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、ただし、R_1がヒドロキシルであり、R_5が水素であり、R_6およびR_7が一緒になって、二重結合を形成し、R_{27}が水素であるとき、R_3およびR_4は両方とも水素ではなく、一緒になったときに、非置換アゼチジンを表さない。

【０４１０】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルである。

【０４１１】

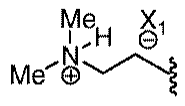
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_3は、アリルである。

【０４１２】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物またはその遊離塩基および付随的定義に関し、R_3は、式９を有し、

【０４１３】

【化２６】



9

式中、X_1^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、および１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択される。

【０４１４】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_4は、水素である。

【０４１５】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_5は、水素である。

【０４１６】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_6およびR_7は、一緒になって結合を形成する。

【０４１７】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_{27}は、水素である。

【０４１８】

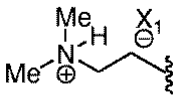
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_4は、水素である。

【０４１９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物またはその遊離塩基および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、式９を有し、

【０４２０】

【化２７】



９

式中、X_1^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、および１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択され、R_4は、水素である。

【０４２１】

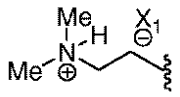
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_4は、水素であり、R_5は、水素である。

【０４２２】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物またはその遊離塩基および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、式９を有し、

【０４２３】

【化２８】



９

式中、X_1^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、および１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択され、R_4は、水素であり、R_5は、水素である。

【０４２４】

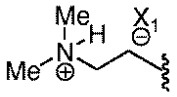
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_4は、水素であり、R_5は、水素であり、R_6およびR_7は、一緒になって結合を形成する。

【０４２５】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物またはその遊離塩基および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、式９を有し、

【０４２６】

【化２９】



9

式中、X_1^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、および１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択され、R_4は、水素であり、R_5は、水素であり、R_6およびR_7は、一緒になって結合を形成する。

【０４２７】

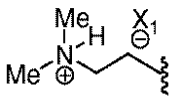
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_4は、水素であり、R_5は、水素であり、R_6およびR_7は、一緒になって結合を形成し、R_{27}は、水素である。

【０４２８】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物またはその遊離塩基および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、式９を有し、

【０４２９】

【化３０】



9

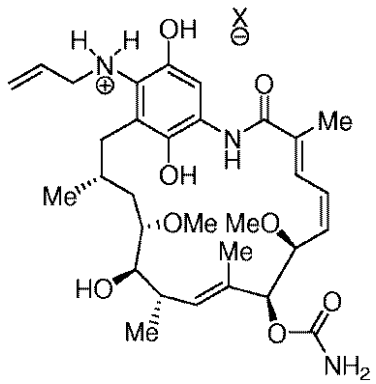
式中、X_1^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、および１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択され、R_4は、水素であり、R_5は、水素であり、R_6およびR_7は、一緒になって結合を形成し、R_{27}は、水素である。

【０４３０】

一実施形態では、本発明は、式３に示したような絶対立体化学を有する純粋で単離された化合物を提供し、

【０４３１】

【化３１】



3

式中、X^-は、クロリド、ブロミド、ヨージド、$H_2PO_4^-$、HSO_4^-、メチルスルホネート、ベンゼンスルホネート、ｐ－トルエンスルホネート、トリフルオロメチルスルホネート、および１０－カンファースルホネート、ナフタレン－１－スルホン酸－５－スルホネート、エタン－１－スルホン酸－２－スルホネート、シクラミン酸塩、チオシアン酸塩、ナフタレン－２－スルホネート、およびオキサレートからなる群から選択される。

【０４３２】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、X^-は、クロリドである。

【０４３３】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、X^-は、ブロミドである。

【０４３４】

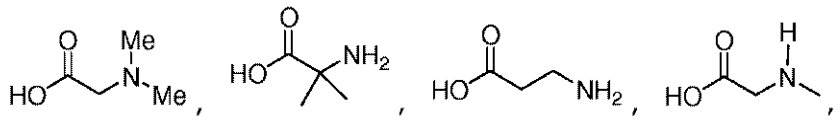
一実施形態では、本発明は、上記の化合物の任意の１つの化合物とアミノ酸とを含む組成物に関する。

【０４３５】

特定の実施形態では、本発明は、上記の組成物および付随的定義に関し、アミノ酸は、

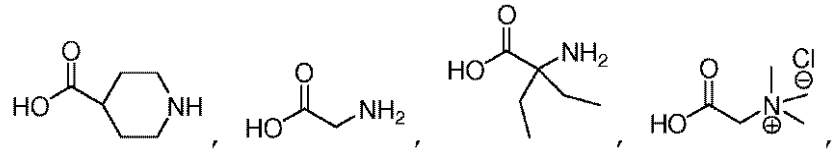
【０４３６】

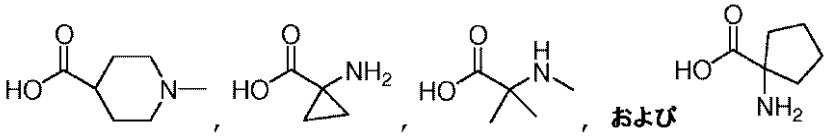
【化３２】



【０４３７】

【化３３】





および

からなる群から選択される。

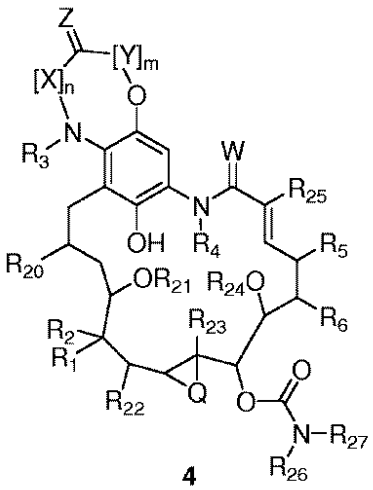
【０４３８】

一実施形態では、本発明は、式４の化合物、または薬学的に許容されるその塩を提供し

、

【０４３９】

【化３４】



4

式中、出現する毎に独立に、

Ｗは、酸素または硫黄であり、

Ｚは、酸素または硫黄であり、

Ｑは、酸素、ＮＲ、Ｎ（アシル）または結合であり、

ｎは、０、１、または２と等しく、

ｍは、０、１、または２と等しく、

ＸおよびＹは、独立に、Ｃ（Ｒ$_{30}$）$_2$であり、Ｒ$_{30}$は、出現する毎に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキル；または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$からなる群から独立に選択され、

Ｒは、出現する毎に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、

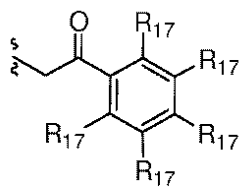
Ｒ$_1$は、ヒドロキシル、アルコキシル、－ＯＣ（Ｏ）Ｒ$_8$、－ＯＣ（Ｏ）ＯＲ$_9$、－ＯＣ（Ｏ）ＮＲ$_{10}$Ｒ$_{11}$、－ＯＳＯ$_2$Ｒ$_{12}$、－ＯＣ（Ｏ）ＮＨＳＯ$_2$ＮＲ$_{13}$Ｒ$_{14}$、－ＮＲ$_{13}$Ｒ$_{14}$、もしくはハロゲン化物であり、Ｒ$_2$は、水素、アルキル、もしくはアラルキルであり、またはＲ$_1$およびＲ$_2$は、それらが結合している炭素と一緒になって、－（Ｃ＝Ｏ）－、－（Ｃ＝Ｎ－ＯＲ）－、－（Ｃ＝Ｎ－ＮＨＲ）－、もしくは－（Ｃ＝Ｎ－Ｒ）－を表し、

Ｒ$_3$は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$からなる群から各々独立に選択され、

Ｒ$_4$は、Ｈ、アルキル、アラルキル、および式４ａを有する基からなる群から選択され、

【０４４０】

【化３５】



4a

式中、Ｒ$_{17}$は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－ＣＯＲ$_{18}$、

－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、
R_5およびR_6は、両方とも水素であり、またはR_5およびR_6は、一緒になって結合を形成し、
R_8は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［$(CR_2)_p$］－R_{16}であり、
R_9は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［$(CR_2)_p$］－R_{16}であり、
R_{10}およびR_{11}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［$(CR_2)_p$］－R_{16}からなる群から各々独立に選択され、またはR_{10}およびR_{11}はそれらが結合している窒素と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_{12}は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［$(CR_2)_p$］－R_{16}であり、
R_{13}およびR_{14}は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、および－［$(CR_2)_p$］－R_{16}からなる群から各々独立に選択され、またはR_{13}およびR_{14}はそれらが結合している窒素と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R_{16}は、出現する毎に、水素、ヒドロキシル、アシルアミノ、
【０４４１】
【化３６】

$$-N(R_{18})COR_{19},\ -N(R_{18})C(O)OR_{19},\ -N(R_{18})SO_2(R_{19}),$$
$$-CON(R_{18})(R_{19}),\ -OC(O)N(R_{18})(R_{19}),\ -SO_2N(R_{18})(R_{19}),\ -N(R_{18})(R_{19}),\ -OC(O)OR_{18},$$
$$-COOR_{18},\ -C(O)N(OH)(R_{18}),\ -OS(O)_2OR_{18},\ -S(O)_2OR_{18},\ -OP(O)(OR_{18})(OR_{19}),$$
$$-N(R_{18})P(O)(OR_{18})(OR_{19}),\ \textbf{および}\ -P(O)(OR_{18})(OR_{19});$$

からなる群から独立に選択され、
ｐは、１、２、３、４、５、または６であり、
R_{18}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
R_{19}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、またはR_{18}はR_{19}と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている環を表し、
R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{24}、およびR_{25}は、出現する毎に独立に、アルキルであり、
R_{23}は、アルキル、－CH_2OH、－CHO、－$COOR_{18}$、または－$CH(OR_{18})_2$であり、
R_{26}およびR_{27}は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
式４の不斉中心における絶対立体化学は、ＲもしくはＳ、またはこれらの混合物でよく、

二重結合の立体化学は、ＥもしくはＺ、またはこれらの混合物でよい。

【０４４２】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_{20}、R_{21}、R_{22}、R_{23}、R_{24}、R_{25}はメチルであり、R_{26}は、水素であり、Ｑは、結合であり、ＺおよびＷは、酸素である。

【０４４３】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8である。

【０４４４】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_2は、水素である。

【０４４５】

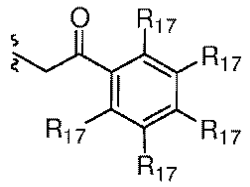
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_3は、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}である。

【０４４６】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_4は、水素であり、または式１ａを有し、

【０４４７】

【化３７】



1a

式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－Ｎ（R_{18}）CO_2R_{19}、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、－Ｎ（R_{18}）SO_2R_{19}、－Ｎ（R_{18}）Ｃ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、および－CH_2Ｏ－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択される。

【０４４８】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成する。

【０４４９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、ＸおよびＹは、－CH_2－である。

【０４５０】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、ｎは、０と等しく、ｍは、０または１と等しい。

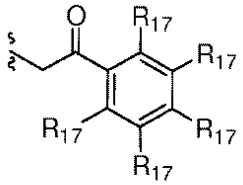
【０４５１】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8であり、R_2は、水素である。

【０４５２】

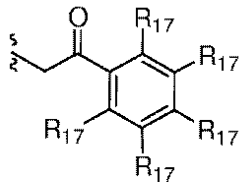
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8であり、R_2は、水素であり、R_3は、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}である。

【０４５３】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8であり、R_2は、水素であり、R_3は、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、R_4は、水素であり、または式１ａを有し、
【０４５４】
【化３８】



1a

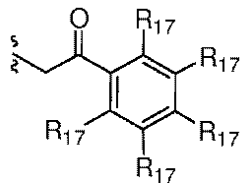
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－Ｎ（R_{18}）CO_2R_{19}、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、－Ｎ（R_{18}）SO_2R_{19}、－Ｎ（R_{18}）Ｃ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、および－CH_2Ｏ－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択される。
【０４５５】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8であり、R_2は、水素であり、R_3は、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、R_4は、水素であり、または式１ａを有し、
【０４５６】
【化３９】



1a

式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－Ｎ（R_{18}）CO_2R_{19}、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、－Ｎ（R_{18}）SO_2R_{19}、－Ｎ（R_{18}）Ｃ（Ｏ）Ｎ（R_{18}）（R_{19}）、および－CH_2Ｏ－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成する。
【０４５７】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）R_8であり、R_2は、水素であり、R_3は、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（CR_2）$_p$］－R_{16}であり、R_4は、水素であり、または式１ａを有し、
【０４５８】

【化４０】



1a

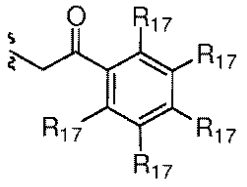
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、$R_5$および$R_6$は、一緒になって結合を形成し、XおよびYは、－$CH_2$－である。

【０４５９】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルまたは－$OC(O)R_8$であり、R_2は、水素であり、R_3は、水素、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－$[(CR_2)_p]$－R_{16}であり、R_4は、水素であり、または式１ａを有し、

【０４６０】

【化４１】



1a

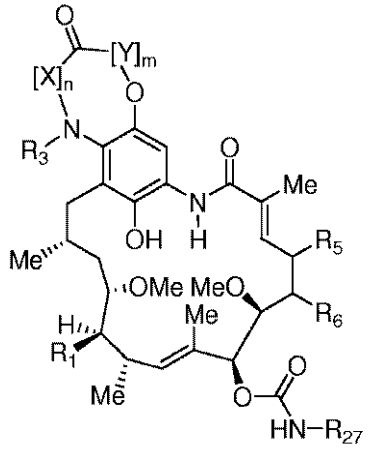
式中、R_{17}は、水素、ハロゲン化物、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アシルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アシルアミノ、アラルキルアミノ、ニトロ、アシルチオ、カルボキサミド、カルボキシル、ニトリル、－COR_{18}、－CO_2R_{18}、－$N(R_{18})CO_2R_{19}$、－$OC(O)N(R_{18})(R_{19})$、－$N(R_{18})SO_2R_{19}$、－$N(R_{18})C(O)N(R_{18})(R_{19})$、および－$CH_2O$－ヘテロシクリルからなる群から独立に選択され、$R_5$および$R_6$は、一緒になって結合を形成し、XおよびYは、－$CH_2$－であり、ｎは、０と等しく、ｍは、０または１と等しい。

【０４６１】

一実施形態では、本発明は、式５に示されるような絶対立体化学を有する化合物を提供し、

【０４６２】

【化４２】



5

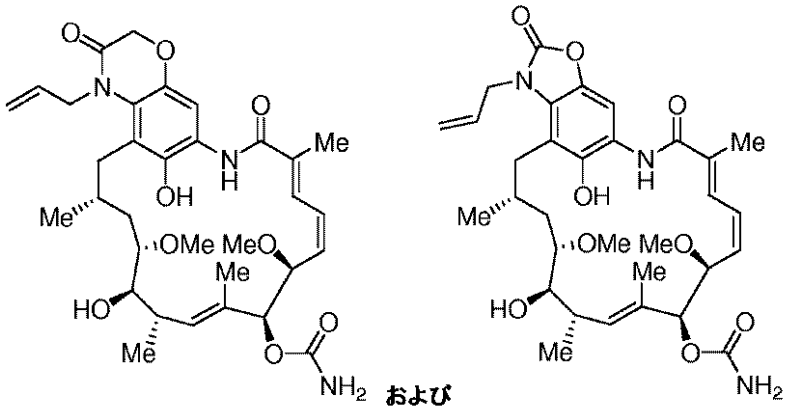
式中、出現する毎に独立に、
ｎは、０、１、または２と等しく、
ｍは、０、１、または２と等しく、
ＸおよびＹは、独立に、Ｃ（Ｒ$_{30}$）$_2$であり、Ｒ$_{30}$は、出現する毎に、水素、アルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキル；または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$からなる群から独立に選択され、
Ｒ$_1$は、ヒドロキシルまたは－ＯＣ（Ｏ）Ｒ$_8$であり、
Ｒ$_3$は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アラルキル、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$であり、
Ｒ$_5$およびＲ$_6$は、両方とも水素であり、またはＲ$_5$およびＲ$_6$は、一緒になって結合を形成し、
Ｒ$_8$は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（ＣＲ$_2$）$_p$］－Ｒ$_{16}$であり、
Ｒ$_{16}$は、出現する毎に、水素、ヒドロキシル、アシルアミノ、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）ＣＯＲ$_{19}$、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）Ｃ（Ｏ）ＯＲ$_{19}$、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）ＳＯ$_2$（Ｒ$_{19}$）、－ＣＯＮ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、－ＯＣ（Ｏ）Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、－ＳＯ$_2$Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）（Ｒ$_{19}$）、－ＯＣ（Ｏ）ＯＲ$_{18}$、－ＣＯＯＲ$_{18}$、－Ｃ（Ｏ）Ｎ（ＯＨ）（Ｒ$_{18}$）、－ＯＳ（Ｏ）$_2$ＯＲ$_{18}$、－Ｓ（Ｏ）$_2$ＯＲ$_{18}$、－ＯＰ（Ｏ）（ＯＲ$_{18}$）（ＯＲ$_{19}$）、－Ｎ（Ｒ$_{18}$）Ｐ（Ｏ）（ＯＲ$_{18}$）（ＯＲ$_{19}$）、および－Ｐ（Ｏ）（ＯＲ$_{18}$）（ＯＲ$_{19}$）からなる群から独立に選択され、
ｐは、１、２、３、４、５、または６であり、
Ｒ$_{18}$は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、
Ｒ$_{19}$は、出現する毎に、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、およびヘテロアラルキルからなる群から独立に選択され、またはＲ$_{18}$はＲ$_{19}$と一緒になって、４～８員の任意選択で置換されている環を表し、
Ｒ$_{27}$は、水素、アルキル、アリール、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、
二重結合の立体化学は、ＥもしくはＺ、またはこれらの混合物でよい。

【０４６３】

特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、Ｒ$_1$は、ヒドロキシルである。

【０４６４】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_3は、アリルである。
【０４６５】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成する。
【０４６６】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_{27}は、水素である。
【０４６７】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、ＸおよびＹは、－CH_2－である。
【０４６８】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、ｎは、０と等しく、ｍは、０または１と等しい。
【０４６９】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルである。
【０４７０】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成する。
【０４７１】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成し、R_{27}は、水素である。
【０４７２】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成し、R_{27}は、水素であり、ＸおよびＹは、－CH_2－である。
【０４７３】
特定の実施形態では、本発明は、上記の化合物および付随的定義に関し、R_1は、ヒドロキシルであり、R_3は、アリルであり、R_5およびR_6は、一緒になって結合を形成し、R_{27}は、水素であり、ＸおよびＹは、－CH_2－であり、ｎは、０と等しく、ｍは、０または１と等しい。
【０４７４】
一実施形態では、本発明は、
【０４７５】

【化４３】



からなる群から選択される化合物を提供する。

【０４７６】

上記および下記の項に記載されている実施形態は、ゲルダナマイシンファミリーの分子のヒドロキノン類似体を包含する。１７－ＡＡＧ（１７－アリルアミノ－１８，２１－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン）の還元した形態に加えて、本発明の他の化合物は、これらに限定されないが、１７－アミノ－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシ－ゲルダナマイシン；１７－メチルアミノ－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－シクロプロピルアミノ－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナルニシン；１７－（２’－ヒドロキシエチルアミノ）－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルクラナマイシン；１７－（２－メトキシエチルアミノ）－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（２’－フルオロエチルアミノ）－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（Ｓ）－（＋）－２－ヒドロキシプロピルアミノ－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アゼチジン－１－イル－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（３－ヒドロキシアゼチジン－１－イル）－４，５－ジヒドロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アゼチジン－１－イル－４，５－ジヒドロ－１１－α－フルオロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（２’－シアノエチルアミノ）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（２’－フルオロエチルアミノ）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アミノ－２２－（２’－メトキシフェナシル）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アミノ－２２－（３’－メトキシフェナシル）－１７－デメトキシゲルダネトマイシン；１７－アミノ－２２－（４’－クロロフェナシル）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アミノ－２２－（３’，４’－ジクロロフェナシル）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アミノ－２２－（４’－アミノ－３’－ヨードフェナシル）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アミノ－２２－（４’－アジド－３’－ヨードフェナシル）－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アミノ－１１－α－フルオロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アリルアミノ－１１－α－フルオロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－プロパルギルアミノ－１１－α－フルオロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（２’－フルオロエチルアミノ）－１１－α－フルオロ－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アゼチジン－１－イル－１１－（４’－アジドフェニル）スルファミルカルボニル－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－（２’－フルオロエチルアミノ）－１１－ケト－１７－デメトキシゲルダナマイシン；１７－アゼチジン－１－イル－１１－ケト－１７－デメトキシゲルダナマイシン；および１７－（３’－ヒドロキシアゼチジン－１－イル）－１１－ケト－１７－デメトキシゲルダナマイシンの１８，２１－ジヒドロアナログを含めた１８，２１－ジヒドロ－ゲルダナマイシンファミリーに関する。

【０４７７】

本明細書において概要を述べる方法論は、任意のアミノ置換ベンゾキノンアンサマイシ

ンと共に使用することができることを当業者であれば理解するであろう。

【０４７８】

本発明の組成物は、還元アンサマイシンの塩、例えば、ＨＣｌまたはH_2SO_4塩として存在する。別の実施形態では、化合物は、アミノ酸、例えば、グリシンなどの別の塩と同時結晶化する。一般に、これらの実施形態では、アミノ酸とアンサマイシンの比は変化し得るが、２：１～１：２のアミノ酸：アンサマイシンであることが多い。

【０４７９】

２．ＩＰＩ－４９３

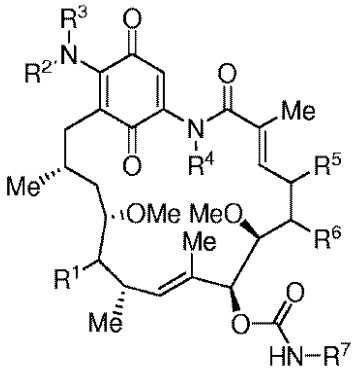
ＩＰＩ－４９３についての組成物、合成の方法、投与の方法などは、その内容全体が参照により組み込まれているＰＣＴ出願ＷＯ２００８／０７３４２４に見出すことができる。

【０４８０】

いくつかの実施形態では、結晶化阻害剤および式１の化合物、または薬学的に許容されるその塩を含む、経口投与のための医薬組成物を提供し、

【０４８１】

【化４４】



1

式中、

R^1は、Ｈ、－OR^8、－SR^8、－$N(R^8)(R^9)$、－$N(R^8)C(O)R^9$、－$N(R^8)C(O)OR^9$、－$N(R^8)C(O)N(R^8)(R^9)$、－$OC(O)R^8$、－$OC(O)OR^8$、－$OS(O)_2R^8$、－$OS(O)_2OR^8$、－$OP(O)_2OR^8$、ＣＮまたはカルボニル部分であり、

R^2およびR^3の各々は、独立に、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルキル（ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｌｏａｋｌｙｌ）、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、－Ｃ（＝Ｏ）CH_3もしくは－［（$C(R^{10})_2)_p$］－R^{11}であり、またはR^2およびR^3はそれらが結合している窒素と一緒になって、Ｏ、Ｎ、Ｓ、およびＰから選択される１～３個のヘテロ原子を含有する、３～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、

ｐは、独立に出現する毎に、０、１、２、３、４、５、または６であり、

R^4は、Ｈ、アルキル、アルケニル（ａｋｅｎｙｌ）、またはアラルキルであり、

R^5およびR^6は、各々Ｈであり、またはR^5およびR^6は、一緒になって結合を形成し、

R^7は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、または－［（$C(R^{10})_2)_p$］－R^{11}であり、

R^8およびR^9の各々は、独立に、出現する毎に、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、ヘテロアラルキル、もしくは－［（$C(R^{10})_2)_p$］－R^{11}であり、またはR^8およびR^9は一緒になって、Ｏ、Ｎ、Ｓ、およびＰから選択される１～

３個のヘテロ原子を含有する、３～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R^{10}は、出現する毎に、独立に、Ｈ、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロシクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、またはヘテロアラルキルであり、
R^{11}は、出現する毎に、独立に、Ｈ、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、－OR^8、－SR^8、－$N(R^8)(R^9)$、－$N(R^8)C(O)R^9$、－$N(R^8)C(O)OR^9$、－$N(R^8)C(O)N(R^8)(R^9)$、－$OC(O)R^8$、－$OC(O)OR^8$、－$OS(O)_2R^8$、－$OS(O)_2OR^8$、－$OP(O)_2OR^8$、－$C(O)R^8$、－$C(O)_2R^8$、－$C(O)N(R^8)(R^9)$、ハロゲン化物、またはＣＮである。

【０４８２】

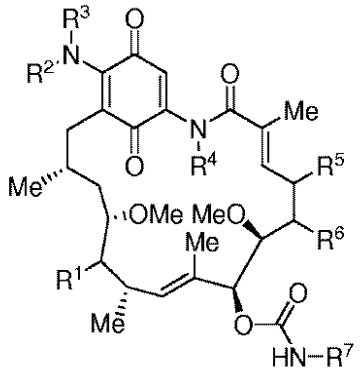
いくつかの実施形態では、R^1は、ＯＨであり、R^4は、Ｈであり、R^5およびR^6は、一緒になって結合を形成する。

【０４８３】

いくつかの実施形態では、結晶化阻害剤および式１の化合物を含む、経口投与のための医薬組成物を提供する。

【０４８４】

【化４５】

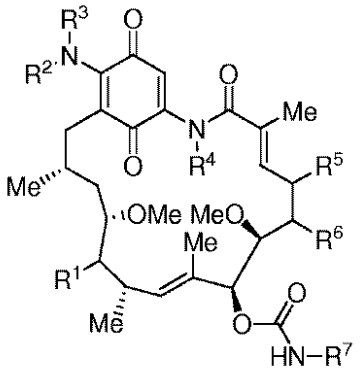


1

いくつかの実施形態では、結晶化阻害剤および式１の化合物、または薬学的に許容されるその塩を含む、経口投与のための医薬組成物を提供し、

【０４８５】

【化４６】



1

式中、
R^1は、－OR^8、－Ｃ（＝Ｏ）CH_3またはカルボニル部分であり、
R^2およびR^3の各々は、独立に、Ｈ、アルキル、アルケニルもしくは－［（$C(R^{10})_2)_p$］－R^{11}であり、またはR^2およびR^3はそれらが結合している窒素と一緒に

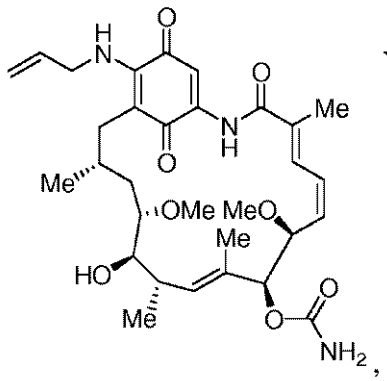
なって、Ｏ、Ｎ、Ｓ、およびＰから選択される１～３個のヘテロ原子を含有する、３～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
ｐは、独立に、出現する毎に、０、１、または２であり、
R^4は、Ｈであり、
R^5およびR^6は、各々Ｈであり、またはR^5およびR^6は、一緒になって結合を形成し、
R^7は、水素または－［（Ｃ（R^{10}）$_2$）$_p$］－R^{11}であり、
R^8およびR^9の各々は、独立に、Ｈであり、またはR^8およびR^9は一緒になって、Ｏ、Ｎ、Ｓ、およびＰから選択される１～３個のヘテロ原子を含有する、３～８員の任意選択で置換されている複素環を表し、
R^{10}は、出現する毎に、独立に、Ｈであり、
R^{11}は、出現する毎に、独立に、Ｈ、－Ｎ（R^8）（R^9）、またはハロゲン化物である。

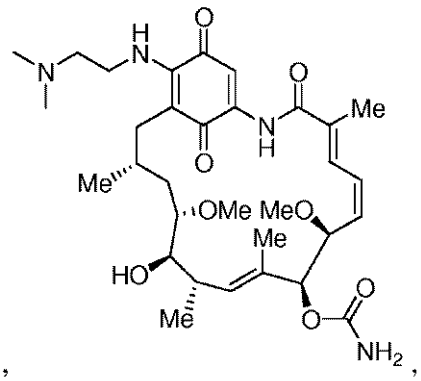
【０４８６】

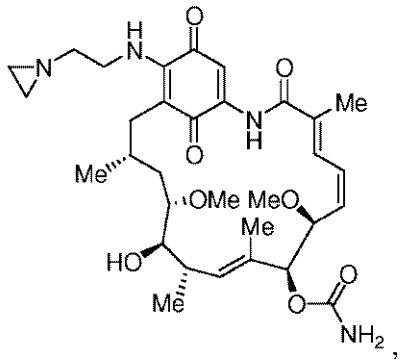
ベンゾキノンアンサマイシン化合物の例には、下記の構造を有するものが含まれる。

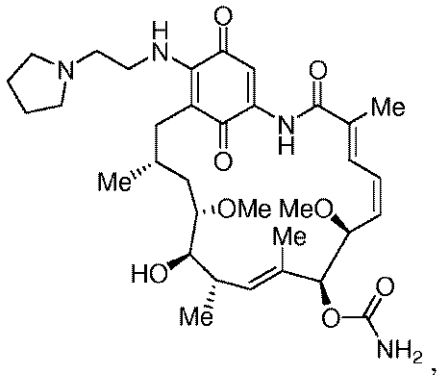
【０４８７】

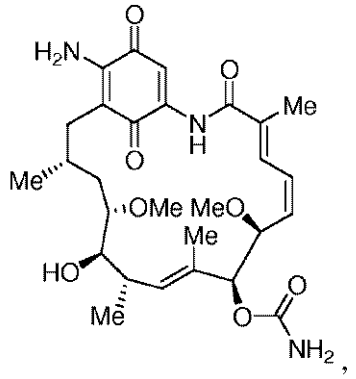
【化４７】

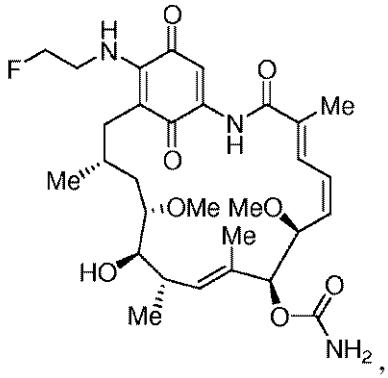


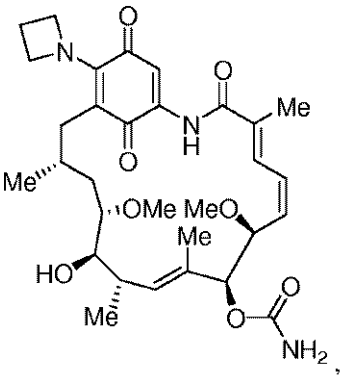


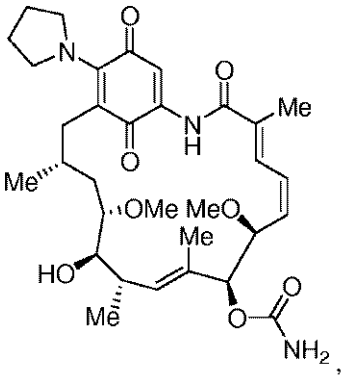


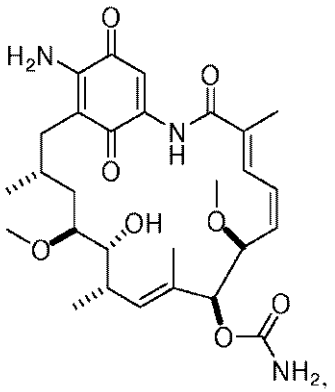






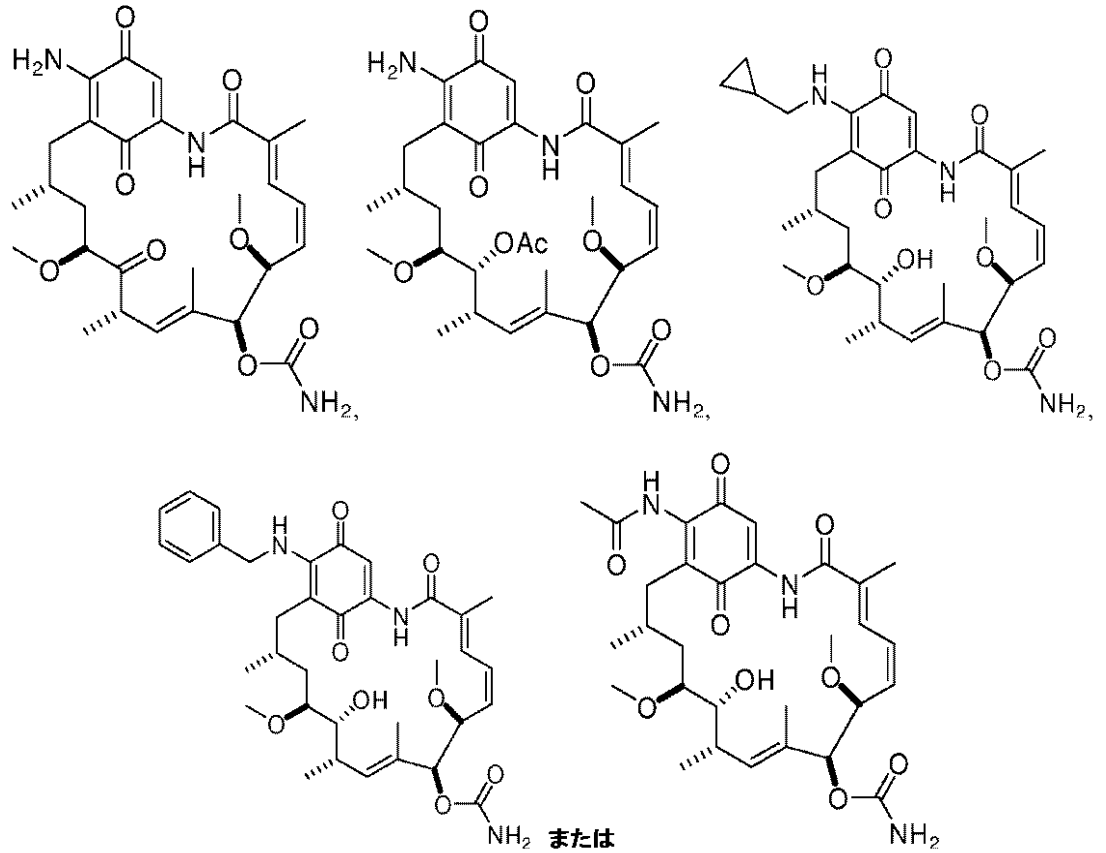






【０４８８】

【化４８】



または

いくつかの実施形態では、アモルファス１７－ＡＧを含有する本明細書において提供される組成物は、結晶化阻害剤が使用されなかったときでさえ、結晶性１７－ＡＧに対する改善されたバイオアベイラビリティーという驚くべき知見をもたらした。したがって、このような組成物は、経口投与などの投与に有用である。

【０４８９】

上記の実施形態のいくつかでは、化合物は、実質的にアモルファス形態で存在する。

【０４９０】

同様に、いくつかの実施形態では、組成物は、組成物の全重量に基づいて、少なくとも約１０％、少なくとも約２５％、少なくとも約５０％、少なくとも約７５％（ｗ／ｗ）の量の結晶化阻害剤を含有する。

【０４９１】

上記の実施形態のいくつかでは、結晶化阻害剤は、ＰＶＰである。上記の実施形態のいくつかでは、１７－ＡＧは、実質的にアモルファスである。

【０４９２】

特定の実施形態では、医薬組成物は、ペースト剤、溶液剤、スラリー、軟膏剤、乳剤または分散剤の形態でよい。特定の実施形態では、医薬組成物は、分子分散物であり、または分子分散物を含む。

【０４９３】

特定の実施形態では、結晶化阻害剤は、ポリビニルピロリドン（ＰＶＰ）（ポリビニルピロリドンのホモおよびコポリマー、ならびにＮ－ビニルピロリドンのホモポリマーまたはコポリマーを含めて）；クロスポビドン；ガム；セルロース誘導体（ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ＨＰＭＣ）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルシウムカルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、およびその他を含めて）；デキストラン；アカシア；ビニルラクタムのホモおよびコポリマー、およびこれらの混合物；シクロデキストリン；ゼラ

チン；フタル酸ヒプロメロース；糖；多価アルコール；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）；ポリエチレンオキシド；ポリオキシエチレン誘導体；ポリビニルアルコール；プロピレングリコール誘導体など、ＳＬＳ、Ｔｗｅｅｎ、Ｅｕｄｒａｇｉｔ；ならびにこれらの組合せから選択することができる。結晶化阻害剤は、水溶性または水不溶性でよい。

【０４９４】

ＨＰＭＣはそれらのセルロース主鎖の鎖長が異なり、結果的に、例えば、水中の２％（ｗ／ｗ）で測定してそれらの粘度が異なる。本明細書において提供される医薬組成物において使用されるＨＰＭＣは、水中で（２％（ｗ／ｗ）の濃度）約１００～約１００，０００ｃＰ、約１０００～約１５，０００ｃＰ、例えば、約４０００ｃＰの粘度を有し得る。特定の実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物に使用されるＨＰＭＣの分子量は、約１０，０００超ではあるが、約１，５００，０００以下、約１，０００，０００以下、約５００，０００以下、または約１５０，０００以下を有してもよい。

【０４９５】

ＨＰＭＣはまた、メトキシおよびヒドロキシプロポキシ基によって、セルロース主鎖上の利用可能なヒドロキシル基の相対的置換度の点で異なる。ヒドロキシプロポキシ置換が増加するにつれ、このように得られたＨＰＭＣは、性質がより親水性となる。特定の実施形態では、ＨＰＭＣは、約１５％～約３５％、約１９％～約３２％、または約２２％～約３０％のメトキシ置換を有し、約３％～約１５％、約４％～約１２％、または約７％～約１２％のヒドロキシプロポキシ置換を有する。

【０４９６】

医薬組成物において使用することができるＨＰＭＣは、例示として、商品名Ｍｅｔｈｏｃｅｌ（商標）（Ｄｏｗ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．）およびＭｅｔｏｌｏｓｅ（商標）（信越化学工業株式会社）で入手可能である。中程度の粘度を有する適切なＨＰＭＣの例には、Ｍｅｔｈｏｃｅｌ（商標）Ｅ４Ｍ、およびＭｅｔｈｏｃｅｌ（商標）Ｋ４Ｍが含まれ、それらの両方は、２％（ｗ／ｗ）水で約４０００ｃＰの粘度を有する。より高い粘度を有するＨＰＭＣの例には、各々、水中で２％（ｗ／ｗ）の粘度で約１０，０００ｃＰ、１５，０００ｃＰ、および１００，０００ｃＰの粘度を有する、Ｍｅｔｈｏｃｅｌ（商標）Ｅ１０Ｍ、Ｍｅｔｈｏｃｅｌ（商標）Ｋ１５Ｍ、およびＭｅｔｈｏｃｅｌ（商標）Ｋ１００Ｍが含まれる。ＨＰＭＣの一例は、ＨＰＭＣアセテートスクシネート、すなわち、ＨＰＭＣ－ＡＳである。

【０４９７】

特定の実施形態では、本明細書において提供される医薬組成物において使用されるＰＶＰは、約２，５００～約３，０００，０００ダルトン、約８，０００～約１，０００，０００ダルトン、約１０，０００～約４００，０００ダルトン、約１０，０００～約３００，０００ダルトン、約１０，０００～約２００，０００ダルトン、約１０，０００～約１００，０００ダルトン、約１０，０００～約８０，０００ダルトン、約１０，０００～約７０，０００ダルトン、約１０，０００～約６０，０００ダルトン、約１０，０００～約５０，０００ダルトン、または約２０，０００～約５０，０００ダルトンの分子量を有する。場合によっては、本明細書において提供される医薬組成物において使用されるＰＶＰは、２０℃にて水中１０％で約１．３～約７００ｍＰａｓ、約１．５～約３００ｍＰａｓ、または約３．５～約８．５ｍＰａｓの動的粘度を有する。

【０４９８】

ＰＥＧが使用されるとき、約５，０００～２０，０００ダルトン、約５，０００～１５，０００ダルトン、または約５，０００～１０，０００ダルトンの平均分子量を有することができる。

【０４９９】

本明細書においてまた提供されるのは、１７－ＡＧおよび少なくとも１種の薬学的に許容される添加剤を含む経口送達のための医薬組成物であり、前記医薬組成物は、結晶性１７－ＡＧを実質的に含まない。場合によっては、このような医薬組成物中の１７－ＡＧには、約１５％未満（ｗ／ｗ）、約１０％未満（ｗ／ｗ）、約５％未満（ｗ／ｗ）、約３％

未満（ｗ／ｗ）、または約１％未満（ｗ／ｗ）の結晶性１７－ＡＧが含まれる。このような医薬組成物は、固体剤形（例えば、錠剤もしくはカプセル剤）、ペースト剤、乳剤、スラリー、または軟膏剤として製剤することができる。

【０５００】

本明細書においてまた提供されるのは、１７－ＡＡＧおよび少なくとも１種の薬学的に許容される添加剤を含む経口送達のための医薬組成物であり、前記医薬組成物は、結晶性１７－ＡＡＧを実質的に含まない。場合によっては、このような医薬組成物中の１７－ＡＡＧには、約１５％未満（ｗ／ｗ）、約１０％未満（ｗ／ｗ）、約５％未満（ｗ／ｗ）、約３％未満（ｗ／ｗ）、または約１％未満（ｗ／ｗ）の結晶性１７－ＡＡＧが含まれる。このような医薬組成物は、固体剤形（例えば、錠剤もしくはカプセル剤）、ペースト剤、乳剤、スラリー、または軟膏剤として製剤することができる。

【０５０１】

上記のように、本発明のベンゾキノンアンサマイシンおよび医薬組成物は、医薬組成物または剤形を形成するための従来の医薬配合技術による薬学的に許容される担体および添加剤をさらに含むことができる。適切な薬学的に許容される担体および添加剤には、これらに限定されないが、参照により本明細書中に組み込まれているＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ、Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ（Ｇｅｎｎａｒｏ，Ａ．Ｒ．編、第１９版、１９９５年、Ｍａｃｋ Ｐｕｂ．Ｃｏ．）に記載されているものが含まれる。「薬学的に許容される」という語句は、生理的に耐容性があり、哺乳動物（例えば、ヒト）などの動物に投与されたときに典型的にはアレルギー性または同様の有害反応（胃のむかつき、めまいなど）を生じさせない添加物または組成物を意味する。経口液体医薬組成物について、医薬担体および添加剤には、これらに限定されないが、水、グリコール、油、アルコール、香味剤、保存剤、着色剤などが含まれてもよい。経口固体医薬組成物には、これらに限定されないが、デンプン、糖、結晶セルロース、賦形剤、造粒剤、滑沢剤、結合剤および崩壊剤が含まれてもよい。医薬組成物および剤形にはまた、上記のベンゾキノンアンサマイシン（ａｎｓａｙｍｙｓｃｉｎ）化合物またはその固体形態が含まれてもよい。

【０５０２】

本明細書に記載されている固体形態は、経口投与に適した医薬組成物を作製するのに有用であり得る。このような医薬組成物は、本明細書に記載されているベンゾキノンアンサマイシン化合物のいずれか、例えば、アモルファス形態で結晶化阻害剤を含まない、または結晶化阻害剤と組み合わせたアモルファス形態を含有することができる。このようなベンゾキノンアンサマイシンの例は、Ｓｃｈｎｕｒら、Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．、１９９５年、３８巻：３８０６～１２頁に記載されている。

【０５０３】

Ｘ．治療方法

代わりに、または本明細書に記載の方法と組み合わせて、本発明は、本明細書に記載されている発癌性変化、例えば、本明細書に記載の１つもしくは複数のＡＬＫ、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）、および／またはＥＧＦＲ変化を持つがんもしくは腫瘍を、１種もしくは複数のＨＳＰ９０阻害剤（単独で、または組み合わせた、例えば、１種もしくは複数のｍＴＯＲ阻害剤；ＡＬＫ阻害剤；チロシンキナーゼ阻害剤および／もしくは他の化学療法剤と組み合わせた）によって治療する方法を特徴とする。この方法には、対象に、ＨＳＰ阻害剤、例えば、本明細書に記載の１種もしくは複数のＨＳＰ９０阻害剤（単独で、またはｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、および／もしくは他の化学療法剤と組み合わせた）を、対象において腫瘍細胞増殖を減少もしくは阻害し、かつ／またはがん（複数可）を治療もしくは予防するのに十分な量で投与することが含まれる。

【０５０４】

「治療する」、「治療」およびこの語の他の形態は、がんの増殖を妨げ、がんの重量または容量での収縮をもたらし、対象の予想される生存時間および／または腫瘍の無増悪期

間または同様のものを延長させるための、ＨＳＰ９０阻害薬剤の投与（単独で、または第２の薬剤と組み合わせた）を意味する。それらの対象において、治療には、これらに限定されないが、腫瘍増殖を阻害すること、腫瘍体積を減少させること、転移病変のサイズもしくは数を減少させること、新しい転移病変の発生を阻害すること、生存の延長、無増悪生存期間の延長、無増悪期間の延長、および／または生活の質の増強が含まれてもよい。

【０５０５】

本明細書において使用する場合、他に特定しない限り、「予防する」、「予防すること」および「予防」という用語は、対象ががんの再増殖を被り始める前に起こる作用、および／またはがんの重症度を阻害もしくは減少させる作用を意図する。

【０５０６】

本明細書において使用する場合、および他に特定しない限り、「制御する」、「制御すること」および「制御」という用語は、既にがんを患っている患者においてがんの再発を予防すること、および／またはがんを患っている患者が寛解を保つ時間を長くすることを包含する。これらの用語は、がんの閾値、発生および／もしくは期間をモジュレートすること、または患者ががんに対して反応する様式を変化させることを包含する。

【０５０７】

本明細書において使用する場合、および他に特定しない限り、化合物の「治療有効量」は、がんの治療もしくは制御において治療上の利点を実現し、またはがんと関連する１つもしくは複数の症状を遅延もしくは最小化するのに十分な量である。化合物の治療有効量は、がんの治療または制御において治療上の利点を実現する、単独または他の治療剤と組み合わせた治療剤の量を意味する。「治療有効量」という用語は、治療全体を改善し、症状もしくはがんの原因を減少もしくは回避し、または別の治療剤の治療有効性を増強する量を包含する。

【０５０８】

本明細書において使用する場合、および他に特定しない限り、化合物の「予防的有効量」は、がんの再増殖、またはがんと関連する１つもしくは複数の症状を予防し、またはその再発を予防するのに十分な量である。化合物の予防的有効量は、単独、または他の治療剤と組み合わせた、がんの予防において予防的利点を実現する化合物の量を意味する。「予防的有効量」という用語は、全体的な予防を改善し、または別の予防薬の予防的有効性を増強する量を包含することができる。

【０５０９】

本明細書において使用する場合、「患者」または「対象」という用語は、治療、観察、および／または実験の対象となる、または対象であった、動物、典型的にはヒト（すなわち、任意の年齢群の男性または女性、例えば小児科の患者（例えば、乳児、小児、青年）または成人患者（例えば、若年成人、中年成人もしくは高齢成人）、または他の哺乳動物（霊長類（例えば、カニクイザル、アカゲザル）など）；商業的に適切な哺乳動物（ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ネコ、および／もしくはイヌなど）；および／または商業的に適切な鳥（ニワトリ、アヒル、ガチョウ、および／もしくはシチメンチョウなど）を含めた鳥を意味する。この用語が化合物または薬物の投与と併せて使用されるとき、患者は、治療、観察、および／または化合物もしくは薬物の投与の対象であった。

【０５１０】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、がんのための一次治療であり、すなわち、がんを治療することを意図する別の薬物を以前に投与されてこなかった患者において使用される。

【０５１１】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、がんのための二次治療であり、すなわち、がんを治療することを意図する別の薬物を以前に投与されてきた患者において使用される。

【０５１２】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、がんのための三次または四次治療であり、すなわち、がんを治療することを意図する２種または３種の他の薬物を以前に投与されてき

た患者において使用される。

【０５１３】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、がんの外科的切除／除去の後に、患者に投与する。

【０５１４】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、がんの放射線療法の前、間、および／または後に、患者に投与する。

【０５１５】

一実施形態では、判定および／または治療されるがんは、ＡＬＫ遺伝子または遺伝子産物の１つもしくは複数の変化、例えば、ＡＬＫ再配列を有する。

【０５１６】

別の実施形態では、判定および／または治療されるがんは、ＭＡＰＫ経路（例えば、Ｋ－Ｒａｓ）遺伝子または遺伝子産物の１つもしくは複数の変化を有する。ＭＡＰＫ経路活性化は、多種多様のがんにおいて検出されてきた。例えば、ＲａｓおよびＲａｆ変異は、これらに限定されないが、

【０５１７】

【数１５】

(i) 膀胱がん (H-Ras 変異 : Malone *et al., Br. J. Urol.* (1985) 57:664-667, Fujita *et al., Gastroenterology* (1987) 6:1339-1345, VisVanathan *et al., Oncogene Res.* (1988) 3:77-86);

(ii) 脳のがん (C-Raf 変異 : LaRocca *et al., J. Neurosci. Res.* (1989) 24:97-106; Fukui *et al., Mol. Cell. Biol.* (1987) 7:1776-1781),

(iii) 乳がん (C-Raf 変異 : Callans *et al., Ann. Surg. Oncol.* (1995) 2:38-42; McFarlin *et al., Carcinogenesis* (2003) 24:1149-1153; Ras 変異: Miyakis *et al., Biochem. Biophys Res. Commun.* (1998) 251:609-612 (K-Ras), Spandidos *et al., Anticancer Res.* (1987) 7:991-996 (H-Ras));

(iv) 胆道がん (胆管がんにおけるB-Raf 変異 : Tannapfel *et al., Gut* (2003) 52:706-712; K-Ras 変異 : Hidaka *et al., Cancer Res.* (2000) 60:522-524, Laghi *et al., Oncogene* (2002 21:4301-4306);

(v) 子宮頸がん (H-Ras 変異 : Riou *et al., Oncogene* (1988) 3:329-333);

(vi) 結腸直腸がん (B-raf 変異 : Rajagopalan *et al., Nature* (2002) 418:934; B-Raf 変異および K-Ras 変異: Yuen *et al., Cancer Res.* (2002) 62:6451-6455; K-Ras 変異 : Vogelstein *et al., N. Engl. J. Med.* (1988) 319:525-532, Bos *et al., Nature (London)* (1987) 327:293-297, Forrester *et al., Nature (London)* (1987) 327:298-303, Farr *et al., Oncogene* (1988) 3:673-678);

(vii) 子宮内膜がん (K-Ras変異 : Lagarda et al., *J. Pathol.* (2001) 193–199);

(viii) 食道がん (バレット腺癌におけるB-raf 変異 : Sommerer *et al., Oncogene* (2004) 23:554-558);

(ix) 上衣腫 (C-Raf 変異: Korshunov *et al., Am. J. Pathol.* (2003) 163:1721-1727);

【０５１８】

【数１６】

(x) 白血病（AMLにおけるB-raf変異 ：Lee *et al., Leukemia* (2004) 18:170-172; AMLにおけるN-Ras変異: Needleman *et al., Blood* (1986) 67:753-757, Bos *et al., Blood* (1987) 69:1237-1241, Janssen *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1987) 84:9228-9232, Toksoz *et al., Oncogene* (1987) 1:409-413, Farr *et al., Proc. Natl. Adac. Sci. USA* (1988) 1629-1633, Senn *et al., Int. J. Cancer* (1988) 41:59-64, Bos *et al., Nature (London)* (1985) 315:726-730, Bartram *et al., Leukemia (Baltimore)* (1989) 3:247-256, Hirai *et al., Biochim. Biophys. Res. Commun.* (1987) 147:108-114; CMLにおけるN-Ras変異: Liu *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1988) 85:1952-1956);

(xi) リンパ腫（NHLにおけるB-raf変異 ：Lee *et al., Br. J. Cancer* (2003) 89:1958-1960; NHLにおけるC-Raf変異: Storm *et al., Toxicol. Letters* (1993) 67:201-210);

(xii) 肝臓がん(C-Raf変異：Ting *et al., Xue. Za. Zhi.* (1988) 21:141-150; Jenke *et al., Xenobiotica* (1994) 24:569-580; Beer *et al., Cancer Res.* (1988) 48:1610-1617; N-Ras変異：Gu *et al., J. Cell. Physiol. Suppl.* (1986) 4:13-20);

(xiii) 肺がん（NSCLCにおけるB-raf変異およびK-Ras変異: Brose *et al., Cancer Res.* (2002) 62:6997-7000; NSCLCにおけるC-Raf変異: Kerkhoff *et al., Cell Growth Differ.* (2000) 11:185-190; SCLCにおけるC-Raf変異: Graziano *et al., Chromosomes Cancer* (1991) 3:283-293; K-Ras変異：Rodenhuis *et al., Cancer Res.* (1988) 48:5738-5741),

(xiv) 頭頸部がん (B-raf変異：Cohen *et al., Surgery* (2002) 132:960-967; Weber *et al., Oncogene* (2003) 22:4757-4759; C-Raf変異：Patel *et al., Mol. Carcinog.* (1997) 18:1-6; Riva *et al., Eur. J. Cancer. B. Oral. Oncol.* (1995) 31B:384-391);

(xv) 腎臓がん（腎細胞癌におけるC-Raf変異：Oka *et al., Cancer Res.* (1995) 55:4182-4187; H-Ras変異：Fujita et al., Cancer Res. (1988) 48:5251-5255);

(xvi) 胃がん(B-raf変異およびK-Ras変異：Lee *et al., Oncogene* (2003) 22:6942-6945);

【０５１９】

【数１７】

(xvii) 多発性骨髄腫 (N-Ras 変異 : Kalakonda *et al., Blood* (2001) 98:1555-1560);

(xviii) 骨髄増殖性障害 (特発性骨髄線維症 (IMF) における N-Ras 変異 : *Buschle et al., Leukemia (Baltimore)* (1988) 2:658-660; CML における N-Ras 変異 : Liu *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1988) 85:1952-1956);

(xix) 骨髄異形成症候群 (N-Ras 変異および/または K-Ras 変異 : Yunis *et al., Oncogene* (1988) 4:609-614, Hirai *et al., Nature (London)* (1987) 327:430-432, Paudua *et al., Leukemia (Baltimore)* (1988) 2:503-510, Lyons *et al., Blood* (1988) 71:1707-1712);

(xx) 卵巣がん (B-raf 変異および K-Ras 変異 : Singer *et al., J. Natl. Cancer Inst.* (2003) 95:484-486; Gemignani *et al., Gynecol. Oncol.* (2003) 90:378-381), K-Ras 3' UTR 変異体 : Ratner, E. et al. (2010) *Cancer Res*. 70(16) : OF1-7;

(xxi) 骨肉腫 (C-Raf 変異 : Ikeda *et al., Jpn. J. Cancer Res.* (1989) 80:6-9);

(xxii) 膵臓がん (C-Raf 変異 : Berger *et al., J. Surg. Res.* (1997) 69:199-204; K-Ras 変異 : Almoquera *et al., Cell* (1988) 53:549-554, Smith *et al., Nucleic Acids Res.* (1988) 16:7773-7782, Grunewald *et al., Int. J. Cancer* (1989) 43:1037-1041, Laghi *et al., Oncogene* (2002 21:4301-4306);

(xxiii) 唾液腺がん (H-Ras 変異 : Yoo *et al., Arch Pathol Lab Med* (2000) 124:836-839)

(xxiv) 皮膚がん (黒色腫における B-raf 変異 : Davies *et al., Nature* (2002) 417:949-954; Pollock *et al., Cancer Cell* (2002) 2:5-7; 黒色腫における B-raf 変異および K-ras 変異 : Brose *et al., Cancer Res.* (2002) 62:6997-7000; 角化棘細胞腫における H-Ras 変異 : Leon *et al., Mol. Cell. Biol.* (1988) 8:786-793; 黒色腫における N-Ras 変異 : Van't Veer *et al., Mol. Cell. Biol.* (1989) 9:3114-3116);

(xxv) 軟部組織肉腫 (C-Raf 変異 : Mitsunobu *et al., Oncogene* (1989) 4:437-442); ならびに

(xxvi) 甲状腺がん (B-raf 変異 : Nikiforova *et al., J. Clin. Endocrinol. Metab.* (2003) 88:5399-5404; Kimura *et al., Cancer Res.* (2003) 63:1454-1457;

【０５２０】

【数１８】

Cohen *et al., J. Natl. Cancer Inst.* (2003) 95:625-627; C-Raf変異：

Carson *et al., Cancer Res.* (1995) 555:2048-2052; H-Ras変異, K-Ras変異および

N-Ras変異: Lemoine *et al., Cancer Res.* (1988) 48:4459-4463; Lemoine *et al.,*

Oncogene (1989) 4:159-164).

を含めたがんにおいて検出されてきた。

【０５２１】

特定の実施形態では、本発明の方法によって同定または治療されるがんまたは腫瘍には、これらに限定されないが、固形腫瘍、軟部組織腫瘍、および転移病変（例えば、本明細書に記載のがん）が含まれる。いくつかの実施形態では、同定または治療されるがんは、ＡＬＫ、ＲＡＳ（例えば、Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－Ｒａｓ、またはＫ－Ｒａｓの１つまたは複数）、ＥＧＦＲ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＲＡＦ（例えば、Ａ－Ｒａｆ、Ｂ－Ｒａｆ（ＢＲＡＦ）またはＣ－Ｒａｆの１つまたは複数）、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３（ｐ５３）、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ、ＦＬＴ３、ＭＥＫ、ＥＲＫ、ＲＳＫ、ＥＴＳ、ＥＬＫ－１、またはＳＡＰ－１の１つまたは複数から選択される遺伝子または遺伝子産物の１つもしくは複数の変化を持つ。

【０５２２】

本明細書において開示されている方法を使用して治療することができる増殖性障害およびがんには、例えば、肺がん（小細胞肺がんおよび非小細胞肺がんを含めた）、肺系の他のがん、髄芽腫および他の脳がん、膵臓がん、基底細胞癌、乳がん、前立腺がんおよび他の尿生殖器がん、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）および消化管の他のがん、結腸がん、結腸直腸がん、卵巣がん、ならびに造血系のがんが含まれる。

【０５２３】

特定の実施形態では、がんは、肺がん（例えば、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、ＳＣＣ、肺の腺癌、気管支癌）、膀胱がん、神経芽細胞腫、乳がん、結腸直腸がん、結腸がん、炎症性筋線維芽細胞腫瘍、多発性骨髄腫、白血病（例えば、急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄球性白血病（ＡＭＬ）、慢性骨髄球性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ））、リンパ腫（例えば、未分化大細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ））、膵臓がん（例えば、膵臓腺癌（ａｎｄｅｎｏｃａｒｃｉｎｏｍａ）、膵管内乳頭粘液性腫瘍（ＩＰＭＮ））、前立腺がん、髄芽腫、軟骨肉腫、骨肉腫、卵巣がん（例えば、嚢胞腺癌、卵巣胎児性癌、卵巣腺癌）、頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）、脳がん（例えば、髄膜腫；神経膠腫、例えば、星状細胞腫、乏突起膠腫；髄芽腫）、腎臓がん、肝臓がん、胃がん（例えば、胃腺癌）、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）、皮膚がん（例えば、扁平上皮細胞癌（ＳＣＣ）、角化棘細胞腫（ＫＡ）、黒色腫、基底細胞癌）、ならびに神経内分泌がんの１つもしくは複数から選択される。

【０５２４】

一実施形態では、治療されるがんは、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）（例えば、再発性および／もしくは難治性ＮＳＣＬＣ）、またはＳＣＣである。

【０５２５】

特定の実施形態では、がんは、結腸直腸がん（例えば、結腸直腸腺癌）である。

【０５２６】

特定の実施形態では、がんは、乳がん（例えば、乳房の腺癌、乳房の乳頭状癌、乳がん、乳房の髄様癌）である。

【０５２７】

特定の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫である。

【０５２８】

特定の実施形態では、がんは、神経内分泌がん（例えば、胃腸膵管神経内分泌腫瘍（ＧＥＰ－ＮＥＴ）、カルチノイド腫瘍）である。

【０５２９】
特定の実施形態では、がんは、肺がんである。特定の実施形態では、肺がんは、小細胞肺がん（ＳＣＬＣ）である。特定の実施形態では、肺がんは、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）である。２００９年現在で、非小細胞肺がんは、全ての肺がんの概ね８５％を占める。概ね２６２，０００人のステージＩＩＩＢ／ＩＶが、毎年診断されている。２００９年に、ＮＳＣＬＣ患者の％は、下記のような分布である。概ね１８％の患者は大細胞癌を有し、４７％の患者は腺癌を有し、および３５％の患者は扁平上皮細胞癌を有する。喫煙状況に関して、概ね７０％の患者は、１５パックイヤーを超える喫煙者であり、１３％の患者は、１５パックイヤー以下を有し、１５％の患者は、非喫煙者であり、２％の患者は、間接喫煙の経歴を有する。

【０５３０】
他の例示的ながんには、これらに限定されないが、聴神経腫、腺癌、副腎がん、血管肉腫（例えば、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、血管内皮腫）、良性単クローン性ガンマグロブリン血症、胆道がん（例えば、胆管癌）、気管支がん、子宮頸がん（例えば、子宮頸部腺癌）、絨毛癌、脊索腫、頭蓋咽頭腫、上皮癌、上衣腫、内皮肉腫（例えば、カポジ肉腫、多発性特発性出血性肉腫）、子宮内膜がん、食道がん（例えば、食道の腺癌、バレット腺癌（ａｄｅｎｏｃａｒｉｎｏｍａ））、ユーイング肉腫、家族性過好酸球増加症、重鎖病（例えば、アルファ鎖病、ガンマ鎖病、ミュー鎖病）、血管芽細胞腫、炎症性筋線維芽細胞腫瘍、免疫細胞性アミロイドーシス、腎臓がん（例えば、腎芽細胞腫、別名ウィルムス腫瘍、腎細胞癌）、肝臓がん（例えば、肝細胞がん（ＨＣＣ）、悪性肝細胞腫）、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型Ｂ細胞リンパ腫（ＤＬＢＣＬ）、マントル細胞リンパ腫（ＭＣＬ））、平滑筋肉腫（ＬＭＳ）、肥満細胞症（例えば、全身性肥満細胞症）、多発性骨髄腫（ＭＭ）、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、中皮腫、骨髄増殖性障害（ＭＰＤ）（例えば、真性赤血球増加症（ＰＶ）、本態性血小板増加症（ＥＴ）、原因不明性骨髄様化生（ＡＭＭ）、別名骨髄線維症（ＭＦ）、慢性特発性骨髄線維症、好酸球増加症候群（ＨＥＳ））、神経芽細胞腫、神経線維腫（例えば、神経線維腫症（ＮＦ）１型もしくは２型、シュワン細胞腫）、骨肉腫、口腔がん（例えば、口腔扁平上皮細胞癌（ＯＳＣＣ））、外陰部パジェット病、陰茎パジェット病、乳頭状腺癌、松果体腫、原始神経外胚葉性腫瘍（ＰＮＴ）、前立腺がん（例えば、前立腺癌）、横紋筋肉腫、網膜芽細胞腫、唾液腺がん、小腸がん（例えば、虫垂がん）、軟部組織肉腫（例えば、悪性線維性組織球腫（ＭＦＨ）、脂肪肉腫、悪性末梢神経鞘腫（ＭＰＮＳＴ）、軟骨肉腫、線維肉腫、粘液肉腫）、脂腺癌、汗腺癌、滑膜腫、睾丸がん（例えば、精上皮腫、睾丸胎児性癌）、甲状腺がん（例えば、甲状腺の乳頭状癌、甲状腺乳頭癌（ＰＴＣ）、甲状腺髄様がん）、ならびにワルデンシュトレームマクログロブリン血症が含まれる。

【０５３１】
神経内分泌がん（胃腸膵管腫瘍または胃腸膵管神経内分泌がんとしても公知である）は、内分泌（ホルモン）系と神経系の間の境界面における細胞由来のがんである。神経内分泌がんの大部分は、２つのカテゴリーに分類される。カルチノイドおよび膵内分泌腫瘍（内分泌膵腫瘍または島細胞腫瘍としてもまた公知である）。２つの主要なカテゴリーに加えて、胃腸膵管系よりむしろ呼吸器系から生じる神経内分泌肺腫瘍を含めた他の形態の神経内分泌がんが存在する。神経内分泌がんは、内分泌腺（副腎髄質、下垂体、および副甲状腺など）、ならびに甲状腺または膵臓内の内分泌島、ならびに気道および消化管における分散した内分泌細胞から生じ得る。米国における神経内分泌がんの総発生頻度は、１年当たり約９，０００の新規症例である。

【０５３２】
例えば、治療されるがんは、例えば、膵臓、肺、虫垂、十二指腸、回腸、直腸または小腸の神経内分泌がんの１つもしくは複数から選択される神経内分泌がんでよい。他の実施形態では、神経内分泌がんは、膵内分泌腫瘍；神経内分泌肺腫瘍；または副腎髄質、下垂体、副甲状腺からの神経内分泌がん、甲状腺の内分泌島、膵臓の内分泌島、または気道もしくは消化管における分散した内分泌細胞の１つもしくは複数から選択される。

【０５３３】
膵内分泌腫瘍は、対象において様々な症状をもたらし得る、生物活性ペプチド（例えば、ホルモン）を分泌し得る。このような腫瘍は、機能性または分泌性腫瘍と称される。機能性腫瘍は、最も強く分泌されるホルモンによって分類することができる。機能性膵内分泌腫瘍の例には、ガストリノーマ（過剰なガストリンを生成し、ゾリンジャー－エリソン症候群をもたらす）、インスリノーマ（過剰なインスリンを生成する）、グルカゴノーマ（過剰なグルカゴンを生成する）、血管作動性腸ペプチデオーマ（ｐｅｐｔｉｄｅｏｍａ）（ビポーマ、過剰な血管作動性腸ペプチドを生成する）、ＰＰｏｍａ（過剰な膵臓ポリペプチドを生成する）、ソマトスタチノーマ（過剰なソマトスタチンを生成する）、水様下痢低カリウム血症無胃酸（ＷＤＨＡ）、ＣＲＨｏｍａ（過剰なコルチコトロピン放出ホルモン（ｈｏｒｍｏｎｓｅ）を生成する）、カルシトニノーマ（ｃａｌｃｉｔｏｎｉｎｏｍａ）（過剰なカルシトニンを生成する）、ＧＨＲＨｏｍａ（過剰な成長ホルモン放出ホルモンを生成する）、ニューロテンシノーマ（過剰なニューロテンシンを生成する）、ＡＣＴＨｏｍａ（過剰な副腎皮質刺激ホルモンを生成する）、ＧＲＦｏｍａ（過剰な成長ホルモン放出因子を生成する）、ならびに副甲状腺ホルモン関連ペプチド腫瘍が含まれる。場合によっては、膵内分泌腫瘍は、多発性内分泌腺腫瘍症１型（ＭＥＮ１）を有する対象において起こり得る。このような腫瘍は、下垂体または膵島細胞に起こることが多い。ペプチド（例えば、ホルモン）を分泌しない膵内分泌腫瘍は、非機能性（または非分泌性または非機能性）腫瘍と称される。

【０５３４】
他の実施形態では、治療されるがんは、カルチノイド腫瘍、例えば、カルチノイド神経内分泌がんである。カルチノイド腫瘍は、膵内分泌腫瘍より遅く増殖する傾向がある。カルチノイド腫瘍は、カルチノイド症候群と称される特定のセットの症状をもたらす生体分子であるセロトニンなどの生物活性分子を生成することができる。生物活性分子を生成するカルチノイド腫瘍は、機能性カルチノイド腫瘍と称されることが多く、一方生成しないものは、非機能性カルチノイド腫瘍と称される。いくつかの実施形態では、神経内分泌がんは、機能性カルチノイド腫瘍である（例えば、セロトニンなどの生物活性分子を生成することができるカルチノイド腫瘍）。他の実施形態では、神経内分泌がんは、非機能性カルチノイド腫瘍である。特定の実施形態では、カルチノイド腫瘍は、胸腺、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸）、直腸、膵臓、虫垂、卵巣または睾丸のカルチノイドからの腫瘍である。

【０５３５】
カルチノイド腫瘍は、発生点（肺、胸腺、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸）、直腸、膵臓、虫垂、卵巣および精巣など）によってさらに分類することができる。

【０５３６】
いくつかの実施形態では、神経内分泌がんは、カルチノイド腫瘍である。他の実施形態では、神経内分泌がんは、膵内分泌腫瘍である。また他の実施形態では、神経内分泌がんは、神経内分泌肺腫瘍である。特定の実施形態では、神経内分泌がんは、副腎髄質、下垂体、副甲状腺、甲状腺の内分泌島、膵臓の内分泌島、または気道もしくは消化管における分散した内分泌細胞に由来する。

【０５３７】
治療することができる神経内分泌がんのさらなる例には、これらに限定されないが、甲状腺の髄様癌、メルケル細胞がん（索状がん）、小細胞肺がん（ＳＣＬＣ）、（肺の）大細胞神経内分泌癌、肺外小細胞癌（ＥＳＣＣもしくはＥＰＳＣＣ）、子宮頸部の神経内分泌癌、多発性内分泌腺腫瘍症１型（ＭＥＮ－１もしくはＭＥＮ１）、多発性内分泌腺腫瘍症２型（ＭＥＮ－２もしくはＭＥＮ２）、神経線維腫症１型、結節性硬化症、フォンヒッペルリンダウ（ＶＨＬ）病、神経芽細胞腫、褐色細胞腫（褐色細胞腫）、傍神経節腫、下垂体前葉の神経内分泌がん、および／またはカーニー複合体が含まれる。

【０５３８】

また他の実施形態では、判定および／または治療されるがんまたは腫瘍は、血液悪性腫瘍、例えば、ＢＣＲ－ＡＢＬ融合体（Ｐｈ＋）を含有する悪性腫瘍（慢性骨髄性（ｍｙｅｌｏｇｅｎｅｏｕｓ）白血病（ＣＭＬ）および急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ）など）；Ｆｌｔ３（Ｆｌｔ３）の変異または遺伝子内縦列重複を含有する悪性腫瘍（急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）など）；ＪＡＫ２（ＪＡＫ２＋）の変異を含有する悪性腫瘍（真性赤血球増加症（ｐｏｌｙｃｅｔｈｅｍｉａ　ｖｅｒａ）、本態性血小板減少症、および骨髄線維症（ＭＦ）など）である。一実施形態では、血液悪性腫瘍を有する対象を、約１００～２００ｍｇ（例えば、１００ｍｇ、１２５ｍｇ、１５０ｍｇ、１７５ｍｇまたは２００ｍｇ）の用量でＩＰＩ－４９３によって毎週治療する。治療後に対象において判定されるパラメーターには、血球数の減少、および芽細胞を伴わない骨髄の回復が含まれる。他の実施形態では、ＩＰＩ－４９３で治療される対象は、固形腫瘍を有する。このような対象において、ＩＰＩ－４９３を、約１００～２００ｍｇ（例えば、１００ｍｇ、１２５ｍｇ、１５０ｍｇ、１７５ｍｇまたは２００ｍｇ）の用量で週２回投与する。

【０５３９】

本発明はまた、治療有効量のＨＳＰ９０阻害剤を患者に投与することによって、がん療法（例えば、化学療法（小分子および生物学的療法薬、例えば、抗体を含めた）、放射線療法、手術、ＲＮＡｉ療法、ならびに／またはアンチセンス療法による治療）を受けている、または受けたがん患者において無再発生存を延長させる方法に関する。「無再発生存」とは、当業者が理解するように、がん治療の特定の時点の後の期間であり、その間には臨床的に定義されたがんの再発がない。いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、がん療法と同時的に投与する。同時的投与の場合、がん療法が終了した後、ＨＳＰ９０阻害剤の投与を続けることができる。他の実施形態では、がん療法が終了した後、ＨＳＰ９０阻害剤を投与する（すなわち、がん治療との重複期間がない）。がん療法が終了した直後にＨＳＰ９０阻害剤を投与することができ、またはがん療法の終わりとＨＳＰ９０阻害剤の投与との間に時間のギャップ（例えば、約１日、１週間、１カ月、６カ月、もしくは１年まで）が存在してもよい。ＨＳＰ９０阻害剤による治療は、無再発生存が維持される間（例えば、約１日、１週間、１カ月、６カ月、１年、２年、３年、４年、５年、またはより長期まで）ずっと継続することができる。

【０５４０】

一態様では、本発明は、がん療法が終了した後、患者に治療有効量のＨＳＰ９０阻害剤を投与することによって、がん療法（例えば、化学療法（小分子および生物学的療法薬、例えば、抗体を含めた）、放射線療法、手術、ＲＮＡｉ療法、ならびに／またはアンチセンス療法による治療）を以前に受けたがん患者において無再発生存を延長させる方法に関する。ＨＳＰ９０阻害剤は、がん療法が終了した直後に投与することができ、またはがん療法の終わりとＨＳＰ９０阻害剤の投与との間に時間のギャップ（例えば、約１日、１週間、１カ月、６カ月、もしくは１年まで）が存在してもよい。

【０５４１】

本発明の特定の方法は、既存の化学療法に良好に反応するが、高い再発率に苦しむがんの治療において特に有効であり得る。これらの場合には、ＨＳＰ９０阻害剤による治療は、患者の無再発生存時間または無再発生存率を増加させることができる。このようながんの例には、肺がん（例えば、小細胞肺がんまたは非小細胞肺がん）、膵臓がん、膀胱がん、卵巣がん、乳がん、結腸がん、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）および神経内分泌がんが含まれる。

【０５４２】

本発明はまた、がん患者において無再発生存を延長させる方法において使用するための１種または複数の医薬品の調製のための、化学療法剤およびＨＳＰ９０阻害剤の使用を包含する。本発明はまた、化学療法で以前に治療されてきたがん患者において無再発生存を延長させる方法において使用するための医薬品の調製における、ＨＳＰ９０阻害剤の使用に関する。

【０５４３】

併用療法

上記および本明細書に記載のＨＳＰ９０阻害剤は、１種もしくは複数のさらなる治療（例えば、放射線療法、手術など）と組み合わせて、かつ／または本明細書に記載されているがんを治療するための１種もしくは複数の治療剤と組み合わせて投与することができることを理解されたい。

【０５４４】

「と組み合わせて」とは、治療または治療剤が、同時的に投与され、かつ／または一緒の送達のために製剤されなくてはならないことを意味することは意図しないが、これらの送達方法は本発明の範囲内である。医薬組成物は、１種もしくは複数の他のさらなる治療または治療剤と同時的に、前に、または続いて投与することができる。一般に、各薬剤は、その薬剤について決定される用量で、および／またはタイムスケジュールで投与される。この組合せにおいて利用されるさらなる治療剤は、単一の組成物中で一緒に、または異なる組成物中で別々に投与することができることがさらに認識される。レジメンにおいて用いる特定の組合せは、本発明の医薬組成物と、さらなる治療活性剤および／または達成される所望の治療効果との適合性を考慮する。

【０５４５】

一般に、組合せにおいて利用されるさらなる治療剤は、それらが個々に利用されるレベルを超えないレベルで利用されることが期待される。いくつかの実施形態では、組合せにおいて利用されるレベルは、個々に利用されるレベルよりも低いであろう。

【０５４６】

特定の実施形態では、本明細書に記載の方法によって治療されるがんは、例えば、髄芽腫、軟骨肉腫、骨肉腫、膵臓がん、肺がん（例えば、小細胞肺がん（ＳＣＬＣ）または非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ））、結腸直腸がん、卵巣がん、頭頸部扁平上皮細胞癌（ＨＮＳＣＣ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、多発性骨髄腫、および前立腺がんから選択することができる。

【０５４７】

小細胞肺がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、エトポシド、カルボプラチン、シスプラチン、イリノテカン、トポテカン、ゲムシタビン、リポソームＳＮ－３８、ベンダムスチン、テモゾロマイド、ベロテカン、ＮＫ０１２、ＦＲ９０１２２８、フラボピリドール）；チロシンキナーゼ阻害剤、（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ）；マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ソラフェニブ、スニチニブ）；ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、ベバシズマブ、バンデタニブ）；がんワクチン（例えば、ＧＶＡＸ）；Ｂｃｌ－２阻害剤（例えば、オブリメルセンナトリウム、ＡＢＴ－２６３）；プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ（Ｖｅｌｃａｄｅ）、ＮＰＩ－００５２）、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤；ドセタキセル；ＩＧＦ－１受容体阻害剤（例えば、ＡＭＧ４７９）；ＨＧＦ／ＳＦ阻害剤（例えば、ＡＭＧ１０２、ＭＫ－０６４６）；クロロキン；オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、ＭＬＮ８２３７）；放射免疫療法（例えば、ＴＦ２）；ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３、ＩＰＩ－５０４、タネスピマイシン、ＳＴＡ－９０９０）；ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス）；Ｅｐ－ＣＡＭ－／ＣＤ３－二重特異性抗体（例えば、ＭＴ１１０）；ＣＫ－２阻害剤（例えば、ＣＸ－４９４５）；ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ベリノスタット）；ＳＭＯアンタゴニスト（例えば、ＢＭＳ８３３９２３）；ペプチドがんワクチン、および放射線療法（例えば、強度変調放射線療法（ＩＭＲＴ）、低分割放射線療法、低酸素誘導放射線療法）、手術、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５４８】

非小細胞肺がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、ビノレルビン、シスプラチン、ドセタキセル、ペメトレキセド二ナトリウム、エトポシド、ゲムシタビン、カル

ボプラチン、リポソームＳＮ－３８、ＴＬＫ２８６、テモゾロマイド、トポテカン、ペメトレキセド二ナトリウム、アザシチジン、イリノテカン、テガフル－ギメラシル－オテラシルカリウム、サパシタビン）；チロシンキナーゼ阻害剤、（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、ネシツムマブ、ＰＦ－００２９９８０４、ニモツズマブ、ＲＯ５０８３９４５）、ＭＥＴ阻害剤（例えば、ＰＦ－０２３４１０６６、ＡＲＱ１９７）、ＰＩ３Ｋキナーゼ阻害剤（例えば、ＸＬ１４７、ＧＤＣ－０９４１）、Ｒａｆ／ＭＥＫデュアルキナーゼ阻害剤（例えば、ＲＯ５１２６７６６）、ＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲデュアルキナーゼ阻害剤（例えば、ＸＬ７６５）、ＳＲＣ阻害剤（例えば、ダサチニブ）、デュアル阻害剤（例えば、ＢＩＢＷ２９９２、ＧＳＫ１３６３０８９、ＺＤ６４７４、ＡＺＤ０５３０、ＡＧ－０１３７３６、ラパチニブ、ＭＥＨＤ７９４５Ａ、リニファニブ）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ、ＡＭＧ７０６、ＸＬ１８４、ＭＧＣＤ２６５、ＢＭＳ－６９０５１４、Ｒ９３５７８８）、ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、エンドスター、エンドスタチン、ベバシズマブ、セジラニブ、ＢＩＢＦ１１２０、アキシチニブ、チボザニブ、ＡＺＤ２１７１）、がんワクチン（例えば、ＢＬＰ２５リポソームワクチン、ＧＶＡＸ、組換えＤＮＡおよびアデノウイルス発現Ｌ５２３Ｓタンパク質）、Ｂｃｌ－２阻害剤（例えば、オブリメルセンナトリウム）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ、カーフィルゾミブ、ＮＰＩ－００５２、ＭＬＮ９７０８）、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤、ドセタキセル、ＩＧＦ－１受容体阻害剤（例えば、シクスツムマブ、ＭＫ－０６４６、ＯＳＩ９０６、ＣＰ－７５１，８７１、ＢＩＩＢ０２２）、ヒドロキシクロロキン、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３、ＩＰＩ－５０４、タネスピマイシン、ＳＴＡ－９０９０、ＡＵＹ９２２、ＸＬ８８８）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス、テムシロリムス、リダホロリムス）、Ｅｐ－ＣＡＭ－／ＣＤ３－二重特異性抗体（例えば、ＭＴ１１０）、ＣＫ－２阻害剤（例えば、ＣＸ－４９４５）、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ＭＳ２７５、ＬＢＨ５８９、ボリノスタット、バルプロ酸、ＦＲ９０１２２８）、ＤＨＦＲ阻害剤（例えば、プララトレキサート）、レチノイド（例えば、ベキサロテン、トレチノイン）、抗体－薬物コンジュゲート（例えば、ＳＧＮ－１５）、ビスホスホネート（例えば、ゾレドロン酸）、がんワクチン（例えば、ベラゲンプマツセル－Ｌ）、低分子量ヘパリン（ＬＭＷＨ）（例えば、チンザパリン、エノキサパリン）、ＧＳＫ１５７２９３２Ａ、メラトニン、タラクトフェリン、ジメスナ、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、アムルビシン、エトポシド、カレニテシン（ｋａｒｅｎｉｔｅｃｉｎ））、ネルフィナビル、シレンジタイド、ＥｒｂＢ３阻害剤（例えば、ＭＭ－１２１、Ｕ３－１２８７）、サバイビン阻害剤（例えば、ＹＭ１５５、ＬＹ２１８１３０８）、メシル酸エリブリン、ＣＯＸ－２阻害剤（例えば、セレコキシブ）、ペグフィルグラスチム、ポロ様キナーゼ１阻害剤（例えば、ＢＩ６７２７）、ＴＲＡＩＬ受容体２（ＴＲ－２）アゴニスト（例えば、ＣＳ－１００８）、ＣＮＧＲＣペプチド－ＴＮＦアルファコンジュゲート、ジクロロ酢酸（ＤＣＡ）、ＨＧＦ阻害剤（例えば、ＳＣＨ９００１０５）、ＳＡＲ２４０５５０、ＰＰＡＲ－ガンマアゴニスト（例えば、ＣＳ－７０１７）、ガンマ－セクレターゼ阻害剤（例えば、ＲＯ４９２９０９７）、エピジェネティック療法（例えば、５－アザシチジン）、ニトログリセリン、ＭＥＫ阻害剤（例えば、ＡＺＤ６２４４）、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤（例えば、ＵＣＮ－０１）、コレステロール－Ｆｕｓ１、抗チューブリン剤（例えば、Ｅ７３８９）、ファルネシル－ＯＨ－トランスフェラーゼ阻害剤（例えば、ロナファルニブ）、免疫毒素（例えば、ＢＢ－１０９０１、ＳＳＩ（ｄｓＦｖ）ＰＥ３８）、フォンダパリヌクス、血管破壊剤（例えば、ＡＶＥ８０６２）、ＰＤ－Ｌ１阻害剤（例えば、ＭＤＸ－１１０５、ＭＤＸ－１１０６）、ベーターグルカン、ＮＧＲ－ｈＴＮＦ、ＥＭＤ５２１８７３、ＭＥＫ阻害剤（例えば、ＧＳＫ１１２０２１２）、エポチロン類似体（例えば、イキサベピロン）、キネシン－スピンドル阻害剤（例えば、４ＳＣ－２０５）、テロメア標的剤（例えば、ＫＭＬ－００１）、Ｐ７０経路阻害剤（例えば、ＬＹ２５８４７０２）、ＡＫＴ阻害剤（例えば、ＭＫ－２２０６）、血管形成阻害剤（例えば、レナリドミド）、Ｎｏｔｃｈシグナル伝達阻害剤（例えば、ＯＭＰ－２１Ｍ１８）、放射線療法、手術、な

らびにこれらの組合せが含まれる。

【０５４９】

結腸直腸がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、５－フルオロウラシル（５ＦＵ－ＴＳ阻害剤）；イリノテカン（トポＩ毒）；オキサリプラチン（ＤＮＡ付加体）、ＥｒｂｉｔｕｘおよびＶｅｃｔａｂｉｘ（ＥＧＦＲに対するモノクローナルＡｂｓ）、ＦＯＬＦＯＸ：５－フルオロウラシル＋ロイコボリン＋オキサリプラチン；ＦＯＬＦＩＲＩ：５－フルオロウラシル＋ロイコボリン＋イリノテカン、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５０】

髄芽腫の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、ロムスチン、シスプラチン、カルボプラチン、ビンクリスチン、およびシクロホスファミド）、放射線療法、手術、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５１】

軟骨肉腫の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、トラベクテジン）、放射線療法（例えば、陽子線療法）、手術、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５２】

骨肉腫の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、メトトレキサート（例えば、単独で、またはロイコボリン救援療法と組み合わせた）、シスプラチン、アドリアマイシン、イホスファミド（例えば、単独でまたはメスナと組み合わせた）、ＢＣＧ（カルメット－ゲラン菌）、エトポシド、ムラミルトリペプチド（ＭＴＰ））、放射線療法、手術、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５３】

膵臓がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤、例えば、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤（例えば、パクリタキセル製剤、例えばＴＡＸＯＬ、アルブミン安定化ナノ粒子パクリタキセル製剤（例えば、ＡＢＲＡＸＡＮＥ）またはリポソームパクリタキセル製剤）；ゲムシタビン（例えば、ゲムシタビン単独でまたはＡＸＰ１０７－１１と組み合わせた）；他の化学療法剤、例えば、オキサリプラチン、５－フルオロウラシル、カペシタビン、ルビテカン、エピルビシン塩酸塩、ＮＣ－６００４、シスプラチン、ドセタキセル（例えば、ＴＡＸＯＴＥＲＥ）、マイトマイシンＣ、イホスファミド；インターフェロン；チロシンキナーゼ阻害剤、（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、エルロチニブ、パニツムマブ、セツキシマブ、ニモツズマブ）；ＨＥＲ２／ｎｅｕ受容体阻害剤（例えば、トラスツズマブ）；デュアルキナーゼ阻害剤（例えば、ボスチニブ、サラカチニブ、ラパチニブ、バンデタニブ）；マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ソラフェニブ、スニチニブ、ＸＬ１８４、パゾパニブ）；ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、ベバシズマブ、ＡＶ－９５１、ブリバニブ）；放射免疫療法（例えば、ＸＲ３０３）；がんワクチン（例えば、ＧＶＡＸ、サバイビンペプチド）；ＣＯＸ－２阻害剤（例えば、セレコキシブ）；ＩＧＦ－１受容体阻害剤（例えば、ＡＭＧ４７９、ＭＫ－０６４６）；ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス、テムシロリムス）；ＩＬ－６阻害剤（例えば、ＣＮＴＯ３２８）；サイクリン依存性キナーゼ阻害剤（例えば、Ｐ２７６－００、ＵＣＮ－０１）；変化したエネルギー代謝を標的とする（ＡＥＭＤ）化合物（例えば、ＣＰＩ－６１３）；ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ボリノスタット）；ＴＲＡＩＬ受容体２（ＴＲ－２）アゴニスト（例えば、コナツムマブ）；ＭＥＫ阻害剤（例えば、ＡＳ７０３０２６、セルメチニブ、ＧＳＫ１１２０２１２）；Ｒａｆ／ＭＥＫデュアルキナーゼ阻害剤（例えば、ＲＯ５１２６７６６）；Ｎｏｔｃｈシグナル伝達阻害剤（例えば、ＭＫ０７５２）；モノクローナル抗体－抗体融合タンパク質（ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｙ－ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｕｓｉｏｎ ｐｒｏｔｅｉｎ）（例えば、Ｌ１９ＩＬ２）；クルクミン；ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ

－４９３、ＩＰＩ－５０４、タネスピマイシン、ＳＴＡ－９０９０）；ｒＩＬ－２；、デニロイキンディフチトクス；トポイソメラーゼ１阻害剤（例えば、イリノテカン、ＰＥＰ０２）；スタチン（例えば、シンバスタチン）；第ＶＩＩａ因子阻害剤（例えば、ＰＣＩ－２７４８３）；ＡＫＴ阻害剤（例えば、ＲＸ－０２０１）；低酸素活性化プロドラッグ（例えば、ＴＨ－３０２）；メトホルミン塩酸塩、ガンマーセクレターゼ阻害剤（例えば、ＲＯ４９２９０９７）；リボヌクレオチドレダクターゼ阻害剤（例えば、３－ＡＰ）；免疫毒素（例えば、ＨｕＣ２４２－ＤＭ４）；ＰＡＲＰ阻害剤（例えば、ＫＵ－００５９４３６、ベリパリブ）；ＣＴＬＡ－４阻害剤（例えば、ＣＰ－６７５，２０６、イピリムマブ）；ＡｄＶ－ｔｋ療法；プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ（Ｖｅｌｃａｄｅ）、ＮＰＩ－００５２）；チアゾリジンジオン（例えば、ピオグリタゾン）；ＮＰＣ－１Ｃ；オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、Ｒ７６３／ＡＳ７０３５６９）、ＣＴＧＦ阻害剤（例えば、ＦＧ－３０１９）；ｓｉＧ１２Ｄ　ＬＯＤＥＲ；および放射線療法（例えば、トモセラピー（ｔｏｍｏｔｈｅｒａｐｙ）、定位放射線、陽子線療法）、手術、ならびにこれらの組合せが含まれる。特定の実施形態では、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤、およびゲムシタビンの組合せを、ＨＳＰ９０阻害剤と共に使用することができる。

【０５５４】

卵巣がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤；ドセタキセル；カルボプラチン；ゲムシタビン；ドキソルビシン；トポテカン；シスプラチン；イリノテカン、ＴＬＫ２８６、イホスファミド、オラパリブ、オキサリプラチン、メルファラン、ペメトレキセド二ナトリウム、ＳＪＧ－１３６、シクロホスファミド、エトポシド、デシタビン）；グレリンアンタゴニスト（例えば、ＡＥＺＳ－１３０）、免疫療法（例えば、ＡＰＣ８０２４、オレゴボマブ、ＯＰＴ－８２１）、チロシンキナーゼ阻害剤、（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、エルロチニブ）、デュアル阻害剤（例えば、Ｅ７０８０）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ＡＺＤ０５３０、ＪＩ－１０１、ソラフェニブ、スニチニブ、パゾパニブ）、ＯＮ０１９１０．Ｎａ）、ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、ベバシズマブ、ＢＩＢＦ１１２０、セジラニブ、ＡＺＤ２１７１）、ＰＤＧＦＲ阻害剤（例えば、ＩＭＣ－３Ｇ３）、パクリタキセル、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、カレニテシン（ｋａｒｅｎｉｔｅｃｉｎ）、イリノテカン）、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、バルプロ酸塩、ボリノスタット）、葉酸受容体阻害剤（例えば、ファーレツズマブ）、アンジオポエチン阻害剤（例えば、ＡＭＧ３８６）、エポチロン類似体（例えば、イキサベピロン）、プロテアソーム阻害剤（例えば、カーフィルゾミブ）、ＩＧＦ－１受容体阻害剤（例えば、ＯＳＩ９０６、ＡＭＧ４７９）、ＰＡＲＰ阻害剤（例えば、ベリパリブ、ＡＧ０１４６９９、イニパリブ、ＭＫ－４８２７）、オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、ＭＬＮ８２３７、ＥＮＭＤ－２０７６）、血管形成阻害剤（例えば、レナリドミド）、ＤＨＦＲ阻害剤（例えば、プララトレキサート）、放射免疫療法剤（ａｇｎｅｔ）（例えば、Ｈｕ３Ｓ１９３）、スタチン（例えば、ロバスタチン）、トポイソメラーゼ１阻害剤（例えば、ＮＫＴＲ－１０２）、がんワクチン（例えば、ｐ５３合成長ペプチドワクチン、自己ＯＣ－ＤＣワクチン）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、テムシロリムス、エベロリムス）、ＢＣＲ／ＡＢＬ阻害剤（例えば、イマチニブ）、ＥＴ－Ａ受容体アンタゴニスト（例えば、ＺＤ４０５４）、ＴＲＡＩＬ受容体２（ＴＲ－２）アゴニスト（例えば、ＣＳ－１００８）、ＨＧＦ／ＳＦ阻害剤（例えば、ＡＭＧ１０２）、ＥＧＥＮ－００１、ポロ様キナーゼ１阻害剤（例えば、ＢＩ６７２７）、ガンマーセクレターゼ阻害剤（例えば、ＲＯ４９２９０９７）、Ｗｅｅ－１阻害剤（例えば、ＭＫ－１７７５）、抗チューブリン剤（例えば、ビノレルビン、Ｅ７３８９）、免疫毒素（例えば、デニロイキンディフチトクス）、ＳＢ－４８５２３２、血管破壊剤（例えば、ＡＶＥ８０６２）、インテグリン阻害剤（例えば、ＥＭＤ５２５７９７）、キネシン－スピンドル阻害剤（例えば、４ＳＣ－２０５）、レブラミド（ｒｅｖｌｉｍｉｄ）、ＨＥＲ２阻害剤（例えば、ＭＧＡＨ２２）、ＥｒｒＢ３阻害剤（例えば、ＭＭ－１２１）、放射線療法；ならびにこれらの組合せが

含まれる。

【０５５５】

本発明によって、慢性骨髄性白血病（ＡＭＬ）の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法（例えば、シタラビン、ヒドロキシ尿素、クロファラビン、メルファラン、チオテパ、フルダラビン、ブスルファン、エトポシド、コルジセピン、ペントスタチン、カペシタビン、アザシチジン、シクロホスファミド、クラドリビン、トポテカン）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ＢＣＲ／ＡＢＬ阻害剤（例えば、イマチニブ、ニロチニブ）、ＯＮ０１９１０．Ｎａ、デュアル阻害剤（例えば、ダサチニブ、ボスチニブ）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ＤＣＣ－２０３６、ポナチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、ＲＧＢ－２８６６３８））、インターフェロンアルファ、ステロイド、アポトーシス剤（例えば、オマセタキシンメペスクシネート（ｏｍａｃｅｔａｘｉｎｅ　ｍｅｐｅｓｕｃｃｉｎａｔ））、免疫療法（例えば、同種ＣＤ４＋記憶Ｔｈ１様Ｔ細胞／微粒子結合抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８、自己サイトカイン誘導キラー細胞（ＣＩＫ）、ＡＨＮ－１２）、ＣＤ５２標的剤（例えば、アレムツズマブ）、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＩＰＩ－４９３、ＩＰＩ－５０４、タネスピマイシン、ＳＴＡ－９０９０、ＡＵＹ９２２、ＸＬ８８８）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス）、ＳＭＯアンタゴニスト（例えば、ＢＭＳ８３３９２３）、リボヌクレオチドレダクターゼ阻害剤（例えば、３－ＡＰ）、ＪＡＫ－２阻害剤（例えば、ＩＮＣＢ０１８４２４）、ヒドロキシクロロキン、レチノイド（例えば、フェンレチニド）、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤（例えば、ＵＣＮ－０１）、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ベリノスタット、ボリノスタット、ＪＮＪ－２６４８１５８５）、ＰＡＲＰ阻害剤（例えば、ベリパリブ）、ＭＤＭ２アンタゴニスト（例えば、ＲＯ５０４５３３７）、オーロラＢキナーゼ阻害剤（例えば、ＴＡＫ－９０１）、放射免疫療法（例えば、アクチニウム－２２５－標識された抗ＣＤ３３抗体ＨｕＭ１９５）、ヘッジホッグ阻害剤（例えば、ＰＦ－０４４４９９１３）、ＳＴＡＴ３阻害剤（例えば、ＯＰＢ－３１１２１）、ＫＢ００４、がんワクチン（例えば、ＡＧ８５８）、骨髄移植、幹細胞移植、放射線療法、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５６】

慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、フルダラビン、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン、クロランブシル、ベンダムスチン、クロランブシル、ブスルファン、ゲムシタビン、メルファラン、ペントスタチン、ミトキサントロン、５－アザシチジン、ペメトレキセド二ナトリウム）、チロシンキナーゼ阻害剤、（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、エルロチニブ）、ＢＴＫ阻害剤（例えば、ＰＣＩ－３２７６５）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ＭＧＣＤ２６５、ＲＧＢ－２８６６３８）、ＣＤ－２０標的剤（例えば、リツキシマブ、オファツムマブ、ＲＯ５０７２７５９、ＬＦＢ－Ｒ６０３）、ＣＤ５２標的剤（例えば、アレムツズマブ）、プレドニゾロン、ダルベポエチンアルファ、レナリドミド、Ｂｃｌ－２阻害剤（例えば、ＡＢＴ－２６３）、免疫療法（例えば、同種ＣＤ４＋記憶Ｔｈ１様Ｔ細胞／微粒子結合抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８、自己サイトカイン誘導キラー細胞（ＣＩＫ））、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ボリノスタット、バルプロ酸、ＬＢＨ５８９、ＪＮＪ－２６４８１５８５、ＡＲ－４２）、ＸＩＡＰ阻害剤（例えば、ＡＥＧ３５１５６）、ＣＤ－７４標的剤（例えば、ミラツズマブ）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス）、ＡＴ－１０１、免疫毒素（例えば、ＣＡＴ－８０１５、抗Ｔａｃ（Ｆｖ）－ＰＥ３８（ＬＭＢ－２））、ＣＤ３７標的剤（例えば、ＴＲＵ－０１６）、放射免疫療法（例えば、１３１－トシツモマブ）、ヒドロキシクロロキン、ペリホシン、ＳＲＣ阻害剤（例えば、ダサチニブ）、サリドマイド、ＰＩ３Ｋδ阻害剤（例えば、ＣＡＬ－１０１）、レチノイド（例えば、フェンレチニド）、ＭＤＭ２アンタゴニスト（例えば、ＲＯ５０４５３３７）、プレリキサホル、オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、ＭＬＮ８２３７、ＴＡＫ－９０１）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ）、ＣＤ－１９標的剤（例えば、ＭＥＤＩ－５５１、ＭＯＲ２０

８）、ＭＥＫ阻害剤（例えば、ＡＢＴ－３４８）、ＪＡＫ－２阻害剤（例えば、ＩＮＣＢ０１８４２４）、低酸素活性化プロドラッグ（例えば、ＴＨ－３０２）、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤、ＨＳＰ９０阻害剤、ＡＫＴ阻害剤（例えば、ＭＫ２２０６）、ＨＭＧ－ＣｏＡ阻害剤（例えば、シンバスタチン）、ＧＮＫＧ１８６、放射線療法、骨髄移植、幹細胞移植、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５７】

急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ）の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、プレドニゾロン、デキサメタゾン、ビンクリスチン、アスパラギナーゼ、ダウノルビシン、シクロホスファミド、シタラビン、エトポシド、チオグアニン、メルカプトプリン、クロファラビン、リポソームアナマイシン、ブスルファン、エトポシド、カペシタビン、デシタビン、アザシチジン、トポテカン、テモゾロマイド）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ＢＣＲ／ＡＢＬ阻害剤（例えば、イマチニブ、ニロチニブ）、ＯＮ０１９１０．Ｎａ、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ソラフェニブ））、ＣＤ－２０標的剤（例えば、リツキシマブ）、ＣＤ５２標的剤（例えば、アレムツズマブ）、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＳＴＡ－９０９０）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス、ラパマイシン）、ＪＡＫ－２阻害剤（例えば、ＩＮＣＢ０１８４２４）、ＨＥＲ２／ｎｅｕ受容体阻害剤（例えば、トラスツズマブ）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ）、メトトレキサート、アスパラギナーゼ、ＣＤ－２２標的剤（例えば、エピラツズマブ、イノツズマブ）、免疫療法（例えば、自己サイトカイン誘導キラー細胞（ＣＩＫ）、ＡＨＮ－１２）、ブリナツモマブ、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤（例えば、ＵＣＮ－０１）、ＣＤ４５標的剤（例えば、ＢＣ８）、ＭＤＭ２アンタゴニスト（例えば、ＲＯ５０４５３３７）、免疫毒素（例えば、ＣＡＴ－８０１５、ＤＴ２２１９ＡＲＬ）、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ＪＮＪ－２６４８１５８５）、ＪＶＲＳ－１００、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤、ＳＴＡＴ３阻害剤（例えば、ＯＰＢ－３１１２１）、ＰＡＲＰ阻害剤（例えば、ベリパリブ）、ＥＺＮ－２２８５、放射線療法、ステロイド、骨髄移植、幹細胞移植、またはこれらの組合せが含まれる。

【０５５８】

急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、シタラビン、ダウノルビシン、イダルビシン、クロファラビン、デシタビン、ボサロキシン、アザシチジン、クロファラビン、リバビリン、ＣＰＸ－３５１、トレオスルファン、エラシタラビン（ｅｌａｃｙｔａｒａｂｉｎｅ）、アザシチジン）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ＢＣＲ／ＡＢＬ阻害剤（例えば、イマチニブ、ニロチニブ）、ＯＮ０１９１０．Ｎａ、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ミドスタウリン、ＳＵ１１２４８、キザルチニブ、ソラフィニブ））、免疫毒素（例えば、ゲムツズマブオゾガマイシン）、ＤＴ３８８ＩＬ３融合タンパク質、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ボリノスタット、ＬＢＨ５８９）、プレリキサホル、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス）、ＳＲＣ阻害剤（例えば、ダサチニブ）、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＳＴＡ－９０９０）、レチノイド（例えば、ベキサロテン、オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、ＢＩ８１１２８３）、ＪＡＫ－２阻害剤（例えば、ＩＮＣＢ０１８４２４）、Ｐｏｌｏ様キナーゼ阻害剤（例えば、ＢＩ６７２７）、セネルセン、ＣＤ４５標的剤（例えば、ＢＣ８）、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤（例えば、ＵＣＮ－０１）、ＭＤＭ２アンタゴニスト（例えば、ＲＯ５０４５３３７）、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス）、ＬＹ５７３６３６－ナトリウム、ＺＲｘ－１０１、ＭＬＮ４９２４、レナリドミド、免疫療法（例えば、ＡＨＮ－１２）、ヒスタミン二塩酸塩、放射線療法、骨髄移植、幹細胞移植、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５５９】

多発性骨髄腫（ＭＭ）の治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、メルファラン、アミホスチン、シクロホスファミド、ドキソルビシン、クロファラビン、ベンダムスチン

、フルダラビン、アドリアマイシン、ＳｙＢ　Ｌ－０５０１）、サリドマイド、レナリドミド、デキサメタゾン、プレドニゾン、ポマリドマイド、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ、カーフィルゾミブ、ＭＬＮ９７０８）、がんワクチン（例えば、ＧＶＡＸ）、ＣＤ－４０標的剤（例えば、ＳＧＮ－４０、ＣＨＩＲ－１２．１２）、ペリホシン、ゾレドロン酸、免疫療法（例えば、ＭＡＧＥ－Ａ３、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＨｕＭａｘ－ＣＤ３８）、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、ボリノスタット、ＬＢＨ５８９、ＡＲ－４２）、アプリジン（ａｐｌｉｄｉｎ）、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤（例えば、ＰＤ－０３３２９９１、ジナシクリブ）、三酸化ヒ素、ＣＢ３３０４、ＨＳＰ９０阻害剤（例えば、ＫＷ－２４７８）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、セツキシマブ）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ＡＴ９２８３））、ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、ベバシズマブ）、プレリキサホル、ＭＥＫ阻害剤（例えば、ＡＺＤ６２４４）、ＩＰＨ２１０１、アトルバスタチン、免疫毒素（例えば、ＢＢ－１０９０１）、ＮＰＩ－００５２、放射免疫治療剤（例えば、イットリウムＹ９０イブリツモマブチウキセタン）、ＳＴＡＴ３阻害剤（例えば、ＯＰＢ－３１１２１）、ＭＬＮ４９２４、オーロラキナーゼ阻害剤（例えば、ＥＮＭＤ－２０７６）、ＩＭＧＮ９０１、ＡＣＥ－０４１、ＣＫ－２阻害剤（例えば、ＣＸ－４９４５）、放射線療法、骨髄移植、幹細胞移植、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５６０】

頭頸部がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法（例えば、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤、カルボプラチン、ドセタキセル、アミホスチン、シスプラチン（ｃｉｓｐｌａｎｔｉｎ）、オキサリプラチン、ドセタキセル）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、ＥＧＦＲ阻害剤（例えば、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イコチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、ザルツムマブ、ニモツズマブ、ネシツムマブ、マツズマブ、セツキシマブ）、デュアル阻害剤（例えば、ラパチニブ、ネラチニブ、バンデタニブ、ＢＩＢＷ２９９２、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ＸＬ－６４７））、ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、ベバシズマブ）、レオウイルス、放射線療法、手術、ならびにこれらの組合せが含まれる。

【０５６１】

前立腺がんの治療のためにＨＳＰ９０阻害剤と組み合わせて使用するための適切な療法薬の例には、これらに限定されないが、化学療法剤（例えば、ドセタキセル、カルボプラチン、フルダラビン）、ホルモン療法（例えば、フルタミド、ビカルタミド、ニルタミド、酢酸シプロテロン、ケトコナゾール、アミノグルテチミド、アバレリックス、デガレリクス、ロイプロリド、ゴセレリン、トリプトレリン、ブセレリン）、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、デュアルキナーゼ阻害剤（例えば、ラパタニブ）、マルチキナーゼ阻害剤（例えば、ソラフェニブ、スニチニブ））、ＶＥＧＦ阻害剤（例えば、ベバシズマブ）、ＴＡＫ－７００、がんワクチン（例えば、ＢＰＸ－１０１、ＰＥＰ２２３）、レナリドミド、ＴＯＫ－００１、ＩＧＦ－１受容体阻害剤（例えば、シクスツムマブ）、ＴＲＣ１０５、オーロラＡキナーゼ阻害剤（例えば、ＭＬＮ８２３７）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ）、ＯＧＸ－０１１、放射免疫療法（例えば、ＨｕＪ５９１－ＧＳ）、ＨＤＡＣ阻害剤（例えば、バルプロ酸、ＳＢ９３９、ＬＢＨ５８９）、ヒドロキシクロロキン、ｍＴＯＲ阻害剤（例えば、エベロリムス）、ドビチニブラクテート（ｄｏｖｉｔｉｎｉｂ　ｌａｃｔａｔｅ）、ジインドリルメタン、エファビレンツ、ＯＧＸ－４２７、ゲニステイン、ＩＭＣ－３Ｇ３、バフェチニブ、ＣＰ－６７５，２０６、放射線療法、手術、またはこれらの組合せが含まれる。

【０５６２】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、ｍＴＯＲ阻害剤と組み合わせて使用する。本発明における使用に適したｍＴＯＲ阻害剤は、これらに限定されないが、ＷＯ９４／０２１３６（１６－Ｏ－置換誘導体）；米国特許第５，２５８，３８９号（４０－Ｏ－置換誘導体）；ＷＯ９４／９０１０（Ｏ－アリールおよび Ｏ－アルキル誘導体）；ＷＯ９２／０５１７９（カルボン酸エステル）；米国特許第５，１１８，６７７号および同第５

，１１８，６７８号（アミドエステル）；米国特許第５，１１８，６７８号（カルバメート）；米国特許第５，１００，８８３号（フッ素化エステル）；米国特許第５，１５１，４１３号（アセタール）；米国特許第５，１２０，８４２号（シリルエステル）；ＷＯ９３，１１１３０（メチレン誘導体）；ＷＯ９４／０２１３６（メトキシ誘導体）；ＷＯ９４／０２３８５およびＷＯ９５／１４０２３（アルケニル誘導体）；米国特許第５，２５６，７９０号（３２－Ｏ－ジヒドロまたは置換誘導体）；ＥＰ９６／０２４４１；Ｕ．Ｓ．２００４／０２３５６２（炭水化物誘導体）；米国特許第４，３１６，８８５号（モノおよびジアシル化誘導体）；米国特許第５，１２０，７２５号（二環式（ｂｉｃｙｌｉｃ）誘導体）；米国特許第５，１２０，７２７号（ラパマイシン二量体）；ＥＰ４６７６０６（ラパマイシンの２７－オキシム）；米国特許第５，０２３，２６２号（４２－オキソ類似体）；米国特許第５，１７７，２０３号（アリールスルホネートおよびスルファメート）；米国特許第５，１７７，２０３号を含めた多数の参照文献に記載されている。さらに、様々なラパマイシンプロドラッグは、米国特許第４，６５０，８０３号；同第５，６７２，６０５号；同第５，５８３，１８９号；同第５，５２７，９０６号；同第５，４５７，１１１号；同第５，９９５，１００号；および同第６，１４６，６５８号に記載されてきた。治療方法において使用するために特に重要であるのは、Ｎｏｖａｒｔｉｓ（米国特許第５，６６５，７７２号；同第５，９１２，２５３号；同第５，９８５，８９０号；同第５，９１２，２５３号；同第６，２００，９８５号；同第６，３８４，０４６号；および同第６，４４０，９９０号）、Ａｒｉａｄ（ＷＯ９６／４１８６５）；ならびにＷｙｅｔｈ（米国特許第５，３６２，７１８号；同第６，３９９，６２５号；同第６，３９９，６２７号；同第６，４３２，９７３号；同第６，４４０，９９１号；同第６，６７７，３５７号；および同第６，６８０，７１８号）が所有している特許に記載されている誘導体である。例示的なｍＴＯＲ阻害剤には、これらに限定されないが、ラパマイシン、テムシロリムス（ＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標））、エベロリムス（ＲＡＤ００１、ＡＦＩＮＩＴＯＲ（登録商標））、リダホロリムス、ＡＰ２３５７３、ＡＺＤ８０５５、ＢＥＺ２３５、ＢＧＴ２２６、ＸＬ７６５、ＰＦ－４６９１５０２、ＧＤＣ０９８０、ＳＦ１１２６、ＯＳＩ－０２７、ＧＳＫ１０５９６１５、ＫＵ－００６３７９４、ＷＹＥ－３５４、ＩＮＫ１２８、テムシロリムス（ＣＣＩ－７７９）、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９（Ｐ５２９）、ＰＦ－０４６９１５０２、またはＰＫＩ－５８７が含まれる。一実施形態では、ｍＴＯＲ阻害剤は、ＴＯＲＣ１およびＴＯＲＣ２を阻害する。ＴＯＲＣ１およびＴＯＲＣ２デュアル阻害剤の例には、例えば、ＯＳＩ－０２７、ＸＬ７６５、Ｐａｌｏｍｉｄ５２９、およびＩＮＫ１２８が含まれる。

【０５６３】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、インスリン様増殖因子受容体（ＩＧＦ－１Ｒ）の阻害剤、例えば、ＢＭＳ－５３６９２４、ＧＳＫ１９０４５２９Ａ、ＡＭＧ４７９、ＭＫ－０６４６、シクスツムマブ、ＯＳＩ９０６、フィギツムマブ（ＣＰ－７５１，８７１）、またはＢＩＩＢ０２２と組み合わせて使用する。

【０５６４】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）阻害剤）と組み合わせて使用する。例示的なチロシンキナーゼ阻害剤には、これらに限定されないが、上皮増殖因子（ＥＧＦ）経路阻害剤（例えば、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）阻害剤）、血管内皮増殖因子（ＶＥＧＦ）経路阻害剤（例えば、血管内皮増殖因子受容体（ＶＥＧＦＲ）阻害剤（例えば、ＶＥＧＦＲ－１阻害剤、ＶＥＧＦＲ－２阻害剤、ＶＥＧＦＲ－３阻害剤））、血小板由来増殖因子（ＰＤＧＦ）経路阻害剤（例えば、血小板由来増殖因子受容体（ＰＤＧＦＲ）阻害剤（例えば、ＰＤＧＦＲ－β阻害剤））、ＲＡＦ－１阻害剤、ＫＩＴ阻害剤およびＲＥＴ阻害剤が含まれる。いくつかの実施形態では、ヘッジホッグ阻害剤と組み合わせて使用される抗がん剤は、アキシチニブ（ＡＧ０１３７３６）、ボスチニブ（ＳＫＩ－６０６）、セジラニブ（ＲＥＣＥＮＴＩＮ（商標）、ＡＺＤ２１７１）、ダサチニブ（ＳＰＲＹＣＥＬ（登録商標）、ＢＭＳ－３５４８２５）、エルロチニブ（ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標））、ゲフィチニ

ブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標））、イマチニブ（Ｇｌｅｅｖｅｃ（登録商標）、ＣＧＰ５７１４８Ｂ、ＳＴＩ－５７１）、ラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標）、ＴＹＶＥＲＢ（登録商標））、レスタウルチニブ（ＣＥＰ－７０１）、ネラチニブ（ＨＫＩ－２７２）、ニロチニブ（ＴＡＳＩＧＮＡ（登録商標））、セマクサニブ（セマキシニブ、ＳＵ５４１６）、スニチニブ（ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、ＳＵ１１２４８）、トセラニブ（ＰＡＬＬＡＤＩＡ（登録商標））、バンデタニブ（ＺＡＣＴＩＭＡ（登録商標）、ＺＤ６４７４）、バタラニブ（ＰＴＫ７８７、ＰＴＫ／ＺＫ）、トラスツズマブ（ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標））、ベバシズマブ（ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標））、リツキシマブ（ＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標））、セツキシマブ（ＥＲＢＩＴＵＸ（登録商標））、パニツムマブ（ＶＥＣＴＩＢＩＸ（登録商標））、ラニビズマブ（Ｌｕｃｅｎｔｉｓ（登録商標））、ニロチニブ（ＴＡＳＩＧＮＡ（登録商標））、ソラフェニブ（ＮＥＸＡＶＡＲ（登録商標））、アレムツズマブ（ＣＡＭＰＡＴＨ（登録商標））、ゲムツズマブオゾガマイシン（ＭＹＬＯＴＡＲＧ（登録商標））、ＥＮＭＤ－２０７６、ＰＣＩ－３２７６５、ＡＣ２２０、ドビチニブラクテート（ＴＫＩ２５８、ＣＨＩＲ－２５８）、ＢＩＢＷ２９９２（ＴＯＶＯＫ（商標））、ＳＧＸ５２３、ＰＦ－０４２１７９０３、ＰＦ－０２３４１０６６、ＰＦ－２９９８０４、ＢＭＳ－７７７６０７、ＡＢＴ－８６９、ＭＰ４７０、ＢＩＢＦ１１２０（ＶＡＲＧＡＴＥＦ（登録商標））、ＡＰ２４５３４、ＪＮＪ－２６４８３２７、ＭＧＣＤ２６５、ＤＣＣ－２０３６、ＢＭＳ－６９０１５４、ＣＥＰ－１１９８１、チボザニブ（ＡＶ－９５１）、ＯＳＩ－９３０、ＭＭ－１２１、ＸＬ－１８４、ＸＬ－６４７、ＸＬ２２８、ＡＥＥ７８８、ＡＧ－４９０、ＡＳＴ－６、ＢＭＳ－５９９６２６、ＣＵＤＣ－１０１、ＰＤ１５３０３５、ペリチニブ（ＥＫＢ－５６９）、バンデタニブ（ザクチマ（ｚａｃｔｉｍａ））、ＷＺ３１４６、ＷＺ４００２、ＷＺ８０４０、ＡＢＴ－８６９（リニファニブ）、ＡＥＥ７８８、ＡＰ２４５３４（ポナチニブ）、ＡＶ－９５１（チボザニブ）、アキシチニブ、ＢＡＹ７３－４５０６（レゴラフェニブ）、ブリバニブアラニンエステル（ＢＭＳ－５８２６６４）、ブリバニブ（ＢＭＳ－５４０２１５）、セジラニブ（ＡＺＤ２１７１）、ＣＨＩＲ－２５８（ドビチニブ）、ＣＰ６７３４５１、ＣＹＣ１１６、Ｅ７０８０、Ｋｉ８７５１、マシチニブ（ＡＢ１０１０）、ＭＧＣＤ－２６５、モテサニブジホスフェート（ＡＭＧ－７０６）、ＭＰ－４７０、ＯＳＩ－９３０、パゾパニブ塩酸塩、ＰＤ１７３０７４、トシル酸ソラフェニブ（ｎＳｏｒａｆｅｎｉｂ Ｔｏｓｙｌａｔｅ）（Ｂａｙ４３－９００６）、ＳＵ５４０２、ＴＳＵ－６８（ＳＵ６６６８）、バタラニブ、ＸＬ８８０（ＧＳＫ１３６３０８９、ＥＸＥＬ－２８８０）からなる群から選択される。選択したチロシンキナーゼ阻害剤は、スニチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、またはソラフェニブから選択される。一実施形態では、チロシンキナーゼ阻害剤は、スニチニブである。

【０５６５】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、オキサリプラチン（８５ｍｇ／ｍ２）およびイリノテカン（１８０ｍｇ／ｍ２）およびロイコボリン（４００ｍｇ／ｍ２）を含むフォルフィリノックスと組み合わせて使用し、続いて１日目にボーラスのフルオロウラシル（５－ＦＵ）（４００ｍｇ／ｍ２）、次いで４６時間の持続注入として５－ＦＵ（２，４００ｍｇ／ｍ２）を使用する。

【０５６６】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、ＰＩ３Ｋ阻害剤と組み合わせて使用する。一実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＰＩ３Ｋのデルタおよびガンマアイソフォームの阻害剤である。組合せにおいて使用することができる例示的なＰＩ３Ｋ阻害剤は、例えば、ＷＯ２０１０／０３６３８０、ＷＯ２０１０／００６０８６、ＷＯ０９／１１４８７０、ＷＯ０５／１１３５５６に記載されている。医薬組成物と組み合わせて使用することができるさらなるＰＩ３Ｋ阻害剤には、これらに限定されないが、ＧＳＫ２１２６４５８、ＧＤＣ－０９８０、ＧＤＣ－０９４１、Ｓａｎｏｆｉ ＸＬ１４７、ＸＬ７５６、ＸＬ１４７、ＰＦ－４６９１５０３２、ＢＫＭ１２０、ＣＡＬ－１０１、ＣＡＬ２６３、ＳＦ１１２６、ＰＸ－８８６、およびデュアルＰＩ３Ｋ阻害剤（例えば、Ｎｏｖａｒｔｉｓ

ＢＥＺ２３５）が含まれる。一実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、イソキノリノンである。一実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＩＮＫ１１９７またはその誘導体である。他の実施形態では、ＰＩ３Ｋ阻害剤は、ＩＮＫ１１１７またはその誘導体である。

【０５６７】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＢＲＡＦ阻害剤、例えば、ＧＳＫ２１１８４３６、ＲＧ７２０４、ＰＬＸ４０３２、ＧＤＣ－０８７９、ＰＬＸ４７２０、およびソラフェニブトシレート（Ｂａｙ４３－９００６）と組み合わせて投与される。

【０５６８】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＭＥＫ阻害剤、例えば、ＡＲＲＹ－１４２８８６、ＧＳＫ１１２０２１２、ＲＤＥＡ４３６、ＲＤＥＡ１１９／ＢＡＹ８６９７６６、ＡＳ７０３０２６、ＡＺＤ６２４４（セルメチニブ）、ＢＩＸ０２１８８、ＢＩＸ０２１８９、ＣＩ－１０４０（ＰＤ１８４３５２）、ＰＤ０３２５９０１、ＰＤ９８０５９、およびＵ０１２６と組み合わせて投与される。

【０５６９】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、ＪＡＫ２阻害剤、例えば、ＣＥＰ－７０１、ＩＮＣＢ１８４２４、ＣＰ－６９０５５０（タソシチニブ）と組み合わせて投与される。

【０５７０】

いくつかの実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤は、パクリタキセルまたはパクリタキセル剤、例えば、ＴＡＸＯＬ（登録商標）、タンパク質結合パクリタキセル（例えば、ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標））と組み合わせて投与される。「パクリタキセル剤」とは、本明細書において使用する場合、パクリタキセルの製剤（例えば、例えば、ＴＡＸＯＬ）またはパクリタキセル同等物（例えば、例えば、パクリタキセルのプロドラッグ）を意味する。例示的なパクリタキセル同等物には、これらに限定されないが、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ、Ａｂｒａｘｉｓ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅによって市販されている）、ドコサヘキサエン酸結合パクリタキセル（ＤＨＡ－パクリタキセル、Ｔａｘｏｐｒｅｘｉｎ、Ｐｒｏｔａｒｇａによって市販されている）、ポリグルタミン酸結合パクリタキセル（ＰＧ－パクリタキセル、パクリタキセルポリグルメクス、ＣＴ－２１０３、ＸＹＯＴＡＸ、Ｃｅｌｌ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃによって市販されている）、腫瘍活性化プロドラッグ（ＴＡＰ）、ＡＮＧ１０５（パクリタキセルの３個の分子に結合しているＡｎｇｉｏｐｅｐ－２、ＩｍｍｕｎｏＧｅｎによって市販されている）、パクリタキセル－ＥＣ－１（ｅｒｂＢ２認識ペプチドＥＣ－１に結合しているパクリタキセル；Ｌｉら、Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ（２００７年）８７巻：２２５～２３０頁を参照されたい）、ならびにブドウ糖がコンジュゲートしたパクリタキセル（例えば、２’－パクリタキセルメチル２－グルコピラノシルスクシネート、Ｌｉｕら、Ｂｉｏｏｒｇａｎｉｃ ＆ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ｌｅｔｔｅｒｓ（２００７年）１７巻：６１７～６２０頁を参照されたい）が含まれる。特定の実施形態では、パクリタキセル剤は、パクリタキセル同等物である。特定の実施形態では、パクリタキセル同等物は、ＡＢＲＡＸＡＮＥである。

【０５７１】

特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤、ならびに第２の薬剤、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤および／またはさらなる抗がん剤を、同時的に（すなわち、同時もしくは同じ日に、または同じ治療レジメン内で、２種の薬剤の投与）、または順次に（すなわち、ある期間に亘る１種の薬剤の投与、それに続く第２の期間における、または異なる治療レジメン内の他の薬剤の投与）投与する。

【０５７２】

特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤、ならびに第２の薬剤、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤および／またはさらなる抗がん剤を、同時的に投与する。例えば、特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤および第２の薬剤（複数可）を、同時的に投与する。特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤および第２の薬剤（複数可）を、同じ日に投与す

る。特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、同じ日にまたは同じ治療レジメン内で、第２の薬剤（複数可）の後に投与する。特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、同じ日にまたは同じ治療レジメン内で、第２の薬剤（複数可）の前に投与する。

【０５７３】

特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、ある時期の間、第２の薬剤（複数可）と同時的に投与し、この時点の後、さらなる抗がん剤による治療を停止し、ＨＳＰ９０阻害剤による治療を続ける。

【０５７４】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、ある時期の間、第２の薬剤（複数可）と同時的に投与し、この時点の後、ＨＳＰ９０阻害剤による治療を停止し、さらなる抗がん剤による治療を続ける。

【０５７５】

特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤および第２の薬剤（複数可）を、順次に投与する。例えば、特定の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤を、ｍＴＯＲ阻害剤、および／またはさらなる抗がん剤の治療レジメンが終了した後に投与する。特定の実施形態では、ｍＴＯＲ阻害剤および／またはさらなる抗がん剤を、ＨＳＰ９０阻害剤の治療レジメンが終了した後に投与する。

【０５７６】

本発明によるＨＳＰ９０阻害剤と合わせることができるがん療法には、外科的治療、放射線療法、および化学療法剤（生物学的療法薬など）が含まれる。例示的な抗がん剤には、これらに限定されないが、放射線療法、インターフェロン（例えば、インターフェロンα、インターフェロンγ）、抗体（例えば、ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（トラスツズマブ）、Ｔ－ＤＭ１、ＡＶＡＳＴＩＮ（ベバシズマブ）、ＥＲＢＩＴＵＸ（セツキシマブ）、ＶＥＣＴＩＢＩＸ（パニツムマブ）、ＲＩＴＵＸＡＮ（リツキシマブ）ＢＥＸＸＡＲ（トシツモマブ））、抗エストロゲン剤（例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、およびメゲストロール）、ＬＨＲＨアゴニスト（例えば、ゴスクルクリン（ｇｏｓｃｒｃｌｉｎ）およびロイプロリド）、抗アンドロゲン剤（例えば、フルタミドおよびビカルタミド）、光線力学療法（例えば、ベルトポルフィン（ｖｅｒｔｏｐｏｒｆｉｎ）（ＢＰＤ－ＭＡ）、フタロシアニン、光増感剤Ｐｃ４、およびデメトキシ－ヒポクレリンＡ（２ＢＡ－２－ＤＭＨＡ））、ナイトロジェンマスタード（例えば、シクロホスファミド、イホスファミド、トロホスファミド、クロランブシル、エストラムスチン、およびメルファラン）、ニトロソ尿素（例えば、カルムスチン（ＢＣＮＵ）およびロムスチン（ＣＣＮＵ））、アルキルスルホネート（例えば、ブスルファンおよびトレオスルファン）、トリアゼン（例えば、ダカルバジン、テモゾロマイド）、白金含有化合物（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン）、ビンカアルカロイド（例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、およびビノレルビン）、タキソイドまたはタキサン（例えば、パクリタキセル、アルブミン結合パクリタキセル（ＡＢＲＡＸＡＮＥ）、ｎａｂ－パクリタキセル、ドセタキセル（例えば、注射用ドセタキセル（Ｔａｘｏｔｅｒｅ）として）、タキソール（ｔａｘｏｌ））、エピポドフィリン（例えば、エトポシド、リン酸エトポシド、テニポシド、トポテカン、９－アミノカンプトテシン、カンプトイリノテカン、イリノテカン、クリスナトール、マイトマイシン（ｍｙｔｏｍｙｃｉｎ）Ｃ）、代謝拮抗剤、ＤＨＦＲ阻害剤（例えば、メトトレキサート、ジクロロメトトレキサート、トリメトレキサート、エダトレキサート）、ＩＭＰデヒドロゲナーゼ阻害剤（例えば、ミコフェノール酸、チアゾフリン、リバビリン、およびＥＩＣＡＲ）、リボヌクレオチド（ｒｉｂｏｎｕｃｌｏｔｉｄｅ）レダクターゼ阻害剤（例えば、ヒドロキシ尿素およびデフェロキサミン）、ウラシル類似体（例えば、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、フロクスウリジン、ドキシフルリジン、ラルチトレキセド（ｒａｔｉｔｒｅｘｅｄ）、テガフル－ウラシル、カペシタビン）、シトシン類似体（例えば、シタラビン（ａｒａ　Ｃ）、シトシンアラビノシド、およびフルダラビン）、プリン類似体（例えば、メルカプトプリンおよびチオグアニン）、ビタミンＤ３類似体（例えば、ＥＢ１０８９、ＣＢ１０９３、およびＫＨ１０６０）

、イソプレニル化阻害剤（例えば、ロバスタチン）、ドーパミン作動性神経毒（例えば、１－メチル－４－フェニルピリジニウムイオン）、細胞周期阻害剤（例えば、スタウロスポリン）、アクチノマイシン（例えば、アクチノマイシンＤ、ダクチノマイシン）、ブレオマイシン（例えば、ブレオマイシンＡ２、ブレオマイシンＢ２、ペプロマイシン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ペグ化リポソームドキソルビシン、イダルビシン、エピルビシン、ピラルビシン、ゾルビシン、ミトキサントロン）、ＭＤＲ阻害剤（例えば、ベラパミル）、Ca^{2+}ＡＴＰアーゼ阻害剤（例えば、タプシガルジン）、イマチニブ、サリドマイド、レナリドミド、チロシンキナーゼ阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤（例えば、アキシチニブ（ＡＧ０１３７３６）、ボスチニブ（ＳＫＩ－６０６）、セジラニブ（ＲＥＣＥＮＴＩＮ（商標）、ＡＺＤ２１７１）、ダサチニブ（ＳＰＲＹＣＥＬ（登録商標）、ＢＭＳ－３５４８２５）、エルロチニブ（ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標））、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標））、イマチニブ（Ｇｌｅｅｖｅｃ（登録商標）、ＣＧＰ５７１４８Ｂ、ＳＴＩ－５７１）、ラパチニブ（ＴＹＫＥＲＢ（登録商標）、ＴＹＶＥＲＢ（登録商標））、レスタウルチニブ（ＣＥＰ－７０１）、ネラチニブ（ＨＫＩ－２７２）、ニロチニブ（ＴＡＳＩＧＮＡ（登録商標））、セマクサニブ（セマキシニブ、ＳＵ５４１６）、スニチニブ（ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）、ＳＵ１１２４８）、トセラニブ（ＰＡＬＬＡＤＩＡ（登録商標））、バンデタニブ（ＺＡＣＴＩＭＡ（登録商標）、ＺＤ６４７４）、バタラニブ（ＰＴＫ７８７、ＰＴＫ／ＺＫ）、トラスツズマブ（ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ（登録商標））、ベバシズマブ（ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標））、リツキシマブ（ＲＩＴＵＸＡＮ（登録商標））、セツキシマブ（ＥＲＢＩＴＵＸ（登録商標））、パニツムマブ（ＶＥＣＴＩＢＩＸ（登録商標））、ラニビズマブ（Ｌｕｃｅｎｔｉｓ（登録商標））、ニロチニブ（ＴＡＳＩＧＮＡ（登録商標））、ソラフェニブ（ＮＥＸＡＶＡＲ（登録商標））、アレムツズマブ（ＣＡＭＰＡＴＨ（登録商標））、ゲムツズマブオゾガマイシン（ＭＹＬＯＴＡＲＧ（登録商標））、ＥＮＭＤ－２０７６、ＰＣＩ－３２７６５、ＡＣ２２０、ドビチニブラクテート（ＴＫＩ２５８、ＣＨＩＲ－２５８）、ＢＩＢＷ２９９２（ＴＯＶＯＫ（商標））、ＳＧＸ５２３、ＰＦ－０４２１７９０３、ＰＦ－０２３４１０６６、ＰＦ－２９９８０４、ＢＭＳ－７７７６０７、ＡＢＴ－８６９、ＭＰ４７０、ＢＩＢＦ１１２０（ＶＡＲＧＡＴＥＦ（登録商標））、ＡＰ２４５３４、ＪＮＪ－２６４８３３２７、ＭＧＣＤ２６５、ＤＣＣ－２０３６、ＢＭＳ－６９０１５４、ＣＥＰ－１１９８１、チボザニブ（ＡＶ－９５１）、ＯＳＩ－９３０、ＭＭ－１２１、ＸＬ－１８４、ＸＬ－６４７、および／またはＸＬ２２８）、プロテアソーム阻害剤（例えば、ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ））、オブリメルセン、ゲムシタビン、カルミノマイシン、ロイコボリン、ペメトレキセド、シクロホスファミド、ダカルバジン、プロカルビジン（ｐｒｏｃａｒｂｉｚｉｎｅ）、プレドニゾロン、デキサメタゾン、カンパテシン、プリカマイシン、アスパラギナーゼ、アミノプテリン、メトプテリン、ポルフィロマイシン、メルファラン、ロイロシジン、ロイロシン、クロランブシル、トラベクテジン、プロカルバジン、ディスコデルモリド、カルミノマイシン、アミノプテリン、およびヘキサメチルメラミンが含まれる。

【０５７７】

他の実施形態では、ＨＳＰ９０阻害剤および第２の薬剤（複数可）、例えば、ｍＴＯＲ阻害剤、ＡＬＫ阻害剤、または化学療法剤は、他の化学療法剤、放射線、または外科手技の１つもしくは複数と組み合わせて使用することができる。

【実施例】

【０５７８】

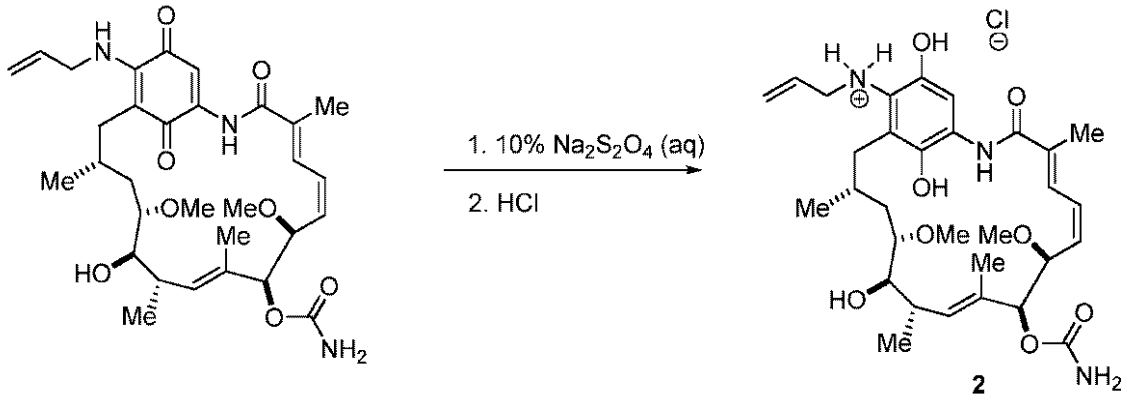
限定的なものと解釈すべきではない下記の実施例によって、本発明をさらに例示する。本出願に亘り引用した全ての参照文献、図面、配列表、特許および公開された特許出願の内容は、参照により本明細書に組み込まれている。

【０５７９】

（実施例１）

１７－ＡＡＧのヒドロキノンの塩酸塩の調製

【０５８０】
【化４９】



１７－ＡＡＧ（０．４５０ｇ、０．７６８ｍｍｏｌ、１．０当量）をジクロロメタン（５０ｍＬ）に溶解し、次亜硫酸ナトリウム（５０ｍＬ）の１０％水溶液と共に撹拌する。溶液を、３０分間撹拌する。有機層を集め、Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、丸底フラスコに移した。この溶液に、ＨＣｌのジオキサン溶液（４Ｎ、０．２１１ｍＬ、１．１当量）を加えた。このように得られた混合物を窒素下で３０分間撹拌した。黄色の固体がゆっくりと溶液から析出した。黄色の固体をＭｅＯＨ／ＥｔＯＡｃからの再結晶によって精製し、０．３８６ｇのヒドロキノンＨＣｌ塩（２）を得た。

【０５８１】
化合物２はまた、本明細書においてＩＰＩ－５０４と称する。ＩＰＩ－５０４（レタスピマイシン塩酸塩（ｈｙｒｄｒｏｃｈｌｏｒｉｄｅ））は、Ｈｓｐ９０の水溶性で強力な阻害剤である。

【０５８２】
１７－ＡＡＧのさらなる塩は、本明細書に記載されており、かつ／または当技術分野において公知の手順に従って調製することができる（例えば、その内容が参照により本明細書中に明確に組み込まれているＵＳ２００６／００１９９４１、ＵＳ７，３７５，２１７およびＵＳ７，７６７，６６３を参照されたい）。例えば、ＵＳ２００６／００１９９４１は、１７－ＡＡＧの臭化水素酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ｄ－カンファースルホン酸塩、リン酸水素塩、メチルスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩を開示している。ＵＳ７，７６７，６６３は、ジメチルアミノアセテート共塩（ＵＳ７，７６７，６６３の実施例３に開示されている）、α－アミノイソブチレート共塩（実施例４）、β－アラニン共塩（実施例５）、Ｎ－メチルグリシン共塩（実施例６）、ピペリジンカルボキシレート共塩（実施例７）、グリシン共塩（実施例８）、２－アミノ－２－エチル－ブチレート共塩（実施例９）、１－アミノ－シクロプロパンカルボキシレート共塩（実施例１０）、１－アミノ－シクロペンタンカルボキシレート共塩（実施例１２）、Ｎ－メチルピペリジンカルボキシレート共塩（実施例１３）、Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムアセテート共塩（実施例１４）を含めた１７－ＡＡＧの塩の調製を開示している。

【０５８３】
ＩＰＩ－５０４の例示的な固体および液体製剤の調製は、ＵＳ２００６／００１９９４１の実施例３２～３５に開示されている。

【０５８４】
（実施例２）
ＡＬＫ変異は、ＩＰＩ－５０４を含むＨＳＰ９０阻害剤による治療に対する反応および臨床的有用性を予測する。

【０５８５】
レトロスペクティブ分子特性解析を、再発性および／または難治性のステージＩＩＩｂまたはステージＩＶの非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）を有し、かつＩＰＩ－５０４（Ｉｎｆｉｎｉｔｙ　Ｐｈａｒｍ．）の安全性、耐容性および活性を試験する第１／２相研究に

登録している患者からの腫瘍試料で行った。ＡＬＫ状態は、メーカーのプロトコールに従ってＶｙｓｉｓ（商標）によって開発されたプローブを使用して２色分離蛍光ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーション法（ＦＩＳＨ）によって決定した。プローブが重複している（黄色）か、または互いに対して２プローブ長以内であるとき、試験を陰性としてスコア化した。細胞の１５％超または核の８／５０超においてプローブが単離しているか、またはそれらの間の距離が２プローブ長を超えるとき、試験を陽性としてスコア化した。例えば、部分反応を有する患者からのＡＬＫ　ＦＩＳＨにおいて、野生型ＡＬＫは２種（緑色および赤色）の蛍光プローブの共存によって表され、ＡＬＫ遺伝子再配列は分裂したＦＩＳＨシグナルによって示された。

【０５８６】

ＲＥＣＩＳＴによって定義するとＩＰＩ－５０４によって部分反応を有する５人の患者（３０超の腫瘍収縮）のうち２人は、ＡＬＫ　ＦＩＳＨについて陽性であると試験された（図１～２）。３人目のＦＩＳＨによるＡＬＫ陽性患者は、延長された安定的な疾患を有した。ＤｘＳによるＥＧＦＲおよびＫＲＡＳジェノタイピング、ならびにＯｎｃｏｍａｐによる一般のがん遺伝子および腫瘍抑制遺伝子ジェノタイピングを含めたさらなる分子の研究は、これらの患者において他のゲノム変化を示してこなかった。したがって、これらの結果は、ＡＬＫ変異がＨＳＰ９０阻害剤（ＩＰＩ－５０４を含めた）の恩恵を受ける可能性が最も高い患者を同定することを示す。

【０５８７】

（実施例３Ａ）

非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）を有する患者におけるＡＬＫ再配列（ｒＡＬＫ）とＩＰＩ－５０４（レタスピマイシン塩酸塩）の臨床活性との間の関連

要約

この実施例は、分子的に定義した進行非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）を有する患者におけるＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害剤（ＴＫＩ）治療後の、ＩＰＩ－５０４（本明細書に記載されているＨｓｐ９０の強力な阻害剤）の有効性を評価する臨床試験からの結果を記載する。

【０５８８】

進行性ＮＳＣＬＣ、ＥＧＦＲ　ＴＫＩによる以前の治療、および分子ジェノタイピングのために利用可能な腫瘍組織を有する患者が、ＩＰＩ－５０４単独療法のこのプロスペクティブ非無作為化多施設第ＩＩ相研究に登録した。主要転帰は、奏効率であった。第２の目的には、安全性、無増悪生存期間（ＰＦＳ）、および分子サブタイプによる活性の分析が含まれた。

【０５８９】

２００７年１２月から２００９年５月の間に、１０の米国がんセンターから７６人の患者が登録した。全体的研究集団において７％、ＥＧＦＲ野生型であった患者において１０％、ＥＧＦＲ変異を有する患者において４％、およびＫＲＡＳ野生型患者において１２％の全体的な奏効率が観察された。３人のＡＬＫ遺伝子再配列を有する患者のうち、２人は部分反応を有し、３人目は延長された（７．２カ月）安定的な疾患を有した（腫瘍サイズの２４％の減少）。一般の有害事象には、疲労、悪心、および下痢が含まれ、これらは大部分がグレード１および２であった。グレード３またはより高い肝機能異常が、患者の１０％未満において観察された。

【０５９０】

結論として、ＩＰＩ－５０４は、ＮＳＣＬＣを有する患者、および特にＡＬＫ再配列を有する患者の間で臨床活性を有する。ＡＬＫ再配列を有するＮＳＣＬＣ患者は、Ｈｓｐ９０阻害に優先的に反応することができる。

【０５９１】

背景および研究デザイン

熱ショックタンパク質（Ｈｓｐ）９０は、タンパク質恒常性において不可欠であり、タンパク質シャペロンとしてのその役割によって腫瘍形成、増殖、および生存に関与してい

る重要なタンパク質の安定性をレギュレートする（Ｗｈｉｔｅｓｅｌｌ Ｌ．ら、Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｃａｎｃｅｒ．（２００５年）５巻（１０号）：７６１～７７２頁）。Ｈｓｐ９０は、複数の重要なシグナル伝達経路を同時に阻害するその能力によって、がん治療の出現しつつある焦点である（Ｘｕ Ｗ．ら、Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ（２００７年）１３巻（６号）：１６２５～１６２９頁；Ｗｏｒｋｍａｎ Ｐ．ら、Ａｎｎ Ｎ Ｙ Ａｃａｄ Ｓｃｉ．（２００７年）１１１３巻：２０２～２１６頁）。さらに、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）を含めた変異した腫瘍性タンパク質は、それらの野生型対応物よりＨｓｐ９０シャペロンに優先的に依存することができ、このような変異によって定義されるがんについての治療標的としてのＨｓｐ９０の魅力をさらに増加させている（Ｎａｔｈａｎ Ｄ． Ｆ．ら、Ｍｏｌ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．（１９９５年）１５巻（７号）：３９１７～３９２５頁；Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ Ｓ． Ｌ．ら、Ｎａｔｕｒｅ（１９９８年）３９６巻（６７０９号）：３３６～３４２頁；Ｇｒｂｏｖｉｃ Ｏ． Ｍ．ら、Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．（２００６年）１０３巻（１号）：５７～６２頁；Ｓｈｉｍａｍｕｒａ Ｔ．ら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２００５年）６５巻（１４号）：６４０１～６４０８頁）。

【０５９２】

非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）は、特定のがん遺伝子変異が、ドライバーのシグナル伝達経路への依存、または「がん遺伝子依存性」をもたらす、「ドライバー変異」に基づいて細分類することができる異質な疾患である。ＮＳＣＬＣにおける一般のドライバー変異は、ＫＲＡＳ、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）、および未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）についての遺伝子が関与するようである（Ｓｕｄａ Ｋ．ら、（２０１０年）Ｃａｎｃｅｒ Ｍｅｔａｓｔａｓｉｓ Ｒｅｖ．、２９巻（１号）：４９～６０頁；Ｓｈａｒｍａ Ｓ． Ｖ．ら、（２００７年）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｃａｎｃｅｒ．７巻（３号）：１６９～１８１頁；Ｓｈａｗ Ａ． Ｔ．ら、（２００９年）２７巻（２６号）：４２４７～４２５３頁）。強力で特異的な阻害剤が使用され、ドライバーがん遺伝子からのシグナルをブロックするとき、ＥＧＦＲ－変異体ＮＳＣＬＣにおけるＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害剤（ＴＫＩ）の場合に示されるように、治療は有効であり得る（Ｍｏｋ Ｔ． Ｓ．ら、（２００９年）Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．、３６１巻（１０号）：９４７～９５７頁；Ｋｏｂａｙａｓｈｉ Ｋ．ら、（２００９年）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、２７巻（１５ｓ）：補遺アブストラクト８０１６頁；Ｍｉｔｓｕｄｏｍｉ Ｔ．ら、（２０１０年）Ｌａｎｃｅｔ Ｏｎｃｏｌ．、１１巻（２号）：１２１～１２８頁）。この成功は、ＡＬＫ再配列ＮＳＣＬＣにおけるＡＬＫ ＴＫＩ療法に反映することができる（Ｋｗａｋ Ｅ． Ｌ．ら、（２００９年）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、２７巻（１５ｓ）：補遺；アブストラクト３５０９頁）。

【０５９３】

１７－ＡＡＧの類似体であるＩＰＩ－５０４の可能性がある抗がん活性は、前臨床のｉｎ ｖｉｔｒｏおよびｉｎ ｖｉｖｏモデルにおいて確認されてきた（Ｇｅ Ｊ．ら、（２００６年）Ｊ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ．、４９巻（１５号）：４６０６～４６１５頁；Ｓｙｄｏｒ Ｊ． Ｒ．ら、（２００６年）Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．、１０３巻（４６号）：１７４０８～１７４１３頁）。特に、ＩＰＩ－５０４の生物学的および抗新生物作用は、がんの複数のヒト異種移植およびマウス同所性モデルにおいて示されてきた。ＩＰＩ－５０４の遊離塩基は１７－ＡＡＧと相互変換され、ヒトにおけるｐＨおよび酵素が媒介する動的酸化還元平衡において存在する（Ｇｅ Ｊ．ら、（２００６年）Ｊ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ．、４９巻（１５号）：４６０６～４６１５頁；Ｄｅｍｅｔｒｉ Ｇ．Ｄ．ら、（２００７年）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．ＡＳＣＯ Ａｎｎｕａｌ Ｍｅｅｔｉｎｇ Ｐｒｏｃ．、２００７年；２５巻：１００２４頁）。さらに、ＡＬＫは、ＩＰＩ－５０４により阻害されるＨｓｐ９０シャペロンのクライアントタンパク質である。

【０５９４】

前臨床研究は、変異体ＥＧＦＲが、野生型ＥＧＦＲよりもＨｓｐ９０のより強力なクラ

イアントであり得ることを示唆するものであった。ＮＳＣＬＣを有する患者における静脈内ＩＰＩ－５０４単独療法の第Ｉ相用量増大研究は、好ましい副作用プロファイル、および臨床的有用性の証拠を示した（Ｓｅｑｕｉｓｔ Ｌ．Ｖ．ら、（２００７年）ＡＡＣＲ－ＮＣＩ－ＥＯＲＴＣ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｏｎｆｅｒｅｎｃｅ ｏｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｔａｒｇｅｔｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、ＣＡ）。したがって、この多施設第ＩＩ相研究を行い、進行ＮＳＣＬＣ患者におけるＥＧＦＲ ＴＫＩ療法の後のＩＰＩ－５０４の有効性をプロスペクティブに評価した。変異状態による活性における差異を観察することができるように、ＥＧＦＲ遺伝子型は必須であった。他のバイオマーカーをレトロスペクティブに評価し、治療に反応する可能性が最も高い群を同定した。

【０５９５】

研究デザインおよび患者の選択

これは、活性化ＥＧＦＲ変異を有するか、またはＥＧＦＲ野生型であった進行ＮＳＣＬＣを有する患者におけるＩＰＩ－５０４単独療法に対する奏効率（ＯＲＲ）を評価する非無作為化第ＩＩ相臨床試験であった（Ｔｈｅｒａｓｓｅ， Ｐ．ら、（２０００年）ＪＮａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ、９２巻、２０５～２１６頁）。試験の各遺伝子型によって定義される療法群（変異体ＥＧＦＲコホートまたは野生型ＥＧＦＲコホート）は、１０人の患者およびさらに１９人の患者の拡大された登録（全部で２９人の患者）後に、３カ月以上継続する完全反応（ＣＲ）、部分反応（ＰＲ）または安定的な疾患（ＳＤ）を有する少なくとも１人の患者が存在した場合、計画した暫定判定を伴うＳｉｍｏｎ二段階研究としての役割を果たした。事前に定義されたＥＧＦＲ遺伝子型は研究へのエントリーにおいて必要条件ではなかったため、試験は両方のコホートが完全に登録されるまでオープンのままであったが、これは野生型療法群の過剰な登録をもたらした。第２の目的には、レジメンの安全性および無増悪生存期間（ＰＦＳ）を記載すること、および反応と関連する分子マーカーを調査することが含まれた。

【０５９６】

患者は、２００７年１２月～２００９年５月に１０の米国がんセンターから募集した。適格とするために、患者は、それらの病歴におけるいくつかの時点でＥＧＦＲ ＴＫＩ療法で進行したステージＩＩＩＢ（胸水を有する）またはステージＩＶのＮＳＣＬＣ；適切なベースラインの腎臓、肝臓、および骨髄機能；東部共同腫瘍学グループでの０～２の活動指標（ＰＳ）；ＲＥＣＩＳＴ１．０による測定可能な疾患；活性または未治療の中枢神経系（脳）転移がないこと；有意な心伝導系の異常がないこと；進行中の角膜結膜炎がないこと；ならびに以前に定義したＥＧＦＲ遺伝子型または遺伝子型評価を受けるのに十分な腫瘍組織、例えば、ＥＧＦＲ変異分析（ＥＧＦＲ状態は、研究へのエントリーのために必要ない）を有さなくてはならない（Ｔｈｅｒａｓｓｅ， Ｐ．ら、（２０００年）ＪＮａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ、９２巻、２０５～２１６頁；Ｏｋｅｎ， Ｍ．Ｍ．ら、（１９８２年）Ａｍ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、５巻：６４９～６５５頁）。患者は事前のＥＧＦＲ ＴＫＩ療法を経験しており、事前の治療に対する制限はなかった。全ての患者は書面によるインフォームドコンセントにサインし、研究は全ての地域の治験審査委員会がモニターした。試験のための資金はＩｎｆｉｎｉｔｙ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．から提供された。

【０５９７】

治療および判定

治療は、２１日のサイクルの１日目、４日目、８日目および１１日目における静脈内ＩＰＩ－５０４の３０分の注入からなった。進行性疾患（ＰＤ）、耐え難い副作用、または随意の離脱まで治療は続いた。全部で７６人の患者が登録した。開始用量は、７５人の患者について４００ｍｇ／ｍ^{2}であった。２００９年４月に、研究に参加した患者についての用量（１９人の患者）を、消化管間質腫瘍（ＧＩＳＴ）を有する患者におけるＩＰＩ－５０４の別々の試験における４００ｍｇ／ｍ^{2}の用量において観察される肝細胞毒性によって２２５ｍｇ／ｍ^{2}に低下させ（Ｄｅｍｅｔｒｉ Ｇ．Ｄ．ら、Ｆｉｎａｌ ｒｅｓｕ

ｌｔｓ ｆｒｏｍ ａ ｐｈａｓｅ ＩＩＩ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ＩＰＩ－５０４（ｒｅｔａｓｐｉｍｙｃｉｎ ｈｙｄｒｏｃｈｌｏｒｉｄｅ） ｖｅｒｓｕｓ ｐｌａｃｅｂｏ ｉｎ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｗｉｔｈ ｇａｓｔｒｏｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ ｓｔｒｏｍａｌ ｔｕｍｏｒｓ（ＧＩＳＴ） ｆｏｌｌｏｗｉｎｇ ｆａｉｌｕｒｅ ｏｆ ｋｉｎａｓｅ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ ｔｈｅｒａｐｉｅｓ、消化管がんシンポジウムにおいて論文を提出；２０１０年1月２２日～２４日、２０１０年；Ｏｒｌａｎｄｏ、ＦＬ）、最後に登録した患者は、２２５ｍｇ／ｍ^{2}の用量で開始した。

【０５９８】

全ての患者を、ベースラインおよび各注入の前に、病歴、理学的検査、血液化学、肝機能検査および血球数によって安全性について評価した。膵臓炎の症状がある場合は、アミラーゼおよびリパーゼを評価した。有害事象を、ＮＣＩの共通毒性規準バージョン３．０を使用してグレード化した（ＮＣＩの有害事象についての共通用語基準（ＣＴＣＡＥ）バージョン３．０、２００６年８月９日）。スクリーニングの間に細隙灯試験を行い、スクリーニングの間、ならびに第１の注入の後および前に心電図を得て、各々、角膜炎およびＱＴｃ間隔延長について判定した。２サイクルの後毎に、ＣＴ－スキャンによる腫瘍反応のＸ線撮影判定を行った。全てのフィルムを調べ、中央の放射線学中核実験室によって独立に評価した。

【０５９９】

患者腫瘍分子の分析

全ての患者からの腫瘍組織標本を、標準的な方法を用いたエキソン１８～２１の直接の配列決定によってＥＧＦＲ変異について評価した。ＥＧＦＲ配列決定を、参加施設のＣＬＩＡによって認定された内部の実験室またはＧｅｎｚｙｍｅ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＭＡ）で行った。患者のサブセットはまた、Ｉｎｆｉｎｉｔｙ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＭＡ）において、対立遺伝子特異的ＡＲＭＳアッセイ（ＤｘＳ、Ｕｎｉｔｅｄ Ｋｉｎｇｄｏｍ）によるＥＧＦＲ（ｎ＝２５）、ＫＲＡＳ（ｎ＝３０）およびＢＲＡＦ（ｎ＝５）ジェノタイピング分析を経験した。直接の配列決定および対立遺伝子特異的ＡＲＭＳアッセイの両方によって成功した試験を経験した患者を、より感受性のアッセイ（対立遺伝子特異的ＡＲＭＳアッセイ）の結果を使用して分類した。対象の他の分子マーカーの事後分析を、十分な組織が利用可能であった全ての患者について行った。一次事後分析を、ＣＬＩＡによって認定された実験室において行ったが、ＥＧＦＲ、ＫＲＡＳ、ＰＩＫ３ＣＡ、ＢＲＡＦ、ＰＴＥＮ、ＡＫＴ、ＴＰ５３、ＮＲＡＳ、ＣＴＮＮＢ１（ベーターカテニン）、ＡＰＣ、ＫＩＴ、ＪＡＫ２、ＮＯＴＣＨ１、およびＦＬＴ３（ｎ＝１９）における重要な発癌性変異を検出するように適合されたＳＮａＰｓｈｏｔアッセイ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）；ならびに以前に記載された方法を使用したＡＬＫ遺伝子再配列の検出のための蛍光ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション法（ＦＩＳＨ）分離アッセイからなった（ｎ＝１５）（Ｓｈａｗ Ａ．Ｔ．ら、（２００９年）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、２７巻：４２４７～４２５３頁；Ｄｉａｓ－Ｓａｎｔａｇａｄａ Ｄ．ら、（２０１０年）ＥＭＢ Ｍｏｌ Ｍｅｄ．（印刷中））。試料のサブセットで他の事後分析を行ったが、１１４のがん遺伝子における１１５５の変異を包含するＯｎｃｏｍａｐ分析によるジェノタイピング（Ｄａｎａ－Ｆａｒｂｅｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ；Ｂｏｓｔｏｎ、ＭＡ）（ｎ＝１０）が含まれた。さらに、１１の遺伝子（ＡＬＫ、ＢＲＡＦ、ＥＧＦＲ、ＥＲＢＢ２、ＨＳＰ９０ＡＡ１、ＨＳＰ９０ＡＢ１、ＫＲＡＳ、ＭＥＴ、ＮＦ１、ＰＴＥＮおよびＳＴＫ１１）を、Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｉｎｃ．（Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ、ｎ＝１２））およびＧｅｎｅｗｉｚ（Ｓｏｕｔｈ Ｐｌａｉｎｆｉｅｌｄ、ＮＪ）において、Ｓａｎｇｅｒ法によって配列決定した。ＡＬＫ、ＢＲＡＦ、ＥＧＦＲ、ＥＲＢＢ２、ＨＳＰ９０ＡＡ１、ＨＳＰ９０ＡＢ１、ＫＲＡＳ、ＭＥＴ、ＮＦ１、ＰＴＥＮおよびＳＴＫ１１の配列決定分析のために使用するヌクレオチド配列を、配列番号：３５～５６（ＡＬＫ）、配列番号：５７～５８（ＢＲＡＦ）、配列番号：５９～１１２（ＥＧＦＲ）、配列番号：１１３～１７２（ＥＲＢＢ２）、配列番号：１７３～２

３６（ＨＳＰ９０ＡＢ１）、配列番号：２３７～２４４（ＫＲＡＳ）、配列番号：２４５～２５２（ＭＥＴ）、配列番号：２５３～３６８（ＮＦ１）、配列番号：３６９～３９４（ＰＴＥＮ）、および配列番号：３９５～４１４（ＳＫＴ－１１）として示す。ＣＧＨおよびＳＮＰアレイを使用してコピー数を判定した。

【０６００】

ウエスタンブロット分析

臨床上の分子観察の重要性をさらに調査するために、変化する濃度の１７－ＡＡＧに対するＥＧＦＲおよびＡＬＫ－変異体がん細胞系の感受性を評価する実験室モデルを得た。Ｈ１９７５（ＥＧＦＲ　Ｌ８５８Ｒ／Ｔ７９０Ｍ）、ＨＣＣ８２７（ＥＧＦＲ　ｄｅｌ１９）、Ｈ３１２２（ＥＭＬ４－ＡＬＫ）、およびＭＧＨ００６（ＰＦ－０２３４１０６６に対して感受性であった患者に由来するＥＭＬ４－ＡＬＫ）細胞を、増加する用量の１７－ＡＡＧで２４時間処理した。以前に記載された方法を使用してウエスタンブロッティングを行った（Ｆａｂｅｒ　Ａ．　Ｃ．ら、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．（２００９年）１０６巻（４６号）：１９５０３～１９５０８頁）。膜を、Ｐ－ＡＬＫ（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ，Ｉｎｃ．）、ＡＬＫ（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ，Ｉｎｃ．）、Ｐ－ＥＧＦＲ（Ｂｉｏｓｏｕｒｃｅ）、およびＥＧＦＲ（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ）に対する抗体でプローブした。Ｓｙｎｇｅｎｅ　Ｇ：ボックスカメラ（Ｓｙｎｏｐｔｉｃｓ）を使用して化学ルミネセンスを検出し、Ｓｙｎｇｅｎｅ　Ｇｅｎｅｔｏｏｌｓソフトウェア（Ｓｙｎｏｐｔｉｃｓ）を使用してシグナル強度を定量化した。全ての測定は、飽和がない線形範囲で行い、ＥＲＫ負荷対照に標準化した。

【０６０１】

細胞生存アッセイ

９６ウェルプレートのウェル毎に２，０００個の細胞を播種した。一晩のインキュベーション後、細胞を１７－ＡＡＧの段階希釈によって三連で７２時間処理した。未処理細胞に対する生存細胞力価を、以前に記載されたようなＳｙｔｏ６０アッセイを使用して決定した（Ｆａｂｅｒ　Ａ．　Ｃ．ら、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．（２００９年）１０６巻（４６号）：１９５０３～１９５０８頁）。膜を、Ｐ－ＡＬＫ（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ，Ｉｎｃ．）に対する抗体でプローブした。

【０６０２】

統計的考察

研究の主要エンドポイントは、治療を受けた患者の数で除された確認された完全反応または部分反応を有する患者の合計として計算するＯＲＲであった。各療法群（ＥＧＦＲ変異体および野生型）を、独立に分析した。５％のヌルＯＲＲおよび２０％の標的ＯＲＲを想定し、研究を進めた。

【０６０３】

要約統計量は安全性を記載するために使用され、ＩＰＩ－５０４で治療を受けた全ての患者が含まれた。ＰＦＳは、最後の知られた経過観察において検定された、登録から進行性疾患または死亡までの時間として定義され、包括解析原理に従ってＫａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒ法によって計算した。

【０６０４】

結果

患者

７６人の患者が研究に登録した。ＥＧＦＲ遺伝子型分析は、研究治療の開始の前に完了させる必要がなかった、結果的に８人（１０％）の不確定な遺伝子型を有する患者は、ＥＧＦＲ変異体または野生型療法群に割り当てられなかった。年齢中位数は、６４歳であり（３１～８２歳の範囲）、遺伝子型の間で同様であった（表２）。全研究集団は、女性（６３％）および非喫煙者（４５％）が大きな比率を占め、これはＥＧＦＲ変異体においてさらにより明白であった（７１％の女性および６１％の非喫煙者）。研究コホートはまた、４つ（中央値）の事前の全身的レジメンによって大いに事前に治療されており、診断からの中位時間は２７．５カ月であった。事前のＥＧＦＲ　ＴＫＩ療法は、５４％の奏効率

を生じ、ＥＧＦＲ変異陽性患者では１０．５カ月（中央値）続いた。

【０６０５】

毒性

ＩＰＴ－５０４は、耐容性良好であった。大部分の有害事象はグレード１または２であり、９人（１２％）の患者は、毒性のために用量を減少させ、一方１１人（１４％）は有害事象のために治療を中断した。最も一般に報告されている有害事象は、疲労、悪心、下痢、嘔吐、咳、食欲不振症および関節／筋肉痛であった（表３）。患者の約３分の１は、ＩＰＩ－５０４の色素代謝物の腎クリアランスによって一過性の無毒性の紫色の尿を有した。検査所見の異常に関して、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）、およびアルカリホスファターゼの上昇が一般であったが（各々、４９％、４１％および６２％）、グレード３またはそれより高いグレードの上昇はまれであった（各々、９％、７％および５％）。グレード３または４のビリルビンの上昇は指摘されなかった。研究の間に３人の患者が死亡し、３人全ては研究薬物と関連すると考えられた。２人は肺炎からの合併症（敗血症および呼吸不全または呼吸困難を含めた）で死亡し、死亡前に腎不全ならびにＡＬＴおよびＡＳＴの上昇を有した。３番目の患者は、呼吸困難、乳酸アシドーシス、悪心、および嘔吐の後に合併症で死亡した。

【０６０６】

反応および分子の分析

６８人（８９％）の患者は、ＥＧＦＲ遺伝子型分析が成功し、２８人の患者（７６人の登録者の３７％）がＥＧＦＲ変異陽性療法群に割り当てられ、４０人（５３％）が野生型療法群に割り当てられた。ＥＧＦＲ変異体患者のうち、１６人（５７％）は、エキソン１９欠失を有し、６人（２１％）は、エキソン２１Ｌ８５８Ｒ点変異を有し、２人（７％）は、エキソン２０挿入を有し、４人（１４％）は、各々２つの変異を有した（２人の患者は、エキソン１８Ｇ７１９Ｓおよびエキソン２１Ｌ８６１Ｑ変異を有し、２人は、エキソン１９欠失およびエキソン２０Ｔ７９０Ｍ変異を有する）。不確定なＥＧＦＲ遺伝子型の理由には、腫瘍組織の不足、または利用可能な組織の乏しい質もしくは量が含まれた。３８人（５０％）の患者がＫＲＡＳ変異試験を経験し、１２人（１６％）が変異を有した。１５人（２０％）の患者がＡＬＫ再配列試験を経験し、３人（４％）が陽性であった。ＫＲＡＳ変異について陽性であった患者の人口統計的特徴は、喫煙歴ありについて著しく、ＡＬＫ再配列患者の人口統計的特徴は、若年、男性優勢、および非喫煙について著しかった（表２）。

【０６０７】

ＩＰＩ－５０４に対するＯＲＲは、全体で７％、ＥＧＦＲ野生型患者において１０％、およびＥＧＦＲ変異体において４％であった。ＲＥＣＩＳＴ　ＰＲを有するＥＧＦＲ変異陽性患者は、Ｌ８５８Ｒ変異を有し、以前に概ね８カ月間続くエルロチニブおよびエンザスタウリンの組合せに対するＰＲを有し、エルロチニブからＩＰＩ－５０４に直接移行した。ＫＲＡＳ野生型患者の１２％、およびＡＬＫ再配列を有する患者の６７％において、反応がまた見られた（表４、図３Ａ～３Ｃ）。ＦＩＳＨ分離アッセイを使用して、ＡＬＫ再配列について陽性の患者を検出した。例えば、野生型対立遺伝子は、１つの黄色のシグナルとして示され、ＡＬＫ再配列対立遺伝子は、分離した赤色および緑色のプローブシグナルとして示された。３人のＫＲＡＳ野生型反応者のうち２人はＡＬＫ再配列を有したが、３人目は、ＡＬＫ野生型が確認されたことに留意されたい。分析の時に、３５人（４６％）の患者は、ＰＦＳ事象を有し（進行または死亡）、４１人（５４％）は検定された。ＰＦＳ中央値は、全ての患者について２．８６カ月であった（９５％ＣＩ２．４３、４．１８）が、ＡＬＫ再配列を有する３人の患者は概ね７カ月ＩＰＩ－５０４を投与され、研究においてまだ進行または死亡しなかった（図４）。部分反応を有するＡＬＫ転座陽性患者からの画像は、サイクル１２の後、ベースラインと比較して肺における腫瘍サイズの部分的減少を示す。スナップショット、Ｏｎｃｏｍａｐ、ＤｘＳおよびＳａｎｇｅｒ配列決定からのさらなる遺伝的結果を、付録の表１に要約する。

【０６０８】
ＥＧＦＲ変異およびＡＬＫ再配列を持つ肺がんモデルの実験的評価によって、ＥＧＦＲ変異体モデルが、以前に示したように１７－ＡＡＧによるＨｓｐ９０阻害に対して感受性であったことを確認されたが、またＡＬＫ再配列モデルも非常に感受性であったことが明らかになった。実際に、ＡＬＫ再配列タンパク質の安定性およびがん細胞の生存率の両方は、例えば、イムノブロット（図７Ｂ）および細胞生存の相対的用量反応曲線によって示されるように、Ｈｓｐ９０阻害に対して非常に感受性であった。したがって、ＡＬＫは、ＥＧＦＲより感受性なクライアントタンパク質である。一実施形態では、本発明は、クライアントタンパク質分解の感受性とＨＳＰ９０阻害剤による治療に対する臨床反応との間の関係を開示する。

【０６０９】
考察
この試験は、進行ＮＳＣＬＣを有する患者の分子的に定義されたコホートにおけるＨｓｐ９０阻害剤の最初のものである。この研究は、ＩＰＩ－５０４がＮＳＣＬＣにおいて活性であり、全体的な研究集団において７％、ＥＧＦＲ野生型であった患者において１０％、ＥＧＦＲ変異およびＴＫＩに対する獲得耐性を有する患者において４％、およびＫＲＡＳ野生型患者において１２％の奏効率であることを示した。興味深い知見は、ＡＬＫ再配列を有することが知られている３人の患者のうち２人がＩＰＩ－５０４に対するＰＲを有し、３人目の患者は、７．２カ月間ＳＤ（２４％の減少）を有したことを示した事後分析である。これはＡＬＫ再配列を有する患者におけるＨｓｐ９０阻害剤の臨床活性を最初に示したものであり、これはｒＡＬＫを有するＮＳＣＬＣ患者はＨｓｐ９０阻害に優先的に反応できることを示唆する。

【０６１０】
ＡＬＫは、受容体チロシンキナーゼのインスリンスーパーファミリーのメンバーであり、ＡＬＫキナーゼドメインとパートナータンパク質ヌクレオフォスミン（ＮＰＭ）との間の融合によって媒介されるＡＬＫ発癌性シグナル伝達を一般に有する未分化大細胞リンパ腫と当初関連付けられた（Ｍｏｒｒｉｓ　Ｓ．　Ｗ．ら、Ｓｃｉｅｎｃｅ（１９９４年）２６３巻（５１５１号）：１２８１～１２８４頁）。より最近では、ＥＭＬ４－ＡＬＫ、およびＡＬＫ遺伝子座が関与する他の再配列は、ＡＬＫ　ＴＫＩによる治療に対する感受性を与える形質転換ドライバー変異としてＮＳＣＬＣにおいて記載されてきた（Ｓｈａｗ　Ａ．　Ｔ．ら、Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ．（２００９年）２７巻（２６号）：４２４７～４２５３頁；Ｋｗａｋ　Ｅ．　Ｌ．ら、Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ．（２００９年）２７巻（１５ｓ）：補遺；アブストラクト３５０９頁；Ｓｏｄａ　Ｍ．ら、Ｎａｔｕｒｅ（２００７年）４４８巻（７１５３号）：５６１～５６６頁）。ＮＳＣＬＣにおけるＡＬＫ転座の存在率は、概ね５％である。ＥＧＦＲ変異を有さない、喫煙をしたことがなく、または軽い喫煙者である患者における存在率は、概ね３３％である。ＮＳＣＬＣにおけるＡＬＫ転座は、腺癌、印環細胞サブタイプと関連する。前臨床モデルは、ＮＰＭ－ＡＬＫがＨｓｐ９０のクライアントであることを示したが（Ｂｏｎｖｉｎｉ　Ｐ．ら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．（２００２年）６２巻（５号）：１５５９～１５６６頁）、図７Ｂは、ＥＭＬ４－ＡＬＫもまた強力なクライアントであることを示す。図７Ｂに示すように、ＥＭＬ４－ＡＬＫは、変異体ＥＧＦＲまたはＨＥＲ２より感受性のクライアントタンパク質である。

【０６１１】
全体的に、Ｈｓｐ９０は、複数の腫瘍性タンパク質についてのそのシャペロンとしての役割、および重要なシグナル伝達経路に対する波及効果によって、受容体特異的標的治療に対する耐性を発生したものを含めて癌遺伝子依存性がんの複数のタイプに対する有効ながん治療となる可能性を有することが研究によって確認されている。このようながんにおいて「ドライバー変異」を阻害するＴＫＩは、慢性骨髄性白血病およびＧＩＳＴにおけるイマチニブ（各々、ＢＣＲ－ＡＢＬおよびｃ－ＫＩＴを標的とする）、ＮＳＣＬＣにおけるゲフィチニブおよびエルロチニブ（ＥＧＦＲを標的とする）、ならびにＮＳＣＬＣにお

けるＰＦ－０２３４１０６６（ＡＬＫを標的とする）を含めて有効であった（Ｍｏｋ Ｔ．Ｓ．ら、（２００９年）Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．、３６１巻：９４７～９５７頁；Ｋｗａｋ Ｅ．Ｌ．ら、（２００９年）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、２７巻（１５ｓ）：補遺；アブストラクト３５０９頁；Ｄｒｕｋｅｒ Ｂ．Ｊ．ら、（２００１年）Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．、３４４巻：１０３８～１０４２頁；Ｄｅｍｅｔｒｉ Ｇ．Ｄ．ら、（２００２年）Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ．、３４７巻：４７２～４８０頁）。ドライバー変異の阻害は、非常に有効なものとなるために受容体特異的分子を介したものである必要はないことがこの研究によって確認される。Ｈｓｐ９０の阻害は、複数のシグナル伝達経路に対するそれに続く影響を有し、いまやがん治療への真実のアプローチである。

【０６１２】

Ｈｓｐ９０阻害、特にＩＰＩ－５０４による治療は、ＥＧＦＲ ＴＫＩに対する獲得耐性を有するものを含めて、ＥＧＦＲ変異陽性モデルにおける腫瘍増殖の有効な抑制をもたらすという広範な前臨床証拠に関わらず、ＥＧＦＲ変異を有する患者において反応は殆ど観察されなかったことは注目すべきである（Ｓｈｉｍａｍｕｒａ Ｔ．ら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２００８年）６８巻（１４号）：５８２７～５８３８頁；Ｓａｗａｉ Ａ．ら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．（２００８年）６８巻（２号）：５８９～５９６頁；Ｂｒａｉｎ Ｊ．ら、ＩＰＩ－５０４，ａ ｎｏｖｅｌ ｏｒａｌｌｙ ａｄｍｉｎｉｓｔｅｒｅｄ Ｈｓｐ９０ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ，ｄｅｍｏｎｓｔｒａｔｅｓ ａｎｔｉ－ｔｕｍｏｒ ｅｆｆｅｃｔｓ ｉｎ ＥＧＦＲ ｍｕｔａｎｔ，ｋｉｎａｓｅ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ ｒｅｓｉｓｔａｎｔ ＮＳＣＬＣ．米国がん研究学会の年次総会において論文を提出；２００７年４月１４～１８日；Ｌｏｓ Ａｎｇｅｌｅｓ、ＣＡ）。この観察についてはいくつかの理由があり得る。ＥＧＦＲ変異を有する患者における診断からの中位時間は２年であり、５６％が少なくとも２種の事前のＥＧＦＲ ＴＫＩ剤で治療を受けてきたという点で、患者の集団は非定型的であった。それらのがんがＥＧＦＲ ＴＫＩに対して耐性となったため、それらの腫瘍の生物学は、単一の癌遺伝子に依存するものから、より異質な状態に変化することができた。ＩＰＩ－５０４の投与は、ＥＧＦＲ変異体の間における僅かな奏効率における要因であった可能性がある。がん細胞系の分析は、変異体ＥＧＦＲと比較して、より低い濃度のＨｓｐ９０阻害剤がＥＭＬ４－ＡＬＫの発現を下方制御するのに必要であり得ることを示唆する。ＥＧＦＲ変異体がんについての用量反応曲線は、ＡＬＫ再配列がんについての用量反応曲線と比較して右に僅かにシフトした。潜在的により広範な治療濃度域はまた、ＡＬＫ再配列を有する患者において観察されるより高い奏効率に貢献することができた。重要なことに、ＡＬＫ再配列を有する患者の間においてＡＬＫ特異的療法に対する獲得耐性を欠いていることは、ＥＧＦＲ変異を有する患者（これらの全てはＥＧＦＲ ＴＫＩに対する耐性を以前に受け、獲得してきた）よりＨｓｐ９０阻害に対してより影響されやすかった別の分子生物学を暗示することができる。試験を受けている患者（遺伝子型に関わらず）の誰もが、以前にＡＬＫ特異的療法で治療されてこなかった。

【０６１３】

この研究において、ＩＰＩ－５０４は、一般に耐容性良好であり、グレード３またはより高い有害事象の率が低かった。最も一般の有害事象には、疲労、悪心、および下痢が含まれ、これらは大部分がグレード１および２であった。グレード３またはより高い肝機能異常が、１０％未満の患者において観察され、薬物が関連する死亡はまれであり、患者の根底にある肺がんによって複雑であった。これは、生命を脅かす肝臓毒性が見られる、ＩＰＩ－５０４で治療を受けた後期ＧＩＳＴ患者における観察と対照的である（Ｄｅｍｅｔｒｉ Ｇ．Ｄ．ら、Ｆｉｎａｌ ｒｅｓｕｌｔｓ ｆｒｏｍ ａ ｐｈａｓｅ ＩＩＩ ｓｔｕｄｙ ｏｆ ＩＰＩ－５０４（ｒｅｔａｓｐｉｍｙｃｉｎ ｈｙｄｒｏｃｈｌｏｒｉｄｅ）ｖｅｒｓｕｓ ｐｌａｃｅｂｏ ｉｎ ｐａｔｉｅｎｔｓ ｗｉｔｈ ｇａｓｔｒｏｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ ｓｔｒｏｍａｌ ｔｕｍｏｒｓ（ＧＩＳＴ）ｆｏｌｌｏｗｉｎｇ ｆａｉｌｕｒｅ ｏｆ ｋｉｎａｓｅ ｉｎｈｉｂｉｔｏｒ ｔｈｅｒａ

ｐｉｅｓ、消化管がんシンポジウムにおいて論文を提出；２０１０年１月２２～２４日、２０１０年；Ｏｒｌａｎｄｏ、ＦＬ）。

【０６１４】

ＥＧＦＲ変異陽性および野生型コホートの両方は、診断からの長い間隔、多数の事前の治療、および低い割合の喫煙者を有した。さらに、遺伝学的分析のために利用可能な腫瘍組織は、任意の標的療法または遺伝子による署名を変化させ得る耐性の発生の前の、主に診断生検からであった。しかし、ジェノタイピングのための腫瘍組織を、適格性の要求によって参加者の１００％から集めたという事実は、研究に対する信用となっている。この研究は、ＥＧＦＲ遺伝子型による反応に関する特定の観察を提供するだけでなく、ロバストな反応を有する少数の患者の注意深い試験が含まれ、ＡＬＫ再配列ＮＳＣＬＣにおける活性の重要な観察を可能とする。標的療法の全ての研究は全ての参加者からの組織を必要とすべきであると考えられている。新規な薬剤の研究が少数の患者のみの間において活性を示すことは珍しくはなく、この研究は、最も反応する患者の分子の事後分析が、さらなる研究の手段のための指示をどのように効果的に提供することができるかを例示する。注目すべきなのは、第２染色体において再配列を検出するが、存在するＥＭＬ４－ＡＬＫの特定の変種を同定しない、現在の標準的な「分裂した」ＦＩＳＨアッセイによって、患者におけるＡＬＫ再配列が確認された（ＥＭＬ４は、複数の中断点を有し、そこでＥＭＬ４は、ＡＬＫとパートナーになることができる）（Ｈｏｒｎ　Ｌ．ら、Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ．（２００９年）２７巻（２６号）：４２３２～４２３５頁）。したがって、ＩＰＩ－５０４が、発癌性ＥＭＬ４－ＡＬＫ変種に依存する一連の予想される活性を有するかは現在不明である。

【０６１５】

要約すれば、ＩＰＩ－５０４は、ＮＳＣＬＣを有する患者、特にＡＬＫ再配列を有する患者において活性を有するＨｓｐ９０の新規な阻害剤である。ＮＳＣＬＣを有する患者におけるＡＬＫ再配列の検出とＩＰＩ－５０４単独療法の臨床活性との間の正の関連とは異なり、Ｋ－ＲａｓまたはＥＧＦＲ変異を有する患者においてＩＰＩ－５０４単独療法に対して反応は殆ど観察されなかったことは注目すべきである。さらなる研究を行い、ＡＬＫ再配列および他の発癌性ドライバー変異を有する患者においてＨｓｐ９０阻害の有効性をプロスペクティブに判定することができる。

【０６１６】

（実施例３Ｂ）

Ｈｓｐ９０阻害は、非小細胞肺がんにおける出現しつつあるＥＧＦＲ　ＴＫＩ耐性のモデルにおける腫瘍進行の有意な遅延をもたらす。

【０６１７】

熱ショックタンパク質９０（Ｈｓｐ９０）は、種々の腫瘍性タンパク質（ＨＥＲ２、ＢＣＲ－ＡＢＬ、ＥＭＬ４－ＡＬＫおよび変異体ＥＧＦＲを含めた）活性および安定性の維持におけるその役割によって、がんにおける魅力のある標的として出現してきた。Ｉｎｆｉｎｉｔｙは、２つの新規なＨｓｐ９０阻害剤であるＩＰＩ－５０４（ＩＶ投与）およびＩＰＩ－４９３（経口投与）を開発している。ＩＰＩ－５０４は、複数の第２相臨床試験において現在判定されており、ＩＰＩ－４９３は、２つの第１相試験において判定されている。

【０６１８】

ＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害剤（ＴＫＩ）は、ＥＧＦＲにおいて活性化変異を有する肺がん患者のための有効な治療である。しかし、劇的な最初の反応の後、大部分の患者は、薬物治療に対して耐性となり、進行する。これらの場合の約半分において、耐性はＥＧＦＲにおける第２の部位の点変異による（Ｔ７９０Ｍ）。これらの場合の少なくともいくつかにおいて、ＴＫＩ耐性変異は事前に存在しており、ＴＫＩによる治療は耐性細胞を選択すると考えられる。

【０６１９】

事前に存在している変異から、ＴＫＩに対する耐性の出現をモデルとする試みにおいて

、本発明者らは、ｉｎ　ｖｉｖｏモデルを開発したが、ゲフィチニブによる処理は当初、腫瘍退縮、それに続き腫瘍増殖のリバウンド、およびＴ７９０Ｍ変異を含有する薬物耐性クローンの増殖をもたらす。このモデルにおいて、ＩＰＩ－４９３単独またはゲフィチニブに続くＩＰＩ－４９３による処理は、ゲフィチニブによる処理単独と比較して、各々６１％および７７％の腫瘍増殖阻害をもたらした。ＩＰＩ－４９３単独による処理はまた、腫瘍進行までの時間において有意な遅延をもたらし、約４０％の動物が４５日目にまだ研究中であった。ビヒクルまたはゲフィチニブで処理された全ての動物は、腫瘍進行によって除かれた。興味深いことに、ゲフィチニブに続くＩＰＩ－４９３による処理は、腫瘍増殖停止時間におけるさらにより目覚ましい遅延をもたらし、動物の５０％超は６５日目にまだ研究中であった。

【０６２０】

ＴＫＩで事前に治療されてきたＥＧＦＲ変異体ＮＳＣＬＣ患者におけるＨｓｐ９０阻害剤によるさらなる研究を正当化し得ることを、これらの研究は示唆する。

【０６２１】

（実施例４）

ＮＳＣＬＣにおけるＨＳＰ９０阻害剤の前臨床評価

この実施例は、単独でまたは他の薬剤と組み合わせたＨＳＰ９０阻害剤による処理後の、腫瘍細胞増殖の阻害を示すｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏ研究を記載する。さらに具体的には、この実施例は、Ｈｓｐ９０阻害剤であるＩＰＩ－５０４が、ＡＬＫ駆動ＮＳＣＬＣモデルにおいてＥＭＬ４－ＡＬＫレベルを急速に低下させ、腫瘍退縮を誘発することを示す。

【０６２２】

要約

Ｈｓｐ９０は、重要な発癌性シグナル伝達タンパク質の活性および安定性の維持におけるその重要な役割によって、がん治療のための出現しつつある標的である。この実施例は、ＮＳＣＬＣを有する患者の約５％において「発癌性ドライバー」であると推定されるＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質が、細胞におけるＨｓｐ９０と会合し、かつＩＰＩ－５０４への細胞の曝露によって急速に分解することを示す。ＥＭＬ４－ＡＬＫは、ＨＥＲ２または変異体ＥＧＦＲよりＨｓｐ９０阻害に対してより感受性であることを示し、タンパク質分解についてのＩＣ$_{50}$は低ナノモル範囲にある。この分解は、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合遺伝子を有している細胞において下流シグナル伝達経路の強力な阻害、ならびに増殖停止およびアポトーシスの誘発をもたらす。ＥＭＬ４－ＡＬＫの発現とＩＰＩ－５０４に対する感受性との間の原因となる関連を生じさせるために、ＥＭＬ４－ＡＬＫ　ｃＤＮＡをＨＥＫ２９３細胞中に導入し、融合タンパク質の発現が、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏの両方で細胞をＩＰＩ－５０４に対して感作させることを示した。ＡＬＫ再配列を含有するヒトＮＳＣＬＣ細胞系の異種移植モデルにおいて、臨床的に関連する用量のＩＰＩ－５０４によって腫瘍退縮が観察された。最終的に、ＡＬＫキナーゼ阻害剤に対する耐性について選択されてきた細胞は、ＩＰＩ－５０４に対するそれらの感受性を保持する。この研究は、ＮＳＣＬＣにおいて、特にＡＬＫ再配列を有する患者においてＩＰＩ－５０４に対する部分反応を示す、実施例３において考察した臨床所見についての分子の説明を提供する。

【０６２３】

背景

熱ショックタンパク質９０（Ｈｓｐ９０）は、クライアントタンパク質とまた称されるそのタンパク質基質の安定性、活性および選別を維持する豊富な細胞シャペロンタンパク質である（Ｐｅａｒｌら、（２００６年）Ａｎｎｕ．　Ｒｅｖ．　Ｂｉｏｃｈｅｍ．７５巻：２７１～２９４頁；Ｙｏｕｎｇ　ＪＣら、（２００１年）Ｊ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ、１５４巻：２６７～７３頁）。Ｈｓｐ９０の阻害によって、クライアントタンパク質はプロテアソームにより急速に分解する（Ｃｏｎｎｅｌｌ　Ｐら、（２００１年）Ｎａｔ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ、３巻：９３～６頁）。Ｈｓｐ９０は最近、がん療法薬のための出現し

つつある標的となってきた（Ｎｅｃｋｅｒｓ Ｌ.（２００７年）Ｊ. Ｂｉｏｓｃｉ.、３２巻：５１７～５３０頁）。これは、そのクライアントタンパク質の多くが、ＨＥＲ２（Ｍｕｎｓｔｅｒ ＰＮら、（２００１年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、６１巻：２９４５～２９５２頁）、変異体ｃＫＩＴ（Ｄｅｗａｅｌｅ Ｂら、（２００８年）Ｃｌｉｎ. Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、１４巻：５７４９～５７５８頁；Ｆｕｍｏ Ｇら、（２００４年）Ｂｌｏｏｄ、１０３巻：１０７８～１０８４頁）、変異体ＥＧＦＲ（Ｓｈｉｍａｍｕｒａ Ｔら、（２００８年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、６８巻：５８２７～５８３８頁；Ｓｈｉｍａｍｕｒａ Ｔ、Ｌｏｗｅｌｌ ＡＭ、Ｅｎｇｅｌｍａｎ ＪＡ、Ｓｈａｐｉｒｏ ＧＩ.（２００５年））などの腫瘍性タンパク質であるためである。キナーゼドメイン変異を持つ上皮増殖因子受容体は、熱ショックタンパク質９０シャペロンと会合し、ゲルダナマイシンへの曝露に続いて不安定化する。Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、６５巻：６４０１～６４０８頁

Ｓｈｉｍａｍｕｒａ Ｔら、（２００５年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、６５巻：６４０１～６４０８頁）またはＢＣＲ－ＡＢＬ Ａｎ ＷＧら、（２０００年）Ｃｅｌｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｄｉｆｆｅｒ、１１巻：３５５～６０頁；Ｎｉｍｍａｎａｐａｌｌｉ Ｒら、（２００１年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、６１巻：１７９９～１８０４頁；Ｐｅｎｇ Ｃら、（２００７年）Ｂｌｏｏｄ、１１０巻：６７８～６８５頁。いくつかのがんにおける悪性転換および癌遺伝子依存性の維持におけるこの支持的役割と一致して、Ｈｓｐ９０はがん細胞において過剰発現しており、過剰発現は黒色腫における疾患の悪化と相関し（ＭｃＣａｒｔｈｙ ＭＭら、（２００８年）Ａｎｎ Ｏｎｃｏｌ、１９巻：５９０～４頁）、乳房腫瘍（Ｐｉｃｋ Ｅら、（２００７年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、６７巻：２９３２～７頁）、肺腫瘍（Ｇａｌｌｅｇｏｓ Ｒｕｉｚ ＭＩら、（２００８年）ＰＬｏＳ Ｏｎｅ３：ｅ０００１７２２）および消化管間質腫瘍（Ｌｉ ＣＦら、（２００８年）Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、１４巻：７８２２～３１頁）における生存の減少と関連する。

【０６２４】

未分化リンパ腫キナーゼ（ＡＬＫ）の発癌活性化は、様々ながんタイプにおいて起こる。ＮＳＣＬＣにおいて、染色体内再配列は、棘皮動物微小管会合タンパク質様４（ＥＭＬ４）のＮ末端と、ＡＬＫのＣ末端チロシンキナーゼドメインとの融合をもたらす（Ｓｏｄａ Ｍら、（２００７年）Ｎａｔｕｒｅ、４４８巻：５６１～６頁）。今日までに、複数のＥＭＬ４－ＡＬＫ変種が同定されてきた（Ｃｈｏｉ ＹＬら、（２００８年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、６８巻：４９７１～６頁；Ｔａｋｅｕｃｈｉ Ｋら、（２００９年）Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、１５巻：３１４３～９頁）。全ての融合腫瘍性タンパク質は、ＡＬＫの全チロシンキナーゼドメイン、およびＥＭＬ４タンパク質の可変部分を含む。ＥＭＬ４ドメインによる融合タンパク質の二量体化は、ＡＬＫキナーゼの恒常的活性化および細胞形質転換をもたらす（Ｃｈｏｉ ＹＬら、（２００８年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、６８巻：４９７１～６頁；Ｋｏｉｖｕｎｅｎ ＪＰら、（２００８年）Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、１４巻：４２７５～８３頁）。ＩＰＩ－５０４（レタスピマイシン塩酸塩）、１７－ＡＡＧの水溶性誘導体は、新規で強力なＨｓｐ９０の阻害剤である（Ｇｅ Ｊら、（２００６年）Ｊ. Ｍｅｄ. Ｃｈｅｍ.、４９巻：４６０６～４６１５頁；Ｓｙｄｏｒ ＪＲら、（２００６年）Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. Ｕ. Ｓ. Ａ.、１０３巻：１７４０８～１７４１３頁）。ＩＰＩ－５０４の生物学的および抗新生物作用は、がんの複数のｉｎ ｖｉｔｒｏおよびｉｎ ｖｉｖｏモデルにおいて示されてきており（Ｂａｕｅｒ Ｓら、（２００６年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、６６巻：９１５３～９１６１頁；Ｄｅｗａｅｌｅ Ｂら、（２００８年）Ｃｌｉｎ. Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ.、１４巻：５７４９～５７５８頁；Ｌｅｏｗ ＣＣら、（２００９年）Ｍｏｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒ、８巻：２１３１～４１頁；Ｐｅｎｇ Ｃら、（２００７年）Ｂｌｏｏｄ、１１０巻：６７８～６８５頁；Ｓｏｎｇ Ｄら、（２００８年）Ｍｏｌ. Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒ.、７巻：３２７５～３２８４頁）、様々な第２相研究におけるその臨床開発をもたらした（＊Ｓｅｑｕｉｓｔら、２０１０年）。がんにおい

てＨｓｐ９０阻害剤の使用についての良好な前臨床の理論的根拠が存在し、複数の阻害剤が臨床開発中である一方、どの阻害剤もまだ臨床の概念実証を示してこなかった。これは部分的に、これらの阻害剤のための正しい臨床適応症を見出す困難さにより得るであろう。臨床においてＨｓｐ９０阻害剤が、また腫瘍性タンパク質である感受性クライアントタンパク質を究極的に介して作用するかについて、または細胞殺滅が、複数のクライアントの同時の分解、およびタンパク質恒常性に対するより一般の作用によって媒介されているのかについては明らかではない。ＮＳＣＬＣにおけるＩＰＩ－５０４の第２相試験において、本発明者らは、その腫瘍細胞がＡＬＫ遺伝子座の再配列を含有する患者における部分反応を最近観察した（２０１０年）Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ、２８巻：アブストラクト７５１７頁；実施例３）。この実施例では、ＥＭＬ４－ＡＬＫが、Ｈｓｐ９０阻害に対するがん細胞の感受性、およびＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質を発現している異種移植モデルにおけるＩＰＩ－５０４の活性において原因となるように関与しているかについて、Ｈｓｐ９０クライアントタンパク質としてのＥＭＬ４－ＡＬＫの感受性を試験した。

【０６２５】

結果

ＡＬＫ遺伝子再配列について陽性のＮＳＣＬＣ患者における、ＩＰＩ－５０４による治療による臨床的有用性の観察

実施例３において記載されたＮＳＣＬＣにおけるＩＰＩ－５０４の第２相研究において、７％の全体的な奏効率が観察された。患者腫瘍の分子特性解析によって、変異体ＥＧＦＲを有する患者において奏効率は４％であり、ｗｔ　ＥＧＦＲを有する患者において１０％であったことを本発明者らは決定した（Ｓｅｑｕｉｓｔ　Ｌら、（２０１０年）Ｊ　Ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ、２８巻：アブストラクト７５１７頁；実施例３）。変異体ＥＧＦＲが、この集団においてＨｓｐ９０阻害に対する臨床反応を媒介する感受性Ｈｓｐ９０クライアントタンパク質であることが予測され、この知見は驚きであった。患者腫瘍を遺伝子異常についてさらに分析したとき、（試験のために利用可能な１５のうち）３つの試料は、ＡＬＫ遺伝子座が関与する再配列について陽性とスコア化された。興味深いことに、これらの患者の３人全ては、ある程度の腫瘍収縮を示した。２人の患者は、３０％超の腫瘍収縮（ＰＲ）に達し、１人の患者は、２４％の腫瘍収縮および７カ月超の安定的な疾患を有した（図１）。

【０６２６】

ＥＭＬ４－ＡＬＫは、Ｈｓｐ９０の感受性クライアントタンパク質である。

【０６２７】

ＡＬＫ遺伝子座における再配列は、ＮＳＣＬＣ患者の約５％において報告されてきたが、ＥＭＬ４のＮ末端とＡＬＫのＣ末端キナーゼドメインとの発癌性融合遺伝子を形成する（Ｓｏｄａ，　Ｍ．ら、（２００７年）Ｎａｔｕｒｅ、４４８巻：５６１～６頁）。ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質がＨｓｐ９０のクライアントタンパク質であるかを決定するために、本発明者らは、増加する濃度のＩＰＩ－５０４と共にＥＭＬ４－ＡＬＫを発現しているＮＳＣＬＣ細胞系Ｈ３１２２をインキュベートし、豊富な総およびリン酸化ＡＬＫタンパク質をＥＬＩＳＡによって測定した（図７ａ）。この実験において、実質的に全てのＡＬＫタンパク質は、５０ｎＭ超の濃度のＩＰＩ－５０４で分解する。測定した分解IC_{50}（４ｎＭ）によって、これは、本発明者らが遭遇してきた最も感受性なＨｓｐ９０クライアントタンパク質となる。他の周知のＨｓｐ９０クライアントタンパク質とＥＭＬ４－ＡＬＫの感受性を直接的に比較するために、本発明者らは、１μＭのＩＰＩ－５０４と共にＨ３１２２、ＢＴ－４７４およびＨ１６５０細胞を別の時間にインキュベートし、関連する細胞系におけるＥＭＬ４－ＡＬＫ、ＨＥＲ２および変異体ＥＧＦＲについてプローブした。本発明者らはＴｉｌｌｏｔｓｏｎ　Ｂ．ら、（２０１０年）Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍにおいて、分解までの時間は、クライアントタンパク質のＨｓｐ９０に対する依存性の最も感受性な尺度であることを以前に示した。この分析において、ＥＭＬ４－ＡＬＫは、３時間までに完全に分解し、一方、ＨＥＲ２およびｍｕｔＥＧＦＲの大部分が分解するのに約２４時間かかる（図７ｂ）。ＥＭＬ４－ＡＬＫが実際にＨｓｐ９０のクライアン

トであることをさらに確認するために、本発明者らは、Ｈｓｐ９０αに対して作られる抗体で免疫沈降を行い、予測分子量（９０ｋＤａ）において、対照細胞からではなくＨ３１２２細胞からのＨｓｐ９０免疫沈降物におけるＡＬＫ抗体によってタンパク質バンドを検出した（図７ｃ、レーン１および３）。

【０６２８】

ＩＰＩ－５０４による処理は、ＥＭＬ４－ＡＬＫ分解、下流の経路の阻害を誘発し、細胞増殖を阻害する。

【０６２９】

分解するＥＭＬ４－ＡＬＫの細胞の帰結を調査するために、本発明者らは、ＩＰＩ－５０４と共にインキュベートしたＨ３１２２細胞からのライセートを、異なる時間でＡＬＫおよび異なる下流シグナル伝達タンパク質に対する抗体でプローブした（図８ａ）。ＩＰＩ－５０４による処理およびＥＭＬ４－ＡＬＫ分解によって、ＥＲＫおよびＳＴＡＴ３の活性（リン酸化）形態は急速に枯渇し、一方、ＡＫＴおよびホスホ－ＡＫＴは異なる時間尺度で枯渇する。ＮＳＣＬＣ細胞系Ｈ３１２２におけるＥＭＬ４－ＡＬＫがＥＲＫおよびＳＴＡＴ経路を通してシグナルを送り、かつシグナル伝達がＨｓｐ９０阻害剤による処理によって効果的に中断されることをこれらの結果は主張する。ＥＭＬ４－ＡＬＫの分解および下流シグナル伝達経路の阻害が、細胞増殖に対してどのような作用を有するかを調査するために、Ｈ３１２２細胞を、増加する濃度のＩＰＩ－５０４と共に７２時間インキュベートし、細胞のＡＴＰレベルを測定することによって細胞増殖をモニターした。ＩＰＩ－５０４は、細胞増殖に対して強力な作用を有し（図８ｂ）、増殖阻害のためのＩＣ５０値は２２ｎＭである。この値は、ＡＬＫ分解のＩＣ５０とよくマッチし、これはＡＬＫ分解が観察される細胞増殖阻害の原因であることと一致する。

【０６３０】

ＥＭＬ４－ＡＬＫの発現は、細胞をＨｓｐ９０阻害に対して感作させる。

【０６３１】

細胞内の多くのタンパク質はそれらの安定性のためにＨｓｐ９０に依存するという事実は、Ｈｓｐ９０阻害後に細胞増殖作用に関与するクライアントタンパク質を機構的に正確に特定することを困難とする。細胞が、そのがんサブタイプ（例えば、乳がんにおけるＨＥＲ２）を駆動すると考えられるまた腫瘍性タンパク質である感受性クライアントを含有するとき、このような細胞に対するＨｓｐ９０阻害剤の増殖阻害作用は、この腫瘍性タンパク質の分解によると想定されることが多い。これは妥当な想定である一方、細胞は複数の「ドライバー」変異および数百のＨｓｐ９０クライアントを含有することが多い。したがって、クライアントタンパク質分解についてのＩＣ５０、および細胞増殖阻害が単にマッチすることは相関性があるが、機序の証拠を示さない。ＥＭＬ４－ＡＬＫの発現とＨｓｐ９０阻害に対する感受性との間の機構的関連を得るために、本発明者らは、ＥＭＬ４－ＡＬＫ　ｃＤＮＡのトランスフェクションによって細胞をＨｓｐ９０阻害に対して感作させることができるかを問うた。ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質および融合物の変異体バージョンをコードする２つのｃＤＮＡが構築され、そこではＡＬＫのキナーゼドメインが点変異（ＡＬＫ－ＫＤ）によって不活性化されている。ｃＤＮＡをＨＥＫ２９３細胞にトランスフェクトし、融合タンパク質の発現（図９ａ、レーン１～３）および活性（図９ａ、レーン４～６）をウエスタンブロットによってモニターした。多量のＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質は両方の構築体から発現し、予想通りに、発現している間キナーゼ不活型変異体（ＡＬＫ－ＫＤ）は、酵素活性を有さない。次いで、活性または不活性融合タンパク質の発現がＩＰＩ－５０４に対する感受性をどのようにモジュレートするかを本発明者らは問うた。１００ｎＭまたは１０００ｎＭのＩＰＩ－５０４による処理がキナーゼ不活型変異体を発現している２９３ＦＴ細胞の増殖（２９３ＦＴ$^{ＡＬＫ－ＫＤ}$）に対して作用が殆どない一方、活性ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質（２９３ＦＴ^{ＡＬＫ}）の発現は、２９３ＦＴ細胞をＩＰＩ－５０４による処理に対して有意に感作させる（図９ｂ）。この感作作用はまた、ｉｎ　ｖｉｖｏで観察することができた。ヌードマウスにおいてＥＭＬ４－ＡＬＫを発現している２９３ＦＴ細胞から形成される腫瘍、または対照２９３ＦＴ腫

瘍が１００ｍｇ／ｋｇのＩＰＩ－５０４で週２回２週間処理されたとき、薬物は、ＥＭＬ４－ＡＬＫ含有腫瘍の有意な増殖阻害をもたらしたが、対照腫瘍の有意な増殖阻害をもたらさなかった（図９ｃ）。

【０６３２】

ＩＰＩ－５０４による処理は、ＮＳＣＬＣ細胞を含有するＥＭＬ４－ＡＬＫの異種移植モデルにおいて退縮をもたらす。

【０６３３】

大部分の異種移植モデルにおいて、Ｈｓｐ９０阻害剤は、腫瘍増殖阻害をもたらすが、腫瘍退縮をもたらさない。これと一致して、診療所におけるＨｓｐ９０阻害剤に対する反応は、今までに大部分が安定的な疾患を誘発することからなった。Ｈｓｐ９０阻害に対するＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質の極度の感受性が、ＡＬＫ依存性Ｈ３１２２細胞系のｉｎ　ｖｉｖｏでの腫瘍退縮をもたらすかについて決定するために。Ｈ３１２２細胞をヌードマウスの脇腹に注射し、動物を７５ｍｇ／ｋｇのＩＰＩ－５０４で週２回処理した。この処理は、ＡＬＫキナーゼ阻害剤であるＰＦ－１０６６（５０ｍｇ／ｋｇ、毎日）による処理と匹敵する腫瘍退縮をもたらした（図１０ａおよび１０ｂ）。本発明者らはまた、ＩＰＩ－５０４およびＰＦ－１０６６の組合せを試験し、この処理は、さらにより大きな腫瘍退縮をもたらした（図１０ｂおよび１０ｄ）。興味深いことに、処理を停止すると、ＰＦ－１０６６療法群からの腫瘍は、ＩＰＩ－５０４療法群における腫瘍より急速に再増殖した。さらに、ＩＰＩ－５０４およびＰＦ－１０６６の組合せによって、さらにより長い腫瘍増殖の遅延が観察された。これらの腫瘍におけるＥＭＬ４－ＡＬＫの分解を確認するために、別々の療法群を研究に含み、そこでは腫瘍をＩＰＩ－５０４の単一の注射後の異なる時点で収集し、長期に亘る豊富な融合タンパク質を、ＡＬＫ特異的ＥＬＩＳＡを使用してモニターした（図１２Ａ）。ＩＰＩ－５０４の単一の注射後にＡＬＫ融合タンパク質が４８時間を超えて枯渇することを結果は示す。ＥＭＬ４－ＡＬＫの枯渇は、ＰＡＲＰ切断の出現、カスパーゼ３活性化の徴候、およびアポトーシスの誘発と一致する（図１２Ｂ）。

ＰＦ－１０６６に対する耐性について選択されたＮＳＣＬＣ細胞は、ＩＰＩ－５０４に対して感受性であり続ける。

【０６３４】

チロシンキナーゼ阻害剤は、ＮＳＣＬＣにおける選択した患者集団において目覚ましい奏効率を示してきた一方、これらの阻害剤に対する臨床耐性が出現することが多い。ＰＦ－１０６６に対して耐性の細胞がＩＰＩ－５０４に対して感受性であり続けるかを問うために、本発明者らは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏの実験を行い、細胞を増加する濃度の阻害剤と共にインキュベートすることによって、ＰＦ－１０６６に対して耐性のＨ３１２２細胞を選択した。この処理は、ＰＦ－１０６６に対する感受性が親細胞よりも１２分の１であった細胞（Ｈ３１２２Ｒ）のプールをもたらした。これらのＨ３１２２Ｒ細胞はまた、構造的に異なるＡＬＫ阻害剤（ＴＡＥ－６８４）に対して耐性であったが、ＩＰＩ－５０４に対して感受性のままであった（表７）。Ｈ３１２２Ｒ細胞におけるＥＭＬ４－ＡＬＫ遺伝子の配列決定は、二次的な変異を明らかにしなかったが（データは示さず）、Ｈｓｐ９０阻害に対して感受性であり続ける代わりのシグナル伝達経路の活性化が耐性をもたらし得ることを示す。

【０６３５】

表７は、ＡＬＫキナーゼ阻害剤に対する耐性について選択されたＨ３１２２ＮＳＣＬＣ細胞がＩＰＩ－５０４に対する感受性を保持することを示すｉｎ　ｖｉｔｒｏの研究の結果を要約する。さらに具体的には、野生型（ｗｔ）および耐性（ｒｅｓ）のＨ３１２２細胞は、下記に示すＨＳＰ９０阻害剤（ＩＰＩ－５０４）に反応してＧＩ５０値の示された変化を有した。ＡＬＫ阻害剤に対する耐性は、ＡＬＫキナーゼ阻害剤、ＰＦ－１０６６およびＴＡＥ－６８４で処理した試料におけるＧＩ５０値の変化を比較することによって示す。ＡＬＫキナーゼ阻害剤に対する耐性について選択されたＮＳＣＬＣ細胞は、ＩＰＩ－５０４に対する感受性を保持する。

【０６３６】
【表７】

表７

	Wt H3122 (GI50, nM)	Res. H3122 (GI50, nM)	倍の変化
IPI-504	22	76	3.4
PF-1066	166	2000	12.0
TAE-684	50	3141	63.0

【０６３７】
要するに、この実施例に記載した実験は、下記を示す。
１）ＥＭＬ４－ＡＬＫは、高度に感受性なＨｓｐ９０クライアントタンパク質である。
２）ＥＭＬ４－ＡＬＫの発現は、細胞をＩＰＩ－５０４による処理に対して感作させることができる。
３）ＩＰＩ－５０４およびＡＬＫキナーゼ阻害剤の組合せは、ヒトＮＳＣＬＣの異種移植モデルにおいて明白な腫瘍退縮をもたらす。
４）ＡＬＫキナーゼ阻害剤に対する耐性について選択した細胞は、ＩＰＩ－５０４に対する感受性を保持する。
５）患者におけるＡＬＫ遺伝子座における再配列は、単一の薬剤としてのＩＰＩ－５０４に対する反応と関連する。
６）これらの知見のさらなる確認は、ＮＳＣＬＣおよびＡＬＫ再配列を有する患者におけるＩＰＩ－５０４のプロスペクティブ試験において進行中である。
【０６３８】
考察
個別化されたがん医薬は、正しい薬物を正しい患者とマッチさせる能力に依存する。そのためには、腫瘍における体細胞遺伝子変化および反応を、標的療法と連結することが、制がん剤の開発において決定的で不可欠なステップとなってきている。新規な遺伝子技術（ハイスループットがん遺伝子ジェノタイピング（Ｏｎｃｏｍａｐ（Ｔｈｏｍａｓら、２００７年、上記）およびスナップショット）、ならびにＦＩＳＨを含めた）の出現は、これらの変化の同定を可能にしてきており、したがって患者サブ集団は新規な治療の恩恵を受ける可能性が最も高い。本発明者らのＮＳＣＬＣにおけるＩＰＩ－５０４の研究からの腫瘍標本のレトロスペクティブ分析におけるこれらの戦略を使用して、本発明者らは、ＡＬＫ再配列とＩＰＩ－５０４に対する反応との間の関連を発見した（Ｓｅｑｕｉｓｔら、２０１０年、上記）。ここで、本発明者らは、この臨床相関は、ＩＰＩ－５０４による処理による発がん性ＡＬＫ融合遺伝子の感受性で急速および持続性の分解によるためである可能性が高いという証拠を示す。本明細書における結果は、用量反応および分解までの時間の両方の点から、ＥＭＬ４－ＡＬＫが、変異体ＥＧＦＲまたはＨＥＲ２（細胞において最も感受性のＨｓｐ９０クライアントの１つであると以前に考えられていたタンパク質）より感受性のクライアントであることを示す。細胞中に２００超のＨｓｐ９０クライアントタンパク質が存在するため、Ｈｓｐ９０阻害剤による処理の後のがん細胞増殖阻害の正確な機序を絞り込むことは困難であった。Ｈｓｐ９０阻害の細胞作用が、複数のクライアントタンパク質の同時の阻害を通したタンパク質恒常性に対する一般作用によってもたらされるのかについて、またはＨｓｐ９０阻害の細胞作用が、単一の発癌性ドライバータンパク質の分解に遡ることができるのかについては明らかではない。本明細書における結果は、同質遺伝子細胞系を使用することによって、少なくともＥＭＬ４－ＡＬＫの場合は後者が当てはまるようであることを示す。本発明者らの結果は、非常に感受性なＨｓｐ９０クライアントタンパク質である腫瘍性タンパク質によって駆動されるがんサブタイプを有する患者がＨｓｐ９０阻害剤による治療に最も恩恵を得ることを示唆するため、これはＨ

ｓｐ９０阻害剤の将来の臨床開発のための意味を有する。

【０６３９】

クライアントタンパク質としてのＥＭＬ４－ＡＬＫの精巧な感受性はまた、ｉｎ　ｖｉｖｏのセッティングに変換される。大部分の他のｉｎ　ｖｉｖｏモデルと異なり、本発明者らは、ＥＭＬ４－ＡＬＫ陽性ＮＳＣＬＣ異種移植モデルにおいて、週２回投与したＩＰＩ－５０４で腫瘍退縮を観察した。これは、ｉｎ　ｖｉｖｏにおいて融合タンパク質がＩＰＩ－５０４の単一の注射の後で４８時間を超えて枯渇し、アポトーシスの誘発をもたらすという事実により得るであろう（図１２Ａおよび１２Ｂ）。本発明者らはまた、ＡＬＫキナーゼ阻害剤に対して耐性となった細胞は、ＩＰＩ－５０４に対して感受性のままであるという証拠を得ており、これは成功したＴＫＩによる治療の後で再発する患者のための可能性のある治療を示唆する。

【０６４０】

結論として、この研究は、ＥＭＬ４－ＡＬＫ融合タンパク質について陽性のＮＳＣＬＣ患者は、ＩＰＩ－５０４による治療から、および潜在的に、他のＨＳＰ９０阻害剤から恩恵を得る可能性が高いことを示唆する。さらに、Ｌｉｎおよび共同研究者は、乳房および結腸直腸癌におけるＥＭＬ４－ＡＬＫ融合遺伝子の検出について最近報告した（Ｌｉｎ　Ｅら、（２００９年）Ｍｏｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ、７巻：１４６６～７６頁）。したがって、これらの腫瘍タイプにおけるＡＬＫ発癌活性化の存在はまた、乳房および結腸直腸がん患者のサブ集団においてＩＰＩ－５０４に対する反応を予測する。

【０６４１】

実施例４についての実験計画：材料および方法

細胞系および化合物

Ｈ３１２２細胞は、ＮＩＨ（Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ）から得た。Ｈ１６５０およびＢＴ－４７４細胞は、ＡＴＣＣ（Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ）からであった。全ての細胞系をマイコプラズマについて試験し、１０％熱失活化ウシ胎仔血清を補充したＲＰＭＩ１６４０中で培養した。ＩＰＩ－５０４は、Ｉｎｆｉｎｉｔｙにおいて合成した（Ｇｅら、２００６年）。ＴＡＥ－６８４およびＰＦ－０２３４１０６６（ＰＦ－１０６６と称される）は、Ｃｈｅｍｉｅｔｅｋ（Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ、ＩＮ）から購入した。

【０６４２】

２９３ＦＴ$^{ＥＭＬ４－ＡＬＫ}$細胞系の生成

ＥＭＬ４－ＡＬＫ変種１オープンリーディングフレームクローンおよびキナーゼドメイン不活型バージョン（Ｋ５８９Ｍ）を、ＧｅｎＢａｎｋ受託番号配列ＡＢ２７４７２２に基づいてＧｅｎＳｃｒｉｐｔによって合成した。メーカーの説明書に従って、サイトメガロウイルスプロモーターベクターと共に、Ｇａｔｅｗａｙ　ＬＲクロナーゼ反応（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）ｐＬｅｎｔｉ６．２／Ｒ４Ｒ２／ＤＥＳＴベクターによって組換えを行った。このように得られたベクターを使用して、Ｖｉｒａｐｏｗｅｒ試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を使用して組換えレンチウイルス粒子を生じさせた。２９３ＦＴ細胞を、ポリブレンの媒介によって、変種１ＥＭＬ４－ＡＬＫ－発現レンチウイルス粒子に感染させた。ブラストサイジンを使用して細胞を選択した。同じプロトコールを使用して、キナーゼ不活型（Ｋ５８９Ｍ）変種１ＥＭＬ４－ＡＬＫタンパク質を安定的に発現している２９３ＦＴ細胞を生じさせた。

【０６４３】

ＰＦ－１０６６耐性細胞の生成

Ｈ３１２２細胞を、０．６４ｍＭのＮ－エチルＮ－エチルウレア（ＥＮＵ）で一晩変異誘発し、洗浄し、５００ｎＭのＰＦ－１０６６中で３週間培養した。短いタンデム反復配列決定（ＲＡＤＩＬ、Ｃｏｌｕｍｂｉａ、ＭＯ）を使用して、耐性細胞（Ｈ３１２２Ｒ）がＨ３１２２細胞由来であることを確認した。

【０６４４】

細胞増殖および生存率研究

Ｈ３１２２を、９６ウェルプレート中で４，０００個の細胞／ウェルで播種し、増加す

る濃度のＩＰＩ－５０４またはＰＦ－０２３４１０６６と共に７２時間インキュベートした。Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を使用して、増殖阻害研究を行った。トリパンブルー排除によって生存率研究を行い、Ｃｏｕｎｔｅｓｓ細胞計数器（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を使用して定量化した。データをＤＭＳＯ対照に対して標準化し、増殖阻害GI_{50}値を得た。

【０６４５】

イムノブロット、免疫沈降法およびＥＬＩＳＡ分析

細胞を示した時間ＩＰＩ－５０４で処理し、プロテアーゼ阻害剤およびＨＡＬＴホスファターゼ阻害剤（Ｐｉｅｒｃｅ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）を含有する氷冷の細胞溶解緩衝液（Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、Ｂｅｖｅｒｌｙ、ＭＡ）中で溶解した。ライセートを、４℃にて１４，０００ｇでの遠心分離によって清澄にし、タンパク質濃度をＢＣＡ方法によって決定した（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）。試料を試料緩衝液中で５分間煮沸し、４～１２％ＢＩＳ－ＴＲＩＳゲル上で分解し、ＰＶＤＦ膜上に移した。ブロットをＡＬＫ、ホスホ－ＡＬＫ（Ｔｙｒ１６０４）、ＡＫＴ、ホスホ－ＡＫＴ（Ｓｅｒ４７３）、ＥＲＫ、ホスホ－ＥＲＫ（Ｔｈｒ２０２／Ｔｙｒ２０４）、ｐＳＴＡＴ３（Ｔｙｒ７０５）、ＥＧＦＲ、切断された－ＰＡＲＰ（全てＣｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ、Ｂｅｖｅｒｌｙ、ＭＡから）、ＨＥＲ２（Ａｂｃａｍ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　ＭＡ）、およびＧＡＰＤＨ（Ｓａｎｔａ　Ｃｒｕｚ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）に対する抗体でプローブした。ＡＬＫおよびｐＡＬＫレベルをまた、サプライヤーの説明書に従ってＥＬＩＳＡ（ＲｎＤ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、ＭＮ）を使用してモニターした。免疫沈降法のために、１ｍｇの事前に清澄にした細胞ライセートを、２ｕｇのＨｓｐ９０□（９Ｄ２；Ｓｔｒｅｓｓｇｅｎ）と共に４Ｃで一晩インキュベートした。タンパク質Ｇビーズを４Ｃにて回転装置に４時間加え、ビーズを冷たい溶解緩衝液で広範に洗浄した。２×還元試料緩衝液を加え、試料を煮沸し、４～１２％Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓ　ＳＤＳゲル上で操作した。タンパク質をＰＶＤＦに移し、ＡＬＫまたはＨｓｐ９０抗体で４Ｃにて一晩プローブし、その後ＨＲＰ連結二次抗体によって検出した。

【０６４６】

異種移植研究

全てのｉｎ　ｖｉｖｏ研究は、動物実験委員会（ＩＡＣＵＣ）のガイドラインに従って行った。ＰＦ－０２３４１０６６を、注射のために滅菌水中で２．５ｍｇ／ｍｌで調製し（ｐＨ４～５）、－２０℃で保存した。ＩＰＩ－５０４を、０．９％食塩水（ｐＨ３．３）中の５ｍＭのシトレート、２０ｍＭのアスコルベート、０．２４４ｍＭのＥＤＴＡ中で調製し、－８０℃で保存した。５～６週齢の雄性ＮＣＲ　ｎｕ／ｎｕ胸腺欠損マウスは、Ｔａｃｏｎｉｃ　Ｆａｒｍｓ（Ｈｕｄｓｏｎ、ＮＹ）から購入した。無血清ＲＰＭＩ１６４０中の５００万（5×10^{6}）個のＮＣＩ－Ｈ３１２２細胞を、マウスの右後脇腹の皮下に移植し、腫瘍が１７０mm^{3}の平均容量に達したときに処理を開始した。ビヒクル、ＩＰＩ－５０４（５０ｍｇ／ｋｇまたは７５ｍｇ／ｋｇ、腹腔内（ＩＰ））を、８ｍｌ／ｋｇの容量で週２回投与した。ＰＦ－０２３４１０６６（３７．５ｍｇ／ｋｇ、経口（ＰＯ））を、１５ｍｌ／ｋｇの容量でＱＤＸ５（５日の投与、２日の投与なし）にて投与した。腫瘍をデジタルカリパスで週１回測定し、式：（長さ×幅^{2}）／２を使用して腫瘍体積を決定した。結果は、平均腫瘍体積±平均値の標準誤差（ＳＥＭ）（mm^{3}）として示す。２９３ＦＴ^{ＹＦＰ}または２９３ＦＴ$^{ＥＭＬ４－ＡＬＫ}$遺伝子操作した細胞系のｉｎ　ｖｉｖｏの分析のために、細胞系を上記のように生成した。ｍａｔｒｉｇｅｌ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）と混合した無血清ＤＭＥＭ（１：１）中の各細胞系の１０００万（10×10^{6}）個の細胞を、５～６週齢雄性ＮＣＲ　ｎｕ／ｎｕマウスの右後脇腹に移植し、腫瘍が約２５０～３００mm^{3}に達すると処理を開始した。ＩＰＩ－５０４またはビヒクルを投与した（週２回（ＢＩＷ）、ＩＰ、７５ｍｇ／ｋｇ、８ｍｌ／ｋｇの容量）。腫瘍体積を上記のように評価した。

【０６４７】

（実施例５）

扁平上皮細胞癌を有する患者におけるＩＰＩ－５０４の有効性
　この実施例は、扁平上皮細胞癌（ＳＣＣ）を有する患者におけるＩＰＩ－５０４の有効性を評価した臨床試験からの結果を記載する。
【０６４８】
　図１３Ａ～１３Ｂは、ヒストロジーによって分析したがんサブタイプによって、ＩＰＩ－５０４に対する反応を示す瀑状プロットを示す。試験したがんは、腺癌（＃１として示す）、細気管支肺胞癌（ＢＡＣ）（＃２として示す）、大細胞肺がん（＃３として示す）、扁平上皮細胞癌（＃４として示す）、不明（＃５として示す）および対照（＃６として示す）であった。各バーは、１人の患者を表す。図１３Ａのｙ軸は、ベースラインからの腫瘍体積変化％を表す。ＳＣＣを有する患者は、４３％のＩＰＩ－５０４に対する客観的奏効率（ＯＲＲ）を示し、７人の患者のうち３人が部分反応（ＰＲ）を示した（図１３Ａ）。図２６Ｂは、治療サイクルが開始した後の、ＳＣＣ患者におけるＩＰＩ－５０４の有効性を示す。
【０６４９】
　（実施例６）
喫煙者における単独でまたはドセタキセルと組み合わせたＩＰＩ－５０４の有効性
　この実施例は、喫煙者の患者における単独でまたはドセタキセルと組み合わせたＩＰＩ－５０４の有効性を評価する臨床試験からの結果を記載する。
【０６５０】
　図２７は、喫煙状況によるＩＰＩ－５０４に対する反応を示す瀑状プロットを示す。図２７のｙ軸は、ベースラインからの腫瘍体積変化％を表す。各バーは、１人の患者を表す。喫煙者の患者は、２９％のＩＰＩ－５０４に対する奏効率（ＯＲＲ）を示し、２１人の患者のうち６人は、部分反応（ＰＲ）を示した（図１４）。
【０６５１】
　次に、タバコへの曝露とＮＳＣＬＣおよびＳＣＣにおける有効性との間の関係を判定した。結果を図２８～２９に示す。
【０６５２】
　図１５は、ＮＳＣＬＣを有する患者においてタバコへの曝露（パックイヤー数によって評価）が増加するにつれ、腫瘍体積の減少％によって決定したＩＰＩ－５０４の有効性の増加を示すグラフを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍体積変化％を表す。
【０６５３】
　図１６は、ＳＣＣおよび他の肺がんのヒストロジーを有する患者においてタバコへの曝露（パックイヤー数によって評価）が増加するにつれ、腫瘍体積の減少％によって決定されるＩＰＩ－５０４の有効性の増加を示すグラフを示す。ｙ軸は、ベースラインからの腫瘍体積変化％を表す。
【０６５４】
　図１７は、ＮＳＣＬＣを有する患者においてＩＰＩ－５０４およびドセタキセルの組合せの有効性を要約する棒グラフである。ｙ軸は、下記の患者集団における奏効率（ＯＲＲ）の変化％を表す。
【０６５５】
　１）二次治療としてドセタキセルを有する患者；
２）ＮＳＣＬＣ患者（この試験においてＩＰＩ－５０４およびドセタキセルで治療を受ける）；
３）喫煙者であったＮＳＣＬＣ患者（この試験においてＩＰＩ－５０４およびドセタキセルで治療を受ける）；
４）ＫＲＡＳ野生型であるＮＳＣＬＣ患者（この試験においてＩＰＩ－５０４およびドセタキセルで治療を受ける）；ならびに
５）ＳＣＣ／ＮＳＣＬＣ患者（この試験においてＩＰＩ－５０４およびドセタキセルで治療を受ける）。
【０６５６】

これらの結果は、喫煙状況と、単独でまたはドセタキセルと組み合わせたＩＰＩ－５０４に応じた腫瘍収縮との間の興味深い関連を示す。ＩＰＩ－５０４およびドセタキセルの組合せは、ＮＳＣＬＣにおいて活性を有する。したがって、これらの結果は、ＨＳＰ９０阻害剤（ＩＰＩ－５０４など）で治療を受ける患者からの適当な患者の選択を可能とする。考慮される要因には、腫瘍のヒストロジー（例えば、ＮＳＣＬＣまたはＳＣＣ）、喫煙状況、ＨＳＰ９０発現および／またはＡＬＫもしくはＫＲＡＳ状態の１つもしくは複数が含まれる。

【０６５７】

ＩＰＩ－５０４およびドセタキセルの組合せを判定する２つの臨床試験の研究デザインを要約するフローチャートを、図１８Ａ～１８Ｂに要約する。

【０６５８】

図１８Ａは、ＩＰＩ－５０４（３週間のスケジュールで３００ｍｇ／ｍ２）および週１回投与するドセタキセルの組合せの臨床研究を要約する。組合せは、予想外の安全上の観察を伴わず、耐容性良好であった。ＮＳＣＬＣサブセットについて、２６人のＮＳＣＬＣ患者をＩＬＩ－５０４で毎週治療した（およびドセタキセルを毎週または３週間に１回）。患者の誰もが事前のドセタキセル治療を受けなかった。ＯＲＲは２３％であり、２６人の患者のうち６人は部分反応を示した。

【０６５９】

図１８Ｂは、ＮＳＣＬＣのための二次から三次治療においてＩＰＩ－５０４を伴う、または伴わない、ドセタキセルの無作為化プラセボ対照第２相臨床試験の設計を要約する。

【０６６０】

（実施例７）

結腸直腸がん（ＣＲＣ）におけるＢ－ＲａｆおよびＫ－Ｒａｓ変異

ＩＰＩ－４９３は、ｋＲＡＳまたはｂＲＡＦ変異を持つＣＲＣにおいて良好な有効性を示し、ＭＡＰＫ経路活性はＩＰＩ－４９３感受性の貴重なマーカーであり得ることをさらに示すことをこの実施例は示す。さらに、ＩＰＩ－４９３とイリノテカンとの組合せは、いずれかの薬剤単独よりも優秀であった。

【０６６１】

背景／要約

結腸直腸がん（ＣＲＣ）は、米国および世界でがんの３番目に一般な形態であり、各々５０，０００超および７００，０００超のがんに関連する死亡が毎年ある。２００９年に、米国で１１０，０００件を超える新規の診断および４５，０００件の死亡が予測され、世界で３００，０００件を超える新規の診断および１００，０００件の死亡が予測される。概ね５年の生存率が、ｍＣＲＣを有する患者の１０％未満について予測される。

【０６６２】

進行ＣＲＣについての標準治療（ＳＯＣ）には、下記との多剤併用療法が含まれる。

５－フルオロウラシル（５ＦＵ－ＴＳ阻害剤）；イリノテカン（トポＩ毒）；オキサリプラチン（ＤＮＡ付加体）

ＥｒｂｉｔｕｘおよびＶｅｃｔａｂｉｘ（ＥＧＦＲに対するモノクローナルＡｂｓ）はまた、転移性ＣＲＣのＴｘについてＦＤＡに承認されている。

【０６６３】

一次

ＦＯＬＦＯＸ：５－フルオロウラシル＋ロイコボリン＋オキサリプラチン

ＦＯＬＦＩＲＩ：５－フルオロウラシル＋ロイコボリン＋イリノテカン

二次　通常、一次治療に対する代替物

三次＋　イリノテカン＋／－ＣＴＸまたは生物学的製剤

失敗後に、ＣＴＸと共にイリノテカンを含む

ＥｒｂｉｔｕｘおよびＶｅｃｔａｂｉｘ（ＥＧＦＲに対するモノクローナルＡｂｓ）は、進行転移性ＣＲＣ（ＫＲＡＳ　ｗｔ）のＴｘについてＦＤＡに承認されている。

【０６６４】

イリノテカンに抵抗性の患者のためのイリノテカンと組み合わせたＥｒｂｉｔｕｘ
単一の薬剤としてＶｅｃｔａｂｉｘ
症例の概ね４０％は、小ＧＴＰアーゼｋＲＡＳの変異を含有し、約１０～２５％は、その下流のエフェクター、細胞質キナーゼｂＲＡＦの変異を含有することができる（相互排他的である）。さらに、ＣＲＣにおいて、変異体ｂＲＡＦは、変異体ｋＲＡＳの患者のサブセットとは異なる患者のサブセットを表す。変異体ｂＲＡＦは、黒色腫において分子シャペロンＨＳＰ９０の非常に感受性な「クライアント」であることが以前に示されてきた。ＨＳＰ９０は、本明細書において「ＨＳＰ９０クライアント」と称される多様な細胞タンパク質の高次構造および活性を維持するシャペロンタンパク質である。多くのＨＳＰ９０クライアントは、腫瘍性タンパク質である。変異体ＢＲＡＦは、黒色腫およびＣＲＣにおいて感受性のＨＳＰ９０クライアントであることが示されてきた。活性化ｃ－ＲＡＦ（ＫＲＡＳ変異体バックグラウンドにおける重要なＲＡＦファミリーメンバーであると考えられている）はまた、ＨＳＰ９０クライアントである。

【０６６５】

ＩＰＩ－４９３は、現在第１相用量増大臨床試験中である経口ＨＳＰ９０阻害剤である。ＣＲＣにおけるＩＰＩ－４９３の効力を調査するために、本発明者らは、ＣＲＣ細胞系パネルに対して増殖阻害（ＧＩ）研究を最初に行った。ＩＰＩ－４９３は、ｋＲＡＳまたはｂＲＡＦ変異を持つ細胞系において１０～１００ｎＭの範囲のＧＩ５０を示した。これらのＧＩ値はまた、コロニー形成アッセイにおいて確認された。ＩＰＩ－４９３のｉｎｖｉｖｏの効力を調査するために、いくつかの変異体ｂＲＡＦ（Ｃｏｌｏ２０１、Ｃｏｌｏ２０５、Ｃｏｌｏ７４１、ＨＴ５５）およびｋＲＡＳ（ＨＣＴ－１１６、ＳＷ４８０、ＤｕＤｕ－１）、ならびに野生型ｋＲＡＳ／ｂＲＡＦ（Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲ、ＮＣＩ－Ｈ７１６、ＳＮＵ－Ｃ１、Ｃ２ＢＢｅｌ）異種移植モデルが開発された。有効性に関して、単一の薬剤としてのＩＰＩ－４９３の投与（１００ｍｇ／ｋｇ（ｍｐｋ）、週３回）は、試験した変異体モデルの全てにおいて劇的な作用を示した（７０～９０％の腫瘍増殖阻害（ＴＧＩ）値および１つの変異体ＢＲＡＦモデルにおいて退縮）。重要なことに、ＩＰＩ－４９３がイリノテカンと組み合わせて判定されるとき（後期ＣＲＣにおける標準治療）、２種の薬物の組合せは、いずれかの薬物単独に対してより優秀な有効性を示し、全体的な腫瘍退縮、および１０匹の動物のうち４匹において７０日を超えて続く完全な退縮をもたらした。

【０６６６】

興味深いことに、ＩＰＩ－４９３の有効性が野生型ｋＲＡＳ／ｂＲＡＦバックグラウンドにおいて調査されたとき、ＴＧＩに対する検出可能な作用は観察されなかった。変異体ｋＲＡＳ／ｂＲＡＦモデルにおいて観察された有意な作用と一緒に、これらの結果は、ＭＡＰＫ経路の活性化がＨＳＰ９０阻害に対する感受性の重要なマーカーであり得ることを示唆する。図１９は、ＭＡＰＫ（ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＭＥＫ－Ｅｒｋ）経路を要約する。

【０６６７】

ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＥＲＫ経路の分子成分に対するＩＰＩ－４９３の作用と、有効性との間の可能性がある相関をさらに調査するために、単一の１００ｍｐｋの用量の後に、変異体ｂＲＡＦ（Ｃｏｌｏ２０５、Ｃｏｌｏ２０１）および野生型（Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲ）異種移植モデルに対して薬力学的分析を行った。両方のタンパク質（ｐ－ｂＲＡＦ、ｐ－ＭＥＫ）のリン酸化の減少によって評価して、ＩＰＩ－４９３の投与が、変異体ｋＲＡＳまたはｂＲＡＦモデルにおいて投与の約２４時間後にｂＲＡＦおよびＭＥＫの両方（ｂＲＡＦの下流の標的）の活性の下方制御をもたらしたことをデータは示す。さらに、ＩＰＩ－４９３はまた、同じ時間フレームで切断されたカスパーゼ３（アポトーシスのマーカー）における増加を誘発したが、これは２つの事象の間の相関をさらに示唆する。対照的に、野生型ｋＲＡＳ／ｂＲＡＦ　Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲモデルは、ｐ－ｂＲＡＦおよびｐ－ＭＥＫ両方の低いベースライン値を示し、ＩＰＩ－４９３投与の作用は殆ど示さなかった。さらに、ｐ－ＭＥＫ活性をＣＲＣ異種移植の全てについて評価したとき、変異体と野生型モデルとの間の感受性の明らかな記述が存在し、これはＭＡＰＫ経路活性がＩＰＩ－４

９３の有効性についての代用であり得るという仮説をさらに支持する。まとめると、ＩＰＩ－４９３がｋＲＡＳまたはｂＲＡＦ変異を持つＣＲＣにおいて良好な有効性を示し、ＭＡＰＫ経路活性がＩＰＩ－４９３感受性の貴重なマーカーであり得ることをさらに示すことをこれらの結果は示す。さらに、ＩＰＩ－４９３とイリノテカンとの組合せは、いずれかの薬剤単独より優秀であった。全体的に、これらは、この疾患におけるクリニカルパスについての理論的根拠を提供する。

【０６６８】

１７－ＡＧのアモルファス分子分散物の調製

アセトン（１６０ｍＬ）およびエタノール（１９０プルーフＵＳＰ／ＮＦグレード）（４０ｍｌ）の４：１混合物に、ＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ（１ｇ）を一度に加えた（アセトンをアセトン：エタノール混合物に代わるものとして使用して、ポリマーおよび１７－ＡＧを溶解することができる）。ポリマーの溶解が完了するまで混合物を６０℃で撹拌した（約３０分）。１７－ＡＧ（１ｇ）を１０分に亘って少しずつ加え、不透明な紫色の混合物を得た。このように得られた溶液（１％ｗ／ｖ固体）を６０℃で３０分間撹拌した。

【０６６９】

次いで、均質な紫色の溶液を濃縮し、溶媒を高真空下にて５０℃で除去し、固体分散物を得た。分散物は交差偏波顕微鏡観察によって実質的にアモルファスであることが確認された。次いで、分散物を乳鉢および乳棒を使用して粉末に粉砕し、高真空下にて３０℃で２４時間乾燥した。

【０６７０】

このアモルファス固体分散物の懸濁液の調製を、スパチュラを用いて固体をグリセロールとの均質混合物にし、続いて高速ホモジナイザー中で１％ヒドロキシエチルセルロース溶液中にて１０分間均質化することによって行った、ビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中で提供した。下記のｉｎ　ｖｉｖｏの実験において、懸濁液を使用して、１７－ＡＧを投与した。

【０６７１】

実験１

表８および図２０Ａ～２０Ｄ

第１の一連の研究において、細胞質セリン／トレオニンキナーゼＢＲＡＦにおいてＶ６００ＥまたはＹ５８１Ｆ活性化変異を含有するいくつかの異なる結腸直腸腺癌細胞系モデルを用いた。Ｃｏｌｏ２０５（Ｖ６００Ｅ）（図２０Ａ）、Ｃｏｌｏ２０１（Ｖ６００Ｅ）（図２０Ｂ）、Ｃｏｌｏ７４１（Ｖ６００Ｅ）（図２０Ｃ）、およびＨＴ５５（Ｙ５８１Ｆ）（図２０Ｄ）。５～６週齢のＮｕ／Ｎｕマウスの皮下に、使用した各細胞系について10×10^{6}個の細胞を移植した。腫瘍が概ね１５０～２００mm^{3}に達した後に、投与を開始した。投与は経口胃管栄養法により、投与スケジュールは、ビヒクル対照と比較して、ビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇの１７－ＡＧの用量レベル）を、週３回（Ｍ、Ｗ、Ｆ）であった。投与を約３週間（９回の投与）行った。処理スケジュールの終わりに、１７－ＡＧで処理された動物をビヒクル対照で処理された動物と比較して、５８～９４％の範囲の最大腫瘍増殖阻害（ＴＧＩ）が観察された。

【０６７２】

表８は、ＣＲＣ細胞系におけるｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＩＰＩ－５０４およびＩＰＩ－４９３の活性を要約する。ＧＩ５０濃度は、変異状態に応じて提供する。

【０６７３】

実験２

図２１Ａ～２１Ｃ

第２の一連の研究において、ＨＣＴ－１１６（図２１Ａ）およびＳＷ－４８０細胞系（図２１Ｂ）およびＤｕＤｕ－１（原発性腫瘍に由来）（図２１Ｃ）（小ＧＴＰアーゼＲＡＳにおいて活性化変異（各々、Ｇ１３Ｄ、Ｇ１２ＶおよびＧ１２Ｖ）を含有する）を使用した。上記のように、５～６週齢のＮｕ／Ｎｕマウスの皮下に、使用した各細胞系につい

て１０×１０^{6}個の細胞を移植した。一次ＤｕＤｕ－１モデルについて、細胞をＮｕ／Ｎｕマウスにおいて増殖した腫瘍から収集し、適当な細胞数を使用して、１７－ＡＧ研究のために未処理Ｎｕ／Ｎｕマウスに移植した。移植された細胞が約１５０～２００ｍｍ^{3}に達した後で投与を開始し、ビヒクル対照と比較して、ビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇの１７－ＡＧの用量レベル）を、週３回（Ｍ、Ｗ、Ｆ）の投与スケジュールで経口胃管栄養法によって行った。投与後、異なるモデルのためにビヒクルで処理された動物と比較して、腫瘍体積の６５～８６％の最大減少が投与療法群において見られた。

【０６７４】

実験３

図２２Ａ～２２Ｄおよび２３Ａ～２３Ｃ

第３の一連の研究において、Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲ（図２２Ａ）、ＮＣＩ－Ｈ７１６（図２２Ｂ）、ＳＮＵ－Ｃ１（図２２Ｃ）およびＣ２ＢＢｅｌ（図２２Ｄ）細胞系を用いたが、これらの全てはＫＲＡＳおよびＢＲＡＦの両方についての野生型である。５～６週齢のＮｕ／Ｎｕマウスの皮下に、使用した各細胞系について１０×１０^{6}個の細胞を移植し、腫瘍が概ね１５０～２００ｍｍ^{3}に達した後、週３回（Ｍ、Ｗ、Ｆ）の投与スケジュールで、ビヒクル対照と比較して、ビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇの１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）の用量レベル）を、経口胃管栄養法による投与を開始した。処理期間の終わりに、ＫＲＡＳおよびＢＲＡＦ両方について、各ＣＲＣ細胞系野生型について、１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）およびビヒクルで処理された動物の間に腫瘍体積において検出可能な差異は観察されなかった。

【０６７５】

図２３Ａは、ＩＰＩ－４９３の単回用量（１００ｍｐｋ）による変異体Ｃｏｌｏ２０１およびＣｏｌｏ２０５異種移植におけるリン酸化ＢＲＡＦの時間依存性減少を示すイムノブロットのパネルを示す。同様の変化が、ＫＲＡＳ変異体モデルにおいて観察された。リン酸化ＢＲＡＦ活性における最小の変化が、野生型Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲにおいて検出された。

【０６７６】

図２３Ｂは、変異体Ｃｏｌｏ２０１およびＣｏｌｏ２０５異種移植におけるリン酸化ＭＥＫにおける時間依存性減少を示す棒グラフのパネルを示す。同様の変化が、ＫＲＡＳ変異体モデルにおいて観察された。ＩＰＩ－４９３の単回用量（１００ｍｐｋ）によって、リン酸化ＢＲＡＦ活性における最小の変化が、野生型Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲにおいて検出された。

【０６７７】

図２３Ｃは、変異体Ｃｏｌｏ２０１およびＣｏｌｏ２０５異種移植における切断されたカスパーゼ３活性における時間依存性増加を示す棒グラフのパネルを示す（蛍光体ＭＥＫの減少と相関する）。ＩＰＩ－４９３の単回用量（１００ｍｐｋ）によって、最小の変化が野生型Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲにおいて検出された。

【０６７８】

実験４

図２４Ａ～２４Ｂ

第４の一連の研究において、異種移植研究を行った（Ｏｎｃｏｔｅｓｔ　ＧｍｂＨ、Ｆｒｅｉｂｅｒｇ、Ｇｅｒｍａｎｙ）。手短に言えば、ヌードマウスにおける直接の移植、ならびに増殖による一次患者試料に由来する２種の異種移植モデルであるＣＸＦ－１７２９（野生型ＢＲＡＦ、野生型ＫＲＡＳ）（図２４Ａ）およびＣＸＦ－２６０（野生型ＢＲＡＦ、変異体ＫＲＡＳ（Ｇ１２Ｖ））（図２４Ｂ）を、ヌードマウスにおいて増殖させた。腫瘍体積が概ね１５０～２００ｍｍ^{3}に達すると、各モデルからのマウスを、処理群（ビヒクル、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中の

ＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液）に無作為化し、９０ｍｇ／ｋｇ、３週間週３回（Ｍ－Ｗ－Ｆ）のスケジュールで経口胃管栄養法によって投与し、腫瘍体積をモニターした。３週間の投与期間が終了すると、動物をさらに２４～２６日モニターし、腫瘍増殖の遅延を追跡した。薬物を投与中に、両方のモデルであるＣＸＦ－１７２９およびＣＸＦ－２６０が、６０％超の腫瘍増殖阻害（ＴＧＩ）を示し、１７－ＡＧ処理に対して同様に反応したことを結果は示す。処理相の後で、ＣＸＦ－１７２９モデルは腫瘍増殖において９日の遅延を示した（処理停止後の腫瘍体積の倍増までの時間）、一方、ＣＸＦ－２６０モデルは、１９日の腫瘍増殖の遅延を示した。

【０６７９】

実験５

図２５

第５の一連の研究において、選択した直腸結腸腫瘍モデルを確立した。変異体ＢＲＡＦ（Ｃｏｌｏ２０１、Ｃｏｌｏ２０５）、変異体ＫＲＡＳ（ＨＣＴ－１１６、ＣＸＦ－２６０）、および野生型ＢＲＡＦ／ＫＲＡＳ（ＣＸＦ－１７２９、Ｃｏｌｏ３２０ＨＳＲ、ＳＮＵ－Ｃ１）（図２５）。腫瘍が概ね２００ｍｍ^{3}に達すると、動物を未処理のままとするか（Ｔ＝０）、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇ）の単一の経口用量を投与し、次いで、処理後２４（Ｔ＝２４）時間および４８（Ｔ＝４８）時間に腫瘍を収集し、液体窒素中で瞬間冷凍した。腫瘍細胞ライセートを、各異種移植試料について冷凍した腫瘍組織から調製し、ＭＥＫ１の活性（リン酸化）（ＭＡＰキナーゼ経路－ＭＡＰＫの活性の代替マーカー）を、ＥＬＩＳＡアッセイによって評価した。これらの研究の結果は、腫瘍増殖阻害によって評価すると、試験した腫瘍モデルについて、ＭＡＰＫ経路の活性が１７－ＡＧ処理に対する感受性と非常によく相関することを示す。

【０６８０】

実験６

図２６Ａおよび２６Ｂ

第６の一連の研究において、Ｃｏｌｏ２０１（変異体ＢＲＡＦ）の皮下異種移植を、１０×１０^{6}個の細胞をヌードマウスの右脇腹に移植することによって確立した。腫瘍が概ね１００～１５０ｍｍ^{3}に達すると、動物を処理群に無作為化し、ビヒクル、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇ、Ｍ－Ｗ－Ｆ、３週間）、イリノテカン（１００ｍｇ／ｋｇ、Ｑ７Ｄ、３週間）、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（５０ｍｇ／ｋｇ、Ｍ－Ｗ－Ｆ）と、イリノテカン（７５ｍｇ／ｋｇ、Ｑ７Ｄ）との組合せを３週間投与し、腫瘍体積を週２回測定した（図２６Ａ；図２６Ｂは、図２６Ａの拡大部分である）。投与期間の終わりに、動物をさらに５７日モニターし、腫瘍増殖の遅延について追跡した。これらの研究の結果によって、１７－ＡＧまたはイリノテカンの単一の薬剤の投与と比較して、１７－ＡＧおよびイリノテカンの組合せは、劇的な有効性の増加を示した（処理相の間の平均７５％腫瘍退縮、および１０のうち４の完全反応（触知可能な腫瘍の完全な消滅）（腫瘍増殖の遅延相（研究の終了＝全部で７８日、処理＋処理後相）を通して維持された））ことが示された。対照的に、１７－ＡＧまたはイリノテカン（Ｉｒｉｎｉｔｅｃａｎ）の単一の薬剤の投与は、薬物を投与中に腫瘍増殖阻害をもたらしたのみであった（ＴＧＩ＝両方の薬物処理について約８８％）（研究のいずれかの処理療法群において完全反応はない）。Ｃｏｌｏ２０１モデルについて上記で記載したものと同様の結果が、２つの別々の結腸直腸のモデル（ＨＣＴ－１１６およびＤｕＤｕ１、両方ともＧ１２Ｖ変異体ＫＲＡＳ）においてまた観察された（実験７および８）。

【０６８１】

実験７

図２７Ａおよび２７Ｂ

第７の一連の研究において、ＨＣＴ－１１６（Ｇ１３Ｄ変異体ＫＲＡＳ）直腸結腸腫瘍

モデルの皮下異種移植を、１０×１０^{6}個の細胞をヌードマウスの右脇腹に移植することによって確立した。腫瘍が概ね１００～１５０ｍｍ^{3}に達すると、動物を処理群に無作為化し、ビヒクル、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇ、Ｍ－Ｗ－Ｆ、３週間）、イリノテカン（１００ｍｇ／ｋｇ、Ｑ７Ｄ、３週間）、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（５０ｍｇ／ｋｇ、Ｍ－Ｗ－Ｆ）とイリノテカン（７５ｍｇ／ｋｇ、Ｑ７Ｄ）との組合せを３週間投与し、腫瘍体積を週２回測定した（図２７Ａ；図２７Ｂは、図２７Ａの拡大部分である）。投与期間の終わりに、動物をさらに２１日間モニターし、腫瘍増殖の遅延を追跡した。これらの研究の結果は、薬物を投与中に、１７－ＡＧまたはイリノテカンの単一の薬剤の投与と比較して、１７－ＡＧおよびイリノテカンの組合せは、有効性の増加を示した（約９０％の平均腫瘍増殖阻害）ことを示す。さらに、研究の再増殖相の間、１７－ＡＧおよびイリノテカンの組合せは、腫瘍進行において概ね１７日の遅延をもたらした。対照的に、１７－ＡＧまたはイリノテカンの単一の薬剤の投与は、薬物を投与中に約７５％の腫瘍増殖阻害のみをもたらした（研究のいずれかの単剤処理療法群における腫瘍進行の遅延はない）。

【０６８２】

実験８

図２８Ａおよび２８Ｂ

第８の一連の研究において、ＤｕＤｕ－１（Ｇ１２Ｖ変異体ＫＲＡＳ）患者由来腫瘍の結腸直腸モデルの皮下異種移植を、１０×１０^{6}個の細胞をヌードマウスの右脇腹に移植することによって確立した。腫瘍が概ね１００～１５０ｍｍ^{3}に達すると、動物を処理群に無作為化し、ビヒクル、またはビヒクル（１％ヒドロキシエチルセルロース、５％グリセロール）中のＨＰＭＣ－ＡＳ－ＨＧ分散物中の５０％１７－ＡＧの懸濁液（１００ｍｇ／ｋｇ、Ｍ－Ｗ－Ｆ、３週間）、イリノテカン（１００ｍｇ／ｋｇ、Ｑ７Ｄ、３週間）、または１７－ＡＧ（５０ｍｇ／ｋｇ、Ｍ－Ｗ－Ｆ）とイリノテカン（７５ｍｇ／ｋｇ、Ｑ７Ｄ）との組合せを３週間投与し、腫瘍体積を週２回測定した（図２８Ａ；図２８Ｂは、図２８Ａの拡大部分である）。投与期間の終わりに、動物をさらに２４日間モニターし、腫瘍増殖の遅延を追跡した。これらの研究の結果として、薬物を投与中に、１７－ＡＧまたはイリノテカンの単一の薬剤の投与と比較して、１７－ＡＧおよびイリノテカンの組合せは有効性の増加を示した（７７％の平均腫瘍増殖阻害（ＴＧＩ））ことが示された。さらに、研究の再増殖相の間に、１７－ＡＧおよびイリノテカンの組合せは、腫瘍進行において概ね１６日の遅延をもたらした。対照的に、イリノテカンの単一の薬剤の投与は、相対的に無効であり、薬物を投与中に約３５％の腫瘍増殖阻害のみ、および腫瘍増殖の遅延はなかった。興味深いことに、１７－ＡＧの単独投与は、薬物投与を停止すると７０％ＴＧＩおよび腫瘍進行の１０日の遅延をもたらした。

【０６８３】

実験９

結腸直腸がんモデルにおける新規なＨｓｐ９０阻害剤であるＩＰＩ－４９３の活性は、ＲＡＳ経路活性化と相関する。

【０６８４】

熱ショックタンパク質９０（Ｈｓｐ９０）は、種々の腫瘍性タンパク質（ＨＥＲ２、ＢＣＲ－ＡＢＬ、ＥＭＬ４－ＡＬＫおよび変異体ＥＧＦＲを含めた）の活性および安定性の維持におけるその役割によって、がんにおける魅力のある標的として出現してきた。Ｉｎｆｉｎｉｔｙは、２つの新規なＨｓｐ９０阻害剤であるＩＰＩ－５０４（ＩＶ投与）およびＩＰＩ－４９３（経口投与）を開発している。ＩＰＩ－５０４は、複数の第２相臨床試験において現在判定されており、ＩＰＩ－４９３は、２つの第１相試験において判定されている。結腸直腸がん（ＣＲＣ）におけるＩＰＩ－４９３の活性を調査するために、本発明者らは、ＣＲＣ細胞系のパネルに対してｉｎ ｖｉｔｒｏの増殖阻害（ＧＩ）研究を行った。ＩＰＩ－４９３は、ｋＲＡＳまたはｂＲＡＦ変異を持つ細胞系において、１０～１

００ｎＭの範囲のＧＩ$_{50}$を示した。ＩＰＩ－４９３のｉｎ　ｖｉｖｏの効力を調査するために、いくつかの変異体ｂＲＡＦ、変異体ｋＲＡＳ、および野生型ｋＲＡＳ／ｂＲＡＦ異種移植モデルを開発した。ＩＰＩ－４９３（１００ｍｇ／ｋｇ、週３回）の投与は、試験した変異体モデルの全てにおいて劇的な作用を示し、７０～９０％の腫瘍増殖阻害（ＴＧＩ）値および１つの変異体ｂＲＡＦモデルにおいて退縮を有した。重要なことに、ＩＰＩ－４９３がイリノテカンと組み合わせて判定されたとき、組合せは、いずれかの薬物単独に対してより優秀な有効性を示し、１０匹の動物のうち４匹において全体的な腫瘍退縮および／または完全な退縮がもたらされた。興味深いことに、野生型ｋＲＡＳ／ｂＲＡＦモデルにおいて、ＩＰＩ－４９３投与は、腫瘍増殖阻害をもたらさなかった。これらの結果は、ＭＡＰＫ経路の活性化がこれらの細胞をＨＳＰ９０阻害に対する感受性を受けやすくし得ることを示唆する。ＩＰＩ－４９３のＭＡＰＫ経路活性に対する作用を調査するために、本発明者らは、それらのＲＡＦ／ＲＡＳ変異状態が異なる複数の異種移植モデルにおけるＩＰＩ－４９３の単回投与の後で薬力学的分析を行った。変異体ｂＲＡＦモデルにおいて、経路活性は高く、ＩＰＩ－４９３投与はｂＲＡＦおよびＭＥＫ両方の活性の下方制御をもたらした。ｋＲＡＳまたはｂＲＡＦにおいて変異を含有しないモデルにおいて、本発明者らは、ｐ－ｂＲＡＦおよびｐ－ＭＥＫの両方の低いベースライン値を検出し、ＩＰＩ－４９３投与の作用は殆ど検出しない。全てのＣＲＣ異種移植におけるＲａｓ経路活性をＩＰＩ－４９３の有効性と比較したとき、経路の活性化とＩＰＩ－４９３による腫瘍増殖阻害との間に明らかな相関があった。Ｒａｓ経路活性化がＣＲＣ細胞をＩＰＩ－４９３に対する感受性を受けやすくするという本発明者らの知見、および本発明者らのイリノテカンとの組合せデータは、結腸直腸がんにおけるＨｓｐ９０阻害剤についての明らかな理論的根拠を提供する。

【０６８５】

結論

上記の実験から、Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧは、ＫＲＡＳおよびＢＲＡＦ変異体ＣＲＣのｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏモデルの両方において劇的な有効性を示したことが観察された。対照的に、ＫＲＡＳおよびＢＲＡＦの両方についてのモデルｗｔ／ｗｔの大部分は、Ｈｓｐ９０阻害に対して感受性が皆無かそれに近かった。Ｈｓｐ９０阻害剤である１７－ＡＧ、およびイリノテカンの組合せ（ＣＲＣにおけるＳＯＣ）は、単独で投与されたいずれかの薬剤よりも有効性を示すことがまた観察された。

【０６８６】

変異体Ｋ－Ｒａｓ／Ｂ－Ｒａｆおよびｗｔ／ｗｔモデルからの腫瘍の経路分析は、ＭＡＰＫ経路活性がＨｓｐ９０感受性の良好な予測の判断材料であることを示した。例えば、全ての「感受性」モデルは、ベースラインＭＡＰＫ経路活性の増加を示し、一方非常に低いＭＡＰＫ経路活性を示したモデルにおいては検出可能な有効性は観察されなかった。ＭＡＰＫ経路（ＲＡＳ－ＲＡＦ－ＭＥＫ）活性の分析によって、ＩＰＩ－４９３感受性を予測する臨床戦略を提供することができる。

【０６８７】

これらのデータは、ＨＳＰ９０阻害がＳＯＣと匹敵し、ＨＳＰ９０ｉとＳＯＣの組合せは、ｍＣＲＣの治療のためのより効果的なアプローチであり得ることを示す。

【０６８８】

（実施例８）

Ｒａｓ駆動悪性腫瘍を治療するためのＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲキナーゼ阻害剤の組合せの実効性

ｍＴＯＲキナーゼは、様々な腫瘍抑制物質および癌遺伝子（ＰＴＥＮ、ＴＳＣ１／２、ＬＫＢ、ＮＦ１、ＰＩ３ＫおよびＲＡＳを含めた）における遺伝子変化によって、ヒトがんにおいて調節解除されることが多い（Ｍｅｎｏｎ，　Ｓ．ら、（２００８年）Ｏｎｃｏｇｅｎｅ、２７巻、補遺２、Ｓ４３～５１頁；Ｓａｂａｔｉｎｉ，　Ｄ．Ｍ．（２００６年）Ｎａｔ　Ｒｅｖ　Ｃａｎｃｅｒ、６巻、７２９～７３４頁）。結果的に、ｍＴＯＲ阻害剤は、診療所において可能性があるがん治療として判定されてきた（Ｃｈｉａｎｇ，

Ｇ．Ｇ．ら、（２００７年）Ｔｒｅｎｄｓ Ｍｏｌ Ｍｅｄ、１３巻、４３３～４４２頁）。これらの阻害剤が腫瘍タイプのサブセットにおいて有効性を示す一方、反応は典型的には細胞増殖抑制性および一時的であり、これはｍＴＯＲ阻害剤が他の薬剤と合わせたときにより有効であり得ることを示唆する（Ｄａｎｃｅｙ， Ｊ．（２０１０年）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、７巻、２０９～２１９頁）。ｍＴＯＲ阻害剤と小胞体ストレスを誘発する薬剤、例えば、ＨＳＰ９０阻害剤であるＩＰＩ－５０４とを合わせた強力な治療効果は、本明細書において示されている。ラパマイシン／ＩＰＩ－５０４治療は、非小細胞肺がん（ＮＳＣＬＣ）のＫｒａｓ Ｇ１２Ｄ／ｐ５３遺伝子改変モデルにおいて腫瘍退縮をもたらす（データは示さず）。これらの知見は、Ｒａｓ駆動悪性腫瘍のためのＨＳＰ９０阻害剤およびｍＴＯＲ阻害剤の組合せに基づいた治療を開発するための有望な戦略を明らかにする。

【０６８９】

ＲＡＳにおける活性化変異によって駆動される腫瘍におけるラパマイシン／ＩＰＩ－５０４の併用療法の可能性がある治療有効性を調査するために、ＮＳＣＬＣがＫＲＡＳおよびｐ５３における化合物変異によって駆動される遺伝子改変モデルを使用した（Ｊａｃｋｓｏｎ， Ｅ．Ｌ．ら、（２００５年）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ、６５巻、１０２８０～１０２８８頁）。このモデルにおいて、肺腺癌は、アデノウイルスＣｒｅの鼻腔内投与によって誘発され、これによって同時的な単一のＫｒａｓ Ｇ１２Ｄ対立遺伝子の発現およびｐ５３の喪失がもたらされる（本明細書でＬＳＬＫｒａｓＧ１２Ｄ／＋；ｐ５３ｆｌ／ｆｌマウスと称する）。

【０６９０】

組み合わせたラパマイシンおよびＩＰＩ－５０４の投与は、腫瘍退縮をもたらす（データは示さず）。

【０６９１】

とりわけ、合わせたＭＥＫおよびＰＩ３Ｋ阻害剤が、Ｋｒａｓ Ｇ１２Ｄ変異のみを持つマウスのＮＳＣＬＣにおいて腫瘍退縮を促進することが示されてきた一方（Ｅｎｇｅｌｍａｎ， Ｊ．Ａ．ら、（２００８年）Ｎａｔ Ｍｅｄ、１４巻、１３５１～１３５６頁）、今日までに、どのような標的療法も、より侵襲性なＫｒａｓＧ１２Ｄ、ｐ５３欠損腫瘍の退縮を促進することが示されてこなかった。これらの結果は、この知見の重要性、およびヒトにおけるＫＲＡＳ駆動ＮＳＣＬＣにおける治療の開発に対するその可能性がある影響を強調する。

【０６９２】

将来の研究は、この組合せの治療効果が他のＲａｓ駆動および／またはｍＴＯＲ駆動がんに広げることができるかを明らかにすべきである。ｍＴＯＲ阻害剤がいくつかのがんにおいて抗腫瘍活性を示す一方、これらの薬剤の有効性および有用性を増強する一致協力の努力が行われてきた（Ｄａｎｃｅｙ， Ｊ．（２０１０年）Ｎａｔ Ｒｅｖ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、７巻、２０９～２１９頁に概説されている）。１つの戦略は、より強力なｍＴＯＲまたはデュアル（ｍＴＯＲ／ＰＩ３Ｋ）阻害剤を開発することであった。いくつかの第２世代化合物が現在開発中であり、臨床試験によってそれらがより効果的であるかについて究極的に明らかになるであろう。しかし、第２のアプローチは、ｍＴＯＲ阻害剤の一般に細胞増殖抑制作用を細胞毒性反応に変換することができる併用療法を同定することであった。ＫＲＡＳ駆動肺がんにおける強力なｍＴＯＲ阻害剤をベースとする併用療法を開発するための有望な戦略が、本明細書において開示されている。

【０６９３】

これらの研究は、ラパマイシン／ＩＰＩ－５０４の併用療法の臨床調査を支持する説得力のあるデータを提供する一方、これらはまた他の関連する薬剤との組合せを開発するための基礎としての役割を果たす。例えば、より強力なｍＴＯＲ阻害剤は、この組合せの治療有効性を増強することができる。同様に、現在臨床開発中のいくつかの構造的に関連しないＨｓｐ９０阻害剤が存在し、これは有効性および／または毒性が異なり得る数々の化合物を提供するはずである。しかし、腫瘍退縮をエンドポイントとして使用した遺伝学的

に異質な腫瘍における単独療法としてもっぱら評価される場合、これらの薬剤の可能性がある有用性を見過ごし得る。

【０６９４】

本発明者らの知見は、これらの薬剤が、合わせたときに強力に協同し、基礎的細胞生物学的過程（小胞体ストレスおよび自己貪食）に集中して、単一の標的薬剤に対して抵抗性の２種のロバストな動物腫瘍モデルにおいて腫瘍細胞を選択的に死滅させることができることを示す。

【０６９５】

（実施例９）

ＨＳＰ９０阻害剤は、神経内分泌およびカルチノイド細胞系の増殖をｉｎ　ｖｉｔｒｏで阻害する。

【０６９６】

材料および方法

細胞系ＢＯＮ－１（膵臓に由来する転移性細胞）、Ｈ－７２０（肺に由来するカルチノイド細胞）、ＱＧＰ－１（膵島細胞の癌腫に由来する）およびＨＣ４５（回腸に由来するカルチノイド細胞）を、１０％ウシ胎仔血清、１μｇ／ｍｌのストレプトマイシンおよび１μｇ／ｍｌのペニシリンを補充したＲＰＭＩ－１６４０培地において増殖させた。全ての細胞系をマイコプラズマについて試験し、５％ＣＯ２雰囲気中で３７℃にて維持した。

【０６９７】

細胞を、９６ウェルプレート中で１０，０００個の細胞／ウェルで２４時間播種し、続いて増加する濃度のＩＰＩ－５０４と共に７２時間インキュベートし、重要なミトコンドリア機能染色Ｃｅｌｌ　Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏｗキット（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を使用して生存率研究を行った。データをＤＭＳＯビヒクル対照に対して標準化し、増殖阻害ＧＩ５０値を得た。

【０６９８】

背景

胃腸膵管神経内分泌腫瘍（ＧＥＰ－ＮＥＴ、またカルチノイドと称される）は当初新生物の同種の群と見られたが、ＧＥＰ－ＮＥＴの分子特性解析における進歩は、ＷＨＯによって２０００年に公表されたより複雑な分類をもたらした。２～３：１００，０００の報告される発生率があり、これらの腫瘍は相対的にまれであるが、５年生存率は僅か約６７％である。過剰な生体アミンおよびホルモンを生成する局所性腫瘍について、全身的症状はこれらの分子の急速な肝クリアランスによって限定される。しかし、転移した腫瘍は、下痢、潮紅、喘鳴および発疹を含めた普通に生活できなくする症状を有することが多い。

【０６９９】

局所性腫瘍に最適な治療法は、いまだ外科的切除である。しかし、約８０％の患者において、来院時に肝転移またはリンパ節転移が既に発生している。進行期において、医学的治療の選択肢は、いまだ乏しい。腫瘍に関連する症状は、インターフェロン－αと合わされることがあるソマトスタチン類似体（すなわち、ランレオチドおよびオクトレオチド）によって良好に制御されることが多いが、腫瘍増殖の有効な阻害剤は、現時点では利用可能でない。エトポシドおよびシスプラチン、またはストレプトゾシンおよび５－ＦＵまたはドキソルビシンの組合せは、化学療法による治療において使用されるが、奏効率は期待外れの０～３０％である。したがって、有効な新規な治療戦略が緊急に必要とされている。

【０７００】

がんの治療のための出現しつつある標的である熱ショックタンパク質９０（Ｈｓｐ９０）は、腫瘍形成において関係付けられている多くの「クライアント」タンパク質と関連する高度に発現しているタンパク質シャペロンである。実際に、多数のＨｓｐ９０クライアントタンパク質は、細胞増殖、血管新生、浸潤、および転移に関与するキナーゼまたは転写因子である。Ｈｓｐ９０は、乳房、子宮内膜、卵巣、結腸、肺および前立腺を含めた広範囲の腫瘍タイプにおいて過剰発現していることが示されてきた（Ｃｉｏｃｃａ　ＤＲら

、（２００５年）Ｃｅｌｌ Ｓｔｒｅｓｓ Ｃｈａｐｅｒｏｎｅｓ．、１０巻（２号）：８６～１０３頁）。注目すべきなのは、ＧＥＰ－ＮＥＴにおいて過剰発現していることが公知であるタンパク質のいくつか（ＥＧＦＲ、ＥＲｂＢ２、ＩＧＦ１－ＲおよびＡＫＴを含めた）は、Ｈｓｐ９０によってレギュレートされる（Ｈｏｐｆｎｅｒ Ｍら、（２００８年）ＷＪＧ．、１４巻（１６号）：２４６１頁；Ｐｉｔｔ ＳＣら、（２００９年）Ａｍ Ｊ Ｔｒａｎｓｌ Ｒｅｓ．、１巻（３号）：２９１～２９９頁）。

【０７０１】

Ｈｓｐ９０の阻害は、ユビキチンプロテアソーム経路によってクライアントタンパク質の急速な分解をもたらす（ＭｃＤｏｎｏｕｇｈ Ｈら、（２００３年）Ｃｅｌｌ Ｓｔｒｅｓｓ Ｃｈａｐｅｒｏｎｅｓ．、８巻（４号）：３０３～３０８頁）。研究によって、固形がん（例えば、肺、乳房、前立腺、膵臓、黒色腫）および血液がん（例えば、慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫）の複数のモデルにおけるＨｓｐ９０阻害剤の活性が示されてきた。いくつかのＧＥＰ－ＮＥＴ細胞系の増殖、およびその作用機序に対するＨＳＰ９０阻害剤（ＩＰＩ－５０４など）のｉｎ ｖｉｔｒｏの作用。

【０７０２】

結果

図２９Ａおよび２９Ｂにおけるグラフは、様々な濃度の１７－ＡＧ（ＩＰＩ－４９３）およびＩＰＩ－５０４についての、３種の細胞系（ＢＯＮ－１、ＱＧＰ－１およびＨ－７２０）における増殖阻害パーセントを示す。増加する濃度のＩＰＩ－５０４で７２時間処理された４種の神経内分泌細胞系は、細胞増殖において用量依存的減少を示した。細胞系ＮＣＩ－Ｈ７２０およびＨＣ－４５の増殖阻害は、最高１００％に達したが、これはＩＰＩ－５０４の細胞毒性作用を示唆し、一方、細胞系ＢＯＮ－１およびＱＧＰ－１は６０％で増殖阻害プラトーに達したが、これはこの薬物の細胞増殖抑制作用を示唆する（図２９Ａ）。

【０７０３】

さらに、１７－ＡＧ、ＩＰＩ－５０４、ＳＮＸ－２１１２およびＮＶＰ－ＡＵＹ９２２についてのＧＩ５０値（すなわち、処理細胞の増殖を未処理細胞の増殖の半分に減少させるために必要とする化合物の濃度）を、表６に提供する。試験した全てのカルチノイド細胞系は、GI_{50}値が１０ｎＭ～１μＭであり、ＩＰＩ－５０４に対して感受性であった（表６）。

【０７０４】

【表６】

表 6. GI50 値 (nm)

	BON-1	H-720	QGP-1	HC-45
17-AG	19	189	10	88
化合物 2 (IPI-504)	49	930	302	705
SNX-2112	35	133	25	224
NVP-AUY922	13	68	3	28

【０７０５】

したがって、ＩＰＩ－５０４およびＩＰＩ－４９３（１７－ＡＧ）は、アポトーシスおよび細胞周期停止を誘発することによって、神経内分泌細胞系の増殖を阻害する。

【０７０６】

（実施例１０）

ＢＯＮ－１細胞の異種移植研究

６～８週齢の雄性ＮＣｒヌード胸腺欠損（ｎｕ－／ｎｕ－）マウス（Ｔａｃｏｎｉｃ Ｆａｒｍｓ、Ｈｕｄｓｏｎ、ＮＹ）を、動物実験委員会のガイドラインによって保持した。異種移植は５×１０６個のＢＯＮ－１細胞を４０匹のマウスの脇腹に注射することによ

って生じさせた。ＩＰＩ－５０４（本明細書においてＩＰＩ－５０４とまた称される）（１５ｍｇ／ｋｇ）またはビヒクルを、腹腔内に週２回投与し（療法群毎にｎ＝１０）、腫瘍異種移植のサイズをカリパスで週２回モニターした。結果を平均およびＳＥＭとして示す。図３０に示すように、ＩＰＩ－５０４で処理したマウスは、研究の終わりに、ビヒクルと比較して腫瘍サイズの５８％の減少を示した。

【０７０７】

（実施例１１）

ＩＰＩ－５０４は、Ｈｓｐ９０クライアントタンパク質ＩＧＦ－１Ｒを阻害する。

材料および方法

ＢＯＮ－１およびＨ－７２０細胞ライセートを、メーカーの説明書に従って、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓのヒトホスホ－受容体チロシンキナーゼ（ＲＴＫ）アレイ（カタログ＃ＡＲＹ００１）にハイブリダイズした。アレイにおいて、各ＲＴＫを２連でスポットする。コーナーにおけるハイブリダイゼーションシグナルは、対照としての役割を果たす。ＢＯＮ－１およびＨ－７２０細胞がＩＲおよびＩＧＦ１Ｒ受容体の恒常的リン酸化を示すことをアレイは明らかにした。一晩の１μＭのＩＰＩ－５０４または１７－ＡＧによる処理は、この恒常的リン酸化を阻害した。

【０７０８】

結果

インスリン様増殖因子１受容体（ＩＧＦ－１Ｒ）は胃腸膵管神経内分泌腫瘍（ＧＥＰ－ＮＥＴ）細胞において過剰発現しており、またＨｓｐ９０のクライアントタンパク質である。ＢＯＮ－１細胞を、増加する濃度のＩＰＩ－５０４と共に２４時間インキュベートし、メーカーのプロトコールに従ってホスホ－ＩＧＦ－１Ｒ ＥＬＩＳＡを使用して、リン酸化ＩＧＦ－１Ｒのレベルを細胞ライセート中でモニターした（カタログ＃７８２０、Ｔｙｒ１１３１）。図３１に示すように、ＩＰＩ－５０４による処理によって、ホスホ－ＩＧＦ－１Ｒは、ＢＯＮ－１細胞において用量依存的に分解された。タンパク質分解のＥＣ５０、およびＩＰＩ－５０４のｉｎ ｖｉｔｒｏの増殖阻害活性は同様であり（約５０ｎＭ）、これはＩＰＩ－５０４の抗腫瘍活性は部分的にこの増殖因子受容体の不活性化によるものであることを示唆する。

【０７０９】

したがって、増殖因子受容体であるＩＧＦ－１Ｒは、ＢＯＮ－１細胞系において恒常的に活性化されている。ＩＰＩ－５０４による処理は、ホスホ－ＩＧＦ－１Ｒの量を用量依存的に減少させる。この過程についてのＩＣ５０は、ＩＰＩ－５０４によるＢＯＮ－１細胞の増殖阻害とマッチする。したがって、ＩＧＦ－１Ｒリン酸化の阻害は、ＩＰＩ－５０４による可能性のある作用機序であり得る。

【０７１０】

（実施例１２）

神経内分泌細胞系における合わせたＨｓｐ９０阻害およびｍＴＯＲまたはＡｋｔ阻害の相加効果

材料および方法

ＢＯＮ－１細胞を、１μＭのＩＰＩ－５０４、１００ｎＭのラパマイシン（Ｓｉｇｍａ）または両方の組合せと共に、６時間または２４時間インキュベートした。ｐＡＫＴ、総ＡＫＴ、ｐＳ６、総Ｓ６、ｐＥＲＫ１／２（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ）、ＩＧＦ－１Ｒｂ、Ｈｓｐ７０、およびｂ－アクチン（Ｓａｎｔａ Ｃｒｕｚ）について、５０μｇの細胞ライセートをイムノブロットした。Ｂｉｏ－Ｒａｄ Ｖｅｒｓａ Ｄｏｃシステムで画像分析およびバンド量子化を行った。ＧＡＤＰＨの発現をタンパク質負荷についての対照として使用した。

【０７１１】

結果

ＰＩ３Ｋ／Ａｋｔ／ｍＴＯＲ経路は神経内分泌腫瘍において活性化されるため、ＧＥＰ－ＮＥＴ細胞を、ＩＰＩ－５０４、およびＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路を阻害する薬物で処理し

、組合せ作用を探した。１つの実験において、ＢＯＮ－１細胞を、１μＭのＩＰＩ－５０４、１００ｎＭのラパマイシンまたは両方の組合せと共に６時間または２４時間インキュベートした。５０μｇの細胞ライセートを、ｐＡＫＴ、総ＡＫＴ、ｐＳ６、ＩＧＦ－１Ｒβ、Ｈｓｐ７０、およびβ－アクチンについてイムノブロットした。ラパマイシン阻害は、ＡＫＴリン酸化の増加をもたらし、一方ＩＰＩ－５０４のインキュベーションは、ＡＫＴ分解をもたらす。ＩＰＩ－５０４およびラパマイシンの組合せは、相加効果を示した（図３２）。これらのデータは、ＩＰＩ－５０４およびラパマイシンが一緒に相加的に作用し、ｍＴＯＲの下流のＳ６キナーゼ活性化を阻害することを示す。

【０７１２】

考察

ソマトスタチン類似体などの確立されている薬物の使用によって、転移したＧＥＰ－ＮＥＴを有する患者が遭遇する衰弱させることが多い分泌過多症候群の制御において大いなる進展がなされてきた（Ｐａｎｚｕｔｏ Ｆら、（２００６年）Ａｎｎ． Ｏｎｃｏｌ．、１７巻（３号）：４６１～４６６頁）。しかし、腫瘍進行を遅延させ、または寛解を誘発することを目的とした細胞増殖抑制療法レジメンは、その成功が限定されてきた（Ｋｏｕｖａｒａｋｉ ＭＡら、（２００４年）Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ．、２２巻（２３号）：４７６２～４７７１頁）。調節解除されたＨｓｐ９０は、腫瘍の生存および進行のために重要であることは公知であり（Ｍａｈａｌｉｎｇａｍ Ｄら、（２００９年）Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ．、１００巻（１０号）：１５２３～１５２９頁；Ｃｉｏｃｃａ ＤＲら、（２００５年）Ｃｅｌｌ Ｓｔｒｅｓｓ Ｃｈａｐｅｒｏｎｅｓ．、１０巻（２号）：８６～１０３頁）、ＧＥＰ－ＮＥＴにおいて調節解除されるいくつかのタンパク質はＨｓｐ９０によって少なくとも部分的に制御される（Ｈｏｐｆｎｅｒ Ｍら、（２００８年）ＷＪＧ．、１４巻（１６号）：２４６１頁；Ｐｉｔｔ ＳＣら、（２００９年）Ａｍ Ｊ Ｔｒａｎｓｌ Ｒｅｓ．、１巻（３号）：２９１～２９９頁）。この研究において、ＩＰＩ－５０４によるＨｓｐ９０の阻害は、神経内分泌腫瘍細胞を阻害することは公知であり、したがって新規なＧＥＰ－ＮＥＴ治療の選択肢についての有望なアプローチを提供する。

【０７１３】

ＧＥＰ－ＮＥＴは非常に異質であり、ゆっくり増殖する腫瘍および急速に増殖する侵襲性な腫瘍の両方が含まれるため（Ｋｌｏｐｐｅｌ Ｇら、（２００４年）Ａｎｎａｌｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ。１０１４（Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｐａｎｃｒｅａｔｉｃ Ｎｅｕｒｏｅｎｄｏｃｒｉｎｅ Ｔｕｍｏｒ Ｄｉｓｅａｓｅ：Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ａｎｄ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｓｐｅｃｔｓ）：１３～２７頁）、新規な治療剤を試験するときに、この腫瘍実体の異なる代表的なものを判定することが重要である。したがって、異なる増殖速度および起源の５つの細胞系を試験した。異なる細胞系におけるＩＰＩ－５０４のＩＣ$_{50}$値は、細胞の倍増時間に対する明らかな相関を示さず、これはＨｓｐ９０阻害に対する感受性を決定することにおいて増殖速度以外の特徴がより重要であり得ることを示す。

【０７１４】

ＩＰＩ－５０４によるＧＥＰ－ＮＥＴ細胞系の処理は、細胞周期停止および／またはアポトーシスを誘発することによって、細胞増殖の時間および用量依存的な減少をもたらした。ＢＯＮ－１およびＣＭ細胞において、ＩＰＩ－５０４の抗増殖性作用は、ＩＧＦ－１受容体のタンパク質レベルの減少と相関したが、ＩＧＦ－１受容体は、ＧＥＰ－ＮＥＴの生存および増殖において重要な役割を果たすと本発明者らが報告した以前の公開資料と十分一致している（Ｈｏｐｆｎｅｒ Ｍら、（２００６年）Ｅｎｄｏｃｒ． Ｒｅｌａｔ． Ｃａｎｃｅｒ．、１３巻（１号）：１３５～１４９頁）。さらに、神経内分泌腫瘍細胞におけるＩＧＦ－１受容体によって密接にレギュレートされていると考えられるＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ／ｍＴＯＲ経路におけるいくつかのタンパク質（ｖｏｎ Ｗｉｃｈｅｒｔ Ｇら、（２００５年）Ｏｎｃｏｇｅｎｅ、２４巻（７号）：１２８４～１２８９頁）は、Ｈｓｐ９０阻害の結果として下方制御された。これは、ＩＧＦ－１Ｒの下方制御の結果として

だけでなく、Ｈｓｐ９０阻害の直接の影響として起こる可能性が高い。ＡＫＴは、そのシャペロンとしてＨｓｐ９０と会合し、分解を防止することが公知である。ＩＰＩ－５０４によるＧＥＰ－ＮＥＴの処理は、活性リン酸化ＡＫＴの量を減少させただけでなく、総ＡＫＴの減少をまたもたらしたが、これはこのタンパク質のユビキチン化の増加を示す。さらに、ＰＩ３Ｋ－ＡＫＴ経路におけるさらなる下流のリボソームタンパク質Ｓ６（ｒｐＳ６）はまた、Ｈｓｐ９０によって下方制御され、直接的に影響される（Ｋｉｍ　Ｔら、（２００６年）Ｍｏｌ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｅｌｌ．、１７巻（２号）：８２４～８３３頁）。

【０７１５】

次に、ＩＰＩ－５０４と他の標的がん療法薬との組合せを判定した。タンパク質ｍＴＯＲＣ１は、ＰＩ３Ｋ－ＡＫＴ経路の一部であり、ＡＫＴと密接に相互作用する（Ｓａｒｂａｓｓｏｖ　ＤＤら、（２００５年）Ｓｃｉｅｎｃｅ、３０７巻（５７１２号）：１０９８～１１０１頁）。膵臓の神経内分泌腫瘍を有する患者において、オクトレオチドを有するまたは有さないｍＴＯＲＣ１阻害剤の作用を調査する第ＩＩ相研究が最近完了し、有望な結果が得られた。ｍＴＯＲＣ１阻害は、フィードバック阻害の欠如によるＡＫＴの上方制御をもたらすことを示す研究（Ｏ’Ｒｅｉｌｌｙ　ＫＥら、（２００６年）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．、６６巻（３号）：１５００～１５０８頁）によって、ｍＴＯＲＣ１阻害剤を、ＰＩ３Ｋ／ＡＫＴ経路における他のタンパク質を標的とする薬物のための組合せパートナーとしてさらにより魅力のあるものとする。結果として、いくつかの新規な化合物が、デュアルＰＩ３Ｋ／ｍＴＯＲＣ１阻害剤として研究されている。したがって、本発明者らは、ＩＰＩ－５０４とｍＴＯＲＣ１阻害剤であるラパマイシンとを合わせ、強力な抗増殖性相加効果を見出した。これらの結果は、少なくとも２つの理由によって重要である。第１に、がんにおける標的療法のための化学療法剤を使用した多くのｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏ研究は、僅かな抗新生物作用を示すのみであり、疾患の減速を主にもたらした。これは細胞の逃避機序のためであると考えられ、これは単一分子のみを標的とするときにより明白である。したがって、本発明者らの結果において示されるように、複数の部位において同時に増殖経路を標的とすることによって、より良好な腫瘍反応をｉｎ　ｖｉｖｏでもたらし得る。第２に、２種の薬剤を合わせることによって、臨床現場において有害事象を減少させることを期待することができる。

【０７１６】

最近、いくつかの研究は、Ｈｓｐ９０が細胞外レベルで重要であり得ることを示したが、細胞外レベルではＨｓｐ９０は細胞運動に影響を与えることができる（Ｓｉｄｅｒａｓ　Ｋら、（２００８年）Ｃｅｌｌ　Ｃｙｃｌｅ．、７巻（１１号）：１５６４～１５６８頁）。細胞外Ｈｓｐ９０を選択的に標的とするモノクローナル抗体は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでがんの異なるタイプにおける転移病変の形成を減少させることが示されてきた（Ｓｔｅｌｌａｓ　Ｄら、（２００７年）Ｃｌｉｎ．　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．、１３巻（６号）：１８３１～１８３８頁）。ＩＰＩ－５０４は、胃腸の神経内分泌腫瘍細胞の移動を強力に阻害し、したがってこれは転移性疾患におけるその役割の概念を支持する。

【０７１７】

要約すれば、Ｈｓｐ９０阻害は、ＧＥＰ－ＮＥＴにおいて魅力のある標的である。本発明者らの研究における併用療法は、有望な相加効果を示したが、転移性疾患はこの新規な療法薬の選択肢のための特に有望な標的であるように思われる。

【０７１８】

参照による組込み

本明細書において言及した全ての公開資料、特許、および特許出願は、各個々の公開資料、特許または特許出願が、特におよび個々に参照により組み込まれていることが示されるように、参照によりその全体が本明細書に組み込まれている。矛盾が起こったら、本明細書における任意の定義を含めた本出願が優先する。

【０７１９】

その全体が参照によりまた組み込まれているのは、ゲノム研究所（ＴＩＧＲ）（ワール

ドワイドウェブ、ｔｉｇｒ．ｏｒｇ）および／または国立バイオテクノロジー情報センター（ＮＣＢＩ）（ワールドワイドウェブ、ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ）によって維持されているものなどの、その参照受託番号が公共データベースにおけるエントリーと関連する任意のポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列である。

【０７２０】

均等物

単に通常の実験法を使用して、本明細書に記載されている本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を、当業者であれば理解するであろうし、または確認することができる。このような均等物は、下記の特許請求の範囲によって包含されることを意図する。

【０７２１】

【表１－１】

表 1

ALK（未分化リンパ腫キナーゼ）配列
ALK 野生型 mRNA
Ref Seq: NM_004304.3 GI:29029631

```
GGGGGCGGCA GCGGTGGTAG CAGCTGGTAC CTCCCGCCGC CTCTGTTCGG  50
AGGGTCGCGG GGCACCGAGG TGCTTTCCGG CCGCCCTCTG GTCGGCCACC  100
CAAAGCCGCG GGCGCTGATG ATGGGTGAGG AGGGGGCGGC AAGATTTCGG  150
GCGCCCCTGC CCTGAACGCC CTCAGCTGCT GCCGCCGGGG CCGCTCCAGT  200
GCCTGCGAAC TCTGAGGAGC CGAGGCGCCG GTGAGAGCAA GGACGCTGCA  250
AACTTGCGCA GCGCGGGGGC TGGGATTCAC GCCCAGAAGT TCAGCAGGCA  300
GACAGTCCGA AGCCTTCCCG CAGCGGAGAG ATAGCTTGAG GGTGCGCAAG  350
ACGGCAGCCT CCGCCCTCGG TTCCCGCCCA GACCGGGCAG AAGAGCTTGG  400
AGGAGCCAAA AGGAACGCAA AAGGCGGCCA GGACAGCGTG CAGCAGCTGG  450
GAGCCGCCGT TCTCAGCCTT AAAAGTTGCA GAGATTGGAG GCTGCCCCGA  500
GAGGGGACAG ACCCCAGCTC CGACTGCGGG GGGCAGGAGA GGACGGTACC  550
CAACTGCCAC CTCCCTTCAA CCATAGTAGT TCCTCTGTAC CGAGCGCAGC  600
GAGCTACAGA CGGGGGCGCG GCACTCGGCG CGGAGAGCGG GAGGCTCAAG  650
GTCCCAGCCA GTGAGCCCAG TGTGCTTGAG TGTCTCTGGA CTCGCCCCTG  700
AGCTTCCAGG TCTGTTTCAT TTAGACTCCT GCTCGCCTCC GTGCAGTTGG  750
GGGAAAGCAA GAGACTTGCG CGCACGCACA GTCCTCTGGA GATCAGGTGG  800
AAGGAGCCGC TGGGTACCAA GGACTGTTCA GAGCCTCTTC CCATCTCGGG  850
GAGAGCGAAG GGTGAGGCTG GGCCCGGAGA GCAGTGTAAA CGGCCTCCTC  900
CGGCGGGATG GGAGCCATCG GGCTCCTGTG GCTCCTGCCG CTGCTGCTTT  950
CCACGGCAGC TGTGGGCTCC GGGATGGGGA CCGGCCAGCG CGCGGGCTCC  1000
CCAGCTGCGG GGCCGCCGCT GCAGCCCCGG GAGCCACTCA GCTACTCGCG  1050
CCTGCAGAGG AAGAGTCTGG CAGTTGACTT CGTGGTGCCC TCGCTCTTCC  1100
GTGTCTACGC CCGGGACCTA CTGCTGCCAC CATCCTCCTC GGAGCTGAAG  1150
GCTGGCAGGC CCGAGGCCCG CGGCTCGCTA GCTCTGGACT GCGCCCCGCT  1200
GCTCAGGTTG CTGGGGCCGG CGCCGGGGGT CTCCTGGACC GCCGGTTCAC  1250
CAGCCCCGGC AGAGGCCCGG ACGCTGTCCA GGGTGCTGAA GGGCGGCTCC  1300
GTGCGCAAGC TCCGGCGTGC CAAGCAGTTG GTGCTGGAGC TGGGCGAGGA  1350
GGCGATCTTG GAGGGTTGCG TCGGGCCCCC CGGGGAGGCG GCTGTGGGGC  1400
TGCTCCAGTT CAATCTCAGC GAGCTGTTCA GTTGGTGGAT TCGCCAAGGC  1450
GAAGGGCGAC TGAGGATCCG CCTGATGCCC GAGAAGAAGG CGTCGGAAGT  1500
GGGCAGAGAG GGAAGGCTGT CCGCGGCAAT TCGCGCCTCC CAGCCCCGCC  1550
TTCTCTTCCA GATCTTCGGG ACTGGTCATA GCTCCTTGGA ATCACCAACA  1600
AACATGCCTT CTCCTTCTCC TGATTATTTT ACATGGAATC TCACCTGGAT  1650
AATGAAAGAC TCCTTCCCTT TCCTGTCTCA TCGCAGCCGA TATGGTCTGG  1700
AGTGCAGCTT TGACTTCCCC TGTGAGCTGG AGTATTCCCC TCCACTGCAT  1750
GACCTCAGGA ACCAGAGCTG GTCCTGGCGC CGCATCCCCT CCGAGGAGGC  1800
CTCCCAGATG GACTTGCTGG ATGGGCCTGG GGCAGAGCGT TCTAAGGAGA  1850
TGCCCAGAGG CTCCTTTCTC CTTCTCAACA CCTCAGCTGA CTCCAAGCAC  1900
ACCATCCTGA GTCCGTGGAT GAGGAGCAGC AGTGAGCACT GCACACTGGC  1950
CGTCTCGGTG CACAGGCACC TGCAGCCCTC TGGAAGGTAC ATTGCCCAGC  2000
TGCTGCCCCA CAACGAGGCT GCAAGAGAGA TCCTCCTGAT GCCCACTCCA  2050
GGGAAGCATG GTTGGACAGT GCTCCAGGGA AGAATCGGGC GTCCAGACAA  2100
CCCATTTCGA GTGGCCCTGG AATACATCTC CAGTGGAAAC CGCAGCTTGT  2150
CTGCAGTGGA CTTCTTTGCC CTGAAGAACT GCAGTGAAGG AACATCCCCA  2200
GGCTCCAAGA TGGCCCTGCA GAGCTCCTTC ACTTGTTGGA ATGGGACAGT  2250
CCTCCAGCTT GGGCAGGCCT GTGACTTCCA CCAGGACTGT GCCCAGGGAG  2300
AAGATGAGAG CCAGATGTGC CGGAAACTGC CTGTGGGTTT TTACTGCAAC  2350
TTTGAAGATG GCTTCTGTGG CTGGACCCAA GGCACACTGT CACCCCACAC  2400
TCCTCAATGG CAGGTCAGGA CCCTAAAGGA TGCCCGGTTC CAGGACCACC  2450
AAGACCATGC TCTATTGCTC AGTACCACTG ATGTCCCCGC TTCTGAAAGT  2500
```

【０７２２】

【表１－２】

```
GCTACAGTGA CCAGTGCTAC GTTTCCTGCA CCGATCAAGA GCTCTCCATG  2550
TGAGCTCCGA ATGTCCTGGC TCATTCGTGG AGTCTTGAGG GGAAACGTGT  2600
CCTTGGTGCT AGTGGAGAAC AAAACCGGGA AGGAGCAAGG CAGGATGGTC  2650
TGGCATGTCG CCGCCTATGA AGGCTTGAGC CTGTGGCAGT GGATGGTGTT  2700
GCCTCTCCTC GATGTGTCTG ACAGGTTCTG GCTGCAGATG GTCGCATGGT  2750
GGGGACAAGG ATCCAGAGCC ATCGTGGCTT TTGACAATAT CTCCATCAGC  2800
CTGGACTGCT ACCTCACCAT TAGCGGAGAG GACAAGATCC TGCAGAATAC  2850
AGCACCCAAA TCAAGAAACC TGTTTGAGAG AAACCCAAAC AAGGAGCTGA  2900
AACCCGGGGA AAATTCACCA AGACAGACCC CCATCTTTGA CCCTACAGTT  2950
CATTGGCTGT TCACCACATG TGGGGCCAGC GGGCCCCATG GCCCCACCCA  3000
GGCACAGTGC AACAACGCCT ACCAGAACTC CAACCTGAGC GTGGAGGTGG  3050
GGAGCGAGGG CCCCCTGAAA GGCATCCAGA TCTGGAAGGT GCCAGCCACC  3100
GACACCTACA GCATCTCGGG CTACGGAGCT GCTGGCGGGA AAGGCGGGAA  3150
GAACACCATG ATGCGGTCCC ACGGCGTGTC TGTGCTGGGC ATCTTCAACC  3200
TGGAGAAGGA TGACATGCTG TACATCCTGG TTGGGCAGCA GGGAGAGGAC  3250
GCCTGCCCCA GTACAAACCA GTTAATCCAG AAAGTCTGCA TTGGAGAGAA  3300
CAATGTGATA GAAGAAGAAA TCCGTGTGAA CAGAAGCGTG CATGAGTGGG  3350
CAGGAGGCGG AGGAGGAGGG GGTGGAGCCA CCTACGTATT TAAGATGAAG  3400
GATGGAGTGC CGGTGCCCCT GATCATTGCA GCCGGAGGTG GTGGCAGGGC  3450
CTACGGGGCC AAGACAGACA CGTTCCACCC AGAGAGACTG GAGAATAACT  3500
CCTCGGTTCT AGGGCTAAAC GGCAATTCCG GAGCCGCAGG TGGTGGAGGT  3550
GGCTGGAATG ATAACACTTC CTTGCTCTGG GCCGGAAAAT CTTTGCAGGA  3600
GGGTGCCACC GGAGGACATT CCTGCCCCCA GGCCATGAAG AAGTGGGGGT  3650
GGGAGACAAG AGGGGGTTTC GGAGGGGGTG GAGGGGGGTG CTCCTCAGGT  3700
GGAGGAGGCG GAGGATATAT AGGCGGCAAT GCAGCCTCAA ACAATGACCC  3750
CGAAATGGAT GGGGAAGATG GGGTTTCCTT CATCAGTCCA CTGGGCATCC  3800
TGTACACCCC AGCTTTAAAA GTGATGGAAG GCCACGGGGA AGTGAATATT  3850
AAGCATTATC TAAACTGCAG TCACTGTGAG GTAGACGAAT GTCACATGGA  3900
CCCTGAAAGC CACAAGGTCA TCTGCTTCTG TGACCACGGG ACGGTGCTGG  3950
CTGAGGATGG CGTCTCCTGC ATTGTGTCAC CCACCCCGGA GCCACACCTG  4000
CCACTCTCGC TGATCCTCTC TGTGGTGACC TCTGCCCTCG TGGCCGCCCT  4050
GGTCCTGGCT TTCTCCGGCA TCATGATTGT GTACCGCCGG AAGCACCAGG  4100
AGCTGCAAGC CATGCAGATG GAGCTGCAGA GCCCTGAGTA CAAGCTGAGC  4150
AAGCTCCGCA CCTCGACCAT CATGACCGAC TACAACCCCA ACTACTGCTT  4200
TGCTGGCAAG ACCTCCTCCA TCAGTGACCT GAAGGAGGTG CCGCGGAAAA  4250
ACATCACCCT CATTCGGGGT CTGGGCCATG GCGCCTTTGG GGAGGTGTAT  4300
GAAGGCCAGG TGTCCGGAAT GCCCAACGAC CCAAGCCCCC TGCAAGTGGC  4350
TGTGAAGACG CTGCCTGAAG TGTGCTCTGA ACAGGACGAA CTGGATTTCC  4400
TCATGGAAGC CCTGATCATC AGCAAATTCA ACCACCAGAA CATTGTTCGC  4450
TGCATTGGGG TGAGCCTGCA ATCCCTGCCC CGGTTCATCC TGCTGGAGCT  4500
CATGGCGGGG GGAGACCTCA AGTCCTTCCT CCGAGAGACC CGCCCTCGCC  4550
CGAGCCAGCC CTCCTCCCTG GCCATGCTGG ACCTTCTGCA CGTGGCTCGG  4600
GACATTGCCT GTGGCTGTCA GTATTTGGAG GAAAACCACT TCATCCACCG  4650
AGACATTGCT GCCAGAAACT GCCTCTTGAC CTGTCCAGGC CCTGGAAGAG  4700
TGGCCAAGAT TGGAGACTTC GGGATGGCCC GAGACATCTA CAGGGCGAGC  4750
TACTATAGAA AGGGAGGCTG TGCCATGCTG CCAGTTAAGT GGATGCCCCC  4800
AGAGGCCTTC ATGGAAGGAA TATTCACTTC TAAAACAGAC ACATGGTCCT  4850
TTGGAGTGCT GCTATGGGAA ATCTTTTCTC TTGGATATAT GCCATACCCC  4900
AGCAAAAGCA ACCAGGAAGT TCTGGAGTTT GTCACCAGTG GAGGCCGGAT  4950
GGACCCACCC AAGAACTGCC CTGGGCCTGT ATACCGGATA ATGACTCAGT  5000
GCTGGCAACA TCAGCCTGAA GACAGGCCCA ACTTTGCCAT CATTTTGGAG  5050
AGGATTGAAT ACTGCACCCA GGACCCGGAT GTAATCAACA CCGCTTTGCC  5100
GATAGAATAT GGTCCACTTG TGGAAGAGGA AGAGAAAGTG CCTGTGAGGC  5150
CCAAGGACCC TGAGGGGGTT CCTCCTCTCC TGGTCTCTCA ACAGGCAAAA  5200
CGGGAGGAGG AGCGCAGCCC AGCTGCCCCA CCACCTCTGC CTACCACCTC  5250
CTCTGGCAAG GCTGCAAAGA AACCCACAGC TGCAGAGATC TCTGTTCGAG  5300
TCCCTAGAGG GCCGGCCGTG GAAGGGGGAC ACGTGAATAT GGCATTCTCT  5350
```

【０７２３】

【表１－３】

```
CAGTCCAACC CTCCTTCGGA GTTGCACAAG GTCCACGGAT CCAGAAACAA  5400
GCCCACCAGC TTGTGGAACC CAACGTACGG CTCCTGGTTT ACAGAGAAAC  5450
CCACCAAAAA GAATAATCCT ATAGCAAAGA AGGAGCCACA CGACAGGGGT  5500
AACCTGGGGC TGGAGGGAAG CTGTACTGTC CCACCTAACG TTGCAACTGG  5550
GAGACTTCCG GGGGCCTCAC TGCTCCTAGA GCCCTCTTCG CTGACTGCCA  5600
ATATGAAGGA GGTACCTCTG TTCAGGCTAC GTCACTTCCC TTGTGGGAAT  5650
GTCAATTACG GCTACCAGCA ACAGGGCTTG CCCTTAGAAG CCGCTACTGC  5700
CCCTGGAGCT GGTCATTACG AGGATACCAT TCTGAAAAGC AAGAATAGCA  5750
TGAACCAGCC TGGGCCCTGA GCTCGGTCGC ACACTCACTT CTCTTCCTTG  5800
GGATCCCTAA GACCGTGGAG GAGAGAGAGG CAATGGCTCC TTCACAAACC  5850
AGAGACCAAA TGTCACGTTT TGTTTTGTGC CAACCTATTT TGAAGTACCA  5900
CCAAAAAAGC TGTATTTTGA AAATGCTTTA GAAAGGTTTT GAGCATGGGT  5950
TCATCCTATT CTTTCGAAAG AAGAAAATAT CATAAAAATG AGTGATAAAT  6000
ACAAGGCCCA GATGTGGTTG CATAAGGTTT TTATGCATGT TTGTTGTATA  6050
CTTCCTTATG CTTCTTTCAA ATTGTGTGTG CTCTGCTTCA ATGTAGTCAG  6100
AATTAGCTGC TTCTATGTTT CATAGTTGGG GTCATAGATG TTTCCTTGCC  6150
TTGTTGATGT GGACATGAGC CATTTGAGGG GAGAGGGAAC GGAAATAAAG  6200
GAGTTATTTG TAATGACTAA aa  （配列番号 1）
```

ALK 野生型タンパク質配列
Ref seq NP_004295

```
   1 mgaigllwll plllstaavg sgmgtgqrag spaagpplqp replsysrlq rkslavdfvv
  61 pslfrvyard lllppsssel kagrpeargs laldcapllr llgpapgvsw tagspapaea
 121 rtlsrvlkgg svrklrrakq lvlelgeeai legcvgppge aavgllqfnl selfswwirq
 181 gegrlrirlm pekkasevgr egrlsaaira sqprllfqif gtghsslesp tnmpspspdy
 241 ftwnltwimk dsfpflshrs ryglecsfdf pceleysppl hdlrnqswsw rripseeasq
 301 mdlldgpgae rskemprgsf lllntsadsk htilspwmrs ssehctlavs vhrhlqpsgr
 361 yiaqllphne aareillmpt pgkhgwtvlq grigrpdnpf rvaleyissg nrslsavdff
 421 alkncsegts pgskmalqss ftcwngtvlq lgqacdfhqd caqgedesqm crklpvgfyc
 481 nfedgfcgwt qgtlsphtpq wqvrtlkdar fqdhqdhall lsttdvpase satvtsatfp
 541 apikssрcel rmswlirgvl rgnvslvlve nktgkeqgrm vwhvaayegl slwqwmvlpl
 601 ldvsdrfwlq mvawwgqgsr aivafdnisi sldcyltisg edkilqntap ksrnlfernp
 661 nkelkpgens prqtpifdpt vhwlfttcga sgphgptqaq cnnayqnsnl svevgsegpl
 721 kgiqiwkvpa tdtysisgyg aaggkggknt mmrshgvsvl gifnlekddm lyilvgqqge
 781 dacpstnqli qkvcigennv ieeeirvnrs vhewaggggg gggatyvfkm kdgvpvplii
 841 aaggggrayg aktdtfhper lennssvlgl ngnsgaaggg ggwndntsll wagkslqega
 901 tgghscpqam kkwgwetrgg fgggggccss ggggggyigg naasnndpem dgedgvsfis
 961 plgilytpal kvmeghgevn ikhylncshc evdechmdpe shkvicfcdh gtvlaedgvs
1021 civsptpeph lplslilsvv tsalvaalvl afsgimivyr rkhqelqamq melqspeykl
1081 sklrtstimt dynpnycfag ktssisdlke vprknitlir glghgafgev yegqvsgmpn
1141 dpsplqvavk tlpevcseqd eldflmeali iskfnhqniv rcigvslqsl prfillelma
1201 ggdlksflre trprpsqpss lamldllhva rdiacgcqyl eenhfihrdi aarncлltcp
1261 gpgrvakigd fgmardiyra syyrkggcam lpvkwmppea fmegiftskt dtwsfgvllw
1321 eifslgympy psksnqevle fvtsggrmdp pkncpgpvyr imtqcwqhqp edrpnfaiil
1381 erieyctqdp dvintalpie ygplveeeek vpvrpkdpeg vppllvsqqa kreeerspaa
1441 ppplpttssg kaakkptaae isvrvprgpa vegghvnmaf sqsnppselh kvhgsrnkpt
1501 slwnptygsw ftekptkknn piakkephdr gnlglegsct vppnvatgrl pgaslлeps
1561 sltanmkevp lfrlrhfpcg nvnygyqqqg lpleaatapg aghyedtilk sknsmnqpgp
```

（配列番号 2）

融合タンパク質 EML4-ALK 変異体 1 についての mRNA

```
ggcggcgcgg cgcggcgctc gcggctgctg cctgggaggg aggccgggca  50
ggcggctgag cggcgcggct ctcaacgtga cggggaagtg gttcgggcgg  100
ccgcggctta ctaccccagg gcgaacggac ggacgacgga ggcgggagcc  150
ggtagccgag ccgggcgacc tagagaacga gcgggtcagg ctcagcgtcg  200
gccactctgt cggtccgctg aatgaagtgc ccgcccctct gagcccggag  250
cccggcgctt tccccgcaag atggacggtt tcgccggcag tctcgatgat  300
agtatttctg ctgcaagtac ttctgatgtt caagatcgcc tgtcagctct  350
tgagtcacga gttcagcaac aagaagatga aatcactgtg ctaaaggcgg  400
ctttggctga tgttttgagg cgtcttgcaa tctctgaaga tcatgtggcc  450
```

【０７２４】

【表１－４】

tcagtgaaaa aatcagtctc aagtaaaggc caaccaagcc ctcgagcagt 500
tattcccatg tcctgtataa ccaatggaag tggtgcaaac agaaaaccaa 550
gtcataccag tgctgtctca attgcaggaa aagaaactct ttcatctgct 600
gctaaaagtg gtacagaaaa aaagaaagaa aaaccacaag gacagagaga 650
aaaaaaagag gaatctcatt ctaatgatca aagtccacaa attcgagcat 700
caccttctcc ccagccctct tcacaacctc tccaaataca cagacaaact 750
ccagaaagca agaatgctac tcccaccaaa agcataaaac gaccatcacc 800
agctgaaaag tcacataatt cttgggaaaa ttcagatgat agccgtaata 850
aattgtcgaa aataccttca acacccaaat taataccaaa agttaccaaa 900
actgcagaca agcataaaga tgtcatcatc aaccaagaag gagaatatat 950
taaaatgttt atgcgcggtc ggccaattac catgttcatt ccttccgatg 1000
ttgacaacta tgatgacatc agaacggaac tgcctcctga gaagctcaaa 1050
ctggagtggg catatggtta tcgaggaaag gactgtagag ctaatgttta 1100
ccttcttccg accggggaaa tagtttattt cattgcatca gtagtagtac 1150
tatttaatta tgaggagaga actcagcgac actacctggg ccatacagac 1200
tgtgtgaaat gccttgctat acatcctgac aaaattagga ttgcaactgg 1250
acagatagct ggcgtggata aagatggaag gcctctacaa ccccacgtca 1300
gagtgtggga ttctgttact ctatccacac tgcagattat tggacttggc 1350
acttttgagc gtggagtagg atgcctggat ttttcaaaag cagattcagg 1400
tgttcattta tgtgttattg atgactccaa tgagcatatg cttactgtat 1450
gggactggca gaagaaagca aaaggagcag aaataaagac aacaaatgaa 1500
gttgtttttgg ctgtggagtt tcacccaaca gatgcaaata ccataattac 1550
atgcggtaaa tctcatattt tcttctggac ctggagcggc aattcactaa 1600
caagaaaaca gggaattttt gggaaatatg aaaagccaaa atttgtgcag 1650
tgtttagcat tcttggggaa tggagatgtt cttactggag actcaggtgg 1700
agtcatgctt atatggagca aaactactgt agagcccaca cctgggaaag 1750
gacctaaAGT GTACCGCCGG AAGCACCAGG AGCTGCAAGC CATGCAGATG 1800
GAGCTGCAGA GCCCTGAGTA CAAGCTGAGC AAGCTCCGCA CCTCGACCAT 1850
CATGACCGAC TACAACCCCA ACTACTGCTT TGCTGGCAAG ACCTCCTCCA 1900
TCAGTGACCT GAAGGAGGTG CCGCGGAAAA ACATCACCCT CATTCGGGGT 1950
CTGGGCCATG GaGCCTTTGG GGAGGTGTAT GAAGGCCAGG TGTCCGGAAT 2000
GCCCAACGAC CCAAGCCCCC TGCAAGTGGC TGTGAAGACG CTGCCTGAAG 2050
TGTGCTCTGA ACAGGACGAA CTGGATTTCC TCATGGAAGC CCTGATCATC 2100
AGCAAATTCA ACCACCAGAA CATTGTTCGC TGCATTGGGG TGAGCCTGCA 2150
ATCCCTGCCC CGGTTCATCC TGCTGGAGCT CATGGCGGGG GGAGACCTCA 2200
AGTCCTTCCT CCGAGAGACC CGCCCTCGCC CGAGCCAGCC CTCCTCCCTG 2250
GCCATGCTGG ACCTTCTGCA CGTGGCTCGG GACATTGCCT GTGGCTGTCA 2300
GTATTTGGAG GAAAACCACT TCATCCACCG AGACATTGCT GCCAGAAACT 2350
GCCTCTTGAC CTGTCCAGGC CCTGGAAGAG TGGCCAAGAT TGGAGACTTC 2400
GGGATGGCCC GAGACATCTA CAGGGCGAGC TACTATAGAA AGGGAGGCTG 2450
TGCCATGCTG CCAGTTAAGT GGATGCCCCC AGAGGCCTTC ATGGAAGGAA 2500
TATTCACTTC TAAAACAGAC ACATGGTCCT TTGGAGTGCT GCTATGGGAA 2550
ATCTTTTCTC TTGGATATAT GCCATACCCC AGCAAAAGCA ACCAGGAAGT 2600
TCTGGAGTTT GTCACCAGTG GAGGCCGGAT GGACCCACCC AAGAACTGCC 2650
CTGGGCCTGT ATACCGGATA ATGACTCAGT GCTGGCAACA TCAGCCTGAA 2700
GACAGGCCCA ACTTTGCCAT CATTTTGGAG AGGATTGAAT ACTGCACCCA 2750
GGACCCGGAT GTAATCAACA CCGCTTTGCC GATAGAATAT GGTCCACTTG 2800
TGGAAGAGGA AGAGAAAGTG CCTGTGAGGC CCAAGGACCC TGAGGGGGTT 2850
CCTCCTCTCC TGGTCTCTCA ACAGGCAAAA CGGGAGGAGG AGCGCAGCCC 2900
AGCTGCCCCA CCACCTCTGC CTACCACCTC CTCTGGCAAG GCTGCAAAGA 2950
AACCCACAGC TGCAGAGgTC TCTGTTCGAG TCCCTAGAGG GCCGGCCGTG 3000
GAAGGGGGAC ACGTGAATAT GGCATTCTCT CAGTCCAACC CTCCTTCGGA 3050
GTTGCACAgG GTCCACGGAT CCAGAAACAA GCCCACCAGC TTGTGGAACC 3100
CAACGTACGG CTCCTGGTTT ACAGAGAAAC CCACCAAAAA GAATAATCCT 3150
ATAGCAAAGA AGGAGCCACA CGAgAGGGGT AACCTGGGGC TGGAGGGAAG 3200
CTGTACTGTC CCACCTAACG TTGCAACTGG GAGACTTCCG GGGGCCTCAC 3250
TGCTCCTAGA GCCCTCTTCG CTGACTGCCA ATATGAAGGA GGTACCTCTG 3300

【０７２５】

【表１－５】

```
TTCAGGCTAC GTCACTTCCC TTGTGGGAAT GTCAATTACG GCTACCAGCA  3350
ACAGGGCTTG CCCTTAGAAG CCGCTACTGC CCCTGGAGCT GGTCATTACG  3400
AGGATACCAT TCTGAAAAGC AAGAATAGCA TGAACCAGCC TGGGCCCTGA  3450
GCTCGGTCaC ACACTCACTT CTCTTCCTTG GGATCCCTAA GACCGTGGAG  3500
GAGAGAGAGG CAATcaatGG CTCCTTCACA AACCAGAGAC CAAATGTCAC  3550
GTTTTGTTTT GTGCCAACCT ATTTTGAAGT ACCACCAAAA AAGCTGTATT  3600
TTGAAAATGC TTTAGAAAGG TTTTGAGCAT GGGTTCATCC TATTCTTTCG  3650
AAAGAAGAAA ATATCATAAA AATGAGTGAT AAATACAAGG CCCAGATGTG  3700
GTTGCATAAG GTTTTTATGC ATGTTTGTTG TATACTTCCT TATGCTTCTT  3750
TtAAATTGTG TGTGCTCTGC TTCAATGTAG TCAGAATTAG CTGCTTCTAT  3800
GTTTCATAGT TGGGGTCATA GATGTTTCCT TGCCTTGTTG ATGTGGACAT  3850
GAGCCATTTG AGGGGAGAGG GAACGGAAAT AAAGGAGTTA TTTGTAATGA  3900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa  （配列番号 3）
```

融合タンパク質 EML4-ALK変異体2についての mRNA

```
gGCGGCGCGG CGCGGCGCTC GCGGCTGCTG CCTGGGAGGG AGGCCGGGCA  50
GGCGGCTGAG CGGCGCGGCT CTCAACGTGA CGGGGAAGTG GTTCGGGCGG  100
CCGCGGCTTA CTACCCCAGG GCGAACGGAC GGACGACGGA GGCGGGAGCC  150
GGTAGCCGAG CCGGGCGACC TAGAGAACGA GCGGGTCAGG CTCAGCGTCG  200
GCCACTCTGT CGGTCCGCTG AATGAAGTGC CCGCCCCTCT gAGCCCGGAG  250
CCCGGCGCTT TCCCCGCAAG ATGGACGGTT TCGCCGGCAG TCTCGATGAT  300
AGTATTTCTG CTGCAAGTAC TTCTGATGTT CAAGATCGCC TGTCAGCTCT  350
TGAGTCACGA GTTCAGCAAC AAGAAGATGA AATCACTGTG CTAAAGGCGG  400
CTTTGGCTGA TGTTTTGAGG CGTCTTGCAA TCTCTGAAGA TCATGTGGCC  450
TCAGTGAAAA AATCAGTCTC AAGTAAAGGC CAACCAAGCC CTCGAGCAGT  500
TATTCCCATG TCCTGTATAA CCAATGGAAG TGGTGCAAAC AGAAAACCAA  550
GTCATACCAG TGCTGTCTCA ATTGCAGGAA AAGAAACTCT TTCATCTGCT  600
GCTAAAAGTG GTACAGAAAA AAAGAAAGAA AAACCACAAG GACAGAGAGA  650
AAAAAAAGAG GAATCTCATT CTAATGATCA AAGTCCACAA ATTCGAGCAT  700
CACCTTCTCC CCAGCCCTCT TCACAACCTC TCCAAATACA CAGACAAACT  750
CCAGAAAGCA AGAATGCTAC TCCCACCAAA AGCATAAAAC GACCATCACC  800
AGCTGAAAAG TCACATAATT CTTGGGAAAA TTCAGATGAT AGCCGTAATA  850
AATTGTCGAA AATACCTTCA ACACCCAAAT TAATACCAAA AGTTACCAAA  900
ACTGCAGACA AGCATAAAGA TGTCATCATC AACCAAGAAG GAGAATATAT  950
TAAAATGTTT ATGCGCGGTC GGCCAATTAC CATGTTCATT CCTTCCGATG  1000
TTGACAACTA TGATGACATC AGAACGGAAC TGCCTCCTGA GAAGCTCAAA  1050
CTGGAGTGGG CATATGGTTA TCGAGGAAAG GACTGTAGAG CTAATGTTTA  1100
CCTTCTTCCG ACCGGGgAAA TAGTTTATTT CATTGCATCA GTAGTAGTAC  1150
TATTTAATTA TGAGGAGAGA ACTCAGCGAC ACTACCTGGG CCATACAGAC  1200
TGTGTGAAAT GCCTTGCTAT ACATCCTGAC AAAATTAGGA TTGCAACTGG  1250
ACAGATAGCT GGCGTGGATA AAGATGGAAG GCCTCTACAA CCCCACGTCA  1300
GAGTGTGGGA TTCTGTTACT CTATCCACAC TGCAGATTAT TGGACTTGGC  1350
ACTTTTGAGC GTGGAGTAGG ATGCCTGGAT TTTTCAAAAG CAGATTCAGG  1400
TGTTCATTTA TGTgTTATTG ATGACTCCAA TGAGCATATG CTTACTGTAT  1450
GGGACTGGCA GAAGAAAGCA AAAGGAGCAG AAATAAAGAC AACAAATGAA  1500
GTTGTTTTGG CTGTGGAGTT TCACCCAACA GATGCAAATA CCATAATTAC  1550
ATGCGGTAAA TCTCATATTT TCTTCTGGAC CTGGAGCGGC AATTCACTAA  1600
CAAGAAAACA GGGAATTTTT GGGAAATATG AAAAGCCAAA ATTTGTGCAG  1650
TGTTTAGCAT TCTTGGGGAA TGGAGATGTT CTTACTGGAG ACTCAGGTGG  1700
AGTCATGCTT ATATGGAGCA AAACTACTGT AGAGCCCACA CCTGGGAAAG  1750
GACCTAAAGG TGTATATCAA ATCAGCAAAC AAATCAAAGC TCATGATGGC  1800
AGTGTGTTCA CACTTTGTCA GATGAGAAAT GGGATGTTAT TAACTGGAGG  1850
AGGGAAAGAC AGAAAAATAA TTCTGTGGGA TCATGATCTG AATCCTGAAA  1900
GAGAAATAGA GGTTCCTGAT CAGTATGGCA CAATCAGAGC TGTAGCAGAA  1950
GGAAAGGCAG ATCAATTTTT AGTAGGCACA TCACGAAACT TTATTTTACG  2000
```

【０７２６】

【表１－６】

```
AGGAACATTT AATGATGGCT TCCAAATAGA AGTACAGGGT CATACAGATG  2050
AGCTTTGGGG TCTTGCCACA CATCCCTTCA AAGATTTGCT CTTGACATGT  2100
GCTCAGGACA GGCAGGTGTG CCTGTGGAAC TCAATGGAAC ACAGGCTGGA  2150
ATGGACCAGG CTGGTAGATG AACCAGGACA CTGTGCAGAT TTTCATCCAA  2200
GTGGCACAGT GGTGGCCATA GGAACGCACT CAGGCAGGTG GTTTGTTCTG  2250
GATGCAGAAA CCAGAGATCT AGTTTCTATC CACACAGACG GGAATGAACA  2300
GCTCTCTGTG ATGCGCTACT CAATAGATGG TACCTTCCTG GCTGTAGGAT  2350
CTCATGACAA CTTTATTTAC CTCTATGTAG TCTCTGAAAA TGGAAGAAAA  2400
TATAGCAGAT ATGGAAGGTG CACTGGACAT TCCAGCTACA TCACACACCT  2450
TGACTGGTCC CCAGACAACA AGTATATAAT GTCTAACTCG GGAGACTATG  2500
AAATATTGTA CTtgtaccgc cggaagcacc aggagctgca agccatgcag  2550
atggagctgc agagccctga gtacaagctg agcaagctcc gcacctcgac  2600
catcatgacc gactacaacc ccaactactg ctttgctggc aagacctcct  2650
ccatcagtga cctgaaggag gtgccgcgga aaaacatcac cctcattcgg  2700
ggtctgggcc atggagcctt tggggaggtg tatgaaggcc aggtgtccgg  2750
aatgcccaac gacccaagcc ccctgcaagt ggctgtgaag acgctgcctg  2800
aagtgtgctc tgaacaggac gaactggatt tcctcatgga agccctgatc  2850
atcagcaaat tcaaccacca gaacattgtt cgctgcattg gggtgagcct  2900
gcaatccctg ccccggttca tcctgctgga gctcatggcg gggggagacc  2950
tcaagtcctt cctccgagag acccgccctc gcccgagcca gccctcctcc  3000
ctggccatgc tggaccttct gcacgtggct cgggacattg cctgtggctg  3050
tcagtatttg gaggaaaacc acttcatcca ccgagacatt gctgccagaa  3100
actgcctctt gacctgtcca ggccctggaa gagtggccaa gattggagac  3150
ttcgggatgg cccgagacat ctacagggcg agctactata gaaagggagg  3200
ctgtgccatg ctgccagtta agtggatgcc cccagaggcc ttcatggaag  3250
gaatattcac ttctaaaaca gacacatggt cctttggagt gctgctatgg  3300
gaaatctttt ctcttggata tatgccatac cccagcaaaa gcaaccagga  3350
agttctggag tttgtcacca gtggaggccg gatggaccca cccaagaact  3400
gccctgggcc tgtataccgg ataatgactc agtgctggca acatcagcct  3450
gaagacaggc ccaactttgc catcattttg gagaggattg aatactgcac  3500
ccaggacccg gatgtaatca acaccgcttt gccgatagaa tatggtccac  3550
ttgtggaaga ggaagagaaa gtgcctgtga ggcccaagga ccctgagggg  3600
gttcctcctc tcctggtctc tcaacaggca aaacgggagg aggagcgcag  3650
cccagctgcc ccaccacctc tgcctaccac ctcctctggc aaggctgcaa  3700
agaaacccac agctgcagag gtctctgttc gagtccctag agggccggcc  3750
gtggaagggg gacacgtgaa tatggcattc tctcagtcca accctccttc  3800
ggagttgcac agggtccacg gatccagaaa caagcccacc agcttgtgga  3850
acccaacgta cggctcctgg tttacagaga aacccaccaa aaagaataat  3900
cctatagcaa agaaggagcc acacgagagg ggtaacctgg ggctggaggg  3950
aagctgtact gtcccaccta acgttgcaac tgggagactt ccgggggcct  4000
cactgctcct agagccctct tcgctgactg ccaatatgaa ggaggtacct  4050
ctgttcaggc tacgtcactt cccttgtggg aatgtcaatt acggctacca  4100
gcaacagggc ttgcccttag aagccgctac tgcccctgga gctggtcatt  4150
acgaggatac cattctgaaa agcaagaata gcatgaacca gcctgggccc  4200
tgagctcggt cacacactca cttctcttcc ttgggatccc taagaccgtg  4250
gaggagagag aggcaatcaa tggctccttc acaaaccaga gaccaaatgt  4300
cacgttttgt tttgtgccaa cctattttga agtaccacca aaaaagctgt  4350
attttgaaaa tgctttagaa aggttttgag catgggttca tcctattctt  4400
tcgaaagaag aaaatatcat aaaaatgagt gataaataca aggcccagat  4450
gtggttgcat aaggttttta tgcatgtttg ttgtatactt ccttatgctt  4500
cttttaaatt gtgtgtgctc tgcttcaatg tagtcagaat tagctgcttc  4550
tatgtttcat agttggggtc atagatgttt ccttgccttg ttgatgtgga  4600
catgagccat ttgaggggag agggaacgga aataaaggag ttatttgtaa  4650
tgaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa  （配列番号４）
```

【０７２７】

【表１－７】

融合タンパク質EML4-ALK変異体3スプライシングアイソフォームaについてのmRNA

```
actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcccg cccctctaag cccggagccc  50
ggcgctttcc ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagtct cgatgatagt  100
atttctgctg caagtacttc tgatgttcaa gatcgcctgt cagctcttga  150
gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat cactgtgcta aaggcggctt  200
tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca tgtggcctca  250
gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gagcagttat  300
tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc  350
ataccagtgc tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct  400
aaaagtggta cagaaaaaaa gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa  450
aaaagaggaa tctcattcta atgatcaaag tccacaaatt cgagcatcac  500
cttctcccca gccctcttca caacctctcc aaatacacag acaaactcca  550
gaaagcaaga atgctactcc caccaaaagc ataaaacgac catcaccagc  600
tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat  650
tgtcgaaaat accttcaaca cccaaattaa taccaaaagt taccaaaact  700
gcagacaagc ataaagatgt catcatcaac caAGTGTACC GCCGGAAGCA  750
CCAGGAGCTG CAAGCCATGC AGATGGAGCT GCAGAGCCCT GAGTACAAGC  800
TGAGCAAGCT CCGCACCTCG ACCATCATGA CCGACTACAA CCCCAACTAC  850
TGCTTTGCTG GCAAGACCTC CTCCATCAGT GACCTGAAGG AGGTGCCGCG  900
GAAAAACATC ACCCTCATTC GGGGTCTGGG CCATGGaGCC TTTGGGGAGG  950
TGTATGAAGG CCAGGTGTCC GGAATGCCCA ACGACCCAAG CCCCCTGCAA 1000
GTGGCTGTGA AGACGCTGCC TGAAGTGTGC TCTGAACAGG ACGAACTGGA 1050
TTTCCTCATG GAAGCCCTGA TCATCAGCAA ATTCAACCAC CAGAACATTG 1100
TTCGCTGCAT TGGGGTGAGC CTGCAATCCC TGCCCCGGTT CATCCTGCTG 1150
GAGCTCATGG CGGGGGGAGA CCTCAAGTCC TTCCTCCGAG AGACCCGCCC 1200
TCGCCCGAGC CAGCCCTCCT CCCTGGCCAT GCTGGACCTT CTGCACGTGG 1250
CTCGGGACAT TGCCTGTGGC TGTCAGTATT TGGAGGAAAA CCACTTCATC 1300
CACCGAGACA TTGCTGCCAG AAACTGCCTC TTGACCTGTC CAGGCCCTGG 1350
AAGAGTGGCC AAGATTGGAG ACTTCGGGAT GGCCCGAGAC ATCTACAGGG 1400
CGAGCTACTA TAGAAAGGGA GGCTGTGCCA TGCTGCCAGT TAAGTGGATG 1450
CCCCCAGAGG CCTTCATGGA AGGAATATTC ACTTCTAAAA CAGACACATG 1500
GTCCTTTGGA GTGCTGCTAT GGGAAATCTT TTCTCTTGGA TATATGCCAT 1550
ACCCCAGCAA AAGCAACCAG GAAGTTCTGG AGTTTGTCAC CAGTGGAGGC 1600
CGGATGGACC CACCCAAGAA CTGCCCTGGG CCTGTATACC GGATAATGAC 1650
TCAGTGCTGG CAACATCAGC CTGAAGACAG GCCCAACTTT GCCATCATTT 1700
TGGAGAGGAT TGAATACTGC ACCCAGGACC CGGATGTAAT CAACACCGCT 1750
TTGCCGATAG AATATGGTCC ACTTGTGGAA GAGGAAGAGA AAGTGCCTGT 1800
GAGGCCCAAG GACCCTGAGG GGGTTCCTCC TCTCCTGGTC TCTCAACAGG 1850
CAAAACGGGA GGAGGAGCGC AGCCCAGCTG CCCCACCACC TCTGCCTACC 1900
ACCTCCTCTG GCAAGGCTGC AAAGAAACCC ACAGCTGCAG AGgTCTCTGT 1950
TCGAGTCCCT AGAGGGCCGG CCGTGGAAGG GGGACACGTG AATATGGCAT 2000
TCTCTCAGTC CAACCCTCCT TCGGAGTTGC ACAgGGTCCA CGGATCCAGA 2050
AACAAGCCCA CCAGCTTGTG GAACCCAACG TACGGCTCCT GGTTTACAGA 2100
GAAACCCACC AAAAAGAATA ATCCTATAGC AAAGAAGGAG CCACACGAgA 2150
GGGGTAACCT GGGGCTGGAG GGAAGCTGTA CTGTCCCACC TAACGTTGCA 2200
ACTGGGAGAC TTCCGGGGGC CTCACTGCTC CTAGAGCCCT CTTCGCTGAC 2250
TGCCAATATG AAGGAGGTAC CTCTGTTCAG GCTACGTCAC TTCCCTTGTG 2300
GGAATGTCAA TTACGGCTAC CAGCAACAGG GCTTGCCCTT AGAAGCCGCT 2350
ACTGCCCCTG GAGCTGGTCA TTACGAGGAT ACCATTCTGA AAAGCAAGAA 2400
TAGCATGAAC CAGCCTGGGC CCTGAGCTCG GTCGCACACT CACTTCTCTT 2450
CCTTGGGATC CCTAAGACCG TGG  （配列番号5）
```

融合タンパク質EML4-ALK変異体3スプライシングアイソフォームbについてのmRNA

```
actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcccg cccctctaag cccggagccc  50
ggcgctttcc ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagtct cgatgatagt  100
```

【０７２８】

【表１－８】

```
atttctgctg caagtacttc tgatgttcaa gatcgcctgt cagctcttga  150
gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat cactgtgcta aaggcggctt  200
tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca tgtggcctca  250
gtgaaaaaat cagtctcaag taaaggccaa ccaagccctc gagcagttat  300
tcccatgtcc tgtataacca atggaagtgg tgcaaacaga aaaccaagtc  350
ataccagtgc tgtctcaatt gcaggaaaag aaactctttc atctgctgct  400
aaaagtggta cagaaaaaaa gaaagaaaaa ccacaaggac agagagaaaa  450
aaaagaggaa tctcattcta atgatcaaag tccacaaatt cgagcatcac  500
cttctcccca gccctcttca caacctctcc aaatacacag acaaactcca  550
gaaagcaaga atgctactcc caccaaaagc ataaaacgac catcaccagc  600
tgaaaagtca cataattctt gggaaaattc agatgatagc cgtaataaat  650
tgtcgaaaat accttcaaca cccaaattaa taccaaaagt taccaaaact  700
gcagacaagc ataaagatgt catcatcaac caagcaaaaa tgtcaactcg  750
cgaaaaaaac agccaAGTGT ACCGCCGGAA GCACCAGGAG CTGCAAGCCA  800
TGCAGATGGA GCTGCAGAGC CCTGAGTACA AGCTGAGCAA GCTCCGCACC  850
TCGACCATCA TGACCGACTA CAACCCCAAC TACTGCTTTG CTGGCAAGAC  900
CTCCTCCATC AGTGACCTGA AGGAGGTGCC GCGGAAAAAC ATCACCCTCA  950
TTCGGGGTCT GGGCCATGGa GCCTTTGGGG AGGTGTATGA AGGCCAGGTG 1000
TCCGGAATGC CCAACGACCC AAGCCCCCTG CAAGTGGCTG TGAAGACGCT 1050
GCCTGAAGTG TGCTCTGAAC AGGACGAACT GGATTTCCTC ATGGAAGCCC 1100
TGATCATCAG CAAATTCAAC CACCAGAACA TTGTTCGCTG CATTGGGGTG 1150
AGCCTGCAAT CCCTGCCCCG GTTCATCCTG CTGGAGCTCA TGGCGGGGGG 1200
AGACCTCAAG TCCTTCCTCC GAGAGACCCG CCCTCGCCCG AGCCAGCCCT 1250
CCTCCCTGGC CATGCTGGAC CTTCTGCACG TGGCTCGGGA CATTGCCTGT 1300
GGCTGTCAGT ATTTGGAGGA AAACCACTTC ATCCACCGAG ACATTGCTGC 1350
CAGAAACTGC CTCTTGACCT GTCCAGGCCC TGGAAGAGTG GCCAAGATTG 1400
GAGACTTCGG GATGGCCCGA GACATCTACA GGGCGAGCTA CTATAGAAAG 1450
GGAGGCTGTG CCATGCTGCC AGTTAAGTGG ATGCCCCCAG AGGCCTTCAT 1500
GGAAGGAATA TTCACTTCTA AAACAGACAC ATGGTCCTTT GGAGTGCTGC 1550
TATGGGAAAT CTTTTCTCTT GGATATATGC CATACCCCAG CAAAAGCAAC 1600
CAGGAAGTTC TGGAGTTTGT CACCAGTGGA GGCCGGATGG ACCCACCCAA 1650
GAACTGCCCT GGGCCTGTAT ACCGGATAAT GACTCAGTGC TGGCAACATC 1700
AGCCTGAAGA CAGGCCCAAC TTTGCCATCA TTTTGGAGAG GATTGAATAC 1750
TGCACCCAGG ACCCGGATGT AATCAACACC GCTTTGCCGA TAGAATATGG 1800
TCCACTTGTG GAAGAGGAAG AGAAAGTGCC TGTGAGGCCC AAGGACCCTG 1850
AGGGGGTTCC TCCTCTCCTG GTCTCTCAAC AGGCAAAACG GGAGGAGGAG 1900
CGCAGCCCAG CTGCCCCACC ACCTCTGCCT ACCACCTCCT CTGGCAAGGC 1950
TGCAAAGAAA CCCACAGCTG CAGAGgTCTC TGTTCGAGTC CCTAGAGGGC 2000
CGGCCGTGGA AGGGGGACAC GTGAATATGG CATTCTCTCA GTCCAACCCT 2050
CCTTCGGAGT TGCACAgGGT CCACGGATCC AGAAACAAGC CCACCAGCTT 2100
GTGGAACCCA ACGTACGGCT CCTGGTTTAC AGAGAAACCC ACCAAAAAGA 2150
ATAATCCTAT AGCAAAGAAG GAGCCACACG AgAGGGGTAA CCTGGGGCTG 2200
GAGGGAAGCT GTACTGTCCC ACCTAACGTT GCAACTGGGA GACTTCCGGG 2250
GGCCTCACTG CTCCTAGAGC CCTCTTCGCT GACTGCCAAT ATGAAGGAGG 2300
TACCTCTGTT CAGGCTACGT CACTTCCCTT GTGGGAATGT CAATTACGGC 2350
TACCAGCAAC AGGGCTTGCC CTTAGAAGCC GCTACTGCCC CTGGAGCTGG 2400
TCATTACGAG GATACCATTC TGAAAAGCAA GAATAGCATG AACCAGCCTG 2450
GGCCCTGAGC TCGGTCGCAC ACTCACTTCT CTTCCTTGGG ATCCCTAAGA 2500
CCGTGG  （配列番号 6）
```

融合タンパク質 EML4-ALK 変異体4についてのmRNA

```
ACTCTGTCGG TCCGCTGAAT GAAGTGCCCG CCCCTCTAAG CCCGGAGCCC  50
GGCGCTTTCC CCGCAAGATG GACGGTTTCG CCGGCAGTCT CGATGATAGT 100
ATTTCTGCTG CAAGTACTTC TGATGTTCAA GATCGCCTGT CAGCTCTTGA 150
GTCACGAGTT CAGCAACAAG AAGATGAAAT CACTGTGCTA AAGGCGGCTT 200
TGGCTGATGT TTTGAGGCGT CTTGCAATCT CTGAAGATCA TGTGGCCTCA 250
```

【０７２９】

【表１－９】

```
GTGAAAAAAT CAGTCTCAAG TAAAGGCCAA CCAAGCCCTC GAGCAGTTAT  300
TCCCATGTCC TGTATAACCA ATGGAAGTGG TGCAAACAGA AAACCAAGTC  350
ATACCAGTGC TGTCTCAATT GCAGGAAAAG AAACTCTTTC ATCTGCTGCT  400
AAAAGTGGTA CAGAAAAAAA GAAAGAAAAA CCACAAGGAC AGAGAGAAAA  450
AAAAGAGGAA TCTCATTCTA ATGATCAAAG TCCACAAATT CGAGCATCAC  500
CTTCTCCCCA GCCCTCTTCA CAACCTCTCC AAATACACAG ACAAACTCCA  550
GAAAGCAAGA ATGCTACTCC CACCAAAAGC ATAAAACGAC CATCACCAGC  600
TGAAAAGTCA CATAATTCTT GGGAAAATTC AGATGATAGC CGTAATAAAT  650
TGTCGAAAAT ACCTTCAACA CCCAAATTAA TACCAAAAGT TACCAAAACT  700
GCAGACAAGC ATAAAGATGT CATCATCAAC CAAGAAGGAG AATATATTAA  750
AATGTTTATG CGCGGTCGGC CAATTACCAT GTTCATTCCT TCCGATGTTG  800
ACAACTATGA TGACATCAGA ACGGAACTGC CTCCTGAGAA GCTCAAACTG  850
GAGTGGGCAT ATGGTTATCG AGGAAAGGAC TGTAGAGCTA ATGTTTACCT  900
TCTTCCGACC GGGgAAATAG TTTATTTCAT TGCATCAGTA GTAGTACTAT  950
TTAATTATGA GGAGAGAACT CAGCGACACT ACCTGGGCCA TACAGACTGT 1000
GTGAAATGCC TTGCTATACA TCCTGACAAA ATTAGGATTG CAACTGGACA 1050
GATAGCTGGC GTGGATAAAG ATGGAAGGCC TCTACAACCC CACGTCAGAG 1100
TGTGGGATTC TGTTACTCTA TCCACACTGC AGATTATTGG ACTTGGCACT 1150
TTTGAGCGTG GAGTAGGATG CCTGGATTTT TCAAAAGCAG ATTCAGGTGT 1200
TCATTTATGT gTTATTGATG ACTCCAATGA GCATATGCTT ACTGTATGGG 1250
ACTGGCAGAg GAAAGCAAAA GGAGCAGAAA TAAAGACAAC AAATGAAGTT 1300
GTTTTGGCTG TGGAGTTTCA CCCAACAGAT GCAAATACCA TAATTACATG 1350
CGGTAAATCT CATATTTTCT TCTGGACCTG GAGCGGCAAT TCACTAACAA 1400
GAAAACAGGG AATTTTTGGG AAATATGAAA AGCCAAAATT TGTGCAGTGT 1450
TTAGCATTCT TGGGGAATGG AGATGTTCTT ACTGGAGACT CAGGTGGAGT 1500
CATGCTTATA TGGAGCAAAA CTACTGTAGA GCCCACACCT GGGAAAGGAC 1550
CTAAAGGTGT ATATCAAATC AGCAAACAAA TCAAAGCTCA TGATGGCAGT 1600
GTGTTCACAC TTTGTCAGAT GAGAAATGGG ATGTTATTAA CTGGAGGAGG 1650
GAAAGACAGA AAAATAATTC TGTGGGATCA TGATCTGAAT CCTGAAAGAG 1700
AAATAGAGat atgctggatg agccctgagt acaagctgag caagctccgc 1750
acctcgacca tcatgaccga ctacaacccc aactactgct ttgctggcaa 1800
gacctcctcc atcagtgacc tgaaggaggt gccgcggaaa aacatcaccc 1850
tcattcgggg tctgggccat ggagcctttg gggaggtgta tgaaggccag 1900
gtgtccggaa tgcccaacga cccaagcccc ctgcaagtgg ctgtgaagac 1950
gctgcctgaa gtgtgctctg aacaggacga actggatttc ctcatggaag 2000
ccctgatcat cagcaaattc aaccaccaga acattgttcg ctgcattggg 2050
gtgagcctgc aatccctgcc ccggttcatc ctgctggagc tcatggcggg 2100
gggagacctc aagtccttcc tccgagagac ccgccctcgc ccgagccagc 2150
cctcctccct ggccatgctg gaccttctgc acgtggctcg ggacattgcc 2200
tgtggctgtc agtatttgga ggaaaaccac ttcatccacc gagacattgc 2250
tgccagaaac tgcctcttga cctgtccagg ccctggaaga gtggccaaga 2300
ttggagactt cgggatggcc cgagacatct acagggcgag ctactataga 2350
aagggaggct gtgccatgct gccagttaag tggatgcccc cagaggcctt 2400
catggaagga atattcactt ctaaaacaga cacatggtcc tttggagtgc 2450
tgctatggga aatcttttct cttggatata tgccataccc cagcaaaagc 2500
aaccaagaag ttctggagtt tgtcaccagt ggaggccgga tggacccacc 2550
caagaactgc cctgggcctg tataccggat aatgactcag tgctggcaac 2600
atcagcctga agacaggccc aactttgcca tcattttgga gaggattgaa 2650
tactgcaccc aggacccgga tgtaatcaac accgctttgc cgatagaata 2700
tggtccactt gtggaagagg aagagaaagt gcctgtgagg cccaaggacc 2750
ctgagggggt tcctcctctc ctggtctctc aacaggcaaa acgggaggag 2800
gagcgcagcc cagctgcccc accacctctg cctaccacct cctctggcaa 2850
ggctgcaaag aaacccacag ctgcagaggt ctctgttcga gtccctagag 2900
ggccggccgt ggaaggggga cacgtgaata tggcattctc tcagtccaac 2950
cctccttcgg agttgcacag ggtccacgga tccagaaaca agcccaccag 3000
cttgtggaac ccaacgtacg gctcctggtt tacagagaaa cccaccaaaa 3050
agaataatcc tatagcaaag aaggagccac acgagagggg taacctgggg 3100
```

【０７３０】

【表１－１０】

```
ctggagggaa gctgtactgt cccacctaac gttgcaactg ggagacttcc  3150
gggggcctca ctgctcctag agccctcttc gctgactgcc aatatgaagg  3200
aggtacctct gttcaggcta cgtcacttcc cttgtgggaa tgtcaattac  3250
ggctaccagc aacagggctt gcccttagaa gccgctactg cccctggagc  3300
tggtcattac gaggatacca ttctgaaaag caagaatagc atgaaccagc  3350
ctgggccctg agctcggtcg cacactcact tctcttcctt gggatcccta  3400
agaccgtgg  （配列番号 7）
```

融合タンパク質EML4-ALK変異体5スプライシングアイソフォームaについてのmRNA

```
actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcccg cccctctaag cccggagccc  50
ggcgctttcc ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagtct cgatgatagt  100
atttctgctg caagtacttc tgatgttcaa gatcgcctgt cagctcttga  150
gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat cactgtgcta aaggcggctt  200
tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca tgtggcctca  250
gtgaaaaaat cagtctcaag taaAGTGTAC CGCCGGAAGC ACCAGGAGCT  300
GCAAGCCATG CAGATGGAGC TGCAGAGCCC TGAGTACAAG CTGAGCAAGC  350
TCCGCACCTC GACCATCATG ACCGACTACA ACCCCAACTA CTGCTTTGCT  400
GGCAAGACCT CCTCCATCAG TGACCTGAAG GAGGTGCCGC GGAAAAACAT  450
CACCCTCATT CGGGGTCTGG GCCATGGaGC CTTTGGGGAG GTGTATGAAG  500
GCCAGGTGTC CGGAATGCCC AACGACCCAA GCCCCCTGCA AGTGGCTGTG  550
AAGACGCTGC CTGAAGTGTG CTCTGAACAG GACGAACTGG ATTTCCTCAT  600
GGAAGCCCTG ATCATCAGCA AATTCAACCA CCAGAACATT GTTCGCTGCA  650
TTGGGGTGAG CCTGCAATCC CTGCCCCGGT TCATCCTGCT GGAGCTCATG  700
GCGGGGGGAG ACCTCAAGTC CTTCCTCCGA GAGACCCGCC CTCGCCCGAG  750
CCAGCCCTCC TCCCTGGCCA TGCTGGACCT TCTGCACGTG GCTCGGGACA  800
TTGCCTGTGG CTGTCAGTAT TTGGAGGAAA ACCACTTCAT CCACCGAGAC  850
ATTGCTGCCA GAAACTGCCT CTTGACCTGT CCAGGCCCTG GAAGAGTGGC  900
CAAGATTGGA GACTTCGGGA TGGCCCGAGA CATCTACAGG GCGAGCTACT  950
ATAGAAAGGG AGGCTGTGCC ATGCTGCCAG TTAAGTGGAT GCCCCCAGAG  1000
GCCTTCATGG AAGGAATATT CACTTCTAAA ACAGACACAT GGTCCTTTGG  1050
AGTGCTGCTA TGGGAAATCT TTTCTCTTGG ATATATGCCA TACCCCAGCA  1100
AAAGCAACCA GGAAGTTCTG GAGTTTGTCA CCAGTGGAGG CCGGATGGAC  1150
CCACCCAAGA ACTGCCCTGG GCCTGTATAC CGGATAATGA CTCAGTGCTG  1200
GCAACATCAG CCTGAAGACA GGCCCAACTT TGCCATCATT TTGGAGAGGA  1250
TTGAATACTG CACCCAGGAC CCGGATGTAA TCAACACCGC TTTGCCGATA  1300
GAATATGGTC CACTTGTGGA AGAGGAAGAG AAAGTGCCTG TGAGGCCCAA  1350
GGACCCTGAG GGGGTTCCTC CTCTCCTGGT CTCTCAACAG GCAAAACGGG  1400
AGGAGGAGCG CAGCCCAGCT GCCCCACCAC CTCTGCCTAC CACCTCCTCT  1450
GGCAAGGCTG CAAAGAAACC CACAGCTGCA GAGgTCTCTG TTCGAGTCCC  1500
TAGAGGGCCG GCCGTGGAAG GGGGACACGT GAATATGGCA TTCTCTCAGT  1550
CCAACCCTCC TTCGGAGTTG CACAgGGTCC ACGGATCCAG AAACAAGCCC  1600
ACCAGCTTGT GGAACCCAAC GTACGGCTCC TGGTTTACAG AGAAACCCAC  1650
CAAAAAGAAT AATCCTATAG CAAAGAAGGA GCCACACGAg AGGGGTAACC  1700
TGGGGCTGGA GGGAAGCTGT ACTGTCCCAC CTAACGTTGC AACTGGGAGA  1750
CTTCCGGGGG CCTCACTGCT CCTAGAGCCC TCTTCGCTGA CTGCCAATAT  1800
GAAGGAGGTA CCTCTGTTCA GGCTACGTCA CTTCCCTTGT GGGAATGTCA  1850
ATTACGGCTA CCAGCAACAG GGCTTGCCCT TAGAAGCCGC TACTGCCCCT  1900
GGAGCTGGTC ATTACGAGGA TACCATTCTG AAAAGCAAGA ATAGCATGAA  1950
CCAGCCTGGG CCCTGAGCTC GGTCGCACAC TCACTTCTCT TCCTTGGGAT  2000
CCCTAAGACC GTGG  （配列番号 8）
```

融合タンパク質EML4-ALK変異体5スプライシングアイソフォームbについてのmRNA

```
actctgtcgg tccgctgaat gaagtgcccg cccctctaag cccggagccc  50
ggcgctttcc ccgcaagatg gacggtttcg ccggcagtct cgatgatagt  100
atttctgctg caagtacttc tgatgttcaa gatcgcctgt cagctcttga  150
```

【０７３１】

【表１－１１】

```
gtcacgagtt cagcaacaag aagatgaaat cactgtgcta aaggcggctt  200
tggctgatgt tttgaggcgt cttgcaatct ctgaagatca tgtggcctca  250
gtgaaaaaat cagtctcaag tAAAGGTTCA GAGCTCAGGG GAGGATATGG  300
AGATCCAGGG AGGCTTCCTG TAGGAAGTGG CCTGTGTAGT GCTTCAAGGG  350
CCAGGCTGCC AGGCCATGTT GCAGCTGACC ACCCACCTGC AGTGTACCGC  400
CGGAAGCACC AGGAGCTGCA AGCCATGCAG ATGGAGCTGC AGAGCCCTGA  450
GTACAAGCTG AGCAAGCTCC GCACCTCGAC CATCATGACC GACTACAACC  500
CCAACTACTG CTTTGCTGGC AAGACCTCCT CCATCAGTGA CCTGAAGGAG  550
GTGCCGCGGA AAAACATCAC CCTCATTCGG GGTCTGGGCC ATGGaGCCTT  600
TGGGGAGGTG TATGAAGGCC AGGTGTCCGG AATGCCCAAC GACCCAAGCC  650
CCCTGCAAGT GGCTGTGAAG ACGCTGCCTG AAGTGTGCTC TGAACAGGAC  700
GAACTGGATT TCCTCATGGA AGCCCTGATC ATCAGCAAAT TCAACCACCA  750
GAACATTGTT CGCTGCATTG GGGTGAGCCT GCAATCCCTG CCCCGGTTCA  800
TCCTGCTGGA GCTCATGGCG GGGGGAGACC TCAAGTCCTT CCTCCGAGAG  850
ACCCGCCCTC GCCCGAGCCA GCCCTCCTCC CTGGCCATGC TGGACCTTCT  900
GCACGTGGCT CGGGACATTG CCTGTGGCTG TCAGTATTTG GAGGAAAACC  950
ACTTCATCCA CCGAGACATT GCTGCCAGAA ACTGCCTCTT GACCTGTCCA 1000
GGCCCTGGAA GAGTGGCCAA GATTGGAGAC TTCGGGATGG CCCGAGACAT 1050
CTACAGGGCG AGCTACTATA GAAAGGGAGG CTGTGCCATG CTGCCAGTTA 1100
AGTGGATGCC CCCAGAGGCC TTCATGGAAG GAATATTCAC TTCTAAAACA 1150
GACACATGGT CCTTTGGAGT GCTGCTATGG GAAATCTTTT CTCTTGGATA 1200
TATGCCATAC CCCAGCAAAA GCAACCAGGA AGTTCTGGAG TTTGTCACCA 1250
GTGGAGGCCG GATGGACCCA CCCAAGAACT GCCCTGGGCC TGTATACCGG 1300
ATAATGACTC AGTGCTGGCA ACATCAGCCT GAAGACAGGC CCAACTTTGC 1350
CATCATTTTG GAGAGGATTG AATACTGCAC CCAGGACCCG GATGTAATCA 1400
ACACCGCTTT GCCGATAGAA TATGGTCCAC TTGTGGAAGA GGAAGAGAAA 1450
GTGCCTGTGA GGCCCAAGGA CCCTGAGGGG GTTCCTCCTC TCCTGGTCTC 1500
TCAACAGGCA AAACGGGAGG AGGAGCGCAG CCCAGCTGCC CCACCACCTC 1550
TGCCTACCAC CTCCTCTGGC AAGGCTGCAA AGAAACCCAC AGCTGCAGAG 1600
gTCTCTGTTC GAGTCCCTAG AGGGCCGGCC GTGGAAGGGG GACACGTGAA 1650
TATGGCATTC TCTCAGTCCA ACCCTCCTTC GGAGTTGCAC AgGGTCCACG 1700
GATCCAGAAA CAAGCCCACC AGCTTGTGGA ACCCAACGTA CGGCTCCTGG 1750
TTTACAGAGA AACCCACCAA AAAGAATAAT CCTATAGCAA AGAAGGAGCC 1800
ACACGAgAGG GGTAACCTGG GGCTGGAGGG AAGCTGTACT GTCCCACCTA 1850
ACGTTGCAAC TGGGAGACTT CCGGGGGCCT CACTGCTCCT AGAGCCCTCT 1900
TCGCTGACTG CCAATATGAA GGAGGTACCT CTGTTCAGGC TACGTCACTT 1950
CCCTTGTGGG AATGTCAATT ACGGCTACCA GCAACAGGGC TTGCCCTTAG 2000
AAGCCGCTAC TGCCCCTGGA GCTGGTCATT ACGAGGATAC CATTCTGAAA 2050
AGCAAGAATA GCATGAACCA GCCTGGGCCC TGAGCTCGGT CGCACACTCA 2100
CTTCTCTTCC TTGGGATCCC TAAGACCGTG G （配列番号９）
```

融合タンパク質EML4-ALK変異体6についてのEML4-ALK変異体6 mRNA

```
tactctgtcg gtccgctgaa tgaagtgccc gcccctctaa gcccggagcc  50
cggcgctttc cccgcaagat ggacggtttc gccggcagtc tcgatgatag  100
tatttctgct gcaagtactt ctgatgttca agatcgcctg tcagctcttg  150
agtcacgagt tcagcaacaa gaagatgaaa tcactgtgct aaaggcggct  200
ttggctgatg ttttgaggcg tcttgcaatc tctgaagatc atgtggcctc  250
agtgaaaaaa tcagtctcaa gtaaaggcca accaagccct cgagcagtta  300
ttcccatgtc ctgtataacc aatggaagtg gtgcaaacag aaaaccaagt  350
cataccagtg ctgtctcaat tgcaggaaaa gaaactcttt catctgctgc  400
taaaagtggt acagaaaaaa agaaagaaaa accacaagga cagagagaaa  450
aaaaagagga atctcattct aatgatcaaa gtccacaaat tcgagcatca  500
ccttctcccc agccctcttc acaacctctc caaatacaca gacaaactcc  550
agaaagcaag aatgctactc ccaccaaaag cataaaacga ccatcaccag  600
ctgaaaagtc acataattct tgggaaaatt cagatgatag ccgtaataaa  650
ttgtcgaaaa taccttcaac acccaaatta ataccaaaag ttaccaaaac  700
```

【０７３２】

【表１－１２】

```
tgcagacaag cataaagatg tcatcatcaa ccaagaagga gaatatatta  750
aaatgtttat gcgcggtcgg ccaattacca tgttcattcc ttccgatgtt  800
gacaactatg atgacatcag aacggaactg cctcctgaga agctcaaact  850
ggagtgggca tatggttatc gaggaaagga ctgtagagct aatgtttacc  900
ttcttccgac cggggaaata gtttatttca ttgcatcagt agtagtacta  950
tttaattatg aggagagaac tcagcgacac tacctgggcc atacagactg 1000
tgtgaaatgc cttgctatac atcctgacaa aattaggatt gcaactggac 1050
agatagctgg cgtggataaa gatggaaggc ctctacaacc ccacgtcaga 1100
gtgtgggatt ctgttactct atccacactg cagattattg gacttggcac 1150
ttttgagcgt ggagtaggat gcctggattt ttcaaaagca gattcaggtg 1200
ttcatttatg tgttattgat gactccaatg agcatatgct tactgtatgg 1250
gactggcaga ggaaagcaaa aggagcagaa ataaagacaa caaatgaagt 1300
tgttttggct gtggagtttc acccaacaga tgcaaatacc ataattacat 1350
gcggtaaatc tcatattttc ttctggacct ggagcggcaa ttcactaaca 1400
agaaaacagg gaatttttgg gaaatatgaa aagccaaaat ttgtgcagtg 1450
tttagcattc ttggggaatg gagatgttct tactggagac tcaggtggag 1500
tcatgcttat atggagcaaa actactgtag agcccacacc tgggaaagga 1550
cctaaAGGAA GTGGCCTGTG TAGTGCTTCA AGGGCCAGGC TGCCAGGCCA 1600
TGTTGCAGCT GACCACCCAC CTGCAGTGTA CCGCCGGAAG CACCAGGAGC 1650
TGCAAGCCAT GCAGATGGAG CTGCAGAGCC CTGAGTACAA GCTGAGCAAG 1700
CTCCGCACCT CGACCATCAT GACCGACTAC AACCCCAACT ACTGCTTTGC 1750
TGGCAAGACC TCCTCCATCA GTGACCTGAA GGAGGTGCCG CGGAAAAACA 1800
TCACCCTCAT TCGGGGTCTG GGCCATGGaG CCTTTGGGGA GGTGTATGAA 1850
GGCCAGGTGT CCGGAATGCC CAACGACCCA AGCCCCCTGC AAGTGGCTGT 1900
GAAGACGCTG CCTGAAGTGT GCTCTGAACA GGACGAACTG GATTTCCTCA 1950
TGGAAGCCCT GATCATCAGC AAATTCAACC ACCAGAACAT TGTTCGCTGC 2000
ATTGGGGTGA GCCTGCAATC CCTGCCCCGG TTCATCCTGC TGGAGCTCAT 2050
GGCGGGGGGA GACCTCAAGT CCTTCCTCCG AGAGACCCGC CCTCGCCCGA 2100
GCCAGCCCTC CTCCCTGGCC ATGCTGGACC TTCTGCACGT GGCTCGGGAC 2150
ATTGCCTGTG GCTGTCAGTA TTTGGAGGAA AACCACTTCA TCCACCGAGA 2200
CATTGCTGCC AGAAACTGCC TCTTGACCTG TCCAGGCCCT GGAAGAGTGG 2250
CCAAGATTGG AGACTTCGGG ATGGCCCGAG ACATCTACAG GGCGAGCTAC 2300
TATAGAAAGG GAGGCTGTGC CATGCTGCCA GTTAAGTGGA TGCCCCCAGA 2350
GGCCTTCATG GAAGGAATAT TCACTTCTAA AACAGACACA TGGTCCTTTG 2400
GAGTGCTGCT ATGGGAAATC TTTTCTCTTG GATATATGCC ATACCCCAGC 2450
AAAAGCAACC AGGAAGTTCT GGAGTTTGTC ACCAGTGGAG GCCGGATGGA 2500
CCCACCCAAG AACTGCCCTG GGCCTGTATA CCGGATAATG ACTCAGTGCT 2550
GGCAACATCA GCCTGAAGAC AGGCCCAACT TTGCCATCAT TTTGGAGAGG 2600
ATTGAATACT GCACCCAGGA CCCGGATGTA ATCAACACCG CTTTGCCGAT 2650
AGAATATGGT CCACTTGTGG AAGAGGAAGA GAAAGTGCCT GTGAGGCCCA 2700
AGGACCCTGA GGGGGTTCCT CCTCTCCTGG TCTCTCAACA GGCAAAACGG 2750
GAGGAGGAGC GCAGCCCAGC TGCCCCACCA CCTCTGCCTA CCACCTCCTC 2800
TGGCAAGGCT GCAAAGAAAC CCACAGCTGC AGAGgTCTCT GTTCGAGTCC 2850
CTAGAGGGCC GGCCGTGGAA GGGGGACACG TGAATATGGC ATTCTCTCAG 2900
TCCAACCCTC CTTCGGAGTT GCACAgGGTC CACGGATCCA GAAACAAGCC 2950
CACCAGCTTG TGGAACCCAA CGTACGGCTC CTGGTTTACA GAGAAACCCA 3000
CCAAAAAGAA TAATCCTATA GCAAAGAAGG AGCCACACGA gAGGGGTAAC 3050
CTGGGGCTGG AGGGAAGCTG TACTGTCCCA CCTAACGTTG CAACTGGGAG 3100
ACTTCCGGGG GCCTCACTGC TCCTAGAGCC CTCTTCGCTG ACTGCCAATA 3150
TGAAGGAGGT ACCTCTGTTC AGGCTACGTC ACTTCCCTTG TGGGAATGTC 3200
AATTACGGCT ACCAGCAACA GGGCTTGCCC TTAGAAGCCG CTACTGCCCC 3250
TGGAGCTGGT CATTACGAGG ATACCATTCT GAAAAGCAAG AATAGCATGA 3300
ACCAGCCTGG GCCCTGAGCT CGGTCGCACA CTCACTTCTC TTCCTTGGGA 3350
TCCCTAAGAC CGTGG  （配列番号10）
```

【０７３３】

【表１－１３】

融合タンパク質EML4-ALK変異体７についてのmRNA

```
tACTCTGTCG GTCCGCTGAA TGAAGTGCCC GCCCCTCTAA GCCCGGAGCC  50
CGGCGCTTTC CCCGCAAGAT GGACGGTTTC GCCGGCAGTC TCGATGATAG  100
TATTTCTGCT GCAAGTACTT CTGATGTTCA AGATCGCCTG TCAGCTCTTG  150
AGTCACGAGT TCAGCAACAA GAAGATGAAA TCACTGTGCT AAAGGCGGCT  200
TTGGCTGATG TTTTGAGGCG TCTTGCAATC TCTGAAGATC ATGTGGCCTC  250
AGTGAAAAAA TCAGTCTCAA GTAAAGGCCA ACCAAGCCCT CGAGCAGTTA  300
TTCCCATGTC CTGTATAACC AATGGAAGTG GTGCAAACAG AAAACCAAGT  350
CATACCAGTG CTGTCTCAAT TGCAGGAAAA GAAACTCTTT CATCTGCTGC  400
TAAAAGTGGT ACAGAAAAAA AGAAAGAAAA ACCACAAGGA CAGAGAGAAA  450
AAAAAGAGGA ATCTCATTCT AATGATCAAA GTCCACAAAT TCGAGCATCA  500
CCTTCTCCCC AGCCCTCTTC ACAACCTCTC CAAATACACA GACAAACTCC  550
AGAAAGCAAG AATGCTACTC CCACCAAAAG CATAAAACGA CCATCACCAG  600
CTGAAAAGTC ACATAATTCT TGGGAAAATT CAGATGATAG CCGTAATAAA  650
TTGTCGAAAA TACCTTCAAC ACCCAAATTA ATACCAAAAG TTACCAAAAC  700
TGCAGACAAG CATAAAGATG TCATCATCAA CCAAGAAGGA GAATATATTA  750
AAATGTTTAT GCGCGGTCGG CCAATTACCA TGTTCATTCC TTCCGATGTT  800
GACAACTATG ATGACATCAG AACGGAACTG CCTCCTGAGA AGCTCAAACT  850
GGAGTGGGCA TATGGTTATC GAGGAAAGGA CTGTAGAGCT AATGTTTACC  900
TTCTTCCGAC CGGGgAAATA GTTTATTTCA TTGCATCAGT AGTAGTACTA  950
TTTAATTATG AGGAGAGAAC TCAGCGACAC TACCTGGGCC ATACAGACTG  1000
TGTGAAATGC CTTGCTATAC ATCCTGACAA AATTAGGATT GCAACTGGAC  1050
AGATAGCTGG CGTGGATAAA GATGGAAGGC CTCTACAACC CCACGTCAGA  1100
GTGTGGGATT CTGTTACTCT ATCCACACTG CAGATTATTG GACTTGGCAC  1150
TTTTGAGCGT GGAGTAGGAT GCCTGGATTT TTCAAAAGCA GATTCAGGTG  1200
TTCATTTATG TgTTATTGAT GACTCCAATG AGCATATGCT TACTGTATGG  1250
GACTGGCAGA gGAAAGCAAA AGGAGCAGAA ATAAAGACAA CAAATGAAGT  1300
TGTTTTGGCT GTGGAGTTTC ACCCAACAGA TGCAAATACC ATAATTACAT  1350
GCGGTAAATC TCATATTTTC TTCTGGACCT GGAGCGGCAA TTCACTAACA  1400
AGAAAACAGG GAATTTTTGG GAAATATGAA AAGCCAAAAT TTGTGCAGTG  1450
TTTAGCATTC TTGGGGAATG GAGATGTTCT TACTGGAGAC TCAGGTGGAG  1500
TCATGCTTAT ATGGAGCAAA ACTACTGTAG AGCCCACACC TGGGAAAGGA  1550
CCTAAAGGTG TATATCAAAT CAGCAAACAA ATCAAAGCTC ATGATGGCAG  1600
TGTGTTCACA CTTTGTCAGA TGAGAAATGG GATGTTATTA ACTGGAGGAG  1650
GGAAAGACAG AAAAATAATT CTGTGGGATC ATGATCTGAA TCCTGAAAGA  1700
GAAATAGAGc accaggagct gcaagccatg cagatggagc tgcagagccc  1750
tgagtacaag ctgagcaagc tccgcacctc gaccatcatg accgactaca  1800
accccaacta ctgctttgct ggcaagacct cctccatcag tgacctgaag  1850
gaggtgccgc ggaaaaacat caccctcatt cggggtctgg gccatggagc  1900
ctttggggag gtgtatgaag gccaggtgtc cggaatgccc aacgacccaa  1950
gccccctgca agtggctgtg aagacgctgc ctgaagtgtg ctctgaacag  2000
gacgaactgg atttcctcat ggaagccctg atcatcagca aattcaacca  2050
ccagaacatt gttcgctgca ttggggtgag cctgcaatcc ctgccccggt  2100
tcatcctgct ggagctcatg gcgggggggag acctcaagtc cttcctccga  2150
gagacccgcc ctcgcccgag ccagccctcc tccctggcca tgctggacct  2200
tctgcacgtg gctcgggaca ttgcctgtgg ctgtcagtat ttggaggaaa  2250
accacttcat ccaccgagac attgctgcca gaaactgcct cttgacctgt  2300
ccaggccctg gaagagtggc caagattgga gacttcggga tggcccgaga  2350
catctacagg gcgagctact atagaaaggg aggctgtgcc atgctgccag  2400
ttaagtggat gcccccagag gccttcatgg aaggaatatt cacttctaaa  2450
acagacacat ggtccctttgg agtgctgcta tgggaaatct tttctcttgg  2500
atatatgcca taccccagca aaagcaacca ggaagttctg gagtttgtca  2550
ccagtggagg ccggatggac ccacccaaga actgccctgg gcctgtatac  2600
cggataatga ctcagtgctg gcaacatcag cctgaagaca ggcccaactt  2650
tgccatcatt ttggagagga ttgaatactg cacccaggac ccggatgtaa  2700
tcaacaccgc tttgccgata gaatatggtc cacttgtgga agaggaagag  2750
aaagtgcctg tgaggcccaa ggaccctgag ggggttcctc ctctcctggt  2800
```

【０７３４】

【表１－１４】

```
ctctcaacag gcaaaacggg aggaggagcg cagcccagct gccccaccac  2850
ctctgcctac cacctcctct ggcaaggctg caaagaaacc cacagctgca  2900
gaggtctctg ttcgagtccc tagagggccg gccgtggaag ggggacacgt  2950
gaatatggca ttctctcagt ccaaccctcc ttcggagttg cacaaggtcc  3000
acggatccag aaacaagccc accagcttgt ggaacccaac gtacggctcc  3050
tggtttacag agaaacccac caaaaagaat aatcctatag caaagaagga  3100
gccacacgac aggggtaacc tggggctgga gggaagctgt actgtcccac  3150
ctaacgttgc aactgggaga cttccggggg cctcactgct cctagagccc  3200
tcttcgctga ctgccaatat gaaggaggta cctctgttca ggctacgtca  3250
cttcccttgt gggaatgtca attacggcta ccagcaacag ggcttgccct  3300
tagaagccgc tactgccccc ggagctggtc attacgagga taccattctg  3350
aaaagcaaga atagcatgaa ccagcctggg ccctgagctc ggtcgcacac  3400
tcacttctct tccttgggat ccctaagacc gtgga  （配列番号 11）
```

融合タンパク質KIF5B-ALKについてのmRNA

```
IGCGAGAAAG ATGGCGGACC TGGCCGAGTG CAACATCAAA GTGATGTGTC  50
GCTTCAGACC TCTCAACGAG TCTGAAGTGA ACCGCGGCGA CAAGTACATC  100
GCCAAGTTTC AGGGAGAAGA CACGGTCGTG ATCGCGTCCA AGCCTTATGC  150
ATTTGATCGG GTGTTCCAGT CAAGCACATC TCAAGAGCAA GTGTATAATG  200
ACTGTGCAAA GAAGATTGTT AAAGATGTAC TTGAAGGATA TAATGGAACA  250
ATATTTGCAT ATGGACAAAC ATCCTCTGGG AAGACACACA CAATGGAGGG  300
TAAACTTCAT GATCCAGAAG GCATGGGAAT TATTCCAAGA ATAGTGCAAG  350
ATATTTTTAA TTATATTTAC TCCATGGATG AAAATTTGGA ATTTCATATT  400
AAGGTTTCAT ATTTTGAAAT ATATTTGGAT AAGATAAGGG ACCTGTTAGA  450
TGTTTCAAAG ACCAACCTTT CAGTTCATGA AGACAAAAAC CGAGTTCCCT  500
ATGTAAAGGG GTGCACAGAG CGTTTTGTAT GTAGTCCAGA TGAAGTTATG  550
GATACCATAG ATGAAGGAAA ATCCAACAGA CATGTAGCAG TTACAAATAT  600
GAATGAACAT AGCTCTAGGA GTCACAGTAT ATTTCTTATT AATGTCAAAC  650
AAGAGAACAC ACAAACGGAA CAAAAGCTGA GTGGAAAACT TTATCTGGTT  700
GATTTAGCTG GTAGTGAAAA GGTTAGTAAA ACTGGAGCTG AAGGTGCTGT  750
GCTGGATGAA GCTAAAAACA TCAACAAGTC ACTTTCTGCT CTTGGAAATG  800
TTATTTCTGC TTTGGCTGAG GGTAGTACAT ATGTTCCATA TCGAGATAGT  850
AAAATGACAA GAATCCTTCA AGATTCATTA GGTGGCAACT GTAGAACCAC  900
TATTGTAATT TGCTGCTCTC CATCATCATA CAATGAGTCT GAAACAAAAT  950
CTACACTCTT ATTTGGCCAA AGGGCCAAAA CAATTAAGAA CACAGTTTGT  1000
GTCAATGTGG AGTTAACTGC AGAACAGTGG AAAAAGAAGT ATGAAAAAGA  1050
AAAAGAAAAA AATAAGATCC TGCGGAACAC TATTCAGTGG CTTGAAAATG  1100
AGCTCAACAG ATGGCGTAAT GGGGAGACGG TGCCTATTGA TGAACAGTTT  1150
GACAAAGAGA AAGCCAACTT GGAAGCTTTC ACAGTGGATA AAGATATTAC  1200
TCTTACCAAT GATAAACCAG CAACCGCAAT TGGAGTTATA GGAAATTTTA  1250
CTGATGCTGA AAGAAGAAAG TGTGAAGAAG AAATTGCTAA ATTATACAAA  1300
CAGCTTGATG ACAAGGATGA AGAAATTAAC CAGCAAAGTC AACTGGTAGA  1350
GAAACTGAAG ACGCAAATGT TGGATCAGGA GGAGCTTTTG GCATCTACCA  1400
GAAGGGATCA AGACAATATG CAAGCTGAGC TGAATCGCCT TCAAGCAGAA  1450
AATGATGCCT CTAAAGAAGA AGTGAAAGAA GTTTTACAGG CCCTAGAAGA  1500
ACTTGCTGTC AATTATGATC AGAAGTCTCA GGAAGTTGAA GACAAAACTA  1550
AGGAATATGA ATTGCTTAGT GATGAATTGA ATCAGAAATC GGCAACTTTA  1600
GCGAGTATAG ATGCTGAGCT TCAGAAACTT AAGGAAATGA CCAACCACCA  1650
GAAAAAACGA GCAGCTGAGA TGATGGCATC TTTACTAAAA GACCTTGCAG  1700
AAATAGGAAT TGCTGTGGGA AATAATGATG TAAAGCAGCC TGAGGGAACT  1750
GGCATGATAG ATGAAGAGTT CACTGTTGCA AGACTCTACA TTAGCAAAAT  1800
GAAGTCAGAA GTAAAAACCA TGGTGAAACG TTGCAAGCAG TTAGAAAGCA  1850
CACAAACTGA GAGCAACAAA AAAATGGAAG AAAATGAAAA GGAGTTAGCA  1900
GCATGTCAGC TTCGTATCTC TCAACATGAA GCCAAAATCA AGTCATTGAC  1950
TGAATACCTT CAAAATGTGG AACAAAAGAA AAGACAGTTG GAGGAATCTG  2000
TCGATGCCCT CAGTGAAGAA CTAGTCCAGC TTCGAGCACA AGAGAAAGTC  2050
```

【０７３５】

【表１－１５】

```
CATGAAATGG AAAAGGAGCA CTTAAATAAG GTTCAGACTG CAAATGAAGT  2100
TAAGCAAGCT GTTGAACAGC AGATCCAGAG CCATAGAGAA ACTCATCAAA  2150
AACAGATCAG TAGTTTGAGA GATGAAGTAG AAGCAAAAGC AAAACTTATT  2200
ACTGATCTTC AAGACCAAAA CCAGAAAATG ATGTTAGAGC AGGAACGTCT  2250
AAGAGTAGAA CATGAGAAGT TGAAAGCCAC AGATCAGGAA AAGAGCAGAA  2300
AACTACATGA ACTTACGGTT ATGCAAGATA GACGAGAACA AGCAAGACAA  2350
GACTTGAAGG GTTTGGAAGA GACAGTGGCA AAAGAACTTC AGACTTTACA  2400
CAACCTGCGC AAACTCTTTG TTCAGGACCT GGCTACAAGA GTTAAAAAGA  2450
GTGCTGAGAT TGATTCTGAT GACACCGGAG GCAGCGCTGC TCAGAAGCAA  2500
AAAATCTCCT TTCTTGAAAA TAATCTTGAA CAGCTCACTA AAGTGCACAA  2550
ACAGTTGGTA CGTGATAATG CAGATCTCCG CTGTGAACTT CCTAAGTTGG  2600
AAAAGCGACT TCGAGCTACA GCTGAGAGAG TGAAAGCTTT GGAATCAGCA  2650
CTGAAAGAAG CTAAAGAAAA TGCATCTCGT GATCGCAAAC GCTATCAGCA  2700
AGAAGTAGAT CGCATAAAGG AAGCAGTCAG GTCAAAGAAT ATGGCCAGAA  2750
GAGGGCATTC TGCACAGATT Gtgtaccgcc ggaagcacca ggagctgcaa  2800
gccatgcaga tggagctgca gagccctgag tacaagctga gcaagctccg  2850
cacctcgacc atcatgaccg actacaaccc caactactgc tttgctggca  2900
agacctcctc catcagtgac ctgaaggagg tgccgcggaa aaacatcacc  2950
ctcattcggg gtctgggcca tggcgccttt ggggaggtgt atgaaggcca  3000
ggtgtccgga atgcccaacg acccaagccc cctgcaagtg gctgtgaaga  3050
cgctgcctga agtgtgctct gaacaggacg aactggattt cctcatggaa  3100
gccctgatca tcagcaaatt caaccaccag aacattgttc gctgcattgg  3150
ggtgagcctg caatccctgc cccggttcat cctgctggag ctcatggcgg  3200
ggggagacct caagtccttc ctccgagaga cccgccctcg cccgagccag  3250
ccctcctccc tggccatgct ggaccttctg cacgtggctc gggacattgc  3300
ctgtggctgt cagtatttgg aggaaaacca cttcatccac cgagacattg  3350
ctgccagaaa ctgcctcttg acctgtccag gccctggaag agtggccaag  3400
attggagact tcgggatggc ccgagacatc tacagggcga gctactatag  3450
aaagggaggc tgtgccatgc tgccagttaa gtggatgccc ccagaggcct  3500
tcatggaagg aatattcact tctaaaacag acacatggtc ctttggagtg  3550
ctgctatggg aaatcttttc tcttggatat atgccatacc ccagcaaaag  3600
caaccaggaa gttctggagt ttgtcaccag tggaggccgg atggacccac  3650
ccaagaactg ccctgggcct gtataccgga taatgactca gtgctggcaa  3700
catcagcctg aagacaggcc caactttgcc atcattttgg agaggattga  3750
atactgcacc caggacccgg atgtaatcaa caccgctttg ccgatagaat  3800
atggtccact tgtggaagag gaagagaaag tgcctgtgag gcccaaggac  3850
cctgaggggg ttcctcctct cctggtctct caacaggcaa aacgggagga  3900
ggagcgcagc ccagctgccc caccacctct gcctaccacc tcctctggca  3950
aggctgcaaa gaaacccaca gctgcagagg tctctgttcg agtccctaga  4000
gggccggccg tggaaggggg acacgtgaat atggcattct ctcagtccaa  4050
ccctccttcg gagttgcaca aggtccacgg atccagaaac aagcccacca  4100
gcttgtggaa cccaacgtac ggctcctggt ttacagagaa acccaccaaa  4150
aagaataatc ctatagcaaa gaaggagcca cacgacaggg gtaacctggg  4200
gctggaggga agctgtactg tcccacctaa cgttgcaact gggagacttc  4250
cgggggcctc actgctccta gagccctctt cgctgactgc caatatgaag  4300
gaggtacctc tgttcaggct acgtcacttc ccttgtggga atgtcaatta  4350
cggctaccag caacagggct tgcccttaga agccgctact gcccctggag  4400
ctggtcatta cgaggatacc attctgaaaa gcaagaatag catgaaccag  4450
cctgggccct gagctcggtc gcacactca  （配列番号12）
```

TRK融合遺伝子/未分化大細胞リンパ腫キナーゼ(TFG/ALK融合体)極めて長い形態についてのmRNA

```
atgaacggac agttggatct aagtgggaag ctaatcatca aagctcaact  50
tggggaggat attcggcgaa ttcctattca taatgaagat attacttatg  100
atgaattagt gctaatgatg caacgagttt tcagaggaaa acttctgagt  150
aatgatgaag taacaataaa gtataaagat gaagatggag atcttataac  200
aatttttgat agttctgacc tttcctttgc aattcagtgc agtaggatac  250
```

【０７３６】

【表１－１６】

```
tgaaactgac attatttgtt aatggccagc caagacccct tgaatcaagt  300
caggtgaaat atctccgtcg agaactgata gaacttcgaa ataaagtgaa  350
tcgtttattg gatagcttgg aaccacctgg agaaccagga ccttccacca  400
atattcctga aaatgatact gtggatggta gggaagaaaa gtctgcttct  450
gattcttctg gaaaacagtc tactcaggtt atggcagcaa gtatgtctgc  500
ttttgatcct ttaaaaaacc aagatgaaat caataaaaat gttatgtcag  550
cgtttggctt aacagatgat caggtttcag ggccacccag tgctcctgca  600
gaagatcgtt caggaacacc cgacagcatt gcttcctcct cctcagcagc  650
tcacccacca ggcgttcagc cacagcagcc accatataca ggagctcaga  700
ctcaagcagg tcagattgaA GTGTACCGCC GGAAGCACCA GGAGCTGCAA  750
GCCATGCAGA TGGAGCTGCA GAGCCCTGAG TACAAGCTGA GCAAGCTCCG  800
CACCTCGACC ATCATGACCG ACTACAACCC CAACTACTGC TTTGCTGGCA  850
AGACCTCCTC CATCAGTGAC CTGAAGGAGG TGCCGCGGAA AAACATCACC  900
CTCATTCGGG GTCTGGGCCA TGGCGCCTTT GGGGAGGTGT ATGAAGGCCA  950
GGTGTCCGGA ATGCCCAACG ACCCAAGCCC CCTGCAAGTG GCTGTGAAGA 1000
CGCTGCCTGA AGTGTGCTCT GAACAGGACG AACTGGATTT CCTCATGGAA 1050
GCCCTGATCA TCAGCAAATT CAACCACCAG AACATTGTTC GCTGCATTGG 1100
GGTGAGCCTG CAATCCCTGC CCCGGTTCAT CCTGCTGGAG CTCATGGCGG 1150
GGGGAGACCT CAAGTCCTTC CTCCGAGAGA CCCGCCCTCG CCCGAGCCAG 1200
CCCTCCTCCC TGGCCATGCT GGACCTTCTG CACGTGGCTC GGGACATTGC 1250
CTGTGGCTGT CAGTATTTGG AGGAAAACCA CTTCATCCAC CGAGACATTG 1300
CTGCCAGAAA CTGCCTCTTG ACCTGTCCAG GCCCTGGAAG AGTGGCCAAG 1350
ATTGGAGACT TCGGGATGGC CCGAGACATC TACAGGGCGA GCTACTATAG 1400
AAAGGGAGGC TGTGCCATGC TGCCAGTTAA GTGGATGCCC CCAGAGGCCT 1450
TCATGGAAGG AATATTCACT TCTAAAACAG ACACATGGTC CTTTGGAGTG 1500
CTGCTATGGG AAATCTTTTC TCTTGGATAT ATGCCATACC CCAGCAAAAG 1550
CAACCAGGAA GTTCTGGAGT TTGTCACCAG TGGAGGCCGG ATGGACCCAC 1600
CCAAGAACTG CCCTGGGCCT GTATACCGGA TAATGACTCA GTGCTGGCAA 1650
CATCAGCCTG AAGACAGGCC CAACTTTGCC ATCATTTTGG AGAGGATTGA 1700
ATACTGCACC CAGGACCCGG ATGTAATCAA CACCGCTTTG CCGATAGAAT 1750
ATGGTCCACT TGTGGAAGAG GAAGAGAAAG TGCCTGTGAG GCCCAAGGAC 1800
CCTGAGGGGG TTCCTCCTCT CCTGGTCTCT CAACAGGCAA AACGGGAGGA 1850
GGAGCGCAGC CCAGCTGCCC CACCACCTCT GCCTACCACC TCCTCTGGCA 1900
AGGCTGCAAA GAAACCCACA GCTGCAGAGg TCTCTGTTCG AGTCCCTAGA 1950
GGGCCGGCCG TGGAAGGGGG ACACGTGAAT ATGGCATTCT CTCAGTCCAA 2000
CCCTCCTTCG GAGTTGCACA AGGTCCACGG ATCCAGAAAC AAGCCCACCA 2050
GCTTGTGGAA CCCAACGTAC GGCTCCTGGT TTACAGAGAA ACCCACCAAA 2100
AAGAATAATC CTATAGCAAA GAAGGAGCCA CACGACAGGG GTAACCTGGG 2150
GCTGGAGGGA AGCTGTACTG TCCCACCTAA CGTTGCAACT GGGAGACTTC 2200
CGGGGGCCTC ACTGCTCCTA GAGCCCTCTT CGCTGACTGC CAATATGAAG 2250
GAGGTACCTC TGTTCAGGCT ACGTCACTTC CCTTGTGGGA ATGTCAATTA 2300
CGGCTACCAG CAACAGGGCT TGCCCTTAGA AGCCGCTACT GCCCCTGGAG 2350
CTGGTCATTA CGAGGATACC ATTCTGAAAA GCAAGAATAG CATGAACCAG 2400
CCTGGGCCCT Ga （配列番号 13)
```

ヌクレオフォスミン－未分化リンパ腫キナーゼ融合体タンパク質(NPM/ALK)についてのmRNA

```
atggaagatt cgatggacat ggacatgagc cccctgaggc cccagaacta  50
tcttttcggt tgtgaactaa aggccgacaa agattatcac tttaaggtgg  100
ataatgatga aaatgagcac cagttatctt taagaacggt cagtttaggg  150
gctggtgcaa aggatgagtt gcacattgtt gaagcagagg caatgaatta  200
cgaaggcagt ccaattaaag taacactggc aactttgaaa atgtctgtac  250
agccaacggt ttcccttggg ggctttgaaa taacaccacc agtggtctta  300
aggttgaagt gtggttcagg gccagtgcat attagtggac agcacttagt  350
AGTGTACCGC CGGAAGCACC AGGAGCTGCA AGCCATGCAG ATGGAGCTGC  400
AGAGCCCTGA GTACAAGCTG AGCAAGCTCC GCACCTCGAC CATCATGACC  450
GACTACAACC CCAACTACTG CTTTGCTGGC AAGACCTCCT CCATCAGTGA  500
```

【０７３７】

【表１－１７】

```
CCTGAAGGAG GTGCCGCGGA AAAACATCAC CCTCATTCGG GGTCTGGGCC  550
ATGGCGCCTT TGGGGAGGTG TATGAAGGCC AGGTGTCCGG AATGCCCAAC  600
GACCCAAGCC CCCTGCAAGT GGCTGTGAAG ACGCTGCCTG AAGTGTGCTC  650
TGAACAGGAC GAACTGGATT TCCTCATGGA AGCCCTGATC ATCAGCAAAT  700
TCAACCACCA GAACATTGTT CGCTGCATTG GGGTGAGCCT GCAATCCCTG  750
CCCCGGTTCA TCCTGCTGGA GCTCATGGCG GGGGGAGACC TCAAGTCCTT  800
CCTCCGAGAG ACCCGCCCTC GCCCGAGCCA GCCCTCCTCC CTGGCCATGC  850
TGGACCTTCT GCACGTGGCT CGGGACATTG CCTGTGGCTG TCAGTATTTG  900
GAGGAAAACC ACTTCATCCA CCGAGACATT GCTGCCAGAA ACTGCCTCTT  950
GACCTGTCCA GGCCCTGGAA GAGTGGCCAA GATTGGAGAC TTCGGGATGG 1000
CCCGAGACAT CTACAGGGCG AGCTACTATA GAAAGGGAGG CTGTGCCATG 1050
CTGCCAGTTA AGTGGATGCC CCCAGAGGCC TTCATGGAAG GAATATTCAC 1100
TTCTAAAACA GACACATGGT CCTTTGGAGT GCTGCTATGG GAAATCTTTT 1150
CTCTTGGATA TATGCCATAC CCCAGCAAAA GCAACCAGGA AGTTCTGGAG 1200
TTTGTCACCA GTGGAGGCCG GATGGACCCA CCCAAGAACT GCCCTGGGCC 1250
TGTATACCGG ATAATGACTC AGTGCTGGCA ACATCAGCCT GAAGACAGGC 1300
CCAACTTTGC CATCATTTTG GAGAGGATTG AATACTGCAC CCAGGACCCG 1350
GATGTAATCA ACACCGCTTT GCCGATAGAA TATGGTCCAC TTGTGGAAGA 1400
GGAAGAGAAA GTGCCTGTGA GGCCCAAGGA CCCTGAGGGG GTTCCTCCTC 1450
TCCTGGTCTC TCAACAGGCA AAACGGGAGG AGGAGCGCAG CCCAGCTGCC 1500
CCACCACCTC TGCCTACCAC CTCCTCTGGC AAGGCTGCAA AGAAACCCAC 1550
AGCTGCAGAG gTCTCTGTTC GAGTCCCTAG AGGGCCGGCC GTGGAAGGGG 1600
GACACGTGAA TATGGCATTC TCTCAGTCCA ACCCTCCTTC GGAGTTGCAC 1650
AAGGTCCACG GATCCAGAAA CAAGCCCACC AGCTTGTGGA ACCCAACGTA 1700
CGGCTCCTGG TTTACAGAGA AACCCACCAA AAAGAATAAT CCTATAGCAA 1750
AGAAGGAGCC ACACGACAGG GGTAACCTGG GGCTGGAGGG AAGCTGTACT 1800
GTCCCACCTA ACGTTGCAAC TGGGAGACTT CCGGGGGCCT CACTGCTCCT 1850
AGAGCCCTCT TCGCTGACTG CCAATATGAA GGAGGTACCT CTGTTCAGGC 1900
TACGTCACTT CCCTTGTGGG AATGTCAATT ACGGCTACCA GCAACAGGGC 1950
TTGCCCTTAG AAGCCGCTAC TGCCCCTGGA GCTGGTCATT ACGAGGATAC 2000
CATTCTGAAA AGCAAGAATA GCATGAACCA GCCTGGGCCC TGa
```

ALK 点変異：

F1245I/L; L1204F; A1200V; L1196M; I1170S; T1151M; R1275Q; F1174V/C/L; T1087I; K1062M

【０７３８】

表 2: EGFR遺伝子型, KRAS遺伝子型およびALK遺伝子型による、人口統計、ベースライン特性および化学療法による治療歴

		合計	EGFR状態 (n=68)		KRAS状態 (n=38)		ALK状態 (n=15)	
			野生型	変異体	野生型	変異体	再配列は検出されなかった	再配列が検出された
患者数		76	40	28	26	12	12	3
年齢(歳)	中央値	64.0	63.0	66.0	61.0	65.0	65.5	48.0
	範囲	31-82	31-79	44-82	31-81	52-76	48-76	31-58
性別(n [%])	女性	48 (63)	22 (55)	20 (71)	17 (65)	7 (58)	9 (75)	1 (33)
	男性	28 (37)	18 (45)	8 (29)	9 (35)	5 (42)	3 (25)	2 (67)
人種 (n [%])	アジア人	11 (14)	6 (15)	5 (18)	4 (15)	0	2 (17)	1 (33)
	黒人またはアフリカ系アメリカ人	4 (5)	2 (5)	2 (7)	2 (8)	0	0	0
	白人	61 (80)	32 (80)	21 (75)	20 (77)	12 (100)	10 (83)	2 (67)
喫煙状態(n[%])	現在喫煙者	0	0	0	0	0	0	0
	非喫煙者	34 (45)	13 (33)	17 (61)	13 (50)	0	3 (25)	3 (100)
	以前喫煙者	42 (55)	27 (68)	11 (39)	13 (50)	12 (100)	9 (75)	0
診断からの月数	中央値	27.5	24.6	37.2	25.7	20.6	28.5	29.7
	範囲	8-120	8-120	11-108	10-120	11-71	11-71	10-120
ヒストロジー(n [%])	腺癌	59 (78)	31 (78)	23 (82)	21 (81)	10 (83)	11 (92)	3 (100)
	気管支肺胞	4 (5)	2 (5)	2 (7)	0	1 (8)	0	0
	大細胞	2 (3)	2 (5)	0	1 (4)	1 (8)	0	0
	扁平上皮	6 (8)	4 (10)	1 (4)	3 (12)	0	1 (8)	0
	不明 NSCLC	5 (7)	1 (3)	2 (7)	1 (4)	0	0	0
NSCLCについての以前の治療レジメンの数	中央値	4.0	4.0	3.0	3.0	3.5	4.0	3.0
	範囲	1-11	1-7	1-11	1-6	2-7	2-7	3-5
TKI治療に対する以前の最良の反応	CR	1 (1)	0	1 (4)	1 (4)	0	0	0
	PR	18 (24)	2 (5)	14 (50)	3 (12)	1 (8)	1 (8)	0
研究前のTKIでの総月数	中央値	1.8	1.5	10.5	1.7	1.2	1.9	0.0
	範囲	0-61	0-25	0-61	0-61	0-16	0-16	0-1

【０７３９】

【表３】

表 3: 最も一般的な有害事象 (≥15％の患者は何の有害事象も無かった)

	任意の事象を有する患者 n (%)	グレード1または2の事象を有する患者 n (%)	グレード3以上の事象を有する患者 n (%)
MedDRA 好ましい用語[a]			
疲労	44 (57.9)	41 (53.9)	6 (7.9)
悪心	43 (56.6)	41 (53.9)	6 (7.9)
下痢	40 (52.6)	37 (48.7)	8 (10.5)
嘔吐	28 (36.8)	25 (32.9)	6 (7.9)
咳	24 (31.6)	24 (31.6)	2 (2.6)
尿の色の異常	22 (28.9)	22 (28.9)	0 (0.0)
食欲不振症	19 (25.0)	18 (23.7)	4 (5.3)
関節痛	19 (25.0)	17 (22.4)	2 (2.6)
筋肉痛	19 (25.0)	18 (23.7)	1 (1.3)
頭痛	19 (25.0)	19 (25.0)	0 (0.0)
腹痛	18 (23.7)	18 (23.7)	1 (1.3)
便秘	18 (23.7)	18 (23.7)	2 (2.6)
呼吸困難	18 (23.7)	15 (19.7)	6 (7.9)
背中の痛み	16 (21.1)	16 (21.1)	0 (0.0)
注入部位の痛み	15 (19.7)	15 (19.7)	0 (0.0)
脱水症	14 (18.4)	11 (14.5)	3 (3.9)
筋骨格胸部痛	13 (17.1)	11 (14.5)	3 (3.9)
発熱	12 (15.8)	12 (15.8)	0 (0.0)
視覚のかすみ	12 (15.8)	12 (15.8)	0 (0.0)
不眠症	12 (15.8)	12 (15.8)	0 (0.0)
めまい感	12 (15.8)	12 (15.8)	0 (0.0)
肝機能検査[a]			
アルカリホスファターゼ	47 (61.8)	43 (56.6)	4 (5.3)
AST	37 (48.7)	30 (39.5)	7 (9.2)
ALT	31 (40.8)	26 (34.2)	5 (6.6)
総ビリルビン	3 (3.9)	3 (3.9)	0 (0.0)

a. 実験室値に基づく最大のベースライン後グレード

【０７４０】

表 4: 分子の特徴付けに基づくIPI-504の臨床的有効性

	合計	EGFR状態 (n=68)		KRAS状態 (n=38)		ALK状態 (n=15)	
		野生型	変異体	野生型	変異体	再配列は検出されなかった	再配列が検出された
患者数 (n [%])	76	40 (53)	28 (37)	26 (34)	12 (16)	12 (16)	3 (4)
目的の反応率 (全てPR) (n [%])	5 (7)	4 (10)	1 (4)	3 (12)*	0 (0)	1 (8)	2 (67)
少なくとも3ヶ月にわたってRECIST安定疾患またはより良い (n [%])	18 (24)	10 (25)	6 (21)	4 (15)	5 (42)	3 (25)	3 (100)
メジアンPFS (95% CI)	2.86 (2.43-4.18)	2.86 (1.18-5.33)	2.76 (2.40-3.91)	2.86 (1.22-10.20)	3.91 (1.12-4.18)	2.43 (1.13-5.33)	決定できなかった

*3人のKRAS野生型応答者のうちの2人は、ALKが再配列されていた；3人目はALK野生型と確認された。

40 30 20 10

【表５－１】

表 5.

KRAS Ref Seq mRNA
>NM_033360.2
ggccgcggcggcggaggcagcagcggcggcggcagtggcggcggcgaaggtggcggcggctcggccagtac
tcccggcccccgccatttcggactgggagcgagcgcggcgcaggcactgaaggcggcggcggggccagagg
ctcagcggctcccaggtgcgggagagaggcctgctgaaaatgactgaatataaacttgtggtagttggagc
tggtggcgtaggcaagagtgccttgacgatacagctaattcagaatcattttgtggacgaatatgatccaa
caatagaggattcctacaggaagcaagtagtaattgatggagaaacctgtctcttggatattctcgacaca
gcaggtcaagaggagtacagtgcaatgagggaccagtacatgaggactggggagggctttctttgtgtatt
tgccataaataatactaaatcatttgaagatattcaccattatagagaacaaattaaaagagttaaggact
ctgaagatgtacctatggtcctagtaggaaataaatgtgatttgccttctagaacagtagacacaaaacag
gctcaggacttagcaagaagttatggaattccttttattgaaacatcagcaaagacaagacagagagtgga
ggatgctttttatacattggtgagggagatccgacaatacagattgaaaaaaatcagcaaagaagaaaaga
ctcctggctgtgtgaaaattaaaaaatgcattataatgtaatctgggtgttgatgatgccttctatacatt
agttcgagaaattcgaaaacataaagaaaagatgagcaaagatggtaaaaagaagaaaaagaagtcaaaga
caaagtgtgtaattatgtaaatacaatttgtacttttttcttaaggcatactagtacaagtggtaatttttt
gtacattacactaaattattagcatttgttttagcattacctaatttttttcctgctccatgcagactgtt
agcttttaccttaaatgcttattttaaaatgacagtggaagttttttttttcctctaagtgccagtattccc
agagttttggtttttgaactagcaatgcctgtgaaaaagaaactgaatacctaagatttctgtcttggggt
ttttggtgcatgcagttgattacttcttatttttcttaccaattgtgaatgttggtgtgaaacaaattaat
gaagcttttgaatcatccctattctgtgttttatctagtcacataaatggattaattactaatttcagttg
agaccttctaattggtttttactgaaacattgagggaacacaaatttatgggcttcctgatgatgattctt
ctaggcatcatgtcctatagtttgtcatccctgatgaatgtaaagttacactgttcacaaaggttttgtct
cctttccactgctattagtcatggtcactctccccaaaatattatatttttttctataaaaagaaaaaaatg
gaaaaaaattacaaggcaatggaaactattataaggccatttccttttcacattagataaattactataaa
gactcctaatagcttttcctgttaaggcagacccagtatgaaatggggattattatagcaaccattttggg
gctatatttacatgctactaaatttttataataattgaaaagattttaacaagtataaaaaattctcatag
gaattaaatgtagtctccctgtgtcagactgctctttcatagtataactttaaatcttttcttcaacttga
gtctttgaagatagttttaattctgcttgtgacattaaaagattatttgggccagttatagcttattaggg
ttgaagagaccaaggttgcaaggccaggccctgtgtgaacctttgagctttcatagagagtttcacagcat
ggactgtgtccccacggtcatccagtgttgtcatgcattggttagtcaaaatggggagggactagggcagt
ttggatagctcaacaagatacaatctcactctgtggtggtcctgctgacaaatcaagagcattgcttttgt
ttcttaagaaaacaaactctttttttaaaaattacttttaaatattaactcaaaagttgagattttggggtg
gtggtgtgccaagacattaatttttttttttaaacaatgaagtgaaaaagttttacaatctctaggtttggc
tagttctcttaacactggttaaattaacattgcataaacacttttcaagtctgatccatatttaataatgc
tttaaaataaaaataaaaacaatccttttgataaatttaaaatgttacttatttttaaaataaatgaagtga
gatggcatggtgaggtgaaagtatcactggactaggaagaaggtgacttaggttctagataggtgtctttt
aggactctgattttgaggacatcacttactatccatttcttcatgttaaaagaagtcatctcaaactctta
gtttttttttttttacaactatgtaatttatattccatttacataaggatacacttatttgtcaagctcagc
acaatctgtaaatttttaacctatgttacaccatcttcagtgccagtcttgggcaaaattgtgcaagaggt
gaagtttatatttgaatatccattctcgttttaggactcttcttccatattagtgtcatcttgcctcccta
ccttccacatgccccatgacttgatgcagttttaatacttgtaattcccctaaccataagatttactgctg
ctgtggatatctccatgaagttttcccactgagtcacatcagaaatgccctacatcttatttcctcagggc
tcaagagaatctgacagataccataaagggatttgacctaatcactaattttcaggtggtggctgatgctt
tgaacatctctttgctgcccaatccattagcgacagtaggatttttcaaacctggtatgaatagacagaac
cctatccagtggaaggagaatttaataaagatagtgctgaaagaattccttaggtaatctataactaggac
tactcctggtaacagtaatacattccattgttttagtaaccagaaatcttcatgcaatgaaaaatacttta
attcatgaagcttactttttttttttggtgtcagagtctcgctcttgtcacccaggctggaatgcagtggc
gccatctcagctcactgcaacctccatctcccaggttcaagcgattctcgtgcctcggcctcctgagtagc
tgggattacaggcgtgtgccactacactcaactaatttttgtatttttaggagagacggggtttcaccctg
ttggccaggctggtctcgaactcctgacctcaagtgattcacccaccttggcctcataaacctgttttgca
gaactcatttattcagcaaatatttattgagtgcctaccagatgccagtcaccgcacaaggcactgggtat
atggtatccccaaacaagagacataatcccggtccttaggtagtgctagtgtggtctgtaatatcttacta
aggcctttggtatacgacccagagataacacgatgcgtattttagttttgcaaagaaggggtttggtctct
gtgccagctctataattgttttgctacgattccactgaaactcttcgatcaagctactttatgtaaatcac

【０７４２】

【表５－２】

ttcattgttttaaaggaataaacttgattatattgtttttttatttggcataactgtgattcttttaggac
aattactgtacacattaaggtgtatgtcagatattcatattgacccaaatgtgtaatattccagttttctc
tgcataagtaatttaaaatatacttaaaaattaatagttttatctgggtacaaataaacaggtgcctgaact
agttcacagacaaggaaacttctatgtaaaaatcactatgatttctgaattgctatgtgaaactacagatc
tttggaacactgtttaggtagggtgttaagacttacacagtacctcgtttctacacagagaaagaaatggc
catacttcaggaactgcagtgcttatgaggggatatttaggcctcttgaatttttgatgtagatgggcatt
tttttaaggtagtggttaattacctttatgtgaactttgaatggtttaacaaaagatttgtttttgtagag
attttaaaggggggagaattctagaaataaatgttacctaattattacagccttaaagacaaaaatccttgt
tgaagtttttttaaaaaaagctaaattacatagacttaggcattaacatgtttgtggaagaatatagcaga
cgtatattgtatcatttgagtgaatgttcccaagtaggcattctaggctctatttaactgagtcacactgc
ataggaatttagaacctaacttttataggttatcaaaactgttgtcaccattgcacaattttgtcctaata
tatacatagaaactttgtggggcatgttaagttacagtttgcacaagttcatctcatttgtattccattga
ttttttttttcttctaaacatttttttcttcaaacagtatataacttttttttaggggatttttttttagaca
gcaaaaactatctgaagatttccatttgtcaaaaagtaatgatttcttgataattgtgtagtaatgttttt
tagaacccagcagttaccttaaagctgaatttatatttagtaacttctgtgttaatactggatagcatgaa
ttctgcattgagaaactgaatagctgtcataaaatgaaactttctttctaaagaaagatactcacatgagt
tcttgaagaatagtcataactagattaagatctgtgttttagtttaatagtttgaagtgcctgtttgggat
aatgataggtaatttagatgaatttaggggaaaaaaaagttatctgcagatatgttgagggcccatctctc
cccccacacccccacagagctaactgggttacagtgttttatccgaaagtttccaattccactgtcttgtg
ttttcatgttgaaaatacttttgcatttttcctttgagtgccaatttcttactagtactatttcttaatgt
aacatgtttacctggaatgtattttaactatttttgtatagtgtaaactgaaacatgcacattttgtacat
tgtgctttctttttgtgggacatatgcagtgtgatccagttgttttccatcatttggttgcgctgacctagg
aatgttggtcatatcaaacattaaaaatgaccactcttttaattgaaattaacttttaaatgtttatagga
gtatgtgctgtgaagtgatctaaaatttgtaatatttttgtcatgaactgtactactcctaattattgtaa
tgtaataaaaatagttacagtgacaaaaaaaaaaaaaaa （**配列番号** 14）

HRAS Ref Seq mRNA
>NM_176795.3
tgccctgcgcccgcaacccgagccgcacccgccgcggacggagcccatgcgcggggcgaaccgcgcgcccc
cgccccgccccgccccggcctcggccccggccctggccccgggggcagtcgcgcctgtgaacggtggggc
aggagaccctgtaggaggaccccgggccgcaggcccctgaggagcgatgacggaatataagctggtggtgg
tgggcgccggcggtgtgggcaagagtgcgctgaccatccagctgatccagaaccattttgtggacgaatac
gaccccactatagaggattcctaccggaagcaggtggtcattgatggggagacgtgcctgttggacatccg
gataccgccggccaggaggagtacagcgccatgcgggaccagtacatgcgcaccggggagggcttcctgtg
tgtgtttgccatcaacaacaccaagtcttttgaggacatccaccagtacagggagcagatcaaacgggtga
aggactcggatgacgtgcccatggtgctggtggggaacaagtgtgacctggctgcacgcactgtggaatct
cggcaggctcaggacctcgcccgaagctacggcatcccctacatcgagacctcggccaagacccggcaggg
cagccgctctggctctagctccagctccgggaccctctgggaccccccgggacccatgtgacccagcggcc
cctcgcgctggagtggaggatgccttctacacgttggtgcgtgagatccggcagcacaagctgcggaagct
gaaccctcctgatgagagtggccccggctgcatgagctgcaagtgtgtgctctcctgacgcaggtgagggg
gactcccagggcggccgccacgcccaccggatgaccccggctccccgcccctgccggtctcctggcctgcg
gtcagcagcctcccttgtgccccgcccagcacaagctcaggacatggaggtgccggatgcaggaaggaggt
gcagacggaaggaggaggaaggaaggacggaagcaaggaaggaaggaagggctgctggagcccagtcaccc
cgggaccgtgggccgaggtgactgcagaccctcccagggaggctgtgcacagactgtcttgaacatcccaa
atgccaccggaaccccagcccttagctcccctcccaggcctctgtgggcccttgtcgggcacagatgggat
cacagtaaattattggatggtcttgaaaaaaaaaaaaaaaaa （**配列番号** 15）

NRAS Ref Seq mRNA
>NM_002524.3
gaaacgtcccgtgtgggaggggcgggtctgggtgcggcctgccgcatgactcgtggttcggaggcccacgt
ggccgggggcggggactcaggcgcctggggcgccgactgattacgtagcgggcggggccggaagtgccgctc
cttggtgggggctgttcatggcggttccggggtctccaacatttttcccggctgtggtcctaaatctgtcc
aaagcagaggcagtggagcttgaggttcttgctggtgtgaaatgactgagtacaaactggtggtggttgga
gcaggtggtgttgggaaaagcgcactgacaatccagctaatccagaaccactttgtagatgaatatgatcc
caccatagaggattcttacagaaaacaagtggttatagatggtgaaacctgtttgttggacatactggata
cagctggacaagaagagtacagtgccatgagagaccaatacatgaggacaggcgaaggcttcctctgtgta

【０７４３】

【表５－３】

tttgccatcaataatagcaagtcatttgcggatattaacctctacagggagcagattaagcgagtaaaaga
ctcggatgatgtacctatggtgctagtgggaaacaagtgtgatttgccaacaaggacagttgatacaaaac
aagcccacgaactggccaagagttacgggattccattcattgaaacctcagccaagaccagacagggtgtt
gaagatgctttttacacactggtaagagaaatacgccagtaccgaatgaaaaaactcaacagcagtgatga
tgggactcagggttgtatgggattgccatgtgtggtgatgtaacaagatacttttaaagttttgtcagaaa
agagccactttcaagctgcactgacaccctggtcctgacttccctggaggagaagtattcctgttgctgtc
ttcagtctcacagagaagctcctgctacttccccagctctcagtagtttagtacaataatctctatttgag
aagttctcagaataactacctcctcacttggctgtctgaccagagaatgcacctcttgttactccctgtta
ttttttctgccctgggttcttccacagcacaaacacacctctgccaccccaggtttttcatctgaaaagcag
ttcatgtctgaaacagagaaccaaaccgcaaacgtgaaattctattgaaaacagtgtcttgagctctaaag
tagcaactgctggtgatttttttttttcttttactgttgaacttagaactatgctaatttttggagaaatg
tcataaattactgttttgccaagaatatagttattattgctgtttggtttgtttataatgttatcggctct
attctctaaactggcatctgctctagattcataaatacaaaaatgaatactgaattttgagtctatcctag
tcttcacaactttgacgtaattaaatccaactttcacagtgaagtgccttttttcctagaagtggtttgtag
acttcctttataatatttcagtggaatagatgtctcaaaaatccttatgcatgaaatgaatgtctgagata
cgtctgtgacttatctaccattgaaggaaagctatatctatttgagagcagatgccatttttgtacatgtat
gaaattggttttccagaggcctgttttggggctttcccaggagaaagatgaaactgaaagcacatgaataa
tttcacttaataatttttacctaatctccacttttttcataggttactacctatacaatgtatgtaatttg
tttcccctagcttactgataaacctaatattcaatgaacttccatttgtattcaaatttgtgtcataccag
aaagctctacatttgcagatgttcaaatattgtaaaactttggtgcattgttatttaatagctgtgatcag
tgattttcaaacctcaaatatagtatattaacaaattacattttcactgtatatcatggtatcttaatgat
gtatataattgccttcaatccccttctcaccccaccctctacagcttcccccacagcaataggggcttgat
tatttcagttgagtaaagcatggtgctaatggaccagggtcacagtttcaaaacttgaacaatccagttag
catcacagagaaagaaattcttctgcatttgctcattgcaccagtaactccagctagtaattttgctagg
tagctgcagttagccctgcaaggaaagaagaggtcagttagcacaaacccttaccatgactggaaaactc
agtatcacgtatttaaacatttttttttctttagccatgtagaaactctaaattaagccaatattctcat
ttgagaatgaggatgtctcagctgagaaacgttttaaattctctttattcataatgttctttgaagggttt
aaaacaagatgttgataaatctaagctgatgagtttgctcaaaacaggaagttgaaattgttgagacagga
atggaaaatataattaattgatacctatgaggatttggaggcttggcattttaatttgcagataat
accctggtaattctcatgaaaaatagacttggataacttttgataaaagactaattccaaaatggccactt
tgttcctgtctttaatatctaaatacttactgaggtcctccatcttctatattatgaattttcatttatta
agcaaatgtcatattaccttgaaattcagaagagaagaaacatatactgtgtccagagtataatgaacctg
cagagttgtgcttcttactgctaattctgggagctttcacagtactgtcatcatttgtaaatggaaattct
gcttttctgtttctgctccttctggagcagtgctactctgtaattttcctgaggcttatcacctcagtcat
ttctttttttaaatgtctgtgactggcagtgattctttttcttaaaaatctattaaatttgatgtcaaatta
gggagaaagatagttactcatcttgggctcttgtgccaatagcccttgtatgtatgtacttagagttttcc
aagtatgttctaagcacagaagtttctaaatggggccaaaattcagacttgagtatgttctttgaatacct
taagaagttacaattagccgggcatggtggcccgtgcctgtagtcccagctacttgagaggctgaggcagg
agaatcacttcaacccaggaggtggaggttacagtgagcagagatcgtgccactgcactccagcctgggtg
acaagagagacttgtctccaaaaaaaaagttacacctaggtgtgaattttggcacaaaggagtgacaaact
tatagttaaaagctgaataacttcagtgtggtataaaacgtggtttttaggctatgtttgtgattgctgaa
aagaattctagtttacctcaaaatccttctctttccccaaattaagtgcctggccagctgtcataaattac
atattccttttggtttttttaaaggttacatgttcaagagtgaaaataagatgttctgtctgaaggctacc
atgccggatctgtaaatgaacctgttaaatgctgtatttgctccaacggcttactatagaatgttacttaa
tacaatatcatacttattacaatttttactataggagtgtaataggtaaaattaatctctattttagtggg
cccatgtttagtctttcaccatcctttaaactgctgtgaatttttttgtcatgacttgaaagca
aggatagagaaacactttagagatatgtggggttttttttaccattccagagcttgtgagcataatcatatt
tgctttatatttatagtcatgaactcctaagttggcagctacaaccaagaaccaaaaaatggtgcgttctg
cttcttgtaattcatctctgctaataaattataagaagcaaggaaaattagggaaaatattttatttggat
ggtttctataaacaagggactataattcttgtacattatttttcatctttgctgtttctttgagcagtcta
atgtgccacacaatttatctaaggtatttgttttctataagaattgttttaaaagtattcttgttac
cagagtagttgtattatatttcaaaacgtaagatgatttttaaaagcctgagtactgacctaagatggaat
tgtatgaactctgctctggagggaggggaggatgtccgtggaagttgtaagacttttatttttttgtgcca
tcaaatataggtaaaaataattgtgcaattctgctgtttaaacaggaactattggcctccttggccctaaa
tggaagggccgatattttaagttgattattttattgtaaattaatccaacctagttctttttaatttggtt
gaatgtttttttcttgttaaatgatgtttaaaaaataaaaactggaagttcttggcttagtcataat
tcttatattca （**配列番号** 16）

【０７４４】

【表５－４】

BRAF mRNA
>gi|75516779|gb|BC101757.1| Homo sapiens v-raf マウス肉腫ウイルス
がん遺伝子ホモログ B1, mRNA (cDNA クローン MGC:126806 IMAGE:8069263),
完全 cds
GGCCCCGGCTCTCGGTTATAAGATGGCGGCGCTGAGCGGTGGCGGTGGTGGCGGCGCGGAGCCGGGCCAG
GCTCTGTTCAACGGGGACATGGAGCCCGAGGCCGGCGCCGGCGCCGGCGCCGCGGCCTCTTCGGCTGCGG
ACCCTGCCATTCCGGAGGAGGTGTGGAATATCAAACAAATGATTAAGTTGACACAGGAACATATAGAGGC
CCTATTGGACAAATTTGGTGGGGAGCATAATCCACCATCAATATATCTGGAGGCCTATGAAGAATACACC
AGCAAGCTAGATGCACTCCAACAAAGAGAACAACAGTTATTGGAATCTCTGGGGAACGGAACTGATTTTT
CTGTTTCTAGCTCTGCATCAATGGATACCGTTACATCTTCTTCCTCTTCTAGCCTTTCAGTGCTACCTTC
ATCTCTTTCAGTTTTTCAAAATCCCACAGATGTGGCACGGAGCAACCCCAAGTCACCACAAAAACCTATC
GTTAGAGTCTTCCTGCCCAACAAACAGAGGACAGTGGTACCTGCAAGGTGTGGAGTTACAGTCCGAGACA
GTCTAAAGAAAGCACTGATGATGAGAGGTCTAATCCCAGAGTGCTGTGCTGTTTACAGAATTCAGGATGG
AGAGAAGAAACCAATTGGTTGGGACACTGATATTTCCTGGCTTACTGGAGAAGAATTGCATGTGGAAGTG
TTGGAGAATGTTCCACTTACAACACACAACTTTGTACGAAAAACGTTTTTCACCTTAGCATTTTGTGACT
ITTGTCGAAAGCTGCTTTTCCAGGGTTTCCGCTGTCAAACATGTGGTTATAAATTTCACCAGCGTTGTAG
TACAGAAGTTCCACTGATGTGTGTTAATTATGACCAACTTGATTTGCTGTTTGTCTCCAAGTTCTTTGAA
CACCACCCAATACCACAGGAAGAGGCGTCCTTAGCAGAGACTGCCCTAACATCTGGATCATCCCCTTCCG
CACCCGCCTCGGACTCTATTGGGCCCCAAATTCTCACCAGTCCGTCTCCTTCAAAATCCATTCCAATTCC
ACAGCCCTTCCGACCAGCAGATGAAGATCATCGAAATCAATTTGGGCAACGAGACCGATCCTCATCAGCT
CCCAATGTGCATATAAACACAATAGAACCTGTCAATATTGATGACTTGATTAGAGACCAAGGATTTCGTG
GTGATGGAGGATCAACCACAGGTTTGTCTGCTACCCCCCCTGCCTCATTACCTGGCTCACTAACTAACGT
GAAAGCCTTACAGAAATCTCCAGGACCTCAGCGAGAAAGGAAGTCATCTTCATCCTCAGAAGACAGGAAT
CGAATGAAAACACTTGGTAGACGGGACTCGAGTGATGATTGGGAGATTCCTGATGGGCAGATTACAGTGG
GACAAAGAATTGGATCTGGATCATTTGGAACAGTCTACAAGGGAAAGTGGCATGGTGATGTGGCAGTGAA
AATGTTGAATGTGACAGCACCTACACCTCAGCAGTTACAAGCCTTCAAAAATGAAGTAGGAGTACTCAGG
AAAACACGACATGTGAATATCCTACTCTTCATGGGCTATTCCACAAAGCCACAACTGGCTATTGTTACCC
AGTGGTGTGAGGGCTCCAGCTTGTATCACCATCTCCATATCATTGAGACCAAATTTGAGATGA
TCAAACTTATAGATATTGCACGACAGACTGCACAGGGCATGGATTACTTACACGCCAAGTCAA
TCATCCACAGAGACCTCAAGAGTAATAATATATTTCTTCATGAAGACCTCACAGTAAAAATAG
GTGATTTTGGTCTAGCTACAGTGAAATCTCGATGGAGTGGGTCCCATCAGTTTGAACAGTTGT
CTGGATCCATTTTGTGGATGGCACCAGAAGTCATCAGAATGCAAGATAAAAATCCATACAGCT
TTCAGTCAGATGTATATGCATTTGGAATTGTTCTGTATGAATTGATGACTGGACAGTTACCTTA
TTCAAACATCAACAACAGGGACCAGATAATTTTTATGGTGGGACGAGGATACCTGTCTCCAGA
TCTCAGTAAGGTACGGAGTAACTGTCCAAAAGCCATGAAGAGATTAATGGCAGAGTGCCTCA
AAAAGAAAAGAGATGGAGACCACTCTTTCCCCAAATTCTCGCCTCTATTGAGCTGCTGGCCCG
CTCATTGCCAAAAATTCACCGCAGTGCATCAGAACCCTCCTTGAATCGGGCTGGTTTCCAAAC
AGAGGATTTTAGTCTATATGCTTGTGCTTCTCCAAAAACACCCATCCAGGCAGGGGGATATGG
TGCGTTTCCTGTCCACTGAAACAAATGAGTGAGAGAGTTCAGGAGAGTAGCAACAAAAGGAA
（配列番号 17）

RAF1(CRAF) mRNA
>gi|35841|emb|X03484.1| raf がん遺伝子についてのヒトmRNA
CCGAATGTGACCGCCTCCCGCTCCCTCACCCGCCGCGGGGAGGAGGAGCGGGCGAGAAGCTGCCG
CCGAACGACAGGACGTTGGGGCGGCCTGGCTCCCTCAGGTTTAAGAATTGTTTAAGCTGCATCAA
TGGAGCACATACAGGGAGCTTGGAAGACGATCAGCAATGGTTTTGGATTCAAAGATGCCGTGTTT
GATGGCTCCAGCTGCATCTCTCCTACAATAGTTCAGCAGTTTGGCTATCAGCGCCGGGCATCAGA
TGATGGCAAACTCACAGATCCTTCTAAGACAAGCAACACTATCCGTGTTTTCTTGCCGAACAAGC
AAAGAACAGTGGTCAATGTGCGAAATGGAATGAGCTTGCATGACTGCCTTATGAAAGCACTCAAG
GTGAGGGGCCTGCAACCAGAGTGCTGTGCAGTGTTCAGACTTCTCCACGAACACAAAGGTAAAAA
AGCACGCTTAGATTGGAATACTGATGCTGCGTCTTTGATTGGAGAAGAACTTCAAGTAGATTTCC
TGGATCATGTTCCCCTCACAACACACAACTTTGCTCGGAAGACGTTCCTGAAGCTTGCCTTCTGT
GACATCTGTCAGAAATTCCTGCTCAATGGATTTCGATGTCAGACTTGTGGCTACAAATTTCATGA
GCACTGTAGCACCAAAGTACCTACTATGTGTGTGGACTGGAGTAACATCAGACAACTCTTATTGT

【０７４５】

【表５－５】

TTCCAAATTCCACTATTGGTGATAGTGGAGTCCCAGCACTACCTTCTTTGACTATGCGTCGTATG
CGAGAGTCTGTTTCCAGGATGCCTGTTAGTTCTCAGCACAGATATTCTACACCTCACGCCTTCAC
CTTTAACACCTCCAGTCCCTCATCTGAAGGTTCCCTCTCCCAGAGGCAGAGGTCGACATCCACAC
CTAATGTCCACATGGTCAGCACCACGCTGCCTGTGGACAGCAGGATGATTGAGGATGCAATTCGA
AGTCACAGCGAATCAGCCTCACCTTCAGCCCTGTCCAGTAGCCCCAACAATCTGAGCCCAACAGG
CTGGTCACAGCCGAAAACCCCCGTGCCAGCACAAAGAGAGCGGGCACCAGTATCTGGGACCCAGG
AGAAAAACAAAATTAGGCCTCGTGGACAGAGAGATTCAAGCTATTATTGGGAAATAGAAGCCAGT
GAAGTGATGCTGTCCACTCGGATTGGGTCAGGCTCTTTTGGAACTGTTTATAAGGGTAAATGGCA
CGGAGATGTTGCAGTAAAGATCCTAAAGGTTGTCGACCCAACCCCAGAGCAATTCCAGGCCTTCA
GGAATGAGGTGGCTGTTCTGCGCAAAACACGGCATGTGAACATTCTGCTTTTCATGGGGTACATG
ACAAAGGACAACCTGGCAATTGTGACCCAGTGGTGCGAGGGCAGCAGCCTCTACAAACACCTGCA
TGTCCAGGAGACCAAGTTTCAGATGTTCCAGCTAATTGACATTGCCCGGCAGACGGCTCAGGGAA
TGGACTATTTGCATGCAAAGAACATCATCCATAGAGACATGAAATCCAACAATATATTTCTCCAT
GAAGGCTTAACAGTGAAAATTGGAGATTTTGGTTTGGCAACAGTAAAGTCACGCTGGAGTGGTTC
TCAGCAGGTTGAACAACCTACTGGCTCTGTCCTCTGGATGGCCCCAGAGGTGATCCGAATGCAGG
ATAACAACCCATTCAGTTTCCAGTCGGATGTCTACTCCTATGGCATCGTATTGTATGAACTGATG
ACGGGGGAGCTTCCTTATTCTCACATCAACAACCGAGATCAGATCATCTTCATGGTGGGCCGAGG
ATATGCCTCCCCAGATCTTAGTAAGCTATATAAGAACTGCCCCAAAGCAATGAAGAGGCTGGTAG
CTGACTGTGTGAAGAAAGTAAAGGAAGAGAGGCCTCTTTTTCCCCAGATCCTGTCTTCCATTGAG
CTGCTCCAACACTCTCTACCGAAGATCAACCGGAGCGCTTCCGAGCCATCCTTGCATCGGGCAGC
CCACACTGAGGATATCAATGCTTGCACGCTGACCACGTCCCCGAGGCTGCCTGTCTTCTAGTTGA
CTTTGCACCTGTCTTCAGGCTGCCAGGGGAGGAGGAGAAGCCAGCAGGCACCACTTTTCTGCTCC
CTTTCTCCAGAGGCAGAACACATGTTTTCAGAGAAGCTCTGCTAAGGACCTTCTAGACTGCTCAC
AGGGCCTTAACTTCATGTTGCCTTCTTTTCTATCCCTTTGGGCCCTGGGAGAAGGAAGCCATTTG
CAGTGCTGGTGTGTCCTGCTCCCTCCCCACATTCCCCATGCTCAAGGCCCAGCCTTCTGTAGATG
CGCAAGTGGATGTTGATGGTAGTACAAAAAGCAGGGGCCCAGCCCCAGCTGTTGGCTACATGAGT
ATTTAGAGGAAGTAAGGTAGCAGGCAGTCCAGCCCTGATGTGGAGACACATGGGATTTTGGAAAT
CAGCTTCTGGAGGAATGCATGTCACAGGCGGGACTTTCTTCAGAGAGTGGTGCAGCGCCAGACAT
TTTGCACATAAGGCACCAAACAGCCCAGGACTGCCGAGACTCTGGCCGCCCGAAGGAGCCTGCTT
TGGTACTATGGAACTTTTCTTAGGGGACACGTCCTCCTTTCACAGCTTCTAAGGTGTCCAGTGCA
TTGGGATGGTTTTCCAGGCAAGGCACTCGGCCAATCCGCATCTCAGCCCTCTCAGGAGCAGTCTT
CCATCATGCTGAATTTTGTCTTCCAGGAGCTGCCCCTATGGGGCGGGCCGCAGGGCCAGCCTGTT
TCTCTAACAAACAAACAAACAAACAGCCTTGTTTCTCTAGTCACATCATGTGTATACAAGGAAGC
CAGGAATACAGGTTTTCTTGATGATTTGGGTTTTAATTTTGTTTTTATTGCACCTGACAAAATAC
AGTTATCTGATGGTCCCTCAATTATGTTATTTTAATAAAATAAATTAAATTT （配列番号18）

ARAF mRNA
>gi|28820|emb|X04790.1| A-raf-1 がん遺伝子についてのヒト mRNA
TGACCCAATAAGGGTGGAAGGCTGAGTCCCGCAGAGCCAATAACGAGAGTCCGAGAGGCGACGGA
GGCGGACTCTGTGAGGAAACAAGAAGAGAGGCCCAAGATGGAGACGGCGGCGGCTGTAGCGGCGT
GACAGGAGCCCCATGGCACCTGCCCAGCCCCACCTCAGCCCATCTTGACAAAATCTAAGGCTCCA
TGGAGCCACCACGGGGCCCCCCTGCCAATGGGGCCGAGCCATCCCGGGCAGTGGGCACCGTCAAA
GTATACCTGCCCAACAAGCAACGCACGGTGGTGACTGTCCGGGATGGCATGAGTGTCTACGACTC
TCTAGACAAGGCCCTGAAGGTGCGGGGTCTAAATCAGGACTGCTGTGTGGTCTACCGACTCATCA
AGGGACGAAAGACGGTCACTGCCTGGGACACAGCCATTGCTCCCCTGGATGGCGAGGAGCTCATT
GTCGAGGTCCTTGAAGATGTCCCGCTGACCATGCACAATTTTGTACGGAAGACCTTCTTCAGCCT
GGCGTTCTGTGACTTCTGCCTTAAGTTTCTGTTCCATGGCTTCCGTTGCCAAACCTGTGGCTACA
AGTTCCACCAGCATTGTTCCTCCAAGGTCCCCACAGTCTGTGTTGACATGAGTACCAACCGCCAA
CAGTTCTACCACAGTGTCCAGGATTTGTCCGGAGGCTCCAGACAGCATGAGGCTCCCTCGAACCG
CCCCCTGAATGAGTTGCTAACCCCCCAGGGTCCCAGCCCCCGCACCCAGCACTGTGACCCGGAGC

【０７４６】

【表５－６】

ACTTCCCCTTCCCTGCCCCAGCCAATGCCCCCCTACAGCGCATCCGCTCCACGTCCACTCCCAAC
GTCCATATGGTCAGCACCACGGCCCCCATGGACTCCAACCTCATCCAGCTCACTGGCCAGAGTTT
CAGCACTGATGCTGCCGGTAGTAGAGGAGGTAGTGATGGAACCCCCCGGGGGAGCCCCAGCCCAG
CCAGCGTGTCCTCGGGGAGGAAGTCCCCACATTCCAAGTCACCAGCAGAGCAGCGCGAGCGGAAG
TCCTTGGCCGATGACAAGAAGAAAGTGAAGAACCTGGGGTACCGGGANTCAGGCTATTACTGGGA
GGTACCACCCAGTGAGGTGCAGCTGCTGAAGAGGATCGGGACGGGCTCGTTTGGCACCGTGTTTC
GAGGGCGGTGGCATGGCGATGTGGCCGTGAAGGTGCTCAAGGTGTCCCAGCCCACAGCTGAGCAG
GCCCAGGCTTTCAAGAATGAGATGCAGGTGCTCAGGAAGACGCGACATGTCAACATCTTGCTGTT
TATGGGCTTCATGACCCGGCCGGGATTTGCCATCATCACACAGTGGTGTGAGGGCTCCAGCCTCT
ACCATCACCTGCATGTGGCCGACACACGCTTCGACATGGTCCAGCTCATCGACGTGGCCCGGCAG
ACTGCCCAGGGCATGGACTACCTCCATGCCAAGAACATCATCCACCGAGATCTCAAGTCTAACAA
CATCTTCCTACATGAGGGGCTCACGGTGAAGATCGGTGACTTTGGCTTGGCCACAGTGAAGACTC
GATGGAGCGGGGCCCAGCCCTTGGAGCAGCCCTCAGGATCTGTGCTGTGGATGGCAGCTGAGGTG
ATCCGTATGCAGGACCCGAACCCCTACAGCTTCCAGTCAGACGTCTATGCCTACGGGGTTGTGCT
CTACGAGCTTATGACTGGCTCACTGCCTTACAGCCACATTGGCTGCCGTGACCAGATTATCTTTA
TGGTGGGCCGTGGCTATCTGTCCCCGGACCTCAGCAAAATCTCCAGCAACTGCCCCAAGGCCATG
CGGCGCCTGCTGTCTGACTGCCTCAAGTTCCAGCGGGAGGAGCGGCCCCTCTTCCCCCAGATCCT
GGCCACAATTGAGCTGCTGCAACGGTCACTCCCCAAGATTGAGCGGAGTGCCTCGGAACCCTCCT
TGCACCGCACCCAGGCCGATGAGTTGCCTGCCTGCCTACTCAGCGCAGCCCGCCTTGTGCCTTAG
GCCCCGCCCAAGCCACCAGGGAGCCAATCTCAGCCCTCCACGCCAAGGAGCCTTGCCCACCAGCC
AATCAATGTTCGTCTCTGCCCTGATGCTGCCTCAGGATCCCCCATTCCCCACCCTGGGAGATGAG
GGGGTCCCCATGTGCTTTTCCAGTTCTTCTGGAATTGGGGGACCCCCGCCAAAGACTGAGCCCCC
TGTCTCCTCCATCATTTGGTTTCCTCTTGGCTTTGGGGATACTTCTAAATTTTGGGAGCTCCTCC
ATCTCCAATGGCTGGGATTTGTGGCAGGGATTCCACTCAGAACCTCTCTGGAATTTGTGCCTGAT
GTGCCTTCCACTGGATTTTGGGGTTCCCAGCACCCCATGTGGATTTTGGGGGGTCCCTTTTGTGT
CTCCCCCGCCATTCAAGGACTCCTCTCTTTCTTCACCAAGAAGCACAGAATTC （配列番号19）

タンパク質配列

>KRAS
MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAG
QEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDSEDVPMVLVGNKC
DLPSRTVDTKQAQDLARSYGIPFIETSAKTRQGVDDAFYTLVREIRKHKEKMSKDGKKK
KKKSKTKCVIM*（配列番号20）

>HRAS
MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAG
QEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHQYREQIKRVKDSDDVPMVLVGNKC
DLAARTVESRQAQDLARSYGIPYIETSAKTRQGVEDAFYTLVREIRQHKLRKLNPPDESG
PGCMSCKCVLS*（配列番号21）

>NRAS
MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGETCLLDILDTAG
QEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNSKSFADINLYREQIKRVKDSDDVPMVLVGNKC
DLPTRTVDTKQAHELAKSYGIPFIETSAKTRQGVEDAFYTLVREIRQYRMKKLNSSDDGT
QGCMGLPCVVM*（配列番号22）

>BRAF
MAALSGGGGGGAEPGQALFNGDMEPEAGAGAGAAASSAADPAIPEEVWNIKQMIKLTQ
EHIEALLDKFGGEHNPPSIYLEAYEEYTSKLDALQQREQQLLESLGNGTDFSVSSSASMD
TVTSSSSSSLSVLPSSLSVFQNPTDVARSNPKSPQKPIVRVFLPNKQRTVVPARCGVTVRD

【０７４７】

【表５－７】
SLKKALMMRGLIPECCAVYRIQDGEKKPIGWDTDISWLTGEELHVEVLENVPLTTHNFV
RKTFFTLAFCDFCRKLLFQGFRCQTCGYKFHQRCSTEVPLMCVNYDQLDLLFVSKFFEH
HPIPQEEASLAETALTSGSSPSAPASDSIGPQILTSPSPSKSIPIPQPFRPADEDHRNQFGQRD
RSSSAPNVHINTIEPVNIDDLIRDQGFRGDGGSTTGLSATPPASLPGSLTNVKALQKSPGPQ
RERKSSSSSEDRNRMKTLGRRDSSDDWEIPDGQITVGQRIGSGSFGTVYKGKWHGDVAV
KMLNVTAPTPQQLQAFKNEVGVLRKTRHVNILLFMGYSTKPQLAIVTQWCEGSSLYHHL
HIIETKFEMIKLIDIARQTAQGMDYLHAKSIIHRDLKSNNIFLHEDLTVKIGDFGLATVKSR
WSGSHQFEQLSGSILWMAPEVIRMQDKNPYSFQSDVYAFGIVLYELMTGQLPYSNIN
NRDQIIFMVGRGYLSPDLSKVRSNCPKAMKRLMAECLKKKRDERPLFPQILASIELLARS
LPKIHRSASEPSLNRAGFQTEDFSLYACASPKTPIQAGGYGAFPVH*（配列番号23）

>ARAF
MEPPRGPPANGAEPSRAVGTVKVYLPNKQRTVVTVRDGMSVYDSLDKALKVRGLNQD
CCVVYRLIKGRKTVTAWDTAIAPLDGEELIVEVLEDVPLTMHNFVRKTFFSLAFCDFCLK
FLFHGFRCQTCGYKFHQHCSSKVPTVCVDMSTNRQQFYHSVQDLSGGSRQHEAPSNRPL
NELLTPQGPSPRTQHCDPEHFPFPAPANAPLQRIRSTSTPNVHMVSTTAPMDSNLIQLTGQ
SFSTDAAGSRGGSDGTPRGSPSPASVSSGRKSPHSKSPAEQRERKSLADDKKKVKNLGYR
DSGYYWEVPPSEVQLLKRIGTGSFGTVFRGRWHGDVAVKVLKVSQPTAEQAQAFKNEM
QVLRKTRHVNILLFMGFMTRPGFAIITQWCEGSSLYHHLHVADTRFDMVQLIDVARQTA
QGMDYLHAKNIIHRDLKSNNIFLHEGLTVKIGDFGLATVKTRWSGAQPLEQPSGSVLWM
AAEVIRMQDPNPYSFQSDVYAYGVVLYELMTGSLPYSHIGCRDQIIFMVGRGYLSPDLSK
ISSNCPKAMRRLLSDCLKFQREERPLFPQILATIELLQRSLPKIERSASEPSLHRTQADELPA
CLLSAARLVP*（配列番号24）

>RAF1
MEHIQGAWKTISNGFGFKDAVFDGSSCISPTIVQQFGYQRRASDDGKLTDPSKTSNTIRVF
LPNKQRTVVNVRNGMSLHDCLMKALKVRGLQPECCAVFRLLHEHKGKKARLDWNTD
AASLIGEELQVDFLDHVPLTTHNFARKTFLKLAFCDICQKFLLNGFRCQTCGYKFHEHCS
TKVPTMCVDWSNIRQLLLFPNSTIGDSGVPALPSLTMRRMRESVSRMPVSSQHRYSTPHA
FTFNTSSPSSEGSLSQRQRSTSTPNVHMVSTTLPVDSRMIEDAIRSHSESASPSALSSSPNNL
SPTGWSQPKTPVPAQRERAPVSGTQEKNIRPRGQRDSSYYWEIEASEVMLSTRIGSGSFG
TVYKGKWHGDVAVKILKVVDPTPQFQAFRNEVAVLRKTRHVNILLFMGYMTKDNLAIV
TQWCEGSSLYKHLHVQETFQMFQLIDIARQTAQGMDYLHAKNIIHRDMKSNNIFLHEGL
TVKIGDFGLATVKSRWSGSQQVEQPTGSVLWMAPEVIRMQDNNPFSFQSDVYSYGIVLY
ELMTGELPYSHINNRDQIIFMVGRGYASPDLSKLYKNCPKAMKRLVADCVKKVKEERPL
FPQILSSIELLQHSLPKINRSASEPSLHRAAHTEDINACTLTTSPRLPVF*（配列番号25）

>MKNK1
MVSSQKLEKPIEMGSSEPLPIADGDRRRKKKRRGRATDSLPGKFEDMYKLTSELLGEGA
YAKVQGAVSLQNGKEYAVKIIEKQAGHSRSRVFREVETLYQCQGNKNILELIEFFEDDTR
FYLVFEKLQGGSILAHIQKQKHFNEREASRVVRDVAAALDFLHTKDKVSLCHLGWSAM
APSGLTAAPTSLGSSDPPTSASQVAGTTGIAHRDLKPENILCESPEKVSPVKICDFDLGSG
MKLNNSCTPITTPELTTPCGSAEYMAPEVVEVFTDQATFYDKRCDLWSLGVVLYIMLSG
YPPFVGHCGADCGWDRGEVCRVCQNKLFEIQEGKYEFPDKDWAHISSEAKDLISKLLVR
DAKQRLSAAQVLQHPWVQGQAPEKGLPTPQVLQRNSSTMDLTLFAAEAIALNRQLSQH
EENELAEEPEALADGLCSMKLSPPCKSRLARRRALAQAGRGEDRSPPTAL*（配列番号
26）

4つのRSK遺伝子：
>RPS6KA1

【０７４８】

【表５－８】

MPLAQLKEPWPLMELVPLDPENGQTSGEEAGLQPSKDEGVLKEISITHHVKAGSEKADPS
HFELLKVLGQGSFGKVFLVRKVTRPDSGHLYAMKVLKKATLKVRDRVRTKMERDILAD
VNHPFVVKLHYAFQTEGKLYLILDFLRGGDLFTRLSKEVMFTEEDVKFYLAELALGLDH
LHSLGIIYRDLKPENILLDEEGHIKLTDFGLSKEAIDHEKKAYSFCGTVEYMAPEVVNRQG
HSHSADWWSYGVLMFEMLTGSLPFQGKDRKEMTLILKAKLGMPQFLSTEAQSLLRALF
KRNPANRLGSGPDGAEEIKRHVFYSTIDNKLYRREITPPFKPAVAQPDDTFYFDTEFTSRT
PKDSPGIPPSAGAHQLFRGFSFVATGLMEDDGKPRAPQAPLHSVVQQLHGKNLVFSDGY
VVKETIGVGSYSECKRCVHKATNMEYAVKVIDKSKRDPSEEIEILLRYGQHPNIITLKDV
YDDGKHVYLVTELMRGGELLDKILRQKFFSEREASFVLHTIGKTVEYLHSQGVVHRDLK
PSNILYVDESGNPECLRICDFGFAKQLRAENGLLMTPCYTANFVAPEVLKRQGYDEGCDI
WSLGILLYTMLAGYTPFANGPSDTPEEILTRIGSGKFTLSGGNWNTVSETAKDLVSKMLH
VDPHQRLTAKQVLQHPWVTQKDKLPQSQLSHQDLQLVKGAMAATYSALNSSKPTPQLK
PIESSILAQRRVRKLPSTTL*（**配列番号**27)

>RPS6KA2
MDLSMKKFAVRRFFSVYLRRKSRSKSSSLSRLEEEGVVKEIDISHHVKEGFEKADPSQFE
LLKVLGQGSYGKVFLVRKVKGSDAGQLYAMKVLKKATLKVRDRVRSKMERDILAEVN
HPFIVKLHYAFQTEGKLYLILDFLRGGDLFTRLSKEVMFTEEDVKFYLAELALALDHLHS
LGIIYRDLKPENILLDEEGHIKITDFGLSKEAIDHDKRAYSFCGTIEYMAPEVVNRRGHTQS
ADWWSFGVLMFEMLTGSLPFQGKDRKETMALILKAKLGMPQFLSGEAQSLLRALFKRN
PCNRLGAGIDGVEEIKRHPFFVTIDWNTLYRKEIKPPFKPAVGRPEDTFHFDPEFTARTPT
DSPGVPPSANAHHLFRGFSFVASSLIQEPSQQDLHKVPVHPIVQQLHGNNIHFTDGYEIKE
DIGVGSYSVCKRCVHKATDTEYAVKIIDKSKRDPSEEIEILLRYGQHPNIITLKDVYDDGK
FVYLVMELMRGGELLDRILRQRYFSEREASDVLCTITKTMDYLHSQGVVHRDLKPSNIL
YRDESGSPESIRVCDFGFAKQLRAGNGLLMTPCYTANFVAPEVLKRQGYDAACDIWSLG
ILLYTMLAGFTPFANGPDDTPEEILARIGSGKYALSGGNWDSISDAAKDVVSKMLHVDPH
QRLTAMQVLKHPWVVNREYLSPNQLSRQDVHLVKGAMAATYFALNRTPQAPRLEPVLS
SNLAQRRGMKRLTSTRL*（**配列番号**28)

>RPS6KA3
MPLAQLADPWQKMAVESPSDSAENGQQIMDEPMGEEEINPQTEEVSIKEIAITHHVKEGH
EKADPSQFELLKVLGQGSFGKVFLVKKISGSDARQLYAMKVLKKATLKVRDRVRTKME
RDILVEVNHPFIVKLHYAFQTEGKLYLILDFLRGGDLFTRLSKEVMFTEEDVKFYLAELA
LALDHLHSLGIIYRDLKPENILLDEEGHIKLTDFGLSKESIDHEKKAYSFCGTVEYMAPEV
VNRRGHTQSADWWSFGVLMFEMLTGTLPFQGKDRKETMTMILKAKLGMPQFLSPEAQS
LLRMLFKRNPANRLGAGPDGVEEIKRHSFFSTIDWNKLYRREIHPPFKPATGRPEDTFYFD
PEFTAKTPKDSPGIPPSANAHQLFRGFSFVAITSDDESQAMQTVGVHSIVQQLHRNSIQFT
DGYEVKEDIGVGSYSVCKRCIHKATNMEFAVKIIDKSKRDPTEEIEILLRYGQHPNIITLKD
VYDDGKYVYVVTELMKGGELLDKILRQKFFSEREASAVLFTITKTVEYLHAQGVVHRDL
KPSNILYVDESGNPESIRICDFGFAKQLRAENGLLMTPCYTANFVAPEVLKRQGYDAACD
IWSLGVLLYTMLTGYTPFANGPDDTPEEILARIGSGKFSLSGGYWNSVSDTAKDLVSKML
HVDPHQRLTAALVLRHPWIVHWDQLPQYQLNRQDAPHLVKGAMAATYSALNRNQSPV
LEPVGRSTLAQRRGIKKITSTAL*（**配列番号**29)

>RPS6KA4
MGDEDDDESCAVELRITEANLTGHEEKVSVENFELLKVLGTGAYGKVFLVRKAGGHDA
GKLYAMKVLRKAALVQRAKTQEHTRTERSVLELVRQAPFLVTLHYAFQTDAKLHLILD
YVSGGEMFTHLYQRQYFKEAEVRVYGGEIVLALEHLHKLGIIYRDLKLENVLLDSEGHIV
LTDFGLSKEFLTEEKERTFSFCGTIEYMAPEIIRSKTGHGKAVDWWSLGILLFELLTGASPF
TLEGERNTQAEVSRRILKCSPPFPPRIGPVAQDLLQRLLCKDPKKRLGAGPQGAQEVRNH
PFFQGLDWVALAARKIPAPFRPQIRSELDVGNFAEEFTRLEPVYSPPGSPPPGDPRIFQGYS

【０７４９】

【表５－９】

FVAPSILFDHNNAVMTDGLEAPGAGDRPGRAAVARSAMMQDSPFFQQYELDLREPALG
QGSFSVCRRCRQRQSGQEFAVKILSRRLEANTQREVAALRLCQSHPNVVNLHEVHHDQL
HTYLVLELLRGGELLEHIRKKRHFSESEASQILRSLVSAVSFMHEEAGVVHRDLKPENILY
ADDTPGAPVKIIDFGFARLRPQSPGVPMQTPCFTLQYAAPELLAQQGYDESCDLWSLGVI
LYMMLSGQVPFQGASGQGGQSQAAEIMCKIREGRFSLDGEAWQGVSEEAKELVRGLLT
VDPAKRLKLEGLRGSSWLQDGSARSSPPLRTPDVLESSGPAVRSGLNATFMAFNRGKRE
GFFLKSVENAPLAKRRKQKLRSATASRRGSPAPANPGRAPVASKGAPRRANGPLPPS*
(**配列番号** 30)

>ETS1
MKAAVDLKPTLTIIKTEKVDLELFPSPDMECADVPLLTPSSKEMMSQALKATFSGFTKEQ
QRLGIPKDPRQWTETHVRDWVMWAVNEFSLKGVDFQKFCMNGAALCALGKDCFLELA
PDFVGDILWEHLEILQKEDVKPYQVNGVNPAYPESRYTSDYFISYGIEHAQCVPPSEFSEP
SFITESYQTLHPISSEELLSLKYENDYPSVILRDPLQTDTLQNDYFAIKQEVVTPDNMCMG
RTSRGKLGGQDSFESIESYDSCDRLTQSWSSQSSFNSLQRVPSYDSFDSEDYPAALPNHKP
KGTFKDYVRDRADLNKDKPVIPAAALAGYTGSGPIQLWQFLLELLTDKSCQSFISWTGD
GWEFKLSDPDEVARRWGKRKNKPKMNYEKLSRGLRYYYDKNIIHKTAGKRYVYRFVC
DLQSLLGYTPEELHAMLDVKPDADE*（**配列番号** 31)

>ELK1
MDPSVTLWQFLLQLLREQGNGHIISWTSRDGGEFKLVDAEEVARLWGLRKNKTNMNYD
KLSRALRYYYDKNIIRKVSGQKFVYKFVSYPEVAGCSTEDCPPQPEVSVTSTMPNVAPAA
IHAAPGDTVSGKPGTPKGAGMAGPGGLARSSRNEYMRSGLYSTFTIQSLQPQPPPHPRPA
VVLPNAAPAGAAAPPSGSRSTSPSPLEACLEAEEAGLPLQVILTPPEAPNLKSEELNVEPG
LGRALPPEVKVEGPKEELEVAGERGFVPETTKAEPEVPPQEGVPARLPAVVMDTAGQAG
GHAASSPEISQPQKGRKPRDLELPLSPSLLGGPGPERTPGSGSGSGLQAPGPALTPSLLPTH
TLTPVLLTPSSLPPSIHFWSTLSPIAPRSPAKLSFQFPSSGSAQVHIPSISVDGLSTPVVLSPG
PQKP*（**配列番号** 32)

>SH2D1A (SAP)
MDAVAVYHGKISRETGEKLLLATGLDGSYLLRDSESVPGVYCLCVLYHGYIYTYRVSQT
ETGSWSAETAPGVHKRYFRKIKNLISAFQKPDQGIVIPLQYPVEKKSSARSTQGTTGIRED
PDVCLKAP*（**配列番号** 33)

変異

RASファミリー(KRAS, HRASおよびNRAS):コドン12, 13および61における変異、すなわち、G12A, G12N, G12R, G12C, G12S, G12V, G13Nおよび Q61R.

BRAF:コドン600における変異、すなわち、V600E.

【０７５０】

【表８】

表８

		Colo 205	Colo 201	Colo 741	HT-29	HCT-116	SW-480	SW-620	Colo 320	HT-55	NCI-H716	SNU-C1	SW-48
GI50 (nM)	17-AAG	9 +/-3	>10uM	>10uM	10	78	49	48 +/- 54	>1.6 uM	NA	NA	NA	15 +/- 4
	IPI-504	8 +/-2	>10uM	>10uM	6	88	42	51 +/- 43	>1.6 uM	54	66	117	13 +/- 4
	IPI-493	7 +/-3	>10uM	>10uM	2	34	30	13 +/- 5	>1.6 uM	28	35	25	7 +/- 1
変異状態	*KRAS*	wt	wt	wt	wt	Mut G13D	Mut G12V	Mut G12V	wt	wt	wt	wt	wt
	BRAF	Mut V600E	Mut V600E	Mut V600E	Mut V600E	wt	wt	wt	wt	Mut N581Y	wt	wt	wt
	EGFR	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	wt	G719S

【０７５１】

【表９－１】

付録の表 1

Pt ID	Genzyme EGFR	DxS EGFR	DxS KRAS	DxS BRAF	スナップショット	Oncomap	ALK FISH
1	変異体						
2	変異体						
3	変異体						
4	変異体	変異体					
5	変異体						
6	変異体						
7	変異体						
8	変異体	変異体					
9	変異体						
10	変異体		野生型		EGFR & KRAS	EGFR	
11	変異体						
12	変異体	変異体	野生型		EGFR		
13	変異体						
14	変異体	変異体	野生型		EGFR & PIK3CA		
15	変異体						
16	変異体						
17	変異体						
18	変異体				EGFR		
19	変異体						
20	変異体						
21	変異体				EGFR & TP53		再配列は検出されず
22	変異体						
23	変異体						
24	変異体						

【０７５２】

【表９－２】

25	野生型	野生型	野生型							
26	野生型	野生型	野生型							
27	野生型	野生型	野生型	野生型	TP53	野生型				再配列は検出されず
28	野生型	変異体	野生型							
29	野生型									
30	野生型									
31	野生型	野生型	変異体							
32	野生型	野生型	野生型							
33	野生型	野生型	野生型							
34	野生型	野生型	野生型							
35	野生型	野生型	野生型							
36	野生型	野生型	野生型							
37	野生型		変異体							
38	野生型									
39	野生型									
40	野生型	野生型	野生型	野生型	CTNNB1	野生型				再配列の検出
41	野生型	野生型								
42	野生型									
43	野生型	野生型	変異体							
44	野生型		野生型							
45	野生型									
46	野生型	野生型	野生型							
47	野生型	野生型	野生型							
48	野生型									再配列の検出
49	野生型				KRAS					再配列は検出されず
50	野生型				野生型					再配列は検出されず
51	野生型				野生型					再配列は検出されず

【０７５３】

【表９－３】

52	野生型				KRAS			再配列は検出されず
53	野生型							
54	野生型				KRAS			再配列は検出されず
55	野生型							
56	野生型	野生型	野生型	野生型				
57	野生型	変異体	野生型		EGFR	野生型		
58	野生型							
59	野生型		変異体		KRAS	KRAS		再配列は検出されず
60	野生型		変異体		KRAS	KRAS		
61	野生型		変異体		KRAS	KRAS		再配列は検出されず
62	野生型		野生型					再配列は検出されず
63	野生型	野生型	変異体		KRAS	野生型		
64	野生型	野生型	野生型	野生型	野生型	野生型		再配列は検出されず
65	野生型	野生型	野生型	野生型		野生型		再配列の検出
66	野生型		変異体					
67								
68								
69					野生型			再配列は検出されず
70		変異体	野生型					
71								
72								
73								
74								
75								
76		変異体						

【図１】

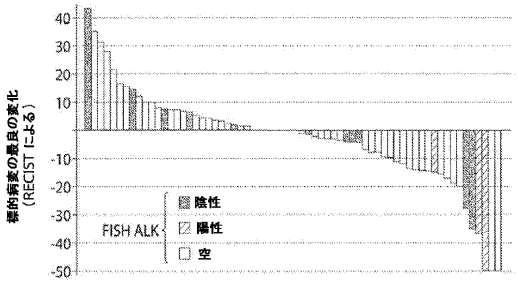


Fig. 1

【図２】

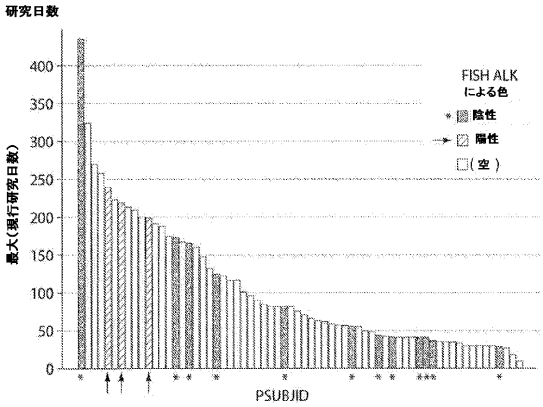


Fig. 2

【図３Ａ】

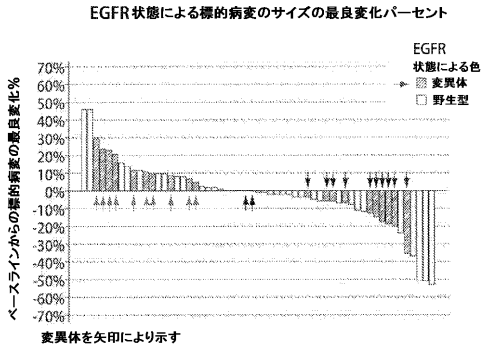


Fig. 3A

【図３Ｂ】

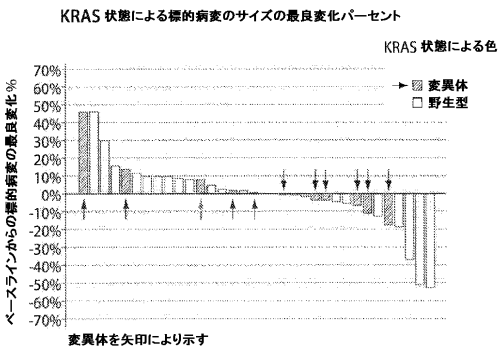


Fig. 3B

【図４】

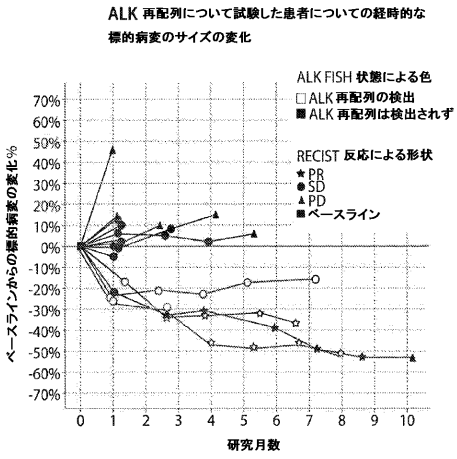


Fig. 4

【図３Ｃ】

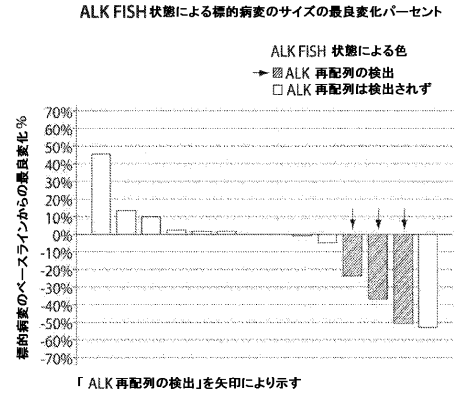


Fig. 3C

【図５】

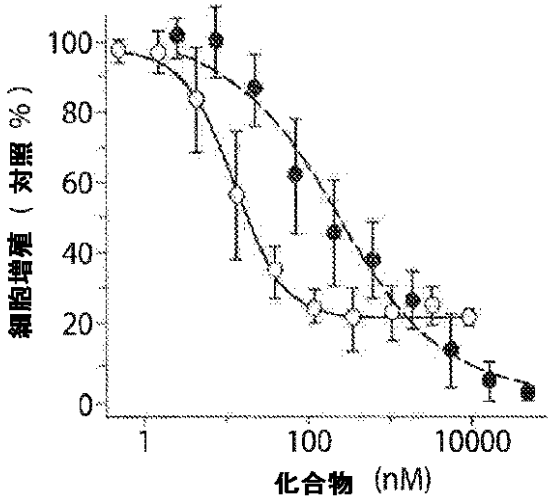


Fig. 5

【図６Ａ】

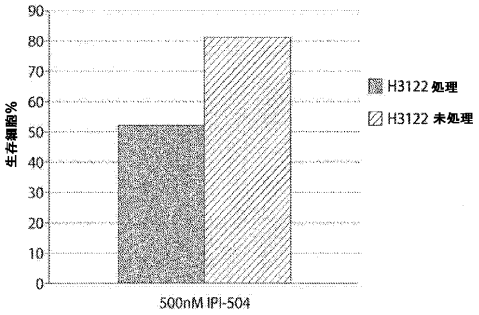


Fig. 6A

【図６Ｂ】

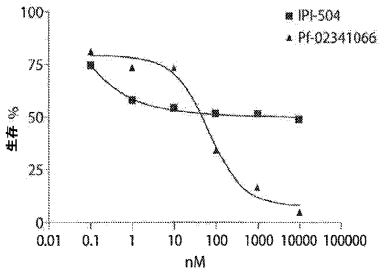


Fig. 6B

【図７Ａ】

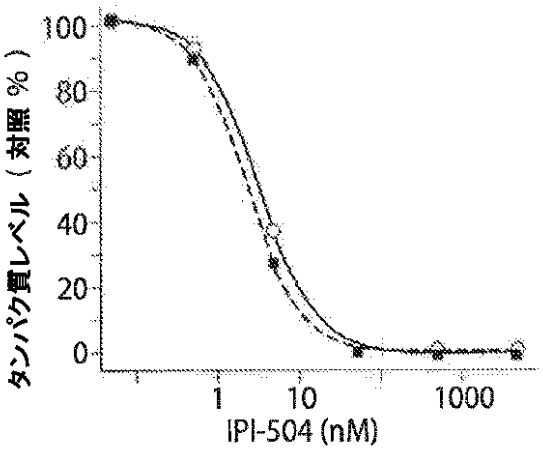


Fig. 7A

【図７Ｂ】

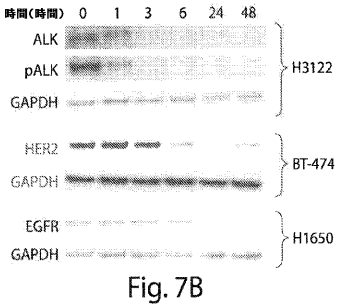


Fig. 7B

【図７Ｃ】

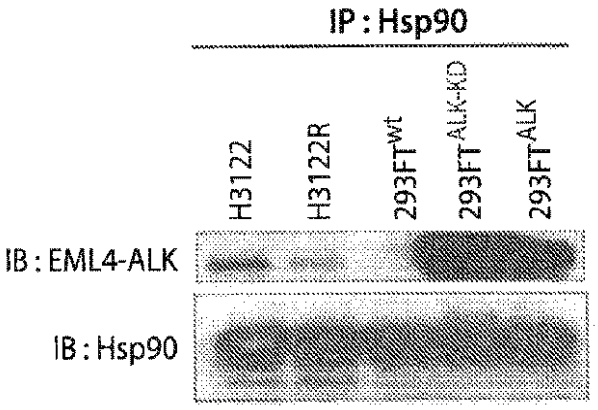


Fig. 7C

【図８Ａ】

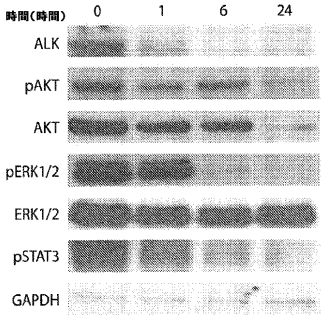


Fig. 8A

【図８Ｂ】

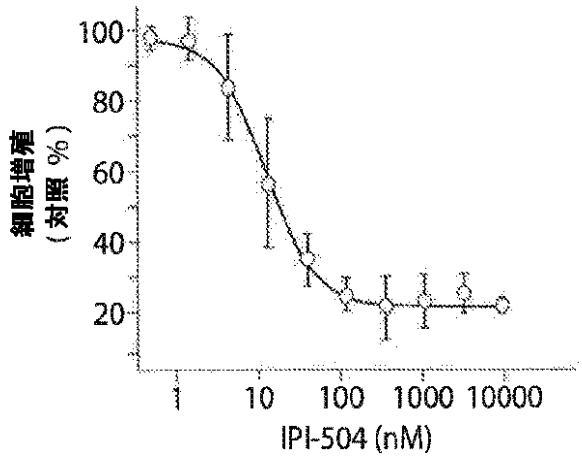


Fig. 8B

【図９Ａ】

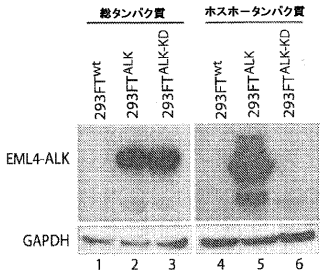


Fig. 9A

【図９Ｂ】

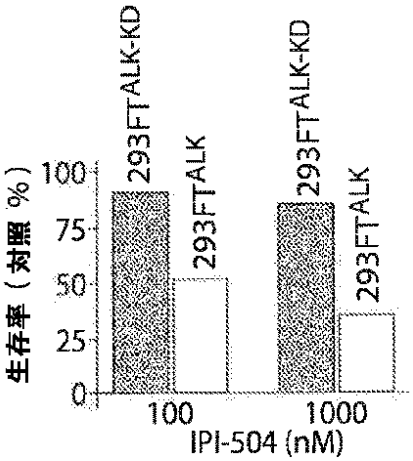


Fig. 9B

【図９Ｃ】

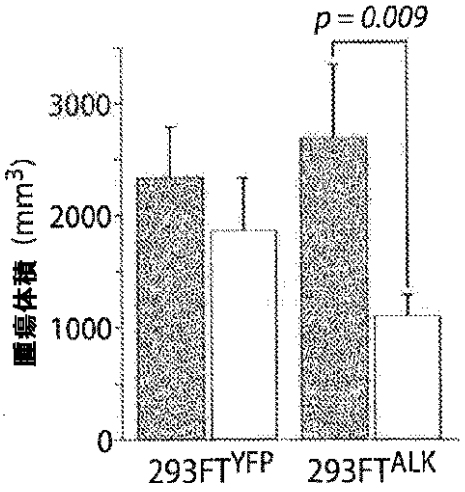


Fig. 9C

【図１０Ａ】

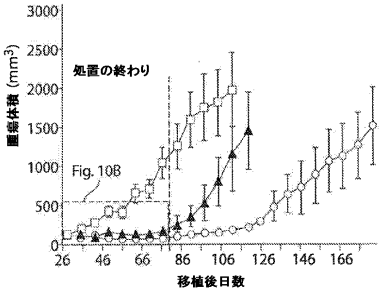


Fig. 10A

【図１０Ｂ】

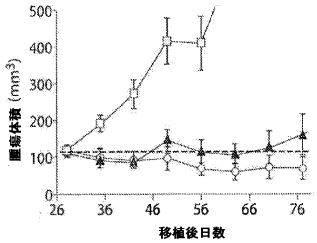


Fig. 10B

【図１０Ｃ】

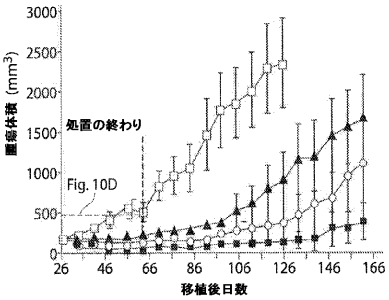


Fig. 10C

【図１０Ｄ】

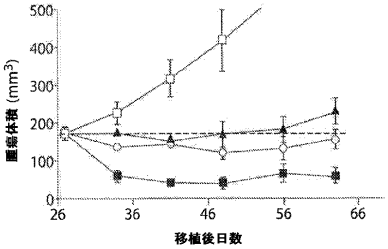


Fig. 10D

【図１１】

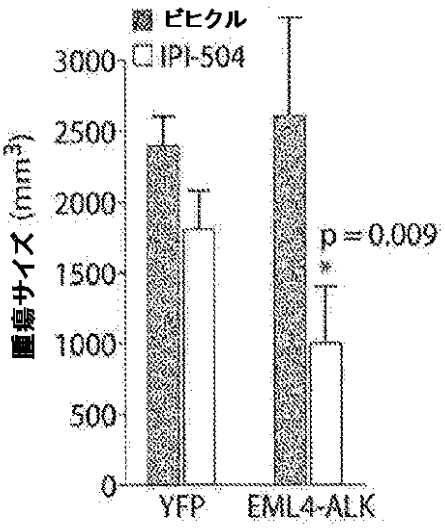


Fig. 11

【図１２Ａ】

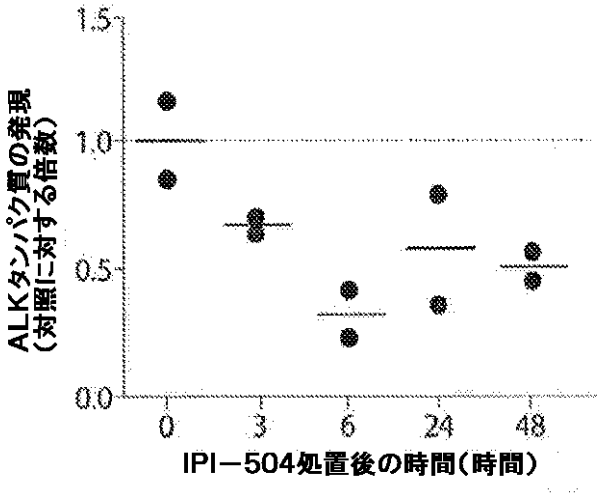


Fig. 12A

【図１２Ｂ】

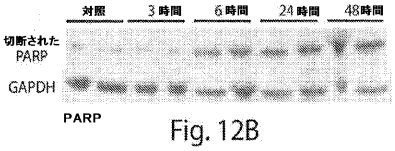


Fig. 12B

【図１３Ａ】

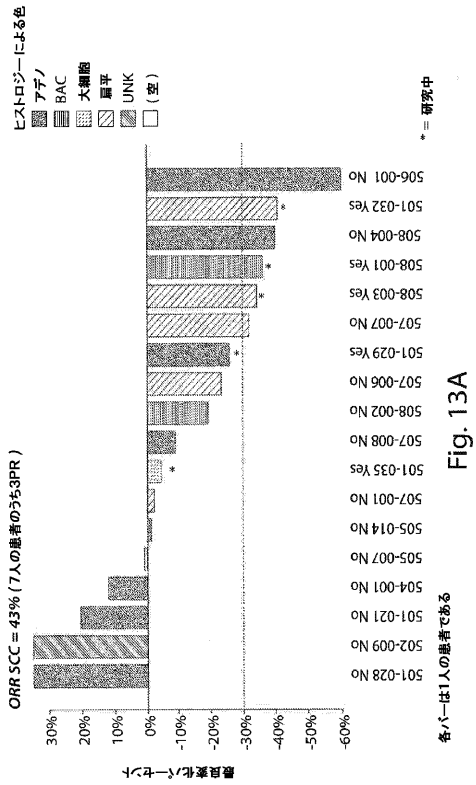


Fig. 13A

【図１３Ｂ】



Fig. 13B

【図１４】

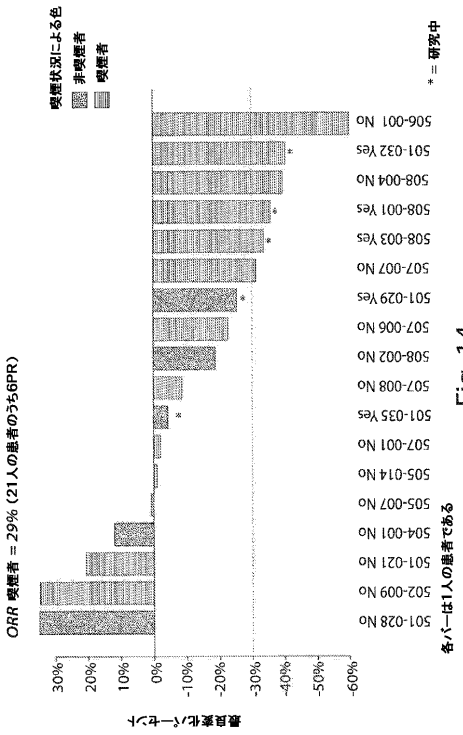


Fig. 14

【図１５】

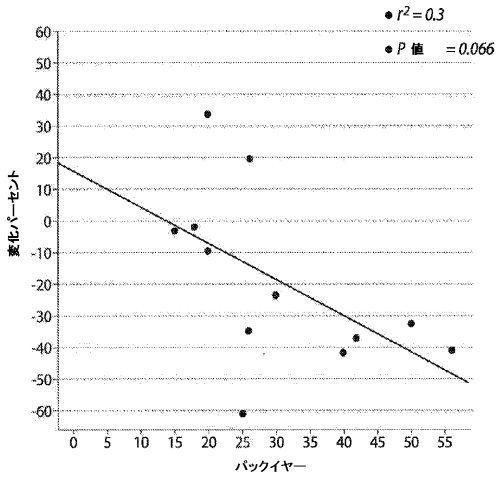


Fig. 15

【図１６】

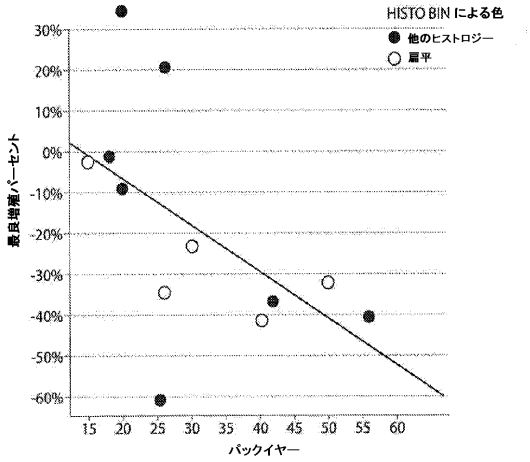


Fig. 16

【図１７】

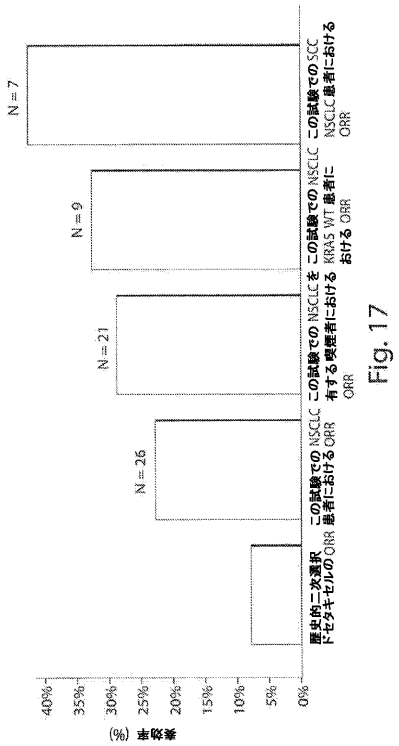


Fig. 17

【図１８Ａ】

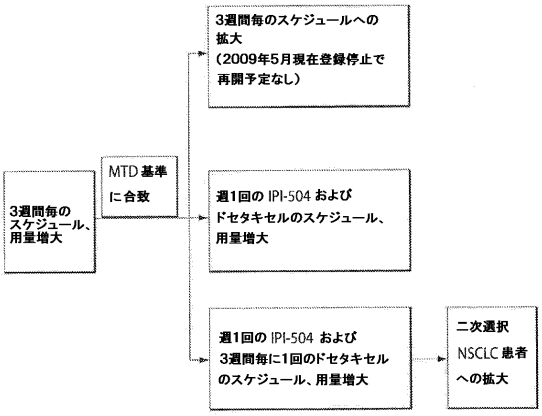


Fig. 18A

【図１８Ｂ】

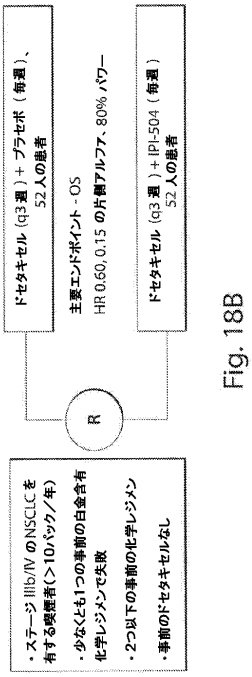


Fig. 18B

【図１９】

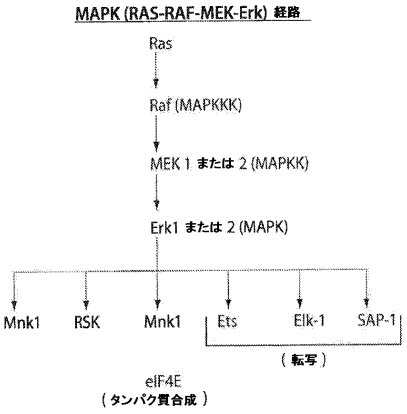


Fig. 19

【図２０Ａ】

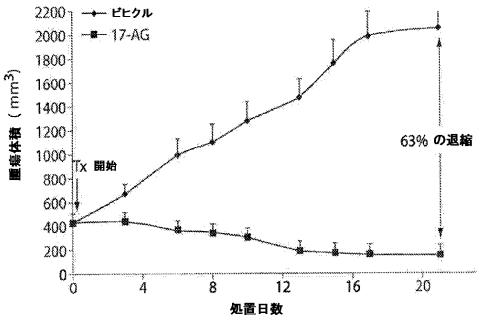


Fig. 20A

【図２０Ｂ】

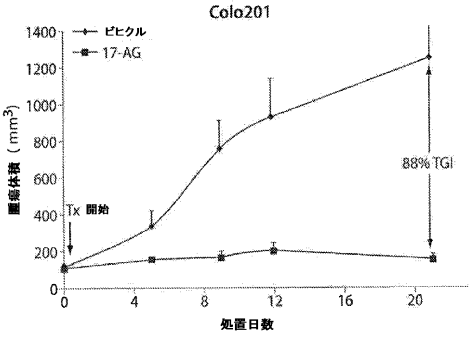


Fig. 20B

【図２０Ｃ】

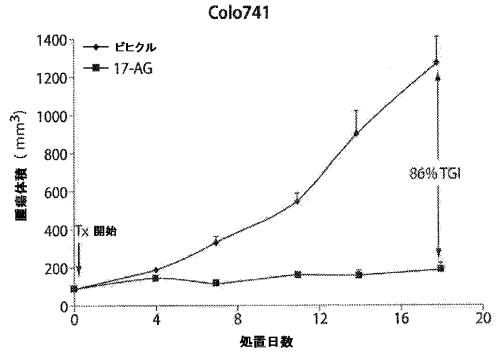


Fig. 20C

【図２０Ｄ】

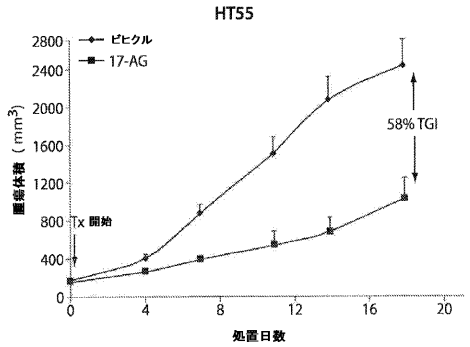


Fig. 20D

【図２１Ａ】

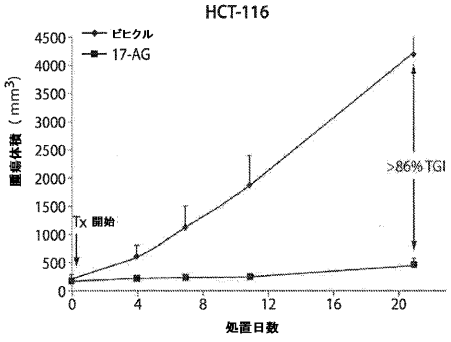


Fig. 21A

【図２１Ｂ】

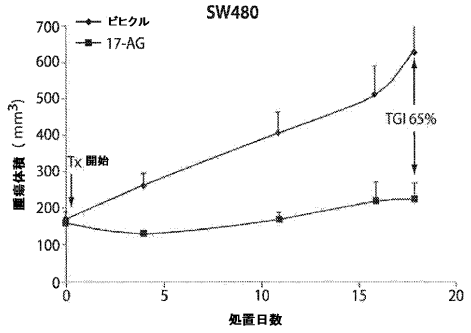


Fig. 21B

【図２１Ｃ】

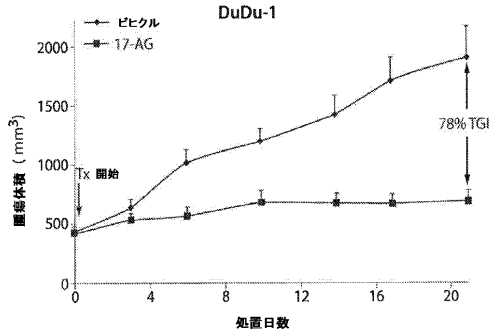


Fig. 21C

【図２２Ａ】

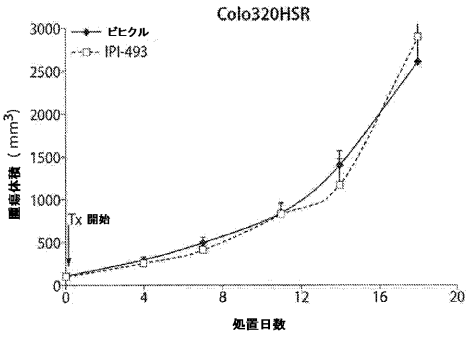


Fig. 22A

【図２２Ｂ】

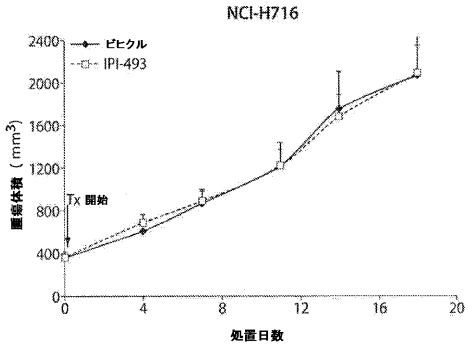


Fig. 22B

【図２２Ｃ】

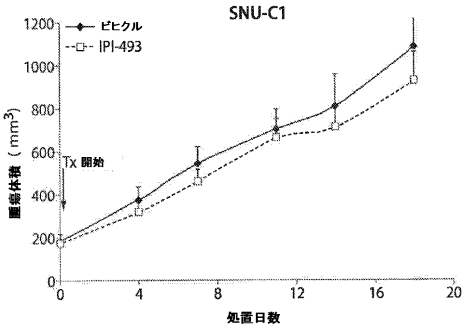


Fig. 22C

【図２２Ｄ】

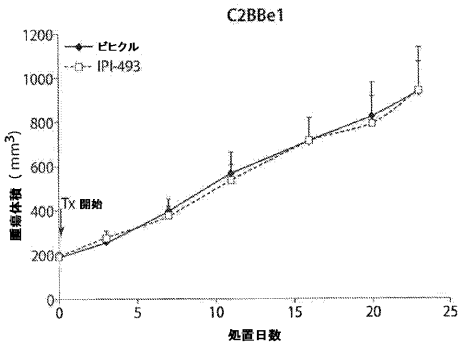


Fig. 22D

【図２３Ａ】

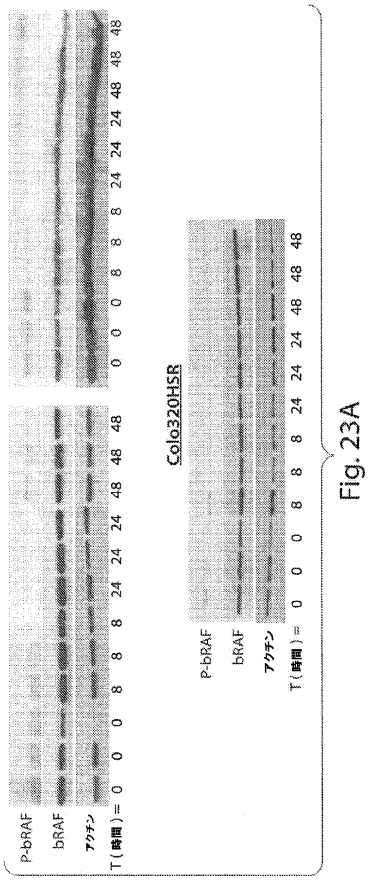


Fig. 23A

【図２３Ｂ】

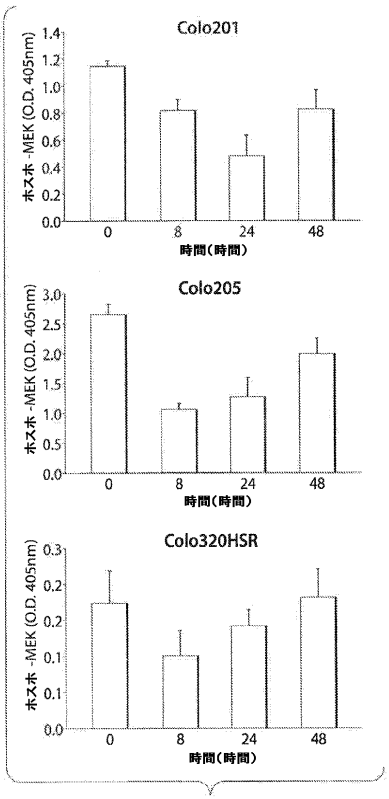


Fig. 23B

【図２３Ｃ】

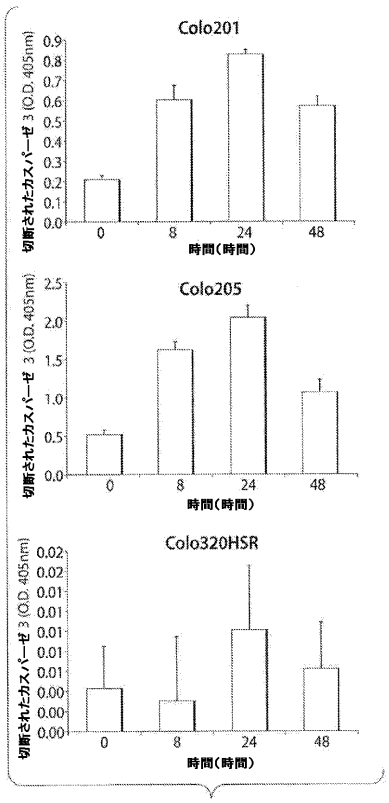


Fig. 23C

【図２４Ａ】

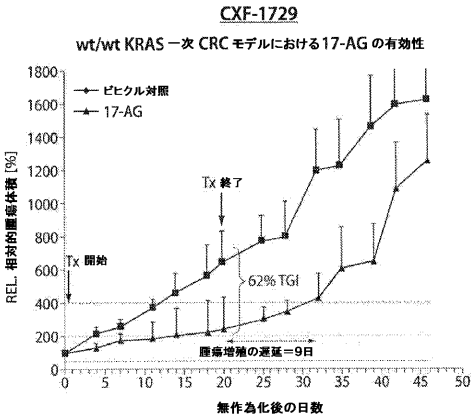


Fig. 24A

【図２４Ｂ】

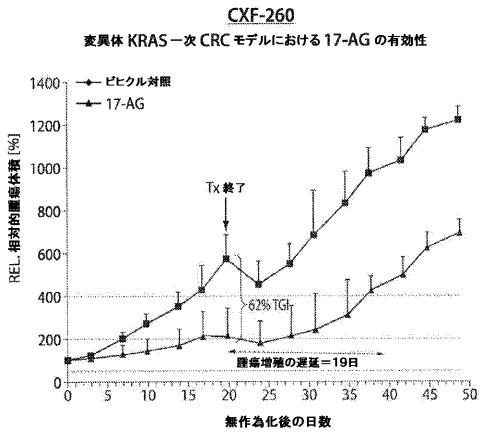


Fig. 24B

【図２５】

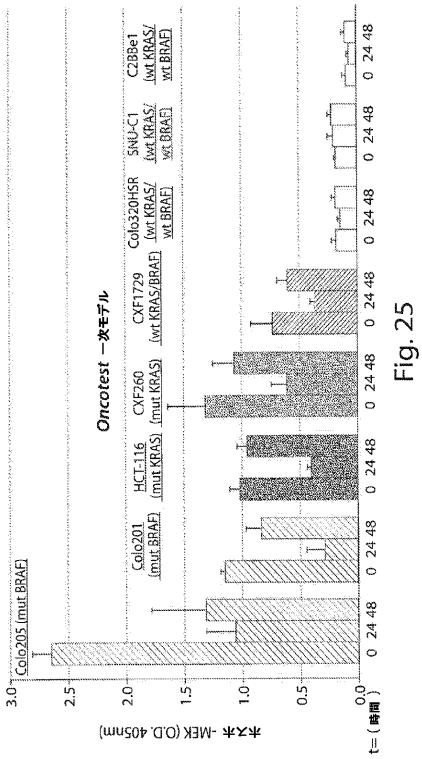


Fig. 25

【図２６Ａ】

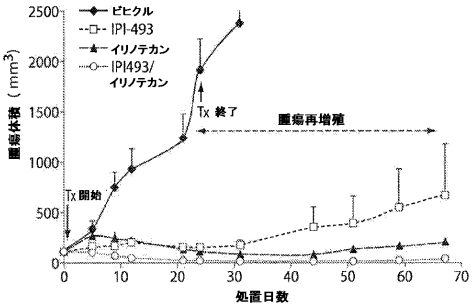


Fig. 26A

【図２６Ｂ】

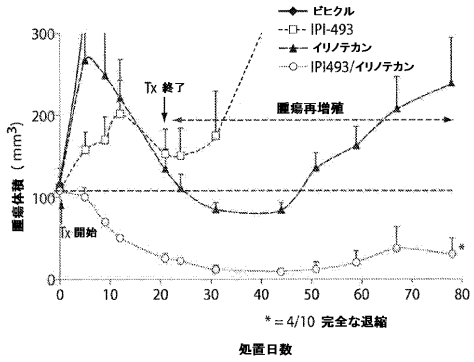
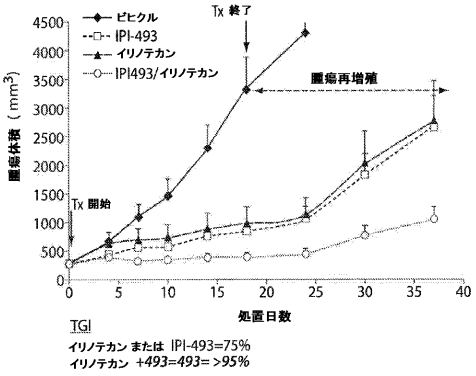


Fig. 26B

【図２７Ａ】



TGI
イリノテカン または IPI-493=75%
イリノテカン +493=493=>95%

Fig. 27A

【図２７Ｂ】

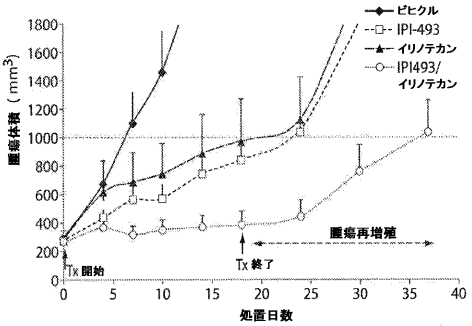
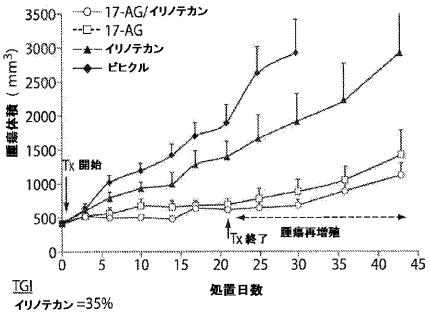


Fig. 27B

【図２８Ａ】



TGI
イリノテカン =35%
17-AG=70%
イリノテカン +17-AG=~77%

Fig. 28A

【図２８Ｂ】

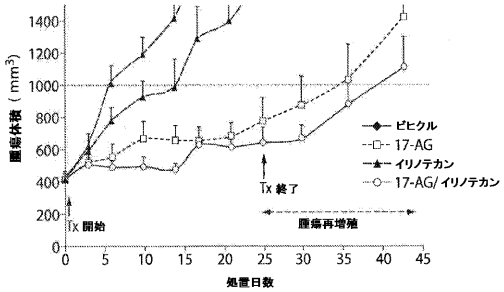


Fig. 28B

【図２９Ａ】

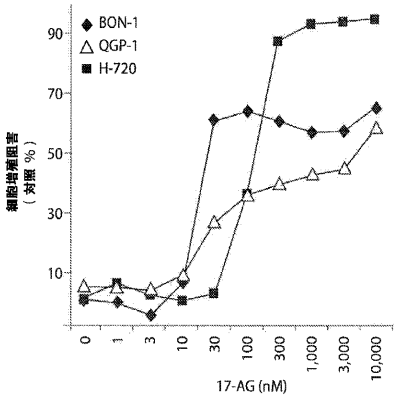


Fig. 29A

【図２９Ｂ】

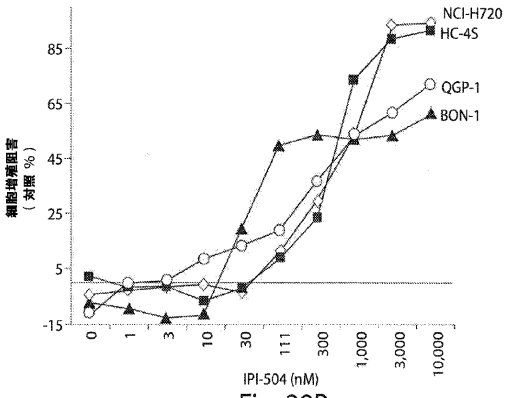


Fig. 29B

【図３０】

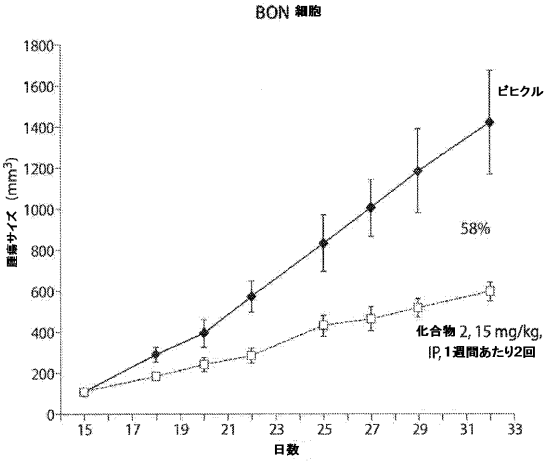


Fig. 30

【図３１】

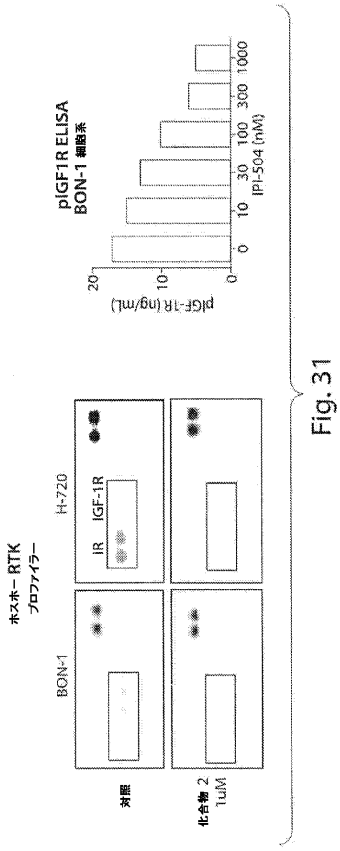


Fig. 31

【図３２】

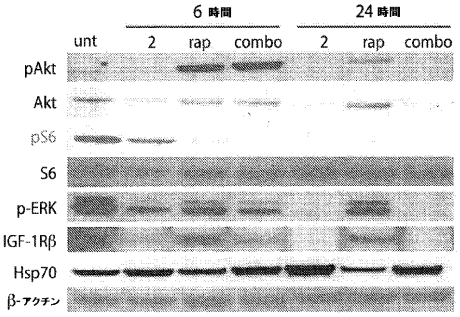


Fig. 32

【配列表】
2013510585000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/56621

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - G01N 33/48, G01N 33/53 (2011.01)
USPC - 436/64, 436/86, 436/94
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC(8)-G01N 33/48, G01N 33/53 (2011.01)
USPC-436/64, 436/86, 436/94

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)
PubWEST(PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB); Google Patents; Google Scholar
hsp90 or hsp 90 or heat shock protein 90, cancer, combination, therapy, mutant, mutation, mutated, kinase, activating, oncogenic, inhibitor, antagonist, sensitiv$, egfr, K-ras, mapk, braf, ALK, antibody, probe, oligonucleotide, polynucleotide, responsive, Infinity, hybridiz

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	SAWAI et al. Inhibition of Hsp90 Down-regulates Mutant Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and Sensitizes EGFR Mutant Tumors to Paclitaxel Cancer Res 2008;68:589-596. Published online January 15, 2008. (pg 589 abstact, para 1-5; pg 590 col 1 para 2; pg 590 col 2 para 2-pg 593 col 2 para 1; pg 594 col 2 para 2; pg 595 col 2 para 1, 2; Figs. 1-5)	1-4, 6-9, 12, 14-19, 21-23, 27, 33-38, 42, 44-49 --- 5, 10, 11, 13, 24-26, 28-32, 39-41, 43, 51-56
Y	US 5,770,421 A (MORRIS et al.) 23 June 1998 (23.06.1998) (col 2 ln 20- col 3 ln 20; col 29 ln 1-30; col 81 SEQ ID NO:11; col 99 SEQ ID NO:40)	5, 10, 24-26, 41, and 51-56
Y	US 4,871,838 A (BOS et al.) 03 October 1989 (03.10.1989) (col 1 ln 15-30; col 4 ln 25-50; col 9 ln 1-25) (col 1 ln 15-30; col 4 ln 25-50, col 9 ln 1-25)	11, 13, and 28-30
Y	US 2005/0222163 A1 (ECK et al.) 06 October 2005 (06.10.2005) (para [0009], [0014], [0017], [0030], [0081])	13, 40, and 43
Y	US 2006/0199226 A1 (Schiffer) 07 September 2006 (07.09.2006) (para [0107], Table 2 SEQ ID NO:204)	24, 54, and 56
Y	US 2008/0090887 A1 (YING et al.) 17 April 2008 (17.04.2008) (para [0006])	31, and 32
Y	US 2006/0019939 A1 (ADAMS et al.) 26 January 2006 (26.01.2006) (para [0008], [0713])	39
A	DANCEY et al. ISSUES AND PROGRESS WITH PROTEIN KINASE INHIBITORS FOR CANCER TREATMENT; Nature Rev. Drug Discov.; April 2003; Vol. 2; pp296-313 (Table 1; pg 299 col 2 para 3-pg 308 col 2 para 1)	1-19, 21-49, and 51-56

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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
07 March 2011 (07.03.2011)	29 MAR 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/56621

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 20
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: claims 1-19, 21-49 and 51-56, directed to a method of determining responsiveness of a tumor or cancer cell to a treatment comprising an HSP90 inhibitor, the method comprising: i) detecting an alteration in an ALK, a MAPK pathway or an EGFR gene or gene product in the tumor or cancer cells; and ii) evaluating one or more of a) the tumor cell histology; b) the subject's smoking status; or c) the level of expression of HSP90 in the tumor or cancer cell.

Group II: claims 50, directed to a method of treating a subject having a functional or non-functional neuroendocrine tumor, comprising administering an effective amount of an HSP90 inhibitor.

- Please see extra sheet for continuation -

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-19, 21-49 and 51-56

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/56621

Continuation of Box III: Lack of Unity of invention

The inventions listed as Groups I - II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical feature of the Group I claims is a method of determining responsiveness of a tumor or cancer cell to a treatment comprising an HSP90 inhibitor, the method comprising: i) detecting an alteration in an ALK, a MAPK pathway or an EGFR gene or gene product in the tumor or cancer cells; and ii) evaluating one or more of a) the tumor cell histology; b) the subject's smoking status; or c) the level of expression of HSP90 in the tumor or cancer cell - not required by the claims of Group II. The special technical feature of the Group II claims is a method of treating a subject having a functional or non-functional neuroendocrine tumor, comprising administering an effective amount of an HSP90 inhibitor - not required by the claims of Group I. Neither of these special technical features is common to the other group, nor do they correspond to a special technical feature in the other group.

The only common technical element shared by the above groups is that they are related to inhibitors of HSP90. This common technical element does not represent an improvement over the prior art of US 2009/0069281 A1 to Austad et al. (see para [0006], [0156]). Which teaches use of HSP90 antagonists for treatment of neuroendocrine cancers. Therefore, the inventions of Group I and Group II lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	***35/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/00		
Ａ６１Ｐ	***43/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ａ６１Ｐ	***35/02***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/02		
Ａ６１Ｋ	***31/395***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/395		
Ａ６１Ｋ	***31/436***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/436		
Ａ６１Ｋ	***45/06***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	45/06		
Ａ６１Ｋ	***31/5377***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ	***31/4745***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/5377		
Ａ６１Ｋ	***31/337***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/4745		
Ｃ１２Ｎ	*15/09*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/337		
			Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	

(31)優先権主張番号 61/346,873
(32)優先日 平成22年5月20日(2010.5.20)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 61/394,735
(32)優先日 平成22年10月19日(2010.10.19)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 61/261,064
(32)優先日 平成21年11月13日(2009.11.13)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 61/313,364
(32)優先日 平成22年3月12日(2010.3.12)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 61/390,136
(32)優先日 平成22年10月5日(2010.10.5)
(33)優先権主張国 米国(US)

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,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,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,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,IS,JP,KE,KG,KM,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,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 フリッツ, クリスチャン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１７６０, ネイティック, ブローズ アベニュー １４
(72)発明者 ノルマン, エマニュエル イグレク.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１８９０, ウィンチェスター, シルベスター アベニュー １０４
(72)発明者 パエス, フアン ギジェルモ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１５６２－１２３３ スペンサー, ノース スペンサー ロード １６７, セント ジョセフズ アビー
(72)発明者 ウェスト, キップ エー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０１９０８, ナハント, フォックス ヒル ロード １

4

Ｆターム(参考) 4B024 AA11 CA04 CA09 DA02 EA02 EA04 GA25 HA14
4B063 QA01 QA05 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR56 QR77 QR82
QS34 QX02
4C084 AA17 AA20 NA05 NA14 ZB262 ZB272 ZC752 ZC802
4C086 AA01 AA02 BA02 BC33 BC73 CB22 GA07 GA12 MA01 MA02
MA04 NA05 NA14 ZB26 ZB27 ZC75 ZC80

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2013510585A5	公开(公告)日	2013-12-26
申请号	JP2012539043	申请日	2010-11-12
[标]申请(专利权)人(译)	無限藥品股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	インフィニティーファーマシューティカルズ，苹果公司		
[标]发明人	フリッツクリスチャン ノルマンエマニュエルイグレク パエスフアンギジェルモ ウェストキップエー		
发明人	フリッツ, クリスチャン ノルマン, エマニュエル イグレク. パエス, フアン ギジェルモ ウェスト, キップ エー.		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/574 C12Q1/04 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00 A61P35/02 A61K31/395 A61K31/436 A61K45/06 A61K31/5377 A61K31/4745 A61K31/337 C12N15/09		
CPC分类号	G01N33/57492 G01N2333/485 G01N2333/71 G01N2333/82 G01N2333/9121 G01N2800/52		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A G01N33/53.D G01N33/574.Z C12Q1/04 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00.111 A61P35/02 A61K31/395 A61K31/436 A61K45/06 A61P43/00.121 A61K31/5377 A61K31/4745 A61K31/337 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/GA25 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR56 4B063/QR77 4B063/QR82 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/AA20 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZC752 4C084/ZC802 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BA02 4C086/BC33 4C086/BC73 4C086/CB22 4C086/GA07 4C086/GA12 4C086/MA01 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC75 4C086/ZC80		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	61/283150 2009-11-30 US 61/382447 2010-09-13 US 61/313594 2010-03-12 US 61/346873 2010-05-20 US 61/394735 2010-10-19 US 61/261064 2009-11-13 US 61/313364 2010-03-12 US 61/390136 2010-10-05 US		
其他公开文献	JP2013510585A		

摘要(译)

本文描述了用于确定患有癌症的受试者是否可能对用HSP90抑制剂，单一药剂或联合疗法治疗有反应的组合物，试剂盒和方法。进一步描述了用于预测患有这种癌症的受试者的疾病时程的方法。