

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6463675号
(P6463675)

(45) 発行日 平成31年2月6日(2019.2.6)

(24) 登録日 平成31年1月11日(2019.1.11)

(51) Int.Cl.

F 1

GO 1 N 33/53	(2006.01)	GO 1 N 33/53	Z N A N
GO 1 N 33/574	(2006.01)	GO 1 N 33/574	A
CO 7 K 14/71	(2006.01)	CO 7 K 14/71	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	

請求項の数 9 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-522950 (P2015-522950)
 (86) (22) 出願日 平成26年6月18日 (2014.6.18)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2014/066100
 (87) 国際公開番号 W02014/203918
 (87) 国際公開日 平成26年12月24日 (2014.12.24)
 審査請求日 平成29年5月26日 (2017.5.26)
 (31) 優先権主張番号 特願2013-128714 (P2013-128714)
 (32) 優先日 平成25年6月19日 (2013.6.19)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 599045903
 学校法人 久留米大学
 福岡県久留米市旭町67番地
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 稜
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子
 (74) 代理人 100138911
 弁理士 櫻井 陽子
 (72) 発明者 東 公一
 福岡県久留米市旭町67番地 学校法人
 久留米大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

上皮成長因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法であって、以下の工程を含む方法：

(1) 患者からEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療前に採取された血液試料における、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチドに対する抗体の量を測定する工程；および

(2) 測定した抗体量を基準値と比較する工程、

ここで、該抗体量が基準値より高い場合、該患者はEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療効果が高いと予測される。

【請求項2】

EGFRチロシンキナーゼ阻害薬がゲフィチニブである、請求項1記載の方法。

【請求項3】

患者が非小細胞肺癌患者である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項4】

配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体が結合したビーズまたはプレートを用いて抗体の量を測定する、請求項1～3のいずれかに記載の方法。

【請求項5】

配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくは誘導体または前

10

20

記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズを含む、上皮成長因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するための診断用組成物。

【請求項 6】

配列番号 2 ～ 5 から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくは誘導体、前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズ、または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したプレートを含む、上皮成長因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するためのキット。

【請求項 7】

上皮成長因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼ阻害薬を含む癌治療用組成物であって、請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の方法によりEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療効果が高いと予測された患者に投与される、組成物。

10

【請求項 8】

EGFRチロシンキナーゼ阻害薬がゲフィチニブである、請求項 7 に記載の組成物。

【請求項 9】

患者が非小細胞肺癌患者である、請求項 7 または 8 に記載の成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法、当該方法に用いられるペプチド、診断用組成物、およびキットに関する。

20

【背景技術】

【0002】

癌の発生および病態進展において、上皮成長因子受容体（EGFR）などのチロシンキナーゼの活性化が重要な役割を果たすことが判明し、それらを標的とする分子標的治療薬の研究、開発が進んでいる。特に、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬（EGFR-TKI）の登場により、切除不能で従来 of 化学療法に抵抗性の非小細胞肺癌患者の予後が飛躍的に改善している。しかしながら、その臨床効果は個体間で一定ではなく、最初から治療抵抗性を示す患者が少なからず存在する。

【0003】

非小細胞肺癌患者の国内での年間罹患者数は約 9 万人（悪性腫瘍の中で第 3 位）、年間死亡者数は約 6 万 5 千人（悪性腫瘍の中で第 1 位）であり、進行期の非小細胞肺癌患者の約 40% は EGFR-TKI 治療の対象となる EGFR 突然変異を有している。現在、EGFR-TKI であるゲフィチニブの治療効果を予測するためのバイオマーカーとしては、主として、EGFR 遺伝子変異の解析が一般的に実施されている（非特許文献 1、2、参照により本願明細書の一部となす）。こうした遺伝子変異の解析は、癌患者より採取した組織または細胞診検体を用いて通常行われるが、進行癌患者においては検体が少量しか採取できず、解析が困難な状況もある。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献 1】Mitsudomi T, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2010;11:121-8.

40

【非特許文献 2】Maemondo M, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010;362:2380-8.

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法を提供すること

50

を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、ゲフィチニブ治療前の非小細胞肺癌患者42人の血漿を用いて、EGFRのアミノ酸配列に由来する20merからなる60種類のペプチドに対する抗体(IgG)価を測定した。測定した抗体価とゲフィチニブ治療後の患者予後との相関を調べたところ、3種類のペプチド(EGFR41-60, EGFR61-80, EGFR481-500)が無増悪生存率(PFS)と有意に相関した。さらに、3種類のペプチド(EGFR41-60, EGFR481-500, EGFR881-900)が全生存率(OS)と有意に相関した。多変量解析において、これらの抗体価は、他の臨床病理学的因子(年齢、喫煙歴、EGFR遺伝子変異)に関わらず独立した予後規定因子であることが判明した。以上の結果から、本発明を完成した。

10

【0007】

本発明は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法であって、以下の工程：

(1)患者からEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療前に採取された血液試料における、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチドに対する抗体の量を測定する工程；および

(2)測定した抗体量を基準値と比較する工程、

ここで、該抗体量が基準値より高い場合、該患者はEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療効果が高いと予測される、
を含む方法を提供する。

20

【0008】

別の態様において、本発明は、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチドまたはその誘導体を提供する。

【0009】

別の態様において、本発明は、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体が結合したビーズまたはプレートを提供する。

【0010】

別の態様において、本発明は、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズを含む、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するための診断用組成物を提供する。

30

【0011】

別の態様において、本発明は、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズ若しくはプレートを含有、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するためのキットを提供する。

【発明の効果】

【0012】

本発明は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を期待できる患者の選別を可能とし、当該治療薬の奏効率の向上や、不必要な治療による重篤な副作用の防止に寄与する。本発明は、従来の遺伝子変異解析と併用することにより、治療効果予測の精度をさらに高めることができる。

40

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、ゲフィチニブ治療の開始後におけるPFSおよびOSについての Kaplan-Meier 解析を示す。

【図2】図2は、EGFRタンパク質のアミノ酸配列を示す。波線は、EGFR突然変異と相関するペプチドである egfr_481_500、egfr_721_740、eg

50

f r _ 7 4 1 _ 7 6 0、e g f r _ 8 4 1 _ 8 6 0、および e g f r _ 1 0 0 1 _ 1 0 2 0 を表す。囲み線は、生存 (P F S あるいは O S) と 相 関 する ペ プ チ ド である e g f r _ 4 1 _ 6 0、e g f r _ 6 1 _ 8 0、e g f r _ 4 8 1 _ 5 0 0、e g f r _ 8 8 1 _ 9 0 0 を表す。

【図3】図3は、選択したペプチドに対する抗体価の高値群および低値群における、PFSおよびOSについての Kaplan-Meier プロットを示す。抗体価の高値群および低値群は、中央値により定義した。

【図4】図4は、ペプチドに対する抗体量と臨床病理学的特徴(実線)または臨床病理学的特徴のみ(破線)を用いた、PFSおよびOSについてのROC曲線を示す。AおよびBのペプチド: EGFR481-500、EGFR41-60、およびEGFR61-80; CおよびDのペプチド: EGFR481-500およびEGFR41-60。

【図5】図5は、PFS(A)およびOS(B)についてのラソペナルティーを伴うコックス回帰のソリューションパスを示す。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本明細書において、上皮成長因子受容体(EGFR)由来ペプチドとは、EGFRのアミノ酸配列(配列番号1)の一部からなるペプチドを意味する。本明細書中、「EGFRx-y」または「egfr_x_y」とは、配列番号1のアミノ酸位置xからyまでのアミノ酸配列からなるペプチドを意味する。例えば、「EGFR41-60」または「egfr_41_60」とは、配列番号1の41番目から60番目のアミノ酸配列からなるペプチドを意味する。本発明の方法は、EGFR41-60(LGTFEDHFLSLQRMFNCEV: 配列番号2)EGFR61-80(VLGNLEITYVQRNYDLSFLK: 配列番号3)、EGFR481-500(FGTSGQKTKIISNRGENSCK: 配列番号4)、およびEGFR881-900(MALESILHRIYTHQSDVWSY: 配列番号5)から選択されるEGFR由来ペプチド(すなわち、配列番号2~5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド)に対する抗体の量を測定することを含む。本発明の方法では、2種類以上のペプチドに対する抗体の量を測定してもよい。ある態様において、本発明の方法は、EGFR41-60(配列番号2)、EGFR61-80(配列番号3)、およびEGFR481-500(配列番号4)から選択されるEGFR由来ペプチドに対する抗体の量を測定することを含む。別の態様において、本発明の方法は、EGFR41-60(配列番号2)、EGFR481-500(配列番号4)、およびEGFR881-900(配列番号5)から選択されるEGFR由来ペプチド、好ましくはEGFR41-60(配列番号2)およびEGFR481-500(配列番号4)から選択されるEGFR由来ペプチドに対する抗体の量を測定することを含む。

【0015】

EGFRチロシンキナーゼ阻害薬(以下、EGFR-TKIとも称する)には、ゲフィチニブおよびエルロチニブが含まれる。好ましくは、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬はゲフィチニブである。

【0016】

本発明の方法における患者には、非小細胞肺癌、脳神経膠芽腫、頭頸部扁平上皮癌、膵臓癌などEGFR-TKIにより治療効果の期待できる癌種の患者が含まれる。好ましくは、患者は、非小細胞肺癌患者である。

【0017】

患者の血液試料は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療を受ける患者から、当該治療前に採取される。EGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療を受ける患者には、当該治療を受ける予定の患者および当該治療が選択肢として考えられる患者が含まれる。血液試料には、全血、血清および血漿が含まれる。好ましくは、血液試料は血清または血漿であり、より好ましくは血漿である。血液試料は、患者からの採取後、測定まで凍結保存してもよく、必要に応じて試薬等により処理してもよい。血液試料は、当業界にて知られる常套的方法によって調製することができる。

【0018】

10

20

30

40

50

抗体量は、当業界に知られるいずれの方法により測定してもよい。測定方法としては、E L I S A 法(Pedersen MK, et al., J Immunol Methods. 2006 Apr 20;311(1-2):198-206. Epub 2006 Mar 6.)、R I A 法(Maruta T, et al., Immunol Invest. 2006;35(2):137-48.)、L u m i n e x (登録商標)システムによる方法(Komatsu N, et al., Scand J Clin Lab Invest 64, 535-546, 2004)が挙げられる。測定する抗ペプチド抗体は、特に限定されないが、通常 I g G である。

【0019】

L u m i n e x (登録商標)システムによる方法は、微量(数マイクロリットル)の血液試料により高感度でハイスループットな解析が可能であるため、本発明に好適である。簡単に説明すると、E G F R 由来ペプチドが結合したビーズに対して結合する、患者の血液試料中の抗体を蛍光等によって測定する。例えば、患者より採取した血液試料を必要に応じて希釈し、E G F R 由来ペプチドが結合したビーズと共にインキュベートして、血液試料中の抗ペプチド抗体をビーズ上のE G F R 由来ペプチドに結合させる。次いで、このビーズをビオチン化抗ヒト I g G と共にインキュベートして、ビーズに結合した抗ペプチド抗体に当該抗ヒト I g G を結合させる。さらに、ビーズをストレプトアビジン - P E とインキュベートして、ビーズに結合した P E の蛍光強度を測定することにより、抗ペプチド抗体の量を測定することができる。蛍光強度は、マルチプレックスビーズ懸濁アレイ(L u m i n e x (登録商標)システム)により測定することができる。

【0020】

抗体量の測定には、配列番号2~5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド、またはその誘導体を用いることができる。本明細書において、ペプチドの誘導体とは、1または数個、好ましくは1または2個のアミノ酸残基の欠失、置換、または付加によりそのアミノ酸配列が改変されているが、血液試料中に存在する抗ペプチド抗体に対する反応性を維持するペプチドを意味する。ペプチドおよびその誘導体は、抗体による認識を損なわない範囲で、そのアミノ基やカルボキシル基が修飾されていてもよい。

【0021】

配列番号2~5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチドまたはその誘導体は、ビーズまたはプレートに結合していてもよい。ペプチドおよび誘導体は、直接ビーズまたはプレートに結合していても、リンカーなどを介して間接的に結合していてもよい。ビーズとしては、例えばポリスチレンビーズおよび磁気ビーズが挙げられる。ビーズの大きさは、特に限定はされないが、例えば、直径が5~7 μ mである。ビーズは、L u m i n e x (登録商標)システムに使用可能なL u m i n e x (登録商標)ビーズであってもよい。プレートとしては、ポリスチレン製のプレートが例示される。ウェルの数は、例えば6、24、96、および384であり、好ましくは96である。プレートは、E L I S A 法またはR I A 法に慣用されるプレートであってもよい。ペプチドまたは誘導体のビーズまたはプレートへの結合は、当業者が適宜実施できる。1つのビーズまたはプレートの1つのウェルに結合しているペプチドまたは誘導体は、1種類であっても、複数種類であってもよい。

【0022】

測定した抗体量は、基準値と比較される。基準値は、例えば、E G F R チロシンキナーゼ阻害薬による治療開始後一定期間内に疾患の進行した患者群および/または進行しなかった患者群の当該治療前の抗体量に基づき予め決定した値である。あるいは、基準値は、E G F R チロシンキナーゼ阻害薬による治療開始前の患者群における抗体量の中央値であってもよい。

【0023】

本発明において、測定した抗体量が基準値より高い場合、当該患者はE G F R チロシンキナーゼ阻害薬による治療効果が高いと予測される。また、抗体量が多ければ多いほど、治療効果がより高いと予測することができる。本明細書において、「E G F R チロシンキナーゼ阻害薬による治療効果が高い」とは、E G F R チロシンキナーゼ阻害薬による治療により、当該治療を行わなかった場合と比較して、全生存期間または無増悪生存期間が延

10

20

30

40

50

長されることを意味する。

【0024】

ある態様において、本発明の方法は、EGFR41-60（配列番号2）、EGFR61-80（配列番号3）、およびEGFR481-500（配列番号4）から選択されるEGFR由来ペプチドに対する抗体の量を測定することを含み、測定した抗体量が基準値より高い場合、当該患者は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療により、当該治療を行わなかった場合と比較して、無増悪生存期間が延長されると予測される。

【0025】

別の態様において、本発明の方法は、EGFR41-60（配列番号2）、EGFR481-500（配列番号4）、およびEGFR881-900（配列番号5）から選択されるEGFR由来ペプチド、好ましくはEGFR41-60（配列番号2）およびEGFR481-500（配列番号4）から選択されるEGFR由来ペプチドに対する抗体の量を測定することを含み、測定した抗体量が基準値より高い場合、当該患者は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療により、当該治療を行わなかった場合と比較して、全生存期間が延長されると予測される。

10

【0026】

本発明の診断用組成物は、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズを含む。本発明の診断用組成物は、本明細書に記載の、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法に従って使用される。本発明の診断用組成物はさらに、適当な担体および緩衝剤、等張化剤などの添加剤を含んでいてもよく、凍結乾燥状態で提供され用時調製されるものであってもよい。本発明の診断用組成物は、本発明の方法に沿った使用説明書とともに提供されてもよい。

20

【0027】

本発明のキットは、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズ若しくはプレートを含む。本発明のキットは、本明細書に記載の、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法に従って使用される。キットは、例えば、ELISA法、RIA法、またはLuminox（登録商標）システムによる方法を実施するためのキットである。キットはさらに、ブロッキング液、洗浄液、希釈液、検出用抗体、対照試料、プレート、および本発明の方法に沿った使用説明書などを含んでもよい。

30

【0028】

本発明に用いられるペプチドおよび誘導体は、抗体による認識を損なわない範囲で、そのアミノ基やカルボキシル基が修飾されていてもよい。本発明に用いるペプチドおよびその誘導体は、通常のペプチド合成方法により製造することができる（Peptide Synthesis, Interscience, New York, 1966; The Proteins, Vol2, Academic Press Inc., New York, 1976; ペプチド合成、丸善（株）、1975; ペプチド合成の基礎と実験、丸善（株）、1985; 医薬品の開発続 第十四巻・ペプチド合成、広川書店、1991）。

【0029】

別の態様において、本発明は、上皮成長因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するためのデータを収集する方法であって、以下の工程：

40

（1）患者からEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療前に採取された血液試料における、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチドに対する抗体の量を測定する工程；および

（2）測定した抗体量を基準値と比較する工程、

ここで、該抗体量が基準値より高い場合、該患者はEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療効果が高いと予測される、

を含む方法を提供する。

【0030】

別の態様において、本発明は、癌を治療する方法であって、以下の工程：

50

(1) 患者からEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による治療前に採取された血液試料における、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチドに対する抗体の量を測定する工程；

(2) 測定した抗体量を基準値と比較する工程；および

(3) 該抗体量が基準値より高かった患者をEGFRチロシンキナーゼ阻害薬により治療する工程、

を含む方法を提供する。

【0031】

別の態様において、本発明は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するための診断用組成物の製造のための、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズの使用を提供する。

10

【0032】

別の態様において、本発明は、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測するためのキットの製造のための、配列番号2～5から選択されるアミノ酸配列からなるペプチド若しくはその誘導体、または前記ペプチド若しくは誘導体が結合したビーズ若しくはプレートの使用を提供する。

【0033】

以下、実施例により本発明をさらに説明するが、如何なる意味においても本発明は以下の実施例により限定されない。

20

【実施例】

【0034】

1. 材料および方法

(1) 患者、治療、および試料の回収

本研究では、ゲフィチニブによる治療を受けた42例の非小細胞肺癌(NSCLC)患者を、2006年1月～2008年12月、単一の施設(日本、久留米市、久留米大学附属病院)においてスクリーニングした。年齢、性別、組織像、喫煙の状態、全身状態(PS)、病期、および治療法を含めた患者の臨床病理学的特徴の詳細は、臨床経過について知らされていない独立の審査者によるカルテ審査から得た(表1)。進行したNSCLCのため、いずれの患者も、毎日1回、経口によりゲフィチニブ(250mg)を投与された。記録した患者の特徴には、性別、年齢、Eastern Cooperative Oncology Group(ECOG)による全身状態(PS)、腫瘍組織像、喫煙歴、先行の化学療法、およびEGFR突然変異の種類が含まれた。腫瘍縮小効果(tumor response)は、コンピュータ断層撮影(CT)を介して調べ、RECIST(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)に従い評価した。縮小効果は、最初の記録から少なくとも4週間(完全奏功または部分奏功の場合)または6週間(疾患安定の場合)後に確認した。PFS(無増悪生存期間)は、EGFR-TKI治療の開始日から疾患進行日または最終診療日までを計算した。本研究はまた、ヘルシンキ宣言の条項も遵守する。本研究は、久留米大学の治験審査委員会による承認を受けた。

30

40

【0035】

血清または血漿は、ゲフィチニブ治療を受けたNSCLC患者から、ゲフィチニブ治療前に回収した。説明同意文書は、全ての対象から得た。血清または血漿を得たら、使用まで-80度で凍結した。

【0036】

(2) EGFR突然変異解析

EGFR遺伝子の突然変異は、エクソン19(E746-A750del)および21(L858R)において、既報のとおりペプチド核酸-ロケット核酸(PNA-LNA)PCRクランプ(22)により調べた。略述すると、ゲノムDNAを、QIAamp DNA Microキット(QIAGEN)を用いてパラフィン包埋した組織から精製した

50

。使用したPCRプライマーは、Invitrogen Inc. に委託して合成させた。PNAクランプのプライマーおよびLNAの突然変異体プローブは、それぞれ、FASMEC (日本、神奈川県) およびIDT (Coralville, IA) から購入した。PNA-LNA PCRクランプは、SDS-7500 System (Applied Biosystems) を用いて行った。

【0037】

(3) EGF R由来ペプチドおよびEGF R由来ペプチドに対して反応性のある抗体量の測定

図2に示すように、EGF Rタンパク質の配列から設計した60種類の異なる20merのペプチドを合成し、Sigma Aldrichから購入した。ペプチドは、既報のとおり(23)、DMSOにより溶解した。EGF R由来ペプチドに特異的な抗体量は、既報のとおり(24)、Luminex (登録商標) システムを用いるマルチプレックスビーズ懸濁アレイを介して測定した。略述すると、100 μ lの希釈した血漿を、EGF R由来ペプチドが結合したxMAPビーズ(Luminex Corp., Austin, TX) と共に、プレートシェーカー上の96ウェルフィルタープレート(MABVN1250; Millipore Corp., Bedford, MA) 内で、室温で2時間インキュベートした。2時間後、プレートをT-PBSにより洗浄し、100 μ lのビオチン化ヤギ抗ヒトIgG(BA-3080; Vector Laboratories, Burlingame, CA) と共に、プレートシェーカー上で、室温において1時間インキュベートした。洗浄の後、100 μ lのストレプトアビジン-PEをウェルへと添加し、プレートを、プレートシェーカー上で、室温で30分間インキュベートした。結合したビーズを3回洗浄した後、100 μ lのPBSを各ウェルに添加した。各試料50 μ lずつを用いて、Luminex (登録商標) システムでビーズ上の蛍光を検出した。抗体量は、蛍光強度により表し、値は、既報のとおり(24)、蛍光強度単位(FIU)により示した。試料希釈アッセイから得たFIUの線形曲線が5~10,000FIUであった(データ非提示)ため、カットオフレベルは10FIUに設定した。60種類の異なるペプチドの各々に対して反応性のある抗体の量を測定した。

【0038】

(4) 統計学的解析

60種類の異なるペプチドの各々に対して反応性のある抗体量が突然変異状態と相関するかについて調べた。この目的のため、ウィルコクソン順位検定を用いて、60種類のペプチドの各々に対して反応性のある抗体量の中央値を、EGF Rの突然変異体(DEL E746-A750およびL858R)と野生型とで比較した。PFS(無増悪生存期間)は、ゲフィチニブ治療の開始日から疾患進行日までの期間として定義した。OS(全生存期間)は、ゲフィチニブ治療の開始日から、死因に関わらず死亡日までの期間として定義した。PFSまたはOSを決定できなかった患者は、最終診療日を観察打ち切りとして取り扱った。次に、60種類の異なるペプチドの各々に対して反応性のある抗体量がPFSまたはOSと相関するかについて調べた。説明変数としての各ペプチドに対して反応性のある抗体量、突然変異状態、喫煙の状態、性別、および全身状態と共に、コックスの比例ハザードモデルを適用した。また、60種類の異なるペプチドの各々に対して反応性のある抗体量が腫瘍縮小効果と関連するかどうかを、ロジスティック回帰を適用することにより調べ、CR(完全奏功)およびPR(部分奏功)を奏功するとみなした。60種類のペプチドを用いたため、困難な多重度の問題が生じた。本発明者らは、偽発見率(FDR)を5%のレベルに制御する、PFS(OSまたは腫瘍縮小効果)と有意に相関するペプチドを同定した。

【0039】

解析結果の説明として、臨床病理学的特徴のみを用いるよりも正確な患者の予後予測に有用なペプチドの同定を試みた。患者数より多いペプチドを用いたため標準的な多変量コックス回帰(多重回帰)を適用することができなかったが、これは本研究における極めて困難な問題であった。影響が大きい観察を回避するため、本発明者らは、各ペプチドに対

10

20

30

40

50

して反応性のある抗体量を $\log(\text{ペプチドに対する抗体量} + 1)$ により変換し、ゼロ平均および単位標準偏差へと標準化した。本発明者らは、ラッソ型のペナルティーによるコックス回帰(25、26)を適用した。ラッソ法は有用であり、高次元データを解析するのによく用いられるようになりつつある。ラッソ法の注目すべき特徴は、疎らさである。すなわち、PFS(OS)と相関しないペプチドの回帰係数であれば、ゼロとして評価しうる。この特徴に基づき、本発明者らは、患者の予後予測に有用であると期待されるいくつかのペプチドを同定した。選択されたペプチドに対して反応性のある抗体量が患者の予後予測に実際に有用であるかを調べるために、コックス回帰解析および時間依存的ROC解析(27)を適用した。臨床病理学的特徴のみによるコックス回帰ならびに各ペプチドに対して反応性のある抗体量と臨床病理学的特徴の両方によるコックス回帰を介して、ROC曲線下面積(AUC)を危険性スコアについて評価した。ブートストラップ法による1000回の反復についてのP値を計算してAUCの同等性を検定することにより、AUCを比較した。統計学的解析は、R version 2.13ソフトウェアおよびSAS version 9.3ソフトウェア(SAS Institute、Cary、NC)により実施した。

10

【0040】

2. 結果

(1) 患者の特徴および生存解析

42例の患者の臨床学的特徴を、表1に示す。25例(59%)の患者が女性であり、24例(57%)が非喫煙者であり、全患者の年齢の中央値は63.5歳(範囲:38~82歳)であった。38例(90%)の患者が腺がんを有し、34例(80%)は全身状態良好であり(Eastern Cooperative Oncology Groupによる評定尺度が0)、15例の患者(32%)には第一選択の化学療法としてEGFR-TKI治療が施された。EGFR突然変異の種類について述べると、8例の患者がエクソン19に欠失を有し、13例の患者がエクソン21にL858Rミスセンス突然変異を有し、21例の患者が野生型を有していた。

20

【0041】

解析の時点において、追跡期間の中央値は、418日間(範囲:16~1532日間)であった。PFSの中央値は、201日間(範囲:11~1379日間)であり、OSの中央値は、418日間(範囲:16~1532日間)であった。ゲフィチニブ治療の開始後におけるPFSおよびOSについてのカプラン-マイヤー解析を、図1に示す。ログランク検定により、ゲフィチニブ治療の結果として、EGFR突然変異を有する患者におけるPFSは、突然変異を有さない患者におけるPFSより有意に延長された(中央値347日に対して54日、 $P = 0.0029$) (図1A)が、これら2つの患者群のOSの間には有意差が認められない(それぞれ、中央値314日に対して128日、 $P = 0.1095$) (図1B)ことが明らかとなった。突然変異を有する患者と野生型の患者との間におけるこのPFSの相違は、いずれの種類EGFR突然変異についても明らかであった(図1C、D)。

30

【0042】

(2) EGFR由来ペプチドに対する抗体量とゲフィチニブによる治療を受けたNSCLC患者におけるEGFR突然変異との間の相関

40

本発明者らはまず、60種類の異なるペプチドの各々に対して反応性のある抗体が、NSCLC患者に由来する血漿または血清において、Luminex(登録商標)システムによって定量可能であるかを調べた(表3、図3Aおよび3B)。各ペプチドに対して反応性のある抗体量がEGFR突然変異と相関するかについて解析し、エクソン21の突然変異を有する患者では、ペプチドegfr_481_500、egfr_721_740、egfr_741_760に対する抗体量が、エクソン21の突然変異を有さない患者におけるより有意に高いことを見出した(egfr_481_500について $P = 0.017$; egfr_721_740について $P = 0.036$; egfr_741_760について $P = 0.007$)。これらの3つのペプチドにおいて、エクソン21の突然変異を

50

有する患者における抗ペプチド抗体量の中央値は、エクソン 21 の突然変異を有さない患者における抗ペプチド抗体量の中央値の約 2 倍であった (表 3)。一方、e g f r__841__860 に対する抗体量は、エクソン 19 に欠失を有する患者では、欠失を有さない患者より有意に低かった ($P = 0.047$)。e g f r__1001__1020 に対する抗体量は、エクソン 19 に欠失を有する患者において有意に高かった。その他のペプチドに対して反応性のある抗体量は、E G F R 突然変異との相関を有さなかった。

【0043】

(3) E G F R 由来ペプチドに対する抗体量とゲフィチニブにより治療した NSCLC 患者における生存との間の関係

さらに、抗ペプチド抗体量が、ゲフィチニブによる治療後の NSCLC 患者の PFS および OS と十分に相関するかどうかを調べた。本発明者らは、全ペプチドのうちの多くの p 値が 5% 未満であり、コックス回帰において 38 種類および 32 種類のペプチドの p 値が 5% 未満であり、さらに FDR を 5% のレベルに制御しても、PFS について有意な 35 種類のペプチドおよび OS について有意な 20 のペプチドが同定されることを見出した (表 4)。本発明者らはまた、各ペプチドに対する抗体量が腫瘍縮小効果 (CR または PR) と相関するかについても調べた。ロジスティック回帰解析により、いずれのペプチドに対する抗体量も腫瘍縮小効果とは相関しないことが示された (データ非提示)。

【0044】

(4) 患者の予後予測に有用なペプチドの同定

前述のとおり、多くのペプチドに対する抗体量が PFS および / または OS と有意に相関した。多くのペプチドに対する抗体量が、中程度または高度に相関していた (データ非提示)。これにより、比較的少数のペプチドに対する抗体量であっても、患者の予後予測に有用な規則の構築に十分でありうることを示唆された。ラソペナルティーを伴うコックス回帰から、本発明者らは、e g f r__41__60、e g f r__61__80、および e g f r__481__500 に対する抗体量が PFS に対して比較的大きな効果を及ぼし、e g f r__41__60、e g f r__481__500、および e g f r__881__900 に対する抗体量が OS に対して比較的大きな効果を及ぼすことを見出した (PFS および OS についてのソリューションパス (solution path) を、それぞれ図 5A および 5B に示す)。PFS についての予測規則を構築するため、e g f r__41__60、e g f r__61__80、および e g f r__481__500 に対する抗体量を用いた。また、e g f r__41__60 に対する抗体量および e g f r__881__900 に対する抗体量は強く相関していた (スピアマンの順位相関係数は、0.71 であり、 $P < 0.001$ であった) ため、本発明者らは、OS については e g f r__41__60 および e g f r__481__500 に対する抗体量を用いた。表 2A には、交絡因子となる可能性がある PS、年齢、性別、および喫煙の状態について調整した、e g f r__41__60、e g f r__61__80、および e g f r__481__500 に対する抗体量を用いた PFS についてのコックス回帰の結果を示した。3 つのペプチド全てが、臨床病理学的特徴とは独立した有意な予後規定因子であることが見出された (e g f r__41__60 については $P = 0.001$ であり、e g f r__61__80 については $P = 0.020$ であり、e g f r__481__500 については $P = 0.028$ であった)。表 2B には、e g f r__41__60 および e g f r__481__500 に対する抗体量を用いた OS についてのコックス回帰の結果を示した。いずれのペプチドに対する抗体量も、臨床病理学的特徴とは独立した有意な予後規定因子であることが見出された (e g f r__41__60 については $P = 0.018$ であり、e g f r__481__500 については $P = 0.027$ であった)。選択したペプチドに対する抗体量の限界効果を把握するため、図 3A および図 3B のそれぞれに、選択したペプチドに対する抗体量の高値群および低値群における、PFS および OS についての Kaplan-Meier プロットを示す (臨床病理学的特徴による影響については調整していない)。また、時間依存的 ROC 解析を用いて、臨床病理学的特徴にペプチドに対する抗体量を追加することにより、患者の予後予測が改善されるかを調べた。図 4A および 4B は、ペプチドに対する抗体量と臨床病理学的特徴、および臨床病理学的特徴のみを用いて、表 2

10

20

30

40

50

A (P F S に関する) および表 2 B (O S に関する) に示すコックス回帰により評価した、1年間および2年間の危険性スコアのROC曲線を示す。ROC曲線は、1年間および2年間のPFSについての診断が実質的に改善されることを示す (A U C の比較について $P < 0.001$)。OSについても、1年間および2年間の時間依存的ROC曲線のAUCが、ペプチドに対する抗体量を追加することにより、臨床病理学的特徴のみの場合より有意に大きくなった ($P < 0.001$) (図 4 C および 4 D)。したがって、時間依存的ROC解析は、臨床病理学的特徴にペプチドに対する抗体量を追加することにより、PFSとOSのいずれについても、より正確な患者の予後予測が可能となることを示した。

【 0 0 4 5 】

【 表 1 】

10

表 1 患者の特徴

特徴	数
年齢 (歳)	
中央値	63.5
範囲	38 ~ 82
性別	
男性	17
女性	25
組織像	
腺がん	38
扁平上皮がん	4
喫煙の状態	
非喫煙者	24
喫煙者	18
病期	
病期 I I I B	4
I V または再発	38
腫瘍縮小効果	
部分奏功 (P R)	19
疾患安定 (S D)	14
疾患進行 (P D)	9

20

30

【 0 0 4 6 】

【表 2 A】

表 2 A NSCLC 患者の PFS についてのコックス回帰解析

因子	ハザード比	P 値	
	(95%の信頼区間)		
突然変異 (突然変異体/野生型)	0.17 (0.07~0.43)	<0.001	
EGFR 481-500	0.59 (0.37~0.94)	0.028	
EGFR 61-80	0.54 (0.32~0.91)	0.020	10
EGFR 41-60	0.24 (0.10~0.56)	0.001	
性別 (女性/男性)	1.11 (0.11~11.17)	0.929	
PS (1-3/0)	2.18 (0.85~5.60)	0.105	
喫煙 (喫煙者/非喫煙者)	1.13 (0.12~10.83)	0.913	
年齢	1.03 (0.99~1.08)	0.101	20

【0047】

【表 2 B】

表 2 B NSCLC 患者の OS についてのコックス回帰解析

因子	ハザード比	P 値	
	(95%の信頼区間)		
突然変異 (突然変異体/野生型)	0.67 (0.30~1.50)	0.331	30
EGFR 481-500	0.63 (0.42~0.95)	0.027	
EGFR 41-60	0.39 (0.18~0.85)	0.018	
性別 (女性/男性)	0.43 (0.04~4.35)	0.472	
PS (1-3/0)	1.82 (0.73~4.54)	0.199	
喫煙 (喫煙者/非喫煙者)	0.58 (0.06~5.47)	0.632	
年齢	1.01 (0.97~1.05)	0.540	40

【0048】

【 表 3 - 1 】

表3 NSCLC患者におけるEGFR変異とEGFR由来ペプチドとの相関

Peptide	P-value			Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others	Del746/others			min	q1	median	q3	max
egfr_1_20	0.7118	0.8048	0.4098	746DEL	8	0	2	51.75	60.5	84
egfr_21_40	0.6439	0.658	0.5229	L858R	13	0	0	17	47	171
				NO	21	0	4	27	40	124
egfr_41_60	0.8762	0.8383	0.6083	746DEL	8	0	0	24.5	29.5	90
				L858R	13	0	0	3	32	122
egfr_61_80	0.3836	0.5138	0.1717	NO	21	0	0	1	25.5	80
				746DEL	8	139	215.5	328.5	693	1417.5
egfr_81_100	0.4548	0.2107	0.6195	L858R	13	70	210	275	781	903
				NO	21	0	202.5	289	468	5076.5
egfr_81_100	0.4548	0.2107	0.6195	746DEL	8	0	0	0	59.5	363
				L858R	13	0	0	0	0	0
egfr_81_100	0.4548	0.2107	0.6195	NO	21	0	0	0	0	210.5
				746DEL	8	17	61	89	106	113.5
egfr_81_100	0.4548	0.2107	0.6195	L858R	13	27	75.5	96	202	481
				NO	21	0	37	69.5	139	507.5

10

20

30

40

【 表 3 - 2 】

Peptide	P-value		Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others			Del746/others	min	q1	median	q3
egfr_101_120	0.3584	0.4875	0.1584	8	66	213.5	301.25	619.5	7292
egfr_121_140	0.2575	0.1414	0.8224	8	0	52	93.5	470.5	1017.5
				21	0	36	121.5	711	3521
egfr_141_160	0.7814	0.7235	0.491	8	0	119.5	309.5	683	1405
				13	51	87	254	436	626
egfr_161_180	0.815	0.5226	0.8226	21	23	121.5	219.5	377.5	12168
				8	189.5	257.75	533	739.25	821
egfr_181_200	0.764	0.5585	0.5427	13	115	340.5	639.5	870.5	5702.5
				21	128	323.5	470	706.5	1922.5
				8	57	82.75	157.75	223.5	265
				13	70	127.5	152.5	216	484
				21	65	109	151.5	241	619.5

10

20

30

40

【表 3 - 3】

Peptide	P-value		Expression of peptide							
	mutation/others	L858R/others	Del746/others	Mutation	n	min	q1	median	q3	max
egfr_201_220	0.7881	0.505	0.9617	746DEL L858R	8 13	0 16.5	19.25 71	76 85	167.75 114	629.5 255
egfr_221_240	0.1936	0.362	0.2359	746DEL L858R	8 13	9 62.5	100.25 93	155.5 112	227 244	10446 534.5
egfr_241_260	0.2663	0.4301	0.2761	746DEL L858R	8 13	0 77.5	76 117.5	95.5 140	129 287.5	356.5 989
egfr_261_280	0.3016	0.1344	0.9107	746DEL L858R	8 13	0 26.5	36.75 59	110 160	160.5 266.5	193 357
egfr_281_300	0.4919	0.7856	0.2359	746DEL L858R	8 13	73 122	153 204	220 257.5	317.5 345.5	740.5 1098.5
				NO	21	122	169.5	259.5	398	578

10

20

30

40

【表 3 - 4】

Peptide	P-value		Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others			De/746/others	min	q1	median	q3
egfr_301_320	0.6758	0.5134	0.7244	8	0	37.5	98.25	128	345.5
egfr_321_340	0.533	0.744	0.2622	746DEL	0	60	90.5	135.5	331
				L858R	0	31	62.5	98.5	1220.5
egfr_341_360	0.7549	0.9891	0.481	746DEL	72	208.5	321.75	678	4894.5
				L858R	75.5	163.5	212	351	659
egfr_361_380	0.1809	0.0793	0.2623	NO	56	117	248.5	356	3067
				746DEL	93	181.25	289	316.25	356
egfr_381_400	0.4832	0.2947	0.8225	L858R	85	177	228	387.5	1818.5
				NO	93.5	205	267.5	385.5	1007
egfr_381_400	0.4832	0.2947	0.8225	746DEL	182	268	519.5	593.25	748
				L858R	212.5	480	694	1533	3884.5
egfr_381_400	0.4832	0.2947	0.8225	NO	146.5	377	459.5	769	1442.5
				746DEL	0	28	76	100	107
egfr_381_400	0.4832	0.2947	0.8225	L858R	18	35	69	126	2168.5
				NO	0	24.5	51	69.5	191

10

20

30

40

【 表 3 - 5 】

Peptide	P-value		Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others			Del746/others	min	q1	median	q3
egfr_401_420	0.71	0.5226	0.481	8	35	124	368	373.75	401
egfr_421_440	0.2652	0.1242	746DEL	13	98	208.5	274	526	2721
			L858R	21	0	172	256	432	1291
egfr_441_460	0.5293	0.3839	746DEL	8	0	21.5	74	97.75	169
			L858R	13	18	51	117.5	206	391
egfr_461_480	0.1004	0.3903	746DEL	21	0	42	73	115	467
			L858R	8	31	115.5	282.5	367.25	473
egfr_481_500	0.053	0.0172	746DEL	13	52	197	358	559	3751.5
			L858R	21	5.5	174	265.5	446	1134
egfr_481_500	0.053	0.0172	746DEL	8	0	0	0	20.5	322
			L858R	13	0	0	0	0	25497.5
egfr_481_500	0.053	0.0172	746DEL	21	0	0	0	0	93
			L858R	8	0	36.5	65.75	137	208.5
egfr_481_500	0.053	0.0172	746DEL	13	30	59.5	147	202	26064
			L858R	21	0	20	55.5	109	1718.5

10

20

30

40

【 表 3 - 6 】

Peptide	P-value		Expression of peptide							
	mutation/others	L858R/others	Del746/others	Mutation	n	min	q1	median	q3	max
egfr_501_520	0.2067	0.0791	0.7486	746DEL	8	0	34.5	107.75	139	151.5
egfr_521_540	0.6436	0.3479	0.7487	L858R	13	0	90	120.5	205.5	417.5
				NO	21	0	50	72.5	123	207
				746DEL	8	106	120.25	182.75	268	332
egfr_541_560	0.1723	0.0683	0.8601	L858R	13	114	179	204	228.5	977
				NO	21	0	128	186	277	510
				746DEL	8	105.5	130.25	186.25	208	301
egfr_561_580	0.6027	0.505	0.6195	L858R	13	70	173.5	309	346	656
				NO	21	0	114	143	232	638
				746DEL	8	79	119.75	182.25	212.5	256
egfr_581_600	0.5751	0.3477	0.4514	L858R	13	48	115	177	220.5	3390
				NO	21	0	90	129	209	720
				746DEL	8	0	25.25	70.75	89.25	108
				L858R	13	24.5	45	73	179.5	274
				NO	21	0	43	69.5	91	304.5

10

20

30

40

【 表 3 - 7 】

Peptide	P-value		Expression of peptide							
	mutation/others	L858R/others	Del746/others	Mutation	n	min	q1	median	q3	max
egfr_601_620	0.9505	0.9458	0.7854	746DEL	8	71	123	181	320	575
egfr_621_640	0.3359	0.5643	0.2718	L858R	13	74.5	130.5	181	441	1683
				NO	21	86	134.5	175	303.5	2204.5
egfr_641_660	0.814	0.8596	0.5217	746DEL	8	0	18	48.75	77.25	115
				L858R	13	0	18	35	44.5	610
egfr_661_680	0.4409	0.9673	0.2213	NO	21	0	0	28	41	130
				746DEL	8	21	62.75	177.75	220	264.5
egfr_681_700	0.2731	0.1445	0.8636	L858R	13	0	36	112.5	224	593.5
				NO	21	0	56	116.5	205.5	734.5
egfr_681_700	0.2731	0.1445	0.8636	746DEL	8	0	21	201.25	390.5	429
				L858R	13	0	0	250.5	640	1761
egfr_681_700	0.2731	0.1445	0.8636	NO	21	0	213.5	333	527	900.5
				746DEL	8	0	0	0	16.5	166.5
egfr_681_700	0.2731	0.1445	0.8636	L858R	13	0	0	0	46	142
				NO	21	0	0	0	0	0

10

20

30

40

【 表 3 - 8 】

Peptide	P-value		Expression of peptide							
	mutation/others	L858R/others	Del746/others	Mutation	n	min	q1	median	q3	max
egfr_701_720	0.6074	0.3249	0.8721	746DEL	8	0	7	91.75	213.5	252.5
egfr_721_740	0.106	0.0361	0.7006	L858R	13	0	83	99	220	439.5
				NO	21	0	5	82	154	312
egfr_741_760	0.0253	0.0067	0.4416	746DEL	8	0	40.75	62	90.25	252.5
				L858R	13	24	48	126.5	199.5	342.5
egfr_761_780	0.5661	0.5494	0.5218	NO	21	0	17.5	57	87.5	227
				746DEL	8	0	7	23.25	48.5	56
egfr_781_800	0.9291	0.9241	0.7487	L858R	13	12.5	30	46	86.5	222
				NO	21	0	13	20	44.5	75
egfr_781_800	0.9291	0.9241	0.7487	746DEL	8	213.5	246.5	300	408.5	903
				L858R	13	121	161.5	311.5	770	2484
egfr_781_800	0.9291	0.9241	0.7487	NO	21	118.5	183	245	387	11198
				746DEL	8	138	168.75	254	348	454.5
egfr_781_800	0.9291	0.9241	0.7487	L858R	13	112	202	246.5	359.5	3226.5
				NO	21	0	150	296	427.5	833

10

20

30

40

【 表 3 - 9 】

Peptide	P-value		Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others			Del746/others	min	q1	median	q3
egfr_801_820	0.5498	0.4878	0.3053	8	15	56.5	156	209.25	413
				13	58	92	183	503.5	1079.5
				21	65.5	102.5	143	231.5	1485.5
egfr_821_840	0.9631	0.9025	0.8476	8	0	63	192	754.75	1354
				13	39	85	161.5	310	712
				21	0	77	132	284	2626
egfr_841_860	0.1112	0.201	0.047	8	0	16	28.25	46	91.5
				13	0	33	76	130	376.5
				21	1	31	43.5	85	156.5
egfr_861_880	0.4903	0.2947	0.3782	8	0	5.25	27.5	69.75	95
				13	13.5	29	42	101.5	242
				21	0	26.5	39	57	398
egfr_881_900	0.5093	0.2475	0.6309	8	27	56.5	159.25	282.25	361
				13	27.5	117	156	415	629
				21	0	84.5	112.5	265	535

10

20

30

40

【表 3 - 10】

Peptide	P-value		Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others			Del746/others	min	q1	median	q3
egfr_901_920	0.4154	0.196	0.8853	8	0	14.5	62	128.75	193
egfr_921_940	0.6451	0.8489	0.3529	8	7.5	66.5	118.25	155.75	800
egfr_941_960	0.367	0.1823	0.9872	8	0	35	70.75	95.75	108.5
egfr_961_980	0.6065	0.5032	0.6276	8	0	0	0	0	0
egfr_981_1000	0.2249	0.1129	0.2443	8	0	2.5	12.5	68.5	193.5
				21	0	0	4.5	55	633.5

10

20

30

40

【 表 3 - 1 1 】

Peptide	P-value		Expression of peptide								
	mutation/others	L858R/others	Del746/others	Mutation	n	min	q1	median	q3	max	
egfr_1001_1021	0.1194	0.5032	0.0393	746DEL	8	0	0	0	0	5	
egfr_1021_1040	0.5261	0.6521	0.2585	L858R	13	0	0	0	0	0	
				NO	21	0	0	0	0	0	0
				746DEL	8	0	0.5	19	54	228	
egfr_1041_1060	0.953	0.9674	0.7609	L858R	13	0	0	0	38	13092.5	
				NO	21	0	0	0	39	134.5	
				746DEL	8	118	137.25	196.75	236.5	304	
egfr_1061_1080	0.6363	0.3684	1	L858R	13	64	126	157	331.5	600	
				NO	21	67	118.5	176	224	1031	
				746DEL	8	0	17.5	40.5	74	80.5	
egfr_1081_1100	0.9772	0.9643	0.8538	L858R	13	0	22	67	72	179	
				NO	21	0	23.5	37	63	494	
				746DEL	8	0	0	0	0	11.5	
				L858R	13	0	0	0	0	10	
				NO	21	0	0	0	0	0	186

10

20

30

40

【 表 3 - 1 2 】

Peptide	P-value		Mutation	n	Expression of peptide				
	mutation/others	L858R/others			Del746/others	min	q1	median	q3
egfr_1101_1120	0.908	0.6623	0.8517	8	0	0	0	2.25	11
egfr_1121_1140	0.8691	0.6058	0.7791	746DEL	0	0	0	0	42
				L858R	0	0	0	0	449
egfr_1141_1160	0.3498	0.2601	0.619	NO	0	0	0	4.75	14
				746DEL	0	0	0	0	40
egfr_1161_1180	0.2732	0.1379	0.9107	L858R	0	0	0	0	8787.5
				NO	0	0	0	0	259
egfr_1181_1200	0.2863	0.1529	0.8601	746DEL	0	25.5	88.25	100.25	116
				L858R	4.5	42	77	123	382
				NO	0	22.5	49.5	80	735
				746DEL	0	13.5	77.5	102.5	202
				L858R	30.5	50	74	139	337.5
				NO	0	25.5	61.5	73	306.5

【 0 0 4 9 】

10

20

30

40

【表 4 - 1】

表4 NSCLC患者のPFSおよびOSのCox回帰分析

	PFS (log)				OS(log)					
	HR	95%CI	P-value	Significance	HR	95%CI	P-value	Significance		
egfr_1_20	0.56	0.38	0.82	0.003	yes	0.67	0.46	0.97	0.036	no
egfr_21_40	0.97	0.71	1.33	0.851	no	0.98	0.69	1.39	0.914	no
egfr_41_60	0.20	0.08	0.48	<0.001	yes	0.28	0.13	0.60	0.001	yes
egfr_61_80	0.51	0.32	0.80	0.004	yes	0.62	0.37	1.03	0.065	no
egfr_81_100	0.43	0.19	0.96	0.039	no	0.37	0.14	0.95	0.039	no
egfr_101_120	0.66	0.49	0.89	0.006	yes	0.67	0.49	0.91	0.009	yes
egfr_121_140	0.66	0.45	0.96	0.032	no	0.58	0.39	0.87	0.007	yes
egfr_141_160	0.89	0.48	1.65	0.708	no	0.87	0.49	1.57	0.654	no
egfr_161_180	0.27	0.10	0.73	0.010	yes	0.32	0.11	0.94	0.038	no
egfr_181_200	0.16	0.04	0.57	0.005	yes	0.10	0.02	0.45	0.003	yes
egfr_201_220	0.76	0.46	1.25	0.282	no	0.71	0.43	1.17	0.184	no
egfr_221_240	0.34	0.19	0.60	<0.001	yes	0.32	0.18	0.58	<0.001	yes
egfr_241_260	0.37	0.22	0.63	<0.001	yes	0.45	0.27	0.75	0.002	yes
egfr_261_280	0.50	0.34	0.73	<0.001	yes	0.55	0.38	0.80	0.002	yes
egfr_281_300	0.26	0.10	0.72	0.009	yes	0.23	0.07	0.74	0.014	yes

10

20

30

40

【表 4 - 2】

	PFS (log)				OS(log)					
	HR	95%CI	P-value	Significance	HR	95%CI	P-value	Significance		
egfr_301_320	0.55	0.37	0.81	0.003	yes	0.61	0.41	0.90	0.012	yes
egfr_321_340	0.47	0.20	1.08	0.076	no	0.59	0.24	1.44	0.243	no
egfr_341_360	0.38	0.16	0.91	0.030	no	0.32	0.11	0.96	0.043	no
egfr_361_380	0.43	0.15	1.23	0.114	no	0.27	0.07	1.00	0.051	no
egfr_381_400	0.52	0.34	0.79	0.003	yes	0.56	0.37	0.85	0.007	yes
egfr_401_420	0.30	0.14	0.64	0.002	yes	0.42	0.21	0.85	0.016	yes
egfr_421_440	0.54	0.34	0.85	0.008	yes	0.58	0.37	0.91	0.018	no
egfr_441_460	0.54	0.28	1.04	0.067	no	0.58	0.28	1.20	0.143	no
egfr_461_480	0.48	0.29	0.80	0.004	yes	0.57	0.34	0.96	0.036	no
egfr_481_500	0.44	0.28	0.68	<0.001	yes	0.52	0.35	0.78	0.001	yes
egfr_501_520	0.63	0.42	0.94	0.024	yes	0.68	0.45	1.03	0.068	no
egfr_521_540	0.06	0.02	0.21	<0.001	yes	0.15	0.05	0.45	0.001	yes
egfr_541_560	0.20	0.06	0.68	0.010	yes	0.35	0.13	0.89	0.027	no
egfr_561_580	0.27	0.09	0.80	0.017	yes	0.33	0.13	0.86	0.023	no
egfr_581_600	0.57	0.36	0.89	0.013	yes	0.58	0.38	0.88	0.011	yes

10

20

30

40

【表 4 - 3】

	PFS (log)				OS(log)					
	HR	95%CI	P-value	Significance	HR	95%CI	P-value	Significance		
egfr_601_620	0.32	0.14	0.74	0.008	yes	0.29	0.10	0.86	0.025	no
egfr_621_640	0.63	0.43	0.93	0.021	yes	0.72	0.50	1.05	0.088	no
egfr_641_660	0.61	0.42	0.88	0.009	yes	0.68	0.44	1.04	0.073	no
egfr_661_680	0.90	0.71	1.15	0.414	no	0.91	0.69	1.22	0.538	no
egfr_681_700	0.96	0.68	1.35	0.797	no	0.89	0.63	1.26	0.518	no
egfr_701_720	0.65	0.48	0.88	0.005	yes	0.60	0.43	0.83	0.002	yes
egfr_721_740	0.33	0.20	0.56	<0.001	yes	0.37	0.22	0.61	<0.001	yes
egfr_741_760	0.70	0.41	1.20	0.199	no	0.70	0.41	1.20	0.193	no
egfr_761_780	1.00	0.39	2.55	0.995	no	1.32	0.54	3.21	0.541	no
egfr_781_800	0.33	0.12	0.86	0.024	yes	0.40	0.17	0.96	0.039	no
egfr_801_820	0.49	0.19	1.21	0.123	no	0.61	0.23	1.59	0.311	no
egfr_821_840	0.59	0.41	0.85	0.004	yes	0.64	0.46	0.89	0.008	yes
egfr_841_860	0.70	0.44	1.13	0.146	no	0.74	0.43	1.26	0.270	no
egfr_861_880	0.89	0.52	1.51	0.667	no	0.88	0.53	1.48	0.635	no
egfr_881_900	0.17	0.07	0.42	<0.001	yes	0.21	0.09	0.46	<0.001	yes

10

20

30

40

【表 4 - 4】

	PFS (log)				OS(log)					
	HR	95%CI	P-value	Significance	HR	95%CI	P-value	Significance		
egfr_901_920	0.51	0.34	0.77	0.001	yes	0.62	0.42	0.93	0.021	no
egfr_921_940	0.66	0.35	1.26	0.208	no	0.70	0.38	1.27	0.238	no
egfr_941_960	0.58	0.38	0.87	0.009	yes	0.74	0.48	1.13	0.157	no
egfr_961_980	0.83	0.48	1.43	0.502	no	1.14	0.67	1.97	0.627	no
egfr_981_1000	0.82	0.58	1.15	0.250	no	0.76	0.54	1.06	0.106	no
egfr_1001_1021	1.13	0.26	4.93	0.870	no	1.30	0.22	7.86	0.774	no
egfr_1021_1040	0.98	0.72	1.33	0.898	no	1.02	0.73	1.42	0.905	no
egfr_1041_1060	0.22	0.08	0.65	0.006	yes	0.13	0.03	0.55	0.005	yes
egfr_1061_1080	0.61	0.40	0.94	0.025	yes	0.82	0.54	1.24	0.344	no
egfr_1081_1100	1.43	0.85	2.40	0.173	no	1.14	0.68	1.90	0.623	no
egfr_1101_1120	1.01	0.66	1.57	0.954	no	0.94	0.60	1.48	0.795	no
egfr_1121_1140	1.15	0.81	1.63	0.426	no	0.77	0.50	1.18	0.232	no
egfr_1141_1160	1.02	0.71	1.46	0.913	no	1.08	0.73	1.59	0.704	no
egfr_1161_1180	0.60	0.39	0.95	0.028	yes	0.64	0.41	1.00	0.048	no
egfr_1181_1200	0.45	0.30	0.67	<0.001	yes	0.51	0.34	0.77	0.001	yes

【 0 0 5 0 】

参考文献

References

1. Parkin DM, Bray FI, Devasa SS. Cancer burden in the year 2000: the global picture. Eur J Cancer 2001;37:4-66.
2. Yarden Y, and Sliwkowski MX. Untagling the ErbB signaling network. Nat Rev M

10

20

30

40

50

- ol Cell Biol 2001; 2: 127-137.
3. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129-39.
 4. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497-500.
 5. Ono M, Kuwano M. Molecular mechanisms of epidermal growth factor receptor activation and response to gefitinib and other EGFR-targeting drugs. *Clin Cancer Res* 2006;12:7242-51.
 6. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010;362:2380-8. 10
 7. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010;11:121-8.
 8. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009;361:947-57.
 9. Sasada T, Komatsu N, Suekane S, Yamada A, Noguchi M, Itoh K. Overcoming the hurdles of randomised clinical trials of therapeutic cancer vaccines. *Eur J Cancer* 2010;46(9): 1514-9. 20
 10. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347(25): 1999-2009.
 11. Bedognetti D, Wang E, Sertoli MR, Marincola FM. Gene-expression profiling in vaccine therapy and immunotherapy for cancer. *Expert Rev Vaccines* 2010;9(6): 555-65.
 12. Bogunovic D, O'Neill DW, Belitskaya-Levy I, et al. Immune profile and mitotic index of metastatic melanoma lesions enhance clinical staging in predicting patient survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106(48): 20429-34.
 13. Pham MX, Teuteberg JJ, Kfoury AG, et al. Gene-expression profiling for rejection surveillance after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 2010;362(20): 1890-900. 30
 14. Noguchi M, Kakuma T, Uemura H, et al. A randomized phase II trial of personalized peptide vaccine plus low dose estramustine phosphate (EMP) versus standard dose EMP in patients with castration resistant prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59(7): 1001-9.
 15. Mine T, Sato Y, Noguchi M, et al. Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccine with peptides based on pre-existing, peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res* 2004;10:929-37. 40
 16. Ugurel S, Schrama D, Keller G, et al. Impact of the CCR5 gene polymorphism on the survival of metastatic melanoma patients receiving immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2008;57(5): 685-91.
 17. Liu D, O'Day SJ, Yang D, et al. Impact of gene polymorphisms on clinical outcome for stage IV melanoma patients treated with biochemotherapy: an exploratory study. *Clin Cancer Res* 2005;11(3): 1237-46.
 18. Leibovici D, Grossman HB, Dinney CP, et al. Polymorphisms in inflammation genes and bladder cancer: from initiation to recurrence, progression, and survival. *J Clin Oncol* 2005;23(24): 5746-56.
 19. Breunis WB, Tarazona-Santos E, Chen R, Kiley M, Rosenberg SA, Chanock SJ. In 50

- fluence of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA4) common polymorphisms on outcome in treatment of melanoma patients with CTLA-4 blockade. *J Immunother* 2008;31(6): 586-90.
20. Yurkovetsky ZR, Kirkwood JM, Edington HD, et al. Multiplex analysis of serum cytokines in melanoma patients treated with interferon-alpha2b. *Clin Cancer Res* 2007;13(8): 2422-8.
21. Sabatino M, Kim-Schulze S, Panelli MC, et al. Serum vascular endothelial growth factor and fibronectin predict clinical response to high-dose interleukin-2 therapy. *J Clin Oncol* 2009;27(16): 2645-52.
22. Nagai Y, Miyazawa H, Huqun, et al. Genetic heterogeneity of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer cell lines revealed by a rapid and sensitive detection system, the peptide nucleic acid-locked nucleic acid PCR clamp. *Cancer Res* 2005;65:7276-82. 10
23. Harada M, Kobayashi K, Matsueda S, Nakagawa M, Noguchi M, Itoh K. Prostate-specific antigen-derived epitopes capable of inducing cellular and humoral responses in HLA-24+ prostate cancer patients. *Prostate* 2003; 57(2): 152-9.
24. Komatsu N, Shichijo S, Nakagawa M, Itoh K. New multiplexed flow cytometric assay to measure anti-peptide antibody: a novel tool for monitoring immune responses to peptides used for immunization. *Scand J Clin Lab Invest* 2004; 64: 535-45.
25. Goeman JJ. L1 penalized estimation in the Cox proportional hazards model. *Biometrical J* 2010; 52: 170-84. 20
26. Everitt BS. *An R and S-PLUS Companion to Multivariate Analysis*. 2005. Springer-Verlag London Limited.
27. Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. 2000; 56: 2337-344.
28. Ogiso H, Ishitani R, Nureki O, et al. Crystal structure of complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell* 2002; 110: 775-787.
29. Garrett PJ, Mckern NM, Lou M, et al. Crystal structure of truncated epidermal growth factor extracellular domain bound to transforming growth factor alpha. *Cell* 2002; 110: 763-773. 30
30. Leahy DJ, and Cho HS. Structure of extracellular region of HER3 reveals an interdomain tether. *Science* 2002; 297: 1330-1333.
31. Lemmon MA. Ligand-induced ErbB receptor dimerization. *Exp Cell Res*. 2009; 315:638-648.
32. Bose R, Zhang X. The ErbB kinase domain: structural perspectives into kinase activation and inhibition. *Exp Cell Res* 2009; 315: 649-658.
33. Zhang X, Dureasko J, Shen K, et al. An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. *Cell* 2006; 125: 1137-1149. 40
34. Talavera A, Friemann R, Gomez-Puerta S, et al. Nimotuzumab, an antitumor antibody that targets the epidermal growth factor receptor, blocks ligand binding while permitting the active receptor conformation. *Cancer Res* 2009; 69: 5851-9.
35. Li S, Schmitz KR, Jeffrey PD, et al. Structural basis for inhibition of epidermal growth factor receptor by cetuximab. *Cancer Cell* 2005; 7:301-311.
36. Schmiedel J, Blaukat A, Li S, et al. Matuzumab binding to EGFR prevents the conformational rearrangement required for dimerization. *Cancer Cell* 2008; 13:365-373.
37. Kimura H, Kasahara K, Kawanishi M, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefitinib in pat 50

ients with non-small-cell lung cancer. Clin Cancer Res 2006; 12: 3915-21.

【配列表フリーテキスト】

【0051】

配列番号1：ヒトEGFR

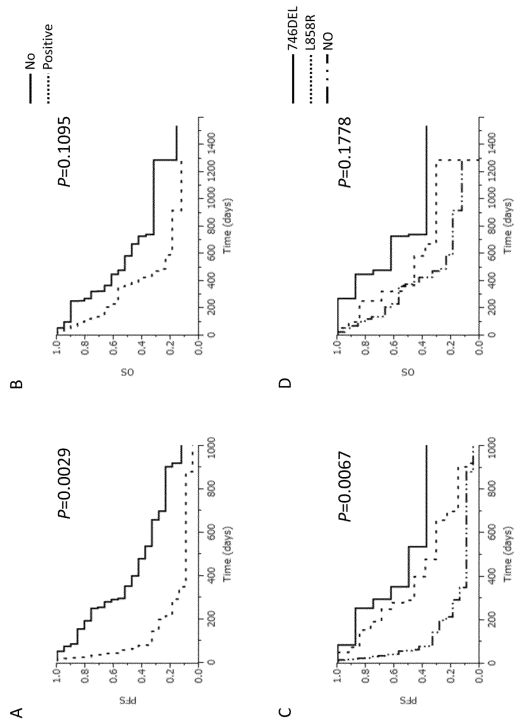
配列番号2：EGFR由来ペプチド(EGFR41-60)

配列番号3：EGFR由来ペプチド(EGFR61-80)

配列番号4：EGFR由来ペプチド(EGFR481-500)

配列番号5：EGFR由来ペプチド(EGFR881-900)

【図1】



【図2】

0001 MRPSGTAGAA LLALLAALCP ASRALEEKKV CQGTSNKLTQ LGTFEDHFLS LQRMFNCEV

0061 VLGNLEITYV QRNYDLSFLK TIQEVAGYVL IALNTVERIP LENLQHIRGN MYEENSYALA

0121 VLSNYDANKT GLKELPMRNL QEILHGAVRF SNNPALCNVE SIQWRDIVSS DFLSNMSMDF

0181 QNHLGSCQKC DPSCPNGSCW GAGEENCQKL TKHCAQQCS GRCRGKSPSD CCHNQCAAGC

0241 TGPRESDECLV CRKFRDEATC KDTCPPLMLY NPTYQMDVN PEGKYSFGAT CVKKCPRNYV

0301 VTDHGSCVRA CGADSYEMEE DGVRKCKKCE GPCRKVCNGI GIGEFKDSLS INATNIKHPK

0361 NCTSISGDHL ILVAFRGDS FTHTPPLDPQ ELDILKTVKE ITGFLLIQAW PENRTDLHAF

0421 ENLEIHRGT KQHGGFSLAV VSLNITSLGL RSLKEISDGD VHSGNKNLC YANTINWKKL

0481 EGTSGQTKLISNRGENSCK ATGQVCHALC SPEGCWGPPE RDCVSCRNVSRGRECVDKCN

0541 LLEGEPREFV ENSECIQCHP ECLPQAMNIT CTGRGPDNCI QCAHYIDGPH CVKTCPAVGM

0601 GENNTLWVKY ADAGHVCHLC HPNCTYCTG PGLEGCPTNG PKIPSIATGM VGALLLLLV

0661 ALGIGLFMRR RHIVRKRTRL RLLQERELVE PLTPSGEAPN QALLRILKET EFKKIKVLGS

0721 GAFGTVYKGL WIPEGEKVKI PVAIKELREA TSPKANKKEL DEAYMASVD NPHVCRLLGI

0781 CLTSTVQLIT QLMPFGCLLD YVREHKDNIG SQYLLNWCVQ IAKGMNYLED RRLVHRDLAA

0841 RNVLYKTPQH YKIDTEFLAK LLGAEKEEYH AEGGKVPKIK MALESILHRI YTHQSDVWSY

0901 GVTVWELMTF GSKPYDGIPA SEISSILEKG ERLPQPPICT IDVYMIMVKC WMIDADSRPK

0961 FRELIEFSK MARDPQRYLV IQGDERMHLP SPTDSNFYRA LMDEEDMDVY VDADEYLIQ

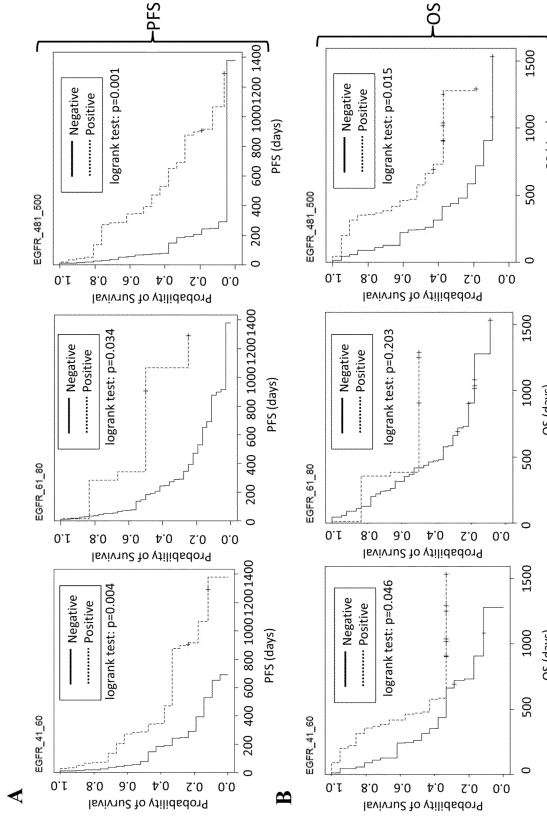
1021 QGFFSSPSTS RTPLLSLSA TSNNSTVACI DRNGLQSCPI KEDSFLQRYSDPTGALTED

1081 SIDDTFLPVP EYINQSVPKR PAGSVQNPVY HNQLNPAPS RDPHYQDPHS TAVGNPEYLN

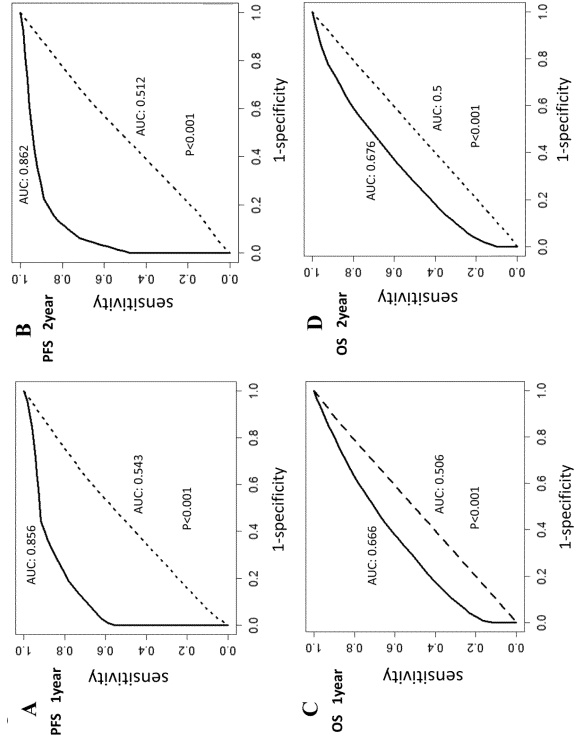
1141 TVQPTCVNST FDSPAHWAQK GSHQISLDNP DYQQDFPKE AKPNGIFKGS TAENAELYRN

1201 APQSSEFIGA

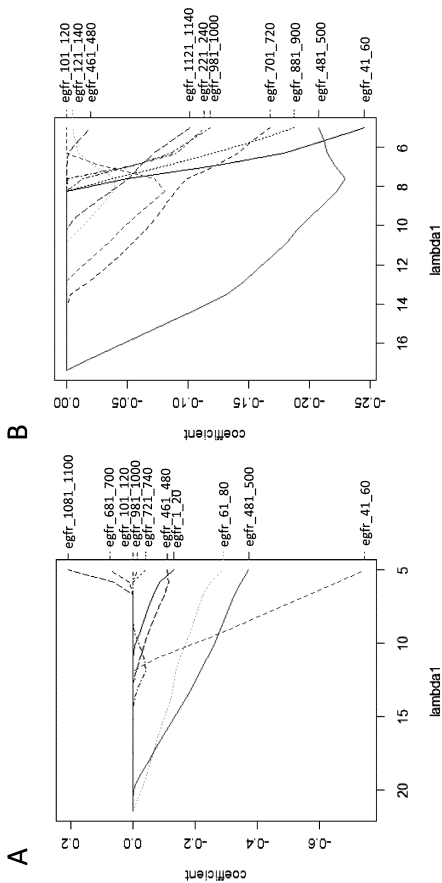
【 3 】



【 4 】



【 5 】



【配列表】

0006463675000001.app

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I
 A 6 1 K 45/00 (2006.01) A 6 1 K 45/00
 A 6 1 K 31/5377 (2006.01) A 6 1 K 31/5377

(72) 発明者 星野 友昭
 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内
 (72) 発明者 服部 聡
 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内
 (72) 発明者 伊東 恭悟
 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内
 (72) 発明者 笹田 哲朗
 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内
 (72) 発明者 小松 誠和
 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内
 (72) 発明者 松枝 智子
 福岡県久留米市旭町 6 7 番地 学校法人 久留米大学内

審査官 赤坂 祐樹

(56) 参考文献 特表 2 0 0 7 - 5 3 1 5 2 5 (J P , A)
 特開 2 0 0 7 - 3 2 2 2 1 1 (J P , A)
 米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 2 8 0 4 9 3 (U S , A 1)
 東 公一, 非小細胞肺癌患者における抗上皮成長因子受容体(EGFR)由来ペプチド抗体の解析, 科学研究費補助金研究成果報告書, 2 0 0 9 年, [検索日 2014.09.04] , インターネット<URL <http://kaken.nii.ac.jp/pdf/2009/seika/mext/37104/19790571seika.pdf>> , U R L , <http://kaken.nii.ac.jp/pdf/2009/seika/mext/37104/19790571seika.pdf>
 Kawahara A et al. , A diagnostic algorithm using EGFR mutation-specific antibodies for rapid response EGFR-TKI treatment in patients with non-small cell lung cancer , Lung Cancer , 2 0 1 2 年 1 0 月 , 78(1) , 39-44
 MAEMONDO, M et al. , Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR , The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE , 2 0 1 0 年 6 月 2 4 日 , 362(25) , 2380-2388

(58) 調査した分野(Int.Cl. , DB名)

G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

专利名称(译)	预测表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂治疗效果的方法		
公开(公告)号	JP6463675B2	公开(公告)日	2019-02-06
申请号	JP2015522950	申请日	2014-06-18
[标]申请(专利权)人(译)	久留米大学		
申请(专利权)人(译)	学校法人 久留米大学		
当前申请(专利权)人(译)	学校法人 久留米大学		
[标]发明人	東公一 星野友昭 服部聡 伊東恭悟 笹田哲朗 小松誠和 松枝智子		
发明人	東公一 星野友昭 服部聡 伊東恭悟 笹田哲朗 小松誠和 松枝智子		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/574 C07K14/71 A61P43/00 A61P35/00 A61K45/00 A61K31/5377		
CPC分类号	A61P35/00 A61P43/00 C07K14/71 G01N33/57423 G01N33/6854 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/53.ZNA.N G01N33/574.A C07K14/71 A61P43/00.111 A61P35/00 A61K45/00 A61K31/5377		
代理人(译)	山田卓司 櫻井洋子		
优先权	2013128714 2013-06-19 JP		
其他公开文献	JPWO2014203918A1		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了预测EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗效果的方法，包括以下步骤：（1）在用EGFR酪氨酸激酶抑制剂治疗之前，从患者采集的血液样品中测量针对由选自SEQ ID NO：2至5的氨基酸序列组成的肽的抗体的量；和（2）将测得的抗体量与参考值进行比较，这里，当抗体的量高于参考值时，预测患者通过EGFR酪氨酸激酶抑制剂具有高治疗效果，并且一种方法包括：

(45) 発行日 平成31年2月6日(2019.2.6)

(24) 登録日 平成31年1月11日(2019.1.11)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N	33/53	Z N A N
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N	33/574	A
CO 7 K 14/71 (2006.01)	CO 7 K	14/71	
AG 1 P 43/00 (2006.01)	AG 1 P	43/00	I 1 1
AG 1 P 35/00 (2006.01)	AG 1 P	35/00	

請求項の数 9 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-522950 (P2015-522950)
 (86) (22) 出願日 平成26年6月18日(2014.6.18)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2014/066100
 (87) 国際公開番号 W02014/203918
 (87) 国際公開日 平成26年12月24日(2014.12.24)
 審査請求日 平成28年5月26日(2017.5.26)
 (31) 優先権主張番号 特願2013-128714 (P2013-128714)
 (32) 優先日 平成25年6月19日(2013.6.19)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 599045903
 学校法人 久留米大学
 福岡県久留米市旭町67番地
 (74) 代理人 100101454
 弁理士 山田 卓二
 (74) 代理人 100062144
 弁理士 青山 薫
 (74) 代理人 100106518
 弁理士 松谷 道子
 (74) 代理人 100138911
 弁理士 櫻井 陽子
 栗 公一
 (72) 発明者
 福岡県久留米市旭町67番地 学校法人
 久留米大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬の治療効果を予測する方法