

(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2018-508183

(P2018-508183A)

(43) 公表日 平成30年3月29日(2018.3.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	4 B 0 6 3
C 1 2 Q 1/06 (2006.01)	C 1 2 Q 1/06	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-534208 (P2017-534208)
 (86) (22) 出願日 平成27年12月22日 (2015.12.22)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年8月21日 (2017.8.21)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/067427
 (87) 国際公開番号 W02016/106340
 (87) 国際公開日 平成28年6月30日 (2016.6.30)
 (31) 優先権主張番号 62/096, 355
 (32) 優先日 平成26年12月23日 (2014.12.23)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/200, 340
 (32) 優先日 平成27年8月3日 (2015.8.3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者 ワン, ユイレイ
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
 80-4990, サウス サンフランシ
 スコ, ディーエヌエー ウェイ 1
 Fターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ42
 QQ52 QR08 QR32 QR35 QS32
 QS34 QX02

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 化学療法耐性癌を治療及び診断する組成物及び方法

(57) 【要約】

本発明は、間質標的療法、抗血管新生療法、及び/または免疫療法等の特定の抗癌療法の利益を受けうる、化学療法耐性である癌を有する患者を決定するための選択基準として、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを使用する方法を提供する。本発明はまた、間質標的薬で、卵巣癌患者等の癌患者を治療するための選択基準として、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを使用する方法を提供する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

化学療法耐性である癌患者を識別する方法であって、前記方法は、

- a) 前記患者から得た試料中の 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定すること、
 b) 前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを、癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルと比較すること、及び
 c) 前記患者の癌が化学療法耐性であるかどうか決定することであって、癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルよりも高い前記患者の試料の前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現は、前記患者が、化学療法耐性である癌を有していることを示す、前記決定すること、
 を含む、前記方法。

10

【請求項 2】

前記患者の癌が、前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の 75 パーセントイルを超えるレベルで発現すると決定されているとき、前記患者は、化学療法耐性である癌を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、POSTN、LOX、TIMP3、FAP、BGN、FGF1、FN1、ANGPTL2、ACTA2、MMP11、RBP4、CD36、PLVAP、PECAM1、GZMK、CD247、ABCC9、PCOLCE、CD1C、MS4A1、CD44、PMEPA1、IL7R、FBLN1、TWIST1、ID1、RAC2、GFRA1、CCR7、MAN1A1、EVI2A、PTPRC、CD45RA、FCRL5、NNMT、CD27、SLA、TDO2、NUAK1、及びCOL4A1から成る群から選択される、請求項 1 または 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記間質シグネチャー遺伝子がPOSTNである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、POSTN及びFAP；POSTN及びTIMP3；POSTN及びLOX；POSTN、FAP、及びTIMP3；POSTN、FAP、及びLOX；POSTN、TIMP3、及びLOX；またはPOSTN、FAP、TIMP3、及びLOXである、請求項 3 に記載の方法。

30

【請求項 6】

前記試料が、腫瘍組織試料、血液試料、または血清試料である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

化学療法耐性である前記癌が、白金耐性である癌である、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記方法が、投与前診断を提供するために、化学療法薬を投与する前に行われる、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 9】

前記患者が化学療法を受けたことがない、または前記患者が現在化学療法を受けている、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、VEGFアンタゴニストの投与から利益を受けると前記患者を識別するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

前記患者が化学療法耐性である癌を有していると決定される場合、前記患者に治療有効

50

量の V E G F アントゴニストを投与するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記 V E G F アントゴニストが、抗 V E G F 抗体である、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

前記抗 V E G F 抗体が、ペバシズマブである、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 4】

前記患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、間質標的療法から利益を受けうると患者を識別するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 1 5】

前記患者が化学療法耐性である癌を有していると決定される場合、前記患者に治療有効量の間質標的薬を投与するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記間質標的薬が、抗ペリオスチン (P O S T N) 抗体である、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、免疫療法から利益を受けうると患者を識別するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 1 8】

前記患者が化学療法耐性である癌を有していると決定される場合、前記患者に治療有効量の免疫調節薬を投与するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記免疫調節薬が、T D O 2、C D 3 6、G Z M K、C D 2 4 7、C D 1 C、C S F 1 R、I D O 1、I L 7 R、または C C R 7 アントゴニストを含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記癌が、原発性、進行性、難治性、または再発性である、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 2 1】

前記癌が、卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、及び外陰癌から成る群から選択される婦人科癌である、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記婦人科癌が、卵巣癌である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、非小細胞肺癌 (N S C L C)、腎癌 (腎細胞癌)、または脳癌 (神経膠芽腫) から成る群から選択される、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 2 4】

化学療法感受性である癌を有する患者を識別する方法であって、前記方法は、

a) 前記患者から得た試料中の 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定すること、

b) 前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを、癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルと比較すること、及び

c) 前記患者が、化学療法感受性の癌を有するかどうかを決定することであって、癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベル未満のレベルの前記患者の試料における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現は、前記

50

患者が、化学療法感受性である癌を有していることを示す、前記決定すること、を含む、前記方法。

【請求項 25】

前記患者の癌が、癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の 25 パーセント未満のレベルで前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を発現すると決定されているとき、前記患者が、化学療法感受性である癌を有している、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、POSTN、LOX、TIMP3、FAP、BGN、FGF1、FN1、ANGPTL2、ACTA2、MMP11、RBP4、CD36、PLVAP、PECAM1、GZMK、CD247、ABCC9、PCOLCE、CD1C、MS4A1、CD44、PMEPA1、IL7R、FBLN1、TWIST1、ID1、RAC2、GFRA1、CCR7、MAN1A1、EVI2A、PTPRC/CD45RA、FCRL5、NNMT、CD27、SLA、TDO2、NUAK1、及びCOL4A1から成る群から選択される、請求項 24 または 25 に記載の方法。

10

【請求項 27】

前記間質シグネチャー遺伝子がPOSTNである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、POSTN及びFAP；POSTN及びTIMP3；POSTN及びLOX；POSTN、FAP、及びTIMP3；POSTN、FAP、及びLOX；POSTN、TIMP3、及びLOX；またはPOSTN、FAP、TIMP3、及びLOXである、請求項 26 に記載の方法。

20

【請求項 29】

前記試料が、腫瘍組織試料、血液試料、または血清試料である、請求項 24 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記患者が化学療法感受性である癌を有していると決定される場合、前記患者に化学療法レジメンの 1 つまたは複数の、治療有効量の化学療法薬を投与するステップをさらに含む、請求項 24 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

前記 1 つまたは複数の化学療法薬が、HER 抗体、腫瘍関連抗原に対する抗体、抗ホルモン化合物、心保護薬、サイトカイン、EGFR 標的薬、抗血管新生薬、チロシンキナーゼ阻害薬、COX 阻害薬、非ステロイド系抗炎症薬、ファルネシル基転移酵素阻害薬、癌胎児蛋白CA 125 と結合する抗体、Her2 ワクチン、HER 標的薬、raf または ras 阻害薬、リポソームドキシソルピシン、トポテカン、タキサン、二重チロシンキナーゼ阻害薬、TLK286、EMD-7200、悪心を治療する医薬品、皮疹を予防または治療する医薬品または標準的にきび治療、下痢を治療または予防する医薬品、体温降下薬、及び造血因子から成る群から選択される、請求項 30 に記載の方法。

30

【請求項 32】

前記 1 つまたは複数の化学療法薬（複数可）が、ゲムシタピン、カルボプラチン、オキサリプラチン、イリノテカン、フルオロピリミジン（例えば 5-FU）、パクリタキセル（例えば nab-パクリタキセル）、ドセタキセル、トポテカン、カペシタピン、レコボリン（lecovorin）、テモゾロミド、インターフェロン-アルファ、またはリポソームドキシソルピシン（例えばペグ化リポソームドキシソルピシン）である、請求項 30 に記載の方法。

40

【請求項 33】

前記化学療法レジメンが、カルボプラチン及びパクリタキセル、カルボプラチン及びゲムシタピン、またはパクリタキセル、トポテカン、またはペグ化リポソームドキシソルピシンの投与を含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 34】

50

前記化学療法レジメンが、カペシタピン及びパクリタキセル、またはカペシタピン及びドセタキセルの投与を含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 35】

前記化学療法レジメンが、テモゾロミドの投与及び任意に化学療法を含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 36】

前記化学療法レジメンが、フルオロピリミジン、イリノテカン、シスプラチン；フルオロピリミジン及びオキサリプラチン；フルオロピリミジン及びイリノテカン；フルオロピリミジン、レコボリン (lecovorin)、及びオキサリプラチン；またはイロノテカン (ironotecan)、フルオロピリミジン及びロイコボリンの投与を含む、請求項 30 に記載の方法。

10

【請求項 37】

前記化学療法レジメンが、パクリタキセル及びトポテカン、またはパクリタキセル及びシスプラチンの投与を含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 38】

前記化学療法レジメンが、インターフェロン - アルファ 2 a の投与を含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 39】

前記癌が、原発性、進行性、難治性、または再発性である、請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 40】

前記癌が、卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、及び外陰癌から成る群から選択される婦人科癌である、請求項 24 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 41】

前記婦人科癌が、卵巣癌である、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、非小細胞肺癌 (NSCLC)、腎癌 (腎細胞癌)、または脳癌 (神経膠芽腫) から成る群から選択される、請求項 24 ~ 39 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 43】

VEGF アンタゴニストまたは免疫調節薬の投与から利益を受けうる、癌に罹患した患者を識別する方法であって、前記方法は、

30

a) 前記患者から得た試料中の 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定することであって、癌種における前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値を超えるレベルの前記 1 つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現が、前記患者が VEGF アンタゴニストまたは免疫調節薬の投与から利益を受けうることを示す、前記決定すること、及び任意に、

b) 前記患者に治療有効量の前記 VEGF アンタゴニストまたは免疫調節薬を投与すること、

を含む、前記方法。

40

【請求項 44】

前記 VEGF アンタゴニストが、抗 VEGF 抗体である、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

前記抗 VEGF 抗体が、ベバシズマブである、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

前記免疫調節薬が、TDO2、CD36、GZMK、CD247、CD1C、CSF1R、IDO1、IL7R、またはCCR7 アンタゴニストを含む、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 47】

癌患者を治療する方法であって、前記方法は、前記患者に治療有効量の間質標的薬を投

50

与することを含み、前記患者の癌は、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値を超えるレベルで前記1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を発現することが決定されている、前記方法。

【請求項48】

前記患者に1つまたは複数の化学療法薬を投与することをさらに含む、請求項43～47のいずれか1項に記載の方法。

【請求項49】

前記患者の癌が、癌種における前記1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の75パーセントを超えるレベルで前記1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を発現すると決定されている、請求項43～48に記載の方法。

10

【請求項50】

前記1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、POSTN、LOX、TIMP3、FAP、BGN、FGF1、FN1、ANGPTL2、ACTA2、MMP11、RBP4、CD36、PLVAP、PECAM1、GZMK、CD247、ABCC9、PCOLCE、CD1C、MS4A1、CD44、PMEPA1、IL7R、FBLN1、TWIST1、ID1、RAC2、GFRA1、CCR7、MAN1A1、EVI2A、PTPRC、CD45RA、FCRL5、NNMT、CD27、SLA、TDO2、NUAK1、及びCOL4A1から成る群から選択される、請求項43～49のいずれか1項に記載の方法。

【請求項51】

前記間質シグネチャー遺伝子がPOSTNである、請求項50に記載の方法。

20

【請求項52】

前記1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、POSTN及びFAP；POSTN及びTIMP3；POSTN及びLOX；POSTN、FAP、及びTIMP3；POSTN、FAP、及びLOX；POSTN、TIMP3、及びLOX；またはPOSTN、FAP、TIMP3、及びLOXである、請求項50に記載の方法。

【請求項53】

前記癌が、化学療法耐性、化学療法感受性、原発性、進行性、難治性、または再発性である、請求項43～52のいずれか1項に記載の方法。

【請求項54】

前記癌が、卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、膣癌、及び外陰癌から成る群から選択される婦人科癌である、請求項43～53のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項55】

前記婦人科癌が、卵巣癌である、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

前記癌が、結腸直腸癌、乳癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、腎癌(腎細胞癌)、または脳癌(神経膠芽腫)から成る群から選択される、請求項43～53のいずれか1項に記載の方法。

【請求項57】

患者の卵巣癌のステージを決定する方法であって、前記方法は、前記患者から得た試料のPOSTNの発現レベルを決定することであって、対照に対して、前記患者の試料で、増加したレベルのPOSTNの発現を検出することが、進行期の卵巣癌であることを意味する、前記決定すること、を含む、前記方法。

40

【請求項58】

前記対照が、卵巣癌を有する患者集団の中で、中央値レベルのPOSTN発現である、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

前記対照が、FIGOステージIまたはFIGOステージII卵巣癌を有する患者集団の中で、中央値レベルのPOSTN発現である、請求項57に記載の方法。

【請求項60】

50

前記患者が進行期の卵巣癌を有することが決定される場合、前記患者に療法を行うステップをさらに含む、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 6 1】

進行期の卵巣癌が、FIGO 卵巣癌ステージ III または IV である、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記試料が、腫瘍組織試料、血液試料、または血清試料である、請求項 5 7 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

配列表

本出願は、ASCII 形式で電子的に提出された配列表を含み、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる。2015年12月22日に作成された上記 ASCII コピーは、50474__092WO3__Sequence__Listing__12__22__15__ST25 という名称であり、4552 バイトのサイズである。

【0002】

本発明は化学療法耐性癌の患者を識別する方法に関する。

【背景技術】

【0003】

20

卵巣上皮癌 (EOC) は婦人科腫瘍による死亡の主原因であり、EOC の治療は、重要な臨床的課題を示し続けている。EOC の現在の標準的な治療法は、積極的な外科的細胞切除を行い、次にアジュバント白金及びタキサン系化学療法である。当該治療の奏効率は高いものの、20~30% の症例は耐性があり、一次治療の最中または完了から6カ月以内に進行する。耐性癌の患者はそのため、当該治療から少ししか利益を得られず、未だ対処されていない重要な臨床の必要性を示す。化学療法の応答を予測するために、EOC 及び一般的な癌において、原発性化学療法耐性を克服するための新規の治療戦略を作り出すために、化学療法耐性の分子特性をより理解する必要がある。

【0004】

宿主の間質微小環境の活性化は、主に「反応性間質」と呼ばれ、多くの種類の癌において、癌の進行の重要な要素として、関係がある。癌における間質の活性化は、活性化した間質細胞が、細胞外基質 (ECM) 成分、成長因子、及びマトリックス再構築酵素の産生を増加させ、癌細胞の生存、増殖及び浸潤を促進する腫瘍微小環境を作るため、正常細胞の創傷治癒のプロセスに似ている。特に、腫瘍微小環境は、EOC の病態形成に重要な役割を担っていることが徐々に認識されている。しかしながら、反応性間質の重要な調節因子ならびに反応性間質が、EOC において、腫瘍の進行、治療応答及び臨床転帰に影響する特定の機序がよくわかっていない。

30

【0005】

したがって、患者が化学療法に基づく治療に応答するかどうかを決定する方法が必要であり、一般的な癌の治療の代わりとなる治療戦略を作り出すことも必要である。

40

【発明の概要】

【0006】

1つの態様では、本発明は、化学療法耐性である癌患者を識別する方法を取り上げ、当該方法は、a) 患者から得た試料において、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定すること、b) 1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルと比較すること、及びc) 患者の癌が化学療法耐性であるかどうかを決定することであって、患者の試料の1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルを超えて発現することは、例えば、化学療法耐性 (例えば白金系化学療法) 癌において1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の

50

発現レベルの上方制御を検出する場合に、患者が化学療法耐性である癌を有していることを示す、決定することを含む。発現のレベルの減少（例えば中央値レベル以下のレベル）を検出することは、また、化学療法耐性（例えば白金系化学療法）癌において1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルの下方制御を検出する場合に、患者が化学療法耐性である癌を有していることを示す。

【0007】

1つの実施形態では、患者の癌が、癌種における（例えば、化学療法（例えば、白金系化学療法）耐性癌において1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が上方制御される場合に）1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子発現の75パーセントイル超であるレベルで1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を発現すると決定されているとき、当該患者が、化学療法耐性である癌を有する。上記の態様のある特定の他の実施形態では、化学療法耐性である癌は白金耐性である癌である。

10

【0008】

ある特定の実施形態では、当該方法は、患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、VEGFアンタゴニストの投与から利益を得る受けうる患者を識別するステップをさらに含む。ある特定の他の実施形態では、当該方法は、患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、当該患者に治療有効量のVEGFアンタゴニストを投与するステップをさらに含む。好ましい実施形態では、VEGFアンタゴニストは、抗VEGF抗体である。好ましくは、抗VEGF抗体は、ペバシズマブである。

【0009】

他の実施形態では、当該方法は、患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、間質標的療法の実施から利益を受けうる患者を識別するステップをさらに含む。さらに他の実施形態では、当該方法は、患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、当該患者に治療有効量の間質標的薬を投与するステップをさらに含む。

20

【0010】

別の実施形態では、当該方法は、患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、免疫療法から利益を受けうる患者を識別するステップをさらに含む。別の実施形態では、当該方法は、患者が、化学療法耐性である癌を有していると決定されるとき、当該患者に治療有効量の免疫調節薬を投与するステップをさらに含む。好ましい実施形態では、前記免疫調節薬として、TDO2、CD36、GZMK、CD247、CD1C、CSF1、IDO1、IL7R、またはCCR7アンタゴニストが挙げられる。

30

【0011】

第2の態様では、本発明は、化学療法感受性である癌を有する患者を識別する方法を取り上げ、当該方法は、a)患者から得た試料において、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定すること、b)1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルと比較すること、c)患者の癌が化学療法に感受性であるかどうかを決定することであって、患者の試料の1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベル未満で発現することは、（例えば、化学療法（例えば白金系化学療法）耐性癌において上方制御される1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の場合に）、患者が化学療法感受性である癌を有していることを示す、決定することを含む。

40

【0012】

ある特定の実施形態では、患者の癌が、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子発現の25パーセントイル未満のレベルで1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を発現すると決定されているとき、当該患者が、化学療法感受性である癌を有している。他の実施形態では、患者が化学療法感受性である癌を有していると決定される場合、当該患者に化学療法レジメンの1つまたは複数の、治療有効量の化学療法薬を投与するステップを含む。

【0013】

50

上記の態様及び実施形態のある特定の実施形態では、試料は、腫瘍組織の試料である。特定の実施形態では、当該方法は、投与前の診断を提供するために、化学療法薬を投与前に行われる。ある特定の実施形態では、患者は化学療法を受けたことがない、または現在受けている。

【0014】

第3の態様では、本発明は、VEGFアンタゴニストまたは免疫調節薬の投与から利益を受けうる、癌を患っている患者を識別する方法を取り上げ、当該方法は、a)患者から得た試料において、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定することであって、患者の試料の1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子が、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルを超えて発現することは、(化学療法(例えば白金系化学療法)耐性癌において上方制御される1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の場合に)患者がVEGFアンタゴニストまたは免疫調節薬の投与から利益を受けうることを示す、決定すること、任意に、b)治療有効量のVEGFアンタゴニストまたは免疫調節薬を患者に投与することを含む。

【0015】

特定の実施形態では、上記の方法は、化学療法レジメンの1つまたは複数の化学療法薬を投与するステップをさらに含む。いくつかの実施形態では、化学療法薬(複数可)は、HER抗体、腫瘍関連抗原に対する抗体、抗ホルモン化合物、心保護薬、サイトカイン、EGFR標的薬、抗血管新生薬、チロシンキナーゼ阻害薬、COX阻害薬、非ステロイド系抗炎症薬、ファルネシル基転移酵素阻害薬、癌胎児蛋白CA 125と結合する抗体、Her2ワクチン、HER標的薬、rafまたはras阻害薬、リポソームドキソルビシン、トポテカン、タキサン、二重チロシンキナーゼ阻害薬、TLK286、EMD-7200、悪心を治療する医薬品、皮疹を予防または治療する医薬品または標準的にきび治療、下痢を治療または予防する医薬品、体温降下薬、及び造血因子から成る群から選択される。他の実施形態では、1つまたは複数の化学療法薬(複数可)は、ゲムシタピン、カルボプラチン、オキサリプラチン、イリノテカン、フルオロピリミジン(例えば5-FU)、パクリタキセル(例えばnab-パクリタキセル)、ドセタキセル、トポテカン、カペシタピン、レコボリン(lecovorin)、テモゾロミド、インターフェロン-アルファ、またはリポソームドキソルビシン(例えばペグ化リポソームドキソルビシン)である。

【0016】

1つの好ましい実施形態では、化学療法レジメンは、カルボプラチン及びパクリタキセル;カルボプラチン及びゲムシタピン;またはパクリタキセル、トポテカン、またはペグ化リポソームドキソルビシンの投与を含む。第2の好ましい実施形態では、化学療法レジメンは、カペシタピン及びパクリタキセル;またはカペシタピン及びドセタキセルの投与を含む。第3の好ましい実施形態では、化学療法レジメンは、テモゾロミドの投与及び任意に化学療法を含む。第4の好ましい実施形態では、化学療法レジメンは、フルオロピリミジン、イリノテカン、シスプラチン、フルオロピリミジン及びオキサリプラチン;フルオロピリミジン及びイリノテカン;フルオロピリミジン、レコボリン(lecovorin)、及びオキサリプラチン;またはイリノテカン(irinotecan)、フルオロピリミジン及びロイコボリンの投与を含む。第5の好ましい実施形態では、化学療法レジメンは、パクリタキセル及びトポテカン;またはパクリタキセル及びシスプラチンの投与を含む。第6の好ましい実施形態では、化学療法レジメンは、インターフェロン-アルファ2aの投与を含む。

【0017】

いくつかの実施形態では、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子は、POSTN、LOX、TIMP3、FAP、BGN、FGF1、FN1、ANGPTL2、ACTA2、MMP11、RBP4、CD36、PLVAP、PECAM1、GZMK、CD247、ABCC9、PCOLCE、CD1C、MS4A1、CD44、PMEPA1、IL7R、FBLN1、TWIST1、ID1、RAC2、GFRA1、CCR7、MAN1A

10

20

30

40

50

1、EVI2A、PTPRC、CD45RA、FCRL5、NNMT、CD27、SLA、TDO2、NUAK1、及びCOL4A1から成る群から選択される。好ましい実施形態では、間質シグネチャー遺伝子はPOSTNである。他の好ましい実施形態では、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子は、POSTN及びFAP；POSTN及びTIMP3；POSTN及びLOX；POSTN、FAP、及びTIMP3；POSTN、FAP、及びLOX；POSTN、TIMP3、及びLOX；またはPOSTN、FAP、TIMP3、及びLOXである。

【0018】

第4の態様では、本発明は、癌患者を治療する方法を取り上げ、当該方法は、患者に治療有効量の間質標的薬を投与することを含み、当該患者の癌は、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子発現の中央値を超えるレベルで1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子を発現することが決定されている。

10

【0019】

上記方法の好ましい実施形態では、間質標的薬は、抗ペリオスチン(POSTN)抗体である。上記方法のある特定の実施形態では、癌は原発性、進行性、難治性、または再発性である。その他の実施形態では、癌は、卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、及び外陰癌から成る群から選択される婦人科癌である。好ましい実施形態では、婦人科癌は、卵巣癌である。上記方法のさらに他の実施形態では、癌は、結腸直腸癌、乳癌、非小細胞肺癌(NSCLC)、腎癌(腎細胞癌)、または脳癌(神経膠芽腫)から成る群から選択される。

20

【0020】

第5の態様では、本発明は、患者の卵巣癌のステージを決定する方法を提供する。当該方法は、患者から得た試料(例えば、腫瘍組織試料、血液試料、または血清試料)中のPOSTNの発現レベルを決定することを含む。患者の試料中POSTNの発現レベルが、対照に対して、高いレベルで検出されることは、進行期(例えばFIGO卵巣癌ステージIIIまたはIV)の卵巣癌であることを示す。ある特定の実施形態では、対照は、卵巣癌患者の集団において、POSTN発現の中央値レベルであり、他の実施形態では、対照は、FIGOステージI及び/またはFIGOステージII卵巣癌の患者集団において、POSTN発現の中央値レベルである。任意に、当該方法は、患者が進行期の卵巣癌を有していると決定される場合、当該患者に療法を行うステップも含む。

30

【0021】

本発明の他の特徴及び利点は、詳細な説明、図面及び請求項から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】図1A~1Dは、原発性化学療法耐性卵巣癌において上方制御される「反応性間質」遺伝子シグネチャーの識別を示す。(A)32個のPlat-R原発性卵巣腫瘍と26個のPlat-S原発性卵巣腫瘍との最も差次的に発現される遺伝子(偽陽性率(FDR)10%、倍数変化1.5)の上位14の階層的クラスタリング。一次化学療法に対する臨床的に規定された応答、TP53変異状態、及び7個の再発性増幅遺伝子(4個のコピー)は下部に注釈を付ける。(B)27個の患者適合型Plat-R原発性卵巣腫瘍と、Plat-R再発性卵巣腫瘍との最も差次的に発現される遺伝子(FDR10%、倍数変化1.5)の上位65の階層的クラスタリング。(C)Plat-R原発性及び再発性腫瘍に有意に差次的に発現される一般的なシグネチャー遺伝子のベン図。(D)26個のPlat-S原発性、32個のPlat-R原発性、及び27個のPlat-R再発性腫瘍における4つの反応性間質シグネチャー遺伝子の遺伝子発現。

40

【図2】互いに高度に相関する4つの反応性間質シグネチャー遺伝子のmRNA発現レベルを示す一連のプロットである。

【図3】図3A~3Bは、RNAISH及びIHCによる反応性間質シグネチャー遺伝子POSTN、LOX、及びFAPのin situ分析を示す。(A)Plat-S

50

原発性腫瘍、化学療法前の患者適合型 P l a t - R 原発性腫瘍、及び疾患の進行時の化学療法後の再発性腫瘍の代表的な I S H 及び I H C 画像。左縦 2 列の画像：P O S T N、L O X の検出についての 2 - プレックス発色性 R N A I S H、及び F A P m R N A 局所化の検出についてのシングルプレックス R N A I S H。右縦 3 列の画像：P O S T N、F A P、及び a S M A タンパク質局所化についての I H C 染色。バー = 1 0 0 μ m。(B) 各反応群：P l a t - S 原発性、患者適合型 P l a t - R 原発性、及び再発性腫瘍からの、全 8 5 個の試料 (P O S T N 及び F A P I S H) または 5 つの代表的な腫瘍試料 (L O X I S H、P O S T N 及び F A P I H C) における I S H スコア及び I H C スコアのまとめ。I S H スコア (平均値及び標準偏差値でプロットされた材料及び方法) と I H C 全体スコアの両方は、腫瘍細胞及び間質細胞でそれぞれ決定された。* $p < 0 . 0 5$ 、** $p < 0 . 0 1$ 。

【図 4】図 4 A ~ 4 C は、P O S T N 発現レベルが *in vivo* の線維増生表現型と相関し、P O S T N が *in vitro* の E O C 細胞で、化学療法耐性を促進することを示す。(A) 線維形成の増加が、P O S T N 発現及び原発性化学療法耐性と相関する。腫瘍試料のヘマトキシリン及びエオシン (H & E) 染色の代表的な高拡大率の画像 (上部パネル) ならびに P O S T N I S H 画像 (下部パネル) を示す。線維形成のスコアを以下のように示す。0 = 線維形成なし、1 = 癌細胞に隣接している 2、3 の散在した線維形成性病巣、2 = 癌細胞に隣接しているいくつかの線維形成性病巣または中度にコンフルエントな (より広い) 線維形成、しかし、切片全体には存在していない、3 = 大部分の癌細胞に伴う、切片全体の線維形成反応。表示：D S = 線維形成性間質、N S = 正常な間質、T C = 腫瘍細胞。矢印は腫瘍細胞の例を指している。点線は、腫瘍細胞を含む領域を囲んでいる。バーのサイズ、1 0 0 μ m。(B) 2 1 個の P l a t - S 原発性、1 8 個の P l a t - R 原発性、及び 2 1 個の P l a t - R 再発性腫瘍試料における線維形成スコアのまとめ。(C) P O S T N は *in vitro* の化学療法感受性の E S 2 卵巣細胞の化学療法耐性を促進する。細胞を各ウェルに蒔く前に、9 6 ウェルプレートを、組換えタンパク質 F N 1 または P O S T N でコーティングした、またはコーティングしないままにした。翌日、1 0 μ M のカルボプラチンまたは 1 0 n M のタキソールを各ウェルに添加した。細胞の生存率を測定するために化合物処理の 7 2 時間後に、C e l l - T i t r e G l o (登録商標) 試薬を添加した。コーティングされたウェルの生存率をコーティングされていないウェルの生存率と比較し、増殖利益 % を計算した。

【図 5】図 5 A ~ 5 B は、反応性間質遺伝子の発現が、I C O N 7 試験化学療法治療群において、第一線化学療法の臨床転帰を予測することを示す。(A) 探索データセット (x 軸) と独立した検証データセット (I C O N 7 対照群) 間の倍数変化 (P l a t - R 対 P l a t - S) の相関。プロット上の 5 つの遺伝子が、両方のデータセットで有意に差示的に発現する ($p < 0 . 0 1$ 及び倍数変化 1 . 5)。(B) 反応性間質シグネチャー遺伝子 (中央値カットオフ) の発現と、独立したデータセット (I C O N 7 化学療法治療群) の一次化学療法からの患者の転帰 (P F S) との関連性。

【図 6】卵巣癌における P O S T N と既知の予後因子との相関を示す一連のプロットである。

【図 7】4 つの間質シグネチャー遺伝子の多変量解析を示す。中央値カットオフを使用して二分される 5 つの遺伝子 (P O S T N、P G R、F A P、L O X 及び T I M P 3) の発現を、多変量コックス回帰モデルを使用して分析し、各遺伝子について関連の強固性を評価した。P O S T N の発現のみが多変量解析で有意であった。さらに、4 つの遺伝子の発現を、各患者について平均化したとき、得られた全体の間質のスコアは、P F S (H R = 2 . 0、9 5 % C I : 1 . 3 - 3 . 1、 $p = 0 . 0 0 1 3$) と関連して、改善しなかった。

【図 8】原発性化学療法耐性と関連される遺伝子シグネチャーを使用するパスウェイ解析 (I n g e n u i t y) によって識別される上位の活性化ネットワーク及び上流調節因子の模式図を提供する。化学療法耐性腫瘍において下方制御される遺伝子は、F G F R 4、C X C L 1 0、I D O 1、M M P 1 0 及び M M P 7 である。残りの遺伝子は、化学療法耐

10

20

30

40

50

性腫瘍の上方制御の程度が変化する。

【図9】POSTN発現が血管新生促進マーカー（PLVAP、PECAM1、及びANGPTL2）及びM2様マクロファージマーカー（CD68、CD163及びCD36）と高度に相関することを示すプロットである。

【図10】102名の年齢適合型健常対象（NHS）、化学療法感受性（卵巣癌）が知られていない100名の卵巣上皮癌（EOC）患者、白金耐性であることが知られている43名のEOC患者（Plat-R卵巣癌）、96名の肺癌（NSCLC）患者、及び29名の膀胱癌患者からの血清試料のベンダーが獲得したパネルにおける、POSTN発現の範囲を示す、グループ化されたドットプロットである。

【図11】ステージI（25名）及びII（6名）の患者（合わせて31名）及び69名のステージIII患者からのベンダーが獲得した血清サンプルにおける、循環POSTNと疾患のステージの相関を示す相関を示す、グループ化されたドットプロットである。

【発明を実施するための形態】

【0023】

I. はじめに

本発明は、卵巣癌の原発性化学療法耐性に特に関連し、再発性腫瘍においてさらに上方制御される反応性間質遺伝子シグネチャーを提供する。ペリオスチン（POSTN）、線維芽細胞活性化タンパク質（FAP）、及びリジル酸化酵素（LOX）を含む当該シグネチャーのいくつかの重要な要素の*in situ*の分析によって、これらの遺伝子が化学療法耐性腫瘍の腫瘍関連線維芽細胞において特に上方制御されることが明らかになった。反応性間質遺伝子シグネチャーを、第III相試験の化学療法治療群からの独立したデータセットで検証し、この検証分析において、高いPOSTN発現が、第一線化学療法（カルボプラチン及びパクリタキセル）を受けている患者の悪い転帰（すなわち無増悪生存期間（PFS））に関連することを示した。

【0024】

したがって、本発明は、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定し、当該発現レベルを、癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子発現の中央値レベルと比較することによって、化学療法耐性である癌（例えば婦人科癌（例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、または外陰癌））患者を識別する方法を提供する。癌種における1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子発現の中央値レベルを超えるレベルで1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現を検出することは、患者が、化学療法耐性癌を有していることを示す。本発明は、また、間質標的薬またはその他の薬剤を患者に投与することによって、癌（例えば化学療法耐性癌）患者を治療する方法を提供する。本発明は、抗血管新生薬（例えば、抗VEGF抗体、例えばベバシズマブ等のVEGFアンタゴニスト）または化学療法レジメン及び/または間質標的薬と併用する免疫調節薬の投与から利益を受けうる癌（例えば化学療法耐性癌）患者を識別する方法をさらに提供する。

【0025】

II. 定義

別途定義されない限り、本明細書で使用される専門用語及び科学用語は、本発明が属する当業者が一般に理解する意味と同じ意味を有するものとする。Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), and March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)は、当業者に本出願で使用される多くの用語の一般的な指針を提供する。

【0026】

当該明細書を理解するために、以下の定義を適用し、適切であれば、単数で使用される

用語は複数も含み、逆も真である。以下に記載する定義が参照により本明細書に組み込まれるいずれかの文書と矛盾する場合、以下に記載する定義が優先する。

【0027】

本明細書で使用するとき「投与」または「投与すること」という用語は、化学療法薬（例えば本明細書に記載の任意の化学療法薬、以下参照）、間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体）、及び/または化学療法薬（例えば本明細書に記載の任意の化学療法薬、以下参照）、間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、または抗血管新生薬（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体）を含む医薬組成物/治療レジメンを、治療用抗体を投与するための当該技術分野で知られている適切な方法によって、当該治療または医療介入を必要とする患者に投与することを意味する。投与の非限定な経路として、経口、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、局所的、皮内、鼻腔内または気管支内の投与（例えば吸入によって影響を受けるように）が挙げられる。本発明に関連して特に、非経口投与、例えば静脈内投与が好ましい。結腸直腸癌の治療のためのベバシズマブに関して、EMEAに記載の好ましい用量は、体重の5 mg/kgまたは10 mg/kgを2週に1回、または体重の7.5 mg/kgもしくは15 mg/kgを3週に1回である。NSCLCの治療について、好ましい用量は、カルボプラチン及びパクリタキセルと併用して、15 mg/kgを3週に1回注入することである。腎細胞癌の治療について、好ましい用量は、インターフェロン - 2a、または単一治療として、10 mg/kgを2週に1回注入することである。子宮頸癌の治療について、好ましい用量は、以下、パクリタキセル、及びシスプラチンまたはパクリタキセル及びトポテカンの化学療法レジメンの1つと併用して、15 mg/kgを3週に1回、注入または投与することである。神経膠芽腫の治療について、好ましい用量は、10 mg/kgを2週に1回注入することである。

10

20

【0028】

ポリペプチドの作動薬または拮抗薬の特定方法は、ポリペプチドを候補作動薬または拮抗薬分子と接触させること、該ポリペプチドと通常関連付けられる1つまたは複数の生物活性における検出可能な変化を測定すること、を含み得る。

【0029】

「抗体」という用語は、本明細書で最も広義に使用され、所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含むが、これらに限定されない、種々の抗体構造を包含する。標的に結合する抗体は、抗体が診断剤及び/または治療剤として標的を標的とすることに有用となるような十分な親和性で標的と結合することができる抗体を指す。1つの実施形態では、無関係の非標的タンパク質への抗標的抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（RIA）またはピアコアアッセイによって測定した場合に、この抗体の標的への結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、標的に結合する抗体は、 $< 1 \mu$ 、 $< 100 \text{ nM}$ 、 $< 10 \text{ nM}$ 、 $< 1 \text{ nM}$ 、 $< 0.1 \text{ nM}$ 、 $< 0.01 \text{ nM}$ 、または $< 0.001 \text{ nM}$ （例えば、 $10 \sim 8 \text{ M}$ 以下、例えば、 $10 \sim 8 \text{ M}$ から $10 \sim 13 \text{ M}$ 、例えば、 $10 \sim 9 \text{ M}$ から $10 \sim 13 \text{ M}$ ）の解離定数（ K_d ）を有する。ある特定の実施形態では、抗標的抗体は、異なる種間で保存されている標的のエピトープに結合する。

30

40

【0030】

「抗体断片」は、無傷抗体が結合する抗原と結合する、無傷抗体の一部を含む無傷抗体以外の分子を指す。抗体断片の例として、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；二重特異性抗体；線状抗体（linear antibodies）；単鎖抗体分子（例えば、scFv）；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0031】

参照抗体として「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、参照抗体のその抗原への結合を50%以上遮断する抗体、及び逆に、競合アッセイにおいて、抗体のその抗原への結合を50%以上遮断する参照抗体を指す。

50

【0032】

「利益」という用語は広義の意味で使用し、任意の望ましい効果を指し、特に本明細書に記載の臨床的有用性を含む。臨床的有用性は、様々なエンドポイントを評価することによって測定することができ、例えば、進行の緩徐化または完全停止を含む疾患の進行のある程度の阻害、疾患のエピソード及び/または症状の数の減少、病変サイズの減少、隣接する周囲の臓器及び/または組織への疾患の細胞の浸潤の阻害（すなわち、減少、緩徐化または完全停止）、疾患の拡散の阻害（すなわち、減少、緩徐化または完全停止）、自己免疫応答の低下（必ずしもその必要はないが、結果として病変の後退または切除になりうる）、障害に関連する1つまたは複数の症状のある程度の緩和、治療後の無憎悪の期間、例えば無増悪生存の増加、全生存期間の増加、高い応答率、及び/または治療後の任意の時点での死亡率の減少がある。

10

【0033】

「生物試料」または「試料」は本明細書で使用するとき、限定されないが、血液、血清、血漿、痰、組織生検、腫瘍組織、鼻腔用綿棒または鼻茸を含む鼻腔試料を含む。

【0034】

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には制御されない細胞成長を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指すか、または説明する。前記定義には、良性及び悪性腫瘍が含まれる。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽腫、肉腫、及び白血病が挙げられるが、それらに限定されない。そのような癌のより具体的な例としては、扁平上皮細胞癌、肺癌（小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌、及び肺の扁平上皮癌を含む）、腹膜の癌、肝細胞癌、胃癌（*g a s t r i c*または*s t o m a c h*）（胃腸癌を含む）、膵癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜または子宮癌、唾液腺癌、腎臓（*k i d n e y*または*r e n a l*）癌、肝癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝癌、及び様々な型の頭頸部癌、ならびにB細胞リンパ腫（低度/濾胞性非ホジキンリンパ腫（*N H L*）を含む）；小リンパ球（*S L*）*N H L*；中度/濾胞性*N H L*；中度びまん性*N H L*；高度免疫芽細胞性*N H L*；高度リンパ芽球性*N H L*；高度小非切れ込み型細胞*N H L*；巨大腫瘍病変*N H L*；マンテル細胞リンパ腫；*A I D S*関連リンパ腫；及びワルデンスト্রেームマクログロブリン血症）；慢性リンパ球性白血病（*C L L*）、急性リンパ芽球性白血病（*A L L*）；毛様細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；及び移植後リンパ増殖性障害（*P T L D*）、ならびに母斑症、浮腫（脳腫瘍と関連付けられるものなど）、及びメーグス症候群と関連付けられる異常血管増殖が挙げられる。

20

30

【0035】

「進行」癌は、局所浸潤または転移のいずれかによって元の部位または臓器の外側に拡散する癌である。

【0036】

「難治性」癌は、化学療法薬等の抗腫瘍薬を癌患者に投与しても、進行する癌である。難治性癌の例は、白金難治性の癌である。

【0037】

「再発」癌は、初期療法への応答後に、初期部位または遠位部位のいずれかにおいて再成長した癌である。

40

【0038】

「白金耐性」癌は、白金系化学療法を受けていながらも進行している患者の癌、または白金系化学療法が完了してから例えば12カ月以内（例えば6カ月以内）に進行している患者の癌を意味する。当該癌は、「白金耐性」を有するまたは示すということができる。

【0039】

「化学療法耐性」癌は、化学療法レジメンを受けていながらも進行している患者の癌、または化学療法レジメンが完了してから例えば12カ月以内（例えば6カ月以内）に進行している患者の癌を意味する。当該癌は、「化学療法耐性」を有するまたは示すということができる。

50

【 0 0 4 0 】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／または軽鎖の一部が特定の源または種に由来する一方で、重鎖及び／または軽鎖の残りの部分が異なる源または種に由来する、抗体を指す。

【 0 0 4 1 】

抗体の「クラス」は、その重鎖によって保有される定常ドメインまたは定常領域の型を指す。5つの主要な抗体クラスI g A、I g D、I g E、I g G、及びI g Mが存在し、これらのうちの数個は、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、及びI g A 2にさらに分けることができる。免役グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、
、
、
及びμと呼ばれる。

10

【 0 0 4 2 】

「化学療法薬」は、癌の治療に有用な化学化合物を含む。化学療法薬の例として、エルロチニブ(TARCEVA(登録商標)、Genentech/OSI Pharm.)、ボルテゾミブ(VELCADE(登録商標)、Millennium Pharm.)、ジスルフィラム、没食子酸エピガロカテキン、サリノスポラミドA、カーフィルゾミブ、17-AAG(ゲルダナマイシン)、ラディシコール、乳酸デヒドロゲナーゼA(LDH-A)、フルベストラント(FASLODEX(登録商標)、AstraZeneca)、スニチブ(SUTENT(登録商標)、Pfizer/Sugen)、レトロゾール(FEMARA(登録商標)、Novartis)、イマチニブメシル酸塩(GLEEVEC(登録商標)、Novartis)、フィナスナート(VATALANIB(登録商標)、Novartis)、オキサリプラチン(ELOXATIN(登録商標)、Sanofi)、5-FU(5-フルオロウラシル)、ロイコボリン、ラパマイシン(Sirinlimus、RAPAMUNE(登録商標)、Wyeth)、ラパチニブ(TYKERB(登録商標)、GSK572016、Glaxo Smith Kline)、ロナファーマニブ(SCH 66336)、ソラフェニブ(NEXAVAR(登録商標)、Bayer Labs)、ゲフィチニブ(IRESSA(登録商標)、AstraZeneca)、AG1478、チオテパ及びCYTOXAN(登録商標)シクロホスファミド等のアルキル化薬；ブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファン等のスルホン酸アルキル；ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ及びウレドパ等のアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホルアミド及びトリメチロメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン；アセトゲニン(特にプラタシン及びプラタシノン)、カンプトテシン(トポテカン及びイリノテカンを含む)；プリオスタチン；カリスタチン；CC-1065(そのアドゼレシン、カルゼルシン及びピセレシン合成類似体を含む)；クリプトフィシン(特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8)；副腎皮質ステロイド(プレドニゾン及びプレドニゾロン)；シプロテロン酢酸エステル；5-レダクターゼ(フィナスチリド及びデュタステリドを含む)；ポリノスタット、ロミデプシン、パノピノスタット、バルプロ酸、モセチノスタットドラスタチン；アルデスロイキン、タルクデュオカルマイシン(合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む)；エリユテロピン；パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン；クロラムブシル、クロマファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムヌスチン等のニトロソウレア；エンジン抗生物質等の抗生物質(例えば、カリチアマイシン、特にカリチアマイシン 1I及びカリチアマイシン 1I(Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 1994 33: 183-186)；ジネミシンAを含むジネミシン；クロドロン酸等のビスホスホネート；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチンクロモフォア及び関連の色素タンパク質エンジン抗生物質クロモフォア)、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オーストラ

20

30

40

50

マイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カミノマイシン、カルジノフィリン、クロモシニス、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ADRIAMYCIN (登録商標) (ドキシソルビシン)、モルホリノ - ドキシソルビシン、シアノモルホリノ - ドキシソルビシン、2 - ピロリノ - ドキシソルビシン及びデオキシドキシソルビシン)、エビルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC等のマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン、メトトレキサート及び5 - フルオロウラシル (5 - FU) 等の代謝拮抗薬；デノプテリン、メトトレキサート、10 プテロプテリン、トリメトレキサート等の葉酸類似体；フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン等のプリン類似体；アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン等のピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン等のアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン等の抗副腎薬 (anti - adrenal)；フォリン酸 (frolinic acid) 等の葉酸補液；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸、エニルウラシル；アムサクリン、ベストラプシル；ビスアントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルホミチン；エリプチニウム酢酸；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム 20 ；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；マイタンシン及びアンサマイトシン等のマイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モビダムノール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット、ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2 - エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK (登録商標) 多糖類複合体 (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.)；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン、2, 2', 2'' - トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン (特にT - 2トキシシン、ベラクリンA、ロリジンA及びアングイジン)；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド (「Ar a - C」)；シクロホスファミド；チオテパ、タキソイド、例えば、TAXOL (パクリ 30 タキセル；Bristol - Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.)、ABRAXANE (登録商標) (Cremophor非含有)、パクリタキセルのアルブミン操作したナノ粒子製剤 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.)、及びTAXOTERE (登録商標) (ドセタキセル、ドキシタキセル、Sanofi - Aventis)；クロラムブシル；GEMZAR (登録商標) (ゲムシタピン)；6 - チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチン等の白金類似体；ピンブラスチン；エトポシド (VP - 16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン、NAVELBINE (登録商標) (ビノレルピン)；ノバントロン；テニ 40 ポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタピン (XELODA (登録商標))；イバンドロン酸；CPT - 11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオルニチン (DMFO)；レチノイン酸等のレチノイド；ならびに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸及び誘導体が挙げられる。

【0043】

化学療法薬としてまた、(i) 抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体調節因子 (SERM) 等の腫瘍でのホルモン活動を調節するまたは阻害するように作用する抗ホルモン薬が挙げられ、例えばタモキシフェン (NOLVADEX (登録商標)、タモキシフェンクエン酸塩)、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、イドキシフェン、4 - ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン及びFARESTON (登録商標) (トレミフェンクエン酸塩) が挙げられ、(ii 50

副腎でのエストロゲンの産生を調節する酵素アロマトラーゼを阻害するアロマトラーゼ阻害薬が挙げられ、例えば、4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE(登録商標)(メゲストロール酢酸エステル)、AROMASIN(登録商標)(エキセメスタン、Pfizer)、ホルメスタニー、ファドロゾール、RIVISOR(登録商標)(ボロゾール)、FEMARA(登録商標)(レトロゾール、Novartis)、及びARIMIDEX(登録商標)(アナストロゾール、AstraZeneca)が挙げられ、(iii)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、リユープロリド及びゴセレリン等の抗アンドロゲン薬；プセレリン、トリプテレリン、メドロキシプロゲステロン酢酸、ジエチルスチルベストロール、プレマリン、フルオキシメステロン、全てのトランス型レチノイン酸、フェンレチニド、ならびにトロキサシタピン(1,3-ジオキサランヌクレオシドシトシン類似体)、(iv)タンパク質キナーゼ阻害薬、(v)脂質キナーゼ阻害薬、(vi)アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えば、PKC-アルファ、Ralf及びH-Ras等の異常な細胞増殖に関係があるとされるシグナル伝達経路での遺伝子発現を阻害するもの、(vii)VEGF発現阻害薬(例えば、ANGIOZYME(登録商標)及びHER2発現阻害薬等のリボザイム、(viii)遺伝子療法ワクチン等のワクチン、例えばALLOVECTIN(登録商標)、LEUVECTIN(登録商標)、及びVAXID(登録商標)；PROLEUKIN(登録商標)、rIL-2、LURTOTECAN(登録商標)等のトポイソメラーゼ1阻害薬；ABARELIX(登録商標)rmRHならびに(ix)上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸及び誘導体が挙げられる。

10

20

【0044】

化学療法薬として、また、アレムツズマブ(Campath)、ベバシズマブ(AVASITIN(登録商標)、Genentech)等の抗生物質；セツキシマブ(ERBITUX(登録商標)、Imclone)；パニツムマブ(VECTIBIX(登録商標)、Amgen)、リツキシマブ(RITUXAN(登録商標)、Genentech/Biogen Idec)、ベルツズマブ(OMNITARG(登録商標)、2C4、Genentech)、トラスツズマブ(HERCEPTIN(登録商標)、Genentech)、トシツモマブ(Bexxar、Corixa)、及び抗体薬複合体、ゲムツズマブオゾガマイシン(MYLOTARG(登録商標)、Wyeth)が挙げられる。本発明の化合物と併用する薬剤として治療能を有する追加のヒト化モノクローナル抗体として、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ピバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴル、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エブラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、パキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビスマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルブリズマブ、シブロッツズマブ、シブリズマブ、ソソツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビジリズマブ、及び排他的組換えヒト配列である抗インターロイキン-12(ABT-874/J695、Wyeth Research and Abbott Laboratories)、インターロイキン-12p40タンパク質を認識するために遺伝子修飾された全長のIgG1抗体が挙げられる。

30

40

【0045】

化学療法薬はまた、「EGFR阻害薬」も含み、EGFRに結合する、またはそれ以外の方法で直接的にそれと相互作用する化合物を指しており、そのシグナル伝達活性を防ぐまたは低下させ、あるいは「EGFRアンタゴニスト」として呼ばれる。当該薬剤の例と

50

して、EGFRに結合する抗体及び小分子が挙げられる。EGFRに結合する抗体の例として、MAb 579 (ATCC CRL HB 8506)、MAb 455 (ATCC CRL HB8507)、MAb 225 (ATCC CRL 8508)、MAb 528 (ATCC CRL 8509) (米国特許第4,943,533号、Mendelsohn et al. を参照) 及びその変異体、例えば、キメラ化225 (C225またはセツキシマブ、ERBUTIX (登録商標)) 及び再形状化されたヒト225 (H225) (WO96/40210、Imclone Systems Inc を参照) ; IMC-11F8、完全ヒト、EGFR標的抗体 (Imclone) ; タイプII変異体EGFRと結合する抗体 (米国特許第5,212,290号) ; 米国特許第5,891,996号に記載のEGFRと結合するヒト化及びキメラ抗体 ; ならびにABX-EGF またはパニツムマブ等のEGFRと結合するヒト抗体 (WO98/50433、Abgenix / Amgen) ; EMD 55900 (Stragliotto et al. Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)) ; EGFR結合についてEGFとTGF-アルファの両方と競合するEGFRに対するEMD7200 (マツズマブ) ヒト化EGFR抗体 (EMD / Merck) ; ヒトEGFR抗体、HuMax-EGFR (GenMab) ; E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3、及びE7.6.3として知られ、米国特許第6,235,883号に記載される完全ヒト抗体 ; MDX-447 (Medarex Inc) ; ならびにmAb 806またはヒト化mAb 806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279 (29) : 30375-30384 (2004)) が挙げられる。抗EGFR抗体は、細胞傷害性薬と結合することができ、したがって免疫複合体を生成する (例えば、欧州特許第659,439 A2号、Merck Patent GmbHを参照のこと)。EGFR拮抗薬は、米国特許第5,616,582号、同第5,457,105号、同第5,475,001号、同第5,654,307号、同第5,679,683号、同第6,084,095号、同第6,265,410号、同第6,455,534号、同第6,521,620号、同第6,596,726号、同第6,713,484号、同第5,770,599号、同第6,140,332号、同第5,866,572号、同第6,399,602号、同第6,344,459号、同第6,602,863号、同第6,391,874号、同第6,344,455号、同第5,760,041号、同第6,002,008号、及び同第5,747,498号、ならびに以下のPCT公開公報 : WO98/14451、WO98/50038、WO99/09016、及びWO99/24037に記載される化合物等の小分子を含む。特定の小分子EGFRアンタゴニストとして、OSI-774 (CP-358774、エルロチニブ、TARCEVA (登録商標) Genentech / OSI Pharmaceuticals) ; PD 183805 (CI 1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル) アミノ] -7-[3-(4-モルホリニル) プロポキシ] -6-キナゾリニル] -、二塩酸塩、Pfizer Inc.) ; ZD1839、ゲフィチニブ (IRESSA (登録商標)) 4-(3'-クロロ-4'-フルオロアニリノ)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロポキシ) キナゾリン、AstraZeneca) ; ZM 105180 ((6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン、Zeneca) ; BIBX-1382 (N8-(3-クロロ-4-フルオロ-フェニル)-N2-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)-ピリミド[5,4-d]ピリミジン-2,8-ジアミン、Boehringer Ingelheim) ; PKI-166 ((R)-4-[4-(1-フェニルエチル) アミノ]-1H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェノール) ; (R)-6-(4-ヒドロキシフェニル)-4-[(1-フェニルエチル) アミノ]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン) ; CL-387785 (N-[4-[(3-プロモフェニル) アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチンアミド) ; EKB-569 (N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル) アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテンアミド) (Wyeth) ; AG1478 (Pfizer) ; AG1571 (SU 5271、P

f i z e r) ; 二重 E G F R / H E R 2 チロシンキナーゼ阻害剤、例えばラパチニブ (T Y K E R B (登録商標) 、 G S K 5 7 2 0 1 6 または N - [3 - クロロ - 4 - [(3 フルオロフェニル) メトキシ] フェニル] - 6 [5 [[[2 メチルスルホニル) エチル] アミノ] メチル] - 2 - フラニル] - 4 - キナゾリンアミン) が挙げられる。

【 0 0 4 6 】

化学療法薬として、「チロシンキナーゼ阻害剤」(前述のパラグラフに記載される E G F R 標的薬を含む) ; T a k e d a から入手可能な T A K 1 6 5 などの小分子 H E R 2 チロシンキナーゼ阻害剤 ; C P - 7 2 4 , 7 1 4 、 E r b B 2 受容体シロシンキナーゼの経口選択的阻害剤 (P f i z e r 及び O S I) ; 二重 H E R 阻害剤、例えば E G F R と選択的に結合するが、H E R 2 及び E G F R 両方の過剰発現細胞を阻害する E K B - 5 6 9 (W y e t h から入手可能) ; ラパチニブ (G S K 5 7 2 0 1 6 ; G l a x o - S m i t h K l i n e から入手可能) 、経口 H E R 2 及び E G F R チロシンキナーゼ阻害剤 ; P K I - 1 6 6 (N o v a r t i s から入手可能) ; カネルチニブなどの汎 H E R 阻害剤 (C I - 1 0 3 3 、 P h a r m a c i a) ; R a f - 1 阻害剤、例えば R a f - 1 シグナル伝達を阻害する I S I S P h a r m a c e u t i c a l s から入手可能なアンチセンス剤 I S I S - 5 1 3 2 ; 非 H E R 標的 T K 阻害剤、例えばイマチニブメシラート (G L E E V E C (登録商標) 、 G l a x o S m i t h K l i n e から入手可能) ; 多標的チロシンキナーゼ阻害剤、例えば、スニチニブ (S U T E N T (登録商標) 、 P f i z e r から入手可能) ; パタラニブなどの V E G F 受容体チロシンキナーゼ阻害剤 (P T K 7 8 7 / Z K 2 2 2 5 8 4 、 N o v a r t i s / S c h e r i n g A G から入手可能) ; M A P K 細胞外調節キナーゼ I 阻害剤 C I - 1 0 4 0 (P h a r m a c i a から入手可能) ; P D 1 5 3 0 3 5 , 4 - (3 - クロロアニリノ) キナゾリンなどのキナゾリン ; ピリドピリミジン ; ピリミドピリミジン ; C G P 5 9 3 2 6 、 C G P 6 0 2 6 1 、及び C G P 6 2 7 0 6 などのピロロピリミジン ; ピラゾロピリミジン、4 - (フェニルアミノ) - 7 H - ピロロ [2 , 3 - d] ピリミジン ; クルクミン (ジフェルロイルメタン、4 , 5 - ビス (4 - フルオロアニリノ) フタルイミド) ; ニトロチオフエン部分を含むチルホスチン ; P D - 0 1 8 3 8 0 5 (W a r n e r - L a m b e r) ; アンチセンス分子 (例えば、H E R をコードする核酸に結合するもの) ; キノキサリン (米国特許第 5 , 8 0 4 , 3 9 6 号) ; トリホスチン (米国特許第 5 , 8 0 4 , 3 9 6 号) ; Z D 6 4 7 4 (A s t r a Z e n e c a) ; P T K - 7 8 7 (N o v a r t i s / S c h e r i n g A G) ; C I - 1 0 3 3 (P f i z e r) 等の汎 H E R 阻害薬 ; A f f i n i t a c (I S I S 3 5 2 1 ; I s i s / L i l l y) ; イマチニブメシル酸塩 (G L E E V E C (登録商標)) ; P K I 1 6 6 (N o v a r t i s) ; G W 2 0 1 6 (G l a x o S m i t h K l i n e) ; C I - 1 0 3 3 (P f i z e r) ; E K B - 5 6 9 (W y e t h) ; S e m a x i n i b (P f i z e r) ; Z D 6 4 7 4 (A s t r a Z e n e c a) ; P T K - 7 8 7 (N o v a r t i s / S c h e r i n g A G) ; I N C - 1 C 1 1 (I m c l o n e) 、ラパマイシン (シロリムス、R A P A M U N E (登録商標)) ; または米国特許第 5 , 8 0 4 , 3 9 6 号 ; W O 1 9 9 9 / 0 9 0 1 6 (A m e r i c a n C y a n a m i d) ; W O 1 9 9 8 / 4 3 9 6 0 (A m e r i c a n C y a n a m i d) ; W O 1 9 9 7 / 3 8 9 8 3 (W a r n e r L a m b e r t) ; W O 1 9 9 9 / 0 6 3 7 8 (W a r n e r L a m b e r t) ; W O 1 9 9 9 / 0 6 3 9 6 (W a r n e r L a m b e r t) ; W O 1 9 9 6 / 3 0 3 4 7 (P f i z e r , I n c) ; W O 1 9 9 6 / 3 3 9 7 8 (Z e n e c a) ; W O 1 9 9 6 / 3 3 9 7 (Z e n e c a) 、及び W O 1 9 9 6 / 3 3 9 8 0 (Z e n e c a) に記載されるものも挙げられる。

【 0 0 4 7 】

化学療法薬として、デキサメタゾン、インターフェロン、コルヒチン、メトプリン、シクロスポリン、アンホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、亜ヒ酸、アスパラギナーゼ、生 B C G 、ベバクジマブ、ベキサロテン、クラドリピン、クロファラビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキン、デクスラゾキサソ、エポエチンアルファ、エロチニブ、フィルグラスチム、ヒストレ

リン酢酸塩、イブリツモマブ、インターフェロンアルファ - 2 a、インターフェロンアルファ - 2 b、レナリドミド、レバミソール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ、オブレルベキン、パリフェルミン、パミドロロン酸、ペガデマゼ、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド二ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスプリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、VM - 26、6 - TG、トレミフェン、トレチノイン、ATRA、バルルピシン、ゾレドロロン酸塩、及びゾレドロロン酸、及びその薬学的に許容される塩も挙げられる。

【0048】

「白金系化学療法薬」または「プラチン」は、白金の配位化合物である抗悪性腫瘍薬を意味する。白金系化学療法薬の例として、カルボプラチン、シスプラチン、サトラプラチン、ピコプラチン、ネダプラチン、トリプラチン、リボプラチン、及びオキサリプラチナムが挙げられる。

10

【0049】

「白金系化学療法」は、任意に1つまたは複数のその他の化学療法薬と併用する1つまたは複数の白金系化学療法薬による療法を意味する。

【0050】

「エフェクター機能」は、抗体アイソタイプにより様々である、抗体のFc領域に起因し得る生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合及び補体依存性細胞傷害作用(CDC)；Fc受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害作用(ADCC)；食作用；細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体)の下方制御；ならびにB細胞活性化が挙げられる。

20

【0051】

ある種類の癌(または癌種において、ここで「癌種」は癌性細胞(例えば腫瘍細胞、腫瘍組織)及び癌性/腫瘍環境を取り囲む非癌性細胞(例えば間質細胞、間質組織)を意味する)において、間質シグネチャー遺伝子の中央値を超える発現レベルで、間質シグネチャー遺伝子を「発現することが決定されている」または「発現する」試料、細胞、腫瘍または癌は、間質シグネチャー遺伝子の発現レベルが、当該種類の癌について、当業者によって「高い間質シグネチャー遺伝子の発現レベル」であると考えられる発現レベルである。一般的に、当該レベルは、同じ癌種の試料、細胞、腫瘍または癌の集団において、間質シグネチャー遺伝子のレベルに対して、約50%~最大約100%またはそれ以上(例えば、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、または100%またはそれ以上)の範囲にある。例えば、中央値の発現レベルに到達するために使用される集団は、一般的に、化学療法耐性卵巣癌、白金耐性卵巣癌、ならびに進行性、難治性、または再発性卵巣癌試料等の卵巣癌の試料、またはその下位集団であり得る。

30

【0052】

特定のバイオマーカー(例えば1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子、例えばPOSTN)を参照して使用される、「癌が発現することが決定されるまたは発現することが決定されている」または「癌が発現する」は、診断試験、本明細書に記載の検出方法のいずれか、または同様の方法を使用して決定される、癌関連性の生物環境(例えば腫瘍細胞におけるバイオマーカー(複数可)の発現)、腫瘍関連性細胞(例えば腫瘍関連性線維芽細胞等の腫瘍関連性間質細胞)における、バイオマーカー(複数可)(例えば1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子、例えばPOSTN)の発現を意味する。例えば、POSTNの発現は、全ペリオスチンまたは全POSTNアッセイを使用して決定することができる。「全POSTNアッセイ」は、生物試料中の全体のPOSTNのレベルを測定するアッセイを指す。1つの実施形態では、全体のPOSTNレベルは、抗POSTN抗体を使用して測定される。別の実施形態では、抗POSTN抗体は本明細書に記載の抗POSTN抗体である。別の例では、全体のPOSTNレベルは、POSTNアイソフォーム1~4をコードするmRNAに対する1つまたは複数の核酸配列アンチセンスを使用して測定される。いくつかの実施形態では、全POSTNアッセイは、(1)生物試料でPOS

40

50

TNと結合する、配列番号1及び配列番号2の配列を含む抗体(「25D4」抗体)及び/または配列番号3及び配列番号4の配列を含む抗体(「23B9」抗体)、(2)生物試料でPOSTNと結合する、配列番号1及び配列番号2の可変領域配列を含む抗体及び/または配列番号3及び配列番号4の可変領域配列を含む抗体、(3)生物試料でPOSTNと結合する、配列番号1及び配列番号2のHVR配列を含む抗体、及び/または配列番号3及び配列番号4のHVR配列を含む抗体、(4)配列番号1及び配列番号2のHVR配列と95%以上同一のHVR配列を含む抗体、及び/または配列番号3及び配列番号4のHVR配列と95%以上同一のHVR配列を含む抗体の使用を含む。

【0053】

本明細書における「Fc領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含有する、免役グロブリン重鎖のC末端領域を定義するように使用される。この用語は、天然配列Fc領域及び変異形Fc領域を含む。一実施形態において、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226から、またはPro230から、重鎖のカルボキシル末端までに及ぶ。しかしながら、Fc領域のC末端リジン(Lys447)は、存在する場合もあれば、しない場合もある。本明細書で別途明記されない限り、Fc領域または定常領域におけるアミノ酸残基の付番は、Kabata et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるEUインデックスとも呼ばれるEU付番システムに従う。

10

20

【0054】

本明細書における治療薬の「固定」または「一定」用量は、患者の体重(WT)または体表面積(BSA)に関係なくヒト患者に投与される用量を指す。したがって、この固定用量または一定用量はmg/kg用量またはmg/m²用量としてではなく、むしろ治療薬の絶対量として提供される。

【0055】

「フレームワーク」または「FR」は、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般に、4つのFRドメインFR1、FR2、FR3、及びFR4からなる。したがって、HVR及びFR配列は、一般に、VH(またはVL)において次の配列で現れる: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

30

【0056】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、及び「全抗体」という用語は、本明細書で、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有する、または本明細書に定義されるFc領域を含有する重鎖を有する、抗体を指すように交換可能に使用される。

【0057】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された、またはヒト抗体レポーターを利用する非ヒト源に由来する、抗体のアミノ酸配列、または他のヒト抗体コード配列に対応する、アミノ酸配列を保有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に除外する。

40

【0058】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免役グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を代表する、フレームワークである。一般に、ヒト免役グロブリンVLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列の下位集団から行われる。一般に、配列の下位集団は、Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3にあるような下位集団である。1つの実施形態において、VLについて、下位集団は、上記のKabataらにあるような下位集団カッパIである。一実施形態において、VHについて、下位集団は、上

50

記の K a b a t らにあるような下位集団 I I I である。

【 0 0 5 9 】

「ヒト化」抗体は、非ヒト H V R からのアミノ酸残基及びヒト F R からのアミノ酸残基を含む、キメラ抗体を指す。ある特定の実施形態において、ヒト化抗体は、少なくとも 1 つ、典型的には 2 つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、その H V R (例えば、C D R) の全てまたは実質的に全てが、非ヒト抗体のそれらに対応し、その F R の全てまたは実質的に全てが、ヒト抗体のそれらに対応する。ヒト化抗体は任意に、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。抗体、例えば非ヒト抗体の、「ヒト化型」は、ヒト化を経た抗体を指す。

【 0 0 6 0 】

本明細書で使用される「超可変領域」または「H V R」という用語は、配列が高度に変化する、かつ/または構造的に規定されたループ(「超可変ループ」)を形成する、抗体可変ドメインの領域のそれぞれを指す。一般に、天然 4 本鎖抗体は、6 つの H V R を含み、このうち 3 つが V H (H I、H 2、H 3) にあり、3 つが V L (L I、L 2、L 3) にある。H V R は一般に、超可変ループからの及び/または「相補性決定領域」(C D R) からのアミノ酸残基を含み、このうち後者が、典型的に、配列可変性が最も高く、及び/または抗原認識に関与する。本明細書で使用される H V R 領域は、位置 2 4 ~ 3 6 (H V R L 1 について)、4 6 ~ 5 6 (H V R L 2 について)、8 9 ~ 9 7 (H V R L 3 について)、2 6 ~ 3 5 B (H V R H 1 について)、4 7 ~ 6 5 (H V R H 2 について)、及び 9 3 ~ 1 0 2 (H V R H 3 について) 内に配置される任意の数の残基を含む。

【 0 0 6 1 】

「免疫複合体」は、細胞傷害性薬剤を含むが、これらに限定されない 1 個以上の異種性分子(複数可)に複合される抗体である。

【 0 0 6 2 】

「免疫調節薬」は、免疫応答を誘発し、増加させ、または抑制する薬剤を指す。免疫応答を誘発しまたは増幅するようにデザインされた免疫調節薬は、活性免疫調節薬である。免疫応答を低下しまたは抑制するようにデザインされた免疫調節薬は、抑制免疫調節薬である。例えば、抑制免疫調節薬は、T D O 2、C D 3 6、G Z M K、C D 2 4 7、C D 1 C、C S F 1 R、I D O 1、I L 7 R、または C C R 7 アンタゴニストであってもよい。「拮抗薬」という用語は、最も広い意味で使用され、天然ポリペプチドの生物活性を部分的に、または完全に遮断、阻害、または中和する任意の分子を含む。当該薬剤(例えばアンタゴニスト)は、ポリペプチド(複数可)(例えば、抗 C S F 1 R 抗体(R G 7 1 5 5)等の抗体)、イムノアドヘシンまたはペプチボディ等の抗体)、タンパク質または核酸分子に結合することができ、免疫系の細胞(例えば、エフェクター T 細胞、レギュラトリ T 細胞、B 細胞、N K 細胞、炎症細胞、抗原提示細胞(例えば樹状細胞、マクロファージ)等)を直接的または間接的に標的にする本明細書で同定される標的をコードする核酸分子(すなわち s i R N A)に結合することができるアプタマーまたは小分子が挙げられる。いくつかの実施形態では、免疫調節薬は免疫系の細胞上で受容体に特異的に結合し、免疫細胞の活動に影響を及ぼすことができる。他の実施形態では、免疫調節薬は、免疫細胞シグナル伝達経路及び/または免疫細胞の調節活動に関与する遺伝子を標的とする。

【 0 0 6 3 】

「個体」または「対象」は、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜(例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ)、霊長類(例えば、ヒト、及びサル等の非ヒト霊長類)、ウサギ、及び齧歯類(例えば、マウス及びラット)が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、個体または対象は、ヒトである。

【 0 0 6 4 】

「単離された」抗体は、その天然環境の構成成分から分離された抗体である。いくつかの実施形態において、本抗体は、例えば、電気泳動法(例えば、S D S - P A G E、等電点電気泳動(I E F)、キャピラリー電気泳動)またはクロマトグラフ法(例えば、イオン交換または逆相 H P L C)によって決定するとき、9 5 % 超または 9 9 % 超の純度まで

10

20

30

40

50

精製される。抗体純度を評価する方法の概説に関して、例えば Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007) を参照のこと。

【0065】

「単離された」核酸は、その天然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離核酸には、核酸分子を通常含有する細胞内に含有される核酸分子が含まれるが、その核酸分子は、染色体外に、またはその天然の染色体位置とは異なる染色体位置に、存在する。

【0066】

「抗標的抗体をコードする単離核酸」は、抗体重鎖及び軽鎖（またはそれらの断片）をコードする1つまたは複数の核酸分子を指し、それには単一のベクターまたは別個のベクターにおけるかかる核酸分子（複数可）が含まれ、かかる核酸分子（複数可）は、宿主細胞内の1つまたは複数の場所に存在する。

10

【0067】

本明細書における「負荷」用量は一般に、患者に投与される治療薬の初期用量を含み、その1つまたは複数の維持用量が続く。一般に、単一負荷用量が投与されるが、本明細書において複数の負荷用量が企図される。通常、維持用量（複数可）で達成され得るより早く治療薬の所望の安定状態濃度を達成するように、投与される負荷用量（複数可）の量は、投与される維持用量（複数可）の量を超え、かつ/または負荷用量（複数可）は、維持用量（複数可）より頻繁に投与される。

【0068】

本明細書における「維持」用量または「延長用量」は、治療期間にわたって患者に投与される治療薬の1つまたは複数の用量を指す。通常、維持用量は、ほぼ毎週、約2週間毎、約3週間毎、または約4週間毎の治療間隔で投与される。

20

【0069】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、その集団に含まれる個々の抗体は、同一であり、かつ/または同じエピトープと結合するが、例えば、自然発生突然変異を含有する、またはモノクローナル抗体調製物の産生中に発生する、可能性のある変異形抗体は例外であり、かかる変異形は一般に少量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含む、ポリクローナル抗体製剤とは対照的に、モノクローナル抗体製剤の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する。したがって、「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体の特徴を示しており、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるものではない。例えば、本明細書で提供される方法に従って使用されるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法を含むが、これらに限定されない、多様な技法によって作製されてもよく、モノクローナル抗体を作製するためのかかる方法及び他の例示的な方法が、本明細書に記載されている。

30

【0070】

「裸の抗体」は、異種性部分（例えば、細胞傷害性部分）または放射標識に複合されていない抗体を指す。裸の抗体は、医薬製剤中に存在してもよい。

40

【0071】

「天然抗体」は、様々な構造を有する、自然発生免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然IgG抗体は、ジスルフィド結合されている2つの同一の軽鎖及び2つの同一の重鎖から構成される、約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端まで、各重鎖は、可変重ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）、続いて3つの定常ドメイン（CH1、CH2、及びCH3）を有する。同様に、N末端からC末端まで、各軽鎖は、可変軽ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）、続いて定常軽（CL）ドメインを有する。抗体の軽鎖には、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（ κ ）及びラムダ（ λ ）と呼ばれる2つ

50

の型うちの1つが割り当てられ得る。

【0072】

本発明に記載の「～にり患している患者」という表現は、癌（例えば婦人科癌（例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、または外陰癌））または乳癌（転移性MBC、以下を参照のこと）の臨床徴候を示す患者を指す。癌の文脈における「～しやすい」または「～の傾向がある」という表現は、例えば、起こり得る遺伝的素因、有害及び/または発癌性化合物に暴露前もしくは最終的な暴露、または放射線等の発癌性身体的危険への暴露に基づいた患者における疾患の徴候を指す。

【0073】

「患者の応答」または「応答」（及びその文法上の変化形）は、患者への利益を示す任意のエンドポイントを使用して評価することができ、限定されないが、（1）進行の緩徐化または完全停止を含む疾患の進行のある程度の阻害、（2）疾患のエピソード及び/または症状の数の減少、（3）病変サイズの減少、（4）隣接する周囲の臓器及び/または組織への疾患の細胞の浸潤の阻害（すなわち、減少、緩徐化または完全停止）、（5）疾患の拡散の阻害（すなわち、減少、緩徐化または完全停止）、（6）自己免疫応答の低下（必ずしもその必要はないが、結果として病変の後退または切除になりうる）、（7）障害に関連する1つまたは複数の症状のある程度の緩和、（8）治療後の無憎悪の期間の増加、及び/または（9）治療後の任意の時点での死亡率の減少が挙げられる。

【0074】

「放射線療法」とは、細胞を正常に機能させる能力を制限するか、または細胞をまとめて破壊するために、十分な損傷を細胞に誘発するように向けられたガンマ線またはベータ線の使用を意味する。投薬量及び治療期間を決定するための、当該技術分野において既知の多くの方法が存在することが理解されるであろう。典型的な治療は、1回投与として付与され、典型的な投薬量は、1日当たり10～200単位（Gray）の範囲のである。

【0075】

「小分子」は50ダルトン～2500ダルトンの分子量を有する有機分子を指す。

【0076】

「間質シグネチャー遺伝子」、「間質遺伝子シグネチャー」、及び「間質シグネチャー」は、表1～4に記載の遺伝子の1つ、表1～4に記載の遺伝子の組み合わせ、またはこれらの遺伝子の副組み合わせ、癌化学療法耐性と相関する遺伝子発現パターンを指す。間質シグネチャーの個別の遺伝子はそれぞれ、「間質シグネチャー遺伝子」である。これらの遺伝子として、POSTN、LOX、BGN、FGF1、TIMP3、FN1、FAP、ANGPTL2、ACTA2、MMP11、RBP4、CD36、PLVAP、PECAM1、GZMK、CD247、ABCC9、PCOLCE、CD1C、MS4A1、CD44、PMEPA1、IL7R、FBLN1、TWIST1、ID1、RAC2、GFRA1、CCR7、MAN1A1、EVI2A、PTPRC、CD45RA、FCRL5、NNMT、CD27、SLA、ESR2、KLK7、KLK6、MUC1、DTX4、FGFR4、TSPAN8、ESR1、KRT18、FUT2、HOXD10、EXO1、INADL、IGFBP2、MYCN、ERBB3、TMEM45B、PROM1、NCAM1、MKI67、CDH3、LY6E、TJP3、SLC7A11、BNIP3、PRAME、ESM1、VTCN1、CCL28、TDO2、NUAK1、COL4A1、ABCB9、RB1、ANXA1、FOXO1、PGR及びALPPが挙げられる。

【0077】

「間質標的薬」は、腫瘍間質（例えば、線維芽細胞、内皮細胞、周皮細胞、白血球、細胞外基質等）の構成要素を、直接的または間接的に標的にする薬剤を意味する。間質標的薬は、例えば、標的遺伝子または標的遺伝子がコードするタンパク質に結合する、またはそれ以外の方法でこれらの活動に影響を及ぼすことによって、本明細書に記載の間質シグネチャー遺伝子の遺伝子のいずれか1つの活動に、直接的または間接的に影響を及ぼすことができる。間質標的薬は、本明細書に記載の間質シグネチャー（または対応するポリペプチド）の遺伝子のいずれか1つの活動に影響を及ぼすことなく、異なる方法で、腫瘍間

10

20

30

40

50

質を標的にすることができる。当該薬剤として、例えば、小分子、アプタマー、ポリペプチド（例えば、イムノアドヘシン、抗体、ポリペプチド、及びペプチド）、及びRNA治療薬（例えば、低分子干渉RNA（siRNA）、マイクロRNA（miRNA）、アンチセンスオリゴヌクレオチド、及び立体ブロック（steric-blocking）オリゴヌクレオチド）を挙げることができる。

【0078】

「生存期間」は、患者が生存していることを指し、全生存期間、ならびに無増悪生存期間を含む。

【0079】

「全生存期間」は、患者が、診断または治療の開始から1年、5年等の規定の期間生存していることを指す。

【0080】

本発明の文脈での「無増悪生存期間」という表現は、医師または研究者による評価に従って、患者の疾患が悪くなっていない、すなわち進行していない治療期間中及び治療期間後の時間の長さを指す。当業者が理解するように、患者の無増悪生存期間は、同様の状況の患者の対照群の平均または中間の無増悪生存期間と比較して、より長期間患者の疾患が進行しない場合、改善または向上する。

【0081】

「生存期間の延長」は、治療を受けていない患者と比べて（すなわち、間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、抗血管新生薬（例えば、VEGFアンタゴニスト、例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体）で治療を受けていない患者と比べて）、または指定されたレベルで間質シグネチャー遺伝子を発現しない患者と比べて、及び/または（例えば本明細書に記載の）化学療法薬で、治療を受けた化学療法感受性の患者と比べて、治療を受けた患者の全生存期間または無増悪生存期間が増加することを意味する。

【0082】

「標準的治療」は、本明細書では、特定の形態の癌を治療するために通常使用される抗腫瘍薬または薬剤を意図している。例えば、白金耐性卵巣癌では、標準的治療はカルボプラチン及びパクリタキセルの併用である。

【0083】

「治療有効量」または「有効量」という用語は、患者の癌を治療するのに有効な薬剤の量を指す。有効量の薬剤によって、癌細胞の数が低減し、腫瘍サイズが縮小し、末梢臓器への癌細胞の浸潤が阻害され（すなわち、ある程度遅れる、好ましくは止まる）、腫瘍転移が阻害され（すなわち、ある程度遅れる、好ましくは止まる）、腫瘍成長がある程度阻害され、かつ/または癌と関連付けられる1つまたは複数の症状がある程度緩和され得る。薬剤が既存の癌細胞の成長の予防及び/またはそれらの殺滅を行うことができる限り、この薬剤は細胞増殖抑制性及び/または細胞毒性であり得る。有効量によって、無増悪生存期間が延長し（例えば、固体腫瘍の奏功評価基準（RECIST）もしくはCA-125変化によって測定される）、客観的奏功がもたらされ（部分奏功（PR）もしくは完全奏功（CR））、（全生存期間及び無増悪生存期間を含む）生存期間が改善し、及び/または癌の1つまたは複数の症状が改善される（例えば、FOSIによって評価される）。最も好ましくは、治療有効量の薬剤は、無増悪生存期間（PFS）及び/または全生存期間（OS）の改善に有効である。

【0084】

「全ペリオスチン（POSTN）」という用語は、本明細書で使用されるとき、ペリオスチンの少なくとも1つのアイソフォーム1、2、3、及び4を指す。ヒトPOSTNアイソフォーム1、2、3、及び4は、以下のアミノ酸配列：それぞれNP 006466.2；NP 001129406.1、NP 001129407.1、及びNP 001129408.1であり（NCBIデータベース）（それぞれUS2012/0156194の配列番号19～22、これらの配列及び配列番号23に関連して、参照により本明細書に援用される）を含むものとして当該技術分野で既知である。POSTNの追加の

10

20

30

40

50

形態は、US 2012/0156194に記載されている。当該アイソフォームは、本明細書では「アイソフォーム5」として呼ばれ、部分的に配列決定される。アイソフォーム5は、US 2012/0156194の配列番号23のアミノ酸配列を含む。1つの実施形態では、POSTNのアイソフォームはヒトPOSTNである。さらなる実施形態では、全POSTNという用語は、アイソフォーム1~4の他にヒトPOSTNのアイソフォーム5を含む。別の実施形態では、全POSTNは全血清全POSTNまたは全血漿POSTN（すなわち、それぞれ、患者から得た全血から得た血清試料または患者から得た全血から得た血漿試料からの全POSTN）である。

【0085】

「ペリオスチン（POSTN）抗体」または「抗POSTN抗体」という用語は、POSTNのアイソフォームに結合する抗体を指す。1つの実施形態では、POSTNはヒトPOSTNである。1つの実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の配列を含み（「25D4」抗体）、または配列番号3及び配列番号4の配列を含む（「23B9」抗体）。別の実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の配列の可変領域を含み、または配列番号3及び配列番号4の配列の可変領域を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の配列のHVR配列を含み、または配列番号3及び配列番号4のHVR配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2のHVR配列と95%以上同一のHVR配列を含み、及び/または抗体は、配列番号3及び配列番号4のHVR配列と95%以上同一のHVR配列を含む。

【0086】

本明細書で使用されるとき、「治療」は、治療される個体または細胞の自然経過を変更する試みにおける臨床的介入を指し、予防または臨床病理学の経過中のいずれかに行うことができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、疾患進行速度の低減、病状の回復または一時的緩和、及び寛解または予後の改善が含まれる。いくつかの実施形態では、本発明の方法及び組成物は、疾患または障害の発症を遅らせる試みにおいて有用である。

【0087】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合することに関与する、抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、VH及びVL）は一般に、同様の構造を有し、各ドメインは、4つの保存されたフレームワーク領域（FR）及び3つの超可変領域（HVR）を含む。（例えば、Kindt et al., *Kuby Immunology*, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい）。抗原結合特異性を付与するためには、単一のVHまたはVLドメインで十分であり得る。さらに、抗原に結合する抗体からのVHまたはVLドメインを使用して、それぞれ、相補的VLまたはVHドメインのライブラリをスクリーニングして、特定の抗原と結合する抗体を単離してもよい。Portolano et al., *J. Immunol.* 150: 880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991)を参照されたい。

【0088】

「VEGFアンタゴニスト」または「VEGF特異的アンタゴニスト」は、VEGFに結合し、VEGF発現レベルを減少させ、またはVEGF生物活性を中和する、ブロックする、阻害する、抑制する、減少させる、妨げることができる分子を指し、限定されないが、1つまたは複数のVEGF受容体へのVEGF結合、VEGFシグナル伝達、及びVEGF媒介血管新生、内皮細胞の生存または増殖が挙げられる。例えば、VEGF生物活性を中和する、ブロックする、阻害する、抑制する、減少させる、妨げることができる分子は、1つまたは複数のVEGF受容体（VEGFR）（例えばVEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、膜結合VEGF受容体（mbVEGFR）、または可溶性VEGF受容体（sVEGFR））に結合することによって、効果を発揮することができる。本発明の方法に有用なVEGF特異的アンタゴニストとして、VEGFに特異的に結合するポ

10

20

30

40

50

リペプチド、抗VEGF抗体、及びその抗原結合断片、VEGFに特異的に結合し、それによって、1つまたは複数の受容体への結合を引き離す受容体分子及び誘導体、融合タンパク質（例えば、VEGF-Trap (Regeneron)）及びVEGF₁₂₁-ゲロニン (Peregrine) が挙げられる。VEGF特異的アンタゴニストとして、VEGFポリペプチドのアンタゴニスト変異体、VEGFポリペプチドをコードする核酸分子の少なくとも1つの断片に相補的なアンチセンス核酸塩基オリゴマー、VEGFポリペプチドをコードする核酸分子の少なくとも1つの断片に相補的な低分子RNA、VEGFを標的とするリボザイム、VEGFへのペプチボディ、及びVEGFアプタマーも挙げられる。VEGFアンタゴニストとして、VEGFRに結合するポリペプチド、抗VEGFR抗体、その抗原結合断片、VEGFRに結合し、それによりVEGF生物活性（例えばVEGFシグナル伝達）をブロックする、阻害する、抑制する、減少させる、妨げる誘導体、または融合タンパク質も挙げられる。VEGF特異的アンタゴニストとして、VEGFまたはVEGFRに結合する非ペプチド小分子も挙げられ、VEGF生物活性をブロックする、阻害する、抑制する、減少させる、または妨げることができる。そのため、「VEGF活性」という用語は、特にVEGFのVEGF媒介生物活性を含む。ある特定の実施形態では、VEGFアンタゴニストは、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%以上、VEGFの発現レベルまたは生物活性を減少または阻害する。いくつかの実施形態では、VEGF特異的アンタゴニストによって阻害されるVEGFは、VEGF(8-109)、VEGF(1-109)、またはVEGF₁₆₅である。

【0089】

本明細書で使用するとき、VEGFアンタゴニストとして、限定されないが、抗VEGFR2抗体及び関連の分子（例えばラムシルマブ、タニビルマブ、アフリベルセプト）、抗VEGFR1抗体及び関連の分子（例えばイクルクマブ、アフリベルセプト (VEGF Trap - Eye; EYLEA (登録商標))、ziv - アフリベルセプト (VEGF Trap; ZALTRAP (登録商標))、二重特異性VEGF抗体（例えばMP-0250、パヌシズマブ (VEGF-ANG2)、及びUS2001/0236388に開示の二重特異性抗体）、抗VEGF、抗VEGFR1、及び抗VEGFR2アームの組み合わせを含む二重特異性抗体、抗VEGFA抗体（例えばベバシズマブ、セバシズマブ）、抗VEGFB抗体、抗VEGFC抗体（例えばVGX-100）、抗VEGFD抗体、及び非ペプチド小分子VEGFアンタゴニスト（例えばバゾパニブ、アキシチニブ、バンダタニブ、スチパーガ、カボザンチニブ、レンパチニブ、ニンテダニブ、オランチニブ、テラチニブ、ドピチニグ、セジラニブ、モテサニブニリン酸塩、スルファチニブ、アパチニブ、ホレチニブ、ファミチニブ、及びチボザニブ）を挙げることができる。

【0090】

「抗VEGF抗体」は、十分な親和性及び特異性でVEGFに結合する抗体である。ある特定の実施形態では、前記抗体はVEGFに十分に高い結合親和性を有し、例えば、前記抗体は、100nM~1pMのK_d値で、hVEGFと結合することができる。抗体の親和性は、例えば表面プラズモン共鳴法に基づくアッセイ (PCT出願公報WO2005/012359に記載のBIACoreアッセイ等)、酵素免疫測定法 (ELISA) 及び拮抗実験（例えばRIA）によって決定することができる。

【0091】

ある特定の実施形態では、抗VEGF抗体は、VEGF活性が関与する疾患または病態を標的とし、それと干渉する治療薬として使用することができる。また、前記抗体は、例えば、治療薬としての効能を評価するために、その他の生物活性アッセイに供してもよい。当該アッセイは、当該技術分野で既知であり、標的抗原及び抗体の意図した使用に依存する。例えば、HUVEC阻害アッセイ、腫瘍細胞増殖阻害アッセイ（例えばWO89/06692に記載）、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 及び補体媒介性細胞傷害 (CDC) アッセイ（米国特許第5,500,362号）、及びアゴニスト活性または造血アッセイが挙げられる（WO95/27062を参照のこと）。抗VEGF抗体は、通常、VE

GF-BまたはVEGF-C等のその他のVEGF相同体に結合することも、PlGF、PDGFまたはbFGF等のその他の増殖因子に結合することもない。1つの実施形態では、抗VEGF抗体は、ハイブリドーマATCC HB 10709によって産生された、モノクローナル抗VEGF抗体A4.6.1と同じエピトープに結合するモノクローナル抗体である。別の実施形態では、抗VEGF抗体は、Presta et al. (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599に従って産生される組換えヒト化抗VEGFモノクローナル抗体であり、限定されないが、ベバシズマブ(BV、AVASTIN(登録商標))として知られている抗体が挙げられる。

【0092】

抗VEGF抗体「ベバシズマブ(BV)」は、「rhUMAb VEGF」または「AVASTIN(登録商標)」としても知られ、組換えヒト化抗VEGFモノクローナル抗体であり、Presta et al. (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599に従って産生される。この抗VEGF抗体は、変異したヒトIgG1フレームワーク領域、及びヒトVEGFのその受容体への結合をブロックするマウス抗hVEGFモノクローナル抗体A.4.6.1からの抗原結合相補性決定領域を含む。大部分のフレームワーク領域を含むベバシズマブのアミノ酸配列の約93%は、ヒトIgG1に由来し、当該配列の約7%はマウス抗体A4.6.1に由来する。ベバシズマブは、約149,000ダルトンの分子量を有し、グリコシル化されている。ベバシズマブ及びその他のヒト化抗VEGF抗体は、さらに、2005年2月26日発行の米国特許第6,884,879号に記載されており、その開示の全体が参照により本明細書に明示的に援用される。追加の好ましい抗体として、PCT出願公報WO2005/012359に記載されるG6またはB20系列抗体(例えば、G6-31、B20-4.1)が挙げられる。追加の好ましい抗体については、米国特許第7,060,269号、同6,582,959号、同6,703,020号、同6,054,297号、WO98/45332、WO96/30046、WO94/10202、欧州特許第0666868B1号、米国特許出願公開第2006009360号、同20050186208号、同20030206899号、同20030190317号、同20030203409号、及び同20050112126号、ならびにPopkov et al., Journal of Immunological Methods 288: 149-164(2004)を参照のこと。他の好ましい抗体として、残基F17、M18、D19、Y21、Y25、Q89、191、K101、E103、及びC104、またはあるいは残基F17、Y21、Q22、Y25、D63、183、及びQ89を含むヒトVEGF上の機能性エピトープに結合する抗体が挙げられる。

【0093】

IIIB. 予後、診断及び検出の方法

本発明は、化学療法薬(例えば、白金系化学療法薬、例えばシスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ストラプラチン、ピコプラチン、デダプラチン、トリプラチン、リボプラチン等)に対する耐性に関連する癌(例えば、婦人科癌(例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、膣癌、または外陰癌))のバイオマーカーの識別、選択及び使用に関する。この点で、本発明は、化学療法耐性癌または化学療法感受性癌を有していると決定される癌(例えば、婦人科癌(例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、膣癌、または外陰癌))患者の腫瘍間質成分(例えば、腫瘍関連線維芽細胞)発現プロファイル(複数可)を使用すること、化学療法薬(例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、ストラプラチン、ピコプラチン、デダプラチン、トリプラチン、リボプラチン等の白金系化学療法薬)に対する耐性に関連性のあるバイオマーカーを識別することに関する。本発明のバイオマーカーは、例えば、表1~4に列挙する。

【0094】

本発明は、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子(例えば、表1~4に列挙される1つまたは複数の遺伝子、及び/またはその組み合わせ)の発現レベルを決定し、間質シ

10

20

30

40

50

グネチャー遺伝子発現レベルと、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルとを比較することによって、化学療法耐性である癌（例えば、婦人科癌（例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、または外陰癌））患者を識別する方法を提供する。いくつかの実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表1及び3の遺伝子及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルを超える場合、患者は化学療法耐性である癌を有することが決定される。他の実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表2及び4の遺伝子及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベル未満である場合、患者は化学療法耐性である癌を有することが決定される。本発明は、また、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表1～4に列挙される1つまたは複数の遺伝子、及び/またはその組み合わせ）の発現レベルを決定し、間質シグネチャー遺伝子発現のレベルと、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルとを比較することによって、化学療法感受性である癌（例えば、婦人科癌（例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、または外陰癌））を有する患者を識別する方法を提供する。いくつかの実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表1及び3の遺伝子のいずれか及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベル未満である場合、患者は化学療法感受性である癌を有することが決定される。他の実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表2及び4の遺伝子のいずれか及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルを超える場合、患者は化学療法感受性である癌を有することが決定される。任意に、これらの方法は、化学療法耐性の投与前の診断を患者に提供するために、化学療法薬を投与する前に行われる。

【0095】

本発明は、また、特定の化学療法薬（例えば、カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン、または本明細書に記載の薬剤、上記参照）で、化学療法から利益を受ける可能性、及び/または化学療法に加えてまたはその代わりに、代替の抗癌治療（例えば、抗血管新生薬、免疫調節薬、及び間質標的薬（例えば、抗POSTN抗体）を投与すること）から利益を受ける可能性に関しての予後の方法を提供する。これらの方法は、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表1～4に列挙される1つまたは複数の遺伝子、及び/またはその組み合わせ）の発現レベルを決定し、間質シグネチャー遺伝子の発現のレベルと、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルとを比較することを含む。いくつかの実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表1及び3の遺伝子のいずれか及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベルを超える場合、患者は、化学療法に加えてまたはその代わりに抗癌療法（例えば、抗血管新生療法、免疫調節療法、及び間質標的療法等）の実施から利益を受ける可能性があるとして決定される。他の実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表2及び4の遺伝子のいずれか及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベル未満である場合、患者は、化学療法に加えてまたはその代わりに抗癌治療療法（例えば、抗血管新生療法、免疫調節療法、及び間質標的療法等）の実施から利益を受ける可能性があるとして決定される。任意に、これらの方法は、抗癌治療薬（例えば、抗血管新生薬（例えば抗VEGF抗体、例えばベバシズマブ等のVEGFアンタゴニスト）を投与すること、免疫調節薬及び/または間質標的薬（例えば、抗POSTN抗体）を、患者に、化学療法レジメンと併用して、または単一治療として投与することを含む。

表1．白金耐性対白金感受性原発性卵巣腫瘍において差示的に発現される、上方制御される遺伝子

POSTN (遺伝子 ID 番号: 10631)	FAP (遺伝子 ID 番号: 2191)	TIMP3 (遺伝子 ID 番号: 7078)
LOX (遺伝子 ID 番号: 4015)	TD02 (遺伝子 ID 番号: 6999)	NUAK1 (遺伝子 ID 番号: 9891)
COL4A1 (遺伝子 ID 番号: 1282)		

表 2 . 白金耐性対白金感受性原発性卵巣腫瘍において差示的に発現される、下方制御される遺伝子

10

ABCB9 (遺伝子 ID 番号: 23457)	FGFR4 (遺伝子 ID 番号: 2264)	RB1 (遺伝子 ID 番号: 5925)
ANXA1 (遺伝子 ID 番号: 301)	FOXO1 (遺伝子 ID 番号: 2308)	PGR (遺伝子 ID 番号: 5241)
ALPP (遺伝子 ID 番号: 250)		

表 3 . 白金耐性再発性卵巣腫瘍対白金耐性原発性卵巣腫瘍において差示的に発現される、上方制御される遺伝子

20

LOX (遺伝子 ID 番号: 4015)	BGN (遺伝子 ID 番号: 633)	FGF1 (遺伝子 ID 番号: 2246)
TIMP3 (遺伝子 ID 番号: 7078)	FN1 (遺伝子 ID 番号: 2335)	FAP (遺伝子 ID 番号: 2191)
ANGPTL2 (遺伝子 ID 番号: 23452)	POSTN (遺伝子 ID 番号: 10631)	ACTA2 (遺伝子 ID 番号: 59)
MMP11 (遺伝子 ID 番号: 4320)	RBP4 (遺伝子 ID 番号: 5950)	CD36 (遺伝子 ID 番号: 948)
PLVAP (遺伝子 ID 番号: 83483)	PECAM1 (遺伝子 ID 番号: 5175)	GZMK (遺伝子 ID 番号: 3003)
CD247 (遺伝子 ID 番号: 919)	ABCC9 (遺伝子 ID 番号: 10060)	PCOLCE (遺伝子 ID 番号: 5118)
CD1C (遺伝子 ID 番号: 911)	MS4A1 (遺伝子 ID 番号: 931)	CD44 (遺伝子 ID 番号: 960)
PMEPA1 (遺伝子 ID 番号: 56937)	IL7R (遺伝子 ID 番号: 3575)	FBLN1 (遺伝子 ID 番号: 2192)
TWIST1 (遺伝子 ID 番号: 7291)	ID1 (遺伝子 ID 番号: 3397)	RAC2 (遺伝子 ID 番号: 5880)
GFRA1 (遺伝子 ID 番号: 2674)	CCR7 (遺伝子 ID 番号: 1236)	MAN1A1 (遺伝子 ID 番号: 4121)
EVI2A (遺伝子 ID 番号: 2123)	PTPRC/CD45RA (遺伝子 ID 番号: 5788)	FCRL5 (遺伝子 ID 番号: 83416)
NNMT (遺伝子 ID 番号: 4837)	CD27 (遺伝子 ID 番号: 939)	SLA (遺伝子 ID 番号: 6503)

30

40

表 4 . 白金耐性再発性卵巣腫瘍対白金耐性原発性卵巣腫瘍において差示的に発現される、下方制御される遺伝子

ESR2 (遺伝子 ID 番号: 2100)	KLK7 (遺伝子 ID 番号: 5650)	KLK6 (遺伝子 ID 番号: 5653)
MUC1 (遺伝子 ID 番号: 4582)	DTX4 (遺伝子 ID 番号: 23220)	FGFR4 (遺伝子 ID 番号: 2264)
TSPAN8 (遺伝子 ID 番号: 7103)	ESR1 (遺伝子 ID 番号: 2099)	KRT18 (遺伝子 ID 番号: 3875)
FUT2 (遺伝子 ID 番号: 2524)	HOXD10 (遺伝子 ID 番号: 3236)	EXO1 (遺伝子 ID 番号: 9156)
INADL (遺伝子 ID 番号: 10207)	IGFBP2 (遺伝子 ID 番号: 3485)	MYCN (遺伝子 ID 番号: 4613)
ERBB3 (遺伝子 ID 番号: 2065)	TMEM45B (遺伝子 ID 番号: 120224)	PROM1 (遺伝子 ID 番号: 8842)
NCAM1 (遺伝子 ID 番号: 4684)	MKI67 (遺伝子 ID 番号: 4288)	CDH3 (遺伝子 ID 番号: 1001)
LY6E (遺伝子 ID 番号: 4061)	TJP3 (遺伝子 ID 番号: 27134)	SLC7A11 (遺伝子 ID 番号: 23657)
BNIP3 (遺伝子 ID 番号: 664)	PRAME (遺伝子 ID 番号: 23532)	ESM1 (遺伝子 ID 番号: 11082)
VTCN1 (遺伝子 ID 番号: 79679)	CCL28 (遺伝子 ID 番号: 56477)	

10

20

* 遺伝子 ID 番号は、2015年7月29日に Nanost r i n g T e c h n o l o g i e s のウェブサイト [store . n a n o s t r i n g . c o m / s e a r c h](http://store.nanost r i n g . c o m / s e a r c h) で検索された。

【0096】

本発明は、患者の癌のステージを決定する方法を提供する。これらの方法では、本明細書に記載の1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを評価し、当該遺伝子（複数可）の発現の増加は、癌の後期を示す。1つの例では、例えば試料（例えば血清試料等の血液試料）中の P O S T N のレベルを評価し、当該遺伝子、例えば P O S T N の発現レベルの増加の検出は、E O C の後期（例えば F I G O ステージ I I I （例えば、ステージ I I I A 、 I I I B 、 または I I I C ） または I V ）を示す。試料中のシグネチャー遺伝子（複数可）の発現レベルを、例えば一般的に、癌種を有する患者集団の遺伝子の中央値の発現レベルと比較することができ、または癌種の特定のステージ（例えば、F I G O ステージ I または F I G O ステージ I I E O C 等の初期のステージ）に関連することが決定されるレベルと比較することができる。

30

【0097】

間質シグネチャー遺伝子の発現レベルは、患者の試料の特定のタンパク質レベルを決定するのに適した当該技術分野で既知の方法によって評価してもよく、好ましくは、間質シグネチャー遺伝子に特異的な抗体を使用する免疫組織化学的（「IHC」）法によって決定される。当該方法は、当該技術分野で十分に知られており、日常的に実施されており、対応の市販されている抗体及び/またはキットを容易に入手できる。好ましくは、本発明のマーカー/指示薬のタンパク質の発現レベルは、抗体またはキットの製造者が推薦する試薬及び/またはプロトコルを使用して評価される。当業者は、また、IHC法によって間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定するさらなる方法を認識している。したがって、1つまたは複数の本発明のマーカー/指示薬の発現レベルは、難なく当業者によって日常的に、再現可能に決定することができる。しかしながら、正確で再現性のある結果を保

40

50

証するために、本発明は、試験手順の妥当性を確認することができる専門的な実験室で、患者の試料を試験することも含む。

【0098】

好ましくは、間質シグネチャー遺伝子の発現レベルは、癌細胞を含んでいるまたは含んでいると思われる生物試料で評価される。当該試料は、例えば、癌（例えば婦人科癌、とりわけ卵巣癌）をり患している、り患していると思われる、または診断された患者から得た卵巣組織の切除片、卵巣組織の生検、または転移巣であってもよい。好ましくは、当該試料は、卵巣組織の試料、卵巣腫瘍の切除片または生検、既知または疑いのある転移卵巣癌または切片、または血液試料、例えば、流血中癌細胞、例えば卵巣癌細胞を含むことが知られているまたは疑いのある末梢血試料である。当該試料は、癌細胞、すなわち腫瘍細胞と非癌性細胞との両方を含んでもよく、ある特定の実施形態では、癌性と非癌性細胞（例えば、好ましくは試料は間質細胞を含む）の両方を含む。間質成分における遺伝子発現の決定を含む本発明の態様では、試料は、例えば、癌/腫瘍細胞に関連する癌/腫瘍細胞と非癌性細胞との両方（例えば、腫瘍関連線維芽細胞、内皮細胞、周皮細胞、細胞外基質、及び/または様々なクラスの白血球）を含む。他の態様では、当業者、例えば病理学者は癌細胞を非癌性細胞（例えば、間質細胞、内皮細胞等）と容易に区別することができる。癌/腫瘍細胞を含む組織切除片、生検及び体液、例えば血液試料を含む生体試料を得る方法は、当該技術分野で既知である。いくつかの実施形態では、患者から得た試料は、化学療法レジメン、またはその他の化学療法レジメンまたは療法、例えば、癌の治療またはその症状の管理または改善のための療法を開始する前に、採取される。したがって、いくつかの実施形態では、試料は、化学療法薬またはその他の薬剤の投与または化学療法レジメンまたはその他の治療レジメンの開始前に採取される。

10

20

【0099】

上述の方法の他に、本発明は、ウエスタンブロット法及びELISAに基づく検出等の、1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを評価するための免疫組織化学的方法をさらに含む。当該技術分野で理解されるように、本発明のマーカ/指示薬のタンパク質の発現レベルは、ノーザンブロット法、リアルタイムPCR、及びRT-PCR等の当該技術分野で既知の任意の適切な方法によって、mRNAレベルで評価してもよい。免疫組織化学及びmRNAに基づく検出方法及びシステムは、当該技術分野で既知であり、Lottspeich (Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag, 1998) または Sambrook and Russell (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, CSH Press, Cold Spring Harbor, N.Y., U.S.A., 2001) 等の標準的な教科書から導くことができる。好ましい実施形態では、間質シグネチャー遺伝子のmRNAレベルを検出する方法は、in situハイブリダイゼーション(RNA ISH)（例えば以下参照）を使用して行われる。記載の方法は、癌（例えば、卵巣癌等の婦人科癌）の進行期であると診断された集団に確立された対照レベルに対して、患者または患者の群の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルを決定するために特に使用されている。

30

【0100】

本明細書に記載の検出方法における使用について、当業者は、本発明に含まれるポリペプチドまたはオリゴヌクレオチドを標識する能力を有している。当該技術分野で日常的に実施されているように、mRNAレベルを検出するのに使用されるハイブリダイゼーションプローブ、及び/またはIHC法における使用のための抗体または抗体断片は、当該技術分野で既知の標準的な方法によって、標識され、視覚化されることができる。通常使用されるシステムの非限定的な例として、放射標識、酵素標識、蛍光タグ、ビオチン-アビジン複合体、化学発光等の使用が挙げられる。

40

【0101】

1つまたは複数の間質シグネチャー遺伝子の発現レベルは、免疫凝集、免疫沈降（例えば、免疫拡散法、免疫電気泳動法、免疫固定）、ウエスタンブロット法（例えば、（例え

50

ば、*in situ*の免疫組織化学、*in situ*の免疫細胞化学、アフィニティークロマトグラフィー、酵素免疫測定法)等を利用して、タンパク質レベルで決定することができる。精製されたポリペプチドの量は、物理的方法、例えば測光法によって測定することもできる。混合物中の特定のポリペプチドを定量する方法は、例えば、抗体の特定の結合に通常依存する。

【0102】

上述のように、本発明に記載のマーカー/指示薬のタンパク質の発現レベルは、また、間質シグネチャー遺伝子をコードする対応する遺伝子(複数可)の発現の増加または減少に反映されうる。そのため、翻訳(例えば、スプライスされた、スプライスされていないまたは部分的にスプライスされたmRNA)の前の遺伝子産物の定量的評価は、対応する

10

【0103】

IV. 治療方法

本発明は、癌(例えば、化学療法耐性癌、化学療法感受性癌、原発性癌、進行性癌、難治性癌、及び/または再発性癌)患者を治療する方法を提供する。当該方法は、患者の癌が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値を超えるレベルで、間質シグネチャー遺伝子(例えば、表1及び3に記載の1つまたは複数の遺伝子)を発現することが決定されている、または癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値未満のレベルで間質シグネチャー遺伝子(例えば、表2及び4に記載の1つまたは複数の遺伝子)を発現することが決定される場合、患者に治療有効量の間質標的薬(例えば抗POSTN抗体)を投与することを含む。いくつかの実施形態では、間質標的薬は単一治療として投与することができる。他の実施形態では、間質標的薬は化学療法レジメン、放射線療法及び/または免疫療法と併用して投与することができる。

20

【0104】

特定の実施形態では、間質標的薬はペリオスチン(POSTN)に結合する薬剤である。ある特定の実施形態では、POSTNに結合する当該薬剤は、単離された抗体(すなわち、抗ペリオスチン(POSTN)抗体(抗POSTN抗体))である。特定の実施形態では、抗POSTN抗体は、ヒトPOSTNのアイソフォーム1~4に良好な親和性で結合することができる。

30

【0105】

1つの実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の配列を含み(「25D4」抗体)、または配列番号3及び配列番号4の配列を含む(「23B9」抗体)。別の実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の可変領域配列を含み、または配列番号3及び配列番号4の可変領域配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2の配列のHVR配列を含み、または配列番号3及び配列番号4のHVR配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号1及び配列番号2のHVR配列と95%以上同一のHVR配列を含み、及び/または抗体は、配列番号3及び配列番号4のHVR配列と95%以上同一のHVR配列を含む。

40

【0106】

上の実施形態のいずれにおいても、抗POSTN抗体は、ヒト化されることができる。一実施形態では、抗POSTN抗体は、上の実施形態のいずれかにあるようなHVRを含み、ヒトアクセプターフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークをさらに含む。

【0107】

別の態様では、抗POSTN抗体は、配列番号1のアミノ酸配列に対して少なくとも9

50

0%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗POSTN抗体は、ペリオスチンに結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計1~10個のアミノ酸が、配列番号1において置換され、挿入され、及び/または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意に、抗POSTN抗体は、配列番号1におけるVH配列を、その配列の翻訳後修飾も含めて、含む。

10

【0108】

別の態様では、抗POSTN抗体が提供され、該抗体は、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗POSTN抗体は、ペリオスチンに結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計1~10個のアミノ酸が、配列番号2において置換され、挿入され、及び/または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意に、抗POSTN抗体は、配列番号2におけるVL配列を、その配列の翻訳後修飾も含めて、含む。

20

【0109】

別の態様では、抗POSTN抗体は、配列番号3のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、重鎖可変ドメイン(VH)配列を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVH配列は、参照配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗POSTN抗体は、ペリオスチンに結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計1~10個のアミノ酸が、配列番号3において置換され、挿入され、及び/または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意に、抗POSTN抗体は、配列番号3におけるVH配列を、その配列の翻訳後修飾も含めて、含む。

30

【0110】

別の態様では、抗POSTN抗体が提供され、該抗体は、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する、軽鎖可変ドメイン(VL)を含む。ある特定の実施形態では、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するVL配列は、参照配列と比較して、置換(例えば、保存的置換)、挿入、または欠失を含有するが、その配列を含む抗POSTN抗体は、ペリオスチンに結合する能力を保持する。ある特定の実施形態において、総計1~10個のアミノ酸が、配列番号4において置換され、挿入され、及び/または欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、HVRの外側の領域で(すなわち、FRにおいて)生じる。任意に、抗POSTN抗体は、配列番号4におけるVL配列を、その配列の翻訳後修飾も含めて、含む。

40

【0111】

別の態様では、抗POSTN抗体が提供され、この抗体は、上述の実施形態のいずれかにあるようなVH、及び上述の実施形態のいずれかにあるようなVLを含む。

【0112】

50

さらなる態様では、本発明は、本明細書に提供される抗POSTN抗体と同じエピトープに結合する、抗体を使用する。例えば、ある特定の実施形態では、配列番号1のVH配列及び配列番号2のVL配列を含む抗POSTN抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。例えば、ある特定の実施形態では、配列番号3のVH配列及び配列番号4のVL配列を含む抗ペリオスチン抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。

【0113】

本発明のさらなる態様では、上の実施形態のいずれかに記載の抗POSTN抗体は、キメラ、ヒト化、またはヒト抗体を含む、モノクローナル抗体である。一実施形態では、抗POSTN抗体は、抗体断片、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、またはF(ab')₂断片である。別の実施形態では、当該抗体は、完全長の抗体、例えば、本明細書に定義されるインタクトなIgG1またはIgG4抗体または他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。別の実施形態では、抗体は二重特異性抗体である。

10

【0114】

本発明は、また、間質シグネチャー遺伝子（例えば表1～4の遺伝子の1つまたはその組み合わせ）の発現レベルを決定することによって、抗血管新生薬（例えば抗VEGF抗体、例えばベバシズマブ等のVEGFアンタゴニスト）または免疫調節薬の投与から利益を受けうる癌を患っている患者を識別する方法を提供し、間質シグネチャー遺伝子（表1及び3の遺伝子のいずれか及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値を超えるレベルである場合、患者は抗血管新生薬または免疫調節薬を投与される。他の実施形態では、間質シグネチャー遺伝子（例えば、表2及び4の遺伝子のいずれか及び/またはその組み合わせ）の発現が、癌種における間質シグネチャー遺伝子の発現の中央値レベル未満である場合、患者は抗血管新生薬または免疫調節薬を投与される。抗血管新生薬（例えば抗VEGF抗体、例えばベバシズマブ等のVEGFアンタゴニスト）は、免疫調節薬、化学療法レジメン薬、または間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）と併用して投与することができる。

20

【0115】

したがって、本発明は、化学療法耐性、化学療法感受性、難治性、原発性、進行性、または再発性である、癌（例えば、婦人科癌（例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、または外陰癌））患者を治療する方法を提供し、当該患者に治療有効量の抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えば、ベバシズマブ等の抗VEGF抗体））を投与することを含み、任意に、これらの方法は、VEGFアンタゴニストを、以下にさらに記載する、1つまたは複数の追加の化学療法治療薬（例えばカルボプラチン及び/またはパクリタキセル）と同時投与することを含む。

30

【0116】

任意に、1つまたは複数の化学療法薬（カルボプラチン及び/またはパクリタキセル）と併用する、間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば、VEGFアンタゴニスト（例えば、ベバシズマブ等の抗VEGF抗体））での治療は、好ましくは、無増悪生存期間（PFS）及び/または全生存期間（OS）を含む生存期間を延長する及び/または改善する。1つの実施形態では、間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えば、ベバシズマブ等の抗VEGF抗体））での治療は、治療対象の癌について、承認された抗腫瘍薬または標準治療を受けることによって達成される生存期間より、生存期間を少なくとも約20%延長させる。好ましい実施形態では、患者は、婦人科癌（例えば卵巣癌、腹膜癌、卵管癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、腔癌、または外陰癌）を有する。

40

【0117】

癌の予防または治療に関して、間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））及び/または化学療法薬の適切な投薬量は、上述のような治療対象の癌の種類、癌の重症度及び経過、抗体が予防目的で投与されるか治療目的で投与されるか、以前の治療法、患者の病歴及び薬剤への反応、ならびに主治医の裁量に依存する。

50

【0118】

1つの実施形態では、固定量の間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））が投与される。当該固定量は、好適には、1回、または一連の治療にわたり、患者に投与される。固定量が投与される場合、固定量は好ましくは、約20mg～約2000mgの範囲である。例えば、固定量は、約420mg、約525mg、約840mg、または約1050mgの薬剤（例えば、間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））であってもよい。一連の投与量が投与される場合、例えば、おおよそ毎週、約2週間毎、約3週間毎、または約4週間毎であってもよいが、好ましくは約3週間毎である。固定量は、例えば、疾患の進行、有害事象、または医師に定められたその他の時まで投与を続けてもよい。例えば、約2、3、または4～最大約17の固定投与量を投与してもよい。

10

【0119】

1つの実施形態では、間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））の1つまたは複数の負荷用量（複数可）が投与され、次に1つまたは複数の維持用量（複数可）が投与される。別の実施形態では、複数の同じ用量が患者に投与される。

【0120】

間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））が、単一の抗腫瘍薬として投与され得るが、患者は任意に間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））及び1つまたは複数の（追加の）化学療法薬（複数可）と併用して治療を受ける。例示的な化学療法薬として、ゲムシタピン、カルボプラチン、オキサリプラチン、イリノテカン、フルオロピリミジン（例えば5-FU）、パクリタキセル（例えばnab-パクリタキセル）、ドセタキセル、トポテカン、カペシタピン、テモゾロミド、インターフェロン-アルファ、及び/またはリポソームドキソルピシン（例えばペグ化リポソームドキソルピシン）が挙げられる。いくつかの実施形態では、化学療法薬のうち少なくとも1つは、カルボプラチンまたはパクリタキセルである。併用投与は、別々の製剤または単一の医薬組成物を使用して、同時投与（co-administration）または同時投与（concurrent administration）、及びいずれかの順番で連続投与を含み、好ましくは、両方（または全ての）の活性薬が生物活性を同時に発揮する期間があるのがよい。そのため、化学療法薬は、間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））の投与の前または後に投与してもよい。本実施形態では、少なくとも1つの化学療法薬と少なくとも1つの間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））との間の投与のタイミングは、好ましくは、1カ月以下（3週間、2週間、1週間、6日、5日、4日、3日、2日、1日）である。あるいは、化学療法薬及び間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））は、単一製剤または別個の製剤として、患者に同時投与される。化学療法薬（カルボプラチン及び/またはパクリタキセル）と間質標的薬（例えば、抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））との併用による治療は、相乗的または相加以上の治療効果を患者にもたらすことができる。

20

30

40

【0121】

例えば卵巣癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、白金化合物（例えばカルボプラチン）等の化学療法薬、パクリタキセルまたはドセタキセル等のタキソール、トポテカンまたはリポソームドキソルピシンが挙げられる。

50

【 0 1 2 2 】

例えば進行期の卵巣上皮癌、卵管癌、または原発腹膜癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、カルボプラチン及びパクリタキセル等の化学療法薬が挙げられる。

【 0 1 2 3 】

例えば白金感受性卵巣上皮癌、卵管癌、または原発腹膜癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、カルボプラチン及びゲムシタピン等の化学療法薬が挙げられる。

10

【 0 1 2 4 】

例えば白金耐性再発性卵巣上皮癌、卵管癌、または原発腹膜癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、パクリタキセル、トポテカン、またはペグ化リボソームドキシソルピシン等の化学療法薬が挙げられる。

【 0 1 2 5 】

例えば乳癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、カペシタピン等の化学療法薬、及びパクリタキセル（例えば n a b - パクリタキセル）またはドセタキセル等のタキソールが挙げられる。

20

【 0 1 2 6 】

例えば神経膠芽腫の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、放射線治療と併用してもよいテモゾロミド等の化学療法薬が挙げられる。

【 0 1 2 7 】

結腸直腸癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、フルオロピリミジン（例えば 5 - F U ）、パクリタキセル、シスプラチン、トポテカン、イリノテカン、フルオロピリミジン - オキサリプラチン、フルオロピリミジン - イリノテカン、F O L F O X 4（5 - F U、レコボリン（ l e c o v o r i n ）、オキサリプラチン）及び I F L（イリノテカン（ i r o n o t e c a n ）、5 - F U、ロイコボリン）等の化学療法薬が挙げられる。

30

【 0 1 2 8 】

例えば腎細胞癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、インターフェロン - アルファ 2 a 等の化学療法薬が挙げられる。

40

【 0 1 2 9 】

例えば子宮頸癌の治療のために、間質標的薬（例えば、抗 P O S T N 抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えば V E G F アンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗 V E G F 抗体））と併用する特に望ましい化学療法薬として、パクリタキセル、シスプラチン、トポテカン、シスプラチンと併用したパクリタキセル、及びトポテカンと併用したパクリタキセル等の化学療法薬が挙げられる。

【 0 1 3 0 】

化学療法薬は、投与する場合、通常は知られている用量で投与されるか、薬剤の組み合わせ作用または化学療法薬の投与に起因する負の副作用があるために少なくともよい。当

50

該化学療法薬の調製及び投与スケジュールは、製造者の説明書に従って使用しても、専門医師によって経験的に決定されたように使用してもよい。化学療法薬がパクリタキセルである場合、好ましくは、約 $130 \text{ mg} / \text{m}^2 \sim 200 \text{ mg} / \text{m}^2$ (例えば約 $175 \text{ mg} / \text{m}^2$) を、例えば3週毎に1回、3時間にわたり投与される。化学療法薬がカルボプラチンである場合、好ましくは、患者の既存の肝機能または肝機能及び望ましい血小板の最下点に基づく Calvert 式を使用してカルボプラチンの投与量を計算することによって投与される。腎排泄がカルボプラチンの除去の主要な経路である。体表面積に基づいた経験による用量計算に比べると、当該投与量の式を使用することによって、それを使用しなければ(平均以上の腎機能を有する患者では)過少量投与、または(腎機能に障害がある患者では)過剰投与のいずれかになりうる、治療前の患者の腎機能の変動を補うことができる。単一薬のカルボプラチンを使用する $4 \sim 6 \text{ mg} / \text{mL} / \text{分}$ の標的 AUC は、以前に治療を受けた患者において、最も適切な用量範囲を提供するように思われる。

10

【0131】

間質標的薬(例えば抗POSTN抗体)、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬(例えばVEGFアンタゴニスト(例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体))及び化学療法薬とは別に、その他の化学療法レジメンを併用してもよい。例えば、第2(第3、第4等)の化学療法薬(複数可)を投与してもよく、第2の化学療法薬は、代謝拮抗薬の化学療法薬、または代謝拮抗薬ではない化学療法薬である。例えば、第2の化学療法薬は、タキサン(パクリタキセルまたはドセタキセル)、カペシタビン、または白金系化学療法薬(カルボプラチン、シスプラチン、またはオキサリプラチン)、アントラサイクリン(リボソームドキシソルピシンを含むドキシソルピシン)、トポテカン、ペメテレキセド、ピンカアルカロイド(ピノレルピン等)、及びTLK 286であってもよい。異なる化学療法薬の「カクテル」を投与してもよい。

20

【0132】

間質標的薬(例えば、抗POSTN抗体)、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬(例えばVEGFアンタゴニスト(例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体))及び/または化学療法薬と併用してもよいその他の治療薬として、HER阻害薬、HER二量体化阻害薬(例えばトラスツズマブ等の増殖阻害HER2抗体、または7C2、7F3またはそのヒト化変異体等のHER2過剰発現細胞のアポトーシスを誘導するHER2抗体)、EGFR、HER3、HER4等の異なる腫瘍関連抗原に対する抗体、抗ホルモン化合物、例えば、タモキシフェン等の抗エストロゲン化合物またはアロマターゼ阻害薬、(治療に関連する任意の心筋機能不全を予防または減少させるための)心保護薬、サイトカイン、EGFR標的薬(TARCEVA(登録商標)、IRESSA(登録商標)またはセツキシマブ等)、チロシンキナーゼ阻害薬、COX阻害薬(例えばCOX-1またはCOX-2阻害薬)、非ステロイド系抗炎症薬、セレコキシブ(CELEBREX(登録商標))、ファルネシル基転移酵素阻害薬(例えば、Johnson and Johnsonから市販されているTipifarnib/ZARNESTRA(登録商標)R115777、またはSchering-Ploughから市販されているLonafarnib SCH66336)、Oregovomab(MoAb B43.13)等の癌胎児蛋白CA 125と結合する抗体、HER2ワクチン(PharmexiaのHER2 Autovac ワクチン、またはDendreonのAPC8024タンパク質ワクチン、またはGSK/CorixaのHER2ペプチドワクチン)、別のHER標的治療薬(例えば、トラスツズマブ、セツキシマブ、ABX-EGF、EMD7200、ゲフィチニブ、エルロチニブ、CP724714、CI1033、GW572016、IMC-11F8、TAK165等)、Raf及び/またはras阻害薬(例えばWO2003/86467を参照のこと)、ドキシソルピシンHClリボソーム注入(DOXIL(登録商標))、トポテカン等のトポイソメラーゼ1阻害薬、タキサン、ラパチニブ/GW572016等のHER2及びEGFR二重チロシンキナーゼ阻害薬、TLK286(TELCYTA(登録商標))、EMD-7200、セロトニンアンタゴニスト、ステロイド、またはベンゾジアゼピン等の悪心を治療する医薬品、局所的または経口抗生物質を含む皮疹を予防ま

30

40

50

たは治療する医薬品または標準的にきび治療、下痢を治療または予防する医薬品、アセトアミノフェン、ジフェンヒドラミンまたはメペリジン等の体温降下薬、造血因子のうちの1つまたは複数が挙げられる。

【0133】

上述の同時投与薬剤の適切な投与量は、現在使用している用量であり、薬剤及び間質標的薬、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））阻害薬の組み合わせ作用（相乗）があるために低くしてもよい。上述の治療レジメンの他に、患者に腫瘍及び/または癌細胞の切除手術、及び/または放射線治療を行ってもよい。

【0134】

間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））及び化学療法薬が抗体である場合、好ましくは、投与される抗体は裸の抗体である。投与される間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））及び化学療法薬は、細胞傷害性薬と複合してもよい。好ましくは、複合体及び/または結合される抗原は、細胞によって内部移行され、複合体に結合する癌細胞を殺す当該複合体の治療効果が増加する。好ましい実施形態では、細胞障害性薬は、癌細胞の核酸を標的または干渉する。当該細胞障害性薬の例として、マイタンシノイド、カリチアマイシン、リボヌクレアーゼ、及びDNAエンドヌクレアーゼが挙げられる。

【0135】

投与される間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））及び化学療法薬は、遺伝子治療によって投与することができる。例えば、細胞内抗体を生成するために遺伝子治療の使用に関する、1996年3月14日に公開されたWO96/07321を参照のこと。核酸を患者の細胞に入れる（任意にベクターに含まれる）には、*in vivo*と*ex vivo*の2つの方法が主にある。*in vivo*送達については、核酸を患者、通常は抗体を必要とする部位に直接注入する。*Ex vivo*治療については、患者の細胞を取り除き、核酸をこれらの単離した細胞に導入し、改変した細胞を患者に直接投与するか、例えば、多孔性膜内でカプセル化して患者に移植するかのいずれかで投与する（米国特許第4,892,538号及び同5,283,187号を参照のこと）。核酸を生きている細胞に導入するために使用することができる様々な方法がある。当該技術は、核酸を*in vitro*で培養細胞に移動するか、*in vivo*で意図した宿主の細胞に移動するかによって変化する。*in vitro*で核酸を哺乳動物の細胞に移動する適切な方法として、リポソームの使用、電気穿孔法、微量注入法、細胞融合、DEAE-デキストラン、リン酸カルシウム沈殿法等が挙げられる。通常使用される遺伝子の*ex vivo*送達のベクターは、レトロウイルスである。現状、好ましい*in vivo*の核酸移動技術として、ウイルスベクター（アデノウイルス、単純ヘルペスウイルスI型、またはアデノ関連ウイルス）及び脂質に基づく系（遺伝子の脂質媒介性移動に有用な脂質は、例えばDOTMA、DOPE及びDC-Cholである）を用いるトランスフェクションが挙げられる。いくつかの状況では、核酸の供給源を、細胞表面膜タンパク質または標的細胞に特異的な抗体、標的細胞上の受容体についてのリガンド等の、標的細胞を標的とする薬剤とともに提供することが望ましい。リポソームを使用する場合、エンドサイトーシスに関連する細胞表面膜タンパク質に結合するタンパク質を、例えば、特定の細胞タイプに向性のカプシドタンパク質またはその断片、循環に内部移行するタンパク質の抗体、及び細胞内局所化を標的とし、細胞内半減期を増加させるタンパク質を標的とし、及び/またはそれらを容易に取り込むために使用してもよい。受容体媒介性エンドサイトーシスは、例えばWu et al., J. Biol. Chem. 262: 4429-4432 (1987); 及びWagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 3410-3414 (1990)に記載されている。現在

10

20

30

40

50

知られている遺伝子作製及び遺伝子治療プロトコルの概説については、Anderson et al., Science 256: 808 - 813 (1992)を参照のこと。また、WO93/25673及びそこに記載の参考文献を参照のこと。

【0136】

V. 用量及び製剤

間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））は、非経口的、肺内、及び鼻腔内、ならびに局所的治療が所望される場合は、病変内投与を含む任意の好適な手段により投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、任意の好適な経路により、例えば投与が短時間であるかそれとも慢性的であるかに部分的に応じた、静脈内注射または皮下注射などの注射により、行うことができる。単回または種々の時点にわたる複数回投与、ボラス投与、及びパルス注入を含むが、これらに限定されない、種々の投薬スケジュールが本明細書で企図される。

10

【0137】

間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））は、良質な医療実務と一致する形で、製剤、投薬、投与されてよい。この文脈における考慮の要因には、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床的病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、及び医療従事者に既知の他の要因が含まれる。投与される間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体））及び化学療法薬は、問題の障害を予防するかまたは治療するために現在使用される1つまたは複数の薬剤である必要はないが、任意でそれらと共に製剤されてもよい。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、及び上に考察された他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投薬量で、本明細書に記載される投与経路により、または本明細書に記載される投薬量の約1~99%、または適切であると経験的/臨床的に決定される任意の投薬量で、任意の経路によって、使用される。

20

【0138】

疾患の予防または治療のために、本発明の治療薬の適切な投薬量（単独でまたは1つまたは複数の他の追加の治療剤と組み合わせて使用されるとき）は、治療対象の疾患の種類、薬剤の種類、疾患の重症度及び経過、薬剤が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療法、患者の病歴及び薬剤への応答、ならびに主治医の裁量に依存するであろう。当該薬剤は、好適には、1回、または一連の治療にわたり、患者に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば、1回または複数回の別個の投与によるものであれ、連続注入によるものであれ、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ~ $15\text{mg}/\text{kg}$ の薬剤が、患者への投与のための初期候補投薬量であり得る。1つの典型的な1日の投薬量は、上述の要因に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ~ $100\text{mg}/\text{kg}$ またはそれ以上の範囲に及び得る。病態に応じて数日間またはより長い日数にわたる反復投与について、治療は、一般に、疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続されるであろう。薬剤の1つの例示的な投薬量は、約 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ ~約 $10\text{mg}/\text{kg}$ の範囲内となる。したがって、約 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $2.0\text{mg}/\text{kg}$ 、 $4.0\text{mg}/\text{kg}$ 、または $10\text{mg}/\text{kg}$ （もしくはこれらの任意の組み合わせ）の1回以上の用量が患者に投与され得る。かかる用量は、断続的に、例えば、毎週または3週間毎に（例えば、患者が抗体の約2~約20回、または例えば、約6回用量を受容するように）投与されてもよい。しかしながら、他の投薬レジメンが有用な場合がある。この治療法の進行は、従来技術及びアッセイによって容易に監視される。

30

40

【0139】

ある特定の実施形態では、間質標的薬（例えば抗POSTN抗体）、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬（例えばVEGFアンタゴニスト（例えばベバシズマブ等の抗VE

50

G F抗体)は、37.5mgの一定用量(すなわち体重に依存しない)、または125mgの一定用量、または250mgの一定用量で投与される。ある特定の実施形態では、当該用量は、一定期間、4週毎に1回皮下注射される。ある特定の実施形態では、当該一定期間は6カ月、1年、2年、5年、10年、15年、20年または患者の一生の期間である。

【0140】

別の実施形態では、患者は、化学療法耐性である癌を有していると決定され、抗POSTN抗体または前述の任意の治療薬による治療を受けるように選択される。1つの実施形態では、癌患者は18歳以上である。1つの実施形態では、癌患者は12~17歳であり治療薬は、250mgの一定量、または125mgの一定量として投与される。1つの実施形態では、癌患者は6~11歳であり、治療薬は、125mgの一定量として投与される。

10

【0141】

VI. 製品

本発明の別の態様において、上述の障害の治療、予防、及び/または診断に有用な物質を含有する製品が提供される。製品は、容器、及び容器上のまたは容器と関連したラベルまたは添付文書を含む。好適な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグ等が挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなど、様々な材料から形成され得る。容器は、組成物を、それ自体で、または病態を治療する、予防する、及び/もしくは診断するのに有効な別の組成物と組み合わせて保有し、また滅菌アクセスポートを有し得る(例えば容器は、静脈注射用溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を有するバイアルであり得る)。組成物中の少なくとも1つの活性剤は、本発明の薬剤である(例えば、間質標的薬(例えば抗POSTN抗体)、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬(例えばVEGFアンタゴニスト(例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体))。ラベルまたは添付文書は、組成物が選定した病態を治療するために使用されることを表示する。さらに、製品は、(a)組成物が中に含有された第1の容器(この組成物は薬剤(例えば間質標的薬(例えば抗POSTN抗体)、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬(例えばVEGFアンタゴニスト(例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体)))を含む、及び(b)組成物が中に含有された第2の容器(この組成物はさらなる細胞傷害性薬剤またはそうでなければ治療剤を含む)を含んでもよい。本発明のこの実施形態の製品は、組成物が特定の病態を治療するために使用され得ることを表示する、添付文書をさらに含んでもよい。代替または追加として、製品は、注射用静菌水(BWFI)、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液といった、薬学的に許容される緩衝液を含む第2(または第3)の容器をさらに含んでもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、及びシリンジを含む、商業的及びユーザの立場から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。任意の上述の製品は、薬剤(例えば、間質標的薬(例えば抗POSTN抗体)、免疫調節薬、及び/または抗血管新生薬(例えばVEGFアンタゴニスト(例えばベバシズマブ等の抗VEGF抗体))の代わりにまたはその他に、本発明の免疫複合体を含んでもよいことが理解される。

20

30

【実施例】

40

【0142】

一次治療薬に対する化学療法耐性に関連する重要な分子特性を探索し、機能的に特徴化し、独立して検証するために、系統的で徹底した分析を行った。探索については、一次化学療法の治療に臨床的に明確に回答し、適合した臨床病理学的特徴を有する患者のセットを選択した。独立した検証試験については、代表的なintended-to-treat(ITT)患者集団及び明確な臨床的特徴、明確に注解された臨床回答、及び患者の転帰を有する第III相臨床試験の化学療法対照群に割り付けられた患者から得た組織試料を使用した。探索試験では、反応性間質シグネチャーが、白金耐性(Plat-R)原発性腫瘍と特に関連があると同定され、Plat-R再発性腫瘍においてさらに上方制御された。当該シグネチャーを、独立データセットでさらに検証し、第一線の白金系化学療

50

法についての患者の転帰を予測するときの臨床的有用性を証明した。これらの所見は、原発性化学療法耐性卵巣癌の患者を識別する診断戦略を提供し、一次化学療法に対する応答を予測するためのバイオマーカーに基づく試験を提供する。

【0143】

材料及び実験方法

患者及び腫瘍試料

当該試験は、それぞれ探索及び検証のために、2組の卵巣癌コホートから構成された。

【0144】

探索セットは、58名の患者の85個の高グレードの漿液性または類内膜卵巣癌から構成された。これらの患者の臨床的特徴は表6に記載し、高グレード卵巣上皮癌の患者の典型的な臨床的特性を表す。58名の全患者は、最初に白金とタキサンとの併用で治療を受けた。このうち、32名の患者が原発性白金耐性腫瘍を有しており（第一線白金系化学療法の完了後6カ月以内に疾患の再発または進行した）、26名の患者は白金感受性腫瘍を有していた（第一線化学療法の12カ月以内に再発または進行がなかった）。全患者の腫瘍試料を第一線化学療法の前に採取した。32名の白金耐性患者のうち27名はまた、疾患の再発時に患者適合型腫瘍試料も採取した。全ての探索セットの腫瘍試料は、商用品から得て、適切な機関の承認を有していた。

【0145】

検証セットは、第III試験の化学療法治療群138名の患者から138個の高グレードの漿液性または類内膜卵巣癌から構成され、新たに卵巣癌であると診断を受けた女性において、標準化学療法と、標準化学療法にベパシズマブを追加した治療との効果を調査した。これらの患者の臨床的特徴を表9に記載する。

【0146】

全ての腫瘍組織は病理学者によるレビューを受け、診断及び腫瘍内容を確認した。ホルマリン固定及びパラフィン包埋（FFPE）腫瘍組織にmacro-dissectionを行い、腫瘍の割合を70%超まで濃縮した。High Pure FFPE RNA Micro Kits（Roche Diagnostics、Indianapolis、IN、USA）を使用して、全RNAを精製した。QIAamp DNA FFPE Tissue Kits（Qiagen、CA）を使用してFFPE腫瘍DNAを調製した。

【0147】

卵巣癌バイオマーカーNanostringパネルを使用した遺伝子発現のプロファイリングカスタムNanostring 800 GX CodeSetをデザインし、卵巣疾患生物学に関連性のある800個のバイオマーカー及び対照の発現を測定し、それにはサブタイプ及び予後分類子、流出ABCトランスポーター、ならびに化学耐性、免疫、及び血管新生マーカー（完全な遺伝子リストについては表5を参照のこと）を含んでいた。Nanostring nCounter Analysis Systemを製造者のプロトコル（Nanostring Technologies）に従い使用して200ngのRNAを分析した。出力された生カウント値を、各試料についての800アッセイ全ての中央カウント値によって正規化した。

表5．完全な遺伝子リスト

10

20

30

40

AADAC	CAV1	CUTA	FZD5	KIAA0247	MUC16	PSMC4	SRC
ABCA1	CCL2	CX3CL1	G6PD	KIAA1033	MVP	PSTPIP1	SREBF2
ABCA10	CCL21	CXCL1	GAD1	KIF1A	MXRA8	PTEN	SRGN
ABCA13	CCL22	CXCL10	GADD45A	KIF23	MYBL2	PTGER2	SRPX2
ABCA2	CCL28	CXCL11	GALNT10	KIF2C	MYC	PTGER4	SSH3
ABCA3	CCL3	CXCL12	GAPDH	KIF4A	MYCN	PTGS2	ST6GAL1
ABCA7	CCL5	CXCL13	GAS6	KIFC1	MYCT1	PTPRB	STAT1
ABCA8	CCNA2	CXCL2	GAS7	KIT	MYO1B	PTPRC CD45_a11	STAT3
ABCB1	CCNB1	CXCL9	GBP1	KITLG	MYO5C	PTPRC CD45R0	STAT5A
ABCB10	CCND1	CXCR3	GCNT1	KLK6	NANOG	PTPRC CD45RA	STEAP1
ABCB6	CCND2	CXCR4	GCNT1	KLK7	NAT1	PTTG1	STEAP3
ABCB7	CCNE1	CXXC5	GCNT1	KLRK1	NBL1	PTTG1IP	STMN1
ABCB8	CCR5	CYFIP2	GDF15	KRAS	NCAM1	QPRT	SUMO1
ABCB9	CCR7	CYR61	GFRA1	KRT14	NCAPH2	RAB25	SUPT5H
ABCC1	CD14	CYTH3	GGH	KRT17	NDC80	RAB40B	TAP1
ABCC3	CD163	DAP	GIMAP5	KRT18	NEBL	RABEP2	TBX21
ABCC4	CD1C	DDB2	GIPC1	KRT19	NEO1	RAC1	TC2N
ABCC6	CD247	DDIT4	GJB1	KRT5	NETO2	RAC2	TCEAL1
ABCC9	CD27	DDR2	GLDC	LAG3	NF1	RAD21	TCF15
ABCD1	CD274	DLC1	GLS	LAIR1	NFKB1	RAD51	TCF7L1
ABCD3	CD276	DLGAP4	GMPR	LAMA4	NFKBIB	RAD51AP1	TD02
ABCG1	CD28	DLL4	GOT1	LAMB1	NID1	RAD51C	TFF1
ABCG2	CD36	DNAJB5	GPC3	LAPTM5	NID2	RAE1	TFPI2
ACKR3	CD38	DTX4	GPC4	LCK	NMI	RAF1	TFRC
ACOT13	CD3D	DUSP4	GPM6B	LCN2	NNMT	RARRES2	TGFB1
ACTA2	CD3E	DUSP6	GPR160	LDHA	NOTCH1	RARRES3	THBS1
ACTB	CD4	E2F6	GPRC5A	LDHB	NOTCH2	RASGRP3	TIAM1
ACTR3B	CD40	EBNA1BP2	GSTM1	LGALS1	NOTCH3	RASIP1	TIGIT
ACVRL1	CD40LG	ECH1	GTF2F2	LGALS3	NOTCH4	RASSF1	TIMP1
ADAMDEC1	CD44	EDNRB	GUCY1B3	LGALS3	NPEPPS	RB1	TIMP3
ADCK3	CD47	EFNB2	GUSB	LGALS4	NREP	RBP4	TJP3
ADIPOR2	CD48	EFS	GZMA	LGALS8	NRG1	RBP7	TLCD1
ADRM1	CD68	EGFL7	GZMB	LGALS9	NRP1	RECK	TMEFF1
AGFG2	CD69	EGFR	GZMK	LGR5	NSG1	RERG	TMEM3OB
AGR2	CD70	EIF3K	HAVCR2	LIPC	NT5E	RET	TMEM45B
AHNAK2	CD79B	EIF4A1	HBEGF	LOX	NUAK1	RFC1	TMEM5

10

20

30

40

							5B
AIM2	CD80	EIF4B	HDAC1	LRIG1	NUDT1	RFC4	TMEM8 8
AKAP12	CD86	ELF4	HDAC4	LRP4	NUF2	RGL2	TMPRS S4
AKT1	CD8A	ELTD1	HES1	LUC7L2	NUP98	RGS1	TNF
AKT2	CDC2	EMCN	HEY1	LY6E	OPA3	RGS5	TNFRS F14
AKT3	CDC20	ENG	HGF	MAD2L1	ORC6	RHOBTB3	TNFRS F4
ALDH1A1	CDC25B	ENPP3	HHEX	MAML1	PAGR1	RHOJ	TNFRS F9
ALDH5A1	CDC25C	EOMES	HIF1A	MAML2	PAK1	RIN1	TNFSF 4
ALG13	CDC42	EPCAM	HLA-A	MAML3	PAK4	RND3	TNFSF 9
ALPP	CDC6	EPHA4	HLA-DOB	MAML1	PAK6	RNF103	TOP1
ALS2CL	CDCA7L	EPHB4	HLA-E	MAN1A1	PALB2	RNF125	TOP2A
ANGPT1	CDCA8	ERBB2	HMG2	MAP2	PALLD	ROBO4	TOX
ANGPT2	CDH1	ERBB3	HMMR	MAP2K1	PARD6B	RORC	TP53
ANGPTL1	CDH2	ERBB4	HNF1B	MAP2K2	PARP1	RPS16	TP53T G5
ANGPTL2	CDH3	ERCC1	HOXA10	MAP2K4	PCDH12	RPS6KA1	TP63
ANLN	CDH5	ESM1	HOXA11	MAP3K5	PCDH17	RPS6KA2	TP73
ANXA1	CDH6	ESR1	HOXA5	MAP4K1	PCNA	RRM1	TPST1
ANXA4	CDK1	ESR2	HOXA7	MAPK1	PCOLCE	RRM2	TRIM2 7
APEX1	CDK4	ETS1	HOXA9	MAPK14	PDCD1	RUNX1	TRIP1 3
APH1B	CDKN1A	EVI2A	HOXC6	MAPK3	PDCD1LG2	RUNX3	TRO
APLN	CDKN1C	EXO1	HOXD10	MAPK8	PDCD4	RXRB	TSC1
APOA1	CDKN2A	EXOC6B	HSP90AA1	MAPRE1	PDGFRA	S100A10	TSC2
APOBEC3G	CDKN3	EZH1	HSPA13	MAPRE2	PDGFRB	S100A9	TSPAN 8
AREG	CEACAM5	F2R	HSPA1L	MARCH6	PDP1	SALL2	TTF1
ARF5	CENPE	FAM111A	HSPB7	MARCKS	PDPN	SAMD4B	TTPAL
ASAP3	CENPF	FAM174A	ICAM1	MARCKSL1	PDZK1IP1	SAMSN1	TUBA4 A
ATAD2	CEP55	FAM198B	ICAM2	MARK4	PECAM1	SASH1	TUBB2 A
ATM	CH25H	FAM214A	ICOS	MCAM	PEX6	SCD	TWIST 1
ATR	CHEK1	FAM8A1	ID1	MCL1	PGF	SDF2L1	TXNDC 5
AURKA	CHEK2	FANCA	IDO1	MCM2	PGR	SEMA6A	TYMP
AURKB	CHIT1	FANCD2	IFI16	MCM3	PHGDH	SERPINF1	TYMS
AXIN2	CHMP4C	FANCF	IFI30	MDM2	PHKA1	SFRP1	TYRO3
B4GALT5	CIITA	FAP	IFNG	MECOM	PHLDA1	SFRP4	UBD

10

20

30

40

BACE2	CITED2	FASN	IGF1R	MED16	PHLDA3	SH3PXD2A	UBE2C
BAD	CKS1B	FBLIM1	IGFBP2	MEF2C	PHLPP2	SIRT5	UBE2L6
BAG1	CLDN3	FBLN1	IGFBP3	MELK	PI3	SKP1	UBE2T
BAMBI	CLDN4	FBXL18	IGFBP7	MERTK	PIK3CA	SLA	UCHL1
BAX	CLDN5	FBXO5	IGSF3	MEST	PIK3CB	SLC2A1	UNC5B
BBC3	CLDN6	FBXW7	IL10	MET	PIK3CD	SLC31A2	URI1
BCAT1	CLEC14A	FCER1G	IL12A	MFAP2	PIK3CG	SLC34A2	UTP20
BCL2	CLEC5A	FCRL5	IL17A	MGAT5	PIK3IP1	SLC37A1	VCAM1
BCL2L1	CLU	FGF1	IL1B	MGLL	PK1A	SLC37A4	VEGFA
BCL2L11	COL15A1	FGF2	IL21R	MGMT	PLAU	SLC39A6	VEGFB
BEX1	COL18A1	FGFR1	IL2RA	MIA	PLEKHM1	SLC3A1	VEGFC
BGN	COL4A1	FGFR2	IL6	MICA	PLEKH01	SLC4A4	VIM
BIRC5	COL4A2	FGFR3	IL7R	MICB	PLK1	SLC7A11	VPS33B
BLCAP	COL4A5	FGFR4	IL8	MIS18A	PLVAP	SLIT2	VPS52
BLMH	COL4A6	FJX1	INADL	MITF	PMAIP1	SLPI	VTCN1
BLVRA	COL5A1	FLT1	INSIG1	MKI67	PMEPA1	SMARCD1	WAS
BMP4	COL8A1	FN1	INSR	MLH1	PMVK	SNAI1	WBP4
BNIP3	COL9A1	FOLR1	IRF2BP1	MLPH	PODXL	SNAI2	WDR45B
BRAF	COPS3	FOS	IRS1	MMP10	POLD1	SNCA	WDR77
BRCA1	CPE	FOSL1	IRS2	MMP11	POSTN	SNRPA1	WFDC2
BRCA2	CRB3	FOXA1	ITGAM	MMP12	POU5F1	SOD2	WIPF1
BST2	CRYAB	FOXA2	ITGB6	MMP14	PPIA	SORL1	WNT2
BTG2	CSF1	FOXC1	JAG1	MMP3	PPP1R13L	SOX11	XIAP
BTLA	CSF1R	FOXC2	JAG2	MMP7	PRAME	SOX18	XPO4
C11orf30	CSF2	FOXM1	JUN	MMRN2	PREP	SOX2	ZC3H13
C12orf5	CSNK1A1	FOXO1	KCNE3	MRPS12	PREX2	SP2	ZEB1
C1orf116	CST6	FOXO3	KDELC1	MS4A1	PRF1	SPARC	ZEB2
C2CD2L	CTGF	FOXP3	KDM2B	MSLN	PRKDC	SPARCL1	ZFHX4
CA9	CTLA4	FSCN1	KDM5A	MST1R	PROM1	SPATS2	ZMAT3
CACNA1C	CTNNB1	FUT2	KDM5B	MTAP	PRSS16	SPDEF	ZNF12
CALD1	CTNBL1	FXYD2	KDR	MTCH1	PRSS2	SPRY2	ZNF76
CASP1	CTPS2	FYN	KIAA0040	MUC1	PSAT1	SPRY4	ZNF780B

10

20

30

40

50

【0148】

統計分析

無増悪生存期間は、ランダム化を行った日から疾患の進行または死亡の最初の徴候をどちらか最初に発生した日までを計算し、最後の非進行性疾患（PD）腫瘍評価の時点で、疾患の進行がなく生きている患者のデータを打ち切った。全生存期間は、ランダム化を行った日から何らかの原因で死亡した日までを計算し、患者が生きていた直近の日付で、依然として生存している患者のデータを打ち切った。生存分析は、バイオマーカー高群と低群との間の無増悪生存期間の分布の差について、対数順位検定を使用して行った。中央値の生存期間は、カプラン・マイヤー法による積極限推定を使用して計算した。

【0149】

Plat-SとPlat-R原発性腫瘍との遺伝子発現の差を比較するために、2試料

の t 検定を使用した。Plat-R 適合型原発性腫瘍と転移性腫瘍との遺伝子発現の差を比較するために、対応 t 検定を使用した。両側 p 値は、Benjamini Hochberg 法を使用して、偽発見率 (FDR) について制御することによって、複数の比較のために導き出し、調整した。

【0150】

RNA in situ ハイブリダイゼーション (RNA ISH) アッセイ Duplex POSTN/LOX 及びシングルプレックス FAP RNA scope (登録商標) in situ ハイブリダイゼーション (ISH) を、Advanced Cell Diagnostics、Hayward、CA でデザインし、実装し、スコア付けを行った。FAP (NM_004460.2, nt 237-1549) の単一色プローブは、あらかじめ設計されており、市販されていた。デュアルカラー対ダブル Z オリゴヌクレオチドプローブを、Wang et al., J Mol Diagn 14:22-29 (2012) に記載のカスタムのソフトウェアを使用して、LOX (GenBank 受託番号 NM_001178102.1, nt 223-1725) 及び POSTN (NM_006475.2, nt 13-1199) RNA に対して設計した。RNA scope (登録商標) 2-プレックス Chromogenic Reagent Kit 及び RNA scope (登録商標) 2.0 HD Brown Reagent Kit を使用して、4 µm のホルマリン固定、パラフィン包埋 (FFPE) 組織切片上で、製造者の指示に従って、RNA ISH を実施した。ハウスキーピング遺伝子シクロフィリン B (PPIB) 及び RNA ポリメラーゼサブユニット IIA (Polr2a) に特異的なデュアルカラープローブで、各試料の RNA の品質を評価した。細菌 dapB 遺伝子に特異的なプローブを使用して、負対照バックグラウンド染色を評価した。ハウスキーピング遺伝子プローブ染色による細胞あたり平均 4 個超のドットを有する試料、及び負対照染色による 10 細胞あたり平均 1 個未満のドットを有する試料だけを、標的プローブによってアッセイした。技術的及びスコア付けの精度を検証するために、FFPE HeLa 細胞ベレットから構成される参照スライド (reference slide) を、組織 FFPE スライドと一緒に、PPIB 及び dapB について試験を行った。明るい領域は、40 倍の対物レンズを使用して Zeiss Axio Imager M1 顕微鏡を使用して得た。RNA scope シグナルに、以下のように、細胞当たりのドット数に基づいてスコアを付けた、クラスター中の 10% 超のドットにおいて、0 = 0 ドット / 細胞、1 = 1 ~ 3 ドット / 細胞、2 = 4 ~ 9 ドット / 細胞、3 = 10 ~ 15 ドット / 細胞、及び 4 = 15 超 ドット / 細胞。マーカーの発現における異質性を評価するために、H スコア分析を行った。各スコアカテゴリにおいて、細胞の割合を合計し、対応するスコアを掛けることによって H スコアを計算し、ここでスコアはスケール 0 ~ 400 である。

【0151】

免疫組織化学

スライドガラス上に乗せた、4 µm 厚のホルマリン固定、パラフィン包埋組織切片で、免疫組織化学 (IHC) を行った。FAP (GNE、クローン 10D2.1.1)、平滑筋 アクチン (SMA) (AbCam、Cambridge、MA)、及び POSTN (BioVendor、Asheville、NC) に対する一次抗体を使用した。Trilogy (Cell Marque、Rocklin、CA) 抗原検索を使用して、DAKO 自動染色装置 (Autostainer) で FAP 染色を行った。ウマ抗マウスビオチン化二次抗体 (Vector Labs、Burlingame、CA)、次に TSA 増強を有するストレプトアビジン HRP (PerkinElmer、Waltham、MA) 及び DAB 視覚化 (Pierce、Rockford、IL) を検出のために使用した。Ventana Discovery XT 自動プラットフォーム (Ventana Medical Systems、Tucson、AZ) 上で、SMA 及び POSTN 染色を行った。切片は、Cell Conditioner 1、標準時間で処理した。特異的に結合される一次抗体を、OmniMap 抗 Rabbit-HRP (Ventana Medical Systems、Tucson、AZ)、次に ChromoMap

DAB (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ)において、切片をインキュベートすることによって検出した。切片を、ヘマトキシリンで対比染色し、脱水し、カバーガラスをかけた。

【0152】

線維形成のH&E評価

腫瘍の侵襲に伴う間質の活性化を証明するために、探索する腫瘍試料の代表的なH&E染色切片(原発性Plat-S、患者適合型Plat-R原発性、再発性腫瘍を含む全85個)を調査し、線維形成スコアを割り当てた。組織損傷、壊死、浮腫のため、または存在する間質が限定されていたために、使用できる代表的な切片にスコアを付けることが困難な場合があった。線維形成は、常在性の非活性化線維芽細胞と区別される筋線維芽細胞の密度及び組織崩壊の増加によって代表される線維化領域として識別された。使用した線維形成スコアシステムは、Tothill et al. Clin Cancer Res. 14:5198-5298, 2008によって報告されたシステムと同様である。線維形成のスコアは以下のように定義された。0 = 線維形成なし、1 = 癌細胞に隣接している2、3の散在した線維形成性病巣、2 = 癌細胞に隣接しているいくつかの線維形成性病巣または中度にコンフルエントな(より広い)線維形成、しかし、切片全体には存在していない、3 = 切片全体の線維形成応答。

10

【0153】

TP53変異状態

以前に開発したMMP-Seq標的化癌パネルを使用して、TP53遺伝子全体の全てのエキソン及びエキソン-イントロン接合部で、ディープシーケンシングを行った。FFPE DNA試料の品質を、TRAK2 qPCR「rulerアッセイ」を使用して機能的コピーの数として定量化した。Fluidigm Access Arrayを使用して、各試料からのDNAの5000個の機能的コピーを、ターゲットエンリッチメント(target enrichment)及びライブラリ構築の入力として使用し、次にIllumina MiSeqシーケンサー上でディープシーケンシングを行った。TP53遺伝子の平均カバー度は、アンプリコンあたり約1000倍であった。配列アライメント、主要変異体呼び出し(primary variant calling)、及びフィルタリングは、Bourgon et al., Clin Cancer Res 20:2080-2091(2014)に記載のように行った。

20

30

【0154】

リアルタイムPCRによるコピー数多様性分析

ゲノムホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)DNA(200ng)を、各50nMの35対の遺伝子特異的プライマーのプール、及び製造者のプロトコルに従ってTaqman Pre-amplification Master Mix(Life Technologies)を使用して、17サイクルの事前増幅に供した。事前に増幅した試料を希釈し、BioMark(商標)システムのFluidigm 96.96 Dynamic Arraysを使用してqPCRを行った。端的には、試料混合物は、DNA、Taqman gene Expression Master Mix(Life Technologies)、DNA結合試料充填試薬(Fluidigm)及びEva Green染料(Biotium)を含んでいた。アッセイ混合物は、遺伝子特異的プライマー対及び試料充填試薬(Fluidigm)を含んでいた。Ct決定及び融解曲線分析は、Fluidigmの遺伝子分析ソフトウェアを使用して行った。相対的な遺伝子コピー数は、グローバルDelta-Delta Ct方法を使用して計算した。最初に、各試料中の全遺伝子の中央値Ctを、参照として使用し、試料DNAの入力を正規化し、デルタCtを計算した。個々の遺伝子について全試料の中央値のデルタCtを、2コピーキャリブレーション試料として使用した。結果は各遺伝子についての3つのプライマー対の平均である。

40

【0155】

細胞ベースアッセイ

50

卵巣細胞株 ES - 2 を ATCC から得て、10% の FBS 及び 2 mM のグルタミンを有する RPMI 1640 培地で培養した。96 ウェルプレートを最初に組換え全長 FN1 (カタログ番号 F2006、Sigma-Aldrich、St. Louis、MO)、POSTN (カタログ番号 3548-F2、R&D Systems、Minneapolis、MN) でコーティングし、または 37 で 2 時間、もしくは 4 で 16 時間コーティングしないままにした。コーティングしたプレートに、3,000 細胞/ウェルで、細胞を蒔いた。翌日、10 μM のカルボプラチンまたは 10 nM のバクリタキセルを各ウェルに添加した。細胞の生存率を測定するために化合物処理の 72 時間後に、Cell-Titre Glo (登録商標) 試薬を添加した。コーティングされたウェルの生存率をコーティングされていないウェルの生存率と比較し、増殖利益%を計算した。

10

【0156】

実施例 1 . 原発性化学療法耐性卵巣癌において上方制御される「反応性間質」遺伝子シグネチャーの識別

EOC における原発性化学療法耐性に関連する分子特徴を識別するために、一次化学療法に臨床的に明確に应答する高グレードの漿液性または類内膜卵巣腫瘍のセットを選択した (表 6)。この探索セットは、32 名の原発性化学療法耐性患者及び 26 名の一次化学療法に感受性のある患者からの腫瘍試料から構成された。全て患者が、第一線化学療法として白金とタキサンの併用による治療を受けた。原発性化学療法耐性の患者は、第一線白金系化学療法の完了から 6 カ月以内に疾患の再発または進行を有したことがあることに基づいて選択され、化学療法感受性患者は、一次化学療法から 12 カ月以内に再発または進行を有することがなかったことに基づいて選択された。32 名の化学療法耐性患者のうち 27 名は、化学療法の前に、患者適合型原発性腫瘍試料を採取し、疾患の進行時の治療後に再発性腫瘍試料を採取した (Plat-R 原発性及び Plat-R 再発性としてそれぞれ言及されている)。26 名の化学療法感受性患者については、治療前の原発性腫瘍試料だけを分析に使用した (Plat-S 原発性として言及されている)。

20

表 6 . 探索試験における患者の臨床病理学的特徴

	白金耐性 (N=32)	白金感受性 (N=26)
年齢:中央値 (範囲)	56 (28 - 76)	47.5 (28 - 64)
ステージ:		
I	1 (3.1%)	6 (23.1%)
II	-	-
III	31 (96.9%)	20 (76.9%)
IV	-	-
組織診断:		
漿液性	30 (93.8%)	25 (96.2%)
類内膜	2 (6.2%)	1 (3.8%)
PFI (白金のない期間): 一次タキサン治療の終了から 中央値 (月)	4.4 (3.9, 5.0)	達せず (NA, NA)
95%信頼区間の事象	32	0
OS 手術から 中央値 (月)	21.9 (20.0, 31.5)	達せず (NA, NA)
95%信頼区間の事象	25	0

30

40

【0157】

白金系化学療法への应答と相関する遺伝子発現シグネチャーを探索した。Plat-R 原発性、Plat-R 再発性、及び Plat-S 原発性試料において、Nanostring platform で作製した 800 個の遺伝子卵巣癌バイオマーカーパネル (表 5

50

)を使用して、遺伝子発現プロファイリングを行った。化学療法前の32個のPlat-Rと26個のPlat-S原発性腫瘍を比較する2試料のt検定で、2群間で有意に差示的に発現する14個の遺伝子を同定した(FDR 10%及び倍数変化 1.5、表7)。Plat-R腫瘍において上方制御される遺伝子は、固有の「反応性間質」シグネチャーを表し(図1A)、ECM産生及び再構築遺伝子(すなわち、POSTN、FAP、LOX、TIMP3、COL4A1)、細胞移動及び侵襲に關与する遺伝子(すなわち、NUAK1)、ならびに免疫調節に關与する遺伝子(すなわち、TDO2)を高度に富化した。一方で、化学療法感受性腫瘍に關連する鍵遺伝子として、プロゲステロン受容体(PGR)、胎盤型アルカリホスファターゼ(ALPP)、及び線維芽細胞増殖因子4(FGFR4)遺伝子が挙げられる。治療前に患者適合型原発性腫瘍試料を採取し疾患進行時における治療後に再発性腫瘍試料を採取した27名のPlat-R患者については、再発性腫瘍を特徴付ける遺伝子シグネチャーについて調査するために、さらなる分析を行った。対応t検定では、原発性と再発性耐性腫瘍間で、有意に差示的に発現する65個の遺伝子を同定した(FDR 10%及び倍数変化 1.5、表8)。また、腫瘍間質成分を表す特徴的な遺伝子は、活性化線維芽細胞マーカー(ACTA2)、ECM産生及び再構築酵素(すなわちPOSTN、FAP、FN1、TIMP3、LOX、MMP11)、増殖因子(すなわちFGF1)、免疫関連遺伝子(すなわちCD36、GZMK、CD247)、ならびに血管内皮性マーカー(すなわちPLVAP及びPECAM(抗原CD31))、及び増殖因子(すなわちANGPL2)を含む再発性腫瘍(図1B)で有意に上方制御された36個の遺伝子の中で、高度に富化した。治療前の原発性腫瘍に比べ、再発性Plat-R腫瘍における有意に下方制御された29個の遺伝子は、エストロゲン受容体(ESR1及びESR2)及び他の分化された内皮細胞マーカー(MUC1、KLK6、KLK7)(図1B)であった。原発性及び再発性Plat-R腫瘍を特徴付ける2つのシグネチャーの比較では、(1)互いに高度に相関し(図2)、(2)Plat-S原発性腫瘍に比べPlat-R原発性腫瘍において有意に上方制御され、(3)Plat-R再発性腫瘍において、化学療法治療後にさらに誘発した発現レベルを有する(図1C及び1D)、4つの共通の反応性間質シグネチャー遺伝子POSTN、FAP、TIMP3、及びLOXを同定した。まとめると、これらの結果は、反応性間質遺伝子の上方制御が、EOCにおける化学療法耐性を調節する重要な役割を担う可能性があることを示した。

10

20

30

40

【0158】

腫瘍抑制遺伝子TP53の変異及びサイクリンE1(CCNE1)の増幅は、以前から、卵巣癌の原発性腫瘍耐性に關連付けられている。MMP-Seq標的化癌パネルを使用して、TP53遺伝子全体の全てのエキソンで、ディープシーケンシングを行った。TP53は、32個のPlat-R原発性腫瘍のうち32個(100%)で見つかり、26個のPlat-S原発性腫瘍のうち23個(88%)で見つかった(図1A)。観察した全体的に高い頻度のTP53変異は、高グレード漿液性卵巣腫瘍におけるTCGAの所見と一致していた。これらの結果は、また、TP53変異状態が、おそらく化学療法に対する応答の決定を主導するものではないことを示した。qPCRに基づくコピー数の分析を、多くの癌種において頻繁に変化することが報告されている35個の遺伝子に対して行った。当該試験では、9つの反回性に増幅する遺伝子を同定した(図1A、コピー数4)。この中でも、RSF1、AKT1及びAKT3の増幅だけがPlat-S腫瘍で同定され、FGFR1及びZNF703の増幅だけがPlat-R腫瘍で同定された。しかしながら、化学療法への応答と、(CCNE1を含む)いずれかまたはこれらの遺伝子の組み合わせの増幅とで有意な相関は観察されなかった。

表7. Plat-R原発性対Plat-S原発性腫瘍における14個の差示的に発現する遺伝子(探索データセット)

遺伝子	Plat-R 原発性対 Plat-S 原発性腫瘍における平均倍率変化	Plat-R の上方または下方	p 値	FDR
RB1 (遺伝子 ID 番号 : 5925)	-1.76403	下方	0.00011	0.02890
TD02 (遺伝子 ID 番号 : 6999)	2.17582	上方	0.00021	0.02890
POSTN (遺伝子 ID 番号 : 10631)	4.00402	上方	0.00022	0.02890
FAP (遺伝子 ID 番号 : 2191)	2.62089	上方	0.00025	0.02890
COL4A1 (遺伝子 ID 番号 : 1282)	1.66375	上方	0.00029	0.02890
LOX (遺伝子 ID 番号 : 4015)	2.08455	上方	0.00033	0.02902
FGFR4 (遺伝子 ID 番号 : 2264)	-2.06441	下方	0.00052	0.03910
PGR (遺伝子 ID 番号 : 5241)	-3.25575	下方	0.00056	0.03910
TIMP3 (遺伝子 ID 番号 : 7078)	2.31509	上方	0.00100	0.05864
NUAK1 (遺伝子 ID 番号 : 9891)	1.59941	上方	0.00101	0.05864
ABCB9 (遺伝子 ID 番号 : 23457)	-1.61825	下方	0.00115	0.06145
FOXO1 (遺伝子 ID 番号 : 2308)	-1.56584	下方	0.00147	0.07300
ALPP (遺伝子 ID 番号 : 250)	-3.29452	下方	0.00174	0.07989
ANXA1 (遺伝子 ID 番号 : 301)	-1.76479	下方	0.00195	0.07989

10

20

30

40

表 8 . P l a t - R 再発性対 P l a t - R 原発性腫瘍における 6 5 個の差示的に発現する遺伝子 (探索データセット)

遺伝子	Plat-R 再発性対 Plat-S 原発性腫瘍に おける平均倍率変化	Plat-R 再発 性腫瘍の上方 または下方	p 値	FDR
DTX4 (遺伝子 ID 番号: 23220)	-1.64787	下方	0.00002	0.01054
CD36(遺伝子 ID 番号: 948)	3.56536	上方	0.00003	0.01054
PLVAP (遺伝子 ID 番号: 83483)	1.84394	上方	0.00013	0.02312
ESR2 (遺伝子 ID 番号: 2100)	-2.00550	下方	0.00023	0.02412
POSTN (遺伝子 ID 番号: 10631)	3.28556	上方	0.00029	0.02412
KRT18 (遺伝子 ID 番号: 3875)	-1.52693	下方	0.00032	0.02412
ABCC9 (遺伝子 ID 番号: 10060)	1.73344	上方	0.00034	0.02412
PCOLCE (遺伝子 ID 番号: 5118)	1.66209	上方	0.00039	0.02412
FUT2 (遺伝子 ID 番号: 2524)	-1.49515	下方	0.00041	0.02412
CD1C (遺伝子 ID 番号: 911)	1.73641	上方	0.00046	0.02412
MS4A1 (遺伝子 ID 番号: 931)	2.63163	上方	0.00050	0.02412
CD44 (遺伝子 ID 番号: 960)	1.59338	上方	0.00052	0.02412
ANGPTL2 (遺伝 子 ID 番号: 23452)	1.55443	上方	0.00066	0.02412
PECAM1 (遺伝子 ID 番号: 5175)	1.56963	上方	0.00075	0.02412
HOXD10 (遺伝子 ID 番号: 3236)	-1.94235	下方	0.00081	0.02412
FAP (遺伝子 ID 番号: 2191)	2.35907	上方	0.00088	0.02412
LOX (遺伝子 ID 番号: 4015)	1.89374	上方	0.00103	0.02412
TIMP3(遺伝子 ID 番号: 7078)	2.16769	上方	0.00107	0.02412
EXO1 (遺伝子 ID 番号: 9156)	-1.62390	下方	0.00108	0.02412
INADL (遺伝子 ID 番号: 10207)	-1.53801	下方	0.00109	0.02412
PMEPA1 (遺伝子 ID 番号: 56937)	1.50167	上方	0.00113	0.02412
IGFBP2 (遺伝子 ID 番号: 3485)	-1.61594	下方	0.00113	0.02412

10

20

30

40

IL7R (遺伝子 ID 番号: 3575)	2.04198	上方	0.00117	0.02412
FBLN1 (遺伝子 ID 番号: 2192)	1.88186	上方	0.00130	0.02591
FGF1 (遺伝子 ID 番号: 2246)	1.77319	上方	0.00135	0.02600
RBP4 (遺伝子 ID 番号: 5950)	2.89945	上方	0.00141	0.02600
TWIST1 (遺伝子 ID 番号: 7291)	1.52597	上方	0.00159	0.02600
KLK7 (遺伝子 ID 番号: 5650)	-1.73811	下方	0.00171	0.02600
MYCN (遺伝子 ID 番号: 4613)	-1.59335	下方	0.00183	0.02600
FGFR4 (遺伝子 ID 番号: 2264)	-1.65482	下方	0.00184	0.02600
ID1 (遺伝子 ID 番号: 3397)	1.53481	上方	0.00187	0.02600
ERBB3 (遺伝子 ID 番号: 2065)	-1.50105	下方	0.00224	0.02737
RAC2 (遺伝子 ID 番号: 5880)	1.67853	上方	0.00257	0.03030
GFRA1 (遺伝子 ID 番号: 2674)	1.76644	上方	0.00286	0.03215
TMEM45B (遺伝子 ID 番号: 120224)	-1.65581	下方	0.00296	0.03218
MAN1A1 (遺伝子 ID 番号: 4121)	1.58276	上方	0.00369	0.03537
PROM1 (遺伝子 ID 番号: 8842)	-1.73404	下方	0.00377	0.03547
NCAM1 (遺伝子 ID 番号: 4684)	-1.79762	下方	0.00433	0.03821
EVI2A (遺伝子 ID 番号: 2123)	1.66289	上方	0.00476	0.04087
MKI67 (遺伝子 ID 番号: 4288)	-1.50709	下方	0.00488	0.04091
KLK6 (遺伝子 ID 番号: 5653)	-1.55987	下方	0.00516	0.04194
CCR7 (遺伝子 ID 番号: 1236)	1.71160	上方	0.00555	0.04194
CDH3 (遺伝子 ID 番号: 1001)	-1.49953	下方	0.00560	0.04194
LY6E (遺伝子 ID 番号: 4061)	-1.50727	下方	0.00641	0.04601
TJP3 (遺伝子 ID 番号: 27134)	-1.59144	下方	0.00656	0.04611
SLC7A11 (遺伝子 ID 番号: 1001)	-1.69153	下方	0.00788	0.05192

10

20

30

40

子 ID 番号 : 23657)					
GZMK (遺伝子 ID 番号: 3003)	1.71790	上方	0.00958	0.05777	
TSPAN8 (遺伝子 ID 番号: 7103)	-2.53992	下方	0.00963	0.05777	
BNIP3 (遺伝子 ID 番号: 664)	-1.54514	下方	0.01022	0.05854	
PRAME (遺伝子 ID 番号: 23532)	-1.63296	下方	0.01074	0.05980	10
ESM1 (遺伝子 ID 番号: 11082)	-1.64805	下方	0.01126	0.06107	
VTCN1 (遺伝子 ID 番号: 79679)	-1.63373	下方	0.01158	0.06107	
PTPRC/CD45RA (遺伝子 ID 番 号: 5788)	1.74707	上方	0.01232	0.06131	
FCRL5 (遺伝子 ID 番号: 83416)	1.51619	上方	0.01289	0.06257	20
ESR1 (遺伝子 ID 番号: 2099)	-1.51432	下方	0.01297	0.06257	
MUC1 (遺伝子 ID 番号: 4582)	-1.58715	下方	0.01547	0.06687	
NNMT (遺伝子 ID 番号: 4837)	1.57937	上方	0.01888	0.07640	
CCL28 (遺伝子 ID 番号: 56477)	-1.52116	下方	0.01979	0.07872	
FN1 (遺伝子 ID 番号: 633)	1.76729	上方	0.02084	0.08193	30
MMP11 (遺伝子 ID 番号: 4320)	1.82452	上方	0.02299	0.08743	
CD27 (遺伝子 ID 番号: 939)	1.60143	上方	0.02341	0.08765	
SLA (遺伝子 ID 番号: 6503)	1.50128	上方	0.02355	0.08765	
BGN (遺伝子 ID 番号: 633)	1.50914	上方	0.02405	0.08765	
ACTA2 ACTA2 (遺伝子 ID 番 号: 59)	1.54853	上方	0.02544	0.09035	40
CD247 (遺伝子 ID 番号: 919)	1.56026	上方	0.02941	0.09842	

【 0 1 5 9 】

実施例 2 . 反応性間質シグネチャー遺伝子は派生し、腫瘍関連線維芽細胞で特に調節される

どの特定の細胞型が反応性間質シグネチャー遺伝子を発現するのかを決定するために、85個の腫瘍試料の全てのセットから、腫瘍試料全体のスライドで、POSTN及びFAP RNA ISH分析を行った。さらに15個の代表的な腫瘍試料に対して、POST

N及びFAP IHC、ならびにLOX RNA ISH分析も行った。これらのマーカーのISH及びIHCを示す代表的な画像を図3Aに示す。Plat-S原発性腫瘍では、反応性間質シグネチャー遺伝子は、ISHまたはIHCによって、間質または腫瘍細胞でまったく検出されないか、または有意に低いレベルで検出された。対照的に、Plat-R原発性及び再発性腫瘍では、POSTNが腫瘍関連線維芽細胞でのみ発現し、LOX及びFAPは、腫瘍関連線維芽細胞では優位に発現し、腫瘍細胞ではより低いレベルで発現した。POSTN/LOX/FAP発現腫瘍関連線維芽細胞はまた、活性化筋線維芽細胞について確立されたマーカーである、強い平滑筋アクチン(SMA)染色を示した。Nanosttring遺伝子発現プロファイリングからの結果(図1D)に一致して、ISH及びIHC分析は、反応性間質遺伝子の発現が、Plat-S原発性腫瘍に比べ、Plat-R原発性腫瘍において有意に高く発現し、Plat-R再発性腫瘍においてさらに上方制御されたことを確認した(図3B)。反応性間質遺伝子発現において観察した調節は、多くは原発性及び再発性Plat-R腫瘍における腫瘍細胞と直ぐに並置される間質区画に制限され(図3B)、このことは、腫瘍関連間質区画が、卵巣癌の化学療法耐性を媒介する特別な活性部位であり得ることを示している。そのため、IHCとRNA ISHの両方を含むin situ分析を使用して、反応性間質シグネチャー遺伝子は、腫瘍細胞と直ぐに並置される活性化線維芽細胞によって、排他的または優位に発現されると識別した。

10

【0160】

実施例3 . POSTNの間質発現は、線維形成表現型と関連する

20

線維形成は、多くの種類の癌に見られる共通の病理学的表現型である。線維形成の組織学的徴候として、細胞外基質タンパク質の有意な過剰発現、ならびに筋線維芽細胞様細胞の大量の増殖及び組織崩壊が挙げられる。間質細胞の増殖の変化及び細胞外基質成分の沈着は、結果として全体的な組織の不均一性及び弾性、ならびに付随的な間質液の圧力の劇的な変化をもたらす。これらの変化は、癌における化学療法耐性に寄与することが示唆されている。反応性間質分子シグネチャーと線維形成生理学的特徴との間の潜在的な関連性を評価するために、線維形成の程度を、当該試験において、H&E染色された全ての組の腫瘍試料についての全組織切片にスコアを付けた。スコアを付けた85個の試料のうち、26個が、組織損傷、壊死、浮腫のため、または存在する間質が限定されていたために、スコアを付けることが困難であった。残りの試料は、21個のPlat-S原発性、18個のPlat-R原発性及び21個のPlat-R再発性腫瘍を含んだ。図4A及び4Bに示されるように、大部分のPlat-S原発性腫瘍において線維形成性病巣が観察されないか、2、3の散在した線維形成性病巣が観察され、中度から広範な線維形成がPlat-R原発性及び再発性腫瘍において、高度に富化した。さらに線維形成の程度は、原発性化学療法耐性を特徴付ける反応性間質シグネチャーの重要な要素の1つである、POSTNの間質発現レベルと高度に相関した。化学療法耐性を媒介するこれら反応性間質シグネチャー遺伝子の直接的な役割をさらに確立するために、組換えPOSTNの存在下で増殖する化学療法感受性卵巣細胞が、in vitroのカルボプラチン及びパクリタキセル療法に耐性になることを証明した。

30

【0161】

実施例4 . POSTNはin vitroのEOC細胞の化学療法耐性を促進する

40

反応性間質シグネチャー遺伝子が、卵巣癌細胞において化学療法耐性を促進する特定の役割を担うかどうかを次に調査した。これについて、組換えヒトPOSTNタンパク質を使用して、組織培養皿をコーティングし、ES-2細胞における化学試薬、内在性POSTN発現のない化学療法感受性卵巣癌の細胞株に対する耐性に及ぼす影響の試験を直接行った(図4C)。フィブロネクチン(FN)、糖タンパク質及びECMの主要な成分が、卵巣癌細胞においてドセタキセル耐性を調節することが示されているため、当該実験では、FNタンパク質コーティングを対照として使用した。図4Cに示されるように、POSTNコーティングされた皿で増殖したES-2細胞は、未処理の培養皿で増殖した細胞より、カルボプラチンまたはパクリタキセル療法に対して有意により耐性であることを示し

50

た。POSTNコーティング単独は、また、化学療法治療の非存在下で、細胞増殖のわずかな増加を示したが、化学療法治療において生存利益を与えることへの影響は、優位であり有意であった。対照的に、FNコーティングは、POSTNに比べ、ES-2細胞におけるカルボプラチンまたはパクリタキセル療法に対する薬物耐性を促進する効果がかかなり小さかった。当該試験は、POSTNが、*in vitro*のEOC細胞において、化学療法治療耐性を促進する可能性があることを証明した。まとめると、これらの結果は、POSTN及びその他の間質成分が、*in vivo*の化学療法治療耐性を促進する直接的な役割を担うことをさらに支持する証拠を提供した。

【0162】

実施例5．原発性化学療法治療耐性に関連する反応性間質シグネチャーの独立した検証

独立したデータセットにおける反応性間質シグネチャーと原発性化学療法治療耐性との直接的な関連性をさらに検証するために、卵巣癌の組織試料のサブセットを、第III相試験の化学療法治療群から使用し、卵巣癌の第一線療法として標準的化学療法にベバシズマブを追加することの利益を評価した(ICON7)。化学療法対照群に割り付けられた510名の患者のうち、高グレードの漿液性または類内膜卵巣癌の138名の患者が、Nanostring卵巣癌バイオマーカーパネルにおける遺伝子発現プロファイリングに利用できる組織を有していた(表9)。Plat-R及びPlat-S患者の分布、または臨床病理学的特徴に関して有意なバイアスがないことが、バイオマーカー部分母集団に認められ、当該部分母集団が*intention-to-treat*(ITT)集団の代表であることを示唆する(表10)。第III相試験の化学療法対照群の患者を、探索試験(上記、実施例1)に使用される同じ臨床定義を使用して、Plat-SとPlat-R群に分類した。化学療法前の49個のPlat-Rと86個のPlat-S原発性腫瘍に対する2試料のt検定で、2群間で有意に差示的に発現する10個の遺伝子を同定した($p < 0.01$ 及び倍数変化 = 1.5、表11)。当該データセット及び探索データセットからの差示的に発現される遺伝子のリストを比較により、原発性化学療法治療耐性腫瘍において、最上位4つの有意に上方制御された遺伝子を構成する、4つ全ての反応性間質遺伝子(POSTN、FAP、TIMP3、及びLOX)が示された(図5A)。これらの結果は独立して、反応性間質シグネチャーが、EOCにおいて、強固で再現性のある化学療法治療耐性シグネチャーであることを確認した。PGRの発現は、探索と検証の両方のデータセットで、化学療法治療耐性群において少なくとも2倍、一貫して下方制御され(探索データセットでは $p < 0.001$ 及び倍数変化 = 3.3、検証データセットでは $p = 0.0058$ 及び倍数変化 = 2)、このことは、プロゲステロンシグナル伝達が、卵巣癌における化学療法治療の感受性を媒介する重要な役割を担うことを示唆している。

表9．第III相臨床試験の標準化学療法治療群の検証セットにおける患者の臨床病理学的特徴

10

20

30

	白金耐性 (N=37)	白金感受性 (N=67)
年齢:中央値 (範囲)	58 (43 - 79)	58 (37 - 75)
ステージ:		
I	-	4 (6%)
II	2 (5.4%)	11 (16.4%)
III	27 (73%)	52 (77.6%)
IV	8 (21.6%)	-
組織診断:		
漿液性	33 (89.2%)	59 (88.1%)
類内膜	4 (10.8%)	8 (11.9%)
PFI (白金のない期間): 一次タキサン治療の終了から 中央値 (月)	4.6 (4.5, 4.8)	達せず (28.7, NA)
95%信頼区間の事象	37	19
OS 手術から 中央値 (月)	24.1 (21.1, NA)	達せず (NA, NA)
95%信頼区間の事象	19	0

10

20

表 10 . I C O N 7 化学療法群 (バイオマーカー集団対 I T T) の人口統計のまとめ

	全 (ITT)	バイオマーカー
年齢		
N	528	138
平均	57.71	58.28
SD	10.28	9.4
中央値	58	58
最小-最大	18...81	37...79
ECOG PS		
計	528	138
0	266 (50.38%)	68 (49.28%)
1	229 (43.37%)	60 (43.48%)
2	33 (6.25%)	10 (7.25%)
癌の由来		
計	528	138
卵管	21 (3.98%)	3 (2.17%)
複数の場所	10 (1.89%)	4 (2.9%)
卵巣 (上皮)	456 (86.36%)	124 (89.86%)
原発性腹膜	41 (7.77%)	7 (5.07%)
組織診断		
計	528	138
明細胞	0 (0%)	0 (0%)
類内膜	51 (9.66%)	14 (10.14%)
混合	0 (0%)	0 (0%)
粘液性	0 (0%)	0 (0%)
その他	0 (0%)	0 (0%)
漿液性	477 (90.34%)	124 (89.86%)
グレード		
計	528	138
グレード1	0 (0%)	0 (0%)
グレード2	119 (22.54%)	28 (20.29%)
グレード3	409 (77.46%)	110 (79.71%)
不明	0 (0%)	0 (0%)

10

20

30

40

FIGO ステージ			
計	528	138	
IA	6 (1.14%)	0 (0%)	
IB	3 (0.57%)	0 (0%)	
IC	14 (2.65%)	5 (3.62%)	
IIA	8 (1.52%)	1 (0.72%)	
IIB	18 (3.41%)	4 (2.9%)	
IIC	23 (4.36%)	9 (6.52%)	10
III	13 (2.46%)	4 (2.9%)	
IIIA	16 (3.03%)	7 (5.07%)	
IIIB	30 (5.68%)	8 (5.8%)	
IIIC	315 (59.66%)	87 (63.04%)	
IV	82 (15.53%)	13 (9.42%)	
腫瘍減量手術の残存			
計	528	138	
手術なし	9 (1.7%)	1 (0.72%)	20
最適	363 (68.75%)	85 (61.59%)	
最適以下	156 (29.55%)	52 (37.68%)	
FIGO ステージ及び残存			
計			
<= 1 cm の残存病変を有する I-III	528	138	
> 1 cm の残存病変を有する I-III	325 (61.55%)	83 (60.14%)	30
IV 及び手術不可能 III	117 (22.16%)	42 (30.43%)	
	86 (16.29%)	13 (9.42%)	
ITT 化学療法			
計	528	138	
<= 4 週間	235 (44.51%)	59 (42.75%)	
> 4 週間	293 (55.49%)	79 (57.25%)	
CA-125			
計	528	138	40
< 2x ULN	199 (37.69%)	66 (47.83%)	
>= 2x ULN	322 (60.98%)	71 (51.45%)	
欠損	7 (1.33%)	1 (0.72%)	

表 11 . P l a t - R 原発性対 P l a t - S 原発性腫瘍間の 10 個の差示的に発現した遺伝子 (I C O N データセット)

遺伝子	Plat-R 対 Plat-S の平均倍数変化	Plat-R の上方または下方	p 値	FDR
FAP (遺伝子 ID 番号 2191)	1.91002	上方	0.00197	0.30546
LOX (遺伝子 ID 番号 4015)	1.55303	上方	0.00847	0.31350
MFAP2 (遺伝子 ID 番号 4237)	1.55380	上方	0.00901	0.31350
MMP11 (遺伝子 ID 番号 4320)	1.80984	上方	0.00846	0.31350
PGR (遺伝子 ID 番号 5241)	-1.98181	下方	0.00581	0.31350
PLVAP (遺伝子 ID 番号 83483)	1.53990	上方	0.00220	0.30546
POSTN (遺伝子 ID 番号 10631)	2.23263	上方	0.00669	0.31350
TIMP3 (遺伝子 ID 番号 7078)	1.75621	上方	0.00286	0.30546
TP73 (遺伝子 ID 番号 7161)	-1.60160	下方	0.00030	0.21093
TSPAN8 (遺伝子 ID 番号 7103)	-2.13960	下方	0.00541	0.31350

10

20

30

40

【 0 1 6 3 】

実施例 6 . P O S T N は、E O C において第一線白金系化学療法の臨床転帰を予測する反応性間質シグネチャー遺伝子が、E O C において第一線化学療法の臨床転帰を予測することができるかどうかを検討するために、4 つの事前に特定した反応性間質シグネチャー遺伝子 P O S T N、F A P、T I M P 3、及び L O X ならびに P G R をそれぞれ使用し

50

て、第 I I I 相試験の化学療法対照群患者に、単変量生存率解析を行った。図 5 B で示すように、P O S T N の発現が高い患者（中央値のカットオフ）は、無増悪生存期間（P F S）が有意により短く、中央値の P F S が 12 カ月であるのに対し、P O S T N の発現が低い患者では 27 カ月であった（H R = 2.4、95% C I : 1.6 ~ 3.7、p = 0.0001）。P O S T N の発現レベルと腫瘍減量の状態、血清 C A 125 レベル及び F I G O ステージを含むいくつかの既知の臨床的予後因子との間に弱い相関が観察されたものの（図 6）、P O S T N レベルと P F S との関連性は、これらの共変数を調節した後も有意なままであった（H R = 1.76、p = 0.015）。T I M P 3 の発現もまた、単変量 C o x モデルにおいて、P F S との有意に関連することがわかった（H R = 1.8、95% C I : 1.2 ~ 2.8、p = 0.0073）（図 5 B）。一方で、中央値カットオフを使用した F A P または L O X の発現と P F S との関連性は統計学的には有意ではなかったが、75 パーセントイルのカットオフを使用した場合には高度に有意であった（F A P については、H R = 2.2、95% C I : 1.4 ~ 3.4、p < 0.001；L O X については H R = 1.9、95% C I : 1.2 ~ 3.0、p = 0.005）。次に、中央値カットオフを使用して二分される 4 つの遺伝子全て（P O S T N、F A P、L O X 及び T I M P 3）の発現を、多変量コックス回帰モデルを使用して分析し、各遺伝子について関連の強固性を分析した。P O S T N の発現のみが当該多変量解析で有意であり、このことは、P O S T N が主導するものであり、患者の第一線化学療法の転帰を予測するための有意な力を提供することを示唆する（図 7）。さらに、4 つの遺伝子の発現を各患者について平均化したとき、得られた全体の間質のスコアは、P F S との関連性を改善することはなく（H R = 2.0、95% C I : 1.3 ~ 3.1、p = 0.0013）、このことは、化学療法下の第一線卵巣癌を予測する際の決定的な間質因子として P O S T N の役割を確認した。シグネチャー遺伝子のいずれも全生存期間（O S）との有意な関連性を示さなかった。P G R が患者の生存期間に追加の予測力を提供するかどうかを評価するために、共変数として二分された P O S T N 及び P G R で多変量コックスモデル分析を行った（図 7）。P O S T N 発現レベルについて調節した後、より高い P G R の発現を有する患者が、卵巣癌の進行のリスクが 35% 減少することがわかったが、その効果はわずかであり、p 値は 0.055 である（H R = 0.65、95% C I : 0.42 ~ 1.01）。

【0164】

実施例 7 . 癌における化学療法耐性を克服するための治療戦略

当該試験から明らかになった反応性間質と、化学療法耐性と、臨床転帰の不良との特定の関連性は、卵巣癌の生物学及び治療における癌と腫瘍の微小環境との間の重要な相互作用を強調した。そのため、腫瘍細胞を直接標的とする薬剤と併用したときの腫瘍間質の成分を標的とすることは、抵抗性を克服し、有効性を改善する潜在的な新規の方法を提供することができる。例えば、P O S T N は、潜在的な治療標的の 1 つになることができる。P O S T N の上方制御は、乳癌、肺癌、結腸癌、膵癌、及び卵巣癌等の多くの癌種で観察されている。P O S T N は、複数の細胞表面受容体、中でもインテグリンと相互作用し、P I 3 K / A k t 及び F A K 媒介性経路を主に介してシグナル伝達を行い、癌細胞の生存、血管新生、上皮間葉転換（E M T）、侵襲、及び転移を促進する。最近の研究では、間質 P O S T N が、乳癌の幹細胞間の相互関係を制御することによって、転移性コロニー形成に欠かせないことを示した。さらに、卵巣癌細胞株における中和抗体で内因性 P O S T N を標的とすることは、動物モデルにおいて、卵巣癌の増殖及び転移を阻害した。まとめると、癌の発現、進行及び治療応答における P O S T N の重要な役割のため、P O S T N は、化学療法耐性を克服するための、可能性のある新規の治療標的である。個別の間質成分の他に、我々の研究は、化学療法耐性を特徴付ける反応性間質シグネチャーが、創傷の治癒の正常なプロセスに参与する遺伝子で、高度に富化されることを明らかにした。以前の実験的証拠と一致して、我々のデータは、創傷の回復における間質の応答の主要な媒介者である、T G F - β が、腫瘍細胞とその関連する間質との間の広範なクロストークを制御する重要な役割を担う可能性があることを示唆している（図 8）。したがって、T G F - β シグナル伝達経路を標的とすることは、化学療法耐性を克服するための、別の潜在的

で有望な治療戦略となりうる。

【0165】

発現レベルが反応性間質シグネチャー遺伝子と有意に相関する遺伝子の分析によって、化学療法耐性の促進に関与しうるその他の生物学的プロセスを明らかにした。例えば、我々はPOSTN発現レベルが、血管新生及び血管発生を促進するときの重要な成分であるPLVAP、PECAM1、及びANGPTL2と高度に相関することを発見した(図9)。したがって、化学療法の主力であるベバシズマブ等に抗血管新生試薬を追加することは、一次化学療法に本質的に抵抗する卵巢癌患者に追加の利益をもたらさう。さらに、一次化学療法耐性を克服するための別の治療戦略は、POSTN発現レベルがCD68及びCD163と高度に相関したという観察から生じ、CD68とCD163の両者は、創傷治癒プロセスの最中に炎症及び免疫応答に関与することが知られているM2マクロファージの特徴がはっきりとした表面マーカーである(図9)。当該観察は、間質応答の発現シグネチャーが、M2マクロファージの浸潤と相関し、胃癌及び卵巢癌の予後不良を予測するという最近の報告と一致する。そのため、M2マクロファージを直接的に標的とする抗炎症薬、または関連するケモカイン、サイトカイン、または成長因子が、EOCにおいて、一次化学療法耐性を克服するための別の新規の治療戦略を示さうことが考えられる。

10

【0166】

実施例8 . 白金耐性EOCを予測するためのマーカーとしての循環POSTN

循環POSTNが、EOC患者における化学療法耐性を予測するために使用することができるかどうかを調査するために、ELISAアッセイを使用して、血清における循環POSTNを測定した。102名の年齢適合型健常対象(NHS)、化学療法感受性(卵巢癌)が知られていない100名のEOC患者、白金耐性であることが知られている43名のEOC患者、96名の肺癌(NSCLC)患者、及び29名の膵癌患者からの血清試料のベンダーが獲得したパネルで、血清POSTNレベルを測定した。ベンダーが獲得した100個の試料について、化学療法感受性状態及び血清の回収の時期(治療前または治療後)は、知られていないが、有病率調査に基づいて、試料の少なくとも30%が、化学耐性患者に由来した。血清POSTN ELISAは、1.88ng/mLまで感受性があり、POSTNは全ての卵巢癌患者及びNHSの血清で検出された。図10のグループ化されたドットプロットは、EOC患者におけるPOSTN発現の範囲が、NHS患者のそれと、その他の癌患者のそれと高度に重複していたことを示している。しかしながら、循環POSTNの中央値及び範囲は、化学療法耐性卵巢癌とNSCLC患者の両方において、NHSより有意に高かった。これらの結果は、化学療法耐性卵巢癌患者において、組織POSTNがより高く発現することと一致する。

20

30

【0167】

循環POSTNレベルはまた、ステージI(25名)及びII(6名)の患者(合わせて31名)からのベンダーが獲得した血清試料、ならびにステージIIIの患者(卵巢癌のFIGOステージ分類によって決定された)からの69個の試料でも測定した。循環POSTNと疾患のステージとの間に、正の相関が見られた(図11)。これらの結果に基づいて、循環POSTNの測定もまた、EOC患者のステージを決定する非侵襲的な方法として使用することができる。

40

配列表

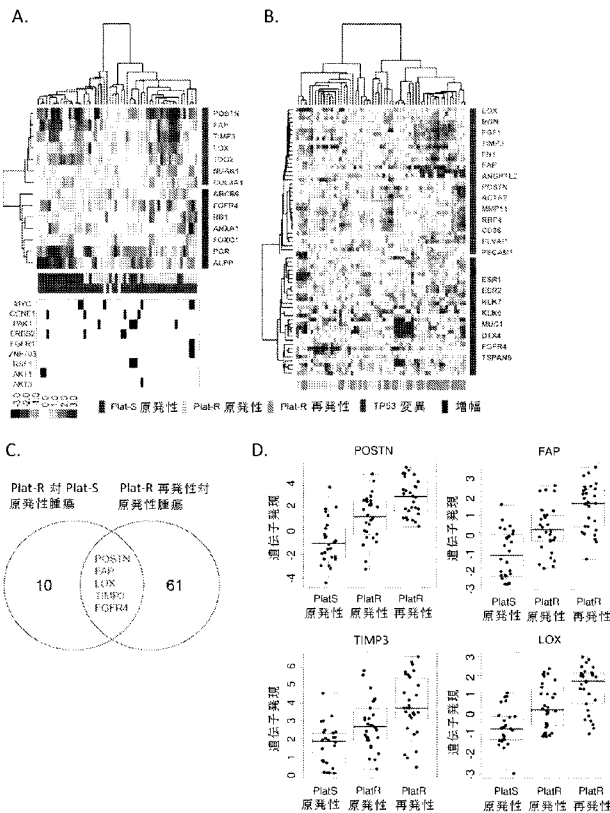
配列番号:	配列
1	QVHLQQSGAELAKPGASVHMSCKASGYTFTTYWMHWVKQRPGQGLEWIGYINPNTGYADYNQKFRDKATLTA DKSSSTAYMQLSSLTSEDSTVYFCARRRTGTSYFDYWGQGTTLTVSSTKTTPPSV
2	QTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVTYMHWYQQKPGSSPKPWIFATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYCQQWTSNPLTFGAGTK
3	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYSFTHYWMQVVKQRPGQGLEWIGAIYPGDGDRYTRQLKGGKATLTA DKSSSTAYMELSSLASEDSAVYYCAREGEGNSAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSV
4	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGSSVAWFQQKPGQSPKTLIYSASYRDSGVPDRFTGSGSGTDFT LTITNVQSEDLTDYFCLQYGTYPYTFGGGTR

10

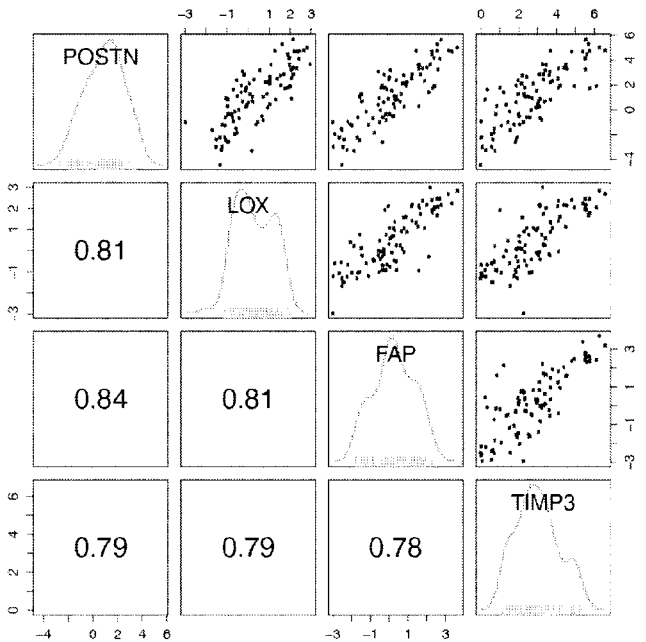
【0168】

上述の発明は、明確に理解するために、説明及び実施例によって、ある程度詳細に記載されたが、この説明及び実施例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。全ての特許、特許出願、本明細書に記載した科学文献の開示は、あたかも特許、特許出願、科学文献のそれぞれが参照により個別に援用されるように、全ての目的について、その全体が参照により明示的に援用される。

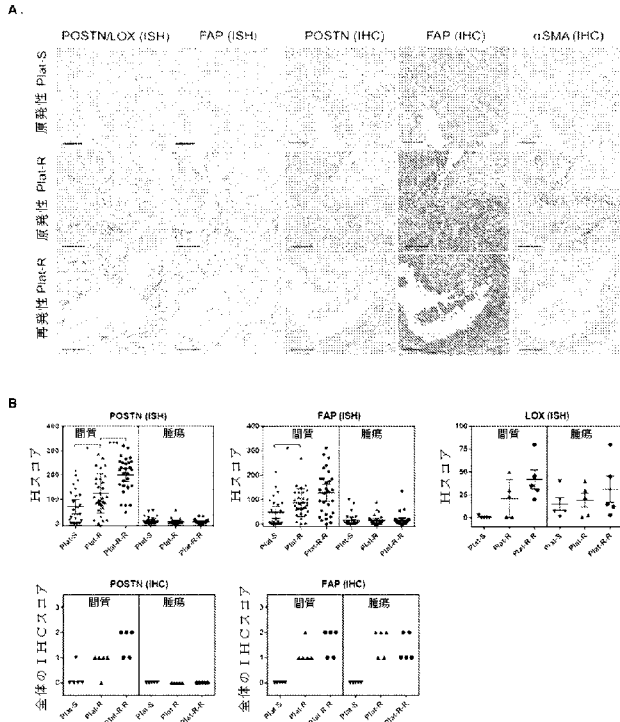
【図1】



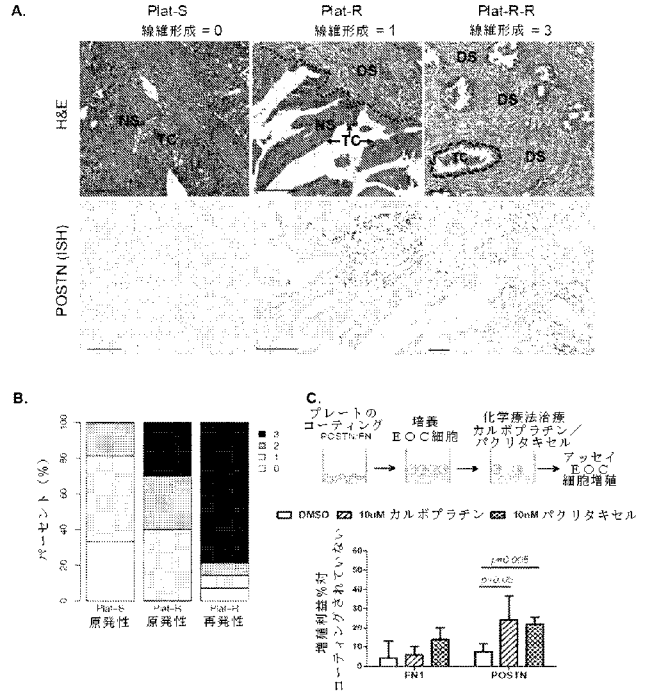
【図2】



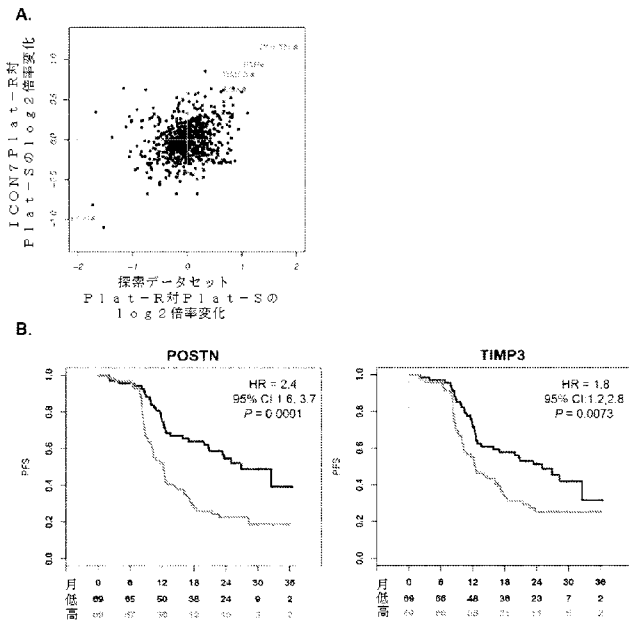
【 図 3 】



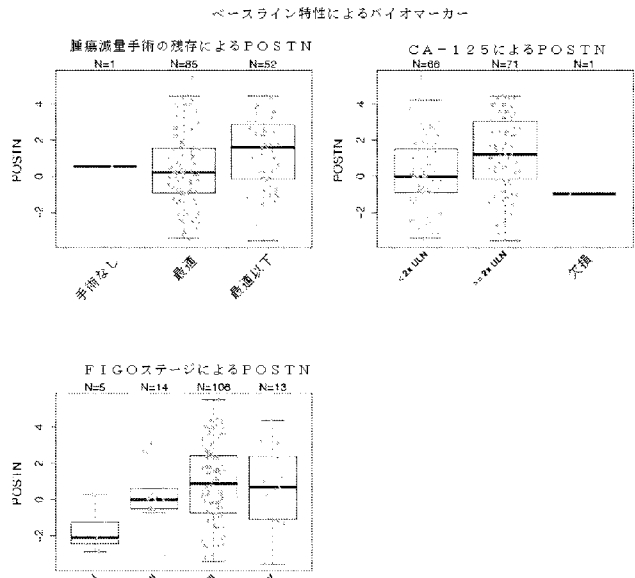
【 図 4 】



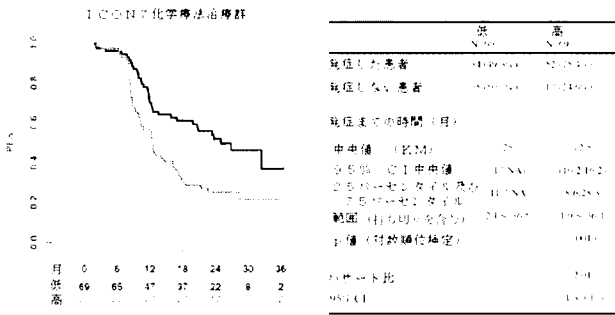
【 図 5 】



【 図 6 】



【図 7】



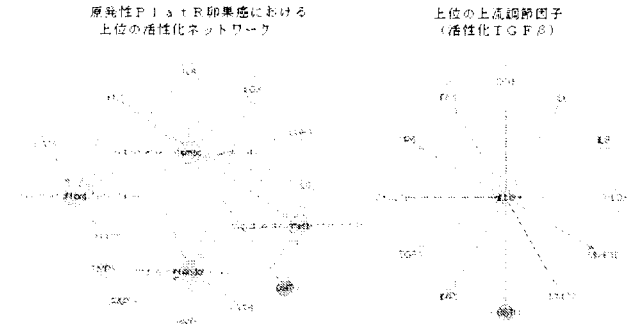
多変量解析の結果

	HR	CI	p値
POSTN 高対低	2.21 (1.14-4.29)	0.017	
FIGO 高対低	0.71 (0.31-1.62)	0.46	
FIGR 高対低	0.97 (0.54-1.75)	0.94	
FIGR 高対低	1.28 (0.62-2.66)	0.18	

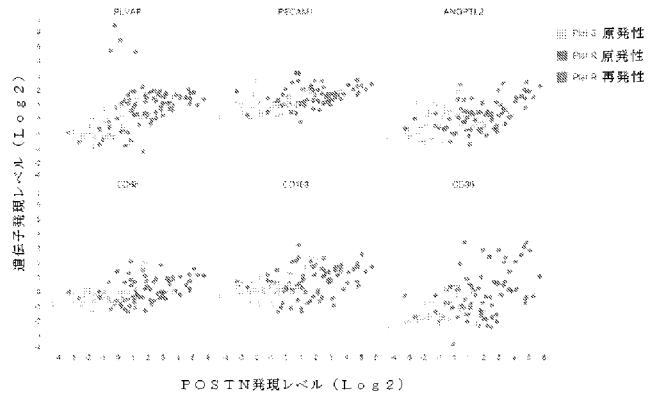
FIGO III-IV期の多変量解析の結果

	HR	CI	p値
POSTN 高対低	2.21 (1.14-4.29)	0.017	
FIGR 高対低	0.67 (0.42-1.04)	0.035	

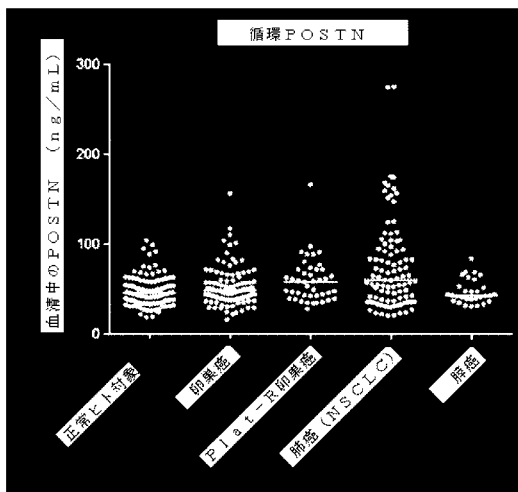
【図 8】



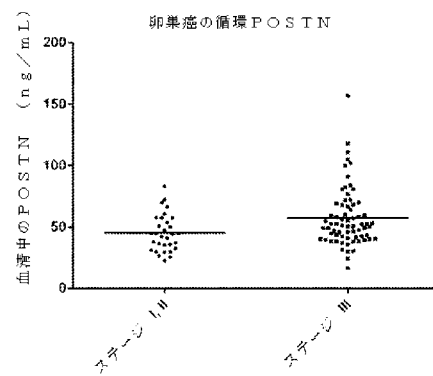
【図 9】



【図 10】



【図 11】



【配列表】

2018508183000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/067427

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/074968 A2 (ECOLE POLYTECH [CH]; FARMER PIERRE [FR]; DELORENZI MAURO [CH]; BONNEFO) 18 June 2009 (2009-06-18) the whole document	1,3-9, 14,15, 17,18, 20-22, 24-41, 47-56
A	ZHENHUA HU ET AL: "High Expression of Lewis y Antigen and CD44 Is Correlated with Resistance to Chemotherapy in Epithelial Ovarian Cancers", PLOS ONE, vol. 8, no. 2, E57250, 28 February 2013 (2013-02-28), pages 1-7, XP055266406, DOI: 10.1371/journal.pone.0057250 the whole document	1-62
----- -/--		
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 20 April 2016		Date of mailing of the international search report 18/07/2016
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bots, Jürgen

3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2015/067427

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	L'ESPERANCE SYLVAIN ET AL: "Gene expression profiling of paired ovarian tumors obtained prior to and following adjuvant chemotherapy: Molecular signatures of chemoresistant tumors", INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY, vol. 29, no. 1, July 2006 (2006-07), pages 5-24, XP055208986, the whole document	1-62
X	WO 2011/153345 A2 (BETH ISRAEL HOSPITAL [US]; CANNISTRA STEPHEN [US]; KONSTANTINOPOULOS P) 8 December 2011 (2011-12-08) the whole document	1,3-9, 14,15, 17,18, 20-22, 24-41, 47-56
A	HELLEMAN J ET AL: "Integrated genomics of chemotherapy resistant ovarian cancer: A role for extracellular matrix, TGFbeta and regulating microRNAs", INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 42, no. 1, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 25-30, XP026909601, ISSN: 1357-2725, DOI: 10.1016/J.BIOCEL.2009.10.016 [retrieved on 2009-10-23] the whole document	1-62
X	WO 2014/062978 A1 (CEDARS SINAI MEDICAL CENTER [US]) 24 April 2014 (2014-04-24) the whole document	1-12, 14-18, 20-44, 47-62
X	RADOSLAW JANUCHOWSKI ET AL: "Microarray-based detection and expression analysis of extracellular matrix proteins in drug-resistant ovarian cancer cell lines", ONCOLOGY REPORTS, vol. 32, 1 January 2014 (2014-01-01), pages 1981-1990, XP055266374, GR ISSN: 1021-335X, DOI: 10.3892/or.2014.3468 the whole document	1-5,7

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2015/067427

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RIESTER MARKUS ET AL: "Risk Prediction for Late-Stage Ovarian Cancer by Meta-analysis of 1525 Patient Samples", JNCI-JOURNAL OF THE NATIONAL CANCER INSTITUTE, vol. 106, no. 5, May 2014 (2014-05), XP002756768, the whole document -----	1-7,9, 20,22, 24, 26-30, 39-41, 57,58, 60,62
X	KARLAN BETH Y ET AL: "POSTN/TGFBI-associated stromal signature predicts poor prognosis in serous epithelial ovarian cancer", GYNECOLOGIC ONCOLOGY, vol. 132, no. 2, February 2014 (2014-02), pages 334-342, XP028611624, the whole document -----	1-7,9, 20,22, 24, 26-30, 39-41, 57,58, 60,62
X	CHEON D-J ET AL: "Ten-gene biomarker panel: A new hope for ovarian cancer?", BIOMARKERS IN MEDICINE, FUTURE MEDICINE, UK, vol. 8, no. 4, 1 April 2014 (2014-04-01), pages 523-526, XP008174811, ISSN: 1752-0363, DOI: 10.2217/BMM.14.16 the whole document -----	1-7,9, 20,22, 24, 26-30, 39-41, 57,58, 60,62

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2015/067427**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.:
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:

see additional sheet

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 an 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.:

57-62(completely); 1-56(partially)

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 Application No. PCT/ US2015/ 067427

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 57-62(completely); 1-56(partially)

POSTN and its use in a method of identifying a patient with cancer that is chemotherapy-resistant, the method as detailed in claim 1, furthermore the use of POSTN in a method of identifying a patient with cancer that is chemotherapy-sensitive, the method comprising the steps of underlying claim 24, POSTN and its use in a method of identifying a patient suffering from cancer who may benefit from administration of a VEGF antagonist or an immuno-modulatory agent, the method comprising the steps of underlying claim 43 as well as POSTN and its use in a method of treating a patient with cancer who may benefit from administration of a VEGF antagonist or an immuno-modulatory agent the method comprising the steps of underlying claim 43, POSTN and its use in a method of treating a patient with cancer the method comprising the underlying steps of claim 47 and finally POSTN and its use in a method of determining the stage of ovarian cancer in a patient, the method comprising the steps of underlying claim 57.

2-40. claims: 1-56(partially)

IDEM for inventions 2 - 40 with the difference that for these inventions only claims 1 - 56 are concerned. Claim 2 makes use of the second gene listed in claim 3, said gene being LOX and claim 40 makes use of the last gene listed in claim 3, said gene being COL4A1.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/067427

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009074968 A2	18-06-2009	NONE	

WO 2011153345 A2	08-12-2011	NONE	

WO 2014062978 A1	24-04-2014	AU 2013331154 A1	16-04-2015
		CA 2886607 A1	24-04-2014
		EP 2908913 A1	26-08-2015
		US 2015322530 A1	12-11-2015
		WO 2014062978 A1	24-04-2014

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00
A 6 1 P	15/02	(2006.01)	A 6 1 P	15/02
A 6 1 P	1/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/00
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00
G 0 1 N	33/574	(2006.01)	G 0 1 N	33/574
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53
C 1 2 N	15/09	(2006.01)	C 1 2 N	15/00
				M
				A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

Fターム(参考) 4C084 AA17 AA20 MA02 NA05 NA14 ZA011 ZA012 ZA591 ZA592 ZA661
 ZA662 ZA811 ZA812 ZB261 ZB262
 4C085 AA14 BB11

专利名称(译)	用于治疗 and 诊断化疗耐药性癌症的组合物和方法		
公开(公告)号	JP2018508183A	公开(公告)日	2018-03-29
申请号	JP2017534208	申请日	2015-12-22
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	ワンユイレイ		
发明人	ワン, ユイレイ		
IPC分类号	C12Q1/68 C12Q1/06 A61K45/00 A61P35/00 A61K39/395 A61P15/00 A61P15/02 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/12 A61P25/00 G01N33/574 G01N33/53 C12N15/09		
CPC分类号	A61K39/3955 C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/158 A61K38/212 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/12 A61P15/00 A61P15/02 A61P25/00 A61P35/00 A61K31/337 A61K33/24 C12Q1/6806 G01N33/57449 A61K31/4745 A61K31/495 A61K31/7068 A61K45/06 C07K16/18 C07K16/22 C07K2317/24 C12Q2600/112		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12Q1/06 A61K45/00 A61P35/00 A61K39/395.N A61P15/00 A61P15/02 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/12 A61P25/00 G01N33/574 G01N33/53.M C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QS32 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/AA20 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA012 4C084/ZA591 4C084/ZA592 4C084/ZA661 4C084/ZA662 4C084/ZA811 4C084/ZA812 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C085/AA14 4C085/BB11		
优先权	62/096355 2014-12-23 US 62/200340 2015-08-03 US		
其他公开文献	JP2018508183A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)
 本发明提供鉴定患有可受益于特异性抗癌疗法(例如间质靶向疗法, 抗血管生成疗法和/或免疫疗法)的化疗耐受性癌症的患者的方法, 一个或多个间质标签基因的表达提供一种使用级别的方法。本发明还提供了使用一种或多种间质标签基因的表达水平作为用间质靶向剂治疗癌症患者例如卵巢癌患者的选择标准的方法。【选型图】无

(10) 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2018-508183 (P2018-508183A)
	(43) 公表日	平成30年3月29日(2018.3.29)
(51) Int. Cl.	FI	テーマコード(参考)
C12Q 1/68 (2018.01)	C12Q 1/68 ZNA A	4B063
C12Q 1/06 (2006.01)	C12Q 1/06	4C084
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00	4C085
A61P 35/00 (2006.01)	A61P 35/00	
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395 N	
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号	特願2017-534208 (P2017-534208)	(71) 出願人
(86) (22) 出願日	平成27年12月22日(2015.12.22)	ジェネンテック、インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成29年8月21日(2017.8.21)	アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌイー ウェイ 1
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/067427	(74) 代理人
(87) 国際公開番号	W02016/106340	110002077
(87) 国際公開日	平成28年6月30日(2016.6.30)	園田・小林特許業務法人
(31) 優先権主張番号	62/096,355	ワン、ユイレイ
(32) 優先日	平成26年12月23日(2014.12.23)	アメリカ合衆国 カリフォルニア 940 80-4990、サウス サンフランシスコ、ディーエヌイー ウェイ 1
(33) 優先権主張国	米国(US)	Fターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ42 Q052 QR08 QR32 QR35 QS32 QS34 QX02
(31) 優先権主張番号	62/200,340	
(32) 優先日	平成27年8月3日(2015.8.3)	
(33) 優先権主張国	米国(US)	

(54) 【発明の名称】化学療法耐性癌を治療及び診断する組成物及び方法