

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-530166
(P2013-530166A)

(43) 公表日 平成25年7月25日(2013.7.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 B 0 6 3
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 31/282	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/337 (2006.01)	A 6 1 K 31/337	4 C 0 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	4 C 0 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	4 C 2 0 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 41 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-513391 (P2013-513391)
 (86) (22) 出願日 平成23年6月3日 (2011.6.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年2月1日 (2013.2.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/039149
 (87) 国際公開番号 WO2011/153485
 (87) 国際公開日 平成23年12月8日 (2011.12.8)
 (31) 優先権主張番号 61/351, 233
 (32) 優先日 平成22年6月3日 (2010.6.3)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508235494
 アブラクシス バイオサイエンス リミテ
 ッド ライアビリティー カンパニー
 アメリカ合衆国、カリフォルニア州 90
 025、ロス アンジェルス、ウィルシャ
 ー ブールヴァード 11755、スイ
 ート 2100
 (74) 代理人 100080791
 弁理士 高島 一
 (74) 代理人 100125070
 弁理士 土井 京子
 (74) 代理人 100136629
 弁理士 鎌田 光宜
 (74) 代理人 100121212
 弁理士 田村 弥栄子

最終頁に続く

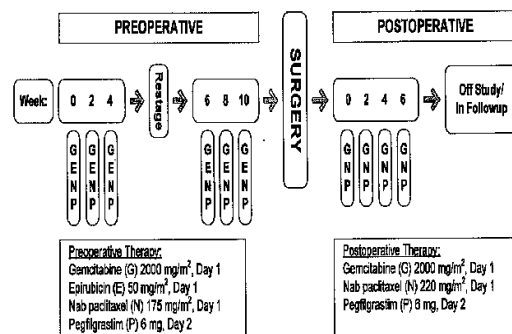
(54) 【発明の名称】 癌治療における S P A R C 微小環境痕跡シグネチャーの使用

(57) 【要約】

本発明は、化学療法への反応を予測するための、マルチパラメトリックな抗 S P A R C 抗体に基づいた技術を提供する。

【選択図】 図 1

FIG. 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

化学療法レジメンを用いて動物における腫瘍を治療する方法であって、以下を含む：

(a) S P A R C 微小環境シグネチャー (S M S) を得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、

(b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、化学療法レジメンの治療有効量を投与する。

10

【請求項 2】

所定の S M S が、少なくとも 70% の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストロマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも 50% の炎症細胞及び少なくとも 70% の血管、及びストロマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 3】

所定の S M S が、少なくとも 60% の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、少なくとも 60% の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

所定の S M S が、50% 未満の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、50% 未満の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有することを含む、請求項 1 に記載の方法。

30

【請求項 5】

所定の S M S が、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で 2 + 強度以下を有する免疫染色であること；50% 以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストロマ、及び線維芽細胞が第一の抗体での染色陽性の免疫染色であること；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストロマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアを有する免疫染色であることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

腫瘍が、口腔腫瘍、咽頭腫瘍、消化器系腫瘍、呼吸器系腫瘍、骨腫瘍、軟骨性腫瘍、骨転移、肉腫、皮膚腫瘍、メラノーマ、乳房腫瘍、生殖器系腫瘍、泌尿器系腫瘍、眼窩腫瘍、脳及び中枢神経系腫瘍、神経膠腫、内分泌系腫瘍、甲状腺腫瘍、食道腫瘍、胃腫瘍、小腸腫瘍、大腸腫瘍、直腸腫瘍、肛門腫瘍、肝臓腫瘍、胆嚢腫瘍、膵腫瘍、喉頭腫瘍、肺の腫瘍、気管支腫瘍、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、子宮頸部腫瘍、子宮体部腫瘍、卵巣腫瘍、外陰部腫瘍、陰茎腫瘍、前立腺腫瘍、前立腺癌、精巣腫瘍、陰茎の腫瘍、膀胱腫瘍、腎臓の腫瘍、腎盂の腫瘍、尿管の腫瘍、頭部及び頸部の腫瘍、副甲状腺癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、並びに肛門腫瘍からなる群より選択される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 7】

腫瘍が、乳癌、膵臓癌、肺癌、又はメラノーマである、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

50

腫瘍が乳癌である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

哺乳動物がヒトである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

化学療法レジメンがパクリタキセルを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法

。

【請求項 11】

化学療法レジメンが nab - パクリタキセルを含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

化学療法レジメンが以下のいずれかを含む、請求項 11 に記載の方法：

10

(a) ネオアジュバント nab - パクリタキセルを $175 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、ゲムシタピンを $2000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、エピルピシンを $50 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、14日に一度を6周期、その後、手術による原発性腫瘍の摘出、その後、 nab - パクリタキセルを $220 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、及びゲムシタピンを $2000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、14日間、4周期、手術後に投与；

(b) nab - パクリタキセル ($100 \sim 150 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びゲムシタピン ($1000 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で；又は

(c) nab - パクリタキセル ($100 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びカルボプラチン (AUC2) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で。

20

【請求項 13】

化学療法レジメンが以下を6周期行うことを含む、請求項 11 に記載の方法：

(a) 各28日周期の1、8、15日目で $125 \text{ mg} / \text{m}^2$ でネオアジュバント nab-パクリタキセル、

(b) 各28日周期の1日目でカルボプラチン AUC6、

(c) $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 量と、それに続く $2 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ のトラスツズマブ、並びに

(d) $5 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ でのベバシズマブ、

その後、原発性腫瘍の手術での摘出、

その後、52週間の治療有効量のトラスツズマブ及びベバシズマブ。

【請求項 14】

30

腫瘍が乳癌であって、所定のSMSが、少なくとも70%の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 15】

腫瘍が乳癌であって、所定のSMSが、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

40

腫瘍が Her2 陽性乳癌であって、化学療法レジメンが以下を6周期行うことを含む、請求項 15 に記載の方法：

(a) 各28日周期の1、8、15日目で $125 \text{ mg} / \text{m}^2$ でネオアジュバント nab-パクリタキセル、

(b) 各28日周期の1日目でカルボプラチン AUC6、

(c) $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 量と、それに続く $2 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ のトラスツズマブ、並びに

(d) $5 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ でのベバシズマブ、

その後、原発性腫瘍の手術での摘出、

その後、52週間の治療有効量のトラスツズマブ及びベバシズマブ。

【請求項 17】

腫瘍が Her2 ネガティブ乳癌であって、化学療法レジメンが、 nab - パクリタキセ

50

ル (1 7 5 m g / m ²)、ゲムシタピン (2 0 0 0 m g / m ²)、及びエピルピシン (5 0 m g / m ²) を用いて 1 4 日間、6 周期行うことを含む手術前の治療、並びに n a b - パクリタキセル (2 2 0 m g / m ²) 及びゲムシタピン (2 0 0 0 m g / m ²) (1 4 日間の 4 周期) を含む手術後の治療を包含する、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 8】

腫瘍が膵臓癌であって、化学療法レジメンが n a b - パクリタキセルを含み、所定 S M S が、5 0 % 未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、5 0 % 未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有することを含む、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 1 9】

腫瘍がメラノーマであって、化学療法レジメンが n a b - パクリタキセルを含み、所定の S M S が、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で 2 + 強度以下を有する免疫染色であること；約 5 0 % 以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアを有する免疫染色であることを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 2 0】

動物における腫瘍の化学療法レジメンに対する反応を予測する方法であって、以下を含む：

20

(a) S P A R C 微小環境シグネチャー (S M S) を得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、

(b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、並びに、第二の抗体を用いた、腫瘍の血管及び腫瘍のストローマの染色を決定し、

30

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、化学療法レジメンに対する陽性反応を予測する。

【請求項 2 1】

所定の S M S が、少なくとも 7 0 % の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも 5 0 % の炎症細胞及び少なくとも 7 0 % の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

所定の S M S が、少なくとも 6 0 % の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、少なくとも 6 0 % の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 2 0 に記載の方法。

40

【請求項 2 3】

所定 S M S が、5 0 % 未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、5 0 % 未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有することを含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 4】

所定の S M S が、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で 2 + 強度以下を有する免疫染色であること；5 0 % 以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること；並びに腫瘍細胞、血管

50

、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアを有する免疫染色であることを含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 25】

腫瘍が、口腔腫瘍、咽頭腫瘍、消化器系腫瘍、呼吸器系腫瘍、骨腫瘍、軟骨性腫瘍、骨転移、肉腫、皮膚腫瘍、メラノーマ、乳房腫瘍、生殖器系腫瘍、泌尿器系腫瘍、眼窩腫瘍、脳及び中枢神経系腫瘍、神経膠腫、内分泌系腫瘍、甲状腺腫瘍、食道腫瘍、胃腫瘍、小腸腫瘍、大腸腫瘍、直腸腫瘍、肛門腫瘍、肝臓腫瘍、胆嚢腫瘍、膵腫瘍、喉頭腫瘍、肺の腫瘍、気管支腫瘍、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、子宮頸部腫瘍、子宮体部腫瘍、卵巣腫瘍、外陰部腫瘍、陰嚢腫瘍、前立腺腫瘍、前立腺癌、精巣腫瘍、陰茎の腫瘍、膀胱腫瘍、腎臓の腫瘍、腎盂の腫瘍、尿管の腫瘍、頭部及び頸部の腫瘍、副甲状腺癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、並びに肛門腫瘍からなる群より選択される、請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 26】

腫瘍が、乳房腫瘍、膵臓腫瘍、又はメラノーマである、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

哺乳動物がヒトである、請求項 20 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

化学療法レジメンがパクリタキセルを含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

化学療法レジメンが nab - パクリタキセルを含む、請求項 28 に記載の方法。

20

【請求項 30】

化学療法レジメンが以下のいずれかを含む、請求項 29 に記載の方法：

(a) ネオアジュバント nab - パクリタキセルを $175 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、ゲムシタピンを $2000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、エピルピシンを $50 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、14日に一度を6周期、その後、手術による原発性腫瘍の摘出、その後、nab - パクリタキセルを $220 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、及びゲムシタピンを $2000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、14日間、4周期、手術後に投与；

(b) nab - パクリタキセル ($100 \sim 150 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びゲムシタピン ($1000 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で；又は

(c) nab - パクリタキセル ($100 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びカルボプラチン (AUC2) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で。

30

【請求項 31】

化学療法レジメンが以下を6周期行うことを含む、請求項 29 に記載の方法：

(a) 各28日周期の1、8、15日目で $125 \text{ mg} / \text{m}^2$ でネオアジュバント nab - パクリタキセル、

(b) 各28日周期の1日目でカルボプラチン AUC6、

(c) $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 量と、それに続く $2 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ のトラスツズマブ、並びに

(d) $5 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ でのベバシズマブ、

その後、原発性腫瘍の手術での摘出、

その後、52週間の治療有効量のトラスツズマブ及びベバシズマブ。

40

【請求項 32】

動物における腫瘍の、化学療法レジメンに対する反応を予測するためのキットであって、以下を含む：

(a) 第一の抗 SPARC 抗体を用いた免疫染色であって、当該第一の抗 SPARC 抗体が腫瘍細胞において SPARC を優先的に染色することを特徴とし、かつ、

(b) 第二の抗 SPARC 抗体を用いた免疫染色であって、当該第二の抗 SPARC 抗体が線維芽細胞において SPARC を優先的に染色することを特徴とする。

【請求項 33】

50

腫瘍を有する動物が、その腫瘍の進行の低いリスクを有するかどうかを予測する方法であって、以下を含む：

(a) S P A R C 微小環境シグネチャー (S M S) を得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、

(b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、進行の低いリスクを予測する。

【請求項 3 4】

腫瘍が乳癌であって、所定の S M S が、約 7 0 % 未満の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストロマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも 5 0 % の炎症細胞及び少なくとも 7 0 % の血管、及びストロマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

腫瘍が乳癌であって、所定の S M S が、少なくとも 6 0 % の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、少なくとも 6 0 % の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 6】

腫瘍が膵臓癌であって、所定 S M S が、5 0 % 未満の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、5 0 % 未満の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有することを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 7】

腫瘍がメラノーマであって、所定の S M S が、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で 2 + 強度以下を有する免疫染色であること；約 5 0 % 以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストロマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストロマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアを有する免疫染色であることを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

腫瘍が、口腔腫瘍、咽頭腫瘍、消化器系腫瘍、呼吸器系腫瘍、骨腫瘍、軟骨性腫瘍、骨転移、肉腫、皮膚腫瘍、メラノーマ、乳房腫瘍、生殖器系腫瘍、泌尿器系腫瘍、眼窩腫瘍、脳及び中枢神経系腫瘍、神経膠腫、内分泌系腫瘍、甲状腺腫瘍、食道腫瘍、胃腫瘍、小腸腫瘍、大腸腫瘍、直腸腫瘍、肛門腫瘍、肝臓腫瘍、胆嚢腫瘍、膵腫瘍、喉頭腫瘍、肺の腫瘍、気管支腫瘍、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、子宮頸部腫瘍、子宮体部腫瘍、卵巣腫瘍、外陰部腫瘍、膣腫瘍、前立腺腫瘍、前立腺癌、精巣腫瘍、陰茎の腫瘍、膀胱腫瘍、腎臓の腫瘍、腎盂の腫瘍、尿管の腫瘍、頭部及び頸部の腫瘍、副甲状腺癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、並びに肛門腫瘍からなる群より選択される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 9】

腫瘍が、乳癌、膵臓癌、肺癌、又はメラノーマである、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

腫瘍が乳癌である、請求項 3 9 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 4 1】

哺乳動物がヒトである、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 2】

哺乳動物が、パクリタキセルを含む化学療法レジメンを用いて治療される、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 3】

化学療法レジメンが n a b - パクリタキセルを含む、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

化学療法レジメンが以下のいずれかを含む、請求項 4 3 に記載の方法：

(a) ネオアジュバント n a b - パクリタキセルを $175 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、ゲムシタピンを $2000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、エピルピシンを $50 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、14日に一度を6周期、その後、手術による原発性腫瘍の摘出、その後、n a b - パクリタキセルを $220 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、及びゲムシタピンを $2000 \text{ mg} / \text{m}^2$ で、14日間、4周期、手術後に投与；

(b) n a b - パクリタキセル ($100 \sim 150 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びゲムシタピン ($1000 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で；又は

(c) n a b - パクリタキセル ($100 \text{ mg} / \text{m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びカルボプラチン (A U C 2) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で。

【請求項 4 5】

化学療法レジメンが以下を6周期行うことを含む、請求項 4 3 に記載の方法：

(a) 各28日周期の1、8、15日目で $125 \text{ mg} / \text{m}^2$ でネオアジュバント n a b - パクリタキセル、

(b) 各28日周期の1日目でカルボプラチン A U C 6、

(c) $4 \text{ mg} / \text{kg}$ 量と、それに続く $2 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ のトラスツズマブ、並びに

(d) $5 \text{ mg} / \text{kg} / \text{week}$ でのペバシズマブ、

その後、原発性腫瘍の手術での摘出、

その後、52週間の治療有効量のトラスツズマブ及びペバシズマブ。

【請求項 4 6】

腫瘍を有する動物が、腫瘍による死亡の低いリスクを有するかを予測する方法であって、以下を含む：

(a) S P A R C 微小環境シグネチャー (S M S) を得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、

(b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、

(d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、腫瘍による死亡の低いリスクが存在することを予測する。

【請求項 4 7】

腫瘍が乳癌であって、所定の S M S が、約70%未満の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

10

20

30

40

50

腫瘍が乳癌であって、所定のSMSが、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む、請求項46に記載の方法。

【請求項49】

腫瘍が膵臓癌であって、所定のSMSが、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有することを含む、請求項46に記載の方法。

【請求項50】

腫瘍がメラノーマであって、所定のSMSが、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2+強度以下を有する免疫染色であること；約50%以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアを有する免疫染色であることを含む、請求項46に記載の方法。

10

【請求項51】

腫瘍が、口腔腫瘍、咽頭腫瘍、消化器系腫瘍、呼吸器系腫瘍、骨腫瘍、軟骨性腫瘍、骨転移、肉腫、皮膚腫瘍、メラノーマ、乳房腫瘍、生殖器系腫瘍、泌尿器系腫瘍、眼窩腫瘍、脳及び中枢神経系腫瘍、神経膠腫、内分泌系腫瘍、甲状腺腫瘍、食道腫瘍、胃腫瘍、小腸腫瘍、大腸腫瘍、直腸腫瘍、肛門腫瘍、肝臓腫瘍、胆嚢腫瘍、膵腫瘍、喉頭腫瘍、肺の腫瘍、気管支腫瘍、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、子宮頸部腫瘍、子宮体部腫瘍、卵巣腫瘍、外陰部腫瘍、陰嚢腫瘍、前立腺腫瘍、前立腺癌、精巣腫瘍、陰茎の腫瘍、膀胱腫瘍、腎臓の腫瘍、腎盂の腫瘍、尿管の腫瘍、頭部及び頸部の腫瘍、副甲状腺癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、並びに肛門腫瘍からなる群より選択される、請求項46に記載の方法。

20

【請求項52】

腫瘍が、乳癌、膵臓癌、肺癌、又はメラノーマである、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

哺乳動物がヒトである、請求項46～51のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項54】

哺乳動物が、パクリタキセルを含む化学療法レジメンを用いて治療される、請求項46に記載の方法。

【請求項55】

化学療法レジメンがnab-パクリタキセルを含む、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

化学療法レジメンが以下のいずれかを含む、請求項54に記載の方法：

(a) ネオアジュバントnab-パクリタキセルを 175 mg/m^2 で、ゲムシタピンを 2000 mg/m^2 で、エピルピシンを 50 mg/m^2 で、14日に一度を6周期、その後、手術による原発性腫瘍の摘出、その後、nab-パクリタキセルを 220 mg/m^2 で、及びゲムシタピンを 2000 mg/m^2 で、14日間、4周期、手術後に投与；

40

(b) nab-パクリタキセル($100\sim 150\text{ mg/m}^2$)を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びゲムシタピン(1000 mg/m^2)を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で；又は

(c) nab-パクリタキセル(100 mg/m^2)を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びカルボプラチン(AUC2)を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で。

【請求項57】

化学療法レジメンが以下を6周期行うことを含む、請求項54に記載の方法：

(a) 各28日周期の1、8、15日目で 125 mg/m^2 でネオアジュバントnab-

50

パクリタキセル、

(b) 各 28 日周期の 1 日目でカルボプラチン AUC 6、

(c) 4 mg / kg 量と、それに続く 2 mg / kg / week のトラスツズマブ、並びに

(d) 5 mg / kg / week でのベバシズマブ、

その後、原発性腫瘍の手術での摘出、

その後、52 週間の治療有効量のトラスツズマブ及びベバシズマブ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2010 年 6 月 3 日に出願された、米国仮出願番号 61/351,233 の 35 U.S.C. § 119(e) のもとの優先権の利益を主張し、その全体の内容は参照することにより本明細書に組み込まれる。

10

【背景技術】

【0002】

酸性であり且つシステインに富んだ分泌タンパク質（オステオネクチン、BM40、又は SPARC としても知られる）（以下、「SPARC」という）は、マトリックス結合タンパク質であり、細胞の形状の変化を誘発し、細胞周期の進行を阻害し、かつ細胞外マトリックスの合成に影響する（Bradshaw et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100: 6045-6050 (2003)）。マウス SPARC 遺伝子は 1986 年にクローニングされ（Mason et al., EMBO J. 5: 1465 - 1472 (1986)）、全長ヒト SPARC cDNA は 1987 年にクローニング及びシーケンスされた（Swaroop et al., Genomics 2: 37-47 (1988)）。SPARC の発現は発生的に制御され、正常発生中の再構築を受けている組織において、又は傷害への応答において、主に発現する。例えば、高レベルの SPARC タンパク質は、発生中の骨及び歯において発現する（例えば、Lane et al., FASEB J., 8, 163 173 (1994); Yan & Sage, J. Histochem. Cytochem. 47:1495-1505 (1999) を参照）。

20

【0003】

SPARC はいくつかの侵襲性の癌において上方制御されているが、対応する正常組織には存在しない（Porter et al., J. Histochem. Cytochem., 43, 791 (1995)）。SPARC の発現は、様々な腫瘍の間で誘導される（例えば、膀胱、肝臓、卵巣、腎臓、腸、及び乳房）。膀胱癌において、例えば、SPARC の発現は進行性の癌と関連している。ステージ T2 又はより進行した、浸潤性の膀胱腫瘍では、ステージ T1 の膀胱腫瘍（又は、より早期の表在性腫瘍）と比べ、高レベルの SPARC の発現を示し、より不良な予後となる（例えば、Yamanaka et al., J. Urology, 166, 2495 - 2499 (2001) を参照）。髄膜腫において、SPARC の発現は浸潤性腫瘍にのみ関連している（例えば、Rempel et al., Clinical Cancer Res., 5, 237 241 (1999) を参照）。SPARC の発現は、上皮内浸潤性乳癌腫病変の 74.5%（例えば、Bellahcene et al., Am. J. Pathol., 146, 95 - 100 (1995) を参照）、及び浸潤性の乳管癌の 54.2%（例えば、Kim et al., J. Korean Med. Sci., 13, 652 - 657 (1998) を参照）でも検出される。SPARC の発現は乳癌における頻繁な微小石灰化とも関連付けられており（例えば、上掲の Bellahcene et al. を参照）、このことは SPARC の発現が、乳房転移の骨に対する親和性に関与し得ることを示唆している。

30

40

【0004】

驚いたことに、SPARC はいくつかの系において、抗腫瘍活性を有することも示されている。SPARC は、細胞を mid-G において停止させる強力な細胞周期阻害剤であり（Yan & Sage, J. Histochem. Cytochem. 47:1495-1505 (1999)）、SPARC の誘導型発現は、in vitro モデル系において、乳癌細胞の増殖を阻害することが示されている（Dhanesuan et al., Breast Cancer Res. Treat. 75:73-85 (2002)）。同様に、外来の SPARC は、HOSE（ヒト卵巣表面上皮）及び卵巣癌細胞の両方の増殖を、濃度依存的な様式で、減少させることができる。更に、SPARC は卵巣癌細胞においてアポトーシスを誘導する。卵巣上皮細胞等の細胞上に存在する、SPARC レセプターにつ

50

いての更なる証拠が報告されている。S P A R Cの当該レセプターへの結合が、その腫瘍抑制機能を媒介する、組織特異的なシグナリング経路を作動させているであろうことが提唱されている (Yiu et al., Am. J. Pathol. 159:609-622 (2001))。精製したS P A R Cが、強力に血管新生を阻害し、i n v i v oでの異種移植モデル系において、神経芽細胞腫の腫瘍の成長を有意に弱めることも報告されている (Chlenski et al., Cancer Res. 62:7357-7363 (2002))。

【 0 0 0 5 】

癌は現在主に、3種類の治療：手術、放射線、及び化学療法、のうちの1つ又はその組み合わせにより治療される。一般的に、手術は初期の癌を治療することにのみ効果的である。50%を超える癌を有する個人については、彼らが診断されるまでに、彼らはもはや効果的な手術治療についての候補者ではなくなっている。放射線治療は、初期及び中期の癌で、臨床的に限局性疾患である個人に対してのみ効果的であり、転移を伴う後期の癌には効果的でない。

10

【 0 0 0 6 】

化学療法は、細胞の複製又は細胞の代謝の崩壊を伴う。化学療法は効果的であり得るが、しかし、深刻な副作用、例えば、嘔吐、低白血球 (W B C)、髪の毛の喪失、体重の喪失、及び他の有毒な効果がある。非常に有毒な副作用のため、癌を有する多くの個人は完全な化学療法レジメンを成功裏に終えることができない。化学療法誘導性の副作用は、個人の生活の質へ著しく影響を与え、治療を受けている個人の服薬遵守へ劇的に影響し得る。更に、化学療法剤に関連した好ましくない副作用は、一般的に、これらの薬剤の投与における、主要な用量限定毒性 (D L T) である。例えば、粘膜炎はいくつかの抗癌剤 (代謝拮抗細胞毒性剤、5 - F U、メトトレキサート、及び抗腫瘍抗生物質、ドキソルビシン等が挙げられる) についての、主要な用量限定毒性の一つである。これら化学療法誘導性副作用の多くは、もし深刻であれば、入院することになり得る、又は痛みを管理するために鎮痛剤を用いた治療を必要とし得る。癌を有する個人の中には、耐性に乏しいために、化学療法で死亡する者もいる。抗癌剤の極度の副作用は、そのような薬剤の乏しい標的特異性により引き起こされる。薬剤は、個人のほとんどの正常臓器、及び意図した標的腫瘍を循環する。ごく一部の薬剤のみが正確に標的化されるので、副作用を起こす乏しい標的特異性は、化学療法の有効性も減ずる。化学療法の有効性は、標的腫瘍内での抗癌剤の保持が乏しいために、更に減少する。

20

30

【 0 0 0 7 】

癌の重大性及び広範性ゆえ、手術、化学療法、及び放射線治療の欠点を克服するような、当該疾患及び障害の効果的な治療に対する大きな必要性が存在する。特に、化学療法に関連した深刻な副作用を考慮して、どの腫瘍が化学療法レジメンに対し反応するか、又はしないかを同定する必要性がある。

【 発明の概要 】

【 0 0 0 8 】

本発明は、「S P A R C 微小環境シグネチャー」を、癌を有する動物の管理手段として提供する。「S P A R C 微小環境シグネチャー」(S M S) は、2つの抗S P A R C抗体 (第一の抗S P A R C抗体は、腫瘍細胞において優先的にS P A R Cを染色し、第二の抗S P A R C抗体は、線維芽細胞において優先的にS P A R Cを染色する) を用いて、組織切片を染色した際に観察される、免疫染色パターンである。腫瘍細胞のS M Sを決定するために、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせを、免疫染色し、スコア化する (パーセンテージ陽性細胞として、0 - 4の特定の拡大率及び/又は染色強度で、免疫染色された領域のパーセンテージ)。

40

【 0 0 0 9 】

一の実施形態において、本発明は、化学療法レジメンを用いて動物における腫瘍を治療する方法を提供し、以下を含む：

(a) S P A R C 微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、

50

(b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
 (c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
 (d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、

【0010】

10

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、化学療法レジメンの治療有効量を投与する。他の実施形態において、本発明は、動物における腫瘍の化学療法レジメンに対する反応を予測する方法を提供し、以下を含む：

(a) S P A R C 微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、
 (b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
 (c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
 (d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、

20

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、化学療法レジメンに対する陽性反応を予測する。

【0011】

他の実施形態において、本発明は、腫瘍を有する動物で、その腫瘍の進行の低いリスクを有するかどうか、又はその腫瘍による死亡の低いリスクを有するかどうかを予測する方法を提供し、以下を含む：

(a) S P A R C 微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、
 (b) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
 (c) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
 (d) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、

30

(e) 所定の S M S が免疫染色により示された場合に、腫瘍の進行の低いリスク又は腫瘍による死亡の低いリスクを予測する。

40

【0012】

本発明は、動物における腫瘍の、化学療法レジメンに対する反応を予測するためのキットも提供し、以下を含む：

(a) 第一の抗 S P A R C 抗体を用いた免疫染色であって、当該第一の抗 S P A R C 抗体が腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とし、かつ、
 (b) 第二の抗 S P A R C 抗体を用いた免疫染色であって、当該第二の抗 S P A R C 抗体が線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色することを特徴とする。

【図面の簡単な説明】

【0013】

50

【図 1】図 1 は、臨床試験設計の略図を示す。

【図 2 A】図 2 は、ネオアジュバント乳癌試験における、HER2 ネガティブ患者についての結果をグラフで示す (N = 107)。図 2 A は、無増悪期間 (PFS) を示し、図 2 B は全体の生存率 (OS) を示す。(PFS 及び OS の中央値は、この患者集団では得られなかった。)

【図 2 B】図 2 は、ネオアジュバント乳癌試験における、HER2 ネガティブ患者についての結果をグラフで示す (N = 107)。図 2 A は、無増悪期間 (PFS) を示し、図 2 B は全体の生存率 (OS) を示す。(PFS 及び OS の中央値は、この患者集団では得られなかった。)

【図 3】図 3 は、SMS リスク群を別の予後因子へ加えることで、短縮した PFS に関して、低リスク (0 リスク因子)、中リスク (1 リスク因子)、及び高リスク (2 リスク因子) を有する腫瘍を更に区別したことを、グラフで説明する。

【図 4】図 4 は、SMS リスク群を別の予後因子へ加えることで、短縮した OS に関して、低リスク (0 リスク因子)、中リスク (1 リスク因子)、及び高リスク (2 リスク因子) を有する腫瘍を更に区別したことを、グラフで説明する。

【発明を実施するための形態】

【0014】

発明の詳細な説明

本明細書で使用される場合、用語「腫瘍」は、良性又は悪性 (癌性) であろうと、原発部位病変又は転移であろうと、いかなる新生物の成長、増殖、又は細胞集団をもいう。

【0015】

本明細書で使用される場合、用語「癌」は、正常な増殖制御に対する感受性を喪失した細胞の増殖によって引き起こされる、又は特徴付けられる、増殖性疾患のことを言う。同一組織型の癌は通常、同一組織に由来し、それらの生物学的な特徴に基づいて異なるサブタイプに分けることができる。癌の 4 つの一般的なカテゴリーは、カルシノーマ (上皮組織由来)、肉腫 (結合組織又は中胚葉系由来)、白血病 (造血組織由来)、及びリンパ腫 (リンパ組織由来) である。200 を超える異なるタイプの癌が知られており、体の全ての臓器及び組織が罹患し得る。癌の定義を限定するものではないが、癌の具体例として、メラノーマ、白血病、星状細胞腫、神経膠芽腫、網膜芽細胞腫、リンパ腫、神経膠腫、ホジキンリンパ腫、及び慢性リンパ性白血病が挙げられる。様々な癌に罹患し得る臓器及び組織の例として、膵臓、乳房、甲状腺、卵巣、子宮、精巣、前立腺、甲状腺、脳下垂体、副腎、腎臓、胃、食道又は直腸、頭頸部、骨、神経系、皮膚、血液、鼻咽頭組織、肺、泌尿器、子宮頸部、膣、外分泌腺、内分泌腺が挙げられる。或いは、癌は多発癌又は原発不明癌 (CUPS) であり得る。

【0016】

本明細書中で使用される場合、「癌性細胞」とは、形質転換事象を起こした細胞であって、その増殖が前記の形質転換事象以前と同程度にはもはや制御されないものをいう。

【0017】

本明細書で使用される場合、「薬物」とは、患者又は被験者へ投与され得る組成物であって、効果を生じさせることができるものをいう。上記効果は、化学的、生物学的、又は物理的なものであり得、患者又は被験者は、ヒト、又は齧歯動物若しくはトランスジェニックマウス等の非ヒト動物であり得る。上記組成物は、明確な分子的構成を有する有機若しくは無機の小分子であって、合成されたもの、天然に見出されるもの、又は部分合成起源のものを含み得る。このグループには、ヌクレオチド、核酸、アミノ酸、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、又はこれらの構成要素の少なくとも 1 つを含む複合体が含まれる。当該薬物は、効果を生じる組成物単独、又は医薬上許容される賦形剤との組み合わせで構成され得る。

【0018】

本明細書中で使用される場合、「医薬上許容される賦形剤」は、任意及び全ての、生理学的に適合性の溶媒、分散媒、コーティング、抗菌、抗微生物又は抗真菌剤、等張剤及び

10

20

30

40

50

吸収遅延剤等を含む。上記賦形剤は、静脈内、腹腔内、筋肉内、髄腔内、又は口腔の投与に適したものであり得る。上記賦形剤は、無菌の注入可能な溶液又は分散液の即時調製のための、無菌の水溶性溶液又は分散液を含み得る。薬物の調製のためのそのような媒体の使用は当該技術分野で公知である。

【0019】

本明細書で使用される場合、薬物の「薬理学上有効量」とは、薬剤が使用される期間に渡って送達される薬剤の、治療レベルをもたらすような濃度で存在する薬物の量を使用することをいう。これは、薬物を受容する被験者における、送達方法、投与の周期、年齢、体重、一般的な健康状態、性別、及び食事に依存し得る。どの用量が「薬理学上有効量」であるかの決定は、ルーチンの最適化を必要とし、これは当業者の能力の範囲内である。癌又は癌性細胞は、既定の治療レジメンまたは化学療法剤が、癌細胞を殺す若しくは腫瘍の大きさを減少させる能力、癌の全体的な成長を減少させる能力（即ち、血管新生の減少を介して）、及び/又は転移を阻害する能力に基づいて、該レジメンに対して「感受性」又は「抵抗性」と記述され得る。治療レジメンに対して抵抗性の癌細胞は、該レジメンに反応せず増殖し続ける可能性がある。治療レジメンに対して感受性の癌細胞は、該レジメンに反応し、細胞死、腫瘍サイズの減少、全体的な成長の減少（腫瘍量）、又は転移阻害をもたらし得る。

10

【0020】

本明細書中で使用される場合、「治療レジメン」又は「治療」とは、癌性細胞に有害な少なくとも1つの薬剤の投与のことをいう。本発明に従って使用される適切な治療レジメンは、「化学療法レジメン」、「放射線治療レジメン」、「代替治療レジメン」、及びこれらの組み合わせを含むが、これらに限定されるものではない。

20

【0021】

本明細書中で使用される場合、「化学療法」とは、癌性細胞を破壊するための有害な、少なくとも1つの化学療法薬の投与のことをいう。臨床医が使用可能なそのような化学療法薬は多種多様に存在する。化学療法薬は対象に対して単回ボラス投与、又は時間をかけてより少量の投与で実施され得る。単一の化学療法薬（単一薬剤治療法）又は複数の薬剤の組み合わせ（併用療法）が使用され得る。化学療法はそれのみで、いくつかのタイプの癌の治療に用いることができる。或いは、化学療法は、放射線治療又は本明細書に記載されている他の治療法（例えば免疫治療法）等の他の治療法との組み合わせで用いることができる。更に、化学療法増感剤が化学療法薬との併用療法として投与され得る。

30

【0022】

本明細書中で使用される場合、「化学療法薬」又は「抗癌剤」とは、癌を治療するために使用される場合があり、一般的に、直接癌性細胞を殺す能力を有する薬物のことをいう。化学療法薬の例としては、アルキル化剤、代謝拮抗薬、天然物、ホルモン、及び拮抗薬、並びに種々の作用物質が挙げられる。別称の例は括弧内に示される。アルキル化剤の例は、メクロレタミン、シクロフォスファミド、イホスファミド、メルファラン（L-サルコリジン）、及びクロラムブシル等のナイトロジェンマスタード；ヘキサメチルメラミン及びチオテパ等のエチレンジアミン及びメチルメラミン；ブスルファン等のアルキルスルホン酸；カルムスチン（BCNU）、セムスチン（メチル-CCNU）、ロムスチン（CCNU）、及びストレプトゾシン（ストレプトゾトシン）等のニトロソウレア；リン酸エストラムスチン等のDNA合成拮抗剤；並びにダカルバジン（DTIC、ジメチル-トリアゼノイミダゾールカルボキサミド）及びテモゾロミド等のトリアジンを含む。代謝拮抗薬の例は、メトトレキサート（アメトプテリン）等の葉酸類似体；フルオロウラシン（fluorouracin）（5-フルオロウラシル、5-FU、5FU）、フロクスウリジン（フルオロデオキシウリジン、FUdR）、シタラビン（シトシンアラビノシド）、及びゲムシタピン等のピリミジン類似体；メルカプトプリン（6-メルカプトプリン、6-MP）、チオグアニン（6-チオグアニン、TG）及びペントスタチン（2'-デオキシコホルマイシン、デオキシコホルマイシン）、クラドリピン及びフルダラビン等のプリン類似体；並びにアムサクリン等のトポイソメラーゼ阻害剤を含む。天然物の例は、ビンブラスチン（VLB）及びピンクリスチン等のビンカルカ

40

50

ロイド；パクリタキセル及びドセタキセル（タキソテール）等のタキサン；エトポシド及びテニポシド等のエピポドフィロトキシン；トポテカン及びイリノテカン等のカンプトテシン；ダクチノマイシン（アクチノマイシンD）、ダウノルビシン（ダウノマイシン、ルビドマイシン）、ドキシソルビシン、プレオマイシン、マイトマイシン（マイトマイシンC）、イダルビシン、エピルビシン等の抗生物質；L-アスパラギナーゼ等の酵素；並びにインターフェロン及びインターロイキン2等の生物学的応答調節物質を含む。ホルモン及び拮抗薬の例は、プセレリン等の黄体ホルモン放出ホルモン作用物質；プレドニゾン及び関連製剤等の副腎皮質ステロイド；カブロン酸ヒドロキシプロゲステロン、酢酸メドロキシプロゲステロン及び酢酸メゲストロール等のプロゲステン；ジエチルスチルベストール及びエチニルエストラジオール及び関連製剤等のエストロゲン；タモキシフェン及びアナストロゾール等のエストロゲン拮抗薬；プロピオン酸テストステロン及びフルオキシメステロン及び関連製剤等のアンドロゲン；フルタミド及びピカルタミド等のアンドロゲン拮抗薬；並びにリュープロリド等の性腺刺激ホルモン放出ホルモン類似体を含む。種々の作用物質の例は、サリドマイド；シスプラチン（cis-DDP）、オキサリプラチン及びカルボプラチン等の白金配位錯体；ミトキサントロン等のアントラセンジオン；ヒドロキシウレア等の置換尿素；プロカルバジン（N-メチルヒドラジン、MIH）等のメチルヒドラジン誘導体；ミトタン（o,p'-DDD）及びアミノグルテチミド等の副腎皮質抑制剤；ベキサロテン等のRXR作用物質；並びにイマチニブ等のチロシンキナーゼ阻害剤を含む。これらの物質及び化学療法薬の追加の例の別称及び商標名、並びに用量や投与レジメンを含むそれらの使用法は当該分野に精通した者に公知であろう。特に、本発明に従って使用される適切な化学療法薬は、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセルを含むが、これに限定されるものではない。

【0023】

アブラキサン（登録商標）（ABI-007としても知られる）は好ましい化学療法薬である。アブラキサン（登録商標）は、パクリタキセルのアルブミン-ナノ粒子製剤である。アルブミンナノ粒子の媒体としての使用は、生理食塩水で再構成した際にコロイドの形成をもたらす。臨床研究に基づいて、アブラキサン（登録商標）の使用が、タキソール（登録商標）と比べて、減少した過敏性反応により特徴付けられることが示されている。従って、アブラキサン（登録商標）を受けている患者については、前投薬の必要はない。

【0024】

アルブミン-ナノ粒子形成の別の利点は、有毒な乳化剤を除外することによって、タキソール（登録商標）よりも、より高用量のパクリタキセルをより高頻度の間隔で投与することが可能であるという点である。（i）より高い許容できる用量（ $300\text{mg}/\text{m}^2$ ）、（ii）より長い半減期、（iii）長期の局所的な腫瘍への使用可能性、及び/又は（iv）持続したin vivo放出アブラキサン（登録商標）の結果として、増強された有効性が固形腫瘍において見ることができるといふ可能性が存在する。

【0025】

陽性反応は、少なくとも5%、好ましくは少なくとも10%、より好ましくは少なくとも15%、更により好ましくは少なくとも20%、最も好ましくは少なくとも25%又はそれ以上の計量の改善によって示されるような、病理学的な反応（腫瘍サイズ又は重量の減少）、全体の生存率、又は無増悪期間を含むものとして定義されるが、これらに限定されるものではない。或いは、上記計量は、治療なし、又は治療前、又は他の治療と比較して、統計的に有意な量による改善を示す。

【0026】

陰性反応は、病理学的な進行、減じた全体の生存率又は無増悪期間を含むが、これらに限定されない。

【0027】

本明細書中で使用される場合、用語「放射線治療レジメン」又は「放射線治療」は、癌性細胞を殺す放射線の投与のことをいう。放射線は細胞内の様々な分子と相互作用するが、細胞死という結果を招く主要な標的はデオキシリボ核酸（DNA）である。しかしながら

、放射線治療はしばしば細胞膜及び核膜並びに他の細胞小器官に対しても傷害をもたらす。DNA損傷は通常、糖-リン酸骨格における1本鎖及び2本鎖切断に関連する。更に、細胞機能を破壊し得る、DNAとタンパク質の架橋が生じる可能性がある。放射線のタイプによって、DNA損傷の機序は、相対的な生物学的有効性と共に、様々であり得る。例えば、重粒子（即ち陽子、中性子）はDNAを直接傷害し、より大きな相対的生物学的有効性を有する。電磁放射線は主に細胞内の水のイオン化によって生じる、寿命の短いヒドロキシル基のフリーラジカルを介して、間接的なイオン化という結果をもたらす。放射線の臨床応用は、外部からの放射線照射（外部の照射源から）及び密封小線源治療（患者に移植された又は埋め込まれた放射線源の使用）からなる。外部からの放射線照射は、X線及びγ又はガンマ線からなり、一方、密封小線源治療は崩壊してアルファ粒子、又はガンマ線と共にベータ粒子を放射する放射性核を用いる。

10

【0028】

放射線治療は更に、併用化学療法において、放射線増感剤として作用する化学療法薬と共に使用され得る。個々の患者に適した特定の放射線治療法の選択は、当業者によって治療の時点で癌の組織やステージを考慮した上で決定され得る。

【0029】

本明細書中で使用される場合、用語「代替治療レジメン」又は「代替治療」は、例えば、生物学的応答修飾因子（ポリペプチド性、炭水化物性、及び脂質性の生物学的応答修飾因子を含む）、毒素、レクチン、血管新生抑制剤、受容体型チロシンキナーゼ阻害剤（例えばイレッサ（登録商標）（ゲフィチニブ）、タルセバ（登録商標）（エルロチニブ）、アービタックス（登録商標）（セツキシマブ）、イマチニブメシル酸塩（グリベック（登録商標））、プロテアソーム(proteasome)阻害剤（例えば、ボルテゾミブ、（ベルケイド（登録商標））；PTK787（ZK222584）、オーロラキナーゼ阻害剤（例えばZM447439）等のVEGFR2阻害剤；哺乳類ラパマイシン標的タンパク質（mTOR）阻害剤、シクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）阻害剤、ラパマイシン阻害剤（例えば、シロリムス、（ラパミューン（登録商標）））；ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（例えば、ティピファニブ（ザーネストラ（登録商標）））；マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤（例えば、BAY 12-9566；硫酸多糖テコガラシ）；血管新生阻害剤（例えば、ベバシズマブ（アバスタチン（登録商標）））；TNP-4等のフマギリン類似体；カルボキシアミノトリアゾール(carboxyaminotriazole)；BB-94及びBB-2516；サリドマイド；インターロイキン-12；リノマイド；ペプチド断片；並びに血管成長因子及び血管成長因子受容体に対する抗体）；血小板由来成長因子受容体阻害剤、プロテインキナーゼC阻害剤、マイトジェン活性化キナーゼ阻害剤、マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼ阻害剤、ラウス肉腫ウイルス形質転換癌遺伝子（SRC）阻害剤、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤、小分子低酸素誘導因子阻害剤、ヘッジホッグ阻害剤、並びにTGF-シグナル阻害剤を含み得る。更に、免疫治療薬もまた代替治療レジメンとして考えられるであろう。例として、ケモカイン、ケモタキシン、サイトカイン、インターロイキン、又は組織因子が含まれる。適切な免疫治療薬には、事前に作られた抗体を含む血清又はガンマグロブリン；非特異的な免疫刺激アジュバンド；能動的で特異的な免疫療法；及び養子免疫療法も含まれる。更に、代替治療法は、ポリヌクレオチド（アンチセンス分子を含む）、ポリペプチド、抗体、遺伝子治療ベクター等の、他の生物を基盤とした化学物質を含み得る。そのような代替治療は、単独若しくは組み合わせで、又は本明細書に記載されている別の治療レジメンとの組み合わせで実施されてもよい。代替治療レジメンにおいて用いられるこれらの薬剤の別称及び商標名、並びに代替治療レジメンで用いられている薬剤の追加の例、並びに用量や投与レジメンを含むそれらの使用法は、当該分野に精通した臨床医に公知であろう。更に、用量及び投与レジメンを含めて、併用療法における代替治療レジメンに用いられる、化学療法薬及び他の薬剤の使用法もまた、当該技術分野の精通した者に公知であろう。

20

30

40

【0030】

特に、適切な代替治療レジメンは、Her2（例えばトラスツズマブ）、EGF又はEGF受容体、VEGF（例えばベバシズマブ）又はVEGF受容体、CD20等に対する抗体等の、癌細胞表面上

50

の分子に対する抗体を含むが、これに限定されるものではない。治療薬は、補体活性化、細胞を介した細胞毒、アポトーシス誘導、細胞死誘導、及びオプソニン化のうちの一以上を媒介する任意の抗体又は抗体断片を更に含み得る。例えば、そのような抗体断片は、完全な又は部分的なFc領域であり得る。

【0031】

本明細書で使用される場合、用語「組織切片」は、顕微鏡スライド上にマウントし、任意の適当なプロトコールにより染色するのに適した、組織サンプルの薄い切片のことをいう。本明細書で使用される場合、「組織切片を免疫染色すること」は、細胞及び細胞内マトリックスの成分への抗体の結合の結果としてもたらされる、組織切片の細胞及び細胞内マトリックスの染色のことをいう。本明細書で使用される場合、「主に (predominantly)」又は「優先的に (preferentially)」構造を染色することとは、例えば、線維芽細胞よりも癌細胞で、組織切片において優先的に染色された構造の免疫染色は、病理学者によって任意の適切な系により等級分けされた強度であるべきである (例えば、当業者により顕微鏡で観察されたとき 3 / 3、全ての他の構造の染色は、1 / 3 の強度のみ又は 0 / 3 を示す (染色なし))。

10

【0032】

本明細書で使用される場合、用語「エピトープ」とは、抗体によって結合された三次元構造をいい、特に、該抗体により標的とされたアミノ酸配列をいう。本明細書で使用される場合、用語「M A B 9 4 1 モノクローナル抗体により認識されるエピトープ」は、M A B 9 4 1 モノクローナル抗体により結合される、S P A R C のアミノ酸配列のことをいう。

20

【0033】

本明細書で使用される場合、「免疫優性エピトープ」は、ポリクローナル抗血清中の抗体により、最も強い共同的な結合力で結合される、三次元構造をいう。特に、免疫染色プロトコールにおける染色のパターンの原因となるエピトープは、該ポリクローナル抗血清を用いている。本明細書で使用される場合、用語「A F 9 4 1 ポリクローナル抗体によって認識される免疫優性 S P A R C エピトープ」は、A F 9 4 1 ポリクローナル抗血清によって、最も強い結合が見られる、S P A R C のペプチド及びアミノ酸配列をいう。従って、これらの S P A R C のペプチド及びアミノ酸配列への結合、並びにその染色が生じ、大部分の免疫染色が観察される。(S P A R C ポリクローナル抗体 (R&D Systems、ミネアポリス、MN)、カタログ番号 A F 9 4 1)。

30

【0034】

エピトープマッピングもまた、当該技術分野で公知の標準的な技術を使用して行うことが可能である。例えば、"Epitope Mapping," Chapter 11, in Using Antibodies by Ed Harlow and David Lane. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA, 1999 (その全体を参照することによって本明細書に組み込まれる)、のプロトコール。エピトープをマッピングすることにより、エピトープ特異的抗体を、標準的な技術によって、容易に産生することが可能である。

【0035】

「抗体」は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ダイマー、マルチマー、多重特異性抗体 (例えば二重特異性抗体) を意味するが、これに限定されるものではない。抗体は、マウス由来、ヒト由来、ヒト化、キメラ型、又は他の種由来のものであり得る。抗体は特異的な抗原を認識し結合することのできる、免疫系によって産生されたタンパク質である。標的抗原は一般的に、複数の抗体のCDRによって認識される多くの結合部位 (エピトープとも呼ばれる) を有する。異なるエピトープに特異的に結合するそれぞれの抗体は、異なる構造を有する。故に、抗原は一つより多くの対応する抗体を有し得る。

40

【0036】

抗体は、全長のイムノグロブリン分子又は全長のイムノグロブリン分子の免疫学的な活性部位 (即ち、対象となる標的抗原又はその一部に、免疫特異的に結合するような抗原結

50

合部位を含む分子)を含む。標的としては、癌細胞、又は自己免疫疾患に関連する自己免疫抗体を産生する他の細胞が挙げられる。

【0037】

本明細書で開示されているイムノグロブリンは、任意のクラス(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、及びIgA)又はサブクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)であるイムノグロブリン分子であり得る。上記イムノグロブリンは任意の動物由来のものであり得る。

【0038】

「抗体断片」は、所望の生物学的活性を維持している全長抗体の一部を含む。「抗体断片」は一般的に、抗体の結合領域又は可変領域のことである。抗体断片の例は、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；二重特異性抗体；直鎖状抗体；Fab発現ライブラリーにより産生された断片、抗イディオタイプ(anti-Id)抗体、CDR(相補性決定領域)、及び癌細胞抗原、ウイルス抗原又は微生物抗原に免疫特異的に結合する上記の任意のエピトープ結合断片、一本鎖抗体分子；並びに抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

10

【0039】

本明細書で参照されているモノクローナル抗体は具体的に、重鎖及び/又は軽鎖の一部が、特定の種由来又は特定のクラス若しくはサブクラスに属する抗体における対応配列と同一又は相同であり、一方で、鎖(複数)の残りの部分が、別の種由来又は別のクラス又はサブクラスに属する抗体における対応配列と同一又は相同である「キメラ」抗体を含み、また同様に、望ましい生物学的活性を示す限りそのような抗体の断片も含む(米国特許第4,816,567号明細書)。ここで対象となるキメラ抗体は、非ヒト霊長類(例えば、旧世界ザル又は類人猿)由来の可変領域抗原結合配列及びヒト定常領域配列を含有する「霊長類化」抗体を含む。

20

【0040】

「抗体依存的細胞媒介性細胞傷害」及び「ADCC」は、Fc受容体(FcR)を発現する非特異的細胞傷害性細胞(例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞、好中球、及びマクロファージ)が、標的細胞上に結合している抗体を認識し、結果として標的細胞の溶解を引き起こす、細胞を媒介した反応のことをいう。ADCCを媒介する主要な細胞(NK細胞)は、FcRIIのみを発現するのに対し、単核球はFcRI、FcRII及びFcRIIIを発現する。対象分子のADCC活性を評価するために、*in vitro* ADCC解析を行うことができる(米国特許第5,003,621号明細書；米国特許第5,821,337号明細書)。当該解析に役立つエフェクター細胞としては、末梢血単核球(PBMC)及びナチュラルキラー(NK)細胞が挙げられる。

30

【0041】

「細胞死を誘導する」抗体は、生細胞を非生細胞にするものである。抗体依存的細胞媒介性細胞傷害(ADCC)によって誘導される細胞死、又は補体依存性細胞傷害(CDC)によって誘導される細胞死とを区別するために、*in vitro*において細胞死を、補体の非存在下及び免疫エフェクター細胞の非存在下で決定し得る。故に、細胞死の解析は、熱失活させた血清(即ち補体の非存在下)を使用して、かつ、免疫エフェクター細胞の非存在下で行われ得る。抗体が細胞死を誘導できるかを決定するために、ヨウ化プロピジウム(PI)、トリパンプルー又は7AADの取込みによって膜完全性の欠失を、未処理の細胞と比較することで評価することができる。細胞死誘導抗体は、BT474細胞においてPI取込み解析でPIの取込みを誘導する。

40

【0042】

「アポトーシスを誘導する」抗体は、アネキシンVの結合、DNAの断片化、細胞縮小、小胞体の拡張、細胞の断片化、及び/又は膜小胞形成(アポトーシス小体)によって決定されるプログラム細胞死を誘導するものである。

【0043】

本明細書中で使用される場合、「化学療法増感剤」又は「増感剤」は、化学療法薬、放射線療法又は代替治療レジメンの治療効果を増進し、それ故、そのような治療又は薬剤の効果を向上させる可能性のある薬物である。治療に対する腫瘍又は癌性細胞の感受性又は

50

抵抗性は、ヒト又は齧歯動物等の動物において、例えば腫瘍の大きさ、腫瘍の重量又は一定期間中における転移発生頻度を測定する等によっても評価される場合がある。例えば、ヒトについては約2、約3、約4又は約6ヶ月、及びマウスについては約2～4、約3～5、又は約4～6週が挙げられる。治療の組成物又は方法は、前記組成物又は方法を欠く状態での治療感受性又は抵抗性と比べ、治療感受性の増加又は抵抗性の減少が、約10%以上、例えば、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、若しくはそれより高い、約2倍、約3倍、約4倍、約5倍、約10倍、約15倍、約20倍若しくはそれより高い場合に、治療法に対する腫瘍又は癌性細胞の反応を感作し得る。治療法に対する感受性又は抵抗性の決定は、当該技術分野で通常行われており、当該技術分野に精通した者の技術範疇にある。

10

【0044】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」、及び「タンパク質」は、互換的に用いられる場合があり、ペプチド結合又は修飾型ペプチド結合（例えば、半減期の増加等の付加的な望ましい性質をペプチドに提供し得る、ペプチドアイソスター（修飾型ペプチド結合））によって、共有結合的につながれた少なくとも2つのアミノ酸残基を含む化合物のことをいう。ペプチドは少なくとも2つのアミノ酸を含み得る。本明細書に記載のペプチド又はタンパク質を構成するアミノ酸は、翻訳後修飾等の自然過程又は当該技術分野で周知の化学修飾技術のいずれかによって修飾されていてもよい。修飾はペプチド骨格、アミノ酸側鎖及びアミノ又はカルボキシル末端を含む、ペプチド中のいかなる場所にも起こり得る。同様の修飾は、あるペプチドにおけるいくつかの部位で同じ又は異なる度合いで存在し得ると理解されている。

20

【0045】

S P A R C 微小環境シグネチャー（S M S）を決定するための方法論は、第一の抗 S P A R C 抗体（第一の抗 S P A R C 抗体は腫瘍細胞において S P A R C を優先的に染色する）、及び第二の抗 S P A R C 抗体（第二の抗 S P A R C 抗体は線維芽細胞において S P A R C を優先的に染色する）を用いて、腫瘍の組織切片を免疫染色することを含む。S P A R C 発現の7つの構成要素：腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス（ストロマ）、血管、神経、及び他の腫瘍内の正常な解剖学的形態を、2つの異なる抗体を用いて決定した。各領域において染色された細胞のパーセント（腫瘍の各構成要素についての、染色強度（0～4）及び全体のスコア（依存性変数））を決定した（患者当りの全変数：7構成要素×2抗体×3スコア＝42変数スコア）。

30

【0046】

本発明の全ての方法において、腫瘍及び線維芽細胞の S P A R C 染色の正確な分布を分析するために、適切な抗 S P A R C 抗体は、組織マイクロアレイ等の当業者に公知の適切な任意の方法を使用して同定することができる。当該技術分野で公知の標準的な技術によって産生した、モノクローナル及びポリクローナル抗体を使用することが可能である。特に好ましい抗 S P A R C 抗体の一つは、A F 9 4 1 ポリクローナル抗体によって認識される免疫優性エピトープを認識する抗体であり、腫瘍細胞を優先的に免疫染色することを使用することが可能である。

40

【0047】

選択したブロックからの二つ組みの0.6mmコアを含む組織マイクロアレイは、Becher Instruments Micro Tissue Arrayerを使用して構築することができる。4µmの厚みの切片を、全アレイブロックから切り出し、シラン処理されたガラススライドに移すことができる。当該アレイからの切片はその後、ヘマトキシリン及びエオジンで染色し、妥当性を評価することが可能である。電子レンジでの抗原回復は、圧力鍋（Nordic Ware）中の10mmクエン酸緩衝液（pH6.0）にスライドを置き、4分間、圧力下で、前記緩衝液が沸騰するまでハイパワーで電子レンジにかけることから構成され得る。この時点で電子レンジを止め、スライドを圧力鍋で更に20分間インキュベートし、その後、それらを取り出し洗浄する。プロテイナーゼによる抗原回復は、製造業者の推奨プロトコールに従い、プロテイナーゼ-1溶液（Ventana）中での4分間のインキュベーションから構成

50

される。

【0048】

一の実施形態において、本発明は、化学療法レジメンを用いて動物における腫瘍を治療する方法を提供し、以下を含む：

(a) SPARC 微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、

(b) 第一の抗 SPARC 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗 SPARC 抗体が腫瘍細胞において SPARC を優先的に染色することを特徴とし、

(c) 第二の抗 SPARC 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗 SPARC 抗体が線維芽細胞において SPARC を優先的に染色することを特徴とし、

(d) 第一の抗 SPARC 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、

(e) 所定の SMS が免疫染色により示された場合に、化学療法レジメンの治療有効量を投与すること。

【0049】

本発明は、化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法における使用について、いくつかの典型的な所定の SMS 's を提供する。1つの典型的な所定の SMS は、腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストロマ及び炎症細胞の少なくとも70%が上記第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストロマが上記第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む。

【0050】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法における使用についての、他の典型的な所定の SMS は、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストロマが上記第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が上記第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む。

【0051】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法における使用についての、他の典型的な所定の SMS は、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストロマが上記第一の抗体で染色陽性であり、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストロマが上記第二の抗体で染色陽性であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有する、免疫染色を含む。

【0052】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法における使用についての、他の典型的な所定の SMS は、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2+強度以下を有する；50%以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストロマ、及び線維芽細胞が第一の抗体での染色陽性である；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストロマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアである、免疫染色を含む。

【0053】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法の好ましい実施形態において、腫瘍は乳癌であり、所定の SMS は、少なくとも70%の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストロマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストロマが第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む。

【0054】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法の、他の好ましい実施形態において、腫瘍は乳癌であり、所定の SMS は、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストロマが第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が第二の抗体で染色

10

20

30

40

50

陽性である、免疫染色を含む。特に好ましい実施形態において、腫瘍はH e r 2 ネガティブ乳癌であり、化学療法レジメンは、nab-パクリタキセル (1 7 5 m g / m ²)、ゲムシタピン (2 0 0 0 m g / m ²)、及びエピルピシン (5 0 m g / m ²) を用いた 1 4 日間、6 周期を含む手術前の治療、並びにnab-パクリタキセル (2 2 0 m g / m ²) + ゲムシタピン (2 0 0 0 m g / m ²) (1 4 日間の 4 周期) を含む手術後の治療を含む。

【 0 0 5 5 】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法の、他の特に好ましい実施形態において、腫瘍はH e r 2 乳癌であり、所定のS M S は、少なくとも6 0 %の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも6 0 %の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含み、化学療法レジメンは、(a) 2 8 日周期の1、8、1 5 日目で1 2 5 m g / m ² でネオアジュバントnab-パクリタキセル；(b) 2 8 日周期の1 日目でカルボプラチンA U C 6 (c) 4 m g / k g 量と、それに続く2 m g / k g / w e e k のトラスツズマブ、並びに(d) 5 m g / k g / w e e k でのベバシズマブ、を6 周期行うことを含む。上記の6 周期の後、原発腫瘍の手術での摘出を行い、その後、今度は5 2 週間の治療有効量のトラスツズマブ及びベバシズマブの治療を行う。

10

【 0 0 5 6 】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法の、他の好ましい実施形態において、腫瘍は膵臓癌であり、化学療法レジメンはnab-パクリタキセルを含み、所定のS M S は、5 0 %未満の、腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体での染色陽性であり、5 0 %未満の、腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度の陽性スコア有している、免疫染色を含む。

20

【 0 0 5 7 】

化学療法レジメンで動物における腫瘍を治療する方法の、他の好ましい実施形態において、腫瘍はメラノーマであり、化学療法レジメンはnab-パクリタキセルを含み、所定のS M S は、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2 + 強度以下を有する；約5 0 %以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性である；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアである、免疫染色を含む。

【 0 0 5 8 】

他の実施形態において、本発明は、動物における腫瘍の化学療法レジメンに対する反応を予測する方法を提供し、以下を含む：

30

- (a) S P A R C 微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、
- (b) 第一の抗S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗S P A R C 抗体が腫瘍細胞においてS P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
- (c) 第二の抗S P A R C 抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗S P A R C 抗体が線維芽細胞においてS P A R C を優先的に染色することを特徴とし、
- (d) 第一の抗S P A R C 抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、
- (e) 所定のS M S が免疫染色により示された場合に、化学療法レジメンに対する陽性反応を予測する。

40

【 0 0 5 9 】

本発明は、動物における腫瘍の化学療法レジメンに対する反応を予測する方法をも提供し、以下を含む：A F 9 4 1 ポリクローナル抗体により認識される、免疫優性エピトープを認識する抗S P A R C 抗体を用いて、腫瘍の組織切片を免疫染色し、かつ抗S P A R C 抗体を用いた組織切片における腫瘍細胞の染色が見られた場合に、化学療法レジメンに対する陽性反応を予測する。特に、本発明は、腫瘍の化学療法レジメン (該化学療法レジメンはアルブミン結合ナノ粒子パクリタキセル及びゲムシタピンを投与することを含む) へ

50

の反応を予測する方法を提供する。

【0060】

本発明は、動物における腫瘍の化学療法レジメンへの反応を予測する方法をも提供する（ここで、「反応」とは、病理学的反応、全体の生存率、又は無増悪期間として定義されるが、これらに限定されない）。上記方法は以下を含む：抗SPARC抗体が、MAB941モノクローナル抗体により認識されるエピトープを認識するものであって、該抗SPARC抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、抗SPARC抗体を用いた組織切片における腫瘍細胞の染色が見られた場合に、化学療法レジメンに対する乏しい反応を予測する。特に、本発明は、膵臓癌の化学療法レジメンへの反応を予測する方法を提供し、ここで該化学療法レジメンは、アルブミン結合ナノ粒子バクリタキセル及びゲムシタピンを投与することを含む。

10

【0061】

本発明は、動物における腫瘍の化学療法レジメンへの反応を予測するための使用について、いくつかの典型的な所定のSMS'sを提供する。1つの典型的な所定のSMSは、腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞の少なくとも70%が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む。

【0062】

動物における腫瘍の化学療法レジメンへの反応を予測する方法における使用についての、他の典型的な所定のSMSは、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む。

20

【0063】

動物における腫瘍の化学療法レジメンへの反応を予測する方法における使用についての、他の典型的な所定のSMSは、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有する、免疫染色を含む。

【0064】

動物における腫瘍の化学療法レジメンへの反応を予測する方法における使用についての、他の典型的なSMSは、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2+強度以下を有する；50%以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性である；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアである、免疫染色を含む。

30

【0065】

他の実施形態において、本発明は、腫瘍を有する動物で、その腫瘍の進行の低いリスクを有するかどうかを予測する方法を提供し、以下を含む：

- (a) SPARC微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、
- (b) 第一の抗SPARC抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗SPARC抗体が腫瘍細胞においてSPARCを優先的に染色することを特徴とし、
- (c) 第二の抗SPARC抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗SPARC抗体が線維芽細胞においてSPARCを優先的に染色することを特徴とし、
- (d) 第一の抗SPARC抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、
- (e) 所定のSMSが免疫染色により示された場合に、進行の低いリスクを予測する。

40

【0066】

本発明は、腫瘍を有する動物がその腫瘍の進行についての低いリスクを有するかを予測

50

することにおける使用について、いくつかの典型的な所定のSMS'sを提供する。1つのそのような典型的な所定のSMSは、70%未満の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であること、並びに少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であることを含む。

【0067】

腫瘍を有する動物がその腫瘍の進行についての低いリスクを有するかを予測する方法における使用についての、他の典型的な所定のSMSは、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む。好ましい実施形態において、この所定のSMSを有する腫瘍は、乳癌腫瘍である。

10

【0068】

腫瘍を有する動物がその腫瘍の進行についての低いリスクを有するかを予測する方法における使用についての、他の典型的な所定のSMSは、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有する、免疫染色を含む。好ましい実施形態において、この所定のSMSを有する腫瘍は、膵臓癌腫瘍である。

【0069】

腫瘍を有する動物がその腫瘍の進行についての低いリスクを有するかを予測する方法における使用についての、他の典型的なSMSは、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2+強度以下を有する；50%以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性である；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアである、免疫染色を含む。好ましい実施形態において、この所定のSMSを有する腫瘍は、メラノーマ腫瘍である。

20

【0070】

腫瘍を有する動物がその腫瘍の進行についての低いリスクを有するかを予測する方法の好ましい実施形態では、該腫瘍が乳癌であって、約70%未満の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む所定のSMSを含む。

30

【0071】

腫瘍を有する動物がその腫瘍の進行についての低いリスクを有するかを予測する方法は、該動物への化学療法レジメンの投与を更に含み得る。好ましい実施形態において、上記化学療法レジメンはパクリタキセルを含む。

【0072】

他の実施形態において、本発明は、腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測する方法を提供し、以下を含む：

- (a) SPARC 微小環境シグネチャーを得るために、腫瘍の複数の組織切片を調製し、
- (b) 第一の抗SPARC抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第一の抗SPARC抗体が腫瘍細胞においてSPARCを優先的に染色することを特徴とし、
- (c) 第二の抗SPARC抗体を用いて腫瘍の組織切片を免疫染色し、当該第二の抗SPARC抗体が線維芽細胞においてSPARCを優先的に染色することを特徴とし、
- (d) 第一の抗SPARC抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色、及び、第二の抗体を用いた、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストローマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常な解剖学的形態、又はそれらの任意の組み合わせの染色を決定し、かつ、
- (e) 所定のSMSが免疫染色により示された場合に、該動物が腫瘍による死亡の低いリ

40

50

スクを有することを予測する。

【0073】

本発明は、腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測することにおける使用について、いくつかの典型的な所定のSMS'sを提供する。腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測する方法の好ましい実施形態では、該腫瘍が乳癌であって、約70%未満の腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞が第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む所定のSMSを含む。

【0074】

腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測する方法の、他の好ましい実施形態は、該腫瘍が乳癌であって、少なくとも60%の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、少なくとも60%の腫瘍細胞が第二の抗体で染色陽性である、免疫染色を含む所定のSMSを含む。

【0075】

腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測する方法の、他の好ましい実施形態は、該腫瘍が膵臓癌であって、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有する、免疫染色を含む所定のSMSを含む。

【0076】

腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測する方法の、他の好ましい実施形態は、該腫瘍がメラノーマであって、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2+強度以下を有する；約50%以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性である；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアである、免疫染色を含む所定のSMSを含む。

【0077】

腫瘍を有する動物が、その腫瘍による死亡についての低いリスクを有するかを予測する方法は、該動物へ化学療法レジメンを投与することを更に含み得る。好ましい実施形態において、該化学療法レジメンは、パクリタキセルを含む。

【0078】

本発明は、動物における腫瘍の、化学療法レジメンに対する反応を予測するためのキットも提供し、以下を含む：

(a) 第一の抗SPARC抗体を用いた免疫染色であって、当該第一の抗SPARC抗体が腫瘍細胞においてSPARCを優先的に染色することを特徴とし、かつ、

(b) 第二の抗SPARC抗体を用いた免疫染色であって、当該第二の抗SPARC抗体が線維芽細胞においてSPARCを優先的に染色することを特徴とする。

【0079】

本発明に係る方法は、腫瘍のタイプが、口腔腫瘍、咽頭腫瘍、消化器系腫瘍、呼吸器系腫瘍、骨腫瘍、軟骨性腫瘍、骨転移、肉腫、皮膚腫瘍、メラノーマ、乳房腫瘍、生殖器系腫瘍、泌尿器系腫瘍、眼窩腫瘍、脳及び中枢神経系腫瘍、神経膠腫、内分泌系腫瘍、甲状腺腫瘍、食道腫瘍、胃腫瘍、小腸腫瘍、大腸腫瘍、直腸腫瘍、肛門腫瘍、肝臓腫瘍、胆嚢腫瘍、膵腫瘍、喉頭腫瘍、肺の腫瘍、気管支腫瘍、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、子宮頸部腫瘍、子宮体部腫瘍、卵巣腫瘍、外陰部腫瘍、陰腫瘍、前立腺腫瘍、前立腺癌、精巣腫瘍、陰茎の腫瘍、膀胱腫瘍、腎臓の腫瘍、腎盂の腫瘍、尿管の腫瘍、頭部及び頸部の腫瘍、副甲状腺癌、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、並びに肛門腫瘍等である、実施形態を含むが、これらに限定されない。

【0080】

10

20

30

40

50

本発明の好ましい実施形態において、上記腫瘍は、乳癌、膵臓癌、肺癌又はメラノーマである。特に好ましい実施形態において、上記腫瘍は乳癌である。

【0081】

本発明に係る任意の方法では、上記動物は哺乳類を含む。更により好ましくは、上記動物はヒトである。

【0082】

本発明において使用される化学療法レジメンは、当業者に公知であるいかなる適切なレジメンでもあり得る。好ましい化学療法レジメンは、パクリタキセルを用いた治療を含むであろう。更により好ましい化学療法レジメンは、ナノ粒子アルブミン結合パクリタキセルを用いた治療を含むであろう。更に、当業者は、化学療法レジメンが併用療法を含み得ることを承知するであろう。好ましい組み合わせは、nab-パクリタキセル、ゲムシタピン及びエピルピシン；nab-パクリタキセル及びカルボプラチン；nab-パクリタキセル及びトラスツズマブ；並びにnab-パクリタキセル及びベバシズマブ、を含むが、これらに限定されない。

10

【0083】

特に好ましい化学療法レジメンは、以下のうちのいずれかを含む：

(a) ネオアジュバントnab-パクリタキセルを 175 mg/m^2 で、ゲムシタピンを 2000 mg/m^2 で、エピルピシンを 50 mg/m^2 で、14日に一度を6周期、その後、手術による原発性腫瘍の摘出、その後、手術後：nab-パクリタキセルを 220 mg/m^2 で、及びゲムシタピンを 2000 mg/m^2 で、14日間を4周期；

20

(b) nab-パクリタキセル ($100 \sim 150 \text{ mg/m}^2$) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びゲムシタピン (1000 mg/m^2) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で；又は

(c) nab-パクリタキセル (100 mg/m^2) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で、及びカルボプラチン (AUC2) を週に一度、4週間ごとの期間から3週連続で。

【0084】

他の好ましい化学療法レジメンは、以下を6周期行うことを含む：

(a) 28日周期の1、8、15日目で 125 mg/m^2 でネオアジュバントnab-パクリタキセル；(b) 28日周期の1日目でカルボプラチン AUC6 (c) 4 mg/kg 量と、それに続く 2 mg/kg/week のトラスツズマブ、並びに (d) 5 mg/kg/week でのベバシズマブ。上記の6周期の後、原発腫瘍の手術での摘出を行い、その後、今度は52週間の治療有効量のトラスツズマブ及びベバシズマブの治療を行う。

30

【0085】

以下の実施例は本発明を更に説明するが、いうまでもなく、いかなる方法においてもその範囲を限定するように構成されるべきではない。

【実施例】

【0086】

(実施例1)

この研究の目的は、どのSPARCアイソフォーム及び機能が腫瘍の微小環境において、患者の治療効果に対する原因となるかを評価し、かつ、特に、ナノ粒子アルブミン結合 (nab) パクリタキセル (即ち、アブラキサン (登録商標)) を用いて、SPARCの免疫染色のパターンと患者の治療効果との間に相関があったかを決定することであった。

40

【0087】

SPARCは、乳癌、膵臓癌、前立腺癌、肺癌、メラノーマ、並びに頭部及び頸部の癌を含む、複数の腫瘍タイプにおける不良な予後の因子であり、増大した腫瘍の血管新生、浸潤及び転移と関連している。nab-パクリタキセルは、内在性のアルブミン輸送経路 (内皮細胞gp60-アルブミンレセプター輸送、及び腫瘍が分泌したSPARCへの結合を含む) を使用し、腫瘍細胞に入ることができる。頭部及び頸部の癌における、最初の前臨床研究及び小規模の遡及的臨床研究は、腫瘍組織において増加した内在性SPARCによって、nab-パクリタキセル治療に対する好ましい反応を予測し得ることを示唆した (Desa

50

i et al. 2009, Trans Onc. 2, 59-64)。

【 0 0 8 8 】

4つの前向き研究では、SPARCの腫瘍免疫染色パターン（即ち、「SPARC微小環境シグネチャー」(SMS)）が、nab-パクリタキセルレジメンで治療した時に、再発の低いリスク及び高いリスクを有する患者を区別することが可能であるかを検討した。

【 0 0 8 9 】

上記4つの臨床試験からの患者の治療効果を評価した（表1）。

【 0 0 9 0 】

【表 1】

検体及び結果のデータを提供した臨床試験

研究	表示	フェーズ	Pts 数	SPARC の IHC を有する Pts 数	レジメン
N057E	切除不能 ステージ IV メラノーマ	II	76	40	nab-パクリタキセル (100-150 mg/m ²) を週に一度、4 週間ごとの期間から 3 週連続で、 カルボプラチン (AUC 2) を週に一度、4 週間ごとの期間から 3 週連続で、
CA040	転移性 膵臓癌	I/II	63	37	nab-パクリタキセル (100-150 mg/m ²) を週に一度、4 週間ごとの期間から 3 週連続で、 ゲムシタビン (1000 mg/m ²) を週に一度、4 週間ごとの期間から 3 週連続で、
BRE73	ネオアジュバント 乳癌 (HER2-)	II	123	83	手術前： (14 日の 6 周期) nab-パクリタキセル (175 mg/m ²) + ゲムシタビン (2000 mg/m ²) + エピルビシン (50 mg/m ²) 手術後： (14 日の 4 周期) nab-パクリタキセル (220 mg/m ²) + ゲムシタビン (2000 mg/m ²)
BRE83	ネオアジュバント 乳癌 (HER2+)	II	30	30	手術前： (28 日の 6 周期) nab-パクリタキセル (100 mg/m ²) を週に一度、4 週間ごとの期間から 3 週連続で + カルボプラチン (AUC6) + トラスツズマブ (4 mg/kg 量、その後、2 mg/kg/week) + ベバシズマブ (5 mg/kg/week) 手術後 維持 (1 年) : トラスツズマブ (6 mg/kg) q3wk ベバシズマブ (15 mg/kg) q3wk

10

20

30

40

【 0 0 9 1 】

全体的に、この方法は以下の連続的な適用に基づく、(1) 局在する抗原に対する一次抗体、(2) ビオチン化結合抗体、(3) 酵素結合ストレプトアビジン、及び(4) 発色基質 (D A B)。その後、スライドをRichard-Allanヘマトキシリン (Kalamazoo、MI) 中

50

で対比染色し、段階的なエタノール溶液で脱水し、カバーガラスで覆う。全てのスライドを、自動染色機器を使用し染色した (Dako Cytomation Autostainer, Dako, Carpinteria, CA)。

【0092】

本実施例における免疫染色は、以下に記載したように行った。S P A R C に対する一連の抗体を評価した。詳細な免疫組織学的な評価は、アメリカ病理学委員会 (American Board of Pathology) により認定された病理学者によって行われた。染色スコアを 0 ~ 4 + の尺度で割り当て、4 + が最も陽性である。腫瘍のどの構成要素が S P A R C の活性に重要であるかは知られていなかったため、様々な構成要素の分解を行った (腫瘍、血管、線維芽細胞、ストローマ細胞、炎症細胞、及び正常な解剖学的形態における染色などが挙げられる)。

10

【0093】

ホルマリン固定、パラフィン包埋腫瘍ブロックからの、組織主要部 (ブロック当りの最も代表的な領域から 2 つの主要部) を、各 2 . 0 mm の計測用主要部の組織マイクロアレイを作成するために配置し (Beecher Instruments, Silver Spring, MD)、ポジティブチャージのスライド上に置いた。標本スライドを 60 オープンに 1 時間置き、冷却、脱パラフィンを行い、キシレン及び段階的なエタノール溶液から水への移動を介して再水和した。全てのスライドは、水中 3 % 過酸化水素溶液において 5 分間クエンチし、内在性ペルオキシダーゼを阻止する。

【0094】

染色が見られなかった場合、抗原回復を行い、同一領域における正常組織の染色を、内部ポジティブコントロールとした。抗原回復は加熱法により行う (野菜蒸し器を使用し、標本を pH 6 . 1 のクエン酸溶液 (code S1699, Dako, Carpinteria, CA) 中に 20 分間、94 に置き、その後 15 分間冷却する)。その後、適切な抗体を使用し免疫組織化学に使用するために、スライドを、Dako Cytomation Autostainer (Dako, Carpinteria, CA) 等の、免疫染色システムにセットする。

20

【0095】

S P A R C に対し異なる親和性を有する 2 つの抗体を、この研究のために同定した (モノクローナル抗体 (これ以降「M」と表示する) (S P A R C モノクローナル抗体 (R&D Systems, Minneapolis, MN)、カタログ番号 M A B 9 4 1、ロット番号 E C H 0 4 5 0 1 1、トリスペアの希釈液中で 1 : 1 0 0 に希釈)、及びポリクローナル抗体 (これ以降「P」と表示する) (S P A R C ポリクローナル抗体 (R&D Systems, Minneapolis, MN)、カタログ番号 A F 9 4 1、ロット番号 E W N 0 4、トリスペアの希釈液中で 1 : 5 0 に希釈))。腫瘍の組織切片をスライド上に調製し、標準的な免疫染色プロトコールを使用して染色した。全てのスライドは、水中 3 % 過酸化水素溶液において 5 分間クエンチし、内在性ペルオキシダーゼを阻止した。緩衝液でのすすぎの後、スライドを抗体 M 又はネガティブコントロール試薬で、30 分間インキュベートした。マウスホースラディッシュペルオキシダーゼポリマーキット (Mouse MACH 3 HRP Polymer Kit, Biocare Medical, Concord, CA) を、試薬当り 20 分間インキュベートした。もう一度緩衝液ですすいだ後、D A B 色素原 (Dako, Carpinteria, CA) を 10 分間適用した。スライドを対比染色するために、ヘマトキシリンを使用した。H R P 検出キットの代わりに、アビジン - ビオチン検出キット (Biocare Medical, Concord, CA) を使用し、試薬当り 15 分間のインキュベートを行ったが、抗体 P を用いた標本の免疫染色についても同じプロトコールを使用した。

30

40

【0096】

一連の腫瘍における S P A R C 発現の詳細な病理学的評価は、委員会によって認定された病理学者により行われた。免疫組織化学により決定した S P A R C 発現のレベルを、様々な腫瘍の構成要素についてスコア化した。スコアを 0 ~ 3 の尺度で S P A R C 発現のレベルに対し割り当てた。3 が最も陽性であり、これらは、当該分野で一般的に行われており、当業者に周知である。表 2 に示されているように、使用したモノクローナル及びポリ

50

クローナル抗体は、S P A R C 発現の異なるパターンを検出した。

【 0 0 9 7 】

【 表 2 】

M及びPによる免疫染色特性

	腫瘍			線維芽細胞		
	抗体 P	抗体 M		抗体 P	抗体 M	
乳房	30/106	35/106	p = ns	82/107	26/107	p < 0.0001
膵臓	20/36	7/36	p = 0.0031	18/29	5/29	p = 0.0011
メラノーマ	30/41	20/41	p = 0.0408	19/33	14/33	p = ns

10

【 0 0 9 8 】

ポリクローナル抗体は、線維芽細胞に関連する S P A R C の優先的な染色を示し、一方、モノクローナル抗体は、腫瘍に関連する S P A R C を優先的に染色した。

20

【 0 0 9 9 】

これらの染色優先度から、以下のパターン（AからEと命名した）を確立し、一連の腫瘍におけるそれらの予測値について解析した：

A：任意の構成要素において、3+を見出した時、

B：モノクローナル抗 S P A R C 抗体を用いて、任意の構成要素において、3+を見出した時、

C：ポリクローナル抗 S P A R C 抗体を用いて、任意の構成要素において、3+を見出した時、

D：両方の抗 S P A R C 抗体を用いて、腫瘍細胞において、3+を見出した時、

E：両方の抗 S P A R C 抗体を用いて、線維芽細胞において、3+を見出した時。

30

【 0 1 0 0 】

ロジスティック回帰及び比例ハザードを使用し、様々な腫瘍における S P A R C 染色パターンに対する、S M S 及び反応、無増悪期間（P F S）、並びに全体の生存率（O S）の間の、いかなる相関性をも同定した。不十分なサンプルサイズに起因して、多数の組織サンプルは以下の構造を含まなかったため、統計解析から以下：炎症細胞、血管、神経細胞、ストローマ、正常な組織解剖学的形態を除いた。

【 0 1 0 1 】

腫瘍セットの一つは、切除不能なステージIVメラノーマ（上記にリストされたN057E研究）を有する患者における、カルボプラチン及びnab-パクリタキセル（ABI-007）のフェーズII試験であった。nab-パクリタキセル（100 mg/m²）及びカルボプラチン（AUC2）は、28日周期の1、8、及び15日目に投与された。パターン「D」の存在と全体の生存率との間には、統計上有意な相関があった。

40

【 0 1 0 2 】

アブラキサン用量（100-150 mg/m²）及びゲムシタピン（1000 mg/m²）で、28日周期の1、8、及び15日目の投与で治療した（上記にリストされたCA040研究）、進行性膵臓腺癌を有する患者からの、別の腫瘍のセット。これらの患者の間で、以下の反応が観察された：

【 0 1 0 3 】

【表 3】

反応率

反応	CR	PR	SD	PD
32 pts のN	2 (6%)	14 (44%)	14 (44%)	2 (6%)

(*CR、完全な反応；PR、部分的反応；SD、反応なし及び安定した疾患；PD、反応なし及び進行性の疾患)

【0104】

この第二の腫瘍のセットにおいて（進行性膵臓癌）、ポリクローナル抗体を用いた腫瘍の染色が、治療への反応予測性があった（1テイルt-検定、 $p = 0.027$ ）。更に、モノクローナル抗体を用いた腫瘍細胞の染色は、より悪い全体の生存率及び無増悪期間を予測した。更に、Bパターン染色は、膵臓腺癌を有するこれらの患者において、このレジメンを用いた最悪の無増悪期間の予測性があった。

【0105】

本実施例は、SPARC免疫組織化学が、nab-バクリタキセルに基づいた化学療法に対する反応を予測するための、有益な方法であることを説明する。

【0106】

（実施例2）

SPARC免疫染色からの染色パターンデータの、より体系的な解析に取り組み、予後の情報を生じるパターンを同定し、実施例1において研究したのと同じ腫瘍セットからの染色パターンデータを、様々な形のクラスター解析を使用して取り出し、様々な腫瘍におけるSPARCの染色パターンに対する、反応、無増悪期間（PFS）、及び全体の生存率（OS）についての、SPARC発現の最も特徴的な構成要素（免疫染色パターンにより示される）を同定した。上記に言及したように、予後的に有意であるとされたパターンを、「SPARC微小環境シグネチャー」（「SMS」）という。

【0107】

上記の研究において得られたサンプルから得た、7つの腫瘍の構成要素におけるSPARC発現について、2つの異なる抗体、M及びPを用いた免疫染色を介して特徴を明らかにした（実施例1を参照）。これらの腫瘍の構成要素は、腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス（ストロマ）、血管、神経、及び腫瘍内の他の正常な解剖学的形態であった。各領域において染色された細胞のパーセント（腫瘍の各構成要素についての、染色強度（0～4）及び全体のスコア（依存性変数））を決定した（患者当りの全変数：7構成要素×2抗体×3スコア＝42変数スコア）。

【0108】

上記スコア化では、パーセント陽性細胞と染色強度とを組み合わせた。細胞又は構成要素が陽性に染まらなかった場合、スコアは陰性となった。＜10%の細胞が陽性である、強度が2+若しくはそれ未満及び＜20%の細胞が陽性である、又は強度が1+若しくはそれ未満及び＜30%の細胞が陽性である場合、スコアは「弱陽性」であった。強度が4+及び10～40%の細胞が陽性である、強度が3+及び10～50%の細胞が陽性である、強度が2+及び20～70%の細胞が陽性である、又は強度が4+若しくはそれ未満及び20～40%の細胞が陽性である、又は強度が1+若しくはそれ未満及び＞30%の細胞が陽性である場合、スコアは「中程度に陽性」であった。強度が4+及び＞40%の細胞が陽性である、又は強度が3+及び＞50%の細胞が陽性である、強度が2+及び＞70%の細胞が陽性である場合、スコアは「強陽性」であった。このシステムを表4に要約する。

【0109】

10

20

30

40

【表4】
SMSスコア化システム

SPARC 染色の強度 → SPARC 陽性%	0+	1+	2+	3+	4+
0	陰性	弱	弱	弱	弱
10	陰性	弱	弱	中程度	中程度
20	陰性	弱	中程度	中程度	中程度
30	陰性	中程度	中程度	中程度	中程度
40	陰性	中程度	中程度	中程度	強
50	陰性	中程度	中程度	強	強
60	陰性	中程度	中程度	強	強
70	陰性	中程度	強	強	強
80	陰性	中程度	強	強	強
90	陰性	中程度	強	強	強

10

20

30

【0110】

このデータは、GeneSpringソフトウェアスイート及びNexus array analysisプログラムにおける、クラスター化プログラムを使用して取り出した。更に、クラスター化が様々な結果パラメーターについて識別力を有することを示唆したパラメーターについて、ANOVA又はt-検定(独立)統計を決定した。クラスター化プログラムにおける解析について、免疫染色の結果を、0+ = 0、1+ = 25、2+ = 50、3+ = 75、4+ = 100、陰性 = 0、弱 = 33、中程度 = 66、強 = 100へ基準化し、%は病理学者により報告された%である。このプロトコールを使用して、統計上有意な予後の情報を提供するSMS構成要素を、任意の腫瘍/治療の組み合わせについて、同定することが可能である。乳癌、メラノーマ及び膵臓癌についての、典型的な結果を表5~7に示す。

【0111】

【表 5】

統計上有意な予後の情報を提供する乳癌のSMS構成要素（階層的クラスタ
ー化、BRE73研究、38高リスク、30低リスク患者、全体の生存率）

SMS 構成要素	SPARC 高リスク	SPARC 低リスク	高 vs 低リスク クラスター p 値
P 腫瘍%	79.80	47.50	5.89E-08
P 炎症細胞スコア	72.96	51.58	5.11E-06
P 線維芽細胞強度	86.02	66.67	5.48E-06
M 炎症細胞スコア	75.82	54.20	2.03E-05
P 血管スコア	68.29	48.83	2.99E-05
P 炎症細胞強度	87.70	71.22	4.92E-05
M 線維芽細胞スコア	44.24	28.24	1.47E-04
P 腫瘍スコア	73.24	55.70	2.90E-04
P 血管%	82.11	67.82	3.06E-04
P ストローマ%	64.87	49.67	1.19E-03
P 線維芽細胞スコア	80.79	64.33	1.36E-03
M 線維芽細胞%	90.83	80.73	1.75E-03
P ストローマスコア	62.50	46.67	1.76E-03
M ストローマスコア	67.41	56.73	2.77E-03
P 線維芽細胞%	62.59	50.22	6.10E-03
M 血管強度	69.21	55.33	6.42E-03
P ストローマ強度	40.80	29.67	7.05E-03
M 血管スコア	32.41	25.90	1.31E-02
M ストローマ%	68.33	58.45	1.88E-02
M 炎症細胞強度	79.08	66.67	2.20E-02
P 炎症細胞%	34.87	27.62	3.46E-02
M 腫瘍強度	58.82	48.00	4.17E-02

【 0 1 1 2 】

10

20

30

40

【表 6】

統計上有意な予後の情報を提供するメラノーマのSMS構成要素（階層的クラスタ化、ABX054研究、31高リスク、9低リスク患者、全体の生存率）

SMS 構成要素	SPARC 高リスク	SPARC 低リスク	高 vs 低リスク クラスター p 値
M 血管スコア	71.85	29.44	5.51E-08
M 腫瘍スコア	85.77	47.89	4.14E-05
M 血管%	55.65	22.50	3.40E-04
M 腫瘍%	75.16	46.11	5.31E-04
M 炎症細胞スコア	67.32	35.00	6.94E-04
M 線維芽細胞スコア	79.79	49.72	6.95E-04
M 腫瘍強度	44.35	25.11	2.78E-03
M 血管強度	35.48	22.33	5.27E-03
M ストローマスコア	58.02	42.17	5.31E-03
M 炎症細胞%	53.23	28.06	6.78E-03
P 血管強度	32.26	47.22	1.10E-02
M 線維芽細胞%	69.92	48.33	1.31E-02
M ストローマ%	48.31	26.11	1.54E-02
M 線維芽細胞強度	41.53	29.17	2.11E-02
M 炎症細胞強度	33.87	23.72	2.69E-02
P 血管スコア	65.10	81.11	3.89E-02
P 腫瘍スコア	86.87	100.00	4.57E-02

10

20

30

【 0 1 1 3 】

【表 7】

統計上有意な予後の情報を提供する膵臓癌のSMS構成要素（階層的クラスター化、CAO40研究、16高リスク、20低リスク患者、全体の生存率）

SMS 構成要素	SPARC 高リスク	SPARC 低リスク	高 vs 低リスク クラスター p 値
Poly 線維芽細胞スコア	66.52	86.83	1.01E-06
Poly 線維芽細胞強度	40.63	67.81	1.57E-04
Poly 腫瘍強度	25.84	48.80	2.27E-04
Mab ストローマ%	61.88	82.00	3.28E-03
Poly 炎症細胞強度	25.84	42.26	4.29E-03
Poly 炎症細胞スコア	49.05	67.14	7.49E-03
Poly 血管%	50.94	68.00	8.09E-03
Poly 腫瘍スコア	54.72	75.55	8.10E-03
Poly 血管強度	32.81	45.96	9.44E-03
Poly 線維芽細胞%	54.06	70.63	1.37E-02
Poly 血管強度	63.52	75.03	2.02E-02
Poly 炎症細胞%	42.66	58.50	2.81E-02
Poly ストローマスコア	61.88	50.55	5.00E-02

10

20

【0114】

表5～7において同定されている、SPARC SMS構成要素の任意の一つを使用し、研究された特定の治療に対する、研究された特定の腫瘍の反応を予測することが可能であるが、特定の腫瘍及び特定の治療に対応する、上記表において同定されたSPARC SMS構成要素の多く又は全ての組み合わせの使用は、特定の治療に対する特定の腫瘍の反応の、実質上より正確な予測を提供する。従って、特定の腫瘍/治療の組についての、表における全ての構成要素に対する基準化したスコアの和を使用し、患者を高リスク又は低リスクに分類することが可能である。カットオフ値は、表5～7に示されるもの、又はカラムの和であろう。

30

【0115】

同定したSMSの間で、腫瘍細胞、線維芽細胞、血管、ストローマ及び炎症細胞の少なくとも70%が第一の抗体で染色陽性の免疫染色であり、並びに少なくとも50%の炎症細胞及び少なくとも70%の血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性の免疫染色であった。別のSMSは、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第一の抗体で染色陽性であり、50%未満の腫瘍細胞、血管、及びストローマが第二の抗体で染色陽性であり、血管が第二の抗体で少なくとも中程度に陽性スコアを有する、免疫染色を含む。別のSMSは、腫瘍細胞、血管、炎症細胞及び線維芽細胞が第一の抗体で2+強度以下を有する；50%以下の、腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞が第一の抗体で染色陽性である；並びに腫瘍細胞、血管、炎症細胞、ストローマ、及び線維芽細胞に対し、第一の抗体で弱陽性を超えないスコアである、免疫染色を有する。

40

【0116】

(実施例3)

本実施例において、乳房腫瘍のSMSが臨床結果と相関した。

【0117】

50

局所的な進行性乳癌（L A B C）を有する123人の患者を、ゲムシタピン2000 mg/m²、エピルピシン50 mg/m²、及びnab-パクリタキセル 175 mg/m² q14日を6周期治療した後、手術により治療した（図1を参照）。手術後、上記患者は、ゲムシタピン2000 mg/m²、及びnab-P 220 mg/m² q14日を4周期受けた（図1を参照）。「病理学的な完全反応」（pCR）を、乳房（pT0）及び腋窩リンパ節（pN0）における残存浸潤性癌の非存在により定義した。「完全反応」（CR）は、乳房のみにおける病理学的な完全反応として定義した。

【0118】

S P A R C免疫組織化学（IHC）の構成要素スコア化を、治療前腫瘍サンプルについて行った。7つの腫瘍構成要素（腫瘍細胞、線維芽細胞、炎症細胞、無細胞ストロマ/マトリックス、血管、神経組織、腫瘍内の正常組織）について、2つの異なる抗体（抗体M及びP）を用いてS P A R C発現を定量する本発明に従って、認証されたIHCプロトコルを使用して、委員により認定された2人の病理学者により、腫瘍生検におけるS P A R C免疫染色を独立にスコア化した。当該スコア化は、各領域における染色された細胞のパーセント、染色の強度、及び全体のスコアの決定を含んだ（依存性変数）。従って、患者当たり42の変数を決定した（7構成要素、2抗体、3スコア）。データの解析/クラスター化（SOM、階層的、K-平均、及び相互関係（link））を、Partek array analysisプログラムを使用して行った。例えば、無増悪期間（PFS）などの、成功の測定基準は、標準的な統計学的方法を使用し、SMSと関連した。

【0119】

S P A R CのIHCのデータを、76人の患者（18/76（24%）が進行又は死亡であった）に対し作成した。（驚いたことに、より高いS P A R Cを有する患者の容体はより良好であった - 特定の理論により縛られるのは望まないが、これらのデータは、nab-パクリタキセルによる標的化を示唆する。）

【0120】

クラスター解析に基づいて、低リスク（LR）群（n=35、24mosでPFS 81%）と高リスク（HR）群（n=41、24mosでPFS 65%）を区別する（p=0.02）、特有のSMS'sを同定した。LR群においてpCRを有する3人の患者及び、HR群における5pCRが存在した（p=ns）。TNステージ（トリプルネガティブ状態）、ER（エストロゲンレセプター）状態、及びPR（プロゲステロンレセプター）状態は、2群の間で類似していた。

【0121】

【表7】

	ER- ネガティブ	PR- ネガティブ	トリプルネガティブ
	(N=31)	(N=35)	(N=26)
予後の因子を有する SPARC HR 腫瘍の数	13/30 (43%)	15/30 (50%)	11/30 (37%)
予後の因子を有する SPARC LR 腫瘍の数	18/38 (47%)	20/38 (53%)	15/38 (39%)
統計 (カイ ²)	p = ns	p = ns	p = ns

【0122】

S P A R C SMSの予後の力は、それをTN、ER-、PR-と組み合わせることにより向上した。例えば、24ヶ月のPFSは、93%（n=24、非TN、S P A R C LR）、93%（n=21、ER+、S P A R C LR）、及び92%（n=20、PR+、S P A R C LR）対、33%（n=15、TN、S P A R C HR）、40%（n=20、ER-、S P A R C HR）、及び51%（n=22、PR-、S P A R C HR）、それぞれ、p<0.0001、p=0.0001、p=0.0002であった。PFSの中央値は、22.7、30.0及び22.7ヶ月（TN、ER-、PR-について）

から、19.5、24.2、及び14.3ヶ月（HR SMSをTN、ER-、及びPR-と組み合わせたとき）へと減少した。

【0123】

ネオアジュバント乳癌試験（N=107）におけるHER2-ネガティブ患者の全体のPFS及びOSは、図3及び4に示されている。（PFS及びOSの中央値は、この患者集団に届かなかった。）腫瘍の反応（CR及びpCR）は、より良いPFS及びOSへ向かう傾向を示したが、統計上有意ではなかった。これらHER2-ネガティブ患者の68人でSPARC SMSが、PFS及び生存率と相関した。

【0124】

【表8】

最良の反応	HER2-ネガティブ Pts (N=107)		SPARCデータを有するHER2-ネガティブ Pts (N=68)	
	# Pts	% Pts	# Pts	% Pts
pCR	20	18.7%	11	16.2%
CR	6	5.6%	4	1.5%
PR	67	62.6%	40	58.8%
SD	7	6.5%	7	10.3%
PD	2	1.9%	2	2.9%
UE	5	4.7%	4	5.9%

10

【0125】

既知の予後因子の状態（ER、PR、及びトリプルネガティブ）をIHCにより調査し、利用可能なSPARC SMSデータを有する68のHER2-ネガティブ患者において、PFS及びOSとに関連付けた（Log階層試験）。予後因子は、PFS及びOSに関して、有意なP値を有すると予期されるとして、患者を階層化した。

20

【0126】

予後因子として、SPARCはER、PR及びトリプルネガティブの腫瘍の状態とは独立している。SMSリスククラスターの他の予後因子への追加は、短縮したPFSに関して、低リスク（0リスク因子）、中リスク（1リスク因子）、及び高リスク（2リスク因子）を有する腫瘍を更に区別した。（リスク0：SPARC LR、及び既知のリスク因子なし；リスク1：SPARC HR、又はER-ネガティブ（A）、PR-ネガティブ（B）、トリプルネガティブ（C）；リスク2：SPARC HRに加えて既知のリスク因子）（図5）。SMSリスククラスターの他の予後因子への追加は、短縮したOSに関して、低リスク（0リスク因子）、中リスク（1リスク因子）、及び高リスク（2リスク因子）を有する腫瘍を更に区別した（図6）。

30

【0127】

従って、本実施例は、OSに関して、SPARC微小環境シグネチャーのみで低リスク及び高リスクの腫瘍を区別することが可能であることを示す。

【0128】

本明細書に引用される、刊行物、特許出願、及び特許を含む、全ての参照は、それぞれの参照が個別に具体的に示され、参照により組み込まれ、及びその全体が本明細書中に記載されたのと同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0129】

本発明を記述することに関して（特に以下の特許請求の範囲に関して）、用語「a」及び「an」及び「the」並びに同様の指示対象の使用は、本明細書中で指示がない又は明らかに文脈と矛盾する場合を除き、単数及び複数の両方を対象とすると解釈されるべきである。用語「含む（comprising）」、「有する（having）」、「含む（including）」及び「含む（containing）」は、特に指示の無い場合は、制約のない用語として解釈されるべきである（即ち、「を含むが、これに限定されるものではない」ということを意味する）。本明細書中の値の範囲の列挙は、本明細書中に特記のない限り、この範囲内に入る各個別の値を個々に言及する、簡単な方法としての役割を単に意図したものであり、各個別の

50

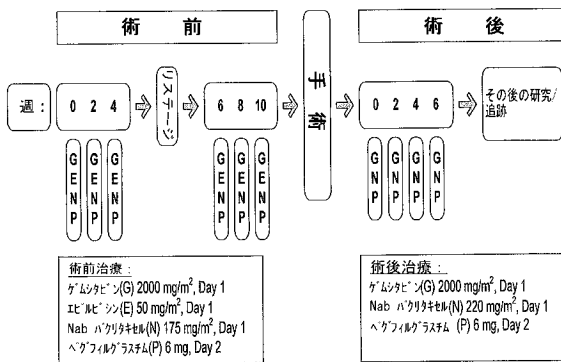
値はそれが個々に本明細書に列挙されたかのように本明細書中に組み込まれる。本明細書中に記載される全ての方法は、本明細書中に特記のない限り、又はさもなくば文脈により明らかに矛盾しない限り、任意の適切な順序で実施され得る。本明細書中に提供される任意の全ての例、又は例示的語句（例えば、「等 (such as)」）の使用は、本発明をより明確に説明することを単に意図するにすぎず、別途特許請求されない限り、本発明の範囲を限定しない。本明細書中のいかなる語句も、特許請求されていない任意の要素を本発明の実施に必須なものとして示していると解釈されるべきではない。

【0130】

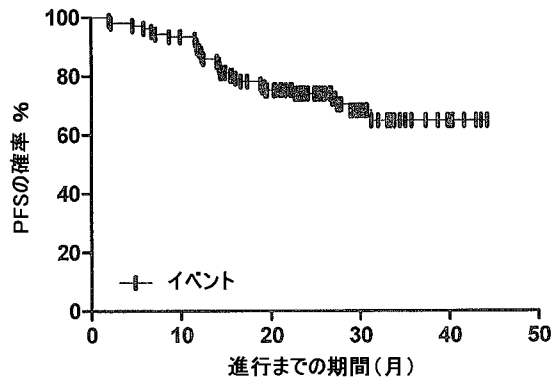
本発明を実施するための本発明者らが知る最良の形態を含む、本発明の好ましい実施形態が本明細書中に記載されている。これらの好ましい実施形態のバリエーションは、前述の記載を読めば、当業者に明らかになり得る。本発明者らは、当業者が必要に応じてこのようなバリエーションを使用することを予期し、また本発明者らは、本明細書中に具体的に記載されたもの以外の方法で、本発明が実施されることを意図する。従って、本発明は、適用法により許容されるように、本明細書に添付された特許請求の範囲に列挙された対象の全ての改変物及び均等物を含む。更に、上記要素の全ての可能なバリエーションでの上記要素の任意の組み合わせが、本明細書中に特記のない限り、又はさもなくば文脈により明らかに矛盾しない限り、本発明により包含される。

10

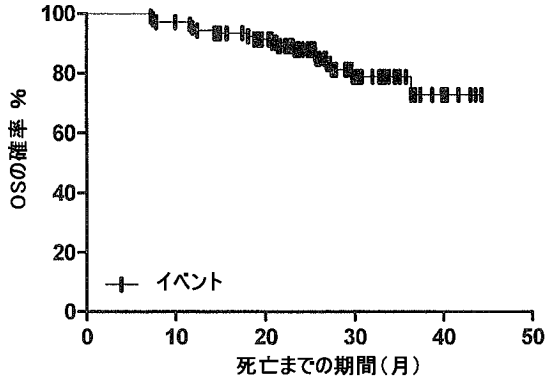
【図1】



【図2A】

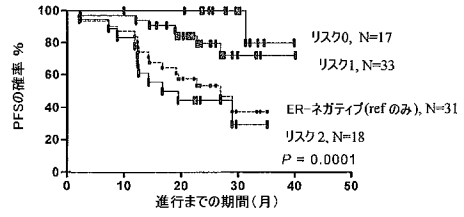


【図 2 B】

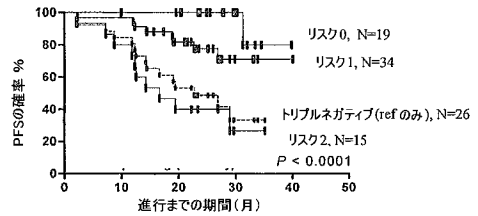
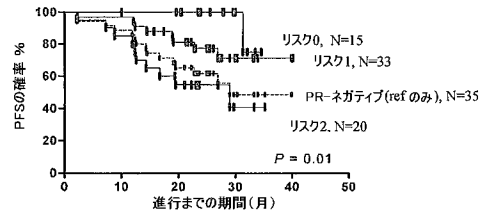


【図 3】

A

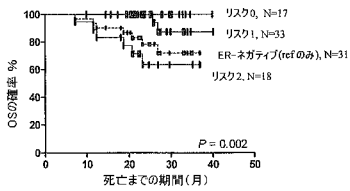


B

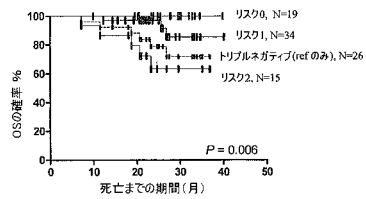
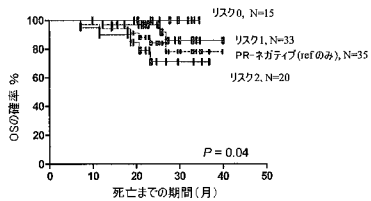


【図 4】

A



B



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. - PCT/US 11/39149
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/20; A61K 39/395; A61P 35/00; A61P 35/02 (2012.01) USPC - 424/85.2; 424/141.1; 435/7.23 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) USPC: 424/85.2 IPC(8): A61K 38/20; A61K 39/395; A61P 35/00; A61P 35/02; G (2012.01)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 424/141.1; 435/7.23 (SEE SEARCH TERMS BELOW)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WEST: PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB GOOGLE: SCHOLAR/PATENTS: sparc antibodies microenvironment signature histology tumor cells stromal staining fibroblasts antibody sparc chemotherapy surgery regimen carboplatin herceptin avastin nab-paclitaxel inflammatory cells fibroblasts blood vessels		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2010/0069298 A1 (PENNY et al) 18 March 2010 (18.03.2010) para [0007]-[0009];[0012]-[0014];[0022];[0032];[0035];[0036];Figure 3	1-19
Y	TAI et al Genome-wide expression analysis of therapy-resistant tumors reveals SPARC as a novel target for cancer therapy, in Journal of Clinical Investigation, 2005, Vol 115, pp 1492-1502. pg 1496, Col 1, para 3; pg 1498, Col 1, para 2; pg 1499, Figure 8, pg 1501, Col 2, para 3	1-19
Y	US 2009/0098210 A1 (DESAI et al) 16 April 2009 (16.04.2009) [0057];[0083];[0106];[0107];[0109];[0110];[0114];[0118];[0126]; [0131]-[0133];[0137]; [0236];[0238];[0244];[0255]; [0266]-[0267];[0273];pg 15, Table, Row 10; pg 18, Table, Row 44;pg 17, Table, Row 231	12;13;16;17;19
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 26 January 2012 (26.01.2012)		Date of mailing of the international search report 03 FEB 2012
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 11/39149

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:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: claims 1-19, drawn to a method of treating a tumor in an animal with chemotherapeutic regimen comprising steps (a)-(e) as disclosed in claim 1.

Group II: claims 20-32, drawn to a method for predicting the response of a tumor in an animal to a chemotherapeutic regimen comprising steps (a)-(e) as disclosed in claim 20.

Group III: claims 33-45, drawn to a method of predicting if an animal with a tumor has a low risk of the progression of that tumor comprising steps (a)-(e) as disclosed in claim 33.

*****continue in supplemental box III*****

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-19

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 11/39149

Continuation of Box No. III, Observations where Unity of Invention is lacking:

Group IV: claims 46-57, drawn to a method of predicting if an animal with a tumor has a low risk of death from a tumor comprising steps (a)-(e) as disclosed in claim 46.

The inventions listed as Groups I through IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Groups I-III do not include the inventive concept of predicting if an animal with a tumor has a low risk of death from a tumor, as required by Group IV.

The inventions of Groups I-II do not include the inventive concept of predicting if an animal with a tumor has a low risk of the progression of that tumor, as required by Group III.

The inventions of Group I do not include the inventive concept for predicting the response of a tumor in an animal to a chemotherapeutic regimen, as required by Group II.

The inventions of Groups I-IV share the technical feature of a method comprising (a) preparing a plurality of histological sections of the tumor to obtain SPARC microenvironment signature (SMS), (b) immunostaining a histologic section of the tumor with a first anti-SPARC antibody, wherein the first anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in tumor cells, (c) immunostaining a histologic section of the tumor with a second anti-SPARC antibody, wherein the second anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in fibroblasts, (d) determining the staining of tumor cells, fibroblast, inflammatory cells, acellular stroma/matrix, blood vessels, nerve tissue, normal anatomy within tumor or any combinations thereof with the first anti-SPARC antibody and the staining of tumor cells, fibroblast, inflammatory cells, acellular stroma/matrix, blood vessels, nerve tissue, normal anatomy within tumor or any combinations thereof with the second antibody, (e) administering a therapeutically effective amount of the chemotherapeutic regimen if a predefined SMS is demonstrated by the immunostaining. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being obvious over by US 2010/0069298 A1 to Penny et al. (hereinafter 'Penny') in view of the article entitled "Enhanced expression of SPARC/osteonectin in the tumor-associated stroma of non-small cell lung cancer is correlated with markers of hypoxia/acidity and with poor prognosis of patients" by Koukourakis et al. (hereinafter 'Koukourakis') and the article entitled "Peritumoral fibroblast SPARC expression and patient outcome with resectable pancreatic adenocarcinoma" by Infante et al. (hereinafter 'Infante'). Penny discloses a method of treating a tumor in an animal with chemotherapeutic regimen (para [0012]-[0013]) comprising (a) preparing a plurality of histological sections of the tumor to obtain SPARC microenvironment signature (SMS) (para [0007] and Fig. 1), (b) immunostaining a histologic section of the tumor with a first anti-SPARC antibody (para [0008], [0022] and Fig. 1) (c) immunostaining a histologic section of the tumor with a second anti-SPARC antibody (para [0009], [0022] and Fig. 1C), (d) determining the staining of tumor cells and the stroma, or any combinations thereof with the first anti-SPARC antibody and the staining of tumor cells and the stroma, or any combinations thereof with the second antibody (para [0032] and Figs. 2-3; Two different values were applied to both the tumor tissue and the stroma (i.e., the connective tissue surrounding the tumor) for each patient using both monoclonal method and polyclonal method), (e) administering a therapeutically effective amount of the chemotherapeutic regimen if a predefined SMS is demonstrated by the immunostaining (para [0012]-[0013]). Penny does not expressly disclose that the first anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in tumor cells and the second anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in fibroblasts. Instead, Penny teaches that, in case no MP-TN06-06308, MP-TN07-07038, MP-TN08-08236 and MP-TN08-08480, monoclonal anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in tumor cells and polyclonal anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in fibroblasts (Fig. 3).

Koukourakis discloses a method of examining immunohistochemically the pattern of SPARC expression in non-small cell lung cancer (NSCLC) (abstract) comprising (a) preparing a plurality of histological sections of the tumor to obtain SPARC microenvironment signature (SMS) (abstract and pg 5376, col 2, para 5 to pg 5377, col 1, para 2), (b) immunostaining a histologic section of the tumor with a first anti-SPARC antibody (pg 5376, col 2, para 5 to pg 5377, col 1, para 2), (d) determining the staining of tumor cells, fibroblast, inflammatory cells, acellular stroma/matrix, blood vessels, normal anatomy within tumor or any combinations thereof with the first anti-SPARC antibody (pg 5377, col 2, para 2-4). Koukourakis discloses that stroma/fibroblasts SPARC is linked with tumor necrosis, node metastasis, and poor prognosis (abstract and pg 5377, col 2, para 2-4) wherein SPARC may play a role in supporting a high degree of vascular maturation (abstract and pg 5379, and col 2, para 2). The role of SPARC in cancer prognosis is further confirmed by Infante, who demonstrates that patients whose pancreatic cancer stromal fibroblasts expressed SPARC had a significantly worse diagnosis than patients whose tumor stroma did not express SPARC (abstract). Since stroma/fibroblasts SPARC expression is associated with cancer prognosis, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art, at the time the invention was made, to have applied the method of obtaining SPARC microenvironment signature with one monoclonal antibody and one polyclonal antibody of Penny (para [0022]) by further characterizing the specifics of said monoclonal antibody and said polyclonal antibody (Penny, Fig. 3), and thus to have obtained a first anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in tumor cells and second anti-SPARC antibody preferentially stains SPARC in fibroblasts. This is because that a skilled artisan would prefer to have an anti-SPARC antibody that preferentially stains SPARC in fibroblasts, since the role of stroma/fibroblasts SPARC in cancer progression has been demonstrated by Koukourakis and Infante. As said composition was known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Groups I through IV therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	31/7068	(2006.01)	A 6 1 K	31/7068	
A 6 1 K	31/704	(2006.01)	A 6 1 K	31/704	
A 6 1 K	39/39	(2006.01)	A 6 1 K	39/39	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	Y
C 1 2 Q	1/04	(2006.01)	C 1 2 Q	1/04	

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

(74)代理人 100122688

弁理士 山本 健二

(74)代理人 100117743

弁理士 村田 美由紀

(74)代理人 100163658

弁理士 小池 順造

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(72)発明者 チェウ、ヴォン

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 1 3 0 1、アゴーラ ヒルズ、ジム ボウイ ブールヴァ
ード 4 0 0 3

(72)発明者 リュウ、シーピン

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 1 7 8 0、テンプル シティ、カメリア アヴェニュー
6 0 3 5

(72)発明者 デサイ、ニール

アメリカ合衆国、カリフォルニア州 9 0 0 2 5、ロス アンジェルス、スウィート 2 0 0 0、
ウィルシャー ブールヴァード 1 1 7 5 5

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ02 QR48 QR66 QS33 QX01

4C084 AA27 MA01 NA14 ZB261 ZB271 ZC752

4C085 AA14 CC23 DD62 DD86 EE03 EE06 FF24

4C086 AA01 BA02 EA10 EA17 MA01 MA03 MA04 NA05 NA14 ZB26

ZB27 ZC75

4C206 AA01 AA02 JB16 MA03 MA04 NA05 NA14 ZB26 ZB27 ZC75

专利名称(译)	在癌症治疗中使用SPARC微环境痕量特征		
公开(公告)号	JP2013530166A	公开(公告)日	2013-07-25
申请号	JP2013513391	申请日	2011-06-03
[标]申请(专利权)人(译)	阿布拉科斯生物科学有限公司		
申请(专利权)人(译)	Aburakushisu生物科技有限责任公司		
[标]发明人	チェウヴォン リュウシーピン デサイニール		
发明人	チェウ、ヴォン リュウ、シーピン デサイ、ニール		
IPC分类号	A61K45/00 A61K31/282 A61K31/337 A61K39/395 A61P43/00 A61P35/00 A61P35/02 A61K31/7068 A61K31/704 A61K39/39 G01N33/53 C12Q1/04		
CPC分类号	C07K16/18 A61K2039/505 G01N33/6887 G01N2333/47 G01N2800/52		
FI分类号	A61K45/00 A61K31/282 A61K31/337 A61K39/395.T A61P43/00.121 A61P35/00 A61P35/02 A61K31/7068 A61K31/704 A61K39/39 G01N33/53.Y C12Q1/04		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QR48 4B063/QR66 4B063/QS33 4B063/QX01 4C084/AA27 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZB261 4C084/ZB271 4C084/ZC752 4C085/AA14 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/DD86 4C085/EE03 4C085/EE06 4C085/FF24 4C086/AA01 4C086/BA02 4C086/EA10 4C086/EA17 4C086/MA01 4C086/MA03 4C086/MA04 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC75 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/JB16 4C206/MA03 4C206/MA04 4C206/NA05 4C206/NA14 4C206/ZB26 4C206/ZB27 4C206/ZC75		
代理人(译)	高岛肇 山本健二 当麻 博文		
优先权	61/351233 2010-06-03 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于预测对化学疗法的响应的基于多参数抗SPARC抗体的技术。[选型图]图1

