

(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2009-516167  
(P2009-516167A)

(43) 公表日 平成21年4月16日(2009.4.16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/574 (2006.01)	GO 1 N 33/574 D	2 G O 4 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 P	
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 Y	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁) 最終頁に続く

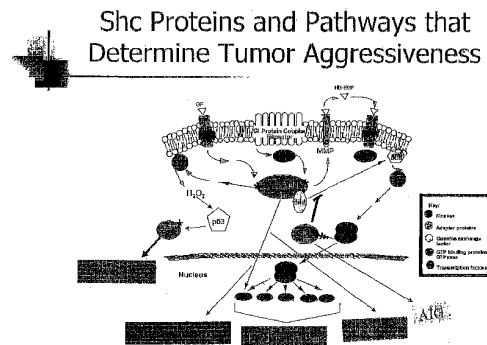
(21) 出願番号 特願2008-540223 (P2008-540223)  
 (86) (22) 出願日 平成18年11月10日 (2006.11.10)  
 (85) 翻訳文提出日 平成20年6月25日 (2008.6.25)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/043852  
 (87) 国際公開番号 W02007/058965  
 (87) 国際公開日 平成19年5月24日 (2007.5.24)  
 (31) 優先権主張番号 60/735,729  
 (32) 優先日 平成17年11月11日 (2005.11.11)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 60/843,788  
 (32) 優先日 平成18年9月12日 (2006.9.12)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504332366  
 ロジャー・ウィリアムズ・ホスピタル  
 アメリカ合衆国、ロード・アイランド州  
 02908、プロビデンス、チョークスト  
 ーン・アベニュー 825  
 (74) 代理人 100095832  
 弁理士 細田 芳徳  
 (72) 発明者 フラッケルトン, エイ., レイモンド, ジ  
 ュニア  
 アメリカ合衆国 ロード アイランド O  
 2916 ラムフォード, バーニー スト  
 リート 175  
 Fターム(参考) 2G045 AA24 AA26 BA14 BB22 BB24  
 CB02 DA36 FA11 FB03 JA01  
 4C084 AA17 NA05 ZB26  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌処置における予測マーカーとしてのP66-SHC

(57) 【要約】

本発明は、個体（例えば、患者）の癌細胞または前癌細胞（例えば、無形成）中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、癌について、個体が（1つ以上の）処置の成果を享受するかどうかを予測する方法を提供する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照のp66-Shcの量よりも低い場合、個体は処置の成果を享受する可能性がある。



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

個体に1つ以上の薬剤を投与する工程を含み、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、  
癌について、個体が処置の成果を享受するかどうかを予測する方法であって、  
個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも低い場合、個体が処置の成果を享受する、方法。

**【請求項 2】**

処置が、ホルモン処置および化学療法処置からなる群より選択される、請求項 1 記載の方法。

10

**【請求項 3】**

ホルモン処置がタモキシフェンの投与を含む、請求項 2 記載の方法。

**【請求項 4】**

化学療法処置が、アドリアマイシンシトキサン(A)シトキサン(C)、メトトレキサート(M)、フルオロウラシル(F)、エピルビシン(E)およびそれらの組合せからなる群より選択される薬剤の投与を含む、請求項 2 記載の方法。

**【請求項 5】**

個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量が免疫組織化学を用いて測定される、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 6】**

免疫組織化学が、p66-Shcに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を使用して行なわれる、請求項 5 記載の方法。

20

**【請求項 7】**

抗体がモノクローナル抗体である、請求項 6 記載の方法。

**【請求項 8】**

抗体が標識を含む、請求項 6 記載の方法。

**【請求項 9】**

個体がヒトである、請求項 1 記載の方法。

**【請求項 10】**

癌の処置がアジュバント療法である、請求項 1 記載の方法。

30

**【請求項 11】**

個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、  
乳癌について、個体がタモキシフェン処置の成果を享受するかどうかを予測する方法であって、  
個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照のp66-Shcの量よりも低い場合、乳癌について、  
個体がタモキシフェン処置の成果を享受する、方法。

**【請求項 12】**

個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量が免疫組織化学を使用して測定される、請求項 11 記載の方法。

**【請求項 13】**

免疫組織化学が、p66-Shcに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を使用して実施される、請求項 12 記載の方法。

40

**【請求項 14】**

抗体がモノクローナル抗体である、請求項 13 記載の方法。

**【請求項 15】**

抗体が標識を含む、請求項 13 記載の方法。

**【請求項 16】**

個体がヒトである、請求項 11 記載の方法。

**【請求項 17】**

タモキシフェン処置がアジュバント療法として投与される、請求項 11 記載の方法。

50

## 【請求項 18】

個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、乳癌について、個体が化学療法処置の成果を享受するかどうかを予測する方法であって、個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも低い場合、乳癌について、個体が化学療法処置の成果を享受する、方法。

## 【請求項 19】

化学療法処置が、アドリマイシン(A)、シトキサン(C)、メトトレキサート(M)、フルオロウラシル(F)、エピルピシン(E)およびそれらの組合せからなる群より選択される薬剤を個体に投与する工程を含む、請求項18記載の方法。

## 【請求項 20】

個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量が免疫組織化学を使用して測定される、請求項18記載の方法。

## 【請求項 21】

免疫組織化学がp66-Shcに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を使用して実施される、請求項20記載の方法。

## 【請求項 22】

抗体がモノクローナル抗体である、請求項21記載の方法。

## 【請求項 23】

抗体が標識を含む、請求項21記載の方法。

## 【請求項 24】

個体がヒトである、請求項18記載の方法。

## 【請求項 25】

化学療法がアジュバント療法として投与される、請求項18記載の方法。

## 【請求項 26】

p66-Shcに特異的に結合する1つ以上の抗体またはその抗原結合断片を使用して、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、乳癌について、個体がアドリマイシンシトキサン(AC)処置の成果を享受するかどうかを予測する方法であって、個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照のp66-Shcの量よりも低い場合、乳癌について、個体がAC処置の成果を享受する、方法。

## 【請求項 27】

1つ以上の抗体がモノクローナル抗体である、請求項26記載の方法。

## 【請求項 28】

1つ以上の抗体が標識を含む、請求項27記載の方法。

## 【請求項 29】

個体がヒトである、請求項26記載の方法。

## 【請求項 30】

p66-Shcに特異的に結合する1つ以上の抗体または抗原結合断片を使用して、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、乳癌について、個体がシトキサン、メトトレキサート、およびフルオロウラシル(CMF)処置の成果を享受するかどうかを予測する方法であって、個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照のp66-Shcの量よりも低い場合、乳癌について、個体がCMF処置の成果を享受する、方法。

## 【請求項 31】

1つ以上の抗体がモノクローナル抗体である、請求項30記載の方法。

## 【請求項 32】

1つ以上の抗体が標識を含む、請求項30記載の方法。

## 【請求項 33】

個体がヒトである、請求項30記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

10

20

30

40

50

## 【技術分野】

## 【0001】

## (関連出願)

本出願は、2005年11月11日に出願された米国特許仮出願第60/735,729号および2006年9月12日に出願された米国特許仮出願第60/843,788号の恩典を主張する。上述の出願の全教示は参照により本明細書に援用される。

## 【背景技術】

## 【0002】

## (発明の背景)

現在利用可能な臨床マーカーおよび分子マーカーでは、特定の治療の成果を享受する癌を有する個体が十分に同定されない。したがって、個体が癌処置の成果を享受するかどうか予測するために使用され得る方法の必要性が存在する。

10

## 【0003】

## (発明の要旨)

本発明は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体(例えば、ヒト)が癌の処置(例えば、アドリマイシン(A)、シトキサン(C)、メトトレキサート(M)およびフルオロウラシル(F)、エピルピシン(E)および/またはタモキシフェン)の成果を享受するかどうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は化学療法処置の成果を享受する。本発明の方法では、癌処置としては、ホルモン処置および/または化学療法処置が挙げられる。

20

## 【0004】

特定の態様において、本発明は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、乳癌に対して個体がタモキシフェン処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は乳癌に対するタモキシフェン処置の成果を享受する。

## 【0005】

本発明はまた、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が乳癌に対する化学療法処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は乳癌に対する化学療法処置の成果を享受する。

30

## 【0006】

本発明はまた、p66-Shcに特異的に結合する1つ以上の抗体を使用して、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が乳癌に対するアドリマイシンおよびシトキサン(AC)処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は乳癌に対するAC処置の成果を享受する。

## 【0007】

また、p66-Shcに特異的に結合する1つ以上の抗体を使用して、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が乳癌に対するシトキサン、メトトレキサートおよびフルオロウラシル(CMF)処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法が提供される。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は乳癌に対するCMF処置の成果を享受する。

40

## 【0008】

特定の態様において、癌処置は、アジュバント療法(例えば、アジュバントタモキシフェン療法;アジュバント化学療法)を含む。p66 Shcの量は、例えば、免疫組織化学方法を用いて測定され得る。例えば、p66 Shcの量は、p66Shcに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片(例えば、標識されたモノクローナル抗体)を用いて検出され得る。

## 【0009】

発明の詳細な説明

50

Shcタンパク質は、癌と関連する多くの経路に關与する細胞内分子である。Her-2/neu、EGF3-受容体ファミリーの他の一員、IGF-1および多くの他のものを含む数多くの増殖因子およびその受容体が乳癌の発生および進行性に關与している(Dickson, R. B.およびLippman, M. E., *Endocr Rev*, 16: 559-589 (1995); Tuck, A. B. et al, *Am J Pathol*, 148:225-232 (1996); Nolan, M. K., et al, *Int J Cancer*, 72: 828-834 (1997); Mitchell, P. J. et al, *Oncogene*, 9: 2383-2390 (1994); Luttrell, D. K. et al, *Proc Natl Acad Sci, USA*, 91: 83-87 (1994))。Shcは、これらの受容体に応答して、多くのG-タンパク質共役受容体から、細胞外マトリックスとの細胞相互作用に應答してチロシンリン酸化される第2のメッセンジャーアダプタータンパク質である(Pelicci, G., et al, *Cell*, 70: 93-104 (1992); Filardo, E. J. et al, *Mol Endocrinol*, 14:1649-1660 (2000); Ravichandran, K. S., *Oncogene*, 20: 6322-6330 (2001); Luttrell, L. M., et al, *Adv Second Messenger Phosphoprotein Res*, 31:263-277 (1997))。Shcはまた、細胞増殖、侵襲、運動を活性化し、固定独立増殖を制御する刺激に対する応答に關与している(Buday, L., et al, *Oncogene*, 11: 1327-1331 (1995); Dong, C, et al, *J Biol Chem*, 271:6328-6332 (1996); Hashimoto, A., et al *J Biol Chem*, 274:20139-20143 (1999); Gotoh, N., et al. *Embo J*, 15:6197-6204 (1996); Gotoh, N., et al, *Mol Cell Biol*, 17:1824-1831 (1997); Panchamoorthy, G., et al, *J Biol Chem*, 271:3187-3194 (1996); Baumann, C. A., et al, *Nature*, 407:202-207 (2000); Matoskova, B., et al, *Mol Cell Biol*, 15:3805-3812 (1995); Scita, G., et al, *Nature*, 401:290-293 (1999); Gu, H., et al, *Mol Cell Biol*, 20:7109-7120 (2000); Nguyen, D. H., et al, *J Biol Chem*, 275:19382-19388 (2000); Gu, J., et al, *J Cell Biol*, 746:389-403 (1999); Songyang, Z., et al, *Cell*, 72:767-778 (1993))。Shcの52-および46-kDaアイソフォーム(PY-Shc)のチロシンリン酸化は、これらの反応を前方に誘導するようであるが、代替の66-kDa Shcアイソフォーム(p66 Shc)は、これらのプロセスのいくつかを阻害するようであり(Migliaccio, E., et al, *Embo J*, 16:706-716 (1997); Okada, S., et al, *J Biol Chem*, 272:28042-28049 (1997))；また、p66 Shcは、好中球およびマクロファージを浸潤させることによる、および低酸素症腫瘍の新生血管形成による(Brown, N. S.およびBicknell, R., *Breast Cancer Res*, 3:323-327 (2001); Irani, K. et al, *Science*, 275:1649-1652 (1997))、増殖因子経路の慢性活性化から生じ得る酸化ストレスに対するアポトーシス感作物質であり(Migliaccio, E., et al, *Nature*, 402:309-313 (1999); Nemoto, S.およびFinkel, T., *Science*, 295:2450-2452 (2002))。以前に、患者の腫瘍細胞において発現されるPY-Shcおよびp66 Shcのレベルが疾患進行性のマーカーとしての機能を果たし得ることが示された(米国特許出願公開第2004/0033542 A1号、これは参照により本明細書に援用される)。

#### 【0010】

本明細書において、p66タンパク質が、個体が癌のための処置の成果を享受しやすいかどうかを予測するために使用されることが示される。本発明は、本明細書において、侵襲性乳癌と診断され、そのうち何人かは初期処置の一部として化学療法を受けた女性由来の腫瘍を、p66 ShcおよびPY-Shcの存在について検査した研究を用いて実証した。低レベルのp66 Shcを有し、化学療法を受けなかった患者は、非常に良くない結果を有した。しかしながら、化学療法を受けた同様の患者が再発してその疾患で死亡する機会は2倍以上低下した。逆に、高レベルのp66 Shcを有する女性は、その疾患から助かる見込みがずっと高かったが、化学療法の成果の享受が誘導されることはないようであった。

#### 【0011】

したがって、本発明は、個体の細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体(例えば、患者)が癌のための(1つ以上の)処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法を提供する。特定の態様において、該方法は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は、該処置の成果を享受しやすい(逆に、個体の細胞中に存在するp66 Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも多いならば、個体は該処置の成果を享受しにくい)。

## 【0012】

特に、本明細書に記載された方法は、個体のp66 Shcレベルに基づく癌療法に应答しやすい(またはしやすくない)か、その成果の享受を得やすい癌患者を予測するために使用され得る。すなわち、本明細書に示されるように、適当な対照と比べて低レベルのp66 Shcを有する癌患者は、該癌患者が、癌患者の一般的な集団(特に、同じ癌または実質的に類似する癌を有する癌患者)と比べて、特定の癌処置の成果を享受する(有利な应答を有する)2倍以上大きい(例えば、3倍、4倍、5倍)機会を有することを示す。また、本明細書において、低レベルのp66 Shcを有する癌患者は、該癌患者が、適当な対照(例えば、一般的な癌患者の集団、特定の態様において、同じ癌または実質的に類似する癌を有する一般的な癌患者の集団)と比べて、特定の癌処置の成果を享受する(有利な应答を有する)約50%~約75%の機会を有することを示すことが示される。他の態様において、対照と比べて低レベルのp66 Shcを有する癌患者は、対照と比べて特定の癌処置の成果を享受する約55%~約70%の機会、または約60%~約65%の機会を有する。

10

## 【0013】

したがって、本明細書に記載された方法は、個体の細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む癌処置の適当な候補としての癌患者を同定するために使用され得る。特定の態様において、該方法は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、癌患者は癌処置の適当な候補である。

20

## 【0014】

あるいは、本明細書に記載された方法は、癌患者を、癌患者の細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む癌処置の成果を享受しやすい癌患者のクラスの一員として同定または分類するために使用され得る。特定の態様において、該方法は、癌患者の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む。癌患者の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも低いならば、癌患者は癌処置の成果を享受する。

## 【0015】

特定の態様において、本明細書に記載された方法は、新たな癌療法を評価または同定するための行なわれる臨床試験の登録に適し得る癌患者(および登録に相当でない癌患者)を同定するために使用され得る。

## 【0016】

本明細書に記載の方法はまた、腫瘍の細胞または腫瘍細胞中に存在するp66-Shcの量を測定することを含む、化学療法剤などの抗癌剤によって好結果に標的化されやすいものであり得る(1つ以上の)腫瘍または腫瘍細胞を同定するために使用され得る。腫瘍の細胞または腫瘍細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、腫瘍または腫瘍細胞は、抗癌剤によって好結果に標的化され得る。例えば、本明細書に記載された方法は、化学療法剤(例えば、癌細胞などの分裂細胞に対する化学療法剤の障害性効果)の抗癌効果(1つまたは複数)に应答する腫瘍または腫瘍細胞を同定するために使用され得る。かかる抗癌効果としては、癌細胞のDNA、RNAとの相互作用および/または癌細胞の再生を妨げる有糸分裂機構、癌細胞のDNA修復機構に關与する酵素による干渉、癌細胞の複製に關与する酵素による干渉、および癌細胞の死(アポトーシス)の誘導が挙げられる。

30

40

## 【0017】

本明細書に記載のように、「癌療法」、「癌の処置」または「癌処置」は、個体に1種類以上の薬剤を投与することを含む。一態様において、薬剤は、急速に分裂する癌細胞を標的化する化学療法剤である。かかる薬剤の例としては、アルキル化剤(例えば、ブスルファン、シスプラチン、カルボプラチン、クロラムブシル、シクロホスファミド、イホスファミド、ダカルバジン(DTIC)、メクロレタミン(ナイトロジェンマスタード)、メルファラン、テモゾロンミド); ニトロソ尿素類(例えば、カルムスチン(BCNU)、ロムスチン(CCN U)); 代謝拮抗物薬(例えば、5-フルオロウラシル、カペシタピン、6-メルカプトプリン、メトトレキサート、ゲムシタピン、シタラビン(ara-C)、フルダラビン、ペメトレキセド)

50

；アントラサイクリンまたは関連薬(例えば、ダウノルビシン、ドキソルビシン(アドリアマイシン)、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサトロン)；トポイソメラーゼ(トポイソメラーゼI阻害剤；トポイソメラーゼII阻害剤)阻害剤(例えば、トポテカン、イリノテカン、エトポシド(VP-16)、テニポシド)；および有糸分裂阻害剤(例えば、タキサン類(パクリタキセル、ドセタキセル、タキソール)ビンカアルカロイド類(ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンレルピン)が挙げられる。

【0018】

別の態様において、薬剤は、化学療法剤よりも特異的に癌細胞を攻撃する標的化療法剤である。かかる薬剤の例としては、イマチニブ(グリーベック)、ゲフィチニブ(イレッサ)、エルロチニブ(タルセバ)、リツキシマブ(リツキサン)およびベバシツマブ(アバスチン)が挙げられる。

10

【0019】

また別の態様において、薬剤は性ホルモン、または女性または(of)男性ホルモンの作用または産生を改変し、乳房、前立腺および子宮内膜(子宮)癌の増殖を遅滞させるために使用され得るホルモン様薬である。かかる薬剤の例としては、抗エストロゲン(例えば、タモキシフェン、フルベストラント)、アロマターゼ阻害剤(例えば、アナストロゾール、エキセメスタン、レトロゾール)、プロゲスチン(例えば、酢酸メゲストロール)、抗アンドロゲン(例えば、ピカルタミド、フルタミド)およびLHRHアゴニスト(ロイプロリド、ゴセレリン)が挙げられる。

【0020】

また、薬剤は、癌を有する個体の癌細胞をより有効に認識し、攻撃するように免疫系を刺激することを意図する(sue)薬物であり得る。

20

【0021】

薬剤の他の例としては、選択的エストロゲン受容体調節剤(SERM)などのホルモン；抗体またはその抗原結合断片(例えば、ヘルセプチン)；プロテインチロシンキナーゼ阻害剤；シトキサン(C)、メトトレキサート(M)、フルオロウラシル(F)、アドリアマイシン(A)、エピルビシン(E)、ドキソルビシンおよび/またはダウノルビシンなどのアントラサイクリンなどの化学療法剤の組合せ；標的化キナーゼ阻害剤；メタロプロテインキナーゼ阻害剤；ならびにプロテオソーム阻害剤が挙げられる。

【0022】

特定の態様において、本発明は、個体(例えば、患者)が(1つ以上の)癌の処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法であって、該処置が限局放射線(癌の一次処置として使用される局所放射線とは反対)を含む方法を提供する。

30

【0023】

1種類以上の薬剤が個体に、癌の一次処置前、(例えば、新補助療法)、該処置中または該処置後(例えば、アジュバント療法)に投与され得る。本明細書に使用されるように、「癌の一次処置」は、一般的に、手術(例えば、腫瘍の外科的除去)および/または放射線(例えば、局所放射線)を伴う処置をいう。本発明の方法では、「癌の処置」は、薬剤(例えば、ホルモン、化学療法剤)が、(残留)腫瘍の外科的除去の前、または限局放射線(例えば、後の腫瘍の外科的除去を簡単にするために腫瘍を収縮させるために使用される放射線)の前に投与される新補助療法処置であり得る。別の態様において、「癌の処置」は、薬剤(例えば、ホルモン、化学療法剤)が(残留)腫瘍の外科的除去後、または限局放射線後に投与されるアジュバント処置であり得る。また別の態様において、処置は、転移性癌を処置するため(例えば、個体をより快適にするため、および/または癌が転移した後の個体の生存を延長するため)1種類以上の化学療法剤が個体に投与される待機的処置であり得る。

40

【0024】

一態様において、本発明は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が癌に対する(1つ以上の)化学療法処置(例えば、アドリアマイシンシトキサン(AC)、シトキサン、メトトレキサート、フルオロウラシル(CMF))の成果を享受するか

50

どうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は、化学療法処置の成果を享受しやすい。

【0025】

特定の態様において、本発明は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が乳癌に対するアドリマイシンシトキサン(AC)の成果を享受するかどうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は、AC処置の成果を享受しやすい。

【0026】

別の態様において、本発明は、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が、乳癌に対するシトキサン、メトトレキサート、フルオロウラシル(CMF)処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法に関する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体はCMF処置の成果を享受しやすい。

10

【0027】

本発明はまた、個体の癌性細胞中に存在するp66-Shcの量を測定する工程を含む、個体が乳癌に対するホルモン(例えば、タモキシフェンなどのエストロゲン受容体標的化療法)処置の成果を享受するかどうかを予測するための方法を包含する。個体の細胞中に存在するp66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ないならば、個体は、タモキシフェン処置の成果を享受しやすい。

【0028】

本明細書に使用されるように、「p66-Shc」は、「Shc」と命名されたアダプタータンパク質の66 kDアイソフォームをいう。また、本明細書に使用されるように、「リン酸化Shc (PY-Shc)」は、アミノ酸残基側鎖の少なくとも1つがリン酸化された「Shc」と命名されたアダプタータンパク質をいう。特定の態様において、Shcのチロシン残基がリン酸化される(「チロシンリン酸化Shc」)。かかる残基としては、例えば、チロシン残基317が挙げられる。

20

【0029】

細胞中に存在するp66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量は、分子中で測定される絶対量、単位容積または細胞あたりのモルもしくは重量、または例えば、p66 ShcもしくはPY-Shcに特異的な免疫組織化学的染色の平均強度として得られる約0~約5の数値的評価で示される相対量のいずれかを示し得る。この強度は、標準(既知量のp66 Shcおよび/またはPY-Shcを発現する乳癌組織培養細胞または校正組織培養細胞)に対して測定される。別の同様の方法は、免疫蛍光検出および染色強度の主観的半定量評価または染色強度の自動測定の内いずれかを使用する。

30

【0030】

本発明の方法では、個体の細胞中に存在するp66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量に加えて変数(例えば、リスクファクター)は、個体が癌のための処置の成果を享受するかどうかを予測するために使用され得る。使用され得るさらなる変数の例としては、個体の年齢、性別、全体的な健康状態、家族歴、遺伝型、結節状態、腫瘍サイズ、腫瘍グレード、年齢、エストロゲン受容体(ER)状態、マーカー発現(例えば、Her2発現)およびその組合せが挙げられる。

40

【0031】

本明細書に記載の方法は、癌と診断された(癌患者)、癌に罹りやすい、および/または癌が発生するリスク(例えば、遺伝性形態の癌が発生するリスク)が高い個体が、1種類以上の癌処置の成果を享受するかどうかを予測するために使用され得る。また、本明細書に記載された方法は、個体が、個体への任意の単独の薬剤または薬剤組合せ(例えば、薬物の1つがアントラサイクリン(例えば、ドキソルピシン、エピルピシン、ダウノルピシン)である)化学療法薬物の投与を含む癌のための処置の成果を享受するかどうかを予測するために使用され得る。

【0032】

50

本発明の方法において、個体は、霊長類(例えば、ヒト、チンパンジー、類人猿、サル)、イヌ、ネコ、齧歯類、ブタ、ヒツジおよびウシなどの哺乳動物であり得る。

【0033】

本明細書に記載の方法は、以前に癌を処置されたことがない個体または個体の試料において行なわれ得る、すなわち、癌の一次処置の成果を享受する個体を同定するために行なわれ得る。例えば、本明細書に記載された方法は、癌(例えば、炎症性乳癌)を有する個体が、一次化学療法処置の成果を享受するかどうかを確認するために使用され得る。あるいは、本明細書に記載された方法は、以前に癌を処置されたことがある個体または個体の試料において行なわれ得る、すなわち、癌のアジュバント処置の成果を享受する個体を同定するために行なわれ得る。例えば、本明細書に記載された方法は、癌を有する個体が、該患者が手術および/または放射線などの癌の一次処置を受けた後、アジュバント癌療法(化学療法剤; ホルモン)の成果を享受するかどうかを確認するために使用され得る。したがって、本明細書に記載された方法は、早期癌診断のために早期の介入、および転移性癌(例えば、AJC段階1~4)を含むより進展した癌のための後期介入として行なわれ得る。特定の態様において、個体は、腫瘍を処置するために手術(腫瘍は外科的に除去されている)および/または放射線を受けたことがあり、この個体において、p66-Shcの量が対照中のp66-Shcの量よりも少ない、および/またはリン酸化Shcの量が対照中に存在するリン酸化Shcよりも多いならば、個体は、癌が再発する高いリスクを有し、該個体は癌処置の成果を享受するとみなされる。

10

【0034】

本明細書に使用されるように、「癌」としては、Shcタンパク質の異常レベルと関連する任意の型の癌が挙げられる。一態様において、本明細書に記載された方法は、個体が、対照と比べてp66 Shcタンパク質の異常レベルと関連する癌のための処置の成果を享受するかどうかを予測するために使用され得る。別の態様(another)において、本明細書に記載された方法は、個体が、癌の一次処置の前、処置中または後で、本明細書に記載される薬剤(例えば、タモキシフェン、AC、CMF)で一般的に処置される癌のための処置の成果を享受するかどうかを予測するために使用され得る。本明細書に記載された方法が使用され得る癌の型の例としては、乳癌(例えば、炎症性乳癌)、卵巣癌、前立腺癌、子宮内膜癌、胃癌、膀胱癌、腎臓癌、膵臓癌、肺癌、脳の癌、皮膚癌(例えば、黒色腫)および転移性癌が挙げられる。一態様において、癌は、腫瘍として発現され、癌性細胞は、癌性腫瘍由来の腫瘍細胞である。本明細書に使用されるように、「癌性腫瘍細胞」は、腫瘍内または腫瘍由来の癌性細胞をいう。癌性腫瘍細胞は、腫瘍内に存在する血管細胞などの他の非癌性細胞と異なる。別の態様において、癌は転移したものである。

20

30

【0035】

当業者には自明であるように、処置後の個体において、癌性状態が予防される、排除される(例えば、寛解状態)、減衰される(例えば、腫瘍の大きさおよび質量の減少)、または制御下にある(例えば、癌が含まれているが、原発部位を越えて広がらず、またはさらに転移しない)場合、個体は、癌処置「の成果を享受する」; 「の成果の享受を誘導する」; 「に応答する」; 「に有利に応答する」または「に有利な応答(結果)を有する」。

【0036】

p66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量は、当該技術分野で公知の種々の方法を用いて測定され得る。例えば、測定工程は、フローサイトメトリーまたは免疫組織化学の使用を含み得る。別の態様において、p66-Shcまたはリン酸化Shcに特異的に結合する(に対して結合特異性を有する)抗体(例えば、検出可能な抗体)が使用され得る。本明細書に使用されるように、「抗体」としては、一例として、天然抗体および非天然抗体の両方が挙げられる。具体的には、この用語は、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、ならびにその断片を含む。さらにまた、この用語は、キメラ抗体および完全合成抗体、ならびにその断片(例えば、抗原結合断片)を含む。さらに、この用語は、そのランダムペプチドがPY-Shcまたはp66 Shcに特異的に結合するランダムペプチドライブラリーから単離された抗ミトープを含む。

40

50

## 【0037】

特定の態様では、本明細書においてOncoPlan™(Catalyst Oncology, Worcester, MA)とも呼ばれるShc Test™を用いて、p66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量が測定される(例えば、米国特許出願公開第2004/0033542 A1号および米国特許出願公開第2005/004008 A1号を参照のこと、これらはともに、参照により本明細書に援用される)。OncoPlan™により、本明細書に記載されたShcタンパク質の2つの形態が測定され、これらは、シグナル伝達経路に関与するタンパク質複合体の形成を誘導し、進行性の癌の発生に重要な多くの経路に関与することがわかった。これらの2つの形態は互いに、チロシンリン酸化(PY)-Shcがこれらの危険な細胞経路の誘導を補助するが、p66 Shcは、初期刺激後、他方のShcタンパク質が促進するまさにその増殖経路を阻害する機能を果たすという「プッシュ・プル(push pull)」関係を有する。

10

## 【0038】

p66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量の測定方法は、癌性細胞を含む個体から得られた任意の適当な試料(生物学的試料)において行なわれ得、癌診断に依存する傾向がある。例えば、試料は、細胞、組織、血液、リンパ、脊髄液、精液、唾液、粘液、尿および便であり得る。特定の態様において、試料は、癌(例えば、腫瘍)の生検または外科的切除からのホルマリン固定および/またはパラフィン包埋腫瘍組織である。

## 【0039】

任意の適切な対照が使用され得、対照試料中のp66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量が、癌を有さない(1つ以上の)個体中のp66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量(例えば、1つ以上の健常個体中のp66-Shcおよび/またはリン酸化Shcの量)を示す。例えば、適切な対照は、癌を有さない1つ以上(例えば、多量の試料)の個体をアッセイし、対照値(標準値; 公知標準)を得るための統計モデルを用いて確立され得る。例えば、参照により本明細書中に援用されるKnapp, R.G. およびMiller M.C. (1992) *Clinical Epidemiology and Biostatistics*, William and Wilkins, Harual Publishing Co. Malvern, PAに記載のモデルを参照のこと。従って、本明細書で使用する場合、「対照」または「公知標準」は、p66-Shcおよびリン酸化Shcに関して適用されるように、1つ以上の量、割合または分布のことを言及し得る。対照または公知標準は癌を有さない個体のかかる量、割合および/または分布特性を反映し得る。

20

## 【0040】

特定の態様において、オリジナルの腫瘍セットの免疫組織化学染色作業を再度参照することによって測定されるように、該標準は公知の量のp66 Shcおよび/またはPY-Shcを含有するアーカイブ腫瘍(archival tumor)の検体である。別の態様において、標準組織は異なる標準レベルのPY-Shcおよびp66 Sheを含有するように作り変えられ/操作された細胞株を培養する。かかる細胞を回収し、アガロースモールド中で加工し、ホルマリン中で固定し、次いで組織検体と並行して取り扱い得る。

30

## 【0041】

また、キットも本発明に包含される。一態様において、該キットはp66 Shcを検出するために使用され得る薬剤、および個体または個体の試料中のp66 Shcを検出する薬剤の使用のための指示書を含む。特定の態様において、該キットはp66 Shcを特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメント(例えば、e.g., ATCC受託番号PTA-4109、本明細書で参照により援用される米国特許公開公報第2004/0033542号)、および個体または個体の試料中のp66 Shcを検出する薬剤の使用のための指示書を含む。

40

## 【0042】

本発明は以下に続く実施例のセクションで説明される。このセクションは本発明の理解を補助するために記載されるが、いかなる場合においても特許請求の範囲に記載される本発明を限定することを意図せずに、限定するように解釈されるべきではない。

## 【実施例】

## 【0043】

実施例1

50

原発性乳癌中のShcタンパク質は特定の処理を受けない (treatment naive) 患者、タモキシフェン処理患者、および化学療法処理患者における結果を予測する

バックグラウンド：乳癌患者には、アジュバントホルモンまたは化学療法の恩恵のより良好な予測が必要である。進行性の癌に関連する多くの経路に関わるShcシグナルアダプタータンパク質は、活性型のチロシンリン酸化(PY)-Shc、およびこのタンパク質の抑制型形態であるp66 Shcを報告する免疫組織化学Shc Test™により腫瘍検体中で測定され得る。以前までの試験により、Shc Testは疾患結果を予測する強い能力を有することが示された。ナイーブ患者およびアジュバント療法で処置された患者の両方における純粋な予後能力の正当性が本明細書に記載され、アジュバントタモキシフェンまたは化学療法の恩恵を最も受けやすい患者を同定する能力を報告する。

10

#### 【0044】

材料および方法：患者試料は、腫瘍マイクロアレイ (TMA) 形式で、4,326人のブリティッシュコロンビアの女性由来の原発性で侵襲性の腫瘍検体を含んだ (非アジュバント療法 = 1860; タモキシフェン = 1366; 化学療法 (AC, CMF, FAC, CEF) = 744; 再発 = 1752; 疾患により死亡 = 1334、平均追跡調査13年)。さらなる2つの供給源は、Roger Williams Medical Center (RWMC) のタモキシフェンのみで処理された患者由来の65の原発性腫瘍検体 (10が再発、平均6.4年の追跡調査)、および公表された研究 (Massachusetts General Hospital (MGH)) (Ma et al, Cancer Cell, 5:1-10 (2004)) の32 (14が再発) であった。二人の病理学者により、Shcタンパク質の免疫組織化学 (IHC) 染色を0~5の連続したスケールで評点して、臨床データは患者には伏せた。

20

#### 【0045】

結果：アジュバント療法を受けなかった1860人の患者で、Shcタンパク質は、節状態 (nodal status)、Her2およびエストロゲンレセプター (ER) の発現、患者の年齢、腫瘍の大きさおよびグレードに関して調整されたRFSおよびDSSについての多変量モデルにおいて強力な予後マーカーであった (危険率 (HR) = 2.6、95%信頼区間 (CI) 1.1~6.0、P値 (P) = 0.026)。無再発生存率 (RFS) および疾患特異的生存率 (DSS) の分析は、危険率のlog正規性および比例の両方の予測の下で多変量モデルを使用した。Shcタンパク質は、患者の3つの別々のコホートにおいてタモキシフェン療法に対する患者の応答を予測する非常に強力な能力を示した：1) RWMCコホート、Shcタンパク質は8.0の四分位数間危険率 (HR) (95%CI 2.3~28、P=0.001) を提供した；2) MGHコホート、9.1の四分異数間HR (1.4~67 95% CI、P=0.02)；3) TMA試験、タモキシフェンの恩恵をほとんど受けない低リスクの集団の63%に対して、Shc Testによりリスクが高いと分類された患者の12%はタモキシフェンによって強く保護された (結節陽性患者において、0.26 HR、0.096~0.71 95% CI、P=0.009；図16参照)。同様の分析により、化学療法 (シトキサン、メトトレキサート、フルオロウラシル (CMF) またはアドリマイシンシトキサン (AC) のいずれか) は、4倍の保護効果を受けた高リスクであると判定された患者に対して、Shc Testにより低リスクであると判定された患者にはほとんど恩恵をもたらさない (0.25HR、0.08~0.78 95%CI、P=0.016) ことが明らかとなった。図12~15参照。

30

#### 【0046】

結論：共に考察すると、3000を超える患者に対する複数の試験により、Shcタンパク質の腫瘍レベルは：i) 大部分の低リスクのプロフィールを有する患者およびアジュバントタモキシフェンまたは化学療法からほとんど恩恵を受けない患者；ii) 少数の高リスクのプロフィールを有するが、タモキシフェンおよび細胞傷害性アジュバント療法の両方の恩恵を最も受ける患者を判定することが示される。

40

#### 【0047】

##### 実施例2

Shcタンパク質は特定の処理を受けない乳癌患者および化学療法の恩恵を受ける患者の結果を予測する

アジュバント化学療法のより良好な予測により、乳癌患者の臨床管理が改善される。進行性の癌に関連のある経路に関わるShcタンパク質は、リン酸化 (PY) - Shcおよび該タン

50

パク質の不活性化形態であるp66 Shcを報告するOncoPlan™免疫組織化学試験により腫瘍中で測定され得る。以前までの研究により、OncoPlan™は疾患結果の強力な予測体であることが示されている。p66 Shcがこれらの患者を化学療法の恩恵を最も受けると判定する能力が本明細書に記載される。

【 0 0 4 8 】

方法：2380人のブリティッシュコロンビア（BC）の女性由来の原発性で浸潤性の腫瘍に基づく集団をTMA形式でアレイにかけた（非アジュバント療法 = 1663；化学療法（CMF、AC、FAC、CEF） = 717；再発 = 854；疾患により死亡 = 501；13年間の平均追跡調査）。2人の病理学者により連続的な0～5のスケールでShc染色を評点し、患者にはデータを伏せた。

【 0 0 4 9 】

結果：第1の再発前に化学療法を受けていない1663の患者で、連続的変数としてp66 Shcは、結節状態、Her2およびER状態、年齢、腫瘍の大きさおよびグレードについて調整された多変量Coxモデルにおいて、無再発生存率（RFS）（危険率（HR） = 0.64、95%CI 0.44～0.93、P = 0.018）および疾患特異的生存率（DSS）（HR = 0.47、95%CI 0.30～0.75、P = 0.001）を予測する強い能力を有した。対照的に、化学療法処置患者（RFS HR = 1.06、95%CI 0.67～1.65、P = 0.81；DSS HR = 1.00、95%CI 0.61～1.67、P = 0.98）においてp66 Shcは結果を予測しなかった。このことはp66 Shcと化学療法との相互作用を示し、p66 Shcレベルにより化学療法に対する腫瘍応答性が予測されることを示した。この仮説を試験するために、p66 Shcの値の増加により化学療法が患者の結果を改善する能力が減少する、p66 Shcと化学療法との有意な相互作用を示す（図11参照）、形式的な相互作用分析を実施した。次いで、相互作用の形式的な説明により、p66 Shcレベルにより亜集団に分けられた患者における化学療法の保護能力を、完全に調整されたCoxモデルを使用して試験することが正当化された。

【 0 0 5 0 】

OncoPlan™により高リスクであると分類された患者（低p66 Shcレベル）の60%は化学療法により強力に保護されたが（RFS HR = 0.53、95%CI 0.38～0.75、P = 0.0001；DSS HR = 0.51、95%CI 0.34～0.74、P = 0.001）、OncoPlan™により低リスクであると分類された患者の40%について化学療法は危険であると思われた（RFS HR = 1.2、95%CI 0.79～1.8、P = 0.41；DSS HR = 1.9、95%CI 1.15～3.02、P = 0.01）。患者の全集団について、化学療法は保護的であると思われた（RFS HR = 0.74、95%CI 0.59～0.94、P = 0.01；DSS HR = 0.81、95%CI 0.62～1.05、P = 0.12）。薬物によって、高リスクの患者はAC（DSS HR = 0.31、95%CI 0.017～0.57、P < 0.0001）およびCMF（DSS HR = 0.48、95%CI 0.30～0.76、P = 0.002）により保護され；低リスクの患者はACまたはCMFにより保護されなかった（HR > 1.5、P > 0.10）。図12～15参照。

【 0 0 5 1 】

結論：これらのデータにより、原発性腫瘍におけるp66 Shcレベルは低リスクプロフィールを有する患者を化学療法の恩恵をほとんど受けないと判定し、高リスクプロフィールを有する患者が最も恩恵を受け易いと判定することが示される。

【 0 0 5 2 】

実施例3 低p66 Shcを示す腫瘍は高p66 Shc発現を有する腫瘍よりもDNA傷害性療法に感受性が高い、推定分子機構

概要：

理論に拘束されることは望まないが、酸化ストレスおよびDNA傷害が低レベルのp66 Shc発現を有し、未処理の場合は進行性であるが、全身性アジュバント療法に対して良好に回答する腫瘍に大きな選択的圧力をもたらすという腫瘍の進行モデルが記載される。腫瘍が低または高レベルのp66 Shcを有する患者について、実現されるナイーブリスク（naive risk）および化学療法の恩恵を分割するために、該モデルは本明細書に記載される観察されたデータに良好に一致する。該モデルはいくつかのさらなる予測を、p66 Shcレベルに対する抗アポトーシス因子およびプロアポトーシス因子についてのマーカーの分布と関連付ける。これらの予測はVancouver General Hospitalの400人の患者のデータセットから

10

20

30

40

50

のデータを使用して試験された。

【 0 0 5 3 】

モデル：

酸化ストレス下にある正常細胞は、アポトーシスを実行することによる自己の破壊をプログラムされる。かかる酸化ストレスは、成長因子経路の慢性的な活性化、好中球およびマクロファージの浸潤、低酸素腫瘍の新生血管形成、ならびに虚血組織の再灌流により生じ得る (Brown, N.S., et al., *Breast Cancer Res.*, 3:323-327 (2001) ; Irani, K., et al., *Science*, 275:1649-1652 (1997) )。

【 0 0 5 4 】

酸化ストレス下の細胞の正常なアポトーシス応答には、p66 Shcタンパク質 (およびそのセリン36におけるリン酸化) およびTP53の両方が必要である (Purdom, S., et al, *Trends Mol Med.*, 9:206-210(2003) ; Migliaccio, E., et al., *Nature*:402.309-313 (1999) ; Nemoto, S., et al., *Science*, 295:2450-2452 (2002) ; Pellegrini, M., et al., *Apoptosis*, 10:13-18 (2005) )。インビトロモデル系により、p66 ShcおよびTP53の両方の非存在化で細胞は酸化ストレスに対するアポトーシス応答を示さないことが示される (Trine i, M., et al., *Oncogene*, 21:3872-3878 (2002) )。p66 ShcまたはTP53のいずれか単独の存在は有意ではあるが抑制された応答をもたらし、両方の存在は相乗的な応答を示す。この相乗効果は以下：

1. セリン36におけるp66 Shcのリン酸化：

a. HIF-1をアップレギュレートする；HIF-1はその細胞中の安定状態を増加させるTP53を安定化する；

b. Bax、GADD45およびFasLを含む、他のプロアポトーシス因子をアップレギュレートする (Pacini, S., et al, *Mol. Cell Biol.*, 24:1747-1757 (2004) )；

c. Bclを含む抗アポトーシス因子のダウンレギュレート；

d. FKHL1転写因子の、酸化ストレスを減少させるROS-スカベンジャー経路 (例えば、カタラーゼ) の細胞レベルをアップレギュレートする能力を抑制する (Nemoto, S., et al., *Science*, 295:2450-2452 (2002) )；

e. HRP70と組み合わせたp66 Shcのミトコンドリアへの転移であって、HRP70は電子を細胞質へとスイッチしてストレスを増加させる；それによりミトコンドリアからのチトクロームcの放出が起こる (Trine i, M., et al., *Oncogene*, 27:3872-3878 (2002) )

2. TP53発現

a. p66 Shc の安定性を増加させてp66 Shc発現をアップレギュレートする (Trine i, M., et al., *Oncogene*, 21:3872-3878 (2002) )；

b. いくつかの他のプロアポトーシス因子をアップレギュレートする；

c. 抗アポトーシス因子をダウンレギュレートする

の観察により説明され得る。

【 0 0 5 5 】

上述の証拠により、かかる酸化ストレスに連続的にかけられた進行性の腫瘍は、低レベルのp66 Shcを示す場合に選択的な利点を有し、それによりアポトーシス性の死を回避したことが示される。この概念に一致して、低レベルのp66 Shcは、過剰発現され活性化されたHer2/neuを有するかまたはオートクライン自己増殖因子ループを有する乳癌細胞株 (Stevenson, L.A., et al., *Breast Cancer Research & Treatment*, 49:119-128 (1998) )、および進行性の乳癌 (Davol, P.A., et al., *Cancer Res.*, 63:6772-6783 (2003) ; Frackelton, A.R., et al., *San Antonio Breast Cancer Symposium*: 1124a (2005) ; Frackelton, A.R., *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 46 :LB201 (2005) )で見出された。

【 0 0 5 6 】

あるいは、重度の酸化ストレス下にある進行性の腫瘍は、その腫瘍細胞がアポトーシスに抵抗する他の機構を利用した場合にp66 Shc発現を高レベルで維持し、アポトーシスを回避し得る。従って、高レベルのp66 Shcを有する腫瘍は、調節されていないかもしくは変異的に不活性なTP53、ダウンレギュレートされたプロアポトーシス因子またはアップレ

10

20

30

40

50

ギュレートされたBcl-2などの抗アポトーシス因子を含有する場合に、酸化ストレス誘導アポトーシスを回避し得るかまたは最小限にし得る。

【0057】

そのため、全身性のアジュバント療法の非存在下において、低レベルのp66 Shcを有する腫瘍は生存しており進行性である。しかしながら、p66 Shcが既にダウンレギュレートされている場合に酸化ストレスは生存には必要ではないので、これらの同一の腫瘍は、プロアポトーシス因子（例えば、BaxまたはTP53）の発現の減少、または抗アポトーシス因子（例えば、Bcl-2）の発現の増加について独立的に選択される可能性は比較的低い。従って、DNA傷害剤に応答するアポトーシスは一般的にTP53を必要とするが、p66 Shcは必要としないため、正常に機能しているアポトーシス経路ではなく低いp66 Shcを有するこれらの同一の細胞は、DNA傷害療法に対して非常に感受性が高いことが予想される。

10

【0058】

逆に、高いp66 Shcを有する腫瘍は、2つの一般的なクラスに分けられ得る。クラスI、高p66 Shc腫瘍は進行性ではない傾向があり、ほとんど完全な正常アポトーシス経路を有し、酸化ストレス下にはほとんど存在しない。これらの患者は外科的（および放射性）療法により治療される傾向があるので、DNA傷害アジュバント療法のさらなる恩恵が示されることはない。クラスII、高p66 Shc腫瘍は高酸化ストレス下で進行性の腫瘍である傾向にあり、プロアポトーシス経路（例えば、p53）をダウンレギュレートすることもしくは抗アポトーシス経路（例えば、Bcl-2）をアップレギュレートすることまたはその両方でアポトーシス性の死を回避する。腫瘍がクラスIIの高p66 Shcである患者は、外科的（および放射性）療法後に純粋な予後が乏しいことが予想され、DNA傷害アジュバント療法の恩恵を比較的ほとんど受けることがないと予想される。

20

【0059】

従って、高p66 Shcを有する患者のほとんどがクラスIであり、少数がクラスIIである限りは、高p66 Shcを有する患者は有利な純粋な予後を有し得るが、DNA傷害療法の恩恵はほとんどない。

【0060】

次いで、このモデルは本明細書に記載される観察を適切に説明すると思われる（図12～15参照）。

【0061】

アポトーシスに対するそれらの効果に加えて、p66 ShcおよびTP53は細胞増殖に影響する。このことはTP53について良く確立され、DNA傷害を感知し、傷害が過剰ではない場合に修復を待つために細胞周期を止める。TP53-変異型の腫瘍は、TP53正常細胞よりも迅速に増殖し、腫瘍の進行化に寄与する。通常、迅速に増殖している細胞は、典型的に細胞周期のS期の間のみその効果を発揮する、DNA傷害療法に対して、より感受性である。しかし、TP53変異細胞は、これに対して相対的に非感受性である。細胞増殖におけるp66 Shcタンパク質の効果はそれ程明確ではないが、Shc-Grb2複合体からRasおよびc-fosへのシグナル伝達を阻害するその能力は、特定の環境下で細胞増殖を大きく遅らせ得ることを示唆する。このことが真実であれば、p66 Shcの消失により細胞増殖が増加され得、そのため腫瘍細胞のDNA傷害療法に対する影響の受け易さも増加し得る。

30

40

【0062】

本明細書に記載された全ての特許の教示、公開出願および参考文献はその全てにおいて参照により援用される。

【0063】

本発明はその例示の態様に関して特に示され、記載されるが、添付の特許請求の範囲に包含される本発明の範囲を逸脱することなく、形態および詳細において種々の変更が本明細書中になされ得ることが当業者には理解されよう。

【図面の簡単な説明】

【0064】

【図1】図1は、Shcタンパク質の構造の概略図である。

50

【図2】図2は、Shcタンパク質および腫瘍攻撃性を決定する経路の概略図である。

【図3】図3は、PY-Shcおよびp66 Shcの免疫組織化学染色およびスコアリングを示す。

【図4】図4は、全身療法を受けていない患者における診断後の年数対再発なしの生存(RFS)のグラフである。再発のリスクは、独立した共変量、結節状態およびHer2状態を組み合わせた、Shcタンパク質によって予測されるリスク範囲に示される。

【図5】図5は、p66 Shcが、DNA損傷ではなくストレスに起因するアポトーシスを示す概略図である。

【図6】図6は、アジュバント化学療法を受けた、または受けなかつたいずれかの患者における臨床病理学的特徴および予後マーカーの一変量解析を示す。

【図7】図7は、Shc予後能力が患者の標準的な臨床病理学的指標と独立していることを示す。

【図8】図8は、診断における年数対疾患特異的生存(DSS)のグラフであり、Shcによる再発前の全身療法を受けていない患者におけるDSSを示す。

【図9】図9は、化学療法による臨床病理学的特徴の比較を示す。

【図10】図10は、Shcマーカーと臨床病理学的特徴との相関がないことを示す。

【図11】図11は、p66 Shcが化学療法と有意に相互作用することを示す。

【図12】図12は、p66 Shcの低発現は化学療法の成果の享受を予測することを示すグラフである。化学療法(±)が腫瘍サイズ(連続変数)、腫瘍グレード、エストロゲン受容体(ER)状態(二項)、Her2状態(二項)および診断時の患者年齢について十分に調整されたCox比例危険度モデルから決定された乳癌患者に対する予測される危険度関数および再発のリスクが示される。高および低Shcリスクカテゴリーは、それぞれ、患者p66 Shcスコアの最小60%および患者p66 Shcスコアの最大40%に対応する。

【図13】図13は、その腫瘍が低p66 Shcを有する患者が最も細胞傷害療法の成果を享受することを示す。図13に示される再発なしの生存(RFS)関数に対応する危険度比(HR)およびP値が示される。HRおよびP値は、一緒に考慮されたすべての患者(ALL)または低もしくは高p66 Shcサブグループに関する化学療法が上記の共変量のすべてについて充分調整されたCox比例危険度モデルから得た。

【図14】図14は、OncoPlan™が最も化学療法の成果を享受する結節陽性患者を同定することを示す棒グラフである。

【図15】図15は、p66 Shcの低発現が化学療法の成果の享受を予測することを示す別の棒グラフである。

【図16】図16は、p66 Shcレベル(四分位の)によるタモキシフェン療法による再発のない生存(RFS)および危険度関数を示すグラフである。危険度および再発のない生存(RFS)は、タモキシフェン(±)が腫瘍サイズ(連続変数として)、腫瘍グレード、エストロゲン受容体(ER)状態(二項として)、Her2状態(二項(bionomial)として)および診断時の患者年齢について充分調整されたCox比例危険度モデルから予測された。

10

20

30

【 図 1 】

### Shcタンパク質の構造

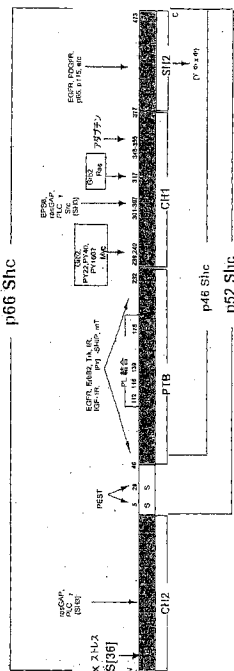


Fig. 1

【 図 2 】

### 腫瘍の進行性を決定する Shcタンパク質および経路

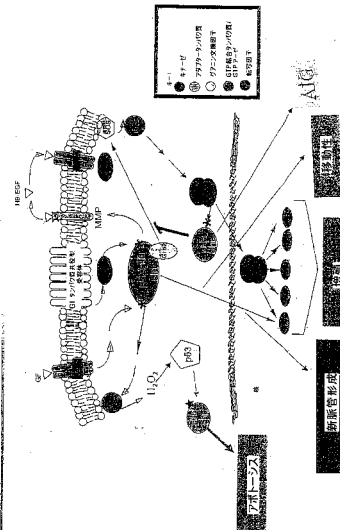
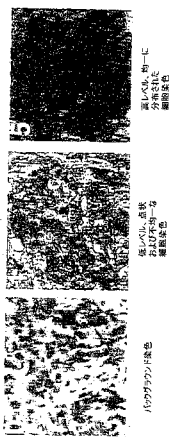


Fig. 2

【 図 3 】

### PY-Shc および p66 Shc の IHC 染色およびスコアリング

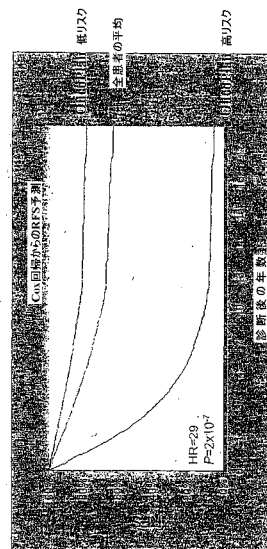


- 特異的な検証された抗体を使用した自動 IHC:
- FFPE
- スコアリングシステム:
  - 0-52スコアリングシステム, すべての浸潤性腫瘍細胞の平均染色強度をコンピュータ処理
  - 高度に再発可能なスコアリング, 採点者間の一致に優れる

Fig. 3

【 図 4 】

### 全身療法を受けていない患者における再発のリスク



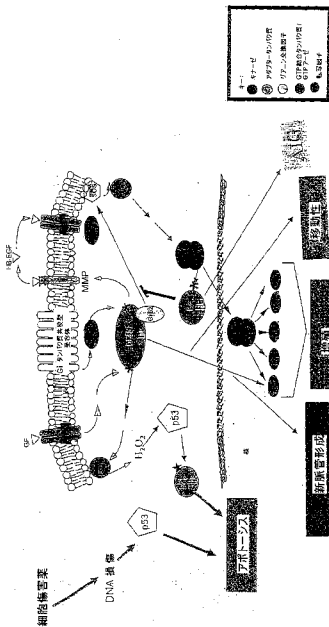
British Columbia Cancer Association, 2005  
4,500 患者, 1,560 未処置

- 未知腫瘍患者における再発リスクの独立予測変数

Fig. 4

【 図 5 】

p66 Shcは、DNA損傷ではなく  
ストレスに起因するアポトーシスを誘導する



概説、低p66を有する進行性の腫瘍は、腫瘍悪性性療法に改善する

Fig. 5

【 図 7 】

Shc 予後能力は、患者の標準的な  
臨床病理学的指標と独立している

共変量	HR (95% CI)	$P_{HR}$	$P_{多変量, PLR}$
PY-Shc p66-Shc	3.6 (1.4-9.2)	0.009	$1 \times 10^{-19}$
結節状態	3.7 (2.6-5.2)	<0.0001	
Her-2	1.6 (1.2-2.2)	0.012	
グレード	4.9 (0.8-29)	0.08	
ER	0.85 (0.6-1.2)	0.3	
年齢	1.00 (0.4-2.3)	0.99	
腫瘍サイズ	5.9 (2.2-16)	0.0002	
完全モデル	52.5 (46-6000)		$2 \times 10^{-7}$

HRは、相対的ハザード率を意味する。本性を、最大～最低Shc/D21、結節状態～非結節状態、Her-2陽性～非陽性、グレード～非グレード、および年齢～年齢、それぞれを比較した。PLRは、Shc/D21の臨床病理学的指標と独立していることを示している。CIは95%信頼区間を示す。P値は、Shc/D21の臨床病理学的指標と独立していることを示している。その結果、Shc/D21の臨床病理学的指標と独立していることが示された。

Fig. 7

【 図 6 】

予後マーカーの臨床病理学的特徴  
および単変量解析

特徴	DSS		RFS	
	No.	%	No.	%
予後の患者	261/554	47	201/554	36
腫瘍状態	117/554	21	121/554	22
腫瘍サイズ	472	85	17	3
グレード	17/554	3	17/554	3
腫瘍サイズ	18/554	3	18/554	3
ER	15/554	3	15/554	3
Her-2	16/554	3	16/554	3
年齢	16/554	3	16/554	3
結節状態	16/554	3	16/554	3
完全モデル	16/554	3	16/554	3

\* 腫瘍サイズ(D21)は、本邦の臨床病理学的特徴に基づく公認の予後マーカーである。DSSは、DSSの臨床病理学的特徴に基づく公認の予後マーカーである。RFSは、RFSの臨床病理学的特徴に基づく公認の予後マーカーである。CIは95%信頼区間を示す。P値は、腫瘍サイズの臨床病理学的指標と独立していることを示している。その結果、腫瘍サイズの臨床病理学的指標と独立していることが示された。

Fig. 6

【 図 8 】

再発前に全身療法を受けていない患者  
におけるShcによるDSS

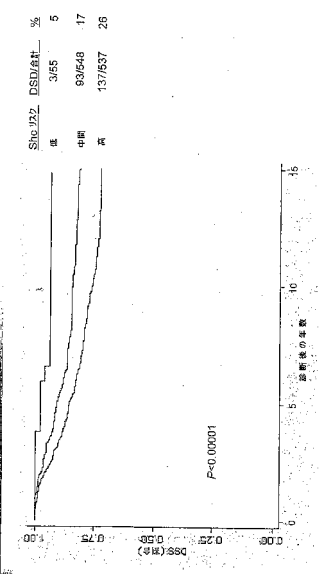


Fig. 8



【 図 1 3 】

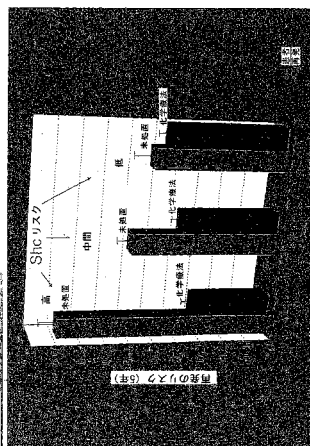
腫瘍が低p66 Shcを有する患者は細胞傷害性療法之恩恵を最も良く受けると思われる

患者	全ての化学療法			AC		
	HR (95% CI)	$P_{mult}$		HR (95% CI)	$P_{mult}$	
全て	0.72 (0.55-0.96)	0.02		0.52 (0.34-0.78)	0.002	
低 p66 Shc	0.44 (0.27-0.70)	<0.0001		0.27 (0.15-0.50)	<0.0001	
高 p66 Shc	1.7 (1.4-3.3)	0.02		1.4 (0.68-3)	0.35	

Fig. 13

【 図 1 4 】

OncoPlanにより化学療法之恩恵を最も良く受ける患者が同定される

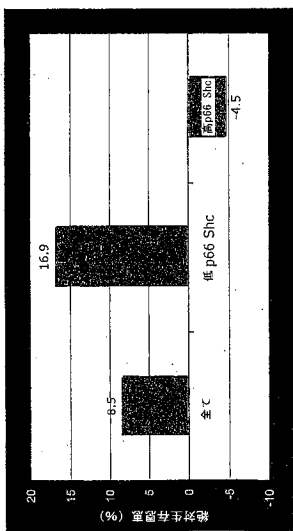


OncoPlanにより化学療法之恩恵を最も良く受ける患者が同定される

Fig. 14

【 図 1 5 】

p66 Shcの低発現は化学療法之恩恵を受ける



p66 Shcは、化学療法之恩恵を最も良く受ける患者と低リスク患者を識別した。

Fig. 15

【 図 1 6 】

p66 Shcレベルによるタモキシフェン療法でのDFSおよび危険度の関数 (四分位で)

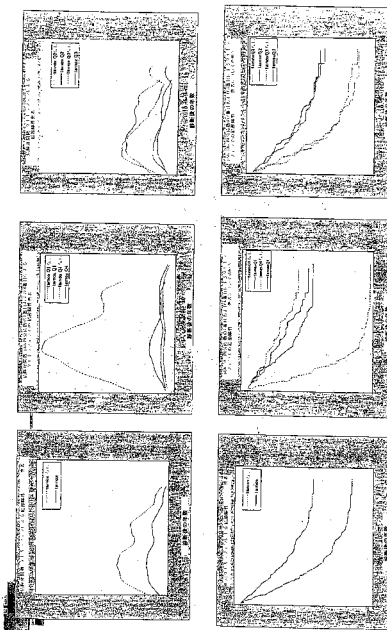


Fig. 16

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International application No PCT/US2006/043852
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/574 G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, 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	DAVOL P A ET AL: "SHC PROTEINS ARE STRONG, INDEPENDENT PROGNOSTIC MARKERS FOR BOTH NODE-NEGATIVE AND NODE-POSITIVE PRIMARY BREAST CANCER" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 63, no. 20, 15 October 2003 (2003-10-15), pages 6772-6783, XP008075232 ISSN: 0008-5472 page 6772, column 2, line 1 - line 12 page 6772, column 2, line 27 - line 42 page 6780, column 2, paragraph 5 - page 6781, column 1, paragraph 2	1-33
X	US 2004/033542 A1 (FRACKELTON A RAYMOND [US] ET AL) 19 February 2004 (2004-02-19) paragraphs [0083], [0140]	1-33
-/-		
<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 document 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. *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search:  28 February 2007		Date of mailing of the international search report  07/03/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Gundlach, Björn

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No  
 PCT/US2006/043852

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WANG HWEI-CHUNG ET AL: "Future prospects of neoadjuvant chemotherapy in treatment of primary breast cancer"            SEMINARS IN SURGICAL ONCOLOGY,            vol. 12, no. 1, 1996, pages 59-66,            XP008075742            ISSN: 8756-0437            abstract            tables I,II</p>	1-33
A	<p>HAYES D F ET AL: "Prognostic factors in breast cancer: current and new predictors of metastasis."            JOURNAL OF MAMMARY GLAND BIOLOGY AND NEOPLASIA OCT 2001,            vol. 6, no. 4, October 2001 (2001-10),            pages 375-392, XP008075721            ISSN: 1083-3021            the whole document</p>	1-33
A	<p>DAVOL PAMELA A ET AL: "SHC ADAPTOR PROTEINS IN BREAST CANCER PROGNOSIS: NOVEL MOLECULAR MARKERS THAT PREDICT AGGRESSIVE STAGE 1 TUMORS"            PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, NEW YORK, NY, US,            vol. 43, March 2002 (2002-03), pages 44-ABSTRACT22, XP008075324            ISSN: 0197-016X            abstract</p>	1-33
T	<p>FRACKELTON A RAYMOND JR ET AL: "p66 Shc and tyrosine-phosphorylated Shc in primary breast tumors identify patients likely to relapse despite tamoxifen therapy."            BREAST CANCER RESEARCH : BCR 2006,            vol. 8, no. 6, 2006, page R73, XP008075733            ISSN: 1465-542X            page 4, paragraph 2</p>	1-33

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2006/043852

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2004033542 A1	19-02-2004	US 2005004008 A1	06-01-2005

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)  
**G 0 1 N 33/577 (2006.01)** G 0 1 N 33/577 B

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

专利名称(译)	P66-SHC作为癌症治疗的预测标志物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2009516167A</a>	公开(公告)日	2009-04-16
申请号	JP2008540223	申请日	2006-11-10
申请(专利权)人(译)	罗格·威廉姆斯医院		
[标]发明人	フラッケルトンエイレイモンドジュニア		
发明人	フラッケルトン,エイ.,レイモンド,ジュニア		
IPC分类号	G01N33/574 A61K45/00 A61P35/00 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/577		
CPC分类号	G01N33/57415 G01N33/5748 G01N33/6872		
FI分类号	G01N33/574.D A61K45/00 A61P35/00 G01N33/48.P G01N33/53.Y G01N33/577.B		
F-TERM分类号	2G045/AA24 2G045/AA26 2G045/BA14 2G045/BB22 2G045/BB24 2G045/CB02 2G045/DA36 2G045/FA11 2G045/FB03 2G045/JA01 4C084/AA17 4C084/NA05 4C084/ZB26		
优先权	60/735729 2005-11-11 US 60/843788 2006-09-12 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明提供了用于确定受试者(例如,患者)中p66-Shc的存在或不存在的方法,包括测量癌细胞或癌前细胞中存在的p66-Shc的量(例如,无形成)。提供一种预测是否享受治疗结果的方法。如果个体细胞中存在的p66-Shc的量低于对照p66-Shc的量,则个体可以享受治疗结果。

### Shc Proteins and Pathways that Determine Tumor Aggressiveness

