(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2016-514248
(P2016-514248A)

(43)公表日　平成28年5月19日(2016.5.19)

(51) Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
G01N 33/574	(2006.01)	G01N	33/574	D	2G045
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A	4B024
C12Q 1/06	(2006.01)	C12Q	1/06		4B063
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00		4C084
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00		4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 51 頁）　最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-557203 (P2015-557203)
(86) (22) 出願日	平成26年2月11日 (2014.2.11)
(85) 翻訳文提出日	平成27年8月10日 (2015.8.10)
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/015854
(87) 国際公開番号	WO2014/124454
(87) 国際公開日	平成26年8月14日 (2014.8.14)
(31) 優先権主張番号	61/763,266
(32) 優先日	平成25年2月11日 (2013.2.11)
(33) 優先権主張国	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	61/883,802
(32) 優先日	平成25年9月27日 (2013.9.27)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(71) 出願人　315003848
インクロン　エルエルシー
アメリカ合衆国　ニューヨーク　１４２０３，　バッファロー，　ハイ　ストリート　７３
(74) 代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74) 代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹
(74) 代理人　100181674
弁理士　飯田　貴敏
(74) 代理人　100181641
弁理士　石川　大輔
(74) 代理人　230113332
弁護士　山本　健策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】癌におけるクロマチン転写促進因子（ＦＡＣＴ）の使用

(57)【要約】
本発明は、とりわけ、例えば、腫瘍の悪性度を決定すること及び治療を指示することを含む、腫瘍を評価するためにクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分を測定することに関する。一局面において、ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分を発現する悪性細胞の相対的レベルを決定することを含む、腫瘍を評価するための方法が提供される。
【選択図】図２Ｃ

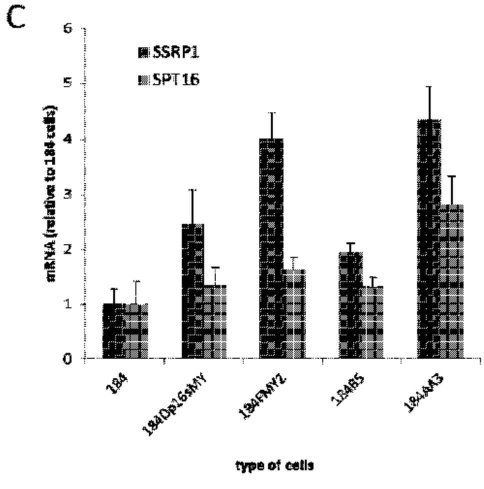


FIG. 2C

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分を発現する悪性細胞の相対的レベルを決定することを含む、腫瘍を評価するための方法。
【請求項２】
ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類するステップをさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記評価は、診断、予後、及び治療に対する反応のうちのいずれか１つを含む、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項４】
前記腫瘍は、原発性または再発性の腫瘍である、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項５】
ＦＡＣＴの前記成分は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のうちの１つ以上を含む、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項６】
前記測定は、タンパク質の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７】
前記測定は、前記腫瘍検体またはそれから培養した細胞を、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質のうちの一方に特異的に結合する薬剤と接触させることを含む、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
ＳＳＲＰ１またはＳＰＴ１６タンパク質に特異的に結合する前記薬剤は抗体である、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質レベルのうちの１つ以上の前記測定は、免疫組織化学染色、ウェスタンブロット、Ｉｎ－Ｃｅｌｌウェスタン、免疫蛍光染色、ＥＬＩＳＡ、及び蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）のうちの１つ以上を含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１０】
前記腫瘍検体は、凍結腫瘍組織検体、培養細胞、循環腫瘍細胞、及びホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織検体から選択される生検である、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１１】
前記腫瘍は、乳房、前立腺、膵臓、肺、肝臓、腎臓、膀胱、結腸直腸、卵巣、子宮頸部、頭頸部、皮膚、中枢及び末梢神経系のうちのいずれか１つである、請求項１または２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１２】
前記高リスクまたは低リスク分類は、ネオアジュバント化学療法に対する陽性反応及び／もしくはその利益、またはネオアジュバント化学療法に対する無反応性及び／もしくはその利益の欠如の予測となる、請求項２～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１３】
前記高リスクまたは低リスク分類は、アジュバント化学療法に対する陽性反応及び／もしくはその利益、またはアジュバント化学療法に対する無反応性及び／もしくはその利益の欠如の予測となる、請求項２～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１４】
前記高リスク分類は、高レベルの癌悪性度を含み、前記悪性度は、高い腫瘍グレード、

低い全体的な生存率、高い転移の確率、及び悪性度の指標となる腫瘍マーカーの存在のうちの１つ以上によって特徴付けられる、請求項２～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１５】
前記低リスク分類は、低レベルの癌悪性度を含み、前記悪性度は、低い腫瘍グレード、高い全体的な生存率、低い転移の確率、ならびに悪性度の指標となる腫瘍マーカーの非存在及び／または減少のうちの１つ以上によって特徴付けられる、請求項２～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１６】
前記低リスク分類は、ネオアジュバント療法を保留する指標となる、請求項２～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１７】
前記低リスク分類は、アジュバント療法を保留する指標となる、請求項２～１１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項１８】
ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することと、ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在に基づいて、前記腫瘍細胞を癌幹細胞を含むと分類することと、を含む、腫瘍細胞を評価するための方法。
【請求項１９】
前記評価は、診断、予後、及び治療に対する反応のうちのいずれか１つを含む、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
癌幹細胞を含むという前記腫瘍細胞の分類は、監視の強化及びアジュバントまたはネオアジュバント療法の強化のうちの１つ以上を指示する、請求項１８または１９に記載の方法。
【請求項２１】
有効量の抗癌剤をヒト対象に投与することを含み、癌は、前記ヒト対象の腫瘍検体またはそこから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルによって特徴付けられる、癌を治療するための方法。
【請求項２２】
（ａ）ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することと、
（ｂ）ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、前記対象を高リスク群または低リスク群に分類することと、
（ｃ）有効量の治療薬をヒト対象に投与することと、を含む、癌を治療する方法。
【請求項２３】
ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、前記対象を高リスク群または低リスク群に分類するステップをさらに含む、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記評価は、診断、予後、及び治療に対する反応のうちのいずれか１つを含む、請求項２１～２３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２５】
前記腫瘍は、原発性または再発性の腫瘍である、請求項２１～２４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２６】
ＦＡＣＴの前記成分は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のうちの１つ以上を含む、請求項２１～２５のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２７】
前記測定は、タンパク質の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む、請求項２１～２６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２８】
前記測定は、前記腫瘍検体またはそれから培養した細胞を、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質のうちの一方に特異的に結合する薬剤と接触させることを含む、請求項２１～２７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項２９】
ＳＳＲＰ１またはＳＰＴ１６タンパク質に特異的に結合する前記薬剤は抗体である、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質レベルのうちの１つ以上の測定は、免疫組織化学染色、ウェスタンブロット、Ｉｎ－Ｃｅｌｌウェスタン、免疫蛍光染色、ＥＬＩＳＡ、及び蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）のうちの１つ以上を含む、請求項２１～２９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３１】
前記腫瘍検体は、凍結腫瘍組織検体、培養細胞、循環腫瘍細胞、及びホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織検体から選択される生検である、請求項２１～３０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３２】
前記腫瘍は、乳房、前立腺、膵臓、肺、肝臓、腎臓、膀胱、結腸直腸、卵巣、子宮頸部、頭頸部、皮膚、中枢及び末梢神経系のうちのいずれか１つである、請求項２１～３０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３３】
前記高リスクまたは低リスク分類は、ネオアジュバント化学療法に対する陽性反応及び／もしくはその利益、またはネオアジュバント化学療法に対する無反応性及び／もしくはその利益の欠如の予測となる、請求項２３～３２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３４】
前記高リスクまたは低リスク分類は、アジュバント化学療法に対する陽性反応及び／もしくはその利益、またはアジュバント化学療法に対する無反応性及び／もしくはその利益の欠如の予測となる、請求項２３～３２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３５】
前記高リスク分類は、高レベルの癌悪性度を含み、前記悪性度は、高い腫瘍グレード、低い全体的な生存率、高い転移の確率、及び悪性度の指標となる腫瘍マーカーの存在のうちの１つ以上によって特徴付けられる、請求項２３～３２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３６】
前記低リスク分類は、低レベルの癌悪性度を含み、前記悪性度は、低い腫瘍グレード、高い全体的な生存率、低い転移の確率、ならびに悪性度の指標となる腫瘍マーカーの非存在及び／または減少のうちの１つ以上によって特徴付けられる、請求項２３～３２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３７】
前記低リスク分類は、ネオアジュバント療法を保留する指標となる、請求項２３～３２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３８】
前記低リスク分類は、アジュバント療法を保留する指標となる、請求項２３～３２のいずれか１項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】

【０００１】
優先権の主張
本出願は、２０１３年2月１１日に出願された米国仮特許出願第６１／７６３，２６６号、及び２０１３年9月２７日に出願された米国仮特許出願第６１／８８３，８０２号の優先権を主張するものであり、それらの内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる。
【０００２】
本発明は、ヒト試料中の腫瘍を評価する上で有用な方法、及び個別化された治療計画を選択するための方法に、一部関する。
【背景技術】
【０００３】
現在の癌治療の大きな限界は、患者に適切な活性剤の選択である。準最適な化学療法が患者に提供され、結果的に、死亡、疾患進行、不要な毒性、及びより高い医療費を含む治療の失敗を招くことがよくある。さらに、患者の中には、化学療法を用いずに、例えば、外科手術を伴うネオアジュバントまたはアジュバント療法を使用することで良好な反応を示す患者もある。
【０００４】
所与の患者に化学療法剤を投与する前にその潜在的有効性を予測するために、化学療法反応アッセイ等の癌治療を個別化及び最適化するためのアッセイが開発されてきた。しかしながら、そのようなアッセイの使用は、臨床的に意味のある様式でデータを解釈する際の困難性に一部起因して、広く普及していない。例えば、多くのそのようなアッセイは、特定の治療計画が用いられる患者の生存率の正確な予測を提供するのには適していないと考えられる（例えば、Ｆｒｕｅｈａｕｆ　ｅｔ　ａｌ．，Ｅｎｄｏｃｒｉｎｅ－Ｒｅｌａｔｅｄ　Ｃａｎｃｅｒ　９：１７１－１８２（２００２）を参照）。
【先行技術文献】
【非特許文献】
【０００５】
【非特許文献１】Ｆｒｕｅｈａｕｆら、Ｅｎｄｏｃｒｉｎｅ－Ｒｅｌａｔｅｄ　Ｃａｎｃｅｒ（２００２）９：１７１～１８２
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
したがって、癌及び関連疾患を評価するための有用な方法の必要性が未だに存在する。具体的には、患者の腫瘍の特徴に関する知識に基づいて、癌患者とともに医療提供者の治療計画を指示することができる方法の必要性が存在する。
【課題を解決するための手段】
【０００７】
したがって、本発明は、例えば、癌の悪性度を決定するための方法を含む、癌を評価するための方法と、癌患者の治療をガイドするためのそのような情報の使用とに関する。
【０００８】
一態様において、本発明は、ヒト対象の腫瘍検体（例えば、生検を含む）またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することを含み、任意選択的に、ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類するステップをさらに含む、腫瘍を評価するための方法を提供する。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴを発現する悪性細胞の割合が定量化され、患者を低リスク群及び高リスク群に分類するために使用される。
【０００９】
一態様において、本発明は、ヒト対象の腫瘍検体（例えば、生検を含む）またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分

の存在、非存在、またはレベルを測定することを含み、任意選択的に、ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在に基づいて、腫瘍細胞を癌幹細胞を含むと分類するステップをさらに含む、腫瘍細胞を評価するための方法を提供する。

【００１０】

別の態様において、本発明は、有効量の抗癌剤をヒト対象に投与することを含む癌を治療するための方法を提供し、癌は、ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルによって特徴付けられる。別の態様において、本発明は、癌の治療のための抗癌剤の使用を提供し、癌は、ＦＡＣＴ$^+$として特徴付けられる。

【００１１】

さらに別の態様において、本発明は、癌を治療するための方法であって、（ａ）ヒト対象の腫瘍検体（例えば、検体の悪性成分中）またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することと、（ｂ）（例えば、検体の悪性成分中の）ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類することと、（ｃ）ＦＡＣＴ$^+$とスコア化されたヒト対象に有効量の治療薬を投与することとを含む方法を提供する。別の態様において、本発明は、（ａ）ヒト対象の腫瘍検体（例えば、検体の悪性成分中）またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することと、（ｂ）（例えば、検体の悪性成分中の）ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類することと、（ｃ）ＦＡＣＴ$^+$とスコア化されたヒト対象に有効量の治療薬を投与することとを含む癌の治療のための治療薬の使用を提供する。

【００１２】

以下の添付の説明において本発明の詳細を記載する。本明細書に記載するものと類似するかまたは均等である方法及び材料は、本発明の実施または試験において使用することができるが、例示的な方法及び材料を次に記載する。本発明の他の特徴、目的及び利点は、説明及び特許請求の範囲から明白となろう。本明細書及び添付の特許請求の範囲において、単数形は、文脈上そうではないと明確に指示されない限り、複数形も含むものとする。別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。

【図面の簡単な説明】

【００１３】

【図１】図１Ａ、１Ｂ、及び１Ｃは、Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ形質転換の際にＦＡＣＴが上昇するが、ヒト及びマウス線維芽細胞の不死化により上昇しないことを示す。（図１Ａ）正常線維芽細胞と不死化線維芽細胞とは、同等レベルのＦＡＣＴサブユニットを有する。示される抗体でプローブした、腫瘍（ＨＴ１０８０）、正常ヒト（ＷＩ３８）またはマウス（ＭＥＦｗｔ）線維芽細胞、及びテロメラーゼの触媒サブユニットで不死化したヒト線維芽細胞（ＷＩ３８－Ｔ）、またはｐ５３ノックアウト動物由来のマウス線維芽細胞（ＭＥＦｐ５３ＫＯ）の抽出物のウェスタンブロット。（図１Ｂ）不死化ヒトＢＪ　線維芽細胞における変異Ｈ－Ｒａｓ１２Ｖ癌遺伝子の発現がＦＡＣＴサブユニットレベルの上昇を伴うことを示す。タモキシフェン（ＴＭＸ）で調節されたＨ－Ｒａｓ１２Ｖの発現を伴うＢＪ細胞の抽出物のウェスタンブロット。（図１Ｃ）Ｈ－ＲａｓＶ１２　癌遺伝子で形質転換した細胞によって形成された病巣においてＳＳＲＰ１が増加したこと示す。ＭＥＦｐ５３ＫＯ細胞をＨ－ＲａｓＶ１２　ｃＤＮＡを含むレンチウイルスまたは対照空ベクターで感染し、集密度及び病巣形成まで成長させた。Ｈ－ＲａｓＶ１２　ウイルスまたは対照空ベクターで形質導入した、プレート上の異なる密度領域のＳＳＲＰ１抗体による免疫蛍光染色（緑色）ＤＮＡをＨｏｅｃｈｓｔ３３３４２で対比染色した（青色）。

【図２Ａ】図２Ａ、２Ｂ、及び２Ｃは、ヒト乳房上皮細胞の形質転換プロセスにおいてＦＡＣＴサブユニットレベルが上昇することを示す。（図２Ａ）初代（１８４、２４０Ｌ）

、不死化（１８４Ｄｐ１６ｓＭＹ、２４０Ｌｐ１６ｓＭＹ、１８４Ｂ５）、及び完全に形質転換された（１８４ＦＭＹ２、１８４ＡＡ３）細胞のＳＳＲＰ１に対する抗体を用いた免疫蛍光（ＩＦ）染色を示す。同じ視野のＩＦ及び位相差画像を示す。

【図２Ｂ】図２Ａ、２Ｂ、及び２Ｃは、ヒト乳房上皮細胞の形質転換プロセスにおいてＦＡＣＴサブユニットレベルが上昇することを示す。（図２Ｂ）示される抗体でプローブした同じ細胞の抽出物のウェスタンブロットを示す。

【図２Ｃ】図２Ａ、２Ｂ、及び２Ｃは、ヒト乳房上皮細胞の形質転換プロセスにおいてＦＡＣＴサブユニットレベルが上昇することを示す。（図２Ｃ）１８４パネルの細胞中のＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６　ｍＲＮＡのｑＰＣＲ分析を示す。

【図３Ａ】図３Ａ及び３Ｂは、異なる試料中のＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡ発現を示す。（図３Ａ）全ての分析試料のドットプロット（Ｘ軸）を、正規化した発現レベル（Ｙ軸）とともに、解剖学的かつ病理学的に順序付けた様式で示す。色付きの試料（上部の範例に従う色）は、組織型が、同じ型内の全ての組織（健常、癌、または他の疾患）の平均発現よりも１標準偏差高い発現レベルを有する場合、または組織における発現の９０パーセンタイルが、四分位範囲の２倍以上であり、かつ同じ型の７５パーセンタイルである場合のものである。しかしながら、組織型当たり１０未満のデータポイントがある場合は、解剖学的形態または癌型は色付けされない。

【図３Ｂ】図３Ａ及び３Ｂは、異なる試料中のＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡ発現を示す。（図３Ｂ）種々の腫瘍型におけるＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡレベルを示す。

【図４－１】図４Ａ、４Ｂ、４Ｃ、４Ｄ、及びＥは、異なる種類のヒト腫瘍がＳＳＲＰ１タンパク質を発現することを示す。パネル４Ａ～４Ｄは、正常組織（Ｎ）及び種々の癌の腫瘍組織（Ｔ）のＳＳＲＰ１に対する抗体を用いたＩＨＣ染色の例を示す。（図４Ａ）肺癌を示す。（図４Ｂ）結腸癌を示す。（図４Ｃ）膵臓癌を示す。（図４Ｄ）乳癌を示す。

【図４－２】図４Ａ、４Ｂ、４Ｃ、４Ｄ、及びＥは、異なる種類のヒト腫瘍がＳＳＲＰ１タンパク質を発現することを示す。パネル４Ａ～４Ｄは、正常組織（Ｎ）及び種々の癌の腫瘍組織（Ｔ）のＳＳＲＰ１に対する抗体を用いたＩＨＣ染色の例を示す。（図４Ｅ）異なる器官の癌の間で分析された同じ器官の全試料からのＳＳＲＰ１発現（「陽性」－指標＞１、「高い」指数＞４）を有する試料の割合を示す。

【図５－１】図５Ａ、５Ｂ、５Ｃ、５Ｄは、乳癌におけるＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡ及びタンパク質の発現を示す。（図５Ａ）正常な乳房（１）、乳管（２）、小葉（３）、髄様（４）、及び他の（５）癌の試料中のＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡレベルの箱髭図を示す。（図５Ｂ）遺伝子発現シグネチャーに基づいて分類した乳癌試料を示す。

【図５－２】図５Ａ、５Ｂ、５Ｃ、５Ｄは、乳癌におけるＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡ及びタンパク質の発現を示す。（図５Ｃ）異なるグレード及び病期の腫瘍試料を示す。示される試料間のマン・ホイットニー・ウィルコクソン検定のＰ値。Ｐ値＞０．０５は図示していない。（図５Ｄ）ＩＨＣ染色に基づく乳癌の異なるカテゴリー内で、患者間のＳＳＲＰ１陽性試料の割合の比較を示す。異なるカテゴリー間のフィッシャー直接確率、カイ二乗検定のｐ値を示す。

【図６－１】図６Ａ～６Ｆは、ＳＳＲＰ１陰性腫瘍を有する患者は、より良好な全体的な生存率を有することを示す。全ての癌及び異なる癌部位のカプラン・マイヤー生存曲線。ｐ値は、ログランク検定を使用して算出した。（図６Ａ）分析した全ての癌患者を示す。（図６Ｂ）肺癌患者を示す。

【図６－２】図６Ａ～６Ｆは、ＳＳＲＰ１陰性腫瘍を有する患者は、より良好な全体的な生存率を有することを示す。全ての癌及び異なる癌部位のカプラン・マイヤー生存曲線。ｐ値は、ログランク検定を使用して算出した。（図６Ｃ）膵管患者を示す。

【図６－３】図６Ａ～６Ｆは、ＳＳＲＰ１陰性腫瘍を有する患者は、より良好な全体的な生存率を有することを示す。全ての癌及び異なる癌部位のカプラン・マイヤー生存曲線。ｐ値は、ログランク検定を使用して算出した。

【図７－１】図７Ａ～７Ｈは、ＦＡＣＴサブユニットのノックダウン（ＫＤ）時の腫瘍（ＨＴ１０８０、ＲＣＣ４５、ＭＣＦ７）及び正常（ＷＩ３８、ＮＫＥ、ＭＣＦ１０Ａ）細

胞の成長を示す。示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡで形質導入され、ピューロマイシンの存在下で選択された細胞のメチレンブルー染色（Ａ）またはコロニー数（Ｂ、Ｃ）。バーは、同じ型のｓｈＧＦＰ細胞に対する平均数である。エラーバー：実験内の３つの複製間の標準偏差。アスタリスクは、対応する対照と有意に異なる（ｐ値＜０．０５）試料を示す。Ｄ～Ｆウェスタンブロットを用いて検出された、ピューロマイシン選択後にパネルＡ上に示された細胞中のＦＡＣＴサブユニットのレベル。Ｇ．ＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡを用いた形質導入の１２０及び１４４時間後にＨＴ１０８０細胞間の免疫蛍光染色を用いて検出された、高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１タンパク質を有する細胞の分布（上のパネル）。下の３つのパネルは、ＧＦＰまたはＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡで形質導入したＨＴ１０８０細胞中のＤＮＡ含量を示す。高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１を有する細胞を別個に分析した。Ｈ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の３日後の異なる細胞におけるＥＤＵ取り込み。Ｉ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の５日後に、ＨＴ１０８０細胞間でアネキシンＶ及びヨウ化プロピジウム染色を用いて検出した（二重陽性）死滅細胞の割合。（図７Ａ）メチレンブルー染色を示す。（図７Ｂ）ＲＣＣ４５及びＮＫＥについて、示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡで形質導入され、ピューロマイシンの存在下で選択された細胞のコロニー数を示す。（図７Ｃ）ＭＣＦ７及びＭＣＦ１０Ａについて、示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡで形質導入され、ピューロマイシンの存在下で選択された細胞の数を示す。

【図７－２】図７Ａ～７Ｈは、ＦＡＣＴサブユニットのノックダウン（ＫＤ）時の腫瘍（ＨＴ１０８０、ＲＣＣ４５、ＭＣＦ７）及び正常（ＷＩ３８、ＮＫＥ、ＭＣＦ１０Ａ）細胞の成長を示す。示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡで形質導入され、ピューロマイシンの存在下で選択された細胞のメチレンブルー染色（Ａ）またはコロニー数（Ｂ、Ｃ）。バーは、同じ型のｓｈＧＦＰ細胞に対する平均数である。エラーバー：実験内の３つの複製間の標準偏差。アスタリスクは、対応する対照と有意に異なる（ｐ値＜０．０５）試料を示す。Ｄ～Ｆウェスタンブロットを用いて検出された、ピューロマイシン選択後にパネルＡ上に示された細胞中のＦＡＣＴサブユニットのレベル。Ｇ．ＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡを用いた形質導入の１２０及び１４４時間後にＨＴ１０８０細胞間の免疫蛍光染色を用いて検出された、高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１タンパク質を有する細胞の分布（上のパネル）。下の３つのパネルは、ＧＦＰまたはＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡで形質導入したＨＴ１０８０細胞中のＤＮＡ含量を示す。高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１を有する細胞を別個に分析した。Ｈ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の３日後の異なる細胞におけるＥＤＵ取り込み。Ｉ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の５日後に、ＨＴ１０８０細胞間でアネキシンＶ及びヨウ化プロピジウム染色を用いて検出した（二重陽性）死滅細胞の割合。（図７Ｄ～Ｆ）ウェスタンブロットを用いて検出された、ピューロマイシン選択後にパネル７Ａ上に示された細胞中のＦＡＣＴサブユニットのレベルを示す。

【図７－３】図７Ａ～７Ｈは、ＦＡＣＴサブユニットのノックダウン（ＫＤ）時の腫瘍（ＨＴ１０８０、ＲＣＣ４５、ＭＣＦ７）及び正常（ＷＩ３８、ＮＫＥ、ＭＣＦ１０Ａ）細胞の成長を示す。示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡで形質導入され、ピューロマイシンの存在下で選択された細胞のメチレンブルー染色（Ａ）またはコロニー数（Ｂ、Ｃ）。バーは、同じ型のｓｈＧＦＰ細胞に対する平均数である。エラーバー：実験内の３つの複製間の標準偏差。アスタリスクは、対応する対照と有意に異なる（ｐ値＜０．０５）試料を示す。Ｄ～Ｆウェスタンブロットを用いて検出された、ピューロマイシン選択後にパネルＡ上に示された細胞中のＦＡＣＴサブユニットのレベル。Ｇ．ＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡを用いた形質導入の１２０及び１４４時間後にＨＴ１０８０細胞間の免疫蛍光染色を用いて検出された、高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１タンパク質を有する細胞の分布（上のパネル）。下の３つのパネルは、ＧＦＰまたはＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡで形質導入したＨＴ１０８０細胞中のＤＮＡ含量を示す。高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１を有する細胞を別個に分析した。Ｈ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の３日後の異なる細胞におけるＥＤＵ取り込み。Ｉ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡ

を用いた形質導入の５日後に、ＨＴ１０８０細胞間でアネキシンＶ及びヨウ化プロピジウム染色を用いて検出した（二重陽性）死滅細胞の割合。（図７Ｇ）ＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡを用いた形質導入の１２０及び１４４時間後にＨＴ１０８０細胞間の免疫蛍光染色を用いて検出された、高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１タンパク質を有する細胞の分布を示す（上のパネル）。下の３つのパネルは、ＧＦＰまたはＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡで形質導入したＨＴ１０８０細胞中のＤＮＡ含量を示す。高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１を有する細胞を別個に分析した。（図７Ｈ）示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の３日後の異なる細胞におけるＥＤＵ取り込みを示す。

【図７－４】図７Ａ～７Ｈは、ＦＡＣＴサブユニットのノックダウン（ＫＤ）時の腫瘍（ＨＴ１０８０、ＲＣＣ４５、ＭＣＦ７）及び正常（ＷＩ３８、ＮＫＥ、ＭＣＦ１０Ａ）細胞の成長を示す。示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡで形質導入され、ピューロマイシンの存在下で選択された細胞のメチレンブルー染色（Ａ）またはコロニー数（Ｂ、Ｃ）。バーは、同じ型のｓｈＧＦＰ細胞に対する平均数である。エラーバー：実験内の３つの複製間の標準偏差。アスタリスクは、対応する対照と有意に異なる（ｐ値＜０．０５）試料を示す。Ｄ～Ｆウェスタンブロットを用いて検出された、ピューロマイシン選択後にパネルＡ上に示された細胞中のＦＡＣＴサブユニットのレベル。Ｇ．ＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡを用いた形質導入の１２０及び１４４時間後にＨＴ１０８０細胞間の免疫蛍光染色を用いて検出された、高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１タンパク質を有する細胞の分布（上のパネル）。下の３つのパネルは、ＧＦＰまたはＳＳＲＰ１に対するｓｈＲＮＡで形質導入したＨＴ１０８０細胞中のＤＮＡ含量を示す。高レベル及び低レベルのＳＳＲＰ１を有する細胞を別個に分析した。Ｈ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の３日後の異なる細胞におけるＥＤＵ取り込み。Ｉ．示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の５日後に、ＨＴ１０８０細胞間でアネキシンＶ及びヨウ化プロピジウム染色を用いて検出した（二重陽性）死滅細胞の割合。（図７Ｉ）示されるレンチウイルスｓｈＲＮＡを用いた形質導入の５日後に、ＨＴ１０８０細胞間でアネキシンＶ及びヨウ化プロピジウム染色を用いて検出した（二重陽性）死滅細胞の割合を示す。

【図８Ａ】ＦＡＣＴサブユニットについてのヒト乳房上皮細胞の抽出物のウェスタンブロット及び表面癌幹細胞マーカー（ＣＤ４４^{High}／ＣＤ２４^{Low}）を示す。

【図８Ｂ】膵臓ＣＳＣ（ＣＤ４４＋／ＣＤ２４＋／ＣＤ３２６＋）及びＦＡＣＴのＳＳＲＰ１サブユニット上に存在する表面マーカーに対する抗体で共染色された膵管腺癌細胞ＰＡＮＣ１及びＭＩＡ　ＰａＣａのフローサイトメトリー分析を示す。

【図９－１】表１Ｂ。

【図９－２】表１Ｂ。

【発明を実施するための形態】

【００１４】

本発明は、悪性細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の存在が、例えば、腫瘍の悪性度、腫瘍が従来の薬物に耐性を示す可能性、及び／または治療後の再発し易さの指標を提供することを含む、腫瘍の評価に有用であるという発見に一部基づいており、したがって患者の治療決定を促進する。

【００１５】

一態様において、本発明は、ヒト対象の腫瘍検体（例えば、生検を含む）またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することを含み、任意選択的に、ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類するステップをさらに含む、腫瘍を評価するための方法を提供する。いくつかの実施形態において、腫瘍検体は、特に悪性細胞中のＦＡＣＴの相対的レベルに基づいてＦＡＣＴ$^{+}$またはＦＡＣＴ$^{-}$としてスコア化される。

【００１６】

別の態様において、本発明は、有効量の抗癌剤をヒト対象に投与することを含む癌を治療するための方法を提供し、癌はＦＡＣＴ$^{+}$として特徴付けられる。別の態様において、

本発明は、癌の治療のための抗癌剤の使用を提供し、癌は、ヒト対象の腫瘍検体中、または悪性細胞中、またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルによって特徴付けられる。
【００１７】
さらに別の態様において、本発明は、癌を治療するための方法であって、（ａ）ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することと、（ｂ）ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類することと、（ｃ）ヒト対象に有効量の治療薬を投与することとを含む方法を提供する。別の態様において、本発明は、（ａ）ヒト対象の腫瘍検体またはそれから培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することと、（ｂ）ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルに基づいて、対象を高リスク群または低リスク群に分類することと、（ｃ）ヒト対象に有効量の治療薬を投与することとを含む癌の治療のための治療薬の使用を提供する。いくつかの実施形態において、患者は、本明細書に記載されるようにＦＡＣＴ$^{+}$またはＦＡＣＴ$^{-}$として分類され、この分類が、この患者の治療を決定するために使用される。
【００１８】
一実施形態において、評価は、診断、予後、及び治療に対する反応のうちのいずれか１つを含む。
【００１９】
別の実施形態において、腫瘍は、原発性もしくは再発性の腫瘍または転移巣のうちの１つ以上である。いくつかの実施形態において、腫瘍は、乳房、前立腺、膵臓、肺、肝臓、腎臓、膀胱、結腸直腸、卵巣、子宮頸部、頭頸部、皮膚、中枢及び末梢神経系のうちのいずれか１つである。
【００２０】
さらに別の実施形態において、ＦＡＣＴの成分は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のうちの１つ以上を含む。
【００２１】
別の実施形態において、測定は、タンパク質の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む。別の実施形態において、測定は、ＦＡＣＴの成分をコードする核酸の発現の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む（例えば、ＰＣＲまたは核酸ハイブリダイゼーションアッセイ）。いくつかの実施形態において、測定は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質のうちの一方に特異的に結合する薬剤の使用を含み、薬剤は、例えば、抗体である。種々の実施形態において、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質レベルのうちの１つ以上の測定は、免疫組織化学染色、ウェスタンブロット、Ｉｎ－Ｃｅｌｌウェスタン、免疫蛍光染色、ＥＬＩＳＡ、及び蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）のうちのいずれかである。
【００２２】
いくつかの実施形態において、ヒト腫瘍検体は、生検ならびに／または、新鮮な組織試料、凍結腫瘍組織検体、培養細胞（例えば、腫瘍検体、循環腫瘍細胞からの初代培養）、及びホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織検体のうちのいずれか１つである。
【００２３】
別の実施形態において、高リスクまたは低リスク分類は、ネオアジュバント及び／もしくはアジュバント化学療法に対する陽性反応及び／もしくはその利益、またはネオアジュバント及び／もしくはアジュバント化学療法に対する無反応性及び／もしくはその利益の欠如の予測となる。
【００２４】
さらに別の実施形態において、高リスク分類は、高レベルの癌悪性度を含み、悪性度は、高い腫瘍グレード、高悪性度の組織学的サブタイプ、低い全体的な生存率、高い転移の

確率、及び悪性度の指標となる腫瘍マーカーの存在のうちの１つ以上によって特徴付けられる。

【００２５】

さらに別の実施形態において、低リスク分類は、低レベルの癌悪性度を含み、悪性度は、低い腫瘍グレード、高い全体的な生存率、低悪性度の組織学的サブタイプ、低い転移の確率、ならびに悪性度の指標となる腫瘍マーカーの非存在及び／または減少のうちの１つ以上によって特徴付けられる。

【００２６】

別の実施形態において、高リスク分類は、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法の指標となり、それを提供することを指示する。別の実施形態において、高リスク分類の患者には、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法が提供される。

【００２７】

別の実施形態において、低リスク分類は、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法の指標となり、それを保留することを指示する。別の実施形態において、低リスク分類の患者には、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法が提供されない。

【００２８】

別の態様において、本発明は、ヒト対象の腫瘍検体（例えば、生検を含む）中の悪性細胞、または該検体から培養した細胞中のクロマチン転写促進因子複合体（ＦＡＣＴ）の少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルを測定することを含み、任意選択的に、ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在に基づいて、腫瘍細胞を癌幹細胞を含むと分類するステップをさらに含む、腫瘍細胞を評価するための方法を提供する。

【００２９】

別の実施形態において、腫瘍は、原発性もしくは再発性の腫瘍または転移巣のうちの１つ以上である。いくつかの実施形態において、腫瘍は、乳房、前立腺、膵臓、肺、肝臓、腎臓、膀胱、結腸直腸、卵巣、子宮頸部、頭頸部、皮膚、中枢及び末梢神経系のうちのいずれか１つである。

【００３０】

さらに別の実施形態において、ＦＡＣＴの成分は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のうちの１つ以上を含む。

【００３１】

別の実施形態において、測定は、タンパク質の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む。別の実施形態において、測定は、核酸の発現の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む。いくつかの実施形態において、測定は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質のうちの一方に特異的に結合する薬剤の使用を含み、薬剤は、例えば、抗体である。種々の実施形態において、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質レベルのうちの１つ以上の測定は、免疫組織化学染色、ウェスタンブロット、Ｉｎ－Ｃｅｌｌウェスタン、免疫蛍光染色、ＥＬＩＳＡ、及び蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）のうちのいずれかである。

【００３２】

いくつかの実施形態において、ヒト腫瘍検体は、生検ならびに／または、凍結腫瘍組織検体、培養細胞（例えば、腫瘍検体、循環腫瘍細胞からの初代培養）、及びホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織検体のうちのいずれか１つである。

【００３３】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴは、癌幹細胞の代理マーカーであり、そのような細胞の既知のマーカーの代替としてまたは補助として使用することができる。いくつかの実施形態において、そのような使用は、本明細書に記載の腫瘍評価のためのＦＡＣＴの他の使用を（例えば、腫瘍悪性度の指標として）補完する。

【００３４】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ検出による癌幹細胞を含むという腫瘍細胞型の分類は、従来の化学療法に耐性を示す癌型（例えば、癌幹細胞）の指標となる。いくつか

の実施形態において、ＦＡＣＴ検出によって癌幹細胞を含むと分類される腫瘍を有する患者は、癌幹細胞を標的とし、かつ／または癌幹細胞に対して有効であることが知られている化学療法を提供される。

【００３５】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ検出による癌幹細胞を含むという腫瘍細胞型の分類は、再発し易い癌型の指標となる。いくつかの実施形態において、腫瘍の治療を受けた患者におけるＦＡＣＴの検出は、治療後のさらなる監視を指示し得る。いくつかの実施形態において、腫瘍の治療を受けた患者におけるＦＡＣＴの検出は、再発の可能性があるため、アジュバントまたはネオアジュバント療法を指示し得る。

【００３６】

クロマチン転写促進因子（ＦＡＣＴ）複合体は、８０ｋＤａのサブユニット及び１４０ｋＤａのサブユニットの２つのサブユニットのヘテロ二量体である。これらのサブユニットは、構造特異的認識タンパク質１（ＳＳＲＰ１）及びＴｙの抑制因子（ＳＰＴ１６またはＳＵＰＴ１６Ｈ）である。本明細書において使用される場合、ＦＡＣＴは、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のヘテロ二量体、または個々のＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６サブユニットを指す。理論に拘束されることを望むものではないが、ＦＡＣＴは、ヌクレオソームの安定性の調節を介したクロマチンリモデリングに関与する。ＦＡＣＴは、例えば、転写、複製、組換え、ＤＮＡ損傷、及び修復等のクロマチンに関連する多くのプロセスに関与し得る。ＦＡＣＴは、ヒストンＨ２Ａ／Ｈ２Ｂと特異的に相互作用し、ヌクレオソームの解体及び転写伸長に影響を及ぼす。異なる癌のモデルにおいて抗癌活性を有する小分子Ｃｕｒａｘｉｎ（例えば、Ｃｕｒａｘｉｎ－１３７）（ＷＯ　２０１０／０４２４４５号（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）を参照）はＦＡＣＴの機能不活化を引き起こす（Ｇａｓｐａｒｉａｎ，ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓ．Ｍｅｄ．３：９５ｒａ７４（２０１１）（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）を参照）。

【００３７】

構造特異的認識タンパク質１（ＳＳＲＰ１）（ヒトのｍＲＮＡ：ＮＭ＿００３１４６．２、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる、マウスのｍＲＮＡ：ＮＭ＿００１１３６０８１．１、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）の遺伝子によってコードされるタンパク質は、ＳＰＴ１６とともにＦＡＣＴを形成するヘテロ二量体のサブユニットである。ＳＳＲＰ１は、８０ｋＤａのサブユニットである。ＦＡＣＴ及びシスプラチン損傷ＤＮＡは、シスプラチンの抗癌機構にとって非常に重要であり得る。ＳＳＲＰ１がコードされたタンパク質（ヒト：ＮＰ＿００３１３７．１、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる、マウス：ＮＰ＿００１１２９５５３．１、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）は、理論に拘束されることを望むものではないが、シスプラチン修飾ＤＮＡに対する構造認識要素を構成し得る高移動度群ボックスを含有する。ＳＳＲＰ１はまた、ＳＳＲＰ１、ＳＵＰＴ１６Ｈ、ＣＳＮＫ２Ａ１、ＣＳＮＫ２Ａ２、及びＣＳＮＫ２Ｂを含む、ＵＶ照射後に形成するＣＫ２－ＳＰＴ１６－ＳＳＲＰ１の成分でもある。ＳＳＲＰ１は、セリン／スレオニンタンパク質キナーゼであるＮＥＫ９と相互作用することが示されている。ＳＳＲＰ１タンパク質は、転写活性因子ｐ６３（例えば、ＴＰ６３のアイソフォームγを含む）の活性化補助因子としても機能する。ＳＳＲＰ１は、全長ｐ６３の活性を促進するが、Ｎ末端欠失ｐ６３（ＤｅｌｔａＮ－ｐ６３）変異体には影響を及ぼさない。ＳＳＲＰ１は、ＦＹＴＴＤ１／ＵＩＦ及びＳＲＦとも相互作用する。

【００３８】

ＳＰＴ１６（ＳＵＰＴ１６Ｈ）は、ヒトにおいてＳＵＰＴ１６Ｈ遺伝子（ヒトのｍＲＮＡ：ＮＭ＿００７１９２．３、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる、マウスのｍＲＮＡ：ＮＭ＿０３３６１８．３、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）によってコードされるタンパク質である。ＳＰＴ１６タンパク質（ヒト：ＮＰ＿００９１２３．１、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる、マウ

ス：ＮＰ＿２９１０９６．２、配列は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）は、ＦＡＣＴ複合体中の１４０ｋＤａのサブユニットである。ＳＰＴ１６はまた、ＳＳＲＰ１、ＳＵＰＴ１６Ｈ、ＣＳＮＫ２Ａ１、ＣＳＮＫ２Ａ２、及びＣＳＮＫ２Ｂを含む、ＵＶ照射後に形成するＣＫ２－ＳＰＴ１６－ＳＳＲＰ１の成分でもある。さらにＳＰＴ１６は、少なくともＳＭＡＲＣＡ２、ＳＭＡＲＣＡ４、ＳＭＡＲＣＢ１、ＳＭＡＲＣＣ１、ＳＭＡＲＣＣ２、ＳＭＡＲＣＤ１、ＳＭＡＲＣＥ１、ＡＣＴＬ６Ａ、ＢＡＺ１Ｂ／ＷＳＴＦ、ＡＲＩＤ１Ａ、ＳＵＰＴ１６Ｈ、ＣＨＡＦ１Ａ、及びＴＯＰ２Ｂを含むＷＩＮＡＣ複合体の成分である。ＳＰＴ１６は、チロシンタンパク質キナーゼであるＢＡＺ１Ｂと相互作用することが示されている。ＳＰＴ１６はまた、ＮＥＫ９、基本転写因子ＩＩＥサブユニット２（ＧＴＦ２Ｅ２）とも相互作用し、ヒストンＨ２Ａ－Ｈ２Ｂに結合する。

【００３９】

種々の態様において、本発明は、腫瘍を評価することを含む。種々の実施形態において、評価は、診断、予後、及び治療に対する反応から選択されてもよい。

【００４０】

診断は、例えば、癌等の可能性のある疾患または障害を判定または特定しようとするプロセスを指す。予後は、例えば、癌等の可能性のある疾患または障害の考えらる転帰を予測することを指す。完全な予後は、予想される期間、機能、及び漸進的な低下、断続的な危機、または突然の予測不能な危機等の疾患の過程の記述をしばしば含む。治療に対する反応は、治療を受けた時の患者の医学的転帰の予測である。治療に対する反応は、非限定的な例として、病理学的な完全寛解、生存、及び再発の可能性であってもよい。

【００４１】

一実施形態において、高リスクまたは低リスク分類は、ネオアジュバント及び／もしくはアジュバント化学療法に対する陽性反応及び／もしくはその利益、またはネオアジュバント及び／もしくはアジュバント化学療法に対する無反応性及び／もしくはその利益の欠如の予測となる。

【００４２】

特定の実施形態において、ネオアジュバント化学療法は、任意の外科手術の前に腫瘍を縮小させる及び／またはグレードを下げるための化学療法を指す。したがって、本明細書において使用される場合、ネオアジュバント化学療法という用語は、外科手術の前に癌患者に投与される化学療法剤を意味する。ネオアジュバント化学療法が一般に検討される癌の種類は、例えば、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、子宮頸癌、膀胱癌、及び肺癌を含む。

【００４３】

アジュバント治療とも称されるアジュバント療法は、一次治療、主要な治療、または初期治療に加えて施される治療である。非限定的な例として、アジュバント療法は、通常、全ての検出可能な疾患が除去されたが、潜在性疾患のために再発の統計的リスクが残る場合、外科手術の後に施される付加的治療（例えば、化学療法）であってもよい。

【００４４】

種々の実施形態において、本発明は、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく腫瘍評価、ならびに高リスク群及び低リスク群への腫瘍の分類を提供する。種々の実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６が、患者の検体中で測定される（例えば、正常細胞と悪性細胞とを分類／計数し、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６を発現する悪性細胞の数を、例えば、パーセントとして定量化することを含む）。種々の実施形態において、そのような測定は、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の染色の近接性を評価することができる。種々の実施形態において、測定は、コンピュータで実施されてもよい。

【００４５】

いくつかの実施形態において、高リスク分類は高レベルの癌悪性度を含み、悪性度は、高い腫瘍グレード、高悪性度の組織学的サブタイプ、低い全体的な生存率、高い転移の確率、及び悪性度の指標となる腫瘍マーカーの存在のうちの１つ以上によって特徴付けられる。

【００４６】
　さらに別の実施形態において、低リスク分類は、低レベルの癌悪性度を含み、前記悪性度は、低い腫瘍グレード、低悪性度の組織学的サブタイプ、高い全体的な生存率、低い転移の確率、ならびに悪性度の指標となる腫瘍マーカーの非存在及び／または減少のうちの１つ以上によって特徴付けられる。
【００４７】
　腫瘍グレードは、顕微鏡下で癌細胞がどれくらい異常に見えるか、及び腫瘍がどれだけ急速に成長して広がる可能性があるかという観点から癌細胞を分類するために使用されるシステムである。腫瘍グレードを決定する際には、細胞の構造及び成長パターンを含む多くの要因が検討される。腫瘍グレードを決定するために使用される特定の要因は、各癌の種類によって異なる場合があり、当該技術分野において既知である。
【００４８】
　分化とも称される組織学的グレードは、腫瘍細胞がどれくらい同じ組織型の正常細胞に類似するかを指す。核グレードは、腫瘍細胞の核のサイズ及び形状、ならびに分割している腫瘍細胞のパーセンテージを指す。
【００４９】
　癌細胞の顕微鏡像に基づいて、病理医は、一般的に、グレード１、２、３、及び４の４つの重症度によって腫瘍グレードを説明する。グレード１の腫瘍の細胞は、正常細胞に類似し、徐々に成長及び増幅する傾向がある。グレード１の腫瘍は、一般的に、挙動において最も悪性度が低いと見なされる。反対に、グレード３またはグレード４の腫瘍の細胞は、同じ種類の正常細胞のようには見えない。グレード３及び４の腫瘍は、急速に成長し、より低いグレードの腫瘍よりも早く広がる傾向がある。Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｊｏｉｎｔ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ　ｏｎ　Ｃａｎｃｅｒは、腫瘍を等級付けするために以下のガイドラインを推奨している：ＧＸ：グレードを評価することができない（未確定グレード）、Ｇ１：高分化型（低グレード）、Ｇ２：中分化型（中グレード）、Ｇ３：低分化型（高グレード）、及びＧ４：未分化型（高グレード）。
【００５０】
　等級分類は、各癌の種類ごとに異なる。例えば、病理医は、前立腺癌細胞の分化の程度を説明するためにグリーソン分類を用いる。グリーソン分類は、グレード２からグレード１０までの範囲のスコアを用いる。より低いグリーソンスコアは、高分化型の、低悪性度の腫瘍を説明する。より高いスコアは、低分化型の、より悪性度の高い腫瘍を説明する。他の等級分類は、例えば、乳癌のＢｌｏｏｍ－Ｒｉｃｈａｒｄｓｏｎ分類及び腎癌のＦｕｈｒｍａｎ分類を含む。
【００５１】
　いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの存在及び／または高レベルのＦＡＣＴは、より高いグレードの癌の指標となる。これらの実施形態において、患者は、高悪性度の癌に罹患しており、アジュバント及びネオアジュバント療法等の本明細書に記載の治療を含む侵襲性の治療計画が用いられる。代替として、これらの状況は、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。
【００５２】
　反対に、いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの非存在及び／または低レベルのＦＡＣＴは、より低いグレードの癌の指標となる。これらの実施形態において、患者は、低悪性度の癌に罹患しており、本明細書に記載の治療を含む低侵襲性の治療計画が用いられる。これらの実施形態において、アジュバント及びネオアジュバント療法は、短縮されるかまたは完全に回避されてもよい。
【００５３】
　種々の実施形態において、侵襲性の治療は、外科手術及び照射及び化学療法の組み合わせ、または外科手術及び照射の組み合わせ、または外科手術及び化学療法の組み合わせを含んでもよい。

【００５４】
組織学的サブタイプは、癌のサブタイプを分類するための組織診断の使用を指す。例えば、乳癌において、例示的なサブタイプは粘液性及び管状である。これらのサブタイプは、好ましいかまたは低悪性度であるとみなされる。

【００５５】
いくつかの実施形態において、本発明の方法は、癌の治療を指示する上で組織学的サブタイプの使用に取って代わるかまたはそれを増強する。

【００５６】
癌の生存率または生存統計は、特定の期間、特定の種類の癌を克服する人々のパーセンテージを指してもよい。癌の統計は、全体的な５年生存率を用いることが多い。例えば、膀胱癌の全体的な５年生存率は８０パーセントであり、すなわち、これは、膀胱癌であると診断された１００人の人々のうち８０人が５年後に生存しており、膀胱癌と診断された１００人のうち２０人が５年以内に死亡したことを意味する。他の種類の生存率、例えば、無病生存率（寛解を達成する癌に罹患する人々の数）及び無進行生存率（なおも癌を有するが、疾患は進行していない人々の数）が使用されてもよい。

【００５７】
いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの存在及び／または高レベルのＦＡＣＴは、より低い全体的な生存確率の指標となる。これらの実施形態において、患者は、高悪性度の癌に罹患しており、アジュバント及びネオアジュバント療法等の本明細書に記載の治療を含む侵襲性の治療計画が用いられる。代替として、これらの状況は、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。

【００５８】
反対に、いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの非存在及び／または低レベルのＦＡＣＴは、より高い全体的な生存確率の指標となる。これらの実施形態において、患者は、低悪性度の癌に罹患しており、本明細書に記載の治療を含む低侵襲性の治療計画が用いられる。これらの実施形態において、アジュバント及びネオアジュバント療法は、短縮されるかまたは完全に回避されてもよい。

【００５９】
転移の確率は、癌が転移特性を帯びる可能性を指す。

【００６０】
いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの存在及び／または高レベルのＦＡＣＴは、より高い転移の確率の指標となる。これらの実施形態において、患者は、高悪性度の癌に罹患しており、アジュバント及びネオアジュバント療法等の本明細書に記載の治療を含む侵襲性の治療計画が用いられる。代替として、これらの状況は、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。

【００６１】
反対に、いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの非存在及び／または低レベルのＦＡＣＴは、より低い転移の可能性の指標となる。これらの実施形態において、患者は、低悪性度の癌に罹患しており、本明細書に記載の治療を含む低侵襲性の治療計画が用いられる。これらの実施形態において、アジュバント及びネオアジュバント療法は、短縮されるかまたは完全に回避されてもよい。

【００６２】
癌細胞マーカーは、癌の指標となる特定の遺伝子／タンパク質の発現を含む癌または悪性腫瘍の特性を指す。これらのマーカーは、当該技術分野で既知である。いくつかの実施形態において、ある癌細胞マーカーは、高悪性度の癌の指標となるが、他の癌細胞マーカーはそうはならない。例えば、乳癌では、基底型、トリプルネガティブ、ＥＲ陰性、及びＨｅｒ２陽性は、高悪性度の癌の指標となる。反対に、管腔型、ホルモン受容体陽性、ＥＲ陽性、及びＨｅｒ２陰性は、低悪性度の癌の指標となる。

【００６３】
非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）の場合、未分化大細胞癌は高悪性度の癌を意味するのに対し、他の種類の肺癌は低悪性度の癌を示唆する。腎細胞癌（ＲＣＣ）の場合、乳頭状癌及び肉腫様癌は高悪性度の癌を意味するのに対し、これらの癌が見られないことは低悪性度の癌の指標となる。
【００６４】
いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの存在及び／または高レベルのＦＡＣＴは、高悪性度の癌に関連する癌細胞マーカーの存在の指標となる。これらの実施形態において、患者は、高悪性度の癌に罹患しており、アジュバント及びネオアジュバント療法等の本明細書に記載の治療を含む侵襲性の治療計画が用いられる。代替として、これらの状況は、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。
【００６５】
反対に、いくつかの実施形態において、腫瘍はＦＡＣＴの測定によって評価され、ＦＡＣＴの非存在及び／または低レベルのＦＡＣＴは、高悪性度の癌に関連する癌細胞マーカーが存在しないことの指標となる。これらの実施形態において、患者は、低悪性度の癌に罹患しており、本明細書に記載の治療を含む低侵襲性の治療計画が用いられる。これらの実施形態において、アジュバント及びネオアジュバント療法は、短縮されるかまたは完全に回避されてもよい。
【００６６】
いくつかの実施形態において、低リスク分類は、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法を保留する指標となる。いくつかの実施形態において、低リスク分類の患者は、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法を受けない。
【００６７】
いくつかの実施形態において、高リスク分類は、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法を提供する指標となる。いくつかの実施形態において、高リスク分類の患者は、ネオアジュバント及び／またはアジュバント療法を受ける。
【００６８】
本発明はまた、癌の種類及び病期によって異なり得る利点も提供する。いくつかの実施形態において、腫瘍は下層組織に浸潤しておらず、評価は、悪性腫瘍の進行を予防するため及びさらなる浸潤を予防するための治療計画を促進するのに有用である。これらの実施形態において、治療計画は、任意選択的に、高悪性度の癌において行われるであろうものよりも侵襲性が低い。さらに他の実施形態において、癌は、下層組織に浸潤しているが、局所的なリンパ節の関与または転移は見られず、評価は、悪性腫瘍の進行を予防するため及びさらなる浸潤を予防するための治療計画を促進するのに有用である。これらの実施形態において、治療計画は、任意選択的に、腫瘍が下層組織に浸潤していなかった場合に行われたであろうものよりも侵襲性が高い。これらの実施形態において、局所的なリンパ節の関与が見られるが、遠隔部位への転移はなく、局所的なリンパ節の関与または転移は見られず、評価は、悪性腫瘍の進行を予防するため及びさらなる浸潤を予防するための治療計画を促進するのに有用である。そのような実施形態において、治療計画は、任意選択的に非常に侵襲性が高い。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。さらに他の実施形態において、癌は複数の転移巣を有し、評価は、悪性腫瘍の進行を予防するため及びさらなる浸潤を予防するための治療計画を促進するのに有用である。そのような実施形態において、治療計画は、任意選択的に非常に侵襲性が高い。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利

用を指示することができる。
【００６９】
本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、癌の病期の指標となり得る。非限定的な例として、全体的な病期分類を用いると、病期Ｉの癌は、体の一部に局在化し、病期ＩＩの癌は、局所的に進行しており、病期ＩＩＩの癌も同様である。癌を病期ＩＩまたは病期ＩＩＩと指定するかどうかは、特定の種類の癌に依存し得る。非限定的な一例であるホジキン病において、病期ＩＩは、横隔膜の一方の側のみに罹患リンパ節があることを意味するのに対し、病期ＩＩＩは、横隔膜の上及び下に罹患リンパ節があることを意味する。したがって、病期ＩＩ及び病期ＩＩＩの特定の基準は、診断によって異なる。病期ＩＶの癌は、他の器官または体中に転移しているかまたは広がっていることが多い。
【００７０】
よって、いくつかの実施形態において、癌は、病期Ｉであり、局所的に進行していない。これらの実施形態によれば、本明細書に記載の腫瘍評価は、低侵襲性の治療を指示することができる。いくつかの実施形態において、癌は病期ＩＩまたは病期ＩＩＩであり、すなわち、癌は局所的に進行している場合がある。これらの実施形態によれば、本明細書に記載の腫瘍評価は、より侵襲性の高い治療を指示することができる。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。さらに他の実施形態において、癌は、病期ＩＶであるかまたは転移性である。これらの実施形態によれば、本明細書に記載の腫瘍評価は、より侵襲性の高い治療を指示することができる。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。
【００７１】
いくつかの実施形態において、癌は切除不能である。切除不能な癌は、転移巣の数に起因して、または外科的に危険な領域であるために、外科的に除去することができない悪性腫瘍である。いくつかの実施形態において、評価は、化学療法及び／または放射線療法の前に、患者の準備を行い、かつ／または腫瘍体積を減少させる治療を指示し、必要とされる化学療法または放射線の線量を減少させることができる。
【００７２】
いくつかの実施形態において、癌は多剤耐性である。例えば、患者は、実質的な反応を示すことなく、１サイクル以上の化学療法を受けている場合がある。代替として、またはさらに、腫瘍は、多剤耐性の１つ以上のマーカーを有する。そのようなマーカーは、化学療法反応アッセイまたは分子アッセイを含む。したがって、本明細書において使用される場合、多剤耐性という用語は、癌が少なくとも１サイクルの併用化学療法に対して無反応性を示しているか、または代替として、ドセタキセル、パクリタキセル、ドキソルビシン、エピルビシン、カルボプラチン、シスプラチン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、オキサリプラチン、カルムスチン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、シクロホスファミド、イホスファミド、トポテカン、エルロチニブ、エトポシド、及びマイトマイシンのうちの少なくとも２つに対して耐性（同等の薬剤に対する耐性も含む）であると（診断的に）スコア化されていることを意味する。そのような実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく腫瘍評価は、侵襲性の治療を指示することができる。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。
【００７３】

いくつかの実施形態において、患者は寛解期にある。寛解を達成した患者の場合、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、低侵襲性の治療（例えば、再発を回避するかもしくは遅らせるための治療）、または寛解を維持するのに有用な治療、または無治療を指示することができる。

【００７４】

他の実施形態において、癌は、初期癌の従来の化学療法後の再発である。しばしば、再発癌は薬剤耐性を生じており、したがって、治療することが特に困難であり、不良な生存予後を伴うことが多い。そのような実施形態において、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、侵襲性の治療を指示することができる。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。

【００７５】

他の実施形態において、ヒト試料中のＦＡＣＴの測定は、従来の治療で不良な生存予後を有する患者の指標となる。例えば、予後は、約５年未満、約３年未満、約２年未満、または約１年未満の予想される生存率（例えば、約５０％、または約６０％、または約７０％、または約８０％、または約９０％を超える確率）であってもよい。予後は、放射線療法及び／もしくは化学療法に対する癌型の集団反応率を含む癌型に基づき得、かつ／または、ＦＡＣＴだけではなく、例えば、ＶＥＧＦ、ＰＤＧＦＲβ、ＣＤ３１、ＨＥＲ２、ＰＴＥＮ、ＥＲＣＣ１、ＢＲＣＡ１、ＴＯＰＯ２α、Ｋｉ－６７、Ｐ５３、ＴＳ、ＥＲ、ＰＲ、もしくはＥＧＦＲ、ＡＬＫ、ＫＲＡＳ、ＢＲＡＦ、及びＰＩ３Ｋのうちの１つ以上の変異の発現レベルを含む、腫瘍細胞の分子特性に基づき得る。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の存在またはその高いレベルは、予後不良の指標となる。これらの実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の存在またはその高いレベルは、侵襲性の治療を指示することができる。これらの実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の存在またはその高いレベルは、患者に侵襲性の治療を受けさせることができる。

【００７６】

代替として、予後は、ＦＡＣＴに加えて、化学療法耐性を示す癌の遺伝子発現特性、癌再発の可能性、または生存の高リスク群に基づいてもよい。遺伝子発現シグネチャーは、治療に対する腫瘍の反応及び／または予後に関する他の腫瘍の分類を予測するために徐々に利用可能となっている。例示的な遺伝子発現シグネチャーは、ＰＣＴ／ＵＳ２０１２／０２２５９４（結腸癌）、米国特許第８，２１１，６４３（ＮＳＣＬＣ）号、米国特許公開公報２０１０－０３３１２１０号（乳癌）、米国特許第７，０５６，６７４号、米国特許第７，０８１，３４０号、米国特許第７，５６９，３４５号、及び米国特許第７，５２６，３８７号に記載され、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００７７】

ＦＡＣＴ測定を含む腫瘍評価が予後不良を示す実施形態において、これは、非常に侵襲性が高い治療計画を指示することができる。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの利用を指示することができる。

【００７８】

いくつかの実施形態において、腫瘍評価は、全身状態の代わりとなる。全身状態は、当該技術分野で既知の患者の全身状態をスコア化するための任意のシステム及び方法を使用して定量化することができる。この尺度は、患者が化学療法を受けることができるかどうかを決定するため、用量の調節、及び緩和ケアの強度を決定するために利用される。Ｋａ

ｒｎｏｆｓｋｙスコア及びＺｕｂｒｏｄスコアを含む種々のスコアリングシステムが存在する。同等のスコアリングシステムとして、機能の全体的評価（Ｇｌｏｂａｌ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ ｏｆ Ｆｕｎｃｔｉｏｎｉｎｇ：GAF）スコアが挙げられ、これは、精神障害の診断と統計の手引き（Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ ａｎｄ Ｓｔａｔｉｓｔｉｃａｌ Ｍａｎｕａｌ：DSM）の５番目の軸として組み込まれている。全身状態を利用することの大きな限界は、主観性が存在することであり、したがって、本発明は、いくつかの実施形態において、この問題を解決する。

【００７９】

より高い全身状態（例えば、Ｋａｒｎｏｆｓｋｙスコアリングシステムを用いて少なくとも８０％、または少なくとも７０％）は、病態の進行を予防し、化学療法及び／または放射線治療を許容する患者の能力を増強するための治療を意味し得る。例えば、これらの実施形態において、患者は歩行可能であり、自己管理が可能である。他の実施形態において、評価は、全身状態が低い患者の指標となり（例えば、Ｋａｒｎｏｆｓｋｙスコアリングシステムを用いて５０％未満、３０％未満、または２０％未満）、従来の放射線療法及び／または化学療法が忍容性を示すことを可能にする。これらの実施形態において、患者は、主に病床にあるか、または自己管理さえもできない。

【００８０】

一実施形態において、ヒト腫瘍検体（例えば、生検を含む）またはそれから培養した細胞中のＦＡＣＴの検出及び／または高レベルのＦＡＣＴは、低い全身状態の指標となる。そのような実施形態において、本明細書に記載のＦＡＣＴアッセイは、非常に侵襲性の高い治療の使用を指示する。代替として、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、これらの状況において、よりよい生活の質のために無効な化学療法による不必要な毒性を回避するよう、侵襲性の治療の中止及び緩和ケアの使用を指示することができる。

【００８１】

一実施形態において、ヒト腫瘍検体（例えば、生検を含む）またはそれから培養した細胞におけるＦＡＣＴの無検出及び／または低レベルのＦＡＣＴは、高い全身状態の指標となる。そのような実施形態において、本明細書に記載のＦＡＣＴアッセイは、不要な毒性を回避するために低侵襲性の治療の使用を指示する。

【００８２】

Ｋａｒｎｏｆｓｋｙスコアは１００から０まであり、１００が「完全な」健康であり、０は死亡である。スコアは１０％の間隔で用いることができる：１００％：正常、疾患に対する患者の訴えがなく、臨床症状なし；９０％：若干の疾患の症状または兆候はあるものの、通常の活動が可能；８０％：いくらかの困難を伴って通常の活動が可能、いくらかの症状または兆候がある；７０％：自分自身の世話はできるが、通常の活動または労働は不可能；６０％：いくらかの介助を必要とするが、個人的に必要なことはほとんど対処できる；５０％：介助を必要とすることが多く、頻繁に医療行為が必要；４０％：障害があり、特別なケア及び介助が必要；３０％：重度の障害があり、入院を要するが死亡の危険性はない；２０％：非常に重症、早急に入院を必要とし、対症手段または療法が必要；１０％：瀕死、急速に進行する致死的疾患の過程。

【００８３】

全身状態に関するＺｕｂｒｏｄスコアリングシステムは以下を含む：０：全く問題なく活動でき、発病前と同じ日常生活が制限なく行える；１：肉体的に激しい活動は制限されるが、歩行可能であり、軽作業や座っての作業は行うことができる（例えば、軽い家事、事務作業）；２：歩行可能で自分の身の回りのことは全て可能だが、作業はできない。起きている時間の５０％以上をベッド外で過ごす；３：限られた自分の身の回りのことしかできない。起きている時間の５０％以上をベッドまたは椅子で過ごす；４：全く動けない、自分の身の回りのことは全くできず、完全にベッドまたは椅子で過ごす；５：死亡。

【００８４】

いくつかの実施形態において、腫瘍の組織学的試料は、Ｅｌｓｔｏｎ＆Ｅｌｌｉｓ，Ｈ

ｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，１９９１，１９：４０３－１０（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に従って等級分けされる。

【００８５】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴは、癌幹細胞の代理マーカーであり、そのような細胞の既知のマーカーの代わりに使用することができる。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴは、既知のマーカーと組み合わせて使用されてもよい癌幹細胞のマーカーであり、患者がそのような細胞を有するかどうかの正確な予測の可能性を向上させる。

【００８６】

癌幹細胞は、自己複製能及び多分化能を有する。癌幹細胞の仮説は、癌幹細胞は、腫瘍内の希少な細胞集団を意味するが、それらの腫瘍形成能が腫瘍形成を促進すると述べている。癌幹細胞は、大規模な増殖能を有し、増殖能または発生能の低い２種類以上の分化した子孫を産生するように非対称細胞分裂が可能であり、自己複製または自己維持のための対象細胞分裂が可能である。癌幹細胞に固有の幹細胞様特性のために、癌幹細胞の増殖は、より多くの癌幹細胞、及び腫瘍の大部分を構成する全ての分化した細胞型を産生する。腫瘍内の非癌幹細胞は、癌幹細胞よりも速い速度で増殖することが示されているが、腫瘍開始能はほとんど有しない。癌幹細胞は、毒性及び化学的障害に対する耐性の増加を示すことから、この特定の細胞の亜集団が、化学療法に対する耐性及び疾患再発の根底にあると考えられる。実際に、癌幹細胞モデルは、腫瘍を排除し、その再発を予防するためには、全ての癌幹細胞が根絶されなければならないと仮定している。

【００８７】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ検出による癌幹細胞を含むという腫瘍細胞型の分類は、従来の化学療法に耐性を示す癌型の指標となる。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ検出によって癌幹細胞を含むと分類される腫瘍を有する患者は、癌幹細胞を標的とし、かつ／または癌幹細胞に対して有効であることが知られている化学療法を提供される。いくつかの実施形態において、癌幹細胞を標的とし、かつ／または癌幹細胞に対して有効であることが知られているそのような化学療法は、テロメラーゼの触媒部位に高い親和性及び特異性で結合するＢＢＩ６０８、ＢＢＩ５０剤（例えば、イメテルスタット（ＧＲＮ１６３Ｌ））、ＧＲＮＯＰＣ１、解糖阻害剤３－ブロモ－２－オキソプロピオネート－１－プロピルエステル（３－ＢｒＯＰ）（例えば、低酸素条件下で）、カルムスチン、メトホルミン、チオリダジン、接着斑キナーゼ（ＦＡＫ）の阻害剤（例えば、Ｄｅｆａｃｔｉｎｉｂ（ＶＳ－６０６３））、ＶＳ－４７１８、ＶＳ－５５８４、Ｓａｂｕｔｏｃｌａｘ、デルタ様リガンド４（ＤＬＬ４）を標的とする抗体（例えば、Ｄｅｍｃｉｚｕｍａｂを含む）、インターロイキン－３受容体（ＩＬ－３Ｒ）に対する薬剤（例えば、ＳＬ－４０１を含む）、及びそれらの組み合わせから選択される。反対に、ＦＡＣＴの非存在は、患者が癌幹細胞を有しないということを意味し得、癌幹細胞を標的とする必要はなく、かつ／または癌幹細胞に対して有効であることが知られている従来の化学療法の使用を正当化し得る。

【００８８】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ検出による癌幹細胞を含むという腫瘍細胞型の分類は、再発し易い癌型の指標となる。いくつかの実施形態において、腫瘍の治療を受けた患者におけるＦＡＣＴの検出は、治療後のさらなる監視を指示し得る。例えば、従来の治療後の監視は、寛解後の最初の１～２年は３～４ヶ月に１回程度であり、その後の年は６ヶ月に１回であることが多い。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴの検出は、再発性の癌を検出するための従来のアッセイを使用して、例えば、毎週、隔週、毎月、隔月等、監視の強化を指示することができる。たとえ寛解後の最初の１～２年が過ぎても、例えば、毎週、隔週、毎月、隔月等、再発性の癌を検出するための従来のアッセイを使用した監視レベルは高いままであってもよい。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴの検出は、例えば、１年当たり１～１０回、または少なくとも１年おきに１回、再発性の癌を検出するための従来のアッセイを使用した監視を指示することができる。反対に、ＦＡＣＴの非存在は、患者が癌幹細胞を有しないということを意味し得、従来の治療後の監視を正当

化し得る。
【００８９】
いくつかの実施形態において、腫瘍の治療を受けた患者におけるＦＡＣＴの検出は、再発の可能性があるため、アジュバントまたはネオアジュバント療法を指示し得る。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴの検出は、癌幹細胞の存在及び再発の高い可能性を意味し、したがって、そのような患者は、本明細書に記載されるようなアジュバントまたはネオアジュバント療法を受けることができる。反対に、ＦＡＣＴの非存在は、癌幹細胞の非存在を意味し得、アジュバントまたはネオアジュバント療法を保留することを正当化し得る。
【００９０】
いくつかの実施形態において、癌幹細胞の存在を予測するためのＦＡＣＴの使用は、本明細書に記載の腫瘍評価のためのＦＡＣＴの他の使用と併せて（例えば、腫瘍悪性度の指標として）用いられる。例えば、ＦＡＣＴ$^{+}$患者は、彼らの腫瘍の悪性度が高いという可能性から侵襲性の治療を受ける場合があるが、この治療は、癌幹細胞に対して有効な化学療法として選択されてもよい。さらに、ＦＡＣＴ$^{+}$は、侵襲性の治療を受けることができるだけではなく、治療の成功後に通常よりもさらに頻繁に監視されてもよい。
【００９１】
本明細書に記載の方法は、固形腫瘍及び白血病を含む様々な癌に適用できる。種々の実施形態において、癌は、軟部組織肉腫、扁平上皮細胞癌、線維肉腫、筋肉腫、骨肉腫、血管肉腫、類上皮肉腫、または上皮癌である。いくつかの実施形態において、腫瘍の組織診断は、重度の腺癌、類内膜腺癌、粘液性腺癌、未分化腺癌、移行細胞腺癌、または腺癌である。例示的な癌として、ＳＣＬＣ及びＮＳＣＬＣを含む肺癌中皮腫、脳癌、神経膠芽腫、頭頸部癌、食道癌、乳癌、リンパ腫、前立腺癌、膵臓癌、肝癌、胃癌、腎癌、結腸または結腸直腸癌、卵巣癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、精巣癌、ならびに黒色腫が挙げられる。さらに他の実施携帯において、癌は、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）または急性リンパ性白血病（ＡＬＬ）等の白血病である。
【００９２】
種々の実施形態において、癌は固形腫瘍である。いくつかの実施形態において、腫瘍は、原発性もしくは再発性の腫瘍または転移巣のうちの１つ以上である。
【００９３】
いくつかの実施形態において、腫瘍は、乳房、前立腺、膵臓、肺、肝臓、腎臓、膀胱、結腸直腸、卵巣、子宮頸部、頭頸部、皮膚、中枢及び末梢神経系のうちのいずれか１つである。
【００９４】
種々の実施形態において、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく評価は、侵襲性の治療を指示することができる。ＦＡＣＴ$^{+}$とスコア化された患者は、一次、アジュバント、またはネオアジュバント治療計画として以下のうちの１つ以上を受けることができる：化学療法計画（例えば、単剤療法及び併用療法を含む）。化学療法は、限定されないが、例えば、パクリタキセル、ドキソルビシン、ミトラマイシン、セタキセル、白金系化学療法剤（シスプラチン及びカルボプラチンを含むがこれらに限定されない）、マイトマイシン、メトトレキサート、フルオロウラシル、５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、ビノレルビン、トポテカン、イリノテカン、ブレオマイシン、ブレオマイシン塩酸塩、マイトマイシン、アクチノマイシン、トポイソメラーゼＩ及びＩＩ阻害剤、アントラサイクリン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロン、バルルビシン、エトポシド、テニポシド、ルビテカン、及びその誘導体であってもよい。化学療法は、タキサン及び／または代謝拮抗薬及び／またはその誘導体を含んでもよい。
【００９５】
さらに、または代替的に、患者は、アントラサイクリン、タキソールもしくはタキソイド、ビンカアルカロイド、アルキル化剤、挿入剤、キナーゼ阻害剤、またはナイトロジェ

ンマスタードから選択される化学療法を受けることができる。非限定的な例示的薬剤として、トポイソメラーゼ阻害剤（ＩもしくはＩＩ）、アポトーシス誘導剤、プロテアーゼ阻害剤、微小管阻害剤、有糸分裂阻害剤、代謝拮抗剤、シグナル伝達阻害剤、エストロゲン受容体阻害剤、ＥＧＦＲ阻害剤、Ｈｅｒ２阻害剤、またはアロマターゼ阻害剤のうちの１つ以上が挙げられる。

【００９６】

さらに、または代替的に、患者は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、アドリアマイシン、ビンクリスチン、カルムスチン、シスプラチン、５－フルオロウラシル、タモキシフェン、プロダゾン、サンドスタチン、マイトマイシンＣ、ホスカルネット、パクリタキセル、ドセタキセル、ゲムシタビン、フルダラビン、カルボプラチン、ロイコボリン、タモキシフェン、ゴセレリン、ケトコナゾール、リュープロリド、フルタミド、ビンブラスチン、ビンデシン、ビノレルビン、カンプトテシン、トポテカン、イリノテカン塩酸塩、エトポシド、ミトキサントロン、テニポシド、アムサクリン、メルバロン、ピロキサントロン塩酸塩、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン（Ａｒａ－Ｃ）、トリメトレキサート、アシビシン、アラノシン、ピラゾフリン、ペントスタチン、５－アザシチジン、５－アザシチジン、５－アザ－５－アザ－２’－デオキシシチジン、アデノシンアラビノシド（Ａｒａ－Ａ）、クラドリビン、フトラフール、ＵＦＴ（ウラシルとフトラフールの組み合わせ）、５－フルオロ－２’－デオキシウリジン、５－フルオロウリジン、５’－デオキシ－５－フルオロウリジン、ヒドロキシウレア、ジヒドロレンクロラムブシル、チアゾフリン、オキサリプラチン、メルファラン、チオテパ、ブスルファン、クロラムブシル、プリカマイシン、ダカルバジン、イホスファミド、リン酸、シクロホスファミド、ピポブロマン、４－イポメアノール、ジヒドロレンペロン、スピロムスチン、ゲルダナマイシン、サイトカラシン、デプシペプチド、４’－シアノ－３－（４－（例えば、ＺＯＬＡＤＥＸ）、及び４’－シアノ－３－（４－フルオロフェニルスルホニル）－２－ヒドロキシ－３－メチル－３’－（トリフルオロメチル）プロピオンアニリドのうちの１つ以上を含む化学療法剤を投与されてもよい。

【００９７】

いくつかの実施形態において、患者は、ＨＥＲＣＥＰＴＩＮ等の抗Ｈｅｒ２／ｎｅｕ抗体、ＥＲＢＩＴＵＸ等の抗ＥＧＦＲ抗体、ＡＶＡＳＴＩＮ等の増殖因子受容体抗体、ＴＡＲＣＥＶＡ、ＩＲＥＳＳＡ、もしくはスニチニブ等の小分子阻害剤、またはＲＩＴＵＸＡＮ等の抗ＣＤ２０のうちの１つ以上を投与されてもよい。さらに他の実施形態において、患者は、エルロチニブ、ゲフィチニブ、ラパチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、またはイマチニブを投与される。

【００９８】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく腫瘍の評価は、例えば、ＷＯ　２０１０／０４２４４５号（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるもの等のカルバゾール化合物を用いた患者の治療を指示することができる。いくつかの実施形態において、カルバゾール化合物は、例えば、ＣＢＬＣ０００、ＣＢＬＣ１００、及びＣＢＬＣ１３７等のＣｕｒａｘｉｎである（例えば、Ｇａｓｐａｒｉａｎ，ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓ．Ｍｅｄ．３：９５ｒａ７４（２０１１）（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）を参照のこと）。

【００９９】

本明細書に記載のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に基づく腫瘍の評価は、放射線療法を含む患者の治療を指示することができる。放射線療法は、例えば、外部ビーム療法（ＥＢＴ）または強度変調放射線治療（ＩＭＲＴ）であってもよい。ＥＢＴは、腫瘍の場所に高エネルギーＸ線のビームを送達する。ビームは、（通常は直線加速装置によって）患者の体外で生成され、腫瘍部位を標的とする。これらのＸ線は、癌細胞を破壊することができ、慎重な治療計画によって周囲の正常組織が広がることを可能

にする。放射能源は、患者の体内に配置されない。ＩＭＲＴは、コンピュータ制御式のＸ線加速装置を用いて悪性腫瘍または腫瘍内の特定の領域に正確な放射線線量を送達する、高精度放射線療法の進化した様式である。放射線線量は、健常細胞への放射線曝露を最小限に抑える一方で、より高い放射線線量を腫瘍に集中させるように放射線ビームの強度を調節または制御することによって腫瘍の三次元（３－Ｄ）形状に一致するように設計される。一次的または永久的のいずれかであり得る、治療領域内に埋め込まれた密封された放射線源を使用する小線源療法も用いることができる。

【０１００】

いくつかの実施形態において、高リスク患者は、化学療法及び放射線療法の両方を受ける。

【０１０１】

本発明の腫瘍の評価に起因し得る治療薬の用量は、例えば、Ｐｈｙｓｉｃｉａｎｓ’ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ，６６ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ＰＤＲ Ｎｅｔｗｏｒｋ；２０１２ Ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｄｅｃｅｍｂｅｒ ２７，２０１１）（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）を参照することによって当該技術分野で既知である。Ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏアッセイも、最適な投与量範囲を特定するのに役立つように用いることができる。用量は、癌の重症度、対象の年齢、体重、及び健康、ならびに薬理ゲノミクスパラメータを含むいくつかの要因に依存し得る。

【０１０２】

投与方法は、限定されないが、経口、皮下、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、鼻腔内、硬膜外、舌下、鼻腔内、脳内、膣内、経皮、直腸内、吸入によって、または局所（特に、耳、鼻、目、または皮膚へ）を含む。投与方法は、医師の裁量に委ねられてもよい。治療化合物は、対象への適切な投与のための形態を提供するために、適切な量の薬学的に許容される賦形剤を任意選択的に含むことができる。

【０１０３】

種々の実施形態において、本発明は、ＦＡＣＴの少なくとも１つの成分の存在、非存在、またはレベルの測定を含む。例えば、いくつかの実施形態において、本発明は、ＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の測定を含む。

【０１０４】

いくつかの実施形態において、ＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の測定は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質の一方に特異的に結合する薬剤の使用を含む。例えば、そのような薬剤は抗体であってもよい。

【０１０５】

いくつかの実施形態において、ＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の測定は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質核酸の一方に特異的に結合する薬剤の使用を含む。いくつかの実施形態において、薬剤はＤＮＡまたはＲＮＡであってもよい。いくつかの実施形態において、薬剤はプライマーまたはプローブであってもよい。

【０１０６】

いくつかの実施形態において、測定は、タンパク質の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む。いくつかの実施形態において、測定は、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質のうちの一方に特異的に結合する薬剤の使用を含み、薬剤は、例えば、抗体である。種々の実施形態において、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質レベルのうちの１つ以上の測定は、免疫組織化学染色、ウェスタンブロット、Ｉｎ－Ｃｅｌｌウェスタン、免疫蛍光染色、ＥＬＩＳＡ、及び蛍光標識細胞分取（ＦＡＣＳ）のうちのいずれかである。

【０１０７】

本発明の方法は、組織または体液に特異的であり、癌の状態の指標となるエピトープ（例えば、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６）を特定するために、抗体（例えば、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６に対する）を腫瘍検体（例えば、生検または組織または体液）と接触させることを含んでもよい。

【０１０８】

一般的に、体液または組織中で抗原上のエピトープを検出するために、直接法及び間接法の２つのストラテジーが存在する。直接法は、一段階染色を含み、体液または組織試料中の抗原に直接反応する標識抗体（例えば、ＦＩＴＣ結合抗血清）に関与し得る。間接法は、体液または組織抗原と反応する非標識一次抗体と、一次抗体と反応する標識二次抗体とを含む。標識は、放射性標識、蛍光標識、ビオチン等のハプテン標識、または西洋ワサビペルオキシダーゼもしくはアルカリホスファターゼ等の酵素を含むことができる。これらのアッセイを実施する方法は、当該技術分野で周知である。例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．（Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，ＮＹ，１９８８）、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．（Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，ＮＹ，１９９９）、Ｖｉｒｅｌｌａ（Ｍｅｄｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｉｎｆｏｒｍａ ＨｅａｌｔｈＣａｒｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，２００７）、及びＤｉａｍａｎｄｉｓ ｅｔ ａｌ．（Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙｓ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９９６）を参照のこと。これらのアッセイを実施するためのキットは、例えば、Ｃｌｏｎｔｅｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，ＬＬＣ．（Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ，ＣＡ）から市販されている。

【０１０９】

種々の実施形態において、抗体は、全抗体及び／または任意の抗原結合断片（例えば、抗原結合部分）及び／またはこれらの一本鎖（例えば、ジスルフィド結合によって相互接続された少なくとも２つの重（Ｈ）鎖及び２つの軽（Ｌ）鎖を含む抗体、Ｆａｂ断片、$Ｖ_{Ｌ}$、$Ｖ_{Ｈ}$、$Ｃ_{Ｌ}$、及びＣＨ１ドメインからなる一価断片；$Ｆ（ａｂ）_{2}$断片、ヒンジ領域でジスルフィド結合によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片；$Ｖ_{Ｈ}$及びＣＨ１ドメインを含むＦｄ断片；抗体の単一アームの$Ｖ_{Ｌ}$及び$Ｖ_{Ｈ}$ドメインからなるＦｖ断片等）を含む。種々の実施形態において、ポリクロナール抗体及びモノクロナール抗体は、ヒト抗体もしくはヒト化抗体、またはその機能的切片から単離されると、有用である。

【０１１０】

例えば、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロット、及びＲＩＡを含む、種々の種の標的に対する抗体の結合能を評価するための標準的なアッセイは、当該技術分野で周知である。抗体の結合動態（例えば、結合親和性）も、Ｂｉａｃｏｒｅ分析を用いる等、当該技術分野で既知の標準的なアッセイによって評価することができる。

【０１１１】

別の実施形態において、測定は、核酸の存在、非存在、またはレベルを評価することを含む。

【０１１２】

当業者は、多くの方法を使用して、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６のＤＮＡ／ＲＮＡレベルを検出または定量化できることを理解するであろう。

【０１１３】

遺伝子発現は、例えば、限定されないが、レポーター遺伝子アッセイ、ノーザンブロット、蛍光ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション（ＦＩＳＨ）、及び逆転写ＰＣＲ（ＲＴ－ＰＣＲ）を含む、低～中程度のプレックス技術を使用して測定することができる。また遺伝子発現は、例えば、限定されないが、遺伝子発現の連続分析（ＳＡＧＥ）、ＤＮＡマイクロアレイ、タイリングアレイ、ＲＮＡ－Ｓｅｑ／全トランスクリプトーム・ショットガン配列決定（ＷＴＳＳ）、ハイスループットシーケンシング、多重ＰＣＲ、多重ライゲーション依存性プローブ増幅法（ＭＬＰＡ）、ライゲーションによるＤＮＡ配列決定、及びＬｕｍｉｎｅｘ／ＸＭＡＰを含む、より程度の高いプレックス技術を使用して測定することもできる。

【０１１４】

当業者は、マイクロアレイ、ＲＴ－ＰＣＲ（定量的ＰＣＲを含む）、ヌクレアーゼプロテクションアッセイ、及びノーザンブロット分析等のアッセイを含む多くの方法を使用し

て、試料中のバイオマーカーのＲＮＡ産物のレベルを検出または定量化できることを理解するであろう。
【０１１５】
　種々の実施形態において、本発明は、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の測定を提供し、それは存在または非存在の情報を提供し、この情報が患者の治療を指示する。
【０１１６】
　他の実施形態において、本発明は、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の定量的な量を決定するためにＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の測定を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、悪性／腫瘍細胞の数の定量化と、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６を発現するこれらの細胞のパーセンテージの決定とを提供する。いくつかの実施形態において、高レベルのＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６は、高悪性度の癌の指標となり、一方、低レベルのＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６は、低悪性度の癌の指標となる。
【０１１７】
　いくつかの実施形態において、染色の強度及び陽性腫瘍細胞の割合を反映するＦＡＣＴのスコアリングシステムが使用される。閾値及び連続的スコアリングシステムを含むいずれの適切なスコアリングシステムが使用されてもよい。例えば、スコアリングシステムは、０から少なくとも４までのスケールを使用することができる。いくつかの実施形態において、異なるＦＡＣＴスコアのカットオフは以下の通りである：（ｉ）ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６　ＳＳＲＰ１レベルが高い試料（例えば、指数＞４）対低くかつ陰性の試料（例えば、指数≦４）；（ｉｉ）陽性ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６（例えば、指数＞１）及び弱い／陰性（例えば、指数≦１）；ならびに（ｉｉｉ）完全に陰性の試料（例えば、指数＝０、検出可能なＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６陽性細胞なし）対全陽性細胞（例えば、指数＞０、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６陽性細胞の任意の割合、非常に弱いまたは例えば、１０％未満を含む）。
【０１１８】
　いくつかの実施形態において、生存率とＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６レベルとの相関が得られ、陽性及び陰性のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６試料が比較される。
【０１１９】
　本明細書において使用される場合、ＦＡＣＴ陽性は、ＦＡＣＴまたはそのサブユニット（例えば、ＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６）の陽性検出を指す。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ陽性試料は、悪性細胞の数が少なくとも約５％または少なくとも約１０％である試料を含む。種々の実施形態において、ＦＡＣＴ陽性試料は、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６を発現する悪性細胞の約１０％、または約２０％、または約３０％、または約４０％、または約５０％、または約６０％、または約７０％、または約８０％、または約９０％、または約１００％を上回る悪性細胞を含む試料を含む。例えば、高リスク群と低リスク群とを区別するためのＦＡＣＴ閾値は、約５％～約５０％以内、例えば、約１０％～３０％以内である。
【０１２０】
　種々の実施形態において、本発明は、患者の腫瘍から採取される生検と、任意選択的に、生検中の悪性細胞の同定及び／または測定、例えば、悪性細胞のパーセントの計数、ならびに任意選択的に同定、ならびに／または、ＦＡＣＴ及び／もしくはＳＳＲＰ１及び／もしくはＳＰＴ１６を発現する悪性細胞の測定とを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書に記載のＦＡＣＴスコアリングの決定を可能にする（したがって、いくつかの実施形態において、治療をガイドする）ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１および／またはＳＰＴ１６を発現する悪性細胞のパーセンテージの定量を提供する。いくつか

の実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６をスコア化することにより、例えば、疾患特性（例えば、腫瘍悪性度）を決定するための本明細書に記載の閾値を確立する。いくつかの実施形態において、悪性細胞の測定には、本明細書に記載の種々のバイオマーカーを用いることができる。いくつかの実施形態において、悪性細胞の測定には、本明細書に記載の種々の実験技術を用いることができる。

【０１２１】

種々の実施形態において、本発明は、患者の腫瘍からの生検の採取及び悪性細胞の同定を提供する。個々の細胞は、適切な染色を用いて（例えば、ＤＡＰＩ染色法を用いて）同定することができる。悪性細胞は、熟練の病理医によって、及び／または腫瘍／悪性腫瘍マーカーマーカーを使用して同定され得る。試料の悪性部分は、ＦＡＣＴの状態を評価するのに有用である。

【０１２２】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６染色の近接性の決定も行うことができる。

【０１２３】

種々の実施形態において、対照マーカーも試験される。

【０１２４】

種々の実施形態において、同時または連続測定が用いられる。

【０１２５】

種々の実施形態において、測定は、染色された腫瘍試料を撮像し、使用される種々のマーカーを定量化する（複数のマーカーを発現する細胞を定量化することを含む）自動化技術またはコンピュータによって実行される技術を用いてもよい。いくつかの実施形態において、病理医は、本明細書に記載の測定を実施してもよい。

【０１２６】

種々の実施形態において、自動化技術もしくはコンピュータによって実行される技術及び／または病理医は、腫瘍／悪性細胞の数またはパーセンテージに対するＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６陽性細胞の数またはパーセンテージを決定し、本明細書に記載されるように閾値量またはスコアを計算することができる。

【０１２７】

種々の実施形態において、スコアリングシステムは、本明細書に記載の検出アッセイと併用される。例えば、一実施形態において、原発腫瘍生検試料と、入手可能な場合はマッチする正常病変または転移性病変とからなる組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）のＩＨＣ染色法は、ヒト腫瘍試料中のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６のタンパク質レベルを評価するために使用される。

【０１２８】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の測定は、コンピュータ上で行われる。したがって、いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書に記載の方法を実行するためのコンピュータプログラム及びコンピュータによって実行される製品を提供する。一実施形態において、本出願は、プロセッサ及びプロセッサに接続されたメモリを有するコンピュータとともに使用するためのコンピュータプログラム製品を提供し、コンピュータプログラム製品は、そこにエンコードされるコンピュータ機構を有するコンピュータ可読記憶媒体を含み、コンピュータプログラム機構は、コンピュータのメモリ内にロードされてもよく、コンピュータに本明細書に記載の方法を実行させる。別の実施形態において、本出願は、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６データの分析によって予後を予測するため、または対象を分類するためのコンピュータによって実行される製品を提供する。そのようなコンピュータによって実行される製品は、対象試料中の対象発現プロファイルに対応する値（例えば、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６の）を受信するための手段と、予後に関連する参照データを含むデータベースとを備えてもよく、コンピュータによって実行される製品は、患者のＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６プロファイ

ルに最も類似する参照データを選択し、それによって予後を予測するか、または対象を分類する。

【０１２９】

いくつかの実施形態において、本発明は、測定を提供するシグナルの検出を達成する撮像装置を含む。

【０１３０】

種々の実施形態において、自動化デバイス及び／またはコンピュータは、例えば、撮像、測定、及び／または定量化のステップを含む本明細書に記載の方法を実施するために有用であり得る。いくつかの実施形態において、そのような自動化デバイス及び／またはコンピュータは、本明細書に記載の測定の自動化を可能にし得る。

【０１３１】

例えば、一実施形態において、本発明は、赤外蛍光撮像システムの使用を可能にする（例えば、Ｋｉｔａｉ，Ｔ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ．２００５；１２（３）：２１１－２１５（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるように、例えば、Ｐｈｏｔｏｄｙｎａｍｉｃ Ｅｙｅ，Ｈａｍａｍａｔｓｕ Ｐｈｏｔｏｎｉｃｓ（日本））。そのような赤外蛍光撮像システムは、光源として、例えば、７６０ｎｍの発光ダイオードと、検出器として、例えば、８２０ｎｍ未満の電荷結合素子カメラカットフィルターとを備えてもよい。

【０１３２】

別の実施形態において、本発明は、レーザ支援による撮像デバイス（例えば、Ｊａｉｎ，Ｖ．ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｓｕｒｇｉｃａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ Ｖｏｌｕｍｅ ２０１３（２０１３），Ａｒｔｉｃｌｅ ＩＤ ９０４２１４）（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるようなＳＰＹ機、Ｎｏｖａｄａｑ Ｃｏｒｐ．，Ｂｏｎｉｔａ Ｓｐｒｉｎｇｓ，Ｆｌ）の使用に関する。そのようなレーザ支援による撮像デバイスは、蛍光色素のリアルタイムでの検出を可能にし得る。

【０１３３】

別の実施形態において、本発明は、蛍光の検出のためのハンドヘルド視野デバイス（非限定的な例として、Ｐｏｈ，Ｃ．Ｆ．ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ２００６；１２（２２）２００６その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるような）の使用に関する。蛍光視野デバイスは、蛍光を直接可視化するために携帯ユニットに連結された卓上光源を備えてもよい。組織蛍光の写真は、視野デバイス及びロングパスフィルター（例えば、Ｓｃｈｏｔｔ ＧＧ４７５－３，Ｈｏｗａｒｄ Ｇｌａｓｓ，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ，ＭＡ）を備えたデジタル一眼レフカメラ（例えば、Ｆｕｊｉ ＦｉｎｅＰｉｘ Ｓ２ Ｐｒｏ，Ｆｕｊｉｆｉｌｍ、日本、小田原）からの照射を使用して獲得してもよい。一眼レフカメラは、白色光画像のために１０５ｍｍ ｆ／２．８マクロレンズ（例えば、Ｎｉｋｋｏｒ－Ｍｉｃｒｏ，Ｎｉｋｏｎ、日本、東京）及びリングフラッシュ（例えば、Ｎｉｋｏｎ Ｍａｃｒｏ Ｓｐｅｅｄｌｉｇｈｔ ＳＢ－２９ｓ、日本、東京）を装備してもよい。

【０１３４】

別の実施形態において、本発明は、例えば、Ｍａｒｃｕｓ，Ａ．ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｃｌｉｎ Ｐａｔｈｏｌ ２０１２；１３８（４）５９０－３．，（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるような蛍光顕微鏡（例えば、Ｏｌｙｍｐｕｓ Ｍｉｃｒｏｓｃｏｐｅ，Ｏｌｙｍｐｕｓ Ａｍｅｒｉｃａ、Ｃｅｎｔｅｒ Ｖａｌｌｅｙ，ＰＡ）の使用を含む。

【０１３５】

別の実施形態において、本発明は、例えば、Ｂｏｒｇｅｎ，Ｅ．ｅｔ ａｌ．Ｃｙｔｏｍｅｔｒｙ（Ｃｏｍｍｕｎｉｃａｔｉｏｎｓ ｉｎ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｃｙｔｏｍｅｔｒｙ）４６：２１５－２２１（２００１）（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるようなＭＤＳシステム（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｉｍａｇｉｎｇ

Ｃｏｒｐ．，Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ，ＣＡ）を用いてもよい。ＭＤＳ（商標）システムは、コンピュータ制御された試料台の移動、自動焦点機構、複数／色素原／蛍光色素の検出のための２つのフィルターホイール、白黒ＣＣＤカメラ、コンピュータ、モニター、ならびに占有スキャン及び分析ソフトウェアとともに落射蛍光顕微鏡を含む。

【０１３６】

別の実施形態において、本発明は、例えば、Ｋｉｔａｉ，Ｔ．ｅｔ　ａｌ．，Ｏｐｅｎ　Ｓｕｒｇｉｃａｌ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ　Ｊｏｕｒｎａｌ，２０１０，２，７８－８２及びＶｅｒｍｅｅｒｅｎ，Ｌ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　ｏｆ　Ｎｕｃｌｅａｒ　Ｍｅｄｉｃｉｎｅ　２０１０；５１（５）７００－７０３（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に記載されるような携帯用γカメラ（例えば、Ｓｅｎｔｉｎｅｌｌａ，Ｓ１０２；Ｏｎｃｏｖｉｓｉｏｎ）の使用に関する。γカメラシステムは、ＳＰＥＣＴ／ＣＴ画像を得るためのＳｙｍｂｉａＴハイブリッドカメラ（Ｓｉｅｍｅｎｓ）を用いた術前撮像と、より高い感度を得るためのγカメラと併せたハンドヘルドγプローブ（Ｎｅｏｐｒｏｂｅ；Ｊｏｈｎｓｏｎ＆Ｊｏｈｎｓｏｎ　Ｍｅｄｉｃａｌ）の使用とからなる。

【０１３７】

いくつかの実施形態において、本発明は、生検試料または外科的検体試料を含む腫瘍検体の測定を含む。いくつかの実施形態において、生検は、ヒト生検である。種々の実施形態において、生検は、凍結腫瘍組織検体、培養細胞、循環腫瘍細胞、及びホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織検体のうちのいずれか１つである。

【０１３８】

いくつかの実施形態において、腫瘍検体は、凍結腫瘍組織（凍結切片）検体等の生検試料であってもよい。当該技術分野で既知のように、凍結切片は、冷凍庫内にミクロトームを備えるクライオスタットを用いてもよい。外科的検体は、金属組織ディスク上に配置され、次いで、チャック内に固定されて約－２０℃～約－３０℃に急速冷凍される。検体は、例えば、ポリエチレングリコール及びポリビニルアルコールからなるゲル様培地に埋め込まれる。凍結組織は、クライオスタットのミクロトーム部分を用いて凍結したまま切断され、切片は、任意選択的に、スライドガラス上に捕捉され、染色される。

【０１３９】

いくつかの実施形態において、腫瘍検体は、培養細胞等の生検試料であってもよい。これらの細胞は、当該技術分野で既知の通常の細胞培養技術を使用して処理されてもよい。これらの細胞は、循環腫瘍細胞であってもよい。

【０１４０】

いくつかの実施形態において、腫瘍検体は、ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）腫瘍組織検体等の生検試料であってもよい。当該技術分野で既知のように、生検検体は、保存するために、ホルマリン（水とホルムアルデヒドの混合物）または何か他の液体とともに容器内に入れられてもよい。組織試料は、熱いパラフィンワックスとともに型に入れられてもよい。ワックスは冷却して、組織を保護する固形の塊を形成する。包埋された組織を含むこのパラフィンワックスの塊は、組織を非常に薄い切片に切断するミクロトーム上に配置される。

【０１４１】

特定の実施形態において、腫瘍検体は１００ｍｇ未満の組織を含有し、または特定の実施形態において、約５０ｍｇまたはそれより少ない組織を含有する。腫瘍検体（または生検）は、約２０ｍｇ～約５０ｍｇの組織、例えば、約３５ｍｇの組織等を含有してもよい。

【０１４２】

組織は、例えば、（例えば、１４ゲージ針または他の適切なサイズを使用して）１つ以上（例えば、１つ、２つ、３つ、４つ、または５つ）の針生検として得られてもよい。いくつかの実施形態において、生検は、細針吸引であり、分析のために、疑わしい領域に長く細い針を挿入し、注射器を使用して液体及び細胞を吸い出す。いくつかの実施形態において、生検は、コア針生検であり、切除先端部を有する太い針を使用して、コア針生検の

間に疑わしい領域から円柱状の組織を採取する。いくつかの実施形態において、生検は、真空補助生検であり、吸引デバイスが針を通って抽出される液体及び細胞の量を増加させる。いくつかの実施形態において、生検は、画像誘導生検であり、針生検を、例えば、Ｘ線、コンピュータ断層撮影（ＣＴ）、磁気共鳴画像（ＭＲＩ）、または超音波等の撮像手技と組み合わせる。他の実施形態において、試料は、乳房生検用のレーザ誘導による真空補助生検システムであるＭＡＭＭＯＴＯＭＥ（登録商標）生検システム等のデバイスを介して得られてもよい。

【０１４３】

いくつかの実施形態において、凝集性の多細胞粒子（外植片）は、機械的破砕を用いて患者の組織試料（例えば、生検試料または外科的検体）から調製される。この外植片の機械的破砕は、外植片を消化することができる酵素を実質的に含まない培地中で行うことができる。特定の酵素消化が、特定の実施形態において行われてもよい。一般的に、組織試料は、２つの滅菌メスをはさみのような動きで使用して、または機械的に同等である手動もしくは自動の対向するインサイザーブレードを使用して規則的に細分化することができる。この交差切断運動は、結果として得られる組織多細胞粒子に平滑な切り口を形成する。腫瘍粒子は、それぞれ、約０．２５～約１．５ｍｍ^3、例えば、約１ｍｍ^{3}の寸法である。細分化の後、培養フラスコ内に粒子を配置してもよい。フラスコ１個当りに播種される外植片の数は、例えば、フラスコ１個当たり約５個～約２０個の外植片等、１個～２５個の間で変動してもよい。例示の目的で、外植片は、フラスコの底面にわたって均一に分布されてもよく、その後、約１０～約１５分間の最初の反転が行われる。次いで、フラスコを非反転位で、３７℃のCO_2インキュベータに約５～約１０分間配置してもよい。フラスコは、成長及び混入について定期的に確認する。数週間にわたって、細胞の単層が形成する。さらに、（理論に拘束されるといういずれの意図もなしに）腫瘍細胞は、間質細胞の前に多細胞が移植片から成長すると考えられる。したがって、最初は組織細胞を移植片内に維持し、所定の時間に（例えば、約１０～約５０パーセントの細胞密度で、または約１５～約２５パーセントの細胞密度で）外植片を除去することによって、単層内への腫瘍細胞（間質細胞に対して）の成長が促進される。特定の実施形態において、腫瘍外植変は、腫瘍外植片から腫瘍細胞を実質的に放出するように撹拌されてもよく、放出された細胞は、細胞培養単層を生成するように培養されてもよい。細胞培養単層を形成するためのこの手技の使用は、組織試料からの代表的な腫瘍細胞の成長を最大化するのに役立つ。

【０１４４】

いくつかの実施形態において、本発明は、試料中の個々の細胞の同定、ならびに／または試料中の正常細胞及び／もしくは悪性細胞を決定すること、ならびに／または悪性細胞中のＦＡＣＴ及び／もしくはそのサブユニットの存在、非存在、及び／もしくは量及び／もしくは近接性を決定することに関する。いくつかの実施形態において、そのような同定は、同時であるかまたは連続的である。いくつかの実施形態において、そのような同定は、本明細書に記載されるような１つ以上の腫瘍／悪性腫瘍マーカーの制御測定を含む。

【０１４５】

一実施形態において、本発明は、試料中の個々の細胞の同時検出、ならびに１つ以上の腫瘍／悪性腫瘍マーカーの検出、ならびにＦＡＣＴ及び／もしくはそのサブユニットの発現及び／もしくは活性のパーセントを決定するための、ＦＡＣＴ及び／もしくはそのサブユニットの存在、非存在、及び／もしくは量及び／もしくは近接性の決定に関する。いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴ及び／またはそのサブユニットを発現する悪性細胞のパーセントは、本明細書に記載されるように治療または治療の保留を指示する。種々の実施形態において、本発明は、ＦＡＣＴ及び／またはそのサブユニットのうちの１つを発現する腫瘍／悪性細胞の数を定量化するステップを含む。

【０１４６】

一般に、個々の細胞の位置は、細胞遺伝学的、核酸、タンパク質、または免疫化学的分析によって検出することができる。種々の細胞の存在または非存在は、試料を、マーカーに特異的に結合するかまたは相互作用することが可能なリガンドと接触させることによっ

て検出することができ、その存在もしくは非存在、またはその存在レベルの増加もしくは減少は、腫瘍及び／または悪性度と特異的に関連している。

【０１４７】

一実施形態において、個々の細胞の存在または非存在は、抗体（非限定的な例として、ＭＳＮ－１抗体、ＯＸＡ抗体、ＯＸＢ抗体、ＰＴＥＮ抗体、抗ＬｅＹ抗体、抗ＣＡＧＥ抗体、抗ＵＰＡＲ抗体、抗ヘプシジン抗体、及び抗ＫＬＫ４抗体）を用いて測定することができる。別の実施形態において、種々の細胞の存在または非存在は、特定の細胞に特異的に関連する核酸配列と特異的にハイブリダイズすることが可能な核酸プローブ、例えば、ＳＮＰ、突然変異、イントロン－エクソンスプライシング配列、特定の細胞に関連する遺伝子の転写、特定の細胞に関連する遺伝子配列または遺伝子等を使用して測定することができる。「核酸配列」、「核酸」、または「核酸プローブ」という用語は、例えば、約５個のヌクレオチド～約１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０、２００、２５０、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００個、またはそれ以上のヌクレオチドを含むいずれの核酸を指してもよい。この用語は、一本鎖、二本鎖、または多重鎖ＤＮＡもしくはＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ＤＮＡ－ＲＮＡハイブリッド、またはプリン及びピリミジン塩基もしくは他の天然の、化学的もしくは生化学的に修飾した、非天然の、または誘導体化したヌクレオチド塩基を含むポリマーを含む。

【０１４８】

種々の実施形態において、本明細書に記載の細胞検出には、検出目的に適した任意の試薬を用いることができる。そのような標識試薬は、限定されないが、種々の酵素、補欠分子族、蛍光標識、化学発光標識、生物発光標識、及び放射性標識を含む。適切な酵素の非限定的な例として、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、βガラクトシダーゼ、αグリセロリン酸、アスパラギナーゼ、グルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼ、グルコースオキシダーゼ、及びアセチルコリンエステラーゼが挙げられる。適切な補欠分子族複合体の非限定的な例として、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチンが挙げられる。適切な蛍光物質の非限定的な例として、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル、アロフィコシアニン、緑色蛍光タンパク質、オルトフタルアルデヒド、フィコシアニン、及びフィコエリトリンが挙げられる。化学発光物質の例として、アクリジニウム塩、イミダゾール、シュウ酸エステル、セロマチック（ｔｈｅｒｏｍａｔｉｃ）アクリジニウムエステル、ルミノール、及びイソルミノールが挙げられる。生物発光物質の非限定的な例として、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、及びエクオリンが挙げられる。適切な放射性材料の非限定的な例として、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{35}Ｓ、^{32}Ｐ、及び^{3}Ｈが挙げられる。

【０１４９】

いくつかの実施形態において、本発明において使用される腫瘍／悪性腫瘍マーカーは、限定されないが、ＭＹＢＬ２、ＭＫＩ６７、ＭＡＤ２Ｌ１、ＡＵＲＫＡ、ＢＣＬ２、ＢＵＢｌ、ＢＩＲＣ５、ＥＳＲｌ、ＣＥＮＰＮ、ＣＣＮＢｌ、ＥＲＢＢ２、ＭＬＦｌＩＰ、ＮＵＤＴｌ、ＰＬＫｌ、ＲＮＡＳＥ４、ＧＧＨ、ＲＲＭ２、ＣＫＳ２、ＭＣＭ４、ＣＤＫＮ３、Ｃｌ６ｏｒｆ６１、ＤＬＧ７、Ｈ２ＡＦＺ、ＰＦＫＰ、ＫＰＮＡ２、ＧＡＴＡ３、ＣＥＮＰＦ、ＫＲＴ１８、ＫＲＴ５、ＣＣＮＥ２、ＭＥＬＫ、ＣＸ３ＣＲ１、ＴＲＩＰ１３、ＭＣＭ６、ＣＣＮＤｌ、ＰＤＩＡ４、ＣＥＮＰＡ、ＵＢＥ２Ｓ、ＮＣＦｌ、ＣＤＣ２５Ｂ、ＰＧＲ、ＴＧＦＢ３、ＰＳＭＤ２、ＨＭＭＲ、ＸＢＰｌ、ＴＲＯＡＰ、ＫＮＴＣ２、ＰＲＡＭＥ、ＢＴＧ２、ＫＲＴ８、ＦＯＸＭｌ、ＫＹＮＵ、ＮＭＥｌ、ＭＣＭ３、ＮＵＳＡＰｌ、ＰＣＴＫｌ、ＩＧＦＢＰ５、ＣＤＣ２、ＥＲＢＢ３、ＣＳＥｌＬ、ＰＴＴＧｌ、ＰＲＣｌ、ＢＲＲＮｌ、ＵＢＥ２Ｃ、ＭＵＣｌ、ＫＩＦ２３、ＣＤＫ２、ＰＰＰ２Ｒ５Ｃ、ＲＡＲＲＥＳ３、ＰＩＲ、ＣＣＴ４、ＫＩＦ１４、ＳＬＰＩ、ＴＯＰ２Ａ、ＢＢＣ３、ＲＨＯＣ、ＥＺＨ２、ＨＭＧＢ３、ＧＭＰＳ、ＹＩＦｌＡ、ＮＰ、ＤＫＦＺｐ７６２Ｅ１３１２、ＭＥＴ、ＦＡＢＰ５、ＤＣＫ、ＣＴＳＣ、ＣＣＮＢ２、ＦＬＪ２１０６２、ＶＥ

ＧＦ、ＩＬ３２、ＣＤＣ２０、ＴＡＣＣ２、ＩＧＦＢＰ２、ＩＦＩ３０、ＩＤ３、ＧＰＳＭ２、ＴＩＭＰ２、ＣＣＮＥｌ、ＥＩＦ４Ａ１、ＲＦＣ４、ＣＳＴ３、ＣＣＮＡ２、ＣＥＮＰＥ、ＳＬＣ２５Ａ５、ＧＳＴＭ３、ＳＬＣ７Ａ５、ＬＥＴＭＤｌ、ＲＰＳ４Ｘ、ＴＦＦ３、ＡＴＡＤ２、ＡＣＡＤＳＢ、ＫＲＴ１７、ＹＷＨＡＺ、ＰＳＭＢ７、ＣＮＫＳＲｌ、ＥＸＴｌ、ＳＭＣ４、ＭＣＭ２、ＧＡＴＭ、ＤＤＯＳＴ、ＰＥＸ１２、ＹＹｌ、ＴＦＤＰｌ、ＬＭＮＢ２、ＨＰＮ、ＰＯＬＱ、ＰＣＮＡ、ＧＴＳＥｌ、ＭＡＰＲＥｌ、ＰＬＡＵＲ、ＰＴＤＳＳｌ、ＬＲＲＣ１７、ＦＥＮｌ、ＮＤＰ、ＡＢＣＤ３、ＳＣＵＢＥ２、ＴＰ５３、ＡＵＲＫＢ、ＫＩＦＣｌ、ＣＯＬ３Ａ１、ＮＰＹｌＲ、ＰＴＰＬＢ、ＳＦＲＳｌＯ、ＳＤＣｌ、ＣＤＣβ、ＣＤ２４、ＴＣＥＡＬｌ　Ｃｌｏｒｆｌ９８、ＦＡＭ６４Ａ、ＣＤＣＡ３、ＭＳＮ、ＭＹＯｌＯ、ＫＩＦ２Ｃ、ＡＳＰＭ、ＴＵＢＡｌ、ＶＩＬ２、ＣＹＢＲＤｌ、ＣＴＳＬ、ＳＦＲＳ７、ＳＥＳＮｌ、ＬＲＰ８、ＣＰ、ＫＩＴ、ＣＮＡＰｌ、ＴＦＲＣ、ＰＬ０Ｄ２、ＣＫＳｌＢ、ＤＵＳＰ４、ＮＤＲＧｌ、ＳＬＣ３５Ａ１、ＣＩＳ、ＣＣＴ５、ＩＦＩＴＭｌ、ＩＴＰＲ３、ＳＡＴ、ＦＡＢＰ７、ＯＭＤ、ＡＤＡＭＴＳｌ、ＰＰＰ１Ｒ１２Ａ、ＰＲＬＲ、ＦＫＢＰｌＡ、ＳＮＲＰＡｌ、ＣＣＮＣ、ＳＣＡＰｌ、ＳＰＲＲ２Ｃ、ＦＡＤＳ２、ＣＴＳＬ２、ＴＬＥ３、ＰＤＡＰｌ、ＩＥＲ２、ＥＳＰＬｌ、ＣＤＨｌ、ＵＢＲ２、ＲＡＢ６Ａ、ＣＤ４４、ＦＢＸＯ５、Ｆ３、ＰＴＰＲＴ、ＲＡＣＧＡＰｌ、ＣＣＴ７、ＳＬＣ２５Ａ１、Ｃ４ｏｒｆｌ８、ＴＸＮＲＤｌ、ＳＬＣ３Ａ２、Ｃｌβｏｒｆ３５、ＩＮＳＲ、Ｓ０Ｄ２、ＧＡＢＢＲｌ、ＳＮＲＰＢ、ＥＩＦ２Ｃ２、ＩＤＩｌ、ＣＥＰ５５、ＲＬＮｌ、ＰＴＭＡ、ＫＩＦＩｌ、ＳＨＭＴ２、ＦＡＭ８９Ｂ、ＴＰＸ２、ＣＦＢ、ＥＸＯｌ、ＥＩＦ４ＥＢＰ１、ＤＨＦＲ、ＨＩＰＫ２、ＳＹＮＣＲＩＰ、ＢＲＣＡｌ、ＺＮＦ４３、ＬＭＮＢｌ、ＰＢＸＩＰｌ、ＦｌＯ、ＦＣＧＲＴ、ＦＵＴ８、ＲＡＤ２１、ＦＲＹ、ＬＤＨＡ、ＶＡＳＨｌ、ＧＲＢ７、ＺＭＹＭ４、ＡＣＴＢ、ＣＣＬ１８、ＭＴＤＨ、ＭＳ４Ａ７、Ｃ１７ｏｒｆ２７、ＬＯＣ２８６０５２、ＴＡＣＣ３、ＭＴｌＸ、ＴＫｌ、ＣＤＨ３、ＣＤＣ４２ＢＰＡ、ＦＵＴ３、ＧＮＡＺ、ＹＢＸｌ、ＧＰＲ１２６、ＡＲＰＣ４、ＡＰ２Ｂ１、ＣＯＬ６Ａｌ、ＣＸＣＬ９、Ｃ１４ｏｒｆ４５、ＤＩＡＰＨ３、ＤＮＡＪＣ１２、ＬＡＰＴＭ４Ｂ、ＴＵＢＡ３、ＤＴＬ、ＡＬＤＨ４Ａ１、０ＲＣ６Ｌ、ＡＢＬＩＭｌ、ＳＨＣＢＰｌ、ＦＧＦＲｌ、ＥＲ－ＲＦＩｌ、ＣＩＲＢＰ、Ｃ２０ｏｒｆ４β、ＳＬＣ１６Ａ１、ＳＰＡＲＣ、ＣＹＰ２Ｊ２、ＡＰ２Ａ２、ＳＬＣ３９Ａ６、Ｆ２、ＳＣＤ、ＥＣＴ２、ＱＳＣＮ６Ｌ１、Ｈ３Ｆ３Ｂ、ＣＯＬ２Ａ１、ＴＢＸ１９、ＥＤＮｌ、ＯＸＣＴｌ、ＲＰ１３－２９７Ｅ１６．１、ＰＡＬＭ２－ＡＫＡＰ２、ＨＲＢ、ＴＵＢＢ、ＣＴＰＳ、ＣＡＤ、ＣＨＩ３Ｌ１、ＧＲＥＭｌ、ＥＮＯｌ、ＰＬＯＤｌ、ＳＯＲＢＳｌ、ＴＳＰＡＮｌ、ＳＴＭＮｌ、ＨＩＦｌＡ、ＭＭＰ７、ＳＴＫ３、Ｇ０ＬＰＨ２、ＭＴ２Ａ、ＦＯＸＣｌ、ＳＲＭ、Ｃ０Ｌ１Ａ２、ＧＥＭＩＮ４、ＭＡＰＲＥ２、ＰＧＫ１、ＴＩＭＰｌ、ＺＢＴＢ４、ＣＲＡＢＰｌ、ＭＡＰ３Ｋ８、ＴＧＦＢｌ、ＣｌＯｏｒｆｌｌβ、Ｃ１４ｏｒｆｌ３２、ＴＰ５３ＩＮＰ１、ＢＬＭ、ＣＤ－Ｃ２５Ａ、ＭＳＸ２、ＭＭＰ２３Ｂ、ＡＤＭ、ＣＴＳＦ、ＳＦＲＰ４、ＨＭＧＡｌ、ＭＲＰＳ６、ＡＰ－ＢＡ２ＢＰ、ＳＴＲＡ１３、ＣＤＣＡ８、ＳＱＬＥ、ＡＣＳＳ２、ＦＢＰｌ、ＰＳＭＡ７、ＨＴＡＴＩＰ２、ＰＳＭＤ１４、ＨＳＰＢ２、ＡＰＰ、ＴＡＳ２Ｒ５、ＮＦＩＢ、ＴＮＦＡＩＰ２、ＮＡＴｌ、ＳＣ４Ｍ０Ｌ、ＨＮＲＰＡＢ、ＴＵＢＧｌ、ＰＡＸＩＰｌ、ＳＥＣ１４Ｌ１、ＳＡＴＢｌ、ＣＥＬＳＲ２、ＲＮＡＳＥＨ２Ａ、ＴＭＥＭ４５Ａ、ＣＤＫＮｌＡ、ＰＴＧ－Ｓ２、ＡＲＦｌ、ＨＤＡＣ２、ＢＣＬ６、ＣＫＡＰ４、ＪＵＮＢ、ＮＯＬＡ２、ＡＰＯＤ、ＭＭＰｌ、ＥＧＦＲ、ＣＣＴ６Ａ、ＨＤＧＦＲＰ３、ＣＥＳ２、ＳＭＳ、ＤＥＰＤＣｌＢ、ＴＳＰＡＮ４、ＢＤＨ２、ＥＥＦ１Ａ２、Ｓ１００Ａ８、ＷＩＳＰｌ、ＰＧＡＭｌ、ＤＹＮＬＴｌ及び／またはＡＤＣＹ３のうちの１つ以上を含む。

【０１５０】

　いくつかの実施形態において、本発明において使用される腫瘍／悪性腫瘍マーカーは、限定されないが、ＡＬＫ遺伝子再構成、αフェトプロテイン（ＡＦＰ）、β２ミクログロブリン（Ｂ２Ｍ）、βヒト絨毛性ゴナドトロピン（Ｂｅｔａ－ｈＣＧ）、ＢＣＲ－ＡＢＬ融合遺伝子、ＢＲＡＦ変異Ｖ６００Ｅ、ＣＡ１５－３／ＣＡ２７．２９、ＣＡ１９－９、ＣＡ－１２５、カルシトニン、癌胎児抗原（ＣＥＡ）、ＣＤ２０、クロモグラニンＡ（Ｃ

ｇＡ）、染色体３番、７番、１７番、及び９ｐ２１番、サイトケラチン断片２１～１、ＥＧＦＲ変異分析、エストロゲン受容体（ＥＲ）／プロゲステロン受容体（ＰＲ）、フィブリン／フィブリノゲン、ＨＥ４、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、免疫グロブリン、ＫＩＴ、ＫＲＡＳ変異分析、乳酸脱水素酵素、核マトリックスプロテイン２２、前立腺特異抗原（ＰＳＡ）、サイログロブリン、ウロキナーゼ型プラスミノーゲン活性化因子受容体（ｕＰＡ）及びプラスミノーゲンアクチベーターインヒビター（ＰＡＩ－１）、５－タンパク質シグネチャー（Ｏｖａ１）、２１－遺伝子シグネチャー（Ｏｎｃｏｔｙｐｅ　ＤＸ）、７０－遺伝子シグネチャー（Ｍａｍｍａｐｒｉｎｔ）のうちの１つ以上を含む。

【０１５１】

いくつかの実施形態において、本発明において使用される腫瘍／悪性腫瘍マーカーは、限定されないが、ＳＳＸタンパク質ファミリーのメンバー、例えば、ＳＳＸ１、ＳＳＸ４、ＳＳＸ５、またはその断片、ＭＳＮ－１、ＯＸＡ、ＯＸＢ、ＰＴＥＮ、ＬｅＹ、ＣＡＧＥ、ＵＰＡＲ、Ｈｅｐｃｉｄｉｎ、及びＫＬＫ４のうちの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、本発明において使用される腫瘍／悪性腫瘍マーカーは、限定されないが、前立腺特異抗原（ＰＳＡ）、前立腺特異的膜抗原（ＰＭＳＡ）、前立腺分泌タンパク質（ＰＳＰ）、前立腺酸性ホスファターゼ（ＰＡＰ）、ヒト腺性カリクレイン２（ＨＫ－２）、前立腺幹細胞抗原（ＰＳＣＡ）、及びＰＴＩ－１のうちの１つ以上を含む。いくつかの実施形態において、本発明において使用される腫瘍／悪性腫瘍マーカーは、限定されないが、βアクチン、γアクチン、αチューブリン、サイトケラチン、サイトケラチン８（ＣＫ　８）、細胞骨格トロポミオシン、Ｆアクチンキャップタンパク質、ｈｓｐ　２７、ｈｓｐ　６０、ｈｓｐ　７０、ｈｓｐ　９０、ｇｒｐ　７８（ＢＩＰ）、ｇｐ　９６、グルタチオンＳ転移酵素、グルタチオン合成酵素、スーパーオキシドジスムターゼ、チオレドキシンペルオキシダーゼ、ＰＡ２８α、ユビキチン、チオエステラーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、アルドース還元酵素、エノイルＣｏＡヒドラターゼ、αエノラーゼ、アネキシンＩＩ、ＩＶ、及びＶ、スタスミン、ニコチンアミド－Ｎ－メチル基転移酵素、Ｂ２３／ヌクレオフォスミン、ならびにビメンチンのうちの１つ以上を含む。

【０１５２】

いくつかの実施形態において、ＦＡＣＴレベルの評価の前に細胞の成長を監視してもよく、患者におけるｉｎ　ｖｉｖｏでの同じ細胞の成長速度と平行であると見なされてもよいかまたは見なされなくてもよい定期的な計数からのデータを成長速度を決定するために使用してもよい。

【０１５３】

対象という用語は、本明細書において使用される場合、別途定義されない限り、哺乳動物、例えば、ヒトである。また、マウス、ラット、モルモット、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ等の実験動物、またはサル、チンパンジー、もしくはヒヒ等の非ヒト霊長類も含まれる。一実施形態において、対象は、本明細書に記載の動物を含む獣医学的患者である。一実施形態において、対象はヒトである。いくつかの実施形態において、ヒトは小児である。他の実施形態において、対象は、例えば、高齢者を含む成人ヒトである。

【０１５４】

本発明は、腫瘍試料の評価を単純化することができるキットを提供する。典型的な本発明のキットは、例えば、ＦＡＣＴ及び／またはＳＳＲＰ１及び／またはＳＰＴ１６を検出するための試薬を含む種々の試薬を含む。キットはまた、例えば、ＥＬＩＳＡ等の種々の検出方法において有用なものを含む、検出のための試薬のうちの１つ以上を含んでもよい。キットは、ウェルプレート、注射器等を含む、評価に必要な材料をさらに含むことができる。キットは、標識、または記載される試薬の使用を指示する印刷された説明をさらに含むことができる。

【０１５５】

以下の非限定的な実施例によって、本発明をさらに例示する。

【実施例】

【０１５６】

本明細書で用いられる方法は、当該技術分野で既知である。これらの方法のいくつかの詳細を以下に提供する。

【０１５７】

試薬：　ＣＢＬＣ１３７は、Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ　ＢｉｏＬａｂｓ，Ｉｎｃ（Ｂｕｆｆａｌｏ，ＮＹ）から提供された。

【０１５８】

細胞：ＨＴ１０８０、ＷＩ－３８、ＭＣＦ７、及びＭＣＦ１０Ａ細胞は、ＡＴＣＣから入手した。ＨＴ１０８０、ＷＩ－３８，ＭＣＦ７を、１０％熱失活（ＨＩ）ＦＢＳ及び抗生物質を補充したＤＭＥＭ中に維持した。ＭＣＦ１０Ａ細胞を、５％ウマ血清、２０ｎｇ／ｍＬ　ＥＧＦ、５００ｎｇ／ｍＬヒドロコルチゾン、．０１ｍｇ／ｍＬインスリン、１００ｎｇ／ｍＬ　コレラ毒素、及び抗生物質を補充した１：１　ＤＭＥＭ／Ｆ１２中に維持した。ＲＣＣ４５及びＮＫＥ－ｈＴＥＲＴ細胞については既に記載されている（Ｇｕｒｏｖａ，ｅｔ　ａｌ．（２００４）．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　６４，１９５１－１９５８）。乳房縮小術からヒト乳房上皮細胞を得て、当該技術分野で既知のように修飾して維持した。妊娠１３．５日目のＣ５７／Ｂ６野生型またはｐ５３$^{-/-}$マウスから野生型及びｐ５３ノックアウトマウス胎仔線維芽細胞（ＭＥＦ）を得て、１０％　ＦＢＳ及び抗生物質を含むＤＭＥＭ中に維持した。

【０１５９】

プラスミド、トランスフェクション、及びレンチウイルス形質導入：ｐＬＶ－Ｈ－Ｒａｓ^{V12}－ＢｌｅｏまたはｐＬＶ－Ｂｌｅｏレンチウイルスベクターは、Ａｎｄｒｅｉ　Ｇｕｄｋｏｖ　博士（Ｒｏｓｗｅｌｌ　Ｐａｒｋ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ，Ｂｕｆｆａｌｏ，ＮＹ）のご厚意で提供された。ヒトＳＳＲＰ１　ｃＤＮＡをｐＬＶネオレンチウイルスベクターにクローニングし、配列決定により確認した。ＤＡＰＣＥＬ，Ｉｎｃ．が所有権を有する同族及び異種宿主におけるタンパク質発現の増強に関する同義のコドン最適化ストラテジーに従って、ＤＡＰＣＥＬ，Ｉｎｃ．（Ｃｌｅｖｅｌａｎｄ，ＯＨ）によって最適化された配列を使用してＳＵＰＴ１６　ｃＤＮＡを合成した（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，ＧｅｎｅＡｒｔ　ＡＧ）。ｃＤＮＡをＸｂａＩ－ＢａｍＨＩ断片としてｐＭＬＶ　ＨｙｇｒｏＲレンチウイルスベクターにクローニングした。ＳＳＲＰ１、Ｓｐｔ１６、またはＧＦＰに対するＭｉｓｓｉｏｎ（登録商標）ｓｈＲＮＡは、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｏ．，（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）から入手した。

【０１６０】

ＳＳＲＰ１に対するｓｉＲＮＡ（Ｏｎ－Ｔａｒｇｅｔ　ｐｌｕｓ　ＳＭＡＲＴｐｏｏｌ、カタログ番号Ｌ－０１１７８３－００）ＳＰＴ１６（Ｏｎ－Ｔａｒｇｅｔ　ｐｌｕｓ　ＳＭＡＲＴｐｏｏｌ、カタログ番号Ｌ－００９５１７－００）及びｓｉＣＯＮＴＲＯＬ非標的ｓｉＲＮＡ（ｃａｔ＃　Ｄ－００１２１０－０１）は、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｄｈａｒｍａｃｏｎから購入した。製造者のプロトコルに従ってＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　２０００試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用してトランスフェクションを行った。当該技術分野で既知の通りに、レトロウイルスパッケージング及び感染を行った。

【０１６１】

ウェスタンブロット、蛍光活性化細胞選別法、及び免疫蛍光プロトコルは、当該技術分野で既知である。

【０１６２】

製造者のプロトコルに従ってＥＤＵ及びＥＵキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して、細胞における複製及び転写速度を測定した。

【０１６３】

定量的ＲＴ－ＰＣＲ：製造者のプロトコルに従って、ＴＲＩｚｏｌ試薬（Ａｍｂｉｏｎ）により全ＲＮＡを単離した。製造者のプロトコルに従ってｉＳｃｒｉｐｔ　ｃＤＮＡ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓキット（ＢｉｏＲａｄ）を使用して、２μｇの全ＲＮＡから第一鎖ｃＤＮＡを合成した。Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓから購入したプライマー、Ｓ

ＳＲＰ１－Ｈｓ００１７２６２９＿ｍ１、ＳＵＰＴ１６Ｈ－Ｈｓ００２００４４６＿ｍ１、及び１８Ｓ－Ｈｓ９９９９９９０１＿ｓ１を用いて定量的リアルタイムＰＣＲを行った。７９００ＨＴ配列検出システム（ＡＢＩ　ＰＲＩＳＭ；Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）のデフォルトパラメータを使用して、ＴａｇＭａｎ　ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）を用いてｑＰＣＲを行った。試料間の遺伝子発現を比較するために、参照遺伝子１８ＳリボソームＲＮＡ（ｒＲＮＡ）の平均ＣＴを用いて閾値サイクル（ＣＴ）値を正規化した。正規化したｍＲＮＡレベルをΔＣＴ＝ＣＴ（試験遺伝子）－ＣＴ（参照遺伝子の平均）と定義した。最終データを試験試料と対象試料との間の倍数差として表し、$２^{（ΔＣＴ試験－ΔＣＴ対照）}$と定義した。全ての反応を３通り行い、少なくとも２回実験を繰り返した。その結果を少なくとも２回の実験の平均として表す。

【０１６４】

ＴＭＡ及び患者集団ＴＭＡ上で１６の癌コホートを使用して、癌患者におけるＳＳＲＰ１タンパク質の発現を評価した。ＴＭＡは、Ｒｏｓｗｅｌｌ　Ｐａｒｋ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ（Ｂｕｆｆａｌｏ，ＮＹ）で１９９４～２００２年の間に診断された非選択的なホルマリン固定及びパラフィン包埋された検体からの１つの組織コアを含有していた。患者の年齢は、２５～８２歳の範囲であり、年齢中央値は５６歳であった。代表的な腫瘍領域を同定するために、経験豊富な外科病理医（Ｃ．Ｍ．）が、ＴＭＡの構築前に全ての検体のＨ＆Ｅ染色スライドを評価した。Ｅｌｓｔｏｎ＆Ｅｌｌｉｓ，Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，１９９１，１９：４０３－１０（その内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれる）に従って、全ての腫瘍を組織学的に等級分けした。Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅ　ＮｅｔｗｏｒｋまたはＲＰＣＩによって提供された臨床経過観察データは、月の経過観察期間の中央値（０～１４８ヶ月の範囲）で全ての癌患者に利用可能であった。この試験に組み入れた全ての患者は、研究目的及びデータの出版のために、これらの組織のさらなる分析に関するインフォームドコンセントを提出した。ＲＰＣＩのＩｎｓｔｒｕｃｔｉｏｎａｌ　Ｒｅｖｉｅｗ　Ｂｏａｒｄがプロトコルを承認した。

【表１－１】

表１Ａ．試験で用いられたＴＭＡに使用された患者コホートの詳細

癌型	ＴＭＡ ＩＤ	説明	年齢（中央値／範囲）	患者数
乳癌	ＢｒＣａ２５	病期Ｉの乳癌、浸潤性乳管腫瘍、ＥＲ陽性、Ｈｅｒ２陰性。５８人の患者×各腫瘍３コア、合計２２０コア、乳房コア１７４、正常な非マッチングコア４６。		５８
乳癌	ＢｒＣａ３８	組み入れた全症例は、腫瘍及びマッチングする転移性リンパ節コアを含んでいた。４５人の患者ｘ各腫瘍６コア。合計３３０コア、乳房コア２７０、正常な非マッチングコア６０。症例当たり３個の腫瘍コア及び３個の転移性コアを採取。		４５
結腸癌	ＧＩＣａ３	直腸結腸腫瘍及び正常組織。合計１４４コア。直腸結腸コア合計１１４、腫瘍直腸結腸コア９０、正常な直腸結腸コア２４個、正常な臓器コア３０。		
膵臓癌	ＧＩＣａ５	ＴＭＡに組み入れた７人の患者：２人の患者は原発性腫瘍のみを有し、４人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有し、１人の患者は、原発性、転移性、及び正常組織を有していた。これらの患者は、１～２コアの原発性腫瘍インベントリを有していた。		7
膵臓癌	ＧＩＣａ６	ＴＭＡに組み入れた１１人の患者：９人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有し、２人の患者は、原発性、転移性、及び正常組織を有していた。これらの患者は、３～４コアの原発性腫瘍インベントリを有してい		１１

【表１－２】

		た。		
膵臓癌	ＧＩＣａ７	ＴＭＡに組み入れた７人の患者：５人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有し、５人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有していた。これらの患者は、５コアの原発性腫瘍インベントリを有していた。		７
膵臓癌	ＧＩＣａ８	ＴＭＡに組み入れた９人の患者：７人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有し、１人の患者は原発性腫瘍及び転移性腫瘍を有し、１人の患者は、原発性、転移性、及び正常組織を有していた。これらの患者は、６コアの原発性腫瘍インベントリを有していた。		９
膵臓癌	ＧＩＣａ９	ＴＭＡに組み入れた７人の患者：７の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有していた。		７
膵臓癌	ＧＩＣａ１０	ＴＭＡに組み入れた１０人の患者：８人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有していた。２人の患者は、原発性、転移性、及び正常組織を有していた。		１０
膵臓癌	ＧＩＣａ１１	ＴＭＡに組み入れた１２人の患者：２人の患者は原発性腫瘍のみを有していた。８人の患者は、原発性腫瘍及び正常組織を有していた。２人の患者は、原発性、転移性、及び正常組織を有していた。		１２
膵臓癌	ＧＩＣａ１２	ＴＭＡに組み入れた７人の患者：５人の患者は原発性腫瘍及び正常組織を有し、１人の患者は原発性腫瘍及び転移性組織を有し、１人の患者は、原発性、転移性、及び正常組織を有していた。		７
ＲＣＣ	ＧＵＣａ２（腎臓）	全腫瘍症例数：１２０マッチングする正常組織を有する全腫瘍症例数：１０６。総蛋白正常腎臓を有する全腫瘍症例数：１７他の正常組織の合計コア数：４８合計コア数：２８８		１２０
ＲＣＣ	ＧＵＣａ３（腎臓）	全腫瘍症例数：１１７マッチングする正常組織を有する全腫瘍症例数：１０６。総蛋白正常腎臓を有する全腫瘍症例数：１１他の正常組織の合計コア数：５４合計コア数：２８８		１１７
転移性ＲＣＣ	ＧＵＣａ４（腎臓）	このＴＭＡは、転移性腎細胞癌に罹患する合計７５人の患者を含有する。患者のうち３１人は、示される原発性、転移性、及び正常組織を有し、患者のうち６人は原発性及び転移性の組織を有し、患者のうち３８人は示される転移性組織のみを有する。このＴＭＡは、合計１９０コア、１４３人の患者のコア、４７の正常な非マッチングコ		７５

【表１－３】

		アを含有する。		
病期Ｉの肺TMA	ＬＵＮＧＣａ８	合計７６人の患者。		７６
病期Ｉの肺TMA	ＬＵＮＧＣａ９	合計６１人の患者。		６１

【０１６５】
当該技術分野で既知の通りに免疫組織化学染色を行った。
【０１６６】
Ｉｎ　Ｓｉｌｉｃｏ　Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｏｍｉｃｓ　Ｏｎｌｉｎｅ　－　統合的な遺伝子発現参照データベース（ＭｅｄｉＳａｐｉｅｎｓ　Ｌｔｄ）は、データを分析及び可視化するための複数のツールを備えた、種々の健常及び病的なヒト組織の統合されたｍＲＮＡ発現データを含むデータベースソフトウェアである。利用可能な場合は手動注釈を付けた臨床的変数も含まれ、組織は、特異的に開発された癌及び解剖学的群に体系的に分類されている。このデータベースは、現在、２５１の異なる試験からの２０，０６４個の試料を含み、そのうち１５，３９２個は、１，２２７個の癌細胞株試料を含む癌試料である。データは、公的に入手可能な発現データベースから収集され、そこには、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘアレイで測定された発現データが含まれている。異なる研究及びアレイの世代にわたって大規模な統合されたデータコレクションを作成するために、異なる種類のＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘマイクロアレイ世代のＣＥＬファイルからのデータを、特異的に開発した３段階プロセスにおいて一緒に正規化した。これは、異なる源からの試料を互いに直接的に比較し、メタ分析においてこれらを一緒に用い、別個のデータベース内では達成不可能な新しい発見の可能性を明らかにすることができる。
【０１６７】
分析及び可視化ツールは、ユーザフレンドリーなグラフィカルユーザインターフェースに埋め込まれたＲ統計プログラミング言語（Ｒ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ　Ｃｏｒｅ　Ｔｅａｍ）とともに実装された。この試験では、ヒトトランスクリプトームにわたる全体的なデータの可視化のためのドットプロット及びボックスプロットツールが使用される。ドットプロットは、ＳＳＲＰ１またはＳＰＴ１６の正規化した発現値を組織の定義に対して異なるデータポイントとしてプロットすることによって描かれ、組織型に基づいてプロットを健常組織、悪性組織、他の疾患、健常組織からの細胞株、及び癌細胞株の５つのセグメントに分割し、これらのセグメント内で試料の解剖学的カテゴリーを適用する。また、記述統計学は、それぞれのセグメント内で他と異なる試料を区別するために計算され、同じセグメント内の全ての組織の平均発現よりも１標準偏差高い発現レベルを有する場合、または組織における発現の９０パーセンタイルが、四分位範囲の２倍以上であり、かつ同じセグメントの７５パーセンタイルである場合、組織型が選択されてプロット上で色付けされる。各遺伝子のボックスプロットは、健常組織及び癌組織におけるその遺伝子の発現を可視化する標準的な箱髭図として描かれ、組織の分類がＸ軸上に示される。少なくとも５つの試料を有する全ての組織を組み入れた。ボックスの下部はデータの２５パーセンタイルであり、ボックスの上部は７５パーセンタイルであり、水平線は中央値である。髭は、ボックスの端部から四分位範囲の１．５倍まで延在し、これを超えるいずれのデータポ

イントも外れ値であると見なされる。

【０１６８】

臨床病理学的変数と遺伝子発現との間の関連性を分析するために、ＩＳＴ　ＯｎｌｉｎｅのＰｈｅｎｏＰｌｏｔツールを使用して、選択されたｉｎ　ｖｉｖｏ　癌試料の発現値を臨床属性に対してプロットした。ＰｈｅｎｏＰｌｏｔは、種々の癌型由来の予め定義された癌試料のサブセットを用い、試料は、それぞれの癌型内の関連する臨床変数の利用可能性に基づいて選択されている。ＰｈｅｎｏＰｌｏｔは、ボックスプロットとドットプロットの組み合わせであり、ドットは個々の試料を示し、箱髭図による可視化はデータ値のより高いレベルの分布を示す。特定の臨床共変量の値を有する試料の各群は、ＰｈｅｎｏＰｌｏｔのＸ軸上の別のセグメントとして示される。任意の２つのボックスのノッチが垂直に重複しない場合、それは、２つの試料群の中央値が、当該遺伝子の発現という点において互いと有意に異なる（ｐ値＜０．０５）ことを意味する。

【０１６９】

ＴＭＡの分析：ＳＳＲＰ１データを二分した。フィッシャー直接確率法を行って、二分したＳＳＲＰ１発現指標と、他の二分したカテゴリー変数（年齢（≧６０、＜６０）、または腫瘍グレード（高、低）、病期（初期、後期）、及び利用可能な場合は疾患特異的マーカーの発現等の）との間の関連性を調べた。カイ二乗検定を行って、２つ以上のレベルを有するカテゴリー変数との関連性について調べた。ログランク検定と併せたカプラン・マイヤー生存分析を用いて、患者の生存とＳＳＲＰ１発現指標との間の相関を評価した。ｐ値＜０．０５を有するいずれの検定も有意であると見なした。全ての統計分析は、Ｒ統計プログラミング言語を使用して行われた。

実施例１：Ｉｎ　Ｖｉｔｒｏ　形質転換の際にＦＡＣＴの発現が上昇する

【０１７０】

異なる正常細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ形質転換の間、及び異なる種類のヒト腫瘍組織において、ＦＡＣＴサブユニットの発現パターンが行われた。

【０１７１】

ｉｎ　ｖｉｔｒｏ形質転換の異なる段階でプロトタイプ正常細胞間のＳＳＲＰ１レベルとＳＰＴ１６レベルとを比較することによって、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ　形質転換プロセスの間のＦＡＣＴ誘導について調べた。具体的には、有限寿命細胞、不死化細胞、及び形質転換細胞について調べた。

【０１７２】

正常ヒト線維芽細胞と、ヒトテロメラーゼで不死化した線維芽細胞、またはｐ５３野生型もしくはノックアウト動物由来のマウス初代線維芽細胞との間で、ＦＡＣＴレベルの変化はほとんど認められなかった（図１Ａ）。しかしながら、不死化線維芽細胞を活性化Ｈ－ＲＡＳ^{V12}癌遺伝子で形質転換した時に、ヒト細胞及びマウス細胞の両方においてＦＡＣＴレベルの顕著な増加が観察された（図１Ｂ及び図１Ｃ）。これら全ての線維芽細胞（初期継代株、不死化、または悪性形質転換）細胞は、増殖速度に有意差は見られないため、ＦＡＣＴレベルの増加は、迅速な細胞増殖を反映するものではない。

【０１７３】

多くのヒト腫瘍は上皮起源である。したがって、上皮細胞のｉｎ　ｖｉｔｒｏ　形質転換も行った。当技術分野で既知の乳房上皮細胞形質転換の同系モデルを用いた。２つの乳房縮小術検体１８４及び２４０Ｌ由来の正常な有限寿命株と、化学発癌物質ベンゾ（ａ）ピレン（１８４Ｂ５、１８４ＡＡ３）、または腫瘍抑制因子の障壁を克服することができる一連の既知の遺伝子構築物（ＣＤＫＮ２Ａ（ｐ１６）及び／もしくはプロト癌遺伝子ｃ－Ｍｙｃに対するｓｈＲＮＡ）（１８４ｐ１６ｓＭＹ、１８４ＦＭＹ２、２４０Ｌｐ１６ｓＭＹ）のいずれかに曝露した後の正常細胞由来の不死化株とを分析した。免疫不全マウスにおいて、足場非依存性増殖（ＡＩＧ）と、ｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍を形成する能力とについて不死化株を特徴付けた。１８４Ｂ５、１８４ｐ１６ｓＭＹ、及び２４０Ｌｐ１６ｓＭＹは、ＡＩＧを示さなかった。１８４ＦＭＹ２及び１８４ＡＡ３の両方がＡＩＧを示したが、１８４ＡＡ３のみ腫瘍形成性であった。正常なＨＭＥＣは、核ＳＳＲＰ１に関連す

る染色をほとんど示さなかったが、ＡＩＧ、１８４ＡＡ３、及び１８４ＦＭＹ２を有する株においてＳＳＲＰ１に関連する免疫蛍光の最高レベルが見られた（図２Ａ、２Ｂ、及び２Ｃ）。ＡＩＧを有しない不死化株は、異なる強度の弱い免疫蛍光染色を示したが（図２Ａ）、ウェスタンブロットによって正常細胞と比較したところ、ＳＰＴ１６及びＳＳＲＰ１の両方のレベルの著しい増加が認められた（図２Ｂ）。形質転換ＨＭＥＣ細胞において、そのタンパク質レベルに若干比例してＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡのみが上昇したのに対し、ＳＰＴ１６　ｍＲＮＡは、ＳＰＴ１６タンパク質とは対照的にほとんど変化しなかった（図２Ｃ）。理論に拘束されることを望むものではないが、これはＳＳＲＰ１に対するＳＰＴ１６タンパク質レベルの依存性に起因し得る。ＰＣＮＡ染色によると、これらの培養物間で増殖に有意差は認められなかった（図２Ｂ）。

【０１７４】

これらの実験は、とりわけ、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおけるヒト上皮細胞の形質転換は、両方のＦＡＣＴサブユニットのタンパク質レベルの上昇を伴うこと、その増加は形質転換細胞による悪性度の獲得と一致し得ることを実証した。

実施例２：異なる種類の腫瘍の複数の試料において、ＦＡＣＴサブユニットがＲＮＡ及びタンパク質レベルで過剰発現される

【０１７５】

正常組織及び異なる腫瘍においてＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のｍＲＮＡレベルの比較を行った。これらの試験では、ほぼすべての腫瘍型の含有量の高いマイクロアレイのデータを調査した。ＩＣＴ　Ｏｎｌｉｎｅソフトウェア（Ｍｅｄｉｓａｐｉｅｎｃｅ，Ｉｎｃ）を使用して、技術間及び試験間にわたる正規化を適用した。

【０１７６】

この分析は、健常な正常組織または他の疾患からの組織と比較して、ほとんどの腫瘍型においてＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡが大抵上昇することを示した（図３Ａ～３Ｂ）。しかしながら、ほぼ正常レベルのＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡを含む試料と、ＳＳＲＰ１の多くの倍数増加を有する試料とが存在する（図３Ａ）。全てのカテゴリーにおいてＳＳＲＰ１の最高平均レベルを有するｉｎ　ｖｉｔｒｏ細胞株からのデータもこの分析に含まれていた（図３Ａ）。理論に拘束されることを望むものではないが、このことは、例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ条件がＳＳＲＰ１レベルの強力な上昇を促進すること、または上昇したＳＳＲＰ１を含む細胞のみがｉｎ　ｖｉｔｒｏ培養で成長できることを示唆する可能性がある。

【０１７７】

非腫瘍試料と比較すると腫瘍におけるＳＰＴ１６　ｍＲＮＡ発現の中央値レベルも上昇したが、ＳＳＲＰ１ほどではなかった。このＳＳＲＰ１とＳＰＴ１６とのｍＲＮＡデータにおける違いは、ＨＭＥＣ細胞のパネルを分析した時に観察された傾向と一致していた（図２Ａ～２Ｃ）。ＳＳＲＰ１に類似する腫瘍試料の間で、非常に高いレベルのＳＰＴ１６　ｍＲＮＡを含むかなり多くの外れ値が見られる。

【０１７８】

原発腫瘍生検試料と、入手可能な場合はマッチする正常病変または転移性病変とからなる組織マイクロアレイ（ＴＭＡ）のＩＨＣ染色法を使用して、腫瘍試料中のＦＡＣＴのタンパク質レベルを評価した。乳房、肺、腎臓、前立腺、及び消化管のいくつかの器官からの約８５４の個々の試料からなるＴＭＡのいくつかの群を用いた。各群は、一般的な米国の集団におけるこれらの発生率に比例的に異なる腫瘍型によって表される。異なる組織におけるＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６タンパク質サブユニット間の発現で以前に示された高い相関に起因して、ＳＳＲＰ１のＩＨＣ染色を腫瘍における総ＦＡＣＴレベルの指標として用いた。理論に拘束されることを望むものではないが、この相関は、ＳＳＲＰ１の量に対するＳＰＴ１６タンパク質レベルの依存性から生じている可能性がある。

【０１７９】

これらの器官の正常細胞は、腸陰窩の底部の上皮細胞を例外として、ＳＳＲＰ１タンパク質を発現しない（図３Ａ）。したがって、これらの器官の腫瘍における陽性ＳＳＲＰ１染色は、正常組織と比較してＦＡＣＴレベルが上昇したことを示唆している。

【０１８０】
ほとんどの腫瘍型の間で程度の異なるＳＳＲＰ１の過剰発現が観察された（図４Ａ、４Ｂ、４Ｃ、４Ｄ、４Ｅ）。非悪性間質細胞は、常にＳＳＲＰ１が陰性であった（図４Ａ～４Ｄ）。
【０１８１】
分析における異なる試料間でのＳＳＲＰ１染色の可変性を検討するために、０から３までのスケールを使用して染色の強度及び陽性腫瘍細胞の割合を反映するスコアリングシステムを用いた。累積的なＳＳＲＰ１の指標は、分類された強度と割合スコアの積である。＞１の指標を有する「陽性ＳＳＲＰ１」試料は、陽性細胞の数が１０％未満のもの、または染色が極端に弱いものを除いて、全ての陽性試料を含む（図４Ｄ）。＞４の指標を有する「高ＳＳＲＰ１」試料は、腫瘍細胞のほとんどが高度にＳＳＲＰ１陽性の試料である（図４Ａ、図３Ｂ、図３Ｄ）。ＳＳＲＰ１陽性試料の最も高い指標が膵臓腫瘍において観察された（図４Ｃ及び図４Ｅ）。前立腺癌患者の間では、陽性のＳＳＲＰ１試料はごくわずかしか存在しなかった（図４Ｅ）。ｉｎ　ｖｉｔｒｏのヒト腫瘍細胞株で得られたデータとは対照的であるが、ＲＮＡ発現データと一致して、全ての腫瘍型間で、ＳＳＲＰ１染色の見られない腫瘍試料の割合がある程度認められた（図４Ｅ）。
実施例３：腫瘍のＦＡＣＴサブユニットレベルと臨床病理学的特徴との相関
【０１８２】
ＦＡＣＴサブユニットの発現と異なる腫瘍型の臨床病理学的特徴との間の相関について調べた。
【０１８３】
いくつかの器官（乳房、肺、及び腎臓）において、癌の異なる組織型の間でＳＳＲＰ１の発現（試料は異なるサブタイプによって表される）を比較した。
【０１８４】
乳癌患者の間では、管腔型の癌と比べて基底細胞癌においてＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡのレベルが高かった（図５Ａ）。ＳＳＲＰ１タンパク質の過剰発現は、ホルモン受容体陽性乳癌と比べてトリプルネガティブにおいて頻度がより高かった（表１Ｂ及び図５Ｂ）。また、高いＳＳＲＰ１レベルは、管腔型乳癌のＥＲ陰性及びＨｅｒ２陽性状態と相関している（表１Ｂ及び図５Ｂ）。
【０１８５】
非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）患者の間では、他の種類の肺癌と比べて未分化大細胞癌において最高レベルのＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡが観察された（表１Ｂ）。ＳＳＲＰ１タンパク質の場合も同様の傾向が観察された。腎細胞癌（ＲＣＣ）患者の間では、乳頭状癌及び肉腫様癌の試料においてＳＳＲＰ１が他の試料よりも頻繁に過剰発現された（表１Ｂ）。
【０１８６】
ＳＳＲＰ１陽性試料の頻度がより高い全てのサブタイプは、乳頭状ＲＣＣを除いて、対応するＳＳＲＰ１陰性サブタイプ（例えば、乳癌：基底型対管腔型、トリプルネガティブ対ホルモン受容体陽性、ＥＲ陰性対陽性、及びＨｅｒ２陽性対陰性）よりも不良な予後を有していた。
【０１８７】
したがって、ＳＳＲＰ１陽性試料は、より悪性度の高い癌サブタイプの間で過剰発現される。
【０１８８】
このことは、ＴＭＡ染色データを使用したＳＳＲＰ１の発現と全体的な生存率との相関分析によって確認された。異なるＳＳＲＰ１スコアのカットオフ、（ｉ）ＳＳＲＰ１レベルが高い試料（指標＞４）対レベルが低い及び陰性の試料（指標≦４）；（ｉｉ）陽性ＳＳＲＰ１（指標＞１）及び弱い／陰性（指標≦１）；ならびに（ｉｉｉ）完全に陰性の試料（指標＝０、いずれのＳＳＲＰ１陽性細胞もなし）対全陽性試料（指標＞０、非常に弱いかまたは１０％未満を含むＳＳＲＰ１陽性細胞の任意の部分）を使用してデータを比較した。

【０１８９】
　正常組織及び腫瘍組織におけるＳＳＲＰ１の発現の比較に基づいて予想されたように、全ての腫瘍型で、生存率とＳＳＲＰ１レベルの最良の相関は、陽性及び陰性ＳＳＲＰ１試料を比較した時に観察された。８５４個全てのＩＨＣ試料で、ＳＳＲＰ１陽性は、全体的な正存率の不良と有意に関連していた（図６Ａ）。乳癌を別個に分析した場合にも同様であった（図６Ｄ）。
【０１９０】
　タンパク質またはｍＲＮＡレベルについて分析したいずれの腫瘍型においても、腫瘍の病期とＳＳＲＰ１の発現との間に相関は見られなかったことから、理論に拘束されることを望むものではないが、ＦＡＣＴサブユニットの発現は、腫瘍の成長または疾患進行に伴って変化しないことが示唆される（表１Ｂ）。しかしながら、いくつかの癌の種類において、腫瘍グレードとＦＡＣＴサブユニットレベルとの間に相関が見られた（表１Ｂ）。乳癌、結腸癌、及び乳頭状腎細胞癌では、高グレードの分化不良の腫瘍において有意に高いレベルのＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡ及びタンパク質が認められた（表１Ｂ、図５Ｃ、図５Ｄ）。腫瘍グレードによるＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡ及びタンパク質の増加という同じ傾向が、肺癌患者及び肺腺癌の病期２の患者に観察された（表１Ｂ）。
【０１９１】
　また、乳癌及び腎細胞癌に罹患する、原発性腫瘍がＳＳＲＰ１陽性であった患者は、ＳＳＲＰ１陰性の原発性腫瘍を有する患者よりも転移性疾患の発生率が高いことも示された（図５Ｄ）。ＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡもまた、肺癌及び前立腺癌の転移を有する患者において、転移のない患者よりも高かった。ＩＨＣによって分析した全ての癌において、原発性病変と転移性病変との間でＳＳＲＰ１状態の高い合致率（＞８７％）が認められた。したがって、乳癌、ＲＣＣ、肺癌、または前立腺癌に罹患する患者の原発性腫瘍におけるＳＳＲＰ１の存在は、転移性疾患を示唆する。
【０１９２】
　臨床試料におけるＳＳＲＰ１の発現の分析は、（ｉ）予後不良の固形腫瘍のサブタイプ（乳癌及び肺癌）、（ｉｉ）全体的な生存率が不良である患者からの腫瘍、（ｉｉｉ）転移性疾患（乳癌、肺癌、腎癌、及び前立腺癌）に罹患する患者等の、分化が低く（より高いグレード）、より悪性度の高い腫瘍においてＳＳＲＰ１がより高い発生率で発現されることを示した。
【０１９３】
　ＳＰＴ１６では、異なる試料においてＳＳＲＰ１の発現との高い相関が認められた。理論に拘束されることを望むものではないが、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６は、一方のタンパク質レベルが他方のタンパク質レベルに依存する方式で供調節される。例えば、ＳＳＲＰ１　ｍＲＮＡに対するＳＰＴ１６タンパク質レベルの強い依存性が認められる。腫瘍細胞がより高いレベルのＳＳＲＰ１の発現を開始する場合、ＳＰＴ１６のレベルも上昇する。
【０１９４】
　ＳＰＴ１６のタンパク質レベルは、我々がウェスタンブロット及びＩＨＣに基づいてＳＳＲＰ１の上昇を見たのと同じ腫瘍において上昇するが、原則として、抗ＳＰＴ１６抗体はＳＳＲＰ１よりもはるかに品質が低いため、我々はそれらをＴＭＡ染色に使用しなかった。
実施例４：腫瘍細胞の生存及び成長はＦＡＣＴの発現に依存する
【０１９５】
　ＦＡＣＴが腫瘍細胞に必要とされるかどうか、また、その過剰発現が何か他の腫瘍特異的プロセスのマーカーであるかどうかを調べた。いくつかの腫瘍細胞株をＦＡＣＴサブユニットに対するｓｈＲＮＡを用いて形質導入することにより、対照ｓｈＲＮＡと比較して細胞の成長が抑制されることが以前に観察された。ここでは、細胞株のリストが拡張され、腫瘍及びいくつかのプロトタイプ「正常」細胞上でｓｈＲＮＡがＦＡＣＴに及ぼす影響と比較された。癌治療のためにＦＡＣＴを標的とすることの価値を評価するために、後者を知ることが重要である。本発明者は、両方のＦＡＣＴサブユニットのレベルが互いに調

節され、したがって、ＦＡＣＴのサブユニットのうちの一方に対するｓｈＲＮＡの使用が両方を効果的に排除することを示してきた。腎細胞癌細胞（ＲＣＣ４５）及びヒトテロメラーゼの酵素サブユニットで不死化した正常な腎臓上皮細胞（ＮＫＥ）；ヒト線維肉腫細胞（ＨＴ１０８０）及びヒト二倍体線維芽細胞（Ｗｉ３８）；ならびにヒト乳腺癌細胞（ＭＣＦ７）及び不死化乳腺上皮細胞（ＭＣＦ１０Ａ）を含む、同じ組織起源の腫瘍と非形質転換プロトタイプ「正常」細胞のいくつかの対を用いた。使用した全ての形質転換細胞及び非形質転換細胞は、ｉｎ　ｖｉｖｏの正常細胞とは対照的に、特定レベルの両方のＦＡＣＴサブユニットをｉｎ　ｖｉｔｒｏで発現する（図４Ａ～４Ｅ及び７Ａ～７Ｈを比較）。

【０１９６】

ＦＡＣＴサブユニットまたは対照としてのＧＦＰに対するｓｈＲＮＡを用いて形質導入したこれらの細胞の成長を、コロニー形成アッセイを使用して（上皮細胞の場合）、または細胞の総量を測定することによって（コロニーを形成しない線維芽細胞様細胞の場合）評価した。両方のＦＡＣＴサブユニットの発現の抑制は、使用したいずれのｓｈＲＮＡによる影響も受けなかった正常線維芽細胞を除く全ての細胞の成長の抑制をもたらした（図７Ａ～Ｃ）。成長の抑制またはコロニー形成は、他の非形質転換細胞の場合よりも腫瘍細胞の場合において有意に強力であった（図７Ａ～Ｃ）。ｓｈＲＮＡ形質導入及びピューロマイシン選択を生き延びた細胞中のＦＡＣＴサブユニットレベルの分析は、３つの細胞対のうち２つ（腎臓及び線維芽細胞）において、ＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６のＫＤが腫瘍細胞において非常に弱かったが、非形質転換細胞対において抑制が大きかったことを示した（図７Ｄ及び７Ｅ）。理論に拘束されることを望むものではないが、このデータは、ＦＡＣＴの非効率的なＫＤを有する細胞のみが腫瘍細胞から増殖することができる一方で、非腫瘍細胞はＦＡＣＴの抑制時に成長することができることを示唆している。

【０１９７】

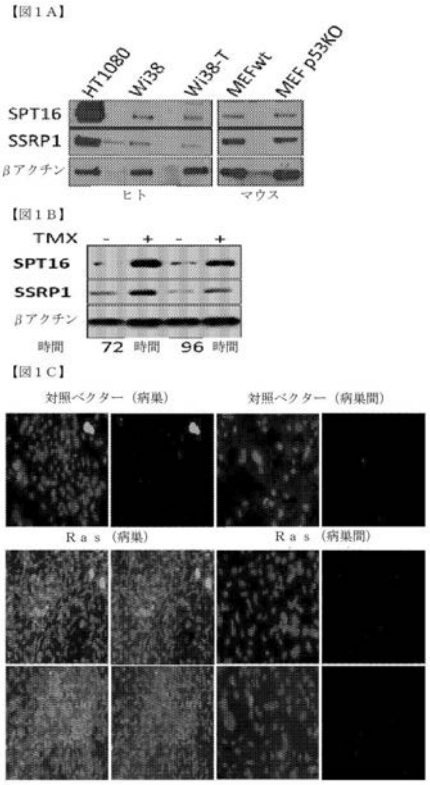
このことは、腫瘍細胞ＭＣＦ７／ＭＣＦ１０Ａ中のＳＳＲＰ１及びＳＰＴ１６の最大ＫＤを有する細胞対を使用して、ｓｈＲＮＡ形質導入後の異なる時点でＦＡＣＴサブユニットのレベル及び細胞の成長を測定することによって調べた。ＦＡＣＴのＫＤの場合、対照ｓｈＧＦＰ細胞と比較して、ピューロマイシン選択の最後にＭＣＦ１０Ａ及びＭＣＦ７細胞はあまり認められなかったが、再播種後に、ピューロマイシン耐性ＭＣＦ１０Ａが、ＦＡＣＴサブユニットのレベルに関係なく成長し、ＭＣＦ７の場合、低レベルのＦＡＣＴサブユニットを有する細胞及び対照ｓｈＧＦＰ細胞の成長における差は、観察の８日間まで持続したことが観察された。回復レベルのＦＡＣＴを有するＭＣＦ７細胞のみが、ｓｈＧＦＰ細胞と同様に成長し始めた。さらに、ＭＣＦ１０Ａ細胞が観察期間中ＦＡＣＴサブユニットレベルの差を維持したのに対し、ＭＣＦ７細胞では、この差は継代によって減少した。したがって、このことは、低レベルのＦＡＣＴを有する非腫瘍細胞が対照細胞と同様に成長したのに対し、腫瘍細胞は成長しなかったことを示した。換言すると、この実験は、ＦＡＣＴのＫＤ時に腫瘍細胞（ＭＣＦ７）を増殖させることができないことを示した。これらの細胞は、成長しないか、またはＫＤが非効率的であるもののみが成長を始めるかのいずれかであり、ＦＡＣＴレベルが迅速に回復される。反対に、非腫瘍細胞（ＭＣＦ１０Ａ）は、低レベルのＦＡＣＴを用いて増殖させることができ、これらの細胞は、ＦＡＣＴのレベルが低い状態のままで成長させることができる。

【０１９８】

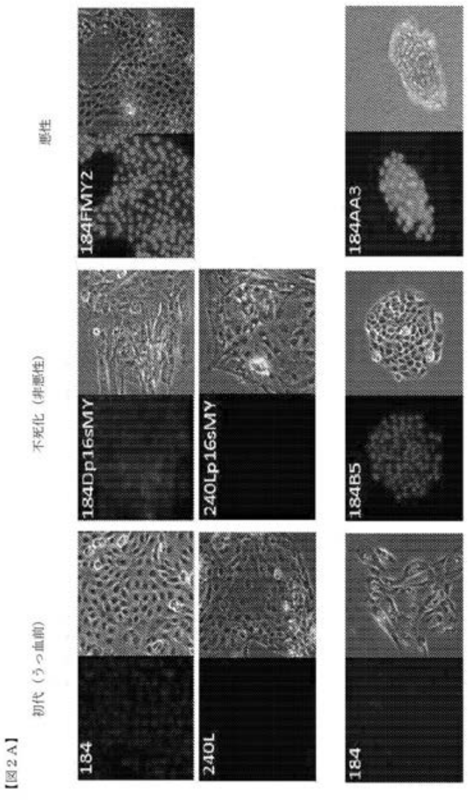
理論に拘束されることを望むものではないが、腫瘍細胞の成長がなぜＦＡＣＴのＫＤによって影響を受けるのかの潜在的説明を探究した。ＳＳＲＰ１レベルが低い細胞の割合は、ｓｈＳＳＲＰ１の培養において時間とともに減少する（図７Ｇ）。ＦＡＣＴレベルが低い腫瘍細胞は、複製が少ない複製を有し（図７Ｈ）、Ｇ１に蓄積し（図７Ｇ）、さらには、そのうちのいくつかは死滅する（図７Ｇ及び図７Ｉ）。このデータは、複製におけるＦＡＣＴの役割を指示する。しかしながら、細胞が複製中にのみ必要とする因子を欠く場合に予想されるＳ期停止の非存在は、細胞中にＧ１の成長停止を引き起こす特定のシグナル伝達が存在し得ること、及び／または、複製とは異なるプロセス（すなわち、転写）にお

けるＦＡＣＴの機能も腫瘍細胞にとって不可欠であり得ることを示唆するものであった。
実施例５：癌幹細胞のマーカーとしてのＦＡＣＴサブユニット
【０１９９】
　ＦＡＣＴサブユニットの検出が、癌幹細胞の同定において有用であることを示した。表面癌幹細胞マーカー（ＣＤ４４^{High}／ＣＤ２４^{Low}）を発現するｉｎ　ｖｉｔｒｏで形質転換したヒト乳房上皮細胞（ＨＭＥＣ）において、Ｓｐｔ１６及びＳＳＲＰ１の両方のＦＡＣＴサブユニットがより赤いレベルで発現されることが分かった。示される遺伝的構築物で形質転換したＨＭＥＣの抽出物のウェスタンブロットを図８Ａに示す。全ての構築物の形質導入時に形質転換された細胞の変異体を、表面ＣＤ４４及びＣＤ２４に結合した抗体の検出に基づいてフローサイトメトリーを用いて選別した。ＦＡＣＴのＳＳＲＰ１サブユニットの最高レベルは、膵臓癌幹細胞表面マーカーの最高レベルの発現を有する細胞において観察された。膵臓ＣＳＣ（ＣＤ４４＋／ＣＤ２４＋／ＣＤ３２６＋）及びＦＡＣＴのＳＳＲＰ１サブユニット上に存在する表面マーカーに対する抗体で共染色された膵管腺癌細胞ＰＡＮＣ１及びＭＩＡ　ＰａＣａのフローサイトメトリー分析を図８Ｂに示す。
【０２００】
均等物
　当業者は、本明細書に具体的に記載される特定の実施形態に対する多くの均等物を認識するか、または単なる日常的実験を用いて確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲の範囲に包含されることが企図される。
【０２０１】
参照による組み込み
　本明細書において言及される全ての特許及び刊行物は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

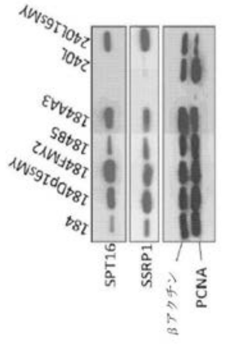
【図１】



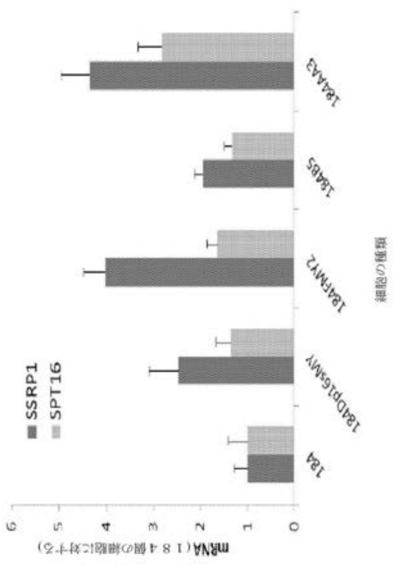
【図２Ａ】



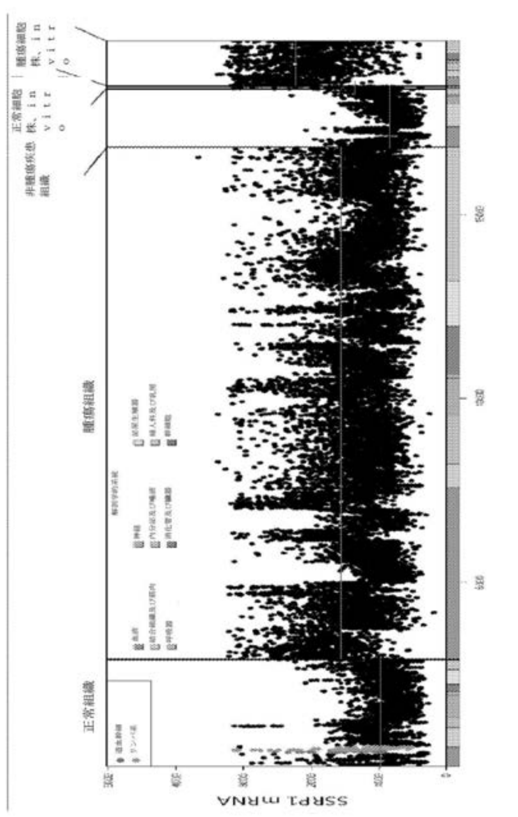
【図２Ｂ】



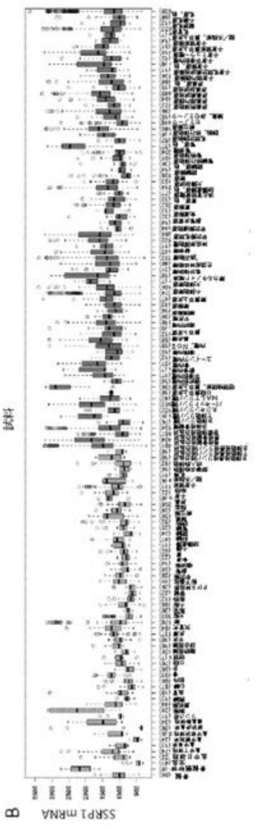
【図２Ｃ】



【図３Ａ】

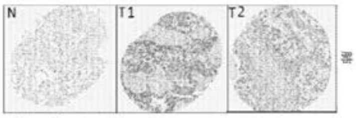


【図３Ｂ】

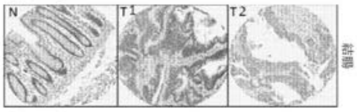


【図４－１】

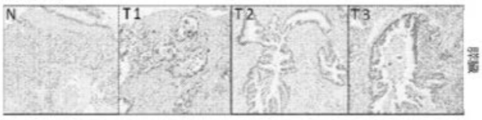
【図4A】



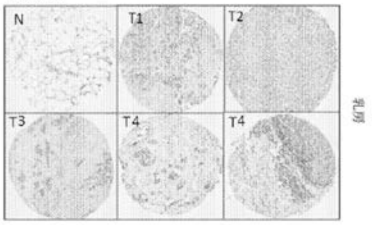
【図4B】



【図4C】

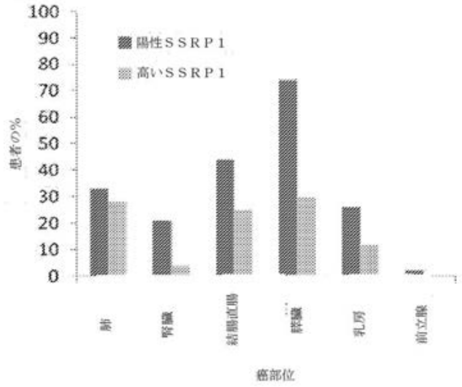


【図4D】



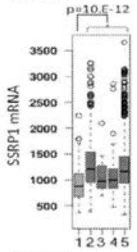
【図４－２】

【図4E】

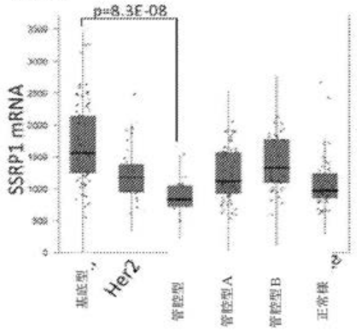


【図５－１】

【図5A】

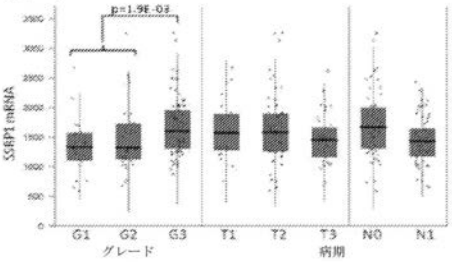


【図5B】

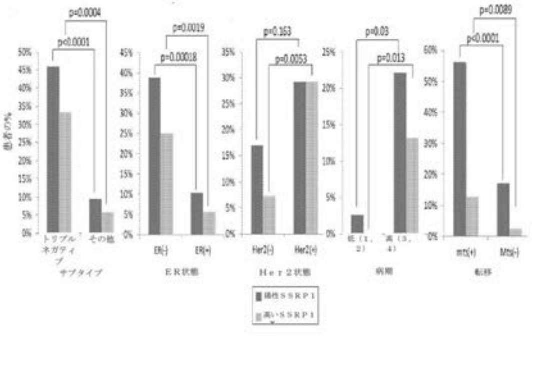


【図５－２】

【図5C】

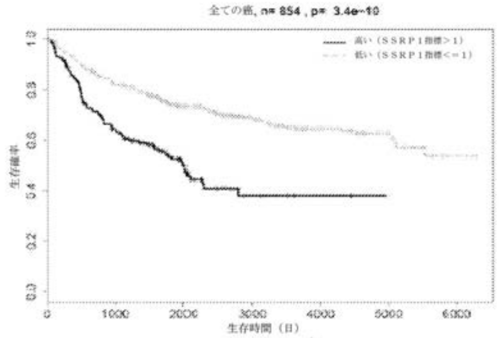


【図5D】

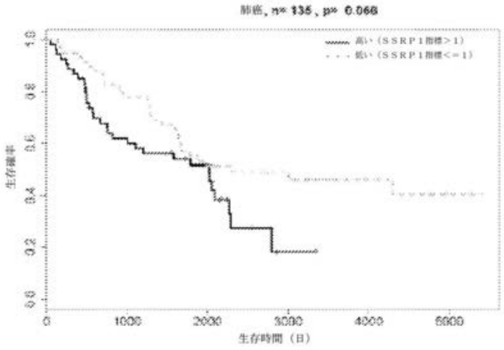


【図６－１】

【図６Ａ】

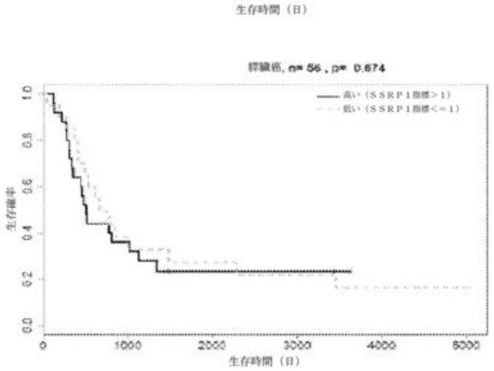


【図６Ｂ】

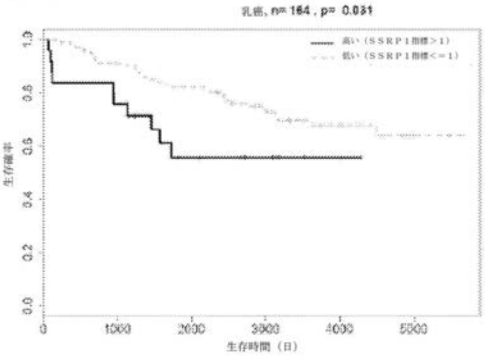


【図６－２】

【図６Ｃ】

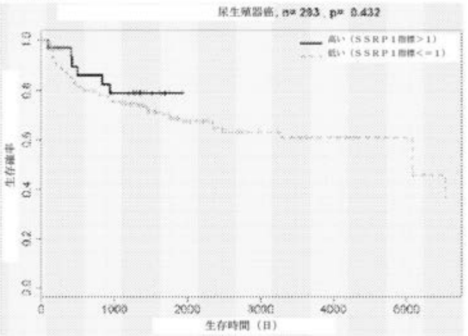


【図６Ｄ】

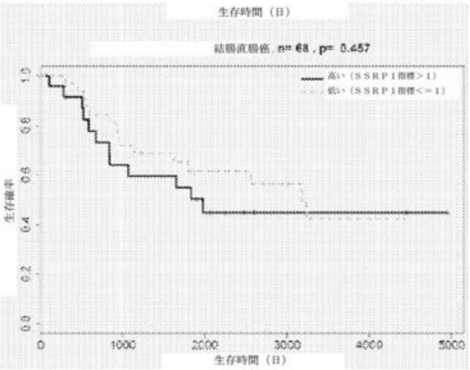


【図６－３】

【図６Ｅ】

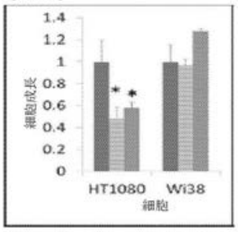


【図６Ｆ】

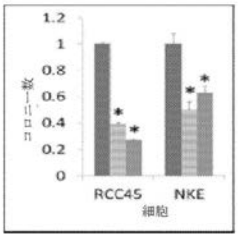


【図７－１】

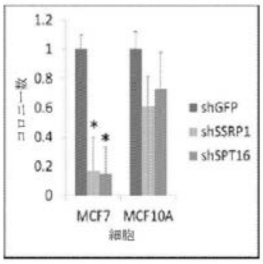
【図７Ａ】



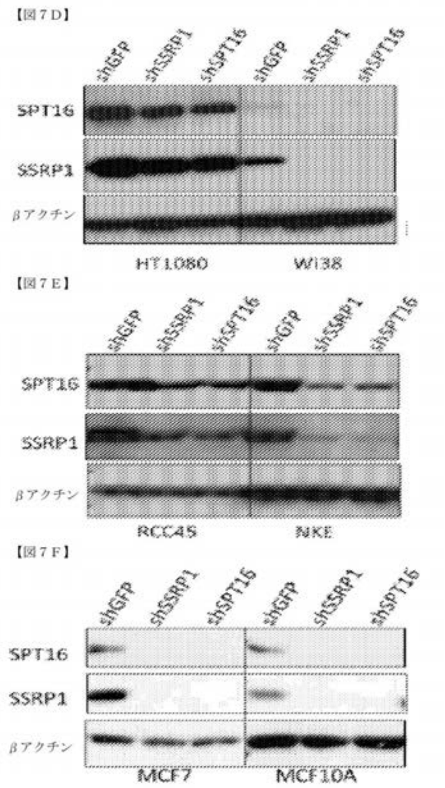
【図７Ｂ】



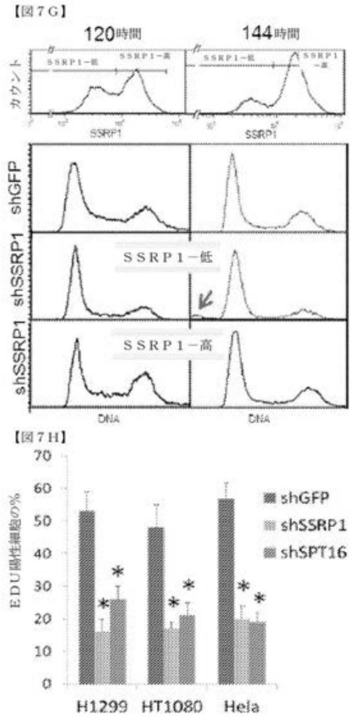
【図７Ｃ】



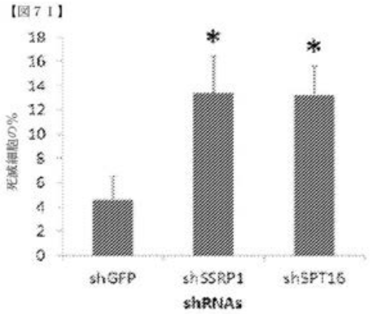
【図７－２】



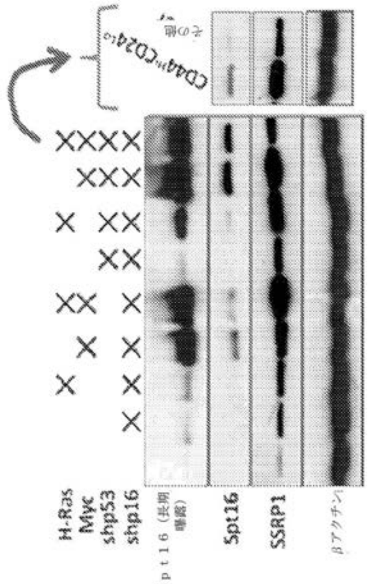
【図７－３】



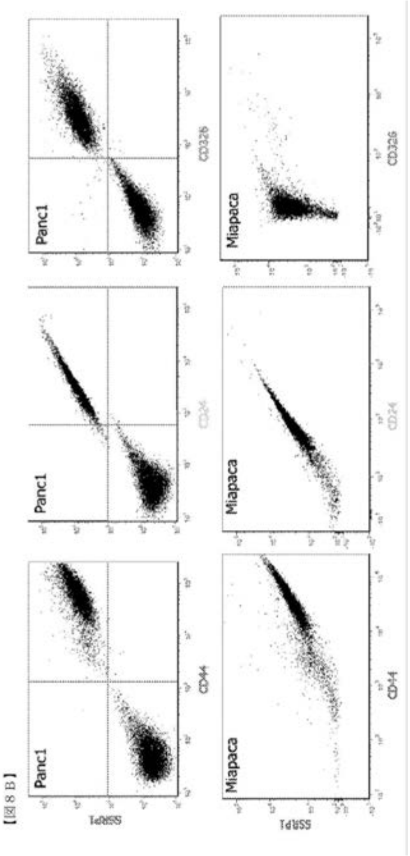
【図７－４】



【図８Ａ】



【図８Ｂ】



【図９－１】

【表1B】

癌部位	癌型	臨床的カテゴリー		SSRP1 染色 陽性（>1全て、腎臓>0）	p値	高い（>4）	p値	試料の数
乳房	腺癌	病期	初期（1～2）	44%	0.0580	11%	0.1300	133
			後期（3～4）	26%		33%		27
		グレード	低（1～2）	**3%**	**0.0030**	**0%**	**0.0129**	**39**
			高（3～4）	**22%**		**13%**		**122**
		ＥＲ状態	陰性	**39%**	**0.0002**	**25%**	**0.0190**	**36**
			陽性	**10%**		**6%**		**126**
		ＰＲ状態	陰性	19%	0.4030	13%	0.2129	77
			陽性	14%		7%		85
		Ｈｅｒ２状態	陰性	17%	0.1650	**7%**	**0.0053**	124
			陽性	29%		**29%**		24
		「トリプルネガティブ」	無	**9%**	**<0.0001**	**6%**	**0.0004**	**139**
			有	**46%**		**23%**		**24**
		転移状態	無	**17%**	**<0.0001**	2%	0.0890	**46**
			有	**56%**		13%		**118**
肺	腺癌	全て		44%		19%		75
		病期	初期（1～2）	43%	該当なし	58%	該当なし	74
			後期（3～4）	100%		100%		1
		グレード	低（1～2）	46%	0.6452	14%	0.2466	43
			高（3～4）	41%		25%		32
		グレード（病期2のみ）	低（1～2）	8%	0.0515	**0%**	**0.0237**	14
			高（3～4）	50%		**40%**		10
	扁平上皮細胞癌	全て		51%		23%		43
		病期	病期1	54%	1.0000	25%	1.0000	24
			病期2	50%		22%		18
		グレード	低（1～2）	48%	0.5359	14%	0.2772	21
			高（3～4）	62%		33%		21
	大細胞癌	全て		64%		25%		16

24454
PCT/US2014/015854

【図９－２】

癌部位	癌型	臨床的カテゴリー		SSRP1 染色 陽性（>1全て、腎臓>0）	p値	高い（>4）	p値	試料の数
		病期	初期（1～2）	64%	該当なし	19%	該当なし	14
			後期（3）	0%		0%		1
		グレード	高（3～4）	63%		25%		16
腎臓	腎明細胞癌	全て		9%		2%		234
		病期	初期（1～2）	19%	0.1001	4%	0.1798	139
			後期（3～4）	9%		0%		63
		グレード	低（1～2）	13%	0.4000	3%	1.0000	126
			高（3～4）	9%		2%		91
	乳頭状ＲＣＣ	全て		27%		7%		15
		病期	初期（1～2）	33%	1.0000	8%	1.0000	11
			後期（3～4）	66%		0%		4
		グレード	低（1～2）	**11%**	**0.0230**	1%	1.0000	**9**
			高（3～4）	**80%**		0%		**6**
	嫌色素性ＲＣＣ	全て		10%		0%		10
	肉腫様ＲＣＣ	全て		22%		11%		9
	全てのＲＣＣ	転移状態	無	**19%**	**0.0325**	3%	0.4000	**182**
			有	**34%**		6%		**50**
結腸	結腸癌	病期	初期（1～2）	33%	0.7419	17%	1.0000	12
			後期（3～4）	44%		14%		43
		グレード	中	36%	0.0724	**10%**	**0.0330**	50
			高	64%		**36%**		14
		転移状態	無	54%	0.5587	19%	1.0000	37
			有	41%		18%		17
膵臓	膵癌	病期	初期（1～2）	74%	0.3799	38%	0.6620	8
			後期（3～4）	100%		25%		44
		グレード	中	64%	0.7793	36%	0.2230	25
			高	57%		19%		26
		転移状態	無	77%	0.3723	29%	0.7328	17
			有	54%		22%		37

O 2014/124454
PCT/US2014/015854

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT PCT/US2014/015854 13.05.2014

International application No. PCT/US14/15854

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - G01N 33/574, 33/567 (2014.01)
USPC - 435/4, 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)
IPC(8): G01N 33/574, 33/567 (2014.01)
USPC: 435/7.23, 7.21, 7.2, 7.1, 4

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
MicroPatent (US-G, US-A, EP-A, EP-B, WO, JP-bib, DE-C,B, DE-A, DE-T, DE-U, GB-A, FR-A); Google Scholar; Pubmed; ScienceDirect; 'SSRP1,' 'SPT16,' 'Katerina Gurova,' cancer, 'stem cell,' 'FACT complex,' 'facilitates chromatin transcription complex'

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2011/0183336 A1 (GRAY, J et al.) July 28, 2011. paragraphs [0004], [0015]-[0018], [0059], [0067], [0176], [0177]	1, 2, 3/1, 3/2, 4/1, 4/2, 5/1, 5/2, 6/1, 6/2, 7/1, 7/2, 8/7/1, 8/7/2, 10/1, 10/2, 11/1, 11/2, 21-23, 24/21-24/23 — 18, 19, 20/18, 20/19,
Y	BELOTSERKOVSKAYA, R et al. FACT Facilitates Transcription-Dependent Nucleosome Alteration. Science. 22 August 2003, Vol. 301, No. 5636; pages 1090-1093. page 1090, left column, third paragraph to middle column, first paragraph.	1, 2, 3/1, 3/2, 4/1, 4/2, 5/1, 5/2, 6/1, 6/2, 7/1, 7/2, 8/7/1, 8/7/2, 10/1, 10/2, 11/1, 11/2, 18, 19, 20/18, 20/19, 21-23, 24/21-24/23
Y	GARCIA, H et al. Expression Of FACT In Mammalian Tissues Suggests Its Role In Maintaining Of Undifferentated State Of Cells. Oncotarget. 13 October 2011; Vol. 2, No. 10; pages 783-796; page 10, figure 5; page 10, right column, fifth paragraph to page 11, left column, first paragraph.	18, 19, 20/18, 20/19
P, Y	GARCIA, H et al. Facilitates Chromatin Transctiption Complex Is A 'Accelerator' Of Tumor Transformation And Potential Marker And Target Of Aggressive Cancers. Cell Reports. 11 July 2013; Vol. 4, No. 1; pages 159-73. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.06.013.	1, 2, 3/1, 3/2, 4/1, 4/2, 5/1, 5/2, 6/1, 6/2, 7/1, 7/2, 8/7/1, 8/7/2, 10/1, 10/2, 11/1, 11/2, 18, 19, 20/18, 20/19, 21-23, 24/21-24/23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
23 April 2014 (23.04.2014)	13 MAY 2014

Name and mailing address of the ISA/US	Authorized officer:
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT PCT/US~~2014/015854 13.05.2014~~

International application No.
PCT/US14/15854

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.: 9, 12-17, 25-38
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:

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.:

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.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			ＦＩ			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	***43/00***	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	
Ｇ０１Ｎ	***33/48***	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/48	Ｐ	
Ｇ０１Ｎ	***33/53***	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｄ	
Ｇ０１Ｎ	***33/543***	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｙ	
Ｃ０７Ｋ	*16/18*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/574	Ａ	
Ｃ１２Ｎ	*15/09*	*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/543	５０１Ａ	
			Ｃ０７Ｋ	16/18		
			Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	

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

(72)発明者 グロワ，　カテリーナ
アメリカ合衆国　ニューヨーク　１４１２７，　オーチャード　パーク，　グレイストーン　レーン　６１

Ｆターム(参考) 2G045 AA24 AA26 BA13 BA14 BB22 BB24 CA23 CB01 CB02 CB26
DA14 DA36 FA16 FA19 FA25 FA29 FA37 FB01 FB02 FB03
FB12 FB15 GC15 JA01 JA03 JA06
4B024 AA12 CA04 CA12 CA20 GA27 HA12
4B063 QA01 QA07 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ08 QQ43 QQ53 QQ79
QR08 QR32 QR48 QR51 QR55 QR62 QR66 QS14 QS25 QS33
QS34 QS39 QX02
4C084 AA17 NA14 ZB261 ZC021 ZC781
4H045 AA11 AA30 DA76

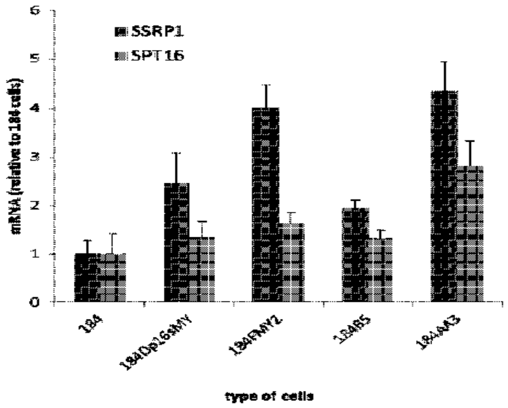
patsnap

专利名称(译)	染色质转录促进因子（FACT）在癌症中的应用
公开(公告)号	JP2016514248A
公开(公告)日	2016-05-19
申请号	JP2015557203
申请日	2014-02-11
[标]申请(专利权)人(译)	INCURON
申请(专利权)人(译)	Inkuron LLC
[标]发明人	グロワカテリーナ
发明人	グロワ, カテリーナ
IPC分类号	G01N33/574 C12Q1/68 C12Q1/06 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/543 C07K16/18 C12N15/09
CPC分类号	G01N33/57496 A61P35/00 A61P43/00 G01N2333/4703 G01N2333/47
FI分类号	G01N33/574.D C12Q1/68.A C12Q1/06 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00.111 G01N33/48.P G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/574.A G01N33/543.501.A C07K16/18 C12N15/00.A
F-TERM分类号	2G045/AA24 2G045/AA26 2G045/BA13 2G045/BA14 2G045/BB22 2G045/BB24 2G045/CA23 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/CB26 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FA16 2G045/FA19 2G045/FA25 2G045/FA29 2G045/FA37 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB12 2G045/FB15 2G045/GC15 2G045/JA01 2G045/JA03 2G045/JA06 4B024/AA12 4B024/CA04 4B024/CA12 4B024/CA20 4B024/GA27 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA07 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR51 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QS14 4B063/QS25 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZB261 4C084/ZC021 4C084/ZC781 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA76
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作
优先权	61/763266 2013-02-11 US 61/883802 2013-09-27 US
其他公开文献	JP6576249B2 JP2016514248A5
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明尤其涉及测量用于评估肿瘤的染色质反式激活因子复合物（FACT）的至少一种组分，包括例如确定肿瘤的恶性肿瘤和指导治疗。 。在一个方面，评估肿瘤，包括确定在人受试者的肿瘤样本中表达染色质反式激活因子复合物（FACT）的至少一种成分的恶性细胞的相对水平或由其培养的细胞。提供。 点域2C

C



SSRP1
SPT16
mRNA (relative to 184 cells)
6
5
4
3
2
1
0
184
184Dp16sMY
184FMY2
184B5
184AA3
type of cells

FIG. 2C