

(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2010-510784
(P2010-510784A)

(43) 公表日 平成22年4月8日(2010.4.8)

| | | |
|-----------------------------------|---------------|-------------|
| (51) Int. Cl. | F I | テーマコード (参考) |
| C 1 2 Q 1/48 (2006.01) | C 1 2 Q 1/48 | 4 B 0 5 0 |
| C 0 7 K 16/40 (2006.01) | C 0 7 K 16/40 | 4 B 0 6 3 |
| G 0 1 N 33/53 (2006.01) | G 0 1 N 33/53 | 4 C 0 8 4 |
| A 6 1 K 45/00 (2006.01) | A 6 1 K 45/00 | 4 H 0 4 5 |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01) | A 6 1 P 35/00 | |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 33 頁) 最終頁に続く | | |

(21) 出願番号 特願2009-538639 (P2009-538639)
 (86) (22) 出願日 平成19年11月28日 (2007.11.28)
 (85) 翻訳文提出日 平成21年7月28日 (2009.7.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2007/010335
 (87) 国際公開番号 W02008/064884
 (87) 国際公開日 平成20年6月5日 (2008.6.5)
 (31) 優先権主張番号 06024658.4
 (32) 優先日 平成18年11月28日 (2006.11.28)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)
 (31) 優先権主張番号 60/861,243
 (32) 優先日 平成18年11月28日 (2006.11.28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509125903
 ユースリー ファーマ ゲゼルシャフト
 ミット ベシュレンクテル ハフツング
 U 3 P h a r m a G m b H
 ドイツ連邦共和国 マーティンスリート
 ブンゼンシュトラッセ 1
 B u n s e n s t r a s s e 1, D -
 8 2 1 5 2 M a r t i n s r i e d ,
 G e r m a n y
 (74) 代理人 100061815
 弁理士 矢野 敏雄
 (74) 代理人 100094798
 弁理士 山崎 利臣
 (74) 代理人 100099483
 弁理士 久野 琢也

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 治療効力を予測するためのマーカーとしての活性化HER3

(57) 【要約】

本発明は、疾患処置について患者を選択するために、受容体型チロシンキナーゼ（例えばリン酸化HER3）の活性化レベルの決定方法を提供する。提供する方法は、また、活性物質の生物学的および薬力学的な効果および/または疾患の処置でその有効性を評価する方法であり、検査被験者に由来する組織試料（例えば、皮膚もしくは毛包等の腫瘍材料または正常な組織）を利用する。さらに、HER受容体関連疾患の処置のための方法を開示する。

| | T47D (breast) | HT-144 (melanoma) | A375p (melanoma) | Bx-PC3 (prostate) | HT-29 (colon) | CaLu-3 (NSCLC) | ZR-75-1 (breast) |
|---------------------|------------------|----------------------|---------------------|----------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| pHER3 | Yes | No | No | Yes | Yes | Yes | Yes/No |
| In vivo Efficacy | Yes | No | No | Yes | Yes | Yes | No |

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

HER モジュレーターによる処置に対する疾患の反応性を同定する方法であって、
 (a) 前記疾患のリスクがあるまたは前記疾患を有する被験者から少なくとも一つの試料を採取することと、
 (b) 前記試料で少なくとも 1 種類の HER 受容体の発現および / または活性を検査することと、
 (c) 少なくとも 1 種類の HER 受容体の発現および / または活性が検出される場合、疾患を反応性と同定することと、
 を含む方法。

10

【請求項 2】

前記疾患が過剰増殖疾患である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記過剰増殖疾患が腫瘍疾患または乾癬である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記腫瘍疾患が NSCLC、乳房腫瘍、結腸腫瘍、胃腫瘍、メラノーマ、膵臓腫瘍、または前立腺癌からなる群から選択される、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 HER 受容体が HER 1、HER 2、HER 3、もしくは HER 4、またはそれらの組み合わせである、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 6】

前記 HER 受容体が HER 3 である、請求項 1 から 5 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

HER 受容体活性の検出が HER 受容体リン酸化レベルの決定を含む、請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

リン酸化部位特異的抗体が使用される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記リン酸化部位特異的抗体が HER 受容体においてリン酸化チロシン残基を認識する抗体である、請求項 8 に記載の方法。

30

【請求項 10】

前記リン酸化部位特異的抗体が HER 3 タンパク質において前記リン酸化チロシン残基 Y 1 2 8 9 または Y 1 2 2 2 のうちの少なくとも一つに対するものである、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記リン酸化部位特異的抗体がリン酸化部位特異的 HER 3 抗体 2 1 D 3 または 5 0 C 2 である、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記工程 (b) が免疫組織化学的アッセイ、フローサイトメトリー、ELISA、またはウエスタンブロットを含む、請求項 1 から 11 までのいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 13】

前記試料が組織試料である、請求項 1 から 12 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記組織試料が新鮮な、凍結した、および / または保存した器官もしくは組織試料もしくは生検もしくは吸引物由来の固体組織からなる群から選択される、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記被験者が哺乳類である、請求項 1 から 14 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

50

前記哺乳類がヒトである、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

HER モジュレーターの治療効力を決定する方法であって、

- (a) 被験者を少なくとも 1 種類の HER モジュレーターに曝すことと、
 - (b) 前記被験者から少なくとも一つの試料を採取することと、
 - (c) 前記試料中の少なくとも 1 種類の HER 受容体の活性化レベルを検出することと、
- を含み、少なくとも 1 種類の HER モジュレーターへの曝露の非存在と比較すると、前記医薬組成物の曝露の結果として少なくとも 1 種類の HER 受容体の活性化レベルに差が観察される方法。

【請求項 18】

10

前記 HER モジュレーターが少なくとも 1 種類の HER 受容体に対して向けられる抑制剤である、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 HER 受容体が HER 1、HER 2、HER 3、もしくは HER 4、またはそれらの組み合わせである、請求項 17 から 18 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記 HER 受容体が HER 3 である、請求項 17 から 19 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

HER 受容体の活性の前記検出が前記 HER 受容体リン酸化レベルを評価することによって達成される、請求項 17 から 20 までのいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 22】

リン酸化部位特異的抗体が使用される、請求項 17 から 21 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

前記リン酸化部位特異的抗体が HER 受容体においてリン酸化チロシン残基を認識する抗体である、請求項 17 から 22 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記リン酸化部位特異的抗体が前記 HER 3 タンパク質において前記リン酸化チロシン残基 Y 1 2 8 9 または Y 1 2 2 2 のうちの少なくとも一つに対するものである、請求項 22 または 23 に記載の方法。

30

【請求項 25】

前記リン酸化部位特異的抗体がリン酸化部位特異的 HER 3 抗体 2 1 D 3 または 5 0 C 2 のうちの少なくとも一つである、請求項 22 から 24 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記工程 (c) が免疫組織化学的アッセイ、フローサイトメトリー、ELISA、またはウエスタンブロットを含む、請求項 17 から 25 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記試料が組織試料である、請求項 17 から 26 までのいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 28】

前記試料が正常な組織試料 (例えば毛包試料) である、請求項 17 から 27 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

前記被験者が哺乳類、特にヒトである、請求項 17 から 28 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

活性化 HER 受容体、特に活性化 HER 3 受容体を検出する抗体。

【請求項 31】

前記抗体が HER 3 のチロシン残基 Y 1 0 5 4、Y 1 1 9 7、Y 1 1 9 9、Y 1 2 2 2

50

、 Y 1 2 2 4、 Y 1 2 6 0、 Y 1 2 6 2、 Y 1 2 7 6、 Y 1 2 8 9、 および Y 1 3 2 8 のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合する、請求項 3 0 に記載の抗体。

【請求項 3 2】

HER モジュレーターによる処置に対する疾患の反応性を同定するための、請求項 3 0 または 3 1 に記載の抗体の使用。

【請求項 3 3】

活性化 HER ファミリーメンバーの活性化レベルを評価するためのキットであって、

(a) HER 受容体タンパク質の発現を検出する抗体と、

(b) HER 受容体メンバーの活性化を検出する抗体と、

を含むキット。

10

【請求項 3 4】

前記抗体 (a) および (b) が HER 3 受容体に対するものである、請求項 3 3 に記載のキット。

【請求項 3 5】

HER 受容体発現、過剰発現、および / または活性に付随する疾患の処置のための薬物の製造のための HER モジュレーター、特に HER 3 モジュレーターの使用。

【請求項 3 6】

前記 HER 受容体発現、過剰発現、および / または活性が HER モジュレーターの投与の前に決定される、請求項 3 5 に記載の使用。

【請求項 3 7】

前記疾患の前記反応性が前記処置の過程において検査される、請求項 3 5 または 3 6 に記載の使用。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、疾患の処置について患者を選択するために、受容体型チロシンキナーゼ (例えばリン酸化 HER 3) の活性化レベルの決定方法を提供する。また、被験者由来の組織試料 (例えば、腫瘍材料または皮膚もしくは毛包等の正常な組織) を利用する、疾患処置における活性物質の生物学的効果および薬力学的効果ならびに / またはその効力の評価方法を提供する。さらに、HER 受容体関連疾患の処置方法を開示する。

30

【0002】

ヒト上皮細胞増殖因子受容体 3 (HER 3、E r b B 3 としても公知である) は、受容体型チロシンキナーゼであり、受容体型チロシンキナーゼの上皮細胞増殖因子受容体 (E G F R) サブファミリーに属している。受容体型チロシンキナーゼには、HER 1 (E G R F としても公知である)、HER 2、および HER 4 が含まれる (P l o w m a n e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U . S . A . 8 7 (1 9 9 0) , 4 9 0 5 - 4 9 0 9 ; K r a u s e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U . S . A . 8 6 (1 9 8 9) , 9 1 9 3 - 9 1 9 7 ; および K r a u s e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U . S . A . 9 0 (1 9 9 3) , 2 9 0 0 - 2 9 0 4) 。

40

【0003】

HER 3 は、いくつかの型の癌 (例えば乳癌、胃腸癌、および膵癌) で過剰発現することが判明している。興味深いことに、HER 2 / HER 3 の発現と、非侵襲性段階から侵襲性段階への進行との相互関係が示されている (A l i m a n d i e t a l . , O n c o g e n e 1 0 , 1 8 1 3 - 1 8 2 1 ; d e F a z i o e t a l . , C a n c e r 8 7 , 4 8 7 - 4 9 8 ; N a i d u e t a l . , B r . J . C a n c e r 7 8 , 1 3 8 5 - 1 3 9 0) 。

【0004】

これらのデータは、癌発生における HER 3 の役割を指摘し、および癌と、HER 3 を介するハイパーシグナルおよび / またはシグナル経路を誘導するそのヘテロ二量体パート

50

ナーによって特徴づけられる他の悪性腫瘍との治療のためのHER3特異的標的治療の大きな可能性を示す(Reviewed in Citri and Yarden, Nat Reviews Mol Cell Biol, 2006(7), 505-516; Shawver et al, Cancer Cell, 2002(1), 117-123; Yarden and Sliwkowski, Nat Reviews Mol Cell Biol, 2001(2), 127-137)。

【0005】

HER3関連疾患を処置することができる薬剤および方法は、以前に記述されている。例えば、国際特許公開第03/013602号に記述される坑HER3抗体は、促進的な受容体内部移行を誘導し、腫瘍細胞の増殖および遊走を減少させることが報告されている。米国特許第5,968,511号(国際特許公開第97/135885号に対応)では、HER3抗体は、リガンドが誘導するHER2/HER3ヘテロ二量体の形成を減少させることがわかった。国際特許公開第00/078347号は、細胞増殖を停止するまたは抑制する方法を開示し、その方法は、例えば、坑HER2抗体(例えばHerceptin)と、坑HER3抗体(例えばNeomarkersから購入された抗体105.5)との組み合わせを投与することによって、HER2/HER3ヘテロ二量体の形成を阻止するまたは減少させることを含む。

10

【0006】

癌を含む多数の病態において制御されないシグナル伝達の増大する影響に基づく、医用/医薬品の薬剤開発の原則の目的は、疾患の処置のための個々の治療または標的治療の開発である。そのような特定の治療は、例えば、治療抗体、小分子抑制剤、核酸干渉法、および個々に選択されたまたは適量に分けられた医薬組成物の投与を含み得る。

20

【0007】

これらのいわゆる標的特異的治療の多くは、主に単一の標的に影響する。従って、現代の薬剤開発において標的特異的治療に反応する患者を同定することが重大な意味を持つ。

【0008】

極めて顕著な例は、受容体型チロシンキナーゼHER2に対するものである治療抗体Herceptinである。この特定の抗体は、乳癌(対応するタンパク質の過剰発現を引き起こしている症例の約20%がHER2遺伝子の増幅と付随している腫瘍徴候)の処置用に認可されている。抗体治療から益する20%の患者と、抗体治療から益を受けない80%の患者とを識別するために、診断アッセイ、すなわちHercepTestが開発された。

30

【0009】

しかし、HercepTestを含むそのようなアッセイは、標的タンパク質の量を検出するだけであり、細胞シグナルの調節解除およびそれに続く悪性腫瘍を実際に引き起こすのはそのタンパク質の活性であることが多い。例えばHerceptinが単一の薬剤として使用されるとき、HercepTestは、症例の約30%でうまくいく患者の応答を予測するだけである(Leyland-Jones, Lancet Oncol (2002) Mar; 3(3): 137-44)。たとえ処置される患者のすべてがHER2を過剰発現させていると判断されとしても、この低予測率は注目され、この型の診断アッセイの著しい限界および治療に対する反応性のより良いバイオマーカーを同定する必要性を示している。

40

【0010】

薬物開発の間の重大な意味を持つ別の工程は、治療薬の投与量の選択である。通常、従来の非標的薬物の場合、最大投与可能量の想定が用いられる。しかし、この同じ原則は、標的治療に対して適用されず、代わりに最適な生物学的投与量が好まれる。実際に、投与されるべき最適な投与量の定義は、薬力学的または動態学的なパラメータおよび標的分子に関する有効性の決定によって規定され得る(Albanell et al., 2002, J. Clin. Oncol. 20, 110-124)。従って、薬力学的パラメータ(例えば、十分な濃度で作用部位への送達を可能にする化合物の十分な溶解

50

性および安定性、化合物が効果的な薬理作用のある物質である機会がないほどあまりにも急速に身体から除去されないような代謝的安定性、または化合物が所望の血漿/血清濃度に達することを可能にする薬力学)を決定するための強固な検査系を有することが望ましい。

【0011】

標的薬物の開発、承認、および用途の成功は、処置の前および処置の間に、薬物が標的にする特定のタンパク質の活性化状態を決定する開発者または臨床医の能力に、その大部分を依存することが多い。薬力学的相互関係の別の態様は、所与の治療効力および所望(処置)の効果および望ましくない(有害事象)効果に対する用量反応である。所与の新規薬物(-組み合わせ)のリスク便益比を慎重に評価することにより、容認できる投与および治療介入の完了の成功につながる。処置の完了後の潜在的な耐性マーカーについての評価は、さらなる治療に関する決定に影響する薬力学的効果の最終態様である。

10

【0012】

しかし臨床ルーチンでは、治療薬についての生物学的効果および薬力学的効果を評価するのは難しい。通常、薬力学的効果は、物質または基質の詳細な造影および放射性標識(例えばPET、CT)を介して測定されることができ、およびその読み取りは観察される副作用および臨床的有効性と比較されたためのものである。多くの治療学(標的治療学を含む)の場合、生物学的有効性に対するいわゆる代替マーカー(PDマーカー)は、規定されており、治療中、観察される。しかし、これらのマーカーは、正常な細胞および/または癌性細胞についての治療の直接的な生物学的効果を示さないため、外部(標的的特異的でない)経路を介してオフターゲット効果および活性化/非活性化を受けやすいこともある。これらのマーカーの例は、CA125、KI67、PTEN、およびHCGである。望ましいマーカーは、経路特異的であり、治療(標的)介入は、患者内のおよび/または患者間の可変性なしで、容易に利用でき、分析可能である。

20

【0013】

特定の場合では、皮膚における上皮細胞増殖因子(EGF)の機能的役割および発現、ならびにその同族受容体(EGFR)は、抗EGFR治療の薬理的副作用(例えば皮膚発疹、脱毛)と関連がある(Lacouture et al. (2006), Nat. Rev. Cancer 6, 803-812)。特に、代替マーカー組織として成熟した皮膚のケラチノサイト由来の試料を用いることで、例えばEGFR抑制剤(ZD1839)による腫瘍患者の処置を、免疫組織化学方法(Albanell et al., 2002、上掲)によってEGFRチロシンリン酸化の抑制を分析することでモニタリングすることができる。

30

【0014】

それでもやはり、薬力学的および動態学的なパラメータの決定のために現在適用される方法は、あまり役に立たない。従来の方法は、個々の治療に対して広義でありすぎることが多いのに対して、他の方法(例えばEGFRの検出)は、標的に限定される。

【0015】

従って、本発明の根底にある技術的課題は、迅速で定量的で再現性があり、かつ安価なアッセイを提供することであった。それは、現在の臨床検査計測手段と適合し、HER受容体の活性化および/または発現のレベルの決定に適している。

40

【0016】

上記の課題の解決は、特許請求の範囲に特徴づけられる実施態様を提供することによって達成される。

【0017】

本発明により、HERモジュレーターに対する、または少なくとも1種類のHERモジュレーターとさらなる薬剤との組み合わせに対する疾患の感受性または反応性の決定方法を提供する。例えば、HER3モジュレーターによる抑制への腫瘍細胞増殖の感受性がHER3受容体活性化(例えばリン酸化)と関連があるとの驚くべき発見に基づき、方法および手順がHERモジュレーターによる処置に対する被験者の反応性を予測するために考

50

案されている。

【0018】

本明細書の実施例で提示する結果は、*in vitro*で増殖する腫瘍細胞（例えばBxPC3（膵臓癌）、A431（上皮癌）、またはA549（肺癌））がHER3を発現させ、基低HER3リン酸化を示すことを実証する。さらなる実験は、検査した腫瘍細胞系の大部分でこれらの最初の発見を確認した。興味深いことに、HER3抑制剤で処置した腫瘍異種移植モデルの検査が示したのは、HER3発現を有する腫瘍細胞系に起因するそれらの腫瘍および増加した基低HER3リン酸化（例えばT47D（乳癌）、BxPC3（膵臓癌）、HT29（結腸癌）、およびCaLu-3（NSCLC））がHER3受容体を標的にする治療プロトコルに特に応答することであった。データは、HER受容体活性化（例えばリン酸化）がHERモジュレーターに対する疾患の反応性のレベルを予め定義する一般の生物学的スイッチであり得ることを示す。従って、HER3等のHER受容体の活性化は、HERモジュレーターによる処置に対して特に感受性がある障害を示している。

10

【0019】

従って、本発明の第1の態様は、疾患のリスクがあるまたは疾患を有する被験者から少なくとも一つの試料を採取することによって、HERモジュレーターによる処置に前述の疾患が反応性であるかどうかを決定することと、細胞アッセイで少なくとも1種類のHER受容体の発現および/または活性を検査することと、および少なくとも1種類のHER受容体の発現および/または活性が検出される場合、疾患が反応性であると同定することとのための方法に関する。

20

【0020】

用語「HER受容体」は、HER1タンパク質（例えばヒトHER1/EGRF（受入番号Swiss Prot P00533））、HER2タンパク質（例えばヒトHER2（受入番号Swiss Prot P04626））、HER3タンパク質（例えばヒトHER3（受入番号Swiss Prot P21860））、またはHER4タンパク質（受入番号Swiss Prot Q155503）を意味することを目的としている。好ましくは、HER受容体は、HER3タンパク質であり、より好ましくは、ヒトHER3タンパク質である。

【0021】

別の好ましい態様では、本発明は、HER1、HER2、HER3、またはHER4の群から選択されるHER受容体に影響を及ぼすモジュレーターの使用に関する。特に、HER3活性に影響を及ぼすモジュレーター（例えばヒトHER3）が好ましい。

30

【0022】

用語「HERモジュレーター」は、核酸レベルまたはタンパク質レベルのいずれかで作用して、HER受容体活性化を直接的または間接的に調節する化合物または薬物を意味することを目的としている。直接的または間接的な調節は、HER受容体活性もしくはHER受容体シグナル伝達経路の活性化または抑制を含む。好ましくは、調節は抑制が含まれる。

【0023】

HER受容体活性のモジュレーターは、転写または遺伝子それ自体のいずれかの核酸レベルで作用することがある。遺伝子レベルで前述のモジュレーターは、例えば遺伝子破壊によって、部分的または完全な遺伝子不活性化を引き起こし得る。転写を減少させることまたは抑制することは、例えばアンチセンス分子（例えばDNAもしくはRNA分子もしくはRNA類似体、リボザイム、RNA干渉（siRNA）もしくはマイクロRNAが可能な小分子二本鎖RNA）のエフェクター核酸の適用を含み得る。さらに、前駆体RNA、siRNAの分子、または後者をコードするDNA分子が適することもある。

40

【0024】

エフェクター分子は、細胞に直接的に導入されても、または適切な核酸鋳型からの転写によって細胞内で生成されてもよい。エフェクター核酸の生成および使用は、文献で広範

50

に考察され、当業者にとって周知でありかつ利用可能である。

【0025】

別の実施形態では、HERモジュレーターは、HER受容体媒介シグナル伝達を少なくとも部分的に抑制することによってタンパク質レベルで作用し得る。例えば、モジュレーターは、リガントが誘導するHER受容体の活性を遮断することも可能である。リガントとは、HER受容体に結合し、および/またはHER受容体を活性化するポリペプチドを意味する。リガントの好ましい例は、以下の群、

AMP R (アンフィレギュリン) NM001657

BTC (ベータセルリン) NM001729

DTR (ジフテリア毒素受容体 (ヘパリン結合上皮細胞増殖因子様増殖因子)) NM001945

EGF (上皮GF、 - ウロガストロン) NM001963

EREG (エピレギュリン) NM001432.1

NRG1 (ニューレグリン1) NM013957

NRG2 (ニューレグリン2) NM013982

NRG3 (ニューレグリン3) AL096706

NRG4 (ニューレグリン4) NM138573

TGFA (トランスフォーミング増殖因子、) NM003236

から選択される。

【0026】

特に好ましいのは、ニューレグリン1遺伝子によってコードされるニューレグリン1アイソフォームである。

【0027】

従って、そのようなモジュレーターは、HER受容体のリガンド結合部位またはその一部を占有することによって作用することもあり、それによって、その正常な生物活性が阻止されるまたは減少するように、受容体がその天然リガントに近づきにくくする。この実施態様では、受容体に結合できるがシグナル伝達を誘導できないリガント変異タンパク質、またはリガントに対するものである抗体は、HERモジュレーターの例である。抗体の適切な型を、以下に詳細に考察する。

【0028】

別の態様では、モジュレーターは、HER受容体オリゴマー (例えば、ヘテロオリゴマーまたはホモオリゴマー) のリガンド依存的形成または非依存的形成を妨げる。本明細書でのHER受容体ヘテロオリゴマーは、少なくとも2つの異なるHER受容体を含む、非共有結合オリゴマーである。HER受容体ホモオリゴマーは、同一のHER受容体を少なくとも2つ含む、非共有結合オリゴマーである。そのようなHERオリゴマーの例としては、HER1/HER1、HER1/HER2、HER1/HER3、HER1/HER4、HER2/HER2、HER2/HER3、HER2/HER4、HER3/HER4、HER4/HER4が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、好ましいヘテロオリゴマーは、異なるHER受容体 (例えばHER1、HER3、またはHER4) と組み合わせた一つ、二つ、またはそれ以上のHER2受容体を含むこともある。他のタンパク質 (例えばサイトカイン受容体サブユニット (例えばgp130))、または他の受容体型チロシンキナーゼ (例えばIGF-1R) も、ヘテロオリゴマーに含まれることもある。

【0029】

HER受容体媒介シグナル伝達の減少は、膜からの下方制御および/または細胞表面からHER分子の少なくとも部分的消滅をもたらすHER受容体の分解によって、または実質的に不活性形 (すなわち、非安定形と比較すると低シグナル伝達を示す形) で細胞表面上のHER分子の安定化によってさらに引き起こされ得る。

【0030】

あるいは、HER媒介シグナル伝達の減少は、シグナル伝達分子の結合 (例えばPI3

10

20

30

40

50

K、Shc、もしくはGrb7のHER3への結合、GRB2のHER2への結合、GRB2のSHCへの結合)に影響を及ぼすこと(例えば、低下させるまたは抑制する)によって、またはAKTリン酸化、PYK2チロシンリン酸化、またはERK2リン酸化を抑制することによっても引き起こされ得る。負の制御因子(例えばPTPまたはプロテアーゼ)も、影響され得る。

【0031】

別の態様では、HERモジュレーターは、HER受容体に対するものである抗体またはそのフラグメントであってもよい。抗体は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体ならびに組換え抗体(例えば一本鎖抗体またはそのフラグメント)であってもよい。それは、少なくとも一つの抗原結合部位、抗体フラグメント(例えばFab、Fab₂、もしくはF(ab)₂フラグメント)、または組換えフラグメント(例えばscFvフラグメント)、およびヒト化抗体もしくはヒト抗体を含有する。治療目的で、特にそれを必要とする候補者の処置のために、キメラ抗体、ヒト化抗体、もしくはヒト抗体の適用が特に好ましい。

10

【0032】

本発明の好ましい実施形態では、抗HER3抗体は、抗体105.5(Chen et al, JBC 1996, 271(3)7620-9)、SGP-1(Rajkumar et al, The Breast 1995, 484-91)、H390.6(Chen et al, JBC 1996, 271(3)7620-9)、1B4C3および2D1D12(国際出願PCT/EP02/08938号)、またはUS60/755,022号に開示されるヒト抗HER3抗体のうちの一つからなる群から選択される。抗HER2抗体は、トラスツマブ、ペルツマブ、Herceptin-ゲルダナマイシン、213-bi-Herceptin-抱合体、Herceptin-DM1からなる群から選択され、および抗HER1抗体は、パニツムマブ、セツキシマブ、マツマブ、Erbbitux-パクリタキセル抱合体、Erbbitux-MMC(マイトマイシンC)、およびLA22-MMCからなる群から選択される。

20

【0033】

本発明の方法に関してモジュレーターの別の例は、HERファミリーメンバーに結合する抗体様結合活性を有する足場タンパク質である。本発明の脈絡の中で、本明細書で用いるように用語「足場タンパク質」は、そこでアミノ酸の挿入、置換、または欠失が高度に容認できる露出した表面積を有するポリペプチドまたはタンパク質を意味する。本発明に従って用いることができる足場タンパク質の例は、黄色ブドウ球菌由来のタンパク質A、オオモンシロチョウ由来のビリン結合タンパク質もしくは他のリポカリン、アンキリンリピートタンパク質、およびヒトフィブロネクチン(Binz and Plueckthun, (2005) Curr Opin Biotechnol, 16, 459-69に概説される)がある。足場タンパク質のエンジニアリングは、安定に折り畳まれたタンパク質の構造骨組上にまたは骨組内に親和性機能を移植するまたは組み込むことが考えられ得る。親和性機能とは、本発明によるタンパク質結合親和性を意味する。足場は、結合特異性を与えるアミノ酸配列から構造的に分離可能である。通常、そのような人工的親和性試薬の開発に適していると思われるタンパク質は、合理的な(すなわち最も一般的な)コンビナトリアルタンパク質エンジニアリング技法(例えば、HERファミリーメンバー、精製タンパク質もしくは細胞表面に示されるタンパク質のいずれかに対するパニング、in vitroで示される人工足場ライブラリーの結合剤のための当技術分野で公知の技術)によって得られることが可能である(Binz and Plueckthun, 2005, 上掲)。さらに、抗体様結合活性を有する足場タンパク質は、足場ドメインを含有するアクセプターポリペプチドに由来することが可能である。これは、アクセプターポリペプチドを含有する足場ドメイン上にドナーポリペプチドの結合特異性を与えるために、ドナーポリペプチドの結合ドメインと接ぎ合わせることができる。挿入は、当業者に周知の種々の方法(例えばポリペプチド合成、コードするアミノ酸の核酸合成を含む)によって、ならびに当業者に周知の組換え方法の種々の形態によって達成できる。

30

40

50

【0034】

タンパク質レベルでHER活性を減少させるまたは抑制することは、低分子量抑制剤の適用によっても達成され得る。低分子量抑制剤の例としては、有機化合物、有機金属化合物、有機および有機金属化合物の塩類、糖類、アミノ酸、およびヌクレオチドが挙げられ得る。低分子量抑制剤としては、それらの分子量が好ましくは600を超えない、より好ましくは450を超えない以外にその他の点では生物分子と考えられる分子が、さらに挙げられる。従って、低分子量抑制剤は、また、脂質、オリゴ糖類、オリゴペプチド、およびオリゴヌクレオチドならびにそれらの誘導体であってもよい。これらの分子は、典型的に、600を超えない分子量を有するため、単に低分子量抑制剤と称される。この用語は、特定の分子量に限定されると解釈してはならない。低分子量抑制剤には、天然化合物ならびに合成化合物が含まれる。

10

【0035】

一実施態様では、HERモジュレーターは、細胞増殖を抑制する低分子量抑制剤である。別の実施態様では、HERモジュレーターは、HER媒介シグナル伝達を少なくとも部分的に抑制する低分子量抑制剤である。HER受容体に向けられる種々の低分子量抑制剤は、記述されている。例えば、本発明の一実施態様では、低分子量抑制剤は、ゲフィチニブ、エルロチニブ、ラパチニブ、BIW2992、AV412を含む群のうちの一つである。別の実施態様では、低分子量抑制剤は、間接的HERモジュレーター（例えばカハラリドF (Janmaat et al, 2005)）またはエストロゲン受容体抑制剤（例えばタモキシフェン）からなる群に属する。

20

【0036】

本発明は、また、HERモジュレーターの組み合わせ（例えば、同一の受容体（例えばHER3）に対して向けられるHERモジュレーター、または異なるHER受容体間（例えばHER3およびHER1、HER3およびHER2、ならびにHER3およびHER4）に対して向けられるHERモジュレーター）を包含する。例えば、抗体の組み合わせを用いてもよい。

【0037】

本発明は、さらに、HER受容体の少なくとも1種類のモジュレーターおよび/または以下に詳細に記述するさらなる薬剤の投与に対する障害の反応性を決定する方法に関する。

30

【0038】

有効成分（例えばHERモジュレーター）は、通常、医薬組成物として投与される。医薬組成物は、固形、液体、またはガス状であり得、とりわけ、粉末、錠剤、溶液、またはエアロゾルの形状であってもよい。前述の組成物は、少なくとも1種類（例えば、2種類、3種類、4種類、または5種類）の活性化合物を含むこともある。

【0039】

医薬組成物は、以下に述べるような疾患の処置に有用である。好ましい実施態様では、前述の疾患は、過剰増殖疾患、炎症疾患、または神経変性疾患である。過剰増殖疾患は、以下、HER受容体発現、過剰発現および/または活性化に付随する乾癬、または乳房、肺、結腸、腎臓、リンパ腫、皮膚、卵巣、前立腺、膵臓、食道、食道、胃、膀胱、子宮頸部、肝臓、甲状腺の癌、軟部組織肉腫、メラノーマ、または他の過剰形成疾患または腫瘍性疾患を含み得るがこれらに限定されない。

40

【0040】

上記に示したように、医薬組成物は、さらに少なくとも1種類の活性薬剤を含み得る。本発明によって用いることのできる付加的な活性薬剤の例は、抗体、または他の受容体タンパク質キナーゼ（例えばIGF-1R）、またはc-Met、受容体リガンド（例えば血管内皮増殖因子（VEGF））、細胞傷害性薬物もしくは抗癌性腫瘍薬（例えばドキソルビシン）、白金化合物（例えばシスプラチンもしくはカルボプラチン）、サイトカイン、アンチセンス分子、アプタマー、またはsiRNA分子からなる低分子量抑制剤がある。現在、数多くの抗癌性腫瘍薬が当技術分野で公知である。細胞傷害性薬物または抗癌性

50

腫瘍薬は、抗体または免疫調節タンパク質を含むがこれらに限定されない治療用タンパク質の群から選択される場合もあれば、有糸分裂抑制剤、キナーゼ抑制剤、アルキル化剤、代謝拮抗薬、インターカレート抗生物質、成長因子抑制剤、細胞周期抑制剤、酵素、トポイソメラーゼ抑制剤、ヒストン脱アセチル化酵素抑制剤、坑生存剤、生物学的応答調節物質、坑ホルモン剤（例えば坑アンドロゲン剤）、および血管新生抑制剤からなる小分子抑制剤または化学療法薬の群から選択される場合もある。坑悪性腫瘍薬が放射線照射であるとき、処置は、内部線源（近接照射療法（B T））または外部線源（外照射療法（E B R T））のいずれかによって達成されることができる。

【0041】

本発明で用いるとき、用語「疾患」は、医療から恩恵を受ける、または異常なHER受容体発現、活性化および/またはシグナル伝達に付随するいかなる状態を意味する。これは、問題になっている疾患の候補者を病気にさせるそれらの病的状態を含む慢性疾患および急性疾患または疾患を含む。本発明に従って処置すべき好ましい疾患は、過剰増殖疾患である。上述のように過剰増殖疾患は、いかなる腫瘍症（すなわち、組織のいかなる異常および/または無制御の新規増殖）を含む。本明細書で用いるように用語「組織の無制御の新規増殖」は、機能不全および/または成長調節の損失に依存し得る。過剰増殖疾患としては、さらに、腫瘍疾患および/または癌（例えば転移性癌または浸潤性癌）が挙げられる。本発明の方法についての特に好ましい実施態様では、前述の過剰増殖疾患は、脳、中枢神経系、軟部組織肉腫、血液悪性腫瘍、口腔、頭部および頸部、乳房、肺、結腸、胃、腎臓、リンパ腫、皮膚、卵巣、前立腺、膵臓、食道、膀胱、子宮頸部、肝臓、甲状腺癌、メラノーマ、原因不明の癌、またはHER受容体発現、過剰発現、および/または活性化（例えば過剰リン酸化）に付随する他の過剰形成疾患もしくは腫瘍性疾患におけるものがある。

【0042】

HER受容体の発現または過剰発現に付随する疾患は、それらの細胞表面上にHER受容体タンパク質および/またはHER受容体に結合しているリガンドを含む細胞による疾患である。例えば、HERファミリーメンバーを「発現する」疾患は、同一組織型の正常な細胞と比較すると、その細胞表面に著しく高いレベルのHER受容体（例えばHER3）を有するものである。そのような発現は、遺伝子増幅、または転写もしくは翻訳の増加に起因することもある。HER受容体発現は、診断アッセイまたは予後アッセイで、細胞表面上に存在するHERタンパク質のレベルを評価する（例えば免疫組織化学（IHC）を介して）ことによって決定され得る。あるいは（もしくはそのうえ）、細胞中のHERをコードする核酸のレベルは、例えば蛍光インサイツハイブルダイゼーション法（FISH、1998年10月公開の国際特許公開第98/45479号を参照されたい）、Southernプロット法、またはポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法（例えばリアルタイム定量PCR（RT-PCR））を介して測定することができる。HERリガンドの発現は、種々の診断アッセイ（例えばDNAアレイ、ノーザンプロット法、FISH、Southernプロット法、PCR、または上述のアッセイに基づくタンパク質）によって患者におけるリガンド（もしくはそれをコードする核酸）のレベルを評価することによって診断的に決定され得る。さらに、本発明を実行するときに、種々のN末端HER3アイソフォームまたは脱落した受容体ドメインの血清濃度の存在を評価することも可能である。

【0043】

上記のアッセイを除いて、熟練した開業医にとって種々の他のアッセイが利用できる。例えば、患者の体内の細胞を、検出可能な標識（例えば放射性同位元素）で任意に標識されている抗体に曝すことが可能である。次いで、患者内でその抗体の細胞への結合は、例えば放射活性を外部スキニングによって、または前回その抗体に曝された患者から採取した生検を分析することによって評価されることができる。

【0044】

本発明のさらなる態様では、疾患がHER活性化に付随することもある。HERファミリーメンバーの活性化は、通常、HERオリゴマーの形成、それに続く内因性受容体キナ

ーゼ活性の活性化、細胞内二次メッセンジャー分子の受容体への結合および/またはHER受容体および/または二次メッセンジャー分子の調節(例えばチロシンリン酸化)を含み得る。それによって特定の生物学的応答(例えば細胞増殖、細胞遊走、もしくは坑アポトーシスとして)をもたらす。

【0045】

本発明の別の態様は、HERモジュレーターへのHER受容体媒介シグナル伝達に付随する疾患または状態の感受性を、任意にさらなる薬剤との組み合わせで、決定するおよび/または予測する方法に関する。該方法は、試料のHER受容体の発現および/または活性を検出することによってその試料を分析することを含む。好ましくは、該方法は、HER3受容体の発現および/または活性を検出することを含む。より好ましくは、該方法は、活性(例えばHER3受容体のリン酸化の程度)を検出することを含む。

10

【0046】

例えば、本発明により、該方法を用いて、細胞内のHER受容体の検出、上述のように疾患を患う被験者におけるHER受容体濃度の決定、または被験者の前述の疾患の病期分類を行い得る。検査中の被験者における疾患の進行を病期分類するために、または治療過程に対する被験者の応答を特徴づけるために、試料中に存在するHER受容体の量、および/またはその活性化レベルを、被験者から採取した組織試料で決定する。そのように同定された量は、診断された被験者の種々の集団で同定された進行の段階または治療の段階と関連し、それによって検査中の被験者の疾患病期の決定を提供する。疾患組織内に存在するHER受容体の量および/または活性は、HER受容体および/または他のシグナル伝達抗体を用いて、免疫組織化学、ELISA、またはリン酸化部位特異的抗体を含む抗体アレイによって評価され得る。他の適切な方法としては、ビーズに基づく技術(例えばLuminoxビーズアッセイ)およびプロテオミクスアプローチ(2Dゲル、MS解析等)が挙げられ得る。可能性のあるホスファターゼ抑制剤の錠剤の場合、方法論的な必要条件(例えばホスファターゼ抑制剤(オルトバナジン酸、Suramine、 H_2O_2 、または特異的抑制剤))による細胞製剤は、リン酸化特異的抗原/エピトープの定量化の一部として予測され得る。

20

【0047】

診断目的および本発明の部分を形成し得る他のパラメータは、オリゴマー形成状態ならびにHER受容体のオリゴマー形成のパートナーである。それらのパラメータを決定するタンパク質分析方法は、当技術分野では周知であり、特にウエスタンブロットおよび免疫沈降技術、FACS解析、化学架橋、生物発光共鳴エネルギー移動(BRET)、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)(例えばPrice et al, Methods in Molecular Biology, 218:255-268(2002)、またはeTag技術(国際特許公開第05/03707号、国際特許公開第04/091384号、国際特許公開第04/011900号))がある。

30

【0048】

キナーゼ活性は、ともに免疫沈降した抗体による細胞可溶化物中のキナーゼを捕獲することによって測定されることができ、次いで ^{32}P -TPの存在下でキナーゼ活性反応にかけられる。キナーゼ活性反応中のキナーゼの活性は、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)、およびオートラジオグラフィーによって分析される。あるいは、*in vitro*キナーゼアッセイは、非放射性検出方法(例えばCSTキナーゼアッセイ)を用いて行われることができ、またはHER受容体(例えばHER3)のための基質として役立つ合成ペプチドは、HERキナーゼ活性を推定するためにアレイ上にスポットされることができる。

40

【0049】

本発明の別の態様では、HER受容体の活性化レベルは、HER受容体媒介シグナル伝達に参与する二次メッセンジャー分子の活性化状態と関連する。従って、本発明の一実施態様は、HERモジュレーターによる処置に対する疾患の反応性を同定する方法に言及し、該方法は、前述の疾患のリスクがあるまたは疾患を有する被験者から少なくとも一つの

50

試料を採取することと、細胞アッセイにおいてHER受容体媒介シグナル伝達に關与する少なくとも1種類の分子の発現および/または活性を調べることに、HER受容体媒介シグナル伝達に關与する少なくとも1種類の分子の発現および/または活性が検出される場合、疾患が反応性であると同定することによる。好ましくは、任意に他のHER受容体との組み合わせで、HER3の発現および/または活性が調べられる。

【0050】

「シグナル経路」または「シグナル伝達」は、一連の分子現象をいい、通常、細胞表面受容体と細胞外リガンドとの相互作用で、または細胞内分子が細胞表面受容体（例えばHER受容体）のリン酸化部位に結合することで開始される。それにより細胞の核内で遺伝子発現の調節をもたらす一連の分子相互作用が誘発される。用語「細胞内分子」、「二次メッセンジャー分子」、「HER受容体媒介シグナル伝達に關与する分子」、または「HER受容体の基質」を、本明細書では互換的に用い、Citri and Yarden, Nat Reviews Mol Cell Biol, 2006(7), 505-516; Shawver et al, Cancer Cell, 2002(1), 117-123; Yarden and Sliwkowski, Nat Reviews Mol Cell Biol, 2001(2), 127-137に概説される例に關して、HER媒介シグナル経路に關与する分子をいう。HER受容体媒介シグナル経路の一部であり得る代表的な分子としては、PI3Kタンパク質、AKTタンパク質、Grb2タンパク質、Grb7タンパク質、Shcタンパク質、Gab-1タンパク質、Sosタンパク質、Srcタンパク質、Cb1タンパク質、PLCyタンパク質、Shp2タンパク質、GAPタンパク質、Vavタンパク質、Nckタンパク質、およびCrkタンパク質が挙げられるがこれらに限定されない。

10

20

【0051】

本発明の好ましい実施態様では、様々なHER受容体またはそれらの基質のうちの一つのリン酸化状態は、その受容体の発現および活性化の測定によって評価できる。当技術分野で周知のように、HER受容体のリン酸化は、その受容体が活性化されており、かつ下流シグナルを伝達する機構であることを示す。

【0052】

HER受容体中の一つ以上のチロシン残基または一つ以上のその基質のリン酸化は、種々のチロシンリン酸化アッセイを用いて分析できる。例えば、様々なHER受容体またはそれらの基質は、HER受容体およびそれらの基質を発現する細胞の可溶化液由来の特定の抗体とともに免疫沈降させることが可能であり、次いでホスホチロシンモノクローナル抗体（任意に検出可能な標識との抱合体である）を用いて、チロシンリン酸化活性をアッセイさせる。好ましい実施態様では、様々なHER受容体およびそれらの基質のチロシンリン酸化は、リン酸化部位特異的抗体を用いることで検出される。特定の実施態様では、前述のリン酸化部位特異的抗体は、リン酸化部位特異的HER3抗体21D3(Y1289, Cell Signaling Technology, USA)および50C2(Y1222, Cell Signaling Technology, USA)ならびに本明細書で網羅される所与のタンパク質においてすべて関連するホスホチロシンを有するpEGFR、pHER2、pHER4、pIGF-1R、pAkt、pErk、pBad、pp70-S6K、pGSK、p-src、pPyk2を含む群から選択される。

30

40

【0053】

通常、用語「リン酸化部位特異的抗体」は、HER受容体内および/またはHER媒介シグナル伝達に關連する二次メッセンジャー分子内のリン酸化エピトープに結合するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のいずれかを表すことを意図されている。例えば、リン酸化エピトープは、少なくとも一つのリン酸化セリン残基を含み得る。本発明の好ましい態様では、リン酸化エピトープは少なくとも一つのリン酸化チロシン残基を含み得る。本発明の特に好ましい実施態様では、リン酸化チロシン残基は、HER3タンパク質内のY1054、Y1197、Y1199、Y1222、Y1224、Y1260、Y

50

1262、Y1276、Y1289、およびY1328 (Kraus et al, PNAS 1989 (86) 9193-9197) による番号付け) からなる群から選択される。この用語は、また、リン酸化部位特異的組換え抗体 (例えば少なくとも一つの抗原結合部位を含有する一本鎖抗体もしくはそのフラグメント)、抗体フラグメント (例えば Fab、Fab₂、もしくは F(ab)₂ のフラグメント) または組換えフラグメント (例えば scFv フラグメント)、ならびに HER 受容体内のリン酸化エピトープおよび / または HER 媒介シグナル伝達に関連する分子に対するものであるヒト化抗体もしくはヒト抗体を包含する。

【0054】

リン酸化部位特異的ポリクローナル抗体は、当技術分野で周知の方法によって得られ得る。例えば、抗体を産生することが知られている任意の動物を、リン酸化 HER 受容体ポリペプチドで免疫することができる。血清を含有する抗体は、免疫した動物から分離されて、例えば ELISA もしくは FACS の方法を用いて、所望の特異性を有する抗体の存在を求めてスクリーニングする。

10

【0055】

ハイブリドーマ方法によって生成されるモノクローナル抗体の生成方法は、最初に Kohler et al., Nature, 256:495 (1975) に記述されている。モノクローナル抗体は、組換え DNA 方法 (例えば米国特許第 4,816,567 号を参照されたい) によっても生成されることが可能であり、または例えば、Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991) および Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991) に記述される技術を用いて、ファージ抗体ライブラリーから分離され得る。

20

【0056】

抗体のヒト化型は、当技術分野で公知の方法 (例えばキメラ化または CDR 移植法) によって生成され得る。本発明は、また、上述のモノクローナル抗体またはその結合フラグメントを産生するハイブリドーマまたは組換え細胞系に関する。

【0057】

承認されている動物モデルまたはヒトの臨床試験において無処置またはプラセボでの処置と比較すると、処置に应答する疾患は、HER モジュレーター処置に应答して統計的に有意な改善を示す。用語「処置する」または「処置」は、治療的処置および予防対策もしくは再発防止の両方をいい、その目的は望ましくない生理学的変化または障害 (例えば過剰増殖疾患 (例えば癌) の発生) を抑制するまたは衰えさせる (減少させる) ことである。本発明の目的のために、有益なまたは所望の臨床結果は、検出可能かそれとも検出不可能にせよ、症状の軽減、疾患の程度、の減弱、疾患状態の安定化 (すなわち悪化しない)、疾患の進行の遅延または遅くすること、疾患状態の改善もしくは一時的緩和、および寛解 (部分的かそれとも完全によせ) 挙げられるが、これらに限定されない。「処置」は、処置を受けない場合、予想される生存と比較すると、生存を延ばすことも意味する。処置を必要とする被験者は、その状態もしくは障害をすでに有する被験者、ならびにその状態もしくは障害を起こしやすい被験者、またはその状態もしくは障害を予防すべき被験者が挙げられる。

30

40

【0058】

本発明は、それを必要とする被験者を処置する方法を提供し、該方法は、前述の被験者における HER 受容体の発現および / または活性化を決定することと、HER 受容体の発現および / または活性化が決定された被験者に、治療有効量の HER モジュレーターおよび任意に少なくとも 1 種類のさらなる HER 薬剤を投与することを含む。好ましくは、HER 受容体の活性化が決定される。より好ましくは、HER 受容体は HER3 である。

【0059】

HER モジュレーターの型、処置されるべき状態の型および重症度に依存して、約 0.01 ~ 10000 mg の HER モジュレーターがそれを必要とする患者に、例えば単回投与もしくは複数回に分けた投与によって、または持続注入によって投与され得る。典型的

50

な1日投与量は、上述した諸因子に応じて、約0.001mg/kgから約1000mg/kgまたはそれ以上にわたることもある。処置すべき状態に応じて、数日またはそれ以上にわたる反復投与の場合、疾患症状の所望の抑制が現れるまで処置が持続される。

【0060】

投与される少なくとも1種類の抗悪性腫瘍薬の用量は、種々の因子に依存する。例えば、これらの因子は、薬剤の性質、腫瘍型、または投与経路である。本発明はいかなる用量にも限定されないことを強調されるべきである。

【0061】

さらに、本発明は、HERモジュレーターまたはHERモジュレーターおよび/もしくは少なくとも1種類のさらなる薬剤を含む医薬組成物の治療効力を評価する、付加的な方法および手順を提供する。

10

【0062】

HER受容体および/または関連する二次メッセンジャー分子の活性化レベルを定量化するために、HER受容体および/またはHER受容体媒介シグナル経路を標的にするモジュレーターの薬力学に関する決定は、病変組織（例えば腫瘍組織）の試料のリン酸化部位特異的抗体による免疫組織化学的染色を含み得る。

【0063】

意外にも、関連する薬学的パラメータ（例えばHER3受容体の活性化レベル）は、一次試料（すなわち、非病変の正常な組織の試料）でも決定されることが判明した。これは、現在の臨床検査室の計測手段に適合する、迅速で定量的、再現可能で、かつ安価なアッセイの確立を可能にする。一次ヒト組織において、特にその活性化の形でHER3の存在は、例えば免疫組織化学によって決定できる。

20

【0064】

その結果を本明細書で以下の実施例に提示する。それらは、ヒト腫瘍細胞がHER3を発現することを示す。意外にも、極めて強力なHER3発現および/または活性も、毛包で検出された。完全なHER3の発現が主に細胞質に位置していたのに対して、リン酸化（すなわち、活性化HER3）は、ほとんどもっぱら細胞表面膜に結合していた。

【0065】

この発見は、そのような組織内で活性化（例えばリン酸化）HER3の存在は、被験者に投与されるとき、HERモジュレーターの有効性の簡単かつ迅速な決定のために用いられ得ることを支持した。例えば、HER3受容体活性化の少なくとも部分的減少は、前述のモジュレーターの治療有効量を示す。逆に、HER3モジュレーターによる処置後、HER3受容体の活性において差がないことは、無効な治療処置と相関する。従って、これらの発見は、治療に向けられたHER3受容体をモニタリングする新規で効率的な方法の基礎の形成を可能にする。さらに、毛包の生検は、処置に向けられたHER3モジュレーターをモニタリングするための薬学的マーカーとして役立つ。

30

【0066】

従って、本発明は、HER受容体（特にHER3受容体関連疾患）の処置の治療効力を、HERモジュレーターおよび/またはさらなる活性剤を用いて決定する方法を提供し、該方法は、被験者をHERモジュレーターおよび/またはさらなる活性剤に曝すことと、被験者から少なくとも一つの試料を採取することと、前述の試料におけるHER受容体の活性化レベルを検出することを含む。HERモジュレーターおよび/またはさらなる活性剤への曝露の結果、HERの活性化レベルにおける差が観察される。

40

【0067】

本発明によって包含するように、用語「試料」は、好ましくは、HERファミリーメンバーの活性化型の検出またはHER受容体発現の定量化のための組織試料の使用を意味する。HER受容体は、好ましくはHER3である。活性化レベルは、好ましくはリン酸化の程度である。

【0068】

50

用語「組織試料」は、被験者または患者の組織から得られる細胞の収集物（好ましくはタンパク質物質を用いて核形成した細胞を含有する）を含むことを意図されている。4種類の主なヒト組織は、(1)上皮、(2)血管、骨、および軟骨を含む結合組織、(3)筋組織、および(4)神経組織である。組織試料源は、新鮮な、凍結した、および/または保存した器官もしくは組織試料もしくは生検もしくは吸引物由来の固形組織を含む群から選択され得る。本発明は、また、血液またはいかなる血液成分、体液（例えば脳脊髄液、羊水、腹水、または間質液）由来の試料、および被験者の妊娠または発育における任意の時期に由来の細胞の使用を含む。組織試料は、また初代もしくは培養細胞または細胞系であってもよい。組織試料は、天然の組織と自然に混合していない化合物（例えば保存料、坑凝固薬、緩衝液、固定液、栄養剤、抗生物質等）を含有し得る。

10

【0069】

本発明での使用の場合、組織試料は、組織試料の単一部分または片（例えば、組織試料からの組織の薄切り、または切断または顕微解剖した細胞）であり得る。通常、組織アレイは、薄切片に切断されたホルマリン固定組織試料であり得、タンパク質、RNA、またはDNAレベル上での発現分析および細胞局在のために用いることができるシラン処理ガラスライド上に載せることができる。好ましい実施態様では、少なくとも10の試料を1枚のシラン処理ガラスライド上に載せる。より好ましい実施態様では、少なくとも20の試料を1枚のシラン処理ガラスライド上に載せる。最も好ましい実施例では、40以上の試料を1枚のシラン処理ガラスライド上に載せる。

20

【0070】

組織は、当業者に周知の従来からの方法によって固定され得る（すなわち保存される）。細胞形態を保存するために、組織は、4%中性緩衝ホルマリン中で16~20時間の間固定させ、次いでパラフィンに包埋させる。

【0071】

本発明の好ましい実施態様では、組織試料は、パンチ生検方法を用いて採取できる毛包試料である。生検を行うのに適した部位は、前腕、上肢、および胴体である。選択した部位は、可視毛を有する必要がある。

【0072】

生検の大きさは、2mmから8mmまで異なり得る。可能な限り、少なくとも直径3.5mmの検体を収集する必要がある。皮膚を洗浄して、麻酔する。不快感を制限するために、細い針を用いて麻酔薬を投与する。生検される部位のための最少の皮膚張力線を確認する必要がある。例えば、腕の上でこれらの皮膚張力線は、腕の長軸に対して垂直に走行する。生検が行われた後に縫合することによって作られる切開線を、最少の皮膚張力線と平行に方向を合わせる。特定の身体領域に対する方向線を思い出せない医師は、広範囲にわたって公開されているこれらの皮膚張力線の図面を調べる必要がある。皮膚は、最少の皮膚張力線に対して垂直に伸びる。生検が行われた後、皮膚が弛緩するとき、最少の皮膚張力線と同じ方向に向かって楕円形の傷が残る。腕では、皮膚は腕の長軸に添って伸びる。パンチ生検器具を皮膚の上に垂直に保持し、クルクル回す動きを用いて下向きに回転させる。一旦、生検器具が真皮から皮下脂肪に貫入する、または生検器具が一旦ハブに達すると、それを除去する。円柱状の皮膚検体を麻酔針で持ち上げる。これらの生検器具は、クラッシュアーチファクトを引き起こすこともあるので、鉗子を使わないことを勧める。次いで検体を皮下組織から切り離す。切断は、真皮レベルの下で行う。必要に応じて、傷を、1、2の結節ナイロン縫合で閉じる。5-0ナイロン糸は、大抵非顔面領域で用いられ、6-0ナイロン糸は大抵顔面領域で用いられる。皮膚検体は、直ちに緩衝培地に移し、さらに（タンパク質）分析のために処理される。

30

40

【0073】

特に好ましい実施態様では、毛髪収集に適した領域は、頭皮（後方頸部）、眉、および眉毛である。収集される個々の毛髪の本数は、2~6本の間で異なってもよく、可能な限り少なくとも4本の個々の毛（包）を収集する必要がある。さらなる麻酔なしで、毛を前述した領域から抜く。毛は、毛幹および毛包が損なわれていないかを検査し、適切な検体

50

を、さらなる処理およびタンパク質分析のために個々にスライドに載せる。

【0074】

リン酸化エピトープを固定化およびパラフィン包埋材料で保存するために、組織試料を、できるだけ迅速に処理する必要がある。すなわち、外科医が生検材料を取り出したら直ぐに、固定化/凍結、続いて処理を行う必要がある。使用する固定化溶液は、分析されるべき特定のリン酸化エピトープに依存し得る。

【0075】

用語「治療効力」は、HERモジュレーターおよび/または少なくともHER受容体活性化を部分的に遮断するのに効果的なさらなる薬剤の量をいう。治療有効量は、前述のように有益な結果または臨床結果を示す。好ましい実施態様では、治療有効量は以下：癌細胞の数を減少させ、腫瘍の大きさを縮小させ、癌細胞の末梢器官への侵入および腫瘍転移を少なくとも部分的に抑制し、腫瘍増殖を少なくとも部分的に抑制し、および/または癌に付随する種々の症状のうち一つ以上を少なくとも部分的に軽減させることをもたらし得る。

10

【0076】

従って、本発明は、また、代替マーカーとしてHER受容体活性化レベルを用いることによって、被験者においてHERモジュレーターおよび/またはさらなる薬剤の治療効力を決定する方法を提供する。

【0077】

本明細書で用いるように、用語「被験者」は、HERモジュレーターまたは、HERモジュレーターおよび目的に応じて、少なくともさらに1種類の薬剤を含む医薬組成物のいずれかを用いて処置されたもしくは無処置の個体または患者であることを意図されている。用語「被験者」は、HERモジュレーターを用いて処置される動物、好ましくは哺乳類（例えばマウス、ラット、ウサギ、イヌ、ブタ、および非ヒト霊長類（例えばカニクイザル、チンパンジー））を含む。用語「患者」は、HERモジュレーター および/または少なくともさらに1種類の薬剤での処置を必要とするヒトをいう。好ましくは、ヒトは、過剰増殖疾患（例えばいかなる腫瘍性疾患または癌）を処置するために、そのような処置を必要とする。

20

【図面の簡単な説明】

【0078】

【図1a】図1aは、腫瘍細胞系でのHER3の基底リン酸化を示す図である。

【図1b】図1bは、腫瘍細胞系でのHER3の基底リン酸化を示す図である。

【図2a】図2aは、乳癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

30

【図2b】図2bは、肺癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

【図2c】図2cは、結腸癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

【図2d】図2dは、膵癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

40

【図2e】図2eは、胃癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

【図2f】図2fは、メラノーマ癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

【図2g】図2gは、前立腺癌細胞系でのHER3の基底リン酸化および発現を示す図である。

【図3】図3は、分析したすべての細胞系でのHER3とpHER3の*in vitro*発現との関連を示す図である。

【図4a】図4aは、選択した癌細胞系でのHER3基底リン酸化および発現を示す図である。

50

【図4b】図4bは、pHER3発現と、抗HER3処置への感受性との関連を示す図である。

【図5a】図5aは、ヒト毛包でのHER3発現を示す図である。モノクローナルHER3抗体を用いての、ヒト毛包での免疫染色およびペルオキシダゼ検出を示す。

【図5b】図5bは、ヒト毛包でのHER3リン酸化を示す図である。高レベルの膜HER3リン酸化を示すモノクローナル抗体21D3を用いての、pHER3ヒト毛包の免疫染色およびペルオキシダゼ検出を示す。

【図6】図6は、ヒト正常組織でのHER3でのHER3リン酸化を示す図である。高レベルの膜HER3リン酸化を示すモノクローナル抗体21D3を用いての、pHER3ヒト正常組織の免疫染色およびペルオキシダゼ検出を示す。胃腸管(左)、精巣(中央)、および膀胱の上皮(右)を示す。

10

【図7】図7は、BxPC3異種移植(20x)のFFPE切片で、ウサギモノクローナル抗pHER3抗体(Cell Signaling 21D3(ロット番号4)、1:650希釈、0.074ug/mL)を用いる免疫組織化学染色を示す図である。(A)および(B)は、対照IgG1 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。(C)および(D)は、抗体U3-1287 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。染色は、2連で3つの別個の異種移植で行った。

【図8】図8は、BxPC3異種移植(20x)のFFPE切片で、ウサギモノクローナル抗pHER3抗体(Cell Signaling 21D3(ロット番号4)、1:650希釈、0.074ug/mL)を用いる免疫組織化学染色を示す図である。(A)は、抗体U3-1287 25ug/マウスを投与した後の腫瘍。(B)は、抗体U3-1287 100ug/マウスを投与した後の腫瘍。(C)は、抗体U3-1287 200ug/マウスを投与した後の腫瘍。(D)は、抗体U3-1287 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。(E)は、対照IgG1 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。染色は、2連で3つの別個の異種移植で行った。

20

【図9】図9は、BxPC3異種移植(20x)のFFPE切片で、マウスモノクローナル抗HER3抗体(Dako-H3-IC、1:250希釈、0.52ug/mL)を用いる免疫組織化学染色を示す図である。(A)および(B)は、対照IgG1 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。(C)および(D)は、抗体U3-1287 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。染色は、2連で3つの別個の異種移植で行った。

30

【図10】図10は、BxPC3異種移植(20x)のFFPE切片で、マウスモノクローナル抗HER3抗体(Dako-H3-IC、1:250希釈、0.52ug/mL)を用いる免疫組織化学染色を示す図である。(A)は、抗体U3-1287 25ug/マウスを投与した後の腫瘍。(B)は、抗体U3-1287 100ug/マウスを投与した後の腫瘍。(C)は、抗体U3-1287 200ug/マウスを投与した後の腫瘍。(D)は、抗体U3-1287 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。(E)は、対照IgG1 500ug/マウスを投与した後の腫瘍。染色は、2連で3つの別個の異種移植で行った。

【図11】図11は、Calu-3異種移植(40x)のFFPE切片で、ウサギモノクローナル抗pHER3抗体(Cell Signaling 21D3(ロット番号4)、1:8000希釈、0.006ug/mL)を用いる免疫組織化学染色を示す図である。(A)および(B)は、対照IgG1 25mg/kgを投与後の腫瘍(72h)。(C)および(D)は、抗体U3-1287 25mg/kgを投与後の腫瘍(72h)。染色は、2連で5つの別個の異種移植で行った。

40

【0079】

実施例

HER3の基底リン酸化の検出は、自己分泌受容体活性化の基礎をなし、かつHER3が導入する治療介入の用途において潜在的に適したモデルの選択マーカーを表すと思われる。この目的を達成するために、いくつかの細胞系を選んで、それらのリン酸化HER3内容物を、血清の存在下または非存在下で分析した。最初の実験は、膵臓腫瘍細胞系

50

Bx-PC3が基底リン酸化（すなわち、血清飢餓細胞および非血清飢餓細胞での活性化HER3）を高レベルで含有することを示した。これは、Bx-PC3が抗HER3治療方法に適したモデルであり得ることを示す（図1a）。

【0080】

さらなる実験では、Bx-PC3細胞での発見を確認し、基底HER3リン酸化の観察をA549細胞およびA431細胞まで広げた（図1b）。

【0081】

続いて、これらの発見に基づいて、より多くの細胞系を系統的に分析して、7つの異なる癌適用（乳房、肺、結腸、膵臓、前立腺、胃、メラノーマ）の腫瘍細胞系まで広げた（図2a~g）。

【0082】

全体的なリン酸化（すなわち活性化HER3）を、検査した腫瘍細胞系のほぼ三分の2で検出した。血清と血清飢餓リン酸化との間の有意差は、検出できなかった（図3a、b）。

【0083】

腫瘍細胞系におけるリン酸化HER3の存在は*in vitro*で暗示し、HER3が誘導する介入への反応性を予測する仮説を、それに続く*in vivo*研究で、細胞系（特に、Bx-PC3、HT-144、およびT47D等）を用いて、検証した。これらの研究から、*in vivo*有効性はpHER3の*in vitro*発現と関連があり、活性化HER3が治療のための代替マーカーとしての役割を果たすことを示唆した（図4a、b）。

【0084】

*in vitro*ウエスタンブロット解析および*in vivo*動物異種移植実験で得たこれらの結果を、治療的に関連するシナリオに適用するために、本発明者は、主要なヒト細胞におけるHER3の存在およびその活性型を、免疫組織化学によって詳しく調べた。HER3の発現を、種々の腫瘍試料で検出し、それにはメラノーマに顕著に存在する発現も含まれた。対照的に、HER3発現は正常な皮膚には傑出されなかったが、意外にも、毛包には極めて強い発現が検出された（図5a、b）。

【0085】

HER3の発現全体は主に細胞質に位置していたが、リン酸化（すなわち、活性化HER3）は、ほぼ例外なく細胞表面膜に結合していた。この発見は、そのような組織中のリン酸化HER3の存在を用いて、抗HER3治療に反応性である腫瘍患者を選択することが可能であるという考えを支持した。さらに、HER3誘導型治療をモニタリングすることと同様に、毛包生検はHER3誘導型処置をモニタリングするための薬力学的マーカーとしての役割を果たし得る。活性化HER3は、胃腸管、精巣、および膀胱を含む、多くのさらなる正常なヒト組織にも検出された（図6）。

【0086】

抗HER3抗体の投与後、膜染色強度の減少、腫瘍中の全細胞数と比較して腫瘍細胞の減少、および腫瘍中の全細胞数と比較してpHER3陽性細胞の減少が見られた（図7、8、および11）。

【0087】

染色強度の減少およびHER3陽性細胞の減少は、腫瘍量の減少と関連する（図9および10）。

【0088】

正常な皮膚でのHER3の役割は、以前に特徴づけられなかった。RNA発現は、生後皮膚で以前に検出された（Kraus et al, 1989）。従って、我々の現在の分析はこれに関して最初の記述を表す。意外にも、HER3およびその活性化形態が毛包およびエクリンの細胞でならびに皮脂腺で発現されることを、本発明者は発見した。これは、HER3の好ましいパートナーであるHER2がこれらの組織で発現されることが報告されていなかったため、予想されなかった。これは、患者選択等で活性化HER3の

10

20

30

40

50

用途を広くする。活性化EGFRと対照的に、活性化HER3は、細胞内に位置していないが、主に膜質に位置する。(活性化)HER3の発現は、正常なケラチノサイトでも観察されなかったが、EGFRの発現は広範である(HER3の発現は、ケラチノサイトでいくぶん低い(Laux et al, 2006))。従って、診断/選択および治療のためのHER3の用途は、顕著な皮膚発疹を引き起こすEGFR治療と比較して、より少ない重篤な副作用を有するレジメンを提供し得るばかりでなく、併用療法のモニタリングにとって極めて有用であることが判明し得る。

【0089】

腫瘍細胞系におけるHER3リン酸化

腫瘍細胞を6ウェル皿で一晩播種して、10%FCS含有成長培地で24時間、血清飢餓させるかまたは培養し、次いで溶解緩衝液で20分間処置した。可溶化液を30分間、遠心分離によってクリアし、次いでHER3を、特異的抗HER3モノクローナル抗体(1B4C3)とともに、粗溶解物から免疫沈降させた。免疫沈降物を4で、4時間インキュベートし、1xHNTG(50mMのヘプス(pH7.5)、150mMのNaCl、10%グリセリン、1mMのEDTA(pH8.0)、0.1%Triton X-100)で三回洗浄し、次いでb-メルカプトエタノールを含有する3xLaemmli緩衝液で、100で5分間、変性させた。タンパク質試料を7.5%SDS-PAGEによって分離させ、ニトロセルロース膜に移し、坑ホスホチロシン(4G10)または坑pHER3(21D3)とともにインキュベートした。リン酸化タンパク質を、坑マウスPOD(4G10に対して)または坑ウサギPOD(21D3に対して)の二次抗体を用いて検出した。ニトロセルロース膜を取り除き、坑HER3抗体(sc-285)を用いて際検出させた。

【0090】

組織試料中のHER3リン酸化

マイクロトームを用いて、2~4μmの厚さの薄片を切断し、シラン処理ガラスウライド上に載せ、60で30分間乾燥させ、38で一晩乾燥させた。検体の脱パラフィンおよび再水和を、キシロール中で2x5分間、100%エタノール中で2x2分間、96%、80%、および70%のエタノール中で各2分間インキュベートすることによって達成した。蒸留水中で20秒間すすいでから、スライドをPBS中で2分間インキュベートした。抗原検索のために、検体を、1mMのEDTA(pH8.0)を充填したキュベットを含有するスチーマー内で96~98で、20分間インキュベートした。スライドを室温で20分間冷却させ、次いでA.dest中で5分間洗浄した。一次抗体pHER3によるインキュベーション以外は、以下の工程を室温で行った。

すなわち、内因性ペルオキシダーゼを、RE7101(切片あたり3滴、Novocaststra)中で20分間遮断した。次いで、切片をA.dest中で5分間洗浄して、TBS緩衝液中で5分間洗浄した。非特異的なバックグラウンド染色を、PBS中10%ヤギ血清を用いて20分間インキュベートすることで遮断した。溶液を取り出して、切片を、モノクローナル抗体ウサギ坑pHER3(10μg/mL(ロット番号3)、Cell Signaling)と共に加湿したチャンパー(1:40のDako希釈緩衝液)内で、一晩4で、インキュベートした。IgGアイソタイプ対照として、IgGウサギ吸収(15g/L、X0936Dako)を用いた(1:50,000のDako希釈緩衝液)。抗体を除去するために、スライドを、TBS/Tween0.05%で2x5分間、TBSで1x5分間、洗浄した。Post Primary Block(RE7111、Novocaststra)を(切片あたり3滴)を加えてから30分後、前述のように洗浄した。次いで、NovoLink Polymer RE7112(切片あたり3滴、Novocaststra)を加えて、30分間インキュベートし、前述の洗浄工程で除去した。染色を、100μL DAB基質・色素原溶液で10分間インキュベートすることによって達成した。最終工程では、スライドを新しい蒸留水で3回すすぎ、Harrisヘマトキシリンで対比染色してから、ガラススライドで覆った。

【0091】

異種移植実験

HERモジュレーターの抗腫瘍有効性を、ヒト異種移植腫瘍の研究で評価した。これらの研究では、免疫低下マウスで、ヒト腫瘍を異種移植として増殖させ、治療効力を、HERモジュレーターの投与に応答する腫瘍増殖の抑制の程度を測定した。前述の段落で規定したようにHERモジュレーターが、少なくとも部分的にヒト癌細胞の腫瘍増殖を *in vivo* で妨げるかどうかを決定するために、当業者に周知のプロトコル (Sausville and Burger, (2006), Cancer Res. 66, 3351-3354) を用いて、細胞をヌード/ヌードマウスまたはSCIDマウスに移植した。例えば、腫瘍細胞をヌードマウスの皮膚下に注射し、該動物の背中に皮下腫瘍増殖が生じた。処置を、腫瘍細胞移植の時点で、または腫瘍が規定した大きさ (例えば20 ~ 50 mm³ の平均量) に達したときのいずれかで開始した。最初の処置に先立って、マウスを無作為化して、処置群にわたって均一の腫瘍量 (平均、中央値、標準偏差) を確実にした。典型的な投与レジメンは、腹腔内に25 mg/kgのHERモジュレーターの毎週投与を含んだ。最初の処置は、50 mg/kgの負荷量を含んだ。対照治療群のマウスに、ヒト腫瘍細胞に対して細胞増殖抑制作用または細胞障害活性で公知の薬剤 (例えば、ドキソルピシン (医薬品グレード)) を投与した。

10

【0092】

ヒト患者組織におけるHER3リン酸化の検出

抗HER3モノクローナル抗体処置を受け入れられる患者の選択のために、HER3受容体活性化を、抗HER3モノクローナル処置の候補者と見なされる患者由来の細胞試料中 (診断時の腫瘍材料、処置の前に新鮮な腫瘍材料、正常な組織) のIHCを介して測定する。細胞試料は、生検の種々の方法 (例えば、パンチ、ブラシ、切開、コア) または他の方法 (例えば毛包および空気嚢をぬく、口腔の拭き取り) によって得られる。収集した組織材料を、処理し、固定して、pHER3の存在を分析する (定性アッセイ)、および免疫組織化学または他の適用可能な方法 (例えばrtPCR、WB) を介してpHER3の相対量 (定量アッセイ) を分析する。pHER3の活性化スコアを算出し、それに応じて被験者は、臨床試験/処置のルーチンに登録される。

20

【0093】

HER3抑制剤の有効性の評価

HER3受容体活性化および/またはHER3媒介シグナル伝達を減少させる抗HER3抗体の有効性を、前述のHER3抗体で処置された被験者由来の細胞試料で評価することができる。細胞試料を前述した方法で取り出すことができ、試料のタイミングは、処置の継続期間、スケジュール、および治療の経過観察に依存しているが、少なくとも試料を2回 (1回は処置の開始時、1回は最大反応時) 採取する。2時点の定量測定および定性測定を比較して、薬力学的効果を、HER3受容体活性化のデルタ/シフト値から算出する。正常な組織 (例えば皮膚、毛包) は、臨床日常検査で容易に利用できるため、それらは腫瘍組織の代替組織としての役割を果たす。

30

【0094】

抗HER3モノクローナル抗体治療を受け入れられる被験者のための予後指数の開発

抗HER3モノクローナル抗体処置を受けた患者の場合、処置の結果は、HER3リン酸化のレベルとリン酸化/活性化の調節とが徐々に関連する。結果として生じる予後指数を、標準指数 (例えば腫瘍悪性度、病期、患者のデモグラフィック、処置) と比較して、pHER3が、疾患の処置または再発に反応して結果、変動性に対する処置、予後指数の有効性のための、優れたマーカーとして役割を果たすことができるかどうかを決定する。最終的に、HER3リン酸化は、抗HER3モノクローナル抗体治療および他の標的または古典的な抗悪性腫瘍治療に関して、リスク便益スコアまたは肯定的/否定的な予後の評価の新たな代替マーカーになり得る。

40

【0095】

抗HER3抗体による処置のための癌患者を確認する臨床研究

正常細胞および/または癌細胞を含む細胞試料を、該処置に適格と見なされる被験者が

50

ら採取する。以下の方法を日常の臨床診療で用いて、組織試料を収集する：すなわち、拭き取り検体（口腔拭き取り、鼻腔拭き取り）、切り取り（指の爪、足の爪）、穿刺吸引細胞診パンチ生検、ブラシ生検、搔爬生検、ハサミまたは他の外科器具を用いる生検、吸引（例えば血液、骨、骨髓）、穿刺（例えば腹水、胸水、脳脊髄液）、（マイクロ真皮）擦過細胞診、切開、器官の部分的外科切除または全体の解剖学的構造（ブロック切除、腫瘍切除、乳腺腫瘍摘出術）、放射線を利用した外科的処置（ - ナイフ外科手術、レーザーを利用した外科手術）、洗浄（例えば気管支肺胞洗浄、腹部洗浄）、器官の外部排液法（例えば頭水症、腎瘦造設、T - ドレーン総胆管）。組織試料の収集のための臨床診療で公知の他の方法のいずれも、同様に用いることが可能である。生体試料を、HER3リン酸化のために分析し（例えば、免疫沈降またはウエスタンブロット分析によって）、および / またはHER2 / HER3および / またはHER3 / HER4のヘテロ二量体の存在を上述のいずれかの技術によって分析する。

10

【0096】

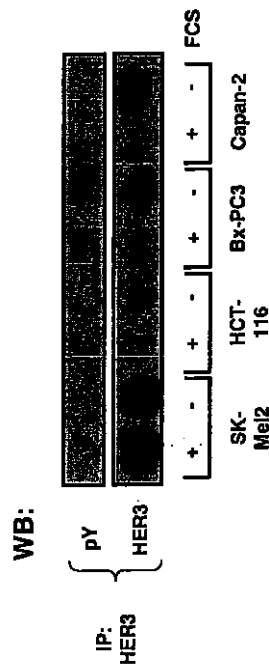
HER3モジュレーターによる処置の有効性をモニタリングする臨床研究

固形腫瘍（例えば肺癌、結腸直腸癌、乳癌）の患者は、HER3リン酸化における変化 / 調節を介して評価される抗HER3モノクローナル抗体処置の薬力学的効果の評価のために、少なくとも2回の生検を受ける。試験開始時に、患者をpHER3レベルおよび最大臨床反応時で層別化し、二次組織試料を患者から採取する。試料をpHER3発現を分析し（定量および定性）、その結果を他のパラメータおよび臨床結果と相関する。pHER3活性化の上昇は、進行または非反応と考えられ得るが、pHER3の低下は、治療に対する反応と考えられ得る。pHER3レベルが少なくとも安定している（ベースラインからの上昇 25%）患者は、抗HER3モノクローナル抗体治療による処置を継続し、ベースラインからの上昇pHER3 > 25%の患者は、向上すると考えられ、抗HER3モノクローナル抗体治療による処置を中断する。

20

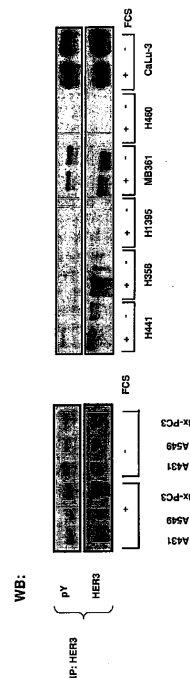
【図1a】

Fig. 1a



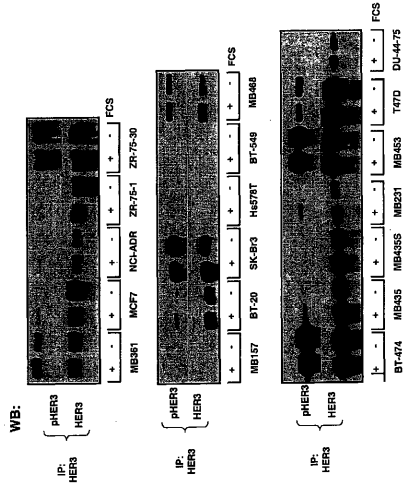
【図1b】

Fig. 1b



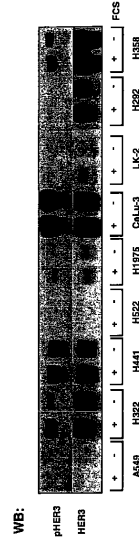
【 2 a 】

Fig. 2a



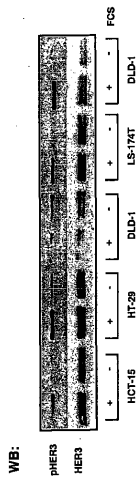
【 2 b 】

Fig. 2b



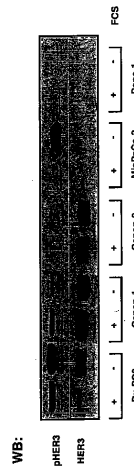
【 2 c 】

Fig. 2c



【 2 d 】

Fig. 2d



【 図 2 e 】

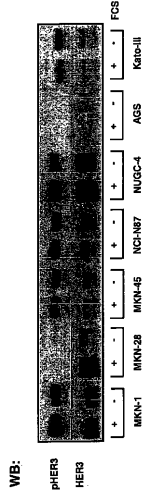


Fig. 2e

【 図 2 f 】

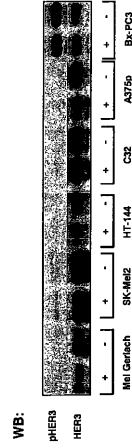


Fig. 2f

【 図 2 g 】

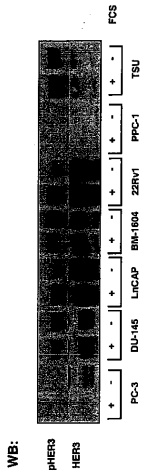


Fig. 2g

【 図 4 a 】

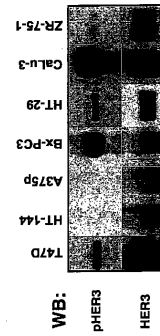


Fig. 4a

【 図 3 】

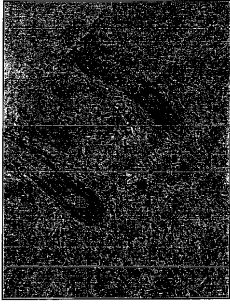
| 遺伝 | 細胞系の数 | HER3 | pHER3 | % pHER3/総数 |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| 乳癌 | 18 | 15 | 12 | 66,7 |
| NSCLC | 9 | 8 | 7 | 77,8 |
| 結腸癌 | 5 | 5 | 5 | 100 |
| 胃癌 | 7 | 7 | 5 | 71,4 |
| メラノーマ | 5 | 5 | 2 | 40 |
| 肺癌 | 5 | 3 | 3 | 60 |
| 前立腺癌 | 7 | 6 | 5 | 71 |
| 総数 | 56 | 49 | 39 | 69,6 |

【 図 4 b 】

| | T47D (乳癌) | HT-144 (メラノーマ) | A375p (メラノーマ) | Bx-PC3 (肺癌) | HT-29 (結腸癌) | CaLu-3 (NSCLC) | ZR-75-1 (乳癌) |
|-----------------------|--------------|-------------------|------------------|----------------|----------------|-------------------|-----------------|
| pHER3 | 有り | 無し | 無し | 有り | 有り | 有り | 有り/無し |
| <i>In vivo</i> 有効性 | 有り | 無し | 無し | 有り | 有り | 有り | 無し |

【 図 5 a 】

Fig. 5a



【 図 5 b 】

Fig. 5b



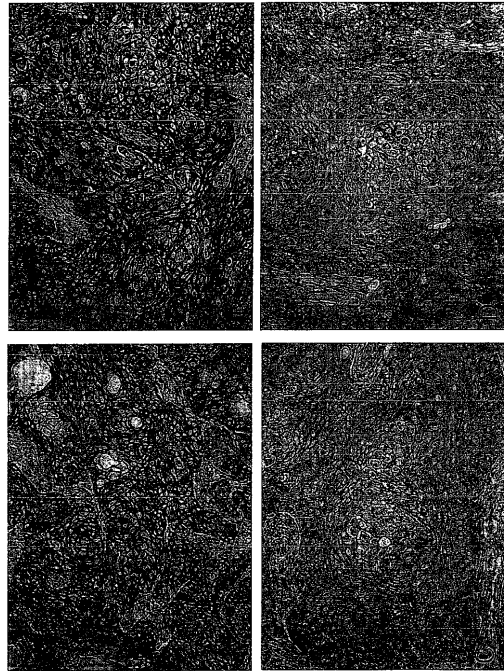
【 図 6 】

Fig. 6



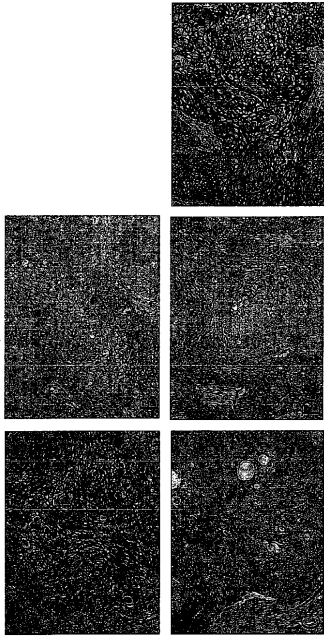
【 図 7 】

Fig. 7



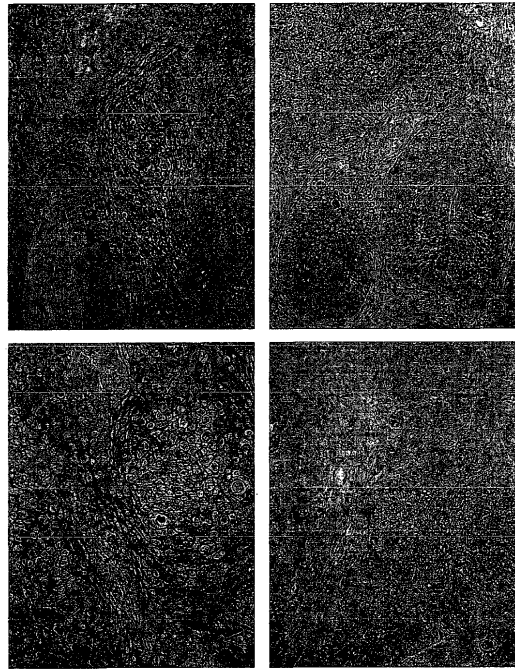
【 図 8 】

Fig. 8



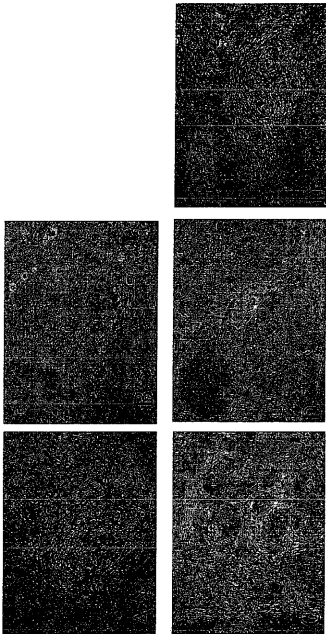
【 図 9 】

Fig. 9



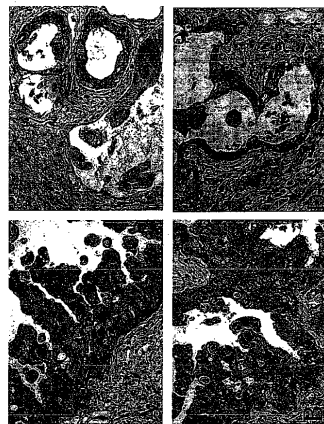
【 図 1 0 】

Fig. 10



【 図 1 1 】

Fig. 11



【手続補正書】

【提出日】平成21年7月30日(2009.7.30)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

HER3モジュレーターによる処置に対する疾患の反応性を同定する方法であって、
(a)前記疾患のリスクがあるまたは前記疾患を有する被験者から少なくとも一つの試料を採取することと、
(b)前記試料で少なくとも1種類のHER3受容体の発現および/または活性を検査することと、
(c)少なくとも1種類のHER3受容体の発現および/または活性が検出される場合、疾患を反応性と同定することと、
を含む方法。

【請求項2】

前記疾患が過剰増殖疾患である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記過剰増殖疾患が腫瘍疾患または乾癬である、請求項2に記載の方法。

【請求項4】

前記腫瘍疾患がNSCLC、乳房腫瘍、結腸腫瘍、胃腫瘍、メラノーマ、膵臓腫瘍、または前立腺癌からなる群から選択される、請求項3に記載の方法。

【請求項5】

HER3受容体活性の検出がHER3受容体リン酸化レベルの決定を含む、請求項1から4までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項6】

リン酸化部位特異的抗体が使用される、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

前記リン酸化部位特異的抗体がHER3受容体においてリン酸化チロシン残基を認識する抗体である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記リン酸化部位特異的抗体がHER3タンパク質において前記リン酸化チロシン残基Y1289またはY1222のうちの少なくとも一つに対するものである、請求項7に記載の方法。

【請求項9】

前記リン酸化部位特異的抗体がリン酸化部位特異的HER3抗体21D3または50C2である、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

前記工程(b)が免疫組織化学的アッセイ、フローサイトメトリー、ELISA、またはウエスタンブロットを含む、請求項1から9までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項11】

前記試料が組織試料である、請求項1から10までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項12】

前記組織試料が新鮮な、凍結した、および/または保存した器官もしくは組織試料もしくは生検もしくは吸引物由来の固体組織からなる群から選択される、請求項10に記載の方法。

【請求項13】

前記被験者が哺乳類である、請求項1から12までのいずれか1項に記載の方法。

【請求項 14】

前記哺乳類がヒトである、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

HER3 モジュレーターの治療効力を決定する方法であって、

- (a) 被験者を少なくとも 1 種類の HER3 モジュレーターに曝すことと、
 - (b) 前記被験者から少なくとも一つの試料を採取することと、
 - (c) 前記試料中の少なくとも 1 種類の HER3 受容体の活性化レベルを検出することと
- 、
を含み、少なくとも 1 種類の HER3 モジュレーターへの曝露の非存在と比較すると、前記医薬組成物の曝露の結果として少なくとも 1 種類の HER3 受容体の活性化レベルに差が観察される方法。

【請求項 16】

前記 HER3 モジュレーターが少なくとも 1 種類の HER3 受容体に対して向けられる抑制剤である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

HER3 受容体の活性の前記検出が前記 HER3 受容体リン酸化レベルを評価することによって達成される、請求項 15 から 16 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

リン酸化部位特異的抗体が使用される、請求項 15 から 17 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 19】

前記リン酸化部位特異的抗体が HER3 受容体においてリン酸化チロシン残基を認識する抗体である、請求項 15 から 18 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記リン酸化部位特異的抗体が前記 HER3 タンパク質において前記リン酸化チロシン残基 Y1289 または Y1222 のうちの少なくとも一つに対するものである、請求項 18 または 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記リン酸化部位特異的抗体がリン酸化部位特異的 HER3 抗体 21D3 または 50C2 のうちの少なくとも一つである、請求項 18 から 20 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 22】

前記工程 (c) が免疫組織化学的アッセイ、フローサイトメトリー、ELISA、またはウエスタンブロットを含む、請求項 15 から 21 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

前記試料が組織試料である、請求項 15 から 22 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記試料が正常な組織試料、例えば毛包試料である、請求項 15 から 23 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記被験者が哺乳類、特にヒトである、請求項 15 から 24 までのいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

活性化 HER3 受容体を検出する抗体。

【請求項 27】

前記抗体が HER3 のチロシン残基 Y1054、Y1197、Y1199、Y1222、Y1224、Y1260、Y1262、Y1276、Y1289、および Y1328 のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合する、請求項 26 に記載の抗体。

【請求項 28】

HER3 モジュレーターによる処置に対する疾患の反応性を同定するための、請求項 2

6 または 27 に記載の抗体の使用。

【請求項 29】

活性化 H E R 3 ファミリーメンバーの活性化レベルを評価するためのキットであって、
(a) H E R 3 受容体タンパク質の発現を検出する抗体と、
(b) H E R 3 受容体メンバーの活性化を検出する抗体と、
を含むキット。

【請求項 30】

H E R 3 受容体発現、過剰発現、および / または活性に付随する疾患の処置のための薬物の製造のための H E R 3 モジュレーター の使用。

【請求項 31】

前記 H E R 3 受容体発現、過剰発現、および / または活性が H E R 3 モジュレーターの投与の前に決定される、請求項 30 に記載の使用。

【請求項 32】

前記疾患の前記反応性が前記処置の過程において検査される、請求項 30 または 31 に記載の使用。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/010335

| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. G01N33/574 | | |
|--|--|--|
| 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, WPI Data | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | WO 2005/117553 A (UNIV COLORADO [US]; GARCIA MARILEILA VARELLA [US]; BUNN PAUL A JR [US]) 15 December 2005 (2005-12-15) page 17, line 1 - page 18, line 4 pages 14-16 page 27, line 15 - page 28, line 21 page 33, line 31 - page 34, line 17 page 56, line 6 - page 57, line 23 page 67, line 20 - page 68, line 10; example 4 claims 1-62 ----- -/-- | 1-37 |
| <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 30 January 2008 | | Date of mailing of the international search report 06/02/2008 |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer Boiangiu, Clara |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/EP2007/010335

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | WO 2006/063042 A (GENENTECH INC [US]; AMLER LUKAS C [US]; JANUARIO THOMAS E [US]) 15 June 2006 (2006-06-15) page 1, lines 7-10 page 6, line 39 - page 7, line 9 page 22, lines 19-37 page 24, lines 6-36 page 32, line 26 - page 33, line 32 page 51, lines 13-36 page 57, line 25 - page 59, line 31 page 62 - page 65 examples 1-3 claims 1-41 | 1-37 |
| X | US 2006/204505 A1 (SLIWKOWSKI MARK X [US] ET AL) 14 September 2006 (2006-09-14) paragraphs [0003], [0023] - [0040], [0134], [0145] - [0149], [0162], [0279], [0312] - [0316]; claims 1-78 | 1-37 |
| X | WO 2005/049829 A (ASTRAZENECA UK LTD [GB]; UNIV TOKYO [JP]; TSURUO TAKASHI [JP]; NAKAMUR) 2 June 2005 (2005-06-02) the whole document | 1-37 |
| X | US 2004/001833 A1 (AGUS DAVID B [US]) 1 January 2004 (2004-01-01) the whole document | 1-37 |
| X | BONO DE J ET AL: "The ErbB receptor family: a therapeutic target for cancer" TRENDS IN MOLECULAR MEDICINE, vol. 8, no. 4, Suppl, 2002, pages S19-S26, XP002290892 abstract | 1-37 |
| Y | US 2006/204966 A1 (SPECTOR NEIL L [US] ET AL) 14 September 2006 (2006-09-14) paragraphs [0022] - [0026], [0038] - [0042], [0065] - [0067]; claims 1-28 | 1-37 |
| Y | KAKIUCHI SOJI ET AL: "Prediction of sensitivity of advanced non-small cell lung cancers to gefitinib (Iressa, ZD1839)" HUMAN MOLECULAR GENETICS, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, vol. 13, no. 24, 15 December 2004 (2004-12-15), pages 3029-3043, XP002440000 ISSN: 0964-6906 the whole document | 1-37 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/010335

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------|------------------|-------------------------|------------------|
| WO 2005117553 | A | 15-12-2005 | AU 2005249492 A1 | 15-12-2005 |
| | | | CA 2567293 A1 | 15-12-2005 |
| | | | EP 1751309 A2 | 14-02-2007 |
| WO 2006063042 | A | 15-06-2006 | AR 051524 A1 | 17-01-2007 |
| | | | AU 2005314127 A1 | 15-06-2006 |
| | | | CA 2587519 A1 | 15-06-2006 |
| | | | EP 1825001 A2 | 29-08-2007 |
| | | | KR 20070085855 A | 27-08-2007 |
| US 2006204505 | A1 | 14-09-2006 | NONE | |
| WO 2005049829 | A | 02-06-2005 | AU 2004291709 A1 | 02-06-2005 |
| | | | BR PI0410634 A | 13-06-2006 |
| | | | CA 2527680 A1 | 02-06-2005 |
| | | | EP 1633870 A1 | 15-03-2006 |
| | | | JP 2006526420 T | 24-11-2006 |
| | | | KR 20060002012 A | 06-01-2006 |
| | | | MX PA05012939 A | 17-05-2006 |
| US 2006252056 A1 | 09-11-2006 | | | |
| US 2004001833 | A1 | 01-01-2004 | US 2006134115 A1 | 22-06-2006 |
| US 2006204966 | A1 | 14-09-2006 | NONE | |

フロントページの続き

| (51) Int. Cl. | | F I | | テーマコード (参考) |
|----------------|--------------|------------------|---------|-------------|
| A 6 1 P | 17/06 | (2006.01) | A 6 1 P | 17/06 |
| A 6 1 P | 43/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 43/00 1 1 1 |
| C 1 2 N | 9/12 | (2006.01) | C 1 2 N | 9/12 |

(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, MT, 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, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, 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

(74) 代理人 100110593

弁理士 杉本 博司

(74) 代理人 100112793

弁理士 高橋 佳大

(74) 代理人 100128679

弁理士 星 公弘

(74) 代理人 100135633

弁理士 二宮 浩康

(74) 代理人 100114890

弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラインハルト

(72) 発明者 マイク ローテ

ドイツ連邦共和国 クライリング エリーゼンシュトラッセ 4

(72) 発明者 マルティン トレーダー

ドイツ連邦共和国 マーティンスリート グロースハーデルナーシュトラッセ 7

F ターム(参考) 4B050 CC10 LL03

4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ27 QQ79 QR07 QR72 QS33 QS36 QX02

4C084 AA17 NA14 ZA891 ZB261 ZC021

4H045 AA11 AA20 AA30 CA40 DA76 EA51 FA74

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 激活HER3作为预测治疗功效的标志物 | | |
| 公开(公告)号 | JP2010510784A | 公开(公告)日 | 2010-04-08 |
| 申请号 | JP2009538639 | 申请日 | 2007-11-28 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 青年李药业GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru霍夫Tsungu U3制药有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | Yusuri制药GESELLSCHAFT手套Beshurenkuteru有限公司 | | |
| [标]发明人 | マイクロローテ マルティントレーダー | | |
| 发明人 | マイクロローテ マルティントレーダー | | |
| IPC分类号 | C12Q1/48 C07K16/40 G01N33/53 A61K45/00 A61P35/00 A61P17/06 A61P43/00 C12N9/12 | | |
| CPC分类号 | A61P17/06 G01N33/57407 G01N33/57492 G01N2333/71 G01N2800/205 G01N2800/52 A61K39/395 A61K2039/505 C07K16/2863 C07K16/32 C07K2317/76 G01N33/574 G01N33/5748 G01N2333/91205 G01N2440/14 | | |
| FI分类号 | C12Q1/48.Z C07K16/40 G01N33/53.D A61K45/00 A61P35/00 A61P17/06 A61P43/00.111 C12N9/12 | | |
| F-TERM分类号 | 4B050/CC10 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ27 4B063/QQ79 4B063 /QR07 4B063/QR72 4B063/QS33 4B063/QS36 4B063/QX02 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA891 4C084/ZB261 4C084/ZC021 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045 /EA51 4H045/FA74 | | |
| 代理人(译) | 矢野俊夫 杉本博司 星 公弘 二宮和也HiroshiYasushi | | |
| 优先权 | 2006024658 2006-11-28 EP 60/861243 2006-11-28 US | | |
| 其他公开文献 | JP2010510784A5 JP5656406B2 | | |
| 外部链接 | Espacenet | | |

摘要(译)

本发明提供了用于确定受体酪氨酸激酶(例如,磷酸化的HER3)的活化水平以选择患者进行疾病治疗的方法。提供的方法也是评价其在治疗活性物质的生物学和药效学作用和/或疾病中的有效性的方法,其中来自受试者的组织样品(例如皮肤或毛囊)如肿瘤材料或正常组织)。此外,公开了治疗HER受体相关疾病的方法。

| | T47D (breast) | HT-144 (proliferoma) | A375p (melanoma) | Bx-PC3 (prostate) | HT-29 (colon) | CaLu-3 (NSCLC) | ZR-75-1 (breast) |
|---------------------|------------------|-------------------------|---------------------|----------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| pHER3 | Yes | No | No | Yes | Yes | Yes | Yes/No |
| In vivo Efficacy | Yes | No | No | Yes | Yes | Yes | No |