

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】令和1年12月19日(2019.12.19)

【公表番号】特表2019-500623(P2019-500623A)

【公表日】平成31年1月10日(2019.1.10)

【年通号数】公開・登録公報2019-001

【出願番号】特願2018-543078(P2018-543078)

【国際特許分類】

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/536 (2006.01)

G 0 1 N 33/574 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/5377 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 33/53 K

G 0 1 N 33/536 D

G 0 1 N 33/574 D

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 K 31/5377

【手続補正書】

【提出日】令和1年11月7日(2019.11.7)

【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】

ヒストンH3のリシン27のトリメチル化を定量すること、  
総H3レベルを定量すること、および  
個々の細胞集団の免疫表現型を解析することを含むフローサイトメトリー法。

【請求項2】

前記個々の細胞集団が、被検体から得られる細胞の集団を含む請求項1に記載の方法。

【請求項3】

被検体から得られる細胞の集団におけるヒストンH3のリシン27のトリメチル化を定量することを含む方法。

【請求項4】

前記細胞の集団が、前記被検体から得られる末梢血からまたは末梢血単核細胞の集団から単離される請求項3に記載の方法。

【請求項5】

前記細胞の集団が、リンパ系細胞を含む、から本質的になる、またはからなるか、  
前記細胞の集団が、骨髄系細胞を含む、から本質的になる、またはからなるか、

前記細胞の集団が、骨髄系幹細胞もしくは前駆細胞、赤芽球、巨核球、骨髄芽球、血小板、顆粒球、好塩基球、好酸球、好中球、前単球、単球、マクロファージ、骨髄系樹状細胞、MDC1c細胞、MDC2細胞、肥満細胞、リンパ系幹細胞もしくは前駆細胞、胸腺細胞、Tリンパ球、細胞障害性T細胞、Tヘルパー細胞、調節性T細胞、ナチュラルキラーT(NK/T)細胞、活性化T細胞、B細胞、活性化B細胞、形質細胞、ナチュラルキラーB(NK/B)細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、形質細胞様樹状細胞、またはその任意の組み合わせを含む、から本質的になる、またはからなるか、

前記細胞の集団が、細胞表面抗原または細胞表面抗原の組み合わせの発現によって特徴付けられるか、

前記細胞表面抗原が、CD1c、CD2、CD3、CD3、CD4、CD8、CD10、CD11、CD11b、CD14、CD15、CD16、CD19、CD20、CD24、CD25、CD28、CD30、CD34、CD38、CD40、CD44、CD45、CD45R、CD49b、CD56、CD61、CD71、CD95、CD117、CD123、CD133、CD138、CD141、CD150、CD184、CD271、CD347、GR-1、IgA、IgD、IgM、もしくはHLA-DRまたはその任意の組み合わせであるか、

前記細胞表面抗原または前記その組み合わせが、CD3、CD10、CD11b、CD14、CD16、CD19、CD20、CD24、CD28、CD34、CD38、CD40、CD45、CD45R、CD49b、CD95、CD150、CD184、GR-1、IgA、IgD、IgM、およびHLA-DRまたはその任意の組み合わせであるか、

前記細胞の集団が、CD133<sup>+</sup>、CD271<sup>+</sup>、CD11<sup>+</sup>、および/もしくはCD347<sup>+</sup>である骨髄系幹細胞もしくは前駆細胞；CD71<sup>+</sup>である赤芽球；CD61<sup>+</sup>である巨核球；CD61<sup>+</sup>である血小板；HLA-DR<sup>+</sup>およびCD14<sup>-</sup>である顆粒球；CD123<sup>+</sup>である好塩基球；CD44<sup>+</sup>である好酸球；CD15<sup>+</sup>および/もしくはCD16<sup>+</sup>である好中球；CD14<sup>+</sup>、CD11b<sup>+</sup>、CD16<sup>-</sup>、および/もしくはHLA-DR<sup>+</sup>である単球；CD1c<sup>+</sup>であるMDC1c細胞；CD141<sup>+</sup>であるMDC2細胞；CD117<sup>+</sup>である肥満細胞；CD34<sup>+</sup>、CD133<sup>+</sup>、CD271<sup>+</sup>、CD117<sup>+</sup>であるリンパ系幹細胞もしくは前駆細胞；CD2<sup>+</sup>および/もしくはCD3<sup>+</sup>であるTリンパ球(T細胞)；CD8<sup>+</sup>である細胞障害性T細胞；CD4<sup>+</sup>であるTヘルパー細胞；CD4<sup>+</sup>およびCD25<sup>+</sup>である調節性T細胞；CD3<sup>+</sup>およびCD56<sup>+</sup>であるNK/T細胞；CD56<sup>+</sup>であるナチュラルキラーT細胞；CD25<sup>+</sup>およびCD30<sup>+</sup>である活性化T細胞；CD19<sup>+</sup>および/もしくはCD20<sup>+</sup>であるB細胞；CD19<sup>+</sup>、CD25<sup>+</sup>、および/もしくはCD30<sup>+</sup>である活性化B細胞；CD138<sup>+</sup>である形質細胞；CD56<sup>+</sup>であるナチュラルキラーB細胞；CD3<sup>-</sup>、CD19<sup>-</sup>、HLA-DR<sup>+</sup>、およびCD16<sup>-</sup>であるナチュラルキラー(NK)細胞；CD304<sup>+</sup>である形質細胞様樹状細胞；またはその任意の組み合わせを含む、本質的にかからなる、またはからなるか、

前記細胞の集団が、B細胞を含む、から本質的になる、またはからなるか、

前記細胞の集団が、T細胞を含む、から本質的になる、またはからなるか、

前記細胞の集団が、単球を含む、から本質的になる、またはからなるか、

前記単球が、CD14<sup>+</sup>およびCD16<sup>-</sup>；CD14<sup>low</sup>およびCD16<sup>+</sup>；もしくはCD14<sup>high</sup>およびCD16<sup>low</sup>単球またはその任意の組み合わせであるか、

前記細胞の集団が、顆粒球を含む、から本質的になる、またはからなるか、

任意に、前記顆粒球が、好中球、好酸球、もしくは肥満細胞またはその任意の組み合わせである請求項1~4のいずれかに記載の方法。

#### 【請求項6】

ヒストン3のリシン27のトリメチル化の定量が、前記細胞の集団におけるヒストン3におけるトリメチル化リシン27のレベルを測定すること、前記細胞の集団におけるヒストン3の総レベルを測定すること、および前記細胞の集団における総ヒストン3レベルに

対するヒストン 3 におけるトリメチル化リシン 27 レベルの比率を計算することを含む請求項 2 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記被検体から血液サンプルまたは血球のサンプルを得ることをさらに含む請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記細胞の集団を単離することをさらに含む請求項 2 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記単離が、フローサイトメトリーによって行なわれる請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記フローサイトメトリーが、1つ以上の細胞表面抗原の発現に基づく請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記単離が、蛍光活性化細胞選別 (FACS) による請求項 8 に記載の方法。

【請求項 12】

前記被検体が、

(a) 治療有効量の EZH2 阻害剤を投与することが予定されていたもしくは予定されている、または

(b) コントロールもしくは参照値と比較して H3K27me3 量の増加が同定される請求項 2 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

ヒストン H3 のリシン 27 のトリメチル化の定量が、被検体が、治療有効量の EZH2 阻害剤を投与される前におよびその後に行なわれる請求項 2 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

被検体由来のサンプルにおけるヒストンのエピジェネティックな修飾を定量するための方法であって、

(a) 透過処理サンプルを得るために透過処理組成物と前記サンプルにおける少なくとも 1 つの細胞を接触させること、

(b) H3K27me1、H3K27me2、または H3K27me3 内のエピトープに特異的に結合する第 1 の蛍光複合抗体と前記透過処理サンプルを接触させること、

(c) H3 内のエピトープに特異的に結合する第 2 の蛍光複合抗体と前記透過処理サンプルを接触させること、

(d) 前記第 1 の蛍光複合抗体からの第 1 の蛍光シグナルを検出すること、

(e) 前記第 2 の蛍光複合抗体からの第 2 の蛍光シグナルを検出することおよび

(d) 前記第 1 の蛍光シグナルの値を前記第 2 の蛍光シグナルの値によって割ること、それによって、前記サンプルにおける前記ヒストンの前記エピジェネティックな修飾を定量することを含む、エピジェネティック修飾された H3 の量を決定することを含む方法。

【請求項 15】

前記第 1 の蛍光複合抗体または前記第 2 の蛍光複合抗体のいずれかと前記透過処理サンプルを接触させる前に、細胞のサイズによって前記サンプルにおける少なくとも 1 つの細胞をソートすることをさらに含む請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記サンプルにおける少なくとも 1 つの細胞の免疫表現型を解析することをさらに含み、

細胞型特有のマーカー上の第 3 のエピトープに特異的に結合する第 3 の蛍光複合抗体と前記サンプルを接触させること、および

前記第 3 の蛍光複合抗体からの第 3 の蛍光シグナルを検出することを含む請求項 14 または 15 に記載の方法。

**【請求項 17】**

その必要がある被検体由来のサンプルにおけるヒストンのエピジェネティックな修飾のステータスをモニターするための方法であって、

(a) 事象の前に、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法に従って、ヒストンのエピジェネティックな修飾の第 1 の量を決定すること、

(b) 前記事象後に、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法に従って、前記ヒストンの前記エピジェネティックな修飾の第 2 の量を決定することおよび

(c) 前記第 1 の量を前記第 2 の量と比較することを含み、

増加は、前記事象後のエピジェネティックな修飾の増加を示し、減少は、前記事象後のエピジェネティックな修飾の低下を示す方法。

**【請求項 18】**

前記事象が、前記被検体への E Z H 2 阻害剤の投与を含む治療である請求項 17 に記載の方法。

**【請求項 19】**

請求項 14 ~ 17 のいずれか一項に記載の方法に従って、H 3 の量と比較して H 3 K 2 7 m e 3 の量が増加しているとして同定された癌を有する被検体を治療するための医薬品の製造における E Z H 2 阻害剤の使用。

**【請求項 20】**

前記透過処理組成物が、T r i t o n X - 1 0 0 ( ポリエチレングリコール p ( 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルブチル ) - フェニルエーテル )、N o n i d e t P - 4 0 ( オクチルフェノキシポリエトキシエタノール )、T w e e n - 2 0、サポニン、ジギトニンおよび n - オクチル - D - グルコピラノシドが、

T r i t o n X - 1 0 0 ( ポリエチレングリコール p ( 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルブチル ) - フェニルエーテル ) が、

約 0 . 2 5 w t / v o l % ~ 約 5 w t / v o l % の T r i t o n X - 1 0 0 ( ポリエチレングリコール p ( 1 , 1 , 3 , 3 - テトラメチルブチル ) - フェニルエーテル ) を含む請求項 14 から 19 のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 21】**

前記第 1 の蛍光シグナルが、フローサイトメトリーによって検出される請求項 14 ~ 20 のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 22】**

前記第 2 の蛍光シグナルが、フローサイトメトリーによって検出される請求項 14 ~ 21 のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 23】**

前記第 3 の蛍光シグナルが、フローサイトメトリーによって検出される請求項 14 ~ 22 のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 24】**

第 1 の蛍光結合抗体または第 2 の蛍光結合抗体と固定サンプルを接触させる前に、前記固定サンプルを得るために固定組成物と前記サンプルにおける少なくとも 1 つの細胞を接触させることをさらに含む請求項 14 ~ 23 のいずれか一項に記載の使用。

**【請求項 25】**

前記固定組成物が、メタノールフリー組成物であるか、

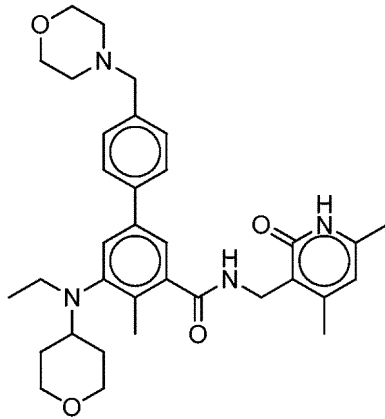
約 1 % ~ 約 1 0 % の濃度のホルムアルデヒドを含むメタノールフリー組成物であるか、

ホルムアルデヒドを含む前記メタノールフリー組成物が約 4 % の濃度である請求項 4 に記載の使用。

**【請求項 26】**

前記 E Z H 2 阻害剤が、以下の化合物またはその薬学的に許容される塩である請求項 13 ~ 25 に記載の使用。

## 【化 1】



## 【請求項 27】

前記被検体が癌を有するヒトである請求項 2 ~ 26 のいずれか一項に記載の使用。

## 【請求項 28】

前記癌が、リンパ腫であるか、

びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、胚中心由来リンパ腫、非胚中心由来リンパ腫、濾胞性リンパ腫 (FL)、縦隔原発 B 細胞性大細胞型リンパ腫 (PMBCL)、辺縁帯リンパ腫 (MZL)、パーキットリンパ腫、および他の非ホジキンリンパ腫亜型から選択される前記リンパ腫である請求項 27 に記載の使用。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2019500623A5</a>	公开(公告)日	2019-12-19
申请号	JP2018543078	申请日	2016-11-07
[标]申请(专利权)人(译)	雅酶股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	Epizaimu , Incorporated的雷开球德		
当前申请(专利权)人(译)	Epizaimu , Incorporated的雷开球德		
[标]发明人	クリストファープレシア		
发明人	クリストファー プレシア		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/536 G01N33/574 C12Q1/02 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00 A61K31/5377		
CPC分类号	A61K31/5377 A61P35/00 G01N33/574 G01N33/6875 G01N2333/4703 G01N2440/12 G01N2800/52		
FI分类号	G01N33/53.K G01N33/536.D G01N33/574.D C12Q1/02 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00.111 A61K31/5377		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ02 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR06 4B063/QR48 4B063/QS02 4B063/QS39 4B063/QX01 4C084/AA17 4C084/MA52 4C084/NA20 4C084/ZB261 4C084/ZC201 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BC73 4C086/GA02 4C086/GA08 4C086/GA09 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA20 4C086/ZB26 4C086/ZC20		
优先权	62/251322 2015-11-05 US 62/351877 2016-06-17 US		
其他公开文献	JP2019500623A		

摘要(译)

本公开涉及用于检测组蛋白的表观遗传修饰的方法，包含人组蛋白甲基转移酶EZH2的抑制剂的组合物及其在治疗癌症中的用途。

