

【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1部門第1区分  
 【発行日】令和2年4月9日(2020.4.9)

【公表番号】特表2019-509024(P2019-509024A)  
 【公表日】平成31年4月4日(2019.4.4)  
 【年通号数】公開・登録公報2019-013  
 【出願番号】特願2018-538846(P2018-538846)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 5/09 (2010.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 5/09

G 0 1 N 33/53 Y

C 1 2 Q 1/02

【手続補正書】

【提出日】令和2年3月2日(2020.3.2)

【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】

ヒト患者からのヒト腫瘍細胞クラスターの集団を含む培地懸濁液であって、約14日以内に前記腫瘍細胞クラスターの少なくとも約10%の増殖をもたらす、培地懸濁液。

【請求項2】

約14、13、12、11、10、9、8、7、6、または5日以内に前記ヒト腫瘍細胞クラスターの少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、または100%の増殖をもたらす、請求項1に記載の培地懸濁液。

【請求項3】

約7日以内に前記ヒト腫瘍細胞クラスターの少なくとも約20~30%の増殖をもたらす、請求項1または2に記載の培地懸濁液。

【請求項4】

約7日以内に前記ヒト腫瘍細胞クラスターの少なくとも約60%の増殖をもたらす、請求項1~3のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項5】

合成培地を含む、請求項1~4のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項6】

無血清である、請求項1~5のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項7】

DMEM/F-12、Wnt3A、塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)、インスリン、トランスフェリン、ウシ血清アルブミン(BSA)、コレステロール、B細胞活性化因子(BAFF)、及び2-メルカプトエタノールから選択される1つ以上の構成成分を含む、請求項5または6に記載の培地懸濁液。

【請求項8】

DMEM/F-12、Wnt3A、bFGF、インスリン、トランスフェリン、ウシ血清アルブミン(BSA)、コレステロール、B細胞活性化因子(BAFF)、及び2-メ

ルカプトエタノールから選択される構成成分のうち、2、3、4、5、6、7、8、または9つを含む、請求項7に記載の培地懸濁液。

【請求項9】

D MEM / F - 1 2、W n t 3 A、b F G F、インスリン、トランスフェリン、ウシ血清アルブミン ( B S A )、コレステロール、B細胞活性化因子 ( B A F F )、及び2 - メルカプトエタノールを含む、請求項8に記載の培地懸濁液。

【請求項10】

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、線維芽細胞成長因子 1 0 ( F G F 1 0 )、及び V O - O H p i c から選択される1つ以上の構成成分を含む、請求項5 ~ 9のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項11】

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、F G F 1 0、及び V O - O H p i c から選択される構成成分のうち、2、3、4、5、または6つを含む、請求項10に記載の培地懸濁液。

【請求項12】

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、F G F 1 0、及び V O - O H p i c を含む、請求項11に記載の培地懸濁液。

【請求項13】

上皮成長因子 ( E G F )、肝細胞成長因子 ( H G F )、インスリン様成長因子 ( I G F )、血管内皮成長因子 ( V E G F )、血小板由来成長因子 ( P D G F )、N 2 サプリメント、B 2 7、プロスタグランジン E 2 ( P G E - 2 )、及び N - アセチル - L - シス테인から選択される1つ以上の構成成分を含む、請求項7 ~ 12のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項14】

E G F、H G F、I G F、V E G F、P D G F、N 2、B 2 7、P G E 2、N - アセチル - L - シス테인から選択される構成成分のうち、2、3、4、5、6、7、8、または9つを含む、請求項13に記載の培地懸濁液。

【請求項15】

E G F、H G F、I G F、V E G F、P D G F、N 2、B 2 7、P G E 2、及び N - アセチル - L - シス테인を含む、請求項14に記載の培地懸濁液。

【請求項16】

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、E G F、H G F、I G F、V E G F、P D G F、N 2、B 2 7、P G E 2、N - アセチル - L - シス테인、F G F 1 0、及び V O - O H p i c を含む、請求項10 ~ 15のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項17】

細胞外基質構成成分、任意選択でマトリゲル、コラーゲン、ラミニン、またはフィブロネクチンを含まない、請求項1 ~ 16のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項18】

前記ヒト腫瘍細胞クラスターが、ヒト患者からの肺癌細胞、結腸癌細胞、胃癌細胞、または乳癌細胞である、請求項1 ~ 17のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項19】

前記ヒト腫瘍細胞クラスターが、ヒト腫瘍細胞及び/またはヒト患者からの組織で異種移植された免疫不全動物から単離される、請求項1 ~ 18のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

【請求項20】

前記ヒト腫瘍細胞クラスターが、任意選択で、外科試料、生検、胸水、及び腹水から選択される、ヒト患者から除去された腫瘍試料から直接単離される、請求項1 ~ 18のいずれか1項に記載の培養懸濁液。

【請求項21】

ヒト腫瘍細胞の増殖方法であって、試料からヒト腫瘍細胞の集団を得ることと、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液中でヒト腫瘍細胞クラスターの集団を培養することと、を含む、方法。

【請求項 22】

約 14 日以内の間、前記培養懸濁液中で前記ヒト腫瘍細胞クラスターを培養することを含む、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

約 14、13、12、11、10、9、8、7、6、または 5 日以内の間、前記培養懸濁液中で前記ヒト腫瘍細胞クラスターを培養することを含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

約 7 日以内の間、前記培養懸濁液中で前記ヒト腫瘍細胞クラスターを培養することを含む、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

ヒト患者から得られた腫瘍細胞クラスターの集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを、前記ヒト患者の治療薬に対する応答性の指標とする方法であって

、  
請求項 1 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養することと、

前記治療薬を前記培地懸濁液に与薬することと、

前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することと、を含み、

腫瘍細胞増殖の減少及び/または腫瘍細胞アポトーシスの誘導が、ヒト患者の治療薬に対する応答性を示し、腫瘍細胞増殖の減少の欠如及び/または腫瘍細胞アポトーシスの誘導の欠如が、ヒト患者の治療薬に対する耐性を示す、方法。

【請求項 26】

前記治療薬を、前記培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養した日と同日に与薬することを含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記治療薬を、前記培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養した少なくとも 1 日後に与薬することを含む、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 28】

前記治療薬を、前記培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養した約 1、2、3、4、5、6、または 7 日後、またはそれ以内に与薬することを含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記治療薬の与薬約 14 日以内に、前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することを含む、請求項 25 ~ 28 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記治療薬の与薬約 14、13、12、11、10、9、8、7、6、または 5 日以内に、前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することを含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記治療薬の与薬約 7、6、または 5 日以内に、前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することを含む、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

腫瘍細胞増殖の測定ステップが、細胞増殖マーカーを測定することを含む、請求項 25 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

前記細胞増殖マーカーが、<sup>3</sup>H-チミジン、プロモデオキシウリジン (BrdU)、5-エチニル-2'-デオキシウリジン (EdU)、Ki-67、及び増殖細胞核抗原 (PCNA) のうちの1つ以上から選択される、請求項32に記載の方法。

【請求項34】

前記腫瘍細胞アポトーシスの測定ステップが、細胞アポトーシスマーカーを測定することを含む、請求項25～33のいずれか1項に記載の方法。

【請求項35】

前記細胞アポトーシスマーカーが、カスパーゼの蛍光色素標識阻害剤 (FLICA)、カスパーゼ活性化、ポリADPリボースポリメラーゼ (PARP) 切断、DRAQ5、DRAQ7、及び末端デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ (TdT) dUTPニック末端標識 (TUNEL) アッセイのうちの1つ以上から選択される、請求項34に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

ある特定の態様では、これらの応答性試験または方法は、診断研究所で行われ、その後、結果を患者に提供するか、または患者の医療及び癌治療において役割を担う医師または他の医療提供者に提供される。よって、特定の実施形態は、腫瘍細胞クラスター応答性試験の結果を患者、または医師もしくは他の医療提供者に提供するための方法を含む。これらの結果またはデータは、ハードコピーもしくは紙コピーの形態、またはコンピュータ可読媒体などの電子形態であってもよい。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

ヒト患者からのヒト腫瘍細胞クラスターの集団を含む培地懸濁液であって、約14日以内に前記腫瘍細胞クラスターの少なくとも約10%の増殖をもたらす、培地懸濁液。

(項目2)

約14、13、12、11、10、9、8、7、6、または5日以内に前記ヒト腫瘍細胞クラスターの少なくとも約10、20、30、40、50、60、70、80、90、または100%の増殖をもたらす、項目1に記載の培地懸濁液。

(項目3)

約7日以内に前記ヒト腫瘍細胞クラスターの少なくとも約20～30%の増殖をもたらす、項目1または2に記載の培地懸濁液。

(項目4)

約7日以内に前記ヒト腫瘍細胞クラスターの少なくとも約60%の増殖をもたらす、項目1～3のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

(項目5)

合成培地を含む、項目1～4のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

(項目6)

無血清である、項目1～5のいずれか1項に記載の培地懸濁液。

(項目7)

DMEM/F-12、Wnt3A、塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF)、インスリン、トランスフェリン、ウシ血清アルブミン (BSA)、コレステロール、B細胞活性化因子 (BAFF)、及び2-メルカプトエタノールから選択される1つ以上の構成成分を含む、項目5または6に記載の培地懸濁液。

(項目8)

DMEM/F-12、Wnt3A、bFGF、インスリン、トランスフェリン、ウシ血

清アルブミン ( B S A )、コレステロール、B 細胞活性化因子 ( B A F F )、及び 2 - メルカプトエタノールから選択される構成成分のうち 2、3、4、5、6、7、8、または 9 つを含む、項目 7 に記載の培地懸濁液。

( 項目 9 )

D M E M / F - 1 2、W n t 3 A、b F G F、インスリン、トランスフェリン、ウシ血清アルブミン ( B S A )、コレステロール、B 細胞活性化因子 ( B A F F )、及び 2 - メルカプトエタノールを含む、項目 8 に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 0 )

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、線維芽細胞成長因子 1 0 ( F G F 1 0 )、及び V O - O H p i c から選択される 1 つ以上の構成成分を含む、項目 5 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 1 )

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、F G F 1 0、及び V O - O H p i c から選択される構成成分のうち 2、3、4、5、または 6 つを含む、項目 1 0 に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 2 )

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、F G F 1 0、及び V O - O H p i c を含む、項目 1 1 に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 3 )

上皮成長因子 ( E G F )、肝細胞成長因子 ( H G F )、インスリン様成長因子 ( I G F )、血管内皮成長因子 ( V E G F )、血小板由来成長因子 ( P D G F )、N 2 サプリメント、B 2 7、プロスタグランジン E 2 ( P G E - 2 )、及び N - アセチル - L - システインから選択される 1 つ以上の構成成分を含む、項目 7 ~ 1 2 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 4 )

E G F、H G F、I G F、V E G F、P D G F、N 2、B 2 7、P G E 2、N - アセチル - L - システインから選択される構成成分のうち 2、3、4、5、6、7、8、または 9 つを含む、項目 1 3 に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 5 )

E G F、H G F、I G F、V E G F、P D G F、N 2、B 2 7、P G E 2、及び N - アセチル - L - システインを含む、項目 1 4 に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 6 )

ニコチンアミド、ノギン、R - スポンジン - 1、Y 2 7 6 3 2、E G F、H G F、I G F、V E G F、P D G F、N 2、B 2 7、P G E 2、N - アセチル - L - システイン、F G F 1 0、及び V O - O H p i c を含む、項目 1 0 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 7 )

細胞外基質構成成分、任意選択でマトリゲル、コラーゲン、ラミニン、またはフィブロネクチンを含まない、項目 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 8 )

前記ヒト腫瘍細胞クラスターが、ヒト患者からの肺癌細胞、結腸癌細胞、胃癌細胞、または乳癌細胞である、項目 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液。

( 項目 1 9 )

前記ヒト腫瘍細胞クラスターが、ヒト腫瘍細胞及び / またはヒト患者からの組織で異種移植された免疫不全動物から単離される、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の培地懸濁液。

( 項目 2 0 )

前記ヒト腫瘍細胞クラスターが、任意選択で、外科試料、生検、胸水、及び腹水から選択される、ヒト患者から除去された腫瘍試料から直接単離される、項目 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載の培養懸濁液。

(項目21)

ヒト腫瘍細胞の増殖方法であって、試料からヒト腫瘍細胞の集団を得ることと、項目1～20のいずれか1項に記載の培地懸濁液中でヒト腫瘍細胞クラスターの集団を培養することと、を含む、方法。

(項目22)

約14日以内の間、前記培養懸濁液中で前記ヒト腫瘍細胞クラスターを培養することを含む、項目21に記載の方法。

(項目23)

約14、13、12、11、10、9、8、7、6、または5日以内の間、前記培養懸濁液中で前記ヒト腫瘍細胞クラスターを培養することを含む、項目22に記載の方法。

(項目24)

約7日以内の間、前記培養懸濁液中で前記ヒト腫瘍細胞クラスターを培養することを含む、項目23に記載の方法。

(項目25)

ヒト患者の治療薬に対する応答性の試験方法であって、  
前記ヒト患者から腫瘍細胞クラスターの集団を得るまたは受け取ることと、  
項目1～24のいずれか1項に記載の培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養することと、  
前記治療薬を前記培地懸濁液に与薬することと、  
前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することと、を含む、  
腫瘍細胞増殖の減少及び/または腫瘍細胞アポトーシスの誘導が、ヒト患者の治療薬に対する応答性を示し、腫瘍細胞増殖の減少の欠如及び/または腫瘍細胞アポトーシスの誘導の欠如が、ヒト患者の治療薬に対する耐性を示す方法も含まれる。

(項目26)

前記治療薬を、前記培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養した日と同日に与薬することを含む、項目25に記載の方法。

(項目27)

前記治療薬を、前記培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養した少なくとも1日後に与薬することを含む、項目25に記載の方法。

(項目28)

前記治療薬を、前記培地懸濁液中で前記腫瘍細胞クラスターの集団を培養した約1、2、3、4、5、6、または7日後、またはそれ以内に与薬することを含む、項目27に記載の方法。

(項目29)

前記治療薬の与薬約14日以内に、前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することを含む、項目1～28のいずれか1項に記載の方法。

(項目30)

前記治療薬の与薬約14、13、12、11、10、9、8、7、6、または5日以内に、前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することを含む、項目29に記載の方法。

(項目31)

前記治療薬の与薬約7、6、または5日以内に、前記腫瘍細胞の集団における腫瘍細胞増殖及び/または腫瘍細胞アポトーシスを測定することを含む、項目30に記載の方法。

(項目32)

腫瘍細胞増殖の測定ステップが、細胞増殖マーカーを測定することを含む、項目1～31のいずれか1項に記載の方法。

(項目33)

前記細胞増殖マーカーが、<sup>3</sup>H-チミジン、プロモデオキシウリジン(BrdU)、5

- エチニル - 2 ' - デオキシウリジン ( E d u )、K i - 6 7、及び増殖細胞核抗原 ( P C N A ) のうちの 1 つ以上から選択される、項目 3 2 に記載の方法。

( 項目 3 4 )

前記腫瘍細胞アポトーシスの測定ステップが、細胞アポトーシスマーカーを測定することを含む、項目 1 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

( 項目 3 5 )

前記細胞アポトーシスマーカーが、カスパーゼの蛍光色素標識阻害剤 ( F L I C A )、カスパーゼ活性化、ポリ A D P リボースポリメラーゼ ( P A R P ) 切断、D R A Q 5、D R A Q 7、及び末端デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ ( T d T ) d U T P ニック末端標識 ( T U N E L ) アッセイのうちの 1 つ以上から選択される、項目 3 4 に記載の方法。

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2019509024A5</a>	公开(公告)日	2020-04-09
申请号	JP2018538846	申请日	2017-03-09
[标]发明人	ヤンジエン		
发明人	チエン, イヨウ ヤン, ジエン ジャン, イホン		
IPC分类号	C12N5/09 G01N33/53 C12Q1/02		
CPC分类号	C12N5/0693 C12N2513/00 G01N33/5011 G01N2510/00 G01N2800/52 C12N5/0062 C12N5/04 G01N33/574		
FI分类号	C12N5/09 G01N33/53.Y C12Q1/02		
F-TERM分类号	4B063/QA19 4B063/QA20 4B063/QQ61 4B063/QR77 4B063/QS32 4B063/QX02 4B065/AA93X 4B065/AC20 4B065/BA30 4B065/BB12 4B065/BB19 4B065/BC50 4B065/CA46		
代理人(译)	夏木森下 饭田TakashiSatoshi 石川大介 山本健作		
优先权	PCT/CN2016/075947 2016-03-09 WO		
其他公开文献	JP2019509024A		

摘要(译)

基于悬浮液的细胞培养系统和用于从患者适当且有效地生长人肿瘤细胞簇的培养基，以及用于评估肿瘤细胞的相关方法和患者对一种或多种治疗剂的潜在响应性它提供。本公开的实施方案涉及包含来自人患者的人肿瘤细胞簇群的培养基悬浮液（或多种培养基悬浮液），所述培养基悬浮液在约14天内包含肿瘤细胞簇。它导致至少约10%的增长。在某些实施方案中，所述培养基悬浮液在少于约14,13,12,11,10,9,8,7,6或5天内包含至少约10,20,30或约40个约人肿瘤细胞簇。结果为40,50,60,70,80,90或100%的增长。[选图]图4