



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104169721 A

(43) 申请公布日 2014. 11. 26

(21) 申请号 201380010388. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 02. 22

G01N 33/68 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/282 (2006. 01)

2012-037448 2012. 02. 23 JP

A61K 31/513 (2006. 01)

A61K 45/00 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61P 35/00 (2006. 01)

2014. 08. 21

A61P 43/00 (2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

G01N 33/15 (2006. 01)

PCT/JP2013/054488 2013. 02. 22

G01N 33/50 (2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/125675 JA 2013. 08. 29

(71) 申请人 学校法人庆应义塾

地址 日本东京都

申请人 株式会社益力多本社

(72) 发明人 谷川原祐介 西牟田章户

津崎盾哉 高桥宽行

(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司

公司 11322

代理人 龙淳

权利要求书2页 说明书14页 附图3页

(54) 发明名称

并用抗癌剂的感受性判定标记

(57) 摘要

本发明提供一种能够判别各个患者的治疗反应性的抗癌剂感受性判定标记和利用其的新的癌症治疗方法。一种抗癌剂的感受性判定标记,该抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐抗癌剂,该感受性判定标记包含:选自氨基酸代谢系统上的物质、核酸代谢系统上的物质、磷酸戊糖途径上的物质、糖酵解系统上的物质、TCA 循环上的物质、多胺代谢系统上的物质以及 7, 8- 二氢生物蝶呤、6- 磷酸葡萄糖酸、丁酸、三乙醇胺、1- 甲基烟酰胺、NADH、NAD⁺及这些分子参与的代谢系统上的物质中的一种以上的分子。

1. 一种抗癌剂的感受性判定标记,所述抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,所述感受性判定标记的特征在于,包含:

选自氨基酸代谢系统上的物质、核酸代谢系统上的物质、磷酸戊糖途径上的物质、糖酵解系统上的物质、TCA 循环上的物质、多胺代谢系统上的物质以及 7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺、NADH、NAD⁺ 及这些分子参与的代谢系统上的物质中的一种以上的分子。

2. 如权利要求 1 所述的感受性判定标记,其特征在于:

氨基酸代谢系统上的物质为选自 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、GABA、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、N⁵-乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽和半胱氨酸-谷胱甘肽中的一种以上的分子。

3. 如权利要求 1 所述的感受性判定标记,其特征在于:

核酸代谢系统上的物质为选自鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、dATP 和腺嘌呤中的一种以上的分子。

4. 如权利要求 1 所述的感受性判定标记,其特征在于:

磷酸戊糖途径上的物质为景天庚酮糖-7-磷酸和 / 或 PRPP。

5. 如权利要求 1 所述的感受性判定标记,其特征在于:

糖酵解系统上的物质为选自磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸和丙酮酸中的一种以上的分子。

6. 如权利要求 1 所述的感受性判定标记,其特征在于:

TCA 循环上的物质为苹果酸。

7. 如权利要求 1 所述的感受性判定标记,其特征在于:

多胺代谢系统上的物质为选自 N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺和亚精胺中的一种以上的分子。

8. 一种抗癌剂的感受性判定方法,所述抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,所述感受性判定方法的特征在于:

测定被检测体中的权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的物质。

9. 如权利要求 8 所述的判定方法,其特征在于:

被检测体是来自患有癌的被测试者的生物体试样。

10. 如权利要求 8 或 9 所述的判定方法,其特征在于:

被检测体是来自被投与包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂的、患有癌的被测试者的生物体试样。

11. 一种用于实施权利要求 8 ~ 10 中任一项所述的判定方法的试剂盒,其特征在于:

包含用于测定被检测体中的权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的物质的操作方案。

12. 如权利要求 11 所述的试剂盒,其特征在于:

被检测体是来自患有癌的被测试者的生物体试样。

13. 如权利要求 11 或 12 所述的试剂盒,其特征在于:

被检测体是来自被投与包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂的、患有癌的被测试者的生物体试样。

14. 一种对于抗癌剂的感受性增强剂的筛选方法,所述抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,所述筛选方法的特征在于:

以权利要求 1 ~ 7 中任一项所述的物质的表达变动为指标。

15. 通过权利要求 14 的方法所得到的对于抗癌剂的感受性增强剂,所述抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐。

16. 一种癌治疗用组合物,其特征在于,含有:

权利要求 15 所述的感受性增强剂和包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂。

并用抗癌剂的感受性判定标记

技术领域

[0001] 本发明涉及用于判定作为对象的患者的癌对抗癌剂是否具有治疗反应性的抗癌剂感受性判定标记及其应用。

背景技术

[0002] 在抗癌剂中,有烷基化剂、铂制剂、代谢拮抗剂、抗癌性抗生素、抗癌性植物生物碱等种类。并且,这些抗癌剂中,根据癌的种类不同,有时显示效果,有时不显示效果。另外,已知即使是认为有效的种类的癌,根据各个患者也有时显示效果有时不显示效果。这样的抗癌剂对于各个患者的癌是否显示效果称为抗癌剂感受性。

[0003] 奥沙利铂 (L-OHP) 是铂配位化合物类抗恶性肿瘤药。据认为,其作用机理与其它铂配位化合物类抗恶性肿瘤药的顺铂 (CDDP)、卡铂 (CBDCA) 同样,通过与 DNA 碱基形成交联而抑制 DNA 合成、抑制蛋白合成,但是 L-OHP 即使是对于 CDDP、CBDCA 无效的大肠癌也显示抗肿瘤效果,显示与以往的铂配位化合物类抗恶性肿瘤药不同的抗肿瘤谱。美国已经在 2004 年 1 月承认通过其与氟尿嘧啶 (5-FU)/左亚叶酸盐 (LV) 的并用作为转移性结肠-直肠癌的一线治疗药,在日本,在 2005 年 4 月在药价中也收录了对于“不能切除治愈的晚期、复发的结肠-直肠癌”,其与 LV 和 5-FU 的静脉内持续给药法的并用 (FOLF0X4 法)。就晚期复发大肠癌的治疗而言,在二十世纪 90 年代前半叶之前所进行的 5-FU/LV 疗法的生存率为 10~12 个月,与此相对,使用添加了 L-OHP 的 FOLF0X 疗法的生存期为 19.5 个月,几乎达到了 2 倍。并且,在 2009 年 8 月,同样地通过与 5-FU/LV 的静脉内持续给药法的并用所进行的“结肠癌中的术后辅助化学疗法”追加了效能、效果,是能够在大肠癌患者中扩大使用并能够期待有益性的药剂。

[0004] 5-FU 是 1957 年开发的氟化嘧啶类抗癌剂,目前仍然是作为消化器官癌化学疗法的基本的药剂。摄入癌细胞的 5-FU 通过下述作用机理发挥杀细胞效果,即,主要通过作为活性代谢物一磷酸氟代脱氧尿苷 (fluorodeoxyuridine-5'-monophosphate, FdUMP) 引起胸苷酸合酶 (thymidylate synthase, TS) 的抑制,从而引起 DNA 合成抑制,此外,通过同样作为活性代谢物的 5-氟尿苷三磷酸 (5-fluorouridine triphosphate, FUTP) 引起的 RNA 功能抑制等。

[0005] 就对于晚期-转移大肠癌的化学疗法而言,通过并用 20 世纪 90 年代登场的伊立替康 (CPT-11)、L-OHP 等的关键药物 (key drug) 和至今作为大肠癌治疗的中心药剂的以 5-FU 为中心的氟化嘧啶制剂,能够大幅改善以生存率为代表的临床成绩,但是,现状是治疗奏效的患者只有大概一半左右,在冒着严重的副作用等风险而投与抗癌剂的一半的患者中得不到疗效。在癌化学疗法中提供最适合的治疗方法时,当务之急是确立判别各个治疗反应性 (有反应者、无反应者) 的抗癌剂感受性的预测标记。

[0006] 一般而言,癌化学疗法的治疗疗程是长期进行的,一边观察副作用的出现一边重复几个疗程进行治疗之后,判断是否获得疗效或者是否应该继续这样给药,但到目前为止,事实是花费长的时间和高额的医疗费,还引起副作用的出现。因此,如果有能够对于各个患

者在治疗前或者治疗早期预测能否得到疗效的方法,则能够降低患者的负担、副作用的出现,削减医疗费。

[0007] 对于以晚期大肠癌患者为对象的化学疗法的治疗反应性生物标记相关的大规模应用临床试验 (FOCUS Trial) 的报告中,作为 5-FU/L-OHP 并用疗法的效果预测因子,只有 I 型拓扑异构酶 (Topoisomerase-1, Topo1) 显示了弱的关联性 (非专利文献 1)。因此,尚未确立在 5-FU/L-OHP 并用疗法中可靠预测具有感受性的患者的方法,确立能够进行通过 L-OHP/5-FU/LV 的 3 剂并用的 FOLFOLX 疗法的效果预测或者治疗反应性的早期诊断的生物标记是当务之急。另外,近年来,还确立了在 FOLFOLX 疗法中加入贝伐单抗的疗法,并且,添加西妥昔单抗、帕尼单抗等抗体药物及伊立替康、达沙替尼等低分子化合物的并用疗法的临床研究也在进行中,作为这些疗法的关键药物的包含 5-FU 和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记的重要性也日益增大。

[0008] 现有技术文献

[0009] 非专利文献

[0010] 非专利文献 1 : J Clin Oncol 2008 ; 26 ; 2690-2698.

发明内容

[0011] 发明所要解决的课题

[0012] 本发明的课题在于提供一种能够判别各个患者的治疗反应性的抗癌剂感受性判定标记和利用该判定标记的新的癌症治疗方法。

[0013] 用于解决课题的方法

[0014] 为此,本发明的发明人培养人癌细胞株,对于 5-FU/L-OHP 暴露后的细胞内代谢变动,使用毛细管电泳-飞行时间型质量分析仪 (CE-TOFMS) 进行穷举性分析,进行抗癌剂感受性判定标记的探索,结果发现确认高感受性细胞中 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平显著上升的峰,发现该峰为氨基酸代谢系统上的物质 (Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、GABA (γ-氨基丁酸)、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽)、核酸代谢系统上的物质 (鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP)、磷酸戊糖途径上的物质 (景天庚酮糖-7-磷酸)、糖酵解系统上的物质 (磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸)、TCA 循环上的物质 (苹果酸)、多胺代谢系统上的物质 (N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺)、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸。另外,发现确认低感受性细胞中 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平显著上升的峰,发现该峰为氨基酸代谢系统上的物质 (N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、N⁵-乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽)、核酸代谢系统上的物质 (dATP)、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺。另外,发现确认高感受性细胞中 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平显著下降的峰,发现该峰为氨基酸代谢系统上的物质 (半胱氨酸-谷胱甘肽)、核酸代谢通路上的物质 (腺嘌呤)、磷酸戊糖途径上的物质 (PRPP)。另外,发现确认低感受性细胞中 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平显著下降的峰,发现该峰为 NADH、NAD⁺。另外,对于 GABA,发现药剂处理前的细胞内水平相比于高感受性细胞,在低感受性细胞中更高。

[0015] 另外,以大肠癌患者血液被检测体为对象,使用 CE-TOFMS 对血中代谢物进行穷举分析的结果发现,对于并用贝伐单抗的 mFOLFOLX6 疗法的治疗反应性低的患者中血中 GABA

水平高。

[0016] 基于上述认识进一步研究的结果发现,如果以来自癌患者的生物体试样中的这些代谢物的浓度为指标,则能够判定该癌患者的癌对于抗癌剂是否具有感受性,此外,如果以这些代谢物的浓度或变动作为指标,就能够进行抗癌剂感受性增强剂的筛选,再者,如果并用该抗癌剂感受性增强剂和作为感受性增强对象的抗癌剂,该抗癌剂的治疗效果就会飞跃性提高,从而完成了本发明。

[0017] 即,本发明在于提供一种抗癌剂的感受性判定标记,该抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,该感受性判定标记包含:选自氨基酸代谢系统上的物质、核酸代谢系统上的物质、磷酸戊糖途径上的物质、糖酵解系统上的物质、TCA 循环上的物质、多胺代谢系统上的物质以及 7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺、NADH、NAD⁺ 及这些分子参与的代谢系统上的物质中的一种以上的分子。

[0018] 另外,本发明在于提供一种抗癌剂的感受性判定方法,该抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,该感受性判定方法的特征在于,测定被检测体中的上述物质。

[0019] 另外,本发明在于提供用于实施抗癌剂的感受性判定方法的试剂盒,该抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,该试剂盒的特征在于,包含用于测定被检测体中的上述物质的操作方案(protocol)。

[0020] 另外,本发明在于提供对于抗癌剂的感受性增强剂的筛选方法,该抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐,该筛选方法的特征在于,以上述物质的表达变动为指标。

[0021] 另外,本发明在于提供通过上述筛选方法所得到的对于抗癌剂的感受性增强剂,该抗癌剂包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐。

[0022] 另外,本发明在于提供一种癌治疗用组合物,其特征在于,含有:上述的抗癌剂感受性增强剂和包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂。

[0023] 发明的效果

[0024] 使用本发明的抗癌剂感受性判定标记,能够准确地在抗癌剂给药前或者抗癌剂给药开始后的早期判定各个患者的抗癌剂治疗反应性,结果,能够选择治疗效果更高的抗癌剂,作为其结果,能够防止伴随不能期待治疗效果的抗癌剂的继续给药所带来的癌的进展、副作用的增大,进而还能够期待患者的负担减轻、医疗费力的削减。另外,使用该标记,能够筛选使抗癌剂感受性增强的药剂,如果并用作为其对象的抗癌剂和抗癌剂感受性增强剂,则癌治疗效果飞跃性提高。本发明的抗癌剂感受性判定标记的测定试剂,作为抗癌剂感受性判定试剂有用。

附图说明

[0025] 图 1 是表示 DLD-1、HCT116 的 5-FU/L-OHP 暴露 24 小时后的各代谢系统上的物质的变动的图。

[0026] 图 2 是表示 DLD-1、HCT116 的药剂处理前的细胞内 GABA 水平的图。

[0027] 图 3 是表示对并用贝伐单抗的 mFOLFOX6 疗法的治疗反应性不同的患者的血中 GABA 水平的图。SD 表示稳定病例,PR 表示部分奏效病例。

具体实施方式

[0028] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为氨基酸代谢系统上的物质(也称为氨基酸代谢系统物质),作为该物质,包括代谢系统中使氨基酸代谢系统物质的浓度变动的全部物质,可以列举使向氨基酸代谢系统物质的代谢增强的物质或抑制的物质、使从氨基酸代谢系统物质的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,优选 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、GABA(γ-氨基丁酸)、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、N⁵-乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、半胱氨酸-谷胱甘肽,特别优选尸胺、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、谷胱甘肽、GABA。

[0029] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为核酸代谢系统上的物质(也称为核酸代谢系统物质),作为该物质,包括使核酸代谢系统物质的浓度变动的全部物质,可以列举使向核酸代谢系统物质的代谢增强的物质或抑制的物质、使从核酸代谢系统物质的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,优选鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、dATP、腺嘌呤,特别优选鸟苷、UMP、UDP、CTP。

[0030] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为磷酸戊糖途径上的物质(也称为磷酸戊糖途径上物质),作为该物质,包括使磷酸戊糖途径上物质的浓度变动的全部物质,可以列举使向磷酸戊糖途径上物质的代谢增强的物质或抑制的物质、使从磷酸戊糖途径上物质的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选景天庚酮糖-7-磷酸、PRPP。

[0031] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为糖酵解系统上的物质(也称为糖酵解系统物质),作为该物质,包括使糖酵解系统物质的浓度变动的全部物质,可以列举使向糖酵解系统物质的代谢增强的物质或抑制的物质、使从糖酵解系统物质的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,优选磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸,特别优选磷酸二羟丙酮。

[0032] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为TCA循环上的物质(也称为TCA循环上物质),作为该物质,包括使TCA循环上物质的浓度变动的全部物质,可以列举使向TCA循环上物质的代谢增强的物质或抑制的物质、使从TCA循环上物质的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选苹果酸。

[0033] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为多胺代谢系统上的物质(也称为多胺代谢系统物质),作为该物质,包括使多胺代谢系统物质的浓度变动的全部物质,可以列举使向多胺代谢系统物质的代谢增强的物质或抑制的物质、使从多胺代谢系统物质的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺。

[0034] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为7,8-二氢生物蝶呤或与其相关的代谢系统上的物质(也称为7,8-二氢生物蝶呤代谢系统物质),作为该物质,除了7,8-二氢生物蝶呤以外,还包括代谢系统中使7,8-二氢生物蝶呤的浓度变动的全部物质,可以列举使向7,8-二氢生物蝶呤的代谢增强的物质或抑制的物质、使从7,8-二氢生物蝶呤的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选7,8-二氢生物蝶呤。

[0035] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为6-磷酸葡萄糖酸或与其相关的代谢系统上的物质(也称为6-磷酸葡萄糖酸代谢系统物质),作为该物质,除了6-磷酸葡萄糖酸以外,还包括代谢系统中使6-磷酸葡萄糖酸的浓度变动的全部物质,可以列举使向6-磷酸葡萄糖酸的

代谢增强的物质或抑制的物质、使从 6- 磷酸葡萄糖酸的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选 6- 磷酸葡萄糖酸。

[0036] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为丁酸或与其相关的代谢系统上的物质(也称为丁酸代谢系统物质),作为该物质,除了丁酸以外,还包括代谢系统中使丁酸的浓度变动的全部物质,可以列举使向丁酸的代谢增强的物质或抑制的物质、使从丁酸的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选丁酸。

[0037] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为三乙醇胺或与其相关的代谢系统上的物质(也称为三乙醇胺代谢系统物质),作为该物质,除了三乙醇胺以外,还包括代谢系统中使三乙醇胺的浓度变动的全部物质,可以列举使向三乙醇胺的代谢增强的物质或抑制的物质、使从三乙醇胺的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选三乙醇胺。

[0038] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为 1- 甲基烟酰胺或与其相关的代谢系统上的物质(也称为 1- 甲基烟酰胺代谢系统物质),作为该物质,除了 1- 甲基烟酰胺以外,还包括代谢系统中使 1- 甲基烟酰胺的浓度变动的全部物质,可以列举使向 1- 甲基烟酰胺的代谢增强的物质或抑制的物质、使从 1- 甲基烟酰胺的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选 1- 甲基烟酰胺。

[0039] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为 NADH 或与其相关的代谢系统上的物质(也称为 NADH 代谢系统物质),作为该物质,除了 NADH 以外,还包括代谢系统中使 NADH 的浓度变动的全部物质,可以列举使向 NADH 的代谢增强的物质或抑制的物质、使从 NADH 的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选 NADH。

[0040] 本发明的抗癌剂感受性判定标记之一,为 NAD^+ 或与其相关的代谢系统上的物质(也称为 NAD^+ 代谢系统物质),作为该物质,除了 NAD^+ 以外,还包括代谢系统中使 NAD^+ 的浓度变动的全部物质,可以列举使向 NAD^+ 的代谢增强的物质或抑制的物质、使从 NAD^+ 的代谢促进的物质或抑制的物质等。这些之中,特别优选 NAD^+ 。

[0041] 上述的抗癌剂感受性判定标记中,由本发明的发明人确认了 Asp、N, N- 二甲基甘氨酸、 γ -Glu-Cys、谷胱甘肽、GABA、1- 甲基腺苷、精胺、亚精胺、7, 8- 二氢生物蝶呤、1- 甲基烟酰胺为伊立替康、SN-38 的感受性判定标记,还首次发现了可以作为包含 5-FU 和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记。

[0042] 如后述实施例所示,Asp、Gly、Arg、N- 乙酰基- β -丙氨酸、N- 乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2- 氨基己二酸、 γ -Glu-Cys、 β -Ala-Lys、Glu-Glu、S- 乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1- 甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7- 磷酸、磷酸二羟丙酮、2, 3- 二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、 N^1 - 乙酰精胺、N- 乙酰腐胺、 N^8 - 乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7, 8- 二氢生物蝶呤、6- 磷酸葡萄糖酸在 5-FU/L-OHP 暴露后,在高感受性的 HCT116 中被确认到细胞内水平的显著上升。另一方面,在低感受性的 DLD-1 中,确认不到如 HCT116 一样的细胞内水平的显著变动,或者,与对照组相比,细胞内水平降低。因此,这些物质作为包含 5-FU 和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记有用。

[0043] 如后述的实施例所示,N, N- 二甲基甘氨酸、3- 甲基组氨酸、 N^5 - 乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1- 甲基烟酰胺在 5-FU/L-OHP 暴露后,在低感受性的 DLD-1 中被确认到细胞内水平的显著上升,但是在高感受性的 HCT116 中确认不到如 DLD-1 一样的细胞内水平的显著变动,或者,与对照组相比,细胞内水平降低。因此,这些物质作为包含 5-FU

和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记有用。

[0044] 如后述实施例所示,半胱氨酸-谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP 在 5-FU/L-OHP 暴露后,在高感受性的 HCT116 中被确认到细胞内水平的显著降低,但是在低感受性的 DLD-1 中确认不到如 HCT116 一样的细胞内水平的显著变动,或者与对照组相比,细胞内水平上升。因此,这些物质作为包含 5-FU 和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记有用。

[0045] 如后述的实施例所示, NADH、NAD⁺ 在 5-FU/L-OHP 暴露后,在低感受性的 DLD-1 中被确认到细胞内水平的显著降低,但是在高感受性的 HCT116 中确认不到如 DLD-1 一样的细胞内水平的显著变动。因此,这些物质作为包含 5-FU 和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记有用。

[0046] 如后述的实施例所示, GABA 在 5-FU/L-OHP 暴露后,在高感受性的 HCT116 中被确认到细胞内水平的显著上升。另一方面,在低感受性的 DLD-1 中确认不到如 HCT116 一样的细胞内水平的显著变动。另外,发现与药剂处理前的细胞内水平为高感受性的 HCT116 相比,在低感受性的 DLD-1 中高。另外,在对并用贝伐单抗的 mFOLFOX6 疗法的治疗反应性低的大肠癌患者的大部分中,血中水平高。因此, GABA 作为包含 5-FU 和 L-OHP 的抗癌剂的感受性判定标记有用。

[0047] 作为本发明的抗癌剂感受性判定标记的对象的抗癌剂为包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂,但在体内被代谢而变换为奥沙利铂、氟尿嘧啶的抗癌剂,也与奥沙利铂、氟尿嘧啶同样,作为本发明的抗癌剂感受性判定标记的对象。具体而言,已知替加氟 (tegafur)、卡培他滨 (capecitabine) 在体内被代谢而变换为氟尿嘧啶,因此,代替氟尿嘧啶,替加氟、卡培他滨也作为本发明的抗癌剂感受性判定标记的对象,此时,包含奥沙利铂或其盐和替加氟或其盐的抗癌剂、包含奥沙利铂或其盐和卡培他滨或其盐的抗癌剂,也作为本发明的抗癌剂感受性判定标记的对象。

[0048] 作为本发明的抗癌剂感受性判定标记的对象的抗癌剂是包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂,作为与该抗癌剂组合使用的其它的抗癌剂没有特别限定,例如,可以列举环磷酰胺 (cyclophosphamide)、异磷酰胺 (ifosfamide)、噻替派 (thiotepa)、美法仑 (melphalan)、白消安 (busulfan)、尼莫司汀 (nimustine)、雷莫司汀 (ranimustine)、达卡巴嗪 (dacarbazine)、丙卡巴肼 (procarbazine)、替莫唑胺 (temozolomide)、顺铂 (cisplatin)、卡铂 (carboplatin)、奈达铂 (nedaplatin)、甲氨蝶呤 (methotrexate)、培美曲塞 (pemetrexed)、尿嘧啶 (uracil)、脱氧氟尿苷 (doxifluridine)、吉美拉西 / 奥替拉西 (gimeracil/oteracil)、阿糖胞苷 (cytarabine)、依诺他滨 (enocitabine)、吉西他滨 (gemcitabine)、6-巯基嘌呤 (6-mercaptopurine)、氟达拉滨 (fludarabine)、喷司他汀 (pentostatin)、克拉屈滨 (cladribine)、羟基脲 (hydroxyurea)、多柔比星 (doxorubicin)、表柔比星 (epirubicin)、佐柔比星 (daunorubicin)、依达比星 (idarubicin)、吡柔比星 (pirarubicin)、米托蒽醌 (mitoxantrone)、氨柔比星 (amrubicin)、放线菌素 D (actinomycin D)、博来霉素 (bleomycin)、派来霉素 (pepleomycin)、丝裂霉素 C (mitomycin C)、阿柔比星 (aclerubicin)、净司他汀 (zinostatin)、长春新碱 (vincristine)、长春地辛 (vindesine)、长春碱 (vinblastine)、长春瑞滨 (vinorelbine)、紫杉醇 (paclitaxel)、多西紫杉醇 (docetaxel)、伊立替康 (irinotecan)、伊立替康活性代谢物 (SN-38)、托泊替康 (norgitecan、topotecan)、

依托泊苷 (etoposide)、泼尼松龙 (prednisolone)、地塞米松 (dexamethasone)、他莫昔芬 (tamoxifen)、托瑞米芬 (toremifene)、甲羟孕酮 (medroxyprogesterone)、阿那曲唑 (anastrozole)、依西美坦 (exemestane)、来曲唑 (letrozole)、利妥昔单抗 (rituximab)、伊马替尼 (imatinib)、吉非替尼 (gefitinib)、吉姆单抗-奥佐米星 (gemtuzumab ozogamicin)、硼替佐米 (bortezomib)、厄洛替尼 (erlotinib)、西妥昔单抗 (cetuximab)、贝伐单抗 (bevacizumab)、舒尼替尼 (sunitinib)、索拉非尼 (sorafenib)、达沙替尼 (dasatinib)、帕尼单抗 (panitumumab)、门冬酰胺酶 (asparaginase)、维甲酸 (tretinoin)、三氧化二砷 (arsenic trioxide)、亚叶酸 (folinate)、左亚叶酸 (levofolinate) 或它们的盐、或它们的活性代谢物等。其中,优选与选自伊立替康、SN-38、西妥昔单抗、贝伐单抗、达沙替尼、帕尼单抗、亚叶酸和左亚叶酸中的一种以上的抗癌剂的组合,特别优选与选自伊立替康、西妥昔单抗、贝伐单抗、亚叶酸和左亚叶酸中的一种以上的抗癌剂的组合,作为与包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂的组合的例子,可以列举左亚叶酸、亚叶酸、左亚叶酸和贝伐单抗;亚叶酸和贝伐单抗;左亚叶酸和西妥昔单抗;亚叶酸和西妥昔单抗;或伊立替康。

[0049] 在使用本发明的抗癌剂感受性判定标记判定抗癌剂感受性时,测定被检测体中的这些代谢系统物质即可。这里,作为被检测体,可以列举来自患有癌的被测试者(癌患者)的生物体试样,例如,可以列举血液、血清、血浆、尿、肿瘤组织-细胞、腹水、胸水、脑脊液、便、痰等,特别优选血清。

[0050] 另外,作为本发明的对象的癌,可以列举以喉癌为代表的唇、口腔和喉癌、以食道癌、胃癌、结肠-直肠癌为代表的消化器官癌、以肺癌为代表的呼吸器官和胸腔内脏器官癌、骨及关节软骨癌、皮肤的恶性黑色素瘤、鳞状细胞癌及其它的皮肤癌、以间皮瘤为代表的间皮和软组织癌、以乳腺癌、子宫癌、卵巢癌为代表的女性性器官癌、以前列腺癌为代表的男性性器官癌、以膀胱癌为代表的尿路癌、以脑肿瘤为代表的脑、脑和中枢神经系统癌、甲状腺及其它内分泌腺癌、以非霍奇金淋巴瘤和淋巴细胞性白血病为代表的淋巴组织、造血组织和相关组织癌、以及以这些为原发病灶的转移组织的癌等,特别是能够对非小细胞肺癌、小细胞肺癌、宫颈癌、卵巢癌、胃癌、结肠-直肠癌、鳞状细胞癌、恶性淋巴瘤合适地利用。

[0051] 被检测体中的这些代谢系统物质的检测方法,能够根据被测定对象物质适当确定,例如,能够通过 CE-TOFMS、气相色谱-质谱法 (GC-MS) 等的各种质量分析装置、HPLC、免疫学测定法、生化学测定法等进行测定。

[0052] 对于 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基- β -丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、 γ -Glu-Cys、 β -Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7-磷酸、磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸,为了判定对于作为对象的抗癌剂的感受性,测定来自抗癌剂给药前和给药后的癌患者的生物体试样中的这些代谢系统物质浓度,与抗癌剂给药前相比,给药后这些代谢系统物质的浓度上升或者高于规定的基准,则能够判定为该癌具有抗癌剂感受性,如果抗癌剂给药前后这些代谢系统物质的浓度没有变化或者低于规定的基准,则能够判定为该癌不具有抗癌剂感受性。

[0053] 当对于作为对象的抗癌剂没有感受性时,不能期待其药效,在将这样的不能期待药效的抗癌剂继续给药时,存在癌的进展、副作用增大的危险。这样,本发明的抗癌剂感受性判定标记不仅能够判定抗癌剂治疗反应性,而且对防止伴随不能期待药效的抗癌剂的继续给药所引起的副作用增大也有巨大的贡献。

[0054] 对于 N, N- 二甲基甘氨酸、3- 甲基组氨酸、N⁵- 乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1- 甲基烟酰胺,为了判定对于作为对象的抗癌剂的感受性,测定来自抗癌剂给药前和给药后的癌患者的生物体试样中的这些代谢系统物质浓度,与抗癌剂给药前相比,给药后这些代谢系统物质的浓度上升或者高于规定的基准,则能够判定为该癌不具有抗癌剂感受性,如果抗癌剂给药前后这些代谢系统物质的浓度没有变化或者低于规定的基准,则能够判定为该癌具有抗癌剂感受性。

[0055] 当对于作为对象的抗癌剂没有感受性时,不能期待其药效,在将这样的不能期待药效的抗癌剂继续给药时,存在癌的进展、副作用增大的危险。这样,本发明的抗癌剂感受性判定标记不仅能够判定抗癌剂治疗反应性,而且对防止伴随不能期待药效的抗癌剂的继续给药所引起的副作用增大也有巨大的贡献。

[0056] 对于半胱氨酸 - 谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP,为了判定对于作为对象的抗癌剂的感受性,测定来自抗癌剂给药前和给药后的癌患者的生物体试样中的这些代谢系统物质浓度,与抗癌剂给药前相比,给药后这些代谢系统物质的浓度下降或者低于规定的基准,则能够判定为该癌具有抗癌剂感受性,如果抗癌剂给药前后这些代谢系统物质的浓度没有变化或者高于规定的基准,则能够判定为该癌不具有抗癌剂感受性。

[0057] 当对于作为对象的抗癌剂没有感受性时,不能期待其药效,在将这样的不能期待药效的抗癌剂继续给药时,存在癌的进展、副作用增大的危险。这样,本发明的抗癌剂感受性判定标记不仅能够判定抗癌剂治疗反应性,而且对防止伴随不能期待药效的抗癌剂的继续给药所引起的副作用增大也有巨大的贡献。

[0058] 对于 NADH、NAD⁺,为了判定对于作为对象的抗癌剂的感受性,测定来自抗癌剂给药前和给药后的癌患者的生物体试样中的这些代谢系统物质浓度,与抗癌剂给药前相比,给药后这些代谢系统物质的浓度降低或者低于规定的基准,则能够判定为该癌不具有抗癌剂感受性,如果抗癌剂给药前后这些代谢系统物质的浓度没有变化或者高于规定的基准,则能够判定为该癌具有抗癌剂感受性。

[0059] 当对于作为对象的抗癌剂没有感受性时,不能期待其药效,在将这样的不能期待药效的抗癌剂继续给药时,存在癌的进展、副作用增大的危险。这样,本发明的抗癌剂感受性判定标记不仅能够判定抗癌剂治疗反应性,而且对防止伴随不能期待药效的抗癌剂的继续给药所引起的副作用增大也有巨大的贡献。

[0060] 对于 GABA,为了判定对于作为对象的抗癌剂的感受性,测定来自抗癌剂给药前和给药后的癌患者的生物体试样中的这些代谢系统物质浓度,与抗癌剂给药前相比,给药后这些代谢系统物质的浓度上升或者高于规定的基准,则能够判定为该癌具有抗癌剂感受性,如果抗癌剂给药前后这些代谢系统物质的浓度没有变化或者低于规定的基准,则能够判定为该癌不具有抗癌剂感受性。另外,在抗癌剂给药前或者各治疗循环中的抗癌剂给药前的阶段中,这些代谢系统物质的浓度具有判断为高于规定标准浓度的浓度时,则能够判定为该癌对于作为对象的抗癌剂没有感受性。

[0061] 当对于作为对象的抗癌剂没有感受性时,不能期待其药效,在将这样的不能期待药效的抗癌剂继续给药时,存在癌的进展、副作用增大的危险。这样,本发明的抗癌剂感受性判定标记不仅能够判定抗癌剂治疗反应性,而且对防止伴随不能期待药效的抗癌剂的继续给药所引起的副作用增大也有巨大的贡献。

[0062] 为了实施本发明的抗癌剂感受性的判定方法,优选使用包含用于测定被检测体中的这些代谢系统物质的操作方案的试剂盒。该试剂盒中,包含这些代谢系统物质测定试剂、测定试剂的使用方法以及用于判定抗癌剂感受性有无的基准等。该基准包括这些代谢系统物质的标准浓度或标准比、判断为高的浓度或比、判断为低的浓度或比、对测定结果产生影响的因素及其影响程度等,这些浓度能够针对每个作为对象的抗癌剂进行设定。使用该基准,能够如上所述进行判定。

[0063] 以抗癌剂暴露后的 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7-磷酸、磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸的表达变动为指标,具体而言以变化的促进或浓度的上升为指标,则能够筛选抗癌剂感受性增强剂。即,在体外(in vitro)或体内(in vivo),促进 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7-磷酸、磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸在抗癌剂暴露后变动或使浓度上升的物质,使抗癌剂感受性增强。例如,在体外,促进抗癌剂暴露后的细胞内的 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7-磷酸、磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸的变动或使浓度上升的物质,为使该抗癌剂的感受性增强的物质(抗癌剂感受性增强剂)。另外,在体内,促进荷癌动物中抗癌剂暴露后的 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基-β-丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、γ-Glu-Cys、β-Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7-磷酸、磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、N¹-乙酰精胺、N-乙酰腐胺、N⁸-乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸的变动或使浓度上升的物质,为使该抗癌剂的感受性增强的物质(抗癌剂感受性增强剂)。

[0064] 另外,如果以抗癌剂暴露后的 N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、N⁵-乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺的表达变动的有无为指标,则能够筛选抗癌剂感受性增强剂。即,在体外或体内,减小 N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、N⁵-乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺的抗癌剂暴露后的变动的物质,使抗癌剂感受性增强。例如,在体外,减小抗癌剂暴露后的细胞内的 N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、N⁵-乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺的变动的物质,为使该抗癌剂的感受性增强的物质(抗癌剂感受性增强剂)。另外,在体内,减小

荷癌动物中抗癌剂暴露后的 N, N- 二甲基甘氨酸、3- 甲基组氨酸、N⁵- 乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1- 甲基烟酰胺的变动的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。

[0065] 另外, 如果以抗癌剂暴露后的半胱氨酸 - 谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP 的表达变动为指标, 具体而言, 以变动的促进或浓度的降低为指标, 则能够筛选抗癌剂感受性增强剂。即, 在体外或体内, 促进半胱氨酸 - 谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP 的抗癌剂暴露后的变动或者使浓度降低的物质, 使抗癌剂感受性增强。例如, 在体外, 促进抗癌剂暴露后的细胞内的半胱氨酸 - 谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP 的变动或者使浓度降低的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。另外, 在体内, 促进荷癌动物中抗癌剂暴露后的半胱氨酸 - 谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP 的变动或者使浓度降低的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。

[0066] 另外, 如果以抗癌剂暴露后的 NADH、NAD⁺ 的表达变动的有无为指标, 则能够筛选抗癌剂感受性增强剂。即, 在体外或体内, 减小 NADH、NAD⁺ 的抗癌剂暴露后的变动的物质, 使抗癌剂感受性增强。例如, 在体外, 减小抗癌剂暴露后的细胞内的 NADH、NAD⁺ 的变动的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。另外, 在体内, 减小荷癌动物中抗癌剂暴露后的 NADH、NAD⁺ 的变动的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。

[0067] 如果以抗癌剂暴露后的 GABA 的表达变动为指标, 则能够筛选抗癌剂感受性增强剂。即, 在体外或体内, 使 GABA 的抗癌剂暴露前的浓度降低的物质、促进抗癌剂暴露后的变动或使浓度上升的物质, 使抗癌剂感受性增强。例如, 在体外, 在抗癌剂暴露前用某种物质处理各种癌细胞株时, 使细胞内的 GABA 的浓度降低的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。另外, 在体外, 促进各种癌细胞株的抗癌剂暴露后的细胞内的 GABA 的变动或使浓度上升的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。另外, 在体内, 使荷癌动物中抗癌剂暴露前的 GABA 的浓度降低的物质、促进抗癌剂暴露后的 GABA 的变动或使浓度上升的物质, 为使该抗癌剂的感受性增强的物质 (抗癌剂感受性增强剂)。

[0068] 并且, 如果以本发明的抗癌剂感受性判定标记为指标, 则能够筛选抗癌剂。即, 在体外或体内, 由于某种物质, 抗癌剂感受性判定标记的浓度变动, 则该物质为抗癌剂。例如, 在体外, 将各种癌细胞株暴露于某种物质后, 与暴露前相比, 抗癌剂感受性判定标记的浓度变动, 则该物质为抗癌剂。另外, 对荷癌动物投与某种物质之后, 抗癌剂感受性判定标记的浓度变动, 则该物质为抗癌剂。如果是能够期待药效的抗癌剂, 则抗癌剂感受性判定标记的浓度变动比肿瘤的缩小或者细胞杀死效果更早出现, 因此通过以抗癌剂感受性判定标记为指标的筛选, 能够以更短时间研究来判定该物质作为抗癌剂是否有效。从伴随抗癌剂开发的劳动力和费用的削减的方面也能够期待巨大的效果。

[0069] 如果并用这样得到的抗癌剂感受性增强剂和作为感受性增强的对象的抗癌剂, 就能够使该抗癌剂的治疗效果飞跃性地提高。作为组合抗癌剂感受性增强剂和作为感受性增强对象的抗癌剂的方式, 可以为包含这些成分两者的一种组合物, 也可以是各自分别的制剂的组合。此外, 也可以将这些成分分别以各自的给药方式给药。这里所使用的作为对象的抗癌剂为包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂, 作为与该抗癌

剂组合使用的其它抗癌剂没有特别限定,例如,可以列举环磷酰胺(cyclophosphamide)、异磷酰胺(ifosfamide)、噻替哌(thiotepa)、美法仑(melphalan)、白消安(busulfan)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)、达卡巴嗪(dacarbazine)、丙卡巴肼(procabazine)、替莫唑胺(temozolomide)、顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、奈达铂(nedaplatin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、培美曲塞(pemetrexed)、尿嘧啶(uracil)、脱氧氟尿苷(doxifluridine)、吉美拉西/奥替拉西(gimeracil/oteracil)、阿糖胞苷(cytarabine)、依诺他滨(enocitabine)、吉西他滨(gemcitabine)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine)、氟达拉滨(fuludarabin)、喷司他汀(pentostatin)、克拉屈滨(cladribine)、羟基脲(hydroxyurea)、多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、佐柔比星(daunorubicin)、依达比星(idarubicin)、吡柔比星(pirarubicin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、氨柔比星(amurubicin)、放线菌素D(actinomycin D)、博来霉素(bleomycine)、派来霉素(pepleomycin)、丝裂霉素C(mytomycin C)、阿柔比星(aclarubicin)、净司他丁(zinostatin)、长春新碱(vincristine)、长春地辛(vindesine)、长春碱(vinblastine)、长春瑞滨(vinorelbine)、紫杉醇(paclitaxel)、多西紫杉醇(docetaxel)、伊立替康(irinotecan)、伊立替康活性代谢物(SN-38)、托泊替康(nogitecan、topotecan)、依托泊苷(etoposide)、泼尼松龙(prednisolone)、地塞米松(dexamethasone)、他莫昔芬(tamoxifen)、托瑞米芬(toremifene)、甲羟孕酮(medroxyprogesterone)、阿那曲唑(anastrozole)、依西美坦(exemestane)、来曲唑(letrozole)、利妥昔单抗(rituximab)、伊马替尼(imatinib)、吉非替尼(gefitinib)、吉姆单抗-奥佐米星(gemtuzumabozogamicin)、硼替佐米(bortezomib)、厄洛替尼(erlotinib)、西妥昔单抗(cetuximab)、贝伐单抗(bevacizumab)、舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)、达沙替尼(dasatinib)、帕尼单抗(panitumumab)、门冬酰胺酶(asparaginase)、维甲酸(tretinoin)、三氧化二砷(arsenic trioxide)、亚叶酸(folate)、左亚叶酸(levofolate)、或它们的盐、或它们的活性代谢物等。其中,优选与选自伊立替康、SN-38、西妥昔单抗、贝伐单抗、达沙替尼、帕尼单抗、亚叶酸和左亚叶酸中的一种以上的抗癌剂的组合,特别优选与选自伊立替康、西妥昔单抗、贝伐单抗、亚叶酸和左亚叶酸中的一种以上的抗癌剂的组合,作为与包含奥沙利铂或其盐和氟尿嘧啶或其盐的抗癌剂的组合的例子,可以列举左亚叶酸、亚叶酸、左亚叶酸和贝伐单抗;亚叶酸和贝伐单抗;左亚叶酸和西妥昔单抗;亚叶酸和西妥昔单抗;或伊立替康。

[0070] 实施例

[0071] 以下,列举实施例进一步详细说明本发明的内容,但是本发明不受这些的任何限制。

[0072] 实施例 1

[0073] (1) 方法

[0074] (a) 使用细胞

[0075] 使用两种人大肠癌细胞株(高感受性:HCT116,低感受性:DLD-1)。HCT116从株式会社益力多本社获得,DLD-1从大日本住友制药株式会社获得。这些细胞使用含有10% Fetal Bovine Serum(胎牛血清,Invitrogen公司)的Doulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM),在Φ100mm/Tissue Culture Dish(IWAKI)中在37℃、5% CO₂的条件下培养。

[0076] (b) 药剂

[0077] L-OHP 散装粉末从株式会社益力多本社获得。另外,5-FU 散装粉末从 Sigma-Aldrich 日本株式会社获得。

[0078] (c) 5-FU/L-OHP 暴露和细胞内代谢物的采集

[0079] 对两种细胞,通过更换为含有 $100 \mu\text{mol/L}$ 的 5-FU 和 $10 \mu\text{mol/L}$ 的 L-OHP 的培养基,开始抗癌剂暴露(使用不含抗癌剂的培养基作为对照组)。0hr、4hr、12hr、24hr、48hr 暴露后,在冰上用 5%甘露醇(4°C)清洗细胞后,立即添加甲醇(4°C ,含有内部标准物质),使酶失活,在 -80°C 保存。此外,将细胞数算出用的细胞与代谢物提取用的细胞分开准备,进行同样的处理之后进行细胞计数,用于细胞数修正。

[0080] (d) 代谢组样品的制备

[0081] 在 -80°C 保存的甲醇溶液中,添加氯仿和 MilliQ 水进行液-液提取,除去杂质成分。收集含有代谢物的水-甲醇层,使用截止分子量 5000Da 的离心超滤过滤器进行除蛋白之后,将滤液减压干燥,在 -80°C 保存。在即将测定前在 MilliQ 水中溶解,供给代谢组测定。

[0082] (e) 代谢组测定

[0083] 细胞内代谢物的穷举性测定使用 Agilent Technologies 公司的毛细管电泳-飞行时间型质量分析计(CE-TOFMS)进行。阳离子性代谢物的穷举性测定中,以毛细管的出口为阴极的方式施加电压,另外,阴离子性代谢物的穷举性测定中,以毛细管的出口为阳极的方式施加电压,同时定量分析 $m/z = 50 \sim 1000$ 的代谢物。

[0084] (f) 数据分析

[0085] 从各细胞样品利用 CE-TOFMS 检测得到的峰,与已知 m/z 和迁移时间的约 500 个标准品数据对比进行鉴定。就代谢物量而言,用内部标准物质的峰面积除以峰面积,并修正由标本带来的差。

[0086] (2) 结果

[0087] 对于感受性不同的两种人大肠癌细胞(高感受性:HCT-116,低感受性:DLD-1),着眼于 5-FU/L-OHP 暴露 24 小时后的细胞内代谢组数据,选取 5-FU/L-OHP 暴露后确认了变动的代谢物(图 1)。其结果,作为在高感受性细胞中被确认 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平的显著上升的代谢物,发现了 Asp、Gly、Arg、N-乙酰基- β -丙氨酸、N-乙酰基鸟氨酸、尸胺、磺基丙氨酸、2-氨基己二酸、GABA(γ -氨基丁酸)、 γ -Glu-Cys、 β -Ala-Lys、Glu-Glu、S-乳酰谷胱甘肽、鸟苷、CMP、UMP、1-甲基腺苷、UDP、CTP、景天庚酮糖-7-磷酸、磷酸二羟丙酮、2,3-二磷酸甘油酸、丙酮酸、苹果酸、 N^1 -乙酰精胺、N-乙酰腐胺、 N^8 -乙酰亚精胺、腐胺、精胺、亚精胺、7,8-二氢生物蝶呤、6-磷酸葡萄糖酸。另外,作为在低感受性细胞中被确认到 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平的显著上升的代谢物,发现了 N,N-二甲基甘氨酸、3-甲基组氨酸、 N^5 -乙基谷氨酰胺、谷胱甘肽、dATP、丁酸、三乙醇胺、1-甲基烟酰胺。另外,作为在高感受性细胞中被确认到 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平的显著降低的代谢物,发现了半胱氨酸-谷胱甘肽、腺嘌呤、PRPP。另外,作为在低感受性细胞中被确认到 5-FU/L-OHP 暴露后细胞内水平的显著降低的代谢物,发现了 NADH、 NAD^+ 。

[0088] 另外,对于 GABA,发现药剂处理前的细胞内水平,与高感受性细胞相比,低感受性细胞中高(图 2)。

[0089] 实施例 2

[0090] 通过并用贝伐单抗的 mFOLFOX6 疗法的人临床试验的研究

[0091] 1. 方法

[0092] 在实施了与氟尿嘧啶 400mg/ 平方米（急速静脉注射）、左亚叶酸 200mg/ 平方米、氟尿嘧啶 2, 400mg/ 平方米（持续点滴静脉注射）并用投与奥沙利铂 85mg/ 平方米、贝伐单抗 5mg/kg 的癌化学疗法（并用贝伐单抗的 mFOLFOX6 疗法）的患者中,进行了研究癌化学疗法的有效性和安全性、并且对于这些的个体差异因素实施探索性研究的第二阶段临床试验。对象为不能切除治愈的晚期、复发病例,并且没有进行利用化学疗法、免疫疗法或放射疗法的前治疗的病例。具体的选择基准为:(1) 确认了病理组织学上的结肠癌或直肠癌的病例、(2) 不能切除治愈的晚期、复发病例、(3) 具有能够测定的病变的病例、(4) 没有进行利用化学疗法、免疫疗法或放射疗法的前治疗的病例（限于利用氟尿嘧啶类药剂的术后辅助化学疗法、从确认复发日起的 6 个月内结束,则能够登记）、(5) 登记时的年龄为 20 岁以上的病例、(6) 体能状态 (Performance status) (ECOG 级别, ECOG scale) 为 0 或 1 的病例、(7) 能够期待 3 个月以上的生存的病例、(8) 主要脏器机能（骨髓、肝、肾、心、肺等）没有高度的损害并且在登记前 14 天以内（不包括登记日）所实施的临床检查值满足以下基准的病例。白细胞数 4, 000/ 立方毫米以上且 12, 000/ 立方毫米以下、中性粒细胞数 2, 000/ 立方毫米以上、血红蛋白量 9. 0g/dL 以上、血小板数 100, 000/ 立方毫米以上、AST100IU/L 以下、ALT100IU/L 以下、总胆红素 1. 5mg/dL 以下、血清肌酐 1. 5mg/dL 以下、尿蛋白 1+ 以下（定性）、凝血酶原时间国际标准比表示 1. 5 以下。(9) 本试验登记前,对于参加包括基因多态性检查、蛋白组学-代谢组分析的试验,得到了记载有患者本人的签名、日期的同意书的病例,除外基准为:(1) 登记前 14 天以内进行了输血、血液制剂和 G-CSF 等的造血因子制剂的给药的病例、(2) 有严重的药物过敏史的病例、(3) 具有同时性以及无病期间短于 5 年的异时性重复癌的病例、(4) 有感觉异常或者知觉不全的病例、(5) 具有形成临床上问题的感染症的病例、(6) HBs 抗原阳性的病例、(7) 登记前 28 天以内的心电图等中具有形成临床上问题的心脏疾病的病例、(8) 胸部单纯 X 射线图像等中具有明显的间质性肺炎、肺纤维化的病例、(9) 具有需要治疗的胸水、腹水或心包积液的病例、(10) 呈现腹泻（包括水样便）的病例、(11) 已知具有脑转移的病例或者从临床症状怀疑有脑转移的病例、(12) 具有血栓栓塞症的病史的病例、(13) 在登记前 28 天以内进行过开腹手术或肠道切除术、在登记前 14 天内进行过气门 (stoma) 造设、伴随切开的活检、或者对外伤的缝合处理的病例、(14) 抑制血小板功能的药剂（阿司匹林制剂或非甾族抗炎药）给药中的病例、(15) 具有控制不良的消化道溃疡的病例、(16) 在过去 12 个月以内具有消化道穿孔的病史的病例、(17) 具有控制不良的高血压的病例、(18) 具有控制不良的糖尿病的病例、(19) 强心苷给药中的病例、(20) 并发精神病或精神症状而判断为难以参加试验的病例、(21) 妊娠中或哺乳期的女性、希望怀孕的男女、无意避孕的男女、(22) 担当医师判断不适于评价本本试验的有效性、安全性的病例。作为试验治疗,在各循环第一天进行贝伐单抗、奥沙利铂、氟尿嘧啶（急速静脉注射）、左亚叶酸的给药,从第一天到第三天进行氟尿嘧啶（持续点滴静脉注射）的给药。一个循环为两周（14 天）,只要不满足中止基准,进行给药直至最大 24 个循环。

[0093] 合计 70 例参加临床试验,其中 68 例能够进行目标病变的肿瘤缩小效果的评价。68 例中,全部病例中得到了用于探索药剂反应性生物标记所需要的被检测体。其中,对于早期结束试验治疗的 13 例,将各循环中开始药剂给药前的患者血清中所含有的代谢组利用

CE-TOFMS 同时进行分析。对于代谢组提取法、代谢组测定、数据分析,按照实施例 1 进行。此外,对于患者的治疗感受性,基于最佳综合效果(从治疗开始到恶化/复发所记录的最佳效果)进行判定。

[0094] 2. 结果

[0095] 患者的治疗感受性基于最佳综合效果进行判定的结果,13 例中,稳定(SD)病例为 6 例,部分奏效(PR)病例为 7 例。将各循环中开始药剂给药前的患者血清中所含有的代谢组利用 CE-TOFMS 同时进行分析的结果,得知部分奏效(PR)病例的血中 GABA 水平在全部病例中低,稳定(SD)病例 6 例中 4 例的血中 GABA 水平高(图 3)。

	代谢物	DLD1	HCT116	比 (HCT116/DLD-1)
氨基酸代谢	Asp	2.54	4.96	1.95
	Gly	1.20	1.94	1.62
	Arg	1.41	2.34	1.66
	N-乙酰基-β-丙氨酸	1.36	2.26	1.66
	N-乙酰基鸟氨酸	1.21	2.00	1.65
	N,N-二甲基甘氨酸	2.09	1.28	0.61
	3-甲基组氨酸	1.63	1.07	0.65
	N ⁵ -乙基谷氨酰胺	1.63	1.06	0.65
	γ-Glu-Cys	0	8.23	∞
	β-Ala-Lys	1.36	4.28	3.15
	谷胱甘肽 (GSH)	24.80	3.80	0.15
	Glu-Glu	1.19	3.32	2.79
	S-乙酰谷胱甘肽	0.95	2.27	2.39
	半胱氨酸-谷胱甘肽	0.36	0.20	0.55
	尸胺	0	3.65	∞
	磺基丙氨酸	2.16	3.42	1.58
	2-氨基己二酸	1.30	2.00	1.54
核酸代谢	γ-氨基丁酸	1.02	1.79	1.76
	鸟苷	1.00	3.47	3.46
	CMP	1.86	3.09	1.66
	UMP	1.37	2.93	2.14
	1-甲基腺苷	1.78	2.88	1.62
	UDP	0.96	2.38	2.49
	CTP	1.01	2.07	2.04
	dATP	2.39	1.25	0.52
磷酸戊糖途径	腺嘌呤	1.15	0.63	0.55
	景天庚酮糖-7-磷酸	1.68	3.61	2.14
糖酵解	PRPP	0.93	0.26	0.28
	磷酸二羟丙酮	0.90	2.41	2.68
	2,3-二磷酸甘油酸	0.82	1.54	1.86
TCA循环	丙酮酸	1.52	2.64	1.74
	苹果酸	1.51	2.65	1.75
多胺代谢	N ¹ -乙酰精胺	1.97	6.62	3.36
	N-乙酰腐胺	0	3.52	∞
	N ⁸ -乙酰亚精胺	0.82	3.26	3.97
	腐胺	0.74	3.26	4.40
	精胺	0.85	2.31	2.72
	亚精胺	0.54	1.84	3.39
其他	7,8-二氢生物蝶呤	1.45	2.42	1.68
	6-磷酸葡萄糖酸	0.82	1.61	1.95
	丁酸	2.69	1.53	0.57
	三乙醇胺	2.02	1.27	0.63
	1-甲基烟酰胺	1.58	1.04	0.66
	NADH	0.44	0.70	1.57
	NAD ⁺	0.30	0.64	2.12

各个细胞中、5-FU/L-OHP暴露24小时后的细胞内水平
/ 对照组的细胞内水平的比率

图 1

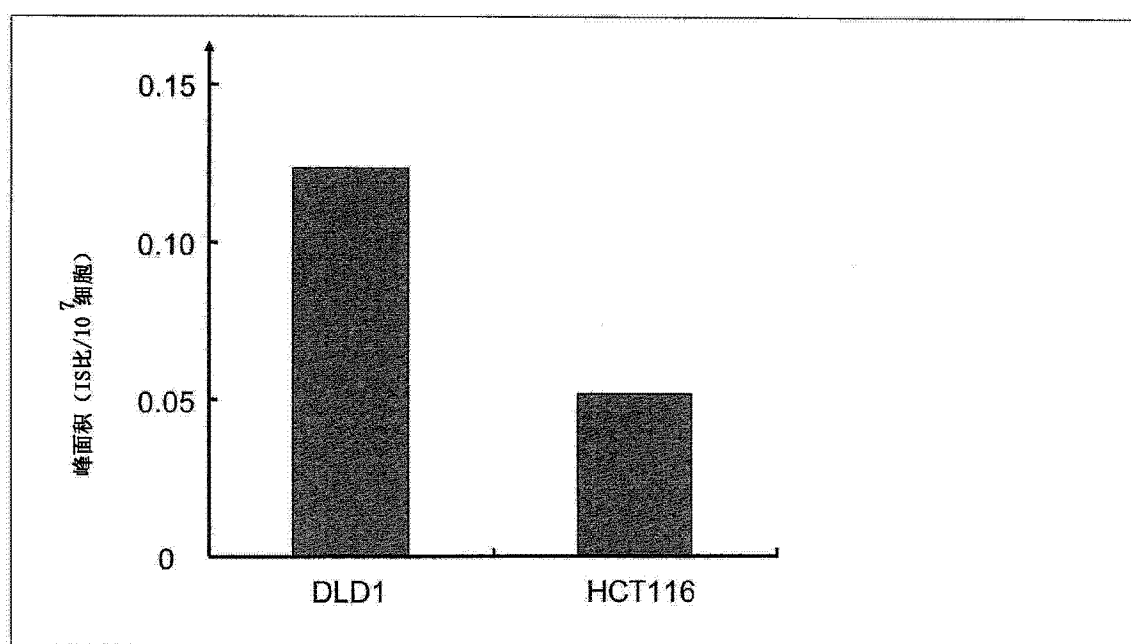


图 2

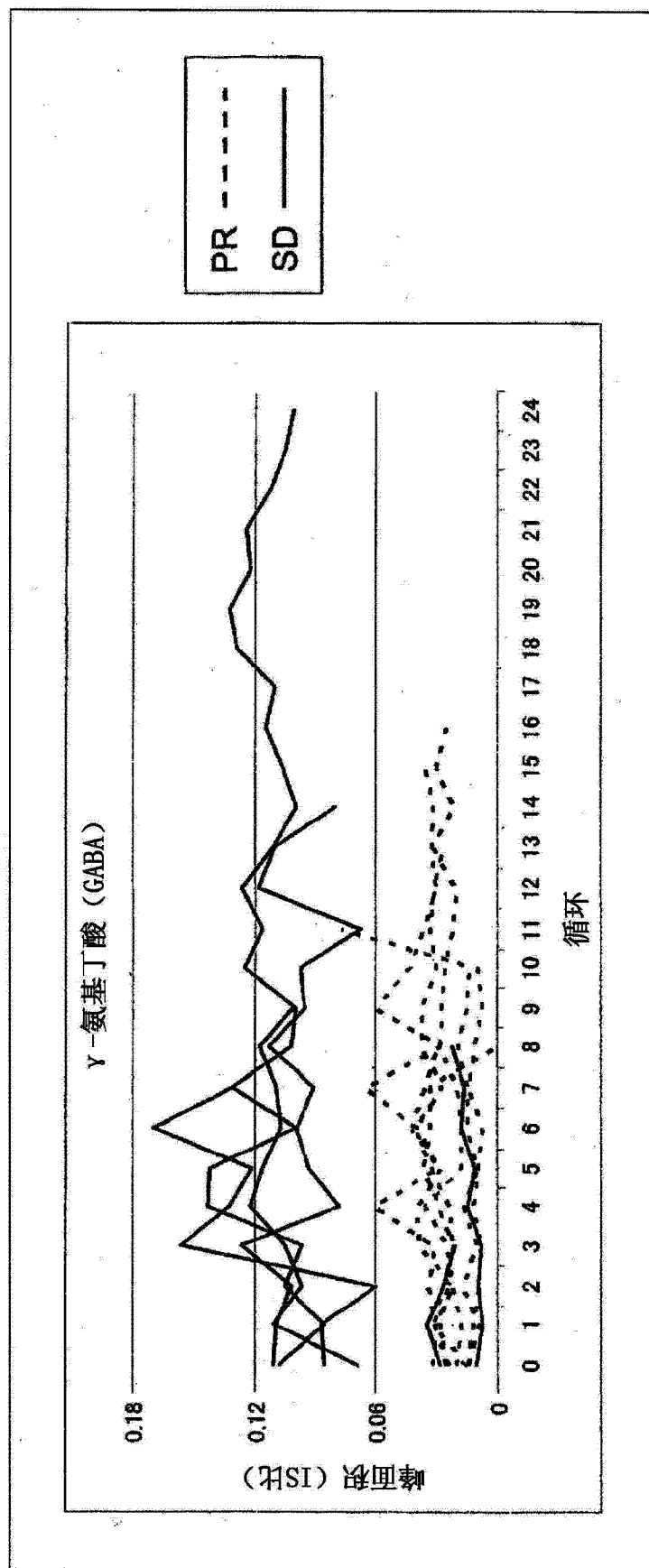


图 3