

【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】平成30年12月27日 (2018.12.27)

【公表番号】特表2018-505658(P2018-505658A)

【公表日】平成30年3月1日 (2018.3.1)

【年通号数】公開・登録公報2018-008

【出願番号】特願2017-530266(P2017-530266)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

C 1 2 M 1/00 A

G 0 1 N 33/50 P

G 0 1 N 33/53 M

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 39/395 T

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成30年11月16日 (2018.11.16)

【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】

関心のある少なくとも 1 つの腫瘍型に関して P D - 1 アンタゴニストに対する抗腫瘍応答を予測する遺伝子シグネチャーバイオマーカーを得る方法であって、

(a) 該腫瘍型を有すると診断された患者コホートにおける各患者から治療前腫瘍サンプルを得、

(b) 該コホートにおける各患者に関して、P D - 1 アンタゴニストでの治療の後に抗腫瘍応答値を得、

(c) 遺伝子発現プラットフォームにおいて各遺伝子に関して各腫瘍サンプルにおける生 R N A レベルを測定し、ここで、遺伝子発現プラットフォームは約 5 0 ~ 約 6 0 個の遺伝子の臨床応答遺伝子セットおよび約 1 0 ~ 約 1 2 個のハウスキーピング遺伝子の正規化遺伝子セットを含み、該臨床応答遺伝子の約 9 0 % は、該抗腫瘍応答と正に相関する腫瘍内 R N A レベルを示し、該臨床応答遺伝子の約 1 0 % は、該抗腫瘍応答と負に相関する

腫瘍内 R N A レベルを示し、

(d) 該正規化遺伝子の測定 R N A レベルを用いて、該臨床応答遺伝子の測定生 R N A レベルのそれぞれを各腫瘍サンプルに関して正規化し、

(e) 関心のある遺伝子シグネチャーにおける各腫瘍サンプルおよび各遺伝子に関して、その遺伝子の所定の増倍係数を用いて該正規化 R N A 発現レベルを重み付けし、

(f) 各患者に関して、該重み付け R N A 発現レベルを加えて、該コホートにおける各患者に関する遺伝子シグネチャースコアを得、

(g) 該腫瘍サンプルの全てに関する遺伝子シグネチャースコアと該コホートにおける患者の全てに関する抗腫瘍応答値とを比較して、目標のバイオマーカーの臨床有用性基準を満たすように患者コホートを分類する該遺伝子シグネチャースコアに関するカットオフを選択することを含む方法。

【請求項 2】

遺伝子発現プラットフォームが、以下の表 1 に挙げられている遺伝子からなる、請求項 1 記載の方法。

【表 1】

| 表1: 遺伝子発現プラットフォーム | | |
|--------------------------|----------------|-----------|
| 表1A. 臨床応答遺伝子セット - 正相関遺伝子 | | |
| 遺伝子記号 | アッセイ番号 | 典型的な標的領域 |
| B2M | NM_004048.2 | 235-335 |
| CASP8 | NM_001228.4 | 301-401 |
| CCL5 | NM_002985.2 | 280-380 |
| CCR5 | NM_000579.1 | 2730-2830 |
| CD1D | NM_001766.3 | 1428-1528 |
| CD2 | NM_001767.3 | 687-787 |
| CD27 | NM_001242.4 | 330-430 |
| CD274 | NM_014143.3 | 1245-1345 |
| CD3D | NM_000732.4 | 110-210 |
| CD3E | NM_000733.2 | 75-175 |
| CD3G | NM_000073.2 | 515-615 |
| CD4 | NM_000616.4 | 975-1075 |
| CD74 | NM_001025159.1 | 964-1064 |
| CD8A | NM_001768.5 | 1320-1420 |
| CIITA | NM_000246.3 | 470-570 |
| CMKLR1 | NM_004072.1 | 770-870 |
| CXCL10 | NM_001565.1 | 40-140 |
| CXCL13 | NM_006419.2 | 210-310 |
| CXCL9 | NM_002416.1 | 1975-2075 |
| CXCR6 | NM_006564.1 | 95-195 |
| GRAP2 | NM_004810.2 | 232-332 |
| GZMB | NM_004131.3 | 540-640 |
| GZMK | NM_002104.2 | 700-800 |
| HLA-DPB1 | NM_002121.4 | 931-1031 |
| HLA-DQA1 | NM_002122.3 | 261-361 |
| HLA-DRA | NM_019111.3 | 335-435 |
| HLA-DRB1 | NM_002124.1 | 985-1085 |
| HLA-E | NM_005516.4 | 1204-1304 |
| IDO1 | NM_002164.3 | 50-150 |
| IFNG | NM_000619.2 | 970-1070 |
| IKZF3 | NM_183232.2 | 1176-1276 |
| IL10RA | NM_001558.2 | 150-250 |
| IL2RB | NM_000878.2 | 1980-2080 |
| IL2RG | NM_000206.1 | 595-695 |
| IRF8 | NM_002163.2 | 253-353 |
| LAG3 | NM_002286.5 | 1735-1835 |
| LCK | NM_005356.2 | 1260-1360 |
| LILRB1 | NM_001081637.1 | 2332-2432 |
| NKG7 | NM_005601.3 | 632-732 |

| | | |
|----------|-------------|-----------|
| P2RY8 | NM 178129.3 | 425-525 |
| PDCD1LG2 | NM 025239.3 | 235-335 |
| PSMB10 | NM 002801.2 | 221-321 |
| PTPRCAP | NM 005608.2 | 668-768 |
| SAMHD1 | NM 015474.2 | 640-740 |
| SLAMF7 | NM 021181.3 | 215-315 |
| STAT1 | NM 007315.2 | 205-305 |
| TAGAP | NM 054114.3 | 169-269 |
| TIGIT | NM 173799.2 | 1968-2068 |
| TNFRSF14 | NM 003820.2 | 916-1016 |
| TNFSF13B | NM 006573.4 | 1430-1530 |
| ZAP70 | NM 001079.3 | 1175-1275 |

表1B. 臨床応答遺伝子セット - 負相関遺伝子

| 遺伝子記号 | アッセイ番号 | 典型的な標的領域 |
|--------|----------------|-----------|
| CD276 | NM 001024736.1 | 2120-2220 |
| CTAG1B | NM 001327.2 | 285-385 |
| DSG2 | NM 001943.3 | 235-335 |
| EGFR | NM 201282.1 | 360-460 |
| SLC2A1 | NM 006516.2 | 2500-2600 |
| TSLP | NM 033035.4 | 899-999 |

表1C. 正規化遺伝子セット

| 遺伝子記号 | アッセイ番号 | 典型的な標的領域 |
|-----------|----------------|-----------|
| ABCF1 | NM 001090.2 | 850-950 |
| C14ORF102 | NM 017970.3 | 3236-3336 |
| G6PD | NM 000402.2 | 1155-1255 |
| OAZ1 | NM 004152.2 | 313-413 |
| POLR2A | NM 000937.2 | 3775-3875 |
| SDHA | NM 004168.1 | 230-330 |
| STK11IP | NM 052902.2 | 565-665 |
| TBC1D10B | NM 015527.3 | 2915-3015 |
| TBP | NM 001172085.1 | 587-687 |
| UBB | NM 018955.2 | 795-895 |
| ZBTB34 | NM 001099270.1 | 406-506 |

【請求項 3】

選択されたカットオフ以上の遺伝子シグネチャースコアを有する腫瘍型の任意の腫瘍サンプルをバイオマーカー陽性として定め、選択されたカットオフ未満の遺伝子シグネチャースコアを有する腫瘍型の任意の腫瘍サンプルをバイオマーカー陰性として定めることを更に含む、請求項 1 または 2 記載の方法。

【請求項 4】

PD-1 アンタゴニストがペンブロリズマブ (pembrolizumab) である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 5】

腫瘍型が膀胱癌、胃癌、頭頸部癌、トリプルネガティブ乳癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、食道癌、卵巣癌または黒色腫である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 6】

各臨床応答遺伝子に関する所定の増倍係数が、以下の表 3 A に挙げられているスコア化重みセットの群から選択される同じスコア化重みセットのメンバーである、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【表 2】

| 表3A. | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 遺伝子 | スコア化重み | | | | | |
| | セット 1.1 | セット 1.2 | セット 2.1 | セット 2.2 | セット 2.3 | セット 2.4 |
| B2M | 0.011382 | 0.024936 | 0.018302 | 0.036653 | 0 | 0 |
| CASP8 | 0.265228 | 0.117023 | -0.00793 | 0.013772 | 0 | 0 |
| CCL5 | 0.062629 | 0.033611 | 0.047293 | 0.047908 | 0.01828 | 0.008346 |
| CCR5 | 0.128025 | 0.016349 | 0.015352 | 0.023896 | 0 | 0 |
| CD1D | 0.167559 | 0.083125 | -0.00614 | 0.056356 | 0 | 0 |
| CD2 | 0.045129 | 0.061991 | 0.008459 | 0.040452 | 0 | 0 |
| CD27 | 0.165679 | 0.077354 | 0.060905 | 0.074524 | 0.026115 | 0.072293 |
| CD274 | -0.02972 | -0.00707 | 0.06064 | 0.068105 | 0.003785 | 0.042853 |
| CD276 | -0.76078 | -0.09354 | -0.31072 | -0.13562 | -0.30985 | -0.0239 |
| CD3D | 0.018391 | 0.012381 | 0.03676 | 0.03169 | 0 | 0 |
| CD3E | -0.10144 | -0.01782 | -0.03552 | -0.01259 | 0 | 0 |
| CD3G | -0.01041 | -0.00352 | -0.00427 | 0.015561 | 0 | 0 |
| CD4 | 0.022836 | -0.00129 | -0.03541 | -0.02984 | 0 | 0 |
| CD74 | 0.178222 | 0.080644 | 0.043171 | -0.00578 | 0 | 0 |
| CD8A | 0.03988 | 0.007395 | 0.018698 | 0.058196 | 0 | 0.031021 |
| CIITA | 0.082422 | 0.025467 | 0.007537 | -0.05867 | 0 | 0 |
| CMKLR1 | 0.133949 | 0.143101 | 0.015161 | 0.145646 | 0 | 0.151253 |
| CTAG1B | -0.06995 | -0.01318 | -0.03191 | -0.00857 | 0 | 0 |
| CXCL10 | 0.034214 | 0.02539 | 0.016961 | 0.022264 | 0 | 0 |
| CXCL13 | -0.03437 | -0.00266 | 0.000212 | 0.000177 | 0 | 0 |
| CXCL9 | 0.044157 | 0.02995 | 0.070541 | 0.066721 | 0.082479 | 0.074135 |
| CXCR6 | -0.02213 | 0.011161 | 0.042193 | 0.047959 | 0 | 0.004313 |
| DSG2 | -0.13793 | -0.01587 | -0.09201 | -0.05557 | -0.00274 | 0 |
| EGFR | -0.09487 | 0.019951 | -0.02788 | 0.03066 | 0 | 0 |
| GRAP2 | -0.04299 | 0.016299 | -0.02691 | 0.016182 | 0 | 0 |
| GZMB | -0.14999 | -0.03366 | -0.00108 | 0.003182 | 0 | 0 |
| GZMK | 0.029626 | -0.01755 | 0.030039 | 0.017541 | 0 | 0 |
| HLA.DPB1 | 0.064174 | 0.022285 | 0.036324 | 0.025171 | 0 | 0 |
| HLA.DQA1 | 0.130082 | 0.037396 | 0.028595 | 0.033192 | 0 | 0.020091 |
| HLA.DRA | 0.145429 | 0.070683 | 0.03516 | 0.014876 | 0 | 0 |
| HLA.DRB1 | 0.250074 | 0.115735 | 0.059579 | 0.072856 | 0.034058 | 0.058806 |
| HLA.E | 0.163272 | 0.126027 | -0.00391 | 0.102635 | 0 | 0.07175 |
| IDO1 | 0.045061 | 0.065179 | 0.058149 | 0.064514 | 0.060534 | 0.060679 |
| IFNG | -0.1053 | 0.012953 | -0.02794 | 0.028571 | 0 | 0 |

| | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| IKZF3 | -0.09116 | -0.03226 | -0.02025 | -0.03985 | 0 | 0 |
| IL10RA | 0.064457 | 0.050129 | 0.01675 | 0.005515 | 0 | 0 |
| IL2RB | -0.1838 | -0.05146 | -0.01606 | -0.02598 | 0 | 0 |
| IL2RG | -0.03321 | 0.036433 | 0.002905 | 0.027405 | 0 | 0 |
| IRF8 | 0.007075 | 0.019088 | -0.0404 | -0.02196 | 0 | 0 |
| LAG3 | 0.065194 | 0.072767 | 0.09483 | 0.120548 | 0.07897 | 0.123895 |
| LCK | -0.10023 | -0.00053 | -0.04718 | -0.02763 | 0 | 0 |
| LILRB1 | 0.000354 | 0.0449 | -0.04635 | -0.02986 | 0 | 0 |
| NKG7 | 0.03507 | 0.024692 | 0.061331 | 0.078649 | 0.02502 | 0.075524 |
| P2RY8 | 0.059388 | 0.042677 | -0.00014 | 0.009614 | 0 | 0 |
| PDCD1LG2 | 0.124489 | 0.025347 | 0.050804 | 0.057426 | 0 | 0.003734 |
| PSMB10 | 0.037785 | 0.117496 | 0.042826 | 0.074887 | 0 | 0.032999 |
| PTPRCAP | -0.06155 | -0.01755 | -0.01397 | -0.0278 | 0 | 0 |
| SAMHD1 | -0.15245 | 0.022386 | -0.10801 | -0.09063 | 0 | 0 |
| SIAMF7 | 0.118585 | 0.030654 | 0.044198 | 0.03849 | 0.00028 | 0 |
| SLC2A1 | -0.07881 | -0.06001 | -0.02308 | -0.04061 | 0 | 0 |
| STAT1 | 0.18251 | 0.166322 | 0.106029 | 0.201166 | 0.067425 | 0.250229 |
| TAGAP | -0.04634 | 0.000536 | -0.0462 | -0.02365 | 0 | 0 |
| TIGIT | 0.0486 | 0.058542 | 0.084837 | 0.089709 | 0.058121 | 0.084767 |
| TNFRSF14 | 0.111087 | 0.004593 | 0.05374 | -0.02338 | 0 | 0 |
| TNFSF13B | 0.263637 | 0.106224 | -0.00983 | 0.010906 | 0 | 0 |
| TSLP | -0.11095 | -0.04091 | -0.07776 | -0.04751 | -0.00057 | 0 |
| ZAP70 | 0.036773 | 0.043754 | -0.02693 | -0.04663 | 0 | 0 |

【請求項 7】

各臨床応答遺伝子に関する所定の増倍係数が整数 1 に等しい、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 8】

特定の腫瘍型を有すると診断された患者から摘出された腫瘍サンプルを、PD-1 アンタゴニストに対する該腫瘍型の抗腫瘍応答の遺伝子シグネチャーバイオマーカーの存在または非存在に関して試験するための方法であって、該方法が、

(a) 遺伝子発現プラットフォームにおいて各遺伝子に関して該腫瘍サンプルにおける生 RNA レベルを測定し、ここで、遺伝子発現プラットフォームは約 50 ~ 約 60 個の遺伝子の臨床応答遺伝子セットおよび約 10 ~ 約 12 個のハウスキーピング遺伝子の正規化遺伝子セットを含み、該臨床応答遺伝子の約 90 % は、該抗腫瘍応答と正に相関する腫瘍内 RNA レベルを示し、該臨床応答遺伝子の約 10 % は、該抗腫瘍応答と負に相関する腫瘍内 RNA レベルを示し、

(b) 該正規化遺伝子の測定 RNA レベルを用いて、該腫瘍型に関する所定の遺伝子シグネチャーにおける各臨床応答遺伝子に関する測定生 RNA レベルを正規化し、ここで、該所定遺伝子シグネチャーは該臨床応答遺伝子の少なくとも 2 つからなり、

(c) 所定の増倍係数を用いて各正規化 RNA 値を重み付けし、

(d) 該重み付け RNA 発現レベルを加えて、遺伝子シグネチャースコアを得、

(e) 得られたスコアを該遺伝子シグネチャーおよび腫瘍型に関して基準スコアと比較し、

(f) バイオマーカー陽性またはバイオマーカー陰性として該腫瘍サンプルを分類することを含み、ここで、得られたスコアが該基準スコア以上である場合には、該腫瘍サンプルをバイオマーカー陽性として分類し、得られたスコアが該基準スコア未満である場合には、該腫瘍サンプルをバイオマーカー陰性として分類する、方法。

【請求項 9】

遺伝子発現プラットフォームが表 1 における遺伝子からなる、請求項 7 記載の方法。

【請求項 10】

PD-1 アンタゴニストがペンブロリズマブ (pembrolizumab) である、

請求項 8 または 9 のいずれかに記載の方法。

【請求項 1 1】

腫瘍型が膀胱癌、胃癌、頭頸部癌、トリプルネガティブ乳癌、肛門癌、胆道癌、結腸直腸癌、食道癌、卵巣癌または黒色腫である、請求項 8 ~ 1 0 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 2】

所定の遺伝子シグネチャーが表 3 A における 5 7 個の遺伝子からなり、重み付け工程が、表 3 A に挙げられている重みセットからスコア化重みセットを選択し、該遺伝子のそれぞれに関する正規化 R N A 値に、選択されたスコア化重みセットにおける対応重みを掛け算することを含む、請求項 8 ~ 1 1 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 3】

所定の遺伝子シグネチャーが表 3 A における 5 7 個の遺伝子からなり、所定の増倍係数が整数 1 である、請求項 8 ~ 1 1 のいずれか 1 項記載の方法。

【請求項 1 4】

特定の腫瘍型を有すると診断された患者から摘出された腫瘍サンプルを P D - 1 アンタゴニストに対する該腫瘍型の抗腫瘍応答の遺伝子シグネチャーバイオマーカーの存在または非存在に関して試験するための系であって、該系が、

(i) 臨床応答遺伝子のセットおよび正規化遺伝子のセットからなる遺伝子発現プラットフォームにおける各遺伝子の生 R N A 発現レベルを測定するためのサンプル分析装置、ならびに

(i i) (a) 該正規化遺伝子の測定 R N A レベルを用いて、該腫瘍型に関する所定の遺伝子シグネチャーにおける各臨床応答遺伝子に関する測定生 R N A レベルを正規化し、

(b) 所定の増倍係数を用いて各正規化 R N A 値を重み付けし、

(c) 該重み付け R N A 発現レベルを加えて、遺伝子シグネチャースコアを得

(d) 得られたスコアを該遺伝子シグネチャーおよび腫瘍型に関して基準スコアと比較し、

(e) バイオマーカー陽性またはバイオマーカー陰性として該腫瘍サンプルを分類するために、測定された R N A 発現レベルを受信し、分析するためのコンピュータプログラムを含み、

ここで、得られたスコアが該基準スコア以上である場合には、該腫瘍サンプルをバイオマーカー陽性として分類し、得られたスコアが該基準スコア未満である場合には、該腫瘍サンプルをバイオマーカー陰性として分類する、系。

【請求項 1 5】

遺伝子発現プラットフォームが表 1 における遺伝子からなる、請求項 1 4 記載の系。

【請求項 1 6】

所定の増倍係数が、表 3 A に挙げられているスコア化重みセットから選択されるスコア化重みのセットのメンバーである、請求項 1 4 記載の系。

【請求項 1 7】

表 1 に表されている遺伝子シグネチャーに関する正規化 R N A 発現スコアを得るために腫瘍サンプルをアッセイするためのキットであって、

(a) 表 1 における遺伝子のそれぞれにより発現される転写産物に特異的に結合するハイブリダイゼーションプローブのセット、および

(b) 各ハイブリダイゼーションプローブと形成される特異的ハイブリダイゼーション複合体の数を定量するために設計された試薬のセットを含むキット。

【請求項 1 8】

遺伝子シグネチャーバイオマーカーに関して腫瘍のサンプルが陽性であるか陰性であるかを決定する工程を含む、腫瘍を有する患者の治療を支援する方法であって、該治療は、該バイオマーカーに関して腫瘍が陽性である場合には、該患者は P D - 1 アンタゴニストを投与され、該バイオマーカーに関して腫瘍が陰性である場合には、該患者は P D - 1 ア

ンタゴニストを含まない癌治療剤を投与される治療であり、該遺伝子シグネチャーバイオマーカーは、表 1 における臨床応答遺伝子の少なくとも 2 つを含む遺伝子シグネチャーに関するものである、前記治療を支援する方法。

【請求項 19】

遺伝子シグネチャーが表 1 A および 1 B における 57 個の臨床応答遺伝子または表 1 A における 51 個の臨床応答遺伝子からなる、請求項 18 記載の方法。

【請求項 20】

遺伝子シグネチャーが、以下の表 2 に挙げられている遺伝子シグネチャーから選択される、請求項 18 記載の方法。

【表 3】

| 表2: | 6-遺伝子 IFN γ シグネチャー | 5-遺伝子 IFN γ 誘導性 シグネチャー | 5-遺伝子 PD-L1 シグネチャー | 3-遺伝子 MHCII シグネチャー | 18-遺伝子 拡張免疫 シグネチャー | 13-遺伝子 TCR シグナリング シグネチャー | 7-遺伝子 MIPFS シグネチャー | 14 遺伝子 アッパ-タウ シグネチャー | 18 遺伝子 アッパ-タウ シグネチャー |
|-----|---------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1 | IDO1 | IDO1 | CD274 | HLA-DRA | CD3D | CD27 | CD27 | CCL5 | CCL5 |
| 2 | CXCL10 | CXCL10 | PDCD1LG2 | HLA-DPB1 | IDO1 | TIGIT | CD3D | CD27 | CD27 |
| 3 | CXCL9 | CXCL9 | STAT1 | STAT1 | CD8A | CD8A | CD74 | CD274 | CD274 |
| 4 | HLA-DRA | HLA-DRA | LAG3 | | CD3E | CD3G | CXCL9 | CD276 | CD276 |
| 5 | STAT1 | STAT1 | CXCL10 | | CCL5 | CD3D | HLA-DRB1 | CXCL9 | CD8A |
| 6 | IFNG | | | | GZMK | GRAP2 | IDO1 | DSG2 | CMKRLR1 |
| 7 | | | | | CD2 | LCK | SAMHD1 | HLA-DRB1 | CXCL9 |
| 8 | | | | | HLA-DRA | PTPRCAP | | IDO1 | CXCR6 |
| 9 | | | | | CXCL13 | CD4 | | LAG3 | HLA-DQA1 |
| 10 | | | | | IL2RG | CCL5 | | NKG7 | HLA-DRB1 |
| 11 | | | | | NKG7 | IL2RB | | SLAMF7 | HLA-E |
| 12 | | | | | HLA-E | IKZF3 | | STAT1 | IDO1 |
| 13 | | | | | CXCR6 | CD74 | | TIGIT | LAG3 |
| 14 | | | | | LAG3 | | | TSLP | NKG7 |
| 15 | | | | | TAGAP | | | | PDCD1LG2 |
| 16 | | | | | CXCL10 | | | | PSMB10 |
| 17 | | | | | STAT1 | | | | STAT1 |
| 18 | | | | | GZMB | | | | TIGIT |

【請求項 21】

P D - 1 アンタゴニストに対する抗腫瘍応答と相関する遺伝子シグネチャーに関するシ

グネチャースコアを得るために患者から摘出された腫瘍サンプルを試験する方法であって、

(a) 該遺伝子シグネチャーにおける各遺伝子に関して、及び正規化遺伝子セットにおける各遺伝子に関して、該腫瘍サンプルにおける生RNAレベルを測定し、ここで、該遺伝子シグネチャーおよび正規化遺伝子セットは、以下の表に記載されている遺伝子からなり、

【表4】

| 18遺伝子アップ-ダウン シグネチャー | |
|------------------------|----------------|
| 遺伝子記号 | アクセッション番号 |
| CCL5 | NM_002985.2 |
| CD27 | NM_001242.4 |
| CD274 | NM_014143.3 |
| CD276 | NM_001024736.1 |
| CD8A | NM_001768.5 |
| CMKRLR1 | NM_004072.1 |
| CXCL9 | NM_002416.1 |
| CXCR6 | NM_006564.1 |
| HLA.DQA1 | NM_002122.3 |
| HLA.DRB1 | NM_002124.1 |
| HLA.E | NM_005516.4 |
| IDO1 | NM_002164.3 |
| LAG3 | NM_002286.5 |
| NKG7 | NM_005601.3 |
| PDCD1LG2 | NM_025239.3 |
| PSMB10 | NM_002801.2 |
| STAT1 | NM_007315.2 |
| TIGIT | NM_173799.2 |
| 正規化遺伝子 | |
| 遺伝子記号 | アクセッション番号 |
| ABCF1 | NM_001090.2 |
| C14ORF102 | NM_017970.3 |
| G6PD | NM_000402.2 |
| OAZ1 | NM_004152.2 |
| POLR2A | NM_000937.2 |
| SDHA | NM_004168.1 |
| STK11IP | NM_052902.2 |
| TBC1D10B | NM_015527.3 |
| TBP | NM_001172085.1 |
| UBB | NM_018955.2 |
| ZBTB34 | NM_001099270.1 |

(b) 該正規化遺伝子の測定RNAレベルを用いて、該遺伝子シグネチャーにおける各遺伝子に関して該測定生RNAレベルを正規化し、

(c) 各正規化RNA値に、以下の表に記載されている対応スコア化重みを掛け算して、重み付けRNA発現値を得、

【表 5】

| 遺伝子 | スコア化重み |
|----------|----------|
| CCL5 | 0.008346 |
| CD27 | 0.072293 |
| CD274 | 0.042853 |
| CD276 | -0.0239 |
| CD8A | 0.031021 |
| CMKLR1 | 0.151253 |
| CXCL9 | 0.074135 |
| CXCR6 | 0.004313 |
| HLA.DQA1 | 0.020091 |
| HLA.DRB1 | 0.058806 |
| HLA.E | 0.07175 |
| IDO1 | 0.060679 |
| LAG3 | 0.123895 |
| NKG7 | 0.075524 |
| PDCD1LG2 | 0.003734 |
| PSMB10 | 0.032999 |
| STAT1 | 0.250229 |
| TIGIT | 0.084767 |

(d) 該重み付けRNA発現値を加えて遺伝子シグネチャースコアを得ることを含む方法。

【請求項 22】

PD-1アンタゴニストがニボルマブ(nivolumab)、ペンブロリズマブ(pembrolizumab)、ペンブロリズマブバイオシミラーまたはペンブロリズマブ変異体である、請求項 21 記載の方法。

【請求項 23】

測定工程が、組織サンプルからRNAを単離し、以下の表に挙げられている遺伝子標的領域に特異的にハイブリダイズするように設計されたプローブのセットと共に組織サンプルをインキュベートすることを含む、請求項 21 または 22 記載の方法。

【表 6】

| 18遺伝子アップ-ダウンシグネチャー | | |
|--------------------|----------------|-----------|
| 遺伝子記号 | アクセッション番号 | 標的転写産物 |
| CCL5 | NM_002985.2 | 280-380 |
| CD27 | NM_001242.4 | 330-430 |
| CD274 | NM_014143.3 | 1245-1345 |
| CD276 | NM_001024736.1 | 2120-2220 |
| CD8A | NM_001768.5 | 1320-1420 |
| CMKRLR1 | NM_004072.1 | 770-870 |
| CXCL9 | NM_002416.1 | 1975-2075 |
| CXCR6 | NM_006564.1 | 95-195 |
| HLA.DQA1 | NM_002122.3 | 261-361 |
| HLA.DRB1 | NM_002124.1 | 985-1085 |
| HLA.E | NM_005516.4 | 1204-1304 |
| IDO1 | NM_002164.3 | 50-150 |
| LAG3 | NM_002286.5 | 1735-1835 |
| NKG7 | NM_005601.3 | 632-732 |
| PDCD1LG2 | NM_025239.3 | 235-335 |
| PSMB10 | NM_002801.2 | 221-321 |
| STAT1 | NM_007315.2 | 205-305 |
| TIGIT | NM_173799.2 | 1968-2068 |
| 正規化遺伝子 | | |
| 遺伝子記号 | アクセッション番号 | 標的領域 |
| ABCF1 | NM_001090.2 | 850-950 |
| C14ORF102 | NM_017970.3 | 3236-3336 |
| G6PD | NM_000402.2 | 1155-1255 |
| OAZ1 | NM_004152.2 | 313-413 |
| POLR2A | NM_000937.2 | 3775-3875 |
| SDHA | NM_004168.1 | 230-330 |
| STK11IP | NM_052902.2 | 565-665 |
| TBC1D10B | NM_015527.3 | 2915-3015 |
| TBP | NM_001172085.1 | 587-687 |
| UBB | NM_018955.2 | 795-895 |
| ZBTB34 | NM_001099270.1 | 406-506 |

【請求項 2 4】

患者が食道癌を有すると診断されている、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか 1 項記載の方法

。