(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201409030 A
(43)公開日： 中華民國 103 (2014) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：102126993 (22)申請日： 中華民國 102 (2013) 年 07 月 26 日

(51)Int. Cl.：	*G01N33/15 (2006.01)*	*G01N33/574 (2006.01)*
	C12Q1/68 (2006.01)	*A61K31/519 (2006.01)*
	A61K35/02 (2006.01)	

(30)優先權：2012/07/27	美國	61/676,484
2013/02/26	美國	61/769,271
2013/05/31	美國	61/829,327

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)
瑞士
(72)發明人：柯 祖 CAO, ZHU (US)；莫瑞西 麥可 派翠克 MORRISSEY, MICHAEL PATRICK (US)；斯諾奇 狄米奇 SONKIN, DMITRIY (US)；帕馬爾 麥可 PALMER, MICHAEL (US)
(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：27 項 圖式數：6 共 51 頁

(54)名稱

癌症之治療

TREATMENT OF CANCER

(57)摘要

本發明部分地包括選擇患有癌症之個體以利用 JAK/STAT 抑制劑進行治療之方法，以及測定是否已投與治療有效劑量之 JAK/STAT 抑制劑之方法。

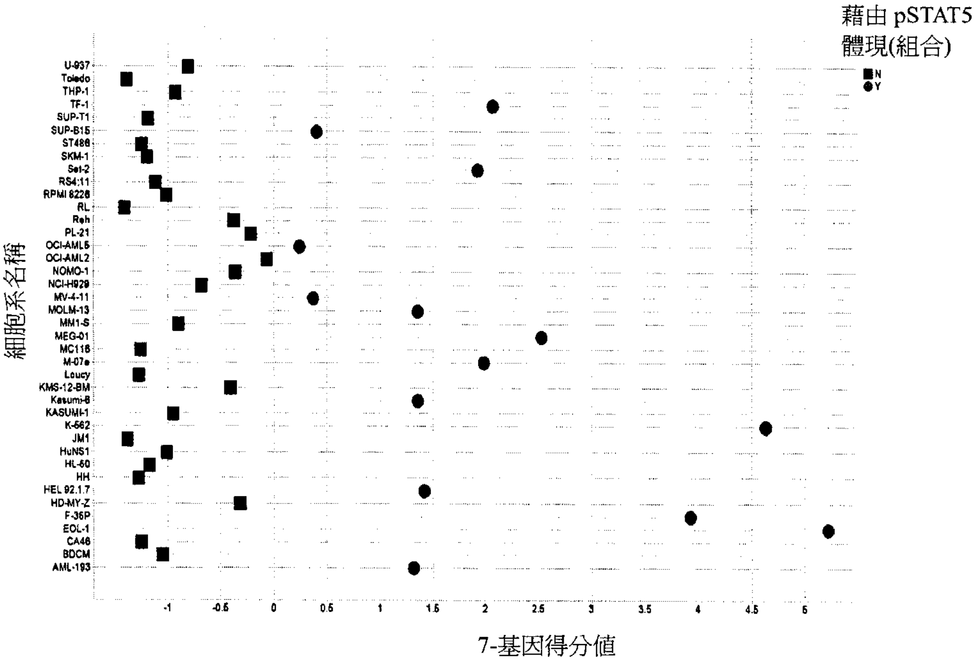


圖 1

(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 201409030 A
(43)公開日：　中華民國 103 (2014) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：102126993　(22)申請日：　中華民國 102 (2013) 年 07 月 26 日
(51)Int. Cl.：　*G01N33/15 (2006.01)*　*G01N33/574 (2006.01)*
C12Q1/68 (2006.01)　*A61K31/519 (2006.01)*
A61K35/02 (2006.01)
(30)優先權：2012/07/27　美國　61/676,484
2013/02/26　美國　61/769,271
2013/05/31　美國　61/829,327
(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG　(CH)
瑞士
(72)發明人：柯　祖 CAO, ZHU (US)；莫瑞西　麥可　派翠克 MORRISSEY, MICHAEL PATRICK (US)；斯諾奇　狄米奇 SONKIN, DMITRIY (US)；帕馬爾　麥可 PALMER, MICHAEL (US)
(74)代理人：陳長文
申請實體審查：無　申請專利範圍項數：27 項　圖式數：6　共 51 頁

(54)名稱

癌症之治療

TREATMENT OF CANCER

(57)摘要

本發明部分地包括選擇患有癌症之個體以利用 JAK/STAT 抑制劑進行治療之方法，以及測定是否已投與治療有效劑量之 JAK/STAT 抑制劑之方法。

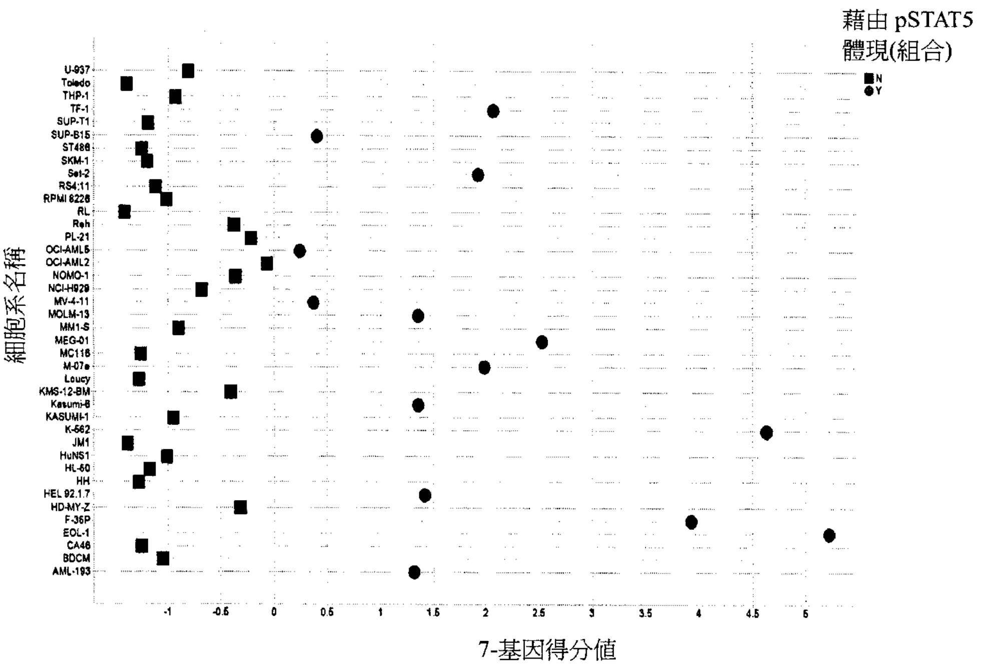


圖 1

發明摘要

※ 申請案號：102126993

※ 申請日：102. 7. 26

※IPC 分類：G01N 33/15 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

【發明名稱】

癌症之治療

TREATMENT OF CANCER

【中文】

本發明部分地包括選擇患有癌症之個體以利用JAK/STAT抑制劑進行治療之方法，以及測定是否已投與治療有效劑量之JAK/STAT抑制劑之方法。

【英文】

The invention includes, in part, a method of selecting a subject having cancer for treatment with a JAK/STAT inhibitor and a method of determining if a therapeutically effective dose of a JAK/STAT inhibitor has been administered.

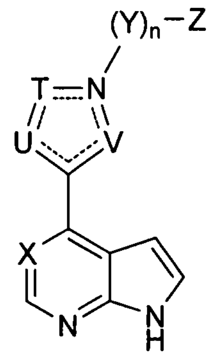
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



I

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】

癌症之治療

TREATMENT OF CANCER

【技術領域】

本發明係關於治療癌症之方法。

【先前技術】

JAK-STAT途徑係細胞因子受體之重要的下游信號轉導途徑之一。在配體結合至其受體後，受體相關性JAK得以激活。STAT蛋白在由JAK磷酸化時成爲二聚體並轉位至細胞核。在細胞核內側，激活之STAT蛋白調節靶標基因之表現(Imada等人，Molecular Immunology 2000, 37: 1-11)。

JAK家族由四種非受體蛋白酪胺酸激酶組成，即JAK1、JAK2、JAK3及TYK2 (Stark等人，Immunology 36: 503-514)。JAK1、JAK2及TYK2係在哺乳動物中無處不在地表現，而JAK3係主要在造血細胞中表現。在由細胞因子或生長因子激活後，JAK充當STAT之對接位點。已識別多種STAT分子(包括STAT 1、3、4、5及6) (Murray PJ 2007 J Immunology 178:2623-29；Rawlings JS等人，2004 J Cell Sci. 117:1281)。激活之STAT自細胞質轉位至細胞核，在該細胞核中，該等激活之STAT調節靶標基因之轉錄速率(Rawlings JS等人，2004 J Cell Sci. 117:1281；Stark等人，2012, Immunology 36: 503-514)。

JAK-STAT信號轉導參與多種人類發病機制。骨髓增生性贅瘤(MPN)中JAK2之遺傳畸變及STAT之相關性激活係此途徑參與人類贅瘤形成之一個實例。另外，已證明激活之JAK-STAT爲人類癌症之存

活機制。

考慮到JAK-STAT激活在人類疾病中之重要性，識別具有激活之JAK-STAT途徑之患者變得至關重要。藉助量測臨床試樣中之磷酸-JAK檢測JAK激活受許多技術及邏輯變量支配。

【發明內容】

本發明係基於可使用特定生物標記來選擇具有激活之STAT途徑之個體之發現。具體而言，已發現，來自患有癌症之個體之試樣中之一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現(例如，一種列示於表1中之生物標記之mRNA表現)程度與對照相比有所增加，可用以預測該個體是否具有激活之STAT途徑。

在一個態樣中，本發明包括選擇患有血液惡性腫瘤之個體以利用STAT信號轉導抑制劑(例如JAK/STAT抑制劑)進行治療之方法。該方法包括測定至少一種、兩種、三種、四種、五種、六種或更多種列示於表1中之生物標記在源自個體之生物試樣中之表現程度，由此預測對STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)有反應之可能性提高。在一個實施例中，本發明包括測定兩種來自表1之生物標記(例如PIM1及CISH)之表現程度。在另一實施例中，本發明包括測定四種來自表1之生物標記(例如PIM1、CISH、SOCS2及ID1)之表現。在另一實施例中，本發明包括測定表1中之六種生物標記之表現程度。該至少六種生物標記可包括PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2及EPOR。在另一實施例中，本發明包括測定表1中之至少七種生物標記之表現程度。該至少七種生物標記可包括PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1。mRNA表現可使用業內已知之任一方法來測定。特定而言，表1之生物標記之mRNA表現可使用反轉錄酶PCR (RT-PCR)來測定。

在一個實施例中，JAK/STAT抑制劑係JAK2抑制劑，例如(R)-3-

環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。

在一個實施例中，血液惡性腫瘤係白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

在另一態樣中，本發明包括套組，其包含複數種用於測定四種或更多種列示於表1中之生物標記在試樣中之mRNA表現程度之試劑，以及使用說明書。

在另一態樣中，本發明包括選擇患有血液惡性腫瘤之個體以利用STAT信號轉導抑制劑(例如JAK/STAT抑制劑)進行治療之方法，該方法包括測定至少一或多種列示於表1中之生物標記在源自個體之生物試樣中之mRNA表現程度之增加；其中表1中之一或多種生物標記之mRNA表現程度之增加指示，患者較可能對STAT信號轉導抑制劑(例如JAK/STAT抑制劑)之治療有反應；並向表1中之一或多種生物標記之mRNA表現程度有所增加之患者投與STAT信號轉導抑制劑(例如JAK/STAT抑制劑)。JAK/STAT抑制劑可為任一JAK2抑制劑，例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。

在另一態樣中，本發明包括選擇患有血液惡性腫瘤之個體以利用STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)進行治療之方法，該方法包含向所選患者投與STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)，其中來自所選患者之試樣經測定一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有所增加。

在另一態樣中，本發明包括選擇患有血液惡性腫瘤之個體以利用STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)進行治療，該方法包含

基於所選患者經測定一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有所增加，向所選患者選擇性地投與治療有效量之STAT信

號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)；或

基於試樣之一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度未增加，向所選個體選擇性地投與治療有效量之不爲STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)之抑制劑。

在另一態樣中，本發明包括選擇患有血液惡性腫瘤之個體以利用STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)進行治療，該方法包含

測定至少一或多種列示於表1中之生物標記在源自個體之生物試樣中之表現程度，及

基於所選患者經測定一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有所增加，向所選患者選擇性地投與治療有效量之STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)；或

基於試樣之一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度未增加，向所選個體選擇性地投與治療有效量之不爲STAT信號轉導抑制劑之抑制劑。

在另一態樣中，本發明包括選擇患有血液惡性腫瘤之個體以利用STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)進行治療，該方法包含：

測定至少一或多種列示於表1中之生物標記在源自個體之生物試樣中之表現程度，及

之後基於所選擇患者經測定一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有所增加，選擇個體以利用治療有效量之STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)進行治療，及在有形或無形媒體形式上記錄該測定步驟之結果用於傳輸。

在另一態樣中，本發明包括產生用於預測患者對STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)之反應性之可傳輸形式之資訊之方

法，該方法包含：

a) 基於表1中之兩種或更多種生物標記之表現程度有所增加，測定患者將對STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)之治療有反應之可能性提高；及

b) 在有形或無形媒體形式上記錄該測定步驟之結果用於傳輸。

在另一態樣中，本發明包括測定是否已向患有血液惡性腫瘤之個體投與治療有效劑量之STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑，例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽)之方法，該方法包含測定至少一或多種列示於表1中之生物標記在源自個體之生物試樣中之mRNA表現程度，其中在投與(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽後，至少一或多種列示於表1中之生物標記在生物試樣中之mRNA表現之降低預測已投與治療劑量之JAK/STAT抑制劑(例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽)。

在又一態樣中，本發明包括STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑，例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽)用於治療血液惡性腫瘤，其特徵在於治療有效量之該化合物或其醫藥上可接受之鹽係基於至少一或多種列示於表1中之生物標記在生物試樣中之表現程度之增加投與患者。

在又一態樣中，本發明包括JAK/STAT抑制劑(例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽)用於治療血液惡性腫瘤，其特徵在於治療有效量之該化合物或其醫藥上可接受之鹽係基於患者之至少四種或多種列示於表1中之生物標記在生物試樣中之表現程度之增加投與患者。

在又一態樣中，本發明包括JAK/STAT抑制劑(例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽)用於治療血液惡性腫瘤，其特徵在於治療有效量之該化合物或其醫藥上可接受之鹽係基於患者之至少六種或所有列示於表1中之生物標記在生物試樣中之表現程度之增加投與患者。

在又一態樣中，本發明包括STAT信號轉導抑制劑(例如JAK/STAT抑制劑，例如(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽)用於治療血液惡性腫瘤，其特徵在於

i) 治療有效量之該化合物或其醫藥上可接受之鹽係基於患者之至少一或多種列示於表1中之生物標記在生物試樣中之表現程度之增加投與患者；或

ii) 治療有效量之不同於STAT信號轉導抑制劑之另一化合物係基於患者之至少一或多種列示於表1中之生物標記在生物試樣中之表現程度未增加投與該患者。

在本文所述之任一方法中，任一種、兩種、三種、四種、五種、六種或七種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度皆可測定。

【圖式簡單說明】

圖1繪示顯示在所有造血細胞系範圍內p-STAT5狀態與7-基因印記基因集活性得分值之間的關係之圖形。

圖2A繪示(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈對pSTAT5之調節及對RPMI 8226 (pSTAT5陰性細胞系)中之印記基因之效應之條形圖，且**圖2B**繪示(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈對pSTAT5之調節及對TF-1 (pSTAT5陽性細胞系)中標準化後之印記基因之表現之效應的條形圖。

圖3繪示顯示pSTAT5陽性細胞系中不同濃度下之(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈對pSTAT5之調節及對細胞系中之印記基因之效應之條形圖。

圖4繪示顯示pSTAT5陰性細胞系中不同濃度下之(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈對pSTAT5之調節及對細胞系中之印記基因之效應之條形圖。

圖5繪示顯示4小時時DMSO未經處理之pSTAT5陰性細胞及陽性細胞系中對印記基因之效應之條形圖。

圖6繪示顯示4基因印記在活體內UKE-1腫瘤異種移植物中之條形圖。

【實施方式】

愈來愈多之證據表明，患者之遺傳譜可決定患者對治療性治療之反應性。考慮到可利用多種療法治療癌症，測定影響(例如)對特定藥物之反應之遺傳因素可用以為患者提供個別化治療方案。該等個別化治療方案提供使對患者之治療益處最大化同時使可與替代治療方案相關之有關副作用最小化的潛能。因此，業內需要識別可用以預測患者是否可能對特定療法有反應之因素。

為最大化接受STAT信號轉導抑制劑之患者之潛在臨床益處，能夠選擇彼等具有激活之STAT信號轉導途徑之腫瘤之患者至關重要。吾人已識別表現與STAT5之磷酸化狀態顯著相關之一或多種生物標記。本發明基因印記提供用以識別具有激活STAT5之人類癌症及識別可得益於靶向STAT途徑(例如JAK/STAT途徑)之治療之癌症之可靠且易於操作之方法。若未識別個體具有激活之STAT5，則應投與該個體非JAK/STAT信號轉導分子。

本文所述方法部分地基於一或多種列示於表1中之生物標記之識別，該一或多種生物標記可用以測定患者是否可得益於治療有效量之

JAK/STAT抑制劑之治療或投與。本發明生物標記有目的地進行最佳化以用於常規臨床測試。

術語「投與」關於STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)用以係指化合物藉由任一途徑至患者之遞送。

如本文所使用，「治療有效量」係指STAT信號轉導抑制劑(例如，JAK/STAT抑制劑)在單劑量或多劑量投與患者(例如人類)時有效治療、預防病症或復發病症、防止其發作、治癒、延遲病症或復發病症、降低其嚴重程度、改善病症或復發病症之至少一種症狀或延長患者之存活超過不存在該治療下所預計存活之量。當向個體施加單獨投與之活性成份時，該術語係與該單獨成份有關。當施加組合時，該術語係指各活性成份不論係以組合方式、連續抑或同時投與皆產生治療效應之組合量。

術語「治療(treatment或treat)」係指防禦性(prophylactic)或預防性治療(視情況而定)以及治癒性或疾病修飾性治療，包括有患上疾病之風險或懷疑已患上疾病之患者以及已生病或已經診斷罹患疾病或醫學病況之患者之治療，且包括臨床再發之阻抑。該治療可投與具有醫學病症或最終可能獲得該病症之患者，以便預防、治癒病症或復發病症、延遲其發作、降低其嚴重程度或改善病症或復發病症之一或多種症狀，或者以便延長患者之存活超過不存在該治療下所預計之存活。

片語「對治療有反應」用於意指患者在遞送特定治療(例如，JAK/STAT抑制劑)時顯示來自該治療之臨床有意義的益處。片語「對治療有反應」意欲在比較意義上進行理解，而非理解爲絕對反應。

如本文所使用，「選擇」及「經選擇」在提及患者時用於意指，從較大群組患者中依據(基於)具有預定標準之特定患者明確選出該特定患者，例如，表1中至少一種生物標記之表現增加之患者。類似地，「選擇性治療」係指向患有特定疾病之患者提供治療，其中從較

大群組患者中基於具有預定標準之特定患者而明確選出該患者，例如，基於患者之表1所列生物標記之表現增加而明確選擇該血液患者來進行治療。類似地，「選擇性投藥」係指從較大群組患者中依據(基於)具有預定標準之特定患者(例如，表1所列生物標記之表現增加之患者)中明確選出該患者，而向該患者投與藥物。選擇、選擇性治療及選擇性投藥，意指基於患者之特定生物學向該患者遞送個人化療法，而非僅基於患者具有之特定疾病而遞送標準治療方案。在提及本文所使用治療之方法時，「選擇」並非指對列示於表1中之生物標記之表現增加之患者之偶然治療，而是指基於患者之表1所列生物標記之表現增加而謹慎地向該患者選擇性投與JAK/STAT抑制劑。因此，選擇性治療不同於不論生物標記表現狀態如何皆向所有患者遞送特定藥物之標準治療。

如本文所使用，「預測」係指本文所述方法提供可以讓健康照護者決定患有血液疾病之個體對JAK/STAT抑制劑之治療有反應或對該治療有更有利的反應之可能性之資訊。其並非指能夠100%準確預測其反應之能力。而是，熟習此項技術者應瞭解，其係指提高之機率。

如本文所使用，「可能性」及「可能的」係事件發生之可能性之量度。其可與「機率」交換使用。可能性係指大於推測，但小於確定之機率。因此，若適當的人使用常識、訓練或經驗推斷，在某些情況下事件係可能的，則該事件係可能的。在一些實施例中，一旦確定其可能性後，患者即可用JAK/STAT抑制劑進行治療(或持續治療，或用增加之劑量繼續進行治療)，或者患者可不用JAK/STAT抑制劑進行治療(或中斷治療，或用降低之劑量繼續進行治療)。

片語「可能性提高」係指事件將發生之機率提高。例如，本文有些方法可以基於表1所列一或多種生物標記之增加表現程度，並與表1所列一或多種生物標記之表現程度未增加之患者相比，來預測患

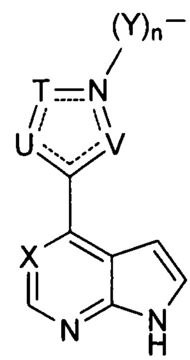
者是否對JAK/STAT抑制劑治療有反應之可能性提高，或對JAK/STAT抑制劑治療有更佳反應之可能性提高。

STAT信號轉導抑制劑

本發明所用STAT信號轉導抑制劑可包括直接或間接抑制STAT信號轉導途徑從而使得一或多種STAT蛋白之磷酸化降低之任何分子。該等抑制劑可包括JAK抑制劑(另外在本文中稱作JAK/STAT抑制劑)、ALK抑制劑(另外在本文中稱作ALK/STAT抑制劑)、EGFR抑制劑(另外在本文中稱作EGFR/STAT抑制劑)或SRK抑制劑(另外在本文中稱作SRK/STAT抑制劑)。

JAK/STAT抑制劑係選擇性地抑制任何JAK分子(例如JAK 1、2、3及4)或任何STAT分子(例如STAT 3及STAT5)之活性之任何化合物。在一實例中，JAK/STAT抑制劑係JAK2抑制劑。JAK2抑制劑已爲業內所知，且包括(例如)小分子化合物、小肽、抗體、反股寡核苷酸、siRNA及諸如此類。在一些實施例中，JAK2抑制劑可爲INCB018424、XL019、TG101348或TG101209。

在一個實施例中，JAK2抑制劑係式I之化合物：



I

或其醫藥上可接受之鹽，其中：

T、U及V獨立地選自O、S、N、CR^5及NR^6；

其中由碳原子、氮原子、U、T及V形成之5員環係芳香族環；

X係N或CR^4；

n係0；或

n係1且Y係C_{1-8}炔烴、C_{2-8}伸烯基、$(CR^{11}R^{12})_pC(O)(CR^{11}R^{12})_q$、$(CR^{11}R^{12})_pC(O)NR^c(CR^{11}R^{12})_q$、$(CR^{11}R^{12})_pC(O)O(CR^{11}R^{12})_q$或$(CR^{11}R^{12})_pOC(O)(CR^{11}R^{12})_q$，其中該$C_{1-8}$炔烴或$C_{2-8}$伸烯基視情況由1個、2個或3個鹵基、OH、CN、胺基、C_{1-4}烷基胺基或C_{2-8}二烷基胺基取代；

Z係芳基、環烷基、雜芳基或雜環烷基，其各自視情況經1個、2個、3個、4個、5個或6個獨立地選自以下各項之取代基取代：鹵基、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、C_{2-4}炔基、C_{1-4}鹵烷基、C_{1-4}羥基烷基、C_{1-4}氰基烷基、Cy^1、CN、NO_2、OR^a、SR^a、$C(O)R^b$、$C(O)NR^cR^d$、$C(O)OR^a$、$OC(O)R^b$、$OC(O)NR^cR^d$、NR^cR^d、$NR^cC(O)R^b$、$NR^cC(O)NR^cR^d$、$NR^cC(O)OR^a$、$S(O)R^b$、$S(O)NR^cR^d$、$S(O)_2R^b$、$NR^cS(O)_2R^b$及$S(O)_2NR^cR^d$；

Cy^1獨立地選自芳基、雜芳基、環烷基及雜環烷基，其各自視情況由1個、2個、3個、4個或5個獨立地選自以下各項之取代基取代：鹵基、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、C_{2-4}炔基、C_{1-4}鹵烷基、CN、NO_2、$OR^{a''}$、$SR^{a''}$、$C(O)R^{b''}$、$C(O)NR^{c''}R^{d''}$、$C(O)OR^{a''}$、$OC(O)R^{b''}$、$OC(O)NR^{c''}R^{d''}$、$NR^{c''}R^{d''}$、$NR^{c''}C(O)R^{b''}$、$NR^{c''}C(O)OR^{a''}$、$S(O)R^{b''}$、$S(O)NR^{c''}R^{d''}$、$S(O)_2R^{b''}$及$S(O)_2NR^{c''}R^{d''}$；

R^4係H；

R^5係H、鹵基、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、C_{2-4}炔基、C_{1-4}鹵烷基、CN、NO_2、OR^7、SR^7、$C(O)R^8$、$C(O)NR^9R^{10}$、$C(O)OR^7$、$OC(O)R^8$、$OC(O)NR^9R^{10}$、NR^9R^{10}、$NR^9C(O)R^8$、$NR^9C(O)OR^7$、$S(O)R^8$、$S(O)NR^9R^{10}$、$S(O)_2R^8$、$NR^9S(O)_2R^8$或$S(O)_2NR^9R^{10}$；

R^6係H、C_{1-4}烷基、C_{2-4}烯基、C_{2-4}炔基、C_{1-4}鹵烷基、OR^7、$C(O)R^8$、$C(O)NR^9R^{10}$、$C(O)OR^7$、$S(O)R^8$、$S(O)NR^9R^{10}$、$S(O)_2R^8$或

$S(O)_2NR^9R^{10}$；

R^7係H、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、環烷基、雜芳基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基或雜環烷基烷基；

R^8係H、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、環烷基、雜芳基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基或雜環烷基烷基；

R^9及R^{10}獨立地選自H、C_{1-10}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{1-6}烷基羰基、芳基羰基、C_{1-6}烷基磺醯基、芳基磺醯基、芳基、雜芳基、環烷基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基及雜環烷基烷基；

或R^9及R^{10}與其所附接之N原子一起形成4-、5-、6-或7-員雜環烷基；

R^{11}及R^{12}獨立地選自H、鹵基、OH、CN、C_{1-4}烷基、C_{1-4}鹵烷基、C_{2-4}烯基、C_{2-4}炔基、C_{1-4}羥基烷基、C_{1-4}氰基烷基、芳基、雜芳基、環烷基及雜環烷基；

R^a及$R^{a''}$獨立地選自H、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、環烷基、雜芳基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基及雜環烷基烷基，其中該C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、環-烷基、雜芳基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基或雜環烷基烷基視情況經1個、2個或3個獨立地選自以下各項之取代基取代：OH、CN、胺基、鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、芳基、芳基烷基、雜芳基、雜芳基烷基、環烷基及雜環烷基；

R^b及$R^{b''}$獨立地選自H、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、環烷基、雜芳基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基及雜環烷基烷基，其中該C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、

C_{2-6}炔基、芳基、環-烷基、雜芳基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基或雜環烷基烷基視情況經1個、2個或3個獨立地選自以下各項之取代基取代：OH、CN、胺基、鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷基、芳基、芳基烷基、雜芳基、雜芳基烷基、環烷基及雜環烷基；

R^c及R^d獨立地選自H、C_{1-10}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、雜芳基、環烷基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基及雜環烷基烷基，其中該C_{1-10}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、雜芳基、環烷基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基或雜環烷基烷基視情況經1個、2個或3個獨立地選自以下各項之取代基取代：OH、CN、胺基、鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷基、芳基、芳基烷基、雜芳基、雜芳基烷基、環烷基或雜環烷基；

或R^c及R^d與其所附接之N原子一起形成4-、5-、6-或7-員雜環烷基，其視情況經1個、2個或3個獨立地選自以下各項之取代基取代：OH、CN、胺基、鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷基、芳基、芳基烷基、雜芳基、雜芳基烷基、環烷基及雜環烷基；

$R^{c''}$及$R^{d''}$獨立地選自H、C_{1-10}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、雜芳基、環烷基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基及雜環烷基烷基，其中該C_{1-10}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、芳基、雜芳基、環烷基、雜環烷基、芳基烷基、雜芳基烷基、環烷基烷基或雜環烷基烷基視情況經1個、2個或3個獨立地選自以下各項之取代基取代：OH、CN、胺基、鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷基、芳基、芳基烷基、雜芳基、雜芳基烷基、環烷基及雜環烷基；

或$R^{c''}$及$R^{d''}$與其所附接之N原子一起形成4-、5-、6-或7-員雜環烷

基，其視情況經1個、2個或3個獨立地選自以下各項之取代基取代：OH、CN、胺基、鹵基、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}鹵烷基、芳基、芳基烷基、雜芳基、雜芳基烷基、環烷基及雜環烷基；

P係0、1、2、3、4、5或6；且

q係0、1、2、3、4、5或6。

在特定實施例中，JAK2抑制劑係3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。在另一實施例中，該化合物係(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。

生物標記

本發明之生物標記包括一或多種基因，例如任1個、2個、3個、4個、5個、6個或7個列示於表1中之基因。藉由分析表1中之一或多種所識別生物標記之mRNA表現程度，可選擇患有JAK/STAT途徑激活之癌症且其因此可能對利用JAK/STAT信號轉導途徑之抑制劑(例如，JAK2抑制劑)之治療有反應之個體。

基因名稱	**登錄號Uni Gene ID**
Pim-1致癌基因(PIM 1)	5292
細胞因子誘導的含SH2之蛋白(CISH)	1154
細胞因子信號轉導之阻抑因子2 (SOCS2)	8835
DNA結合之抑制因子1，顯性負性螺旋-環-螺旋蛋白(ID1)	3397
脂質運載蛋白2 (LCN2)	3934
紅血球生成素受體(EPOR)	2057
早期生長反應因子1 (EGR1)	1958

表1

此外，對於RT-PCR而言，可測定試樣內所含管家基因(house keeping gene)或標準化基因(normalization gene)之表現程度。在一實

例中，欲用於本發明中之管家基因可為β葡萄糖苷酸酶(GUSB；UGID:170831；UniGeneHs.255230)及/或TATA-結合蛋白(TBP；登錄Uni Gene ID UGID:2059883；UniGene Hs.590872)。

試樣之製備

可使用取自患有增生性疾病之個體之任何適當細胞測試試樣。通常，細胞測試試樣或組織試樣將藉由生檢或手術切除自患有癌症之個體獲得。可藉由針穿刺活檢移除細胞、組織或流體之試樣。為此，經由皮膚插入附接至注射器之細針並插入目標組織中。通常使用超音波或電腦斷層攝影(CT)成像將針引導至目標區域。在將針插入組織中時，利用注射器產生真空，以便可經由針抽吸細胞或流體且收集於注射器中。亦可藉由切開或核心活檢移除細胞或組織之試樣。為此，自目標區域移除圓錐形、圓柱形或極少組織。通常使用CT成像、超音波或內鏡引導此類型活檢。更特定而言，可藉由切除活檢或手術切除移除整個癌性病變。在本發明中，測試試樣通常係作為手術切除之部分移除之細胞試樣。

例如，組織之測試試樣亦可儲存於(例如) RNAlater (Ambion; Austin Tex.)中或急驟冷凍並儲存於-80℃下以供稍後使用。亦可用固定劑(例如甲醛、聚甲醛或乙酸/乙醇)固定活檢組織試樣。可將固定組織試樣包埋於蠟(石蠟)或塑膠樹脂中。可將包埋組織試樣(或冷凍組織試樣)切割成薄切片。亦可自固定或蠟包埋組織試樣或冷凍組織試樣提取RNA或蛋白質。在自患有癌症之個體移除細胞試樣或組織試樣後，該細胞試樣或組織試樣可經處理以使用業內熟知之技術且如下所述來分離RNA或蛋白。

自取自患有癌症之患者之生檢提取RNA之實例可包括(例如)實施硫氰酸胍溶解，隨後進行CsCl離心(Chirgwin等人，Biochemistry 18:5294-5299, 1979)。可如用於自單細胞製備cDNA庫之方法中所述自

單細胞獲得RNA (例如參見Dulac, Curr. Top. Dev. Biol. 36:245, 1998；Jena等人，J. Immunol. Methods 190:199, 1996)。在一個實施例中，可富集如表1中所詳述之目標序列之RNA群體。該富集可藉由(例如)隨機六聚物及引子特異性cDNA合成或基於cDNA合成之多循環之線性擴增以及模板指導之活體內轉錄來實現(例如參見Wang等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9717, 1989；Dulac等人，同上；Jena等人，同上)。

可對取自個體之生檢(例如新鮮組織、冷凍組織、在福馬林(formalin)(FFPE)或其他固定劑中處理之組織)實施JAK/STAT表現譜。

患有腫瘤或癌症之個體通常將係哺乳動物個體，例如靈長類動物。在例示性實施例中，個體係人類。

任何癌症或腫瘤皆可根據本發明方法來篩選且包括(但不限於)血液惡性腫瘤、卵巢結腸癌症、肺癌、胰臟癌、胃部癌症、前列腺癌及肝細胞癌、基底細胞癌、乳癌、骨肉瘤、軟組織肉瘤、神經管胚細胞瘤、橫紋肌肉瘤、神經胚細胞瘤、胰臟癌、腦脊髓膜瘤、神經膠質母細胞瘤、星形細胞瘤、黑色素瘤、胃癌、食道癌、膽道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、神經膠細胞癌、多發性骨髓瘤、結腸癌、神經外胚層腫瘤、神經內分泌腫瘤、肥胖細胞瘤及戈林症候群(Gorlin syndrome)。

特定而言，本發明可用以治療患有血液惡性腫瘤(白血病、淋巴瘤及骨髓瘤)之患者。在一實例中，白血病係急性淋巴性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓性白血病(CML)或急性單核球性白血病(AMOL)。在本發明之另一實施例中，血液惡性腫瘤係真性紅血球增多症(PV)、原發性血小板增多症(ET)、伴有骨髓纖維化的骨髓樣化生(myeloid metaplasia with myelofibrosis，MMM)、慢性骨髓單核球

性白血病(CMML)、高嗜酸性粒細胞症候群(HES)或系統性肥大細胞病(SMCD)。在另一實例中，淋巴瘤係霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)或非霍奇金氏淋巴瘤。

生物標記之表現之檢測

在一實例中，該方法包括測定表1中之一或多種基因之表現。目標基因序列可使用可以明確檢測基因之試劑(例如，自基因轉錄之RNA)來檢測。

自指定生物標記轉錄之mRNA之序列可使用業內已知之任一方法來分析，包括(但不限於)北方墨點(Northern blot)分析、核酸酶保護分析(NPA)、原位雜交、反轉錄聚合酶鏈鎖反應(RT-PCR)、RT-PCR ELISA、基於TaqMan之定量RT-PCR (基於探針之定量RT-PCR)及基於SYBR green之定量RT-PCR。在一實例中，mRNA含量之檢測涉及使所分離mRNA與可與mRNA雜交之寡核苷酸接觸。核酸探針通常可爲(例如)全長cDNA或其一部分，例如長度爲至少7個、15個、30個、50個或100個核苷酸且足以在嚴格條件下明確與目標mRNA(例如，一或多種列示於表1中之基因之mRNA)雜交之寡核苷酸。在一個形式中，RNA係藉由以下方式固定於固體表面上並與探針接觸：例如讓所分離RNA通過瓊脂糖凝膠，並將mRNA自該凝膠轉移至諸如硝化纖維素等膜。擴增引子之定義爲一對可黏接至生物標記基因之5'或3'區(分別爲正鏈及負鏈，或反之亦然)且含有其中間一小段區域之核酸分子。一般而言，擴增引子之長度爲約10至30個核苷酸且側接長度爲約50至200個核苷酸之區。在適當條件且利用適當試劑之情形下，該等引子允許擴增包含側接引子之核苷酸序列之核酸分子。PCR產物可藉由任一適宜方法來檢測，包括(但不限於)凝膠電泳，及利用DNA特異性染劑進行染色，或與經標記探針雜交。

生物標記之表現程度可藉由使用各種技術量測RNA (或反轉錄

cDNA)含量來測定，例如，基於PCR之分析、反轉錄酶PCR (RT-PCR)分析、北方墨點等。亦可利用使用競爭性模板之標準化混合物之定量RT-PCR法。

在一個實施例中，該方法包括：提供核酸探針，其包含與表1之任一或多種基因之核酸序列之編碼序列之一部分互補之核苷酸序列，例如至少7個、10個、15個、20個、25個、30個或40個核苷酸，及至多達所有或幾乎所有的編碼序列；自具有癌細胞之哺乳動物獲得組織試樣；使核酸探針在嚴格條件下與取自患有癌症之患者之生檢所獲得之RNA接觸(例如，在北方墨點、原位雜交分析、PCR等中)；及測定探針與RNA雜交之量。核酸可在RNA之富集及/或擴增期間或之後進行標記。

表1之生物標記亦意欲包括天然序列，包括對偶變體及其他家族成員。本發明之生物標記亦包括與彼等所列示之由密碼子之簡併得到之序列互補之序列，及具足夠同源性之序列及在嚴格條件與本發明基因雜交之序列。

「足夠同源性」意指生物標記之胺基酸或核苷酸序列含有足夠或最小數量之與第二胺基酸或核苷酸序列相同或等效(例如，具有類似側鏈之胺基酸殘基)之胺基酸殘基或核苷酸，從而使得第一及第二胺基酸或核苷酸序列共有共同結構域或基序及/或共同功能活性。例如，共有共同結構域且在該等域之胺基酸序列範圍內具有至少約50%同源性、至少約60%同源性、至少約70%同源性、至少約80%同源性及至少約90-95%同源性之胺基酸或核苷酸序列在本文中定義爲足夠同源性。此外，具有至少約50%同源性、至少約60-70%同源性、至少約70-80%同源性、至少約80-90%同源性及至少約90-95%同源性且共有共同功能活性之胺基酸或核苷酸序列在本文中定義爲足夠同源性。

兩個序列間之序列之比較及同源性%之測定可使用數學演算法來

實現。用於比較序列所用數學演算法之較佳非限制性實例係Karlin及Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68之演算法，其如在Karlin及Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77中修改。此一演算法係納入至Altschul等人，(1990) J. Mol. Biol. 215:403-10之NBLAST及XBLAST程式(第2.0版)中。BLAST核苷酸搜尋可利用NBLAST程式、得分值=100、字長=12來實施，以獲得與本發明之TRL核酸分子同源之核苷酸序列。BLAST蛋白搜尋可利用XBLAST程式、得分值=50、字長=3來實施，以獲得與由列示於表1中之基因編碼之蛋白序列同源之胺基酸序列。爲出於比較目的獲得空位比對，可如Altschul等人，(1997) Nucleic Acids Research 25(17):3389-3402中所述利用空位BLAST。當利用BLAST及空位BLAST程式時，可使用各別程式(例如，XBLAST及NBLAST)之預設參數。參見http://www.ncbi.nlm.nih.gov。用於比較序列所用數學演算法之另一較佳非限制性實例係Myers及Miller, CABIOS (1989)之ALIGN演算法。當利用ALIGN程式來比較胺基酸序列時，可使用PAM1 20加權殘基表、空位長度罰分12及空位罰分4。

術語「探針」係指可用於特異性地檢測另一物質之任一物質組合物。在較佳實施例中，探針特異性地與核酸序列(較佳地基因組DNA)雜交或特異性地與目標對偶基因之多肽序列結合。

片語「特異性地雜交」用以指在嚴格雜交條件下雜交。嚴格條件已爲彼等熟習此項技術者所知且可參見Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6。水性及非水性方法闡述於該參考文獻中且亦可加以使用。嚴格雜交條件之一個實例係在6×氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中及約45℃下進行雜交，隨後在0.2× SSC、0.1% SDS中及50℃下洗滌至少一次。嚴格雜交條件之另一實例係在6× SSC中及約45℃下進行雜交，隨後在0.2× SSC、0.1%

SDS中及55℃下洗滌至少一次。嚴格雜交條件之另一實例係在6× SSC中及約45℃下進行雜交，隨後在0.2× SSC、0.1% SDS中及60℃下洗滌至少一次。嚴格雜交條件之另一實例係在6× SSC中及約45℃下進行雜交，隨後在0.2× SSC、0.1% SDS中及65℃下洗滌至少一次。高嚴格條件包括在0.5 M磷酸鈉、7% SDS中及65℃下雜交，隨後在0.2× SSC、1% SDS中及65℃下洗滌至少一次。

「寡核苷酸」係指短核苷酸序列，例如，2-100個鹼基。

本發明包括量測一或多種基因PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1在取自因JAK/STAT途徑激活而罹患癌症(例如，血液病症)之個體之腫瘤生檢中之表現。可分析表現程度並使用其來產生可用以區分彼等患有展現JAK/STAT途徑激活之腫瘤之患者與彼等未患病者之得分值。

在一個實施例中，本發明方法包括量測列示於表1中之PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1中之每一者之表現。在另一實施例中，本發明方法包括量測來自表1之至少一者，例如，至少兩者、至少三者、至少四者、至少五者、至少六者或至少七者。

在一實例中，量測來自表1之一種基因(例如，PIM-1)之表現程度。在另一實例中，量測來自表1之兩種基因(例如，PIM1及CISH)之表現程度。在再一實例中，量測來自表1之三種基因PIM1、CISH及SOCS2之表現程度。在再一實例中，量測來自表1之四種基因PIM1、CISH、SOCS2及ID1之表現程度。在再一實例中，量測來自表1之五種基因PIM1、CISH、SOCS2、ID1及LCN2之表現程度。在再一實例中，量測來自表1之六種基因PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2及EPOR之表現程度。在再一實例中，量測來自表1之七種基因PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1之表現程度。

本發明生物標記亦包括表1中所識別之表現程度或基因產物充當

預測性標記或生物標記之基因之任一組合。

在本發明方法中，量測上述一或多種基因之表現程度且加以分析，並使用該表現程度產生可用以選擇彼等因JAK/STAT途徑激活而患有腫瘤之個體之得分值，如下所述。表現臨限制可用以選擇彼等將對JAK/STAT抑制劑有反應之個體。

必須標準化所分析RNA之量之差異及所用RNA之品質之變異性。因此，分析通常量測並納入某些標準化基因之表現。

在本發明方法中，量測各生物標記之表現，且其通常在藉由對照基因之表現程度標準化後轉換成表現值。然後將使用該等表現值來產生得分值，然後將該得分值與截止值(cut-off)進行比較，以選出哪些個體患有JAK/STAT激活之腫瘤且因此可能得益於JAK/STAT抑制劑之治療。

本發明之生物標記可使用業內已知之任一方法(例如反轉錄酶PCR (RT-PCR))來量測。該方法包括使用業內已知之任一技術(例如)藉由使用來自商業製造商(例如Qiagen)之純化套組、緩衝液套裝及蛋白酶來分離mRNA。反轉錄步驟通常端視環境及表現譜分析之目標而使用具體引子、隨機六聚物或寡-dT引子來引發，且所得cDNA然後可用作後續PCR反應之模板。然後可使用(例如)市售設備實施TaqMan(R) RT-PCR。

RT-PCR技術之最近變化形式係即時定量PCR，其藉助雙標記螢光探針(例如，使用TaqMan(R)探針)量測PCR產物積聚。即時PCR既與使用各靶標序列之內部競爭者來標準化之定量競爭性PCR相容，又與使用試樣內所含標準化基因或用於RT-PCR之管家基因之定量競爭性PCR相容。關於其他細節，例如參見Held等人，Genome Research 6:986-994 (1996)。

在另一實例中，使用包括對應於表1之一或多種基因之一或多種

探針之微陣列。上述方法使得在陣列表面上產生所標記靶標核酸之雜交圖譜。所得所標記核酸之雜交圖譜可目測，或以各種方式、尤其利用基於特定靶標核酸標記所選擇之檢測方式來檢測。代表性檢測方式包括閃爍計數、自動放射照像術、螢光量測、熱量量測、光發射量測、光散射及諸如此類。

在另一實例中，可使用可包括對應於表1之一或多種基因之一或多種探針之TaqMan®低密度陣列(TLDA)卡。此方法使用實施同時即時PCR反應之微流體卡。

在一實例中，檢測方法利用市售(Affymetrix, Santa Clara, Calif.)之陣列掃描儀，例如，417 Arrayer、418陣列掃描儀或Agilent GeneArray掃描儀。此掃描儀係自具有界面及易使用型軟體工具之系統電腦來控制。輸出信號可直接輸入至各種軟體應用中或由該等軟體應用直接讀取。掃描裝置闡述於(例如)美國專利第5,143,854號及第5,424,186號中。

在再一實例中，mRNA含量可使用高通量mRNA測序(RNA-seq)之表現分析來分析。可用以研究mRNA表現程度之有用平臺之實例包括Illumina測序(先前Solexa測序)平臺。

如本文所使用，用於比較之對照可由熟習此項技術者來確定。在一個態樣中，對照係藉由選擇充當截止值之值來確定。例如，該值可為區分(例如)彼等具有JAK/STAT激活(磷酸化之STAT5 +)之測試試樣與彼等不顯示JAK/STAT激活(STAT5未磷酸化)者之值。在另一實例中，本發明生物標記之基因表現譜係與對照進行比較(取自健康人或JAK/STAT激活之腫瘤之試樣中生物標記表現之存在)。

數據分析

為便於試樣分析操作，可使用數位電腦來分析讀取者自裝置獲得之數據。通常，將電腦適當程式化以便接收並儲存來自裝置之數據

且以便分析並報告所採集數據，例如，扣除背景、驗證是否適當實施對照、標準化信號、譯釋螢光數據以測定雜交靶標之量、標準化背景及諸如此類。

在一實例中，在測定表1中之一或多種標記之表現程度後，可將結果告知醫師或遺傳咨詢師或患者或其他研究者。具體而言，可將結果編製(cast)成可傳輸形式之資訊，可將該資訊傳送或傳輸至其他研究者或醫師或遺傳咨詢師或患者。此一形式可變且可係有形或無形的。所測試個體之結果可以描述性報告書、圖表、照片、圖解、影像或任何其他視覺形式來體現。例如，PCR產物之凝膠電泳之影像可用於解釋該等結果。顯示生物標記表現之程度之圖表亦可用於指示測試結果。該等報告書及視覺形式可記錄於有形媒體(例如紙、電腦可讀媒體(例如軟磁碟、壓縮磁碟等))或無形媒體(例如，呈網際網路或內部網路上之電子郵件或網址形式之電子媒體)上。另外，結果亦可以聲音形式記錄且藉助任何適宜媒體(例如類比或數位電纜線路、光纖電纜等)經由電話、傳真、無線行動電話、網際網路電話及諸如此類傳輸。所有該等形式(有形及無形)皆可構成「可傳輸形式之資訊」。因此，關於測試結果之資訊及數據可在世界任何地方產生且可傳輸至不同位置。例如，在國外實施分析時，可以上述可傳輸形式產生並編製關於測試結果之資訊及數據。呈可傳輸形式之測試結果因此可輸入美國。因此，本揭示內容亦涵蓋產生含有列示於表1中之生物標記之表現程度之可傳輸形式資訊之方法。此形式之資訊可用於預測患者對JAK/STAT抑制劑之治療之反應性、基於該資訊選擇治療過程及基於該資訊選擇性地治療患者。

套組

本發明另外提供測定本文所述生物標記之表現程度之套組。該等套組可用於測定哪些人將得益於JAK/STAT抑制劑之治療。套組可

包含表1中所識別基因之探針/寡核苷酸/引子，其可用以量測測試試樣之基因表現。在一個實施例中，該套組包含電腦可讀媒體，該媒體包括能夠載入電腦系統之記憶元件中之表現譜分析軟體且其可將所量測表現值轉換成風險得分值。套組可進一步包含核酸對照、緩衝液及使用說明書。

投與

本文所述STAT信號轉導抑制劑可單獨地或與一或多種治療藥劑組合經由業內已知之任一普通且可接受之模式以治療有效量投與。治療有效量可端視疾病之嚴重程度、個體之年齡及相對健康狀況、所用化合物之效能及其他因素而廣泛變化。

熟習此項技術者可知許多類似於或等效於彼等本文所述者之方法及材料，該等均可用於實踐本發明。實際上，本發明決不會受限於所述方法及材料。出於本發明之目的，下文對以下術語進行定義。

實例

實例

實例1：基因印記之產生

爲基於印記識別mRNA表現從而甄別p-STAT5陽性及p-STAT5陰性試樣，吾人使用兩組造血細胞系以及p-STAT5西方墨點(western blot)數據。各獨立組皆具有來自Affymetrix U133Plus2陣列之mRNA表現譜數據。所有表現值皆係經過MAS5標準化，且2%截尾平均數爲150。

第一組具有28種細胞系之數據，其中8種呈p-STAT5陽性且20種呈p-STAT5陰性(藉由西方墨點)。此用作印記富集組。第二組具有12種獨特細胞系之數據，其中6種呈p-STAT5陽性且6種呈p-STAT5陰性(藉由西方墨點)。使用第2組中之獨特試樣作爲印記驗證組。

第1組及第2組之pSTAT5狀態概述於表2中。

細胞系名稱	pSTAT5第1組	pSTAT5第2組
THP-1	N	
MM1-S	N	
ST486	N	
NCI-H929	N	
JM1	N	
Loucy	N	
RPMI 8226	N	
Toledo	N	
MC116	N	
Reh	N	
KMS-12-BM	N	
RS4;11	N	
BDCM	N	
U-937	N	
HD-MY-Z	N	
HuNS1	N	
SUP-T1	N	
CA46	N	
RL	N	
HH	N	
MOLM-13	Y	
AML-193	Y	
Set-2	Y	
TF-1	Y	
HEL 92.1.7	Y	
K-562	Y	
SUP-B15	Y	
MEG-01	Y	
PL-21		N
OCI-AML2		N
NOMO-1		N
HL-60		N
KASUMI-1		N
SKM-1		N
EOL-1		Y
F-36P		Y
Kasumi-6		Y
MV-4-11		Y
M-07e		Y
OCI-AML5		Y

表2

吾人選擇47個被認爲係STAT5之轉錄靶標且具有在U133Plus2陣列(來自GeneGo公司之MetaCore)上之探針集之基因。對於47個基因中之每一者而言，最佳探針集係基於人工審閱與電腦方法之組合而選出。選擇每一基因之最佳探針集之方法通常用於分析Affymetrix基因表現數據，且最佳探針集之列表係獨立於此項目而確定。

對於47種基因中之每一者而言，在p-STAT5陽性與p-STAT5陰性細胞系之間相關之倍數改變及機率係利用司徒登氏t測試(Student's t-Test)使用來自富集細胞系組之數據來計算。對於倍數改變計算值而

言，值50加入p-STAT5陽性及p-STAT5陰性細胞系之表現平均值中，以便降低來自低表現基因之雜訊。正值指示p-STAT5陽性系中表現之較高，而負值指示p-STAT5陰性系中表現之較高。司徒登氏t測試係使用雙尾分佈及同質變異設置來運行。表2提供所有47種基因之結果。

吾人使用來自表3之數據來創建3個基因集(表4)。第一基因集包括4種基因(PIM1、CISH、SOCS2、ID1)，且p值最低且倍數改變高於4。第二基因集含有上述4種基因以及LCN2及EPOR，LCN2及EPOR二者之倍數改變大約爲2且p值低於0.01。第三基因集包含另一基因EGR1，其倍數改變大約爲2.5，但p值約爲0.06。該分析亦包括47-基因集。

基因名稱	Entrez GeneID	探針集	p-STAT5+ 平均	p-STAT5- 平均	倍數	t測試p值
PIM1	5292	209193_at	875	134	5.04	6.82E-07
CISH	1154	223961_s_at	245	21	4.15	5.86E-06
SOCS2	8835	203373_at	2441	326	6.63	1.64E-05
ID1	3397	208937_s_at	1548	332	4.19	0.00331972
LCN2	3934	212531_at	80	8	2.24	0.00453474
EPOR	2057	209962_at	118	38	1.91	0.00836353
KIR3DL1	3811	211687_x_at	24	14	1.15	0.02315812
C3AR1	719	209906_at	91	35	1.66	0.02897651
BCL2L1	598	212312_at	270	167	1.47	0.03413896
IGJ	3512	212592_at	106	3746	-24.29	0.04997906
EGR1	1958	227404_s_at	1035	351	2.71	0.0638939
OSM	5008	230170_at	53	17	1.55	0.10218279
TBX21	30009	220684_at	40	12	1.46	0.14215803
TNFRSF13B	23495	207641_at	27	71	-1.57	0.15316237
ESR1	2099	205225_at	10	18	-1.15	0.15905403
XIAP	331	228363_at	711	1041	-1.43	0.20670021

ABCB1	5243	243951_at	34	19	1.21	0.21057215
IL18	3606	206295_at	91	50	1.41	0.26985569
SKP2	6502	210567_s_at	256	345	-1.29	0.27693167
MYC	4609	202431_s_at	5556	4662	1.19	0.30379619
SRP9	6726	201273_s_at	5997	6579	-1.1	0.36038668
FOS	2353	209189_at	98	55	1.41	0.42764108
IL10	3586	207433_at	7	23	-1.29	0.45530643
EBF1	1879	227646_at	565	1033	-1.76	0.46111412
CSN1S1	1446	208350_at	4	3	1.02	0.50498373
ONECUT1	3175	210745_at	8	10	-1.03	0.54105495
HSD3B2	3284	206294_at	4	5	-1.02	0.54197609
SLC30A2	7780	230084_at	16	15	1.02	0.54712739
SP1	6667	224760_at	367	311	1.15	0.55826135
PRF1	5551	214617_at	76	73	1.02	0.56205153
IFNG	3458	210354_at	8	9	-1.03	0.56455525
IL22	50616	222974_at	6	4	1.02	0.56529166
CITED4	163732	228625_at	38	94	-1.64	0.58702634
CCND1	595	208712_at	40	107	-1.75	0.60420565
RAD51	5888	205024_s_at	576	626	-1.08	0.66382789
PAX5	5079	206802_at	9	11	-1.03	0.68588032
CSN2	1447	207951_at	10	11	-1.02	0.69349354
SOCS1	8651	210001_s_at	142	102	1.26	0.72728647
RBMS1	5937	225265_at	310	296	1.04	0.7600465
PTGS2	5743	204748_at	28	49	-1.27	0.78891958
SOCS3	9021	227697_at	118	26	2.21	0.81490784
EPAS1	2034	200878_at	429	157	2.31	0.8417473
TRGC2	6967	216920_s_at	466	410	1.12	0.8773761
FOXP3	50943	221333_at	3	3	-1	0.93339042
CDKN1A	1026	202284_s_at	173	182	-1.04	0.94107376
TLR2	7097	204924_at	64	72	-1.07	0.96066244

GADD45G	10912	204121_at	11	11	1	0.98495784

表3

4-基因印記	6-基因印記	7-基因印記
PIM 1	PIM 1	PIM 1
CISH	CISH	CISH
SOCS2	SOCS2	SOCS2
ID1	ID1	ID1
	LCN2	LCN2
	EPOR	EPOR
		EGR1

表4

吾人使用驗證組之細胞系來獨立地驗證該等基因集。爲達成此，吾人計算各基因集之基因集活性得分值。計算基因集活性得分值之方法通常用於分析基因表現數據，且係獨立於此項目而創建(Breslin T等人，2005 BMC Bioinformatics. 6:163；Lee E等人，PLoS Comput. Biol. 2008;4:e1000217；Guo Z等人， 2005 BMC Bioinformatics. 2005; 6:58)。在2步驟過程中計算基因集活性得分值。

第一步驟係在試樣組範圍內進行各探針表現值之z得分值換算。

$$Zi,j = (Xi,j - \mu)/(\delta + \varepsilon)$$

Xi,j係探針i在試樣j中之MAS5表現值。

ε係標準偏差常數，10用於MAS5表現值。

第二步驟係藉由合計來自基因、特定而言基因集之Zi,j得分值並藉由基因集中之基因數之平方根進行標準化，來計算基因集活性得分值。

$$Sj = \left(\sum_{i=1}^{N} Zi,j\right)/\sqrt{N}$$

*Sj*係給定基因集在試樣*j*中之基因集活性得分值。

N -基因集中之基因數。

表5提供在所有細胞系範圍內3個基因集之基因集活性得分值。

對於該3個基因集而言，p-STAT5陽性及p-STAT5陰性細胞系之基因集活性得分值間與司徒登氏t測試相關之機率係使用來自獨立驗證細胞系組及來自經組合之富集及驗證組之所有細胞系中之數據來計算。司徒登氏t測試係使用雙尾分佈及異質變異設置來運行。表5提供驗證組細胞系及所有細胞系中之3個基因集之結果。如自表6可看出，獨立驗證組中之所有3個基因集之p值皆低於0.05。在組合第1組及第2組之細胞系中觀察到7-基因印記之p值最低。圖1顯示所有細胞系內p-STAT5狀態與7-基因印記基因集活性得分值之間之關係。此圖表明印記區別p-STAT5陽性及p-STAT5陰性造血細胞系之能力。

總之，吾人相信，列示於表4中之3個基因集提供使基因表現程度與造血惡性腫瘤中之STAT5激活相關聯之有意義的方式。其較基於免疫組織化學之方法或利用更大基因集之基因印記在技術上更可行且可靠。

細胞系名稱	4-基因得分值	6-基因得分值	7-基因得分值	pSTAT5第1組(富集)	pSTAT5第2組*(驗證)	pSTAT5組合
THP-1	-0.82	-0.88	-0.93	N		N
PL-21	-0.72	-0.41	-0.22		N	N
OCI-AML2	0.43	0.3	-0.07		N	N
NOMO-1	0.12	-0.06	-0.37		N	N
HL-60	-0.83	-0.92	-1.17		N	N
KASUMI-1	-0.56	-0.7	-0.95		N	N
SKM-1	-0.88	-0.94	-1.2		N	N
MM1-S	-0.68	-0.61	-0.9	N		N
ST486	-1.02	-0.99	-1.25	N		N

NCI-H929	-0.6	-0.55	-0.68	N		N
JM1	-0.99	-1.1	-1.38	N		N
Loucy	-1.03	-1	-1.27	N		N
RPMI 8226	-0.71	-0.73	-1.02	N		N
Toledo	-0.98	-1.11	-1.39	N		N
MC116	-1.06	-1.01	-1.26	N		N
Reh	0.14	0	-0.38	N		N
KMS-12-BM	-0.16	-0.04	-0.41	N		N
RS4；11	-0.7	-0.85	-1.12	N		N
BDCM	-0.87	-0.94	-1.05	N		N
U-937	-0.48	-0.5	-0.81	N		N
HD-MY-Z	-0.85	-0.74	-0.32	N		N
HuNS1	-0.76	-0.71	-1.01	N		N
SUP-T1	-0.89	-0.92	-1.19	N		N
CA46	-0.94	-0.98	-1.25	N		N
RL	-1.12	-1.13	-1.41	N		N
HH	-1.01	-0.98	-1.27	N		N
MOLM-13	2.13	1.79	1.36	Y		Y
AML-193	2.46	1.74	1.32	Y		Y
Set-2	1.72	2.38	1.93	Y		Y
TF-1	1.65	2.63	2.07	Y		Y
HEL 92.1.7	1.7	1.38	1.42	Y		Y
EOL-1	7.46	5.98	5.22		Y	Y
F-36P	4.32	4.55	3.93		Y	Y
Kasumi-6	2.47	1.77	1.36		Y	Y
MV-4-11	0.81	0.66	0.37		Y	Y
M-07e	3.06	2.34	1.99		Y	Y
OCI-AML5	1	0.64	0.24		Y	Y
K-562	6.12	4.92	4.63	Y		Y
SUP-B15	1.21	0.69	0.4	Y		Y

MEG-01	3.09	2.94	2.53	Y		Y

表5

*僅使用第2組中之獨特試樣進行印記驗證

細胞系組	4-基因組t測試p值	6-基因組t測試p值	7-基因組t測試p值
驗證(第2組)	0.016535	0.0171543	0.0202114
富集+驗證(第1組及第2組)	1.4144E-05	6.443E-06	6.273E-06

表6

實例2：使用基因印記對具有激活之JAK/STAT5信號轉導之患者群體進行分層以利用JAK/STAT抑制劑進行治療

然後，使用STAT5基因印記來檢驗臨床前環境中對(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈之藥效動力學反應。所用試劑顯示於表7中。

部分編號	試劑	供應商
4369510	Taqman基因表現主要混合物	ABI/Life Technologies
4331182	ID1 Hs03676575_s1 (預設計之基因表現分析)	ABI/Life Technologies
4331182	SOCS2 Hs00919620_m1 (預設計之基因表現分析)	ABI/Life Technologies
4332078	定製設計： CISH 正向引子：CTGTGCATAGCCAAGACCTTCTC 反向引子：CGTAATGGAACCCCAATACCA 探針：CTTCGGGAATCTGG	ABI/Life Technologies
4332078	定製設計：PIM1 正向引子：TGCTCAAGGACACCGTCTACAC 反向引子：GGATCCACTCTGGAGGGCTAT	ABI/Life Technologies

	探針：CTTCGATGGGACCCGAG	
4331182	管家基因：TBP Hs99999910_m1	ABI/Life Technologies
4331182	管家基因：GUSB Hs99999908_m1	ABI/Life Technologies

表7

利用0.2μM或1μM (R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈處理七種血液腫瘤細胞系(5種呈pSTAT5陽性者(AML-193、Hel 92.1.7、Set2、TF-1及UKE-1)且4種呈pSTAT5陰性者(RPM18226、U937、Relt及PL-21))，且在處理後4 hr及24 hr收集試樣。藉由西方墨點分析來檢驗磷酸-STAT5，且藉由qPCR來測定四種印記基因之表現。各個別基因在印記中之RNA表現程度(ΔCt)係藉由自兩個管家基因(GUSB及TBP)之平均Ct扣除印記基因之平均Ct來測定。對於標準化後之相對表現程度而言，將DMSO對照處理之ΔCt設爲1，且所有其他處理之基因Ct值皆相對於此值。

在pSTAT5陰性細胞系中，(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈對pSTAT5之調節之效應或印記基因表現改變不明顯(RPMI 8226，在圖2A中)。在pSTAT5陽性細胞系中，(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈下調pSTAT5，且印記基因之表現相應降低(TF-1，在圖2B中)。

再次實施實驗，其中，在利用(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈處理後，對4基因印記表現之調節之複合效應在5種呈pSTAT5陽性者(AML-193、Hel 92.1.7、Set2、TF-1及 UKE-1)範圍內如圖3中所顯示，且在4種呈pSTAT5陰性者(RPM18226、U937、Relt及PL-21)範圍內如圖4中所顯示。

亦在呈pSTAT5陽性及呈pSTAT5陰性之DMSO未經處理之血液腫瘤細胞系中實施分析，並測定各個別基因在印記中之RNA表現程度(ΔCt)。如圖5中所顯示，呈pSTAT5陽性之腫瘤細胞系之印記基因之表現程度高得多。

該等結果因此證實，本文所述基因印記可用以分層或選擇具有激活之JAK/STAT5信號轉導之可潛在地得益於靶向JAK/STAT5信號轉導途徑之治療之患者群體。此外，該印記係(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈之藥效動力學效應之可靠預測因子。

實例3：腫瘤異種移植物研究

進一步在活體內檢驗(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈(魯索利替尼(ruxolitinib))對基因印記之調節。將UKE-1細胞以1×10e7個細胞/小鼠植入雌性NOD.SCID小鼠(Harlan)中。當腫瘤達到約500 mg時，投與P.O. 60 mg/kg單劑量(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈。在治療後4小時及24小時收集腫瘤試樣。藉由西方墨點檢驗腫瘤溶解產物中對pSTAT5之調節。此腫瘤模型中(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈對4-基因印記之調節作用與在活體內所觀察到者一致(圖6)。

實例4：人類血液性惡性腫瘤中基因印記之檢驗

將4-基因印記施加至包括約7,200個人類血液癌症試樣之一大批基因表現譜。所有試樣(包括急性性淋巴性B細胞白血病、急性性淋巴性白血病、急性性淋巴性T細胞白血病、急性骨髓性白血病、與MDS相關之急性骨髓性白血病、血管免疫胚細胞T細胞淋巴瘤、B細胞幼淋巴細胞白血病、慢性骨髓性白血病、青少年型骨髓單核球性白血病、蕈樣黴菌病塞紮裏症候群(mycosis fungoides sezary syndrome)、

骨髓化生不良症候群、MDS及前體T細胞淋巴性淋巴瘤)皆具有正印記得分值，而諸如T細胞淋巴瘤白血病、退行性變化性大細胞淋巴瘤、B細胞淋巴瘤(不明確型)、布凱特氏淋巴瘤(Burkett lymphoma)、慢性淋巴球性白血病及淋巴球性淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、發樣細胞白血病、霍奇金氏淋巴瘤、MALT淋巴瘤、被套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、NK T細胞淋巴瘤、周邊T細胞淋巴瘤(不明確型)、血漿細胞骨髓瘤及T細胞性淋巴性白血病)等適應症展現低(負)印記得分值。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 瑞士商諾華公司
亞歷山大　柯 (CAO, ALEXANDER)
麥可　莫瑞西
狄米奇　斯諾奇
麥可　帕馬爾

<120> 癌症之治療

<130> PAT055204-TW-NP

<150> 61/676484
<151> 2012-07-27

<150> 61/769271
<151> 2013-02-26

<150> 61/829327
<151> 2013-05-31

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 1
ctgtgcatag ccaagacctt ctc 23

<210> 2
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 2
cgtaatggaa ccccaatacc a 21

<210> 3
<211> 14
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 3
cttcgggaat ctgg 14

<210> 4
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 4
tgctcaagga caccgtctac ac 22

<210> 5
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 5
ggatccactc tggagggcta t 21

<210> 6
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 寡核苷酸

<400> 6
cttcgatggg acccgag 17

申請專利範圍

1. 一種JAK/STAT抑制劑之用途，其用於製造用以治療所選患有血液惡性腫瘤之個體之醫藥，其中測定至少兩種或更多種列示於表1中之生物標記在源自該個體之生物試樣中之mRNA表現程度，由此預測對JAK/STAT抑制劑有反應之可能性提高。

2. 如請求項1之用途，其中測定表1中之任三種生物標記之表現程度。

3. 如請求項1之用途，其中測定表1中之任四種生物標記之表現程度。

4. 如請求項3之用途，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2及ID1。

5. 如請求項1之用途，其中測定表1中之任六種生物標記之表現程度。

6. 如請求項5之用途，其中該至少六種生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2及EPOR。

7. 如請求項1之用途，其中測定PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1之表現程度。

8. 如請求項1至7中任一項之用途，其中該JAK/STAT抑制劑係(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。

9. 如請求項1至7中任一項之用途，其中該血液惡性腫瘤係白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

10. 一種JAK/STAT抑制劑之用途，其用於製造用以治療所選患有血液惡性腫瘤之個體之醫藥，其中

基於所選患者經測定兩種或更多種列示於表1中之生物標記之

mRNA表現程度有增加，對該所選患者選擇性投與JAK/STAT抑制劑；且其中

基於試樣之一或多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度未增加，對該所選個體選擇性投與不爲JAK/STAT抑制劑之抑制劑。

11. 如請求項10之用途，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2及ID1。

12. 如請求項10之用途，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2及EPOR。

13. 如請求項10之用途，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1。

14. 一種JAK/STAT抑制劑之用途，其用於製造用以治療所選患有血液惡性腫瘤之個體之醫藥，其中

測定至少兩種或更多種列示於表1中之生物標記在源自該個體之生物試樣中之表現程度，且其中

基於所選患者經測定兩種或更多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有增加，對該所選患者選擇性投與JAK/STAT抑制劑；或

基於試樣之兩種或更多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度未增加，對該所選個體選擇性投與不爲JAK/STAT抑制劑之抑制劑。

15. 如請求項14之用途，其中測定其表現之該等生物標記係PIM1、CISH、SOCS2及ID1。

16. 如請求項14之用途，其中生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2及EPOR。

17. 如請求項14之用途，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、

SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1。

18. 一種選擇患有血液惡性腫瘤之個體以接受JAK/STAT抑制劑治療之方法，該方法包括：

測定至少兩種或更多種列示於表1中之生物標記在源自該個體之生物試樣中之表現程度，及

之後基於所選患者經測定兩種或更多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有增加，選擇該個體接受治療有效量之JAK/STAT抑制劑治療，及在用於傳輸之有形或無形媒體形式上記錄該測定步驟之結果。

19. 如請求項18之方法，其中該等生物標記包含PIM1及CISH。

20. 如請求項18之方法，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2及ID1。

21. 如請求項18之方法，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2及EPOR。

22. 如請求項18之方法，其中該等生物標記包含PIM1、CISH、SOCS2、ID1、LCN2、EPOR及EGR1。

23. 一種JAK/STAT抑制劑之用途，其用於製造用以治療所選患有血液惡性腫瘤之個體之醫藥，其中來自所選患者之試樣經測定兩種或更多種列示於表1中之生物標記之mRNA表現程度有增加。

24. 一種測定是否已向患有血液惡性腫瘤之個體投與治療劑量之(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽之方法，該方法包括測定至少兩種或更多種列示於表1中之生物標記在源自該個體之生物試樣中之mRNA表現程度，其中在投與(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽後，至少兩種或更多種列示於表1中之生物標記在該生物試樣中之mRNA

表現之降低時，可預測已投與治療劑量之(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。

25. 如請求項1至7及10至23中任一項之用途，其中該JAK/STAT抑制劑係(R)-3-環戊基-3-[4-(7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-基)-1H-吡唑-1-基]丙腈或其醫藥上可接受之鹽。

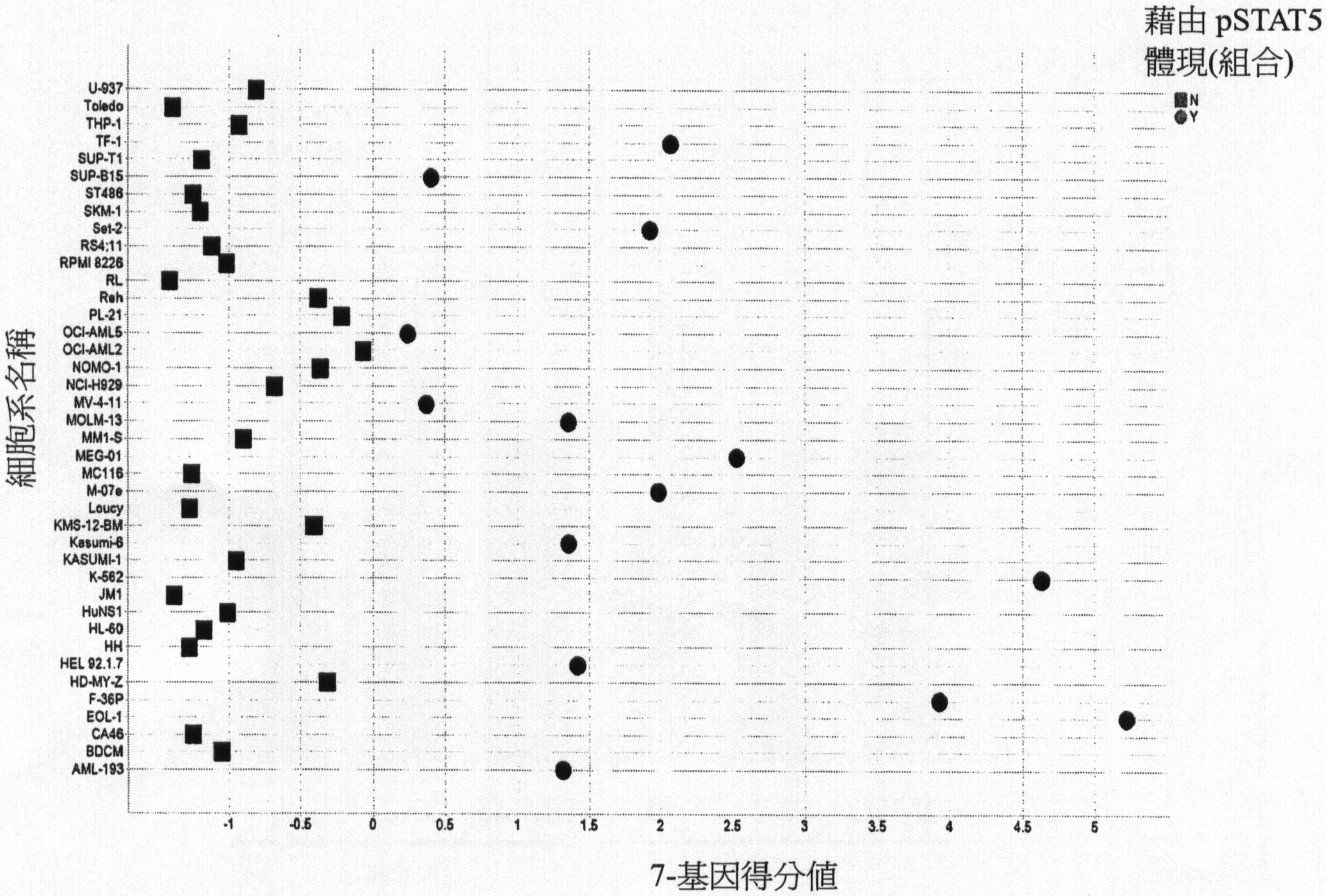
26. 一種套組，其包含複數種用於測定試樣中兩種或更多種列示於表1中之生物標記之含量之試劑，及使用說明書。

27. 一種產生用於預測患者對JAK/STAT抑制劑之反應性之可傳輸形式之資訊的方法，其包括：

a) 基於表1中之兩種或更多種生物標記之表現程度有增加，決定該患者對接受該JAK/STAT抑制劑之治療有反應之可能性提高；及

b) 在用於傳輸之有形或無形媒體形式上記錄該測定步驟之結果。

圖式



藉由 pSTAT5
體現(組合)
N
Y
細胞系名稱
U-937
Toledo
THP-1
TF-1
SUP-T1
SUP-B15
ST486
SKM-1
Set-2
RS4;11
RPMI 8226
RL
Reh
PL-21
OCI-AML5
OCI-AML2
NOMO-1
NCI-H929
MV-4-11
MOLM-13
MM1-S
MEG-01
MC116
M-07e
Loucy
KMS-12-BM
Kasumi-6
KASUMI-1
K-562
JM1
HuNS1
HL-60
HH
HEL 92.1.7
HD-MY-Z
F-36P
EOL-1
CA46
BDCM
AML-193
-1
-0.5
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
4.5
5
7-基因得分值

圖 1

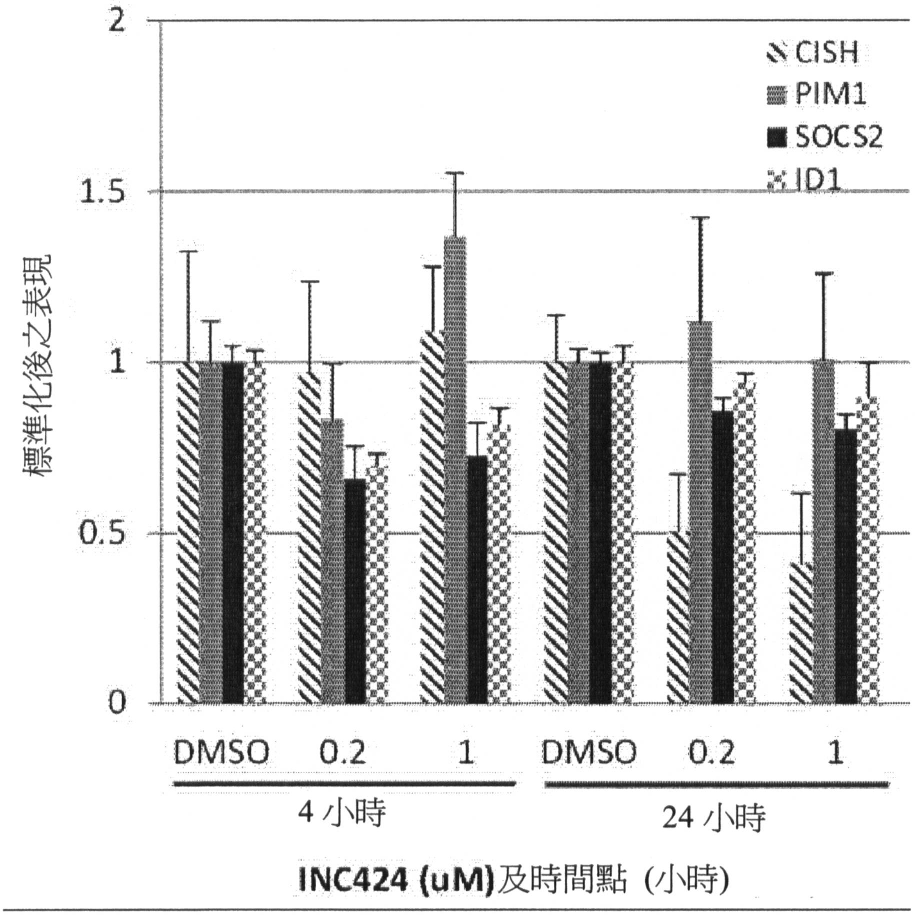

2
1.5
1
0.5
0
標準化後之表現
CISH
PIM1
SOCS2
ID1
DMSO
0.2
1
DMSO
0.2
1
4 小時
24 小時
INC424 (uM)及時間點 (小時)

圖 2A

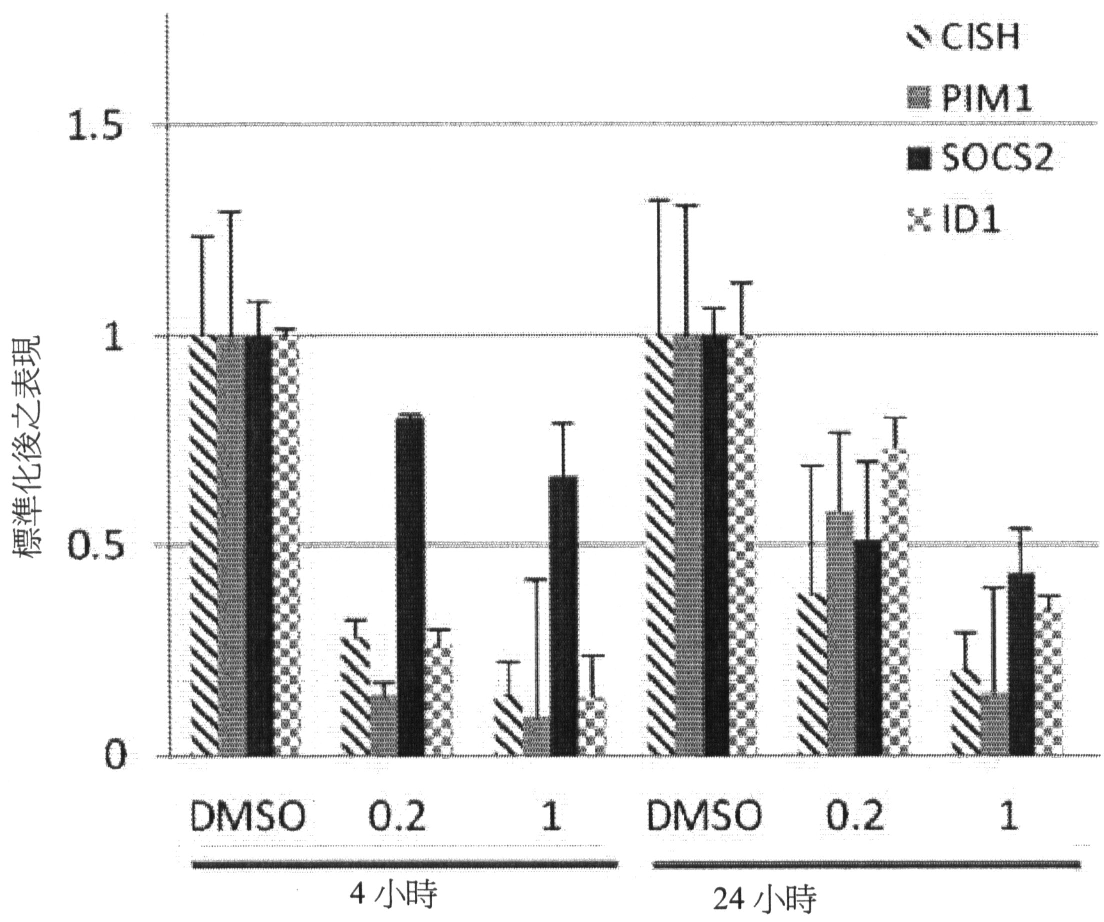

CISH
PIM1
SOCS2
ID1
1.5
1
0.5
0
標準化後之表現
DMSO
0.2
1
DMSO
0.2
1
4 小時
24 小時

圖 2B

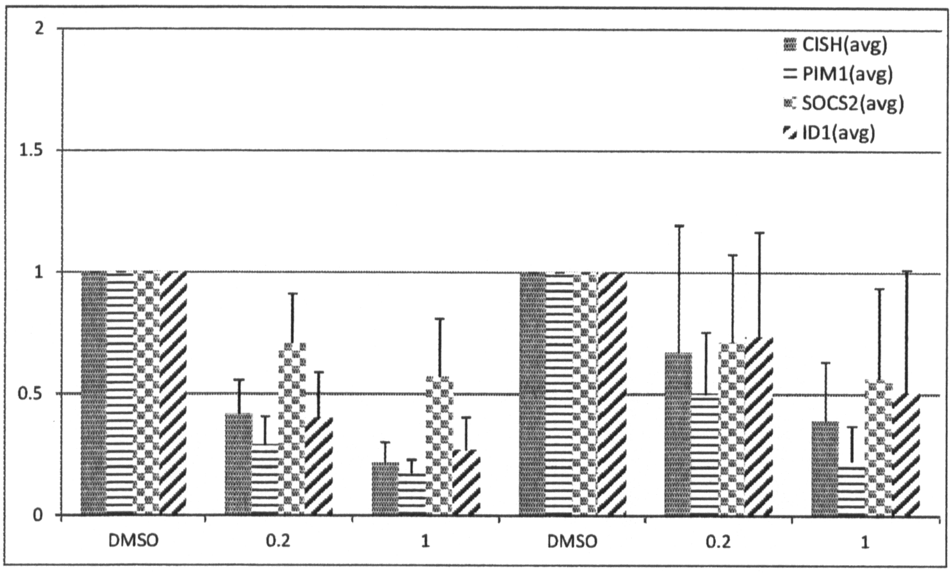


圖 3

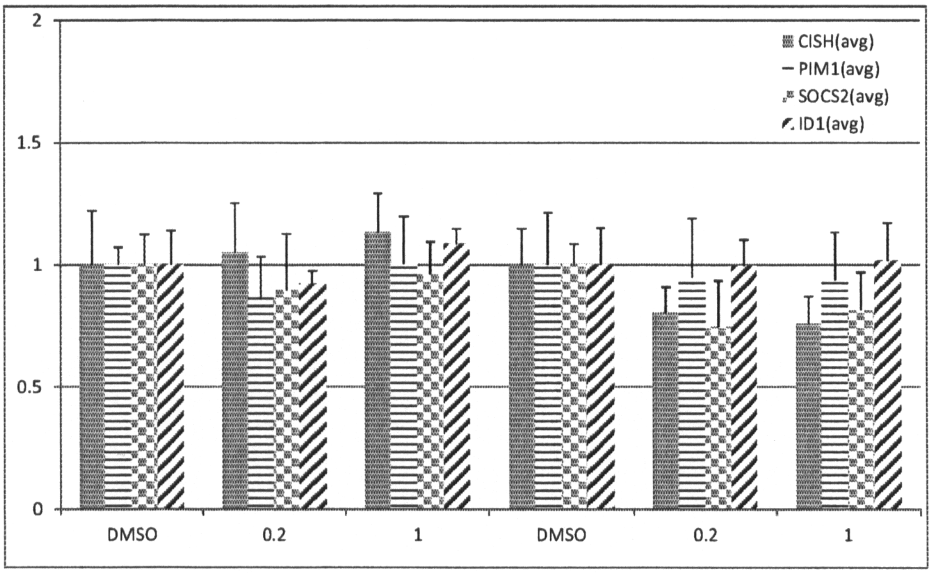
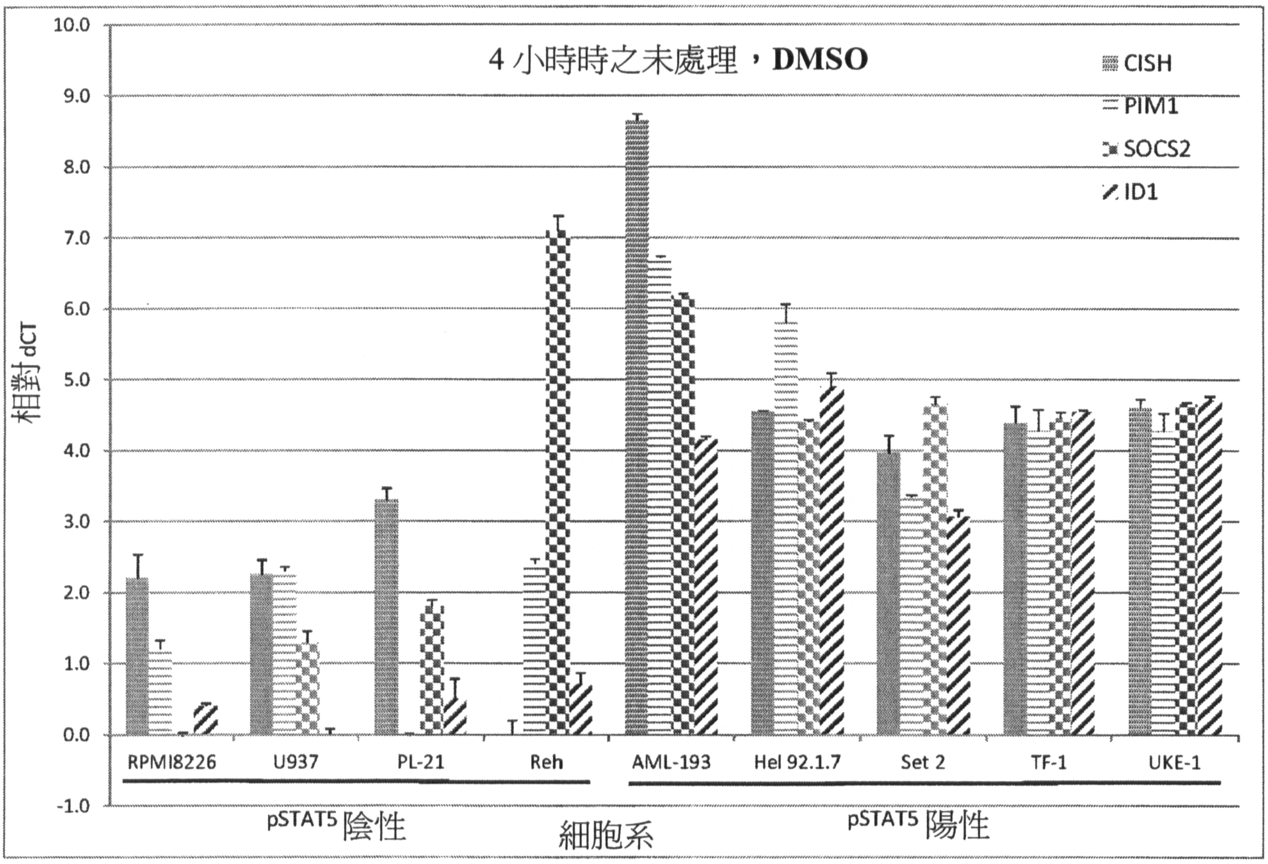
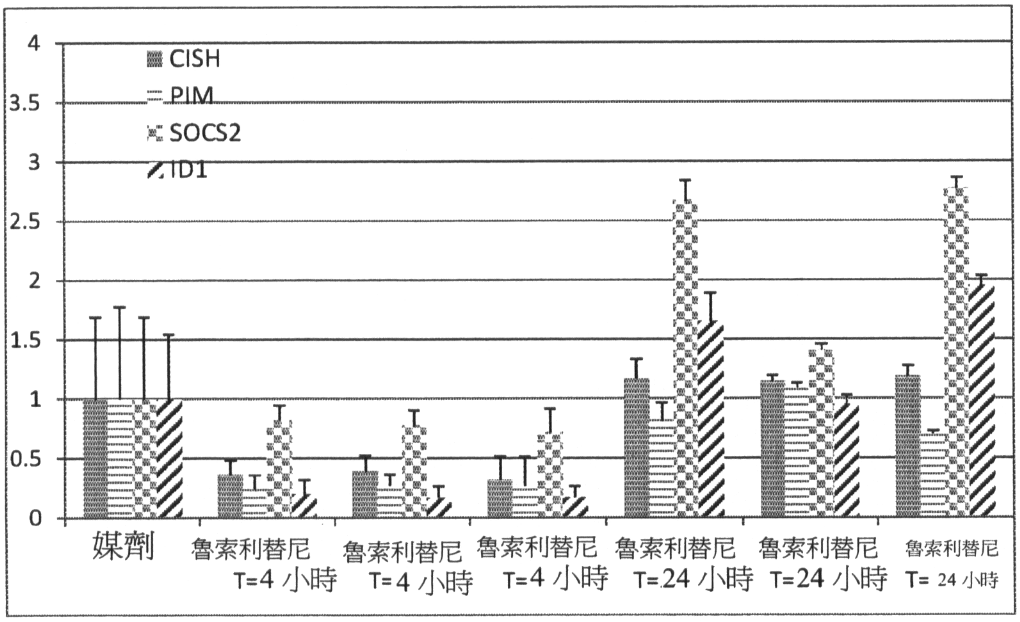


圖 4



4 小時時之未處理，DMSO
CISH
PIM1
SOCS2
ID1
相對 dCT
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
-1.0
RPMI8226
U937
PL-21
Reh
AML-193
Hel 92.1.7
Set 2
TF-1
UKE-1
pSTAT5 陰性
細胞系
pSTAT5 陽性

圖 5



4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
CISH
PIM
SOCS2
ID1
媒劑
魯索利替尼 T=4 小時
魯索利替尼 T=4 小時
魯索利替尼 T=4 小時
魯索利替尼 T=24 小時
魯索利替尼 T=24 小時
魯索利替尼 T= 24 小時

圖 6