

【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27年5月21日 (2015.5.21)

【公表番号】特表2014-519813(P2014-519813A)

【公表日】平成26年8月21日 (2014.8.21)

【年通号数】公開・登録公報2014-044

【出願番号】特願2014-508515(P2014-508515)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 37/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/517 (2006.01)

A 6 1 K 31/4985 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 1 2 N 9/99 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 Q 1/68 A

G 0 1 N 33/53 M

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 37/00 1 0 2

A 6 1 K 45/00

A 6 1 K 31/517

A 6 1 K 31/4985

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 1 2 N 15/00 F

C 1 2 M 1/00 A

C 1 2 N 9/99

【手続補正書】

【提出日】平成27年3月30日 (2015.3.30)

【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】

腫瘍細胞の E M T 状態を決定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、E M T 遺伝子シグネチャー ( E M T G S ) の各遺伝子の相対発現レベルを測定し、ここで E M T G S は、本質的に以下の遺伝子からなる： S E R P I N A 3、A C T N 1、A G R 2、A K A P 1 2、A L C A M、A P 1 M 2、A X L、B S

PRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXVD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、ZEB2；

共相関 (co-correlated) 遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関する EMTGS インデックススコアを計算し；そして

前記 EMTGS インデックススコアが、参照上皮腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに、または参照間葉様腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに、より似ているかを決定し、そしてしたがって、サンプル腫瘍細胞の EMT 状態を決定する

工程を含む、前記方法。

#### 【請求項 2】

ヒト腫瘍が EGFR キナーゼ阻害剤での治療に反応性である可能性が高いかまたは非反応性である可能性が高いかを同定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、EMT 遺伝子シグネチャー (EMTGS) の各遺伝子の相対発現レベルを測定し、ここで EMTGS は、本質的に以下の遺伝子からなる：SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BSPRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXVD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、ZEB2；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関する EMTGS インデックススコアを計算し；そして

該 EMTGS インデックススコアが、腫瘍が EGFR キナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いことを示すと定義された閾値より上であるか、または前記閾値より下であり、そしてしたがって、EGFR キナーゼ阻害剤に対して非反応性である可能性が高いかを決定する

工程を含む、前記方法。

#### 【請求項 3】

ヒト腫瘍が IGF-1R キナーゼ阻害剤での治療に反応性である可能性が高いかまたは非反応性である可能性が高いかを同定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、EMT 遺伝子シグネチャー (EMTGS) の各遺伝子の相対発現レベルを測定し、ここで EMTGS は、本質的に以下の遺伝子からなる：SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BS

PRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXFD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、ZEB2；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関するEMTGSインデックススコアを計算し；そして

該EMTGSインデックススコアが、腫瘍がIGF-1Rキナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いことを示すと定義された閾値より上であるか、または前記閾値より下であり、そしてしたがって、IGF-1Rキナーゼ阻害剤に対して非反応性である可能性が高いかを決定する

工程を含む、前記方法。

#### 【請求項4】

腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ることを阻害する化合物を含む薬学的組成物での治療から利益を受けうる癌患者を同定する方法であって：

患者から腫瘍細胞サンプルを得て、

該サンプルにおける、SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BSPRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXFD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、ZEB2のRNA転写物、またはその発現産物の発現レベルを測定し；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関するEMTGSインデックススコアを計算し；

前記EMTGSインデックススコアが、参照上皮腫瘍細胞由来のEMTGSインデックススコアに、または参照間葉様腫瘍細胞由来のEMTGSインデックススコアに、より似ているかを決定し、そして

EMTインデックススコアが間葉表現型の細胞により似ている場合、患者を、腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ることを阻害する化合物を含む薬学的組成物での治療から利益を受けうる患者であると同定する

工程を含む、前記方法。

#### 【請求項5】

EMTGSインデックススコアを引き出すために用いるアルゴリズムが、アルゴリズムAまたはアルゴリズムA<sup>1</sup>である、請求項1～4のいずれかの方法。

#### 【請求項6】

腫瘍細胞が、癌患者由来の腫瘍由来である、請求項 1 ~ 4 のいずれかの方法。

【請求項 7】

発現レベルを測定する工程の前に、患者腫瘍細胞サンプルを得るさらなる工程を含む、請求項 6 の方法。

【請求項 8】

腫瘍細胞サンプルを腫瘍生検から得る、請求項 6 の方法。

【請求項 9】

腫瘍細胞サンプルを、循環腫瘍細胞を含有する血液細胞から得る、請求項 6 の方法。

【請求項 10】

腫瘍細胞が NSCL 癌、乳癌、結腸直腸癌、または膵臓癌腫瘍細胞である、請求項 1 ~ 4 のいずれかの方法。

【請求項 11】

癌患者において、腫瘍または腫瘍転移を治療するための方法であって：

請求項 1 の方法を用いて、腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ているかどうかを評価することによって、EGFR キナーゼ阻害剤に対する患者のありうる反応性を診断し、そして患者の腫瘍細胞が EMT を経ておらず、そしてしたがって EGFR キナーゼ阻害剤による阻害に反応性である可能性が高い場合、前記患者に、療法的有効量の EGFR キナーゼ阻害剤を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 12】

癌患者において、腫瘍または腫瘍転移を治療するための方法であって：

請求項 1 の方法を用いて、腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ているかどうかを評価することによって、IGF - 1 R キナーゼ阻害剤に対する患者のありうる反応性を診断し、そして患者の腫瘍細胞が EMT を経ておらず、そしてしたがって IGF - 1 R キナーゼ阻害剤による阻害に反応性である可能性が高い場合、前記患者に、療法的有効量の IGF - 1 R キナーゼ阻害剤を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 13】

癌患者において、腫瘍または腫瘍転移を治療するための方法であって：

請求項 4 の方法を用いて、EMT の阻害剤での治療から利益を受けうる患者であると同定し、そして前記患者に、腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ることを阻害する化合物を含む薬学的組成物の療法的有効量を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 14】

癌患者を治療する方法であって：

請求項 2 の方法を用いて、患者が EGFR キナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いかどうかを決定し、そして患者が EGFR キナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量の EGFR キナーゼ阻害剤を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 15】

癌患者を治療する方法であって：

請求項 2 の方法を用いて、患者が EGFR キナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量の EGFR キナーゼ阻害剤を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 16】

EGFR キナーゼ阻害剤がエルロチニブを含む、請求項 11、14 または 15 のいずれかの方法。

【請求項 17】

癌患者を治療する方法であって：

請求項 3 の方法を用いて、患者が IGF - 1 R キナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いかどうかを決定し、そして

患者が IGF - 1 R キナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量の IGF - 1 R キナーゼ阻害剤を投与する

工程を含む、前記方法。

【請求項 18】

癌患者を治療する方法であって：

請求項 3 の方法を用いて、患者が IGF - 1 R キナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量の IGF - 1 R キナーゼ阻害剤を投与する

工程を含む、前記方法。

【請求項 19】

IGF - 1 R キナーゼ阻害剤が OSI - 906 を含む、請求項 12、17 または 18 のいずれかの方法。

【請求項 20】

以下の遺伝子：SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BSPRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXVD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、および ZEB2 の各々に対するプライマー対からなる PCR プライマーセット。

【請求項 21】

固相表面およびプローブセットからなる DNA マイクロアレイチップであって、前記プローブセットが、以下の遺伝子：SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BSPRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXVD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、および ZEB2 の各々に特異的なプローブからなる、前記 DNA マイクロアレイチップ。

【請求項 22】

複数の腫瘍細胞サンプル各々における、腫瘍細胞の EMT 状態を決定する方法であって：

腫瘍細胞サンプル各々において、EMT 遺伝子シグネチャー (EMTGS) の各遺伝子の

相対発現レベルを測定し、ここでEMTGSは、本質的に以下の遺伝子からなる：SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BSPRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXVD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、ZEB2；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、各腫瘍細胞試料に関するEMTGSインデックススコアを計算し；そして腫瘍細胞サンプル各々に関して、前記EMTGSインデックススコアが、参照上皮腫瘍細胞由来のEMTGSインデックススコアに、または参照間葉様腫瘍細胞由来のEMTGSインデックススコアに、より似ているかを決定し、そしてしたがって、各腫瘍細胞サンプルのEMT状態を決定する

工程を含む、前記方法。

【請求項23】

腫瘍増殖が、EGFRキナーゼ阻害剤およびIGF-1Rキナーゼ阻害剤の組み合わせによって相乗的に阻害されるかどうかを予測する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、EMT遺伝子シグネチャー（EMTGS）の各遺伝子の相対発現レベルを測定し、ここでEMTGSは、本質的に以下の遺伝子からなる：SERPINA3、ACTN1、AGR2、AKAP12、ALCAM、AP1M2、AXL、BSPRY、CCL2、CDH1、CDH2、CEP170、CLDN3、CLDN4、CNN3、CYP4X1、DNMT3A、DSG3、DSP、EFNB2、EHF、ELF3、ELF5、ERBB3、ETV5、FLRT3、FOSB、FOSL1、FOXC1、FXVD5、GPD1L、HMGA1、HMGA2、HOPX、IFI16、IGFBP2、IHH、IKBIP、IL-11、IL-18、IL6、IL8、ITGA5、ITGB3、LAMB1、LCN2、MAP7、MB、MMP7、MMP9、MPZL2、MSLN、MTA3、MTSS1、OCLN、PCOLCE2、PECAM1、PLAUR、PLXNB1、PPL、PPP1R9A、RASSF8、SCNN1A、SERPINB2、SERPINE1、SFRP1、SH3YL1、SLC27A2、SMAD7、SNAI1、SNAI2、SPARC、SPDEF、SRPX、STAT5A、TBX2、TJP3、TMEM125、TMEM45B、TWIST1、VCAN、VIM、VWF、XBP1、YBX1、ZBTB10、ZEB1、ZEB2；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関するEMTGSインデックススコアを計算し；そして

前記EMTGSインデックススコアが、EGFRキナーゼ阻害剤およびIGF-1Rキナーゼ阻害剤の組み合わせによって相乗的に阻害される参照上皮腫瘍細胞由来のEMTGSインデックススコアに、またはEGFRキナーゼ阻害剤およびIGF-1Rキナーゼ阻害剤の組み合わせによって相乗的に阻害されない参照間葉様腫瘍細胞由来のEMTGSインデックススコアに、より似ているかを決定し、そしてしたがって、腫瘍増殖がEGFRキナーゼ阻害剤およびIGF-1Rキナーゼ阻害剤の組み合わせによって相乗的に阻害されるかどうかを予測する

工程を含む、前記方法。

【請求項24】

腫瘍細胞の EMT 状態を決定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、EMT 遺伝子シグネチャー (EMTGS) の各遺伝子の相対発現レベルを測定し；ここで EMTGS は、EMT 中に協調して制御されると決定されている遺伝子群からなる；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関する EMTGS インデックススコアを計算し；そして前記 EMTGS インデックススコアが、参照上皮腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに、または参照間葉様腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに、より似ているかを決定し、そしてしたがって、サンプル腫瘍細胞の EMT 状態を決定する工程を含む、前記方法。

【請求項 25】

腫瘍細胞の EMT 状態を決定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、EMT 遺伝子シグネチャー (EMTGS) の各遺伝子の相対発現レベルを測定し；ここで EMTGS は、(a) EMT の多数の腫瘍細胞モデルにおいて協調して制御される遺伝子の最初の群の選択；および (b) 多数のヒト腫瘍データセットにおいて発現が共相関される遺伝子の数を最大にするような、遺伝子の反復付加または前記群からの遺伝子の反復除去の工程を含むプロセスによって、EMT 中に協調して制御されると決定されている遺伝子群からなる；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関する EMTGS インデックススコアを計算し；そして前記 EMTGS インデックススコアが、参照上皮腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに、または参照間葉様腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに、より似ているかを決定し、そしてしたがって、サンプル腫瘍細胞の EMT 状態を決定する工程を含む、前記方法。

【請求項 26】

腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ることを阻害する化合物を同定する方法であって、スクリーニングしようとする試験化合物と、上皮腫瘍細胞株の細胞サンプルを接触させ、腫瘍細胞において上皮間葉転換を誘導する剤とサンプルを接触させ、サンプル腫瘍細胞の EMT 状態を、試験化合物と接触させていない腫瘍細胞の同一サンプルにおける EMT 状態と比較することによって、サンプル中の腫瘍細胞が上皮間葉転換を経るのを阻害するかどうかを決定し、ここで腫瘍細胞の EMT 状態を請求項 1 の方法によって決定する、そしてしたがって、試験化合物が、腫瘍細胞が上皮間葉転換を経ることを阻害する化合物であるかどうかを決定する

工程を含む、前記方法。

【請求項 27】

試験化合物が、PAK1、PAK2、オーロラ A、TNK2、SRC、TAK1、MET；ヒストンデアセチラーゼ；LPA 受容体、SHH シグナル伝達経路、WNT シグナル伝達経路、TGF-β 受容体；TNF-α 受容体；または OSM 受容体の阻害剤である、請求項 26 の方法。

【請求項 28】

阻害剤化合物での治療に対するヒト腫瘍の反応性を監視して、阻害剤が腫瘍細胞における EMT を阻害するのに有効かどうかを決定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、前記治療の前および後の両方で、特定の生物学的機構を通じて作用する EMT 阻害剤化合物によって EMT が阻害された際に協調して制御されると決定されており、そしてその機構を通じた阻害に特徴的である遺伝子群からなる、EMT 遺伝子シグネチャー (EMTGS) の各遺伝子の相対発現レベルを測定し；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、治療の前および後の両方で、前記腫瘍細胞に関する EMTGS インデックススコアを計算し；そして

参照上皮腫瘍細胞および参照間葉様腫瘍細胞由来の EMTGS インデックススコアに比較

した、前記治療の前および後の両方の、E M T G S インデックススコアにおける相違の度合いから、阻害剤化合物での治療が腫瘍細胞中のE M Tを阻害するのに有効であるかどうかを決定する

工程を含む、前記方法。

【請求項 29】

阻害剤化合物が、M E Tキナーゼ阻害剤であり、そしてE M T G Sが以下の遺伝子：C Y P 4 X 1、F O S B、M M P 9、V I M、C L D N 3、E H F、E L F 3、E R B B 3、H O P X、M M P 7、O C L N、P L X N B 1、S C N N 1 A、T J P 3、T M E M 1 2 5、T M E M 4 5 B、およびV W Fから本質的になる、請求項 28の方法。

【請求項 30】

阻害剤化合物が、F A Kキナーゼ阻害剤であり、そしてE M T G Sが以下の遺伝子：A P 1 M 2、B S P R Y、C D H 1、C L D N 3、E H F、E L F 3、E R B B 3、M P Z L 2、M A P 7、O C L N、P P L、P P P 1 R 9 A、S C N N 1 A、S L C 2 7 A 2、S P D E F、T J P 3、T M E M 1 2 5、およびT M E M 4 5 Bから本質的になる、請求項 28の方法。

【請求項 31】

阻害剤化合物が、T A K 1キナーゼ阻害剤であり、そしてE M T G Sが以下の遺伝子：F O S B、I L 8、I T G B 3、M M P 9、M S L N、S E R P I N E 1、S N A I 2、P P L、P P P 1 R 9 A、S C N N 1 A、T J P 3、およびX B P 1から本質的になる、請求項 28の方法。

【請求項 32】

E M T G S インデックススコアを引き出すために用いるアルゴリズムが、アルゴリズム Aまたはアルゴリズム A<sup>1</sup>である、請求項 28～31のいずれかの方法。

【請求項 33】

腫瘍細胞が癌患者由来の腫瘍由来である、請求項 28～31のいずれかの方法。

【請求項 34】

腫瘍細胞サンプルを腫瘍生検から得る、請求項 28～31のいずれかの方法。

【請求項 35】

腫瘍細胞サンプルを、循環腫瘍細胞を含有する血液サンプルから得る、請求項 28～31のいずれかの方法。

【請求項 36】

腫瘍細胞がN S C L癌、乳癌、結腸直腸癌、または膵臓癌腫瘍細胞である、請求項 28～31のいずれかの方法。

【請求項 37】

ヒト腫瘍を、E G F RまたはI G F - 1 Rキナーゼ阻害剤での治療に反応性であるかまたは非反応性である可能性が高いと同定する方法であって：

腫瘍細胞サンプルにおいて、E M T遺伝子シグネチャー（E M T G S）の各遺伝子の相対発現レベルを測定し、

ここでE M T G Sは、以下の遺伝子：A G R 2、A K A P 1 2、A P 1 M 2、B S P R Y、C D H 1、C L D N 3、C L D N 4、D N M T 3 A、D S G 3、D S P、E H F、E L F 3、E L F 5、E R B B 3、E T V 5、F O X C 1、G P D 1 L、H O P X、I G F B P 2、I H H、L C N 2、M A P 7、M B、M M P 7、M P Z L 2、M T A 3、M T S S 1、O C L N、P L X N B 1、P P L、P P P 1 R 9 A、S C N N 1 A、S F R P 1、S H 3 Y L 1、S L C 2 7 A 2、S P D E F、S T A T 5 A、T B X 2、T J P 3、T M E M 1 2 5、T M E M 4 5 B、V W F、X B P 1、Z B T B 1 0から本質的になるか、

またはE M T G Sは、以下の遺伝子：A G R 2、C D H 1、C L D N 4、E L F 3、E R B B 3、I K B I P、O C L N、S H 3 Y L 1から本質的になるか；

またはE M T G Sは、以下の遺伝子：S E R P I N A 3、A C T N 1、A G R 2、A K A P 1 2、A L C A M、A P 1 M 2、A X L、B S P R Y、C C L 2、C D H 1、C D H 2、C E P 1 7 0、C L D N 3、C L D N 4、C N N 3、C Y P 4 X 1、D N M T 3 A、D



S G 3、D S P、E F N B 2、E H F、E L F 3、E L F 5、E R B B 3、E T V 5、F L R T 3、F O S B、F O S L 1、F O X C 1、F X Y D 5、G P D 1 L、H M G A 1、H M G A 2、H O P X、I F I 1 6、I G F B P 2、I H H、I K B I P、I L - 1 1、I L - 1 8、I L 6、I L 8、I T G A 5、I T G B 3、L A M B 1、L C N 2、M A P 7、M B、M M P 7、M M P 9、M P Z L 2、M S L N、M T S S 1、O C L N、P C O L C E 2、P E C A M 1、P L A U R、P L X N B 1、P P L、P P P 1 R 9 A、R A S S F 8、S C N N 1 A、S E R P I N B 2、S E R P I N E 1、S F R P 1、S H 3 Y L 1、S L C 2 7 A 2、S M A D 7、S N A I 1、S N A I 2、S P A R C、S P D E F、S R P X、S T A T 5 A、T B X 2、T J P 3、T M E M 1 2 5、T M E M 4 5 B、T W I S T 1、V C A N、V I M、V W F、X B P 1、Y B X 1、Z B T B 1 0、Z E B 1、Z E B 2の少なくとも54を含むか；

またはE M T G Sは、以下の遺伝子：A G R 2、A K A P 1 2、A P 1 M 2、B S P R Y、C D H 1、C L D N 3、C L D N 4、D N M T 3 A、D S G 3、D S P、E H F、E L F 3、E L F 5、E R B B 3、E T V 5、F O X C 1、G P D 1 L、H O P X、I G F B P 2、I H H、L C N 2、M A P 7、M B、M M P 7、M P Z L 2、M T S S 1、O C L N、P L X N B 1、P P L、P P P 1 R 9 A、S C N N 1 A、S F R P 1、S H 3 Y L 1、S L C 2 7 A 2、S P D E F、S T A T 5 A、T B X 2、T J P 3、T M E M 1 2 5、T M E M 4 5 B、V W F、X B P 1、Z B T B 1 0の少なくとも24を含む；

共相関遺伝子の寄与を取り込むアルゴリズムを、測定された発現レベル値に適用することによって、前記腫瘍細胞に関するE M T G Sインデックススコアを計算し；そして該E M T G Sインデックススコアが、腫瘍がE G F RまたはI G F - 1 Rキナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いことを示すと定義された閾値より上であるか、または前記閾値より下であり、そしてしたがって、E G F RまたはI G F - 1 Rキナーゼ阻害剤に対して非反応性である可能性が高いかを決定する

工程を含む、前記方法。

【請求項38】

E M T G Sインデックススコアを引き出すために用いるアルゴリズムが、アルゴリズムAまたはアルゴリズムA<sup>1</sup>である、請求項37の方法。

【請求項39】

腫瘍細胞が癌患者由来の腫瘍由来である、請求項37の方法。

【請求項40】

発現レベルを測定する工程の前に、患者腫瘍細胞サンプルを得るさらなる工程を含む、請求項39の方法。

【請求項41】

腫瘍細胞サンプルを腫瘍生検から得る、請求項39の方法。

【請求項42】

腫瘍細胞サンプルを、循環腫瘍細胞を含有する血液細胞から得る、請求項39の方法。

【請求項43】

腫瘍細胞がN S C L癌、乳癌、結腸直腸癌、または膵臓癌腫瘍細胞である、請求項37の方法。

【請求項44】

癌患者を治療する方法であって：

請求項37の方法を用いて、患者がE G F Rキナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いかどうかを決定し、そして

患者がE G F Rキナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量のE G F Rキナーゼ阻害剤を投与する

工程を含む、前記方法。

【請求項45】

癌患者を治療する方法であって：

請求項37の方法を用いて、患者がE G F Rキナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測

される場合、前記患者に、療法的有効量の E G F R キナーゼ阻害剤を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 46】

E G F R キナーゼ阻害剤がエルロチニブを含む、請求項 14 または 15 の方法。

【請求項 47】

癌患者を治療する方法であって：

請求項 37 の方法を用いて、患者が I G F - 1 R キナーゼ阻害剤に対して反応性である可能性が高いかどうかを決定し、そして

患者が I G F - 1 R キナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量の I G F - 1 R キナーゼ阻害剤を投与する

工程を含む、前記方法。

【請求項 48】

癌患者を治療する方法であって：

請求項 37 の方法を用いて、患者が I G F - 1 R キナーゼ阻害剤に対して反応性であると予測される場合、前記患者に、療法的有効量の I G F - 1 R キナーゼ阻害剤を投与する工程を含む、前記方法。

【請求項 49】

I G F - 1 R キナーゼ阻害剤が O S I - 906 を含む、請求項 47 または 48 のいずれかの方法。

【請求項 50】

遺伝子リスト (A) およびデータセット (B) に関するインデックススコアを計算するために適用するアルゴリズムが、以下の工程を行う、請求項 1 ~ 4、22 ~ 25、28、または 37 のいずれかの方法：

1) B において、A に関する相関に基づくアンカー遺伝子 (A G) を：

a) B におけるすべてのサンプルに渡って、A におけるすべての遺伝子 - 遺伝子対に関する遺伝子発現のピアソンまたはスピアマン相関を計算し；そして

b) A B に関する A G は、以下：

【化 1】

$$AG_{AB} = \frac{\sum_{Nx} |R|}{n}$$

式中、A G<sub>A B</sub> はデータセット B における遺伝子リスト A に関するアンカー遺伝子であり、N x は遺伝子 x を含むすべての遺伝子 - 遺伝子対のセットであり、n は N x 中の遺伝子 - 遺伝子対の数であり、そして | R | は、B におけるすべてのサンプルに渡る各遺伝子 - 遺伝子対に関するピアソンまたはスピアマン相関係数の絶対値である

を最大にする遺伝子 x である

によって定義し；

2) 遺伝子リスト (A<sub>A G</sub>) から：

a) A G に対する相関の P 値に基づいて、すべての遺伝子を順位付けし；そして

b) A<sub>A G</sub> を、B に渡って A G と相関する A における遺伝子サブセットと定義し、ここで P 値 c であり、式中、c は、ユーザーが規定する有意性カットオフであるによって、A G と有意に相関する遺伝子サブセットを選択し；そして

3) B における各サンプル s に関して：

a) I<sub>A B s</sub> を：

【化 2】

$$I_{ABs} = \frac{\sum_{A_{AG}} e'_{sx}}{m}$$

式中、 $A_{AG}$  は、アンカー遺伝子  $AG$  と有意に相関する  $A$  における遺伝子サブセットであり、 $m$  は、 $A_{AG}$  における遺伝子の数であり、そして  $e'_{sx}$  は、以下のように、データセット  $B$  のサンプル  $s$  における遺伝子  $x$  (サブセット  $A_{AG}$  由来) の発現と定義される：

【化 3】

$$R_x > 0 \text{ ならば } e'_{sx} = e_{sx}$$

または

$$R_x < 0 \text{ ならば } e'_{sx} = 2\mu_{Bx} - e_{sx}$$

{ 式中、 $e_{sx}$  は、サンプル  $s$  における遺伝子  $x$  の発現であり、 $\mu_{Bx}$  はデータセット  $B$  における遺伝子  $x$  の平均発現であり、そして  $R_x$  は、アンカー遺伝子  $AG$  と遺伝子  $x$  の相関係数である }

と定義する

によって、遺伝子リスト  $A$  に関する相関に基づく発現インデックススコア ( $I$ ) を計算する。

【請求項 5 1】

遺伝子リスト ( $A$ ) およびデータセット ( $B$ ) に関するインデックススコアを計算するために適用するアルゴリズムが、以下の工程を行う、請求項 1 ~ 4、22 ~ 25、28、または 37 のいずれかの方法：

1)  $B$  において、 $A$  に関する相関に基づくアンカー遺伝子 ( $AG$ ) を：

a)  $B$  におけるすべてのサンプルに渡って、 $A$  におけるすべての遺伝子 - 遺伝子対に関する遺伝子発現のピアソンまたはスピアマン相関を計算し；そして

b)  $AB$  に関する  $AG$  は、以下：

【化 4】

$$AG_{AB} = \frac{\sum_{Nx} |R|}{n}$$

式中、 $AG_{AB}$  はデータセット  $B$  における遺伝子リスト  $A$  に関するアンカー遺伝子であり、 $Nx$  は遺伝子  $x$  を含むすべての遺伝子 - 遺伝子対のセットであり、 $n$  は  $Nx$  中の遺伝子 - 遺伝子対の数であり、そして  $|R|$  は、 $B$  におけるすべてのサンプルに渡る各遺伝子 - 遺伝子対に関するピアソンまたはスピアマン相関係数の絶対値である

を最大にする遺伝子  $x$  である

によって定義し；

2) 遺伝子リスト ( $A_{AG}$ ) から：

a)  $AG$  に対する相関の  $P$  値に基づいて、すべての遺伝子を順位付けし；そして

b)  $A_{AG}$  を、 $B$  に渡って  $AG$  と相関する  $A$  における遺伝子サブセットと定義し、ここで  $P$  値  $c$  であり、式中、 $c$  は、ユーザーが規定する有意性カットオフである

によって、 $AG$  と有意に相関する遺伝子サブセットを選択し；そして

3)  $B$  における各サンプル  $s$  に関して：

a)  $I_{ABs}$  を：

【化 5】

$$I_{ABs} = \frac{\sum_{A_{AG} \text{ } s x} e'}{m}$$

式中、 $A_{AG}$  は、アンカー遺伝子  $A_G$  と有意に相関する  $A$  における遺伝子サブセットであり、 $m$  は、 $A_{AG}$  における遺伝子の数であり、そして  $e_{sx}'$  は、以下のように、データセット  $B$  のサンプル  $s$  における遺伝子  $x$  (サブセット  $A_{AG}$  由来) の発現と定義される：

【化 6】

$$R_x > 0 \text{ ならば } e_{sx}' = e_{sx}$$

または

$$R_x < 0 \text{ ならば } e_{sx}' = \mu_{Bx} - e_{sx}$$

{ 式中、 $e_{sx}$  は、サンプル  $s$  における遺伝子  $x$  の発現であり、 $\mu_{Bx}$  はデータセット  $B$  における遺伝子  $x$  の平均発現であり、そして  $R_x$  は、アンカー遺伝子  $A_G$  と遺伝子  $x$  の相関係数である }

と定義する

によって、遺伝子リスト  $A$  に関する相関に基づく発現インデックススコア ( $I$ ) を計算する。