



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが標準治療に応答する可能性を予測する方法であって、がんにおける表 1 または 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、該腫瘍が該標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示し、そして表 2 の遺伝子の過剰発現は、該腫瘍が該標準治療に感受性である可能性が高いことを示す、方法。

## 【請求項 2】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示す、請求項 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 3】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍がパクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高いことを示す、請求項 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記標準治療は、EGFR 阻害のようなキナーゼ標的治療である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記標準治療は、放射線である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記標準治療は、ホルモン治療である、請求項 1 に記載の方法。

20

## 【請求項 7】

前記治療は、請求項 3 ~ 6 に示す治療の組み合わせである、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 8】

アッセイされた前記遺伝子の前記発現レベルは、表 1 または表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 9】

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0.1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 8 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、請求項 9 に記載の方法。

30

## 【請求項 11】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 または表 2 の遺伝子を含む、請求項 8 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 12】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、標準治療に抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高いことを示す、請求項 1 に記載の方法。

40

## 【請求項 13】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤、あるいは侵襲性であるか、転移性であるか、または侵襲性であり転移性であるがん細胞を標的とする治療剤に対し、感受性である可能性が高いことを示す、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 14】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、上皮間葉移行に至っているがん細胞に対して毒性である治療剤に対し、感受性である可能性が高いことを示す、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 15】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、サリノマイシンに対して感受性である可能

50

性が高いことを示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 16】

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが標準治療に応答する可能性を予測する方法であって、がんにおける表 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含む、方法。

【請求項 17】

表 2 の遺伝子の発現低下は、前記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示す、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記標準治療は、EGFR 阻害のようなキナーゼ標的治療である、請求項 16 に記載の方法。

10

【請求項 19】

前記標準治療は、放射線治療である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】

前記標準治療は、ホルモン治療である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 21】

前記標準治療は、パクリタキセルである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 22】

前記標準治療は、請求項 17 ~ 21 に示す治療の組み合わせである、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 23】

アッセイされた前記遺伝子の前記発現レベルは、表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する、請求項 16 ~ 22 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 24】

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0.1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 2 の遺伝子を含む、請求項 23 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 27】

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、標準治療に抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高いことを示す、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 28】

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤、あるいは侵襲性であるか、転移性であるか、または侵襲性であり転移性であるがん細胞を標的とする治療剤に対し、感受性である可能性が高いことを示す、請求項 16 に記載の方法。

40

【請求項 29】

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、上皮間葉移行に至っているがん細胞に対して毒性である治療剤に対し、感受性である可能性が高いことを示す、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 30】

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、サリノマイシンに対して感受性である可能性が高いことを示す、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 31】

がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法

50

であって、候補薬剤をスクリーニングして、表 2 の遺伝子の発現のレベルを増大させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表 2 の遺伝子の発現の増大は、該候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とすることを示す、方法。

【請求項 3 2】

表 2 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0.1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 3 2 に記載の方法。

10

【請求項 3 4】

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 2 の遺伝子を含む、請求項 3 2 ~ 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 6】

がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表 1 の遺伝子の発現のレベルを低下させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の発現の低下は、該候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とすることを示す、方法。

20

【請求項 3 7】

表 1 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

発現が評価される遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0.1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 3 7 に記載の方法。

30

【請求項 3 9】

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、請求項 3 8 に記載の方法。

【請求項 4 0】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 の遺伝子を含む、請求項 3 7 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 1】

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが治療に応答性である可能性を予測する方法であって、がんにおける表 1 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、サリノマイシンまたは他の C S S 薬剤による治療に対して腫瘍が感受性である可能性が高いことを示す、方法。

40

【請求項 4 2】

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが治療に応答性である可能性を予測する方法であって、がんにおける表 1 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、標準治療に対して該腫瘍が抵抗性である可能性が高いことを示す、方法。

【請求項 4 3】

50

前記標準治療は、パクリタキセルである、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

表 1 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、請求項 4 1 または 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 5】

発現が評価される遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 の遺伝子を含む、請求項 4 2 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記遺伝子発現レベルの決定によって得られたデータをまとめる工程をさらに含む、請求項 1 ~ 30 または 4 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記まとめる工程は、前記原発性腫瘍の外科的切除後に前記がんの再発なしでの前記患者の長期生存の可能性を予測することを含む、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記まとめる工程は、前記患者の処置様式についての推奨を含む、請求項 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 1】

1 つ以上の容器内に、表 1 または表 2 の遺伝子の 1 つ以上を特異的に認識する少なくとも 1 種の検出可能に標識した試薬を含む、キット。

【請求項 5 2】

表 1 または表 2 の 1 つ以上の遺伝子の、がんにおける発現のレベルが決定される、請求項 5 1 に記載のキット。

【請求項 5 3】

前記キットは、上皮がんのバイオマーカープロファイルを作成するために使用される、請求項 5 1 に記載のキット。

【請求項 5 4】

前記キットは、少なくとも 1 種の薬学的賦形剤、希釈剤、アジュバントまたはその任意の組み合わせをさらに含む、請求項 5 1 に記載のキット。

【請求項 5 5】

R N A 発現レベルが、対応する遺伝子産物のタンパク質発現レベルを決定することにより、間接的に評価される、請求項 1 ~ 30 または 4 1 ~ 4 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記 R N A 発現レベルが、対応する遺伝子のクロマチン状態を決定することにより、間接的に評価される、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記 R N A は、前記患者の固定化して蠟に包埋した乳がん組織標本から単離される、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記 R N A は、断片化 R N A である、請求項 5 5 に記載の方法。

【請求項 5 9】

10

20

30

40

50

前記RNAは、細針生検サンプルから単離される、請求項55に記載の方法。

【請求項60】

前記がんが、上皮がんである、請求項1～30または41～47のいずれか1項に記載の方法。

【請求項61】

前記がんが、肺がん、乳がん、前立腺がん、胃がん、結腸がん、膵臓がん、脳がんまたは黒色腫がんである、請求項1～30または41～47のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本願は、2010年8月2日に出願された米国仮特許出願第61/369,928号への優先権を主張し、この米国仮特許出願は本明細書中に参考として援用される。

【0002】

発明の分野

本発明は、上皮がんの処置に関わる遺伝子セット、およびがん組織の遺伝子発現研究に由来する知識に基づいて上皮がん患者に対し処置選択肢を割り当てるための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

これまでの研究は、上皮間葉移行(「EMT」)が、転移およびがん幹細胞に関わることを示している(Creightonら, 2009; Maniら, 2008; Morelら, 2008; Yangら, 2006; Yangら, 2004; Yauchら, 2005)。重要なことには、上皮がんのタイプ(例えば、肺がん、乳がん)に亘るEMTの誘導はまた、化学療法およびキナーゼ標的抗がん剤(例えば、エルロチニブ)を含むがん治療に対する抵抗をも生じる。当業者は、EMTが、侵襲性であり、遊走性であり、そして幹細胞特性を有する(転移を起こす能力を有する細胞の全ての顕著な特徴である)がん細胞を産生することを認識する。

【0004】

EMTは、接着上皮細胞が、その上皮特性を脱落させ、そしてその代わりに間葉特性(線維芽細胞様の形態、特徴的遺伝子発現変化、運動能力の増大、ならびに、がん細胞の場合には、侵襲、転移および化学療法に対する抵抗性の増大を、含む)を獲得する過程である(Kalluriら, J Clin Invest 119(6):1420-28(2009); Guptaら, Cell 138(4):645-59(2009)を参照されたい)。近年の研究は、EMTと、がんの転移の進行(Yangら, Cell 117(7):927-39(2004); Frixenら, J Cell Biol 113(1):173-85(1991); Sabbahら, Drug Resist Updat 11(4-5):123-51(2008)を参照されたい)および幹細胞特性の獲得(Maniら, Cell 133(4):704-15(2008); Morelら, PLoS One 3(8):e288(2008)を参照されたい)とを結びつけており、EMTに至る(undergo)がん細胞が、その獲得した侵襲性を通じた転移、およびその後の、その獲得した自己再生能力を通じた播種(この後者の特色は、巨視的な転移を構成する大きな細胞集団を生み出すことができる)を可能にするという仮説を導いている。

【0005】

これらの観察を考慮して、EMTに至っている細胞の顕著な集団(または部分集団)を抱えるがんは、化学療法および抗キナーゼ標的治療に対する応答性の低減を示す可能性があることを予測し得る。

【発明の概要】

10

20

30

40

50

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

## 発明の要旨

本発明は、化学療法および抗キナーゼ標的治療に応答性でない上皮がんの分子式別特性を誘導するための方法である。本発明は、また、処置選択および/または予後決定のいずれかの目的のために、本明細書中で記載されるバイオマーカーを利用する、任意の患者層別化スキームをも、本発明は包含する。処置選択は、陽性であっても陰性であってもよく、任意のクラスの抗がん剤に関し得る。この方法は、EMT後にがん細胞において上方制御されるバイオマーカー遺伝子(表1)の発現についてのアッセイ、およびEMTに至っていない細胞において上方制御される他のバイオマーカー遺伝子(表2)についてのアッセイを利用する。これらのバイオマーカーアッセイを使用すると、従来のがん治療に対して応答性でないがんを同定可能である。

10

## 【0007】

本発明は、患者の上皮がんが、原発性腫瘍の外科的切除の後に標準治療に応答性である可能性を、表1および/または2の遺伝子の、がん(すなわち、切除した原発性腫瘍由来の上皮がん細胞)における発現レベルを決定することによって、予測する方法を提供する。ここで、表1の遺伝子の過剰発現は、その腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示し、表2の遺伝子の過剰発現は、その腫瘍が標準治療に対し感受性である可能性が高いことを示す。

20

## 【0008】

表1の遺伝子(またはその任意の適切なサブセット)の過剰発現は、上記上皮がんが標準治療(例えば、パクリタキセル)に対し抵抗性であるが、がん幹細胞選択薬剤(CSS薬剤)(例えば、サリノマイシンが挙げられるが、これに選択されない)に対して感受性である可能性が高いことを示す。さらに、表2の遺伝子(またはその任意の適切なサブセット)の過少発現は、上記上皮がんがパクリタキセルのような標準治療に対しては抵抗性であるが、サリノマイシンのようなCSS薬剤に対して感受性である可能性が高いことを示す。

## 【0009】

さらに、当業者は、表1の遺伝子の過少発現は、上記腫瘍が標準治療に対して感受性である可能性が高いことを示すことを認識する。同様に、表2の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であることを示す。

30

## 【0010】

当業者は、表1および/または表2の遺伝子の発現レベルの決定は、切除された原発性腫瘍においてインピトロで起こることを認識する。

## 【0011】

具体的には、当業者は、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示すことを認識する。例えば、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍がパクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高いことを示す。

## 【0012】

標準治療の例としては、EGFR阻害のようなキナーゼ標的治療、放射線、ホルモン治療、パクリタキセルおよび/またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

40

## 【0013】

種々の実施形態において、当業者は、アッセイされた遺伝子の発現レベルは、表1および/または表2の遺伝子の任意のサブセットを構成し得ることを、認識する。具体的には、遺伝子サブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して0.1未満の有意なレベル(例えば、p-値)で、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、適切な統計学的検定(すなわち、遺伝子セット富化分析(「GSEA」))が実証する、遺伝子の任意のサブセットである。当業者に公知の任意の適切な統計学的検定(複数可)および/または当業者に公知の任意の適切な

50

対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0014】

がん治療の例としては、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、種々の実施形態において、遺伝子のサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表1および/または表2の遺伝子を含み得る。

【0015】

表1の遺伝子の過剰発現はまた、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いことを示し得る。さらに、表1の遺伝子の過剰発現はまた、上記腫瘍が、がん幹細胞に対し毒性である治療剤、または侵襲性および/もしくは転移性のがん細胞を標的とする治療剤に対して感受性である可能性が高いことを示し得る。なお他の実施形態において、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高いことを示し得る。さらに、表1の遺伝子の過剰発現はまた、上記腫瘍が、CSS薬剤（例えば、サリノマイシン）に対して感受性である可能性が高いことを示す。

【0016】

患者の上皮がんが標準治療に応答性である可能性を上記原発性腫瘍の外科的切除後に予測する方法であって、がん（すなわち、上記切除した腫瘍由来の上皮がん細胞）における表2の遺伝子の発現レベルを決定することを含む、方法もまた提供される。当業者は、表2の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示すことを認識する。標準治療としては、EGFR阻害のようなキナーゼ標的治療、放射線治療、ホルモン治療、パクリタキセルおよび/またはこれらの任意の組み合わせが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【0017】

当業者は、表2の遺伝子の発現レベルの決定が、上記切除された原発性腫瘍においてインビトロで行われることを認識する。さらに、当業者は、アッセイされる遺伝子の発現レベルが、表2の遺伝子の任意のサブセットを構成し得ることを認識する。具体的には、上記遺伝子サブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、DMSO処置）と比較して0.1未満の有意なレベル（例えば、p-値）で、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、適切な統計学的検定（すなわち、遺伝子セット富化分析（「GSEA」））が実証する、遺伝子の任意のサブセットである。当業者に公知の任意の適切な統計学的検定（複数可）および/または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0018】

がん治療の例としては、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置が挙げられ得るが、これらに限定されない。さらに、種々の実施形態において、遺伝子のサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表2の遺伝子を含み得る。

【0019】

これらの方法において、表2の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いことを示し得る。同様に、表2の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いことを示し得る。同様に、表2の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治

10

20

30

40

50

療剤に対して感受性である可能性が高いことを示し得る。

【0020】

本発明は、表2の遺伝子の発現レベルを増大させる候補薬剤を同定するために候補薬剤のスクリーニングによって、がん幹細胞または上皮間葉移行を受けている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、ここで、表2の遺伝子の発現の増大は、その候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行を受けている上皮がんを標的とすることを示す方法を、さらに提供する。さらに、表2の遺伝子の発現の低下はまた、上記腫瘍が、C S S 薬剤（例えば、サリノマイシン）に対して感受性である可能性が高いことを示す。

【0021】

このような方法は、好ましくは、がん（すなわち、原発性腫瘍の外科的切除後に得られた上皮がん細胞）においてインビトロで実施される。

10

【0022】

本発明にしたがうがん幹細胞またはEMTに至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法は、独立して行われても、同時に行われても、逐次的に行われてもよい。

【0023】

当業者は、これらのスクリーニング方法において、表2の遺伝子の任意のサブセットが、その発現レベルについて評価されることを認識する。好ましくは、遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、DMSO処置）と比較して0.1未満の有意なレベル（例えば、p-値）でがん治療（例えば、サリノマイシン処置またはパクリタキセル処置）で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである。例えば、遺伝子のサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表2の遺伝子を含み得る。

20

【0024】

当業者に公知の任意の適切な統計学的検定（複数可）および/または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない任意の細胞集団（すなわち、がん細胞）であり得る。

【0025】

なおさらなる実施形態において、本発明は、がん幹細胞または上皮間葉移行を受けた上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表1の遺伝子の発現のレベルを低下させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表1の遺伝子の発現の低下は、この候補薬剤ががん幹細胞または上皮間葉移行を受けている上皮がんを標的とすることを示す、方法を提供する。このような方法は、好ましくは、がん（すなわち、原発性腫瘍の外科的切除後に得られた上皮がん細胞）においてインビトロで実施される。

30

【0026】

これらの方法において、表1の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される。好ましくは、遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、DMSO処置）と比較して0.1未満の有意なレベル（例えば、p-値）でがん治療（例えば、サリノマイシン処置またはパクリタキセル処置）で処置された集団において差次的に発現されることを、適切な統計学的検定が実証する、遺伝子サブセットである。例えば、遺伝子のサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表1の遺伝子を含み得る。

40

【0027】

当業者に公知の任意の統計学的検定（複数可）および/または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない任意の細胞集団

50

(すなわち、がん細胞)であり得る。

【0028】

他の実施形態において、本発明は、上記原発性腫瘍の外科的な切除後に、患者の上皮がんが治療に応答する可能性を予測する方法であって、表1の遺伝子のがんにおける発現レベルを決定する工程を含む、方法を提供する。当業者は、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、サリノマイシンまたは他のCSS薬剤による治療に対し感受性である可能性が高いことを示すことを認識する。さらに、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、標準治療、例えばパクリタキセルなどに対し抵抗性である可能性が高いことを示す。

【0029】

当業者は、このような方法において、表1の遺伝子の発現レベルを決定する工程が、切除した原発性腫瘍においてインピトロで行われることを認識する。患者の上皮がんが治療に応答する可能性を予測するこれらの方法のいずれかにおいて、表1の遺伝子の任意のサブセットが、その発現レベルについて評価される。好ましくは、その発現が評価される遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して0.1未満の有意なレベル(例えば、p-値)でがん治療(例えば、サリノマイシン処置またはパクリタキセル処置)で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである。当業者は、遺伝子のサブセットが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表1の遺伝子を含み得ることを認識する。

10

20

【0030】

当業者は、当業者に公知の任意の適切な統計学的検定(複数可)および/または当業者に公知の任意の適切な対照集団(複数可)が、上記遺伝子サブセットの同定の際に使用され得ることを容易に認識する。例えば、上記適切な対照集団(複数可)は、所定のがん治療で処置されていない細胞(すなわち、がん細胞)の任意の集団であり得る。

【0031】

幾つかの実施形態において、本発明の方法は、熟練の開業医(skilled practitioner)が、患者における行動、治療、および/または処置の将来の方針を選択する際に有用であり得る中間情報を提供する。例えば、本明細書中で記載される方法のいずれかは、遺伝子発現レベルの決定によって得られるデータをまとめる工程(複数可)をさらに含み得る。非限定の例として、このまとめは、上記患者が、上記原発性腫瘍の外科的切除後のがんの再発なしで長期間生存する可能性の予測を含み得る。さらに(またはあるいは)、このまとめは、上記患者の処置様式の推奨を含み得る。

30

【0032】

また、1つ以上の容器に、表1および/または表2の遺伝子の1種以上を特異的に認識する少なくとも1種の検出可能な標識試薬を含むキットも、本発明によって提供される。例えば、このキットは、がん(すなわち、上皮がん細胞)において表1及び/または表2の1種以上の遺伝子の発現レベルを決定するために使用され得る。幾つかの実施形態において、上記キットは、上皮がんのバイオマーカープロファイルを作成する(generate)ために使用される。本発明によるキットはまた、少なくとも1種の薬学的賦形剤、希釈剤、アジュバントまたはこれらの任意の組み合わせをも、含み得る。

40

【0033】

さらに、本発明の方法のいずれかにおいて、RNA発現レベルは、その対応する遺伝子産物のタンパク質発現レベルを検出することによって、間接的に評価される。例えば、1つの実施形態において、RNA発現レベルは、その対応する遺伝子のクロマチン状態を決定することによって、間接的に評価される。

【0034】

当業者は、上記RNAは、固定化した、蟻に包埋した上記患者の乳がん組織標本から単離されること、上記RNAは断片化したRNAであること、および/または上記RNAは、細針生検から単離されることを容易に認識する。

50

## 【 0 0 3 5 】

本明細書中に記載される方法のいずれかにおいて、上記がんは、上皮がん、肺がん、乳がん、前立腺がん、胃がん、結腸がん、膵臓がん、脳がんおよび/または黒色腫がんであってもよい。

## 【 0 0 3 6 】

本発明は、さらに、患者の上皮がんが、標準治療に対して応答性であるかどうかを決定するために、あるいはその可能性を予測するために、インビトロで提供される。このような方法は、がんにおける(すなわち、上皮がんを有する患者からの原発性腫瘍の外科的切除後に得られた上皮がん細胞における)表1および/または表2の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表1の遺伝子の過剰発現は、上記患者の上皮がんが標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことを示し、そして表2の遺伝子の過剰発現は、上記患者の上皮がんが標準治療に対して感受性である可能性が高いことを示す。より具体的には、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高いことおよび/または上記腫瘍が、パクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高いことを示す。さらに、表1の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いこと;上記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤、または侵襲性、転移性もしくは侵襲性且つ転移性のがん細胞を標的とする治療剤に対して感受性である可能性が高いこと;および/または上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いことを示す。

10

20

## 【 0 0 3 7 】

同様に、表2の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性である可能性が高いこと;上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いこと;上記腫瘍が、がん幹細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いこと;および/または上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高いことを示す。

## 【 0 0 3 8 】

当業者は、上記標準治療が、EGFR阻害のようなキナーゼ標的治療;放射線;ホルモン治療;パクリタキセル;および/またはその任意の組み合わせであり得ることを、容易に認識する。

30

## 【 0 0 3 9 】

これらのインビトロ方法のいずれかにおいて、アッセイした遺伝子の発現レベルは、表1および/または表2の遺伝子の任意のサブセットを構成する。具体的には、遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して0.1未満の有意なレベル(例えば、p-値)で、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定(例えば、遺伝子セット富化分析)が実証する、遺伝子のサブセットである。がん治療の例としては、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置が挙げられるが、これらに限定されない。当業者は、アッセイされた遺伝子のサブセットが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表1および/または表2の遺伝子を含み得ることを認識する。

40

## 【 0 0 4 0 】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細は、以下に添付の記載において示されている。本明細書中に記載の方法および材料に類似するかまたは均等である任意の方法および材料が、本発明の実施または試験において使用され得るが、好ましい方法および材料が、ここに記載される。本発明の他の特徴、目的および利点は、本記載および特許請求の範囲から明らかである。本明細書および添付の特許請求の範囲において、単数形は、文脈がそうでないと明らかに記載しない限り、複数の対象を含む。他に規定されない限り、本明細書中で使用される全ての技術的および科学的な用語は、本発明の属する分野の当業者によって通常

50

理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中で引用される全ての特許および刊行物は、その全体が、参考として組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】図1：EMTを誘導する5つの因子（Goosecoid、TGFB、Snail、TwistまたはE-カドヘリンに対するshRNA）のうちの1つを発現するかまたは2つの対照ベクター（pWZL、GFPに対するshRNA）を発現する三連で培養した細胞からの遺伝子発現データのヒートマップまとめ。凡例は、対数スケール（底を2とする）上の相対的遺伝子発現を示す。

【図2】図2：表1の遺伝子のサブセットを用いた遺伝子セット富化分析。パクリタキセルで処置されたHMLERがん細胞におけるEMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_UP\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_UP遺伝子セットのそれぞれが、パクリタキセル処置後の細胞におけるその発現において富化されることを表す。

10

【図3】図3：表2の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。パクリタキセルで処置したHMLERがん細胞における非EMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_DN\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_DN遺伝子セットのそれぞれが、パクリタキセル処置後の細胞と比較して、DMSO対照で処置した細胞においてその発現が富化されることを表す。

20

【図4】図4：表2の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。サリノマイシンで処置したHMLERがん細胞における非EMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_DN\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_DN遺伝子セットのそれぞれが、対照処置と比較して、サリノマイシン処置後の細胞においてその発現が富化されることを表す。

【図5】図5：表1の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。サリノマイシンで処置したHMLERがん細胞におけるEMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_UP\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_UP遺伝子セットのそれぞれが、サリノマイシン処置後の細胞と比較して、DMSO対照で処置された細胞においてその発現が富化されることを表す。

30

【発明を実施するための形態】

【0042】

発明の詳細な説明

本発明を示す前に、本明細書中で以後使用される特定の用語の定義を示すことが、その理解に役立ち得る。

【0043】

本発明の文脈における「バイオマーカー」は、上皮がんを検出するかおよび/または分類するために使用され得る、特定の生物学的特性の分子指標；生化学的な特徴または面である。「バイオマーカー」は、非限定で、タンパク質、核酸および代謝物を、その多型、変異体（mutation）、改変体、修飾物、サブユニット、断片、タンパク質-リガンド複合体および分解生成物、タンパク質-リガンド複合体、エレメント、関連代謝物および他の検体またはサンプル由来測定単位（measure）と共に包含する。バイオマーカーはまた、変異タンパク質または変異核酸をも含む。本発明において、mRNAの測定が、好ましい。

40

【0044】

本発明の文脈における「生物学的サンプル」または「サンプル」は、被検体から単離された生物学的サンプルであり、例として、非限定であるが、全血、血液画分、血清、血漿

50

、血球、組織生検、細胞抽出物、筋肉サンプルもしくは組織サンプル、筋肉生検若しくは組織生検、または任意の他の分泌物、排泄物もしくは他の体液が挙げられる。

【 0 0 4 5 】

語句「差次的に発現される」は、例えば上皮がんを有する患者から得られたサンプル中に存在するバイオマーカーの、対照被験体と比較した場合の量および/または頻度における相違をいう。例えば、非限定で、バイオマーカーは、がんを有する患者のサンプル中で、対照被験体のサンプルと比較して、高いレベルで存在する（すなわち、過剰発現される）か、低いレベルで存在する（すなわち、過少発現される）mRNAまたはポリペプチドであり得る。あるいは、バイオマーカーは、患者のサンプル中で、対照被験体のサンプルと比較した場合、より高い頻度で検出される（すなわち、過剰発現される）かまたはより低い頻度で検出される（すなわち、過少発現される）ポリペプチドであり得る。バイオマーカーは、量、頻度またはその両方の点で、差次的に存在し得る。

10

【 0 0 4 6 】

以前の研究は、細胞を選択的に標的としてEMTへと誘導する剤はまた、選択的にがん幹細胞を死滅させることを示している。EMTへと誘導されたがん細胞はまた、高度に侵襲性であるので、その仮説は、侵襲性であり且つ/または転移性であるがん細胞を標的とする抗がん治療はまた、がん細胞を標的としてEMTへと誘導する可能性があるというものである。

【 0 0 4 7 】

1つの実施形態にしたがって、本発明は、本質的に重なる3つのクラスの抗がん治療または処置（すなわち、（a）侵襲性/転移性細胞を標的とする治療、（b）がん幹細胞を標的とする治療、および（c）EMT後の細胞を標的とする治療）に対し応答性である腫瘍を有する患者部分集団を決定するための方法を、提供する。具体的には、本発明は、どの治療または処置が、EMT後のがん細胞において上方制御される遺伝子バイオマーカー（表1）を発現するがんにおいて有効であるか、ならびにEMTに至っていないがん細胞において上方制御される遺伝子マーカー（表2）を発現するがんにおいて有効でないかを決定する方法を、提供する。

20

【 0 0 4 8 】

本発明の方法が有用であることを企図しているがんは、任意の上皮がん、および特に、乳がん、黒色腫、脳がん、胃がん、膵臓がんおよび肺、前立腺および結腸の癌腫が挙げられる。

30

【 0 0 4 9 】

本発明の方法が有用であることが企図される抗がん治療および処置は、標準治療、例えばパクリタキセル、DNA障害剤、キナーゼ阻害剤（例えば、エルロチニブ）、放射線治療、ならびにがん幹細胞を標的とする治療および/またはEMT後の細胞を標的とする治療（例えば、サリノマイシンのようなCSS薬剤を含む）を含む。

【 0 0 5 0 】

EMTに至っているがん細胞において差次的に発現する遺伝子のセット（表1）およびEMTに至っていないがん細胞において発現する遺伝子（表2）を、決定した。これらの遺伝子を、乳がん細胞（5種のEMTを誘導する遺伝子因子のうちの1種を発現しているかまたはEMTを誘導しない2種の対照遺伝子因子を発現している（対照ベクター）かのいずれかで培養した）においてRNAを回収しそしてマイクロアレイ遺伝子発現分析を実施することによって得た。細胞を、各処置条件について三連で培養した。その遺伝子発現データの包括的な分析を、図1のヒートマップとして示し、ここで、表1および2における遺伝子の上部のセットを、ヒートマップの構築に使用した。

40

【 0 0 5 1 】

治療に対するがん細胞集団の応答性を実証することは、表1および表2に同定される遺伝子の種々のサブセットによって、共に測定され得、そして予測され得る。HMLER乳がん集団を、一般に使用される抗がん化学治療パクリタキセル（Taxol）で処置するか、または対照DMSO処置で処置した。次いで、mRNAを単離し、そして包括的な遺

50

伝子発現データを収集した。次いで、パクリタキセル処置後の表1および表2の遺伝子の集合的発現レベルを、決定した。これらの分析について、図2および図3に示されるが、種々のサイズの遺伝子サブセットの集合を、選んだ。

【0052】

表1および/または表2の遺伝子の発現レベルの決定は、切除した原発性腫瘍において、インビトロで行うことを、当業者は認識する。

【0053】

この分析は、表1において発現される遺伝子および/またはその多くのサブセットが、パクリタキセルの処置の際に過剰発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子が、パクリタキセルによる処置に抵抗性であるがん細胞部分集団を同定することを示す。結果として、表1の遺伝子の発現の測定は、単一の薬剤として適用される場合のパクリタキセル処置に応答性でない腫瘍を同定することに働く。

10

【0054】

本発明において、表1の遺伝子の任意のサブセットもまた包含され、このサブセットについては、統計学的検定(例えば、遺伝子セット富化分析など(Subramanian, Tamayoら, PNAS 102:15545-50(2005)およびMootha, Lindgrenら, Nat. Genet 34:267-73(2003)を参照されたい。これらのそれぞれは、その全体が、本明細書中で参考として組み込まれる)により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して、パクリタキセル処置集団において、0.1未満、より好ましくは0.05未満の有意なレベル(例えば、p-値)で過剰発現されることが、実証される。1つの実施形態において、表1由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも2つの遺伝子、10の遺伝子、15の遺伝子、20の遺伝子または30の遺伝子(またはこれらの間に挟まる任意の範囲)を含むことが、企図された。例えば、そのサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。

20

【0055】

遺伝子富化または差次的発現についての任意の他の適切な統計学的検定(複数可)はまた、表1由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定(例えば、Mann-Whitney)を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度(metric)を同定し得る。

30

【0056】

さらにまた、任意の適切な対照集団(複数可)も、表1由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、上記適切な対照集団(複数可)が、所定のがん治療で処置されていない細胞(すなわち、がん細胞)の任意の集団であり得る。

【0057】

あるいは、表1の遺伝子のサブセットは、任意のサブセットとして同定され得、このサブセットについては、統計学的検定(例えば、遺伝子セット富化分析など)により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して、サリノマイシン処置集団において、0.1未満、より好ましくは0.05未満の有意なレベル(例えば、p-値)で過少発現されることが、実証される。1つの実施形態において、表1由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも2つの遺伝子、10の遺伝子、15の遺伝子、20の遺伝子または30の遺伝子(またはこれらの間に挟まる任意の範囲)を含むことが、企図された。例えば、そのサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。当業者には、遺伝子発現または差次的発現についての、任意の他の適切な統計学的検定(複数可)もまた、表1

40

50

由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0058】

同様に、任意の適切な対照集団（複数可）もまた、表1由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0059】

当業者は、表1の遺伝子の好適なサブセットを決定するために使用される統計学的検定が、本出願において説明のために使用される場合、遺伝子セット富化分析（GSEA）（Subramanian, Tamayoら, PNAS 102:15545-50 (2005) および Mootha, Lindgrenら, Nat. Genet 34:267-73 (2003)）を参照されたい。これらのそれぞれは、その全体が、本明細書中で参考として組み込まれる）であり得るか、または当該分野で公知の富化または発現についての任意の他の統計学的検定であり得ることを、認識する。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

10

【0060】

本評価の目的のために処置される細胞の集団は、任意の型のがん細胞または正常な細胞集団であってもよい。

20

【0061】

【表 1 - 1】

表1 EMTに至っているがん集団において、EMTに至っていないがん集団と比較して、過剰発現されることが同定された遺伝子。

記号	種類	GenBank	EMTの際の過剰発現の平均倍数	
DCN	デコリン	AF138300	137.6156	
COL3A1	コラーゲン、III型、 $\alpha 1$ (エーラーズーダンロス症候群IV型、常染色体優勢)	AU144167	132.1195	
COL1A2	コラーゲン、I型、 $\alpha 2$	AA788711	88.05054	
FBN1	フィブリリン1 (マルファン症候群)	NM_000138	76.51337	
GREM1	グレムリン1、システインノットスーパーファミリー、ホモログ ( <i>Xenopus laevis</i> )	NM_013372	75.35859	
POSTN	ペリオスチン、骨芽細胞特異的因子	D13665	73.18114	20
NID1	ニドジェン1	BF940043	51.91502	
FBLN5	フィビュリン5	NM_006329	34.4268	
SDC2	シンデカン2 (ヘパラン硫酸プロテオグリカン1、細胞表面関連、フィブログリカン)	AL577322	32.48001	
COL5A2	コラーゲン、V型、 $\alpha 2$	NM_000393	26.66545	
PRG1	プロテオグリカン1、分泌顆粒	J03223	23.46014	
TCF8	転写因子8 (インターロイキン2発現を抑制する)	AI806174	22.83413	30
ENPP2	エステラーゼ2 (オータキシン)	L35594	22.72739	
NR2F1	核レセプターサブファミリー2、グループF、メンバー1	AI951185	20.64471	
COL6A1	コラーゲン、VI型、 $\alpha 1$	AA292373	17.36271	
RGS4	G-タンパク質シグナル伝達4のレギュレーター	AL514445	16.63788	
CDH11	カドヘリン11、2型、OB-カドヘリン (骨芽細胞)	D21254	16.61483	
PRRX1	対をなす関連ホメオボックス1	NM_006902	14.73362	40
OLFML3	オルファクトメディン様3	NM_020190	14.0984	
SPOCK	sparc/オステオネクチン、cwcvcおよびkazal様ドメインプロテオグリカン (テスチカン)	AF231124	13.99112	
WNT5A	wingless型MMTV統合部位ファミリー、メンバー5A	NM_003392	13.33384	

【 0 0 6 2 】

【表 1 - 2】

MAP1B	微小管関連タンパク質1B	AL523076	13.0877	
		BG109855	12.44401	
	ペントラキシン関連遺伝子、IL-1 $\beta$ によって迅速			
PTX3	に誘導される	NM_002852	12.01196	
C5orf13	染色体5オープンリーディングフレーム13	U36189	11.95863	10
IGFBP4	インスリン様成長因子結合タンパク質4	NM_001552	11.09963	
	プロコラーゲンC-エンドペプチダーゼエンハン			
PCOLCE	サー	NM_002593	11.04575	
TNFAIP6	腫瘍壊死因子、 $\alpha$ -誘導型タンパク質6	NM_007115	11.02984	
LOC51334	NM_016644	10.91454		
	シトクロムP450、ファミリー1、サブファミリーB、			
CYP1B1	ポリペプチド1	NM_000104	10.47429	20
	組織因子経路インヒビター(リポタンパク質関連			
TFPI	凝集インヒビター	BF511231	10.42648	
PVRL3	ポリオウイルスレセプター関連3	AA129716	10.30262	
	レセプターチロシinkinナーゼ様オーファンレセプ			
ROR1	ター1	NM_005012	10.10474	
FBLN1	フィブリリン1	NM_006486	10.09844	
BIN1	架橋インテグレーター1	AF043899	9.928529	
LUM	ルミカン	NM_002345	9.727574	30
RGL1	ralグアニンヌクレオチド分解刺激因子一様1	AF186779	9.643922	
PTGFR	プロスタグランジンFレセプター(FP)	NM_000959	8.939536	
	形質転換成長因子、 $\beta$ レセプターIII(ベータグリカ			
TGFBR3	ン、300kDa)	NM_003243	8.838	
COL1A1	コラーゲン、I型、 $\alpha$ 1	Y15916	8.667645	
	肝臓がんでの欠失1(deleted in liver cance			
DLC1	r 1)	AF026219	8.610518	
PMP22	末梢性ミエリンタンパク質22	L03203	8.560648	40
PRKCA	タンパク質キナーゼC、 $\alpha$	A1471375	8.338108	
	マトリックスメタロペプチダーゼ2(ゼラチナーゼA			
	、72kDaゼラチナーゼ、72kDa IV型コラゲナ			
MMP2	ーゼ)	NM_004530	8.268926	

【 0 0 6 3 】

【表 1 - 3】

CTGF	結合組織成長因子	M92934	8.168776	
CDH2	カドヘリン2、1型、N-カドヘリン(ニューロンの)	M34064	7.987921	
GNG11	グアニヌクレオチド結合タンパク質(Gタンパク質)、 $\gamma 11$	NM_004126	7.953115	
PPAP2B	ホスファチジン酸ホスファターゼ 2B型	AA628586	7.907272	
NEBL	ネブレット	AL157398	7.817894	10
MYL9	ミオシン、軽ポリペプチド9、調節	NM_006097	7.780485	
KCNMA1	カリウム大伝導性カルシウム活性化チャネル、サブファミリーM、 $\alpha$ メンバー1	AI129381	7.747227	
IGFBP3	インスリン様成長因子結合タンパク質3	BF340228	7.57812	
CSPG2	コンドロイチン硫酸プロテオグリカン2(ベルシカン)	NM_004385	7.318764	
SEMA5A	semaドメイン、7トロンボスポンジンリピート(1型および1型様)、膜貫通ドメイン(TM)および短細胞質ドメイン(セマホリン) 5A	NM_003966	7.298702	20
CITED2	Glu/Aspリッチカルボキシ末端ドメインを有する	AF109161	7.220907	
MME	Cbp/p300-相互作用トランスアクチベータ2	AI433463	7.05859	
DOCK10	膜メタローエンドペプチダーゼ(中性エンドペプチダーゼ、エンケファリナーゼ、CALLA、CD10)	NM_017718	6.972809	30
DNAJB4	細胞質分裂のデディケーター10(dedicator of cytokinesis 10)	BG252490	6.782043	
PCDH9	DnaJ(Hsp40)ホモログ、サブファミリーB、メンバー4	AI524125	6.711987	
NID2	プロトカドヘリン9	NM_007361	6.54739	
HAS2	ニドジェン2(オステオニドジェン)	NM_005328	6.520398	
PTGER4	ヒアルロナンシンターゼ2	AA897516	6.396133	
TRAM2	プロスタグランジンEレセプター4(サブタイプEP4)	AI986461	6.275542	40
SYT11	転位関連膜タンパク質2	BC004291	6.149546	
BGN	シナプトタグミンXI	AA845258	5.838023	
CYBRD1	ビグリカン	NM_024843	5.710828	
CHN1	シトクロムbレダクターゼ1	BF339445	5.687127	
	キメリン(chimaerin)1			

【表 1 - 4】

DPT	ダーマトポンチン	AI146848	5.573023	
	インテグリン、 $\beta$ 様1 (EGF-様リピートドメインを			
ITGBL1	有する)	AL359052	5.511939	
FLJ22471		NM_025140	5.364784	
LOC221362	AL577024	5.35364		
MLPH	メラノフィリン	NM_024101	5.296062	10
ANXA6	アネキシン A6	NM_001155	5.18628	
EML1	棘皮動物微小管関連タンパク質様1	NM_004434	5.138332	
CREB3L1	cAMP 応答性エレメント結合タンパク質3-様1	AF055009	5.073214	
FLJ10094		NM_017993	4.998863	
	ロイシンリッチリピートおよび免疫グロブリン様ド			
LRIG1	メイン1	AB050468	4.9963	
SNED1	sushi、ニドジェンおよびEGF-様ドメイン1	N73970	4.993945	20
	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレードF ( $\alpha$			
	-2抗プラスミン、色素上皮由来因子)、メンバー			
SERPINF1	1	NM_002615	4.969153	
	無能化(disabled)ホモログ2、マイトジェン-応			
DAB2	答性リンタンパク質(Drosophila)	NM_001343	4.913939	
	Wiskott-Aldrich症候群タンパク質相互作用タ			
WASPIP	ンパク質	AW058622	4.882974	
FN1	フィブロネクチン1	AJ276395	4.869319	30
C10orf56	染色体10オープンリーディングフレーム56	AA131324	4.795629	
DAPK1	死関連プロテインキナーゼ1	NM_004938	4.726984	
LOXL1	リジルオキシダーゼ-様1	NM_005576	4.720305	
	DNA結合2のインヒビター、ドミナントネガティブ			
ID2	ヘリックススルーパーヘリックスタンパク質	NM_002166	4.672064	
	プロスタグランジンEレセプター2 (サブタイプE			
PTGER2	P2)、53kDa	NM_000956	4.427892	
COL8A1	コラーゲン、VIII型、 $\alpha$ 1	BE877796	4.38653	40
	ジスコイジンドメインレセプターファミリー、メンバ			
DDR2	-2	NM_006182	4.338932	
SEPT6	セプチン6	D50918	4.30699	
HRASLS3	HRAS-様サブレッサー 3	BC001387	4.281926	

【 0 0 6 5 】

【表 1 - 5】

プレクストリンホモロジドメインを含む、ファミリ			
PLEKHC1	—C(FERMDメインを有する) メンバー1	AW469573	4.272913
THY1	Thy-1 細胞表面抗原	AA218868	4.253587
リボソームタンパク質S6キナーゼ、90kDa、ホ			
RPS6KA2	リペプチド2	AI992251	4.225143
GALC	ガラクトシルセラミダーゼ(Krabbe病)	NM_000153	4.222742
FBN2	フィブリリン2 (先天性拘縮性くも指症)	NM_001999	4.205916
FSTL1	フォリスタチン様1	BC000055	4.175243
NRP1	ニューロピリン1	BE620457	4.162874
TNS1	テンシン1	AL046979	4.131713
TAGLN	トランスジェリン	NM_003186	4.131083
サイクリン依存性キナーゼインヒビター2C(p18			
CDKN2C	、CDK4を阻害する)	NM_001262	4.124788
MAGEH1	黒色腫抗原ファミリーH、1	NM_014061	4.094423
LTBP2	潜在型形質転換成長因子β結合タンパク質2	NM_000428	4.000998
PBX1	プレB-細胞白血病転写因子1	AL049381	3.997339
T-ボックス3(尺骨乳房(ulnar mammary)症			
TBX3	候群)	NM_016569	3.992244

分析はまた、表2の遺伝子およびその多くのサブセットは、パクリタキセルによる処置の際に過少発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子は、パクリタキセルによる処置に感受性である細胞部分集団を同定することを表す。結果として、表2の遺伝子の発現の測定は、単一の薬剤として用いられる場合にパクリタキセル処置に応答性である腫瘍を同定することに働く。

## 【0066】

表2の遺伝子の発現レベルの決定は、切除した原発性腫瘍においてインビトロで行われることを、当業者は認識する。

## 【0067】

本発明において、表2の遺伝子の任意のサブセットもまた包含され、このサブセットについては、統計学的検定(例えば、遺伝子セット富化分析など)により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して、パクリタキセル処置集団において、0.1未満、より好ましくは0.05未満の有意なレベル(例えば、p-値)で過少発現されることが、実証される。1つの実施形態において、表2由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも2つの遺伝子、6の遺伝子、10の遺伝子、15の遺伝子、20の遺伝子または30の遺伝子(またはこれらの間に挟まる任意の範囲)を含むことが、企図された。例えば、そのサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。遺伝子富化または差次的発現についての任意の他の適切な統計学的検定(複数可)はまた、表2由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定(例えば、Mann-Whitney)を用いて、2つのプロ

フィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0068】

さらにまた、任意の適切な対照集団（複数可）も、表2由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、上記適切な対照集団（複数可）が、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0069】

あるいは、表2の遺伝子のサブセットは、任意のサブセットとして同定され得、このサブセットについては、統計学的検定（例えば、遺伝子セット富化分析など）により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、DMSO処置）と比較して、サリノマイシン処置集団において、0.1未満、より好ましくは0.05未満の有意なレベル（例えば、p-値）で過剰発現されることが、実証される。1つの実施形態において、表2由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも2つの遺伝子、6の遺伝子、10の遺伝子、15の遺伝子、20の遺伝子または30の遺伝子（またはこれらの間に挟まる任意の範囲）を含むことが、企図された。例えば、上記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。当業者には、遺伝子富化または差次的発現についての、任意の他の適切な統計学的検定（複数可）もまた、表2由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

10

20

【0070】

同様に、任意の適切な対照集団（複数可）もまた、表2由来の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0071】

使用される統計学的検定は、本出願において説明のために使用されるような遺伝子セット富化分析（GSEA）（Subramanian, Tamayoら, PNAS 102:15545-50（2005）およびMootha, Lindgrenら, Nat. Genet 34:267-73（2003）を参照されたい。これらのそれぞれは、その全体が、本明細書中で参考として組み込まれる）または当該分野で公知の富化または発現についての任意の他の統計学的検定であり得る。非限定的な例として、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

30

【0072】

本評価の目的のために処置される細胞の集団は、任意の型のがん細胞または正常な細胞集団であってもよい。

【0073】

40

## 【表 2 - 1】

表2 EMTに至っていないがん集団において、EMTに至っているがん集団と比較して、過剰発現されることが同定された遺伝子。

記号	種類	GenBank	非EMTにおける過剰発現の平均倍数	
	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレ-			10
SERPINB2	ドB(オボアルブミン)、メンバー2	NM_002575	36.74103	
	腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデュ-			
TACSTD1	ーサー1	NM_002354	35.91264	
SPRR1A	低分子プロリンリッチタンパク質1A	AI923984	34.99944	
	低分子プロリンリッチタンパク質1B (コー-			
SPRR1B	ニフィン)	NM_003125	29.33599	
IL1A	インターロイキン1、 $\alpha$	M15329	28.86922	20
KLK10	カリクレイン10	BC002710	25.16523	
	線維芽細胞成長因子レセプター3(軟骨形			
FGFR3	成不全症、致死性小人症)	NM_000142	24.74251	
CDH1	カドヘリン1、1型、E-カドヘリン(上皮)	NM_004360	23.74645	
SLPI	分泌型白血球ペプチダーゼインヒビター	NM_003064	21.4404	
KRT6B	ケラチン6B	AI831452	20.84833	
	FXYDドメイン含有イオン輸送レギュレータ			
FXYD3	3	BC005238	19.01308	30
	ペプチダーゼインヒビター3、皮膚由来 (S			
PI3	KALP)	L10343	18.10103	
	RAB25、メンバーRASオンコジーンファミ			
RAB25	リー	NM_020387	17.64907	
SAA2	血清アミロイドA2	M23699	17.20791	
RBM35A	RNA結合モチーフタンパク質35A	NM_017697	15.20696	
TMEM30B	膜貫通タンパク質30B	AV691491	14.98036	40
EVA1	上皮V-様抗原1	AF275945	14.69364	
KLK7	カリクレイン7(キモトリプシン、角質層)	NM_005046	14.42981	
RBM35B	RNA結合モチーフタンパク質35A	NM_024939	13.49619	

## 【 0 0 7 4 】

【表 2 - 2】

S100A14	S100カルシウム結合タンパク質A14	NM_020672	13.44819	
SERPINB13	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレ ドB(オボアルブミン)、メンバー13	AJ001698	13.29747	
UCHL1	ユビキチンカルボキシル末端エステラーゼ L1(ユビキチンチオールエステラーゼ)	NM_004181	13.27334	
ALDH1A3	アルデヒドデヒドロゲナーゼ1ファミリー、メ ンバーA3	NM_000693	13.10531	10
CKMT1B	クレアチンキナーゼ、ミトコンドリア1B	NM_020990	12.4713	
ANXA3	アネキシンA3	M63310	12.4013	
NMU	ニューロメジンU	NM_006681	12.15367	
KRT15	ケラチン15	NM_002275	12.09266	
FST	フォリスタチン	NM_013409	11.85793	
FGFBP1	線維芽細胞成長因子結合タンパク質1	NM_005130	11.49472	
S100A7	S100カルシウム結合タンパク質A7 (ソリ アシン1(psoriasin 1))	NM_002963	11.07673	20
TP73L	腫瘍タンパク質p73一様	AF091627	10.93454	
FLJ12684		NM_024534	10.70372	
SCNN1A	ナトリウムチャネル、非電位型1 $\alpha$	NM_001038	10.3172	
KLK5	カリクレイン5	AF243527	10.20992	
S100A8	S100カルシウム結合タンパク質 A8 (カ ルグラヌリンA)	NM_002964	10.10418	30
CCND2	サイクリンD2	AW026491	9.950438	
MAP7	微小管関連タンパク質7	AW242297	9.942027	
CXADR	コクサッキーウイルスおよびアデノウイルス レセプター	NM_001338	9.872805	
KRT17	ケラチン17	NM_000422	9.74958	
CDH3	カドヘリン3、1型、P-カドヘリン(胎盤)	NM_001793	9.735938	
TRIM29	三分節(tripartite)モチーフ含有29 セリンペプチダーゼインヒビター、Kunitz型	NM_012101	9.373189	40
SPINT1	1	NM_003710	9.353589	
TGFA	形質転換成長因子、 $\alpha$	NM_003236	9.30496	
IL18	インターロイキン18(インターフェロン- $\gamma$ 誘導因子)	NM_001562	9.218934	

【表 2 - 3】

CA9	炭酸脱水酵素IX	NM_001216	9.196596	
KRT16	ケラチン16(限局性非表皮剥離性掌蹠角 皮膚) ギャップジャンクションタンパク質、β3、31 kDa(コネキシン31)	AF061812	9.177365	
GJB3		AF099730	9.030588	
VSNL1	ビジニン様1	NM_003385	8.637896	10
IL1B	インターロイキン1、β	NM_000576	8.629518	
CA2	炭酸脱水酵素II	M36532	8.606222	
CNTNAP2	コンタクチン関連タンパク質様2	AC005378	8.592036	
ARHGAP8	Rho GTPアーゼ活性化タンパク質8 ケラチン5(単純性表皮水泡症、Dowling -Meara/Kobner/Weber-Cockayn e型)	Z83838	8.434017	
KRT5		NM_000424	8.14695	
ARTN	アルテミン カルシウム/カルモジュリン依存性タン パク質キナーゼ(CaMキナーゼ)IIβ	NM_003976	8.125857	20
CAMK2B		AF078803	8.125181	
ZBED2	ジンクフィンガー、BED-型含有2	NM_024508	8.046492	
TPD52L1	腫瘍タンパク質D52様 1	NM_003287	7.949147	
EPB41L4B	赤血球膜タンパク質バンド4. 1様4B カリクレイン8 (ニューロプシン(neuropsi n)/オバシン)	NM_019114	7.911	
KLK8		NM_007196	7.895551	30
C1orf116	6	NM_024115	7.889643	
LEPREL1	レプリカン(leprecan)様1	NM_018192	7.85189	
JAG2	ノコギリ歯様2(jagged 2)	Y14330	7.562273	
DSC2	デスモコリン2 シトクロムP450、ファミリー27、サブファミ リーB、ポリペプチド1	NM_004949	7.425664	
CYP27B1		NM_000785	7.293746	
HOOK1	フックホモログ1(Drosophila) レクチン、ガラクトシド結合、可溶性、7(ガ レクチン7)	NM_015888	7.275468	40
LGALS7		NM_002307	7.241758	
HBEGF	ヘパリン結合EGF様成長因子	NM_001945	7.202511	
CDS1	CDP-ジアシルグリセロールシンターゼ(	NM_001263	7.130583	

【表 2 - 4】

ホスファチジン酸シチジルトランスフェラーゼ) 1			
RNF128	リングフィンガータンパク質128	NM_024539	7.12999
PRR5		NM_015366	7.124753
KRT6A	ケラチン6A	J00269	7.042267
LAMA3	ラミニン、 $\alpha 3$	NM_000227	6.95736
	アダプター関連タンパク質複合体1、 $\mu 2$ サブユニット		10
AP1M2	ブユニット	NM_005498	6.911026
SLAC2-B		AB014524	6.847038
GRHL2	グレイニーヘッダー様2 ( <i>Drosophila</i> )	NM_024915	6.781949
	腫瘍形成性抑制14 (結腸癌種、マトリプターゼ、エピシン)		
ST14		NM_021978	6.733796
DSC3	デスモコリン3	NM_001941	6.68478
	CD24抗原 (小細胞肺癌種クラスター4抗原)		20
CD24		M58664	6.653991
LAMB3	ラミニン、 $\beta 3$	L25541	6.6375
TSPAN1	テトラスパニン1	AF133425	6.619673
SYK	脾臓チロシンキナーゼ	NM_003177	6.585623
SNX10	ソーティングネキシン10	NM_013322	6.540949
		NM_024064	6.518229
CTSL2	カテプシンL2	AF070448	6.516422
	溶質キャリアファミリー2 (グルコース輸送を促進する)、メンバー9		30
SLC2A9		NM_020041	6.458325
TMEM40	膜貫通タンパク質40	NM_018306	6.408648
COL17A1	コラーゲン、XVII型、 $\alpha 1$	NM_000494	6.405184
	染色体10オープンリーディングフレーム1		
C10orf10	0	AL136653	6.37754
	ST6 ( $\alpha$ -N-アセチル-ニューラミン-2, 3- $\beta$ -ガラクトシル-1, 3)-N-アセチルガラクトサミニド $\alpha$ -2, 6-シアリルトランスフェラーゼ2		40
ST6GALNAC2		NM_006456	6.224336
ANXA8	アネキシンA8	NM_001630	6.199621
ABLIM1	アクチン結合LIMタンパク質1	NM_006720	6.19859

【 0 0 7 7 】

【表 2 - 5】

RLN2	リラキシン2	NM_005059	6.139665	
VGLL1	痕跡様1(Drosophila)	BE542323	6.116473	
NRG1	ニューレグリン1	NM_013959	5.854395	
MMP9	マトリクスメタロペプチダーゼ9 (ゼラチナーゼB、92kDaゼラチナーゼ92kDa IV型コラゲナーゼ)	NM_004994	5.737173	10
DSG3	デスモグレイン3(尋常性天疱瘡抗原)	NM_001944	5.731926	
GJB5	ギャップジャンクションタンパク質、 $\beta 5$ (コネキシン31. 1)	NM_005268	5.684999	
NDRG1	N-myc下流制御遺伝子1	NM_006096	5.681532	
MAPK13	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ1	BC000433	5.587721	
DST	ジストニン	NM_001723	5.560135	
CORO1A	3	U34690	5.510182	20
IRF6	コロニン、アクチン結合タンパク質、1A	AU144284	5.499117	
KIBRA	インターフェロン調節因子6	AK001727	5.491803	
SPINT2	セリンペプチダーゼインヒビター、Kunitz型、2	AF027205	5.466358	
ALOX15B	アナキドン酸15-リポキシゲナーゼ、第2型	NM_001141	5.461662	
SERPINB1	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレードB(オボアルブミン)、メンバー1	NM_030666	5.348966	30
CLCA2	塩素チャネル、カルシウム活性化型、ファミリーメンバー2	AF043977	5.30091	
MYO5C	ミオシンVC	NM_018728	5.269624	
CSTA	シスタチンA(ステフィンA)	NM_005213	5.215624	
ITGB4	インテグリン、 $\beta 4$	NM_000213	5.180603	
MBP	ミエリン塩基性タンパク質	AW070431	5.108643	
AQP3	アクアポリン3	N74607	5.084832	40
SLC7A5	溶質キャリアファミリー7 (カチオン性アミノ酸トランスポーター、 $\gamma$ +システム)、メンバー5	AB018009	5.084409	
GPR87	G タンパク質共役型レセプター87	NM_023915	5.073566	

【表 2 - 6】

MALL	mal、T-細胞分化タンパク質一様 マクロファージ刺激1レセプター(c-met- 関連チロシンキナーゼ)	BC003179	4.957731	
MST1R	関連チロシンキナーゼ)	NM_002447	4.955876	
SOX15	SRY(性決定領域Y)-ボックス15	NM_006942	4.948873	
LAMC2	ラミニン、 $\beta 2$	NM_005562	4.941675	
CST6	シスタチンE/M	NM_001323	4.931341	10
MFAP5	マイクロフィブリル関連タンパク質5	AW665892	4.871412	
KRT18	ケラチン18	NM_000224	4.799686	
JUP	ジャンクションプラコグロビン	NM_021991	4.719454	
DSP	デスモブラキン	NM_004415	4.716772	
MTSS1	転移抑制因子 1 線維芽細胞成長因子レセプター2(細菌発 現キナーゼ、ケラチノサイト成長因子レセプ ター、頭蓋顔面骨形成不全1、Crouzon症 候群、Pfeiffer症候群、Jackson-Weiss 症候群)	NM_014751	4.715399	20
FGFR2	症候群)	NM_022969	4.67323	
PKP3	プラコフィリン3	AF053719	4.646421	
STAC	SH3およびシステインリッチドメイン RAB38、メンバーRASオンコジーンファミ リー	NM_003149	4.643331	
RAB38	リー	NM_022337	4.544243	
SFRP1	分泌型縮れ(frizzled)-関連タンパク質1	NM_003012	4.465928	30
RHOD	rasホモログ遺伝子ファミリー、メンバーD	BC001338	4.45418	
TPD52	腫瘍タンパク質D52	BG389015	4.453563	
F11R	F11レセプター 腫瘍壊死因子レセプタースーパーファミリ ー、メンバー6b、デコイ	AF154005	4.39018	
TNFRSF6B	ー、メンバー6b、デコイ BCL2-相互作用キラー(アポトーシス- 誘導性)	NM_003823	4.342302	
BIK	誘導性)	NM_001197	4.323681	
XDH	キサントシンデヒドロゲナーゼ ホスホリパーゼA2、グループIVA(細胞質	U06117	4.309678	40
PLA2G4A	ゾル、カルシウム依存性)	M68874	4.308364	
PTH1H	副甲状腺ホルモン様ホルモン	J03580	4.294946	
NEF3	ニューロフィラメント3(150kDa中間)	NM_005382	4.274928	

【表 2 - 7】

SORL1	ソーティリンー関連レセプター、L(DLRクラス)Aリピート含有	AV728268	4.257894	
SLC6A8	溶質キャリアファミリー6 (神経伝達物質トランスポーター、クレアチン)、メンバー8	NM_005629	4.205508	
PRRG4	プロリンリッチGla(G-カルボキシグルタミン酸)4(膜貫通)	NM_024081	4.187822	10
CLDN1	クローディン1	NM_021101	4.185384	
KIAA0888		AB020695	4.162009	
GPR56	Gタンパク質共役レセプター56	AL554008	4.153478	
SNCA	シヌクレイン、 $\alpha$ アミロイド前駆体の非A4成分)	BG260394	4.149795	
FLRT3	フィブロネクチンロイシンリッチ膜貫通タンパク質3	NM_013281	4.130167	
IL1RN	インターロイキン1レセプターアンタゴニスト	U65590	4.12988	20
DDR1	ジスコイジンドメインレセプターファミリー、メンバー1	L11315	4.125646	
LYN	v-yes-1 Yamaguchi肉腫ウイルス関連オンコジーンホモログ	M79321	4.107271	
FLJ20130		NM_017681	4.09499	
STAP2		BC000795	4.089544	
KCNK1	カリウムチャネル、サブファミリーK、メンバー1	NM_002245	4.084162	30
TSPAN13	テトラスパニン13	NM_014399	4.079691	
LISCH7		NM_015925	4.025813	
PERP	PERP、TP53アポトーシスエフェクター	NM_022121	4.024473	

次に、上で記載した通りのものと同じ分析を、異なる抗がん剤(サリノマイシン)による処置に関して、実施した。サリノマイシンは、以前に、侵襲性のがん幹細胞を特異的に死滅させることが同定されている。反対の発現変化(パクリタキセルと比較して)が、サリノマイシンによる処置の際に観察された。図4および図5に示される分析は、表1に表わされる遺伝子およびその任意のサブセットは、サリノマイシンによる処置の際に過少発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子は、サリノマイシンのようなC S S薬剤による処置に感受性である細胞部分集団を同定することを表す。結果として、表1の遺伝子(または本明細書中で開示される方法にしたがって同定されるその任意の適切なサブセット)の発現の測定は、単一の薬剤として使用される場合のC S S薬剤(例えば、サリノマイシン処置)に応答性の腫瘍を同定することに働く。

## 【0080】

この分析はまた、表2に表される遺伝子およびその任意のサブセットが、サリノマイシンによる処置の際に(対照と比較して)過剰発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子が、サリノマイシンのようなC S S薬剤による処置に抵抗性である細胞部分集団

40

50

を同定することを表す。結果として、表2の遺伝子（または本明細書中で開示される方法にしたがって同定されるその任意の適切なサブセット）の発現の測定は、単一の薬剤として使用される場合のCSS薬剤（例えば、サリノマイシン処置）に応答性でない腫瘍を同定することに働く。

【0081】

表1および/または2ならびにその種々のサブセット（それに対する統計学的検定により、このサブセット内の遺伝子のがん処置（例えば、サリノマイシン処置またはバクリタキセル処置）での処置に応答して差次的に発現されることを、適切な対照集団（例えば、DMSO処置）と比較して、0.1未満の有意なレベル（例えば、p値）で実証される）の遺伝子の発現の測定が、所定の治療または処置に応答性であるかまたは応答性でないがん細胞集団を同定するために使用され得るということが理解される。細胞の別個の部分集団は、表1および/または2の遺伝子（またはその任意の適切なサブセット）の発現レベルを用いて同定され、これらの識別可能な部分集団は、任意の特定の治療または処置のレジメンに示差的に応答し得、それによってこれらの遺伝子が、原発性腫瘍切除後の治療選択を行うバイオマーカーとして働くことが可能となる。

10

【0082】

本明細書中で挙げられた全ての文書および特許または特許出願は、参考として完全に組み込まれる。

【0083】

## 【 数 1 】

## 参考文献:

1. Piyush Gupta, Tamer T. Onder, Sendurai Mani, Mai-jing Liao, Eric S. Lander, Robert A. Weinberg. A Method for the Discovery of Agents Targeting and Exhibiting Specific Toxicity for Cancer Stem Cells. *Patent pending*. (WHI07-20; MIT 12947WB; WO/2009/126310).
2. Piyush B. Gupta, Tamer T. Onder, Guozhi Jiang, Tai Kao, Charlotte Kuperwasser, Robert A. Weinberg, Eric S. Lander. "Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening." *Cell*. (2009) Aug; 138(4):645-659. 10
3. Thomson S, Petti F, Sujka-Kwok I, Epstein D, Haley JD. Kinase switching in mesenchymal-like non-small cell lung cancer lines contributes to EGFR inhibitor resistance through pathway redundancy. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25(8):843-54. Epub 2008 Aug 12. PubMed PMID: 18696232.
4. Barr S, Thomson S, Buck E, Russo S, Petti F, Sujka-Kwok I, Eyzaguirre A, Rosenfeld-Franklin M, Gibson NW, Miglarese M, Epstein D, Iwata KK, Haley JD. Bypassing cellular EGF receptor dependence through epithelial-to-mesenchymal-like transitions. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25(6):685-93. Epub 2008 Jan 31. Review. PubMed PMID: 18236164; PubMed Central PMCID: PMC2471394. 20
5. Buck E, Eyzaguirre A, Barr S, Thompson S, Sennello R, Young D, Iwata KK, Gibson NW, Cagnoni P, Haley JD. Loss of homotypic cell adhesion by epithelial-mesenchymal transition or mutation limits sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibition. *Mol Cancer Ther*. 2007 Feb;6(2):532-41. PubMed PMID: 17308052.
6. Woodward WA, Debeb BG, Xu W, Buchholz TA. Overcoming radiation resistance in inflammatory breast cancer. *Cancer*. 2010 Jun 1;116(11 Suppl):2840-5. PubMed PMID:20503417.
7. Bao, S., Wu, Q., McLendon, R.E., Hao, Y., Shi, Q., Hjelmeland, A.B., Dewhirst, M.W., Bigner, D.D., and Rich, J.N. (2006). Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 444, 756-760. 30
8. Barr, S., Thomson, S., Buck, E., Russo, S., Petti, F., Sujka-Kwok, I., Eyzaguirre, A., Rosenfeld-Franklin, M., Gibson, N.W., Miglarese, M., *et al.* (2008). Bypassing cellular EGF receptor dependence through epithelial-to-mesenchymal-like transitions. *Clinical & experimental metastasis* 25, 685-693.
9. Buck, E., Eyzaguirre, A., Rosenfeld-Franklin, M., Thomson, S., Mulvihill, M., Barr, S., Brown, E., O'Connor, M., Yao, Y., Pachter, J., *et al.* (2008). Feedback mechanisms promote cooperativity for small molecule inhibitors of epidermal and insulin-like growth factor receptors. *Cancer research* 68, 8322-8332.
10. Creighton, C.J., Li, X., Landis, M., Dixon, J.M., Neumeister, V.M., Sjolund, A., Rimm, D.L., Wong, H., Rodriguez, A., Herschkowitz, J.I., *et al.* (2009). Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 13820-13825. 40

【 0 0 8 4 】

## 【数 2】

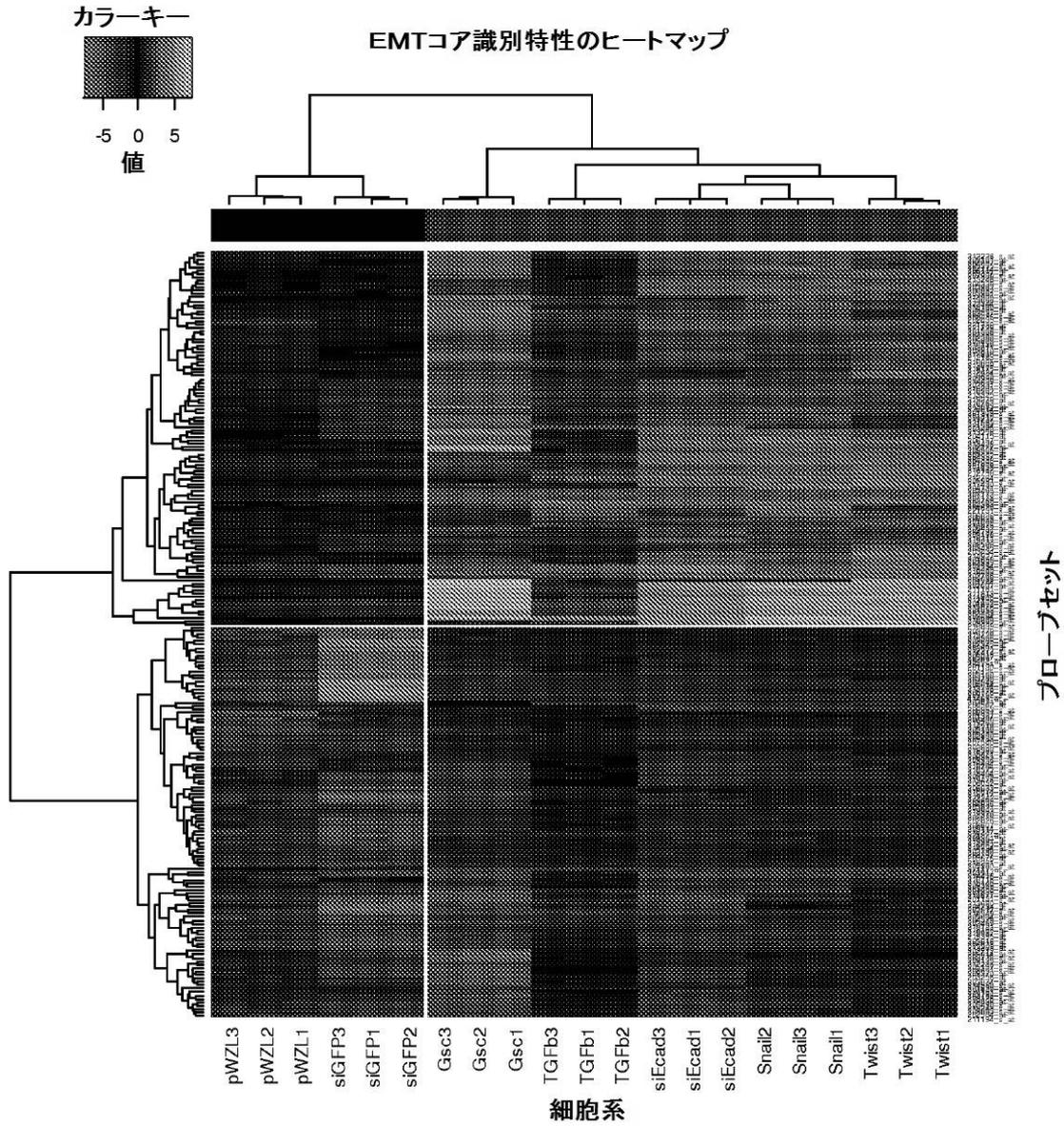
11. Horwitz, K.B., and Sartorius, C.A. (2008). Progestins in hormone replacement therapies reactivate cancer stem cells in women with preexisting breast cancers: a hypothesis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 93, 3295-3298.  
Mani, S.A., Guo, W., Liao, M.J., Eaton, E.N., Ayyanan, A., Zhou, A.Y., Brooks, M., Reinhard, F., Zhang, C.C., Shipitsin, M., *et al.* (2008). The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 133, 704-715.
12. Morel, A.P., Lievre, M., Thomas, C., Hinkal, G., Ansieau, S., and Puisieux, A. (2008). Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS ONE* 3, e2888. 10
13. Thomson, S., Buck, E., Petti, F., Griffin, G., Brown, E., Ramnarine, N., Iwata, K.K., Gibson, N., and Haley, J.D. (2005). Epithelial to mesenchymal transition is a determinant of sensitivity of non-small-cell lung carcinoma cell lines and xenografts to epidermal growth factor receptor inhibition. *Cancer research* 65, 9455-9462.
14. Yang, A.D., Fan, F., Camp, E.R., van Buren, G., Liu, W., Somcio, R., Gray, M.J., Cheng, H., Hoff, P.M., and Ellis, L.M. (2006). Chronic oxaliplatin resistance induces epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 12, 4147-4153.
15. Yang, J., Mani, S.A., Donaher, J.L., Ramaswamy, S., Itzykson, R.A., Come, C., Savagner, P., Gitelman, I., Richardson, A., and Weinberg, R.A. (2004). Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell* 117, 927-939. 20
16. Yauch, R.L., Januario, T., Eberhard, D.A., Cavet, G., Zhu, W., Fu, L., Pham, T.Q., Soriano, R., Stinson, J., Seshagiri, S., *et al.* (2005). Epithelial versus mesenchymal phenotype determines in vitro sensitivity and predicts clinical activity of erlotinib in lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 11, 8686-8698.
17. Taube, J.H., Herschkowitz, J.I., Komurov, K., Zhou, A.Y., Gupta, S., Yang, J., Hartwell, K., Onder, T.T., Gupta, P.B., Evans, K.W., Hollier, B.G., Ram, P.T., Lander, E.S., Rosen, J.M., Weinberg, R.A., Mani, S.A. (2010). A Core EMT Interactome Gene Expression Signature is Associated with Claudin-Low and Metaplastic Breast Cancer Subtypes. *Proc. Natl Acad. Sci* 107, 15449-15454. 30

## 他の実施形態

本発明は、その詳細な説明と一緒に記載されているが、先の記載は、本発明を説明することを企図するものであり、添付の特許請求の範囲で規定される本発明の範囲を限定しない。他の局面、利点および改変は、以下の特許請求の範囲の範囲内である。

【 図 1 】

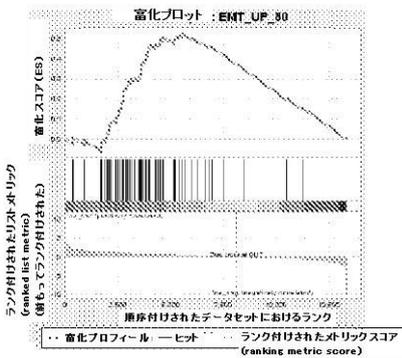
Figure 1. 5つのEMT誘導因子(Goosecoid、TGFB、Snail、TwistまたはE-カドヘリンに対するshRNA)のうちの1つを発現するかまたは2つの対照ベクター(pWZL、GFPに対するshRNA)を発現する三連で培養された細胞からの遺伝子発現データのヒートマップまとめ。凡例は、相対的遺伝子発現を、対数スケール(底2)で示す。



【 図 2 】

Figure 2. 表1の遺伝子のサブセットを用いた遺伝子セット富化分析。パクリタキセルで処置されたHMLE Rがん細胞におけるEMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_UP\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_UP遺伝子セットのそれぞれが、パクリタキセル処置後の細胞におけるその発現において富化されることを表す。

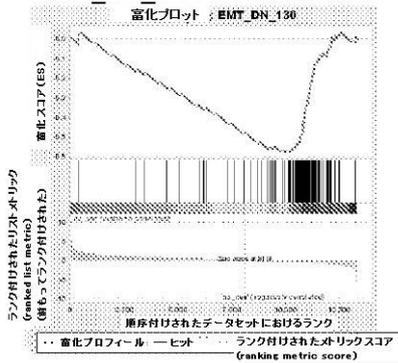
名称	サイズ	ES	NES	NOM p- 値	FDR q- 値	FWER p-値	最大における ランク
EMT_UP_80	76	0.522935	1.92939	0	0.003285	0.005	5515
EMT_UP_104	99	0.500472	1.924711	0	0.001926	0.006	5526
EMT_UP_90	85	0.50503	1.889975	0	0.00151	0.007	5515
EMT_UP_70	67	0.518918	1.88781	0	0.001303	0.008	5515
EMT_UP_50	48	0.536939	1.850847	0.001209	0.001576	0.012	4661
EMT_UP_60	58	0.505654	1.795157	0.003525	0.003264	0.03	5515
EMT_UP_40	38	0.535084	1.754489	0	0.005231	0.055	4661
EMT_UP_30	28	0.559642	1.708648	0.006536	0.007566	0.09	4484
EMT_UP_20	19	0.577143	1.6284	0.018919	0.018645	0.226	4248
EMT_UP_8	8	0.603088	1.352689	0.123529	0.157792	0.919	3989
EMT_UP_10	10	0.562524	1.348234	0.12908	0.146922	0.922	5684
EMT_UP_9	9	0.560786	1.331708	0.141104	0.14896	0.94	5684
EMT_UP_7	7	0.586305	1.268887	0.171254	0.199854	0.979	3989
EMT_UP_6	6	0.562695	1.164574	0.274809	0.310673	0.999	3989
EMT_UP_5	5	0.554087	1.091047	0.380328	0.395506	1	3676
EMT_UP_4	4	0.574753	1.03593	0.461912	0.454432	1	3676
EMT_UP_3	3	0.573359	0.960775	0.558574	0.538671	1	5684



【 図 3 】

Figure 3. 表2の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。パクリタキセルで処置したHMLERがん細胞における非EMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_DN\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_DN遺伝子セットのそれぞれが、パクリタキセルで処置した細胞と比較して、DMSO対照で処置した細胞においてその発現が富化されることを表す。

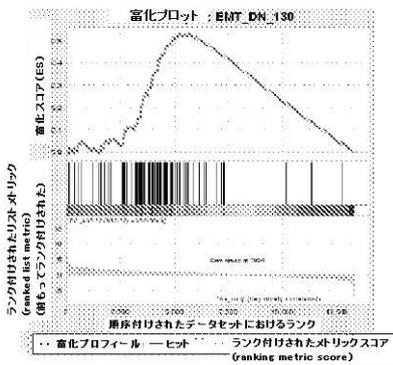
名称	サイズ	ES	NES	NOM p-値	FDR q-値	FWER p-値	最大におけるランク
EMT_DN_130	121	-0.58215207	-3.1610973	0	0	0	3185
EMT_DN_154	142	-0.5713643	-3.0826223	0	0	0	3185
EMT_DN_80	74	-0.6460526	-3.0486538	0	0	0	3359
EMT_DN_70	66	-0.6338315	-3.0462253	0	0	0	3359
EMT_DN_60	56	-0.64297324	-2.9778385	0	0	0	3185
EMT_DN_110	101	-0.5870714	-2.9682236	0	0	0	3185
EMT_DN_30	28	-0.7453484	-2.9486847	0	0	0	3004
EMT_DN_50	48	-0.641937	-2.8132331	0	0	0	3185
EMT_DN_40	38	-0.65613294	-2.6983163	0	0	0	3185
EMT_DN_20	19	-0.7756728	-2.689126	0	0	0	3004
EMT_DN_10	10	-0.776726	-2.1694849	0	0	0	2983
EMT_DN_9	9	-0.7766677	-2.1080527	0	0	0	2983
EMT_DN_8	8	-0.7766093	-2.0339713	0	4.18E-04	0.003	2983
EMT_DN_7	7	-0.776551	-1.892023	0.005865	0.003893	0.028	2983
EMT_DN_6	6	-0.77649266	-1.7983042	0.010929	0.007785	0.06	2983
EMT_DN_5	5	-0.77643436	-1.7319595	0.014815	0.014119	0.11	2983
EMT_DN_4	4	-0.77637607	-1.5863879	0.043597	0.036878	0.261	2983
EMT_DN_3	3	-0.7763177	-1.431583	0.098985	0.084635	0.512	2983



【 図 4 】

**Figure 4.** 表2の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。サリノマイシンで処置したHMLERがん細胞における非EMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_DN\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_DN遺伝子セットのそれぞれが、対照処置と比較して、サリノマイシン処置後の細胞においてその発現が富化されることを表す。

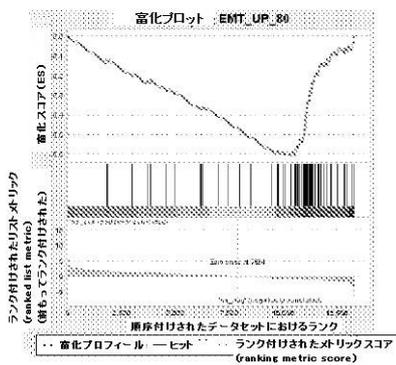
名称	サイズ	ES	NES	NOM p-値	FDR q-値	FWER p-値	最大におけるランク
EMT_DN_130	121	0.532034	2.295672	0	0	0	5667
EMT_DN_154	142	0.524982	2.2923	0	0	0	5266
EMT_DN_110	101	0.52669	2.188407	0	0	0	5266
EMT_DN_80	74	0.53614	2.150287	0	0	0	5266
EMT_DN_70	66	0.529114	2.10832	0	0	0	5242
EMT_DN_40	38	0.587151	2.065463	0	0	0	5140
EMT_DN_60	56	0.540175	2.062206	0	0	0	5140
EMT_DN_50	48	0.538897	2.01651	0	1.80E-04	0.002	5140
EMT_DN_30	28	0.575065	1.904777	0.002581	9.91E-04	0.012	5140
EMT_DN_20	19	0.605203	1.860056	0.001374	0.001589	0.022	5140
EMT_DN_10	10	0.614529	1.605491	0.035139	0.02395	0.321	5140
EMT_DN_9	9	0.614483	1.507118	0.056213	0.049624	0.585	5140
EMT_DN_8	8	0.617667	1.446143	0.074695	0.071368	0.743	5097
EMT_DN_7	7	0.617621	1.407314	0.1	0.088101	0.827	5097
EMT_DN_6	6	0.634397	1.390016	0.104688	0.091826	0.87	4873
EMT_DN_5	5	0.63435	1.299756	0.1616	0.1471	0.971	4873
EMT_DN_4	4	0.634302	1.201039	0.237856	0.232046	1	4873
EMT_DN_3	3	0.634254	1.105754	0.348797	0.332651	1	4873



## 【 図 5 】

**Figure 5.** 表1の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。サリノマイシンで処置したHMLERがん細胞におけるEMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT\_UP\_NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT\_UP遺伝子セットのそれぞれが、サリノマイシンで処置された細胞と比較して、DMSO対照で処置される細胞においてその発現が富化されることを表す。

名称	サイズ	ES	NES	NOM p- 値	FDR q- 値	FWER p- 値	最大における ランク
EMT_UP_80	76	-0.61142987	-3.2842364	0	0	0	2970
EMT_UP_70	67	-0.60713154	-3.231242	0	0	0	2970
EMT_UP_104	98	-0.55136406	-3.165407	0	0	0	2970
EMT_UP_50	48	-0.63770086	-3.1535225	0	0	0	2970
EMT_UP_90	84	-0.57759446	-3.0912955	0	0	0	2970
EMT_UP_60	58	-0.6067295	-3.0187309	0	0	0	2766
EMT_UP_30	28	-0.69328326	-2.8989406	0	0	0	3259
EMT_UP_40	38	-0.6340092	-2.7743602	0	0	0	2970
EMT_UP_20	19	-0.7117219	-2.635718	0	0	0	2970
EMT_UP_10	10	-0.7777026	-2.3185403	0	3.40E-04	0.001	2970
EMT_UP_9	9	-0.7776443	-2.2119238	0	4.64E-04	0.002	2970
EMT_UP_8	8	-0.7956133	-2.1742134	0	5.67E-04	0.003	2730
EMT_UP_7	7	-0.79555357	-2.0738318	0	9.15E-04	0.006	2730
EMT_UP_5	5	-0.8250225	-1.9207735	0	0.004363	0.032	2336
EMT_UP_6	6	-0.7954938	-1.9106125	0	0.004328	0.034	2730
EMT_UP_4	4	-0.8249606	-1.7625535	0.010101	0.012579	0.099	2336
EMT_UP_3	3	-0.8248986	-1.5545902	0.055156	0.046163	0.327	2336



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/US2011/046325</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
<i>C12Q 1/68(2006.01); G01N 33/15(2006.01);</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q 1/68		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal), Pubmed		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PAN, S. et al. 'Quantitative proteomics analysis integrated with microarray data reveals that extracellular matrix proteins, catenins, and p53 binding protein 1 are important for chemotherapy response in ovarian cancers' OMICS, Vol.13(4), pp.345-354 (August 2009)	1-3,8,42-44,51-54
Y	See the abstract, Table 1.	4-7,9-11,45-50 ,55-61
A		12-15,36-41
X	MATHIAS, R. A. et al. 'Extracellular remodelling during oncogenic Ras-induced epithelial-mesenchymal transition facilitates MDCK cell migration' Journal of Proteome Research. Vol.9(2), pp.1007-1019 (5 February 2010)	36-40
Y	See the abstract.	4-7,9-15,41,45-50 ,55-61
A		1-3,8,36-40,42-44 ,51-54
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 21 MAY 2012 (21.05.2012)		Date of mailing of the international search report <b>21 MAY 2012 (21.05.2012)</b>
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer KIM, JI YUN Telephone No. 82-42-481-8288 

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/US2011/046325****Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See Extra sheet.

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-15, 36-61 (all partially)

**Remark on Protest**

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2011/046325

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SARKAR, F. H. et al. 'Pancreatic cancer stem cells and EMT in drug resistance and metastasis' Minerva Chirurgica. Vol.64(5), pp.489-500 (October 2009)	4-7,9-15,41,45-50 ,55-61
A	See the abstract.	1-3,8,36-40,42-44 ,51-54
A	NEWTON, T. R. et al. 'Expression profiling correlates with treatment response in women with advanced serous epithelial ovarian cancer' International Journal of Cancer. Vol.119(4), pp.875-883 (15 August 2006) See the abstract.	1-15,36-61
A	HOLLIER, B. G. et al. 'The epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells: a coalition against cancer therapies' Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia. Vol.14(19), pp.29-43 (26 February 2009) See the abstract.	1-15,36-61
A	KONECNY, G. E. et al. 'Activity of lapatinib a novel HER2 and EGFR dual kinase inhibitor in human endometrial cancer cells' British Journal of Cancer. Vol.98(6), pp. 1076-1084 (11 March 2008) See the abstract.	1-15,36-61

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
**PCT/US2011/046325**

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
None			

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

**PCT/US2011/046325**

This International Searching Authority found multiple inventions in this application, as follows:

Invention 1: A method for predicting the likelihood that a patient's epithelial cancer will respond to a standard-of-care therapy, following surgical removal of the primary tumor, by determining the expression level in cancer of DCN (claims 1-15 and 36-61, all partially).

Invention 2~258 : same as Invention 1, but relating to the genes listed in Table 1 or Table 2 other than DCN (i.e. COL3A1, COL1A2...TBX3 in Table 1, and SERPINB2, TACSTD1,... PERP in Table 2). (claims 1-61, all partially)

The common technical feature among inventions 1-258 is 'a method for determining whether epithelial cancer patient will respond to a standard-of-care therapy, following surgical removal of the primary tumor, by determining the expression level of a marker gene.

However, KONECNY, G. E. et al. and other prior art documents disclose several biomarkers, the levels of which are predictors of clinical outcomes. Thus, the common technical feature is not considered to contribute over the prior art as a whole and the present application does not meet the requirements of unity of invention (Rule 13.1 PCT).

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(72)発明者 グプタ, ピュッシュ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02114, ボストン, ホウソーン プレイス 9, アpartment 10ビー

(72)発明者 オンダー, テイマー ティー.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, メモリアル ドライブ 100, アpartment 8-5エー

(72)発明者 ランダー, エリック エス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02138, ケンブリッジ, フェイヤーウェザー ストリート 74アール

(72)発明者 ワインバーグ, ロバート

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02446, ブルックライン, コプリー ストリート 25

(72)発明者 マニ, センデュライ

アメリカ合衆国 テキサス 77025, ヒューストン, プレイズメイン ドライブ 8333, アpartment 1427

Fターム(参考) 4B063 QA01 QA13 QA18 QA19 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR55

QR62 QS32 QX01