

(19) 日本国特許庁 (JP)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-518426

(P2019-518426A)

(43) 公表日 令和1年7月4日 (2019.7.4)

|                                     |                        |             |
|-------------------------------------|------------------------|-------------|
| (51) Int. Cl.                       | F I                    | テーマコード (参考) |
| <b>C 1 2 Q 1/6869 (2018.01)</b>     | C 1 2 Q 1/6869 Z N A Z | 2 G O 4 5   |
| <b>G O 1 N 33/50 (2006.01)</b>      | G O 1 N 33/50 P        | 4 B O 6 3   |
| <b>G O 1 N 33/68 (2006.01)</b>      | G O 1 N 33/68          | 4 C O 8 4   |
| <b>G O 1 N 37/00 (2006.01)</b>      | G O 1 N 37/00 1 O 2    | 4 C O 8 6   |
| <b>C 1 2 Q 1/6837 (2018.01)</b>     | C 1 2 Q 1/6837 Z       | 4 C 2 O 6   |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く |                        |             |

|               |                              |          |                                             |
|---------------|------------------------------|----------|---------------------------------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2018-554110 (P2018-554110) | (71) 出願人 | 509012625                                   |
| (86) (22) 出願日 | 平成29年4月11日 (2017.4.11)       |          | ジェネンテック, インコーポレイテッド                         |
| (85) 翻訳文提出日   | 平成30年12月6日 (2018.12.6)       |          | アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス サンフランシスコ ディーエヌエー ウェイ 1 |
| (86) 国際出願番号   | PCT/US2017/026941            | (74) 代理人 | 110002077                                   |
| (87) 国際公開番号   | W02017/180581                |          | 園田・小林特許業務法人                                 |
| (87) 国際公開日    | 平成29年10月19日 (2017.10.19)     | (72) 発明者 | ケルアック, ダニエル クリストファー                         |
| (31) 優先権主張番号  | 62/323, 210                  |          | アメリカ合衆国 カリフォルニア 948                         |
| (32) 優先日      | 平成28年4月15日 (2016.4.15)       |          | 0-4990, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1         |
| (33) 優先権主張国   | 米国 (US)                      | (72) 発明者 | ワグル, マリー-クレール                               |
|               |                              |          | アメリカ合衆国 カリフォルニア 940                         |
|               |                              |          | 80-4990, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1        |
|               |                              |          | 最終頁に続く                                      |

(54) 【発明の名称】 がんの診断及び治療方法

## (57) 【要約】

本発明は、がんのための診断及び治療方法ならびに組成物を提供する。本発明は、がん罹患している患者が、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に応答する可能性が高いかどうかを決定する方法、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に対するがん罹患している患者の応答性を予測する方法、がん罹患している患者のための治療法を選択する方法、ならびに本発明のバイオマーカーの発現レベル（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の発現レベル）に基づいてがんを治療する方法を提供する。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

1 つ以上の M A P K（分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ）シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得るがんに罹患している患者を特定する方法であって、前記患者から得られた試料中の D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から成る群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、前記試料中の前記少なくとも 1 つの遺伝子の増加した発現レベルが、1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療が有効であり得る者として前記患者を特定する、前記方法。

10

## 【請求項 2】

がん罹患している患者の治療に対する治療有効性を最適化する方法であって、前記患者から得られた試料中の D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から成る群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、前記試料中の前記少なくとも 1 つの遺伝子の増加した発現レベルが、前記患者が 1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す、前記方法。

## 【請求項 3】

1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療に対するがん罹患している患者の応答性を予測する方法であって、前記患者から得られた試料中の D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から成る群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、前記試料中の前記少なくとも 1 つの遺伝子の増加した発現レベルが、前記患者が 1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す、前記方法。

20

## 【請求項 4】

がん罹患している患者に対する治療を選択する方法であって、前記患者から得られた試料中の D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から成る群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、前記試料中の前記少なくとも 1 つの遺伝子の増加した発現レベルが、前記患者が 1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す、前記方法。

30

## 【請求項 5】

前記方法が、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から選択される少なくとも 4 つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む、請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記少なくとも 4 つの遺伝子が、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、及び S P R Y 4 を含む、請求項 5 に記載の方法。

40

## 【請求項 7】

前記方法が、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から選択される少なくとも 5 つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む、請求項 5 または 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記少なくとも 5 つの遺伝子が、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、及び P H L D A 1 を含む、請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記方法が、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V

50

5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される少なくとも6つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む、請求項5～8のいずれか1項に記載の方法。

【請求項10】

前記少なくとも6つの遺伝子が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、及びETV5を含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記方法が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される少なくとも7つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む、請求項5～10のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項12】

前記少なくとも7つの遺伝子が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、及びDUSP4を含む、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記方法が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される少なくとも8つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む、請求項5～12のいずれか1項に記載の方法。

【請求項14】

前記少なくとも8つの遺伝子が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、及びCCND1を含む、請求項13に記載の方法。

20

【請求項15】

前記方法が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される少なくとも9つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む、請求項5～14のいずれか1項に記載の方法。

【請求項16】

前記少なくとも9つの遺伝子が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、及びEPHA2を含む、請求項15に記載の方法。

30

【請求項17】

前記方法が、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の発現レベルを決定することを含む、請求項5～16のいずれか1項に記載の方法。

【請求項18】

MAPK活性スコアを決定することをさらに含み、前記MAPK活性スコアが、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

40

に従って決定され、式中、 $z_i$ は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された各遺伝子のzスコアであり、nは、前記セットを構成する遺伝子の数である、請求項1～17のいずれか1項に記載の方法。

【請求項19】

MAPK活性スコア中央値よりも高いMAPK活性スコアが、高いMAPK活性スコアであり、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

MAPK活性スコア中央値よりも低いMAPK活性スコアが、低いMAPK活性スコア

50

であり、1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が低い患者を特定する、請求項18に記載の方法。

【請求項21】

前記患者が、高いM A P K活性スコアを有し、前記方法が、前記患者に、治療有効量の1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を投与することをさらに含む、請求項1～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項22】

前記1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤の前記投与が、前記少なくとも1つの遺伝子の前記発現レベルの前記決定後である、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

前記1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤の前記投与が、前記少なくとも1つの遺伝子の前記発現レベルの前記決定前である、請求項21に記載の方法。

【請求項24】

がん罹患している患者を治療する方法であって、前記患者に、治療有効量の1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を投与することを含み、前記患者から得られた試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して増加することが判定されている、前記方法。

【請求項25】

少なくとも4つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項24に記載の方法。

【請求項26】

D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、及びS P R Y 4の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

少なくとも5つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25または26に記載の方法。

【請求項28】

D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、及びP H L D A 1の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

少なくとも6つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25～28のいずれか1項に記載の方法。

【請求項30】

D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、及びE T V 5の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

少なくとも7つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25～30のいずれか1項に記載の方法。

【請求項32】

D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、及びD U S P 4の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

少なくとも8つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25～32のいずれか1項に記載の方法。

【請求項34】

D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P

10

20

30

40

50

4、及びCCND1の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加すると判定される、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記少なくとも9つの遺伝子の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25～34のいずれか1項に記載の方法。

【請求項36】

DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、及びEPHA2の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項35に記載の方法。

【請求項37】

10

DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の発現レベルが、参照レベルと比較して、前記患者試料中で増加することが判定されている、請求項25～36のいずれか1項に記載の方法。

【請求項38】

高いMAPK活性スコアが、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

に従って、前記患者に対して決定されており、式中、 $z_i$ は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された各遺伝子のzスコアであり、 $n$ は、前記セットを構成する遺伝子の数であり、前記高いMAPK活性スコアが、前記MAPK活性スコア中央値よりも高く、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する、請求項24～37のいずれか1項に記載の方法。

20

【請求項39】

前記MAPK活性スコア中央値が、前記がんに対して予め定義されたMAPK活性スコア中央値である、請求項19～23及び38のいずれか1項に記載の方法。

【請求項40】

前記予め定義されたMAPK活性スコア中央値が、前記がん罹患している患者からの複数の試料から判定される、請求項39に記載の方法。

30

【請求項41】

前記患者から得られた前記試料が、組織試料、全血試料、血漿試料、または血清試料である、請求項1～40のいずれか1項に記載の方法。

【請求項42】

前記組織試料が、腫瘍組織試料である、請求項41に記載の方法。

【請求項43】

前記発現レベルが、mRNA発現レベルである、請求項1～42のいずれか1項に記載の方法。

【請求項44】

40

前記mRNA発現レベルが、RNA-Seq、PCR、RT-PCR、遺伝子発現プロファイリング、遺伝子発現の連続分析、マイクロアレイ分析、または全ゲノム配列決定によって決定される、請求項43に記載の方法。

【請求項45】

前記mRNA発現レベルが、RNA-Seqによって決定される、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

前記発現レベルが、タンパク質発現レベルである、請求項1～42のいずれか1項に記載の方法。

【請求項47】

50

前記がんが、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、子宮頸癌、腹膜癌、膵臓癌、膠芽腫、肝臓癌、膀胱癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肛門癌、陰茎癌、及び頭頸部癌から成る群から選択される、請求項 1～46 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 48】

前記がんが、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌から成る群から選択される、請求項 1～47 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 49】

前記がんが、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、または胃癌である、請求項 48 に記載の方法。

10

【請求項 50】

前記がんが、肺癌である、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

前記肺癌が、非小細胞肺癌（NSCLC）である、請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記がんが、皮膚癌である、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 53】

前記皮膚癌が、黒色腫である、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

前記黒色腫が、転移性黒色腫である、請求項 53 に記載の方法。

20

【請求項 55】

前記黒色腫が、局所進行性黒色腫である、請求項 53 に記載の方法。

【請求項 56】

前記 1 つ以上の MAPK シグナル伝達阻害剤が、MEK 阻害剤、ERK 阻害剤、BRAF 阻害剤、CRAF 阻害剤、RAF 阻害剤、またはこれらの組み合わせから成る群から選択される、請求項 1～55 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 57】

MEK 阻害剤が、コビメチニブ、トラメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、ピマセチニブ、レファメチニブ、GDC-0623、PD-0325901、及び BI-847325、またはその薬学的に許容される塩から成る群から選択される、請求項 56 に記載の方法。

30

【請求項 58】

前記 MEK 阻害剤が、コビメチニブまたはコビメチニブヘミフマレートである、請求項 57 に記載の方法。

【請求項 59】

前記 ERK 阻害剤が、ラボキセルチニブ（GDC-0994）、ウリキセルチニブ（BVD-523）、またはその薬学的に許容される塩である、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 60】

前記 ERK 阻害剤が、ラボキセルチニブまたはラボキセルチニブベシレート（ラボキセルチニブ besylate）である、請求項 59 に記載の方法。

40

【請求項 61】

前記 BRAF 阻害剤が、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、エコラフェニブ（LGX818）、GDC-0879、XL281、ARQ736、PLX3603、RAF265、及びソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩から成る群から選択される、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 62】

前記 BRAF 阻害剤が、ベムラフェニブである、請求項 61 に記載の方法。

【請求項 63】

前記 MAPK シグナル伝達阻害剤が、CRAF 阻害剤である、請求項 56 に記載の方法。

50

## 【請求項 64】

前記 R A F 阻害剤が、汎 R A F 阻害剤である、請求項 56 に記載の方法。

## 【請求項 65】

前記汎 R A F 阻害剤が、L Y-3009120、H M95573、L X H-254、M L N2480、B e i G e n e-283、R X D X-105、B A L3833、レゴラフェニブ、及びソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩から成る群から選択される、請求項 64 に記載の方法。

## 【請求項 66】

前記患者に、さらなる治療剤を投与することをさらに含む、請求項 1～65 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

## 【請求項 67】

前記さらなる治療剤が、さらなる M A P K シグナル伝達阻害剤である、請求項 66 に記載の方法。

## 【請求項 68】

前記 M A P K シグナル伝達阻害剤が、併用投与される、請求項 67 に記載の方法。

## 【請求項 69】

前記 M A P K シグナル伝達阻害剤が、連続的に投与される、請求項 67 に記載の方法。

## 【請求項 70】

前記方法が、コビメチニブ及びベムラフェニブ、またはそれらの薬学的に許容される塩を投与することを含む、請求項 67～69 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

## 【請求項 71】

前記さらなる治療剤が、抗癌剤である、請求項 66 に記載の方法。

## 【請求項 72】

前記抗癌剤及び前記 1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤が、併用投与される、請求項 71 に記載の方法。

## 【請求項 73】

前記抗癌剤及び前記 1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤が、連続的に投与される、請求項 71 に記載の方法。

## 【請求項 74】

前記抗癌剤が、化学療法剤、成長阻害剤、細胞毒性剤、放射線療法で使用される薬剤、抗血管新生剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及び免疫療法剤から成る群から選択される、請求項 71～73 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

## 【請求項 75】

前記抗癌剤が、化学療法剤である、請求項 74 に記載の方法。

## 【請求項 76】

1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得る患者を特定するためのキットであって、

(a) D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から成る群から選択される少なくとも 1 つの遺伝子の発現レベルを決定することができるポリペプチドまたはポリヌクレオチドと、

40

(b) 1 つ以上の M A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得る患者を特定するために、前記ポリペプチドまたはポリヌクレオチドを使用するための取扱説明書と、を含む、前記キット。

## 【請求項 77】

D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 から成る群から選択される少なくとも 4 つの遺伝子の発現レベルを決定することができるポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む、組成物。

## 【発明の詳細な説明】

50

## 【技術分野】

## 【0001】

## 配列表

本出願は、A S C I I 形式で電子的に提出された配列表を含み、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。2017年4月10日に作成された前記A S C I I コピーは、50474-133WO2\_\_Sequence\_\_Listing\_\_4\_\_10\_\_17\_\_ST25と命名され、100,570バイトの大きさである。

## 【0002】

本発明は、M A P K（例えば、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ）シグナル伝達阻害剤を使用して増殖性細胞障害（例えば、がん）の治療のための診断及び治療方法に関する。関連キット及び組成物も提供される。

10

## 【背景技術】

## 【0003】

がんは、依然としてヒトの健康に対する最も死に至る危険のある脅威のうちの1つである。ある特定のがんは、制御されていない様式で転移し、急速に成長し、適時検出及び治療を極めて困難にし得る。米国では、がんは、毎年130万人近くの新たな患者を侵し、心疾患に続く死因の第2位であり、これは4つの死因のうちのほぼ1つを占める。分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（M A P K）シグナル伝達経路は、30%超のヒトがんにおいて、最も一般的には、K R A S 及び／またはB R A F の変異を介して経路のM E K / E R K アームにおいて活性化する。R A S 変異は、膵臓腫瘍の90%、肺腺癌（非小細胞肺癌（N S C L C））腫瘍の35%、結腸直腸腫瘍の45%、及び黒色腫瘍の15%の頻度で生じる。B R A F 変異は、黒色腫瘍の66%及び結腸直腸腫瘍の12%で生じる。K R A S 変異を有する腫瘍は、M A P K シグナル伝達の活性化により、M E K 阻害に対して感受性があると予測された。しかしながら、単剤療法としてまたは化学療法と組み合わせた、複数の臨床試験におけるM E K 阻害剤は、K R A S 野生型サブグループと比較して、K R A S 変異サブグループにおいて優れた有効性を示さず、これは、M E K 阻害剤感受性の予測バイオマーカーとしてK R A S 変異状態を利用する限界を示す。加えて、K R A S 変異状態に基づいた層化は、K R A S 変異状態から独立して、M A P K シグナル伝達に依存し得る野生型K R A S 腫瘍をうっかり見落とす可能性がある。

20

## 【0004】

30

したがって、依然として、1つ以上のM A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療に最も適している患者集団を診断及び治療するための改善された代替方法を開発する必要がある。

## 【発明の概要】

## 【0005】

本発明は、増殖性細胞障害（例えば、がん）の治療のための診断及び治療方法、キット、及び組成物を提供する。

## 【0006】

第1の態様では、本発明は、1つ以上のM A P K（分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ）シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得るがん罹患している患者を特定する方法を特徴とし、本方法は、患者から得られた試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、試料中の少なくとも1つの遺伝子の増加した発現レベルが、1つ以上のM A P K シグナル伝達阻害剤を含む治療が有効であり得る者として患者を特定する。

40

## 【0007】

第2の態様では、本発明は、がん罹患している患者の治療に対する治療有効性を最適化する方法を特徴とし、本方法は、患者から得られた試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2

50

、及びE P H A 4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、試料中の少なくとも1つの遺伝子の増加した発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、試料中の少なくとも1つの遺伝子の増加した発現レベルは、患者が、1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す。

#### 【0008】

第3の態様では、本発明は、1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を含む治療に対してがん罹患している患者の応答性を予測する方法を特徴とし、本方法は、患者から得られた試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、試料中の少なくとも1つの遺伝子の増加した発現レベルは、患者が、1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す。

#### 【0009】

第4の態様では、本発明は、がん罹患している患者に対する治療を選択する方法を特徴とし、本方法は、患者から得られた試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することを含み、参照レベルと比較して、試料中の少なくとも1つの遺伝子の増加した発現レベルは、患者が、1つ以上のM A P Kシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す。

#### 【0010】

第1、第2、第3、及び第4の態様のうちのいずれか1つのいくつかの実施形態では、本方法は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択される少なくとも4つの遺伝子（例えば、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも4つの遺伝子は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、及びS P R Y 4を含む。他の実施形態では、本方法は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択される少なくとも5つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも5つの遺伝子は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、及びP H L D A 1を含む。他の実施形態では、本方法は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択される少なくとも6つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも6つの遺伝子は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、及びE T V 5を含む。他の実施形態では、本方法は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択される少なくとも7つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも7つの遺伝子は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、及びD U S P 4を含む。他の実施形態では、本方法は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択される少なくとも8つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも8つの遺伝子は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、及びC C N D 1を含む。他の実施形態では、本方法は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A

2、及びEPHA4から選択される少なくとも9つの遺伝子の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも9つの遺伝子は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、及びEPHA2を含む。他の実施形態では、本方法は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の発現レベルを決定することを含む。

#### 【0011】

第1、第2、第3、及び第4の態様のうちのいずれか1つの他の実施形態では、本方法は、MAPK活性スコアを決定することをさらに含み、MAPK活性スコアは、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

に従って決定され、式中、 $z_i$ は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された各遺伝子のzスコアであり、 $n$ は、セットを構成する遺伝子の数である。いくつかの実施形態では、MAPK活性スコア中央値よりも高いMAPK活性スコアが、高いMAPK活性スコアであり、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。他の実施形態では、MAPK活性スコア中央値よりも低いMAPK活性スコアが、低いMAPK活性スコアであり、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が低い患者を特定する。いくつかの実施形態では、患者は、高いMAPK活性スコアを有し、本方法は、患者に、治療有効量の1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤の投与は、少なくとも1つの遺伝子の発現レベルの決定後である。いくつかの実施形態では、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤の投与は、少なくとも1つの遺伝子の発現レベルの決定前である。

#### 【0012】

第5の態様では、本発明は、がん罹患している患者を治療する方法を特徴とし、患者に、治療有効量の1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含み、患者から得られた試料中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルが、参照レベルと比較して増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、少なくとも4つの遺伝子の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、及びSPRY4の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。他の実施形態では、少なくとも5つの遺伝子の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、及びPHLDA1の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。他の実施形態では、少なくとも6つの遺伝子の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、及びETV5の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。他の実施形態では、少なくとも7つの遺伝子の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、及びDUSP4の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。他の実施形態では、少なくとも8つの遺伝子の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、及びCCND1の発現レベルは、参

10

20

30

40

50

照レベルと比較して、患者試料中で増加すると判定される。他の実施形態では、少なくとも9つの遺伝子の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。いくつかの実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、及びEPHA2の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。他の実施形態では、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の発現レベルは、参照レベルと比較して、患者試料中で増加することが判定されている。

#### 【0013】

第5の態様のいくつかの実施形態では、高いMAPK活性スコアは、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

に従って、患者に対して決定され、式中、 $z_i$ は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された各遺伝子のzスコアであり、 $n$ は、当該セットを構成する遺伝子の数であり、高いMAPK活性スコアは、MAPK活性スコア中央値よりも高く、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。

#### 【0014】

第1、第2、第3、第4、及び第5の態様のうちのいずれか1つのいくつかの実施形態では、MAPK活性スコア中央値は、がんに対して予め定義されたMAPK活性スコア中央値である。いくつかの実施形態では、予め定義されたMAPK活性スコア中央値は、がん罹患している患者からの複数の試料（例えば、保管された試料）から判定される。他の実施形態では、患者から得られた試料は、組織試料、全血試料、血漿試料、または血清試料である。いくつかの実施形態では、組織試料は、腫瘍組織試料である。他の実施形態では、発現レベルは、mRNA発現レベルである。いくつかの実施形態では、mRNA発現レベルは、RNA-Seq、PCR、RT-PCR、遺伝子発現プロファイリング、遺伝子発現の連続分析、マイクロアレイ分析、または全ゲノム配列決定によって決定される。いくつかの実施形態では、mRNA発現レベルは、RNA-Seqによって決定される。他の実施形態では、発現レベルは、タンパク質発現レベルである。

#### 【0015】

第1、第2、第3、第4、及び第5の態様のうちのいずれか1つの他の実施形態では、がんは、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、子宮頸癌、腹膜癌、膵臓癌、膠芽腫、肝臓癌、膀胱癌、結腸癌、直腸癌、子宮内膜癌、子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肛門癌、陰茎癌、及び頭頸部癌から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、がんは、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、または胃癌である。いくつかの実施形態では、がんは、肺癌である。いくつかの実施形態では、肺癌は、非小細胞肺癌（NSCLC）である。いくつかの実施形態では、がんは、皮膚癌である。いくつかの実施形態では、皮膚癌は、黒色腫である。いくつかの実施形態では、黒色腫は、転移性黒色腫である。いくつかの実施形態では、黒色腫は、局所進行性黒色腫である。いくつかの実施形態では、転移性黒色腫または局所進行性黒色腫は、切除不能な黒色腫である。

#### 【0016】

第1、第2、第3、第4、及び第5の態様のうちのいずれか1つのいくつかの実施形態では、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤は、MEK阻害剤、ERK阻害剤、BRAF阻害剤、CRF阻害剤、RAF阻害剤、またはこれらの組み合わせから成る群から選択される。いくつかの実施形態では、MEK阻害剤は、コビメチニブ、トラメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、ピマセチニブ、レファメチニブ、GDC-0623、PD-0325901、及びBI-847325、またはその薬学的に許容される塩から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、MEK阻害剤は、コビメチニブまたはコビメ

10

20

30

40

50

チニブヘミフマレートである。いくつかの実施形態では、ERK阻害剤は、ラボキセルチニブ（GDC-0994）、ウリキセルチニブ（BVD-523）、またはその薬学的に許容される塩である。いくつかの実施形態では、ERK阻害剤は、ラボキセルチニブまたはラボキセルチニブベシレートである。いくつかの実施形態では、BRAF阻害剤は、ベムラフェニブ、ダブラフェニブ、エコラフェニブ（LGX818）、GDC-0879、XL281、ARQ736、PLX3603、RAF265、及びソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、BRAF阻害剤は、ベムラフェニブである。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CRAF阻害剤である。いくつかの実施形態では、RAF阻害剤は、汎RAF阻害剤である。いくつかの実施形態では、汎RAF阻害剤は、LY-3009120、HM95573、LXH-254、MLN2480、BeiGene-283、RXDX-105、BAL3833、レゴラフェニブ、及びソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩から成る群から選択される。

#### 【0017】

第1、第2、第3、第4、及び第5の態様のうちのいずれか1つの他の実施形態では、本方法は、患者に、さらなる治療剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、さらなる治療剤は、さらなるMAPKシグナル伝達阻害剤である。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、併用投与される。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、連続的に投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、コビメチニブ及びベムラフェニブ、またはそれらの薬学的に許容される塩を投与することを含む。他の実施形態では、さらなる治療剤は、抗癌剤である。いくつかの実施形態では、抗癌剤及び1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤は、併用投与される。いくつかの実施形態では、抗癌剤及び1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤は、連続的に投与される。いくつかの実施形態では、抗癌剤は、化学療法剤、成長阻害剤、細胞毒性剤、放射線療法で使用される薬剤、抗血管新生剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及び免疫療法剤から成る群から選択される。いくつかの実施形態では、抗癌剤は、化学療法剤である。

#### 【0018】

第6の態様では、本発明は、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得る患者を特定するためのキットを特徴とし、キットは、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも1つの遺伝子（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することができるポリペプチドまたはポリヌクレオチドと、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療が有効であり得る患者を特定するためのポリペプチドまたはポリヌクレオチドを使用するための取扱説明書と、を含む。

#### 【0019】

第7の態様では、本発明は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも4つの遺伝子（例えば、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子）の発現レベルを決定することができるポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む組成物を特徴とする。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0020】

【図1A-B】Aは、いかにMEK阻害剤の感受性と関連した遺伝子の短いリスト及び長いリストが弾性正味モデルによって誘導されたことを示すグラフである。Bは、モデルを作製するために使用される細胞株の予測された平均生存率を、トラメチニブ及びコビメチニブの両方に対して実験的に誘導された平均生存率と相関させることによって評価される、弾性正味モデルの相互検証を示すグラフである。

【図1C-D】Cは、トラメチニブ及びコビメチニブの両方に対して予測された平均生存

率の間で高い相関を示すグラフである。Dは、トラメチニブ（右）及びコビメチニブ（左）に対する予測された平均生存率と弾性正味モデルを誘導するために使用されなかった、40の予めスクリーニングされていないNSCLC細胞株からの実験的に誘導された平均生存率との相関を示す一連のグラフである。全てのデータにおけるR値は、スピアマン相関係数を表す。

【図2A】トラメチニブ、コビメチニブのいずれかまたは薬物の両方に対して感受性と関連する短いリストに存在する遺伝子を示すダイアグラムである。モデルは、遺伝子特性セットを形成するために他の類似の相関した遺伝子で各遺伝子をグループ化する。7つの下線を引いた遺伝子特性セット（左欄）は、発現が高いMEK阻害剤感受性と相関している遺伝子を含む。14のイタリック体の遺伝子特性セット（右欄）は、発現がMEK阻害剤感受性と逆相関している遺伝子を含む。

【図2B】感受性対耐性細胞株における発現に従って遺伝子のクラスタリングを示すヒートマップである。短いリスト係数は、y軸に沿って示され、高い係数がより強い予測値を示す。発現データは、正規化された分散変換されたRNA-Seqデータであり、平均=0及び標準偏差=1を有する。

【図2C】RNA-Seqデータに由来するPHLDA1遺伝子発現と高度に相関しているPHLDA1遺伝子特性セットに存在するさらなるMAPK特異的遺伝子を含むチャートである。

【図3A】ビヒクル（中鎖トリグリセライド（MCT））、コビメチニブ（5mg/kg）、GDC-0994（60mg/kg）、またはコビメチニブ及びGDC-0994の両方の組み合わせで治療され、14日間、1日1回経口投与されたNSCLC GEMモデル（LSL-KrasG12D/+、P53FRT/FRT-アデノ-CRE）からのC57B15マウスにおけるMAPK遺伝子発現（上）及び腫瘍体積変化（下）を示す一連のグラフである。14日目の腫瘍体積変化及びRNAは、4日の治療後に、最終投与から6時間後に収集された。RNAは、MAPK遺伝子発現を測定するためにNanost ringによって分析された。データは、ベースラインからの割合の変化として腫瘍体積を示す。MAPK遺伝子発現データを、ビヒクル対照の割合として相対転写存在度として示す。

【図3B】MAPK活性スコアを生成するために凝集された10のMAPK特異的遺伝子から遺伝子発現データ（RNA-Seq）を示すグラフである。MAPK活性スコアは、肺、乳房（BRCA）、CRC（結腸直腸）、及び黒色腫（左）を含む、複数の兆候にわたってMAPK経路阻害剤（RAF、MEK、及びERK阻害剤）を含む、95の薬物に対して>1000の細胞株の感受性（平均生存率）と相関した。コビメチニブに対する、MAPK活性スコアの平行生存率への逆相関もまた、右パネルに示す。

【図3C】コビメチニブ感受性を分類するための精度（上）、受信者操作特性（ROC）曲線（左下）、及び曲線下面積（AUC）（右下）データを示す一連のグラフである。弾性正味モデル、MAPK活性スコア、及びKRAS変異状態の精度及び偽陽性（FP）／偽陰性（FN）率の比較を示す。「感受性」対「耐性」と呼び出すための閾値は、5%の区間にわたって0～100%のバイオマーカー陽性細胞によって異なった。ROC曲線は、感受性対耐性細胞株と呼び出すための閾値を同様に变化させ、各予測因子における各時点でFP及びFN率を計算することによって生成された。陰性対照として、4つの非MAPK遺伝子から算出された活性スコアもまた、比較に含まれた。ROC曲線データは、データからゼロ予測値ラインを減算することによってAUCとして要約される。

【図4A】複数の表示にわたってコビメチニブに対する>1000の細胞株の感受性（平均生存率）へのスコアを構成する各個々のMAPK特異的遺伝子からの遺伝子発現データ（RNA-Seq）の相関を示すヒートマップである。

【図4B】MAPK経路シグナル伝達阻害剤に対する>1000の細胞株の感受性（平均生存率）を有するMAPK活性スコアを構成する各個々のMAPK特異的遺伝子からの遺伝子発現データ（RNA-Seq）の相関を示すヒートマップである。

【図5A】野生型及び正常組織と比較して、変異状態：BRA F変異、RAS変異、PI

10

20

30

40

50

3 K 変異によって分類される、がんゲノムアトラス (TCGA) で表される異なる表示にわたって全ての腫瘍試料について算出されたMAPK活性スコアを示すグラフである。

【図5B】組織型によって分類される、TCGAで表される異なる変異により全ての腫瘍試料について算出されたMAPK活性スコアを示すグラフである。

【図5C】コビメチニブに対する細胞株の薬物感受性への臨床遺伝子発現を比較する一連のグラフである。TCGAに測定される、各組織型のための平均MAPK活性スコアは、全ての試料 (左上)、BRAF変異試料 (右上)、RAS変異試料 (左下)、及び野生型試料 (右下) の同じ組織型の細胞株の平均平均生存率と相関した。

【図6A】MAPK活性スコアの中央値をそれぞれ上回るまたは下回るとして分類される、MAPK-高及びMAPK-低患者の無増悪生存率 (PFS) のためのカプランマイヤー曲線を示すグラフである。その後、コックス比例ハザード回帰モデルは、ハザード比 (HR) 及び関連p値を計算するために、PFSの独立した予測因子としてMAPK-高及びMAPK-低を使用して、別々に各治療アームを適合するために使用された。

【図6B】これまで特徴付けられたベースライン遺伝子発現シグネチャ：細胞周期 (低い免疫浸潤物を有する高度に増殖性のある腫瘍) 及び免疫 (より遅い増殖を有する高度な免疫浸潤物) に従ってさらに分類された、MAPK-高及びMAPK-低患者の無増悪生存率 (PFS) のためのカプランマイヤー曲線を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0021】

#### I. 導入

本発明は、増殖性細胞障害 (例えば、がん (例えば、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌)) の治療のための診断方法、治療方法、及び組成物を提供する。本発明は、少なくとも一部分において、特定のMAPK応答性遺伝子 (例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4) の分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) 発現レベルが、MAPKシグナル伝達阻害剤 (複数可) を含む治療に対する感受性を予測する方法、MAPKシグナル伝達阻害剤 (複数可) を含む治療に対する治療の有効性を最適化する方法、がん罹患している患者におけるMAPKシグナル伝達阻害剤 (複数可) を含む治療法を選択する方法、MAPKシグナル伝達阻害剤 (複数可) を含む治療法を用いてがん罹患している患者を治療する方法において、バイオマーカー (例えば、予測バイオマーカー) として使用することができるという発見に基づいている。場合によっては、1つ以上のMAPK応答性遺伝子の発現レベルに基づいたMAPK活性スコアは、MAPKシグナル伝達阻害剤 (複数可) を含む治療に対する応答性を予測するために使用され得る。本発明はまた、高いMAPK活性スコアを有する患者が低いMAPK活性スコアを有する患者よりも良好な結果を有することが期待され得るため、予測バイオマーカーとしてMAPK応答性遺伝子の発現レベルを使用する方法も提供する。

【0022】

#### II. 定義

本明細書に記載の本発明の態様及び実施形態には、態様及び実施形態「を含む (comprising)」、「から成る (consisting)」、及び「から本質的に成る (consisting essentially of)」が含まれることが理解されるであろう。本明細書で使用される場合、特に指示がない限り、「a」、「an」、及び「the」という単数形は、複数形の引用が含まれる。

【0023】

本明細書で使用される、「約」という用語は、本技術分野の当業者に容易に公知のそれぞれの値についての、通常の誤差範囲を指す。本明細書の「約」値またはパラメータに対する言及は、その値またはパラメータ自体に関する実施形態を含む (及び記述する)。例えば、「約X」を指す説明には、「X」の説明を含む。

【0024】

「MAPKシグナル伝達経路」という用語は、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼシグナル伝達経路（例えば、RAS/RAF/MEK/ERKシグナル伝達経路）を指し、保存セリン/スレオニンタンパク質キナーゼ（例えば、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（MAPK））のファミリーを包含する。MAPK経路の異常調節は、制御されていない増殖、浸潤、転移、血管新生、及びアポトーシスの減少の一因となる。GTPasesのRASファミリーは、KRAS、HRAS、及びNRASを含む。セリン/スレオニンタンパク質キナーゼのRAFファミリーは、ARAF、BRAF、及びCRAF（RAF1）を含む。例示的なMAPKは、細胞外シグナル調節キナーゼ1及び2（すなわち、ERK1及びERK2）、c-Jun N末端キナーゼ1～3（すなわち、JNK1、JNK2、及びJNK3）、p38アイソフォーム（すなわち、p38α、p38β、p38γ、及びp38δ）、ならびにErk5を含む。さらなるMAPKは、Nemo様キナーゼ（NLK）、Erk3/4（すなわち、ERK3及びERK4）、ならびにErk7/8（すなわち、ERK7及びERK8）を含む。

#### 【0025】

「MAPKシグナル伝達阻害剤」、「MAPKシグナル伝達アンタゴニスト」、及び「MAPK経路阻害剤」、または「MAPK経路シグナル伝達阻害剤」という用語は、MAPK経路（例えば、RAS/RAF/MEK/ERK経路）を通してシグナル変換を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子を指す。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、MAPKシグナル伝達の活性化に関与する1つ以上のタンパク質の活性を阻害し得る。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、MAPKシグナル伝達の阻害に関与する1つ以上のタンパク質の活性を活性化し得る。MAPKシグナル伝達阻害剤としては、MEK阻害剤（例えば、MEK1阻害剤、MEK2阻害剤、及びMEK1及びMEK2の両方の阻害剤）、RAF阻害剤（例えば、ARAF阻害剤、BRAF阻害剤、CRAF阻害剤、及び汎RAF阻害剤（すなわち、RAFファミリーのうちの1つを超えるメンバー（すなわち、ARAF、BRAF、及びCRAFのうちの2つまたは3つ全て）を阻害するRAF阻害剤）、ならびにERK阻害剤（例えば、ERK1阻害剤及びERK2阻害剤）が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0026】

「BRAF阻害剤」または「BRAFアンタゴニスト」という用語は、BRAF活性化または機能を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子を指す。特定の実施形態では、BRAF阻害剤は、約1,000nM以下のBRAFへの結合親和性（解離定数）を有する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、約100nM以下のBRAFへの結合親和性を有する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、約50nM以下のBRAFへの結合親和性を有する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、約10nM以下のBRAFへの結合親和性を有する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、約1nM以下のBRAFへの結合親和性を有する。特定の実施形態では、BRAF阻害剤は、1,000nM以下のIC50を有するBRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、500nM以下のIC50を有するBRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、50nM以下のIC50を有するBRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、10nM以下のIC50を有するBRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、BRAF阻害剤は、1nM以下のIC50を有するBRAFシグナル伝達を阻害する。本発明に従って使用され得るBRAF阻害剤の例としては、ベムラフェニブ（ZELBORAF（登録商標））、ダブラフェニブ、エコラフェニブ（LGX818）、GDC-0879、XL281、ARQ736、PLX3603、RAF265、及びソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。BRAF阻害剤は、BRAFのみを阻害し得るか、またはBRAF及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。PCT出願公開WO2005/062795、WO2007/002325、WO2007/002433、WO2008/079903、及びWO2008/079906（これらは、

参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)に記載される、好ましいBRKF阻害剤。

#### 【0027】

「ERK阻害剤」または「ERKアンタゴニスト」という用語は、ERK（例えば、ERK1及び／またはERK2）活性化または機能を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子を指す。特定の実施形態では、ERK阻害剤は、約1,000nM以下のERKへの結合親和性（解離定数）を有する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、約100nM以下のERKへの結合親和性を有する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、約50nM以下のERKへの結合親和性を有する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、約10nM以下のERKへの結合親和性を有する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、約1nM以下のERKへの結合親和性を有する。特定の実施形態では、ERK阻害剤は、1,000nM以下のIC50を有するERKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、500nM以下のIC50を有するERKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、50nM以下のIC50を有するERKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、10nM以下のIC50を有するERKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、ERK阻害剤は、1nM以下のIC50を有するERKシグナル伝達を阻害する。本発明に従って使用され得るERK阻害剤の例としては、ラボキセルチニブ（GDC-0994）及びウリキセルチニブ（BVD-523）、またはそれらの薬学的に許容される塩（例えば、ベシル酸塩（例えば、ラボキセルチニブのベシル酸塩））が挙げられるが、これらに限定されない。ERK阻害剤は、ERKのみを阻害し得るか、またはERK及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。PCT出願公開WO2013/130976、WO2012/118850、WO2013/020062、WO2015/154674、WO2015/085007、WO2015/032840、WO2014/036015、WO2014/060395、WO2015/103137、及びWO2015/103133（これらは、それぞれ、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載される、好ましいERK阻害剤。

#### 【0028】

「MEK阻害剤」または「MEKアンタゴニスト」という用語は、MEK（例えば、MEK1及び／またはMEK2）活性化または機能を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子を指す。特定の実施形態では、MEK阻害剤は、約1,000nM以下のMEKへの結合親和性（解離定数）を有する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、約100nM以下のMEKへの結合親和性を有する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、約50nM以下のMEKへの結合親和性を有する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、約10nM以下のMEKへの結合親和性を有する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、約1nM以下のMEKへの結合親和性を有する。特定の実施形態では、MEK阻害剤は、1,000nM以下のIC50を有するMEKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、500nM以下のIC50を有するMEKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、50nM以下のIC50を有するMEKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、10nM以下のIC50を有するMEKシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、MEK阻害剤は、1nM以下のIC50を有するMEKシグナル伝達を阻害する。本発明に従って使用され得るMEK阻害剤の例としては、コビメチニブ（例えば、コビメチニブヘミフマレート、COTELLIC（登録商標））、トラメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、ピマセチニブ、レファメチニブ、GDC-0623、PD-0325901、及びBI-847325、またはその薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。MEK阻害剤は、MEKのみを阻害し得るか、またはMEK及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。PCT出願公開WO2007/044515、WO2008/024725、WO2008/024724、WO2008/067481、WO2008/157179、WO2009/085983、WO2009/085980、WO2009/0826

87、WO2010/003025、及びWO2010/003022（これらは、それぞれ、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載される、好ましいMEK阻害剤。

#### 【0029】

「CRAF阻害剤」または「CRAFアンタゴニスト」という用語は、CRAF活性化または機能を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子を指す。特定の実施形態では、CRAF阻害剤は、約1,000nM以下のCRAFへの結合親和性（解離定数）を有する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、約100nM以下のCRAFへの結合親和性を有する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、約50nM以下のCRAFへの結合親和性を有する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、約10nM以下のCRAFへの結合親和性を有する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、約1nM以下のCRAFへの結合親和性を有する。特定の実施形態では、CRAF阻害剤は、1,000nM以下のIC50を有するCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、500nM以下のIC50を有するCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、50nM以下のIC50を有するCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、10nM以下のIC50を有するCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、CRAF阻害剤は、1nM以下のIC50を有するCRAFシグナル伝達を阻害する。本発明に従って使用され得るCRAF阻害剤の例としては、ソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。CRAF阻害剤は、CRAFのみを阻害し得るか、またはCRAF及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。

#### 【0030】

「汎RAF阻害剤」または「汎RAFアンタゴニスト」という用語は、2つ以上のRAFファミリーメンバー（例えば、ARAF、BRAAF、及びCRAFのうちの2つ以上）の活性化または機能を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子を指す。一実施形態では、汎RAF阻害剤は全て、ある程度、3つのRAFファミリーメンバー（すなわち、ARAF、BRAAF、及びCRAF）を阻害する。特定の実施形態では、汎RAF阻害剤は、約1,000nM以下のARAF、BRAAF、及び／またはCRAFのうちの1つ、2つ、または3つへの結合親和性（解離定数）を有する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、約100nM以下のARAF、BRAAF、及び／またはCRAFのうちの1つ、2つ、または3つへの結合親和性を有する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、約50nM以下のARAF、BRAAF、及び／またはCRAFのうちの1つ、2つ、または3つへの結合親和性を有する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、約10nM以下のARAF、BRAAF、及び／またはCRAFのうちの1つ、2つ、または3つへの結合親和性を有する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、約1nM以下のARAF、BRAAF、及び／またはCRAFのうちの1つ、2つ、または3つへの結合親和性を有する。特定の実施形態では、汎RAF阻害剤は、1,000nM以下のIC50を有するARAF、BRAAF、及び／またはCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、500nM以下のIC50を有するARAF、BRAAF、及び／またはCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、50nM以下のIC50を有するARAF、BRAAF、及び／またはCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、10nM以下のIC50を有するARAF、BRAAF、及び／またはCRAFシグナル伝達を阻害する。別の実施形態では、汎RAF阻害剤は、1nM以下のIC50を有するARAF、BRAAF、及び／またはCRAFシグナル伝達を阻害する。本発明に従って使用され得る汎RAF阻害剤の例としては、LY-3009120、HM95573、LXH-254、MLN2480、BeiGene-283、RXDX-105、BAL3833、レゴラフェニブ、及びソラフェニブ、またはその薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。Pan-RAF阻害剤は、ARAF、BRAAF、及び／またはCRAF、ならびに1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。好ましい汎RAF阻害剤は、PCT出願公開WO201

3／100632、WO2014／151616、及びWO2015／075483（これらは、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載されている。

#### 【0031】

「遺伝子特性セット」という用語は、発現レベルが互いに直接相関する遺伝子セット（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4）を指す。本明細書で使用される場合、遺伝子特性セットは、MAPKシグナル伝達阻害に対する予測された感受性と関連し得る。

#### 【0032】

「MAPK活性スコア」という用語は、MAPK活性の測定（例えば、MAPK遺伝子の発現レベルの集計測定（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の発現レベルの集計測定））を指す。本明細書で使用される場合、MAPK活性スコアは、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

（式中、 $z_i$  は、各遺伝子のzスコアであり、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化され、nが、当該セットを構成する遺伝子の数である）に従って決定され得、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に対して効用の増加を有する患者を特定するために使用することができる。「zスコア」は、データセット（例えば、複数の試料の集団または群）にわたってバイオマーカーの発現レベルの平均値への個人バイオマーカー（例えば、個体遺伝子）の発現レベルの統計的測定値である。場合によっては、ゼロのzスコアは、バイオマーカー発現レベルが平均と同じであることを意味する。場合によっては、zスコアはまた、陽性または陰性であり得、バイオマーカー発現レベルが、それぞれ、集団平均を上回るまたは下回ることを示す。場合によっては、バイオマーカーの発現レベルは、安定レベルで発現される遺伝子のセットである。場合によっては、各遺伝子のzスコアは、100万当たりのキロベース当たりのリード（RPKM）において測定される（例えば、RNA-Seqにより）。場合によっては、使用され得るハウスキーピング遺伝子のセットは、MLH1、SMARCA4、U2AF1、及びCLTCである。場合によっては、MAPK活性スコアは、試料（例えば、がん罹患している1人以上の患者からの組織試料（例えば、腫瘍組織試料））のセットに対して決定されるMAPK活性スコア中央値よりも高い。場合によっては、MAPK活性スコア中央値よりも高いMAPK活性スコアは、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。場合によっては、MAPK活性スコア中央値よりも低いMAPK活性スコアは、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が低い患者を特定する。

#### 【0033】

「PHLDA1」という用語は、Pleckstrinホモロジー様ドメインファミリーAメンバー1を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。PHLDA1はまた、当該技術分野でPHRIPまたはTDAG51として称される。この用語は、完全長、未処理のPHLDA1、ならびに細胞内の処理から生じるPHLDA1の任意の形態を包含する。この用語は、PHLDA1の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、PHLDA1遺伝子、ヒトPHLDA1のmRNA配列（例えば、配列番号1；GenBank受入番号NM\_007350.3）、及びヒトPHLDA1のアミノ酸配列（例えば、配列番号2；UniProtKB受入番号Q8WV24）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からのPHLDA1 DNA、mRNA、及びアミノ酸配列を包含する。

#### 【0034】

10

20

30

40

50

「SPRY2」という用語は、Protein sproutyホモログ2を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。この用語は、完全長、未処理のSPRY2、ならびに細胞内の処理から生じるSPRY2の任意の形態を包含する。この用語は、SPRY2の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、SPRY2遺伝子、ヒトSPRY2のmRNA配列（例えば、配列番号3；GenBank受入番号NM\_001318536.1）、及びヒトSPRY2のアミノ酸配列（例えば、配列番号4；UniProtKB受入番号O43597）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からのSPRY2 DNA、mRNA、及びアミノ酸配列を包含する。

10

**【0035】**

「SPRY4」という用語は、Protein sproutyホモログ4を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。この用語は、完全長、未処理のSPRY4、ならびに細胞内の処理から生じるSPRY4の任意の形態を包含する。この用語は、SPRY4の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、SPRY4遺伝子、ヒトSPRY4のmRNA配列（例えば、配列番号5；GenBank受入番号NM\_001127496.1）、及びヒトSPRY4のアミノ酸配列（例えば、配列番号6；UniProtKB受入番号Q9C004）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からのSPRY4 DNA、mRNA、及びアミノ酸配列を包含する。

20

**【0036】**

「DUSP4」という用語は、二重特異性タンパク質ホスファターゼ4（例えば、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼホスファターゼ2（例えば、MAPキナーゼホスファターゼ2））を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。DUSP4はまた、当該技術分野でMKP2またはVH2として称される。この用語は、完全長、未処理のDUSP4、ならびに細胞内の処理から生じるDUSP4の任意の形態を包含する。この用語は、DUSP4の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、DUSP4遺伝子、ヒトDUSP4のmRNA配列（例えば、配列番号7；GenBank受入番号NM\_001394.6）、及びヒトDUSP4のアミノ酸配列（例えば、配列番号8；UniProtKB受入番号Q13115）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からのDUSP4 DNA、mRNA、及びアミノ酸配列を包含する。

30

**【0037】**

「DUSP6」という用語は、二重特異性タンパク質ホスファターゼ6（例えば、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼホスファターゼ3（例えば、MAPキナーゼホスファターゼ3））を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。DUSP6はまた、当該技術分野でMKP3またはPYST1として称される。この用語は、完全長、未処理のDUSP6、ならびに細胞内の処理から生じるDUSP6の任意の形態を包含する。この用語は、DUSP6の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、DUSP6遺伝子、ヒトDUSP6のmRNA配列（例えば、配列番号9；GenBank受入番号NM\_022652.3）、及びヒトDUSP6のアミノ酸配列（例えば、配列番号10；UniProtKB受入番号Q16828）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からのDUSP6 DNA、mRNA、及びアミノ酸配列を包含する。

40

**【0038】**

「CCND1」という用語は、G1/S特異的サイクリンD1を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。CCND1はまた、当該技術分野でBCL1また

50

は P R A D 1 として称される。この用語は、完全長、未処理の C C N D 1、ならびに細胞内の処理から生じる C C N D 1 の任意の形態を包含する。この用語は、C C N D 1 の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、C C N D 1 遺伝子、ヒト C C N D 1 の m R N A 配列（例えば、配列番号 1 1 ; G e n B a n k 受入番号 N M \_ 0 5 3 0 5 6 . 2）、及びヒト C C N D 1 のアミノ酸配列（例えば、配列番号 1 2 ; U n i P r o t K B 受入番号 P 2 4 3 8 5）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からの C C N D 1 D N A、m R N A、及びアミノ酸配列を包含する。

#### 【0039】

「E P H A 2」という用語は、エフリン A 型受容体 2 を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。E P H A 2 はまた、当該技術分野で E C K として称される。この用語は、完全長、未処理の E P H A 2、ならびに細胞内の処理から生じる E P H A 2 の任意の形態を包含する。この用語は、E P H A 2 の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、E P H A 2 遺伝子、ヒト E P H A 2 の m R N A 配列（例えば、配列番号 1 3 ; G e n B a n k 受入番号 N M \_ 0 0 4 4 3 1 . 3）、及びヒト E P H A 2 のアミノ酸配列（例えば、配列番号 1 4 ; U n i P r o t K B 受入番号 P 2 9 3 1 7）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からの E P H A 2 D N A、m R N A、及びアミノ酸配列を包含する。

#### 【0040】

「E P H A 4」という用語は、エフリン A 型受容体 4 を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。E P H A 4 はまた、当該技術分野で H E K 8、S E K、または T Y R O 1 として称される。この用語は、完全長、未処理の E P H A 4、ならびに細胞内の処理から生じる E P H A 4 の任意の形態を包含する。この用語は、E P H A 4 の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、E P H A 4 遺伝子、ヒト E P H A 4 の m R N A 配列（例えば、配列番号 1 5 ; G e n B a n k 受入番号 N M \_ 0 0 1 3 0 4 5 3 6 . 1）、及びヒト E P H A 4 のアミノ酸配列（例えば、配列番号 1 6 ; U n i P r o t K B 受入番号 P 5 4 7 6 4）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からの E P H A 4 D N A、m R N A、及びアミノ酸配列を包含する。

#### 【0041】

「E T V 4」という用語は、E T S 転座変異型 4 を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。E T V 4 はまた、当該技術分野で E 1 A F または P E A 3 として称される。この用語は、完全長、未処理の E T V 4、ならびに細胞内の処理から生じる E T V 4 の任意の形態を包含する。この用語は、E T V 4 の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、E T V 4 遺伝子、ヒト E T V 4 の m R N A 配列（例えば、配列番号 1 7 ; G e n B a n k 受入番号 N M \_ 0 0 1 2 6 1 4 3 7 . 1）、及びヒト E T V 4 のアミノ酸配列（例えば、配列番号 1 8 ; U n i P r o t K B 受入番号 P 4 3 2 6 8）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からの E T V 4 D N A、m R N A、及びアミノ酸配列を包含する。

#### 【0042】

「E T V 5」という用語は、E T S 転座変異型 5 を指し、ホモログ、変異、及びそのアイソフォームを包含する。E T V 5 はまた、当該技術分野で E R M として称される。この用語は、完全長、未処理の E T V 5、ならびに細胞内の処理から生じる E T V 5 の任意の形態を包含する。この用語は、E T V 5 の天然に存在する変異型（例えば、スプライス変異型または対立遺伝子変異型）を包含する。この用語は、例えば、E T V 5 遺伝子、ヒト E T V 5 の m R N A 配列（例えば、配列番号 1 9 ; G e n B a n k 受入番号 N M \_ 0 0 4 4 5 4 . 2）、及びヒト E T V 5 のアミノ酸配列（例えば、配列番号 2 0 ; U n i P r o t K B 受入番号 P 4 1 1 6 1）、ならびに霊長類及び齧歯類（例えば、マウス及びラット

）等の哺乳動物を含む任意の他の脊椎動物源からの E T V 5 D N A、m R N A、及びアミノ酸配列を包含する。

#### 【0043】

本明細書における「患者」または「対象」は、がん等の細胞増殖性疾患または障害の1つ以上の兆候、症状、または他の指標を経験しているまたは経験したことがある、それを発症するリスクを有するか、またはその家族歴を有する治療に適格な動物（例えば、哺乳動物、例えば、イヌ、ネコ、ウマ、ウサギ、動物園動物、ウシ、ブタ、ヒツジ、非ヒト霊長類、及びヒトを含む）を指す。患者として含まれることが意図されるのは、疾患のいかなる臨床的兆候も示さない臨床研究に参与し、疫学的研究に参与する、または一度対照として用いられた任意の患者である。患者は、M A P Kシグナル伝達阻害剤、別の薬物でこれまでに治療されていても、これまでに治療されてなくてもよい。患者は、治療が開始されるときに使用されたさらなる薬物（複数可）に対してナイーブであってもよく、すなわち、患者は、「ベースライン」で（すなわち、治療が開始される前に対象をスクリーニングする日等、本明細書における治療法におけるM A P K経路阻害剤の最初の用量の投与前の時点における設定点において）、例えば、M A P Kシグナル伝達阻害剤（例えば、M E K阻害剤、B R A F阻害剤、E R K阻害剤、C R A F阻害剤、またはR A F阻害剤）を含むもの以外の治療法で以前に治療されていない可能性がある。このような「ナイーブ」患者または対象は、一般に、そのようなさらなる薬物（複数可）を用いた治療の候補者であると考えられる。

#### 【0044】

本明細書において「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、それらが所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異的抗体）、及び抗体フラグメントが挙げられるが、これらに限定されない、様々な抗体構造を包含する。

#### 【0045】

本明細書で同義に使用される場合、「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、D N A及びR N Aを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドまたは修飾塩基、及び／またはそれらに類似体、またはD N AもしくはR N Aポリメラーゼによって、または合成反応によってポリマーに組み込まれ得る任意の基質であり得る。したがって、例えば、本明細書に定義されるポリヌクレオチドとしては、一本鎖及び二本鎖D N A、一本鎖及び二本鎖領域を含むD N A、一本鎖及び二本鎖R N A、ならびに一本鎖及び二本鎖領域を含むR N A、一本鎖、もしくはより典型的には、二本鎖であり得るか、または一本鎖及び二本鎖領域を含み得るD N A及びR N Aを含むハイブリッド分子が挙げられるが、これらに限定されない。加えて、本明細書で使用される「ポリヌクレオチド」という用語は、R N AもしくはD N A、またはR N A及びD N Aの両方を含む三本鎖領域を指す。このような領域における鎖は、同じ分子からであっても、異なる分子からであってもよい。領域は、分子のうちの1つ以上の全てを含んでいてもよいが、より典型的には、分子のいくつかの1領域のみを含む。三重らせん領域の分子のうちの1つは、多くの場合オリゴヌクレオチドである。「ポリヌクレオチド」という用語は、具体的には、c D N Aを含む。

#### 【0046】

ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びその類似体等の修飾されたヌクレオチドを含み得る。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーのアセンブリの前または後に与えてもよい。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断され得る。ポリヌクレオチドは、標識とのコンジュゲーション等により合成後にさらに修飾され得る。他の種類の修飾には、例えば、「キャップ」、1つ以上の天然に存在するヌクレオチドの類似体による置換、例えば、非荷電結合によるもの（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミダイト、カバメート等）及び荷電結合によるもの（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート等）のようなヌクレオチド間修飾、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ

ーLーリジン等)のようなペンダント部分を含有するもの、挿入剤(例えば、アクリジン、ソラレン等)、キレート剤(例えば、金属、放射性金属、ボロン、酸化金属等)を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾結合(例えば、アルファアノマー核酸等)によるもの、ならびにポリヌクレオチド(複数可)の未修飾形態が挙げられる。さらに、糖類に普通存在するヒドロキシル基のいずれかが、例えば、ホスホネート基、ホスフェート基によって置換されてもよく、標準の保護基によって保護されてもよく、または活性化されてさらなるヌクレオチドに対するさらなる結合を調製してもよく、または固体もしくは半固体の支持体に抱合されてもよい。5'及び3'末端のOHは、リン酸化することができ、またはアミンもしくは1~20個の炭素原子からの有機キャッピング基部分によって置換することができる。他のヒドロキシルはまた、標準の保護基に誘導体化され得る。ポリヌクレオチドはまた、例えば、2'-O-メチル、2'-O-アリル、2'-フルオロ、または2'-アジド-リボース、カルボ環状糖類似体、 $\alpha$ -アノマー糖、例えば、アラビノース、キシロース、もしくはリキソース等のエピマー糖、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環状類似体及びメチルリボシド等の脱塩基ヌクレオシド類似体を含む当該技術で一般的に知られるリボース糖またはデオキシリボース糖の類似形態も含有することができる。1つ以上のホスホジエステル結合が、代替の結合基で置き換えられ得る。これらの代替の結合基としては、ホスフェートがP(O)S(「チオエート」)、P(S)S(「ジチオエート」)、 $P(O)NR_2$ (「アミデート」)、 $P(O)R$ 、 $P(O)OR'$ 、COまたは $CH_2$ (「ホルマセタル」)によって置き換えられる実施形態で、その際、各RまたはR'が、独立して、Hであるか、または任意にエーテル(ーOー)結合、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、またはアラジルを含有する置換もしくは非置換アルキル(1~20のC)である実施形態が挙げられるが、これらに限定されない。ポリヌクレオチドにおける結合全てが同一である必要があるわけではない。ポリヌクレオチドは、本明細書に記載される1つ以上の異なる種類の修飾及び/または同じ種類の複数の修飾を含有し得る。前述の説明は、RNA及びDNAを含む本明細書で言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

#### 【0047】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」は、一般に、約250ヌクレオチド長未満であるが、必ずしもそうではない短い一本鎖ポリヌクレオチドを指す。オリゴヌクレオチドは合成であってもよい。「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」という用語は、相互に排他的ではない。ポリヌクレオチドの上記の説明は、オリゴヌクレオチドにも同等かつ完全に適用可能である。

#### 【0048】

「プライマー」という用語は、一般に、遊離3'-OH基を提供することによって、核酸にハイブリダイズを可能にし、相補的核酸の重合を可能にする、一本鎖ポリヌクレオチドを指す。

#### 【0049】

「小分子」という用語は、約2000ダルトン以下、好ましくは約500ダルトン以下の分子量を有する任意の分子を指す。

#### 【0050】

「検出」という用語は、直接または間接検出を含む、検出の任意の手段を含む。

#### 【0051】

本明細書に使用される「バイオマーカー」という用語は、試料中の検出され得る、指標分子または分子のセット(例えば、予測、診断、及び/または予後指標)を指し、例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4を含む。バイオマーカーは、予測バイオマーカーであり得、MAPKシグナル伝達阻害剤による治療に対して、特定の疾患または障害(例えば、増殖性細胞障害(例えば、がん))に罹患している患者の感受性または利点の可能性の指標としての役割を果たし得る。バイオマーカーとしては、ポリヌクレオチド(例えば、DNA及び/またはRNA(例えば、mRNA))、ポリヌクレオチドコピー

数の変化（例えば、DNAコピー数）、ポリペプチド、ポリヌクレオチド修飾（例えば、翻訳後修飾）、炭水化物、ならびに／または糖脂質に基づく分子マーカーが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、バイオマーカーは、遺伝子である。

#### 【0052】

本明細書に使用される、バイオマーカーの「量」または「レベル」は、生物学的試料中の検出可能なレベルである。これらは、当業者に既知であり、本明細書にも開示されている方法によって測定され得る。

#### 【0053】

「発現のレベル」または「発現レベル」という用語は、概して、生物学的試料中のバイオマーカーの量を指す。「発現」は、概して、情報（例えば、遺伝子コード及び／またはエピジェネティック情報）が、細胞中に存在し、機能する構造に変換されるプロセスを指す。したがって、本明細書で使用される場合、「発現」は、ポリヌクレオチドへの転写、ポリペプチドへの転写、またはさらにポリヌクレオチド及び／またはポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）を指し得る。転写ポリヌクレオチド、翻訳ポリペプチド、またはポリヌクレオチド及び／またはポリペプチド修飾（例えば、ポリペプチドの翻訳後修飾）のフラグメントはまた、それらが代替的スプライシングまたは分解転写によって生成される転写物から生成されるか、またはポリペプチドの翻訳後プロセッシングから、例えば、タンパク質分解によって生成され得る。「発現された遺伝子」は、mRNAとしてポリヌクレオチドに転写され、その後、ポリペプチドに翻訳されるもの、ならびにRNAに転写されるものであるが、ポリペプチドに翻訳されないもの（例えば、転写及びリボソームRNA）を含む。

#### 【0054】

「増加した発現」、「増加した発現レベル」、「増加したレベル」、「上昇した発現」、「上昇した発現レベル」、または「上昇したレベル」は、対照と比較して個体、例えば、疾患または障害（例えば、がん）に罹患していない個体（複数可）におけるバイオマーカーの増加した発現または増加したレベル、患者の群／集団からの試料中の内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）、またはバイオマーカーの発現レベル中央値を指す。

#### 【0055】

「減少した発現」、「減少した発現レベル」、「減少したレベル」、「低減した発現」、「低減した発現レベル」、または「低減したレベル」は、対照と比較して個体、例えば、疾患または障害（例えば、がん）に罹患していない個体（複数可）におけるバイオマーカーの減少した発現または減少したレベル、患者の群／集団からの試料中の内部対照（例えば、ハウスキーピングバイオマーカー）、またはバイオマーカーの発現レベル中央値を指す。いくつかの実施形態では、低減した発現は、ほとんどまたは全く発現しない。

#### 【0056】

本明細書において「ハウスキーピング遺伝子」という用語は、活性が細胞機能の維持に必須であり、典型的には、全ての細胞型に同様に存在する、タンパク質をコードする遺伝子または遺伝子の群を指す。いくつかの実施形態では、ハウスキーピング遺伝子は、MLH1、SMARCA4、U2AF1、及び／またはCLTCであり得る。

#### 【0057】

本明細書で使用される「増幅」は、概して、所望の配列の複数のコピーを生成するプロセスを指す。「複数のコピー」とは、少なくとも2つのコピーを意味する。「コピー」は、鋳型配列に対する完全な配列相補性または同一性を必ずしも意味しない。例えば、コピーは、ヌクレオチド類似体、例えば、デオキシイノシン、意図的配列変化（鋳型に相補的ではないがハイブリダイズすることができる配列を含むプライマーにより導入された配列変化等）、及び／または増幅中に起こる配列誤差を含み得る。

#### 【0058】

「多重-PCR」という用語は、単一反応において2つ以上のDNA配列を増幅するた

めに1つを超えるプライマーセットを用いた単一源（例えば、個体）から得られた核酸に行われた単一PCR反応を指す。

#### 【0059】

本明細書で使用される「ポリメラーゼ連鎖反応」または「PCR」の技術とは、概して、核酸、RNA、及び／またはDNAの微量の特定の一片が、例えば、米国特許第4,683,195号に記載されるように増幅される、手順を指す。概して、オリゴヌクレオチドプライマーが設計され得るように、目的とする領域の端部からの配列情報が利用可能である必要があり、これらのプライマーは、増幅される鋳型の逆鎖と、配列において同一または同様であろう。2つのプライマーの5'末端ヌクレオチドは、増幅される材料の端部と一致し得る。PCRは、ゲノムDNA全体からの特定のRNA配列、特定のDNA配列、及び細胞RNA配列、バクテリオファージ配列、またはプラスミド配列等の全体から転写されたcDNAを増幅させるために使用することができる。概して、Mullis et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51:263 (1987) 及びErllich, ed., PCR Technology, (Stockton Press, NY, 1989)を参照されたい。本明細書で使用される場合、PCRは、プライマーとして既知の核酸（DNAまたはRNA）を使用することを含む、核酸試験試料を増幅させるための核酸ポリメラーゼ反応法の一例と見なされるが、唯一の例とは見なされず、核酸の特定の一片を増幅もしくは生成するため、または特定の核酸に対して相補的である核酸の特定の一片を増幅もしくは生成するために、核酸ポリメラーゼを用いるものである。

#### 【0060】

「定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応」または「qRT-PCR」は、PCR生成物の量がPCR反応の各ステップにおいて測定される、PCRの形態を指す。この技術は、例えば、Cronin et al., Am. J. Pathol. 164(1):35-42 (2004) 及びMa et al., Cancer Cell 5:607-616 (2004)を含む、様々な刊行物に記載されている。

#### 【0061】

「マイクロアレイ」という用語は、基質上の、ハイブリダイズ可能なアレイ要素、好ましくはポリヌクレオチドプローブの秩序配置を指す。

#### 【0062】

本明細書で使用される場合、「試料」という用語は、例えば、物理的、生化学的、化学的、及び／または生理的特徴に基づいて特徴付けられ、及び／または特定されることになる、細胞的及び／または他の分子の実体を含有する、対象（例えば、目的となる個体）から得られるまたはそれに由来する、組成物を指す。例えば、「疾患試料」という語句及びその変形は、特徴付けられることになる細胞的及び／または分子の実体を含有することが予想され得るか、または含有することが知られている、目的となる対象から得られた任意の試料を指す。試料としては、組織試料（例えば、腫瘍組織試料）、初代もしくは培養細胞または細胞株、細胞上清、細胞溶解物、血小板、血清、血漿、硝子体液、リンパ液、滑液、卵胞液、精液、羊膜液、乳、全血、血液由来細胞、尿、脳脊髄液、唾液、痰、涙、汗、粘液、腫瘍溶解物、及び組織培養培地、組織抽出物、例えば均質化組織、腫瘍組織、細胞抽出物、ならびにこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0063】

「組織試料」または「細胞試料」とは、対象または個体の組織から得られる同様の細胞の集合を意味する。組織または細胞試料の供給源は、新鮮な、凍結した、及び／または保存された器官、組織試料、生検、ならびに／または吸引液からの固形組織；血液または血漿等の任意の血液成分；脳脊髄液、羊膜液、腹水、または間質液等の体液；対象の妊娠期間または発育中のいかなる時間における細胞であってもよい。組織試料はまた、初代もしくは培養細胞または細胞株であってもよい。任意に、組織または細胞試料は、疾患組織／器官から得られる。例えば、「腫瘍試料」は、腫瘍または他の癌組織から得られた組織試料である。組織試料は、細胞型（例えば、腫瘍細胞及び非腫瘍細胞、癌性細胞及び非癌性

細胞)の混合集団を含有し得る。組織試料は、防腐剤、抗凝血剤、緩衝液、固定剤、栄養物、抗生物質等の天然の組織と天然では混合しない化合物を含有し得る。

#### 【0064】

本明細書で使用される、「参照試料」、「参照細胞」、「参照組織」、「対照試料」、「対照細胞」、または「対照組織」は、比較目的で使用される試料、細胞、組織、標準、またはレベルを指す。一実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、同じ対象または個体の身体の健常及び／または非疾患の部分(例えば、組織または細胞)から得られる。例えば、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、疾患細胞または組織に隣接する健常及び／または非疾患の細胞または組織(例えば、腫瘍に隣接する細胞または組織)であり得る。別の実施形態では、参照試料は、同じ対象または個体の身体の未治療組織及び／または細胞から得られる。さらに別の実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、対象でも個体でもない個体の身体の健常及び／または非疾患の部分(例えば、組織または細胞)から得られる。なお別の実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、対象でも個体でもない個体の身体の未治療組織及び／または細胞から得られる。

10

#### 【0065】

本明細書における目的では、組織試料の「切片」は、組織試料の単一の部分または小片、例えば、組織試料(例えば、腫瘍試料)から切り取られた組織または細胞の薄片を意味する。組織試料の複数の切片を、採取し、分析に供することができることが理解され、但し、組織試料の同じ切片を、形態学的レベル及び分子レベルの両方で分析することができ、あるいはポリペプチド(例えば、免疫組織化学によって)及び／またはポリヌクレオチド(例えば、原位置ハイブリダイゼーションによって)に関して分析することができることが理解されるものとする。

20

#### 【0066】

「相関する」または「相関する」とは、任意の方法で、第1の分析もしくはプロトコルの性能及び／または結果を、第2の分析もしくはプロトコルの性能及び／または結果と比較することを意味する。例えば、第1の分析もしくはプロトコルの結果を、第2のプロトコルを行う際に使用してもよいし、及び／または、第1の分析もしくはプロトコルの結果を使用して、第2の分析もしくはプロトコルを行うべきかどうかを決定してもよい。ポリペプチド分析またはプロトコルの実施形態については、ポリペプチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンを行うべきかどうかを決定してもよい。ポリヌクレオチド分析またはプロトコルの実施形態については、ポリヌクレオチド発現分析またはプロトコルの結果を使用して、特定の治療レジメンを行うべきかどうかを決定してもよい。

30

#### 【0067】

「個体応答」または「応答」は、(1)減速もしくは完全抑止を含む、疾患進行(例えば、がん進行)のある程度の阻害、(2)腫瘍サイズの低減、(3)隣接する末梢器官及び／または組織へのがん細胞浸潤の阻害(すなわち、低減、減速、もしくは完全停止)、(4)転移の阻害(すなわち、低減、減速、もしくは完全停止)、(5)疾患または障害(例えば、がん)に関連する1つ以上の症状のある程度の緩和、(6)全生存期間及び無増悪生存率を含む生存期間の長さの増加もしくは延長、ならびに／または(7)治療後の所与の時間点における死亡率の低下を含むが、これらに限定されない、個体に対する利益を示す任意のエンドポイントを使用して、評価することができる。

40

#### 【0068】

医薬品を用いた治療に対する患者の「有効な応答」または患者の「応答性」、及び同様の表現は、がん等の疾患もしくは障害のリスクがあるか、またはそれに罹患している患者に与えられる、臨床的または治療的利益を指す。一実施形態では、このような利益は、生存期間(全生存期間及び／または無増悪生存期間を含む)を延長すること、客観的応答(

50

完全奏功もしくは部分奏功を含む)をもたらすこと、またはがんの徴候もしくは症状を改善することのうちの任意の1つ以上が含まれる。一実施形態では、少なくとも1つのバイオマーカー(例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び/またはEPHA4の発現)は、少なくとも1つのバイオマーカーを発現しない患者と比較して、医薬品を用いた治療(例えば、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療)に対して応答性である可能性が高いことが予測される患者を特定するために使用される。一実施形態では、少なくとも1つのバイオマーカー(例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び/またはEPHA4の発現レベル)は、同じレベルで少なくとも1つのバイオマーカーを発現しない患者と比較して、医薬品(例えば、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療)を用いた治療に対して応答性である可能性が高いことが予測される患者を特定するために使用される。

10

#### 【0069】

「客観的応答」は、完全奏功(CR)または部分奏功(PR)を含む測定可能な応答を指す。いくつかの実施形態では、「全奏効率(ORR)」は、完全奏功(CR)率及び部分奏功(PR)率の合計を指す。

#### 【0070】

「完全奏功」または「CR」とは、治療に応答して、がん等の増殖性細胞障害の全ての兆候の消失(例えば、全ての標的病変の消失)を意図するものである。これは、疾患(例えば、がん)が治療されていることを必ずしも意味しない。

20

#### 【0071】

「持続性応答」は、治療の休止後の腫瘍成長の低減に対する持続性効果を指す。例えば、腫瘍サイズは、医薬品の投与期の開始時のサイズと比較して、同じままであっても、より小さくてもよい。いくつかの実施形態では、持続性応答は、少なくとも1.5倍、2.0倍、2.5倍、または3.0倍の治療の持続時間の長さまたはそれ以上である、治療の持続時間と少なくとも同じ持続時間を有する。

#### 【0072】

本明細書で使用される場合、「がんの再発を低減または阻害すること」とは、腫瘍もしくはがんの再発、または腫瘍もしくはがんの進行を低減または阻害することを意味する。本明細書に開示されるように、がんの再発及び/またはがんの進行には、がん転移が含まれるが、これに限定されない。

30

#### 【0073】

本明細書で使用される場合、「部分奏功」または「PR」は、治療に応じて、1つ以上の腫瘍または病変のサイズ、または身体中のがんの範囲の減少を指す。例えば、いくつかの実施形態では、PRは、標的病変の最長直径(SLD)の合計の少なくとも30%の減少を指し、ベースラインSLDを参照と見なす。

#### 【0074】

「生存期間」という用語は、患者が生存していることを指し、全生存期間、ならびに無増悪生存期間を含む。

#### 【0075】

本明細書で使用される場合、「無増悪生存期間」または「PFS」は、治療されている疾患(例えば、がん)が悪化しない、治療中及び治療後の時間の長さを指す。無増悪生存期間は、患者が完全奏効または部分奏効を経験した時間量、ならびに患者が安定した疾患を経験した時間量を含んでもよい。

40

#### 【0076】

本明細書で使用される場合、「全生存」または「OS」は、特定の期間後に生存する可能性が高い群における個体の割合を指す。

#### 【0077】

「生存期間を延長すること」とは、未治療の患者と比較して(すなわち、医薬品で治療されていない患者と比較して)、または指定されたレベルでバイオマーカーを発現しない

50

患者と比較して、及び／または抗腫瘍剤で治療された患者と比較して、治療される患者において全生存期間または無増悪生存期間が増加することを意味する。

#### 【0078】

「治療上有効量」は、哺乳動物における疾患または障害を治療または予防するための治療剤の量を指す。がんの場合は、治療上有効量の治療剤は、がん細胞の数を低減させ、原発腫瘍サイズを低減させ、末端器官へのがん細胞浸潤を阻害（すなわち、ある程度の遅延化、及び好ましくは停止）し、腫瘍の転移を阻害（すなわち、ある程度の遅延化、好ましくは停止）し、ある程度、腫瘍成長を阻害し、ならびに／または疾患に関連した1つ以上の症状をある程度軽減させ得る。薬剤が既存のがん細胞の成長を防止し、及び／またはそれを死滅させ得る範囲内において、それは細胞増殖抑制性及び／または細胞毒性であり得る。癌療法に関して、インビボでの有効性は、例えば、生存期間、疾患進行の期間（TTP）、応答速度（例えば、CR及びPR）、応答期間、ならびに／または生活の質を評価することによって測定され得る。

10

#### 【0079】

「障害」とは、問題となる障害に哺乳動物を罹患し易くする病理学的状態を含む慢性及び急性の障害または疾患が挙げられるが、これらに限定されない、治療から利益を受け得る任意の状態である。

#### 【0080】

「癌」及び「癌性」という用語は、典型的には調節されない細胞成長を特徴とする、哺乳動物における生理学的状態を指すか説明する。この定義には、良性及び悪性がんが含まれる。がんの例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫（髄芽細胞腫及び網膜芽細胞腫を含む）、肉腫（脂肪肉腫及び滑膜細胞肉腫を含む）、神経内分泌腫瘍（カルチノイド腫瘍、ガストリノーマ、及び島細胞癌を含む）、中皮腫、神経鞘腫（聴神経腫を含む）、髄膜腫、腺癌、黒色腫、ならびに白血病またはリンパ性悪性疾患が挙げられるが、これらに限定されない。このようながんのより具体的な例としては、膀胱癌（例えば、尿路上皮膀胱癌（例えば、移行細胞または尿路上皮癌、非筋肉浸潤膀胱癌、筋肉浸潤膀胱癌、及び転移性膀胱癌）及び非尿路上皮膀胱癌）；扁平上皮細胞癌（例えば、上皮扁平上皮細胞癌）；小細胞肺癌（SCLC）、非小細胞肺癌（NSCLC）、肺の腺癌、及び肺の扁平上皮癌を含む肺癌；腹膜の癌；肝細胞癌；胃腸癌を含む胃癌（gastric cancer）または胃癌（stomach cancer）；膵臓癌；膠芽腫；子宮頸癌；卵巣癌；肝臓癌；肝臓癌；乳癌（転移性乳癌を含む）；結腸癌；直腸癌；結腸直腸癌；子宮内膜癌または子宮癌；唾液腺癌；腎臓癌（kidney cancer）または腎臓癌（renal cancer）；前立腺癌；外陰部癌；甲状腺癌；肝癌；肛門癌；陰茎癌；メルケル細胞癌；菌状息肉腫；精巣癌；食道癌；胆道の腫瘍；頭頸部癌；ならびに血液学的悪性腫瘍が挙げられる。いくつかの実施形態では、がんは、局所的な再発または転移性疾患（局所再発疾患が治癒目的で切除を受けられない場合）を有する、任意に組織学的に確認されたトリプルネガティブ（ER-、PR-、HER2-）な乳房の腺癌を含むトリプルネガティブ転移性乳癌である。いくつかの実施形態では、がんは、局所的な再発または転移性疾患（局所再発疾患が治癒目的で切除を受けられない場合）を有する黒色腫を含む皮膚癌である。任意の癌は、早期または末期であり得る。「早期がん」または「早期腫瘍」とは、浸潤性でも転移性でもない、または病期0期、1期、もしくは2期のがんとして分類される、がんを意味する。

20

30

40

#### 【0081】

本明細書で使用される場合、「腫瘍」という用語は、悪性または良性に関わらず、全ての腫瘍性細胞成長及び増殖、ならびに全ての前がん性及びがん性細胞及び組織を指す。「がん」、「がん性」、及び「腫瘍」という用語は、本明細書で言及されるとき、相互排他的ではない。

#### 【0082】

「薬学的製剤」という用語は、その中に含有される活性成分の生物学的活性が有効となるような形態であり、かつ製剤が投与され得る対象に許容できない毒性を有する追加の成

50

分を含有しない、調製物を指す。

【0083】

「薬学的に許容される賦形剤」とは、対象にとって無毒である活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される賦形剤としては、緩衝液、担体、安定剤、または防腐剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0084】

「薬学的に許容される塩」という用語は、生物学的にまたはそうでなければ望ましくないものではない、塩を意味する。薬学的に許容される塩は、酸性付加塩及び塩基性付加塩の両方を含む。「薬学的に許容される」という語句は、物質または組成物が、製剤を構成する他の成分及び／またはそれを用いて治療されている哺乳動物と、化学的及び／または毒物学的に適合しなければならないことを示す。

10

【0085】

「薬学的に許容される酸性付加塩」という用語は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、炭酸、リン酸等の無機酸と、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、グルコン酸、乳酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、アスパラギン酸、アスコルビン酸、グルタミン酸、アントラニル酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、エンボン酸、フェニル酢酸、メタンスルホン酸「メシル酸塩」、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、及びサリチル酸等の有機酸の脂肪族、脂環式、芳香族、芳香脂肪族 (araliphatic)、複素環式、カルボン酸、及びスルホン酸類から選択される有機酸とで形成されるような薬学的に許容される塩を意味する。

20

【0086】

「薬学的に許容される塩基性付加塩」という用語は、有機塩基または無機塩基で形成されるような薬学的に許容される塩を意味する。許容される無機塩基の例は、ナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、マンガン塩、及びアルミニウム塩を含む。薬学的に許容される有機非毒性塩基から誘導される塩は、天然の置換アミン、環状アミン、及び塩基性イオン交換樹脂、例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、2-ジエチルアミノエタノール、トリメタミン、ジシクロヘキシルアミン、リシン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、ヒドラバミン (hydrabamine)、コリン、ベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、メチルグルカミン、テオプロミン、プリン、ピペラジン、ピペリジン、N-エチルピペリジン、及びポリアミン樹脂を含む、第一級、第二級、及び第三級アミン、置換アミンの塩を含む。

30

【0087】

本明細書で使用される場合、「治療」（及び「治療する」または「治療すること」等の文法的な変形）は、治療される個体の自然の経過を変更する試みにおける臨床的介入を指し、予防に対してまたは臨床病理の経過中実施され得る。治療の望ましい効果としては、疾患の発生または再発の防止、症状の軽減、疾患の直接的または間接的病態結果のいずれかの低減、転移の防止、疾患進行の割合の低下、疾患状態の寛解または緩和、及び緩解または改善された予後が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、MA PKシグナル伝達阻害剤（例えば、MEK阻害剤、BRAF阻害剤、ERK阻害剤、CRF阻害剤、及び／またはRAF阻害剤）は、疾患の発症を遅延させるまたは疾患の進行を遅延させるために使用される。

40

【0088】

「抗癌療法」という用語は、がんを治療するのに有用な療法を指す。抗癌治療剤の例としては、細胞毒性剤、化学療法剤、成長阻害剤、放射線療法で使用する薬剤、抗血管新生剤、アポトーシス剤、抗チューブリン剤、及びがんを治療するための他の薬剤、例えば、抗CD20抗体、血小板由来増殖因子阻害剤（例えば、GLEEVEC（商標）（メシル酸イマチニブ））、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ）、インターフェロン、

50

サイトカイン、以下の標的物 PDGFR- $\beta$ 、BlyS、APRIL、BCMA 受容体（複数可）、TRAIL/Apo2 のうちの 1 つ以上に結合するアンタゴニスト（例えば、中和抗体）、他の生物活性及び有機化学剤等が挙げられるが、これらに限定されない。これらの組み合わせもまた、本発明に含まれる。

#### 【0089】

本明細書で使用される場合、「細胞毒性剤」という用語は、細胞の機能を阻害もしくは防止する、及び／または細胞の破壊を引き起こす物質を指す。この用語は、放射性同位体（例えば、At<sup>211</sup>、I<sup>131</sup>、I<sup>125</sup>、Y<sup>90</sup>、Re<sup>186</sup>、Re<sup>188</sup>、Sm<sup>153</sup>、Bi<sup>212</sup>、P<sup>32</sup>、及び Lu の放射性同位体）、化学療法剤、例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシン C、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他の挿入剤、核酸分解性酵素等の酵素及びそのフラグメント、抗生物質、及び毒素、例えばそのフラグメント及び／または変異体を含む、細菌、糸状菌、植物、もしくは動物起源の小分子毒素または酵素活性毒素、ならびに以下に開示されている様々な抗腫瘍もしくは抗癌剤を含むように意図されている。他の細胞毒性剤は、以下に記載されている。殺腫瘍性剤は、腫瘍細胞の破壊を引き起こす。

#### 【0090】

「化学療法剤」は、がんの治療に有用な化学的化合物である。化学療法剤の例には、チオテパ及び CYTOXAN（登録商標）シクロホスファミド等のアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピボスルファン等のスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ（benzodopa）、カルボコン、メツレドーパ（meturedopa）、及びウレドーパ（uredopa）等のアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチロールメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン；アセトゲニン（特にプラタシン及びプラタシノン（bullatacinone））；デルター 9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））； $\beta$ -ラバコン；ラバコール；コルヒチン；ベツリン酸；カンプトセシン（合成アナログトポテカン（HYCAMTIN（登録商標）を含む）、CPT-11（イリノテカン、CAMPTOSAR（登録商標））、アセチルカンプトセシン、スコポレクチン（scopolactin）、及び 9-アミノカンプトセシン）；プリオスタチン；カリスタチン（callistatin）；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成アナログを含む）；ポドフィロトキシン；ポドフィリニン酸；テニポシド；クリプトフィシン（特にクリプトフィシン 1 及びクリプトフィシン 8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成アナログ、KW-2189 及び CB1-TM1 を含む）；エリユーセロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スポンジスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、酸化メクロレタミン塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニマスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラミムヌスチン等のニトロソ尿素；エンジイン抗生物質等の抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシン  $\gamma$  1 I 及びカリケアマイシン  $\omega$  1 I（例えば、Nicolaou et al., J. Angew. Chem. Int'l. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)））；ダイネミシン A を含むダイネミシン；エスペラミシン；ならびにネオカルジノスタチン発色団及び関連発色蛋白質エンジイン抗生物質発色団、アクラシノミシン、アクチノマイシン、アウスラマイシン、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルチノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN（登録商標）ドキソルビシン（モルホリノードキソルビシン、シアノモルホリノードキソルビシン、2-ピロリノードキソルビシン、及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン C 等のマイト

マイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポットフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン；メトトレキサート及び5-フルオロウラシル（5-FU）等の抗代謝剤；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート等の葉酸アナログ；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン等のプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン等のピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン等のアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、及びトリロスタン等の抗アドレナリン剤；フォリン酸等の葉酸補充液；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトラキセート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジコン；エルフォルニチン；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシン及びアンサミトシン等のメイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖類複合体（JHS Natural Products, Eugene, OR）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特にT-2トキシン、ベラクリンA、ロリジンA、及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン（ELDISINE（登録商標）、FILDESIN（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「アラ-C」）；チオテバ；タキソイド、例えば、TAXOL（登録商標）パクリタキセル（Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.）、パクリタキセルの無クレモフォルのアルブミン操作ナノ粒子製剤であるABRAXANE（商標）（American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, Illinois）、及びTAXOTERE（登録商標）ドキセタキセル（Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France）を含むタキサン；クロランブシル；ゲムシタビン（GEMZAR（登録商標））；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン（ELOXATIN（商標））、サトラプラチン、ピコプラチン、ネダプラチン、トリプラチン、及びリボプラチン等の白金または白金系化学療法剤及び白金類似体；ビンブラスチン（VELBAN（登録商標））；白金；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン（ONCOVIN（登録商標））；オキサリプラチン；ロイコボビン（leucovorin）；ビノレルビン（NAVELBINE（登録商標））；ノバントロン；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸等のレチノイド；カペシタビン（XELODA（登録商標））；上述のいずれかの薬学的に許容される塩または酸；ならびにシクロホスファミド、ドキシゾルビシン、ビンクリスチン、及びプレドニソロンの併用療法の省略形であるCHOP、ならびに5-FU及びロイコボリンと組み合わせたオキサリプラチン（ELOXATIN（商標））による治療レジメンの省略形であるFOLFEX等の上述の2つ以上の組み合わせを含む。さらなる化学療法剤は、メイタンシノイド（例えばDM1）等の抗体薬物結合体と有用な細胞毒性剤、ならびに例えば、MMAE及びMMAF等のオーリスタチンを含む。

#### 【0091】

「化学療法剤」はまた、がんの増殖を促進し得る、多くの場合、全身性または全身体治療の形でホルモンの作用を調節する、低減させる、ブロックする、または阻害するように働く「抗ホルモン剤」または「内分泌治療剤」も含まれる。それらはそれ自体がホルモン

であってもよい。例としては、例えば、タモキシフェン（NOLVADEX（登録商標）タモキシフェンを含む）、EVISTA（登録商標）ラロキシフェン、ドロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON（登録商標）トレミフェン；抗プロゲステロン；エストロゲン受容体下方制御因子（ERD）；卵巣を抑制するかまたは活動停止するように機能する薬剤、例えば、LUPRON（登録商標）及びELIGARD（登録商標）ロイプロリド酢酸塩、ゴセリン酢酸塩、ブセリン酢酸塩、及びトリプテレリン等の黄体形成ホルモン放出ホルモン（LHRH）アゴニスト；フルタミド、ニルタミド、及びビカルタミド等の他の抗アンドロゲン薬；ならびに副腎におけるエストロゲン生産を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば、4（5）-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE（登録商標）メゲストロールアセテート、AROMASIN（登録商標）エキセメスタン、フォルメスタニー（formestanie）、ファドロゾール、RIVISOR（登録商標）ボロゾール、FEMARA（登録商標）レトロゾール、及びARIMIDEX（登録商標）アナストロゾールを含む、抗エストロゲン及び選択的なエストロゲン受容体調節因子（SERM）が挙げられる。加えて、化学療法剤のような定義には、ビスホスホネート、例えば、クロドロネート（例えば、BONEFOS（登録商標）またはOSTAC（登録商標））、DIDROCAL（登録商標）エチドロネート、NE-58095、ZOMETA（登録商標）ゾレドロン酸／ゾレドロネート、FOSAMAX（登録商標）アレンドロネート、AREDIA（登録商標）パミドロネート、SKELED（登録商標）チルドロネート、またはACTONEL（登録商標）リセドロネート；ならびにトロキサシタビン（1，3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）；アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常な細胞増殖に関係するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、PKC- $\alpha$ 、Raf、H-Ras、及び上皮増殖因子受容体（EGFR）；ワクチン、例えば、THERATOPE（登録商標）ワクチン及び遺伝子治療ワクチン、例えば、ALLOVECTIN（登録商標）ワクチン、LEUVECTIN（登録商標）ワクチン、及びVAXID（登録商標）ワクチン；LURTOTECAN（登録商標）トポイソメラーゼ1阻害剤；ABARELIX（登録商標）rmRH；ラパチニブジトシレート（ErbB-2及びGW572016としても知られているEGFR二重チロシンキナーゼ小分子阻害剤）；ならびに上述のうちのいずれかの薬学的に許容される塩または酸が含まれる。

#### 【0092】

化学療法剤はまた、抗体、例えば、アレムツズマブ（Campath）、ベバシズマブ（AVASTIN（登録商標）、Genentech）、セツキシマブ（ERBITUX（登録商標）、Imclone）；パニツムマブ（VECTIBIX（登録商標）、Amgen）、リツキシマブ（RITUXAN（登録商標）、Genentech/BioGen Idec）、ペルツズマブ（OMNITARG（登録商標）、2C4、Genentech）、トラスツズマブ（HERCEPTIN（登録商標）、Genentech）、トシツモマブ（Bexxar、Corixa）、及び抗体薬剤コンジュゲート、ゲムツズマブ・オゾガマイシン（MYLOTARG（登録商標）、Wyeth）も含まれる。本発明の化合物と組み合わせた薬剤としての治療可能性を有するさらなるヒト化モノクローナル抗体には、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、パピネオズマブ、ビバツズマブメルタンシン（bivatuzumab mertansine）、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴール、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エピラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、イノツズマブ・オゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマブ、ペキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シブロッツズマブ、シプリズマブ

、ソントズマブ、タカツズマブ・テトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、ツコツズマブ・セルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ、ウステキヌマブ、ビシリズマブ、及びインターロイキン12 p40タンパク質を認識するように遺伝的に改変された、組換え型で専らヒト配列の完全長IgG1 λ抗体である、抗インターロイキン-12 (ABT-874/J695、Wyeth Research and Abbott Laboratories) が挙げられる。

### 【0093】

化学療法剤はまた、「EGFR阻害剤」も含み、EGFRに結合するか、またはそうでなければEGFRと直接相互作用し、そのシグナル伝達活性を妨げるまたは低減する化合物を指し、代替的に「EGFRアンタゴニスト」とも称される。このような薬剤の例には、EGFRに結合する抗体及び小分子が挙げられる。EGFRに結合する抗体の例には、MAb 579 (ATCC CRL HB 8506)、MAb 455 (ATCC CRL HB 8507)、MAb 225 (ATCC CRL 8508)、MAb 528 (ATCC CRL 8509) (米国特許第4,943,533号、Mendelsohnらを参照されたい) 及びその変異体、例えば、キメラ化225 (C225またはセツキシマブ; ERBUTIX (登録商標)) 及び再形成ヒト225 (H225) (WO96/40210を参照されたい、Imclone Systems Inc.); IMC-11F8、完全ヒトEGFR標的化抗体 (Imclone); II型変異体EGFRに結合する抗体 (米国特許第5,212,290号); 米国特許第5,891,996号に記載されるEGFRに結合するヒト化及びキメラ抗体; ならびにABX-EGFまたはパニツムマブ等のEGFRに結合するヒト化抗体 (WO98/50433を参照されたい、Abgenix/Amgen); EMD55900 (Stragliotto et al. Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)); EGFR結合についてEGF及びTGF-αの両方と競合するEGFRに対して行われるヒト化EGFR抗体であるEMD7200 (マツズマブ) (EMD/Merck); ヒトEGFR抗体、HuMax-EGFR (GenMab); E1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3、及びE7.6.3として既知であり、US6,235,883に記載される完全ヒト抗体; MDX-447 (Medarex Inc); ならびにmAb 806またはヒト化mAb 806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004)) が挙げられる。抗EGFR抗体は、細胞毒性剤にコンジュゲートされてよく、それによりイムノコンジュゲートを生成することができる (例えば、EP659,439A2を参照されたい、Merck Patent GmbH)。EGFRアンタゴニストには、米国特許第5,616,582号、同第5,457,105号、同第5,475,001号、同第5,654,307号、同第5,679,683号、同第6,084,095号、同第6,265,410号、同第6,455,534号、同第6,521,620号、同第6,596,726号、同第6,713,484号、同第5,770,599号、同第6,140,332号、同第5,866,572号、同第6,399,602号、同第6,344,459号、同第6,602,863,6,391,874号、同第6,344,455号、同第5,760,041号、同第6,002,008号、及び同第5,747,498号、ならびに以下のPCT刊行物: WO98/14451、WO98/50038、WO99/09016、及びWO99/24037に記載される化合物等の小分子が含まれる。特定の小分子EGFRアンタゴニストには、OSI-774 (CP-358774、エルロチニブ、TARCEVA (登録商標) Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD183805 (CI 1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]-6-キナゾリニル]-、ジヒドロクロリド、Pfizer Inc.); ZD1839、ゲフィチニブ (IRESSA (登録商標)) 4-(3'-クロロ-4'-フルオロアニリノ)-7-メトキシ-6-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン、As

t r a Z e n e c a) ; Z M 1 0 5 1 8 0 ( ( 6 - アミノ - 4 - ( 3 - メチルフェニル - アミノ) - キナゾリン、Z e n e c a) ; B I B X - 1 3 8 2 ( N 8 - ( 3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) - N 2 - ( 1 - メチル - ピペリジン - 4 - イル) - ピリミド [ 5, 4 - d ] ピリミジン - 2, 8 - ジアミン、B o e h r i n g e r I n g e l h e i m) ; P K I - 1 6 6 ( ( R) - 4 - [ 4 - [ ( 1 - フェニルエチル) アミノ] - 1 H - ピロロ [ 2, 3 - d ] ピリミジン - 6 - イル] - フェノール) ; ( R) - 6 - ( 4 - ヒドロキシフェニル) - 4 - [ ( 1 - フェニルエチル) アミノ] - 7 H - ピロロ [ 2, 3 - d ] ピリミジン) ; C L - 3 8 7 7 8 5 ( N - [ 4 - [ ( 3 - プロオフェニル) アミノ] - 6 - キナゾリニル] - 2 - ブチンアミド) ; E K B - 5 6 9 ( N - [ 4 - [ ( 3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル) アミノ] - 3 - シアノ - 7 - エトキシ - 6 - キノリニル] - 4 - (ジメチルアミノ) - 2 - ブテンアミド) ( W y e t h) ; A G 1 4 7 8 ( P f i z e r) ; A G 1 5 7 1 ( S U 5 2 7 1 ; P f i z e r) ; ならびにラパチニブ ( T Y K E R B (登録商標)、G S K 5 7 2 0 1 6、または N - [ 3 - クロロ - 4 - [ ( 3 - フルオロフェニル) メトキシ] フェニル] - 6 [ 5 [ [ [ 2 メチルスルホニル) エチル] アミノ] メチル] - 2 - フラニル] - 4 - キナゾリンアミン) 等の二重 E G F R / H E R 2 チロシンキナーゼ阻害剤が含まれる。

#### 【0094】

化学療法剤はまた、先行する段落に記された E G F R 標的化薬 ; T a k e d a から入手可能な T A K 1 6 5 等の小分子 H E R 2 チロシンキナーゼ阻害剤 ; C P - 7 2 4, 7 1 4、E r b B 2 受容体チロシンキナーゼの経口選択的阻害剤 ( P f i z e r 及び O S I) ; E G F R に優先的に結合するが H E R 2 及び E G F R 過剰発現細胞の両方を阻害する E K B - 5 6 9 ( W y e t h から入手可能) 等の二重 H E R 阻害剤 ; ラパチニブ ( G S K 5 7 2 0 1 6 ; G l a x o - S m i t h K l i n e から入手可能)、経口 H E R 2 及び E G F R チロシンキナーゼ阻害剤 ; P K I - 1 6 6 ( N o v a r t i s から入手可能) ; カネルチニブ ( C I - 1 0 3 3 ; P h a r m a c i a) 等の汎 H E R 阻害剤 ; R a f - 1 シグナル伝達を阻害する I S I S P h a r m a c e u t i c a l s から入手可能なアンチセンス剤 I S I S - 5 1 3 2 等の R a f - 1 阻害剤 ; メシル酸イマチニブ ( G L E E V E C (登録商標)、G l a x o S m i t h K l i n e から入手可能) 等の非 H E R 標的化 T K 阻害剤 ; スニチニブ ( S U T E N T (登録商標)、P f i z e r から入手可能) 等の多標的化チロシンキナーゼ阻害剤 ; バタラニブ ( P T K 7 8 7 / Z K 2 2 2 5 8 4、N o v a r t i s / S c h e r i n g A G から入手可能) 等の V E G F 受容体チロシンキナーゼ阻害剤 ; M A P K 細胞外制御キナーゼ I 阻害剤 C I - 1 0 4 0 ( P h a r m a c i a から入手可能) ; P D 1 5 3 0 3 5、4 - ( 3 - クロロアニリノ) キナゾリン等のキナゾリン ; ピリドピリミジン ; ピリミドピリミジン ; C G P 5 9 3 2 6、C G P 6 0 2 6 1、及び C G P 6 2 7 0 6 等のピロロピリミジン ; ピラゾロピリミジン、4 - (フェニルアミノ) - 7 H - ピロロ [ 2, 3 - d ] ピリミジン ; クルクミン (ジフェルロイルメタン、4, 5 - ビス ( 4 - フルオロアニリノ) フタルイミド) ; ニトロチオフエン部分を含有するチルホスチン ; P D - 0 1 8 3 8 0 5 ( W a r n e r - L a m b e r) ; アンチセンス分子 (例えば、H E R コード核酸に結合するもの) ; キノキサリン (米国特許第 5, 8 0 4, 3 9 6 号) ; トリホスチン (米国特許第 5, 8 0 4, 3 9 6 号) ; Z D 6 4 7 4 ( A s t r a Z e n e c a) ; P T K - 7 8 7 ( N o v a r t i s / S c h e r i n g A G) ; C I - 1 0 3 3 ( P f i z e r) 等の汎 H E R 阻害剤 ; A f f i n i t a c ( I S I S 3 5 2 1 ; I s i s / L i l l y) ; メシル酸イマチニブ ( G L E E V E C (登録商標)) ; P K I 1 6 6 ( N o v a r t i s) ; G W 2 0 1 6 ( G l a x o S m i t h K l i n e) ; C I - 1 0 3 3 ( P f i z e r) ; E K B - 5 6 9 ( W y e t h) ; セマキシニブ ( P f i z e r) ; Z D 6 4 7 4 ( A s t r a Z e n e c a) ; P T K - 7 8 7 ( N o v a r t i s / S c h e r i n g A G) ; I N C - 1 C 1 1 ( I m c l o n e) 、ラパマイシン (シロリムス、R A P A M U N E (登録商標)) ; または以下の特許公開 : 米国特許第 5, 8 0 4, 3 9 6 号 ; W O 1 9 9 9 / 0 9 0 1 6 ( A m e r i c a n C y a n a m i d) ; W O 1 9 9 8 / 4 3 9 6 0 ( A m e r i c a n C y a n a m i d

); WO1997/38983 (Warner Lambert); WO1999/06378 (Warner Lambert); WO1999/06396 (Warner Lambert); WO1996/30347 (Pfizer, Inc); WO1996/33978 (Zeneca); WO1996/3397 (Zeneca)、及びWO1996/33980 (Zeneca)のうちのいずれかに記載されるものを含む、「チロシンキナーゼ阻害剤」も含まれる。

#### 【0095】

化学療法剤はまた、デキサメタゾン、インターフェロン、コルヒチン、メトプリン (metoprine)、シクロスポリン、アムホテリシン、メトロニダゾール、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アミホスチン、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、生BCG、ベバクジマブ (bevacuzimab)、ベキサロテン、クラドリビン、クロファラビン、ダルベポエチン $\alpha$ 、デニロイキン、デクスラゾキササン、エポエチン $\alpha$ 、エロチニブ、フィルグラスチム、酢酸ヒストレリン、イブリツモマブ、インターフェロン $\alpha$ -2a、インターフェロン $\alpha$ -2b、レナリドミド、レバミソール、メスナ、メトキサレン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ (nofetumomab)、オペレルベキン、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセド二ナトリウム、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、キナクリン、ラスブリカーゼ、サルグラモスチム、テモゾロミド、VM-26、6-TG、トレミフェン、トレチノイン、ATRA、バルルピシン、ゾレドロネート、及びゾレドロン酸、ならびにそれらの薬学的に許容され得る塩も含まれる。

#### 【0096】

化学療法剤としては、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、コルチゾンアセテート、チキソコルトールピバレート、トリウムシノロンアセトニド、トリウムシノロンアルコール、モメタゾン、アムシノニド、ブデソニド、デソニド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、ベタメタゾン、ベタメタゾンリン酸ナトリウム、デキサメタゾン、デキサメタゾンリン酸ナトリウム、フルオコルトロン、ヒドロコルチゾン-17-ブチレート、ヒドロコルチゾン-17-バレレート、アクロメタゾン (aclometasone) ジプロピオネート、ベタメタゾンバレレート、ベタメタゾンジプロピオネート、プレドニカルベート、クロベタゾン-17-ブチレート、クロベタゾール-17-プロピオネート、フルオコルトロンカプロエート、フルオコルトロンピバレート、及びフルプレドニデンアセテート；フェニルアラニン-グルタミン-グリシン (FEG) 及びそのD-異性体形態 (feG) (IMULAN Biotherapeutics, LLC) 等の免疫選択的抗炎症ペプチド (ImSAID)；アザチオプリン、シクロスポリン (ciclosporin) (シクロスポリン (cyclosporine) A)、D-ペニシラミン、金塩、ヒドロキシクロロキン、レフルノミデミノサイクリン、スルファサラジン等の抗リウマチ薬、エタネルセプト (ENBREL (登録商標))、インフリキシマブ (REMICADE (登録商標))、アダリムマブ (HUMIRA (登録商標))、セルトリズマブペゴール (CIMZIA (登録商標))、ゴリムマブ (SIMPONI (登録商標)) 等の腫瘍壊死因子 $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 遮断剤、アナキンラ (KINERET (登録商標)) 等のインターロイキン1 (IL-1) 遮断剤、アバタセプト (ORENCIA (登録商標)) 等のT細胞共刺激遮断剤、トシリズマブ (ACTEMERA (登録商標)) 等のインターロイキン6 (IL-6) 遮断剤；レプリキズマブ等のインターロイキン13 (IL-13) 遮断剤；ロンタリズマブ等のインターフェロン $\alpha$  (IFN) 遮断剤；rhuma $\beta$ 7等の $\beta$ 7インテグリン遮断剤；抗M1プライム等のIgE経路遮断剤；抗リンホトキシン $\alpha$  (LTA) 等の分泌ホモ三量体LTA3及び膜結合ヘテロ三量体LTA1/ $\beta$ 2遮断剤；チオプラチン、PS-341、フェニルブチレート、ET-18-OC $\text{H}_3$ 、及びファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤 (L-739749、L-744832) 等の種々の治験剤；ケルセチン、レスベラトロール、ピセアタンノール、エピガロカテキンゲレート、テアフラビン、フラバノール (flavanol)、プロシアニジン、ベツリン酸等のポリフェノール；クロロキン等のオートファジー阻害剤；デルター9-テトラヒド

ロカンナビノール（ドロナビノール、MARINOL（登録商標））； $\beta$ -ラパコン；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；アセチルカンプトテシン、スコボレクチン、及び9-アミノカンプトテシン）；ポドフィロトキシシン；テガフル（UFTORAL（登録商標））；ベキサロテン（TARGRETIN（登録商標））；クロドロネート（例えば、BONEFOS（登録商標）またはOSTAC（登録商標））、エチドロネート（DIDROCAL（登録商標））、NE-58095、ゾレドロネート／ゾレドロネート（ZOMETETA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート（AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELED（登録商標））、もしくはリセドロネート（ACTONEL（登録商標））等のビスホスホネート；及び上皮成長因子受容体（EGF-R）；THERATOPE（登録商標）ワクチン等のワクチン；ペリホシン、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブまたはエトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、PS341）；CCI-779；チピファルニブ（R11577）；オラフェニブ、ABT510；オブリメルセンナトリウム（GENASENSE（登録商標））等のBcl-2阻害剤；ピクサントロン；ロナファルニブ（SCH6636, SARASAR（商標））等のファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤；上述のうちのいずれかの薬学的に許容される塩もしくは酸；ならびに上述のうちの2つ以上の組み合わせも含まれる。

#### 【0097】

本明細書で使用される場合、「プロドラッグ」という用語は、親薬物と比較して、腫瘍細胞に対して細胞毒性が少なく、酵素的に活性化されるか、またはより活性な親形態に転換されることができる、薬学的に活性な物質の前駆体形態を指す。例えば、Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986) 及びStella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)を参照されたい。本発明のプロドラッグとしては、リン酸含有プロドラッグ、チオリン酸含有プロドラッグ、硫黄含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、D-アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、 $\beta$ -ラクタム含有プロドラッグ、任意に置換したフェノキシアセタミド含有プロドラッグ、または任意に置換したフェニルアセタミド含有プロドラッグ、より活性な細胞毒性のない薬剤に変換し得る5-フルオロシトシン及び他の5-フルオロウリジンプロドラッグが挙げられるが、これらに限定されない。本発明において使用されるプロドラッグ形態に誘導体化され得る細胞毒性薬剤の例としては、上述のような化学療法剤が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0098】

本明細書で使用される、「成長阻害剤」は、インビトロまたはインビボのいずれかで、細胞（例えば、成長がMAPK経路シグナル伝達に依存している細胞）の成長及び／または増殖を阻害する化合物または組成物を指す。それ故に、成長阻害剤は、S期の細胞のパーセンテージを著しく低減するものであってもよい。成長阻害剤の例には、G1停止及びM期停止を誘導する薬剤等の細胞周期の進行（S期以外の時点で）遮断する薬剤が含まれる。古典的なM期遮断剤には、ビンカス（ビンクリスチン及びビンブラスチン）、タキサン、及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えば、アントラサイクリン抗生物質ドキソルビシン（（8S-シス）-10-[（3-アミノ-2,3,6-トリデオキシ- $\alpha$ -L-リキソ-ヘキサプラノシル）オキシ]-7,8,9,10-テトラヒドロ-6,8,11-トリヒドロキシ-8-（ヒドロキシアセチル）-1-メトキシ-5,12-ナフタセンジオン）、エピルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、及びブレオマイシンが含まれる。G1を停止するこれらの薬剤はまた、S期停止に波及する（例えば、DNAアルキル化剤、例えば、タモキシフェン、プレドニゾン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチ

10

20

30

40

50

ン、メトトレキサート、5-フルオロウラシル、及びアラ- C)。さらなる情報は、“The Molecular Basis of Cancer,” Mendelsohn and Israel, eds., Chapter 1, entitled “Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs” by Murakami et al. (WB Saunders: Philadelphia, 1995)、特にp. 13に見出され得る。タキサン（パクリタキセル及びドセタキセル）は、いずれもイチイの木に由来する抗癌剤である。ヨーロッパイチイに由来するドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、Rhône-Poulenc Rorer）は、パクリタキセル（TAXOL（登録商標）、Bristol-Myers Squibb）の半合成類似体である。パクリタキセル及びドセタキセルは、チューブリン二量体からの微小管のアセンブリを促進し、脱重合を防止することによって微小管を安定させ、細胞内の有糸分裂の阻害をもたらす。

10

#### 【0099】

「放射線療法」とは、細胞の正常に機能する能力を制限するように、または細胞を完全に破壊するように、細胞に十分な損傷を引き起こす指向性ガンマ線またはベータ線の使用を意味する。治療の用量及び期間を決定するための、当技術分野で公知の多くの方法があることが理解されるであろう。典型的な治療は1回投与として施与し、典型的な用量は1日当たり10から200単位（グレイ）の範囲である。

#### 【0100】

本明細書で使用される場合、「投与すること」は、対象（例えば、患者）への化合物（例えば、阻害剤もしくはアンタゴニスト）または薬学的組成物（例えば、阻害剤もしくはアンタゴニストを含む薬学的組成物）の投与量を施す方法を意味する。投与することは、非経口投与、肺内投与、及び鼻腔内投与、ならびに局所治療で所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によるものであり得る。非経口注入には、例えば、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、任意の好適な経路により、例えば、投与が短時間であるか、または慢性的であるかに部分的に応じて、静脈内注射または皮下注射等の注射によるものであり得る。単回または様々な時点に亘る複数回投与、ボーラス投与、及びパルス注入を含むが、これらに限定されない様々な投薬スケジュールが、本明細書で企図される。

20

#### 【0101】

「併用投与」という用語は、投与の少なくとも一部が時間的に重なる2つ以上の治療剤の投与を指すために本明細書において使用される。したがって、同時投与は、1つ以上の他の薬剤（複数可）の投与を中止した後に、1つ以上の薬剤（複数可）の投与が継続するときの投与レジメンを含む。

30

#### 【0102】

「低減するまたは阻害する」とは、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはそれ以上の全体的な減少を生じる能力を意味する。低減するまたは阻害するは、例えば、MAPK経路においてタンパク質の活性及び／または機能のレベル（例えば、MAPK経路を通してシグナル変換のレベル）を指し得る。さらに、低減するまたは阻害するは、例えば、治療される障害の症状、転移の存在もしくはサイズ、または原発腫瘍のサイズを指し得る。

40

#### 【0103】

「添付文書」という用語は、このような治療製品の使用に関する適応症、利用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌、及び／または警告に関する情報を含有する、治療製品の商業的パッケージに習慣的に含まれる指示を指すよう使用される。

#### 【0104】

「製品」は、少なくとも1種の試薬、例えば、疾患もしくは障害（例えば、がん）の治療のための医薬品、または本明細書に記載されるバイオマーカー（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4）を特異的に検出するためのプローブを含むいずれかの製

50

造物（例えば、パッケージまたは容器）またはキットである。ある特定の実施形態では、製造物またはキットは、本明細書に記載される方法を実施するための単位として販売促進、配給、または販売される。

#### 【0105】

本明細書において使用される、「に基づいて」という語句は、1つ以上のバイオマーカーについて情報が、診断的決定、治療法の決定、添付文書上に提供される情報、またはマーケティング／販売促進ガイダンス等に情報を提供するために使用されることを意味する。

#### 【0106】

##### III. 方法

##### A. MAPKシグナル伝達バイオマーカーの発現レベルに基づいた診断方法

本発明は、1つ以上の分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得るがん（例えば、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌）に罹患している患者を特定及び／またはモニタリングするための方法を提供する。本方法は、患者からの試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中の1つ以上のバイオマーカーの発現を検出することを含み、1つ以上のこのようなバイオマーカーの発現が、患者がMEK阻害剤、BRAF阻害剤、ERK阻害剤、及びCRF阻害剤等のMAPKシグナル伝達阻害剤に対して感受性または応答性があるかどうかを示す。がん罹患している患者の治療に対する治療有効性を最適化するための方法も提供され、この治療は、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む。1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に対するがん罹患している患者の応答性を予測するための方法が、本明細書においてさらに提供される。また、がん罹患している患者における治療法を選択する方法も、本明細書において提供される。本方法のいずれも、MAPK活性スコア、及び／またはベースラインの遺伝子発現シグネチャの判定にさらに基づき得る。本方法のいずれも、患者に、治療上有効量のMAPKシグナル伝達阻害剤を患者に投与することをさらに含み得る。加えて、本方法のいずれも、有効量のさらなる治療剤（例えば、第2の）を患者に投与することをさらに含み得る。

#### 【0107】

本発明は、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受け得るがん罹患している患者を特定するための方法、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に対するがん罹患している患者の応答性を予測する方法、及び患者から得られた試料中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも1つの（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の）遺伝子の発現レベルの判定に基づいてがん罹患している患者に対する治療法を選択する方法を提供し、参照レベルと比較して、試料中の少なくとも1つの遺伝子の増加した発現レベルは、患者が1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高いことを示す。より具体的には、上述の方法のいずれも、本明細書において提供されるバイオマーカーのうちの少なくとも1つの発現レベルの決定、例えば、患者がMAPKシグナル伝達阻害剤に対して応答性または感受性があるかどうかをモニタリングするために有用な患者からの試料中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの少なくとも1つ（例えば、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、または10）の発現レベルの決定に基づき得る。本明細書に記載される方法のいずれについて、例えば、1つは、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択されるバイオマーカー（例えば、遺伝子）から選択される2、3、4、5、6、7、8、9、または10の遺伝子の任意の組み合わせの発現レベルを決定し得る。あるいは、本明細書に記載される方法のいずれについて、10のバイオマーカー（例えば、DUSP6、ETV4、SPR

10

20

30

40

50

Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4) の発現レベルは全て、決定され得る。

【0108】

開示される方法及びアッセイは、患者を治療するための適切な、または有効な治療法を評価する際に有用なデータ及び情報を得るために、便利で効率的、かつ恐らくは費用効果がある手段を提供する。例えば、患者は、M A P Kシグナル伝達阻害剤での治療前及び／またはその後に組織試料（例えば、腫瘍生検または血液試料）を提供し得、試料は、患者の細胞がM E K阻害剤、B R A F阻害剤、E R K阻害剤、及びC R A F阻害剤等のM A P Kシグナル伝達阻害剤に対して感受性があるかどうかを判定するために、様々なインビトロアッセイによって試験され得る。

10

【0109】

本発明はまた、M A P Kシグナル伝達阻害剤に対する患者の感受性または応答性をモニタリングするための方法も提供する。本方法は、遺伝子またはタンパク質発現レベルを検出するアッセイ及び適切な活性を検出する生化学的アッセイを含む、様々なアッセイ形式で行われ得る。患者試料中のこのようなバイオマーカーの発現または存在の判定は、患者がM A P Kシグナル伝達阻害剤の生物学的効果に対して感受性があるかどうかを予測する。がん罹患している患者からの試料中の本発明のバイオマーカー（例えば、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4）のうちの少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10）の発現レベルの差または変化（すなわち、増加）は、参照レベル（例えば、M A P Kシグナル伝達阻害剤に対する応答性について試験される患者の群／集団からの試料中のバイオマーカーの発現レベル中央値、または特定のがんに罹患している患者の群／集団からの試料中のバイオマーカーの発現レベル中央値）と比較して、M A P Kシグナル伝達阻害剤を用いたこのような患者の治療有効性と相関する。

20

【0110】

一態様では、本発明は、がん罹患している患者が、(i) 任意のM A P Kシグナル伝達阻害剤が患者に投与される前、(i i) 任意のM A P Kシグナル伝達阻害剤が患者に投与された後、または(i i i) このような治療の前後に得られた患者からの試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択されるバイオマーカーのうちの少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10）の発現レベルを決定することを含む、M A P Kシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答するかどうかを判定する方法を提供する。参照レベルと比較して少なくとも1つ以上のバイオマーカーの発現の変化（例えば、増加）は、患者がM A P Kシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答する可能性が高いことを示す。患者は、M A P Kシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答する可能性が高いことを告げられ、及び／または抗癌療法がM A P Kシグナル伝達阻害剤を含むという推奨が提供され得る。

30

【0111】

別の態様では、本発明は、患者に対する抗癌療法の治療有効性を最適化する方法を提供し、本方法は、(i) 任意のM A P Kシグナル伝達阻害剤が患者に投与される前、(i i) 任意のM A P Kシグナル伝達阻害剤が患者に投与された後、または(i i i) このような治療の前後に得られた患者からの試料中のD U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及びE P H A 4から選択される遺伝子のうちの少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10）の発現をバイオマーカーとして検出することを含む。参照レベルと比較して、バイオマーカーの少なくとも1つの発現の変化（例えば、増加）は、患者がM A P Kシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答する可能性が高いことを示す。患者は、M A P Kシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答する可能性が高いことを告げられ、及び／または抗癌療法がM A P Kシグナル伝達阻害剤を含むという推奨が提

40

50

供され得る。

【0112】

別の態様では、本発明は、がん罹患している患者に対する治療法を選択するための方法を提供し、本方法は、(i) 任意のMAPKシグナル伝達阻害剤が患者に投与される前、(ii) 任意のMAPKシグナル伝達阻害剤が患者に投与された後、または(iii) このような治療の前後に得られた患者からの試料中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される遺伝子のうちの少なくとも1つ（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10）の発現をバイオマーカーとして検出することを含む。参照レベルと比較して、バイオマーカーの少なくとも1つの発現の変化（例えば、増加）は、患者がMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答する可能性が高いことを示す。患者は、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療に応答する可能性が高いことを告げられ、及び／または抗癌療法がMAPKシグナル伝達阻害剤を含むという推奨が提供され得る。

10

【0113】

別の実施形態では、本発明は、患者がMAPKシグナル伝達阻害剤に対する感受性または応答性をモニタリングする方法を提供する。この方法は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択されるバイオマーカーのうちの少なくとも1つの発現を評価することと、MAPKシグナル伝達阻害剤に対する患者の感受性または応答性を予測することとを含み、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される少なくとも1つのバイオマーカーの発現における変化（例えば、増加）は、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた有効な治療に対する患者の感受性または応答性と相関する。この方法の一実施形態によれば、生物学的試料は、任意のMAPKシグナル伝達阻害剤の投与前に患者から得られ、試料中の少なくとも1つのバイオマーカーの発現生成物のレベルを評価するためにアッセイに供される。DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から選択される遺伝子のうちの少なくとも1つの発現が、参照レベルと比較して変化した（すなわち、増加した）場合、この患者は、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療に対して感受性または応答性があると判定される。この患者は、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療に対して感受性または応答性があることが告げられ、及び／または抗癌療法がMAPKシグナル伝達阻害剤を含むという推奨が提供され得る。この方法の別の実施形態では、生物学的試料は、本明細書に記載されるMAPKシグナル伝達阻害剤の投与前及び投与後に患者から得られる。

20

30

【0114】

上述の方法のうちのいずれかにおいて、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの少なくとも1つの発現レベルは、少なくとも1つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの少なくとも2つの発現レベルは、少なくとも2つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、

40

50

50

いる。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの少なくとも9つの発現レベルは、少なくとも9つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の10の発現レベルは全て、10の遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。

10

#### 【0115】

上述の方法のうちのいずれかにおいて、参照レベルと比較して、PHLDA1、EPHA2、CCND1、SPRY2、SPRY4、ETV4、DUSP4、及び／またはDUSP6の発現の増加したレベルは、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、肺癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、PHLDA1、SPRY2、ETV4、EPHA2、ETV5、及び／またはSPRY4の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、乳癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、DUSP4、SPRY4、及び／またはETV4の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、皮膚癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、PHLDA1、DUSP6、SPRY4、及び／またはSPRY2の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、皮膚癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、DUSP4の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、胃癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、DUSP6、ETV5、SPRY2、SPRY4、及び／またはETV4の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、リンパ癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、SPRY2及び／またはDUSP6の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、卵巣癌に罹患している患者を特定する。場合によっては、DUSP6の発現の増加したレベルは、参照レベルと比較して、MAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、子宮頸癌に罹患している患者を特定する。

20

30

40

#### 【0116】

試料中の本明細書に記載される様々なバイオマーカーの存在及び／または発現レベル（量）は、多くの手法によって分析され得、これらの多くは、当該技術分野で既知であり、当業者によって理解されており、免疫組織化学（「IHC」）、ウェスタンブロット分析、免疫沈降、分子結合アッセイ、酵素結合吸着アッセイ（ELISA）、酵素結合免疫濾過アッセイ（ELIFA）、蛍光活性化細胞分類（「FACS」）、MassARRAY、プロテオミクス、定量的血液ベースのアッセイ（例えば、血清ELISA）、生化学的酵素活性アッセイ、原位置ハイブリダイゼーション、蛍光原位置ハイブリダイゼーション（FISH）、サザン分析、ノーザン分析、全ゲノム配列決定、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）（定量的リアルタイムPCR（qRT-PCR））及び他の増幅型検出方法、例えば

50

、分枝DNA、SISBA、TMA等を含む)、RNA-Seq、マイクロアレイ分析、遺伝子発現プロファイリング、及び／または遺伝子発現の連続分析(「SAGE」)、ならびにタンパク質、遺伝子、及び／または組織アレイ分析によって行われ得る多種多様のアッセイのうちのいずれか1つが挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子及び遺伝子生成物の状態を評価するための典型的なプロトコルは、例えば、Ausubel et al., eds., 1995, Current Protocols In Molecular Biology, Units 2(ノーザンブロット法)、4(サザンブロット法)、15(免疫ブロット法)、及び18(PCR分析)において見出される。Rules Based MedicineまたはMeso Scale Discovery(「MSD」)から入手可能なもの等の多重化イムノアッセイもまた、使用され得る。

10

#### 【0117】

上述の方法のうちのいずれかにおいて、バイオマーカー(例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4)の存在及び／または発現レベル(量)は、核酸発現レベルであり得る。場合によっては、核酸発現レベルは、qPCR、rtPCR、RNA-Seq、多重qPCRもしくはRT-qPCR、マイクロアレイ分析、SAGE、MassARRAY技法、または原位置ハイブリダイゼーション(例えば、FISH)を用いて判定される。場合によっては、バイオマーカー(例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4)の発現レベルは、腫瘍細胞、腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞、またはこれらの組み合わせにおいて決定される。

20

#### 【0118】

特定の場合によっては、バイオマーカー(例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4)の発現レベルは、mRNA発現レベルである。細胞中のmRNAの評価のための方法は、周知であり、例えば、次世代シーケンシング技術を用いたRNA-Seq(例えば、全トランスクリプトームショットガンシーケンシング)、相補的DNAプローブを用いたハイブリダイゼーションアッセイ(1つ以上の遺伝子に特異的な標識リボプローブを用いた原位置ハイブリダイゼーション、ノーザンブロット法及び関連技術)、ならびに様々な核酸増幅アッセイ(遺伝子のうちの1つ以上に特異的な相補的プライマーを用いたRT-PCR等、及び例えば、分岐DNA、SISBA、TMA等の他の増幅型検出方法)を含む。加えて、このような方法は、生物学的試料中の標的mRNAのレベルを決定することを可能にする(例えば、アクチンファミリーメンバー等の「ハウスキーピング」遺伝子の比較対照mRNA配列のレベルを同時に試験することによって)1つ以上のステップを含み得る。任意に、増幅された標的cDNAの配列を決定することができる。任意の方法は、マイクロアレイ技術によって、組織または細胞試料中の標的mRNA等のmRNAを試験するまたは検出するプロトコルを含む。核酸マイクロアレイを使用して、試験及び対照組織試料からの試験及び対照mRNAを逆転写し、cDNAプローブを生成するために標識する。その後、プローブを、固体支持体に固定した核酸のアレイにハイブリダイズされる。アレイの配列及び各メンバーの位置が分かるようにアレイを設計する。例えば、その発現がMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療の増加または低減した臨床的利点と関連する遺伝子の選択は、固体支持体上に整列させ得る。特定のアレイメンバーと標識されたプローブのハイブリダイゼーションは、プローブが由来する試料がその遺伝子を発現することを示す。

30

40

#### 【0119】

上述の方法のうちのいずれかにおいて、バイオマーカー(例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4)の存在及び／または発現レベル(量)は、バイオマーカーのタンパク質発現レベルを決定することによって測定される。ある特定の場合によっては、本方法は、生物学的試料を、バイオマーカーの結合に対して許容される条件下で、本明細書

50

に記載されるバイオマーカーに特異的に結合する抗体と接触させることと、複合体が抗体とバイオマーカーとの間に形成されるかどうかを検出することと、を含む。このような方法は、インビトロまたはインビボ方法であり得る。当該技術分野で既知のタンパク質発現レベルを測定する任意の方法が、使用され得る。例えば、場合によっては、バイオマーカー（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4）のタンパク質発現レベルは、フローサイトメトリー（例えば、蛍光活性化細胞分類（FACS（商標）））、ウェスタンブロット法、ELISA、ELIFA、免疫沈降、免疫組織化学（IHC）、免疫蛍光、放射免疫測定法、ドットブロット法、免疫検出方法、HPLC、表面プラズモン共鳴、光学分光法、質量分析法、及びHPLCから成る群から選択される方法を用いて決定される。場合によっては、バイオマーカー（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び／またはEPHA4）のタンパク質発現レベルは、腫瘍細胞中で決定される。

10

#### 【0120】

ある特定の場合によっては、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、試験試料が得られるときよりも1つ以上の異なる時点で得られる同じ対象または個人からの単一試料または複数の試料の組み合わせである。例えば、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、試験試料が得られるときよりも同じ対象または個人からより早い時点で得られる。このような参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、参照試料ががんの初期診断中に得られ、がんが転移性であるときには試験試料が後に得られる場合、有用であり得る。

20

#### 【0121】

ある特定の実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、患者ではない1人以上の健常な個体からの複数の試料の組み合わせである。ある特定の実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、患者または個体ではない疾患または障害（例えば、がん）に罹患している1人以上の個体からの複数の試料の組み合わせである。ある特定の実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、患者ではない1人以上の個体からの、正常組織からプールしたRNA試料またはプールした血漿もしくは血清試料である。ある特定の実施形態では、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織は、患者ではない疾患または障害（例えば、がん）に罹患している1人以上の個体からの、腫瘍組織からプールしたRNA試料またはプールした血漿もしくは血清試料である。ある特定の実施形態では、参照レベルは、試料セット（例えば、組織試料セット（例えば、腫瘍組織試料セット））にわたってバイオマーカーの発現の中央値レベルである。ある特定の実施形態では、参照レベルは、特定の疾患または障害（例えば、増殖性細胞障害（例えば、がん））に罹患している患者の集団にわたってバイオマーカーの発現の中央値レベルである。

30

#### 【0122】

本方法のいずれかのいくつかの実施形態では、上昇または増加した発現とは、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織と比較して、本明細書に記載されるもの等の標準的な技術分野で知られている方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子またはmRNA））のレベルにおいて、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上のうちのいずれかの全体的な増加を指す。ある特定の実施形態では、上昇または増加した発現とは、試料中のバイオマーカーの発現レベル（量）の増加を指し、この増加は、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織中のそれぞれのバイオマーカーの発現レベル（量）の少なくとも約1.5倍、1.75倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、25倍、50倍、75倍、または100倍のうちの

40

50

いずれかである。いくつかの実施形態では、上昇した発現とは、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、対照組織、または内部対照（例えば、ハウスキーピング遺伝子）と比較して、約 1.5 倍超、約 1.75 倍、約 2 倍、約 2.25 倍、約 2.5 倍、約 2.75 倍、約 3.0 倍、または約 3.25 倍の全体的な増加を指す。

#### 【0123】

本方法のいずれかのいくつかの実施形態では、低減または減少した発現とは、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織と比較して、本明細書に記載されるもの等の標準的な技術分野で知られている方法によって検出される、バイオマーカー（例えば、タンパク質または核酸（例えば、遺伝子または mRNA））のレベルにおいて、約 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99% またはそれ以上のうちのいずれかの全体的な減少を指す。ある特定の実施形態では、低減した発現とは、試料中のバイオマーカーの発現レベル（量）の低下を指し、この低下は、参照レベル、参照試料、参照細胞、参照組織、対照試料、対照細胞、または対照組織中のそれぞれのバイオマーカーの発現レベル（量）の少なくとも約 0.9 倍、0.8 倍、0.7 倍、0.6 倍、0.5 倍、0.4 倍、0.3 倍、0.2 倍、0.1 倍、0.05 倍、または 0.01 倍のうちのいずれかである。

#### 【0124】

本発明はまた、本明細書に記載される方法に関連して診断及び／または治療を告げるために、MAPK 活性スコアを使用する方法も提供する。一実施形態では、MAPK 活性スコアは、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

に従って決定され、式中、 $z_i$  は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された各遺伝子の z スコアであり、 $n$  は、当該セット中に含まれる遺伝子の数である。場合によっては、MAPK 活性スコアを決定するために使用されるセット中に含まれる遺伝子は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び EPHA4 のうちの 1 つ以上である。例えば、MAPK 活性スコアを決定するために使用されるセットを構成する遺伝子は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び EPHA4 であり得る。MAPK 活性スコアは、試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））の集団にわたって決定され得る。場合によっては、試料の集団にわたって MAPK 活性スコア中央値は、特定のがん（例えば、肺癌、皮膚癌、乳癌、胃癌）に罹患している患者の集団にわたって MAPK 活性スコアを表す。場合によっては、MAPK 活性スコア中央値は、がんに対して予め定義された MAPK 活性スコアである。予め定義された MAPK 活性スコア中央値は、例えば、がん罹患している患者からの複数（例えば、少なくとも 100）の試料（例えば、アーカイブ試料）から判定され得る。MAPK 活性スコア中央値よりも高い MAPK 活性スコアは、高い MAPK 活性スコア（MAPK-高）であり、1 つ以上の MAPK シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定し得る。場合によっては、高い MAPK 活性スコアは、MAPK 活性スコア中央値の 1% 超またはそれ以上（例えば、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上）である。場合によっては、MAPK 活性スコア中央値よりも低い MAPK 活性スコアは、低い MAPK 活性スコア（MAPK-低）であり、1 つ以上の MAPK シグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が低い患者を特定し得る。場合によっては、低い MAPK 活性スコアは、MAPK 活性スコア中央値の 1% 未満またはそれ以上（例えば、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上）である。

## 【0125】

場合によっては、MAPK活性スコアは、ベースライン遺伝子シグネチャ（例えば、細胞周期または免疫遺伝子シグネチャ）の決定と組み合わせられ得る。場合によっては、ベースライン遺伝子シグネチャは、細胞周期ベースライン遺伝子シグネチャサブグループへの増殖に関与することが当該技術分野で既知の遺伝子の複数の試料（例えば、患者試料の群（例えば、がん患者試料の群））からの全トランスクリプトームRNA-Seq発現データをクラスタ化によって判定され得る。場合によっては、免疫細胞上に発現されることが当該技術分野で既知の遺伝子の複数の試料（例えば、患者試料の群（例えば、がん患者試料の群））からの全トランスクリプトームRNA-Seq発現データは、免疫ベースライン遺伝子シグネチャサブグループへのクラスタ化され得る。場合によっては、「細胞周期／MAPK-高」の判定は、「細胞周期／MAPK-低」の決定と比較して、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。場合によっては、「免疫／MAPK高」の判定は、「免疫／MAPK低」の判定と比較して、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。場合によっては、細胞周期シグネチャの判定は、コビメチニブ及びベムラフェニブの組み合わせ等のMEK阻害剤及びBRAF阻害剤の組み合わせを含む、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に応答する可能性が高い患者を特定する。

10

## 【0126】

## B. MAPKシグナル伝達阻害剤による治療

本発明は、がん罹患している患者（例えば、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌）を治療するための方法を提供する。場合によっては、本発明の方法は、患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。本明細書に記載されるまたは当該技術分野で既知のMAPKシグナル伝達阻害剤のいずれかは、当該方法に関連して使用され得る。場合によっては、本方法は、患者から得られた試料中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び／またはEPHA4の発現レベルを決定することと、参照レベルと比較して、試料中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び／またはEPHA4の増加した発現レベルに基づいて患者に、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療剤を投与することと、を含む。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤の投与は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び／またはEPHA4のうちの少なくとも1つの発現レベルが、参照レベルと比較して、増加することが判定されている後である。場合によっては、現在MAPKシグナル伝達阻害剤で治療されている患者は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及び／またはEPHA4のうちの少なくとも1つの発現レベルが、参照レベルと比較して、増加するという判定後に、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療を継続して受けてもよい。

20

30

## 【0127】

上述の方法のうちのいずれかにおいて、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤は、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの少なくとも1つの発現レベルが、少なくとも1つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されているときに投与してもよい。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUS

40

50

P 4、CCND 1、EPHA 2、及びEPHA 4のうちの少なくとも2つの発現レベルは、少なくとも2つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP 6、ETV 4、SPRY 2、SPRY 4、PHLDA 1、ETV 5、DUSP 4、CCND 1、EPHA 2、及びEPHA 4のうちの少なくとも3つの発現レベルは、  
10 少なくとも3つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP 6、ETV 4、SPRY 2、SPRY 4、PHLDA 1、ETV 5、DUSP 4、  
20 CCND 1、EPHA 2、及びEPHA 4のうちの少なくとも4つの発現レベルは、少なくとも4つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によ  
30 っては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP 6、ETV 4、SPRY 2、SPRY 4、PHLDA 1、ETV 5、DUSP 4、CCND 1、EPHA 2、及びEPHA 4のうちの少なくとも5つの発現レベルは、少なくとも5つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によ  
40 っては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP 6、ETV 4、SPRY 2、SPRY 4、PHLDA 1、ETV 5、DUSP 4、CCND 1、EPHA 2、及びEPHA 4のうちの少なくとも6つの発現レベルは、少なくとも6つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によ  
50 っては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP 6、ETV 4、SPRY 2、SPRY 4、PHLDA 1、ETV 5、DUSP 4、CCND 1、EPHA 2、及びEPHA 4のうちの少なくとも7つの発現レベルは、少なくとも7つの遺伝子の参照レベルと比較して、約1%以上（例えば、約2%以上、約3%以上、約4%以上、約5%以上、約6%以上、約7%以上、約8%以上、約9%以上、約10%以上、約11%以上、約12%以上、約13%以上、約14%以上、約15%以上、約20%以上、約25%以上、約30%以上、約35%以上、約40%以上、約45%以上、または約50%以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によ  
っ

約４％以上、約５％以上、約６％以上、約７％以上、約８％以上、約９％以上、約１０％以上、約１１％以上、約１２％以上、約１３％以上、約１４％以上、約１５％以上、約２０％以上、約２５％以上、約３０％以上、約３５％以上、約４０％以上、約４５％以上、または約５０％以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの少なくとも９つの発現レベルは、少なくとも９つの遺伝子の参照レベルと比較して、約１％以上（例えば、約２％以上、約３％以上、約４％以上、約５％以上、約６％以上、約７％以上、約８％以上、約９％以上、約１０％以上、約１１％以上、約１２％以上、約１３％以上、約１４％以上、約１５％以上、約２０％以上、約２５％以上、約３０％以上、約３５％以上、約４０％以上、約４５％以上、または約５０％以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。場合によっては、患者から得られた試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））中のDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4の１０の発現レベルは全て、１０の遺伝子の参照レベルと比較して、約１％以上（例えば、約２％以上、約３％以上、約４％以上、約５％以上、約６％以上、約７％以上、約８％以上、約９％以上、約１０％以上、約１１％以上、約１２％以上、約１３％以上、約１４％以上、約１５％以上、約２０％以上、約２５％以上、約３０％以上、約３５％以上、約４０％以上、約４５％以上、または約５０％以上）変化（例えば、増加）したことが判定されている。

#### 【０１２８】

ある特定の実施形態では、本方法は、参照レベルと比較して、PHLDA1、EPHA2、CCND1、SPRY2、SPRY4、ETV4、DUSP4、及び／またはDUSP6の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、肺癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、PHLDA1、SPRY2、ETV4、EPHA2、ETV5、及び／またはSPRY4の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、乳癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、DUSP4、SPRY4、及び／またはETV4の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、皮膚癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、PHLDA1、DUSP6、SPRY4、及び／またはSPRY2の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、結腸直腸癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、DUSP4の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、胃癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、DUSP6、ETV5、SPRY2、SPRY4、及び／またはETV4の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、リンパ癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、SPRY2及び／またはDUSP6の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、卵巣癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。場合によっては、本方法は、参照レベルと比較して、DUSP6の発現の増加したレベルがMAPKシグナル伝達阻害剤を用いた治療から利益を受ける可能性が高い、子宮頸癌患者を特定するときに、この患者に、MAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む。

## 【0129】

本発明は、がん罹患している患者を治療する方法であって、患者から得られた腫瘍試料から高いMAPK活性スコアの判定に基づいて、患者に、治療上有効量の1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む、方法をさらに提供する。本発明は、がん罹患している患者を治療する方法であって、患者から得られた腫瘍試料から細胞周期／MAPK－高活性スコアの判定に基づいて、患者に、治療上有効量の1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む、方法をさらに提供する。MAPK活性スコアは、アルゴリズム：

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

10

に従って決定され、式中、 $z_i$ は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された各遺伝子のzスコアであり、 $n$ は、当該セット中に含まれる遺伝子の数である。場合によっては、MAPK活性スコアを決定するために使用されるセットを含む遺伝子は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4のうちの1つ以上である。例えば、MAPK活性スコアを決定するために使用されるセットを構成する遺伝子は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4であり得る。MAPK活性スコアは、試料（例えば、組織試料（例えば、腫瘍組織試料））の集団にわたって決定され得る。場合によっては、試料の集団にわたってMAPK活性スコア中央値は、特定のがん（例えば、肺癌、皮膚癌、乳癌、胃癌）に罹患している患者の集団にわたってMAPK活性スコアを表す。MAPK活性スコア中央値よりも高いMAPK活性スコアは、高いMAPK活性スコア（MAPK－高）であり、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定し得る。場合によっては、高いMAPK活性スコアは、MAPK活性スコア中央値の1%超またはそれ以上（例えば、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上）である。場合によっては、MAPK活性スコア中央値よりも低いMAPK活性スコアは、低いMAPK活性スコア（MAPK－低）であり、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が低い患者を特定し得る。場合によっては、低いMAPK活性スコアは、MAPK活性スコア中央値の1%未満またはそれ以上（例えば、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上）である。場合によっては、MAPK活性スコアは、ベースライン遺伝子シグネチャ（例えば、細胞周期または免疫遺伝子シグネチャ）の判定と組み合わせられ得る。場合によっては、「細胞周期／MAPK－高」の判定は、「細胞周期／MAPK－低」の判定と比較して、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。場合によっては、「免疫／MAPK－高」の判定は、「免疫／MAPK低」の判定と比較して、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。

20

30

40

## 【0130】

場合によっては、MAPK活性スコアは、MAPKシグナル伝達阻害剤の投与前に決定される。場合によっては、現在MAPKシグナル伝達阻害剤で治療されている患者は、高いMAPK活性スコアの判定後に、MAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療を継続して受けてもよい。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤の組み合わせ（例えば、コビメチニブ及びベムラフェニブの組み合わせ等のMEK阻害剤及びBRAFR阻害剤の組み合わせ）は、細胞周期シグネチャを有することが判定され、2つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む治療に応答する可能性が高い者と特定されている患者に投与される。

## 【0131】

上述の方法のうちのいずれかにおいて、1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤の投与

50

は、細胞もしくは生物学的応答、完全奏功、部分奏功、安定した疾患（進行または再発なし）、またはMAPKシグナル伝達阻害剤による治療からもしくはその結果として患者の後の再発を伴う応答の治療効果（すなわち、利益）を有し得る。例えば、有効な応答は、参照レベル（例えば、試験された患者の群／集団からの試料中のバイオマーカーの発現レベル中央値、特定のがんに罹患している患者の群／集団からの試料中のバイオマーカーの発現レベル中央値、先行の時間で個体から得られた試料中のレベル、またはMAPKシグナル伝達阻害剤による治療前に受けた患者からの試料中のレベルを含む）と比較して、バイオマーカー（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4）のうちの1つ以上のより高いレベルを表すと診断された患者における腫瘍サイズ（体積）の低下、無増悪生存率（PFS）の増加、及び／または全生存（OS）の増加であり得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤の投与は、腫瘍サイズ（体積）の低下の治療効果を1%以上（例えば、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%もしくはそれ以上）有する。バイオマーカー（例えば、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4）のうちの少なくとも1つの増加した発現は、このような治療有効性を予測する。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤の投与は、無増悪生存率（PFS）を増加する治療効果を1日以上（例えば、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月、6カ月、7カ月、8カ月、9カ月、10カ月、11カ月、または1年もしくはそれ以上）有する。

#### 【0132】

本発明の方法で用いるためのMAPKシグナル伝達阻害剤

患者に、治療上有効量の1つ以上のMAPKシグナル伝達阻害剤を投与することを含む患者における増殖性細胞障害（例えば、がん（例えば、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌））の進行を治療するまたは遅延させるための方法が、本明細書において提供される。

#### 【0133】

MAPKシグナル伝達阻害剤は、MAPK経路（例えば、RAS／RAF／MEK／ERK経路）を介してシグナル変換を減少する、ブロックする、阻害する、廃止する、または干渉する分子である。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、MAPKシグナル伝達の活性化に関与する1つ以上のタンパク質の活性を阻害し得る。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、MAPKシグナル伝達の阻害に関与する1つ以上のタンパク質の活性を活性化し得る。MAPKシグナル伝達阻害剤としては、MEK阻害剤、BRAFR阻害剤、ERK阻害剤、CRAF阻害剤、及びRAF阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、小分子である。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、タンパク質（例えば、ペプチド）であり得る。いくつかの実施形態では、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗体、その抗原結合フラグメント、イムノアドヘシン、融合タンパク質、またはオリゴペプチドであり得る。

#### 【0134】

本発明に従って使用され得るBRAFR阻害剤の例としては、ベムラフェニブ（ZELBORAF（登録商標））、ダブラフェニブ、エコラフェニブ（LGX818）、GDC-0879、XL281、ARQ736、PLX3603、RAF265、及びソラフェニブ、ならびにそれらの薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。BRAFR阻害剤は、BRAFRのみを阻害し得るか、またはBRAFR及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。PCT出願公開WO2005/062795、WO2007/002325、WO2007/002433、WO2008/079903、及びWO2008/079906（これらは、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載される、好ましいBRAFR阻害剤。

## 【0135】

本発明に従って使用され得るERK阻害剤の例としては、ラボキセルチニブ（GDC-0994）及びウリキセルチニブ（BVD-523）、ならびにこれらの薬学的に許容される塩（例えば、ベシル酸塩（例えば、ラボキセルチニブのベシル酸塩））が挙げられるが、これらに限定されない。ERK阻害剤は、ERKのみを阻害し得るか、またはERK及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。PCT出願公開WO2013/130976、WO2012/118850、WO2013/020062、WO2015/154674、WO2015/085007、WO2015/032840、WO2014/036015、WO2014/060395、WO2015/103137、及びWO2015/103133（これらは、それぞれ、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載される、好ましいERK阻害剤。

10

## 【0136】

本発明に従って使用され得るMEK阻害剤の例としては、コビメチニブ（例えば、コビメチニブヘミフマレート、COTELLIC（登録商標））、トラメチニブ、ビニメチニブ、セルメチニブ、ピマセチニブ、レファメチニブ、GDC-0623、PD-0325901、及びBI-847325、ならびにそれらの薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。MEK阻害剤は、MEKのみを阻害し得るか、またはMEK及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。PCT出願公開WO2007/044515、WO2008/024725、WO2008/024724、WO2008/067481、WO2008/157179、WO2009/085983、WO2009/085980、WO2009/082687、WO2010/003025、及びWO2010/003022（これらは、それぞれ、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる）に記載される、好ましいMEK阻害剤。

20

## 【0137】

本発明に従って使用され得るCRAF阻害剤の例としては、ソラフェニブ、及びその薬学的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。CRAF阻害剤は、CRAFのみを阻害し得るか、またはCRAF及び1つ以上のさらなる標的物を阻害し得る。

## 【0138】

投与量及び投与

一旦MAPKシグナル伝達阻害剤での治療にตอบสนองするかまたは感受性である患者が特定されていると、MAPKシグナル伝達阻害剤での治療は、単独でまたは他の治療剤と組み合わせて行われ得る。このような治療は、例えば、腫瘍サイズの減少、または無増悪生存率（PFS）及び／または全生存（OS）の増加をもたらし得る。さらに、MAPKシグナル伝達阻害剤及び少なくとも1つのさらなる治療剤の組み合わせでの治療は、好ましくは、患者への相加的、より好ましくは相乗的（または相加的よりも大きい）、治療的利益をもたらす。好ましくは、この組み合わせ方法において、MAPKシグナル伝達阻害剤及び少なくとも1つのさらなる治療剤の少なくとも1つの投与間のタイミングは、約1カ月以下、及び好ましくは約2週間以下である。

30

## 【0139】

MAPKシグナル伝達阻害剤に対して応答性の可能性がある診断後の治療上有効量のMAPKシグナル伝達阻害剤を患者に投与する正確な様式が、主治医の裁量であろうと当業者によって理解されるであろう。投与量、他の薬剤との組み合わせ、投与のタイミング及び頻度等を含む投与モードは、このようなMAPKシグナル伝達阻害剤に対して患者の応答性の可能性がある診断、ならびに患者の病態及び病歴によって影響を受け得る。したがって、MAPKシグナル伝達阻害剤に対して比較的非感受性であると予測されるがんに罹患している患者でさえ、依然として、それとともに、アンタゴニストに対して患者の応答性を変化し得る薬剤を含む、特に他の薬剤と組み合わせて治療から利益を受け得る。

40

## 【0140】

MAPKシグナル伝達阻害剤を含む組成物は、良好な医療行為と一致する様式で製剤化、投薬、及び投与されるであろう。この文脈において考慮するための因子には、治療され

50

る特定のがん型（例えば、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌）、治療される特定の哺乳動物（例えば、ヒト）、個々の患者の臨床状態、がんの原因、薬剤の送達の部位、可能な副作用、阻害剤の種類、投与方法、投与のスケジュールリング、及び医師に既知の他の因子が含まれる。投与される有効量のM A P Kシグナル伝達阻害剤は、このような考慮事項によって支配されよう。

#### 【0141】

当業医師は、特定のアンタゴニスト型としてこのような因子に応じて、容易に判定され、有効量の必要とされる薬学的組成物を処方することができる。例えば、医師は、所望の治療効果を達成するために必要とされるものよりも低いレベルの薬学的組成物中で用いられるようなM A P Kシグナル伝達阻害剤の投与量で開始し、所望の効果が達成されるまで投与量を徐々に増加させ得る。アンタゴニストの所与の用量または治療レジメンの有効性は、例えば、有効性の標準測定値を用いて、患者における兆候及び症状を評価することによって判定され得る。

10

#### 【0142】

ある特定の例では、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、対象に投与された唯一の薬剤（すなわち、単剤療法）であり得る。

#### 【0143】

ある特定の例では、患者は、同じM A P Kシグナル伝達阻害剤で少なくとも2回治療される。したがって、初期及び第2のM A P Kシグナル伝達阻害剤の曝露は、好ましくは同じ阻害剤を用いて、より好ましくはM A P Kシグナル伝達阻害剤の曝露は全て、同じM A P Kシグナル伝達阻害剤を用いて行われ、すなわち、初めの2つの曝露、及び好ましくは全ての曝露での治療は、M A P Kシグナル伝達阻害剤の1つの種類を用いて行われる。

20

#### 【0144】

M A P Kシグナル伝達阻害剤、またはその薬学的に許容される塩での治療は、標準方法に従って行われ得る。コビメチニブ（例えば、フマル酸コビメチニブ（C O T E L L I C（登録商標）））の投与のための例示的な方法は、米国、Genentech, Inc.（2015年11月10日）のフマル酸コビメチニブ（C O T E L L I C（登録商標））のための処方情報について記載されており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。ベムラフェニブ（Z E L B O R A F（登録商標））の投与のための例示的な方法は、米国、Hoffmann-La Roche, Inc.（2015年8月11日）のベムラフェニブ（Z E L B O R A F（登録商標））のための処方情報について記載されており、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

30

#### 【0145】

M A P Kシグナル伝達阻害剤の複数の曝露が提供される場合、各曝露は、同じまたは異なる投与手段を用いて提供され得る。一実施形態では、各曝露は、経口投与によって施される。一実施形態では、各曝露は、静脈内投与によるものである。別の実施形態では、各曝露は、皮下投与によって施される。さらに別の実施形態では、曝露は、静脈内及び皮下投与の両方によって施される。

#### 【0146】

治療期間は、医学的に示される限り、または所望の治療効果（例えば、本明細書に記載されるもの）が達成されるまで継続され得る。ある特定の実施形態では、治療は、1カ月間、2カ月間、4カ月間、6カ月間、8カ月間、10カ月間、1年間、2年間、3年間、4年間、5年間、または対象の生存期間まで長期間にわたって継続される。

40

#### 【0147】

しかしながら、上述のように、これらの示唆された量のM A P Kシグナル伝達阻害剤は、多くの治療的裁量に供される。適切な用量及びスケジュールリングを選択する際の主な因子は、上述のように、得られた結果である。いくつかの実施形態では、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、増殖性細胞障害（例えば、がん）の最初の兆候、診断、外観、または発生にできるだけ近く投与される。

#### 【0148】

50

## 1. 投与経路

MA PKシグナル伝達阻害剤及び任意のさらなる治療剤は、良好な医療行為と一致する様式で製剤化、投薬、及び投与され得る。この文脈において考慮するための因子には、治療される特定の障害（例えば、がん）、治療される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤の送達の部位、投与方法、投与のスケジューリング、及び医師に既知の他の因子が含まれる。MA PKシグナル伝達阻害剤は、必要ではないが、任意に、問題となる障害（例えば、がん）を予防または治療するために現在使用される1つ以上の薬剤と製剤化及び／または同時に投与される。

### 【0149】

がんの予防または治療のために、本明細書に記載されるMA PKシグナル伝達阻害剤の適切な用量（単独でまたは1つ以上の他のさらなる治療剤と組み合わせるとき）は、治療される疾患の種類、疾患の重症度及び経過、MA PKシグナル伝達阻害剤が、予防目的または治療目的のために投与されるかどうかに関わらず、薬歴、MA PKシグナル伝達阻害剤に対する患者の病歴及び応答、ならびに主治医の裁量に依存するであろう。MA PKシグナル伝達阻害剤は、一度にまたは一連の治療にわたって患者に好適に投与される。数日間またはそれ以上にわたる反復投与については、病態に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで治療が概して継続され得る。このような用量は、断続的に、例えば、毎週または3週間毎に投与され得る（例えば、患者がMA PKシグナル伝達阻害剤の約2～約20、例えば、約6回の用量から受容するように）。より高い初回負荷用量、続いて1回以上のより低い用量が投与され得る。しかしながら、他の投与量レジメンは有用であり得る。この治療法の進行は、従来の技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

### 【0150】

MA PKシグナル伝達阻害剤は、経口、非経口、局所、皮下、腹腔内、肺内、鼻腔内、及び／または病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与され得る。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。髄腔内投与はまた、企図される。加えて、MA PKシグナル伝達阻害剤は、例えば、MA PKシグナル伝達阻害剤の低下する用量で、パルス注入によって好適に投与され得る。最も好ましくは、投与は、経口投与によって施される。

### 【0151】

MA PKシグナル伝達阻害剤の複数の曝露が提供される場合、各曝露は、同じまたは異なる投与手段を用いて提供され得る。一実施形態では、各曝露は、経口投与によるものである。例えば、コビメチニブ、ベムラフェニブ、及び／またはラボキセルチニブ等の1つ以上のMA PKシグナル伝達阻害剤は、錠剤形態で提供され得る。例えば、コビメチニブ、ベムラフェニブ、及び／またはラボキセルチニブ等の1つ以上のMA PKシグナル伝達阻害剤は、1日2回投与され得る。別の実施形態では、各曝露は、静脈内（i. v.）で施される。別の実施形態では、各曝露は、皮下（s. c.）で施される。さらに別の実施形態では、曝露は、静脈内（i. v.）及び皮下（s. c.）の両方で施される。

### 【0152】

## 2. 併用療法

本方法は、患者に、さらなる治療剤と組み合わせて、有効量のMA PKシグナル伝達阻害剤を投与することをさらに含み得る。場合によっては、さらなる治療剤は、さらなるMA PKシグナル伝達阻害剤である。場合によっては、さらなる治療剤は、化学療法剤、成長阻害剤、生物学的療法、免疫療法、または放射線療法剤等の抗癌剤である。加えて、細胞毒性剤、抗血管新生剤、及び抗増殖剤は、MA PKシグナル伝達阻害剤と組み合わせて使用され得る。場合によっては、MA PKシグナル伝達阻害剤は、外科手術等の抗癌療法と組み合わせて使用される。

### 【0153】

併用療法は、「相乗効果」を提供し、「相乗的」であることを証明し得、すなわち、ともに使用された活性成分が化合物を別々に使用することから生じる効果の総和を上回るときに達成される効果である。相乗効果は、活性成分が：（1）共製剤化され、投与される

か、または組み合わせられた単位用量剤形中で同時に送達されるか、(2) 別個の製剤として交互にまたは並行で送達されるか、または(3) いくつかの他のレジメンによるときに、獲得され得る。交互の治療において送達される時、相乗効果は、化合物が連続して投与されるか、もしくは送達される時、獲得され得る。全般に、交互の治療の間、有効投与量の各活性成分は、連続して(すなわち、連続的に)投与されるが、一方、組み合わせ治療において、有効投与量の2つ以上の活性成分は、一緒に投与される。

#### 【0154】

上述のように、治療方法は、2つ以上の(例えば、3つ以上の)MAPKシグナル伝達阻害剤の組み合わせを投与することを含み得る。場合によっては、MEK阻害剤は、少なくとも1つのBRAFR阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、MEK阻害剤は、少なくとも1つのERK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、MEK阻害剤は、少なくとも1つのCRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、MEK阻害剤は、少なくとも1つのRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、MEK阻害剤は、少なくとも1つのRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、MEK阻害剤は、少なくとも1つのKRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、BRAFR阻害剤は、少なくとも1つのMEK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、BRAFR阻害剤は、少なくとも1つのERK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、BRAFR阻害剤は、少なくとも1つのCRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、BRAFR阻害剤は、少なくとも1つのRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、BRAFR阻害剤は、少なくとも1つのRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、BRAFR阻害剤は、少なくとも1つのKRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、ERK阻害剤は、少なくとも1つのMEK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、ERK阻害剤は、少なくとも1つのBRAFR阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、ERK阻害剤は、少なくとも1つのCRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、ERK阻害剤は、少なくとも1つのRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、ERK阻害剤は、少なくとも1つのRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、ERK阻害剤は、少なくとも1つのKRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、CRAF阻害剤は、少なくとも1つのMEK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、CRAF阻害剤は、少なくとも1つのERK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、CRAF阻害剤は、少なくとも1つのRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、CRAF阻害剤は、少なくとも1つのBRAFR阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、CRAF阻害剤は、少なくとも1つのRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、CRAF阻害剤は、少なくとも1つのKRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、RAF阻害剤は、少なくとも1つのMEK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、RAF阻害剤は、少なくとも1つのERK阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、RAF阻害剤は、少なくとも1つのCRAF阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、RAF阻害剤は、少なくとも1つのBRAFR阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、RAF阻害剤は、少なくとも1つのRAS阻害剤と組み合わせで投与される。場合によっては、RAF阻害剤は、少なくとも1つのKRAS阻害剤と組み合わせで投与される。

#### 【0155】

本方法はまた、シクロホスファミド、ヒドロキシダウノルビシン、アドリアマイシン、ドキソルビシン、ビンクリスチン(ONCOVIN(商標))、プレドニゾロン、CHOP、CVP、またはCOP等の化学療法剤と組み合わせた、有効量のMAPKシグナル伝達阻害剤を患者に投与することを含む。別の実施形態では、組み合わせは、ドセタキセル、ドキソルビシン、及びシクロホスファミドを含む。

#### 【0156】

他の例では、本方法は、治療抗体等の免疫治療薬と組み合わせでMAPKシグナル伝達

阻害剤を投与することを含む。一実施形態では、治療抗体は、がん細胞表面マーカーまたは腫瘍関連抗原（TAA）に結合する抗体である。一実施形態では、治療抗体は、抗HER2抗体、トラスツズマブ（例えば、HERCEPTIN（登録商標））である。一実施形態では、治療抗体は、抗HER2抗体、ペルツズマブ（OMNITARG（商標））である。別の実施形態では、治療抗体は、裸抗体または抗体薬剤接合体（ADC）のいずれかである。

#### 【0157】

理論に拘束されることを望むものではないが、活性化する共刺激分子を促進することによるまたは陰性共刺激分子を阻害することによるT細胞刺激の増強が、腫瘍細胞死を促し、それによってがんの進行を治療もしくは遅延し得ると考えられる。したがって、場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、活性化する共刺激分子に対するアゴニストとともに投与され得る。場合によっては、活性化する共刺激分子は、CD40、CD226、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、HVEM、またはCD127を含み得る。場合によっては、活性化する共刺激分子に対するアゴニストは、CD40、CD226、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、HVEM、またはCD127に結合するアゴニスト抗体である。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抑制性共刺激分子に対するアンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、抑制性共刺激分子は、CTLA-4（CD152としても知られている）、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、B7-H3、B7-H4、IDO、TIGIT、MICA/B、またはアルギナーゼを含み得る。場合によっては、抑制性共刺激分子に対するアンタゴニストは、CTLA-4、TIM-3、BTLA、VISTA、LAG-3、B7-H3、B7-H4、IDO、TIGIT、MICA/B、またはアルギナーゼに結合するアンタゴニスト抗体である。

#### 【0158】

場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CTLA-4（CD152としても知られている）、例えば、遮断抗体に対するアンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、イピリムマブ（MDX-010、MDX-101、またはYERVOY（登録商標）としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、トレメリムマブ（チシリムマブまたはCP-675,206としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、B7-H3（CD276としても知られている）に対するアンタゴニスト、例えば、遮断抗体とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、MGA271とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、TGF- $\beta$ 、例えば、メテリムマブ（CAT-192としても知られている）、フレゾリムマブ（GC1008としても知られている）、またはLY2157299に対するアンタゴニストとともに投与され得る。

#### 【0159】

場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、キメラ抗原受容体（CAR）を発現するT細胞（例えば、細胞毒性T細胞またはCTL）の養子免疫伝達を含む治療とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、優性陰性TGF $\beta$ 受容体、例えば、優性陰性TGF $\beta$  II型受容体を含むT細胞の養子免疫伝達を含む治療とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、HERCREEMプロトコルを含む治療とともに投与され得る（例えば、ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954を参照されたい）。

#### 【0160】

場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CD137に対するアゴニスト（TNFRSF9、4-1BB、またはILAとしても知られている）、例えば、活性化抗体とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、ウレルマブ（BMS-663513としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CD40に対するアゴニスト、例えば、活性化抗体と

もに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CP-870893とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、OX40に対するアゴニスト（CD134としても知られている）、例えば、活性化抗体とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗OX40抗体（例えば、AgonOX）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CD27に対するアゴニスト、例えば、活性化抗体とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CDX-1127とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、インドールアミン-2, 3-ジオキシゲナーゼ（IDO）に対するアンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、1-メチル-D-トリプトファン（1-D-MTとしても知られている）は、IDOアンタゴニストを伴う。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、PD-1軸結合アンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、PD-1軸結合アンタゴニストは、PD-L1抗体である。

10

#### 【0161】

場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗体-薬物接合体とともに投与され得る。場合によっては、抗体-薬物接合体は、メルタンシンまたはモノメチルオーリスタチンE（MMAE）を含む。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗NaPi2b抗体-MMAE接合体（DNIB0600AまたはRG7599としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、トラスツズマブエムタンシン（T-DM1、アド-トラスツズマブエムタンシン、またはKADCYLA（登録商標）、Genentechとしても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、DMUC5754Aとともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、エンドセリンB受容体を標的とする抗体-薬物接合体（EDNBR）、例えば、MMAEに接合されるEDNBRに対する抗体とともに投与され得る。

20

#### 【0162】

場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗血管新生剤とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、VEGFに対する抗体、例えば、VEGF-Aとともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、ペバシズマブ（AVASTIN（登録商標）としても知られている、Genentech）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、アンジオポエチン2（Ang2としても知られている）に対する抗体とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、MED13617とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗悪性腫瘍剤とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CSF-1Rを標的とする薬剤（M-CSFRまたはCD115としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、抗CSF-1R（IMC-CS4としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、インターフェロン、例えば、インターフェロンαまたはインターフェロンγとともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、Roferon-A（組換えインターフェロンα-2aとしても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、GM-CSF（組換えヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、rhGM-CSF、サルグラモスチム、またはLEUKINE（登録商標）としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、IL-2（アルデスロイキンまたはPROLEUKIN（登録商標）としても知られている）とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、IL-12とともに投与され得る。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、CD20を標的とする抗体とともに投与され得る。場合によっては、CD20を標的とする抗体は、オビヌツズマブ（GA101またはGAZYVA（登録商標）としても知られている）またはリツキシマブである。場合によっては、MAPKシグナル伝達阻害剤は、

30

40

50

G I T Rを標的とする抗体とともに投与され得る。場合によっては、G I T Rを標的とする抗体は、T R X 5 1 8である。

#### 【0163】

場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、がんワクチンとともに投与され得る。場合によっては、がんワクチンは、ペプチドがんワクチンであり、場合によっては、個別のペプチドワクチンである。場合によっては、ペプチドがんワクチンは、多価長ペプチドワクチン、マルチペプチドワクチン、ペプチドカクテルワクチン、ハイブリッドペプチドワクチン、またはペプチドパルス樹状細胞ワクチンである（例えば、Y a m a d a e t a l. , C a n c e r S c i. 1 0 4 : 1 4 - 2 1 , 2 0 1 3を参照されたい）。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、アジュバントとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、T L Rアゴニスト、例えば、P o l y - I C L C ( H I L T O N O L (登録商標)としても知られている)、L P S、M P L、またはC p G O D Nを含む治療剤とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、腫瘍壊死因子(T N F)  $\alpha$ とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、I L - 1とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、H M G B 1とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、I L - 1 0アンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、I L - 4アンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、I L - 1 3アンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、H V E Mアンタゴニストとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、例えば、I C O S - LまたはI C O Sに対するアゴニスト抗体の投与によってI C O Sアゴニストとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、C X 3 C L 1を標的とする治療剤とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、C X C L 9を標的とする治療剤とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、C X C L 1 0を標的とする治療剤とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、C C L 5を標的とする治療剤とともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、L F A - 1またはI C A M 1アゴニストとともに投与され得る。場合によっては、M A P Kシグナル伝達阻害剤は、セレクチンアゴニストとともに投与され得る。

#### 【0164】

全般に、疾患の予防または治療のために、さらなる治療剤の適切な用量は、治療される疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、M A P Kシグナル伝達阻害剤及びさらなる薬剤（例えば、T M Z）が、予防目的または治療目的のために投与されるかどうかに関わらず、薬歴、M A P Kシグナル伝達阻害剤及びさらなる薬剤に対する患者の病歴及び応答、ならびに主治医の裁量に依存するであろう。M A P Kシグナル伝達阻害剤及びさらなる薬剤は、一度にまたは一連の治療にわたって患者に好適に投与される。M A P Kシグナル伝達阻害剤は、典型的には、上述のように投与される。疾患の種類及び疾患の重症度に応じて、さらなる薬剤の約 $20\text{ mg/m}^2 \sim 600\text{ mg/m}^2$ は、例えば、1つ以上の別々の投与によってであろうと、持続注入によってであろうと、患者への投与に対する初期候補投与量である。ある典型的な1日投与量は、上述の因子に応じて、約または約 $20\text{ mg/m}^2$ 、 $85\text{ mg/m}^2$ 、 $90\text{ mg/m}^2$ 、 $125\text{ mg/m}^2$ 、 $200\text{ mg/m}^2$ 、 $400\text{ mg/m}^2$ 、 $500\text{ mg/m}^2$ またはそれ以上の範囲であり得る。数日間またはそれ以上にわたる反復投与については、病態に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで治療が継続される。したがって、約 $20\text{ mg/m}^2$ 、 $85\text{ mg/m}^2$ 、 $90\text{ mg/m}^2$ 、 $125\text{ mg/m}^2$ 、 $200\text{ mg/m}^2$ 、 $400\text{ mg/m}^2$ 、 $500\text{ mg/m}^2$ 、 $600\text{ mg/m}^2$ のうちの1つ以上の用量（またはこれらの任意の組み合わせ）は、患者に投与され得る。このような用量は、断続的に、例えば、毎週または2週間毎、3週間毎、4週間毎、5週間毎、または6週間毎に投与され得る（例えば、患者がさらなる薬剤の約2～約20、例えば、約6回の用量から受容するように）。より高い初回負荷用量、続いて1回

以上のより低い用量が投与され得る。しかしながら、他の投与量レジメンは有用であり得る。この治療法の進行は、従来の技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

【0165】

一実施形態では、対象は、がんを治療するための任意の薬物（複数可）をこれまでに投与されたことがない。別の実施形態では、対象または患者は、がんを治療するための1つ以上の医薬品（複数可）をこれまでに投与されたことがない。さらなる実施形態では、対象または患者は、これまでに投与されたことがある医薬品のうちの1つ以上に応答しなかった。対象が応答し得ないような薬物は、例えば、抗腫瘍性剤、化学療法剤、細胞毒性剤、及び／または成長阻害剤を含む。

【0166】

VI. 診断キット及び組成物

疾患または障害（例えば、増殖性細胞障害（例えば、がん（例えば、肺癌、乳癌、皮膚癌、結腸直腸癌、胃癌、リンパ癌、卵巣癌、及び子宮頸癌）））に罹患している個体または患者からの試料中のバイオマーカー（例えば、PHLDA1、SPRY2、SPRY4、DUSP4、DUSP6、CCND1、EPHA2、EPHA4、ETV4、及びETV5）の存在を判定するための1つ以上の試薬（例えば、ポリペプチドまたはポリヌクレオチド）を含む診断キットが、本明細書において提供される。場合によっては、試料中のバイオマーカーの存在は、MAPKシグナル伝達阻害剤による治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定する。場合によっては、試料中のバイオマーカーの存在は、個体がMAPKシグナル伝達阻害剤で治療されるとき有効性のより高い可能性を示す。場合によっては、試料中のバイオマーカーの不在は、疾患に罹患している個体がMAPKシグナル伝達阻害剤で治療されるとき有効性のより低い可能性を示す。任意に、キットは、MAPKシグナル伝達阻害剤による治療から利益を受ける可能性が高い患者を特定するためのキットを使用するための取扱説明書をさらに含み得る。別の場合としては、キットは、個体が試料中のバイオマーカーを発現する（例えば、増加したレベルでバイオマーカーを発現する）場合、疾患または障害（例えば、がん）を治療するための医薬品（例えば、MEK阻害剤、ERK阻害剤、BRAF阻害剤、CRAF阻害剤、RAF阻害剤、またはこれらの組み合わせ等のMAPKシグナル伝達阻害剤を含む医薬品）を選択するためのキットを使用するための取扱説明書をさらに含み得る。

【0167】

本発明の任意の方法に従って使用されるDUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも1つ以上の遺伝子の発現レベルを決定することができるポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む組成物も、本明細書において提供される。場合によっては、組成物は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも4つの遺伝子の発現レベルを決定することができるポリペプチドを含む。他の場合としては、組成物は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも4つの遺伝子の発現レベルを決定することができるポリヌクレオチドを含む。他の場合としては、組成物は、DUSP6、ETV4、SPRY2、及びSPRY4の発現レベルを決定することができる。さらに他の場合としては、組成物は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、PHLDA1、ETV5、DUSP4、CCND1、EPHA2、及びEPHA4から成る群から選択される少なくとも5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、または10の遺伝子の発現レベルを決定することができるポリペプチド及び／またはポリヌクレオチドを含む。他の場合としては、組成物は、DUSP6、ETV4、SPRY2、SPRY4、及びPHLD

10

20

30

40

50

A 1 の発現レベルを決定することができる。他の場合としては、組成物は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、及び E T V 5 の発現レベルを決定することができる。他の場合としては、組成物は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、及び D U S P 4 の発現レベルを決定することができる。他の場合としては、組成物は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、及び C C N D 1 の発現レベルを決定することができる。他の場合としては、組成物は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、及び E P H A 2 の発現レベルを決定することができる。他の場合としては、組成物は、D U S P 6、E T V 4、S P R Y 2、S P R Y 4、P H L D A 1、E T V 5、D U S P 4、C C N D 1、E P H A 2、及び E P H A 4 の発現レベルを決定することができる。

#### 【実施例】

#### 【0168】

以下の実施例は、本明細書で特許請求される発明を例示するために提供されるのであって、限定するものではない。

#### 【0169】

実施例 1：M A P K シグナル伝達阻害剤感受性を予測するための弾性正味回帰モデル

弾性正味回帰モデル（例えば、弾性正味モデル）は、患者の M A P K シグナル伝達阻害剤（例えば、M E K 阻害剤）感受性（Barretina et al. Nature. 483: 603-607, 2012）を正確に予測するために使用された。コビメチニブ（C O T E L L I C（登録商標））またはトラメチニブで処理した細胞からの細胞生存率データ及び同時遺伝子発現データ（例えば、R N A - S e q 発現データ）は、46 の結腸、106 の肺、及び37 の膵臓細胞株からの26, 255 個の遺伝子について収集した。発現データ（例えば、遺伝子発現特徴データ）及び生存率データを使用して、 $\alpha = 0.5$ 、及び5 倍の相互検証によって選択された最適な  $\lambda$  を有する弾性正味モデルを誘発した（Barretina et al. Nature. 483: 603-607, 2012）。

#### 【0170】

弾性正味モデルから、2 つの異なる予測遺伝子リスト：（1）最低相互検証誤差に対応する遺伝子のリスト（長いリスト）及び（2）相互検証誤差が、依然として、最低誤差のある標準偏差内であった遺伝子の最短リスト（短いリスト）が、構築された（図 1 A）。弾性正味モデルの分析は、このモデルがトラメチニブ及びコビメチニブの両方での治療に対して実験的に誘導された平均生存率を有する弾性正味モデルを作成するために使用される細胞株の予測された平均生存率により高い相互検証精度を有したことを実証した（図 1 B 及び 1 C）。トラメチニブ（図 1 D、右）及びコビメチニブ（図 1 D、左）での治療に対する弾性正味モデルを訓練するために使用される細胞株の予測された平均生存率は、40 個のあらかじめスクリーニングされていない N S C L C 細胞株（例えば、弾性正味モデルを誘導するために使用されない細胞株）から実験的に誘導された平均生存率と相関した。

#### 【0171】

複数の遺伝子特性セットは、M A P K シグナル伝達阻害剤感受性に関連することが見出された。短いリストに存在した P H L D A 1 遺伝子セット（図 2 C）を含む、21 の遺伝子特性セットは、トラメチニブ、コビメチニブのいずれか、または両方の薬物に対する感受性に関連付けられた（図 2 A）。弾性正味モデルは、遺伝子特性セット（例えば、図 2 B に示される P H L D A 1 遺伝子特性セット）を形成するために、発現レベル及び平均細胞生存率（例えば、M A P K シグナル伝達阻害剤感受性対耐性）に基づいて他の同様に相関した遺伝子を有する各遺伝子をグループ化する。図 2 A（左欄）中の7 つの遺伝子特性セットは、発現が高い M E K 阻害剤感受性と相関している遺伝子を含有する。図 2 A（右欄）中の14 の遺伝子特性セットは、発現が M E K 阻害剤感受性と逆相関している遺伝子特性セットを含有する。

10

20

30

40

50

## 【0172】

実施例2：MAPKシグナル伝達阻害剤感受性を予測するためのMAPK活性スコア

弾性正味モデルによって特定されるPHLDA1遺伝子特性セットは、MAPKシグナル伝達に関連する多数のMAPK特異的遺伝子を含む（図2C）。予測バイオマーカーとしてこれらのMAPK特異的遺伝子の発現を使用するために、遺伝子特性セットは、まず、さらなるMAPK特異的遺伝子（例えば、DUSP4、EPHA4、ETV4、及びETV5）を含むように拡大させた。MAPK特異的遺伝子特性セット（すなわち、PHLDA1、SPRY2、SPRY4、DUSP4、DUSP6、CCND1、EPHA2、EPHA4、ETV4、及びETV5）の発現データから、試料内のMAPKシグナル伝達のレベルを反映している凝集したMAPK活性スコアは、アルゴリズム：

10

$$\frac{\sum z_i}{\sqrt{n}}$$

に従って計算され、式中、 $z_i$ は、全ての試料にわたってまたはハウスキーピング遺伝子のセットに対して正規化された100万当たりのキロベース当たりのリード（RPKM）の各遺伝子のzスコアであり、 $n$ は、セットを構成する遺伝子の数である。

## 【0173】

NSCLC GEMモデル

10個の強固なMAPK応答性遺伝子のセット（例えば、PHLDA1、SPRY2、SPRY4、DUSP4、DUSP6、CCND1、EPHA2、EPHA4、ETV4、及びETV5）は、NSCLC GEMマウスモデル（C57BL/6マウスにおけるLSL-KrasG12D/+、P53FRT/FRT-アデノ-CRE）におけるMEK阻害剤感受性を予測するために使用された（図3A）。NSCLC GEMマウスを、5mg/kgのコビメチニブ、60mg/kgのGDC-0994で処置するか、または両方の組み合わせを、1日1回14日間経口投与した。マイクロコンピュータ断層撮影によって測定された腫瘍体積変化、及び腫瘍試料からのRNAを、処置から3日後、最終用量から6時間後に収集した。RNAは、MAPK遺伝子発現を測定するためにNanostringによって分析された。MAPKシグナル伝達阻害剤での処置後のMAPK遺伝子発現の調節（例えば、低減）度は、腫瘍成長応答（例えば、腫瘍体積の変化（例えば、腫瘍のサイズの低減））と相関した（図3A）。

20

30

## 【0174】

薬物治療に応答した、細胞株のMAPK活性スコア及び平均生存率の相関関係

10個のMAPK特異的遺伝子（例えば、PHLDA1、SPRY2、SPRY4、DUSP4、DUSP6、CCND1、EPHA2、EPHA4、ETV4、及びETV5）のセットからの遺伝子発現データ（例えば、RNA-seq発現データ）は、肺、乳房（BRCA）、CRC（結腸直腸）、及び黒色腫を含む、複数の兆候にわたって組織型及び変異状態（例えば、BRAF-mut、RAS-mut（HRAS、KRAS、NRAS）、及びRAF/RAS野生型（WT））によって分類される、>1000の細胞株に対して、上述のような、MAPK活性スコアを計算するために使用された。MAPK活性スコアは、感受性（例えば、平均生存率）に相関することが見出された（図3B）。スパマン順位相関係数はまた、各兆候（例えば、肺、乳房（BRCA）、CRC（結腸直腸）、及び黒色腫）に対して、及びすべての細胞株（汎がん）にわたってMAPK活性スコア及び平均生存率データ（例えば、95の試験した薬物での治療に対する感受性）から計算された（図3B、右パネル）。相関は、MAPK遺伝子セットを構成する10個の遺伝子の各々について同様に計算された。

40

## 【0175】

予測因子のそれぞれの精度比較

精度及び偽陽性（FP）／偽陰性（FN）率は、弾性正味モデル、MAPK活性スコア、及びMAPKシグナル伝達阻害剤感受性を判定するためのKRAS変異状態の能力の比較で評価された（図3C）。各予測因子（例えば、弾性正味モデル、MAPK活性スコア

50

、及びK R A S状態)がコビメチニブ感受性 ( $IC_{50} < 1 \mu M$ ) 対耐性 ( $IC_{50} > 1 \mu M$ ) として40個のN S C L C細胞株をいかに良好に分類されたかを評価するために、感受性対耐性と呼び出すための閾値は、5%の区間にわたって0~100%のバイオマーカー陽性細胞によって異なった。M A P K活性スコアは、M A P Kコビメチニブ感受性を予測する際に弾性正味モデルよりも正確であることが見出された(図3C、上)。受信者操作特性(R O C)曲線は、感受性対耐性細胞株を呼び出すための閾値を同様に变化させ、各予測因子のための各ポイントでF P及びF N率を計算することによって生成された(図3C、左下)。陰性対照として、4つの非M A P K遺伝子から算出された活性スコアもまた、比較に含まれた。R O C曲線データは、データからゼロ予測値ラインを減算することによって濃度曲線下面積(A U C)として要約される(図3C、右下)。

10

#### 【0176】

実施例3：複数のがん型にわたるM A P K活性スコア及びM A P K阻害剤感受性N S C L C細胞株検証セット

弾性正味モデルのトレーニングに使用されなかった40個のN S C L C細胞株を、コビメチニブ及びトラメチニブに対する感受性について試験した。細胞を、5000個の細胞/ウェルで播種し、各薬物(例えば、コビメチニブ及びトラメチニブ)の0~10mMで72時間処理した。細胞生存率は、C e l l T i t e r - G l oを用いて測定した。平均生存率は、各細胞株の用量範囲にわたって計算した。複数の表示にわたってコビメチニブに対する>1000の細胞株の感受性(例えば、平均生存率)へのM A P K活性スコアを構成する各個々のM A P K特異的遺伝子(すなわち、P H L D A 1、S P R Y 2、S P R Y 4、D U S P 4、D U S P 6、C C N D 1、E P H A 2、E P H A 4、E T V 4、及びE T V 5)からの遺伝子発現データ(R N A - S e q)の相関は、個々のM A P K遺伝子発現がM E K感受性を予測し、M A P K阻害への感受性と逆相関し得ることを示した(図4A)。M A P K活性スコアを構成する個々のM A P K遺伝子の発現は、複数のM A P K経路阻害剤に対する感受性と相関したが、P I 3 K/A K T阻害剤には相関しない(図4B)。

20

#### 【0177】

M A P K阻害への腫瘍に由来するM A P K活性スコア及び細胞株の平均生存率の相関関係

M A P K活性スコアは、変異状態(例えば、B R A F変異、R A S変異、及び野生型)によって分類される、がんゲノムアトラス(T C G A)で表される異なる表示にわたって全ての腫瘍試料について算出された(図5A及び5B)。M A P K活性スコアは、腫瘍において最も高く、変異状態(例えば、B R A F変異)(図5A)及び組織源(例えば、皮膚)(図5B)により、M A P Kシグナル伝達への最も高い依存を有することが知られている。コビメチニブに対する細胞株薬物感受性への臨床遺伝子発現を比較して、T C G Aに測定される、各組織型のための平均M A P K活性スコアは、全ての試料(図5C、左上)、B R A F変異試料(図5C、右上)、R A S変異試料(図5C、左下)、及び野生型試料(図5C、右下)に対して同じ組織型の細胞株の平均平均生存率と相関した。

30

#### 【0178】

実施例4：M A P Kシグナル伝達阻害剤の感受性を予測するためのM A P K活性スコアの臨床検証

40

研究設計及び治療

c o B R I M試験は、切除不能な局所進行性または転移性黒色腫に罹患しているこれまで治療したことがないB R A F V 6 0 0変異陽性患者において、ベムラフェニブ単独(例えば、B R A F阻害剤単独)、及びコビメチニブ(G D C - 0 9 7 3)と組み合わせたベムラフェニブ(例えば、M E K阻害剤と組み合わせたB R A F阻害剤)、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ(M E K)阻害剤(例えば、M A P Kシグナル伝達阻害剤)の安全性及び有効性を評価するための多施設ランダム化二重盲検プラセボ制御第I I I相試験である。患者は、アームA：ベムラフェニブ960mgを1日2回(各周期の1~28日)及びプラセボ(各周期の1~21日)、アームB：ベムラフェニブ960mgを1日2回(各周期の1~28日)及びコビメチニブ(G D C - 0 9 7 3)60mgを1日1回

50

(各周期の1～21日)の2つの治療アームのうちの1つにランダム化した。患者は、疾患の進歩、許容できない毒性、または承認の中止まで、錠剤として供給される治療を受けた。

#### 【0179】

この研究の主要転帰は、固形腫瘍における応答評価基準v1.1を用いて医師によって、またはいかなる原因からの死亡のいずれか早い方で判定される、ランダム化から疾患の進行の第1の発生までの時間として定義された、無増悪生存率であった。疾患の進行は、(1) 研究中の最小の合計を参照として、標的病変の直径の合計の少なくとも20%増加(合計の増加が少なくとも5mmでなければならない)、(2) 既存の非標的病変の明確な進行、または(3) 1つ以上の新しい病変の出現として定義された。この研究のための二次転帰は、固形腫瘍における応答評価基準v1.1及び安全性によって評価される、全生存、客観的応答を有する参加者の割合及び奏功期間であった。

10

#### 【0180】

予後バイオマーカーMAPK活性スコアは、黒色腫のcoBRIM第III相臨床試験のペムラフェニブアームに登録された各患者について計算した。無増悪生存率(例えば、PFS)のカプランマイヤー曲線は、MAPK-高またはMAPK-低として患者を区別するためのMAPK活性スコアの中央値を使用してプロット化した。その後、コックス比例ハザード回帰モデルは、ハザード比及び関連p値を計算するために、PFSの独立した予測因子として、細胞周期または免疫ベースライン遺伝子発現シグネチャに従ってさらに分類するまたは分類することなく、MAPK-高及びMAPK-低を使用して、別々に各治療アームを適合するために使用された。

20

#### 【0181】

患者

患者は、対がん米国合同委員会(American Joint Committee on Cancer)第7版によって定義される、切除不能なステージIIICまたはステージIVのいずれかの転移性黒色腫が組織学的に確認された黒色腫に罹患している18歳以上であった場合、研究の登録に対して資格があった。ステージIIICの疾患が切除不能であることが、外科腫瘍専門家によって確認された。適格な患者は、切除不能な局所進行性または転写性疾患の治療のためにナイーブであった(例えば、進行性疾患、ステージIIICまたはIVの事前全身性抗癌療法を行わなかった)が、事前アジュバント免疫療法(イピリムマブを含む)を許容した。適格な患者は、cobas 4800 BRAF V600変異試験を用いて、黒色腫腫瘍組織(保管または新たに得られた腫瘍試料)中のBRAF V600変異陽性状態の文書化を提供し得る。適格な患者は、固体腫瘍における応答評価基準(RECIST)v1.1及び0または1のEastern Clinical Oncology Groupの一般状態によって測定可能な疾患を有した。適格な患者は、バイオマーカー分析のための保管を提供し、バイオマーカー分析のための腫瘍生検を受けるために承諾を得た。適格な患者は、12週間以上の平均寿命、ならびに十分な血液学的及び末端器官機能を得た。

30

#### 【0182】

患者除外基準は、事前に迅速に加速された線維肉腫(例えば、RAF)または分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ経路阻害剤治療、研究治療の初回投与前の14日以内に姑息的放射線治療、研究治療の初回投与前の14日以内に大手術もしくは外傷、または有効性測定の解釈と潜在的に干渉され得る黒色腫以外の活性な悪性腫瘍の病歴を含んだ。過去3年以内に悪性腫瘍に罹患したことがある患者を除外し、皮膚の切除された基底細胞癌(BCC)または扁平上皮細胞癌(SCC)、黒色腫の原位置、頸部の癌腫原位置、及び乳房の癌腫原位置を有する患者を除いた。感覚神経網膜剥離、網膜静脈閉塞(RVO)、または新生血管黄斑変性症に対して危険因子と考えられる眼科検診における網膜病変の病歴または証拠を有する患者を、除外した。眼圧のある制御されていない緑内障、グレード2以上の血清コレステロール、グレード2以上の高トリグリセリド血症、グレード2以上の高血糖(空腹時)、臨床的に有意な心機能障害の病歴を有する患者。活性な中枢神経系(

40

50

CNS) 病変を有する患者 (癌性髄膜炎を含む) を除外した。しかしながら、患者は、全ての既知の CNS 病変が定位固定療法または手術で治療されており、かつ放射線療法または手術後から 3 週間以上の間、CNS における臨床的及び放射線学的疾患の進行の証拠はなかった場合に適格であった。

### 【0183】

#### 結果

合計 495 人の患者 (表 1) を、2013 年 1 月に開始する研究に登録し、合計 247 人の患者をアーム A (例えば、プラセボ+ベムラフェニブ) で治療し、合計 246 人の患者をアーム B (例えば、コビメチニブ+ベムラフェニブ) で治療した。データカットオフ (すなわち、2014 年 5 月 9 日; 今もなお継続中の研究) の時点で、アーム A (例えば、プラセボ+ベムラフェニブ) 中の 181 人の患者、及びアーム B (例えば、コビメチニブ+ベムラフェニブ) 中の 199 人の患者は、研究を完了した。表 2 は、患者のベースラインの特徴を要約する。全ての評価可能な患者について、アーム A (例えば、プラセボ+ベムラフェニブ; 248 人の参加者が分析された) において、無増悪生存率中央値は、6.21 (5.55~7.39) カ月であり、アーム B (例えば、コビメチニブ+ベムラフェニブ; 247 人の参加者が分析された) においては、9.89 であった。アーム A (例えば、プラセボ+ベムラフェニブ; 248 人の参加者が分析された) における客観的奏功率 (ORR) を有する患者の割合は、44.8 (38.46~51.18) パーセントであり、アーム B (例えば、コビメチニブ+ベムラフェニブ; 247 人の参加者が分析された) においては 67.39 (61.39~73.41) パーセントであった。研究は継続中であるため、全生存及び奏功期間は、まだ決定されていない。

### 【0184】

高い MAPK 活性スコアを有する患者は、低い MAPK 活性スコアを有する患者よりもベムラフェニブに対してより長い PFS に向かう傾向がある (図 6A)。予め特徴付けられるベースライン遺伝子発現シグネチャに従ってこれらの試料のさらなる分類、細胞周期 (低い免疫浸潤を有する高度に増殖性のある腫瘍) 及び免疫 (より高度な免疫浸潤及びより低い増殖) は、細胞周期/高い MAPK 活性スコア群の患者が細胞周期/低い MAPK 活性スコア群の患者よりも良好であることを示す (図 6B)。

表 1. 全体的な研究

|         | アーム A: プラセボ+ベムラフェニブ | アーム B: コビメチニブ+ベムラフェニブ |
|---------|---------------------|-----------------------|
| 開始      | 248                 | 247                   |
| 治療を受けた  | 247                 | 246                   |
| 完了した    | 181                 | 199                   |
| 完了しなかった | 67                  | 48                    |
| 死亡      | 51                  | 34                    |
| 追跡調査の喪失 | 3                   | 1                     |
| 対象による中止 | 13                  | 10                    |
| 医師の決定   | 0                   | 3                     |

表 2. 参加者のベースライン特徴

|                   | プラセボ＋ベムラフェニブ | コビメチニブ＋ベムラフェニブ | 合計         |
|-------------------|--------------|----------------|------------|
| 参加者の人数            | 248          | 247            | 495        |
| 年齢（歳）<br>平均（標準偏差） | 55.3（13.8）   | 54.9（14.0）     | 55.1（13.9） |
| 女性                | 108          | 101            | 209        |
| 男性                | 140          | 146            | 286        |

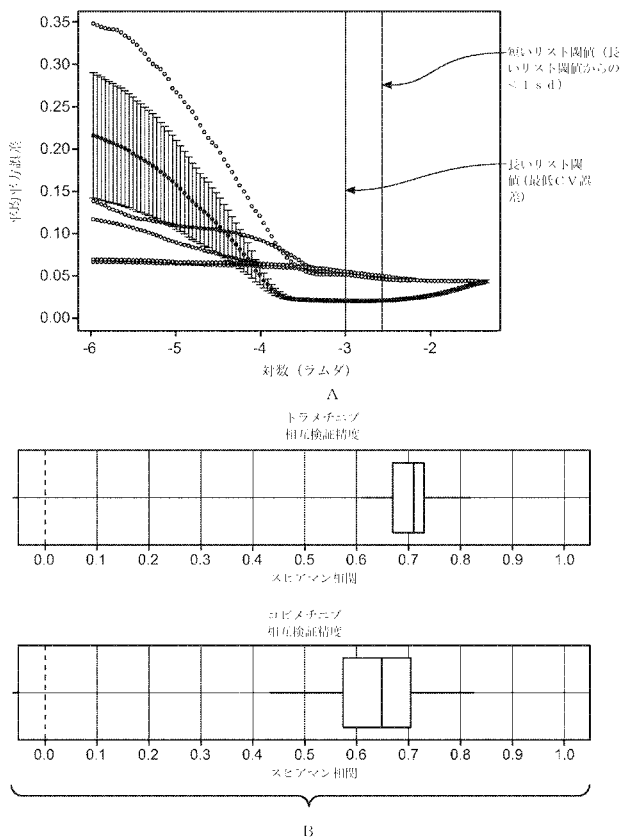
10

## 【0185】

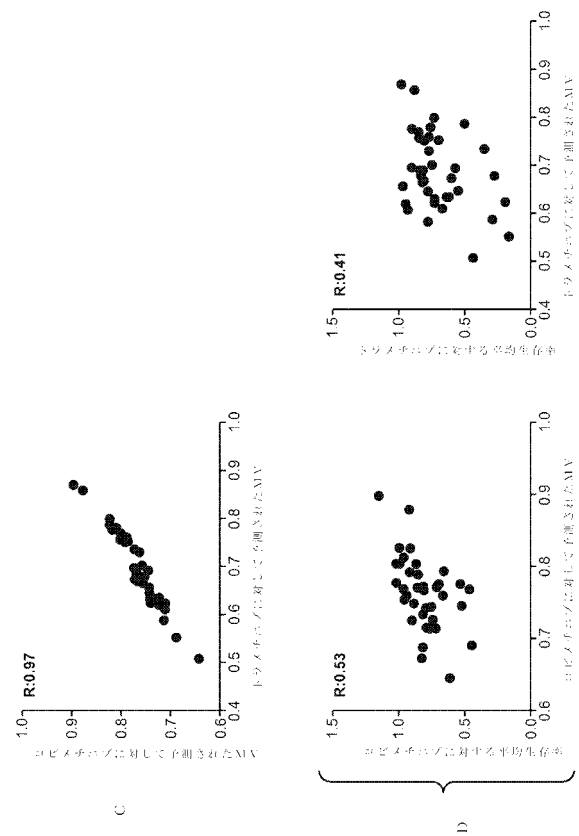
## 他の実施形態

上述の発明は、理解の明確さを目的とする例示及び例のために、ある程度詳細に記載してきたが、その記載及び実施例は、本発明の範囲を限定するものとみなすべきではない。本明細書で引用される全ての特許及び科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

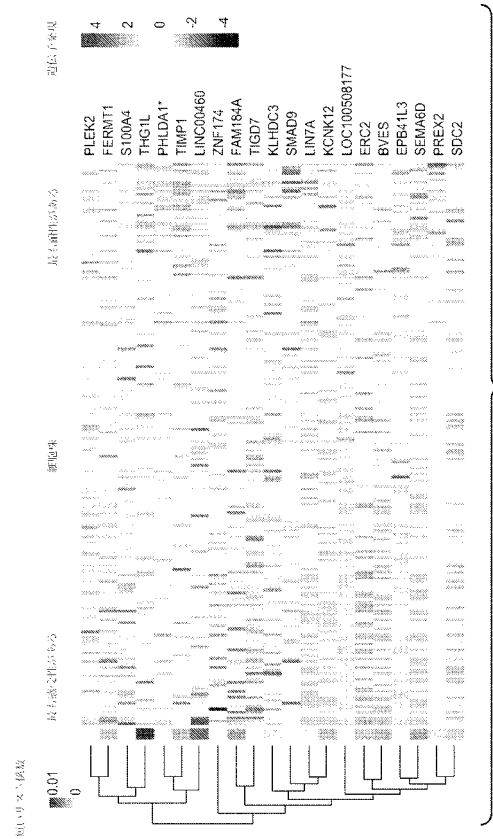
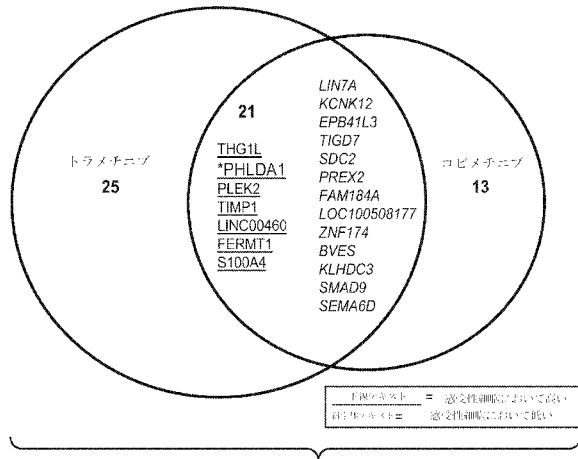
【図1A－B】



【図1C－D】

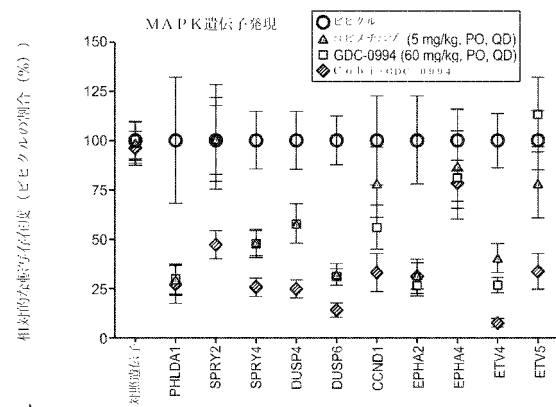
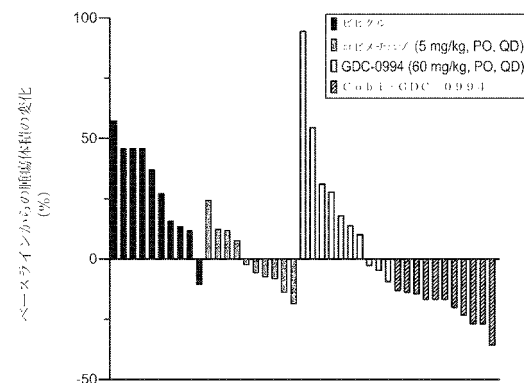


【図 2 B】

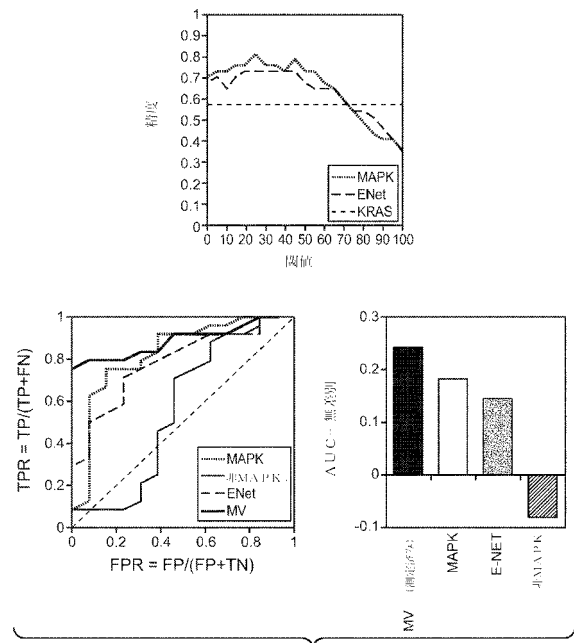


【図 3 A】

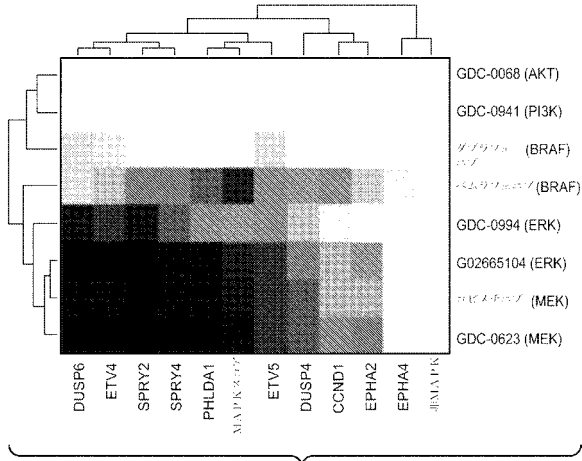
| Entrez 遺伝子 ID | 遺伝子名   | PHLDA1 RNAseq に対するヒッソソ値 |
|---------------|--------|-------------------------|
| 22822         | PHLDA1 | 1.00                    |
| 8061          | FOSL1  | 0.71                    |
| 1969          | EPHA2  | 0.68                    |
| 595           | CCND1  | 0.66                    |
| 81848         | SPRY4  | 0.62                    |
| 1848          | DUSP6  | 0.53                    |
| 10253         | SPRY2  | 0.58                    |



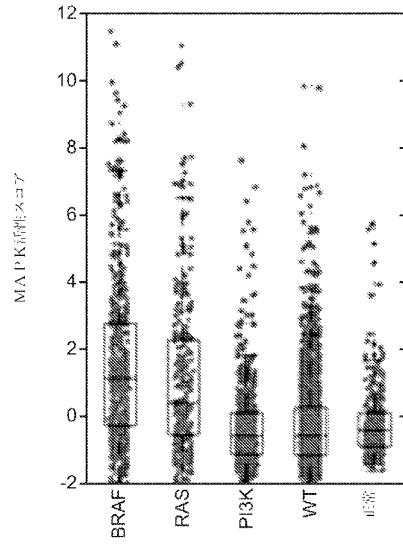
【図 3 C】



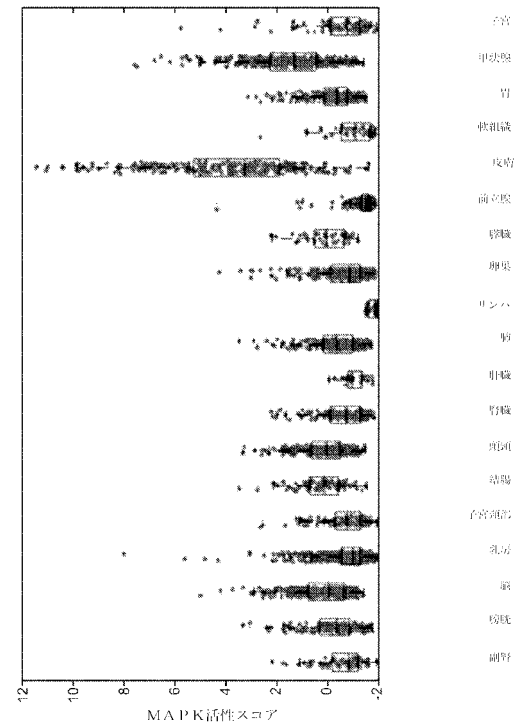
【図 4 B】



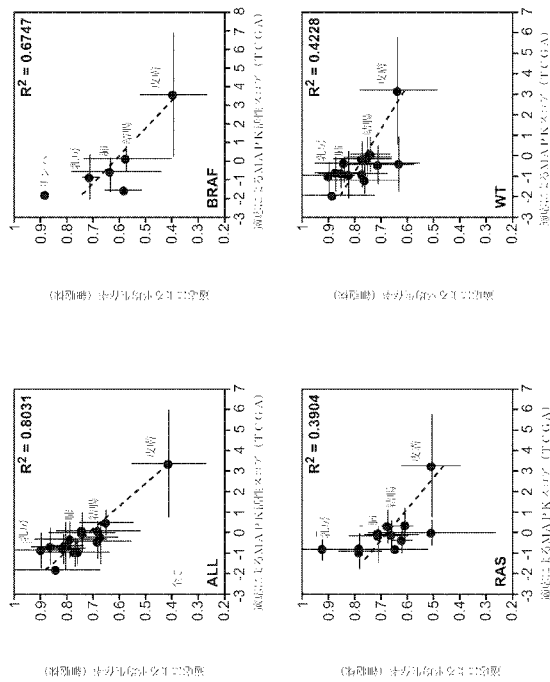
【図 5 A】



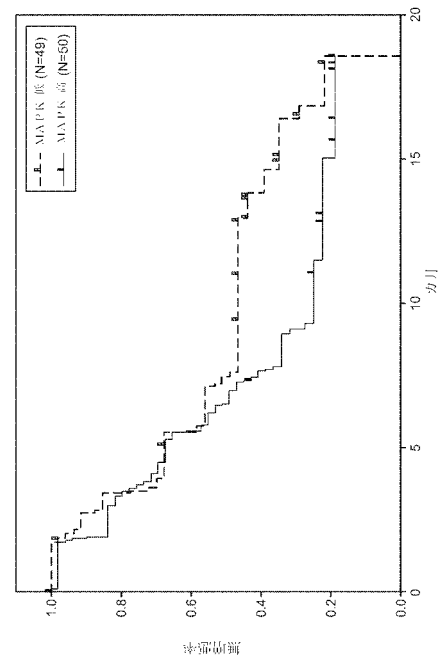
【図 5 B】



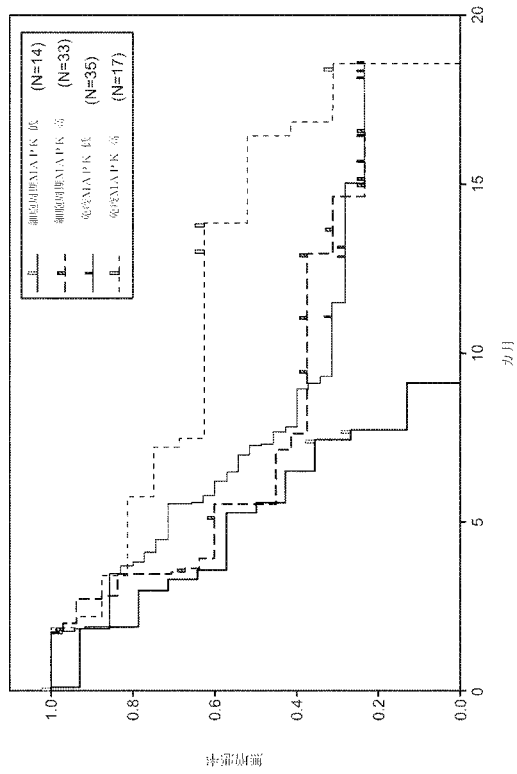
【図 5 C】



【図 6 A】



【図 6 B】



【配列表】

2019518426000001.app

## 【国際調査報告】

| <b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | International application No.<br>PCT/US2017/026941 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>Box No. I    Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                    |
| 1.                                                                                                         | <p>With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed:</p> <div style="margin-left: 20px;"><input checked="" type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file.<br/><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file.</div> <p>b. <input type="checkbox"/> furnished together with the international application under PCT Rule 13<del>ter</del>.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.</p> <p>c. <input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:</p> <div style="margin-left: 20px;"><input type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13<del>ter</del>.1(a)).<br/><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file (Rule 13<del>ter</del>.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).</div> |                                                    |
| 2.                                                                                                         | <p><input type="checkbox"/> In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                    |
| 3.                                                                                                         | <p>Additional comments:</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                    |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/026941

| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>INV. C12Q1/68<br>ADD.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                    |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>C12Q G01N                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                    |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                    |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                    |
| <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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | J. R. DRY ET AL: "Transcriptional Pathway Signatures Predict MEK Addiction and Response to Selumetinib (AZD6244)", CANCER RESEARCH, vol. 70, no. 6, 9 March 2010 (2010-03-09), pages 2264-2273, XP055384505, us<br>ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-1577<br>the whole document<br>-----<br>-/-- | 1-16,<br>18-36,<br>38-77                           |
| <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 :<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date<br>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>"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<br>"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<br>"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<br>"&" document member of the same patent family |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                    |
| Date of the actual completion of the international search                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Date of mailing of the international search report |
| 23 June 2017                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 04/07/2017                                         |
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Authorized officer                                 |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Gabriels, Jan                                      |

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/026941

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                               | Relevant to claim No.                                          |
| X                                                    | US 2008/131885 A1 (PRATILAS CHRISTINE [US]<br>ET AL) 5 June 2008 (2008-06-05)<br><br>claims 1,11,38,39; tables 1,3<br>-----                                                                                                                                                                      | 1-7,9,<br>11,<br>13-16,<br>18-28,<br>33-36,<br>38-42,<br>58-77 |
| X                                                    | WO 2014/150671 A1 (BROAD INST INC [US];<br>DANA FARBER CANCER INST INC [US])<br>25 September 2014 (2014-09-25)<br>claim 1<br>-----                                                                                                                                                               | 1-4,24,<br>76                                                  |
| X                                                    | US 2013/331294 A1 (ASTSATUROV IGOR [US] ET<br>AL) 12 December 2013 (2013-12-12)<br>claims 31,33<br>-----                                                                                                                                                                                         | 1,24,76                                                        |
| A                                                    | WO 2014/152377 A1 (UNIV VANDERBILT [US])<br>25 September 2014 (2014-09-25)<br>claims 1,5<br>-----                                                                                                                                                                                                | 1                                                              |
| X                                                    | "Affymetrix GeneChip Human Genome U133<br>Array Set HG-U133A",<br>GEO,,<br>11 March 2002 (2002-03-11), XP002355386,<br>[retrieved on 2002-03-11]<br>the whole document<br>-----                                                                                                                  | 76,77                                                          |
| A                                                    | Axel Hoos: "Combining Immunological and<br>Targeted Agents -The Way Forward",<br>23 June 2014 (2014-06-23), XP055126079,<br>Retrieved from the Internet:<br>URL:http://www.winsymposium.org/wp-content<br>/uploads/2014/06/L01.03-HOOS_AXEL.pdf<br>[retrieved on 2014-07-01]<br>page 19<br>----- | 1                                                              |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/026941

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)           | Publication<br>date      |
|-------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|--------------------------|
| US 2008131885 A1                          | 05-06-2008          | NONE                                 |                          |
| WO 2014150671 A1                          | 25-09-2014          | US 2016024589 A1<br>WO 2014150671 A1 | 28-01-2016<br>25-09-2014 |
| US 2013331294 A1                          | 12-12-2013          | US 2013331294 A1<br>US 2017002426 A1 | 12-12-2013<br>05-01-2017 |
| WO 2014152377 A1                          | 25-09-2014          | NONE                                 |                          |

フロントページの続き

| (51)Int.Cl.               | F I             | テーマコード (参考) |
|---------------------------|-----------------|-------------|
| C 1 2 Q 1/686 (2018.01)   | C 1 2 Q 1/686   | Z           |
| C 1 2 Q 1/6886 (2018.01)  | C 1 2 Q 1/6886  | Z           |
| A 6 1 K 45/00 (2006.01)   | A 6 1 K 45/00   |             |
| A 6 1 P 11/00 (2006.01)   | A 6 1 P 11/00   |             |
| A 6 1 P 17/00 (2006.01)   | A 6 1 P 17/00   |             |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01)   | A 6 1 P 35/00   |             |
| A 6 1 P 35/04 (2006.01)   | A 6 1 P 35/04   |             |
| A 6 1 P 43/00 (2006.01)   | A 6 1 P 43/00   | 1 1 1       |
| A 6 1 K 45/06 (2006.01)   | A 6 1 P 43/00   | 1 2 1       |
| A 6 1 K 31/4523 (2006.01) | A 6 1 K 45/06   |             |
| A 6 1 K 31/519 (2006.01)  | A 6 1 K 31/4523 |             |
| A 6 1 K 31/4184 (2006.01) | A 6 1 K 31/519  |             |
| A 6 1 K 31/18 (2006.01)   | A 6 1 K 31/4184 |             |
| A 6 1 K 31/437 (2006.01)  | A 6 1 K 31/18   |             |
| A 6 1 K 31/4045 (2006.01) | A 6 1 K 31/437  |             |
| A 6 1 K 31/506 (2006.01)  | A 6 1 K 31/4045 |             |
| A 6 1 K 31/4439 (2006.01) | A 6 1 K 31/506  |             |
| A 6 1 K 31/44 (2006.01)   | A 6 1 K 31/4439 |             |
| A 6 1 K 31/5377 (2006.01) | A 6 1 K 31/44   |             |
| A 6 1 K 31/4375 (2006.01) | A 6 1 K 31/5377 |             |
| A 6 1 K 31/517 (2006.01)  | A 6 1 K 31/4375 |             |
| C 1 2 N 15/12 (2006.01)   | A 6 1 K 31/517  |             |
| C 1 2 N 15/55 (2006.01)   | C 1 2 N 15/12   |             |
|                           | C 1 2 N 15/55   |             |

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

(72)発明者 ホアン, シーミン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080-4990, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ 1

Fターム(参考) 2G045 AA26 CA25 CA26 CB02 DA14 DA36  
 4B063 QA13 QA19 QQ03 QQ08 QQ27 QQ53 QR07 QR36 QR72 QR77  
 QS02 QS07 QS25 QS34 QX01  
 4C084 AA17 AA20 NA05 NA06 NA20 ZA591 ZA592 ZA891 ZA892 ZB261  
 ZB262 ZC202 ZC412 ZC75  
 4C086 AA01 AA02 BC13 BC17 BC21 BC36 BC39 BC42 BC67 BC73  
 BC82 CB05 CB09 CB22 GA02 GA07 GA08 GA09 GA10 GA12  
 GA16 MA02 MA04 NA05 NA06 ZA59 ZA89 ZB26 ZC20 ZC41  
 ZC75  
 4C206 AA01 AA02 JA16 KA01 KA17 MA02 MA04 NA05 NA06 ZA59  
 ZA89 ZB26 ZC20 ZC41 ZC75