



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년04월02일
(11) 등록번호 10-1131309
(24) 등록일자 2012년03월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/15 (2006.01) *H01J 49/26* (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7019382

(22) 출원일자(국제) 2009년11월20일
 심사청구일자 2010년08월31일

(85) 번역문제출일자 2010년08월31일

(65) 공개번호 10-2011-0047171

(43) 공개일자 2011년05월06일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/006269

(87) 국제공개번호 WO 2010/085235
 국제공개일자 2010년07월29일

(30) 우선권주장
 12/321,393 2009년01월20일 미국(US)

(56) 선행기술조사문현
 US20070231921 A1
 WO2007109571 A1
 US20090171872 A1

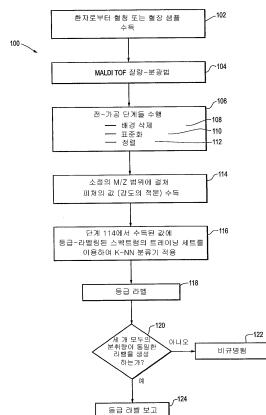
전체 청구항 수 : 총 3 항

심사관 : 노영철

(54) 발명의 명칭 E G F R 경로를 표적화하는 약물로 치료하기 위한 두경부암 환자의 선별

(57) 요약

질량 분광 데이터 분석 및 분류 알고리듬을 이용한 방법은 두경부 편평세포 암종 (HNSCC) 환자가 소분자 표피 성장 인자 수용체 티로신 키나아제 억제제(EGFR-TKI) 및 모노클로날 항체 EGFR 억제제를 포함하는 표피 성장 인자 수용체 경로를 표적화하는 약물로부터 이익을 얻을지를 결정하는 능력을 제공한다. 상기 방법은 a) 환자로부터의 혈액-기체 샘플로부터 질량 스펙트럼을 수득하는 단계; b) 상기 단계 a)에서 수득된 질량 스펙트럼에 대한 하나 이상의 소정의 전-가공 단계들을 수행하는 단계; c) 상기 단계 b)에서 질량 스펙트럼에 대한 전-가공 단계들을 수행한 이후에 하나 이상의 소정의 m/z 범위에 있는 상기 스펙트럼의 선택된 피쳐(feature)들의 적분 강도 값을 수득하는 단계; 및 d) 다른 환자로부터의 혈액-기체 샘플로부터 생성된 등급-라벨링된(class-labeled) 스펙트럼을 포함하는 트레이닝 세트(training set)를 이용한 분류 알고리듬에서 상기 단계 c)에서 수득된 값을 이용하여 환자가 상기 약물을 이용한 치료로부터 이익을 얻을지 또는 얻지 못할지를 확인하는 단계를 포함한다.

대 표 도 - 도1

특허청구의 범위

청구항 1

두경부 편평세포 암종(HNSCC) 환자가 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 경로를 표적화하는 약물로의 치료로부터 이익을 얻을지를 결정하는 방법으로서,

- a) 환자로부터의 혈액-기체 샘플로부터 질량 스펙트럼을 수득하는 단계;
- b) 상기 단계 a)에서 수득된 질량 스펙트럼에 대한 하나 이상의 소정의 전-가공 단계들을 수행하는 단계;
- c) 상기 단계 b)에서 질량 스펙트럼에 대한 전-가공 단계들을 수행한 이후에 하나 이상의 소정의 m/z 범위에 있는 상기 스펙트럼의 선택된 피쳐(feature)들의 적분 강도 (integrated intensity) 값을 수득하는 단계; 및
- d) 다른 환자로부터의 혈액-기체 샘플로부터 생성된 등급-라벨링된(class-labeled) 스펙트럼을 포함하는 트레이닝 세트(training set)를 이용한 분류 알고리듬에서 상기 단계 c)에서 수득된 값을 이용하여 환자가 상기 약물을 이용한 치료로부터 이익을 얻을지 또는 얻지 못할지를 확인하는 단계를 포함하고,

상기 하나 이상의 m/z 범위가,

5732 내지 5795

5811 내지 5875

6398 내지 6469

11376 내지 11515

11459 내지 11599

11614 내지 11756

11687 내지 11831

11830 내지 11976

12375 내지 12529

23183 내지 23525

23279 내지 23622 및

65902 내지 67502로 구성된 m/z 범위의 군으로부터 선택된 하나 이상의 m/z 범위를 포함하며,

상기 약물이 (a) 소분자 표피 성장 인자 수용체 티로신 키나아제 억제제 및 (b) 모노클로날 항체 표피 성장 인자 수용체 억제제로 구성된 약물의 군으로부터 선택되고,

상기 소정의 전-가공 단계가 배경-삭제된 스펙트럼을 생성하는 배경 삭제 단계 및 배경-삭제된 스펙트럼의 표준화를 수행하는 표준화 단계를 포함하는, 두경부 편평세포 암종(HNSCC) 환자가 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 경로를 표적화하는 약물로의 치료로부터 이익을 얻을지를 결정하는 방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 질량 스펙트럼이 매트릭스 보조된 레이저 탈착 이온화 (MALDI) 질량 분광계로부터 수득되는 방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 트레이닝 세트가 비소세포 폐암 환자로부터 수득된 혈액-기체 샘플로부터 생성된 등급-라벨링된 스펙트럼을 포함하는 방법.

명세서**기술 분야**

[0001]

본 발명은 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 경로를 표적화하는 약물로 치료하는 것이 이익이 될 듯한 암 환자를 확인하는 분야에 관한 것이다. 치료를 위한 초기 선별용 확인은 다른 환자들로부터의 등급-라벨링된 (class-labeled) 스펙트럼의 트레이닝 세트(training set)를 이용한 분류 알고리듬과 함께 환자로부터의 혈액 샘플의 질량 분광 분석을 포함한다.

배경 기술

[0002]

비소세포 폐암 (NSCLC)은 미국의 남성 및 여성에서 암으로 인한 사망을 초래하는 주요 원인이다. 비소세포 폐암에는 4개 이상의 별개 유형의 NSCLC가 있으며, 샘암종, 편평세포, 대세포 및 기관지폐포 암종을 포함한다. 폐의 편평세포 (표피양) 암종은 흡연에 가장 빈번하게 관련된 미시적 유형의 암이다. 폐의 샘암종은 미국의 모든 폐암 중 50%를 넘게 차지한다. 이 암은 여성에게 더욱 일반적이며, 비흡연자에게서 관찰된 가장 흔한 유형이다. 대세포 암종 특히, 신경내분비계 특징을 갖는 대세포 암종은 뇌로의 종양 전이와 보통 관련이 있다. NSCLC가 혈류에 유입되는 경우, 이는 간, 골, 뇌 및 폐의 다른 위치와 같은 먼 부위로 전이될 수 있다.

[0003]

NSCLC의 치료법은 몇년에 걸쳐 비교적 불충분하였다. 국소화된 암을 제외한 진행암의 주된 치료법인 화학요법이 유일하게 최저 효과를 나타내었다. 수술이 NSCLC에 대한 가장 효과적인 치료법이지만, 암의 상태에 따라 수술이 항상 가능한 것은 아니다.

[0004]

NSCLC 환자를 치료하기 위해 항암 약물 개발을 위한 최근 연구는 암 세포의 성장하고 분화하는 능력을 저하시키거나 제거하는데 초점을 맞추고 있다. 이러한 항암 약물은 성장할 지 치사되어야 할지를 알려주는 세포로의 시그널을 파괴하는데 사용된다. 일반적으로, 세포 성장은 세포가 수용하는 시그널에 의해 엄격하게 제어된다. 그러나, 암에서, 이러한 시그널링이 잘못되어, 세포는 비제어된 상태로 계속해서 성장하고 분화되어 종양을 형성한다. 신체내의 화학물질 소위, 표피 성장 인자가 신체내의 많은 세포 표면상에서 발견되는 수용체와 결합하는 경우 이러한 시그널링 경로 중 하나가 시작된다. 표피 성장 인자 수용체 (EGFR)로서 공지된 수용체는 세포 내에서 발견되는 티로신 키나아제 (TK)로 불리는 효소의 활성화를 통해 시그널을 세포로 보낸다. 시그널은 세포가 성장하고 분화하는 것을 통지하는데 사용된다.

[0005]

종양학에서 표적화된 요법의 이용은, 이미 화학요법만이 실행가능한 선택이 된 진행된 단계의 고형 종양에서의 치료 옵션을 개선시키는 새로운 기회를 열었다. 예를 들어, 표피 성장 인자 수용체(EGFR) 경로를 표적화하는 약물 (제한 없이, 타세바 (에를로티닙), 에르비툭스 (세툭시맙), 이레사 (게피티닙) 포함)이 승인되었거나 진행된 단계의 고형 종양, 특히 비소세포 폐암 (NSCLC)의 치료를 위해 평가 중이다 [Metro G et al, Rev Recent Clin Trials. 2006 Jan; 1(1):1-13].

[0006]

거의 모든 전신 암 요법의 한 가지 제약은 단일 작용제가 소수의 환자에서만 활성일 것이라는 점이다. 표적화된 요법 분야가 개발됨에 따라, 예측 바이오마커가 임의의 주어진 요법의 성공에 필수적임이 자명해지고 있다. 실제로, 규제청에 의해 최근 승인된 수많은 작용제들이 보편적인 분자 변경을 포함하는 질병에 있어 왔고, 따라서 사실상 예측 마커 (예컨대 만성 골수성 백혈병에서 이마티닙)였거나, 환자를 선별하기 위한 검정과 관련되어 왔다 (예컨대 HER2 양성 유방암에서 트라스투주맙). 동일한 정후에 의해, 선별되지 않은 환자 집단에게 표적화

제를 투여하는 것은 일반적으로 온당한 반응률부터 반응률 부재를 동반한다 (예컨대 HNSCC에서 게피티닙 250 mg). 외면상으로, 임의의 약물의 성공적인 개발은 그 효능의 예측인자와 결부되어야 하는데, 그 이유는 이러한 마커가 개개 환자에게 이로울 가능성을 현저하게 증가시킬 것이기 때문이다. 유효하지 않은 작용제로 암 환자를 치료하는 이환률 및 부담을 가정할 때, 이러한 노력은 반드시 필요하다.

[0007] 일부 임상에서 EGFR-억제제 (EGFR-I)는 선별되지 않은 집단에서조차도 충분한 생존 이익을 발생시킨 것으로 나타난 반면, 그 외에서는 실질적인 이익이 없었다. 이에 따라 아스트라제네카(AstraZeneca)가 미국 시장에서 이들의 EGFR-티로신 키나아제 억제제 (TKI) (게피티닙, 이레사)를 회수하였다. 승인된 EGFR-I의 경우에도 EGFR-I 치료로부터 이익이 없을 것 같은 환자에 대비하여 이익을 얻을 수 있는 환자를 규명하기 위한 효과적이고 신뢰할 수 있는 시험이 필요함이 더욱 명백해졌다 [Ladanyi M, et al., Mod Pathol. 2008 May; 21 Suppl 2: S16-22].

[0008] 미국특허공개 2007/0231921호로 공개된 본 발명자들의 이전 미국특허출원 11/396,328호에서, 질량 분광계를 이용한 단순한 혈청-기재 전-처리 시험 및 분류기 및 질병을 지닌 다른 환자로부터의 등급-라벨링된 스펙트럼의 트레이닝 세트를 이용한 복잡한 데이터 분석은 비소세포 폐암 환자에서 EGFR 경로를 표적화하는 약물로 치료하기 위한 환자 선별을 기약한 바 있다. [참조 Taguchi F, et al, JNCI 2007 v99(11), 838-846, 이의 내용이 본 원에 참조로서 포함됨] 그 상업적 범위에서 베리스트래트(VeriStrat)라 불리는 시험은 전-처리 혈청 또는 혈장 샘플에 "베리스트래트 좋음(VeriStrat good)" 또는 "베리스트래트 나쁨(VeriStrat poor)" 라벨을 할당한다. JNCI 지는, "베리스트래트 좋음" 환자가 베리스트래트 나쁨 환자보다 EGFR-I 치료로부터 더 많은 이익을 얻을 것이라고 지적하였고, "베리스트래트 좋음" 대 "베리스트래트 나쁨" 환자의 위험율은 약 0.5이다.

[0009] 두경부 편평세포 암종은 본원에서 구강, 인두 및 후두, 침샘, 부비동 및 비강뿐만 아니라 목의 상부에 있는 림프절의 편평세포 암종을 특징으로 하는 다양한 암을 언급하기 위해 사용된다. 두경부암은 미국에서 모든 암의 약 3 내지 5%를 차지한다. 이러한 암은 남성 및 50대 이상에서 더욱 일반적이다. 담배 (무연 담배 포함) 및 알코올 이용은 두경부암, 특히 구강, 입인두, 후두인두 및 후두의 암에 대한 가장 중요한 위험 인자이다. 두경부암의 85%는 흡연과 관련된다.

발명의 내용

[0010] 발명의 개요

[0011] 본 발명자들은 이들의 이전 특허 출원에 개시된 트레이닝 세트를 이용한 환자 샘플의 질량 분광 분석 방법 및 분류가 EGFR 경로를 표적화하는 약물로부터 이익을 얻을 것 같은 NSCLC 환자를 초기에 확인하는 선별 도구를 제공할 뿐만 아니라 상기 방법이 이러한 약물로 치료되는 두경부 편평세포 암종 (HNSCC) 암환자를 선택하기 위한 선별 도구를 제공한다는 것을 발견하였다.

[0012] 본 발명자들은 이러한 치료를 위한 선별 (예를 들어 NSCLC 환자 및 HNSCC 환자의 선별을 포함)이 두 주요 부류의 EGFR 억제제 (EGFR-I), 즉 (1) 게피티닙 및 에를로티닙과 같은 소분자 티로신 키나아제 억제제 (TKI) 및 (2) 세톡시맙 (에르비툭스) 및 파니투무맙과 같은 모노클로날 항체 EGFR-I에 적용됨을 추가로 확정하였다.

[0013] 추가로, 본 설명의 방법은 단순히 혈액 샘플만을 요구하므로, 상기 방법은 이러한 환자를 신속하고 비-관입적인 방식으로 선별할 수 있게 한다.

[0014] 특정한 일 구체예에서, 하기 단계를 포함하여, HNSCC 환자가 EGFR 경로를 표적화하는 약물 (예컨대, 타세바 (에를로티닙), 에르비툭스 (세톡시맙), 이레사 (게피티닙) 또는 등가물과 같은 EGFR-TKI)로의 치료로부터 이익을 얻을지를 결정하는 방법이 개시된다:

[0015] a) 환자로부터의 혈액-기재 샘플로부터 질량 스펙트럼을 수득하는 단계;

[0016] b) 상기 단계 a)에서 수득된 질량 스펙트럼에 대한 하나 이상의 소정의 전-가공 단계들을 수행하는 단계;

[0017] c) 상기 단계 b)에서 질량 스펙트럼에 대한 전-가공 단계들을 수행한 이후에 하나 이상의 소정의 m/z 범위에 있는 상기 스펙트럼의 선택된 피쳐(feature)들의 적분 강도 (integrated intensity) 값을 수득하는 단계; 및

[0018] d) 다른 환자로부터의 혈액-기재 샘플로부터 생성된 등급-라벨링된 스펙트럼을 포함하는 트레이닝 세트를 이용한 분류 알고리듬에서 상기 단계 c)에서 수득된 값을 이용하여 환자가 상기 약물을 이용한 치료로부터 이익을 얻을지 또는 얻지 못할지를 확인하는 단계.

[0019] 바람직한 일 구체예에서, 질량 스펙트럼은 MALDI 질량 분광계로부터 수득된다.

[0020] 일 구체예에서, 약물은 소분자 표피 성장 인자 수용체 티로신 키나아제 억제제를 포함한다. 대안적으로, 약물은 모노클로날 항체 표피 성장 인자 수용체 억제제를 포함한다.

[0021] 바람직한 구체예에서, 소정의 전-가공 단계들은 배경-삭제된(background-subtracted) 스펙트럼을 생성하는 배경 삭제 단계 및 배경-삭제된 스펙트럼의 표준화를 수행하는 표준화 단계를 포함한다.

[0022] 가능한 일 구체예에서, 트레이닝 세트는 비소세포 폐암 환자로부터 수득된 혈액-기체 샘플로부터 생성된 등급-라벨링된 스펙트럼을 포함한다.

[0023] 도면의 간단한 설명

[0024] 도 1은 본 발명의 바람직한 구체예에 따라 EGFR-I로 치료하기 위한 HNSCC 암 환자의 선별 방법을 도시하는 흐름도이다.

[0025] 도 2는 계피티닙으로 치료된 HNSCC 환자의 세트에 대한 카플란-마이어 플롯 (Kaplan-Meier plot) 및 도 1의 방법을 이용하여 혈청 샘플로 할당된 등급 라벨이다. 플롯은 "좋음(good)"으로 라벨링된 환자가 "나쁨(poor)"으로 라벨링된 환자보다 계피티닙으로 치료한 이후에 양호한 예후를 지녔음을 나타내며, 좋음 대 나쁨의 위험율은 0.41 (95% CI: .22-.79)이다.

[0026] 도 3은 세특시맵으로 치료된 HNSCC 환자의 세트에 대한 카플란-마이어 플롯 및 도 1의 방법을 이용하여 혈청 샘플로 할당된 등급 라벨이다. 플롯은 "좋음"으로 라벨링된 환자가 "나쁨"으로 라벨링된 환자보다 세특시맵으로 치료한 이후에 양호한 예후를 지녔음을 나타내며, 좋음 대 나쁨의 위험율은 0.26 (95% CI: .06-1.06)이다.

[0027] 발명의 상세한 설명

[0028] 본 발명자들은 단일요법으로서 계피티닙, 에를로티닙 또는 세특시맵으로 치료되거나 EGFR-I를 함유하는 병용 섭생으로 치료된 재발성 및/또는 전이성 NSCLC 및 HNSCC 환자로부터의 혈청 또는 혈장 샘플뿐만 아니라 EGFR-I로 치료되지 않은 환자로부터의 샘플에서 얻은 MS 프로필을 조사하였다. MALDI 질량 스펙트럼을 각 샘플로부터 수득하였고, 각 환자를 생존 비교를 위해 "좋음" 또는 "나쁨" 결과 그룹으로 분류하였다. 본 발명자들은 MS 프로필이 모든 EGFR-I 치료된 코호트에서 생존 결과를 예측할 수 있게 하나 대조군 코호트에서는 그렇지 않다는 것을 발견하였다.

[0029] EGFR-I 표적화를 이용한 치료를 위해 NSCLC 및 HNSCC 환자를 선별하는 방법이 도 1의 흐름도에 공정 (100)으로서 도시된다.

[0030] 단계 102에서, 혈청 또는 혈장 샘플을 환자로부터 수득한다. 일 구체예에서, 혈청 샘플은 세 개의 분취량으로 분리되고, 질량 분광법 및 후속 단계인 104, 106 (서브단계인 108, 110 및 112 포함), 114, 116 및 118을 분취량 각각에 대해 독립적으로 수행한다.

[0031] 단계 104에서, 샘플을 질량 분광법으로 처리한다. 질량 분광법의 바람직한 방법은 매트릭스 보조된 레이저 탈착 이온화 (MALDI) 흐름 시간 (TOF) 질량 분광법이나, 다른 방법도 가능하다. 질량 분광법은 당 분야에서 통상적인 대로, 다수의 질량/전하 (m/z) 값에서 강도 값들을 나타내는 데이터 포인트를 생성한다. 예시적인 일 구체예에서, 샘플을 해동하고 1500 rpm에서 5분 동안 4°C에서 원심분리하였다. 추가로, 혈청 샘플을 밀리큐 (MilliQ) 수에서 1:10으로 희석하거나 1:5로 희석하였다. 희석된 샘플을 MALDI 플레이트 상의 임의로 할당된 위치에 삼중으로 스폟팅할 수 있다 (즉, 상이한 세 개의 MALDI 표적 위에). 0.75 μ l의 희석된 샘플을 MALDI 플레이트 위에 스폟팅하고, 0.75 μ l의 35 mg/ml의 시나핀산 (50% 아세토니트릴과 0.1% 트리플루오로아세트산 (TFA) 중)을 첨가하고 아래위로 5회 피펫팅함에 의해 혼합시킬 수 있다. 플레이트는 실온에서 건조될 수 있다. 다른 기술 및 절차가 본 발명의 원리에 따른 혈청을 제조하고 가공하기 위해 사용될 수 있음을 이해하여야 한다.

[0032] 스펙트럼이 자동 또는 수동 수집되는 보이저(Voyager) DE-PRO 또는 DE-STR MALDI TOF 질량 분광계를 이용하여 선형 모드로 양성 이온에 대해 질량 스펙트럼을 수득할 수 있다. 75개 또는 100개 스펙트럼을 각 혈청 샘플에 대한 525개 또는 500개 스펙트럼의 평균을 생성하기 위해 각 MALDI 스폟내에 7개 또는 5개 위치로부터 수집하였다. 스펙트럼을 단백질 표준물 (인슐린 (소과), 티오래독신 (대장균(*E. coli*)) 및 아포마이글로빈 (말과))의 혼합물을 사용하여 외부적으로 계산하였다.

[0033] 단계 106에서, 단계 104에서 수득된 스펙트럼을 하나 이상의 소정의 전-가공 단계들로 처리하였다. 전-가공 단계 (106)는 단계 104에서 수득된 질량 스펙트럼 데이터 상에서 동작하는 소프트웨어 지시를 이용한 범용 컴퓨터

에서 실행되었다. 전-가공 단계 (106)는 배경 삭제 (단계 108), 표준화 (단계 110) 및 정렬 (단계 112)을 포함한다. 배경 삭제 단계는 스펙트럼에서 배경의 확고한, 비대칭 추정치를 생성하는 것을 포함하는 것이 바람직하고 스펙트럼으로부터 배경을 삭제한다. 단계 108은 본원에 참조로서 포함된 미국공개출원 2007/0231921호 및 미국 2005/0267689호에 개시된 배경 삭제 기술을 이용한다. 표준화 단계 (110)는 배경 삭제된 스펙트럼의 표준화를 포함한다. 표준화는 본 발명자들의 이전 특허 출원 US 2007/0231921호에 개시된 대로 일부 이온 흐름 표준화이거나 전체 이온 흐름 표준화의 형태를 취할 수 있다. 단계 112는 US 2007/0231921호에 개시된 대로 표준화되고, 배경 삭제된 스펙트럼을 소정의 질량 규모로 정렬하며, 이것은 분류기에 의해 사용된 트레이닝 세트의 조사로부터 수득될 수 있다.

[0034] 일단 전-가공 단계 (106)가 수행되면, 공정 (100)은 소정의 m/z 범위에 걸쳐 스펙트럼의 선택된 피쳐 (피크)의 값을 수득하는 단계 (114)에 이른다. 피크 파인딩 알고리듬의 피크-폭 세팅을 이용하여, 표준화되고 배경 삭제된 진폭을 이러한 m/z 범위에 걸쳐 적분할 수 있고 이러한 적분 값 (즉, 피쳐의 폭간 곡선하면적)을 피쳐로 할당할 수 있다. 이러한 m/z 범위 내에서 피크가 검출되지 않은 스펙트럼의 경우, 적분 범위는 현재 m/z 위치에 있는 피크 폭에 상응하는 폭을 갖는 그 피쳐의 평균 m/z 위치 근처에 있는 간격으로서 정의될 수 있다. 이러한 단계가 또한 본 발명자들의 이전 특허 출원인 US 2007/0231921호에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0035] 단계 114에서, US 2007/0231921호로 공개된 본 발명자들의 특허 출원에 개시된 대로, 스펙트럼에 있는 피쳐들의 적분 값을 하기 m/z 범위 중 하나 이상에서 수득한다:

[0036] 5732 내지 5795

[0037] 5811 내지 5875

[0038] 6398 내지 6469

[0039] 11376 내지 11515

[0040] 11459 내지 11599

[0041] 11614 내지 11756

[0042] 11687 내지 11831

[0043] 11830 내지 11976

[0044] 12375 내지 12529

[0045] 23183 내지 23525

[0046] 23279 내지 23622 및

[0047] 65902 내지 67502.

[0048] 바람직한 구체예에서, 값들은 이러한 m/z 범위들 중 적어도 8개에서, 보다 바람직하게는 이러한 범위들 12개 모두에서 수득된다. 이러한 피크의 의의 및 발견 방법은 이전 특허출원공개 US 2007/0231921호에 설명되어 있다.

[0049] 단계 116에서, 단계 114에서 수득된 값을 분류기, 예시된 구체예에서 K-최근린(KNN) 분류기에 공급하였다. 분류기는 다수의 다른 환자 (NSCLC 환자 또는 HNSCC 암 환자일 수 있었다)로부터의 등급 라벨링된 스펙트럼의 트레이닝 세트를 이용한다. 114에서의 값들에 대한 KNN 분류 알고리듬의 적용 및 트레이닝 세트는 본 발명자들의 특허 출원 공개 US 2007/0231921호에 설명되어 있다. 확률적 KNN 분류기 또는 기타 분류기를 포함하는 다른 분류기가 이용될 수 있다.

[0050] 단계 118에서, 분류기는 "좋음", "나쁨" 또는 "비규명됨"으로서, 스펙트럼에 대한 라벨을 제공한다. 상기 언급된 대로, 단계 104-118은 주어진 환자 샘플로부터의 세 개의 분리된 분취량에 대해 동시에 수행된다. 단계 120에서, 세 개 모두의 분취량이 동일한 등급 라벨을 제공하는지 여부를 결정하기 위한 조사가 이루어진다. 그렇지 않은 경우, 비규명된 결과는 단계 122에 지시된 대로 반환된다. 모든 분취량이 동일한 라벨을 제공하는 경우, 라벨은 단계 124에 지시된 대로 통보된다.

[0051] 단계 124에서 보고된 라벨이 "좋음"인 경우, 이것은 환자가 EGFR 경로 표적화 약물의 투여로부터, 또는 치료 중인 환자를 모니터링하는 경우 지속된 투여로부터 이익을 얻을 것임을 나타낸다. 단계 124에서 보고된 라벨이 "나쁨"인 경우, 이것은 환자가 이러한 약물에 의한 치료로부터 이익을 얻지 못할 것임을 나타낸다.

[0052] 단계 106, 114, 116 및 118이 전-가공 단계 (106), 단계 114에서 스펙트럼 값의 수득, 단계 116에서 KNN 분류 알고리듬의 적용 및 단계 118에서 등급 라벨의 생성을 암호화하는 소프트웨어를 이용하여 프로그래밍된 범용 컴퓨터에서 통상적으로 수행됨이 이해될 것이다. 단계 116에서 이용된 등급 라벨링된 스펙트럼의 트레이닝 세트는 컴퓨터의 메모리 또는 컴퓨터에 접근할 수 있는 메모리에 저장된다.

[0053] 본 출원에 개시된 방법은 게피티닙 (상표명 이레사, 아스트라-제네카)으로 치료하기 전에 수집된 HNSCC 환자로부터의 55개 샘플의 세트에 적용되었다. 이들 중 31개는 "좋음" 라벨을 생성하였고, 23개는 "나쁨" 라벨을 생성하였으며, 1개는 "비규명됨" 라벨을 야기하였다. 분석은 어떠한 임상 데이터도 라벨을 결정하는 동안 이용가능하지 않은, 완전한 맹검 방식으로 수행되었다. 일단 라벨이 생성되면, 임상 데이터는 비맹검이 되었고 전체적인 생존에 대한 카플란-마이어 분석을 종결점 전체 생존 동안 임상 데이터로부터 수행할 수 있었다. 카플란-마이어 곡선은 "좋음" 및 "나쁨"으로 라벨링된 환자에 대해 도 2에 도시되어 있다. "좋음"으로 라벨링된 환자는 "나쁨"으로 라벨링된 환자보다 게피티닙으로의 치료 이후에 양호한 예후를 지녔고 좋음 대 나쁨의 위험율은 0.41 (95% CI: .22-.79)이었다. 좋음 및 나쁨 곡선은 0.007의 로그-랭크 p-값을 지니며 통계적으로 유의하였다. 이러한 결과는 본 출원에 개시된 시험이 HNSCC 환자를 게피티닙으로의 치료 이후에 통계적으로 상이한 예후를 지니는 그룹들로 이들을 분리하는데 사용될 수 있음을 나타낸다.

[0054] 본 출원에 개시된 방법은 세톡시맵 (상표명 에르비톡스, Imclone)으로 치료하기 전에 수집된 HNSCC 환자로부터의 21개 샘플의 세트에도 적용되었다. 이들 중 16개는 "좋음" 라벨을 생성하였고, 5개는 "나쁨" 라벨을 생성하였다. 분석은 어떠한 임상 데이터도 라벨을 결정하는 동안 이용가능하지 않은, 완전한 맹검 방식으로 수행되었다. 일단 라벨이 생성되면, 임상 데이터는 비맹검이 되었고 전체적인 생존에 대한 카플란-마이어 분석을 종결점 전체 생존 동안 임상 데이터로부터 수행할 수 있었다. 카플란-마이어 곡선은 "좋음" 및 "나쁨"으로 라벨링된 환자에 대해 도 3에 도시되어 있다. "좋음"으로 라벨링된 환자는 "나쁨"으로 라벨링된 환자보다 세톡시맵으로의 치료 이후에 양호한 예후를 지녔고 좋음 대 나쁨의 위험율은 0.26 (95% CI: .06-1.06)이었다. 좋음 및 나쁨 곡선은 0.061의 로그-랭크 p-값을 지니며 통계적으로 유의함에 근접하였다. 이러한 결과는 본 출원에 개시된 시험이 HNSCC 환자를 세톡시맵으로 치료한 이후에 통계적으로 상이한 예후를 지니는 그룹으로 이들을 분리하는데 사용될 수 있음을 나타낸다.

[0055] 상기 설명으로부터, 본 발명자들이

[0056] a) 환자로부터의 혈액-기체 샘플로부터 질량 스펙트럼을 수득하는 단계;

[0057] b) 상기 단계 a)에서 수득된 질량 스펙트럼에 대한 하나 이상의 소정의 전-가공 단계들을 수행하는 단계;

[0058] c) 상기 단계 b)에서 질량 스펙트럼에 대한 전-가공 단계들을 수행한 이후에 하나 이상의 소정의 m/z 범위에 있는 상기 스펙트럼의 선택된 피쳐(feature)들의 적분 강도 값을 수득하는 단계; 및

[0059] d) 다른 환자로부터의 혈액-기체 샘플로부터 생성된 등급-라벨링된 스펙트럼을 포함하는 트레이닝 세트를 이용한 분류 알고리듬에서 상기 단계 c)에서 수득된 값을 이용하여 환자가 상기 약물을 이용한 치료로부터 이익을 얻을 지 또는 얻지 못할지를 확인하는 단계를 포함하여, HNSCC 환자가 EGFR 경로를 표적화하는 약물로의 치료로부터 이익을 얻을지를 결정하는 방법을 개시하였음을 이해할 것이다.

[0060] 바람직한 구체예에서, 하나 이상의 m/z 범위는 하기로 구성된 m/z 범위의 군으로부터 선택된 하나 이상의 m/z 범위를 포함한다:

[0061] 5732 내지 5795

[0062] 5811 내지 5875

[0063] 6398 내지 6469

[0064] 11376 내지 11515

[0065] 11459 내지 11599

[0066] 11614 내지 11756

[0067] 11687 내지 11831

[0068] 11830 내지 11976

[0069] 12375 내지 12529

[0070] 23183 내지 23525

[0071] 23279 내지 23622 및

[0072] 65902 내지 67502.

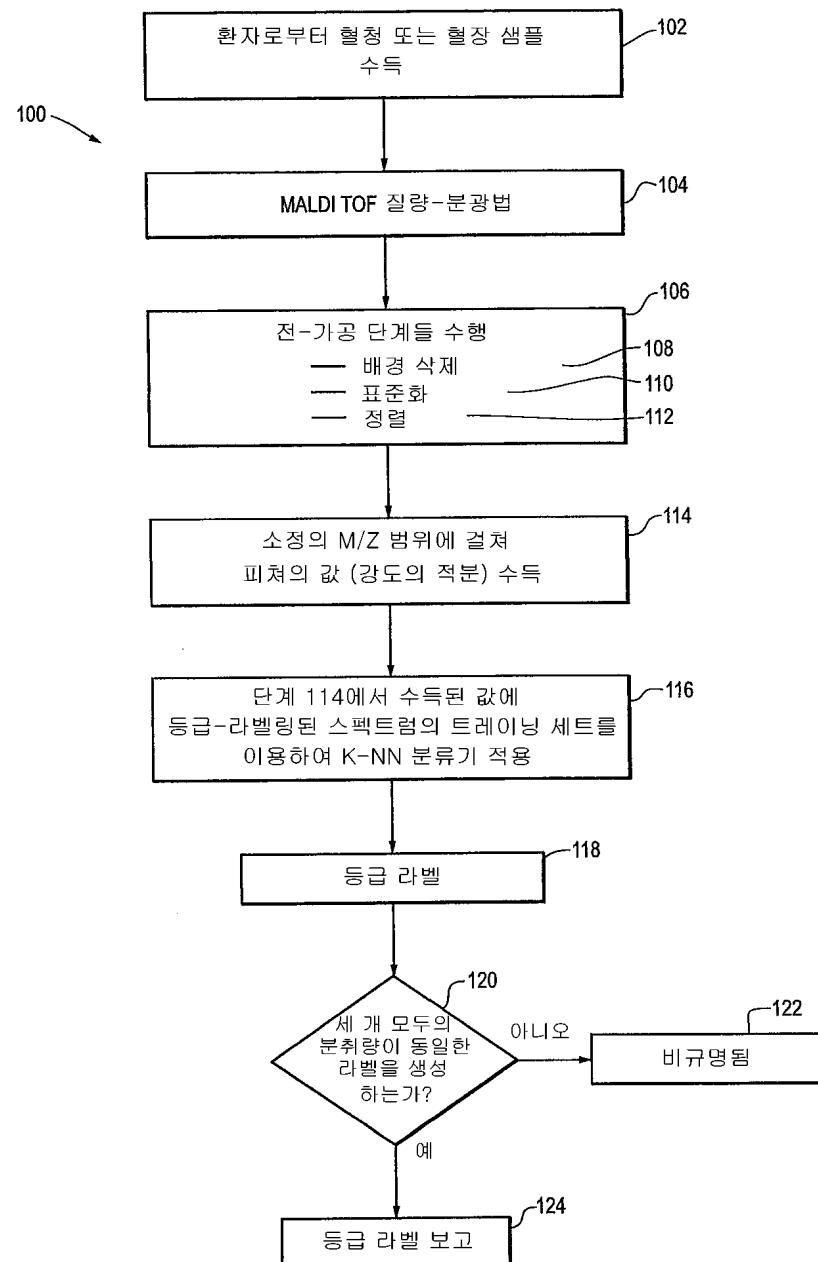
[0073] 질량 스펙트럼은 MALDI 질량 분광계에서 수득되는 것이 바람직하나 필수적인 것은 아니다.

[0074] 환자가 이익을 얻을 것으로 확인된 약물은 게피티닙 또는 애를로티닙과 같은 소분자 표피 성장 인자 수용체 더로신 키나아제 억제제, 또는 대안적으로 세톡시맵과 같은 모노클로날 항체 표피 성장 인자 수용체 억제제를 포함할 수 있다.

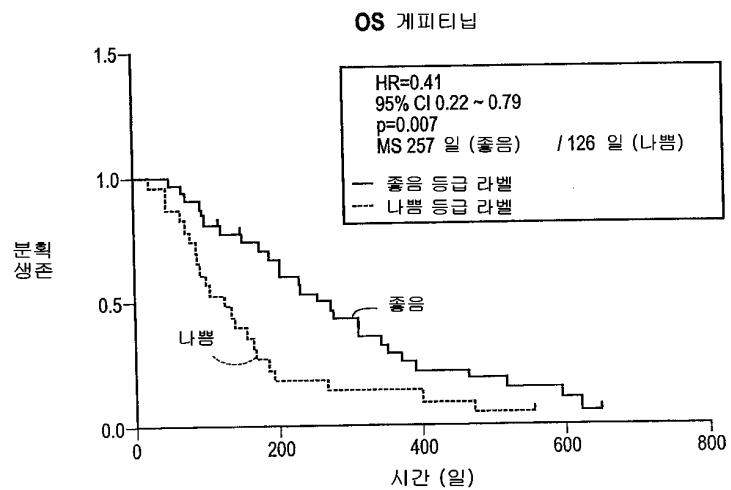
[0075] 개시된 바람직한 구체예의 특정한 세목으로부터의 변화가 본 발명의 범위를 벗어나지 않으며 물론 가능하다. 범위에 대한 모든 문제는 첨부된 청구범위를 참조로 결정되어야 한다.

도면

도면1



도면2



도면3

