



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201142292 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：100106286

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 02 月 24 日

(51)Int. Cl. : **G01N33/566 (2006.01)**

(30)優先權：2010/02/24 美國 61/338,938

(71)申請人：拜歐迪希克斯公司 (美國) BIODESIX, INC. (US)

美國

(72)發明人：葛瑞葛里伊娃 茱莉亞 GRIGORIEVA, JULIA (US)；羅德 海瑞奇 RODER, HEINRICH (US)；斯平 麥克斯梅 TSYPIN, MAXIM (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：8 共 76 頁

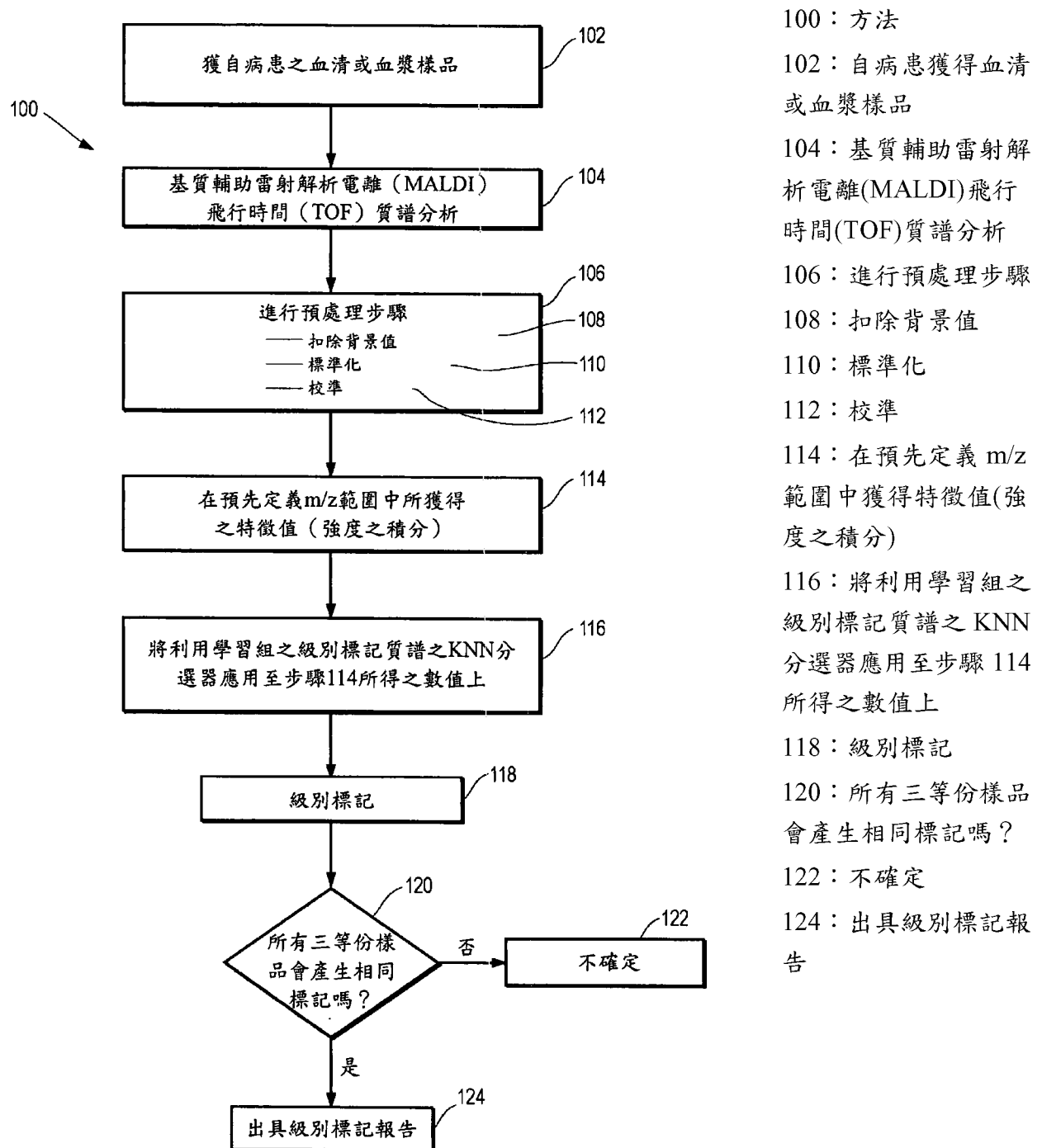
(54)名稱

利用以血液為主之樣品的質譜分析進行治療劑投藥之癌症病患選擇

CANCER PATIENT SELECTION FOR ADMINISTRATION OF THERAPEUTIC AGENTS USING MASS SPECTRAL ANALYSIS OF BLOOD-BASED SAMPLES

(57)摘要

本發明揭示一種利用質譜數據分析及分類演算方法，該方法可提供測定實體上皮腫瘤癌症病患是否可能受益於靶向與 MAPK 路徑(促分裂素原活化蛋白激酶)或位於 Akt 上游或該處之 PKC(蛋白激酶 C)路徑或 ERK/JNK/p38 或 PKC 有關之受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合(諸如，靶向 EGFR 及/或 HER2 之治療劑)的能力。該等方法亦可提供測定癌症病患是否可能受益於靶向 EFGR 治療劑及靶向 COX2 治療劑的組合；或癌症病患是否可能受益於 NF-κB 抑制劑治療之能力。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201142292 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：100106286

(22)申請日：中華民國 100 (2011) 年 02 月 24 日

(51)Int. Cl. : **G01N33/566 (2006.01)**

(30)優先權：2010/02/24 美國 61/338,938

(71)申請人：拜歐迪希克斯公司 (美國) BIODESIX, INC. (US)

美國

(72)發明人：葛瑞葛里伊娃 茱莉亞 GRIGORIEVA, JULIA (US)；羅德 海瑞奇 RODER, HEINRICH (US)；斯平 麥克斯梅 TSYPIN, MAXIM (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：8 共 76 頁

(54)名稱

利用以血液為主之樣品的質譜分析進行治療劑投藥之癌症病患選擇

CANCER PATIENT SELECTION FOR ADMINISTRATION OF THERAPEUTIC AGENTS USING MASS SPECTRAL ANALYSIS OF BLOOD-BASED SAMPLES

(57)摘要

本發明揭示一種利用質譜數據分析及分類演算方法，該方法可提供測定實體上皮腫瘤癌症病患是否可能受益於靶向與 MAPK 路徑(促分裂素原活化蛋白激酶)或位於 Akt 上游或該處之 PKC(蛋白激酶 C)路徑或 ERK/JNK/p38 或 PKC 有關之受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合(諸如，靶向 EGFR 及/或 HER2 之治療劑)的能力。該等方法亦可提供測定癌症病患是否可能受益於靶向 EFGR 治療劑及靶向 COX2 治療劑的組合；或癌症病患是否可能受益於 NF-κB 抑制劑治療之能力。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種用以預測癌症病患是否可能或不可能受益於投用某類型及種類之藥物、及/或其組合之方法及系統。該方法及系統係與使用獲自以病患血液為主之樣品的質譜數據及以該等質譜數據操作軟硬體組裝成分選器之電腦有關。

本發明根據35 U.S.C. § 119(e)主張於2010年2月24日申請之美國臨時專利申請案第61/338,938號之優先權，該案之內容係以引用之方式併入本文中。

【先前技術】

本發明代理人(Biodesix, Inc)已開發一種稱為VeriStrat之試驗，該試驗可預測非小細胞肺癌(Non-Small Cell Lung Cancer; NSCLC)病患是否可能或不可能受益於表皮生長因子受體(Epidermal Growth Factor Receptor; EGFR)路徑標靶藥物之治療。該試驗係描述於美國專利第7,736,905號中，該專利內容係以引用之方式併入本文中。該試驗亦係描述於Taguchi F.等¹中，該文獻內容係以引用之方式併入本文中。該試驗其他應用亦描述於美國專利第7,858,390、7,858,389及7,867,775號中，該等專利內容係以引用之方式併入本文中。

簡而言之，VeriStrat試驗係以癌症病患血清及/或血漿樣品為基礎，藉由MALDI-TOF質譜分析及在電腦中執行之數據分析演算之組合，將一組預先定義m/z範圍內之8個積

分峰值強度與獲自一組學習之積分峰值強度作比較，並針對該等病患樣品產出級別標記：VeriStrat「佳」、VeriStrat「差」、或VeriStrat「不確定」。在多個臨床確認研究中，咸已證實，當以表皮生長因子受體抑制劑對治療前血清/血漿為VeriStrat「佳」的病患進行治療時，所得結果明顯較病患樣品識別標誌為VeriStrat「差」的病患佳。極少數的案例是無法判定(少於2%)，結果則給予VeriStrat「不確定」的標記。VeriStrat可購自Biodesix, Inc.(本發明代理人)，且可針對非小細胞肺癌患者用以進行治療選擇。

以生物標記為基礎之有關腫瘤類型及組織學、特定介入及臨床病理學因子之最新試驗是非常具有特異性的。舉例而言，以腫瘤組織為主之基因試驗(諸如，針對EGFR域突變之試驗、KRAS突變之試驗)及藉由螢光原位雜交(Fluorescence In-Situ Hybridization; FISH)之基因拷貝數分析似乎僅能用於極特定的適應症。雖然EGFR突變在患有腺癌之第一線NSCLC癌對吉非替尼(gefitinib)反應會有徵兆，但因為這些突變在該類型NSCLC中極為罕見，因此其對鱗狀細胞癌不具有相似的用途。KRAS突變與結直腸癌中對西妥昔單抗(cetuximab)之反應有關，但意欲將此轉移至NSCLC則未竟全功。在頭頸部鱗狀細胞癌(squamous cell cancer of the head and neck; SCCHN)中，沒有已知可受益於EGFR抑制劑(EGFRI)之標記。該等基因試驗之限制可能係該等試驗侷限於非常特定之突變有關，而該等突變僅是致癌作用中複雜機制的一小部分。此外，所有該等試

驗係以簡化論點為基礎，換言之，將腫瘤生物學簡化成僅為腫瘤細胞，且忽略了腫瘤細胞與由血管支撐系統之內皮細胞、細胞外基質及免疫系統組分(諸如，涉及與癌症相關之慢性炎症機制中之炎症細胞、及各種趨化激素及細胞激素)所構成之腫瘤微環境之間的重要相互關係。

【發明內容】

在本專利說明書中，吾人提出腫瘤細胞中與VeriStrat為「差」之上皮腫瘤明顯特徵路徑有關的理解及其證據。本文所提理解之證據係建立在若干來源之基礎上，該來源包括臨床證據、現象學證據、文獻分析、及以癌症病患血清樣品質譜分析為基礎之分子證據。本文所述領悟的結果可以下文詳細描述之新方法(即實際測試)形式呈現，該方法係用於預測癌症病患是否可能或不可能受益於某些種類之藥物、或其組合。

簡而言之，以經鑑別VeriStrat為「差」的病患而言，該VeriStrat試驗可測量生長及存活因子受體(諸如，EGFR)下游之一或多種路徑之活化作用，可能候選路徑包括經典與非經典MAPK(促分裂素原活化蛋白激酶)、Akt及藉由PKC(蛋白激酶C)所調節之反應(參見圖2)。關於化療法組及安慰劑控制組的結果之變異性顯示出，該等路徑本身之活化作用會導致更差的預後，且指出NF- κ B(經活化B細胞之核因子 κ 輕鏈促進子，是重要的轉錄作用因子)參與調節細胞反應並對炎症及免疫反應發揮重要作用，並參與調節細胞增殖與存活。亦知NF- κ B與化療反應有關。

一般而言，該 VeriStrat 試驗可識別出具有較差預後的小群族群，且可預測出實體上皮腫瘤癌症病患以靶向與 MAPK 路徑或位於 Akt 上游或該處之 PKC 或 ERK/JNK/p38 或 PKC 有關之受體促效劑、受體或蛋白質的治療劑或治療劑組合治療之差別益處。EGFR 抑制劑係此等藥劑之實例。經預測可能受益於抗 EGFR 藥劑之病患係經識別為 VeriStrat 「佳」標記；相反地，經預測不可能受益於抗 EGFR 藥劑之病患係經識別為 VeriStrat 「差」標記。術語 MAPK(促分裂素原活化蛋白激酶)在本文中係指至少三種一連串具有關聯性的名稱，而非指單一酵素(參見圖 2)。

由上文推論，以 VeriStrat 為「差」標記有關之病患而言，經以 VeriStrat 試驗診斷為「差」的病患是具有較差預後的癌症病患。實質上，該等 VeriStrat 為「差」的病患被認定為與 VeriStrat 為「佳」的病患具有不同的疾病狀態。

此外，具有 VeriStrat 為「佳」之標記的癌症病患更可能受益於靶向與 MAPK 路徑有關之受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合的療法；而具有 VeriStrat 為「差」之標記的病患不可能在臨床上受益於此一治療劑之療法；另一方面，VeriStrat 為「差」的病患可能呈現受益於避免與該等受體無關之該等路徑下游活化作用之治療或治療組合。

此理解內容之實際應用具有如所附加專利申請範圍中所反映之若干形式。該等方法係與從癌症病患所得之以血液為主的樣品之質譜數據並利用充當分選器之經程式設計的

電腦來分析該質譜有關。在一個形式中，係揭示一種可識別實體性上皮腫瘤癌症病患之方法，其中該病患可能受益於靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC路徑或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合的治療，或該病患不可能受益於以該治療劑或治療劑組合的治療，該方法包括以下步驟：a)自實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品得到質譜數據；b)對得自步驟a)之質譜數據進行一或多次預先定義之預處理步驟；c)步驟b)之質譜數據經預處理步驟後，在一或多個預先定義m/z範圍內，於該質譜中得到精選特徵之積分強度值；及d)利用步驟c)所得數值，以分類演算法使用包括從其他實體性腫瘤病患之以血液為主的樣品產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於該等治療劑或治療劑組合的治療。

在另一實施例中，係描述一種用以預測癌症病患是否可能受益於投與COX2抑制劑與EGFR抑制劑組合之方法，該方法包括以下步驟：

- a)自癌症病患之以血液為主的樣品得到質譜；
- b)對得自步驟a)之質譜進行一或多次預先定義之預處理步驟；
- c)步驟b)質譜進行預處理步驟後，在一或多個預先定義m/z範圍內，獲得該值譜精選特徵之積分強度值；及
- d)利用步驟c)所得數值，以分類演算法使用包括從其他實體性上皮腫瘤病患之以血液為主的樣品產生之級別標記

譜的學習組來識別該病患可能或不可能受益於投與COX2抑制劑及EGFR抑制劑組合之治療。

【實施方式】

定義

除非內文清楚規定，否則如本文所用之單數形式「一」、「一個」、及「該」包括複數個所指的對象。

如本文所用，術語「實體性上皮腫瘤」包括但不必然地限於NSCLC、SCCHN、乳癌、腎癌、胰腺癌、黑素瘤及結直腸癌(CRC)。

如本文所用，術語「靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合」包括但不限於：靶向erbB受體類(包括EGFR(HER1)、HER2、HER3、及HER4、VEGF受體(VEGFR2)、肝細胞生長因子受體(HGFR或MET)、G蛋白偶合受體、胰島素樣生長因子(IGF)受體、VEGF、生長因子(諸如，TGF α 及EGF)、及位於Akt上游或該處或ERK/JNK/p38 MAPK或PKC路徑之之其他任何蛋白質之治療劑或藥劑。此外，如本文所用，術語「靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC路徑或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質的治療劑或治療劑組合」包括已知治療劑、及尚未被發現或揭示之靶向該等蛋白質之治療劑。另外，治療劑組合包括任何治療劑組合，不論該等治療劑是否已組合用於治療實體性上皮腫瘤上。應注意，即使藥劑經識別係為特定蛋白

質或路徑之抑制劑，此分類法非意指代表描述其作用機制，因為許多該等藥劑之作用機制尚未完全理解。舉例而言，該等治療劑包括如下所列，但所列者非為詳盡的名單：

(1) TKI(Tyrosine Kinase Inhibitors；酪胺酸激酶抑制劑)：目前在市場上及I至III階段臨床試驗中有多種歸類為小分子酪胺酸激酶抑制劑之藥物。TKI可靶向特定的分子受體(諸如，表皮生長因子受體(EGFR))，且亦可靶向複數個受體(稱為「多樣性激酶抑制劑」)。該等藥物包括但不限於：厄洛替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)、帕唑帕尼(pazopanib)、伊馬替尼(imatinib)、尼洛替尼(nilotinib)、拉帕替尼(lapatinib)。

以抗體為基礎之抑制劑包括西妥昔單抗(cetuximab)(抗-EGFR)、盤尼圖單抗(Panitumumab)(抗-EGFR)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)(抗-Her2)。

(2) HGFR或MET抑制劑：目前有許許多多處於I至II階段試驗中之可抑制MET或P13K(MET下游之信號傳導酶)的藥物，這些藥物雖然經研究至不同的程度，但目前未使用在臨床上。例如，XL880係MET及VEGFR2之有效抑制劑。如本文所用，術語「MET抑制劑」包括但不限於：AMG 208、AMG 102、ARQ 197、AV-299、MetMab、GSK 1363089 (XL880)、EMD 1214063、EMD 1204831、MGCD265、克利挫特尼(Crizotinib) (PF-02341066)、PF-

04217903、MP470。

(3) COX2抑制劑：如本文所用，術語「COX2抑制劑」包括但不限於：選擇性COX2抑制劑；塞來考昔(celecoxib)、羅非考昔(rofecoxib)、伐地考昔(valdecoxib)、魯米考昔(lumiracoxib)。

(4)其他可抑制COX1及COX2兩者之非類固醇抗炎症藥物(NSAIDs)，諸如，布洛芬(ibuprofen)、阿司匹林(aspirin)、吲哚美辛(indomethacin)、及舒林酸(sulindac)。該等藥物亦已證明可抑制NF- κ B活化作用。

(5)其他NF- κ B抑制劑：如本文所用，術語「NF- κ B抑制劑」包括但不限於：三氧化二砷(Arsenic trioxide；ATO)、撒利多胺(thalidomide)及其類似物、白藜蘆醇(resveratrol)。此外，據信COX2抑制劑對NF- κ B路徑亦有抑制作用。因此，NSAIDs(諸如，布洛芬、阿司匹林、吲哚美辛、及舒林酸)亦顯示可抑制NF- κ B活化作用，且因此可視為NF- κ B抑制劑。

如本文所用，術語「VEGF抑制劑」包括但不限於：貝伐單抗(Bevacizumab)、西達瑞尼(Cedaranib)、阿西替尼(Axitinib)、莫特撒尼(Motesanib)、BIBF 1120、瑞木西路單抗(Ramucirumab)、VEGF Trap、林尼發尼(Linifanib)(ABT869)、替福挫尼(Tivozanib)、BMS-690514、XL880、蘇尼替尼(Sunitinib)、索拉非尼(Sorafenib)、布瑞法尼(Brivanib)、XL-184、帕唑帕尼(Pazopanib)。

如本文所用，術語「標向療法」係指利用藥物或其他物

質(諸如，單株抗體或特定酵素之小分子抑制劑)來識別或攻擊特定分子(諸如，受體)之治療類型。此類之實例係EGFR-TKI(埃羅替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib))、西妥昔單抗(cetuximab)、貝伐單抗(bevacizumab)等等。

如本文所用，術語「非標靶化療法」或「化療法」係指藉由干擾DNA(諸如，烷化劑，如順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)；或抗代謝物，如5-氟尿嘧啶或培美曲唑(pemetrexed)；或拓撲異構酶抑制劑，如伊立替康(irinotecan))或干擾細胞分裂(諸如，長春瑞濱(vinorelbine)、多西紫杉醇(docetaxel)、紫杉醇(paclitaxel))來干擾迅速分裂細胞之療法。

如本文所用，術語「預後」係指在沒有治療下與臨床結果相關之因子或量測值，或施用標準治療下與臨床結果相關之因子或量測值。預後可視為該疾病之自然病程之測定。

如本文所用，術語「預測」係指受益於或未受益於特定療法之相關因子的量測值。預測因子意味可根據該預測標記的狀態從該治療法得到不同的益處²。如本文所用，術語「疾病狀態」意指該經診斷疾病之特定次類別病況，其具有獨特性預後及/或對治療法的不同反應及/或特定分子及/或代謝特徵之特徵。

討論

吾人已發現，因為VeriStrat試驗係以獲自血清樣品之質譜數據的特徵為基礎，因此其可以量測到與癌症相關的一

般性因子，此與目前普遍以生物標記為主之試驗不同。此事實致使可以利用 VeriStrat 試驗進行新穎性的實務應用，以選擇治療方式，此將在下文討論。特定而言，不論 EGFR 抑制的作用機制為何，VeriStrat 試驗在經識別為 VeriStrat「佳」的病患與經識別為 VeriStrat「差」的病患間的存活曲線會產生相似的區隔性。在吾人先前研究中，VeriStrat 試驗係使用經以小分子 EGFR-酪胺酸激酶抑制劑吉非替尼(易瑞沙(Iressa))及埃羅替尼(它賽瓦(Tarceva))治療之病患樣品組，該等抑制劑係藉由阻斷酵素 ATP 結合位點而抑制該受體¹。吾人發現，在 NSCLC 及結直腸癌(CRC)兩者中，經識別為 VeriStrat「佳」之病患與經識別為 VeriStrat「差」之病患間對靶向 EGFR 之另一治療劑西妥昔單抗(艾比特思(Erbitux))具有相似的區隔性³。西妥昔單抗係可以直接阻斷 EGF 受體之抗體。

此外，該 VeriStrat 試驗於經識別為 VeriStrat「佳」之病患與經識別為 VeriStrat「差」之病患間在全面臨床病理學特徵上具有相似的區隔。舉例而言，該 VeriStrat 試驗可用於其腫瘤為腺瘤之病患，亦可用於其腫瘤為鱗狀細胞癌之病患。

另外，該 VeriStrat 試驗在多種實性上皮腫瘤中經識別為 VeriStrat「佳」的病患與經識別為 VeriStrat 的「差」病患間可以顯示出區隔性。吾人在 NSCLC、頭頸部鱗狀細胞癌(SCCHN)、及 CRC 中發顯此區隔性³。

此外，吾人發現，經非標靶化療法治療之病患藉由

VeriStrat試驗分類的存活曲線的區隔性會因族群詳細數據、介入類型、及腫瘤類型而變化。某些非標靶化療法治療組具有區隔性之證據，而其他組則沒有區隔性。在安慰劑組(即，沒有介入)也有明顯區隔，此顯示VeriStrat試驗具有預後要件。

圖6森林圖概括所有至今公布或出現之VeriStrat試驗之分析數據，其顯示所研究各療法之VeriStrat「佳」及VeriStrat「差」病患間之整體存活的危險比(HR)。所見該等數據係根據治療類型而歸類在組別中。所得危險比之範圍說明，VeriStrat會由於特定類型治療確實顯示出具有較佳或較差的結果，而因此具有預測的能力。

在圖6中，治療係B=貝伐單抗，C=西妥昔單抗，CT=化學治療，F=埃羅替尼，G=吉非替尼。公開案/報告係[1] D. Carbone, 2nd European Lung Cancer Conference, 2010年4月；[2] data on file at Biodesix, 由F. Taguchi等人更新, J Natl Cancer Inst. 2007 Jun6; 99(11): 838-846¹；[3] C. Chung等人, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2010 Feb; 19(2):358-65³；[4] D. Carbone等人, Lung Cancer 2010 Sept; 69(3):337-340⁴。

經非標靶化療法治療之族群的再分析顯示，雖然以紫杉烷類(taxanes)治療之小群族群組中沒有明顯區隔性，但以不含紫杉烷類之化療法治療之VeriStrat「佳」與VeriStrat「差」組之間卻有區隔性(參見圖7)。

具有如此廣泛應用範圍的測試是極為罕見的。

總而言之，根據以上討論及圖6與7得到下列的結論：

1. VeriStrat測試在介於VeriStrat為「佳」與為「差」的小群族群之間，對於EGFR抑制劑(EGFRI)單一療法具有約0.45為險比之區隔，其中該單一療法係：

- 與該EGFEI(例如，針對小分子TKI(埃羅替尼，吉非替尼)及以EGFRI為基礎之抗體(受體)抑制劑(例如，西妥昔單抗)的作用機制無關；
- 與組織學類型無關，例如，腺癌及鱗狀細胞癌；且
- 與器官無關，例如，NSCLC、SCCHN、及CRC。

2.未觀察到與其他族群特徵具有顯著的關係：

- 與基因組標記無關，例如，EGFR突變狀態或KRAS狀態；
- 與族群特徵無關，諸如，性別及種族。

3. VeriStrat具有強力預後要件，其在沒有治療情況下，係以介於VeriStrat為「差」的小群族群及VeriStrat為「佳」的小群族群間之區隔呈現出來。

- 然而，在VeriStrat為「差」的小群族群中不存在EGFRI單一療法之可測定的治療效益(即，在VeriStrat差的小群族群中，接受埃羅替尼之治療實質上等同接受安慰劑之治療)，而在VeriStrat為「佳」的小群族群中，則存有EGFRI之可測定的治療效益。
- 組合療法之效果端視該特定藥物組合及該等對相互作用路徑之影響而定。

綜合所有該等事實及僅在樣品質譜中VeriStrat「差」的

組別之特定波峰所觀察到的結果，產生以下結論：VeriStrat可在實體性上皮腫瘤中界定出臨床上具有意義(較差結果)之新穎疾病狀態。所觀察的現象對VeriStrat「差」腫瘤之分子狀態可以有某些暫時性結論：當EGFRI在此級別病患中沒有效果，且TKI及以抗體為基礎之療法效果相同時，則在VeriStrat「差」的病患中受體及酪胺酸激酶領域下游之路徑可能係與VeriStrat「佳」的患者不同，換言之，是經過向上調節。由於未觀察到與KRAS突變狀況之相關性，因此吾人進一步斷定受影響的路徑係在RAS以下。

基於以上觀察、文獻分析及其他系列之證據，本文中展示吾人對涉及VeriStrat「差」上皮腫瘤之顯著特徵中之腫瘤細胞路徑的理解。簡而言之，吾人提出在經識別為VeriStrat「差」的病患中，VeriStrat試驗可測量到EGF受體下游之一或多種路徑的活化作用；可能候選路徑包括經典與非經典MAPK、PI3K/Akt及藉由PKC調節之反應(參見圖2之200A及200B處)。有關化療法組及安慰劑控制組結果的變異性顯示出，該等路徑本身之活化作用會導致更差的預後，且指出細胞存活之重要調節子-NF- κ B轉錄因子-在炎症過程及癌症發展中具有重要作用，且與化療反應有關。

一般而言，VeriStrat試驗可識別出具有較差預後的一小族群(VeriStrat為「差」者)，且將可預測出實體性上皮腫瘤癌症病患受益於靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處

之PKC(蛋白激酶C)或ERK/JNK/p38或PKC有關的受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合之治療。EGFR抑制劑係此等藥劑之實例。經預測可能受益於抗EGFR藥劑之病患係經識別為VeriStrat「佳」的標記；相反地，經預測不可能受益於抗EGFR藥劑之病患係經識別為VeriStrat「差」的標記。具有VeriStrat為「差」的標記之病患不可能在臨床上受益於靶向可活化MAPK路徑之受體的治療劑之療法；另一方面，VeriStrat「差」的病患可能從避免與該等受體無關之該等路徑下游活化作用之治療或治療組合獲得臨床上的益處。

術語MAPK(促分裂素原活化蛋白激酶)在本文中係指至少三種一連串具有關聯性的名稱，而非指單一酵素(參見圖2)。

由上文推論，以與VeriStrat「差」標記具有關聯的病患而言，VeriStrat試驗診斷為「差」的病患是具有較差預後之小群癌症病患。

本文所領悟的結果係以新穎方法的形式呈現，換言之，是可用以預測癌症病患是否可能或不可能受益於某些種類之藥物之實際試驗。

在一個實務應用中，本發明被視為可識別出實體性上皮腫瘤癌症病患之方法，該病患可能受益於靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質有關的治療劑或治療劑組合之療法，或該病患不可能受益於該治療劑或該治療劑組合

之療法，該方法包括以下步驟：

a)自實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品獲取質譜；

b)在自步驟a)獲得之質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟，例如扣除背景值、噪音估計、標準化及質譜校準；

c)步驟b)之質譜數據經預處理步驟後，在一或多個預先定義 m/z 範圍(及對應於後文所述如下表1所示之較佳 m/z 波峰)內，於該質譜中得到精選特徵之積分強度值；

d)利用步驟c)所得數值，以分類演算法(例如K最鄰近接點算法)使用包括從其他實體性腫瘤病患之以血液為主的樣品產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於該等治療劑或治療劑組合之療法。

舉一VeriStrat「差」的病患克服標靶療法之抗性的具體實例而言，將COX2抑制劑(例如，塞來考昔或羅非考昔)添加至EGFRI中作為治療方式可克服VeriStrat為「差」識別標誌病患對EGFRI之抗性。因此，VeriStrat試驗可作為開立包括COX2抑制劑及EGFRI組合療法處方簽的指標。

舉另一具體實例而言，據信VeriStrat「差」識別標誌者與NF- κ B之特異性活化作用相關，因此該試驗可用以挑選出最為受益於NF- κ B抑制劑之病患，且因此可減少不必要的治療及相關發病率。

舉另一具體實例而言，據信VeriStrat「差」識別標誌者在臨床上較不受益於特定非標靶化療法，特定言之是指可

干擾DNA複製作用及基因表現的藥劑(諸如，順鉑、卡鉑、吉西他濱或培美曲唑)，可能是因為NF- κ B因子參與此過程中。

以分類為VeriStrat「差」之病患而言，添加(1)可避免與該等受體無關之該等路徑下游活化作用之藥劑(例如COX2抑制劑)或(2)最小化炎症宿主效應之作用劑、或添加可避免交叉作用路徑活化之其他靶向藥劑，可克服該等靶向藥劑之抗性。

VeriStrat試驗

本發明係根據示於圖1中方法100之流程圖之方法，該方法係用以測試實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣本，以挑選出適合以某治療劑或治療劑組合(諸如，本發明係靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質之藥劑)治療的病患。

在步驟102，自該病患取得血清或血漿樣品。在一個實施例中，將該血清樣品分成三等份，並對每一等份試樣分別獨立地進行質譜分析及隨後之步驟104、106(包括，次步驟108、110、及112)、114、116及118。等份試樣數目可以變化(例如，可為4、5或10等份)，且每一等份試樣均經受隨後的處理步驟。

在步驟104，將該樣品(等份試樣)進行質譜分析。較佳質譜分析法係基質輔助雷射解析電離(MALDI)飛行時間(TOF)質譜分析，但可使用其他方法。質譜分析法會產出

一如此項技藝所習知的以質/核(m/z)數值大小代表強度值之數據資料。在一個示例性實施例中，將該樣品解凍，並在4攝氏度下於1500 rpm下離心5分鐘。隨後，以MilliQ水將該等血清樣品稀釋1:10或1:5。經稀釋樣品以三重複方式沾點在MALDI盤上隨機分配位置(即，在三個不同MALDI標靶上)。將0.75 ul經稀釋血清沾點在MALDI盤上之後，添加0.75 ul的35 mg/ml芥子酸(含於50%乙腈及0.1%三氟乙酸(TFA)中)，並以吸管上下吸放5次加以混合。室溫下乾燥盤子。應瞭解，其他技術及程序可根據本發明原理用以製備及處理血清。

利用配備有自動或人工蒐集質譜之Voyager DE-PRO或DE-STR MALDI TOF質譜儀可獲得呈線性模式之陽離子之質譜。從每一MALDI沾點內之7或5個位置蒐集75或100個質譜，以針對每一血清樣品得到525或500質譜的平均值。利用蛋白質標準(胰島素(牛)、硫氧還蛋白(E. coli)、及脫輔基紅蛋白(馬))混合物外部校正質譜。

在步驟106，對獲自步驟104質譜進行一或多個預先定義之預處理步驟。該等預處理步驟106係利用可以操作獲自步驟104之質譜數據的軟體指令在一般用電腦中進行。該等預處理步驟包括背景扣除(步驟108)、標準化(步驟110)及校準(步驟112)。背景扣除步驟較佳包括在該質譜中產生穩定、背景不對稱估計值並從該質譜扣除該背景值。步驟108利用描述於美國專利第7,736,905 B2號及美國專利申請公開案第2005/0267689號(該等文獻係以引用方式併入本文

中)中之背景值扣除技術。該標準化步驟110涉及經扣除背景值質譜的標準化。如美國專利第7,736,905號中所述，該標準化可呈部份離子流標準化或總離子流標準化形式。如美國專利第7,736,905號中所述，步驟112係校準該經標準化、扣除背景值質譜至預先定義質量標度，該預先定義質量標度可藉由分選器探討研究學習組得到。

一旦進行該預處理步驟106，該方法100即進入至整個預先定義 m/z 範圍內獲取該質譜精選特徵(峰)值之步驟114。利用尋峰演算法中波峰寬度設定，將該經標準化及扣除背景值之振幅對該等 m/z 範圍內進行積分並指定該積分值(即該曲線下方與該特徵之寬度之間的面積)為一特徵。以該 m/z 範圍內未發現波峰值之質譜而言，該積分範圍係介定在該特徵約平均 m/z 位置的距離，其中寬度等於在所處 m/z 位置處的波峰寬度。該步驟亦係詳細描述於美國專利第7,736,905號中。

如美國專利第7,736,905號所述，在步驟114中，一或多個 m/z 範圍所獲得之質譜特徵的積分值如下：

5732至5795、

5811至5875、

6398至6469、

11376至11515、

11459至11599、

11614至11756、

11687至11831、

11830至11976、
12375至12529、
23183至23525、
23279至23622、及
65902至67502。

在一較佳實施例中，下表1中列示所得之數值是8個位在該等 m/z 範圍內之數值，且視需要可以獲得所有位於12個該等範圍內之數值。發現該等波峰的意義及方法係解釋於美國專利第7,736,905號中。

在步驟116中，將步驟114所獲之數值匯入至分選器，該分選器在說明性實施例中係K個最鄰近(KNN)分選器。該分選器利用來自許多其他病患(其可為NSCLC癌症病患，或其他實體性上皮癌症病患，例如HNSCC、乳癌)之級別標記質譜之學習組。美國專利第7,736,905號說明了KNN分類演算法在114步驟及該學習組所得數值上的應用。可以使用其他分選器，包括概率KNN分選器或其他分選器。

在步驟118中，該分選器會針對質譜產出級別標記(「佳」、「差」或「不確定」)。如上所述，步驟104-118係在某病患樣品獲得的三個個別等份樣品(或使用任何等份數目樣品)以互不干擾的方式進行。在步驟120中，進行檢查，以確認是否所有該等份樣品會產生相同級別標記。若未產生相同級別標記，則回到如步驟122所示的不確定結果。若所有該等份樣品均產生相同級別標記，就以步驟124所示，出具該級別標記的報告。

本發明揭示步驟124所出具之級別標記的新穎性及意料外之用途。

應瞭解，通常是利用可以編譯預處理步驟106、可以獲取步驟114中質譜值、應用步驟116中K-NN分類演算法及產生步驟118中級別標記的軟體，在經程式設計的一般目的性電腦中進行步驟106、114、116及118。步驟116中所用學習組之級別標記質譜數據係儲存於該電腦之記憶體中或可進入至該電腦的記憶體中。

如吾人先前專利申請公開案美國專利第7,736,905號所述，該方法及經程式設計電腦可方便地在實驗室試驗方法中心進行。

VeriStrat試驗之作用機制及其實際結果的理解來自多方面來源，將進一步描述於此章節中。

來自蛋白質ID之直接證據

VeriStrat可測量血清或血漿中MALDI-TOF MS的波峰強度。在一個實施例中，該VeriStrat識別標誌係由下列表1中所述8個質譜波峰所組成。藉由估算強度(即特徵值)進行該分類法，該估算係藉由在預先定義 m/z 範圍(參見以上列示及表1)內將樣品質譜積分，並利用7個最鄰近分類演算法將8個特徵值之觀察組與彼等來自學習組樣品者間建立關聯性。此程序係使用非線性組合中之特徵值，且不會有一維計分的定義。試圖從特徵值之線性組合產生計分函數總是沒有成功，且通常產生更差的結果。似乎所有或多數該等8個特徵具有臨床上的用途。

據信，測定所用特徵值之肽含量有助於理解 VeriStrat 試驗的作用機制。然而，由於儀器 m/z 解析率不足以精確至在給定 m/z 範圍內僅有一種蛋白質或肽鏈的事實而使其顯得複雜。其亦顯示出該 8 個波峰識別標誌會出現 8 個以上的肽，因為其中某些肽可能會有轉譯後修飾作用或該等肽會出現相同胺基酸序列之氧化形式，而其他者仍為不可識別的肽。此外，該等特徵值(即經估算的波峰強度)並非簡單地等於該樣品中給定分析物之含量，此係由於該 MADLI 電離過程(其中撞擊該探測器離子數目係該分析物之含量與撞擊概率兩者之函數)的複雜性所造成的。此以半定量方法之波峰(特徵值)比較法使得以標準方法針對蛋白質 ID(LC-MS/MS)的比較更為困難。

波峰數	m/z
1	5843
2	11445
3	11529
4	11685
5	11759
6	11903
7	12452
8	12579

表 1：用於 VeriStrat 中之波峰

儘管有這些困難，吾人仍有強力證據證明表 1 所示該等波峰中有 3 個係與血清澱粉 A (serum amyloid A; SAA) 異構體相關。吾人在經共用 VeriStrat 「佳」的樣品及 VeriStrat 「差」樣品之間進行差別凝膠 (DIGE) 分析，並以足夠序列

範圍下成功分離出 m/z 11529與11685處之波峰，將其等識別為 SAA 19-122與 SAA 20-122。理論質量與所得 m/z 值完全相符，在凝膠上該經觀察到0.4的PI偏移亦與理論預測相符。吾人亦相信， m/z 5843處之波峰是11685處之波峰的雙倍帶電形式。該等波峰亦已被其他人⁵觀察到(Ducet等人，Electrophoresis 1996，17，866-876；Kiernan等人，FEBS Letters 2003，537，166-170)。11445處之波峰亦可能係另一種與SAA母本蛋白C末端切斷序列有關之SAA異構體。

雖然其他蛋白質或蛋白質異構體存在於該VeriStrat識別標誌中是明顯的，但SAA異構體可能在VeriStrat試驗之作用機制中具有重要作用。在下列章節中，吾人提供一個VeriStrat試驗作用機制之可能理論，該理論係以下列所發現者為基礎：SAA係VeriStrat「差」識別標誌中至少三個波峰之重要部分；各種癌細胞中關於SAA與某些受體相互作用及該等相互作用之生物結果的已知資訊；及存在於該等受體(可功能性結合SAA)的資訊。然而，本發明不必然建立在該理論上，且此一理論不意欲受到限制。

SAA作為癌症中生物標記之先前技藝參考文獻：參見參考書目⁶⁻¹⁶。

SAA：生物性功能及腫瘤發病關聯性功能

下列事實推測SAA族的關鍵重要性：經過演化過程，SAA是高度保守性序列¹⁷；及SAA的表現會因感染、創傷

或病理過程而做出顯著增加的反應。然而，SAA族確切的生物功能尚未完全瞭解。SAA是以HDL的一個組分參與脂質運送及新陳代謝，且其在疾病急性期可能扮演保護的角色¹⁸，但在慢性病中，SAA可能是不利的因子。持續性高度表現SAA在某些疾病會導致類澱粉A澱粉樣病變，諸如，類風濕性關節炎¹⁹。然而，臨床上SAA的重要功能範圍更為廣泛，且包括與慢性炎症及癌變有關。後兩者係密切相關，且詳細於Vlasova與Moshkovskii²⁰及Malle等人²¹之文章中討論。

SAA在癌變之關聯性歸因於其多面向的生物活性：參與發炎(包括經由促炎性基因表現之活化作用及細胞激素調節所支持之慢性疾病過程)、參與胞外基質降解、抗凋亡特性、及活化特定路徑(包括已知與複雜性癌變極為有關的促分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase；MAPK))。

SAA經證實可充當胞外基質(extracellular matrix；ECM)黏附蛋白質²²並能夠誘導基質金屬蛋白酵素(matrix metalloproteinases；MMPs)^{18, 23}，該MMPs在ECM降解及重塑中具有重要作用，且係與腫瘤發生、轉移及腫瘤侵襲相關^{24,25}。

SAA的免疫相關功能係由其細胞激素樣活性所界定的，其可刺激生成IL-8、TNF- α 與IL-1 β ^{26,27}(其可能針對SAA表現誘發出正向回饋)、及IL-12與IL-23(其在細胞介導性免疫反應中起重要作用²⁸)。亦經證實，SAA可活化PI3K與p38

MAPK。

SAA在炎症調節之關聯性係與其同時誘導COX2表現及使NF- κ B與MAPK路徑^{29, 30}活化的能力相關。癌症與炎症之主要相互關聯是許多研究及評論文章的主題³¹⁻³⁷。最近主要數據顯示，因為SAA具有活化炎症及癌變重要路徑(諸如，傳統及非傳統MAPK路徑)的能力，因此SAA係以介於兩個過程間之其中一個媒介體發揮重要的功能，且扮演轉錄轉錄因子NF- κ B的角色，且可能參與該等路徑交叉作用中。與VeriStrat識別標誌具有相關性的高含量SAA可作為測定該等路徑活化之有用方法。

與SAA生物活性相關之受體及路徑

已知NF- κ B轉錄因子在許多上皮及血液性惡性腫瘤中會被結構性地活化，且對於藉由調節抗-及促-凋亡標靶基因、基質金屬蛋白酵素的表現、血液生成及細胞循環⁴¹所促使之與炎症相關之癌症^{38, 39, 40}而言，NF- κ B轉錄因子被認為是必須的。另一方面，NF- κ B亦可發揮促凋亡基因活性，且可與腫瘤抑制劑p53合作以誘發細胞凋亡⁴²。實際的效應視該等刺激因子、細胞類型及所涉及的次單位體而定⁴³。Rel/NF- κ B因子之抗-凋亡效應及促-凋亡效應不必然是二擇一，而是可經由向上調節同一標靶基因連續發生在同一細胞中⁴⁴。由於NF- κ B與誘導促炎性細胞激素(例如IL-6與TNF- α)及趨化激素(包括MMPs與COX2)之關聯性，NF- κ B可能係炎症與癌症間主要連接之一^{35, 45, 46}。NF- κ B活化作用可被EGF誘導：經由NF- κ B活化作用，EGF刺激作用可

避免死亡受體所誘發的細胞凋亡。

COX2過度表現發現於廣泛範圍的癌前性、惡性及轉移性人類上皮癌⁴⁷(包括肺癌⁴⁸)。COX2係經由前列腺素E₂(PGE₂)介導細胞增殖、血管生成、細胞凋亡及細胞遷移，且亦會反活化促分裂素原活化蛋白激酶MAPK一連串反應之腫瘤生成信號^{49,50}。COX2會經由Erk活化作用而反活化MAPK^{49,92}。該關聯性是相互性的：經由作用在MAPK路徑之表皮生長因子(EGF)會顯著誘發某些上皮細胞中COX2活性⁵¹。咸已顯示，藉由TGF α 的EGFR活化作用會刺激COX2，導致增加釋放PEG₂及增加有絲分裂⁵²。

因為促分裂素原活化蛋白激酶(MAPK)一連串反應會從經活化生長因子受體轉導成生長刺激訊號，因此其在正常細胞生物學、及癌症發展中扮演重要的角色。通常係藉該等生長因子其中之一與薄膜受體-酪胺酸激酶受體(RTK)結合而導致Raf、MEK及胞外訊號調節激酶(ERK)相互作用來啟動MAPK信號轉導。最新研究顯示，從RTK至ERK的訊號相較僅為直線性Ras依賴性路徑而言複雜很多，且已識別出多種訊號調節子在影響ETK所媒介之ERK訊號強度、持久性及細胞位置中扮演重要的作用⁵⁰。SAA會功能性地結合在各種上皮細胞中之數種受體，且該結合可發揮如前述之NF- κ B與MAPK路徑兩者的下游活化作用，且會導致VeriStrat「差」的病患對特定治療之抗性(亦如以上所述)。以下概述某些該等受體：

FPRL受體

FPRL受體會表現在各種細胞中，包括肝細胞⁵³、腸上皮細胞⁵⁴、及肺⁵⁵。SAA會與FPRL1相互作用(FPRL1是一種典型之G-蛋白偶合受體)，且會觸發信號網路，此信號網路是調節細胞功能及上皮增殖及/或細胞凋亡所必須的。SAA與FPRL1的結合會導致細胞白介素的活化作用及誘導作用。FPRL的涉入會活化蛋白激酶C(PKC)及與抑制癌症細胞凋亡與發展^{56, 57, 41}相關之轉錄因子NF- κ B路徑³⁰。咸亦顯示，SAA與FPRL1的結合會產生嗜中性粒細胞及類風濕性關節炎滑膜細胞之凋亡救援，此凋亡救援係藉由MAPK ERK 1/2、PI3K/Akt信號的磷酸化作用、及STAT3活化作用及胞內Ca²⁺^{58, 59, 60}釋放所介導，據此促進細胞增殖及存活。

SR-BI受體

清道夫受體B-I(SR-BI)經識別是為高密度脂蛋白受體⁶¹，高密度脂蛋白受體可介導選擇性膽固醇的攝入。SR-BI最為大量地表現於類固醇生成組織及肝細胞中，但在發炎期間亦會在巨噬細胞及單核細胞中經向上調節；高度SR-BI表現業已在人類動脈粥樣硬化病灶之脂質負載巨噬細胞中證實，其亦具有SAA存在的特徵。SAA經證實可促進藉由SR-BI所介導之細胞膽固醇外流⁶²。

Baranova等人⁶³證實，在HeLa細胞及THP1(人類急性單核細胞白血病細胞株)中，SAA(可能與HDL聯合)與SR-BI的特異性結合係與ERK1/2、及p38 MAPKs的磷酸化及IL-8分泌有關。經證實SR-BI受體會在不同的細胞表現，包括

人類肺癌細胞株⁶⁴。

RAGE

晚期糖基化終產物受體 (Receptor for Advanced Glycation Endproducts ; RAGE) 會以可輕易測定之含量持續性地只表現於肺部，但在炎症部位則會迅速地增加，主要是在發炎細胞及上皮細胞中。咸發現，在上皮細胞中，壓力會顯著地向上調節 RAGE，不論是呈膜結合或可溶蛋白質形式者。透過 RAGE 的永久性信號會誘導存活路徑並減少細胞凋亡及 (在 ATP 損耗下) 壞死。此會導致慢性炎症，在許多實例中會產生惡性上皮疾病發生之結果⁶⁵。RAGE 過度表現與前列腺、結腸及胃腫瘤有關；然而晚期肺癌及食道癌則具有 RAGE 向下調節的特徵⁶⁶。在口腔鱗狀細胞癌中，RAGE 的表現與腫瘤發展及復發具有強烈的相關性，且 RAGE 呈陽性病患則顯示出明顯較短的無病生存期。在其他多種配位體之中，SAA 經發現可以與晚期糖基化終產物受體 (RAGE) 結合，並透過 ERK1/2 與 p38 MAPK 路徑 (在沒有誘導 COX 路徑的情況下)⁶⁷ 誘導 NF- κ B。

TLRs

最近發現顯示，SAA 可作為類鐸受體 (toll-like receptors ; TLRs)-TLR4 及 TLR2- 的內源性促效劑²¹。咸發現 TLR4 係表現在某些人類癌細胞中^{68,69}。在肺癌中，TLR4 活化作用經證實可促進免疫抑制細胞激素 TGF- β 、促血管生成趨化激素 IL-8、及 VEGF 的產生。增加的 VEGF 與 IL-8 分泌係與 p38 MAPK 活化作用相關⁷⁰。藉由 SAA 之

TLR4活化作用需要磷酸化p42/44及p38 MAPK⁷¹。

TLR2亦證實是SAA的功能性受體。表現TLR2之HeLa細胞對SAA的反應是強力活化NF- κ B；SAA的刺激會導致TLR2-HeLa細胞中ERK1/2(P-ERK1/2)、p38 MAPK(P-p38)、及JNK(P-JNK)MAPKs增加磷酸化，並加速I κ B α (NF- κ B抑制劑)的降解作用。藉由SAA特異性活化作用所導致的NF- κ B刺激作用證實會發生於巨噬細胞中⁷³。

可能的SAA相互作用及其在癌症發展與治療抗性的生物效應的簡圖示於圖3中。如所見，根據SAA與各種受體間之相互作用所引發之多種路徑的交叉作用可觀察到SAA的生物功能，這些相互作用最後會匯集到活化至少一種主要MAPK路徑(ERK、p38及JNK^{21,41})及/或活化NF- κ B。某些該等相互作用係說明於圖4之EGFR轉導路徑圖中。

EGFR係一種酪胺酸激酶受體(TKR)，其可以活化數種主要下游訊號路徑，包括Ras-Raf-Mek及由磷酸肌醇3-激酶(PI3K)、Akt、及PKC所組成的路徑。此經由與轉錄NF- κ B活化路徑及與(例如)COX2所誘導之炎症路徑的多種交叉作用依序對增殖、存活、侵襲、惡性蔓延及腫瘤血管生成上具有效應。SAA能夠活化與酪胺酸激酶受體無關之該等路徑(以該等寬箭頭顯示)。

EGFR的過度表現及/或結構性的活化作用是與多種癌症相關，包括腦瘤、乳癌、腸癌及肺癌。一連串要件的改變會導致該等路徑活化作用，且被視為與癌症誘發及進展有關，例如，活化EGFR激酶領域突變(在非吸煙者中)或活化

KRAS的突變(在吸煙者中)係與肺癌早期發展相關^{74,75}。Ras蛋白質在25%腫瘤中會結構性地被活化，而導致與上游調節無關的促有絲分裂訊號的產生^{76,77}。最新積累數據中主要內容推測，非直線性訊號及反活化作用在癌症發展及進展中扮演重要的角色。

SAA相互作用及抗癌療法之抗性

化療法、放射性及抗炎性治療

如以上所述及圖3與4所示，SAA與數種受體的相互作用會導致與癌症療法抗性有關路徑的活化作用。先前已討論NF- κ B在化學及放射療法中之作用⁴¹，由於抑制NF- κ B會導致增強細胞凋亡反應而造成對放療法^{78,79}、及對死亡細胞激素⁸⁰敏感性。同時，暴露於放射性及化療藥物會導致NF- κ B活化作用，且隨後會產生對細胞凋亡^{81,79}的抗性。化療法(吉西他濱)所誘導NF- κ B活化作用之抑制性，經證實可以將NSCLC細胞株之敏感性恢復成化療法所誘導之細胞凋亡^{82,81}。另一方面，在某些情況中，NF- κ B經證實係與化療法之敏感性相關，例如，其經推測是為紫杉醇誘導之細胞死亡所需要者⁸²。

考量此資訊，來自血漿或血清中所增加的SAA濃度(VeriStrat「差」的患者之特徵)所得到可能的一個結論係所增加SAA會導致NF- κ B轉錄因子及MAPK路徑的活化作用。此符合癌症對放射療法最初抗性，且會影響病患對化療法的反應。然而，仍存有多種應針對各類型治療及病患族群個別評估的因子。

NF- κ B抑制劑(諸如，三氧化二砷、薑黃色素、撒利多胺)是多種臨床試驗的主體。然而，因為NF- κ B抑制劑亦會增加化療法所誘發的造血先驅細胞之凋亡，因此使用NF- κ B抑制劑作為化療法佐劑可能會延緩骨髓再生。應瞭解，因為NF- κ B在天生性免疫反應及應變性免疫反應的活化具有重要作用，因此長期使用抑制劑可能會與免疫不全的風險有關。

如果事實上VeriStrat「差」識別標誌係與NF- κ B之特異性活化相關，則此識別標誌可用以挑選出可最為受益於NF- κ B抑制劑之病患，且可減少不必要的治療及相關發病率。

受體酪胺酸激酶-標靶療法

erbB受體及MAPK路徑

EGFR及HER2屬於由4個成員(EGFR(HER1)、erbB4(HER4)、erbB3(HER3)、及erbB2(HER2))所構成之表皮生長因子受體(EGFR)成員。由於大多數上皮癌會呈現出表皮生長因子受體(EGFR)及HER2受體異常活化現象，因此特異性抑制該等受體變成癌症標靶治療之策略，而且是許多研究的主題。

在沒有配位體的情況下，EGFR受體是以可抑制激酶活性的結構存在。配位體結合會啟動結構改變，此結構改變會揭露出「二聚環」，進而觸發受體二聚化作用。這些轉變會傳遞穿過質膜，而活化激酶領域。此活化流程的改變是發現在ErbB家族中。ErbB-3不是一個具有功能性的激

酶，但能夠反活化二聚物配對物，而HER2/ErbB-2是一個無配位體的致癌基因受體，此致癌基因受體是被「鎖藏」在活性結構中。

該二聚化作用會導致酪胺酸激酶功能的活化，從而導致將訊號轉導通過三個主要訊號路徑，並最終導致逃避凋亡、持續性血管生成、抗生長訊號的抗性、生長訊號自足性、及轉移作用^{77,83}。

一連串要件的改變會導致該等路徑活化作用，且該改變被視為與癌症誘發及進展有關，例如活化EGFR激酶領域的突變(在非吸煙者中)或活化KRAS的突變(在吸煙者中)係與肺癌早期發展相關^{74,75}。Ras蛋白質在25%腫瘤中會結構性地被活化，而導致與上游調節無關的促有絲分裂訊號的產生^{76,77}。

目前有數種酪胺酸激酶抑制劑可用於一些實體性腫瘤的臨床實務上，包括2種小分子EGFR酪胺酸激酶抑制劑(埃羅替尼及吉非替尼)、及雙重EGFR及HER2抑制劑(拉帕替尼)。另外經批准臨床使用的是人源化單株抗體抗HER2抗體(曲妥珠單抗)及2種抗-EGFR抗體(西妥昔單抗及帕尼單抗)。

對於酪胺酸激酶抑制劑(小分子及單株抗體)的先天及後天所得之抗性經過多個公開發表案審查，該等抗性歸因於多種因素，諸如，活化KRAS突變、met原癌基因的擴增、及T790M突變。在其他原因中，癌症的多樣性及其因為對靶向藥劑所呈現數種抵抗路徑的能力使得以單一藥劑作為

醫療療法的前景變得更為令人氣餒，因為訊號活化的可能性無關於配位體與其受體之正常上游相互作用。生長證據顯示出多種酪胺酸激酶共同表現、該等受體下游路徑的交叉作用、及該等轉導一連串反應的下游活化作用的重要性。

在多個研究中推測反活化該等路徑係其中的一種抵抗機制。例如，在人類乳癌及前列腺癌細胞株中，胰島素樣生長因子-I受體(IGF-1R)訊號經證實能夠補償因吉非替尼所導致的EGFR路徑阻斷⁸⁵。另一種下游信號(特定言之，是指諸如藉由致癌基因PIK3CA或藉由其他RTK之Akt活化作用)已被描繪成NSCLC中抵抗TKI的其中一種機制⁸⁶。

Cappuzzo等人⁸⁸觀察發現，如果Akt經活化，而EGFR表現呈陰性，則患有NSCLC病患對吉非替尼之敏感性非常低，此證實EGFR-獨立性活化作用會導致對吉非替尼抗性。

吾人倡議，如VeriStrat試驗所測定之SAA的相互作用會造成RTK-獨立性活作用之MAPK一連串反應，而結果導致TKI抗性。SAA作用機制可為直接或間接的。SAA直接作用是藉由其結合至RAGE或TLR2及TLR4受體所介導，從而導致傳統MAPK路徑的活化作用(藉由JNK及p³⁸活化作用)。該等受體存在於各種癌細胞表面及與癌症相關之細胞中，而該等相互作用係經Malle等人²¹審閱。由於TLR受體的活化作用，而提供EGFR路徑活化作用的直接證據⁶⁶。

經由FPRL受體的作用，導致釋放出細胞白介素I16、及I18(其依序會與G蛋白偶合受體反應)進而活化PKC，可以

解釋SAA的間接作用。(PKC活化作用會導致細胞增殖及血管通透性，並導致MAPK路徑中MEK的活化作用⁸⁶)。此外，SAA的間接作用會誘導VEGF表現。

SAA在肺臟內皮細胞及巨噬細胞中是TRL4的配位體。經報導，表現於腫瘤細胞之TLRs的配位化亦會增加VEGFs含量⁷⁰。

此資訊可提供所有三種主要MAPK路徑藉由SAA之下游活化作用的機制之原因。下游活化MAPK路徑與RTKs是獨立的，且會導致對「交叉」關卡之上游標向抑制性的抗性。

鑒於上述，利用VeriStrat測試挑選出最適合特定治療(包括組合療法)之病患有助於克服某些類型之抗藥性。

組合療法及VeriStrat識別標誌

TKI及COX2抑制劑

如上所討論，SAA可以誘導COX2的表現。COX2在肺癌中的過度表現最早是由Huang等人⁸⁷揭露，大約70%腺癌⁸⁸中可以觀察到，且經許多其他研究證實。

一些試驗已證實COX2與EGFR訊號路徑之間的交叉作用。如吾人前所討論，經由MAPK路徑作用之表皮生長因子(EGF)會顯著誘導某些上皮細胞中COX2活性⁴⁷。藉由TGF α 活化EGFR會刺激COX2，並導致釋放出PGE2及增加有絲分裂的發生⁴⁸。另一方面，前列腺素E2(PGE2)(COX2的產物)可以反活化EGF受體⁴⁵。在NSCLC中，PGE2經證實可藉由EGFR-獨立方式之胞內交叉作用來活化MAPK/Erk

路徑；該效應係由G蛋白偶合受體及蛋白激酶C(PKC)所媒介，且可能促成EGFR-TKI抗性⁸⁹。

另一方面，COX2抑制劑經證實可以抑制NF- κ B路徑：塞來考昔可經由抑制Akt及IKK而賦予其效應。在人類非小細胞肺癌中，塞來考昔經證實可以抑制NF- κ B、及TNF-誘導性JNK、p38 MAPK、及經由抑制IKK與Akt活化作用之ERK活化作用，從而導致向下調節COX2及炎症、增殖、與癌變所需要其他基因的合成作用^{46, 49}。其他NSAIDs(包括阿司匹林及布洛芬)經證實可以藉由抑制IKK活化及I κ B α 降解而產生作用。結合這些想法提供了將COX2添加至標準癌症治療之強力邏輯依據。

NSCLC中抗炎症及酪胺酸激酶受體標靶療法之組合及其克服EGFR-TKI抗性之潛能的研究^{90, 91}先前已審閱。該等試驗結果是負面的：發現經以吉非替尼與塞來考昔組合療法之病患的反應速度及存活、及經以若非考昔與埃羅替尼治療之病患的疾病控制率^{92, 93}係與彼等以單一藥劑治療所觀察的結果相似。

由於推測SAA在該路徑會有向上調節之效應，因此添加COX抑制劑的效果可能在VeriStrat「差」病患中更顯著。然而，由於不清楚COX路徑抑制作用對下游MAPK活性與NF- κ B、及其等相互作用的效應之強度，因此難以預測該效應之強度。

細胞株證據(圖8)

吾人已證明，VeriStrat「差」的血清會造成腫瘤細胞中

之生物效應，特定而言，其可增加藥物敏感細胞株中細胞對吉非替尼之抗性。該實驗係在吉非替尼敏感細胞株 HCC4006(其具有 EGFR 外顯子 19 缺失)及抗性細胞株 A549(EGFR 野生型)中進行。人類血清係來自 IIIB/IV 期的 NSCLC 病患，且具有 VS「佳」或「差」的特徵。將各分類範圍內的血清組合在一起得到共用液，並用於生長抑制分析。利用兩種培養基組合物(含有 10%「佳」血清之 RPMI 或含有 10%「差」血清之 RPMI)培養細胞(每個藥物濃度進行 10 次重複；2,000 個細胞/孔)。24 小時後，添加吉非替尼並培養該等培養皿 6 天。利用 MTT 分析測定生長抑制。該等結果示於下表 2 及圖 8 中。

	HCC4006*		A549	
	佳	差	佳	差
IC ₅₀ $\mu\text{mol/L}$	0.054	0.098	>10	>10
0.03 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	32	10	0	0
0.06 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	55	25	0	1
0.10 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	82	52	3	0
0.30 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	93	84	2	2
0.60 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	96	93	14	11
1.0 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	ND	ND	13	10
3.0 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	ND	ND	22	20
6.0 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	ND	ND	25	32
10.0 $\mu\text{mol/L}$ 時之抑制%	ND	ND	34	40

*藉由 Mann-Whitney 試驗，「佳」相對「差」的數值在 HCC4006 細胞株的 $P < 0.0001$

表 2

圖8描繪在含有不同濃度吉非替尼下，吉非替尼敏感細胞株 HCC4006 及吉非替尼抗性細胞株 A549 在 VeriStrat「差」及 VeriStrat「佳」的血清中之生長圖表。圖8中，抑制%計算方式是在某特定濃度吉非替尼時的吸光度相對於相同生長培養基下不含該藥物下之平均吸光度的比值。誤差條相當於經標準化測量值之標準偏差。

當敏感細胞生長於 VeriStrat「差」的血清中時，其抑制比例會相對降低，但抗性腫瘤細胞卻無明顯改變。該等結果說明 VeriStrat「差」的血清對腫瘤細胞具有直接生物效應，但其不同於 VeriStrat「佳」的血清之效應。該等結果支持 VeriStrat 機制的假設、其與宿主腫瘤相互作用、及與標靶療法在病患族群中之相對效力之間之關係。

VeriStrat在化療法方面

如圖7所示，識別標誌為 VeriStrat「差」者是對某些非標靶療法具有不充分的反應有關，但對其他治療法則無關。VeriStrat分類法可能與會干擾DNA複製或干擾藉由NF- κ B(諸如，順鉑、吉西他濱等)調節基因的轉錄作用之化療法的結果相關，然而 VeriStrat在非標靶療法可用性的具體範圍仍需要以實驗加以確定。

因此，VeriStrat試驗之實務應用實例可為以下者：其可提供一種用以預測癌症病患是否不可能受益於投與某種非標靶化療法療程之方法，諸如，一種干擾DNA複製及/或藉由NF- κ B轉錄因子調節之基因活化作用的療程，該方法包括：在一樣品上進行該 VeriStrat試驗(圖1)，且若該結果

係為「差」級別標記，則產生的結果表示該病患可能無法受益。

考量文獻中所知之經增加SAA會導致NF- κ B轉錄因子之活化作用及NF- κ B活化作用對癌症進展及對各種治療之反應等資訊，VeriStrat識別標誌係與對放療法具有初級抗性之癌症及與病患對化療法之反應具有關聯性。

NF- κ B抑制劑(諸如，三氧化二砷、薑黃色素、撒利多胺)經臨床上試驗評估可作為抗癌藥劑之用。然而，該等藥劑的可用性受限於缺乏對該等藥劑具有反應之生物標記及受限於該等藥劑之副作用。VeriStrat可作為NF- κ B經升高活化作用的生物標記之用，因此，其可用於挑選出可能最受益於NF- κ B抑制劑之病患(據推測為VeriStrat「差」者)。

綜上所述，本發明包括圖1 VeriStrat試驗之額外用途。一般而言，VeriStrat試驗可預測受益於任何藥劑或治療劑組合之療法的癌症病患，該藥劑或治療組合係靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質。預測量值的大小端視特定藥物或該等藥物組合而定。VeriStrat試驗無法預測靶向下游調節作用的藥物之效應。

在一個實施例中，本發明可視為識別實體性上皮腫瘤癌症病患是否可能受益於以任何治療劑或治療劑之組合(其靶向與MAPK路徑或位於Akt上游或該處之PKC或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質)的

治療或不可能受益於以該治療劑或治療劑組合之方法，該方法包括以下步驟：

a)自實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品得到質譜數據；

b)將得自步驟a)之質譜數據進行一或多次預先定義之預處理步驟(例如，背景扣除、標準化及質譜校準)；

c)步驟b)之質譜數據經預處理步驟後，在一或多個預先定義 m/z 範圍(及對應於表1所示 m/z 峰之前述較佳 m/z 範圍)內，於該質譜中得到精選特徵之積分強度值；

d)利用在步驟c)所得之數值，以分類演算法(例如，K最鄰近接點算法)，使用包括由其他實體性腫瘤病患之以血液為主的樣品產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於該等治療劑或治療劑組合之治療。

舉一具體實例而言，將可以阻斷MAPK路徑下游活化之標靶藥劑添加至EGFRI，可以克服具有VeriStrat「差」識別標誌的病患對EGFRI之抗性。

舉另一具體實例而言，將COX2抑制劑(塞來考昔或羅非考昔)添加至EGFRI之治療流程可以克服具有VeriStrat「差」的識別標誌之病患對EGFRI的抗性。因此，VeriStrat試驗可作為開立包括COX2抑制劑及EGFRI之組合療法處方簽的指標。在一具體實施例中，該方法係用以預測癌症病患是否可能受益於投與COX2抑制劑及EGFRI，該方法包括以下步驟：a)自癌症病患之以血液為主的樣品獲取質譜；b)將得自步驟a)之質譜數據進行一或多次預先

定義之預處理步驟(例如，背景扣除、標準化及質譜校準)；c)步驟b)之質譜數據經預處理步驟後，在一或多個預先定義 m/z 範圍(及對應於表1所示 m/z 波峰之前述較佳 m/z 範圍)內，於該質譜中得到精選特徵之積分強度值；d)利用在步驟c)所得之數值，以分類演算法(例如，K-最鄰近接點算法)，使用包括由其他實體性腫瘤病患之以血液為主的樣品所產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於投與 COX2 抑制劑及 EGFR-I 之治療。特定而言，若該級別標記為「差」者，則表示該病患可能受益。

舉另一具體實例而言，據信具有 VeriStrat「差」的識別標誌係與 NF- κ B 之特異性活化作用相關，因此該試驗可用以挑選出最為受益於 NF- κ B 抑制劑及受益於將 COX2 抑制劑添加至標準化療法之病患，且同時可減少不必要的治療及相關的發病率。

本發明方法可在實驗室試驗中心進行，該中心接到癌症病患之以血液為主的樣品(或該等樣品之質譜數據)，將該質譜數據儲存在機器可讀記憶體中，並如圖1所示在機器中進行該處理及分類步驟，例如，利用經程式設計之電腦產出級別標記(VeriStrat「佳」或「差」)，藉此預測出識別該病患可能受益於上述治療劑或治療劑組合之療法。舉另一實施例而言，本發明可組裝成一裝置，該裝置是為經軟硬體組裝成可識別或預測癌症病患是否可能受益於投用 COX2 抑制劑及 EGFR 抑制劑之組合。該裝置係由儲存設備(儲存癌症病患之以血液為主的樣品質譜的電腦記憶體或

資料庫)及處理器(例如，一般性經程式設計之電腦的習知CPU)所組合而成，其中該處理器係經軟硬體組裝成執行以下軟體指令：a)在該質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟(參見圖1)；b)步驟a)之質譜進行預處理步驟後，在一或多個預先定義 m/z 範圍內，於該質譜中精選特徵之積分強度值(諸如，包括表1波峰的清單之範圍或上文列舉之 m/z 範圍)；及c)利用步驟b)中所得數值，以分類演算法(例如，KNN分類演算法)，使用包括由其他癌症病患之以血液為主的樣品所產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於投用COX2抑制劑及EGFR抑制劑組合的治療。

舉另一實例而言，本發明可以一裝置體現，該裝置係經組裝成可識別出實體性上皮腫瘤癌症病患可能受益於靶向與MAPK(促分裂素原活化蛋白激酶)路徑或位於Akt上游或該處之PKC(蛋白激酶C)路徑或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質的治療劑或治療劑組合之治療，或不可能受益於以該治療劑或治療劑組合的治療。該等裝置具有儲存實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品質譜之儲存裝置及處理器形式，其中該處理器係經軟硬體組裝成執行以下軟體指令：a)在該質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟(參見圖1)；b)在一或多個預先定義 m/z 範圍內，於該質譜中獲取具有特徵性之積分強度值(諸如，包括表1波峰的清單之範圍或上文列舉之 m/z 範圍)；及c)利用步驟b)所得數值，以分類演算法(例如，

KNN分類演算法)，使用包括從其他實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品所產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於該治療劑或治療劑之組合。

所揭示之本發明其他實例係列示於該等附加的專利申請範圍中。

附錄

引用之參考文獻

1. Taguchi F、Solomon B、Gregorc V等人。Mass spectrometry to classify non-small-cell lung cancer patients for clinical outcome after treatment with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors: a multicohort cross-institutional study. J Natl Cancer Inst 2007; 99: 838-46。
2. Clark GM、Zborowski DM、Culbertson JL等人。Clinical utility of epidermal growth factor receptor expression for selecting patients with advanced non-small cell lung cancer for treatment with erlotinib. J Thorac Oncol 2006; 1:837-46。
3. Chung CH、Seeley EH、Roder H等人。Detection of tumor epidermal growth factor receptor pathway dependence by serum mass spectrometry in cancer patients. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010; 19: 358-65。
4. Carbone DP、Salmon JS、Billheimer D等人。VeriStrat((R)) classifier for survival and time to progression in non-small

cell lung cancer (NSCLC) patients treated with erlotinib and bevacizumab. Lung Cancer 2009 。

5. Kiernan UA、Tubbs KA、Nedelkov D、Niederkofer EE、Nelson RW. Detection of novel truncated forms of human serum amyloid A protein in human plasma. FEBS Lett 2003; 537: 166-70 。
6. Cremona M、Calabro E、Randi G等人。Elevated levels of the acute-phase serum amyloid are associated with heightened lung cancer risk. Cancer 2010 。
7. Benson MD、Eyanson S、Fineberg NS. Serum amyloid A in carcinoma of the lung. Cancer 1986; 57: 1783-7 。
8. Biran H、Friedman N、Neumann L、Pras M、Shainkin-Kestenbaum R. Serum amyloid A (SAA) variations in patients with cancer: correlation with disease activity、stage、primary site、and prognosis. J Clin Pathol 1986; 39: 794-7 。
9. Khan N、Cromer CJ、Campa M、Patz EF、Jr. Clinical utility of serum amyloid A and macrophage migration inhibitory factor as serum biomarkers for the detection of nonsmall cell lung carcinoma. Cancer 2004; 101: 379-84 。
10. Cho WC、Yip TT、Yip C等人。Identification of serum amyloid a protein as a potentially useful biomarker to monitor relapse of nasopharyngeal cancer by serum proteomic profiling. Clin Cancer Res 2004; 10: 43-52 。
11. Yokoi K、Shih LC、Kobayashi R等人。Serum amyloid A as

a tumor marker in sera of nude mice with orthotopic human pancreatic cancer and in plasma of patients with pancreatic cancer. *Int J Oncol* 2005; 27: 1361-9。

12. Gutfeld O、Prus D、Ackerman Z等人。Expression of serum amyloid A、in normal、dysplastic、and neoplastic human colonic mucosa: implication for a role in colonic tumorigenesis. *J Histochem Cytochem* 2006; 54: 63-73。
13. Engwegen JY、Mehra N、Haanen JB等人。Validation of SELDI-TOF MS serum protein profiles for renal cell carcinoma in new populations. *Lab Invest* 2007; 87: 161-72。
14. Dai S、Wang X、Liu L等人。Discovery and identification of Serum Amyloid A protein elevated in lung cancer serum. *Sci China C Life Sci* 2007; 50: 305-11。
15. Liu DH、Wang XM、Zhang LJ等人。Serum amyloid A protein: a potential biomarker correlated with clinical stage of lung cancer. *Biomed Environ Sci* 2007; 20: 33-40。
16. Michaeli A、Finci-Yeheskel Z、Dishon S、Linke RP、Levin M、Urieli-Shoval S. Serum amyloid A enhances plasminogen activation: implication for a role in colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 368: 368-73。
17. Uhlar CM、Burgess CJ、Sharp PM、Whitehead AS. Evolution of the serum amyloid A (SAA) protein superfamily. *Genomics* 1994; 19: 228-35。

18. Uhlar CM 、 Whitehead AS. Serum amyloid A 、 the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 1999; 265: 501-23 .
19. Sipe JD. Amyloidosis. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 947-75 .
20. Vlasova MA 、 Moshkovskii SA. Molecular interactions of acute phase serum amyloid A: possible involvement in carcinogenesis. *Biochemistry (Mosc)* 2006; 71: 1051-9 .
21. Malle E 、 Sodin-Semrl S 、 Kovacevic A. Serum amyloid A: an acute-phase protein involved in tumour pathogenesis. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66: 9-26 .
22. Preciado-Patt L 、 Levartowsky D 、 Prass M 、 HersHKoviz R 、 Lider O 、 Fridkin M. Inhibition of cell adhesion to glycoproteins of the extracellular matrix by peptides corresponding to serum amyloid A. Toward understanding the physiological role of an enigmatic protein. *Eur J Biochem* 1994; 223: 35-42 .
23. Migita K 、 Kawabe Y 、 Tominaga M 、 Origuchi T 、 Aoyagi T 、 Eguchi K. Serum amyloid A protein induces production of matrix metalloproteinases by human synovial fibroblasts. *Lab Invest* 1998; 78: 535-9 .
24. Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009; 326: 1216-9 .
25. Vihinen P 、 Ala-aho R 、 Kahari VM. Matrix

metalloproteinases as therapeutic targets in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2005; 5: 203-20 .

26. Furlaneto CJ 、 Campa A. A novel function of serum amyloid A: a potent stimulus for the release of tumor necrosis factor- α 、 interleukin-1 β 、 and interleukin-8 by human blood neutrophil. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 268: 405-8 .
27. Patel H 、 Fellowes R 、 Coade S 、 Woo P. Human serum amyloid A has cytokine-like properties. *Scand J Immunol* 1998; 48: 410-8 .
28. He R 、 Shepard LW 、 Chen J 、 Pan ZK 、 Ye RD. Serum amyloid A is an endogenous ligand that differentially induces IL-12 and IL-23. *J Immunol* 2006; 177: 4072-9 .
29. Malle E 、 Bollmann A 、 Steinmetz A 、 Gerns D 、 Leis HJ 、 Sattler W. Serum amyloid A (SAA) protein enhances formation of cyclooxygenase metabolites of activated human monocytes. *FEBS Lett* 1997; 419: 215-9 .
30. Jijon HB 、 Madsen KL 、 Walker JW 、 Allard B 、 Jobin C. Serum amyloid A activates NF- κ B and proinflammatory gene expression in human and murine intestinal epithelial cells. *Eur J Immunol* 2005; 35: 718-26 .
31. Coussens LM 、 Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860-7 .
32. Farrow B 、 Sugiyama Y 、 Chen A 、 Uffort E 、 Nealon W 、

Mark Evers B. Inflammatory mechanisms contributing to pancreatic cancer development. *Ann Surg* 2004; 239: 763-9; discussion 9-71 .

33. Ditsworth D 、 Zong WX. NF-kappaB: key mediator of inflammation-associated cancer. *Cancer Biol Ther* 2004; 3: 1214-6 .
34. Balkwill F 、 Coussens LM. Cancer: an inflammatory link. *Nature* 2004; 431: 405-6 .
35. Lu H 、 Ouyang W 、 Huang C. Inflammation 、 a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* 2006; 4: 221-33 .
36. Mantovani A 、 Allavena P 、 Sica A 、 Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-44 .
37. Lee JM 、 Yanagawa J 、 Peebles KA 、 Sharma S 、 Mao JT 、 Dubinett SM. Inflammation in lung carcinogenesis: new targets for lung cancer chemoprevention and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008; 66: 208-17 .
38. Greten FR 、 Eckmann L 、 Greten TF 等人 。 IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 2004; 118: 285-96 .
39. Pikarsky E 、 Porat RM 、 Stein I 等人 。 NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature* 2004; 431: 461-6 .
40. Karin M. The IkappaB kinase-a bridge between inflammation and cancer. *Cell Res* 2008; 18: 334-42 .

41. Lee CH、Jeon YT、Kim SH、Song YS. NF-kappaB as a potential molecular target for cancer therapy. *Biofactors* 2007; 29: 19-35。
42. Graham B、Gibson SB. The two faces of NFkappaB in cell survival responses. *Cell Cycle* 2005; 4: 1342-5。
43. Kaltschmidt B、Kaltschmidt C、Hofmann TG、Hehner SP、Droge W、Schmitz ML. The pro- or anti-apoptotic function of NF-kappaB is determined by the nature of the apoptotic stimulus. *Eur J Biochem* 2000; 267: 3828-35。
44. Bernard D、Monte D、Vandenbunder B、Abbadie C. The c-Rel transcription factor can both induce and inhibit apoptosis in the same cells via the upregulation of MnSOD. *Oncogene* 2002; 21: 4392-402。
45. Li Q、Verma IM. NF-kappaB regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 725-34。
46. Shishodia S、Koul D、Aggarwal BB. Cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor celecoxib abrogates TNF-induced NF-kappa B activation through inhibition of activation of I kappa B alpha kinase and Akt in human non-small cell lung carcinoma: correlation with suppression of COX-2 synthesis. *J Immunol* 2004; 173: 2011-22。
47. Koki AT、Khan NK、Woerner BM等人。Characterization of cyclooxygenase-2 (COX-2) during tumorigenesis in human epithelial cancers: evidence for potential clinical utility of

COX-2 inhibitors in epithelial cancers. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2002; 66: 13-8 .

48. Soslow RA 、 Dannenberg AJ 、 Rush D 等 人 。 COX-2 is expressed in human pulmonary 、 colonic 、 and mammary tumors. Cancer 2000; 89: 2637-45 .
49. Pai R 、 Soreghan B 、 Szabo IL 、 Pavelka M 、 Baatar D 、 Tarnawski AS. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. Nat Med 2002; 8: 289-93 .
50. McKay MM 、 Morrison DK. Integrating signals from RTKs to ERK/MAPK. Oncogene 2007; 26: 3113-21 .
51. Richards JA 、 Petrel TA 、 Brueggemeier RW. Signaling pathways regulating aromatase and cyclooxygenases in normal and malignant breast cells. J Steroid Biochem Mol Biol 2002; 80: 203-12 .
52. Coffey RJ 、 Hawkey CJ 、 Damstrup L 等 人 。 Epidermal growth factor receptor activation induces nuclear targeting of cyclooxygenase-2 、 basolateral release of prostaglandins 、 and mitogenesis in polarizing colon cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94: 657-62 .
53. Prossnitz ER 、 Ye RD. The N-formyl peptide receptor: a model for the study of chemoattractant receptor structure and function. Pharmacol Ther 1997; 74: 73-102 .
54. Babbin BA 、 Lee WY 、 Parkos CA 等 人 。 Annexin I regulates

SKCO-15 cell invasion by signaling through formyl peptide receptors. J Biol Chem 2006; 281: 19588-99 .

55. Rescher U 、Danielczyk A 、Markoff A 、Gerke V. Functional activation of the formyl peptide receptor by a new endogenous ligand in human lung A549 cells. J Immunol 2002; 169: 1500-4 .
56. Su SB 、Gong W 、Gao JL 等 人 。 A seven-transmembrane 、 G protein-coupled receptor 、 FPRL1 、 mediates the chemotactic activity of serum amyloid A for human phagocytic cells. J Exp Med 1999; 189: 395-402 .
57. Biswas DK 、Martin KJ 、McAlister C 等 人 。 Apoptosis caused by chemotherapeutic inhibition of nuclear factor-kappaB activation. Cancer Res 2003; 63: 290-5 .
58. El Kebir D 、Jozsef L 、Khreiss T 等 人 。 Aspirin-triggered lipoxins override the apoptosis-delaying action of serum amyloid A in human neutrophils: a novel mechanism for resolution of inflammation. J Immunol 2007; 179: 616-22 .
59. Lee HY 、Kim MK 、Park KS 等 人 。 Serum amyloid A induces contrary immune responses via formyl peptide receptor-like 1 in human monocytes. Mol Pharmacol 2006; 70: 241-8 .
60. Lee MS 、Yoo SA 、Cho CS 、Suh PG 、Kim WU 、Ryu SH. Serum amyloid A binding to formyl peptide receptor-like 1 induces synovial hyperplasia and angiogenesis. J Immunol

2006; 177: 5585-94。

61. Acton S、Rigotti A、Landschulz KT、Xu S、Hobbs HH、Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. Science 1996; 271: 518-20。
62. van der Westhuyzen DR、Cai L、de Beer MC、de Beer FC. Serum amyloid A promotes cholesterol efflux mediated by scavenger receptor B-I. J Biol Chem 2005; 280: 35890-5。
63. Baranova IN、Vishnyakova TG、Bocharov AV等人。Serum amyloid A binding to CLA-1 (CD36 and LIMPII analogous-1) mediates serum amyloid A protein-induced activation of ERK1/2 and p38 mitogen-activated protein kinases. J Biol Chem 2005; 280: 8031-40。
64. Hrzenjak A、Reicher H、Wintersperger A等人。Inhibition of lung carcinoma cell growth by high density lipoprotein-associated alpha-tocopheryl-succinate. Cell Mol Life Sci 2004; 61: 1520-31。
65. Sparvero LJ、Asafu-Adjei D、Kang R等人。RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts)、RAGE ligands、and their role in cancer and inflammation. J Transl Med 2009; 7: 17。
66. Franklin WA. RAGE in lung tumors. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 106-7。
67. Cai H、Song C、Endoh I等人。Serum amyloid A induces

monocyte tissue factor. *J Immunol* 2007; 178: 1852-60 .

68. Wang L 、 Liu Q 、 Sun Q 、 Zhang C 、 Chen T 、 Cao X. TLR4 signaling in cancer cells promotes chemoattraction of immature dendritic cells via autocrine CCL20. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366: 852-6 .
69. Fukata M 、 Chen A 、 Vamadevan AS 等人 。 Toll-like receptor-4 promotes the development of colitis-associated colorectal tumors. *Gastroenterology* 2007; 133: 1869-81 .
70. He W 、 Liu Q 、 Wang L 、 Chen W 、 Li N 、 Cao X. TLR4 signaling promotes immune escape of human lung cancer cells by inducing immunosuppressive cytokines and apoptosis resistance. *Mol Immunol* 2007; 44: 2850-9 .
71. Sandri S 、 Rodriguez D 、 Gomes E 、 Monteiro HP 、 Russo M 、 Campa A. Is serum amyloid A an endogenous TLR4 agonist? *J Leukoc Biol* 2008; 83: 1174-80 .
72. Cheng N 、 He R 、 Tian J 、 Ye PP 、 Ye RD. Cutting edge: TLR2 is a functional receptor for acute-phase serum amyloid A. *J Immunol* 2008; 181: 22-6 .
73. He RL 、 Zhou J 、 Hanson CZ 、 Chen J 、 Cheng N 、 Ye RD. Serum amyloid A induces G-CSF expression and neutrophilia via Toll-like receptor 2. *Blood* 2009; 113: 429-37 .
74. Westra WH. Early glandular neoplasia of the lung. *Respir Res* 2000; 1: 163-9 .
75. Tang X 、 Shigematsu H 、 Bekele BN 等人 。 EGFR tyrosine

kinase domain mutations are detected in histologically normal respiratory epithelium in lung cancer patients. *Cancer Res* 2005; 65: 7568-72 .

76. Medema RH 、 Bos JL. The role of p21ras in receptor tyrosine kinase signaling. *Crit Rev Oncog* 1993; 4: 615-61 .
77. Hanahan D 、 Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70 .
78. Shao R 、 Karunagaran D 、 Zhou BP 等 人 。 Inhibition of nuclear factor-kappaB activity is involved in E1A-mediated sensitization of radiation-induced apoptosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 32739-42 .
79. Yamagishi N 、 Miyakoshi J 、 Takebe H. Enhanced radiosensitivity by inhibition of nuclear factor kappa B activation in human malignant glioma cells. *Int J Radiat Biol* 1997; 72: 157-62 .
80. Luo JL 、 Kamata H 、 Karin M. The anti-death machinery in IKK/NF-kappaB signaling. *J Clin Immunol* 2005; 25: 541-50 .
81. Brach MA 、 Hass R 、 Sherman ML 、 Gunji H 、 Weichselbaum R 、 Kufe D. Ionizing radiation induces expression and binding activity of the nuclear factor kappa B. *J Clin Invest* 1991; 88: 691-5 .
82. Jones DR 、 Broad RM 、 Madrid LV 、 Baldwin AS 、 Jr. 、 Mayo MW. Inhibition of NF-kappaB sensitizes non-small cell

- lung cancer cells to chemotherapy-induced apoptosis. *Ann Thorac Surg* 2000; 70: 930-6; discussion 6-7 .
83. Gazdar AF. Personalized Medicine and Inhibition of EGFR Signaling in Lung Cancer. *N Engl J Med* 2009 .
84. Lynch TJ 、 Jr. 、 Blumenschein GR 、 Jr. 、 Engelman JA 等人 。 Summary statement novel agents in the treatment of lung cancer: Fifth Cambridge Conference assessing opportunities for combination therapy. *J Thorac Oncol* 2008; 3: S107-12 .
85. Jones HE 、 Goddard L 、 Gee JM 等人 。 Insulin-like growth factor-I receptor signalling and acquired resistance to gefitinib (ZD1839; Iressa) in human breast and prostate cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 793-814 .
86. Engelman JA 、 Janne PA. Mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2895-9 .
87. Huang M 、 Stolina M 、 Sharma S 等人 。 Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent regulation of cytokine balance in lymphocytes and macrophages: up-regulation of interleukin 10 and down-regulation of interleukin 12 production. *Cancer Res* 1998; 58: 1208-16 .
88. Hida T 、 Yatabe Y 、 Achiwa H 等人 。 Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers 、

specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res* 1998; 58: 3761-4.

89. Krysan K、Reckamp KL、Dalwadi H等人。Prostaglandin E2 activates mitogen-activated protein kinase/Erk pathway signaling and cell proliferation in non-small cell lung cancer cells in an epidermal growth factor receptor-independent manner. *Cancer Res* 2005; 65: 6275-81。
90. Krysan K、Reckamp KL、Sharma S、Dubinett SM. The potential and rationale for COX-2 inhibitors in lung cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2006; 6: 209-20。
91. Reckamp KL、Gardner BK、Figlin RA等人。Tumor response to combination celecoxib and erlotinib therapy in non-small cell lung cancer is associated with a low baseline matrix metalloproteinase-9 and a decline in serum-soluble E-cadherin. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 117-24。
92. Gadgeel SM、Ruckdeschel JC、Heath EI、Heilbrun LK、Venkatramanamoorthy R、Wozniak A. Phase II study of gefitinib、an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI)、and celecoxib、a cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor、in patients with platinum refractory non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Thorac Oncol* 2007; 2: 299-305。
93. O'Byrne KJ、Danson S、Dunlop D等人。Combination therapy with gefitinib and rofecoxib in patients with

platinum-pretreated relapsed non small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2007; 25: 3266-73。

【圖式簡單說明】

圖1係顯示病患之以血液為主的樣品上進行VeriStrat試驗步驟的流程圖。

圖2係顯示人類細胞中精選訊號轉導路徑之圖。

圖3係血清澱粉A(SAA)異構體之精選生物活性及該異構體在癌症發展及治療抗性中可能作用之示意圖。

圖4係EGFR訊號轉導路徑、該等相互作用及SAA可能活化點之示意圖。

圖5係包括EGFR之ErbB生長因子受體、及其抑制劑(獲自Yarden Y, Shilo BZ. SnapShot: EGFR signaling pathway. Cell 2007; 131: 1018)之示意圖。

圖6係顯示針對所有已公布VeriStrat分析結果，介於VeriStrat「佳」與VeriStrat「差」病患對治療方式間之危險比之森林圖。

圖7係接受不同化療法之病患的整體存活率(OS)與該等病患之VeriStrat標記(「佳」及「差」)之卡普蘭-邁耶(Kaplan-Meier)圖之示意圖。

圖8係在含不同濃度吉非替尼之VeriStrat「佳」及VeriStrat「差」血清中，吉非替尼敏感細胞株HCC4006與吉非替尼抗性細胞株A549之生長圖。

【主要元件符號說明】

100 方法

- 102 自病患獲得血清或血漿樣品
- 104 基質輔助雷射解析電離 (MALDI) 飛行時間
(TOF) 質譜分析
- 106 進行預處理步驟
- 108 扣除背景值
- 110 標準化
- 112 校準
- 114 在預先定義 m/z 範圍中得到特徵值 (強度之積分)
- 116 將利用學習組之級別標記質譜之 KNN 分選器
應用至步驟 114 所得之數值上
- 118 級別標記
- 120 所有三等份樣品會產生相同標記嗎？
- 122 不確定
- 124 出具級別標記報告

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100106286

※申請日：100.2.24

※IPC分類：~~A61B~~

G01N33/566 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

利用以血液為主之樣品的質譜分析進行治療劑投藥之癌症病患選擇
CANCER PATIENT SELECTION FOR ADMINISTRATION OF
THERAPEUTIC AGENTS USING MASS SPECTRAL ANALYSIS OF
BLOOD-BASED SAMPLES

二、中文發明摘要：

本發明揭示一種利用質譜數據分析及分類演算方法，該方法可提供測定實體上皮腫瘤癌症病患是否可能受益於靶向與MAPK路徑(促分裂素原活化蛋白激酶)或位於Akt上游或該處之PKC(蛋白激酶C)路徑或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質之治療劑或治療劑組合(諸如，靶向EGFR及/或HER2之治療劑)的能力。該等方法亦可提供測定癌症病患是否可能受益於靶向EGFR治療劑及靶向COX2治療劑的組合；或癌症病患是否可能受益於NF-κB抑制劑治療之能力。

三、英文發明摘要：

Methods using mass spectral data analysis and a classification algorithm provide an ability to determine whether a solid epithelial tumor cancer patient is likely to benefit from a therapeutic agent or a combination of therapeutic agents targeting agonists of the receptors, receptors or proteins involved in MAPK (mitogen-activated protein kinase) pathways or the PKC (protein kinase C) pathway upstream from or at Akt or ERK/JNK/p38 or PKC, such as therapeutic agents targeting EGFR and/or HER2. The methods also provide the ability to determine whether the cancer patient is likely to benefit from the combination of a therapeutic agent targeting EFGR and a therapeutic agent targeting COX2; or whether the cancer patient is likely to benefit from the treatment with an NF- κ B inhibitor.

七、申請專利範圍：

1. 一種識別實體性上皮腫瘤癌症病患之方法，該病患可能受益於靶向與MAPK(促分裂素原活化蛋白激酶)路徑或位於Akt上游或該處之PKC(蛋白激酶C)路徑或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質的治療劑或治療劑組合之治療，或不可能受益於該治療劑或治療劑組合的治療，該方法包括的步驟如下：
 - a)自實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品獲取質譜；
 - b)在獲自步驟a)之質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟；
 - c)步驟b)之質譜經預處理步驟後，在一或多個預先定義m/z範圍內，於該質譜中得到經選特徵之積分強度值；
 - d)利用步驟c)所得數值，以分類演算法，使用包括由其他實體性腫瘤病患之以血液為主的樣品所產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於該等治療劑或治療劑組合之療法。
2. 如請求項1之方法，其中該治療劑或治療劑組合係靶向EGFR及VEGF。
3. 如請求項1之方法，其中該治療劑或治療劑組合係靶向HER2。
4. 如請求項1之方法，其中該治療劑或治療劑組合包括曲妥珠單抗(Trastuzumab)。

5. 如請求項1之方法，其中該治療劑或治療劑組合係靶向EGFR，且其中該分類演算法可產生識別病患可能受益於靶向EGFR治療劑與COX2抑制劑組合之治療及不可能受益於僅以靶向EGFR治療劑治療之級別標記。
6. 如請求項5之方法，其中該COX2抑制劑包括塞來考昔。
7. 如請求項5之方法，其中該COX2抑制劑包括羅非考昔。
8. 如請求項1之方法，其中該病患進一步以級別標記來識別可能受益於NF- κ B抑制劑之治療。
9. 如請求項1之方法，其中該一或多個預先定義m/z範圍係選自由以下所組成之m/z範圍群：
5732至5795、
5811至5875、
6398至6469、
11376至11515、
11459至11599、
11614至11756、
11687至11831、
11830至11976、
12375至12529、
23183至23525、
23279至23622、及
65902至67502。
10. 一種經軟硬體組裝成可識別實體性上皮腫瘤癌症病患之裝置，該病患可能受益於靶向與MAPK(促分裂素原活化

蛋白激酶)路徑或位於Akt上游或該處之PKC(蛋白激酶C)路徑或ERK/JNK/p38或PKC有關之受體促效劑、受體或蛋白質的治療劑或治療劑組合之治療或不可能受益於該治療劑或治療劑組合之治療，該裝置包括：

一儲存設備，可儲存實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品質譜；及

一經軟硬體組裝成可執行軟體指令之處理器，以：a)在該質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟；b)在一或多個預先定義m/z範圍內，於該質譜中得到特徵之積分強度值；及c)利用步驟b)所得數值，以分類演算法，使用包括由其他實體性上皮腫瘤癌症病患之以血液為主的樣品產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於該治療劑或治療劑組合。

11. 如請求項10之裝置，其中該治療劑或治療劑組合係靶向HER2。
12. 如請求項10之裝置，其中該治療劑或治療劑組合係靶向EGFR及VEGF。
13. 如請求項10之裝置，其中該治療劑或治療劑組合包括曲妥珠單抗。
14. 如請求項10之裝置，其中該治療劑係靶向EGFR，且其中該分類演算法可產生識別病患可能受益於靶向EGFR治療劑與COX2抑制劑組合之治療及不可能受益於僅以靶向EGFR治療劑治療之級別標記。
15. 如請求項14之裝置，其中該COX2抑制劑包括塞來考

昔。

16. 如請求項14之裝置，其中該COX2抑制劑包括羅非考昔。

17. 如請求項10之裝置，其中該病患進一步以級別標記來識別可能受益於NF- κ B抑制劑之治療。

18. 如請求項10之裝置，其中該一或多個預先定義m/z範圍係選自由以下所組成之m/z範圍群：

5732至5795、

5811至5875、

6398至6469、

11376至11515、

11459至11599、

11614至11756、

11687至11831、

11830至11976、

12375至12529、

23183至23525、

23279至23622、及

65902至67502。

19. 一種用以預測癌症病患是否可能受益於投用COX2抑制劑及EGFR抑制劑組合之方法，該方法包括以下步驟：

a)自癌症病患之以血液為主的樣品獲取質譜；

b)在獲自步驟a)之質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟；

c)步驟b)之質譜進行預處理步驟後，在一或多個預先定義 m/z 範圍內，於該質譜中得到經選定特徵之積分強度值；及

d)利用步驟c)所得數值，以分類演算法，使用包括由其他實體性上皮腫瘤病患之以血液為主的樣品所產生之級別標記質譜的學習組來識別該病患可能或不可能受益於投用 COX2 抑制劑及 EGFR 抑制劑組合之治療。

20. 如請求項19之方法，其中該一或多個預先定義 m/z 範圍係選自由以下所組成之 m/z 範圍群：

5732至5795、

5811至5875、

6398至6469、

11376至11515、

11459至11599、

11614至11756、

11687至11831、

11830至11976、

12375至12529、

23183至23525、

23279至23622、及

65902至67502。

21. 如請求項1之方法，其中該方法係在實驗室試驗中心進行。

22. 如請求項19之方法，其中該方法係在實驗室試驗中心進

行。

23. 一種經軟硬體組裝成用以識別癌症病患是否可能受益於投用 COX2 抑制劑及 EGFR 抑制劑組合之裝置，該裝置包括：

一儲存設備，可儲存癌症病患之以血液為主的樣品質譜；及

一經軟硬體組裝成可執行軟體指令的處理器，以：a) 在該質譜上進行一或多次預先定義之預處理步驟；b) 步驟 a) 之質譜上經預處理步驟後，在一或多個預先定義 m/z 範圍內，於該質譜中精選特徵之積分強度值；及 c) 利用步驟 b) 所得數值，以分類演算法，使用包括由其他癌症病患之以血液為主的樣品產生之級別標記質譜的學習組來識別病患可能或不可能受益於投用 COX2 抑制劑及 EGFR 抑制劑組合之治療。

八、圖式：

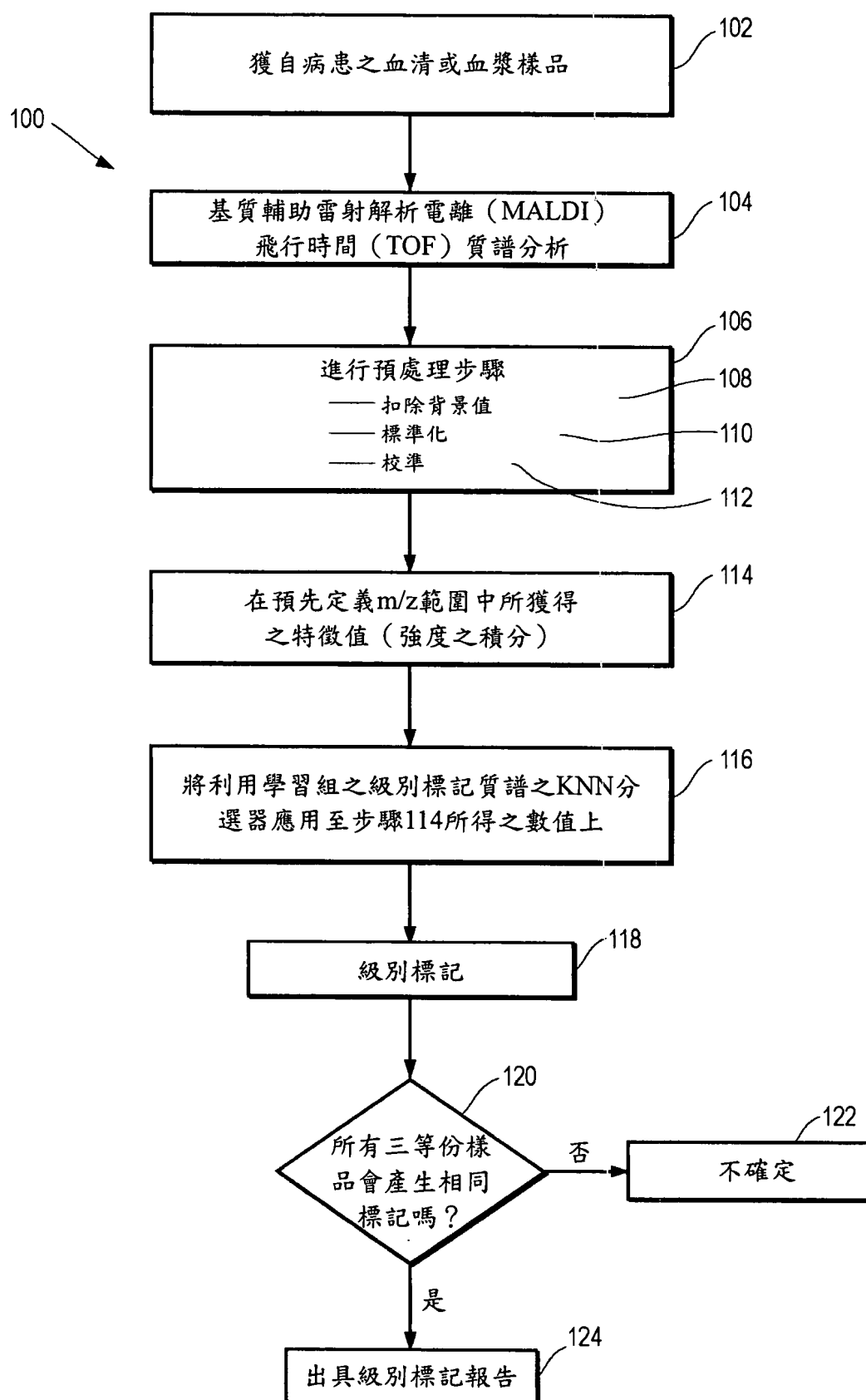


圖 1

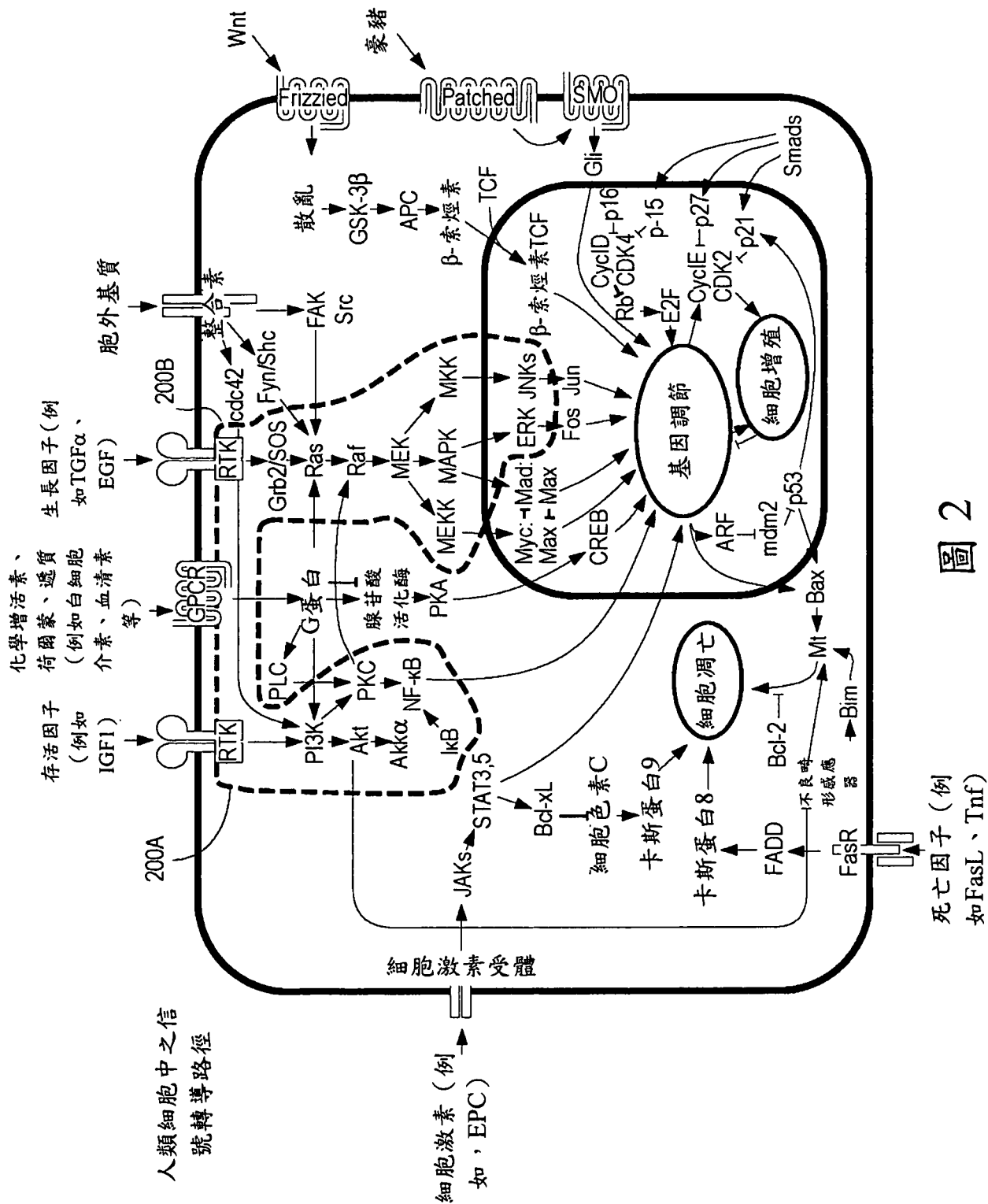


圖 2

SAA精選之生物活性及其在癌症進展及
療法抗性中之可能作用

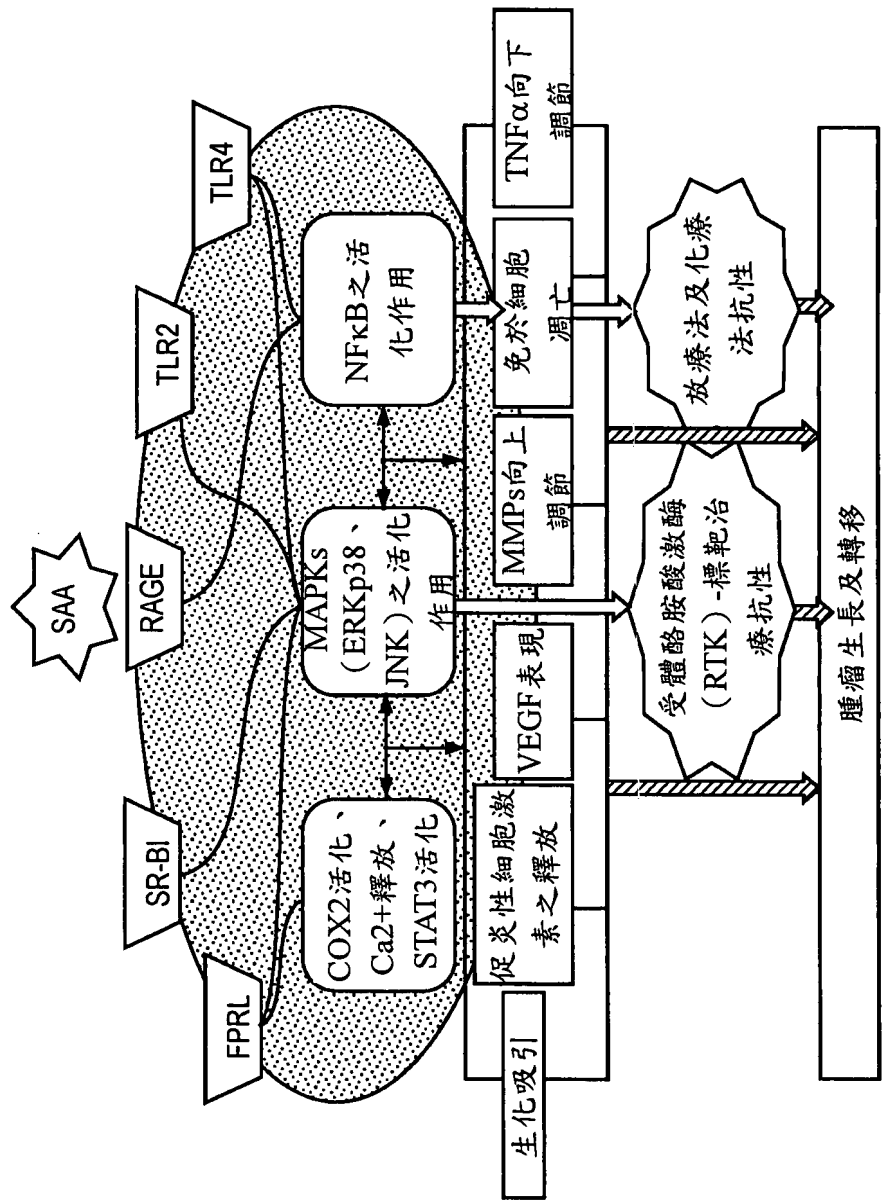
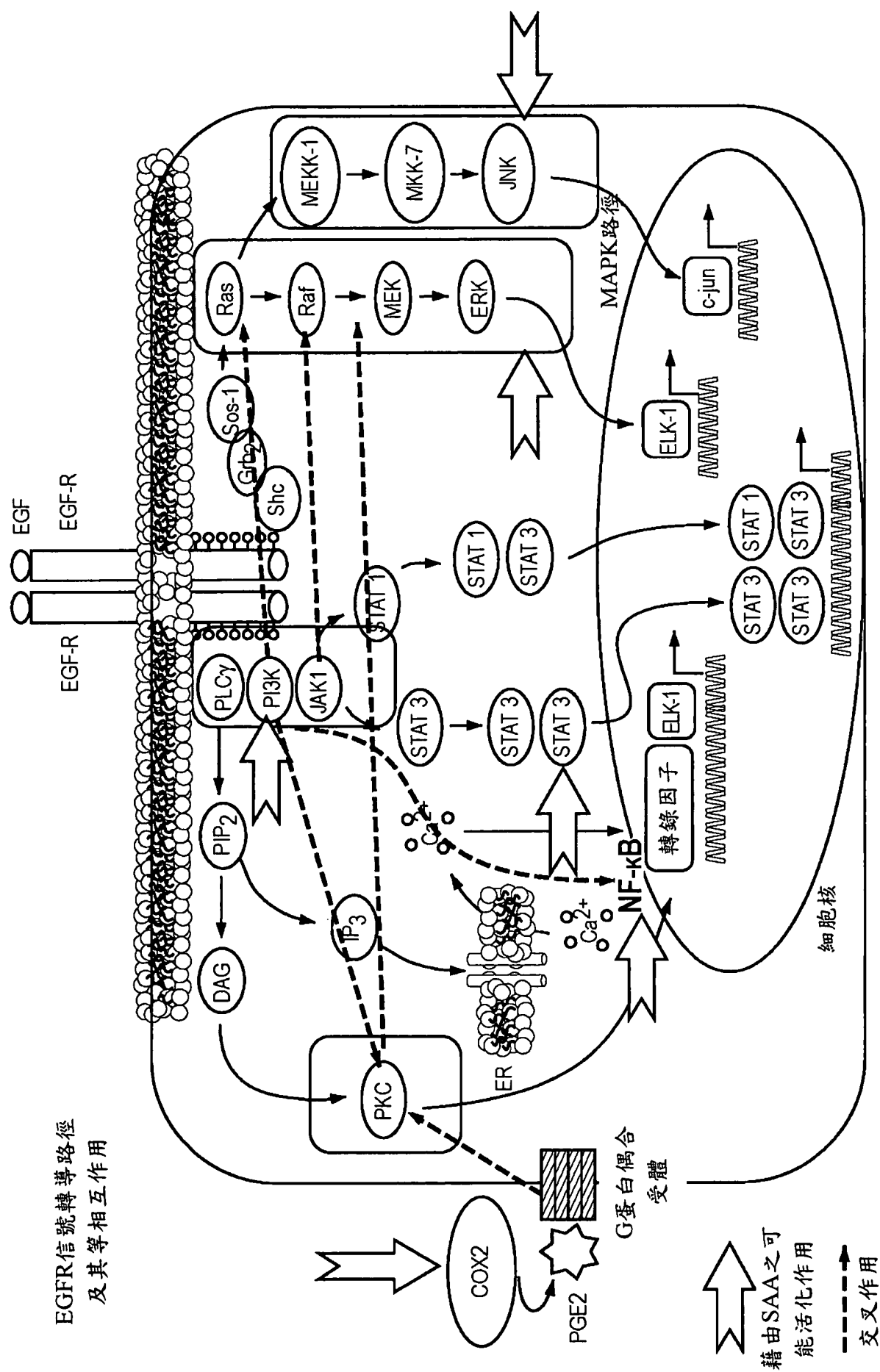


圖 3



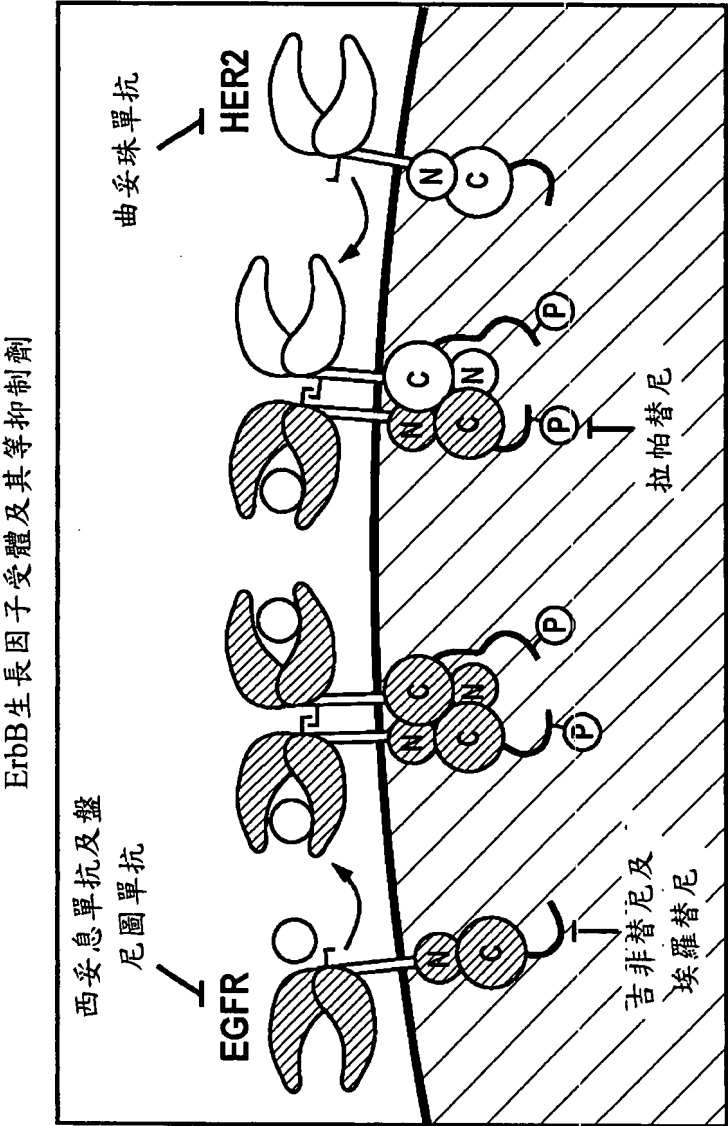


圖 5

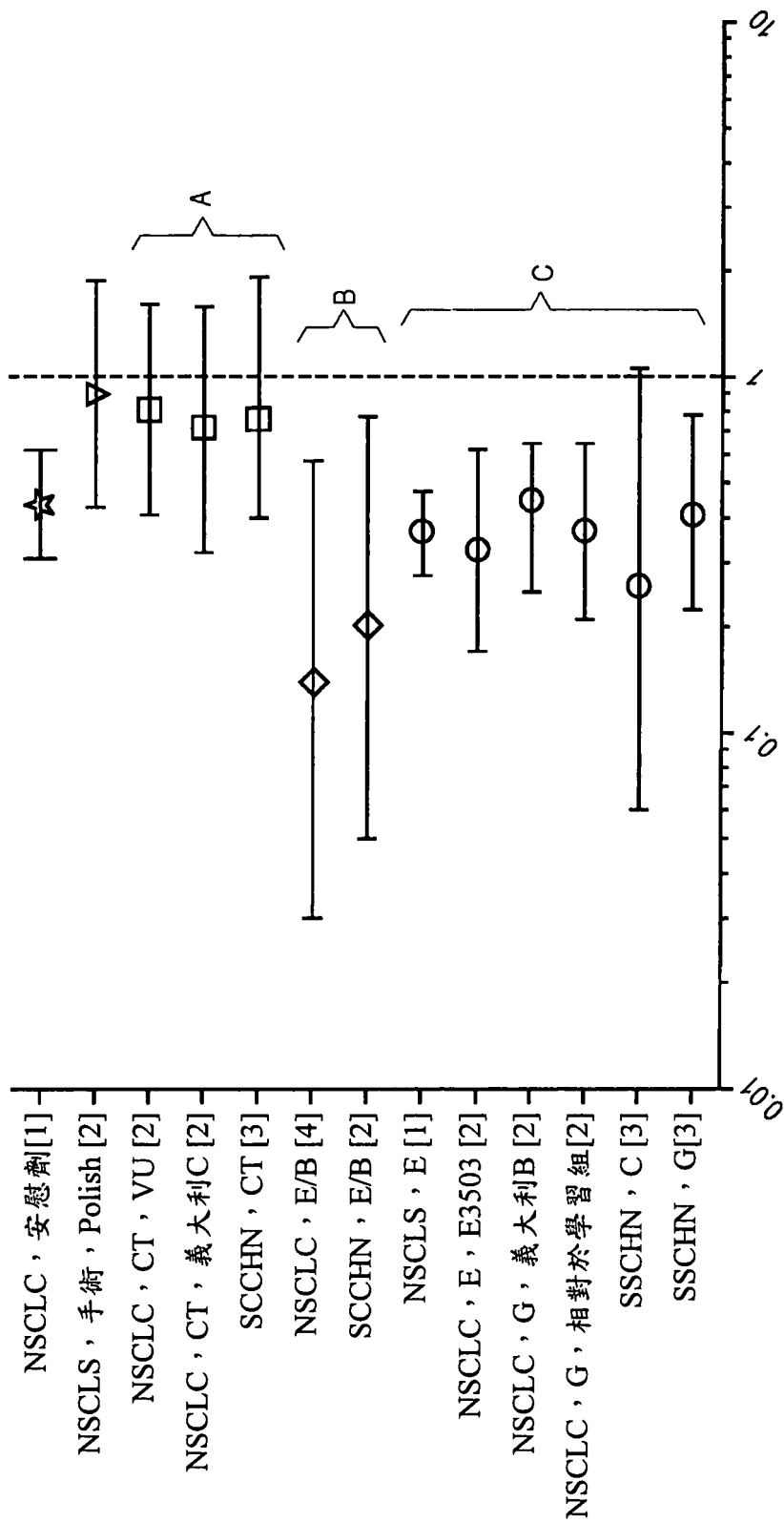


圖 6

接受不同治療法之病患的VeriStrat整體存活率 (OS) 之卡普蘭-邁耶 (Kaplan-Meier) 圖

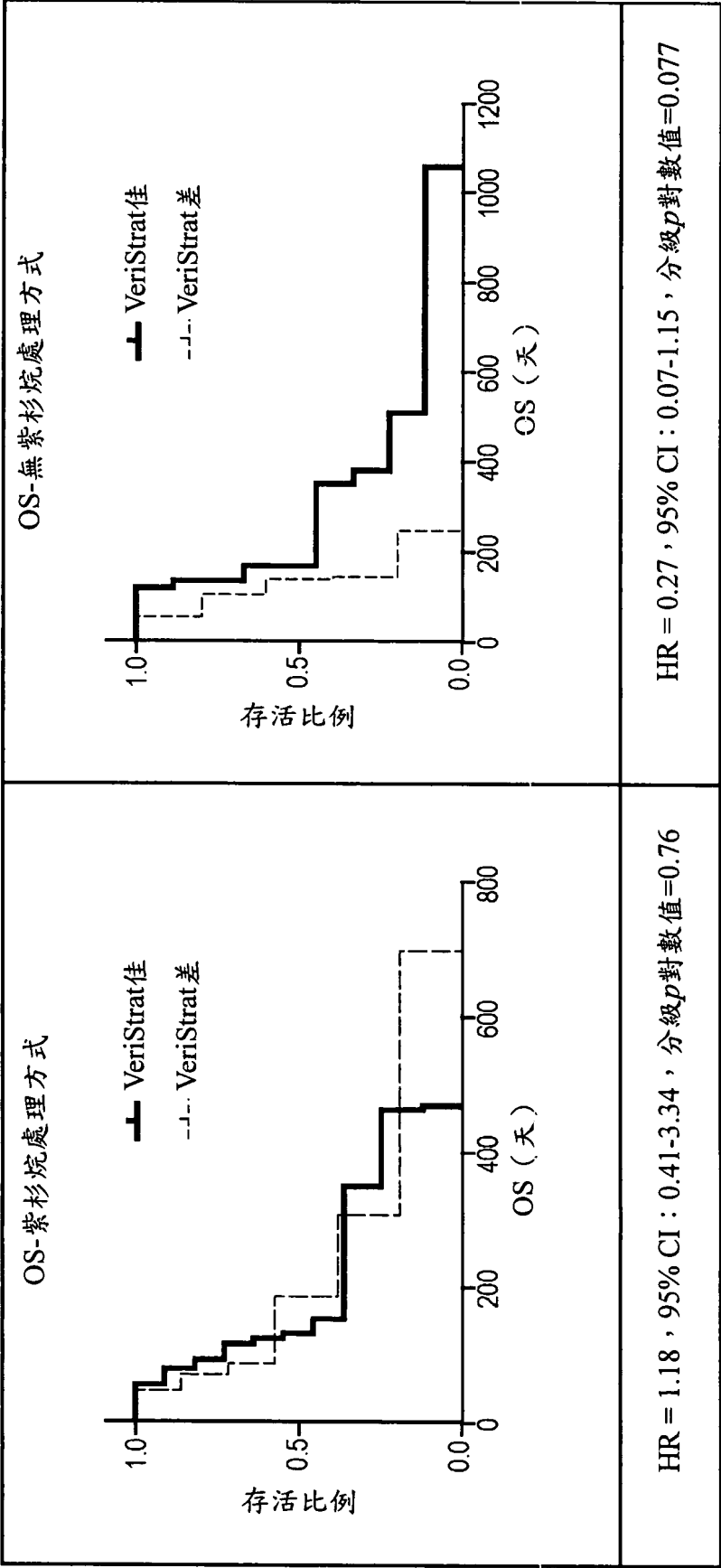


圖 7

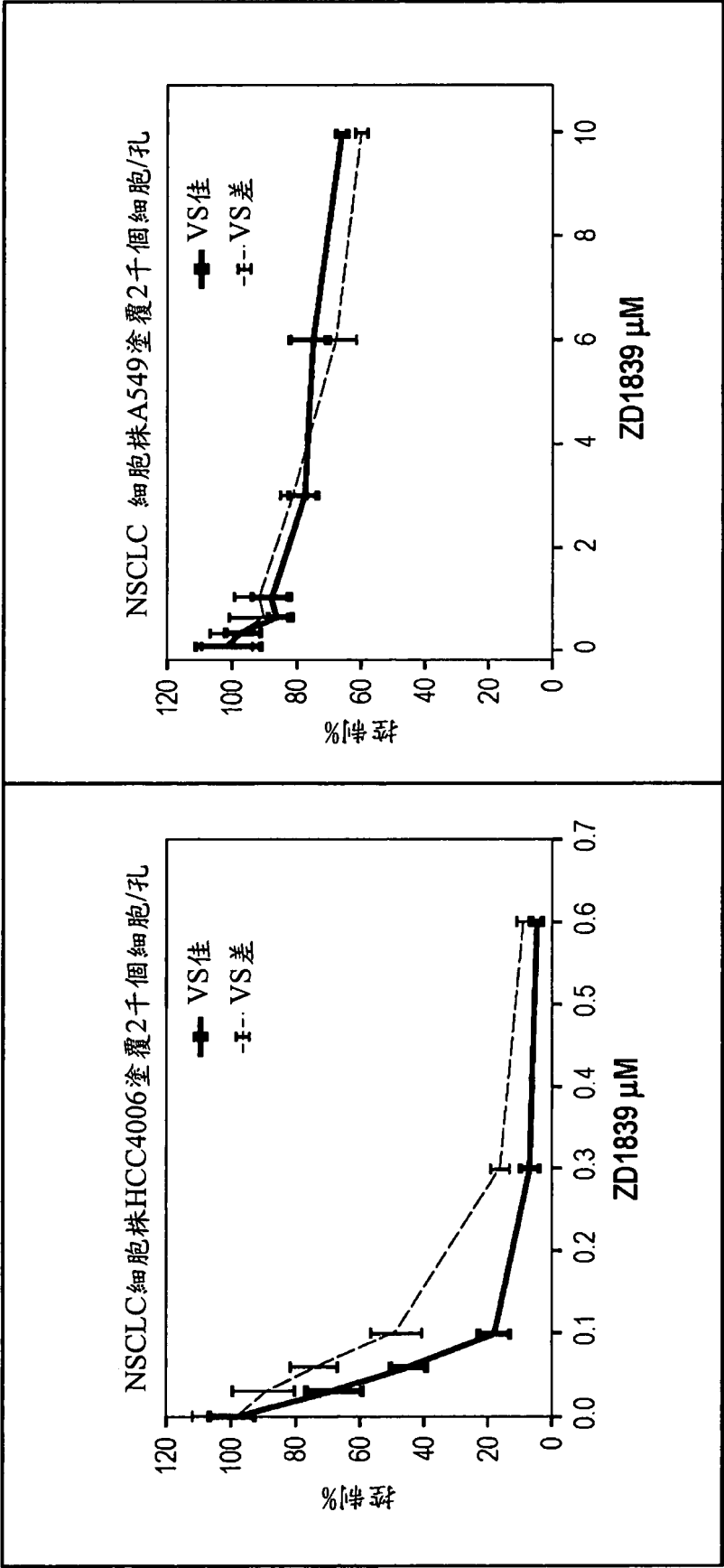


圖 8

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

100	方法
102	自病患獲得血清或血漿樣品
104	基質輔助雷射解析電離(MALDI)飛行時間(TOF)質譜分析
106	進行預處理步驟
108	扣除背景值
110	標準化
112	校準
114	在預先定義 m/z 範圍中獲得特徵值(強度之積分)
116	將利用學習組之級別標記質譜之KNN分選器應用至步驟114所得之數值上
118	級別標記
120	所有三等份樣品會產生相同標記嗎？
122	不確定
124	出具級別標記報告

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)