

(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2018-512164

(P2018-512164A)

(43) 公表日 平成30年5月17日(2018.5.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 2 9
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 6 3
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34 Z	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 120 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-554345 (P2017-554345)	(71) 出願人	510006945
(86) (22) 出願日	平成28年4月15日 (2016.4.15)		プロメディオール、 インコーポレイテッド
(85) 翻訳文提出日	平成29年12月15日 (2017.12.15)		アメリカ合衆国02421マサチューセツ州 レキシントン、ハートウェル・アベニュー101
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/027773		101 Hartwell Avenue
(87) 国際公開番号	W02016/168612		Lexington, Massachusetts 02421 U. S. A
(87) 国際公開日	平成28年10月20日 (2016.10.20)		
(31) 優先権主張番号	62/218,869	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成27年9月15日 (2015.9.15)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	62/148,005		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成27年4月15日 (2015.4.15)	(74) 代理人	100181674
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 飯田 貴敏
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 骨髄増殖性障害を処置するための方法

(57) 【要約】

一部には、本開示は、1種または複数の血清アミロイドタンパク質 (SAP) タンパク質を投与することによって、骨髄増殖性障害を処置する方法に関する。ある特定の態様では、本方法は、突然変異型対立遺伝子荷重の変化を測定することにより、処置有効性をモニターするステップをさらに含む。ある特定の態様では、本開示は、SAPタンパク質を投与することによって、その細胞の一部に骨髄線維症関連突然変異を保有する患者亜集団における骨髄線維症を処置する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨髓増殖性障害を処置するための方法であって、

(i) 骨髓増殖性障害を有する対象の細胞が、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子において前記骨髓増殖性障害に関連する突然変異を含むかどうかを決定するステップと

、
前記対象が、前記突然変異型対立遺伝子を含む場合、

(ii) 前記対象に有効量の血清アミロイドP (SAP) タンパク質を投与するステップと

を含む、方法。

10

【請求項 2】

前記骨髓増殖性障害が、骨髓線維症を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記骨髓線維症が、原発性骨髓線維症、真性赤血球増加症後の骨髓線維症または本態性血小板血症後の骨髓線維症を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記骨髓増殖性障害が、真性赤血球増加症、本態性血小板増加症または慢性骨髓性白血病 (CML) を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記対象が、JAK2 のコドン 617 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 6】

前記突然変異が、JAK2 における V617F アミノ酸置換をもたらす、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記対象が、JAK2 のエクソン 12 またはエクソン 14 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記対象が、MPL のコドン 515 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 9】

前記突然変異が、MPL における W515L、W515K、W515A または W515R アミノ酸置換をもたらす、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記対象が、MPL のエクソン 10 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記対象が、CALR のエクソン 9 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 12】

前記対象が、ASXL1 のエクソン 12 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記対象が、IDH1 のエクソン 4 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記対象が、IDH1 のコドン 132 に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

50

前記対象が、IDH2のエクソン4に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項16】

前記対象が、IDH2のコドン140に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項17】

前記対象が、IDH2のコドン172に突然変異を含むかどうかを決定するステップを含む、請求項1～16のいずれか一項に記載の方法。

【請求項18】

1種または複数の遺伝子における前記骨髄増殖性障害に関連する前記突然変異が、欠失、挿入、点突然変異または転座である、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項19】

前記突然変異が、前記1種もしくは複数の遺伝子によってコードされる1種もしくは複数のタンパク質の発現をもたらさないか、またはトランケートされたタンパク質の発現をもたらす、請求項18に記載の方法。

【請求項20】

1種または複数の遺伝子における前記骨髄増殖性障害に関連する前記突然変異が、前記1種または複数の遺伝子の一方または両方の対立遺伝子に存在する、請求項1～19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項21】

血清アミロイドP(SAP)タンパク質によって骨髄増殖性障害を処置するための方法であって、

20

(i) JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される前記骨髄増殖性障害に関連する1種または複数の遺伝子における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、前記SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、

(ii) (i)で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、前記SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、

30

(iii) 前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重および前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含み、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少が、前記SAPタンパク質の前記投与が、前記骨髄増殖性障害の処置において有効であることを示す、方法。

【請求項22】

前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重の前記減少が、10%～90%である、または前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重および前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の前記差が、10%～90%の低下である、請求項21に記載の方法。

40

【請求項23】

前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重の前記減少が、25%～50%である、または前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重および前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の前記差が、25%～50%の低下である、請求項21に記載の方法。

【請求項24】

前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重の前記減少が、少なくとも50%である、または前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重および前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の前記差が、少なくとも50%の低下である、請求項21に記載の方法。

50

【請求項 25】

前記差が、完全な分子応答である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 26】

第 1 の生体試料を得るステップと、前記第 1 の生体試料における前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップと、第 2 の生体試料を得るステップと、前記第 2 の生体試料における前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップとを含む、請求項 21～25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

前記第 1 の生体試料および前記第 2 の生体試料が、血液試料および／または骨髓試料を含む、請求項 26 に記載の方法。

10

【請求項 28】

前記測定するステップが、前記骨髓増殖性障害に関連する前記 1 種または複数の遺伝子の全体または部分を含む核酸を増幅することを含む、請求項 21～27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記測定するステップが、前記骨髓増殖性障害に関連する前記 1 種または複数の遺伝子の、野生型核酸に対する突然変異型核酸の割合を決定することを含む、請求項 21～28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記処置の有効性にに基づき前記 S A P タンパク質の投与レジメンを増加、減少または維持するステップをさらに含む、請求項 21～29 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 31】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、J A K 2 のコドン 617 における突然変異である、請求項 21～30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

前記突然変異が、J A K 2 における V 617 F アミノ酸置換をもたらす、請求項 31 に記載の方法。

【請求項 33】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、J A K 2 のエクソン 12 またはエクソン 14 に存在する、請求項 21～30 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 34】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、M P L のコドン 515 に存在する、請求項 21～33 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 35】

前記突然変異が、M P L における W 515 L、W 515 K、W 515 A または W 515 R アミノ酸置換をもたらす、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、M P L のエクソン 10 に存在する、請求項 21～35 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 37】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、C A L R のエクソン 9 に存在する、請求項 21～36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、A S X L 1 のエクソン 12 に存在する、請求項 21～37 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、I D H 1 のエクソン 4 に存在する、請求項 21～38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

50

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、I D H 1 のコドン 1 3 2 に存在する、請求項 2 1 ～ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 1】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、I D H 2 のエクソン 4 に存在する、請求項 2 1 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、I D H 2 のコドン 1 4 0 に存在する、請求項 2 1 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 3】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異のうち少なくとも 1 種が、I D H 2 のコドン 1 7 2 に存在する、請求項 2 1 ～ 4 2 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 4 4】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異が、欠失、挿入、点突然変異または転座である、請求項 2 1 ～ 4 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記突然変異が、前記 1 種もしくは複数の遺伝子によってコードされる 1 種もしくは複数のタンパク質の発現をもたらさないか、またはトランケートされたタンパク質の発現をもたらす、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

1 種または複数の遺伝子における前記突然変異が、前記 1 種または複数の遺伝子の一方または両方の対立遺伝子に存在する、請求項 2 1 ～ 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 4 7】

骨髄増殖性障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に有効量の血清アミロイド P (S A P) タンパク質を投与するステップを含み、前記対象の細胞の一部が、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1 または I D H 2 から選択される 1 種または複数の遺伝子において前記骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含む、方法。

【請求項 4 8】

骨髄増殖性障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に有効量の血清アミロイド P (S A P) タンパク質を投与するステップを含み、前記対象の細胞の一部が、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1 または I D H 2 から選択される 1 種または複数の遺伝子において前記骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含み、前記 S A P タンパク質が、前記対象における前記遺伝子の突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、方法。

30

【請求項 4 9】

前記骨髄増殖性障害が、骨髄線維症を含む、請求項 4 7 または 4 8 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記骨髄線維症が、原発性骨髄線維症、真性赤血球増加症後の骨髄線維症または本態性血小板血症後の骨髄線維症を含む、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記骨髄増殖性障害が、真性赤血球増加症、本態性血小板増加症または慢性骨髄性白血病 (C M L) を含む、請求項 4 7 または 4 8 に記載の方法。

40

【請求項 5 2】

前記対象が、J A K 2 のコドン 6 1 7 に突然変異を含む、請求項 4 7 ～ 5 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記突然変異が、J A K 2 における V 6 1 7 F アミノ酸置換をもたらす、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記対象が、J A K 2 のエクソン 1 2 またはエクソン 1 4 に突然変異を含む、請求項 4

50

7～51のいずれか一項に記載の方法。

【請求項55】

前記対象が、MPLのコードン515に突然変異を含む、請求項47～54のいずれか一項に記載の方法。

【請求項56】

前記突然変異が、MPLにおけるW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換をもたらす、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

前記対象が、MPLのエクソン10に突然変異を含む、請求項47～54のいずれか一項に記載の方法。

【請求項58】

前記対象が、CALRのエクソン9に突然変異を含む、請求項47～57のいずれか一項に記載の方法。

【請求項59】

前記対象が、ASXL1のエクソン12に突然変異を含む、請求項47～58のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

前記対象が、IDH1のエクソン4に突然変異を含む、請求項47～59のいずれか一項に記載の方法。

【請求項61】

前記対象が、IDH1のコードン132に突然変異を含む、請求項47～59のいずれか一項に記載の方法。

【請求項62】

前記対象が、IDH2のエクソン4に突然変異を含む、請求項47～61のいずれか一項に記載の方法。

【請求項63】

前記対象が、IDH2のコードン140に突然変異を含む、請求項47～61のいずれか一項に記載の方法。

【請求項64】

前記対象が、IDH2のコードン172に突然変異を含む、請求項47～63のいずれか一項に記載の方法。

【請求項65】

1種または複数の遺伝子における前記骨髓増殖性障害に関連する前記突然変異が、欠失、挿入、点突然変異または転座である、請求項47～64のいずれか一項に記載の方法。

【請求項66】

前記突然変異が、前記1種もしくは複数の遺伝子によってコードされる1種もしくは複数のタンパク質の発現をもたらさないか、またはトランケートされたタンパク質の発現をもたらす、請求項65に記載の方法。

【請求項67】

1種または複数の遺伝子における前記骨髓増殖性障害に関連する前記突然変異が、前記1種または複数の遺伝子の一方または両方の対立遺伝子に存在する、請求項47～66のいずれか一項に記載の方法。

【請求項68】

骨髓増殖性障害を有する対象における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法であって、それを必要とする対象に有効量の血清アミロイドP(SAP)タンパク質を投与するステップを含み、前記対象が、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子において前記骨髓増殖性障害に関連する突然変異を含む、方法。

【請求項69】

前記骨髓増殖性障害が、骨髓線維症を含む、請求項68に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 70】

前記骨髓線維症が、原発性骨髓線維症、真性赤血球増加症後の骨髓線維症または本態性血小板血症後の骨髓線維症を含む、請求項 69 に記載の方法。

【請求項 71】

前記 S A P タンパク質が、配列番号 1 に対し少なくとも 85 % 同一であるアミノ酸配列を含む S A P ポリペプチドを含む、請求項 1 ~ 70 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 72】

前記 S A P タンパク質が、N 結合型オリゴ糖鎖を含むグリコシル化された組換えヒト S A P ポリペプチドを含み、前記オリゴ糖鎖の少なくとも 1 本の分枝が、 α 2, 3 結合型シアル酸部分で終結する、請求項 1 ~ 71 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 73】

前記オリゴ糖鎖のシアル酸付加された分枝の全てが、 α 2, 3 結合型シアル酸部分で終結する、請求項 72 に記載の方法。

【請求項 74】

前記オリゴ糖鎖が、 α 2, 6 結合型シアル酸部分を実質的に含まない、請求項 72 に記載の方法。

【請求項 75】

前記ポリペプチドが、配列番号 1 に対して少なくとも 90 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 71 ~ 74 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 76】

前記ポリペプチドが、配列番号 1 に対して少なくとも 95 % 同一であるアミノ酸配列を含む、請求項 71 ~ 74 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 77】

前記ポリペプチドが、S A P ドメインおよび 1 個または複数の異種ドメインを含む融合タンパク質である、請求項 71 ~ 76 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 78】

前記 1 個または複数の異種ドメインが、*in vivo* 安定性、*in vivo* 半減期、取り込み／投与、組織局在もしくは分布、タンパク質複合体の形成、および／または精製のうちの 1 種または複数を増強する、請求項 77 に記載の方法。

【請求項 79】

前記ポリペプチドが、1 個または複数の修飾されたアミノ酸残基を含む、請求項 71 ~ 77 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 80】

前記 1 個または複数の修飾されたアミノ酸残基が、ペグ化アミノ酸、プレニル化アミノ酸、アセチル化アミノ酸、ビオチン化アミノ酸、および／または有機誘導体化剤にコンジュゲートされたアミノ酸を含む、請求項 79 に記載の方法。

【請求項 81】

前記 S A P タンパク質が、注射による、静脈内注射もしくは注入による、皮下注射による、デポーもしくはポンプによる連続的放出による、またはこれらの組合せから選択される機序によって投与される、請求項 1 ~ 80 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 82】

患者に追加的な抗がん療法薬を投与するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 81 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 83】

前記追加的な抗がん療法薬が、化学療法剤、抗体に基づく薬剤、キナーゼ阻害剤（例えば、ルキシロチニブ）、免疫調節剤、生物学的薬剤、またはこれらの組合せから選択される、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 84】

前記化学療法剤が、アクチノマイシン D、アルデスロイキン、アリトレチノイン、オールトランスレチノイン酸／A T R A、アルトレタミン、アムサクリン、アスパラギナーゼ

50

、アザシチジン、アザチオプリン、カルメット・ゲラン桿菌／BCG、ベンダムスチン塩酸塩、ベキサロテン、ビカルタミド、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カペシタビン、カルボプラチン、カルフィルゾミブ、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン／シスプラチナム、クラドリビン、シクロホスファミド／サイトホスファン、シタラビン、ダカルバジン、ダウノルビシン／ダウノマイシン、デニロイキンジフチトクス、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシソルビシン、エピルビシン、エトポシド、フルダラビン、フルオロウラシル（5-FU）、ゲムシタビン、ゴセレリン、ヒドロコルチゾン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イホスファミド、インターフェロンアルファ、イリノテカンCPT-11、ラパチニブ、レナリドミド、リユープロリド、メクロレタミン／クロルメチン／ムスチン／HN2、メルカプトプリン、メトトレキセート、メチルプレドニゾロン、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、オクトレオチド、オブレレベキン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パミドロネート、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペグインターフェロン、ペメトレキセド、ペントスタチン、フェニルアラニンマスタード、プリカマイシン／ミスラマイシン、プレドニゾン、プレドニゾロン、プロカルバジン、ラロキシフェン、ロミプロスチム、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タモキシフェン、テモゾロミド、テムシロリムス、テニポシド、サリドマイド、チオグアニン、チオホスホアミド／チオテパ、チオテパ、トボテカン塩酸塩、トレミフェン、トレチノイン、バルルビシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、ポリノスタット、ゾレドロン酸、またはこれらの組合せから選択される、請求項83に記載の方法。

10

20

【請求項85】

前記抗体に基づく薬剤が、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、フレソリムマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イブリツモマブチウキセタン、イピリムマブ、オファツムマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、トラスツズマブDM1、またはこれらの組合せから選択される、請求項83に記載の方法。

【請求項86】

前記キナーゼ阻害剤が、アキシチニブ、バフェチニブ、ボスチニブ、セジラニブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、パゾパニブ、ボナチニブ、キザルチニブ、レゴラフェニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、バンデタニブ、パタラニブ、ベムラフィニブ、またはこれらの組合せから選択される、請求項83に記載の方法。

30

【請求項87】

前記免疫調節剤が、サリドマイド、レナリドミド、ボマリドミド、メトトレキセート、レフルノミド、シクロホスファミド、シクロスポリンA、ミノサイクリン、アザチオプリン、タクロリムス、メチルプレドニゾロン、ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン、ミゾリビン、デオキシスバガリン、ブレキナル、5,6-ジメチルキサンテノン-4-酢酸（DMXAA）、ラクトフェリン、ポリAU、ポリI：ポリC12U、ポリICLC、イミキモド、レシキモド、非メチル化CpGジヌクレオチド（CpG-ODN）またはイピリムマブから選択される、請求項83に記載の方法。

【請求項88】

前記キナーゼ阻害剤が、AC-430、AZD1480、バリシチニブ、BMS-911453、CEP-33779、CYT387、GLPG-0634、INCB18424、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、パクリチニブ、ルキシロチニブ、TG101348（SAR302503）、トファシチニブ、VX-509、R-348、R723、またはこれらの組合せから選択されるヤヌスキナーゼ阻害剤である、請求項83に記載の方法。

40

【請求項89】

前記生物学的薬剤が、IL-2、IL-3、エリスロポエチン、G-CSF、フィルグラスチム、インターフェロンアルファ、ボルテゾミブ、またはこれらの組合せから選択される、請求項83に記載の方法。

50

【請求項 90】

前記追加的な抗がん療法薬が、ABO024、AZD1480、AT-9283、BM S-911543、CYT387、エベロリムス、ギビノスタット、イメテルスタット、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、経口ヒ素、パクリチニブ、パノビノスタット、ペグインターフェロンアルファ-2a、ボマリドミド、ブラシノスタット、ルキシロチニブ、TAK-901またはTG101438 (SAR302503) から選択される、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 91】

前記 SAP タンパク質が、脾臓体積をベースラインと比べて少なくとも 25% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～90 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 92】

前記 SAP タンパク質が、単独でまたは追加的な抗がん療法薬と組み合わせて、脾臓体積をベースラインと比べて少なくとも 50% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 91 に記載の方法。

【請求項 93】

前記 SAP タンパク質が、MPN-SAF 合計症状スコアをベースラインと比べて少なくとも 25% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～92 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 94】

前記 SAP タンパク質が、MPN-SAF 合計症状スコアをベースラインと比べて少なくとも 50% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 93 に記載の方法。

20

【請求項 95】

前記 SAP タンパク質が、ヘモグロビンレベルをベースラインと比べて少なくとも 1 g/L 増加させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～94 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 96】

前記 SAP タンパク質が、少なくとも 100 g/L へのヘモグロビンレベルの増加に有効な投与レジメンに従って投与され、ベースラインヘモグロビンが、ベースラインにおいて 100 g/L 未満であった、請求項 1～95 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 97】

前記 SAP タンパク質が、赤血球 (RBC) 輸血をベースラインと比べて少なくとも 25% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～96 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 98】

前記 SAP タンパク質が、赤血球 (RBC) 輸血をベースラインと比べて少なくとも 50% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～97 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 99】

前記 SAP タンパク質が、RBC 輸血非依存性の達成に有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～98 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 100】

前記 SAP タンパク質が、血小板輸血を少なくとも 25% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～99 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 101】

前記 SAP タンパク質が、単独でまたは追加的な抗がん療法薬と組み合わせて、血小板輸血を少なくとも 50% 低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1～100 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 102】

50

前記 S A P タンパク質が、単独でまたは追加的な抗がん療法薬と組み合わせて、骨髓線維症の 1 グレードの減少を引き起こすのに有効な投与レジメンに従って投与される、請求項 1 ～ 1 0 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 3】

1 種または複数の副作用が、追加的な抗がん療法薬単独による処置と比べて低下されるような投与レジメンに従って、S A P タンパク質および前記追加的な抗がん療法薬を投与するステップを含む、請求項 1 ～ 1 0 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 4】

a) S A P タンパク質；b) J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1 および I D H 2 から選択される 1 種または複数の遺伝子の領域を増幅することができる 1 種または複数のオリゴヌクレオチド；ならびに c) 使用のための指示を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願への相互参照

この出願は、2 0 1 5 年 4 月 1 5 日に提出された米国仮特許出願第 6 2 / 1 4 8 , 0 0 5 号および 2 0 1 5 年 9 月 1 5 日に提出された同第 6 2 / 2 1 8 , 8 6 9 号（これらの開示は、それらの全体が参考として本明細書に援用される）への優先権およびこれらの利益を主張する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

骨髓増殖性新生物（M P N）とも称される骨髓増殖性疾患（M P D）は、骨髓系の系列の血液細胞および前駆体などの血液細胞のクローン性異常によって特徴付けられる障害の一群を指す。このような障害は、骨髓系、赤血球系および血小板細胞に影響を与え得る。骨髓増殖性障害は、診断および処置が困難となり得る。

【0 0 0 3】

骨髓線維症（M F）などのある特定の増殖性状態において、線維症による健康な臓器組織の置き換えは、障害の症状に寄与する不適切な臓器機能をもたらす。骨髓線維症（原発性骨髓線維症、真性赤血球増加症後の骨髓線維症および本態性血小板血症後の骨髓線維症を含む）は、進行性の骨髓の線維症およびその後の無効な赤血球生成、異形成巨核球過形成（*d y s p l a s t i c m e g a k a r y o c y t e h y p e r p l a s i a*）、ならびに髄外造血によって特徴付けられるクローン性骨髓増殖性新生物である。典型的な臨床所見は、高い罹患率および死亡率を伴う、著明な脾腫、進行性貧血および体質性所見を含む。さらに、大部分の患者は、適した移植候補ではない。

【0 0 0 4】

近年まで、M F のために承認された医学的療法はなく、大半の対象は、増殖因子、免疫調節剤、細胞傷害性化学療法およびステロイドの様々な組合せにより管理されていた。これらの療法のいずれも、対象の大部分において有意な応答を生じなかった。この理由から、薬物療法は近年まで、M F のために承認されていない。

【0 0 0 5】

ルキソリチニブは、原発性骨髓線維症（P M F）、真性赤血球増加症後の骨髓線維症（P V 後 M F）および本態性血小板血症後の骨髓線維症（E T 後 M F）を含む、中間または高リスク骨髓線維症を有する対象の処置のために、米国および E U で近年承認されたヤヌスキナーゼ阻害剤である（J A K A F I（登録商標）完全処方情報、2 0 1 1 年）。ルキソリチニブによる処置は、脾臓体積の低下および全身症状の改善をもたらすが、骨髓の線維症または対立遺伝子荷重（*a l l e l e b u r d e n*）に効果を有するとは思われない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

10

20

30

40

50

【0006】

骨髄線維症を有する対象における骨髄の線維症を改善し得る新たな治療法と、その結果得られる血球数および他の疾患関連の因子における改善には、明確な、満たされていない医学的必要がある。MF臨床治験において多数の薬物が開発され評価されてきたが、それらの薬物のいずれも現在のところ、他の症状の軽減における活性にもかかわらず、選択的な抗クローン性効果を呈していない。したがって、骨髄線維症などの骨髄増殖性障害の処置のための追加的な治療選択肢を開発するための必要が依然としてある。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本開示は、骨髄増殖性障害を処置する様々な方法などの様々な方法を提供する。本方法は、投与レジメンに従った複数用量での対象へのSAPタンパク質の投与などの、血清アミロイドP（SAP）タンパク質またはペントラキシン-2を投与する様々な方法を含む。任意選択で、本方法は、対象から採取された試料における1種または複数の遺伝子が評価されて、突然変異状態を（例えば、対象の細胞の一部が、骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含むか）決定する、1つまたは複数のステップを含む。ある特定の実施形態では、ある特定の突然変異状態を有する対象が、処置のために特異的に選択される、または投与レジメンが、突然変異状態に基づいて調整される。他の実施形態では、突然変異状態は、処置の経過にわたって評価されて、対立遺伝子荷重に対する処置の影響を決定する。一部の実施形態では、投与レジメンは、対立遺伝子荷重に対する影響または症状改善の1種もしくは複数の他の尺度に対する影響など、患者の応答性に基づいて調整される。

【0008】

ある特定の態様では、本開示は、骨髄増殖性障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に有効量の血清アミロイドP（SAP）タンパク質を投与するステップを含み、対象の細胞の一部が、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子において骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含む、方法を提供する。言い換えれば、対象の細胞の一部は、骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有する（例えば、対象は、前述の遺伝子のうちの1種または複数における突然変異を保有する細胞を含む）。一部の実施形態では、対象は、前述の遺伝子のうちの2種または3種（または4種以上）における突然変異などの、骨髄増殖性障害に関連する2つ以上の突然変異を含む。ある特定の実施形態では、投与は、例えば、治療効果を達成するため、投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従った複数用量でのSAPタンパク質の投与を含む。

【0009】

ある特定の態様では、本開示は、それを必要とする対象に有効量の血清アミロイドP（SAP）タンパク質を投与するステップを含む、骨髄増殖性障害を処置する方法であって、対象の細胞の一部が、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子における骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含み、SAPタンパク質が、前記対象における前記遺伝子の突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される、方法を提供する。言い換えれば、対象の細胞の一部は、骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有する（例えば、対象は、前述の遺伝子のうちの1種または複数における突然変異を保有する細胞を含む）。一部の実施形態では、対象は、前述の遺伝子のうちの2種または3種（または4種以上）における突然変異などの、骨髄増殖性障害に関連する2つ以上の突然変異を含む。ある特定の実施形態では、投与レジメンは、骨髄増殖性障害の1種または複数の他の徴候の改善にも有効であり、例えば、骨髄の線維症を少なくとも1グレード低下させるのに有効である。

【0010】

ある特定の態様では、本開示は、骨髄増殖性障害を有する対象における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法であって、それを必要とする対象に有効量の血清アミロイドP（SAP）タンパク質を投与するステップを含み、対象が、JAK2、MPL、

CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子における骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含む、方法を提供する。言い換えれば、対象の細胞の一部は、骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有する（例えば、対象は、前述の遺伝子のうちの1種または複数における突然変異を保有する細胞を含む）。一部の実施形態では、対象は、前述の遺伝子のうちの2種または3種（または4種以上）における突然変異などの、骨髄増殖性障害に関連する2つ以上の突然変異を含む。ある特定の実施形態では、投与レジメンは、骨髄増殖性障害の1種または複数の他の徴候の改善にも有効であり、例えば、骨髄の線維症を少なくとも1グレード低下させるのに有効である。ある特定の実施形態では、有効量の投与は、投与レジメンに従ったSAPタンパク質（例えば、投薬スケジュールに従った複数用量）の投与を含む。

10

【0011】

ある特定の態様では、本開示は、血清アミロイドP（SAP）タンパク質により骨髄増殖性障害を処置するための方法であって、（i）JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される骨髄増殖性障害に関連する1種または複数の遺伝子における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（ii）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（iii）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップであって、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、SAPタンパク質の投与が、骨髄増殖性障害の処置において有効であることを示す、ステップとを含む方法を提供する。一部の実施形態では、2種以上の遺伝子における（例えば、2種、3種または4種以上の遺伝子における）突然変異型対立遺伝子荷重が測定される。ある特定の実施形態では、ステップ（ii）において行われる測定は、処置のおよそ1サイクル後におよび／または処置の約1カ月後に行われる。他の実施形態では、ステップ（ii）において行われる測定は、処置のおよそ2もしくは3サイクル後におよび／または処置の約2もしくは3カ月後に行われる。しかし、ステップ（ii）は、処置の経過においてより早くまたはより遅く行われてもよい。さらに、本開示は、対立遺伝子荷重を処置の時間にわたって評価して、対立遺伝子荷重の減少および応答の耐久性を確認することができることを企図する。

20

30

【0012】

ある特定の態様では、本開示は、骨髄増殖性障害を処置するための方法であって、（i）骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子において骨髄増殖性障害に関連する突然変異を含むかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、（ii）有効量の血清アミロイドP（SAP）タンパク質を対象に投与するステップとを含む方法を提供する。言い換えれば、対象の細胞の一部は、骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有する（例えば、対象は、前述の遺伝子のうちの1種または複数における突然変異を保有する細胞を含む）。一部の実施形態では、対象は、前述の遺伝子のうちの2種または3種（または4種以上）における突然変異などの、骨髄増殖性障害に関連する2つ以上の突然変異を含む。一部の実施形態では、骨髄増殖性障害に関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。ある特定の実施形態では、投与は、例えば、治療効果を達成するため、投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従った複数用量でのSAPタンパク質の投与を含む。ある特定の実施形態では、投与レジメンは、対立遺伝子荷重の減少および／または骨髄増殖性障害の1種もしくは複数の他の徴候の改善に有効であり、例えば、骨髄の線維症を少なくとも1グレード低下させるのに有効である。

40

【0013】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、骨髄増殖性障害に関連する突然変異

50

は、活性化突然変異である。一部の実施形態では、対象は、前述の遺伝子のうちの2種以上（例えば、2種、3種、4種以上）における突然変異などの、骨髄増殖性障害に関連する2つ以上の突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、骨髄増殖性障害のための処置を必要とする対象（例えば、それを必要とする対象）である。

【0014】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、対象は、JAK2のコドン617に突然変異を含む（例えば、骨髄増殖性障害に関連する突然変異は、JAK2V617Fである）。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を含む。一部の実施形態では、突然変異は、MPLにおけるW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換をもたらす。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を含む。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を含む。一部の実施形態では、突然変異は、JAK2V617Fではない。一部の実施形態では、突然変異が、JAK2V61Fである場合、対象は、骨髄増殖性障害に関連する1個または複数の追加的な突然変異も含む。ある特定の実施形態では、対象は、前述の遺伝子のうちの2種以上（例えば、2種、3種、4種以上）における突然変異などの、骨髄増殖性障害に関連する2つ以上の突然変異を含む。ある特定の実施形態では、対象は、JAK2、CALRおよびMPLならびに任意選択で1種または複数の他の遺伝子における突然変異を含むか、またはこれに関して評価される。「対象は、～を含む」に関する言及が、突然変異を含む細胞を含む対象、または突然変異を保有する細胞を含む対象も指すことを理解されたい。

【0015】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、骨髄増殖性障害に関連する突然変異は、欠失、挿入、点突然変異または転座である。一部の実施形態では、突然変異は、1種もしくは複数の遺伝子によってコードされる1種もしくは複数のタンパク質の発現をもたらさないか、またはランケートされたタンパク質の発現をもたらす。一部の実施形態では、突然変異は、活性化突然変異である。一部の実施形態では、活性化突然変異は、JAK2V617Fである。一部の実施形態では、活性化突然変異は、MPLのコドン515における突然変異である。

【0016】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、骨髄増殖性障害に関連する突然変異は、1種または複数の遺伝子の一方または両方の対立遺伝子に存在する。

【0017】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、例えば、投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従って、複数用量で投与される。例示的な投与レジメンは、本明細書に提供されている。

【0018】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、例えば、SAPタンパク質の投与の前および／または後に、対立遺伝子荷重、骨髄の線維症など、骨髄増殖性障害の1種または複数の徴候が、対象において測定される。例示的な他の徴候／エンドポイントは、本明細書に提供されている。一部の実施形態では、SAPタンパク質の投与は、任意選択で、有害な骨髄抑制を伴わない、これらの徴候／エンドポイントのうちの1種または複数の改善に有効である。

【0019】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、骨髄増殖性障害関連遺伝子のうちの1種または複数における、SAPタンパク質による処置後の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、10～90%である。一部の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、25%～50%である。一部の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、少なくとも50%、例えば、約50～60%、50～70%、50～75%または50～80%である。一部の実施形態では、完全な分子応答が観察される。ある特定の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、1処置サイクル後にまたは30日後に評価される。ある特定の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、処置開始から60日、90日または120日後に評価される。一部の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、複数の時点で評価される。一部の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重に加えて、1種または複数の他の症状 (symptom) が、処置の前および／または最中に評価される。

10

【0020】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、生体試料は、血液試料である。一部の実施形態では、生体試料は、骨髄である。言い換えれば、ある特定の実施形態では、試料が、例えば、突然変異の存在を評価する目的のため、または対立遺伝子荷重を評価するために対象から採取される場合、試料は、血液試料または骨髄試料である。ある特定の実施形態では、血液試料または骨髄試料は、骨髄の線維症などの骨髄増殖性障害の他の徴候を評価するために対象から採取される。

【0021】

20

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、測定するステップは、骨髄増殖性障害に関連する1種または複数の遺伝子の全体または部分を含む核酸を増幅することを含む。言い換えれば、ある特定の実施形態では、例えば、対象が、骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するために、または対立遺伝子荷重もしくは対立遺伝子荷重の変化を評価するために、骨髄増殖性障害に関連する遺伝子がアッセイされている場合、評価は、骨髄増殖性障害に関連する1種または複数の遺伝子の全体または部分を含む核酸を増幅を含むことができる。ある特定の実施形態では、複数の候補遺伝子 (例えば、2種、3種または4種以上) は、アッセイまたは方法の一部として評価または測定される。

【0022】

30

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、測定するステップは、骨髄増殖性障害に関連する1種または複数の遺伝子の、野生型核酸に対する突然変異型核酸の割合を決定することを含む。

【0023】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、1個または複数のプロトマーを含むSAPタンパク質である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、5個のプロトマーを含むSAPタンパク質である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、医薬組成物などの、SAPタンパク質を含む組成物として提供され、SAPタンパク質および組成物は、本明細書に記載されている方法のいずれかにおいて使用することができる。

40

【0024】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、グリコシル化ヒトSAPタンパク質である。例として、SAPタンパク質は、ヒト血清から単離されたSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するグリコシル化ヒトSAPポリペプチド (例えば、N結合型オリゴ糖鎖を含むヒトSAPであって、オリゴ糖鎖の少なくとも1本の分枝が、 α 2, 3結合型シアル酸部分で終結するヒトSAP) などのグリコシル化ヒトSAPポリペプチドなどのSAPポリペプチドを含むことができる。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、組換えヒトSAP (例えば、rhSAP) である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、当技術分野でPRM-151としても公知の組換えヒトSAPを含む。DuffieldおよびLupher、Drug News &

50

Perspectives 2010年、23巻(5号):305~315頁。任意選択で、rhSAPは、CHO細胞または別の適した細胞株において調製することができる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載されている方法のいずれかは、PRM-151として公知の組換えヒトSAPを投与するステップを含む。

【0025】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、N結合型オリゴ糖鎖を含むグリコシル化ヒトSAPタンパク質であって、オリゴ糖鎖の少なくとも1本の分枝が、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結するグリコシル化ヒトSAPタンパク質である。一部の実施形態では、オリゴ糖鎖のシアル酸付加された分枝の全てが、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する。一部の実施形態では、オリゴ糖鎖は、 $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸部分を実質的に含まない。例として、SAPタンパク質は、そのようなグリコシル化ヒトSAPタンパク質を含むことができる。一部の実施形態では、グリコシル化ヒトSAPは、DuffieldおよびLupher、Drug News & Perspectives 2010年、23巻(5号):305~315頁に記載されている通り、組換えヒトペントラキシン-2(hPTX-2)とも称される組換えヒトSAPを含む。ある特定の実施形態では、本開示の方法は、グリコシル化ヒトSAPタンパク質を含む組成物を投与するステップを含み、ヒトSAPタンパク質は、5個のSAPプロトマーを含む。ある特定の実施形態では、複合型SAPタンパク質(composition SAP protein)は、N結合型オリゴ糖鎖を含み、オリゴ糖鎖の少なくとも1本の分枝は、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、5個のSAPプロトマーを含み、各プロトマーは、N結合型オリゴ糖鎖を含み、オリゴ糖鎖の少なくとも1本の分枝は、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質を含む組成物またはSAPタンパク質は、血清由来(derived)SAPと比較して、85%少ない $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸を含む。一部の実施形態では、オリゴ糖鎖の全てのシアル酸付加された分枝の全ては、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する。一部の実施形態では、オリゴ糖鎖は、 $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸部分を実質的に含まない。

【0026】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、配列番号1に対して少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、配列番号1に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPとは異なるグリコシル化を有するグリコシル化SAPタンパク質である。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、5本のポリペプチド鎖を含み、その各鎖は、配列番号1に対して少なくとも85%、少なくとも90%、95%、98%またはさらには100%同一であるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、5個のSAPプロトマーを含み、各プロトマーは、配列番号1に対して少なくとも85%(または少なくとも90%、95%、98%、99または100%)同一であるアミノ酸配列を含む。

【0027】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、SAPドメインおよび1個または複数の異種ドメインを含む融合タンパク質である。一部の実施形態では、1個または複数の異種ドメインは、in vivo安定性、in vivo半減期、取り込み/投与、組織局在もしくは分布、タンパク質複合体の形成、および/または精製のうちの1種または複数を増強する。

【0028】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、SAPタンパク質は、1個または複数の修飾されたアミノ酸残基を含む。一部の実施形態では、1個または複数の修飾されたアミノ酸残基は、ペグ化アミノ酸、プレニル化アミノ酸、アセチル化アミノ酸、ビオチン化アミノ酸、および/または有機誘導体化剤にコンジュゲートされたアミノ酸を含む。

【0029】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、S A Pタンパク質は、経口で、局所的に、注射により、静脈内注射により、皮下注射により、吸入により、デポーもしくはポンプによる連続的放出により、またはこれらの組合せから選択される機序によって投与される。

【0030】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、本方法は、患者に抗がん療法薬（例えば、追加的な抗がん療法薬）を投与するステップをさらに含む。

【0031】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、抗がん療法薬は、化学療法剤、抗体に基づく薬剤、キナーゼ阻害剤（例えば、チロシンキナーゼ阻害剤、セリン／スレオニンキナーゼ阻害剤など）、免疫調節剤、生物学的薬剤（*biologic agent*）、およびこれらの組合せから選択される。単一の追加的な薬剤または複数の追加的な薬剤または処置モダリティは、（同じもしくは異なる時点で、および／または同じもしくは異なる投与経路により、および／または同じもしくは異なる投薬スケジュールで）共投与する（*co-administer*）ことができる。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質および追加的な抗がん療法薬の組合せは、この追加的な抗がん療法薬単独では適応がない状態、患者集団または亜集団に適応がある。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、血清から精製されたヒトS A Pとは異なるグリコシル化を有するS A Pタンパク質などのグリコシル化S A Pタンパク質を含む。

【0032】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、化学療法剤は、アクチノマイシンD、アルデスロイキン、アリトレチノイン、オールトランスレチノイン酸／A T R A、アルトレタミン、アムサクリン（*amascrine*）、アスパラギナーゼ、アザシチジン、アザチオプリン、カルメット・ゲラン桿菌／B C G、ベンダムスチン塩酸塩、ベキサロテン、ピカルタミド、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カペシタビン、カルボプラチン、カルフィルゾミブ、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン／シスプラチナム、クラドリビン、シクロホスファミド／サイトホスファン（*cytosphane*）、シタラビン（*cytabarine*）、ダカルバジン、ダウノルビシン／ダウノマイシン、デニロイキンジフチトクス、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシロビシン、エピルビシン、エトポシド、フルダラビン、フルオロウラシル（5-FU）、ゲムシタビン、ゴセレリン、ヒドロコルチゾン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イホスファミド、インターフェロンアルファ、イリノテカンC P T-11、ラパチニブ、レナリドミド、リユープロリド、メクロレタミン／クロルメチン／ムスチン／H N 2、メルカプトプリン、メトトレキセート、メチルプレドニゾロン、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、オクトレオチド、オブレルベキン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パミドロネート、ペグアスバルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペグインターフェロン、ペメトレキセド、ペントスタチン、フェニルアラニンマスタード、プリカマイシン／ミ斯拉マイシン、プレドニゾン、プレドニゾロン、プロカルバジン、ラロキシフェン、ロミプロスチム、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タモキシフェン、テモゾロミド、テムシロリムス、テニポシド、サリドマイド、チオグアニン、チオホスホアミド／チオテパ、チオテパ、トポテカン塩酸塩、トレミフェン、トレチノイン、バルルビシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、ポリノスタット、ゾレドロン酸、およびこれらの組合せから選択されるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本方法は、S A Pタンパク質および追加的な抗がん療法薬の投与を含み、この追加的な抗がん療法薬は、単一の化学療法剤または2種またはそれを超える化学療法剤の組合せなどの化学療法剤である。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、血清から精製されたヒトS A Pとは異なるグリコシル化を有するS A Pタンパク質などのグリコシル化S A Pタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

【0033】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、抗体に基づく薬剤は、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、フレソリムマブ (fresolimumab)、ゲムツズマブオゾガマイシン、イブリットモマブチウキセタン、イピリムマブ、オフアツムマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、トラスツズマブDM1、およびこれらの組合せから選択されるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本方法は、SAPタンパク質および追加的な抗がん療法薬の投与を含み、この追加的な抗がん療法薬は、抗体に基づく薬剤である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質などのグリコシル化SAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

10

【0034】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、キナーゼ阻害剤（例えば、チロシンキナーゼ阻害剤、セリン／スレオニンキナーゼ阻害剤など）は、アキシチニブ、バフェチニブ (bafetinib)、ボスチニブ、セジラニブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、パゾパニブ、ポナチニブ、キザルチニブ (quizartinib)、レゴラフェニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、バンデタニブ、バタラニブ、ベムラフィニブ (vemurafinib)、およびこれらの組合せから選択されるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本方法は、SAPタンパク質および追加的な抗がん療法薬の投与を含み、この追加的な抗がん療法薬は、キナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質などのグリコシル化SAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

20

【0035】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、免疫調節剤は、サリドマイド、レナリドミド、ボマリドミド、メトトレキサート、レフルノミド、シクロホスファミド、シクロスポリンA、ミノサイクリン、アザチオプリン、タクロリムス、メチルプレドニゾロン、ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン、ミゾリビン、デオキシスパガリン、ブレキナル、5, 6-ジメチルキサンテノン-4-酢酸 (DMXAA)、ラクトフェリン、ポリAU、ポリI：ポリC12U、ポリ-ICLC、イミキモド、レシキモド、非メチル化CpGジヌクレオチド (CpG-ODN) およびイピリムマブ (ipilimumab) から選択されるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本方法は、SAPタンパク質および追加的な抗がん療法薬の投与を含み、この追加的な抗がん療法薬は、免疫調節剤である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質などのグリコシル化SAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

30

【0036】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、キナーゼ阻害剤は、AC-430、AZD1480、バリシチニブ、BMS-911453、CEP-33779、CYT387、GLPG-0634、INCB18424、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、パクリチニブ (pacritinib)、ルキソリチニブ、TG101348 (SAR302503)、トファシチニブ、VX-509、R-348、R723、およびこれらの組合せから選択されるがこれらに限定されない、ヤヌスキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、本方法は、SAPタンパク質および追加的な抗がん療法薬の投与を含み、この追加的な抗がん療法薬は、ヤヌスキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質などのグリコシル化SAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

40

【0037】

50

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、生物学的薬剤は、IL-2、IL-3、エリスロポエチン、G-CSF、フィルグラスチム、インターフェロンアルファ、ボルテゾミブ、およびこれらの組合せから選択されるが、これらに限定されない。ある特定の
10 実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

【0038】

前述または後述のいずれかの一部の実施形態では、抗がん療法薬は、AB0024、AZD1480、AT-9283、BMS-911543、CYT387、エベロリムス、ギビノスタット (givinostat)、イメテルスタット、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、経口ヒ素、パクリチニブ、パノビノスタット、ペグインターフェロンアルファ-2a、ボマリドミド、プラシノスタット (pracinostat)、ルキシロチニブ、TAK-901およびTG101438 (SAR302503) から選択されるが、これらに限定されない。ある特定の
10 実施形態では、化学療法剤は、前述の薬剤のいずれかからなる群から選択される。

【0039】

一部の実施形態では、SAPタンパク質および1種または複数の追加的な活性薬剤（例えば、追加的な抗がん療法薬）は、共製剤化 (co-formulate) される。一部の
20 実施形態では、SAPタンパク質および1種または複数の追加的な活性薬剤は、同時に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質および1種または複数の追加的な活性薬剤は、患者において互いに重複する治療効果を生じる時間内に投与される。SAPタンパク質および1種または複数の追加的な活性薬剤が、同時に、または互いに重複する治療効果を生じる時間内に投与される場合、これらの薬剤は、同じまたは異なる投与経路（例えば、経口対注入）により投与することができる。

【0040】

一部の実施形態では、骨髄増殖性障害は、骨髄線維症である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、真性赤血球増加症後の骨髄線維症または本態性血小板血症後の骨髄線維症である。一部の実施形態では、骨髄増殖性障害は、真性赤血球増加症後または本態性血小板血症後である。ある特定の実施形態では、本開示の方法は、単独療法としてのSAPの使用を含む。

【0041】

ある特定の実施形態では、SAPによる処置の開始に先立ち、患者は、臨床的に有意な貧血および／または血小板減少症を有する。
30

【0042】

一部の実施形態では、骨髄増殖性障害は、真性赤血球増加症、本態性血小板増加症または慢性骨髄性白血病である。

【0043】

ある特定の実施形態では、処置は、本明細書に記載されている投薬スケジュールのいずれかなどの投薬スケジュールに従ってSAPタンパク質を投与するステップを含む。ある特定の
40 実施形態では、投与および／または治療有効量は、臨床試験プロトコル、完全処方情報、治験薬概要書 (Investigator's Brochure) に定義されている治療利益、またはそれぞれの疾患を有する患者にとって利益になると当該分野の専門家によって一般に理解される尺度における改善による治療利益を生じるのに有効な用量および投薬スケジュールに従った投与を含むものと当技術分野で理解される。ある特定の
40 実施形態では、SAPタンパク質は、単独で投与されるのであれ併用療法の一部として投与されるのであれ、1週間に1回未満の投与をもたらず投薬スケジュールに従って投与することができる。ある特定の実施形態では、このような低頻度の投薬は、初期負荷相の後に行われ、この初期負荷相では、例えば、処置サイクルの1週目において、SAPタンパク質は、複数回投与される。

【0044】

前述のいずれかのある特定の実施形態では、処置は、臓器機能を改善する（例えば、治療有効性は、臓器機能における改善を含む；SAPタンパク質は、単独でまたは組み合わ
50

せて投与されて、臓器機能を改善する)。ある特定の実施形態では、臓器は骨髄であり、臓器機能における改善は、ヘモグロビンおよび／または血小板における改善を評価することにより評価される(例えば、これらの測定基準の一方または両方における改善は、臓器機能における改善を立証する;血小板の場合、血小板における改善は、低い血小板レベルを患う対象における血小板の増加を指す;ヘモグロビンの場合、ヘモグロビンにおける改善は、低いヘモグロビンレベルを患う対象におけるヘモグロビンの増加を指す)。ある特定の実施形態では、処置は、例えば、線維症を減少させることによって、正常組織を回復する(例えば、治療有効性は、正常組織の回復を含む)。ある特定の実施形態では、正常組織の回復は、骨髄の線維症を評価することにより評価される。ある特定の実施形態では、処置は、突然変異型対立遺伝子荷重を低下させる。

10

【0045】

ある特定の態様では、本方法は、1種または複数の副作用が、追加的な抗がん療法薬単独による処置と比べて低下されるように、投与レジメンに従ってSAPタンパク質および追加的な抗がん療法薬を投与するステップを含む。

【0046】

ある特定の態様では、本開示は、a)SAPタンパク質を含む組成物または医薬組成物; b)JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2から選択される1種または複数の遺伝子の領域を増幅することができる1種または複数のオリゴヌクレオチド;ならびにc)使用のための指示を含むキットを提供する。一部の実施形態では、検出される突然変異は、JAK2V617Fではない。

20

【0047】

本開示は、本明細書に記載されている態様および実施形態のいずれかの組合せなどの、本発明の特色のいずれかのあらゆる適した組合せを企図する。例えば、本開示は、前述の態様および実施形態のいずれかを、互いに、および／または本明細書に開示されている実施形態のいずれかと組み合わせることができることを企図する。例えば、機能および／または構造的な特色のいずれかの組合せを使用して記載されているSAPタンパク質は、本明細書に記載されている方法のいずれかにおいて、単独でまたは併用療法において使用して、いずれか1種または複数の症状に基づき記載されている患者などの、本明細書に記載されている患者の状態、患者集団または亜集団のいずれかを処置することができる。

【発明を実施するための形態】

30

【0048】

概観

本開示は、対立遺伝子荷重を低下するためおよび／または対立遺伝子荷重を使用して処置有効性を評価するための方法およびキットを含む、骨髄増殖性障害を有する対象における対立遺伝子荷重を評価するための方法およびキットを提供する。本開示は、骨髄増殖性障害を有する対象を処置するための方法であって、対象が、1種または複数の遺伝子に突然変異を保有する(carrier)方法も提供する(例えば、対象は、骨髄増殖性障害に関連する1種または複数の突然変異を含む細胞を含む)。

【0049】

多数の予後的に関連性がある体細胞突然変異および細胞遺伝学的異常が、骨髄増殖性障害に関連することが見出された。予後的に関連性がある突然変異が、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、SRSF2、EZH2、IDH1およびIDH2を含む、多様なセットの遺伝子において同定された。JAK2、MPL、CALR、ASXL1およびSRSF2突然変異の存在は、近年の試験(Tefferaら、ASH 2014年要約406)において、原発性骨髄線維症における生存短縮の独立予測因子であることが見出され、JAK2、MPLおよびCALR(TN)のトリプルネガティブ、JAK2またはMPL突然変異、ならびにASXL1、SRSF2、EZH2またはIDH1/2における突然変異は、別のコホートにおける劣った生存のリスク因子として同定された(Vanucciaら、ASH 2015年要約405)。よって、突然変異状態は、不良な転帰の予測因子である。

40

50

【0050】

原発性骨髄線維症における細胞遺伝学的異常は近年、4種のリスク表記に層別化された：非常に高リスク（MK、inv(3)、i(17q)、-7/7q-、11qまたは12p異常）、高（MKなしの複合型；非常に高リスクのカテゴリーに含まれない2種の異常、5q-、+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；および他のリスクカテゴリーに含まれない他の単独異常）、中間（20q-の単独異常；1q重複または他のいずれかの転座；および-Yまたは他の性染色体異常）および低（正常または13q-もしくは+9の単独異常）（Tefferiら、ASH 2014年要約631）。

【0051】

対立遺伝子荷重は、例えば、造血細胞における突然変異型および野生型核酸の間の比である。現在のところ、ヒトにおけるJAK阻害剤療法は、JAK2V617F対立遺伝子荷重または骨髄の線維症に殆ど効果がなかった（Tefferi, Blood 119巻（12号）：2721～2730頁）。JAK2V617Fに加えて、PMFおよび他のBCR-ABL1陰性骨髄増殖性新生物は、MPL、TET2、ASXL1、CBL、IDH1、IDH2、IKZF1、LNK、EZH2、DNMT3A、CUX1およびSF3B1突然変異を含む、上述の多くの他の体細胞突然変異によって特徴付けられる（Tefferiら、Mayo Clin Proc. 2012年、87巻（1号）：25～33頁）。他の予後的に関連性がある体細胞突然変異の定量的解析および細胞遺伝学的解析も、骨髄増殖性障害のモニターおよび管理に有用になるであろう。

【0052】

本開示は、SAPタンパク質を使用して骨髄増殖性障害を処置するための新たな遺伝学に基づく治療レジメンを提供する。

【0053】

骨髄線維症は、骨髄における高密度の線維性組織の存在によって特徴付けられる。治療介入の目標の1つは、過剰な線維性組織を予防または低下させることによって、正常臓器機能を回復させることである。線維症をもたらす事象の調節は、少なくとも2種の主要な事象を伴う。その1つは、線維細胞の増殖および分化である。線維細胞は、組織傷害の部位に正常に進入して、血管新生および創傷治癒を促進する、末梢血単球に由来する線維芽細胞様細胞の別個の集団である。線維細胞は、腫瘍、特に、腫瘍における間質組織の形成において重要である。線維細胞は、CD14+末梢血単球から分化し、他のPBMC細胞から分化することができる。SAP、IL-12、ラミニン-1、抗FcγR抗体、架橋したIgGおよび／または凝集したIgGの存在は、この過程を阻害または少なくとも部分的に遅延し得る。

【0054】

第2の主要な事象は、線維性組織の形成および維持である。線維性組織は、単球から線維細胞、マクロファージまたは筋線維芽細胞への分化、線維芽細胞のリクルートメントおよび増殖、新たな細胞外マトリックスの形成、ならびに新たな血管組織の成長によって形成および維持され得る。例えば、慢性炎症、傷害、悪性疾患または特発性線維症の後、病的線維症において、組織損傷および破壊を生じ得るのは、このような過剰な線維性組織である。

【0055】

近年、血清アミロイドP（SAP）またはペントラキシン-2（PTX-2）が、微生物感染に起因する障害などの、線維症関連障害、過敏性障害、自己免疫性障害、粘膜炎症および炎症性障害を含む、様々な障害を処置するための治療剤として使用され得ることが示唆された。例えば、米国特許第8,247,370号および同第8,497,243号、ならびに米国特許出願第12/720,845号および同第12/720,847号を参照されたい。FcγRへのSAP結合は、線維細胞、線維細胞前駆体、筋線維芽細胞前駆体および／または造血単球前駆体分化に対する阻害性シグナルをもたらす。線維症の治療的処置としてのSAPおよびSAPアゴニストの使用は、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第7,763,256号および同第8,247,370号に記載されてい

る。本明細書に記載されている方法のいずれかのある特定の実施形態では、この方法は、S A Pタンパク質の投与を含む（実施例を参照）。ある特定の実施形態では、S A Pは、C H O細胞において産生される組換えヒトS A Pなどの、組換えヒトペントラキシンー2とも称される組換えヒトS A Pである。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、ヒト血清から精製されたS A Pのものとは異なるグリコシル化を有するヒトS A Pタンパク質などの、ヒトS A Pタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、N結合型オリゴ糖鎖のシアル酸付加された分枝の全てが、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分において終結する、および／またはN結合型オリゴ糖鎖が、 $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸部分を実質的に含まないヒトS A Pタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、本開示の方法は、グリコシル化ヒトS A Pタンパク質を含む組成物を投与するステップを含み、このヒトS A Pタンパク質は、5個のS A Pプロトマーを含む。ある特定の実施形態では、プロトマーの少なくとも1個、または1、2、3、4もしくは5個のこのようなプロトマーは、N結合型オリゴ糖鎖を含み、このオリゴ糖鎖の少なくとも1本の分枝は、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、5個のS A Pプロトマーを含み、各プロトマーは、N結合型オリゴ糖鎖を含み、オリゴ糖鎖の少なくとも1本の分枝は、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する、またはS A Pタンパク質のシアル酸付加された（s i a l y a t e d）分枝の全てが、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分において終結する。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質を含む組成物またはS A Pタンパク質は、血清由来（d e r i v a t e d）S A Pと比較して、85%少ない $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸を含む。一部の実施形態では、オリゴ糖鎖（複数可）のシアル酸付加された分枝の全ては、 $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終結する。一部の実施形態では、オリゴ糖鎖（複数可）は、 $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸部分を実質的に含まない。

【0056】

本開示は、骨髄増殖性障害を処置するための方法を提供する。本方法は一般に、単剤としてまたは追加的な薬剤と組み合わせて、S A Pタンパク質などの抗線維化剤の有効量を投与するステップを含む。

【0057】

一部の実施形態では、S A Pタンパク質の有効量は、単独でまたは併用療法において投与されると、S A Pタンパク質による処置前の個体における突然変異型対立遺伝子荷重と比較して、突然変異型対立遺伝子荷重を少なくとも約10%、より好ましくは、少なくとも約15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%またはさらには少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%またはそれを超えて低下させるのに有効となる量である。ある特定の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重の低下は、約10%～90%、10%～75%、10%～50%、20%～75%、30%～75%、20%～50%、30%～60%などである。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従った複数の投薬で投与され、対立遺伝子荷重の低下は、複数用量後に（例えば、約1、2、3、4または5カ月間の処置後に）評価される。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従って投与され、単独でまたは併用療法において投与されると、S A Pによる処置前の個体における線維症の程度と比較して、線維症を少なくとも約10%、より好ましくは、少なくとも約15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%またはさらには少なくとも約50%またはそれを超えて低下させるのに有効となる。ある特定の実施形態では、線維症は、骨髄の線維症であり、有効な処置は、骨髄の線維症の少なくとも1グレード、任意選択で少なくとも2グレードの低下である。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従って複数用量で投与され、線維症の低下は、複数用量後に（例えば、約1、2、3、4または5カ月間の処置後に）評価される。

【0058】

本開示の方法は、骨髄増殖性障害に蔓延している選択された遺伝的突然変異および細胞遺伝学的異常ならびにS A Pタンパク質の間の相互作用の評価において有用である。本開

示の方法は、ベースライン突然変異状態または細胞遺伝学的異常およびSAPタンパク質による処置に対する応答の関連の評価において有用である。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、グリコシル化SAPタンパク質を含む（例えば、ヒト血清から精製されたSAPのものとは異なるグリコシル化を有するグリコシル化SAPタンパク質などのグリコシル化SAPタンパク質を含むSAP；組換えヒトペントラキシン-2またはPRM-151などの組換えヒトSAP）。

【0059】

定義

他に規定がなければ、本明細書に使用されているあらゆる技術および科学用語は一般的に、当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。一般に、本明細書に使用されている命名法、ならびに細胞培養、分子遺伝学、有機化学および核酸化学およびハイブリダイゼーションにおける研究室手順は、当技術分野で周知のものであり、一般的に用いられている。標準技法が、核酸およびペプチド合成のために使用されている。技法および手順は、本文書を通じて提供されている、当技術分野の従来方法および様々な一般の参考文献（例えば、Sambrookら、1989年、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor, N. Y.）に従って一般に実施されている。

【0060】

冠詞「ある(a)」および「ある(an)」は、この冠詞の文法上の目的語の1個または2個以上（すなわち、少なくとも1個）を指すように本明細書で使用されている。例として、「あるエレメント(an element)」は、1個のエレメントまたは2個以上のエレメントを意味する。

【0061】

本明細書において使用する場合、用語「約」は、この用語が使用されている数の数値のプラスマイナス10%を意味する。したがって、約50%は、45%~55%の範囲内を意味する。

【0062】

本明細書において使用する場合、用語「実質的に」は、指定されている事柄の大部分ではあるが、全体ではないことを意味する。例えば、ヌクレオチド配列に関する用語「実質的に同様」は、この配列が、同じタンパク質またはペプチドに関する別の報告された配列に対し大部分は同一であることを示す；しかし、このヌクレオチド配列は、その結果得られるタンパク質の構造または機能に影響を与えない、いずれかの数の変異または突然変異を含むことができる。

【0063】

「投与」は、治療薬と併せて使用されている場合、標的組織の中もしくはその上に治療薬を直接的に投与すること、または患者に治療薬を投与し、それにより治療薬が患者に影響を与えることができることを意味する。よって、本明細書において使用する場合、用語「投与」は、SAPタンパク質と併せて使用される場合、例えば、静脈内注射（例えば、静脈内注入となり得る）、皮下送達（例えば、皮下注射または皮下送達デバイスの植え込み）によって全身的に対象にSAPタンパク質を与え、それにより治療薬が標的組織に達することを含むことができるがこれらに限定されない。

【0064】

組成物の「投与」は、例えば、静脈内、皮下、筋肉内もしくは病巣内注射、経口投与、局所投与、または他の公知技法と組み合わせたこれらの方法によって達成することができる。このような組合せ技法は、加熱、照射、超音波および送達剤の使用を含む。2種以上の異なる治療剤が投与される場合、薬剤は、同じもしくは異なる投与経路によって、および／または同じもしくは異なる時点で投与することができる。当技術分野で理解される通り、薬剤は、投薬スケジュールに従って投与することができる。

【0065】

10

20

30

40

50

本明細書において使用する場合、用語「投与レジメン」は、用量または投薬量（すなわち、S A Pタンパク質の量）および投薬スケジュール（すなわち、S A Pタンパク質の投与（a m i n i s t r a t i o n）頻度または逐次的用量間の間隔）の両方を包含する。

【0066】

「与える」は、治療薬と併せて使用されている場合、標的組織の中もしくはその上に治療薬を直接的に投与すること、または患者に治療薬を投与し、それにより治療薬が患者に影響を与えることができることを意味する。

【0067】

用語「改善する」は、本開示が、これが与えられている、適用されているまたは投与されている組織の特徴および／または物理的属性のいずれかを変化させることを伝えるように使用される。罹患状態が「改善された」場合、この罹患状態に関連する症状、徴候または物理的特徴が、縮小、低下または排除されるように、用語「改善する」は、罹患状態と併せて使用することもできる。

【0068】

本明細書において使用する場合、「単離される」は、ヒトの介入により天然状態から変更または除去されることを意味する。例えば、生きている動物に天然に存在するS A Pは、「単離されて」いないが、合成S A Pタンパク質または組換えS A Pタンパク質、またはその天然状態の共存する材料から部分的にもしくは完全に分離されたS A Pタンパク質は、「単離されて」いる。単離されたS A Pタンパク質は、実質的に精製された形態で存在することができる、または例えば、S A Pタンパク質が送達された細胞などの非天然環境において存在することができる。

【0069】

用語「模倣物」、「ペプチド模倣物」および「ペプチドミメティック（p e p t i d o m i m e t i c）」は、本明細書で互換的に使用されており、一般に、選択された天然のペプチドまたはタンパク質機能ドメイン（例えば、結合モチーフまたは活性部位）の三次結合構造または活性を模倣するペプチド、部分的ペプチドまたは非ペプチド分子を指す。これらのペプチド模倣物は、さらに後述する通り、組換えによりまたは化学的に修飾されたペプチドと共に、小分子薬物模倣物などの非ペプチド薬剤を含む。

【0070】

本明細書において使用する場合、用語「核酸」は、デオキシリボ核酸（D N A）および必要に応じて、リボ核酸（R N A）などのポリヌクレオチドを指す。この用語は、等価物として、ヌクレオチドアナログから作製されたR N AまたはD N Aのいずれかのアナログ、また、記載されている実施形態に適用可能な場合、一本鎖（例えば、センスまたはアンチセンス）および二本鎖ポリヌクレオチドを含むと理解されるべきでもある。

【0071】

「任意選択の」または「任意選択で」は、その後に記載される事象または状況が、起こっても起こらなくてもよく、この記載が、事象が起こる実例および事象が起こらない実例を含むことを意味する。

【0072】

用語「ペプチド」、「タンパク質」および「ポリペプチド」は、本明細書で互換的に使用されている。用語「精製されたタンパク質」は、好ましくは、細胞または細胞ライセートにおいてこのタンパク質（複数可）と正常においては会合する他のタンパク質から単離された、さもないとそれを実質的に含まない、タンパク質（単数または複数）の調製物を指す。用語「他の細胞タンパク質を実質的に含まない」または「他の混入タンパク質を実質的に含まない」は、20%（乾燥重量で）未満の混入タンパク質を含むタンパク質のそれぞれの個々の調製物を包含するものとして定義され、これは好ましくは、5%未満の混入タンパク質を含む。タンパク質のそれぞれの機能性形態は、当技術分野で周知の通りクローニングされた遺伝子を使用することにより、精製された調製物として調製することができる。「精製された」とは、示されている分子が、他のタンパク質（特に、精製された調製物として、または対象の再構成された混合物中のその機能においてのいずれかで、

構成要素タンパク質の特徴を実質的に遮蔽、縮小、混乱または変更し得る他のタンパク質)などの他の生体高分子の実質的非存在下で存在することを意味する。用語「精製された」は、本明細書において使用する場合、好ましくは、存在する同じ種類の生体高分子の、少なくとも80乾燥重量%、より好ましくは、85重量%、より好ましくは95~99重量%、最も好ましくは少なくとも99.8重量%の範囲内を意味する(ただし、水、緩衝液および他の小分子、特に、5000未満の分子量を有する分子は存在してよい)。用語「純粋」は、本明細書において使用する場合、好ましくは、直前に記載の「精製された」と同じ数値的限界を有する。

【0073】

「薬学的に許容される」、「生理学的に耐容できる」およびそれらの文法上の変種は、組成物、担体、希釈剤および試薬または製剤の他の成分を指す場合、互換的に使用することができ、そのレシピエントに悪心、眩暈感、発疹、胃の不調(gastric upset)または他の有害効果などの望ましくない生理学的効果を生じることなく、その材料を投与することができることを示す。

【0074】

「薬学的に許容される塩」は、酸および塩基付加塩の両方を含む。「薬学的に許容される酸付加塩」は、遊離塩基の生物学的有効性および特性を保持し、生物学的にも他の点でも望ましくないことがなく、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、炭酸、リン酸などの無機酸により形成される塩を指す。有機酸は、脂肪族、脂環式、芳香族、芳香脂肪族(araliphatic)、複素環式、カルボン酸(carboxylic)およびスルホン酸(sulfonic)クラスの有機酸から選択することができ、例えば、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(embonic acid)、フェニル酢酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸(salicyclic acid)などが挙げられる。

【0075】

本明細書において使用する場合、用語「薬学的に許容される塩、エステル、アミドおよびプロドラッグ」は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激作用、アレルギー性応答などを伴わない、患者の組織と接触した使用に適した、妥当な利益/リスク比と釣り合った、その意図される使用に有効であると共に、可能であれば、本開示の化合物の両性イオン型である化合物のカルボン酸塩、アミノ酸付加塩、エステル、アミドおよびプロドラッグを指す。

【0076】

本明細書において使用する場合、用語「治療薬」は、患者の望まれない状態または疾患を処置する、戦う、好転させる(ameliorate)、予防するまたは改善するために利用される薬剤を意味する。一部には、本開示の実施形態は、骨髄増殖性疾患、または細胞の異常増殖の処置を対象とする。

【0077】

組成物の「有効量」は、所望の結果を達成するように計算された既定量である。有効量は、ある期間にわたって所望の治療効果を生じる投与レジメンと一貫した量である。治療上有効となる有効量のため、経時的な複数用量が要求される場合がある。本明細書におけるある特定の実施形態では、有効量が特異的である場合、治療有効量が同様に参照され得る。所望の結果は、症状、徴候の維持、好転もしくは消散、または本明細書に記載されている効果のいずれか、または当技術分野で有用な効果として一般的に認識されている効果のいずれかとなり得る。本方法によって企図される活性は、必要に応じて医学的治療および/または予防的処置の両方を含む。治療および/または予防的効果を得るために本開示に従って投与される化合物の特異的な用量は、当然ながら、例えば、投与される化合物、投与経路、および処置されている状態を含む、その事例を取り巻く特定の状況によって決

10

20

30

40

50

定されるであろう。本開示の化合物の有効量は、典型的には、生理学的に耐容できる賦形剤組成物において投与された場合に、十分となるような量である。「治療有効量」は、投薬スケジュールに従って投与することができる。投薬スケジュールに従って薬物を投与する場合、症状または徴候における改善が観察される前に、ある程度の期間を要し得ることが理解される。にもかかわらず、単独でまたは組み合わせて、症状もしくは徴候における改善および／または対立遺伝子荷重の減少をもたらすまたはそれをもたらすように意図される、1つまたは複数の用量での投与が、有効量の投与の例示である。

【0078】

「N結合型」オリゴ糖は、アスパラギンを介して、アスパラギン-N-アセチルグルコサミン結合によってペプチド主鎖に連結されたオリゴ糖である。N結合型オリゴ糖は、「N-グリカン」とも呼ばれる。天然に存在するN結合型オリゴ糖は、 $\text{Man}[(\alpha 1, 6) - (\text{Man}(\alpha 1, 3)) - \text{Man}(\beta 1, 4) - \text{GlcNAc}(\beta 1, 4) - \text{GlcNAc}(\beta 1, N)]$ の共通五糖コアを有する。これは、N-アセチルグルコサミン、ガラクトース、N-アセチルガラクトサミン、フコースおよびシアル酸などの、末梢の糖の分枝（アンテナ（*antennae*）とも呼ばれる）の存在およびその数が異なる。任意選択で、この構造は、コアフコース分子および／またはキシロース分子を含有することもできる。

【0079】

用語「シアル酸」は、9-炭素カルボキシル化糖のファミリーのいずれかのメンバーを指す。シアル酸ファミリーの最も一般的なメンバーは、N-アセチル-ノイラミン酸（多くの場合、 Neu5Ac 、 NeuAc または NANA と省略）である。ファミリーの第2のメンバーは、 NeuAc のN-アセチル基がヒドロキシル化された、N-グリコリル-ノイラミン酸（ Neu5Gc または NeuGc ）である。第3のシアル酸ファミリーメンバーは、2-ケト-3-デオキシ-ノヌロソン酸（*nonulosonic acid*）（ KDN ）（*Nadano*ら（1986年）*J. Biol. Chem.* 261巻：11550～11557頁；*Kanamori*ら、*J. Biol. Chem.* 265巻：21811～21819頁（1990年））である。9-O-C₁C₆-アシル- Neu5Ac 、例えば、9-O-ラクチル（*lactyl*）- Neu5Ac または9-O-アセチル- Neu5Ac 、9-デオキシ-9-フルオロ- Neu5Ac および9-アジド-9-デオキシ- Neu5Ac などの9-置換シアル酸も含まれる。シアル酸ファミリーの総説については、例えば、*Varki, Glycobiology* 2巻：25～40頁（1992年）；*Sialic acids: Chemistry, Metabolism and Function*, R. Schauer編（*Springer-Verlag, New York*（1992年））を参照されたい。

【0080】

「遺伝子操作された」または「組換え」細胞は、細胞の遺伝物質に1個または複数の修飾を有する細胞である。このような修飾として、遺伝物質の挿入、遺伝物質の欠失、および染色体外（*extrachromosomal*）での遺伝物質の挿入が挙げられるが、これらに限定されず、このような材料が安定的に維持されているか否かは問わない。

【0081】

本明細書において使用する場合、用語「修飾された糖」は、本開示のプロセスにおいてペプチドのアミノ酸またはグリコシル残基に酵素により付加された、天然に存在するまたは天然に存在しない炭水化物を指す。修飾された糖は、糖ヌクレオチド（一、二および三ホスフェート）、活性化された糖（例えば、グリコシルハライド、グリコシルメシレート）、および活性化されていなければヌクレオチドでもない糖が挙げられるが、これらに限定されない、多数の酵素基質から選択される。「修飾された糖」は、「修飾基」により共有結合により官能化（*functionalize*）することができる。有用な修飾基として、水溶性および水不溶性ポリマー、治療部分、診断部分、ならびに生体分子が挙げられるが、これらに限定されない。修飾基による官能化の位置は、「修飾された糖」が、ペプチドまたはペプチドのグリコシル残基に酵素により付加されるのを妨げないように選択

される。

【0082】

用語「接合生殖性状態」は、本明細書において使用する場合、当技術分野で公知のおよび本明細書に記載されている検査方法によって決定される、ヘテロ接合、ホモ接合またはヘミ接合を現す試料、細胞集団または生物を指す。用語「核酸の接合生殖性状態」は、核酸の供給源が、ヘテロ接合、ホモ接合またはヘミ接合を現すかに関する決定を意味する。

「接合生殖性状態」は、配列中の単一ヌクレオチドの差を指すことができる。一部の方法において、単一突然変異に関する試料の接合生殖性状態は、ホモ接合野生型、ヘテロ接合（すなわち、一方が野生型対立遺伝子で、もう一方が突然変異型対立遺伝子）、ホモ接合突然変異型またはヘミ接合（すなわち、野生型または突然変異型対立遺伝子のいずれかの単一コピー）としてカテゴリー化することができる。臨床研究室で慣例的に行われている血漿または細胞試料の直接的配列決定は、ヘミ接合性およびホモ接合性の間を確実に識別しないため、一部の実施形態では、これらのクラスは、グループにまとめられる。例えば、野生型核酸が全く検出されないまたは最小量検出される試料は、「ヘミ接合／ホモ接合突然変異型」と命名される。一部の実施形態では、「最小量」は、約1～2%の間となり得る。他の実施形態では、最小量は、約1～3%の間となり得る。さらに他の実施形態では、「最小量」は、1%未満となり得る。

【0083】

処置方法

一部には、本開示は、SAPタンパク質を使用した、骨髓増殖性障害（MPD）を処置するための新たな遺伝学に基づく治療レジメンを提供する。一態様では、本開示は、MPDに関連する1種または複数の体細胞突然変異または細胞遺伝学的異常を保有する対象におけるMPDを処置する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子におけるMPDに関連する突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、治療有効量の血清アミロイドP（SAP）タンパク質を投与するステップを含む。本開示のSAPタンパク質は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、MPDを処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。一部の実施形態では、MPDに関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。本開示は、本明細書に記載されている特色のいずれかの組合せを有する、本明細書に記載されている方法のいずれかを企図する。

【0084】

一態様では、本開示は、突然変異型対立遺伝子荷重および／または細胞遺伝学的異常を低下させるのに有効な投薬スケジュールおよび／または投与レジメンに従ってSAPタンパク質を投与することによって、MPDに関連する1種または複数の体細胞突然変異および／または細胞遺伝学的異常を保有する対象におけるMPDを処置する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2から選択される1種または複数の遺伝子における骨髓増殖性障害に関連する突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、治療有効量の血清アミロイドP（SAP）タンパク質を投与するステップを含み、SAPタンパク質は、前記対象における前記遺伝子の突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って投与される。本開示のSAPタンパク質は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、MPDを処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。一部の実施形態では

、M P Dに関連する突然変異は、J A K 2 V 6 1 7 Fではない。

【0085】

一態様では、本開示は、S A Pタンパク質を投与することによって、M P Dに関連する突然変異型対立遺伝子荷重および／または細胞遺伝学的異常を低下させる方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2から選択される1種または複数の遺伝子における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。本開示のS A Pタンパク質は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、M P Dを処置する。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。一部の実施形態では、M P D

10

【0086】

一態様では、本開示は、S A Pタンパク質を与えている対象の突然変異状態および／または細胞遺伝学的情報の定量的および定性的解析に基づき、M P Dに対するS A Pタンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。突然変異状態の定量的解析は、突然変異型対立遺伝子荷重の測定を含むことができ、S A Pタンパク質療法の開始前、および療法の経過における異なる時点での突然変異状態の比較を含むことができる。同様に、細胞遺伝学的解析は、療法の開始前および療法の経過における異なる時点で行われる。一部の実施形態では、本方法は、（i）J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2から選択されるM P Dに関連する1種または複数の遺伝子における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（i i）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（i i i）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、S A Pタンパク質の投与が、M P Dの処置において有効であり、投与レジメンを維持することができる、または投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾することができることを示す。本開示のS A Pタンパク質は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、M P Dを処置する。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。一部の実施形態では、骨髄増殖性障害に関連する突然変異は、J A K 2 V 6 1 7 Fではない。

20

30

【0087】

一態様では、本開示は、M P Dに関連する1種または複数の体細胞突然変異および／または細胞遺伝学的異常の存在または非存在に基づき、S A Pタンパク質またはアゴニスト療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（i）骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2から選択される1種または複数の遺伝子における骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、（i i）治療有効量の血清アミロイドP（S A P）タンパク質を対象に投与するステップとを含む。本開示のS A Pタンパク質は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、M P Dを処置する。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開

40

50

示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。一部の実施形態では、MPDに関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、対象は、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1およびSF3B1から選択される1種または複数の遺伝子における突然変異を含む、および／または本開示の方法は、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1およびSF3B1から選択される1種または複数の遺伝子の突然変異解析を行うステップをさらに含む。

【0088】

本開示の上述の態様のいずれかは、細胞遺伝学的解析とさらに組み合わせて、MPD関連細胞遺伝学的異常のうちの1種または複数に関してアッセイすることができ、そのような異常として、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常が挙げられるが、これらに限定されない。Tefferiら、ASH 2014年要約631。一部の実施形態では、細胞遺伝学的解析は、International System for Human Cytogenetic Nomenclature (Cytogenetic and genome research, 2013年、DOI 10.1159/000353118として2013/07/03に事前公開)に従って行われる。一部の実施形態では、「正常」核型への割り当ては、最小で10個の分裂中期が解析されることを必要とする。一部の実施形態では、複合核型は、3種またはそれを超える別個の構造的または数値的異常の存在として定義される。一部の実施形態では、モノソーム核型は、少なくとも1種の構造的異常に関連する、2種もしくはそれを超える別個の常染色体モノソームまたは単一常染色体モノソームとして定義される(JCO, 2008年；26巻：4791頁；Tefferiら、ASH 2014年要約631)。

【0089】

骨髄増殖性疾患(MPD)は、骨髄における様々な血液細胞の過剰な産生をもたらす、造血細胞のクローン性異常によって特徴付けられる障害の一群を指す。造血幹細胞は、骨髄系、赤血球系および血小板細胞を生じるため、これらの細胞株のいずれかまたは全てにおいて、定性的および定量的変化を見ることができる。骨髄増殖性障害は、診断および処置が困難となり得る。用語「骨髄増殖性障害(MPD)」または「骨髄増殖性疾患」は、造血幹細胞またはその後代から生じる非リンパ系異形成または新生物状態を含むことを意味する。「MPD患者」は、MPDと診断された患者を含む。「骨髄増殖性疾患」は、真性赤血球増加症(PV)、本態性血小板血症(ET)および特発性骨髄線維症(IMF)または原発性骨髄線維症(PMF)を含む、骨髄増殖性疾患の特異的な分類型を包含することを意味する。この定義には、好酸球増加症候群(HES)、慢性好中球性白血病(CNL)、骨髄様化生を伴う骨髄線維症(MMM)、慢性骨髄単球性白血病(CMML)、若年性骨髄単球性白血病、慢性好塩基球性白血病、慢性好酸球性白血病および全身性肥満細胞症(SM)も含まれる。「骨髄増殖性障害」は、いずれかの未分類骨髄増殖性疾患(UMPDまたはMPD-NC)を包含することも意味する。

【0090】

ある特定の態様では、本開示は、骨髄線維症の遺伝学に基づく処置のための、単剤としてのまたは別の薬剤と組み合わせたSAPタンパク質の使用を包含する。骨髄線維症(IMF)は、de novo(原発性)であるか、または真性赤血球増加症(PV)もしくは本態性血小板血症(ET)によって先行され得る、BCR-ABL1陰性骨髄増殖性新生物(MPN)である。原発性骨髄線維症(PMF)(文献において、特発性骨髄様化生および原因不明骨髄様化生とも称される)は、単球系列の多能性造血前駆体細胞のクローン性障害である(Abdel-Wahab, O.ら(2009年)Annu. Rev. Med. 60巻：233～45頁；Varicchio, L.ら(

2009年) Expert Rev. Hematol. 2巻(3号): 315~334頁; Agrawal, M. ら(2011年) Cancer 117巻(4号): 662~76頁に総説されている)。骨髓線維症は、造血幹細胞を標的とし、キナーゼシグナル伝達の調節不全、クローン性骨髓増殖および異常サイトカイン発現を誘導する、後天的突然変異に起源をもつ(Tefferi, Blood 2011年、117巻(13号): 3494~3504頁)。この疾患は、貧血、脾腫および髄外造血によって特徴付けられ、進行性骨髓線維症および異型巨核球性過形成を特徴とする。CD34+幹/前駆体細胞は、末梢血において異常に輸送し、多臓器髄外赤血球生成は、特に、脾臓および肝臓におけるこの疾患の特徴である。骨髓構造は、進行性線維症、血管新生および骨沈着増加により変更される。生存期間中央値は、現在同定される予後因子に基づき、2年間未満から15年間超に及ぶ(Cervantes Fら、Blood 113巻: 2895~2901頁、2009年; Hussein Kら、Blood 115巻: 496~499頁、2010年; Patnaik M Mら、Eur J Haematol 84巻: 105~108頁、2010年)。

【0091】

文献において、JAK2の阻害剤が、MPDの処置および/または予防において有用であることが公知である。例えば、Tefferi, A. および Gilliland, D. G.、Mayo Clin. Proc. 80巻(7号): 947~958頁(2005年); Fernandez-Luna, J. L. ら、Haematologica 83巻(2号): 97~98頁(1998年); Harrison, C. N.、Br. J. Haematol. 130巻(2号): 153~165頁(2005年); Leukemia (2005年) 19巻、1843~1844頁; ならびに Tefferi, A. および Barbu, T.、Mayo Clin. Proc. 80巻(9号): 1220~1232頁(2005年)を参照されたい。しかし、MFの管理選択肢は、あらゆる患者の必要を満たすには現在不適切である。したがって、本明細書に提供されているものなどの、MF患者のための追加的な治療法選択肢を提供する必要がある。

【0092】

本明細書に提供されている方法の一部の実施形態では、対象は、原発性骨髓線維症を有する。本明細書に提供されている組成物および方法の一部の実施形態では、対象は、真性赤血球増加症後の骨髓線維症(PV後MF)を有する。一部の実施形態では、対象は、本態性血小板血症後の骨髓線維症(ET後MF)を有する。一部の実施形態では、対象は、高リスク骨髓線維症を有する。一部の実施形態では、対象は、中間リスク骨髓線維症(例えば、中間リスクレベル1または中間リスクレベル2)を有する。一部の実施形態では、対象は、低リスク骨髓線維症を有する。一部の実施形態では、対象は、線維症を伴わないPVまたはETを有する。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2(JAK2)のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陽性である(例えば、突然変異が存在する)、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陽性である。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2(JAK2)のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陰性である(例えば、突然変異が存在しない)、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陰性である。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLにW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を有する。一部

の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を有する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質による処置の開始に先立ち、対象は、骨髄の線維症を有し、線維症は、European Consensus on Grading of Bone Marrow Fibrosisの段階分けシステムに従って測定可能である。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質による処置の開始に先立ち、対象は、グレード2を超えるまたはこれに等しい骨髄の線維症を有する。他の実施形態では、本開示のSAPタンパク質による処置の開始に先立ち、対象は、グレード3の骨髄の線維症を有する。他の実施形態では、本開示のSAPタンパク質による処置の開始に先立ち、対象は、グレード1の骨髄の線維症を有する。

10

【0093】

ある特定の実施形態では、骨髄の線維性状態は、原発性骨髄線維症などの、骨髄の慢性骨髄増殖性新生物の固有の特色である。他の実施形態では、骨髄の線維症は、悪性+状態またはクローン性増殖性疾患に起因する状態、またはヘアリー細胞白血病、リンパ腫（例えば、ホジキンまたは非ホジキンリンパ腫）、多発性骨髄腫もしくは慢性骨髄性白血病（CML）などが挙げられるが、これらに限定されない血液学的障害に関連する。さらに他の実施形態では、骨髄の線維症は、骨髄への固形腫瘍転移に関連する。

【0094】

ある特定の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質を含むSAPタンパク質；組換えヒトSAPタンパク質など）は、線維症を減少させて臓器機能を回復させることによる、骨髄線維症の処置に使用される。単剤としてのまたは併用療法の一部としての本開示のSAPタンパク質の投与は、臓器の線維症（例えば、骨髄の線維症）の減少をもたらし、臓器機能の改善および／または回復、ヘモグロビンにおける改善、血小板もしくは白血球細胞などの血球数における改善、または症状における改善をもたらした。臓器機能における改善は、例えば、12、20、24週間または24週間超の処置にわたる（例えば、30週間超、36週間超、42週間超、48週間超）、処置経過にわたって対象における血小板レベルおよび／またはヘモグロビンにおける改善を評価することにより評価することができる。

20

【0095】

本明細書に記載されている通り、ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、1種もしくは複数のMPD関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）に突然変異を有する、または1種もしくは複数のMPD関連細胞遺伝学的異常を有する対象において単独療法として使用される。任意選択で、対象は、他の特色（例えば、骨髄の線維症または他の症状の初期レベルなどの徴候のレベル）に基づき特徴付けられる。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2（JAK2）のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陽性である（例えば、突然変異が存在する）、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陽性である。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2（JAK2）のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陰性である（例えば、突然変異が存在しない）、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陰性である。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLにW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を有する。

30

40

50

る。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を有する。一部の実施形態では、MPDに関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。一部の実施形態では、対象は、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1およびSF3B1から選択される1種または複数の遺伝子に1個または複数の突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常から選択される1種または複数の細胞遺伝学的異常を有する。

10

【0096】

本明細書に記載されている通り、ある特定の実施形態では、治療レジメンへのSAPの追加またはSAP療法による治療レジメンの置き換えは、処置（SAPの非存在下での）に対して無応答性、抵抗性または他の点で不応性である対象、または処置の有効性が衰えているもしくは衰えた対象において使用される。ある特定の実施形態では、SAPの追加またはこれによる置換は、別の治療剤による処置が適した患者集団の拡大に使用される（例えば、SAPは、別の薬物のための治療ウィンドウまたは患者集団を拡大する）。一部の実施形態では、患者は、処置に不耐性である、またはこれに対し不適格である（例えば、SAPの非存在下でのルキソリチニブ療法）。例として、ある特定のがんは、化学療法に対して無応答性であることが公知である。理論に制約されることなく、線維症は、腫瘍への有効な薬物アクセスを邪魔する場合がある。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2（JAK2）のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陽性である（例えば、突然変異が存在する）、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陽性である。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2（JAK2）のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陰性である（例えば、突然変異が存在しない）、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陰性である。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLにW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を有する。一部の実施形態では、MPDに関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。一部の実施形態では、対象は、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1およびSF3B1から選択される1種または複数の遺伝子に1個または複数の突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常から選択される1種または複数の細胞遺伝学的異常を有する。

20

30

40

【0097】

ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、単独療法として使用される、および／または無処置患者の処置に使用される。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、その疾患が、European Consensus on Grading of B

50

one Marrow Fibrosisによって評価されるグレード2またはグレード3の骨髄の線維症などの、ある特定の線維性スコアを有する患者において使用される。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2 (JAK2) のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陽性である (例えば、突然変異が存在する)、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陽性である。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2 (JAK2) のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陰性である (例えば、突然変異が存在しない)、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陰性である。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLにW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を有する。一部の実施形態では、MPDに関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。一部の実施形態では、対象は、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1およびSF3B1から選択される1種または複数の遺伝子に1個または複数の突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常から選択される1種または複数の細胞遺伝学的異常を有する。

【0098】

ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、単独療法として使用される、および／または貧血もしくは血小板減少性である患者の処置に使用される。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2 (JAK2) のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陽性である (例えば、突然変異が存在する)、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陽性である。一部の実施形態では、対象は、ヒトヤヌスキナーゼ2 (JAK2) のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異が陰性である (例えば、突然変異が存在しない)、またはヒトJAK2のバリン617からフェニルアラニンへの突然変異に対応する突然変異が陰性である。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLにW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を有する。一部の実施形態では、MPDに関連する突然変異は、JAK2V617Fではない。一部の実施形態では、対象は、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1およびSF3B1から選択される1種または複数の遺伝子に1個または複数の突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、モノソーム核型；

i n v (3) ; i (1 7 q) ; - 7 / 7 q - ; 1 1 q もしくは 1 2 p 異常 ; 複合非モノソーム ; 5 q - ; + 8 ; + 9 を除く他の常染色体トリソミー ; 2 0 q - の単独異常 ; 1 q 重複もしくは他のいずれかの転座 ; および - Y もしくは他の性染色体異常 ; 正常、または 1 3 q - もしくは + 9 の単独異常 ; または他の単独異常から選択される 1 種または複数の細胞遺伝学的異常を有する。

【0099】

ある特定の態様では、骨髄増殖性疾患は、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症 (myelofibrosis)、P V 後の骨髄線維症または E T 後の骨髄線維症である。

10

【0100】

上述の態様のいずれかでは、本開示の S A P タンパク質 (例えば、グリコシル化 S A P タンパク質などの組換えヒト S A P タンパク質) は、本明細書に記載されている追加的な治療剤のいずれかと組み合わせて使用することができる。一部の実施形態では、追加的な治療剤は、抗がん剤である。

【0101】

骨髄増殖性障害に関連する例示的な突然変異

J A K 2

ヤヌスキナーゼ 2 (J A K 2) は、非受容体型チロシンキナーゼであり、膜結合型サイトカイン受容体と、その後に核内で転写因子として作用する S T A T (シグナル伝達転写活性化因子タンパク質) 分子などのシグナル伝達経路の下流メンバーとの間の中間として作用する。古くから、突然変異および他の遺伝的変更によるタンパク質チロシンキナーゼ (P T K) シグナル伝達の攪乱は、M P D に関連すると仮定されてきた。例えば、ヤヌスキナーゼ 2 (J A K 2) 遺伝子突然変異などの突然変異型 P T K は、M P D または他の欠損を有する患者において構成的活性をもたらしすることができる。そのようなものとして、ある特定の実施形態では、処置されている対象は、本明細書に記載されている突然変異などの J A K 2 に突然変異を有する、および / または対象は、処置の前および / またはその最中に対立遺伝子荷重に関して評価される。

20

【0102】

J A K 2 V 6 1 7 F 置換は、そのキナーゼ活性の自己阻害を軽減し、構成的に活性化キナーゼをもたらし、下流 J A K 2 - S T A T シグナル伝達経路を増大する (例えば、S a h a r i n e n ら、M o l C e l l B i o l . 2 0 0 0 年、2 0 巻 : 3 3 8 7 ~ 3 3 9 5 頁 ; S a h a r i n e n ら、M o l B i o l C e l l 2 0 0 3 年、1 4 巻 (4 号) : 1 4 4 8 ~ 1 4 5 9 頁を参照)。突然変異が、血液試料、骨髄および頬側試料から検出され、M P D の病因に寄与し (例えば、B a x t e r ら、L a n c e t 2 0 0 5 年、3 6 5 巻 : 1 0 5 4 ~ 1 0 6 0 頁 ; J a m e s ら、N a t u r e 2 0 0 5 年、4 3 8 巻 : 1 1 4 4 ~ 1 1 4 8 頁 ; Z h a o ら、J . B i o l . C h e m . 2 0 0 5 年、2 8 0 巻 (2 4 号) : 2 2 7 8 8 ~ 2 2 7 9 2 頁 ; L e v i n e ら、C a n c e r C e l l 2 0 0 5 年、7 巻 : 3 8 7 ~ 3 9 7 頁 ; K r a l o v i c s ら、N e w E n g . J . M e d . 2 0 0 5 年、3 5 2 巻 (1 7 号) : 1 7 7 9 ~ 1 7 9 0 頁を参照)、ホモ接合およびヘテロ接合細胞集団が、M P D 患者において報告された (B a x t e r ら、L a n c e t 2 0 0 5 年、3 6 5 巻 : 1 0 5 4 ~ 1 0 6 0 頁)。転座、点突然変異、欠失および挿入を含む、ヒトにおける他の J A K 2 突然変異が報告されている。例えば、S c o t t ら、N E n g l J M e d . 2 0 0 7 年、3 5 6 巻 : 4 5 9 ~ 4 6 8 頁 ; L i ら、B l o o d 2 0 0 8 年、1 1 1 巻 : 3 8 6 3 ~ 3 8 6 6 頁を参照されたい。

30

40

【0103】

大部分はコドン 5 3 6 ~ 5 4 4 の間で生じ、3 ~ 6 ヌクレオチドの欠失を伴う、1 0 種を超える異なる配列変異が、J A K 2 のエクソン 1 2 において見出された。いくつかの重複およびいくつかの 2 b p 置き換えも見出された (L a u g h l i n ら、J M o l D i a g n . 2 0 1 0 年、1 2 巻 (3 号) : 2 7 8 ~ 2 8 2 頁)。

50

【0104】

JAK2における他の例示的な突然変異は、T514M、N533Y、L545V、F547Lなどのエクソン12ミスセンス突然変異；F556V、R564L、R564Q、V567L、V567A、G571S、G571R、L579F、H587N、S591Lなどのエクソン13ミスセンス突然変異、エクソン14ミスセンス突然変異H606Q、エクソン14欠失S593-N622；エクソン15ミスセンス突然変異L624P、I645V（例えば、米国特許出願公開第2010/0112571号を参照）；K539L、V617I、C618R、L624P、全体的エクソン14欠失（Leeら、BMC Struct Biol. 2009年、9巻：58頁）を含む。

【0105】

JAK2ゲノム核酸は、ヒト第9染色体に位置する。ヒトJAK2 mRNAの全体または部分の例示的な配列として、GenBank受託番号NM_004972（配列番号5）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0106】

JAK2核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列GenBank受託番号NM_004972（配列番号5）と比較して少なくとも1個の核酸変異を含むJAK2核酸配列を意味する。JAK2核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としてのNP_004963（配列番号6）と比較して決定することができる。

【0107】

一部の実施形態では、JAK2突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、JAK2における突然変異は、エクソン12突然変異またはエクソン14突然変異を含む。一部の実施形態では、JAK2突然変異は、JAK2V617Fである。一部の実施形態では、JAK2突然変異は、T514M、N533Y、L545V、F547L、F556V、R564L、R564Q、V567L、V567A、G571S、G571R、L579F、H587N、S591L、H606Q、L624P、I645V、K539L、V617I、C618R、L624P、エクソン14欠失S593-N622または全体的エクソン14欠失である。

【0108】

一部の実施形態では、本開示は、MPDを処置する方法であって、JAK2に突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、JAK2突然変異を保有する）、治療有効量のSAPタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、MPDを処置する方法であって、JAK2に突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突然変異型JAK2対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量のSAPタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髓増殖性障害を患う対象において、JAK2における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、JAK2突然変異状態に基づいてMPDに対するSAPタンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、（i）JAK2における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（ii）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（iii）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、SAPタンパク質の投与が、骨髓増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／

10

20

30

40

50

または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、JAK2における1個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、SAPタンパク質またはアゴニスト療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、(i) 骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、JAK2において骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、(ii) 治療有効量のSAPタンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとしてJAK2突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) JAK2における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、(ii) (i)で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、(iii) 第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、JAK2突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、JAK2における突然変異は、エクソン12突然変異またはエクソン14突然変異を含む。一部の実施形態では、JAK2突然変異は、JAK2 V617Fである。一部の実施形態では、JAK2突然変異は、T514M、N533Y、L545V、F547L、F556V、R564L、R564Q、V567L、V567A、G571S、G571R、L579F、H587N、S591L、H606Q、L624P、I645V、K539L、V617I、C618R、L624P、エクソン14欠失S593-N622または全体的エクソン14欠失である。本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髄増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。一部の実施形態では、骨髄増殖性障害に関連する突然変異は、JAK2 V617Fではない。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2などが挙げられるが、これらに限定されない、1種または複数のMPD関連遺伝子における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1またはSF3B1における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、PV後の骨髄線維症またはET後の骨髄線維症である。

10

20

30

40

50

【0109】

本開示の方法は、JAK2突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血（例えば、細胞画分から抽出されたJAK2核酸）、血漿、血清、骨髓および組織試料（例えば、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む、いずれか適した生体試料となることができる。JAK2核酸は、例えば、ゲノムDNA、RNA（例えば、mRNA）または対象RNAから調製されたcDNAを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、JAK2核酸突然変異は、個体由来のJAK2タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型JAK2タンパク質の同定は、JAK2遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、JAK2核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1種または複数の追加的なMPD関連遺伝子（例えば、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、JAK2突然変異に加えて、1個または複数（例えば、2、3、4、5、6、7または8個）の突然変異が、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

10

【0110】

MPL

20

骨髓増殖性白血病タンパク質（MPL）は、骨髓による血小板の産生を調節するトロンボポエチンの受容体である。近年、MPLの膜貫通一膜近傍領域における後天的突然変異（MPL W515突然変異）が、JAK2 V617F陰性PMFのおよそ5%およびETの全症例の約1%において報告された（Pardananら、Blood. 2006年、108巻（10号）：3472～3476頁およびPikmanら、PLoS Med. 2006年、3巻：e270頁）。JAK2 V617Fと同様に、MPL突然変異は、JAK-STAT経路の構成的活性化を付与する。

【0111】

他の例示的なMPL突然変異は、米国特許出願公開第2013/0053262号に記載されているエクソン10および11における欠失／挿入突然変異などの、MPL核酸における突然変異を含む。

30

【0112】

MPLゲノム核酸は、ヒト第1染色体に位置する。ヒトMPL mRNAの全体または部分の例示的な配列として、GenBank受託番号NM_005373（配列番号7）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0113】

MPL核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列GenBank受託番号NM_005373（配列番号7）と比較して少なくとも1個の核酸変異を含むMPL核酸配列を意味する。MPL核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としてのNP_005364（配列番号8）と比較して決定することができる。

40

【0114】

一部の実施形態では、MPL突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、MPLにおける突然変異は、MPLのエクソン10における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、MPLにおける突然変異は、MPLのエクソン11における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、MPLにおける突然変異は、コドン515における突然変異を含む。一部の実施形態では、MPLにおける突然変異は、MPLW515L、MPLW515K、MPLW51

50

5 AまたはM P L W 5 1 5 Rを含む。

【0115】

一部の実施形態では、本開示は、M P Dを処置する方法であって、M P Lに突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、M P L突然変異を保有する）、治療有効量のS A Pタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、M P Dを処置する方法であって、M P Lに突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突然変異型M P L対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量のS A Pタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髄増殖性障害を患う対象において、M P Lにおける突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、M P L突然変異状態に基づいてM P Dに対するS A Pタンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、（i）M P Lにおける突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（i i）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（i i i）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、S A Pタンパク質の投与が、骨髄増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、M P Lにおける1個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、S A Pタンパク質療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（i）骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、M P Lにおいて骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、（i i）治療有効量のS A Pタンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示のS A Pタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとしてM P L突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、（i）M P Lにおける突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（i i）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（i i i）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、M P L突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、M P Lにおける突然変異は、M P Lのエクソン10における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、M P Lにおける突然変異は、M P Lのエクソン11における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、M P Lにおける突然変異は、コドン515における突然変異を含む。一部の実施形態では、M P Lにおける突然変異は、M P L W 5 1 5 L、M P L W 5 1 5 K、M P L W 5 1 5 AまたはM P L W 5 1 5 Rを含む。本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髄増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、

10

20

30

40

50

グリコシル化 S A P タンパク質などの組換えヒト S A P タンパク質)は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示の S A P タンパク質 (例えば、グリコシル化 S A P タンパク質などの組換えヒト S A P タンパク質)は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、J A K 2、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1 または I D H 2 などが挙げられるが、これらに限定されない、1 種または複数の M P D 関連遺伝子における 1 個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、T E T 2、C B L、I K Z F 1、L N K、D N M T 3 A、C U X 1、U 2 A F 1 または S F 3 B 1 における 1 個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；i n v (3) ；i (1 7 q) ；- 7 / 7 q - ；1 1 q もしくは 1 2 p 異常；複合非モノソーム；5 q - ；+ 8 ；+ 9 を除く他の常染色体トリソミー；2 0 q - の単独異常；1 q 重複もしくは他のいずれかの転座；および - Y もしくは他の性染色体異常；正常、または 1 3 q - もしくは + 9 の単独異常；または他の単独異常などの 1 種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、M P D は、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髓線維症または未分類骨髓増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髓線維症は、原発性骨髓線維症、P V 後の骨髓線維症または E T 後の骨髓線維症である。

【0116】

本開示の方法は、M P L 突然変異の存在または非存在に関して、M P D を有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血 (すなわち、細胞画分から抽出された M P L 核酸)、血漿、血清、骨髓および組織試料 (例えば、生検材料およびパラフィン包埋組織)を含む、いずれか適した生体試料となることができる。M P L 核酸は、例えば、ゲノム D N A、R N A (例えば、m R N A) または対象 R N A から調製された c D N A を含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、M P L 核酸突然変異は、個体由来の M P L タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型 M P L タンパク質の同定は、M P L 遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、M P L 核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1 種または複数の追加的な骨髓増殖性障害関連遺伝子 (例えば、J A K 2、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1 または I D H 2) における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、M P L 突然変異に加えて、1 個または複数 (例えば、2、3、4、5、6、7 または 8 個) の突然変異が、本開示の S A P タンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0117】

C A L R

カルレティキュリン (C A L R) は、高度に保存された多機能性小胞体 (E R) タンパク質であり、E R 内側でのカルシウム恒常性およびタンパク質フォールディングにおける不可欠な役割を果たす。E R の外側では、C A L R は、様々なインテグリン媒介性細胞接着、遺伝子核輸送、プログラムされた細胞除去および免疫原性細胞死を調節する。C A L R タンパク質をコードする C A L R は、染色体 1 9 p 1 3 . 2 に位置し、9 個のエクソンを含有し、4 . 2 k b 領域に及ぶ。C A L R のエクソン 9 における体細胞挿入または欠失は、変異していない J A K 2 を有する骨髓増殖性新生物の試料の 7 0 % ~ 8 4 % という高い比率で見出された (Klampfl ら、N Engl J Med. 2 0 1 3 年、3 6 9 巻 (2 5 号) : 2 3 7 9 ~ 9 0 頁および Nangalia ら、N Engl J Med. 2 0 1 3 年、3 6 9 巻 (2 5 号) : 2 3 9 1 ~ 2 4 0 5 頁)。C A L R 突然変異は、多数の正電荷を持つアミノ酸を含有する新規 C 末端をもたらすフレームシフトを引き起こすが、野生型 C 末端の大部分は負電荷を持つ。

。

【0118】

本態性血小板血症および原発性骨髄線維症において、CALR突然変異ならびにJAK2およびMPL突然変異は、相互排他的であった（Klampflら、N Engl J Med. 2013年、369巻（25号）：2379～90頁）。CALR突然変異は、その相対的に高い頻度のため、JAK2/MPL陰性ETまたはPMF患者に有用な診断マーカーである。さらに、表現型徴候は、JAK2突然変異のものとは異なる。

【0119】

CALRゲノム核酸は、ヒト第19染色体に位置する。ヒトCALR mRNAの全体または部分の例示的な配列として、GenBank受託番号NM_004343（配列番号9）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0120】

CALR核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列GenBank受託番号NM_004343（配列番号9）と比較して少なくとも1個の核酸変異を含むCALR核酸配列を意味する。CALR核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としてのNP_004334（配列番号10）と比較して決定することができる。

【0121】

一部の実施形態では、CALR突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、CALRにおける突然変異は、CALRのエクソン9における挿入／欠失突然変異を含む。

20

【0122】

一部の実施形態では、本開示は、MPDを処置する方法であって、CALRに突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、CALR突然変異を保有する）、治療有効量のSAPタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、MPDを処置する方法であって、CALRに突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突然変異型CALR対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量のSAPタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髄増殖性障害を患う対象において、CALRにおける突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、CALR突然変異状態に基づいてMPDに対するSAPタンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、（i）CALRにおける突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（ii）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（iii）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、SAPタンパク質の投与が、骨髄増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、CALRにおける1個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、SAPタンパク質療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（i）骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、CALRにおいて骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、（ii）治療有効量のSA

30

40

50

Pタンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとしてCALR突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) CALRにおける突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、(ii) (i)で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、(iii) 第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、CALR突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、CALRにおける突然変異は、CALRのエクソン9における挿入／欠失突然変異を含む。本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髄増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、JAK2、MPL、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2などが挙げられるが、これらに限定されない、1種または複数のMPD関連遺伝子における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1またはSF3B1における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、PV後の骨髄線維症またはET後の骨髄線維症である。

【0123】

本開示の方法は、CALR突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血（例えば、細胞画分から抽出されたCALR核酸）、血漿、血清、骨髄および組織試料（すなわち、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む、いずれか適した生体試料となることができる。CALR核酸は、例えば、ゲノムDNA、RNA（例えば、mRNA）または対象RNAから調製されたcDNAを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、CALR核酸突然変異は、個体由来のCALRタンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型CALRタンパク質の同定は、CALR遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、CALR核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1種または複数の追加的なMPD関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部

の実施形態では、C A L R突然変異に加えて、1個または複数（例えば、2、3、4、5、6、7または8個）の突然変異が、本開示のS A Pタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0124】

A S X L 1

追加的性櫛様転写調節因子1 (a d d i t i o n a l s e x c o m b s l i k e t r a n s c r i p t i o n a l r e g u l a t o r 1) (A S X L 1) は、正常な造血に必要とされ、転写因子の活性化および転写抑制に関与すると考えられる。A S X L 1突然変異は、骨髄増殖性新生物における効果のエピジェネティック調節不全に寄与すると考えられる。A S X L 1突然変異は、エクソン12を伴い、A S X L 1のプレクストリン相同ドメインをトランケートする。近年の試験では、A S X L 1突然変異頻度は、P M Fにおいて13%であり、P V / E T後のM Fにおいて23%であり、急性転化期 (b l a s t - p h a s e) M P Nにおいて18%であった（同じ試験は、T E T 2、J A K 2、E Z H 2、I D HおよびM P L突然変異と突然変異型A S X L 1の共起性 (c o - o c c u r r e n c e) を実証した (A b d e l - W a h a b ら、A S H A n n u M e e t A b s t r. 2 0 1 0 年、1 1 6 巻：3 0 7 0 号)) 。

10

【0125】

A S X L 1ゲノム核酸は、ヒト第20染色体に位置する。ヒトA S X L 1 m R N A の全体または部分の例示的な配列として、G e n B a n k 受託番号N M _ 0 0 1 1 6 4 6 0 3 (配列番号11) が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0126】

A S X L 1核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列G e n B a n k 受託番号N M _ 0 0 1 1 6 4 6 0 3 (配列番号11) と比較して少なくとも1個の核酸変異を含むA S X L 1核酸配列を意味する。A S X L 1核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としてのN P _ 0 0 1 1 5 8 0 7 5 (配列番号12) と比較して決定することができる。

【0127】

一部の実施形態では、A S X L 1突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、A S X L 1における突然変異は、A S X L 1のエクソン12における挿入／欠失突然変異を含む。

30

【0128】

一部の実施形態では、本開示は、M P Dを処置する方法であって、A S X L 1に突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、A S X L 1突然変異を保有する）、治療有効量のS A Pタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、M P Dを処置する方法であって、A S X L 1に突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突然変異型A S X L 1対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量のS A Pタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髄増殖性障害を患う対象において、A S X L 1における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、A S X L 1突然変異状態に基づいてM P Dに対するS A Pタンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) A S X L 1における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与前に測定される、ステップと、(i i) (i) で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与後に測定される、ステップと、(i i i) 第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対

40

50

立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、SAPタンパク質の投与が、骨髄増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、ASXL1における1個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、SAPタンパク質療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、(i)骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、ASXL1において骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、(ii)治療有効量のSAPタンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとしてASXL1突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i)ASXL1における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与前に測定される、ステップと、(ii)(i)で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAPタンパク質の投与後に測定される、ステップと、(iii)第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、ASXL1突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、ASXL1における突然変異は、ASXL1のエクソン12における挿入／欠失突然変異を含む。本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髄増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、JAK2、MPL、CALR、EZH2、RSF2、IDH1またはIDH2などが挙げられるが、これらに限定されない、1種または複数のMPD関連遺伝子における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、TET2、CBF1、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1またはSF3B1における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、PV後の骨髄線維症またはET後の骨髄線維症である。

【0129】

本開示の方法は、ASXL1突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。

試料は、例えば、全血（例えば、細胞画分から抽出されたA S X L 1 核酸）、血漿、血清、骨髄および組織試料（すなわち、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む、いずれか適した生体試料となることができる。A S X L 1 核酸は、例えば、ゲノムD N A、R N A（例えば、m R N A）または対象R N Aから調製されたc D N Aを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、A S X L 1 核酸突然変異は、個体由来のA S X L 1 タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型A S X L 1 タンパク質の同定は、A S X L 1 遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、A S X L 1 核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1 種または複数の追加的なM P D 関連遺伝子（例えば、J A K 2、M P L、C A L R、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1 またはI D H 2）における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、A S X L 1 突然変異に加えて、1 個または複数（例えば、2、3、4、5、6、7または8個）の突然変異が、本開示のS A Pタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0130】

E Z H 2

enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit (zeste エンハンサー 2 ポリコム抑制性複合体 2 サブユニット) (E Z H 2) は、メチルトランスフェラーゼ (H 3 L y s - 2 7 トリメチル化に関連するポリコム抑制性複合体 2) の一部である。一試験において、E Z H 2 の突然変異頻度は、C M M L において 1 3 % であり、異型 C M L において 1 3 % であり、M F (P M F または P V / E T 後の M F) において 1 3 % であり、M D S / M P N - U において 1 0 % であり、M D S において 6 % であり、P V において 3 % であり、好酸球増加症候群 / 慢性好酸球性白血病において 3 % であった (Ernst ら、Nat Genet. 2 0 1 0 年、4 2 巻 : 7 2 2 ~ 7 2 6 巻)。この試験における E Z H 2 変異体は、早期の鎖終結または重大なドメインのトランケーションをもたらすことが予想される、ミスセンス、フレームシフトまたは停止突然変異を含んだ。M P N 関連 E Z H 2 突然変異は、腫瘍サプレッサー活性を有することが考えられる。

【0131】

E Z H 2 ゲノム核酸は、ヒト第 7 染色体に位置する。ヒト E Z H 2 m R N A の全体または部分の例示的な配列として、Gen Bank 受託番号 NM_001203247 (配列番号 1 3) が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0132】

E Z H 2 核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列 Gen Bank 受託番号 NM_001203247 (配列番号 1 3) と比較して少なくとも 1 個の核酸変異を含む E Z H 2 核酸配列を意味する。E Z H 2 核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としての NP_001190176 (配列番号 1 4) と比較して決定することができる。

【0133】

一部の実施形態では、E Z H 2 突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。

【0134】

一部の実施形態では、本開示は、M P D を処置する方法であって、E Z H 2 に突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、E Z H 2 突然変異を保有する）、治療有効量の S A P タンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、M P D を処置する方法であって、E Z H 2 に突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突

然変異型 E Z H 2 対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量の S A P タンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髓増殖性障害を患う対象において、E Z H 2 における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、E Z H 2 突然変異状態に基づいて M P D に対する S A P タンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) E Z H 2 における突然変異の第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与前に測定される、ステップと、(i i) (i) で測定された同じ突然変異の第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与後に測定される、ステップと、(i i i) 第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重および第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、S A P タンパク質（例えば、S A P タンパク質）の投与が、骨髓増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、E Z H 2 における 1 個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、S A P タンパク質療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、(i) 骨髓増殖性障害を有する対象の細胞が、E Z H 2 において骨髓増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、(i i) 治療有効量の S A P タンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示の S A P タンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして E Z H 2 突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) E Z H 2 における突然変異の第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与前に測定される、ステップと、(i i) (i) で測定された同じ突然変異の第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与後に測定される、ステップと、(i i i) 第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重および第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、E Z H 2 突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。本開示の S A P タンパク質（例えば、グリコシル化 S A P タンパク質などの組換えヒト S A P タンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髓増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示の S A P タンパク質（例えば、グリコシル化 S A P タンパク質などの組換えヒト S A P タンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示の S A P タンパク質（例えば、グリコシル化 S A P タンパク質などの組換えヒト S A P タンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、S R S F 2、I D H 1 または I D H 2 などが挙げられるが、これらに限定されない、1 種または複数の M P D 関連遺伝子における 1 個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、T E T 2、C B L、I K Z F 1、L N K、D N M T 3 A、C U X 1、U 2 A F 1 または S F 3 B 1 における 1 個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；i n v (3)；i (1 7 q)；- 7 / 7 q -；1 1 q もしくは 1 2 p 異常；複合非モノソーム；5 q -；+ 8；+ 9 を除く他の常染色体トリソミー；2

10

20

30

40

50

0 q-の単独異常；1 q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または1 3 q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髓線維症または未分類骨髓増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髓線維症は、原発性骨髓線維症、PV後の骨髓線維症またはET後の骨髓線維症である。

【0135】

本開示の方法は、EZH2突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血（すなわち、細胞画分から抽出されたEZH2核酸）、血漿、血清、骨髓および組織試料（例えば、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む、いずれか適した生体試料となることができる。EZH2核酸は、例えば、ゲノムDNA、RNA（例えば、mRNA）または対象RNAから調製されたcDNAを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、EZH2核酸突然変異は、個体由来のEZH2タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型EZH2タンパク質の同定は、EZH2遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、EZH2核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1種または複数の追加的なMPD関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、SRSF2、IDH1またはIDH2）における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、EZH2突然変異に加えて、1個または複数（例えば、2、3、4、5、6、7または8個）の突然変異が、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0136】

SRSF2

セリン／アルギニンリッチスプライシング因子2（SRSF2）は、RNAスプライシング機構の構成要素である。SRSF2突然変異は、プレmRNAスプライシングを変更にし、原発性骨髓線維症において相対的に一般的であり、不良な転帰を予測するものと思われる。一試験において、187名のPMF患者を試験したところ、17%が、P95H、P95L、P95RおよびP95Sなどのミスセンス突然変異、24bp欠失（del P95-R102）ならびに挿入突然変異274-275insACC（G93D；P95R）を含むSRSF2突然変異を持つことが見出された。SRSF2突然変異は、IDH突然変異とクラスター形成した（Lashoら、Blood 2012年、120巻（20号）：4168～71頁）。

【0137】

SRSF2ゲノム核酸は、ヒト第17染色体に位置する。ヒトSRSF2 mRNAの全体または部分の例示的な配列として、GenBank受託番号NM_001195427（配列番号15）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0138】

SRSF2核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列GenBank受託番号NM_001195427（配列番号15）と比較して少なくとも1個の核酸変異を含むSRSF2核酸配列を意味する。SRSF2核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としてのNP_001182356（配列番号16）と比較して決定することができる。

【0139】

一部の実施形態では、SRSF2突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿

入突然変異または転座である。一部の実施形態では、S R S F 2における突然変異は、P 9 5 H、P 9 5 L、P 9 5 R、P 9 5 S、d e l P 9 5 - R 1 0 2またはG 9 3 D ; P 9 5 R挿入を含む。

【0140】

一部の実施形態では、本開示は、M P Dを処置する方法であって、S R S F 2に突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、S R S F 2突然変異を保有する）、治療有効量のS A Pタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、M P Dを処置する方法であって、S R S F 2に突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突然変異型S R S F 2対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量のS A Pタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髓増殖性障害を患う対象において、S R S F 2における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、S R S F 2突然変異状態に基づいてM P Dに対するS A Pタンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、（i）S R S F 2における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（i i）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（i i i）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、S A Pタンパク質の投与が、骨髓増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、S R S F 2における1個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、S A Pタンパク質療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、（i）骨髓増殖性障害を有する対象の細胞が、S R S F 2において骨髓増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、（i i）治療有効量のS A Pタンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示のS A Pタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとしてS R S F 2突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、（i）S R S F 2における突然変異の第1の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第1の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与前に測定される、ステップと、（i i）（i）で測定された同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第2の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A Pタンパク質の投与後に測定される、ステップと、（i i i）第2の突然変異型対立遺伝子荷重および第1の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、S R S F 2突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、S R S F 2における突然変異は、P 9 5 H、P 9 5 L、P 9 5 R、P 9 5 S、d e l P 9 5 - R 1 0 2またはG 9 3 D ; P 9 5 R挿入を含む。本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髓増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のS A Pタンパク質（例えば、グリコシル化S A Pタンパク質などの組換えヒトS A Pタン

10

20

30

40

50

パク質)は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質(例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質)は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、IDH1またはIDH2などが挙げられるが、これらに限定されない、1種または複数のMPD関連遺伝子における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1またはSF3B1における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髓線維症または未分類骨髓増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髓線維症は、原発性骨髓線維症、PV後の骨髓線維症またはET後の骨髓線維症である。

【0141】

本開示の方法は、SRSF2突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血(例えば、細胞画分から抽出されたSRSF2核酸)、血漿、血清、骨髓および組織試料(すなわち、生検材料およびパラフィン包埋組織)を含む、いずれか適した生体試料となることができる。SRSF2核酸は、例えば、ゲノムDNA、RNA(例えば、mRNA)または対象RNAから調製されたcDNAを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、SRSF2核酸突然変異は、個体由来のSRSF2タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型SRSF2タンパク質の同定は、SRSF2遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、SRSF2核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1種または複数の追加的なMPD関連遺伝子(例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、IDH1またはIDH2)における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、SRSF2突然変異に加えて、1個または複数(例えば、2、3、4、5、6、7または8個)の突然変異が、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0142】

IDH1およびIDH2

イソシトレートデヒドロゲナーゼ(IDH)突然変異は、エクソン4を伴い、3個のアルギニン残基である、IDH1におけるR132およびR172、ならびにIDH2におけるR140に影響を与える。IDH1突然変異は、イソシトレートから2-ケトグルタレートへの変換活性の喪失、および2-ケトグルタレートから2-ヒドロキシグルタレートへの変換活性の獲得をもたらす。一試験は、PVにおけるほぼ2%、ETにおける1%、PMFにおける4%および急性転化期MPNにおける22%のIDH突然変異頻度を同定した(Tefferiら、Leukemia. 2010年、24巻：1302~1309頁)。IDHが突然変異した患者は、JAK2 46/1ハプロタイプがヌル欠損である可能性が高く、複合核型を呈する可能性が低い。

【0143】

IDH1ゲノム核酸は、ヒト第2染色体に位置する。ヒトIDH1 mRNAの全体または部分の例示的な配列として、GenBank受託番号NM_005896(配列番号17)が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本明細書に

組み込まれる。

【0144】

IDH1 核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列 GenBank 受託番号 NM_005896 (配列番号 17) と比較して少なくとも 1 個の核酸変異を含む IDH1 核酸配列を意味する。IDH1 核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としての NP_005887 (配列番号 18) と比較して決定することができる。

【0145】

一部の実施形態では、IDH1 突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、IDH1 における突然変異は、IDH1 のエクソン 4 における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、IDH1 における突然変異は、R132 におけるミスセンス突然変異を含む。

【0146】

一部の実施形態では、本開示は、MPD を処置する方法であって、IDH1 に突然変異を保有する対象に (例えば、対象の造血細胞の一部は、IDH1 突然変異を保有する)、治療有効量の SAP タンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、MPD を処置する方法であって、IDH1 に突然変異を保有する対象に (例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る)、前記対象における突然変異型 IDH1 対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量の SAP タンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髄増殖性障害を患う対象において、IDH1 における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、IDH1 突然変異状態に基づいて MPD に対する SAP タンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) IDH1 における突然変異の第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAP タンパク質の投与前に測定される、ステップと、(ii) (i) で測定された同じ突然変異の第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAP タンパク質の投与後に測定される、ステップと、(iii) 第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重および第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、SAP タンパク質の投与が、骨髄増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、IDH1 における 1 個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、SAP タンパク質またはアゴニスト療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、(i) 骨髄増殖性障害を有する対象の細胞が、IDH1 において骨髄増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、(ii) 治療有効量の SAP タンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示の SAP タンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして IDH1 突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) IDH1 における突然変異の第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAP タンパク質の投与前に測定される、ステップと、(ii) (i) で測定された同じ突然変異の第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重が、SAP タンパク質の投与後に測定される、ステップと、(iii) 第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重および第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施

形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、IDH1突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、IDH1における突然変異は、IDH1のエクソン4における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、IDH1における突然変異は、R132におけるミスセンス突然変異を含む。本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髄増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2またはIDH2などが挙げられるが、これらに限定されない、1種または複数のMPD関連遺伝子における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1またはSF3B1における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；および-Yもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、PV後の骨髄線維症またはET後の骨髄線維症である。

【0147】

本開示の方法は、IDH1突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血（すなわち、細胞画分から抽出されたIDH1核酸）、血漿、血清、骨髄および組織試料（例えば、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む、いずれか適した生体試料となることができる。IDH1核酸は、例えば、ゲノムDNA、RNA（例えば、mRNA）または対象RNAから調製されたcDNAを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、IDH1核酸突然変異は、個体由来のIDH1タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型IDH1タンパク質の同定は、IDH1遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、IDH1核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1種または複数の追加的なMPD関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2またはIDH2）における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、IDH1突然変異に加えて、1個または複数（例えば、2、3、4、5、6、7または8個）の突然変異が、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0148】

IDH2ゲノム核酸は、ヒト第15染色体に位置する。ヒトIDH1 mRNAの全体または部分の例示的な配列として、GenBank受託番号NM_001289910（配列番号19）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの配列は、参照により本

明細書に組み込まれる。

【0149】

I D H 2 核酸配列に関して、「突然変異」は、参照配列 G e n B a n k 受託番号 N M _ 0 0 1 2 8 9 9 1 0 (配列番号 1 9) と比較して少なくとも 1 個の核酸変異を含む I D H 2 核酸配列を意味する。I D H 2 核酸における突然変異は、コードされるポリペプチド配列に変化を生じることができる、またはこの突然変異は、コードされるポリペプチド配列に関してサイレントになることができる。アミノ酸配列の変化は、参照アミノ酸配列としての N P _ 0 0 1 2 7 6 8 3 9 (配列番号 2 0) と比較して決定することができる。

【0150】

一部の実施形態では、I D H 2 突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、I D H 2 における突然変異は、I D H 2 のエクソン 4 における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、I D H 2 における突然変異は、R 1 7 2 または R 1 4 0 におけるミスセンス突然変異を含む。

【0151】

一部の実施形態では、本開示は、M P D を処置する方法であって、I D H 2 に突然変異を保有する対象に（例えば、対象の造血細胞の一部は、I D H 2 突然変異を保有する）、治療有効量の S A P タンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、M P D を処置する方法であって、I D H 2 に突然変異を保有する対象に（例えば、突然変異は、対象の一部の造血細胞に見出され得る）、前記対象における突然変異型 I D H 2 対立遺伝子荷重を低下させるのに有効な投与レジメンに従って、治療有効量の S A P タンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、骨髓増殖性障害を患う対象において、I D H 2 における突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるための方法を提供する。一部の実施形態では、本開示は、I D H 2 突然変異状態に基づいて M P D に対する S A P タンパク質療法の有効性をモニターする方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) I D H 2 における突然変異の第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与前に測定される、ステップと、(i i) (i) で測定された同じ突然変異の第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与後に測定される、ステップと、(i i i) 第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重および第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を同定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、S A P タンパク質の投与が、骨髓増殖性障害の処置において有効であり、投与レジメンを維持しても、投薬量および／または投与頻度を減少させるように修飾してもよいことを示す。代替的な実施形態では、第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、投与レジメンは、投薬量および／または投与頻度を増加させるように修飾することができる。一態様では、本開示は、I D H 2 における 1 個または複数の体細胞突然変異の存在または非存在に基づいて、S A P タンパク質療法に対する応答性を決定する方法を提供する。一部の実施形態では、本方法は、(i) 骨髓増殖性障害を有する対象の細胞が、I D H 2 において骨髓増殖性障害に関連する突然変異を保有するかどうかを決定するステップと、対象が、前記突然変異型対立遺伝子を保有する場合、(i i) 治療有効量の S A P タンパク質を対象に投与するステップとを含む。一態様では、本開示は、本開示の S A P タンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして I D H 2 突然変異を使用する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、(i) I D H 2 における突然変異の第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与前に測定される、ステップと、(i i) (i) で測定された同じ突然変異の第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重を測定するステップであって、前記第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重が、S A P タンパク質の投与後に測定される、ステップと、(i i i) 第 2 の突然変異型対立遺伝子荷重および第 1 の突然変異型対立遺伝子荷重の間の差を測定するステップとを含む。さらなる実施形態では、第 1 の

10

20

30

40

50

突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、肯定的な予後を示す。代替的な実施形態では、第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重に変化がない場合、これは、中立的または否定的な予後を示す。一部の実施形態では、IDH2突然変異は、ミスセンス突然変異、欠失突然変異、挿入突然変異または転座である。一部の実施形態では、IDH2における突然変異は、IDH2のエクソン4における挿入／欠失突然変異を含む。一部の実施形態では、IDH2における突然変異は、R172またはR140におけるミスセンス突然変異を含む。本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独でまたは追加的な薬剤と組み合わせて使用されて、骨髄増殖性障害を処置する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、単独療法として使用される。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質（例えば、グリコシル化SAPタンパク質などの組換えヒトSAPタンパク質）は、抗がん剤と組み合わせて使用される。ある特定の実施形態では、前述の方法のいずれかは、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2またはIDH1などが挙げられるが、これらに限定されない、1種または複数のMPD関連遺伝子における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、TET2、CBL、IKZF1、LNK、DNMT3A、CUX1、U2AF1またはSF3B1における1個または複数の突然変異に関してアッセイするステップをさらに含む。一部の実施形態では、前述の方法のいずれかは、モノソーム核型；inv(3)；i(17q)；-7/7q-；11qもしくは12p異常；複合非モノソーム；5q-；+8；+9を除く他の常染色体トリソミー；20q-の単独異常；1q重複もしくは他のいずれかの転座；およびYもしくは他の性染色体異常；正常、または13q-もしくは+9の単独異常；または他の単独異常などの1種または複数の細胞遺伝学的異常に関してアッセイするステップをさらに含む。本開示の上述の態様のいずれかの一部の実施形態では、MPDは、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、PV後の骨髄線維症またはET後の骨髄線維症である。

【0152】

本開示の方法は、IDH2突然変異の存在または非存在に関して、MPDを有するまたはこれを有すると疑われる個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップを含む。試料は、例えば、全血（すなわち、細胞画分から抽出されたIDH2核酸）、血漿、血清、骨髄および組織試料（例えば、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む、いずれか適した生体試料となることができる。IDH2核酸は、例えば、ゲノムDNA、RNA（例えば、mRNA）または対象RNAから調製されたcDNAを含む、いずれか都合のよい核酸型となることができる。あるいは、IDH2核酸突然変異は、個体由来のIDH2タンパク質を評価することによって推論することができる。例えば、突然変異型IDH2タンパク質の同定は、IDH2遺伝子における突然変異を示す。適した検出方法論は、オリゴヌクレオチドプローブハイブリダイゼーション、プライマー伸長反応、核酸配列決定およびタンパク質配列決定を含む。一部の実施形態では、個体は、IDH2核酸突然変異に関するスクリーニングと同時にまたはそれに先立って、1種または複数の追加的なMPD関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2またはIDH1）における他の病的突然変異の存在に関してスクリーニングされる。一部の実施形態では、IDH2突然変異に加えて、1個または複数（例えば、2、3、4、5、6、7または8個）の突然変異が、本開示のSAPタンパク質による処置に対する応答を測定するための予後マーカーとして使用される。

【0153】

前述のいずれかのある特定の方法において、本開示は、前述の遺伝子のうちの1種または複数における突然変異などの、MPDに関連する突然変異を含むと決定された対象（例えば、対象の細胞の一部は、突然変異を保有する）を処置する方法を提供する。前述のい

ずれかのある特定の実施形態では、対象は、ヘテロ接合またはホモ接合である。ある特定の実施形態では、対象は、M P Dに関連する2個以上の突然変異（例えば、2個、3個または4個以上）を保有する。

【0154】

検出方法

本開示の方法を使用して、骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2）における突然変異を検出する、または細胞遺伝学的異常などの他の遺伝的変更を検出することもできる。ある特定の実施形態では、本方法は、対象由来の細胞（例えば、血液細胞、骨髄細胞などの体液細胞(bodily fluid cell)など）の試料において、骨髄増殖性障害関連遺伝子にお
ける遺伝的突然変異の存在または非存在を検出するステップを含む。例えば、このような
遺伝的突然変異は、1) 1種または複数の遺伝子からの1個または複数のヌクレオチドの
欠失；2) 1種または複数の遺伝子への1個または複数のヌクレオチドの付加；3) 1種
または複数の遺伝子の1個または複数のヌクレオチドの置換；4) 1種または複数の遺
伝子の染色体再配列（例えば、転座）；5) 1種または複数の遺伝子のメッセンジャーR N
A転写物のレベルの変更；6) ゲノムD N Aのメチル化パターンの異常修飾などの、1種
または複数の遺伝子の異常修飾；7) 1種または複数の遺伝子のメッセンジャーR N A転
写物の非野生型スプライシングパターンの存在；8) 1種または複数のタンパク質の非野
生型レベル；9) 1種または複数の遺伝子の対立遺伝子喪失；および10) 1種または複
数のタンパク質の不適正な翻訳後修飾のうち少なくとも1種の存在を確認することにより
検出することができる。本明細書に記載されている通り、1種または複数の遺伝子にお
ける突然変異の検出に使用することができる、当技術分野で公知の多数のアッセイが存在す
る。一部の実施形態では、遺伝子の突然変異状態は、末梢血試料を収集し、試料からD N
Aを抽出し、P C Rによって解析することにより測定される。一部の実施形態では、ゲノ
ムD N Aは、末梢血白血球から抽出される。一部の実施形態では、ゲノムD N Aは、末梢
血顆粒球から抽出される。一部の実施形態では、1種または複数の遺伝子における突然変
異は、P C Rによって検出される。一部の実施形態では、1種または複数の遺伝子にお
ける突然変異は、全エクソーム配列決定によって検出される。一部の実施形態では、1種ま
たは複数の遺伝子における突然変異は、S a n g e r配列決定によって検出される。一部
の実施形態では、1種または複数の遺伝子における突然変異は、全ゲノム配列決定によっ
て検出される。

【0155】

ある特定の実施形態では、遺伝的突然変異の検出は、リアルタイムP C R、C O L D -
P C R、アンカーP C R、再帰的(recursive) P C RまたはR A C E P C Rなどのポ
リメラーゼ連鎖反応(P C R)における（例えば、米国特許第4, 683, 195号、同
第4, 683, 202号および同第5, 854, 033号を参照）、あるいはライゲーシ
ョン連鎖反応(L C R)における（例えば、Landegranら(1988年) Science 241
巻: 1077頁；ProdromouおよびPearl(1992年) Protein Eng. 5巻: 827頁；な
らびにNakazawaら(1994年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91巻: 360頁を参照
）、プローブ/プライマーの使用を含み、そのうち後者は、骨髄増殖性障害関連遺伝子（
例えば、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1ま
たはI D H 2）における点突然変異の検出に特に有用となり得る(Abravayaら(1995
年) Nucleic Acids Res. 23巻: 675頁を参照)。本方法は、対象から細胞の試料を収
集し、試料の細胞から核酸（例えば、ゲノム、m R N Aまたはその両方）を単離し、遺
伝子（存在するのであれば）のハイブリダイゼーションおよび増幅が起こるような条件下で
、骨髄増殖性障害関連遺伝子に特異的にハイブリダイズする1種または複数のプライマー
と核酸試料とを接触させ、増幅産物の存在または非存在を検出する、または増幅産物のサ
イズを検出して対照試料と長さを比較するステップを含むことができる。P C Rおよび/
またはL C Rが、本明細書に記載されている突然変異の検出に使用される技法のいずれか
と併せた予備的増幅ステップとしての使用に望ましくなり得ることが予期される。

【0156】

代替増幅方法は、自家持続配列複製法 (Guatelliら (1990年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87巻: 1874頁)、転写増幅系 (Kwohら (1989年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86巻: 1173頁)、Q-ベータレプリカーゼ (Lizardiら (1988年) Bio-Technology 6巻: 1197頁) または他のいずれかの核酸増幅方法を含み、続いて、当業者に周知の技法を使用した増幅された分子の検出が行われる。これらの検出スキームは、非常に少数で存在する場合の核酸分子の検出に特に有用である。

【0157】

代替的な実施形態では、試料細胞由来の1種または複数の骨髄増殖性障害関連遺伝子 (例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2) における突然変異は、制限酵素切断パターンの変更によって同定することができる。例えば、試料および対照DNAが単離され、任意選択で増幅され、1種または複数の制限エンドヌクレアーゼで消化され、ゲル電気泳動によって断片長サイズが決定され比較される。試料および対照DNAの間の断片長サイズにおける差は、試料DNAにおける突然変異を示す。さらに、配列特異的リボザイムの使用 (例えば、米国特許第5,498,531号を参照) を使用して、リボザイム切断部位の発生または喪失による特異的突然変異の存在をスコア付けすることができる。

【0158】

他の実施形態では、本明細書に記載されている骨髄増殖性障害関連遺伝子 (例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2) のうちの1種または複数における遺伝的突然変異は、試料および対照核酸、例えば、DNAまたはRNAを、数百種または数千種のオリゴヌクレオチドプローブを含有する高密度アレイにハイブリダイズさせることにより同定することができる (Croninら (1996年) Human Mutation 7巻: 244頁; Kozalら (1996年) Nature Medicine 2巻: 753頁)。例えば、核酸における遺伝的突然変異は、Cronin, M. T.ら、上記参照に記載されている発光DNAプローブを含有する二次元アレイで同定することができる。簡潔に説明すると、プローブの第1のハイブリダイゼーションアレイを使用して、試料および対照中のDNAの長いストレッチを走査して、逐次的な重複プローブの線形アレイを作製することにより、配列間の塩基変化を同定することができる。このステップは、点突然変異の同定を可能にする。このステップに続いて、検出された全ての変異体または突然変異に相補的な、より小型の特殊化されたプローブアレイを使用することにより、特異的突然変異の特徴付けを可能にする第2のハイブリダイゼーションアレイが為される。各突然変異アレイは、一方が野生型遺伝子に相補的であり、他方が突然変異型遺伝子に相補的である、平行したプローブセットで構成される。

【0159】

さらに別の実施形態では、当技術分野で公知の種々の配列決定反応のいずれかを使用して、骨髄増殖性障害関連遺伝子を直接的に配列決定し、試料遺伝子の配列を対応する野生型 (対照) 配列と比較することにより、突然変異を検出することができる。配列決定反応の例として、MaxamおよびGilbert ((1977年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74巻: 560頁) またはSanger ((1977年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74巻: 5463頁) によって開発された技法に基づく反応が挙げられる。質量分析による配列決定 (例えば、PCT国際出願公開番号WO94/16101; Cohenら (1996年) Adv. Chromatogr. 36巻: 127~162頁; およびGriffinら (1993年) Appl. Biochem. Biotechnol. 38巻: 147頁を参照) を含む、診断アッセイ ((1995年) Biotechniques 19巻: 448頁) を行う際に種々の自動配列決定手順のいずれかを利用することができることも企図される。

【0160】

骨髄増殖性障害関連遺伝子 (例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2) における突然変異を検出するための他の方法は、切断剤からの保護が使用されて、RNA/RNAまたはRNA/DNAヘテロデュ

プレックスにおけるミスマッチした塩基を検出する方法を含む (Myersら (1985年) Science 230巻: 1242頁)。一般に、当技術分野の技法である「ミスマッチ切断」は、野生型配列を含有する (標識された) RNAまたはDNAを、組織試料から得られた潜在的な突然変異型RNAまたはDNAとハイブリダイズさせることによって形成されたヘテロデュプレックスを提供することにより開始される。二本鎖デュプレックスは、対照および試料ストランドの間の塩基対ミスマッチにより存在するものなどの、デュプレックスの一本鎖領域を切断する薬剤で処理される。例えば、RNA/DNAデュプレックスは、RNaseで処理することができ、DNA/DNAハイブリッドは、S1スクレアーゼで処理して、ミスマッチした領域を酵素により消化することができる。他の実施形態では、DNA/DNAまたはRNA/DNAデュプレックスのいずれかは、ミスマッチした領域を消化するために、ヒドロキシルアミンまたは四酸化オスミウムでおよびピペリジンで処理することができる。ミスマッチした領域の消化後に続いて、得られた材料を変性ポリアクリルアミドゲルにおいてサイズによって分離して、突然変異の部位を決定する。例えば、Cottonら (1988年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85巻: 4397頁; Saleebaら (1992年) Methods Enzymol. 217巻: 286頁を参照されたい。一実施形態では、対照DNAまたはRNAは、検出のために標識することができる。

【0161】

また別の実施形態では、ミスマッチ切断反応は、細胞の試料から得たcDNAにおける点突然変異を検出およびマッピングするための定義されたシステムにおいて、二本鎖DNAにおけるミスマッチした塩基対を認識する1種または複数のタンパク質 (いわゆる「DNAミスマッチ修復」酵素) を用いる。例えば、E. coliのmutY酵素は、G/AミスマッチにおけるAを切断し、HeLa細胞由来のチミジンDNAグリコシラーゼは、G/TミスマッチにおけるTを切断する (Hsuら (1994年) Carcinogenesis 15巻: 1657頁)。例示的な実施形態によれば、骨髄増殖性障害関連遺伝子配列、例えば、野生型配列に基づくプローブを、被験細胞 (複数可) 由来のcDNAまたは他のDNA産物にハイブリダイズさせる。デュプレックスをDNAミスマッチ修復酵素で処理し、切断産物があるとすれば、電気泳動プロトコールなどから検出することができる。例えば、米国特許第5, 459, 039号を参照されたい。

【0162】

他の実施形態では、電気泳動の移動度の変更は、骨髄増殖性障害関連遺伝子における突然変異の同定に使用されるであろう。例えば、一本鎖高次構造多型分析 (SSCP) を使用して、突然変異型および野生型核酸の間の電気泳動の移動度における差を検出することができる (Oritaら (1989年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86巻: 2766頁、さらには、Cotton (1993年) Mutat. Res. 285巻: 125頁; およびHayashi (1992年) Genet. Anal. Tech. Appl. 9巻: 73頁も参照されたい)。試料および対照核酸の一本鎖DNA断片は、変性され、復元させられるであろう。一本鎖核酸の二次構造は、配列に応じて変動し、その結果生じる電気泳動の移動度変更は、単一の塩基変化の検出でさえも可能にする。DNA断片は、標識することができる、または標識されたプローブにより検出することができる。アッセイの感度は、二次構造が配列の変化により感受性である場合に、RNA (DNAよりも) を使用することにより増強することができる。一実施形態では、対象方法は、ヘテロデュプレックス解析を利用して、電気泳動の移動度の変化に基づいて二本鎖ヘテロデュプレックス分子を分離する (Keenら (1991年) Trends Genet. 7巻: 5頁)。

【0163】

さらに別の実施形態では、変性剤の勾配を含有するポリアクリルアミドゲル中の突然変異型または野生型断片の動きは、変性濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) を使用してアッセイされる (Myersら (1985年) Nature 313巻: 495頁)。解析方法としてDGGEが使用される場合、例えば、PCRによりおよそ40bp (by) の高融解温度のGCリッチDNAのGCクランプを付加することにより、DNAは、完全には変性しないことを保証するように修飾されるであろう。さらなる実施形態では、変性勾配の代わりに温度

勾配が使用されて、対照および試料DNAの移動度における差を同定する（RosenbaumおよびReissner（1987年）Biophys. Chem. 265巻：12753頁）。

【0164】

点突然変異を検出するための他の技法の例として、選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅または選択的プライマー伸長が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、公知の突然変異が中央に配置された、オリゴヌクレオチドプライマーを調製し、完全なマッチが見出される場合のみにハイブリダイゼーションを可能にする条件下で、標的DNAにハイブリダイズさせることができる（Saikiら（1986年）Nature 324巻：163頁；Saikiら（1989年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86巻：6230頁）。オリゴヌクレオチドが、ハイブリダイズ用の膜に取り付けられ、標識された標的DNAとハイブリダイズする場合、このような対立遺伝子特異的オリゴヌクレオチドは、PCR増幅された標的DNAまたは多数の異なる突然変異にハイブリダイズされる。

【0165】

あるいは、選択的PCR増幅に依存する対立遺伝子特異的増幅技術は、本開示と併せて使用することができる。特異的増幅のためのプライマーとして使用されるオリゴヌクレオチドは、分子の中央に（増幅が、差次的ハイブリダイゼーションに依存することができるように）（Gibbsら（1989年）Nucl. Acids Res. 17巻：2437頁）、または適切な条件下で、ミスマッチがポリメラーゼ伸長を防止または低下することができる、一方のプライマーの3'末端の最も末端に（Prossner（1993年）Tibtech 11巻：238頁）、目的の突然変異を保有することができる。加えて、突然変異の領域に新規制限部位を導入して、切断に基づく検出を作製することが望ましくなり得る（Gaspariniら（1992年）Mol. Cell Probes 6巻：1頁）。ある特定の実施形態では、増幅は、増幅のためのTaqリガーゼを使用して行うこともできることが予期される（Barany（1991年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88巻：189頁）。そのような場合、ライゲーションは、5'配列の3'末端に完全なマッチが存在する場合にのみ起こり、増幅の存在または非存在を探索することにより特異的部位における公知の突然変異の存在を検出することを可能にするであろう。一部の実施形態では、例えば、対立遺伝子識別が、-1位におけるミスマッチおよび-2位におけるロックド核酸（LNA）の相乗効果によって増強される、定量的リアルタイム対立遺伝子特異的PCRが使用されて、突然変異の存在または非存在を検出および／または定量化する（Nussenzveigら（2007年）Exp Hematol. 35巻（1号）：32～8頁）。

【0166】

ある特定の例示的な実施形態では、骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）に対応するmRNAのレベルは、当技術分野で公知の方法を使用して、生体試料におけるin situおよび／またはin vitro形式のいずれかによって決定することができる。一部の実施形態では、MPD関連miRNAのレベルは、当技術分野で公知の方法を使用して、生体試料におけるin situおよび／またはin vitro形式のいずれかによって決定することができる。一部の実施形態では、MPD関連mRNAまたはmiRNAは、エキソソームに存在する。多くの発現検出方法は、単離されたRNAを使用する。in vitro方法のため、mRNAの単離に対して選択しないいずれかのRNA単離技法を、血液細胞由来のRNAの精製に利用することができる（例えば、Ausubelら編、Current Protocols in Molecular Biology、John Wiley & Sons、New York 1987年1999頁を参照）。その上、多数の細胞および／または試料は、例えば、Chomczynski（1989年、米国特許第4,843,155号）の単一ステップRNA単離プロセスなどの当業者に周知の技法を使用して、容易に加工することができる。

【0167】

単離されたmRNAは、サザンまたはノーザン解析、ポリメラーゼ連鎖反応解析およびプローブアレイが挙げられるが、これらに限定されない、ハイブリダイゼーションまたは増幅アッセイにおいて使用することができる。ある特定の例示的な実施形態では、mRNA

Aレベルの検出のための診断方法は、検出されている遺伝子によってコードされるmRNAにハイブリダイズすることができる核酸分子（プローブ）と、単離されたmRNAとを接触させるステップを含む。核酸プローブは、例えば、少なくとも7、15、30、50、100、250または500ヌクレオチドの長さの、骨髄増殖性障害関連遺伝子をコードするmRNAまたはゲノムDNAにストリンジェントな条件下で特異的にハイブリダイズするのに十分なオリゴヌクレオチドなどの全長cDNAまたはその部分となることができる。本開示の診断アッセイにおける使用のための他の適したプローブは、本明細書に記載されている。プローブとmRNAとのハイブリダイゼーションは、問題となっている突然変異が発現されていることを示す。

【0168】

一形式において、例えば、単離されたmRNAをアガロースゲルで泳動し、ゲルからニトロセルロースなどの膜へとmRNAを移動させることにより、mRNAは、固体表面に固定化され、プローブと接触させられる。代替形式において、例えば、遺伝子チップアレイにおいては、プローブ（複数可）が固体表面に固定化され、mRNAがプローブ（複数可）と接触させられる。当業者であれば、骨髄増殖性障害関連遺伝子によってコードされるmRNAのレベルの検出における使用のために、公知のmRNA検出方法を容易に適応させることができる。

【0169】

試料における骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）に対応するmRNAのレベルを決定するための代替法は、例えば、rtPCR（米国特許第4,683,195号および同第4,683,202号に示されている実験的实施形態）、定量的リアルタイム対立遺伝子特異的PCR（Borowczykら（2015年）Thromb Res. 135巻（2号）：272～80頁）、COLDP-PCR（Liら（2008年）Nat. Med. 14巻：579頁）、リガーゼ連鎖反応（Barany、1991年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、88巻：189頁）、自家持続配列複製法（Guatelliら、1990年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87巻：1874頁）、転写増幅系（Kwohら（1989年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86巻：1173頁）、Q-ベータレプリカーゼ（Lizardiら（1988年）Bio/Technology 6巻：1197頁）、ローリング・サークル複製（米国特許第5,854,033号）または他のいずれかの核酸増幅方法による核酸増幅のプロセスと、それに続く、当業者に周知の技法を使用した増幅された分子の検出を含む。これらの検出スキームは、非常に少数で存在する場合の核酸分子の検出に特に有用である。本明細書において使用する場合、増幅プライマーは、遺伝子の5'または3'領域（それぞれプラスおよびマイナスストランド、または逆もまた同じ）にアニールし、それらの間に短い領域を含有することができる、一対の核酸分子であると定義されている。一般に、増幅プライマーは、約10～30ヌクレオチドの長さであり、約50～200ヌクレオチドの長さの領域を挟む。適切な条件下で、適切な試薬を用いると、このようなプライマーは、プライマーに挟まれたヌクレオチド配列を含む核酸分子の増幅を可能にする。

【0170】

in situ方法のため、mRNAは、検出に先立ち試料（例えば、体液（例えば、血液細胞））から単離される必要はない。このような方法において、細胞または組織試料は、公知の組織学的方法を使用して調製／加工される。続いて、試料は、支持体、典型的にはスライドガラス上に固定化された後に、本開示のmRNAにハイブリダイズすることができるプローブと接触させられる。

【0171】

決定は、骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）の正規化された発現レベルに基づくことができる。発現レベルは、マーカーの発現をマーカーではない遺伝子、例えば、構成的に発現されるハウスキーピング遺伝子の発現と比較することにより、マーカーの絶対的発現レベルを補正することにより正規化される。正規化に適した遺伝子は、アクチン遺

10

20

30

40

50

伝子などのハウスキーピング遺伝子または上皮細胞特異的遺伝子を含む。この正規化は、ある供給源由来の患者試料に対する別の供給源由来の患者試料における発現レベルの比較を可能にする。

【0172】

本開示によれば、骨髄増殖性障害関連突然変異の存在または非存在は、突然変異した遺伝子によってコードされるタンパク質（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）を解析することにより決定することもできる。タンパク質レベルでの突然変異の検出は、当該分野で周知のいずれかの方法によって検出することができる。一実施形態では、骨髄増殖性障害関連タンパク質における突然変異の検出は、タンパク質を単離し、これをアミノ酸配列決定に付すことにより行われる。この操作は、配列決定に先立ちタンパク質分解的または化学的手段によるタンパク質の断片化を必要とする場合がある。アミノ酸配列を決定する方法は、当技術分野で周知である。

10

【0173】

突然変異したタンパク質の検出は、例えば、抗体、アプタマー、リガンド；基質、他のタンパク質もしくはタンパク質断片、他のタンパク質結合剤、または断片の質量分析を使用して達成することができる。好ましくは、タンパク質検出剤は、本開示の突然変異したタンパク質に特異的であり、したがって、突然変異したタンパク質および野生型タンパク質または別の変異体形態の間を識別することができる。これは一般に、例えば、変異体および野生型タンパク質の間で異なるタンパク質の領域に結合する検出剤を選択または設計することにより達成することができる。

20

【0174】

突然変異したタンパク質を検出するための好ましい薬剤の1つは、タンパク質の変異体形態に選択的に結合することができる抗体である。野生型および突然変異したタンパク質の間を識別することができる抗体は、当技術分野で公知のいずれか適した方法によって作製することができる。抗体は、モノクローナルもしくはポリクローナル抗体、単一鎖もしくは二本鎖、キメラもしくはヒト化抗体、または抗原結合性断片に対応することが当業技術の水準で公知の部分を含む免疫グロブリン分子の部分となることができる。

【0175】

ポリクローナル抗体を製造するための方法は、当技術分野で周知である。典型的には、抗体は、突然変異を含む突然変異したタンパク質免疫原性断片をホワイトニュージールランドウサギに投与することにより（例えば、皮下注射により）作製される。抗原（例えば、突然変異型JAK2、MPL、CLR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）は典型的に、複数の部位に注射され、注射は、複数回反復されて（例えば、およそ隔週）、免疫応答を誘導する。望ましくは、ウサギは、免疫を増強するためのアジュバントを同時に投与される。続いて、ポリクローナル抗体は、例えば、抗体を捕捉するために同じ抗原を使用したアフィニティークロマトグラフィーによって、血清試料から精製される。抗体は、天然のタンパク質と交差反応する抗体を除去することにより、突然変異に対して特異的になるように作製することができる。

30

【0176】

突然変異したタンパク質（例えば、突然変異型JAK2、MPL、CLR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）の検出のための *in vitro* 方法は、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、ラジオイムノアッセイ（RIA）、ウェスタンブロット、免疫沈降、免疫蛍光およびタンパク質アレイチップ（例えば、抗体またはアプタマーのアレイ）も含む。イムノアッセイおよび関連するタンパク質検出方法に関するさらなる情報については、Current Protocols in Immunology、John Wiley & Sons、N.Y.およびHage「Immunoassays」、Anal Chem：1999年6月15日；71巻（12号）：294R～304R頁を参照されたい。アミノ酸変異体を検出する追加的な分析方法として、電気泳動の移動度変更（例えば、2次元電気泳動）、トリプシンペプチド消化変更、細胞に基づくまたは無細胞アッセイにおけるJAK2キナーゼ活性変更、リ

40

50

ガンドまたは抗体結合パターンの変更、等電点変更、および直接的アミノ酸配列決定が挙げられるが、これらに限定されない。

【0177】

本開示は、生体試料における1種または複数の骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）における1個または複数の突然変異の存在を検出するためのキットも包含する。例えば、本キットは、生体試料におけるマーカーゲノムDNA、ポリペプチド、タンパク質、mRNAなどを検出することができる標識された化合物または薬剤；および試料における突然変異の存在または非存在を決定するための手段を含むことができる。化合物または薬剤は、適した容器内に包装することができる。本キットは、本キットを使用して、マーカーペプチドまたは核酸における突然変異を検出するための指示をさらに含むことができる。

10

【0178】

生体試料収集および調製

本開示の方法および組成物を使用して、個体から得た生体試料を使用して、骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）および／または骨髄増殖性障害関連タンパク質（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）における突然変異を検出することができる。被験試料を得る方法は、当業者に周知であり、そのようなものとして、吸引、組織切片、血液または他の液の採取、外科的または針生検などが挙げられるが、これらに限定されない。被験試料は、骨髄増殖性障害を有すると診断された、または骨髄増殖性障害を患っていると疑われる、または骨髄増殖性障害のための治療法を受けている個体または患者から得ることができる。被験試料は、細胞を含有する液体または組織となることができる。試料として、羊水、生検材料、血液、血液細胞、骨髄、細針生検試料、腹水（peritoneal fluid）、羊水、血漿、胸膜液、唾液、精液、血清、組織または組織ホモジネート、組織の凍結またはパラフィン切片を挙げることができるがこれらに限定されない。試料は、組織の切片作製、分画、精製または細胞オルガネラ分離など、加工することもできる。必要であれば、試料は、遠心分離などによって収集または濃縮することができる。試料の細胞は、例えば、酵素、熱、界面活性剤、超音波処理またはこれらの組合せによる処理によって、溶解に付すことができる。溶解処理は、個体の細胞に由来する十分な量の核酸を得て、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して検出するために行われる。あるいは、骨髄増殖性障害関連遺伝子における突然変異は、参照により本明細書に組み込まれる、米国特許出願第11/408,241号（公開番号US2007-0248961）に記載されている方法に従って、無細胞体液を使用して検出することができる。

20

30

【0179】

血漿および血清調製方法は、当技術分野で周知である。「新鮮」血漿もしくは血清、または凍結（貯蔵）しその後解凍した血漿もしくは血清のいずれかを使用することができる。凍結（貯蔵）した血漿または血清は、解凍および使用するまで-20~-70セ氏温度の貯蔵条件で最適に維持するべきである。「新鮮」血漿または血清は、使用するまで冷蔵または氷上で維持するべきであり、核酸（例えば、RNA、DNAまたは総核酸）抽出は、可能なかぎり迅速に行われるべきである。例示的な方法について後述する。血液は、標準方法によって、血清調製のための抗凝固薬なしで、またはEDTA、クエン酸ナトリウム、ヘパリンもしくは血漿調製のための同様の抗凝固薬ありのいずれかで、収集チューブ、典型的にはシリコン処理したガラスへと採取することができる。貯蔵のための血漿または血清を調製する場合、絶対要件ではないが、凍結に先立ち全血から血漿または血清が先ず分画されることが好ましい。これは、ポルフィリンおよびヘマチンなどの、PCRに対する阻害剤の放出により、増幅アッセイの感度を低下させ得るまたは増幅アッセイに干渉し得る、凍結解凍された細胞の溶解から放出された外来性細胞内RNAの負荷を低下させる。「新鮮」血漿または血清は、300~800倍の重力で5~10分間の穏やかな遠

40

50

心分離を使用した遠心分離によって全血から分画することができる、または他の標準方法によって分画することができる。アポトーシス小体を分画することができる高速の遠心分離速度は、回避するべきである。ヘパリンは、RT-PCRに干渉する場合があるため、ヘパリン処理した血液の使用は、逆転写に先立つヘパラナーゼによる前処理とそれに続くカルシウム除去を必要とし得る。Imai, H.ら、J. Virol. Methods 36巻：181～184頁（1992年）。よって、EDTAは、PCR増幅が計画されている血液検体に適した抗凝固薬である。

【0180】

核酸抽出および増幅

増幅されるべき核酸は、例えば、生物、細胞培養物、組織試料など、生体試料に由来することができる。生体試料は、いずれかの動物、好ましくは、哺乳動物を含む対象に由来することができる。好ましい対象は、疾患の診断または処置のために医療提供者による診察を受けている患者となり得るヒトである。生体試料は、例えば、胎児、若年成人、成人などのライフステージから得ることができる。特に好ましい対象は、骨髄増殖性障害関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）における突然変異に関して検査されているヒトである。

【0181】

様々な抽出方法が、DNAまたはRNAの単離に適している。適した方法は、フェノール・クロロホルム抽出を含む。Maniatisら、Molecular Cloning, A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、16. 54頁（1989年）を参照されたい。多数の市販のキットも、適したDNAおよびRNAを生じ、そのようなものとして、QIAamp（商標）mini血液キット、Agencourt Genfind（商標）、Roche Cobas（登録商標）Roche MagNA Pure（登録商標）またはEppendorf Phase Lock Gels（登録商標）を使用したフェノール：クロロホルム抽出、およびNuccliSens抽出キット（Biomerieux、Marcy l'Etoile、France）が挙げられるが、これらに限定されない。他の方法において、mRNAは、MagNA Pure LC mRNA HSキットおよびMagNA Pure LC Instrument（Roche Diagnostics Corporation、Roche Applied Science、Indianapolis、Ind.）を使用して、患者血液／骨髄試料から抽出することができる。

【0182】

血液、血清、血漿および骨髄または他の造血組織から総核酸、DNAおよびRNAを単離するための多数の方法が、当技術分野で公知である。実際に、多数の発表されたプロトコル、ならびに市販のキットおよびシステムを利用することができる。例として、ただし限定を目的とすることなく、このようなキット、システムおよび発表されたプロトコルの例について後述する。市販のキットは、QIAamp DNA Blood MiniKit（Cat. #51104、Qiagen、Valencia、Calif.）、QIAamp RNA Blood MiniKit（Cat. #52304、Qiagen、Valencia、Calif.）などのQiagen製品；WizardゲノムDNAキット（Cat. #A1620、Promega Corp.、Madison、Wis.）、Wizard SVゲノムDNAキット（Cat. #A2360、Promega Corp.、Madison、Wis.）、SV全RNAキット（Cat. #X3100、Promega Corp.、Madison、Wis.）、PolyA Tractシステム（Cat. #Z5420、Promega Corp.、Madison、Wis.）またはPurYield RNAシステム（Cat. #23740、Promega Corp.、Madison、Wis.）などのPromega製品を含む。

【0183】

血漿または血清からのRNAの抽出

血漿RNAは、非常に感受性であり、RNAの相対的存在量および例えば、JAK2エ

クソン14の欠失などの欠失の検出し易さのため、DNAに基づく検査に取って代わることができる。腫瘍に由来または関連する細胞外DNAを含む、循環する細胞外デオキシリボ核酸（DNA）も、血漿および血清中に存在する。Stroun, M.ら、Oncology 46巻：318～322頁（1989年）を参照されたい。このDNAはその上、上述のRNA抽出方法において変動する程度まで抽出されることになるため、さらなるRNA解析に進む前に、RNA抽出物をさらに精製し、微量DNAを除去することが望ましくまたは必要となり得る（臨床目標に応じて）。これは、例えば、次の通りRashtchian, A.、PCR Methods Applic. 4巻：S83～S91頁（1994年）によって記載された方法により、DNAaseを使用して達成することができる。

【0184】

10

ガラスビーズ、シリカ粒子または珪藻抽出：RNAは、Boom, R.ら、J. Clin. Micro. 28巻：495～503頁（1990年）；Cheung, R. C.ら、J. Clin Micro. 32巻：2593～2597頁（1994年）の方法または適応の通り、シリカ粒子、ガラスビーズまたは珪藻を使用して、血漿または血清から抽出することができる。

【0185】

酸性チオシアン酸グアニジウム（Acid Guanidinium Thiocyanate）－フェノール－クロロホルム抽出：代替法として、RNAは、次の通りChomczynski, P.およびSacchi, N.、Analytical Biochemistry 162巻：156～159頁（1987年）によって記載された酸性チオシアン酸グアニジウム－フェノール－クロロホルム抽出方法を使用して、血漿または血清から抽出することができる。

20

【0186】

代替核酸抽出方法：代替法を使用して、体液からRNAを抽出することができ、そのようなものとして、RNA抽出のための、Chirgwin, J. M.ら、Biochemistry 18巻：5294～5299頁（1979年）によって記載された方法を含む、塩化セシウム勾配による遠心分離、およびFournie, G. J.ら、Analytical Biochemistry 158巻：250～256頁（1986年）の方法の適応によるなど、血漿または血清からの細胞外RNAのゼラチンによる共沈が挙げられるが、これらに限定されない。

【0187】

細胞遺伝学的解析

分裂中期細胞遺伝学的解析は、標準核型方法、蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）、スペクトル核型決定またはマルチプレックスFISH（M-FISH）、マルチカラーFISH（mFISH）および比較ゲノムハイブリダイゼーション、および／またはin situハイブリダイゼーションによって行うことができる。FISH解析を行うための市販のプロブのいずれか（例えば、Abbott Molecular VYSIS FISH Technology）を、本開示の方法において用いることができることが理解されよう。一実施形態では、この方法は、ハイブリダイゼーションに適した条件下で、対象から得た試料、例えば、染色体試料または分画、濃縮もしくは他の仕方で前処理した試料を、プロブ（例えば、所望の配列に特異的なプロブ）と接触させるステップと、遺伝子における異常（例えば、細胞遺伝学的異常に関連する染色体領域におけるゲノムDNA）のうちの1種または複数の存在または非存在を決定するステップとを含む。一部の実施形態では、細胞遺伝学的解析は、当技術分野で公知の標準技法（Tamら、Blood 113巻（18号）：4171～4178頁）を使用して、無刺激骨髓吸引物培養物から得た分裂中期において行われる。この方法は、任意選択で、遺伝子または遺伝子産物に関して試料を濃縮するステップを含むことができる。一部の実施形態では、細胞遺伝学的解析は、International System for Human Cytogenetic Nomenclature. (Cytogenetic and genome research. 2013年、DOI 10.1159/000353118として2013/07/03に事前公開）に従って行われる。

30

40

【0188】

前述または後述のいずれかのある特定の実施形態では、処置方法は、骨髓の線維症などのMPDの1種もしくは複数の徴候または本明細書に記載されている他の徴候の改善に有

50

効となり得る。ある特定の実施形態では、処置方法は、対立遺伝子荷重の減少および1種または複数の追加的な徴候の改善の両方に対して有効である。ある特定の実施形態では、経時的な改善は、骨髄の線維症などの1種または複数の徴候の変化を決定することにより評価される。

【0189】

投与の方法

一態様では、本開示は、それを必要とする患者に治療有効量の本開示のSAPタンパク質を投与することによって、患者における骨髄増殖性障害を処置するための方法を提供する。一態様では、本開示は、治療有効量の本開示のSAPタンパク質を投与することによって、骨髄増殖性障害に関連する突然変異（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異）を保有する患者における骨髄増殖性障害を処置するための方法を提供する。投薬量および処置の頻度は、当業者によって決定されることができ、患者の症状、年齢および体重、ならびに処置または予防されるべき疾患の性質および重症度に依存して変動する。本開示は、骨髄線維症を処置することにおいて有効な投薬レジメンを同定した。

【0190】

一態様では、本開示は、それを必要とする患者に治療有効量の本開示のSAPタンパク質を、突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるために有効な投与レジメンに従って投与することによって、骨髄増殖性障害に関連する突然変異（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異）を保有する患者における骨髄増殖性障害を処置するための方法を提供する。一部の実施形態では、患者は、SAPタンパク質の投与前に輸血以外のいかなる治療も受けていなかった。一部の実施形態では、患者は貧血または血小板減少症である。

【0191】

本明細書中で使用される場合、用語「投与レジメン」は、用量または投薬量（すなわち、SAPタンパク質の量）および投薬スケジュール（すなわち、SAPタンパク質の投与の頻度または逐次的な用量の間の間隔）の両方を包含する。

【0192】

単独でまたは追加の抗がん剤などの別の薬剤と組み合わせた、毎週の投薬スケジュールまたは（例えば、4週間毎などの、毎週よりも少ない）より低頻度の投薬スケジュールに従う本開示のSAPタンパク質の投与は、骨髄増殖性障害の症状の顕著な改善をもたらした。さらに、本開示の方法は、本開示のSAPタンパク質が、SAP処置により誘導された臨床的に有意な骨髄抑制、例えば、処置関連骨髄抑制のエビデンスがなく、単独および別の抗がん療法薬との組合せの両方で良好に耐受性を示したという知見にも基づく。

【0193】

ある特定の態様では、本開示は、それを必要とする患者に突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるために有効な量の本開示のSAPタンパク質を投与することによって、患者における骨髄増殖性障害を処置するための方法を提供する。ある特定の態様では、本開示は、それを必要とする患者に罹患臓器の機能を改善するために有効な量の本開示のSAPタンパク質を投与することによって、患者における骨髄増殖性障害を処置するための方法を提供する。機能の改善は、例えば、臓器の線維症の減少、血小板レベルの改善および／またはヘモグロビンの増加を評価することにより評価されてもよい。一部の実施形態では、線維性の臓器は骨髄である。一部の実施形態では、骨髄増殖性障害は骨髄線維症である。

【0194】

一部の実施形態では、SAPタンパク質は1日当たり1回もしくは2回、1週間当たり1回もしくは2回、1カ月当たり1回もしくは2回、または1カ月当たり1回、あるいは症状の発生の直前または発生時に患者に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、処置レジメンの開始時により頻繁に（例えば、最初の1週間は1日おき、その後は4週間毎に1回）患者に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、線維症の発症を予防するために、いまだ線維症を発症していない、PVまたはETを有する患

者に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、骨髄増殖性障害に関連する突然変異または細胞遺伝学的異常（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2のうちの1種または複数における突然変異）を保有すると決定された患者に、症状の発症前に投与される。

【0195】

投薬量は、当業者に公知のまたは本明細書に教示された技術によって容易に決定されうる。SAPタンパク質の毒性および治療有効性は、実験動物における標準的な薬学的手順、例えば、LD₅₀およびED₅₀を決定することによって決定されうる。ED₅₀（有効用量50）は、動物集団の50%において特定の効果をもたらすために必要とされる薬物の量である。LD₅₀（致死用量50）は、サンプル集団の50%を殺滅する薬物の用量である。

10

【0196】

ある特定の態様では、SAPタンパク質は、対象における骨髄増殖性障害を処置するための単剤として投与される。ある特定の態様では、SAPタンパク質（例えば、本開示の変異型SAPタンパク質）および追加的な抗がん療法薬（例えば、化学療法剤またはキナーゼ阻害剤）は、任意選択で対象における骨髄増殖性障害、例えば、骨髄線維症を処置するための相乗効果をもたらす。一部の実施形態では、SAPタンパク質および追加的な抗がん療法薬（例えば、化学療法剤またはキナーゼ阻害剤）は、疾患の異なる側面に対して作用する。そのようなアプローチ、2つのタイプの薬剤の組合せまたは共投与は、現在利用可能な治療法に応答しないかまたは抵抗性である、骨髄増殖性障害を患っている個体を処置するために有用であることができる。本明細書に提供される併用療法は、現在利用可能な治療法に応答する個体のために、そのような治療法の有効性を改善および／または副作用を低減させるためにも有用である。

20

【0197】

ある特定の実施形態では、本開示は、1種もしくは複数の骨髄線維症関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1もしくはIDH2）における突然変異および／または1種もしくは複数のMPDに関連する細胞遺伝学的異常を保有する患者における骨髄線維症を処置する方法であって、それを必要とする対象に、ある量の本開示のSAPタンパク質を、骨髄線維症の1つまたは複数の症状を好転させ、突然変異型対立遺伝子荷重を低下させるために有効な投薬レジメン（例えば、用量および投薬スケジュール）および／または投薬スケジュールに従って投与するステップを含み、それを必要とする患者は輸血以外の骨髄線維症のための治療を受けていない、方法を提供する。一部の実施形態では、対象は貧血または血小板減少症である。一部の実施形態では、本開示の方法は処置関連骨髄抑制を誘発しない〔例えば、SAPタンパク質は臨床的に有意な骨髄抑制を誘発せずおよび／またはベースラインにおいて存在する骨髄抑制を増大させない（さらには減少させることもある）〕。言い換えれば、ある特定の実施形態では、本開示の方法は、例えば、処置の開始前に観察されたものに比較して、骨髄抑制の悪化を誘発することをもたらすこともない。骨髄抑制は、有害事象共通用語規準（Common Terminology for Coding of Adverse Events）（CTCAE）に従ってグレード0～グレード5のスケールで評価されうる（National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0, NCI, NIH, DHHS, 2009年5月29日, NIH publication # 09-7473を参照されたい）。一部の実施形態では、処置の結果として、貧血などの1種または複数の骨髄抑制の尺度は悪化しない（例えば、有害事象グレード3からグレード4に；有害事象グレード2からグレード3または4に；有害事象グレード1からグレード2、3または4に；有害事象グレード0からグレード1、2、3または4に）。

30

40

【0198】

一態様では、本開示は、個体の一部の細胞における骨髄増殖性障害に関連する突然変異

50

(例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1もしくはIDH2の突然変異)および／または1種もしくは複数の骨髄増殖性障害に関連する細胞遺伝学的異常を保有する個体において骨髄増殖性障害を処置するための方法であって、a)前記個体から試料を得るステップであって、前記試料が目的の核酸を含む、ステップと、b)目的の核酸における1種または複数の突然変異および／または細胞遺伝学的異常の存在または非存在について、個体からの試料を評価するステップと、c)骨髄増殖性障害に関連する突然変異および／または細胞遺伝学的異常(例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異)を保有する個体に、本開示のSAPタンパク質を投与するステップとを含む方法を提供する。

10

【0199】

一態様では、本開示は、個体の一部の細胞における骨髄増殖性障害に関連する突然変異(例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1もしくはIDH2における突然変異)および／または1種もしくは複数の骨髄増殖性障害に関連する細胞遺伝学的異常を保有する個体において骨髄増殖性障害を処置する方法であって、a)前記個体から試料を得るステップであって、前記試料がJAK2核酸を含む、ステップと、b)JAK2核酸における1種または複数の突然変異の存在または非存在について、個体からの試料を評価するステップと、c)JAK2突然変異型対立遺伝子荷重を減少させるために有効な投与レジメンに従って、本開示のSAPタンパク質を投与するステップとを含む方法を提供する。

20

【0200】

一態様では、本開示は、骨髄増殖性障害を有する患者における突然変異型対立遺伝子荷重を減少させるための方法であって、本開示のSAPタンパク質を投与するステップを含む方法を提供する。

【0201】

一態様では、本開示は、骨髄増殖性疾患と診断された個体における処置の有効性を決定する方法であって、(a)JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2核酸試料における1種または複数の突然変異の存在を決定するステップと；b)本開示のSAPタンパク質を投与するステップと、(c)核酸試料中に存在する1種または複数の突然変異の突然変異型対立遺伝子荷重が減少している場合、処置が有効であったと同定するステップとを含む方法を提供する。一部の実施形態では、既存の異常(例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異の対立遺伝子荷重)の根絶が完全奏効と考えられる一方、対立遺伝子荷重の50%超の減少は部分応答と考えられる。一部の実施形態では、部分応答は、ベースラインにおいて少なくとも20%の突然変異型対立遺伝子荷重を有する患者にのみあてはまる(Tefferiら、Blood 2013年、122巻：1395～1398頁)。

30

【0202】

一態様では、本開示は、骨髄増殖性疾患と診断された個体における処置の有効性を決定する方法であって、(a)1種または複数の細胞遺伝学的異常の存在を決定するステップと；b)本開示のSAPタンパク質を投与するステップと、(c)1種または複数の細胞遺伝学的異常が減少した場合、処置が有効であったと同定するステップとを含む方法を提供する。一部の実施形態では、既存の異常(例えば、細胞遺伝学的異常)の根絶は完全奏効と考えられる一方、異常な分裂中期の50%超の減少は部分応答と考えられる。一部の実施形態では、部分応答はベースラインにおいて少なくとも10%の異常な分裂中期を有する患者にのみあてはまる(Tefferiら、Blood 2013年、122巻：1395～1398頁)。

40

【0203】

別の態様では、本開示は、造血障害を有する個体のための治療法を選択するための方法であって、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1

50

またはIDH2核酸における1種または複数の突然変異の存在または非存在について、個体由来の核酸を含有する試料を評価するステップと、1種または複数の突然変異の存在に基づいて治療法を選択するステップとを含む方法を提供する。

【0204】

以下の決定：骨髄増殖性障害に関連する特定の突然変異（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異）の存在または非存在を決定すること、試料の接合生殖性状態を決定すること、および試料中の突然変異型核酸またはmRNA 対 野生型核酸またはmRNAの比を決定すること（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2についての突然変異型 対 野生型の比）のうちの1つまたは複数が、処置計画を選択するために使用されてもよい。例えば、本開示の方法により、特定のJAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1もしくはIDH2突然変異を保有することが見出された患者は、本開示のSAPタンパク質による処置を推奨されうるか、または突然変異の検出は、本開示のSAPタンパク質による処置の有効性を測定するために使用されてもよい。同様に、本開示の方法は、MPDに関して無症候性の患者、例えば、MPDのごく初期の病期にある患者を処置するために使用されてもよい。突然変異は処置を受けているMPD患者においても検出されることができ：突然変異型核酸 対 野生型核酸の比または試料の接合生殖性状態が処置の間に変化する場合、異なる診断がなされうる。

【0205】

以下の決定：骨髄増殖性障害に関連する特定の突然変異（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異）の存在または非存在を決定すること、試料の接合生殖性状態を決定すること、および試料中の突然変異型核酸 対 野生型核酸の比を決定すること（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2についての突然変異型 対 野生型の比）のうちの1つまたは複数が、本開示のSAPタンパク質により患者を処置するために使用されてもよい。医師または処置専門家は、1つまたは複数の決定に基づいて処置または処置レジメンを投与し、先行させまたは変更しうる。あるいは、医師または処置専門家は、1つまたは複数の決定に基づいて処置レジメンを維持することを決定しうる。さらに、突然変異を保有する細胞の数は、MPDの経過中に変化することがあり、突然変異の比、接合生殖性状態および／または存在もしくは非存在をモニタリングすることは、疾患状態または処置の有効性の指標でありうる。例えば、処置は突然変異細胞の数を減少させることができ、または疾患は時間とともに悪化する可能性があり、疾病細胞の数は増加する可能性がある。加えて、決定のうちの1つまたは複数は、患者の予後予測および生活の質の決定の助けとなりうる。例えば、化学療法などの有痛性かつ消耗性の処置を継続するかまたはどのくらい継続するかについての決定がなされうる。

【0206】

試料中の接合生殖性状態および野生型核酸 対 突然変異型核酸の比は、配列特異的な定量的検出法を含む、本技術分野で公知の方法によって決定されうる。他の方法は、ABI Sequencing Systems (Applied Biosystems、Foster City Calif.) を使用して作成されるものなどの標準的な配列決定電気泳動図から、配列決定ピークの曲線下面積を決定することを含みうる。例えば、特定のヌクレオチドを代表する位置における電気泳動図の「G」などの単一ピークのみの存在は、試料中の核酸がその位置「G」に1つのヌクレオチドだけを含むことの指標である。その場合、1つだけの対立遺伝子が検出されるため、試料はホモ接合として分類されうる。電気泳動図の同じ位置における2つのピーク、例えば、「G」ピークおよび「T」ピークの存在は、試料が2種の核酸を含有し；一方の種が問題のヌクレオチド位置に「G」を保有し、他方は問題のヌクレオチド位置に「T」を保有することを示す。その場合、1種超の対立遺伝子が検出されるため、試料はヘテロ接合として分類されうる。

【0207】

2つのピークのサイズが（例えば、各曲線下の面積を決定することによって）決定されることができ、2つの異なる核酸種の比が計算されることができ。野生型核酸 対 突然変異型核酸の比（例えば、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2についての突然変異型 対 野生型の比）が、疾患の進行をモニタリングし、処置を決定し、または診断するために使用されうる。例えば、特定のJ A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2突然変異を保有するがん性細胞の数は、M P Dの経過中に変化しうる。疾患の初期にベースラインの比が確立される場合、後に決定された、野生型核酸に対する突然変異型核酸のより高い比は、疾患が悪化してきているかまたは処置が有効でないことの指標であることができ；突然変異を保有する細胞の数は、患者において増加している可能性がある。野生型核酸に対する突然変異型核酸のより低い比率は、処置が効いているかまたは疾患が進行していないことの指標であることができ；突然変異を有する細胞の数が患者において減少している可能性があることの指標であることができ；突然変異を保有する細胞の数は患者において減少している可能性がある。

10

【0208】

一部の実施形態では、対象は、J A K 2、M P L、C A L R、A S X L 1、E Z H 2、S R S F 2、I D H 1またはI D H 2などであるが、それらに限定されない1種または複数の骨髄増殖性障害関連遺伝子に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、J A K 2のコドン617に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、J A K 2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、M P Lのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、M P LにおいてW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、M P Lのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、C A L Rのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、A S X L 1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 2のコドン172に突然変異を有する。

20

【0209】

本開示の上記態様のいずれかのある特定の実施形態では、骨髄増殖性疾患は、真性赤血球増加症、本態性血小板血症、骨髄線維症または未分類骨髄増殖性疾患である。一部の実施形態では、骨髄線維症は、原発性骨髄線維症、P V後の骨髄線維症またはE T後の骨髄線維症である。

30

【0210】

一部の実施形態では、目的の核酸試料における1種または複数の突然変異の存在または非存在を評価することまたは決定することは、対立遺伝子特異的P C Rを実行することを含む。本開示の上記態様のいずれかの他の実施形態では、目的の核酸試料における1種または複数の突然変異の存在または非存在を評価することまたは決定することは、目的の核酸を増幅することおよび増幅された核酸の直接的配列決定分析を実行することを含む。他の好適な検出方法論は、プライマー伸長反応、およびタンパク質配列決定を含む。上記態様のある特定の実施形態では、試料を評価することまたは骨髄増殖性障害に関連するポリペプチドにおける1種もしくは複数の突然変異の存在もしくは非存在を決定することは、突然変異したJ A K 2ポリペプチドに特異的に結合する抗体を使用することを含む。本開示の上記態様のいずれかの一部の実施形態では、核酸および／またはポリペプチド試料は、例えば、全血（すなわち、細胞画分から抽出されているJ A K 2核酸）、血漿、血清および組織試料（例えば、生検材料およびパラフィン包埋組織）を含む好適な生体試料に由来する。

40

【0211】

一態様では、本開示は、別の抗がん療法薬などの1種または複数の追加的な薬剤と組み

50

合わせてSAPタンパク質を投与することによって、骨髄増殖性障害（例えば、骨髄線維症）を処置するための方法を提供する。本明細書中で使用される場合、「と組み合わせる」または「共同投与」は、1種または複数の追加的な薬剤が体内でなお有効であるような任意の投与形態を指す（例えば、2種の薬剤、3種の薬剤、4種の薬剤などが、患者において同時に有効であり、これが、2つの化合物の相乗効果を含みうる）。有効性は、血液、血清または血漿中の薬剤の測定可能な濃度に相関しなくてもよい。例えば、異なる治療剤は、同じ製剤中または別個の製剤中のいずれかで、同時にまたは逐次的に、異なるスケジュールで投与されてもよい。よって、そのような処置を受ける個体は、異なる治療剤の併用効果の利益を受けることができる。SAPタンパク質は、1種または複数の追加的な薬剤と同時に、その前にまたはその後に投与されうる。

10

【0212】

一般に、各治療剤は、その具体的な薬剤について決定された用量および／または時間スケジュールで投与される。レジメンにおいて採用する具体的な組合せは、その薬剤とのSAPタンパク質の適合性および／または達成されるべき所望の治療効果を考慮する。

【0213】

本開示の抗がん療法薬としては、化学療法剤、抗体に基づく薬剤、キナーゼ阻害剤（例えば、チロシンキナーゼ阻害剤、セリン／スレオニンキナーゼ阻害剤など）、免疫調節剤および生物学的薬剤またはこれらの組合せが挙げられるが、それらに限定されない。化学療法剤としては、アクチノマイシンD、アルデスロイキン、アリトレチノイン、オールトランスレチノイン酸／ATRA、アルトレタミン、アムサクリン、アスパラギナーゼ、アザシチジン、アザチオプリン、カルメット・ゲラン桿菌／BCG、ベンダムスチン塩酸塩、ベキサロテン、ビカルタミド、ブレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カペシタビン、カルボプラチン、カルフィルゾミブ、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン／シスプラチナム、クラドリビン、シクロホスファミド／サイトホスファン、シタラビン、ダカルバジン、ダウノルビシン／ダウノマイシン、デニロイキンジフチトクス、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキソルビシン、エピルビシン、エトポシド、フルダラビン、フルオロウラシル（5-FU）、ゲムシタビン、ゴセレリン、ヒドロコルチゾン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イホスファミド、インターフェロンアルファ、イリノテカンCPT-11、ラパチニブ、レナリドミド、リユープロリド、メクロレタミン／クロルメチン／ムスチン／HN2、メルカプトプリン、メトトレキセート、メチルプレドニゾン、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、オクトレオチド、オブレルベキン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パミドロネート、パゾパニブ、ペグアスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、PEGインターフェロン、ペメトレキセド、ペントスタチン、フェニルアラニンマスタード、プリカマイシン／ミスラマイシン、プレドニゾン、プレドニゾン、プロカルバジン、ラロキシフェン、ロミプロスチム、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タモキシフェン、テモゾロミド、テムシロリムス、テニポシド、サリドマイド、チオグアニン、チオホスホアミド（thiophosphamide）／チオテパ、チオテパ、トボテカン塩酸塩、トレミフェン、トレチノイン、バルルビシン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、ボリノスタット、ゾレドロ酸またはこれらの組合せが挙げられるが、それらに限定されない。抗体に基づく薬剤としては、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、フレソリムマブ（fresolimumab）、ゲムツズマブオゾガマイシン、イブリツモマブチウキセタン、オフアツムマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トシツモマブ、トラスツズマブ、トラスツズマブDM1およびこれらの組合せが挙げられるが、それらに限定されない。免疫調節化合物としては、TNF α 、LPS誘発単球IL1 β 、IL12およびIL6産生を阻害する小有機分子が挙げられるが、それらに限定されない。一部の実施形態では、免疫調節化合物としては、メトトレキセート、レフルノミド、シクロホスファミド、シクロスポリンA、ミノサイクリン、アザチオプリン、抗生物質（例えば、タクロリムス）、メチルプレドニゾン、コルチコステロイド、ステロイド、ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン、ミゾリビン、デオキシスバガリン、ブレキナル、T細胞受容体調節剤またはサイトカイン

20

30

40

50

受容体調節剤およびT o l l様受容体(T L R)アゴニストが挙げられるが、それらに限定されない。一部の実施形態では、免疫調節化合物としては、5, 6-ジメチルキサンテンオン(dimethylxanthenone)-4-酢酸(DMXAA)、サリドマイド、レナリドミド、ボマリドミド、ラクトフェリン、ポリアデノシン-ポリウリジル酸(ポリAU)、リントトリモド(rintatolimod)(ポリI:ポリC12U; Hemispherx Biopharma)、ポリ-L-リシンおよびカルボキシメチルセルロースにより安定化されたポリイノシン-ポリシチジン酸(ポリ-ICLC、Hiltonol(登録商標))、イミキモド(3M)およびレシキモド(resiquimod)(R848; 3M)、非メチル化CpGジヌクレオチド(CpG-ODN)およびイピリムマブ(ipilimumab)が挙げられる。生物学的薬剤としては、モノクローナル抗体(MAB)、CSF、インターフェロンおよびインターロイキンが挙げられる。一部の実施形態では、生物学的薬剤は、IL-2、IL-3、エリスロポエチン、G-CSF、フィルグラスチム、インターフェロアルファ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イブリツモマブチウキセタン、オフアツムマブ、パニツムマブ、リツキシマブ、トシツモマブまたはトラスツズマブである。

10

【0214】

キナーゼ阻害剤(例えば、チロシンキナーゼ阻害剤、セリン/スレオニンキナーゼ阻害剤など)としては、アキシチニブ、パフェチニブ、ボスチニブ、セジラニブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、ボナチニブ、キザルチニブ、レゴラフェニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、バンデタニブ、バタラニブ、ベムラフェニブ(vemurafenib)およびこれらの組合せが挙げられるが、それらに限定されない。

20

【0215】

一部の実施形態では、抗がん療法薬は、AC-430、AZD1480、バリシチニブ、BMS-911453、CEP-33779、CYT387、GLPG-0634、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、パクリチニブ(pacritinib)、R-348、R723、ルキシロチニブ、TG101348(SAR302503)、トファシチニブおよびVX-509などであるが、それらに限定されないJAKキナーゼ阻害剤である。

【0216】

ある特定の実施形態では、抗がん療法薬としては、代謝拮抗薬(例えば、5-フルオロウラシル、シタラビン、メトトレキセート、フルダラビンなど)、微小管阻害剤(例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチンなどのビンカルカロイド; パクリタキセルおよびドセタキセルなどのタキサン)、アルキル化剤(例えば、シクロホスファミド、メルファラン、カルムスチン、ビスクロロエチルニトロソウレア(bischloroethylnitrosourea)およびヒドロキシウレアなどのニトロソウレア)、白金剤(例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、サトラプラチンおよびCI-973)、アンスラサイクリン(例えば、ドキソルビシンおよびダウノルビシン)、抗腫瘍抗生物質(例えば、マイトマイシン、イダルビシン、アドリアマイシンおよびダウノマイシン)、トポイソメラーゼ阻害剤(例えば、エトポシドおよびカンプトテシン)、抗血管新生剤(例えば、スニチニブ、ソラフェニブおよびベバシズマブ)、または任意の他の細胞傷害性薬物(例えば、リン酸エストラムスチン、プレドニムスチン)、ホルモンまたはホルモンアゴニスト、アンタゴニスト、部分アゴニストもしくは部分アンタゴニスト、(イマチニブなど)キナーゼ阻害剤、ならびに放射線治療が挙げられるが、それらに限定されない。

30

40

【0217】

本開示の任意の処置方法は、必要または要求に応じて繰り返されてもよい。例えば、処置は周期的に行われてもよい。投与処置の頻度は、当業者によって決定されうる。例えば、処置は、数週間の間週1回、4週間毎に1回、またはある期間の間1週間に複数回(例えば、処置の最初の週にわたって3回)投与されてもよい。一部の実施形態では、初期

50

負荷用量期間に維持用量が続く。一部の実施形態では、負荷用量は周期的に繰り返される。一部の実施形態では、初期負荷用量期間は、処置を1週間に複数回投与すること（例えば、処置の最初の週にわたって3回）を含む。一部の実施形態では、負荷用量は、1週間おき、毎月、2カ月毎に、3カ月毎にもしくは6カ月毎に、または必要に応じて、負荷用量の間に持続した周期的投薬を伴うかまたは伴わずに繰り返されてもよい。一般に、がんに関連する線維症の好転は、ある期間、好ましくは少なくとも数カ月持続するが、抗線維化効果の維持および／または線維症の再発の予防は、無制限の期間にわたるSAPタンパク質の持続する周期的投薬を必要とする。時間の経過とともに、患者は症状の再発を経験する可能性があり、その時点で処置が繰り返されてもよい。

【0218】

ある特定の態様では、対象における骨髓線維症を処置し、発症を遅延させおよび／または予防するための方法であって、有効量のSAPタンパク質または薬学的に許容されるその塩を、単独でまたは抗がん療法薬と組み合わせて対象に投与するステップを含む方法が、本明細書に提供される。一部の実施形態では、対象は骨髓線維症を有する。一部の実施形態では、対象は骨髓線維症を発症するリスクを有する。一部の実施形態では、対象はヒト対象である。一部の実施形態では、対象は、骨髓増殖性障害に関連する突然変異（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異）を保有すると決定されている。カプセルなどの本明細書に記載の製剤または本明細書に記載の単位剤形のうちのいずれか1つが、骨髓線維症を有する対象を処置するために使用されうる。

【0219】

本明細書に記載の方法によって処置されうる骨髓線維症は、原発性骨髓線維症（PMF）および続発性骨髓線維症（例えば、先行する真性赤血球増加症から生じる骨髓線維症（PV後のMF）または先行する本態性血小板血症から生じる骨髓線維症（ET後のMF））を含む。本明細書に記載の方法によって処置されうる骨髓線維症は、高リスクの骨髓線維症、中間リスクレベル1または中間リスクレベル2などの中間リスクおよび低リスクも含む。多様なタイプの骨髓線維症を診断するための方法は、本技術分野で公知である。例えば、Cervantesら、Blood 2009年、113巻（13号）：2895～901頁を参照されたい。一部の実施形態では、診断後のリスクプロファイルの修正を考慮した動的予後予測モデルが有用であると判明する可能性がある。例えば、Passamontiら、Blood 2010年、115巻：1703～1708頁を参照されたい。一部の実施形態では、対象は触知できる脾腫を有する。一部の実施形態では、骨髓線維症を有する対象は、触診により測定して、肋下縁の少なくとも5cm下に脾臓を有する。一部の実施形態では、対象は、貧血および／または血小板減少症および／または白血球減少症を有する。一部の実施形態では、対象は貧血も血小板減少症も白血球減少症も有さない。一部の実施形態では、対象は輸血に依存する。一部の実施形態では、対象は輸血に依存しない。一部の実施形態では、対象は、IWG-MRT Dynamic International Prognostic Scoring Systemによる中間-1、中間-2または高リスク疾患を有する少なくともグレード2の骨髓線維症の存在を含む、WHO診断基準によるPMFまたはET/PV後のMFの病理学的に確定された診断を有する。一部の実施形態では、対象は、グレード0または1の骨髓線維症およびIWG-MRT Dynamic International Prognostic Scoring Systemによる低リスク、中間-1、中間-2、高リスクまたは低リスク疾患を伴う、WHO診断基準によるPMFまたはET/PV後のMFの病理学的に確定された診断を有する。一部の実施形態では、対象は「前線維化期（prefibrotic）」骨髓線維症を有する。一部の実施形態では、対象は、PVまたはETを有し、骨髓線維症の発症を予防するために、SAPタンパク質を受容する。一部の実施形態では、対象は、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1、またはIDH2における突然変異を有する。

【0220】

一部の実施形態では、対象は、対象がヒトである場合には、ヤヌスキナーゼ2（JAK2キナーゼ）におけるバリニン617からフェニルアラニンへの点突然変異（JAK2V617F）、または対象がヒトでない場合には、ヤヌスキナーゼ2（JAK2キナーゼ）におけるバリニン617からフェニルアラニンに相当する点突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、対象がヒトである場合には、JAK2のバリニン617からフェニルアラニンへの突然変異について陰性であるか、または対象がヒトでない場合には、ヤヌスキナーゼ2（JAK2キナーゼ）におけるバリニン617からフェニルアラニンに相当する突然変異について陰性である。対象がJAK2V617Fについて陽性または陰性であるかは、骨髓細胞または血液細胞（例えば、全血白血球）からのゲノムDNAを使用するポリメラーゼ連鎖反応（「PCR」）解析によって決定される。PCR解析は、対立遺伝子特異的PCR（例えば、対立遺伝子特異的な定量的PCR）またはPCR配列決定であることができる。それぞれが参照により本明細書に明示的に組み込まれる、Kittur Jら、Cancer 2007年、109巻（11号）：2279～84頁およびMcLornan Dら、Ulster Med J. 2006年、75巻（2号）：112～9頁を参照されたい。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPL中のW515L、W515K、W515AまたはW515Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、CALRのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、ASXL1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、IDH2のコドン172に突然変異を有する。

【0221】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法により処置される対象は、別の骨髓線維症療法または処置を以前に受けたことがあるかまたは現在受けている。一部の実施形態では、対象は、他の骨髓線維症療法に対して応答しないかまたは他の骨髓線維症療法を受けた後に再発している。以前の治療法はJAK2阻害剤（例えば、（ルキシソリチニブとしても公知の、Incyteから入手可能な）INCBO18424、（レスタウルチニブ、Cephalonから入手可能な）CEP-701もしくは（Exelixisから入手可能な）XL019）（Verstovsek S.、Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009年：636～42頁を参照されたい）または（ヒドロキシウレアなどの）非JAK2阻害剤であってもよい。一部の実施形態では、以前の治療法は、AC-430、AZD1480、バリシチニブ、BMS-911453、CEP-33779、CYT387、GLPG-0634、INCBI8424、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、パクリチニブ、ルキシソリチニブ、TG101348（SAR302503）、トファシチニブ、VX-509、R-348またはR723などであるが、それらに限定されないJAKキナーゼ阻害剤であってもよい。一部の実施形態では、対象は、原発性骨髓線維症、真性赤血球増加症後の骨髓線維症（PV後のMF）、本態性血小板血症後の骨髓線維症（ET後のMF）、真性赤血球増加症または本態性血小板血症のためにルキシソリチニブ処置を少なくとも3カ月受容している。一部の実施形態では、対象は、原発性骨髓線維症、真性赤血球増加症後の骨髓線維症（PV後のMF）、本態性血小板血症後の骨髓線維症（ET後のMF）、真性赤血球増加症または本態性血小板血症のためにルキシソリチニブ処置を3カ月未満受容している。一部の実施形態では、対象は、原発性骨髓線維症、真性赤血球増加症後の骨髓線維症（PV後のMF）、本態性血小板血症後の骨髓線維症（ET後のMF）、真性赤血球増加症または本態性血小板血症のためにルキシソリチニブ処置を少なくとも3カ月受容している。一部の実施形態では、少なくとも1つまたは複数の症状が、持続したルキシソリチニブ

10

20

30

40

50

治療において停止して、改善した。一部の実施形態では、対象はもはやルキシソリチニブに
応答しない。一部の実施形態では、対象は、以前に別の骨髄線維症療法を少なくとも6カ
月、少なくとも5カ月、少なくとも4カ月、少なくとも3カ月、少なくとも2カ月、少な
くとも1カ月、少なくとも3週間、または少なくとも2週間受けている。一部の実施形態
では、対象はもはや他の骨髄線維症療法に応答しない。一部の実施形態では、以前の治療
法は、本明細書に記載の抗がん療法薬であり、以前の治療法は、対象からの血清中のアミ
ラーゼ、リパーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミ
ノトランスフェラーゼ（ALT）および／もしくはクレアチニンのうちの1つもしくは複
数の上昇したレベルの兆候に際して、ならびに／または貧血、血小板減少症および好中球
減少症からなる群から選択される血液学的状態の兆候に際して、または処置する医師による
決定もしくは患者の要求に基づく任意の他の理由のために中断されている。一部の実施
形態では、第2の処置における化合物の用量は、以前の治療法における用量と同一または
それより低い。一部の実施形態では、対象は、輸血以外のいかなる治療法も受容してい
ない。一部の実施形態では、対象はいかなる以前の治療法も受容していない。

10

【0222】

一部の実施形態では、SAPタンパク質は、AC-430、AZD1480、バリシチ
ニブ、BMS-911453、CEP-33779、CYT387、GLPG-0634
、INCB18424、レスタウルチニブ、LY2784544、NS-018、パクリ
チニブ、ルキシソリチニブ、TG101348（SAR302503）、トファシチニブ、
VX-509、R-348またはR723などであるが、それらに限定されないJAKキ
ナーゼ阻害剤と組み合わせて投与される（Kontziassら、Curr Opin P
harmacol. 2012年、12巻（4号）、464～470頁を参照されたい）
。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、AB0024、AZD1480、AT-9
283、BMS-911543、CYT387、エベロリムス、ギビノスタット（givi
nostat）、イメテルスタット、レスタウルチニブ、LY2784544、経口ヒ
素、NS-018、パクリチニブ、パノビノスタット、ペグインターフェロンアルファ
2a、ポマリドミド、プラシノスタット（pracinostat）、ルキシソリチニブ、
TAK-901およびTG101438（SAR302503）などであるが、それらに
限定されない、骨髄線維症の症状を低減させることが公知である薬剤と組み合わせて投与
される（Mesa、Leuk Lymphoma 2013年、54巻（2号）：242
～251頁；Guptaら、2012年、2巻（3号）：170～186頁；Kucine
およびLevine 2011年、2巻（4号）：203～211頁）。

20

30

【0223】

（ヒトなどの）対象は、SAPタンパク質を約0.1mg/kg～約40mg/kgの
用量で投与することによって処置されうる。一部の実施形態では、SAPタンパク質は0
.3mg/kgの用量で投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は3mg/
kgの用量で投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は10mg/kgの用
量で投与される。一部の実施形態では、化合物は約0.1mg/kg、0.2mg/kg
、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、0.6mg/kg、0.7
mg/kg、0.8mg/kg、0.9mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3m
g/kg、4mg/kg、5mg/kg、8mg/kg、10mg/kg、12mg/k
g、15mg/kg、18mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/k
g、35mg/kgまたは40mg/kgのいずれかの用量で投与される。一部の実施形
態では、SAPタンパク質は約0.1～0.3、0.3～0.5、0.5～0.8、0.
8～1、1～5、5～10、10～15、15～20、20～25、25～30、30～
35または35～40mg/kgの用量で投与される。化合物は、カプセルおよび／また
は本明細書に記載の単位剤形で投与されうる。一部の実施形態では、化合物は静脈内投与
（IV）される。一部の実施形態では、化合物は注射（例えば、皮下（SubQ）、筋肉
内（IM）、腹腔内（IP））により、吸入またはガス注入（口もしくは鼻のいずれかを
通す）により投与されるか、あるいは投与は、経口、頬側、舌下、経皮、鼻、非経口また

40

50

は直腸である。一部の実施形態では、SAPタンパク質は静脈内注入により投与される。ある特定の実施形態では、各用量について、注入は約1時間の期間にわたる。しかしながら、より長いまたはより短い注入期間が使用されてもよい（例えば、30分、40分、45分、50分、55分、60分、1時間10分、1時間15分、90分など）。方法が、追加的な抗がん療法薬を投与することを含む場合、療法薬は同じ投与経路によりまたは異なる投与経路により投与されてもよい。ある特定の実施形態では、追加的な抗がん療法薬は経口投与される。

【0224】

一部の実施形態では、SAPタンパク質は0.3mg/kgの用量でIV注入により投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は0.3mg/kgの用量で皮下に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は0.3mg/kg未満の用量で皮下に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は3mg/kgの用量でIV注入により投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は10mg/kgの用量でIV注入により投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は4週間毎に1回投与される。一部の実施形態では、初期負荷用量期間に維持用量が続く（例えば、最初の週については1週間に3回、その後は4週間毎に1回）。

【0225】

骨髄線維症に関連する1種または複数の徴候または症状を好転させる方法も本明細書に提供される。例えば、本明細書に記載の方法を使用する処置は、1種または複数の骨髄線維症関連遺伝子（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2）における突然変異型対立遺伝子荷重を減少させることに於いて有効である。一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置は、脾臓サイズを低下させること、（早期満腹感、疲労、寝汗、せき、およびそう痒などの）全身症状を好転させること、MPN-SAF合計症状スコアを低下させること、EORTC QLQ-C30により測定した生活の質を改善すること、白血球増加症を低下させること、血小板増加症を低下させること、貧血を改善すること、血小板減少症を改善すること、白血球減少症を改善すること、輸血依存性を低下させること、JAK2V617F対立遺伝子荷重を減少させること、MPL515W対立遺伝子荷重を減少させること、CALR突然変異型対立遺伝子荷重を減少させること、ASXL1突然変異型対立遺伝子荷重を減少させること、EZH2突然変異型対立遺伝子荷重を減少させること、SRSF2突然変異型対立遺伝子荷重を減少させること、IDH1突然変異型対立遺伝子荷重を減少させること、IDH2突然変異型対立遺伝子荷重を減少させること、末梢血芽球（peripheral blood blast）の減少、骨髄芽球（bone marrow blast）の減少、骨髄線維症を低下させること、骨髄、脾臓および／または肝臓における線維症の減少の指標であるFDGもしくはFLT PET-CTスキャンにより測定した代謝活性の変化を誘導すること、そう痒を改善すること、悪液質を改善することおよび／または骨髄の細胞充実性を低下もしくは増加させることに於いて有効である。低下、減少、好転または改善は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて、少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%であることができる。一部の実施形態では、骨髄線維症は、処置後に対象において低下される。一部の実施形態では、骨髄線維症は、処置後にグレード0となる。一部の実施形態では、骨髄線維症は、処置後にグレード1となる。一部の実施形態では、骨髄線維症は、少なくとも1グレード、例えば、グレード3からグレード2もしくはグレード1に、またはグレード2からグレード1もしくはグレード0に低下される。一部の実施形態では、骨髄線維症は、定量的画像解析または他の定量手段により測定したベースラインから、測定可能なパーセントだけ低下される。一部の実施形態では、脾臓は、処置後の対象において触知できなくなる。一部の実施形態では、対象は処置後に、白血球増加症および／または血小板血症の完全な消散を有する。一部の実施形態では、対象は処置後に、貧血、血小板減少症および／または白血球減少症の完全な消散を有する。一部の実施形態では、対象は処置後に、輸血非依存性（例えば、赤血球輸血または血小板輸血）となる。一部の実施形態では、

10

20

30

40

50

対象は輸血が50%減少する。一部の実施形態では、対象は輸血が40%～60%、30%～70%、40%～50%、50%、60%減少する。一部の実施形態では、対象は処置後にそう痒の完全な消散を有する。一部の実施形態では、処置の有効性は、応答として、骨髓線維症において少なくとも1グレード改善する安定病態を含むように改良されたInternational Working Group (IWG) 基準に従って分類された全奏効率 (ORR) の評価によって評価される。一部の実施形態では、処置の有効性は、European Consensus on Grading of Bone Marrow Fibrosisに従う少なくとも1グレードの骨髓線維症スコアの改善の評価によって評価される。一部の実施形態では、処置の有効性は、遺伝的突然変異などの既存の異常に対する分子効果を評価することによって評価される。既存の異常 (例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2における突然変異の対立遺伝子荷重) の根絶は、完全奏効と考えられるが、対立遺伝子荷重の50%超の減少は部分応答と考えられる。部分応答は、少なくとも20%の突然変異型対立遺伝子荷重をベースラインにおいて有する患者にのみあてはまる (Tefferaら、Blood 2013年、122巻、1395～1398頁)。一部の実施形態では、処置の有効性は、CRP、IL-1Ra、MIP-1 β 、TNF α 、IL-6およびVEGFを含むがそれらに限定されない循環している血漿サイトカインレベルのレベル変化を評価することによって評価される。一部の実施形態では、処置の有効性は、PBMC mRNAおよびmiRNA発現レベルのレベル変化を評価することによって評価される。一部の実施形態では、処置の有効性は、骨髓線維症へのPVまたはETの進行のないことを評価することによって評価される。一部の実施形態では、処置の有効性は、骨髓線維症における少なくとも1グレードの増加のないことを評価することによって評価される。

【0226】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置 (例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法) は、1種または複数の骨髓増殖性障害関連遺伝子 (例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2) における突然変異型対立遺伝子荷重を、本明細書に記載の方法による処置の開始前の対立遺伝子荷重と比べて (例えば、ベースラインと比べて) 少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%または少なくとも70%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、突然変異型対立遺伝子荷重を、約20～70%、約20～60%、約25～60%、約25～55%または約25%～50%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重は、25%～50%減少される。一部の実施形態では、突然変異型対立遺伝子荷重は少なくとも50%減少される。一部の実施形態では、処置は完全な分子応答を達成することにおいて有効である。一部の実施形態では、対立遺伝子荷重は、血液から抽出された核酸試料に対して実行されるPCRによって測定されうる。当業者により、対立遺伝子荷重を測定するための他の公知の方法も採用されうる。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において対立遺伝子荷重を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髓線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、対立遺伝子荷重を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%または少なくとも50%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含み、追加的な抗がん療法薬はJAKキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、対立遺伝子荷重は、約25～55%、約25～50%または約25～40%減少する。一部の実施形態では、対象は、JAK2V617F突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、JAK2のエクソン12またはエクソン14に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、MPLのコドン515

に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、M P LにおけるW 5 1 5 L、W 5 1 5 K、W 5 1 5 A、またはW 5 1 5 Rアミノ酸置換を有する。一部の実施形態では、対象は、M P Lのエクソン10に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、C A L Rのエクソン9に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、A S X L 1のエクソン12に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 1のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 1のコドン132に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 2のエクソン4に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 2のコドン140に突然変異を有する。一部の実施形態では、対象は、I D H 2のコドン172に突然変異を有する。ある特定の実施形態では、対立遺伝子荷重の減少は、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）見られる。

10

【0227】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、S A Pタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、脾臓体積を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて（例えば、ベースラインと比べて）少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%または少なくとも70%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、脾臓体積を少なくとも10%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、脾臓体積を少なくとも25%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、脾臓体積を少なくとも35%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、脾臓体積を少なくとも50%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、脾臓体積を約20~70%、約20~60%、約25~60%、約25~55%または約25%~50%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、脾臓体積は手による触診により測定されてもよい。当業者により、磁気共鳴画像法による測定などの脾臓体積を測定するための他の公知の方法も採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において脾臓体積を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のS A Pタンパク質を、脾臓体積を少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、

20

30

【0228】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、S A Pタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、骨髄増殖性腫瘍症状評価フォーム（Myeloproliferative Neoplasms Symptom Assessment Form）（M P N - S A F）合計症状スコアを、本明細書に提供される方法による処置の開始前のスコアと比べて（例えば、ベースラインと比べて）少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%または少なくとも70%低下させることにおいて有効である。骨髄増殖性腫瘍症状評価フォーム合計症状スコアの説明および議論については、Emanuelら、2012年、Journal of Clinical Oncology、30巻、33号、4098~

40

50

4013頁を参照されたい。一部の実施形態では、処置は、MPN-SAF合計症状スコアを少なくとも25%低下させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、MPN-SAF合計症状スコアを少なくとも50%低下させることにおいて有効である。一部の実施形態では、症状は、MPN-SAF患者報告転帰ツール(MPN-SAF patient reported outcome tool)を使用して評価された(Emanuelら、2012年、Journal of Clinical Oncology、30巻(33号):4098~4013頁)。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者においてMPN-SAF合計症状スコアを低下させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、MPN-SAF合計症状スコアを少なくとも約25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%または少なくとも60%低下させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含み、追加的な抗がん療法薬はJAKキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、MPN-SAF合計症状スコアは、約25~60%、約25~55%または約25~50%低下される。ある特定の実施形態では、少なくとも25%または少なくとも50%のMPN-SAF合計症状スコアの低下は、処置後の連続した12週間以上(例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて)低下される。

10

20

【0229】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置(例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法)は、EORTC QLQ-C30スコアに基づく生活の質を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のスコアと比べて少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%または少なくとも70%改善することにおいて有効である。EORTC QLQ-C30質問表およびスコアリングシステムの説明および議論については、EORTC QLQ-C30(バージョン3)1995年、EORTC Quality of Life Groupを参照されたい。一部の実施形態では、処置は、EORTC QLQ-C30スコアを少なくとも25%改善することにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、EORTC QLQ-C30スコアを少なくとも50%改善することにおいて有効である。一部の実施形態では、スコアは、EORTC QLQ-C30(バージョン3)1995年、EORTC Quality of Life Groupにおいて概説された質問およびスコアリングシステムを使用して評価された。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者においてEORTC QLQ-C30スコアを改善するための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、EORTC QLQ-C30スコアを少なくとも約25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%または少なくとも60%改善するために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含み、追加的な抗がん療法薬はJAKキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、EORTC QLQ-C30スコアは、約25~60%、約25~55%または約25~50%改善される。ある特定の実施形態では、EORTC QLQ-C30スコアの改善は、処置後の連続した12週間以上、少なくとも25%または少なくとも50%である。

30

40

【0230】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置(例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法)は、ヘモグロビンレベルを、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて(例えば、ベースラインと比べて)少なくとも約

50

500 mg/L、1 g/L、2 g/L、3 g/L、5 g/L、10 g/Lまたは20 g/L増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、ヘモグロビンレベルを、本明細書に記載の方法による処置の開始前のレベルと比べて（例えば、ベースラインと比べて）も500～1000 mg/L、1～2 g/L、2～3 g/Lまたは3～5 g/L増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、ヘモグロビンレベルを1 g/L増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、ヘモグロビンレベルを少なくとも80 g/L、少なくとも90 g/L、少なくとも100 g/L、少なくとも110 g/L、少なくとも120 g/L、少なくとも130 g/Lまたは少なくとも140 g/Lまで増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、ヘモグロビンレベルを少なくとも100 g/Lまで増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、ヘモグロビンレベルは慣例的な全血球計算（CBC）の一部として測定される。当業者により、ヘモグロビンレベルを測定するための他の公知の方法も採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者においてヘモグロビンレベルを増加させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、ヘモグロビンレベルを少なくとも約500 mg/L、1 g/L、2 g/L、3 g/Lまたは5 g/L増加させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含み、追加的な抗がん療法薬はJAKキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、ヘモグロビンレベルは、約500～1000 mg/L、1～2 g/L、2～3 g/Lまたは3～5 g/L増加される。ある特定の実施形態では、ヘモグロビンレベルは、少なくとも約80 g/L、90 g/L、100 g/L、110 g/L、120 g/L、130 g/Lまたは140 g/Lまで増加される。一部の実施形態では、ヘモグロビンレベルの増加は、処置後の連続した12週間以上見られる。一部の実施形態では、ヘモグロビンレベルは、輸血せずに処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）、約10 g/L以上増加される。一部の実施形態では、ヘモグロビンレベルは、輸血せずに処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）、約20 g/L以上増加される。一部の実施形態では、少なくとも約100 g/Lまでのヘモグロビンレベルの増加は、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）見られる。

【0231】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、赤血球（RBC）輸血を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%または少なくとも60%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、RBC輸血を少なくとも25%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、RBC輸血を少なくとも50%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、RBC輸血非依存性を達成することにおいて有効である。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者においてRBC輸血を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、RBC輸血を少なくとも約25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%または少なくとも60%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含み、追加的な抗がん療法薬はJAKキナーゼ阻害剤である。ある特定の実施形態では、RBC

10

20

30

40

50

C 輸血は、約 25～60%、約 25～55%、または約 25～50% 減少する。ある特定の
の実施形態では、患者は処置後に輸血非依存性となる。ある特定の実施形態では、患者は
、処置後の連続した 12 週間以上輸血非依存性となる。ある特定の実施形態では、患者は
、処置後の連続した 12 週間以上（例えば、24 週間を超えて、30 週間を超えて、36
週間を超えて、42 週間を超えて、48 週間を超えて）50% 以上の輸血の減少を有する
。

【0232】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAP タンパク
質を使用する単剤または併用療法）は、存在する場合、血小板減少症を好転させることに
おいて有効である。一部の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置
の開始前のレベルと比べて血小板を少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、
少なくとも 80%、少なくとも 90% または少なくとも 100% 増加させる。一部の
の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べ
て血小板を少なくとも 20%～30%、少なくとも 30%～40%、少なくとも 40%～
50%、少なくとも 50%～60%、少なくとも 60%～70%、少なくとも 70%～80%、
少なくとも 80%～90% または少なくとも 90%～100% 増加させる。一部の
の実施形態では、処置は、血小板を少なくとも 100% 増加させることにおいて有効である
。一部の実施形態では、処置は、血小板を少なくとも 25×10^9 個/L、 30×10^9
個/L、 40×10^9 個/L、 50×10^9 個/L、 60×10^9 個/L、 70×10^9
個/L、 80×10^9 個/L、 90×10^9 個/L または 100×10^9 個/L まで増加
させる。一部の実施形態では、処置は、血小板を少なくとも $25 \sim 50 \times 10^9$ 個/L、
 $50 \sim 75 \times 10^9$ 個/L、 $75 \sim 100 \times 10^9$ 個/L または $100 \sim 150 \times 10^9$
個/L まで増加させる。一部の実施形態では、処置は、血小板を 50×10^9 個/L まで
増加させる。一部の実施形態では、処置は、血小板を 100×10^9 個/L まで増加させ
る。一部の実施形態では、血小板は、慣例的な全血球計算（CBC）の一部として測定され
る。当業者により、血小板を測定するための他の公知の方法も採用されうることが理解
される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において血小板を増
加させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、
ある量の SAP タンパク質を、血小板を少なくとも 25%、少なくとも 30%、少なくと
も 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%
、少なくとも 90% または少なくとも 100% 増加させるために有効な投薬スケジュール
に従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAP タン
パク質は、血清から精製されたヒト SAP タンパク質とは異なるグリコシル化を有する S
AP タンパク質を含み、追加的な抗がん療法薬は JAK キナーゼ阻害剤である。ある特定
の実施形態では、血小板は、約 50%～60%、60%～70%、70%～80%、80%
～90% または 90%～100% 増加される。ある特定の実施形態では、患者は、 25
 $\times 10^9$ 個/L 超の血小板数を、処置後の連続した 12 週間以上有する。ある特定の実施
形態では、患者は、 50×10^9 個/L 超の血小板数を、処置後の連続した 12 週間以上
有する。ある特定の実施形態では、患者は、 100×10^9 個/L 超の血小板数を、処置
後の連続した 12 週間以上有する。ある特定の実施形態では、患者は、輸血せずにベース
ラインの血小板数の倍化を、連続した 12 週間以上有する。ある特定の実施形態では、患
者は、50% 以上の輸血の減少を、処置後の連続した 12 週間以上（例えば、24 週間を
超えて、30 週間を超えて、36 週間を超えて、42 週間を超えて、48 週間を超えて）
有する。

【0233】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAP タンパク
質を使用する単剤または併用療法）は、 100 g/L 未満のヘモグロビンおよび 50×10^9
個/L 未満の血小板の両方を有する対象において、ヘモグロビンレベルまたは血小板
レベルのいずれかまたは両方を、ベースラインからのヘモグロビンまたは血小板の悪化を
伴わずに、改善することにおいて有効である。一部の実施形態では、本明細書に記載の方

法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、 100 g/L 未満のヘモグロビンを有する対象におけるヘモグロビンレベルを、 50×10^9 個/ L 未満への血小板の悪化を伴わずに、改善することにおいて有効である。一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、 50×10^9 個/ L 未満の血小板を有する対象における血小板レベルを、 100 g/L 未満へのヘモグロビンの悪化も新たな輸血依存性も伴わずに、改善することにおいて有効である。

【0234】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPを使用する単剤または併用療法）は、標準治療などに対して、無増悪生存および／または全生存を増加させる。ある特定の実施形態では、無増悪生存および／または全生存は、無処置に対してまたは標準治療に対して測定される。

【0235】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、血小板輸血を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも25%、30%、40%、50%、60%、75%または100%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、血小板輸血を少なくとも50%減少させる。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において血小板輸血を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、血小板輸血を少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、血小板輸血は、約25%～40%、25%～50%、50%～70%または70%～100%減少される。ある特定の実施形態では、患者は、処置後の連続した12週間以上輸血非依存性となる。ある特定の実施形態では、患者は、50%以上の輸血の減少を、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）有する。

【0236】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、存在する場合、血小板増加症を好転させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて血小板を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%または少なくとも50%減少させる。一部の実施形態では、処置は、血小板を25%減少させる。一部の実施形態では、処置は、血小板を正常レベルまで減少させる。一部の実施形態では、血小板は、慣例的な全血球計算（CBC）の一部として測定される。当業者により、血小板を測定するための他の公知の方法も採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において血小板を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、血小板を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%または少なくとも50%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、血小板は、約10%～15%、少なくとも15%～25%または少なくとも25%～35%減少される。ある特定の実施形態では、血小板数の減少は、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）見られる。

【0237】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、存在する場合、好中球減少症を好転させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて好中球絶対数（ANC）を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%または少なくとも100%増加させる。一部の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べてANCを少なくとも20%～30%、少なくとも30%～40%、少なくとも40%～50%、少なくとも50%～60%、少なくとも60%～70%、少なくとも70%～80%、少なくとも80%～90%または少なくとも90%～100%増加させる。一部の実施形態では、処置は、ANCを少なくとも50%増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、ANCを少なくとも細胞1000個/ μ L、少なくとも細胞1250個/ μ L、少なくとも細胞1500個/ μ L、少なくとも細胞1750個/ μ Lまたは少なくとも細胞2000個/ μ Lまで増加させる。一部の実施形態では、処置は、ANCを少なくとも細胞1250～1500個/ μ L、少なくとも細胞1500～1750個/ μ Lまたは少なくとも細胞1750～2000個/ μ Lまで増加させる。一部の実施形態では、処置は、ANCを少なくとも細胞1500個/ μ Lまで増加させる。一部の実施形態では、ANCは、慣例的な全血球計算（CBC）の一部として測定される。当業者により、ANCを測定するための他の公知の方法も採用されることが理解される。ある特定の
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220
230
240
250
260
270
280
290
300
310
320
330
340
350
360
370
380
390
400
410
420
430
440
450
460
470
480
490
500
510
520
530
540
550
560
570
580
590
600
610
620
630
640
650
660
670
680
690
700
710
720
730
740
750
760
770
780
790
800
810
820
830
840
850
860
870
880
890
900
910
920
930
940
950
960
970
980
990
1000
1010
1020
1030
1040
1050
1060
1070
1080
1090
1100
1110
1120
1130
1140
1150
1160
1170
1180
1190
1200
1210
1220
1230
1240
1250
1260
1270
1280
1290
1300
1310
1320
1330
1340
1350
1360
1370
1380
1390
1400
1410
1420
1430
1440
1450
1460
1470
1480
1490
1500
1510
1520
1530
1540
1550
1560
1570
1580
1590
1600
1610
1620
1630
1640
1650
1660
1670
1680
1690
1700
1710
1720
1730
1740
1750
1760
1770
1780
1790
1800
1810
1820
1830
1840
1850
1860
1870
1880
1890
1900
1910
1920
1930
1940
1950
1960
1970
1980
1990
2000
2010
2020
2030
2040
2050
2060
2070
2080
2090
2100
2110
2120
2130
2140
2150
2160
2170
2180
2190
2200
2210
2220
2230
2240
2250
2260
2270
2280
2290
2300
2310
2320
2330
2340
2350
2360
2370
2380
2390
2400
2410
2420
2430
2440
2450
2460
2470
2480
2490
2500
2510
2520
2530
2540
2550
2560
2570
2580
2590
2600
2610
2620
2630
2640
2650
2660
2670
2680
2690
2700
2710
2720
2730
2740
2750
2760
2770
2780
2790
2800
2810
2820
2830
2840
2850
2860
2870
2880
2890
2900
2910
2920
2930
2940
2950
2960
2970
2980
2990
3000
3010
3020
3030
3040
3050
3060
3070
3080
3090
3100
3110
3120
3130
3140
3150
3160
3170
3180
3190
3200
3210
3220
3230
3240
3250
3260
3270
3280
3290
3300
3310
3320
3330
3340
3350
3360
3370
3380
3390
3400
3410
3420
3430
3440
3450
3460
3470
3480
3490
3500
3510
3520
3530
3540
3550
3560
3570
3580
3590
3600
3610
3620
3630
3640
3650
3660
3670
3680
3690
3700
3710
3720
3730
3740
3750
3760
3770
3780
3790
3800
3810
3820
3830
3840
3850
3860
3870
3880
3890
3900
3910
3920
3930
3940
3950
3960
3970
3980
3990
4000
4010
4020
4030
4040
4050
4060
4070
4080
4090
4100
4110
4120
4130
4140
4150
4160
4170
4180
4190
4200
4210
4220
4230
4240
4250
4260
4270
4280
4290
4300
4310
4320
4330
4340
4350
4360
4370
4380
4390
4400
4410
4420
4430
4440
4450
4460
4470
4480
4490
4500
4510
4520
4530
4540
4550
4560
4570
4580
4590
4600
4610
4620
4630
4640
4650
4660
4670
4680
4690
4700
4710
4720
4730
4740
4750
4760
4770
4780
4790
4800
4810
4820
4830
4840
4850
4860
4870
4880
4890
4900
4910
4920
4930
4940
4950
4960
4970
4980
4990
5000
5010
5020
5030
5040
5050
5060
5070
5080
5090
5100
5110
5120
5130
5140
5150
5160
5170
5180
5190
5200
5210
5220
5230
5240
5250
5260
5270
5280
5290
5300
5310
5320
5330
5340
5350
5360
5370
5380
5390
5400
5410
5420
5430
5440
5450
5460
5470
5480
5490
5500
5510
5520
5530
5540
5550
5560
5570
5580
5590
5600
5610
5620
5630
5640
5650
5660
5670
5680
5690
5700
5710
5720
5730
5740
5750
5760
5770
5780
5790
5800
5810
5820
5830
5840
5850
5860
5870
5880
5890
5900
5910
5920
5930
5940
5950
5960
5970
5980
5990
6000
6010
6020
6030
6040
6050
6060
6070
6080
6090
6100
6110
6120
6130
6140
6150
6160
6170
6180
6190
6200
6210
6220
6230
6240
6250
6260
6270
6280
6290
6300
6310
6320
6330
6340
6350
6360
6370
6380
6390
6400
6410
6420
6430
6440
6450
6460
6470
6480
6490
6500
6510
6520
6530
6540
6550
6560
6570
6580
6590
6600
6610
6620
6630
6640
6650
6660
6670
6680
6690
6700
6710
6720
6730
6740
6750
6760
6770
6780
6790
6800
6810
6820
6830
6840
6850
6860
6870
6880
6890
6900
6910
6920
6930
6940
6950
6960
6970
6980
6990
7000
7010
7020
7030
7040
7050
7060
7070
7080
7090
7100
7110
7120
7130
7140
7150
7160
7170
7180
7190
7200
7210
7220
7230
7240
7250
7260
7270
7280
7290
7300
7310
7320
7330
7340
7350
7360
7370
7380
7390
7400
7410
7420
7430
7440
7450
7460
7470
7480
7490
7500
7510
7520
7530
7540
7550
7560
7570
7580
7590
7600
7610
7620
7630
7640
7650
7660
7670
7680
7690
7700
7710
7720
7730
7740
7750
7760
7770
7780
7790
7800
7810
7820
7830
7840
7850
7860
7870
7880
7890
7900
7910
7920
7930
7940
7950
7960
7970
7980
7990
8000
8010
8020
8030
8040
8050
8060
8070
8080
8090
8100
8110
8120
8130
8140
8150
8160
8170
8180
8190
8200
8210
8220
8230
8240
8250
8260
8270
8280
8290
8300
8310
8320
8330
8340
8350
8360
8370
8380
8390
8400
8410
8420
8430
8440
8450
8460
8470
8480
8490
8500
8510
8520
8530
8540
8550
8560
8570
8580
8590
8600
8610
8620
8630
8640
8650
8660
8670
8680
8690
8700
8710
8720
8730
8740
8750
8760
8770
8780
8790
8800
8810
8820
8830
8840
8850
8860
8870
8880
8890
8900
8910
8920
8930
8940
8950
8960
8970
8980
8990
9000
9010
9020
9030
9040
9050
9060
9070
9080
9090
9100
9110
9120
9130
9140
9150
9160
9170
9180
9190
9200
9210
9220
9230
9240
9250
9260
9270
9280
9290
9300
9310
9320
9330
9340
9350
9360
9370
9380
9390
9400
9410
9420
9430
9440
9450
9460
9470
9480
9490
9500
9510
9520
9530
9540
9550
9560
9570
9580
9590
9600
9610
9620
9630
9640
9650
9660
9670
9680
9690
9700
9710
9720
9730
9740
9750
9760
9770
9780
9790
9800
9810
9820
9830
9840
9850
9860
9870
9880
9890
9900
9910
9920
9930
9940
9950
9960
9970
9980
9990
10000

【0238】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、存在する場合、白血球減少症を好転させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて白血球（WBC）を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%または少なくとも100%増加させる。一部の実施形態では、処置は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べてWBCを少なくとも20%～30%、少なくとも30%～40%、少なくとも40%～50%、少なくとも50%～60%、少なくとも60%～70%、少なくとも70%～80%、少なくとも80%～90%または少なくとも90%～100%増加させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを少なくとも50%増加させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、WBCを少なくとも 4×10^9 個/L、 5×10^9 個/L、 7.5×10^9 個/Lまたは 10×10^9 個/Lまで増加させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを 10×10^9 個/Lまで増加させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを正常範囲まで増加させる。一部の実施形態では、WBCは、慣例的な全血球計算（CBC）の一部として測定される。当業者により、WBCを測定するための他の公知の方法も採用されう
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220
230
240
250
260
270
280
290
300
310
320
330
340
350
360
370
380
390
400
410
420
430
440
450
460
470
480
490
500
510
520
530
540
550
560
570
580
590
600
610
620
630
640
650
660
670
680
690
700
710
720
730
740
750
760
770
780
790
800
810
820
830
840
850
860
870
880
890
900
910
920
930
940
950
960
970
980
990
1000
1010
1020
1030
1040
1050
1060
1070
1080
1090
1100
1110
1120
1130
1140
1150
1160
1170
1180
1190
1200
1210
1220
1230
1240
1250
1260
1270
1280
1290
1300
1310
1320
1330
1340
1350
1360
1370
1380
1390
1400
1410
1420
1430
1440
1450
1460
1470
1480
1490
1500
1510
1520
1530
1540
1550
1560
1570
1580
1590
1600
1610
1620
1630
1640
1650
1660
1670
1680
1690
1700
1710
1720
1730
1740
1750
1760
1770
1780
1790
1800
1810
1820
1830
1840
1850
1860
1870
1880
1890
1900
1910
1920
1930
1940
1950
1960
1970
1980
1990
2000
2010
2020
2030
2040
2050
2060
2070
2080
2090
2100
2110
2120
2130
2140
2150
2160
2170
2180
2190
2200
2210
2220
2230
2240
2250
2260
2270
2280
2290
2300
2310
2320
2330
2340
2350
2360
2370
2380
2390
2400
2410
2420
2430
2440
2450
2460
2470
2480
2490
2500
2510
2520
2530
2540
2550
2560
2570
2580
2590
2600
2610
2620
2630
2640
2650
2660
2670
2680
2690
2700
2710
2720
2730
2740
2750
2760
2770
2780
2790
2800
2810
2820
2830
2840
2850
2860
2870
2880
2890
2900
2910
2920
2930
2940
2950
2960
2970
2980
2990
3000
3010
3020
3030
3040
3050
3060
3070
3080
3090
3100
3110
3120
3130
3140
3150
3160
3170
3180
3190
3200
3210
3220
3230
3240
3250
3260
3270
3280
3290
3300
3310
3320
3330
3340
3350
3360
3370
3380
3390
3400
3410
3420
3430
3440
3450
3460
3470
3480
3490
3500
3510
3520
3530
3540
3550
3560
3570
3580
3590
3600
3610
3620
3630
3640
3650
3660
3670
3680
3690
3700
3710
3720
3730
3740
3750
3760
3770
3780
3790
3800
3810
3820
3830
3840
3850
3860
3870
3880
3890
3900
3910
3920
3930
3940
3950
3960
3970
3980
3990
4000
4010
4020
4030
4040
4050
4060
4070
4080
4090
4100
4110
4120
4130
4140
4150
4160
4170
4180
4190
4200
4210
4220
4230
4240
4250
4260
4270
4280
4290
4300
4310
4320
4330
4340
4350
4360
4370
4380
4390
4400
4410
4420
4430
4440
4450
4460
4470
4480
4490
4500
4510
4520
4530
4540
4550
4560
4570
4580
4590
4600
4610
4620
4630
4640
4650
4660
4670
4680
4690
4700
4710
4720
4730
4740
4750
4760
4770
4780
4790
4800
4810
4820
4830
4840
4850
4860
4870
4880
4890
4900
4910
4920
4930
4940
4950
4960
4970
4980
4990
5000
5010
5020
5030
5040
5050
5060
5070
5080
5090
5100
5110
5120
5130
5140
5150
5160
5170
5180
5190
5200
5210
5220
5230
5240
5250
5260
5270
5280
5290
5300
5310
5320
5330
5340
5350
5360
5370
5380
5390
5400
5410
5420
5430
5440
5450
5460
5470
5480
5490
5500
5510
5520
5530
5540
5550
5560
5570
5580
5590
5600
5610
5620
5630
5640
5650
5660
5670
5680
5690
5700
5710
5720
5730
5740
5750
5760
5770
5780
5790
5800
5810
5820
5830
5840
5850
5860
5870
5880
5890
5900
5910
5920
5930
5940
5950
5960
5970
5980
5990
6000
6010
6020
6030
6040
6050
6060
6070
6080
6090
6100
6110
6120
6130
6140
6150
6160
6170
6180
6190
6200
6210
6220
6230
6240
6250
6260
6270
6280
6290
6300
6310
6320
6330
6340
6350
6360
6370
6380
6390
6400
6410
6420
6430
6440
6450
6460
6470
6480
6490
6500
6510
6520
6530
6540
6550
6560
6570
6580
6590
6600
6610
6620
6630
6640
6650
6660
6670
6680
6690
6700
6710
6720
6730
6740
6750
6760
6770
6780
6790
6800
6810
6820
6830
6840
6850
6860
6870
6880
6890
6900
6910
6920
6930
6940
6950
6960
6970
6980
6990
7000
7010
7020
7030
7040
7050
7060
7070
7080
7090
7100
7110
7120
7130
7140
7150
7160
7170
7180
7190
7200
7210
7220
7230
7240
7250
7260
7270
7280
7290
7300
7310
7320
7330
7340
7350
7360
7370
7380
7390
7400
7410
7420
7430
7440
7450
7460
7470
7480
7490
7500
7510
7520
7530
7540
7550
7560
7570
7580
7590
7600
7610
7620
7630
7640
7650
7660
7670
7680
7690
7700
7710
7720
7730
7740
7750
7760
7770
7780
7790
7800
7810
7820
7830
7840
7850
7860
7870
7880
7890
7900
7910
7920
7930
7940
7950
7960
7970
7980
7990
8000
8010
8020
8030
8040
8050
8060
8070
8080
8090
8100
8110
8120
8130
8140
8150
8160
8170
8180
8190
8200
8210
8220
8230
8240
8250
8260
8270
8280
8290
8300
8310
8320
8330
8340
8350
8360
8370
8380
8390
8400
8410
8420
8430
8440
8450
8460
8470
8480
8490
8500
8510
8520
8530
8540
8550
8560
8570
8580
8590
8600
8610
8620
8630
8640
8650
8660
8670
8680
8690
8700
8710
8720
8730
8740
8750
8760
8770
8780
8790
8800
8810
8820
8830
8840
8850
8860
8870
8880
8890
8900
8910
8920
8930
8940
8950
8960
8970
8980
8990
9000
9010
9020
9030
9040
9050
9060
9070
9080
9090
9100
911

ることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者においてWBCを増加させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、WBCを少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%または少なくとも100%増加させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、WBCは、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%、少なくとも60%~70%、少なくとも70%~80%、少なくとも80%~90%または少なくとも90%~100%増加される。一部の実施形態では、WBCの増加は、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）見られる。

【0239】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、存在する場合、白血球増加症を好転させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、ANCを1500個/ μ L未満に減少させることなく、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べてANCを少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させる。一部の実施形態では、処置は、ANCを25%減少させる。一部の実施形態では、処置は、ANCを50%減少させる。一部の実施形態では、処置は、ANCを正常レベルまで減少させる。一部の実施形態では処置は、白血球（WBC）を正常の下限未満に減少させることなく、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べてWBCを少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、すくなくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを25%減少させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを50%減少させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを 35×10^9 個/L未満、 30×10^9 個/L未満、 25×10^9 個/L未満、 20×10^9 個/L未満または 15×10^9 個/L未満まで減少させる。一部の実施形態では、処置は、WBCを 25×10^9 個/L未満まで減少させる。一部の実施形態では、処置はWBCを正常範囲まで減少させる。一部の実施形態では、ANCおよびWBCは、慣例的な全血球計算（CBC）の一部として測定される。当業者により、ANCまたはWBCを測定するための他の公知の方法も採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者においてANCまたはWBCを減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、WBCを正常の下限未満に減少させることなく、ANCまたはWBCを少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、WBCを正常の下限未満に減少させることなく、ANCまたはWBCは、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%減少される。一部の実施形態では、処置は、WBCを 25×10^9 個/L未満まで、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）減少させる。

【0240】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク

質を使用する単剤または併用療法)は、末梢血芽球を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、末梢血芽球を少なくとも50%減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、末梢血芽球を1%以上から1%未満に減少させることにおいて有効である。当業者により、末梢血芽球を測定するための本技術分野で公知の任意の方法が採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において末梢血芽球を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、末梢血芽球を少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、末梢血芽球は、約20~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%減少される。ある特定の実施形態では、末梢血芽球が、1%以上から1%未満に減少される。ある特定の実施形態では、末梢血芽球が、処置後の連続した12週間以上(例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて)1%以上から1%未満に減少される。

【0241】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置(例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法)は、骨髄線維症をグレード3からグレード2に減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、骨髄線維症をグレード3からグレード1に減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、骨髄線維症をグレード3からグレード0に減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、骨髄線維症をグレード2からグレード1に減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は骨髄線維症をグレード2からグレード0に減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、骨髄線維症を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%減少させることにおいて有効である。当業者により、骨髄線維症を評価するための本技術分野で公知の任意の方法が採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において骨髄線維症を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、骨髄線維症を少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、骨髄線維症は、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%減少される。ある特定の実施形態では、1グレードよりも大きい骨髄線維症における減少は、処置後の連続した12週間以上(例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて)見られる。

【0242】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置(例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法)は、定量的画像解析によって測定された骨髄線維症を減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、骨髄線維症を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも5、10、20、

30、40、50、60、70、80または90%減少させることにおいて有効である。当業者により、骨髓線維症を評価するための本技術分野で公知の任意の定量的画像解析法が採用されることが理解される。一部の実施形態では、コンピュータ支援画像解析(CIA)が、ベースライン試料に比したすべての処置後の試料の全体的な線維症レベルおよび骨硬化症の客観的定量化のために、患者からの逐次的な骨髓検体(specimens)のスライドスキャン全体に対して実行される。骨梁(bone trabeculae)によって占有される領域(全コア生検材料の%)およびレチクリン線維(reticulin fiber)によって占有される領域(脂肪を除く造血領域の%)が計算される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において骨髓線維症を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髓線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、骨髓線維症を少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、骨髓線維症は、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%減少される。ある特定の実施形態では、10%を超える骨髓線維症の減少は、処置後の連続した12週間以上(例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて)見られる。

10

【0243】

20

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置(例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法)は、治癒および造血の回復を示す骨髓形態を改善することにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、巨核球のトポグラフィを、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%改善することにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、骨髓球系対赤血球系(M:E)比を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%正常化することにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、コラーゲンおよび骨硬化症を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%減少させることにおいて有効である。当業者により、骨髓形態を評価するための本技術分野で公知の任意の方法が採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において骨髓形態を改善する(例えば、巨核球のトポグラフィを改善すること、M:E比を正常化すること、コラーゲンおよび骨硬化症を減少させることのうちの1つまたは複数)ための方法であって、それを必要とする患者は骨髓線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、骨髓形態を少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%改善するために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、骨髓形態は、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%改善される。ある特定の実施形態では、10%超の骨髓形態の改善は、処置後の連続した12週間以上(例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて)見られる。

30

40

【0244】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置(例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法)は、骨髓、脾臓および肝臓における線維症を減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、線維症は、ポジトロン断層撮影/コンピュータ断層撮影(PET/CT)によって測定される。一部の実施形態では、線維症は

50

、 $3'-^{18}$ フルオロ- $3'$ -デオキシ-L-チミジン (^{18} F-FLT) PETによって測定される (Andreoliら、ASH 2014年要約3195)。一部の実施形態では、線維症は、 ^{18} F-フルオロデオキシグルコースポジトロン断層撮影/コンピュータ断層撮影 ^{18} FDG-PET/CTによって測定される (Derlinら、ASH 2014年要約1866)。一部の実施形態では、処置は、骨髄、脾臓または肝臓の線維症を、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%減少させることにおいて有効である。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において骨髄、脾臓または肝臓の線維症を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、骨髄、脾臓または肝臓の線維症を少なくとも5、10、20、30、40、50、60、70、80または90%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、骨髄、脾臓または肝臓の線維症は、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%減少される。ある特定の実施形態では、骨髄、脾臓または肝臓の線維症の10%超の減少は、処置後の連続した12週間以上 (例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて) 見られる。

10

【0245】

20

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置 (例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法) は、骨髄芽球を5%以上から5%未満に減少させることにおいて有効である。当業者により、骨髄芽球を測定するための本技術分野で公知の任意の方法が採用されることが理解される。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において骨髄芽球を減少させるための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、骨髄芽球を少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%または少なくとも70%減少させるために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、骨髄芽球は、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%減少される。ある特定の実施形態では、骨髄芽球の減少は、処置後の連続した12週間以上 (例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて) 見られる。

30

【0246】

一部の実施形態では、処置は、骨髄の細胞充実性を改善することにおいて有効である。改善は、本明細書に提供される方法による処置の開始前のレベルと比べて、少なくとも20、30、40、50、60または70%であることができる。ある特定の実施形態では、本開示は、それを必要とする患者において骨髄の細胞充実性を改善するための方法であって、それを必要とする患者は骨髄線維症を有し、この方法は、ある量のSAPタンパク質を、骨髄の細胞充実性を少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%または少なくとも70%改善するために有効な投薬スケジュールに従って投与するステップを含む方法を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は、血清から精製されたヒトSAPタンパク質とは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む。ある特定の実施形態では、骨髄の細胞充実性は、約20%~30%、少なくとも30%~40%、少なくとも40%~50%、少なくとも50%~60%または少なくとも60%~70%改善される。ある特定の実施形態では、骨髄形態の改

40

50

善は、処置後の連続した12週間以上（例えば、24週間を超えて、30週間を超えて、36週間を超えて、42週間を超えて、48週間を超えて）見られる。

【0247】

一部の実施形態では、処置は、白赤芽球症を減少させることにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、白赤芽球症を除去することにおいて有効である。一部の実施形態では、処置は、処置後の連続した12週間以上にわたり白赤芽球症を減少させるかまたは除去することにおいて有効である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置（例えば、SAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、本明細書に記載の効果（例えば、突然変異型対立遺伝子荷重の減少、脾臓体積の減少、MPN-SAF合計症状スコアの低下、EORTC QLQ-C30により測定した生活の質を改善させること、ヘモグロビンの増加、RBC輸血の減少、血小板減少症における改善、血小板輸血の減少、血小板増加症における改善、好中球減少症の改善、白血球増加症の改善、末梢血芽球の減少、骨髓線維症の減少、骨髓芽球の減少、末梢血芽球の減少または骨髓の細胞充実性の改善）のうちの少なくとも1つをもたらす。一部の実施形態では、本明細書に記載の方法を使用する処置は、本明細書に記載の効果のうちの少なくとも2つをもたらす。一部の実施形態では、上記方法を使用する処置は、本明細書に記載の効果のうちの少なくとも3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つまたは10個をもたらす。上記のいずれかのある特定の実施形態では、症状の特定の程度の改善または治療効果が達成されたかどうかの評価は、少なくとも12週間、18週間、20週間もしくは少なくとも24週間の処置の後、または24週間超の処置の後（例えば、30週間超、36週間超、42週間超、48週間超）などの、時間をわたって1つまたは複数の時点で評価される。

【0248】

一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のうちの1つまたは複数を使用する処置（例えば、本開示のSAPタンパク質を使用する単剤または併用療法）は、臨床的に有意な骨髓抑制を引き起こすことも誘発することもなく、本明細書に記載の効果（例えば、脾臓体積の減少、MPN-SAF合計症状スコアの低下、EORTC QLQ-C30により測定した生活の質を改善すること、ヘモグロビンの増加、RBC輸血の減少、輸血非依存性の達成、血小板減少症の改善、血小板輸血の減少、血小板増加症における改善、好中球減少症における改善、白血球増加症における改善、末梢血芽球の減少、骨髓線維症の減少、骨髓芽球の減少または骨髓の細胞充実性の改善）のうちの少なくとも1つをもたらす。一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のうちの1つまたは複数を使用する処置は、臨床的に有意な骨髓抑制を引き起こすことも誘発することもなく、本明細書に記載の効果のうちの少なくとも2つをもたらす。一部の実施形態では、上記方法のうちの1つまたは複数を使用する処置は、臨床的に有意な骨髓抑制を引き起こすことも誘発することもなく、本明細書に記載の効果のうちの少なくとも3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つまたは10個をもたらす。一部の実施形態では、本明細書に記載の方法のうちの1つまたは複数を使用する処置は骨髓抑制をもたらさない。ある特定の実施形態では、任意の上記方法は、組換えヒトSAP（例えば、CHO細胞において産生された組換えヒトペントラキシン-2）などのヒト血清から精製されたSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含むSAPを投与するステップを含む。ある特定の実施形態では、任意の上記方法は、投薬スケジュールに従ってSAPタンパク質を投与するステップを含み、ここで、投薬スケジュールに従う投与後に、任意の上記治療効果が達成される。ある特定の実施形態では、投薬スケジュールに従う投与（例えば、投与するステップは、投薬スケジュールに従って投与することを含む）後に、上記治療効果のうちの1つまたは複数が達成される。任意の上記パラメータの改善（例えば、症状の減少）は、処置の間の1つまたは複数の時点、例えば、少なくとも12週間、少なくとも18週間、少なくとも20週間、少なくとも24週間、または24週間超の処置（例えば、30週間超、36週間超、42週間超、48週間超）後に評価される。

【0249】

1種または複数の症状の改善などの、患者における改善の上記例のいずれかのために、

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、本開示は、処置が、治療効果を有するために有効な用量および投薬スケジュールでSAPタンパク質を投与するステップを含むことを示す。上記のいずれかのある特定の実施形態などのある特定の実施形態では、SAPは追加的な抗がん療法薬なしに投与される。

【0250】

一部の実施形態では、SAPタンパク質は、28日または4週間サイクルで少なくとも1サイクル、少なくとも2サイクル、少なくとも3サイクル、少なくとも4サイクル、少なくとも5サイクル、少なくとも6サイクル、少なくとも7サイクルまたは少なくとも8サイクルの間、4週間毎のSAPタンパク質の投与を含む投薬スケジュールで投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、28日サイクルで少なくとも6サイクル、28日サイクルで少なくとも8サイクル、28日サイクルで少なくとも10サイクル、28日サイクルで少なくとも12サイクル、28日サイクルで少なくとも15サイクル、28日サイクルで少なくとも18サイクルまたは28日サイクルで少なくとも24サイクルの間、4週間毎に1回対象に投与される。一部の実施形態では、化合物は、少なくとも1カ月、少なくとも2カ月、少なくとも3カ月、少なくとも4カ月、少なくとも5カ月、少なくとも6カ月、少なくとも8カ月、少なくとも1年または少なくとも2年の間、4週間毎に1回、対象に投与され、おそらくは、患者の人生にわたって慢性的に投与される。さらなる実施形態では、SAPタンパク質は、処置の最初の週において1日おきに投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、28日サイクルで少なくとも6サイクル、28日サイクルで少なくとも8サイクル、28日サイクルで少なくとも10サイクル、28日サイクルで少なくとも12サイクル、28日サイクルで少なくとも15サイクル、28日サイクルで少なくとも18サイクルまたは28日サイクルで少なくとも24サイクルの間、4週間毎に数日（例えば、1、3、5日目）投与される。一部の実施形態では、化合物は、少なくとも1カ月、少なくとも2カ月、少なくとも3カ月、少なくとも4カ月、少なくとも5カ月、少なくとも6カ月、少なくとも8カ月、少なくとも1年または少なくとも2年の間、4週間毎に数日（例えば、1、3、5日目）投与され、おそらくは、患者の人生にわたって慢性的に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、28日サイクルで少なくとも1サイクル、少なくとも2サイクル、少なくとも3サイクル、少なくとも4サイクル、少なくとも5サイクル、少なくとも6サイクル、少なくとも7サイクルまたは少なくとも8サイクルの間、1週間に少なくとも1回のSAPタンパク質の投与を含む投薬スケジュールで対象に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、28日サイクルで少なくとも6サイクル、28日サイクルで少なくとも8サイクル、28日サイクルで少なくとも10サイクル、28日サイクルで少なくとも12サイクル、28日サイクルで少なくとも15サイクル、28日サイクルで少なくとも18サイクルまたは28日サイクルで少なくとも24サイクルの間、1週間に少なくとも1回、対象に投与される。一部の実施形態では、化合物は、少なくとも1カ月、少なくとも2カ月、少なくとも3カ月、少なくとも4カ月、少なくとも5カ月、少なくとも6カ月、少なくとも8カ月、少なくとも1年または少なくとも2年の間、1週間に1回、対象に投与される。さらなる実施形態では、化合物は、処置の最初の1週間、1日おきに投与される。ある特定の実施形態では、投薬スケジュールは、本明細書に記載の効果（例えば、1種または複数の症状またはパラメータの改善）のうちの少なくとも1つ（例えば、脾臓体積の減少、MPN-SAF合計症状スコアの低下、ヘモグロビンの増加、RBC輸血の減少、輸血非依存性の達成、血小板減少症の改善、血小板輸血の減少、血小板増加症における改善、好中球減少症における改善、白血球増加症における改善、末梢血芽球の減少、骨髓線維症の減少、骨髓芽球の減少または骨髓の細胞充実性の改善）をもたらす。一部の実施形態では、投薬スケジュールは、本明細書に記載の効果のうちの少なくとも2つをもたらす。一部の実施形態では、投薬スケジュールは、本明細書に記載の効果のうちの少なくとも3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つまたは10個をもたらす。ある特定の実施形態では、SAPアゴニストは組換えヒトSAPを含む。

【0251】

ある特定の実施形態では、本開示は、 10 mg/kg の、血清から精製されたヒトSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質などのSAPタンパク質をサイクル1の1、3、5日目および各後続の28日サイクルの1日目に投与することを含む投与レジメンを使用して、SAPタンパク質を投与することを含む投薬スケジュールに従って、ある量のSAPタンパク質を投与するための方法を提供する。

【0252】

ある特定の実施形態では、本開示は、 3 mg/kg のSAPタンパク質をサイクル1の1、3、5日目および各後続の28日サイクルの1日目に投与することを含む投与レジメンを使用して、SAPタンパク質を投与することを含む投薬スケジュールに従って、ある量のSAPタンパク質を投与するための方法を提供する。

10

【0253】

ある特定の実施形態では、本開示は、 0.3 mg/kg のSAPタンパク質をサイクル1の1、3、5日目および各後続の28日サイクルの1日目に投与することを含む投与レジメンを使用してSAPタンパク質を投与することを含む投薬スケジュールに従って、ある量のSAPタンパク質を投与するための方法を提供する。

【0254】

一部の実施形態では、SAPタンパク質は、最初の週の間に複数回（例えば、1、3、5日目）投与され、その後は毎週、2週間毎、3週間毎または4週間毎に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は、1週間に複数回、1週間おきに、3週間毎に、毎月、1カ月おきに、3カ月毎に、6カ月毎にまたは必要に応じて投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質はIV注入により投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は皮下に投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は 10 mg/kg の用量で投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は 3 mg/kg の用量で投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は 0.3 mg/kg の用量で投与される。一部の実施形態では、SAPタンパク質は本明細書に記載のいずれかの投薬量で投与される。一部の実施形態では、本明細書に記載の投与レジメンは、本明細書に記載の処置転帰のうちの1つを達成するために必要に応じて調整される。

20

【0255】

一部の実施形態では、本明細書に開示される方法は、最初の応答を達成した後、1つまたは複数の追加の用量のSAPタンパク質を投与するステップを含む。一部の実施形態では、後続の応答は、対象における最初の応答を達成した後に、1つまたは複数の追加の用量のSAPタンパク質の投与に続いて達成される。後続の応答は、追加の応答（例えば、最初は観察されなかった、本明細書に記載の任意の応答）、最初の応答の維持、または最初の応答に対する改善であることができる。一部の実施形態では、1つまたは複数の追加の用量の投与は、最初の応答を実質的に維持する。一部の実施形態では、1つまたは複数の追加の用量の投与は、最初の応答に対するさらなる改善を提供する。一部の実施形態では、1つまたは複数の追加の用量の投与は、最初に観察されなかった1つまたは複数の追加の応答を提供する。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は組換えヒトSAPを含む。

30

【0256】

一部の実施形態では、ヒト対象などの対象へのSAPタンパク質または薬学的に許容されるその塩の投与に際して、用量後約0.5～約5時間、約1.5～約4.5時間、約2～約4時間または約2.5～約3.5時間内に、化合物の C_{max} （最大薬物濃度）が達成される。一部の実施形態では、ヒト対象への化合物の投与に際して、化合物の排出半減期は、約11～110時間、20～72時間、12～約40時間、約16～約34時間または約20～約40時間である。一部の実施形態では、化合物の平均AUCは、 1 kg 当たり約0.1 mg ～約40 mg にわたる漸増用量に比例するよりも大きく増加する。一部の実施形態では、化合物の蓄積は、化合物が毎週1回投薬される場合、定常状態において約1.1～約5倍、約1.25～約4.0倍、約1.5～約3.5倍、約2～約3倍である。一部の実施形態では、毎週投薬された場合、化合物は蓄積しない。

40

50

【0257】

SAPタンパク質およびSAPアゴニスト

本開示の一態様は、骨髄増殖性障害の処置において有用なSAPタンパク質を提供する。本開示の一態様は、骨髄増殖性障害の処置において有用なSAPアゴニストを提供する。SAPアゴニストは、SAP活性を増大させる化合物を含む、内因性SAPシグナル伝達を増大させるかまたは他の方法で模倣するすべての化合物および組成物を包含する。任意の上記方法のある特定の実施形態では、SAPアゴニストは、SAPタンパク質が使用されているところではどこでも、単独でまたは本開示のSAPタンパク質と組み合わせて使用可能である。例示的なSAPアゴニストが以下に記載される。本開示を通じて、「SAPタンパク質」が言及される。別段の定めのない限り、そのような言及は、ヒトSAPを含むSAPタンパク質などの組換えSAPであって、ヒト血清から単離されたSAPとは異なるグリコシル化を有するSAPタンパク質を含む、本明細書に開示された任意のSAPタンパク質の使用を企図する。本開示は、本明細書に開示された任意のSAPタンパク質およびSAPアゴニストの、単独でまたは併用療法としての使用を含む、本明細書に記載の任意の方法における使用を企図する。

10

【0258】

SAP

SAPまたはペントラキシン-2は、円盤様の複合体に非共有結合により会合した5つの同一のサブユニットまたはプロトマーで構成される、哺乳動物における天然に存在する血清タンパク質である。SAPは、タンパク質のペントラキシンスーパーファミリーに属し、この環状の5量体構造を特徴とする。古典的な短いペントラキシンは、SAPならびにC-反応性タンパク質を含む(Osmand, A. P.ら、Proc. Nat. Acad. Sci.、74巻：739～743頁、1997年)。長いペントラキシンは、ペントラキシン-3を含む。SAPは通常、肝臓で合成され、24時間の生理学的半減期を有する。ヒトSAP(hSAP)は、血漿中、およそ20～40 μg/mlでホモ五量体として循環している。ヒトSAPサブユニットの配列は、配列番号1に開示され、これはGenbank Accession番号NP_001630(シグナル配列は示されない)のアミノ酸20～223に相当する。

20

【0259】

以前の研究は、SAPが免疫応答の開始期および消散期の両方において重要な役割を有することを実証する。hSAPは微生物に対する先天的な抵抗性ならびに細胞残屑の除去および食作用において機能し、創傷治癒および線維症の制御において役割を演じるようである。これらの機能は、(i)上で特定した微生物および細胞残屑と関連したリガンドならびに多様な細胞外マトリックスタンパク質にCa²⁺依存性の様式で結合すること、(ii)C3bおよびiC3bによるオプソニン化を促進することによって、補体活性化のためにC1qに結合すること、(iii)直接的なオプソニン化および続く食作用またはエンドサイトーシスを開始するためにFcγ受容体に結合すること、ならびに(iv)単球の機能および分化のその後の制御を含みうる。したがって、hSAP分子は、傷害および修復の部位に局在し、これらの分子を結合することによって、これらの位置を標的としおよび/または濃縮しうる。

30

40

【0260】

hSAPの3D構造がX線結晶学により決定され、異なるリガンドと複合体を形成した数種の結晶構造も報告されている。hSAPの五量体構造は、五回回転対称を有し、ポアによってかなり剛性である。hSAP五量体の直径はおよそ100 Åであり、中心のポアは直径が20 Åで深さ35 Åである。各プロトマーは、ゼリーロールトポロジーを有する疎水性コアを有する、2つのシートに配置された逆平行のβストランドから構築される。hSAP五量体は、各プロトマーに1つある、5つのαヘリックスを有するA面および5組の二重カルシウム結合部位(double calcium-binding site)を有するB面の2つの面を有する。B面は、カルシウム依存性のリガンド結合面を提供すると考えられ、ホスホリルエタノールアミン、DNA、ヘパラン硫酸、デルマタン硫

50

酸およびデキストラン硫酸、ラミニンおよびI V型コラーゲンを含む、B面に結合する数種のカルシウム依存性リガンドが同定されている。h S A PのA面もC l qなどの分子を結合するように見え、F c γ受容体への結合によって食作用を媒介しうる。各プロトマーは単一の部位、A s n 3 2においてグリコシル化されうる。

【0261】

NおよびC末端は溶媒が接触可能であり、各プロトマー分子の内側縁に位置している。N末端は各プロトマーの外側縁および5つのプロトマーにより形成される環の周縁に位置している。C末端は内側周縁および五量体環のボアにより近く位置するが、A面に向かって外側に方向づけられている。1つのプロトマー内のNおよびC末端は、約25 Å離れている。末端はサブユニット相互作用に関与しないように見え、それらはA s n 3 2に結合したグリカン鎖から離れている。h S A Pのサブユニットはこれらの相互作用に関与する各サブユニットの表面のおよそ15%と、非共有結合により一緒に保持されている。これらの広範囲にわたる相互作用は、h S A P五量体の顕著な安定性の原因となる。

【0262】

本明細書に記載の実施形態により包含されるS A Pとしては、例えば、ヒトS A Pまたは他の脊椎動物もしくは哺乳動物供給源由来の異性体もしくはアナログなどの任意の供給源由来のS A Pが挙げられる。S A Pは、例えば、部位特異的変異誘発によって導入された天然のP T X-2アミノ酸配列からの修飾を有するS A P分子をさらに包含する。そのような修飾は、分子の一般的な五量体ペントラキシンの性質を保持する一方、分子の特異的アミノ酸および／または他の特徴を変更しうる。「S A Pタンパク質」は、S A P五量体およびS A Pプロトマーの両方を包含するように使用されうる。「S A P五量体」または「五量体S A P」は、少なくとも5つのS A Pプロトマーを含むタンパク質複合体を指し、「S A Pプロトマー」はS A P五量体の1つの個別のタンパク質単位を指す。本開示の任意の態様および実施形態のある特定の実施形態では、本開示は、配列番号1に示されたアミノ酸配列を含む1つまたは複数のプロトマーを含むS A Pタンパク質の投与を含む。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は、5つのプロトマーを含むタンパク質である。ある特定の実施形態では、S A Pタンパク質は組換えヒトS A Pを含む。例示的な組換えヒトS A Pは、R P M-151を含む。ある特定の実施形態では、S A Pアゴニストは組換えS A Pを含む。一般的にタンパク質を作製する方法および具体的にヒトペントラキシンの2を組換えにより作製する方法は本技術分野で公知である。昆虫または哺乳動物細胞などの組換え発現に好適な細胞が選択されうる。配列番号1は、ヒトS A Pプロトマーのアミノ酸配列に相当する。

【0263】

ヒトS A Pタンパク質のグリカン構造の修飾は、ヒト血清から単離された野生型S A Pの対応する試料に比較してS A Pタンパク質の生物学的活性を増加させることができる。ヒト血清由来の単離されたS A Pはα2, 6結合型シアル酸残基のみを含有する。対照的に、C H O細胞において産生された組換えヒトS A P (r h S A P)はα2, 3結合型シアル酸残基のみを含有する。i n v i t r oの細胞ベースのバイオアッセイでは、α2, 3結合型シアル酸S A Pタンパク質は、ヒト血清から単離された野生型S A P (すなわち、α2, 6結合型シアル酸)よりも一貫して高い活性を示す。本開示の変異型S A Pタンパク質は、それらの増大した生物学的効力によって治療剤としてより有効でありうる。例えば、より強力なS A P変異体は、ヒト血清から単離された野生型S A Pに比較してより低量の投薬および／またはより頻度の低い投薬を必要とする可能性がある。本開示は、変異型ヒトS A Pタンパク質およびそれを製造する方法の両方を提供する。特に、本開示は、所望のグリコシル化パターンを有するヒトS A Pタンパク質を産生するための、i n v i t r oおよびi n v i v oの糖残基の付加、欠失または修飾のための方法および組成物を含む。

【0264】

変異型S A Pタンパク質

一部分において、本開示は骨髄増殖性障害の処置における使用のための変異型血清アミ

10

20

30

40

50

ロイド P (SAP) ポリペプチドを提供する。特に、本開示の SAP 変異体は、それぞれが独立して $\alpha 2, 3$ 結合型シアル酸部分で終端した分枝を 1 本、2 本、3 本、4 本または 5 本有する、1 つまたは複数の N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖を含む、グリコシル化ヒト SAP タンパク質を含む。一部の実施形態では、N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖のすべてのシアル酸付加された分枝は、 $\alpha 2, 3$ 結合部分で終端する。一部の実施形態では、N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖のシアル酸付加された分枝の 15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、75%、80%、85% またはなお少なくとも 95% は、 $\alpha 2, 3$ 結合部分で終端する。本開示の他の SAP 変異体としては、ヒト血清由来の野生型 SAP タンパク質よりも、少なくとも 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、75%、80%、85% またはなお少なくとも 95% 少ない $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸部分を有する N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖を含有するグリコシル化ヒト SAP タンパク質が挙げられる。一部の実施形態では、N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖は、 $\alpha 2, 6$ 結合型シアル酸部分を実質的に含まない。本開示の糖変異型 SAP タンパク質は、(例えば、二分岐 (bi-antennary)、三分岐 (tri-antennary)、四分岐 (tetra-antennary)、五分岐 (penta-antennary) などの構造を有する) 1 本または複数の分枝を有する N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖を含んでもよい。ある特定の実施形態では、本開示の SAP タンパク質は、N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖を含み、ここで、オリゴ糖鎖の 1 本、2 本、3 本、4 本または 5 本の分枝は、ガラクトースおよび N-アセチルグルコサミンを実質的に含まない。本開示のある特定の SAP タンパク質は、ガラクトースおよび N-アセチルグルコサミンを実質的に含まない N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖を有する。一部の実施形態では、本開示の SAP タンパク質は、N 結合型または O 結合型オリゴ糖鎖を含み、ここで、オリゴ糖鎖の 1 本、2 本、3 本、4 本または 5 本の分枝は 1 つまたは複数のマンノース残基を含有する。ある特定の実施形態では、本開示の SAP タンパク質は、Man [($\alpha 1, 6$) - (Man ($\alpha 1, 3$)) - Man ($\beta 1, 4$) - GlcNAc ($\beta 1, 4$) - GlcNAc ($\beta 1, N$) - Asn の五糖コアを有する N 結合型オリゴ糖を含む。この五糖コアは、1 つまたは複数のフコースまたはキシロース残基も含んでもよい。ある特定の実施形態では、本開示の SAP タンパク質は、N 結合型オリゴ糖鎖を含み、ここで、オリゴ糖鎖の 1 本、2 本、3 本、4 本または 5 本の分枝は、構造 NeuNAc2 α 3Gal β 4GlcNAc β 2Man α 6 を有する。本開示の SAP タンパク質はまた、すべての分枝が構造 NeuNAc2 α 3Gal β 4GlcNAc β 2Man α 6 を有する N 結合型オリゴ糖鎖を含んでもよい。

【0265】

本開示の変異型 SAP タンパク質は、1 つまたは複数の「修飾された」糖残基を含んでもよい。修飾された糖は、修飾部分または基の付着であって、なお糖が修飾された糖をペプチドにカップリングさせるために使用される酵素の基質として機能することを許容するものの付着を可能とする任意の位置で置換される。修飾基は、酵素的手段、化学的手段またはこれらの組合せによって糖部分に付着可能であり、それによって修飾された糖、例えば、修飾されたガラクトース、フコースまたはシアル酸を産生する。本開示における使用に好適な修飾基ならびにこれらの修飾基を糖残基にコンジュゲートさせる方法が、以下の項において記載される。

【0266】

一部の実施形態では、本開示の SAP タンパク質は、Brutlag らのアルゴリズム (Comp. App. Biosci., 6 巻: 237~245 頁 (1990 年)) に基づく FASTDB コンピュータプログラムを使用して決定された、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% または 100% 同一であるアミノ酸配列を含みうる。特定の実施形態では、アミノ酸アラインメントの同一性および類似性パーセントを計算す

るために採用されるパラメータは：マトリックス＝PAM 150、k-タプル＝2、ミスマッチペナルティー＝1、ジョイニングペナルティー＝20、無作為化グループ長（Randomization Group Length）＝0、カットオフスコア＝1、ギャップペナルティー＝5およびギャップサイズペナルティ＝0.05を含む。

【0267】

配列番号1と少なくとも95%の同一性を共有するポリペプチドは、これらの多様性領域において保存的置換を有するポリペプチドを含みうる。用語「SAPタンパク質」は、上記のいずれかを含む機能的断片および融合タンパク質を包含する。一般に、SAPタンパク質は、生体関連温度、pHレベルおよび容量オスモル濃度において水溶液に可溶性である。非共有結合により一緒に会合し五量体のSAP複合体を形成するSAPプロトマーは、同一のアミノ酸配列および／または翻訳後修飾を有してもよく、あるいは単一の複体内の個々のSAPプロトマーは異なる配列および／または修飾を有してもよい。用語SAPタンパク質は、天然に存在する任意のSAPタンパク質ならびに任意の（突然変異体、断片および融合体を含む）その変異体を含むポリペプチドを含む。本開示のSAPタンパク質は、組換えポリペプチドであってもよい。好ましい実施形態では、本開示のSAPタンパク質はヒトSAPタンパク質である。

【0268】

一部の実施形態では、本開示の変異型SAPタンパク質またはその機能的断片を含む医薬組成物が提供される。一部の態様では、SAP変異体のアミノ酸配列は、1つまたは複数の保存的または非保存的置換によって配列番号1と異なってもよい。他の態様では、SAP変異体のアミノ酸配列は、1つまたは複数の保存的置換によって配列番号1と異なってもよい。本明細書中で使用される場合、「保存的置換」は、対応する参照残基と物理的または機能的に類似する、すなわち、保存的置換およびその参照残基は類似のサイズ、形状、電荷、共有結合もしくは水素結合を形成する能力を含む化学的性質などを有する。好ましい保存的置換は、Dayhoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure、5巻：345～352頁（1978年および補遺）において認められた点突然変異に関して定められた基準を満たすものである。保存的置換の例は、以下の群内の置換である：（a）バリン、グリシン；（b）グリシン、アラニン；（c）バリン、イソロイシン、ロイシン；（d）アスパラギン酸、グルタミン酸；（e）アスパラギン、グルタミン；（f）セリン、スレオニン；（g）リシン、アルギニン、メチオニンおよび（h）フェニルアラニン、チロシン。どのアミノ酸変化が表現型としてサイレントである可能性が高いかに関する追加のガイダンスは、Bowleら、Science、247巻：1306～1310頁（1990年）に見出されうる。

【0269】

変異型SAPタンパク質および生物学的機能を保持するその断片は、本明細書に記載の医薬組成物および方法において有用である。一部の実施形態では、変異型SAPタンパク質またはその断片は、1つまたは複数のFcγ受容体に結合する。一部の実施形態では、Fcγ受容体は、FcγRI、FcγRIIAおよび／またはFcγRIIIBである。一部の実施形態では、変異型SAPタンパク質またはその断片は、線維細胞、線維細胞前駆体、筋線維芽細胞前駆体および／または造血単球前駆体の分化のうちの1つまたは複数に阻害する。一部の実施形態では、変異型SAPタンパク質またはその断片は、単球の線維細胞への分化を阻害する。マクロファージ由来ケモカイン（MDC）の発現を測定することは、線維細胞の分化を決定する有効な方法である。SAP変異体は、治療有効性または安定性（例えば、ex vivoの貯蔵寿命およびin vivoのタンパク質分解に対する抵抗性）を高めるような目的のために、SAPタンパク質の構造を修飾することによって生成される。

【0270】

ある特定の態様では、本開示の変異型SAPタンパク質は、SAPタンパク質中に天然に存在する任意のものに加えて翻訳後修飾をさらに含んでもよい。そのような修飾としては、アセチル化、カルボキシル化、グリコシル化（例えば、O結合型オリゴ糖、N結合型

10

20

30

40

50

オリゴ糖など)、リン酸化、脂質化およびアシル化が挙げられるが、それらに限定されない。結果として、修飾SAPタンパク質は、ポリエチレングリコール、脂質、多糖または単糖、およびホスフェートなどの非アミノ酸要素を含有しうる。

【0271】

変更されたNグリコシル化を有する変異型hSAPタンパク質を産生する方法は、参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願第12/794,132号に記載されている。一部の実施形態では、変異型SAPタンパク質の1つまたは複数のプロトマーは、配列番号1の位置32にアスパラギンでないアミノ酸を含み、変更されたグリコシル化パターンをもたらす。一部の実施形態では、1つまたは複数のSAPプロトマー(promoters)は実質的にN結合型またはO結合型グリカンを含まない。

10

【0272】

ある特定の態様では、本明細書に記載のSAPタンパク質への1つまたは複数の修飾は、SAPタンパク質の安定性を増強しうる。例えば、そのような修飾は、SAPタンパク質のin vivo半減期を増強するかまたはSAPタンパク質のタンパク質分解を減少させる。

【0273】

ある特定の態様では、本開示の変異型SAPタンパク質は、ヒトSAPタンパク質の少なくとも一部および1つまたは複数の融合ドメインまたは異種部分を有する、融合タンパク質を含む。そのような融合ドメインの周知例としては、ポリヒスチジン、Glu-Glu、グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)、チオレドキシン、プロテインA、プロテインGおよび免疫グロブリン重鎖定常領域(Fc)、マルトース結合タンパク質(MBP)、またはヒト血清アルブミンが挙げられるが、それらに限定されない。融合ドメインは、所望の性質を付与するように選択されうる。例えば、一部の融合ドメインは、アフィニティークロマトグラフィーによる融合タンパク質の単離に特に有用である。アフィニティー精製の目的のために、グルタチオン、アミラーゼおよびニッケル、またはコバルトがコンジュゲートされた樹脂などのアフィニティークロマトグラフィーのための関連マトリックスが使用される。別の例としては、融合ドメインは、SAPタンパク質の検出を容易化するように選択されうる。そのような検出ドメインの例としては、多様な蛍光タンパク質(例えば、GFP)ならびに特異抗体が利用可能な通常は短いペプチド配列である「エピトープタグ」が挙げられる。特異的なモノクローナル抗体が容易に利用可能な周知のエピトープタグとしては、FLAG、インフルエンザウイルスヘマグルチニン(HA)およびc-mycタグが挙げられる。一部の場合には、融合ドメインは、関連プロテアーゼが融合タンパク質を部分消化し、それによって組換えタンパク質をそこから遊離することを可能とするプロテアーゼ切断部位を有する。次いで、遊離したタンパク質は後続のクロマトグラフィーによる分離によって融合ドメインから単離される。一部の場合には、SAPタンパク質は、SAPタンパク質をin vivoで安定化する異種ドメインに融合されてもよい。「安定化すること」によって、それが、破壊の減少、肝臓および/または腎臓によるクリアランスの減少、または他の薬物動態効果によるかにかかわらず、血清半減期を増加させる任意のものが意味される。免疫グロブリンのFc部分および血清アルブミンとの融合物は、増大した安定性を付与することが公知である。

20

30

40

【0274】

融合タンパク質の様々な要素が、所望の機能性と一致した任意の様式で配置されうるとは理解される。例えば、SAPタンパク質は、異種ドメインに対してC末端に置かれてもよく、あるいは異種ドメインがSAPタンパク質に対してC末端に置かれてもよい。SAPタンパク質および異種ドメインは融合タンパク質中で隣接する必要はなく、追加のドメインまたはアミノ酸配列(例えば、リンカー配列)がいずれかのドメインに対するC末端またはN末端にまたはドメインの間に含まれてもよい。

【0275】

本開示のSAPタンパク質は、1つまたは複数の「修飾された」糖残基を含んでもよい。修飾基は、酵素的手段、化学的手段またはこれらの組合せによって糖部分に結合され、

50

それによって修飾された糖、例えば、修飾されたガラクトース、フコースまたはシアル酸を産生することができる。修飾されたシアル酸が使用される場合、シアリルトランスフェラーゼまたはトランスシアリダーゼのいずれかがこれらの方法において使用可能である。糖は、修飾部分の結合を可能とするが、なお糖が修飾された糖をペプチドにカップリングするために使用される酵素の基質として機能することを可能とする、任意の位置で置換されてもよい。

【0276】

一般に、糖部分および修飾基は、典型的に連結プロセスによって新しい有機官能基または非反応性種に変換される反応性基の使用によって、一緒に連結される。糖反応性官能基（複数可）は、糖部分の任意の位置にあってよい。本開示を実施するのに有用な反応性基および反応のクラスは、一般に、バイオコンジュゲート化学の技術分野で周知のものである。反応性糖部分とともに利用可能な反応の現在好ましいクラスは、比較的穏やかな条件下で進行するものである。これらとしては、求核置換（例えば、アミンおよびアルコールとアシルハライドとの反応、活性エステル）、求電子置換（例えば、エナミン反応）ならびに炭素-炭素および炭素-ヘテロ原子多重結合への付加（例えば、マイケル反応、ディールス・アルダー付加）が挙げられるが、それらに限定されない。これらおよび他の有用な反応は、例えば、SmithおよびMarch、Advanced Organic Chemistry、第5版、John Wiley & Sons、New York、2001年；Hermanson、Bioconjugate Techniques、Academic Press、San Diego、1996年；およびFeeneyら、Modification of Proteins；Advances in Chemistry Series.、198巻、American Chemical Society、Washington、D. C.、1982年において議論されている。

【0277】

糖核基（sugar nucleus group）または糖修飾基から張り出た有用な反応性官能基としては：（a）カルボキシ基および多様なその誘導体（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、N-ヒドロキシベンゾトリアゾールエステル、酸ハライド、アシルイミダゾール、チオエステル、p-ニトロフェニルエステル、アルキル、アルケニル、アルキニルおよび芳香族エステル）；（b）例えば、エステル、エーテル、アルデヒドなどに変換可能なヒドロキシ基；（c）ハライドが後に例えば、アミン、カルボキシレートアニオン、チオールアニオン、カルバニオンまたはアルコキシドイオンなどの求核基で置換され、それによってハロゲン原子の官能基における新たな基の共有結合をもたらす、ハロアルキル基；（d）例えば、マレイミド基などの、ディールス・アルダー反応に加わることのできる求ジエン体基；（e）例えば、イミン、ヒドラゾン、セミカルバゾンまたはオキシムなどのカルボニル誘導体の形成を介してまたはグリニヤール付加もしくはアルキルリチウム付加などのメカニズムを介して後の誘導体化が可能であるような、アルデヒドまたはケトン基；（f）例えば、スルホンアミドを形成するためのアミンとの後の反応のためのスルホニルハライド基；（g）例えば、ジスルフィドに変換されるかまたはアルキルおよびアシルハライドと反応させられることのできるチオール基；（h）例えば、アシル化、アルキル化または酸化されることのできるアミンまたはスルフィド基；（i）例えば、付加環化、アシル化、マイケル付加、メタセシス、ヘック反応などを受けることのできるアルケン；（j）例えば、アミンおよびヒドロキシル化合物と反応することのできるエポキシドが挙げられるが、それらに限定されない。

【0278】

反応性官能基は、それらが、反応性の糖核基または糖修飾基を組み立てるのに必要な反応に参加しないかまたはそれを妨害するように選択され得る。あるいは、反応性官能基は、保護基の存在によって反応に加わることから保護され得る。当業者は、具体的な官能基を、それが、選ばれた反応条件の組を妨害しないようにどのように保護するかを理解している。有用な保護基の例については、例えば、Greeneら、Protective

Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991年を参照されたい。

【0279】

一部の実施形態では、修飾された糖は活性化された糖である。本開示において有用な活性化され修飾された糖は、典型的には、活性化された脱離基を含むように合成的に変更されているグリコシドである。本明細書中で使用される場合、用語「活性化された脱離基」は、酵素により調節された求核置換反応において容易に置換される部分を指す。多くの活性化された糖が本技術分野で公知である。例えば、Vocadloら、In Carbohydrate Chemistry and Biology、2巻、Ernstら編、Wiley-VCH Verlag: Weinheim, Germany、2000年；Kodamaら、Tetrahedron Lett. 34巻：6419頁（1993年）；Loughheedら、J. Biol. Chem.、274巻：37717頁（1999年）を参照されたい。そのような脱離基の例としては、フルオロ、クロロ、ブロモ、トシレート、メシレート、トリフレートなどが挙げられる。本開示における使用のために好ましい活性化された脱離基は、アクセプターへのグリコシドの酵素による転移を著しく立体的に妨害しないものである。したがって、活性化されたグリコシド誘導体の好ましい実施形態としては、フッ化グリコシルおよびグリコシルメシレートが挙げられ、フッ化グリコシルが特に好ましい。フッ化グリコシルのなかで、フッ化 α -ガラクトシル、フッ化 α -マンノシル、フッ化 α -グルコシル、フッ化 α -フコシル、フッ化 α -キシロシル、フッ化 α -シアリル、フッ化 α -N-アセチルグルコサミニル、フッ化 α -N-アセチルガラクトサミニル、フッ化 β -ガラクトシル、フッ化 β -マンノシル、フッ化 β -グルコシル、フッ化 β -フコシル、フッ化 β -キシロシル、フッ化 β -シアリル、フッ化 β -N-アセチルグルコサミニルおよびフッ化 β -N-アセチルガラクトサミニルが最も好ましい。

【0280】

ある特定の態様では、修飾された糖残基が、1種または複数の水溶性ポリマーにコンジュゲートされる。多くの水溶性ポリマーが当業者に公知であり、本開示を実施することにおいて有用である。用語、水溶性ポリマーは、糖（例えば、デキストラン、アミロース、ヒアルロン酸、ポリ（シアル酸）、ヘパラン、ヘパリンなど）；ポリ（アミノ酸）；核酸；合成ポリマー（例えば、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エーテル）、例えば、ポリ（エチレングリコール））；ペプチド、タンパク質などの種を包含する。本開示は、ポリマーがコンジュゲートの残部が結合されうる場所を含まなくてはならないという制限があるのみで、任意の水溶性ポリマーにより実施されうる。

【0281】

水溶性ポリマーおよび糖の活性化のための方法および化学ならびに糖およびポリマーを多様な種にコンジュゲートする方法が文献に記載されている。ポリマーの活性化のために一般に使用される方法は、臭化シアン、過ヨウ素酸塩、グルタルアルデヒド、ジエポキシド（biepoxide）、エピクロロヒドリン、ジビニルスルホン、カルボジイミド、スルホニルハライド、トリクロロトリアジンなどによる官能基の活性化を含む（R. F. Taylor、（1991年）、Protein Immobilisation, Fundamentals and Applications, Marcel Dekker, N. Y.；S. S. Wong、（1992年）、Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking, CRC Press, Boca Raton；G. T. Hermansonら、（1993年）、Immobilized Affinity Ligand Techniques, Academic Press, N. Y.；Dunn, R. L.ら編、Polymeric Drugs and Drug Delivery Systems, ACS Symposium Series, 469巻、American Chemical Society, Washington, D. C. 1991年を参照されたい）。

【0282】

ある特定の態様では、修飾された糖残基が1種または複数の水不溶性ポリマーにコンジュゲートされる。一部の実施形態では、水不溶性ポリマーへのコンジュゲーションが、治療用ペプチドを制御された様式で送達するために使用可能である。ポリマー性薬物送達系 (polymeric drug delivery system) は本技術分野で公知である。例えば、Dunnら編、Polymeric drugs and Drug Delivery Systems、ACS Symposium Series、469巻、American Chemical Society、Washington, D. C.、1991年を参照されたい。当業者は、実質的に任意の公知の薬物送達系が本開示のコンジュゲートに適用可能であることを理解する。

10

【0283】

代表的な水不溶性ポリマーとしては、ポリホスファジン、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリアルキレン、ポリアクリルアミド、ポリアルキレングリコール、ポリアルキレンオキシド、ポリアルキレンテレフタレート、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル、ポリビニルハライド、ポリビニルピロリドン、ポリグリコリド、ポリシロキサン、ポリウレタン、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(エチルメタクリレート)、ポリ(ブチルメタクリレート)、ポリ(イソブチルメタクリレート)、ポリ(ヘキシルメタクリレート)、ポリ(イソデシルメタクリレート)、ポリ(ラウリルメタクリレート)、ポリ(フェニルメタクリレート)、ポリ(メチルアクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ(エチレングリコール)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリ(酢酸ビニル)、ポリ塩化ビニル、ポリスチレン、ポリビニルピロリドン、プルロニックおよびポリビニルフェノールならびにそのコポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。

20

【0284】

本明細書中で議論される、これらおよび他のポリマーは、Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo)、Polysciences (Warrenton, Pa)、Aldrich (Milwaukee, Wis.)、Fluka (Ronkonkoma, N. Y.) およびBioRad (Richmond, Calif)などの商業的供給源から容易に得られるか、またはそうでなければこれらの供給元から得られた単量体から標準的な技術を使用して合成されうる。本開示のコンジュゲートにおいて有用な代表的な生分解性ポリマーとしては、ポリラクチド、ポリグリコリドおよびそのコポリマー、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリ(酪酸)、ポリ(吉草酸)、ポリ(ラクチド-c o -カプロラクトン)、ポリ(ラクチド-c o -グリコリド)、ポリ酸無水物、ポリオルトエステル、それらのブレンドおよびコポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。特に使用されるのは、コラーゲンおよびプルロニックを含むものなどのゲルを形成する組成物である。

30

【0285】

好ましい実施形態では、1つまたは複数の修飾された糖残基が、1つまたは複数のPEG分子にコンジュゲートされる。

40

【0286】

ある特定の態様では、修飾された糖が生体分子にコンジュゲートされる。本開示の生体分子としては、機能性タンパク質、酵素、抗原、抗体、ペプチド、核酸(例えば、単一のヌクレオチドまたはヌクレオシド、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチドならびに一本鎖およびより本数の多い核酸)、レクチン、受容体またはこれらの組合せが挙げられるが、それらに限定されない。

【0287】

一部の好ましい生体分子は、本質的に非蛍光性であるかまたはそれらがアッセイにおける蛍光マーカーとしての使用に不適切であるような最小量の蛍光を発する。他の生体分子は蛍光性であってもよい。

50

【0288】

一部の実施形態では、生体分子はターゲティング部分である。本明細書中で使用される場合、「ターゲティング部分」または「ターゲティング剤」は、身体の特定の組織または領域に選択的に局在化する種を指す。一部の実施形態では、生体分子は、本開示のSAPタンパク質を特定の細胞内コンパートメントに方向づけ、それによって組織に送達された非誘導体化ペプチドの量に比較してその細胞内コンパートメントへのペプチドの送達を高めるために選択される。局在化は、ターゲティング剤またはコンジュゲートの分子決定基の特異的認識、分子サイズ、イオン相互作用、疎水性相互作用などにより媒介される。ある薬剤を特定の組織または領域にターゲティングさせる他のメカニズムは、当業者に公知である。

10

【0289】

一部の実施形態では、修飾された糖は、治療的部分を含む。当業者は、治療的部分と生体分子のカテゴリの間に重複があること、すなわち、多くの生体分子が治療的性質または能力を有することを理解する。

【0290】

有用な治療的部分のクラスとしては、例えば、非ステロイド系抗炎症薬；ステロイド系抗炎症薬；アジュバント；抗ヒスタミン薬；鎮咳薬；止痒薬；抗コリン薬；制吐薬および制嘔吐薬；食欲抑制薬；中枢神経刺激薬；抗不整脈薬； β -アドレナリンブロッカー薬；強心薬；抗高血圧薬；利尿薬；血管拡張薬；血管収縮薬；抗潰瘍薬；麻酔薬；抗うつ薬；トランクライザーおよび鎮静薬；抗精神病薬；ならびに抗微生物薬が挙げられる。

20

【0291】

本開示を実施することにおいて有用な他の薬物部分としては、抗新生物薬、細胞破壊剤(cytocidal agent)、抗エストロゲン剤および代謝拮抗薬が挙げられる。このクラスには、診断(例えば、画像化)および治療の両方のための放射性同位体に基づく薬剤、ならびにコンジュゲートされた毒素も含まれる。

【0292】

治療的部分は、ホルモン、筋肉弛緩剤、鎮痙薬、骨活性化剤(bone activating agent)、内分泌調節薬、糖尿病の調節薬、アンドロゲン、抗利尿薬またはカルシトニン薬(calxitonin drug)であることもできる。

【0293】

他の有用な調節薬群(modifying group)としては、免疫調節薬、免疫抑制剤などが挙げられる。スリンダク、エトドラク、ケトプロフェンおよびケトロラクなどの抗炎症活性を有する群も役に立つ。本開示に関連して役に立つ他の薬物は、当業者に明らかである。

30

【0294】

本開示の方法により産生される変更されたN-グリコシル化SAPタンパク質は、均質(すなわち、SAPタンパク質の試料は、特定のN-グリカン構造において均質である)または実質的に均質であることができる。「実質的に均質」によって、少なくとも約25%(例えば、少なくとも約27%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%または少なくとも約95%または少なくとも約99%)のSAPタンパク質が、同じ特定のN-グリカン構造を有することが意味される。

40

【0295】

一部の実施形態では、本開示の変異型SAPタンパク質は、ヒト血清から単離された野生型SAPの対応する試料の1/2未満、1/3未満、1/4未満、1/10未満または1/100未満である、in vitroの単球の線維細胞への分化を阻害することに関するIC₅₀を有する。一部の実施形態では、本開示の変異型SAPタンパク質は、ヒト血清から単離された野生型SAPの対応する試料の2分の1未満である、in vitro

50

oの単球の線維細胞への分化を阻害することに関する IC_{50} を有する。線維細胞分化に関する末梢血単核細胞(PBMC)または単球細胞のSAPに対する応答性を決定するためのよく特徴付けされた方法が多数ある。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質は、IL-8の産生を阻害する。一部の実施形態では、本開示のSAPタンパク質の、酢酸ミリスチン酸ホルボール(PMA)誘導性のIL-8の産生をブロックする阻害効果が測定される。これらの方法は、ヒト血清由来SAP試料、任意の他のSAP変異体ポリペプチドまたは他の線維細胞抑制剤もしくは活性化剤と比較した、いずれかの本開示のSAP変異体ポリペプチドの相対的効力を決定するために使用されてもよい。これらの方法における使用に好適なPBMCまたは単球は、多様な組織培養系から得られうる。あるいは、線維細胞分化アッセイのための好適な細胞は、PBMCまたは単球細胞を含有する任意の生体試料から得られうる。生体試料は、血清、血漿、健常組織、または線維性組織から得られうる。一般に、線維細胞分化アッセイは、多様な濃度のSAPタンパク質を含む培地中でPBMCまたは単球細胞をインキュベートして、線維細胞分化の程度を決定することによって実行される。SAPの濃度は、 $0.0001\mu\text{g}/\text{mL} \sim 1\text{mg}/\text{mL}$ にわたることができ、一部の実施形態では、 $0.001\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $1.0\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $15\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $20\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $25\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $30\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $35\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $40\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $45\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $50\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $200\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $300\mu\text{g}/\text{mL}$ または $500\mu\text{g}/\text{mL}$ である。一部のアッセイにおいて、培地は、 $1 \sim 100\text{ng}/\text{mL}$ のhMCSFを補充されることができ；hMCSFの好ましい濃度は $25\text{ng}/\text{mL}$ である。PBMCおよび単球が線維細胞に分化したという指標は、当業者によって決定されうる。一般に、線維細胞は、細長い紡錘形で楕円形の核が存在する接着細胞として形態学的に定義される。一部のアッセイでは、細胞は固定され、例えば、倒立顕微鏡による直接的な計数によって線維細胞を数え上げる前にHema3で染色される。線維細胞分化の量は、当業者により、SAPに対する細胞の応答性の指標と解釈される。線維細胞分化のより大きな抑制は、より大きな程度のSAP反応性の指標である。線維細胞分化を測定する別の方法は、線維細胞特異的な細胞表面マーカーまたは分泌因子、例えば、(IL-1ra、ENA-78/CXCL-5、PAI-1などの)サイトカイン、フィブロネクチン、コラーゲン-1の発現を決定することを含む。細胞表面マーカーまたは分泌因子を検出および/または定量化する方法は、本技術分野で周知であり、1種または複数の線維細胞特異的マーカーに対する免疫反応性の抗体を使用する、多様なELISAおよびFACSに基づく技術が挙げられるが、それらに限定されない。マクロファージ由来ケモカイン(MDC)の発現を測定することは、線維細胞分化を決定する有効な方法である。

【0296】

SAPタンパク質のN-グリコシル化(例えば、変更されたN-グリコシル化)を検出および/または特徴付けするための方法としては、DNAシーケンサー支援(DSA)、フルオロフォア支援炭水化物電気泳動法(FACE)または表面増強レーザー脱離/イオン化飛行時間質量分析(SELDI-TOF MS)が挙げられる。例えば、分析は、例えば、糖タンパク質が変性され、続いて例えば膜に固定されるDSA-FACEを利用しうる。次いで、糖タンパク質は、ジチオスレイトール(DTT)または β -メルカプトエタノールなどの好適な還元剤によって還元されうる。タンパク質のスルフヒドリル基は、ヨード酢酸などの酸を使用してカルボキシル化されうる。次に、N-グリコシダーゼFなどの酵素を使用してタンパク質からN-グリカンが放出される。任意選択でN-グリカンは再構成され、還元的アミノ化によって誘導体化されうる。次いで、誘導体化されたN-グリカンは濃縮されうる。N-グリカンの分析に好適な機器としては、例えば、ABI PRISM(登録商標)377DNAシーケンサー(Applied Biosystems)が挙げられる。データ解析は、例えば、GENESCAN(登録商標)3.1ソフトウェア(Applied Biosystems)を使用して実行されうる。任意選択で、単離されたマンノタンパク質は、それらのN-グリカン状態を確認するために、1種または複数の酵素でさらに処理されうる。例示的な酵素としては、例えば、 α -マンノシ

ダーゼまたは $\alpha-1, 2$ マンノシダーゼが挙げられる。N-グリカン分析の追加的方法としては、例えば、質量分析（例えば、MALDI-TOF-MS）、順相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、（例えば、グリカンが標識されていない場合のパルス電流滴定検出による、およびグリカンが適切に標識されている場合のUV吸光度または蛍光による）逆相およびイオン交換クロマトグラフィーが挙げられる。それぞれの開示が、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるCalleraら、（2001年）、Glycobiology、11巻（4号）：275～281頁およびFreireら、（2006年）、Biocconj. Chem. 17巻（2号）：559～564頁も参照されたい。

【0297】

SAPアゴニストとしての抗Fc γ R抗体

本開示の一態様では、SAPシグナル伝達を模倣する1種または複数の化合物が提供される。一部の実施形態では、SAPシグナル伝達アゴニストは、抗Fc γ R抗体であり、ここで、抗体は、それぞれFc γ RI、Fc γ RIIA、またはFc γ RIIIに結合することのできる抗Fc γ RI、抗Fc γ RIIAおよび抗Fc γ RIII抗体から選択される。抗Fc γ R抗体は、IgG抗体のFc部分の受容体（Fc γ R）に結合する抗体である。抗Fc γ R抗体は、それらの定常（Fc）領域でなくそれらの可変領域を介して結合する。抗Fc γ R抗体は、任意のアイソタイプの抗体を含みうる。抗Fc γ R抗体は、追加の抗体もしくは他の手段とともにまたはこれらを伴わずに、さらに架橋されるかまたは凝集されうる。このプロセスは、Fc γ Rの活性化と一致した、細胞内シグナル伝達事象を開始する。一部の実施形態では、SAPシグナル伝達アゴニストは、架橋されたFc γ Rであってもよい。

【0298】

凝集したFcドメインおよびFc含有抗体

一部の実施形態では、SAPシグナル伝達アゴニストは、架橋されたまたは凝集したIgGである。架橋されたまたは凝集したIgGは、少なくとも2つのそのようなIgG抗体がお互いに物理的に接続されることを条件として、そのFc領域によって標的Fc γ Rに結合することのできる任意のIgGを含む。

【0299】

架橋されたまたは凝集したIgGは、全抗体またはその一部、好ましくは線維性障害の抑制において機能的な一部を含みうる。例えば、それらは、Fc γ Rを架橋することのできる任意の抗体の一部を含んでもよい。これは、凝集したまたは架橋された全抗体、Fab断片、F(ab')₂断片、Fab'断片およびことによるとFc断片などの、凝集したまたは架橋された抗体またはその断片を含んでもよい。

【0300】

抗体の凝集または架橋は、熱または化学的凝集などの、任意の公知の方法により達成されうる。任意のレベルの凝集または架橋が十分でありうるが、増大した凝集は増大した線維性障害の抑制をもたらす可能性がある。抗体は、ハイブリドーマ細胞から産生された抗体などの、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であってもよい。組成物および方法は、類似のまたは異なる抗体に架橋されまたは凝集しうる複数のモノクローナル抗体の混合物などの、抗体の混合物を採用してもよい。

【0301】

SAPペプチドミメティック

ある特定の実施形態では、SAPアゴニストはペプチドミメティックを含む。本明細書中で使用される場合、用語「ペプチドミメティック」は、化学修飾されたペプチドおよび天然に存在しないアミノ酸を含有するペプチド様分子、ペプトイドなどを含む。ペプチドミメティックを同定するための方法は、本技術分野で周知であり、可能性のあるペプチドミメティックのライブラリーを含有するデータベースのスクリーニングを含む。例えば、Cambridge Structural Databaseは、公知の結晶構造を有する300,000種超の化合物のコレクションを含有する（Allenら、Acta

Crystallogr. Section B、35巻：2331頁（1979年）。標的分子の結晶構造が利用可能でない場合、構造は、例えば、プログラムCONCORDを使用して生成可能である（Rusinkoら、J. Chem. Inf. Comput. Sci.、29巻：251頁（1989年））。別のデータベース、Available Chemicals Directory（Molecular Design Limited, Informations Systems; San Leandro Calif.）は、市販され、可能性のあるSAPタンパク質のペプチドミメティックを同定するために検索可能な約100,000種の化合物を含有する。

【0302】

SAP活性を増大させる

一部の実施形態では、SAPアゴニストはSAP活性を増大させる。SAP活性は、例えば、SAPの転写を増加させること、翻訳を増加させること、SAP分泌を増加させること、SAP RNAの安定性を増大させること、SAPタンパク質の安定性を増大させること、またはSAPタンパク質の分解を減少させることにより、SAPの濃度を増加させることによって増大させられうる。SAP活性は、特異的にSAPの「遊離濃度」を増加させることによって、またはむしろ未結合型を、例えば、SAPの内因性結合パートナーを減少させることによって増加させることによって増大させられうる。

【0303】

FcγR架橋剤

一部の実施形態では、フィブロネクチンに基づく足場ドメインタンパク質が、FcγRを架橋するためのSAPアゴニストとして使用されてもよい。フィブロネクチンに基づく足場ドメインタンパク質は、フィブロネクチンIII型ドメイン（Fn3）、特にフィブロネクチンIII型第10ドメイン（¹⁰Fn3）を含んでもよい。

【0304】

FcγRを架橋するために、FcγR結合性Fn3ドメインの多量体が米国特許第7,115,396号に記載の通りに生成されてもよい。

【0305】

フィブロネクチンIII型（Fn3）ドメインは、N末端からC末端の順番でベータまたはベータ様ストランド、A；ループ、AB；ベータまたはベータ様ストランド、B；ループ、BC；ベータまたはベータ様ストランドC；ループCD；ベータまたはベータ様ストランドD；ループ、DE；ベータまたはベータ様ストランド、E；ループ、EF；ベータまたはベータ様ストランドF；ループ、FG；およびベータまたはベータ様ストランドGを含む。BC、DEおよびFGループは、免疫グロブリンからの相補性決定領域（CDR）に構造的および機能的の両方で類似する。Fn3ドメインは、BC、DEおよびFGループのうちの1つまたは複数の配列を変更することによって、ほとんどいかなる化合物にも結合するようにデザインされうる。特異的なバインダーを生成するための方法は、高親和性TNFαバインダーを開示する米国特許第7,115,396号および高親和性VEGFR2バインダーを開示する米国特許出願公開第2007/0148126号に記載されている。フィブロネクチンに基づく足場タンパク質の例は、Adnectins（商標）（Adnexus、a Bristol-Myers Squibb R&D Company）である。

【0306】

一部の実施形態では、SAPアゴニストはアプタマーである。FcγRを架橋するために、FcγR結合性アプタマーの多量体が生成されてもよい。

【0307】

アプタマーは、タンパク質または代謝物などの、特定の標的分子に結合するオリゴヌクレオチドであり、合成または天然のものであることができる。典型的に、結合は、古典的なワトソン-クリック塩基対形成以外の相互作用による。アプタマーは、現在前臨床および臨床開発中の有望なクラスの治療剤を代表する。生物製剤、例えば、ペプチドまたはモノクローナル抗体のように、アプタマーは分子標的に特異的に結合し、結合によって標的

10

20

30

40

50

の機能を阻害することができる。典型的なアプタマーは、10～15 kDaのサイズ（すなわち、30～45ヌクレオチド）であり、ナノモル濃度未満の親和性でその標的に結合し、密接に関連した標的を識別する（例えば、典型的に、同じ遺伝子ファミリー由来の他のタンパク質には結合しない）（Griffinら、（1993年）、Gene、137巻（1号）：25～31頁；Jenisonら、（1998年）、Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 8巻（4号）：265～79頁；Bellら、（1999年）、In vitro Cell. Dev. Biol. Anim. 35巻（9号）：533～42頁；Watsonら、（2000年）、Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 10巻（2号）：63～75頁；Danielsら、（2002年）、Anal. Biochem. 305巻（2号）：214～26頁；Chenら、（2003年）、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 100巻（16号）：9226～31頁；Khatira、（2003年）、J. Virol. 77巻（23号）：12692～8頁；Vaishra、（2003年）、Biochemistry、42巻（29号）：8842～51頁）。

【0308】

アプタマーは、治療薬としての使用のための多数の魅力的な特徴を有する。高い標的親和性および特異性に加えて、アプタマーは、標準的なアッセイにおいて毒性または免疫原性をわずかに示すかまたはまったく示さない（Wlotzkaら、（2002年）、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99巻（13号）：8898～902頁）。実際に、薬物動態解析、細胞および動物疾患モデルにおける生物学的有効性の特徴付けならびに予備的な安全性薬理学評価を含む、前臨床開発の様々な段階を通して数種の治療用アプタマーが最適化され、進歩してきた（ReydermanおよびStavchansky（1998年）、Pharmaceutical Research、15巻（6号）：904～10頁；Tuckerら、（1999年）、J. Chromatography B. 732巻：203～212頁；Watsonら、（2000年）、Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 10巻（2号）：63～75頁）。

【0309】

目的の標的に対するアプタマーを生成するための好適な方法は、「Systematic Evolution of Ligands by EXponential Enrichment」（「SELEX（商標）」）と題されたプロセスによる。SELEX（商標）プロセスは、標的分子に高い特異性で結合する核酸分子のin vitroの進化のための方法であり、例えば、1990年6月11日に出願され、現在は放棄されている米国特許出願第07/536,428号、「Nucleic Acid Ligands」と題された米国特許第5,475,096号、および「Nucleic Acid Ligands」と題された米国特許第5,270,163号（国際公開第WO91/19813号も参照されたい）に記載されている。SELEX（商標）により同定された各核酸リガンドは、所与の標的化合物または分子の特異的リガンドである。SELEX（商標）プロセスは、核酸が様々な二次元および三次元構造を形成可能であり、単量体または重合体であるかにかかわらず、実質的に任意の化合物との（特異的な結合対を形成する）リガンドとして作用するために、それらの単量体内に利用可能な十分な化学的多用途性を有し得るという洞察に基づく。任意のサイズまたは組成の分子が標的としての役割を果たすことができる。高親和性の結合の用途に適用されるSELEX（商標）法は、結合親和性および選択性の実質的にいかなる所望の基準も達成するために、候補オリゴヌクレオチドの混合物からの選別ならびに同じ一般的選別スキームを使用する結合、分割および増幅の段階的な繰り返しを含む。SELEX（商標）法は、好ましくは無作為化された配列のセグメントを含む核酸の混合物から出発して、結合に好ましい条件下で標的と混合物を接触させるステップ、標的分子に特異的に結合している核酸から未結合の核酸を分割するステップ、核酸-標的複合体を解離させるステップ、核酸-標的複合体から解離した核酸を増幅して、リガンド富化された核酸混合物を得るステップ、次いで、結合、分割、解離

および増幅のステップを、標的分子に対して高度に特異的かつ高親和性の核酸リガンドを得るために望ましいサイクル回数、繰り返すステップを含む。S E L E X（商標）は、例えば、それぞれが参照により具体的に本明細書に組み込まれる米国特許第5, 475, 096号および同第5, 270, 163号ならびにP C T / U S 9 1 / 0 4 0 7 8号に記載された通り、任意の所望の標的のための核酸リガンドを作製するための方法である。

【0310】

一部の実施形態では、S A PアゴニストはN a n o b o d i e s（登録商標）である。N a n o b o d i e s（登録商標）は、天然に存在する重鎖抗体の特有の構造的および機能的性質を含有する抗体由来の治療用タンパク質である。N a n o b o d y（登録商標）技術は、もともと、ラクダ科（ラクダおよびラマ）が軽鎖のない完全な機能的抗体を有する
10
という発見に続いて開発された。これらの重鎖抗体は、単一の可変ドメイン（V H H）および2つの定常ドメイン（C H 2およびC H 3）を含有する。重要なことは、クローン化され単離されたV H Hドメインが、元の重鎖抗体の完全な抗原結合能力を保持する安定なポリペプチドであることである。その特有の構造的および機能的性質を有するこれらのV H Hドメインは、新世代の治療用抗体の基礎を形成する。

【0311】

医薬調製物および製剤

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法は少なくとも1種の本開示のS A Pタンパク質の治療剤として対象への投与を含む。本開示の治療剤は、1種または複数の
20
生理学的に許容される担体または賦形剤を使用する従来の様式で製剤化されうる。例えば、治療剤ならびに生理学的に許容されるそれらの塩および溶媒和物は、例えば、静脈内注入（I V）、注射（例えば、S u b Q、I M、I P）、吸入もしくはガス注入（口もしくは鼻のいずれかを通す）または経口、頬側、舌下、経皮、鼻、非経口または直腸投与による投与のために製剤化されうる。ある特定の実施形態では、治療剤は、標的細胞が存在する部位、すなわち、特定の組織、臓器または流体（例えば、血液、脳脊髄液、腫瘍など）に局所投与されてもよい。言い換えれば、本開示は、本明細書に記載の任意の方法に関して、方法がS A PまたはS A Pを含む組成物（例えば、医薬組成物）の投与を含むことを企図する。ある特定の好ましい実施形態では、組成物は、S A Pを含む組成物であり、組成物全体にわたる活性および／またはS A Pのシアル化は、ヒト血清におけるものと異なる。
30

【0312】

本開示は、患者における、本明細書に記載の障害または状態の処置または予防のための医薬の製造における本開示の任意のS A Pタンパク質の使用、例えば、本明細書に記載の障害または状態の処置のための医薬の製造におけるS A Pタンパク質の使用を提供する。一部の態様では、本開示のS A Pタンパク質は、本明細書に記載の疾患または状態を処置することまたは予防することにおける使用のための医薬調製物を作製するために使用され
40

【0313】

治療剤は、全身および外用または局所投与を含む、様々な投与様式のために製剤化可能である。技術および製剤は、一般に、R e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s、M e a d e P u b l i s h i n g C o.、E a s t o n、P Aに見出される。非経口投与のためには、筋肉内、静脈内、腹腔内および皮下を含む注射が好ましい。注射のためには、化合物は、好ましくは、ハンス液またはリンゲル液などの生理学的に適合性の緩衝液中の液体溶液に製剤化されうる。加えて、化合物は、固体形態に製剤化され、使用直前に再溶解または懸濁されてもよい。凍結乾燥形態も含まれる。一部の実施形態では、治療剤は、イオン導入によるリポソーム中への封入、またはヒドロゲル、シクロデキストリン、生分解性ナノカプセルおよび生体付着性マイクロスフィアなどの他のビヒクル中への取り込みを含むが、それらに限定されない、本技術分野に精通した者に公知の様々な方法によって細胞に投与可能である。
50

【0314】

経口投与のために、医薬組成物は、結合剤（例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンもしくはヒドロキシプロピルメチルセルロース）；充填剤（例えば、ラクトース、微結晶性セルロースもしくはリン酸水素カルシウム）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクもしくはシリカ）；崩壊剤（例えば、ジャガイモデンプンもしくはデンプングリコール酸ナトリウム）；または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）などの薬学的に許容される賦形剤とともに従来手段によって調製された、例えば、錠剤、ロゼンジまたはカプセルの形態をとってもよい。錠剤は、本技術分野で周知の方法によってコーティングされてもよい。経口投与のための液体調製物は、例えば、溶液、シロップもしくは懸濁物の形態をとりうるかまたはそれらは使用前の水もしくは他の好適なビヒクルによる構成のための乾燥製品として提示されてもよい。そのような液体調製物は、懸濁化剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体もしくは水素付加食用脂肪）；乳化剤（例えば、レシチンもしくはアカシア）；非水性ビヒクル（例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコールもしくは分画された植物油）；および防腐剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはp-ヒドロキシ安息香酸プロピルまたはソルビン酸）などの薬学的に許容される添加物とともに従来手段によって調製されてもよい。調製物は、適宜、緩衝塩、矯味矯臭剤、着色剤および甘味料も含有してもよい。経口投与のための調製物は、活性化合物の制御放出を与えるために好適に製剤化されてもよい。

10

【0315】

吸入による投与（例えば、肺送達）のために、治療剤は、好適な噴霧体、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の好適な気体の使用によって、加圧バックまたはネブライザーからのエアロゾルスプレー提示の形態で便利に送達されてもよい。加圧エアロゾルの場合、投薬量単位は、計量された量を送達するための弁を提供することによって決定されうる。吸入器または注入器における使用のための、例えば、ゼラチンのカプセルおよびカートリッジは、化合物およびラクトースまたはデンプンなどの好適な粉末基剤の粉末混合物を含有して製剤化されてもよい。

20

【0316】

本開示の方法では、医薬化合物は、ガス注入、散剤およびエアロゾル製剤（ステロイド吸入剤の例については、Rohatagi、（1995年）、J. Clin. Pharmacol. 35巻：1187～1193頁；Tjwa、（1995年）、Ann. Allergy Asthma Immunol. 75巻：107～111頁を参照されたい）を含む鼻腔内または気管支内経路によって投与されることもできる。例えば、エアロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素などの加圧された許容される噴霧体中に入れられることができる。それらは、ネブライザーまたはアトマイザー中などの非加圧調製物のための医薬品として製剤化されることもできる。典型的に、そのような投与は、水性の薬理学的に許容される緩衝液中におけるものである。

30

【0317】

SAPタンパク質の呼吸器送達（例えば、鼻腔内、吸入など）のための好適な医薬組成物は、固体または液体形態のいずれかで調製されうる。

40

【0318】

本開示のSAPタンパク質は、注射による、例えば、ボーラス注射または持続注入による非経口投与のために製剤化されてもよい。ある特定の実施形態では、SAPタンパク質は静脈内送達のために製剤化される。注射のための製剤は、例えば、添加された防腐剤とともにアンプルまたは複数用量容器中の単位剤形で提示されてもよい。組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁物、溶液またはエマルジョンのような形態をとることができ、懸濁化剤、安定化剤および／または分散剤などの調合剤（formulatory agent）を含有してもよい。あるいは、活性成分は、好適なビヒクル、例えば、発熱物質を含まない無菌の水による使用前の構成のための粉末形態であってもよい。

【0319】

50

本開示のSAPタンパク質は、例えば、注射による皮下送達のために製剤化されてもよい。注射のための製剤は、例えば、添加された防腐剤を含んでまたは含まずにアンプルまたは複数用量容器中の単位剤形で提示されてもよい。組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁物、溶液またはエマルジョンのような形態をとることができ、懸濁化剤、安定化剤および／または分散剤などの調合剤を含有してもよい。あるいは、活性成分は、好適なビヒクル、例えば、発熱物質を含まない無菌の水による使用前の構成のための粉末形態であってもよい。

【0320】

加えて、本開示のSAPタンパク質は、デポー調製物として製剤化されてもよい。そのような長時間作用する製剤は、（例えば、皮下もしくは筋肉内への）埋め込みによりまたは筋肉内注射により投与されうる。よって、例えば、治療剤は、好適なポリマー性もしくは疎水性材料とともに（例えば、許容できる油中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂とともに、あるいは可溶性の乏しい誘導体、例えば、可溶性の乏しい塩として製剤化されてもよい。制御放出製剤はパッチも含む。

【0321】

ある特定の実施形態では、本開示のSAPタンパク質は、一般的に外用の薬物投与に適し、本技術分野で公知の任意のそのような材料を含む外用担体を含有する外用製剤中に組み込まれる。外用担体は、所望の形態で、例えば軟膏、ローション、クリーム、マイクロエマルジョン、ゲル、油、溶液などとして組成物を提供するように選択され、天然に存在するまたは合成起源いずれかの材料で構成されることができる。選択された担体が、活性薬剤または外用製剤の他の成分に悪影響を与えないことが好ましい。本明細書中での使用のための好適な外用担体の例としては、水、アルコールおよび他の無毒性有機溶媒、グリセリン、鉱油、シリコン、ワセリン、ラノリン、脂肪酸、植物油、パラベン、ワックスなどが挙げられる。

【0322】

（美容調製物を含む）医薬組成物は、0.001～10重量%または0.1%～5重量%などの約0.00001～100重量%の本明細書に記載の1種または複数のSAPタンパク質を含んでもよい。ある特定の外用製剤では、活性薬剤は、製剤のおよそ0.25wt%～75wt%の範囲、好ましくは製剤のおよそ0.25wt%～30wt%の範囲、より好ましくは製剤のおよそ0.5wt%～15wt%の範囲、最も好ましくは製剤のおよそ1.0wt%～10wt%の範囲の量で存在する。

【0323】

本明細書に記載の治療剤は、本分野の方法に従って酸素を含まない環境に保存されうる。

【0324】

例示的な組成物は、SAPタンパク質を1種または複数の薬学的に許容される担体および任意選択で他の治療用成分とともに含む。担体（複数可）は、組成物の他の成分と適合性であり、対象において許容できない有害な効果を誘発しないという意味で「薬学的に許容され」なければならない。そのような担体は、本明細書に記載されているかまたはそうでなければ薬理学の技術分野の当業者に周知である。一部の実施形態では、医薬組成物は発熱物質を含まず、ヒト患者への投与に好適である。一部の実施形態では、医薬組成物は刺激物を含まず、ヒト患者への投与に好適である。一部の実施形態では、医薬組成物は、アレルゲンを含まず、ヒト患者への投与に好適である。組成物は、薬学の技術分野で周知の任意の方法によって調製されうる。

【0325】

一部の実施形態では、SAPタンパク質は時限放出製剤（time release formulation）中で、例えば、遅延放出ポリマーを含む組成物中で投与される。SAPタンパク質は、急速な放出に対して保護する担体とともに調製されうる。例としては、ポリマーなどの制御放出ビヒクル、マイクロカプセル化送達系または生体付着性ゲルが挙げられる。あるいは、SAPタンパク質の持効性送達が、吸収を遅延させる薬剤、

例えば、モノステアリン酸アルミニウムヒドロゲルおよびゼラチンを組成物中に含ませることによって達成されうる。

【0326】

ある特定の実施形態では、本開示の方法は、静脈内または皮下などの任意の上記投与経路を介する投与を含む。ある特定の実施形態では、投与は、特に投与される各用量の体積が小さい場合には皮下である。ある特定の実施形態では、投与は静脈内である。

【0327】

以下の例は、上記の開示を使用する方法をより完全に説明するため、ならびに本開示の多様な態様を実行するために企図されるベストモードを示すために役目を果たす。これらの例が、決して本開示の真の範囲を限定する役目を果たすのではなく、むしろ例示目的のために示されることは理解される。

【実施例】

【0328】

(実施例1 組換えヒトSAP (rhSAP) による骨髓線維症の処置)

PMF、PV後のMFまたはET後のMFを含む骨髓線維症を有すると診断された患者を、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子における彼らのベースラインの突然変異状態に関して試験する。ベースラインの突然変異状態を測定するために、患者から末梢血試料を収集し、試料からDNAを抽出し、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子の突然変異状態を測定する（すなわち、1種または複数の突然変異の存在または非存在を同定する）ためにリアルタイム定量的対立遺伝子特異的PCRによって分析する。患者は、CHO細胞において組換え発現させた、ヒト $\alpha 2, 3$ 型シアル酸含有SAP (CHO細胞中で発現させたrhSAP; 少なくとも1つの $\alpha 2, 3$ 型結合を含み、グリコシル化がヒト血清由来のSAPと異なるSAP; 本開示の例示的なSAPタンパク質) を受容する。EUコンセンサス基準に記載のWHO骨髓線維症グレードにおける1グレードの低下として定義される骨髓奏功率の評価によって有効性を評価する。SAP処置への奏功率を患者の突然変異状態と関連させる。この方法は、rhSAPによる処置に特に適した骨髓線維症患者（例えば、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの遺伝子における突然変異の1種または複数の特異的な組合せを有する患者）の亜集団を同定するために使用可能である。さらに、応答性のあらゆる相違または対立遺伝子荷重の変化を評価するために、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子の突然変異状態における変化を、規則的な間隔で測定する。1種または複数の遺伝子における対立遺伝子荷重の減少を観察したら、投与レジメンを維持する。治療に応答している対象は、利益のある限り、治療を受けることを継続する。

【0329】

(実施例2 組換えヒトSAP (rhSAP) による骨髓線維症の処置)

PMF、PV後のMFまたはET後のMFを含む骨髓線維症を有すると診断された患者を、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子における彼らのベースラインの突然変異状態に関して試験する。ベースラインの突然変異状態を測定するために、患者から末梢血試料を収集し、試料からDNAを抽出し、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子の突然変異状態を測定する（すなわち、1種または複数の突然変異の存在または非存在を同定する）ためにリアルタイム定量的対立遺伝子特異的PCRによって分析する。患者は、CHO細胞において組換え発現させた、ヒト $\alpha 2, 3$ 型シアル酸含有SAP (CHO細胞中で発現させたrhSAP; 少なくとも1つの $\alpha 2, 3$ 型結合を含み、グリコシル化がヒト血清由来のSAPと異なるSAP) を受容する。EUコンセンサス基準に記載のWHO骨髓線維症グレードにおける1グレードの低下として定義される骨髓奏功率の評価によって有効性を評価す

る。応答性のあらゆる相違または対立遺伝子荷重の変化を評価するために、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子の突然変異状態における変化を、規則的な間隔で測定する。試験した遺伝子のいずれにおいても対立遺伝子荷重の変化を観察しない場合、投与レジメンを改変して、rhSAPの投薬量を増加させおよび／またはrhSAP投与の頻度を増加させる。

【0330】

（実施例3 組換えヒトSAP（rhSAP）による骨髓線維症における突然変異型対立遺伝子荷重の減少）

PMF、PV後のMFまたはET後のMFを含む骨髓線維症を有すると診断された患者を、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子における彼らのベースラインの突然変異状態に関して試験する。ベースラインの突然変異状態を測定するために、患者から末梢血試料を収集し、試料からDNAを抽出し、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子の突然変異状態を測定する（すなわち、1種または複数の突然変異の存在または非存在を同定する）ためにリアルタイム定量的対立遺伝子特異的PCRによって分析する。1種または複数の遺伝子における突然変異を有する患者は、CHO細胞において組換え発現させた、ヒト $\alpha 2, 3$ 型シアル酸含有SAP（CHO細胞中で発現させたrhSAP；少なくとも1つの $\alpha 2, 3$ 型結合を含み、グリコシル化がヒト血清由来のSAPと異なるSAP）を受容する。1種または複数の遺伝子における突然変異型対立遺伝子荷重を減少させるのに有効であるように投薬量を調整する。治療に応答している対象は、利益のある限り、治療を受けることを継続する。

【0331】

（実施例4 組換えヒトSAP（rhSAP）による処置の有効性の指標としての突然変異型対立遺伝子荷重の減少）

PMF、PV後のMFまたはET後のMFを含む骨髓線維症を有すると診断された患者を、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子における彼らのベースラインの突然変異状態に関して試験する。ベースラインの突然変異状態を測定するために、患者から末梢血試料を収集し、試料からDNAを抽出し、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1またはIDH2などの1種または複数の遺伝子の対立遺伝子荷重を測定するためにリアルタイム定量的対立遺伝子特異的PCRによって分析する。患者は、CHO細胞において組換え発現させた、ヒト $\alpha 2, 3$ 型シアル酸含有SAP（CHO細胞中で発現させたrhSAP；少なくとも1つの $\alpha 2, 3$ 型結合を含み、グリコシル化がヒト血清由来のSAPと異なるSAP）を受容する。SAPタンパク質の投与後に、同じ突然変異の第2の突然変異型対立遺伝子荷重を測定する。第1の突然変異型対立遺伝子荷重と比べた第2の突然変異型対立遺伝子荷重の減少は、SAPタンパク質の投与が骨髓増殖性障害の処置において有効であることを示す。突然変異型対立遺伝子荷重は、約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間または5カ月間の処置の後などの、処置の開始後の1つまたは複数の時点において測定してもよい。突然変異型対立遺伝子のレベルを続いてモニタリングして、応答の持続性を評価する。

【0332】

（実施例5 JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2のうちの1種または複数における突然変異を有する骨髓線維症患者の組換えヒトSAP（rhSAP）による処置）

PMF、PV後のMFまたはET後のMFを含む骨髓線維症を有すると診断された患者を、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子における彼らの突然変異状態に関して試験する。ベースラインの突然変異状態を測定するために、患者から末梢血試料を収集し、試料から

DNAを抽出し、JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1およびIDH2などの1種または複数の遺伝子の突然変異状態を測定する（すなわち、1種または複数の突然変異の存在または非存在を同定する）ためにリアルタイム定量的対立遺伝子特異的PCRによって分析する。上記遺伝子のうちの1種または複数において突然変異を保有する患者は、CHO細胞において組換え発現させた、ヒト $\alpha 2, 3$ 型シアル酸含有SAP（CHO細胞中で発現させたrhSAP；少なくとも1つの $\alpha 2, 3$ 型結合を含み、グリコシル化がヒト血清由来のSAPと異なるSAP）を受容する。EUコンセンサス基準に記載のWHO骨髓線維症グレードにおける1グレードの減少として定義される骨髓奏功率の評価によって有効性を評価する。治療に応答している対象は、利益のある限り、治療を受けることを継続する。任意選択で、ヘモグロビン、血小板数、症状、突然変異型対立遺伝子の状態などの追加の基準を測定する。これらの基準のうちの任意の1種または複数を、約1カ月間、2カ月間、3カ月間、4カ月間または5カ月間の処置の後などの、処置の開始後の1つまたは複数の時点において測定してもよい。応答の持続性を評価するために、続いてこれらの基準のうちの任意の1種または複数を測定してもよい。

10

【0333】

（実施例6 PRM-151単独による骨髓線維症患者の処置：ステージ2）

この研究は、負荷期間に続いて4週間毎の投薬スケジュールを評価する。組換えヒトSAP、この場合では、PRM-151として公知の組換えヒトSAPを、骨髓線維症の1グレード以上の低下における3つの異なる用量のPRM-151の安全性および有効性を評価するために、PMF、PV後のPMFまたはET後のPMFを有する中間-2または高リスク患者に投与する。貧血または血小板減少症であり、かつ輸血以外のMFの治療を受けていない患者が、この研究のために適格である。50×10⁹個/L未満の血小板数または100g/L未満のHgbのいずれかに基づいて、研究登録前の12週間に2単位以上のPRBCを受容しており、ルキシソリチニブに耐容性がないかまたは不適切な応答をしたこと、患者はルキシソリチニブの候補ではない。

20

【0334】

適格性要件を満たす中間-2または高リスクのMFを有する84人の患者を、単剤PRM-151による処置を受ける3群のうちの1つに無作為化する。群1：少なくとも4週間以内にMFのためのMF向けの薬物処置を受容していない患者は、（i）静脈内注入による0.3mg/kgのPRM-151の初期負荷用量を、サイクル1（28日サイクル）の1、3および5日目に受容し、（ii）その後、静脈内注入による0.3mg/kgの用量のPRM-151を、後続の9サイクルの間、各28日サイクルの1日目に投与された。群2：少なくとも4週間以内にMFのためのMF向けの薬物処置を受容していない患者は、（i）静脈内注入による3mg/kgのPRM-151の初期負荷用量を、サイクル1（28日サイクル）の1、3および5日目に受容し、（ii）その後、静脈内注入による3mg/kgの用量のPRM-151を、後続の9サイクルの間、各28日サイクルの1日目に投与された。群3：少なくとも4週間以内にMFのためのMF向けの薬物処置を受容していない患者は、（i）静脈内注入による10mg/kgのPRM-151の初期負荷用量を、サイクル1（28日サイクル）の1、3および5日目に受容し、（ii）その後、静脈内注入による10mg/kgの用量のPRM-151を、後続の9サイクルの間、各28日サイクルの1日目に投与された。ある特定の実施形態では、無作為化を、対象のタイプ（100g/L未満のHgbを有し、研究登録前の12週間以内に2単位以上のPRBCを受容している対象または血小板数が50×10⁹個/L未満の対象）に従って階層化し、最終的な研究集団が、第2の階層（血小板数が50×10⁹個/L未満）からの対象を少なくとも50%含むことを確実にする。すべての対象が、非盲検拡大試験に切り替え、4週間毎に10mg/kgのPRM-151を受容し、もともと割り当てられた9サイクルの処置を完了し得る。研究完了およびデータ解析後、PRM-151に留まっているすべての対象が、研究結果に基づいて、将来の開発のために選択された用量に切り替える。登録した対象は、彼らが少なくとも12週間の間、研究薬物を継続してい

30

40

50

る場合には、応答に関して評価可能と考えられる。

【0335】

各コホートの患者を、（例えば、定量的画像解析による）骨髓線維症（BMF）および疾患関連の貧血、血小板減少症、末梢血芽球、全身症状および脾臓サイズにおける改善に関してモニタリングする。IWG-MRT 応答（完全奏効、部分応答、臨床的改善）および安定病態および進行性疾患の比率に対するPRM-151の効果を評価する。さらに、他の疾患に関連する血液学的異常の変化、DIPSS（動的国際予後スコアリングシステム（Dynamic International Prognostic Scoring System））によって測定した死亡率増加と関連する予後因子の変化、骨髓形態の変化、PET画像法によって測定した骨髓代謝の変化に関して、患者をモニタリングする。加えて、遺伝的突然変異および細胞遺伝学的異常およびPRM-151に対する応答の間の相互作用を評価し、骨髓試料中のPRM-151活性のバイオマーカーを評価する。ベースラインのSAPレベルと患者の転帰の間の相関を評価する。骨髓線維症の減少と血液学的改善の間の関係を評価する。骨髓様化生を伴う骨髓線維症における処置応答に関するInternational Working Groupコンセンサス基準（Tefferi A、Cervantes F、Mesa Rら、Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment（IWG-MRT）およびEuropean LeukemiaNet（ELN）consensus report、Blood、2013年；122巻：1395～1398頁）に従って、全奏効率に関しても患者をモニタリングする。有害事象の発生率、European Consensus of Grading Bone Marrow Fibrosis（Thiele J、Kvasnicka HM、Facchetti F.ら、European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity、Haematologica 2005年；90巻：1128～1132頁）に記載のWHO基準による骨髓線維症の変化、修正された骨髓増殖性腫瘍症状評価フォーム（MPN-SAF）スコア（Emanuelら、2012年、Journal of Clinical Oncology 30巻（33号）：4098～4103頁）の変化およびEORTC QLQ-C30スコア（EORTC QLQ-C30（バージョン3）、1995年、EORTC Quality of Life Group）によって測定した生活の質の変化に関しても患者をモニタリングする。無増悪生存期間および全生存期間を測定する。

【0336】

任意選択で、各コホートの患者を、本明細書に記載の効果のうちの1種または複数に関してモニタリングし、例えば、WHO基準による少なくとも1グレードの骨髓線維症スコアの低下に対する処置の効果を、対象、処置および生検の時点に関して盲検にされた、熟練した血液病理学者の中央判定パネル（central adjudication panel）によって決定される通りに評価する。任意選択で、RBC輸血非依存性、血小板輸血依存性またはヘモグロビンレベルにおける10～20 g/Lの増加などの血液学的改善に対する処置の効果をさらにモニタリングする。

【0337】

任意選択で、突然変異状態および対立遺伝子荷重を処置の開始前に評価する。任意選択で対立遺伝子荷重を処置の開始後に評価し、処置の経過の間に複数回評価してもよい（例えば、1、2、3、4、5または6サイクル後に）。研究を通しての時点で、ベースラインの突然変異状態を選択した一次および二次エンドポイントと関連付ける目的で血液試料を収集し、末梢全血からDNAを単離する。JAK2、MPL、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1および／またはIDH2の突然変異状態に関して試料を分析する。例えば、36週目にJAK2 V617Fの対立遺伝子荷重の変化（サイクル1

の1日目～サイクル9の29日目)を評価するためにも試料を分析する。例えば、36週目にMPLW515、CALR、ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1および/またはIDH2の対立遺伝子荷重の変化を評価するためにも試料を分析する。

【0338】

疾患およびメカニズムに関連するタンパク質および細胞マーカーに関して、追加の骨髓生検試料の免疫組織化学分析を任意選択で実行する。

【0339】

参照による組み込み

本明細書中で示されるすべての刊行物および特許は、各刊行物または特許が参照により組み込まれると具体的かつ個別に示されたかのように、参照によりそれらの全体として本明細書に組み込まれる。

10

【0340】

主題の特定の実施態様が議論されたが、上記明細書は、例示的であり限定的なものではない。この明細書および以下に列挙される特許請求の範囲の再検討に際して、当業者には多くの変形が明らかとなる。本開示の完全な範囲は、それらの等価物の完全な範囲とともに特許請求の範囲を、およびそのような変形とともに明細書を参照することによって決定されるべきである。

【0341】

配列表

配列番号1 ヒト血清アミロイドタンパク質P

20

【化1】

HTDLSGKVFVFPRESVTDHVNLIITPLEKPLQNFTLCFRAYS DLSRAYS LFSYNTQGRD
NELLVYKERVGEYSLYIGRHKVTSKVIEKFPAPVHICVSWESSSGIAEFWINGTPLVK
KGLRQGYFVEAQPKIVLGQEQDSYGGKFDRSQSFVGEIGDLYMWDSVLPPENILSAY
QGTPLPANILDWQALNYEIRGYVIKPLVWV

配列番号2 Gallus gallus 血清アミロイドタンパク質P

【化2】

QEDLYRKVFVFREDPSDAYVLLQVQLERPLLNTVCLRSYTDLTRPHSLFSYATKAQ
DNEILLFKPKPGEYRFYVGGKYVTRVPENRGEWEHVCASWESGSGIAEFWLNGRP
WPRKGLQKGYEVGNEAVVMLGQEQDAYGGGFDVYNSFTGEMADVHLWDAGLSP
DKMRSAYLALRLPPAPLAWGRLRYEAKGDVVVKPRLREALGA

30

配列番号3 Bos taurus 血清アミロイドタンパク質P

【化3】

QTDLRGKVFVFPRESSTDHVTITKLEKPLKNLTLCRLAYS DLSRGYSLFSYNIHSD
NELLVFKNGIGEYSLYIGKTKVTVRATEKFPSPVHICTSWESSTGIAEFWINGKPLVKR
GLKQGYAVGAHPKIVLGQEQDSYGGGFDKNQSFMGEGDLYMWDSVLSPEEILLVY
QGSSSISPTILDWQALKYEIKGYVIVKPMVWG

40

配列番号4 Cricetulus migratorius 血清アミロイドタンパク質P

【化 4】

QTDLTGKVFVFPRESESDYVKLIPRLEKPLENFTLCFRITYDLSRPHSLFSYNTKNKD
 NELLIYKERMGEYGLYIENVGAIVRGVEEFASPVHFCTSWESSSGIADFWVNGIPWV
 KKGLKKGYTVKTQPSIILGQEQDNYGGGFDKSSQSFVGEMGDLNMWDSVLTPEEIKS
 VYEGSWLEPNILDWRALNYEMSGYAVIRPRVWH

(配列番号 5) NM_004972 Homo sapiens ヤヌスキナーゼ 2 (JAK2)、mRNA

【化 5】

```

1  ctgcaggaag gagagaggaa gaggagcaga agggggcagc agcggacgcc gctaacggcc
61  tccctcggcg ctgacaggct gggccggcgc cgggctcgtc tgggtgttcg cgtcgccact
121  teggcttctc ggcgggtcgg gccctcggc cgggcttgc ggcgcgcgc gcggctgagg
181  gctgctgcgg cgcagggaga ggcctggtcc tcgctgcgca gggatgtgag tgggagctga
241  gcccacaactg gagggcccc gagggcccag cctggaggtc gttcagagcc gtgcccgtcc
301  cggggcttcg cagaccttga ccgcggggt aggagccgcc cctgcgggct cgagggcgcg
361  ctctggtcgc ccgctctgtg tagccggttt cagaagcagg caacaggaac aagatgtgaa
421  ctgtttctct tctgcagaaa aagaggctct tcctcctcct ccgcgcacgg caaatgttct
481  gaaaaagact ctgcatggga atggcctgcc ttacgatgac agaaatggag ggaacatcca
541  cctcttctat atatcagaat ggtgatattt ctggaatgc caattctatg aagcaaatag
601  atccagttct tcaggtgtat ctttaccatt cccttgggaa atctgaggca gattatctga
661  ccttlcctac tggggaglat gttgcagaa aaatctglat tgctgttct aaagcttgtg
721  gtatcacacc tgtgtatcat aatatgtttg ctttaatgag tgaaacagaa aggatctggt

```

10

20

【化 6】

```

781 atccacccaa ccatgtcttc catatagatg agtcaaccag gcataatgta ctctacagaa
841 taagatltta ctttctcgt tgggtattga gtggcagcaa cagagccatb cggcatggaa
901 tatctcgagg tgctgaagct cctctcttg atgactttgt catgtcttac ctctttgtct
961 agtggcggca tgattttgtg cccggttggg taaaagtacc tgtgactcat gaaacacagg
1021 aagaatgtct tgggatggca gtgttagata tgatgagaat agccaaagaa aacgatcaaa
1081 cccactggc catctataac tctatcagct acaagacatt cttaacaaaa tgtattcgag
1141 caaagatcca agactatcat attttgacaa ggaagcgaaat aaggtaacaga ttctgcagat
1201 ttattcagca attcagocaa tgcacagcca ctgccagaaa ctgaaaactt aaglatctla
1261 laaatctgga aactctgcag ctgctctct acacagagaa alligaagla aaagaacctg
1321 gaagtgggtc ttcaggtgag gagatttttg caaccattat aataactgga aacgggtgaa
1381 ttcagtggtc aagagggaag cataaagaaa gtgagacact gacagaaacg gatttacagt
1441 tatattcgga ttttctaat attattgatg tcagtattaa gcaagcaaac caagagggtt
1501 caaatgaaag ccgagtgtga actatccata agcaagatgg taaaaatctg gaaattgaac
1561 ttagctcatt aagggaagct ttgtctttcg tgtcattaat tgatggatat tatagattaa
1621 ctgcagatgc acatcatlac ctctglaaag aagtagcacc tccagccgtg ctgaaaaa
1681 lacaaagcaa ctgctcagga ccaalltoga tggallltgc callaglaaa ctgaagaaag
1741 caggtaatca gactggactg talgtacttc gatgcagtc taaggacttt aataaatatt
1801 ttttgacttt tgcctcgag cgagaaaatg tcatlgaala taacactgt tlgattacaa
1861 aaaatgagaa tgaagaglac aacctcagtg ggacaaagaa gaacttcagc agtcttaaa
1921 atcttttgaa ttgttaaccag atggaaaactg ttctctcaga caatataatt tccagttta
1981 ctaaaatgctg tccccaaag ccaaaagata aatcaaacct tctagtcttc agaacgaatg
2041 gtgtttctga tgtaccaaac tcaccaacat tactcatatg aaccaaatgg
2101 tgtttcacaa aatcagaaat gaagatttga tatttaatga aagccttggc caaggcactt
2161 ttacaaagat ttttaaggc gtacgaagag aagtaggaga ctacgggtcaa ctgcagtaaa
2221 cagaagtctt tttaaaagtt ctggataaag cacacagaaa ctattcagag tctttctttg
2281 aagcagcaag talgatgagc aagcttcttc acaagcattt ggttttaaat tatggagtat
2341 gtgtctgttg agacgagaa atctctgttc aggagtttgt aaaaatttga tcaactagata
2401 catatctgaa aaagaataaa aattgtataa atatatattg gaaacttga gttgtctaac
2461 agtttgcatg ggccatgcat tttctagaag aaaaacacct tattcatggg aatgtattgt
2521 ccaaaaatat tctgtctatc agagaagaag acaggaagac aggaatctct cctttcatca
2581 aacttagtga tcttgccatt agtattacag ttttgccaaa ggacattctt caggagagaa
2641 taccatgggt accacctgaa tgcattgaaa atoctaaaaa tllaaatttg gcaacagaca
2701 aatggagllt tggtaacct ttgtgggaaa ctgcagatgg aggagataaa cctctaagtg
2761 ctctggatic tcaaaagaa ctacaaillt algaagalag gcalcagctt cctgcaccaa
2821 agtgggcaga attagcaaac cttataaata attgtatgga ttatgaacca gatttcaggc
2881 ctctcttcag agccatcata cgagacttla acagltttgt tactccagat tatgaactat
2941 taacagaaaa tgacatglla ccaaatatga ggataggltg cctggggttt tctgggtgct
3001 ttgaagaccg ggatcctaca cagtgtgaag agagacattt gaaatttcta cagcaacttg
3061 gcaagggtaa ttttgggagt gtggagatgt gccggtatga cctctacag gacaacactg
3121 gggagggtgt cgtgttaaaa aagcttcagc atagtactga agagaccta agagactttg
3181 aaagggaat tgaaatctg aaatccctac agcatgacaa cattgtaaag tacaaggag
3241 tgtgtctacag tctgtgtcgg cgtaatctaa aattlaillt ggaatattta ccatatgga
3301 gtttacagaga ctatcttcaa aaacataaag aacggataga tcaataaaaa ctctgcagt
3361 acacatctca gatattgcaag ggtatggagt atcttggtag aaaaagggtat atccacaggg
3421 atctggcaac gagaatatata ttggtggaga acgagaacag agttaaaatt ggagattttg
3481 ggttaeccaa agtcttgcca caagacaaag aatactataa agtaaaagaa cctgggtgaa
3541 gtcccatatt ctggatgtct ccagaatcac tgacagagag caagtttctt gtggcctcag
3601 atgtttggag ctltggagt gtctgttatg aacttttctc atacattgag aagagtaaaa
3661 gtccaccagc ggaatttatg cgtatgattg gcaatgacaa acaaggacag atgatcgtgt
3721 tccattlgat agaactlltg aagaataatg gaagallacc aagaccagat ggalgccag
3781 atgagatcta talgatcatg acagaalgct ggaacaaata tglaaalcaa cgcctctct
3841 ttagggaact agctcttoga gtggalcaaa laagggaata calggctgga tgaagaaat
3901 gaccttcatt ctgagaccaa agtagattta cagaacaaag ttttatattt cacttgctg
3961 tggactatta ttacatatat cattattata taaatcatga tgcagccag caaagatgtg
4021 aaaatatctg ctcaaacct tcaaaattta gtaagttttt ctctatgag ccaacagtaa
4081 aagacattaa tgagaattcc ttagcaagga tttgtaga agtttcttaa acattgtcag
4141 ttaacatcac tctgtctgtg caaaagaaaa aaaaatagact ttttcaactc agctttttga
4201 gacctgaaaa aattattatg taaatttttg aatgttaaa atgcacagaa tatgtatgta
4261 tagtttttac cacagtggat gtataataac ttggcatctt gtgtgatgtt ttacacacat
4321 gagggtgggt gttcattaat actgtttctt aatttttcca tagttaatct ataattaatt
4381 acttccactat acaaaacaa taagatgttc agataattga ataagtaact ttgtgtctct

```

10

20

30

40

【化 7】

4441 gttcattttat atcgctggcc agcattataa gcaggtgtat acttttagct tgtagtccca
 4501 tgtactgtaa atatttttca cataaaggga acaaatgtct agttttatitt gtataggaaa
 4561 tttccctgac cctaaataat acattttgaa atgaaacaag cttacaaaga tataatctat
 4621 tttattatgg tttccctgtt atctatttgt ggtgaatgtg ttttttaa at ggaactatct
 4681 ccaaattttt ctaagactac tatgaacagt tttcttttaa aattttgaga ttaagaatgc
 4741 caggaatatt gtcactcttt gagctgctga ctgccaataa cattcttcga tctctgggat
 4801 ttatgctcat gaactaaatt taagcttaag ccataaaata gattagattg ttttttaaaa
 4861 atggatagct cattaagaag tgcagcaggt taagaatttt tctctaaaga ctgtatatit
 4921 gaggggtttc agaattttgc attgcagtc tagaagagat ttatttcctt tttagagggg
 4981 aaatgaggta aataagtaaa aaagtatgct tgttaatttt attcaagaat gccagtagaa
 5041 aattcataac gtgtatcttt aagaaaaatg agcatacatc ttaaactctt tcaattaagt
 5101 ataaggggtt gttcgttgtt gtcatttgtt atagtgtctac tccacttttag acaccatagc
 5161 taaaaataaaa tatgtgtgggt tttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg
 5221 tgttttttat acaaaactta aaatacttgc tgttttgatt aaaaagaaaa tagttttctta
 5281 cttt

(配列番号 6) NP_004963 チロシンプロテインキナーゼ JAK2 [Homo sapiens]

【化 8】

1 mgmacltmte megtstssiy qngdisgnan smkqidpvlq vylyhslgks eadyltfpgg
 61 eyvaeiecia askacgitpv yhmfmalmse teriwyppnh vfhidestrh nvlyrirfyf
 121 prwycsgsnr aynhgisrga eapllddfvn sylfaqwrhd fvhgwikvpv thetgeecig
 181 mavldmmria kendqtplai ynsisyktfl pkeirakigd yhiltrkrir yzfrfifqgf
 241 sqckatarnl klkylinlet lqsafytekf evkepgsgps geeifatiii tngnggiqwsr
 301 gkhkesetlt eqdlglycdf pnildvsikg aneggsnesr vvtihkqdgk nleielsslr
 361 ealsfvslid gyyrltadah hylckeavpp avleniqsnc hgpismdfai sklkkagnqt
 421 glyvlrocpk dfnkylftfa verenvieyk hclitknene eynlsgtkkn fsslkdlinc
 481 yqmetvrdsn liffgtkccp pkpkdksnll vfrtngvsdv ptsptlqrpt hmqnmvfhki
 541 rnedlifnes lgggtftkif kgvrrevgdy qqlhetevli kvldkahrny sesffeaasm
 601 msklshkhly lnygvvcvgd enilvqefvk fgsldtylkk nkncinilwk levakqlawa
 661 mhfleentli hgnvcaknil lireedrktg nppfiklsdp gisitvlpkd ilgeripwvp
 721 pecienpnkl nlatdkwsfg ttllweicsgg dkplsaldsq rklqfyedrh qlpapkwaal
 781 anlinnomdy epdfrpsfra iirdlnsift pdyellttend mlpnmrigal gfsgefdrd
 841 ptqfeerhik flqqlgkgnf gsvemcrydp lqndtgevva vkkqlhstee hlrdfereie
 901 ilkslghdni vkykgvcysa grnrlklime ylpyslrldy lqkhkeridh ikllqytsqi
 961 ckmeylgatk ryihrdlatr nilvenenrv kigdfltkv lqpdkeyykv kepgespifw
 1021 yapesltesk fsvasdvwsf gvvyelfty iekskspae fmmigndkq ggmivfhlie
 1081 llknngrlpr pdgcpdeilm imtecwnnnv nqrpsfrdla lrvdqirdnm ag

(配列番号 7) NM_005373 Homo sapiens MPL 癌原遺伝子、トロンボポエチン受容体 (MPL)、mRNA

【化 9】

1 cctgaaggga ggatgggcta aggcaggcac acagtggcgg agaagatgcc ctctggggcc
 61 ctcttcattg tcacctctctg cctctctctg gccctcaaaa acctggccca agtcagcagc
 121 caagatgtct ccttgctggc atcagactca gagccctga agtggttctc ccgaacattt
 181 gaggaacctc ctgtctcttg ggatgaggaa gaggcagcgc ccagtgggac ataccagctg
 241 ctgtatgcct accgcgggga gaagccctgt gcttgccccc tgagttccca gagcatgccc
 301 cactttggaa cccgatacgt gtgccagttt ccagaccagg aggaagtgcg tctcttcttt
 361 ccgtctgacc tctgggtgaa gaatgtgttc ctaaaaccaga ctccgactca ggcagtcctc
 421 tttgtggaca gtgtaggcct gccggctccc ccagtatca tcaaggccat ggggtgggagc
 481 cagccagggg aacttcagat cagctgggag gagccagctc cagaaatcag tgatttctctg
 541 aggtacgaac tccgctatgg cccagagat cccaagaact ccactggtcc accggtcata
 601 cagctgattg ccacagaaac ctgctgccct gctctgcaga ggccctcactc agcctctgct
 661 ctggaccagt ctccatgtgc tcagcccaca atgccctggc aagatggacc aaagcagacc
 721 tccccaagla gagaagcttc agctctgaca gcagaggglg gaagctgcct catctcagga
 781 ctccagcctg gcaactctca ctggctgcag ctgcgcagcg aacctgatgg gatctcctc
 841 ggtggctcct ggggactctg gtccctcctt gtgactgtgg acctgctgg agatgcagtg
 901 gcactgggac tgaatgctt taacttggac ctgaagaatg ttactgtca atggcagcaa
 961 caggaccatg ctactccca agcttcttcc taaccacaga gggcacggtg ctgcccaga
 1021 gacaggtacc ccactctgga gaactgcgaa gaggaagaga aaacaaatcc aggaactacg
 1081 accccacagt tctctcgtct caacttcaag tcaagaaatg acagcattat tcacatcctt
 1141 gtggaggtga ccacagcccc gggtaactgtt cacagctaac tgggctcccc tttctggatc

【化 1 0】

1201 caccagagctg tgcgcctccc ccccccaaac ttgcactgga gggagatctc cagtgggcat
 1261 ctgggaattgg agtggcagca cccatogtcc tgggcagccc aagagacctg ttatcaactc
 1321 cgatlacacag gaggaggcca tccaggactg aaggltgctg agccgcctct cggggcccga
 1381 ggaggggaacc lggagctgag cccgcgactc cgtaccglt lacagctgag cggcaggctc
 1441 aacgggcccc cctaccaagg tccctggagc tctgtgctgg acccaactag ggtggagacc
 1501 gccacggaga ccgcctggat ctcttgggtg accgctctgc atctagtgtt gggcctcagc
 1561 gccgtcctgg gcctgtctgt gctgagggtg cagtttctct cacaactacg gagactgagg
 1621 catgcccctg gccctcact tccagacctg caccgggtcc taggcagta cctlagggac
 1681 actgcagccc tgagcccgc caggccaca gtctcagata cctgtgaaga agtggaaacc
 1741 agcctccttg aaatcctccc caagtctcca gagaggactc ctttgccctt gtgttctctc
 1801 caggcccaga tggactaccg aagattgcag ccttcttgcc tggggaccat gccctgtctt
 1861 gtgtgcccac ccattggtga gtcagggtcc tctgttacc cccacattgc caaccattcc
 1921 tacctaccac taagctattg gcagcagcct tgaggacagg ctctcactc ccagttccct
 1981 ggacagagct aaactctega gacttctctg tgaacttccc taccctaccc ccacaacaca
 2041 agcaccaccg accctacctc catcccctc tctctgccc cacaattagg ctctattgca
 2101 ctgactctac tctactgtgt ctgacataaa accaggaccc ttctctcaca ggcaggctca
 2161 tttcactaag ctctcctttt actttctctc tctcttttga tgtcaaacgc cttgaaaaaca
 2221 agcctccact tccccacact tccattttac ccttgagact acttcaatta gttcccttac
 2281 tacacttttg tagtgaaact gcccaggcaa agtgacacct aaatcttcta attccaagat
 2341 ccaataggat ctggttaata atcagttcct ttgatctcgc tgaagattt gtcaaggctg
 2401 actactcact tctcttttaa atttcttctt accctggctc tgcctcttct agtataatag
 2461 taggtttttt ttatttgggt gagacagggt ctcaactctg caccagggtt gcagtgcaat
 2521 ggccgagact cagctcactg caacctccac ctccgggttc aagcgattct tctgctctgg
 2581 cctccctagt agctgggatt acaggcgccac accaccacac acagctaatt tttttttttt
 2641 tttttttttt ttttttttag acggagcctt gctctgttgc cagactggag tgcagtggca
 2701 cgatctcggc tcaactgcaac ctctgcctcc cgggttcaag ccattctgcc tcagcctccc
 2761 aaglagctgg gactacagga gctcgcacc algcctaat ttttctat tttaggagag
 2821 accggttttc acccgttgg ccaggatggt ctgatatcc tgatctctg atccgcctgc
 2881 ctctgcctcc caaagtctgt ggtttacagg tctgacccac tgcgcacagc ccagctaatt
 2941 tttcatattt tttagtagaga cagggttttg ccattgttgc caggctggtc ttgaactcct
 3001 aacctcgggt gatccacca ccttggcctc ccaaagtgtt aggtattacg gcattgagcca
 3061 ctgcgcggg ctgagtgtag tagtagttaa gagaataaac tagatctaga atcagagctg
 3121 gattcaattc ctgtccttca cttttactag ctgtgcaacc ttgggcacat aacttaattg
 3181 ctttgagcct tagttttttt atctgtaaaa cagggataat aacagcacc catagagttg
 3241 tgacgaggt tgagataata taagttaagg acagtcccta ggacatagta aatgattcat
 3301 atatccgaac tactgttata attattcctt cttactctcc tcttctagca tttcttccaa
 3361 ttattacagt ctttcaagat tccatttctt aacagtctcc aatccatct attctctgcc
 3421 tttactatat gttgaccatt ccaaagttct tatctctagc tcagacatct actacagcac
 3481 tgtgatgctt tatgcaacta actgtttaca tatctgtccc ctgctactag attgtgagct
 3541 ccttgaggga aaggaacatg atttatgtgt ccttttccc cagcacctag agtagtgctt
 3601 ggtgcatgat agtaggcctt caataaattt tttctaatg aatga

10

20

30

(配列番号 8) NP_005364 トロンボポエチン受容体前駆体 [Homo sapiens]

【化 1 1】

1 mpswalfmvt sclllapqnl aqvssqdvsl lasdseplke fsrtfedlto fwdeeeaaaps
 61 gtyqillyayp rekprapcls sqsmphfgtr yvcqfpdgee vrlffplhlw vknvflnqtr
 121 tqrvifvdsv gipappsilk amggsqpgel qisweepape isdflryelr ygprdpknst
 181 gptviqliat etccpalqrp hsasaldqsp caqptmpwqd gpkqtspsre asaltaeggs
 241 clisglqpgn sywlqlrsep dgislggswg swslpvtvdl pgdavalglq cftldlknvt
 301 cqwqqqghas sqgffyhsra rccprdrypi wenceeeekt npqlqtpqfs rchfksrnds
 361 iihilvevtt apgtvhsylg spfwhqavr lptpnlhvre issghlelew qhpsswaage
 421 tcyqlrytge ghqdwkvlep plgarggtle lrprsrlyrlq lrarlngpty qgpwsswsdp
 481 trvetateta wisilvtahl vlqisavigl llirwqfpah yrrlrhalwp slpdlhrvlg
 541 qylrdaals ppkatvsdte eevepsilei lpkssertpl plcssqaqmd yrrlqpsclg
 601 tmlsvccppm aesgscctth ianhstylpl ywqqp

40

(配列番号 9) NM_004343 Homo sapiens カルレティキュリン (CALR)、mRNA

【化 1 2】

```

1  ggggcgtcgc  tccgtactgc  agagccgctg  cgggaggggc  gtttttaaagg  gccgcgcgt
61  tggcgcgcgc  tgggcgcgc  atgctgctat  cggcgccgct  gctgctcgcc  ctctcgcc
121  tggcgcgcgc  cgagcctgcc  gtctacttca  aggagcagtt  totggacgga  gacgggtgga
181  cttcccgctg  gatcgaatcc  aaacacaagt  cagatttttg  caaattcgtt  ctcagttcgc
241  gcaagttcta  cggtgacgag  gagaaagata  aagggtttgc  gacaagccag  gatgcacgct
301  tttatgctct  gtggccagct  ttcgagcctt  tcagcaacaa  aggccagacg  ctggttggtc
361  agttcacggc  gaaacatgag  cagaacatcg  actgtggggg  cggctatgtg  aagctgtttc
421  ctaaatagttt  ggaccagaca  gacatgcacg  gagactcaga  atacaacatc  atgtttggtc
481  ccgacatctg  tggccctggc  accaagaagg  ttcattgtcat  ctccaactac  aagggcaaga
541  acgtgctgat  caacaaggac  atccgtttgc  aggatgatga  gtttacacac  ctgtacacac
601  tgattgtgct  gccagacaa  acctatgagg  tgaagattga  caacagccag  gtggagtcgc
661  gctccttgga  agacgattgg  gacttcctgc  caccacaaga  gataaaggat  cctgatgctt
721  caaaaccgga  agactgggat  gagcgggcca  agatcgatga  tcccacagac  tccaagcctg
781  aggactggga  caagcccgag  catatccctg  acctgatgc  taagaagccc  gaggactggg
841  atgaagagat  ggacggagag  tgggaacccc  cagtgtattca  gaaccctgag  tacaagggtg
901  agtgggaagg  ccggcagatc  gacaacccag  attacaaggg  cacttggatc  caccagaaa
961  ttgacaaccc  cgagtattct  ccgatccca  gtatctatgc  ctatgataac  tttggcgtgc
1021  tgggcctgga  cctctggcag  gtcaagtctg  gcaccatctt  tgacaacttc  ctcatcaca
1081  acgatgaggc  atacgctgag  gaggtttgga  acgagacgtg  gggcgtaaca  aaggcagcag
1141  agaaacaaat  gaaggacaaa  caggacgagg  agcagaggct  taaggaggag  gaagaagaca
1201  agaaacgcaa  agaggaggag  gaggcagagg  acaaggagga  tgatgaggac  aaagatgagg
1261  atgaggagga  tgaggaggac  aaggaggaag  atgaggagga  agatgcccc  ggccaggcca
1321  aggacgagct  gttagagagg  ctgctccag  ggtggactg  aggcctgagc  gctcctgccc
1381  cagagctggc  ccgcccacaa  aatgtctctg  tgagactcga  gaactttcat  ttttttccag
1441  gctggttcgg  atttgggtg  gattttggtt  ttgttccctt  cctccactct  ccccccccc
1501  ctccccgcgc  tttttttttt  ttttttttaa  actgggtattt  tatctttgat  tctccttcag
1561  cctccacccc  tgggttctat  ctttcttgat  caacatcttt  tcttgccctt  gtcccttctt
1621  ctcatctctt  agctccctc  caacctgggg  ggcagtgggt  tggagaagcc  acaggcctga
1681  gatttctatc  gctctccttc  ctggagccca  gaggagggca  gcagaagggg  gtggtgtctc
1741  caacccccca  gcactgagga  agaacggggc  tcttctcatt  tcacccctcc  ctttctcccc
1801  tgcccccagg  actgggccc  ttctgggttg  ggcagtgggt  cccagattgg  ctacactga
1861  gaatgtaaga  actacaaaca  aaatttctat  taaattaaat  tttgtgtctc  caaaaaaaaa
1921  aaaaaaaaa

```

10

20

30

(配列番号 10) NP_00433 カルレティキュリン前駆体 [Homo sapiens]

【化 1 3】

```

1  milsvplllg  llglavaepa  vyfkeqfldg  dgwtsrwies  khksdfgkfv  lssgkfygde
61  ekdkgqlqts  darfyalsas  fepfsnkgqt  lvvgftvkhe  qnidcggyv  klfpnsldqt
121  dmhgdseyni  mfgpdicggg  tkkvhvifny  kgknvlinkd  irckddefth  lytlivrpdn
181  tyevkidnsq  vesgslredd  dflppkkikd  pdaskpedwd  erakiddptd  skpedwdkpe
241  hipdpdakkp  edwdeemdge  weppviqnpe  ykgewkprqi  dnpdykgtwi  hpeidnpeys
301  pdpsiyaydn  fgvlglidlq  vksqtifdnf  litndeayae  efgnetwgtv  kaaekqmkdk
361  qdeeqrlkee  eedkkrkeee  eaedkedded  kdedeedeed  keedeedvvp  gqakdel

```

(配列番号 11) NM_001164603 Homo sapiens 追加の性腺様転写調節因子 1 (ASXL1)、転写変異体 2、mRNA

【化 1 4】

```

1  cacacccacg gcagacacgc acgcacccgg gcgcggaagg gaaagccggg tctcgccctc
61  cggcccccgc gtgggtctct tctcagtcct tcagcagagc gggaaagcgg aggcgggagc
121 cgtgacctct gaccccgctg ttatgcggag cgcgcgcatt ccttagcgat cgcggggcag
181 cgcgcgctgc cgcgcgtggc gactgacgca gcgcgggggc gtggagccgc cgcgcgcctt
241 cccccaccgc cgtctctcgc ccagccggtc cccgcgtgcc cgcgcctctt ccccgccgcg
301 acccgagacc tcgcgcgcgc cgcgtgccac gcgcgcgcgc caccgcgcgc gccgcgcgcg
361 ccccgcgcca cgcgcgcgc cgcgcgcgc cggaggctcc gcgtggagct gccgcgcgcg
421 cggggggagaa ggtatgaagg caaacagaa aagaagaagg agcgacgctg gccgcgagcc
481 gcgcgccttg tattagaaaa ctactcggat gctccaatga caccaaaaaa gattctgcag
541 gtcataagag cagaaggact aaaggaaatg agaagtggga cttccctctt cgcctgcctc
601 aatgctatgc tacattccaa ttcaagagga ggagaggggt tgttttataa actgcctggc
661 cgaatcagcc ttttcacgct caagggtgta gccactgcac caggccctct catcttaatt
721 ttaatatatc tttgaataaa caccattgta tgaacctgct gtaagcttgg gattggtctg
781 ttagcttaca gtttgtgtct gagatgtgct aattgaatat ttgctcagta cctcatctta
841 actgcctttg gttttatgtt gtttatcttt catagtatct tgttcatttg ctttttacat
901 ccataggcat cacttctctg atattcgctg tgcctcttta atggattaat gggttgcttg
961 gttgggttct ctagtttagc tglaaactcc ttgagagcag agtctgtatt ttatttaatta
1021 cccacagtac taggtacata gttgccttca ataaatatat atttaatgaa aaaaaaaaaa
1081 aaaa

```

10

(配列番号 1 2) NP_001158075 推定上のポリコム群タンパク質 A S X
L 1 アイソフォーム 2 [Homo sapiens]

【化 1 5】

```

1 mkdkqkkkrtwaearlv lenysdapmt pkqilqvlea egkemrsgt splaclnami
61 hnsrsggegl fyklpgrisl ftlkv

```

20

(配列番号 1 3) NM_001203247 Homo sapiens zeste エンハンサーホモログ 2 (enhancer of zeste homolog 2) (Drosophila) (EZH2)、転写変異体 3、mRNA

【化 1 6】

```

1  ggccggcgctt gattgggctg ggggggccc aaataaagcga tggcgattgg gctgccgcgt
61  ttggcgctcg gtccggctcg gtccgacacc cggctgggact cagaaggcag tggagccccg
121  gcggcgccgg cggcgccggc cggggggcgc gcggcggaac aacggcgagc ggccggcggg
181  accaagaata atcatgggcc agactgggaa gaaatctgag aagggaccag tttgttgccg
241  gaagcgtgta aaatcagagt acatgcgact gagacagctc aagaggttca gacgagctga
301  tgaagttaaag agtatgttta gtccaatcg ccagaaaatt ttggaaagaa cggaaatcct
361  aaaccaagaa tggaaacagc gaaggataca gctgtgcac atcctgactt ctgtgagctc
421  attgcgcggg actagggagt gtccggtgac cagtgaactt gatatttcaa cacagtcac
481  cccattaaag actctgaatg cagttgcttc agtaccata atgtattctt ggtctccctt
541  acagcagaat tttatgggtg aagatgaaac tgttttacct aacattcctt atatgggaga
601  tgaagtttta gatcaggatg gtactttcat tgaagaacta ataaaaaatt atgatgggaa
661  agtacacggg gatagagaat gtgggtttat aaatgatgaa atttttgttg agttggtgaa
721  tgcccttggg caatataatg atgatgacga tgatgatgat ggagacgac ctgaagaaag
781  agaagaaagag cagaaagatc tggaggatca ccgagatgat aaagaaagcc gccaccctcg
841  gaaatllcct lctgataaaa tllllgaagc catllcctca atglltccag alaagggcac
901  agcagaagaa ctaaaaggaaa aalataaaga actcaaccga cagcagctcc caggcgccct
961  tctctctgaa tgtaccccca acatagatgg accaaatgct aaatctgttc agagagagca
1021  aagctttacac tcttttcata cgtttttctg taggcgatgt tttaaatatg actgcttctt
1081  acatcctttt catgcaacac caaacactta taagcggaag aacacagaaa cagctctaga
1141  caacaaacct tgtggaccac agtggtacca gcatttggag ggagcaaagg agtttgcctg
1201  tgcctccacc gctgagcgga taaagacccc accaaaacgt ccaggaggcc gcagaagagg
1261  acggtctccc aataacagta gcaggcccg caccaccacc attaatgtgc tggaatcaaa
1321  ggatacagac agtgataggg aagcagggac tgaacgggg ggagagaaca atgataaaga
1381  agaagaagag aagaaagatg aaacttcgag ctctctgaa gcaaatctc ggtgtcaaac
1441  accataaag atgaagccaa atattgaact toctgagaat gtggagtggg gtggtgctga
1501  agcctcaatg tttagagctc tcatggcac ttactatgac aattctgtg ccattgctag
1561  gtttaattggg accaaaacat gtagacaggt gtatgagttt agagtcaaa aatctagcat
1621  catagctcca gctcccgctg aggatgtgga tactctcca aggaaaaaga agaggaaaca
1681  ccggttgttg gctgcacact gcagaaagat acagctgaaa aaggacggct cctctaacca
1741  tgtttacaac tatcaaccct gtgacatcc acggcagcct tgtgacagtt cgtgcccttg
1801  tgtgatagca caaaatllll gtgaaaagtl ttgtcaatgt agttcagagt gtcaaaaccg
1861  ctllccggga tgcgctgca aagcacagtg caacaccaag cagtgcccg gtacctggc
1921  tgtccgagag tgtgacccct accctctgtc tacttgtgga gccgctgacc attgggacag
1981  taaaaatgtg tcttgcaaga actgcagtat tcagcggggc tccaaaaagc atctattgct
2041  gccaccatct gacgtggcag gctgggggat ttttatcaaa gatcctgtgc agaaaaatga
2101  attcatctca gaatactgtg gagagattat ttctcaagat gaagctgaca gaagagggaa
2161  agtgtatgat aaatacatgt gcagctttct gtccaacttg aacaatgatt ttgtggtgga
2221  tgcaaccggc aagggtaaca aaattcgttt tgcaaatcat toggtaaat caaactgcta
2281  tgcaaaagtt atgatgttta acggtgatca caggataggt atttttgcca agagagccat
2341  ccagactggc gaagagctgt tttttgatta cagatacagc caggctgatg cctgaagta
2401  tgtcggcatc gaaagagaaa tggaaatccc ttgacatctg ctacctctc cccctctctc
2461  tgaacagct gcttagctt caggaacctc gactactgtg ggcaatttag aaaaagaca
2521  tgcagtttga aattctgaat ttgcaaagta ctgtaagaat aatttatagt aatgagttta
2581  aaaatcaact ttttattgac ttctaccag ctgcaaagtg ttttgtacca gtgaattttt
2641  gcaataatgc agtatggtag atttttcaac tttgaataaa gaataactga acttgctcct
2701  gttgaatc

```

10

20

30

(配列番号 14) NP_001190176 ヒストンリーシン N-メチルトランスフェラーゼ E Z H 2 アイソフォーム c [Homo sapiens]

【化 1 7】

```

1  mgqtgksek gpvcwrkrvk seymrlrqik rfrradevks mfssnrqkil erteilngew
61  kqrrigpvhi ltsvsslrqt recsvtsdld fptqvipikt lnavasvplm yswsplqgnf
121  mvedetvlhn ipymgdevld qdgtfieeli knydgkvhd recgfindei fvelvnaigq
181  ynddddddgd ddpeereekq kdledhrddk esrpprkfps dkifeaissm fpdkgtaeel
241  kekykelteq qlpgalppec tpnidgpnak svqreqslhs fhtlfcrrcf kydcflhpfh
301  atpntykrkn tetaldnkpc gpqcyqhleg akefaaalta eriktpkkrp ggrrrgrrlpn
361  nssrpstpti nvlesktdts dreagtetgg enndkeeeek kdetsssseaa nsrctpikm
421  kpnieppenv ewsgaeasmf rvligtyydn fcaiarligt ktrqvyefr vkessilapa
481  paedvdtppr kkrkrhrlwa ahorkiqlkk dgssnhvyny qpodhprgpc dsscpoviaq
541  nfcekfcqcs secqnrifpgc rcaqacntkq cpcylavrec dpdcltcca adhwdsknvs
601  ckncsiqrqs kkhlllpsd vagwgifikd pvqknefise ycgelissge adrrgkvdyk
661  ymcsflfnln ndfvvdatr kgnkirfanhs vnpncyakvm mvngdhrigl fakraiqtge
721  elffdyrysq adalkyvgie remeip

```

40

(配列番号 15) NM_001195427 Homo sapiens セリン／アルギニンリッチスプライシング因子 2 (SRSF2)、転写変異体 2、mRNA

【化 1 8】

```

1 agaaggtttc atttccgggt ggccggggcg ccattttgtg aggagcgata taaacgggcg
61 cagaggccgg ctgcccggcc agttgttact caggtgcgct agcctgcgga gcccgctccgt
121 gctgtttctgc ggcaaggcct tccccagtgt cccacgcggc aaggcaactg cctgagaggc
181 gccggcgtcgc accgcccaga gctgagggaag ccggcgccag ttccgggggc tccggggcgc
241 caotcagago tatgagctac ggcggccccc ctcccgatgt ggagggtatg aactccctca
301 aggtggacaa cctgacctac cgcacctcgc ccgacacgct gaggcgcgtc ttcgagaagt
361 accggcgcgct cggcgacgtg tacatcccgc gggaccgcta caaccaaggag tcccgcggtt
421 tccgcttctgt tccgtttcac gacaagcgcg acgctgagga cgtatggat gccatggagc
481 gggccgtgct ggaaggccgc gagctgcggg tgcaaatggc ggcctacggc cgcggccggc
541 actcacacca cagccggccg ggaccggcac ccgcaggta cggggggcgt ggctacggac
601 gccggagccg cagccctagg cggcgctcgc gcagccgata ccggagtcgg acccgttcca
661 ggtctcgcag ccgatctcgc tacagccgct cgaagtctcg gtcccgcact cgttctcgat
721 ctcggctcgac ctccaagtc agatccgcac gaaggtccaa gtccaagtc tctcggtctt
781 ctagatctcg ttccgggtcc aggtcccggt ctgggtccag ggtctctcc ccagtgtcca
841 agagggaatc caaatccagg tccgatcga agagtccccc caagtctct gaagagggaag
901 gagcggtgtc ctcttaagaa atgatgtat cggcaagcag tgtaaacgga ggacttgggg
961 aaaaaggacc acatagtcca tccaagaaga gtcccttgga caagcaactg gctattgaaa
1021 aggttatttt gtaacatttt tctaactttt taottgttta agctttgctt cagttggcaa
1081 acttcatttt atgtgcatt ttgttgcgtt tattcaaatt tcttctaatt tagtgaggtg
1141 aacgacttca gatttcatta ttggatttgg atatttgagg taaaatttca ttttgtata
1201 tagtgctgac tttttttgtt tgaattttaa cagatttgta aactaatttg tggcctctg
1261 acttttaagg aaaaacgtgt cagccallac acacagccta aagctglcaa gagattgact
1321 cggcatttgc ttcatctctt aaaaattaaa aactacaaaa gttgggtglaa atttglalat
1381 gttattttacc ttccagatcta aatggtaatc tgaacccaaa tttgtataaa gacttttcag
1441 gtgaaaagac ttgatttttt gaaaggattt tttatcaaac acaattctaa tctcttctct
1501 tatgtatttt tgtgcactag ggcagttgt gtacagttg agtaatgctg gttagctgtt
1561 aagggtggcg tttgcagttg agagtgcttg gctgtttctt gttttctccc gattgctctt
1621 gtgtaaagat gcttctgtct gcagaaacaa atggctgtcc agtttattaa aatgcctgac
1681 aactgcactt ccagtcaccc gggccttgca tataataaac ggagcataca gtgagcacat
1741 ctagctgatg ataaatacac ctttttttcc ctcttcccc taaaaatggt aaatctgatc
1801 atatctacat gtatgaactt aacatggaaa atgttaagga agcaaatggt tgttaacttg
1861 taagtactta taacatgggt tatctttttt cttatgaata ttctgtatta taaccatbgt
1921 ttctgtagtt taattaaaaa attttcttg tttagcttt tctcagaaaa aaaaaaaaaa
1981 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

```

10

20

(配列番号 16) NP_001182356 セリン／アルギニンリッチスプライシン
グ因子 2 [Homo sapiens]

【化 1 9】

```

1 msygrpppvd egmtslkvdn ltyrtspdtl rrvfkygrv gdvyiprdry tkesrgfafv
61 rfhdkrdaed amdandgavl dgrelrvqma rygrppdshh srrgpppry ggggygrsr
121 sprrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs
181 rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs rrrrrrrsrs

```

30

(配列番号 17) NM_005896 Homo sapiens イソシトレートデヒ
ドロゲナーゼ 1 (NADP+)、可溶性 (IDH1)、転写変異体 1、mRNA

【化 2 0】

```

1  gggtctgagga  ggccggggccct  gggagggggac  aaagccggga  agaggaaaag  ctgggaccta
61  cctgtgtggtc  ccgggttttct  gcagagtcta  cttcagaagc  ggaggcactg  ggagtccggt
121  ttgggattgct  caggctgtgtg  ttgtgagtct  gagcttgtga  ggggctgtgg  cggcccaact
181  cttgccagc  atatcatccc  ggcaggcgat  aaactacatt  cagttgagtc  tgcaagactg
241  ggaggaaactg  ggggtgataag  aaatctattc  actgtcaagg  ttatttgaag  tcaaatgtc
301  caaaaaaatc  agtggcggtt  ctgtggtaga  gatgcaagga  gatgaaatga  caccgaatcat
361  ttgggaattg  attaaagaga  aactcatttt  tccctacgtg  gaattggatc  tacatagcta
421  tgatttaggc  atagagaatc  gtgalgocac  caacgaccaa  gtcaccaagg  atgctgcaga
481  agctataaaag  aagcataatg  ttggcgltcaa  atgtgcccact  atcaatcctg  atgagaagag
541  ggttgaggag  ttcaagttga  aacaaatgtg  gaaatcacca  aatggcacca  tacgaaatat
601  tctgggtggc  acggtcttca  gagaagccat  tatctgcaaa  aatatcccc  ggcttgtgag
661  tggatgggta  aaacctatca  tcataggtcg  tcatgcttat  ggggatcaat  acagagcaac
721  tgattttgtt  gttcctgggc  ctggaaaagt  agagataacc  tacacacca  gtgacggaac
781  ccaaaaggtg  acatacctgg  tacataactt  tgaagaaggt  ggtggtgttg  ccatggggat
841  gtataatcaa  gataagtc  ttgaagattt  tgcacacagt  tcttccaaa  tggtctgtc
901  taagggttgg  cctttgtatc  tgagcacc  aaacactatt  ctgaagaaat  atgatggcg
961  ttttaagac  atctttcagg  agatatatga  caagcagtac  aagtcccagt  ttgaagctca
1021  aaagatctgg  tatgagcata  ggctcatcga  cgacatgggt  gcccagcta  tgaaatcaga
1081  gggaggcttc  atctgggct  gtaaaaaacta  tgatgggtgac  gtgcagtcgg  actctgtggc
1141  ccaagggtat  ggtctctctg  gcatgatgac  cagcgtgctg  gttgtctcag  atggcaagac
1201  agtagaagca  gaggctgccc  acgggaactgt  aacccgtcac  taccgcatgt  accagaaagg
1261  acaggagacg  tccaccaatc  ccattgcttc  cttttttg  tggaccagag  ggttagccca
1321  cagagcaaaag  cttgataaca  ataaagagct  tgccttcttt  gcaaatgctt  tggagaagt
1381  ctctattgag  acaattgagg  ctggttcat  gaccaaggac  ttggtgtgtt  gcaataaagg
1441  tttacccaat  gtgcaacgtt  ctgactactt  gaatacattt  gagttcatgg  ataaacttgg
1501  agaaaacttg  aagatcaaac  tagctcaggc  caaacttta  gttcatacct  gagctaagaa
1561  ggataattgt  cttttgttaa  ctagggtctac  aggtttacat  tttctgtgt  tacaactcag
1621  gataaaggca  aaatcaattt  tgtaatgtt  ttagaagcca  gagtttatct  tttctataag
1681  tttacagcct  ttttcttata  tatacagtta  ttgccacctt  tgtgaacatg  gcaagggact
1741  tttttacaat  ttttatttta  tttctagta  ccagcctagg  aattcgggtt  gtactcattt
1801  gtattcaactg  tcaacttttt  tcatgttcta  attataaatg  accaaaatca  agattgtctc
1861  aaagggtaaa  tgatagccac  agtattgtct  cctaaaatat  gcataaagta  gaaattcact
1921  gccttccct  cctgtccatg  accttgggca  cagggaagtt  ctggtgtcat  agatatcccg
1981  ttttgtgagg  tagagctgtg  cattaacttt  gcacatgact  ggaacgaagt  atgagtcaaa
2041  ctcaaatgtg  ttgaagatac  tgcagtcatt  ttgttaaga  ccttgctgaa  tgtttccaat
2101  agactaaata  ctgttttaggc  cgcaggagag  tttggaatcc  ggaataaata  ctacotggag
2161  gtttgtctc  tccatttttt  tctttctcct  cctggcctgg  cctgaalatt  atactactct
2221  aaatagcata  tttcatocaa  gtgcaataat  gtaagotgaa  tcttttttgg  acttctgtctg
2281  gcctgtttta  tttcttttat  ataaatgtga  tttctcagaa  attgatatta  aacactatct
2341  tatcttctcc  tgaactgttg  attttaatta  aaattaagtg  ctaattacca  ttaaaaaaaa
2401  aa

```

10

20

30

(配列番号 18) NP_005887 イソシトレートデヒドロゲナーゼ [NADP]
細胞質 [Homo sapiens]

【化 2 1】

```

1  mskkisggs  vemqgdemtr  iiwelikekl  ifpyveldlh  sydlgienrd  atndqvtkda
61  aeaikkhv  vkcatitpde  krveefklkq  mwkspngrtir  niiggtvfre  aiickniprl
121  vsgwvkpii  grnaygdqyr  atdfvvpagg  kveitytpsd  gtqkvtylvh  nfeeggvgam
181  gmyngdksie  dfahssfqma  lskgwplyls  tkntilkkyd  grfkdfiqei  ydkqyksqfe
241  aqkiwyehrl  iddmvaqamk  seggfiwack  nygdvqsds  vaqgygslgm  mtsvlvcpgd
301  ktveeaaahg  tvtrhyrmyq  kggetstnpi  asifawtrgl  ahrakldnnk  elaffanale
361  evsietieag  fmktdlaaci  kglpnvqrsd  ylntfefmdk  lgenlkikla  qakl

```

(配列番号 19) NM_001289910 Homo sapiens イソシトレートデヒドロゲナーゼ 2 (NADP+), ミトコンドリア (IDH2), 転写変異体 2, mRNA

40

【化 2 2】

```

1  attttgcaac gccataggct tccagcgact gctgggtgatg tttctgatgc cgacaaaagg
61  atcaaggtgg cgaagcccgt ggtggagatg gatgggtgatg agatgaccog tattatctgg
121 cagttcatca aggagaagct catcctgccc cactgggaca tccagctaaa gtattttgac
181 ctcgggctcc caaacccgtga ccagactgat gaccagggtca ccattgactc tgcactggcc
241 acccagaagt acagtgtggc tgtcaagtgt gccaccatca cccctgatga gggccgtgtg
301 gaagagttca agctgaagaa gatgtggaaa agtcccaatg gaactatccg gaacatcctg
361 ggggggactg tcttcggga gcccatcatc tgcaaaaaca tcccacgcct agtccctggc
421 tggaccaagc ccatacccat tggcaggcac gcccatggcg accagtacaa ggccacagac
481 tttgtggcag accggggccgg cactttcaca atgggtcttca ccccaaaaga tggcagtggg
541 gtcaaggagt ggggaagtgt caacttcccc gcaggcgggg tgggcatggg catgtacaac
601 accgacgagt ccattctcagg ttttgccgac agctgcttcc agtatgccat ccagaagaaa
661 tggccgctgt acatgagcac caagaacacc atactgaaag cctacgatgg gcgtttcaag
721 gacatcttcc aggatctctt tgacaagcac tataagaccg acttcgacaa gaataagatc
781 tgggtatgagc accggctcat tgatgacatg gtggctcagg tctcaagtc ttcgggtggc
841 tttgtgtggg cctgcaagaa ctatgacgga gatgtgcagt cagacatcct gggccagggc
901 tttggctccc ttggcctgat gacgtccgct ctgggtctgcc ctgatgggaa gacgattgag
961 gctgaggccg ctcatgggac cgtcaccgac cactatcggg agcaccagaa gggccggccc
1021 accagcacca accccatcgc cagcatcttt gctggacac gtggcctgga gcaaccgggg
1081 aagctggatg ggaaccaaga cctcatcagg tttggccaga tgcctggaga ggtgtgcgtg
1141 gagacggtgg agagtggagc catgaaccaag gaactggcgg gctgcattca cggcctcagc
1201 aatgtgaagc tgaacgagca ctctctgaac accacggact tctcgacac catcaagagc
1261 aacctggaca gagccctggg caggcagtag ggggagggcg caccatggc tgcagtggag
1321 gggccagggc tgagccggcg ggtcctcctg agcgcggcag agggtgagcc tcacagcccc
1381 tctctggagg cctttctagg ggatgttttt ttataagcca gatgttttta aaagcatatg
1441 tgtgtttccc ctcatggtga cgtgaggcag gagcagtgcg ttttacctca gccagtcagt
1501 atgttttgca tactgtaatt tatattgccc ttggaaacaa tgggtccata tttagctact
1561 aaaaagctct tcacaaaa

```

10

20

(配列番号 20) NP_001276839 イソシトレートデヒドロゲナーゼ [N A D P]、ミトコンドリアアイソフォーム 2 [Homo sapiens]

【化 2 3】

```

1  mdgdemtrii wqfikekili phvdiqlkyf dlglpnrdgt ddqvtildsal atqkysvavk
61  catitpdear veefklkkmw kspngtirn lggvtfrepi ickniprlvp gwtkpitigr
121 hahgdqykaf dfvadragtf kmvftpkdgs gvkewevynf paggvvmgmy ntdeisqfa
181 hscfqyiaik kwplymstkn tilkaydgrf kdifqeifdk hyktddfdknk iwehrlidd
241 mvaqvlkssg gfvwacknyd gdvqsdilaq gfgslglmts vlvcpgdkti eaeaahgtvt
301 rhyrehqkgr ptstnplasi fawtrglehr gklidngdli rfaqmlekvc vetvesgant
361 kdlaagcihgl snvklnehfl nttdfldtik snldralgrq

```

【配列表】

30

2018512164000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2016/027773
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12Q 1/68 (2006.01) A61K 38/17 (2006.01)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
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) WPIAP, EPODOC, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CAPLUS & keywords: myeloproliferative, myelofibrosis, serum amyloid P, JAK2, MPL, CALR, ASXL1, EZH2, SRSF2, IDH1, IDH2, mutation, allele and like terms. ESPACENET, PUBMED: Inventor and applicant names		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C ☒ See patent family annex		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 20 June 2016		Date of mailing of the international search report 20 June 2016
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustralia.gov.au		Authorised officer Richard Filmer AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61 2 6283 2735

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/US2016/027773
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	VANNUCCHI, A. M. et al., "Mutation-Enhanced International Prognostic Scoring System (MIPSS) for Primary Myelofibrosis: An AGIMM & IWG-MRT Project", Blood, 2014, vol. 124, no. 21, Abstract 405 [retrieved from the internet on 6 August 2016] <URL: http://www.bloodjournal.org/content/124/21/405 > whole document	1-104
Y	TEFFERI, A. et al., "CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons", Leukemia, 2014, vol. 28, pages 1472-1477 Abstract; Introduction; Materials and Methods	1-104
Y	VANNUCCHI, A. M. et al., "JAK2 allele burden in the myeloproliferative neoplasms: effects on phenotype, prognosis and change with treatment", Therapeutic Advances in Hematology, 2011, vol. 2, no. 1, pages 21-32 Abstract, pages 26-28	1-7, 18-33, 44-54, 65-104
Y	VERSTOVSEK, S. et al., "Phase 2 Trial of PRM-151, an Anti-Fibrotic Agent, in Patients with Myelofibrosis: Stage 1 Results", Blood, 2014, vol. 124, no. 21, Abstract 713 [retrieved from the internet on 14 August 2016] <URL: http://www.bloodjournal.org/content/124/21/713.abstract?ssochecked=true > whole document	1-104
Y	WO 2010/148234 A1 (PROMEDIOR, INC) 23 December 2010 Abstract; page 5 lines 12-21; page 12 line 1 – page 13 line 6; page 38 line 17; Example 1; SEQ ID NO: 1	1-104
P,X	WO 2015/054390 A1 (PROMEDIOR, INC.) 16 April 2015 Abstract; page 8 lines 15-21; page 14 lines 3-14; page 41 lines 3-22; page 50 lines 4-15; page 52 line 22 – page 53 line 20; Claims	1-7, 18-33, 44-54, 65-104
P,Y	Abstract; page 8 lines 15-21; page 14 lines 3-14; page 41 lines 3-22; page 50 lines 4-15; page 52 line 22 – page 53 line 20; Claims	8-17, 34-43, 55-64
Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2009)		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/US2016/027773	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
WO 2010/148234 A1	23 December 2010	WO 2010148234 A1	23 Dec 2010
		AU 2010262847 A1	19 Jan 2012
		AU 2010262847 B2	02 Jun 2016
		CA 2765394 A1	23 Dec 2010
		EP 2443144 A1	25 Apr 2012
		EP 2443144 B1	19 Aug 2015
		EP 2987803 A1	24 Feb 2016
		JP 2012530714 A	06 Dec 2012
		JP 5822826 B2	24 Nov 2015
		JP 2015134824 A	27 Jul 2015
		US 2010323970 A1	23 Dec 2010
		US 8329659 B2	11 Dec 2012
		US 2013065838 A1	14 Mar 2013
WO 2015/054390 A1	16 April 2015	WO 2015054390 A1	16 Apr 2015
		AU 2014331954 A1	21 Apr 2016
		CA 2926418 A1	16 Apr 2015
End of Annex			
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)			

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	7/00	(2006.01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P 7/00
			A 6 1 P 35/02

(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, 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, KN, KP, KR, 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, UA, UG, US

(74)代理人 100181641
弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策

(72)発明者 トレウ, エリザベス
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 3 3 2, ダックスベリー, シダー ストリート 3
8

(72)発明者 ジャック, リチャード エム.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 4 5 1, ウォルサム, フィスク ストリート 7 3

F ターム (参考) 4B029 AA07 BB15 BB16 BB20 FA12

4B063	QA01	QA05	QA13	QA17	QA19	QQ03	QQ08	QQ43	QR32	QR56
	QR62	QR72	QR77	QS25	QS34	QS36	QX02			
4C084	AA02	AA19	BA01	BA34	DC50	MA13	MA17	MA22	MA23	MA24
	MA28	MA35	MA37	MA52	MA57	MA59	MA60	MA63	MA66	MA67
	NA05	NA14	ZA51	ZB27						