



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0038241
 (43) 공개일자 2015년04월08일

- | | |
|---|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>C12Q 1/68</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>C12Q 1/6886</i> (2013.01)
 <i>C12Q 2600/106</i> (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2015-7004583</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2013년07월24일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2015년02월24일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/US2013/051824</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2014/018632
 국제공개일자 2014년01월30일</p> <p>(30) 우선권주장
 61/676,484 2012년07월27일 미국(US)
 (뒷면에 계속)</p> | <p>(71) 출원인
 노파르티스 아게
 스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35</p> <p>(72) 발명자
 카오, 알렉산더
 미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
 비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼
 리서치, 인크. 내
 모리세이, 마이클
 미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
 비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼
 리서치, 인크. 내
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 양영준, 이상영</p> |
|---|---|

전체 청구항 수 : 총 27 항

(54) 발명의 명칭 **JAK/STAT 억제제에 대한 치료 반응의 예측**

(57) 요약

본 발명은 부분적으로는 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 암 보유 대상체를 선택하는 방법 및 치료 유효 용량의 JAK/STAT 억제제가 투여되었는지를 측정하는 방법을 포함한다.

(52) CPC특허분류

C12Q 2600/158 (2013.01)

(72) 발명자

손킨, 드미트리

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리
서치, 인크. 내

팔머, 마이클

미국 02139 매사추세츠주 캠브리지 매사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리
서치, 인크. 내

(30) 우선권주장

61/769,271 2013년02월26일 미국(US)

61/829,327 2013년05월31일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준을 측정하여 JAK/STAT 억제제에 대한 반응의 가능성 증가를 예측하는 단계를 포함하는, JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 표 1에서의 임의의 3종 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 표 1에서의 임의의 4종 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2 및 ID1을 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 표 1에서의 임의의 6종 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 적어도 6종의 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2 및 EPOR을 포함하는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1의 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, JAK/STAT 억제제가 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 혈액학적 악성종양이 백혈병, 림프종 또는 골수종인 방법.

청구항 10

선택된 환자가 표 1에 나열된 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것에 기초하여, 치료 유효량의 JAK/STAT 억제제를 선택된 환자에게 선택적으로 투여하는 단계; 또는

샘플이 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가되지 않은 것에 기초하여, JAK/STAT 억제제가 아닌 억제제의 치료 유효량을 선택된 대상체에게 선택적으로 투여하는 단계

를 포함하는, JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2 및 ID1을 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제10항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2 및 EPOR을 포함하는 것인 방법.

청구항 13

제10항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1을 포함하는 것인 방법.

청구항 14

대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 2종 이상의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

선택된 환자가 표 1에 나열된 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것에 기초하여, 치료 유효량의 JAK/STAT 억제제를 선택된 환자에게 선택적으로 투여하는 단계; 또는

샘플이 표 1에 나열된 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가되지 않은 것에 기초하여, JAK/STAT 억제제가 아닌 억제제의 치료 유효량을 선택된 대상체에게 선택적으로 투여하는 단계

를 포함하는, JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 측정된 바이오마커의 발현이 PIM1, CISH, SOCS2 및 ID1인 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2 및 EPOR을 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제14항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1을 포함하는 것인 방법.

청구항 18

대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 2종 이상의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계; 및

그 후 선택된 환자가 표 1에 나열된 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것에 기초하여, 치료 유효량의 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 대상체를 선택한 다음, 측정 단계의 결과를 전송에 사용하기 위한 유형 또는 무형 매체 형태에 기록하는 단계

를 포함하는, JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 바이오마커가 PIM1 및 CISH를 포함하는 것인 방법.

청구항 20

제18항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2 및 ID1을 포함하는 것인 방법.

청구항 21

제18항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2 및 EPOR을 포함하는 것인 방법.

청구항 22

제18항에 있어서, 바이오마커가 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1을 포함하는 것인 방법.

청구항 23

JAK/STAT 억제제를 선택된 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 선택된 환자로부터의 샘플은 표 1에 나열된 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것인, JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법.

청구항 24

혈액학적 악성종양 보유 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 2종 이상의 바이오마커의

mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하며, 여기서 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염의 투여 후에 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 2종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현의 감소는 치료 용량의 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이 투여되었음을 예측해주는 것인, 치료 용량의 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이 혈액학적 악성종양 보유 대상체에게 투여되는지를 측정하는 방법.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, JAK/STAT 억제제가 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염인 방법.

청구항 26

샘플 중 표 1에 나열된 2종 이상의 바이오마커의 수준을 측정하기 위한 다수의 작용제 및 사용 지침서를 포함하는 키트.

청구항 27

- a) 표 1에서의 2종 이상의 바이오마커의 발현 수준 증가에 기초하여 환자가 JAK/STAT 억제제로의 치료에 반응할 가능성이 증가하였는지를 측정하는 단계; 및
- b) 측정 단계의 결과를 전송에 사용하기 위한 유형 또는 무형 매체 형태에 기록하는 단계를 포함하는, JAK/STAT 억제제에 대한 환자의 반응성을 예측하기 위한 정보의 전송가능한 형태를 제조하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 암의 치료 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] JAK-STAT 경로는 시토카인 수용체의 하류에 있는 중요한 신호전달 경로 중 하나이다. 리간드가 그의 수용체에 결합한 뒤에, 수용체-회합 JAK는 활성화된다. STAT 단백질은, JAK에 의한 인산화시, 이량체화되어 핵으로 전좌한다. 핵 내부에서, 활성화된 STAT 단백질은 표적 유전자의 발현을 조절한다 (Imada et al., Molecular Immunology 2000, 37: 1-11).

[0003] JAK 패밀리는 4종 비-수용체 단백질 티로신 키나제인 JAK1, JAK2, JAK3 및 TYK2로 이루어져 있다 (Stark et al., Immunology 36: 503-514). JAK1, JAK2 및 TYK2는 포유동물에서 편재적으로 발현되고, 반면에 JAK3은 주로 조혈세포에서 발현된다. 일단 시토카인 또는 성장인자에 의하여 활성화되면, JAK는 STAT에 대한 도킹 부위로서 작용한다. STAT 1, 3, 4, 5 및 6을 비롯하여 다수의 STAT 분자가 확인되었다 (Murray PJ 2007 J Immunology 178:2623-29; Rawlings JS et al., 2004 J Cell Sci. 117:1281). 활성화된 STAT는 세포질에서 핵으로 전좌하여 여기서 그들은 표적 유전자의 전사 속도를 조절한다 (Rawlings JS et al., 2004 J Cell Sci. 117:1281; Stark et al., 2012, Immunology 36: 503-514).

[0004] JAK-STAT 신호전달은 다양한 인간 발병기전에 관여되어 왔다. 골수증식성 신생물 (MPN)에서 JAK2의 유전자 이상과 STAT의 관련된 활성화는 당해 경로가 인간 신생조직형성에 관여되어 있는 것의 일례이다. 추가로, 활성화된 JAK-STAT는 인간 암에 대한 생존 메카니즘으로서 제안되었다.

[0005] 인간 질환에서 JAK-STAT 활성화의 중요성을 가정하면, 그것은 활성화된 JAK-STAT 경로를 가진 환자를 확인하는데 중요해진다. 임상 샘플 중 포스포-JAK의 측정을 통한 JAK 활성화의 검출은 다수 기술적 및 로지스틱 변수에 종속된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명은 특정 바이오마커가 활성화된 STAT 경로를 보유하는 개체의 선택에 사용될 수 있다는 발견에 기초한다. 구체적으로는, 대조군과 비교하여 암 보유 개체로부터의 샘플 중 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현, 예를 들어 표 1에 나열된 한 바이오마커의 mRNA 발현의 수준 증가를 이용하여 그 개체가 활성화된 STAT 경로를 보유하는지 여부를 예측할 수 있음이 밝혀졌다.

과제의 해결 수단

[0007] 하나의 측면에서, 본 발명은 STAT 신호전달 억제제, 예컨대 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법을 포함한다. 방법은 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종, 2종, 3종, 4종, 5종, 6종 또는 그 초과 바이오마커의 발현 수준을 측정하여 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제에 대한 반응의 가능성 증가를 예측하는 것을 포함한다. 하나의 실시양태에서, 본 발명은 표 1로부터의 2종 바이오마커, 예컨대 PIM1 및 CISH의 발현 수준을 측정하는 것을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 표 1로부터의 4종 바이오마커, 예컨대 PIM1, CISH, SOCS2 및 ID1의 발현을 측정하는 것을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 표 1에서의 6종 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 것을 포함한다. 적어도 6종의 바이오마커는 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2 및 EPOR을 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 표 1에서의 적어도 7종 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 것을 포함한다. 적어도 7종 바이오마커는 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1을 포함할 수 있다. mRNA 발현은 관련 기술분야에 알려져 있는 임의의 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 특히 표 1의 바이오마커의 mRNA 발현은 리버스 트랜스크립타제 PCR (RT-PCR)을 이용하여 측정될 수 있다.

[0008] 하나의 실시양태에서, JAK/STAT 억제제는 JAK2 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.

[0009] 하나의 실시양태에서, 혈액학적 악성종양은 백혈병, 림프종 또는 골수종이다.

[0010] 또 다른 측면에서, 본 발명은 샘플 중 표 1에 나열된 4종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준을 측정하기 위한 다수의 작용제 및 사용 지침서를 포함하는 키트를 포함한다.

[0011] 또 다른 측면에서, 본 발명은 STAT 신호전달 억제제, 예컨대 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법을 포함하고, 방법은 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준 증가를 측정하는 단계 (여기서 표 1에서의 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준 증가는 환자가 STAT 신호전달 억제제, 예컨대 JAK/STAT 억제제로의 치료에 반응할 가능성이 보다 높다는 것을 표시한다); 및 STAT 신호전달 억제제, 예컨대 JAK/STAT 억제제를 표 1에서의 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. JAK/STAT 억제제는 임의의 JAK2 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염일 수 있다.

[0012] 또 다른 측면에서, 본 발명은 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제를 선택된 환자에게 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 선택된 환자로부터의 샘플은 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정되는, STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법을 포함한다.

[0013] 또 다른 측면에서, 본 발명은

[0014] 선택된 환자가 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것에 기초하여, 치료 유효량의 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제를 선택된 환자에게 선택적으로 투여하는 단계; 또는

[0015] 샘플이 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가되지 않은 것에 기초하여, STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제가 아닌 억제제의 치료 유효량을 선택된 대상체에게 선택적으로 투여하는 단계

[0016] 를 포함하는, STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법을 포함한다.

- [0017] 또 다른 측면에서, 본 발명은
- [0018] 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0019] 선택된 환자가 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것에 기초하여, 치료 유효량의 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제를 선택된 환자에게 선택적으로 투여하는 단계; 또는
- [0020] 샘플이 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가되지 않은 것에 기초하여, STAT 신호전달 억제제가 아닌 억제제의 치료 유효량을 선택된 대상체에게 선택적으로 투여하는 단계
- [0021] 를 포함하는, STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법을 포함한다.
- [0022] 또 다른 측면에서, 본 발명은
- [0023] 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 단계; 및
- [0024] 그 후 선택된 환자가 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 증가된 것으로 측정된 것에 기초하여, 치료 유효량의 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 대상체를 선택한 다음, 측정 단계의 결과를 전송에 사용하기 위한 유형 또는 무형 매체 형태에 기록하는 단계
- [0025] 를 포함하는, STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 혈액학적 악성종양 보유 대상체를 선택하는 방법을 포함한다.
- [0026] 또 다른 측면에서, 본 발명은
- [0027] a) 표 1에서의 2종 이상의 바이오마커의 발현 수준 증가에 기초하여, 환자가 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제로의 치료에 반응할 가능성이 증가하였는지를 측정하는 단계; 및
- [0028] b) 측정 단계의 결과를 전송에 사용하기 위한 유형 또는 무형 매체 형태에 기록하는 단계
- [0029] 를 포함하는, STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제에 대한 환자의 반응성을 예측하기 위한 정보의 전송가능한 형태를 제조하는 방법을 포함한다.
- [0030] 또 다른 측면에서, 본 발명은 혈액학적 악성종양 보유 대상체로부터 유래된 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준을 측정하는 단계를 포함하며, 여기서 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염의 투여 후에 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현의 감소는 치료 용량의 JAK/STAT 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이 투여되었음을 예측해주는 것인, 치료 유효 용량의 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이 혈액학적 악성종양 보유 대상체에게 투여되는지를 측정하는 방법을 포함한다.
- [0031] 또 다른 측면에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준 증가에 기초하여 치료 유효량의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 환자에게 투여됨을 특징으로 하는, 혈액학적 악성종양의 치료에 사용하기 위한 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.
- [0032] 또 다른 측면에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 4종 이상의 바이오마커의 발현 수준이 증가된 환자에 기초하여 치료 유효량의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 환자에게 투여됨을 특징으로 하는, 혈액학적 악성종양의 치료에 사용하기 위한 JAK/STAT 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.
- [0033] 또 다른 측면에서, 본 발명은 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 바이오마커 중 적어도 6종 또는 전부의 발현 수준이 증가된 환자에 기초하여 치료 유효량의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 환자에게 투여됨을 특징으로

로 하는, 혈액학적 악성종양의 치료에 사용하기 위한 JAK/STAT 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0034]

또 다른 측면에서, 본 발명은

[0035]

i) 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준이 증가된 환자에 기초하여 치료 유효량의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이 환자에게 투여되거나; 또는

[0036]

ii) 생물학적 샘플 중 표 1에 나열된 적어도 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준이 증가되지 않은 상기 환자에 기초하여 STAT 신호전달 억제제 이외의 또 다른 화합물의 치료 유효량이 환자에게 투여됨을 특징으로 하는, 혈액학적 악성종양의 치료에 사용하기 위한 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제, 예컨대 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염을 포함한다.

[0037]

본원에 기재된 방법 중 어느 것에서, 표 1에 나열된 임의의 1종, 2종, 3종, 4종, 5종, 6종 또는 7종 바이오마커의 mRNA 발현 수준이 측정될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0038]

도 1은 모든 조혈 세포주 전역에서 p-STAT5 상태와 7-유전자 서명 유전자(signature gene) 세트 활성 점수간의 관계를 보여주는 그래프를 도시한다.

도 2a는 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 의한 pSTAT5 조절 및 RPMI 8226 (pSTAT5 음성 세포주)에서 서명 유전자에 미치는 효과의 막대 도표를 도시하고, 도 2b는 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 의한 pSTAT5 조절 및 TF-1 (pSTAT5 양성 세포주)에서 서명 유전자-정규화 발현에 미치는 효과의 막대 도표를 도시한다.

도 3은 다양한 농도에서의 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 의한 pSTAT5 양성 세포주에서의 pSTAT5 조절 및 그 세포주에서 서명 유전자에 미치는 효과를 보여주는 막대 도표를 도시한다.

도 4는 다양한 농도에서의 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 의한 pSTAT5 음성 세포주에서의 pSTAT5 조절 및 그 세포주에서 서명 유전자에 미치는 효과를 보여주는 막대 도표를 도시한다.

도 5는 4시간차에서 DMSO 비처리 pSTAT5 음성 세포주 및 양성 세포주에서 서명 유전자에 미치는 효과를 보여주는 막대 도표를 도시한다.

도 6은 생체내 UKE-1 종양 이종이식편에서의 4종 유전자 서명을 보여주는 막대 도표를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039]

환자의 유전자 프로파일이 치료 요법에 대한 환자의 반응성에 결정적일 수 있음을 시사하는 증거가 잇따르고 있다. 암의 치료에 이용가능한 다수 요법을 가정하면, 예를 들어 특정 약물에 대한 반응에 영향을 주는 유전인자의 측정을 이용하여 환자에게 맞춤 치료 요법을 제공할 수 있다. 그러한 맞춤 치료 요법은 대안 치료 요법과 연관될 수 있는 관련 부작용을 최소화하면서 환자로의 치료 이익을 극대화할 가능성을 제공한다. 따라서, 환자가 특정 요법에 반응할 가능성이 있는지 여부를 예측하는 데 사용될 수 있는 인자를 확인할 필요성이 존재한다.

[0040]

STAT 신호전달 억제제를 투여받는 환자의 잠재적 임상 이익을 극대화하기 위해서는, 활성화된 STAT 신호전달 경로를 가지는 종양 보유 환자를 선택할 수 있는 것이 중요하다. 본 발명자들은 발현이 현저하게 STAT5의 인산화 상태와 상관관계가 있는 1종 이상의 바이오마커를 확인해내었다. 당해 유전자 서명은 활성화된 STAT5를 가진 인간 암을 확인하고, STAT 경로, 예컨대 JAK/STAT 경로를 표적화하는 치료로부터 이익을 얻게 될 암을 확인하기 위한 신뢰할 수 있고 작업하기 용이한 방법을 제공한다. 대상체가 활성화된 STAT5를 가지는 것으로 확인되지 않으면, 그 대상체에는 비-JAK/STAT 신호전달 분자가 투여되어야 한다.

[0041]

본원에 기재된 방법은 부분적으로는 환자가 치료 유효량의 JAK/STAT 억제제로의 처리 또는 그의 투여로부터 이익을 얻게 될지를 측정하는 데에 사용될 수 있는 표 1에 나열된 바이오마커 중 1종 이상의 확인에 기반한다.

본 발명의 바이오마커는 일상적인 임상 시험을 위하여 목적을 가지고 최적화되었다.

- [0042] STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제와 관련하여 용어 "투여하는"은 임의의 경로에 의하여 그 화합물을 환자에 전달하는 것을 언급하는 데에 사용된다.
- [0043] 본원에 사용되는 바와 같이, "치료 유효량"은 환자 (예컨대, 인간)에 단회 또는 다회 용량 투여시 장애 또는 재발성 장애를 치료하거나, 예방하거나, 그의 발병을 예방하거나, 지연시키거나, 그의 중증도를 감소시키거나, 그의 적어도 1개 증상을 개선하기에, 또는 그러한 치료의 부재하에서 예상되는 생존보다 이상으로 환자의 생존을 연장하기에 유효한 STAT 신호전달 억제제, 예를 들어 JAK/STAT 억제제의 양을 언급한다. 단독으로 투여된 개별 활성성분에 적용시, 그 용어는 그 성분 단독을 언급한다. 조합에 적용시, 그 용어는 조합으로, 연속적으로 또는 동시에 투여되는 치료 효과를 도출하는 활성성분의 합한 양을 언급한다.
- [0044] 용어 "치료" 또는 "치료하다"는 병에 걸리거나 또는 질환 또는 의학적 병태를 앓고있는 것으로 진단받은 환자뿐만 아니라 질환에 걸릴 위험에 있거나 또는 질환에 걸린 것으로 의심되는 환자의 치료를 비롯하여, 치유적 또는 질환-변경적 치료뿐만 아니라 방지적 또는 예방적 치료 (경우에 따라서는) 양쪽 모두를 언급하며, 임상적 재발의 억제를 포함한다. 치료약은 의학적 장애를 보유하고 있거나 또는 궁극적으로는 그 장애를 획득할 수 있는 환자에게 투여되어 장애 또는 재발성 장애의 발병을 예방, 치유, 지연, 그러한 장애 또는 재발성 장애의 중증도를 감소, 또는 그러한 장애 또는 재발성 장애의 하나 이상 증상을 개선하거나, 또는 그러한 치료의 부재시에 예상되는 생존보다 이상으로 환자의 생존을 연장시킬 수 있다.
- [0045] 어구 "치료에 반응하다"는 환자가 특정 치료약, 예를 들어 JAK/STAT 억제제 전달시 상기 치료로부터 임상적으로 의미심장한 이익을 보이는 것을 의미하도록 사용된다. 어구 "치료에 반응하다"는 절대 반응으로서라기보다는 비교적인 것으로 해석되도록 의미된다.
- [0046] 본원에 사용되는 바와 같이, 환자에 관하여 "선택하는" 및 "선택된"은 특정 환자가 미리 결정된 기준을 갖는 특정 환자에 기초하여 (기인하여) 환자의 보다 큰 군으로부터 특이적으로 선택됨을, 예를 들어 그 환자는 표 1에서의 적어도 1종 바이오마커의 증가된 발현을 가짐을 의미하도록 사용된다. 마찬가지로, "선택적으로 치료하는"은 특정 질환을 보유한 환자에 치료를 제공하는 것을 언급하며, 여기서 그 환자는 미리 결정된 기준을 갖는 특정 환자, 예를 들어 표 1에 나열된 바이오마커의 발현 증가를 갖는 환자에 기인하여 치료를 위해 특이적으로 선택된 혈액학적 환자에 기초하여 환자의 보다 큰 군으로부터 특이적으로 선택된다. 마찬가지로, "선택적으로 투여하는"은 미리 결정된 기준을 갖는 특정 환자, 예를 들어 표 1에 나열된 바이오마커의 발현 증가를 갖는 환자에 기초하여 (기인하여) 환자의 보다 큰 군으로부터 특이적으로 선택되는 환자에 약물을 투여하는 것을 언급한다. "선택하는", "선택적으로 치료하는" 및 "선택적으로 투여하는"이란, 오로지 특정 질환을 갖는 환자에 기초하여 표준 치료 요법이 부여된다기보다는 환자에게는 환자의 특정 생물학에 기초하여 맞춤 요법이 부여됨을 의미한다. "선택하는"은, 본원에서 사용되는 치료의 방법에 관하여, 표 1에 나열된 바이오마커의 발현이 증가된 환자의 우발적인 치료를 언급하는 것이 아니라, 오히려 표 1에 나열된 바이오마커의 발현이 증가된 환자에 기초하여 환자에 JAK/STAT 억제제를 투여하기 위한 신중한 선택을 언급한다. 따라서, 선택적 치료는 특정 약물을 모든 환자에게 그들의 바이오마커 발현 상태에 관계없이 전달하는 표준 치료와는 다르다.
- [0047] 본원에 사용되는 바와 같이, "예측하는"은 본원에 기재된 방법이 건강관리 제공자로 하여금 혈액학적 질환을 보유한 개체가 JAK/STAT 억제제로의 치료에 반응하게 될 또는 보다 우호적으로 반응하게 될 가능성을 측정할 수 있게 해 줄 정보를 제공함을 나타낸다. 그 용어는 반응을 100% 정확도로 예측하는 능력을 언급하는 것은 아니다. 그 대신에, 통상의 기술자라면 그 용어는 증가된 확률을 언급한다는 것을 이해할 것이다.
- [0048] 본원에 사용되는 바와 같이, "가능성" 및 "가능성이 있는"은 얼마나 사건이 일어날 가망이 있는지의 측정이다. 그 용어는 "확률"과 상호교환적으로 사용될 수 있다. "가능성"은 추측은 넘어서지만 확신에는 못 미치는 개연성을 언급한다. 따라서, 상식, 훈련 또는 경험을 이용하는 분별 있는 사람이 이러한 상황이므로 사건이 있음직하다고 결론을 내리는 경우 사건은 가능성이 있다. 일부 실시양태에서, 일단 가능성이 확인되면, 환자는 JAK/STAT 억제제로 치료될 수 있거나 (또는 치료가 지속될 수 있거나, 또는 치료가 투여량 증가로 진행될 수 있거나) 또는 환자는 JAK/STAT 억제제로 치료되지 않을 수 있다 (또는 치료가 중단될 수 있거나, 또는 치료가 저하된 투여량으로 진행될 수 있다).
- [0049] 어구 "가능성 증가"는 사건이 일어날 확률의 증가를 언급한다. 예를 들어, 본원에서의 일부 방법은, 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준에 있어서 증가를 보이지 않는 환자와 비교하여 표 1에 나열된 1종 이상의 바이오마커의 발현 수준 증가에 기초하여, 환자가 JAK/STAT 억제제로의 치료에 반응하는 가능성 증가 또는

JAK/STAT 억제제로의 치료에 보다 양호하게 반응하는 가능성 증가를 보일지 여부의 예측을 가능케 해준다.

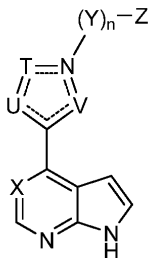
[0050] STAT 신호전달 억제제

[0051] 본 발명에 사용되는 STAT 신호전달 억제제는 STAT 신호전달 경로를 직접적으로 또는 간접적으로 억제하고 그리하여 1종 이상 STAT 단백질의 인산화 감소를 가져오는 임의의 분자를 포함할 수 있다. 그러한 억제제는 JAK 억제제 (다르게는 본원에서 "JAK/STAT 억제제"로 호칭), ALK 억제제 (다르게는 본원에서 "ALK/STAT 억제제"로 호칭), EGFR 억제제 (다르게는 본원에서 "EGFR/STAT 억제제"로 호칭) 또는 SRK 억제제 (다르게는 본원에서 "SRK/STAT 억제제"로 호칭)를 포함할 수 있다.

[0052] JAK/STAT 억제제는 임의의 JAK 분자, 예컨대 JAK 1, 2, 3 및 4 또는 임의의 STAT 분자, 예컨대 STAT 3 및 STAT5의 활성을 선택적으로 억제하는 임의의 화합물이다. 하나의 예에서, JAK/STAT 억제제는 JAK2 억제제이다. JAK2 억제제는 관련 기술분야에 알려져 있으며, 예를 들어 소형 분자 화합물, 소형 펩티드, 항체, 안티센스 올리고뉴클레오티드, siRNA 등을 포함한다. 일부 실시양태에서, JAK2 억제제는 INCB018424, XL019, TG101348 또는 TG101209일 수 있다.

[0053] 하나의 실시양태에서, JAK2 억제제는 하기 화학식 I의 화합물 또는 그의 제약상 허용되는 염이다:

[0054] <화학식 I>



[0055]

[0056] 상기 식에서,

[0057] T, U 및 V는 O, S, N, CR⁵ 및 NR⁶으로부터 독립적으로 선택되고;

[0058] 여기서 탄소 원자, 질소 원자, U, T 및 V에 의하여 형성된 5-원 고리는 방향족이며;

[0059] X는 N 또는 CR⁴이며;

[0060] n은 0이거나; 또는

[0061] n은 1이고 Y는 C₁₋₈ 알킬렌, C₂₋₈ 알케닐렌, (CR¹¹R¹²)_pC(O)(CR¹¹R¹²)_q, (CR¹¹R¹²)_pC(O)NR^c(CR¹¹R¹²)_q, (CR¹¹R¹²)_pC(O)O(CR¹¹R¹²)_q 또는 (CR¹¹R¹²)_pOC(O)(CR¹¹R¹²)_q이며, 여기서 상기 C₁₋₈ 알킬렌 또는 C₂₋₈ 알케닐렌은 1, 2 또는 3개 할로, OH, CN, 아미노, C₁₋₄ 알킬아미노 또는 C₂₋₈ 디알킬아미노로 임의로 치환되며;

[0062] Z는 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴 또는 헤테로시클로알킬이고, 각각은 할로, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 할로알킬, C₁₋₄ 히드록시알킬, C₁₋₄ 시아노알킬, Cy¹, CN, NO₂, OR^a, SR^a, C(O)R^b, C(O)NR^cR^d, C(O)OR^a, OC(O)R^b, OC(O)NR^cR^d, NR^cR^d, NR^cC(O)R^b, NR^cC(O)NR^cR^d, NR^cC(O)OR^a, S(O)R^b, S(O)NR^cR^d, S(O)₂R^b, NR^cS(O)₂R^b 및 S(O)₂NR^cR^d로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4, 5 또는 6개 치환기로 임의로 치환되며;

[0063] Cy¹은 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택되고, 각각은 할로, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 할로알킬, CN, NO₂, OR^{a'}, SR^{a'}, C(O)R^{b'}, C(O)NR^{c'}R^{d'}, C(O)OR^{a'}, OC(O)R^{b'}, OC(O)NR^{c'}R^{d'}, NR^{c'}R^{d'}, NR^{c'}C(O)R^{b'}, NR^{c'}C(O)OR^{a'}, S(O)R^{b'}, S(O)NR^{c'}R^{d'}, S(O)₂R^{b'} 및 S(O)₂NR^{c'}R^{d'}로부터 독립적으로 선택된 1, 2, 3, 4 또는 5개 치환기에 의하여 임의로 치환되며;

- [0064] R⁴는 H이며;
- [0065] R⁵는 H, 할로, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 할로알킬, CN, NO₂, OR⁷, SR⁷, C(O)R⁸, C(O)NR⁹R¹⁰, C(O)OR⁷, OC(O)R⁸, OC(O)NR⁹R¹⁰, NR⁹R¹⁰, NR⁹C(O)R⁸, NR⁹C(O)OR⁷, S(O)R⁸, S(O)NR⁹R¹⁰, S(O)₂R⁸, NR⁹S(O)₂R⁸ 또는 S(O)₂NR⁹R¹⁰이며;
- [0066] R⁶은 H, C₁₋₄ 알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 할로알킬, OR⁷, C(O)R⁸, C(O)NR⁹R¹⁰, C(O)OR⁷, S(O)R⁸, S(O)NR⁹R¹⁰, S(O)₂R⁸ 또는 S(O)₂NR⁹R¹⁰이며;
- [0067] R⁷은 H, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 또는 헤테로시클로알킬알킬이며;
- [0068] R⁸은 H, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 또는 헤테로시클로알킬알킬이며;
- [0069] R⁹ 및 R¹⁰은 H, C₁₋₁₀ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, C₁₋₆ 알킬카르보닐, 아릴카르보닐, C₁₋₆ 알킬술폰, 아릴술폰, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 및 헤테로시클로알킬알킬로부터 독립적으로 선택되거나; 또는
- [0070] R⁹ 및 R¹⁰은 이들이 부착되어 있는 N 원자와 함께 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;
- [0071] R¹¹ 및 R¹²는 H, 할로, OH, CN, C₁₋₄ 알킬, C₁₋₄ 할로알킬, C₂₋₄ 알케닐, C₂₋₄ 알키닐, C₁₋₄ 히드록시알킬, C₁₋₄ 시아노알킬, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택되며;
- [0072] R^a 및 R^{a'}은 H, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 및 헤테로시클로알킬알킬로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 또는 헤테로시클로알킬알킬은 OH, CN, 아미노, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개 치환기로 임의로 치환되며;
- [0073] R^b 및 R^{b'}은 H, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 및 헤테로시클로알킬알킬로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 시클로알킬, 헤테로아릴, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 또는 헤테로시클로알킬알킬은 OH, CN, 아미노, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₁₋₆ 할로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개 치환기로 임의로 치환되며;
- [0074] R^c 및 R^d는 H, C₁₋₁₀ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 및 헤테로시클로알킬알킬로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 C₁₋₁₀ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 또는 헤테로시클로알킬알킬은 OH, CN, 아미노, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₁₋₆ 할로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬 또는 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개 치환기로 임의로 치환되거나; 또는
- [0075] R^c 및 R^d는 이들이 부착되어 있는 N 원자와 함께 OH, CN, 아미노, 할로, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₆ 할로알킬, C₁₋₆ 할로알킬,

아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개 치환기로 임의로 치환되는 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

[0076] R^c 및 R^d 은 H, C_{1-10} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 및 헤테로시클로알킬알킬로부터 독립적으로 선택되고, 여기서 상기 C_{1-10} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{2-6} 알케닐, C_{2-6} 알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 시클로알킬, 헤테로시클로알킬, 아릴알킬, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬알킬 또는 헤테로시클로알킬알킬은 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개 치환기로 임의로 치환되거나; 또는

[0077] R^c 및 R^d 은 이들이 부착되어 있는 N 원자와 함께 OH, CN, 아미노, 할로, C_{1-6} 알킬, C_{1-6} 할로알킬, C_{1-6} 할로알킬, 아릴, 아릴알킬, 헤테로아릴, 헤테로아릴알킬, 시클로알킬 및 헤테로시클로알킬로부터 독립적으로 선택된 1, 2 또는 3개 치환기로 임의로 치환되는 4-, 5-, 6- 또는 7-원 헤테로시클로알킬 기를 형성하며;

[0078] p는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이며;

[0079] q는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다.

[0080] 특정 실시양태에서, JAK2 억제제는 3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판 나이트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이다. 또 다른 실시양태에서, 그 화합물은 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판나이트릴 또는 그의 제약상 허용되는 염이다.

[0081] 바이오마커

[0082] 본 발명의 바이오마커(들)은 1종 이상 유전자, 예컨대 표 1에 나열된 임의의 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7종 유전자를 포함한다. 표 1에서 확인되는 1종 이상의 바이오마커의 mRNA 발현 수준을 분석함으로써 JAK/STAT 경로가 활성화되고 따라서 JAK/STAT 신호전달 경로의 억제제, 예를 들어 JAK2 억제제로의 치료에 반응할 가능성이 있는 암 보유 개체를 선택하는 것이 가능하다.

표 1

유전자 명칭	등록 # 유니진(UniGene) ID
Pim-1 종양유전자 (PIM 1)	5292
시토카인 유도성 SH2-함유 단백질 (CISH)	1154
시토카인 신호전달의 억제제 2 (SOCS2)	8835
DNA 결합의 억제제 1, 우성 음성 나선-루프-나선 단백질 (ID1)	3397
리포칼린 2 (LCN2)	3934
에리트로포이에틴 수용체 (EPOR)	2057
조기 성장 반응 1 (EGR1)	1958

[0083]

[0084] 또한, 샘플 안에 함유된 하우스키핑 유전자 또는 정규화 유전자의 발현 수준이 RT-PCR을 위해 측정될 수 있다. 하나의 예에서, 본 발명에 사용될 하우스키핑 유전자는 글루쿠코니다제 베타 (GUSB; UGID:170831; 유니진 Hs.255230) 및/또는 TATA-결합 단백질 (TBP; 등록 유니진 ID UGID:2059883; 유니진 Hs.590872)일 수 있다.

[0085] 샘플의 제조

[0086] 증식성 질환 보유 개체로부터 취한 세포의 임의의 적당한 시험 샘플이 사용될 수 있다. 일반적으로, 세포 또는 조직 샘플의 시험 샘플은 암 보유 대상체로부터 생검 또는 외과적 절제에 의하여 취득될 것이다. 세포, 조직 또는 유체의 샘플은 침 흡인 생검에 의하여 적출될 수 있다. 이를 위하여, 주사기에 부착된 세침을 피부를 관통하여 관심 조직중으로 삽입시킨다. 침은 전형적으로 초음파 또는 컴퓨터 단층촬영 (CT) 영상화를 이용하여

관심 영역으로 안내된다. 일단 침이 조직중으로 삽입되면, 세포 또는 유체가 침을 통해 흡인되어 주사기에 채집될 수 있도록 주사기로 진공을 생성시킨다. 세포 또는 조직의 샘플은 절개 또는 코어 생검에 의하여 또한 적출될 수 있다. 이를 위하여, 조직의 원추체, 원통체 또는 작은 조각을 관심 영역으로부터 적출한다. 이러한 유형의 생검을 안내하기 위하여 CT 영상화, 초음파 또는 내시경이 일반적으로 사용된다. 보다 상세하게는, 전체 암성 병변이 절개 생검 또는 외과적 절제에 의하여 적출될 수 있다. 본 발명에서, 시험 샘플은 전형적으로 외과적 절제의 일부로서 적출된 세포의 샘플이다.

- [0087] 예를 들어 조직의 시험 샘플은 또한 추후 사용을 위해 예를 들어 알엔에이레이터(RNAlater, 엠비온(Ambion), 미국 텍사스주 오스틴)에 저장될 수 있거나 또는 설팅 동결된 다음 -80℃에서 저장될 수 있다. 생검된 조직 샘플은 또한 고정제, 예컨대 포르말데히드, 파라포르말데히드 또는 아세트산/에탄올로 고정시킬 수 있다. 고정된 조직 샘플은 왁스 (파라핀) 또는 플라스틱 수지에 포매될 수 있다. 포매된 조직 샘플 (또는 동결 조직 샘플)은 박편으로 절단시킬 수 있다. RNA 또는 단백질은 또한 고정된 또는 왁스-포매된 조직 샘플 또는 동결 조직 샘플로부터 추출될 수 있다. 일단 세포의 샘플 또는 조직의 샘플이 암 보유 대상체로부터 적출되면, 관련 기술분야에 주지이고 이하에서 기재되는 바와 같은 기술을 이용한 RNA 또는 단백질의 단리를 위하여 처리될 수 있다.
- [0088] 암 보유 환자에서 취한 생검으로부터의 RNA 추출의 일례는 예를 들어 구아니듐 티오시아네이트 용해에 이은 CsCl 원심분리를 포함할 수 있다 (Chirgwin, et al., Biochemistry 18:5294-5299, 1979). 단일 세포로부터의 RNA는 단일 세포로부터 cDNA 라이브러리를 제조하는 방법에 기재된 바와 같이 획득될 수 있다 (예를 들어, Dulac, Curr. Top. Dev. Biol. 36:245, 1998; Jena, et al., J. Immunol. Methods 190:199, 1996 참조). 하나의 실시양태에서, RNA 집단은 표 1에 상세한 바와 같이 관심 서열에 대하여 농축시킬 수 있다. 농축 (enrichment)은 예를 들어 무작위 6량체 및 프라이머-특이적 cDNA 합성, 또는 cDNA 합성 및 주형-특이적 시험관 내 전사에 기반한 선형 증폭의 다중 라운드(multiple round)에 의하여 달성될 수 있다 (예를 들어, Wang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9717, 1989; Dulac, et al., 상기 문헌; Jena, et al., 상기문헌 참조).
- [0089] JAK/STAT 발현 프로파일은 대상체로부터 취한 생검, 예컨대 신선한 조직, 동결 조직, 포르말린(FPPE) 또는 다른 고정제에서 처리한 조직상에서 수행될 수 있다.
- [0090] 종양 또는 암 보유 대상체는 일반적으로 포유동물 대상체, 예컨대 영장류일 것이다. 예시적인 실시양태에서, 대상체는 인간이다.
- [0091] 임의의 암 또는 종양은 본 발명의 방법에 따라 스크리닝될 수 있으며 혈액학적 악성종양, 난소 결장암, 폐암, 췌장암, 위암, 전립선암, 및 간세포성 암종, 기저 세포 암종, 유방암, 골육종, 연부 조직 육종, 수모세포종, 횡문근육종, 신경모세포종, 췌장암, 수막종, 교모세포종, 성상세포종, 흑색종, 위암, 식도암, 담도암, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 신경교 세포암, 다발성 골수종, 결장암, 신경외배엽 종양, 신경내분비 종양, 비만세포종 및 골린 증후군을 포함하며 그들에 한정되지 않는다.
- [0092] 특히 본 발명은 혈액학적 악성종양, 예컨대 백혈병, 림프종 및 골수종을 보유한 환자의 치료에 이용될 수 있다. 하나의 예에서, 백혈병은 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 골수성 백혈병 (CML) 또는 급성 단핵구성 백혈병 (AMOL)이다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 혈액학적 악성종양은 진성 다혈구혈증 (PV), 본태성 혈소판혈증 (ET), 골수 섬유증을 수반한 골수화생 (MMM), 만성 골수단핵구성 백혈병 (CMML), 과다호산구 증후군 (HES) 또는 전신성 비만 세포 질환 (SMCD)이다. 또 다른 예에서, 림프종은 호지킨 림프종 또는 비-호지킨 림프종이다.
- [0093] 바이오마커의 발현 검출
- [0094] 하나의 예에서, 방법은 표 1의 유전자 중 1종 이상의 발현을 측정하는 것을 포함한다. 관심 유전자 서열은 그 유전자를 특이적으로 검출하는 데 사용될 수 있는 작용제, 예를 들어 그 유전자로부터 전사된 RNA를 사용하여 검출될 수 있다.
- [0095] 주어진 바이오마커로부터 전사된 mRNA의 서열의 분석은 노던 블롯 분석, 뉴클레아제 보호 검정 (NPA), 계내 하이브리드화, 역전사-폴리머라제 연쇄 반응 (RT-PCR), RT-PCR ELISA, 택맨(TaqMan)-기반 정량적 RT-PCR (프로브-기반 정량적 RT-PCR) 및 SYBR 그린-기반 정량적 RT-PCR을 포함하여 (그들에 한정되지 않음) 관련 기술분야에서의 임의의 공지 방법을 이용하여 수행될 수 있다. 하나의 예에서, mRNA 수준의 검출은 단리된 mRNA를 mRNA와 하이브리드화할 수 있는 올리고뉴클레오티드와 접촉시키는 것을 수반한다. 핵산 프로브는 전형적으로는 예를 들어 전장 cDNA 또는 그의 일부, 예컨대 적어도 7, 15, 30, 50 또는 100 뉴클레오티드 길이이고 엄격한 조건하에서 관심 mRNA, 예를 들어 표 1에 나열된 유전자 중 1종 이상의 mRNA와 특이적으로 하이브리드화하기에 충분한

올리고뉴클레오티드일 수 있다. 하나의 포맷에서, RNA는 고체 표면에 고정화시킨 다음, 예를 들어 단리된 RNA를 아가로스 겔 상에서 주행시키고 mRNA를 겔로부터 막, 예컨대 니트로셀룰로스로 전이시킴으로써 프로브와 접촉시킨다. 증폭 프라이머는 바이오마커 유전자의 5' 또는 3' 영역 (각각 플러스 및 마이너스 가닥, 또는 그 반대)과 어닐링할 수 있고 그 사이에 짧은 영역을 함유하는 핵산 분자의 쌍인 것으로 정의된다. 일반적으로, 증폭 프라이머는 약 10 내지 30 뉴클레오티드 길이이고 약 50 내지 200 뉴클레오티드 길이의 영역을 플랭킹한다. 적당한 조건하에서 및 적당한 시약으로, 그러한 프라이머는 프라이머에 의하여 플랭킹된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자의 증폭을 가능케 해준다. PCR 생성물은 겔 전기영동 및 DNA-특이적 염색제에 의한 염색 또는 표지된 프로브와의 하이브리드화를 포함하여 (그들에 한정되지 않음) 임의의 적합한 방법에 의하여 검출될 수 있다.

[0096] 바이오마커의 발현 수준은 다양한 기술, 예를 들어 PCR-기반 검정, 리버스 트랜스크립타제-PCR (RT-PCR) 검정, 노던 블롯 등을 이용하여 RNA (또는 역전사된 cDNA) 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다. 경쟁적 주형의 표준화 혼합물을 가지고 행하는 정량적 RT-PCR이 또한 이용될 수 있다.

[0097] 하나의 실시양태에서, 방법은 뉴클레오티드 서열, 예를 들어 적어도 7, 10, 15, 20, 25, 30 또는 40개 뉴클레오티드, 및 표 1의 유전자 중 임의의 1종 이상의 핵산 서열의 코딩 서열의 일부에 상보적인 코딩 서열의 전부 또는 거의 전부까지를 포함하는 핵산 프로브를 제공하는 단계; 암성 세포를 보유한 포유동물로부터 조직 샘플을 수득하는 단계; 핵산 프로브를 엄격한 조건하에서 암 보유 환자에서 취한 생검으로부터 수득한 RNA (예를 들어, 노던 블롯, 계내 하이브리드화 검정, PCR 등으로)와 접촉시키는 단계; 및 프로브와 RNA의 하이브리드화의 양을 측정하는 단계를 포함한다. 핵산은 RNA의 농축 및/또는 증폭 중에 또는 그 후에 표지될 수 있다.

[0098] 표 1의 바이오마커는 대립유전자 변이체 및 기타 패밀리 구성원을 비롯한 자연 발생서열을 또한 포함하는 것으로 의도된다. 본 발명의 바이오마커는 또한 코드의 축퇴성으로부터 생기는 그들 나열된 서열과 상보적인 서열과 또한 충분히 상동성인 서열 및 엄격한 조건하에서 본 발명의 유전자와 하이브리드화하는 서열을 포함한다.

[0099] "충분히 상동성"이란 제1 및 제2 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열이 공통의 구조적 도메인 또는 모티프 및/또는 공통의 기능적 활성을 공유하도록 제2 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열과 동일한 또는 동등한 (예를 들어, 유사한 측쇄를 가지는 아미노산 잔기) 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드의 충분 또는 최소 수를 함유하는 바이오마커의 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열을 의미한다. 예를 들어, 공통의 구조적 도메인을 공유하고 도메인의 아미노산 서열 전역에서 적어도 약 50% 상동성, 적어도 약 60% 상동성, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 및 적어도 약 90-95% 상동성을 갖는 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열은 본원에서 충분히 상동인 것으로 정의된다. 또한, 적어도 약 50% 상동성, 적어도 약 60-70% 상동성, 적어도 약 70-80%, 적어도 약 80-90%, 및 적어도 약 90-95%를 가지고 공통의 기능적 활성을 공유하는 아미노산 또는 뉴클레오티드 서열은 본원에서 충분히 상동성인 것으로 정의된다.

[0100] 서열의 비교 및 두 서열간 % 상동성의 측정은 수학 알고리즘을 이용하여 달성될 수 있다. 서열의 비교에 이용되는 수학 알고리즘의 바람직한 비-제한 예는 문헌 [Karlin and Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77]에서와 같이 수정을 가한 문헌 [Karlin and Altschul (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68]의 알고리즘이다. 그러한 알고리즘은 문헌 [Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10]의 엔블라스트(NBLAST) 및 엑스블라스트(XBLAST) 프로그램 (버전 2.0)에 편입된다. 블라스트 뉴클레오티드 검색을 엔블라스트 프로그램, 점수=100, 단어길이=12로 수행하여 본 발명의 TRL 핵산 분자에 상동성인 뉴클레오티드 서열을 수득할 수 있다. 블라스트 단백질 검색을 엑스블라스트 프로그램, 점수=50, 단어길이=3으로 수행하여 표 1에 나열된 유전자에 의하여 코딩된 단백질 서열과 상동성인 아미노산 서열을 수득할 수 있다. 비교 목적을 위한 갭 정렬(gapped alignment)을 수득하기 위하여, 문헌 [Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Research 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같은 갭 블라스트(Gapped BLAST)가 이용될 수 있다. 블라스트 및 갭 블라스트 프로그램 이용시, 각 프로그램 (예를 들어, 엑스블라스트 및 엔블라스트)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다. 참조: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. 서열의 비교에 이용되는 수학 알고리즘의 또 다른 바람직한 비-제한 예는 문헌 [Myers and Miller, CABIOS (1989)]의 얼라인(ALIGN) 알고리즘이다. 아미노산 서열 비교를 위한 얼라인 프로그램의 이용시, PAM1 20 중량 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티, 및 4의 갭 페널티가 사용될 수 있다.

[0101] 용어 "프로브"는 또 다른 물질을 특이적으로 검출하는 데 유용한 물질의 임의의 조성물을 언급한다. 바람직한 실시양태에서, 프로브는 핵산 서열 (바람직하게는 게놈 DNA)와 특이적으로 하이브리드화하거나 또는 관심 대립 유전자의 폴리펩티드 서열에 특이적으로 결합한다.

[0102] 어구 "특이적으로 하이브리드화한다"는 엄격한 하이브리드화 조건하에서의 하이브리드화를 언급한다. 엄격한

조건은 통상의 기술자에게 알려져 있으며 문헌 [Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6]에서 찾아볼 수 있다. 수성 및 비-수성 방법이 그 문헌에 기재되어 있으며 둘 중 어느 한 쪽이 사용될 수 있다. 엄격한 하이브리드화 조건의 일례는 6X 염화나트륨/소듐 시트레이트 (SSC)중 약 45°C에서의 하이브리드화에 이은 0.2X SSC, 0.1% SDS중 50°C에서의 적어도 1회 세척이다. 엄격한 하이브리드화 조건의 두 번째 예는 6X SSC중 약 45°C에서의 하이브리드화에 이은 0.2X SSC, 0.1% SDS중 55°C에서의 적어도 1회 세척이다. 엄격한 하이브리드화 조건의 또 다른 예는 6X SSC중 약 45°C에서의 하이브리드화에 이은 0.2X SSC, 0.1% SDS중 60°C에서의 적어도 1회 세척이다. 엄격한 하이브리드화 조건의 추가 예는 6X SSC중 약 45°C에서의 하이브리드화에 이은 0.2X SSC, 0.1% SDS중 65°C에서의 적어도 1회 세척이다. 고-엄격한 조건은 0.5 M 인산나트륨, 7% SDS중 65°C에서의 하이브리드화에 이은 0.2X SSC, 1% SDS중 65°C에서의 적어도 1회 세척을 포함한다.

- [0103] "올리고뉴클레오타이드"는 뉴클레오타이드의 짧은 서열, 예를 들어 2-100 염기를 언급한다.
- [0104] 본 발명은 JAK/STAT 경로 활성화에 기인하여 암, 예를 들어 혈액학적 장애를 앓고있는 대상체로부터 취한 종양 생검중 1종 이상 유전자 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1의 발현을 측정하는 것을 포함한다. 발현 수준을 분석하여 JAK/STAT 경로 활성화를 보이는 종양 보유 환자 vs. 그러하지 않은 환자의 구별에 사용될 수 있는 점수를 생성하는 데 사용할 수 있다.
- [0105] 하나의 실시양태에서, 본 발명의 방법은 표 1에 나열된 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR 및 EGR1 중 임의의 하나의 발현을 측정하는 것을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 표 1로부터의 적어도 1종, 예를 들어 적어도 2종, 적어도 3종, 적어도 4종, 적어도 5종, 적어도 6종 또는 적어도 7종을 측정하는 것을 포함한다.
- [0106] 하나의 예에서, 표 1로부터의 1종 유전자, 예를 들어 PIM-1의 발현 수준이 측정된다. 또 다른 예에서, 표 1로부터의 2종 유전자, 예를 들어 PIM1과 CISH의 발현 수준이 측정된다. 또 다른 예에서, 표 1로부터의 3종 유전자 PIM1, CISH와 SOCS2의 발현 수준이 측정된다. 또 다른 예에서, 표 1로부터의 4종 유전자 PIM1, CISH, SOCS2와 ID1의 발현 수준이 측정된다. 또 다른 예에서, 표 1로부터의 5종 유전자 PIM1, CISH, SOCS2, ID1과 LCN2의 발현 수준이 측정된다. 또 다른 예에서, 6종 유전자 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2와 EPOR의 발현 수준이 측정된다. 또 다른 예에서, 7종 유전자 PIM1, CISH, SOCS2, ID1, LCN2, EPOR과 EGR1의 발현 수준이 측정된다.
- [0107] 본 발명의 바이오마커는 자신의 발현 수준 또는 유전자 생성물이 예측 마커 또는 바이오마커로서 작용하는 표 1에서 확인되는 유전자의 임의의 조합을 또한 포함한다.
- [0108] 본 발명의 방법에서, 전술한 바와 같은 1종 이상 유전자의 발현 수준이 측정되고 분석된 다음 후술되는 바와 같이 JAK/STAT 경로 활성화에 기인하여 종양을 보유하는 대상체를 선택하는 데에 사용될 수 있는 점수의 생성에 사용된다. 발현 역치는 JAK/STAT 억제제에 반응하게 될 개체의 선택에 사용될 수 있다.
- [0109] 검정된 RNA의 양에 있어서 차이 및 사용된 RNA의 품질에 있어서 변동성을 정규화하는 것이 필요하다. 따라서, 검정은 전형적으로 특정 정규화하는 유전자의 발현을 측정하고 혼입한다.
- [0110] 본 발명의 방법에서, 각 바이오마커의 발현은 측정된 다음 전형적으로는 대조군 유전자의 발현 수준에 의한 정규화 후의 발현 값으로 변환될 것이다. 이어서 이들 발현 값은 어느 대상체가 JAK/STAT-활성화된 종양을 보유하고 따라서 JAK/STAT 억제제로의 치료로부터 이익을 얻을 가능성이 있는지를 선택하기 위하여 컷 오프에 대하여 비교하게 되는 점수의 생성에 사용될 것이다.
- [0111] 본 발명의 바이오마커는 관련 기술분야에 알려져 있는 임의의 방법, 예컨대 리버스 트랜스크립타제 PCR (RT-PCR)을 이용하여 측정될 수 있다. 방법은 관련 기술분야에 알려져 있는 임의의 기술을 이용하여, 예를 들어 퀴아젠(Qiagen)과 같은 상업적 제조업자로부터의 정제 키트, 완충제 세트와 프로테아제를 사용함으로써 mRNA를 단리하는 것을 포함한다. 역전사 단계는 주위 사정 및 발현 프로파일링의 목적에 따라 전형적으로는 특이적 프라이머, 무작위 6량체, 또는 올리고-dT 프라이머를 사용하여 프라이밍되고, 유도된 cDNA는 이어서 후속 PCR 반응에서 주형으로 사용될 수 있다. 이어서 택맨(R) RT-PCR이 예를 들어 시판 장비를 사용하여 수행될 수 있다.
- [0112] RT-PCR 기술의 보다 최신 변형판은 실시간 정량적 PCR이며, 이는 이중-표지된 형광원성(fluorogenic) 프로브를 통해 (예를 들어, 택맨(R) 프로브를 사용하여) PCR 생성물 축적을 측정한다. 실시간 PCR은 각각의 표적 서열에 대한 내부 경쟁자가 정규화에 사용되는 정량적 경쟁 PCR, 및 샘플에 함유된 정규화 유전자, 또는 RT-PCR을 위한 하우스키핑 유전자를 사용하는 정량적 비교 PCR 양쪽 모두와 호환성이다. 보다 세부사항에 대해서는 예를 들어

문헌 [Held et al., Genome Research 6:986-994 (1996)] 참조.

- [0113] 또 다른 예에서, 표 1의 유전자 중 1종 이상에 상응하는 1종 이상 프로브를 포함하는 마이크로어레이가 사용된다. 전술한 방법은 어레이 표면에 표지된 표적 핵산의 하이브리드화 패턴의 생성을 가져온다. 표지된 핵산의 결과로서 생기는 하이브리드화 패턴은 다양한 방식으로, 표적 핵산의 특정 표지에 기초하여 선택된 검출의 특정 방식으로 가시화되거나 또는 검출될 수 있다. 대표적인 검출 수단은 섬광 계수, 방사선사진술, 형광 측정, 열량 측정, 발광 측정, 광 산란 등을 포함한다.
- [0114] 또 다른 예에서, 표 1의 유전자 중 1종 이상에 상응하는 1종 이상 프로브를 포함할 수 있는 택맨[®] 로우 덴시티 어레이(TaqMan[®] Low Density Array: TLDA) 카드가 사용될 수 있다. 당해 방법은 동시적인 실시간 PCR 반응을 수행하는 미세유체 카드를 사용한다.
- [0115] 하나의 예에서, 검출 방법은 시판되고 있는 어레이 스캐너 (애피메트릭스(Affymetrix), 미국 캘리포니아주 산타 클라라), 예를 들어 417 어레이어(Arrayer), 418 어레이 스캐너(Array Scanner), 또는 애질런트 진어레이 스캐너(Agilent GeneArray Scanner)를 사용한다. 당해 스캐너는 인터페이스 및 사용하기 용이한 소프트웨어 툴을 구비한 시스템 컴퓨터로부터 제어된다. 출력은 다양한 소프트웨어 애플리케이션 중으로 직접 가져오게 되거나 또는 그에 의하여 직접 관독될 수 있다. 스캐닝 장치는 예를 들어 미국 특허 5,143,854 및 5,424,186에 기재되어 있다.
- [0116] 또 다른 예에서, mRNA 수준은 고속대량처리 mRNA 서열분석 (RNA-seq)의 발현 분석을 이용하여 분석될 수 있다. mRNA 발현 수준의 연구에 사용될 수 있는 유용한 플랫폼의 예는 일루미나(Illumina) 서열분석 (구 "솔렉사(Solexa) 서열분석") 플랫폼을 포함한다.
- [0117] 본원에 사용되는 바와 같이, 비용용 대조군은 통상의 기술자에 의하여 측정될 수 있다. 하나의 측면에서, 대조군은 컷 오프 값으로 작용하는 값을 선택함으로써 측정된다. 예를 들어, 그 값은 예를 들어 JAK/STAT 활성화 (인산화된 STAT5 +)를 보유하는 시험 샘플과 JAK/STAT 활성화를 보이지 않는 것들 (STAT5의 인산화 없음) 간을 구별해주는 값일 수 있다. 또 다른 예에서, 본 발명의 바이오마커의 유전자 발현 프로파일은 대조군과 비교된다 (건강인 또는 JAK/STAT-활성화되어 있는 종양으로부터 취한 샘플 중 바이오마커의 발현의 존재).
- [0118] 데이터 분석
- [0119] 샘플 분석작업을 촉진하기 위하여, 장치로부터 관독기에 의하여 취득된 데이터는 디지털 컴퓨터를 사용하여 분석될 수 있다. 전형적으로, 컴퓨터는 수집된 데이터의 분석 및 보고, 예를 들어 백그라운드들의 공제, 통제가 적절히 수행되었음의 검증, 신호의 정규화, 하이브리드화된 표적의 양을 측정하기 위한 형광 데이터의 해석, 백그라운드들의 정규화 등을 위해서뿐만 아니라 장치로부터 데이터의 수신과 저장을 위해 적당하게 프로그램될 것이다.
- [0120] 하나의 예에서, 일단 표 1에서의 1종 이상 마커의 발현 수준이 측정되면, 의사 또는 유전 카운셀러 또는 환자 또는 다른 연구원은 결과를 통지받을 수 있다. 구체적으로, 결과는 다른 연구원 또는 의사 또는 유전 카운셀러 또는 환자에 통보 또는 전송될 수 있는 정보의 전송가능한 형태로 구조될 수 있다. 그러한 형태는 다양할 수 있고 유형 또는 무형일 수 있다. 시험된 개체에서의 결과는 기술문, 다이어그램, 사진, 도표, 또는 여타 가시적 형태로 구현될 수 있다. 예를 들어, PCR 생성물의 겔 전기영동의 영상이 결과의 설명에 사용될 수 있다. 바이오마커 발현 수준을 보여주는 다이어그램은 시험 결과의 표시에 또한 유용하다. 이들 기술문 및 가시적 형태는 유형 매체, 예컨대 종이, 컴퓨터 관독가능한 매체, 예컨대 플로피 디스크, 콤팩트 디스크 등에 또는 무형 매체, 예를 들어 인터넷 또는 인트라넷상 이메일 또는 웹사이트 형태의 전자 매체에 기록될 수 있다. 아울러, 결과는 또한 음향 형태로 기록되고 임의의 적합한 매체, 예를 들어 아날로그 또는 디지털 케이블선, 광섬유 케이블 등을 통해, 전화, 팩시밀리, 무선 이동전화, 인터넷 전화 등을 통해 전송될 수 있다. 모든 그러한 형태 (유형 및 무형)는 "정보의 전송가능한 형태"를 구성하게 된다. 따라서, 시험 결과에 대한 정보와 데이터는 세계 도처에서 생산되어 상이한 장소로 전송될 수 있다. 예를 들어, 검정이 국외에서 수행되는 경우, 시험 결과에 대한 정보와 데이터는 생성되어 전술한 바와 같은 전송가능한 형태로 구조될 수 있다. 전송가능한 형태로서의 시험 결과는 따라서 미국으로 가져올 수 있다. 따라서, 본원 개시는 표 1에 나열된 바이오마커의 발현 수준을 담고 있는 정보의 전송가능한 형태를 제조하는 방법을 또한 포함한다. 정보의 이러한 형태는 JAK/STAT 억제제로의 치료에 대한 환자의 반응성 예측에, 그 정보에 기초한 치료의 진행과정 선택에, 및 그 정보에 기초한 환자의 선택적 치료에 유용하다.

- [0121] **키트**
- [0122] 본 발명은 본원에 기재된 바이오마커의 발현 수준을 측정하는 키트를 추가로 제공한다. 키트는 JAK/STAT 억제제로의 치료로부터 이익을 얻게 될 사람의 측정에 유용할 수 있다. 키트는 시험 샘플의 유전자 발현 측정에 사용될 수 있는 표 1에서 확인되는 유전자의 프로브/올리고뉴클레오티드/프라이머를 포함할 수 있다. 하나의 실시양태에서, 키트는 컴퓨터 시스템의 메모리중으로 로딩시킬 수 있는 발현 프로파일 분석 소프트웨어를 포함하고 측정된 발현 값을 위험 점수로 변환할 수 있는 컴퓨터 판독가능한 매체를 포함한다. 키트는 핵산 대조군, 완충제 및 사용 지침서를 추가로 포함할 수 있다.
- [0123] **투여**
- [0124] 본원에 기재된 STAT 신호전달 억제제는 치료 유효량으로 관련 기술분야에 알려져 있는 통상적이고 허용되는 방식의 어느 것을 통해 단독으로 또는 1종 이상 치료제와 조합하여 투여될 수 있다. 치료 유효량은 질환의 중증도, 대상체의 연령과 상대적 건강, 사용되는 화합물의 효능 및 기타 요인에 따라 광범위하게 다양할 수 있다.
- [0125] 통상의 기술자라면, 본 발명의 실시예에 사용될 수 있는, 본원에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 다수의 방법과 재료를 인식할 것이다. 사실, 본 발명은 기재된 방법과 재료에 결코 제한되지 않는다. 본 발명의 목적상, 하기 용어가 이하에서 정의된다.
- [0126] **실시예**
- [0127] **실시예 1: 유전자 서명의 생성**
- [0128] mRNA 발현-기반 서명을 확인하여 p-STAT5 양성 및 p-STAT5 음성 샘플을 구별하기 위하여, 본 발명자들은 p-STAT5 웨스턴 블롯 데이터를 갖는 조혈 세포주의 두 세트를 사용하였다. 각각의 독립 세트는 에피메트릭스 U133Plus2 어레이로부터의 mRNA 발현 프로파일 데이터를 갖는다. 모든 발현 값은 MAS5 정규화되며, 2% 트림 평균(trimmed mean)은 150이다.
- [0129] 제1 세트는 (웨스턴에 의한) 8종은 p-STAT5 양성이고 20종은 p-STAT5 음성인 28종 세포주에 대한 데이터를 갖는다. 이를 서명-농축 세트로서 사용하였다. 제2 세트는 (웨스턴에 의한) 6종은 p-STAT5 양성이고 6종은 p-STAT5 음성인 12종의 고유 세포주에 대한 데이터를 갖는다. 세트 2에 고유한 샘플을 서명 검증 세트로서 사용하였다.
- [0130] 세트 1 및 2로부터의 pSTAT5 상태를 표 2에 요약하였다.

표 2

세포주 명칭	pSTAT5 세트 1	pSTAT5 세트 2
THP-1	N	
MM1-S	N	
ST486	N	
NCL-H929	N	
JM1	N	
Lacey	N	
RPMI 8226	N	
Toledo	N	
MC116	N	
Rah	N	
KMS-12-BM	N	
RS4;11	N	
BDCM	N	
U-937	N	
HD-MY-Z	N	
HcNS1	N	
SUP-T1	N	
CA46	N	
RL	N	
HH	N	
MOLM-13	Y	
AML-193	Y	
Sat-2	Y	
TF-1	Y	
HEL 92.1.7	Y	
K-562	Y	
SUP-B15	Y	
MEG-01	Y	
PL-21		N
OCL-AML2		N
NOMO-1		N
HL-60		N
KASUMI-1		N
SKM-1		N
EOL-1		Y
F-362		Y
Kasumi-6		Y
MY-4-11		Y
M-07a		Y
OCL-AML5		Y

[0131]

[0132]

본 발명자들은 STAT5의 전사 표적인 것으로 생각되고 U133Plus2 어레이상 프로브 세트 (메타코어(MetaCore), 진고 인코포레이티드(GeneGo Inc.))를 가지는 47종 유전자를 선택하였다. 47종 유전자의 각각에 대하여, 최상 프로브 세트를 수동 검토와 계산론적 접근법의 조합에 기초하여 선택하였다. 유전자당 최상 프로브 세트를 선택하는 접근법은 에피메트릭스 유전자 발현 데이터의 분석에 정기적으로 사용되며, 최상 프로브 세트의 목록은 당해 프로젝트와 무관하게 측정되었다.

[0133]

47종 유전자 각각에 대하여, p-STAT5 양성 및 p-STAT5 음성 세포주간에 관련된 배수 변화(fold change)와 확률을 농축 세포주 세트로부터의 데이터를 사용하여 스튜던트 t-검정으로 계산하였다. 배수 변화 계산을 위해, 50의 값을 p-STAT5 양성 및 p-STAT5 음성 세포주에 대한 발현 평균에 가산하여 저-발현 유전자로부터의 노이즈를 감소시켰다. 양의 값은 p-STAT5 양성주에서의 보다 높은 발현을 표시하고, 반면에 음의 값은 p-STAT5 음성주에서의 보다 높은 발현을 표시한다. 스튜던트 t-검정은 2-테일 분산(two-tailed distribution) 및 등분산적(homoscedastic) 세팅을 사용하여 실행하였다. 표 2에 모든 47종 유전자에 대한 결과를 제공하였다.

[0134]

본 발명자들은 표 3으로부터의 데이터를 사용하여 3개 유전자 세트를 생성하였다 (표 4). 첫 번째 것은 최저 p-값 및 4를 상회하는 배수 변화를 갖는 4종 유전자 (PIM1, CISH, SOCS2, ID1)를 포함하였다. 두 번째 유전자 세트는 전술한 4종 유전자 및 양쪽 모두가 2 정도의 배수 변화 및 0.01 미만의 p-값을 가지는 LCN2와 EPOR을 함유하였다. 세 번째 유전자 세트는 2.5 정도의 배수 변화, 그러나 약 0.06의 p-값을 가지는 추가적인 유전자 EGR1을 담지하였다. 분석에는 47-유전자 세트를 또한 포함시켰다.

표 3

유전자 명칭	엔트레즈 유전자 ID	프로브 세트	p-STAT5+ 평균	p-STAT5- 평균	배수	t-검정 p-값
PIM1	5292	209193 at	875	134	5.04	6.82E-07
CISH	1154	223961 s at	245	21	4.15	5.86E-06
SOCS2	8835	203373 at	2441	326	6.63	1.64E-05
ID1	3397	208937 s at	1548	332	4.19	0.00331972
LCN2	3934	212531 at	80	8	2.24	0.00453474
EPOR	2057	209962 at	118	38	1.91	0.00836353
KIR3DL1	3811	211687 x at	24	14	1.15	0.02315812
C3AR1	719	209906 at	91	35	1.66	0.02897651
BCL2L1	598	212312 at	270	167	1.47	0.03413896
IGJ	3512	212592 at	106	3746	-24.29	0.04997906
EGR1	1958	227404 s at	1035	351	2.71	0.0638939
OSM	5008	230170 at	53	17	1.55	0.10218279
TBX21	30009	220684 at	40	12	1.46	0.14215803
TNFRSF13B	23495	207641 at	27	71	-1.57	0.15316237
ESR1	2099	205225 at	10	18	-1.15	0.15905403
XIAP	331	228363 at	711	1041	-1.43	0.20670021
ABCB1	5243	243951 at	34	19	1.21	0.21057215
IL18	3606	206295 at	91	50	1.41	0.26985569
SKP2	6502	210567 s at	256	345	-1.29	0.27693167
MYC	4609	202431 s at	5556	4662	1.19	0.30379619
SRP9	6726	201273 s at	5997	6579	-1.1	0.36038668
FOS	2353	209189 at	98	55	1.41	0.42764108
IL10	3586	207433 at	7	23	-1.29	0.45530643
EBF1	1879	227646 at	565	1033	-1.76	0.46111412
CSN1S1	1446	208350 at	4	3	1.02	0.50498373
ONECUT1	3175	210745 at	8	10	-1.03	0.54105495
HSD3B2	3284	206294 at	4	5	-1.02	0.54197609
SLC30A2	7780	230084 at	16	15	1.02	0.54712739
SP1	6667	224760 at	367	311	1.15	0.55826135
PRF1	5551	214617 at	76	73	1.02	0.56205153
IFNG	3458	210354 at	8	9	-1.03	0.56455525
IL22	50616	222974 at	6	4	1.02	0.56529166
CITED4	163732	228625 at	38	94	-1.64	0.58702634
CCND1	595	208712 at	40	107	-1.75	0.60420565
RAD51	5888	205024 s at	576	626	-1.08	0.66382789

[0135]

PAX5	5079	206802 at	9	11	-1.03	0.68588032
CSN2	1447	207951 at	10	11	-1.02	0.69349354
SOCS1	8651	210001 s at	142	102	1.26	0.72728647
RBMS1	5937	225265 at	310	296	1.04	0.7600465
PTGS2	5743	204748 at	28	49	-1.27	0.78891958
SOCS3	9021	227697 at	118	26	2.21	0.81490784
EPAS1	2034	200878 at	429	157	2.31	0.8417473
TRGC2	6967	216920 s at	466	410	1.12	0.8773761
FOXP3	50943	221333 at	3	3	-1	0.93339042
CDKN1A	1026	202284 s at	173	182	-1.04	0.94107376
TLR2	7097	204924 at	64	72	-1.07	0.96066244
GADD45G	10912	204121 at	11	11	1	0.98495784

[0136]

표 4

4-유전자 서명	6-유전자 서명	7-유전자 서명
PIM 1	PIM 1	PIM 1
CISH	CISH	CISH
SOCS2	SOCS2	SOCS2
ID1	ID1	ID1
	LCN2	LCN2
	EPOR	EPOR
		EGR1

[0137]

[0138]

본 발명자들은 세포주의 검증 세트를 사용하여 이들 유전자 세트를 독립적으로 검증하였다. 그렇게 하기 위하여, 본 발명자들은 각각의 유전자 세트에 대한 유전자 세트 활성 점수를 계산하였다. 유전자 세트 활성 점수를 계산하는 접근법은 유전자 발현 데이터의 분석에 정기적으로 사용되며, 당해 프로젝트와 무관하게 생성되었다 (Breslin T et al., 2005 BMC Bioinformatics. 6:163; Lee E et al., PLoS Comput. Biol. 2008;4:e1000217; Guo Z et al., et al. 2005 BMC Bioinformatics. 2005;6 :58.). 유전자 세트 활성 점수 계산은 2 단계 공정으로 수행된다.

[0139]

제1 단계는 샘플의 세트 전역에서 각 프로브 발현 값에 대한 z-점수 변환을 수행하는 것이다.

[0140]

$$Z_{i,j} = (X_{i,j} - \mu) / (\delta + \epsilon)$$

[0141]

상기 식에서,

[0142]

$X_{i,j}$ 는 샘플 j중 프로브 i에 대한 MAS5 발현 값이고,

[0143]

ϵ 는 표준 편차 상수이며, MAS5 발현 값에 대하여 10이 사용된다.

[0144]

제2 단계는 유전자, 특히 유전자 세트로부터의 $Z_{i,j}$ 점수를 가산하고 유전자 세트내 유전자수 제곱근에 의하여 정규화함으로써 유전자 세트 활성 점수를 계산하는 것이다.

[0145]

$$S_j = (\sum_{i=1}^N Z_{i,j}) / \sqrt{N}$$

[0146]

상기 식에서,

[0147]

S_j 는 샘플 j중 주어진 유전자 세트의 유전자 세트 활성 점수이고,

[0148]

N은 유전자 세트내 유전자의 수이다.

[0149]

표 5에는 모든 세포주 전역에서 3개 유전자 세트에 대한 유전자 세트 활성 점수를 제공하였다.

[0150]

3개 유전자 세트에 대하여, p-STAT5 양성 및 p-STAT5 음성 세포주에 대한 유전자 세트 활성 점수간의 스튜던트 t-검정과 관련된 확률을 독립 검증 세포주 세트로부터의 데이터를 사용하여 및 병합한 농축 및 검증 세트로부터의 모든 세포주에서 계산하였다. 스튜던트 t-검정은 2-테일 분산 및 이분산적(heteroscedastic) 세팅을 사용하여 실행하였다. 표 5에는 검증 세트 세포주에서의 및 모든 세포주에서의 3개 유전자 세트에 대한 결과를 제공하였다. 표 6으로부터 알 수 있는 바와 같이, 모든 3개 유전자 세트는 독립 검증 세트에서 0.05 미만의 p-값을 갖는다. 최저 p-값은 병합한 세포주 세트 1 및 세트 2에서 7-유전자 서명에 대하여 관찰된다. 도 1은 모든 세포주 전역에서 p-STAT5 상태와 7-유전자 서명 유전자 세트 활성 점수간의 관계를 도시한다. 당해 도면은 서명의 p-STAT5 양성 조절 세포주와 p-STAT5 음성 조절 세포주간 구별능을 증명해 보여준다.

[0151]

요약하면, 본 발명자들은 표 4에 나열된 3개 유전자 세트는 유전자 발현 수준을 조절성 악성종양에서의 STAT5 활성화와 상관지우기 위한 의미심장한 방식을 제공한다고 생각한다. 그것은 면역조직화학-기반 방법 또는 훨씬 더 큰 유전자 세트를 수반하는 유전자 서명에 비하여 기술적으로 보다 더 실행가능하고 신뢰성이 있다.

표 5

세포주 명칭	4-유전자 점수	6-유전자 점수	7-유전자 점수	pSTAT5 세트 1 (농축)	pSTAT5 세트 2* (검증)	합한 pSTAT5
THP-1	-0.82	-0.88	-0.93	N		N
PL-21	-0.72	-0.41	-0.22		N	N
OCI-AML2	0.43	0.3	-0.07		N	N
NOMO-1	0.12	-0.06	-0.37		N	N
HL-60	-0.83	-0.92	-1.17		N	N
KASUMI-1	-0.56	-0.7	-0.95		N	N
SKM-1	-0.88	-0.94	-1.2		N	N
MM1-S	-0.68	-0.61	-0.9	N		N
ST486	-1.02	-0.99	-1.25	N		N
NCI-H929	-0.6	-0.55	-0.68	N		N
JM1	-0.99	-1.1	-1.38	N		N
Loucy	-1.03	-1	-1.27	N		N
RPMI 8226	-0.71	-0.73	-1.02	N		N
Toledo	-0.98	-1.11	-1.39	N		N
MC116	-1.06	-1.01	-1.26	N		N
Reh	0.14	0	-0.38	N		N
KMS-12-BM	-0.16	-0.04	-0.41	N		N
RS4;11	-0.7	-0.85	-1.12	N		N
BDCM	-0.87	-0.94	-1.05	N		N
U-937	-0.48	-0.5	-0.81	N		N
HD-MY-Z	-0.85	-0.74	-0.32	N		N
HuNS1	-0.76	-0.71	-1.01	N		N
SUP-T1	-0.89	-0.92	-1.19	N		N
CA46	-0.94	-0.98	-1.25	N		N
RL	-1.12	-1.13	-1.41	N		N
HH	-1.01	-0.98	-1.27	N		N
MOLM-13	2.13	1.79	1.36	Y		Y
AML-193	2.46	1.74	1.32	Y		Y
Set-2	1.72	2.38	1.93	Y		Y
TF-1	1.65	2.63	2.07	Y		Y
HEL 92.1.7	1.7	1.38	1.42	Y		Y
EOL-1	7.46	5.98	5.22		Y	Y
F-36P	4.32	4.55	3.93		Y	Y
Kasumi-6	2.47	1.77	1.36		Y	Y
MV-4-11	0.81	0.66	0.37		Y	Y
M-07e	3.06	2.34	1.99		Y	Y
OCI-AML5	1	0.64	0.24		Y	Y
K-562	6.12	4.92	4.63	Y		Y
SUP-B15	1.21	0.69	0.4	Y		Y
MEG-01	3.09	2.94	2.53	Y		Y

* 세트 2에 고유한 샘플만이 서명 검증에 사용되었다.

[0152]

표 6

세포주 세트	4-유전자 세트 t-검정 p-값	6-유전자 세트 t-검정 p-값	7-유전자 세트 t-검정 p-값
검증 (세트 2)	0.016535	0.0171543	0.0202114
농축 + 검증 (세트 1 및 세트 2)	1.4144E-05	6.443E-06	6.273E-06

[0153]

[0154]

실시예 2: JAK/STAT 억제제로의 치료를 위한 활성화된 JAK/STAT5 신호전달을 갖는 환자 집단의 층별화를 위한 유전자 서명의 사용

[0155] 이어서 STAT5 유전자 서명을 사용하여 전임상 세팅에서 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 대한 약역학적 반응을 검사하였다. 사용되는 시약을 표 7에 나타내었다.

표 7

파트 #	시약	공급처
4369510	택맨 유전자 발현 마스터 믹스	ABI/라이프 테크놀로지스
4331182	ID1 Hs03676575_s1 (사전 설계된 유전자 발현 검정)	ABI/라이프 테크놀로지스
4331182	SOCS2 Hs00919620_m1 (사전 설계된 유전자 발현 검정)	ABI/라이프 테크놀로지스
4332078	주문 설계: CISH 정방향 프라이머: CTGTGCATAGCCAAGACCTTCTC 역방향 프라이머: CGTAATGGAACCCCAATACCA 프로브: CTTCGGGAATCTGG	ABI/라이프 테크놀로지스
4332078	주문 설계: PIMI 정방향 프라이머: TGCTCAAGGACACCGTCTACAC 역방향 프라이머: GGATCCACTCTGGAGGGCTAT 프로브: CTTCGATGGGACCCGAG	ABI/라이프 테크놀로지스
4331182	하우스키핑 유전자:TBP Hs99999910_m1	ABI/라이프 테크놀로지스
4331182	하우스키핑 유전자:GUSB Hs99999908_m1	ABI/라이프 테크놀로지스

[0156]

[0157]

7종 혈액학적 종양 세포주 (5종은 pSTAT5 양성 (AML-193, He1 92.1.7, Set2, TF-1 및 UKE-1) 및 4종은 pSTAT5 음성 (RPM18226, U937, Re1t 및 PL-21))를 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴, 0.2 μM 또는 1 μM로 처리하고, 처리후 4 hr 및 24 hr에서 샘플을 수집하였다. 포스포-STAT5를 웨스턴 블롯 분석에 의하여 검사하였고, 4종 서명 유전자의 발현을 qPCR에 의하여 측정하였다. 서명에서의 각 개별 유전자의 RNA 발현 수준 (ΔCt)은 두 하우스키핑 유전자 (GUSB 및 TBP)의 평균 Ct로부터 서명 유전자에 대한 평균 Ct를 공제함으로써 측정되었다. 정규화된 상대 발현 수준에 대하여, DMSO 대조군 처리의 경우 ΔCt를 1로 설정하였고 모든 다른 처리의 경우 유전자 Ct 값은 당해 값에 대하여 상대적인 것이다.

[0158]

pSTAT5 음성 세포주의 경우, 서명 유전자 발현에 있어서 pSTAT5 조절 또는 변화에 미치는 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 의한 명백한 효과는 없었다 (도 2a에서 RPMI 8226). pSTAT5 양성 세포주의 경우, (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴은 pSTAT5를 하향조절하였으며, 서명 유전자의 발현의 상응하는 감소가 있었다 (도 2b에서 TF-1).

[0159]

실험을 도 3에 도시된 바와 같이 5종 pSTAT5 양성 (AML-193, He1 92.1.7, Set2, TF-1 및 UKE-1) 및 도 4에 도시된 바와 같이 4종 pSTAT5 음성 (RPM18226, U937, Re1t 및 PL-21) 전역에서 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴로의 처리 뒤에 4 유전자 서명 발현의 조절의 복합체로 재차 수행하였다.

[0160]

분석을 또한 pSTAT5에 대하여 양성 및 pSTAT5에 대하여 음성인 DMSO 비처리 혈액학적 종양 세포주에서 수행하였고 서명에서의 각 개별 유전자의 RNA 발현 수준 (ΔCt)을 측정하였다. 도 5에 도시된 바와 같이, pSTAT5에 대하여 양성인 종양 세포주는 서명 유전자의 훨씬 더 높은 발현 수준을 보유하고 있다.

[0161]

따라서 결과는 본원에 기재된 유전자 서명이 JAK/STAT5 신호전달 경로를 표적화하는 치료로부터 잠재적으로 이익을 얻을 수 있는 활성화된 JAK/STAT5 신호전달 보유 환자 집단을 차별화하거나 또는 선택하는 데에 사용될 수 있음을 입증해준다. 또한, 서명은 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 약역학적 효과의 일치하는 술어(predicator)이다.

[0162]

실시예 3: 종양 이중이식편 연구

[0163]

(R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴 (록솔리티닙, ruxolitinib)에 의한 유전자 서명의 조절을 생체내에서 추가 검사하였다. UKE-1 세포를 암컷 NOD.SCID 마우스 (Harlan)에 1x10⁷ 세포/마우스로 이식하였다. 종양이 약 500 mg에 도달하였을 때 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴의 단위 용량을 60 mg/kg으로 P.O. 투여하였다. 종양 샘플을 처리후 4시간차 및 24시간차에서 수집하였다. 종양 용해물중 pSTAT5의 조절은 웨스턴에 의하여 검

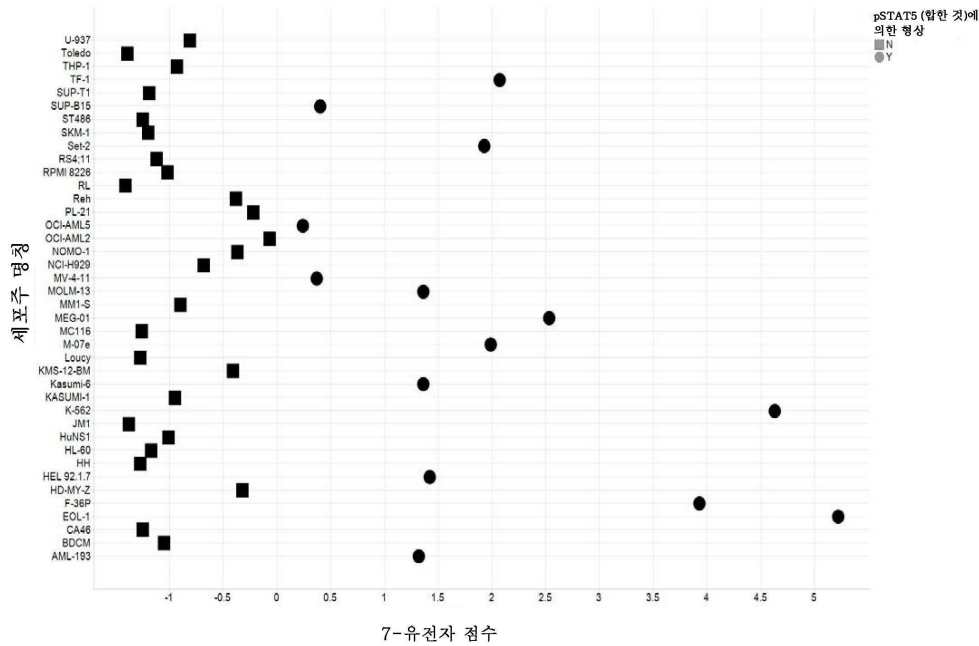
사하였다. 당해 중앙 모델에서 (R)-3-시클로펜틸-3-[4-(7H-피롤로[2,3-d]피리미딘-4-일)-1H-피라졸-1-일]프로판니트릴에 의한 4-유전자 서명의 조절은 시험관내에서 관찰된 것과 일치한다 (도 6).

실시예 4: 인간 혈액학적 악성종양에서 유전자 서명의 검사

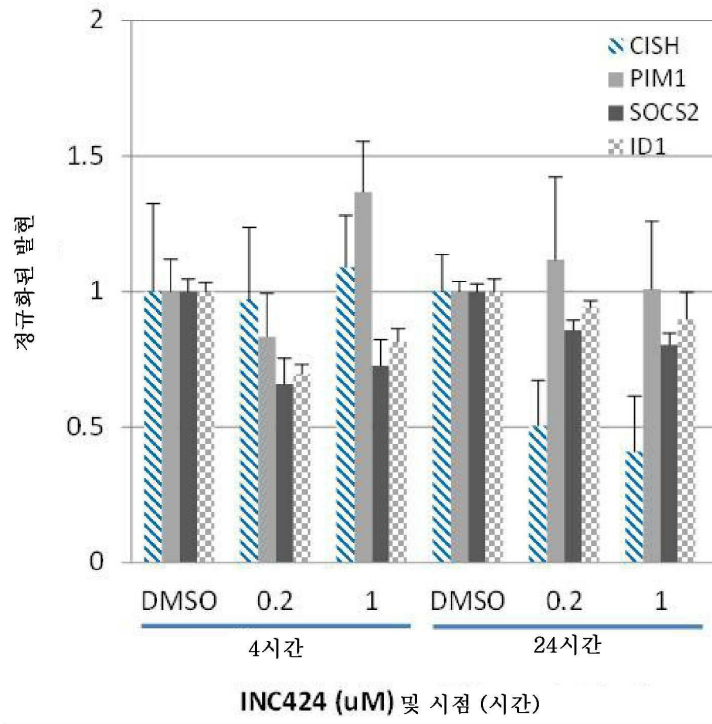
4-유전자 서명을 약 7,200개 인간 혈액학적 암 샘플을 포함한 유전자 발현 프로파일의 대형 컬렉션에 적용하였다. 급성 림프모구성 B 세포 백혈병, 급성 림프모구성 백혈병, 급성 림프모구성 T 세포 백혈병, 급성 골수성 백혈병, MDS와 관련된 급성 골수성 백혈병, 혈관면역모세포성 T 세포 림프종, B 세포 전림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 연소기 골수단핵구성 백혈병, 근상 식육종, 세자리 증후군, 골수이형성 증후군, MDS 및 전구체 T 세포 림프모구성 림프종을 포함한 모든 샘플은 양성 서명 점수를 가지고, 반면에 T 세포 림프종 백혈병, 미분화 대세포 림프종, 상세불명의 B 세포 림프종, 버킷 림프종, 만성 림프구성 백혈병 및 림프구성 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 여포성 림프종, 모발상 백혈병, 호지킨 림프종, MALT 림프종, 외투 세포 림프종, 변연부 림프종, NK T 세포 림프종, 상세불명의 말초 T 세포 림프종, 형질 세포 골수종 및 T 세포 림프모구성 백혈병과 같은 적응증은 낮은 (음성) 서명 점수를 보인다.

도면

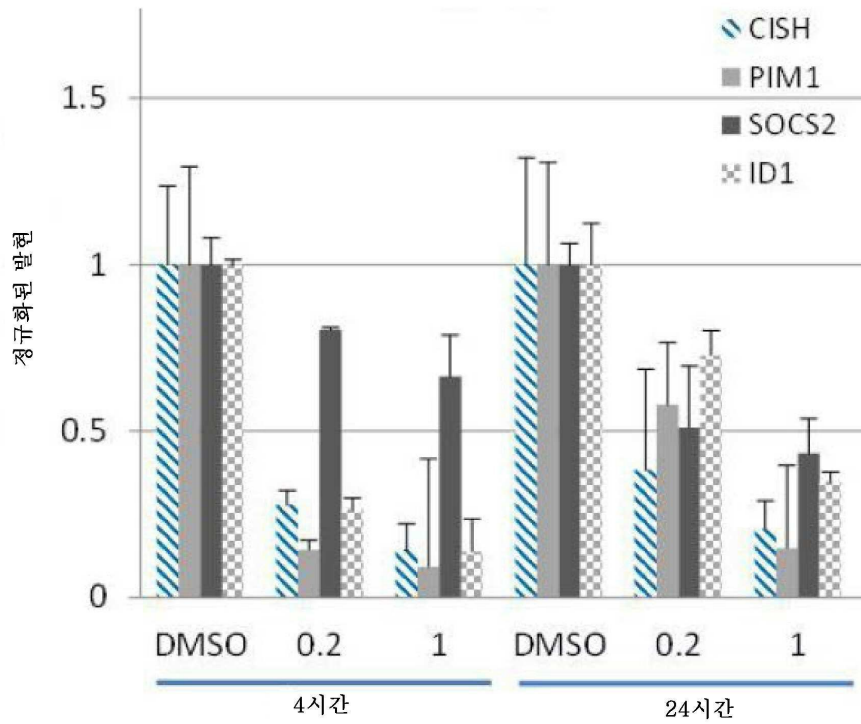
도면1



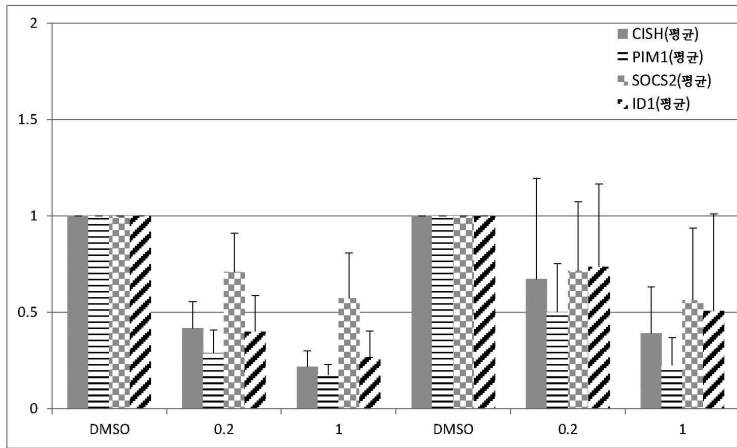
도면2a



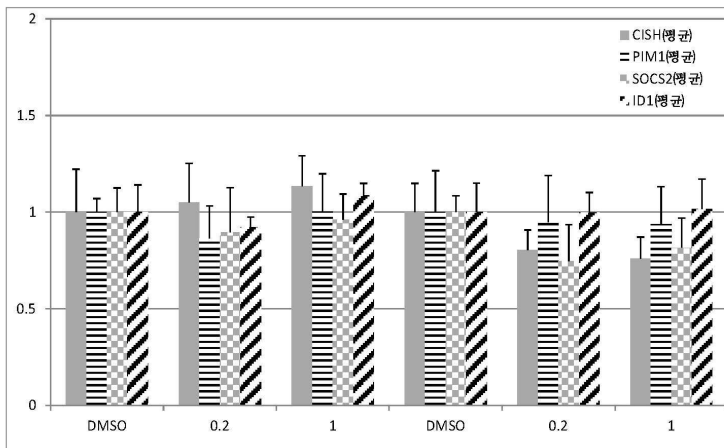
도면2b



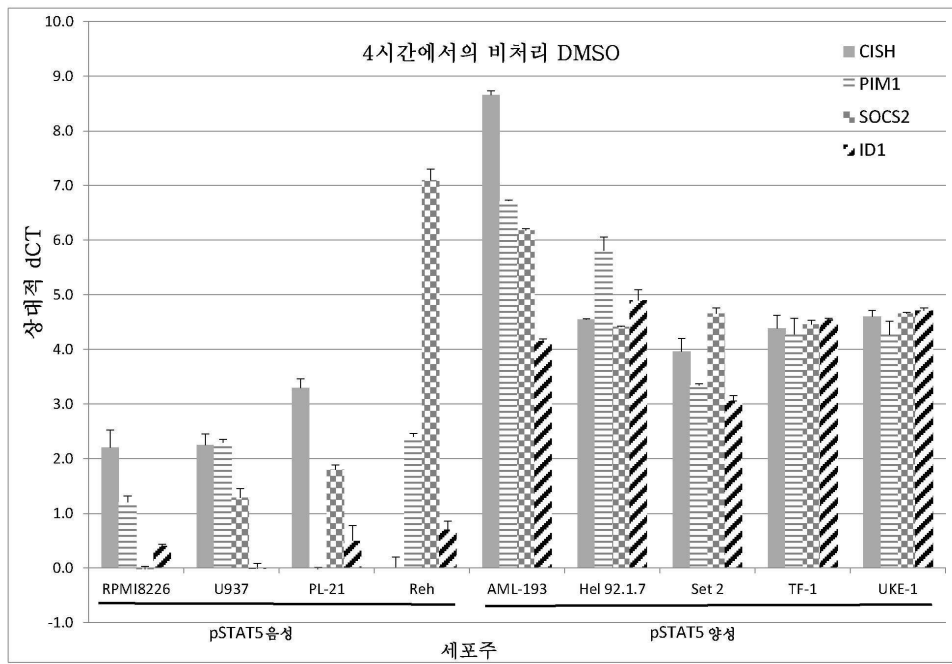
도면3



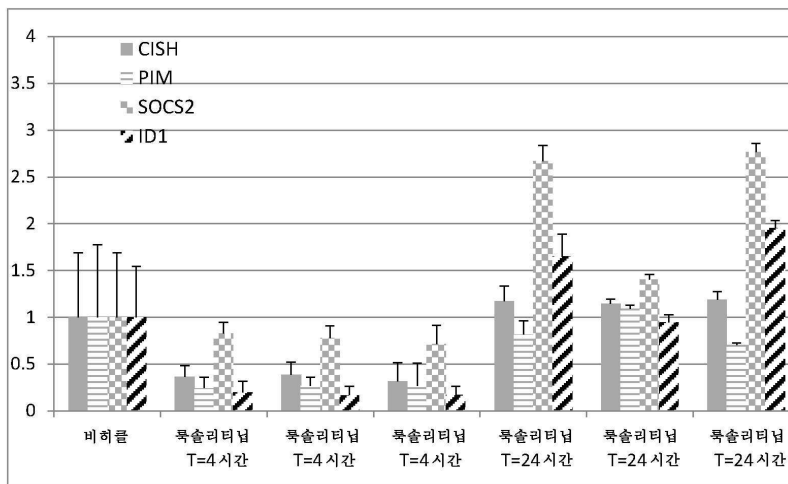
도면4



도면5



도면6



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Novartis AG
 Cao, Alexander
 Morrissey, Michael
 Sonkin, Dmitriy
 Palmer, Michael

<120> Treatment of cancer
 <130> PAT055204-TW-NP
 <150> 61/676484
 <151> 2012-07-27
 <150> 61/769271
 <151> 2013-02-26
 <150> 61/829327
 <151> 2013-05-31
 <160> 6
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Oligonucleotide
 <400> 1
 ctgtgcatag ccaagacctt ctc 23

<210> 2
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Oligonucleotide
 <400> 2
 cgtaatggaa cccaatacc a 21

<210> 3
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Oligonucleotide
 <400> 3
 cttcgggaat ctgg 14

<210> 4
 <211> 22
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligonucleotide
<400> 4
tgctcaagga caccgtctac ac 22

<210> 5
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligonucleotide
<400> 5
ggatccactc tggagggcta t 21

<210> 6
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Oligonucleotide
<400> 6
cttcgatggg acccgag 17