

(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2015-506955

(P2015-506955A)

(43) 公表日 平成27年3月5日(2015.3.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 45/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/00	4 B 0 6 3
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 35/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/02	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 31/517 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/517	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 T	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2014-555195 (P2014-555195)	(71) 出願人	501412463
(86) (22) 出願日	平成25年1月31日 (2013.1.31)		スミスクライン ビーチラム (コーク)
(85) 翻訳文提出日	平成26年9月25日 (2014.9.25)		リミテッド
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/051865		アイルランド カウンティ コーク キャ
(87) 国際公開番号	W02013/113796		リガリン カラビニー
(87) 国際公開日	平成25年8月8日 (2013.8.8)	(74) 代理人	100117787
(31) 優先権主張番号	61/592, 893		弁理士 勝沼 宏仁
(32) 優先日	平成24年1月31日 (2012.1.31)	(74) 代理人	100126099
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 反町 洋
(31) 優先権主張番号	61/654, 733	(74) 代理人	100176083
(32) 優先日	平成24年6月1日 (2012.6.1)		弁理士 松山 祐子
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	コリン、エフ. スブラッグス
			イギリス国ハートフォードシャー、ステイ
			ーブニッジ、ガネルズ、ウッド、ロード、
			グラクソスミスクライン
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がんを治療する方法

## (57) 【要約】

がんの治療を必要とする患者のがんを治療する方法が提供され、該方法は、前記患者が、VEGFA (rs3025039、VEGFA 936C>T)、VEGFR (rs1870377、Q427H、VEGFR2 18487A>T、1416A>T)、またはIGF1R (rs2037448、229741A>G またはrs7181022、28322C>T) に、少なくとも1つの多型を有するか否かを決定すること、および前記患者が少なくとも1つの多型を有する場合、前記患者にHER2阻害剤を投与することを含んでなる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

HER2 阻害剤の投与を必要とする患者に HER2 阻害剤を投与する方法であって、  
前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有する場合、前記患者に HER2 阻害剤を投与すること、  
を含んでなる、方法。

## 【請求項 2】

HER2 阻害剤の処方をする必要とする患者に HER2 阻害剤を処方する方法であって、  
前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有する場合、前記患者に HER2 阻害剤を処方すること、  
を含んでなる、方法。

## 【請求項 3】

がんの治療を必要とする患者のがんを治療する方法であって、

前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有する場合、前記患者に HER2 阻害剤を投与すること、  
を含んでなる、方法。

## 【請求項 4】

がんの治療を必要とする患者のがんを治療する方法であって、該患者に HER2 阻害剤を投与すること、および次に前記患者が VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有するか否かを決定することを含んでなる、方法。

## 【請求項 5】

前記決定が、VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型について、前記患者を検査することを含んでなる請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記決定が、遺伝子型、VEGFA の rs3025039 レファレンス一塩基多型における 936C>T 遺伝子型と関連する少なくとも 1 つの一塩基多型について、前記患者を検査することを含んでなる請求項 1～4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 7】

がんの治療を必要とする患者のがんを治療する方法であって、該患者が以前に、VEGFA の rs3025039 一塩基多型における 936C>T 遺伝子型を有すると遺伝子型判定されており、該患者に HER2 阻害剤を投与することを含んでなる、方法。

## 【請求項 8】

該がんが乳がんである、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記乳がんが転移乳がんである、請求項 8 の方法。

## 【請求項 10】

該がんが、結腸がん、乳がん、転移乳がん、腎細胞がん、黒色腫、非小細胞肺癌および腺がんを含む肺がん、胃がん、結腸直腸がん、神経内分泌がん、甲状腺がん、頭頸部がん、脳ガン、子宮頸がん、膀胱がん、食道がん、膵がん、前立腺がん、中皮腫、肝臓 - 肝胆道がん、多発性骨髄腫、白血病、ハーセル細胞を含む甲状腺がん、筋肉肉腫（平滑筋肉腫）および骨肉腫（軟骨肉腫）からなる群より選択される、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

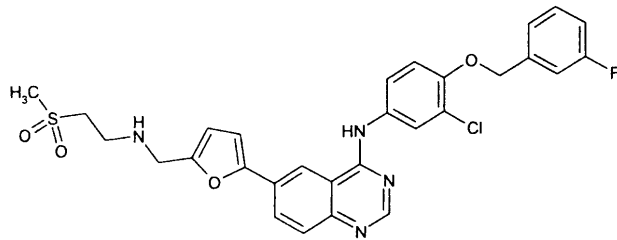
## 【請求項 1 1】

前記 H E R 2 阻害剤が二重 H E R 2 / E G F R 阻害剤である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 2】

前記 H E R 2 阻害剤が、式 I の化合物：

## 【化 1】



I

10

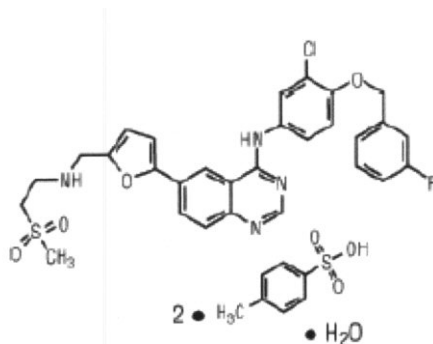
またはその薬学的に許容可能な塩もしくは溶媒和物である、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載方法。

## 【請求項 1 3】

前記 H E R 2 阻害剤が、式 ( I ' ) の化合物：

20

## 【化 2】



( I ' )

30

である、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 4】

該 H E R 2 阻害剤がモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 5】

該モノクローナル抗体が、トラスツズマブまたはペルツズマブである、請求項 1 4 に記載の方法。

40

## 【請求項 1 6】

前記 H E R 2 阻害剤が単剤療法として投与される、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 7】

前記患者が、多型 V E G F R 2 1 8 4 8 7 A > T を有するか否かを検出することをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 1 8】

前記患者が、V E G F R 2 1 8 4 8 7 A > T と関連する少なくとも 1 つの一塩基多型を有する場合、前記患者をラパチニブおよびトラスツズマブで治療することをさらに含んでなる、請求項 1 7 に記載の方法。

50

## 【請求項 19】

前記 H E R 2 阻害剤が、カペシタビンおよび / またはレトロゾールと組み合わせて投与される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

## 【請求項 20】

前記 H E R 2 阻害剤が、カペシタビンおよび / またはレトロゾールおよび / またはトラスツズマブと組み合わせて投与される、請求項 12 または 13 に記載の方法。

## 【請求項 21】

少なくとも 1 つの追加の抗新生物剤を前記患者に投与することをさらに含んでなる、請求項 1 ~ 20 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 22】

がんの治療を必要とする患者のがんを治療する方法であって、  
前記患者が V E G F R 2 18487A > T に多型を有するか否かを決定すること、および  
前記患者が、多型 V E G F R 2 18487A > T を有する場合、前記患者にラパチニブおよびトラスツズマブを投与すること、  
を含んでなる、方法。

## 【請求項 23】

がんに関して患者を治療する方法であって、  
前記患者が、I G F 1 R ( r s 2037448 ) 229741A > G および I G F 1 R ( r s 7181022 ) 28322C > T から選択される少なくとも 1 つの多型を有するか否かを決定すること、  
前記患者が、I G F 1 R ( r s 2037448 ) 229741A > G および I G F 1 R ( r s 7181022 ) 28322C > T から選択される多型を有さない場合、前記患者にラパチニブおよびトラスツズマブを投与すること、  
を含んでなる、方法。

## 【請求項 24】

がんの治療を必要とする患者のがんを治療する方法であって、  
前記患者が、V E G F R 2 18487A > T および V E G F A の r s 3025039 レファレンス一塩基多型における 936C > T 遺伝子型から選択される少なくとも 1 つの多型を有するか否かを決定すること、ならびに  
前記患者が、V E G F R 2 18487A > T および V E G F A の r s 3025039 レファレンス一塩基多型における 936C > T 遺伝子型から選択される少なくとも 1 つの多型を有する場合、チロシンキナーゼ阻害剤を前記患者に投与すること、  
を含んでなる、方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、ラパチニブを用いてがんを治療する方法、そのような治療に有用な遺伝子マーカー、ならびにそのような遺伝子マーカーを検出する方法および試薬に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

ラパチニブは、H E R 2 陽性転移乳がん ( M B C ) の患者用に、カペシタビンまたはレトロゾールと組み合わせて認可された H E R 2 / E G F R 二重チロシンキナーゼ阻害剤 ( T K I ) である。H E R 2 / E G F R および他の T K I 療法と一致して、患者の反応はさまざまであり、感度および抵抗性を決定するさらなる因子があることを示唆している。本調査的薬理遺伝学研究は、H E R 2 陽性 M B C 患者におけるラパチニブ治療結果に関連する宿主、生殖細胞系遺伝子多様体を同定することを追求した。

## 【0003】

患者が医薬化合物での治療に反応する可能性がより高い薬理遺伝学的プロファイルを用いて患者を治療する方法が、臨床医学において必要とされている。

10

20

30

40

50

## 【発明の概要】

## 【0004】

1つの実施形態では、それを必要とする患者にHER2阻害剤を投与する方法が提供され、その方法は、

前記患者がVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者がVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型を有する場合、前記患者にHER2阻害剤を投与すること、を含んでなる。

## 【0005】

1つの実施形態では、それを必要とする患者にHER2阻害剤を処方する方法が提供され、その方法は、

前記患者がVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者がVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型を有する場合、前記患者にHER2阻害剤を処方すること、を含んでなる。

## 【0006】

1つの実施形態では、それを必要とする患者のがんを治療する方法が提供され、その方法は、

前記患者がVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者がVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型を有する場合、前記患者にHER2阻害剤を投与すること、を含んでなる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0007】

【図1】試験IにおけるVEGFA 936C>TおよびOS

【図2】試験II（試験Iではない）におけるVEGFR2 18487A>T（Q472H）およびOS

【図3】試験IIにおけるIGFR1 rs2037448およびrs7181022（タグSNP、非機能性）ならびにOS

【図4】図4A：メタアナリシスにおけるNR1I3（rs2307420）およびPFS。図4B：メタアナリシスにおけるVEGFA（936C>T、rs3025039）およびOS。図4C：メタアナリシスにおけるKDR/VEGFR2（18487T>A、Q472H、rs1870377）。

【図5】PFSおよびOSにおけるNR1I3

【図6】VEGFA（936C>T、rs3025039、ならびにPFSおよびOS

【図7】KDR/VEGFR2（18487T>A、Q472H、rs1870377ならびにPFSおよびOS

## 【発明の具体的説明】

## 【0008】

ラパチニブは、HER2/EGFRチロシンキナーゼ阻害剤である。チロシンキナーゼは、少なくとも2つのがん遺伝子、上皮成長因子受容体（EGFR）およびヒトEGFRタイプ2（Her2/neu）に関連する。HER2/neuの過剰発現は、女性において特定の種類の乳がんの高いリスクの原因となるか、またはその高いリスクに相関する可能性がある。複数の作用のなかでも特に、ラパチニブは腫瘍を引き起こす乳がん幹細胞を減少させる。ラパチニブの作用機序の1つの側面は、ラパチニブがEGFR/HER2プロテインキナーゼドメインのATP結合ポケットに結合することによって受容体シグナルプロセスを阻害し、自己リン酸化およびそれに続くシグナル機構の活性化を阻むことであ

10

20

30

40

50

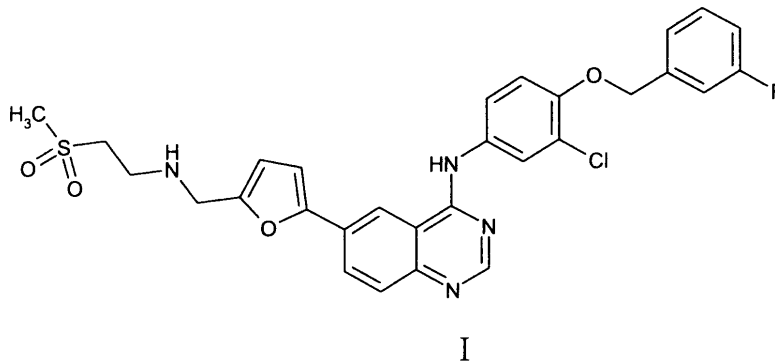
る。

【 0 0 0 9 】

ラパチニブは、小分子であり、キナーゼ阻害剤の 4 - アニリノキナゾリン類に属するものである。ラパチニブの現在市販されている形態では、ラパチニブは、ジトシラート塩の一水和物として存在し、化学名は、N - ( 3 - クロロ - 4 - { [ ( 3 - フルオロフェニル ) メチル ] オキシ } フェニル ) - 6 - [ 5 - ( { [ 2 - ( メチルスルホニル ) エチル ] アミノ } メチル ) - 2 - フラニル ] - 4 - キナゾリンアミン ビス ( 4 - メチルベンゼンスルホナート ) 一水和物である。ラパチニブは、分子式が  $C_{29}H_{26}ClFN_4O_4S(C_7H_8O_3S)_2H_2O$  であり、分子量が 943.5 ダルトンである。ラパチニブの式 I は、次の化学構造を有する：

10

【 化 1 】

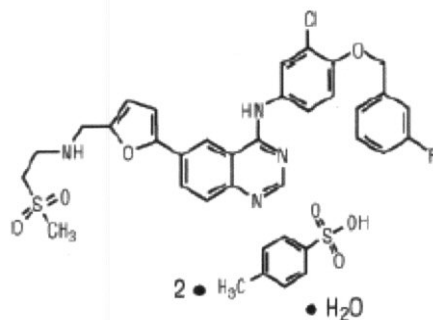


20

【 0 0 1 0 】

ラパチニブジトシラート一水和物の式 I' は、次の化学構造を有する：

【 化 2 】



30

【 0 0 1 1 】

ラパチニブ、その薬学的に許容可能な塩または組成物、およびラパチニブを含んでなる組成物ならびに使用は、例えば、米国特許第 6,391,874 号明細書、同第 6,828,320 号明細書、同第 6,727,256 号明細書、同第 6,713,485 号明細書、および同第 7,157,466 号明細書に開示されている。

40

【 0 0 1 2 】

ラパチニブ、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは組成物を、対象に投与すること（またはラパチニブを用いて対象を「治療すること」）は、当該技術分野において公知である投与の方法および経路を含んでなる。ラパチニブ、およびその薬学的に許容可能な塩または組成物の推奨される治療レジメン（投与量およびスケジュール、血漿濃度）は、当該技術分野において公知である。本明細書で使用される場合、ラパチニブ、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは組成物の投与は、乳がんの治療に限定されず、ラパチニブ、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは組成物を用いて治療可能な他の病態に対するその医学的使用を包含する。

50

## 【 0 0 1 3 】

本明細書で使用される場合、医薬キナーゼ阻害剤の対象への投与は、医薬品の有効量の、それを必要とする対象への投与を含んでなる。医薬品の投与量は、医薬分野において公知かつ受け入れられている方法に従って決定でき、当業者によって決定できる。

## 【 0 0 1 4 】

本明細書で使用される場合、遺伝子の多型の対立遺伝子について対象（またはDNAもしくは他の生体試料）を「遺伝子型判定すること」とは、遺伝子または遺伝子発現産物（例えば、hnRNA、mRNA、またはタンパク質）の、対象（または試料）においてどの対立遺伝子または多型の形態が存在するか、または存在しないのかを検出することを意味する。または、そのような遺伝子から発現する関連RNAまたはタンパク質も、多型多様性を検出するのに使用されうる。当該技術分野において周知であるように、個体が特定の対立遺伝子についてヘテロ接合性またはホモ接合性でありうる。2つを超える対立遺伝子の形態が存在することがあり、よって可能性として3つを超える遺伝子型がありうる。本発明の目的上、「遺伝子型判定」は、当該技術分野において公知であるように、好適な技術を使用して生殖細胞系対立遺伝子を決定することを包含する。本明細書で使用される場合、対立遺伝子は、他の考えられる対立遺伝子多様体が除外されるとき「検出」されうる。例えば、特定の核酸位置がアデニン（A）でも、チミン（T）でもシトシン（C）でもないとわかった場合、グアニン（G）がその位置にあると結論できる（すなわち、対象において、Gが「検出」または「診断」される）。配列多様性は、（例えば、シークエンシングによって）直接的に、または（例えば、制限酵素断片長多型分析、または既知配列のプローブのハイブリダイゼーションの検出、または参照鎖高次構造多型（reference strand conformation polymorphism）によって）間接的に、または他の公知の方法を使用するところによって検出されうる。

10

20

## 【 0 0 1 5 】

本明細書で使用される場合、集団の「遺伝子学的サブセット（genetic subset）」は、特定の遺伝子型を有する集団を構成するものからなる。二対立遺伝子多型の場合、集団は、3つのサブセット：対立遺伝子1に関してホモ接合（1，1）、ヘテロ接合（1，2）、および対立遺伝子2に関してホモ接合（2，2）に分けられる可能性がある。対象の「集団」は、ラパチニブの治療を受けている個体またはがんをもつ個体など、さまざまな基準を使用して定義されうる。

30

## 【 0 0 1 6 】

本明細書で使用される場合、遺伝子型判定に基づいて特定の表現型応答の「素因をもつ」またはその「危険性が高い」対象は、標的の多型座位（または複数の多型座位）に異なる遺伝子型をもつ個体と比べて、その表現型を示す可能性が高いことになる。表現型応答が、複対立遺伝子の多型、または1個より多い遺伝子の遺伝子型判定に基づく場合、相対的なリスクは複数の考えられる遺伝子型の間で異なりうる。

## 【 0 0 1 7 】

当該技術分野で理解されるように、「野生型」という用語は、自然の集団に存在する遺伝子改変のないポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列を指す。また、当該技術分野で理解されるように、「多様体」は、野生型ポリペプチドまたはポリヌクレオチドに見出される対応アミノ酸または核酸とそれぞれ比較して、アミノ酸または核酸に少なくとも1つの改変を有するポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列を含む。最も高頻度に見られる（野生型）核酸鎖と比較して、1つの塩基対の違いが核酸鎖の配列に存在する一塩基多型（SNP）は、多様体という用語に含まれる。本明細書で使用される場合、「遺伝子改変」または「遺伝学的に改変された」とは、DNA配列への、1つ以上の塩基のいかなる抑制、置換、削除および/または挿入を指すが、これらに限定されない。また、本明細書において、「遺伝学的に改変された」は、少なくとも1つの、核酸またはアミノ酸の削除、置換、または抑制をそれぞれ有する、ポリペプチドをコードする遺伝子またはポリペプチドを指すことができる。

40

## 【 0 0 1 8 】

50

遺伝子多様体および／またはSNPは、公知の方法によって同定されることができる。例えば、野生型またはSNPは、DNA増幅およびシーケンシング技法、DNAおよびRNA検出技法、例えば、限定されないが、それぞれノーザンおよびサザンブロット、ならびに／またはさまざまなパイオチップおよびアレイ技術によって同定することができる。野生型および変異体ポリペプチドは、限定されないが、ELISAおよびウェスタンブロットなどの免疫診断技法を含む多様な技法によって検出することができる。

【0019】

配列中に示される[C/T]多型と類似する多型、つまり[C/G]および[C/A]も存在できることを当業者なら理解するであろう。rs3025039を本明細書で使用する際、それは[C/T]、[C/G]、および[C/A]多型を含むことを意味する。

10

【0020】

rs3025039レファレンス塩基多型は、イルミナヒト1M-Duo analysis BeadChipアッセイ([http://www.illumina.com/products/human1m-duo\\_dna\\_analysis\\_beadchip\\_kits.ilmn](http://www.illumina.com/products/human1m-duo_dna_analysis_beadchip_kits.ilmn))を使用して、マイクロアレイによって分析された。くわえて、当業者なら理解するように、配列が既知のrs3025039レファレンス塩基多型は、さまざまなオリゴヌクレオチドを使用して検出できる。

【0021】

本明細書で使用される場合、「VEGF」は、血管内皮成長因子を意味する。本明細書で使用される場合、「VEGFR」は、血管内皮成長因子受容体を意味する。VEGFRのUniGeneタンパク質配列レファレンスは：KDR(VEGFR2) NP\_002244である。

20

【0022】

本明細書で使用される場合、「IGFR1」は、インスリン様成長因子受容体1を意味する。IGFR1のUniGeneタンパク質配列は、IGF1R NP\_000866.1である。

【0023】

本明細書で使用される場合、「VEGFA」は、血管内皮成長因子Aを意味する。(UniGeneデータベースは、タンパク質配列IDがNP\_001020537.2であることを記述する。)

【0024】

本明細書において使用する場合、「EGFR」は、上皮成長因子受容体を意味する。本明細書において使用する場合、「HER2」は、Neu、ErbB-2、CD340(表面抗原分類340)、またはp185としても知られるHER2(ヒト上皮成長因子受容体2)を意味し、上皮成長因子受容体(EGFR/ErbB)ファミリーの一員である。ERBB2(HER2)のUniGeneタンパク質配列は、NP\_004439.2である。

30

【0025】

対立遺伝子は、細胞、試料、個体内または集団内の遺伝的配列(遺伝子など)の1つの特定の形態であって、その遺伝子の配列内の少なくとも1つ、しばしば1つより多くの多様体部位の配列における同一遺伝子の他の形態と異なる特定の形態を指す。さまざまな対立遺伝子の間で異なるこれらの多様体部位における配列は、「多様体」、「多型」、または「変異」と呼ばれる。一般的には多型は、集団内で少なくとも1%の頻度を有する多様体を指すのに使用され、一方で変異という用語は、集団内で1%未満の頻度で起こる多様体に一般的には使用される。ヒトなどの複相生物は、常染色体に特異的な染色体上の位置または「座位」の各々において、個体は2つの対立遺伝子、一方の親から受け継いだ第1およびもう一方の親から受け継いだ第2、例えば、母親から1つおよび父親から1つをもつ。座位において2つの異なる対立遺伝子を有する場合、その座位において個体は「ヘテロ接合性」である。座位において2つの同じ対立遺伝子を有する場合、その座位において個体は「ホモ接合性」である。

40

【0026】

50



多型は、1つ以上の塩基の変化、挿入、繰り返し、または欠失を含んでもよい。多型の座位は、1塩基対と同じくらい小さくてもよい。多型マーカーとしては、制限酵素断片長多型、可変数のタンデムリピート(VNTR)、高度可変領域、ミニサテライト、ジヌクレオチド反復、トリヌクレオチド反復、テトラヌクレオチド反復、単純反復配列、およびAluなどの挿入エレメントが挙げられる。最初に同定した対立形質を、任意に参照形として、他の対立形質を、代替的または多様体対立遺伝子とする。特定の集団に最も頻繁に起こっている対立形質が、時に野生型形質と呼ばれることもある。また、最頻対立遺伝子がメジャー対立遺伝子と呼ばれ、頻度の少ない対立遺伝子がマイナー対立遺伝子と呼ばれることもある。複相生物は、対立形質に関して、ホモ接合性であることもあり、またはヘテロ接合性であることもある。2対立遺伝子多型は、2つの形質を有する。3対立遺伝子多型は、3つの形質を有する。2つの核酸の間の多型は、天然に起こる可能性があり、または化学物質、酵素、もしくは他の薬剤への曝露もしくは接触、または核酸に損傷を引き起こすもの、例えば、紫外線、変異誘発物質、もしくは発がん物質への曝露によって引き起こされる可能性がある。

#### 【0027】

一塩基多型(SNP)は、2つの代替的な塩基がヒト集団において目立った頻度(>1%)で起こる位置であり、最も多いタイプのヒト遺伝的多様性である。ヒトゲノムにおける全多型の約90%がSNPである。SNPは、異なる対立遺伝子または代替的ヌクレオチドが集団内に存在するDNA中の一塩基の配置である。各SNP位置における対立遺伝子に関して、個体はホモ接合性またはヘテロ接合性でありうる。場合によっては、SNPは「cSNP」と呼ばれ、そのSNPを含むヌクレオチド配列がアミノ酸をコードする配列であることを示すことができる。本明細書で使用される場合、SNPおよびSNP遺伝子型への言及は、個々のSNPおよび/または一般的にいっしょに受け継がれるSNPの群であるハプロタイプを包含する。個々のSNPと比較して、ハプロタイプは疾患または他の表現型効果と強い相関を有する可能性があり、したがって場合によっては、診察精度の増加を提供しうる(Stephens et al. Science 293, 489-493, 20 Jul. 2001)。

#### 【0028】

原因(Causative)SNPは、遺伝子発現または遺伝子産物の発現、構造、および/または機能における変化を生じるSNPであり、したがって考えられる臨床表現型を最も予測できる因子である。このような類の1つとしては、ポリペプチド産物をコードする遺伝子の領域内に含まれるSNP、すなわちcSNPが挙げられる。これらのSNPは、ポリペプチド産物のアミノ酸配列の変化(すなわち、非同義的コドン変化)をもたらすことがあり、欠損型または他の多様体タンパク質の発現を引き起こす。さらに、ナンセンス変異の場合、SNPは、ポリペプチド産物の尚早の終了につながりうる。原因SNPは、必ずしもコード領域に生じる必要はなく、原因SNPは、例えば、最終的に核酸によってコードされるタンパク質の発現、構造および/または活性に影響する可能性のあるあらゆる遺伝子領域に起こる可能性がある。そのような遺伝子領域としては、例えば、転写因子結合ドメインにおけるSNP、プロモーター領域におけるSNPなどの転写プロセッシングに關与する領域、欠陥スプライシングを引き起こしうるイントロン-エクソン境界におけるSNP、または、ポリアデニル化シグナル領域などのmRNAプロセッシングシグナル配列におけるSNPなどの転写物のプロセッシングにかかわる領域に關与するものが挙げられる。原因SNPではないが、やはり疾患を引き起こす配列に密接に関連し、したがって疾患を引き起こす配列に分けられるSNPがいくつかある。この状況において、SNPの存在は、疾患の存在、疾患の素因、または疾患を発症する危険性の増加と関連する。これらのSNPはまた、原因SNPではないけれども、やはり診断、疾患の素因のスクリーニング、および他の用途に有用である。

#### 【0029】

SNPと特定の障害または安全事象もしくは治療効果に対する素因との関連性の研究は、目的の障害または安全事象に対する素因をもつ個体からの生体試料におけるSNP対立遺伝子の存在または頻度を決定すること、その情報と、対照(すなわち、障害をもたず、

10

20

30

40

50

同じ安全事象または治療効果を経験しない個体)の情報とを比較することに関係する。

【0030】

SNPは、疾患組織試料または個体から得られた任意の生体試料においてスクリーニングされ、対照試料と比較され、特定の病態の発症の増加(または減少)に関して選択される。いったん統計学的に有意な関連が、1つ以上のSNPと着目した病態(または他の表現型)との間に確立された場合、そのSNP周辺の領域は、随意に十分にスクリーニングされて、その病態または表現型に影響する原因遺伝子座位/配列(例えば、原因となるSNP/突然変異、遺伝子、調節領域など)を同定できる。

【0031】

治験により、医薬品を用いる治療に反応する患者が、多くの場合、不均一であることが示されている。医薬品の設計および治療を改善することへの必要性が引き続いて存在する。これに関して、SNPは、特定の医薬品を用いる療法に最適な患者を同定するのに使用できる(これは、多くの場合、「薬理ゲノム学」と呼ばれる)。同様に、SNPは、患者が毒性の副作用を発現する可能性の増加、または患者がその治療に反応しない可能性に起因して、ある特定の治療から患者を除外するのに使用できる。また、薬理ゲノム学は製薬研究に使用されて、薬物の開発および選択のプロセスを支援することができる。(Linder et al. (1997), *Clinical Chemistry*, 43, 254; Marshall (1997), *Nature Biotechnology*, 15, 1249; International Patent Application WO 97/40462, Spectra Biomedical; and Schafer et al. (1998), *Nature Biotechnology*, 16, 3)。

【0032】

変異を検出するさまざまな技法が、ハイブリダイゼーション分析の原理に基づいて進化してきた。例えば、プライマー伸長アッセイでは、目的のヌクレオチドにまたがるDNA領域が、PCRまたは他の任意の好適な増幅技法によって増幅される。増幅後、プライマーは標的核酸配列とハイブリダイゼーションされ、そこでは、プライマーの3'末端の最後のヌクレオチドは、分析される標的配列のヌクレオチド位置のすぐ5'側にアニールする。アニールしたプライマーは、単一の標識されたヌクレオチド三リン酸によって伸長される。次いで、組み込まれたヌクレオチドが検出される。

【0033】

遺伝子もしくはPCR産物またはその断片もしくはその部分を含むいかなる核酸の配列は、当該技術分野において公知の任意の方法(例えば化学的シーケンシングまたは酵素的シーケンシング)によってシーケンスされる。DNAの「化学的シーケンシング」は、個々の塩基に特異的な反応を使用してDNAをランダムに切断する、MaxamおよびGilbertの方法(1977年)(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:560)を意味する。DNAの「酵素的シーケンシング」は、Sangerの方法(Sanger, et al., (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:5463)を意味する。

【0034】

シーケンシング技術を含む、従来の分子生物学、微生物学、および組み換えDNA技術は、当業者の間で周知である。そのような技術は、文献で十分に説明されている。例えば、Sambrook, Fritsch & Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (herein "Sambrook, et al., 1989"); *DNA Cloning: A Practical Approach*, Volumes I and II (D. N. Glover ed. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)); *Transcription And Translation* (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)); *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney, ed. (1986)); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press, (1986)); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F. M. Ausubel, et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (1994)を参照のこと。

【0035】

ペプチド核酸(PNA)親和性アッセイは、従来のハイブリダイゼーションアッセイか

ら派生している (Nielsen et al., Science 254:1497-1500 (1991); Egholm et al., J. Am. Chem. Soc. 114:1895-1897 (1992); James et al., Protein Science 3:1347-1350 (1994))。PNAは、ワトソン - クリック塩基対合則に従い、標準的なDNAハイブリダイゼーションアッセイに使用される構造的DNA模倣物である。PNA / DNAミスマッチは、DNA / DNAミスマッチより不安定で、相補的PNA / DNA鎖は、相補的DNA / DNA鎖より強力な結合を形成するので、PNAはハイブリダイゼーションアッセイにおいてより強力な特異性を示す。

#### 【0036】

DNAマイクロアレイは、遺伝的多様性および多型を検出するのに開発されてきた (Taton et al., Science 289:1757-60, 2000; Lockhart et al., Nature 405:827-836 (2000); Gerhold et al., Trends in Biochemical Sciences 24:168-73 (1999); Wallace, R. W., Molecular Medicine Today 3:384-89 (1997); Blanchard and Hood, Nature Biotechnology 149:1649 (1996))。DNAマイクロアレイは、ガラスまたはナイロン基板上で高速ロボットにより製造され、既知の識別物 (「プローブ (the probe)」) と共にDNA断片を含有する。マイクロアレイは、従来の塩基対合則に基づいて既知および未知のDNA断片 (「標的 (the target)」) を照合するために使用される。

#### 【0037】

タンパク質トランケーションテスト (PTT) もまた、遺伝子多型を検出するのによく使われる (Roest et al., Human Molecular Genetics 2:1719-1721, (1993); Van Der Luit et al., Genomics 20:1-4 (1994); Hogervorst et al., Nature Genetics 10: 208-212 (1995))。典型的にPTTでは、目的の遺伝子をPCR増幅し、インビトロ転写 / 翻訳に供して精製し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析する。

#### 【0038】

本明細書で使用される場合、「遺伝子検査」(遺伝子スクリーニングとも呼ばれる)は、対象の遺伝子型を決定するのに対象からの生体試料を検査することを指し、対象の遺伝子型が、特定の表現型を引き起こすか、もしくは特定の表現型への感受性を増加するかのいずれかである対立遺伝子 (またはその表現型に対する感受性を引き起こすか、もしくは増加する対立遺伝子と連鎖不平衡である対立遺伝子) を含んでなるか否かを決定するのに利用されうる。

#### 【0039】

「連鎖不平衡」とは、偶然に起こると予想されるよりも高い頻度で、異なる遺伝子位置に特定の対立遺伝子が一緒に起こる傾向を指す。対立遺伝子 (またはハプロタイプ) の任意の特定のセットの頻度が、それら個体集団頻度の積である場合、所与の座位における対立遺伝子は完全平衡にある。一般によく使われる連鎖不平衡の尺度  $r$  :

#### 【0040】

##### 【数1】

$$r = \frac{\hat{\Delta}_{AB}}{\sqrt{(\tilde{\pi}_A + \hat{D}_A)(\tilde{\pi}_B + \hat{D}_B)}}$$

式中、

$$\tilde{\pi}_A = \tilde{p}_A(1 - \tilde{p}_A), \tilde{\pi}_B = \tilde{p}_B(1 - \tilde{p}_B), \hat{D}_A = \tilde{P}_{AA} - \tilde{p}_A^2, \hat{D}_B = \tilde{P}_{BB} - \tilde{p}_B^2$$

$$\hat{\Delta}_{AB} = \frac{1}{n} n_{AB} - 2\tilde{p}_A\tilde{p}_B$$

#### 【0041】

$n r^2$  は、二対立遺伝子マーカーに関して自由度1で近似カイ二乗分布する。0.05

レベルで有意なカイ二乗統計量に相当する、 $n r^2$  が 3.84 を超えるような  $r$  を示す座位が、連鎖不平衡にあるとみなされる (BS Weir 1996 Genetic Data Analysis II Sinauer Associates, Sunderland, MD)。

【0042】

あるいは、正規化した連鎖不平衡の尺度は次のように定義できる：

【数2】

$$D'_{AB} = \begin{cases} \frac{D_{AB}}{\min(p_A p_B, p_a p_b)}, & D_{AB} < 0 \\ \frac{D_{AB}}{\min(p_A p_b, p_a p_B)}, & D_{AB} > 0 \end{cases} \quad 10$$

【0043】

$D'$  の値は -1.0 ~ 1.0 の範囲である。2つのマーカーに関する統計的に有意な絶対  $D'$  値が 0.3 以上である場合、それらは連鎖不平衡にあるとみなされる。

【0044】

本明細書で使用される場合、「ハプロタイプ」という語は、一緒に受け継がれる傾向にある、1つの染色体上にある密接に関連した対立遺伝子のセットを指す。VEGFA 遺伝子型は、VEGFA 対立遺伝子の存在を検出すること、または VEGFA 対立遺伝子と連鎖不平衡にあることが知られている遺伝子マーカーを検出することによって同定できる。遺伝子型とは、単一遺伝子中の規定された位置における多様性、例えば 1, 1, 1, 2, 2, 2 を指す。 20

【0045】

本明細書で使用される場合、「多座位の」遺伝子型 (ハプロタイプとしても知られる) の決定とは、1つより多くの座位に存在する対立遺伝子の個体内での検出を指す。

【0046】

本明細書で使用される場合、対立遺伝子または多型を検出する方法としては、遺伝学的手法が挙げられるが、それらに限定されない。検出される対立遺伝子もしくは多型は、個体の表現型に影響を及ぼすことに機能的に関与しうるか、または機能的な多型 / 対立遺伝子と連鎖不平衡にある対立遺伝子もしくは多型でありうる。多型 / 対立遺伝子は、対象のゲノム DNA において証明されるが、当業者に明らかなように、この領域から転写または翻訳される RNA、cDNA、またはタンパク質配列から検出可能でもありうる。 30

【0047】

本発明の別の実施形態では、ラパチニブ、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは組成物は、前記ヒトに単剤療法として投与される。別の実施形態では、ラパチニブ、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは組成物は、少なくとも1つの他の抗新生物薬とともに投与される。1つの他の抗新生物薬は、限定されないが、トラスツズマブ、ペルツズマブ、カベシタピン、パクリタキセル、カルボプラチン、パゾパニブ、およびレトロゾールの群から選択されうる。 40

【0048】

本発明の方法は、限定されないが EGFR、HER2 / erbbB-2、VEGF、VEGFR、ならびに限定されないが PI3K、Akt、および mTOR を含む細胞内伝達タンパク質の阻害に影響を受け易いがん、ならびに原発性および転移性両方の頭頸部がん、乳がん、肺がん、結腸がん、卵巣がん、および前立腺がんを含むいかなるがんをもつと診断されたヒト対象またはそれらいかなるがんを罹患しているヒト対象に使用されうる。該方法はまた、ラパチニブを用いて治療されているいかなるヒト対象にも使用されうる。

【0049】

当該技術分野において公知であるいかなる好適な技法を使用して、DNA ポリヌクレオチド配列を決定すること、または多型遺伝子からの RNA 転写産物の対応配列を検出する 50

こと、または核酸多型がコードされているタンパク質に変化をもたらす場合、コードされているタンパク質におけるそのようなアミノ酸配列変化を検出することによって、多型対立遺伝子は検出されうる。典型的には、タイピングに利用されるポリヌクレオチドは、個体からのゲノム材料を使用して作られたライブラリ（例えば、cDNAライブラリ）中などの、ゲノムDNA、またはゲノムポリヌクレオチド配列由来のポリヌクレオチド断片である。多型は、個体からのポリヌクレオチドまたはタンパク質試料を多型に特異的な結合剤を接触させること、およびその結合剤がポリヌクレオチドまたはタンパク質に結合するが否かを決定すること含んでなり、結合する場合、多型が存在することを示す方法で検出されうる。結合剤はまた、多型の片側または両側に隣接するヌクレオチドおよびアミノ酸、例えば、合計または片側に少なくとも2個、5個、10個、15個以上の隣接ヌクレオチドまたはアミノ酸に結合しうる。ポリヌクレオチドにおいて多型の存在が決定されている場合、二本鎖の形で検出されうるが、典型的には一本鎖の形で検出される。

10

#### 【0050】

結合剤は、典型的に長さが少なくとも10個のヌクレオチド、例えば、少なくとも15個、20個、30個以上のヌクレオチドであるポリヌクレオチド（一本鎖または二重鎖）でありうる。該方法で使用されるポリヌクレオチド剤は、一般には目的の多型および隣接する配列に、配列特異的に結合する（例えば、ワトソン-クリック塩基対合に従ってハイブリダイゼーションする）ことになり、よって典型的には、多型および隣接する領域の配列に完全又は部分的に相補的である配列を有する。結合剤は、ワトソン-クリック塩基対合に関与することができる構成単位（プリンもしくはピリミジン類似体、ペプチド核酸、またはロックド核酸（LNA）などのRNA誘導体など）を含んでなるポリヌクレオチドに構造的に類似する分子でありうる。その結合剤は、典型的に長さが少なくとも10アミノ酸である、例えば、少なくとも20、30、50、または100個以上のアミノ酸であるタンパク質でありうる。その結合剤は、抗体（例えば、そのような抗体の多型への結合能をもつ断片）でありうる。

20

#### 【0051】

本方法の1つの実施形態では、結合剤はプローブとして使用される。プローブは標識されてもよく、間接的に標識可能であってもよい。個体のポリヌクレオチドまたはタンパク質上（に結合した）プローブの存在を検出するのに、標識の検出が使用されうる。プローブのポリヌクレオチドまたはタンパク質への結合は、プローブまたはポリヌクレオチドもしくはタンパク質のいずれかを固定化するのに（よって、1つの組成物または溶液からそれを分離するのに）使用されうる。

30

#### 【0052】

本発明の別の実施形態では、個体のポリヌクレオチドまたはタンパク質は、固体担体上に固定化され、次にプローブと接触する。次いで、（多型へのその結合を介して）固体担体に固定化されたプローブの存在は、プローブ上の標識を検出することによって直接的に検出されるか、またはプローブを結合する部分とプローブを接触させることによって間接的に検出されるかのいずれかである。ポリヌクレオチド多型を検出する場合、その固体担体は、一般にニトロセルロースまたはナイロン製である。タンパク質多型の場合、該方法はELISA系に基づきうる。

40

#### 【0053】

本方法は、2つのオリゴヌクレオチドプローブが使用されるオリゴヌクレオチド連結アッセイに基づきうる。これらのプローブは、多型を含むポリヌクレオチドの近隣領域に結合し、（結合後に）適切な連結酵素によって、2つのプローブをつなぎ合わせることができる。しかしながら、2つのプローブは、多型を含むポリヌクレオチドのみに（連結可能な形で）結合することになるので、連結された生成物の検出を使用して、多型の存在を決定しうる。

#### 【0054】

1つの実施形態では、多型を検出するのにヘテロ二本鎖分析に基づく系に、プローブが使用される。そのような系では、プローブは多型を含むポリヌクレオチド配列に結合した

50

とき、多型が起こるところにおいてヘテロ二本鎖を形成する（つまり、それは二本鎖構造を形成しない）。そのようなヘテロ二重鎖構造は、一本鎖または二本鎖特異的な酵素の使用によって検出されることができる。典型的には、プローブはRNAプローブであり、使用される酵素はヘテロ二本鎖領域を切断するRNAse Hであり、よって、検出される多型が切断生成物の検出の手段を用いて検出できるようになる。

【0055】

該方法は、例えば、PCR Methods and Applications 3:268-71 (1994)およびProc. Natl. Acad. Sci. 85:4397-4401 (1998)に記載されている蛍光化学切断ミスマッチ分析 (fluorescent chemical cleavage mismatch analysis) に基づきうる。

【0056】

1つの実施形態では、ポリヌクレオチド剤は、多型を含むポリヌクレオチドに結合する場合（すなわち配列特異的または対立遺伝子特異的PCR系）にのみ、PCR反应用プライマーとして機能する。よって、多型が個体のポリヌクレオチドに存在する場合にのみPCR産物が作られることになり、多型の存在はPCR産物の検出によって決定される。好ましくは、多型に相補的であるプライマーの領域は、プライマーの3'末端またはその近くである。この系の1つの実施形態では、ポリヌクレオチド剤は、野生型配列には結合するが、PCR反应用のプライマーとして機能しないことになる。

【0057】

該方法は、制限酵素断片長多型 (RFLP) に基づく系でありうる。ポリヌクレオチドにおける多型の存在が、制限酵素によって認識される制限酵素切断部位を作成または破壊する場合、この系を使用することができる。よって、そのような多型を有するポリヌクレオチドを処理すると、対応する野生型配列に比較して、異なる産物が作られることにつながる。よって、特定の制限酵素分解生成物の存在の検出を使用して、多型の存在を決定することができる。

【0058】

多型の存在は、多型の存在がゲル電気泳動の際のポリヌクレオチドまたはタンパク質の移動度におこす変化に基づいて決定されうる。ポリヌクレオチドの場合、一本鎖高次構造多型 (SSCP) 分析が使用されうる。この分析は、対応する野生型ポリヌクレオチドに比較して、変性ゲルでの一本鎖ポリヌクレオチドを測定し、移動度に違いが検出されることが、多型の存在を示す。変性勾配ゲル電気泳動 (DGGE) は、類似の系であり、ポリヌクレオチドは変性勾配をもつゲルを通して電気泳動され、対応する野生型ポリヌクレオチドに比較した移動度の違いが、多型の存在を示す。

【0059】

多型の存在は、TAQMAN (商標) PCR検出システムなどの、蛍光色素および消光剤に基づくPCRアッセイを使用して決定されうる。多型を検出する別の方法では、多型領域を含んでなるポリヌクレオチドは、多型を含有する領域をまたがって配列が決定され、多型の存在を決定する。

【0060】

本方法における使用に好適な多様な他の検出技法は、多型を検出、同定、および/または鑑別する方法に精通する者に明らかであろう。そのような検出技法としては、直接配列決定法、「分子ビーコン」の使用 (ハイブリダイゼーションすると蛍光を発するオリゴヌクレオチドプローブ、リアルタイム蛍光PCRにおいて有用; 例えば、Marras et al., Genet Anal 14:151 (1999)を参照されたい); 電気化学検出 (DNA塩基または糖の還元または酸化; Thorpらへの米国特許第5,871,918号を参照されたい); ローリングサークル型増幅 (例えば、Gusev et al., Am J Pathol 159:63 (2001)を参照されたい); Third Wave Technologies社 (ウィスコンシン州マディソン) INVAADER (商標) PCRに基づかない検出法 (non-PCR based detection method) (例えば、Lieder, Advance for Laboratory Managers, 70 (2000)を参照されたい) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0061】

したがって、当該技術分野において公知であるようないかなる好適な検出技法が、本方法に利用されうる。

【0062】

本明細書で使用される場合、対象の遺伝子型を「決定すること」は、対象が以前に遺伝子型判定され、以前の遺伝子検査の結果が利用可能である場合には、遺伝子型判定技術を実施することを必要とせず、したがって対象の遺伝子型を決定することは、以前に完了した遺伝子分析に参照することを包含する。

【0063】

また本発明は、予測的な（患者ケア）検査または検査キットも提供する。そのような検査は、遺伝子型と治療用化合物に対する表現型反応との既定の関連性に基づいて、ラパチニブなどのチロシンキナーゼ阻害剤を含む医薬化合物の治療用途において助けとなるであろう。そのような検査は、以下を含むさまざまな形式をとりうる。

【0064】

（a）既定の対立遺伝子および／または多型の存在についてDNAまたはRNAを分析する検査。適切な検査キットは、1つ以上の次の試薬または計測装置を含みうる：ポリヌクレオチドに作用できる酵素（典型的には、ポリメラーゼまたは制限酵素）、酵素試薬に好適なバッファー、多型に隣接する領域に結合するPCRプライマー、陽性対照または陰性対照（または両方）、およびゲル電気泳動装置。製品は、最新の技術によって記載されるチップ技術の1つを利用してもよい。その検査キットは、ある特定の遺伝子型の存在と、ある特定の医薬化合物を用いて治療される対象が過敏反応を経験する可能性との相関を記した、印刷された取扱説明書または機械で読み取り可能な取扱説明書を含むであろう。

【0065】

（b）既定の多型または対立遺伝子の存在を示す、タンパク質または代謝産物などの対象の身体に由来する材料を分析する検査。適切な検査キットは、既定の多型領域（または多型に隣接する特定領域）に特異的に結合する分子、アプタマー、ペプチド、または抗体（例えば、抗体断片）を含んでもよい。そのキットは、1つ以上の（当該技術分野において公知である）さらなる試薬または計測装置を追加して含んでもよい。また、その検査キットは、ある特定の多型または遺伝子型の存在と、ある特定の合成ヌクレオシド類似体を用いて治療される対象が規定された表現型、反応、または臨床結果を経験する可能性との相関を記した、印刷された取扱説明書または機械で読み取り可能な取扱説明書を含むであろう。

【0066】

好適な検査用生体試料は、細胞およびDNAを含んでなるものであり、例えば、血液または血液成分、乾燥血痕、尿、口腔粘膜、および唾液が挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子およびペプチド／タンパク質検査用の好適なサンプルは、当該技術分野において周知である。

【0067】

典型的には、治療されている感受性のある腫瘍に対して活性を有する任意の抗新生物剤が、本発明におけるがんの治療において共投与されうる。そのような薬剤の例は、Cancer Principles and Practice of Oncology by V.T. Devita and S. Hellman (editors), 6<sup>th</sup> edition (February 15, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishersに見ることができる。薬物および関連するがんの具体的な特徴に基づいて、当業者ならどの薬剤の組み合わせが有用であるかを見定めることができるであろう。本発明において有用な典型的な抗新生物剤としては、ジテルペノイドおよびピンカルカロイドなどの微小管阻害薬；プラチナ配位化合物；ナイトロジェンマスタード、オキサザホスホリン、アルキルスルホン酸塩、ニトロソ尿素、およびトリアゼンなどのアルキル化剤；アンソラサイクリン、アクチノマイシンおよびブレオマイシンなどの抗生物質；エピドポフィロトキシンなどのトポイソメラーゼII抑制剤；プリンおよびピリミジン類似体ならびに葉酸代謝拮抗合成物などの代謝拮抗剤；カンプトセシンなどのトポイソメラーゼI抑制剤；ホルモンおよびホルモン類似体；シグナル伝達経路阻害剤；非受容体型チロシンキナーゼ血管新生阻害剤；

10

20

30

40

50

免疫療法剤；アポトーシス促進剤；ならびに細胞周期シグナル伝達阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【 0 0 6 8 】

抗微小管または抗有糸分裂薬は、細胞周期のM期または分裂期中に腫瘍細胞の微小管にして作用する、細胞周期特異的な薬剤である。抗微小管薬としては、例えば、ジテルペノイドおよびピンカルカロイドが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【 0 0 6 9 】

天然のソースに由来するジテルペノイドは、細胞周期のG<sub>2</sub>/M期で作用する細胞周期特異的な抗がん剤である。ジテルペノイドは、微小管の $\alpha$ -チューブリンサブユニットに結合することによって、このタンパク質を安定化すると考えられている。次いで、そのタンパク質の分解が阻害され、有糸分裂が停止され、細胞死が続いて起こると思われる。ジテルペノイドとしては、例えば、パクリタキセルおよびその類似体ドセタキセルが挙げられるが、これらに限定されない。

10

#### 【 0 0 7 0 】

パクリタキセル、5, 20-エポキシ-1, 2, 4, 7, 10, 13-ヘキサ-ヒドロキシタキサ-11-エン-9-オン-4, 10-ジアセート-2-安息香酸塩-13-エステルと(2R, 3S)-N-ベンゾイル-3-フェニルイソセリンは、セイヨウイチョ木であるタイヘイヨウイチョイ(*Taxus brevifolia*)から単離された天然のジテルペン生成物であり、注射液タキソール(商標)として市販されている。それは、テルペンのタキサンファミリーのメンバーである。それは、1971年にWaniらによって最初に単離され(J. Am. Chem. Soc., 93:2325, 1971)、彼らは、その構造を化学的およびX線結晶学的方法によって明らかにした。その作用の1つの機序は、パクリタキセルのチューブリンに結合する性質に関連し、それによってがん細胞の増殖を阻害する。Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277:665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem, 256: 10435-10441 (1981)。幾つかのパクリタキセル誘導体の合成および抗がん作用の概説に関しては:D. G. I. Kingston et al., Studies in Organic Chemistry vol. 26, entitled "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) pp 219-235を参照されたい。

20

#### 【 0 0 7 1 】

パクリタキセルは、米国では難治性の卵巣がんの治療(Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111:273, 1989)、および乳がんの治療(Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797, 1991。)に臨床での使用が認められている。それは、皮膚の新生物(Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46)および頭頸部がん(Forastire et. al., Sem. Oncol., 20:56, 1990)の治療の有力な候補である。また、その化合物は、多発性嚢胞腎(Woo et. al., Nature, 368:750, 1994)、肺がんおよびマラリアの治療についても可能性を示す。パクリタキセルでの患者の治療は、閾値濃度(50 nM)を超える投薬期間に関連して(Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) p.16-23, 1995)、骨髄抑制(multiple cell lineages, Ignoff, R.J. et. al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998)を引き起こす。

30

40

#### 【 0 0 7 2 】

ドセタキセル、(2R, 3S)-N-カルボキシ-3-フェニルイソセリン, N-tert-ブチルエステル, 13-エステルと5, 20-エポキシ-1, 2, 4, 7, 10, 13-ヘキサヒドロキシタキサ-11-エン-9-オン-4-アセート-2-安息香酸塩、三水和物は、タキソテル(商標)として注射液で市販されている。ドセタキセルは、乳がんの治療に適応される。ドセタキセルは、ヨーロッパイチョ木の針葉から抽出される、天然の前駆体である10-デアセチル-パッカチンIIIを使用して調製されるパクリタキセル(その項を参照されたい)の半合成誘導体である。ドセタキセルの用量制限毒性は、好中球減少症である。

50



## 【 0 0 7 3 】

ビンカアルカロイドは、ツルニチニチソウ植物に由来する細胞周期特異的な抗腫瘍薬である。ビンカアルカロイドは、チューブリンに特異的に結合することによって細胞周期のM期（有糸分裂）で作用する。結果として、結合されたチューブリン分子は、微小管に重合することができない。有糸分裂は、中期で停止し、細胞死がそれに続くと考えられている。ビンカアルカロイドとしては、例えば、ビンブラスチン、ピンクリスチン、およびビノレルビンが挙げられるが、これらに限定されない。

## 【 0 0 7 4 】

ビンブラスチン、ビンカロイコブラスチン硫酸塩は、注射液としてベルバン（商標）で市販されている。さまざまな固形腫瘍の二次選択治療として適応される可能性もあるが、精巣癌ならびにホジキン病およびリンパ性および組織球性リンパ腫を含むさまざまなリンパ腫の治療に主として適応される。骨髄抑制が、ビンブラスチンの用量制限副作用である。

10

## 【 0 0 7 5 】

ピンクリスチン、ビンカロイコブラスチン、22 - オキソ - 、硫酸塩は、オンコビン（商標）として注射液で市販されている。ピンクリスチンは、急性白血病の治療に適応され、またホジキンおよび非ホジキン悪性リンパ腫の治療レジメンにおいても使用が見られる。脱毛症および神経学的な影響が、ピンクリスチンの最も頻度の高い副作用であり、より少ない頻度で骨髄抑制および胃腸粘膜炎の影響が起こる。

20

## 【 0 0 7 6 】

ビノレルビン酒石酸塩（ナベルビン（商標））の注射液として市販されるビノレルビン、3', 4' - ジデヒドロ - 4' - デオキシ - C' - ノルビンカロイコブラスチン [ R - ( R \* , R \* ) - 2 , 3 - ジヒドロキシブタンジオアート ( 1 : 2 ) ( 塩 ) ] は、半合成のビンカアルカロイドである。ビノレルビンは、単剤として、またはシスプラチンなどの他の化学療法剤と組み合わせて、さまざまな固形腫瘍、特に非小細胞肺、進行性の乳がん、およびホルモン抵抗性前立腺がんの治療に適応される。骨髄抑制が、ビノレルビンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

## 【 0 0 7 7 】

プラチナ配位化合物は、DNAと相互に作用する細胞周期非特異的な抗がん剤である。プラチナ錯体は、腫瘍細胞に入り、アクア化を経て、DNAとの鎖内および鎖間架橋を形成し、腫瘍に有害な生物学的効果を引き起こす。プラチナ配位化合物としては、例えば、シスプラチンおよびカルボプラチンが挙げられるが、これらに限定されない。

30

## 【 0 0 7 8 】

シスプラチン、cis - ジアンミンジクロロ白金は、注射液としてブラチノール（商標）で市販されている。シスプラチンは、転移精巣がんおよび卵巣がんならびに進行性膀胱がんの治療に主に適応される。シスプラチンの主な用量制限副作用は、水和および利尿によって制御される腎臓毒性、ならびに聴器毒性である。

## 【 0 0 7 9 】

カルボプラチン、白金、ジアンミン [ 1 , 1 - シクロブタン - ジカルボキシレート ( 2 - ) - O , O' ] は、注射液としてパラプラチン（商標）で市販されている。カルボプラチンは、進行性の卵巣がんの1次および2次選択治療に主に適応される。骨髄抑制が、カルボプラチンの用量制限毒性である。

40

## 【 0 0 8 0 】

アルキル化剤は、細胞周期非特異的な抗がん特異的薬剤であり、強い求電子物質である。典型的には、アルキル化剤は、アルキル化によって、リン酸、アミノ、スルフヒドリル、ヒドロキシル、カルボキシル、およびイミダゾール基などのDNA分子の求核部分を通してDNAとの共有結合を形成する。そのようなアルキル化は、核酸の機能を妨げて細胞死に導く。アルキル化剤としては、例えば、シクロホスファミド、メルファラン、およびクロラムブシルなどのナイトロジェンマスタード；ブスルファンなどのアルキルスルホン酸塩；カルムスチンなどのニトロソウレア；ならびにダカルバジンなどのトリアゼンが挙

50

げられるが、これらに限定されない。

【 0 0 8 1 】

シクロホスファミド、2 - [ ビス ( 2 - クロロエチル ) アミノ ] テトラヒドロ - 2 H - 1 , 3 , 2 - オキサザホスホリン 2 - オキシドー水和物は、注射液または錠剤としてシトキサン ( 商標 ) で市販されている。シクロホスファミドは、単剤として、または他の化学療法剤と組み合わせて悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、および白血病の治療に適応される。脱毛症、吐き気、嘔吐および白血球減少が、シクロホスファミドの最も頻度の高い用量制限副作用である。

【 0 0 8 2 】

メルファラン、4 - [ ビス ( 2 - クロロエチル ) アミノ ] - L - フェニルアラニンは、注射液または錠剤としてアルケラン ( 商標 ) で市販されている。メルファランは、多発性骨髄腫および卵巣の切除不能な上皮性腫瘍の緩和治療に適応される。骨髄抑制が、メルファランの最も頻度の高い用量制限副作用である。

10

【 0 0 8 3 】

クロラムブシル、4 - [ ビス ( 2 - クロロエチル ) アミノ ] ベンゼンブタン酸は、リユーケラン ( 商標 ) 錠剤として市販されている。クロラムブシルは、慢性リンパ性白血病、ならびにリンパ肉腫、巨大濾胞性リンパ腫、およびホジキン病のなどの悪性リンパ腫の緩和治療に適応される。骨髄抑制が、クロラムブシルの最も頻度の高い用量制限副作用である。

20

【 0 0 8 4 】

ブスルファン、1 , 4 - ブタンジオールジメタンスルホン酸塩は、ミレラン ( 商標 ) 錠剤として市販されている。ブスルファンは、慢性骨髄性白血病の緩和治療に適応される。骨髄抑制が、ブスルファンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

【 0 0 8 5 】

カルムスチン、1 , 3 - [ ビス ( 2 - クロロエチル ) - 1 - ニトロソウレアは、Bi C N U ( 商標 ) として凍結乾燥物質の単一バイアルで市販されている。カルムスチンは、単剤として、または他の薬剤と組み合わせて、脳腫瘍、多発性骨髄腫、ホジキン病、および非ホジキンリンパ腫の緩和治療に適応される。遅発性骨髄抑制が、カルムスチンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

30

【 0 0 8 6 】

ダカルバジン、5 - ( 3 , 3 - ジメチル - 1 - トリアゼノ ) - イミダゾール - 4 - カルボキサミドは、D T I C - D o m e ( 商標 ) として物質の単一バイアルで市販されている。ダカルバジンは、転移悪性黒色腫の治療、および他の薬剤と組み合わせてホジキン病の二次選択治療に適応される。吐き気、嘔吐、および食欲不振が、ダカルバジンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

【 0 0 8 7 】

抗生物質抗新生物薬は、DNAに結合または挿入する細胞周期非特異的な薬剤である。典型的には、そのような作用により、安定したDNA複合体または鎖切断が生じ、核酸の通常の機能を妨げ、細胞死に導く。抗生物質抗腫瘍薬としては、例えば、ダクチノマイシンのようなアクチノマイシン、ダウノルビシンおよびドキソルビシンのようなアントラサイクリン；ならびにブレオマイシンが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【 0 0 8 8 】

ダクチノマイシンは、アクチノマイシンDとしても知られ、コスメゲン ( 商標 ) として注射可能な形態で市販されている。ダクチノマイシンは、ウィルムス腫瘍および横紋筋肉腫の治療に適応される。吐き気、嘔吐、および食欲不振が、ダクチノマイシンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

【 0 0 8 9 】

ダウノルビシン、( 8 S - c i s - ) - 8 - アセチル - 10 - [ ( 3 - アミノ - 2 , 3 , 6 - トリデオキシ - L - リキソ - ヘキソピラノシル ) オキシ ] - 7 , 8 , 9 , 10 - テトラヒドロ - 6 , 8 , 11 - トリヒドロキシ - 1 - メトキシ - 5 , 12 ナフタセンジ

50

オン塩酸塩は、DAUNOXOME（商標）としてリボソームの注射可能な形態、または CERUBIDINE（商標）として注射可能物質で市販されている。ダウノルビシンは、急性非リンパ性白血病および進行性HIV関連カポジ肉腫の治療における寛解導入に適応される。骨髄抑制が、ダウノルビシンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

#### 【0090】

ドキソルビシン、(8S, 10S) - 10 - [ (3 - アミノ - 2, 3, 6 - トリデオキシ - L - リキソ - ヘキソピラノシル) オキシ ] - 8 - グリコロイル、7, 8, 9, 10 - テトラヒドロ - 6, 8, 11 - トリヒドロキシ - 1 - メトキシ - 5, 12 ナフタセンジオン塩酸塩は、RUBEX（商標）またはADRIAMYCIN RDF（商標）として注射可能な形態で市販されている。ドキソルビシンは、急性リンパ芽球性白血病および急性骨髄芽球性白血病の治療に主に適応されるが、幾つかの固形腫瘍およびリンパ腫の治療にも有用な成分である。骨髄抑制が、ドキソルビシンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

10

#### 【0091】

ブレオマイシン、ストレプトマイセス・バーチシラス (*Streptomyces verticillus*) 株から分離される細胞毒性の糖ペプチド抗生物質混合物は、ブレノキサン（商標）として市販されている。ブレオマイシンは、単剤として、または他の薬剤と組み合わせて、扁平上皮癌、リンパ腫、および精巣がんの緩和治療として適応される。肺毒性または皮膚毒性が、ブレオマイシンの最も頻度の高い用量制限副作用である。

20

#### 【0092】

トポイソメラーゼII阻害剤としては、エピドフィロトキシンが挙げられるが、これに限定されない。

#### 【0093】

エピドフィロトキシンは、マンドレイク植物に由来する、細胞周期特異的な抗腫瘍薬である。エピドフィロトキシンは、典型的には、トポイソメラーゼIIおよびDNAと三重複合体を形成することによって、細胞周期のS期およびG<sub>2</sub>期にある細胞に作用し、DNA鎖切断を引き起こす。その鎖切断が蓄積し、細胞死が続いて起こる。エピドフィロトキシンとしては、例えば、エトポシドおよびテニポシドが挙げられるが、これらに限定されない。

30

#### 【0094】

エトポシド、4' - デメチル - エピドフィロトキシン9 [ 4, 6 - 0 - (R) - エチリデン - D - グルコピラノシド ] は、VePESID（商標）として注射液またはカプセル剤で市販されており、一般には、VP - 16として知られている。エトポシドは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、精巣がんおよび非小細胞肺癌の治療に適応される。骨髄抑制が、エトポシドの最も頻度の高い副作用である。白血球減少症の発生が、血小板減少症より深刻である傾向にある。

#### 【0095】

テニポシド、4' - デメチル - エピドフィロトキシン9 [ 4, 6 - 0 - (R) - テニリデン - D - グルコピラノシド ] は、VUMON（商標）として注射液で市販されており、一般にはVM - 26として知られている。テニポシドは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、小児の急性白血病の治療に適応される。骨髄抑制が、テニポシドの最も頻度の高い用量制限副作用である。テニポシドは、白血球減少症および血小板減少症の両方を誘発する。

40

#### 【0096】

代謝拮抗腫瘍剤は、DNA合成を阻害すること、またはプリンもしくはピリミジン塩基合成を阻害し、それによりDNA合成を制限することによって、細胞周期のS期（DNA合成）に作用する細胞周期特異的な抗腫瘍薬である。結果として、S期が進まず、細胞死が続いて起こる。代謝拮抗抗腫瘍薬としては、例えば、フルオロウラシル、メトトレキサート、シタラビン、メルカプトプリン、チオグアニン、およびゲムシタビンが挙げられるが、これらに限定されない。

50

## 【 0 0 9 7 】

5 - フルオロウラシル、5 - フルオロ - 2 , 4 - ( 1 H , 3 H ) ピリミジンジオンは、フルオロウラシルとして市販されている。5 - フルオロウラシルの投与は、チミジル酸合成の阻害につながり、またRNAおよびDNAの両方に取り込まれる。その結果は典型的には細胞死である。5 - フルオロウラシルは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、胸部、結腸、直腸、胃および膵臓の上皮性悪性腫瘍の治療に適応される。骨髄抑制および粘膜炎が、5 - フルオロウラシルの用量制限副作用である。他のフルオロピリミジン類似体としては、5 - フルオロデオキシウリジン（フロキシウリジン）および5 - フルオロデオキシウリジンリン酸が挙げられる。

## 【 0 0 9 8 】

シタラビン、4 - アミノ - 1 - D - アラビノフラノシル - 2 ( 1 H ) - ピリミジンは、サイトサル - U ( 商標 ) として市販されており、一般にはAra - Cとして知られている。シタラビンは、伸長しているDNA鎖にシタラビンを末端で取り込むことによってDNA鎖伸長を阻害することによって、S期にて細胞周期特異性を示すと考えられている。シタラビンは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、急性白血病の治療に適応される。他のシチジン類似体としては、5 - アザシチジンおよび2' , 2' - ジフルオロデオキシシチジン（ゲムシタビン）が挙げられる。シタラビンは、白血球減少症、血小板減少症、および粘膜炎を誘発する。

## 【 0 0 9 9 】

メルカプトプリン、1 , 7 - ジヒドロ - 6 H - プリン - 6 - チオンー水和物は、PURINETHOL ( 商標 ) として市販されている。メルカプトプリンは、まだ今のところ特定されていない機序によってDNA合成を阻害することによって、S期にて細胞周期特異性を示す。メルカプトプリンは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、急性白血病の治療に適応される。骨髄抑制および胃腸粘膜炎が、メルカプトプリンの高い投与量での予期される副作用である。有用なメルカプトプリン類似体は、アザチオプリンである。

## 【 0 1 0 0 】

チオグアニン、2 - アミノ - 1 , 7 - ジヒドロ - 6 H - プリン - 6 - チオンは、TABLOID ( 商標 ) として市販されている。チオグアニンは、まだ今のところ特定されていない機序によってDNA合成を阻害することによって、S期にて細胞周期特異性を示す。チオグアニンは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、急性白血病の治療に適応される。白血球減少症、血小板減少症、および貧血症を含む骨髄抑制が、チオグアニン投与の最も頻度の高い用量制限副作用である。しかし、胃腸の副作用が起こり、用量制限でありうる。他のプリン類似体としては、ペントスタチン、エリスロヒドロキシノニルアデニン、リン酸フルダラビン、およびクラドリビンが挙げられる。

## 【 0 1 0 1 】

ゲムシタビン、2' - デオキシ - 2' , 2' - ジフルオロシチジンー塩酸塩 ( 異性体 ) は、GEMZAR ( 商標 ) として市販されている。ゲムシタビンは、G1 / S期境界を通して細胞の発達を阻止することによって、S期にて細胞周期特異性を示す。ゲムシタビンは、シスプラチンと組み合わせて局所進行性の非小細胞肺癌の治療に適応され、単独で局所進行性の膵がんの治療に適応される。白血球減少症、血小板減少症、および貧血症を含む骨髄抑制が、ゲムシタビン投与の最も頻度の高い用量制限副作用である。

## 【 0 1 0 2 】

メトトレキサート、N - [ 4 [ [ ( 2 , 4 - ジアミノ - 6 - プテリジニル ) メチル ] メチルアミノ ] ベンゾイル ] - L - グルタミン酸は、メトトレキサートナトリウムとして市販されている。メトトレキサートは、プリンヌクレオチドおよびチミジルの合成酸に必要とされるジヒドロ葉酸還元酵素 ( dihydrofolate reductase ) の阻害を通してDNA合成、修復および/または複製を阻害することによって、S期にて細胞周期作用を特異的に示す。メトトレキサートは、単剤または他の化学療法剤と組み合わせて、絨毛がん、髄膜白血病、非ホジキンリンパ腫、ならびに胸部、頭、首、卵巣および膀胱の上皮性悪性腫瘍の治療に適応される。骨髄抑制 ( 白血球減少症、血小板減少症、および貧血症 ) ならびに

10

20

30

40

50

粘膜炎が、メトトレキサート投与の予期される副作用である。

【0103】

カンプトセシンおよびカンプトセシン誘導体を含むカンプトセシンが、トポイソメラーゼⅠ阻害剤として使用可能または開発中である。カンプトセシン細胞毒性活性は、そのトポイソメラーゼⅠ阻害活性に関連すると考えられている。カンプトセシンとしては、イリノテカン、トポテカン、および後述の7-(4-メチルピペラジノ-メチレン)-10,11-エチレンジオキシ-20-カンプトセシンのさまざまな光学的形態が挙げられるが、これらに限定されない。

【0104】

イリノテカンHCl、(4S)-4,11-ジエチル-4-ヒドロキシ-9-[(4-ピペリジノピペリジノ)カルボニルオキシ]-1H-ピラノ[3',4',6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14(4H,12H)-ジオン塩酸塩は、CAMPTOSAR(商標)として注射液で市販されている。

10

【0105】

イリノテカンは、その活性代謝産物SN-38とともにトポイソメラーゼⅠ-DNA複合体に結合するカンプトセシンの誘導体である。細胞毒性は、トポイソメラーゼⅠ:DNA:イリノテカンまたはSN-38三重複合体の複製酵素との相互作用によって引き起こされる修復不可能な二重鎖切断の結果として起こると考えられている。イリノテカンは、結腸または直腸の転移がんの治療に適応される。イリノテカンHClの用量制限副作用は、好中球減少症を含む骨髄抑制、および下痢を含むGI影響である。

20

【0106】

トポテカンHCl、(S)-10-[(ジメチルアミノ)メチル]-4-エチル-4,9-ジヒドロキシ-1H-ピラノ[3',4',6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-3,14-(4H,12H)-ジオン塩酸塩は、注射液HYCAMTIN(商標)として市販されている。トポテカンは、トポイソメラーゼⅠ-DNA複合体に結合し、DNA分子のねじれ歪みに応えてトポイソメラーゼⅠによって引き起こされる一本鎖切断の再連結を防ぐカンプトセシンの誘導体である。トポテカンは、卵巣がんおよび小細胞肺癌転移性の上皮性悪性腫瘍の二次選択治療に適応される。トポテカンHClの用量制限副作用は、骨髄抑制、主に好中球減少症である。

【0107】

リツキシマブは、リツキサン(商標)およびマブセラ(商標)として販売されているキメラモノクローナル抗体である。リツキシマブはB細胞上のCD20に結合し、細胞アポトーシスを引き起こす。リツキシマブは静脈内投与され、関節リウマチおよびB細胞非ホジキンリンパ腫の治療に認可されている。

30

【0108】

オフアツムマブは、アーゼラ(商標)として販売されている完全ヒトモノクローナル抗体である。オフアツムマブはB細胞上のCD20に結合し、フルダラビン(フルダラ)およびアレムツズマブ(キャンパス)での治療が無効である成人における慢性リンパ性白血病(CLL;白血球のがんの一種)を治療するのに使用される。

【0109】

トラスツズマブ(ハーセプチン(商標))は、HER2受容体に結合するヒト化モノクローナル抗体である。その元来の適応症は、HER2陽性乳がんである。

40

【0110】

セツキシマブ(アービタックス(商標))は、上皮成長因子受容体(EGFR)を阻害するマウス-ヒトキメラ抗体である。

【0111】

ペルツズマブ(2C4とも呼ばれる、商品名オムニタージュ)は、モノクローナル抗体である。「HER2二量体化阻害剤」と呼ばれる薬剤系におけるその類の最初のものである。HER2に結合することによって、他のHER受容体とのHER2の二量体形成を阻害し、結果として腫瘍増殖を遅くすると仮定されている。ペルツズマブは、2001年1月4

50

日公開の国際公開第01/00245号に記載されている。

【0112】

mTOR阻害剤としては、ラパマイシン(FK506)およびラパログ、RAD001またはエベロリムス(Afinitor)、CCI-779またはテムシロリムス、AP23573、AZD8055、WYE-354、WYE-600、WYE-687ならびにPp121が挙げられるが、これらに限定されない。

【0113】

ベキサロテンは、ターグレチン(商標)として販売され、レチノイドX受容体(RXR)を選択的に活性化するレチノイドのサブクラスのメンバーである。これらのレチノイド受容体は、レチノイン酸受容体(RAR)の生物学的活性と異なる生物学的活性を有する。化学名は、4-[1-(5,6,7,8-テトラヒドロ-3,5,5,8,8-ペンタメチル-2-ナフタレニル)エテニル]安息香酸である。ベキサロテンは、少なくとも1つの他の薬剤で成功裏に治療することができなかった疾患の人々における皮膚T細胞リンパ腫(CTCL、皮膚がんの一種)を治療するのに使用される。

【0114】

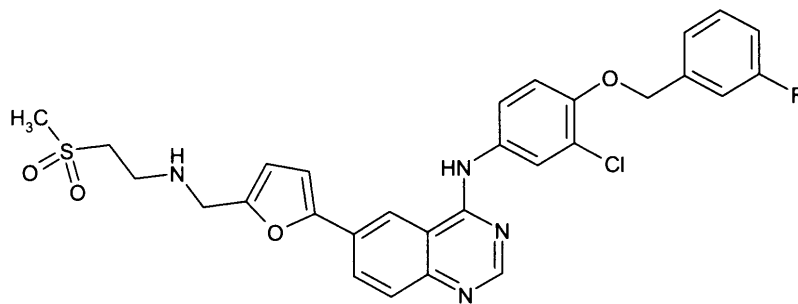
ソラフェニブは、ネクサパール(商標)として市販されており、マルチキナーゼ阻害剤と呼ばれる薬剤の類にある。その化学名は、4-[4-[4-クロロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]カルバモイルアミノ]フェノキシ]-N-メチル-ピリジン-2-カルボキサミドである。ソラフェニブは、進行性腎細胞がん(腎臓で発症するがんの一種)を治療するのに使用される。また、ソラフェニブは、切除不可能な肝細胞がん(手術で治療することができない肝がんの一種)を治療するのに使用される。

【0115】

erbB阻害剤としては、例えば、ラパチニブ、エルロチニブ、およびゲフィチニブが挙げられる。ラパチニブ、N-(3-クロロ-4-{[(3-フルオロフェニル)メチル]オキシ}フェニル)-6-[5-(2-{[2-(メチルスルホニル)エチル]アミノ}メチル)-2-フラニル]-4-キナゾリンアミン(図に示すように式Iで表わされる)は、erbB-1およびerbB-2(EGFRおよびHER2)チロシンキナーゼの強力な経口小分子二重阻害剤であり、HER2陽性転移乳がんの治療に対するカペシタピンと併せて認可されている。

【0116】

【化3】



I

【0117】

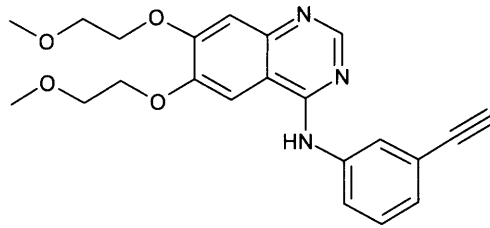
式(I)の化合物の遊離塩基、HCl塩、およびジトシラート塩は、1999年7月15日公開の国際公開第99/35146号および2002年1月10日公開の国際公開第02/02552号に開示されている手順に従って調製されうる。

【0118】

エルロチニブ、N-(3-エチニルフェニル)-6,7-ビス{[2-(メチルオキシ)エチル]オキシ}-4-キナゾリンアミン(商品名タルセバで市販されている)は、図

に示すように式 I I で表わされる：

【化 4】



I I

10

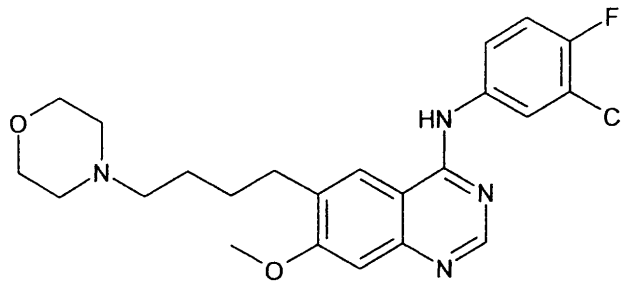
【0119】

エルロチニブの遊離塩基および H C l 塩は、例えば、米国特許第 5 , 7 4 7 , 4 9 8 号明細書、実施例 2 0 に従って調製されうる。

【0120】

ゲフィチニブ、4 - キナゾリンアミン, N - ( 3 - クロロ - 4 - フルオロフェニル ) - 7 - メトキシ - 6 - [ 3 - 4 - モルホリン ) プロポキシ ] は、図に示すように式 I I I で表わされる：

【化 5】



I I I

20

30

【0121】

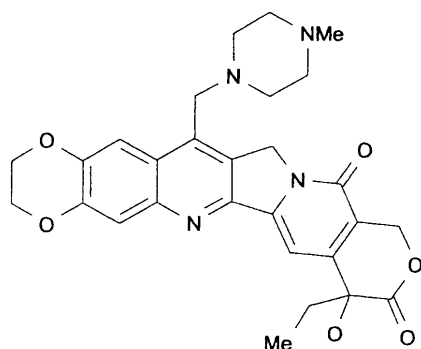
ゲフィチニブは、商品名イレッサ（商標）（アストラゼネカ社）で市販されており、白金製剤を基づいた化学療法およびドセタキセル化学療法の療法が不成功に終わった局所進行性または転移性非小細胞肺がんの患者の治療に単剤療法として適応される e r b B - 1 阻害剤である。ゲフィチニブの遊離塩基、H C l 塩、および二塩酸 ( d i H C l ) 塩は、1 9 9 6 年 4 月 2 3 日に出願され、1 9 9 6 年 1 0 月 3 1 日に国際公開第 9 6 / 3 3 9 8 0 号として公開された、国際特許出願第 P C T / G B 9 6 / 0 0 9 6 1 号の手順に従って調製されうる。

【0122】

現在開発中の、ラセミ混合物 ( R , S ) 形態ならびに R および S 鏡像異性体を含む以下の式 A のカンプトセシン誘導体もまた興味深く：

40

## 【化 6】



A

10

これは、化学名「7 - (4 - メチルピペラジノ - メチレン) - 10, 11 - エチレンジオキシ - 20 (R, S) - カンプトセシン」(ラセミ混合物)または「7 - (4 - メチルピペラジノ - メチレン) - 10, 11 - エチレンジオキシ - 20 (R) - カンプトセシン」(R 鏡像異性体)もしくは「7 - (4 - メチルピペラジノ - メチレン) - 10, 11 - エチレンジオキシ - 20 (S) - カンプトセシン」(S 鏡像異性体)で知られている。そのような化合物は、関連する組成物も同様に、作製する方法を含めて、米国特許第 6, 063, 923 号明細書、同第 5, 342, 947 号明細書、同第 5, 559, 235 号明細書、および同第 5, 491, 237 号明細書、ならびに 1997 年 11 月 24 日に出版し、出願中の米国特許出願第 08 / 977, 217 号明細書に記載されている。

20

## 【0123】

ホルモンおよびホルモン類似体も、ホルモンと、がんの増殖および/または増殖の欠乏とに関連性があるがんの治療に有用な化合物である。がん治療に有用なホルモンおよびホルモン類似体としては、例えば、小児の悪性リンパ腫および急性白血病の治療に有用なプレドニゾンおよびプレドニゾロンなどのアドレノコルチコステロイド；副腎皮質がんおよびエストロゲン受容体を含むホルモン依存性乳がんの治療に有用なアナストロゾール、レトロゾール、ボラゾール、およびエキセメスタンなどのアミノグルテチミドおよび他のアロマターゼ阻害剤；ホルモン依存性乳がんおよび子宮内膜がんの治療に有用な酢酸メゲストロールなどのプロゲステリン；前立腺がんおよび良性前立腺肥大の治療に有用なエストロゲン、アンドロゲン、ならびにフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、酢酸シプロテロン、およびフィナステリドおよびデュタステライドなどの 5 $\alpha$  - レダクターゼなどの抗アンドロゲン剤；ホルモン依存性乳がんおよび他の感受性のあるがんの治療に有用なタモキシフェン、トレミフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、イオドキシフェンなどの抗エストロゲン剤ならびに米国特許第 5, 681, 835 号明細書、同第 5, 877, 219 号明細書および同第 6, 207, 716 号明細書に記載されるような選択的エストロゲン受容体調節剤 (SERMS)；ならびに前立腺がんの治療のための、黄体形成ホルモン (LH) および/または卵胞刺激ホルモン (FSH) の放出を刺激するゴナドトロピン放出ホルモン (GnRH) およびその類似体、例えば、酢酸ゴセレリンおよびリュープロリドなどの LH/RH 作動剤および拮抗剤が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

## 【0124】

レトロゾール (商品名フェマール) は、手術後のホルモン反応性乳がんを治療するための経口非ステロイド性アロマターゼ阻害剤である。エストロゲンは、アロマターゼ酵素の作用を通じたアンドロゲンの変換によって作られる。次にエストロゲンは、エストロゲン受容体に結合し、細胞の分裂を引き起こす。レトロゾールは、シトクロム P450 ユニットのヘムに競合的、可逆的に結合することによって、アロマターゼがエストロゲンを作ることを阻害する。その作用は特異的であり、レトロゾールは鉱質コルチコイドまたはコルチコステロイドの産生を減少しない。

## 【0125】

シグナル伝達経路阻害剤は、細胞内の変化を惹起する化学的なプロセスを遮断または阻

50



害する阻害剤である。本明細書において使用する場合、この変化は細胞増殖または細胞分化である。本発明において有用なシグナル伝達阻害剤としては、受容体型チロシンキナーゼ、非受容体型チロシンキナーゼ、SH2 / SH3 ドメイン遮断剤、セリン / スレオニンキナーゼ、ホスファチジルイノシトール - 3 キナーゼ、ミオイノシトールシグナル伝達、および R a s がん遺伝子の阻害剤が挙げられる。

#### 【 0 1 2 6 】

さまざまなタンパク質チロシンキナーゼが、細胞増殖の調節に関与する種々のタンパク質における特異的なチロシル残基のリン酸化を触媒する。そのようなタンパク質チロシンキナーゼは、受容体型キナーゼまたは非受容体型キナーゼとして大まかに分類することができる。

10

#### 【 0 1 2 7 】

受容体型チロシンキナーゼは、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、およびチロシンキナーゼドメインを有する膜貫通型タンパク質である。受容体型チロシンキナーゼは細胞の成長の制御に関わり、一般的に成長因子受容体と呼ばれる。これらのキナーゼの多くの不適切または制御されない活性化、すなわち、例えば過剰発現または突然変異による異常なキナーゼ成長因子受容体活性は、制御されない細胞成長をもたらすことが示されている。したがって、そのようなキナーゼの異常な活性は悪性の組織増殖に関連する。したがって、そのようなキナーゼの阻害剤は、がんの治療法を提供できる可能性がある。成長因子受容体としては、例えば、上皮成長因子受容体 ( E G F r )、血小板由来成長因子受容体 ( P D G F r )、e r b B 2、e r b B 4、血管内皮成長因子受容体 ( V E G F r )、免疫グロブリン様および上皮成長因子相同ドメインをもつチロシンキナーゼ ( T I E - 2 )、インスリン成長因子 - I ( I G F I ) 受容体、マクロファージコロニー刺激因子 ( C f m s )、B T K、c k i t、c m e t、線維芽細胞成長因子 ( F G F ) 受容体、T r k 受容体 ( T r k A、T r k B、および T r k C )、エフリン ( e p h ) 受容体、ならびに R E T がん原遺伝子が挙げられる。成長因子受容体の阻害剤がいくつか開発中であり、リガンド拮抗剤、抗体、チロシンキナーゼ阻害剤、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドが含まれる。成長因子受容体および成長因子受容体機能を阻害する薬剤は、例えば、Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DD T Vol 2, No. 2 February 1997; and Loftis, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, Londonに記載されている。

20

30

#### 【 0 1 2 8 】

成長因子受容体型キナーゼでないチロシンキナーゼは、非受容体型チロシンキナーゼと呼ばれる。本発明において有用な非受容体型チロシンキナーゼは、抗がん剤の標的または潜在的な標的であり、c S r c、L c k、F y n、Y e s、J a k、c A b l、F A K ( 焦点接着キナーゼ )、ブルトン型チロシンキナーゼ、および B c r - A b l を包含する。そのような非受容体型キナーゼおよび非受容体型チロシンキナーゼ機能を阻害する薬剤は、Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5): 465 - 80; and Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997 Annual review of Immunology. 15: 371-404に記載されている。

40

#### 【 0 1 2 9 】

SH2 / SH3 ドメイン遮断剤は、P I 3 - K p 8 5 サブユニット、S r c ファミリーキナーゼ、アダプター分子 ( S h c、C r k、N c k、G r b 2 )、および R a s - G A P を含む、種々の酵素またはアダプタータンパク質におけるSH2 またはSH3 ドメイン結合を妨害する薬剤である。抗がん剤の標的としてのSH2 / SH3 ドメインは、Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32に記載されている。

#### 【 0 1 3 0 】

R a f キナーゼ ( r a f k )、マイトジェンまたは細胞外制御キナーゼ ( M E K )、および細胞外制御キナーゼ ( E R K ) の遮断剤 ; および P K C ( 、 、 、 μ、 、

50

、 ) の遮断剤を含むプロテインキナーゼCファミリーのメンバー遮断剤を含むMAPキナーゼカスケード遮断剤を含むセリン/スレオニンキナーゼの阻害剤。IKKファミリー ( IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$  )、PKBファミリーキナーゼ、AKTキナーゼファミリーメンバー、およびTGF $\beta$ 受容体キナーゼ。そのようなセリン/トレオニンキナーゼおよびその阻害剤は、Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), Journal of Biochemistry. 126 (5) 799-803; Brodt, P., Samani, A., and Navab, R. (2000), Biochemical Pharmacology, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) Cancer Surveys. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), Cancer Treatment and Research. 78: 3-27, Lackey, K. et al Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; U.S. Patent No. 6,268,391; and Martinez-lacaci, L., et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52に記載されている。 10

#### 【0131】

PI3 - キナーゼ、ATM、DNA - PK、およびKuの遮断剤を含む、ホスファチリイノシトール - 3キナーゼファミリーメンバーの阻害剤もまた、本発明において有用である。そのようなキナーゼは、Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997, International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 29 (7):935-8; and Zhong, H. et al, Cancer res, (2000) 60(6), 1541-1545に論じられている。

#### 【0132】

また、ホスホリパーゼC遮断剤およびミオイノシトール類似体などのミオイノシトールシグナル伝達阻害剤も本発明において有用である。そのようなシグナル阻害剤は、Powis, G., and Kozikowski A., (1994 New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy ed., Paul Workman and David Kerr, CRC press 1994, Londonに記載されている。 20

#### 【0133】

シグナル伝達経路阻害剤の別のグループは、Rasがん遺伝子の阻害剤である。そのような阻害剤としては、ファルネシルトランスフェラーゼ、ゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ、およびCAA $\chi$ プロテアーゼの阻害剤、ならびにアンチセンスオリゴヌクレオチド、リボザイム、および免疫治療が挙げられる。そのような阻害剤は、野生型変異体rasを含む細胞におけるras活性化を妨げ、それによって抗増殖剤として作用することが示されている。Rasがん遺伝子阻害は、Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9 (2) 99 - 102; and Bennett, C.F. and Cowert, L.M. Biochim. Biophys. Acta, (1999) 1489(1):19-30に論じられている。 30

#### 【0134】

上で言及したように、受容体型キナーゼリガンド結合に対する抗体拮抗剤もまた、シグナル伝達阻害剤としての役割を果たしうる。このグループのシグナル伝達経路阻害剤は、受容体型チロシンキナーゼの細胞外リガンド結合ドメインへのヒト化抗体の使用を含む。例えば、Imclone C225 EGFR特異的抗体 (Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4, 269-286)を参照されたい) ;ハーセプチン (商標) erbB2抗体 (Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183を参照されたい) ; および2CB VEGFR2特異的抗体 (Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124を参照されたい) 。 40

#### 【0135】

非受容体型キナーゼ血管形成阻害剤もまた、本発明における使用を見出しうる。VEGFRおよびTIE2に関連する血管形成の阻害剤は、シグナル伝達阻害剤に関して上記に記載されている (両受容体は受容体型チロシンキナーゼである) 。erbB2およびEGFRの阻害剤が、血管形成、主としてVEGF発現を阻害することが示されているので、 50

血管形成は一般に、e r b B 2 / E G F R シグナル伝達に関連している。よって、e r b B 2 / E G F R 阻害剤の血管形成の阻害剤との組合せは理にかなう。したがって、非受容体型チロシンキナーゼ阻害剤を、本発明の E G F R / e r b B 2 阻害剤と組合せとして使用しうる。例えば、V E G F R ( 受容体型チロシンキナーゼ ) を認識しないが、リガンドに結合する抗 V E G F 抗体；血管形成を阻害するであろうインテグリンの小分子阻害剤 ( アルファ<sub>v</sub> ベータ<sub>3</sub> ) ；エンドスタチンおよびアンジオスタチン ( 非 R T K ) もまた、開示の e r b ファミリー阻害剤と組合せとして有用であることが分かりうる。 ( Bruns C J et al (2000), Cancer Res., 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, and Derynck R. (1986), Science, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), Oncogene 19: 3460-3469 を参照されたい。 )

10

#### 【 0 1 3 6 】

免疫療法レジメンに使用される薬剤もまた、式 ( I ) の合成物との組合せとして有用でありうる。e r b B 2 または E G F R に対する免疫応答を生じさせる免疫学的方法が多くある。これらの方法は一般に、腫瘍ワクチン接種の領域にある。免疫学的方法の有効性は、小分子阻害剤を用いた、e r b B 2 / E G F R シグナル伝達経路の阻害と組み合わせることを通して、大きく高められうる。e r b B 2 / E G F R に対する免疫学的方法 / 腫瘍ワクチンの方法の考察は、Reilly RT et al. (2000), Cancer Res. 60: 3569-3576 ; and Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, and Kipps TJ. (1998), Cancer Res. 58: 1965-1971に見られる。

20

#### 【 0 1 3 7 】

アポトーシス促進レジメンに使用される薬剤 ( 例えば、b c l - 2 アンチセンスオリゴヌクレオチド ) もまた、本発明の組み合わせに使用される。タンパク質の B c l - 2 ファミリーを構成するものは、アポトーシスを妨げる。したがって、b c l - 2 の上方調節は、化学療法抵抗性に関連する。研究により、上皮成長因子 ( E G F ) が、b c l - 2 ファミリーを構成する抗アポトーシスのもの ( すなわち、m c l - 1 ) を刺激することが示されている。したがって、腫瘍における b c l - 2 の発現を下方調節するよう設計された方法は、臨床的に有益であることが実証され、特に G e n t a 社の G 3 1 3 9 b c l - 2 アンチセンスオリゴヌクレオチドは、現在、第 I I / I I I 相試験にある。b c l - 2 に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド方法を用いた、そのようなアポトーシス促進法は、Water JS et al. (2000), J. Clin. Oncol. 18: 1812-1823; and Kitada S et al. ( 1994, Antisense Res. Dev. 4: 71-79 に論じられている。

30

#### 【 0 1 3 8 】

細胞周期シグナル伝達阻害剤は、細胞周期の制御に関与する分子を阻害する。サイクリン依存性キナーゼ ( C D K ) と呼ばれるプロテインキナーゼのファミリー、およびそれらのサイクリンと呼ばれるタンパク質のファミリーとの相互作用は、真核細胞周期の進行を制御する。さまざまなサイクリン / C D K 複合体の、調和して機能する活性化および不活化が、細胞周期を通して正常な進行に必要である。いくつかの細胞周期シグナル伝達の阻害剤が開発中である。例えば、C D K 2、C D K 4、および C D K 6 を含むサイクリン依存性キナーゼ、ならびにそれらの阻害剤の例が、例えば、Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230 に記載されている。

40

#### 【 0 1 3 9 】

1 つの実施形態では、H E R 2 阻害剤を、それを必要とする患者に投与する方法が提供され、その方法は、

前記患者が V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者が V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有する場合、前記患者に H E R 2 阻害剤を投与すること、を含んでなる。

#### 【 0 1 4 0 】

1 つの実施形態では、H E R 2 阻害剤を、それを必要とする患者に処方する方法が提供

50

され、その方法は、

前記患者が V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者が V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有する場合、前記患者に H E R 2 阻害剤を処方すること、を含んでなる。

【 0 1 4 1 】

1 つの実施形態では、それを必要とする患者のがんを治療する方法が提供され、その方法は、

前記患者が V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および

前記患者が V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有する場合、前記患者に H E R 2 阻害剤を投与すること、を含んでなる。

【 0 1 4 2 】

1 つの実施形態では、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、該患者が以前に、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有するとして遺伝子型判定されており、該患者に H E R 2 阻害剤を投与することを含んでなる方法が提供される。さらなる実施形態では、該がんは転移乳がんである。いっそうさらなる実施形態では、該がんは H E R 2 阻害剤を用いた投与または治療に続いてさらなる治療の必要のある患者の転移乳がんである。さらなる実施形態では、治療のさらなる必要性は、限定されないがトラスツズマブを含むモノクローナル抗体である H E R 2 阻害剤の投与を伴う。

【 0 1 4 3 】

別の実施形態は、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、その方法は、該患者に H E R 2 阻害剤を投与すること、および次に前記患者が、その V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有するか否かを決定することを含んでなる。さらなる実施形態は、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、その方法は、該患者に第 1 の H E R 2 阻害剤を投与すること；および次に前記患者が、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型を有するか否かを決定すること、および次いで、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型が見られる場合、第 2 の H E R 2 阻害剤を用いて治療することを含んでなる。

【 0 1 4 4 】

本発明の方法は、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型について患者を検査することを含む。また、該方法としては、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型と関連する少なくとも 1 つの一塩基多型における遺伝子型について患者を検査することが挙げられうるが、これに限定されない。

【 0 1 4 5 】

1 つの実施形態は、反応者として分類されるヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブであり、そこにおいて、反応者は、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型が存在することを特徴とする。別の実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブであり、そこにおいて、反応者は、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型が存在することを特徴とする。さらなる実施形態では、該がんは、H E R 2 阻害剤の投与または治療に続くさらなる治療を必要としている患者における転移乳がんである。さらなる実施形態では、治療のさらなる必要性は、限定されないがトラスツズマブを含むモノクローナル抗体である H E R 2 阻害剤の投与を伴う。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 4 6 】

別の実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造におけるラパチニブの使用であり、そこにおいて、反応者は、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型が存在することを特徴とする。

## 【 0 1 4 7 】

異なる実施形態は、ラパチニブに反応した者として分類されるヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造のためであることを特徴とするラパチニブの使用であり、そこにおいて、反応者は、V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型が存在することを特徴とする。

10

## 【 0 1 4 8 】

V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型の存在を決定することを含んでなる本明細書における方法または使用の実施形態において、または V E G F A の r s 3 0 2 5 0 3 9 レファレンス一塩基多型における 9 3 6 C > T 遺伝子型の存在を有すると決定されている患者またはヒトにおける本明細書の方法または使用において、該方法は、ラパチニブを用いた治療またはラパチニブの投与の後の全生存期間における改善を観察することまたは決定することまたはモニターすることをさらに含んでなる。

## 【 0 1 4 9 】

幾つかの観点では、がんは乳がんである。例えば、ラパチニブの使用に関する本明細書における本発明の実施形態の各々において、がんは転移乳がんである可能性がある。がんは、結腸がん、乳がん、転移乳がん、腎細胞がん、黒色腫、非小細胞肺がんおよび腺がんを含む肺がん、胃がん、結腸直腸がん、神経内分泌がん、甲状腺がん、頭頸部がん、脳ガン、子宮頸がん、膀胱がん、食道がん、膵がん、前立腺がん、中皮腫、肝臓 - 肝胆道がん、多発性骨髄腫、白血病、ハースル細胞を含む甲状腺がん、筋肉肉腫（平滑筋肉腫）および骨肉腫（軟骨肉腫）からなる群より選択される。

20

## 【 0 1 5 0 】

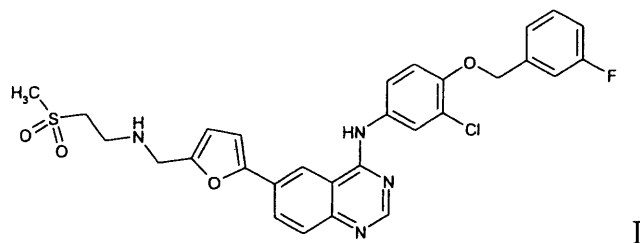
1 つの実施形態では、H E R 2 阻害剤は二重標的阻害剤、H E R 2 / E G F R 阻害剤である。

## 【 0 1 5 1 】

1 つの観点では、H E R 2 阻害剤は式 I の化合物：

30

## 【 化 7 】



I

40

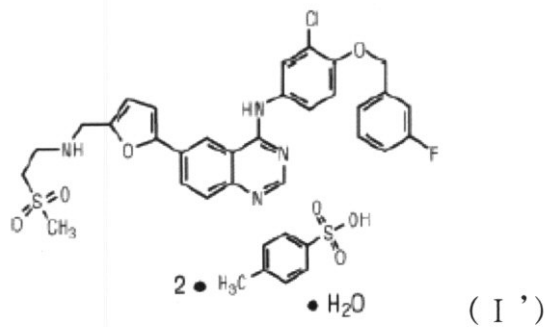
## 【 0 1 5 2 】

またはその薬学的に許容可能な塩もしくは溶媒和物を含んでなる。

## 【 0 1 5 3 】

別の観点では、H E R 2 阻害剤は式 ( I ' ) 化合物：

## 【化 8】



10

である。

## 【 0 1 5 4 】

1つの観点では、HER2阻害剤はモノクローナル抗体である。モノクローナル抗体は、トラスツズマブ、ペルツズマブ、または両方の組み合わせであることができる。1つの面では、HER2阻害剤は単剤療法として投与される。1つの面では、HER2阻害剤はラパチニブまたはその薬学的に許容可能な塩であり、カペシタビンおよび/またはレトロゾールと組み合わせて投与される。別の面では、HER2阻害剤は、ラパチニブまたはその薬学的に許容可能な塩であり、カペシタビンおよび/またはレトロゾールおよび/またはトラスツズマブと組み合わせて投与される。

20

## 【 0 1 5 5 】

また前記患者が、VEGFR2 18487A>Tに多型を有するか否かを検出することをさらに含んでなる、がんをもつ患者を治療する方法も提供される。この多型は、非同義であり、Q472H、472位でのグルタミン(Q)からヒスチジン(H)へのアミノ酸変化をコードする。1つの面では、該方法は、少なくとも1つのVEGFR2 18487A>Tと関連一塩基多型を有する場合、前記患者を、ラパチニブおよびトラスツズマブを用いて治療することを含んでなる。

## 【 0 1 5 6 】

また、それを必要とする患者のがんを治療する方法も提供され、その方法は、前記患者が多型VEGFR2 18487A>Tを有するか否かを決定すること、および

30

前記患者が多型VEGFR2 18487A>Tを有する場合、前記患者にラパチニブおよびトラスツズマブを投与すること、を含んでなる。

## 【 0 1 5 7 】

幾つかの実施形態では、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、該患者が以前に、VEGFR2のrs1870377一塩基多型における18487A>T遺伝子型を有するとして遺伝子型判定されており、該患者にHER2阻害剤を投与することを含んでなる方法が提供される。さらなる実施形態では、該がんは転移乳がんである。いっそうさらなる実施形態では、該がんはHER2阻害剤を用いた投与または治療に続いてさらなる治療の必要のある患者の転移乳がんである。さらなる実施形態では、治療のさらなる必要性は、限定されないがトラスツズマブを含むモノクローナル抗体であるHER2阻害剤の投与を伴う。

40

## 【 0 1 5 8 】

別の実施形態は、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、その方法は、該患者にHER2阻害剤を投与すること、および次に前記患者が、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型を有するか否かを決定することを含んでなる。さらなる実施形態は、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、その方法は、該患者に第1のHER2阻害剤を投与すること；および

50

次に前記患者が、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型を有するか否かを決定すること、および次いで、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型が見られる場合、少なくとも1つの追加のHER2阻害剤を用いて治療することを含んでなる。さらなる実施形態では、その第1のHER2阻害剤は、トラスツズマブである。さらなる実施形態では、その少なくとも1つの追加のHER2阻害剤はラパチニブである。さらなる実施形態では、その方法は、ラパチニブである少なくとも1つの追加のHER2阻害剤を用いて治療することを含んでなり、トラスツズマブを用いて治療することをさらに含んでなる。

#### 【0159】

10

本発明の方法は、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型について患者を検査することを含む。また、方法としては、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型と関連する少なくとも1つの一塩基多型での遺伝子型について患者を検査することが挙げられうるが、これに限定されない。

#### 【0160】

1つの実施形態は、反応者として分類されるヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブであり、そこにおいて、反応者は、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型が存在することを特徴とする。別の実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブであり、そこにおいて、反応者は、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型が存在することを特徴とする。さらなる実施形態では、該がんは、HER2阻害剤の投与または治療に続くさらなる治療を必要としている患者における転移乳がんである。さらなる実施形態では、治療のさらなる必要性は、限定されないがトラスツズマブを含むモノクローナル抗体であるHER2阻害剤の投与を伴う。

20

#### 【0161】

別の実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造におけるラパチニブの使用であり、そこにおいて、反応者は、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型が存在することを特徴とする。

30

#### 【0162】

異なる実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造のためであることを特徴とするラパチニブの使用であり、そこにおいて、反応者は、VEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型が存在することを特徴とする。

#### 【0163】

VEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型の存在を決定することを含んでなる本明細書における方法または使用の実施形態において、またはVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型の存在を有すると決定されている患者またはヒトにおける本明細書の方法または使用において、該方法は、ラパチニブを用いた治療もしくはラパチニブの投与の後、ならびに/またはラパチニブおよびトラスツズマブを用いた治療もしくはラパチニブおよびトラスツズマブの投与の後の全生存期間における改善を観察することまたは決定することまたはモニターすることをさらに含んでなる。

40

#### 【0164】

18487A>T VEGFR2遺伝子型(またはVEGFR2のrs1870377レファレンス一塩基多型における18487A>T遺伝子型)を決定することまたは検出することを含んでなる本発明の他の実施形態では、18487A>T VEGFR2遺伝子型は、VEGFR2遺伝子の遺伝子産物における非同義変異を検出する方法を使用して

50

、検出および／または決定され、すなわち、VEGFR2タンパク質におけるQ472H変異が検出および／または決定される。タンパク質を使用するそのような検出方法は、当該技術分野において周知である。

【0165】

また、がんをもつ患者を治療する方法も提供され、その方法は、

前記患者が、IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される少なくとも1つの多型を有するか否かを決定すること、ならびに

前記患者が、IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される多型を有さない場合、前記患者にラパチニブおよびトラスツズマブを投与すること、を含んでなる。

10

【0166】

別の実施形態は、反応者として分類されるヒト、例えば、ラパチニブに反応する者として分類され、IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される多型を有さないヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブである。さらなる実施形態は、反応者として分類されるヒト、例えば、ラパチニブに反応する者として分類され、IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される多型を有さないヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブに追加したトラスツズマブの使用である。別の実施形態は、反応者として分類されるヒト、例えば、ラパチニブに反応する者として分類され、IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される多型を有さないヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造に使用するためのラパチニブまたはラパチニブおよびトラスツズマブの使用である。別の実施形態は、前記ラパチニブ、または前記ラパチニブおよびトラスツズマブが、反応者として分類されるヒト、例えば、ラパチニブに反応する者として分類され、IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される多型を有さないヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造のためであることを特徴とするラパチニブまたはラパチニブおよびトラスツズマブの使用である。IGF1R(rs2037448) 229741A>GおよびIGF1R(rs7181022) 28322C>Tから選択される多型を有さないヒトまたは患者における、ラパチニブもしくはラパチニブおよびトラスツズマブを用いた治療、またはラパチニブもしくはラパチニブおよびトラスツズマブの使用に関するさらなる実施形態では、該がんは転移乳がんである。

20

30

【0167】

別の実施形態では、それを必要とする患者のがんを治療する方法が提供され、その方法は、

前記患者が、VEGFR2 18487A>TおよびVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型から選択される少なくとも1つの多型を有するか否かを決定すること、ならびに

40

前記患者が、VEGFR2 18487A>TおよびVEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型から選択される少なくとも1つの多型を有する場合、前記患者にチロシンキナーゼ阻害剤を投与することを、含んでなる。

【0168】

また、それを必要とする患者のがんを治療する方法も提供され、その方法は、

前記患者が多型VEGFR2 18487A>Tを有するか否かを決定すること、ならびに

前記患者が多型VEGFR2 18487A>Tを有する場合、前記患者にラパチニブ

50



およびトラスツズマブを投与することを、  
含んでなる。

【0169】

幾つかの実施形態では、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、該患者がNR1I3におけるタグSNP rs2307420を有するとして以前に遺伝子型判定されており、該患者にHER2阻害剤を投与することを含んでなる方法が提供される。さらなる実施形態では、該がんは転移乳がんである。いっそうさらなる実施形態では、該がんは、HER2阻害剤の投与または治療に続くさらなる治療を必要としている患者における転移乳がんである。さらなる実施形態では、治療のさらなる必要性は、限定されないがトラスツズマブを含むモノクローナル抗体であるHER2阻害剤の投与を伴う。

10

【0170】

別の実施形態は、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、その方法は、該患者にHER2阻害剤を投与すること、および次に前記患者が、NR1I3遺伝子におけるタグSNP rs2307420を有するか否かを決定することを含んでなる。さらなる実施形態は、それを必要とする患者のがんを治療する方法であって、その方法は、該患者に第1のHER2阻害剤を投与すること；および次に前記患者が、NR1I3におけるタグSNP rs2307420を有するか否かを決定すること、および次いで、NR1I3におけるタグSNP rs2307420が見られる場合、少なくとも1つの追加のHER2阻害剤を用いて治療することを含んでなる。さらなる実施形態では、第1のHER2阻害剤はトラスツズマブである。さらなる実施形態では、少なくとも1つの追加のHER2阻害剤は、ラパチニブである。さらなる実施形態では、該方法は、ラパチニブである少なくとも1つの追加のHER2阻害剤を用いて治療することを含んでなり、トラスツズマブを用いて治療することをさらに含んでなる。

20

【0171】

本発明の方法は、NR1I3におけるタグSNP rs2307420について患者を検査することを含む。また、方法としては、NR1I3におけるタグSNP rs2307420と関連する少なくとも1つの一塩基多型を有する遺伝子型について患者を検査することが挙げられうるが、これに限定されない。

【0172】

1つの実施形態では、反応者として分類されるヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブであり、そこにおいて、反応者は、NR1I3におけるタグSNP rs2307420が存在することを特徴とする。別の実施形態では、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療に使用するためのラパチニブであり、そこにおいて、反応者は、NR1I3におけるタグSNP rs2307420が存在することを特徴とする。さらなる実施形態では、該がんは、HER2阻害剤の投与または治療に続くさらなる治療を必要としている患者における転移乳がんである。さらなる実施形態では、治療のさらなる必要性は、限定されないがトラスツズマブを含むモノクローナル抗体であるHER2阻害剤の投与を伴う。

30

【0173】

別の実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造におけるラパチニブの使用であり、そこにおいて、反応者は、NR1I3におけるタグSNP rs2307420が存在することを特徴とする。

40

【0174】

異なる実施形態は、ラパチニブに反応する者として分類されるヒトにおけるがん治療のための薬剤の製造のためであることを特徴とするラパチニブの使用であり、そこにおいて、反応者は、NR1I3におけるタグSNP rs2307420が存在することを特徴とする。

【0175】

NR1I3におけるタグSNP rs2307420を検出することもしくは決定することを含んでなる本明細書における方法の実施形態において、またはNR1I3における

50

タグSNP rs2307420を有すると決定されている患者の治療において、該方法は、ラパチニブを用いた治療ならびに/またはラパチニブおよびトラスツズマブを用いた治療の後の無増悪生存における改善をモニターすることまたは決定することまたは観察することをさらに含んでなる。

【0176】

また、がんの療法または治療に使用するバイオマーカーも提供される。1つの実施形態では、がんの療法または治療に用いるバイオマーカーは、下記からなる群より選択される：VEGFAのrs3025039レファレンス一塩基多型における936C>T遺伝子型の存在、多型VEGFR2 18487A>Tの存在、VEGFR2タンパク質におけるQ472H変異の存在、NR1I3におけるタグSNP rs2307420の存在、IGF1R(rs2037448) 229741A>G多型の不在、およびIGF1R(rs7181022) 28322C>T多型の不在。さらなる実施形態では、バイオマーカーは、転移乳がんの療法または治療に用いるためである。さらなる実施形態では、バイオマーカーは、転移乳がんのラパチニブ療法またはラパチニブ治療に用いるためである。さらなる実施形態では、バイオマーカーは、詳述された群の2つ、3つ、4つ、5つの多型の組み合わせである。

10

【0177】

さらなる実施形態では、本発明の方法は、少なくとも1つの追加の抗新生物剤を前記患者に投与することをさらに含んでなる。

20

【0178】

本発明を以下の非限定的な例によってさらに説明する。

【実施例】

【0179】

実施例1

ラパチニブの組合せ(併用)は、腫瘍がHER2を過剰発現する転移乳がん(MBC)の患者を治療するのに効果的な療法である。HER2/EGFRおよび他のチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)療法と一致して、患者の反応はさまざまであり、感度および抵抗性を決定するさらなる因子があることを示唆している。宿主、生殖細胞系遺伝的多様性は、他のがんを治療するのに使用されるTKIと関連している。この調査的薬理遺伝学研究は、HER2陽性MBC患者における差示的なラパチニブ治療結果に関連する生殖細胞系遺伝子多様体を同定することを追求した。

30

【0180】

実験方法

目的：HER2陽性女性において、以下の患者集団の無増悪生存(PFS)および全生存期間(OS)の主要評価項目によって測定して、ラパチニブ治療に反応する差示的な患者を予測する生殖細胞系遺伝的多様体を同定する。

治験I：トラスツズマブに基づく全身療法および頭蓋放射線療法後の再発性脳転移をもつHER2陽性MBC患者におけるラパチニブ単剤療法研究(n=120)

治験II：トラスツズマブに基づく療法後に疾患の進行のあるHER2陽性MBC患者におけるラパチニブとトラスツズマブ(n=92)およびラパチニブ単剤療法(n=103)研究

40

【0181】

24個の候補遺伝子における、機能的影響がある55個の一塩基多型(SNP)を評価した。これらのSNPを遺伝子型同定するのに使用したアッセイプラットフォームは、イルミナヒト1M-Duo BeadChipであった。この実験のための候補遺伝子を下記に列挙する。

【0182】

【表 1】

遺伝子	カテゴリー	機能
A B C B 1	A D M E	(P - G P) ラパチニブは基質である
A B C G 2	A D M E	(B C R P) ラパチニブは基質である
A K T 1	経路	抗アポトーシスおよび細胞増殖促進にかかわる
C X C L 1 2	経路、代替的血管形成	S D F 1 としても知られる、血管形成において内皮始原細胞を調節する
C Y P 3 A 4	A D M E	ラパチニブは基質および阻害剤である
C Y P 3 A 5	A D M E	C Y P 3 A 4 「類似体」
E G F	経路	ラパチニブおよびトラスツズマブの標的 E r b B 2 とヘテロ二量体を形成する
E G F R	経路	ラパチニブおよびトラスツズマブの標的 E r b B 2 とヘテロ二量体を形成する
E r b B 2	経路	ラパチニブおよびトラスツズマブの標的 E G F R / E r b B 1、E r b B 3、および I G F 1 R とヘテロ二量体を形成する
E r b B 3	経路	(H e r 3) E r b B 2 とヘテロ二量体を形成する
F G F 2	経路、代替的血管形成	F G F R 2 リガンド
F G F R 2	経路、代替的血管形成	血管形成の調節因子 複数の再現性のある、B C リスクとの関連性
F L T 4	血管形成	(V E G F R 3)

10

20

30

40

H I F 1 A	経路、代替的血 管形成	M E Kのリガンド、血管形成の調節因子 m R C Cにおけるパゾパニブに対する反応 と関連するA 5 8 8 T多型	
I G F 1	経路、代替的細 胞シグナル伝達	インスリンホメオスタシスの調節因子 B Cリスクと関連 m C R Cにおけるセツキシマブに対する反 応と関連 T G Fによって活性化される I G F R 1 / E G F Rヘテロ二量体 I G F 1 R阻害は、トラスツズマブに対す る細胞系の反応を向上する	10
I G F 1 R	経路、代替的細 胞シグナル伝達	E r b B 2とヘテロ二量体を形成する E G F RおよびH E R 2阻害剤抵抗性と関 連 m R C Cにおけるセツキシマブに対する反 応と関連	20
I G F B P 3	経路、代替的細 胞シグナル伝達	循環 I G F 1を補足する 高いレベルはがんを保護すると思われる	
I L 8	経路、代替的血 管形成	血管形成のサイトカイン調節因子 高血清 I L 8は、m R C CにおけるV E G F R阻害剤に対する乏しい反応と関連	30
I L 8 R B	経路、代替的血 管形成	(C X C R 2) I L 8の受容体	
K D R	血管形成	(V E G F R 2) m R C Cにおけるパゾパ ニブに対する反応と関連する多型	40
N R 1 I 2	A D M E	(P X R) C Y P 3 A 4発現を調節 m R C Cにおけるパゾパニブに対する反応 と関連する多型	

NR1I3	ADME	(RXR) CYP3A4発現を調節 mRCCにおけるスニチニブに対する反応 と関連する多型
TGF $\alpha$	経路、代替的細胞シグナル伝達	EGFRリガンド 高血清TGF $\alpha$ は、ラパチニブ、ゲフィチニブ、およびトラスツズマブに対する乏しい反応と関連
VEGFA	血管形成	VEGFR2リガンド mRCCにおけるパゾパニブに対する反応 と関連する多型

10

## 【0183】

20

遺伝的関連性の統計解析は、相加的検定を用いて評価した。相加的検定から特定された任意の有意マーカーに関して、異なる遺伝子型間の目的の具体的な対比を調べて、リスク遺伝子型を決定することになる。Firth法を伴ったCoxの比例ハザードモデル。多変量Coxモデルにおいて $p = 0.05$ で有意な任意の共変量が含まれることになる。

## 【0184】

## 結果：

24個の候補遺伝子における機能的影響がある55個の一塩基多型(SNP)を、2つの試験に参加したMBC患者のサブセットにおいて評価した：試験I：トラスツズマブおよび頭蓋放射線療法後の再発性脳転移をもつHER2陽性MBC患者におけるラパチニブ単剤療法研究( $n = 120$ )ならびに試験II：トラスツズマブ後に疾患の進行のあるHER2陽性MBC患者におけるラパチニブとトラスツズマブ( $n = 92$ )およびラパチニブ単剤療法( $n = 103$ )研究。SNPとラパチニブ治療の間の無増悪生存(PFS)および全生存期間(OS)との関連性についての試験を、共変量調整を伴ったCoxの比例ハザード法を使用して行なった。マーカーは、既に定義された多重検定閾値である $p < 0.0003$ に達した場合、有意に関連性があるとみなした。

30

## 【0185】

いずれの研究でも無増悪生存(PFS)と統計的に有意に関連したSNPはなかった。

## 【0186】

VEGFA(rs3025039、936C>T)のSNPは、全生存期間(OS)と統計的に有意に関連し( $p = 0.0002$ )、T対立遺伝子保因者は、OSが向上し、試験Iでは対立遺伝子ハザード比は0.21(0.08~0.52)であったが、試験IIではこの関連性は見られなかった。このSNPは、3'UTR遺伝子領域に位置し、血清VEGFAレベルを調節し、乳がんリスクと関連する[Krippel et al., 2003, Int J Cancer 106: 468; Kataoka et al., 2006, Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 15:1148]。

40

## 【0187】

VEGFR2(rs1870377、18487A>T、Q472H、NP\_0022441)中のSNPは、試験IIにおいて全生存期間(OS)と統計的に有意に関連した( $p = 0.0004$ )。この分析で使用した非常に保守的なボンフェローニ閾値( $p < 0.0003$ )に、このSNPは達しなかったが、名目上有意とみなされた。VEGFR2

50

(rs1870377、18487A>T、Q472H)は、試験IIにおいて対立遺伝子ハザード比が0.47(0.3~0.73)であり、T対立遺伝子保因者はOSが向上したが、試験Iではこの関連性は見られなかった。VEGFR2 18487A>Tは、非同義であり(472Q>H)、VEGFのVEGFR2への結合を調節し、T対立遺伝子は、受容体機能(VEGF結合およびVEGFR2受容体リン酸化)を増加することが報告されている。

#### 【0188】

IGFR1の2つのSNP(rs2037448、229741A>G、およびrs7181022、28322C>T、NP\_000866.1)は、試験IおよびIIの両方において全生存期間(OS)と名目上関連した( $p < 0.05$ )。これらのSNPは、互いに連鎖不平衡相関が低く、rs2037448-Tまたはrs7181022-Gどちらか一方に対するマイナー対立遺伝子に関するヘテロ接合として分類される患者との解析用にまとめた。同定されたIGFR1マイナー対立遺伝子のいずれかを保因すると、野生型より劣った全生存期間(OS)と統計的に有意に関連し( $p = 0.00028$ )、試験IIの対立遺伝子ハザード比が5.0(2.2~10.0)である患者群になる。関連性について同様の傾向が試験Iにおいて見られたが、この試験は、有意な関連性のボンフェローニ閾値( $p = 0.075$ )に達しなかった。これらSNPの機能は特定されていない。

10

#### 【0189】

結論：VEGFAの生殖細胞系多様体は、脳転移をもつMBC患者におけるラパチニブに対する生存転帰と関連しうる。これは、VEGF血管形成経路の活性化を示し、高い発現遺伝子型を保因する患者におけるHER2阻害を克服する。OSとの名目上の関連性が、VEGFR2(rs1870377)におけるSNPならびにIGFR1における2つのSNP(rs2037448およびrs7181022)で見られた。

20

#### 【0190】

##### 試験Iおよび試験IIのさらなる解析

さらなる薬理遺伝学的解析を、試験IおよびII(上記)の患者を使って、両候補遺伝子選択を用い、ゲノムワイド関連解析(GWAS、1M Genome-Wide SNPs(イルミナ ヒト1M duo))を用いて行なった。遺伝子型判定を、以前に記載されているように行なった(Spraggs et al, 2011, J Clin Oncol 29: 667)。検討した遺伝子を次のように3つの層(tiers)に分けた。

30

#### 【0191】

層I：発現、代替的シグナル伝達もしくはTKI治療反応におけるADME、または乳がん易罹患性と、以前に関連付けられている7つのSNP

#### 【0192】

層II：以下のカテゴリーから選択される23個の候補遺伝子からの48個の機能的多様体：

ラパチニブADME(ABCB1、ABCG2、CYP3A4、CYP3A5、NR1I2、NR1I3)

ラパチニブ経路(EGFR、ERBB2、ERBB3、IGF1、IGF1R、IGFBP3、EGF、AKT1)

TKI抵抗性との関連性(HIF1A、IL8、IL8RB、CXCL12、VEGFA、VEGFR2、VEGFR3)

40

乳がん易罹患性(FGF2、FGFR2)

#### 【0193】

層III：上記リストに列挙された23個の候補遺伝子における1472個のタグSNPと、TGF(TGFに関して共通の機能的な多様体は同定されていない。)

#### 【0194】

相加的遺伝学的検定を用い、重要な臨床共変量および人種/民族性の違いを調整して、多変量Coxの比例ハザードモデルを用いて、関連性を評価した。Firth法およびG

50

enomic Control法を、それぞれ候補遺伝子およびGWASに対して使用して、偽陽性の結果を制御した。主要評価項目は無増悪生存期間（PFS）であり、副次的評価項目は全生存期間（OS）であった。

#### 【0195】

各々固有の研究 - 治療群内で検定することに加えて、逆分散法によって行なわれるメタアナリシスを使用して結果を組み合わせた。異なる関連性有意閾値を用いて、多様体を解析のために層に割り当て、これらは解析前に特定され、次のように評価項目および群の数ではなく、SNP検査の数に対して調整した：

#### 【0196】

候補遺伝子：

10

#### 【表2】

層 (Tier)	SNPの数	消費する $\alpha$ (Alpha Spend)	有意であるための閾値
I	7	0.03	0.004
II	48	0.015	0.0003
III	1472	0.005	$3.40 \times 10^{-6}$
合計	1515	0.05	

20

#### 【0197】

GWAS SNP：有意であるためのボンフェローニ閾値  $p = 0.05 / 1M = 5 \times 10^{-8}$

#### 【0198】

##### 結果

メタアナリシスにおいて、NR1I3（rs2307420）マーカーは、PFSで  $3.4 \times 10^{-6}$  を越えた。NR1I3は、構成的アンドロスタン受容体であり、CYP3A4の発現を制御する。その影響は、低頻度G対立遺伝子（ $n < 5$ ）の保因によって決定される。rs2307420はタグSNPであり、機能をもたない。

30

#### 【0199】

治験I（ラパチニブ単剤療法）において、VEGFA（936C>T、rs3025039）マーカーは、OSに関して  $p < 0.0003$  で閾値を越えた。その影響を、治験I（単剤治療群）から解析された結果によって決定したが、逆の影響が、治験II（ラパチニブプラスとトラスツズマブ治療群）において見られた。VEGFA 936C>T（rs3025039）は3'UTRに位置し、VEGF発現を調節する。CCはVEGF発現がCT/TTより高い（Formento et al, 2009, Pharmacogenomics, 10: 1277; Krippel et al, 2003, Int J Cancer 106: 468, Kataoka et al, 2006, Cancer Epidemiol Biomarker Prev, 15: 1148）。結果を図に示す。

40

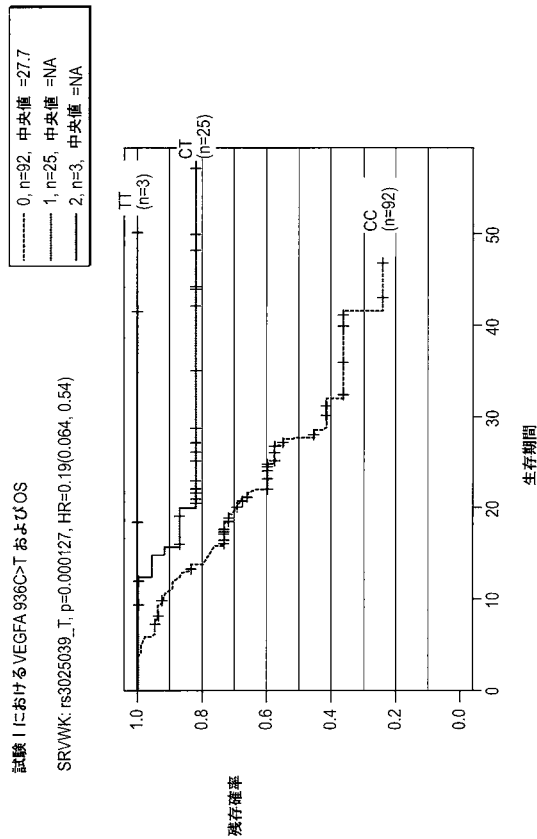
#### 【0200】

またOSに関して、わずかな関連性があった（治験II（ラパチニブとトラスツズマブ）のKDR/VEGFR2について  $p = 0.0005$ ）。結果を図4Cに示す。

#### 【0201】

GWAS解析は、共通マーカー（MAF > 5%）を用いた試験または研究治療群を通して強いシグナルを示さなかった（ $p < 5 \times 10^{-8}$ ）。

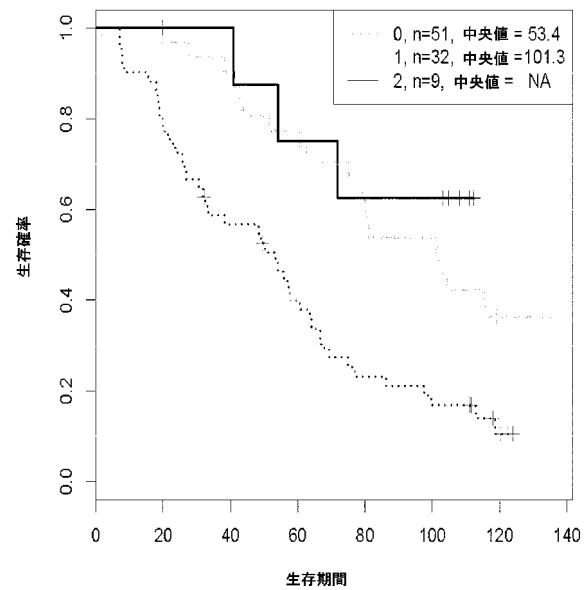
【図 1】



【図 2】

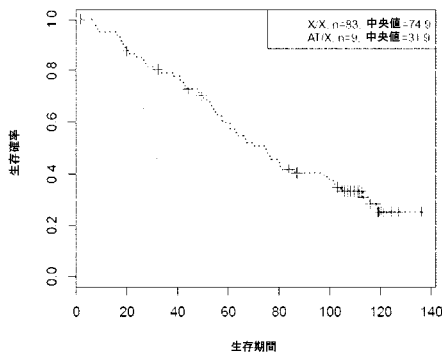
試験 I における VEGFR2 18487A&gt;T (Q472H) および OS

SRVWK: rs1870377\_A, p=0.000438, HR=0.47(0.3, 0.73)



【図 3】

試験 I における IGF1 rs2037448 および rs7181022 (タグ SNP、連鎖不平衡) ならびに OS

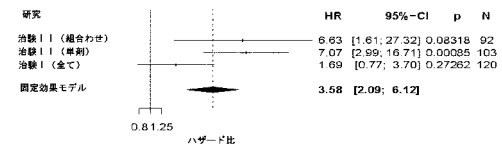


【図 4】

A) NR1I3 (タグ SNP, rs2307420) および PFS

NR1I3 rs2307420 に関するメタアナリシス

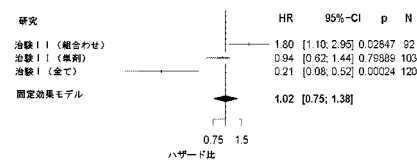
メタ P 値, 逆分数, 固定 = 3.14e-06



B) VEGFA 936C&gt;T rs3025039 および OS

VEGFA rs3025039 に関するメタアナリシス

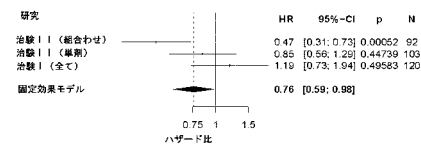
メタ P 値, 逆分数, 固定 = 0.916



C) KDR/VEGFR2 (18487T&gt;A, Q472H, rs1870377) および OS

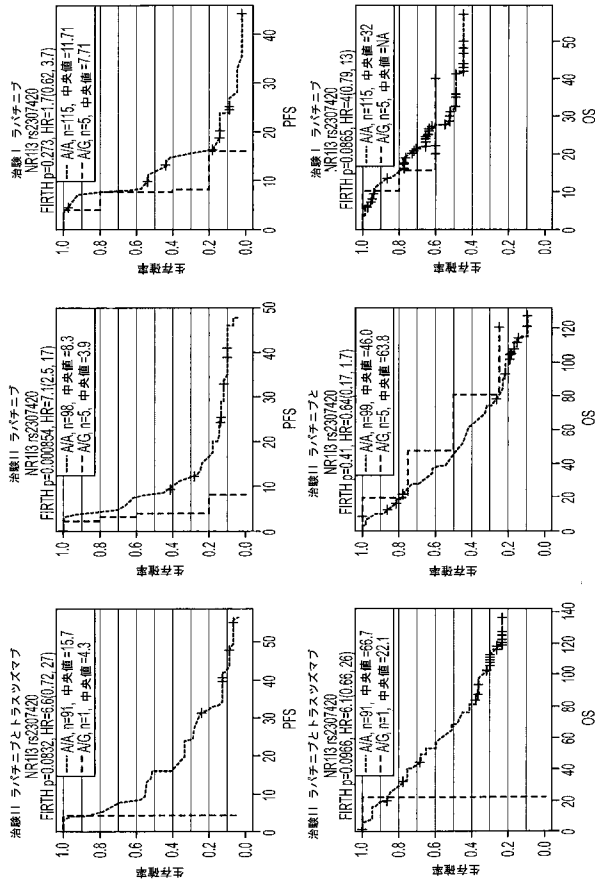
KDR/VEGFR2 rs1870377 に関するメタアナリシス

メタ P 値, 逆分数, 固定 = 0.0963

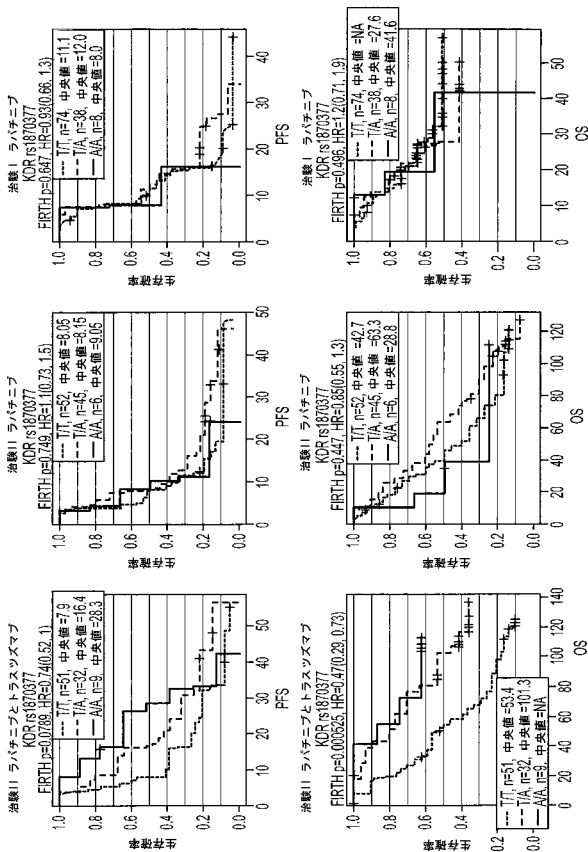




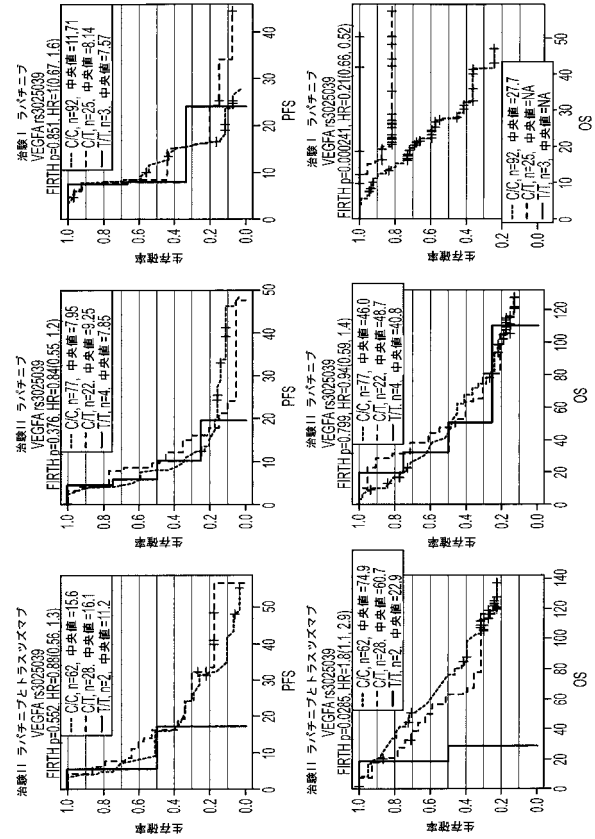
【図 5】



【図 7】



【図 6】



## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/EP2013/051865**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/051865

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C12Q1/68  
ADD.

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)

C12Q

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)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/088861 A2 (UNIV SOUTHERN CALIFORNIA [US]; LENZ HEINZ-JOSEF [US]) 24 July 2008 (2008-07-24)	1-21,24
A	page 37, lines 20-28; claims 2-7,16-19; example 2	22,23
X	----- KIM JENNY J ET AL: "Association of VEGF and VEGFR2 single nucleotide polymorphisms with hypertension and clinical outcome in metastatic clear cell renal cell carcinoma patients treated with sunitinib.", CANCER 1 APR 2012, vol. 118, no. 7, 31 August 2011 (2011-08-31), pages 1946-1954, XP002694045, ISSN: 1097-0142 abstract; figure 2 ----- -/--	24

☒ 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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 May 2013

Date of mailing of the international search report

31/05/2013

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Nurmi, Jussi

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/051865

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2011/060380 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]; KORKOLA JAMES E [US]; GRAY JOE W [US]; BAYANI NO) 19 May 2011 (2011-05-19) claim 1 -----	1-21,24
A	WO 2011/022633 A2 (SMITHKLINE BEECHAM CORK LTD [IE]; BING NAN [US]; BRILEY LINDA PERRY [U] 24 February 2011 (2011-02-24) claims 14,15 -----	1-21,24
A	EP 1 980 626 A1 (HET NL KANKER I [NL]) 15 October 2008 (2008-10-15) claims 1-2; example 1 -----	1-21,24
A	WO 2007/095038 A2 (NOVARTIS AG [CH]; NOVARTIS PHARMA GMBH [AT]; CULVER KENNETH WAYNE [US]) 23 August 2007 (2007-08-23) claim 1 -----	1-21,24
A	TAVAKOLI JAHAN ET AL: "Mechanisms of drug resistance to vascular endothelial growth factor (VEGF) inhibitors", ANTI-CANCER AGENTS IN MEDICINAL CHEMISTRY, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS LTD, NL, vol. 10, no. 8, 1 October 2010 (2010-10-01), pages 593-600, XP008148092, ISSN: 1871-5206, DOI: 10.2174/187152010794473948 page 597, column 1, paragraph 2; table 1 -----	1-21,24
A	HENRIETTE TANJA L ET AL: "Pharmacogenetics in chemotherapy of colorectal cancer", BAILLIERE'S BEST PRACTICE AND RESEARCH. CLINICAL GASTROENTEROLOGY, BAILLIERE TINDALL, LONDON, US, vol. 23, no. 2, 1 April 2009 (2009-04-01), pages 257-273, XP026105371, ISSN: 1521-6918, DOI: 10.1016/J.BPG.2009.02.011 [retrieved on 2009-05-04] page 267, paragraphs 3,4 ----- -/--	1-21,24

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/051865

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Lurje G et al: "VEGF and VEGF receptor-2 (VEGFR2) gene polymorphisms predict tumor recurrence in stage II and III colon cancer", Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition), vol. 25, no. 18S, 4004, June 2007 (2007-06), XP002694046, Retrieved from the Internet: URL:http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/25/18_suppl/4004 [retrieved on 2013-03-18] abstract	1-21,24
X	----- D. H. KIM ET AL: "Clinical relevance of vascular endothelial growth factor (VEGFA) and VEGF receptor (VEGFR2) gene polymorphism on the treatment outcome following imatinib therapy", ANNALS OF ONCOLOGY, vol. 21, no. 6, 1 June 2010 (2010-06-01), pages 1179-1188, XP055063217, ISSN: 0923-7534, DOI: 10.1093/annonc/mdp452 abstract	24
A	----- Kim J J et al.: "Role of VEGF and VEGFR2 single nucleotide polymorphisms (SNPs) in predicting treatment-induced hypertension (HTN) and clinical outcome (CO) in metastatic clear cell RCC (mccRCC) patients (pts) treated with sunitinib.", Journal of Clinical Oncology, 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition), vol. 28, no. 15 suppl, 4629, 2010, XP002697222, Retrieved from the Internet: URL:http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/28/15_suppl/4629 [retrieved on 2013-05-16] abstract	22
X	----- WO 2008/088893 A2 (UNIV SOUTHERN CALIFORNIA [US]; LENZ HEINZ-JOSEF [US]) 24 July 2008 (2008-07-24) claims 1,5	24
A	----- -/--	22

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2013/051865

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JAIN LOKESH ET AL: "Hypertension and hand-foot skin reactions related to VEGFR2 genotype and improved clinical outcome following bevacizumab and sorafenib", JOURNAL OF EXPERIMENTAL & CLINICAL CANCER RESEARCH, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON UK, vol. 29, no. 1, 14 July 2010 (2010-07-14), page 95, XP021083498, ISSN: 1756-9966, DOI: 10.1186/1756-9966-29-95	24
A	abstract	22
X	WO 2008/128233 A1 (UNIV CHICAGO [US]; YE XIN [US]; LIU WANQING [US]; CERRI ELISA [US]; IN) 23 October 2008 (2008-10-23)	24
A	page 7, paragraph 2	22
A	page 12, paragraph 3	23
A	ESTEVA FRANCISCO J ET AL: "Molecular predictors of response to trastuzumab and lapatinib in breast cancer", NATURE REVIEWS. CLINICAL ONCOLOGY,, vol. 7, no. 2, 1 February 2010 (2010-02-01), pages 98-107, XP009130024, page 103, column 2, paragraph 2	23

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2013/051865

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008088861	A2	24-07-2008	AU 2008205457 A1 24-07-2008 CA 2675366 A1 24-07-2008 EP 2126117 A2 02-12-2009 US 2010183593 A1 22-07-2010 WO 2008088861 A2 24-07-2008
WO 2011060380	A1	19-05-2011	NONE
WO 2011022633	A2	24-02-2011	AU 2010284092 A1 08-03-2012 CA 2771699 A1 24-02-2011 CN 102770140 A 07-11-2012 EA 201270298 A1 28-12-2012 EP 2467140 A2 27-06-2012 JP 2013502433 A 24-01-2013 KR 20120059564 A 08-06-2012 SG 178439 A1 27-04-2012 US 2012156200 A1 21-06-2012 WO 2011022633 A2 24-02-2011
EP 1980626	A1	15-10-2008	AU 2008239931 A1 23-10-2008 CA 2683815 A1 23-10-2008 CN 101688243 A 31-03-2010 EP 1980626 A1 15-10-2008 EP 2147114 A1 27-01-2010 US 2010297624 A1 25-11-2010 WO 2008127101 A1 23-10-2008
WO 2007095038	A2	23-08-2007	NONE
WO 2008088893	A2	24-07-2008	AU 2008205488 A1 24-07-2008 CA 2675305 A1 24-07-2008 EP 2126126 A2 02-12-2009 US 2010104583 A1 29-04-2010 WO 2008088893 A2 24-07-2008
WO 2008128233	A1	23-10-2008	NONE

International Application No. PCT/ EP2013/ 051865

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-21(completely); 24(partially)

Methods using the single nucleotide polymorphism rs3025039 (VEGF C936T) to predict a patient's response to treatment with an HER2 inhibitor or with a tyrosine kinase inhibitor.

---

2. claims: 22(completely); 24(partially)

Methods of treating cancer using the polymorphism rs1870377 (VEGFR2 18487A>T) as a pharmacogenetic marker.

---

3. claim: 23

Methods of treating a patient for cancer using at least one of the polymorphisms rs2037448 and rs7181022 as a pharmacogenetic marker.

---



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/7068 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/7068	
<b>A 6 1 K 31/4196 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/4196	
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00	1 2 1
<b>A 6 1 K 45/06 (2006.01)</b>	A 6 1 K 45/06	
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00	1 1 1
	C 1 2 Q 1/68	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,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,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,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,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,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

Fターム(参考) 4B063 QA01 QQ02 QQ43 QQ58 QR08 QR32 QR55 QS16 QS25 QS34  
 QX02  
 4C084 AA20 MA02 NA05 ZB262 ZB272 ZC202 ZC752  
 4C085 AA14 BB01 DD62 DD63 EE01 GG01  
 4C086 AA01 AA02 BC45 BC60 EA17 GA01 GA02 GA07 MA01 MA02  
 MA04 NA05 ZB26 ZB27 ZC20 ZC75