(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7481255号
(P7481255)

(45)発行日　令和6年5月10日(2024.5.10)

(24)登録日　令和6年4月30日(2024.4.30)

(51)国際特許分類

		FI		
Ｃ１２Ｑ	*1/6809(2018.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/6809	Ｚ ＺＮＡ
Ｃ１２Ｑ	*1/686(2018.01)*	Ｃ１２Ｑ	1/686	Ｚ
Ｇ０１Ｎ	*33/574(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/574	Ｚ
Ｇ０１Ｎ	*33/53 (2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｍ
Ｃ０７Ｋ	*16/18 (2006.01)*	Ｃ０７Ｋ	16/18	

請求項の数　52　（全59頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-538461(P2020-538461)
(86)(22)出願日　令和1年8月22日(2019.8.22)
(86)国際出願番号　PCT/JP2019/032773
(87)国際公開番号　WO2020/040245
(87)国際公開日　令和2年2月27日(2020.2.27)
審査請求日　令和4年8月19日(2022.8.19)
(31)優先権主張番号　特願2018-156449(P2018-156449)
(32)優先日　平成30年8月23日(2018.8.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
日本国(JP)

(73)特許権者　307010166
第一三共株式会社
東京都中央区日本橋本町三丁目５番１号
(74)代理人　230104019
弁護士　大野 聖二
(74)代理人　100119183
弁理士　松任谷 優子
(74)代理人　100149076
弁理士　梅田 慎介
(74)代理人　100173185
弁理士　森田 裕
(74)代理人　100162503
弁理士　今野 智介
(74)代理人　100144794
弁理士　大木 信人

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗体薬物複合体の感受性マーカー

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：

１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得された生体試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価する工程；

２）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；　及び

３）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；

を含む方法。

【請求項２】

がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：

１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得された生体試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；　及び

２）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；

を含む方法。

【請求項３】
がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得した生体試料から、ＲＮＡシーケンシングによってｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が測定され、これが特定の値を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，８．０，８．１，８．２，８．３，８．４，８．５，８．６，８．７，８．８，８．９，及び９．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３又は４に記載の方法。
【請求項６】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が、６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至５のいずれか一つに記載の方法。
【請求項７】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が、７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至６のいずれか一つに記載の方法。
【請求項８】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が、７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至７のいずれか一つに記載の方法。
【請求項９】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が、７．０，７．５，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至７のいずれか一つに記載の方法。
【請求項１０】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が７．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が７．５を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項９に記載の方法。
【請求項１２】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が８．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項９に記載の方法。
【請求項１３】
ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，２．０，２．１，２．２，２．３

，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至１２のいずれか一つに記載の方法。

【請求項１４】

ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至１３のいずれか一つに記載の方法。

【請求項１５】

ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至１４のいずれか一つに記載の方法。

【請求項１６】

ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０、２．０及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３乃至１４のいずれか一つに記載の方法。

【請求項１７】

ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項１６に記載の方法。

【請求項１９】

ｌｏｇ２［ＲＰＫＭ＋１］値が３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項１６に記載の方法。

【請求項２０】

がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得した生体試料から、ＲＮＡシーケンシングによってｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が測定され、これが特定の値を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項１又は２に記載の方法。

【請求項２１】

ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０．７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】

ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，及び７．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２０又は２１に記載の方法。

【請求項２３】

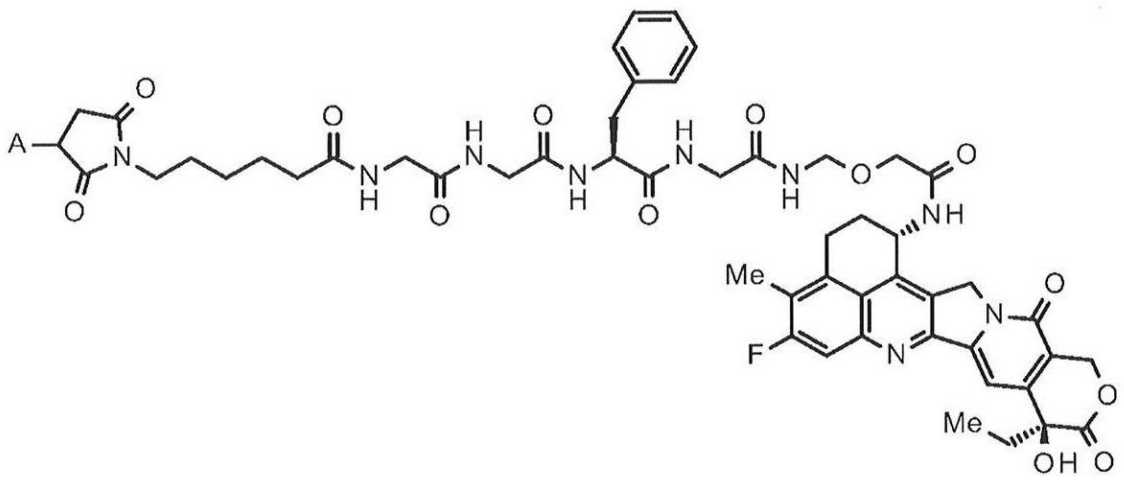
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が、６．０，又は７．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２０乃至２２のいずれか一つに記載の方法。

【請求項２４】

ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が６．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が７．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２６】
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２０乃至２５のいずれか一つに記載の方法。
【請求項２７】
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２０乃至２６のいずれか一つに記載の方法。
【請求項２８】
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０，又は３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２０乃至２７のいずれか一つに記載の方法。
【請求項２９】
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項２８に記載の方法。
【請求項３１】
がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得した生体試料から、ＥｄｇｅＳｅｑ　Ａｓｓａｙによってｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が測定され、これが特定の値を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項３２】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が、１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，１４．０，１４．１，１４．２，１４．３，１４．４，１４．５，１４．６，１４．７，１４．８，１４．９，及び１５．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が、１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，及び１４．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３１又は３２に記載の方法。
【請求項３４】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が、１２．０，１３．０，又は１４．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３１乃至３３のいずれか一つに記載の方法。

【請求項３５】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３４に記載の方法。
【請求項３７】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１４．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３４に記載の方法。
【請求項３８】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０，１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，及び１３．５からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３１乃至３７のいずれか一つに記載の方法。
【請求項３９】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，及び１２．５からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３１乃至３８のいずれか一つに記載の方法。
【請求項４０】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１１．５，１２．０，及び１２．５からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項３１乃至３９のいずれか一つに記載の方法。
【請求項４１】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１１．５を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項４０に記載の方法。
【請求項４３】
ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１２．５を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、請求項４０に記載の方法。
【請求項４４】
生体試料が腫瘍試料を含む、請求項１乃至４３のいずれか一つに記載の方法。
【請求項４５】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬が抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体である、請求項１乃至４４のいずれか一つに記載の方法。
【請求項４６】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体が、次式

【化１】



（式中、Ａは抗ｈＴＲＯＰ２抗体との結合位置を示す）
で示される薬物リンカーと、抗ｈＴＲＯＰ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体薬物複合体である、請求項４５に記載の方法。
【請求項４７】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号２０乃至４７０に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖からなる抗体である、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、請求項４７に記載の方法。
【請求項４９】
薬物－リンカー構造の１抗体あたりの平均結合数が２から８個の範囲である請求項４６乃至４８のいずれか一つに記載の方法。
【請求項５０】
薬物－リンカー構造の１抗体あたりの平均結合数が３．５から４．５個の範囲である請求項４６乃至４９のいずれか一つに記載の方法。
【請求項５１】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体が、Ｓａｃｉｔｕｚｕｍａｂ　Ｇｏｖｉｔｅｃａｎ（ＩＭＭＵ－１３２）である、請求項４５に記載の方法。
【請求項５２】
がんが、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、子宮頸がん、子宮体がん、頭頸部がん、食道がん、胆道がん、甲状腺がん、リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、及び／又は多発性骨髄腫である請求項１乃至５１に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、がんに罹患したヒト患者において、抗体薬物複合体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法に係わる。
【背景技術】
【０００２】
ほとんどの抗がん剤は、特定のヒト患者には効果があるが、その他のヒト患者には効果がない。これは、がんの遺伝的多様性に基づくものであり、同じ患者内のがんの間でさえ観察されることがある。患者ごとの薬効の隔たりは、分子標的型抗がん剤において特に顕著である。従って、いずれの抗がん剤がいずれの患者に対して有効であるかを決定するた

めの適切な検査が必要であり、このような検査なくして抗がん剤の十分な薬効を期待することはできない。感受性マーカーの発見に基づく診断法の確立は、新たな抗がん剤に対して臨床応答を示す可能性が高い患者を予め特定することによって、該抗がん剤の開発を加速する手段となる。これによって、臨床試験の規模、期間及び費用を著しく低減させることが可能となる。ゲノミクス、プロテオミクス、又は分子イメージングの技術は、感受性マーカーの迅速且つ高感度での検出を可能とするはずであった。しかし、がんにおける遺伝子プロファイリングに係わる様々な技術が利用可能となったにも関わらず、抗がん剤の感受性マーカーが広く実用化の域にあるとは言いがたい。

【０００３】

上述の分子標的型抗がん剤の標的として、例えばヒトＴＲＯＰ２を挙げることができる。ヒトＴＲＯＰ２（ｔｒｏｐｈｏｂｌａｓｔ ｃｅｌｌ ｓｕｒｆａｃｅ ｐｒｏｔｅｉｎ ２，ＴＡＣＳＴＤ２：ｔｕｍｏｒ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ ｃａｌｃｉｕｍ ｓｉｇｎａｌ ｔｒａｎｓｄｕｃｅｒ ２，ＧＡ７３３－１，ＥＧＰ－１，Ｍ１Ｓ１；以下、ｈＴＲＯＰ２と表記する）は、３２３アミノ酸残基からなる１回膜貫通型の１型細胞膜蛋白質である。

【０００４】

臨床検体を用いた免疫組織化学解析により、ｈＴＲＯＰ２は種々の上皮細胞由来のがんにおいて過剰発現していること、且つ、正常組織においてはいくつかの組織の上皮細胞での発現に限られ、その発現量も腫瘍組織と比較して低いことが示されている（非特許文献１～５）。またｈＴＲＯＰ２の発現は大腸がん（非特許文献１）、胃がん（非特許文献２）、膵臓がん（非特許文献３）、口腔がん（非特許文献４）、グリオーマ（非特許文献５）において予後不良と相関することも報告されている。さらに大腸がん細胞を用いたモデルから、ｈＴＲＯＰ２の発現ががん細胞の足場非依存的細胞増殖及び免疫不全マウスでの腫瘍形成に関与していることが報告されている（非特許文献６）。

【０００５】

この様ながんとの関連性を示唆する情報から、これまでに複数の抗ｈＴＲＯＰ２抗体が樹立され、その抗腫瘍効果が検討されている。この中には抗体単独でｎｕ／ｎｕマウス異種移植モデルにおける抗腫瘍活性を示すもの（特許文献１～４）の他、抗体薬物複合体として抗腫瘍活性を示すもの（特許文献５～７）等が開示されている。しかしながら、それらの活性の強さや適用範囲はまだ十分ではなく、ｈＴＲＯＰ２を治療標的とする未充足医療ニーズが存在している。既存の抗体又は抗体薬物複合体が医療ニーズを満していない原因としては、医薬としての効果が十分でないことに加え、適切な感受性マーカーが見出されていない点を挙げることができる。例えば、小細胞肺がんにおいてｈＴＲＯＰ２を標的とする抗体薬物複合体の示す抗腫瘍活性が、ｈＴＲＯＰ２の発現量によって予測できないことが知られている（非特許文献７）。

【０００６】

がん細胞表面に発現し、且つ、細胞に内在化できる抗原に結合する抗体に、細胞毒性のある薬物を結合させた抗体薬物複合体（Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｄｒｕｇ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅ；以下、「ＡＤＣ」と呼ぶこともある）は、がん細胞に選択的に薬物を送達できることによって、がん細胞内に薬物を蓄積させ、がん細胞を死滅させることが期待できる。このような抗体薬物複合体の一つとして、抗体とトポイソメラーゼＩ阻害剤であるエキサテカンの誘導体を構成要素とする抗体薬物複合体が知られている（特許文献９～１５、非特許文献８～１６）。特許文献９に記載の抗体薬物複合体は抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有し、ｈＴＲＯＰ２を発現するがん細胞を死滅させることが可能であるが、既存のｈＴＲＯＰ２を標的とする抗体又は抗体薬物複合体と同様に、ｈＴＲＯＰ２の発現量のみによって抗腫瘍活性を正確に予測できない可能性がある。

【０００７】

ヒトＳＬＦＮ１１（Ｓｃｈｌａｆｅｎ ｆａｍｉｌｙ ｍｅｍｂｅｒ １１）は９０１アミノ酸残基からなる蛋白質で、ＤＮＡ複製ストレスに応答して複製フォークに結合し、ＤＮＡ複製を阻害する機能を有することが示唆されている（非特許文献１７）。またがん細

胞株のトポイソメラーゼＩ阻害剤を含むＤＮＡ障害型抗がん剤に対する感受性と、ＳＬＦＮ１１のｍＲＮＡ発現量が高く相関することも報告されている（非特許文献１８～１９）。また、ポリ　ＡＤＰリボースポリメラーゼ（ＰＡＲＰ）阻害剤であるｖｅｌｉｐａｒｉｂ及び抗ＤＬＬ３抗体薬物複合体であるｒｏｖａｌｐｉｔｕｚｕｍａｂ　ｔｅｓｉｒｉｎｅ（Ｒｏｖａ－Ｔ）の併用が、ＳＬＦＮ１１を高発現している小細胞肺がん患者に対する延命効果を有することが知られている（非特許文献２０）。さらに、アルキル化剤であるＴｅｍｏｚｏｌｏｍｉｄｅ及びｖｅｌｉｐａｒｉｂの併用が、ＳＬＦＮ１１を高発現している小細胞肺がん患者に対する延命効果を有することも知られている（非特許文献２１）。しかしながら、エキサテカン等のトポイソメラーゼＩ阻害剤を用いたＡＤＣによる抗腫瘍活性とＳＬＦＮ１１の発現量との関係は未だ明らかにされておらず、薬効を予測する診断薬としての有効性も不明である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００８】

【文献】国際公開第２００８／１４４８９１号
【文献】国際公開第２０１１／１４５７４４号
【文献】国際公開第２０１１／１５５５７９号
【文献】国際公開第２０１３／０７７４５８号
【文献】国際公開第２００３／０７４５６６号
【文献】国際公開第２０１１／０６８８４５号
【文献】国際公開第２０１３／０６８９４６号
【文献】米国特許第７９９９０８３号明細書
【文献】国際公開第２０１４／０５７６８７号
【文献】国際公開第２０１４／０６１２７７号
【文献】国際公開第２０１５／０９８０９９号
【文献】国際公開第２０１５／１１５０９１号
【文献】国際公開第２０１５／１４６１３２号
【文献】国際公開第２０１５／１５５９７６号
【文献】国際公開第２０１５／１５５９９８号

【非特許文献】

【０００９】

【文献】Ohmachi T, et al., Clin. Cancer Res., 12(10), 3057-3063 (2006).
【文献】Muhlmann G, et al., J. Clin. Pathol., 62(2), 152-158 (2009).
【文献】Fong D, et al., Br. J. Cancer, 99(8), 1290-1295 (2008).
【文献】Fong D, et al., Mod. Pathol., 21(2), 186-191 (2008).
【文献】Ning S, et al., Neurol. Sci., 34(10), 1745-1750 (2013).
【文献】Wang J, et al., Mol. Cancer Ther., 7(2), 280-285 (2008).
【文献】Gray J. E., et al. Clin. Cancer Res. 23(19), 5711-5719 (2017)
【文献】Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13.
【文献】Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537.
【文献】Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-1452.
【文献】Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637.
【文献】Howard A. et al., J Clin Oncol 29: 398-405.
【文献】Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22(20), 5097-5108.
【文献】Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046.
【文献】Doi T, et al., Lancet Oncol 2017; 18: 1512-22.
【文献】Takegawa N, et al., Int. J. Cancer: 141, 1682-1689 (2017)
【文献】Murai J, et al., Mol. Cell 69(3), 371-384 (2018)
【文献】Zoppoli G, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 109(37):15030-15035

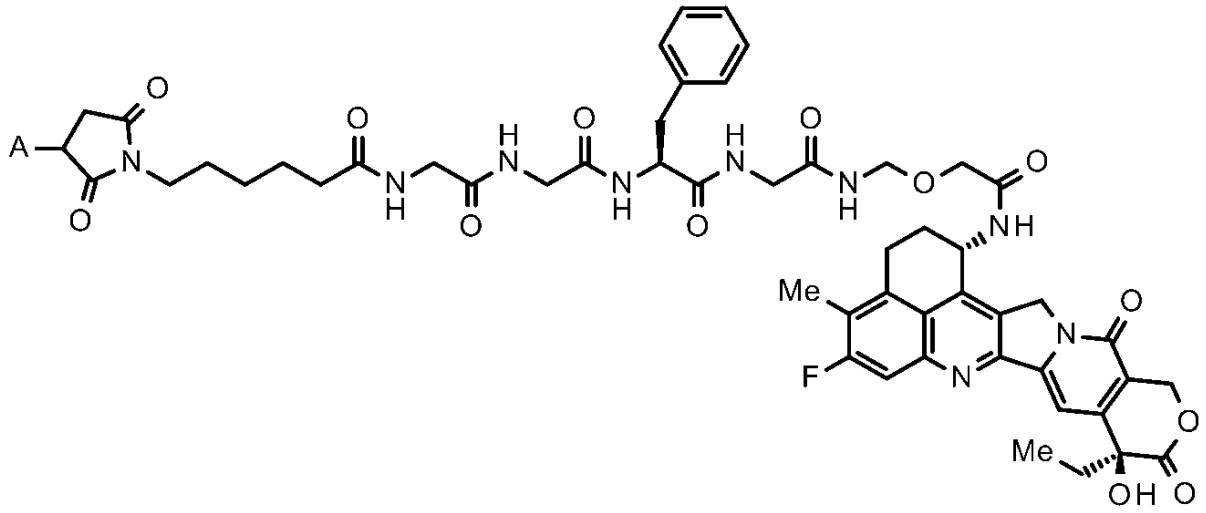
(2012)
【文献】Barretina J, et al., Nature 483(7391), 603-607 (2012)
【文献】Van Den Borg R, et al., Expert Rev. Anticancer Ther., 19 (6), 461-471 (2019)
【文献】Pietanza MC, et al., J, Clin. Oncol. 36 (23), 2386-2394 (2018)
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１０】
本発明は、がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する際に、ｍＲＮＡレベルでの遺伝子発現量を指標として投与対象を同定する方法に係わる。
【課題を解決するための手段】
【００１１】
本発明者らは、ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子のｍＲＮＡレベルの発現量を組み合わせることによって、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を、より精度高く同定可能であることを見出して、本発明を完成させた。
【００１２】
すなわち、本発明は、以下の各項目を含むが、これらに限定されない。
［１］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価する工程；
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程； 及び
４）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［２］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程； 及び
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［３］がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得した生体試料から、ＲＮＡシーケンシングによって$\log_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が測定され、これが特定の値を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［１］又は［２］に記載の方法。
［４］$\log_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，８．０，８．１，８．２，８．３，８．４，８．５，８．６，８．７，８．８，８．９，及び９．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］に記載の方法。
［５］$\log_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝

子の発現量が高いと判断される、［３］又は［４］に記載の方法。
【００１３】
［６］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が、６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［５］のいずれか一つに記載の方法。
［７］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が、７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［６］のいずれか一つに記載の方法。
［８］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が、７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［７］のいずれか一つに記載の方法。
［９］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が、７．０，７．５，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［７］のいずれか一つに記載の方法。
［１０］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が７．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［９］に記載の方法。
【００１４】
［１１］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が７．５を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［９］に記載の方法。
［１２］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が８．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［９］に記載の方法。
［１３］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［１２］のいずれか一つに記載の方法。
［１４］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［１３］のいずれか一つに記載の方法。
［１５］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［１４］のいずれか一つに記載の方法。
【００１５】
［１６］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０、２．０及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３］乃至［１４］のいずれか一つに記載の方法。
［１７］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が１．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［１６］に記載の方法。
［１８］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［１６］に記載の方法。
［１９］ｌｏｇ$_2$［ＲＰＫＭ＋１］値が３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬ

ＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［１６］に記載の方法。
［２０］がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得した生体試料から、ＲＮＡシーケンシングによってlog_2［ＦＰＫＭ＋１］値が測定され、これが特定の値を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［１］又は［２］に記載の方法。
【００１６】
［２１］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０．７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［２０］に記載の方法。
［２２］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，及び７．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［２０］又は［２１］に記載の方法。
［２３］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が、６．０，又は７．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［２０］乃至［２２］のいずれか一つに記載の方法。
［２４］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が６．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［２３］に記載の方法。
［２５］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が７．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［２３］に記載の方法。
【００１７】
［２６］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［２０］乃至［２５］のいずれか一つに記載の方法。
［２７］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［２０］乃至［２６］のいずれか一つに記載の方法。
［２８］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０，又は３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［２０］乃至［２７］のいずれか一つに記載の方法。
［２９］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［２８］に記載の方法。
［３０］ｌｏｇ２［ＦＰＫＭ＋１］値が３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［２８］に記載の方法。
【００１８】
［３１］がんに罹患したと診断されたヒト患者から取得した生体試料から、ＥｄｇｅＳｅｑ　Ａｓｓａｙによってｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が測定され、これが特定の値を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［１］又は［２］に記載の方法。
［３２］ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が、１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，１４．０，１４．１，１４．２，１４．３，１４．４，１４．５，１４．６，１４．７，１４．８，１４．９，及び１５．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発

現量が高いと判断される、［３１］に記載の方法。
［３３］ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が、１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，及び１４．０からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３１］又は［３２］に記載の方法。
［３４］ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が、１２．０，１３．０，又は１４．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３１］乃至［３３］のいずれか一つに記載の方法。
［３５］ｌｏｇ２［ＭＮＣ＋１］値が１２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３４］に記載の方法。
【００１９】
［３６］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１３．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３４］に記載の方法。
［３７］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１４．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断される、［３４］に記載の方法。
［３８］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０，１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，及び１３．５からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３１］乃至［３７］のいずれか一つに記載の方法。
［３９］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，及び１２．５からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３１］乃至［３８］のいずれか一つに記載の方法。
［４０］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１１．５，１２．０，及び１２．５からなる群から選択されるいずれか一つを上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［３１］乃至［３９］のいずれか一つに記載の方法。
【００２０】
［４１］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１１．５を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［４０］に記載の方法。
［４２］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１２．０を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［４０］に記載の方法。
［４３］$\log_2$［ＭＮＣ＋１］値が１２．５を上回る場合に、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断される、［４０］に記載の方法。
［４４］生体試料が腫瘍試料を含む、［１］乃至［４３］のいずれか一つに記載の方法。
［４５］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬が抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体である、［１］乃至［４４］のいずれか一つに記載の方法。
【００２１】
［４６］抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体が、次式
【００２２】

【化１】



【００２３】
（式中、Ａは抗ｈＴＲＯＰ２抗体との結合位置を示す）
で示される薬物リンカーと、抗ｈＴＲＯＰ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体薬物複合体である、［４５］に記載の方法。
［４７］抗ｈＴＲＯＰ２抗体が、配列番号１においてアミノ酸番号２０乃至４７０に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖からなる抗体である、［４６］に記載の方法。
［４８］抗ｈＴＲＯＰ２抗体の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失している、［４７］に記載の方法。
［４９］薬物－リンカー構造の１抗体あたりの平均結合数が２から８個の範囲である［４６］乃至［４８］のいずれか一つに記載の方法。
［５０］薬物－リンカー構造の１抗体あたりの平均結合数が３．５から４．５個の範囲である［４６］乃至［４９］のいずれか一つに記載の方法。
【００２４】
［５１］抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体が、Ｓａｃｉｔｕｚｕｍａｂ　Ｇｏｖｉｔｅｃａｎ（ＩＭＭＵ－１３２）である、［４５］に記載の方法。
［５２］がんが、肺がん、腎がん、尿路上皮がん、大腸がん、前立腺がん、多形神経膠芽腫、卵巣がん、膵がん、乳がん、メラノーマ、肝がん、膀胱がん、胃がん、子宮頸がん、子宮体がん、頭頸部がん、食道がん、胆道がん、甲状腺がん、リンパ腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、及び／又は多発性骨髄腫である［１］乃至［５１］に記載の方法。
【００２５】
さらに、本発明は以下の項目も含む。なお、［３］乃至［５２］の要素又は要件は、以下の発明についても適用することが可能である。
【００２６】
［５３］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；　及び
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［５４］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与す

る対象を同定する方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価する工程；及び
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［５５］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；及び
３）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
【００２７】
［５６］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；　及び
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［５７］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価する工程；
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現得量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；　及び
４）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［５８］がんに罹患したヒト患者において、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定する方法であって：１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得する工程；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価する工程；
３）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現得量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価する工程；　及び
４）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として同定する工程；
を含む方法。
［５９］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価し；
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し；　さらに
４）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を

、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
［６０］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し； さらに
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
【００２８】
［６１］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し、； さらに
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
［６２］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価し； さらに
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
［６３］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し； 及び
３）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
［６４］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し； さらに
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された当該試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
［６５］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価し；
３）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現得量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し； さらに

４）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
【００２９】
［６６］抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与することを含むがんの治療方法であって：
１）がんに罹患したと診断されたヒト患者から生体試料を取得し；
２）当該試料においてｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量を評価し；
３）ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現得量が高いと判断された該生体試料においてｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量を評価し； さらに
４）ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと判断された該生体試料を有していたヒト患者を、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象として選択する；
ことを含む方法。
【本発明の効果】
【００３０】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与する対象を同定することによって、薬効の期待できる患者を選択して医薬を投与することができる。
【図面の簡単な説明】
【００３１】
【図１】ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体重鎖のアミノ酸配列（配列番号１）を示す。
【図２】ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のアミノ酸配列（配列番号２）を示す。
【図３】ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ１配列（配列番号３）、ＣＤＲＨ２配列（配列番号４）、及びＣＤＲＨ３配列（配列番号５）、並びにヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ１配列（配列番号６）、ＣＤＲＬ２配列（配列番号７）、及びＣＤＲＬ３配列（配列番号８）を示す。
【図４】ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＦａＤｕ細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を示した図である。
【図５】ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＮＣＩ－Ｈ１７８１細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を示した図である。
【図６】ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＣａｌｕ－３細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を示した図である。
【図７】ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を示した図である。
【図８】ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＨＣＣ３８細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を示した図である。
【発明を実施するための形態】
【００３２】
定義
本明細書において、他に言及の無い限り、数値について言及するとき、「約」は、示された数値の±１０％を意味する。
【００３３】
本明細書において、「がん」と「腫瘍」は、相互置換可能に用いられる。
【００３４】
本明細書において、「遺伝子」という語には、ＤＮＡのみならずそのｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、及びそのｃＲＮＡも含まれる。
【００３５】
本明細書において、「ポリヌクレオチド」という語は核酸と同じ意味で用いており、ＤＮＡ、ＲＮＡ、プローブ、オリゴヌクレオチド、及びプライマーも含まれる。
【００３６】
本明細書においては、「ポリペプチド」と「蛋白質」は区別せずに用いている。

【００３７】
本明細書において、「細胞」には、動物個体内の細胞、培養細胞も含んでいる。
【００３８】
本明細書において、「ｈＴＲＯＰ２」はＮＭ＿００２３５３（ＮＣＢＩ）のアクセション番号で同定された遺伝子にコードされたヒト蛋白質、及びそのアレル変異体を意味し、ＮＰ＿００２３４４（ＮＣＢＩ）で同定された蛋白質を含む。
【００３９】
本明細書において、「ＳＬＦＮ１１」は、ＮＭ＿１５２２７０（ＮＣＢＩ）のアクセション番号で同定された遺伝子にコードされたヒト蛋白質、及びそのアレル変異体を意味し、ＮＰ＿６８９４８３（ＮＣＢＩ）で同定された蛋白質を含む。
【００４０】
本明細書中、「抗体の抗原結合断片」とは、抗原との結合活性を有する抗体の部分断片を意味しており、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｉａｂｏｄｙ、線状抗体及び抗体断片より形成された多特異性抗体等を含む。また、Ｆ（ａｂ’）２を還元条件下で処理した抗体の可変領域の一価の断片であるＦａｂ’も抗体の抗原結合断片に含まれる。但し、抗原との結合能を有している限りこれらの分子に限定されない。また、これらの抗原結合断片には、抗体蛋白質の全長分子を適当な酵素で処理したもののみならず、遺伝子工学的に改変された抗体遺伝子を用いて適当な宿主細胞において産生された蛋白質も含まれる。
【００４１】
本明細書における「ＣＤＲ」とは、相補性決定領域（ＣＤＲ：Ｃｏｍｐｌｅｍｅｔａｒｉｔｙ ｄｅｔｅｒｍｉｎｇ ｒｅｇｉｏｎ）を意味する。抗体分子の重鎖及び軽鎖にはそれぞれ３箇所のＣＤＲがあることが知られている。ＣＤＲは、超可変領域（ｈｙｐｅｒｖａｒｉａｂｌｅ ｄｏｍａｉｎ）とも呼ばれ、抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域内にあって、一次構造の変異性が特に高い部位であり、重鎖及び軽鎖のポリペプチド鎖の一次構造上において、それぞれ３ヶ所に分離している。本明細書中においては、抗体のＣＤＲについて、重鎖のＣＤＲを重鎖アミノ酸配列のアミノ末端側からＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、ＣＤＲＨ３と表記し、軽鎖のＣＤＲを軽鎖アミノ酸配列のアミノ末端側からＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、ＣＤＲＬ３と表記する。これらの部位は立体構造の上で相互に近接し、結合する抗原に対する特異性を決定している。
【００４２】
本明細書において、治療に対する「応答」は、治療される腫瘍に関して、当該腫瘍が、（ａ）増殖の遅延、（ｂ）増殖の停止又は（ｃ）退縮を示すことを意味する。
【００４３】
抗ｈＴＲＯＰ２抗体
本発明において使用されるｈＴＲＯＰ２に対する抗体は、この分野で通常実施される方法を用いて、ｈＴＲＯＰ２又はｈＴＲＯＰ２のアミノ酸配列から選択される任意のポリペプチドを動物に免疫し、生体内に産生される抗体を採取、精製することによって得ることができる。抗原となるＴＲＯＰ２の生物種はヒトに限定されず、マウス、ラット等のヒト以外の動物に由来するＴＲＯＰ２を動物に免疫することもできる。この場合には、取得された異種ＴＲＯＰ２に結合する抗体とｈＴＲＯＰ２との交差性を試験することによって、ヒトの疾患に適用可能な抗体を選別できる。
【００４４】
また、公知の方法（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ（１９７５）２５６，ｐ．４９５－４９７；Ｋｅｎｎｅｔ，Ｒ．ｅｄ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｐ．３６５－３６７，Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８０））に従って、ｈＴＲＯＰ２に対する抗体を産生する抗体産生細胞とミエローマ細胞とを融合させることによってハイブリドーマを樹立し、モノクローナル抗体を得ることもできる。
【００４５】
なお、抗原となるｈＴＲＯＰ２はｈＴＲＯＰ２遺伝子を遺伝子操作によって宿主細胞に

発現させることによって得ることができる。具体的には、ｈＴＲＯＰ２遺伝子を発現可能なベクターを作製し、これを宿主細胞に導入して該遺伝子を発現させ、発現したＴＲＯＰ２を精製すればよい。また、上記の遺伝子操作によるｈＴＲＯＰ２発現細胞、或はｈＴＲＯＰ２を発現している細胞株をｈＴＲＯＰ２蛋白質として使用することも可能である。

【００４６】

本発明の抗体には、上記ｈＴＲＯＰ２に対するモノクローナル抗体に加え、ヒトに対する異種抗原性を低下させること等を目的として人為的に改変した遺伝子組換え型抗体、例えば、キメラ（Ｃｈｉｍｅｒｉｃ）抗体、ヒト化（Ｈｕｍａｎｉｚｅｄ）抗体、ヒト抗体等も含まれる。これらの抗体は、既知の方法を用いて製造することができる。

【００４７】

ヒト化抗体の一例として、配列番号１に示される重鎖アミノ酸配列及び配列番号２に示される軽鎖アミノ酸配列からなるヒト化抗体を挙げることができるが、これに限定されるものではない。

【００４８】

例えば、国際公開第２００８/１４４８９１号、国際公開第２０１１/１４５７４４号、国際公開第２０１１/１５５５７９号、国際公開第２０１３/０７７４５８号、国際公開第２００３/０７４５６６号、国際公開第２０１１/０６８８４５号、国際公開第２０１３/０６８９４６号、米国特許第７９９９０８３号明細書、又は国際公開第２０１５／０９８０９９号に記載の各種の抗ｈＴＲＯＰ２抗体が、本発明において使用可能である。

【００４９】

なお、哺乳類培養細胞で生産される抗体の重鎖のカルボキシル末端のリシン残基が欠失することが知られている（Ｔｓｕｂａｋｉ　ｅｔ．ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ，１３９－１４７，２０１３）。しかし、この重鎖配列の欠失は、抗体の抗原結合能及びエフェクター機能（補体の活性化や抗体依存性細胞障害作用など）には影響を及ぼさない。従って、本発明においては、上記の重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失した抗体も使用可能である。

【００５０】

本発明において使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体には、該抗体の抗原結合断片も含まれる。抗体の抗原結合断片としては、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、又は重鎖及び軽鎖のＦｖを適当なリンカーで連結させたシングルチェインＦｖ（ｓｃＦｖ）、ｄｉａｂｏｄｙ（ｄｉａｂｏｄｉｅｓ）、線状抗体、及び抗体断片より形成された多特異性抗体などを挙げることができる。また、Ｆ（ａｂ’）２を還元条件下で処理した抗体の可変領域の一価の断片であるＦａｂ’も抗体の断片に含まれる。

【００５１】

本発明において使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体には、抗体の修飾体も含まれる。当該修飾体とは、本発明の抗体に化学的又は生物学的な修飾が施されてなるものを意味する。化学的な修飾体には、アミノ酸骨格への化学部分の結合、Ｎ－結合又はＯ－結合炭水化物鎖の化学修飾体等が含まれる。生物学的な修飾体には、翻訳後修飾（例えば、Ｎ－結合又はＯ－結合への糖鎖付加、Ｎ末又はＣ末のプロセッシング、脱アミド化、アスパラギン酸の異性化、メチオニンの酸化）されたもの、原核生物宿主細胞を用いて発現させることによってＮ末にメチオニン残基が付加したもの等が含まれる。また、本発明において使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体には、抗ｈＴＲＯＰ２抗体又はｈＴＲＯＰ２の検出又は単離を可能にするために標識されたもの、例えば、酵素標識体、蛍光標識体、アフィニティ標識体もかかる修飾物が含まれる。この様な抗ｈＴＲＯＰ２抗体の修飾物は、抗体の安定性及び血中滞留性の改善、抗原性の低減、抗ｈＴＲＯＰ２抗体又はｈＴＲＯＰ２の検出又は単離等に有用である。

【００５２】

また、本発明において使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体に結合している糖鎖修飾を調節すること（グリコシル化、脱フコース化等）によって、抗体依存性細胞傷害活性を増強することが可能である。抗体の糖鎖修飾の調節技術としては、国際公開第１９９９／５４３４

２号、同２０００／６１７３９号、同２００２／３１１４０号等が知られているが、これらに限定されるものではない。本発明において使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体には当該糖鎖修飾を調節された抗体も含まれる。

【００５３】

その他の抗体

本発明の方法は、抗ｈＴＲＯＰ２抗体以外の抗原に結合する抗体を含有する医薬にも使用することが可能である。本発明で使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体以外の抗体に特に制限はないが、例えば、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＨＥＲ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗ＣＤ３抗体、抗ＣＤ３０抗体、抗ＣＤ３３抗体、抗ＣＤ３７抗体、抗ＣＤ５６抗体、抗ＣＤ９８抗体、抗ＤＲ５抗体、抗ＥＧＦＲ抗体、抗ＥＰＨＡ２抗体、抗ＦＧＦＲ２抗体、抗ＦＧＦＲ４抗体、抗ＦＯＬＲ１抗体、抗ＶＥＧＦ抗体、抗ＣＤ２０抗体、抗ＣＤ２２抗体、抗ＣＤ７０抗体、抗ＰＳＭＡ抗体、抗ＣＥＡ抗体、及び抗Ｍｅｓｏｔｈｅｌｉｎ抗体、抗Ａ３３抗体、抗ＣａｎＡｇ抗体、抗Ｃｒｉｐｔｏ抗体、抗Ｇ２５０抗体、抗ＭＵＣ１抗体、抗ＧＰＮＭＢ抗体、抗Ｉｎｔｅｇｒｉｎ抗体、抗Ｔｅｎａｓｃｉｎ－Ｃ抗体、抗ＳＬＣ４４Ａ４抗体、抗ＧＰＲ２０抗体、及び抗ＣＤＨ６抗体を挙げることができ、好適には、抗ＨＥＲ２抗体、抗ＨＥＲ３抗体、抗Ｂ７－Ｈ３抗体、抗ＧＰＲ２０抗体、及び抗ＣＤＨ６抗体を挙げることができ、より好適には、抗ＨＥＲ２抗体を挙げることができる。各抗体は、抗ｈＴＲＯＰ２抗体と同様の方法で取得することが可能である。また、各抗体は、抗ｈＴＲＯＰ２抗体と同様に、抗体が通常有する普遍的な性質を有している。

【００５４】

本発明において、「抗ＨＥＲ２抗体」とは、ＨＥＲ２（Ｈｕｍａｎ Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｔｙｐｅ ２； ＥｒｂＢ－２）に特異的に結合し、好ましくは、ＨＥＲ２と結合することによってＨＥＲ２発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。抗ＨＥＲ２抗体としては、例えば、トラスツズマブ（Ｔｒａｓｔｕｚｕｍａｂ）（米国特許第５８２１３３７号）、ペルツズマブ（Ｐｅｒｔｕｚｕｍａｂ）（国際公開第０１／００２４５号）を挙げることができ、好適にはトラスツズマブを挙げることができる。本発明において、「抗ＨＥＲ３抗体」とは、ＨＥＲ３（Ｈｕｍａｎ Ｅｐｉｄｅｒｍａｌ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ Ｔｙｐｅ ３； ＥｒｂＢ－３）に特異的に結合し、好ましくは、ＨＥＲ３と結合することによってＨＥＲ３発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。抗ＨＥＲ３抗体としては、例えば、パトリツマブ（Ｐａｔｒｉｔｕｍａｂ； Ｕ３－１２８７）、Ｕ１－５９（国際公開第２００７／０７７０２８号）、ＭＭ－１２１（Ｓｅｒｉｂａｎｔｕｍａｂ）、国際公開２００８／１００６２４号記載の抗ＥＲＢＢ３抗体、ＲＧ－７１１６（Ｌｕｍｒｅｔｕｚｕｍａｂ）、及びＬＪＭ－７１６（Ｅｌｇｅｍｔｕｍａｂ）を挙げることができ、好適には、パトリツマブ、及びＵ１－５９を挙げることができる。

【００５５】

本発明において、「抗Ｂ７－Ｈ３抗体」とは、Ｂ７－Ｈ３（Ｂ ｃｅｌｌ ａｎｔｉｇｅｎ ＃７ ｈｏｍｏｌｏｇ ３； ＰＤ－Ｌ３； ＣＤ２７６）に特異的に結合し、好ましくは、Ｂ７－Ｈ３と結合することによってＢ７－Ｈ３発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。抗Ｂ７－Ｈ３抗体としては、例えば、Ｍ３０－Ｈ１－Ｌ４（国際公開第２０１４／０５７６８７号）を挙げることができる。

【００５６】

本発明において、「抗ＧＰＲ２０抗体」とは、ＧＰＲ２０（Ｇ Ｐｒｏｔｅｉｎ－ｃｏｕｐｌｅｄ ｒｅｃｅｐｔｏｒ ２０）に特異的に結合し、好ましくは、ＧＰＲ２０と結合することによってＧＰＲ２０発現細胞に内在化する活性を有する抗体を示す。抗ＧＰＲ２０抗体としては、例えば、ｈ０４６－Ｈ４ｅ／Ｌ７（国際公開第２０１８／１３５５０１号）を挙げることができる。

【００５７】

本発明において、「抗ＣＤＨ６抗体」とは、ＣＤＨ６（Ｃａｄｈｅｒｉｎ－６）に特異的に結合し、好ましくは、ＣＤＨ６と結合することによってＣＤＨ６発現細胞に内在化す

る活性を有する抗体を示す。抗ＣＤＨ６抗体としては、例えば、Ｈ０１Ｌ０２（国際公開第２０１８／２１２１３６号）を挙げることができる。

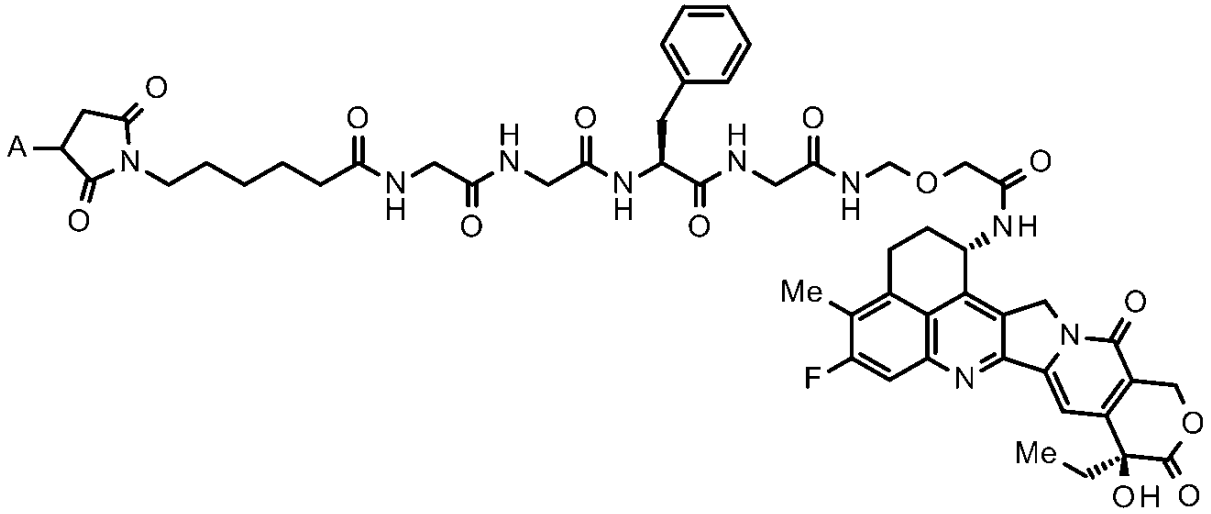
【００５８】

抗体薬物複合体

本発明において使用される抗体薬物複合体は、式

【００５９】

【化２】



【００６０】

（式中、Ａは抗体との結合位置を示す）

で示される薬物リンカーと、抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体薬物複合体である。

【００６１】

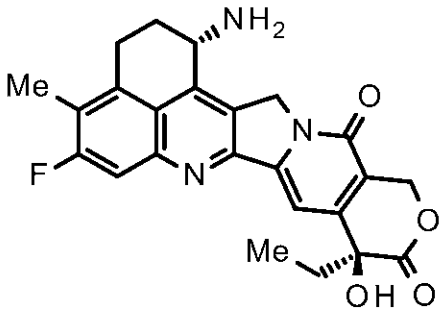
本発明においては、抗体薬物複合体のうち、リンカー及び薬物からなる部分構造を「薬物リンカー」と称する。この薬物リンカーは抗体の鎖間のジスルフィド結合部位（２箇所の重鎖－重鎖間、及び２箇所の重鎖－軽鎖間）において生じたチオール基（言い換えれば、システイン残基の硫黄原子）に結合している。

【００６２】

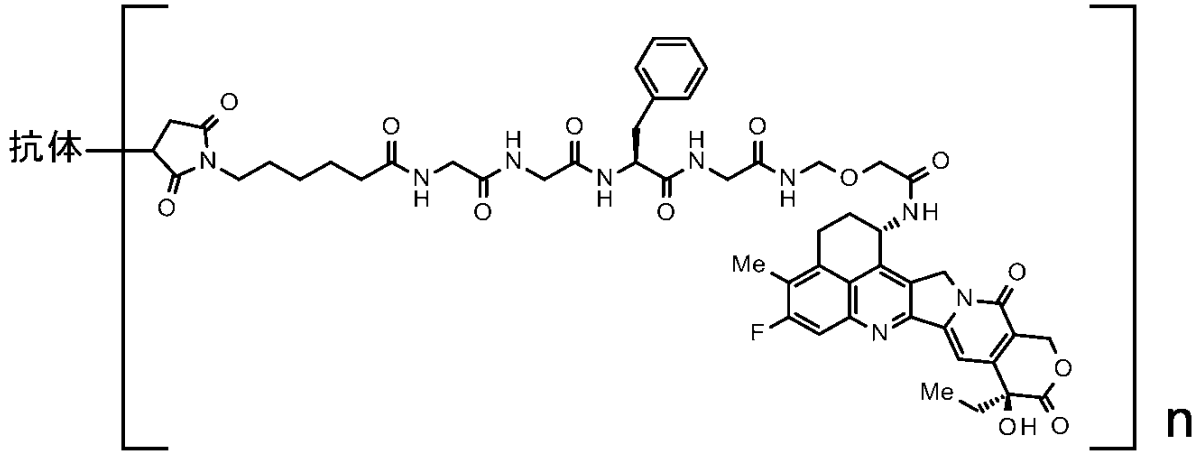
本発明の薬物リンカーは、トポイソメラーゼＩ阻害剤であるエキサテカン（ＩＵＰＡＣ名：（１Ｓ，９Ｓ）－１－アミノ－９－エチル－５－フルオロ－１，２，３，９，１２，１５－ヘキサヒドロ－９－ヒドロキシ－４－メチル－１０Ｈ，１３Ｈ－ベンゾ［ｄｅ］ピラノ［３’，４’：６，７］インドリジノ［１，２－ｂ］キノリン－１０，１３－ジオン、（化学名：（１Ｓ，９Ｓ）－１－アミノ－９－エチル－５－フルオロ－２，３－ジヒドロ－９－ヒドロキシ－４－メチル－１Ｈ，１２Ｈ－ベンゾ［ｄｅ］ピラノ［３’，４’：６，７］インドリジノ［１，２－ｂ］キノリン－１０，１３（９Ｈ，１５Ｈ）－ジオンとして表すこともできる））を構成要素としている。エキサテカンは、式

【００６３】

【化３】

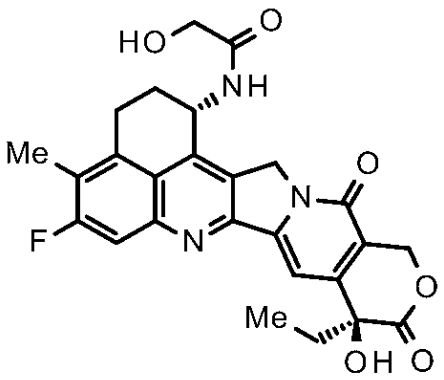


【００６４】
で示される、抗腫瘍効果を有するカンプトテシン誘導体である。
【００６５】
本発明において使用される抗体薬物複合体は、次式で示すこともできる。
【００６６】
【化４】



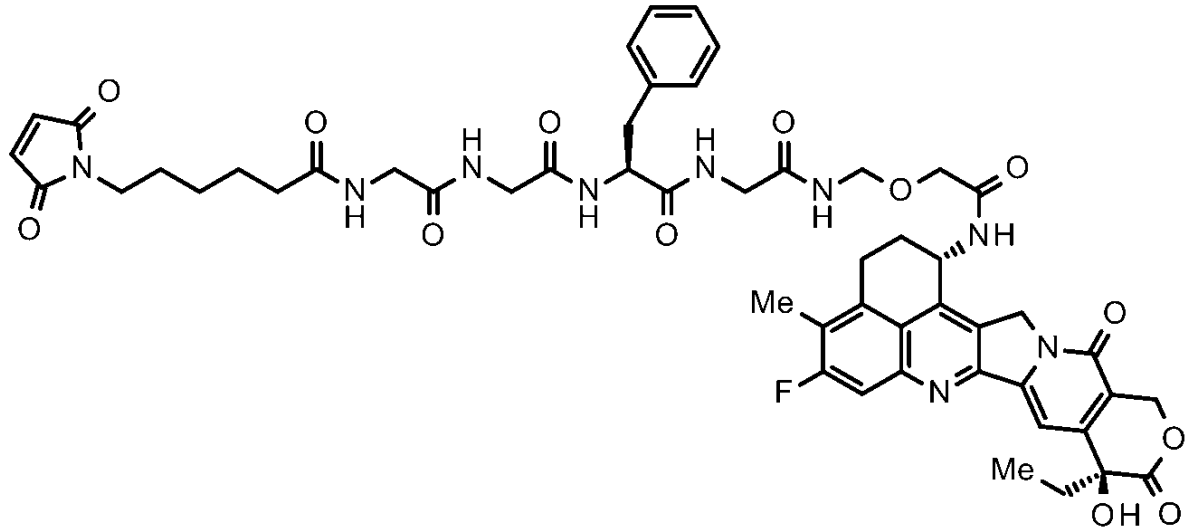
【００６７】
ここで、薬物リンカーは抗体とチオエーテル結合によって結合している。また、ｎはいわゆる平均薬物結合数（ＤＡＲ；　Ｄｒｕｇ－ｔｏ－Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｒａｔｉｏ）と同義であり、１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数を示す。本発明において使用される抗体薬物複合体の１抗体あたりの薬物リンカーの平均結合数は、０～８の範囲で調節可能であるが、好適には２から８である。抗ｈＴＲＯＰ２抗体の場合の平均結合数は、より好適には３から５であり、さらにより好適には３．５から４．５である。
【００６８】
本発明で使用される抗体薬物複合体は、がん細胞内に移行した後にリンカー部分が切断され、式
【００６９】

【化５】



【００７０】
で表される化合物を遊離する。
【００７１】
上記化合物は、本発明で使用される抗体薬物複合体の抗腫瘍活性の本体であると考えられ、トポイソメラーゼＩ阻害作用を有することが確認されている（Ｏｇｉｔａｎｉ　Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，　２０１６，　Ｏｃｔ　１５；２２（２０）：５０９７－５１０８，　Ｅｐｕｂ　２０１６　Ｍａｒ　２９）。上記化合物を遊離する抗体薬物複合体であれば、抗体の認識する抗原をｈＴＲＯＰ２に限定することなく、本発明の方法を適用することが可能である。
【００７２】
トポイソメラーゼＩは、ＤＮＡの単鎖の切断と再結合を行うことによりＤＮＡの高次構造を変換しＤＮＡの合成に関与する酵素である。従って、トポイソメラーゼＩ阻害作用を有する薬剤は、ＤＮＡの合成を阻害することにより、細胞周期のＳ期（ＤＮＡ合成期）で細胞分裂を停止させ、アポトーシスによる細胞死を誘導することにより、がん細胞の増殖を抑制することができる。
【００７３】
なお、本発明で使用される抗体薬物複合体は、バイスタンダー効果を有することも知られている（Ｏｇｉｔａｎｉ　Ｙ．　ｅｔ　ａｌ．，　Ｃａｎｃｅｒ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　（２０１６）　１０７，　１０３９－１０４６）。このバイスタンダー効果は、本発明で使用される抗体薬物複合体が、標的発現がん細胞に内在化した後、上記化合物が、標的を発現していない近傍のがん細胞に対しても抗腫瘍効果を及ぼすことにより発揮される。
【００７４】
本発明において使用される抗体薬物複合体の製造に使用される薬物リンカー中間体は、次式で示される。
【００７５】

【化６】



【００７６】
上記の薬物リンカー中間体は、Ｎ－［６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）ヘキサノイル］グリシルグリシル－Ｌ－フェニルアラニル－Ｎ－［（２－｛［（１Ｓ，９Ｓ）－９－エチル－５－フルオロ－９－ヒドロキシ－４－メチル－１０，１３－ジオキソ－２，３，９，１０，１３，１５－ヘキサヒドロ－１Ｈ，１２Ｈ－ベンゾ［ｄｅ］ピラノ［３’，４’：６，７］インドリジノ［１，２－ｂ］キノリン－１－イル］アミノ｝－２－オキソエトキシ）メチル］グリシンアミド、という化学名で表すことができ、国際公開第２０１５／０９８０９９号等の記載を参考に製造することができる。
【００７７】
本発明において使用される抗体薬物複合体は、前述の薬物リンカー中間体と、チオール基（又はスルフヒドリル基とも言う）を有する抗体を反応させることによって製造することができる。
【００７８】
スルフヒドリル基を有する抗体は、当業者周知の方法で得ることができる（Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｇ．Ｔ，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，ｐｐ．５６－１３６，ｐｐ．４５６－４９３，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ（１９９６））。例えば、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩（ＴＣＥＰ）等の還元剤を、抗体内鎖間ジスルフィド１個当たりに対して０．３乃至３モル当量用い、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）等のキレート剤を含む緩衝液中で、抗体と反応させることで、抗体内鎖間ジスルフィドが部分的又は完全に還元されたスルフヒドリル基を有する抗体を得ることができる。
【００７９】
さらに、スルフヒドリル基を有する抗体１個あたり、２乃至２０モル当量の薬物リンカー中間体を使用して、抗体１個当たり２個乃至８個の薬物が結合した抗体薬物複合体を製造することができる。
【００８０】
製造した抗体薬物複合体の抗体一分子あたりの平均薬物結合数は、例えば、２８０ｎｍ及び３７０ｎｍの二波長における抗体薬物複合体とそのコンジュゲーション前駆体のＵＶ吸光度を測定することにより算出する方法（ＵＶ法）や、抗体薬物複合体を還元剤で処理し得られた各フラグメントをＨＰＬＣ測定により定量し算出する方法（ＨＰＬＣ法）により行うことができる。
【００８１】
抗体と薬物リンカー中間体のコンジュゲーション、及び抗体薬物複合体の抗体一分子あ

たりの平均薬物結合数の算出は、国際公開第２０１５／０９８０９９号、及び国際公開第２０１７／００２７７６号等の記載を参考に実施することができる。

【００８２】

本発明で使用される、上記の薬物リンカーを有する抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体としては、国際公開第２０１５／０９８０９９号に記載の抗体薬物複合体を挙げることができる。なお、該国際公開に記載の抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体において好ましいものは、配列表の配列番号３に示されるアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ１（ＴＡＧＭＱ）、配列番号４に示されるアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ２（ＷＩＮＴＨＳＧＶＰＫＹＡＥＤＦＫＧ）、及び配列番号５に示されるアミノ酸配列からなるＣＤＲＨ３（ＳＧＦＧＳＳＹＷＹＦＤＶ）を重鎖可変領域に含有する重鎖アミノ酸配列、並びに配列表の配列番号６に示されるアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ１（ＫＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ）、配列番号７に示されるアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ２（ＳＡＳＹＲＹＴ）、及び配列番号８に示されるアミノ酸配列からなるＣＤＲＬ３（ＱＱＨＹＩＴＰＬＴ）を軽鎖可変領域に含有する軽鎖アミノ酸配列からなる抗体を含有している。該国際公開に記載の抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体において、さらに好ましいものは、配列番号１に示されるアミノ酸配列の２０乃至１４０番目のアミノ酸残基からなる重鎖可変領域を含有する重鎖アミノ酸配列、及び配列番号２に示されるアミノ酸配列の２１乃至１２９番目のアミノ酸残基からなる軽鎖可変領域を含有する軽鎖アミノ酸配列からなる抗体を含有している。該国際公開に記載の抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体において特に好ましいものは、配列番号１に示される重鎖アミノ酸配列及び配列番号２に示される軽鎖アミノ酸配列からなる抗体を含有している。

【００８３】

なお、哺乳類培養細胞で生産される抗体の重鎖のカルボキシル末端のリシン残基が欠失することが知られている。従って、上記の抗体薬物複合体は、重鎖カルボキシル末端のリシン残基が欠失した抗体も含有している。

【００８４】

但し、含有される抗体がｈＴＲＯＰ２を認識できる限り、本発明で使用される抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体は、上記の特定の薬物リンカーを有するものに限定されない。このような抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体の実例としては、Ｓａｃｉｔｕｚｕｍａｂ　Ｇｏｖｉｔｅｃａｎ　（ＩＭＭＵ－１３２）を挙げることが可能である。また、国際公開第２００３/０７４５６６号、国際公開第２０１１/０６８８４５号、国際公開第２０１３/０６８９４６号、又は米国特許第７９９９０８３号明細書に記載の抗ｈＴＲＯＰ２抗体薬物複合体も、本発明で使用することが可能である。

【００８５】

生体試料

対象、例えばがんと診断された対象から採取した生体試料がＲＮＡの供給源として使用され、当該試料中のＲＮＡレベルでの遺伝子発現のレベルが決定され得る。当該生体試料は、例えば、血液、例えば全血又は血液由来物、例えばエキソソーム、組織、細胞及び又は循環系組織細胞を含み得る。幾つかの態様において、当該生体試料は、腫瘍から取り出されても良い。

【００８６】

エキソソームは細胞から分泌される脂質二重膜からなる小胞である。１９８０年代に発見されてから現在までの多くの研究により、細胞のあいだを移動しさまざまな分子を輸送することがわかってきた。その形態的な特徴により、タンパク質ばかりでなく、核酸、糖質、脂質など、多くの生理活性分子を含む。また、エキソソームはｍｉＲＮＡ及びｍＲＮＡを含み、それらは細胞のあいだを輸送されることが明らかにされた。従って、本発明が適用される生体試料として、エキソソームを選択することも可能である。

【００８７】

生体試料は、静脈穿刺等の公知の手段により、又は公知の腫瘍生検装置や手順を用いて、取得されてもよい。内視鏡生検、切除生検、切開生検、微細針生検、パンチ生検、切削生検及び皮膚生検が、腫瘍試料を取得するために当業者が使用し得る認識される医学的手

順の例である。生体試料は、遺伝子発現を測定するための十分なＲＮＡ、又は薄片を提供するのに十分な大きさを有するべきである。

【００８８】

幾つかの態様において、本願方法は、自家組織試料を提供する、又は自家組織試料を採取することに同意して、がんと診断されたヒト対象におけるｍＲＮＡレベルでの遺伝子発現を評価する工程を含む。

【００８９】

前記生体試料は、遺伝子発現又は量の測定を可能とする任意の形態であってもよい。即ち、当該試料は、ＲＮＡ抽出又は薄層調製に充分でなければならない。従って、当該試料は、新鮮で、適切な低温技術を用いて保存され、又は非低温技術を用いて保存され得る。例えば、臨床生検試料を操作する標準的なプロセスは、組織試料をホルマリン中で固定し、それをパラフィン中に包埋する。この形態の試料は、ホルマリン固定パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）組織として通常知られている。その後の解析のための組織調製の適切な技術は、当業者に周知である。

【００９０】

遺伝子発現

本願において、生体試料中の遺伝子発現レベルの決定又は測定は、適切な方法を用いて実施される。幾つかのそのような方法は、当該技術分野で周知である。例えば、遺伝子発現の決定は、試料中のＲＮＡ、例えばｍＲＮＡのレベル又は量を測定することによってなされる。

【００９１】

ＰＣＲ又はマイクロアレイのプライマー及び／又はプローブは、ｍＲＮＡの３’末端上に設計される。ＲＮＡ単離又はｃＤＮＡ合成の実験プロセスの過程で高い保存性（安定性）をもたらすと考えられるからである。前記プローブは、特定の形態の転写バリアントを検出するように、所望の配列に基づいて設計され得る。適切な検出方法の例を以下に示すが、これらに限定されるものではない。

【００９２】

ＲＮＡ解析

公知のマイクロアレイ解析や、定量的ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）は、ｍＲＮＡレベルでの遺伝子発現のレベルを決定する方法の例である。幾つかの態様において、ＲＮＡは、細胞、腫瘍又は組織から、標準的なプロトコールを使用して抽出される。他の態様において、ＲＮＡ解析は、ＲＮＡ単離を要しない技術を使用して実施される。

【００９３】

組織サンプルから真核生物ｍＲＮＡ（すなわち、ポリ（ａ）ＲＮＡ）を迅速且つ効率的に抽出するための方法は、十分に確立されており、当業者に公知である。例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら，１９９７，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｏｆ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓを参照のこと。上記組織サンプルは、新鮮、凍結、又は固定されパラフィン包埋された（ＦＦＰＥ）、臨床研究腫瘍標本であり得る。一般に、新鮮な組織サンプル又は凍結組織サンプルから単離されたＲＮＡは、ＦＦＰＥサンプル由来のＲＮＡよりフラグメント化が少ない傾向にある。しかし、腫瘍材料のＦＦＰＥサンプルは、より容易に入手可能であり、ＦＦＰＥサンプルは、本発明の方法における使用のためのＲＮＡの適切な供給源である。ＲＴ－ＰＣＲによる遺伝子発現プロファイリングのためのＲＮＡ供給源としてのＦＦＰＥサンプルの考察については、例えば、Ｃｌａｒｋ－Ｌａｎｇｏｎｅら，２００７，ＢＭＣ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ８：２７９を参照されたい。また、Ｄｅ Ａｎｄｒｅｕｓら，１９９５，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １８：４２０４４；及びＢａｋｅｒら，米国特許出願公開第２００５／００９５６３４号を参照されたい。

【００９４】

ＲＮＡ抽出及び調製についての業者の説明書付きの市販キットの使用は、一般的である。種々のＲＮＡ単離製品及び完全なキットの商業的業者としては、Ｑｉａｇｅｎ（Ｖａｌ

ｅｎｃｉａ，ＣＡ）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、Ａｍｂｉｏｎ（Ａｕｓｔｉｎ，ＴＸ）及びＥｘｉｑｏｎ（Ｗｏｂｕｒｎ，ＭＡ）を挙げることができる。

【００９５】

一般に、ＲＮＡ単離は、組織／細胞破壊で始まる。組織／細胞破壊の間に、ＲＮａｓｅによるＲＮＡ分解を最小限にすることが望ましい。ＲＮＡ単離プロセスの間にＲＮａｓｅ活性を制限する１つのアプローチは、上記細胞が破壊されたら直ぐに、変性剤を、細胞内容物と接触した状態におくことを確実にすることである。別の一般的な慣行は、ＲＮＡ単離プロセスにおいて１種以上のプロテアーゼを含めることである。必要に応じて、新鮮な組織サンプルは、集められたら直ぐに、室温でＲＮＡ安定化溶液中に浸漬される。上記安定化溶液は、上記細胞に迅速に浸透し、４℃での貯蔵、その後の単離のために、上記ＲＮＡを安定化する。１つのこのような安定化溶液は、ＲＮＡｌａｔｅｒ（登録商標）（Ａｍｂｉｏｎ，Ａｕｓｔｉｎ，ＴＸ）として市販されている。

【００９６】

いくつかのプロトコールにおいて、全ＲＮＡは、塩化セシウム密度勾配遠心分離によって、破壊された腫瘍材料から単離される。一般に、ｍＲＮＡは、全細胞ＲＮＡのうちの約１％～５％を構成する。固定化オリゴ（ｄＴ）（例えば、オリゴ（ｄＴ）セルロース）は、ｍＲＮＡを、リボソームＲＮＡ及びトランスファーＲＮＡから分離するために一般に使用される。単離後に貯蔵される場合、ＲＮＡは、ＲＮａｓｅを含まない条件下で貯蔵されなければならない。単離されたＲＮＡの安定な貯蔵のための方法は、当該分野で公知である。ＲＮＡを安定に貯蔵するための種々の市販の製品が、利用可能である。

【００９７】

マイクロアレイ

ｍＲＮＡ発現レベルは、従来のＤＮＡマイクロアレイ発現プロファイリング技術を使用して決定（例えば、測定）され得る。ＤＮＡマイクロアレイは、固体表面又は支持層（例えば、ガラス、プラスチック又はシリコン）に固定化した特定のＤＮＡセグメント又はプローブの集まりであり、各特定のＤＮＡセグメントは、アレイにおいて既知の位置を占有する。通常は、ストリンジェントな条件下での標識されたＲＮＡのサンプルとのハイブリダイゼーションは、上記アレイにおける各プローブに対応するＲＮＡ分子の検出及び定量を可能にする。非特異的に結合したサンプル材料を除去するためのストリンジェントな洗浄後、上記マイクロアレイは、共焦点レーザー顕微鏡又は他の適切な検出法によって、スキャンされる。現代の市販のＤＮＡマイクロアレイ（しばしば、ＤＮＡチップとして公知）は、代表的には、数万のプローブを含み、従って、数万の遺伝子の発現を同時に測定し得る。このようなマイクロアレイは、本発明の実施において使用され得る。あるいは、特定の遺伝子の発現を測定するために必要とされる程度の数のプローブと、必要なコントロール又は標準（例えば、データ正規化のため）とを含む特注チップが、本願方法の実施において使用され得る。

【００９８】

データ正規化を促進するために、２色のマイクロアレイリーダーが使用され得る。２色（２チャネル）システムにおいて、サンプルは、第１の波長で発光する第１のフルオロフォアで標識される一方で、ＲＮＡ又はｃＤＮＡ標準は、異なる波長で発光する第２のフルオロフォアで標識される。例えば、Ｃｙ３（５７０ｎｍ）及びＣｙ５（６７０ｎｍ）は、しばしば、２色のマイクロアレイシステムにおいて一緒に使用される。

【００９９】

ＤＮＡマイクロアレイ技術は、十分に発展されており、市販され、広く使用されている。従って、本願方法を実施するにおいて、当業者は、過度の実験なくして、生体マーカータンパク質をコードする遺伝子の発現レベルを測定するために、マイクロアレイ技術を使用し得る。ＤＮＡマイクロアレイチップ、試薬（例えば、ＲＮＡ若しくはｃＤＮＡの調製、ＲＮＡ若しくはｃＤＮＡの標識に必要なもの、ハイブリダイゼーション溶液及び洗浄溶液）、機器（例えば、マイクロアレイリーダー）及びプロトコールは、当該分野で周知であり、種々の商業的供給元から市販される。マイクロアレイシステムの商業的業者として

は、Ａｇｉｌｅｎｔ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｓａｎｔａ Ｃｌａｒａ，ＣＡ）及びＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ（Ｓａｎｔａ Ｃｌａｒａ，ＣＡ）が挙げることができるが、他のアレイシステムも使用され得る。

【０１００】

定量的ＰＣＲ

ｍＲＮＡのレベルは、従来の定量的逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（ｑＲＴ－ＰＣＲ）技術を使用して測定され得る。ｑＲＴ－ＰＣＲの利点としては、感度、柔軟性、定量的正確性、配列の同一性の高いｍＲＮＡ間を識別する能力を挙げることができる。定量的ＰＣＲのために組織サンプルを加工処理することに関するガイダンスは、種々の供給元（例えば、ｑＲＴ－ＰＣＲについての装置及び試薬の製造業者及び業者）（例えば、Ｑｉａｇｅｎ（Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）及びＡｍｂｉｏｎ（Ａｕｓｔｉｎ，ＴＸ））から入手可能である。ｑＲＴ－ＰＣＲの自動運転のための機器及びシステムは、市販されており、多くの研究室において慣用的に使用されている。周知の商業的システムの例は、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ ７９００ＨＴ Ｆａｓｔ Ｒｅａｌ－Ｔｉｍｅ ＰＣＲ Ｓｙｓｔｅｍ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ，ＣＡ）である。

【０１０１】

いったん単離されたｍＲＮＡを手にしたら、ＲＴ－ＰＣＲによる遺伝子発現測定の第１の工程は、上記ｍＲＮＡテンプレートをｃＤＮＡへと逆転写することである。次いで、ｃＤＮＡは、ＰＣＲ反応において指数関数的に増幅させられる。２つの一般的に使用される逆転写酵素は、トリ骨髄芽球症ウイルス（ａｖｉｌｏ ｍｙｅｌｏｂｌａｓｔｏｓｉｓ ｖｉｒｕｓ）逆転写酵素（ＡＭＶ－ＲＴ）及びモロニーマウス白血病ウイルス逆転写酵素（ＭＭＬＶ－ＲＴ）である。上記逆転写反応は、代表的には、特定のプライマー、ランダムヘキサマー、又はオリゴ（ｄＴ）プライマーで開始される（ｐｒｉｍｅｄ）。適切なプライマーは、市販されている（例えば、ＧｅｎｅＡｍｐ（登録商標） ＲＮＡ ＰＣＲキット（Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ））。得られたｃＤＮＡ生成物は、その後のポリメラーゼ連鎖反応においてテンプレートとして使用され得る。

【０１０２】

上記ＰＣＲ工程は、熱安定性ＤＮＡ依存性ＤＮＡポリメラーゼを使用して行われる。ＰＣＲシステムにおいて最も一般的に使用されるポリメラーゼは、Ｔｈｅｒｍｕｓ ａｑｕａｔｉｃｕｓ（Ｔａｑ）ポリメラーゼである。ＰＣＲの選択性は、増幅について標的とされたＤＮＡ領域（すなわち、所望のタンパク質をコードする遺伝子から逆転写されたｃＤＮＡの領域）に相補的であるプライマーの使用から生じる。従って、本発明においてｑＲＴ－ＰＣＲが使用される場合、各マーカー遺伝子に特異的なプライマーは、上記遺伝子のｃＤＮＡ配列に基づく。商業的技術（例えば、ＳＹＢＲ（登録商標）ｇｒｅｅｎ又はＴａｑＭａｎ（登録商標）（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ，ＣＡ））は、業者の説明書に従って使用され得る。ｍＲＮＡレベルは、ハウスキーピング遺伝子（例えば、β－アクチン又はＧＡＰＤＨ）のレベルを比較することによって、サンプル間でのローディングの差異について正規化され得る。ｍＲＮＡ発現のレベルは、任意の単一のコントロールサンプル（例えば、通常の非腫瘍組織又は細胞に由来するｍＲＮＡ）と比較して表され得る。あるいは、腫瘍サンプルのプール、若しくは腫瘍細胞株に由来するか、又は市販のコントロールｍＲＮＡのセットに由来するｍＲＮＡに対して表され得る。

【０１０３】

遺伝子の発現レベルのＰＣＲ分析に適切なプライマーセットは、過度の実験なくして、当業者によって設計及び合成され得る。

【０１０４】

あるいは、本発明を実施するためのＰＣＲプライマーセットは、商業的供給元（例えば、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ）から購入され得る。ＰＣＲプライマーは、好ましくは、長さが約１７～２５ヌクレオチドである。プライマーは、融解温度（Ｔｍ）概

算のための従来のアルゴリズムを使用して、特定のＴｍを有するように設計され得る。プライマー設計及びＴｍ概算のためのソフトウェアは、市販されており（例えば、Ｐｒｉｍｅｒ ＥｘｐｒｅｓｓＴＭ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ））、インターネット上でも利用可能である（例えば、Ｐｒｉｍｅｒ３（Ｍａｓｓａｃｈｕｓｅｔｔｓ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ））。ＰＣＲプライマー設計の確立された原理を適用することによって、多数の異なるプライマーが、任意の所定の遺伝子の発現レベルを測定するために使用され得る。

【０１０５】

ｑＮＰＡ

幾つかの態様において、ＲＮＡ解析は、ＲＮＡ抽出又は単離を含まない技術を使用して実施される。そのような技術の一つは、ｑＮＰＡ（登録商標）の名称で市販されている（Ｈｉｇｈ Ｔｈｒｏｕｇｈｐｕｔ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，Ｉｎｃ．，Ｔｕｃｓｏｎ，ＡＺ）、定量ヌクレアーゼ保護アッセイである。この技術は、解析する組織試料がＦＦＰＥ材料の形態である場合に有利であり得る。例えばＳｅｅ，ｅ．ｇ．，Ｒｏｂｅｒｔｓ ｅｔ ａｌ，２００７，Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ ８７：９７９－９９７を参照されたい。

【０１０６】

ｎＣｏｕｎｔｅｒ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｓｙｓｔｅｍ

ｎＣｏｕｎｔｅｒ（登録商標）は ＮａｎｏＳｔｒｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ社が開発したデジタル分子バーコード技術に基づいた分子をダイレクトにカウントするシステムであり、最大８００種類のＲＮＡやＤＮＡをシングルチューブで迅速且つ高精度に解析することが可能である。 ｎＣｏｕｎｔｅｒの解析では、標的分子の配列に特異的なバーコードを有するプローブ（Ｒｅｐｏｒｔｅｒ Ｐｒｏｂｅ）と解析用カートリッジに固定するためのプローブ（Ｃａｐｔｕｒｅ Ｐｒｏｂｅ）を標的の核酸とハイブリダイズさせ、蛍光スキャナーによりカートリッジの表面に固定化された各標的配列のカラーバーコードの並びをカウントする。例えば、Ｇｅｉｓｓ Ｇ，ｅｔ ａｌ．，２６：３１７－２５（２００８）．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙを参照されたい。

【０１０７】

ＨＴＧ ＥｄｇｅＳｅｑ Ａｓｓａｙｓ

ＥｄｇｅＳｅｑ は、ＨＴＧ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社が開発した計測機器、消耗品、ソフトウェアの分析からなる、腫瘍プロファイリング、分子診断テスト及びバイオマーカーの開発を含むサンプルプロファイリングアプリケーションである。生物学的サンプルにヌクレアーゼ保護化学を用いて遺伝子及び遺伝子活性の分子プロファイリングを自動化する。例えば、Ｍａｒｔｅｌ Ｒ．，ｅｔ ａｌ．Ａｓｓａｙ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖ Ｔｅｃｈｎｏｌ．２００２ Ｎｏｖ；１（１）：６１－７１を参照されたい。上記により個々の遺伝子の発現量がカウント値として得られる。カウント値はサンプル間での分布のバラツキを補正する正規化と呼ばれる作業を経て、解析に使用される。具体的な正規化の手法としては、Ｍｅｄｉａｎ ｎｏｒｍａｌｉｚａｔｉｏｎ法を挙げることができる。Ｍｅｄｉａｎ ｎｏｒｍａｌｉｚａｔｉｏｎ法では、下記に示す方法で各サンプルについてＳｃａｌｉｎｇ ｆａｃｔｏｒを求め、遺伝子の発現量をＳｃａｌｉｎｇ ｆａｃｔｏｒで割り返すことで補正を行う。i番目のサンプル（$Sample_i$）のｇ番目の遺伝子（$Gene_g$）について、全てのサンプルの発現量（カウント値）の幾何平均を求め、$Gene_g$の発現量をその幾何平均で割った値を$Sample_i$の$Gene_g$に対するＳｃａｌｉｎｇ ｆａｃｔｏｒ（S_{ig}）とする。Ｓｃａｌｉｎｇ ｆａｃｔｏｒを全ての遺伝子について求めた後に、$Sample_i$内でのS_{ig}の中央値を$Sample_i$のＳｃａｌｉｎｇ ｆａｃｔｏｒ（S_i）とする。最後に、$Sample_i$の全ての遺伝子発現量をS_iで割り返した値をＭｅｄｉａｎ Ｎｏｒｍａｌｉｚｅｄ Ｃｏｕｎｔ （ＭＮＣ）として得る。本手法の詳細については、例えば（Ａｎｄｒｅｓ，Ｓ．ａｎｄ Ｈｕｂｅｒ Ｗ Ｇｅｎｏｍｅ Ｂｉｏｌ．２０１０；１１（１０）：Ｒ１０６）を参照されたい。

【０１０８】

次世代ＲＮＡシーケンシング

従来のサンガー法とは異なり、高度な並列化処理を行うことで短時間且つ低コストで莫大な配列情報を取得できる次世代シーケンス技術を用いたＲＮＡシーケンシング解析であり、トランスクリプトーム全体の発現をより高感度且つ高精度に解析することができる。現在汎用されている代表的な次世代シーケンス技術としては、イルミナ社（Ｉｌｌｕｍｉｎａ　Ｉｎｃ．）の１塩基合成反応シーケンス技術（Ｓｅｑｕｅｎｃｉｎｇ　ｂｙ　ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ）や、サーモフィッシャーサイエンティフィック社（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｉｎｃ．）のイオン半導体シーケンス技術（Ｉｏｎ　Ｔｏｒｒｅｎｔ　ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）等を挙げることができる。各技術の詳細は、例えばＢｕｅｒｍａｎｓ　ＨＰ．，　ｅｔ　ａｌ．　Ｂｉｏｃｈｉｍ　Ｂｉｏｐｈｙｓ　Ａｃｔａ．２０１４　Ｏｃｔ；１８４２（１０）：１９３２－１９４１を参照されたい。また、上記の次世代シーケンス技術を用いて得られた個々の配列情報（リード）は、それぞれどの遺伝子の転写物に由来しているものかを同定するマッピング作業や、各転写物にマッピングされたリード数を、転写物の長さや当該解析で得られた総リード数等により補正する正規化と呼ばれる作業を経て、解析に使用される。具体的な正規化の手法としては、例えば転写物の長さを１ｋｂ、総リード数を１００万とし、各遺伝子の遺伝子長で補正されたリード数であるｒｅａｄｓ　ｐｅｒ　ｋｉｌｏｂａｓｅ　ｏｆ　ｅｘｏｎ　ｐｅｒ　ｍｉｌｌｉｏｎ　ｍａｐｐｅｄ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｒｅａｄｓ　（ＲＰＫＭ）値を挙げることができる。同様に総リード数を１００万とし、各遺伝子の遺伝子長で補正されたフラグメント数であるｆｒａｇｍｅｎｔｓ　ｐｅｒ　ｋｉｌｏｂａｓｅ　ｏｆ　ｅｘｏｎ　ｐｅｒ　ｍｉｌｌｉｏｎ　ｍａｐｐｅｄ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｒｅａｄｓ　（ＦＰＫＭ）値や、各転写産物のリード数を遺伝子長で補正し、総リード数を１００万とした場合の転写産物数を表すｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｓ　ｐｅｒ　ｍｉｌｌｉｏｎ（ＴＰＭ）値等も汎用される。ＲＰＫＭは既知の遺伝子モデルを用いてエキソンにマップされたリードを数え上げて遺伝子ごとの発現量を計算するのに対して、ＦＰＫＭは推定されたアイソフォームごとにフラグメントを数え上げることでアイソフォームレベルの発現量を計算する。各正規化の手法の詳細は、例えばＣｏｎｅｓａ　Ａ.，ｅｔ　ａｌ．Ｇｅｎｏｍｅ　Ｂｉｏｌ．２０１６　Ｊａｎ　２６；１７:１３を参照されたい。

【０１０９】

ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現の評価

ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現は、ヒト患者由来の生体試料において評価され得る。そのような態様は、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子発現の評価を依頼し、評価結果を受け取る工程を含む。幾つかの態様は、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子発現の数値を決定する工程、及び任意の方法で決定された数値を記録する工程を含む。

【０１１０】

ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現レベルは、所定の数値に関連して解釈され得る。所定の数値と等しい場合、数値以上である場合、又は数値を上回る場合に、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現レベルは、対象が、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬による治療に感受性（応答性）であると予測できると解釈される。幾つかの態様において、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現レベルが、所定の数値と等しい場合、数値以下である場合、又は数値を下回る場合、腫瘍が抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬による治療に耐性（非応答性）であると予測できると解釈される。

【０１１１】

幾つかの態様において、生体試料中のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現のレベルを表す数値に基づいて、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現は、高発現又は低発現と評価され得る。対象は、例えば、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２発現に基づいて、高発現又は低発現と評価され得る。

【０１１２】

前記発現レベルは、上記のような任意の公知の方法により評価され得る。例えば、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量は、次世代ＲＮＡシーケンシングによって算出されるｒｅａｄｓ　ｐｅｒ　ｋｉｌｏｂａｓｅ　ｏｆ　ｅｘｏｎ　ｐｅｒ　ｍｉｌｌｉｏｎ　ｍａｐｐｅｄ　ｓｅ

ｑｕｅｎｃｅ ｒｅａｄｓ （ＲＰＫＭ）値に基づいて評価され得る。ＲＰＫＭ値は、次世代シーケンサにて得られたリードの数を各遺伝子のエキソンの長さ及びシーケンサで読まれた配列の総数を用いて正規化した値であり、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量はＲＰＫＭ値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値を使用して解析することができる。

【０１１３】

ＲＰＫＭ値とｈＴＲＯＰ２遺伝子発現は、相関している。従って、ＲＰＫＭ値が高い場合、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現も高い。幾つかの態様において、Log_2[ＲＰＫＭ＋１]値が所定の数値以上であるか、又は上回る場合、高ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現と評価される。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。設定された数値は、６．０～９．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，８．０，８．１，８．２，８．３，８．４，８．５，８．６，８．７，８．８，８．９，及び９．０からなる群から選択することが可能である。また、設定された数値は、６．０～８．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択することが可能である。さらに、設定された数値は、６．５～８．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択することが可能である。さらに、設定された数値は、７．０～８．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択することが可能である。さらに、設定された数値は、７．５～８．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択することが可能である。設定された数値は、６．５，７．０，７．５，及び８．０からなる群から選択することも可能である。

【０１１４】

ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量は、次世代ＲＮＡシーケンシングによって算出されるｆｒａｇｍｅｎｔｓ ｐｅｒ ｋｉｌｏｂａｓｅ ｏｆ ｅｘｏｎ ｐｅｒ ｍｉｌｌｉｏｎ ｍａｐｐｅｄ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｒｅａｄｓ （ＦＰＫＭ）値に基づいて評価され得る。ＦＰＫＭ値は、次世代シーケンサにて得られたリードの数を各遺伝子の遺伝子長及びシーケンサで読まれた配列の総数を用いて正規化した値であり、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量はＦＰＫＭ値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値を使用して解析することができる。

【０１１５】

ＦＰＫＭ値とｈＴＲＯＰ２遺伝子発現は、相関している。従って、ＦＰＫＭ値が高い場合、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現も高い。幾つかの態様において、Log_2[ＦＰＫＭ＋１]値が所定の数値以上であるか、又は上回る場合、高ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現と評価される。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。設定された数値は、６．０～８．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択することが可能である。また、設定された数値は、６．０～７．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，及び７．０からなる群から選択することが可能である。設定された数値は、６．０，又は７．０を選択することも可能である。

【０１１６】
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量は、ＥｄｇｅＳｅｑ　Ａｓｓａｙによって算出されるＭｅｄｉａｎ　Ｎｏｒｍａｌｉｚｅｄ　Ｃｏｕｎｔ　（ＭＮＣ）値に基づいて評価され得る。ＭＮＣ値は、ＥｄｇｅＳｅｑ　ＡｓｓａｙにてＭｅｄｉａｎ　ｎｏｒｍａｌｉｚａｔｉｏｎ法を用いて得られた値であり、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量はＭＮＣ値に１を加え、対数（Ｌｏｇ$_2$）とした値であるＬｏｇ$_2$[ＭＮＣ＋１]値を使用して解析することができる。
【０１１７】
ＭＮＣ値とｈＴＲＯＰ２遺伝子発現は、相関している。従って、ＭＮＣ値が高い場合、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現も高い。幾つかの態様において、Ｌｏｇ$_2$[ＭＮＣ＋１]値が所定の数値以上であるか、又は上回る場合、高ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現と評価される。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。設定された数値は、１２．０～１５．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，１４．０，１４．１，１４．２，１４．３，１４．４，１４．５，１４．６，１４．７，１４．８，１４．９，及び１５．０からなる群から選択することが可能である。また、設定された数値は、１２．０～１４．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，及び１４．０からなる群から選択することが可能である。設定された数値は、１２．０，１３．０，又は１４．０を選択することも可能である。
【０１１８】
幾つかの態様において、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２遺伝子発現は、規制当局に認可された試験を使用して評価される。幾つかの態様において、前記規制当局に認可された試験は、ＦＤＡ、ＥＭＡ又はＰＭＤＡによって認可された試験である。
【０１１９】
ＳＬＦＮ１１遺伝子発現の評価
ＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、ヒト患者由来の生体試料において評価され得る。そのような態様は、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子発現の評価を依頼し、評価結果を受け取る工程を含む。幾つかの態様は、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子発現の数値を決定する工程、及び任意の方法で決定された数値を記録する工程を含む。
【０１２０】
ＳＬＦＮ１１遺伝子発現レベルは、所定の数値に関連して解釈され得る。所定の数値と等しい場合、数値以上である場合、又は上回る場合に、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現レベルは、対象が、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬による治療に感受性（応答性）であると予測できると解釈される。幾つかの態様において、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現レベルが、所定の数値と等しい場合、数値以下である場合、又は数値を下回る場合、腫瘍が抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬による治療に耐性（非応答性）であると予測できると解釈される。
【０１２１】
幾つかの態様において、生体試料中のＳＬＦＮ１１遺伝子発現のレベルを表す数値に基づいて、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、高発現又は低発現と評価され得る。対象は、例えば、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１発現に基づいて、高発現又は低発現と評価され得る。
【０１２２】
前記発現レベルは、上記のような任意の公知の方法により評価され得る。例えば、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量は、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の場合と同じくＲＰＫＭ値に基づいて評価され得る。ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量はＲＰＫＭ値に１を加え、対数（Ｌｏｇ$_2$）とした値であるＬｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]値を使用して解析することができる。
【０１２３】

ＲＰＫＭ値とＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、相関している。従って、ＲＰＫＭ値が高い場合、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現も高い。幾つかの態様において、Log_2[ＲＰＫＭ＋１]値が所定の数値を上回る場合、高ＳＬＦＮ１１遺伝子発現と評価される。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。設定された数値は、１．０～４．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択することが可能である。また、設定された数値は、１．０～３．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９及び３．０からなる群から選択することが可能である。さらに、設定された数値は、２．０～３．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９及び３．０からなる群から選択することが可能である。設定された数値は、１．０，２．０及び３．０からなる群から選択することが可能であり、３．０と設定することも可能である。

【０１２４】

ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量は、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の場合と同じくＦＰＫＭ値に基づいて評価され得る。ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量はＦＰＫＭ値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値を使用して解析することができる。

【０１２５】

ＦＰＫＭ値とＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、相関している。従って、ＦＰＫＭ値が高い場合、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現も高い。幾つかの態様において、Log_2[ＦＰＫＭ]値が所定の数値を上回る場合、高ＳＬＦＮ１１遺伝子発現と評価される。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。設定された数値は、２．０～４．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択することが可能である。また、設定された数値は、２．０～３．０の範囲で選択することが可能であり、例えば、２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９及び３．０からなる群から選択することが可能である。設定された数値は、２．０又は３．０を選択することが可能である。

【０１２６】

ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量は、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の場合と同じくＭＮＣ値に基づいて評価され得る。ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量はＭＮＣ値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＭＮＣ＋１]値を使用して解析することができる。

【０１２７】

ＭＮＣ値とＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、相関している。従って、ＭＮＣ値が高い場合、ＳＬＦＮ１１遺伝子発現も高い。幾つかの態様において、Log_2[ＭＮＣ]値が所定の数値を上回る場合、高ＳＬＦＮ１１遺伝子発現と評価される。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。設定された数値は、１１．５～１３．５の範囲で選択することが可能であり、例えば、１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０，１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，及び１３．５からなる群から選択することが可能である。また、設定された数値は、１１．５～１２．５の範囲で選択することが可能であり、例えば、１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１

２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，及び１２．５からなる群から選択することが可能である。設定された数値は、１１．５，１２．０，又は１２．５を選択することが可能である。

【０１２８】

幾つかの態様において、ｍＲＮＡレベルでのＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、規制当局に認可された試験を使用して評価される。幾つかの態様において、前記規制当局に認可された試験は、例えばＦＤＡ、ＥＭＡ又はＰＭＤＡによって認可された試験である。

【０１２９】

投与と治療

幾つかの態様において、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現の評価は、ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現と組み合わせて評価され得る。２種類の感受性マーカーを組み合わせることによって、より精度の高い評価が可能となる。幾つかの態様において、がんに罹患しているヒト患者は、ｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現が高いと評価された場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与されて治療され得る。幾つかの態様において、がんに罹患しているヒト患者は、ｈＴＲＯＰ２遺伝子及び／又はＳＬＦＮ１１遺伝子の発現が低いと評価された場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬の投与を回避され得る。

【０１３０】

抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬の好適な投与量として、２．０ｍｇ/ｋｇ、４．０ｍｇ/ｋｇ、６．０ｍｇ/ｋｇ、８．０ｍｇ/ｋｇ、又は１０．０ｍｇ/ｋｇの各投与量を挙げることができるが、これらの投与量に限定されるものではない。また、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬の好適な投与間隔としては、３週間間隔を挙げることができるが、この投与間隔に限定されるものではない。

【０１３１】

ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量は、ＲＰＫＭ値に基づいて評価され得る。各遺伝子の発現量はＲＰＫＭ値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値を使用して解析することができる。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。

【０１３２】

前記のようにｈＴＲＯＰ２遺伝子におけるLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値は、６．０～９．０の範囲で設定することが可能である。また、ＳＬＦＮ１１遺伝子におけるLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値は、１．０～４．０の範囲で設定することが可能である。設定された数値を組み合わせる場合、がんに罹患しているヒト患者は、ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における設定値の双方を満たす場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与されて治療され得る。また、幾つかの態様において、ｈＴＲＯＰ２又はＳＬＦＮ１１遺伝子における設定値のいずれか一方を満たす場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与されて治療され得る。

【０１３３】

ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における好適なLog_2[ＲＰＫＭ＋１]設定値の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては１．０，１．１，１．２，１．３，１．４，１．５，１．６，１．７，１．８，１．９，及び２．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，及び７．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせ、並びにｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，及び７．５からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。

【０１３４】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における好適なＬｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]設定値のさらに別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，及び７．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．０，７．１，７．２，７．３，７．４，及び７．５からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせ、並びにｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせ、を挙げることができる。
【０１３５】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子におけるさらに好適なＬｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]設定値の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における７．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における１．０の組み合わせ、又はｈＴＲＯＰ２遺伝子における６．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における２．０の組み合わせのいずれか一つ満たす場合を挙げることができる。
【０１３６】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子におけるさらに好適なＬｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]設定値の別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における７．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における２．０の組み合わせ、又はｈＴＲＯＰ２遺伝子における６．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における３．０の組み合わせのいずれか一つを満たす場合を挙げることができる。
【０１３７】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子におけるさらに好適なＬｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]設定値の別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における７．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における１．０の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における６．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における２．０の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における７．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における２．０の組み合わせ、並びにｈＴＲＯＰ２遺伝子における６．５及びＳＬＦＮ１１遺伝子における３．０の組み合わせからなる群から選択されるいずれか一つの組み合わせを挙げることができる。
【０１３８】
また、ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量は、ＦＰＫＭ値に基づいて評価され得る。各遺伝子の発現量はＦＰＫＭ値に１を加え、対数（Ｌｏｇ$_2$）とした値であるＬｏｇ$_2$[ＦＰＫＭ＋１]値を使用して解析することができる。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。
【０１３９】
前記のようにｈＴＲＯＰ２遺伝子におけるＬｏｇ$_2$[ＦＰＫＭ＋１]値は、６．０～８．０の範囲で設定することが可能である。また、ＳＬＦＮ１１遺伝子におけるＬｏｇ$_2$[ＦＰＫＭ＋１]値は、２．０～４．０の範囲で設定することが可能である。設定された数値を組み合わせる場合、がんに罹患しているヒト患者は、ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における設定値の双方を満たす場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与されて治療され得る。また、幾つかの態様において、ｈＴＲＯＰ２又はＳＬＦＮ１１遺伝子における設定値のいずれか一方を満たす場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与さ

れて治療され得る。
【０１４０】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における好適なＬｏｇ$_2$[ＦＰＫＭ＋１]設定値の組み合わせとしては、
ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．０，７．１，７．２，７，３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，８．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては２．０，２．１，２．２，２．３，２．４，２．５，２．６，２．７，２．８，２．９，及び３．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。
【０１４１】
また、別の好適な組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては６．０，６．１，６．２，６．３，６．４，６．５，６．６，６．７，６．８，６．９，及び７．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。
【０１４２】
さらに別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては７．０，７．１，７．２，７，３，７．４，７．５，７．６，７．７，７．８，７．９，及び８．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては３．０，３．１，３．２，３．３，３．４，３．５，３．６，３．７，３．８，３．９，及び４．０からなる群から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。
【０１４３】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子におけるさらに好適なＬｏｇ$_2$[ＦＰＫＭ＋１]設定値の別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における７．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における２．０の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における６．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における３．０の組み合わせ、並びにｈＴＲＯＰ２遺伝子における７．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における３．０の組み合わせからなる群から選択されるいずれか一つの組み合わせを挙げることができる。
【０１４４】
さらに、ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量は、ＭＮＣ値に基づいて評価され得る。各遺伝子の発現量はＭＮＣ値に１を加え、対数（Ｌｏｇ$_2$）とした値であるＬｏｇ$_2$[ＭＮＣ＋１]値を使用して解析することができる。所定の数値は、偽陽性及び偽陰性の望ましくない効果を最小化するように統計的に設定され得る。
【０１４５】
前記のようにｈＴＲＯＰ２遺伝子におけるＬｏｇ$_2$[ＭＮＣ＋１]値は、１２．０～１５．０の範囲で設定することが可能である。また、ＳＬＦＮ１１遺伝子におけるＬｏｇ$_2$[ＭＮＣ＋１]値は、１１．５～１３．５の範囲で設定することが可能である。設定された数値を組み合わせる場合、がんに罹患しているヒト患者は、ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における設定値の双方を満たす場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与されて治療され得る。また、幾つかの態様において、ｈＴＲＯＰ２又はＳＬＦＮ１１遺伝子における設定値のいずれか一方を満たす場合に、抗ｈＴＲＯＰ２抗体を含有する医薬を投与されて治療され得る。
【０１４６】
ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子における好適なＬｏｇ$_2$[ＭＮＣ＋１]設定値の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，１４．０，１４．１，１４．２，１４．３，１４．４，１４．５，１４．６，１４．７，１４．８，１４．９，及び１５．０

からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０，１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，及び１３．５からなる群から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。

【０１４７】

また、別の好適な組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，１２．５，１２．６，１２．７，１２．８，１２．９，１３．０．１３．１，１３．２，１３．３，１３．４，１３．５，１３．６，１３．７，１３．８，１３．９，及び１４．０からなる群から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては１１．５，１１．６，１１．７，１１．８，１１．９，１２．０，１２．１，１２．２，１２．３，１２．４，及び１２．５からなる群から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。

【０１４８】

さらに別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子においては１２．０，１３．０，又は１４．０から選択される一つの数値及びＳＬＦＮ１１遺伝子においては１１．５，１２．０，又は１２．５から選択される一つの数値の組み合わせを挙げることができる。

【０１４９】

ｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子におけるさらに好適なLog_2[ＭＮＣ＋１]設定値の別の組み合わせとしては、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における１２．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における１１．５の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における１４．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における１１．５の組み合わせ、ｈＴＲＯＰ２遺伝子における１２．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における１２．５の組み合わせ、並びにｈＴＲＯＰ２遺伝子における１４．０及びＳＬＦＮ１１遺伝子における１２．５の組み合わせからなる群から選択されるいずれか一つの組み合わせを挙げることができる。

【０１５０】

遺伝子発現量の測定及び評価は、ｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子について同時に行っても良い。

【０１５１】

あるいは、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量の測定及び評価を最初に行い、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量が高いと評価されたヒト患者について、ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量の測定及び評価を行っても良い。

【０１５２】

あるいは、ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量の測定及び評価を最初に行い、ＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量が高いと評価されたヒト患者について、ｈＴＲＯＰ２遺伝子の発現量の測定及び評価を行っても良い。

【０１５３】

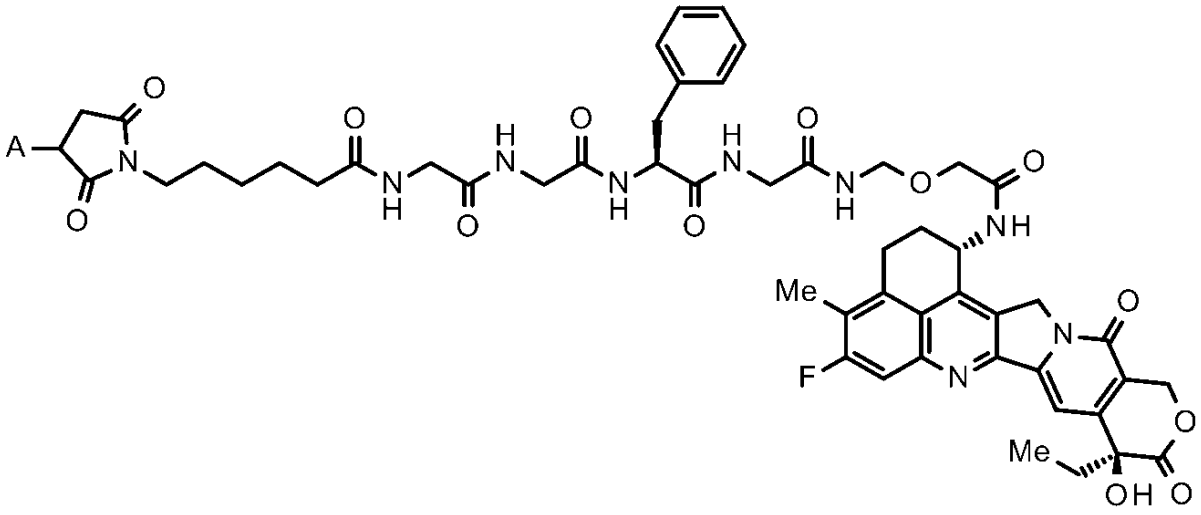
幾つかの態様において、ｍＲＮＡレベルでのｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現は、規制当局に認可された試験を使用して評価される。幾つかの態様において、前記規制当局に認可された試験は、ＦＤＡ、ＥＭＡ又はＰＭＤＡに認可された試験である。

【０１５４】

試験キット

本発明は、本発明の方法を実施するための幾つかの構成を備える診断試験キットにも関する。診断試験キットは、診断アッセイの実施における、利便性、迅速性、及び再現性を向上させる。例えば、ｑＲＴ－ＰＣＲベースの態様において、基本的な診断試験キットは、遺伝子の発現を解析するＰＣＲプライマーを含む。他の態様において、より詳細な試験キットは、ＰＣＲプライマーに加え、ＰＣＲ技術を用いて遺伝子発現レベルを測定するための、緩衝剤、試薬、及び詳細な説明書を備える。幾つかの態様において、当該キットは、試験プロトコール、及びＲＮＡ試料以外の、試験に必要な全ての消費成分を備えている。

【実施例】
【０１５５】
本発明を以下の実施例によって具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。
実施例１．抗体薬物複合体の製造
国際公開第２０１５／０９８０９９号及び国際公報第２０１７／００２７７６に記載の製造方法に従って、ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体（配列番号１においてアミノ酸番号２０乃至４７０に記載のアミノ酸配列からなる重鎖及び配列番号２においてアミノ酸番号２１乃至２３４に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖を含んでなる抗体）を用いて、式
【０１５６】
【化７】



【０１５７】
（式中、Ａは抗ｈＴＲＯＰ２抗体との結合位置を示す）
で示される薬物リンカーと、抗ｈＴＲＯＰ２抗体とがチオエーテル結合によって結合した抗体薬物複合体（以下、「抗体薬物複合体（１）」と称する）を製造した。抗体一分子当たりの平均薬物結合数は０～８の範囲で調節可能であるが、今回は平均薬物結合数３．５～４．５の抗体薬物複合体を製造し、以下の実施例において使用した。
【０１５８】
実施例２．抗体薬物複合体の抗腫瘍効果の評価（１）
マウス：５－８週齢の雌ｎｕ／ｎｕマウス（Ｅｎｖｉｇｏ）を実験使用前にＳＰＦ条件化で3日間以上馴化した。マウスには滅菌した固形飼料（Ｔｅｋｌａｄ２９１９，Ｅｎｖｉｇｏ）を給餌し、逆浸透膜処理した水（２ｐｐｍ塩素を含む）を与えた。
【０１５９】
測定、計算式：腫瘍の長径及び短径を電子式デジタルキャリパー（ＣＤ－６ＰＭＸ，Ｍｉｔｕｔｏｙｏ　Ｃｏｒｐ．）で１週間に２回測定し、以下の計算式を用いて腫瘍体積（mm^3）を算出した。
腫瘍体積（mm^3）＝０．５２×長径（mm）×［短径（mm）］^{2}
各がん患者由来腫瘍片をマウス皮下に移植・継代して得られた腫瘍を用いて、約５ｘ５ｘ５mm^3に細断した腫瘍片を雌ｎｕ／ｎｕマウスの左側腹部に皮下移植し、各ｐａｔｉｅｎｔ－ｄｅｒｉｖｅｄ　ｘｅｎｏｇｒａｆｔ（ＰＤＸ）モデルを作成した。移植した腫瘍体積の平均値が１５０－３００mm^3に達した時点で無作為に群分けを実施した（Ｄａｙ０）。群分けと同日に、抗体薬物複合体（１）を１０ｍｇ／ｋｇの用量で尾静脈内投与した。陰性対照としてＦｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ　ｂｕｆｆｅｒを１０ｍＬ／ｋｇの液量で同様に投与した。投与２１日後の各腫瘍体積を用いて、以下の計算式に従い腫瘍増殖抑制率（ＴＧＩ（％））を算出した（表１）。

腫瘍増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔｆ／ｍｅａｎ　Ｃｆ）
Ｔｆ：抗体薬物複合体（１）の投与２１日後の腫瘍体積
ｍｅａｎ　Ｃｆ：陰性対照群マウスの投与２１日後の腫瘍体積の相加平均値
上記の全ての試験は、Ｃｈａｍｐｉｏｎｓ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ社（Ｃｈａｍｐｉｏｎｓ社）において実施した。

【０１６０】

【表１】

各ＰＤＸモデルにおける抗体薬物複合体（１）の抗腫瘍活性（ＴＧＩ％）

モデルＩＤ	がん腫	ＴＧＩ（％）
＃１	Ｂｒｅａｓｔ	９８．１
＃２	Ｌｕｎｇ	７７．３
＃３	Ｃｈｏｌａｎｇｉｏｃａｒｃｉｎｏｍａ	４８．０
＃４	Ｐａｎｃｒｅａｔｉｃ	４８．５
＃５	Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ	６５．０
＃６	Ｂｒｅａｓｔ	９５．５
＃７	Ｂｒｅａｓｔ	９４．７
＃８	Ｈｅａｄ　ａｎｄ　ｎｅｃｋ	５５．６
＃９	Ｈｅａｄ　ａｎｄ　ｎｅｃｋ	９９．１
＃１０	Ｌｕｎｇ	９７．７
＃１１	Ｌｕｎｇ	９５．４
＃１２	Ｂｒｅａｓｔ	９５．８
＃１３	Ｌｕｎｇ	７０．０
＃１４	Ｂｒｅａｓｔ	９０．１
＃１５	Ｃｈｏｌａｎｇｉｏｃａｒｃｉｎｏｍａ	６１．２
＃１６	Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ	５２．７
＃１７	Ｂｒｅａｓｔ	６２．６
＃１８	Ｌｕｎｇ	１８．４
＃１９	Ｌｕｎｇ	５０．３

【０１６１】

実施例３．各ＰＤＸマウスモデル由来腫瘍におけるｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（ＲＰＫＭ値）、並びに抗体薬物複合体（１）抗腫瘍活性との関連

実施例２において使用された各ＰＤＸモデルにおける遺伝子発現量データは、Ｃｈａｍｐｉｏｎｓ社にて取得及び正規化されたＲＰＫＭ値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値を入手し（表２）、これを用いて抗体薬物複合体（１）のＰＤＸモデルにおける抗腫瘍活性（表１）とｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量の関連を解析した。評価した全モデルをｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子が一定以上の発現量を示す群に分けた場合（表３）、一定以上の薬効（今回は一例としてＴＧＩが７５％以上との基準を採用）を示す動物モデルの割合はｈＴＲＯＰ２遺伝子発現が増加且つＳＬＦＮ１１遺伝子発現が増加するほど高まることが示された（表４）。ＳＬＦＮ１１遺伝子発現による群分けを行わない場合、ＴＧＩが７５％以上を示す動物モデルの割合は４７～６３％に止まっており、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量の組み合わせが、抗体薬物複合体（１）の抗腫瘍効果を予測する感受性マーカーとして使用可能であることが明らかとなった。例えば、ｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が７．５を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が１．０を上回る場合、又はｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が６．５を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]が２．０を上回る場合、ＴＧＩが７５％以上を示す動物モデルの割合は約８０％乃至１００％となる。また、ｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が７．５を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が２．０を上回る場合、又はｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が６．５を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]が３．０を上回る場合、ＴＧＩが７５％以上を示す動物モデルの割合は１００％となる。なお、ＴＧＩが６０％以上又は７０％以上の場合でも、ＴＧＩが７５％以上の場合に設定された各Log_2[ＲＰＫＭ＋１]値により、同等の予測率で抗腫瘍効果の予測することが可能であった。ＴＧＩが８０％以上の場合は、Log_2[ＲＰＫＭ＋１]値が７．５を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＲＰＫＭ＋１]値が１．０を上回り２以下である場合のみ、予測率が６０％台に低下した。

【０１６２】

【表２】

各ＰＤＸモデルにおけるｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量

モデルＩＤ	ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Log_2[ＲＰＫＭ＋１]）	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Log_2[ＲＰＫＭ＋１]）
＃１	７．０５	３．４１
＃２	８．３７	１．５９
＃３	８．０９	０．１６
＃４	８．２５	０．４０
＃５	６．７２	０．０９
＃６	６．９９	０．００
＃７	５．２７	０．６７
＃８	８．７３	１．６６
＃９	８．１３	４．１５
＃１０	８．２５	３．４２
＃１１	６．２８	４．０５
＃１２	７．６８	２．３１
＃１３	４．８９	５．００
＃１４	８．３９	２．０３
＃１５	６．６９	０．０１
＃１６	６．８０	１．０９
＃１７	６．１０	２．７８
＃１８	７．２９	１．７４
＃１９	７．１０	２．８３

【０１６３】

【表３】
一定量以上のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現するＰＤＸモデル数

	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Ｌｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]）			
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Ｌｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]）	全モデル	>1	>2	>3
全モデル	１９	１３	９	５
>6.5	１５	１０	６	３
>7.0	１１	９	６	３
>7.5	８	６	４	２
>8.0	７	５	３	２

【０１６４】
【表４】
一定量以上のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現するＰＤＸモデルにおいて抗体薬物複合体（１）によるＴＧＩが７５％以上を示す割合

	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Ｌｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]）			
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Ｌｏｇ$_2$[ＲＰＫＭ＋１]）	全モデル	>1	>2	>3
全モデル	４７％	５４％	６７％	８０％
>6.5	４７％	６０％	８３％	１００％
>7.0	５５％	６７％	８３％	１００％
>7.5	６３％	８３％	１００％	１００％
>8.0	５７％	８０％	１００％	１００％

【０１６５】
実施例４．抗体薬物複合体の抗腫瘍効果の評価（２）
マウス：５－８週齢の雌ｎｕ／ｎｕマウス（Ｅｎｖｉｇｏ）を実験使用前にＳＰＦ条件化で3日間以上馴化した。マウスには滅菌した固形飼料（Ｔｅｋｌａｄ２９１９，Ｅｎｖｉｇｏ）を給餌し、逆浸透膜処理した水（２ｐｐｍ塩素を含む）を与えた。
【０１６６】
測定、計算式：腫瘍の長径及び短径を電子式デジタルキャリパー（ＣＤ－６ＰＭＸ，Ｍｉｔｕｔｏｙｏ Ｃｏｒｐ．）で１週間に２回測定し、以下の計算式を用いて腫瘍体積（ｍｍ^3）を算出した。
腫瘍体積（ｍｍ^3）＝０．５２×長径（ｍｍ）×［短径（ｍｍ）］^{2}
各がん患者由来腫瘍片をマウス皮下に移植・継代して得られた腫瘍を用いて、約５ｘ５ｘ５ｍｍ^{3}に細断した腫瘍片を雌ｎｕ／ｎｕマウスの左側腹部に皮下移植し、各ｐａｔｉｅｎｔ－ｄｅｒｉｖｅｄ ｘｅｎｏｇｒａｆｔ（ＰＤＸ）モデルを作成した。移植した腫

瘍体積の平均値が１５０－３００mm^{3}に達した時点で無作為に群分けを実施した（Ｄａｙ０）。群分けと同日に、抗体薬物複合体（１）を１０ｍｇ／ｋｇの用量で尾静脈内投与した。陰性対照としてＦｏｒｍｕｌａｔｉｏｎ　ｂｕｆｆｅｒを１０ｍＬ／ｋｇの液量で同様に投与した。
実施例２及び本実施例で評価したＰＤＸモデルについて、投与１０－１５日後の各腫瘍体積を用いて、以下の計算式に従い腫瘍増殖抑制率（ＴＧＩ（％））を算出した（表５）。
腫瘍増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔｆ／ｍｅａｎ　Ｃｆ）
Ｔｆ：抗体薬物複合体（１）の投与１０－１５日後の腫瘍体積
ｍｅａｎ　Ｃｆ：陰性対照群マウスの投与１０－１５日後の腫瘍体積の相加平均値
【０１６７】

【表５】

各ＰＤＸモデルにおける抗体薬物複合体（１）の抗腫瘍活性（ＴＧＩ％）

モデル ID	がん種	TGI (%)	評価時点
#1	Ｂｒｅａｓｔ	９５．２	Ｄａｙ１４
#2	Ｌｕｎｇ	６８．３	Ｄａｙ１４
#3	Ｃｈｏｌａｎｇｉｏｃａｒｃｉｎｏｍａ	２２．２	Ｄａｙ１４
#4	Ｐａｎｃｒｅａｔｉｃ	２１．８	Ｄａｙ１４
#5	Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ	４１．７	Ｄａｙ１４
#6	Ｂｒｅａｓｔ	９２．４	Ｄａｙ１４
#7	Ｂｒｅａｓｔ	８７．６	Ｄａｙ１５
#8	Ｈｅａｄ＆ｎｅｃｋ	５７．９	Ｄａｙ１４
#9	Ｈｅａｄ＆ｎｅｃｋ	９４．０	Ｄａｙ１４
#10	Ｌｕｎｇ	９７．３	Ｄａｙ１４
#11	Ｌｕｎｇ	８７．４	Ｄａｙ１４
#12	Ｂｒｅａｓｔ	９０．０	Ｄａｙ１５
#13	Ｌｕｎｇ	６２．３	Ｄａｙ１４
#14	Ｂｒｅａｓｔ	８２．７	Ｄａｙ１４
#15	Ｃｈｏｌａｎｇｉｏｃａｒｃｉｎｏｍａ	４６．４	Ｄａｙ１４
#16	Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ	２６．０	Ｄａｙ１４
#17	Ｂｒｅａｓｔ	５６．５	Ｄａｙ１４
#18	Ｌｕｎｇ	１４．６	Ｄａｙ１４
#19	Ｌｕｎｇ	２８．１	Ｄａｙ１４
#20	Ｌｕｎｇ	８２．０	Ｄａｙ１４
#21	Ｌｕｎｇ	７６．６	Ｄａｙ１４
#22	Ｌｕｎｇ	８７．９	Ｄａｙ１４
#23	Ｌｕｎｇ	４．７	Ｄａｙ１４
#24	Ｌｕｎｇ	１９．１	Ｄａｙ１４
#25	Ｐａｎｃｒｅａｔｉｃ	３７．９	Ｄａｙ１４
#26	Ｐａｎｃｒｅａｔｉｃ	６２．３	Ｄａｙ１３
#27	Ｌｕｎｇ	４８．５	Ｄａｙ１３
#28	Ｂｒｅａｓｔ	９２．６	Ｄａｙ１４
#29	Ｂｒｅａｓｔ	９７．４	Ｄａｙ１４
#30	Ｌｕｎｇ	８４．７	Ｄａｙ１０
#31	Ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ	５８．４	Ｄａｙ１４
#32	Ｌｕｎｇ	６４．９	Ｄａｙ１３
#33	Ｌｕｎｇ	２５．０	Ｄａｙ１４
#34	Ｌｕｎｇ	８９．７	Ｄａｙ１３
#35	Ｌｕｎｇ	-０．４	Ｄａｙ１４

【０１６８】

実施例５．各ＰＤＸマウスモデル由来腫瘍におけるｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（ＦＰＫＭ値）、並びに抗体薬物複合体（１）抗腫瘍活性との関連

実施例４において使用された各ＰＤＸモデルにおける遺伝子発現量データは、各腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋標本より抽出されたＲＮＡを用いて、次世代ＲＮＡシーケンス法にて取得した。取得されたデータはＦＰＫＭ値に正規化した後、ＦＰＫＭに１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値とし（表６）、これを用いて抗体薬物複合体（１）のＰＤＸモデルにおける抗腫瘍活性（表５）とｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量の関連を解析した。評価した全モデルをｈＴＲＯＰ２

遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子が一定以上の発現量を示す群に分けた場合（表７）、一定以上の薬効（今回は一例としてＴＧＩが７５％以上との基準を採用）を示す動物モデルの割合はｈＴＲＯＰ２遺伝子発現が増加且つＳＬＦＮ１１遺伝子発現が増加するほど高まることが示された（表８）。ＳＬＦＮ１１遺伝子発現による群分けを行わない場合、ＴＧＩが７５％以上を示す動物モデルの割合は４３～５０％に止まっており、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量の組み合わせが、抗体薬物複合体（１）の抗腫瘍効果を予測する感受性マーカーとして使用可能であることが明らかとなった。例えば、ｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値が７．０を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値が２．０を上回る場合、又はｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値が６．０を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＦＰＫＭ＋１]が３．０を上回る場合、ＴＧＩが７５％以上を示す動物モデルの割合は約８０％乃至１００％となる。また、ｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値が７．０を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＦＰＫＭ＋１]値が３．０を上回る場合、ＴＧＩが７５％以上を示す動物モデルの割合は１００％となる。なお、ＴＧＩが７０％又は８０％以上の場合でも、ＴＧＩが７５％以上の場合に設定された各Log_2[ＦＰＫＭ＋１]値により、同等の予測率で抗腫瘍効果の予測することが可能であった。

【０１６９】

【表６】

各ＰＤＸモデルにおけるｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量

モデル ID	hTROP2 遺伝子発現量 (Log2 [FPKM+1])	SLFN11 遺伝子発現量 (Log2 [FPKM+1])
#1	7．56	1．25
#2	8．00	2．39
#3	7．15	1．71
#4	7．40	0．59
#5	6．79	0．13
#6	6．30	0．15
#7	4．67	1．82
#8	6．52	2．99
#9	6．75	5．06
#10	7．57	2．99
#11	7．32	4．20
#12	7．11	2．69
#13	3．85	5．02
#14	7．73	3．11
#15	7．02	0．00
#16	7．08	1．06
#17	6．09	2．70
#18	7．70	1．06
#19	5．57	3．40
#20	6．83	1．28
#21	7．69	0．64
#22	7．69	4．17
#23	7．10	0．05
#24	6．67	0．00
#25	6．54	4．07
#26	5．89	0．00
#27	5．48	0．08
#28	6．38	2．28
#29	7．97	3．56
#30	1．64	4．23
#31	5．71	0．00
#32	4．84	3．87
#33	2．78	5．30
#34	4．99	5．40
#35	7．02	0．01

【０１７０】

【表７】

一定量以上のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現するＰＤＸモデル数

	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Log_2[ＦＰＫＭ＋１]）			
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Log_2[ＦＰＫＭ＋１]）	全モデル	>1	>2	>3
全モデル	３５	２４	１８	１２
>4.0	３２	２１	１５	９
>5.0	２９	１８	１３	７
>6.0	２５	１７	１２	６
>7.0	１６	１１	７	４

【０１７１】

【表８】

一定量以上のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現するＰＤＸモデルにおいて抗体薬物複合体（１）によるＴＧＩが７５％以上を示す割合

	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Log_2[ＦＰＫＭ＋１]）			
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Log_2[ＦＰＫＭ＋１]）	全モデル	>1	>2	>3
全モデル	４３％	５４％	５６％	５８％
>4.0	４４％	５７％	６０％	６７％
>5.0	４１％	５６％	６２％	７１％
>6.0	４８％	５９％	６７％	８３％
>7.0	５０％	６４％	８６％	１００％

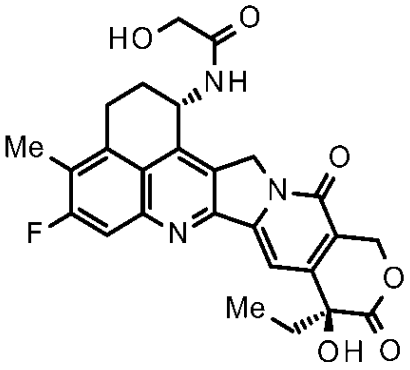
【０１７２】

実施例６．化合物（１）の製造

国際公開第２０１４／０５７６８７号及び国際公報第２０１５／１１５０９１に記載の製造方法に従って、式

【０１７３】

【化８】



【０１７４】
で示される化合物（以下、「化合物（１）」と称する）を製造した。
【０１７５】
実施例７．ＳＬＦＮ１１ノックダウン時における細胞増殖抑制試験
７－（１）：ヒト咽頭がん細胞株ＦａＤｕに対する効果
ヒト咽頭がん細胞株ＦａＤｕをＡＴＣＣより入手し、評価に使用した。１０ｃｍ細胞培養ディッシュに、非必須アミノ酸溶液、ピルビン酸溶液及び１０％ウシ胎児血清を含むＭＥＭ培地にて２×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁したＦａＤｕ細胞を１０ｍＬ／ディッシュにて播種した。播種から２４時間経過後、１００ｐｍｏｌのON-TARGETplus SLFN11 siRNA（Dharamcon）又はON-TARGETplus Non-targeting Control Pool（Dharamcon）及び３０μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ^{TM} ＲＮＡｉＭＡＸ Ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ Ｒｅａｇｅｎｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を1mLのＯｐｔｉ-ＭＥＭ培地に懸濁し全量を培地に添加した。７２時間経過後、培地を除去しＰＢＳにて洗浄した後、１ｍＬのＴｒｙｐＬＥ^{TM} Ｅｘｐｒｅｓｓを用いて細胞をディッシュより解離し回収した。回収された細胞は非必須アミノ酸溶液、ピルビン酸溶液及び１０％ウシ胎児血清を含むＭＥＭ培地にて５×１０^{4}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁し。９６ウェル細胞培養プレートに１００μＬ/ウェルにて播種した。播種から２４時間後、培地を１００ｎＭ、３３ｎＭ、１１ｎＭ、３．７ｎＭ、１．２ｎＭ、０．４１ｎＭ．０．１３ｎＭ．０．０４５ｎＭ、又は０ｎＭの化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）を含む培地に１００μＬ／ウェルで交換した。抗体薬物複合体（１）のモル濃度は、平均分子量を１５０，０００として算出した。細胞はいずれも３７℃、５％CO_2下で培養した。培地交換から７２時間経過後、ＡＴＰｌｉｔｅ １ｓｔｅｐ検出システム（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を１００μＬ／ウェルにて添加し、室温で１０分間インキュベーション後に各ｗｅｌｌの発光強度を測定した。
【０１７６】
各条件における細胞増殖抑制率（％）は、以下の計算式を用いて算出した。
細胞増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔ／Ｃ）
Ｔ：各検体添加ウェルの平均発光強度
Ｃ：各検体０ ｎＭを添加したウェルの平均発光強度
【０１７７】
各条件における５０％阻害濃度は以下の計算式にフィッティングし算出した。
細胞生存率（％）＝（Ｅｍａｘ－Ｅｍｉｎ）×検体濃度^{γ}／
（（Ｅｍａｘ－５０）／（５０－Ｅｍｉｎ）× ＩＣ５０^{γ}＋検体濃度^{γ}）
＋ Ｅｍｉｎ
Ｅｍａｘ：最大細胞増殖抑制率（％）
Ｅｍｉｎ：最小細胞増殖抑制率（％）
ＩＣ５０：５０％阻害濃度
γ：Ｈｉｌｌ係数

計算式へのフィッティングはＳＡＳ ｓｙｓｔｅｍ Ｒｅｌｅａｓｅ ９．２（ＳＡＳ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｉｎｃ．）を使用した。

【０１７８】

ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＦａＤｕ細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を図４に示す。また、算出された各５０％阻害濃度を表９に示す。Ｆａｄｕ細胞株に対するＳＬＦＮ１１ノックダウンによって、化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖抑制効果は減弱した。

【０１７９】

【表９】

ＦａＤｕ細胞におけるＳＬＦＮ１１ノックダウン時の化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖５０％阻害濃度及びその変化倍率

検体	IC50（nM）		変化倍率 (SLFN11/Non-targeting Control)
	Non-targeting Control Pool	SLFN11 siRNA	
化合物(1)	3．6	30．8	8．6
抗体薬物複合体(1)	42．6	＞100	＞2．3

【０１８０】

７－（２）：ヒト肺がん細胞株ＮＣＩ－Ｈ１７８１に対する効果

ヒト肺がん細胞株ＮＣＩ－Ｈ１７８１をＡＴＣＣより入手し、評価に使用した。１０ｃｍ細胞培養ディッシュに、１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ－１６４０培地にて２×10^5ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁したＮＣＩ－Ｈ１７８１細胞を１０ｍＬ／ディッシュにて播種した。播種から２４時間経過後、１００ｐｍｏｌのON-TARGETplus SLFN11 siRNA（Dharamcon）又はON-TARGETplus Non-targeting Control Pool（Dharamcon）及び３０μＬのLipofectamine™ RNAiMAX Transfection Reagent（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を1mＬのＯｐｔｉ-ＭＥＭ培地に懸濁し全量を培地に添加した。７２時間経過後、培地を除去しＰＢＳにて洗浄した後、１ｍＬのＴｒｙｐＬＥ™ Ｅｘｐｒｅｓｓを用いて細胞をディッシュより解離し回収した。回収された細胞は１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ－１６４０培地にて５×10^4ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁し。９６ウェル細胞培養プレートに１００μＬ/ウェルにて播種した。播種から２４時間後、培地を１００ｎＭ、３３ｎＭ、１１ｎＭ、３．７ｎＭ、１．２ｎＭ、０．４１ｎＭ．０．１３ｎＭ．０．０４５ｎＭ、又は０ｎＭの化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）を含む培地に１００μＬ/ウェルで交換した。抗体薬物複合体（１）のモル濃度は、平均分子量を１５０，０００として算出した。細胞はいずれも３７℃、５％CO_2下で培養した。培地交換から７２時間経過後、ＡＴＰｌｉｔｅ １ｓｔｅｐ検出システム（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を１００μＬ／ウェルにて添加し、室温で１０分間インキュベーション後に各ｗｅｌｌの発光強度を測定した。

【０１８１】

各条件における細胞増殖抑制率（％）は、以下の計算式を用いて算出した。

細胞増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔ／Ｃ）

Ｔ：各検体添加ウェルの平均発光強度

Ｃ：各検体０ ｎＭを添加したウェルの平均発光強度

【０１８２】

各条件における５０％阻害濃度は以下の計算式にフィッティングし算出した。

細胞生存率（％）＝（Ｅｍａｘ－Ｅｍｉｎ）×検体濃度$^{\gamma}$／
（（Ｅｍａｘ－５０）／（５０－Ｅｍｉｎ）× ＩＣ５０$^{\gamma}$＋検体濃度$^{\gamma}$）
＋ Ｅｍｉｎ
Ｅｍａｘ：最大細胞増殖抑制率（％）
Ｅｍｉｎ：最小細胞増殖抑制率（％）
ＩＣ５０：５０％阻害濃度
γ：Ｈｉｌｌ係数

【０１８３】

計算式へのフィッティングはＳＡＳ ｓｙｓｔｅｍ Ｒｅｌｅａｓｅ ９．２（ＳＡＳ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｉｎｃ．）を使用した。

【０１８４】

ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＮＣＩ－Ｈ１７８１細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を図５に示す。また、算出された各５０％阻害濃度を表１０に示す。ＮＣＩ－Ｈ１７８１細胞株に対するＳＬＦＮ１１ノックダウンによって、化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖抑制効果は減弱した。

【０１８５】

【表１０】

ＮＣＩ－Ｈ１７８１細胞におけるＳＬＦＮ１１ノックダウン時の化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖５０％阻害濃度及びその変化倍率

検体	IC50（nM）		変化倍率 (SLFN11/Non-targeting Control)
	Non-targeting Control Pool	SLFN11 siRNA	
化合物(1)	3.3	15	4.5
抗体薬物複合体（1）	8	＞100	＞12.5

【０１８６】

７－（３）：ヒト肺がん細胞株Ｃａｌｕ－３に対する効果

ヒト肺がん細胞株Ｃａｌｕ－３をＡＴＣＣより入手し、評価に使用した。１０ｃｍ細胞培養ディッシュに、非必須アミノ酸溶液、ピルビン酸溶液及び１０％ウシ胎児血清を含むＭＥＭ培地にて２×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁したＣａｌｕ－３細胞を１０ｍＬ／ディッシュにて播種した。播種から２４時間経過後、１００ｐｍｏｌのＯＮ-ＴＡＲＧＥＴｐｌｕｓ ＳＬＦＮ１１ ｓｉＲＮＡ（Ｄｈａｒａｍｃｏｎ）又はＯＮ-ＴＡＲＧＥＴｐｌｕｓ Ｎｏｎ-ｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｐｏｏｌ（Ｄｈａｒａｍｃｏｎ）及び３０μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ^{TM} ＲＮＡｉＭＡＸ Ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ Ｒｅａｇｅｎｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を1ｍＬのＯｐｔｉ-ＭＥＭ培地に懸濁し全量を培地に添加した。７２時間経過後、培地を除去しＰＢＳにて洗浄した後、１ｍＬのＴｒｙｐＬＥ^{TM} Ｅｘｐｒｅｓｓを用いて細胞をディッシュより解離し回収した。回収された細胞は非必須アミノ酸溶液、ピルビン酸溶液及び１０％ウシ胎児血清を含むＭＥＭ培地にて５×１０^{4}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁し。９６ウェル細胞培養プレートに１００μＬ/ウェルにて播種した。播種から２４時間後、培地を１００ｎＭ、３３ｎＭ、１１ｎＭ、３．７ｎＭ、１．２ｎＭ、０．４１ｎＭ．０．１３ｎＭ．０．０４５ｎＭ、又は０ｎＭの化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）を含む培地に１００μＬ/ウェルで交換した。抗体薬物複合体（１）のモル濃度は、平均分子量を１５０，０００として算出した。細胞はいずれも３７℃、５％CO_2下で培養した。培地交換から７２時間経過後、ＡＴＰｌｉｔｅ １ｓｔｅｐ検出システム（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を１００μＬ／ウェルにて添加し、室

温で１０分間インキュベーション後に各ｗｅｌｌの発光強度を測定した。
【０１８７】
各条件における細胞増殖抑制率（％）は、以下の計算式を用いて算出した。
細胞増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔ／Ｃ）
Ｔ：各検体添加ウェルの平均発光強度
Ｃ：各検体０ ｎＭを添加したウェルの平均発光強度
【０１８８】
各条件における５０％阻害濃度は以下の計算式にフィッティングし算出した。
細胞生存率（％）＝（Ｅｍａｘ－Ｅｍｉｎ）×検体濃度$^{\gamma}$／
（（Ｅｍａｘ－５０）／（５０－Ｅｍｉｎ）× ＩＣ５０$^{\gamma}$＋検体濃度$^{\gamma}$）
＋ Ｅｍｉｎ
Ｅｍａｘ：最大細胞増殖抑制率（％）
Ｅｍｉｎ：最小細胞増殖抑制率（％）
ＩＣ５０：５０％阻害濃度
γ：Ｈｉｌｌ係数
【０１８９】
計算式へのフィッティングはＳＡＳ ｓｙｓｔｅｍ Ｒｅｌｅａｓｅ ９．２（ＳＡＳ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｉｎｃ．）を使用した。
【０１９０】
ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＣａｌｕ－３細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を図６に示す。また、算出された各５０％阻害濃度を表１１に示す。Ｃａｌｕ－３細胞株に対するＳＬＦＮ１１ノックダウンによって、化合物（１）の細胞増殖抑制効果は減弱した。
【０１９１】
【表１１】

Ｃａｌｕ－３細胞におけるＳＬＦＮ１１ノックダウン時の化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖５０％阻害濃度及びその変化倍率

検体	IC50（nM）		変化倍率 (SLFN11/Non-targeting Control)
	Non-targeting Control Pool	SLFN11 siRNA	
化合物(1)	20. 9	＞100	＞4. 8
抗体薬物複合体(1)	＞100	＞100	－

【０１９２】
７－（４）：ヒト乳がん細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－４６８に対する効果
ヒト乳がん細胞株ＭＤＡ－ＭＢ－４６８をＡＴＣＣより入手し、評価に使用した。１０ｃｍ細胞培養ディッシュに、１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ－１６４０培地にて２×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁したＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞を１０ｍＬ／ディッシュにて播種した。播種から２４時間経過後、１００ｐｍｏｌのON-TARGETplus SLFN11 siRNA（Dharamcon）又はON-TARGETplus Non-targeting Control Pool（Dharamcon）及び３０μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ^{TM} ＲＮＡｉＭＡＸ Ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ Ｒｅａｇｅｎｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を1ｍＬのＯｐｔｉ-ＭＥＭ培地に懸濁し全量を培地に添加した。７２時間経過後、培地を除去しＰＢＳにて洗浄した後、１ｍＬのＴｒｙｐＬＥ^{TM} Ｅｘｐｒｅｓｓを用いて細胞をディッシュより解離し回収した。回収された細胞は１

０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ－１６４０培地にて５×１０^{4}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁し。９６ウェル細胞培養プレートに１００μＬ/ウェルにて播種した。播種から２４時間後、培地を１００ｎＭ、３３ｎＭ、１１ｎＭ、３．７ｎＭ、１．２ｎＭ、０．４１ｎＭ．０．１３ｎＭ．０．０４５ｎＭ、又は０ｎＭの化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）を含む培地に１００μＬ/ウェルで交換した。抗体薬物複合体（１）のモル濃度は、平均分子量を１５０，０００として算出した。細胞はいずれも３７℃、５％CO_2下で培養した。培地交換から７２時間経過後、ＡＴＰｌｉｔｅ　１ｓｔｅｐ検出システム（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を１００μＬ／ウェルにて添加し、室温で１０分間インキュベーション後に各ｗｅｌｌの発光強度を測定した。

【０１９３】

各条件における細胞増殖抑制率（％）は、以下の計算式を用いて算出した。

細胞増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔ／Ｃ）

Ｔ：各検体添加ウェルの平均発光強度

Ｃ：各検体０ ｎＭを添加したウェルの平均発光強度

【０１９４】

各条件における５０％阻害濃度は以下の計算式にフィッティングし算出した。

細胞生存率（％）＝（Ｅｍａｘ－Ｅｍｉｎ）×検体濃度^{γ}／

（（Ｅｍａｘ－５０）／（５０－Ｅｍｉｎ）× ＩＣ５０^{γ}＋検体濃度^{γ}）

＋ Ｅｍｉｎ

Ｅｍａｘ：最大細胞増殖抑制率（％）

Ｅｍｉｎ：最小細胞増殖抑制率（％）

ＩＣ５０：５０％阻害濃度

γ：Ｈｉｌｌ係数

【０１９５】

計算式へのフィッティングはＳＡＳ ｓｙｓｔｅｍ Ｒｅｌｅａｓｅ ９．２（ＳＡＳ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｉｎｃ．）を使用した。

【０１９６】

ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を図７に示す。算出された各５０％阻害濃度を表１２に示す。ＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞株に対するＳＬＦＮ１１ノックダウンによって、化合物（１）の細胞増殖抑制効果は減弱した。

【０１９７】

【表１２】

ＭＤＡ－ＭＢ－４６８細胞におけるＳＬＦＮ１１ノックダウン時の化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖５０％阻害濃度及びその変化倍率

検体	IC50（nM）		変化倍率 (SLFN11/Non-targeting Control)
	Non-targeting Control Pool	SLFN11 siRNA	
化合物(1)	4．8	27．5	5．7
抗体薬物複合体(1)	>100	>100	－

【０１９８】

７－（５）：ヒト乳がん細胞株ＨＣＣ３８に対する効果

ヒト乳がん細胞株ＨＣＣ３８をＡＴＣＣより入手し、評価に使用した。１０ｃｍ細胞培養ディッシュに、１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ－１６４０培地にて２×１０^{5}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁したＨＣＣ３８細胞を１０ｍＬ／ディッシュにて播種した。播種から

２４時間経過後、１００ｐｍｏｌのＯＮ-ＴＡＲＧＥＴｐｌｕｓ ＳＬＦＮ１１ ｓｉＲＮＡ（Ｄｈａｒａｍｃｏｎ）又はＯＮ-ＴＡＲＧＥＴｐｌｕｓ Ｎｏｎ-ｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｐｏｏｌ（Ｄｈａｒａｍｃｏｎ）及び３０μＬのＬｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ™ ＲＮＡｉＭＡＸ Ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ Ｒｅａｇｅｎｔ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）を1ｍＬのＯｐｔｉ-ＭＥＭ培地に懸濁し全量を培地に添加した。７２時間経過後、培地を除去しＰＢＳにて洗浄した後、１ｍＬのＴｒｙｐＬＥ™ Ｅｘｐｒｅｓｓを用いて細胞をディッシュより解離し回収した。回収された細胞は１０％ウシ胎児血清を含むＲＰＭＩ－１６４０培地にて５×１０^{4}ｃｅｌｌｓ／ｍＬに懸濁し。９６ウェル細胞培養プレートに１００μＬ/ウェルにて播種した。播種から２４時間後、培地を１００ｎＭ、３３ｎＭ、１１ｎＭ、３．７ｎＭ、１．２ｎＭ、０．４１ｎＭ．０．１３ｎＭ．０．０４５ｎＭ、又は０ｎＭの化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）aを含む培地に１００μＬ/ウェルで交換した。抗体薬物複合体（１）のモル濃度は、平均分子量を１５０，０００として算出した。細胞はいずれも３７℃、５％ＣＯ$_{2}$下で培養した。培地交換から７２時間経過後、ＡＴＰｌｉｔｅ １ｓｔｅｐ検出システム（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を１００μＬ／ウェルにて添加し、室温で１０分間インキュベーション後に各ｗｅｌｌの発光強度を測定した。

【０１９９】

各条件における細胞増殖抑制率（％）は、以下の計算式を用いて算出した。

細胞増殖抑制率（％）＝１００×（１－Ｔ／Ｃ）

Ｔ：各検体添加ウェルの平均発光強度

Ｃ：各検体０ ｎＭを添加したウェルの平均発光強度

【０２００】

各条件における５０％阻害濃度は以下の計算式にフィッティングし算出した。

細胞生存率（％）＝（Ｅｍａｘ－Ｅｍｉｎ）×検体濃度$^{\gamma}$／

（（Ｅｍａｘ－５０）／（５０－Ｅｍｉｎ）× ＩＣ５０$^{\gamma}$＋検体濃度$^{\gamma}$）

＋ Ｅｍｉｎ

Ｅｍａｘ：最大細胞増殖抑制率（％）

Ｅｍｉｎ：最小細胞増殖抑制率（％）

ＩＣ５０：５０％阻害濃度

γ：Ｈｉｌｌ係数

【０２０１】

計算式へのフィッティングはＳＡＳ ｓｙｓｔｅｍ Ｒｅｌｅａｓｅ ９．２（ＳＡＳ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｉｎｃ．）を使用した。

【０２０２】

ＳＬＦＮ１１ノックダウン時のＨＣＣ３８細胞における、化合物（１）又は抗体薬物複合体（１）による細胞増殖抑制効果を図８に示す。また、算出された各５０％阻害濃度を表１３に示す。ＨＣＣ３８細胞株に対するＳＬＦＮ１１ノックダウンによって、化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖抑制効果は減弱した。

【０２０３】

【表１３】
ＨＣＣ３８細胞におけるＳＬＦＮ１１ノックダウン時の化合物（１）及び抗体薬物複合体（１）の細胞増殖５０％阻害濃度及びその変化倍率

検体	IC50（nM）		変化倍率 (SLFN11/Non-targeting Control)
	Non-targeting Control Pool	SLFN11 siRNA	
化合物(1)	1．6	4．2	2．6
抗体薬物複合体（1）	56．7	>100	＞1．8

【０２０４】
実施例８．臨床試験における各患者由来腫瘍のｈＴＲＯＰ２及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Ｍｅｄｉａｎ Ｎｏｒｍａｌｉｚｅｄ Ｃｏｕｎｔ値）、並びに抗体薬物複合体（１）抗腫瘍活性との関連
８－（１）試験計画及び薬剤の効果
再発・進行性の非小細胞肺がん患者を対象とした第1相臨床試験用量漸増パートにおいて、抗体薬物複合体（１）は認容できない毒性又は病態の増悪が認められるまで３週に１度静脈内投与された。用量制限毒性は、Ｃｙｃｌｅ １ (Ｄａｙ １－２１)において求める。腫瘍採取は臨床試験にエントリー後、１度目の投薬までに実施した。各患者における投与用量及び最大腫瘍変化率（％）を表１４に示す。なお、最大腫瘍変化率の値がマイナスの場合は、抗体薬物複合体（１）の投与により腫瘍が縮小したことを意味している。
【０２０５】
８－（２）腫瘍におけるＳＬＦＮ１１、ＴＲＯＰ２ ｍＲＮＡ ｌｅｖｅｌｓの測定
各患者における遺伝子発現データは、抗体薬物複合体（１）投薬前の各患者の腫瘍組織のホルマリン固定パラフィン包埋標本より切片作成し、レーザーマイクロダイセクションによる腫瘍部位の切り出しを行った後にＥｄｇｅＳｅｑにて取得した。取得されたカウントデータはＭｅｄｉａｎ Ｎｏｒｍａｌｉｚａｔｉｏｎ法により正規化し、各遺伝子の発現量とした。上記の全ての試験は、ＨＴＧ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社において実施した。
【０２０６】
ＨＴＧ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ社にて取得及び正規化されたＭｅｄｉａｎ Ｎｏｒｍａｌｉｚｅｄ Ｃｏｕｎｔ（ＭＮＣ）値に１を加え、対数（Log_2）とした値であるLog_2[ＭＮＣ＋１]値を入手し（表１５）、これを用いて抗体薬物複合体（１）の患者における抗腫瘍活性（表１４）とｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子の発現量の関連を解析した。評価した全患者をｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子が一定以上の発現量を示す群に分けた場合（表１６）、一定以上の薬効（最大腫瘍変化率が０％以下）を示す患者の割合はｈＴＲＯＰ２遺伝子発現が増加且つＳＬＦＮ１１遺伝子発現が増加するほど高まることが示された（表１７）。ＳＬＦＮ１１遺伝子発現による群分けを行わない場合、最大腫瘍変化率が０％以下を示す患者の割合は７５～８０％に止まっており、ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量の組み合わせが、抗体薬物複合体（１）の抗腫瘍効果を予測する感受性マーカーとして使用可能であることが明らかとなった。例えば、ｈＴＲＯＰ２遺伝子のLog_2[ＭＮＣ＋１]値が１２を上回り且つＳＬＦＮ１１遺伝子のLog_2[ＭＮＣ＋１]値が１１．５を上回る場合、最大腫瘍変化率が０％以下を示す患者の割合は約８０％乃至１００％となる。
【０２０７】

【表１４】

各患者における抗体薬物複合体（１）の抗腫瘍活性（最大腫瘍変化率）

患者ＩＤ	抗体薬物複合体投与量（ｍｇ／ｋｇ）	最大腫瘍変化率（％）
＃１	2	－７．１４
＃２	2	－６８．５２
＃３	2	－４．７６
＃４	2	－１１．７０
＃５	2	５２．００
＃６	2	３．１５
＃７	4	３３．３３
＃８	4	－５３．１３
＃９	6	－５２．２７
＃１０	8	－３．４７
＃１１	8	－３５．４６
＃１２	8	－６３．６４

【０２０８】

【表１５】

各患者におけるｈＴＲＯＰ２遺伝子及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現量

患者ＩＤ	ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Log_2[ＭＮＣ＋１]）	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Log_2[ＭＮＣ＋１]）
＃１	１４．３２	１３．１３
＃２	１４．３４	１２．３２
＃３	１２．９４	１２．３２
＃４	１４．８０	１２．９０
＃５	１２．５５	１１．３５
＃６	１６．５９	１２．２５
＃７	１０．１０	１１．６９
＃８	１１．３５	１２．２４
＃９	１２．１４	１２．７３
＃１０	１１．５６	１３．２８
＃１１	１５．１８	１１．９９
＃１２	１３．０８	１２．８５

【０２０９】

【表１６】

一定量以上のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現する患者数

	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Log_2[ＭＮＣ＋１]）		
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Log_2[ＭＮＣ＋１]）	全モデル	＞１１．５	＞１２．５
全モデル	１２	１１	５
＞１２	９	８	４
＞１４	５	５	２

【０２１０】

【表１７】

一定量以上のｈＴＲＯＰ２遺伝子発現及びＳＬＦＮ１１遺伝子発現する患者において抗体薬物複合体（１）による最大腫瘍変化率が０％以下を示す割合

	ＳＬＦＮ１１遺伝子発現量（Log_2[ＭＮＣ＋１]）		
ｈＴＲＯＰ２遺伝子発現量（Log_2[ＭＮＣ＋１]）	全モデル	＞１１．５	＞１２．５
全モデル	７５％	８２％	１００％
＞１２	７８％	８８％	１００％
＞１４	８０％	８０％	１００％

【配列表フリーテキスト】

【０２１１】

配列番号１：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体重鎖のアミノ酸配列
配列番号２：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のアミノ酸配列
配列番号３：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ１配列
配列番号４：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ２配列
配列番号５：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ３配列
配列番号６：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ１配列
配列番号７：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ２配列
配列番号８：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ３配列

【図面】

【図１】

配列番号１：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体重鎖のアミノ酸配列
ＭＫＨＬＷＦＦＬＬＬＶＡＡＰＲＷＶＬＳＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳ
ＣＫＡＳＧＹＴＦＴＴＡＧＭＱＷＶＲＱＡＰＧＱＧＬＥＷＭＧＷＩＮＴＨＳＧＶＰＫＹＡ
ＥＤＦＫＧＲＶＴＩＳＡＤＴＳＴＳＴＡＹＬＱＬＳＳＬＫＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＳＧＦ
ＧＳＳＹＷＹＦＤＶＷＧＱＧＴＬＶＴＶＳＳＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧ
ＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳ
ＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＲＶＥＰ
ＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰ
ＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮ
ＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳ
ＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＥＥＭＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩ
ＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷ
ＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ
シグナル配列（１－１９）、可変領域（２０－１４０）、定常領域（１４１－４７０）

【図２】

配列番号２：ヒト化抗ｈＴＲＯＰ２抗体軽鎖のアミノ酸配列
ＭＶＬＱＴＱＶＦＩＳＬＬＬＷＩＳＧＡＹＧＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴ
ＩＴＣＫＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡＷＹＱＱＫＰＧＫＡＰＫＬＬＩＹＳＡＳＹＲＹＴＧＶＰＳ
ＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＶＹＹＣＱＱＨＹＩＴＰＬＴＦＧＱ
ＧＴＫＬＥＩＫＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹ
ＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴ
ＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ
シグナル配列（１－２０）、可変領域（２１－１２９）、定常領域（１３０－２３４）

【図３】

配列番号３：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ１配列
ＴＡＧＭＱ

配列番号４：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ２配列
ＷＩＮＴＨＳＧＶＰＫＹＡＥＤＦＫＧ

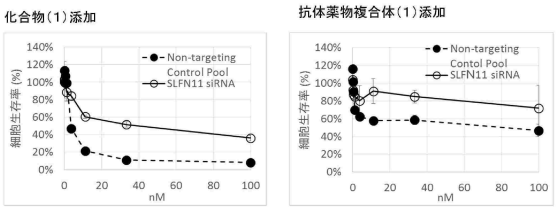
配列番号５：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体重鎖のＣＤＲＨ３配列
ＳＧＦＧＳＳＹＷＹＦＤＶ

配列番号６：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ１配列
ＫＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ

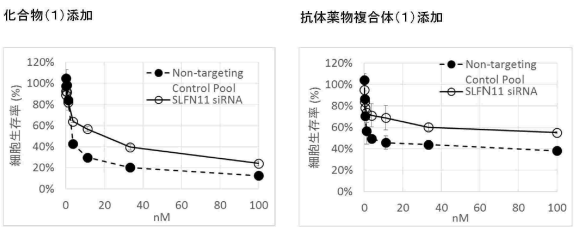
配列番号７：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ２配列
ＳＡＳＹＲＹＴ

配列番号８：ヒト化抗ＴＲＯＰ２抗体軽鎖のＣＤＲＬ３配列
ＱＱＨＹＩＴＰＬＴ

【図４】



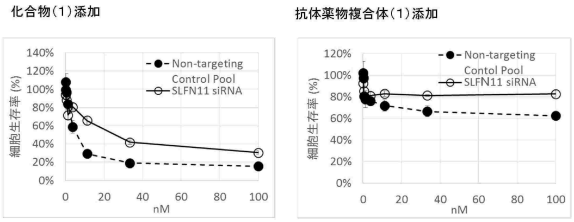
【図５】



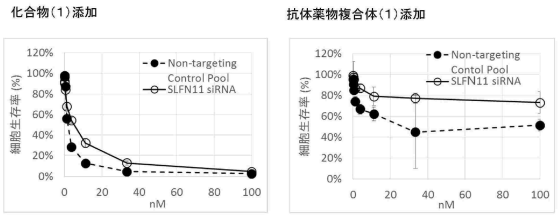
【図６】



【図７】



【図８】



【配列表】

0007481255000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ｃ１２Ｎ　15/13　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　47/68　(2017.01)
Ａ６１Ｐ　35/00　(2006.01)

ＦＩ
Ｃ１２Ｎ　15/13
Ａ６１Ｋ　47/68
Ａ６１Ｐ　35/00

(72)発明者　岡嶌 大祐
東京都中央区日本橋本町三丁目５番１号 第一三共株式会社内
(72)発明者　安田 哲
東京都中央区日本橋本町三丁目５番１号 第一三共株式会社内
(72)発明者　榎本 圭
東京都中央区日本橋本町三丁目５番１号 第一三共株式会社内
審査官　吉門 沙央里

(56)参考文献
国際公開第２０１５／０９８０９９（WO，Ａ１）
Oncotarget，2015年，vol.6, no.26，pp.22496-22512
Nature，2012年，vol.483, no.7391，pp.603-607
Proc. Natl. Acad. Sci. USA，2012年，vol.109, no.37，pp.15030-35035
Clin. Chem.，2013年，vol.59, no.10，pp.1447-1456

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｑ　１／００－３／００
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）