

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6663350号  
(P6663350)

(45) 発行日 令和2年3月11日(2020.3.11)

(24) 登録日 令和2年2月18日(2020.2.18)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 45/00	(2006.01)	A 61 K	45/00	ZMD
A 61 K 31/55	(2006.01)	A 61 K	31/55	
A 61 P 15/00	(2006.01)	A 61 P	15/00	
A 61 P 35/00	(2006.01)	A 61 P	35/00	
A 61 P 43/00	(2006.01)	A 61 P	43/00	1 1 1

請求項の数 8 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願2016-546835 (P2016-546835)
(86) (22) 出願日	平成27年1月14日 (2015.1.14)
(65) 公表番号	特表2017-504623 (P2017-504623A)
(43) 公表日	平成29年2月9日 (2017.2.9)
(86) 國際出願番号	PCT/US2015/011413
(87) 國際公開番号	W02015/108986
(87) 國際公開日	平成27年7月23日 (2015.7.23)
審査請求日	平成30年1月11日 (2018.1.11)
(31) 優先権主張番号	61/928, 326
(32) 優先日	平成26年1月16日 (2014.1.16)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	62/004, 424
(32) 優先日	平成26年5月29日 (2014.5.29)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)

(73) 特許権者	515308833 クロヴィス・オンコロジー、インコーポレーテッド
	アメリカ合衆国コロラド州80301, ボルダー, フラットアイアン・パークウェイ 5500, スイート 100
(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
(74) 代理人	100118902 弁理士 山本 修
(74) 代理人	100106208 弁理士 宮前 徹
(74) 代理人	100120112 弁理士 中西 基晴

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ヘテロ接合性の喪失を示す乳癌または卵巣癌の患者を治療するためのP A R P 阻害剤の使用

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

卵巣癌の患者を治療する方法において使用するためのP A R P 阻害剤を含む医薬組成物であって、方法が

a ) ゲノムの各染色体に沿った複数の单一ヌクレオチドのホモ接合性またはヘテロ接合性を含む癌患者の腫瘍に関するコンピュータシステムからのデータを受領すること；

b ) 前記データが、ゲノム全長によって除された各個々のL O H 領域の長さの合計によって決定される約11%超のL O H を有するゲノムの割合（ここでL O H 領域は、複数の近接单一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体のL O H 、染色体腕のL O H 、及びXとY染色体のL O H は除外する）を含む場合、P A R P 阻害剤に応答する可能性があるとしてコンピュータシステムによって前記癌患者を分類すること；及び

c ) 分類が工程b ) の基準を満たす前記癌患者に対して前記医薬組成物を投与すること、を含む、医薬組成物。

## 【請求項 2】

前記P A R P 阻害剤が、ルカパリブである請求項1に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3】

前記卵巣癌が、高悪性度漿液性卵巣癌である請求項1または2に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4】

ゲノム全長によって除された各個々のL O H 領域の長さの合計によって決定されるL O

10

20

Hを有するゲノムの割合が、約12%超、約13%超、約14%超、約15%超、約16%超、約17%超、約18%超、約19%超、または約20%超である請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項5】

ゲノム全長によって除された各個々のLOH領域の長さの合計によって決定されるLOHを有するゲノムの割合が約20%超である、請求項1～4のいずれか1項に記載の医薬組成物。

【請求項6】

前記方法がさらに、BRCA1及びBRCA2突然変異状態を含む癌患者の腫瘍に関するコンピュータシステムからのデータを受領することを含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の医薬組成物。10

【請求項7】

前記方法がさらに、前記患者の腫瘍をHRD陽性またはHRD陰性に分類することを含み、10

ここでHRD陽性はBRCAサブグループおよび非BRCA/LOH+サブグループを含み、HRD陰性は非BRCA/LOH-を意味し、BRCAはBRCA変異の存在を意味し、非BRCAはBRCA変異の非存在を意味し；

LOH+は、ゲノム全長によって除された各個々のLOH領域の長さの合計によって決定される11%超のLOHを有するゲノムの割合（ここでLOH領域は複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体、染色体腕LOH、及びXとY染色体のLOHは除外する）を意味し、LOH-は11%以下の割合を意味する、請求項1～6のいずれか1項に記載の医薬組成物。20

【請求項8】

前記方法が、非BRCA/LOH+の基準を満たす前記癌患者に対して治療有効量のPARP阻害剤を投与することを含む、請求項7に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

近年、腫瘍組織または血液中のバイオマーカーまたは他の測定値を同定して、様々な治療介入処置に対する転帰を予測できることが注目されている。ゲノム安定性を維持する場合におけるBRCA1及びBRCA2のような相同組換え修復遺伝子の重要性を鑑みれば、ゲノムの不安定性の程度を明らかにすることにより、相同組換えに欠損が存在する腫瘍を同定することができる。30

【0002】

ヘテロ接合性の喪失（LOH）に関して癌患者のゲノムを分析することは、一般的に、ゲノムの不安定性に関する考え得るマーカーであると主張されてきた（Walsh S, et al. Genome-wide loss of heterozygosity and uniparental disomy in BRCA1/2-associated ovarian carcinomas. Clin Cancer Res 2008; 14: 7645-51）。DNA傷害剤は、腫瘍がLOHを示す患者を治療するための考え得る薬剤であることが示唆してきた。40

【0003】

ヘテロ接合性の喪失（LOH）とは、正常なゲノムにおけるヘテロ接合の状態から、腫瘍ゲノムにおけるホモ接合状態への変化を指す（Beroukhim R, et al. Inferring loss-of-heterozygosity from unpreserved tumors using high-density oligonucleotide SNP arrays. PLoS Comput Biol 2006; 2: e41）。LOHは、ヘミ接合欠失のようなコピー喪失事象または片親性ダイソミーのようなコピーニュートラル事象から生じ得る、そしてその場合、1つの対立遺伝子の欠失は他の対立遺伝子の獲得を伴う（Walsh S, et al. 前掲書）。50

## 【0004】

しかしながら、いくつかのタイプの癌、例えばある種の肺癌は、主に環境因子と関係があるって、DNA損傷の遺伝的原因とは無関係であるかもしれないLOHを示す可能性がある。これらの癌におけるLOHは、DNA修復メカニズムと関連がある突然変異ではない外因によってしばしば引き起こされる。これらのタイプの癌は、ある種のDNA傷害剤、特に、作用メカニズムとしてDNA修復と関連のある合成致死性に依存する薬剤、例えばPARP阻害剤による治療から利益が得られる可能性がある。

## 【0005】

乳癌、特に三重陰性乳癌（または基底様サブタイプ）及び卵巣癌は、広範囲なゲノム不安定性という共通の特徴を共有していて、同様な治療アプローチ、例えばプラチナベースの療法が提案されてきた（The Cancer Genome Atlas Network. Nature 2012; 490: 61 - 70）。更に、三重陰性及びBRCA 1 / 2 関連の卵巣癌は、より高頻度のゲノム全体にわたるLOH及び片親性ダイソミーを有する（Tuna M, et al. Association between acquired uniparental disomy and homozygous mutations and HER2/ER/PR status in breast cancer. PLoS One 2010; 5: e15094. Walsh S, et al. 前掲書）。従って、乳癌及び卵巣癌は、LOHの同定と、例えばPARP阻害剤のような合成致死性をもたらす薬剤の投与から最も利益が得られる可能性のある疾患である。

10

## 【0006】

本発明は、ヘテロ接合性の喪失を示す乳癌及び卵巣癌の細胞が、PARP阻害剤、特にルカパリブ（rucaparib）に感受性があることを初めて示す。

## 【発明の概要】

## 【0007】

本明細書は以下の発明の開示を包含する。

## [1] a)

i . BRCA 1 及び BRCA 2 突然変異状態、及び

ii . ゲノムの各染色体に沿った複数の単一ヌクレオチドのホモ接合性またはヘテロ接合性

30

を含む癌患者の腫瘍に関するコンピュータシステムからのデータを受領すること；

## b ) 前記データが：

i ii . BRCA 1 もしくは BRCA 2 における 1 つ以上の有害な突然変異、または

ii v . ゲノム全長によって除された各個々の LOH 領域の長さの合計によって決定される約 10 % 超の LOH を有するゲノムの割合（ここで LOH 領域は、複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体の LOH は除外する）を含む場合、PARP阻害剤に応答する可能性があるとしてコンピュータシステムによつて前記癌患者を分類すること；及び

c ) 分類が工程 b ) の基準を満たす前記癌患者に対して PARP 阻害剤の治療有効量を投与すること、

40

を含む、PARP 阻害剤によって癌患者を治療する方法。

[ 2 ] 前記 PARP 阻害剤が、ルカパリブである [ 1 ] に記載の方法。

[ 3 ] 前記癌が、乳癌、卵巣癌、または膵臓癌である [ 1 ] に記載の方法。

[ 4 ] 前記癌が、乳癌である [ 3 ] に記載の方法。

[ 5 ] 前記乳癌が、三重陰性乳癌である [ 4 ] に記載の方法。

[ 6 ] 前記癌が、卵巣癌である [ 3 ] に記載の方法。

[ 7 ] 前記卵巣癌が、高悪性度漿液性卵巣癌である [ 6 ] に記載の方法。

[ 8 ] 前記癌が、膵臓癌である [ 3 ] に記載の方法。

[ 9 ] ゲノム全長によって除された各個々の LOH 領域の長さの合計によって決定される LOH を有するゲノムの割合が、約 11 % 超、約 12 % 超、約 13 % 超、約 14 % 超、

50

約 15 %超、約 16 %超、約 17 %超、約 18 %超、約 19 %超、または約 20 %超である [1] に記載の方法。

[10] a) ゲノムの各染色体に沿った複数の単一ヌクレオチドのホモ接合性またはヘテロ接合性を含む癌患者の腫瘍に関するコンピュータシステムからのデータを受領すること；

b) 前記データが、ゲノム全長によって除された各個々の L O H 領域の長さの合計によって決定される約 10 %超の L O H を有するゲノムの割合（ここで L O H 領域は複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体の L O H は除外する）を含む場合、P A R P 阻害剤に応答する可能性があるとして前記コンピュータシステムによって前記癌患者を分類すること；及び

c) 分類が工程 b ) の基準を満たす前記癌患者に対して P A R P 阻害剤の治療有効量を投与すること、

を含む、P A R P 阻害剤によって癌患者を治療する方法。

[11] ゲノム全長によって除された各個々の L O H 領域の長さの合計によって決定される L O H を有するゲノムの割合が、約 11 %超、約 12 %超、約 13 %超、約 14 %超、約 15 %超、約 16 %超、約 17 %超、約 18 %超、約 19 %超、または約 20 %超である [10] に記載の方法。

一実施形態では、本発明は、患者の腫瘍が L O H を示すことを告げているアッセイ結果を受領すること、及び P A R P 阻害剤を投与することを含む、乳癌または卵巣癌の患者を治療する方法に関する。ある特定の実施形態では、P A R P 阻害剤はルカパリブである。

#### 【0008】

一実施形態では、本発明は： a ) i ) B R C A 1 及び B R C A 2 突然変異状態、及び ii ) ゲノムの各染色体に沿った複数の単一ヌクレオチドのホモ接合性またはヘテロ接合性を含む、乳癌または卵巣癌の患者の腫瘍に関するコンピュータシステムからのデータを受領すること； b ) データが、i ) B R C A 1 もしくは B R C A 2 における 1 つ以上の有害な突然変異、または ii ) ゲノム全長によって除された各個々の L O H 領域の長さの合計によって決定される 10 %超の L O H を有するゲノムの割合（ここで L O H 領域は複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体または染色体腕の L O H は除外する）を含む場合、P A R P 阻害剤に応答する可能性があるとしてコンピュータシステムによって前記癌患者を分類すること；及び c ) 分類が工程 b ) の基準を満たす前記癌患者に対して P A R P 阻害剤の治療有効量を投与すること、を含む、P A R P 阻害剤によって乳癌または卵巣癌の患者を治療する方法に関する。

#### 【0009】

一実施形態では、L O H は、隠れマルコフモデルに基づく方法を使用して腫瘍試料中の L O H を同定することによって、測定される。

#### 【0010】

一実施形態では、L O H は、腫瘍の対立遺伝子特異的コピー数分析 (A l l e l e - S p e c i f i c C o p y n u m b e r A n a l y s i s o f T u m o r) (A S C A T) 法を使用して腫瘍試料中の L O H を同定することによって、測定される。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0011】

【図 1】乳癌細胞株における L O H を有するゲノムの割合を測定するためのバイオインフォマティクス分析ワークフローの概要である。

【図 2】乳癌細胞株における L O H を有するゲノムの割合とルカパリブ感受性との間の相関をプロットしている。三重陰性乳癌 (T N B C) 及び非 T N B C 細胞株は、それぞれ、黒い印及び白い印で示されている。

【図 3】T N B C 細胞株におけるルカパリブ感受性の予測における、L O H を有するゲノムの割合に関する受信者動作特性 (R O C) 曲線である。フィットされた R O C 曲線下面積 = 0 . 853。

【図 4】T N B C 細胞株におけるルカパリブ感受性を予測するために、L O H を有するゲ

10

20

30

40

50

ノムの割合に関して区切り線を画定している。垂直点線：20%の区切り線で設定された、L O H を有するゲノムの割合。水平点線：2.05 μM以下と定義されるルカパリブ感受性細胞株。

【図5】高悪性度漿液性卵巣腫瘍におけるL O H を有するゲノムの割合を測定するためのバイオインフォマティクス分析ワークフローの概要である。

【図6】高悪性度漿液性卵巣腫瘍におけるL O H を有するゲノムの多様な割合を示すヒストグラムである。垂直の点線は、L O H を有するゲノムの割合の中央値を示す。

【図7】ゲノムL O H が高い（実線）対低い（点線）腫瘍を有する患者におけるプラチナベースの化学療法後の全体的生存のカプランマイヤープロットである。マーカーは打ち切りデータポイントを示す。  
10

【図8】H R D陽性（実線）対H R D陰性（点線）患者におけるプラチナベースの化学療法後の全体的生存のカプランマイヤープロットである。マーカーは打ち切りデータポイントを示す。

【図9】H R D陽性（実線）対H R D陰性（点線）患者におけるプラチナベースの化学療法後の全体的生存のカプランマイヤープロットである。マーカーは打ち切りデータポイントを示す。

【図10】第I相臨床試験におけるF F P E 卵巣腫瘍中にL O H を有するゲノムの割合を測定するためのバイオインフォマティクス分析ワークフローの概要である。

【図11】第II相臨床試験由来のF F P E 高悪性度卵巣腫瘍においてL O H を有するゲノムの割合を測定するためのバイオインフォマティクス分析ワークフローの概要である。  
20

【図12】時点AにおけるR E C I S T 1.1基準を使用しているルカパリブに対する最良の標的病変の応答に関するウォーターフォールプロットである。y軸は、ベースラインからルカパリブ治療後の標的腫瘍病変の割合の変化である。上下の破線は、それぞれ、ベースラインからの20%増加（進行性疾患）及び30%減少（部分的応答）の閾値を示す。H R D状態は、低い腫瘍含有率に起因してゲノムL O H 分析に失敗した1例（「不明」と標識した）を除いて、すべての患者に関して測定される。

【図13】時点BにおけるR E C I S T 1.1基準を使用しているルカパリブに対する最良の標的病変の応答に関するウォーターフォールプロットである。y軸は、ベースラインからルカパリブ治療後の標的腫瘍病変の割合の変化である。上下の破線は、それぞれ、ベースラインからの20%増加（進行性疾患）及び30%減少（部分的応答）の閾値を示す。H R D状態は、低い腫瘍含有率に起因してゲノムL O H 分析に失敗した1例（「不明」と標識した）を除いて、すべての患者に関して測定される。  
30

【図14】時点CでのB R C Aサブグループの患者に関してR E C I S T 1.1基準を使用してのルカパリブに対する最良の標的病変の応答に関するウォーターフォールプロットである。y軸は、ベースラインからルカパリブ治療後の標的腫瘍病変の割合の変化である。上下の破線は、それぞれ、ベースラインからの20%増加（進行性疾患）及び30%減少（部分的応答）の閾値を示す。C A - 1 2 5 応答を有する患者は模様のあるバーを有する。まだルカパリブ治療を続行している患者は「+」で示してある。

【図15】時点Cでの非B R C A / L O H + サブグループの患者に関してR E C I S T 1.1基準を使用してのルカパリブに対する最良の標的病変の応答に関するウォーターフォールプロットである。y軸は、ベースラインからルカパリブ治療後の標的腫瘍病変の割合の変化である。上下の破線は、それぞれ、ベースラインからの20%増加（進行性疾患）及び30%減少（部分的応答）の閾値を示す。C A - 1 2 5 応答を有する患者は模様のあるバーを有する。まだルカパリブ治療を続行している患者は「+」で示してある。  
40

【図16】時点Cでの非B R C A / L O H - サブグループの患者に関してR E C I S T 1.1基準を使用してのルカパリブに対する最良の標的病変の応答に関するウォーターフォールプロットである。y軸は、ベースラインからルカパリブ治療後の標的腫瘍病変の割合の変化である。上下の破線は、それぞれ、ベースラインからの20%増加（進行性疾患）及び30%減少（部分的応答）の閾値を示す。C A - 1 2 5 応答を有する患者は模様のあるバーを有する。まだルカパリブ治療を続行している患者は「+」で示してある。  
50

**【発明を実施するための形態】****【0012】****発明の詳細な説明**

L O H の存在を基準として D N A 損傷を示した乳癌及び卵巣癌の患者を、 P A R P 阻害剤、特にルカパリブで治療することは本発明の主な目的である。乳房腫瘍または卵巣腫瘍における L O H の存在により、医師の治療選択が助けられる。

**【0013】**

本発明は： a ) i ) B R C A 1 及び B R C A 2 突然変異状態、及び ii ) ゲノムの各染色体に沿った複数の単一ヌクレオチドのホモ接合性またはヘテロ接合性を含む、患者の腫瘍に関するコンピュータシステムからのデータを受領すること； b ) データが i ) B R C A 1 もしくは B R C A 2 における 1 つ以上の有害な突然変異、または ii ) ゲノム全長によって除された各個々の L O H 領域の長さの合計によって決定される 10 % 超の L O H を有するゲノムの割合（ここで L O H 領域は複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体または染色体腕の L O H は除外する）を含む場合、 P A R P 阻害剤に応答する可能性があるとしてコンピュータシステムによって前記癌患者を分類すること；及び c ) 分類が工程 b ) の基準を満たす前記癌患者に対して P A R P 阻害剤の治療有効量を投与すること、を含む、 P A R P 阻害剤によって乳癌または卵巣癌の患者を治療する方法に関する。

**【0014】**

本発明の理解、説明及び実施を助けるために、用語の定義を詳細な説明によって提供する。

**【0015】**

本明細書で使用される「ヘテロ接合性の喪失」または「L O H」とは、正常なゲノムにおけるヘテロ接合の状態から、腫瘍ゲノムにおけるホモ接合状態への変化を指す（ Beroukhim R , et al . Inferring loss - of - heterozygosity from unpaired tumors using high - density oligonucleotide SNP arrays . P L o S Comput Biol 2006 ; 2 : e 41 , 前記文献は参照によってその全体が本明細書に組み込まれる）。L O H の測定は、当該技術分野で公知の方法を使用して達成することができる。L O H は、配列比較ゲノムハイブリダイゼーション（ A C G H ）、 S N P 配列、次世代塩基配列決定、または他の方法によって生成されたデータを使用して測定できる。L O H の測定は、当該技術分野で公知の任意の方法によって行うことができ、例えば、目視検査による主観的分析、及びアルゴリズムと連動させた自動化システムが挙げられるが、それらに限定されない。L O H を測定するための 1 つの実施形態は、前掲書の Beroukhim で説明されている隠れマルコフモデルに基づく方法である。L O H を測定するためのもう一つの実施形態は、腫瘍の対立遺伝子特異的コピー数分析（ A S C A T ）法である（ Van Loo , et al . Allelic - specific copy number analysis of tumors . Proc Natl Acad Sci U . S . A . 2010 ; 107 : 16910 - 5 ）。

**【0016】**

また、 L O H は、時に、ゲノム瘢痕（ genomic scarring ）または片親性ダイソミー（ U D P ）とも呼ばれる。

**【0017】**

「 L O H 領域」とは、ヘテロ接合性の喪失の少なくとも 1 つの領域を含む染色体の領域を指す。 L O H 領域は、複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在と定義されるが、染色体全体、染色体腕 L O H 、及び X と Y 染色体は除外する。

**【0018】**

「複数の近接単一ヌクレオチドにおけるホモ接合性の存在」とは、 L O H 領域の本質的にホモ接合の性質を指す。

**【0019】**

10

20

30

40

50

「L O Hを有するゲノムの高い割合」とは、ゲノム全長によって除された各個々のL O H領域の長さの合計によって決定される約10%超のL O Hを有する腫瘍ゲノムの割合を指す。いくつかの実施形態では、ゲノム全長によって除された各個々のL O H領域の長さの合計によって決定されるL O Hを有するゲノムの割合は、約11%超、約12%超、約13%超、約14%超、約15%超、約16%超、約17%超、約18%超、約19%超、または約20%超である。

#### 【0020】

「P A R P阻害剤」とは、その主たる活性が、P A R P活性の阻害、例えばP A R P 1及びP A R P 2の阻害である任意の化合物を指す。P A R P阻害剤としては、ルカパリブ、オラパリブ(o l a p a r i b)、ベリパリブ(v e l i p a r i b)、イニパリブ(i n i p a r i b)、B M N - 6 7 3、ニラパリブ(n i r a p a r i b)が挙げられる。<sup>10</sup> ルカパリブは好ましいP A R P阻害剤である。

#### 【0021】

「乳癌」とは、乳房組織、例えば管(管癌)または小葉(小葉癌)から生じる癌を指す。<sup>11</sup>

#### 【0022】

「三重陰性乳癌」とは、腫瘍細胞の表面上にある3つのタイプの受容体：すなわちエストロゲン受容体(E R)、プロゲステロン受容体(P R)、及びH E R 2の発現の欠如を意味している。三重陰性乳癌は、遺伝子発現プロフィールによって定義される、基底様と呼ばれる乳癌の分子サブタイプと高度に共通部分がある。<sup>20</sup>

#### 【0023】

「卵巣癌」とは、卵巣、例えば上皮組織(上皮卵巣癌)から生じる癌を指す。高悪性度漿液性卵巣癌は、最も一般的なサブタイプであり、広範囲にわたるゲノム不安定性を示し、そしておそらく相同組換えの欠損を示す(B o w t e l l D D , N a t R e v C a n c e r 2 0 1 0 ; 1 0 : 8 0 3 - 8)。

#### 【0024】

「相同組換え欠損」とは、D N A修復遺伝子における異常が原因で、二本鎖切断によるD N Aの修復を受けることができない細胞の不能を指す。

#### 【0025】

「有害性B R C A 1 / 2突然変異」は、当該技術分野で公知であり、B R C A 1 / 2遺伝子のすべてのタンパク質切断型突然変異(フレームシフト挿入/欠失またはナンセンス)、機能的ミスセンス突然変異(例えばB R C A 1 C 6 1 G突然変異)、及びホモ接合欠失を指す(Cancer Genome Atlas Research Network. I n t e g r a t e d g e n o m i c a n a l y s e s o f o v a r i a n c a r c i n o m a s . N a t u r e 2 0 1 1 ; 4 7 4 : 6 0 9 - 1 5)。<sup>30</sup>

#### 【0026】

「H R D陽性腫瘍」とは、有害性B R C A 1 / 2突然変異を含有する腫瘍またはL O Hを有するゲノムを高い割合で有する腫瘍を指す。H R D陽性腫瘍は、例えばP A R P阻害剤及びプラチナのような薬剤に最も感受性がありそうである。P A R P阻害剤、例えばルカパリブで治療されるH R D陽性腫瘍を有する患者は、H R D陰性腫瘍を有する患者に比べて、有意により長い全体的生存を有する可能性が最も高い。<sup>40</sup>

#### 【0027】

「H R D陰性腫瘍」とは、有害性B R C A 1 / 2突然変異を含有しておらず、且つL O Hを有するゲノムを高い割合で有していない腫瘍を指す。

#### 【0028】

「患者」は、哺乳類、例えばヒトを含む。患者は、疾患有する患者、疾患有する疑いがある患者、そして疾患の存在が評価されている患者を含む。

#### 【0029】

疾患有「治療すること(t r e a t i n g)」または「治療(t r e a t m e n t)」とは、乳癌もしくは卵巣癌の細胞の増殖、またはこれらの細胞の臨床症状のうちの少なく<sup>50</sup>

とも1つを停止または実質的に遅らせることを指す。ある特定の実施形態では、「治療すること」または「治療」は、患者によって識別できるかまたは識別できない癌の少なくとも1つの物理パラメーターを抑制または低減することを指す。ある特定の実施形態では、「治療すること」または「治療」は、癌を、身体的に(例えば識別可能な症状の安定化)、生理的に(例えば身体的パラメーターの安定化)、またはその両方で阻害または制御することを指す。

#### 【0030】

「治療有効量」とは、乳癌または卵巣癌を治療するために対象に投与するときに、そのような癌の治療に影響を及ぼすのに十分な化合物の量を指す。その「治療有効量」は、例えば、選択されるPARP阻害剤、癌のステージ、年齢、患者の体重及び/または健康、そして処方医師の判断に応じて変化し得る。任意の所定の症例において適当な量は、当業者によって容易に確認され得るかまたはルーティンの実験によって決定することができる。10

#### 【0031】

「試料」または「生体試料」は、対象から得られるゲノムDNA、RNA(例えばmRNA)、タンパク質、またはそれらの組み合わせを含有する生物学的標本である。例としては、染色体調製物、末梢血、尿、唾液、組織生検、外科標本、骨髄、羊水穿刺試料、及び剖検材料が挙げられるが、それらに限定されない。一例において、試料はゲノムDNAまたはRNAを包含する。いくつかの例では、試料は、細胞遺伝学的調製物であり、例えば顕微鏡スライド上に配置することができる。特定の例では、試料は直接に使用されるか、または、例えば固定(例えばホルマリンを使用して)によって、使用前に処置することができる。20

#### 【0032】

本明細書に記載の方法は、様々な癌に応用することができる。好ましい癌は、乳癌、卵巣癌、及び肺臓癌である。場合によっては、癌は転移性癌であり得る。本明細書に記載の方法と関連のある追加の癌の例としては、肉腫、前立腺癌、大腸癌(例えば小腸癌を含む結腸癌)、神経膠腫、白血病、肝臓癌、黒色腫(例えば転移悪性黒色腫)、急性骨髓性白血病、腎臓癌(kidney cancer)、膀胱癌、腎性癌(renal cancer)(例えば腎細胞癌)、グリア芽細胞腫、脳腫瘍、慢性または急性の白血病、例えば急性リンパ性白血病(ALL)、成人T細胞白血病(T-ALL)、慢性骨髓性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、リンパ腫(例えばホジキン及び非ホジキンリンパ腫、リンパ球性リンパ腫、原発性CNSリンパ腫、T細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、未分化大細胞リンパ腫(ALCL)、皮膚T細胞性リンパ腫、結節性小分割細胞リンパ腫、末梢T細胞リンパ腫、レンネルトリンパ腫、免疫芽球性リンパ腫、T細胞性白血病/リンパ腫(ATLL)、中心芽細胞性/中心細胞性(c b / c c)濾胞性リンパ腫癌、B細胞系のびまん性大細胞型リンパ腫、免疫芽球性血管リンパ節炎(AILD)様T細胞リンパ腫及びHIV関連体腔系リンパ腫)、胎生期癌、鼻咽腔の未分化癌(例えばシュミンケ腫瘍)、キャッスルマンリンパ腫、カポジ肉腫、多発性骨髓腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症及び他のB細胞リンパ腫、上喉頭癌、骨の悪性腫瘍、皮膚癌、頭部または頸部の癌、皮膚または眼内悪性黒色腫、子宮癌、直腸癌、肛門部癌、胃癌、精巣癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌(carcinoma of the cervix)、膣癌、外陰癌、食道癌、小腸癌、内分泌系癌、甲状腺癌、上皮小体癌、副腎癌、軟組織の肉腫、尿道癌、陰茎癌、小児期固形腫瘍、膀胱癌、腎臓または尿管の癌、腎盤の癌、中枢神経系(CNS)の新生物、腫瘍新脈管形成、脊髄軸腫瘍、脳幹部神経膠腫、下垂体腺腫、類表皮癌、扁平上皮癌、またはアスペストによって誘導されたものを包含する環境的に誘発された癌、例えば中皮腫が挙げられるが、それらに限定されない。別の実施形態では、本明細書に記載の方法は、2種以上のタイプの癌の組み合わせを治療するのに役立ち得る。いくつかの態様では、本方法は、癌と診断された個々の患者を治療するのに役立つ。40

#### 【0033】

本発明を、説明文として記載してきたが、当業者は、本発明は、様々な態様で実施することができ、また、前記の説明と下記の実施例は説明を目的とするものであって、以下の特許請求の範囲を限定するものではないことを認識するだろう。

【実施例】

【0034】

本明細書では別の態様を示し説明してきたが、そのような態様は単なる例として提供されていることは当業者には明らかである。多数のバリエーション、改変、及び置換が、本発明を逸脱せずに、当業者には想起されよう。本明細書に記載の本発明の態様に対する様々な代替物が本発明を実施する際に使用され得ることを理解すべきである。以下の請求項は本発明の範囲を定義すること、そしてこれらの請求項の範囲内にある方法と構造及びそれらの等価物は請求項によって保護されることが意図される。

10

実施例 1

ルカパリブ感受性乳癌細胞はゲノム L O H を示す。

ルカパリブ感受性細胞

【0035】

ヒト癌細胞株の大パネル中のルカパリブ感受性データは、ハイスループット増殖阻害アッセイを使用して得られた。端的に言えば、細胞を、 $5 \sim 20 \times 10^3$  個の細胞密度で、24ウェル組織培養プレートに播種した。ルカパリブは $0.005 \sim 10 \mu M$  の濃度範囲で処理した。生細胞を、Beckman Coulter Z2粒子計数器を使用して、ルカパリブ治療の1日目及び6日目に計数した。増殖阻害は、ルカパリブの存在下で阻害された世代数 対 ルカパリブの無存在下で同じ時間経過での世代数の関数として算出した。用量反応曲線を作成し、増殖阻害に関する 50% 有効濃度 (EC50) 値を各細胞系について算出した。ハイスループットスクリーニングで見出される最も感受性が高い細胞株のいくつかは乳癌細胞株であった(表1)。

20

【表1 - 1】

表1. L O H 分析で使用される 36 の乳癌細胞株におけるルカパリブ感受性。細胞株は、ルカパリブ (EC50 値) に対する最高から最低へとソートする。三重陰性の状態は、TNBC 細胞株の後に公開された報告に基づいている (Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. J Clin Invest 2011; 121: 2750-67)。

30

【表1 - 2】

細胞株	三重陰性状態	EC50 (μM)	
HCC1395	TNBC	0. 0545	
HCC202	非 TNBC	0. 201	
HCC1187	TNBC	0. 37	
MDAMB436	TNBC	0. 386	
ZR7530	非 TNBC	0. 65	10
HCC38	TNBC	0. 689	
HCC1500	非 TNBC	0. 757	
HCC1569	非 TNBC	0. 945	
MDAMB361	非 TNBC	1. 36	
UACC893	非 TNBC	1. 55	
MDAMB157	TNBC	1. 72	
HCC2218	非 TNBC	1. 86	
MDAMB453	TNBC	1. 91	
KPL1	非 TNBC	1. 94	20
MDAMB468	TNBC	2. 05	
T47D	非 TNBC	2. 32	
EFM19	非 TNBC	2. 6	
HCC1806	TNBC	3. 2	
HCC70	TNBC	3. 72	
HCC1419	非 TNBC	4. 14	
MDAMB415	非 TNBC	4. 19	
DU4475	TNBC	4. 57	
ZR751	非 TNBC	4. 63	30
EFM192A	非 TNBC	5. 68	
MCF7	非 TNBC	7. 01	
UACC812	非 TNBC	7. 01	
HCC1143	TNBC	7. 17	
SKBR3	非 TNBC	7. 97	
BT474	非 TNBC	8. 75	
CAMA1	非 TNBC	9. 13	
BT549	TNBC	9. 75	40
MDAMB231	TNBC	9. 79	
BT20	TNBC	10	
CAL51	TNBC	10	
HCC1937	TNBC	10	
HCC1954	非 TNBC	10	

L O H 分析

【0036】

ハイスループットスクリーニングで見出されるルカパリブ感受性乳癌細胞株を使用して 50

、ルカパリブ感受性を予測する際のLOHを有するゲノムの割合の有用性を示した。細胞株ごとに、Affymetrix SNP 6.0アレイのLOH分析を実行してLOHを有するゲノムの割合を測定した。バイオインフォマティク分析ワークフローの概要は図1で概説している。

#### 【0037】

端的に言えば、Affymetrix SNP 6.0アレイ強度データ(.CELファイル)は、一般公開されているCancer Cell Line Encyclopediaデータベースからダウンロードした(CCLE; <http://www.broadinstitute.org/ccle/home>, 2012-04-05 version)。SNP遺伝子型コール(.CHPファイル)は、Affymetrix Genotyping Consoleにおいてデフォルト信頼度閾値0.1でBirdsseed v2アルゴリズムを使用してアレイ強度データから得た。LOHを推定するために、Affymetrix SNP 6.0アレイ上の2998のSNPを、HapMap西ヨーロッパ集団におけるゲノム範囲及び高いヘテロ接合対立遺伝子頻度に基づいて選択した。癌細胞株のパネルのための参照正常試料は存在しないので、LOH領域は、前述した隠れマルコフモデル(HMM)によって不対分析を使用して推定した(Beroukhim R, Lin M, Park Y, et al. Inferring loss-of-heterozygosity from unpaired tumors using high-density oligonucleotide SNP arrays. PLoS Comput Biol 2006; 2: e41)。デフォルトのパラメーターを不対分析のために使用した：予想される遺伝子型誤差率0.01及びヘテロ接合頻度0.5。染色体全体に広がっているLOH領域は、分析から除外し、ならびにX及びY染色体も除外した。染色体13、14、15、21、及び22は、SNP表現を欠いている短い異質染色質p染色体腕を有するので、q染色体腕に広がっているLOH領域も同様に除外した。LOHを有するゲノムの割合は、SNP範囲(2.77E+09塩基対)を有するゲノム全長によって除された各個々のLOH領域の長さの合計によって決定された。例えば、細胞株HCC1395に関しては、染色体全体LOH領域を除外した後に、すべての残留LOH領域の合計は、1.122E+09塩基対であり、2.77E+09塩基対によって除すると、LOHを有するゲノムは40.5%となる。

統計

30

#### 【0038】

スピアマンの順位検定を実行して、LOHを有するゲノムと、ルカパリブ感受性(EC50)との相関の有意性を決定した。フィットされた受信者動作特性(ROC)曲線は、前述した連続評価スケールとして、LOHを有するゲノムの割合を使用して作成した(Eng J. Receiver operating characteristic analysis: a primer. Acad Radiol 2005; 12: 909-16)。フィッシャーの正確な検定を実行して、ルカパリブ感受性を予測するための2×2分割表の有意性を決定した。

結果

#### 【0039】

40

LOHを有するゲノムのより高い割合と、増加したルカパリブ感受性(すなわち、より低いEC50値)との間の関連が、36の乳癌細胞株のパネルで見出された( $p = 0.03$ ) (図2)。更に、スクリーニングにおいて36の乳癌細胞株のうち16は三重陰性乳癌(TNBC)であり、そしてその関連はTNBC細胞株において有意に相關している( $p = 0.02$ )。TNBC細胞株のうちの3つは有害性BRCA1突然変異を含有し、そしてこれらの細胞株は、乳癌細胞株パネルにおいて、LOHを有するゲノムを最高の割合で有する(HCC1395 - 40.5%, MDA MB436 - 38.5%, HCC1937 - 25.9%)。有害性BRCA1突然変異が相同組換え欠損(HRD)である細胞に関して予想されるように、HCC1395及びMDA MB436はルカパリブ(<0.5 μM)に対して高度に感受性がある。有害性BRCA1突然変異を有するにも

50

かかわらず、HCC1937は、ルカパリブに感受性がない、おそらくそれはDNA傷害剤に対する耐性メカニズムに起因している。

#### 【0040】

TNBCにおいてルカパリブ感受性を予測する際に、LOHを有するゲノムの割合の潜在的な診断有用性を試験するために、受信者動作特性(ROC)分析を行った。TNBC細胞株HCC1395、MDA-MB-436、及びMDA-MB-468はルカパリブに感受性があることが知られているので、ルカパリブ感受性細胞株を定義するための閾値は、これらの細胞株の最高EC50値に設定され；MDA-MB-468のEC50は2.05μMである。この基準を使用して、ROC曲線が作成され、LOHを有するゲノムの割合はルカパリブ感受性を予測する際に有用であり得ることが示された（図3、フィットされたROC曲線下面積 = 0.853）。

#### 【0041】

更に、LOHを有するゲノムの割合について区切り線を設定して、TNBC細胞株がルカパリブに対して応答する可能性があるか否かを予測することができる。例えば、区切り線がLOHを有するゲノム20%に設定される場合、TNBC細胞株におけるルカパリブ応答を予測するための感受性及び特異性は、それぞれ、86%（7つのルカパリブ感受性細胞株のうちの6つはLOHを有するゲノムを20%以上有していた）及び78%（9つのルカパリブ耐性細胞株のうちの7つはLOHを有するゲノムを20%未満有していた）である（図4、表2）。

#### 【表2】

表2. LOHを有するゲノムの割合を使用してルカパリブ感受性を予測するための2x2分割表。フィッシャーの正確な検定：p = 0.04。

	ルカパリブ感受性 (EC50<2.05μM)	ルカパリブ抵抗性 (EC50≥2.05μM)
ルカパリブ感受性 (LOHを有するゲノム≥20%)	6	2
ルカパリブ抵抗性 (LOHを有するゲノム<20%)	1	7

#### 【0042】

ここで記載されたLOHを有するゲノムの割合に関する区切り線を、Affymetrix SNP6.0アレイを使用してプロファイリングされたTNBC細胞株に適用する。しかしながら、その区切り線は、研究される試料タイプ（例えば、細胞株対腫瘍）、及び使用されるゲノム解析プラットフォーム（例えば、Affymetrix SNP6.0アレイ対SNPの目標とされる塩基配列決定の次世代塩基配列決定）に基づいて調整することができる。更に、区切り線は、例えばゲノム不安定性及びLOHも示す可能性がある高悪性度漿液性卵巣癌などの様々な様々な癌徴候に合うように調整することができる。

実施例2 - プラチナベースの治療からのゲノムLOH有効性を示す腫瘍を有する卵巣癌患者

#### 高悪性度漿液性卵巣腫瘍

#### 【0043】

Cancer Genome Atlas (TCGA)プロジェクトは、316例の高悪性度漿液性卵巣腫瘍のゲノム解析を行った（Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinomas. Nature 2011; 474: 609-15）。試料は、外科的切除を経験していて、これまで治療を受けてこなかった卵巣漿液性腺癌を有すると新たに診断された患者から集めた。標準的治療として、患者を、プラチナベースの化学療法で治療し、そして全体的生存を記録した（初回外科

10

20

30

40

50

的切除の年月日から、最後の公知の接触または死亡の年月日までの期間）。6か月以上のプラチナ無投薬期間（最後の一次プラチナ治療の年月日から、進行の年月日までの期間）を有する患者は、プラチナ感受性と定義される。腫瘍の次世代塩基配列決定は、B R C A 1 / 2 遺伝子のすべてのタンパク質切断型突然変異（フレームシフト挿入 / 欠失またはナンセンス）、機能的ミスセンス突然変異（例えばB R C A 1 C 6 1 G 突然変異）、及びホモ接合欠失を包含する有害性B R C A 1 / 2 突然変異を同定した（Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic analyses of ovarian carcinomas. Nature 2011; 474: 609 - 15）。

## LOH分析

10

## 【0044】

T C G A 研究での高悪性度漿液性卵巣腫瘍を使用して、プラチナベースの化学療法後の全体的生存を予測する場合における、LOHを有するゲノムの割合の有用性を示した。腫瘍ごとに、A f f y m e t r i x S N P 6 . 0 アレイのLOH分析を実行してLOHを有するゲノムの割合を測定した。バイオインフォマティク分析ワークフローの概要は図5で概説している。

## 【0045】

端的に言えば、A f f y m e t r i x S N P 6 . 0 アレイ強度データ (. C E L ファイル）を、一般公開されているT C G A データベースからダウンロードした（<https://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/tcgaDownload.jsp?version=2010-06-05>）。SNP遺伝子型コール (. C H P ファイル）は、A f f y m e t r i x G e n o t y p i n g C o n s o l eにおいてデフォルト信頼度閾値 0 . 1 で B i r d s e e d v 2 アルゴリズムを使用してアレイ強度データから得た。LOHを推定するために、A f f y m e t r i x S N P 6 . 0 アレイ上の 2 9 9 8 の S N P を、HapMap 西ヨーロッパ集団におけるゲノム範囲及び高いヘテロ接合対立遺伝子頻度に基づいて選択した。癌細胞株のパネルのための参照正常試料は存在しないので、LOH領域は、前述した隠れマルコフモデル (H M M ) によって不対分析を使用して推定した (Beroukhim R, Lin M, Park Y, et al. Inferring loss-of-heterozygosity from unpaired tumors using high-density oligonucleotide SNP arrays. PLoS Comput Biol 2006; 2: e41)。デフォルトのパラメーターを不対分析のために使用した：予想される遺伝子型誤差率 0 . 0 1 及びヘテロ接合頻度 0 . 5 。染色体全体に広がっているLOH領域は、分析から除外し、ならびにX及びY染色体も除外した。染色体 1 3 、 1 4 、 1 5 、 2 1 、及び 2 2 は、 S N P 表現を欠いている短い異質染色質 p 染色体腕を有するので、q 染色体腕に広がっているLOH領域も同様に除外した。LOHを有するゲノムの割合は、 S N P 範囲を有するゲノム全長によって除された各個々のLOH領域の長さの合計によって決定された。

## 統計

20

## 【0046】

30

カプラン - マイヤー生存分析を行って、LOHを有するゲノムの割合が高い患者と低い患者の全体的生存における差の中央値及び対数順位 p 値を決定した。コックス比例ハザードモデルを使用してハザード比及び多変量解析を計算する。

## 結果

40

## 【0047】

T C G A 研究からの高悪性度漿液性卵巣腫瘍は、LOHを有するゲノムの割合が広範囲を示し、中央値は 1 1 . 3 % であった（図6）。患者は、LOHを有するゲノムの割合が中央値に比べて大きい場合は高いゲノム LOH 群に、LOHを有するゲノムの割合が中央値に比べて小さい場合は低いゲノム LOH 群に分類することができる。カプランマイヤー全生存曲線の有意な分離は、高い対低いゲノム LOH の間に見出され ( p = 0 . 0 2 2 )。

50

ハザード比 = 0 . 7 1、図 7 )、それは、プラチナベースの化学療法後における全体的生存を予測する際に L O H を有するゲノムの割合の潜在的有用性を示している。全体的生存に影響を与えていた因子の多变量解析により、L O H を有するゲノムの割合は、プラチナベースの化学療法後における全体的生存の独立予知因子であることを発見した ( p = 0 . 0 3 5 , ハザード比 = 0 . 7 2 、表 3 )。

【表 3】

表 3. 卵巣腫瘍におけるプラチナベースの化学療法後の全体的生存に影響する因子のコックス多变量解析

		ハザード比	P 値
L O H を有するゲノムの割合	高いゲノム L O H	0.72	0.035
	低いゲノム L O H	1	
BRCA 状態	BRCA	0.49	0.00033
	非 BRCA	1	
腫瘍の病期	II	0.58	0.27
	III	0.95	0.80
	IV	1	
腫瘍悪性度	G2	0.72	0.22
	G3	1	
腫瘍残病態	肉眼的に疾患が無い	0.47	0.010
	1-10 mm	0.87	0.48
	11-20 mm	0.75	0.44
	>20mm	1	

10

20

30

【0048】

R C A 1 / 2 突然変異を含有する腫瘍を有する患者は D N A 傷害剤に対して感受性があることが知られており、また B R C A 突然変異は H R D のドライバーであるので、これらの患者は、L O H を有するゲノムの割合が高い腫瘍を有する患者と一緒にグループ化して、プラチナ及びルカパリブに最も感受性の可能性がある H R D 陽性患者と呼ばれる群を形成することができる。この仮説と一致するように、H R D 陽性患者は、H R D 隆性患者に比べて有意により長い全体的生存を有することが見出された ( p = 0 . 0 0 0 1 6 、ハザード比 = 0 . 5 6 、図 8 )。更に、H R D 陽性と H R D 隆性との間の全体的生存の差も、プラチナ感受性患者で見出された ( p = 0 . 0 3 4 、ハザード比 = 0 . 5 6 、図 9 )。

実施例 3 - ルカパリブ治療からのゲノム L O H 有効性を示す腫瘍を有する卵巣癌患者  
患者由来の卵巣腫瘍の次世代塩基配列決定

40

【0049】

アーカイブ腫瘍組織試料をゲノム解析のために患者から任意に集めた。最大許容投与量及び推奨されるフェーズ I I 投与量を決定するために、患者を、毎日ルカパリブを経口投与する用量漸増コホートに入れた。ルカパリブの抗腫瘍活性は、固形腫瘍の治療効果判定基準 ( R E C I S T ) V e r s i o n 1 . 1 で評価した。更に、血中の癌抗原 - 1 2 5 ( C A - 1 2 5 ) の濃度を卵巣癌のためのバイオマーカーとして測定した。局所 B R C A 1 / 2 検査の結果は、血液試料 ( 末梢血単核細胞 ) 由来の B R C A 1 / 2 遺伝の塩基配列決定によるものであった。

L O H 分析

50

## 【0050】

バイオインフォマティク分析ワークフローの概要は図10で概説している。端的に言えば、ホルマリンで固定されたパラフィン包埋(FFPE)腫瘍組織試料を、Foundation MedicineのT5次世代塩基配列決定(NGS)アッセイを使用して配列を決定した。そのアッセイは、良好なゲノム範囲及び高いヘテロ接合対立遺伝子頻度を有する約3500のSNPの塩基配列決定を含む。統計モデル、すなわち腫瘍の対立遺伝子特異的コピー数分析(ASCAT)を使用して配列決定されたSNPのLOH状態を評価した。染色体全体に広がっているLOH領域は、分析から除外し、ならびにX及びY染色体も除外した。染色体13、14、15、21、及び22は、SNP表現を欠いている短い異質染色質p染色体腕を有するので、q染色体腕に広がっているLOH領域も同様に除外した。LOHを有するゲノムの割合は、SNP範囲を有するゲノム全長によって除された各個々のLOH領域の長さの合計によって決定された。

## 結果

## 【0051】

5例のFFPE卵巣腫瘍のゲノムLOH分析により、すべての腫瘍が、実施例2に示してあるように、TCGA高悪性度漿液性腫瘍で同定された11.3%の中央値を超えて、LOHを有するゲノムを高い割合で有していることが見出された。更に、これらの腫瘍は、ルカパリブ治療から臨床的有用性が得られたすべての患者(安定しているかまたは測定可能な疾患がない)からの腫瘍であったので、LOHを有するゲノムを高い割合で有する患者はルカパリブ治療から利益を得ることができる、ことを示唆している(表4)。LOHを有するゲノムの割合が最も高い(39.3%)患者は、CA-125癌抗原の濃度をベースとするルカパリブ治療に応答した。

## 【表4】

表4. LOHを有するゲノムを高い割合で有する卵巣癌患者に関するルカパリブの臨床的有用性

対象ID	コホート	ルカパリブに対する最良応答	局所的BRCA検査結果	LOHを有するゲノムの割合
04-0501	300 mg QD	不变	BRCA1	25.1%
03-0702	300 mg QD	不变	BRCA2	20.7%
04-0901	360 mg BID	不变、CA-125応答	BRCA1	39.3%
04-0902	360 mg BID	不变	BRCA1	16.0%
02-1101	600 mg BID	測定可能な疾患無し	BRCA2	24.4%

実施例4 - ゲノムLOHと、ルカパリブ治療からの利益とを示す腫瘍を有する非BRCA患者

## 患者由来の高悪性度卵巣腫瘍の次世代塩基配列決定

## 【0052】

プラチナ感受性の再発した高悪性度卵巣癌患者を、推奨されるフェーズ2投与量600mg BID(1日2回)でルカパリブの経口投与により治療する。ルカパリブの抗腫瘍活性は、 固形腫瘍の治療効果判定基準(RECIST)Version 1.1ならびに

婦人科癌群間（G C I G）CA - 125 応答に基づいて評価した。ホルマリンで固定されたパラフィン包埋（FFPE）腫瘍組織試料を、Foundation Medicine の T5 次世代塩基配列決定（NGS）アッセイを使用して配列を決定した。そのアッセイは、配列 287 の癌関連遺伝子（BRCA1 / 2 を含む）及び、良好なゲノム範囲及び高いヘテロ接合対立遺伝子頻度を有する約 3500 の SNP の塩基配列決定を含む。腫瘍組織（生殖系列及び体細胞系列の両方）において検出される有害性の BRCA1 / 2 突然変異としては、BRCA1 / 2 遺伝子のタンパク質切断型突然変異、公知のミスセンス突然変異、及びホモ接合欠失が挙げられる。

## LOH 分析

## 【0053】

10

バイオインフォマティク分析ワークフローの概要は図 11 で概説している。端的に言えば、統計モデル、すなわち腫瘍の対立遺伝子特異的コピー数分析（ASCAT）を使用して配列決定された SNP の LOH 状態を評価した。染色体全体または染色体腕に広がっている LOH 領域、ならびに X 及び Y 染色体上にある LOH 領域は、アッセイから除外した。LOH を有するゲノムの割合は、調べたゲノム（interrogable genome）の全長によって除された除外 LOH 領域の長さの合計によって決定された。

方程式で表すと：

$$\text{LOH を持つゲノムの \%} = 100^* \times (\text{非除外 LOH 領域の長さ}) / (\text{SNP 範囲を有するゲノムの全長} - \text{除外された LOH 領域の長さ})$$

T5 アッセイのための SNP 範囲を有するゲノムの全長は 2.78E + 09 塩基対である。

20

## 【0054】

TCGA 高悪性度漿液性卵巣癌データセットの分析に基づいて、LOH を有するゲノムを少なくとも 14% 有する腫瘍組織試料は、高いゲノム LOH (LOH 陽性) と定義される。腫瘍が BRCA 陽性または LOH 陽性のいずれかである場合（表 5）、HRD 陽性であり、また、BRCA 陰性及び LOH 陰性の両方である場合のみ、腫瘍は HRD 陰性である。BRCA 変異分析は、スクリーニング試料及び / またはアーカイブ試料に基づいて測定した。ゲノム LOH は時間とともに変化する可能性があるので、ゲノム LOH 分析はスクリーニング試料に基づいて測定した。

## 【表 5】

30

表 5. HRD 陽性及び HRD 陰性集団の定義

	高いゲノム LOH: LOH 陽性	低いゲノム LOH: LOH 陰性
BRCA 陽性	HRD 陽性	HRD 陽性
BRCA 陰性	HRD 陽性	HRD 陰性

## 結果

40

## 【0055】

異なる HRD サブグループにおけるルカバリブの抗腫瘍の腫瘍活性を評価するためにプラチナ感受性の再発した高悪性度卵巣癌患者由来のベースライン及び治療後の標的病変を様々な時点でスキャンして分析した。

## 【0056】

時点 A において、プラチナ感受性の再発した高悪性度漿液性卵巣癌を有する 50 例の患者を、BRCA 突然変異及びゲノム LOH に関して配列決定し分析した。50 例のうち、BRCA1 / 2 突然変異を有する症例が 23 (46%)、LOH を有するゲノムの割合が高く非 BRCA (非 BRCA / LOH+) の症例が 15 (30%)、そして LOH を有するゲノムの割合が低く非 BRCA (非 BRCA / LOH-) の症例が 12 (24%) であ

50

った。異なるHRDサブグループにおけるルカパリブの抗腫瘍の腫瘍活性を評価するために、ベースライン及び治療後の腫瘍スキャンが22例で利用することができた（図12）。同定された全8人の部分的な応答者（PR）はHRD陽性であった：6例はBRCA突然変異を有し、2例は非BRCA/LOH+である。

#### 【0057】

時点Bにおいて、プラチナ感受性の再発した高悪性度卵巣癌を有する95例の患者を、BRCA突然変異及びゲノムLOHに関して配列決定し分析した。95例のうち、BRCA1/2突然変異を有する症例が26（27%）、LOHを有するゲノムの割合が高く非BRCA（非BRCA/LOH+）の症例が39（41%）、そしてLOHを有するゲノムの割合が低く非BRCA（非BRCA/LOH-）の症例が30（32%）である。異なるHRDサブグループにおけるルカパリブの抗腫瘍の腫瘍活性を評価するために、ベースライン及び治療後の腫瘍スキャンを、61例で利用することができた（図13）。応答者を定義するためにRECIST及びGCIG CA-125基準を使用すると、BRCA、非BRCA/LOH+、及び非BRCA/LOH-サブグループに関する客観的な有効率（ORR）は、それぞれ68%、28%、及び7%であった（表6）。

#### 【表6】

表6. HRD陽性及びHRD陰性集団の定義

HRDサブグループ	患者数	RECIST ORR, % (n)	RECIST & GCIG CA-125 ORR, % (n)
BRCA	22	59 (13/22)	68 (15/22)
非BRCA/LOH+	25	24 (6/25)	28 (7/25)
非BRCA/LOH-	14	7 (1/14)	7 (1/14)

10

20

30

#### 【0058】

C時点では、ベースライン及び治療後の標的病変スキャンを、異なるHRDサブグループ：すなわち、BRCA（図14）、非BRCA/LOH+（図15）、非BRCA/LOH-（図16）におけるルカパリブの抗腫瘍の腫瘍活性を評価するために、プラチナ感受性の再発した高悪性度卵巣癌患者61例で利用することができた。応答者を定義するためにRECIST及びGCIG CA-125基準を使用すると、BRCA、非BRCA/LOH+、及び非BRCA/LOH-サブグループに関する全体的奏効率（ORR）は、それぞれ70%、40%、及び8%であった（表7）。

## 【表7】

表7. 異なるHRDサブグループにおけるRECIST及びCA-125による全体の奏効率(ORR)

HRDサブグループ	患者数	RECIST ORR, % (n)	RECIST & GCIG CA-125 ORR, % (n)
BRCA	23	61 (14/22)	70 (16/22)
非 BRCA/LOH+	25	32 (8/25)	40 (10/25)
非 BRCA/LOH-	13	8 (1/13)	8 (1/13)

10

ルカパリブ治療に応答した非B R C A / L O H + 患者の同定は、ルカパリブ感受性を予測する際に、L O H を有するゲノムの割合の臨床有用性を例示している。

## 【0059】

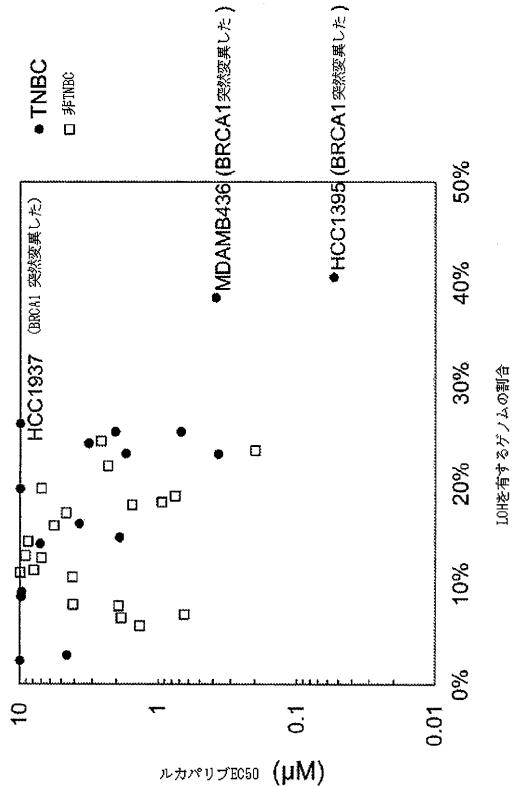
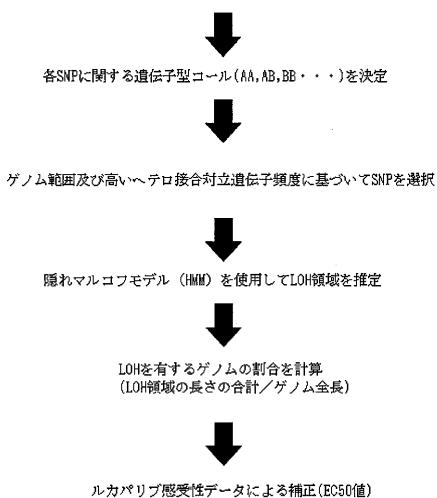
本発明の好ましい態様を本明細書で示し説明してきたが、そのような態様は単なる例として提供されていることは当業者には明らかである。多数のバリエーション、改変、及び置換が、本発明を逸脱せずに、当業者には想起されよう。本明細書に記載の本発明の態様に対する様々な代替物が、本発明を実施する際に使用できることを理解すべきである。以下の請求項は本発明の範囲を規定すること、そしてこれらの請求項の範囲内にある方法と構造、及びそれらの等価物は請求項によって保護されることが意図される。

20

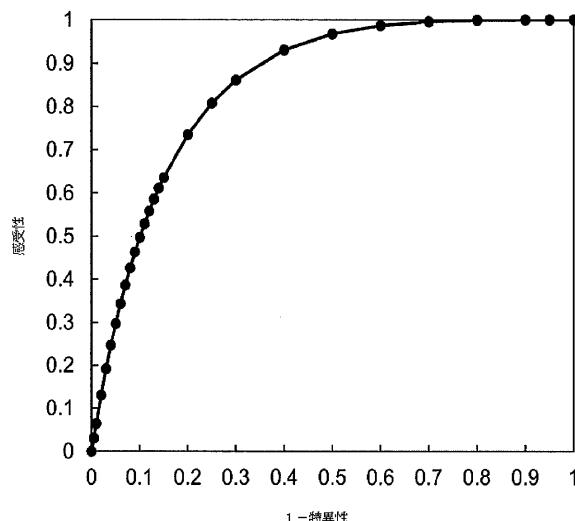
## 【図1】

## 【図2】

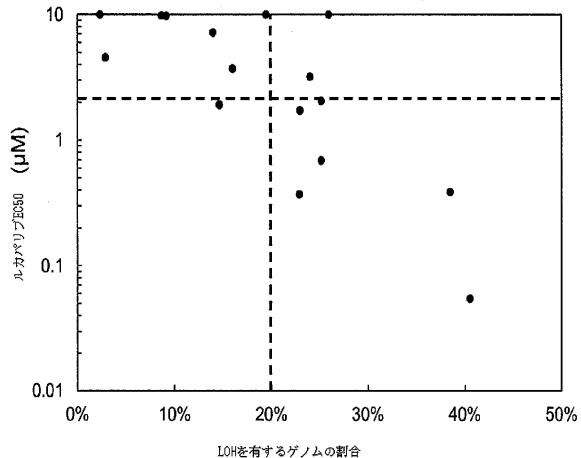
Cancer Cell Line Encyclopedia(CCLE)データベースからのAffymetrix SNP 6.0アレイデータ



【図3】

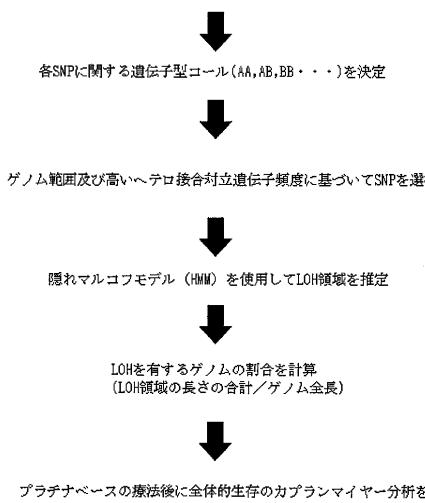


【図4】

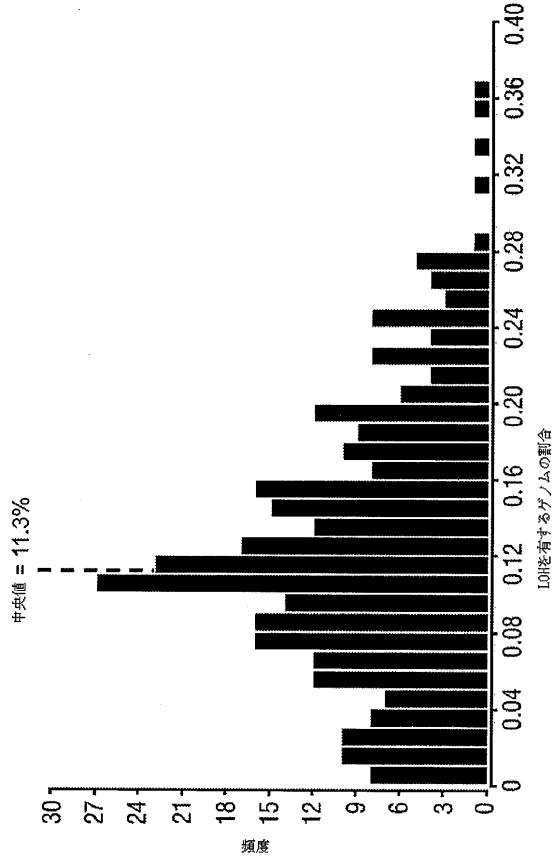


【図5】

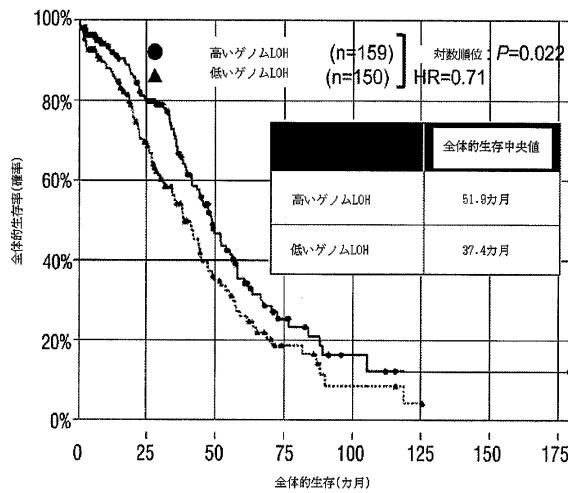
308 TOGA 高悪性度漿液性卵巣癌に関するAffymetrix SNP 6.0アレイデータ



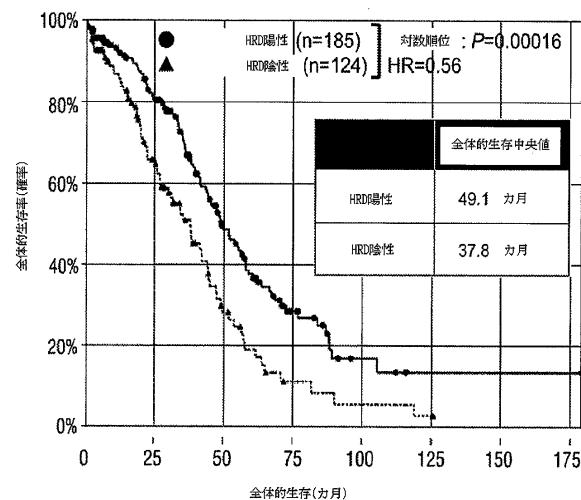
【図6】



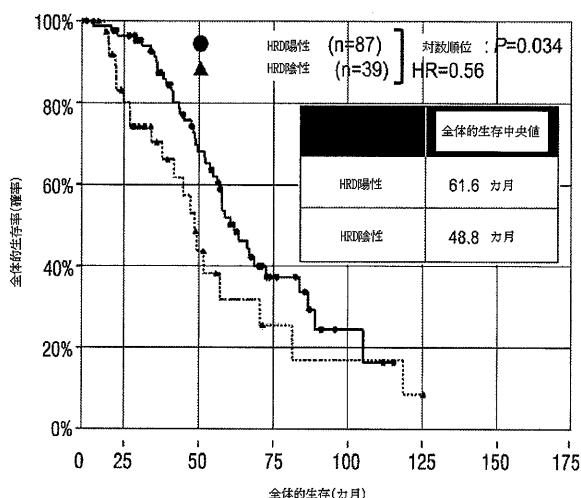
【図7】



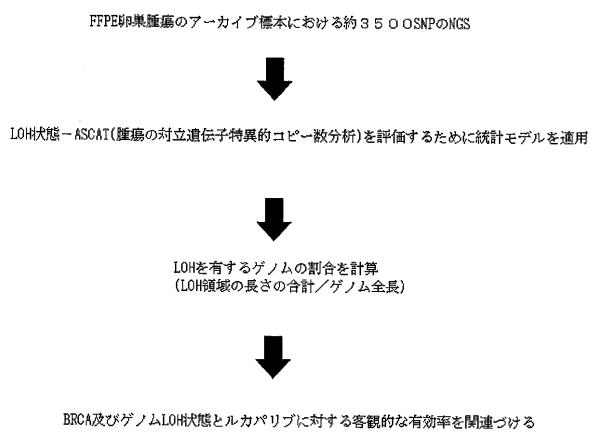
【図8】



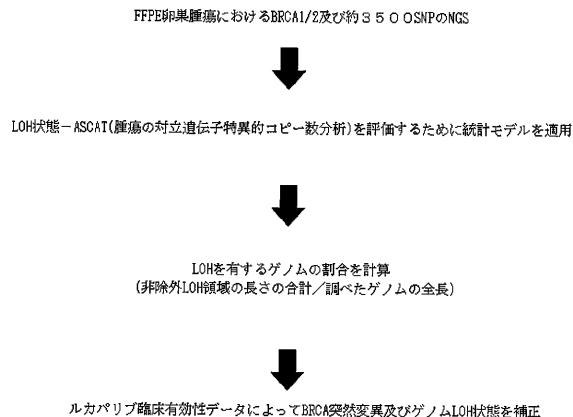
【図9】



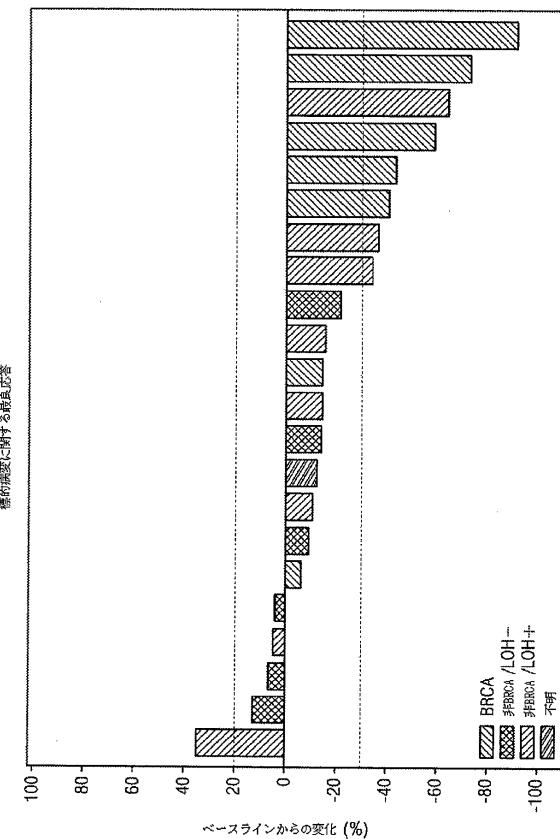
【図10】



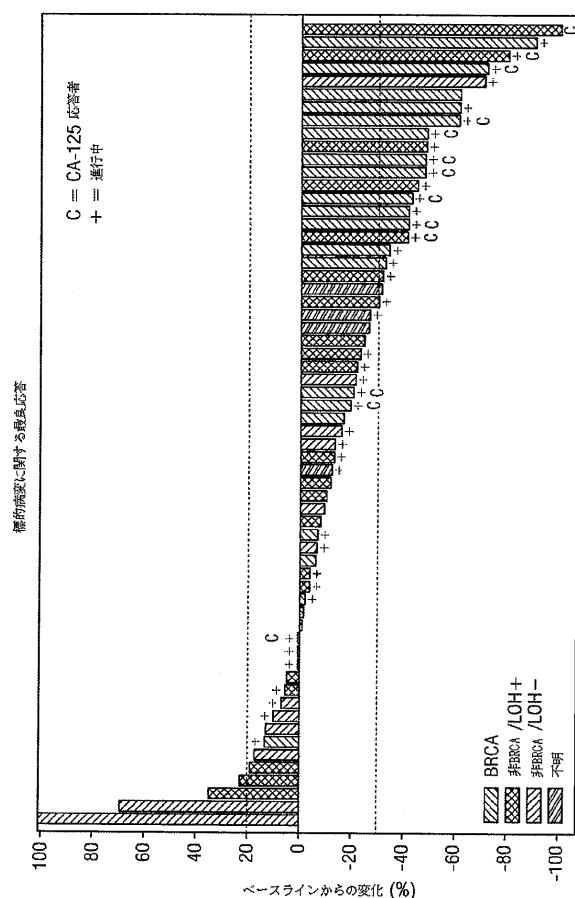
【図11】



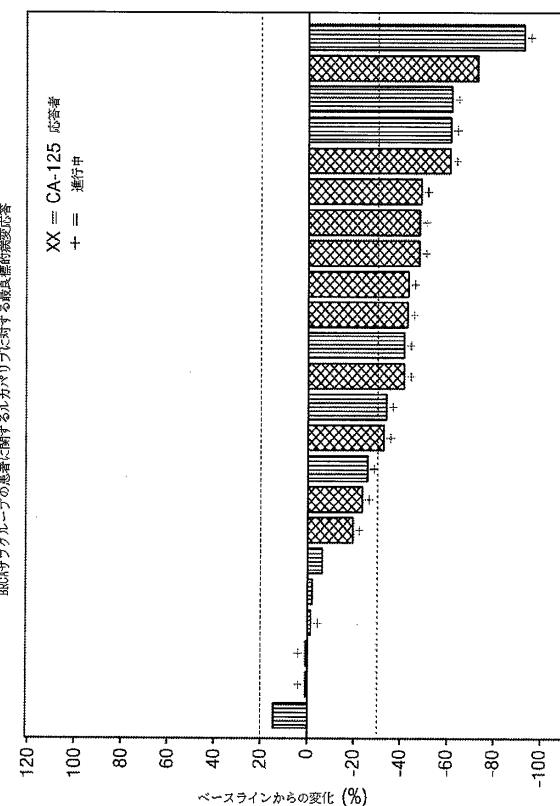
【図12】



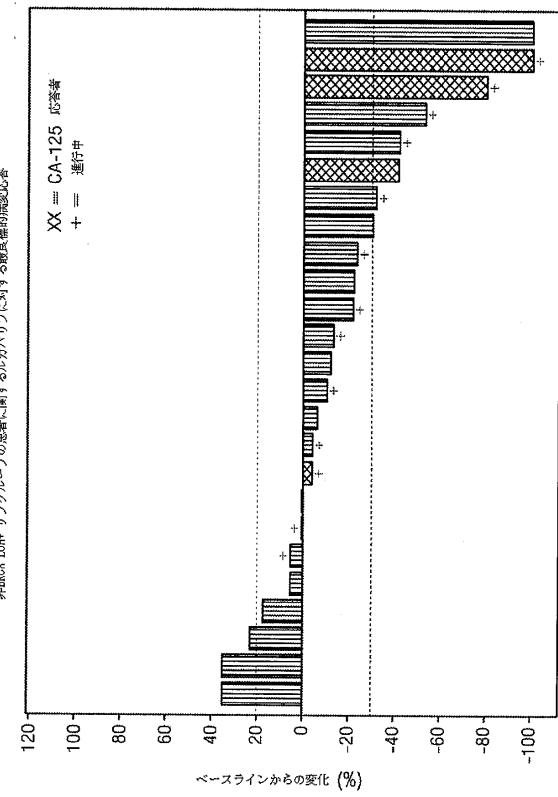
【図13】



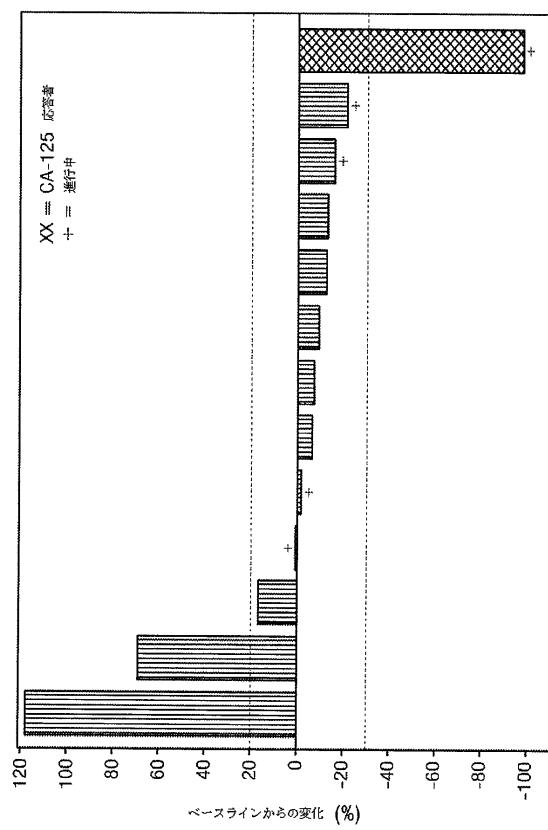
【図14】



【図15】



【図16】



---

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 62/039,516  
(32)優先日 平成26年8月20日(2014.8.20)  
(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)  
(31)優先権主張番号 62/076,165  
(32)優先日 平成26年11月6日(2014.11.6)  
(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

前置審査

(74)代理人 100122644  
弁理士 寺地 拓己  
(72)発明者 リン,ケヴィン  
アメリカ合衆国カリフォルニア州 94402,サン・マテオ,アセンション・ドライブ 1506

審査官 新熊 忠信

(56)参考文献 国際公開第2013/096843 (WO, A1)  
国際公開第2013/076090 (WO, A1)  
British journal of Cancer, 2012年, Vol.107, p.1776-1782  
PLoS Computational Biology, 2006年, Vol.2, No.5, e41, p.0323-0332  
frontiers in ONCOLOGY, 2013年, Vol.3, No.301, p.1-14

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 31/00 - 33/44  
A 61 K 45/00 - 45/08  
A 61 P 15/00  
A 61 P 35/00  
A 61 P 43/00  
JST Plus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)  
Caplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)