



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201100802 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：099107108

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 03 月 11 日

(51)Int. Cl. : G01N33/68 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(30)優先權：2009/03/12 歐洲專利局

09154964.2

(71)申請人：百靈佳殷格翰國際股份有限公司 (德國) BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH (DE)

德國

(72)發明人：荒尾德三 ARAO, TOKUZO (JP) ; 工藤可苗 KUDO, KANAE (JP) ; 中川和彥
NAKAGAWA, KAZUHIKO (JP) ; 西尾和人 NISHIO, KAZUTO (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：5 共 38 頁

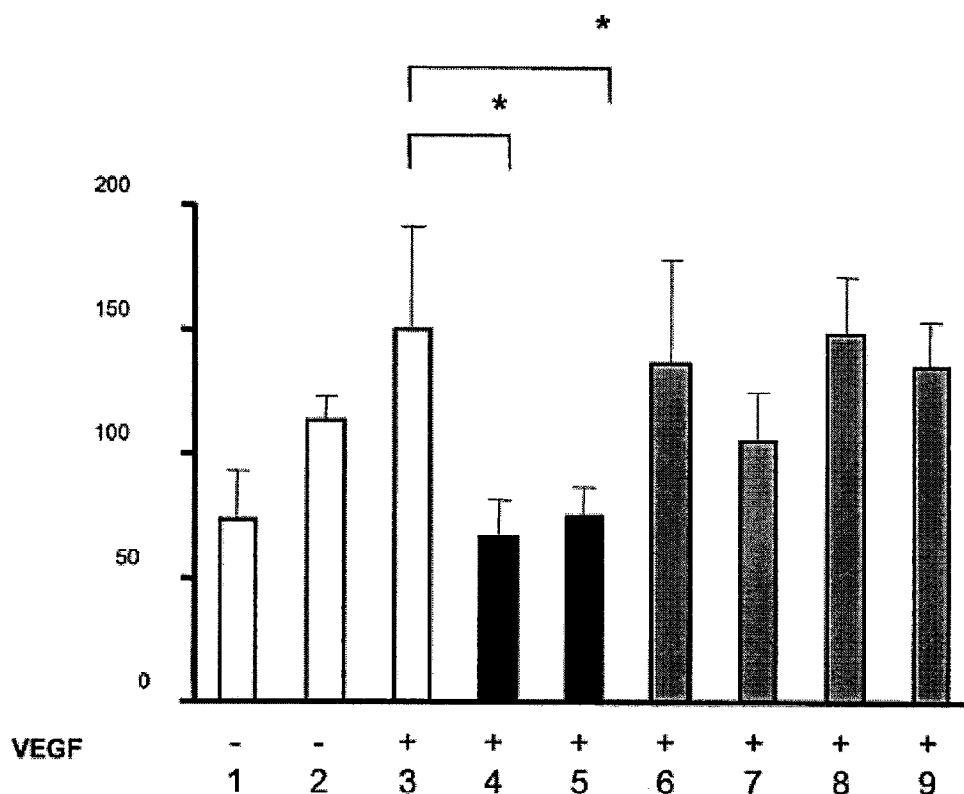
(54)名稱

利用生物標記監測療法之方法或系統

METHOD OR SYSTEM USING BIOMARKERS FOR THE MONITORING OF A TREATMENT

(57)摘要

本發明係關於一種生物標記，以監測化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(及尤其係其單乙烷磺酸鹽型)在單獨或視情況與其他醫藥活性成分及/或其他療法(例如放射治療)組合使用時之活性。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201100802 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：099107108

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 03 月 11 日

(51)Int. Cl. : G01N33/68 (2006.01)

G01N33/574 (2006.01)

(30)優先權：2009/03/12 歐洲專利局

09154964.2

(71)申請人：百靈佳殷格翰國際股份有限公司 (德國) BOEHRINGER INGELHEIM
INTERNATIONAL GMBH (DE)

德國

(72)發明人：荒尾德三 ARAO, TOKUZUO (JP) ; 工藤可苗 KUDO, KANAE (JP) ; 中川和彥
NAKAGAWA, KAZUHIKO (JP) ; 西尾和人 NISHIO, KAZUTO (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：17 項 圖式數：5 共 38 頁

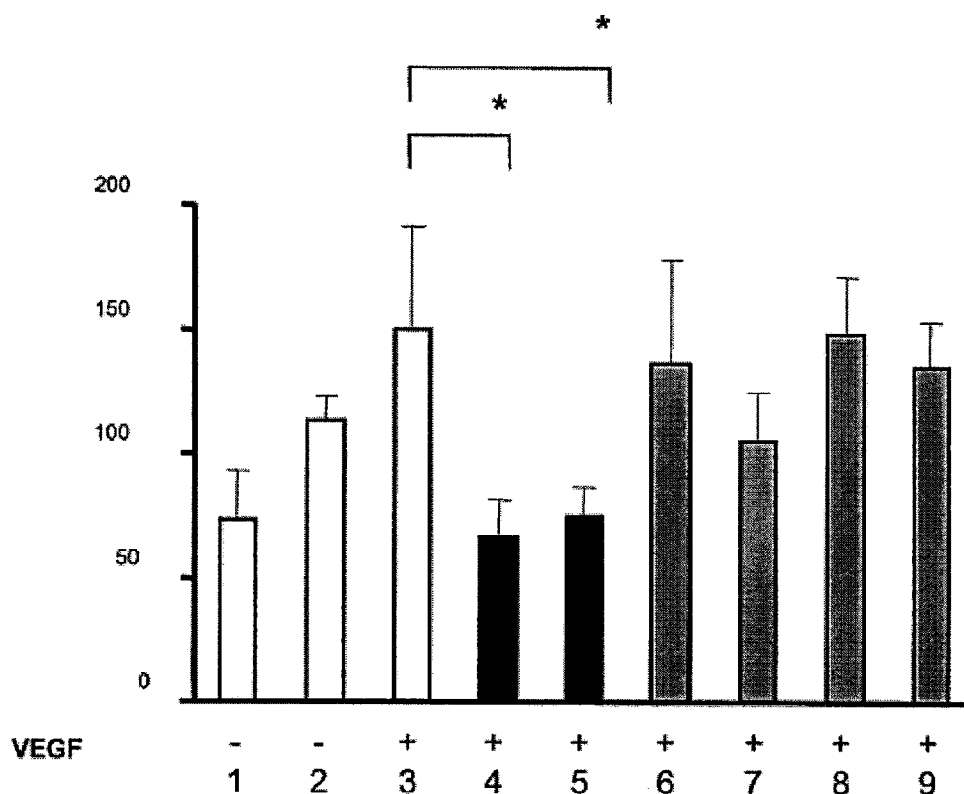
(54)名稱

利用生物標記監測療法之方法或系統

METHOD OR SYSTEM USING BIOMARKERS FOR THE MONITORING OF A TREATMENT

(57)摘要

本發明係關於一種生物標記，以監測化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(及尤其係其單乙烷磺酸鹽型)在單獨或視情況與其他醫藥活性成分及/或其他療法(例如放射治療)組合使用時之活性。



六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於醫藥領域，且尤其係關於特定化合物活性之生物標記，及關於監測利用該化合物之療法。

本發明更明確言之係關於一種生物標記，以監測化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(及尤其係其單乙烷磺酸鹽型)在單獨或視情況與其他醫藥活性成分及/或其他療法(如(例如)放射治療)組合使用時之活性。

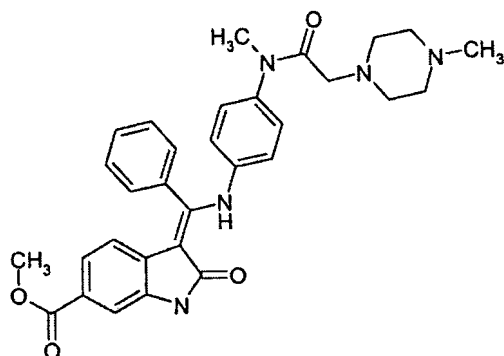
【先前技術】

在生物體中之分子製程及研究此等進程之技術之知識的最新進步已改善診斷及治療疾病之方法及系統。在多個領域正進行研究以提供及/或改善治療疾病之方法，及提供及/或改善監測療法效果之方法及系統。

化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮係具有寶貴的藥理特性之創新活性成分，尤其係用於治療腫瘤疾病、免疫疾病或涉及免疫組分之病理病症、或纖維化疾病。

此化合物之化學結構係如下式 A 所示。

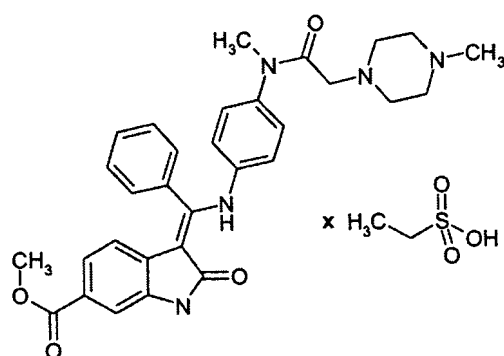
式 A



此化合物之鹼型係描述於WO 01/27081中，單乙烷磺酸鹽型係描述於WO 2004/013099中，及多種其他鹽型係呈現於WO 2007/141283中。此分子於治療免疫疾病或涉及免疫組分之病理病症之用途係描述於WO 2004/017948中，於治療腫瘤疾病之用途係描述於WO 2004/096224中，及於治療纖維化疾病之用途係描述於WO 2006/067165中。

此化合物之單乙烷磺酸鹽型呈現之性質使此鹽型尤其適於開發成為藥物。3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮-單乙烷磺酸鹽之化學結構係如下式A1所示。

式 A1



臨床前研究已顯示此化合物係血管內皮生長因子受體(VEGFR)，血小板衍生生長因子受體(PDGFR)和成纖維細胞生長因子受體(FGFR)之高效口服生物可利用的抑制劑，

其透過抑制腫瘤新血管生成機制抑制腫瘤生長。其進一步顯示此化合物抑制內皮及平滑肌細胞及細胞周圍之信號轉導，並降低腫瘤血管密度。

此外，此化合物在至今測試之所有模型，在良好耐受劑量下均顯示活體內抗腫瘤效果。下表1顯示在異種移植模型及在同基因大鼠腫瘤模型中測試之活體內抗腫瘤效力之結果。

表 1

癌症	模型	效力
結腸直腸	HT-29 HT-29大型腫瘤	T/C 16% @ 100mg/kg/d 腫瘤體積減小
膠質母細胞	GS-9L同基因鼠	T/C 32% @ 50mg/kg/d
頭部及頸部	FaDu	T/C 11% @ 100mg/kg/d
肺(非小細胞)	NCI-H460 Calu-6	T/C 54% @ 25mg/kg/d T/C 24% @ 50mg/kg/d
卵巢	SKOV3	T/C 19% @ 50mg/kg/d
前列腺(激素-依賴性)	PAC-120	T/C 34% @ 100mg/kg/d
腎	Caki-1	T/C 13% @ 100mg/kg/d
胰腺(轉殖基因老鼠)	Rip-Tag	干擾腫瘤形成

T/C表示相對於對照組之腫瘤大小減小%

因此，此化合物係(例如)適於治療涉及血管生成或細胞增殖之疾病。

此化合物另外適於治療纖維化疾病，如 WO 2006/067165 中所述。

儘管諸多研究著眼於發展診斷及篩檢之方法，但仍需求

監測療法之有效的方法及系統。監測並不經常可能或需要複雜、昂貴及/或費時的程序(對病患而言經常不方便)，如從病患處獲取樣本(例如活組織樣本)並在實驗室中研究此等樣本。腫瘤細胞之放射學分析係僅可能在開始腫瘤治療幾星期後進行。

因此，根據WO 2008/127528提供方法及程序以監測病患之反應或確定其敏感性，以識別有助於治療疾病及病症之個性化基因圖譜。

根據WO 2008/134526，膀胱癌可藉由篩檢尿液樣本中呈現高濃度之確定的生物標記檢測。此文獻另外描述一種藉由檢測受試者尿液樣本中至少一種本文識別膀胱癌之生物標記(如 α -1B-糖蛋白、肝球蛋白、血清運鐵蛋白、 α -1-抗胰蛋白酵素)，以診斷、預測、及監測膀胱癌(如早期或晚期膀胱癌)之方法。該等生物標記可使用檢測或結合至該生物標記蛋白之助劑或檢測或結合至編碼核酸(如：可與該生物標記蛋白或其部分特異性反應之抗體)之助劑進行檢測，及視情況進行測定。

因此，某些細胞表面分子之表現量已建議作為一種疾病或其治療之指示。

根據WO 2005/083123，在來自個體樣本中之AC133表現產物的量(即：該蛋白質或其mRNA的量)係指示一種疾病或其治療。此參考文獻進一步指出在未經治療的癌症病患中，AC133之表現顯著高於健康個體。在實例中亦顯示，多種腫瘤病患經治療時，AC133表現產物顯著下降，但在

相同治療期間之循環之內皮細胞總量基本上仍保持相同。本質上，此參考文獻進一步指出，循環之內皮細胞數量並不一定指示個體之狀態，而AC133表現產物之總量則可指示該狀態。類似地，WO 2004/019864描述利用定量性RT-PCR以識別作為標記之AC133並診斷及監測血管生成性。

然而，迄今沒有描述或建議利用生物標記監測上述活性成分3-Z-[1-(4-(*N*-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-*N*-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽，及尤其係其單乙烷磺酸鹽型單獨或視情況與其他醫藥活性成分及/或其他治療(如，例如放射治療)組合使用之個體療法之方法及系統。先前技術亦沒有預測此方法及系統。

【發明內容】

本發明之目的係提供一種方法及系統，其利用生物標記監測化合物3-Z-[1-(4-(*N*-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-*N*-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽，及尤其係其單乙烷磺酸鹽型單獨或視情況與其他醫藥活性成分及/或其他治療(如，例如放射治療)組合使用之個體療法。

因此，本發明目標之一係提供一種監測化合物3-Z-[1-(4-(*N*-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-*N*-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(較佳為單乙烷磺酸鹽型)之個體療法之方法或系統，該方法包括測定來自該個體之樣本是否包括該療法之

指示量的生物標記。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記指示蛋白質之表現或狀態的變化或指示與疾病之風險或進展或與該疾病對指定療法之易感性相關的特定細胞數量的變化。

在根據本發明之另一項實施例中，該生物標記係藥效學生物標記。

在根據本發明之另一項實施例中，監測該療法意指以下任一者：監測效應程度、監測效應持續時間、監測效應速度、監測穩定速度、監測穩定持續時間、監測相對疾病進程之時間、監測無進展存活期或監測整體存活期，尤其係在不損害效應持續時間具有較少及/或麻煩較小的副作用的情況下。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中係定量該數量。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其包括比較該數量與參考值。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其包括比較該個體獲得之樣本中存在的該表現產物或特定細胞之該數量與該治療之前該表現產物或特定細胞的數量。

在另一項實施例中，多個來自該個體之樣本係在開始治療後的不同時間點獲得。此作法能長時間監測治療過程。例如，其可決定該生物標記之數量是否仍指示該疾病或其療法。例如，此可用於在每個病患基礎上建立病患的適當

治療時間表、劑量及類型。此外，其可測定是否適合在指定時間點持續治療。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該樣本係在該治療開始一個月內獲得。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該樣本係在該治療開始一周內獲得。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該樣本係在該治療開始兩天內獲得。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記包括呈現某些特定細胞表面抗原之細胞。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該樣本係血液樣本。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記係內皮細胞之磷酸-酪胺酸濃度。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記係 $\text{VEGFR2}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{pY}^+$ 細胞之數目。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記係 $\text{VEGFR2}^+\text{pY}^+$ 細胞之數目。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記係選自 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+\text{CD117}^-$ 細胞之數目、 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^-\text{CD117}^+$ 細胞之數目、 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+$ 細胞之數目、及 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD117}^+$ 細胞之數目。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中該生物標記係 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+\text{CD117}^+$ 細胞之數目。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以來自該個體樣本使用流式細胞儀所測得內皮細胞之磷酸-酪胺酸濃度降低來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以來自該個體樣本使用流式細胞儀所測定 $\text{VEGFR2}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{pY}^+$ 細胞減少來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以來自該個體樣本使用流式細胞儀所測得 $\text{VEGFR2}^+\text{pY}^+$ 細胞減少來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後(例如在第29天)所測量 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+\text{CD117}^-$ 細胞相對於治療前之增加百分比來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後(例如在第29天)所測量 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^-\text{CD117}^+$ 細胞相對於治療前之降低百分比來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後(例如在第29天)所測量 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+$ 細胞相對於治療前之增加百分比來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後(例如在第8天及第29天)所測量 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD117}^+$ 細胞相對於治療前之減少百分比來指示該療法。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後所測量 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+$ 細胞比治療前減少來指示該效應(病情穩定)。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後所測量 $CD34^{+}CD45^{dim}CD117^{+}$ 細胞比治療前減少來指示該效應(病情穩定)。

本發明之另一目標係上述方法或系統，其中以治療後所測量 $CD34^{+}CD45^{dim}CD133^{+}CD117^{+}$ 細胞比治療前減少來指示該效應(病情穩定)。

本發明之另一目標係一種確定利用化合物3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(較佳為單乙烷磺酸鹽型)治療病患是否有效之方法或系統，其包括以下要件：需要進行此決定之病患或醫師、自該病患獲取生物材料之樣本、使用上述監測個體療法之方法或系統分析該樣本、及將該等測試結果送回該病患或醫師。

本發明亦提供一種診斷套組，其包括至少一種執行根據本發明之方法或系統之構件。在一項態樣中，該套組可包括設定在mRNA、蛋白質層級上或在細胞或樣本層級上監測生物標記表現的試劑或材料(如抗體或核酸)、及視情況選用之一或多種用於測試來自病患組織樣本或病患樣本之活性成分、及視情況包含其使用說明。

本發明之另一目標係一種以生物標記於上述監測利用化合物3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(較佳為單乙烷磺酸鹽型)之個體療法

的方法或系統中之用途。

【實施方式】

在本發明之定義內，生物標記係用作生物狀態之指示劑。其特徵在於：其係客觀測量並評價正常生物過程、病變過程或對於治療干預之藥理反應之指示劑。此點符合NIH研究群組在1998年所指示之定義。

更特定而言，生物標記指示與疾病之風險或進程相關，或與待接受治療之疾病之易感性相關的變化。所建議之生物標記一旦經確認，則其可用於診斷個體中之疾病風險、疾病之存在、或用於訂製個體疾病之療法(選擇藥物療法或投藥療程)。在評估可能的藥物療法中，生物標記可用作自然評估指標(如生存期或不可逆致病率)之替代物。如果治療改變了與改善健康有直接相關之生物標記，則該生物標記可作為評估臨床效益之替代評估指標。

本發明之方法或系統可係(例如)活體外方法，其中測量該個體內至少一種生物標記之濃度之步驟包括自該個體採取生物樣本，及隨後測量該生物樣本內之該(等)生物標記之濃度。該生物樣本可包括(例如)血清、新鮮全血、外周血液單核細胞、冷凍全血、新鮮血漿、冷凍血漿、尿液、唾液、皮膚、頭髮毛囊、骨髓或腫瘤組織中至少一者。

在本發明之範圍內，分化分子群CD34、CD45、CD133及CD117尤其可作為特定細胞類型之細胞標記。

因此，分化分子群(或指定分子群，常常縮寫作CD)係一種用於識別及研究白血球上存在之細胞表面分子之方式。

該CD命名法係在1982年巴黎舉行的第一屆人類白血球分化抗原(HLDA)國際研討會(the 1st International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens)上提出及設立。此系統係用於多種由世界各地不同實驗室產生之對抗白血球(白色血液細胞)表面分子上之抗原的單株抗體(mAb)之分類。從此以後，其用途已經延伸至多種其他細胞類型，其已識別超過320種CD獨特的分子群集及分子子群。一旦發現有兩種特定的單株抗體(mAb)會與該分子結合，則該提出的表面分子將被指定一個CD編號。如果該分子不具有充分的特徵，或只具有一個mAb，其通常係給臨時代號「w」(如：「CDw186」)。CD分子可依多種方式產生作用，其常用作對細胞重要的受體或配體(活化受體之分子)。通常啟動信號級聯，改變該細胞之行為(細胞信號轉導)。某些CD蛋白質在細胞信號轉導中不發揮作用，但是具有其他功能，如細胞黏附。大約有250種不同的蛋白質。

該CD系統通常係用作細胞標記，因此可以依據細胞表面上存在之分子來定義。雖然不常使用一個CD分子來界定種群(但仍有少數實例)，但是在免疫系統內已可採用組合之標記對細胞類型進行非常明確的定義。

使用包括流式細胞儀之多種方法分選細胞時會利用到CD分子。細胞群通常用「+」或「-」符號定義，以指示某些細胞部分是否表現或是否缺少CD分子。例如，「CD34+、CD31-」細胞係表現CD34，但是不表現CD31

者。此CD組合一般相當於幹細胞，與完全分化的內皮細胞相反。下表2顯示某些造血幹細胞及白血球細胞之CD標記。

表 2

細胞類型	CD標記
幹細胞	CD34+、CD31-
所有白血球群	CD45+
粒細胞	CD45+、CD15+
單核細胞	CD45+,CD14+
T淋巴細胞	CD45+、CD3+
T輔助細胞	CD45+、CD3+、CD4+
細胞毒性T細胞	CD45+、CD3+、CD8+
B淋巴細胞	CD45+、CD19+或CD45+、CD20+
血小板	CD45+、CD61+

分化CD34分子群集係存在於人體內某些細胞上之分子。表現CD34之細胞(CD34+細胞)通常係出現於臍帶及骨髓中，作為造血細胞、內皮祖細胞、血管但不是淋巴管(除了胸腺淋巴管)之內皮細胞、肥大細胞、皮膚真皮之附器的間質及周圍之亞群樹突狀細胞(其係XIIIa陰性因子)，以及某些軟組織腫瘤中之細胞。其係一種細胞表面醣蛋白且具有細胞-細胞黏附因子功能。其亦可調解幹細胞至骨髓細胞外基質或直接至間質細胞的附著。CD34+細胞可使用免疫磁性或免疫螢光方法自血液樣本單離。抗體係用於定量及純化造血祖幹細胞，供研究及臨床骨髓移植。因此，由於其等之CD34+表現，可篩檢出此等細胞。

分化CD45抗原之群集係最初被稱為白血球共同抗原之蛋白質。由此基因編碼的蛋白質係蛋白酪胺酸磷酸酶(PTP)家族之成員。已知PTP係調節包括細胞生長、分化、有絲分裂週期及致癌轉變之多種細胞進程之信號分子。此PTP含有外細胞域、單個跨膜區及兩個串聯胞漿內催化域，且因此屬於受體類型PTP。此基因在造血細胞中特異表現。此PTP已顯示成為T-及B-細胞抗原受體信號傳遞之必不可少的調節體。其功能係透過與該抗原受體複合體組分之直接相互作用，或藉由活化該抗原受體發送信號所需之多種Src家族激酶作用。此PTP亦抑制JAK激酶，及因此具有作為細胞因子受體信號傳遞之調節體之功能。已報導此基因之四種交替剪接的轉錄體，其編碼不同的亞型。其係I型跨膜蛋白質，呈各種不同類型出現在除了紅血球及血漿細胞以外之所有分化造血細胞上，並輔助活化此等細胞(共刺激型)。其表現於淋巴瘤、B-細胞慢性淋巴細胞性白血病、髮狀細胞白血病、及急性非淋巴細胞性白血病。

分化分子CD133之群集(亦稱為AC133)係一種醣蛋白，亦已知在人類及齧齒動物中作為多域膜蛋白(Prominin)1(PROM1)。其係特定位於細胞突起之五跨膜糖蛋白(5-跨膜，5-TM)之基本成員。CD133係表現於造血幹細胞、內皮祖細胞、神經膠質母細胞瘤、神經元及神經膠質幹細胞及一些其他類型細胞中。

分化分子CD117之群集(亦稱為KIT或C-套組受體)係一種在造血幹細胞及其他類型細胞之表面上表現之細胞因子受

體。此受體結合至幹細胞因子(一種導致某些類型細胞生長之物質)。CD117係用於識別骨髓中某些造血(血液)祖細胞類型之重要細胞表面標記。特別係造血幹細胞(HSC)、多功能祖細胞(MPP)、及共同骨髓性祖細胞(CMP)表現高濃度之CD117。共同淋巴祖細胞(CLP)表現低表面濃度之CD117。CD117亦識別胸腺中之最早的胸腺祖細胞。此外，肥大細胞、在皮膚中之黑色素細胞、在消化道中之Cajal間質細胞表現CD117。CD117亦係用於小鼠前列腺幹細胞之標記。

如下所示且根據本發明，呈現某些細胞標記之細胞適用作監測使用活性成分3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽(較佳單乙烷磺酸鹽型)之個體療法的生物標記。

特定言之，此包括監測效應程度、效應持續時間、效應速度、穩定速度、穩定持續時間、疾病進程時間、無進展存活期或監測整體存活期，尤其係在不損害效應持續時間下，但是具有較少及/或較不麻煩的副作用。

如上所述，文中所定義之本發明療法由於其抗血管生成及/或血管通透性作用而受到關注。許多種疾病狀態會出現血管生成及/或血管通透性增加，包括癌症(包括白血病、卡波西氏肉瘤、多發性骨髓瘤及淋巴瘤)、糖尿病、牛皮癬、類風濕關節炎、血管瘤、急性及慢性腎病、動脈瘤、動脈再狹窄、自體免疫疾病、急性炎症、哮喘、淋巴

水腫、子宮內膜異位症、功能障礙性子宮出血、纖維化、肝硬化及出現視網膜血管增生的眼疾病(包括年齡相關的黃斑病變)。

如本文定義之本發明組合療法可藉由同時、連續或分開投與該療法之個別組分來達成。如本文定義之組合療法可用作唯一治療或可涉及除本發明組合療法以外之手術或放射治療或額外的化療或標靶藥劑。手術可包括在投與如本文定義之組合療法之前、期間或之後部分或全部切除腫瘤之步驟。

本發明之組合療法預期特別適用於預防及治療如癌症及卡波西氏肉瘤之疾病。特定言之，本發明之此等組合療法預期有利於減緩(例如)結腸、胰腺、腦、膀胱、卵巢、乳房、前列腺、肺及皮膚之原發性及復發性實體腫瘤之生長。本發明之組合療法預期有利於減緩肺癌(包括惡性胸膜間皮瘤、小細胞肺癌(SCLC)及非小細胞肺癌(NSCLC))、頭部及頸部癌、食道癌、胃癌、大腸癌、胃腸道間質瘤(GIST)、胰腺癌、肝癌、乳癌、腎細胞癌及尿道癌、前列腺癌、卵巢癌、腦瘤、肉瘤、皮膚癌、及血液性增生(白血症、骨髓發育不良、骨髓瘤、淋巴瘤)之腫瘤生長。

更特定言之，本發明之此等組合療法預期將抑制與包括白血症、多發性骨髓瘤、淋巴瘤之VEGF相關之任何形式癌症，及亦將(例如)抑制與VEGF相關之此等原發性及復發性實體腫瘤之生長，尤其係彼等明顯依賴VEGF而生長及

擴散之腫瘤，其包括(例如)某些結腸(包括直腸)、胰腺、腦、腎、肝細胞癌、膀胱、卵巢、乳房、前列腺、肺、外陰、皮膚及特別係惡性胸膜間皮瘤及NSCLC之腫瘤。更特定言之，本發明之組合療法預期將有利於減緩惡性胸膜間皮瘤之腫瘤生長。更特定言之，本發明之組合療法預期將有利於減緩非小細胞肺癌(NSCLC)之腫瘤生長。

本發明另一態樣，該療法預期將抑制彼等與VEGF相關之原發性及復發性實體腫瘤生長，尤其係彼等明顯依賴VEGF而生長及擴散之腫瘤。

以下研究意欲闡述本發明。此等研究及整篇本發明描述中所用之縮寫解釋於以下表中。

縮寫列表

APC	別藻藍蛋白
BSA	牛血清白蛋白
CEC	循環內皮成熟細胞
CEP	循環內皮祖細胞
Cy5.5	花青素5.5
EGFR	表皮生長因子受體
FCM	流式細胞儀
FITC	螢光素異硫氰酸鹽
FSC	前向散射
HepG2	人類肝細胞的肝癌細胞系
HUVEC	人類臍靜脈內皮細胞
PBL	外周血液白血球

PBS	磷酸鹽緩衝生理食鹽溶液
PD	漸進疾病
-PE	用藻紅蛋白標記
PerCP	多甲藻黃素葉綠素蛋白
PY或pY	磷酸-酪胺酸
RES	有效應者
SSC	側散射
TKI	酪胺酸激酶抑制劑
VEGFR	血管內皮生長因子受體2

臨床前研究

進行以下活體外及活體內實驗，評價化合物A1對肝細胞癌之抗腫瘤活性，且識別血液樣本中新的藥效學生物標記，即內皮細胞之磷酸-酪胺酸濃度、VEGFR2⁺CD45^{dim}pY⁺細胞之數目及VEGFR2⁺pY⁺細胞之數目。

HUVEC細胞實驗(圖1)

使HUVEC細胞接受化合物A1(1 μM及5 μM)、EGFR抑制劑AG1478(1 μM及5 μM)及5FU(5-氟尿嘧啶，1 mM及5 mM)處理3 h，並在採集細胞前5 min添加20 ng/ml VEGF。將採集的細胞用PBS清洗兩次，並在50 μl染色緩衝液中離心(300 g，5 min)。吸除上清液後，將細胞離心塊溶解於250 μl固定/通透溶液中，並在冰上保留20 min。添加PY-100 Alexa 488抗體及磷酸酶抑制劑。將細胞保留在黑暗中及冰上30 min，並用Perm/Wash緩衝液清洗兩次，再次將細胞溶解於500 μl染色緩衝液中。隨後藉由流式細胞儀

(FACS Calibur, BD) 檢測該等細胞。自 Cell Quest 軟體 (BD) 獲得數據，並藉由 WinMDI 2.9 (免費軟體) 分析。

老鼠血液樣本之活體內研究(圖2及3)

將接種 HepG2 細胞之小鼠依腫瘤大小隨機分為 3 個群組，並用媒劑(對照組)、化合物 A1 (50 mg/kg, p.o.) 或化合物 A1 (100 mg/kg, p.o.) 處理 14 天。將小鼠處死並自腹主動脈或心臟吸出採集全血樣本。藉由溶血劑在室溫下將血液溶血 10 min。離心 (500 g, 5 min) 之後，在黑暗中用 1 mL 染色緩衝液及 5 μ l VEGFR2-PE 抗體清洗該等細胞 15 min。隨後，將該等細胞在 500 μ l 固定/通透溶液中清洗並培養 20 min，且用 Perm/Wash 緩衝液清洗兩次。隨後，添加抗體 (PY-100、CD45-PerCP-Cy5.5, 各 5 μ l) 混合物及磷酸酶抑制劑，並在黑暗中培養 30 min。將該等細胞清洗，並藉由流式細胞儀 (FACS Calibur, BD) 分析。自 Cell Quest 軟體 (BD) 獲得數據，並藉由 WinMDI 2.9 (免費軟體) 分析。

抗體

PY-100 (磷酸-酪胺酸) Alexa Fluor 488 共軛體 (細胞信號, #9414)

VEGFR2-PE (BD pharm, 555308)

CD45-PerCP-Cy5.5 (BD Pharm, 340953)

Alexa Fluor 488 鼠 IgG κ 同型對照 (BD Pharm, 557702)

緩衝液

BD Cytofix/Cytoperm, 固定/通透套組 (Cat. 554714)

染色緩衝液 (補充 1% 熱滅活的 FCS 及 0.09% (w/v) 疊氮化鈉)

之 Dulbecco's PBS(不含 Mg^{2+} 、 Ca^{2+})，將 pH 調整至 7.4 至 7.6)

10 倍裂解緩衝液 (NH_4Cl 82.6 g、 $NaHCO_3$ 11.9 g、 $EDTA_2Na$ 0.378 g 用 H_2O 加至 1L，將 pH 調整至 7.3)

結果

在活體外研究中，如圖 1 可看到，HUVEC 細胞之磷酸-酪胺酸濃度被化合物 A1 抑制，但是沒有被 AG1478(EGFR-TKI)及 5FU 抑制。

在活體內研究中，如圖 2 可看到，化合物 A1 似乎減少 $VEGFR2^+CD45^{dim}pY^+$ 細胞之數目。此外，如圖 3 可看到，用化合物 A1 處理，可抑制小鼠外周血液中之 $VEGFR2^+pY^+$ 細胞。

結論

使用流式細胞儀檢測內皮細胞之磷酸-酪胺酸濃度下降係一種抗血管生成抑制劑化合物 A1 的藥效學生物標記。

使用流式細胞儀檢測 $VEGFR2^+CD45^{dim}pY^+$ 細胞減少係一種抗血管生成抑制劑化合物 A1 的藥效學生物標記。

使用流式細胞儀檢測 $VEGFR2^+pY^+$ 細胞減少係一種抗血管生成抑制劑化合物 A1 的藥效學生物標記。

I 期臨床研究

進行另一研究(即 I 期研究)，以研究化合物 A1 在罹患晚期實體腫瘤(ST)之病患中之抗腫瘤活性，並確認 CD133-及 CD117-陽性細胞可用作此活性成分活性之生物標記。

方法

在處理前(第1天)、及在治療後第2、8及29天採集全血。自全血中識別之 $CD34^+CD45^{dim}$ 外周血液細胞之子群組係進一步使用流式細胞儀之CD133及CD117細胞表面標記識別。使用4.5 mL 0.2% BSA-PBS補充全血(800 μ L)並離心5 min(1500 rpm)。吸除上清液後，添加4.5 mL 0.2% BSA-PBS並離心。將該細胞離心塊與50 μ L人類 γ -球蛋白混合。添加抗體(CD34-FITC、CD117-PE、CD45-PerCP及CD133-APC)並在4°C下保持45 min。添加溶血劑(4.5 mL)並培養10 min。離心(1500 rpm, 5 min)之後，將上清液清洗兩次。隨後添加0.2 % BSA-PBS(4.5 mL)，並離心(1500 rpm, 5 min)移除該上清液。在該細胞離心塊中添加BSA-PBS至800 μ L並藉由流式細胞儀分析。分析 $CD34^+CD45^{dim}CD133^{+/-}CD117^{+/-}$ 細胞之百分比(象限)。

抗體

CD34 FITC, BECKMANCOULTER (目錄號IM1870)。

CD117 PE, BECKMANCOULTER (目錄號IM2732)。

CD45 PerCP, BD Biosciences (目錄號347464)。

CD133 APC, Miltenyi Biotec (目錄號130-090-854)。

結果

化合物A1療法及CD133CD117細胞：流式細胞儀分析顯示，相較於治療前，利用化合物A1治療時，在第29天顯著提高 $CD34^+CD45^{dim}CD133^+CD117^-$ 細胞之百分比($p<0.001$)，而 $CD34^+CD45^{dim}CD133^-CD117^+$ 細胞反而減少($p<0.01$, 圖4A)；在第29天， $CD34^+CD45^{dim}CD133^+$ 細胞顯著增加(圖

4B)；及在第8天及第29天 $CD34^+CD45^{dim}CD117^+$ 細胞顯著減少(圖4C)。化合物A1效應及 $CD133CD117$ 細胞：有效應者(病情穩定)之 $CD34^+CD45^{dim}CD133^+$ 細胞及 $CD34^+CD45^{dim}CD117^+$ 細胞有減少趨勢，但並不顯著(圖5A)；雖然數據係自非常小的樣本數(RES n=12, PD n=4)及有限的證據中獲得，但是相較於無效應者，治療後之 $CD34^+CD45^{dim}CD133^+CD117^+$ 細胞有減少趨勢(圖5B)。

結論

血液樣本中之抗血管生成抑制劑化合物A1之藥效學生物標記係：

$CD34^+CD45^{dim}CD133^+CD117^-$ 細胞、
 $CD34^+CD45^{dim}CD133^-CD117^+$ 細胞、
 $CD34^+CD45^{dim}CD133^+$ 細胞、及
 $CD34^+CD45^{dim}CD117^+$ 細胞。

血液樣本中之抗血管生成抑制劑化合物A1之預測生物標記係 $CD34^+CD45^{dim}CD133^+CD117^+$ 細胞。

其他實施例

可用化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽，及尤其係其單乙烷磺酸鹽型單獨或視情況於其他醫藥活性成分及/或其他療法(如，例如放射治療)組合使用治療之疾病係涉及骨髓細胞之細胞增殖、轉移或凋亡、血管形成或纖維化之疾病。

在較佳實施例中，該疾病包括出現腫瘤。

在另一項實施例中，該疾病係漸進性腫瘤。

在另一項實施例中，該疾病係纖維變性疾病，如(例如)特發性肺纖維化。

在另一項實施例中，該疾病係選自以下各者：癌症(包括卡波西氏肉瘤、白血病、多發性骨髓瘤及淋巴瘤)、糖尿病、牛皮癬、類風濕關節炎、血管瘤、急性及慢性腎病、動脈粥樣硬化、動脈再狹窄、自體免疫疾病、急性炎症、哮喘、淋巴水腫、子宮內膜異位症、功能障礙性子宮出血、纖維化、肝硬化及出現視網膜血管增生的眼疾病(包括年齡相關的黃斑病變)。

在另一項實施例中，該疾病係選自以下各者：非小細胞肺癌(NSCLC)、小細胞肺癌(SCLC)、惡性胸膜或腹膜間皮瘤、頭部及頸部癌、食道癌、胃癌、大腸癌、胃腸道間質瘤(GIST)、胰腺癌、肝細胞癌、乳癌、腎細胞癌及尿道癌、前列腺癌、卵巢癌、腦瘤、肉瘤、皮膚癌、及血液內贅瘤(白血病、骨髓發育不良、骨髓瘤、淋巴瘤)。

除彼等前文已描述者，該化合物3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮之其他醫藥上可接受的鹽可(例如)包括酸加成鹽。此等酸加成鹽包括(例如)與提供醫藥上可接受的陰離子之無機或有機酸所形成的鹽，如與鹵化氫或與硫酸或磷酸、或與三氟乙酸、檸檬酸或馬來酸形成的鹽。此外，醫藥上可接受的鹽可係與提供醫藥上可接受的

陽離子之無機或有機鹼形成的鹽。此等與無機或有機鹼之鹽包括(例如)鹼金屬鹽(如鈉鹽或鉀鹽)及鹼土金屬鹽(如鈣或鎂鹽)。

根據本發明，該等化合物可使用一或多種醫藥上可接受的適宜賦形劑或載體調配。在本發明範圍之內，可使用的適宜調配物已描述於此等化合物之相關文獻及專利申請案中。此等調配物將以引用的方式併入本文中。

在根據本發明之一項實施例中，用於式A1化合物之調配物係該活性物質之脂質懸浮液，其較佳包括脂質載體、增稠劑、助流劑/助溶劑，最佳係其中該脂質載體選自以下各者：玉米油甘油酯、二乙二醇單乙基醚、乙醇、甘油、聚乙二醇四氫呋喃甲基醚、聚乙二醇甘油辛基癸酸酯、聚乙二醇甘油亞麻油酸酯、中鏈部分甘油酯、中鏈甘油三酯、聚乙二醇300、聚乙二醇400、聚乙二醇600、聚氧蓖麻油、聚氧氫化蓖麻油、丙二醇單辛酸酯、丙二醇單月桂酸酯、精製豆油、三醋酸甘油酯、檸檬酸三乙酯、或其混合物，該增稠劑係選自形成賦形劑之油凝膠，如膠體矽石或膨潤土、高黏度之親脂性或兩親性賦形劑，如聚氧氫化蓖麻油、氫化植物油聚乙二醇甘油-羥基硬脂酸酯、聚乙二醇甘油-蓖麻油酸酯或硬脂肪，及該助流劑/助溶劑係選自卵磷脂，視情況另外包括一或多種聚乙二醇甘油類，較佳選自聚乙二醇甘油-羥基硬脂酸酯或聚乙二醇甘油-蓖麻油酸酯。該脂質懸浮液調配物可藉由文獻中已知製備調配物之習知方法製備，即藉由在預定溫度下，依預定順序混

合該等成分，獲得均質懸浮液。

較佳可將上述調配物併入醫藥膠囊內，較佳為軟質明膠膠囊，其特徵在於該膠囊殼包括(例如)作為增塑劑之甘油，或硬明膠或羥丙基甲基纖維素(HPMC)膠囊，視情況可密封或帶狀包裝。該膠囊醫藥劑型可藉由文獻中已知製備膠囊之習知方法製備。該軟質明膠膠囊可藉由文獻中已知製備軟質明膠膠囊之習知方法製備。如(例如)「旋轉模製程(rotary die procedure)」，其描述(例如)於 Swarbrick, Boylann, Encyclopedia of pharmaceutical technology, Marcel Dekker, 1990, 第2卷, 第269頁中或於 Lachmann 等人, 「The Theory and Practice of Industrial Pharmacy」, 第二版, 第404至419頁, 1976中, 或其他製程, 如彼等描述(例如)於 Jimerson R. F. 等人, 「Soft gelatin capsule update」, Drug Dev. Ind. Pharm., 第12卷, No. 8-9, 第1133至44頁, 1986中者。

以上定義之調配物或以上定義之膠囊可依 0.1 mg 至 20 mg 活性物質/kg 體重, 較佳 0.5 mg 至 4 mg 活性物質/kg 體重之劑量範圍使用。

以上定義之膠囊可包裝於適宜的玻璃容器或可撓性塑料容器、或於鋁袋或雙層塑料袋中。

劑量及時間表可根據特定疾病狀態及病患之整體狀況變化。如果除了使用本發明之化合物A或其醫藥上可接受的鹽治療以外, 還使用一或多種額外的化療劑時, 則劑量及時間表亦可變化。可由治療任何特定病患之醫師決定療

程。

可根據臨床放射治療中已知之操作法投與放射治療。電離輻射之劑量係彼等已知用於臨床放射治療者。所採用之放射治療將包括(例如)使用 γ -射線、X-射線、及/或來自放射性同位素之輻射之定向傳遞。其他形式之DNA損傷因子亦包含於本發明中，如，微波及UV照射。舉例而言，X-射線可依1.8至2.0 Gy之每天劑量，一周5天進行5至6周。通常分次總劑量將在45至60 Gy範圍內。單次較大劑量(例如5至10 Gy)可作為放射治療療程之一部分投與。單次劑量可在手術中投與。可使用高分次放射治療，藉此在一段時期內規律投與小劑量之X-射線，例如在幾天內，每小時投與0.1 Gy。放射性同位素之劑量範圍變化極寬廣，且取決於該放射性同位素之半衰期、所發射輻射之強度及類型、及取決於由細胞吸收量。

治療性或預防性治療特定疾病狀態所需之各療法之劑量大小隨所治療的主體、投藥途徑及接受治療之疾病的嚴重程度變化。因此，最佳劑量可由治療任何特定病患之醫師決定。例如，其可能必需或需要減少上述組合療法中組分之劑量，以減少毒性。

【圖式簡單說明】

圖1：不同化合物對於經VEGF治療之HUVEC細胞之磷酸-酪胺酸濃度之影響。橫座標上：1係未經VEGF治療且未經活性成分處理之IgG對照組；2係未經VEGF治療且未經活性成分處理之對照組；3係經VEGF治療但未經活性成

分處理之對照組；4係經VEGF治療且經過1 μ M化合物A1處理；5係經VEGF治療且經過5 μ M化合物A1處理；6係經VEGF治療且經過1 μ M化合物AG1478處理；7係經VEGF治療且經過5 μ M化合物AG1478處理；8係經VEGF治療且經過1 mM化合物5FU處理；9係經VEGF治療且經過5 mM化合物5FU處理；

圖2：經化合物A1治療後，活體內VEGFR2⁺CD45^{dim}pY⁺白血球細胞之磷酸-酪胺酸濃度。橫座標上：0表示未經處理之對照組；A50表示經50 mg/kg之化合物A1治療；A100表示經100 mg/kg之化合物A1治療；

圖3：經化合物A1治療後，老鼠外周血液中之VEGFR2⁺pY⁺細胞之流式細胞儀結果。橫座標上：0表示未經處理之對照組；A50表示經50 mg/kg之化合物A1治療；A100表示經100 mg/kg之化合物A1治療；

圖4A至4C：在治療前、及在經化合物A1治療後第2天、第8天及第29天，於全血中所採集的CD34⁺CD45^{dim}CD133⁺/-CD117⁺/-細胞之百分比(象限)；及

圖5A及5B：在治療前、及在經化合物A1治療後第2天、第8天及第29天於有效應者及無效應者之全血中所採集的CD34⁺CD45^{dim}CD133⁺/-CD117⁺/-細胞之比例。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 99107108

※申請日： 99.3.11 ※IPC 分類：A61B; A61K

G01N^{33/68} 2006.01

一、發明名稱：(中文/英文)

利用生物標記監測療法之方法或系統

G01N^{33/574} 2006.0

METHOD OR SYSTEM USING BIOMARKERS FOR THE
MONITORING OF A TREATMENT

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種生物標記，以監測化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吲哚啉酮或其醫藥上可接受的鹽(及尤其係其單乙烷磺酸鹽型)在單獨或視情況與其他醫藥活性成分及/或其他療法(例如放射治療)組合使用時之活性。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to biomarkers to monitor the activity of the compound 3-Z-[1-(4-(N-((4-methyl-piperazin-1-yl)-methylcarbonyl)-N-methyl-amino)-anilino)-1-phenyl-methylene]-6-methoxycarbonyl-2-indolinone or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and especially its monoethanesulphonate salt form, when used alone or optionally in combination with further pharmaceutically active ingredients and/or further treatments, such as for example radiotherapy.

七、申請專利範圍：

1. 一種監測使用化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽之個體療法之方法或系統，該方法包括測定來自該個體之樣本是否包括該療法之指示量之生物標記。
2. 如請求項1之方法或系統，其中該化合物係 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮之單乙烷磺酸鹽型。
3. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記指示蛋白質之表現或狀態的變化或與疾病之風險或進展或該疾病對既定療法的易感性相關之特定細胞數量的變化。
4. 如請求項1或2之方法或系統，其中監測該療法意指以下任一者：監測效應程度、監測效應持續時間、監測效應速度、監測穩定速度、監測穩定持續時間、監測疾病進程之時間、監測無進展存活期或監測整體存活期，尤其係在不損害效應持續時間但出現較少及/或麻煩較小之副作用的情況下。
5. 如請求項1或2之方法或系統，其中係確定該數量之量。
6. 如請求項1或2之方法或系統，其包括將該數量與參考值加以比較。
7. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記包括呈現某些特定表面細胞抗原之細胞。

8. 如請求項1或2之方法或系統，其中該樣本係血液樣本。
9. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記係內皮細胞之磷酸-酪胺酸濃度。
10. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記係 $\text{VEGFR2}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{pY}^+$ 細胞之數目。
11. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記係 $\text{VEGFR2}^+\text{pY}^+$ 細胞之數目。
12. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記係選自 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+\text{CD117}^-$ 細胞之數目、 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^-\text{CD117}^+$ 細胞之數目、 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+$ 細胞之數目及 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD117}^+$ 細胞之數目。
13. 如請求項1或2之方法或系統，其中該生物標記係 $\text{CD34}^+\text{CD45}^{\text{dim}}\text{CD133}^+\text{CD117}^+$ 細胞之數目。
14. 一種決定利用化合物 3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮治療病患是否有效之方法或系統，其包括以下要件：要求進行此決定之病患或醫師；自該病患獲取生物材料之樣本；利用如請求項1或2之監測個體療法之方法或系統分析該樣本；及將該等測試結果送回給該病患或醫師。
15. 一種診斷套組，其包括至少一種執行如請求項1或2之方法或系統之構件。
16. 如請求項15之診斷套組，其中該套組包括：選自抗體或核酸之試劑或材料，由該試劑或材料監測設定在

mRNA、蛋白質層級或在細胞或樣本層級上的生物標記之表現；視情況選用之一或多種用於測試來自病患組織樣本或病患樣本之細胞的活性成分；及視情況選用之使用說明。

17. 一種如請求項1或2之方法或系統中之生物標記之用途，其係用於監測利用化合物3-Z-[1-(4-(N-((4-甲基-哌嗪-1-基)-甲基羰基)-N-甲基-胺基)-苯胺基)-1-苯基-亞甲基]-6-甲氧羰基-2-吡啶酮或其醫藥上可接受的鹽之個體療法。

八、圖式：

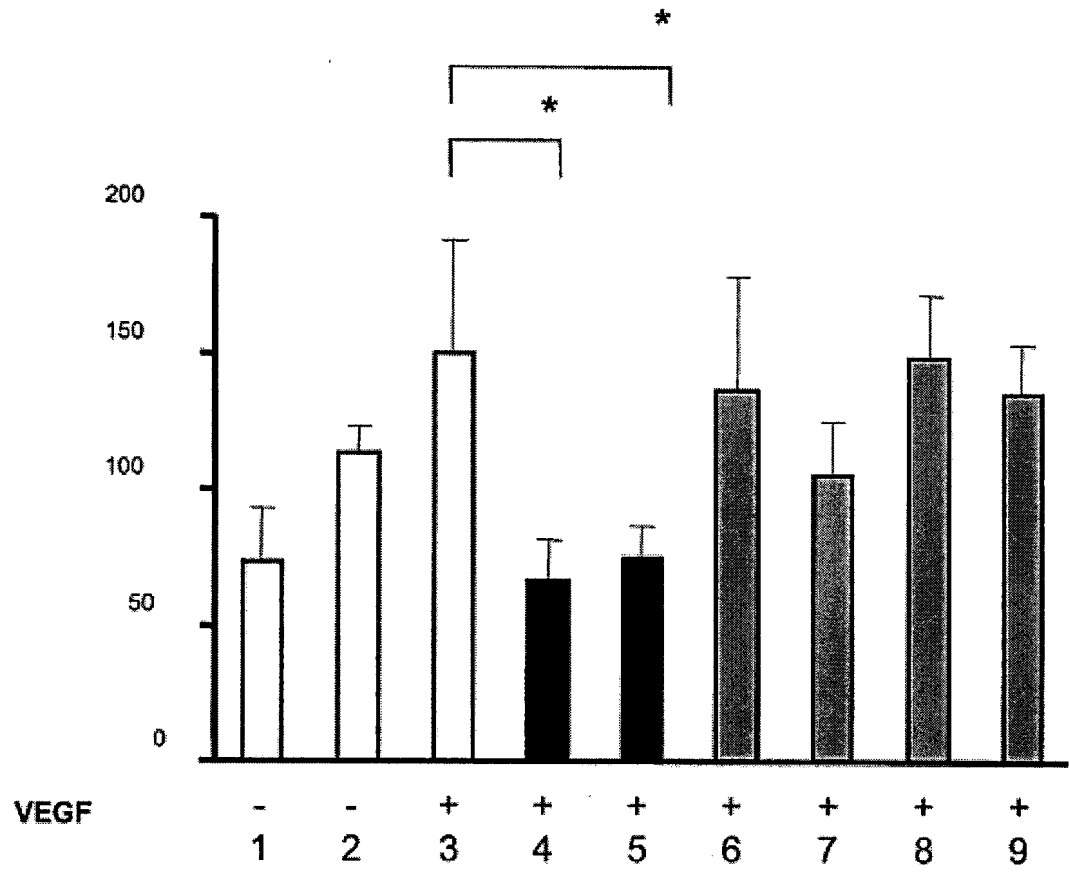


圖 1

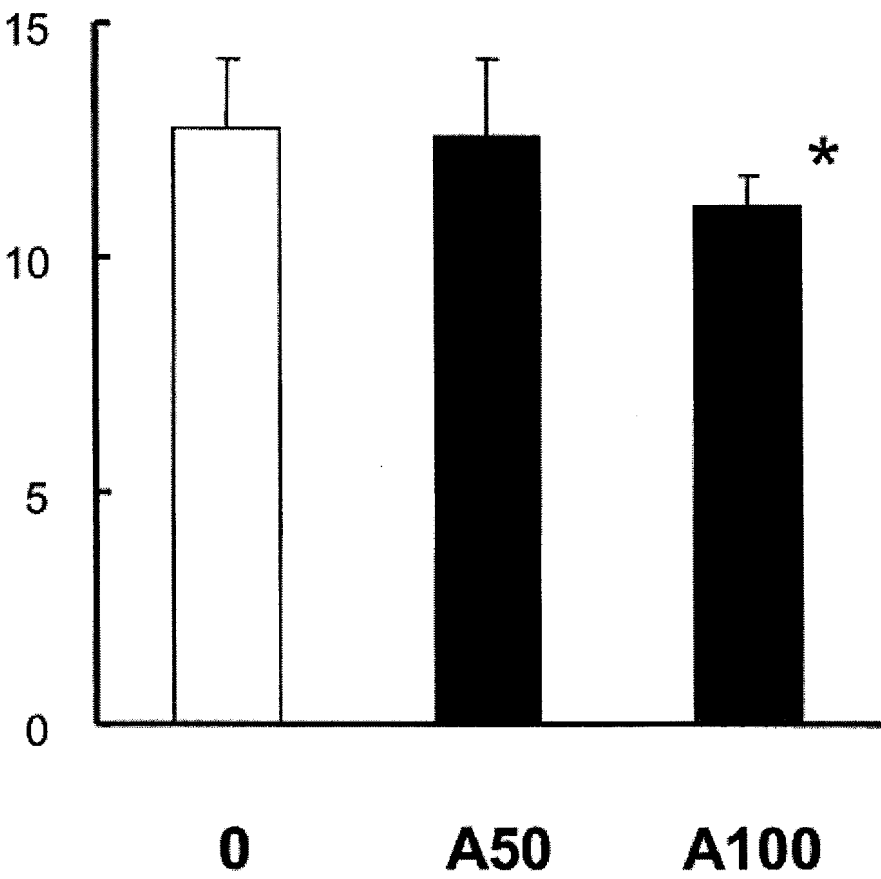


圖 2

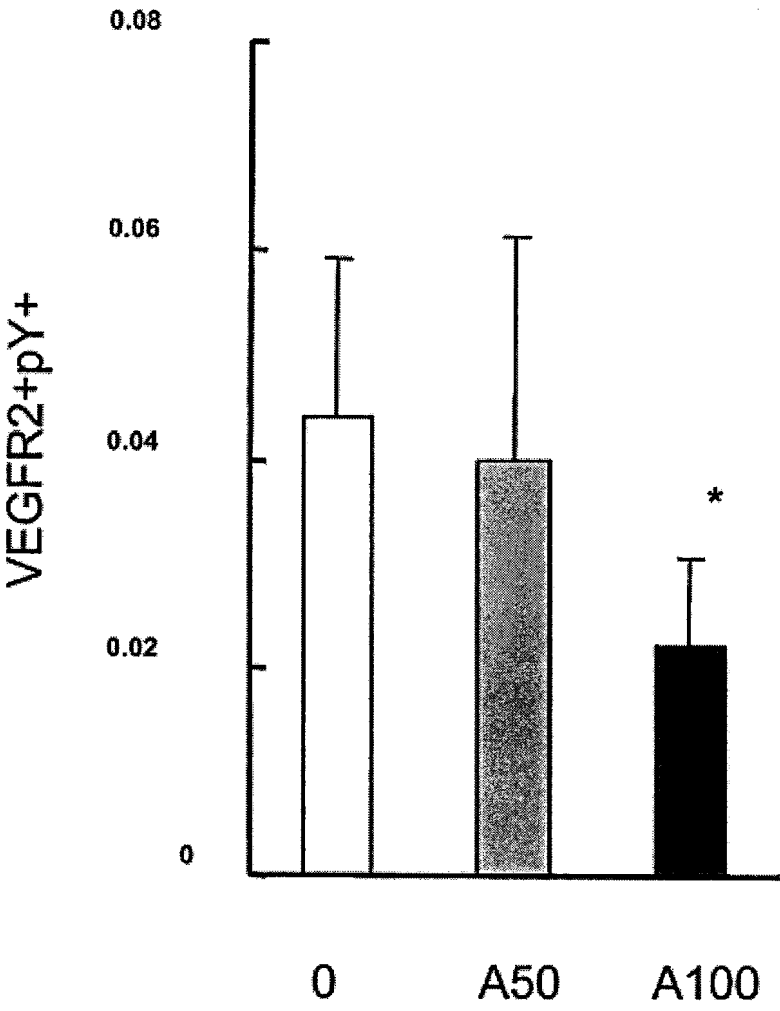


圖 3

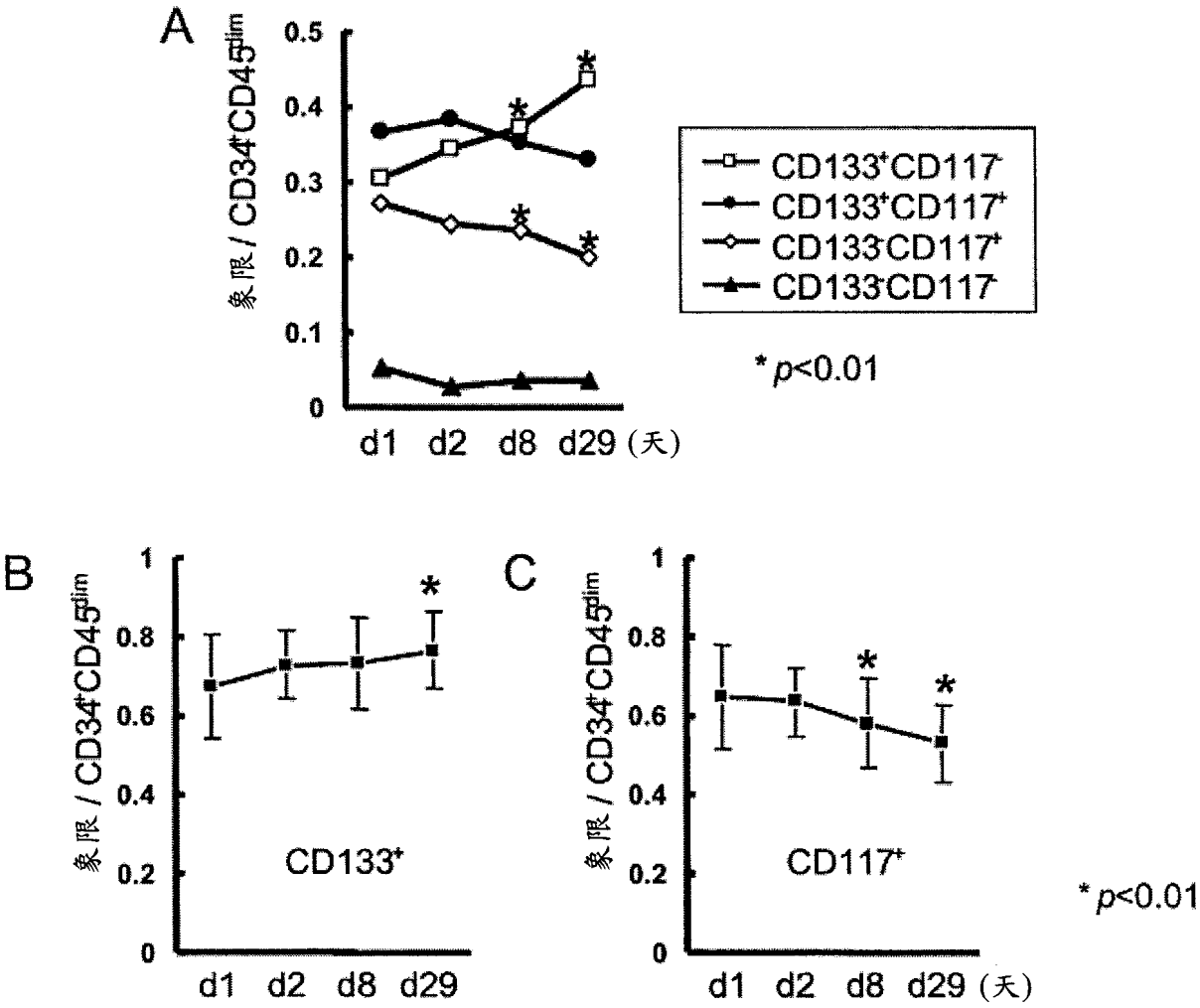


圖 4

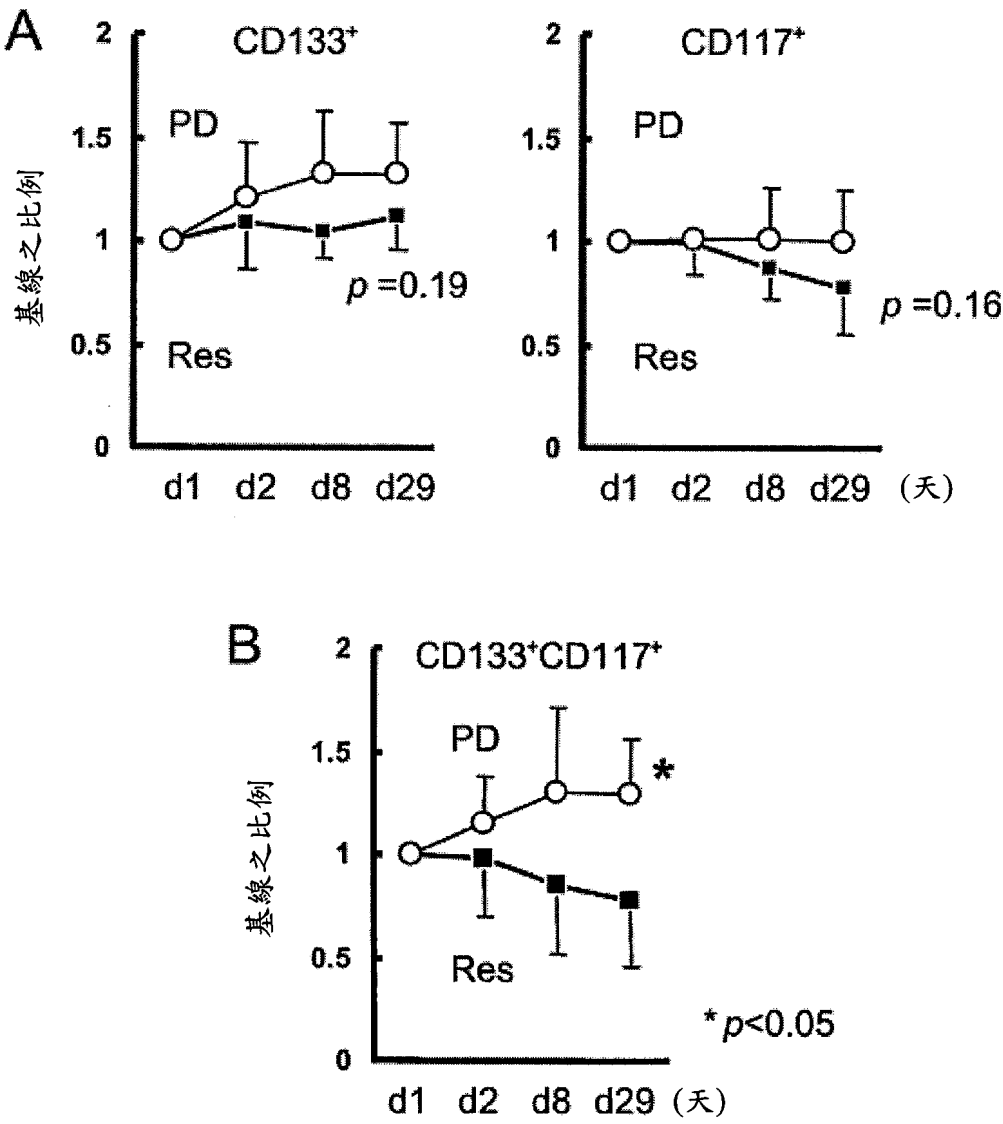


圖 5

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

