

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6774951号

(P6774951)

(45) 発行日 令和2年11月4日(2020.11.4)

(24) 登録日 令和2年10月7日(2020.10.7)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/48 (2006.01)	GO 1 N 33/48 M
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68
GO 1 N 33/483 (2006.01)	GO 1 N 33/483 E
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02 Z N A

請求項の数 8 (全 55 頁)

(21) 出願番号	特願2017-536828 (P2017-536828)	(73) 特許権者	514284671
(86) (22) 出願日	平成28年1月12日 (2016.1.12)		ユートロピクス ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2018-503092 (P2018-503092A)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2 1 3 8, ケンブリッジ, コンコード
(43) 公表日	平成30年2月1日 (2018.2.1)		アベニュー 7 6 7 -シー
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/013003	(74) 代理人	100078282
(87) 国際公開番号	W02016/115105		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開日	平成28年7月21日 (2016.7.21)	(74) 代理人	100113413
審査請求日	平成30年12月4日 (2018.12.4)		弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	62/102, 499	(74) 代理人	100181674
(32) 優先日	平成27年1月12日 (2015.1.12)		弁理士 飯田 貴敏
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌処置をガイドするためのコンテキストに依存する診断試験

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

BH3 プロファイルおよび1つ以上の臨床学的因子を、患者のための癌処置の決定のための指標とする方法であって、

患者の腫瘍または患者の骨髓吸引物から採取した癌細胞検体の前記BH3 プロファイルを提供するステップであって、前記BH3 プロファイルを提供するステップが、前記患者の腫瘍または癌細胞を透過処理するステップと、前記透過処理された細胞とNOXA ペプチドとを接触させる際のミトコンドリア膜電位の変化を決定することを含み、前記NOXA ペプチドが配列番号1のアミノ酸配列を含む、ステップと；

前記患者の前記1つ以上の臨床学的因子を提供するステップと、
を包含し、ここで、前記BH3 プロファイルおよび前記1つ以上の臨床学的因子は、1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するために使用され、前記癌処置はアルボシジブを含み、
ここで前記1つ以上の臨床学的因子が、臨床反応との関連についてBH3 プロファイルの特異性および／または感度を増大するように選択される、方法。

【請求項 2】

前記癌が血液癌であり、
必要に応じて、

a) 前記血液癌が、急性骨髄性白血病 (AML)、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病、および非ホジキンリンパ腫か

10

20

ら選択され、好ましくは、前記非ホジキンリンパ腫が、マンツル細胞リンパ腫、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫から選択される；または

b) 前記血液癌が、骨髄異形成症候群(MDS)である；または

c) 前記血液癌が、慢性リンパ球性白血病(CLL)である、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記値が、末梢血から採取された患者サンプルのBH3プロファイリング値、および処置をガイドするために用いられる相違と比較される、請求項1に記載の方法。

【請求項4】

a) 前記検体が、凍結された腫瘍組織検体、培養された細胞、循環中の腫瘍細胞、およびホルマリン固定されたパラフィン包埋腫瘍組織検体から選択される生検である；または

b) 前記検体が、ヒト腫瘍由来細胞株である；または

c) 前記検体が、癌幹細胞である；または

d) 前記検体が、固形腫瘍の生検由来であり、必要に応じて、前記検体が、結腸直腸、乳房、前立腺、肺、脾臓、腎臓または卵巣の原発性腫瘍の生検由来である；または

e) 前記検体が、非固形腫瘍の生検由来であり、必要に応じて、前記検体が、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ球性白血病、慢性リンパ性白血病、マンツル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、および非ホジキンリンパ腫を有する患者の生検由来であり、好ましくは、

i) 前記検体が、固体マトリクスまたはビーズに結合した抗CD138抗体を用いた生検サンプルからの選択によって富化される多発性骨髄腫細胞である；または

ii) 前記癌細胞が、CD45指向性抗体に対する結合によって富化される急性骨髄性白血病である；または

iii) 前記癌細胞が、非B細胞除去によって富化される、慢性リンパ性白血病またはびまん性大細胞型B細胞リンパ腫である、請求項1に記載の方法。

【請求項5】

a) 前記臨床学的因子が、年齢、細胞遺伝学的状況、性別、および病期のうちの1つ以上である；または

b) 前記方法が、突然変異状態、一塩基多型、定常状態タンパク質レベル、および動的タンパク質レベルから選択される追加のバイオマーカーの測定をさらに包含する；または

c) 前記BH3プロファイルおよび前記1つ以上の臨床学的因子が、患者における臨床反応を予測するためにさらに用いられ、必要に応じて、前記臨床反応が、少なくとも約1、約2、約3、または約5年の無増悪生存/イベントフリー生存である、請求項1に記載の方法。

【請求項6】

前記臨床反応の確率が、以下の式：

【数1】

$$\% \text{ブライミング} = \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_1 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{avg} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_1 + \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_2 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{avg} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_2 + \dots / (n \text{ ペプチド } i)$$

によって規定され、

式中：

AUCが、曲線下面積またはシグナル強度のいずれかを含み；

DMSOがベースラインの陰性対照を含み；かつ

CCCP (カルボニルシアニドm-クロロフェニルヒドラゾン) が、ミトコンドリア内の電子伝達鎖の電子伝達体の正常活性中に形成されたプロトン勾配の脱共役剤として機能することによるタンパク質合成のエフェクターを含み、ベースラインの陽性対照を含み、

必要に応じて、

a) 前記曲線下面積が、均一性時間分解蛍光測定 (H T R F) によって確立される；または

b) 前記時間が、約 0 ～ 約 3 0 0 分～約 0 ～ 約 3 0 分の間ウィンドウにまたがって生じる；または

c) 前記曲線下面積が、蛍光活性化細胞選別装置 (F A C S) で確立される；または

d) 前記シグナル強度が、約 5 分と約 3 0 0 分との間で行う一時点測定値である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

a) 前記方法が、B H 3 プロファイル、ならびに細胞表面マーカー C D 3 3、細胞表面マーカー C D 3 4、F L T 3 突然変異状態、p 5 3 突然変異状態、M E K - 1 キナーゼのリン酸化状態、および B C L - 2 の 7 0 位のセリンのリン酸化のうちの 1 つ以上を提供するステップ；ならびにシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンと A M L 患者を処置するのにおける有効性とを相関させるステップを包含する；または

b) 前記方法が、B H 3 プロファイル、ならびに細胞表面マーカー C D 3 3、細胞表面マーカー C D 3 4、F L T 3 突然変異状態、p 5 3 突然変異状態、M E K - 1 キナーゼのリン酸化状態、および B C L - 2 の 7 0 位のセリンのリン酸化のうちの 1 つ以上を提供するステップ；ならびに化学療法と M M 患者を処置するのにおける有効性とを相関させるステップを包含する；または

c) 前記癌が、A M L および／または M M であり、かつ前記臨床学的因子が、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

前記ミトコンドリア膜電位の変化が J C - 1 染色を用いて測定される、請求項 1 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、全ての目的のためにその内容が本明細書に援用される、2015年1月12日出願の米国特許仮出願第62/102,499号に対する優先権を主張する。本出願は、その全体が以下の参考文献の内容を、参照によって援用する：2013年5月10日出願の P C T / U S 1 3 / 4 0 5 8 5 (2012年5月10日出願の米国特許仮出願第61/645,253、および2013年3月13日出願の米国特許仮出願第61/780,252号に対する優先権を主張する)。

【0002】

(電氣的に提出されたテキストファイルの説明)

本明細書において電氣的に提出されたテキストファイルの内容は、その全体が参照によって本明細書に援用される：配列表のコンピューター読み取り可能なフォーマットコピー (ファイル名: E U T R _ 0 1 7 _ 0 1 W O _ S e q L i s t _ S T 2 5 . t x t , 記録されたデータ: 2016年1月11日、ファイルサイズ4キロバイト)。

【0003】

発明の分野

本開示は、ヒトサンプルにおいて腫瘍を評価するのに有用である方法を提供する。

【背景技術】

【0004】

標的化癌治療と組み合わせた予測バイオマーカーおよび予後予測バイオマーカーの使用は、薬物開発時間を短縮し、薬物有効性を改善し、臨床決定をガイドすることの鍵を握る。癌処置においては進歩があるが、化学療法は依然として極めて不十分かつ無力である。化学療法の全体的な効果が低い理由の1つは、選択した処置が個々の患者の疾患に対して密接に適合しないことが多いということである。正確な診断を治療と結び付ける患者別の

医学的アプローチは、この問題を軽減し得る。2014年7月には、FDAは、「Guidance for Industry: In Vitro Companion Diagnostic Devices」を公表して、薬物開発における早期段階で、会社がコンパニオン診断の必要性を特定するのに役立っている。

【0005】

今までに、臨床腫瘍学の診療に価値を加えたバイオマーカーは一握りしかない。一部では、これは、認知されたマーカーが、薬物の機序と相関するが、因果関係はない場合が多いからである。「バイオマーカー」の仕組みが、コンパニオン療法の薬理学とぴったり合う場合でさえ、薬物がどのように個々の患者で作用するかを予測するのにはやはり有意な課題がある。これに加えて、臨床開発の過程には、試験の価値を調べる医師兼科学者の参加を要し、これによって、それらの患者に利点がもたらされ得ると考えられる。

10

【0006】

抗アポトーシスBCL-2ファミリータンパク質は、化学療法に対する癌細胞応答に重要な原因因子である。ミトコンドリアのアポトーシスの調節においてこれらのタンパク質の機能を測定することによって、処置に対する癌患者応答の予測的なバイオマーカーが提供されることが証明された。多くの化学療法は、アポトーシスが有効であることに依拠し、いくつかの場合には、特定の抗アポトーシスタンパク質によるアポトーシスの調整は、特定の治療に対する応答性と相関する。従って、特定のタンパク質を測定することにより、薬物応答のバイオマーカーが得られる。このため、治療剤に対する予想の応答を決定するバイオマーカーが追求され続けている。

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

従って、一態様では、本発明は、患者の癌処置を選択するための方法を提供し、この方法は、患者の癌細胞のアポトーシス促進性タンパク質を封鎖するMCL1およびBFL1タンパク質の機能を障害する薬剤に対する応答を、BH3プロファイリングを用いて測定すること、ならびにMCL1の機能を障害する1つ以上の癌処置に対する各患者の臨床反応の確率を分類する予測アルゴリズムへ患者の1つ以上の臨床特徴を含めることを包含する。

【0008】

30

いくつかの実施形態では、かつ本明細書に示されるように、患者の癌検体は、骨髓吸引物から精製された癌細胞からなる。癌細胞を、MCL1またはMCL1およびBFL1について選択的であるBH3-onlyタンパク質のNOXAを含むペプチドまたはBH3模倣剤を用いて決定される、アポトーシス促進性タンパク質BIM、Bid、BaxまたはBakに対して結合しているMCL1、またはMCL1およびBFL1を選択的に障害する薬剤に暴露する。

【0009】

いくつかの態様では、アッセイで用いられるNOXAペプチドは、AELPPEFAAQLRKIGDKVYC（配列番号1）である。他の態様では、NOXAペプチドは、配列番号1を含んでもよい。いくつかの態様では、配列番号1を、コアNOXAペプチドとして用い、かつNOXAペプチドは、内因性NOXAタンパク質由来の隣接配列を含んでもよい。例えば、いくつかの態様では、NOXAペプチドは、MPGKKARKNAQPSPARAP[AELPPEFAAQLRKIGDKVYC]FRQKLNLNLSKLFCSGT（配列番号2）であってもよい。他の態様では、この隣接配列は、上記コア、およびデフォルトパラメーターを用いたNP_066950に対するBLASTによる測定として、コア（すなわち、AEL...KLN）に対して同一性を有する領域から延びるNOXAペプチド由来の最大10個までのアミノ酸、最大20個までのアミノ酸、最大30個までのアミノ酸または最大40個までのアミノ酸を含んでもよい。このアミノ酸は、N末端、C末端、またはその両方に加えられてもよい。アミノ酸は、Genbank entry NP_066950で提供される配列に従ってナンバリングして、それか

40

50

ら選択してもよい。他の態様では、用いられるコアペプチドは、配列番号1ペプチドに対して同一性を有する野性型配列（すなわち、A E L . . . K L N）である。

【0010】

NOXA配列に対する長さまたは相同性の変動に基づくペプチドに加えて、ペプチドはまた、バルクフローまたはクラスリン媒介性エンドサイトーシスを通じて、例えば、TAT配列とのNOXA配列の融合を通じて細胞浸透の増大を可能にするように改変してもよく（例えば、Lin et al., 「Therapeutic applications of the TAT-mediated protein transduction system for complex I deficiency and other mitochondrial diseases」、Annals of the New York Academy of Sciences 1350, 17-28に開示のように）、ペプチドは親和性の改善のための突然変異生成および選択を通じてMCL-1に対する結合について最適化してもよく（Dutta et al., 「Determinants of BH3 binding specificity for Mcl-1 versus Bcl-xL. Journal of molecular biology」398, 747-762（2010））、ペプチドはアルファ-らせんの安定性を改善するための化学部分の付加によって改変してもよい（Stewart et al., 「The MCL-1 BH3 helix is an exclusive MCL-1 inhibitor and apoptosis sensitizer」、Nature chemical biology 6, 595-601, （2010））の構造的および機能的な情報を参照のこと）。さらに、PCT/US2013/046826（また米国特許出願公開2015-0150869号としても公開）に規定のもののような、大規模の機能的結合スクリーニングを通じて特定されるNOXA模倣剤化合物を、NOXAプライミングアッセイにおけるMCL-1依存性の追加または代替マーカーとしてNOXAペプチドの代わりに用いてもよい。さらに、追加のBH3タンパク質に対するBH3プライミングを評価するための適切なペプチドは、これらのペプチドについて参照によって援用される、PCT/US2013/046826（これはまた、米国特許出願公開第2015-0150869号としても公開）の表1に開示されている。

【0011】

いくつかの実施形態では、および本明細書に示されるとおり、骨髓吸引から精製された癌細胞からなる患者癌検体からのBH3アッセイの値と、末梢血からのBH3プロファイリング値が比較される。異なる値は、別個の処置選択肢に対する応答を予測する。さらに、患者骨髓から採取したAML細胞で行ったBH3プロファイリングを示して、FLAM処置を予測しているが、末梢血由来のAML細胞でのBH3プロファイリングはFLAM処置を予測しておらず、ただし7+3処置を予測する。

【0012】

いくつかの実施形態では、本明細書に示されるとおり、アポトーシスに関連しないか、またはアポトーシスに関連することが知られていない種々の臨床学的因子を用いて、試験を予測試験であって、単なる予後予測ではない試験に変換する、BH3プロファイリングの予測力を増大してもよい。

【0013】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、CDK-9阻害性化合物に対する白血病患者の応答を予測する診断試験を提供する。いくつかの態様では、CDK-9インヒビターは、Flavopiridol（アルボシジブ）である。さらなる態様では、CDK-9インヒビターは、治療レジメンの一部として1つ以上の追加の化合物と同時投与されてもよい。例えば、レジメンは、ara-Cおよびミトキサントロン（FLAM）と組み合わせたアルボシジブであってもよい。追加の変数を考慮して、アッセイ変数の感度を増大してもよい。例えば、患者の細胞遺伝学的プロファイルまたは状態および／または年齢を、予測アルゴリズムの因子としてもよい。いくつかの実施形態では、この診断試験

は、MCL1の機能を測定するステップを包含し、これは、BH3ペプチドNOXA、またはMCL1/Bcl-2選択性BH3模倣剤化合物EU5346 (D. Richard et al. Molecular Cancer Therapeutics, 2013における化合物9) に対する応答におけるミトコンドリア膜電位の変化を測定するステップを包含する。

【0014】

別の態様では、本発明は、患者のための癌処置を決定するための方法を提供し、この方法は、プライミングの程度を決定するために透過処理した患者の癌細胞に対して1つ以上のBH3ドメインペプチドを送達するステップ；免疫組織化学および／または蛍光インサイチュハイブリダイゼーション (FISH) によって患者の癌細胞の1つ以上の臨床学的因子の有無を決定するステップ；ならびに1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するステップを包含する。

10

【0015】

別の態様では、本発明は、アルボシジブまたはFLAM処置に対するAML患者応答を決定するための方法を提供し、この方法は：骨髓から収集した患者のAML癌細胞検体についてBH3プロファイルを決するステップと；患者の1つ以上の臨床学的因子を決するステップ（ここで1つ以上の臨床学的因子が、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況から選択される）；および1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するステップとを包含する。

【0016】

20

別の態様では、本発明は、アルボシジブもしくはFLAM処置、またはシタラビンベースの処置単独に対するAML患者応答を決定するための方法を提供し：この方法は、骨髓から収集される患者のAML癌細胞検体についてBH3プロファイルを決するステップ；患者の1つ以上の臨床学的因子を決するステップ（ここでこの1つ以上の臨床学的因子は、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況から選択される）；および1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するステップを包含する。次いで、この値を、末梢血検体からのBH3プロファイル値と比較する。具体的には、0.1 μMでのBIM BH3ペプチドのBH3プロファイル値は、アルボシジブなしでarac-Cベースの処置に関して予測することが実証された。

【0017】

30

別の態様では、本発明は、（インターロイキン-6）IL-6拮抗性治療剤またはMCL1選択性BH3模倣剤に対するAML患者応答を決定するための方法を提供し、この方法は：骨髓から収集した患者のAML癌細胞検体についてBH3プロファイルを決するステップと；患者の1つ以上の臨床学的因子を決するステップ（ここでこの1つ以上の臨床学的因子は、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況から選択される）と；1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するためのステップとを包含する。次いで、この値を、末梢血検体からのBH3プロファイル値と比較する。

【0018】

本発明の詳細は、下の添付の図面に示す。本明細書に記載のものと同様または等価である方法および材料は、本発明の実施または試験で用いられ得るが、例示的な方法および材料がここで記載される。本発明の他の特徴、目的および利点は、詳細な説明からおおよそ特許請求の範囲から明らかである。本明細書および添付の特許請求の範囲において、単数形はまた、その文脈が明らかに他を示すのでない限り、複数を包含する。他に規定しない限り、本明細書で用いる全ての技術および科学用語は、本発明が属する当該分野の当業者が通常理解するのと同じ意味を有する。

40

【0019】

さらに、癌細胞のインビボのコンテキストは、MCL1タンパク質が、癌の発現および維持に与える程度、およびMCL1標的化治療の有効性に影響する。具体的には、骨髄性白血病および骨髄腫細胞（骨髄の間質にある）は、末梢血中で循環しているものよりも生存についてMCL1にさらに依存性である。さらに、末梢血サンプル由来のBIM B

50

H3ペプチドが、ara-Cに対するAML患者応答に対して、アントラサイクリン7+3と相関することが確立された。この値にもかかわらず；末梢血中の白血病細胞からのいずれのBH3プロファイリング値も、FLAMまたは他のMCL1阻害性治療に対するAML患者応答を予測しない。

【0020】

一方、BH3プロファイリングは、そのまま、治療に対する化学的感度または化学物質反応性の一般的指標を提供することが公知である。しかし、ここで、MCL1タンパク質に焦点を当てた機構に関する特定の相関を認識することで、処置に影響するMCL1に対する患者応答を予測するための固有の鋭敏な方法が提供される。しかしこれは、癌細胞が、骨髄の間質から単離される場合、特定のMCL1標的治療のみに当てはまる。

特定の実施形態では、例えば以下が提供される：

(項目1)

患者のための癌処置を決定するための方法であって、

患者の腫瘍または患者の骨髄から採取した癌細胞検体のBH3プロファイルを決めるステップと；

前記患者の1つ以上の臨床学的因子を決定するステップと、

1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するステップと；
を包含し、

ここで前記1つ以上の臨床学的因子が、臨床反応との関連についてBH3プロファイルの特異性および／または感度を増大するように選択される、方法。

(項目2)

前記癌が血液癌である、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記血液癌が、急性骨髄性白血病(AML)、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、慢性リンパ球性白血病、および非ホジキンリンパ腫から選択される、項目2に記載の方法。

(項目4)

前記非ホジキンリンパ腫が、マンタル細胞リンパ腫、およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫から選択される、項目3に記載の方法。

(項目5)

前記血液癌が、骨髄異形成症候群(MDS)である、項目2に記載の方法。

(項目6)

前記血液癌が、慢性リンパ球性白血病(CLL)である、項目2に記載の方法。

(項目7)

前記値が、末梢血から採取された患者サンプルのBH3プロファイリング値、および処置をガイドするために用いられる相違と比較される、項目1に記載の方法。

(項目8)

癌処置が、IL-6障害剤、サイクリン依存性キナーゼインヒビター、およびキネシンスピンドルタンパク質安定化剤のうちの1つ以上である、項目7に記載の方法。

(項目9)

癌処置が、プロテアソームインヒビターである、項目7に記載の方法。

(項目10)

癌処置が、細胞周期調節の修飾因子である、項目7に記載の方法。

(項目11)

前記細胞周期調節の修飾因子が、サイクリン依存性キナーゼインヒビターである、項目10に記載の方法。

(項目12)

癌処置が、細胞のエピジェネティック機構の修飾因子である、項目7に記載の方法。

(項目13)

エピジェネティック機構の前記修飾因子が、ポリノスタットまたはエンチノスタットの

10

20

30

40

50

1つ以上を含むヒストンデアセチラーゼ（HDAC）のインヒビターである、項目12に記載の方法。

（項目14）

エピジェネティック機構の修飾因子がアザシチジンである、項目12に記載の方法。

（項目15）

前記エピジェネティック機構の修飾因子がデシタビンである、項目12に記載の方法。

（項目16）

癌処置が、アントラサイクリンまたはアントラセネジオンである、項目7に記載の方法。

（項目17）

前記アントラサイクリンまたはアントラセネジオンが、エピルビシン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、ダウノルビシン、およびイダルビシンのうちの1つ以上である、項目16に記載の方法。

（項目18）

癌処置が、白金ベースの治療である、項目7に記載の方法。

（項目19）

前記白金ベースの治療が、アルボシジブである、項目18に記載の方法。

（項目20）

前記癌処置がFLAMである、項目7に記載の方法。

（項目21）

前記癌処置が、BH3模倣剤である、項目7に記載の方法。

（項目22）

前記BH3模倣剤が、BCL2、BCLXL、およびMCL1のうちの1つ以上である、項目21に記載の方法。

（項目23）

前記癌処置が、MCL1のインヒビターである、項目7に記載の方法。

（項目24）

前記BH3プロファイリングが、患者の癌細胞を透過処理するステップと、前記透過処理された細胞と1つ以上のBH3ドメインペプチドとを接触させる際のミトコンドリア膜電位の変化を決定するステップと、ミトコンドリア膜電位の喪失とアポトーシス誘発性化学療法剤に対する細胞の化学的感受性とを関連付けるステップと、を包含する、項目1に記載の方法。

（項目25）

前記BH3プロファイリングが、ペプチドの使用を包含し、ここで前記ペプチドが、BIM、BIM2A、BAD、BH3、HRK、PUMA、NOXA、BMF、BIK、およびPUMA2Aのうちの1つ以上である、項目1に記載の方法。

（項目26）

前記ペプチドが、0.1 μM～200 μMの濃度で用いられる、項目24に記載の方法。

（項目27）

前記検体が、凍結された腫瘍組織検体、培養された細胞、循環中の腫瘍細胞、およびホルマリン固定されたパラフィン包埋腫瘍組織検体から選択される生検である、項目1に記載の方法。

（項目28）

前記検体が、ヒト腫瘍由来細胞株である、項目1に記載の方法。

（項目29）

前記検体が、癌幹細胞である、項目1に記載の方法。

（項目30）

前記検体が、固形腫瘍の生検由来である、項目1に記載の方法。

（項目31）

10

20

30

40

50

前記検体が、結腸直腸、乳房、前立腺、肺、膵臓、腎臓または卵巣の原発性腫瘍の生検由来である、項目 30 に記載の方法。

(項目 36)

前記検体が、非固形腫瘍の生検由来である、項目 1 に記載の方法。

(項目 37)

前記検体が、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ球性白血病、慢性リンパ性白血病、マンツル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、および非ホジキンリンパ腫を有する患者の生検由来である、項目 36 に記載の方法。

(項目 38)

前記検体が、多発性骨髄腫細胞である場合、固体マトリクスまたはビーズに結合した抗 CD 138 抗体を用いた生検サンプルからの選択によって富化される、項目 37 に記載の方法。

(項目 39)

前記癌細胞が急性骨髄性白血病であり、CD 45 指向性抗体に対する結合によって富化される場合の、項目 37 に記載の方法。

(項目 40)

前記癌細胞が、慢性リンパ性白血病またはびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫であり、非 B 細胞除去によって富化される場合の、項目 37 に記載の方法。

(項目 42)

前記臨床学的因子が、年齢、細胞遺伝学的状況、能力、組織学的小分類、性別、および病期のうちの 1 つ以上である、項目 1 に記載の方法。

(項目 43)

突然変異状態、一塩基多型、定常状態タンパク質レベル、および動的タンパク質レベルから選択される追加のバイオマーカーの測定をさらに包含する、項目 1 に記載の方法。

(項目 44)

前記方法がさらに、患者における臨床反応を予測するステップを包含する、項目 1 に記載の方法。

(項目 45)

前記臨床反応が、少なくとも約 1、約 2、約 3、または約 5 年の無増悪生存／イベントフリー生存である、項目 44 に記載の方法。

(項目 46)

前記臨床反応の確率が、以下の式：

【数 1】

$$\% \text{ プライミング } = \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_1 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_1 + \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_2 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_2 + \dots / (n \text{ ペプチド })$$

によって規定され、

式中：

AUC が、曲線下面積またはシグナル強度のいずれかを含み；

DMSO がベースラインの陰性対照を含み；かつ

CCCP（カルボニルシアニド m-クロロフェニルヒドラゾン）が、ミトコンドリア内の電子伝達鎖の電子伝達体の正常活性中に形成されたプロトン勾配の脱共役剤として機能することによるタンパク質合成のエフェクターを含み、ベースラインの陽性対照を含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記曲線下面積が、均一性時間分解蛍光測定 (H T R F) によって確立される、項目 4 6 に記載の方法。

(項目 4 8)

前記時間が、約 0 ～ 約 3 0 0 分～約 0 ～ 約 3 0 分の間ウインドウにまたがって生じる、項目 4 6 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記曲線下面積が、蛍光活性化細胞選別装置 (F A C S) で確立される、項目 4 6 に記載の方法。

(項目 5 0)

前記シグナル強度が、約 5 分と約 3 0 0 分との間で行う一時点測定値である、項目 4 6 に記載の方法。

(項目 5 1)

B H 3 プロファイル、ならびに細胞表面マーカー C D 3 3、細胞表面マーカー C D 3 4、F L T 3 突然変異状態、p 5 3 突然変異状態、M E K - 1 キナーゼのリン酸化状態、および B C L - 2 の 7 0 位のセリンのリン酸化のうちの 1 つ以上を決定するステップ；ならびにシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンと A M L 患者を処置するのにおける有効性とを相関させるステップを包含する、項目 1 に記載の方法。

(項目 5 2)

B H 3 プロファイル、ならびに細胞表面マーカー C D 3 3、細胞表面マーカー C D 3 4、F L T 3 突然変異状態、p 5 3 突然変異状態、M E K - 1 キナーゼのリン酸化状態、および B C L - 2 の 7 0 位のセリンのリン酸化のうちの 1 つ以上を決定するステップ；ならびに化学療法と M M 患者を処置するのにおける有効性とを相関させるステップを包含する、項目 1 に記載の方法。

(項目 5 3)

前記癌が、A M L および／または M M であり、かつ前記臨床学的因子が、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況である、項目 1 に記載の方法。

(項目 5 4)

前記癌が A M L および／または M M であり、かつ前記癌処置が、シタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンである、項目 1 に記載の方法。

(項目 5 5)

前記癌処置がシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンであり、かつ前記臨床学的因子が年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況である、項目 1 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記癌処置がシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンであり；前記癌が A M L および／または M M であり；かつ前記臨床学的因子が年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況である、項目 1 に記載の方法。

(項目 5 7)

患者のための癌処置を決定するための方法であって：

前記患者の透過処理された癌細胞と、1 つ以上の B H 3 ドメインペプチドとを接触させるステップと；

前記患者の癌細胞の 1 つ以上の臨床学的因子の有無を、免疫組織化学および／または蛍光インサイチュハイブリダイゼーション (F I S H) によって決定するステップと；

1 つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率に関して患者を分類するステップと、を包含する、方法。

(項目 5 8)

シタラビンおよび／またはアザシチジンに対する A M L 患者応答を決定するための方法であって：

10

20

30

40

50

前記患者の A M L 癌細胞検体について B H 3 プロファイルを決定するステップと；
 前記患者の 1 つ以上の臨床学的因子を決定するステップであって、
 ここで、前記 1 つ以上の臨床学的因子は、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況から選択されるステップと；
 1 つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率に関して患者を分類するステップと、
 を包含する方法。

(項目 5 9)

B H 3 プロファイルを決定するステップが、前記患者の A M L 癌細胞検体と N O X A とを接触させるステップを包含する、項目 5 8 に記載の方法。

(項目 6 0)

前処置 A M L 患者における癌治療戦略を選択する方法であって、
 (a) 前記患者の骨髓 (B M) サンプルにおける N O X A プライミングを決定するステップと；
 (b) 前記患者の末梢血 (P B) サンプル中で B I M 0. 1 プライミングを決定するステップと；
 (c) 前記 B I M 0. 1 プライミングに対して前記 N O X A プライミングを比較して、前記患者を：

(i) B M N O X A プライミングが、約 1 0. 8 % より大きく、かつ B M / P B B I M 0. 1 プライミングが約 3 5 % 未満である場合、F L A M 候補として、または

(i i) B M N O X A プライミングが、約 1 0. 8 % 未満であり、かつ B M / P B B I M 0. 1 が約 1 5 % より大きい場合 7 + 3 候補として、または

(i i) B M N O X A が、約 1 0. 8 % 未満であり、かつ B M / P B B I M 0. 1 が約 3 5 % より大きい場合 7 + 3 候補、
 として特定するステップ、または

(i v) B M N O X A プライミングが、1 0. 8 % 未満であり、かつ B M / P B B I M 0. 1 が 1 5 % 未満である場合、別の治療の候補として前記候補を特定するステップと、
 を包含する、方法。

(項目 6 1)

F L A M レジメントに対する完全寛解を有する可能性が高い A M L 患者を特定する方法であって、

(i) A M L 患者から得られる骨髓サンプル中で N O X A プライミングを決定するステップと、

(i i) N O X A プライミングが、約 1 1 % より大きいとき、前記患者が F L A M に対する完全寛解を有すると予測するステップと、
 を包含する、方法。

(項目 6 2)

プライミングが、式
 【数 2】

$$\text{プライミングパーセンテージ} = \left[1 - \frac{(\text{ペプチド} - \text{CCCP})}{(\text{DMSO} - \text{CCCP})} \right] \times 100$$

を用いて算出される、項目 6 1 に記載の方法。

(項目 6 3)

(i i i) F L A Mレジメンを用いて前記患者を処置するステップをさらに包含する、
項目 6 1 に記載の方法。

(項目 6 4)

完全寛解が：全ての細胞株の正常な成熟を伴う 5 %未満の骨髓芽球、 $A N C \geq 1 0 0 0 / \mu L$ および血小板数 $\geq 1 0 0, 0 0 0 / \mu L$ 、末梢血中の芽球の非存在、骨髓中の白血病細胞の非存在、疾患に関連する細胞遺伝学の消失、および以前の髄外疾患の消失からなる群より選択される 1 つ以上の患者応答を含む、項目 6 3 に記載の方法。

(項目 6 5)

N O X Aプライミングが、配列番号 1 を含むN O X Aペプチドを用いて決定される、項目 6 1 に記載の方法。

(項目 6 6)

N O X Aプライミングが、配列番号 1 からなるN O X Aペプチドを用いて決定される、項目 6 1 に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図 1 A】図 1 A～図 E は、F L A Mレジメンで処置した患者から得られた骨髓サンプルからの代表的な B H 3 プロファイリングを示す。この図は、A M L 患者由来の高対低プライム芽球細胞のパターンにおける相違を示す。骨髓中のN O X AプライミングについてR O C 解析により最高の感度および特異性の組み合わせで特定されたカットオフは、約 1 0 . 7 % であって、4 0 % でのカットオフによって、陰性予測値 (N P V) が 7 0 . 5 % で、1 0 0 % という陽性予測値 (P P V) が得られる。応答者または非応答者として患者を分類するためにこの閾値を変化することで、種々のレベルの感度および特異性が得られ、その閾値の選択は、検査の性質に依存する。例えば、目的が、ある薬剤に応答するあらゆる患者を特定することである場合、偽陽性の結果を生じることを代償に低い閾値を選択するか、または目的が、陽性であることを最高の正確性 (P P V) で特定することであるならば、所定の研究には、もっと高い閾値を選択してもよい。従って、N O X A プライミングに基づく分類は、絶対的ではなく、所望の医学的有用性に適合するように調整してもよい。パネル A ～ C は、各々の細胞遺伝学的リスク分類コンテキストの例を示しており (F a v - (有益 : f a v o r a b l e) 、 a d v - (有害 : a d v e r s e) 、および i n t - 中間 : i n t e r m e d i a t e) 、これは、C R を経験した高いN O X A プライミングを用いた患者を示している。パネル D ～ E は、処置が失敗した、低いN O X A プライミングを用いた中間リスクおよび有害リスク患者を示す。

【図 1 B】図 1 A～図 E は、F L A Mレジメンで処置した患者から得られた骨髓サンプルからの代表的な B H 3 プロファイリングを示す。この図は、A M L 患者由来の高対低プライム芽球細胞のパターンにおける相違を示す。骨髓中のN O X AプライミングについてR O C 解析により最高の感度および特異性の組み合わせで特定されたカットオフは、約 1 0 . 7 % であって、4 0 % でのカットオフによって、陰性予測値 (N P V) が 7 0 . 5 % で、1 0 0 % という陽性予測値 (P P V) が得られる。応答者または非応答者として患者を分類するためにこの閾値を変化することで、種々のレベルの感度および特異性が得られ、その閾値の選択は、検査の性質に依存する。例えば、目的が、ある薬剤に応答するあらゆる患者を特定することである場合、偽陽性の結果を生じることを代償に低い閾値を選択するか、または目的が、陽性であることを最高の正確性 (P P V) で特定することであるならば、所定の研究には、もっと高い閾値を選択してもよい。従って、N O X A プライミングに基づく分類は、絶対的ではなく、所望の医学的有用性に適合するように調整してもよい。パネル A ～ C は、各々の細胞遺伝学的リスク分類コンテキストの例を示しており (F a v - (有益 : f a v o r a b l e) 、 a d v - (有害 : a d v e r s e) 、および i n t - 中間 : i n t e r m e d i a t e) 、これは、C R を経験した高いN O X A プライミングを用いた患者を示している。パネル D ～ E は、処置が失敗した、低いN O X A プライミングを用いた中間リスクおよび有害リスク患者を示す。

【図 1 C】図 1 A～図 E は、F L A Mレジメンで処置した患者から得られた骨髓サンプル

10

20

30

40

50

からの代表的なBH3プロファイリングを示す。この図は、AML患者由来の高対低プライム芽球細胞のパターンにおける相違を示す。骨髓中のNOXAプライミングについてROC解析により最高の感度および特異性の組み合わせで特定されたカットオフは、約10.7%であって、40%でのカットオフによって、陰性予測値(NPV)が70.5%、100%という陽性予測値(PPV)が得られる。応答者または非応答者として患者を分類するためにこの閾値を変化することで、種々のレベルの感度および特異性が得られ、その閾値の選択は、検査の性質に依存する。例えば、目的が、ある薬剤に応答するあらゆる患者を特定することである場合、偽陽性の結果を生じることを代償に低い閾値を選択するか、または目的が、陽性であることを最高の正確性(PPV)で特定することであるならば、所定の研究には、もっと高い閾値を選択してもよい。従って、NOXAプライミングに基づく分類は、絶対的ではなく、所望の医学的有用性に適合するように調整してもよい。パネルA～Cは、各々の細胞遺伝学的リスク分類コンテキストの例を示しており(Fav- (有益: favorable)、adv- (有害: adverse)、およびint-中間: intermediate))、これは、CRを経験した高いNOXAプライミングを用いた患者を示している。パネルD～Eは、処置が失敗した、低いNOXAプライミングを用いた中間リスクおよび有害リスク患者を示す。

【図1D】図1A～図Eは、FLAMレジメンで処置した患者から得られた骨髓サンプルからの代表的なBH3プロファイリングを示す。この図は、AML患者由来の高対低プライム芽球細胞のパターンにおける相違を示す。骨髓中のNOXAプライミングについてROC解析により最高の感度および特異性の組み合わせで特定されたカットオフは、約10.7%であって、40%でのカットオフによって、陰性予測値(NPV)が70.5%、100%という陽性予測値(PPV)が得られる。応答者または非応答者として患者を分類するためにこの閾値を変化することで、種々のレベルの感度および特異性が得られ、その閾値の選択は、検査の性質に依存する。例えば、目的が、ある薬剤に応答するあらゆる患者を特定することである場合、偽陽性の結果を生じることを代償に低い閾値を選択するか、または目的が、陽性であることを最高の正確性(PPV)で特定することであるならば、所定の研究には、もっと高い閾値を選択してもよい。従って、NOXAプライミングに基づく分類は、絶対的ではなく、所望の医学的有用性に適合するように調整してもよい。パネルA～Cは、各々の細胞遺伝学的リスク分類コンテキストの例を示しており(Fav- (有益: favorable)、adv- (有害: adverse)、およびint-中間: intermediate))、これは、CRを経験した高いNOXAプライミングを用いた患者を示している。パネルD～Eは、処置が失敗した、低いNOXAプライミングを用いた中間リスクおよび有害リスク患者を示す。

【図1E】図1A～図Eは、FLAMレジメンで処置した患者から得られた骨髓サンプルからの代表的なBH3プロファイリングを示す。この図は、AML患者由来の高対低プライム芽球細胞のパターンにおける相違を示す。骨髓中のNOXAプライミングについてROC解析により最高の感度および特異性の組み合わせで特定されたカットオフは、約10.7%であって、40%でのカットオフによって、陰性予測値(NPV)が70.5%、100%という陽性予測値(PPV)が得られる。応答者または非応答者として患者を分類するためにこの閾値を変化することで、種々のレベルの感度および特異性が得られ、その閾値の選択は、検査の性質に依存する。例えば、目的が、ある薬剤に応答するあらゆる患者を特定することである場合、偽陽性の結果を生じることを代償に低い閾値を選択するか、または目的が、陽性であることを最高の正確性(PPV)で特定することであるならば、所定の研究には、もっと高い閾値を選択してもよい。従って、NOXAプライミングに基づく分類は、絶対的ではなく、所望の医学的有用性に適合するように調整してもよい。パネルA～Cは、各々の細胞遺伝学的リスク分類コンテキストの例を示しており(Fav- (有益: favorable)、adv- (有害: adverse)、およびint-中間: intermediate))、これは、CRを経験した高いNOXAプライミングを用いた患者を示している。パネルD～Eは、処置が失敗した、低いNOXAプライミングを用いた中間リスクおよび有害リスク患者を示す。

【図 2 A】図 2 A～図 2 F は、全ての F L A M 処置患者検体中の受信者動作特性（R O C）曲線解析による F L A M に対する応答を有する B H 3 ペプチド関連を示す。パネル A、C および E は、細胞遺伝学的リスクファクターおよび M D S（骨髄異形成症候群）の病歴の臨床変数と組み合わせた、B A D、B I M 1 0 0、および P U M A の受信者動作特性（R O C）曲線解析を示す。パネル B、D、および F は、C R に達した患者における組み合わせた計測値での各々の患者のデータポイントを、C R に達しなかったものと比較して図示している対応するデータプロットを示す。

【図 2 B】図 2 A～図 2 F は、全ての F L A M 処置患者検体中の受信者動作特性（R O C）曲線解析による F L A M に対する応答を有する B H 3 ペプチド関連を示す。パネル A、C および E は、細胞遺伝学的リスクファクターおよび M D S（骨髄異形成症候群）の病歴の臨床変数と組み合わせた、B A D、B I M 1 0 0、および P U M A の受信者動作特性（R O C）曲線解析を示す。パネル B、D、および F は、C R に達した患者における組み合わせた計測値での各々の患者のデータポイントを、C R に達しなかったものと比較して図示している対応するデータプロットを示す。

10

【図 2 C】図 2 A～図 2 F は、全ての F L A M 処置患者検体中の受信者動作特性（R O C）曲線解析による F L A M に対する応答を有する B H 3 ペプチド関連を示す。パネル A、C および E は、細胞遺伝学的リスクファクターおよび M D S（骨髄異形成症候群）の病歴の臨床変数と組み合わせた、B A D、B I M 1 0 0、および P U M A の受信者動作特性（R O C）曲線解析を示す。パネル B、D、および F は、C R に達した患者における組み合わせた計測値での各々の患者のデータポイントを、C R に達しなかったものと比較して図示している対応するデータプロットを示す。

20

【図 2 D】図 2 A～図 2 F は、全ての F L A M 処置患者検体中の受信者動作特性（R O C）曲線解析による F L A M に対する応答を有する B H 3 ペプチド関連を示す。パネル A、C および E は、細胞遺伝学的リスクファクターおよび M D S（骨髄異形成症候群）の病歴の臨床変数と組み合わせた、B A D、B I M 1 0 0、および P U M A の受信者動作特性（R O C）曲線解析を示す。パネル B、D、および F は、C R に達した患者における組み合わせた計測値での各々の患者のデータポイントを、C R に達しなかったものと比較して図示している対応するデータプロットを示す。

【図 2 E】図 2 A～図 2 F は、全ての F L A M 処置患者検体中の受信者動作特性（R O C）曲線解析による F L A M に対する応答を有する B H 3 ペプチド関連を示す。パネル A、C および E は、細胞遺伝学的リスクファクターおよび M D S（骨髄異形成症候群）の病歴の臨床変数と組み合わせた、B A D、B I M 1 0 0、および P U M A の受信者動作特性（R O C）曲線解析を示す。パネル B、D、および F は、C R に達した患者における組み合わせた計測値での各々の患者のデータポイントを、C R に達しなかったものと比較して図示している対応するデータプロットを示す。

30

【図 2 F】図 2 A～図 2 F は、全ての F L A M 処置患者検体中の受信者動作特性（R O C）曲線解析による F L A M に対する応答を有する B H 3 ペプチド関連を示す。パネル A、C および E は、細胞遺伝学的リスクファクターおよび M D S（骨髄異形成症候群）の病歴の臨床変数と組み合わせた、B A D、B I M 1 0 0、および P U M A の受信者動作特性（R O C）曲線解析を示す。パネル B、D、および F は、C R に達した患者における組み合わせた計測値での各々の患者のデータポイントを、C R に達しなかったものと比較して図示している対応するデータプロットを示す。

40

【図 3】図 3 A～図 3 C は、骨髄由来 F L A M 処置患者検体における応答とのドットプロット相関解析による N O X A B H 3 ペプチド関連（P e p t i d e A s s o c i a t i o n）を示す。N O X A プライミング単独で、骨髄間質コンテキストのサンプルにおける予測値が示される。パネル A～C は、全てのサンプル（A）、ならびに骨髄（B）または末梢血（C）からとったサンプルで測定した N O X A プライミングを示すドットプロットを示す。骨髄から得たサンプルは、末梢血間質コンテキストから採取したサンプル中には見られない、C R との有意な関連を示す。

【図 4 A】図 4 A～図 4 D は、骨髄由来のコンテキストの F L A M 処置患者検体における

50

受信者動作特性（ROC）曲線解析による応答とのNOXA BH3ペプチド関連を示す。図Aおよび図Bは、全てのサンプルにおける細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の臨床変数と組み合わせた、NOXAペプチドプライミングの受信者動作特性（ROC）曲線解析を示す。図Cおよび図Dでは、骨髓から採取したサンプル中で同じであるが、末梢血由来のサンプルでは異なることが示される。細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の追加で、試験の予測力が改善され、AUC値は、細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴をプライミングしたBM MOXAにおいて0.92であった。

【図4B】図4A～図4Dは、骨髓由来のコンテキストのFLAM処置患者検体における受信者動作特性（ROC）曲線解析による応答とのNOXA BH3ペプチド関連を示す。図Aおよび図Bは、全てのサンプルにおける細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の臨床変数と組み合わせた、NOXAペプチドプライミングの受信者動作特性（ROC）曲線解析を示す。図Cおよび図Dでは、骨髓から採取したサンプル中で同じであるが、末梢血由来のサンプルでは異なることが示される。細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の追加で、試験の予測力が改善され、AUC値は、細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴をプライミングしたBM MOXAにおいて0.92であった。

10

【図4C】図4A～図4Dは、骨髓由来のコンテキストのFLAM処置患者検体における受信者動作特性（ROC）曲線解析による応答とのNOXA BH3ペプチド関連を示す。図Aおよび図Bは、全てのサンプルにおける細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の臨床変数と組み合わせた、NOXAペプチドプライミングの受信者動作特性（ROC）曲線解析を示す。図Cおよび図Dでは、骨髓から採取したサンプル中で同じであるが、末梢血由来のサンプルでは異なることが示される。細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の追加で、試験の予測力が改善され、AUC値は、細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴をプライミングしたBM MOXAにおいて0.92であった。

20

【図4D】図4A～図4Dは、骨髓由来のコンテキストのFLAM処置患者検体における受信者動作特性（ROC）曲線解析による応答とのNOXA BH3ペプチド関連を示す。図Aおよび図Bは、全てのサンプルにおける細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の臨床変数と組み合わせた、NOXAペプチドプライミングの受信者動作特性（ROC）曲線解析を示す。図Cおよび図Dでは、骨髓から採取したサンプル中で同じであるが、末梢血由来のサンプルでは異なることが示される。細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴の追加で、試験の予測力が改善され、AUC値は、細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDSの病歴をプライミングしたBM MOXAにおいて0.92であった。

30

【図5A】図5A～図5Cは、処置に対する応答を予測するためのプライミングの例を示す。図5Aは、BIM 0.1（左パネル）およびNOXA（右パネル）のプロファイリングの例を示す。図5Bは、特定の個体のBH3ペプチドについての混合末梢血と骨髓血液サンプル中のアッセイの値の間に相関関係がないことを示す。図5Cでは、AML患者の末梢血サンプル中のアッセイの値の間に相関がないことが示される。

40

【図5B】図5A～図5Cは、処置に対する応答を予測するためのプライミングの例を示す。図5Aは、BIM 0.1（左パネル）およびNOXA（右パネル）のプロファイリングの例を示す。図5Bは、特定の個体のBH3ペプチドについての混合末梢血と骨髓血液サンプル中のアッセイの値の間に相関関係がないことを示す。図5Cでは、AML患者の末梢血サンプル中のアッセイの値の間に相関がないことが示される。

【図5C】図5A～図5Cは、処置に対する応答を予測するためのプライミングの例を示す。図5Aは、BIM 0.1（左パネル）およびNOXA（右パネル）のプロファイリングの例を示す。図5Bは、特定の個体のBH3ペプチドについての混合末梢血と骨髓血液サンプル中のアッセイの値の間に相関関係がないことを示す。図5Cでは、AML患者の末梢血サンプル中のアッセイの値の間に相関がないことが示される。

50

【図6】図6は、処置ナীবなAML患者における癌処置の間の選択のためのアルゴリズムを特定するための方法を示す。相対的なBIM0.1およびNOXAプロファイリングを比較することによって、患者は、FLAM治療、7+3治療に割り当ててもよく、またはいずれの治療についても適切でないとして特定される。

【図7】図7は、薬剤に対する細胞株応答を、CTRP v2.0薬物スクリーンからダウンロードした。全部で437の細胞株を、ディナシクリブ(CDK1、2、5、および9のインヒビター)およびアルボシジブ(CDK9インヒビター)を用いて試験した。曲線下面積の値を、数値積分法によって8つの濃度ポイントを用いて算出した。これらの剤に対する応答の間の相関は、ピアソン法を用いて算出し、約0.95であることを見出した。これらのデータによって、2つの薬剤の間の類似性に起因して、NOXAバイオマーカーが、ディナシクリブおよびアルボシジブに対する応答を予測するのに有用であることが示される。

10

【図8】図8は、60歳以上の患者集団を示すAMLサンプルからのNOXA値を示す。NOXAシグナルの広がりによって、この代表的集団にまたがるシグナルの広範な呈示が示される。このデータによって、NOXAプライミングによって決定される細胞中のより高いMCL-1依存性は、低メチル化剤(HMA)に対するより大きい感度を示すことが示される。癌細胞株(n=33)を、PraediCare Dx(商標)アッセイを用いてNOXAペプチドとのMCL-1依存性についてプロファイリングした。それらの細胞株中のアザシチビンおよびデシタビンに対する応答は、癌応答治療剤ポータル(Broad Institute CTD2公的データベース)から入手して、細胞を、応答に対する閾値として、デシタビンについて40%変位値、およびアザシチジンについて12%変位値を用いて得たAUC(曲線下面積)値に基づいて、低メチル化剤(HMAs)に

20

応答するとして分類した。順位和検定p値は、2つの群の間で算出して、プロット上に示す。まとめると、これによって、NOXAバイオマーカーを通じたMCL-1依存性が、HMA類に対する応答に必要であり得ることが示される。

【図9】NOXAによってプライミングされることが示された細胞株はまた、PraediCare Dx(商標)フォーマットに従って、透過処理した細胞に直接与えられたMCL-1選択性BH3模倣剤化合物、EU5346(Richard et al 2013)に対しても反応性であることが示される。3つの懸濁癌細胞株中の化合物に対するプライミング値として表されたミトコンドリア反応によって、EU5346は、NOXAプライミングを検出するPraediCare Dx(商標)アッセイのリガンドとして用いられ得ることが示される。

30

【図10A】図10Aおよび図10Bは、FLAMレジメンに対するAML患者のNOXAプライミングの間の関係を図示する。図10Aによって、NOXAプライミングが、患者集団60歳以上のAMLおよびMDS患者サンプル中で示されることが示される。NOXAプライミングは、Praedicare Dx試験を用いて評価したとおりである。図10Bは、NOXAプライミング係数を示し、生存関数、S(x)が、FLAMで処置されたAML患者で時間に対してプロットされている。生存曲線は、カットオフとして40%NOXAプライミン6298グを用いる。この群では7例の完全寛解および17例の非応答者(NR)があった。NOXA低群の生存期間の中央値は、303日であり、生存期間の中央値は、NOXA高群については達しなかった。本発明者らの95%の信頼帯は、NOXA低群について下側が142日、上側は未決定であり、NOXA高群について、下側が959日、上側が未決定である。NOXAの高群と低群との間の生存の相違に関するログランク検定によって0.023というp値が得られる。

40

【図10B】図10Aおよび図10Bは、FLAMレジメンに対するAML患者のNOXAプライミングの間の関係を図示する。図10Aによって、NOXAプライミングが、患者集団60歳以上のAMLおよびMDS患者サンプル中で示されることが示される。NOXAプライミングは、Praedicare Dx試験を用いて評価したとおりである。図10Bは、NOXAプライミング係数を示し、生存関数、S(x)が、FLAMで処置されたAML患者で時間に対してプロットされている。生存曲線は、カットオフとして4

50

0% NOXA プライミン6298グを用いる。この群では7例の完全寛解および17例の非応答者（NR）があった。NOXA低群の生存期間の中央値は、303日であり、生存期間の中央値は、NOXA高群については達しなかった。本発明者らの95%の信頼帯は、NOXA低群について下側が142日、上側は未決定であり、NOXA高群について、下側が959日、上側が未決定である。NOXAの高群と低群との間の生存の相違に関するログランク検定によって0.023というp値が得られる。

【図11A】図11Aおよび図11Bは、FLT3突然変異状態によって分類され、デシタビンに対する応答によって分類された、64例のAML患者サンプルのミトコンドリアプロファイリング関連を示す。前処置のサンプルプライミングは、単一の薬剤としてのデシタビンに対する応答と関連した（図11A）。デシタビン処置に応答した、FLT3変異陰性患者は、応答しなかった患者と比較して、BH3模倣剤、BIM0.1に対して有意に高いミトコンドリア応答があった（ $p=0.04$ ）。FLT3変異を有する患者は、一般に、有意に（ $p=0.02$ ）高いBIM0.1プライミングを有した（図11B）。

【図11B】図11Aおよび図11Bは、FLT3突然変異状態によって分類され、デシタビンに対する応答によって分類された、64例のAML患者サンプルのミトコンドリアプロファイリング関連を示す。前処置のサンプルプライミングは、単一の薬剤としてのデシタビンに対する応答と関連した（図11A）。デシタビン処置に応答した、FLT3変異陰性患者は、応答しなかった患者と比較して、BH3模倣剤、BIM0.1に対して有意に高いミトコンドリア応答があった（ $p=0.04$ ）。FLT3変異を有する患者は、一般に、有意に（ $p=0.02$ ）高いBIM0.1プライミングを有した（図11B）。

【図12】図12A～図12Dは、FLT3突然変異状態、プライミングとデシタビンに対する応答の間の関係の態様を示す。図12は、FLT3陰性患者におけるBIM0.1およびHRKのプライミングを図示しており（それぞれ、図12Aおよび図12B）、ここで本発明者らは、より高いプライミングとデシタビンに対する応答との関連がわかる。この関連は、順位と検定およびt検定で試験し、その結果を各々のプロットで示す。最下のパネルは、患者のFLT3状況と、BIM0.1（図12C）およびHRK（図12D）プライミングとの関連を示しており、ここではFLT3プライミングは、FLT3 ITD陽性患者では高いようである。この関連は、応答としてプライミングおよび予測因子としてFLT3状況を用いる線形回帰分析で試験した。全体的モデルのp値（f統計値による）およびFLT3 ITD係数p値（t統計値による）を、下のプロットの各々に示す。これによって、FLT3陽性状態は、FLT3陰性患者よりも高いプライミングと関連することが示唆される。

【発明を実施するための形態】

【0022】

表1は、FLAM患者研究を示す。全体的な患者の概要を、表に示しており、各々の値について入手可能なデータとともに総数に対する各々のコンテキストでの陽性の患者の数を示す。

【0023】

表2は、FLAM処置された患者の概要の解析を示す。この表は、得られた全てのサンプルを列挙する。患者は、3つの異なるプロトコール（J0669、J0856、およびJ01101）に登録され、ほとんどが新しく診断されたAML患者であった。サンプルは、末梢血または骨髓吸引のいずれかから得た。年齢を診断の時点で算出した。細胞遺伝学的リスクファクターを、CALGBガイドラインを用いて決定した。細胞遺伝学、FLT-3、およびNPM1突然変異状態、MDS病歴、化学療法の履歴、骨髓芽球パーセント、白血球（WBC）数、処置、および応答は全て得られた。影付きの灰色のサンプルは、BH3プライミングに関してうまくアッセイされず、その後の全ての解析から排除する（MRD-微小残存病変、TF-処置不全、PR-部分反応、CR-完全寛解（complete remission））。完全反応（complete response）（CR）は、以下のうち、1つ以上、典型的には全てによって特徴付けされる：全ての細胞株の正常な成熟を有する5%未満の骨髓芽球、ANC $\geq 1000/\mu\text{L}$ および血小板数

≥ 100, 000 / uL、末梢血中の芽球がないこと、骨髓中に白血病細胞がないこと、疾患に関連する細胞遺伝学の消失、および既往の髄外疾患の消失。

【0024】

表3は、FLAM応答との臨床特徴の関連を示す。臨床の変数の統計学的解析を、応答に対して行った。各々の示された計測値を、順位和マン・ホイットニー検定によって、およびロジスティック回帰分析によって有意差について試験した。AUC（曲線下面積）は、ROC曲線解析から得た。

【0025】

表4は、FLAM患者研究からのBH3プロファイリングデータを示す。BH3プロファイリングは、表2に列挙する全ての患者サンプルで行った。影付きの灰色の行は、処理の間にBH3プロファイリングの合否基準を通らなかったサンプルである。ダッシュ（—）を含むすべての細胞は、示されたサンプルのそれぞれのBH3ペプチドアッセイを行うために十分な細胞がなかった。シグナル対ノイズは、CCCP JC-1 MFI値に対するDMSO JC-1レッド（red）平均蛍光強度（MFI）の測定である。細胞カウントおよび生存度のパーセントを、トリパンブルー排除での手動的な細胞カウントで決定した。芽球のパーセントは、透過処理された生存細胞のCD45-dim、CD3/CD20陰性、およびSSC-低のパーセンテージである。全てのBH3プロファイリングを、それらのゲートされた芽球細胞で行った。

【0026】

表5は、CRとの個々のBH3ペプチドプロファイルの関連を示す。BHペプチドの統計学的解析を、応答に対して行い、CRサンプルは、全ての部分反応、微小残存病変、および処置の失敗（NR-非応答者）と比較した。示した計測値の各々を、順位和マン・ホイットニー検定によって、およびロジスティック回帰分析によって有意差について試験した。AUC（曲線下面積）は、ROC曲線解析から得た。

【0027】

表6は、FLAM研究における他の臨床変数によるBH3ペプチドプロファイリングの多変量解析を示す。BH3ペプチドの統計学的解析は、応答に対して行い、CRサンプルをNRサンプルと比較した。変数の組み合わせを、ロジスティック回帰を用いて試験して、ロジスティック回帰モデル下で係数および定数を決定し、次いでこれらの係数および定数を、順位和マン・ホイットニー検定およびROC曲線解析によって試験した。

【0028】

表7は、骨髓サンプルにおけるCRとの個々のBH3ペプチドプロファイルとの関連を示す。BH3ペプチドの統計学的解析は、表5のように骨髓から得たサンプルでのみ行った。各々の示した計測値を、順位和マン・ホイットニー検定によって、およびロジスティック回帰分析によって有意差について試験した。AUC（曲線下面積）は、ROC曲線解析から得た。この解析によって、NOXAプライミングは、非応答者と比較して処置に反応した患者で有意に高いことが明らかになる。

【0029】

表8は、骨髓間質コンテキスト由来のサンプル中のBH3ペプチドの統計学的解析を示す。マン・ホイットニーのp値は、プライミング値を用いて決定するか、またはロジスティック回帰から対数尤度を算出した。ロジスティック回帰のp値は、最終モデル対ヌルモデルのANOVA分析を通じて算出した。この解析によって、BAD、BIM100、およびPUMAの組み合わせが、骨髓サンプル単独での応答とも関連することが示される。NOXAおよび3つのペプチドの値の両方とも、細胞遺伝学的リスクのカテゴリー、MDS病歴に対して相加的であり、かつ高い有意性およびAUC値をもたらす。

【0030】

発明の詳細な説明

本開示は、部分的には、BH3プロファイリングアッセイの医学的有用性が、患者の骨髓間質由来である癌細胞における応答を測定することによって、CDKインヒビター、例えば、CDK-9インヒビター（例えば、アルボシジブ）単独に対する応答、または同時

10

20

30

40

50

処置レジメン（例えば、F L A M）における応答を予測するために実現され得るという発見に基づく。B H 3 プロファイリング測定之感度および／または特異性は、末梢血から収集された血液、または末梢血サンプルおよび骨髓サンプルの組み合わせよりも有意に改善されている。N O X A の関連における劇的な増大は、骨髓間質コンテキスト由来のサンプルのみを用いる場合、0.445～0.0007というp値低下で示されるように、応答をとまなうシグナルを生成したことが示された（表6および表7）。アッセイ之感度は、臨床的変数、細胞遺伝学、および年齢コンテキストが解析の因子とされた場合、0.805（AUC）から0.91（AUC）に改善した。種々のアルゴリズムを本明細書で提供して、F L A M 処置に対するAML患者の応答を予測する。一態様では、N O X A プライミングを単独で用いて、F L A M レジメンに対する患者応答を予測する。別の態様では、B A D + B I M 100 + P U M A プライミングを、組み合わせて用いて、F L A M レジメンに対する患者応答を予測してもよい。本明細書に記載される診断アプローチによって、M C L 1 摂動療法に対する応答を予想するための新しい方法が提供される。

10

【0031】

一態様では、本発明は、患者のための癌処置を決定するための方法を提供し、この方法は、患者の腫瘍または骨髓由来の癌細胞検体中のM C L 1 依存性の程度を決定するステップと；その患者の1つ以上の臨床学的因子を決定するステップと、1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するステップとを包含し；ここで1つ以上の臨床学的因子が、臨床反応との関連についてM C L 1 特異的なB H 3 プロファイリング値の特異性および／または感度を増大するように選択される。

20

【0032】

別の態様では、本発明は、患者のための癌処置を決定するための方法を提供し、この方法は、N O X A B H 3 ドメインペプチドに対して患者の透過処理された癌細胞を暴露して、プライミングの程度を決定するステップと；免疫組織化学および／または蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（F I S H）によって患者の癌細胞の1つ以上の臨床学的因子の有無を決定するステップと；1つ以上の癌処置に対する臨床反応の確率について患者を分類するステップとを包含する。

【0033】

別の態様では、本発明は、シタラビンおよび／またはF L A M に対するAML患者応答を決定するための方法を提供し、この方法は、骨髓または末梢血から採取した患者のA M L 癌細胞検体についてB H 3 プロファイル決定するステップと；2つの癌細胞供給源からの値を比較するステップと、その情報を用いて、F L A M またはシタラビンベースの処置のいずれかをガイドするステップとを包含する。

30

【0034】

種々の実施形態では、臨床的コンテキストは、年齢、細胞遺伝学的状況、能力、組織学的小分類、性別および病期のうちの1つ以上である。別の実施形態では、この方法はさらに、突然変異状態、一塩基多型、定常状態タンパク質レベル、および動的タンパク質レベル（試験に対してさらに特異性および／または感度を追加し得る）から選択される追加のバイオマーカーの測定を包含する。別の実施形態では、この方法はさらに、患者における臨床応答を予測するステップを包含する。別の実施形態では、臨床反応は、少なくとも約1年、約2年、約3年、または約5年の無増悪生存／イベントフリー生存である。

40

【0035】

特定の実施形態では、プライミングは、以下の式によって定義される：

【数 1】

$$\% \text{プライミング} = \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_1 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_1 + \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_2 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_2 + \dots / (n \text{ ペプチド})$$

式中、AUCは、曲線下面積またはシグナル強度のいずれかを含む；DMSOは、ベースラインの陰性対照を含む；CCCP（カルボニルシアニドm-クロロフェニルヒドラゾン）は、ミトコンドリア中の電子伝達鎖中の電子伝達体の正常な活性中に形成されるプロトン勾配の脱共役剤として働くことによってタンパク質合成のエフェクターを含み、ベースラインの陽性対照を含む。いくつかの実施形態では、曲線下面積は、均一性時間分解蛍光測定（HTRF）によって確立される。いくつかの実施形態では、この時間は、約0～約300分～約0～約30分のウインドウにまたがって生じる。いくつかの実施形態では、曲線下面積は、中央蛍光強度（MFI）統計値によって、蛍光活性化細胞選別装置（FACS）で確立される。いくつかの実施形態では、シグナル強度は、約5分～約300分の間で生じる一時点測定である。個々のペプチドに関して、プライミングは、以下として算出され得る：

【数 2】

$$\text{プライミングパーセンテージ} = \left[1 - \frac{(\text{ペプチド} - \text{CCCP})}{(\text{DMSO} - \text{CCCP})} \right] \times 100$$

【0036】

例示的な臨床的決定

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の方法は、患者の評価において、例えば、診断、予後予測および処置に対する応答を評価するために有用である。種々の態様では、本発明は、腫瘍または血液癌を評価するステップを包含する。種々の実施形態では、この評価は、診断、予後予測、および処置に対する応答から選択され得る。

【0037】

診断とは、例えば、癌のような潜在的な疾患または障害を決定または特定するための企図のプロセスを指す。予後診断とは、例えば、癌のような、疾患または障害の可能性のある転帰を予測することを指す。完全な予後診断は、期待される期間、機能および疾患の経過の説明、例えば、進行性の衰退、間欠的な危機、または突然の予測不能な危機を含む場合が多い。処置に対する応答は、処置を受ける時の患者の医学的転帰の予測である。処置に対する応答は、非限定的な例では、病理学的な完全寛解、生存、無増悪生存率、無増悪期間および再発可能性であり得る。

【0038】

種々の実施形態では、本発明の方法は、患者が特定の処置を受けるか否かに関する臨床的決定に関する。一実施形態では、本発明の方法は、ネオアジュバントおよび／もしくはアジュバント化学療法に対する陽性反応、またはネオアジュバントおよび／もしくはアジュバント化学療法に対する非応答性の予測指標である。一実施形態では、本発明の方法は、アポトーシス促進性剤、またはアポトーシスを介して作動する薬剤、および／またはアポトーシスを介して作動しない薬剤に対する陽性反応、あるいは、アポトーシスエフェクター剤および／またはアポトーシスを介して作動しない薬剤に対する非応答性の予測指標

である。種々の実施形態では、本発明は、例えば、どの種類の処置が施されるべきか、または止められるべきかを含む、癌患者の処置に関する。

【0039】

一実施形態では、本発明の方法は、ある患者が、一次の、主要な、または最初の処置の後に、限定するものではないが、単一の唯一のアジュバント療法を含むアジュバント療法を受けるか否かに関する臨床決定に関する。アジュバント療法はまた、アジュバントケアとも呼ばれ、一次の、主要な、または最初の処置に加えて与えられる処置である。非限定的な例として、アジュバント療法は、全ての検出可能な疾患が除去されるが、潜在性の疾患のせいで再発という統計学的なリスクは残る手術後に通常施される追加の処置であり得る。

10

【0040】

いくつかの実施形態では、本発明の方法は、アジュバント療法を含む患者の処置に関する。例えば、特定の処置に応答性であるとスコア付けされる患者は、アジュバント療法などの処置を受けてもよい。さらに、本発明の方法は、非限定的な例では、アポトーシス促進性の方式で誘導するかおよび／または作動する処置、あるいはしない処置として、アジュバント療法の同一性に関し得る。一実施形態では、本発明の方法は、患者が、特定の処置に応答性でないか、または特定の処置に応答性が低く、したがって、そのような患者がアジュバント療法のような処置を受けない場合があることを示し得る。したがって、いくつかの実施形態では、本発明の方法は、患者の予測される応答に従って、アジュバント療法を提供するか、または中止することを提供する。この方法では、患者のクオリティオブライフおよびケアのコストは改善され得る。

20

【0041】

いくつかの実施形態では、本発明の方法は、患者が特定の種類の処置を受けるか否かに関する臨床決定に関する。従って、いくつかの実施形態では、本発明の方法は、患者の処置のためのガイド試験である。

【0042】

いくつかの実施形態では、本発明の方法は、ある患者の特定の処置に対する予測される応答に関する情報を提供する。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、高い応答の確率を提供し、積極的な処置を含む処置に関し得る。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、低い応答の確率をもたらし、積極的な処置および緩和ケアの使用を含む処置の中断を指示して、良好なクオリティオブライフのために、無効な化学療法からの不必要な毒性を回避し得る。

30

【0043】

例示的な実施形態では、本発明の方法は、特定の処置に対する応答の確率を示す。例えば、いくつかの実施形態では、本発明の方法は、アポトーシス促進性剤、および／またはアポトーシスを介して作動する薬剤、および／または直接のタンパク質調節によって駆動されるアポトーシスを介して作動する薬剤に対する応答の高い確率または低い確率を示す。種々の実施形態では、例示的なアポトーシス促進性剤および／またはアポトーシスを介して作動する薬剤および／または直接タンパク質調節によって駆動される、アポトーシスを介して作動する薬剤としては、ABT-263 (Navitoclax)、オバトクラックス、WEP、ボルテゾミブ、およびカルフィルゾミブが挙げられる。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、アポトーシスを介して作動しない薬剤および／または直接タンパク質調節によって駆動される、アポトーシスを介して作動しない薬剤に対する応答の高い確率または低い確率を示す。種々の実施形態では、アポトーシスを介して作動しない例示的な薬剤としては、キネシンスピンドルタンパク質インヒビター、サイクリン依存性キナーゼインヒビター、Arsenic Trioxide (TRISENOX)、MEKインヒビター、ポモリドミド、アザシチジン、デシタビン、ポリノスタット、エンチノスタット、ディナシクリブ、ゲムツズマブ、BTKインヒビター、例としては、イブルチニブ、PI3キナーゼデルタインヒビター、レノリジミド、アントラサイクリン類、シタラビン、メルファラン (melphalam)、Aktインヒビター類、mTORインヒ

40

50

ビター類が挙げられる。

【0044】

例示的な実施形態では、本発明の方法は、患者が癌処置のためにアポトーシス促進性剤またはアポトーシスを介して作動する薬剤を投与されるべきか否かを示す。別の例示的な実施形態では、本発明の方法は、患者がアポトーシスを介して作動しない薬剤を投与されるべきか否かを示す。

【0045】

特異的な実施形態では、本発明の方法は、本明細書に記載される任意の処置（薬剤を含む）に対する癌患者の応答を予測するのに有用である。例示的な実施形態では、本発明は、AML患者のシタラビンおよびアザシチジンに対する応答の確率を予測し、患者のBH 3プロファイル、年齢プロファイルおよび細胞遺伝学的因子の評価を含む。

10

【0046】

種々の実施形態では、癌処置は、本明細書に記載の方法に基づいて投与されるかまたは停止される。例示的な処置としては、外科的切除、放射線療法（本明細書に記載の化合物をそのまま、または放射線増感剤と組み合わせての使用を含む）、化学療法、薬力学的療法、標的化療法、免疫療法、および支持療法（例えば、鎮痛薬、利尿薬、抗利尿薬、抗ウイルス薬、抗生物質、栄養補助剤、貧血治療薬、血液凝固治療薬、骨治療薬および精神医学治療薬および心理学的治療薬）が挙げられる。

【0047】

例示的な処置

20

例示的な実施形態では、本発明は、特定の処置剤に対する予想される反応速度を算出する。このような剤の例としては限定するものではないが、1つ以上の抗癌薬、化学療法、手術、アジュバント療法、およびネオアジュバント療法が挙げられる。一実施形態では、癌処置は、BH 3模倣剤、エピジェネティックな修飾剤、トポイソメラーゼインヒビター、サイクリン依存性キナーゼインヒビター、およびキネシンスピンドルタンパク質安定化剤のうちの1つ以上である。別の実施形態では、癌処置は、プロテアソームインヒビター；および／または細胞周期調節の修飾因子（非限定的な例では、サイクリン依存性キナーゼインヒビター）；および／または細胞のエピジェネティックな機構の修飾因子（非限定的な例では、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）（例えば、ボリノスタットまたはエンチノスタットのうちの1つ以上）、アザシチジン、デシタビンのうちの1つ以上）；および／またはアントラサイクリンもしくはアントラセネジオン（非限定的な例では、エビルビシン、ドキシソルビシン、ミトキサントロン、ダウノルビシン、イダルビシンのうちの1つ以上）；および／または白金ベースの治療剤（非限定的な例としては、カルボプラチン、シスプラチン、およびオキサリプラチンのうちの1つ以上）；シタラビンまたはシタラビンベースの化学療法；BH 3模倣剤（非限定的な例では、BCL 2、BCL XL、またはMCL 1のうちの1つ以上）；ならびにMCL 1のインヒビターである。

30

【0048】

種々の実施形態では、本発明は、癌処置に関与し、これには、限定するものではないが、その全体が参照によってその内容が本明細書に援用される、米国特許出願公開第2012-0225851号および国際公開WO 2012/122370に記載のものが挙げられる。

40

【0049】

種々の実施形態では、本発明は、癌処置、例としては、限定するものではないが、アルキル化剤、例えば、チオテパおよびCYTOXANシクロホスファミド；アルキルスルホネート、例えば、ブスルファン、イムプロスルファンおよびピボスルファン；アジリジン類、例えば、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ（meturedopa）、およびウレドーパ（uredopa）；エチレンイミン類及びメチラメラミン（methylemelamine）類、例としては、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミドおよびトリメチロメラミン；アセトゲニン類（例えば、ブラタシンおよびブラタシノン）；カンプトテシン（合成アナロ

50

グのトポテカンを含む) ; プリオスタチン ; カリスタチン (callystatin) ; CC-1065 (そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシンの合成アナログを含む) ; クリプトフィシン類 (例えば、クリプトフィシン1およびクリプトフィシン8) ; ドラスタチン ; デュオカルマイシン (duocarmycin) (その合成アナログのKW-2189およびCB1-TM1を含む) ; エレウテロビン (eleutherobin) ; パンクラチスタチン (pancratistatin) ; サルコディクチン (sarcodictyin) ; スポンジスタチン (spongistatin) ; ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベムビチン (novembichin)、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード ; ニトロソ尿素、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、およびラニムスチン ; 抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質 (例えば、カリケアミシン、特にカリケアミシンガンマ11およびカリケアミシンオメガ11 (例えば、Angew Chem. Int'l. Ed. Engl. 1994, 33:183-186) を参照のこと) ; ダイネミシンAを含むダイネミシン (dynemicin) ; クロドロネートなどのビスホスホネート ; エスペラミシン (esperamicin) ; ならびにネオカルチノスタチン発色団および関連する色素タンパクのエンジイン抗生発色団)、アクラシノマイシン類、アクチノマイシン、オースラマイシン (authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン (carabycin)、カミノマイシン (caminomycin)、カルジノフィリン、クロモマイシン類、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN (ドキシソルビシン) (モルホリノードキシソルビシン、シアノモルホリノードキシソルビシン、2-ピロリノードキシソルビシンおよびデオキシドキシソルビシンを含む)、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン (marcellomycin)、マイトマイシン類、例えば、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプレオマイシン (peplomycin)、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン (quelamycin)、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン ; 代謝拮抗物質、例えば、メトトレキサートおよび5-フルオロウラシル (5-FU) ; 葉酸アナログ、例えば、デノプテリン (denopterin)、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート ; プリンアナログ、例えば、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン ; ピリミジンアナログ、例えば、アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン ; アンドロゲン、例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン ; 抗副腎剤 (anti-adrenals、例えば、アミノグルテチミド (minogluthetamide)、ミトーテン、トリロスタン ; フロリン酸 (frolinic acid) などの葉酸補充物質 (replenisher) ; アセグラトン ; アルドホスファミドグリコシド ; アミノレブリン酸 ; エニルウラシル (eniluracil) ; アムサクリン ; ベストラブシル (bestrabucil) ; ビサントレン ; エダトレキサート ; デメコルチン ; ジアジコン (diaziquone) ; エルフオミチン (elfomithine) ; 酢酸エリプチニウム ; エポチロン (epothilone) ; エトグルシド ; 硝酸ガリウム ; ヒドロキシ尿素 ; レンチナン ; ロニダミン (lonidainine) ; マイタンシノイド (maytansinoid) 類、例えば、マイタンシン (maytansine) およびアンサミトシン (ansamitocin) 類 ; ミトグアゾン ; ミトキサントロン ; モピダンモール (mopidanmol) ; ニトラエリン (nitraerine) ; ペントスタチン ; フェナメト (phenamet) ; ピラルビシン ; ロソキサントロン (losoxantrone) ; ポドフィリン酸 (podophyllinic acid) ; 2-エチルヒドラジド ; プロカルバジン ; PSK多糖

10

20

30

40

50

複合体 (polysaccharide complex) (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.) ; リゾキサン ; リゾキシ (rhizoxin) ; シゾフラン (sizofuran) ; スピロゲルマニウム ; テヌアゾン酸 ; トリアジコン ; 2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン ; トリコテセン (trichothecene) 類 (例えば、T-2トキシ (T-2 toxin)、ベラクリンA (verrucaric acid)、ロリジンA (roridin A) およびアングイジン (anguidine)) ; ウレタン (urethane) ; ビンデシン ; ダカルバジン ; マンノムスチン ; ミトブロニトール ; ミトラクトール ; ピポブロマン ; ガシトシン (gacetylosine) ; アラビノシド (「Ara-C」) ; シクロホスファミド ; チオテパ ; タキソイド類、例えば、TAXOLパクリタキセル (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N. J.)、ABRAXANE (Cremophor-free), パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子処方物 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.)、およびTAXOTEREドセタキセル (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France) ; クロラムブシル ; GEMZARゲムシタピン ; 6-チオグアニン ; メルカプトプリン ; メトトレキサート ; シスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチンなどの白金アナログ ; ビンブラスチン ; 白金 ; エトポシド (VP-16) ; イホスファミド ; ミトザントロン ; ビンクリスチン ; NAVELBINEビノレルビン ; ノバントロン ; テニポシド ; エダトレキサート ; ダウノマイシン ; アミノプテリン ; xeloda ; イバンドロネート (ibandronate) ; イリノテカン (Camptosar, CPT-11) イリノテカンと5-FUおよびロイコボリンの処置レジメンを含む) ; トポイソメラーゼインヒビターRFS 2000 ; ジフルオロメチルオルニチン (DMFO) ; レチン酸などのレチノイド類 ; カベシタピン ; コンプレスタチン ; ロイコボリン (LV) ; オキサリプラチン、例としては、オキサリプラチン処置レジメン (FOLFOX) ; ラパチニブ (Tykerb) ; PKC-αのインヒビター、Raf、H-Ras、EGFR (例えば、エルロチニブ (Tarceva)) および細胞増殖を低下するVEGF-A、ダコゲン、ベルケード、ならびに任意の上記のものの薬学的に許容される塩、酸および誘導体に関する。

【0050】

例示的な検出方法

種々の実施形態では、本発明の方法は、タンパク質および／または核酸の有無、またはレベルを評価するステップを包含する。種々の実施形態では、本発明の方法は、BH3プロファイリングの特異性および／または感度を増強し得るタンパク質および／または核酸の有無またはレベルを評価するステップを包含する。いくつかの実施形態では、この評価は、患者応答のマーカーを包含する。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、免疫組織化学染色、ウェスタンブロット、細胞内ウェスタン、免疫蛍光染色、ELISAおよび蛍光活性化細胞選別装置 (FACS)、または本明細書において記載されるか、もしくは当該分野で公知の任意の他の方法のうちの1つ以上を用いる測定を包含する。本発明の方法は、抗体と腫瘍検体 (例えば、生検または組織または体液) とを接触させて、組織または体液に特異的であり、かつ癌の状態の指標であるエピトープを特定するステップを包含し得る。

【0051】

一般的に、体液または組織中の抗原上のエピトープの検出のために用いられる2つのストラテジー、直接法および間接法がある。この直接法は、一工程の染色を含み、体液または組織サンプル中の抗原と直接反応する標識された抗体 (例えば、FITCコンジュゲートされた抗血清) を含んでもよい。この間接的な方法は、体液または組織抗原と反応する未標識の一次抗体、およびこの一次抗体と反応する標識された二次抗体を含む。標識は、放射性標識、蛍光標識、ハプテン標識、例えば、ビオチン、または酵素、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼを含んでもよい。これらのアッセイを行う方法は、当該分野で周知である。例えば、Harlow et al. (Anti

bodies, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1988)、Harlow et al. (Using Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1999)、Virella (Medical Immunology, 第6版, Informa HealthCare, New York, 2007)、およびDiamandis et al. (Immunoassays, Academic Press, Inc., New York, 1996)を参照のこと。これらのアッセイを行うためのキットは、例えば、Clontech Laboratories, LLC. (Mountain View, CA) から市販されている。

【0052】

種々の実施形態では、抗体は、抗体全体および／または任意の抗原結合フラグメント（例えば、抗原－結合部分）および／またはこれらの単鎖（例えば、ジスルフィド結合によって内部接続された少なくとも2つの重鎖（H）および2つの軽鎖（L）、Fabフラグメント、 V_L 、 V_H 、 C_L およびCH1ドメインからなる一価フラグメント； $F(ab)_2$ フラグメント、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結される2つのFabフラグメントを含む二価フラグメント； V_H およびCH1ドメインからなるFdフラグメント；抗体の単一のアームの V_L および V_H ドメインからなるFvフラグメント；など）を含む。種々の実施形態では、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体が有用であり、単離されたヒトもしくはヒト化抗体、またはそれらの機能的なフラグメントも同様である。

【0053】

様々な種の標的に対する抗体の結合能力を評価する標準アッセイが、当該分野で公知であり、これには、例えば、ELISA、ウエスタンブロットおよびRIAが挙げられる。抗体の結合の反応速度論（例えば、結合親和性）はまた、Biacore解析などによる、当該分野で公知の標準的なアッセイによって評価してもよい。

【0054】

別の実施形態では、測定は核酸の有無またはレベルを評価するステップを包含する。当業者は、多数の方法を用いて、適切なマーカーのDNA/RNAレベルを検出または定量し得ることを理解する。

【0055】

遺伝子発現は、例えば、低～中プレックスの（low-to-mid-plex）技術を用いて測定してもよく、この技術としては、限定するものではないが、レポーター遺伝子アッセイ、ノーザンブロット、蛍光インサイチュハイブリダイゼーション（FISH）、および逆転写PCR（RT-PCR）が挙げられる。遺伝子発現はまた、例えば、高次プレックス（higher-plex）技術を用いて測定してもよく、これには限定するものではないが、遺伝子発現連続解析法（SAGE）、DNAマイクロアレイが挙げられる。チリングアレイ（tiling array）、RNA-Seq／全トランスクリプトームショットガン配列決定（whole transcriptome shotgun sequencing：WTSS）、ハイスループットシーケンシング、マルチプレックスPCR、マルチプレックス・ライゲーション依存性プローブ増幅（multiplex ligation-dependent probe amplification：MLPA）、ライゲーションによるDNA配列決定、およびLuminex/XMAPが挙げられる。当業者は、マイクロアレイなどのアレイ、RT-PCR（定量PCRを含む）、ヌクレアーゼプロテクションアッセイおよびノーザンブロット解析を含む多数の方法を使用して、サンプル内のバイオマーカーのRNA生成物レベルを検出または定量化できることを理解する。

【0056】

例示的な癌および患者

いくつかの実施形態では、本発明は、癌処置を決定する方法を提供するか、および／または患者の腫瘍試料もしくは癌細胞試料を含む。癌または腫瘍とは、制御不能な細胞増殖、ならびに／または異常増殖した細胞の生存、ならびに／または身体器官および系の正常

10

20

30

40

50

な機能を妨げるアポトーシスの阻害を指す。癌または腫瘍を有する被験体とは、被験体の体内に存在する客観的に測定可能な癌細胞を有する被験体である。良性および悪性の癌、ならびに休止腫瘍または微小転移も本発明に含まれる。原発巣から遊走して重要な器官に播種する癌は、最終的に影響を受けた器官の機能悪化により、被験体を死に至らしめる場合がある。

【0057】

種々の実施形態では、本発明は、転移前の癌、または転移癌に適用可能である。転移とは、癌がその原発部位から体内のその他の場所へ広がることを指す。癌細胞は、原発腫瘍から分離してリンパ管および血管に侵入し、血流を通じて循環し、体内の他の部位にて正常な組織内で遠隔病巣を増殖（転移）させる場合がある。転移は、局所的であっても、または遠隔であってもよい。転移とは、腫瘍細胞が原発腫瘍から分離して血流を通じて移動し、遠隔部位にて留まることに付随した、連鎖的プロセスである。新しい部位にて、細胞は血液供給を確立して成長し得、生命を脅かす腫瘤を形成し得る。腫瘍細胞内の刺激分子および阻害性分子の両方の経路によって、この挙動が調節され、遠隔部位の腫瘍細胞および宿主細胞間の相互作用もまた重要である。転移は、特定症状のモニタリングに加えて、磁気共鳴映像法（MRI）スキャン、コンピューター断層撮影法（CT）スキャン、血球数および血小板数測定、肝機能検査、胸部X線ならびに骨スキャンの単独使用または併用によって、検出される場合が多い。

【0058】

本明細書に記載の方法は、癌の予後予測、癌の診断、癌の治療、ならびに／または悪性腫瘍および細胞の生存の増大を伴う増殖障害の増殖、進行、および／もしくは転移の診断、予後予測、処置、予防もしくは改善、あるいはアポトーシスの阻害に関する。いくつかの実施形態では、癌は血液癌であり、これには、限定するものではないが、急性骨髄性白血病（AML）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、慢性リンパ性白血病、ならびに非ホジキンリンパ腫（限定するものではないが、マントル細胞リンパ腫およびびまん性大細胞型B細胞リンパ腫を含む）が挙げられる。いくつかの実施形態では、癌は固形腫瘍であり、これには限定するものではないが、非小細胞肺癌、卵巣癌、および黒色腫が挙げられる。

【0059】

いくつかの実施形態では、本発明は、以下の癌のうち1つ以上に関する：急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、副腎皮質癌、AIDS関連癌、肛門癌、虫垂癌、星細胞腫（例えば、小児小脳性または大脳性）、基底細胞癌、胆管癌、膀胱癌、骨腫瘍（例えば、骨肉腫、悪性線維性組織球腫）、脳幹グリオーマ、脳癌、脳腫瘍（例えば、小脳星細胞腫、大脳星細胞腫／悪性グリオーマ、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、視経路および視床下部グリオーマ）、乳癌、気管支腺腫／カルチノイド、バーキットリンパ腫、カルチノイド腫瘍、中枢神経系リンパ腫、小脳星細胞腫、子宮頸癌、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性骨髄増殖性疾患、結腸癌、皮膚T細胞リンパ腫、線維形成性小円形細胞腫瘍、子宮内膜癌、上衣腫、食道癌、ユーイング肉腫、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、肝外胆管癌、眼癌、胆嚢癌、胃体部（胃）癌、消化管間質腫瘍（GIST）、胚細胞腫瘍（例えば、頭蓋外、性腺外、卵巣）、妊娠性絨毛腫瘍、グリオーマ（例えば、脳幹、大脳星細胞腫、視経路および視床下部）、胃カルチノイド、頭頸部癌、心臓癌、肝細胞（肝）癌、下咽頭癌、視床下部および視経路グリオーマ、眼内黒色腫、膵島細胞癌（膵臓内分泌部）、腎癌（腎細胞癌）、喉頭癌、白血病（例えば、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、有毛細胞）、口唇および口腔（oral cavity）癌、脂肪肉腫、肝癌、肺癌（例えば、非小細胞、小細胞）、リンパ腫（例えば、AIDS関連、バーキット、皮膚T細胞、ホジキン、非ホジキン、中枢神経系原発）、髄芽腫、黒色腫、メルケル細胞癌、中皮腫、転移性扁平上皮頸部癌、口腔（mouth）癌、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性疾患、骨髄性（myelogenous）白血病、骨髄性（myeloid）白血病、骨

髓性 (myeloid) 白血病、骨髄増殖性障害、慢性、鼻腔癌および副鼻腔癌、上咽頭癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、口腔 (oral) 癌、中咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌、膵臓癌、膵臓癌、副鼻腔および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭 (pharyngeal) 癌、褐色細胞腫、松果体星細胞腫および／または胚細胞腫、松果体芽細胞腫およびテント上原始神経外胚葉性腫瘍、下垂体腺腫、形質細胞腫瘍／多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、中枢神経系原発リンパ腫、前立腺癌、直腸癌、腎細胞癌 (腎癌)、腎盂および尿管、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、肉腫 (例えば、ユーイングファミリー、カボジ、軟部、子宮)、セザリイ症候群、皮膚癌 (例えば、非黒色種、黒色種、メルケル細胞)、小細胞肺癌、小腸癌、軟部肉腫、扁平上皮細胞癌、扁平上皮頸部癌、胃癌、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、t細胞リンパ腫、睾丸癌、咽頭 (throat) 癌、胸腺腫および胸腺癌、甲状腺癌、絨毛腫瘍、尿管および腎盂癌、尿道癌、子宮癌、子宮肉腫、陰癌、視経路および視床下部グリオーマ、外陰癌、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、ならびにウィルムス腫瘍。

10

【0060】

一実施形態では、癌はAMLである。AMLは2番目に多い白血病であり、アメリカでは年間約13,000人が新たにAMLと診断され、年間死者数は9,000人である。定評のある療法が存在しているが、白血病患者の多くは予後が悪く、治療が成功する可能性は低い。AMLに対する現在の標準的治療は、誘導シトシンアラビノシド (ara-C) に、アントラサイクリン剤 (例えば、ダウノルビシン、イダルビシンまたはミトキサントロンなど) を併用する。通常、この治療レジメンに続いて、高用量シタラビンの投与および／または幹細胞移植を行う。これらの治療法は、若年患者における治療結果を改善した。急性前骨髄球性白血病の治療にも進展があり、オールトランスレチノイン酸 (ATRA) または三酸化ヒ素を用いた標的療法によって、生存率が良くなった。しかしながら、AML症例の大半である、60歳超の患者集団では、依然として治療が不明確なままである。65～85%の患者は、当初既存の治療法に応答するが、その応答した患者のうち65%が再発し、多くの患者が再発した疾患により亡くなる。少なくともこの理由で、そして上述の治療法が深刻な副作用を有する場合もあるので、本発明の予測試験によって、これらの訴えを緩和する処置の使用を導くことができる。いくつかの実施形態では、本発明は、適切な患者を適切な処置に合致させることにより、処置が成功する可能性を向上させる。更に、処置に対するAML患者の応答を予測する試験は現状存在しない。

20

30

【0061】

「被験体 (subject)」という用語は、本明細書で使用する場合、他に規定されない限り、哺乳動物、例えばヒト、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、またはサル、チンパンジー、もしくはヒヒなどの非ヒト霊長類である。「被験体 (subject)」および「患者 (patient)」という用語は、同じ意味で使用される。

【0062】

例示的な検体

いくつかの実施形態では、上記検体は、ヒト主要由来の細胞株である。特定の実施形態では、この検体は癌幹細胞である。他の実施形態では、この検体は、固形腫瘍の生検、例えば、結腸直腸、乳房、前立腺、肺、膵臓、腎臓または卵巣の原発性腫瘍などの生検由来である。

40

【0063】

特定の実施形態では、この検体は、非固形腫瘍、例えば、本明細書に記載の任意の癌などの生検に由来する。特定の実施形態では、この検体は、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病、マントル細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、および非ホジキンリンパ腫を有する患者の生検に由来する。ある特定の実施形態では、検体は、固体マトリックスまたはビーズに結合した抗CD138抗体を用いた生検サンプルからの選択により濃縮される多発性骨髄腫細胞である。ある特定の実施形態では、検体は、CD45に対する抗体への結合により濃縮される急性骨髄性白血病

50

細胞である。ある特定の実施形態では、検体は、非B細胞の枯渇により濃縮される慢性リンパ性白血病またはびまん性大細胞型B細胞リンパ腫である。

【0064】

いくつかの実施形態では、検体は、循環中の腫瘍細胞に由来する。

【0065】

BH3プロファイリング

種々の実施形態では、本発明は、BH3プロファイリングを含む。種々の実施形態では、本発明は、BH3プロファイリングを含み、ここでは少なくとも2、または3、または4、または5、または6、または7、または8、または9、または10のBH3ペプチドを一度に評価する。いくつかの実施形態では、本発明の方法は、単一BH3ペプチドの評

10

【0066】

BH3プロファイリングおよびこのような方法に有用な試薬は、その内容が、その全体が参照によって本明細書に援用される、米国特許第7,868,133号；同第8,221,966号；および同第8,168,755号および米国特許出願公開第2011/0130309号に記載される。

【0067】

要するに、理論で束縛されることは望まないが、異常な表現型の結果として、癌細胞は、アポトーシス経路で機能的なブロックを発達させる。これらのブロックによって、癌細胞は、いくつかの治療に対して耐性になり、かつ驚くべきことに、いくつかの癌細胞は他の治療に対して感受性になる。「癌遺伝子依存 (oncogene addiction)」という概念は、生存のための特定のタンパク質に対する癌細胞の依存性 (dependence)、または依存症・中毒 (addiction) の獲得という現象を表す。BH3プロファイリングは、タンパク質を調節する特定のアポトーシスに対するこのような依存性が所定の癌細胞で生じるか否かを決定し、依存性タンパク質を特定する。癌細胞は、アポトーシスするようにプレセットされ得るが、常にではなく、これは、これらの細胞の機能であり、それらの他の意図されない生存について抗アポトーシスBCL-2ファミリータンパク質のいずれかまたはすべてに依存する。これによって、処置に応答する癌細胞の確率が洞察される。

20

30

【0068】

癌細胞は、理論によって束縛されるものではないが、異常、例えば、DNA損傷、遺伝子不安定性、異常増殖因子シグナル伝達、およびマトリクス相互作用の異常または欠如を示し、そのいずれもが、内因性 (ミトコンドリア) アポトーシス経路を通じて典型的にはアポトーシスを誘発するはずである。しかし、癌細胞は、これらのアポトーシスシグナルに応答するのではなく、生存する。しばしば、そうするには、これらの細胞は、慢性のアポトーシスシグナルに対する選択されたブロックに大きく依存するようになる。この順応によって、癌細胞の生存機序が得られる；しかし、これらの順応はまた、特定のアポトーシス誘導治療に対して癌細胞を感受性にさせ得る。内因性のアポトーシスによって細胞が死ぬように方向づけている重大な事象は、ミトコンドリア外側膜 (MOMP) の透過処理およびエフェクターカスパーゼを活性化する分子の放出である。多くの場合に、MOMPは、内因性のアポトーシス経路におけるポイントオブノーリターンである。BCL-2ファミリータンパク質は、MOMPの重要な調節因子であり、それらの活性は、リンパ腫およびいくつかの固形腫瘍癌の発症に関連しており、かつ多くの癌において、化学療法に対する耐性の重要な媒介因子であると考えられる。

40

【0069】

BCL-2タンパク質は、生存促進 (抗アポトーシス) とアポトーシス促進メンバーとの間の別個のタンパク質-タンパク質相互作用によって調節される。これらの相互作用は、主にBH3 (BCL-2相同性ドメイン-3) 媒介性結合を通じて生じる。アポトーシス開始のシグナル伝達は、ミトコンドリアの最も上流の部分で生じ、かつ短いBH3-o

50

n l y B C L - 2 ファミリーメンバーの、それらが M O M P を活性化するかまたは感作させるミトコンドリアへの転位を生じる。活性化因子 B H 3 - o n l y タンパク質、B I M および B i d は、エフェクター、アポトーシス促進性タンパク質 B a x および B a k に結合して直接活性化し、また抗アポトーシス性 B C L - 2 ファミリータンパク質、B C L - 2、M C L 1、B f l - 1、B C L - w および B C L - x L に結合して阻害もする。感作物質 B H 3 タンパク質、B a d、B i k、N O X A、H r k、B m f、および P u m a は、抗アポトーシス性 B C L - 2 ファミリータンパク質、B C L - 2、M C L 1、B f l - 1、B C L - w、および B C L - x L にのみ結合し、それによって、それらの抗アポトーシス性の機能をブロックする。理論によって束縛されることは望まないが、各々の感作物質タンパク質は、固有の特異性プロファイルを有する。例えば、N O X A (A および B) は、高い親和性で M C L 1 に結合し、B a d は、B C L - x L および B C L - 2 に結合するが、M C L 1 にはごく弱く結合し、および P u m a は、全ての 3 つの標的によく結合する。これらのタンパク質の抗アポトーシス性機能は、活性化因子 B H 3 タンパク質 B I M および B i d の封鎖である。感作物質ペプチドをこれらの活性化因子に置き換えることで、B a x / B a k 媒介性のアポトーシス性の方向付けを生じる。これらの相互作用は、種々の転帰を有し得、これには限定するものではないが、ホメオスターシス、細胞死、アポトーシスに対する感作、およびアポトーシスの遮断が挙げられる。

10

【0070】

アポトーシス性シグナル伝達がブロックされる癌細胞の決定的な特徴は、ミトコンドリア表面での B H 3 - o n l y 活性化因子タンパク質の蓄積であり、これらのタンパク質の結果は、抗アポトーシス性タンパク質によって封鎖される。それらのエフェクター標的タンパク質に対するこの蓄積および近接性は、「B H 3 プライミング」状態での B C L - 2 ファミリータンパク質の拮抗作用に対する感度の増大を説明する。

20

【0071】

いくつかの実施形態では、N O X A (A または B) に対する高いアポトーシス性応答を生じる細胞は、M C L 1 プライミングされるが、ペプチド B a d に対する高い応答によって、B C L - x L または B C L - 2 が、アポトーシスをブロックすることが示される。いくつかの実施形態では、P u m a は、p a n - B C L - 2 ファミリープライミングを反映する。このように、M C L 1 もしくは B C L - x L のいずれか、または両方のタンパク質に、またはいくつかの B C L - 2 ファミリーのメンバーに依存する細胞は容易に識別されて、それに合わせて適切な処置が適宜調整され得る。これらのペプチドに対するミトコンドリアの反応の区別は、M C L 1 または B C L - x L のいずれかが影響した内因性のシグナル伝達へ収束する経路を通じて機能することが公知である治療の使用をガイドする。B C L - 2 阻害性または M C L 1 阻害性化合物の使用がこのような場合に示され得る。いくつかの実施形態では、本発明の方法はまた、M C L 1 または B C L - x L の上流を標的する治療を示すかまたは禁忌を示す。

30

【0072】

B H 3 プロファイリングアッセイは、癌細胞がプライミング状態であるとき、ならびにプライミングが生じ、およびこれが予測値を有する構成を特定する。

(例示的な臨床学的因子および追加のバイオマーカー)

40

いくつかの実施形態では、本発明は、臨床学的因子の評価を含む。いくつかの実施形態では、本発明は、患者の応答を評価するために、B H 3 プロファイリングおよび／または臨床学的因子の評価を含む。いくつかの実施形態では、B H 3 プロファイリング研究と組み合わせて患者の応答情報を提供する臨床学的因子が、アポトーシスと関連しない場合もある。いくつかの実施形態では、臨床学的因子は、アポトーシスの影響を受けない。一実施形態では、臨床学的因子は、年齢、細胞遺伝学的状態、パフォーマンス、組織学的サブクラス (h i s t o l o g i c a l s u b c l a s s)、性別、および疾患ステージのうちの 1 つ以上である。一実施形態では、この臨床学的因子は表 3 に示す。

【0073】

一実施形態では、上記臨床学的因子は年齢である。一実施形態では、患者の年齢プロフ

50

ファイルは、約10歳超、または約20歳超、または約30歳超、または約40歳超、または約50歳超、または約60歳超、または約70歳超、または約80歳超として分類される。

【0074】

一実施形態では、上記臨床学的因子は細胞遺伝学的状態である。ウィルムス腫瘍および網膜芽細胞腫などのいくつかの癌では、例えば、遺伝子欠失または不活性化は、腫瘍抑制因子に関連する染色体領域が通常欠失または変異するので、癌の進行の開始に関与する。例えば、欠失、逆位、および転座は通常、グリオーマ、非小細胞肺癌、白血病、および黒色腫では染色体領域9p21で検出される。理論に束縛されるものではないが、これらの染色体の変化によって、腫瘍抑制因子であるサイクリン依存性キナーゼ阻害因子2Aを不活性化させる場合もある。特定の遺伝子のこれらの欠失に加えて、染色体の大部分も欠損され得る。例えば、染色体1pおよび16qは通常、固形腫瘍細胞において欠損している。遺伝子重複および遺伝子コピー数の増加もまた癌に寄与し得、転写解析またはコピー数変化アレイで検出できる。例えば、染色体領域12q13-q14は、多くの肉腫において増幅されている。この染色体領域は、p53と呼ばれる腫瘍抑制因子と結合すると知られている、MDM2と呼ばれる結合タンパク質をコードする。MDM2が増幅されると、p53が細胞増殖を調節しようとするのを妨げ、腫瘍を形成させる場合がある。さらに、ある種の乳癌では、ヒト上皮成長因子受容体2をコードするERBB2遺伝子の過剰発現およびコピー数増加に関連する。また、染色体1qおよび3qなどの染色体数の増加も、癌発症リスクの増加と関連する。

【0075】

細胞遺伝学的状態は、当該技術分野において公知の様々な方法で測定することができる。例えば、FISH、従来の核型分析、および仮想核型分析（例えば、比較ゲノムハイブリダイゼーションアレイ、CGHおよび一塩基多型アレイ）を使用してもよい。例えば、FISHを使用して特定の遺伝子座における染色体再構成を評価してよく、これらの現象は疾患リスクの状態に関連する。いくつかの実施形態では、細胞遺伝学的状態は、限定するものではないが、Southwest Oncology Group (SWOG)、Medical Research Council (MRC)、およびCancer and Leukemia Group B (CALGB)を含む分類システムで決定されたとおり、好ましい、中間、または好ましくないのいずれかである。

【0076】

一実施形態では、臨床学的因子はパフォーマンスである。パフォーマンスステータス (performance status) は、患者のパフォーマンスステータスをスコア付けする、当技術分野において公知である任意のシステムおよび方法を用いて定量化できる。多くの場合、測定を使用して、患者が化学療法、投与量調節の調節を受けることができるか否かを決定し、緩和ケアの強度を決定する。カルノフスキースコアおよびズブロードスコアを含む、様々なスコアリングシステムがある。類似のスコアリングシステムとしては、機能の全体的評価 (Global Assessment of Functioning, GAF) スコアが挙げられ、これは精神医学の診断と統計マニュアル (Diagnostic and Statistical Manual, DSM) の第5軸として組み込まれている。高いパフォーマンスステータス（例えば、カルノフスキースコアリングシステムを使用して、少なくとも80%、または少なくとも70%）では、疾患状態の進行を妨げ、かつ化学療法および／または放射線治療を受ける患者の能力を向上させる処置を示し得る。例えば、これらの実施形態では、患者は歩行可能かつ自己管理できる。他の実施形態では、評価は、低いパフォーマンスステータス（例えば、カルノフスキースコアリングシステムを使用して、50%未満、30%未満、または20%未満）の患者が、従来の放射線療法および／または化学療法を許容できることを示している。これらの実施形態では、患者はほとんどベッドまたは椅子で過ごし、自己管理すら不可能である。

【0077】

カルノフスキースコアは100から0までで、100が「完全に」健康、0は死である

。スコアは、10間隔にて使用してよく：100%は正常、疾患の訴えはなく、徴候もない；90%は正常活動が可能だが、わずかに疾患の症状または徴候がある；80%は、正常活動であるがいくつか困難を伴い、いくつか症状または徴候がある；70%は、自己管理できるが正常活動または労働ができない；60%は時々介助が必要になるが、個人的に必要な活動はほとんどできる；50%は、多くの場合介助が必要であり、頻繁に診療が必要である；40%は、障害があり特別な治療および介助が必要である；30%は、高度障害があり入院が必要であるが死の危険性はない；20%は、非常に重篤で緊急入院が必要であり、介護または治療が必要である；ならびに10%は、瀕死の状態、致死性疾患プロセスが急激に進行する。

【0078】

10

パフォーマンスステータスのズブロード（Zubrod）スコアリングシステムは以下を含む：0、十分に活動的、制限なく発病前と同等に生活できる；1、身体的に激しい活動には制限があるが、歩行可能で軽労働または座業、例えば軽い家事、事務作業の労働を行うことができる；2、歩行可能ですべての自己管理ができるが、覚醒時間中の約50%超で労働活動ができない；3、限定された自己管理だけ可能であり、覚醒時間中の50%超をベッドまたは椅子で過ごす；4、完全に障害があり、自己管理が全くできず、終日ベッドまたは椅子で過ごす；5、死亡。

【0079】

一実施形態では、臨床学的因子は組織学的サブクラス（histological subclass）である。いくつかの実施形態では、腫瘍の組織学的サンプルは、Elston&Ellis, Histopathology 1991, 19:403-10に従ってグレード付けし、その内容が全体として本明細書に参考として組み込まれる。

20

【0080】

一実施形態では、臨床学的因子は性別である。一実施形態では、性別は男性である。別の実施形態では、性別は女性である。

【0081】

一実施形態では、臨床学的因子は疾患ステージである。非限定的例として、全体的なステージの分類を使用すると、ステージIの癌は、体内の1か所に限局している；ステージIIの癌は、局所的に進行していて、ステージIIIの癌も同様である。癌が、ステージIIまたはステージIIIとして示されるか否かは、癌の特定のタイプに依存し得る。一つの非限定的例のホジキン病では、ステージIIは、横隔膜の片側にのみ浸潤されたリンパ節を示すが、ステージIIIでは、横隔膜の上下に浸潤されたリンパ節を示す。従って、ステージIIおよびIIIの特定基準は、診断によって異なる。ステージIVの癌は、多くの場合転移しているか、またはその他の器官もしくは全身へと広がっている。

30

【0082】

いくつかの実施形態では、臨床学的因子は、血液疾患に対するフランスーアメリカイギリス（FAB）分類システムである（例えば、骨髄細胞形態異常（dysmyelopoiesis）の存在、ならびに骨髄芽球および赤芽球の定量を示す）。一実施形態では、急性リンパ芽球性白血病のFABは、L1-L3であり、または急性骨髄性白血病のFABは、M0-M7である。

40

【0083】

別の実施形態では、この方法は、突然変異状態、一塩基多型、定常状態のタンパク質レベル、および動的タンパク質レベルから選択される追加バイオマーカーの測定を更に含む。別の実施形態では、この方法は、患者における臨床反応を予測することを更に含む。別の実施形態では、臨床反応は、約1年、約2年、約3年、または約5年の無増悪生存／無再発生存である。

【0084】

年齢プロファイルおよびパフォーマンスステータスなどの様々な臨床学的因子が、同定されてきた。限定するものではないが、遺伝子MLL、AML/ETO、Flt3-ITD、NPM1（NPMc+）、CEBPα、IDH1、IDH2、RUNX1、RAS、

50

およびWT 1の突然変異、ならびにエピジェネティック修飾遺伝子TET 2およびASXLの突然変異、ならびに細胞シグナル伝達タンパク質プロファイルの変化を含む、細胞遺伝学および分子事象などの、診断の多数の静的測定もまた利用されている。

【0085】

いくつかの実施形態では、予防的方法は、本明細書に記載される方法によってガイドされて、癌に罹患している可能性が高い患者に対する処置を施すステップを包含する。いくつかの実施形態では、被験体は、その被験体が、ある癌について高いリスク、ある癌に対する遺伝的素因（例えば、遺伝的なリスクファクター）、癌の既往のエピソード（例えば、新しい癌および／または再発）、癌の家族歴、癌誘発剤（例えば、環境的因子）に対する暴露、および薬理ゲノミクス情報（薬物動態、薬力学的または治療の有効性プロファイルに対する遺伝子型の影響）のうちの1つ以上によって特徴付けられる場合、癌に罹患している可能性が高い。

10

【0086】

いくつかの実施形態では、被験体は、その被験体が、ある癌について高いリスクによって特徴付けられる場合、癌に罹患している可能性が高い。いくつかの実施形態では、被験体は、その被験体が、ある癌に対する遺伝的素因によって特徴付けられる場合、癌に罹患している可能性が高い。いくつかの実施形態では、ある癌に対する遺伝的素因は、当該分野で公知のような遺伝的臨床学的因子である。このような臨床学的因子としては、例えば、少なくとも結腸、子宮、小腸、胃、尿路の癌についてHNPCC、MLH1、MSH2、MSH6、PMS1、PMS2が挙げられる。いくつかの実施形態では、被験体は、その被験体が、ある癌の既往のエピソードで特徴付けられる場合、癌に罹患している可能性が高い。いくつかの実施形態では、被験体は、癌の1、または2、または3、または4、または5、または6つの既往のエピソードに罹患している。いくつかの実施形態では、被験体は、その被験体が、癌の家族歴によって特徴付けられる場合、癌に罹患している可能性が高い。いくつかの実施形態では、親および／または祖父母および／または兄弟姉妹および／または叔母／叔父および／または大叔母／大叔父および／またはいとこが、ある癌に罹患したか、または罹患している。いくつかの実施形態では、被験体は、その被験体が、癌誘発剤（例えば、環境剤）に対する暴露によって特徴付けられる場合、癌に罹患している可能性が高い。例えば、強力な日光に対する皮膚暴露は、皮膚癌の臨床学的因子である。例えば、喫煙は、肺、口腔、喉頭、膀胱、腎臓およびいくつかの他の臓器の癌の臨床学的因子である。

20

30

【0087】

さらに、いくつかの実施形態では、以下の臨床学的因子のいずれか1つが、本明細書に記載の方法で有用であり得る：性別；遺伝的リスクファクター；家族歴；個人の病歴；人種および民族；特定の組織の特徴；種々の良性状態（例えば、非増殖性病変）；以前の胸部照射；発癌物質の暴露など。

【0088】

さらになお、いくつかの実施形態では、以下の臨床学的因子のいずれか1つが、本明細書に記載の方法で有用であり得る：1つ以上の細胞表面マーカーCD33、細胞表面マーカーCD34、FLT3突然変異状態、p53突然変異状態、MEK-1キナーゼのリン酸化状態、およびBCL-2の70位でのセリンのリン酸化。

40

【0089】

いくつかの実施形態では、臨床学的因子は、限定するものではないが、インターロイキン6を含むサイトカインの発現レベルである。いくつかの実施形態では、インターロイキン6レベルは、患者の劣った予後予測または患者の良好な予後予測を含む、MM患者における応答の確率と相関する。

【0090】

特定の実施形態では、応答の確率は、プライミングパーセントを評価することによって決定する。特定の実施形態では、プライミングは以下の式で規定される：

【数 3】

$$\% \text{プライミング} = \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_1 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_1 + \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_2 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_2 + \dots / (n \text{ ペプチド})$$

式中、AUCは、曲線下面積またはシグナル強度のいずれかを含む；DMSOは、ベースラインの陰性対照を含む；CCCP（カルボニルシアニドm-クロロフェニルヒドラゾン）は、ミトコンドリア中の電子伝達鎖中の電子伝達体の正常な活性中に形成されるプロトン勾配の脱共役剤として働くことによってタンパク質合成のエフェクターを含み、ベースラインの陽性対照を含む。いくつかの実施形態では、曲線下面積は、均一性時間分解蛍光測定（HTRF）によって確立される。いくつかの実施形態では、この時間は、約0～約300分～約0～約30分のウインドウにまたがって生じる。いくつかの実施形態では、曲線下面積は、中央蛍光強度（MFI）統計値を測定することによって、蛍光活性化細胞選別装置（FACS）で確立される。いくつかの実施形態では、シグナル強度は、約5分～約300分の間で生じる一時点測定である。

【0091】

別の実施形態では、この方法は、BH3プロファイリングアッセイ、および1つ以上の細胞表面マーカーCD33、細胞表面マーカーCD34、FLT3突然変異状態、p53突然変異状態、MEK-1キナーゼのリン酸化状態、およびBCL-2の70位のセリンのリン酸化を測定するステップ；ならびにシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンを用いてAML患者を処置することにおける有効性に対して関連付けるステップを包含する。

【0092】

別の実施形態では、この方法は、BH3プロファイリングアッセイ、および1つ以上の細胞表面マーカーCD33、細胞表面マーカーCD34、FLT3突然変異状態、p53突然変異状態、MEK-1キナーゼのリン酸化状態、およびBCL-2の70位のセリンのリン酸化を測定するステップ；ならびに化学療法を用いてMM患者を処置することにおける有効性に対して関連付けるステップを包含する。

【0093】

なお別の実施形態では、癌は、AMLおよび／またはMMであり、臨床学的因子は、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況であるか；あるいは癌はAMLおよび／またはMMであり、かつ癌処置はシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンであるか、あるいは癌処置はシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンであり、かつ臨床学的因子は、年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況であるか、あるいは癌処置はシタラビンまたはシタラビンベースの化学療法および／またはアザシチジンであり；癌はAMLおよび／またはMMであり；かつ臨床学的因子は年齢プロファイルおよび／または細胞遺伝学的状況である。

【0094】

本発明はまた、腫瘍または癌細胞検体の評価を単純化し得るキットも提供する。本発明の典型的なキットは、例えばBH3ペプチドを検出するための1つ以上の薬剤を含む種々の試薬を備える。キットはまた、検出のための1つ以上の試薬を含んでもよく、これには、例えば、抗体のような、種々の検出方法で有用な試薬を含む。このキットはさらに、ウェルのあるプレート、シリンジなどを含む、評価に必要な材料を備えてもよい。このキットはさらに、記載される試薬の使用を指示する表示または印刷された説明書を備えてもよい。このキットはさらに、試験すべき処置も備えてもよい。

【0095】

「約」という用語は、言及する参照の数的表示と組み合わせて用いられる場合、その言及される数的表示プラスマイナス最大10%までの言及される数的表示を意味する。例えば、「約50」という語句は、45～55の範囲をカバーする。

【0096】

本明細書において用いる場合、「含む、包含する、備える(include)」という用語、およびその変形は、非限定的であるものとし、その結果、あるリストの項目の記載はその技術の材料、構成要素、デバイスおよび方法においても有用であり得る他類似項目の除外を意図しない。同様に、「し得る、できる、してもよい、場合がある(can)」および「し得る、してもよい、する場合がある(may)」という用語、およびそれらの変形は、非限定であることを意図し、その結果、ある実施形態が特定の要素または特徴を含むことが「できる(can)」または含んでも「よい(may)」という記載は、これらの要素または特徴を含まない本発明の技術のその他の実施形態を排除するものではない。含む・備える(including)、含む・備える(containing)、または有する(having)などの用語の同義語であるオープンエンド用語の「含む、含んでいる、備えている、包含している(comprising)」を、本明細書で使用して本発明を記載および請求するが、本発明の技術、またはその実施形態は、記載成分「からなる(consisting of)」または記載成分「から本質的になる(consisting essentially of)」などのさらに限定する用語を使って、代替的に記載してもよい。

【0097】

特に断らなければ、本明細書の全ての技術および科学用語は、本発明が属する当業者により通常理解されているものと同じ意味を有する。本発明を実施または試験する上で本明細書に記載されるものと同様または同等のいかなる方法および材料も使用することができるが、好適な方法および材料を本明細書に記載している。引用されている全ての出版物、特許、および特許公報は、全ての目的のためにその全体が本明細書に参照によって援用される。

【0098】

本発明はさらに、以下の非限定的な実施形態によって図示される。

実施例

【0099】

実施例1：AML患者ベースのコホートを用いる研究

本発明者らは、全部で63の末梢血および骨髓サンプルを、プロトコールNCT00795002(J0856)、NCT00407966(J0669)、またはNCT01349972(J1101)に登録したAMLまたはMDSを有すると新たに診断された患者から入手した。患者を、FLAM：アルボシジブ(Flavopiridol)、Ara-Cおよびミトキサントロン(n=54)または7+3(Ara-Cおよびダウノルビシン、n=9)で処理した。完全寛解は、すべての細胞株のうち5%未満という正常な成熟の骨髓芽球、ANC $\geq$ 1000/ μ Lおよび血小板数 $\geq$ 100,000/ μ L、末梢血中に芽球がないこと、骨髓に白血病細胞がないこと、疾患に関連する細胞遺伝学の消失、ならびに以前の髄外疾患の消失によって特徴づけられる。全体的な患者特徴は、BH3プロファイリングが完了し、表1にまとめられた後に、盲検による外部レビューで得られ、これには患者年齢、細胞遺伝学的リスク、FLT-3変異、NPM1変異、MDS/骨髓障害病歴、以前の化学療法歴、BM芽球%、診断時のWBC数、および治療に対する応答が挙げられる。個々の患者の特徴を表2に列挙する。

【0100】

ミトコンドリアのプロファイリング

要するに、凍結し、抽出した白血球サンプルを、急速に解凍し、細胞生存度を、トリパンブルー排除(Trypan Blue exclusion)によって決定した。細胞を、FACS緩衝液(2%FBS含有1 $\times$ PBS)中で洗浄し、蛍光標識したCD45、CD3、およびCD20モノクローナル抗体を用いて免疫表現した。次いで、細胞をNe

Newmeyer 緩衝液（10 mM のトレハロース、10 mM の HEPES、80 mM の KCl、20 μ M の EGTA、20 μ M の EDTA、5 mM の スクシネート、pH 7.4）中に障害ステップのために再懸濁した。BH3 ペプチドを、Newmeyer 緩衝液中で希釈して、ワーキング溶液を作製し、最終濃度は：BIM（100 μ M）、BIM（0.1 μ M）、NOXA（100 μ M）、Puma（10 μ M）、HRK（100 μ M）、BAD（100 μ M）、および BH3（1.0 μ M）。DMSO および CCCP は、陰性および陽性のペプチド対照として用いた。ジギトニンおよびオリゴマイシンを個々の FACS チューブに添加し、続いて BH3 ペプチドを添加した。次いで細胞を FACS チューブに加えて、細胞透過処理、ペプチドまたは化合物の送達、およびミトコンドリア脱分極が生じるように、室温で 2 時間 15 分間インキュベートした。インキュベーション後、JC-1 色素を、Newmeyer 緩衝液中で調製して、処置した細胞に直接添加した。ペプチドでも化合物でも処置されていない細胞の追加のチューブをヨウ化プロピジウム（PI）で染色して、確実に細胞がジギトニンで効率的に透過処理されるようにした。JC-1 とのインキュベーションの 45 分後、細胞を 3 つのレーザー BD FACSCanto II 上で解析した。AML 芽球を、以下の 4 つのパラメーターに基づいてゲーティングした：1）透過処理（PI 染色によって決定）、2）SSC に基づいた一重項識別、3）CD45 dim および CD3/CD20 陰性、ならびに 4）SSC 低。次いで、ゲーティングされた芽球集団の中央 JC-1 レッド（red）蛍光を用いて、DMSO（陰性）および CCCP（陽性）対照と比較して脱分極 % を算出した。

10

【0101】

20

細胞遺伝学的リスク状態決定

個々の患者の細胞遺伝学的危険の分類（有益、中間、および有害）を、癌および白血病 B 群（Cancer and Leukemia Group B）（CALGB）ガイドラインから決定した：有益（Favorable）= inv16、t（8；21）、t（15；17）中間（intermediate）= 二倍体、不都合（Unfavorable）= -5、-7、+8、t（6；9）、11q、PH1+、 ≥ 3 つの無関係の細胞遺伝学的異常など。

【0102】

統計学的解析：各々のペプチドに関して、プライミングパーセンテージは、以下の式を用いて算出し、この式は完全に非プライミングとして DMSO 陰性対照、および 100 % プライミングの参照として CCCP に基づいてプライミングを決定する：

30

【数 4】

$$\% \text{プライミング} = \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_1 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_1 + \left[100 \times \left(\frac{\text{DMSO AUC} - \text{ペプチド}_2 \text{ AUC}}{\text{DMSO AUC} - \text{CCCP}_{\text{avg}} \text{ AUC}} \right) \right] \text{ペプチド}_2 + \dots / (n \text{ ペプチド})$$

【0103】

解析のために、CR に分類されなかった全ての患者を、非応答者として処理した [微小残存病変（MRD）、部分寛解（PR）、および TF（処置失敗）]。スチューデントの t 検定、マン・ホイットニー順位和ノンパラメトリック検定、多変量ロジスティック回帰、および ROC 曲線解析、BH3 ペプチド（および他の腫瘍特徴づけ、例えば、細胞遺伝学など）と応答との間、を、GraphPad Prism Version 5.04 および MedCalc Version 14.8.1. を用いて算出した。

40

FLAM プロトコールに登録した AML 患者サンプルのミトコンドリアプロファイリング

【0104】

全部で 63 例の患者サンプルを、受け取って、処理し、それらのサンプルを表 1 および表 2 にまとめる。完全なプロファイルは、サンプルのうち 43 から得て、追加の九（9）

50

つを、プロファイルのサブセットで処理した（アッセイ全体を行うには細胞数が不十分なため）。残りの11個のサンプルは、シグナル対ノイズ比が劣ること（細胞はアッセイ前にすでにアポトーシスであった）、または不十分な細胞数のいずれかのせいで、BH3プロファイリングを決定するには不十分な質であった。全てのその後の解析は、BH3プロファイリングについて首尾よく処理されたサンプルでのみ行った（全部でn = 52）。

【0105】

患者から得た臨床的変数を、応答と比較して、もしあればこれらの因子のうちのどれが、患者が治療に反応するかしないかに影響したかを決定した（表3）。CRとの有意な関連を有することが見いだされた唯一の変数は、細胞遺伝学的リスクファクターであって、ここで有害な分類の患者は、治療に応答する可能性が低い。WBC、MDSの病歴および10
どのプロトコールに従ったかは、全てがほぼ有意であって、WBC値が高いこと、およびMDSの病歴は、治療に対する応答と関連している。プロトコールJ0856は、J1101（25のうち8）よりも高いCR率（25患者のうち13のCR）、プロトコールJ0669は、首尾よくBH3プロファイリングされた2例の患者でのみ示された。年齢、BM芽球パーセンテージ、およびNPM/FLT-3突然変異状態は、このデータセットにおける応答と有意に関連しなかった。

【0106】

全てのBH3の個々の患者データを表4にまとめており、芽球細胞中でミトコンドリア脱分極を誘導する（すなわち、「プライムする」）各々のBH3ペプチドの能力を詳述する。20
応答の全てを見たところ、BIM 100 μ Mペプチドは、最高の中央脱分極（99.2%プライミング）を生じ、NOXAは、全体的な脱分極が最低であった（16.0%プライミング）。次いで、単一ペプチドBE3プロファイルを用いて、処置に応答しなかった（NR）患者に対して、処置に対して応答した患者（CR）と比較した。単一ペプチドは、応答と有意に関連しなかった；しかし、BADペプチドは、0.09というp値で有意差に達し、ただし、0.65というAUC値しか有さなかった。これによって、全体的な患者セットを用いて、個々のBH3ペプチドが、FLAM処置に応答した患者を特定するのに十分ではないことが示される。

【0107】

BE3ペプチドを、他のBH3ペプチドプロファイルを用い、臨床的変数を用いて多変量解析で試験した（表8）。この解析によって、BIMの100 μ MプラスBADプラス30
PUMAの間の強力に有意な関連が、応答に関連して存在しており、p値は0.009であり、ROCのAUCは0.732であることが明らかになる（図1）。これらの3つのペプチドを細胞遺伝学的なリスクカテゴリーと組み合わせた場合、p値は、0.0001になり、AUCは0.84である。解析に対してMDS病歴をさらに追加して、0.0001というp値の有意差および0.85というAUCをさらに得る。細胞遺伝学的リスクカテゴリー単独では、0.60というAUC値が得られるのみである（細胞遺伝学的リスクプラスMDS病歴で、0.72というAUCを得る）。これによって、解析に対するBH3ペプチドプライミングの追加は、FLAMに対して応答する患者を特定する能力を大きく増大することが示される。細胞遺伝学的リスクカテゴリーおよびMDS病歴を伴うBH3ペプチドデータをを用いる理想的なカットオフ（ヨーデン係数—最高の特異性プラス感40
度）では、このアッセイは、この研究での処置に応答した患者を特定するのに89.5%鋭敏でおよび76%特異的である。これによって、これらの3つのペプチドからのBH3ペプチドプライミングデータを、臨床的情報とともに用いることは、FLAMレジメンでの処置について予測値に有用であり得ることが示される。

【0108】

この研究の経過の間、本発明者らはまた、BH3プライミングにおいてある役割を果たし得る他の因子も検査した。白血病細胞の供給源（すなわち、末梢血または骨髄）は、異なる集団の細胞を潜在的に単離し得るので、本発明者らは、患者の骨髄から得られたサンプルのみで解析を行った。表8は、各々のBH3ペプチドと応答との関連を骨髄サンプル中でのみ示す。このサンプルサブセットでは、NOXAプライミングは、処置に応答した50

患者では、処置に応答しなかった患者と比較して有意に ($p = 0.006$) 高く (それぞれ、44.5%および5.2%)、0.805というAUC値を有する (図2および図3)。他の単一のペプチドで、骨髓サンプル単独における応答と有意な関連を示したものはなかった。10.78%より高いNOXAプライミングのカットオフ値では、試験は、92%鋭敏で、67%特異的である。アルゴリズムに細胞遺伝学的リスクファクターおよびMDS病歴を加えることで、NOXAプライミングは、処置に対する応答を予測するのにこれらの変数に加わり、0.92というAUC値を生じ、理想的なカットオフ値では、92%の感度および80%の特異性である (表8および図3)。

【0109】

本研究の結果、BH3プロファイリングは、FLAM処置に応答する可能性が高い患者を特定するのに有用であることが確立される。データセット全体を見たところ、個々のBH3ペプチドは、応答と関連しなかったが、いくつかのペプチド (BIM、BAD、およびPUMA) の組み合わせは、FLAM応答との強力な関連を示す。これらのいくつかのペプチドによって、この研究での骨髓および末梢血サンプルの両方で応答との関連が示された。さらに、これらのデータは、公知の患者リスクファクターに対して相加的であり、これによって本発明者らは、患者応答を予測する単一の計測値へ患者のMDS病歴とともに細胞遺伝学的状況を組み込むアルゴリズムを特定することが可能になった。

【0110】

この研究の別の興味深い知見は、NOXAシグナル伝達が、データセット全体でのFLAM応答と有意に関連することは見いだされなかったということである。しかし、骨髓サンプルだけの検査によって応答とのきわめて強力な関連が示された。AML腫瘍細胞のニッチは、骨髓であるので、骨髓と比較して末梢血中に異なるBH3プロファイルがあることは驚くべきことではない。なぜなら芽球の表現型マーカーは、骨髓と比較して末梢血中では異なる場合があるからである (1、2)。さらに、骨髓間質は、直接の細胞接触を通じて、および骨髓中に存在する可溶性の因子を通じて種々の治療に対して、AML細胞に対する耐性を付与することが以前に示されている (3)。骨髓吸引は潜在的にAML芽球、可溶性因子および潜在的には実際の間質細胞を収集するので、骨髓中のBH3プライミングアッセイは、それらの正常な環境コンテキストにおける白血病細胞のさらに直接的な試験に相当し得る。機能的な相違が、FLT3キナーゼインヒビター単独療法を用いて、AMLで以前に観察されており、循環中の芽球は治療によって末梢血から浄化されるが、骨髓芽球は影響が最小限である (4)。NOXA値は、同様の機能的な相違を検出することであり得、ここではNOXAでのプライミングは、MCL-1置き換えを生じ、アポトーシスを引き起こし、FLAMに対して応答する可能性が高い癌が特定される。

【0111】

本研究で特定した両方のアルゴリズム、NOXAおよび [BAD+BIM100+PUMA] プライミングは、MCL-1プライミングされる癌細胞を特定することであり得る。NOXAに対して高いアポトーシス応答を生じる細胞は、MCL-1プライミングされると言われるが、ペプチドBadに対する高い応答によって、BCL-xLまたはBCL-2が、アポトーシス性のブロックを提供することが示される。PUMAは、pan-BCL-2ファミリープライミングを反映し得、[BAD+BIM100+PUMA] のアルゴリズムは正確にPUMA-BAD-BIM100であり、そのため事実上；これらの読み取りの両方とも、MCL-1のプライミング状態を効果的に測定することであり得、最終的には、FLAMレジメンに対して応答する患者は、MCL-1依存性であり得る。この研究からのFLAMに対する応答の確率を決定するための1つのアルゴリズムは、応答者である可能性が高いとして特定の閾値を超える患者を特定することであり、次いで、この閾値を使用して、試験について感度、特異性、陽性予測値、および陰性予測値を特徴付ける。患者またはサンプル特異的なコンテキストについて説明するための臨床的な調節変数の包含は、トレーニングデータセットにあてはまるロジスティック回帰モデルの使用を通じて行い、次いで確証してもよい。次いで、そのモデルを使用して、確率を、ロジスティックモデルによるシグモイド関数を用いて算出してもよい；これらの可能性を、

10

20

30

40

50

閾値を特定するために用いて、特異性、感度、陽性予測値、および陰性予測値に関してこれらのカットオフ値で試験の特徴付けを確立してもよい。任意の患者またはサンプルの特徴付けおよびBH3プロファイリング結果を考慮する、意思決定の樹状図（決定木）も用いて、応答の確率を確立してもよい。他のアルゴリズムもまた使用して、限定するものではないが、ランダムフォレスト、ナチュラネットワークおよびブースティングを含む患者およびサンプルの特徴を含む、予測アルゴリズムを開発してもよい。

【0112】

実施例2：伝統的な7+3処置ストラテジーとFLAMレジメンとの間を識別するアルゴリズム

AML患者の骨髄または末梢血におけるBIM 0.1プライミングは、7+3レジメン（シタラビンプラスアントラサイクリン）に対する応答と相関した；Pierce et al. 「BH3 Profiling Discriminates Response to Cytarabine-based Treatment of Acute Myelogenous Leukemia」Molecular Cancer Therapeutics. を参照のこと。上記で考察したとおりNOXA骨髄プライミングは、FLAM（アルボシジブ、ara-C、ミトキサントロン）レジメンに対する応答と相関する。本発明者らは、どのアルゴリズムが、FLAMまたは7+3のいずれがナイーブなAML患者を処置するために用いられるべきかを識別するであろうかを検討した。

【0113】

BIM 0.1は、0.80というAUC値、ならびにそれぞれ64.3%および100%という感度および特異性で（下の左側）BMサンプルサブセットにおける7+3に対する応答を予測する。しかし、これらの同じサンプル中では、NOXAは、0.54というAUC値、ならびにそれぞれ42.9%および100%という感度および特異性を有し、本質的に予測力なしである。図5を参照のこと（FLAMで処置した場合、0.81というAUC、ならびに92%/67%の感度/特異性と比較）。これによって、NOXAプライミングは、前処置のAML患者から採取した骨髄細胞中で検出した場合、FLAMに対する応答とは相関するが、7+3とは相関しないこと、ならびに処置前に試験したAML患者の末梢血からのBIM 0.1値が7+3に対する応答とは相関するが、FLAMとは相関しないことが示される。

【0114】

BIM 0.1プライミングと比較したNOXAプライミングのさらなる検査によって、ある薬剤に応答する可能性は低い、別の薬剤に応答する可能性が高いことを示す、プライミング値を有する患者のサブクラスがあることが明らかになる。図6は、もとの7+3研究由来の骨髄サンプル由来のBIM 0.1プライミングに対するNOXAプライミングを図示する（n=23）。図6におけるデータによって、患者の末梢血（PB）サンプル中のBIM 0.1プライミングに対して骨髄サンプル中のNOXAプライミングを比較することによって、前処理AML患者において癌治療ストラテジーの間を選択する方法が提供される。BM NOXAが>10.8%であり、かつBM/PB BIM 0.1が<35%であるならば、その患者は、FLAMの候補である。BM NOXAが<10.8%であり、かつBM/PB BIM 0.1>15%であるならば、患者は、7+3療法の候補である。患者がまた7+3療法の候補でもある場合、BM NOXA<10.8%およびBM/PB BIM 0.1>35%である。最終的に、BM NOXA<10.8%であり、かつBM/PB BIM 0.1が<15%である場合、その患者はFLAMまたは7+3療法のいずれについても候補ではない。

【0115】

本発明者らはまた、NOXAプライミング単独で、FLAM処置に応答するAML患者生存を予測することも確認した。図10B。サンプル中のカットオフとして40%のNOXAプライミングを用いて、40%以上のNOXAプライミングを有する患者は、完全寛解および生存を有する確率がかなり高い。このデータによって、FLAM処置に対するA

ML患者応答は、NOXAプライミングを用いて予測され得ると確認される。

【0116】

実施例3：標的化薬物クラス内のPraediCare Dx（商標）値有用性を特定するNOXA

本発明者らは、特定のミトコンドリアの値が、特定の処置に対する細胞応答と関連していることを示した。ミトコンドリアの値の有用性におけるバリエーションに対する細胞コンテキストの影響をさらに評価するために、本発明者らは、培養物中で増殖された癌細胞に対してMCL-1障害薬の活性を比較し、患者から収集した細胞中のミトコンドリアプロファイリング値の本発明者らの理解と比較した。本発明者らは、標的クラス内の2つの治療化合物の癌細胞応答の範囲内の重複が、ミトコンドリアプロファイリングにおける同じ値に関連することを確認した。ある場合には、本発明者らは、CDK9に対する一般的な活性を有する2つのCDK阻害性化合物、アルボシジブおよびディナシクリブを確認した。図7によって、NOXA値が、これらの化合物の各々に対する応答を予測することが、図7に述べられる癌細胞株にまたがってディナシクリブの場合に示されることが図示される。それらの細胞株におけるアルボシジブおよびディナシクリブに対する応答は、癌応答治療剤ポータル（cancer response therapeutics portal（www.broadinstitute.org/ctrp/））から得て、細胞を、得られたAUC（曲線下面積）値に基づいてこれらの化合物に対する応答として分類した。図7に示されるとおり、細胞株応答プロファイルにおける重複は著しく、相関係数は0.95である。

10

20

【0117】

これらのデータによって、CDK9に対する一般的な活性で化合物を阻害する多数のCDKについてのNOXAプライミング試験の有用性を確立する。

【0118】

実施例4：エキソビボコンテキストNOXA化合物

癌細胞株由来の公的に利用可能な治療薬応答データを使用して、NOXAバイオマーカーが重要であり得る追加の治療薬クラスを特定してもよい。この能力を検査するために、本発明者らは、例として低メチル化剤（HMA）に対する癌細胞応答を評価するためにNOXAプライミング値における有用性を検査した。本発明者らは、NOXAプライミングで決定された細胞中のMCL-1依存性が、これらのHMAに対する大きい感度を示したことを見出した。癌細胞株（n=33）を、FACS BH3プロファイリングアッセイ（Profiling Assay）（PraediCare Dx（商標）アッセイ）を使用してNOXAペプチドによるMCL-1依存性についてプロファイリングした。これらの細胞株におけるアザシチジンおよびデシタビンに対する応答は、癌応答治療剤ポータル（www.broadinstitute.org/ctrp/）から得て、細胞を、応答の閾値として、デシタビンについて40%の変位値およびアザシチジンについて12%の変位値を用いて得たAUC（曲線下面積）値によって、薬剤に対する応答に基づいてHMAに対する応答として分類した。順位和検定のp値は、2つの群の間で算出し、プロット上に提示する。まとめると、NOXAバイオマーカーを通じたMCL-1依存性が、HMAに対する応答について必要であり得ることが示される（図8）。

30

40

【0119】

実施例5：変位状態は、低メチル化剤および他の薬物に対するAML患者におけるプライミング状態および奏功率に影響する

薬物活性と完全に合致し、標的された治療の処置をガイドし得る標的タンパク質中には変異があり、再発および毒性についての疑問、ならびに最高の組み合わせの選択肢は、追加の測定を必要とし、まだ解答はない。開発では、標的化剤を、標的されている活性について選択する。変異プロファイルまたは遺伝子発現パターンによって直接説明できない、通常予想されない活性も存在する。

【0120】

白血病の分野では、種々の予後予測の遺伝的バイオマーカーが特定されており、これに

50

は以下が挙げられる：急性骨髄性白血病（AML）についてのFLT3、IDH、およびp53変異、ならびに慢性リンパ球性白血病（CLL）についてIGHV、BCL-6、BTK、およびp53変異。これらのバイオマーカーは一般には、概して治療に対する劣った転帰または有利な転帰のいずれかに関連する。CLL集団の小セグメントを例外として、これらの試験の予測値には、さらなる感度が必要であるため、治療選択をガイドするのに用いられていない。多くの共通の薬物の機構およびこれらの薬剤に対する患者の応答は、癌細胞がアポトーシス促進性のシグナル伝達に応答する能力に対して高頻度に依存する。薬物応答に関連する変異のコンテキストでさえ、応答に関して患者の間に変動があり、そのため癌のアポトーシスの素因の程度を測定することは重要である。

【0121】

低メチル化剤、デシタピンで処置した患者を検査した。これらの患者は、FLT3異常を含むいくつかの変異の特徴について以前に特徴づけられた。突然変異状態を用いるこれらのプロファイルの検査によって、アッセイの値とFLT3突然変異状態の組み合わせは、必須であったことが示された。なぜなら、FLT3変異を有するAML患者は、それらのミトコンドリアプロファイリングレベルにかかわらず、一般にはデシタピンに対して非応答性であることが見いだされたからである。しかし、未変異のFLT3を有する患者では、BIM(0.1)ペプチドは、応答と関連することが見出された(図11A)。さらに、デシタピン処置に対して応答したFLT3変異陰性患者は、応答しなかった患者と比較して、BH3模倣剤、BIM0.1に対して有意に高いミトコンドリア応答を示した($p=0.04$)。FLT3変異を有する患者は、一般に有意に高い($p=0.02$) BIM0.1プライミングを有した。これによって、BH3プロファイリングから生じる突然変異状態の組み合わせで、どの患者がデシタピンに対して高い正確性で十分応答するかを予測できることが示される。

【0122】

実施例6：MCL-1依存性を評価するための代替的方法

MCL-1依存性をさらに探査するために、本発明者らは、癌細胞におけるMCL-1依存性を決定するためにNOXA値の代替物としての特定のBH3模倣剤化合物の有用性を探索した。本発明者らのアプローチは、MCL1を選択的に標的する膜透過性のBH3模倣剤化合物に直接あてはめることであった。そうすることで、治療剤の標的活性を直接観察するという利点に加わる。図9は、NOXAによってプライミングされる細胞株が、PraediCare Dx(商標)フォーマットFACS BH3プロファイリングアッセイに従って、透過化処理された細胞に対して直接適用された、MCL-1選択性BH3模倣剤化合物に対して応答性であることを示す。

【0123】

当業者は、本明細書に具体的に記載される特定の実施形態に対する多数の等価物を慣用的以下の実験を用いて認識するか、または突き止めることが可能である。このような等価物は、以下の特許請求の範囲に包含されるものとする。

【0124】

引用文献

1. Rezaei, A., et al. 「Leukemia Markers Expression of Peripheral Blood Vs Bone Marrow Blasts Using Flow Cytometry.」 Med Sci Monit. 9. 8 (2003) : 359-362. 2.
2. Almarzooqi, S., et al. 「Comparison of Peripheral Blood versus Bone Marrow Blasts Immunophenotype in Pediatric Acute Leukemias.」 Ibnosina J Med BS 195-204.
3. Zeng, Z., et al. 「Targeting the Leukemia Microenvironment by CXCR4 Inhibition Overcomes Resistance to Kinase Inhibitors

and Chemotherapy in AML.」Blood 113. 24 (2009): 6215-6224.

4. Yang, X. 「Bone Marrow Stroma-mediated Resistance to FLT3 Inhibitors in FLT3-ITD AML Is Mediated by Persistent Activation of Extracellular Regulated Kinase.」Br J Haematol 164. 1 (2014): 61-72.

5. Mertens, D. & Stilgenbauer, S. Prognostic and predictive factors in patients with chronic lymphocytic leukemia: relevant in the era of novel treatment approaches? Journal of clinical oncology 32, 869-872, doi:10.1200/JCO.2013.53.8421 (2014).

6. Walter, R. B. et al. Effect of genetic profiling on prediction of therapeutic resistance and survival in adult acute myeloid leukemia. Leukemia 29, 2104-2107, doi:10.1038/leu.2015.76 (2015).

7. Bannister T, Koenig M, He Y, et al. ML311: A Small Molecule that Potently and Selectively Disrupts the Protein-Protein Interaction of Mcl-1 and Bim: A Probe for Studying Lymphoid Tumorigenesis. Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program. Bethesda (MD) 2010.

【0125】

【表1】

患者のまとめ

	陽性数／総数
患者数	63
年齢中央値	58
BM芽球％中央値	38
診断時のWBC数中央値	6020
有害細胞遺伝学	26／63
中間細胞遺伝学	34／63
有益な細胞遺伝学	3／63
FLT3変異	11／62
NPM1変異	10／37
MDS／骨髄障害病歴	25／63
以前の化学療法歴	7／63
FLAM処置	54／63
完全寛解	29／63

【0126】

患者の特徴

【表 2 - 1】

EIN	UP I	プロ コ ル	診断	供 源	給 年 齢	細胞遺 伝学リス ク	FLT-3	NPM1	MDS/ 骨髄障 害歴	以 前 の 化 学 療 法 歴	BM 芽 球 %	診 断 時 の WBC	処置	誘 導 に 対 する 応 答
577	13 56 6	J0669	AML	骨髄	59	INT	陰性	行わ ず	有り 得る	なし	25	9880	FLAM	CR
580	13 54 8	J0669	AML	骨髄	61	INT	陰性	行わ ず	なし	なし	20	1500	FLAM	CR
582	20 86 6	J0856	AML	血液	49	INT	陰性	行わ ず	なし	なし	6	2130	FLAM	CR
583	22 84 4	J0856	未知	血液	57	ADV	陰性	陰性	なし	あり	13	2530	FLAM	CR
584	20 34 5	J0856	未知	骨髄	54	INT	陰性	行わ ず	有り 得る	なし	79	8030	FLAM	CR
585	21 66 6	J0856	AML	血液	60	INT	陽性 (ITD)	陰性	なし	なし	48	3133 0	FLAM/IT 化学療法	CR
586	20 56 6	J0856	AML	骨髄	58	ADV	陽性 (ITD)	陽性	なし	なし	94	3918 0	FLAM	CR
587	21 84 5	J0856	AML	骨髄	49	FAV	陰性	陰性	なし	なし	91	7563 0	FLAM	CR
589	21 88 5	J0856	AML	骨髄	53	ADV	陰性	陰性	あり	あり	5	2640	FLAM	CR
591	22 22 8	J0856	AML	骨髄	67	ADV	陰性	行わ ず	あり	なし	58	890	FLAM	CR

10

20

【表 2 - 2】

EIN	UP I	プロ コ ル	診断	供 源	給 年 齢	細胞遺 伝学リス ク	FLT-3	NPM1	MDS/ 骨髄障 害歴	以 前 の 化 学 療 法 歴	BM 芽 球 %	診 断 時 の WBC	処置	誘 導 に 対 する 応 答
597	19 06 4	J0856	MDS	骨髄	64	INT	陰性	陰性	あり	あり	13	1070 0	FLAM	CR
598	21 90 5	J0856	AML	骨髄	59	INT	陽性 (ITD)	陰性	なし	なし	71	1039 00	FLAM	CR
599	20 72 5	J0856	AML	血液	52	ADV	陰性	行わ ず	あり	なし	12	3699 0	FLAM	CR
603	22 42 4	J0856	AML	骨髄	73	INT	陰性	行わ ず	あり	あり	83	1016 0	FLAM	CR
605	20 28 4	J0856	AML	血液	54	INT	陰性	陽性	なし	なし	74	4669 0	FLAM/IT 化学療法	CR
615	21 90 5	J1101	AML	血液	59	INT	陽性 (ITD)	陰性	なし	なし	71	1039 00	FLAM	CR
620	25 69	J1101	AML	骨髄	69	INT	陰性	陰性	あり	なし	56	4580	FLAM	CR
621	25 90	J1101	AML	血液	60	INT	陰性	陰性	なし	なし	10	2543 0	FLAM	CR
628	24 53	J1101	AML	血液	63	INT	陰性	陽性	あり	なし	6	9350	FLAM	CR
631	21 90	J1101	MDS	骨髄	37	INT	N/A	N/A	あり	なし	12	1640	FLAM	CR
634	25 26	J1101	AML	血液	57	INT	陰性	陽性	なし	なし		7134 0	FLAM	CR
636	25 39	J1101	AML	骨髄	48	INT	陰性	陰性	あり	なし	12	1720	FLAM	CR
638	26 71	J1101	AML	骨髄	62	INT	陰性	陰性	なし	なし	47	2600	7+3 Ara C + クリノリン	CR

30

40

【表 2 - 3】

EIN	UP I	ブ ロ コ ル	診 断	供 給 源	年 齢	細 胞 造 成 学 リ ス ク	FLT-3	NPM1	MDS/ 骨 髄 障 害 歴	以 前 の 化 学 療 法 歴	BM 芽 球 %	診 断 時 の WBC	処 置	誘 導 に 対 する 応 答
612	27 54	J1101	AML	骨髄	63	ADV	陰性	陰性	なし	なし	91	3213 0	7+3 Ara C +タ・リノルビ・シン	Max RD
624	24 55	J1101	AML	血液	55	ADV	陰性	陰性	あり	なし	6	1870	FLAM	Max RD
588	20 78 4	J0856	AML	血液	68	INT	陽性 (ITD)	陰性	なし	なし	79	5358 0	FLAM	MRD- F
592	21 62 7	J0856	AML	血液	51	INT	陰性	行わ ず	なし	なし	70	420	FLAM	MRD- F
593	20 74 4	J0856	AML	骨髄	57	INT	陰性	行わ ず	あり	なし	14	900	FLAM	MRD- F
607	20 38 4	J0856	AML	骨髄	52	ADV	陰性	行わ ず	あり	なし	38	1440	FLAM	MRD- F
610	25 52 4	J1101	AML	骨髄	45	ADV	陰性	陰性	あり	あり	29	1560	FLAM	MRD- F
622	25 78	J1101	AML	骨髄	68	ADV	陰性	陰性	なし	なし	81	4900	FLAM	MRD- F
626	25 61	J1101	AML	血液	58	INT	陰性	陽性	なし	なし	64	1893 0	7+3 Ara C +タ・リノルビ・シン	MRD- M
627	26 69	J1101	MDS	骨髄	65	ADV	陰性	陰性	あり	なし	1	1785 0	FLAM	MRD- M
630	25 94	J1101	AML	骨髄	57	ADV	陰性	陰性	なし	なし	71	1820	FLAM	MRD- M
596	22 06 5	J0856	M6	血液	71	ADV	陰性	行わ ず	なし	なし	4	7080	FLAM	PR-TD
637	27 47	J1101	AML	骨髄	53	INT	陰性	陽性	なし	なし	25	1295	FLAM	PR-TD

10

20

【表 2 - 4】

EIN	UP I	ブ ロ コ ル	診 断	供 給 源	年 齢	細 胞 造 成 学 リ ス ク	FLT-3	NPM1	MDS/ 骨 髄 障 害 歴	以 前 の 化 学 療 法 歴	BM 芽 球 %	診 断 時 の WBC	処 置	誘 導 に 対 する 応 答
590	18 52 3	J0856	行わず	骨髄	50	INT	陰性	行わ ず	なし	なし	81	6020	FLAM	TF
594	19 12 3	J0856	AML	骨髄	51	ADV	陰性	陰性	なし	なし	79	9920	FLAM	TF
595	20 94 5	J0856	AML	血液	70	ADV	陰性	陰性	なし	なし	18	1830	FLAM	TF
601	20 96 5	J0856	AML	血液	54	INT	陰性	陰性	有り得る	なし	17	1320	FLAM	TF
602	18 84 3	J0856	AML	骨髄	65	ADV	陰性	陰性	あり	あり	24	980	FLAM	TF
604	19 08 5	J0856	AML	骨髄	65	FAV	陰性	陰性	なし	なし	88	7167 0	FLAM	TF
606	20 56 4	J0856	AML	骨髄	61	INT	陰性	陰性	なし	なし	89	3735 0	FLAM	TF
608	23 28	J1101	AML	血液	67	ADV	陰性	陰性	なし	なし	66	2440	7+3 Ara C +タ・リノルビ・シン	TF
614	25 14	J1101	AML	血液	58	ADV	陰性	陰性	あり	なし	3	1770	7+3 Ara C +タ・リノルビ・シン	TF
616	26 53	J1101	AML	骨髄	65	ADV	陰性	陰性	なし	なし	53	1100	7+3 Ara C +タ・リノルビ・シン	TF
619	27 21	J1101	AML	骨髄	63	ADV	陰性	陰性	なし	なし	28	4950	FLAM	TF
625	27 08	J1101	AML	骨髄	54	ADV	陰性	陰性	なし	なし	74	2610	FLAM	TF
629	28	J1101	AML	骨髄	53	INT	陽性	陽性	なし	なし	96	6484	FLAM	TF

30

40

【表 2 - 5】

EIN	UP I	プロ コ ル	診断	供 給 源	年 齢	細胞 遺 伝学 リス ク	FLT-3 (ITD)	NPM1	MDS/ 骨 髄 障 害 歴	以 前 の 化 学 療 法 歴	BM 芽 球 %	診 断 時 の WBC	処 置	誘 導 に 対 する 応 答
	28			w			(ITD)					0		
632	27 92	J1101	AML	骨 髄	22	INT	陰 性	陰 性	なし	なし	36	4130	7+3 Ara C +タリノドヒン	TF
633	25 76	J1101	AML	血 液	70	INT	陰 性	陰 性	なし	なし	32	3120	FLAM	TF
635	21 67	J1101	AML	骨 髄	34	INT	陽 性 (ITD)	陰 性	なし	なし	91	5430 0	7+3 Ara C +タリノドヒン	TF
576	22 94 4	J0669	AML	骨 髄	56	INT	陽 性 (D835)	陰 性	あり	なし	39	4786 0	FLAM	MRD- F
578	13 06 8	J0669	AML	未 知	51	ADV	陰 性	行わ ず	あり	あり	6	2974 0	FLAM	CR
579	13 93 8	J0669	AML	骨 髄	70	INT	陰 性	行わ ず	あり	なし	38	4030	FLAM	CR
581	14 33 7	J0669	AML	骨 髄	66	FAV	陽 性 (ITD)	行わ ず	なし	なし	87	1180 0	FLAM	MRD- F
600	20 72 8	J0856	AML	未 知	54	ADV	陰 性	陰 性	なし	なし	58	1078 0	FLAM	CR
609	22 80	J1101	MDS- AML	未 知	51	INT	陰 性	陽 性	なし	なし	5	1171 0	FLAM	CR
611	23 57	J1101	AML	血 液	64	INT	陰 性	陽 性	なし	なし	79	3010	7+3 Ara C +タリノドヒン	CR
613	24 14	J1101	AML	血 液	68	ADV	陰 性	陰 性	なし	あり	24	1570	FLAM	CR
617	24 15	J1101	AML	血 液	61	INT	陽 性 (ITD)	陰 性	あり	なし	13	7770	FLAM	MRD- F
618	23 54	J1101	AML	血 液	54	ADV	陽 性 (ITD)	陰 性	なし	なし	32	6780	FLAM	MRD- M

EIN	UP I	プロ コ ル	診断	供 給 源	年 齢	細胞 遺 伝学 リス ク	FLT-3	NPM1	MDS/ 骨 髄 障 害 歴	以 前 の 化 学 療 法 歴	BM 芽 球 %	診 断 時 の WBC	処 置	誘 導 に 対 する 応 答
623	23 38	J1101	AML	血 液	68	ADV	陰 性	陽 性	なし	なし	31	2080	FLAM	TF

【0127】

臨床特徴付けは応答と関連する

【表 3】

計測値	中央値 NR (n=29)	中央値 CR (n=23)	マン・ホイットニー p 値	ロジスティック回帰 p 値	AUC
年 齢	59	58	0.740	0.954	0.527
診断時 WBC 数	3120	9880	0.078	0.112	0.643
BM 芽球 %	53	36	0.296	0.332	0.586
細胞遺伝学的リスク	-	-	0.024	0.024	0.663
NPM 変異	-	-	0.295	0.268	0.571
FLT3 変異	-	-	0.287	0.259	0.557
MDS 骨髄障害病歴	-	-	0.144	0.132	0.601
従ったプロトコル	-	-	0.060	0.038	0.637

【0128】

表 4：BH3 プロファイリングデータ

【表 4-1】

EIN	生きている細胞数	生存度 %	芽球 %	DMSO/CCCP	BIM 100 μ M	BIM 0.1 μ M	PUMA 10 μ M	NOXA 100 μ M	BAD 100 μ M	HRK 100 μ M	BID 10 μ M
577	1.84E+07	67.2	16.00	124.80	32.92	5.65	12.11	55.03	18.14	63.42	7.52
580	3.20E+06	66.7	9.80	206.00	99.88	76.93	88.41	61.23	21.47	44.83	84.47
582	6.40E+06	99.1	35.20	95.50	97.85	28.93	49.81	0.00	34.24	13.10	22.74
583	5.00E+06	96.2	10.38	19.50	99.10	68.30	85.70	88.50	-	92.70	96.30
584	3.13E+06	81.5	12.14	76.18	-	19.91	33.45	45.55	2.89	54.70	-
585	5.40E+06	76.1	11.95	50.26	10.76	30.50	5.20	0.00	49.41	28.09	0.00
586	3.00E+06	61.2	16.58	35.75	-	36.60	33.30	69.70	63.00	28.50	49.20
587	1.14E+08	82.6	38.00	62.13	99.02	68.89	67.81	44.48	72.20	73.92	83.78
589	1.85E+07	94.9	19.00	424.30	100.06	49.13	83.99	17.22	79.91	82.17	76.90
591	7.20E+06	61.0	17.00	20.70	38.96	8.46	9.66	55.30	24.31	-	-
597	1.33E+07	55.6	11.00	40.50	26.02	0.00	0.17	46.15	75.58	33.39	0.00
598	7.69E+07	91.6	29.75	58.50	99.20	65.40	65.30	0.10	70.10	64.90	69.90
599	3.95E+07	92.1	30.68	357.84	99.50	10.10	34.60	0.90	11.70	25.50	16.00
603	5.12E+07	79.0	36.00	168.08	67.76	12.82	43.18	11.64	45.94	22.34	16.80
605	5.84E+06	94.8	25.00	72.01	99.70	28.20	49.60	27.70	35.40	59.70	66.60
615	1.20E+07	91.1	46.46	178.42	100.00	10.70	40.20	4.50	23.80	11.80	12.50
620	4.00E+06	85.1	8.50	200.71	99.95	8.69	53.68	10.89	49.64	14.12	2.13
621	9.00E+06	80.0	37.04	63.60	100.17	49.49	71.69	25.03	56.90	56.11	74.89
628	8.60E+06	84.3	22.60	78.60	100.98	14.46	67.70	9.81	66.95	36.62	19.85
631	2.70E+06	62.8	6.60	60.52	76.37	30.91	33.77	14.43	44.87	7.15	7.22
634	8.70E+06	95.6	55.14	57.02	100.10	57.40	74.40	26.80	61.30	77.50	87.30
636	1.40E+07	63.0	38.97	25.76	98.60	47.00	84.40	0.00	-	0.00	96.90
638	1.12E+07	97.4	8.90	563.30	100.02	14.23	18.52	13.90	6.79	5.40	6.77
612	4.00E+07	92.6	11.72	487.02	100.00	14.40	50.90	0.00	55.30	7.80	23.60
624	2.40E+06	75.0	5.50	285.60	99.48	68.16	67.25	64.74	51.71	79.78	70.48

10

20

【表 4-2】

EIN	生きている細胞数	生存度 %	芽球 %	DMSO/CCCP	BIM 100 μ M	BIM 0.1 μ M	PUMA 10 μ M	NOXA 100 μ M	BAD 100 μ M	HRK 100 μ M	BID 10 μ M
588	1.27E+07	95.2	59.52	20.98	96.10	62.00	69.30	21.40	68.60	81.50	85.40
592	1.90E+06	63.3	6.37	23.93	91.60	24.70	36.10	53.50	91.10	65.50	37.10
593	2.80E+06	58.3	15.00	235.54	100.16	68.96	80.06	21.66	77.15	77.34	72.75
607	7.36E+07	83.6	54.48	390.31	97.67	19.87	40.24	18.96	40.98	23.63	15.85
610	1.05E+06	26.2	15.60	73.20	58.50	2.72	-	-	-	-	-
622	7.70E+06	79.4	19.72	78.63	100.98	14.46	67.70	9.81	66.95	36.62	19.85
626	2.06E+06	97.6	65.40	477.90	100.00	64.70	88.60	0.00	85.00	55.00	69.80
627	8.00E+06	97.6	10.75	120.50	99.80	25.10	55.10	0.00	5.70	12.20	76.80
630	1.43E+07	92.9	27.00	264.46	100.00	0.00	46.97	0.60	49.36	0.00	0.00
596	2.02E+06	92.2	28.82	104.71	99.70	46.10	66.40	30.90	48.60	71.70	80.30
637	7.20E+06	90.0	18.47	124.44	94.50	66.93	-	-	-	-	-
590	4.40E+07	88.7	32.00	332.63	99.90	11.13	81.72	3.65	79.12	18.72	9.74
594	3.30E+07	79.3	36.00	302.16	100.27	34.73	73.89	10.78	72.09	34.02	19.44
595	6.00E+06	67.4	10.24	23.17	18.40	0.00	19.50	33.00	97.50	7.60	0.00
601	7.90E+06	88.8	6.01	79.21	89.70	26.60	46.20	38.90	55.00	46.50	52.40
602	1.08E+07	72.5	27.00	357.00	98.00	0.00	20.69	0.00	33.61	33.68	11.78
604	6.40E+07	76.2	36.00	45.36	99.82	35.90	45.18	22.75	25.21	45.64	39.31
606	1.50E+06	65.2	11.00	95.28	100.01	85.07	92.94	93.99	-	-	-
608	7.10E+06	72.4	30.95	308.70	99.23	70.83	88.60	45.57	92.23	55.45	62.87
614	5.10E+06	68.9	6.07	17.94	98.70	43.20	67.00	0.00	82.40	71.60	58.40
616	1.18E+07	87.4	25.90	253.16	99.97	0.00	63.31	0.50	61.17	10.21	7.15
619	7.20E+06	82.8	15.65	208.03	99.90	31.40	40.20	5.20	9.00	50.20	61.20
625	6.20E+06	87.3	41.40	221.00	99.98	15.46	27.28	23.28	34.50	27.36	14.28
629	1.11E+07	94.1	36.00	148.87	99.79	44.04	73.69	25.24	76.93	50.35	33.93
632	1.15E+07	93.5	22.00	371.06	99.95	5.81	33.53	0.00	3.12	9.00	19.16
633	6.50E+06	85.5	8.68	229.99	99.70	29.00	64.00	47.20	55.20	60.30	57.90
635	2.00E+05	83.3	36.00	280.90	-	18.94	-	-	-	-	-

30

40

【0129】

個々の BH3 ペプチドプロファイルと CR との関連

50

【表 5】

計測値	中央値 NR (n=29)	中央値 CR (n=23)	マン・ホイットニー p 値	ロジスティック回帰 p 値	AUC
BAD	55.3	45.9	0.090	0.084	0.647
BID	37.1	22.7	0.843	0.767	0.517
BIM 0.1	26.6	28.9	0.927	0.975	0.507
BIM 100	99.8	99.2	0.461	0.094	0.562
NOXA	20.2	17.2	0.394	0.445	0.571
PUMA	63.7	49.6	0.229	0.156	0.600
HRK	45.6	35	0.915	0.943	0.509

10

【0130】

他の臨床変数とのBH3ペプチドプロファイリングの多変量解析

【表 6】

計測値	中央値 NR (n=29)	中央値 CR (n=23)	マン・ホイットニー p 値	ロジスティック回帰 p 値	AUC
細胞遺伝学的リスク	-	-	0.024	0.024	0.663
MDS 骨髄障害病歴	-	-	0.144	0.132	0.601
BAD	55.3	45.9	0.09	0.084	0.647
BIM 100	99.8	99.2	0.461	0.094	0.562
PUMA	63.7	49.6	0.229	0.156	0.6
BAD+BIM 100+PUMA	-	-	0.009	0.039	0.732
BAD+BIM 100+PUMA+細胞遺伝学	-	-	0.0001	0.003	0.84
BAD+BIM 100+PUMA+細胞遺伝学 +MDS 病歴	-	-	0.0001	0.002	0.851
NOXA	20.2	17.2	0.394	0.445	0.571
NOXA + 細胞遺伝学	-	-	0.024	0.054	0.689
NOXA + 細胞遺伝学 + MDS 病歴	-	-	0.004	0.024	0.739

20

30

【0131】

個々のBH3ペプチドプロファイルと骨髄サンプルにおけるCRとの関連

【表 7】

計測値	中央値 NR (n=18)	中央値 CR (n=13)	マン・ホイットニー p 値	ロジスティック回帰 p 値	AUC
BAD	49.4	45.4	0.719	0.695	0.544
BID	19.4	16.8	0.917	0.368	0.512
BIM 0.1	17.2	19.9	0.535	0.430	0.566
BIM 100	99.9	98.6	0.067	0.012	0.709
NOXA	5.2	44.5	0.006	0.0007	0.805
PUMA	50.9	33.8	0.339	0.275	0.610
HRK	27.4	30.9	0.714	0.461	0.542

10

【0132】

BH3 ペプチドの統計学的解析は、骨髄から得たサンプルでのみ行った

【表 8】

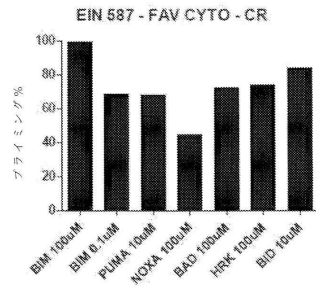
計測値	中央値 NR (n=18)	中央値 CR (n=13)	マン・ホイットニー p 値	ロジスティック回帰 p 値	AUC
BAD	49.4	45.4	0.719	0.695	0.544
BIM 100	99.9	98.6	0.067	0.012	0.709
PUMA	50.9	33.8	0.339	0.275	0.610
BAD+BIM 100+PUMA	-	-	0.008	0.0058	0.813
BAD+BIM 100+PUMA+細胞遺伝学	-	-	0.0007	0.0051	0.887
BAD+BIM 100+PUMA+細胞遺伝学 +MDS 病歴	-	-	0.001	0.0069	0.893
NOXA	5.2	44.5	0.006	0.0007	0.805
NOXA + 細胞遺伝学	-	-	0.0008	0.0015	0.874
NOXA + 細胞遺伝学 + MDS 病歴	-	-	0.0002	0.0002	0.918

20

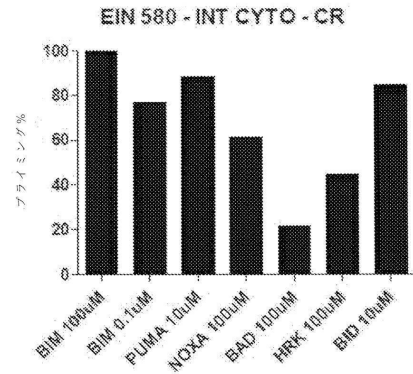
30

40

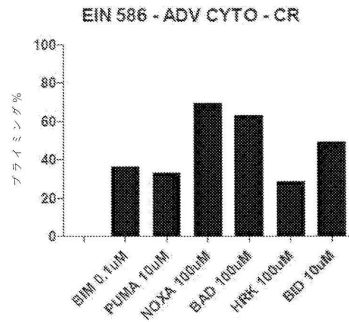
【図 1 A】



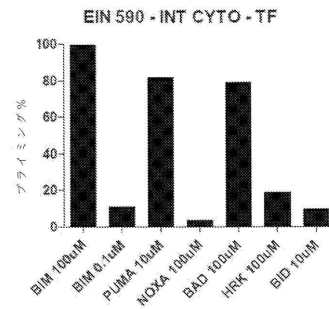
【図 1 C】



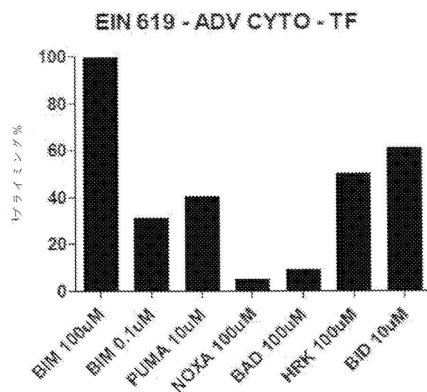
【図 1 B】



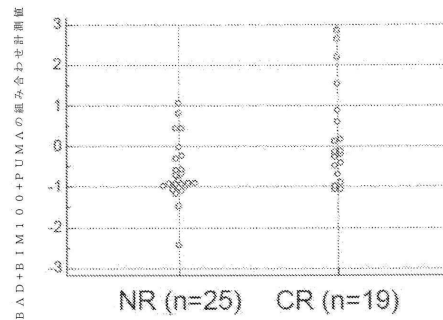
【図 1 D】



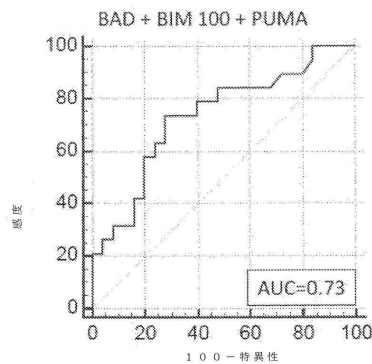
【図 1 E】



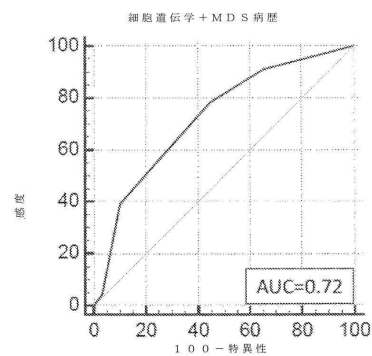
【図 2 B】



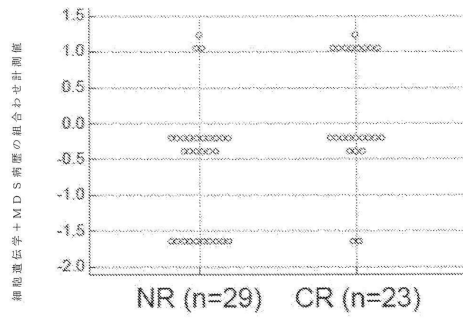
【図 2 A】



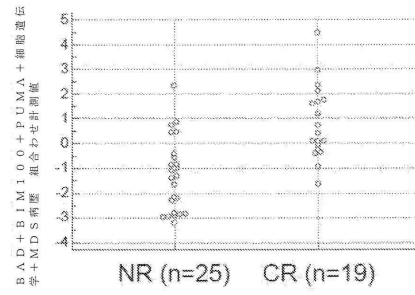
【図 2 C】



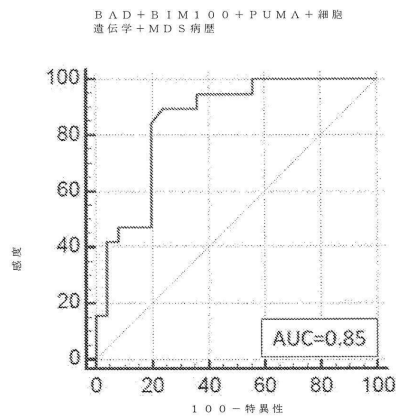
【図 2 D】



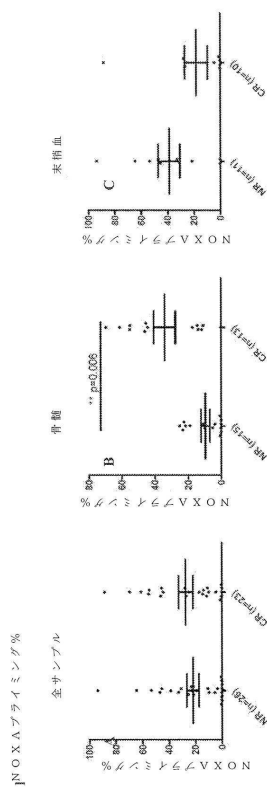
【図 2 F】



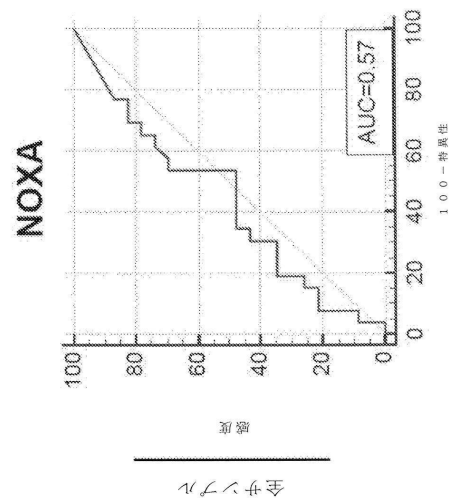
【図 2 E】



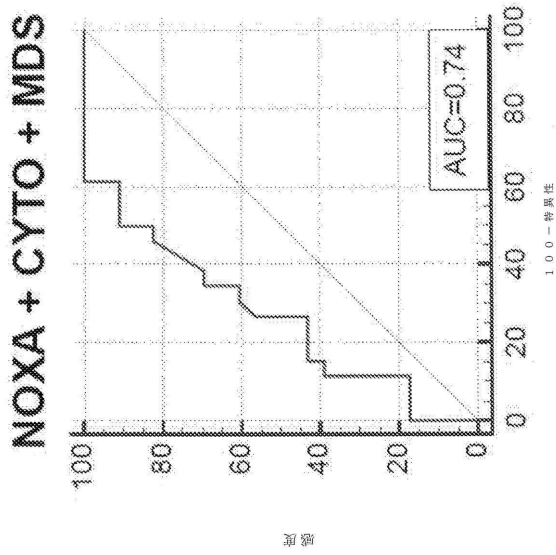
【図 3】



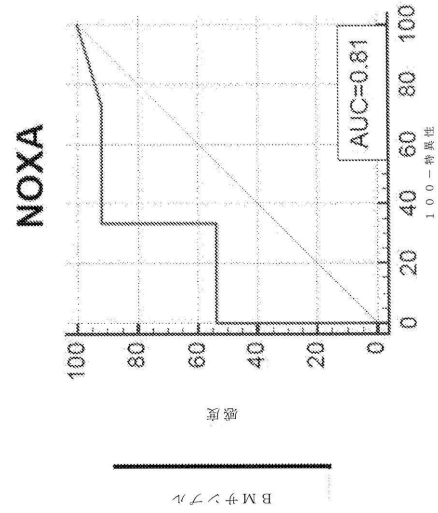
【図 4 A】



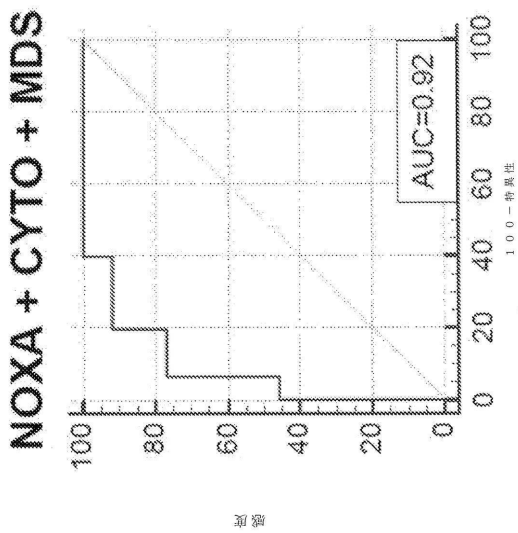
【図 4 B】



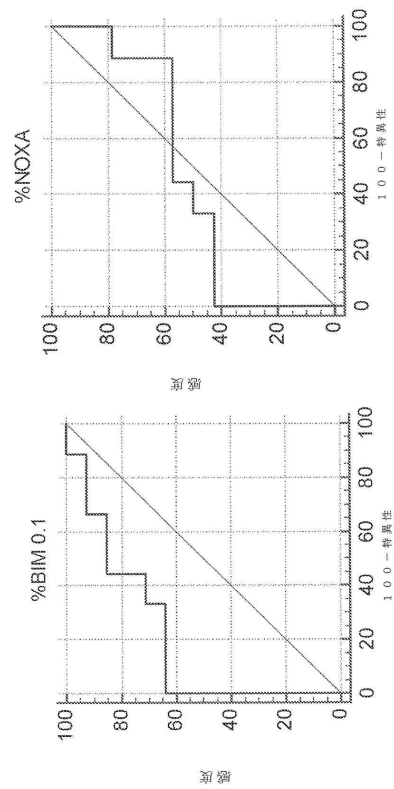
【図 4 C】



【図 4 D】

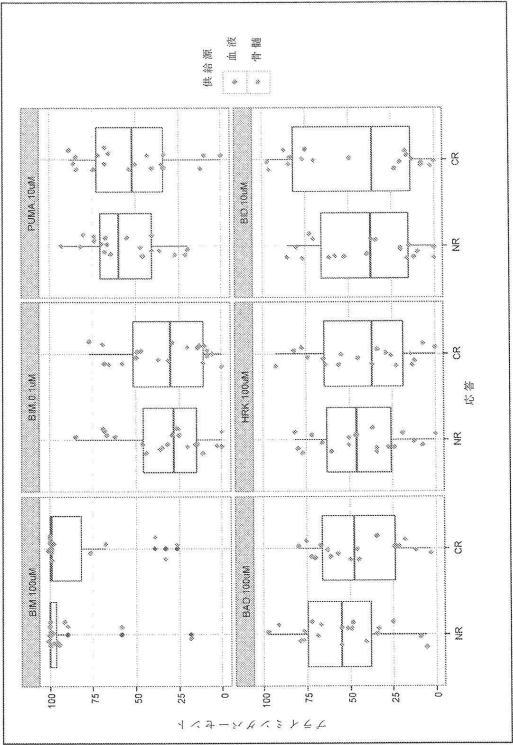


【図 5 A】



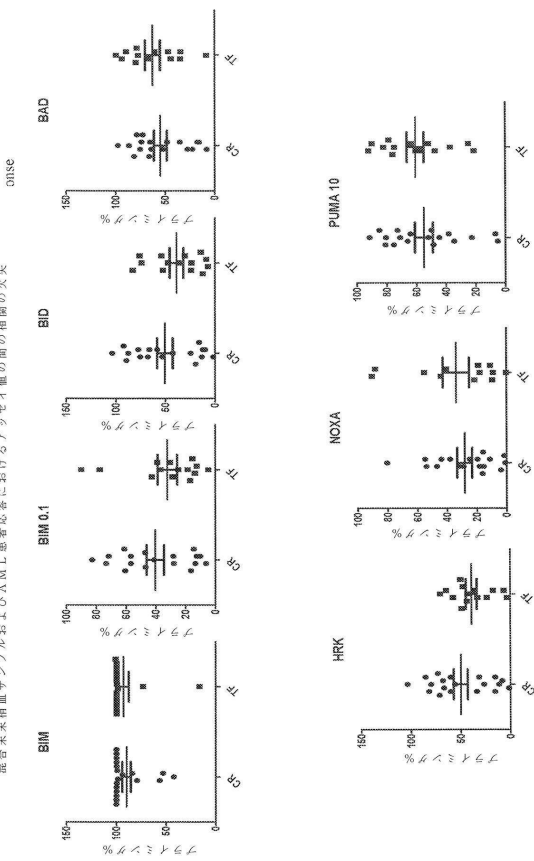
【図 5 B】

混合末梢血および骨髄血液サンプル中のアッセイ値の間の相関の欠失

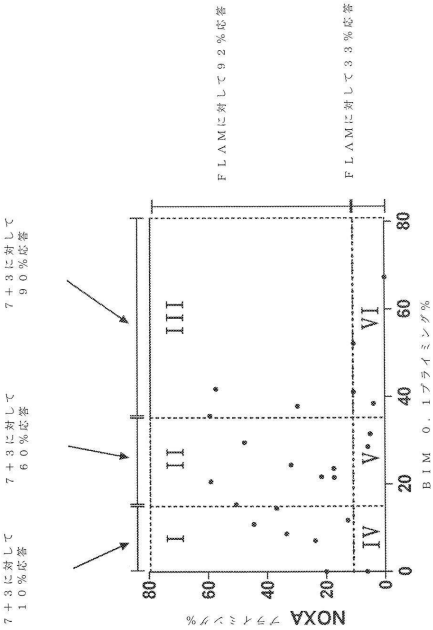


【図 5 C】

混合末梢血サンプルおよびAML患者応答におけるアッセイ値の間の相関の欠失

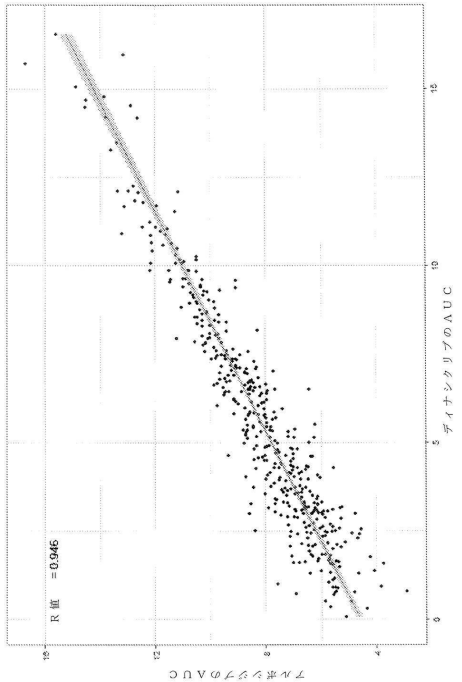


【図 6】

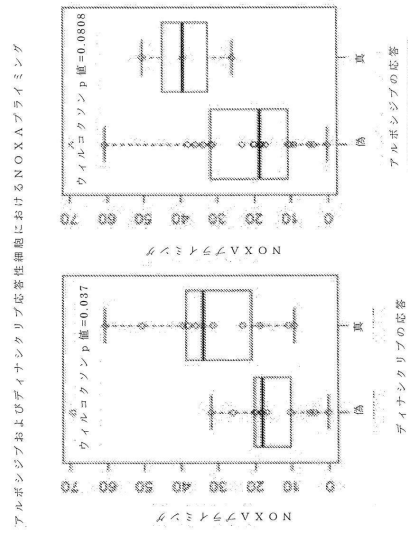


【図 7】

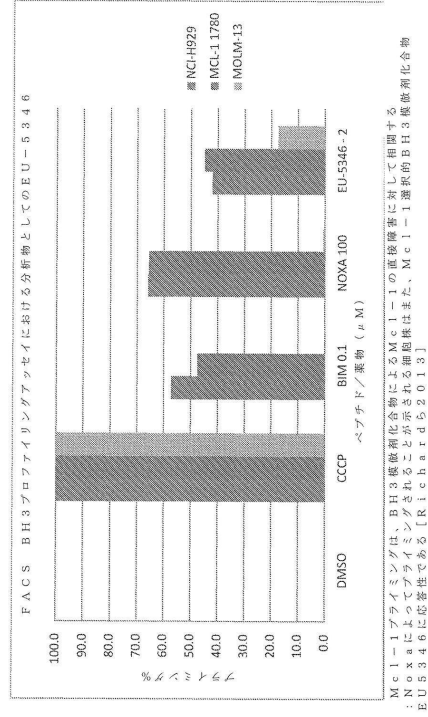
C T D 2 関連 アルボシジブ対ディナシケリブ



【図 8】

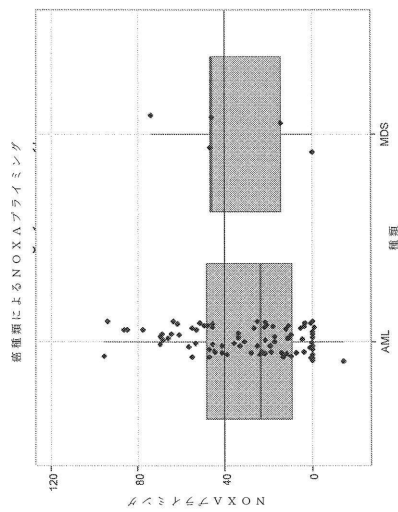


【図 9】



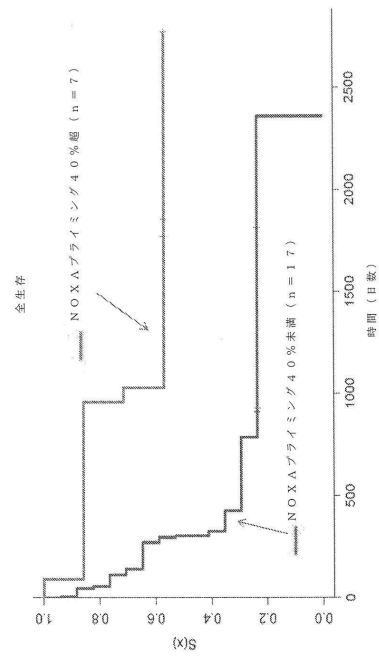
【図 10 A】

Noxaプロテオミクスが、患者集団60歳以上に相当するAMLおよびMDS患者サンプル中で示される散度。
Noxaプロテオミクスは、PracdiCare Dx (商標) 試験、FACS BH3プロテオミクスアッセイを用いて評価した。

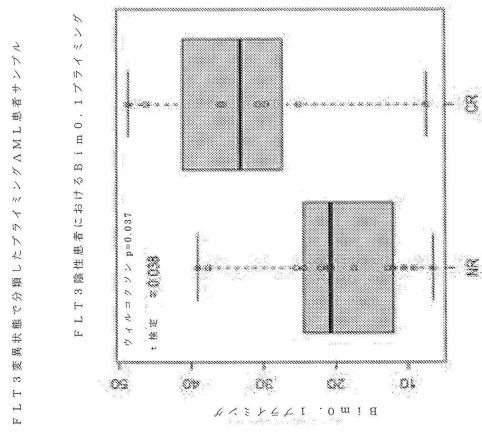


【図 10 B】

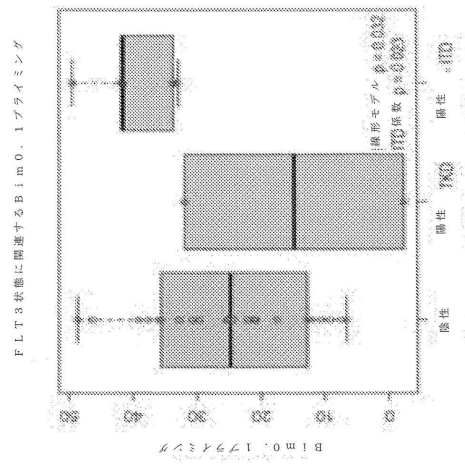
FACSプロテオミクスに対する患者生存を示すNOXAプロテオミクス散度。S(x) は、FACSプロテオミクスで処理された
AML患者で生存に対してプロットされている。生存曲線は、カットオフとして40%を用いる。



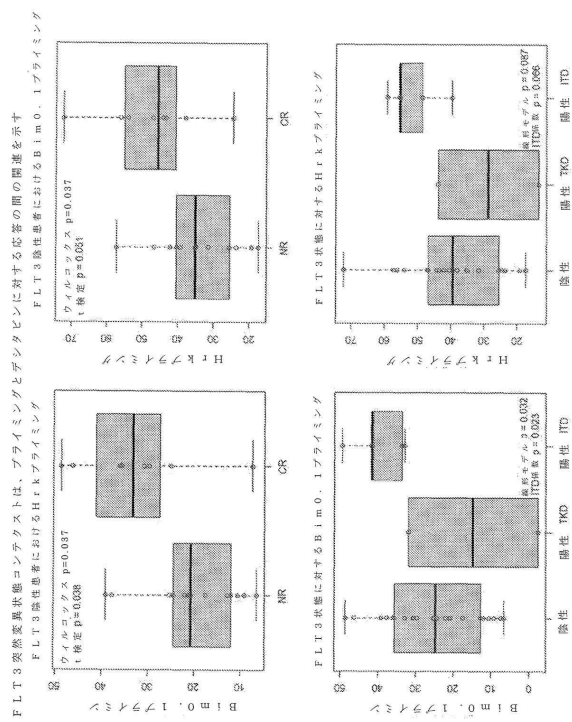
【図 1 1 A】



【図 1 1 B】



【図 1 2】



【配列表】

0006774951000001.app

フロントページの続き

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 デットマン, エリシャ ジェイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02138, ケンブリッジ, コンコード アベニュー
767-シー, ユートロピクス ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 カーダン, マイケル エイチ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02138, ケンブリッジ, コンコード アベニュー
767-シー, ユートロピクス ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

審査官 海野 佳子

(56)参考文献 特表2009-532033 (JP, A)

米国特許出願公開第2013/0079424 (US, A1)

国際公開第2014/081953 (WO, A1)

国際公開第2013/170176 (WO, A2)

William E. Pierceall, Steven M. Komblau, et al., BH3 profiling discriminates response
to cytarabine-based treatment of acute myelogenous leukemia, Molecular Cancer Therapeu
tics, 米国, 2013年, vol. 12, no. 12, PP.2940-2949

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98