



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104168921 B

(45)授权公告日 2018.06.08

(21)申请号 201380015223.9

(22)申请日 2013.07.31

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104168921 A

(43)申请公布日 2014.11.26

(66)本国优先权数据

PCT/CN2012/079399 2012.07.31 CN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2014.09.19

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/053091 2013.07.31

(87)PCT国际申请的公布数据

W02014/028221 EN 2014.02.20

(73)专利权人 中美冠科生物技术(太仓)有限公司

地址 215400 江苏省太仓经济开发区北京西路6号科技创业园

专利权人 浙江新维盛科生物技术有限公司

(72)发明人 李其翔 杨蒙蒙

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴

(51)Int.Cl.

A61K 39/395(2006.01)

(56)对比文件

pirker r et al.cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomized phase III trial.《the lancet》.2009,第373卷(第9674期),1525-1531.

pirker r et al.prognostic factors in patients with advanced non-small-cell lung cancer: data from the phase III FLEX study.《lung cancer》.2012,第77卷(第2期),376-382.

spigel dr et al.phase II study of cetuximab, docetaxel, and gemcitabine in patients with previously untreated advanced non-small-cell lung cancer.《clinical lung cancer》.2010,第11卷(第3期),198-203.

审查员 朱宁

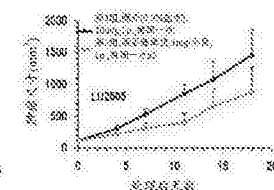
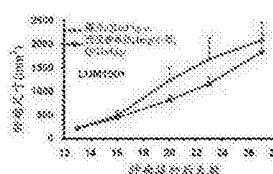
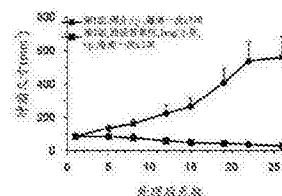
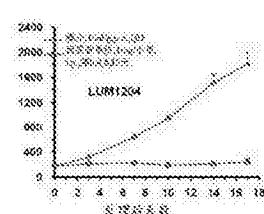
权利要求书1页 说明书16页
序列表5页 附图5页

(54)发明名称

用于为抗EGFR药物治疗鉴定非小细胞肺癌患者的组织学标志物

(57)摘要

本发明提供使用针对EGFR的药物(诸如抗EGFR抗体治疗,例如西妥昔单抗(cetuximab))治疗肺癌患者(尤其是具有SCC或PLC的NSCLC)的方法。另外,本发明提供根据组织学测定为使用针对EGFR药物(诸如抗EGFR抗体治疗,例如西妥昔单抗)的治疗鉴定或选择肺癌患者的方法。



1. 西妥昔单抗 (cetuximab) 在制备用于在患者中治疗肺癌的药物中的用途, 其中所述肺癌为鳞状细胞癌 (SCC) 或多形癌 (PLC), 其中该患者为亚洲血统, 其中该药物包含西妥昔单抗作为唯一活性剂。

2. 西妥昔单抗在制备用于在下述方法中在患者中治疗肺癌的药物中的用途, 其中所述方法包括测定该肺癌的组织学, 其中所述肺癌为 SCC 或 PLC, 其中该患者为亚洲血统, 其中该药物包含西妥昔单抗作为唯一活性剂。

3. 权利要求 1 或 2 的用途, 其中该患者为东亚血统。

用于为抗EGFR药物治疗鉴定非小细胞肺癌患者的组织学标志物

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2012年7月31日提交的国际专利申请No. PCT/CN2012/079399的优先权,通过述及将其完整收入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及治疗肺癌患者以及为用针对表皮生长因子受体 (EGFR) 的药物 (诸如抗EGFR抗体治疗,例如西妥昔单抗 (cetuximab)) 的治疗鉴定和选择肺癌患者。

[0004] 背景

[0005] 非小细胞肺癌 (NSCLC) 是一种常见的癌症,具有首要的全球死亡率但具有很少的有效治疗选项。NSCLC还是多种类型的疾病,主要亚型为腺癌 (ADC, 40%), 鳞状细胞癌 (SCC, 25~30%), 未分化大细胞癌 (LCC, 10~15%), 腺鳞癌 (多形癌或PLC), 肉瘤样癌 (<5%), 等等。新批准的靶向疗法 (NSCLC) 带来了新的希望,包括靶向EGFR的酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) (例如厄洛替尼, 吉非替尼 (gefitinib), 等) 和ALK (克唑替尼 (crizotinib))。然而,两项主要的挑战限制这些药物的使用。首先,NSCLC患者中只有一个小子集响应该等治疗。具有在亚洲女性中更常见的EGFR激活性突变的患者 (~10%) 更有可能响应EGFR-TKI (Lynch TJ, et al. N Engl J Med. 2004; 350: 2129-39 及 Paez JG, et al. Science. 2004; 304: 1497-500), 而具有ALK-EML4融合的患者 (3~5%) 更有可能响应克唑替尼 (Rodig SJ, et al. Curr Opin Investig Drugs. 2010; 11: 1477-90)。其次,该等治疗总是导致快速形成药物抗性 (Gazdar AF, Oncogene. 2009; 28 Suppl 1: S24-31; Bean J, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104: 20932-7; 及 Kubo T, et al. Int J Cancer. 2009; 124: 1778-84)。因此,迫切需要新的靶向药物来弥补现有的靶向治疗。本领域仍然需要针对NSCLC的有效疗法。

[0006] 本发明的方法满足这种需要且提供用于有效治疗NSCLC的方法。

[0007] 发明概述

[0008] 本发明提供用于治疗肺癌的方法。在一些实施方案中,该肺癌为非小细胞肺癌 (NSCLC)。在一些实施方案中,该NSCLC为具有某些组织学的NSCLC,例如具有鳞状细胞癌 (SCC) 或腺鳞癌 (多形癌或PLC) 的NSCLC。在一个实施方案中,本发明提供用于治疗具有肺癌的患者的方法,其通过对该患者施用有效量的药物来进行。在一些实施方案中,该药物针对表皮生长因子受体 (EGFR)。在一些实施方案中,该药物靶向EGFR。在一些实施方案中,该药物靶向EGFR下游的信号传导途径。在一些实施方案中,该药物为EGFR的配体的拮抗剂或抗体,例如表皮生长因子 (EGF), 转化生长因子 α (TGF α), HB-EGF, 双调蛋白 (amphiregulin), β 细胞素 (betacellulin), 上皮促分裂原 (epigen), 和/或表调蛋白 (epiregulin) 的拮抗剂或抗体。在一些实施方案中,该药物为小分子。在一些实施方案中,该药物针对由EGFR和ErbB受体家族的另一种成员 (诸如ErbB2/Her2/neu) 形成的异二聚体。在一些实施方案中,该药物针对由EGFR形成的同二聚体。在一些实施方案中,该药物为针对EGFR的抗体或抗体样治疗剂实体 (抗EGFR抗体治疗), 例如西妥昔单抗。在另一个实施方案中,本发明提供用于治疗

具有肺癌诸如NSCLC的患者的方法,其通过测定NSCLC的组织学并当该NSCLC为鳞状细胞癌(SCC)或腺鳞癌(PLC)时用针对EGFR的抗体(例如西妥昔单抗)治疗患者来进行。

[0009] 在另一个实施方案中,本发明提供用于鉴定针对EGFR的治疗的响应者和/或不响应者肺癌患者的方法,其包括在来自具有肺癌的患者的生物学样品中测定肺癌的组织学,其中该肺癌为NSCLC,且该NSCLC为SCC或PLC的测定结果指示针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗治疗)的响应者,而该NSCLC为腺癌(ADC)或大细胞癌(LCC)的测定结果指示针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗治疗)的不响应者。

[0010] 在另一个实施方案中,本发明提供用于为在有需要的患者中治疗肺癌确定治疗方案的方法。该方法包括在来自具有肺癌的患者的生物学样品中测定肺癌的组织学,其中所述肺癌为NSCLC,且该NSCLC为SCC或PLC的测定结果指示针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗治疗)的响应者,而该NSCLC为ADC或LCC的测定结果指示针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗治疗)的不响应者,并当该NSCLC为SCC或PLC时,用针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗)治疗所述患者。

[0011] 在另一个实施方案中,本发明提供用于改变或修改针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗)的治疗方案的方法,其包括在来自正在接受治疗(例如标准护理肺癌治疗或西妥昔单抗)的具有肺癌的患者的生物学样品中测定肺癌的组织学,并根据肺癌的组织学改变该治疗方案。例如,当所述肺癌为NSCLC,且该NSCLC为SCC或PLC时,继续针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗)的治疗方案,或当所述NSCLC为ADC或LCC时,中止所述治疗方案。

[0012] 本发明提供为用针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗)的治疗选择具有肺癌的患者的方法,其包括在来自患者的生物学样品中测定肺癌的组织学,其中该肺癌为NSCLC,且该NSCLC为SCC或PLC的测定结果指示针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗治疗)的响应者,而该NSCLC为ADC或LCC的测定结果指示针对EGFR的治疗(例如西妥昔单抗治疗)的不响应者,并为用针对EGFR的药物(例如西妥昔单抗)的治疗选择那些测定为具有SCC或PLC的患者。

[0013] 本发明提供为用针对EGFR的药物(例如西妥昔单抗)治疗肺癌的确定或评估提供有用信息的方法。该方法包括在来自患者的生物学样品中测定肺癌的组织学,并给根据肺癌的组织学提供治疗的确定或评估的实体提供组织学的测定结果。在一些实施方案中,该肺癌为NSCLC。

[0014] 本发明提供试剂盒。该试剂盒包括一种或多种适合于测定肺癌的组织学的试剂,和任选的关于利用该组织学结果来确定肺癌的治疗的指令,例如当该肺癌为NSCLC,且该NSCLC为SCC或PLC时,该测定结果指示响应者,而当该NSCLC为ADC或LCC时,该测定结果指示针对EGFR的药物(例如西妥昔单抗)的不响应者。

[0015] 附图简述

[0016] 图1显示代表性NSCLC-HuPrime模型对西妥昔单抗的响应。为LU1204(SCC),LU2505(ADC),LU1901(LCC),和LU1235(PLC)显示了媒介对照(圆形)和1mg/小鼠西妥昔单抗(方形)的肿瘤尺寸。LU1235先前有记载。

[0017] 图2显示代表性NSCLC-HuPrime®模型中西妥昔单抗的药效学研究。图1中所示西妥昔单抗单剂治疗,并在为生物标志物pERK的IHC分析显示的时间点收获肿瘤样品。图2A描绘IHC图像,而图2B是显示IHC得分的柱形图。

[0018] 图3显示西妥昔单抗的抗肿瘤活性,连同EGFR,AREG和EREG的基因表达。自顶部至

底部的小图： $\Delta T/\Delta C$, EGFR, AREG和EREG。红色块为SCC, 而蓝色块为非SCC肿瘤。含有黑色边框的块具有EGFR突变。

[0019] 图4显示四种代表性NSCLC-HuPrime模型 (LU357, LU1204, LU1513, 和LU387) 的EGFR-IHC染色。

[0020] 图5显示NSCLC的组织学亚型--代表性图像。

[0021] 发明详述

[0022] 本发明部分基于下述发现, 即抗EGFR抗体治疗有效治疗NSCLC, 尤其是具有某些组织学亚型的NSCLC。因而, 本发明提供用针对EGFR的药物治疗NSCLC患者 (尤其是具有SCC或PLC的NSCLC) 的方法。

[0023] 根据本发明, “针对EGFR的药物” 指能改变EGFR信号传导途径的活性的组合物, 诸如能提高, 降低, 消除, 增强, 延迟, 减小, 或阻断EGFR信号传导途径的活性的组合物。在一些实施方案中, 该组合物在DNA水平, 转录水平, 翻译水平, 翻译后水平, 和/或蛋白质水平针对EGFR, 或者EGFR信号传导途径的一种或多种成分。该组合物可特异性靶向EGFR, 或至少靶向EGFR。在一些实施方案中, 该组合物能引起EGFR和/或EGFR信号传导途径中的成分的基因阻抑和/或基因沉默, 例如敲低或敲除EGFR和/或EGFR信号传导途径中的成分。在一些实施方案中, 该组合物能改变EGFR蛋白活性, 诸如改变EGFR对其配体的结合活性和/或其诱导下游信号传导途径的能力。在一些实施方案中, 该药物为EGFR的配体的拮抗剂或抗体, 例如表皮生长因子 (EGF), 转化生长因子 α (TGF α), HB-EGF, 双调蛋白, β 细胞素, 上皮促分裂原, 和/或表调蛋白的拮抗剂或抗体。在一些实施方案中, 该药物可靶向EGFR和/或配体及阻断配体-受体结合。在一些实施方案中, 该药物能引起受体和/或配体的构象变化及降低或灭活EGFR介导的细胞信号传导。在一些实施方案中, 该药物针对由EGFR和ErbB受体家族的另一种成员 (诸如ErbB2/Her2/neu) 形成的异二聚体, 或由两个EGFR分子形成的同二聚体。EGFR信号传导途径记载于Sechacharyulu et al. (Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy, Expert Opin Ther Targets, 2012 January, 16 (1): 15-31); Oda et al. (A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling, Molecular Systems Biology 1: 2005.0010); 及Development EGFR Signaling Pathway (Pathway Maps, Thomson Reuters, 2012), 将其每一篇完整收入本文用于所有目的。

[0024] 在一些实施方案中, 该药物包含小分子。如本文中使用的, 术语“小分子” 指具有小于500MW的分子量的分子, 其中该药物为非肽或肽剂。在一些实施方案中, 该药物包含蛋白质或多肽。在一些实施方案中, 该药物包含杂合分子。在一些实施方案中, 该药物为抗体。在一些实施方案中, 该药物为抗EGFR抗体。在一些实施方案中, 该药物为抗EGFR配体抗体。在一些实施方案中, 该药物为人源化抗EGFR配体抗体。在一些实施方案中, 该抗体为单克隆抗体。

[0025] 在一些实施方案中, 该药物为抗EGFR抗体。在一些实施方案中, 该药物为西妥昔单抗或其功能性变体或衍生物。抗EGFR抗体的非限制性例子记载于PCT公开文本No. WO/2011/140151, WO/2007/058823, WO/2011/080209, WO/2010/080463, WO/2012/020059, WO/2011/080209, WO/2011/059762, WO/2011/152525, WO/2011/140254, WO/2010/034441, WO/2011/156617, WO/2005/090407, WO/2013/006547, WO/2008/140493, WO/2011/156617, 美国专利No. 5942602, 6129915, 7723484, 7618631, 7598350, 及美国专利申请公开文本

No. 20100166755, 20080274114, 20130142812, 20110158987, 20120107234, 20110117110, 20110287002, 20120149879, 20120282633, 20100009390, 20050238640, 20060154334, 20120231021和20130149299, 通过述及将其每一篇完整收入本文用于所有目的。

[0026] 另外, 本发明还提供根据患者的组织学亚型为某些抗EGFR抗体治疗选择NSCLC患者的方法, 例如具有SCC或PLC的NSCLC适合于针对EGFR的治疗, 诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗。根据本发明, 术语“针对EGFR的治疗”指使用针对EGFR的药物的治疗。

[0027] 在一个实施方案中, 本发明提供用于在患者中治疗肺癌的方法, 其包括测定肺癌的组织学。在一个实施方案中, 该方法进一步包括当该肺癌为NSCLC, 且该NSCLC为鳞状细胞癌(SCC)或腺鳞癌(多形癌或PLC)时, 用针对EGFR的药物治疗该患者。在一个实施方案中, 该方法包括用针对EGFR的药物治疗患者。在一些实施方案中, 该针对EGFR的药物为抗EGFR抗体, 诸如西妥昔单抗或其功能性变体。

[0028] 在另一个实施方案中, 本发明提供用于鉴定响应者和不响应者患者的方法, 其包括在来自具有肺癌的患者的生物学样品中测定肺癌的组织学, 其中所述肺癌为NSCLC, 且该NSCLC为SCC或PLC的测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的响应者, 而该NSCLC为腺癌(ADC)或大细胞癌(LCC)的测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的不响应者。

[0029] 在另一个实施方案中, 本发明提供用于为在有需要的患者中治疗肺癌确定治疗方案的方法。该方法包括在来自具有NSCLC的患者的生物学样品中测定肺癌的组织学。该肺癌为NSCLC, 且该NSCLC为SCC或PLC的测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的响应者, 而该NSCLC为ADC或LCC的测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的不响应者。然后当该NSCLC为SCC或PLC时, 用针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗)治疗该患者。

[0030] 在另一个实施方案中, 本发明提供用于为具有肺癌的患者改变或修改针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗)的治疗方案的方法, 其包括在来自接受肺癌标准护理或针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗)、具有肺癌的患者的生物学样品中测定肺癌的组织学, 并根据肺癌的组织学改变或修改治疗方案。例如, 当所述肺癌为NSCLC, 且该NSCLC为SCC或PLC时, 继续针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗)的治疗方案, 或者当所述NSCLC为ADC或LCC时, 中止针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗)的治疗方案。

[0031] 在另一个实施方案中, 本发明提供用于为用针对EGFR的药物的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗)选择具有肺癌的患者的方法, 其包括在来自患者的生物学样品中测定肺癌的组织学。该肺癌为NSCLC, 且该NSCLC为SCC或PLC的测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的响应者, 而该NSCLC为ADC或LCC的测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的不响应者。为针对EGFR的治疗(诸如用抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗的治疗)选择测定为具有SCC或PLC的患者。

[0032] 该肺癌为NSCLC, 其该NSCLC为SCC或PLC的组织学测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的响应者。该NSCLC为ADC或LCC的组织学测定结果指示针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗, 例如西妥昔单抗治疗)的不响应者。在一

些实施方案中,在针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗,例如西妥昔单抗治疗)之前进行肺癌组织学测定。在一些实施方案中,在针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗,例如西妥昔单抗治疗)期间进行肺癌组织学测定。在一些实施方案中,在针对EGFR的治疗(诸如抗EGFR抗体治疗,例如西妥昔单抗治疗)之后进行肺癌组织学测定。

[0033] 根据本发明的响应者为展现治疗功效的个体,而不响应者不展现治疗功效。短语“测定治疗功效”或“测定治疗的功效”及其变型可包括用于确定治疗对受试者提供益处的任何方法。术语“治疗功效”及其变型一般变型为与疾病有关的一种或多种体征或症状的缓解,而且可以由本领域技术人员容易地确定。“治疗功效”也可以指通常与疾病的标准或非标准治疗(即用于治疗癌症的化疗或放疗)有关的毒性的体征和症状的预防或改善。治疗功效的测定通常是适应证和疾病特异性的,而且可包括本领域已知或可得的、用于确定治疗对患者提供有益效果的任何方法。例如,治疗功效的证据可包括但不限于疾病或适应证的消退,对于癌症,这可包括但不限于肿瘤尺寸,肿瘤转移,等的缩小和减轻等。而且,治疗功效还可包括受试者整体健康的总体改善,诸如但不限于患者生活质量的提高,预测受试者存活率的升高,沮丧的减轻或适应证再发生率的降低(消退时间的延长)(参见例如Physicians' Desk Reference (2010))。

[0034] 抗EGFR抗体治疗可包括使用抗EGFR抗体或抗体样治疗剂(包括但不限于具有一个或多个抗EGFR CDR的任何分子)的任何治疗。在一个实施方案中,抗EGFR抗体治疗包括任何已批准的抗EGFR抗体,例如西妥昔单抗(也称作erbitux)或其生物类似物或衍生物,例如完全人的抗EGFR抗体,等。西妥昔单抗(在北美洲由ImClone和Bristol-Myers Squibb销售,在世界其它地方由Merck KGaA销售)是一种重组,人/小鼠嵌合单克隆抗体,其阻断表皮生长因子(EGF)受体(EGFR)的活化。可以通过静脉内输注给予西妥昔单抗来治疗转移性结直肠癌及头和颈癌。在一些实施方案中,在pH 7.0至7.4的无菌、无色液体中配制西妥昔单抗。在一些实施方案中,以2mg/mL的浓度以100mg (50mL) 或200mg (100mL) 任一配制西妥昔单抗。在一些实施方案中,在单次使用管形瓶中配制西妥昔单抗。在一些实施方案中,西妥昔单抗配制剂包括8.48mg/mL氯化钠,1.88mg/mL磷酸氢二钠七水合物,0.41mg/mL磷酸二氢钠单水合物,和注射用无菌水。用于施用西妥昔单抗的方法和配制剂是医学领域技术人员熟知的,而且涵盖任何公知的西妥昔单抗的施用方法,西妥昔单抗的剂量给药方案或西妥昔单抗的配制剂以用于本发明方法。使用西妥昔单抗的详细组合物和方法记载于美国专利No.8075916, No.7977336, No.6217866,通过述及完整收录其每一篇用于所有目的。

[0035] 用于测定癌症的组织学的方法是本领域公知的,而且本领域技术人员能使用任何已知方法来测定癌症样品的SCC, PLC, ADC或LCC组织学。

[0036] 鳞状细胞肺癌(SCC)通常为位于中央的大细胞癌(非小细胞肺癌或NSCLC),其常常具有引起副甲状腺激素相关蛋白(PTHrP)异位生成的副肿瘤综合征,导致高钙血症。这主要是由于吸烟。SCC细胞为大的,平的且以高细胞质对核比分层。关键诊断特征包括存在胞质内角蛋白,这可以联系细胞间桥的存在和鳞状珠形成。大多数SCC细胞出现于主,叶,段或亚段支气管内的中央,但是一些存在于更加周围的部位。肿瘤块一般延伸入气道的内腔,伴有侵入下面的壁。鳞状细胞癌要求存在下述至少一项:角蛋白,角蛋白珠或细胞间桥。

[0037] 肺的腺癌(ADC)是肺癌的一种常见的组织学形式,其含有某些独特的恶性组织体系结构,细胞学,或分子特征,包括腺和/或导管形成和/或生成大量的粘液。腺癌是终身不

吸烟者中最常见的肺癌类型。腺癌是高度异质的肿瘤,而且当前认识几种主要组织学亚型:腺泡腺癌,乳头状腺癌,支气管肺泡腺癌,具有粘蛋白生成的实体腺癌,和混合类型。肺的腺癌趋于粘蛋白染色阳性,因为它衍生自肺的粘液生成腺。与其它腺癌类似,如果这种肿瘤分化较好(低级),那么它会类似正常腺结构。分化较差的腺癌不会类似正常腺(高级),而且会通过看出它们粘蛋白(由腺生成)染色阳性来检测。腺癌要求存在鳞屑(lepidic)样式(先前的支气管肺泡样式),腺泡样式(明确腺形成),乳头状样式,没有基质核的乳头状结节(微乳头状样式)或其它方面未分化的癌瘤的两个连续高倍视野中的超过五个细胞中有细胞内含粘蛋白液泡(实体样式)。因为大多数ADC是组织学异质的,所以它们一般落入混合范畴。肿瘤通常出现于较小的周围气道(不同于带有软骨的支气管),但是能在更加中央的部位找到它们。ADC的关键诊断特征包括腺形成-在那里肿瘤细胞围绕中央腔排列-和/或粘蛋白生成。

[0038] 大细胞肺癌(LCC)指源自肺中转化上皮细胞的未分化恶性赘生物的异质群。实际上,LCC是一种“排除式诊断”,即肿瘤细胞缺乏会将赘生物归类为小细胞癌,鳞状细胞癌,腺癌,或其它更加具体的肺癌组织学类型的光学显微镜特征,例如,病变细胞不是柱形的,不含粘液,不显示鳞状分化,且没有神经内分泌特性或小细胞特征。LCC与小细胞肺癌(SCC)的区别主要在于退化细胞更大,细胞质对核大小比更大,及缺乏“椒盐”染色质。肿瘤趋于由具有丰富细胞质,大核和明显核仁的大细胞组成,而且它们可存在于周围或中央。LCC的变型包括透明细胞癌,巨细胞癌和大细胞神经内分泌癌(LCNEC)。最新版本的世界卫生组织肺癌组织学分型大纲包括LCC的几种变型,包括(a)基底细胞样,(b)透明细胞,(c)淋巴上皮瘤样,(d)杆状表型,和(e)大细胞神经内分泌癌。另外,新系统下认识到称作“组合大细胞神经内分泌癌”或c-LCNEC的“亚变型”。要指派为c-LCNEC,肿瘤必须含有至少10%LCNEC细胞与至少10%其它形式NSCLC的组合。

[0039] 肺多形癌是一种罕见的上皮肿瘤且具有攻击性临床过程。肺多形癌的研究少有记载,参见Kaira et al. (Pulmonary Pleomorphic Carcinoma:A Clinicopathological Study Including EGFR Mutation Analysis,Journal of Thoracic Oncology:April 2010-Volume 5-Issue 4-pp 460-465)。

[0040] 可使用任何合适测试来测定癌症的组织学。此类测试和检查包括但不限于肺癌的常见体征和症状,霍纳(Horner)综合征,上腔静脉综合征,副肿瘤综合征,病历和体检,成像测试,胸部X射线,计算机断层照相(CT)扫描,磁共振成像(MRI)扫描,正电子发射断层照相(PET)扫描,骨扫描,痰细胞学,穿刺活检,支气管镜检查术,支气管内超声,内窥镜食道超声,纵隔镜检查术和纵隔切开术,胸腔穿刺术,胸腔镜检查术,免疫组织化学,分子测试,验血,肺功能测试,或自其衍生的任何合适方法。用于测定癌症组织学的方法的非限制性例子记载于Walter et al. (The Histology of Lung Cancer,Thorax,1955,10:107); Nicholson et al. (Standards and Datasets for Reportin Cancers Dataset for lung cancer histopathology reports(3rd Edition),The Royal College of Pathoglogists,April 2011);Travis et al. (International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma.J Thorac Oncol 2011;6:244-285);世界卫生组织(Tumours of the lung,pleura,thymus

and heart. Lyons: IARC Press, 2004); Tan et al. (A5-MicroRNA Signature for Lung Squamous Cell Carcinoma Diagnosis and hsa-miR-31 for Prognosis, Imaging, Diagnosis, Prognosis, DOI:10.1158/1078-0432.CCR-11-0419); Bishop et al. (p40 (Δ Np63) is Superior to p63 for the Diagnosis of Pulmonary Squamous Cell Carcinoma, Mod Pathol. 2012; 25 (3): 405-415); 及 Iwasaki et al. (Pulmonary Pleomorphic Carcinoma: Diagnosis Using Small Biopsy Specimens, Journal of Thoracic Oncology: September 2010-Volume 5-Issue 9-p 1492), 通过述及将其每一篇完整收入本文用于所有目的。

[0041] 用于获得生物学样品的方法是本领域公知的, 而且可以采用用于获得生物学样品的任何标准方法。可用于本发明方法的生物学样品包括但不限于血清, 血液, 血浆, 全血及其衍生物, 皮肤, 毛发, 毛囊, 唾液, 口腔粘液, 阴道尿液, 汗液, 泪液, 上皮组织, 尿液, 精子, 精液, 精液浆, 前列腺液, 射精前液 (Cowper氏液), 排泄物/分泌物, 活检, 腹水, 脑脊液, 淋巴, 和组织提取物样品或活检 (参见例如 Clinical Proteomics: Methods and Protocols, Vol. 428 in Methods in Molecular Biology, Ed. Antonia Vlahou (2008))。在一个实施方案中, 本发明的生物学样品包括肺的任何细胞或组织样品, 例如 NSCLC 的就地或循环或迁移细胞。在另一个实施方案中, 本发明的生物学样品包括肺的细胞或组织样品的任何提取物或部分或完整级分, 例如 NSCLC 的就地或循环或迁移细胞。

[0042] 在一些实施方案中, 适合于通过本发明的方法来治疗的患者为亚洲血统。在一些实施方案中, 该患者为亚洲血统, 具有展现 SCC 或 PLC 组织学的 NSCLC。在一些实施方案中, 该患者为东亚血统。

[0043] 在一些实施方案中, 抗 EGFR 抗体治疗 (例如西妥昔单抗) 可以与一种或多种化疗剂, 放射治疗剂, 化学放射治疗剂, 或靶向治疗剂共施用。

[0044] 在一些实施方案中, 化疗剂包括但不限于长春碱 (vinblastine), 长春新碱 (vincristine), 放线菌素 D (dactinomycin), 柔红霉素 (daunorubicin), 多柔比星 (doxorubicin), 依托泊苷 (etoposide), 光神霉素 (mithramycin), 帕利他赛 (paclitaxel), 多西他赛 (docetaxel), 顺铂 (cisplatin), 卡铂 (carboplatin), 氟尿嘧啶 (fluorouracil), 亚叶酸 (folinic acid) 和依立替康 (irinotecan)。

[0045] 在一些实施方案中, 靶向治疗剂包括但不限于贝伐单抗 (bevacizumab), 曲妥单抗 (trastuzumab), 厄洛替尼 (erlotinib), 帕尼单抗 (panitumumab), 索拉非尼 (sorafenib), 英夫利昔单抗 (infliximab), 阿达木单抗 (adalimumab), 巴利昔单抗 (basiliximab), 达克珠单抗 (daclizumab) 和奥马珠单抗 (omalizumab)。

[0046] 在一些实施方案中, 以约 40Gy 至约 80Gy 的剂量施用放射治疗剂。在一些实施方案中, 剂量为约 50Gy 至约 70Gy, 在一些实施方案中, 剂量为约 50Gy 至约 65Gy。在一些实施方案中, 以约 50Gy, 约 55Gy, 约 60Gy 或约 65Gy 的剂量施用放射疗法。

[0047] 在还有另一个实施方案中, 本发明提供为例如用抗 EGFR 抗体治疗 (例如用西妥昔单抗) 的 NSCLC 治疗或治疗功效的预测, 确定, 评估或监测提供有用信息的方法。该方法包括在来自患者的生物学样品中测定 NSCLC 的组织学并给根据 NSCLC 的组织学提供治疗和/或治疗功效的确定, 预测, 或评估的实体提供组织学的测定结果。如果组织学为 SCC 或 PLC, 那么该实体可提供应当使用或应当继续用抗 EGFR 抗体治疗的治疗 (例如西妥昔单抗) 的决定。如

果组织学为ADC或LLC,那么该实体可提供不应当使用或应当中止用抗EGFR抗体治疗的治疗(例如西妥昔单抗)的决定。

[0048] 本发明提供试剂盒。该试剂盒包括一种或多种用于测定NSCLC的组织学的试剂和任选的关于利用该组织学结果来确定NSCLC患者的治疗(例如抗EGFR抗体治疗)的指令。例如,当NSCLC为SCC或PLC时,该测定结果指示响应者,而当NSCLC为ADC或LCC时,该测定结果指示抗EGFR抗体治疗的不响应者。

实施例

[0049] 实施例1: NSCLC-SCC PDX对西妥昔单抗的高响应率(RR)

[0050] 因为对于可能的响应者缺乏令人信服的预测性生物标志物,所以虽然数项临床试验指示在一些患者中的临床好处,但是西妥昔单抗尚未批准用于治疗非小细胞肺癌(NSCLC)(Pirker R, et al. Lancet. 2009; 373: 1525-31; Khambata-Ford S, et al. J Clin Oncol. 2010; 28: 918-27; 及 O'Byrne KJ, et al. Lancet Oncol. 2011; 12: 795-805)。为了探索西妥昔单抗响应的预测性生物标志物,我们自具有不同NSCLC组织学亚型(包括腺癌(ADC),鳞状细胞癌(SCC),多形癌(PLC)和大细胞癌(LCC),等)的亚洲患者建立了患者衍生异种移植物(PDX)的大型集合。有趣的是,虽然NSCLC具有25%的总体移植采纳率(take rate),但是SCC的采纳率为~31%,接近ADC的~17%的两倍,这一现象可能对于肿瘤转移潜力和预后具有生物学意义。当我们在一组随机选择的32种PDX模型中测试西妥昔单抗时,我们确认了它们中的一个子基响应西妥昔单抗(15/32)(定义为 $\% \Delta T / \Delta C < 50\%$, 47%)。通过仔细检查这组的组织病理学以及分子遗传性状,我们令人惊讶地发现所有响应性模型唯独属于SCC和PLC(分别为14/15和1/15),与无一属于ADC(0/15)形成对比。相反,非响应者($\% \Delta T / \Delta C > 50\%$)包括ADC(7/17), LCC(2/17), 和SCC(7/17)。虽然响应者没有,但是1/7的非响应性SCC具有活化性KRASG12D突变。一种部分响应者具有ALK-EML4融合($\% \Delta T / \Delta C = 37\%$)。一般而言,非响应性或部分响应性SCC趋于具有与较好的响应者($\% \Delta T / \Delta C < 20\%$)相比相对较低的EGFR表达。在较好的响应者中有包括活化性EGFR突变(删除,插入和点突变)的。总之,我们的数据看来提示亚洲SCC具有比亚洲ADC更高的移植采纳率和更高的西妥昔单抗响应率(RR),其中可能的正面因子为更高EGFR表达和突变,及负面因子为KRAS突变,ALK融合和c-Met扩增。

[0051] 在一般认为NSCLC是攻击性疾病的同时,在两种主要组织学亚型之间,SCC在转移和较差的预后方面甚至更具攻击性(What is non-small cell lung cancer, American Cancer Society, 2012)。相信酪氨酸激酶抑制剂(TKI)治疗腺癌比SCC更加有效,因为TKI治疗好处的正面因子EGFR突变常常与腺癌有关(20%~40%)(Pao et al., 2009及 Billah et al., 2011)且很少与SCC有关(<3%)(Sequest LV et al., 2011)。因为认为EGFR突变测试是ADC而非SCC的TKI治疗的预测性测试(NCCN临床实践指南),或者换言之,大多认为TKI是除SCC外的ADC的治疗。因此,今天本质上没有针对SCC的明显靶向治疗。然而,导致这种观点的大多数临床研究大多是在西方及对高加索人患者进行的。这对于亚洲患者(例如中国人NSCLC患者)有多正确仍然有待确定。

[0052] 所有这些使得为NSCLC患者提供别的治疗选项极其迫切,特别是那些已经在销售但尚未批准用于这种适应证的药物。在它们中有针对EGFR(也是两种已经批准的NSCLC药物

(EGFR-TKI)的靶物)的单克隆抗体(包括西妥昔单抗和帕尼单抗)(还有未批准的Matuzumab)就是此类潜在选项。

[0053] 西妥昔单抗是一种IgG1单克隆抗体。它靶向EGFR且阻断配体-受体结合,引起受体构象变化并灭活EGFR介导的细胞信号传导(Mendelsohn J, et al. J Clin Oncol. 2003; 21: 2787-99)。它得到美国食品和药品管理局(FDA)批准用于治疗表达EGFR的转移性结肠直肠癌(mCRC),或是作为单一药剂(用于依立替康/奥沙利铂不应性患者)或是与依立替康组合(用于依立替康不应性患者)(Ciardiello F, et al. N Engl J Med. 2008; 358: 1160-74),排除那些在密码子12和13处具有KRAS突变的(De Roock W, et al. Lancet Oncol. 2011; 12: 594-603)。西妥昔单抗还批准作为与化疗(Vermorken JB, et al. N Engl J Med. 2008; 359: 1116-27)和放射(Bonner JA, et al. N Engl J Med. 2006; 354: 567-78)的组合治疗用于适应证具有局部晚期且处于复发/转移性疾病的头和颈鳞状细胞癌(SCC)。然而,它尚未批准用于治疗NSCLC,尽管在与化疗剂组合时临床试验(例如FLEX)在一些患者中指示抗肿瘤活性(Pirker R, et al. Lancet. 2009; 373: 1525-31)。这是因为未能对于可能的响应者鉴定出令人信服的预测性生物标志物(BMS099)(Khambata-Ford S, et al. J Clin Oncol. 2010; 28: 918-27及O'Byrne KJ, et al. Lancet Oncol. 2011; 12: 795-805),尽管最近的努力提示较高的EGFR-IHC得分证明更长的存活(Pirker R, et al. Lancet Oncol. 2012; 13: 33-42)。

[0054] 没有任何体外操作,患者衍生异种移植(PDX)反映患者的组织病理学和遗传概况,包括NSCLC PDX模型(Ding L, et al. Nature. 2010; 464: 999-1005; Marangoni E, et al. Clin Cancer Res. 2007; 13: 3989-98; Nemati F, et al. Clin Cancer Res. 2010; 16: 2352-62; Nemati F, et al. Anticancer Drugs. 2010; 21: 25-32; Fichtner I, et al. Clin Cancer Res. 2008; 14: 6456-68; 及Hennessey PT, et al. PLoS One. 2011; 6: e20584)。PDX提高了临床前癌症模型的预测效力且使得能够发现靶向治疗剂的预测性生物标志物。先前记载了通过将初始亚洲NSCLC患者肿瘤组织移植入免疫受损的小鼠来建立PDX模型的大型集合(称作NSCLC HuPrime®)(Yang M, et al. Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. 2012; 提交)。这个集合使得能够紧密检查NSCLC亚型的性质及还能够基于一个随机选择组实施临床试验样研究。我们发现SCC亚型具有比ADC显著较高的移植率,还具有较高百分比的EGFR突变率,及特别是具有较高的针对西妥昔单抗治疗的响应率(RR)-在测试的NSCLC模型中,所有响应者至今几乎唯独是SCC,至少对于亚洲患者衍生模型而言。一组随机选择的移植模型的西妥昔单抗治疗证明不仅它们中的一个子基响应治疗,而且所有响应者至今令人惊讶地几乎唯独是SCC,提示SCC比非SCC显著更高的响应率(RR),至少对于亚洲患者而言。另外,我们还鉴定出可能影响响应的一些因子,或是正面的或是负面的。此发现指示NSCLC-SCC可能是西妥昔单抗以及其它EGFR拮抗性单克隆抗体药物的较好疾病靶。这些观察结果可能潜在有助于在临床中对亚洲患者定义可能的NSCLC西妥昔单抗响应者。

[0055] 材料和方法

[0056] 患者肿瘤样品,免疫受损的小鼠中的移植和化合物功效评估。自诊断为NSCLC的患者新鲜和手术切除的肿瘤组织的移植先前有记载(Yang M, et al. Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from

naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交),而且得到了河北医科大学第四医院制度审查委员会的批准,自患者得到了知情同意书。所有涉及实验动物的研究是严格依照(美国)国家卫生研究院实验室动物护理和使用指南的推荐进行的。方案得到Crown Bioscience公司动物实验伦理委员会(Crown Bioscience IACUC委员会)的批准。西妥昔单抗在已建立的NSCLC-PDX模型中的抗肿瘤活性的评估先前也有记载(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。每周两次监测肿瘤生长,并计算 $\% \Delta T / \Delta C$ 值以评估肿瘤对治疗的响应(ΔT =治疗组的肿瘤体积变化, ΔC =对照组的肿瘤体积变化)。

[0057] 热点癌基因突变分析。NSCL-PDX模型的EGFR基因热点分析先前有记载(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。对于其它癌基因突变分析,PCR引物为:KRAS-外显子2,正向:5'-TTATGTGTGACAT GTTCTAAT-3'(SEQ ID NO:1);反向:5'-AGAATGGTCCTGCACCAGTAA-3'(SEQ ID NO:2)。KRAS-外显子3,正向:5'-TCAAGTCCTTTGCCCATT-3'(SEQ ID NO:3);反向:5'-TGCATGGCATTAGCAAAGAC-3'(SEQ ID NO:4)。KRAS-外显子4,正向:5'-TTGTGGACAGGTTTTGAAAGA-3'(SEQ ID NO:5);反向:5'-AGAAGCAATGCCCTCTCAAG-3'(SEQ ID NO:6)。EGFR-外显子18,正向:5'-CATGGTGAGGGCTGAGGTGA-3'(SEQ ID NO:7),反向:5'-CCCCACCAGACCATGAGAGG-3'(SEQ ID NO:8)。EGFR-外显子19,正向:5'-GTGCATCGCTGGTAACATCCA-3'(SEQ ID NO:9),反向:5'-GGAGATGAGCAGGGTCTAGAGCA-3'(SEQ ID NO:10)。EGFR-外显子20,正向:5'-CGCATTCATGCGTCTTCACC-3'(SEQ ID NO:11),反向:5'-CTATCCCAGGAGCGCAGACC-3'(SEQ ID NO:12)。EGFR-外显子21,正向:5'-TGGCATGAACATGACCTGAA-3'(SEQ ID NO:13),反向:5'-CAGCCTGGTCCCTGGTGTC-3'(SEQ ID NO:14)。PI3K-外显子1,正向:5'-CTCCACGACCATCATCAGG-3'(SEQ ID NO:15)反向:5'-GATTACGAAGGTATTGGTTTAGACAG-3'(SEQ ID NO:16)。PI3K-外显子9,正向:5'-GATTGGTTCTTTCTGTCTCTG-3'(SEQ ID NO:17),反向:5'-CCACAAATATCAATTTACAACCATTG-3'(SEQ ID NO:18),PI3K-外显子20:正向:5'-TGGGGTAAAGGGAATCAAAAG-3'(SEQ ID NO:19),反向:5'-CCTATGCAATCGGTCTTTGC-3'(SEQ ID NO:20)。AKT-外显子3,正向:5'-ACATCTGTCCTGGCACAC-3'(SEQ ID NO:21),反向:5'-GCCAGTGCTTGTTGCTTG-3'(SEQ ID NO:22)。BRAF-外显子15,正向:5'-CTCTTCATAATGCTTGCTC-3'(SEQ ID NO:23),反向:5'-GTGAATACTGGGAACATATG-3'(SEQ ID NO:24)。ERK-外显子2,正向:5'-ACTTTACCAACT TGCCTTCT-3'(SEQ ID NO:25),反向:5'-TCACAACAAACCATCCCT-3'(SEQ ID NO:26)。ERK-外显子8,正向:5'-TGCCTTACCCATAAC-3'(SEQ ID NO:27),反向:5'-GGACCTTGAGGAACATAAT-3'(SEQ ID NO:28)。用于这些癌基因的PCR方法与先前记载用于EGFR突变分析的相同(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。

[0058] **NSCLC-HuPrime®**模型的EGFR和c-Met表达和基因拷贝分析。测定EGFR和c-

Met表达和基因拷贝数的方法包括标准免疫组织化学(IHC),Affy-U219,qRT-PCR,qPCR,SNP6分析,它们先前都有记载(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts fromnaïveAsian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。

[0059] 结果

[0060] SCC具有比ADC显著更高的移植率。经在Balb/c裸鼠中皮下移植通过移植自未接受治疗的亚洲患者手术切除的肿瘤组织建立了一大组NSCLC PDX模型(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts fromnaïveAsian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。来自医院且用于移植的肿瘤组织是所有NSCLC组织病理学类型的,没有预先的包括或排除标准,由~47%的腺癌(ADC),~33%的鳞状细胞癌(SCC),3%的腺鳞癌(多形癌或PLC),2%的大细胞癌(LCC),和15%的其它组成。ADC和SCC之间的分布率与患者群体中的(见上文)大致相似。一般而言,NSCLC 25%的整体采纳率与其他人报告的那些一致(Fichtner I,et al.Clin Cancer Res.2008;14:6456-68)。有趣的是,SCC~31%的采纳率显著高于ADC的(~17%)。在这项实验中,PLC(腺鳞癌)的采纳率为~35%,而LCC为~50%,但是这二者的样本大小对于达到有意义还太小。从未报告SCC(p值0.002)超出ADC的统计学显著高采纳率(Fichtner I,et al.Clin Cancer Res.2008;14:6456-68),而且暗示这两种主要组织学类型之间肿瘤生物学的根本差异,包括在模型中和可能在患者中SCC比ADC更加攻击性的生长表型和转移潜力(见上文)。报告了PDX更像转移性肿瘤多于原发性肿瘤(Ding L,et al.Nature.2010;464:999-1005),这可能也解释了SCC比ADC高的采纳率。

[0061] 为了确保模型的组织学,由其他病理学家独立且不知情地仔细检查模型肿瘤组织。还实施针对分化标志物的IHC染色以进一步确认模型的组织学,这汇总于表1,图5显示代表性图像。

[0062] 表1:患者信息。

[0063]

ID	性别	年龄	阶段	级别	组织病理学
9	M	47	T2N1M0 IIb	II	分化中等至较差的SCC
299	M	52	T1N0M0 Ia	NA	分化较差的SCC
350	M	75	T1N0M0 Ia	NA	分化较好的鳞状细胞癌
377	F	45	T1N0M0 I	III	分化较差的ADC
387	F	64	T3N2M0IIa	NA	分化较差的腺癌

[0064]

395	M	58	T1N2M0IIa	NA	分化较差的SCC
697	M	53	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
743	M	48	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
858	M	55	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
1143	M	85	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
1155	M	77	NA	NA	分化中等至较差的鳞状细胞癌
1160	M	70	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
1215	M	58	NA	NA	鳞状细胞癌，基样变体
1225	M	53	NA	NA	分化较差的腺癌
1245	F	57	NA	NA	分化中等的ADC
1302	M	62	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
1429	M	63	NA	NA	分化中等差的SCC
1513	M	65	NA	NA	分化较差的SCC
1656	F	38	NA	NA	分化中等的SCC
1901	F	65	NA	NA	QC_诊断 (P1, P2): 未分化的大细胞癌
2503	F	78	NA	NA	QC_诊断 (P4): 分化较差的ADC
2505	M	69	NA	NA	分化较差的腺癌
2511	M	49	NA	NA	未分化的大细胞癌
2512	M	58	NA	NA	分化较差至中等ADC
330	F	72	NA	II	分化中等至较差的鳞状细胞癌
357	F	60	T1N0M0 Ia	NA	分化中等的鳞状细胞癌
1235	F	56	NA	NA	具有部分支气管肺泡癌的腺鳞癌
1868	M	NA	NA	NA	分化较差中等的SCC
1204	M	69	NA	NA	QC_诊断 (P2): 分化较差的鳞状细胞癌
38	M	45	T2N1M0 IIb	I-II	分化较差的鳞状细胞癌
1219	M	70	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌
741	M	53	NA	NA	分化较差的鳞状细胞癌

[0065] 测试的NSCLC-HuPrime®组的一个子集响应西妥昔单抗且发现唯独是SCC或

PLC。本西妥昔单抗治疗研究中使用32种NSCLC PDX模型，没有依照组织病理学亚型预先选择的故意。依照患者和相应模型样品的组织病理学检查，它们是四种亚型：SCC (22/32或66%)，ADC (7/32或22%)，PLC (1/32或3%) 和LCC (3/32或9%) (表2)。SCC显著更高的百分比很可能是由于集合中SCC更多(见上文)。

[0066]

表2: NSCLC HuPrime®模型的汇总

模型	病理学	EGFR突变	KRAS突变	EGFR表达 (11725102_at)	MET CN (PennCNV)	西妥昔单抗 $\Delta T/\Delta C$
1235	PLC	删除	WT	+++	3	-0.12
1868	SCC	T790M/L858R	WT	++	2	-0.06
1204	SCC	WT	WT	++	2	0.03
357	SCC	WT	WT	+++	2	0.04
387	SCC	WT	WT	+++	2	0.08
330	SCC	WT	WT	++	2	0.11
1219	SCC	WT	WT	++	2	0.17
741	SCC	WT	WT	+++	2	0.22
1160	SCC	WT	WT	++	2	0.22
395	SCC	WT	WT	++	2	0.23
9	SCC	WT	WT		1	0.35
1656	SCC	WT	WT	+++	2	0.37
1143	SCC	WT	WT	+	2	0.37
1302	SCC	WT	WT			0.43
350	SCC	WT	WT	+++	2	0.49
299	SCC	WT	WT	+	2	0.53

[0067]

2505	ADC	WT	WT	+	2	0.57
2511	LCC	WT	WT			0.59
1901	LCC	WT	WT	++	4 (扩增)	0.77
1215	基底SCC [^]	WT	WT		2	0.80
1245	ADC	WT	35G>A, G12D	++	2	0.82
1155	SCC	WT	WT	+	2	0.88
743	SCC	WT	WT	++	2	0.92
1225	ADC	WT	WT			0.94
2503	ADC	WT	WT	++	4 (扩增)	0.94
858	ADC	L858R	WT	++	4 (扩增)	0.97
377	ADC	WT	WT	++	1	1.00
387	ADC	插入	WT	+++	3	1.00
2512	SCC	WT	Gly12Cys			1.00
1429	SCC					1.00
697	SCC	WT	WT	++	2	1.04
1513	SCC	WT	WT	+	2	1.20

[0068] 依照免疫组织化学(IHC)分析,还确认了这32种模型的样品是EGFR阳性的(表2和图1),尽管它没有作为包括标准用于这些研究。为了对模型评估针对西妥昔单抗的响应,每周一次持续两周用1mg/小鼠的剂量水平处理这个组。肿瘤响应通过肿瘤体积来测量并通过% $\Delta T/\Delta C$ 来量化,如先前记载的(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts fromnaïveAsian NSCLC

patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。结果证明了这个组的一个子集响应西妥昔单抗,与临床中看到的类似(Khambata-Ford S,et al.J Clin Oncol.2010;28:918-27)。发现15/32是敏感性的(定义为 $\% \Delta T / \Delta C < 50\%$),或者响应率(RR)为47%(表2)。图2显示了响应者和非响应者的肿瘤生长抑制曲线的例子。

[0069] 接着比较不同组织病理学亚型的响应率(RR)。令人惊讶地,所有响应者为SCC(14/15)或PLC(1/15)(100%)。SCC/PLC的RR为65%(15/23)。在17名非响应者中,7名为SCC(7/17,或47%),7名为ADC(7/17,或41%),而2名为LCC(12%)。ADC的RR低得令人惊讶(0/7)。这项基于有限数目的样品的观察结果提示SCC具有比ADC显著更高的RR(双尾独立t检验的p值为0.001)。用西妥昔单抗处理的NSCLC PDX模型先前已由他人记载(Fichtner I,et al.Clin Cancer Res.2008;14:6456-68及Krumbach R,et al.Eur J Cancer.2011;47:1231-43)。然而,组织学亚型间响应的差异从未报告或评论。这项观察结果是对模型集合独特的或是一般性的现象。值得注意的是该模型是未接受过治疗的,完全是亚洲患者起源,在组织学亚型间具有偏倚的采纳率,这对观察结果中的潜在差异可能有或没有贡献。

[0070] 下一个问题是是否有临床数据支持这项观察结果。有两项临床III期研究,其中测试西妥昔单抗与化疗的组合。在FLEX研究中,与AC相比,确实对SCC观察到一些更好的临床好处(OS),危害比分别为0.94和0.8,尽管在报告中没有明确描述(Pirker R,et al.Lancet.2009;373:1525-31)。在这些研究中,将组合治疗与单独的化疗比较。

[0071] 许多因素可促成在患者和PDX模型上进行的试验之间的潜在差异,包括:1)不同类型的终点-PFS(无进展存活)对RR,2)不同治疗方案-组合对单一药剂,3)群体的种族差异:主要是高加索人对东亚人。我们的观察结果提供重要的医学意义。

[0072] SCC中的活化性EGFR突变针对西妥昔单抗的响应没有负面影响。接着,检查响应者的EGFR基因状态,与他们对西妥昔单抗的响应进行比较。在前4名响应者中($\% \Delta T / \Delta C < 8\%$)(表2),三名具有经典的活化性EGFR突变,它们在临床中频繁报告(Gazdar AF.Oncogene.2009;28Suppl 1:S24-31)。具体而言,它们是含有L858R/T790M双重突变的HuPrime®-LU1868,含有删除突变(外显子19:2236-2350)的LU1235,和LU1868/1235,较早的报告中有记载(Yang M,et al.Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors.2012;提交)。这些结果进一步确认了活化性EGFR突变针对西妥昔单抗的响应没有负面影响,而且这些突变连同高EGFR表达事实上是促成西妥昔单抗响应的正面因素(Krumbach R,et al.Eur J Cancer.2011;47:1231-43及Tsuchihashi Z,et al.N Engl J Med.2005;353:208-9)。

[0073] 同样有趣的是,上文描述的具有EGFR突变的模型是SCC(表1和表2),多于在ADC中发现的。这同先前的报告(即虽然在ADC中频繁发现EGFR突变,但是很少在SCC中发现EGFR突变)矛盾。这可能代表亚洲人和高加索人NSCLC患者之间的主要差异。为了确认这一观察结果,数位病理学家不知情地且独立地确认了所有这些模型的组织学。图5显示了H&E载玻片。事实上,最近有报告描述中国人(Jia XL,et al.Lung Cancer.2011;74:396-400)和日本人(Shukuya T,et al.Cancer Sci.2011;102:1032-7)患者中发生的,非ADC(SCC,腺鳞和大细胞癌)中的EGFR点突变。

[0074] SCC响应者中的其它癌基因突变有待鉴定,除了LU1565,它含有ALK-EML4融合且具

有37%的 $\Delta T/\Delta C$ 值,或部分响应。相反,发现非响应性SCC中的一些其它致癌突变对于西妥昔单抗响应是负面因素,包括SCC-LU2512(KRAS-G12C)(表2)。在非SCC模型中,还发现它们中的许多具有负面因素:ADC-LU858,ADC-LU2503和LCC-LU1901及c-Met扩增;ADC-LU1245及KRAS-G12C;ADC-LU387及Her2基因扩增。

[0075] 使用PDX的本研究清楚地证明高百分比的来自亚洲患者的NSCLC SCC响应西妥昔单抗(表2)。

[0076] 讨论

[0077] 唯一得到批准的三种靶向疗法是针对EGFR的TKI(厄洛替尼,吉非替尼)和ALK-EML4(克唑替尼)。它们具有有限的应用,因为只有小百分比的NSCLC患者:10%的NSCLC应用EGFR-TKI(Lynch TJ, et al. *N Engl J Med.* 2004; 350:2129-39及Paez JG, et al. *Science.* 2004; 304:1497-500),主要是ADC亚型,和3~5%应用克唑替尼(Rodig SJ, et al. *Curr Opin Investig Drugs.* 2010; 11:1477-90)。这使得为NSCLC患者提供别的治疗选项极其迫切,特别是那些已经在销售但尚未批准用于这种适应证的药物。在它们中有针对EGFR(也是两种已经批准的NSCLC药物(EGFR-TKI)的靶物)的单克隆抗体(包括西妥昔单抗和帕尼单抗)(还有未批准的Matuzumab)就是此类潜在选项。

[0078] 然而,至今主要在西方人中进行关于西妥昔单抗的临床试验没有产生极大的希望。主要的障碍仍然是鉴定预测性生物标志物和因而会在临床试验中对西妥昔单抗敏感的患者群体(Pirker R, et al. *Lancet.* 2009; 373:1525-31; Khambata-Ford S, et al. *J Clin Oncol.* 2010; 28:918-27; 及O'Byrne KJ, et al. *Lancet Oncol.* 2011; 12:795-805)。我们当前使用PDX的研究清楚地证明了高百分比的来自亚洲患者的NSCLC SCC响应西妥昔单抗(表1),而且克服了这个障碍。我们的研究能极大地有助于临床试验设计,特别是要在东亚进行的研究。

[0079] 特别注意到下述发现,即亚洲人NSCLC可不同于高加索人NSCLC。在下述方面看到了差异:1)对TKI的响应(亚洲人NSCLC(特别是女性)的RR比西方人的RR显著更高;2)如由其他人和本文报告的,不同组织学亚型中EGFR突变的频率;3)如本文描述的,亚洲人SCC中显著较高的RR。这些关于患者人口统计学间差异的新知识有助于指定更加有效的疗法。

[0080] 上文仅仅例示本发明的原理。会领会本领域技术人员会能够设计各种安排,它们虽然在本文中并没有明确描述或显示,但是体现本发明的原理且包括在其精神和范围内。而且,本文中记载的所有例子和条件性语言主要意图帮助读者理解本发明的原理和发明人做出的促进现有技术的概念,并且要解释为不限于此类具体记载的例子和条件。

[0081] 此外,本文中记载本发明原理,方面和实施方案及其具体实施例的所有声明意图涵盖其结构和功能等同物二者。另外,意图此类等同物包括当前已知的等同物和未来开发的等同物二者,即开发的、实施相同功能的任何元件,不管结构。因此,本发明的范围并非意图限于本文中显示和描述的例示性实施方案。而是说,本发明的范围和精神由所附权利要求书体现。

序列表

	<110> 中美冠科生物技术有限公司 (Crown BioScience, Inc.) Li, Henry Qixiang Yang, Mengmeng	
	<120> 用于为抗 EGFR 药物治疗鉴定非小细胞肺癌患者的组织学标志物	
	<130> CRBI-001/01W0	
	<150> PCT/CN2012/079399	
	<151> 2012-07-31	
	<160> 28	
	<170> PatentIn version 3.5	
	<210> 1	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> KRAS-外显子 2, F	
	<400> 1 ttaatgtgtga catgttctaa t	21
	<210> 2	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
[0001]	<223> KRAS-外显子 2, R	
	<400> 2 agaatggtcc tgcaccagta a	21
	<210> 3	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> KRAS-外显子 3, F	
	<400> 3 tcaagtcctt tgcceatttt	20
	<210> 4	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> KRAS-外显子 3, R	
	<400> 4 tgcatggcat tagcaagac	20
	<210> 5	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> KRAS-外显子 4, F	

[0002]	<400> 5	
	ttgtggacag gttttgaaag a	21
	<210> 6	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> KRAS-外显子 4, R	
	<400> 6	
	agaagcaatg cccctcctaag	20
	<210> 7	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> EGFR-外显子 18, F	
	<400> 7	
	catggtgagg gctgaggtga	20
	<210> 8	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> EGFR-外显子 18, R	
	<400> 8	
	ccccaccaga ccatgagagg	20
	<210> 9	
	<211> 21	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> EGFR-外显子 19, F	
	<400> 9	
	gtgcatcgct ggtaacatcc a	21
	<210> 10	
	<211> 23	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> EGFR-外显子 19, R	
	<400> 10	
	ggagatgagc agggctctaga gca	23
	<210> 11	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> 人工序列	
	<220>	
	<223> EGFR-外显子 20, F	

[0003]	<400> 11 cgcatcattg cgtcttcacc	20
	<210> 12 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> EGFR-外显子 20, R	
	<400> 12 ctatcccagg agcgcagacc	20
	<210> 13 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> EGFR-外显子 21, F	
	<400> 13 tgccatgaac atgacctga a	21
	<210> 14 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> EGFR-外显子 21, R	
	<400> 14 cagcctggtc cctggtgtc	19
	<210> 15 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> PI3K-外显子 1, F	
	<400> 15 ctccacgacc atcatcagg	19
	<210> 16 <211> 26 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> PI3K-外显子 1, R	
	<400> 16 gattacgaag gtattggttt agacag	26
	<210> 17 <211> 22 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> PI3K-外显子 9, F	

[0004]	<400> 17 gattggttct ttcctgtctc tg	22
	<210> 18 <211> 26 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> PI3K-外显子 9, R	
	<400> 18 ccacaaatat caatttaciaa ccattg	26
	<210> 19 <211> 21 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> PI3K-外显子 20: F	
	<400> 19 tggggtaaag ggaatcaaaa g	21
	<210> 20 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> PI3K-外显子 20: R	
	<400> 20 cctatgcaat cggctctttgc	20
	<210> 21 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> AKT-外显子 3, F	
	<400> 21 acatctgtcc tggcacac	18
	<210> 22 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> AKT-外显子 3, R	
	<400> 22 gccagtgttt gttgtttg	18
	<210> 23 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> BRAF-外显子 15, F	

[0005]	<400> 23 ctcttcataa tgcttgctc	19
	<210> 24 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> BRAF-外显子 15, R	
	<400> 24 gtgaatactg ggaactatg	19
	<210> 25 <211> 20 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> ERK-外显子 2, F	
	<400> 25 actttaccaa cttgccctct	20
	<210> 26 <211> 18 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> ERK-外显子 2, R	
	<400> 26 tcacaacaaa ccattccct	18
	<210> 27 <211> 15 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> ERK-外显子 8, F	
	<400> 27 tgccttaccc ataac	15
	<210> 28 <211> 19 <212> DNA <213> 人工序列	
	<220> <223> ERK-外显子 8, R	
	<400> 28 ggaccttgag gaacataat	19

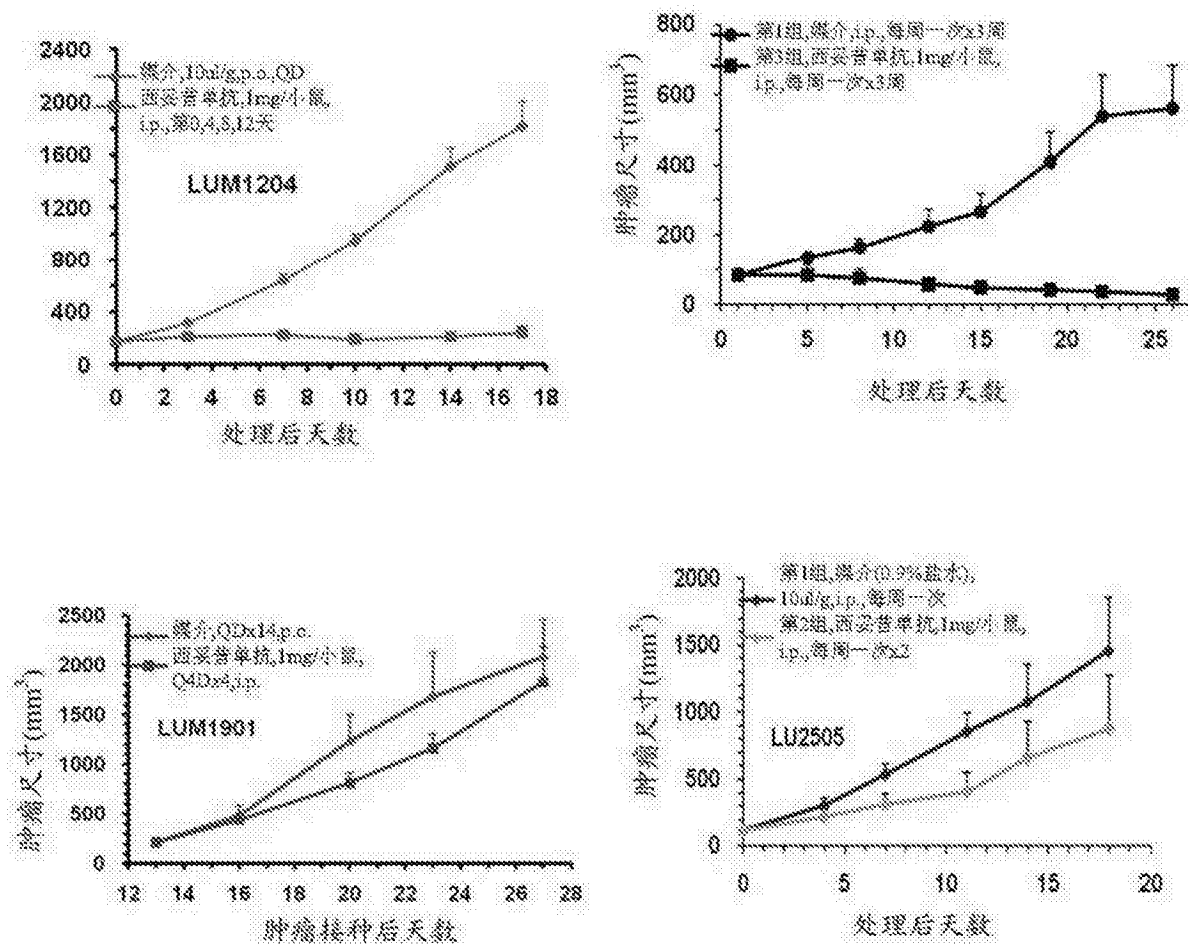


图1

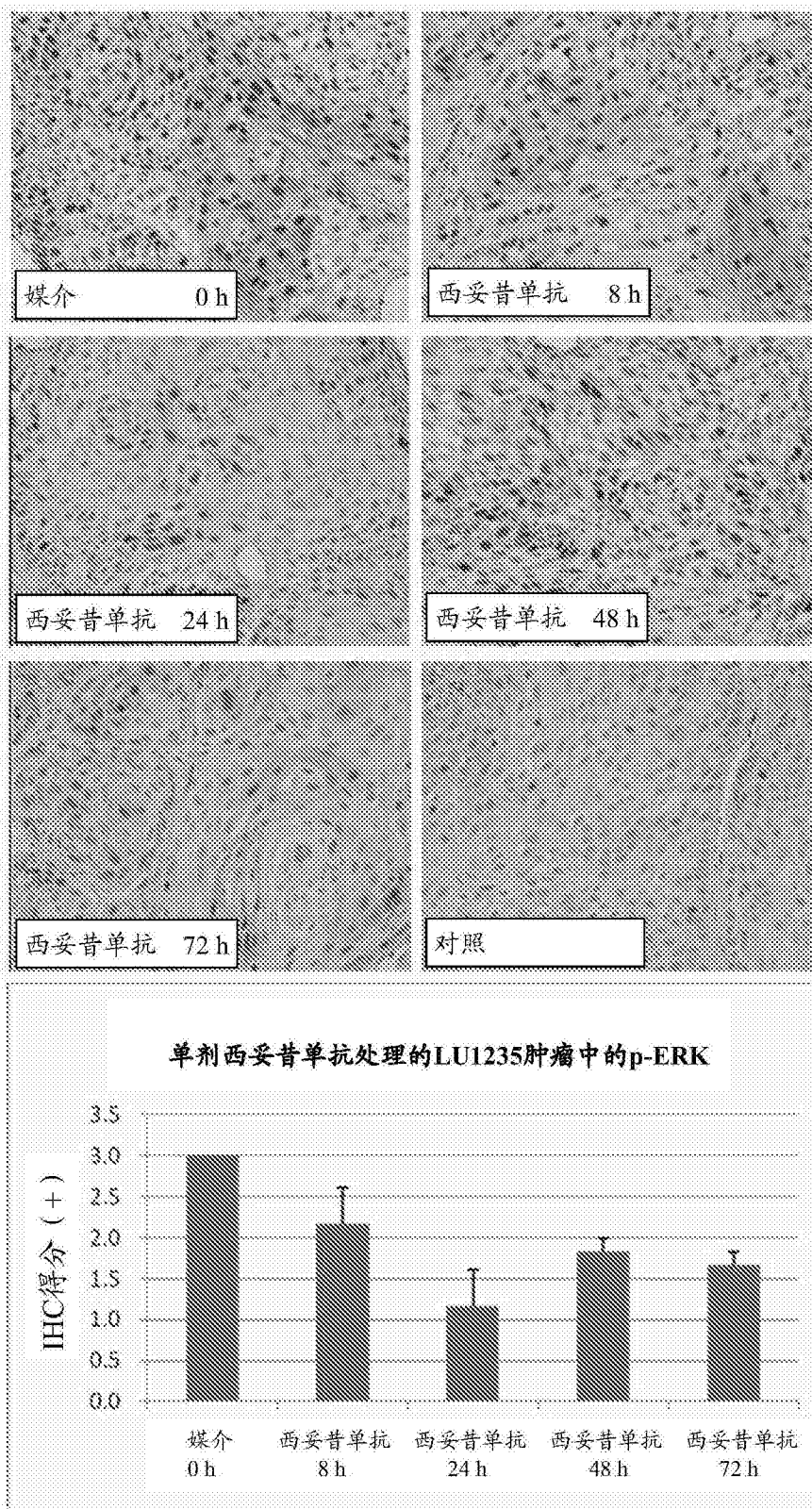


图2

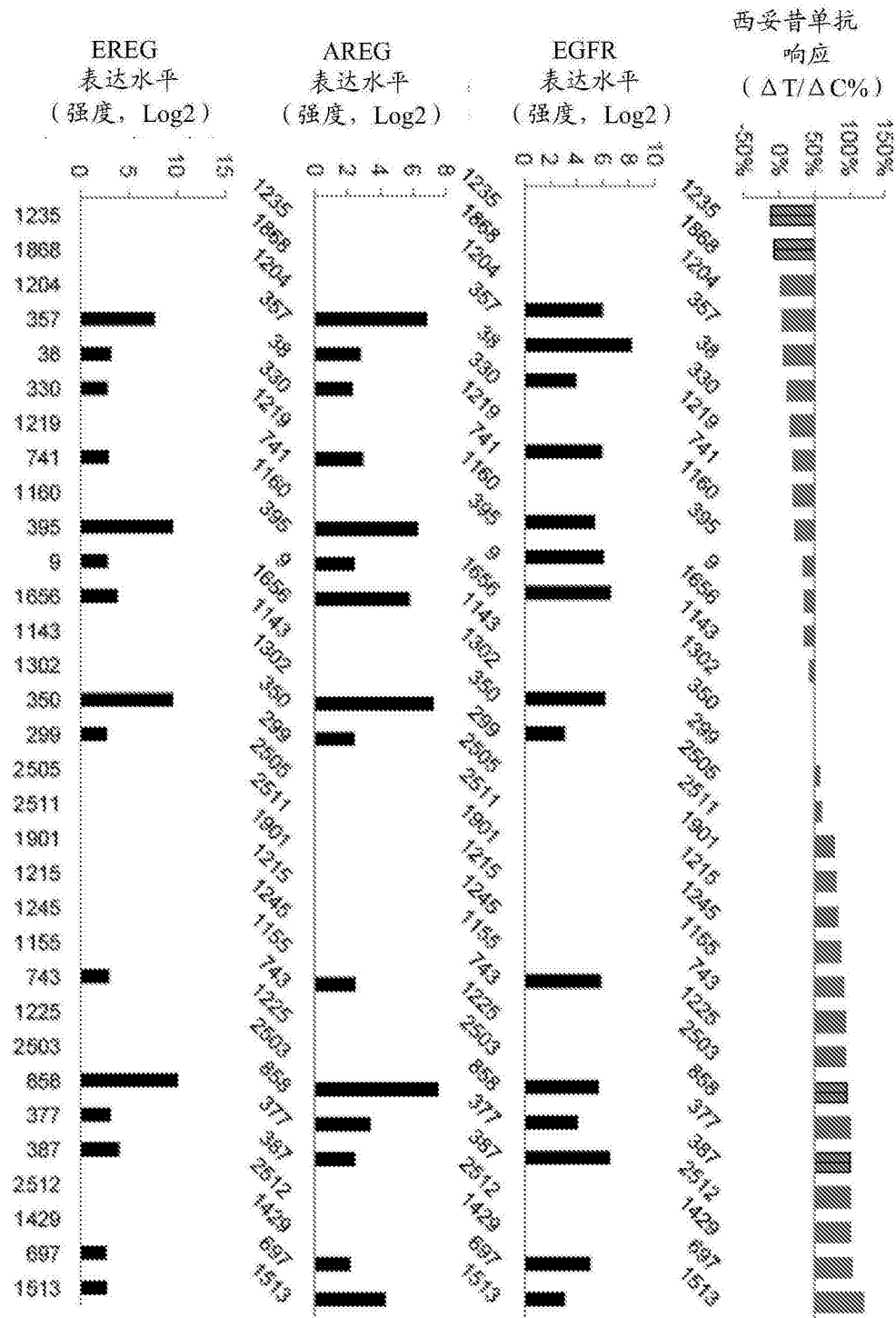


图3

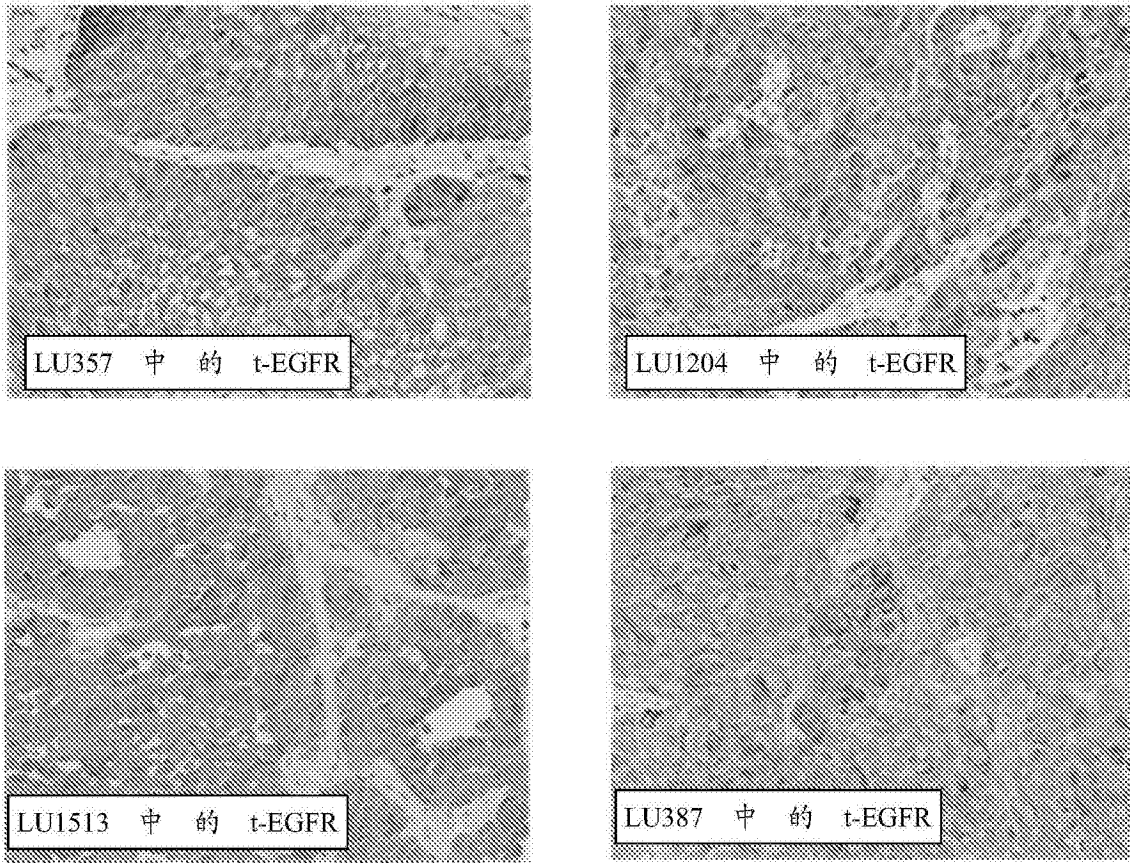


图4

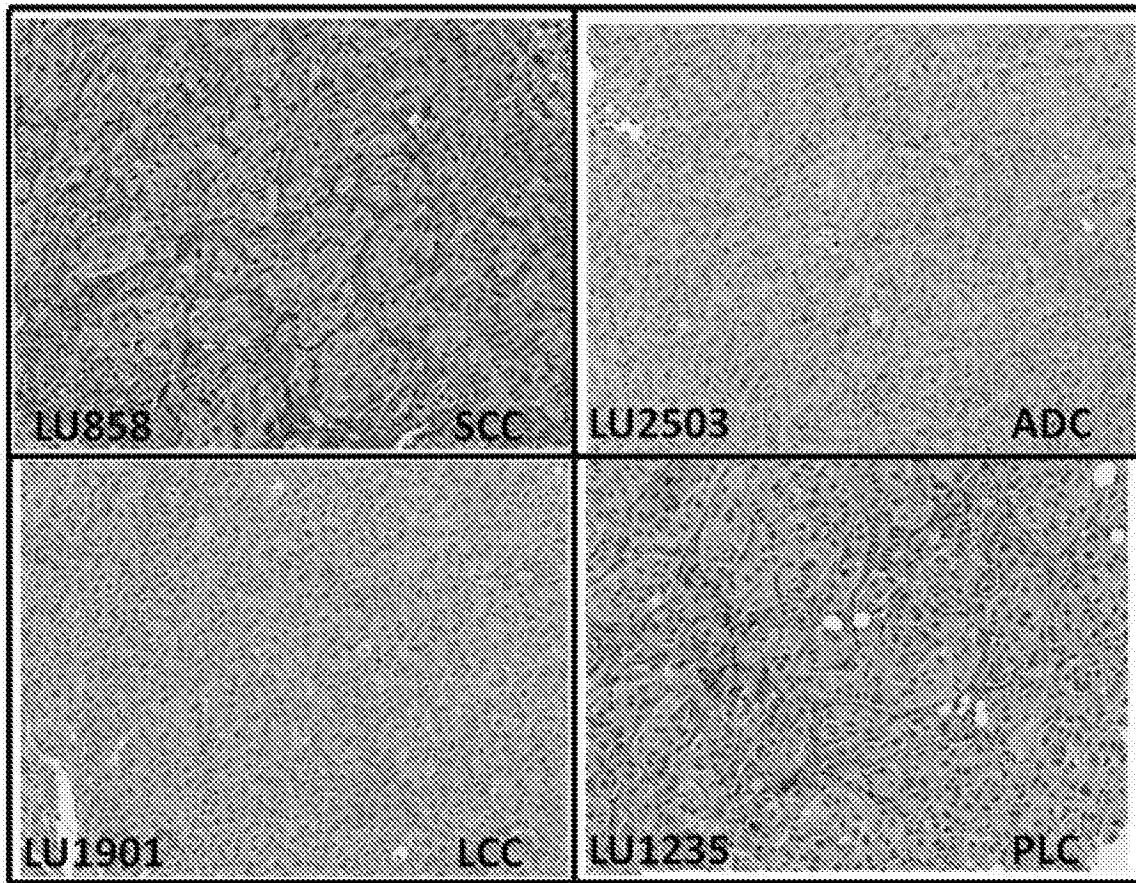


图5