

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成26年9月4日(2014.9.4)

【公表番号】特表2013-532489(P2013-532489A)

【公表日】平成25年8月19日(2013.8.19)

【年通号数】公開・登録公報2013-044

【出願番号】特願2013-523288(P2013-523288)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 A

【手続補正書】

【提出日】平成26年7月18日(2014.7.18)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんにおける表 1 または 2 の遺伝子の発現レベルを、原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが標準治療に応答する可能性の指標とする方法であって、がんにおける表 1 または 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、該腫瘍が該標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示し、そして表 2 の遺伝子の過剰発現は、該腫瘍が該標準治療に感受性である可能性が高くなることを示す、方法。

【請求項 2】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍がパクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高くなることを示す、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

アッセイされた前記遺伝子の前記発現レベルは、表 1 または表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 または表 2 の遺伝子を含む、請求項 4 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、標準治療に抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高くなることを示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】

がんにおける表 2 の遺伝子の発現レベルを、原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが標準治療に応答する可能性の指標とする方法であって、がんにおける表 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含む、方法。

【請求項 9】

表 2 の遺伝子の発現低下は、前記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示す、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

アッセイされた前記遺伝子の前記発現レベルは、表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する、請求項 8 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 2 の遺伝子を含む、請求項 10 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、標準治療に抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高くなることを示す、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 14】

がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表 2 の遺伝子の発現のレベルを増大させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表 2 の遺伝子の発現の増大は、該候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とすることを示す、方法。

【請求項 15】

表 2 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表 1 の遺伝子の発現のレベルを低下させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の発現の低下は、該候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とすることを示す、方法。

【請求項 18】

表 1 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

発現が評価される遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

がんにおける表 1 の遺伝子の発現レベルを、原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが治療に応答性である可能性の指標とする方法であって、がんにおける表 1 の遺伝子の

発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、サリノマイシンまたは他の C S S 薬剤による治療に対して腫瘍が感受性である可能性が高くなることを示す、方法。

【請求項 2 1】

がんにおける表 1 の遺伝子の発現レベルを、原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが治療に応答性である可能性の指標とする方法であって、がんにおける表 1 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、標準治療に対して該腫瘍が抵抗性である可能性が高くなることを示す、方法。

【請求項 2 2】

前記標準治療は、パクリタキセルである、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

表 1 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、請求項 2 0 または 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 4】

発現が評価される遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記遺伝子発現レベルの決定によって得られたデータをまとめる工程をさらに含む、請求項 1 ~ 1 3 または 2 0 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記まとめる工程は、前記原発性腫瘍の外科的切除後に前記がんの再発なしでの前記患者の長期生存の可能性の予測を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記まとめる工程は、前記患者の処置様式についての推奨を含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 8】

1 つ以上の容器内に、表 1 または表 2 の遺伝子の 1 つ以上を特異的に認識する少なくとも 1 種の検出可能に標識した試薬を含む、キット。

【請求項 2 9】

表 1 または表 2 の 1 つ以上の遺伝子の、がんにおける発現のレベルが決定される、請求項 2 8 に記載のキット。

【請求項 3 0】

前記キットは、上皮がんのバイオマーカープロファイルを作成するために使用される、請求項 2 8 に記載のキット。

【請求項 3 1】

前記がんが、上皮がんである、請求項 1 ~ 1 3 または 2 0 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記がんが、肺がん、乳がん、前立腺がん、胃がん、結腸がん、膵臓がん、脳がんまたは黒色腫がんである、請求項 1 ~ 1 3 または 2 0 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【発明の名称】遺伝子発現プロファイリングに基づくがん治療への応答の予測ならびにモニタリング

【技術分野】

【0001】

関連出願

本願は、2010年8月2日に出願された米国仮特許出願第61/369,928号への優先権を主張し、この米国仮特許出願は本明細書中に参考として援用される。

【0002】

発明の分野

本発明は、上皮がんの処置に関わる遺伝子セット、およびがん組織の遺伝子発現研究に由来する知識に基づいて上皮がん患者に対し処置選択肢を割り当てるための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

これまでの研究は、上皮間葉移行（「EMT」）が、転移およびがん幹細胞に関わることを示している（Creightonら, 2009; Maniら, 2008; Morelら, 2008; Yangら, 2006; Yangら, 2004; Yauchoら, 2005）。重要なことには、上皮がんのタイプ（例えば、肺がん、乳がん）に亘るEMTの誘導はまた、化学療法およびキナーゼ標的抗がん剤（例えば、エルロチニブ）を含むがん治療に対する抵抗をも生じる。当業者は、EMTが、侵襲性であり、遊走性であり、そして幹細胞特性を有する（転移を起こす能力を有する細胞の全ての顕著な特徴である）がん細胞を産生することを認識する。

【0004】

EMTは、接着上皮細胞が、その上皮特性を脱落させ、そしてその代わりに間葉特性（線維芽細胞様の形態、特徴的遺伝子発現変化、運動能力の増大、ならびに、がん細胞の場合には、侵襲、転移および化学療法に対する抵抗性の増大を、含む）を獲得する過程である（Kalluriら, J Clin Invest 119(6):1420-28(2009); Guptaら, Cell 138(4):645-59(2009)を参照されたい）。近年の研究は、EMTと、がんの転移の進行（Yangら, Cell 117(7):927-39(2004); Frixenら, J Cell Biol 113(1):173-85(1991); Sabbahら, Drug Resist Updat 11(4-5):123-51(2008)を参照されたい）および幹細胞特性の獲得（Maniら, Cell 133(4):704-15(2008); Morelら, PLoS One 3(8):e288(2008)を参照されたい）とを結びつけており、EMTに至る（undergo）がん細胞が、その獲得した侵襲性を通じた転移、およびその後の、その獲得した自己再生能力を通じた播種（この後者の特色は、巨視的な転移を構成する大きな細胞集団を生み出すことができる）を可能にするという仮説を導いている。

【0005】

これらの観察を考慮して、EMTに至っている細胞の顕著な集団（または部分集団）を抱えるがんは、化学療法および抗キナーゼ標的治療に対する応答性の低減を示す可能性があることを予測し得る。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の要旨

本発明は、化学療法および抗キナーゼ標的治療に応答性でない上皮がんの分子式別特性を誘導するための方法である。本発明は、また、処置選択および/または予後決定のいずれかの目的のために、本明細書中で記載されるバイオマーカーを利用する、任意の患者層

別化スキームをも、本発明は包含する。処置選択は、陽性であっても陰性であってもよく、任意のクラスの抗がん剤に関し得る。この方法は、E M T 後にがん細胞において上方制御されるバイオマーカー遺伝子（表 1）の発現についてのアッセイ、および E M T に至っていない細胞において上方制御される他のバイオマーカー遺伝子（表 2）についてのアッセイを利用する。これらのバイオマーカーアッセイを使用すると、従来のがん治療に対して応答性でないがんを同定可能である。

【0007】

本発明は、患者の上皮がんが、原発性腫瘍の外科的切除の後に標準治療に応答性である可能性を、表 1 および / または 2 の遺伝子の、がん（すなわち、切除した原発性腫瘍由来の上皮がん細胞）における発現レベルを決定することによって、予測する方法を提供する。ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、その腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示し、表 2 の遺伝子の過剰発現は、その腫瘍が標準治療に対し感受性である可能性が高くなることを示す。

【0008】

表 1 の遺伝子（またはその任意の適切なサブセット）の過剰発現は、上記上皮がんが標準治療（例えば、パクリタキセル）に対し抵抗性であるが、がん幹細胞選択薬剤（C S S 薬剤）（例えば、サリノマイシンが挙げられるが、これに選択されない）に対して感受性である可能性が高くなることを示す。さらに、表 2 の遺伝子（またはその任意の適切なサブセット）の過剰発現は、上記上皮がんがパクリタキセルのような標準治療に対しては抵抗性であるが、サリノマイシンのような C S S 薬剤に対して感受性である可能性が高くなることを示す。

【0009】

さらに、当業者は、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が標準治療に対して感受性である可能性が高くなることを示すことを認識する。同様に、表 2 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であることを示す。

【0010】

当業者は、表 1 および / または表 2 の遺伝子の発現レベルの決定は、切除された原発性腫瘍においてインビトロで起こることを認識する。

【0011】

具体的には、当業者は、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示すことを認識する。例えば、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍がパクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高くなることを示す。

【0012】

標準治療の例としては、E G F R 阻害のようなキナーゼ標的治療、放射線、ホルモン治療、パクリタキセルおよび / またはこれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0013】

種々の実施形態において、当業者は、アッセイされた遺伝子の発現レベルは、表 1 および / または表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成し得ることを、認識する。具体的には、遺伝子サブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、D M S O 処置）と比較して 0 . 1 未満の有意なレベル（例えば、p - 値）で、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、適切な統計学的検定（すなわち、遺伝子セット富化分析（「G S E A」）が実証する、遺伝子の任意のサブセットである。当業者に公知の任意の適切な統計学的検定（複数可）および / または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0014】

がん治療の例としては、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置が挙げられるが、これらに限定されない。さらに、種々の実施形態において、遺伝子のサブセットは、2

、 3、 4、 5、 6、 7、 8、 9、 10、 11、 12、 13、 14、 15、 16、 17、 18、 19、 20、 21、 22、 23、 24、 25、 26、 27、 28、 29 または 30 の表 1 および / または表 2 の遺伝子を含み得る。

【 0 0 1 5 】

表 1 の遺伝子の過剰発現はまた、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示し得る。さらに、表 1 の遺伝子の過剰発現はまた、上記腫瘍が、がん幹細胞に対し毒性である治療剤、または侵襲性および / もしくは転移性のがん細胞を標的とする治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示し得る。なお他の実施形態において、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高くなることを示し得る。さらに、表 1 の遺伝子の過剰発現はまた、上記腫瘍が、C S S 薬剤（例えば、サリノマイシン）に対して感受性である可能性が高くなることを示す。

【 0 0 1 6 】

患者の上皮がんが標準治療に応答性である可能性を上記原発性腫瘍の外科的切除後に予測する方法であって、がん（すなわち、上記切除した腫瘍由来の上皮がん細胞）における表 2 の遺伝子の発現レベルを決定することを含む、方法もまた提供される。当業者は、表 2 の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示すことを認識する。標準治療としては、E G F R 阻害のようなキナーゼ標的治療、放射線治療、ホルモン治療、パクリタキセルおよび / またはこれらの任意の組み合わせが挙げられ得るが、これらに限定されない。

【 0 0 1 7 】

当業者は、表 2 の遺伝子の発現レベルの決定が、上記切除された原発性腫瘍においてインビトロで行われることを認識する。さらに、当業者は、アッセイされる遺伝子の発現レベルが、表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成し得ることを認識する。具体的には、上記遺伝子サブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、D M S O 処置）と比較して 0 . 1 未満の有意なレベル（例えば、p - 値）で、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、適切な統計学的検定（すなわち、遺伝子セット富化分析（「G S E A」））が実証する、遺伝子の任意のサブセットである。当業者に公知の任意の適切な統計学的検定（複数可）および / または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【 0 0 1 8 】

がん治療の例としては、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置が挙げられ得るが、これらに限定されない。さらに、種々の実施形態において、遺伝子のサブセットは、2、 3、 4、 5、 6、 7、 8、 9、 10、 11、 12、 13、 14、 15、 16、 17、 18、 19、 20、 21、 22、 23、 24、 25、 26、 27、 28、 29 または 30 の表 2 の遺伝子を含み得る。

【 0 0 1 9 】

これらの方法において、表 2 の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示し得る。同様に、表 2 の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示し得る。同様に、表 2 の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示し得る。

【 0 0 2 0 】

本発明は、表 2 の遺伝子の発現レベルを増大させる候補薬剤を同定するために候補薬剤のスクリーニングによって、がん幹細胞または上皮間葉移行を受けている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、ここで、表 2 の遺伝子の発現の増大は、その候補

薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行を受けている上皮がんを標的とすることを示す方法を、さらに提供する。さらに、表 2 の遺伝子の発現の低下はまた、上記腫瘍が、C S S 薬剤（例えば、サリノマイシン）に対して感受性である可能性が高くなることを示す。

【 0 0 2 1 】

このような方法は、好ましくは、がん（すなわち、原発性腫瘍の外科的切除後に得られた上皮がん細胞）においてインビトロで実施される。

【 0 0 2 2 】

本発明にしたがうがん幹細胞または E M T に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法は、独立して行われても、同時に行われても、逐次的に行われてもよい。

【 0 0 2 3 】

当業者は、これらのスクリーニング方法において、表 2 の遺伝子の任意のサブセットが、その発現レベルについて評価されることを認識する。好ましくは、遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、D M S O 処置）と比較して 0 . 1 未満の有意なレベル（例えば、p - 値）でがん治療（例えば、サリノマイシン処置またはパクリタキセル処置）で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである。例えば、遺伝子のサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 2 の遺伝子を含み得る。

【 0 0 2 4 】

当業者に公知の任意の適切な統計学的検定（複数可）および / または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない任意の細胞集団（すなわち、がん細胞）であり得る。

【 0 0 2 5 】

なおさらなる実施形態において、本発明は、がん幹細胞または上皮間葉移行を受けた上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表 1 の遺伝子の発現のレベルを低下させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の発現の低下は、この候補薬剤ががん幹細胞または上皮間葉移行を受けている上皮がんを標的とすることを示す、方法を提供する。このような方法は、好ましくは、がん（すなわち、原発性腫瘍の外科的切除後に得られた上皮がん細胞）においてインビトロで実施される。

【 0 0 2 6 】

これらの方法において、表 1 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される。好ましくは、遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、D M S O 処置）と比較して 0 . 1 未満の有意なレベル（例えば、p - 値）でがん治療（例えば、サリノマイシン処置またはパクリタキセル処置）で処置された集団において差次的に発現されることを、適切な統計学的検定が実証する、遺伝子サブセットである。例えば、遺伝子のサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 の遺伝子を含み得る。

【 0 0 2 7 】

当業者に公知の任意の統計学的検定（複数可）および / または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットを同定する際に使用され得る。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない任意の細胞集団（すなわち、がん細胞）であり得る。

【 0 0 2 8 】

他の実施形態において、本発明は、上記原発性腫瘍の外科的な切除後に、患者の上皮がんが治療に应答する可能性を予測する方法であって、表 1 の遺伝子のがんにおける発現レベルを決定する工程を含む、方法を提供する。当業者は、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上

記腫瘍が、サリノマイシンまたは他のＣＳＳ薬剤による治療に対し感受性である可能性が高くなることを示すことを認識する。さらに、表１の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、標準治療、例えばパクリタキセルなどに対し抵抗性である可能性が高くなることを示す。

【００２９】

当業者は、このような方法において、表１の遺伝子の発現レベルを決定する工程が、切除した原発性腫瘍においてインビトロで行われることを認識する。患者の上皮がんが治療に応答する可能性を予測するこれらの方法のいずれかにおいて、表１の遺伝子の任意のサブセットが、その発現レベルについて評価される。好ましくは、その発現が評価される遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、ＤＭＳＯ処置）と比較して０．１未満の有意なレベル（例えば、 p -値）でがん治療（例えば、サリノマイシン処置またはパクリタキセル処置）で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである。当業者は、遺伝子のサブセットが、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９または３０の表１の遺伝子を含み得ることを認識する。

【００３０】

当業者は、当業者に公知の任意の適切な統計学的検定（複数可）および／または当業者に公知の任意の適切な対照集団（複数可）が、上記遺伝子サブセットの同定の際に使用され得ることを容易に認識する。例えば、上記適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【００３１】

幾つかの実施形態において、本発明の方法は、熟練の開業医（*skilled practitioner*）が、患者における行動、治療、および／または処置の将来の方針を選択する際に有用であり得る中間情報を提供する。例えば、本明細書中で記載される方法のいずれかは、遺伝子発現レベルの決定によって得られるデータをまとめる工程（複数可）をさらに含み得る。非限定の例として、このまとめは、上記患者が、上記原発性腫瘍の外科的切除後にがんの再発なしで長期間生存する可能性の予測を含み得る。さらに（またはあるいは）、このまとめは、上記患者の処置様式の推奨を含み得る。

【００３２】

また、１つ以上の容器に、表１および／または表２の遺伝子の１種以上を特異的に認識する少なくとも１種の検出可能な標識試薬を含むキットも、本発明によって提供される。例えば、このキットは、がん（すなわち、上皮がん細胞）において表１及び／または表２の１種以上の遺伝子の発現レベルを決定するために使用され得る。幾つかの実施形態において、上記キットは、上皮がんのバイオマーカープロファイルを作成する（*generate*）ために使用される。本発明によるキットはまた、少なくとも１種の薬学的賦形剤、希釈剤、アジュバントまたはこれらの任意の組み合わせをも、含み得る。

【００３３】

さらに、本発明の方法のいずれかにおいて、ＲＮＡ発現レベルは、その対応する遺伝子産物のタンパク質発現レベルを検出することによって、間接的に評価される。例えば、１つの実施形態において、ＲＮＡ発現レベルは、その対応する遺伝子のクロマチン状態を決定することによって、間接的に評価される。

【００３４】

当業者は、上記ＲＮＡは、固定化した、蟻に包埋した上記患者の乳がん組織標本から単離されること、上記ＲＮＡは断片化したＲＮＡであること、および／または上記ＲＮＡは、細針生検から単離されることを容易に認識する。

【００３５】

本明細書中に記載される方法のいずれかにおいて、上記がんは、上皮がん、肺がん、乳がん、前立腺がん、胃がん、結腸がん、膵臓がん、脳がんおよび／または黒色腫がんであってもよい。

【００３６】

本発明は、さらに、患者の上皮がんが、標準治療に対して応答性であるかどうかを決定するために、あるいはその可能性を予測するために、インビトロで提供される。このような方法は、がんにおける（すなわち、上皮がんを有する患者からの原発性腫瘍の外科的切除後に得られた上皮がん細胞における）表 1 および / または表 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記患者の上皮がんが標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示し、そして表 2 の遺伝子の過剰発現は、上記患者の上皮がんが標準治療に対して感受性である可能性が高くなることを示す。より具体的には、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることおよび / または上記腫瘍が、パクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高くなることを示す。さらに、表 1 の遺伝子の過剰発現は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなること；上記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤、または侵襲性、転移性もしくは侵襲性且つ転移性のがん細胞を標的とする治療剤に対して感受性である可能性が高くなること；および / または上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示す。

【 0 0 3 7 】

同様に、表 2 の遺伝子の発現の低下は、上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなること；上記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなること；上記腫瘍が、がん幹細胞に対し毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなること；および / または上記腫瘍が、上皮間葉移行を受けているがん細胞に対して毒性である治療剤に対して感受性である可能性が高くなることを示す。

【 0 0 3 8 】

当業者は、上記標準治療が、E G F R 阻害のようなキナーゼ標的治療；放射線；ホルモン治療；パクリタキセル；および / またはその任意の組み合わせであり得ることを、容易に認識する。

【 0 0 3 9 】

これらのインビトロ方法のいずれかにおいて、アッセイした遺伝子の発現レベルは、表 1 および / または表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する。具体的には、遺伝子のサブセットは、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、D M S O 処置）と比較して 0 . 1 未満の有意なレベル（例えば、p - 値）で、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定（例えば、遺伝子セット富化分析）が実証する、遺伝子のサブセットである。がん治療の例としては、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置が挙げられるが、これらに限定されない。当業者は、アッセイされた遺伝子のサブセットが、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 および / または表 2 の遺伝子を含み得ることを認識する。

本発明の好ましい実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

（項目 1）

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが標準治療にตอบสนองする可能性を予測する方法であって、がんにおける表 1 または 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表 1 の遺伝子の過剰発現は、該腫瘍が該標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示し、そして表 2 の遺伝子の過剰発現は、該腫瘍が該標準治療に感受性である可能性が高くなることを示す、方法。

（項目 2）

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示す、項目 1 に記載の方法。

（項目 3）

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍がパクリタキセルに対して抵抗性である可能性が高くなることを示す、項目 2 に記載の方法。

(項目 4)

前記標準治療は、E G F R 阻害のようなキナーゼ標的治療である、項目 1 に記載の方法。

(項目 5)

前記標準治療は、放射線である、項目 1 に記載の方法。

(項目 6)

前記標準治療は、ホルモン治療である、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

前記治療は、項目 3 ~ 6 に示す治療の組み合わせである、項目 1 に記載の方法。

(項目 8)

アッセイされた前記遺伝子の前記発現レベルは、表 1 または表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する、項目 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9)

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、項目 8 に記載の方法。

(項目 1 0)

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、項目 9 に記載の方法。

(項目 1 1)

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 1 または表 2 の遺伝子を含む、項目 8 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 1 2)

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、標準治療に抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 3)

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤、あるいは侵襲性であるか、転移性であるか、または侵襲性であり転移性であるがん細胞を標的とする治療剤に対し、感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 4)

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、上皮間葉移行に至っているがん細胞に対して毒性である治療剤に対し、感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 5)

表 1 の遺伝子の前記過剰発現は、前記腫瘍が、サリノマイシンに対して感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 6)

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが標準治療に应答する可能性を予測する方法であって、がんにおける表 2 の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含む、方法。

(項目 1 7)

表 2 の遺伝子の発現低下は、前記腫瘍が、標準治療に対して抵抗性である可能性が高くなることを示す、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 1 8)

前記標準治療は、E G F R 阻害のようなキナーゼ標的治療である、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記標準治療は、放射線治療である、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記標準治療は、ホルモン治療である、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記標準治療は、パクリタキセルである、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記標準治療は、項目 1 7 ~ 2 1 に示す治療の組み合わせである、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 3)

アッセイされた前記遺伝子の前記発現レベルは、表 2 の遺伝子の任意のサブセットを構成する、項目 1 6 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 2 4)

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、項目 2 3 に記載の方法。

(項目 2 5)

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、項目 2 4 に記載の方法。

(項目 2 6)

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の表 2 の遺伝子を含む、項目 2 3 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 2 7)

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、標準治療に抵抗性であるがん細胞に対し毒性である治療剤に対し感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 8)

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、がん幹細胞に対して毒性である治療剤、あるいは侵襲性であるか、転移性であるか、または侵襲性であり転移性であるがん細胞を標的とする治療剤に対し、感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 2 9)

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、上皮間葉移行に至っているがん細胞に対して毒性である治療剤に対し、感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 0)

表 2 の遺伝子の発現の低下は、前記腫瘍が、サリノマイシンに対して感受性である可能性が高くなることを示す、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 3 1)

がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表 2 の遺伝子の発現のレベルを増大させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表 2 の遺伝子の発現の増大は、該候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とすることを示す、方法。

(項目 3 2)

表 2 の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、項目 3 1 に記載の方法。

(項目 3 3)

遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して 0 . 1 未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、項目 3 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択され

る、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 5)

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表2の遺伝子を含む、項目32～34のいずれか1項に記載の方法。

(項目 3 6)

がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とする治療剤を同定する方法であって、候補薬剤をスクリーニングして、表1の遺伝子の発現のレベルを低下させる候補薬剤を同定する工程を含み、ここで、表1の遺伝子の発現の低下は、該候補薬剤が、がん幹細胞または上皮間葉移行に至っている上皮がんを標的とすることを示す、方法。

(項目 3 7)

表1の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、項目36に記載の方法。

(項目 3 8)

発現が評価される遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して0.1未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、項目37に記載の方法。

(項目 3 9)

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、項目38に記載の方法。

(項目 4 0)

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表1の遺伝子を含む、項目37～39のいずれか1項に記載の方法。

(項目 4 1)

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが治療に応答性である可能性を予測する方法であって、がんにおける表1の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表1の遺伝子の過剰発現は、サリノマイシンまたは他のC S S 薬剤による治療に対して腫瘍が感受性である可能性が高くなることを示す、方法。

(項目 4 2)

原発性腫瘍の外科的切除後に、患者の上皮がんが治療に応答性である可能性を予測する方法であって、がんにおける表1の遺伝子の発現レベルを決定する工程を含み、ここで、表1の遺伝子の過剰発現は、標準治療に対して該腫瘍が抵抗性である可能性が高くなることを示す、方法。

(項目 4 3)

前記標準治療は、パクリタキセルである、項目42に記載の方法。

(項目 4 4)

表1の遺伝子の任意のサブセットは、その発現レベルについて評価される、項目41または42に記載の方法。

(項目 4 5)

発現が評価される遺伝子の前記サブセットは、該サブセット内の遺伝子が、適切な対照集団と比較して0.1未満の有意なレベルで、がん治療で処置された集団において差次的に発現されることを、統計学的検定が実証する、遺伝子のサブセットである、項目44に記載の方法。

(項目 4 6)

前記がん治療は、サリノマイシン処置およびパクリタキセル処置からなる群から選択される、項目45に記載の方法。

(項目 4 7)

遺伝子の前記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の表1の遺伝子を含む、項目42～44のいずれか1項に記載の方法。

(項目 4 8)

前記遺伝子発現レベルの決定によって得られたデータをまとめる工程をさらに含む、項目1～30または41～47のいずれか1項に記載の方法。

(項目 4 9)

前記まとめる工程は、前記原発性腫瘍の外科的切除後に前記がんの再発なしでの前記患者の長期生存の可能性を予測することを含む、項目48に記載の方法。

(項目 5 0)

前記まとめる工程は、前記患者の処置様式についての推奨を含む、項目48に記載の方法。

(項目 5 1)

1つ以上の容器内に、表1または表2の遺伝子の1つ以上を特異的に認識する少なくとも1種の検出可能に標識した試薬を含む、キット。

(項目 5 2)

表1または表2の1つ以上の遺伝子の、がんにおける発現のレベルが決定される、項目51に記載のキット。

(項目 5 3)

前記キットは、上皮がんのバイオマーカープロファイルを作成するために使用される、項目51に記載のキット。

(項目 5 4)

前記キットは、少なくとも1種の薬学的賦形剤、希釈剤、アジュバントまたはその任意の組み合わせをさらに含む、項目51に記載のキット。

(項目 5 5)

RNA発現レベルが、対応する遺伝子産物のタンパク質発現レベルを決定することにより、間接的に評価される、項目1～30または41～47のいずれか1項に記載の方法。

(項目 5 6)

前記RNA発現レベルが、対応する遺伝子のクロマチン状態を決定することにより、間接的に評価される、項目55に記載の方法。

(項目 5 7)

前記RNAは、前記患者の固定化して蟻に包埋した乳がん組織標本から単離される、項目55に記載の方法。

(項目 5 8)

前記RNAは、断片化RNAである、項目55に記載の方法。

(項目 5 9)

前記RNAは、細針生検サンプルから単離される、項目55に記載の方法。

(項目 6 0)

前記がんが、上皮がんである、項目1～30または41～47のいずれか1項に記載の方法。

(項目 6 1)

前記がんが、肺がん、乳がん、前立腺がん、胃がん、結腸がん、膵臓がん、脳がんまたは黒色腫がんである、項目1～30または41～47のいずれか1項に記載の方法。

【 0 0 4 0 】

本発明の1つ以上の実施形態の詳細は、以下に添付の記載において示されている。本明細書中に記載の方法および材料に類似するかまたは均等である任意の方法および材料が、本発明の実施または試験において使用され得るが、好ましい方法および材料が、ここに記載される。本発明の他の特徴、目的および利点は、本記載および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、文脈がそうでないと明らかに記載しない限り、複数の対象を含む。他に規定されない限り、本明細書中で使用される全ての技術的および科学的な用語は、本発明の属する分野の当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書中で引用される全ての特許および刊行物は、その全体が、参考として組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】図1：EMTを誘導する5つの因子（Goosecoid、TGFB、Snail、TwistまたはE-カドヘリンに対するshRNA）のうちの1つを発現するかまたは2つの対照ベクター（pWZL、GFPに対するshRNA）を発現する三連で培養した細胞からの遺伝子発現データのヒートマップまとめ。凡例は、対数スケール（底を2とする）上の相対的遺伝子発現を示す。

【図2】図2：表1の遺伝子のサブセットを用いた遺伝子セット富化分析。バクリタキセルで処置されたHMLERがん細胞におけるEMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT__UP__NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT__UP遺伝子セットのそれぞれが、バクリタキセル処置後の細胞におけるその発現において富化されることを表す。

【図3】図3：表2の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。バクリタキセルで処置したHMLERがん細胞における非EMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT__DN__NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT__DN遺伝子セットのそれぞれが、バクリタキセル処置後の細胞と比較して、DMSO対照で処置した細胞においてその発現が富化されることを表す。

【図4】図4：表2の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。サリノマイシンで処置したHMLERがん細胞における非EMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT__DN__NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT__DN遺伝子セットのそれぞれが、対照処置と比較して、サリノマイシン処置後の細胞においてその発現が富化されることを表す。

【図5】図5：表1の遺伝子のサブセットによる遺伝子セット富化分析。サリノマイシンで処置したHMLERがん細胞におけるEMT関連遺伝子のサブセットの富化レベルが、示される。その遺伝子セットは、EMT__UP__NUMと名付けられ、ここで、NUMは、上記サブセット内の遺伝子の数である。プロットは、ランクの関数としての富化スコアを示し、EMT__UP遺伝子セットのそれぞれが、サリノマイシン処置後の細胞と比較して、DMSO対照で処置された細胞においてその発現が富化されることを表す。

【発明を実施するための形態】

【0042】

発明の詳細な説明

本発明を示す前に、本明細書中以後使用される特定の用語の定義を示すことが、その理解に役立ち得る。

【0043】

本発明の文脈における「バイオマーカー」は、上皮がんを検出するかおよび/または分類するために使用され得る、特定の生物学的特性の分子指標；生化学的な特徴または面である。「バイオマーカー」は、非限定で、タンパク質、核酸および代謝物を、その多型、変異体（mutation）、改変体、修飾物、サブユニット、断片、タンパク質-リガンド複合体および分解生成物、タンパク質-リガンド複合体、エレメント、関連代謝物および他の検体またはサンプル由来測定単位（measure）と共に包含する。バイオマーカーはまた、変異タンパク質または変異核酸をも含む。本発明において、mRNAの測定が、好ましい。

【 0 0 4 4 】

本発明の文脈における「生物学的サンプル」または「サンプル」は、被検体から単離された生物学的サンプルであり、例として、非限定であるが、全血、血液画分、血清、血漿、血球、組織生検、細胞抽出物、筋肉サンプルもしくは組織サンプル、筋肉生検若しくは組織生検、または任意の他の分泌物、排泄物もしくは他の体液が挙げられる。

【 0 0 4 5 】

語句「差次的に発現される」は、例えば上皮がんを有する患者から得られたサンプル中に存在するバイオマーカーの、対照被験体と比較した場合の量および／または頻度における相違をいう。例えば、非限定で、バイオマーカーは、がんを有する患者のサンプル中で、対照被験体のサンプルと比較して、高いレベルで存在する（すなわち、過剰発現される）か、低いレベルで存在する（すなわち、過少発現される）mRNAまたはポリペプチドであり得る。あるいは、バイオマーカーは、患者のサンプル中で、対照被験体のサンプルと比較した場合、より高い頻度で検出される（すなわち、過剰発現される）かまたはより低い頻度で検出される（すなわち、過少発現される）ポリペプチドであり得る。バイオマーカーは、量、頻度またはその両方の点で、差次的に存在し得る。

【 0 0 4 6 】

以前の研究は、細胞を選択的に標的としてEMTへと誘導する剤はまた、選択的にがん幹細胞を死滅させることを示している。EMTへと誘導されたがん細胞はまた、高度に侵襲性であるので、その仮説は、侵襲性であり且つ／または転移性であるがん細胞を標的とする抗がん治療はまた、がん細胞を標的としてEMTへと誘導する可能性があるというものである。

【 0 0 4 7 】

1つの実施形態にしたがって、本発明は、本質的に重なる3つのクラスの抗がん治療または処置（すなわち、（a）侵襲性／転移性細胞を標的とする治療、（b）がん幹細胞を標的とする治療、および（c）EMT後の細胞を標的とする治療）に対し応答性である腫瘍を有する患者部分集団を決定するための方法を、提供する。具体的には、本発明は、どの治療または処置が、EMT後のがん細胞において上方制御される遺伝子バイオマーカー（表1）を発現するがんにおいて有効であるか、ならびにEMTに至っていないがん細胞において上方制御される遺伝子マーカー（表2）を発現するがんにおいて有効でないかを決定する方法を、提供する。

【 0 0 4 8 】

本発明の方法が有用であることを企図しているがんは、任意の上皮がん、および特に、乳がん、黒色腫、脳がん、胃がん、膵臓がんおよび肺、前立腺および結腸の癌腫が挙げられる。

【 0 0 4 9 】

本発明の方法が有用であることが企図される抗がん治療および処置は、標準治療、例えばパクリタキセル、DNA障害剤、キナーゼ阻害剤（例えば、エルロチニブ）、放射線治療、ならびにがん幹細胞を標的とする治療および／またはEMT後の細胞を標的とする治療（例えば、サリノマイシンのようなCSS薬剤を含む）を含む。

【 0 0 5 0 】

EMTに至っているがん細胞において差次的に発現する遺伝子のセット（表1）およびEMTに至っていないがん細胞において発現する遺伝子（表2）を、決定した。これらの遺伝子を、乳がん細胞（5種のEMTを誘導する遺伝子因子のうちの1種を発現しているかまたはEMTを誘導しない2種の対照遺伝子因子を発現している（対照ベクター）かのいずれかで培養した）においてRNAを回収しそしてマイクロアレイ遺伝子発現分析を実施することによって得た。細胞を、各処置条件について三連で培養した。その遺伝子発現データの包括的な分析を、図1のヒートマップとして示し、ここで、表1および2における遺伝子の上部のセットを、ヒートマップの構築に使用した。

【 0 0 5 1 】

治療に対するがん細胞集団の応答性を実証することは、表1および表2に同定される遺

伝子の種々のサブセットによって、共に測定され得、そして予測され得る。H M L E R 乳がん集団を、一般に使用される抗がん化学治療パクリタキセル (Taxol) で処置するか、または対照 D M S O 処置で処置した。次いで、m R N A を単離し、そして包括的な遺伝子発現データを収集した。次いで、パクリタキセル処置後の表 1 および表 2 の遺伝子の集合的発現レベルを、決定した。これらの分析について、図 2 および図 3 に示されるが、種々のサイズの遺伝子サブセットの集合を、選んだ。

【0052】

表 1 および / または表 2 の遺伝子の発現レベルの決定は、切除した原発性腫瘍において、インビトロで行うことを、当業者は認識する。

【0053】

この分析は、表 1 において発現される遺伝子および / またはその多くのサブセットが、パクリタキセルの処置の際に過剰発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子が、パクリタキセルによる処置に抵抗性であるがん細胞部分集団を同定することを示す。結果として、表 1 の遺伝子の発現の測定は、単一の薬剤として適用される場合のパクリタキセル処置に応答性でない腫瘍を同定することに働く。

【0054】

本発明において、表 1 の遺伝子の任意のサブセットもまた包含され、このサブセットについては、統計学的検定 (例えば、遺伝子セット富化分析など (Subramanian, Tamayo ら, PNAS 102: 15545 - 50 (2005) および Mootha, Lindgren ら, Nat. Genet 34: 267 - 73 (2003) を参照されたい。これらのそれぞれは、その全体が、本明細書中で参考として組み込まれる)) により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団 (例えば、D M S O 処置) と比較して、パクリタキセル処置集団において、0.1 未満、より好ましくは 0.05 未満の有意なレベル (例えば、p - 値) で過剰発現されることが、実証される。1 つの実施形態において、表 1 由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも 2 つの遺伝子、10 の遺伝子、15 の遺伝子、20 の遺伝子または 30 の遺伝子 (またはこれらの間に挟まる任意の範囲) を含むことが、企図された。例えば、そのサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 または 30 の遺伝子を含み得る。

【0055】

遺伝子富化または差次的発現についての任意の他の適切な統計学的検定 (複数可) はまた、表 1 由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t 検定、改変 t 検定またはノンパラメトリック検定 (例えば、Mann - Whitney) を用いて、2 つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度 (metric) を同定し得る。

【0056】

さらにまた、任意の適切な対照集団 (複数可) も、表 1 由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、上記適切な対照集団 (複数可) が、所定のがん治療で処置されていない細胞 (すなわち、がん細胞) の任意の集団であり得る。

【0057】

あるいは、表 1 の遺伝子のサブセットは、任意のサブセットとして同定され得、このサブセットについては、統計学的検定 (例えば、遺伝子セット富化分析など) により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団 (例えば、D M S O 処置) と比較して、サリノマイシン処置集団において、0.1 未満、より好ましくは 0.05 未満の有意なレベル (例えば、p - 値) で過少発現されることが、実証される。1 つの実施形態において、表 1 由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも 2 つの遺伝子、10 の遺伝子、15 の遺伝子、20 の遺伝子または 30 の遺伝子 (またはこれらの間に挟まる任意の範囲) を含むことが、企図された。例えば、そのサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、1

1、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。当業者には、遺伝子発現または差次的発現についての、任意の他の適切な統計学的検定（複数可）もまた、表1由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0058】

同様に、任意の適切な対照集団（複数可）もまた、表1由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0059】

当業者は、表1の遺伝子の好適なサブセットを決定するために使用される統計学的検定が、本出願において説明のために使用される場合、遺伝子セット富化分析（GSEA）（Subramanian, Tamayoら, PNAS 102:15545-50（2005）およびMootha, Lindgrenら, Nat. Genet 34:267-73（2003）を参照されたい。これらのそれぞれは、その全体が、本明細書中で参考として組み込まれる）であり得るか、または当該分野で公知の富化または発現についての任意の他の統計学的検定であり得ることを、認識する。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0060】

本評価の目的のために処置される細胞の集団は、任意の型のがん細胞または正常な細胞集団であってもよい。

【0061】

【表 1 - 1】

表1 EMTに至っているがん集団において、EMTに至っていないがん集団と比較して、過剰発現されることが同定された遺伝子。

記号	種類	GenBank	EMTの際の過剰発現の平均倍数
DCN	デコリン	AF138300	137.6156
COL3A1	コラーゲン、Ⅲ型、 $\alpha 1$ (エーラーズーダンロス症候群Ⅳ型、常染色体優勢)	AU144167	132.1195
COL1A2	コラーゲン、Ⅰ型、 $\alpha 2$	AA788711	88.05054
FBN1	フィブリリン1 (マルファン症候群)	NM_000138	76.51337
GREM1	グレムリン1、システインノットスーパーファミリー、ホモログ (<i>Xenopus laevis</i>)	NM_013372	75.35859
POSTN	ペリオスチン、骨芽細胞特異的因子	D13665	73.18114
NID1	ニドジェン1	BF940043	51.91502
FBLN5	フィブリリン5	NM_006329	34.4268
SDC2	シンデカン2 (ヘパラン硫酸プロテオグリカン1、細胞表面関連、フィブログリカン)	AL577322	32.48001
COL5A2	コラーゲン、Ⅴ型、 $\alpha 2$	NM_000393	26.66545
PRG1	プロテオグリカン1、分泌顆粒	J03223	23.46014
TCF8	転写因子8 (インターロイキン2発現を抑制する)	AI806174	22.83413
ENPP2	エステラーゼ2 (オータキシン)	L35594	22.72739
NR2F1	核レセプターサブファミリー2、グループF、メンバー1	AI951185	20.64471
COL6A1	コラーゲン、Ⅵ型、 $\alpha 1$	AA292373	17.36271
RGS4	G-タンパク質シグナル伝達4のレギュレータ	AL514445	16.63788
CDH11	カドヘリン11、2型、OB-カドヘリン (骨芽細胞)	D21254	16.61483
PRRX1	対をなす関連ホメオボックス1	NM_006902	14.73362
OLFML3	オルファクトメディン様3	NM_020190	14.0984
SPOCK	sparc/オステオネクチン、cwcvcおよびkazal様ドメインプロテオグリカン (テストカン)	AF231124	13.99112
WNT5A	wingless型MMTV統合部位ファミリー、メンバー5A	NM_003392	13.33384

【表 1 - 2】

MAP1B	微小管関連タンパク質1B	AL523076	13.0877
		BG109855	12.44401
	ペントラキシン関連遺伝子、IL-1 β によって迅速		
PTX3	に誘導される	NM_002852	12.01196
C5orf13	染色体5オープンリーディングフレーム13	U36189	11.95863
IGFBP4	インスリン様成長因子結合タンパク質4	NM_001552	11.09963
	プロコラーゲンC-エンドペプチダーゼエンハン		
PCOLCE	サー	NM_002593	11.04575
TNFAIP6	腫瘍壊死因子、 α -誘導型タンパク質6	NM_007115	11.02984
LOC51334	NM_016644	10.91454	
	シトクロムP450、ファミリー1、サブファミリーB、		
CYP1B1	ポリペプチド1	NM_000104	10.47429
	組織因子経路インヒビター(リポタンパク質関連		
TFPI	凝集インヒビター	BF511231	10.42648
PVRL3	ポリオウイルスレセプター関連3	AA129716	10.30262
	レセプターチロシナーゼ様オーファンレセプ		
ROR1	ター1	NM_005012	10.10474
FBLN1	フィブリリン1	NM_006486	10.09844
BIN1	架橋インテグレーター1	AF043899	9.928529
LUM	ルミカン	NM_002345	9.727574
RGL1	ralGアニンヌクレオチド分解刺激因子様1	AF186779	9.643922
PTGFR	プロスタグランジンFレセプター(FP)	NM_000959	8.939536
	形質転換成長因子、 β レセプターIII(ベータグリカ		
TGFBR3	ン、300kDa)	NM_003243	8.838
COL1A1	コラーゲン、I型、 α 1	Y15916	8.667645
	肝臓がんでの欠失1(deleted in liver cance		
DLC1	r 1)	AF026219	8.610518
PMP22	末梢性ミエリンタンパク質22	L03203	8.560648
PRKCA	タンパク質キナーゼC、 α	AI471375	8.338108
	マトリックスメタロペプチダーゼ2(ゼラチナーゼA		
	、72kDaゼラチナーゼ、72kDa IV型コラゲナ		
MMP2	ーゼ)	NM_004530	8.268926

【表 1 - 3】

CTGF	結合組織成長因子	M92934	8.168776
CDH2	カドヘリン2、1型、N-カドヘリン(ニューロンの)	M34064	7.987921
	グアニンヌクレオチド結合タンパク質(Gタンパク		
GNG11	質)、 $\gamma 11$	NM_004126	7.953115
PPAP2B	ホスファチジン酸ホスファターゼ 2B型	AA628586	7.907272
NEBL	ネブレット	AL157398	7.817894
MYL9	ミオシン、軽ポリペプチド9、調節	NM_006097	7.780485
	カリウム大伝導性カルシウム活性化チャネル、		
KCNMA1	サブファミリーM、 α メンバー1	AI129381	7.747227
IGFBP3	インスリン様成長因子結合タンパク質3	BF340228	7.57812
	コンドロイチン硫酸プロテオグリカン2(ベルシカ		
OSPG2	ン)	NM_004385	7.318764
	semaドメイン、7トロンボスポンジリピート(1型		
	および1型様)、膜貫通ドメイン(TM)および短細		
SEMA5A	胞質ドメイン(セマホリン) 5A	NM_003966	7.298702
	Glu/Aspリッチカルボキシ末端ドメインを有する		
CITED2	Cbp/p300-相互作用トランスアクチベータ2	AF109161	7.220907
	膜メタローエンドペプチダーゼ(中性エンドペプチ		
MME	ダーゼ、エンケファリナーゼ、CALLA、CD10)	AI433463	7.05859
	細胞質分裂のデディケーター10(dedicator of		
DOCK10	cytokinesis 10)	NM_017718	6.972809
	DnaJ(Hsp40)ホモログ、サブファミリーB、メン		
DNAJB4	バー4	BG252490	6.782043
PCDH9	プロトカドヘリン9	AI524125	6.711987
NID2	ニドジェン2(オステオニドジェン)	NM_007361	6.54739
HAS2	ヒアルロナンシンターゼ2	NM_005328	6.520398
	プロスタグランジンEレセプター4(サブタイプEP		
PTGER4	4)	AA897516	6.396133
TRAM2	転位関連膜タンパク質2	AI986461	6.275542
SYT11	シナプトタグミンXI	BC004291	6.149546
BGN	ビグリカン	AA845258	5.838023
CYBRD1	シトクロムbレダクターゼ1	NM_024843	5.710828
CHN1	キメリン(chimaerin)1	BF339445	5.687127

【表 1 - 4】

DPT	ダーマトポンチン	AI146848	5.573023
ITGBL1	インテグリン、 β 様1 (EGF-様リピートドメインを有する)	AL359052	5.511939
FLJ22471		NM_025140	5.364784
LOC221362	AL577024	5.35364	
MLPH	メラノフィリン	NM_024101	5.296062
ANXA6	アネキシン A6	NM_001155	5.18628
EML1	棘皮動物微小管関連タンパク質様1	NM_004434	5.138332
CREB3L1	cAMP 応答性エレメント結合タンパク質3-様1	AF055009	5.073214
FLJ10094		NM_017993	4.998863
LRIG1	ロイシンリッチリピートおよび免疫グロブリン様ドメイン1	AB050468	4.9963
SNED1	sushi、ニドジェンおよびEGF-様ドメイン1	N73970	4.993945
SERPINF1	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレードF (α -2抗プラスミン、色素上皮由来因子)、メンバー1	NM_002615	4.969153
DAB2	無能化(disabled)ホモログ2、マイトジェン-応答性リンタンパク質(Drosophila)	NM_001343	4.913939
WASPIP	Wiskott-Aldrich症候群タンパク質相互作用タンパク質	AW058622	4.882974
FN1	フィブロネクチン1	AJ276395	4.869319
C10orf56	染色体10オープンリーディングフレーム56	AA131324	4.795629
DAPK1	死関連プロテインキナーゼ1	NM_004938	4.726984
LOXL1	リジルオキシダーゼ-様1	NM_005576	4.720305
ID2	DNA結合2のインヒビター、ドミナントネガティブヘリックスルーパーヘリックスタンパク質	NM_002166	4.672064
PTGER2	プロスタグランジンEレセプター2 (サブタイプEP2)、53kDa	NM_000956	4.427892
COL8A1	コラーゲン、VIII型、 α 1	BE877796	4.38653
DDR2	ジスコイジンドメインレセプターファミリー、メンバー2	NM_006182	4.338932
SEPT6	セプチン6	D50918	4.30699
HRASLS3	HRAS-様サプレッサー 3	BC001387	4.281926

【表 1 - 5】

プレクストリンホモロジドメインを含む、ファミリ			
PLEKHC1	ーC(FERMドメインを有する) メンバー1	AW469573	4.272913
THY1	Thy-1 細胞表面抗原	AA218868	4.253587
リボソームタンパク質S6キナーゼ、90kDa、ホ			
RPS6KA2	リペプチド2	AI992251	4.225143
GALC	ガラクトシルセラミダーゼ(Krabbe病)	NM_000153	4.222742
FBN2	フィブリリン2 (先天性拘縮性くも指症)	NM_001999	4.205916
FSTL1	フォリスタチン様1	BC000055	4.175243
NRP1	ニューロピリン1	BE620457	4.162874
TNS1	テンシン1	AL046979	4.131713
TAGLN	トランスジェリン	NM_003186	4.131083
サイクリン依存性キナーゼインヒビター2C(p18			
CDKN2C	、CDK4を阻害する)	NM_001262	4.124788
MAGEH1	黒色腫抗原ファミリーH、1	NM_014061	4.094423
LTBP2	潜在型形質転換成長因子β結合タンパク質2	NM_000428	4.000998
PBX1	プレB-細胞白血病転写因子1	AL049381	3.997339
T-ボックス3(尺骨乳房(ulnar mammary)症			
TBX3	候群)	NM_016569	3.992244

分析はまた、表2の遺伝子およびその多くのサブセットは、パクリタキセルによる処置の際に過少発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子は、パクリタキセルによる処置に感受性である細胞部分集団を同定することを表す。結果として、表2の遺伝子の発現の測定は、単一の薬剤として用いられる場合にパクリタキセル処置に応答性である腫瘍を同定することに働く。

【0066】

表2の遺伝子の発現レベルの決定は、切除した原発性腫瘍においてインビトロで行われることを、当業者は認識する。

【0067】

本発明において、表2の遺伝子の任意のサブセットもまた包含され、このサブセットについては、統計学的検定(例えば、遺伝子セット富化分析など)により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団(例えば、DMSO処置)と比較して、パクリタキセル処置集団において、0.1未満、より好ましくは0.05未満の有意なレベル(例えば、p-値)で過少発現されることが、実証される。1つの実施形態において、表2由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも2つの遺伝子、6の遺伝子、10の遺伝子、15の遺伝子、20の遺伝子または30の遺伝子(またはこれらの間に挟まる任意の範囲)を含むことが、企図された。例えば、そのサブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。遺伝子富化または差次的発現についての任意の他の適切な統計学的検定(複数可)はまた、表2由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定(例えば、Mann-Whitney)を用いて、2つのプロ

フィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0068】

さらにまた、任意の適切な対照集団（複数可）も、表2由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得ることを、当業者は認識する。例えば、上記適切な対照集団（複数可）が、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0069】

あるいは、表2の遺伝子のサブセットは、任意のサブセットとして同定され得、このサブセットについては、統計学的検定（例えば、遺伝子セット富化分析など）により、このサブセット内の遺伝子が、適切な対照集団（例えば、DMSO処置）と比較して、サリノマイシン処置集団において、0.1未満、より好ましくは0.05未満の有意なレベル（例えば、p-値）で過剰発現されることが、実証される。1つの実施形態において、表2由来の遺伝子のサブセットは、少なくとも2つの遺伝子、6の遺伝子、10の遺伝子、15の遺伝子、20の遺伝子または30の遺伝子（またはこれらの間に挟まる任意の範囲）を含むことが、企図された。例えば、上記サブセットは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29または30の遺伝子を含み得る。当業者には、遺伝子富化または差次的発現についての、任意の他の適切な統計学的検定（複数可）もまた、表2由来の遺伝子の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0070】

同様に、任意の適切な対照集団（複数可）もまた、表2由来の所望のサブセットを同定するために使用され得る。例えば、適切な対照集団（複数可）は、所定のがん治療で処置されていない細胞（すなわち、がん細胞）の任意の集団であり得る。

【0071】

使用される統計学的検定は、本出願において説明のために使用されるような遺伝子セット富化分析（GSEA）（Subramanian, Tamayoら, PNAS 102: 15545-50 (2005) および Mootha, Lindgrenら, Nat. Genet. 34: 267-73 (2003)）を参照されたい。これらのそれぞれは、その全体が、本明細書中で参考として組み込まれる）または当該分野で公知の富化または発現についての任意の他の統計学的検定であり得る。非限定的な例として、セット内の遺伝子についての対数変換遺伝子発現スコアの和は、t検定、改変t検定またはノンパラメトリック検定（例えば、Mann-Whitney）を用いて、2つのプロフィール間の差次的遺伝子発現を比較するために使用され得る尺度を同定し得る。

【0072】

本評価の目的のために処置される細胞の集団は、任意の型のがん細胞または正常な細胞集団であってもよい。

【0073】

【表 2 - 1】

表2 EMTに至っていないがん集団において、EMTに至っているがん集団と比較して、過剰発現されることが同定された遺伝子。

記号	種類	GenBank	非EMTにおける過剰発現の平均倍数
SERPINB2	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレドB(オボアルブミン)、メンバー2	NM_002575	36.74103
TACSTD1	腫瘍関連カルシウムシグナルトランスデュサー1	NM_002354	35.91264
SPRR1A	低分子プロリンリッチタンパク質1A	AI923984	34.99944
SPRR1B	低分子プロリンリッチタンパク質1B (コーニフィン)	NM_003125	29.33599
IL1A	インターロイキン1、 α	M15329	28.86922
KLK10	カリクレイン10	BC002710	25.16523
FGFR3	線維芽細胞成長因子レセプター3(軟骨形成不全症、致死性小人症)	NM_000142	24.74251
CDH1	カドヘリン1、1型、E-カドヘリン(上皮)	NM_004360	23.74645
SLPI	分泌型白血球ペプチダーゼインヒビター	NM_003064	21.4404
KRT6B	ケラチン6B	AI831452	20.84833
FXVD3	FXVDドメイン含有イオン輸送レギュレーター3	BC005238	19.01308
PI3	ペプチダーゼインヒビター3、皮膚由来 (SKALP)	L10343	18.10103
RAB25	RAB25、メンバーRASオンコジーンファミリー	NM_020387	17.64907
SAA2	血清アミロイドA2	M23699	17.20791
RBM35A	RNA結合モチーフタンパク質35A	NM_017697	15.20696
TMEM30B	膜貫通タンパク質30B	AV691491	14.98036
EVA1	上皮V-様抗原1	AF275945	14.69364
KLK7	カリクレイン7(キモトリプシン、角質層)	NM_005046	14.42981
RBM35B	RNA結合モチーフタンパク質35A	NM_024939	13.49619

【 0 0 7 4 】

【表 2 - 2】

S100A14	S100カルシウム結合タンパク質A14 セルピンペプチダーゼインヒビター、クレ-	NM_020672	13.44819
SERPINB13	ドB(オボアルブミン)、メンバー13 ユビキチンカルボキシル末端エステラーゼ	AJ001698	13.29747
UCHL1	L1(ユビキチンチオールエステラーゼ) アルデヒドデヒドロゲナーゼ1ファミリー、メ	NM_004181	13.27334
ALDH1A3	ンバーA3	NM_000693	13.10531
CKMT1B	クレアチンキナーゼ、ミトコンドリア1B	NM_020990	12.4713
ANXA3	アネキシンA3	M63310	12.4013
NMU	ニューロメジンU	NM_006681	12.15367
KRT15	ケラチン15	NM_002275	12.09266
FST	フォリスタチン	NM_013409	11.85793
FGFBP1	線維芽細胞成長因子結合タンパク質1 S100カルシウム結合タンパク質A7 (ソリ	NM_005130	11.49472
S100A7	アシン1(psoriasin 1))	NM_002963	11.07673
TP73L	腫瘍タンパク質p73一様	AF091627	10.93454
FLJ12684		NM_024534	10.70372
SCNN1A	ナトリウムチャネル、非電位型1 α	NM_001038	10.3172
KLK5	カリクレイン5 S100カルシウム結合タンパク質 A8 (カ	AF243527	10.20992
S100A8	ルグラヌリンA)	NM_002964	10.10418
CCND2	サイクリンD2	AW026491	9.950438
MAP7	微小管関連タンパク質7 コクサッキーウイルスおよびアデノウイルス	AW242297	9.942027
CXADR	レセプター	NM_001338	9.872805
KRT17	ケラチン17	NM_000422	9.74958
CDH3	カドヘリン3、1型、P-カドヘリン(胎盤)	NM_001793	9.735938
TRIM29	三分節(tripartite)モチーフ含有29 セリンペプチダーゼインヒビター、Kunitz型	NM_012101	9.373189
SPINT1	1	NM_003710	9.353589
TGFA	形質転換成長因子、 α インターロイキン18(インターフェロン- γ -	NM_003236	9.30496
IL18	誘導因子)	NM_001562	9.218934

【表 2 - 3】

CA9	炭酸脱水酵素IX	NM_001216	9.196596
	ケラチン16(限局性非表皮剥離性掌蹠角		
KRT16	皮症)	AF061812	9.177365
	ギャップジャンクションタンパク質、 $\beta 3$ 、31		
GJB3	kDa(コネキシン31)	AF099730	9.030588
VSNL1	ビジニン様1	NM_003385	8.637896
IL1B	インターロイキン1、 β	NM_000576	8.629518
CA2	炭酸脱水酵素II	M36532	8.606222
CNTNAP2	コンタクチン関連タンパク質様2	AC005378	8.592036
ARHGAP8	Rho GTPアーゼ活性化タンパク質8	Z83838	8.434017
	ケラチン5(単純性表皮水泡症、Dowling		
	—Meara/Kobner/Weber—Cockayne		
KRT5	e型)	NM_000424	8.14695
ARTN	アルテミン	NM_003976	8.125857
	カルシウム/カルモジュリン依存性タン		
CAMK2B	パク質キナーゼ(CaMキナーゼ)II β	AF078803	8.125181
ZBED2	ジンクフィンガー、BED-型含有2	NM_024508	8.046492
TPD52L1	腫瘍タンパク質D52様 1	NM_003287	7.949147
EPB41L4B	赤血球膜タンパク質バンド4. 1様4B	NM_019114	7.911
	カリクレイン8 (ニューロプシン(neuropsi		
KLK8	n)/オバシン)	NM_007196	7.895551
	染色体1オープンリーディングフレーム11		
C1orf116	6	NM_024115	7.889643
LEPREL1	レプリカン(leprecan)様1	NM_018192	7.85189
JAG2	ノコギリ歯様2(jagged 2)	Y14330	7.562273
DSC2	デスモコリン2	NM_004949	7.425664
	シトクロムP450、ファミリー27、サブファミ		
CYP27B1	リーB、ポリペプチド1	NM_000785	7.293746
HOOK1	フックホモログ1(Drosophila)	NM_015888	7.275468
	レクチン、ガラクトシド結合、可溶性、7(ガ		
LGALS7	レクチン7)	NM_002307	7.241758
HBEGF	ヘパリン結合EGF様成長因子	NM_001945	7.202511
CDS1	CDP-ジアシルグリセロールシンターゼ(NM_001263	7.130583

【表 2 - 4】

	ホスファチジン酸シチジルトランスフェラーゼ) 1		
RNF128	リングフィンガータンパク質128	NM_024539	7.12999
PRR5		NM_015366	7.124753
KRT6A	ケラチン6A	J00269	7.042267
LAMA3	ラミニン、 $\alpha 3$	NM_000227	6.95736
	アダプター関連タンパク質複合体1、 $\mu 2$ サブユニット		
AP1M2		NM_005498	6.911026
SLAC2-B		AB014524	6.847038
GRHL2	グレイニーヘッダー様2 (<i>Drosophila</i>)	NM_024915	6.781949
	腫瘍形成性抑制14 (結腸癌種、マトリプターゼ、エピシン)		
ST14		NM_021978	6.733796
DSC3	デスモコリン3	NM_001941	6.68478
	CD24抗原 (小細胞肺癌種クラスター4抗原)		
CD24		M58664	6.653991
LAMB3	ラミニン、 $\beta 3$	L25541	6.6375
TSPAN1	テトラスパニン1	AF133425	6.619673
SYK	脾臓チロシンキナーゼ	NM_003177	6.585623
SNX10	ソーティングネキシン10	NM_013322	6.540949
		NM_024064	6.518229
CTSL2	カテプシンL2	AF070448	6.516422
	溶質キャリアファミリー2 (グルコース輸送を促進する)、メンバー9		
SLC2A9		NM_020041	6.458325
TMEM40	膜貫通タンパク質40	NM_018306	6.408648
COL17A1	コラーゲン、XVII型、 $\alpha 1$	NM_000494	6.405184
	染色体10オープンリーディングフレーム1		
C10orf10	0	AL136653	6.37754
	ST6 (α -N-アセチルニューラミニル-2, 3- β -ガラクトシル-1, 3)-N-アセチルガラクトサミニド α -2, 6-シアリルトランスフェラーゼ2		
ST6GALNAC2		NM_006456	6.224336
ANXA8	アネキシンA8	NM_001630	6.199621
ABLIM1	アクチン結合LIMタンパク質1	NM_006720	6.19859

【表 2 - 5】

RLN2	リラキシン2	NM_005059	6.139665
VGLL1	痕跡様1 (Drosophila)	BE542323	6.116473
NRG1	ニューレグリン1	NM_013959	5.854395
	マトリクスメタロペプチダーゼ9 (ゼラチナーゼB、92kDaゼラチナーゼ92kDa IV型コラゲナーゼ)	NM_004994	5.737173
MMP9			
DSG3	デスモグレイン3 (尋常性天疱瘡抗原)	NM_001944	5.731926
	ギャップジャンクションタンパク質、 $\beta 5$ (コネキシン31. 1)	NM_005268	5.684999
GJB5			
NDRG1	N-myc下流制御遺伝子1	NM_006096	5.681532
	マイトジェンー活性化タンパク質キナーゼ1		
MAPK13	3	BC000433	5.587721
DST	ジストニン	NM_001723	5.560135
CORO1A	コロニン、アクチン結合タンパク質、1A	U34690	5.510182
IRF6	インターフェロン調節因子6	AU144284	5.499117
KIBRA		AK001727	5.491803
	セリンペプチダーゼインヒビター、Kunitz型		
SPINT2	、2	AF027205	5.466358
	アナキドン酸15-リボキシゲナーゼ、第2		
ALOX15B	型	NM_001141	5.461662
	セルピンペプチダーゼインヒビター、クレードB (オボアルブミン)、メンバー1	NM_030666	5.348966
SERPINB1			
	塩素チャネル、カルシウム活性型、ファミリー		
CLCA2	ーメンバー2	AF043977	5.30091
MYO5C	ミオシンVC	NM_018728	5.269624
CSTA	シスタチンA (ステフィンA)	NM_005213	5.215624
ITGB4	インテグリン、 $\beta 4$	NM_000213	5.180603
MBP	ミエリン塩基性タンパク質	AW070431	5.108643
AQP3	アクアポリン3	N74607	5.084832
	溶質キャリアファミリー7 (カチオン性アミノ酸トランスポーター、 γ +システム)、メンバー		
SLC7A5	ー5	AB018009	5.084409
GPR87	G タンパク質共役型レセプター87	NM_023915	5.073566

【表 2 - 6】

MALL	mal、T-細胞分化タンパク質一様 マクロファージ刺激1レセプター(c-met- 関連チロシンキナーゼ)	BC003179	4.957731
MST1R	関連チロシンキナーゼ)	NM_002447	4.955876
SOX15	SRV(性決定領域Y)-ボックス15	NM_006942	4.948873
LAMC2	ラミニン、 $\beta 2$	NM_005562	4.941675
CST6	シスタチンE/M	NM_001323	4.931341
MFAP5	ミクロフィブリル関連タンパク質5	AW665892	4.871412
KRT18	ケラチン18	NM_000224	4.799686
JUP	ジャンクションプラコグロビン	NM_021991	4.719454
DSP	デスモブラキン	NM_004415	4.716772
MTSS1	転移抑制因子 1 線維芽細胞成長因子レセプター2(細菌発 現キナーゼ、ケラチノサイト成長因子レセプ ター、頭蓋顔面骨形成不全1、Crouzon症 候群、Pfeiffer症候群、Jackson-Weiss 症候群)	NM_014751	4.715399
FGFR2		NM_022969	4.67323
PKP3	プラコフィリン3	AF053719	4.646421
STAC	SH3およびシステインリッチドメイン RAB38、メンバーRASオンコジーンファミ リー	NM_003149	4.643331
RAB38		NM_022337	4.544243
SFRP1	分泌型縮れ(frizzled)-関連タンパク質1	NM_003012	4.465928
RHOD	rasホモログ遺伝子ファミリー、メンバーD	BC001338	4.45418
TPD52	腫瘍タンパク質D52	BG389015	4.453563
F11R	F11レセプター 腫瘍壊死因子レセプタースーパーファミリ ー、メンバー6b、デコイ	AF154005	4.39018
TNFRSF6B		NM_003823	4.342302
BIK	BCL2-相互作用キラー(アポトーシス- 誘導性)	NM_001197	4.323681
XDH	キサンチンデヒドロゲナーゼ ホスホリパーゼA2、グループIVA(細胞質	U06117	4.309678
PLA2G4A	ゾル、カルシウム依存性)	M68874	4.308364
PTH1H	副甲状腺ホルモン様ホルモン	J03580	4.294946
NEF3	ニューロフィラメント3(150kDa中間)	NM_005382	4.274928

【表 2 - 7】

SORL1	ソーティリンー関連レセプター、L(DLRクラス)Aリピート含有	AV728268	4.257894
SLC6A8	溶質キャリアファミリー6 (神経伝達物質トランスporter、クレアチン)、メンバー8	NM_005629	4.205508
PRRG4	プロリンリッチGla(G-カルボキシグルタミン酸)4(膜貫通)	NM_024081	4.187822
CLDN1	クローデイン1	NM_021101	4.185384
KIAA0888		AB020695	4.162009
GPR56	Gタンパク質共役レセプター56	AL554008	4.153478
SNCA	シヌクレイン、 α アミロイド前駆体の非A4成分)	BG260394	4.149795
FLRT3	フィブロネクチンロイシンリッチ膜貫通タンパク質3	NM_013281	4.130167
IL1RN	インターロイキン1レセプターアンタゴニスト	U65590	4.12988
DDR1	ジスコイジンドメインレセプターファミリー、メンバー1	L11315	4.125646
LYN	v-yes-1 Yamaguchi肉腫ウイルス関連オンコジーンホモログ	M79321	4.107271
FLJ20130		NM_017681	4.09499
STAP2		BC000795	4.089544
KCNK1	カリウムチャネル、サブファミリーK、メンバー1	NM_002245	4.084162
TSPAN13	テトラスパニン13	NM_014399	4.079691
LISCH7		NM_015925	4.025813
PERP	PERP、TP53アポトーシスエフェクター	NM_022121	4.024473

次に、上で記載した通りのものと同じ分析を、異なる抗がん剤（サリノマイシン）による処置に関して、実施した。サリノマイシンは、以前に、侵襲性のがん幹細胞を特異的に死滅させることが同定されている。反対の発現変化（パクリタキセルと比較して）が、サリノマイシンによる処置の際に観察された。図4および図5に示される分析は、表1に表わされる遺伝子およびその任意のサブセットは、サリノマイシンによる処置の際に過少発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子は、サリノマイシンのようなC S S薬剤による処置に感受性である細胞部分集団を同定することを表す。結果として、表1の遺伝子（または本明細書中で開示される方法にしたがって同定されるその任意の適切なサブセット）の発現の測定は、単一の薬剤として使用される場合のC S S薬剤（例えば、サリノマイシン処置）に応答性の腫瘍を同定することに働く。

【0080】

この分析はまた、表2に表される遺伝子およびその任意のサブセットが、サリノマイシンによる処置の際に（対照と比較して）過剰発現されることを示し、このことは、これらの遺伝子が、サリノマイシンのようなC S S薬剤による処置に抵抗性である細胞部分集団

を同定することを表す。結果として、表 2 の遺伝子（または本明細書中で開示される方法にしたがって同定されるその任意の適切なサブセット）の発現の測定は、単一の薬剤として使用される場合の C S S 薬剤（例えば、サリノマイシン処置）に応答性でない腫瘍を同定することに働く。

【 0 0 8 1 】

表 1 および / または 2 ならびにその種々のサブセット（それに対する統計学的検定により、このサブセット内の遺伝子のがん処置（例えば、サリノマイシン処置またはバクリタキセル処置）での処置に応答して差次的に発現されることを、適切な対照集団（例えば、D M S O 処置）と比較して、0 . 1 未満の有意なレベル（例えば、p 値）で実証される）の遺伝子の発現の測定が、所定の治療または処置に応答性であるかまたは応答性でないがん細胞集団を同定するために使用され得るということが理解される。細胞の別個の部分集団は、表 1 および / または 2 の遺伝子（またはその任意の適切なサブセット）の発現レベルを用いて同定され、これらの識別可能な部分集団は、任意の特定の治療または処置のレジメンに示差的に応答し得、それによってこれらの遺伝子が、原発性腫瘍切除後の治療選択を行うバイオマーカーとして働くことが可能となる。

【 0 0 8 2 】

本明細書中で挙げられた全ての文書および特許または特許出願は、参考として完全に組み込まれる。

【 0 0 8 3 】

【 数 1 】

参考文献:

1. Piyush Gupta, Tamer T. Onder, Sendurai Mani, Mai-jing Liao, Eric S. Lander, Robert A. Weinberg. A Method for the Discovery of Agents Targeting and Exhibiting Specific Toxicity for Cancer Stem Cells. *Patent pending*. (WHI07-20; MIT 12947WB; WO/2009/126310).
2. Piyush B. Gupta, Tamer T. Onder, Guozhi Jiang, Tai Kao, Charlotte Kuperwasser, Robert A. Weinberg, Eric S. Lander. "Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening." *Cell*. (2009) Aug; 138(4):645-659.
3. Thomson S, Petti F, Sujka-Kwok I, Epstein D, Haley JD. Kinase switching in mesenchymal-like non-small cell lung cancer lines contributes to EGFR inhibitor resistance through pathway redundancy. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25(8):843-54. Epub 2008 Aug 12. PubMed PMID: 18696232.
4. Barr S, Thomson S, Buck E, Russo S, Petti F, Sujka-Kwok I, Eyzaguirre A, Rosenfeld-Franklin M, Gibson NW, Miglarese M, Epstein D, Iwata KK, Haley JD. Bypassing cellular EGF receptor dependence through epithelial-to-mesenchymal-like transitions. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25(6):685-93. Epub 2008 Jan 31. Review. PubMed PMID: 18236164; PubMed Central PMCID: PMC2471394.
5. Buck E, Eyzaguirre A, Barr S, Thompson S, Sennello R, Young D, Iwata KK, Gibson NW, Cagnoni P, Haley JD. Loss of homotypic cell adhesion by epithelial-mesenchymal transition or mutation limits sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibition. *Mol Cancer Ther*. 2007 Feb;6(2):532-41. PubMed PMID: 17308052.
6. Woodward WA, Debeb BG, Xu W, Buchholz TA. Overcoming radiation resistance in inflammatory breast cancer. *Cancer*. 2010 Jun 1;116(11 Suppl):2840-5. PubMed PMID:20503417.
7. Bao, S., Wu, Q., McLendon, R.E., Hao, Y., Shi, Q., Hjelmeland, A.B., Dewhirst, M.W., Bigner, D.D., and Rich, J.N. (2006). Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 444, 756-760.
8. Barr, S., Thomson, S., Buck, E., Russo, S., Petti, F., Sujka-Kwok, I., Eyzaguirre, A., Rosenfeld-Franklin, M., Gibson, N.W., Miglarese, M., *et al.* (2008). Bypassing cellular EGF receptor dependence through epithelial-to-mesenchymal-like transitions. *Clinical & experimental metastasis* 25, 685-693.
9. Buck, E., Eyzaguirre, A., Rosenfeld-Franklin, M., Thomson, S., Mulvihill, M., Barr, S., Brown, E., O'Connor, M., Yao, Y., Pachter, J., *et al.* (2008). Feedback mechanisms promote cooperativity for small molecule inhibitors of epidermal and insulin-like growth factor receptors. *Cancer research* 68, 8322-8332.
10. Creighton, C.J., Li, X., Landis, M., Dixon, J.M., Neumeister, V.M., Sjolund, A., Rimm, D.L., Wong, H., Rodriguez, A., Herschkowitz, J.I., *et al.* (2009). Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 13820-13825.

【数 2】

11. Horwitz, K.B., and Sartorius, C.A. (2008). Progestins in hormone replacement therapies reactivate cancer stem cells in women with preexisting breast cancers: a hypothesis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 93, 3295-3298.
Mani, S.A., Guo, W., Liao, M.J., Eaton, E.N., Ayyanan, A., Zhou, A.Y., Brooks, M., Reinhard, F., Zhang, C.C., Shipitsin, M., *et al.* (2008). The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 133, 704-715.
12. Morel, A.P., Lievre, M., Thomas, C., Hinkal, G., Ansieau, S., and Puisieux, A. (2008). Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS ONE* 3, e2888.
13. Thomson, S., Buck, E., Petti, F., Griffin, G., Brown, E., Ramnarine, N., Iwata, K.K., Gibson, N., and Haley, J.D. (2005). Epithelial to mesenchymal transition is a determinant of sensitivity of non-small-cell lung carcinoma cell lines and xenografts to epidermal growth factor receptor inhibition. *Cancer research* 65, 9455-9462.
14. Yang, A.D., Fan, F., Camp, E.R., van Buren, G., Liu, W., Somcio, R., Gray, M.J., Cheng, H., Hoff, P.M., and Ellis, L.M. (2006). Chronic oxaliplatin resistance induces epithelial-to-mesenchymal transition in colorectal cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 12, 4147-4153.
15. Yang, J., Mani, S.A., Donaher, J.L., Ramaswamy, S., Itzykson, R.A., Come, C., Savagner, P., Gitelman, I., Richardson, A., and Weinberg, R.A. (2004). Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell* 117, 927-939.
16. Yauch, R.L., Januario, T., Eberhard, D.A., Cavet, G., Zhu, W., Fu, L., Pham, T.Q., Soriano, R., Stinson, J., Seshagiri, S., *et al.* (2005). Epithelial versus mesenchymal phenotype determines in vitro sensitivity and predicts clinical activity of erlotinib in lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 11, 8686-8698.
17. Taube, J.H., Herschkowitz, J.I., Komurov, K., Zhou, A.Y., Gupta, S., Yang, J., Hartwell, K., Onder, T.T., Gupta, P.B., Evans, K.W., Hollier, B.G., Ram, P.T., Lander, E.S., Rosen, J.M., Weinberg, R.A., Mani, S.A. (2010). A Core EMT Interactome Gene Expression Signature is Associated with Claudin-Low and Metaplastic Breast Cancer Subtypes. *Proc. Natl Acad. Sci* 107, 15449-15454.

他の実施形態

本発明は、その詳細な説明と一緒に記載されているが、先の記載は、本発明を説明することを企図するものであり、添付の特許請求の範囲で規定される本発明の範囲を限定しない。他の局面、利点および改変は、以下の特許請求の範囲の範囲内である。