

【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 12 Q 1/68 (2006.01)

【F I】

C 12 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21】

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22】

前記標準治療は、パクリタキセルである、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

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20または21に記載の方法。

【請求項24】

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23に記載の方法。

【請求項25】

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1～13または20～24のいずれか1項に記載の方法。

【請求項26】

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25に記載の方法。

【請求項27】

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25に記載の方法。

【請求項28】

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29】

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28に記載のキット。

【請求項30】

前記キットは、上皮がんのバイオマーカープロフィールを作成するために使用される、請求項28に記載のキット。

【請求項31】

前記がんが、上皮がんである、請求項1～13または20～24のいずれか1項に記載の方法。

【請求項32】

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1～13または20～24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する遺伝子セット、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; Yauch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）がん細胞を產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); Sabbagh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關し得る。この方法は、EMT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EMT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來の上皮がん細胞）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）に対して抵抗性であるが、がん幹細胞選択薬剤（CSS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）の過少発現は、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CSS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の遺伝子の過少発現は、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、EGFR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、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（「GSEA」）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。

#### 【0015】

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、CSS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。

#### 【0016】

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、EGFR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。

#### 【0017】

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、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（「GSEA」））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。

#### 【0018】

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。

#### 【0019】

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。

#### 【0020】

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、CSS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。

#### 【0021】

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。

#### 【0022】

本発明にしたがうがん幹細胞またはEMT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。

#### 【0023】

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、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。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。

#### 【0024】

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。

#### 【0025】

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。

#### 【0026】

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、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、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。

#### 【0027】

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。

#### 【0028】

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応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C S S 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、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。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（s k i l l e d p r a c t i c i o n e r）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ィールを作成する（g e n e r a t e）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、R N A 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、R N A 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R N A は、固定化した、蠅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R N A は断片化したR N A であること、および/または上記R N A 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つてもよい。

#### 【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。

#### 【0037】

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。

#### 【0038】

当業者は、上記標準治療が、EGFR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。

#### 【0039】

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、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応答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、EGFR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10)

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11)

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12)

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13)

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14)

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15)

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16)

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17)

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16に記載の方法。

(項目18)

前記標準治療は、EGFR阻害のようなキナーゼ標的治療である、項目16に記載の方法。

。(項目19)

前記標準治療は、放射線治療である、項目16に記載の方法。

(項目20)

前記標準治療は、ホルモン治療である、項目16に記載の方法。

(項目21)

前記標準治療は、パクリタキセルである、項目16に記載の方法。

(項目22)

前記標準治療は、項目17～21に示す治療の組み合わせである、項目16に記載の方法

。

(項目23)

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16～22のいずれか1項に記載の方法。

(項目24)

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23に記載の方法。

(項目25)

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24に記載の方法。

(項目26)

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23～25のいずれか1項に記載の方法。

(項目27)

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16に記載の方法。

(項目28)

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16に記載の方法。

。

(項目29)

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16に記載の方法。

(項目30)

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16に記載の方法。

(項目31)

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32)

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31に記載の方法。

(項目33)

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32に記載の方法。

(項目34)

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33に記載の方法。

(項目35)

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36)

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37)

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38)

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39)

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40)

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41)

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CSS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42)

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43)

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44)

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45)

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46)

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47)

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48)

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49)

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50)

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51)

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52)

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53)

前記キットは、上皮がんのバイオマーカープロフィー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54)

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55)

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56)

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57)

前記RNAは、前記患者の固定化して蠍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58)

前記RNAは、断片化RNAである、項目55に記載の方法。

(項目59)

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60)

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61)

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。

【0040】

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(Gooseco id、TGFb、Snai1、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。パ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、パ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。パ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、パ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)、改变体、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 (T ax o 1) 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、インピトロで行うことを、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Mo o t h a, 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 コラーゲン、III型、 $\alpha 1$ (エーラースーダンロス症候群)	AF138300	137.6156
COL3A1	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) グレムリン1、システインノットスーパーファミリー	NM_000138	76.51337
GREM1	、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	ニドジエン1	BF940043	51.91502
FBLN5	フィビュリン5 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)	NM_006329	34.4268
SDC2	コラーゲン、V型、 $\alpha 2$	AL577322	32.48001
COL5A2	プロテオグリカン1、分泌顆粒	NM_000393	26.66545
PRG1	転写因子8 (インターロイキン2発現を抑制する) エクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジ	J03223	23.46014
TCF8	エステラーゼ2 (オータキシン) 核レセプターサブファミリー2、グループF、メンバ	AI806174	22.83413
ENPP2	NR2F1 —1	L35594	22.72739
COL6A1	コラーゲン、VI型、 $\alpha 1$	AI951185	20.64471
RGS4	G-タンパク質シグナル伝達4のレギュレータ	AA292373	17.36271
CDH11	カドヘリン11、2型、OB-カドヘリン (骨芽細胞)	AL514445	16.63788
PRRX1	カドヘリン11、2型、OB-カドヘリン (骨芽細胞) 対をなす関連ホメオボックス1	D21254	16.61483
OLFML3	CDH11 オルファクトメディン様3 sparc／オステオネクチン、cwcvおよびkazal様	NM_006902	14.73362
SPOCK	ドメインプロテオグリカン (テスチカン)	NM_020190	14.0984
WNT5A	wingless型MMTV統合部位ファミリー、メンバ —5A	AF231124	13.99112
		NM_003392	13.33384

## 【0062】

## 【表1-2】

MAP1B	微小管関連タンパク質1B ペントラキシン関連遺伝子、IL-1 $\beta$ によって迅速に誘導される	AL523076 BG109855	13.0877 12.44401
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 プロコラーゲンC-エンドペプチダーゼエンハンサー	NM_001552	11.09963
PCOLCE	サーアルブミン	NM_002593	11.04575
TNFAIP6	腫瘍壞死因子、 $\alpha$ -誘導型タンパク質6	NM_007115	11.02984
LOC51334	NM_016644 シトクロムP450、ファミリー1、サブファミリーB、	10.91454	
CYP1B1	ポリペプチド1 組織因子経路インヒビター(リポタンパク質関連)	NM_000104	10.47429
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 レセプターチロシンキナーゼ様オーファンレセプター	AA129716	10.30262
ROR1	ターチロシンキナーゼ	NM_005012	10.10474
FBLN1	フィビュリン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アミニンヌクレオチド分解刺激因子-1様1	AF186779	9.643922
PTGFR	プロスタグラジンFレセプター(FP) 形質転換成長因子、 $\beta$ レセプターIII(ベータグリカン)	NM_000959	8.939536
TGFBR3	ン、300kDa)	NM_003243	8.838
COL1A1	コラーゲン、I型、 $\alpha$ 1 肝臓がんでの欠失1(deleted in liver cancer)	Y15916	8.667645
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、 $\alpha$ 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型コラゲナーゼ)	AI471375	8.338108
MMP2	—ゼ)	NM_004530	8.268926

## 【0063】

【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) グアニンヌクレオチド結合タンパク質(Gタンパク)	M34064	7.987921
GNG11	質)、γ11	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 カリウム大伝導性カルシウム活性化チャネル、	NM_006097	7.780485
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 コンドロイチン硫酸プロテオグリカン2(ベルシカ ン)	BF340228	7.57812
CSPG2	semaドメイン、7トロンボスponジンリピート(1型 および1型様)、膜貫通ドメイン(TM)および短細 胞質ドメイン(セマホリン) 5A	NM_004385	7.318764
SEMA5A	Glu／Aspリッチカルボキシ末端ドメインを有する	NM_003966	7.298702
CITED2	Cbp／p300-相互作用トランスアクチベータ2 膜メタローエンドペプチダーゼ(中性エンドペプチ ダーゼ、エンケファリナーゼ、CALLA、CD10)	AF109161	7.220907
MME	細胞質分裂のデディケーター10(dedicator of cytokinesis 10)	AI433463	7.05859
DOCK10	DnaJ(Hsp40)ホモログ、サブファミリーB、メン バー4	NM_017718	6.972809
DNAJB4	プロトカドヘリン9	BG252490	6.782043
PCDH9	ニドジエン2(オステオニドジエン)	AI524125	6.711987
NID2	ヒアルロンシンターゼ2 プロスタグランジンEレセプター4(サブタイプEP 4)	NM_007361	6.54739
HAS2	AA897516	6.396133	
PTGER4	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	シトクロムbレダクターゼ1	AA845258	5.838023
CYBRD1	キメリン(chimaerin)1	NM_024843	5.710828
CHN1	BF339445	5.687127	

【0064】

【表1-4】

DPT	ダーマトポンチン インテグリン、 $\beta$ 様1(EGF-様リピートドメインを有する)	AI146848 AL359052	5.573023 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、ニドジエンおよびEGF-様ドメイン1 セルピンペプチダーゼインヒビター、クレードF( $\alpha$ -2抗プラスミン、色素上皮由来因子)、メンバー	N73970	4.993945
SERPINF1	1 無能化(disabled)ホモログ2、マイトジエン-応答性リンタンパク質(Drosophila)	NM_002615 NM_001343	4.969153 4.913939
DAB2	Wiskott-Aldrich症候群タンパク質相互作用タンパク質		
WASPIP		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 DNA結合2のインヒビター、ドミナントネガティブ	NM_005576	4.720305
ID2	ヘリックス-ループ-ヘリックスタンパク質 プロスタグラジンEレセプター2 (サブタイプE)	NM_002166	4.672064
PTGER2	P2)、53kDa	NM_000956	4.427892
COL8A1	コラーゲン、VIII型、 $\alpha$ 1 ジスコイジンドメインレセプターファミリー、メンバ	BE877796	4.38653
DDR2	-2	NM_006182	4.338932
SEPT6	セプチン6	D50918	4.30699
HRASLS3	HRAS-様サブレッサー 3	BC001387	4.281926

【0065】

## 【表1-5】

PLEKHC1	—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-1様1	BC000055	4.175243
NRP1	ニューロビリン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 $\beta$ 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ピ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の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Moootha, 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、クレードB(オボアルブミン)、メンバー2 腫瘍関連カルシウムシグナルransデュ	NM_002575	36.74103
TACSTD1	ーサー1	NM_002354	35.91264
SPRR1A	低分子プロリンリッチタンパク質1A 低分子プロリンリッチタンパク質1B (コ	AI923984	34.99944
SPRR1B	ニフィン)	NM_003125	29.33599
IL1A	インターロイキン1、 $\alpha$	M15329	28.86922
KLK10	カリクレイン10 線維芽細胞成長因子レセプター3(軟骨形	BC002710	25.16523
FGFR3	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 FXYDドメイン含有イオン輸送レギュレータ	AI831452	20.84833
FXYD3	3 ペプチダーゼインヒビター3、皮膚由来 (S	BC005238	19.01308
PI3	KALP)	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

## 【0074】

## 【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、クレー	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-様	AF091627	10.93454
FLJ12684		NM_024534	10.70372
SCNN1A	ナトリウムチャネル、非電位型1 $\alpha$	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、 $\alpha$ インターロイキン18(インターフェロン- $\gamma$ -	NM_003236	9.30496
IL18	誘導因子)	NM_001562	9.218934

## 【0075】

【表2-3】

CA9	炭酸脱水酵素IX ケラチン16(限局性非表皮剥離性掌蹠角皮症)	NM_001216 AF061812	9.196596 9.177365
GJB3	kDa(コネキシン31)	AF099730	9.030588
VSNL1	ビジニー様1	NM_003385	8.637896
IL1B	インターロイキン1、 $\beta$	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 ケラチン5(単純性表皮水泡症、Dowling-Meara/Kobner/Weber-Cockayne)	Z83838	8.434017
KRT5	e型)	NM_000424	8.14695
ARTN	アルテミン カルシウム/カルモジュリン-依存性タンパク質キナーゼ(CaMキナーゼ)II $\beta$	NM_003976 AF078803	8.125857 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 カリクレイン8(ニューロプシン(neuropsin)オバシン)	NM_019114 NM_007196	7.911 7.895551
KLK8	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	レブリカン(leprenan)-様1	NM_018192	7.85189
JAG2	ノコギリ歯様2(jagged 2)	Y14330	7.562273
DSC2	デスマコリン2 シトクロムP450、ファミリー27、サブファミリーB、ポリペプチド1	NM_004949 NM_000785	7.425664 7.293746
HOOK1	フックホモログ1(Drosophila) レクチン、ガラクトシド結合、可溶性、7(ガラクトシド結合)	NM_015888	7.275468
LGALS7	レクチン7)	NM_002307	7.241758
HBEGF	ヘバリン結合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

【0076】

【表2-4】

	ホスファチジン酸シチジリ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	NM_005498	6.911026
SLAC2-B		AB014524	6.847038
GRHL2	グレイニーヘッドー様2(Drosophila)	NM_024915	6.781949
	腫瘍形成性抑制14(結腸癌種、マトリプターゼ)	NM_021978	6.733796
ST14	一セ、エピシン)	NM_001941	6.68478
DSC3	デスマコリン3		
	CD24抗原(小細胞肺癌種クラスター4抗原)	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)、メンバーア-9	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、 $\alpha 1$ 染色体10オープンリーディングフレーム1	NM_000494	6.405184
C10orf10	O	AL136653	6.37754
	ST6( $\alpha$ -N-アセチルニューラミニル-2, 3- $\beta$ -ガラクトシル-1, 3)-N-アセチルガラクトサミニド $\alpha$ -2, 6-シアリルトランスフェラーゼ2	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

【0077】

【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 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)	NM_013959	5.854395
MMP9	型コラゲナーゼ)	NM_004994	5.737173
DSG3	デスマグレイン3(尋常性天疱瘡抗原) 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_001944	5.731926
GJB5		NM_005268	5.684999
NDRG1	N-myc下流制御遺伝子1 マイトジエン-活性化タンパク質キナーゼ1	NM_006096	5.681532
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
SPINT2	セリンペプチダーゼインヒビター、Kunitz型 アナキドン酸15-リポキシゲナーゼ、第2	AF027205	5.466358
ALOX15B	型 セルビ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_001141	5.461662
SERPINB1	ドB(オボアルブミン)、メンバー1 塩素チャネル、カルシウム活性型、ファミリー	NM_030666	5.348966
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 溶質キャリアファミリー7 (カチオン性アミノ酸トランспорター、 $\gamma$ +システム)、メンバ	N74607	5.084832
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

【0078】

【表2-6】

MALL	mal、T-細胞分化タンパク質-様 マクロファージ刺激1レセプター(c-met-)	BC003179	4.957731
MST1R	関連チロシンキナーゼ)	NM_002447	4.955876
SOX15	SRY(性決定領域Y)-ボックス15	NM_006942	4.948873
LAMC2	ラミニン、 $\gamma$ 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	デスマブラキン	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	PLK1	NM_022969	4.67323
PKP3	PLK3	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	PLXNC1	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	BCL2-相互作用キラー(アポトーシス- 誘導性)	NM_003823	4.342302
BIK	キサンチンデヒドロゲナーゼ	NM_001197	4.323681
XDH	ホスホリパーゼA2、グループIVA(細胞質 ゾル、カルシウム依存性)	U06117	4.309678
PLA2G4A	副甲状腺ホルモン様ホルモン	M68874	4.308364
PTHLH	ニューロフィラメント3(150kDa中間)	J03580	4.294946
NEF3		NM_005382	4.274928

【0079】

【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 ransporter、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	クローディン1	NM_021101	4.185384
KIAA0888		AB020695	4.162009
GPR56	Gタンパク質共役レセプター56 シヌクレイン、 $\alpha$ アミロイド前駆体の非A4	AL554008	4.153478
SNCA	成分)	BG260394	4.149795
FLRT3	フィプ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 ジスコイジンドメインレセプターファミリー、メ	U65590	4.12988
DDR1	ンバー1 v—yes—1 Yamaguchi肉腫ウイルス関	L11315	4.125646
LYN	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）による処置について、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でき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CSS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CSS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CSS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ががん処置（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.

【0084】

## 【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。