

【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】令和 1 年 5 月 23 日 (2019.5.23)

【公表番号】特表 2018-512160 (P2018-512160A)

【公表日】平成 30 年 5 月 17 日 (2018.5.17)

【年通号数】公開・登録公報 2018-018

【出願番号】特願 2017-553970 (P2017-553970)

【国際特許分類】

C 1 2 Q 1/68 (2018.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 Q 1/04 (2006.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

【F I】

C 1 2 Q 1/68 Z N A A

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 Q 1/04

G 0 1 N 33/53 M

【手続補正書】

【提出日】平成 31 年 4 月 12 日 (2019.4.12)

【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】

遺伝子発現ベースサブタイプと形態学ベースサブタイプとの間の一致を、肺がんに罹患している患者についての疾患アウトカムの指標とする方法であって、遺伝子発現ベースサブタイプを形態学ベースサブタイプと比較するステップを含み、ここで、前記遺伝子発現ベースサブタイプは、前記患者から得た第 1 の試料の遺伝子発現分析を介して決定された前記肺がんのサブタイプであり、前記形態学ベースサブタイプは、前記患者から得た第 2 の試料の形態学的分析を介して決定された前記肺がんのサブタイプであり、前記遺伝子発現ベースサブタイプと前記形態学ベースサブタイプとの間の一致の存在または非存在は、前記疾患アウトカムを示す、方法。

【請求項 2】

前記遺伝子発現ベースサブタイプと前記形態学ベースサブタイプとの間の不一致が、不良な疾患アウトカムを示す、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記疾患アウトカムが全生存である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記遺伝子発現ベースサブタイプおよび / または前記形態学ベースサブタイプが、腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫腫である、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記神経内分泌癌腫腫が、小細胞癌腫およびカルチノイドを包含する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 の試料および / または前記第 2 の試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋 (F

F P E) 肺組織試料、新鮮または凍結組織試料である、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記第 1 の試料および前記第 2 の試料が、同一の試料の部分である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記遺伝子発現分析が、RNA 配列決定、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (R T - P C R)、またはハイブリダイゼーションベース分析を実施することによって、前記第 1 の試料において、核酸レベルで表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現レベルを決定することを含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記 R T - P C R が、定量的リアルタイム逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (q R T - P C R) である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 R T - P C R が、前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーに特異的なプライマーを用いて実施され；前記遺伝子発現分析が、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現の検出されたレベルを、少なくとも 1 つの試料訓練セット (単数または複数) における前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現と比較するステップであって、前記少なくとも 1 つの試料訓練セットは、参照腺癌試料の、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現データ、参照扁平上皮細胞癌腫試料の、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現データ、参照神経内分泌癌腫試料の、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現データ、またはこれらの組合せを含む、ステップと；前記比較するステップの結果に基づいて前記第 1 の試料を腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫サブタイプとして分類するステップとを含む、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 11】

前記比較するステップが、前記第 1 の試料から得た発現データと、前記少なくとも 1 つの訓練セット (単数または複数) からの発現データとの間の相関を決定することを含む統計的アルゴリズムを適用することと；前記統計的アルゴリズムの結果に基づいて前記第 1 の試料を腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫サブタイプとして分類することを含む、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記ハイブリダイゼーションベース分析が、

(a) 前記患者から得られる肺がん試料において、核酸レベルで表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーのレベルをプローブするステップであって、

(i) 前記試料を、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの核酸分子の部分に実質的に相補的である 5 種またはそれ超のオリゴヌクレオチドと、前記 5 種またはそれ超のオリゴヌクレオチドをこれらの相補体または実質的な相補体のハイブリダイゼーションに適した条件下で混合すること；

(i i) ハイブリダイゼーションが、前記 5 種またはそれ超のオリゴヌクレオチドとこれらの相補体または実質的な相補体との間で起こるか否かを検出すること；

(i i i) 前記検出するステップに基づいて前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーのハイブリダイゼーション値を得ることを含むステップと；

(b) 前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカーの前記ハイブリダイゼーション値を、少なくとも1つの試料訓練セットからの参照ハイブリダイゼーション値(単数または複数)と比較するステップであって、前記少なくとも1つの試料訓練セットは、参照腺癌試料からのハイブリダイゼーション値、参照扁平上皮細胞癌腫試料からのハイブリダイゼーション値、参照神経内分泌癌腫試料からのハイブリダイゼーション値、またはこれらの組合せを含む、ステップと；

を含み、前記遺伝子発現ベースサブタイプが、前記比較するステップの結果に基づく、腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫サブタイプとして分類された前記肺がんのサブタイプである、請求項8に記載の方法。

【請求項13】

前記比較するステップが、前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカーの前記ハイブリダイゼーション値と、前記参照ハイブリダイゼーション値との間の相関を決定することを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項14】

前記比較するステップが、前記少なくとも5種のバイオマーカーの平均発現比を決定することと、前記平均発現比を、前記試料訓練セットにおける前記参照値から得られる前記少なくとも5種のバイオマーカーの平均発現比と比較することとをさらに含む、請求項12に記載の方法。

【請求項15】

前記第2の試料の前記形態学的分析が、組織学的分析である、請求項1から14のいずれか一項に記載の方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0144

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0144】

これらの変更および他の変更を、上記詳細な説明を踏まえると実施形態に行うことができる。一般に、以下の特許請求の範囲において、使用した用語は、本明細書および特許請求の範囲に開示した具体的な実施形態に特許請求の範囲を限定するように解釈されるべきでないが、このような特許請求の範囲が権利を与えられる均等物の全範囲とともにすべての可能な実施形態を含むように解釈されるべきである。したがって、特許請求の範囲は、本開示によって限定されない。

本発明の実施形態の例として、以下の項目が挙げられる。

(項目1)

患者の腺癌の肺がんサブタイプが、スクアモイド(近位炎症性)、ブロンコイド(終末呼吸単位)、またはマグノイド(近位増殖性)であるか否かを評価する方法であって、

(a) 前記患者から得られる肺がん試料において、核酸レベルで表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、表5、または表6のクラシファイヤーバイオマーカーの少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカーのレベルをプローブするステップであって、

(i) 前記試料を、表1A、表1B、表1C、表2、表3、表4、表5、または表6の前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカーの核酸分子の部分に実質的に相補的である5種またはそれ超のオリゴヌクレオチドと、前記5種またはそれ超のオリゴヌクレオチドのこれらの相補体または実質的な相補体へのハイブリダイゼーションに適した条件下で混合すること；

(ii) ハイブリダイゼーションが、前記5種またはそれ超のオリゴヌクレオチドとこれらの相補体または実質的な相補体との間で起こるか否かを検出すること；

(iii) 前記検出するステップに基づいて前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカーのハイブリダイゼーション値を得ることを含むステップと；

(b) 前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカースの前記ハイブリダイゼーション値を、少なくとも1つの試料訓練セットからの参照ハイブリダイゼーション値(単数または複数)と比較するステップであって、前記少なくとも1つの試料訓練セットは、(i) 前記少なくとも5種のバイオマーカースを過剰発現する試料、もしくは前記少なくとも5種のバイオマーカースのサブセットを過剰発現する試料からの前記少なくとも5種のバイオマーカースのハイブリダイゼーション値(単数または複数)、(ii) 参照スクアモイド(近位炎症性)、bronchioid(終末呼吸単位)、もしくはマグノイド(近位増殖性)試料からのハイブリダイゼーション値、または(iii) 無腺癌肺試料から得たハイブリダイゼーション値を含む、ステップと；

(c) 前記比較するステップの結果に基づいて前記腺癌試料をスクアモイド(近位炎症性)、bronchioid(終末呼吸単位)、またはマグノイド(近位増殖性)サブタイプとして分類するステップとを含む方法。

(項目2)

前記比較するステップが、前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカースの前記ハイブリダイゼーション値と、前記参照ハイブリダイゼーション値との間の相関を決定することを含む、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記比較するステップが、前記少なくとも5種のバイオマーカースの平均発現比を決定することと、前記平均発現比を、前記試料訓練セットにおける前記参照値から得られる前記少なくとも5種のバイオマーカースの平均発現比と比較することとをさらに含む、項目1に記載の方法。

(項目4)

前記プローブするステップが、前記混合するステップの前に前記核酸またはその部分を単離することを含む、項目1から3のいずれか一項に記載の方法。

(項目5)

前記ハイブリダイゼーションが、cDNAプローブへのcDNAバイオマーカースのハイブリダイゼーション、それによって非天然複合体を形成することを含む、項目1から4のいずれか一項に記載の方法。

(項目6)

前記ハイブリダイゼーションが、cDNAプローブのmRNAバイオマーカースへのハイブリダイゼーション、それによって非天然複合体を形成することを含む、項目1から4のいずれか一項に記載の方法。

(項目7)

前記プローブするステップが、前記試料中の前記核酸を増幅することを含む、項目1から5のいずれか一項に記載の方法。

(項目8)

前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカースが、表1A、表1B、または表1Cの少なくとも10種のバイオマーカース、少なくとも20種のバイオマーカース、または少なくとも30種のバイオマーカースを含む、項目1から7のいずれか一項に記載の方法。

(項目9)

前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカースが、表2の少なくとも10種のバイオマーカース、少なくとも20種のバイオマーカース、または少なくとも30種のバイオマーカースを含む、項目1から7のいずれか一項に記載の方法。

(項目10)

前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカースが、表3の少なくとも10種のバイオマーカース、少なくとも20種のバイオマーカース、または少なくとも30種のバイオマーカースを含む、項目1から7のいずれか一項に記載の方法。

(項目11)

前記少なくとも5種のクラシファイヤーバイオマーカースが、表4の6種のバイオマーカース

ーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 2)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 5 の 6 種のバイオマーカーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 3)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 6 の少なくとも 10 種のバイオマーカー、少なくとも 20 種のバイオマーカー、または少なくとも 30 種のバイオマーカーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 4)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C の約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 15 ～約 40 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 5)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 2 の約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 15 ～約 40 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 6)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 3 の約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 15 ～約 40 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 7)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 6 の約 5 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 8)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C に示したクラシファイヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 1 9)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 2 に示したクラシファイヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 0)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 3 に示したクラシファイヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 1)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 6 に示したクラシファイヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 2)

前記試料が、パラフィン中に包埋された肺細胞を含む、項目 1 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 3)

前記試料が、新鮮凍結試料である、項目 1 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 4)

肺組織試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 肺組織試料、新鮮および凍結組織試料から選択される、項目 1 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 2 5)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 A に示したクラシファイヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 18 に記載の方法。

(項目 2 6)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 B に示したクラシファ

イヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 18 に記載の方法。

(項目 27)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 C に示したクラシファイヤーバイオマーカーのそれぞれを含む、項目 18 に記載の方法。

(項目 28)

肺がん罹患している患者について疾患アウトカムを決定するための方法であって、前記患者から得た第 1 の試料の遺伝子発現分析を介して前記肺がんのサブタイプを決定して、遺伝子発現ベースサブタイプを生成するステップと；前記患者から得た第 2 の試料の形態学的分析を介して前記肺がんのサブタイプを決定して、形態学ベースサブタイプを生成するステップと；前記遺伝子発現ベースサブタイプを前記形態学ベースサブタイプと比較するステップであって、前記遺伝子発現ベースサブタイプと前記形態学ベースサブタイプとの間の一致の存在または非存在は、前記疾患アウトカムを予測する、ステップを含む方法。

(項目 29)

前記遺伝子発現ベースサブタイプと前記形態学ベースサブタイプとの間の不一致が、不良な疾患アウトカムを予測する、項目 28 に記載の方法。

(項目 30)

前記疾患アウトカムが全生存である、項目 28 または 29 に記載の方法。

(項目 31)

前記遺伝子発現ベースサブタイプおよび / または前記形態学ベースサブタイプが、腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫腫である、項目 28 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 32)

前記神経内分泌癌腫腫が、小細胞癌腫およびカルチノイドを包含する、項目 31 に記載の方法。

(項目 33)

前記第 1 の試料および / または前記第 2 の試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋 (F F P E) 肺組織試料、新鮮または凍結組織試料である、項目 28 から 32 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 34)

前記第 1 の試料および前記第 2 の試料が、同一の試料の部分である、項目 28 から 33 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 35)

前記遺伝子発現分析が、RNA 配列決定、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (R T - P C R)、またはハイブリダイゼーションベース分析を実施することによって、前記第 1 の試料において、核酸レベルで表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現レベルを決定することを含む、項目 28 から 34 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 36)

前記 R T - P C R が、定量的リアルタイム逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応 (q R T - P C R) である、項目 35 に記載の方法。

(項目 37)

前記 R T - P C R が、前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーに特異的なプライマーを用いて実施され；前記方法が、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現の検出されたレベルを、少なくとも 1 つの試料訓練セット (単数または複数) における前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現と比較するステップであって、前記少なくとも 1 つの試料訓練セットは、参照腺癌試料の、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーの発現データ、参照扁平上皮細胞癌腫試料の、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、

表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの発現データ、参照神経内分泌癌腫腫試料の、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、もしくは表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの発現データ、またはこれらの組合せを含む、ステップと；前記比較するステップの結果に基づいて前記第 1 の試料を腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫サブタイプとして分類するステップとを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記比較するステップが、前記第 1 の試料から得た発現データと、前記少なくとも 1 つの訓練セット（単数または複数）からの発現データとの間の相関を決定することを含む統計的アルゴリズムを適用することと；前記統計的アルゴリズムの結果に基づいて前記第 1 の試料を腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫サブタイプとして分類することを含む、項目 3 7 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカに特異的な前記プライマーが、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 に列挙された順方向プライマーおよび逆方向プライマーである、項目 3 7 または 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記ハイブリダイゼーションベース分析が、

(a) 前記患者から得られる肺がん試料において、核酸レベルで表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカのレベルをプローブするステップであって、

(i) 前記試料を、表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの核酸分子の部分に実質的に相補的である 5 種またはそれ超のオリゴヌクレオチドと、前記 5 種またはそれ超のオリゴヌクレオチドをこれらの相補体または実質的な相補体のハイブリダイゼーションに適した条件下で混合すること；

(i i) ハイブリダイゼーションが、前記 5 種またはそれ超のオリゴヌクレオチドとこれらの相補体または実質的な相補体との間で起こるか否かを検出すること；

(i i i) 前記検出するステップに基づいて前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカのハイブリダイゼーション値を得ることを含むステップと；

(b) 前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの前記ハイブリダイゼーション値を、少なくとも 1 つの試料訓練セットからの参照ハイブリダイゼーション値（単数または複数）と比較するステップであって、前記少なくとも 1 つの試料訓練セットは、参照腺癌試料からのハイブリダイゼーション値、参照扁平上皮細胞癌腫試料からのハイブリダイゼーション値、参照神経内分泌癌腫試料からのハイブリダイゼーション値、またはこれらの組合せを含む、ステップと；

(c) 前記比較するステップの結果に基づいて前記肺がん試料を腺癌、扁平上皮細胞癌腫、または神経内分泌癌腫サブタイプとして分類するステップとを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 4 1)

前記比較するステップが、前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの前記ハイブリダイゼーション値と、前記参照ハイブリダイゼーション値との間の相関を決定することを含む、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 2)

前記比較するステップが、前記少なくとも 5 種のバイオマーカの平均発現比を決定することと、前記平均発現比を、前記試料訓練セットにおける前記参照値から得られる前記少なくとも 5 種のバイオマーカの平均発現比と比較することとをさらに含む、項目 4 0 に記載の方法。

(項目 4 3)

前記プローブするステップが、前記混合するステップの前に前記核酸またはその部分を単離することを含む、項目 40 から 42 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 44)

前記ハイブリダイゼーションが、cDNA プローブの DNA バイオマーカへのハイブリダイゼーション、それによって非天然複合体を形成することを含む、項目 40 から 43 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 45)

前記ハイブリダイゼーションが、cDNA プローブの mRNA バイオマーカへのハイブリダイゼーション、それによって非天然複合体を形成することを含む、項目 40 から 43 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 46)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C の少なくとも 10 種のバイオマーカ、少なくとも 20 種のバイオマーカ、または少なくとも 30 種のバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 47)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 2 の少なくとも 10 種のバイオマーカ、少なくとも 20 種のバイオマーカ、または少なくとも 30 種のバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 48)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 3 の少なくとも 10 種のバイオマーカ、少なくとも 20 種のバイオマーカ、または少なくとも 30 種のバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 49)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 4 の 6 種のバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 50)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 5 の 6 種のバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 51)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 6 の少なくとも 10 種のバイオマーカ、少なくとも 20 種のバイオマーカ、または少なくとも 30 種のバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 52)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C の約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカ、または約 15 ～約 40 種のクラシファイヤーバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 53)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 2 の約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカ、または約 15 ～約 40 種のクラシファイヤーバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 54)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 3 の約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカ、または約 15 ～約 40 種のクラシファイヤーバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 55)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 6 の約 5 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカ、または約 10 ～約 30 種のクラシファイヤーバイオマーカを含む、項目 35 に記載の方法。

(項目 56)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 A、表 1 B、または表

1 C に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 5 7)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 2 に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 5 8)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 3 に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 5 9)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 6 に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 6 0)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 A に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 6 1)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 B に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 6 2)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 C に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 5 6 に記載の方法。

(項目 6 3)

前記第 2 の試料の前記形態学的分析が、組織学的分析である、項目 2 8 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 6 4)

ヒト患者からの肺組織試料が、スクアモイド（近位炎症性）、ブロンコイド（終末呼吸単位）、またはマグノイド（近位増殖性）腺癌の肺がんサブタイプであるか否かを評価する方法であって、

クラシファイヤーバイオマーカに特異的なオリゴヌクレオチドを用いた RNA - seq、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT - PCR）、またはハイブリダイゼーションアッセイによって、核酸レベルで表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの発現レベルを検出するステップと；

表 1 A、表 1 B、表 1 C、表 2、表 3、表 4、表 5、または表 6 の前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの発現の検出されたレベルを、少なくとも 1 つの試料訓練セットからの前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカの発現レベルと比較するステップであって、前記少なくとも 1 つの試料訓練セットは、(i) 前記少なくとも 5 種のバイオマーカを過剰発現する試料、もしくは前記少なくとも 5 種のバイオマーカのサブセットを過剰発現する試料からの前記少なくとも 5 種のバイオマーカの発現レベル（単数または複数）、(i i) 参照スクアモイド（近位炎症性）、ブロンコイド（終末呼吸単位）、もしくはマグノイド（近位増殖性）試料からの発現レベル、または(i i i) 無腺癌肺試料からの発現レベルを含む、ステップと；

前記比較するステップの結果に基づいて前記肺組織試料をスクアモイド（近位炎症性）、ブロンコイド（終末呼吸単位）、またはマグノイド（近位増殖性）サブタイプとして分類するステップとを含む方法。

(項目 6 5)

前記比較するステップが、前記肺組織試料から得た発現データと、前記少なくとも 1 つの訓練セット（単数または複数）からの発現データとの間の相関を決定することを含む統計的アルゴリズムを適用することと；前記統計的アルゴリズムの結果に基づいて前記肺組織試料をスクアモイド（近位炎症性）、ブロンコイド（終末呼吸単位）、またはマグノイ

ド（近位増殖性）サブタイプとして分類することを含む、項目 6 4 に記載の方法。

（項目 6 6）

前記肺組織試料が、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）肺組織試料、新鮮および凍結組織試料から選択される、項目 6 4 または 6 5 に記載の方法。

（項目 6 7）

前記比較するステップが、前記少なくとも 5 種のバイオマーカーの平均発現比を決定することと、前記平均発現比を、前記試料訓練セットにおける前記参照値から得られる前記少なくとも 5 種のバイオマーカーの平均発現比と比較することとをさらに含む、項目 6 4 に記載の方法。

（項目 6 8）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C の少なくとも 1 0 種のバイオマーカー、少なくとも 2 0 種のバイオマーカー、または少なくとも 3 0 種のバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 6 9）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 2 の少なくとも 1 0 種のバイオマーカー、少なくとも 2 0 種のバイオマーカー、または少なくとも 3 0 種のバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 0）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 3 の少なくとも 1 0 種のバイオマーカー、少なくとも 2 0 種のバイオマーカー、または少なくとも 3 0 種のバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 1）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 4 の 6 種のバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 2）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 5 の 6 種のバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 3）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 6 の少なくとも 1 0 種のバイオマーカー、少なくとも 2 0 種のバイオマーカー、または少なくとも 3 0 種のバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 4）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C の約 1 0 ～約 3 0 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 1 5 ～約 4 0 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

。

（項目 7 5）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 2 の約 1 0 ～約 3 0 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 1 5 ～約 4 0 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 6）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 3 の約 1 0 ～約 3 0 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 1 5 ～約 4 0 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 7）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカーが、表 6 の約 5 ～約 3 0 種のクラシファイヤーバイオマーカー、または約 1 0 ～約 3 0 種のクラシファイヤーバイオマーカーを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

（項目 7 8）

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 A、表 1 B、または表 1 C に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 7 9)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 2 に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 0)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 3 に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 1)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 6 に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 6 4 から 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 2)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 A に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 B に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記少なくとも 5 種のクラシファイヤーバイオマーカが、表 1 C に示したクラシファイヤーバイオマーカのそれぞれを含む、項目 7 8 に記載の方法。