

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-537966

(P2013-537966A)

(43) 公表日 平成25年10月7日(2013.10.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 33/574 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/574 A	2 G O 4 5
<b>GO 1 N 33/53 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 D	4 B O 6 3
<b>GO 1 N 33/48 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/53 Y	4 C O 8 4
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	GO 1 N 33/48 P	4 C O 8 5
<b>C 1 2 Q 1/02 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	4 H O 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 100 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2013-526209 (P2013-526209)  
 (86) (22) 出願日 平成23年8月31日 (2011. 8. 31)  
 (85) 翻訳文提出日 平成25年4月26日 (2013. 4. 26)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/050069  
 (87) 国際公開番号 W02012/031027  
 (87) 国際公開日 平成24年3月8日 (2012. 3. 8)  
 (31) 優先権主張番号 61/503, 489  
 (32) 優先日 平成23年6月30日 (2011. 6. 30)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/492, 338  
 (32) 優先日 平成23年6月1日 (2011. 6. 1)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/487, 527  
 (32) 優先日 平成23年5月18日 (2011. 5. 18)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509012625  
 ジェネンテック, インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス  
 サンフランシスコ ディーエヌエー  
 ウェイ 1  
 (74) 代理人 100109726  
 弁理士 園田 吉隆  
 (74) 代理人 100101199  
 弁理士 小林 義教  
 (72) 発明者 パテル, プレマール  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 940  
 80, サウス サン フランシスコ,  
 ディーエヌエー ウェイ 1, シー/オー  
 ジェネンテック, インコーポレイテ  
 ッド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオマーカー及び治療の方法

(57) 【要約】

本発明は、癌バイオマーカーに関する。特に、本発明は、患者の選択及び癌の患者の予後のためのバイオマーカーとして、並びに治療的処置の方法、製造品及びそれらを製造するための方法、診断キット、検出の方法及びこれに関連する広告の方法としての c - m e t に関する。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

c - m e t アンタゴニストによる治療に応答する可能性がある癌患者を同定するための方法であって、患者の癌が多量の c - m e t バイオマーカ-を有するかどうかを決定する工程を含み、c - m e t バイオマーカ-の発現が、患者が c - m e t アンタゴニストによる治療に応答する可能性があることを示す方法。

## 【請求項 2】

癌患者の予後を決定するための方法であって、患者の癌が、多量の c - m e t バイオマーカ-を有するかどうかを決定する工程を含み、患者が c - m e t アンタゴニストで治療されたとき、c - m e t バイオマーカ-の発現が、患者が全生存期間 ( O S ) 及び / 又は無増悪生存期間 ( P F S ) が増加している可能性が高いことを示している方法。

10

## 【請求項 3】

c - m e t アンタゴニストによる治療に応答する可能性が少ない癌患者を同定するための方法であって、患者の癌が少量の c - m e t バイオマーカ-を有するかどうかを決定する工程を含み、c - m e t バイオマーカ-の発現が、患者が c - m e t アンタゴニストによる治療に応答する可能性が少ないことを示す方法。

## 【請求項 4】

c - m e t バイオマーカ-タンパク質の発現が免疫組織化学 ( I H C ) を用いて、患者由来のサンプルにおいて決定される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

## 【請求項 5】

I H C のスコアが 2 又は 3 である、請求項 4 に記載の方法。

20

## 【請求項 6】

高い c - m e t バイオマーカ-の発現が、中程度の c - m e t 染色強度、中程度 / 高の混合性の c - m e t 染色強度又は高 c - m e t 染色強度を持つ 5 0 % 以上の腫瘍細胞である、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 7】

c - m e t 発現の染色強度が、コントロール細胞ペレットの c - m e t 染色強度と比較して決定される、請求項 1 0 に記載の方法。

## 【請求項 8】

細胞株 A 5 4 9 が中程度の c - m e t 染色強度を有する、請求項 7 に記載の方法。

30

## 【請求項 9】

細胞株 H 4 4 1 が強い c - m e t 染色強度を有する、請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 0】

c - m e t バイオマーカ-の発現が、核酸の発現であり、r t P C R、R N N - s e q、マイクロアレイ解析、S A G E、M a s s A R R A Y 技術、又は F I S H を用いて患者由来のサンプルにおいて決定される、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

## 【請求項 1 1】

患者が、高 c - m e t バイオマーカ-を有さない患者と比較して大きな P F S 及び / 又は O S を有する、請求項 1、2、及び請求項 4 から 1 0 の何れかに記載の方法。

## 【請求項 1 2】

c - m e t バイオマーカ-の発現がタンパク質の発現であり、免疫組織化学 ( I H C ) を用いて患者由来のサンプルにおいて決定される、請求項 3 に記載の方法。

40

## 【請求項 1 3】

I H C のスコアが 1 又は 0 である、請求項 1 2 に記載の方法。

## 【請求項 1 4】

I H C のスコアが 0 である、請求項 1 3 に記載の方法。

## 【請求項 1 5】

低い c - m e t バイオマーカ-の発現が陰性 c - m e t 染色であり、5 0 % 未満の腫瘍細胞が弱又は弱と中程度の混合性の c - m e t 染色強度を持つが、又は 5 0 % 以上の腫瘍細胞が弱又は弱と中程度の混合性の c - m e t 染色強度を持つが、5 0 % 未満の腫瘍細胞

50

が中程度又は中程度と強の混合性の c - m e t 染色強度を持つ、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 6】

c - m e t 発現の染色強度が、コントロール細胞ペレットの c - m e t 染色強度と比較して決定される、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

細胞株 H 1 1 5 5 が陰性 c - m e t 染色強度を有する、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

細胞株 H E K 2 9 3 が低 c - m e t 染色強度を有する、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 9】

患者のサンプルが患者の癌のものである、請求項 1 から 1 8 の何れかに記載の方法。

【請求項 2 0】

サンプルが c - m e t アンタゴニストによる治療の前に得られる、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

サンプルが癌医薬による治療の前に得られる、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

サンプルが癌が転移した後で得られる、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 3】

サンプルがホルマリン固定及びパラフィン包埋される、請求項 1 から 2 2 の何れかに記載の方法。

【請求項 2 4】

c - m e t I H C 1 が抗 c - m e t 抗体 S P 4 4 を使用して実施される、請求項 1 から 2 3 の何れかに記載の方法。

【請求項 2 5】

癌が、非小細胞肺癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、乳癌、甲状腺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、骨肉腫、前立腺癌又は神経膠芽腫である、請求項 1 から 2 4 の何れかに記載の方法。

【請求項 2 6】

癌が非小細胞肺癌 ( N S C L C ) である、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

N S C L C が第二ライン又は第三ラインの局所進行性又は転移性非小細胞肺癌である、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

N S C L C が腺癌である、請求項 2 6 又は 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

N S C L C が扁平上皮癌である、請求項 2 6 又は 2 7 に記載の方法。

【請求項 3 0】

c - m e t アンタゴニストがアンタゴニスト抗 c - m e t 抗体である、請求項 1 から 2 9 の何れかに記載の抗体。

【請求項 3 1】

抗 c - m e t 抗体が、( a ) 配列 G Y T F T S Y W L H ( 配列番号 1 ) を含む H V R 1 ; ( b ) 配列 G M I D P S N S D T R F N P N F K D ( 配列番号 2 ) を含む H V R 2 ; ( c ) 配列 A T Y R S Y V T P L D Y ( 配列番号 3 ) を含む H V R 3 - H C ; ( d ) 配列 K S S Q S L L Y T S S Q K N Y L A ( 配列番号 4 ) を含む H V R 1 - L C ; ( e ) 配列 W A S T R E S ( 配列番号 5 ) を含む H V R 2 - L C ; 及び ( f ) 配列 Q Q Y Y A Y P W T ( 配列番号 6 ) を含む H V R 3 - L C を含む、請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

抗 c - m e t 抗体が一価であり、( a ) 重鎖を含む第一のポリペプチドであって、配列 : E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T S Y W L H W V R Q

10

20

30

40

50

A P G K G L E W V G M I D P S N S D T R F N P N F K D R F T I S A D T S K N T A  
 Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A T Y R S Y V T P L D Y W G Q G T L V T V S S  
 A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S  
 W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T  
 Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G  
 P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W  
 Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K  
 E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E  
 M T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V

L D S D G S F F L V S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T  
 Q K S L S L S P G K ( 配列番号 1 1 ) を含む該ポリペプチド ; ( b ) 軽鎖を含む第二の  
 ポリペプチドであって、配列 D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K S S Q  
 S L L Y T S S Q K N Y L A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y W A S T R E S G V P S R  
 F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y Y A Y P W T F G Q G  
 T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P  
 R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L  
 S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C ( 配列番号 1 2  
 ) を含むポリペプチド ; 及び F c 配列を含む第三のポリペプチドであって、配列 D K T H  
 T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V  
 D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S  
 V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R  
 E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N  
 G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S  
 C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K ( 配列番号 1 3 ) を含むポリペプチド  
 を含み、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが複合体として存在し、単一の抗原結合  
 の腕を形成し、第一及び第二の F c ポリペプチドが複合体中に存在し、前記抗原結合の腕  
 を含む F a b 分子と比較して前記抗体断片の安定性を増加させる F c 領域を形成する、請  
 求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

c - m e t アントゴニストが、クリゾチニブ、チバンチニブ、カボザンチニブ、M G C  
 D - 2 6 5、フィクラツズマブ、ヒト化 T A K - 7 0 1、リロツムマブ、フォレチニブ、  
 h 2 2 4 G 1 1、D N - 3 0、M K - 2 4 6 1、E 7 0 5 0、M K - 8 0 3 3、P F - 4  
 2 1 7 9 0 3、A M G 2 0 8、J N J - 3 8 8 7 7 6 0 5、E M D 1 2 0 4 8 3 1、I N  
 C - 2 8 0、L Y - 2 8 0 1 6 5 3、S G X - 1 2 6、R P 1 0 4 0、L Y 2 8 0 1 6 5  
 3、B A Y - 8 5 3 4 7 4、及び / 又は L A 4 8 0 である、請求項 1 から 3 2 の何れかに  
 記載の方法。

【請求項 3 4】

治療が E G F R アントゴニストによる治療との併用である、請求項 3 3 の何れかに記載  
 の方法。

【請求項 3 5】

E G F R アントゴニストがエルロチニブである、請求項 3 4 に記載の方法。

【請求項 3 6】

c - m e t アントゴニストがオナルツズマブであり、治療がエルロチニブによる治療を  
 更に含む、請求項 1 から 3 2 の何れかに記載の方法。

【請求項 3 7】

c - m e t アントゴニストがクリゾチニブ、チバンチニブ、カボザンチニブ、M G C D  
 - 2 6 5、フィクラツズマブ、ヒト化 T A K - 7 0 1、又はフォレチニブであり、治療が  
 エルロチニブによる治療を更に含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

c - m e t バイオマーカーの発現を決定するための方法であって、患者の癌が c - m e

10

20

30

40

50

tバイオマーカーの高レベルを有するかどうかを決定する工程を含み、c - m e tバイオマーカーの発現がタンパク質の発現であって、患者からのサンプルにおいてIHCを用いて決定され、高いc - m e tバイオマーカーの発現が、中程度のc - m e t染色強度、中程度/強の混合性のc - m e t染色強度又は強いc - m e t染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞であり、c - m e tの発現がc - m e t抗体を用いて検出され、c - m e tバイオマーカーの発現が、患者がc - m e tアンタゴニストにより治療されるときに、患者が増加したOS及び/又はPFSを有する可能性があることを示す方法。

【請求項39】

患者の癌が多量のc - m e tバイオマーカーを有することが見出された場合、c - m e tアンタゴニストの治療的有効量を患者に投与することを含む、癌の患者を治療するための方法。

10

【請求項40】

c - m e tアンタゴニストがc - m e t抗体である、請求項39に記載の方法。

【請求項41】

抗c - m e t抗体がオナルツズマブである、請求項39に記載の方法。

【請求項42】

c - m e tバイオマーカータンパク質の発現が免疫組織化学(IHC)を用いて、患者由来のサンプルにおいて決定される、請求項39から41の何れかに記載の方法。

【請求項43】

IHCスコアが少なくとも2である、請求項42に記載の方法。

20

【請求項44】

高いc - m e tバイオマーカーの発現が、中程度のc - m e t染色強度、中程度/高の混合性のc - m e t染色強度又は高c - m e t染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞である、請求項42に記載の方法。

【請求項45】

c - m e t発現の染色強度が、コントロール細胞ペレットのc - m e t染色強度と比較して決定される、請求項44に記載の方法。

【請求項46】

細胞株A549が中程度のc - m e t染色強度を有する、請求項45に記載の方法。

【請求項47】

細胞株H441が強いc - m e t染色強度を有する、請求項45に記載の方法。

30

【請求項48】

c - m e tバイオマーカーの発現が、核酸の発現であり、rtPCR、RNN-seq、マイクロアレイ解析、SAGE、MassARRAY技術、又はFISHを用いて患者由来のサンプルにおいて決定される、請求項42に記載の方法。

【請求項49】

患者が、高いc - m e tバイオマーカーを有さない患者と比較して大きなPFS及び/又はOSを有する、請求項39から48の何れかに記載の方法。

【請求項50】

患者の癌が少量のc - m e tバイオマーカーを有することが見出された場合、c - m e tアンタゴニスト以外の医薬の治療的有効量を患者に投与することを含む、癌の患者を治療するための方法。

40

【請求項51】

c - m e tバイオマーカータンパク質の発現が免疫組織化学(IHC)を用いて、患者由来のサンプルにおいて決定される、請求項50に記載の方法。

【請求項52】

IHCスコアが1以下である、請求項51に記載の方法。

【請求項53】

低いc - m e tバイオマーカーの発現が陰性c - m e t染色の存在により決定され、50%未満の腫瘍細胞が弱又は弱と中程度の混合性のc - m e t染色強度を持つか、又は5

50

0%以上の腫瘍細胞が弱又は弱と中程度の混合性のc - m e t染色強度を持つが、50%未満の腫瘍細胞が中程度又は中程度と強の混合性のc - m e t染色強度を持つ、請求項51に記載の方法。

【請求項54】

c - m e t発現の染色強度が、コントロール細胞ペレットのc - m e t染色強度と比較して決定される、請求項53に記載の方法。

【請求項55】

細胞株H1155が陰性c - m e t染色強度を有する、請求項54に記載の方法。

【請求項56】

細胞株293が低いc - m e t染色強度を有する、請求項54に記載の方法。

10

【請求項57】

癌が、非小細胞肺癌、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、乳癌、甲状腺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、骨肉腫、前立腺癌か又は神経膠芽腫である、請求項50から56の何れかに記載の方法。

【請求項58】

癌が非小細胞肺癌(NSCLC)である、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

NSCLCが第二ライン又は第三ラインの局所進行性又は転移性非小細胞肺癌である、請求項58に記載の方法。

【請求項60】

NSCLCが腺癌である、請求項58又は59に記載の方法。

20

【請求項61】

NSCLCが扁平上皮癌である、請求項58又は59に記載の方法。

【請求項62】

患者がNSCLCを有し、抗c - m e t抗体とEGFRアンタゴニストの併用により治療される、請求項2に記載の方法。

【請求項63】

EGFRアンタゴニストがエルロチニブである、請求項62に記載の方法。

【請求項64】

患者がNSCLCを有し、(a)3週間ごとに約15mg/kgの投与量でオナルツズマブ；及び(b)3週間のサイクルの毎日150mgの投与量でエルロチニブ(N - (3 - エチニルフェニル) - 6, 7 - ビス(2 - メトキシエトキシ) - 4 - キナゾリンアミン)により治療される、請求項6に記載の方法。

30

【請求項65】

患者の癌においてc - m e tバイオマーカの発現を決定し、バイオマーカの発現のレベルに基づいて癌医薬を選択することを含む、癌患者の治療を選択するための方法。

【請求項66】

癌サンプルがバイオマーカを高レベルで発現する場合、患者がc - m e tアンタゴニストによる治療に対して選択される、請求項65に記載の方法。

【請求項67】

癌サンプルがバイオマーカを低い又は実質的に検出不可能なレベルで発現する場合、患者がc - m e tアンタゴニスト以外の癌医薬による治療に対して選択される、請求項65に記載の方法。

40

【請求項68】

ターゲット層に対して、c - m e tバイオマーカの発現に基づいて癌患者を治療するためのc - m e t抗体の使用を宣伝することを含む、c - m e t抗体を広告するための方法。

【請求項69】

宣伝が、抗c - m e t抗体の市販製剤に伴うパッケージ挿入物による、請求項68に記載の方法。

50

## 【請求項 70】

宣伝が、第二医薬の市販製剤に伴うパッケージ挿入物による、請求項 68 に記載の方法。

## 【請求項 71】

第二医薬が EGF R アントゴニストである、請求項 70 に記載の方法。

## 【請求項 72】

c - m e t 抗体が M e t M A b であり、EGF R アントゴニストがエルロチニブである請求項 71 に記載の方法。

## 【請求項 73】

癌サンプルがバイオマーカーを高レベルで発現する場合、患者が c - m e t アントゴニストによる治療のために選択される、請求項 68 に記載の方法。

10

## 【請求項 74】

宣伝が、パッケージ挿入物が EGF R アントゴニストとの併用による抗 c - m e t 抗体による治療を受けるための使用説明を提供する、パッケージ挿入物による請求項 68 に記載の方法。

## 【請求項 75】

宣伝の後に、第二医薬を含むか又は含まない抗 c - m e t 抗体による患者の治療が続く、請求項 74 に記載の方法。

## 【請求項 76】

NSCLC 患者からのサンプルにおける c - m e t バイオマーカーの発現を決定するための一以上の試薬を含む診断キットであって、患者が c - m e t アントゴニストにより治療されたとき、多量の c - m e t バイオマーカーの検出が増加した PFS 又は OS を意味し、患者が c - m e t アントゴニストによる治療を受けたとき、少量又は実質的に検出不可可能な量の c - m e t バイオマーカーの検出が減少した PFS を意味するキット。

20

## 【請求項 77】

多量の c - m e t バイオマーカーが決定される場合に、NSCLC 患者を治療するために c - m e t 医薬を選択するためのキットを使用するための使用説明を更に含む、請求項 76 に記載の診断キット。

## 【請求項 78】

癌医薬を含む薬学的組成物と、薬学的組成物が c - m e t バイオマーカーの発現に基づいて癌患者を治療するためのものであることを示すパッケージ挿入物をパッケージ中に組み合わせることを含む、請求項 76 に記載の診断キットを作製する方法。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【発明の開示】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本出願は、2010年8月31日に出願された米国特許出願第 61 / 378 , 911 号、2010年10月5日に出願された米国特許出願第 61 / 389 , 922 号、2010年10月7日に出願された米国特許出願第 61 / 390 , 995 号、2010年12月7日に出願された米国特許出願第 61 / 420 , 703 号、2011年5月18日に出願された米国特許出願第 61 / 487 , 527 号、2011年6月1日に出願された米国特許出願第 61 / 492 , 338 号、および2011年6月30日に出願された米国特許出願第 61 / 503 , 489 号に対する優先権を主張し、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

40

## 【0002】

## 配列表

本出願は、EFS - WEB 経由で ASCII フォーマットで提出された配列表を含み、その全体が本明細書中で参照することにより援用される。前記 ASCII コピーは2011年8月20日に作成され、P4492R1U . t x t と命名され、大きさは16513 バイトである。

50

## 【技術分野】

## 【0003】

## 発明の分野

本発明は、癌バイオマーカーに関する。特に、本発明は、患者の選択及び癌の予後のためのバイオマーカーとして、並びに治療的処置の方法、製造品及びそれらを製造するための方法、診断キット、検出の方法及びこれに関連する広告の方法としての c - m e t に関する。

## 【背景技術】

## 【0004】

## 背景

癌は、ヒトの健康に対して最も致命的な脅威の一つである。米国において、癌は毎年約130万人の新規患者に影響を及ぼし、心臓病に続く死亡原因の第2位であり、死者4人に約1人を占める。例えば、乳癌は、2番目に多い癌の病態であり、米国の女性に2番目に多い癌の死亡原因である。また、癌は、5年以内に死亡原因の第1位として、心血管疾患を上回ることが予測されている。固形腫瘍はこれらの死亡のほとんどに参与している。特定の癌の治療に大きな進歩があったものの、全ての癌の全体的な5年生存率は過去20年間でほんの約10%向上したにすぎない。癌、又は悪性腫瘍は、転移し、制御不能な状態で急速に増殖し、時宜を得た検出と治療を非常に困難にしている。

## 【0005】

癌の治療における著しい進歩にもかかわらず、改善された治療法が今もなお求められている。

## 【0006】

本明細書に引用される全ての参考文献は、特許出願および刊行物を含み、その全体が参考により組み込まれる。

## 【発明の概要】

## 【0007】

効果的に癌患者を治療するための c - m e t アンタゴニストの使用が提供される。本出願はまた、任意で c - m e t アンタゴニストによる疾患の治療で使用するための疾患を診断するためのより良い方法を提供する。特に、本発明は、第二及び第三ラインの非小細胞肺癌 ( N S C L C ) の患者に、エルロチニブ ( T A R C E V A ( 登録商標 ) ) との併用で、抗 c - m e t 抗体 M e t M A b ( オナルツズマブ ( o n a r t u z u m a b ) ) の無作為化第 I I 相臨床試験からのデータを提供する。 c - m e t バイオマーカーは、無増悪生存期間および全生存期間で評価され、 M e t M A b とエルロチニブによる治療が、臨床的に意味のある利益を与えた患者集団、及び M e t M A b とエルロチニブによる治療が、(エルロチニブ単独による治療と比較して) 癌の進行と死亡のリスクを著しく増加させた患者集団を同定するために使用された。この悪い転帰は、 c - m e t アンタゴニスト (例えば、 E G F R アンタゴニストと組み合わせる) を用いた治療の恩恵を受ける患者を選択する必要性を強調する。

## 【0008】

臨床試験において、 M e t M A b とエルロチニブによる治療は、 c - m e t バイオマーカーを高レベルで発現した N S C L C 患者に臨床的に有意義な恩恵を与えた。結果は、無増悪生存期間 ( P F S ) および全生存期間 ( O S ) によって評価され、その効果は、特にエルロチニブの治療単独での P F S と O S のデータと比較したときに陽性であった。その差は統計学的に有意であり、エルロチニブに対する M e t M A b の追加は、 c - m e t バイオマーカーを高レベルで発現した N S C L C 患者における無増悪生存期間および全生存期間をほぼ2倍にした。臨床試験データはまた、エルロチニブとの併用による M e t M A b による治療は、エルロチニブ単独で治療される患者での増悪と死亡のリスク比べて、 c - m e t バイオマーカーを低レベルで発現する N S C L C 患者における増悪 と死亡のリスクを増加させることを示した。結果は、その効果が、無増悪生存期間 ( P F S ) および全生存期間 ( O S ) によって評価される場合、特にエルロチニブの治療単独での P F S と

10

20

30

40

50

OSのデータと比較したときに、MetMabとエルロチニブで治療された患者において不良であることを示した。その差は統計的に有意であった。

【0009】

臨床試験データはまた、エルロチニブで治療したNSCLC患者において、高い(「上昇した」とも称する)c-metの発現が予後の不良と強く関連付けられていることを示した。高いc-metバイオマーカーを発現するNSCLC患者は、低いc-Metバイオマーカーを発現するNSCLC患者に比較して、進行のリスクを増加させ、死亡リスクを約2倍とている。従って、高度なc-metの発現は、エルロチニブで治療された第二または第三ラインのNSCLC患者において、増悪と生存についての非常に重要な予後因子であった。

10

【0010】

一態様において、本発明は、患者の癌が大量のc-metバイオマーカーを有するかどうかを決定する工程を含む、c-metアンタゴニストによる治療に应答する可能性がある癌患者を同定するための方法を提供し、ここで、c-metバイオマーカーの発現は、患者がc-metアンタゴニストによる治療に应答する可能性があることを示す。本明細書に使用される場合、「上昇した」又は「高い」c-metとは治療に対する患者の応答性に関連したc-metの量を言及する。

【0011】

別の態様において、本発明は、患者の癌が、大量のc-metバイオマーカーを有するかどうかを決定する工程を含む、癌患者の予後を決定するための方法を提供し、ここで患者がc-metアンタゴニストで治療されたときの、c-metバイオマーカーの発現は、患者が全生存期間(OS)及び/又は無増悪生存期間(PFS)が増加している可能性が高いことを示している。

20

【0012】

別の態様において、本発明は、患者の癌が多量のc-metバイオマーカーを有するかどうかを決定する工程を含むc-metバイオマーカーの発現を決定するための方法であって、c-metバイオマーカーの発現がタンパク質の発現であって、患者からのサンプルにおいてIHCを用いて決定され、高いc-metバイオマーカーの発現が、中程度のc-met染色強度、中程度/強の混合性のc-met染色強度又は強いc-met染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞であり、c-metの発現がc-met抗体を用いて決定され、c-metバイオマーカーの発現が、患者がc-metアンタゴニストにより治療されるときに、増加したOS及び/又はPFSを有する可能性があることを示す方法を提供する。

30

【0013】

一態様において、本発明は、患者の癌サンプル中のc-metバイオマーカーの量を決定することを含み、患者の予後を決定する方法を提供する。幾つかの実施態様において、患者が抗c-met抗体とエルロチニブの併用により治療されるとき、高いc-metバイオマーカーの発現は増加したPFS及び/又はOSを意味する。幾つかの実施態様において、患者が抗c-met抗体とエルロチニブの併用により治療されるとき、低いc-metバイオマーカーの発現は減少したPFS及び/又はOSを意味する。

40

【0014】

一態様において、本発明は、患者の癌サンプル中のc-metバイオマーカーの発現を決定することを含み、治療効果を最適化する方法を提供する。

【0015】

高いc-metバイオマーカーの発現を含む本発明の方法の幾つかの実施態様において、c-metバイオマーカータンパク質の発現が免疫組織化学(IHC)を用いて患者からのサンプルにおいて決定される。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは2又は3である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは2である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは3である。幾つかの実施態様において、高いc-metバイオマーカーの発現が、中程度/高c-met染色強度の混合性又は高c-met染色強度を

50

持つ50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、c-met発現の染色強度が、コントロールの細胞ペレットのc-met染色強度と比較して決定される。幾つかの実施態様において、細胞株A549は中程度のc-met染色強度を有する。幾つかの実施態様において、細胞株H441は強いc-met染色強度を有する。幾つかの実施態様において、c-metバイオマーカの発現は、核酸の発現であり、遺伝子発現プロファイリング、PCR (rtPCRなど)、RNN-seq、マイクロアレイ解析、SAGE、MassARRAY技術、又はFISHを用いて患者由来のサンプルにおいて決定される。幾つかの実施態様において、癌が多量のc-metバイオマーカを有する患者は、癌が高いc-metバイオマーカを有さない患者と比較して大きいPFS及び/又はOSの可能性が増加している。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、高いc-metバイオマーカの発現はmet診断陽性 (met診断陽性臨床状態) である。

10

**【0016】**

別の態様において、本発明は、患者の癌が少量のc-metバイオマーカを有するかどうかを決定する工程を含む、c-metアンタゴニストによる治療に应答する可能性が低い癌患者を同定するための方法を提供し、ここで、c-metバイオマーカの発現は、患者がc-metアンタゴニストによる治療に应答する可能性が低いことを示す。本明細書で使用される場合、「低い」量のc-metは、治療に対する应答の欠如と関連したc-metの量を指し、又は幾つかの実施態様において、治療に対してのより悪い应答 (例えば無治療と比較して、減少した臨床的利益) に関連したc-metの量を指す。幾つかの実施態様において、c-metバイオマーカの発現は、免疫組織化学 (IHC) を用いて患者由来の試料において決定されるタンパク質の発現である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは1又は0である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは1である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは0である。幾つかの実施態様において、低いc-metバイオマーカの発現が陰性c-met染色であり、50%未満の腫瘍細胞が弱いc-met染色強度又は弱と中程度の混合性のc-met染色強度、又は50%以上の腫瘍細胞が弱いc-met染色強度又は弱と中程度の混合性のc-met染色強度であるが、50%未満の腫瘍細胞が中程度のc-met染色強度又は中程度と強の混合性のc-met染色強度である。幾つかの実施態様において、c-met発現の染色強度が、コントロールの細胞ペレットのc-met染色強度と比較して決定される。幾つかの実施態様において、細胞株H1155は陰性c-met染色強度を有する。幾つかの実施態様において、細胞株HEK293は低c-met染色強度を有する。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、低いc-metバイオマーカの発現はmet診断陰性 (met診断陰性臨床状態) である。

20

30

**【0017】**

一実施態様によれば、本発明は、患者が上昇した (多) 量のc-met (すなわち、高c-metバイオマーカの発現) を有することを見出されている場合、c-metアンタゴニストの治療的有効量を患者に投与することを含む、癌の患者を治療するための方法に関する。

40

**【0018】**

一態様において、本発明は、患者が多量のc-metバイオマーカを有することを見出されている場合、c-metアンタゴニストの治療的有効量を患者に投与することを含む、癌の患者を治療するための方法を提供する。幾つかの実施態様において、患者の癌は多量のc-metバイオマーカを有することが見いだされている。幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストは抗体である。幾つかの実施態様において、高c-met抗体はMetMab (オナルツズマブ (onartuzumab)) である。幾つかの実施態様において、c-metバイオマーカタンパク質の発現は、免疫組織化学 (IHC) を用いて患者由来のサンプルにおいて決定される。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは2又は3である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは2である

50

。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは3である。幾つかの実施態様において、高いc - m e tバイオマーカの発現が、中程度 / 高の混合性のc - m e t染色強度又は高c - m e t染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、c - m e t発現の染色強度が、コントロールの細胞ペレットのc - m e t染色強度と比較して決定される。幾つかの実施態様において、細胞株A549は中程度のc - m e t染色強度を有する。幾つかの実施態様において、細胞株H441は強いc - m e t染色強度を有する。幾つかの実施態様において、c - m e tバイオマーカの発現は、核酸の発現であり、遺伝子発現プロファイル、PCR ( r t P C r t P C など )、R N N - s e q、マイクロアレイ解析、S A G E、M a s s A R R A Y技術、又はF I S Hを用いて患者由来のサンプルにおいて決定される。幾つかの実施態様において、患者は、高c - m e tバイオマーカを有さない患者と比較して大きいPFS及び / 又はOSを有する ( 有する可能性が増加している )。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、高いc - m e tバイオマーカの発現はm e t診断陽性臨床状態である。

10

**【0019】**

加えて、本発明は、患者が少量 ( すなわち低いか又は実質的に検出不可能な量 ) のc - m e tバイオマーカを有することが見いだされている場合に、c - m e tアンタゴニスト以外の癌医薬の治療的有効量を患者に投与することを含む、癌患者を治療するための方法に関する。

**【0020】**

別の態様において、本発明は、低c - m e tバイオマーカを発現する ( すなわち少量のc - m e tバイオマーカを有する ) ことが見いだされている患者に、c - m e tアンタゴニスト以外の癌医薬の治療的有効量を投与することを含む、癌患者を治療するための方法を提供する。幾つかの実施態様において、患者の癌は低c - m e tバイオマーカを有することが見いだされている。幾つかの実施態様において、c - m e tバイオマーカタンパク質の発現は、免疫組織化学 ( I H C ) を用いて患者由来のサンプルにおいて決定される。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは1又は0である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは1である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは0である。幾つかの実施態様において、低いc - m e tバイオマーカの発現は陰性c - m e t染色の存在により検出され、50%未満の腫瘍細胞が弱いc - m e t染色強度又は弱と中程度の混合性のc - m e t染色強度、又は50%以上の腫瘍細胞が弱いc - m e t染色強度又は弱と中程度の混合性のc - m e t染色強度であるが、50%未満の腫瘍細胞が中程度のc - m e t染色強度又は中程度と強の混合性のc - m e t染色強度である。幾つかの実施態様において、c - m e t発現の染色強度が、コントロールの細胞ペレットのc - m e t染色強度と比較して決定される。幾つかの実施態様において、細胞株H1155は陰性c - m e t染色を有する。幾つかの実施態様において、細胞株HEK293は低c - m e t染色強度を有する。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、低いc - m e tバイオマーカの発現はm e t診断陰性臨床状態である。

20

30

**【0021】**

本発明はまた、患者からのサンプルにおいてc - m e tバイオマーカの発現を決定し、バイオマーカの発現のレベルに基づいて癌の医薬を選択することを含む、癌患者の治療を選択するための方法に関する。一実施態様において、癌サンプルが高レベルでc - m e tバイオマーカを発現している場合、患者はc - m e tアンタゴニスト ( 例えば抗c - m e t抗体 ) による治療のために選択される。幾つかの実施態様において、患者は、c - m e tアンタゴニストの治療的有効量を用いて癌を治療される。従って、幾つかの実施態様において、患者の癌サンプルが高レベルでc - m e tバイオマーカを発現する場合、患者はc - m e tアンタゴニスト ( 例えば抗c - m e t抗体 ) による治療のために選択され、( 選択の後に ) 患者はc - m e tアンタゴニストの治療的有効量を用いて癌を治療される。別の実施態様において、患者は、癌サンプルがc - m e tバイオマーカを低レ

40

50

ベルで発現する（例えば、癌サンプルがバイオマーカーを低レベル又は実質的に検出不可能なレベルで発現する）場合、c - m e tアンタゴニスト以外の癌医薬による治療のために選択される。幾つかの実施態様において、患者は、c - m e tアンタゴニスト以外の癌医薬の治療的有効量を用いて癌を治療される。従って、幾つかの実施態様において、癌サンプルが低レベル（すなわち低いか又は又は実質的に検出不可能なレベル）でc - m e tバイオマーカーを発現する場合、患者はc - m e tアンタゴニスト以外の癌医薬（例えばエルロチニブなどのE G F Rアンタゴニスト）による治療のために選択され、（選択の後に）患者はc - m e tアンタゴニストの治療的有効量を用いて癌を治療される。

#### 【0022】

更に、本発明は、ターゲット層に対して、c - m e tバイオマーカーの発現に基づいて癌患者を治療するための癌医薬の使用を宣伝することを含む、癌医薬（例えばc - m e t抗体）を広告するための方法に関する。宣伝は、利用できる任意の手段によって行うことができる。幾つかの実施態様において、宣伝はc - m e tアンタゴニスト（抗c - m e t抗体など）の市販製剤に付随するパッケージ挿入物による。宣伝はまた、（治療がc - m e tアンタゴニストと第二医薬、例えばエルロチニブなどのE G F Rアンタゴニストとの併用療法であるとき）第二医薬の市販製剤に付随するパッケージ挿入物による。宣伝は、医師又はヘルスケア提供者への書面若しくは口頭伝達によるものであってもよい。幾つかの実施態様において、宣伝は、パッケージ挿入物がc - m e tアンタゴニストによる治療を、幾つかの実施態様においてはE G F Rアンタゴニスト（エルロチニブなど）など第二医薬との併用で、又は他の実施態様においては抗V E G F抗体との併用で、受けるための使用説明を与えるパッケージ挿入物による。幾つかの実施態様において、宣伝の後に第二医薬（例えばエルロチニブ）を含むか又は含まないc - m e tアンタゴニストによる患者の治療が続く。幾つかの実施態様において、宣伝の後にc - m e tアンタゴニストを含むか又は含まない第二医薬による患者の治療が続く。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが高c - m e tバイオマーカーを発現した場合に、c - m e tアンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきであることを示している。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが低c - m e tバイオマーカーを発現した場合に、c - m e tアンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきではないことを示している。幾つかの実施態様において、高c - m e tバイオマーカーは、患者がc - m e tアンタゴニストで治療されるとき（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されるとき）、P F S及び/又はO Sが増加した可能性を意味する。幾つかの実施態様において、低c - m e tバイオマーカーは、患者がc - m e tアンタゴニストで治療されるとき（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されるとき）、P F S及びO Sが減少した可能性を意味する。幾つかの実施態様において、c - m e tアンタゴニストで治療されない（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されない）患者に比較して、P F S及び/又はO Sが減少する。幾つかの実施態様において、宣伝は、パッケージ挿入物がE G F Rとの併用による抗c - m e t抗体による治療を受けるための使用説明を提供するパッケージ挿入物による。幾つかの実施態様において、宣伝の後に第二医薬を含むか又は含まない抗c - m e t抗体による患者の治療が続く。

#### 【0023】

幾つかの態様において、本発明は、例えば、患者の生存を増加させ、患者の癌の再発のリスクを減少させ、及び/又は患者の生存の可能性を増加させるために、高レベルのc - m e tバイオマーカーを発現する癌（N S C L Cなど）患者に、c - m e tアンタゴニスト（例えば、抗c - m e t抗体）による治療、幾つかの実施態様においては、第二医薬（例えばエルロチニブなどのE G F Rアンタゴニスト）による治療を受けるための指示を提供することにより指示する方法を特徴とする。幾つかの実施態様において、治療はN S C L C患者に、エルロチニブなどE G F Rアンタゴニストと併用して投与される抗c - m e t抗体（例えばM e t M A b）を投与することを含む。幾つかの実施態様において、本

10

20

30

40

50

方法は少なくとも化学療法剤による治療を受けるための使用説明を提供することを含む。ある実施態様において、患者は指示する方法により指導される。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが高 c - m e t バイオマーカを発現した場合に、c - m e t アンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきであることを示している。幾つかの実施態様において、使用説明は、c - m e t アンタゴニストは、患者の癌サンプルが低 c - m e t バイオマーカを発現する場合、患者の治療に使用されるべきではないことを示しており、ここで低 c - m e t バイオマーカは、患者が c - m e t アンタゴニストで治療される（又は幾つかの実施態様において、E G F R アンタゴニストとの併用で c - m e t アンタゴニストにより治療される）とき、P F S 及び O S の減少を意味する。幾つかの実施態様において、c - m e t アンタゴニストで治療されない（又は幾つかの実施態様において、E G F R アンタゴニストとの併用で c - m e t アンタゴニストにより治療されない）患者に比較して、P F S 及び / 又は O S が減少する。

10

20

30

40

50

**【0024】**

本発明はまた、例えば、生存を増加させ、患者の癌の再発の可能性を減少させ、及び / 又は患者の生存の可能性を増加させるために、患者の癌が高い（上昇した）c - m e t バイオマーカの発現を発現しているヒト患者における癌（例えば N S C L C ）の治療のための c - m e t アンタゴニスト（例えば抗 c - m e t 抗体）を販売することを含む、ビジネス方法を提供する。幾つかの実施態様において、治療は癌患者に、抗 c - m e t 抗体（例えば M e t M A b ）、幾つかの実施態様において、第二医薬（エルロチニブなどの E G F R アンタゴニスト）を投与することを含む。幾つかの実施態様において、販売後に c - m e t アンタゴニスト（抗 c - m e t 抗体など）による患者の治療、幾つかの実施態様において、抗 c - m e t 抗体及び / 又は E G F R アンタゴニストによる治療が続く。幾つかの態様において、本発明は c - m e t アンタゴニスト以外の癌医薬による治療を受けるための使用説明を提供することにより、低い（低レベル又は実質的に検出不可能なレベル）の c - m e t バイオマーカを発現する癌（N S C L C など）患者に指示する方法を特徴とする。ある実施態様において、患者は指示する方法により指導される。

**【0025】**

一態様において、本発明は、患者が多量の c - m e t バイオマーカを発現する、癌患者の治療のために使用のための c - m e t アンタゴニストを提供する。幾つかの実施態様において、患者の癌は多量の c - m e t バイオマーカを発現する。

**【0026】**

一態様において、本発明は、患者が多量の c - m e t バイオマーカを発現し、c - m e t アンタゴニストによる治療に適した癌患者を同定するための c - m e t I H C アッセイのインビトロでの使用を提供する。幾つかの実施態様において、患者の癌は多量の c - m e t バイオマーカを発現する。

**【0027】**

一態様において、本発明は、癌（例えば N S C L C ）患者由来のサンプル中で c - m e t バイオマーカの発現を決定するための一以上の試薬を包含する診断キットを提供する。診断キットは本明細書に記載の方法の何れかによる使用に適している。幾つかの実施態様において、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、高 c - m e t バイオマーカの検出は、増加した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、低 c - m e t バイオマーカの検出は、減少した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、キットは N S C L C 患者を治療するための c - m e t 医薬を選択するためのキットを使用するための説明書を更に含む。

**【0028】**

一態様において、本発明は、患者が多量の c - m e t バイオマーカを発現し、c - m e t アンタゴニストによる治療に適した癌患者を同定するための診断キットの使用を提供する。幾つかの実施態様において、患者の癌は多量の c - m e t バイオマーカを発現する。

## 【0029】

本発明はまた、薬学的に許容される担体及びc - m e tアンタゴニストがc - m e tバイオマーカの発現にもとづく癌患者の治療用であることを示したパッケージ挿入物を一緒にパッケージされて含有する製造品に関する。治療方法は、本明細書に開示される治療方法のいずれかを含む。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが高c - m e tバイオマーカを発現した場合に、c - m e tアンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきであることを示している。幾つかの実施態様において、c - m e tアンタゴニストで治療されない（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されない）患者に比較して、P F S及び/又はO Sが増加する可能性がある。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが低c - m e tバイオマーカを発現した場合に、c - m e tアンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきではないことを示している。幾つかの実施態様において、低c - m e tバイオマーカは、患者がc - m e tアンタゴニストで治療されるとき（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されるとき）、P F S及びO Sの減少を意味する。幾つかの実施態様において、c - m e tアンタゴニストで治療されない（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されない）患者に比較して、P F S及び/又はO Sが減少する可能性がある。

関連した態様において、本発明は、癌の医薬を含む薬学的組成物と、薬学的組成物がc - m e tバイオマーカの発現に基づき癌患者を治療するためのものであることを示すパッケージ挿入物をパッケージ中に組み合わせることを含む製造品を製造するための方法に関する。治療方法は、本明細書に開示される治療方法のいずれかを含む。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが高c - m e tバイオマーカを発現した場合に、c - m e tアンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきであることを示している。幾つかの実施態様において、パッケージ挿入物は、患者の癌サンプルが低c - m e tバイオマーカを発現した場合に、c - m e tアンタゴニストは患者を治療するために使用されるべきではないことを示している。幾つかの実施態様において、低c - m e tバイオマーカは、患者がc - m e tアンタゴニストで治療されるとき（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されるとき）、P F S及びO Sが増加した可能性を意味する。幾つかの実施態様において、c - m e tアンタゴニストで治療されない（又は幾つかの実施態様において、E G F Rアンタゴニストとの併用でc - m e tアンタゴニストにより治療されない）患者に比較して、P F S及び/又はO Sが減少する。

## 【0030】

本明細書に記載の発明の何れかのある実施態様において、癌は、非小細胞肺癌（例えば、扁平上皮癌（S C C）を含む）、腎細胞癌、膵臓癌、胃癌、膀胱癌、食道癌、中皮腫、黒色腫、乳癌（トリプルネガティブ乳癌を含む）、甲状腺癌、結腸直腸癌、頭頸部癌、骨肉腫、前立腺癌か又は神経膠芽腫であり得る。幾つかの実施態様において、癌はN S C L Cである。幾つかの実施態様において、N S C L Cが第二ライン又は第三ラインの局所進行性又は転移性非小細胞肺癌である。幾つかの実施態様において、N S C L Cは腺癌である。幾つかの実施態様において、N S C L Cは扁平上皮癌である。他の典型的な癌は本明細書に記載される。幾つかの実施態様において、N S C L Cは、少なくとも1回の前の化学療法が奏効しなかった後の局所進行性又は転移性N S C L Cである。

## 【0031】

本明細書に与えられる発明の何れかのある実施態様において、患者はI I I B / I V 期に2つを上回る前治療を受けなかった。幾つかの実施態様において、患者は、E G F R阻害又は用量の変更を生じる既知のE G F Rに関連した毒性により作用することができる治験薬又は市販薬に30日を超えた曝露を受けなかった。E G F R阻害は、（限定されないが）ゲフィチニブ、エルロチニブ、及びセツキシマブを含む。幾つかの実施態様において、患者は、無作為化の前28日以内に化学療法、生物学的療法、放射線療法または治験薬

を受けなかった（場合によっては、薬剤関連毒性が適切に解決されたとする条件で、キナーゼ阻害剤が無作為化の前2週間以内に用いられる場合がある）。幾つかの実施態様において、患者は未治療及び/又は活動性（進行しているか又は症候性制御のための抗けいれん薬やコルチコステロイドを必要とする）CNS転移を持つ患者ではない。幾つかの実施態様において、患者の癌のサンプルは野生型EGFRを有することが示されている。幾つかの実施態様において、患者の癌のサンプルは野生型EGFRを有することが示されていない。他の患者除外基準は、実施例に記載されており、本発明では、そこに記載されている一以上の除外の使用を意図している。

#### 【0032】

例えば本明細書に記載の発明の何れかにおける使用に適したc-metアンタゴニストは当該分野で知られており、幾つかは、さらに、本明細書に記載される。ある実施態様において、c-metアンタゴニストはアンタゴニスト抗c-met抗体である。ある実施態様において、抗c-met抗体は、(a)配列GYTF TSYWLH（配列番号1）を含むHVR1；(b)配列GMIDPSNSDTRFNPNFKD（配列番号2）を含むHVR2；(c)配列ATYRSYVTPLDY（配列番号3）を含むHVR3-HC；(d)配列KSSQSLLYTSSQKNYLA（配列番号4）を含むHVR1-LC；(e)配列WASTRES（配列番号5）を含むHVR2-LC；及び(f)配列QQYAYPWT（配列番号6）を含むHVR3-LCを含む。ある実施態様において、抗c-met抗体が一価であり、(a)重鎖を含む第一のポリペプチドであって、配列番号11の配列を含む該ポリペプチド；(b)軽鎖を含む第二のポリペプチドであって、配列番号12の配列を含むポリペプチド；及びFc配列を含む第三のポリペプチドであって、配列番号13の配列を含むポリペプチドを含み、重鎖可ドメイン域及び軽鎖可変ドメインが複合体として存在し、単一の抗原結合の腕を形成し、第一及び第二のFcポリペプチドが複合体中に存在し、前記抗原結合の腕を含むFab分子と比較して前記抗体断片の安定性を増加させたFc領域を形成する。ある実施態様において、c-met抗体はMetMab（同じ意味で”オナルツズマブ(onalartuzumab)”と称す)である。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、クリゾチニブ(crizotinib)、チバンチニブ(tivantinib)、カボザンチニブ(carbozantinib)、MGC D-265、フィクラツズマブ(ficlatuzumab)、ヒト化TAK-701、リロツムマブ(rilotumumab)、フォレチニブ(foretinib)、h224G11、DN-30、MK-2461、E7050、MK-8033、PF-4217903、AMG208、JNJ-38877605、EMD1204831、INC-280、LY-2801653、SGX-126、RP1040、LY2801653、BAY-853474、及び/又はLA480である。本発明で使用するのに適した他のc-metアンタゴニストが、本明細書に記載される。

#### 【0033】

癌の医薬は、単独で、または他の癌医薬と組み合わせて使用することができる。例えば本明細書、幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニスト（例えば、抗c-met抗体）は、EGFRアンタゴニスト（例えば、エルロチニブ）と組み合わせて使用される。ある実施態様において、エルロチニブは、3週間サイクルの毎日、150mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、エルロチニブは、3週間サイクルの毎日、100mg/kgの用量で投与される。ある実施態様において、エルロチニブは、3週間サイクルの毎日、50mg/kgの用量で投与される。典型的なプロトコルは、NSCLC患者に対して、(a)3週間ごとに約15mg/kgの用量で抗c-met抗体（例えばMetMab）；及び(b)3週間のサイクルの毎日に150mgの用量でエルロチニブ(N-(3-エチルフェニル)-6,7-ピス(2-メトキシエトキシ)-4-キナゾリンアミン)を投与することである。他の実施態様において、c-metアンタゴニスト（例えば、抗c-met抗体）は、抗VEGF抗体と化学療法（例えば、タキサン）と組み合わせて使用される。典型的なプロトコルは、トリプルネガティブ転移性乳癌患者に対して、28日周期の1日目と15日目に10mg/kgの用量で投与される抗c-me

10

20

30

40

50

t 抗体 (例えば Met MAb)、28日周期の1日目と15日目に10mg/kgの用量で投与される抗VEGF抗体(例えば、ベバシズマブ)、及び28日周期の1日目、8日目及び15日目に静脈注射により90mg/m<sup>2</sup>の用量で投与されるパクリタキセルを投与することである。別の典型的なプロトコルは、トリプルネガティブ転移性乳癌患者に対して、28日周期の1日目と15日目に10mg/kgの用量で投与される抗c-met抗体(例えばMet MAb)、及び28日周期の1日目、8日目及び15日目に静脈注射により90mg/m<sup>2</sup>の用量で投与されるパクリタキセルを投与することである。ある実施態様において、Met MAbは約15mg/kgを3週間毎の投与量で、又は約10mg/kgを隔週の用量で投与される。幾つかの実施態様において、クリゾチニブ(crizotinib)はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、カボザンチニブ(carbozantinib)はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、フォレチニブ(foretinib)はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、チバンチニブ(tivantinib)はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、MGCD-265はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、リロツムマブ(rilotumumab)はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、フィクラツズマブ(ficlatusumab)はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。幾つかの実施態様において、ヒト化抗HGF抗体TAK-701はEGFRアンタゴニスト(幾つかの実施態様において、エルロチニブ)と組み合わせて使用される。他の癌の医薬が本明細書に記載される。

#### 【0034】

c-metバイオマーカの検出が開示され、本明細書に例示される。本明細書に記載の方法の何れかの幾つかの実施態様において、患者の癌のc-metバイオマーカの高発現は高タンパク質発現であり、更なる実施態様において、IHCを用いて決定される。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは2又は3である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは3である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは2である。幾つかの実施態様において、高いc-metバイオマーカは、中程度のc-met染色強度、中程度/高の混合性のc-met染色強度又は高c-met染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞である(意味する)。幾つかの実施態様において、高c-metバイオマーカは中程度又は高c-met染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、c-metバイオマーカの高発現は(幾つかの実施態様においては定量的RT-PCR又はインサイツハイブリダイゼーションを用いて検出される)高mRNA発現である。幾つかの実施態様において、c-metバイオマーカの高発現は(幾つかの実施態様においてはFISHを用いて検出される)c-met遺伝子増幅である。他の実施態様において、遺伝子発現プロファイリング、PCR(例えばrtPCRなど)、RNN-seq、マイクロアレイ解析、SAGE、MassARRAY技術、又はFISHが、c-metバイオマーカを検出するために使用される。幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストで治療されない(又は幾つかの実施態様において、EGFRアンタゴニストとの併用でc-metアンタゴニストにより治療されない)患者に比較して、PFS及び/又はOSが増加する可能性がある(すなわち増加したPFS及び/又はOSの可能性はある)。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、高いc-metバイオマーカの高発現はmet診断陽性臨床状態である。

#### 【0035】

本明細書に記載の方法の何れかの幾つかの実施態様において、患者の癌のc-metバ

イオマーカーの低発現は低タンパク質発現であり、IHCを用いて決定される。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは1である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは0である。幾つかの実施態様において、IHCのスコアは0又は1である。幾つかの実施態様において、低いc - metバイオマーカーは陰性c - met染色であり、50%未満の腫瘍細胞が弱いc - met染色強度又は弱と中程度の混合性のc - met染色強度、又は50%以上の腫瘍細胞が弱いc - met染色強度又は弱と中程度の混合性のc - met染色強度であるが、50%未満の腫瘍細胞が中程度のc - met染色強度又は中程度と強の混合性のc - met染色強度である。幾つかの実施態様において、低c - metバイオマーカーは、患者がc - metアンタゴニストで治療される時（又は幾つかの実施態様において、EGFRアンタゴニストとの併用でc - metアンタゴニストにより治療される時）、PFS及びOSが増加した可能性を意味する。幾つかの実施態様において、c - metアンタゴニストで治療されない（又は幾つかの実施態様において、EGFRアンタゴニストとの併用でc - metアンタゴニストにより治療されない）患者に比較して、PFS及び/又はOSが減少する可能性がある（すなわち減少したPFS及び/又はOSの可能性はある）。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、低いc - metバイオマーカーの発現はmet診断陰性臨床状態である。

10

#### 【0036】

任意で、追加のバイオマーカーが、患者の試料中で検出され得る。幾つかの実施態様において、患者の癌が、野生型EGFRを発現し（幾つかの実施態様において、c - met遺伝子増幅を更に発現し、更なる実施態様において、c - met遺伝子増幅を発現しない）ことが見いだされている。幾つかの実施態様において、患者の癌が、krasとEGFRから選択されるバイオマーカーを発現することが見いだされている。幾つかの実施態様において、患者の癌が、変異型krasを発現することが見いだされている。幾つかの実施態様において、患者の癌が、野生型krasを発現することが見いだされている。幾つかの実施態様において、患者の癌が、変異型EGFRを発現することが見いだされている。幾つかの実施態様において、患者の癌（例えば患者のNSCLC）が、未分化のリンパ腫キナーゼ（ALK）トランスロケーションを発現することが見いだされている。幾つかの実施態様において、ALKのトランスロケーションは、EML4 - ALKのトランスロケーションである。幾つかの実施態様において、患者の癌が、変異型c - metを発現することが見いだされている。幾つかの実施態様において、患者の癌が、野生型c - metを発現することが見いだされている。

20

30

#### 【0037】

バイオマーカー（例えば、c - metバイオマーカー）の決定に関する更なる実施態様が、本明細書に開示される。

#### 【0038】

その他の態様において、本発明はc - metバイオマーカーを大量に発現する癌の治療に関連した患者における有害事象を評価するための方法を提供し、治療が、c - metアンタゴニスト（例えば、）MetMAb（オナルツズマブ（onartuzumab））により、その方法は、一以上の有害事象の数及び/又は重症度をモニタリングする工程を含む。典型的な有害事象が本明細書に開示される。

40

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0039】

本特許又は特許出願ファイルは、カラーで作成された少なくとも1つの図面を含む。カラー図面を含むこの特許又は特許出願公報の複製は、請求と必要な料金の支払いによって特許庁により提供される。

【図1】図1は、コントロール細胞ペレットの典型的なIHC分析を示す。

【図2】図2は、NSCLC腫瘍サンプルのIHC分析の例を示す。

【図3】図3は、エルロチニブ+プラセボ（実線）対エルロチニブ+MetMAb（破線）によるMetの高い患者の治療の解析を示す。

50

【図4】図4は、エルロチニブ+プラセボ(実線)対エルロチニブ+MetMAb(破線)によるMetの低い患者の治療の分析を示す。

【図5】図5は、エルロチニブ+プラセボ(実線)対エルロチニブ+MetMAb(破線)による全患者の治療の分析を示す。

【図6】図6は、サブグループによって調べられたPFSを示す。

【図7】図7は、サブグループによって調べられたOSを示す。

【図8】図8は、エルロチニブ+プラセボで治療された患者におけるMet発現による予後の分析を示す。Met低=破線; Met高=実線。

【図9】図9は、Metが高い患者におけるPFSのサブグループ分析を示す。

【図10】図10は、Metが高い患者におけるOSのサブグループ分析を示す。

【図11】図11は、Metが低い患者におけるPFSのサブグループ分析を示す。

【図12】図12は、Metが低い患者におけるOSのサブグループ分析を示す。

【図13】図13は、エルロチニブ+プラセボ(実線)対エルロチニブ+MetMAb(破線)によるMet診断陽性患者の治療の分析を示す。

【図14】図14は、エルロチニブ+プラセボ(実線)対エルロチニブ+MetMAb(破線)によるMet診断陰性患者の治療の分析を示す。

【図15】図15は、エルロチニブ+プラセボ(実線)対エルロチニブ+MetMAb(破線)による全患者の治療の分析を示す。

【図16】図16は、サブグループによって調べられたOSを示す。

【図17】図17は、Met診断陰性患者におけるOSの最終分析を示す。

【図18】図18は、患者の特定の亜集団におけるOS分析を示す。

【図19】図19は、Met発現がエルロチニブ+プラセボで治療された患者において悪い転帰と関連していたことを示す。

【図20】図20は、metIHCの臨床スコアによるMET mRNAレベルの関係を示す。

【図21】図21は、あまり厳格でないMet発現のカットオフとより厳格なMet発現のカットオフを使用して定められる、患者で評価されるエルロチニブとの併用によるMetMAbの治療効果を示す。全てのハザード比は無成層の解析から推定された。

【発明を実施するための形態】

【0040】

本発明の実施態様の詳細な記述

I. 定義

ここでは、「患者」はヒトの患者である。患者は癌患者、すなわち、癌の一以上の症状に罹患しているか又は罹患するリスクにある者であり得る更に、患者は以前に治療された癌患者であり得る。患者はNSCLC癌患者、すなわち、NSCLCの一以上の症状に罹患しているか又は罹患するリスクにある者であり得る。更に、患者は以前に治療されたNSCLC患者であって良い。

【0041】

用語「c-met」又は「Met」は本明細書で使用される場合、特に明記しない限り、任意の天然又は変異体(天然又は合成であろうとなかろうと)c-metポリペプチドを指す。用語「野生型c-met」は一般に、天然に生じるc-metタンパク質のアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。用語「野生型c-met配列」は一般に天然に生じるc-metに見いだされるアミノ酸配列を指す。

【0042】

「抗c-met抗体」は、十分な親和性及び特異性でc-metに結合する抗体である。選択される抗体は通常c-metに十分に強い結合親和性を有し、例えば、抗体はヒトc-metにKd値が100nMから1pMの間で結合し得る。抗体の親和性は、表面プラズモン共鳴に基づくアッセイ(例えばPCT出願公開番号第2005/012359号に記載されてピアコアアッセイなど); 酵素結合免疫吸着検定法(ELISA); 及び競合アッセイ(例えばRIA)により決定することができる。ある実施態様において、抗c

10

20

30

40

50

- m e t 抗体は、c - m e t の活性が関与している疾患又は症状を標的とすること及び妨げることにおける治療剤として使用することができる。また、抗体は、例えば治療としての有効性を評価するために、他の生物学的活性アッセイを施してもよい。このようなアッセイは、当技術分野で公知であり、標的抗原に依存し、抗体としての使用を意図している。

【0043】

「c - m e t アンタゴニスト」（同じ意味で「c - m e t 阻害剤」と称す）はc - m e t の活性化又は機能を妨げる薬剤である。c - m e t 阻害剤の例は、c - m e t 抗体；H G F 抗体；小分子のc - m e t アンタゴニスト；c - m e t チロシンキナーゼ阻害剤、アンチセンス及び阻害性RNA（例えば、shRNA）分子（例えば、国際公開第2004 / 87207号を参照）を含む。好ましくは、c - m e t 阻害剤は、c - m e t と特異的に結合する抗体または小分子である。特定の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、約1, 000 nM以下のc - m e t に対する結合親和性（解離定数）を有する。別の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、約100 nM以下のc - m e t に対する結合親和性を有する。その他の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、約50 nM以下のc - m e t に対する結合親和性を有する。特定の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、共有結合でc - m e t に結合している。特定の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、I C 5 0 が1, 000 nM以下でc - m e t シグナル伝達を阻害する。別の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、I C 5 0 が500 nM以下でc - m e t シグナル伝達を阻害する。別の実施態様では、c - m e t 阻害剤は、I C 5 0 が50 nM以下でc - m e t シグナル伝達を阻害する。

10

20

【0044】

「c - m e t の活性化」とはc - m e t 受容体の、活性化、又はリン酸化を指す。一般に、c - m e t の活性化はシグナル伝達（例えば、c - m e t 受容体の細胞内キナーゼドメインにより、c - m e t 又は基質ポリペプチドのチロシン残基のリン酸化を引き起こされる）を結果的に生じる。c - m e t の活性化は、c - m e t リガンド（H G F）の、目的のc - m e t 受容体への結合により媒介されうる。H G Fのc - m e t への結合は、c - m e t のキナーゼドメインを活性化する場合があります、それによって、c - m e t のチロシン残基のリン酸化及び/又は付加的な基質ポリペプチドのチロシン残基のリン酸化を生じる。

30

【0045】

被験体の「集団」は、臨床試験における場合、又は乳癌治療などの特定の効能に対するF D Aの承認後に腫瘍学者によって見られる場合、癌を有する被験体の群を指す。

【0046】

本明細書で使用される場合、バイオマーカーに関して、「実質的なバイオマーカーの発現を保有していない」又は「実質的にバイオマーカーの発現は無い」という語句は、バイオマーカーが、統計的有意性のあるバックグラウンドレベルを超えた発現レベルを示していないことを意味する。本明細書で使用される場合、バイオマーカーに関して、「バイオマーカー発現が皆無かそれに近い」という語句は、バイオマーカーが生物学的に意味のある量の発現を示さないことを意味する。当技術分野で理解されるように、発現量は、バイオマーカーのサンプルと基準の対応物との間の比較を行うことが可能な限り、定量的又は定性的に決定することができる。発現は、例えば本明細書に記載のもの（例えば、I H C など）を含み、当該分野で公知の任意のアッセイまたは技術に従って測定または検出することができる。

40

【0047】

「遺伝子増幅」なる語句は、遺伝子又は遺伝子断片の複数のコピーが特定の細胞又は細胞株において形成されるプロセスを意味する。

【0048】

本発明の方法のために、患者を「指導する」なる用語は、適用可能な治療、薬物、治療、治療レジメンなどを、任意の方法により、しかし好ましくは、パッケージ挿入物又は他の書面による宣伝資料の形態による等の文書で提供することを意味する。

50

## 【 0 0 4 9 】

本発明の方法では、用語「宣伝する」とは、特定の薬物、薬物の併用、又は治療法を、パッケージ挿入物の形態にあるような文書を含む任意の手段によって、提供し、広告し、販売し又は説明することを意味する。本明細書における宣伝とは、NSCLCの治療などの適応症のために、例えば抗c - m e t抗体及び/又はエルロチニブなどの治療薬の宣伝を言い、ここでその宣伝は、被験者の集団において統計的に有意な治療効果と許容される安全性に関連することが実証されたとして、食品医薬品局（FDA）によって承認されている。

## 【 0 0 5 0 】

用語「マーケティング」は、製品（例えば、薬物）の宣伝、販売又は配布を記述するために本明細書で使用される。マーケティングは、製品の商品化を目的とした梱包、広告、および任意の事業活動を含む。

10

## 【 0 0 5 1 】

本明細書における目的のために、「以前に治療された」癌患者は以前に癌治療を受けている。

## 【 0 0 5 2 】

「難治性」癌は、化学療法剤などの抗腫瘍剤によってさえも進行するが、癌患者に投与されている。

## 【 0 0 5 3 】

「癌医薬」は癌の治療に有効な薬剤である。癌の医薬の例は、下記の化学療法剤および化学療法レジメン；M e t M A bなどの抗c - M e tの抗体を含むc - m e tアンタゴニストを含む。

20

## 【 0 0 5 4 】

本明細書で用いられる「バイオマーカー」又は「マーカー」なる用語は一般的に、遺伝子、mRNA、タンパク質、糖質構造又は糖脂質を含む分子を指し、組織内又は組織上、又は細胞内又は細胞上、又は分泌内又は分泌上でのその発現は既知の方法（又はここで開示される方法）で検出することができ、かつ細胞、組織又は治療レジメンに対する患者の応答性に対して予測的であるか又は予測する（又は予測を補助する）ことに用いることができる。本明細書中で特に関心があるバイオマーカーは、c - m e tである。幾つかの実施態様において、c - m e tバイオマーカーはc - m e t遺伝子の増幅（例えば、細胞の集団の平均は3以上、4以上、又は5以上のc - m e t遺伝子のコピーか、又はそれ以上、例えば8以上、又は10以上のc - m e t遺伝子のコピー）を含まない。

30

## 【 0 0 5 5 】

「患者のサンプル」により、癌患者から得た類似細胞の収集物を意味する。組織又は細胞サンプルの起源は、新鮮な、冷凍された、及び/又は保存された臓器又は組織サンプル、又は生検又は吸引からの固形組織、血液又は任意の血液成分、脳脊髄液、羊水、腹水、または間質液などの体液、被検体の妊娠期間又は発育の任意の時期に由来する細胞であり得る。組織サンプルは、本質的に組織と自然に混在しない化合物、例えば、防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、定着剤、栄養剤、抗生物質などが含まれる場合がある。腫瘍サンプルの例は、限定されないが、腫瘍生検、循環性腫瘍細胞、血清又は血漿、循環性血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来するか又は腫瘍のような特性を呈する細胞株又は初代細胞培養物、並びに、ホルマリン固定腫瘍サンプル、パラフィン包埋腫瘍サンプル又は凍結腫瘍サンプルなどの保存された腫瘍サンプルを含む。一実施態様において、サンプルでは、NSCLC（例えば、扁平上皮サブタイプまたは非扁平上皮サブタイプ）の腫瘍サンプルを含む。

40

## 【 0 0 5 6 】

医薬による処置に対する患者の「効果的な応答」又は患者の「応答性」及び類似した表現は、医薬の投与によって癌（例えばNSCLC）に罹患しているか又は癌のリスクにある患者に与えられる臨床的又は治療的利益を指す。このような利点は、生存（全生存および無増悪生存を含む）を延長すること；客観的奏効（完全寛解又は部分寛解を含む）をもたらすこと；又は癌の徴候又は症状を改善するなどのいずれか1つ以上を含む。一実施態

50

様において、バイオマーカー（例えば、IHCを用いて決定されるc-metの発現）は、同じレベルでバイオマーカーを発現しない患者と比較して、医薬（例えば抗c-met抗体）で治療されたときに大きな無増悪生存（PFS）を有することが期待されている患者を特定するのに使用される。一実施態様において、医薬で治療されて同じレベルでバイオマーカーを発現しない患者に対して、又は医薬で治療されておらず同じレベルでバイオマーカーを発現しない患者に対して、バイオマーカーは医薬で治療を受けたときにPFSが減少することが期待される患者を同定するために使用される。一実施態様において、バイオマーカーは、同じレベルでバイオマーカーを発現しない患者に対して、医薬で治療したときに、大きい全生存期間（OS）を有することが期待されている患者を同定するために使用される。一実施態様において、医薬で治療されて同じレベルでバイオマーカーを発現しない患者に対して、又は医薬で治療されておらず同じレベルでバイオマーカーを発現しない患者に対して、バイオマーカーは全生存期間（OS）が減少することが期待される患者を同定するために使用される。本明細書においてバイオマーカーの発現率は、そのような効果的な応答を効果的に予測したり、又は高感度に予測する。

10

## 【0057】

「生存」は、生存している患者を指し、全生存並びに無増悪生存を含む。

## 【0058】

「全生存期間」は、診断又は治療の時から例えば1年、5年などの定められた期間において生存している患者を指す。

## 【0059】

「無増悪生存期間」とは、癌の進行又は悪化することなく、患者が生き残っていることを言う。

20

## 【0060】

「生存の延長」とは、未治療の患者と比較して（すなわち、医薬で治療されていない患者と比較して）、又は指定レベルでバイオマーカーを発現しない患者と比較して、及び/又は承認された抗腫瘍薬（エルロチニブの化学療法レジメンなど）で治療された患者と比較して、治療された患者における全生存期間又は無増悪生存期間の増加を意味する。

## 【0061】

「客観的反応」とは、完全寛解（CR）又は部分寛解（PR）を含めて、測定可能な反応を意味する。

30

## 【0062】

「完全寛解」又は「CR」は、治療に反応して癌の全ての徴候の消失を対象としている。これは、常に癌が治癒されたという意味ではない。

## 【0063】

「部分寛解」又は「PR」は、治療に反応して、1つ以上の腫瘍又は病変の大きさの減少、又は体内での癌の範囲の減少を指す。

## 【0064】

癌（例えば、NSCLC）患者に対する臨床的利点の増加に関連したバイオマーカーの「量」又は「レベル」は、バイオマーカーのレベルが患者の臨床的利点の増加に関連付けられており、生物学的試料中において検出可能なレベルを指す。これらは、当業者に知られており、また、本発明によって開示された方法により測定することができる。評価するバイオマーカーの発現レベル又は量は、治療に対する反応を決定するために使用することができる。幾つかの実施態様において、バイオマーカーの量又はレベルは、（例えば、患者の腫瘍サンプルの）IHCを用いて決定される。幾つかの実施態様において、癌患者における臨床的利点の増加に関連付けられているc-metバイオマーカーの量又はレベルは、IHCスコアが2、IHCスコアが3、又はIHCスコアが2又は3である。幾つかの実施態様において、癌患者における臨床的利点の増加に関連付けられているc-metバイオマーカーの量又はレベルは、中程度のc-met染色強度、中程度/強の混合性のc-met染色強度又は強いc-met染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、癌患者における臨床的利点の増加に関連付けられているc-

40

50

m e t バイオマーカの量又はレベルは、中程度又は強い c - m e t 染色強度を持つ 5 0 % 以上の腫瘍細胞である。

【 0 0 6 5 】

癌（例えば、N S C L C）患者に対する臨床的利点の減少に関連したバイオマーカの「量」又は「レベル」は、バイオマーカのレベルが患者の臨床的利点の減少に関連付けられており、生物学的試料中において検出可能なバイオマーカの欠損又は低い検出可能なレベルを指す。これらは、当業者に知られており、また、本発明によって開示された方法により測定することができる。評価するのバイオマーカの発現レベル又は量は、治療に対する反応を決定するために使用することができる。幾つかの実施態様において、バイオマーカの量又はレベルは、（例えば、患者の腫瘍サンプルの）I H C を用いて決定される。幾つかの実施態様において、癌患者における臨床的利点の減少に関連付けられている c - m e t バイオマーカの量又はレベルは、I H C スコアが 0、I H C スコアが 1、又は I H C スコアが 0 又は 1 である。幾つかの実施態様において、癌患者における臨床的利点の減少に関連したバイオマーカの量又はレベルは陰性 c - m e t 染色であり、5 0 % 未満の腫瘍細胞が弱い c - m e t 染色強度又は弱と中程度の混合性の c - m e t 染色強度、又は 5 0 % 以上の腫瘍細胞が弱い c - m e t 染色強度又は弱と中程度の混合性の c - m e t 染色強度であるが、5 0 % 未満の腫瘍細胞が中程度の c - m e t 染色強度又は中程度と強の混合性の c - m e t 染色強度である。

10

【 0 0 6 6 】

「発現のレベル」又は「発現レベル」なる用語は、交換可能に使用され、一般に、生物学的試料中のポリヌクレオチド、m R N A、又はアミノ酸生成物又はタンパク質の量を指す。「発現」は、一般に、遺伝子コード情報が、細胞中に存在し操作する構造に変換されるプロセスを意味する。従って、本発明によれば、遺伝子の「発現」は、ポリヌクレオチドへの転写、タンパク質への翻訳、又はタンパク質の翻訳後修飾を意味する。転写されたポリヌクレオチド、翻訳されたタンパク質、又は翻訳後修飾されたタンパク質の断片はまた、選択的スプライシングにより生成された転写物、又は分解された転写物に由来するか、又は例えばタンパク質分解によるタンパク質の翻訳後プロセッシングに由来しようが、発現したとみなされる。幾つかの実施態様において、「表現のレベル」は、I H C を用いて決定されるような生物学的サンプル中のタンパク質の量を指す。

20

【 0 0 6 7 】

本明細書中で使用されるとき「の発現に基づいて」という言い回しは、本明細書における一以上のバイオマーカ発現レベルに関する情報は、治療法の決定、パッケージ挿入物に提供された情報、又はマーケティング/宣伝指針などを通知するために使用されることを意味する。バイオマーカが高発現の場合には、患者は、例えば c - m e t アンタゴニスト（M e t M A b などの抗 c - m e t 抗体など）などの癌（例えば N S C L C）医薬で治療され得る。バイオマーカの発現レベルの減少の場合には、患者は、c - m e t アンタゴニスト以外の癌の医薬（例えば、M e t M A b などの抗 c - m e t 抗体）で治療することができる。

30

【 0 0 6 8 】

「治療」は、治療的処置及び予防手段又は防止手段の両方を指す。治療が必要なものは、良性、前癌性又は非転移性腫瘍を既に有するもの、並びに癌の発生又は再発が防止されるべきものを含む。

40

【 0 0 6 9 】

「治療的有効量」という用語は、哺乳動物の疾患又は疾病を治療又は予防するための薬剤の量を指す。癌の場合、治療的に有効量の薬剤は、癌細胞の数を減じ；原発腫瘍の大きさを減じ；末梢器官への癌細胞の浸潤を阻害（すなわち、ある程度まで減速、好ましくは停止）し；腫瘍転移を阻害（すなわち、ある程度まで減速及び好ましくは停止）し；腫瘍増殖をある程度まで阻害し；及び/又は疾病に関連する一又は複数の症状をある程度まで緩和する。既存の癌細胞の増殖を妨げ及び/又は死滅させる程度まで、薬剤は、細胞分裂停止及び/又は細胞障害性であり得る。癌治療の場合、インビボでの有効性は、生存期間

50

、細胞増殖停止時間 ( T T P )、奏功率 ( R R )、奏功期間、及び / 又は生活の質を評価することにより測定することができる。

【 0 0 7 0 】

「癌」及び「癌性」なる用語は、一般的に調節されない細胞増殖を特徴とする哺乳動物の生理学的状態を指す又は表わす。この定義には、良性及び悪性の癌が含まれる。「初期癌」又は「初期腫瘍」とは、侵襲性又は転移性でない癌を意味するか、或いはステージ 0、I、又は II の癌を意味する。癌の例には、限定するものではないが、細胞腫、リンパ腫、芽細胞腫 ( 髄芽腫及び網膜芽細胞腫を含む )、肉腫 ( 脂肪肉腫及び滑膜細胞肉腫を含む )、神経内分泌腫瘍 ( カルチノイド腫瘍、ガストリン産生腫瘍、及び島細胞癌を含む )、中皮腫、シュワン腫 ( 聴神経腫瘍を含む )、髄膜腫、腺癌、メラノーマ、及び白血病又はリンパ性悪性腫瘍が含まれる。このような癌のより具体的な例には、扁平上皮癌 ( 例えば上皮の扁平細胞癌 )、小細胞肺癌 ( S C L C ) を含む肺癌、非小細胞肺癌 ( N S C L C )、肺の腺癌及び肺の扁平上皮癌、腹膜の癌、肝細胞性癌、胃腸癌を含む胃 ( g a s t r i c、s t o m a c h ) 癌、膵癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞癌、乳癌 ( 転移性乳癌を含む )、大腸癌、直腸癌、大腸直腸癌、子宮内膜ないし子宮細胞腫、唾液腺細胞腫、腎臓癌又は腎癌、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、肝細胞腫、食道細胞腫、肝細胞腫、肛門部の細胞腫、陰茎細胞腫、精巣癌、食道癌、胆道癌、並びに頭部及び頸部の癌が含まれる。幾つかの実施態様において、局所的な再発又は転移性疾患 ( 局所再発疾患が治癒目的で切除を受けられない場合 ) を有する、任意の組織学的に確認されたトリプルネガティブ ( E R、P R、H E R 2 ) な乳房の腺癌を含む、癌は、トリプルネガティブ転移性乳癌である。

10

20

【 0 0 7 1 】

「c - m e t の発現を示す」癌又は生物学的サンプルは、診断検査において、c - m e t の受容体を発現する ( 過剰発現を含む ) ものである。

【 0 0 7 2 】

「c - m e t の増幅を示す」癌又は生物学的サンプルは、診断検査において、増幅した c - m e t の遺伝子を有するものである。幾つかの実施態様において、増幅された c - m e t 遺伝子は ( 細胞の集団において ) 平均で 5 以上の c - m e t 遺伝子の複製を上回るか、又は平均で 8 以上の c - m e t 遺伝子の複製がそれ以上である。

30

【 0 0 7 3 】

「c - m e t の増幅を示さない」癌又は生物学的サンプルは、診断検査において、増幅した c - m e t の遺伝子を有しないものである。幾つかの実施態様において、c - m e t 遺伝子の増幅を示さないサンプルは、平均で 4 コピー未満の c - m e t 遺伝子を有するサンプルである。

【 0 0 7 4 】

「E G F R」は、Ullrich et al, Nature (1984) 309:418425 に記述されるレセプターチロシンキナーゼポリペプチド上皮増殖因子受容体を意味し、あるいは H e r - 1 及び c - e r b B 遺伝子産物、並びに E G F R v I I I などその変異体を言う。E G F R の変異体はまた、例えば Lynch et al (New England Journal of Medicine 2004, 350:2129), P a e z et al (Science 2004, 304:1497), P a o et al (PNAS 2004, 101:13306) に記述されるものなど欠失、置換、及び挿入変異体をも含む。

40

【 0 0 7 5 】

「E G F R アンタゴニスト」 ( 同じ意味で「E G F R 阻害剤」と称す ) は E G F R の活性化又は機能を妨げる薬剤である。E G F R 阻害剤の例は、E G F R 抗体 ; E G F R リガンド抗体 ; 小分子の E G F R アンタゴニスト ; E G F R チロシンキナーゼ阻害剤、アンチセンス及び阻害性 R N A ( 例えば、s h R N A ) 分子 ( 例えば、国際公開第 2 0 0 4 / 8 7 2 0 7 号を参照 ) を含む。好ましくは、E G F R 阻害剤は、E G F R と特異的に結合する抗体または小分子である。幾つかの実施態様において、E G F R 阻害剤は E G F R 標的薬である。特定の実施態様では、E G F R 阻害剤は、約 1 , 0 0 0 n M 以下の E G F R に対する結合親和性 ( 解離定数 ) を有する。その他の実施態様では、E G F R 阻害剤は、約

50

100 nM以下のEGFRに対する結合親和性を有する。その他の実施態様では、EGFR阻害剤は、約50 nM以下のEGFRに対する結合親和性を有する。特定の実施態様では、EGFR阻害剤は、共有結合でEGFRに結合している。特定の実施態様では、EGFR阻害剤は、IC50が1,000 nM以下でEGFRのシグナル伝達を阻害する。別の実施態様では、EGFR阻害剤は、IC50が500 nM以下でEGFRのシグナル伝達を阻害する。別の実施態様では、EGFR阻害剤は、IC50が50 nM以下でEGFRのシグナル伝達を阻害する。ある実施態様では、EGFRアンタゴニストは、EGFRの発現レベル又は生物学的活性を少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又はそれ以上低減又は阻害する。

【0076】

「EGFRの活性化」とはEGFR受容体の、活性化、又はリン酸化を指す。一般に、EGFRの活性化はシグナル伝達（例えば、EGFR受容体の細胞内キナーゼドメインにより、EGFR又は基質ポリペプチドのチロシン残基のリン酸化を引き起こされる）を結果的に生じる。EGFR活性化は、EGFRを含むEGFR二量体へのEGFRリガンドの結合によって媒介され得る。EGFR二量体へのEGFRリガンドの結合は二量体におけるEGFRの一つ以上のキナーゼドメインを活性化することができ、それによって一以上のEGFRのチロシン残基のリン酸化及び/又は付加的な基質ポリペプチドのチロシン残基のリン酸化をもたらす。

【0077】

本明細書で使用される場合、用語「EGFR標的薬」は、EGFRに結合し、EGFRの活性化を阻害する治療薬を指す。このような薬剤の例は、EGFRに結合する抗体及び小分子を含む。EGFRに結合する抗体の例は、MAb 579 (ATCC CRL HB 8506)、MAb 455 (ATCC CRL HB 8507)、MAb 225 (ATCC CRL 8508)、MAb 528 (ATCC CRL 8509) (米国特許第4943533号、Mendelsohn等を参照)及びその変異体、例えばキメラ化225 (C225又はセツキシマブ; ERBITUX (登録商標))及び再形成ヒト225 (H225) (国際公開第96/40210号、Imclone Systems Inc.を参照); IMC-11F8, 完全ヒトEGFR標的抗体 (Imclone); タイプII変異体EGFRに結合する抗体 (米国特許第5212290号); 米国特許第5891996号に記載されているようなEGFRに結合するヒト化及びキメラ化抗体; 及びEGFRに結合するヒト抗体、例えばABX-EGF (国際公開第98/50433, Abgenixを参照); EMD 55900 (Stragliotto等 Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)); EMD 7200 (マツズマブ), EGFR結合についてEGF及びTGF- 双方と競合するEGFRに対するヒト化EGFR及びmAb 806又はヒト化mAb 806 (Johns等, J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004))を含む。抗EGFR抗体は細胞傷害剤とコンジュゲートされ得、よってイムノコンジュゲートを生じる (例えば、欧州特許出願公開第659439A2号, Merck Patent GmbHを参照)。EGFRに結合する小分子の例は、ZD1839又はゲフィチニブ (IRESSA; AstraZeneca); CP-358774又はエルロチニブ (TARCEVA<sup>TM</sup>; Genentech/OSI); 及びAG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen); EMD-7200を含む。

【0078】

「ポリメラーゼ連鎖反応」又は「PCR」の技術は、本明細書で使用される場合、微量の特異な1片の核酸、RNA及び/又はDNAが、1987年7月28日発行の米国特許第4683195号中に記載されたように増幅される手法に全般的に関する。一般的に、対象とする領域の末端から又は利用可能な必要性を越える配列情報は、オリゴヌクレオチドプライマーの設計を可能にし; これらのプライマーは増幅されるテンプレートの反対鎖の配列と同一又は類似している。2つのプライマーの5'末端ヌクレオチドは増幅された物質の末端と一致する。PCRは、特異的RNA配列、全ゲノムDNAからの特異的DNA配列、及び全細胞性RNAから転写されたcDNA、バクテリオファージまたはプラス

10

20

30

40

50

ミド配列などを増幅するために用いることができる。一般的に、Mullis et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 51: 263 (1987); Erlich, ed., PCR Technology, (Stockton Press, NY, 1989) を参照。本明細書で使用する場合、PCRは、唯一ではないが、プライマーとして既知の核酸(DNAまたはRNA)の使用を含む核酸試験サンプルを増幅するための核酸ポリメラーゼ反応法の一例と考えられており、核酸ポリメラーゼを利用して、核酸の特定の部分を増幅又は生成し、または特定の核酸に相補的である核酸の特定の部分を増幅又は生成する。

【0079】

「定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応」または「定量RT-PCR」はPCRの一形態を指し、ここではPCR産物の量はPCR反応の各工程で測定される。この手法は、Cronin et al., Am. J. Pathol. 164(1):35-42 (2004); 及びMa et al., Cancer Cell 5:607-616 (2004) を含む様々な出版物に記載されている。

【0080】

「マイクロアレイ」なる用語は、基質上の、ハイブリダイズ可能なアレイ要素、好ましくはポリヌクレオチドプローブの秩序だった配置を意味する。

【0081】

単数又は複数で使用される場合、「ポリヌクレオチド」なる用語は、一般に任意のポリリボヌクレオチド又はポリデオキシリボヌクレオチドを意味し、これは未修飾RNA又はDNA又は修飾RNA又はDNAであり得る。よって、例えば、ここで定義されるポリヌクレオチドには、限定するものではないが、一本鎖及び二本鎖DNA、一本鎖及び二本鎖領域を含むDNA、一本鎖及び二本鎖RNA、及び一本鎖及び二本鎖領域を含むRNA、一本鎖であってもよく、又はより典型的には二本鎖であっても又は一本鎖又は二本鎖領域を含んでもよいDNA及びRNAを含む混成分子が含まれる。また「ポリヌクレオチド」なる用語は、ここで使用される場合RNA又はDNA又はRNAとDNAの双方を含む三本鎖領域を意味する。そのような領域のストランドは同じ分子由来でも又は異なった分子由来でもよい。その領域は一又は複数の分子の全てを含みうるが、より典型的には幾らかの分子の領域のみを含む。三本ヘリックス領域の分子の一つがしばしばオリゴヌクレオチドである。「ポリヌクレオチド」なる用語は特にcDNAsを含む。その用語には、一又は複数の修飾塩基を含むDNA(cDNAを含む)及びRNAが含まれる。よって、安定性又は他の理由のために修飾された骨格を持つDNA又はRNAは、その用語がここで意図するところの「ポリヌクレオチド」である。更に、イノシンのような希な塩基又はトリチウム化塩基のような修飾された塩基を含むDNA又はRNAはここで定義される「ポリヌクレオチド」という用語内に含まれる。一般に、「ポリヌクレオチド」という用語は未修飾のポリヌクレオチドの全ての化学的、酵素的及び/又は代謝的に修飾された形態並びに単純細胞及び複雑細胞を含む細胞及びウイルスに特徴的なDNA及びRNAの化学的形態を包含する。

【0082】

「オリゴヌクレオチド」という用語は、限定するものではないが、一本鎖デオキシリボヌクレオチド、一本鎖又は二本鎖リボヌクレオチド、RNA:DNAハイブリッド及び二本鎖DNAを含む比較的短いポリヌクレオチドを意味する。一本鎖DNAプローブオリゴヌクレオチドのようなオリゴヌクレオチドは、例えば市販されている自動オリゴヌクレオチド合成機を使用して、化学的方法によってしばしば合成される。しかしながら、オリゴヌクレオチドは、インビトロ組換えDNA媒介法を含む様々な他の方法によって、及び細胞及び生物中でのDNAの発現によって、作製することができる。

【0083】

「化学療法剤」は、癌の治療に有用な化学物質である。化学療法剤の例には、チオテパ及びシクロホスファミド(CYTOXAN(登録商標))などのアルキル化剤; プスルファン、インプロスルファン、及びピボスルファンなどのスルホン酸アルキル類; ベンゾドopa(benzodopa)、カルボコン、メツレドopa(meturedopa)、及びウレドopa(uredopa)などのアジリジン; アルトレタミン、トリエチレンメラ

10

20

30

40

50

ミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチロ  
 ールメラミン ( trimethylolomelamine ) を含むエチレンイミン及び  
 メチラメラミン ( methylamelamine ) ; アセトゲニン ( 特にブラタシン及び  
 ブラタシノン ( bullatacinone ) ) ; デルタ - 9 - テトラヒドロカンナビ  
 ノール ( ドロナビノール、MARINOL ( 登録商標 ) ) ; ベータ - ラバコン ; ラバコー  
 ル ; コルヒチン ; ベツリン酸 ; カンプトセシン ( 合成アナログであるトポテカン ( H Y C  
 A M T I N ( 登録商標 ) ) 、 C P T - 1 1 ( イリノテカン、C A M P T O S A R ( 登録商  
 標 ) ) 、アセチルカンプトセシン、スコポレクチン ( scopolectin ) 、及び 9  
 - アミノカンプトセシンを含む ) ; プリオスタチン ; カリスタチン ; C C - 1 0 6 5 ( そ  
 のアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成アナログを含む ) ; ポドフィロトキ  
 シン ; ポドフィリン酸 ( podophyllinic acid ) ; テニボシド ; クリプ  
 トフィシン ( 特にクリプトフィシン 1 及びクリプトフィシン 8 ) ; ドラスタチン ; ズオカ  
 ルマイシン ( 合成アナログ K W - 2 1 8 9 及び C B 1 - T M 1 を含む ) ; エロイテロピン  
 ; パンクラチスタチン ; サルコジクチン ; スポンギスタチン ; クロラムブシル、クロル  
 ナファジン、コロホスファミド ( cholophosphamide ) 、エストラムスチ  
 ン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノ  
 ベンビキン ( novembichin ) 、フェネステリン ( phenesterine )  
 、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマス  
 タード ; カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及  
 びラニムスチン ( ranimnustine ) などのニトロソ尿素 ; エンジン抗生物質  
 などの抗生物質 ( 例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシンガンマ 1 I 及びカ  
 リケアマイシンオメガ I 1 ( 例えば、Nicolaou et al., Angew.Chem Intl. Ed. Engl., 3  
 3:183-186(1994)参照 ) ) ; C D P 3 2 3、経口アルファ - 4 インテグリン阻害剤 ; ジネ  
 マイシン A を含むジネマイシン ; エスペラマイシン ; 並びに、ネオカルチノスタチン発色  
 団及び関連色素タンパク質エンジン抗生物質発色団)、アクラシノマイシン、アクチノ  
 マイシン、アウトラマイシン ( authramycin ) 、アザセリン、ブレオマイシン  
 、カクチノマイシン、カラビシン ( carabycin ) 、カルミノマイシン、カルチノ  
 フィリン、クロモマイシン ( chromocycinins ) 、ダクチノマイシン、ダウノ  
 ルピシン、デトルピシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ドキシソルピシン  
 ( A D R I A M Y C I N ( 登録商標 ) ) 、モルホリノ - ドキシソルピシン、シアノモルホリノ  
 - ドキシソルピシン、2 - ピロリノ - ドキシソルピシン、ドキシソルピシン H C I リボソーム注  
 射液 ( D O X I L ( 登録商標 ) ) 、リボソームドキシソルピシン T L C D - 9 9 ( M Y O  
 C E T ( 登録商標 ) ) 、 P E G 化リボソームドキシソルピシン ( C A E L Y X ( 登録商標 )  
 ) 、及びデオキシドキシソルピシンを含む)、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン  
 、マルセロマイシン、マイトマイシン C などのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガ  
 ラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン ( potfiromy  
 cin ) 、ピューロマイシン、クエラマイシン ( que lamycin ) 、ロドルピシ  
 ン ( rodorubicin ) 、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン  
 、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン ; メトトレキサート、ゲムシタピン ( G E M  
 Z A R ( 登録商標 ) ) 、テガフル ( U F T O R A L ( 登録商標 ) ) 、カペシタピン ( X  
 E L O D A ( 登録商標 ) ) 、エピチロン、及び 5 - フルオロウラシル ( 5 - F U ) などの  
 代謝拮抗物質 ; フルダラビン、6 - メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなど  
 のプリンアナログ ; アンシタピン、アザシチジン、6 - アザウリジン、カルモフル、シ  
 タラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロキシウリジンな  
 どのピリミジンアナログ ; アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤  
 ; フロリニン酸 ( frolinic acid ) などの葉酸補給剤 ; アセグラトン ; アル  
 ドホスファミドグリコシド ; アミノレプリン酸 ; エニルウラシル ; アムサクリン ; ベスト  
 ラブシル ; ビサントレン ; エダトラキサート ( edatraxate ) ; デホファミン ( d e f o f a m i n e ) ;  
 デメコルシン ; ジアジクオン ; エルホルニチン ( elforn  
 ithine ) ; 酢酸エリブチニウム ; エトグルシド ; 硝酸ガリウム ; ヒドロキシ尿素 ;

10

20

30

40

50

レンチナン；ロニダイニン；メイタンシン及びアンサミトシンなどのメイタンシノイド；  
 ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール（mopidanmol）；ニトラエリン  
 （nitraerine）；ペントスタチン；フェナメット（phenamet）；ピ  
 ラルピシン；ロソキサントロン；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録  
 商標）多糖複合体（JHS Natural Products, Eugene, OR）；  
 ラゾキサシ；リゾキシシ；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジ  
 クオン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特にT-2毒  
 素、ベラクリン（verracurin）A、ロリジンA及びアングエイジン）；ウレタン  
 ；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポプロマン；  
 ガシトシン（gacytosine）；アラビノシド（「Ara-C」）；チオテバ；タ  
 キソイド、例えば、パクリタキセル（TAXOL（登録商標））、パクリタキセルのアル  
 ブミン加工ナノ粒子製剤（ABRAXANE（登録商標））、及びドセタキセル（TAX  
 OTERE（登録商標））；クロランブシル；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メ  
 トトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチン、及びカルボプラチンなどのプラチナ  
 剤；ピンラスチン（VELBAN（登録商標））、ピンクリスチン（ONCOVIN（  
 登録商標））、ピンデシン（ELDISINE（登録商標）、FILDESIN（登録商  
 標））、及びビノレルピン（NAVELBINE（登録商標））を含む、微小管形成から  
 チューブリン重合を阻止するピンカ；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミト  
 キキサントロン；ロイコボピン（leucovovin）；ノバントロン；エダトレキサート；  
 ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ阻害剤RF  
 S2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；ベキサロテン（TARGRET  
 IN（登録商標））を含めたレチノイン酸などのレチノイド；クロドロネート（例えば、  
 BONEFOS（登録商標）又はOSTAC（登録商標））、エチドロネート（DIDR  
 OCAL（登録商標））、NE-58095、ゾレドロロン酸/ゾレドロネート（ZOME  
 TA（登録商標））、アレンドロネート（FOSAMAX（登録商標））、パミドロネート  
 （AREDIA（登録商標））、チルドロネート（SKELID（登録商標））、又は  
 リセドロネート（ACTONEL（登録商標））などのビスホスフォネート；トロキサシ  
 タピン（1, 3-ジオキサランヌクレオシドシトシナナログ）；アンチセンスオリゴヌ  
 クレオチド、特に異常な細胞増殖に関係づけられているシグナル伝達経路における遺伝子  
 発現、例えばPKC-アルファ、Raf、H-Ras、及び上皮成長因子受容体（EGF  
 -R）を阻害するもの；THERATOPE（登録商標）ワクチン並びに遺伝子治療用ワ  
 クチン、例えばALLOVECTIN（登録商標）ワクチン、LEUVECTIN（登録  
 商標）ワクチン、及びVAXID（登録商標）ワクチンなどのワクチン；トポイソメラー  
 ゼ1阻害剤（例えばLURTOTECAN（登録商標））；rmRH（例えば、ABAR  
 ELIX（登録商標））；BAY439006（ソラフェニブ；Bayer）；SU-1  
 1248（Pfizer）；ペリホシン、COX-2阻害剤（例えば、セレコキシブ又は  
 エトリコキシブ）、プロテオソーム阻害剤（例えば、PS341）；ボルテゾミブ（VE  
 LCAD（登録商標））；CCI-779；チピファルニブ（R11577）；オラフ  
 エニブ（orafenib）、ABT510；オブリマーセン（oblimersen）  
 ナトリウム（GENA SENSE（登録商標））などのBcl-2阻害剤；ピクキサントロン  
 ；EGFR阻害剤（下記定義参照）；チロシンキナーゼ阻害剤（下記定義参照）；並び  
 に上記いずれかの薬学的に許容できる塩、酸若しくは誘導体；並びにCHOP、シクロホ  
 スファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、及びブレドニゾロンの併用療法につい  
 ての略語、及びFOLFOX、5-FU及びロイコボリンと組み合わせたオキサリプラチン  
 （ELOXATIN（商標））を用いた治療方式についての略語、などの、上記のうち2  
 つ以上の組み合わせがある。

#### 【0084】

ここで、化学療法剤は、癌の増殖を促進しうるホルモンの作用を調節、低減、遮断、又は  
 阻害するように働く「抗ホルモン剤」又は「内分泌治療剤」が含まれる。それらはそれ  
 自体がホルモンであってもよく、限定するものではないが、混合アゴニスト/アンタゴニ

ストプロファイルを持つ抗エストロゲン、例えばタモキシフェン（NOLVADEX（登録商標））、4-ヒドロキシタモキシフェン、トレミフェン（FARESTON（登録商標））、イドキシフェン、ドロキシフェン、ラロキシフェン（raloxifene）（EVISTA（登録商標））、トリオキシフェン（trioxifene）、ケオキシフェン（keoxifene）、及びSERM3などの選択的なエストロゲン受容体調節因子（SERM）；アゴニスト特性を有さない純粋な抗エストロゲン類、例えばフルベストラント（FASLODEX（登録商標））、及びEM800（このような薬剤はエストロゲン受容体（ER）二量体化をブロックし、DNA結合を阻害し、ER代謝回転を増加させ、及び/又はERレベルを抑制しうる）；アロマターゼインヒビター、例えば、ホルメスタン及びエキセメスタン（AROMASIN（登録商標））などのステロイド系アロマターゼインヒビター、及びアナストロゾール（ARIMIDEX（登録商標））、レトロゾール（FEMARA（登録商標））及びアミノグルテチミドなどの非ステロイド性アロマターゼインヒビター、及びボロゾール（RIVISOR（登録商標））、メゲストロールアセテート（MEGASE（登録商標））、ファドロゾール及び4（5）-イミダゾールを含む他のアロマターゼインヒビター；黄体形成ホルモン放出ホルモンアゴニスト、例えばロイプロリド（LUPRON（登録商標））及びELIGARD（登録商標））、ゴセレリン、ブセレリン、及びトリプトレリン；性ステロイド、例えばプロゲステロン、例えばメゲストロールアセテート及びメドロキシプロゲステロンアセテート、エストロゲン、例えばジエチルスチルベストロール及びプレマリン、及びアンドロゲン/レチノイド、例えばフルオキシメステロン、全てのトランスレチオニン酸及びフェンレチニド；オナプリストン；抗プロゲステロン；エストロゲン受容体下方制御因子（ERD）；抗アンドロゲン類、例えばフルタミド、ニルタミド及びピカルタミド；及び上記の何れかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体；並びに、上記のうちの2以上の組合せを含む。

#### 【0085】

本明細書における化学療法剤または化学療法レジメンの具体例としては：アルキル化剤（例えば、クロラムブシル、ベンダムスチン、又はシクロホスファミド）；ヌクレオシド類似体又は代謝拮抗薬（例えばフルダラビン）、フルダラビンとシクロホスファミド（FC）；プレドニゾン又はプレドニゾロン；ピンクリスチン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニゾロン（CHOP）、又はシクロホスファミド、プレドニゾロン（CVP）などを含むアルキル化剤含有併用療法を含む。

#### 【0086】

「ターゲット層（target audience）」は、個々の患者、患者集団；新聞、医学文献、雑誌の読者；テレビやインターネットの視聴者；ラジオやインターネットのリスナー；医師、製薬会社など、とりわけ特定の使用、治療、又は適応症について、マーケティング又は広告により、特定の医薬が宣伝されるか又は宣伝されることが意図される人々のグループ又は機関である。

#### 【0087】

「パッケージ挿入物」は、効能、用法、用量、投与、禁忌、パッケージ製品と併用される他の治療用製品、及び/又はそのような治療用製品の使用に関する警告を含む、治療用製品の商用パッケージに慣習的に含まれている説明書を指すために使用される。

#### 【0088】

用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造を包含し、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び、所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。

#### 【0089】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原を結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定されないが、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SHは、F(ab')<sub>2</sub>、ダイアボディ、直鎖状抗体、単鎖抗体分子（例えばscFv）、及び抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

。

## 【 0 0 9 0 】

「親和性成熟」抗体とは、その改変を有していない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性に改良を生じせしめる、その一又は複数の超可変領域（HVR）において一又は複数の改変を持つものである。

## 【 0 0 9 1 】

参照抗体として「同一のエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて50%以上、参照抗体のその抗原への結合をブロックする抗体、逆に競合アッセイにおいて50%以上、その抗体のその抗原への結合をブロックするその参照抗体を指す。

## 【 0 0 9 2 】

用語「キメラ」抗体は、重鎖及び/又は軽鎖の一部が特定の起源又は種から由来し、一方重鎖及び/又は軽鎖の残りが異なる起源又は種から由来する抗体を指す。

10

## 【 0 0 9 3 】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体の5つの主要なクラスがあり：IgA、IgD、IgE、IgG及びIgM、及びこれらのいくつかは、さらにサブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>に、IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>4</sub>、IGA<sub>1</sub>、及びIgA<sub>2</sub>に分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、及び $\mu$ と呼ばれる。

## 【 0 0 9 4 】

本明細書で用いられる「細胞傷害性薬物」という用語は、細胞の機能を阻害又は阻止し及び/又は細胞死又は破壊を生ずる物質を指す。細胞傷害性薬物は、限定されないが、放射性同位体（例えば、At<sup>211</sup>、I<sup>131</sup>、I<sup>125</sup>、Y<sup>90</sup>、Re<sup>186</sup>、Re<sup>188</sup>、Sm<sup>153</sup>、Bi<sup>212</sup>、P<sup>32</sup>、Pb<sup>212</sup>及びLuの放射性同位体）：化学療法剤又は薬物（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカルカロイド（ビンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド）、ドキシソルピシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルピシンまたは他の挿入剤）、成長阻害剤、酵素及びその断片、例えば核酸分解酵素など、抗生物質、小分子毒素などの毒素、又は細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素（それらの断片及び/又はその変異体を含む）、及び以下に開示される様々な抗腫瘍剤又は抗癌剤を包含する。

20

## 【 0 0 9 5 】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより変わる、抗体のFc領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合及び補体依存性細胞傷害（CDC）、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ADCC）、貪食、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）のダウンレギュレーション、及びB細胞の活性化を含む。

30

## 【 0 0 9 6 】

用語「Fc領域」は、定常領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。その用語は、天然配列Fc領域と変異体Fc領域を含む。一実施態様において、ヒトIgG重鎖Fc領域はCys226又はPro230から重鎖のカルボキシル末端まで伸長する。しかし、Fc領域のC末端リジン（Lys447）は存在しているか、又は存在していない場合がある。本明細書に明記されていない限り、Fc領域又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。

40

## 【 0 0 9 7 】

「フレームワーク」又は「FR」は、超可変領域（HVR）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般的に4つのFRのドメイン、FR1、FR2、FR3、及びFR4で構成される。従って、HVR及びFR配列は一般にVH（又はVL）の以下の配列に現れる：FR1 - H1（L1） - FR2 - H2（L2） - FR3 - H

50

3 ( L 3 ) - F R 4。

【 0 0 9 8 】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「全抗体」は、本明細書中で互換的に使用され、天然型抗体構造と実質的に類似の構造を有するか、又は本明細書で定義される F c 領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【 0 0 9 9 】

「ヒト抗体」は、ヒト又はヒト細胞により産生されるか、又はヒト抗体のレパトリー又は他のヒト抗体をコードする配列を利用した非ヒト起源に由来する抗体のそれに対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

10

【 0 1 0 0 】

「ヒト化」抗体は、非ヒト H V R 由来のアミノ酸残基、及びヒト F R 由来アミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。所定の実施態様において、ヒト化抗体は、少なくとも一つ、典型的には2つの可変ドメインの全てを実質的に含み、H V R (例えば、C D R)の全て又は実質的に全てが、非ヒト抗体のものに対応し、全てまたは実質的に F R の全てが、ヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。抗体の「ヒト化型」、例えば、非ヒト抗体は、ヒト化を遂げた抗体を指す。

【 0 1 0 1 】

本明細書で使用される用語「超可変領域」又は「H V R」は、配列が超可変であるか、及び/又は構造的に定義されたループ(「超可変ループ」)を形成する抗体可変ドメインの各領域を指す。一般的に、天然型4鎖抗体は、V H ( H 1、H 2、H 3)に3つ、及び V L ( L 1、L 2、L 3)に3つの6つのH V Rを含む。H V Rは、一般的に超可変ループ由来及び/又は「相補性決定領域」(C D R)由来のアミノ酸残基を含み、後者は、最高の配列可変性であり、及び/又は抗原認識に關与している。典型的な超可変ループはアミノ酸残基 2 6 - 3 2 ( L 1)、5 0 - 5 2 ( L 2)、9 1 - 9 6 ( L 3)、2 6 - 3 2 ( H 1)、5 3 - 5 5 ( H 2)、及び 9 6 - 1 0 1 ( H 3)で生じる。(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)) 典型的な C D R ( C D R - L 1、C D R - L 2、C D R - L 3、C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3)は、アミノ酸残基 L 1の 2 4 - 3 4、L 2の 5 0 - 5 6、L 3の 8 9 - 9 7、H 1の 3 1 - 3 5 B、H 2の 5 0 - 6 5、及び H 3の 9 5 - 1 0 2に生じる。(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)) V Hの C D R 1の例外とともに、C D Rは一般に超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。C D Rは、抗原に接触する残基である「特異性決定残基」又は「S D R」を含む。S D Rは、略称(a b b r e v i a t e d -) C D R、又は a - C D Rと呼ばれる、C D Rの領域内に含まれている。典型的な a - C D R ( a - C D R - L 1、a - C D R - L 2、a - C D R - L 3、a - C D R - H 1、a - C D R - H 2、及び a - C D R - H 3)は、アミノ酸残基 L 1の 3 1 - 3 4、L 2の 5 0 - 5 5、L 3の 8 9 - 9 6、H 1の 3 1 - 3 5 B、H 2の 5 0 - 5 8、及び H 3の 9 5 - 1 0 2に生じる。(Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照); 特

20

30

40

【 0 1 0 2 】

「イムノコンジュゲート」は、1つ以上の異種分子にコンジュゲートした抗体であり、限定されないが、細胞傷害性薬物を含む。

【 0 1 0 3 】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味し、すなわち、例えば、天然に生じる変異を含み、又はモノクローナル抗体製剤の製造時に発生し、一般的に少量で存在している変異体などの、可能性のあ

50

る変異体抗体を除き、集団を構成する個々の抗体は同一であり、及び/又は同じエピトープに結合する。異なる決定基(エピトープ)に対する異なる抗体を一般的に含む、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。従って、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定されないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法を含む様々な技術によって作成され、モノクローナル抗体を作製するためのそのような方法及び他の例示的な方法は、本明細書に記載されている。

10

**【0104】**

「ネイキッド抗体」とは、異種の部分(例えば、細胞傷害性部分)又は放射性標識にコンジュゲートしていない抗体を指す。ネイキッド抗体は薬学的製剤中に存在してもよい。

**【0105】**

「天然型抗体」は、天然に生じる様々な構造をとる免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然型IgG抗体は、ジスルフィド結合している2つの同一の軽鎖と2つの同一の重鎖から成る約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端に、各重鎖は、可変重鎖ドメイン又は重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VH)を有し、3つの定常ドメイン(CH1、CH2およびCH3)が続く。同様に、N末端からC末端に、各軽鎖は、可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域(VL)を有し、定常軽鎖(CL)ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ( )とラムダ( )と呼ばれる、2つのタイプのいずれかに割り当てることができる。

20

**【0106】**

用語「薬学的製剤」は、医薬の生物学的活性を許容するような形態であって、製剤を投与する被検体にとって許容できない毒性である他の成分を含まない無菌調製物を指す。

**【0107】**

「無菌」製剤は、無菌であるか又は全ての生きている微生物及びそれらの孢子が無い。

**【0108】**

「キット」は、少なくとも1つの試薬、例えば、癌(例えば、NCSCまたはトリプルネガティブ乳癌)の治療のための医薬、又は本発明のバイオマーカー遺伝子またはタンパク質を特異的に検出するための試薬(例えば抗体)を含んでなる任意の製品(パッケージ又は容器など)である。製品は、好ましくは、本発明の方法を実施するためのユニットとして、宣伝され、配布され又は販売される。

30

**【0109】**

「薬学的に許容される担体」は、被検体に非毒性であり、有効成分以外の製剤処方中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、限定されないが、緩衝剤、賦形剤、安定剤、又は保存剤を含む。

**【0110】**

「参照ポリペプチド配列に関する「パーセント(%)アミノ酸配列同一性」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入した後、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、参照ポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegalign(DNASTAR)ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用する

40

50

ことによって生成される。ALIGN - 2 配列比較コンピュータプログラムはジェネテック社によって作製され、ソースコードは米国著作権庁、ワシントン D . C . , 2 0 5 5 9 に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号 T X U 5 1 0 0 8 7 の下で登録されている。ALIGN - 2 もまた、ジェネテック社、サウスサンフランシスコ、カリフォルニアから公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルすることができる。ALIGN - 2 プログラムは、デジタル UNIX の V 4 . 0 D を含む、UNIX オペレーティングシステム上での使用のためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN - 2 プログラムによって設定され変動しない。

#### 【0111】

アミノ酸配列比較に ALIGN - 2 が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列 A の、与えられたアミノ酸配列 B との、又はそれに対する % アミノ酸配列同一性（或いは、与えられたアミノ酸配列 B と、又はそれに対して所定の % アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列 A と言うこともできる）は次のように計算される：

分率  $X / Y$  の 100 倍

ここで、 $X$  は配列アラインメントプログラム ALIGN - 2 により、A と B のそのプログラムのアラインメントにおいて同一と一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、 $Y$  は B の全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列 A の長さがアミノ酸配列 B の長さ異なる場合、A の B に対する % アミノ酸配列同一性は、B の A に対する % アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。特に断らない限り、本明細書で使用されるすべての % アミノ酸配列同一性値が、ALIGN - 2 コンピュータプログラムを使用し、直前の段落で説明したように、得られる。

#### 【0112】

##### II . 癌の医薬

一態様において、本発明は、本明細書に開示された一以上のバイオマーカーの発現に基づいて、癌の医薬を用いて治療することができる患者を選別することに関係する。癌の医薬の例としては、限定されないが、以下を含む：

- 抗 c - m e t 抗体を含む c - m e t アンタゴニスト
- 化学療法薬および化学療法レジメン
- N S C L C などの癌の治療のために承認されたか開発中の他の薬剤又はそれらの組み合わせ。

#### 【0113】

一実施態様において、医薬は、例えば c - m e t に対する又は結合する抗体である。抗体は、本明細書では、キメラ抗体、ヒト化抗体又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体が含まれる。一実施態様において、抗体は、抗体断片、例えば、F v、F a b、F a b'、片腕型抗体、s c F v、ダイアボディ、又は F ( a b' )<sub>2</sub> 断片である。その他の態様において、抗体は、全長抗体、例えば、インタクトな I g G 1 抗体、又は本明細書において定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。一実施態様では、抗体は一価である。別の実施態様において、抗体は F c 領域を含む片腕型抗体（すなわち、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは単一の抗原結合の腕を形成する）であり、F c 領域は第一及び第二の F c ポリペプチドを含み、第一及び第二の F c ポリペプチドは複合体で存在し、前記抗原結合の腕を含む F a b 分子と比較して前記抗体断片の安定性を増加させた F c 領域を形成する。片腕型抗体は一価であり得る。

#### 【0114】

一実施態様において、c - m e t アンタゴニストは抗 c - m e t 抗体である。別の実施態様において、抗 c - m e t 抗体は M e t M A b ( オナルツズマブ ( o n a r t u z u m a b ) ) 又はその後発生物製剤型である。M e t M A b は、例えば、国際公開第 2 0 0 6 / 0 1 5 3 7 1 号 ; J i n e t a l , C a n c e r R e s ( 2 0 0 8 ) 6 8 : 4 3 6 0 に開示される。別の実施態様において、抗 c - m e t 抗体は ( a ) 配列 G Y T F T S Y W L H ( 配列番号 1 ) を含む H V R 1 ; ( b ) 配列 G M I D P S N S D T R F N P N F K D ( 配列番号 2 ) を含む H V R 2 ; 及び / 又は配列 A T Y R S Y V T P L D Y ( 配列番号 3 ) を含む H V R 3 - H C の一

10

20

30

40

50

以上を含む重鎖可変ドメインを含む。幾つかの実施態様において、抗体は ( a ) 配列 K S S Q S L L Y T S S Q K N Y L A ( 配列番号 4 ) を含む H V R 1 - L 1 ; ( b ) 配列 W A S T R E S ( 配列番号 5 ) を含む H V R 2 - L C ; 及び / 又は配列 Q Q Y Y A Y P W T ( 配列番号 6 ) を含む H V R 3 - L C の一以上を含む軽鎖可変ドメインを含む。一実施態様において、抗 c - m e t 抗体は、 ( a ) 配列 G Y T F T S Y W L H ( 配列番号 1 ) を含む H V R 1 ; ( b ) 配列 G M I D P S N S D T R F N P N F K D ( 配列番号 2 ) を含む H V R 2 ; 及び ( c ) 配列 A T Y R S Y V T P L D Y ( 配列番号 3 ) を含む H V R 3 - H C を含む重鎖可変ドメイン ; 及び ( a ) 配列 K S S Q S L L Y T S S Q K N Y L A ( 配列番号 4 ) を含む H V R 1 - L C ; ( b ) 配列 W A S T R E S ( 配列番号 5 ) を含む H V R 2 - L C ; 及び ( c ) 配列 Q Q Y Y A Y P W T ( 配列番号 6 ) を含む H V R 3 - L C を含む軽鎖可変ドメインを含む。

10

## 【 0 1 1 5 】

上記実施態様の何れかにおいて、抗 c - m e t 抗体はヒト化されている。一実施態様において、抗 c - m e t 抗体は、上記実施態様の何れかにおける H V R を含み、更に、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを含む。

## 【 0 1 1 6 】

その他の態様において、抗 c - m e t 抗体は、配列番号 7 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 % , 9 1 % , 9 2 % , 9 3 % , 9 4 % , 9 5 % , 9 6 % , 9 7 % , 9 8 % , 9 9 % 、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン ( V H ) 配列を含む。ある実施態様において、少なくとも 9 0 % , 9 1 % , 9 2 % , 9 3 % , 9 4 % , 9 5 % , 9 6 % , 9 7 % , 9 8 % 、又は 9 9 % の同一性を有する V H 配列は、参照配列に対して置換 ( 例えば保存的置換 ) 、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗 c - m e t 抗体は、ヒト c - m e t へ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号 7 において、合計 1 から 1 0 のアミノ酸が、置換、変更、挿入及び / 又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、H V R 外の ( すなわち F R 内の ) 領域で生じる。任意で、抗 c - m e t 抗体は、配列番号 7 の V H 配列を、その配列の翻訳後修飾を含み、含む。

20

## 【 0 1 1 7 】

その他の態様において、配列番号 8 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 % , 9 1 % , 9 2 % , 9 3 % , 9 4 % , 9 5 % , 9 6 % , 9 7 % , 9 8 % , 9 9 % 、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン ( V L ) を含む、抗 c - m e t 抗体が提供される。ある実施態様において、少なくとも 9 0 % , 9 1 % , 9 2 % , 9 3 % , 9 4 % , 9 5 % , 9 6 % , 9 7 % , 9 8 % 、又は 9 9 % の同一性を有する V L 配列は、参照配列に対して置換 ( 例えば保存的置換 ) 、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗 c - m e t 抗体は、c - m e t へ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号 8 において、合計 1 から 1 0 のアミノ酸が、置換、挿入及び / 又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、H V R 外の ( すなわち F R 内の ) 領域で生じる。任意で、抗 c - m e t 抗体は、配列番号 8 の V L 配列を、その配列の翻訳後修飾を含み、含む。

30

## 【 0 1 1 8 】

更に別の実施態様において、抗 c - m e t 抗体は、配列番号 8 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % , 9 1 % , 9 2 % , 9 3 % , 9 4 % , 9 5 % , 9 6 % , 9 7 % , 9 8 % , 9 9 % , 又は 1 0 0 % の配列同一性を有する V L 領域、及び配列番号 7 のアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 % , 9 1 % , 9 2 % , 9 3 % , 9 4 % , 9 5 % , 9 6 % , 9 7 % , 9 8 % , 9 9 % , 又は 1 0 0 % の配列同一性を有する V H 領域を含む。更なる実施態様において、抗 c - m e t 抗体は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1 ; 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2 ; 配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3 ; 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1 ; 配列番号 5 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2 ; 及び配列番号 6 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

40

## 【 0 1 1 9 】

50

その他の態様において、抗 c - m e t 抗体が提供され、その抗体は、上記に与えられた実施態様の何れかにある V H、及び上記に与えられた実施態様の何れかにある V L を含む。

【 0 1 2 0 】

更なる態様において、本発明は、本明細書に与えられた抗 c - m e t 抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、ある実施態様において、配列番号 7 の V H 配列及び配列番号 8 の V L 配列を含む抗 c - m e t 抗体と同じエピトープに結合するか、又は該抗体により競合的に阻害されうる抗体が提供される。

【 0 1 2 1 】

本発明の更なる態様では、上記実施態様のいずれかに記載の抗 c - m e t 抗体は、一価、キメラ、ヒト化又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体である。一実施態様において、抗 c - m e t 抗体は、抗体断片、例えば、片腕型、F v、F a b、F a b'、s c F v、ダイアボディ、又は F ( a b' )<sub>2</sub> 断片である。その他の態様において、抗体は、全長抗体、例えば、インタクトな I g G 1 又は I g G 4 抗体、又は本明細書において定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。その他の実施態様において、抗体は二重特異性抗体である。一実施態様において、二重特異性抗体は、上述された V H 領域及び V L 領域を含むか又は H V R を含む。

【 0 1 2 2 】

幾つかの実施態様において、抗 c - m e t 抗体は一価であり、( a ) 配列：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T S Y W L H W V R Q A P G K G L E W V G M I D P S N S D T R F N P N F K D R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A T Y R S Y V T P L D Y W G Q G T L V T V S S ( 配列番号 7 ) を有する重鎖可変ドメイン、C H 1 配列、及び第一の F c ポリペプチドを含む第一のポリペプチド；( b ) 配列：D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K S S Q S L L Y T S S Q K N Y L A W Y Q Q K P G K A P K L L I Y W A S T R E S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q Y Y A Y P W T F G Q G T K V E I K R ( 配列番号 8 ) を有する軽鎖可変ドメイン、及び C L 1 配列を含む第二のポリペプチド；及び( c ) 第二の F c ポリペプチドを含む第三のポリペプチドを含み、重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインは複合体として存在して単一の抗原結合の腕を形成し、第一及び第二の F c ポリペプチドは複合体として存在し、前記抗原結合の腕を含む F a b 分子と比較して、前記抗体断片の安定性を増加させた F c 領域を形成する。幾つかの実施態様において、第一のポリペプチドは、F c 配列 C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L V S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K ( 配列番号 9 ) を含み、第二のポリペプチドは、F c 配列 C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L W C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K ( 配列番号 10 ) を含む。

【 0 1 2 3 】

その他の実施態様において、抗 c - m e t 抗体が一価であり、( a ) 重鎖を含む第一のポリペプチドであって、配列：E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G Y T F T S Y W L H W V R Q A P G K G L E W V G M I D P S N S D T R F N P N F K D R F T I S A D T S K N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A T Y R S Y V T P L D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C

L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S  
V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H  
T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V  
D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S  
V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R  
E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L S C A V K G F Y P S D I A V E W E S N  
G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L V S K L T V D K S R W Q Q G N V F S  
C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K ( 配列番号 1 1 ) を含む該ポリペプチ  
ド ; ( b ) 軽鎖を含む第二のポリペプチドであって、配列 D I Q M T Q S P S S L S A S  
V G D R V T I T C K S S Q S L L Y T S S Q K N Y L A W Y Q Q K P G K A P K L L I  
Y W A S T R E S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C  
Q Q Y Y A Y P W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G  
T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S  
K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S  
F N R G E C ( 配列番号 1 2 ) を含むポリペプチド ; 及び F c 配列を含む第三のポリペ  
チドであって、配列 D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L  
M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P  
R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P  
I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L W C L V K G  
F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T  
V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K ( 配列番  
号 1 3 ) を含むポリペプチドを含み、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインが複合体と  
して存在し、単一の抗原結合の腕を形成し、第一及び第二の F c ポリペプチドが複合体中  
に存在し、前記抗原結合の腕を含む F a b 分子と比較して前記抗体断片の安定性を増加さ  
せた F c 領域を形成する。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 4 】

本発明の方法における使用に適した別の抗 c - m e t 抗体が本明細書に記載され、当技  
術分野で知られている。例えば、国際公開第 0 5 / 0 1 6 3 8 2 号に開示された抗 c - m  
e t 抗体 ( 限定されないが抗体 1 3 . 3 . 2 , 9 . 1 . 2 , 8 . 7 0 . 2 , 8 . 9 0 . 3  
を含む ) ; ジェノアの C B A で I C L C 番号 P D 0 3 0 0 1 により寄託されたハイブリ  
ドーマ細胞株により産生される抗 c - m e t 抗体、又は H G F レセプターの 鎖の細胞外  
ドメイン上のエピトープを認識し、前記エピトープがモノクローナル抗体により認識され  
るものと同じである抗 c - m e t 抗体 ; 国際公開第 2 0 0 7 / 1 2 6 7 9 9 号に開示され  
た抗 c - m e t 抗体 ( 限定されないが 0 4 5 3 6 , 0 5 0 8 7 , 0 5 0 8 8 , 0 5 0 9 1  
, 0 5 0 9 2 , 0 4 6 8 7 , 0 5 0 9 7 , 0 5 0 9 8 , 0 5 1 0 0 , 0 5 1 0 1 , 0 4 5  
4 1 , 0 5 0 9 3 , 0 5 0 9 4 , 0 4 5 3 7 , 0 5 1 0 2 , 0 5 1 0 5 , 0 4 6 9 6 , 0  
4 6 8 2 を含む ) ; 国際公開第 2 0 0 9 / 0 0 7 4 2 7 号に開示された抗 c - m e t 抗体  
( 限定されないが、C N C M、パスツール研究所 ( フランス、パリ ) に 2 0 0 7 年 3 月 1  
4 日に番号 I - 3 7 3 1 で、2 0 0 7 年 3 月 1 4 日に番号 I - 3 7 3 2 で、2 0 0 7 年 7  
月 6 日に番号 I - 3 7 8 6 で、2 0 0 7 年 3 月 1 4 日に番号 I - 3 7 2 4 で寄託された抗  
c - m e t 抗体 ) ; 2 0 1 1 0 1 2 9 4 8 1 に開示された抗 c - m e t 抗体 ; 米国特許出  
願公開第 2 0 1 1 0 1 0 4 1 7 6 号に開示された抗 c - m e t 抗体 ; 国際公開第 2 0 0 9  
/ 1 3 4 7 7 6 号に開示された抗 c - m e t 抗体 ; 国際公開第 2 0 1 0 / 0 5 9 6 5 4 号  
に開示された抗 c - m e t 抗体 ; 国際公開第 2 0 1 1 0 2 0 9 2 5 号に開示された抗 c -  
m e t 抗体 ( 限定されないが、C N C M、パスツール研究所 ( フランス、パリ ) に 2 0 0  
8 年 3 月 1 2 日に番号 I - 3 9 4 9 で寄託されたハイブリドーマから分泌される抗体、及  
び 2 0 1 0 年 1 月 1 4 日に番号 I - 4 2 7 3 で寄託されたハイブリドーマから分泌され  
る抗体 ) 。

【 0 1 2 5 】

一態様において、抗 c - m e t 抗体は、抗体断片内の F c 配列のホモ 2 量体化を最小に

しつ、ヘテロ2量体化を促進する少なくとも一つの特性を含む。そうした特徴は免疫グロブリン集団の収率及び/又は純度及び/又は均一性を改良する。一実施態様では、国際公開第2005/063816号に記述されるように、抗体は、「ノブ(knob)」及び「ホール(hole)」を構成するFc突然変異を含む。例えば、ホール(hole)突然変異は、Fcポリペプチド内のT366A、L368A及び/又はY407Vの一又は複数でありえ、キャビティ(cavity)突然変異はT366Wでありうる。

【0126】

幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストは抗肝細胞増殖因子(HGF)抗体、例えば、ヒト化抗HGF抗体TAK701、リロツムマブ(rilotumumab)、フィクラツズマブ(ficlatusumab)、及び/又は国際公開第2007/143090号に記載されるヒト化抗体2B8である。幾つかの実施態様において、抗HGF抗体は米国特許第7718174B2号に記載された抗HGF抗体である。

10

【0127】

幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストは、c-met小分子阻害剤である。幾つかの実施態様において、c-met小分子阻害剤は、選択的c-met小分子阻害剤である。

【0128】

一実施態様において、c-metアンタゴニストはc-met細胞外ドメインに結合する。幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストはc-metのキナーゼドメインに結合する。幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストは肝細胞増殖因子(HGF)とc-met結合について競合する。幾つかの実施態様において、c-metアンタゴニストはHGFに結合する。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、細胞増殖、例えば、細胞株EBC-1、H441および/またはKP4のHGF誘導性細胞増殖を阻害する。幾つかの実施態様において、細胞増殖はKiが600nM以下(より強力)、500nM以下、400nM以下、300nM以下又はより強力に阻害される。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、EBC-1細胞が10%ウシ胎児血清の存在下においてc-metアンタゴニストで処置されたときに、c-metシグナル伝達(例えば、ホスホc-met、ホスホAKT、ホスホMAPK)を阻害する。幾つかの実施態様において、c-metシグナル伝達はKiが600nM以下(より強力)、500nM以下、400nM以下、300nM以下(より強力)に阻害される。

20

30

【0129】

ある実施態様において、c-metアンタゴニストは扁平上皮癌を治療する(治療が可能である)。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは野生型k-rasを発現するNSCLCを治療する(治療が可能である)。

【0130】

ある実施態様において、c-met阻害剤は、非ATP競合性小分子ではない。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、細胞増殖、例えば、細胞株EBC-1、H441および/またはKP4のHGF誘導性細胞増殖を阻害する。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、EBC-1細胞が10%ウシ胎児血清の存在下においてc-metアンタゴニストで処置されたときに、c-metシグナル伝達(例えば、ホスホc-met、及び下流のc-metシグナル伝達経路、例えばホスホAKT、ホスホMAPK)を阻害する。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは(外因性HGFの存在下または非存在下で)細胞株MDA-MB-231及びHT29の細胞増殖を阻害しない。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、10%ウシ胎児血清の存在下で、細胞株MDA-MB-231及びHT29の細胞増殖を阻害しない。細胞増殖をアッセイするための方法は当技術分野でよく知られており、幾つかの方法が、国際公開第2009/111691号;国際公開第2006/015371号;及びJin et al, Cancer Res (2008) 68:4360に記載されている。

40

【0131】

ある実施態様において、c-metアンタゴニストは扁平上皮癌を治療する(治療が可

50

能である)。ある実施態様において、c - metアンタゴニストは野生型k - r a sを発現するNSCLCを治療する(治療が可能である)。ある実施態様において、c - metアンタゴニストはチバンチニブ(ARQ - 197)でない。特定の実施態様では、c - metアンタゴニストは、c - metシグナル伝達を、IC50が1,000nM以下(すなわちより強力)で阻害する。その他の実施態様において、c - metアンタゴニストは、c - metシグナル伝達を、IC50が400nM以下、500nM以下、600nM以下、700nM以下で阻害する。別の実施態様では、c - metアンタゴニストは、c - metシグナル伝達を、IC50が50nM以下で阻害する。ある実施態様において、c - metアンタゴニストはクリゾチニブ(crizotinib)でない。ある実施態様において、c - metアンタゴニストはフォレチニブ(foretinib)でない。ある実施態様において、c - metアンタゴニストはフィクラツズマブ(ficlatuzumab)でない。

10

## 【0132】

ある実施態様において、c - metアンタゴニストは、SGX - 523、クリゾチニブ(PF - 02341066; 3 - [(1R) - 1 - (2,6 - ジクロロ - 3 - フルオロフェニル)エトキシ] - 5 - (1 - ピペリジン - 4 - イルピラゾール - 4 - イル)ピリジン - 2 - アミン; CAS番号877399 - 52 - 5); JNJ - 38877605 (CAS番号943540 - 75 - 8), BMS - 698769、PHA - 665752 (ファイザー)、SU5416、INC - 280 (Incyte、SU11274 (Sugen; [(3Z) - N - (3 - クロロフェニル) - 3 - ({3,5 - ジメチル - 4 - [(4 - メチルピペラジン - 1 - イル)カルボニル] - 1H - ピロール - 2 - イル}メチレン) - N - メチル - 2 - オキソインドリン - 5 - スルホンアミド; CAS番号658084 - 23 - 2]) Foretinib (GSK1363089)、XL880 (CAS番号849217 - 64 - 7; XL880はmetとVEGFR2とKDRの阻害剤である); MGCD - 265 (MethylGene; MGCD - 265はc - met、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、Ron及びTie - 2レセプターを標的にする; CAS番号875337 - 44 - 3)、チバンチニブ(ARQ 197; (-) - (3R, 4R) - 3 - (5,6 - ジヒドロ - 4H - ピロロ[3,2,1 - ij]キノリン - 1 - イル) - 4 - (1H - インドール - 3 - yl)ピロリジン - 2,5 - ジオン; Munchi et al, Mol Cancer Ther June 2010 9;1544を参照; CAS番号905854 - 02 - 6), LY - 2801653 (Lilly), LY2875358 (Lilly), MP - 470, リロツムマブ(AMG102, 抗HGFモノクローナル抗体), 抗体223C4又はヒト化抗体223C4 (国際公開第2009/007427号), ヒト化L2G7 (ヒト化TAK701; ヒト化抗HGFモノクローナル抗体); EMD1214063 (Merck Sorono), EMD 1204831 (Merck Sorono), NK4, カボザンチニブ(Cabozantinib) (XL - 184, CAS番号849217 - 68 - 1; カボザンチニブ(carbozantinib)はmetとVEGFR2の二重阻害剤である), MP - 470 (SuperGen; c - KIT, MET, PDGFR, Flt3, 及びAXLの新規阻害剤), Comp - 1, フィクラツズマブ(Ficlatuzumab) (AV - 299; 抗HGFモノクローナル抗体), E7050 (Cas番号1196681 - 49 - 8; E7050は二重のc - metとVEGFR2阻害剤である(Esai); MK - 2461 (Merck; N - ((2R) - 1,4 - ジオキサン - 2 - イルメチル) - N - メチル - N' - [3 - (1 - メチル - 1H - ピラゾール - 4 - イル) - 5 - オキソ - 5H - ベンゾ[4,5]シクロヘプタ[1,2 - b]ピリジン - 7 - イル]スルファミド; CAS番号917879 - 39 - 1); MK8066 (Merck), PF4217903 (Pfizer), AMG208 (Amgen), SGX - 126, RP1040, LY2801653, AMG458, EMD637830, BAY - 853474, DP - 3590の何れか一である。

20

30

40

## 【0133】

ある実施態様において、c - metアンタゴニストは、クリゾチニブ(crizoti

50

nib)、チバンチニブ(tivantinib)、カボザンチニブ(carbozantinib)、MGCD-265、フィクラツズマブ(ficlatuzumab)、ヒト化TAK-701、リロツムマブ(rilotumumab)、フォレチニブ(foretinib)、h224G11、DN-30、MK-2461、E7050、MK-8033、PF-4217903、AMG208、JNJ-38877605、EMD1204831、INC-280、LY-2801653、SGX-126、RP1040、LY2801653、BAY-853474、及び/又はLA480である。ある実施態様において、c-metアンタゴニストは、クリゾチニブ(crizotinib)、チバンチニブ(tivantinib)、カボザンチニブ(carbozantinib)、MGCD-265、フィクラツズマブ(ficlatuzumab)、ヒト化TAK-701、リロツムマブ(rilotumumab)、及び/又はフォレチニブ(foretinib)の何れか一か又は複数である。

10

## 【0134】

EGFRアンタゴニストには、例えばニモツズマブ(YM Biosciences)として知られているヒト化モノクローナル抗体、全長ヒトABX-EGF(パニツムマブ、Abgenix Inc.)、並びにE1.1、E2.4、E2.5、E6.2、E6.4、E2.11、E6.3及びE7.6.3として知られており、米国特許第6,235,883号に記載の全長ヒト抗体;MDX-447(Medarex Incが)含まれる。ベルツズマブ(2C4)はHER2に直接結合するが、HER2-EGFR二量体化に干渉し、よってEGFRシグナル伝達を阻害するヒト化抗体である。EGFRに結合する抗体の他の例は、MAb579(ATCC CRL HB 8506)、MAb455(ATCC CRL HB 8507)、MAb225(ATCC CRL 8508)、MAb528(ATCC CRL 8509)(米国特許第4943533号、Mendelsohn等を参照)及びその変異体、例えばキメラ化225(C225又はセツキシマブ;ERBITUX(登録商標))及び再形成ヒト225(H225)(国際公開第96/40210号、Imclone Systems Inc.を参照);IMC-11F8,完全ヒトEGFR標的抗体(Imclone);タイプII変異体EGFRに結合する抗体(米国特許第5212290号);米国特許第5891996号に記載されているようなEGFRに結合するヒト化及びキメラ化抗体;及びEGFRに結合するヒト抗体、例えばABX-EGF(国際公開第98/50433,Abgenixを参照);EMD55900(Stragliotto等 Eur.J. Cancer 32A:636-640 (1996));EMD7200(マツズマブ),EGFR結合についてEGF及びTGF- 双方と競合するEGFRに対するヒト化EGFR及びmAb806又はヒト化mAb806(Johns等, J. Biol. Chem. 279(29):30375-30384 (2004))を含む。抗EGFR抗体は細胞傷害剤とコンジュゲートされ得、よってイムノコンジュゲートを生じる(例えば、欧州特許出願公開第659439A2号,Merck Patent GmbHを参照)。

20

30

## 【0135】

本発明の方法において有用な抗EGFR抗体は、EGFRに十分な親和性と特異性で結合し、EGFR活性を減少又は阻害することができる任意の抗体が含まれている。選択される抗体は通常EGFRに十分に強い結合親和性を有し、例えば、抗体はヒトc-metにKd値が100nMから1pMの間で結合し得る。抗体の親和性は、表面プラズモン共鳴に基づくアッセイ(例えばPCT出願公開番号第2005/012359号に記載されてピアコアアッセイなど);酵素結合免疫吸着検定法(ELISA);及び競合アッセイ(例えばRIA)により決定することができる。好ましくは、本発明の抗EGFR抗体は、EGFR/EGFRリガンドの活性が関与している疾患又は症状を標的とすること及び妨げることに於ける治療剤として使用することができる。また、抗体は、例えば治療としての有効性を評価するために、他の生物学的活性アッセイを施してもよい。このようなアッセイは、当技術分野で公知であり、標的抗原に依存し、抗体としての使用を意図している。

40

## 【0136】

50

二重特異性抗体は、少なくとも二つの異なるエピトープに対して結合特異性を有する抗体である。例示的な二重特異性抗体は、EGFR及びc-metに結合しうる。他の例において、二重特異性抗体は、同じタンパク質、例えばc-metタンパク質の二つの異なるエピトープに結合しうる。また、c-met又はEGFRは、c-met又はEGFR発現細胞に対する細胞防御メカニズムを集中させるように、FcRI(CD64)、FcRII(CD32)及びFcRIII(CD16)等のIgG(FcR)に対するFcレセプター、又はT細胞レセプター分子(例えばCD2又はCD3)等の白血球上のトリガー分子に結合するアームと結合しうる。また、二重特異性抗体は、c-met又はEGFRを発現する細胞に細胞傷害剤を局在化するためにも使用されうる。これらの抗体は、EGFR又はc-met結合アーム、及び細胞傷害剤(例えば、サボリン(saporin)、抗インターフェロン- $\alpha$ 、ピンカアルカロイド、リシンA鎖、メトトレキサート又は放射性同位体ハプテン)と結合するアームを有する。二重特異性抗体は全長抗体又は抗体断片(例えばF(ab')<sub>2</sub>二重特異性抗体)として調製することができる。一実施態様において、二重特異性抗体は、米国特許出願公開第20100254989A号に開示された二重特異性MET-EGFR抗体の何れかである。

10

## 【0137】

また、EGFRアンタゴニストには、小分子、例えば米国特許第5616582号、米国特許第5457105号、米国特許第5475001号、米国特許第5654307号、米国特許第5679683号、米国特許第6084095号、米国特許第6265410号、米国特許第6455534号、米国特許第6521620号、米国特許第6596726号、米国特許第6713484号、米国特許第5770599号、米国特許第6140332号、米国特許第5866572号、米国特許第6399602号、米国特許第6344459号、米国特許第6602863号、米国特許第6391874号、国際公開第9814451号、国際公開第9850038号、国際公開第9909016号、国際公開第9924037号、国際公開第9935146号、国際公開第0132651号、米国特許第6344455号、米国特許第5760041号、米国特許第6002008号、米国特許第5747498号に記載されている化合物が含まれる。特定の小分子EGFRアンタゴニストには、OSI-774(CP-358774、エルロチニブ、OSI Pharmaceuticals); PD183805(CI1033、2-プロペンアミド、N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-7-[3-(4-モルホリニル)プロポキシ]-6-キナゾリニル]-、二塩酸塩、Pfizer Inc.); Iressa(登録商標)(ZD1839、ゲフィチニブ、AstraZeneca); ZM105180((6-アミノ-4-(3-メチルフェニル-アミノ)-キナゾリン、Zeneca); BIBX-1382(N8-(3-クロロ-4-フルオロ-フェニル)-N2-(1-メチル-ピペリジン-4-イル)-ピリミド[5,4-d]ピリミジン-2,8-ジアミン、Boehringer Ingelheim); PKI-166((R)-4-[4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-1H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェノール); (R)-6-(4-ヒドロキシフェニル)-4-[(1-フェニルエチル)アミノ]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン); CL-387785(N-[4-[(3-プロモフェニル)アミノ]-6-キナゾリニル]-2-ブチナミド); EKB-569(N-[4-[(3-クロロ-4-フルオロフェニル)アミノ]-3-シアノ-7-エトキシ-6-キノリニル]-4-(ジメチルアミノ)-2-ブテナミド); ラパチニブ(Tykerb, GlaxoSmithKline); ZD6474(Zactima, AstraZeneca); CUDC-101(Curis); カネルチニブ(CI-1033); AEE788(6-[4-[(4-エチル-1-ピペラジニル)メチル]フェニル]-N-[(1R)-1-フェニルエチル]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-4-アミン、国際公開第2003013541号、Novartis)及びPKI1664-[4-[[1R)-1-フェニルエチル]アミノ]-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル]-フェノール、国際公開第9702266号、Novartis)が含まれる。

20

30

40

50

## 【0138】

一実施態様において、抗体、例えば、本明細書の方法で使用される抗体は、以下のセクション1-6で説明されるように、単独または組み合わせで任意の特徴を組み込むことができる：

## 【0139】

## 1. 抗体断片

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、限定されないが、Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 及びscFv断片、片腕型抗体及び下記の他の断片を含む。所定の抗体断片の総説については、Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003)を参照。scFv断片の総説については、例えば、Pluckthuen, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994)を参照；また、国際公開第93/16185号；及び米国特許第5,571,894号及び第5,587,458号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させたFab及びF(ab')<sub>2</sub>断片の議論については、米国特許第5869046号を参照のこと。

10

## 【0140】

ダイアポディは2価または二重特異性であり得る2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第404,097号；国際公開第1993/01161号；Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)を参照。トリアポディ及びテトラポディもまたHudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)に記載されている。

20

## 【0141】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。ある実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である(Domantis, Inc., Waltham, MA；例えば、米国特許第6,248,516 B1号を参照)。

## 【0142】

片腕型抗体(すなわち重鎖可変領域および軽鎖可変ドメインは単一の抗原結合の腕を形成する)は例えば国際公開第2005/063816号；Martens et al, Clin Cancer Res (2006), 12:6144に開示される。拮抗的機能を必要とする病的状態の治療のために、抗体の2価性が望まれないアゴニスト作用をもたらす場合、片腕型抗体(すなわち単一の抗原結合の腕を含む抗体)の一価の特性が、ターゲット分子に対する抗体の結合に際し拮抗的機能をもたらすか及び/又は確実にする。更に、Fc領域を含む片腕型抗体は、類似した/実質的に同一の抗原結合特性を有するFab形態と比較して、優れた薬物動態学的性質(例えばインビボでの拡張された半減期および/またはクリアランス速度の減少など)によって特徴付けられ、従って従来の一価Fab抗体の使用における主要な欠点を克服している。片腕型抗体を作成する技術は、限定されないが、「knob-in-hole」エンジニアリング(米国特許第5,731,168号)を含む。MetMAbは片腕型抗体の例である。[別の片腕型の一価形態を追加？ Genmab？]

30

40

## 【0143】

抗体断片は様々な技術で作成することができ、限定されないが、本明細書に記載するように、インタクトな抗体の分解、並びに組換え宿主細胞(例えば、大腸菌又はファージ)による生産を含む。

## 【0144】

## 2. キメラ及びヒト化抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体が、例えば、米国特許第4,816,567号、及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域(例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサル等の非

50

ヒト霊長類由来の可変領域)及びヒト定常領域を含む。更なる例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更された「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

#### 【0145】

ある実施態様において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減するために、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持したまま、ヒト化されている。一般に、ヒト化抗体は、HVR、例えば、CDR(またはその一部)が、非ヒト抗体から由来し、FR(またはその一部)がヒト抗体配列に由来する、一以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部をも含む。幾つかの実施態様において、ヒト化抗体の幾つかのFR残基は、抗体特異性又は親和性を回復もしくは改善するために、非ヒト抗体(例えば、HVR残基が由来する抗体)由来の対応する残基で置換されている。

10

#### 【0146】

ヒト化抗体およびそれらの製造方法は、例えば、Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)に総説され、更に、Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); Queen et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 86:10029-10033 (1989); 米国特許第5,821,337, 7,527,791, 6,982,321, 及び7,087,409; Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005) (SDR(a-CDR)グラフィティングを記述); Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489-498 (1991) (「リサーフェシング」を記述); Dall'Acqua et al., *Methods* 36:43-60 (2005) (「FRシャッフリング」を記述); 及びOsborn et al., *Methods* 36:61-68 (2005) 及びKlimka et al., *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (2000) (FRのシャッフリングへの「誘導選択」アプローチを記述)に記載されている。

20

#### 【0147】

ヒト化に用いられ得るヒトフレームワーク領域は、限定されないが、「ベストフィット」法を用いて選択されるフレームワーク領域(例えば、Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); 軽鎖または重鎖の可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域(例えば、Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); 及びPresta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)を参照); ヒト成熟(体細胞変異)フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域(例えば、Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)を参照); 及びFRライブラリスクリーニング由来のフレームワーク領域(例えば、Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997)及びRosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)を参照)を含む。

30

#### 【0148】

### 3. ヒト抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を用いて生産することができる。ヒト抗体は一般的にvan Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) 及びLonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)に記載されている。

40

#### 【0149】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答して、インタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を持つ又はインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することにより調製することができる。このような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、又は染色体外に存在するかもしくは動物の染色体にランダムに組み込まれている、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含む。このようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般的に不活性化される。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)を参照。また、例えば、XENOMOUSE<sup>TM</sup>技術を記載している、米国特許第6,075,181号及び6,150,58

50

4号; HuMa b (登録商標) 技術を記載している米国特許第5,770,429号; K-M M O U S E (登録商標) 技術を記載している米国特許第7,041,870号及び、V e l o c i M o u s e (登録商標) 技術を記載している米国特許出願公開第2007/0061900号)を参照。このような動物で生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより、更に改変される可能性がある。

#### 【0150】

ヒト抗体は、ハイブリドーマベース法によって作成することができる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス-ヒトヘテロ細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987);及びBoerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照)ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体はまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)に記載されている。更なる方法は、例えば、米国特許第7,189,826号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)(ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している)に記載されたものを含む。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)もまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005)及びVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)に記載される。

10

20

#### 【0151】

ヒト抗体はまた、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成され得る。このような可変ドメイン配列は、次に所望のヒト定常ドメインと組み合わせてもよい。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技術が、以下に説明される。

#### 【0152】

##### 4. ライブラリー由来の抗体

本発明の抗体は、所望の活性または活性(複数)を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離することができる。例えば、様々な方法が、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてのライブラリーをスクリーニングするために、当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に総説され、更に、例えば、McCafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004);及びLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)に記載されている。

30

40

#### 【0153】

特定のファージディスプレイ法において、VH及びVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により個別にクローニングされ、ファージライブラリーにランダムに再結合され、その後、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、通常、抗体断片を、単鎖Fv(scFv)断片、またはFab断片のいずれかとして提示する。免疫された起源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要性なしで免疫原に高親和性抗体を提供する。代わりに、Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)に記載されるように、ナイーブなレパートリーが、任意の免疫感作無しで、広範囲の非自己抗原及び自己抗原に対して、抗体の単一起源を提供するために、(例えば

50

、ヒトから)クローン化することができる。最後に、ナイーブなライブラリはまた、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載されるように、非常に可変なCDR3領域をコードし、インビトロで再構成を達成するために、幹細胞由来の未転位V遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用することにより合成することができる。ヒト抗体ファージライブラリーを記述する特許公報は、例えば、米国特許第5,750,373号、及び米国特許出願公開第2005/0079574号、2005/0119455号、2005/0266000号、2007/0117126号、2007/0160598号、2007/0237764号、2007/0292936号及び2009/0002360を含む。

【0154】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体または抗体断片は、本明細書でヒト抗体またはヒト抗体の断片とみなされる。

【0155】

#### 5. 多重特異性抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも二つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある実施態様において、結合特異性の一つはc-metに対してであり、他は、任意の他の抗原に対してである。ある実施態様において、二重特異性抗体は、c-metの二つの異なるエピトープに結合することができる。二重特異性抗体はまたc-metを発現する細胞に対して細胞傷害性薬物を局在化させるために用いることができる。二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

【0156】

多重特異性抗体を作製するための技術は、限定されないが、異なる特異性を有する二つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組換え共発現(Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983))、国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)を参照)及び「knob-in-hole」エンジニアリング(例えば、米国特許第5,731,168号を参照)を含む。多重特異抗体はまた、抗体のFc-ヘテロ2量体分子を作成するための静電ステアリング効果を操作すること(国際公開第2009/089004A1号)、2つ以上の抗体又は断片を架橋すること(例えば米国特許第4,676,980号、及びBrennan et al., Science, 229: 81 (1985)を参照)、2重特異性抗体を生成するためにロイシンジッパーを使用すること(例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照)、二重特異性抗体フラグメントを作製するため、「ダイアボディ」技術を使用すること(例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照)、単鎖Fv(sFv)ダイマーを使用すること(例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照)、及び、例えばTutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)に記載されているように、三重特異性抗体を調製することによって作成することができる。

【0157】

「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能性抗原結合部位を持つ改変抗体もまた本明細書に含まれる(例えば、米国特許出願公開第2006/0025576A1号を参照)。

【0158】

本明細書中の抗体又は断片はまた、c-met並びにその他の異なる抗原、例えばEGFR(例えば米国特許出願公開第2008/0069820号を参照)に結合する抗原結合部位を含む、「2重作用(Dual Acting)FAB」又は「DAF」を含む。

【0159】

#### 6. 抗体変異体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び/又は他の生物学的特性を改善することが望まれ得る。

10

20

30

40

50

抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することにより、またはペプチド合成によって調製することができる。このような改変は、例えば、抗体のアミノ酸配列内における、残基の欠失、及び/又は挿入及び/又は置換を含む。最終コンストラクトが所望の特性、例えば、抗原結合を有していることを条件として、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせが、最終コンストラクトに到達させるために作成され得る。

**【0160】**

ある実施態様において、一つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換突然変異の対象となる部位は、HVRとFRを含む。アミノ酸置換は、目的の抗体に導入することができ、その産物は、所望の活性、例えば、抗原結合の保持/改善、免疫原性の減少、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされた。

10

**【0161】**

置換変異体の一つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体など）の一以上の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的には、更なる研究のために選択され得られた変異体は、親抗体と比較して、特定の生物学的特性の改変（例えば、改善）（例えば、親和性の増加、免疫原性を減少）を有し、及び/又は親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持しているであろう。典型的な置換変異体は、親和性成熟抗体であり、例えば、本明細書に記載されるファージディスプレイベースの親和性成熟技術を用いて、簡便に生成され得る。簡潔に言えば、一つ以上のHVR残基が変異し、変異体抗体は、ファージ上に表示され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

20

**【0162】**

アミノ酸配列挿入は、一残基から百以上の残基を含有するポリペプチド長にわたるアミノ及び/又はカルボキシル末端融合、並びに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニン残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、酵素に対する抗体のN末端またはC末端への融合（例えばADEPTの場合）、または抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

**【0163】**

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は抗体がグリコシル化される程度を増加または減少するように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、一以上のグリコシル化部位が作成または削除されるようにアミノ酸配列を変えることによって簡便に達成することができる。

30

**【0164】**

抗体がFc領域を含む場合には、それに付着する糖を変えることができる。哺乳動物細胞によって生成された天然型抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN-結合により一般的に付着した分岐鎖、二分岐オリゴ糖を含んでいる。例えばWright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、二分岐糖鎖構造の「幹」のGlcNAcに結合した、マンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトース、シアル酸、並びにフコースを含み得る。幾つかの実施態様において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の改変は一定の改善された特性を有する抗体変異型を作成するために行われ得る。

40

**【0165】**

一実施態様において、抗体変異体は、Fc領域に（直接または間接的に）付着されたフコースを欠いた糖鎖構造を有して提供される。例えば、このような抗体のフコース量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、または20%から40%であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI-TOF質量分析法によって測定されるAsn297に付着しているすべての糖構造の合計（例えば、コンプレックス、ハイブリッド及び高マンノース構造）に対して、Asn297の糖鎖中のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297は、Fc領域（Fc領域残基のEU番号付け）でおおよそ297の位置に位置するアスパラギン残基を指し、しかし、Asn297もまた位置297の上流または下流

50

のおよそ±3アミノ酸に、すなわち抗体の軽微な配列変異に起因して、位置294と300の間に配置され得る。このようなフコシル化変異体はADC機能改善させた可能性がある。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号(Presta, L.);米国特許出願公開第2004/0093621号(協和発酵工業株式会社)を参照。「フコース非修飾」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する出版物の例としては、米国特許出願公開第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国特許出願公開第2003/0115614号、米国特許出願公開第2002/0164328号、米国特許出願公開第2004/0093621号、米国特許出願公開第2004/0132140号、米国特許出願公開第2004/0110704号、米国特許出願公開第2004/0110282号、米国特許出願公開第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が含まれる。非フコシル化抗体を産生する能力を有する細胞株の例としては、タンパク質フコシル化を欠損しているLecl3CHO細胞(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986);米国特許出願公開第2003/0157108 A1号, Presta, L.;及び国際公開第2004/056312 A1号, Adamsら, 特に実施例11)、及びノックアウト細胞株、アルファ-1、6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞(例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006);及び国際公開第2003/085107号を参照)を含む。

#### 【0166】

抗体変異体が、例えば、抗体のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分されている二分オリゴ糖とともに更に与えられる。このような抗体変異体はフコシル化を減少させ、及び/又はADC機能を改善している可能性がある。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号(Jean-Mairetら);米国特許第6,602,684号(Umanaら);及び米国特許出願公開第2005/0123546号(Umanaら)に記載されている。Fc領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を持つ抗体変異体も提供される。このような抗体変異体はCDC機能を改善させた可能性がある。このような抗体変異体は、例えば、国際公開第1997/30087号(Patelら);国際公開第1998/58964号(Raju, S.);及び国際公開第1999/22764号(Raju, S.)に記載されている。

#### 【0167】

ある実施態様において、1つまたは複数のアミノ酸改変を、本明細書で提供される抗体のFc領域に導入することができ、それによってFc領域変異体を生成する。Fc領域の変異体は、1つまたは複数のアミノ酸位置においてアミノ酸修飾(例えば置換)を含むヒトFc領域の配列(例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のFc領域)を含んでもよい。

#### 【0168】

ある実施態様において、本発明は、インビボにおける抗体の半減期が重要であるが、ある種のエフェクター機能(例えば補体およびADCなど)が不要または有害である用途のための望ましい候補とならしめる、全てではないが一部のエフェクター機能を有する抗体変異体を意図している。

#### 【0169】

エフェクター機能が減少した抗体は、Fc領域の残基238、265、269、270、297、327、329の一つ以上の置換を有するものが含まれる(米国特許第6737056号)。そのようなFc変異体は、残基265及び297のアラニンへの置換を有

する、いわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327の2以上での置換を有するFc変異体を含む(米国特許第7,332,581号)。

【0170】

FcRへの改善又は減少させた結合を持つ特定の抗体変異体が記載されている。(例えば、米国特許第6,737,056号;国際公開第2004/056312号、及びShields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照)。

【0171】

ある実施態様において、抗体変異体はADCCを改善する1つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、Fc領域の位置298、333、及び/又は334における置換(EUの残基番号付け)を含む。

10

【0172】

幾つかの実施態様において、改変された(すなわち改善されたか減少した)C1q結合及び/又は補体依存性細胞傷害(CDC)を生じる、Fc領域における改変がなされ、例えば、米国特許第6,194,551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)に説明される。

【0173】

増加した半減期を持ち、胎児への母性IgGの移送を担う、新生児Fc受容体(FcRn)への結合が改善された抗体(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))が、米国特許出願公開第2005/0014934 A1号(Hintonら)に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する一つまたは複数の置換を有するFc領域を含む。このようなFc変異体は、Fc領域の残基:238,256,265,272,286,303,305,307,311,312,317,340,356,360,362,376,378,380,382,413,424又は434の1以上の置換、例えば、Fc領域の残基434の置換を有するものが含まれる(米国特許第7,371,826号)。

20

【0174】

Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988);米国特許第5,648,260号;米国特許第5,624,821号;及び、Fc領域の変異体の他の例に関しては国際公開第94/29351号も参照のこと。

30

【0175】

ある実施態様において、抗体の1つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン改変抗体、例えば、「thioMAbs」を作成することが望まれ得る。特定の実施態様において、置換された残基は、抗体のアクセス可能な部位で起きる。それらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体のアクセス可能な部位に配置され、本明細書中でさらに記載されるように、イムノコンジュゲートを作成するために、例えば薬物部分またはリンカー-薬剤部分などの他の部分に抗体をコンジュゲートするために使用することができる。ある実施態様において、一以上の以下の残基がシステインで置換され得る:軽鎖のV205(Kabatの番号付け);重鎖のA118(EU番号付け);及び重鎖Fc領域のS400(EU番号付け)。システイン改変抗体は、例えば、米国特許第7521541号に記載のように生成され得る。

40

【0176】

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、当技術分野で知られ、容易に入手されている追加の非タンパク質部分を含むように更に改変することができる。抗体の誘導体化に適した部分としては、限定されないが、水溶性ポリマーを含む。水溶性ポリマーの非限定的な例は、限定されないが、ポリエチレングリコール(PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキソラン、エチレン/無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸(単重合体又はランダム共重合体の何れか)及びデキストラン又はポリ(n-ビニルピロリド

50

ン) ポリエチレングリコール、プロピレングリコール単独重合体、プロピレンオキシド/エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール(例えばグリセロール)、ポリビニルアルコール及びこれらの混合物を包含する。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドはその水中での安定性のために製造上の利点を有し得る。ポリマーは何れかの分子量のものであってよく、そして分枝鎖又は未分枝鎖であってよい。抗体に結合するポリマーの数は変動してよく、そして、一以上の重合体が結合する場合は、それらは同じか又は異なる分子であることができる。一般的に、誘導体化に使用するポリマーの数及び/又は種類は、限定されないが、向上させるべき抗体の特定の特性又は機能、抗体誘導体が特定の条件下で治療に使用されるのか等を考慮しながら決定することができる。

【0177】

その他の実施態様において、放射線への曝露によって選択的に加熱されてもよい抗体と非タンパク質部分とのコンジュゲートが、提供される。一実施態様において、非タンパク質部分はカーボンナノチューブである(Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005))。放射線は、任意の波長であって良いが、限定されないものの、通常の細胞に害を与えないが、抗体-非タンパク質部分の近位にある細胞が死滅される温度に非タンパク質部分を加熱する波長が含まれる。

【0178】

一実施態様において、本医薬は、化学療法剤又は薬物、成長抑制剤、毒素(例えば、タンパク質毒素、細菌、真菌、植物、または動物起源の酵素活性毒素、又はそれらの断片)、又は放射性同位元素など、1つ以上の細胞傷害性薬物にコンジュゲートした抗体(例えばc-met抗体)を含むイムノコンジュゲートである。

【0179】

一実施態様において、イムノコンジュゲートは、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)であって、そこでは抗体は、限定されないが、メイタンシノイド(米国特許第5208020号、第5416064号及び欧州特許EP0425235B1を参照);モノメチルアウリスタチン薬物部分DE及びDF(MMAE及びMMAF)(米国特許第5635483号及び5780588号及び7498298号を参照)などのアウリスタチン;ドラスタチン、カリケアマイシン又はその誘導体(米国特許第5712374号、5714586号、5739116号、5767285号、5770701号、5770710号、5773001号、及び5877296号を参照;Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993);及びLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998));ダウノマイシン又はドキシルピシンなどのアントラサイクリン(Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002);及び米国特許第6,630,579号を参照);メトトレキサート、ビンデシン、ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、及びオルタタキセルなどのタキサン、トリコテセン、及びCC1065を含む一つ以上の薬物とコンジュゲートしている。

【0180】

その他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、酵素的に活性な毒素又はその断片にコンジュゲートした、本明細書に記載の抗体を含み、限定されないが、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、(緑膿菌からの)外毒素A鎖、リシンA鎖、アプリンA鎖、モデクシン(modeccin)A鎖、アルファ-サルシン、アレウリテス・フォーディ(Aleurites fordii)タンパク質、ジアンチン(dianthin)タンパク質、フィトラカ・アメリカナ(Phytolacca americana)タンパク質(PAPI、PAPII、及びPAP-S)、モモルディカ・チャランチア(momordica charantia)インヒビター、クルシン(curcumin)、クロチン(crotin)、サパオナリア・オフィシナリス(sapaonarria officinalis)インヒビター、ゲロニン(gelonin)、ミトゲリン(

10

20

30

40

50

mitogellin)、レストリクトシン(restrictocin)、フェノマイシン(phenomycin)、エノマイシン(enomycin)及びトリコテセン(tricothecene)が含まれる。

#### 【0181】

その他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、放射性コンジュゲートを形成するために放射性原子にコンジュゲートした本明細書に記載されるような抗体を含む。様々な放射性同位体が放射性コンジュゲートの生産のために入手可能である。例としては、 $At^{211}$ 、 $I^{131}$ 、 $I^{125}$ 、 $Y^{90}$ 、 $Re^{186}$ 、 $Re^{188}$ 、 $Sm^{153}$ 、 $Bi^{212}$ 、 $P^{32}$ 、 $Pb^{212}$ 及びLuの放射性同位体を含む。検出のために放射性コンジュゲートを使用するとき、それはシンチグラフィ試験のための放射性原子、例えばtc99m又はI123、又は核磁気共鳴(NMR)画像化(磁気共鳴画像化mriとしても知られている)のためのスピン標識、例えば再び、ヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含んでよい。

10

#### 【0182】

抗体と細胞傷害性薬物のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N-スクシンイミジル3-(2-ピリジルチオ)プロピオネート(SPDP)、スクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステルの2官能性誘導体(例えばジメチルアジピミデートHCL)、活性エステル(例えばジスクシンイミジルズベレート)、アルデヒド(例えばグルタルアルデヒド)、ビス-アジド化合物(例えばビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミン)、ビスジアゾニウム誘導体(例えばビス(p-ジアゾニウムベンゾイル)エチレンジアミン)、ジイソシアネート(例えばトルエン2,6-ジイソシアネート)及びビス活性フッ素化合物(例えば1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼン)など、を使って作成され得る。Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されるように、例えば、リシンイムノトキシンを調製することができる。カーボン-14-標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(MX-DTPA)は、放射性ヌクレオチドの抗体へのコンジュゲーションのためのキレート剤の例である国際公開第94/11026号を参照。リンカーは、細胞中に細胞毒性薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であり得る。例えば、酸に不安定なリンカー、ペプチダーゼ過敏性リンカー、光解離性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー(Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 米国特許第5,208,020号)が使用され得る。

20

30

#### 【0183】

本明細書において、イムノコンジュゲート又はADCは、限定されないが、市販の(例えばPierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aからの)、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBSMPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMPB、及びスルホ-SMPB、SVSB(スクシンイミジル(4-ビニルスルホン)ベンゾエート)を含むクロスリンカー試薬を用いて調製されるコンジュゲートを特に熟考する。

40

#### 【0184】

##### III. 診断方法

一態様において、本発明は、患者の癌が大量のc-metバイオマーカーを有するかどうかを決定する工程を含む、c-metアンタゴニストによる治療に応答する可能性がある癌患者を同定するための方法を提供し、ここで、c-metバイオマーカーの発現は、患者がc-metアンタゴニストによる治療に応答する可能性があることを示す。

#### 【0185】

別の態様において、本発明は、患者の癌が、大量のc-metバイオマーカーを有する

50

かどうかを決定する工程を含む、癌患者の予後を決定するための方法を提供し、ここで患者が c - m e t アンタゴニストで治療されたときの、c - m e t バイオマーカの発現は、患者が全生存期間 ( O S ) 及び / 又は無増悪生存期間 ( P F S ) が増加している可能性が高いことを示している。

【 0 1 8 6 】

別の態様において、本発明は、患者の癌が多量の c - m e t バイオマーカを有するかどうかを決定する工程を含む c - m e t バイオマーカの発現を決定するための方法であって、c - m e t バイオマーカの発現がタンパク質の発現であって、患者からのサンプルにおいて I H C を用いて決定され、高い c - m e t バイオマーカの発現が、中程度の c - m e t 染色強度、中程度 / 強の混合性の c - m e t 染色強度又は強い c - m e t 染色強度を持つ 5 0 % 以上の腫瘍細胞であり、c - m e t の発現が c - m e t 抗体を用いて決定され、c - m e t バイオマーカの発現が、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるときに、増加した O S 及び / 又は P F S を有する可能性があることを示す方法を提供する。

10

【 0 1 8 7 】

一態様において、本発明は、患者からのサンプルにおいて c - m e t バイオマーカの発現を決定し、バイオマーカの発現のレベルに基づいて癌の医薬を選択することを含む、癌 ( 例えば N S C L C ) 患者の治療を選択するための方法に関する。一実施態様において、高レベルのバイオマーカ ( 複数 ) は、患者の治療に使用するための c - m e t 抗体など c - m e t アンタゴニストの選択を結果としてもたらず。その他の実施態様において、バイオマーカが低レベル ( 低いレベルか又は実質的に検出不可能なレベル ) で存在している場合、患者は c - m e t アンタゴニスト以外の癌医薬による治療のために選択される。幾つかの実施態様において、サンプルは患者の癌 ( 例えば N S C L C ) のものである。

20

【 0 1 8 8 】

一態様において、本発明は、患者の癌サンプル中の c - m e t バイオマーカの発現を決定することを含み、治療効果を最適化する方法を提供する。幾つかの実施態様において、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、高 c - m e t バイオマーカの検出は、増加した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、低 c - m e t バイオマーカの検出は、減少した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、癌は N S C L C である。

30

【 0 1 8 9 】

一態様において、本発明は、患者の癌サンプル中の c - m e t バイオマーカのレベルを決定することを含み、患者の予後を決定する方法を提供する。幾つかの実施態様において、高 c - m e t バイオマーカは、癌が低 c - m e t バイオマーカを有する患者に比較して、P S F 及び / 又は O S が減少した可能性を意味する。幾つかの実施態様において、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、高 c - m e t バイオマーカの発現は、増加した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、患者が c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、低 c - m e t バイオマーカの発現は、減少した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、癌は N S C L C であり、患者が E G F R アンタゴニストと併用して c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、高 c - m e t バイオマーカの発現は、増加した P F S 及び / 又は O S を意味する。幾つかの実施態様において、癌は N S C L C であり、患者が E G F R アンタゴニストと併用して c - m e t アンタゴニストにより治療されるとき、低 c - m e t バイオマーカの発現は、減少した P F S 及び / 又は O S を意味する。

40

【 0 1 9 0 】

一態様において、c - m e t バイオマーカの量は、( a ) サンプル ( 例えば患者の癌サンプル ) の抗 c - m e t 抗体による I H C 解析の実施 ; 及び b ) サンプル中の c - m e t バイオマーカの発現の決定を含む方法を用いて決定される。幾つかの実施態様におい

50

て、c - m e t の I H C 染色強度は基準値に比較して決定される。幾つかの実施態様において、c - m e t バイオマーカの発現は、本明細書に開示される、例えば、下のセクション I I I . 7 の表 A にある c - m e t 染色強度のスコアリング方式を用いて決定される。幾つかの実施態様において、本方法は I H C スコアに基づいて患者の層別化を更に含む。

#### 【 0 1 9 1 】

一態様において、c - m e t バイオマーカ発現の量は、サンプル（例えば患者の癌サンプル）の c - m e t バイオマーカの発現を決定する工程を含む方法を用いて決定され、ここで患者のサンプルは抗 c - m e t 抗体を用いた I H C 分析に供されている。幾つかの実施態様において、c - m e t の I H C 染色強度は基準値に比較して決定される。幾つかの実施態様において、c - m e t バイオマーカの発現は、本明細書に開示される、例えば、下のセクション I I I . 7 の表 A にある c - m e t 染色強度のスコアリング方式を用いて決定される。

10

#### 【 0 1 9 2 】

幾つかの実施態様において、I H C 分析は、その前後のどちらかで形態学的な染色を含む。一態様において、ヘマトキシリンはスライドの細胞核を染色するための用途である。ヘマトキシリンは広く利用可能である。適切なヘマトキシリンの例は、ヘマトキシリン I I （ペンタナ）である。明るい青色の核が望まれる場合、ヘマトキシリン染色後にブルーイング試薬が使用され得る。

20

#### 【 0 1 9 3 】

I H C を用いる c - m e t バイオマーカの検出は本明細書に開示され、c - m e t 染色強度のスコアリング方式は、本明細書中例えば下のセクション I I I . 7 の表 A に開示される。本明細書に記載されるように、他のバイオマーカを検出することができる。典型的な他のバイオマーカが本明細書に開示される。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表 A に従って定められるように、高い c - m e t バイオマーカの発現は m e t 診断陽性臨床状態である。本明細書に開示される発明の何れかの幾つかの実施態様において、本明細書の表 A に従って定められるように、低い c - m e t バイオマーカの発現は m e t 診断陰性臨床状態である。

30

#### 【 0 1 9 4 】

一態様において、c - m e t バイオマーカの量は、( a ) サンプル（癌患者のサンプルなど）上での遺伝子発現プロファイリング、P C R （例えば r t P C R ）、R N N - s e q 、マイクロアレイ解析、S A G E 、M a s s A R R A Y 技術又は F I S H の実施；及び b ) サンプル中の c - m e t バイオマーカの発現の決定を含む方法を用いて決定される。本明細書に記載されるように、他のバイオマーカを検出することができる。典型的な他のバイオマーカが本明細書に開示される。

30

#### 【 0 1 9 5 】

患者からのサンプルは、本明細書中のバイオマーカの 1 以上の発現について検査される。組織又は細胞サンプルの起源は、新鮮な、冷凍された、及び / 又は保存された臓器又は組織サンプル、又は生検又は吸引からの固形組織、血液又は任意の血液成分、脳脊髄液、羊水、腹水、または間質液などの体液、被検体の妊娠期間又は発育の任意の時期に由来する細胞であり得る。組織サンプルは、本質的に組織と自然に混在しない化合物、例えば、防腐剤、抗凝血剤、緩衝剤、定着剤、栄養剤、抗生物質などが含まれる場合がある。腫瘍サンプルの例は、限定されないが、腫瘍生検、腫瘍細胞、血清又は血漿、循環性血漿タンパク質、腹水、腫瘍に由来するか又は腫瘍のような特性を呈する細胞株又は初代細胞培養物、並びに、ホルマリン固定腫瘍サンプル、パラフィン包埋腫瘍サンプル又は凍結腫瘍サンプルなどの保存された腫瘍サンプルを含む。一実施態様において、患者のサンプルはホルマリン固定されたパラフィン包埋（F F P E ）腫瘍サンプル（例えば、N S C L C 腫瘍サンプル又は乳癌腫瘍サンプル）である。サンプルは、癌医薬（例えば、抗 c - m e t アンタゴニストなど）による患者の治療に先立って得ることができる。サンプルは原発腫瘍からか又は転移性腫瘍から得ることができる。サンプルは、癌が最初に診断されるか、

40

50

又は、例えば、腫瘍が転移した後で得ることができる。幾つかの実施態様において、腫瘍サンプルは、肺、リンパ節、肝臓又は脳である。

【0196】

mRNA、タンパク質の発現、又は遺伝子増幅を決定するための様々方法としては、限定されないが、遺伝子発現プロファイリング、定量的リアルタイムPCR (qRT-PCR) を含むポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)、RNA-Seq、FISH、マイクロアレイ解析、遺伝子発現の連続分析 (SAGE)、MassARRAY、プロテオミクス、免疫組織化学 (IHC) などを含む。好ましく mRNA が定量化される。幾つかの実施態様において、タンパク質の発現が定量化される。そうしたタンパク質分析は、IHC を用いて、例えば患者の腫瘍サンプルについて行うことができる。

10

【0197】

バイオマーカー発現を決定するための様々な例示的な方法を詳細に説明する。

1. 遺伝子発現プロファイリング

一般に、遺伝子発現プロファイリングの方法は、二つの大きなグループに分けることができる：ポリヌクレオチドのハイブリダイゼーション解析に基づく方法と、生化学的検出又はポリヌクレオチドの配列決定に基づく他の方法である。試料中の mRNA 発現を定量化するために当該分野で最も広く用いられている方法には、ノーザンロット及びインサイツハイブリダイゼーション (Parker 及び Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106: 247-283(1999) ; RNAse 保護アッセイ (Hod, *Biotechniques* 13: 852-854(1992) ; 及び逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) (Weis 等, *Trends in Genetics* 8: 263-264(1992)) が含まれる。あるいは、DNA 二重鎖、RNA 二重鎖、及び DNA-RNA ハイブリッド二重鎖又は DNA-タンパク質二重鎖を含む特定の二重鎖を認識できる抗体を用いてもよい。配列ベースの遺伝子発現解析の代表的な方法には、連続遺伝子発現解析 (SAGE)、及び *Massively Parallel Signature Sequencing* (MPSS) による遺伝子発現解析を含む。

20

【0198】

2. ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)

上に列挙した技術のうち、最も感度が良く最も柔軟性がある定量法は PCR であり、これは、正常組織及び腫瘍組織中の異なった試料集団における mRNA レベルを、薬剤処置を含むか又は含まずに、比較し、遺伝子発現のパターンを特徴付けし、密接に関連した mRNA 間を識別し、RNA 構造を解析するために使用することができる。

30

【0199】

第一工程は標的試料からの mRNA の単離である。出発材料は典型的には、ヒト腫瘍または腫瘍細胞株、および対応する正常組織または細胞株から単離された全 RNA である。従って、RNA は、乳房、肺、大腸、前立腺、脳、肝臓、腎臓、膵臓、脾臓、胸腺、精巣、卵巣、子宮、等を含む様々な原発腫瘍、腫瘍又は腫瘍細胞株から、健常者ドナー由来のプールされた DNA とともに単離することができる。mRNA の供給源が原発腫瘍の場合、mRNA は凍結又はパラフィン包埋されて保存され及び固定された (例えば、ホルマリン固定) 組織試料から、例えば、抽出することができる。mRNA 抽出に関する一般的な方法は当該分野で良く知られており、Ausubel 等, *Current Protocols of Molecular Biology*, John Wiley and Sons (1997) を含む分子生物学の標準的教科書に開示されている。パラフィン包埋組織からの RNA 抽出の方法は、例えば、Rupp and Locker, *Lab Invest.* 56:A67 (1987), and De Andres et al., *BioTechniques* 18:42044 (1995) に開示されている。特に、RNA の単離は、Qiagen 等の商業的製造者の精製キット、バッファセット及びプロテアーゼを、製造者の説明書に従って使用することで実施することができる。例えば、培養液中の細胞からの全 RNA は、Qiagen RNeasy ミニカラムを使用して単離できる。他の市販の RNA 分離キットには、MASTER PURE (登録商標) 完全 DNA 及び RNA 精製キット (Complete DNA and RNA Purification Kit) (EPICENTRE (登録商標), Madison, Wis.), 及びパラフィンブロック RNA 単離キット (Paraffin Block R

40

50

NA Isolation Kit) (Ambion, Inc.)を含む。組織試料からの全RNAは、RNA Stat-60 (Tel-Test)を使用して単離できる。腫瘍から調製したRNAは、例えば、塩化セシウム密度勾配遠心分離によって単離できる。

#### 【0200】

RNAはPCRのテンプレートとならないので、RT-PCRによる遺伝子発現プロファイリングの最初のステップはRNAテンプレートのcDNAへの逆転写と、それに続くPCR反応でのその指数関数的な増幅である。2つの最も広く用いられている逆転写酵素はトリ骨髄芽球症ウイルス逆転写酵素 (AMV-RT) 及びモロニーマウス白血球ウイルス逆転写酵素 (MMLV-RT) である。逆転写段階は、典型的には、発現プロファイリングの環境及び目的に依存し、特異的プライマー、ランダムヘキサマー、又はオリゴdTプライマーを使用してプライムされる。例えば、製造者説明書に従い、GENEAMP<sup>TM</sup> RNA PCRキット (Perkin Elmer, Calif., USA) を使用して抽出RNAを逆転写することができる。誘導したcDNAは、ついで、後のPCR反応のテンプレートとして使用できる。PCR工程では、様々な熱安定性DNA依存性DNAポリメラーゼを使用することができるが、典型的には、5'-3'ヌクレアーゼ活性を有するが3'-5'プルーフリーディングエンドヌクレアーゼ活性を欠くTaq DNAポリメラーゼを用いる。よって、TAQMAN (登録商標) PCRでは、典型的には、Taq又はTthポリメラーゼの5'-ヌクレアーゼ活性を用いて、その標的アンプリコンに結合したハイブリダイゼーションプローブを加水分解するが、5'ヌクレアーゼ活性と同等の任意の酵素を用いることができる。PCR反応にとって典型的なアンプリコンを生成するために2つのオリゴヌクレオチドプライマーを使用する。三番目のオリゴヌクレオチド、又はプローブを、2つのPCRプライマーの間に位置するヌクレオチド配列を検出するために設計する。該プローブは、Taq DNAポリメラーゼ酵素によって伸長せず、レポーター蛍光色素及び消光蛍光色素で標識される。このレポーター色素のどんなレーザー誘導放射も、プローブ上でこの2つの色素が近接して位置している場合には、消光色素によって消光する。増幅反応の間、Taq DNAポリメラーゼ酵素は、テンプレートに依存する形でプローブを切断する。生じたプローブ断片は溶液中で解離し、放出されたレポーター色素からのシグナルは、二番目のフルオロフォアの消光効果とは無関係である。新しい分子が合成される度にレポーター色素の1分子が遊離させられ、消光しないレポーター色素の検出がデータの定量的な解釈の基礎を提供する。

10

20

30

#### 【0201】

TAQMAN (登録商標) PCRは、例えば、ABI PRIZM 7700 (商品名) Sequence Detection System (登録商標) (Perkin-Elmer - Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)、又はLightcycler (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) 等の商業的に入手可能な装置を使用しておこなうことができる。好ましい実施態様では、5'ヌクレアーゼ手法は、ABI PRIZM 7700 (登録商標) Sequence Detection System等のリアルタイム定量PCR装置ですすめられる。該システムは、サーモサイクラー、レーザー、電荷結合素子 (CCD)、カメラ及びコンピューターからなる。該システムでは、サーモサイクラー上の96-ウェルフォーマットで試料を増幅する。増幅の間、96ウェル全てに関する光ファイバーケーブルを通してレーザー励起した蛍光シグナルがリアルタイムで収集され、CCDカメラで検出される。該システムは、装置を作動し、データを分析するソフトウェアを含む。

40

#### 【0202】

5'-ヌクレアーゼアッセイのデータは、Ct又は閾値サイクルとして最初に表される。上で検討したように、蛍光値は毎サイクルの間に記録され、増幅反応においてそのポイントまでに増幅した産物の量を表す。蛍光シグナルが統計的に有意であるとして最初に記録されたポイントが閾値サイクル (Ct) である。

#### 【0203】

50

エラー及び試料と試料間の変化による効果を最小限にするために、通常は内部標準を使用してPCRを実施する。理想的な内部標準は、異なる組織間では一定のレベルで発現し、実験上の処理によって影響を受けない。遺伝子発現のパターンを正規化するために最も頻繁に使用されているRNAは、ハウスキーピング遺伝子であるグリセルアルデヒド-3-リン酸-デヒドロゲナーゼ(GAPDH)及びP-アクチンのmRNAである。

#### 【0204】

PCR技術のより最近の変形例は、二重標識蛍光発生プローブ(つまり、TaqMan(登録商標)プローブ)によってPCR産物の蓄積を測定する定量的リアルタイムPCR(qRT-PCR)である。リアルタイムPCRは、各標的配列に対する内部競合体が正規化のために使用される定量的競合PCRと、試料内に含まれる正規化遺伝子、又はPCRのためのハウスキーピング遺伝子を使用する定量的比較PCRの双方に匹敵する。更なる詳細については、例えばHeld等, Genome Research 6:986-994 (1996)を参照のこと。

#### 【0205】

RNAの供給源として固定された、パラフィン包埋組織を用い、mRNAの単離、精製、プライマー伸長及び増幅を含む、遺伝子発現のプロファイリングのための代表的なプロトコル工程が、様々な出版された雑誌の記事に記載されている(例えば: Godfrey et al., J. Molec. Diagnostics 2: 84-91 (2000); Specht et al., Am. J. Pathol. 158: 419-29 (2001))。簡単に言えば、代表的なプロセスは、パラフィン包埋腫瘍組織サンプルの10マイクログラム厚切片の切断から始まる。RNAを抽出し、タンパク質やDNAが除去される。RNA濃度を分析した後、RNAの修復および/または増幅ステップが必要に応じて含まれ得、RNAは遺伝子特異的プロモーターを用いて転写され、PCRが続く。

#### 【0206】

本発明の一態様によれば、増幅される遺伝子中に存在するイントロン配列に基づいてPCRプライマー及びプローブが設計される。この実施態様では、プライマー/プローブ設計の第一工程は遺伝子内のイントロン配列の描写である。これは、公に入手可能なソフトウェア、例えばKent, W.J., Genome Res. 12(4):656-64 (2002)によって開発されたDNABLASTソフトウェア、あるいはその変形形を含むBLASTソフトウェアによって行うことができる。PCRプライマー及びプローブ設計の十分に確立された方法が次の工程として続く。

#### 【0207】

非特異的シグナルを避けるために、プライマーとプローブを設計する場合、イントロン内において反復配列をマスクすることが重要である。これは、反復エレメントのライブラリに対してDNA配列をスクリーニングし、反復エレメントがマスクされる問い合わせ配列を返すベイラー医科大学からオンラインで入手可能なRepeatMaskerプログラムを使用して容易に達成することができる。ついで、マスクされたイントロン配列を使用し、例えばPrimer Express (Applied Biosystems); MGBアッセイ-パイ-デザイン (Applied Biosystems); プライマー3 (Rozen及びSkaletsky (2000) Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S編 Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365-386)のような任意の商業的に又は他の好適に入手できるプライマー/プローブ設計パッケージを使用して、プライマー及びプローブ配列を設計することができる。

#### 【0208】

PCRプライマー設計で考慮される因子は、プライマー長、融解温度( $T_m$ )、及びG/C含有量、特異性、相補的プライマー配列、及び3'末端配列を含む。一般に、最適なPCRプライマーは、一般に17-30塩基長であり、約20-80%、例えば約50-60%のG+C塩基を含む。50から80の間、例えば約50から70の $T_m$ が典型的には好ましい。

#### 【0209】

PCRプライマー及びプローブ設計のための更なる指針については、その開示全体が出

10

20

30

40

50

典明示によりここに明示的に援用される例えばDieffenbach等, "General Concepts for PCR Primer Design" in: PCR Primer, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1995, pp. 133-155; Innis 及びGelfand, "Optimization of PCRs" in: PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, CRC Press, London, 1994, pp. 5-11; 及びPlasterer, T.N. Primerselect: Primer and probe design. Methods Mol. Biol. 70:520-527 (1997)を参照のこと。

#### 【 0 2 1 0 】

##### 3 . R N N - S e q

全トランスクリプトーショットガンシーケンシング ( W T S S ) と呼ばれる R N A - S E Q は、サンプルの R N A 含有量に関する情報を取得するために、c D N A の配列に対してハイスループットシーケンシング技術を使用することを指す。R N A - S e q を記述している出版物は、Wang et al. "RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics" Nature Reviews Genetics 10 (1): 57-63 (January 2009); Ryan et al. BioTechniques 45 (1): 81-94 (2008); 及びMaher et al. "Transcriptome sequencing to detect gene fusions in cancer". Nature 458 (7234): 97-101 (January 2009)を含む。

10

#### 【 0 2 1 1 】

##### 4 . マイクロアレイ

差次的遺伝子発現も、マイクロアレイ技術を用いて同定し、又は確かめることができる。よって、乳癌関連遺伝子の発現プロファイルを、マイクロアレイ技術を使用して新鮮組織又はパラフィン包埋組織の何れかで測定することができる。この方法では、興味あるポリヌクレオチド配列 ( c D N A 及びオリゴヌクレオチドを含む ) をマイクロチップ基板上にプレートし、整列させる。ついで、この整列させた配列を、興味ある細胞又は組織からの特異的 D N A プロブでハイブリダイズする。丁度 P C R 法のように、m R N A のソースは、典型的にはヒト腫瘍又は腫瘍細胞株及び対応する正常な組織又は細胞株からの全 R N A である。したがって R N A は様々な原発腫瘍または腫瘍細胞株から単離することができる。m R N A の供給源が原発腫瘍の場合、m R N A は、毎日の臨床の現場で日常的に調製され保持される凍結又はパラフィン包埋されて保存され及び固定された ( 例えば、ホルマリン固定 ) 組織試料から、例えば、抽出することができる。

20

#### 【 0 2 1 2 】

マイクロアレイ技術の特定の実施態様では、c D N A クローンの P C R 増幅挿入部分を高密度アレイの基板へ塗布する。好ましくは、少なくとも 1 0 0 0 0 のヌクレオチド配列を基板へ塗布する。それぞれ 1 0 0 0 0 エレメントがマイクロチップ上に固定化された、マイクロアレイ遺伝子は、ストリンジентな条件下でのハイブリダイゼーションに適している。蛍光標識 c D N A プロブは、興味ある組織から抽出した R N A の逆転写によって蛍光ヌクレオチドを取り込むことで作製できる。チップへ塗布した標識 c D N A プロブは、アレイ上の各スポットの D N A と特異性をもってハイブリダイズする。非特異的に結合したプロブを除くためにストリンジентに洗浄した後、チップを共焦点レーザー顕微鏡によって又は C C D カメラのような他の検出法によってスキャンする。各整列したエレメントのハイブリダイゼーションの定量化によって、対応する m R N A 発生量の評価が可能となる。二色蛍光によって、2つのソースの R N A から作製した別々の標識 c D N A プロブを2つ1組でアレイへハイブリダイズする。従って、各特定の遺伝子に対応する2つのソースからの転写物の相対発生量が、同時に決定される。小型化したハイブリダイゼーションのスケールによって、非常に多くの遺伝子に関する発現パターンの簡便で迅速な評価が可能となる。このような方法が、細胞当たり少数のコピーが発現する希な転写物を検出するため、また発現レベルにおける少なくともおよそ2倍の違いを再現可能に検出するために必要とされる感度を有していることが示されている ( Schena等, Proc. Natl . Acad. Sci. USA 93(20): 106-49(1996) ) 。マイクロアレイ解析は、製造者のプロトコルに従って、例えば A f f y m e t r i x G E N C H I P <sup>T M</sup> 技術、又は I n c y t e のマイクロアレイ技術を使用することによって、市販の装置によって実施することができる。

30

40

50

## 【0213】

遺伝子発現の大規模解析のためのマイクロアレイ法の開発により、様々な腫瘍のタイプにおいて、癌の分類と予後予測の分子マーカーについて体系的に探索することが可能となる。

## 【0214】

## 5. 遺伝子発現連続解析 (SAGE)

遺伝子発現連続解析 (SAGE) は、各転写物に対して個々のハイブリダイゼーションプローブを提供することを要せず、多数の遺伝子転写物の同時の定量解析を可能にせしめる方法である。まず、タグが各転写物内の独特の位置から得られるとの前提で、転写物をユニークに同定するのに十分な情報を含む短い配列タグ (約 10 - 14 bp) が生成される。ついで、多くの転写物を互いに結合させて長い連続の分子を形成し、これを配列決定して、複数タグの同一性を同時に明らかにすることができる。転写物の任意の集団の発現パターンは、個々のタグの存在量を決定し、各タグに対応する遺伝子を同定することによって定量的に評価することができる。更なる詳細については、例えば Velculescu 等, *Science* 270:484-487 (1995); 及び Velculescu 等, *Cell* 88:243-51 (1997) を参照のこと。

10

## 【0215】

## 6. Mass ARRAY 技術

Mass ARRAY (Sequenom, San Diego, Calif.) の技術は、検出用質量分析 (MS) を用いた遺伝子発現解析の自動化したハイスループットな方法である。この方法によれば、RNA の単離、逆転写および PCR 増幅の後に、cDNA がプライマー伸長に供される。cDNA 由来のプライマー伸長産物を精製し、MALDI-TOF MS のサンプル調製に必要な成分があらかじめロードされているチップアレイ上に分配される。反応物に存在する様々な cDNA が、得られた質量スペクトルのピーク面積を分析することによって定量される。

20

## 【0216】

## 7. 免疫組織化学法

免疫組織化学法 (「IHC」) はまた本発明のマーカーの発現レベルを検出するのに適している。組織切片の免疫組織化学的染色は、サンプル中のタンパク質の存在を評価又は検出するの信頼性の高い方法であることが示されている。免疫組織化学技術は、一般的に発色法又は蛍光法により、インサイトで細胞の抗原を探索し、可視化する抗体を利用する。よって、抗体又は抗血清、好ましくはポリクローナル抗血清、最も好ましくは各マーカーに特異的なモノクローナル抗体が発現の検出に使用される。下に更に詳細に議論されるように、抗体は、例えば、放射標識、蛍光標識、例えばビオチン等のハプテン標識、又は西洋ワサビペルオキシダーゼ又はアルカリホスファターゼのような酵素によって、検出することができる。あるいは、未標識一次抗体が、抗血清、ポリクローナル抗血清又は一次抗体に特異的なモノクローナル抗体を含む、標識二次抗体との関連で使用される。免疫組織化学プロトコル及びキットは当該分野でよく知られており、商業的に入手可能である。

30

## 【0217】

IHC の 2 つの一般的な方法が利用可能である；直接アッセイ及び間接アッセイ。第一ののアッセイによれば、標的抗原への抗体の結合が直接的に決定される。この直接的なアッセイは、更なる抗体相互作用無しに可視化することができる標識試薬、例えば蛍光タグ、酵素標識一次抗体などを使用する。典型的な間接的なアッセイでは、非結合型一次抗体が抗原に結合し、その後、標識二次抗体が一次抗体に結合する。二次抗体が酵素標識に結合されると、発色性又は蛍光基質が抗原の可視化を提供するために添加される。複数の二次抗体が一次抗体上の異なるエピトープと反応する可能性があるため、シグナル増幅が発生する。

40

## 【0218】

免疫組織化学のために使用される一次及び/又は二次抗体は、典型的には、検出可能な部分で標識される。以下の種類に通常分類できる多くの標識が利用可能である：

(a) ラジオアイソトープ、例えば  $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^3\text{H}$  及び  $^{131}\text{I}$ 。抗

50

体は例えばImmunology, Volumes 1 and 2, Coligenら編, Wiley-Interscience, New York, New York, Pubs. (1991)のCurrent Protocolsに記載される技術を用いて放射性同位体にて標識することができ、放射能はシンチレーション計測器を用いて測定することができる。

(b)コロイド金粒子

(c)希有土類キレート(ユウロピウムキレート)、テキサスレッド、ローダミン、フルオレセイン、ダンシル、リサミン、ウンベリフェロン、フィコクリセリン(phycoerythrin)、フィコシアニン又はSPECTRUM ORANGE(登録商標)及びSPECTRUM GREEN(登録商標)などの市販のフルオロフォア及び/又は上記の何れか一ないしは複数の誘導体を含むが、これらに限定されるものではない蛍光標識。蛍光標識は、例えば、上記のImmunologyのCurrent Protocolsに開示される技術を用いて抗体にコンジュゲートすることができる。蛍光は、蛍光計を用いて定量化することができる。

(d)様々な酵素基質標識が利用可能であり、米国特許第4,275,149号はこれらの幾つかの概説を提供する。一般に、酵素は、様々な技術を用いて測定することができる発色性基質の化学変化を触媒する。例えば、酵素は、分光測光法で測定することができる基質の変色を触媒するかもしれない。あるいは、酵素は、基質の蛍光又は化学発光を変えうる。蛍光の変化を定量化する技術は上記の通りである。化学発光基質は、化学反応によって電子的に励起され、測定することができる(例えば化学発光計測器を用いて)か、又はエネルギーを蛍光アクセプターに与える光を発しうる。酵素標識の例には、ルシフェラーゼ(例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ;米国特許第4,737,456号)、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタルアジネジオン(dihydrophthalazine diones)、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ウレアーゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ(HRPO)などのペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカライドオキシダーゼ(例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ)、複素環のオキシダーゼ(例えばウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ)、ラクトペルオキシダーゼ、ミクロペルオキシダーゼなどが含まれる。抗体に酵素をコンジュゲートする技術は、O'Sullivanら., Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, in Methods in Enzym. (ed J. Langone & H. Van Vunakis), Academic press, New York, 73:147-166 (1981)に記載されている。

【0219】

酵素基質の組合せの例には、例えば以下のものが含まれる:

(i)基質として水素ペルオキシダーゼを有する西洋わさびペルオキシダーゼ(HRPO)、ここで水素ペルオキシダーゼが染料前駆体(例えば、オルソフェニレン(orthophenylene)ジアミン(OPD)又は3,3',5,5'-テトラメチルのベンジジン塩酸塩(TMB))を酸化する;3,3'-ジアミノベンジジン(DAB)もまたHRP標識抗体を可視化するために使用することができる。

(ii)色素生産性基質としてリン酸パラグラフ-ニトロフェニルを有するアルカリホスファターゼ(AP);及び

(iii)色素生産性基質(例えばp-ニトロフェニル-D-ガラクトシダーゼ)又は蛍光発生基質(例えば、4-メチルウンベリフェリル(methylumbelliferyl)-D-ガラクトシダーゼ)を有する-D-ガラクトシダーゼ(-D-Gal)。

【0220】

多数の他の酵素基質の組合せは当業者にとって利用可能である。これらの一般的な概要については、米国特許第4,275,149号及び4,318,980を参照。

【0221】

ときには標識は、抗体と間接的にコンジュゲートされることがある。これを行うための

様々な技術は当分野の技術者に公知である。例えば、抗体は、ビオチンとコンジュゲートさせることができ、前述した大きな4つの分類のうちの何れかはアビジンとコンジュゲートさせることができ、その逆もまた可能である。ビオチンは選択的にアビジンと結合し、したがって、標識はこの間接的な方法で抗体にコンジュゲートさせることができる。あるいは、抗体と標識を間接的にコンジュゲートさせるために、抗体は小ハプテンとコンジュゲートさせ、前述した標識の異なるタイプのうちの1つは抗ハプテン抗体とコンジュゲートさせる。したがって、抗体と標識は間接的にコンジュゲートすることができる。

**【0222】**

上記の試料調製手順以外に、IHC前、IHCの間又はIHC後に組織切片の更なる処置が所望されてもよい。例えば、クエン酸塩バッファ中で組織サンプルを加熱するなどのエピトープ検索方法が実施されてもよい（例として、Leong等 Appl. Immunohistochem. 4 (3): 201 (1996)を参照）。

10

**【0223】**

任意のブロック工程の後に、一次抗体が組織試料中の標的タンパク質抗原と結合するような好適な条件下と十分な時間、組織切片を一次抗体に曝露させる。これを達成するための好適な条件は慣例的な実験によって決定できる。

**【0224】**

試料に対する抗体の結合の範囲は、上で議論された検出可能な標識の何れか一つを用いて決定される。好ましくは、標識は、3,3'-ジアミノベンジジクロモゲンなどの色素生産性基質の化学変化を触媒する酵素標識（例えばHRPO）である。好ましくは、酵素標識は、一次抗体（例えば、一次抗体はウサギポリクローナル抗体であり、二次抗体はヤギ抗ウサギ抗体である）に特異的に結合する抗体にコンジュゲートさせる。

20

**【0225】**

こうして調製される検体はマウントしてカバーガラスをかけてもよい。その後、例えば顕微鏡を使用してスライドの評価が決定される。

**【0226】**

その前か又はその後のいずれかで、IHCが形態学的染色と組み合わせられても良い。脱パラフィン後、スライドにマウントされた切片が、評価のために形態学的染色により染色され得る。使用される形態学的染色は、組織切片の正確な形態学的評価を提供する。切片は、異なる細胞成分を明瞭に染色する一以上の色素の各々で染色され得る。一態様において、ヘマトキシリンはスライドの細胞核を染色するための使用である。ヘマトキシリンは広く利用可能である。適切なヘマトキシリンの例は、ヘマトキシリンII（ペンタナ）である。明るい青色の核が望まれる場合、ヘマトキシリン染色後にブルーイング試薬が使用され得る。当業者は、染色は、スライドが色素中にとどまる時間の長さを増加又は減少させることによって、与えられた組織に対して最適化され得ることを理解するであろう。

30

**【0227】**

スライドの調整とIHC処理用の自動化システムは市販されている。Ventana（登録商標）Benchmark XTシステムはそうした自動化システムの例である。

**【0228】**

染色後、組織切片を顕微鏡の標準的な技術により分析することができる。一般的に、病理学者らが異常細胞または正常細胞または特定の細胞型の存在について組織を評価し、目的の細胞型の遺伝子座を提供する。従って、例えば、病理学者らはスライドを精査し、正常細胞（例えば、正常肺細胞など）と異常細胞（例えば、異常又は腫瘍性の肺細胞など）を識別する。目的の細胞の遺伝子座を定義する任意の手段が用いられ得る（例えば、XY軸上の座標）。

40

**【0229】**

IHCで使用するのに適した抗c-met抗体は当該技術分野において良く知られており、SP-44（Ventana）、DL-21（Upstate）、ab27492（Abcam）、PA1-37483（Pierce Antibodies）を含む。当業者は、追加の適切な抗c-met抗体が、例えば、本明細書に開示されるIHCプロト

50

コルを使用して c - m e t 抗体と比較することにより識別されて特徴付けられ得ることを理解している。

【 0 2 3 0 】

種々の染色強度を持つコントロール細胞ペレットが、IHC分析並びにスコアリングのコントロールとして利用することができる。例えば、H 4 4 1 (強 c - m e t 染色強度) ; A 5 4 9 (中程度の c - m e t 染色強度) ; H 1 7 0 3 (弱い c - m e t 染色強度) , H E K - 2 9 3 ( 2 9 3 ) (弱い c - m e t 染色強度) ; および T O V - 1 1 2 D (陰性 c - m e t 染色強度) 又は H 1 1 5 5 (陰性 c - m e t 染色強度)。幾つかの実施態様において、本明細書の図 1 及び / 又は 2 が典型的な c - m e t の I H C スコアリング強度のために参照される。幾つかの実施態様において、図 1 は、例えば、下の表 A のスコアリング方式に従った、典型的な 0、1 +、2 + 及び 3 + c - m e t I H C のスコアリング強度を示す。幾つかの実施態様において、図 2 は、例えば、下の表 A のスコアリング方式に従った、典型的な c - m e t I H C のスコアの 0、1、2、及び 3 を示す。

10

【 0 2 3 1 】

c - m e t 免疫組織化学プロトコル及びスコアリング方式は本明細書に例示される。c - m e t 染色強度の判定基準は表 A に従って評価することができる。

表 A

IHC スコア	染色基準
0	陰性または曖昧な染色のサンプル, 又は 弱い (1+) 又は 弱 (1+) & 中程度 (2+) の混合性染色を持つ 50%未満の腫瘍
1	弱(1+)又は弱(1+)&中程度(2+)の混合性染色を持つ 50%以上の腫瘍、しかし中程度(2+)又は中程度(2+)&強(3+)の混合性染色を持つ 50%未満の腫瘍細胞
2	中程度(2+)又は中程度(2+)&強(3+)の混合性染色を持つ 50%以上の腫瘍細胞、しかし強(3+)染色を持つ 50%未満の腫瘍細胞
3	強(3+)染色を持つ 50%以上の腫瘍細胞

20

30

【 0 2 3 2 】

幾つかの実施態様において、臨床的「M e t 診断陽性」と「M e t 診断陰性」の区分は以下のように定義される。

M e t 診断陽性 : I H C スコアが 2 又は 3 (表 A に定義される) 、及び

M e t 診断陰性 : I H C スコアが 0 又は 1 (表 A に定義される) 。

40

【 0 2 3 3 】

幾つかの実施態様において、関連した高 c - m e t バイオマーカーは、IHCスコアが 2、IHCスコアが 3、又は IHCスコアが 2 又は 3 である。幾つかの実施態様において、高い c - m e t バイオマーカーは、中程度の c - m e t 染色強度、中程度 / 高 c - m e t 染色強度の混合性又は高 c - m e t 染色強度を持つ 50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、高 c - m e t バイオマーカーは中程度又は高 c - m e t 染色強度

50

を持つ50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、サンプル中で少なくとも50の腫瘍細胞が分析される。幾つかの実施態様において、サンプル中で少なくとも10、20、30、40、50、60、または70又はそれ以上の腫瘍細胞が分析される。幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、高いc-metバイオマーカの発現はmet診断陽性(met診断陽性臨床状態)である。

#### 【0234】

幾つかの実施態様において、低c-metバイオマーカは、IHCスコアが0、IHCスコアが1、又はIHCスコアが0又は1である。幾つかの実施態様において、低いc-metバイオマーカは陰性c-met染色であり、50%未満の腫瘍細胞が弱いc-met染色強度又は弱と中程度の混合性のc-met染色強度、又は50%以上の腫瘍細胞が弱いc-met染色強度又は弱と中程度の混合性のc-met染色強度であるが、50%未満の腫瘍細胞が中程度のc-met染色強度又は中程度と強の混合性のc-met染色強度である。幾つかの実施態様において、サンプル中で少なくとも10、20、30、40、50、60、または70又はそれ以上の腫瘍細胞が分析される。幾つかの実施態様において、本明細書の表Aに従って定められるように、低いc-metバイオマーカの発現はmet診断陰性(met診断陰性臨床状態)である。

10

#### 【0235】

### 8. プロテオミクス

「プロテオーム」なる用語は、ある時点でのサンプル(例えば組織、生物、又は細胞培養物)中に存在するタンパク質の全体として定義される。プロテオミクスは、とりわけ、サンプル中のタンパク質発現の網羅的变化の研究を含む(「発現プロテオミクス」とも称される)。プロテオミクスは典型的には次の工程を含む:(1)2-Dゲル電気泳動(2-D PAGE)によるサンプル中の個々のタンパク質の分離;(2)例えば質量スペクトル又はN末端配列決定によるゲルから回収された個々のタンパク質の同定、及び(3)バイオインフォマティクスを使用するデータ解析。プロテオミクス法は、遺伝子発現プロファイリングの他の方法に対する貴重な補充手段であり、単独で又は他の方法と組み合わせて、本発明のマーカの産物を検出するために使用することができる。

20

#### 【0236】

### 9. 遺伝子増幅

c-met遺伝子の増幅の検出は、当業者に知られているある種の技術を使用して達成される。例えば、比較ゲノムハイブリダイゼーションが、染色体位置の関数としてDNA配列コピー数のマップを作成するために使用され得る。例えば、Kallioniemi et al. (1992) Science 258:818-821を参照。c-met遺伝子の増幅は、例えば、c-met遺伝子に特異的なプローブを用いるサザンハイブリダイゼーションにより又はリアルタイム定量PCRによって、検出することもできる。

30

#### 【0237】

ある実施態様において、c-met遺伝子の増幅の検出は、c-met遺伝子のコピー数を直接評価することにより、例えば、c-met遺伝子にハイブリダイズするプローブを用いることにより達成される。例えば、FISHアッセイが行われ得る。ある実施態様において、c-met遺伝子の増幅の検出は、c-met遺伝子のコピー数を間接的に評価することにより、例えば、c-met遺伝子の外側にあるが、c-met遺伝子と共増幅される染色体領域のコピー数を評価することにより達成される。バイオマーカの発現はまた、インビボでの診断アッセイを使用して、例えば、検出されるべき分子に結合し検出可能なラベル(例えば、放射性同位元素など)でタグ付けされた分子(例えば抗体)を投与し、そのラベルの局在化について患者を外部からスキャンすることにより評価することができる。

40

#### 【0238】

### IV. 治療方法

一態様において、本発明は、患者が多(増加した)量のc-metバイオマーカを有することを見出されている場合、c-metアンタゴニストの治療的有効量を患者に投与

50

することを含み、癌の患者を治療するための方法を提供する。

【0239】

本発明はまた、患者が多量の c - m e t バイオマーカ-を有することが見いだされた場合（例えば、患者の癌が、例えば I H C を用いて決定される、高い c - m e t バイオマーカ-を発現する場合）、c - m e t アンタゴニスト（例えば M e t M A b などの抗 c - m e t 抗体）の治療的有効量を患者に投与することを含み、N S C L C 患者を治療するための方法に関する。幾つかの実施態様において、N S C L C は扁平上皮癌である。幾つかの実施態様において、N S C L C は腺癌である。幾つかの実施態様において、N S C L C が第二ライン又は第3ラインの局所進行性又は転移性の N S C L C である。幾つかの実施態様において、N S C L C は、少なくとも1回の前の化学療法が奏効しなかった後の局所進行性又は転移性 N S C L C である。I H C を用いた c - m e t 発現を決定するための方法が議論され、本明細書に例示される。幾つかの実施態様において、患者の癌は I H C スコアが2、I H C スコアが3、又は I H C スコアが少なくとも2（2又は3）で高 c - m e t を発現することが示されている。幾つかの実施態様において、患者の癌（患者の癌からのサンプル）は、中程度の c - m e t 染色強度、中程度/強の混合性の c - m e t 染色強度又は強い c - m e t 染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞を含有することが示されている。幾つかの実施態様において、高 c - m e t バイオマーカ-は中程度又は高 c - m e t 染色強度を持つ50%以上の腫瘍細胞である。幾つかの実施態様において、本明細書に開示された基準は c - m e t バイオマーカ-の状態を高い又は低いとしてスコアリングするために用いられる。

10

20

【0240】

更に、本発明は、患者が多量の c - m e t バイオマーカ-を有することが見いだされた場合、c - m e t アンタゴニスト（例えば、M e t M A b などの抗 c - m e t 抗体など）と E G R F アンタゴニスト（エルロチニブなど）の組み合わせの治療的有効量を患者に投与することを含み、N S C L C を有する患者を治療する方法を提供する。本明細書において治療される患者は望ましくは、c - m e t バイオマーカ-の量が減少した患者に比較して、より大きい無増悪生存期間（P F S）及び全生存期間（O S）から恩恵を受ける（又は示す可能性がある）であろう。典型的な E G F R アンタゴニストが本明細書に記載される。幾つかの実施態様において、N S C L C は、少なくとも1回の前の化学療法が奏効しなかった後の局所進行性又は転移性 N S C L C である。

30

【0241】

本発明は、患者が減少した量の c - m e t バイオマーカ-を有することが見いだされた場合（例えば、患者の癌が、例えば I H C を用いて決定される、減少した c - m e t バイオマーカ-を発現する場合）、c - m e t アンタゴニスト以外の癌の治療的有効量を患者に投与することを含み、癌（例えば N S C L C）患者を治療するための方法に更に関する。幾つかの実施態様において、患者の癌は、c - m e t を検出可能に発現しないか又は I H C スコアが0、I H C スコアが1、又は I H C スコアが0又は1で c - m e t を発現する。幾つかの実施態様において、本明細書に開示された基準は c - m e t バイオマーカ-の状態を陰性としてスコアリングするために用いられる。幾つかの実施態様において、患者の癌（患者の癌からのサンプル）は、陰性 c - m e t 染色を含むことが示され、50%未満の腫瘍細胞が弱い c - m e t 染色強度又は弱と中程度の混合性の c - m e t 染色強度、又は50%以上の腫瘍細胞が弱い c - m e t 染色強度又は弱と中程度の混合性の c - m e t 染色強度であるが、50%未満の腫瘍細胞が中程度の c - m e t 染色強度又は中程度と強の混合性の c - m e t 染色強度である。

40

【0242】

本発明の癌医薬は、単独で、または他の癌医薬と組み合わせて使用することができる。例えば、抗 c - m e t 抗体（例えば M e t M A b）は、約 15 m g / k g を3週間毎の投与量で、又は約 10 m g / k g を隔週の投与量で投与される。

【0243】

例えば、c - m e t 抗体は、少なくとも一の付加的治療薬とともに、例えば、化学療法

50

薬とともに、他の c - m e t アンタゴニスト（他の c - m e t 抗体など）とともに、E G F R アンタゴニスト（エルロチニブなど）とともに、又は抗 V E G F 抗体（ベバシズマブなど）とともに共投与することができる。c - m e t 抗体は、付加的な c - m e t アンタゴニストとともに共投与することができる。上記のこうした併用療法は、併用投与（2つ以上の治療剤が、同一または別々の製剤に含まれている）及び分離投与を包含し、その場合、第一の医薬の投与が、第二の医薬の投与投与の前、同時、及び/又はその後起きうる。一実施態様において、3週間ごとに約 15 m g / k g の用量で抗 c - m e t 抗体（例えば M e t M A b）が、3週間のサイクルの毎日に 150 m g の用量でのエルロチニブ（N - (3 - エチニルフェニル) - 6, 7 - ビス(2 - メトキシエトキシ) - 4 - キナゾリンアミン）と併用で使用される。他の実施態様において、c - m e t アンタゴニスト（例えば、抗 c - m e t 抗体）は、抗 V E G F 抗体と化学療法（例えば、タキサン）と組み合わせて使用される。典型的なプロトコルは、トリプルネガティブ転移性乳癌患者に対して、28日周期の1日目と15日目に 10 m g / k g の用量で投与される抗 c - m e t 抗体（例えば M e t M A b）、28日周期の1日目と15日目に 10 m g / k g の用量で投与される抗 V E G F 抗体（例えば、ベバシズマブ）、及び28日周期の1日目、8日目及び15日目に静脈注射により 90 m g / m<sup>2</sup> の用量で投与されるパクリタキセルを投与することである。典型的なプロトコルは、トリプルネガティブ転移性乳癌患者に対して、28日周期の1日目と15日目に 10 m g / k g の用量で投与される抗 c - m e t 抗体（例えば M e t M A b）、及び28日周期の1日目、8日目及び15日目に静脈注射により 90 m g / m<sup>2</sup> の用量で投与されるパクリタキセルを投与することである。

10

20

## 【0244】

癌医薬はまた放射線治療と併用して用いることができる。

## 【0245】

本発明の医薬は、任意の適切な手段によって投与することができ、経口、肺内、および鼻腔内、及び局所治療が所望される場合、病巣内投与が含まれる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。投薬は、その投与が短期間か又は長期であるかどうか部分的に依存し、任意の適切な経路、例えば、静脈内または皮下注射などの注射により行うことができる。限定されないが、様々な時間点にわたる、単一または複数回投与、ポーラス投与、パルス注入を含む様々な投与スケジュールが本明細書で考えられている。

30

## 【0246】

疾患の予防又は治療のためには、本発明の抗体の適切な用量（単独で使用されるか、又は、一以上の更なる治療的薬剤との組み合わせられる場合）は治療すべき疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体を予防又は治療目的のいずれにおいて投与するか、以前の治療、患者の臨床的履歴及び抗体に対する応答性、及び担当医の判断に依存する。抗体は、患者に対して、単回、又は一連の治療にわたって適切に投与される。1つの典型的な一日あたり用量は上記した要因に応じて約 1 μ g / k g から 100 m g / k g 又はそれ以上の範囲である。数日間以上に渡る反復投与の場合には、状態に応じて、治療は疾患症状の望まれる抑制が起こるまで持続するであろう。しかしながら、他の投与計画は有効でありうる。この治療の進行は、従来技術及びアッセイにより容易にモニターされる。

40

## 【0247】

上記の製剤または治療方法のいずれかが、医薬としての抗体の代わりか又は抗体に加えて、本発明のイムノコンジュゲートを用いて行うことができることが理解される。

## 【0248】

幾つかの実施態様において、患者は I I I B / I V 期に2つを上回る前治療を受けなかった。幾つかの実施態様において、患者は、E G F R 阻害又は用量の変更を生じる既知の E G F R に関連した毒性により作用することができる治験薬又は市販薬に30日を超えた曝露を受けなかった。E G F R 阻害は、（限定されないが）ゲフィチニブ、エルロチニブ、及びセツキシマブを含む。幾つかの実施態様において、患者は、無作為化の前28日以内に化学療法、生物学的療法、放射線療法または治験薬を受けなかった（場合によっては

50

、薬剤関連毒性が適切に解決されたとする条件で、キナーゼ阻害剤が無作為化の前2週間以内に用いられる場合がある)。幾つかの実施態様において、患者は未治療及び/又は活動性(進行しているか又は症候性制御のための抗がん薬やコルチコステロイドを必要とする) CNS 転移を持つ患者ではない。他の患者除外基準は、実施例に記載されており、本発明では、そこに記載されている一以上の除外の使用を意図している。幾つかの実施態様において、患者の癌のサンプルは野生型 E G F R を有することが示されている。幾つかの実施態様において、患者の癌のサンプルは野生型 E G F R を有することが示されていない。

【0249】

#### V. 製造品

本発明の別の実施態様において、癌(例えば NSCLC 又は乳癌)の治療で使用のための製造品が提供される。製造品は、容器とラベルまたは容器上にあるまたは容器に付属するパッケージ挿入物を含む。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ等を含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な物質から形成されうる。容器は、活性剤として癌医薬を含む組成物を保持しているか又は含み、かつ無菌のアクセスポートを有し得る(例えば、容器は皮下注射針による穴あきストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってよい)。

【0250】

製造品は、薬学的に許容される希釈バッファー、例えば注射用静菌水(BWFI)、リン酸緩衝化塩水、リンガー溶液およびデキストロース溶液を含む第二の容器をさらに含んでもよい。製造品には、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、およびシリンジを含む、商業的およびユーザーの立場から望まれる他の物質のさらに含んでもよい。

【0251】

本発明の製造品はまた、例えばパッケージ挿入物の形で、本組成物が、本明細書におけるバイオマーカーに基づいて癌の治療のために使用されることを示す情報を含む。挿入物またはラベルは、紙媒体又は磁気記録媒体(例えば、フロッピーディスク)やCD-ROMなどの電子媒体上など任意の形態をとることができる。ラベル又は挿入物はまた、キット又は製造品のキットにおける薬学的組成物及び剤形に関する他の情報を含んでもよい。

【0252】

本発明の一実施態様によれば、薬学的に許容される担体中の c - m e t アンタゴニスト(例えば抗 c - m e t 抗体)及び c - m e t アンタゴニストが c - m e t バイオマーカーの発現にもとづく癌(例えば NSCLC)患者の治療用であることを示したパッケージ挿入物を一緒にパッケージされて含有する製造品が提供される。

【0253】

本発明はまた、c - m e t アンタゴニスト(例えば抗 c - m e t 抗体)を含む薬学的組成物と、薬学的組成物が c - m e t バイオマーカーの発現に基づき癌(例えば NSCLC)患者を治療するためのものであることを示すパッケージ挿入物をパッケージ中に組み合わせることを含む製造品を製造するための方法に関する。

【0254】

製造品は、薬学的に許容される希釈バッファー、例えば注射用静菌水(BWFI)、リン酸緩衝化塩水、リンガー溶液及び/又はデキストロース溶液を含む付加的な容器をさらに含んでもよい。製造品には、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、およびシリンジを含む、商業的およびユーザーの立場から望まれる他の物質のさらに含んでもよい。

【0255】

#### VI. 診断キット

本発明はまた、本明細書中で同定するバイオマーカーの任意の1つまたは複数のを検出するのに有用な診断キットに関する。従って、診断キットは、癌患者由来のサンプルにおいて、c - m e t , k - r a s , A L K 及び E G F R バイオマーカーの一以上の発現を決定するための一以上の試薬を含み提供される。任意で、キットは、患者が c - m e t バイオマーカーを高レベルで発現する場合、癌患者を治療するための癌医薬(例えば抗 c - m

10

20

30

40

50

e t 抗体などの c - m e t アンタゴニスト) を選択するためのキットを使用するための説明書を更に含む。別の実施態様において、説明書は、患者がバイオマーカーを低下したレベルで発現する場合、c - m e t アンタゴニスト以外 ( 又は抗 c - m e t 抗体以外 ) の癌医薬を選択するためのキットを使用するためである。

【 0 2 5 6 】

#### V I I . 広告の方法

本明細書の発明はまた、ターゲット層に対して、c - m e t バイオマーカーの発現に基づいて癌患者を治療するための癌医薬 ( 例えば抗 c - m e t 抗体 ) の使用を宣伝することを含む、癌医薬を広告するための方法に関する。

【 0 2 5 7 】

広告は一般的にはスポンサーが識別され、メッセージが制御された非個人的な媒体を介する有料の通信である。本明細書における目的のための広告は、広報、広報活動、製品の配置、スポンサーシップ、引受業務、及び販売宣伝を含む。該用語はまた、本明細書の発明を購入し、支援し、又は承認する良好なパターンに向かって、大衆を、説得し、情報提供し、宣伝し、動機付けし、あるいは行動を変更するようにアピールするように計画された、印刷通信媒体の何れかに現れるスポンサー提供の情報公告を含む。

【 0 2 5 8 】

本明細書中の診断方法の広告や宣伝は、任意の手段によって達成することができる。これらのメッセージを配信するために使用する広告媒体の例としては、放送メディアに現れるメッセージであるコマーシャルを含む、テレビ、ラジオ、映画、雑誌、新聞、インターネット、及び看板を含む。広告はまた、食料品のカートの座席上、空港の通路の壁、バスの側面にあるもの、または電話保留メッセージ、または店舗内の P A システムで聞くもの、または視覚的にも又は聴覚的にも通信が配置されうる任意の場所を含む。

【 0 2 5 9 】

宣伝や広告手段のより具体的な例は、テレビ、ラジオ、映画、ウェブキャスト及びウェビナーなどのインターネット、同時にユーザに届くこように意図されたインタラクティブなコンピュータネットワーク、固定または電光掲示板、およびその他の公共看板、ポスター、雑誌や新聞などの伝統的または電子的な文献、他の報道発信地、プレゼンテーション、又は、例えば、電子メール、電話、インスタントメッセージ、郵便、宅配便、大量一斉メール又はキャリアメール、対面での訪問などによる個別の接触を含む。

【 0 2 6 0 】

使用される広告の種類は、到達されるべきターゲット層、例えば、病院、保険会社、クリニック、医師、看護師、及び患者、並びに、コストの考慮、及び医薬と診断の広告を規制する関連法律及び規制など、多くの要因に依存する。広告は、サービスの相互作用及び / 又はユーザの人口統計及び地理的な場所など他のデータによって定義されたユーザの特性評価に基づいて、個別化又はカスタマイズされ得る。

【 実施例 】

【 0 2 6 1 】

#### 材料と方法

サンプル：治療前の患者のサンプルが、N S C L C における M e t M A b + エルロチニブに対するエルロチニブ + プラセボによる治療の安全性及び予備的活性を評価するために計画された、盲検、第 I I 相無作為化、多施設試験から分析された ( 下記に更に記述 ) 。代表的な腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍標本又は未染色のパラフィンスライド ( 1 5 スライド ) の提出が、試験に登録された全患者において必要とされた。

【 0 2 6 2 】

免疫組織化学 ( I H C ) : 抗原回復、ブロッキング、及び一次抗 c - M e t 抗体とインキュベーションの前に、ホルマリン固定化されたパラフィン包埋組織切片が脱パラフィン処理された。二次抗体とのインキュベーション及び酵素発色に続いて、カバーガラス装着前に、封入前に対比染色されてアルコールとキシレンのシリーズで脱水した。

【 0 2 6 3 】

10

20

30

40

50

以下のプロトコールがIHCについて用いられた。Ventana Benchmark XTシステムが以下の試薬と材料を用いてc-met IHC染色を実施するために用いられた。

#### 【0264】

一次抗体：ベンタナ抗トータル(Total)cMET(SP44)ウサギモノクローナル一次抗体(カタログ番号M3444.R)

検体型：ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)サンプル及び様々な染色強度のコントロール細胞ペレット

治療される種：ヒト

機器：Benchmark XT

エピトープの回復条件：細胞の前処置1(CC1、ベンタナ、カタログ番号#950-124)

一次抗体の条件：37で10u/ml/16分

希釈剤：ベンタナ抗体希釈バッファー(Tris HClバッファー、カタログ番号95119)

陰性コントロール用のナイーブ抗体：ナイーブウサギIgGを3u/ml(ベンタナ確認用陰性コントロールのウサギIgG、カタログ番号#760-1029)

検出：ウルトラビューユニバーサルDAB検出キット(ベンチマーク試薬、ポリマー系、ベンタナカタログ番号#760-500)を製造業者の説明に従って使用

対比染色：ベンタナヘマトキシリンII(カタログ番号#790-2208)/ブルーイング試薬(カタログ番号760-2037)

ベンチマークXTプロトコールは以下であった：

1. パラフィン(選択)
2. 脱パラフィン(選択)
3. 細胞の前処置(選択)
4. コンディショナ#1(選択)
5. 穏やかなCC1(選択)
6. 標準のCC1(選択)
7. 抗体(Ab)インキュベーション温度(選択)
8. 37での抗体インキュベーション(Ab Inc.)(選択)
9. 滴定(選択)
10. ハンドアプライ(Hand Apply)、(0時間16分)のインキュベート
11. 対比染色(Countstain)(選択)
12. ドロップの(ヘマトシアニンII)(対比染色(Countstain))を加え、カバーガラスを装着し、(4分間)インキュベート。
13. 対比染色(Countstain)後(選択)
14. ドロップの(ブルーイング試薬)(対比染色(Countstain)後)を加え、カバーガラスを装着し、(4分間)インキュベート。
15. 油を除去するために石鹼水でスライドを洗浄
16. 水でスライドをすすぐ
17. 95%エタノール、100%エタノールとキシレン(ライカの自動染色プログラム#9)
18. カバーガラスを装着

#### 【0265】

IHCによるc-metの発現のスコアリング：腫瘍標本におけるc-met発現の有無は、IHCを用いて評価した。NSCLCにおいてc-met染色強度に広いダイナミックレンジがあり、腫瘍細胞は陰性、弱、中程度、又は強い強度を持っていた。加えて、NSCLC腫瘍組織内におけるc-metの発現はしばしば不均一であり、つまり、腫瘍細胞はサンプル中で異なるレベルのc-metの発現を示した。IHC染色の強度(陰性、弱、中程度、又は強)と異なるレベルの強度で染色された腫瘍細胞の割合の両方がIH

10

20

30

40

50

Cによるc - m e tの発現を評価するときに考慮された。m e t診断陽性腫瘍とm e t診断陰性腫瘍を定義するための基準は、非盲検試験前に下記のスコアリングシステムによるI H Cにより定義されるように定められた。

【0266】

腫瘍細胞を、c - M e tの染色のためにスコア化した。多くの場合、染色はいくつかの細胞質のシグナル(M、c)を持ち主に膜性であったが、しかしながら、優勢な細胞質染色(C、m)はまた5 - 10%のサンプルで観察された。染色は、強(3+)、中程度(2+)、弱(1+)、曖昧(+/-)又は陰性(-)に分類された。強い染色強度は、暗褐色から黒い細胞質、及び/又は類似の強度の肥厚性の暗い膜により特徴付けられた。中程度の染色強度は、褐色の細胞質及び/又は膜によって特徴付けられた。中程度の染色は強いシグナル強度で見られる黒さを欠いており、膜はより薄かった。弱いシグナル強度が淡褐色の細胞質によって特徴付けられた。弱いシグナルは中程度の染色強度で見られる濃い茶色を欠いており、膜はより薄かった。陰性又は曖昧なシグナル強度は、茶色よりも、任意の検出可能なシグナルまたは薄灰色または黄褐色のシグナルによって特徴付けられ、膜染色が増強した証拠は無かった。

10

【0267】

染色強度の評価に加えて、様々な染色強度/パターンの割合が、不均一なシグナルを持つサンプルで視覚的に評価された。

【0268】

種々の染色強度を持つ以下のコントロール細胞ペレットが、I H C分析並びにスコアリングのコントロールとして含められた。H 4 4 1(+++ (強い)染色)、A 5 4 9(++ (中程度の)染色)、H 1 7 0 3(+ (弱い)染色)と、T O V - 1 1 2 D(- (陰性)染色)又はH 1 1 5 5(- (陰性)染色)。肺サンプル用に、気管支上皮が、中程度(2+)の膜染色を示したため、内部コントロールとしても用いられた。アイソタイプコントロール抗体はまた、試験サンプルの基底バックグラウンド染色を決定するためにも使用した。例えばK i - 6 7のような陽性コントロール抗体が、組織の品質を評価するために用いられた。図2は、上記I H Cプロトコルに従って調製され、I H Cのスコアが、0、1、2、又は3を有するN S C L Cの組織サンプルの一例を示す図である。図2に示すように、c - m e t染色強度は腫瘍の腫瘍部分全体で均一なレベルの強度を有して均質に分布し得るか又は一以上の強度レベルを有して不均一に分布し得る。染色は不均一であって

20

30

【0269】

I H C染色を評価した後、I H Cスコアは、以下のスコアリングカットオフを持つ少なくとも50の腫瘍細胞の分析に基づいて報告された。

	IHC スコア*	染色基準
診断陰性	0	陰性または曖昧な染色のサンプル, 又は 弱い (1+) 又は弱 (1+) & 中程度 (2+) の混合性染色を持つ 50%未満の腫瘍
	1	弱(1+)又は弱(1+)&中程度(2+)の混合性染色を持つ50%以上の腫瘍、しかし中程度(2+)又は中程度(2+)&強(3+)の混合性染色を持つ50%未満の腫瘍細胞
診断陽性	2	中程度(2+)又は中程度(2+)&強(3+)の混合性染色を持つ50%以上の腫瘍細胞、しかし強(3+)染色を持つ50%未満の腫瘍細胞
	3	強(3+)染色を持つ50%以上の腫瘍細胞

\*同義で「IHC 臨床スコア」または「臨床スコア」と称する。

10

20

#### 【0270】

血管染色が文書化されたが、しかし、幾つかの生検サンプルにおいて十分な血管系が欠如していることに一部起因し、IHC スコアのためには使用されなかった。

臨床的「Met 診断陽性」と「Met 診断陰性」の区分は以下のように定義される。

Met 診断陰性：IHC スコアが 0 又は 1

Met 診断陽性：IHC スコアが 2 又は 3

明確にするために、本出願は、以下の用語を使用することが留意される。

IHC スコア	臨床診断分類
0 又は 1	Met 診断陰性, 同じ意味で Met Dx-, Met 低 (low) , Met-低 (Low) , Met 低 (Low) と称す
2 又は 3	Met 診断陽性, 同じ意味で Met Dx+, Met 高 (high) , Met-高 (High) , Met 高 (High) と称す

30

#### 【0271】

加えて、本出願に関連した特許出願である、2010年8月31日に出願された米国特許出願第61/378,911において、「met 陽性」及び「met 陰性」なる用語は、それぞれIHCのスコアが2又は3、IHCのスコアが0又は1を言及するために用いられた。

40

#### 【0272】

臨床試験

肺癌は世界的に癌による死亡の第一の原因である：それは、乳癌、大腸癌、腎臓癌、肝臓癌、黒色腫、及び前立腺癌を合わせたものより多くの人々を殺に至らす。毎年、118万の人々が病気の結果として死亡する (Parkin DM. CA Cancer J Clin (2005) 55:74-108)。肺癌患者の大半は、疾患が進行した段階にあり、体の他の部分に拡散したときに診断される。

#### 【0273】

50

非小細胞肺癌（NSCLC）は、全症例のおよそ85%を占める、疾患の最も一般的な病態である。進行型（ステージIV）NSCLCと診断された人々のわずか7.5%が5年後に生存していると予測される。NSCLCは、腺癌、扁平上皮癌又は大細胞癌であるとして分類することができる。腺癌はNSCLCの最も一般的な形態である。二つの主なNSCLCの組織学的サブタイプである、腺癌（肺癌の約40%を占める）とSCC（肺癌の約25%を占める）は、類似した治療に対して差次的応答をもたらす固有の生物学的特性を示すという証拠が増えている。ペメトレキセド（Pemetrexed）は、腺癌で活性であるが、SCCにおいては比較的低い有効性を示している（Scagliotti et al, 2008, J Clin Oncol. 26(21):3543-51. Epub 2008 May 27）。中心部に位置するSCCを持つNSCLC患者におけるペパシズマブによる治療は、出血リスクの増大をもたらした（Sandler et al 2006, N Engl J Med. 355(24):2542-50）。最後に、転移性疾患を有するSCC患者は、歴史的にみて腺癌と比較して一層悪い全生存期間を有する。従って、この組織学的サブセットのための効果的なレジメンを同定する必要性が残っている。

10

#### 【0274】

この研究のための元々のプロトコールは、例えば国際公開第2010/045345号に記載されているが、しかし、その研究は後に修正されて以下のように扁平上皮組織構造を持つ50人の患者の登録が追加された。患者は、2つの治療群の何れかに1:1の比率で無作為に割り付けられた：MetMAb + エルロチニブに対するエルロチニブ + プラセボ。「全体」集団を含む120人の患者が登録されると、合計約80人のSCC患者が本研究に登録されたことを確実にするため、適格性は扁平上皮癌（SCC）組織構造を持つ患者に制限された。「全体」集団を含む第一の120人の患者についての無作為化が、喫煙状況、全身状態、及び組織構造で層別化され、次の50人のSCC患者についての無作為化は喫煙状態と全身状態により層別化されるようになった。本研究の間に、研究者を含む、患者と治療する個体は、治験薬（MetMAbまたはプラセボ）による治療の割り当てに対して盲検化された。2010年6月8日又はそれ以前に得られたこの研究のデータのプロトコール特異的解析（n = 128患者）は、腫瘍がc-metを低レベルで発現する患者はMetMAbからの利益を引き出さないことを示唆した。これらのデータに基づいて、スクリーニング及び研究への新規患者の登録は停止され、試験は以下のように変更された。

20

#### 【0275】

MetMAbは、治験責任医師の判断で、患者が治験薬から利益を導き出している場合、特定の患者を除いて、c-met診断陰性の腫瘍を有する患者において中止された。

30

疾患の進行以外の理由でMetMAbを中止した、c-metによる診断の腫瘍を持つ患者は、エルロチニブ単剤療法を受け続けることが許容された。

プラセボ + エルロチニブの群に無作為化されたc-metによる診断が陰性である腫瘍を持つ患者は、新鮮な組織生検が疾患の進行で得られ、IHCの結果は腫瘍がc-met診断陽性であることを示した場合、（エルロチニブを続けることに加え）MetMAbを受けるためにクロスオーバーすることを許容されるだけであった。

他の全患者は、プロトコールに従って治療を受け続けた。

#### 【0276】

改訂された研究の主な目的は、Met陽性腫瘍（免疫組織化学によって決定される）を持つ患者において、扁平上皮組織構造を持つ患者並びに全患者（すなわち、Met陰性腫瘍を持つ患者を含む）においてエルロチニブ + プラセボに対するMetMAb + エルロチニブの無増悪生存期間（PFS）を評価することであった。

40

#### 【0277】

この研究の二次目的は、（a）扁平上皮組織構造を持つ患者の無増悪生存期間（PFS）を評価すること；（b）c-met陽性腫瘍、扁平上皮組織構造を持つ患者、並びに全患者集団において、全RECIST 1.0奏効率と反応持続期間を決定すること；（b）NSCLC患者におけるMetMAb + エルロチニブの安全性と耐容性の特性を明らかにすること；（c）NSCLC患者におけるMetMAbとエルロチニブの両方の最小濃

50

度 (Cmin) と最大濃度 (Cmax) を評価することである。

【0278】

本研究での更なる目的は、(a) 扁平上皮組織構造、c - met 陽性腫瘍を持つ患者において並びに全集団において全生存期間を評価すること；(b) 治療群による及び c - met 陽性腫瘍を持つ患者、並びに全体において FDG - PET の奏効率を評価すること；(c) 治療群による及び Met 陽性腫瘍、扁平上皮組織構造における、並びに全集団における FDG - PET 応答者対非応答者における無増悪生存期間 (PFS) を評価すること；(d) 最初の腫瘍評価での固形がんの治療効果判定のためのガイドライン (RECIST) の 1.0 応答と PFS との関係の評価すること；(e) HGF / Met 及び / 又は EFG R シグナル伝達経路 (限定されないが IL8 と血清 HGF を含む) に関連する、

10

【0279】

研究計画：この研究は、第二及び第三ラインの NSCLC における Met MA b + エルロチニブ対エルロチニブ + プラセボによる治療の予備的な活性と安全性を評価するために設計されたフェーズ II、二重盲検、無作為化、多施設試験であった。およそ 40 の多国籍な場所からの約 120 人の組織学的に特定されていない患者が 2 つの治療群：Met MA b + エルロチニブ対エルロチニブ + プラセボの一つに 1:1 の比率で無作為化された。

「全体」集団を含む 120 人の患者が登録されると、合計約 80 人の SCC 患者が本研究に登録されたことを確実にするため、適格性は扁平上皮癌 (SCC) 組織像を持つ患者に制限された。「全体」集団を含む第一の 120 人の患者に対する無作為化は、喫煙状態 (非喫煙者と 10 年以上前に止めた喫煙者対現喫煙者と止めて 10 年未満の喫煙者)、全身状態及び組織構造により層別化され、次の 50 人の SCC 患者は喫煙状況及び全身状態によって層別化されるであろう。各群の治療は、疾患の進行、許容できぬ毒性、又は任意の他の中断基準に至るまで継続した。疾患の進行の際、エルロチニブ + プラセボ治療群に無作為化された患者は、彼らが適格基準を満たし続けるならば、Met MA b を (エルロチニブの継続に加えて) 受ける選択肢を与えられた。このクロスオーバーから収集された安全性のデータは、仮説作成を目的として要約された。上述したように、2010 年 6 月

20

30

【0280】

研究の期間中、腫瘍の測定、生存状態に関するデータを、PFS、全生存期間 (OS) 及び全奏効率 (ORR) の評価のために収集した。CT スキャンは、ベースライン時、及び、最初の 4 サイクルの間、およそ 6 週間の間隔で (すなわち、Met MA b / プラセボの 2 回の 3 週間のサイクルごと) で得られた。4 サイクル後、ルーチン的な CT スキャンがおよそ 9 週間ごと (Met MA b / プラセボの 3 サイクルごと) に実施された。FDG - PET イメージングは、ベースライン時及びサイクル 1 の 10 日 ~ 14 日で得られる。この研究の経過の最中、画像読取施設 (IRF) で FDG - PET の結果を評価し、FDG - PET イメージングを全参加サイトに継続すべきかどうか、又は FDG - PET イメージングを受け取ったデータに基づいて少数のサイトに限定されるべきかどうかを決定した。

40

【0281】

幾つかの患者において、探索血清サンプルおよび血漿サンプルを、限定されないが IL - 8 および HGF を含む活性の潜在的なマーカーの循環レベルにおける、Met MA b + エルロチニブの作用を決定するために収集した。これらおよび他のマーカーを臨床転帰と関連付けることは、予測バイオマーカー、例えば、薬物活性又は治療に対する応答を反映

50

し得る循環マーカーを同定する上で有用である。同意した患者から、血清および血漿用の血液を既定の時刻で集めて、これらの探索マーカーのレベルを評価した。

【0282】

c - m e t 及び / 又は E G F R の発現は、腫瘍の治療前のサンプルで決定された。c - m e t 及び / 又は E G F R の発現は、I H C 及び / 又は F I S H 分析により決定された。

【0283】

E G F R による療法で治療されるとき東アジアでの生存利益が確立しているため、この研究では、評価可能な試験集団の20%以上が東アジアとなることを許容しなかった。

【0284】

評価項目：この試験の主要評価項目は、固形がんの治療効果判定のためのガイドライン ( R E C I S T ) 1 . 0 によって定義された無増悪生存期間 ( P F S ) または最後の治療の30日以内のあらゆる原因による死亡であった。

【0285】

この試験の二次的評価項目は以下の通りであった：

( a ) M e t 陽性腫瘍及び全対において R E C I S T 1 . 0 を用いて決定される奏効率 ( O R ) ( 部分応答プラス完全応答 ) ; および

( b ) O R の持続時間。

典型的な評価項目は以下を包含した：

( a ) 癌研究のための欧州機関 ( E O R T C ) の定義に基づいた F D G - P E T 奏効率

( b ) 発生率、：有害事象および重篤な有害事象の性質と重症度；および試験薬投与の最中と後の、生命兆候、身体所見、及び臨床検査結果の変化が監視され；及び

( c ) 全生存期間 ( 無作為化から最後の試験治療の30日以内のあらゆる原因による死亡まで時間 ) 。

【0286】

一次および二次の評価項目は、c - m e t 陽性腫瘍、S C C 患者、及び「全」集団において評価される。

【0287】

血清サンプルを M e t M A b とエルロチニブの薬物動態および薬物動力学の分析のために収集する。

【0288】

患者の選択基準。成人患者は、彼らが手術不能な局所進行性または転移性 ( ステージ I I I b / I V ) の N S C L C ( 例えば、組織学的検査によって決定 ) を有し、ステージ I I I b / I V の N S C L C 疾患について少なくとも一の前投薬計画を受けたが二以上の前投薬計画は受けていない場合、この研究に参加する資格があった。組織ブロック ( 推奨 ) 又は15の未染色連続スライドで十分生存可能な腫瘍細胞を持つ N S C L C の確定診断を可能にし、関連する病理学報告が付随した代表的なホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍試料の部位で利用できるものが、無作為化の前に必要であった。細胞学的サンプルまたは細針吸引サンプルは許容可能ではなかった。患者が少なくとも5以上の未染色の連続スライドを提供したか又は腫瘍のコア生検または切除生検の前処置に同意し受ける意志がある場合、患者はまだ適格である可能性がある。細胞学的または細針吸引サンプルは許容可能ではなかった。

【0289】

この研究において、癌の病期分類は、癌の A J C C 癌病期分類に関する米国合同委員会マニュアル ( A m e r i c a n J o i n t C o m m i t t e e o n C a n c e r ' s A J C C C a n c e r S t a g i n g M a n u a l ) に従った。第一ラインのレジメン ( ステージ I I I b / I V について ) の前に、ステージ I - I I I a の疾患のネオアジュバント及び / 又はアジュバント療法を受けた患者は、彼らが、ステージ I I I b / I V の疾患の第一ラインの治療も受けていた場合、研究への参加に適格であった。幾つかの実施態様において、少なくとも一の化学療法レジメン ( 任意のステージ ) は白金に基づくも

10

20

30

40

50

のであった。RECISTによって決定された患者は、測定可能な疾患を有していなければならない。幾つかの実施態様において、患者は、RESISTによるCTにおける標的病変でもある、治療前のFDG-PETスキャンにおいて、少なくとも一つの測定可能な病変を有していた。幾つかの実施態様において、患者は、治療前の腫瘍サンプルを提供し、RESISTによるCTにおける標的病変でもある、治療前のFDG-PETスキャンにおいて少なくとも一つの測定可能な病変を有していた。

#### 【0290】

幾つかの実施態様において、除外された被験体はステージIII B / IVに2つを上回る前治療を受けた被験体であった。幾つかの実施態様において、除外された被験体は、EGFR阻害又は用量の変更を生じる既知のEGFRに関連した毒性により作用することができる治験薬又は市販薬に30日を超えた曝露を受けた被験体を含んでいた。EGFR阻害は、(限定されないが)ゲフィチニブ、エルロチニブ、及びセツキシマブを含む。幾つかの実施態様において、除外された被験体は、化学療法、放射線療法又は治験薬を無作為化前の28日以内に受けた被験体(任意の薬物関連毒性が十分に消散されている場合、キナーゼ阻害剤を無作為化前の2週間以内に使用することができることを除き)、又は未治療及び/又は活動性(進行中か又は症状の制御のための抗けいれん薬やコルチコステロイドを必要としている) CNS転移を有する被験体を含んでいた。幾つかの実施態様において、脳転移の既往歴のある被験体は、彼らが以下の基準を満たしている限り、研究への参加に適格であった: (a) RECISTによって定義されたCNSの外部の測定可能な疾患; (b) CNS指向性治療の完了とスクリーニングの放射線検査の間に暫定的な悪化のX線撮影上の証拠が無いこと; (c) 脳外科手術や定位放射線手術を含むCNS指向性治療; (d) CNSのX線撮影検査のスクリーニングは放射線治療の終了から4週間以上、及びコルチコステロイドおよび抗けいれん薬の中止から2週間以上であった; (e) 放射線治療と定位放射線手術は、第一日の4週間以上前に完了し、及び(f) 脳外科手術は第一日目の24週間以上前に完了し、脳生検は第一日の12週間以上前に完了した。

#### 【0291】

幾つかの実施態様において、除外された被験体は、無作為化前の最後の6ヶ月以内の心筋梗塞、制御不能な高血圧症(抗高血圧の持続血圧が150/100 mmHg以上)、不安定狭心症、ニューヨーク心臓協会(NYHA)グレードII以上のうっ血性心不全、薬物治療を要する不安定な症状を伴う不整脈(慢性心房性不整脈、すなわち、心房細動または発作性上室性頻拍の患者が適格である): またはグレードII以上の末梢血管疾患; 空腹時血清血糖値 > 200 mg/dLによって証明される制御不能の糖尿病; 無作為化前に28日以内の大きな外科手術または著しい外傷; 試験の過程での大きな外科的処置の必要性の予想; 無作為化またはグレードIIまたは無作為にあまり前に解決されていない放射線治療から永続的な悪影響から7または14日以内の局所緩和放射線療法; 無作為化前の7又は14日以内の局所緩和放射線療法又は無作為化前にグレードII未満に対して解決されていない放射線療法からの永続的な有害作用; 経口薬の服用不能又は静脈栄養補給または脂質による完全非経口栄養の必要性、又は消化管吸収に影響を与える外科的処置を含む重篤な全身性疾患の既往歴を有する被験体が含まれていた。幾つかの実施態様において、除外された被験体は以下の校正不要の異常な血液学的値の何れかを(無作為化前の2週間以内に)有する被験体を含んでいた。赤血球輸血後にANC < 1,500細胞/L, 血小板数 < 100,000細胞/L, ヘモグロビン < 9.0 g/dL、その他のベースラインの臨床検査値(無作為化前2週間以内に), 血清ビリルビン > 1.5 x ULN, 血清中クレアチニン > 1.5 x ULN, コントロール不良の高カルシウム血症(> 11.5 mg/dL又は> 1.5イオン化カルシウム)。幾つかの実施態様において、除外された被験体は、制御不能な糖尿病を有する被験体、及びビスフォスフォネート療法の継続使用を必要とする症候性高カルシウム血症を持つ被験体を含んでいた。

#### 【0292】

幾つかの実施態様において、除外された被験体は、妊娠中または授乳女性; 無作為化前の5年以内に手術又は放射線治療を受けたと推定される他の悪性腫瘍を有する被験体(

例えば、子宮の上皮内癌、前立腺切除術後の限局性前立腺癌、又は皮膚の基底/扁平上皮細胞癌)が医療モニターで議論され得る;又は錯乱見当識障害の証拠、又は主要な精神疾患の病歴を含んでいる。エルロチニブのラベルにおける更なる除外を参照。

#### 【0293】

統計的方法と有効性の解析。一次及び二次の有効性解析は、無作為化された治療群に割り当てられた患者とともに全ての無作為化患者を含んでいた。安全性の解析は、実際に受けたレジメンに関連した治療群に割り当てられた患者とともに、試験治療の少なくとも一投与を受けた全無作為化患者が含まれていた。個体群統計学及びベースラインの特性(年齢と性別など)が、平均値、標準偏差、中央値、及び連続変数の範囲そして必要に応じてカテゴリ変数に対する割合を使用して要約された。要約は全患者集団によって、及び治療群によって発表された。任意の変数のベースライン値は、試験治療の最初の投与の前の最後の利用可能な値として定義された。

10

#### 【0294】

カプランマイヤーの方法論が、各治療群についてのPFS中央値の推定に用いられた。層別因子は、CRFのデータが欠損していない限り、無作為化時の対話型音声読み取りシステムによって収集されたデータによってでなく、コンピュータ可読形式(CRF)によるデータにより決定した。ハザード比(すなわち、治療効果の大きさと95%信頼区間)の推定は、MetMAb治療に対する標識変数を層別化Cox回帰モデルを用いて決定した。「全」集団の患者におけるPFSについて説明したものと同一分析方法が、met陽性腫瘍を持つ患者とSCC組織構造を持つ患者に適用された。最後の治療から30日以内に何らかの原因による全ての死亡がPFSの事象として含まれた。客観的反応は、4週間以上離れた連続する2回にて決定された完全又は部分的な応答として定義された。ポストベースラインの腫瘍の評価の無い患者は、非応答者とみなした。客観的反応率および95%信頼区間(Blyth-Still-Case-ella)の推定値を、各治療群について計算した。腫瘍の応答速度の差の信頼区間(Satnes and Snell 1980; Berger and Boos 1994)を計算した。客観的反応を持つ患者について、客観的反応の持続期間とは、最初の反応から、最後の治療の30日以内における任意の原因による死亡又は疾患の進行までの時間として定義された。打ち切り(censoring)を扱う方法と分析の方法はPFSについて記載されたのと同じであった。すべての二次有効性エンドポイントを、met陽性腫瘍を持つ患者、SCC組織構造を持つ患者に対して、及び「全」患者集団によって評価した。

20

30

#### 【0295】

試験薬: MetMAbは、c-metに対して指向された公知の組換え、ヒト化、一価モノクローナル抗体である。MetMAbは、単回使用15ccのバイアル中で無菌の液体として供給される。各バイアルは、10mMのヒスチジン酢酸、120nMのトレハロース、0.02%ポリソルベート20、pH5.4で、60mg/mlの濃度で10ミリリットル中にMetMAbの600mgを含んでいる。MetMAbのバイアルは2°C-8°Cで冷蔵され、使用する直前まで冷蔵されたままである。MetMAbは、生理食塩水(0.9%)で希釈の後に、静脈内投与される。

#### 【0296】

エルロチニブ(TARCEVA(登録商標))は塩酸塩としてエルロチニブを含有する通常の即時放出錠として提供される。加えて、活性成分、エルロチニブ、錠剤は、ラクトース(含水)、微結晶性セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウムを含んでいる。25mg、100mg、及び150mgのとエルロチニブを含有する錠剤が入手可能である。

40

#### 【0297】

プラセボは、250ccの0.9%NSS(生理食塩水静脈注射(IV)溶液、0.9%)を含有していた。

#### 【0298】

研究治療MetMAbの投与量は、3週間のサイクルの第1日目に静脈内注射で15m

50

g / k gであった。スクリーニング時の体重がM e t M A bの実際の投与量を決定するために使用された。エルロチニブの投与量は、3週間のサイクルの各日に経口によって150mgであった。エルロチニブについての投与量レベルは、エルロチニブに起因する可能性のある毒性（例えば、発疹、下痢）のため、100mg（最初の削減）または50mg（2回目の削減）へと減少されても良い。

#### 【0299】

M E TとE G F Rのコピー数：M E TとE G F R遺伝子コピー数は、インサイトハイブリダイゼーション（F I S H）における蛍光により評価した。5コピー以上のM E T / 細胞がF I S H陽性として選定された（Cappuzzo et al, J Clin Oncol (2009) 27:1667-9を参照）。真のM E Tの増幅は、10%以上の腫瘍細胞におけるM E Tの15コピー以上の緊密な遺伝子クラスターとして、又は2以上のM E T / C E P 7比として定義された。M E TのとE G F Rのコピー数の両方が評価される実験では、複数の臨床試験で使用されるスコアリング基準をもとにして腫瘍はM E T及びE G F R F I S H陽性であった（例えば、Varella-Garcia et al, J Clin Pathol (2009) 62, 970-7; Capuzzo et al, JNCI (2005); 97:643 - 55を参照）：F I S H陽性：遺伝子増幅又は高多染色体性、F I S H陰性：低多染色体性、三染色体性又は二染色体性、遺伝子増幅：緊密な遺伝子クラスター又は腫瘍細胞中における15コピー以上のM E T又はC E P 7に対するM e tの比が2以上、高多染色体性：腫瘍細胞の40%以上において4コピー以上のM E T。

10

#### 【0300】

E G F R、K R A S及びM E Tの遺伝子型：D N Aは、マクロ解剖腫瘍組織スライドから単離した。E G F RおよびK R A Sの変異をD X S遺伝子型決定キットを用いて評価し、M E Tエクソン14の変異体をD H P L C（T r a n s g e n o m i c s I n c, O m a h a N E）により評価し、M E T N 2 7 5 Sの多型性をピロシーケンスにより評価した。

20

#### 【0301】

m R N Aプロファイリング：M E T、H G F、E G F R、A R E G、及びE R E Gのm R N A発現はF l u i d i g mのプラットフォームを使用して、顕微解剖マクロ解剖腫瘍組織スライドから抽出されたR N Aに関して評価した。転写レベルは、安定して肺組織で発現される2つの基準遺伝子の平均値に対して規格化し、結果は正規化された発現値（ $2^{-C_t}$ ）として表される。

30

#### 【0302】

血漿H G F；治療前に収集された血漿中のH G Fレベルが捕捉E L I S Aによって評価された。

#### 【0303】

2010年6月8日以前のデータカットオフに基づいた分析の結果

2009年3月から2010年3月まで第二又は第三ラインのN S C L Cに罹患した128人の患者が登録され25のグローバルサイトで無作為化された：(a) M e t M A b（15mg / k g I V q 3 w k s）とエルロチニブ治療（互換的に“M E”と称する）（n = 64）又は(b) プラセボとエルロチニブ治療（互換的に“P E”と称する）（n = 64）。この分析で使用されるデータカットオフの日は2010年6月8日以前であった。

40

#### 【0304】

患者の性質を表1に示す。

表 1: 患者の性質

n (%)	エルロチニブ +プラセボ (n=64)	エルロチニブ +MetMAb (n=64)	合計 (n=128)
中止された盲検治療	48 (75.0)	49 (76.6)	97 (75.8)
疾患の進行	39 (60.9)	34 (53.1)	73 (57.0)
有害事象	2 (3.1)	7 (10.9)	9 (7.0)
死亡	4 (6.3)	2 (3.1)	6 (4.7)
その他	3 (4.7)	6 (9.4)	9 (7.0)

10

## 【 0 3 0 5 】

患者の個体群統計学を表 2 に示す。

表 2 患者の個体群統計学

20

	エルロチニブ+プラセボ n=64 (%)	エルロチニブ+MetMAb n=64 (%)
年齢の中央値 (範囲)	62 (42-83)	66 (30-83)
性: 性 (%)	39 (60.9)	36 (56.3)
人種: 白人 (%)	58 (90.6)	56 (87.5)
ECOG: 0/1, n (%)	62 (96.9)	60 (93.8)
非扁平上皮, n (%)	48 (75)	49 (76.6)
扁平上皮, n (%)	16 (25)	15 (23.4)
非喫煙者, n (%)	8 (12.5)	10 (15.6)
Met 高*, n (%)	30 (50.8)	35 (56.5)
Kras 変異体 n (%)	13 (23.2)	13 (23.2)
EGFR 変異体 n (%)	6 (10.7)	7 (12.5)

30

40

\* 評価可能な組織サンプルを持つ 1 2 1 人の患者

\*\*評価可能な組織サンプルを持つ 1 1 2 の患者

## 【 0 3 0 6 】

ベースラインの特性は、Met の高い腫瘍 ( 5 1 % / 5 6 . 5 % ; P E / M E )、突然変異 ( 2 3 % / 2 3 % ) および E G F R 変異 ( 1 1 % / 1 2 . 5 % ) を持つ患者の有病率を含み、全体 ( I T T ) 集団でよくバランスが取れていた。組織は、1 2 1 人の患者 ( 患者の 9 5 % ) における Met I H C 分析及び 1 1 2 人の患者における E G F R および K R A S 突然変異について評価可能であった。

50

## 【 0 3 0 7 】

Metの状態によるベースライン特性を表3に示す。

表3: Metの状態によるベースライン特性

	Met 高 (n=65)		Met 低 (n=56)	
	MetMab+ エルロチニブ (n=35)	プラセボ+ エルロチニブ (n=30)	MetMab+ エルロチニブ (n=27)	プラセボ+ エルロチニブ (n=29)
年齢 (歳)				
中央値 (範囲)	66 (30 - 83)	63 (44 - 82)	66 (45 - 82)	60 (42 - 83)
>= 65 歳	18 (51.4%)	14 (46.7%)	14 (51.9%)	11 (37.9%)
性:				
男性	18 (51.4%)	19 (63.3%)	17 (63.0%)	16 (55.2%)
ベースライン ECOG:				
0/1	34 (97.1%)	28 (93.3%)	24 (88.9%)	29 (100%)
病理組織診断:				
腺癌	26 (73.3%)	21 (70.0%)	12 (44.4%)	17 (58.6%)
扁平上皮	5 (14.3%)	4 (13.3%)	10 (37.0%)	10 (34.5%)
喫煙歴:				
非喫煙者	7 (20.0%)	6 (20%)	2 (7.4%)	1 (3.4%)
Kras 変異体	7 (22.6%)	6 (23.1%)	6 (24.0%)	7 (25.0%)
EGFR 変異体*	7 (22.6%)	2 (7.7%)	0	4 (14.3%)

\*評価可能な組織サンプルを持つ 112 人の患者

## 【 0 3 0 8 】

本研究では、組織は患者の 100% から得られた。95% の患者は IDC による Met の評価において十分な組織を有していた。54% の患者は「Met が高い」NSCLC を有していた。

## 【 0 3 0 9 】

MetMab 及びエルロチニブによる治療は、Met が高い NSCLC 患者に対して臨床的に有意義な利益を提供した (図 3)。PFS の利益 (ハザード比 (HR) が 0.56 ; 95% CI が 0.31、1.02、P = 0.05) と OS の利益 (HR が 0.55 ; 95% CI が 0.25、1.16、P = 0.11) の両方が、MetMab とエルロチニブで治療された Met が高い患者において観察された。曲線の早期の持続的な分離が観察された。エルロチニブに対する MetMab の追加は、エルロチニブ + プラセボによる治療に比べ、met が高い NSCLC 患者において無増悪生存期間及び全生存期間をほぼ倍増

10

20

30

40

50

させた (MEにおけるPFSが12.4週に対してPEにおいて6.4週; MEにおいてOSが7.7週に対してPEにおいて7.4週)。エルロチニブ+プラセボの治療群からの23人の患者はMetMAbにクロスオーバーしており、MEにクロスオーバーした23人の患者のうち12人がMetの高いバイオマーカー発現を持っていた。

#### 【0310】

Metが低いNSCLC患者はMetMAb+エルロチニブによる治療から利益を得なかった (図4)。MetMAbはMetが低いNSCLC患者における進行と死亡のリスクをエルロチニブと+プラセボによる治療に対して、増加させた。PFS (HR 2.01; 95% CI 1.04, 3.91;  $p = 0.04$ ) およびOS (HR 3.26; 95% CI 1.20, 8.80;  $p = 0.01$ ) の両方ともMEコホートにおいていっそ

10

#### 【0311】

全集団におけるPFSとOS (図5)。PFSとOSは全集団において、MetMAb+エルロチニブ治療群及びプラセボ+エルロチニブ治療群において有意に違いは無かった。MetMAb+エルロチニブの治療は、プラセボ+エルロチニブの治療に比べて全集団において利益を示さなかった。全体 (同じ意味で「治療する意図」又はITTと称す) 集団におけるPFSおよびOSに対するHRは、1.09 (95% CI 0.71, 1.67;  $p = 0.70$ ) および1.09 (95% CI 0.62, 1.91;  $p = 0.76$ ) であった。PFS中央値とOS中央値は、類似疾患の設定で以前に報告されたと一致して

20

#### 【0312】

PFSはサブグループで調べた (図6)。Met IHCの状態が3と2の患者は、MetMAb+エルロチニブ治療の利益を示し、状態3の患者はより大きな利益を示した。Met IHCの状態が0と1の患者は、MetMAb+エルロチニブ治療から利益を得なかった。状態0の患者は状態0の患者よりもMetMAb+エルロチニブにおいて悪かった。MetMAb+エルロチニブ治療の選択的な利益は、組織構造区分 (非扁平上皮対扁平上皮)、喫煙経歴、ECOGCC、EGFR変異またはKras変異を含む他のサブ

30

#### 【0313】

図9は、Metが高い患者におけるPFSのサブグループ分析を示す。

#### 【0314】

OSはサブグループでも調べた (図7)。PFSの結果に類似して、Metが高いIHCの状態が3と2の患者は、MetMAb+エルロチニブ治療の利益を示し、状態3の患者はより大きな利益を示した。Metが低いIHCの状態が0と1の患者は、MetMAb+エルロチニブ治療から利益を得なかった。状態0の患者は状態0の患者よりもMetMAb+エルロチニブにおいて悪かった。MetMAb+エルロチニブ治療の選択的な利益は、組織構造区分 (非扁平上皮対扁平上皮)、喫煙経歴、ECOGCC、EGFR変異

40

#### 【0315】

図10は、Metが高い患者におけるOSのサブグループ分析を示す。図11と12は、Metが低い患者におけるPFSとOSのサブグループ解析をそれぞれ示す。

#### 【0316】

既知のEGFR変異を持つ患者を除き、全生存期間もまたMetが高い集団で分析された。MetMAb+エルロチニブ治療の利益の程度 (プラセボ+エルロチニブに対して) (OS HR = 0.55, 95% CI 0.26, 1.20,  $P = 0.13$ ) は、既知のEGFR変異を有する患者を含むMetが高い集団における全生存期間とほぼ同等であった。従って、Metが高い患者におけるMetMAb+エルロチニブからの利益はEGFR

50

変異の状態によって駆動されなかった。

【0317】

Metの状態による主な予後変数を表4に示す。

表4：Metの状態による主な予後変数

	Met 陽性 (n=65)		Met 陰性 (n=56)	
	エルロチニブ + プラセボ (n=30)	エルロチニブ +MetMAb (n=35)	エルロチニブ + プラセボ (n=29)	エルロチニブ +MetMAb (n=27)
病理組織診断 (n=128)				
腺癌	21 (70.0)	26 (73.3)	17 (58.6)	12 (44.4)
扁平上皮	4 (13.3)	5 (14.3)	10 (34.5)	10 (37.0)
変異解析 (n=112)				
Kras 変異体	6 (23.1)	7 (22.6)	7 (25.0)	6 (24.0)
EGFR 変異体	2 (7.7)	7 (22.6)	4 (14.3)	0

10

20

30

【0318】

Metの発現は悪い転帰の予後であった(図8)。エルロチニブの+プラセボによる治療を受けた患者の分析では、Metが高い患者は進行のリスクが増加しており(HR=1.73、PFS中央値は6.4週間)、Metが低い患者(PFS中央値が11.4週、OS中央値が9.2週)に比べて、ほぼ倍増した死のリスク(HR=2.52、7.4週間のOS中央値)を抱えていた。従って、Metの発現は、エルロチニブで治療された第二または第三ラインのNSCLC患者において、進行と生存についての予後因子である。Metが高い患者はエルロチニブで治療されたときに悪化した、一方Metが低い患者はエルロチニブで治療されると良好であった。

【0319】

進行のパターン(標的の増殖対新たな病変)は治療群間で、およびmetの状態によって同等であった(表5)。

表 5: 進行のパターン

	Met High		Met Low	
	エルロチニブ +プラセボ	エルロチニブ +MetMab	エルロチニブ +プラセボ	エルロチニブ +MetMab
# RECIST による pts PD	n=21	n=17	n=15	n=15
標的病変における PD	13 (61.9)	11 (64.7)	10 (66.7)	11 (73.3)
新規病変による PD	12 (57.1)	9 (52.9)	6 (40.0)	7 (46.7)

10

進行のパターン（標的の増殖対新たな病変）は治療群間で、および Met の状態により同等であった。

【 0 3 2 0 】

ORR の有効性解析が表 6 に示されている。

20

表 6: ORR の有効性の解析

	エルロチニブ+プラセボ	エルロチニブ+MetMab
全体	n=64	n=64
OR を有する患者 数(%)	3 (4.7)	4 (6.3)
ORR の 95% CI	1.3–12.5	2.2–15
ORR における相違 (95% CI)	1.6 (-6.3–9.4)	
p-値	1.0	
<b>Met 高</b>	n=30	n=35
OR を有する患者数(%)	1 (3.3)	3 (8.6)
ORR の 95% CI	0.2%–16.3	2.4–21.5
ORR における相違 (95% CI)	5.2 (-6.0–16.5)	
p-値	0.62	

30

40

【 0 3 2 1 】

50

Metの状態による治療に対する曝露を表7に示す。

表7: Metの状態による治療への曝露

	High Met		Low Met	
	エルロチニブ +プラセボ (n=30)	エルロチニブ +MetMab (n=35)	エルロチニブ +プラセボ (n=29)	エルロチニブ +MetMab (n=27)
<b>MetMab 又はプラセボ</b>				
サイクル数：中央値 (範囲)	2 (1-14)	4 (1-18)	4 (1-12)	2 (1-8)
<b>エルロチニブ</b>				
中央値 (範囲)	49.5 (4-290)	61 (14-338)	85 (21-239)	42 (1-152)
投与量の修正を要す る患者 (%)	8 (26.7)	14 (40)	7 (24.1)	11 (40.7)

10

20

【0322】

安全性：エルロチニブ + MetMabによる治療は十分に容認された。表8は、本研究で観察され、10%を超える頻度で報告された、全有害事象を関連に関わらず示す。エデマ（主にグレード1～2）の例外を除いて、エルロチニブ + MetMabについての全毒性はエルロチニブ + プラセボに匹敵した。

表 8: 全ての有害事象

n (%)	Met High		Met Low	
	エルロチニブ +プラセボ (n=30)	エルロチニブ +MetMAb (n=35)	エルロチニブ +プラセボ (n=29)	エルロチニブ +MetMAb (n=27)
合計	30 (100)	35 (100)	29 (100)	26 (96.3)
発疹	19 (63.3)	21 (60.0)	16 (52.2)	15 (55.6)
下痢	13 (43.3)	18 (51.4)	13 (44.8)	7 (25.9)
疲労	12 (40.0)	15 (42.9)	10 (34.5)	6 (22.2)
食欲不振	10 (33.3)	10 (28.6)	5 (17.2)	3 (11.1)
悪心	8 (26.7)	10 (28.6)	8 (27.6)	9 (33.3)
呼吸困難	8 (26.7)	7 (20.0)	4 (13.8)	4 (14.8)
咳	6 (20.0)	6 (17.1)	5 (17.2)	3 (11.1)
ざ瘡様皮膚炎	3 (10.0)	5 (14.3)	6 (20.7)	5 (18.5)
乾燥肌	5 (16.7)	5 (14.3)	5 (17.2)	2 (7.4)
末梢性腫	2 (6.7)	7 (20)	2 (6.9)	5 (18.5)
貧血	5 (16.7)	4 (11.4)	3 (10.3)	3 (11.1)

10

20

30

## 【 0 3 2 3 】

表 9 は、本研究で観察されたグレード 3 ~ 5 の全ての有害事象（頻度 > 5 %）を示す。グレード 5 の事象は無かった。Met が高い亜集団と Met が低い亜集団の両方の治療群間で、発疹、下痢、疲労は同等であった。グレード 3 の有害事象の発生率は、Met が高い治療群において ME 対 PE で似ていた（54 % 対 53 %）；しかしながら、グレード 3 の有害事象の発生率は、Met が低い群において ME 治療群で高かった（PE 治療群で 52 % 対 35 %）。

表 9: グレード 3～5 の有害事象

n (%)	Met 高		Met 低	
	エルロチニブ +プラセボ (n=30)	エルロチニブ +MetMAB (n=35)	エルロチニブ +プラセボ (n=29)	エルロチニブ +MetMAB (n=27)
合計	16 (53.3)	19 (54.3)	10 (34.5)	14 (51.9)
発疹	1 (3.3)	3 (8.6)	1 (3.4)	1 (3.7)
下痢	2 (6.7)	4 (11.4)	1 (3.4)	1 (3.7)
肺炎	0	1 (2.9)	1 (3.4)	4 (14.8)
疲労	1 (3.3)	3 (8.6)	1 (3.4)	2 (7.4)
肺塞栓症	1 (3.3)	2 (5.7)	0	2 (7.4)

10

20

## 【 0 3 2 4 】

安全性の要約が表 10 に示される。

表 10: 安全性の要約

n (%)	Met 高		Met 低	
	エルロチニブ +プラセボ (n=30)	エルロチニブ +MetMAB (n=35)	エルロチニブ +プラセボ (n=29)	エルロチニブ +MetMAB (n=27)
任意の AE	30 (100)	35 (100)	29 (100)	26 (96.3)
Grade ≥ 3 AEs	16 (53.3)	19 (54.3)	10 (34.5)	14 (51.9)
SAEs	11 (36.7)	14 (40)	6 (20.7)	11 (40.7)
治療の中止へと導く AE*	3 (10)	8 (22.9)	0	1 (3.7)
死へと導く AE**	3 (10)	1 (2.9)	0	4 (14.8)

30

40

Met が高いエルロチニブ+MetMAB 治療群の患者

\*Met が高いエルロチニブ+MetMAB 治療群の患者: 誤嚥性肺炎、閉塞性ヘルニア、低酸素症、脳梗塞、食道狭窄症、疲労、NOS、及び爪毒性

\*\*Met が低い患者で死に至る AE : 肺炎、肺塞栓症、咯血、NSCLC

50

## 【0325】

## 結論

抗c - m e t 抗体のM e t M A bは、M e t 受容体の選択的かつ強力な阻害剤であった。

M e t の高発現はプラセボで処置された患者において悪い転帰と関連していた。

エルロチニブ + M e t M A b の併用による治療は、M e t が高いN S C L C 患者に利益をあたえた。

エルロチニブ + M e t M A b で治療されたM e t が低いN S C L C 患者に対する悪い転帰は、有害事象により説明することができない。

エルロチニブ + M e t M A b は十分に容認され、新たな有意な安全上の知見はなかった。

全集団に対するM e t が高いN S C L C 患者についての結果は、診断を用いるすることの重要性を強調している。

## 【0326】

2010年11月15日以前のデータカットオフに基づいた最終分析

2009年3月から2010年3月まで第二又は第三ラインのN S C L C に罹患した128人の患者が登録され25のグローバルサイトが無作為化された：(a) M e t M A b (15mg/kg I V q 3 w k s) とエルロチニブ治療(互換的に" M E " と称する)(n = 64)又は(b)プラセボとエルロチニブ治療(互換的に" P E " と称する)(n = 64)。この分析で使用されるデータカットオフの日は2010年11月15日であった。

## 【0327】

患者の性質を表11に示す。

表 11: 患者の性質

患者の数 (%)	Met 診断陽性		Met 診断陰性		全患者 (n=137)
	プラセボ+ エルロチニブ (n=31)	MetMAB+ エルロチニブ (n=35)	プラセボ+ エルロチニブ (n=31)	MetMAB+ エルロチニブ (n=31)	
疾患の進行	23 (74.2)	18 (51.4)	22 (71.0)	22 (71.0)	92 (67.2)
有害事象	2 (6.5)	7 (20.0)	1 (3.2)	1 (3.2)	11 (8.0)
死亡	4 (12.9)	0	1 (3.2)	2 (6.5)	7 (5.1)
医師の判断	1 (3.2)	2 (5.7)	5 (16.1)	3 (9.7)	12 (8.8)
患者の判断	1 (3.2)	3 (8.6)	1 (3.2)	1 (3.2)	6 (4.4)
保証人の判断	0	0	1 (3.2)	0	1 (0.7)

## 【0328】

患者の個体群統計学を表12に示す。

表 12: 患者の 個体群統計学

	エルロチニブ+プラセボ n=64 (%)	エルロチニブ+MetMAB n=64 (%)
年齢の中央値 (範囲)	62 (42-83)	66 (30-83)
性: 男性, n (%)	39 (60.9)	36 (56.3)
人種: 白人, n (%)	58 (90.6)	56 (87.5)
ECOG: 0/1, n (%)	62 (96.9)	60 (93.8)
非扁平上皮, n (%)	48 (75)	49 (76.6)
扁平上皮, n (%)	16 (25)	15 (23.4)
非喫煙者, n (%)	8 (12.5)	10 (15.6)
Met Dx 陽性*, n (%)	30 (50.8)	35 (56.5)
Kras 変異体**, n (%)	13 (23.2)	13 (23.2)
EGFR 変異体**, n (%)	6 (10.7)	7 (12.5)

\* 評価可能な組織サンプルを持つ 121 人の患者

\*\*評価可能な組織サンプルを持つ 112 人の患者

【 0 3 2 9 】

ベースラインの特性は、Met 診断陽性腫瘍 ( 5 1 % / 5 6 . 5 % ; P E / M E )、突然変異 ( 2 3 % / 2 3 % ) および E G F R 変異 ( 1 1 % / 1 2 . 5 % ) を有する患者の有病率を含み、全体 ( I T T ) 集団でよくバランスが取れていた。組織は、121 人の患者 ( 患者の 9 5 % ) における Met I H C 分析及び 1 1 2 人の患者における E G F R および K R A S 突然変異について評価可能であった。

【 0 3 3 0 】

Met の状態によるベースライオン特性を表 1 3 に示す。

10

20

30

表 13: Met の状態によるベースライン特性

	ITT		Met Dx Negative		Met Dx Positive	
	プラセボ + エルロチ ニブ (n=68)	MetMAB + エルロチ ニブ (n=69)	プラセボ + エルロチ ニブ (n=31)	MetMAB + エルロチ ニブ (n=31)	プラセボ + エルロチ ニブ (n=31)	MetMAB + エルロチ ニブ (n=35)
年齢の中央値 (範囲)	63 (42-83)	64 (30-83)	61 (42-83)	63 (45-82)	64 (44-82)	66 (30-83)
性: 男性	62%	58%	55%	65%	65%	51%
人種: 白人	90%	88%	90%	87%	90%	91%
ECOG PS: 0/1	97%	94%	100%	90%	94%	97%
扁平上皮	29%	29%	39%	45%	16%	14%
非喫煙者	12%	15%	3%	7%	19%	20%
Met Dx 陽性*	50%	53%	0%	0%	100%	100%
KRAS 変異体**	23%	23%	25%	24%	23%	23%
EGFR 変異体**	11%	13%	14%	0%	8%	23%

\* 評価可能な組織サンプルを持つ 128 人の患者

\*\* 評価可能な組織サンプルを持つ 112 人の患者

#### 【0331】

本研究では、組織は患者の 100% から得られた。95% の患者は IDC による Met の評価において十分な組織を有していた。54% の患者は「Met が高い」NSCLC を有していた。

#### 【0332】

MetMAB 及びエルロチニブによる治療は、Met 診断陽性 NSCLC 患者に対して統計学的に有意で臨床的に有意な利益を提供した (図 13)。PFS の利益 (ハザード比 (HR) が 0.53; 95% CI が 0.28 - 0.99、P = 0.04) と OS の利益 (HR が 3.7; 95% CI が 0.19 - 0.72、-0.72、P = 0.002) の両方が、MetMAB とエルロチニブで治療された Met 診断陽性患者において観察された。曲線の早期の持続的な分離が観察された。エルロチニブに対する MetMAB の追加は、死亡のリスクがほぼ 3 倍減少する結果となった。MetMAB + エルロチニブ (ME) で治療された患者における PFS 中央値は 2.9 月であるのに対し、プラセボ + エルロチニブ (PE) で治療された患者では 1.5 月であった; MetMAB + エルロチニブで治療された患者の OS は 12.6 月であるのに対し、プラセボ + エルロチニブで治療された患者では 3.8 月であった。

#### 【0333】

Met 診断陰性 NSCLC 患者は MetMAB + エルロチニブによる治療から利益を得なかった (図 14)。MetMAB は Met が低い NSCLC 患者における進行と死亡の

10

20

30

40

50

リスクをエルロチニブと+プラセボによる治療に対して、増加させた。PFSの中央値(HR 1.82; 95% CI 0.99 - 3.32; p = 0.05)およびOSの中央値(HR 1.78; 95% CI 0.79 - 3.99; p = 0.16)の両方ともMetMAB+エルロチニブのコホートにおいていっそう悪かった。MetMABとエルロチニブで治療されたおよそ70%のMetの低い患者は最初の評価によって進行していた(第6週でのCATスキャン)。

【0334】

全集団におけるPFSとOSを図15に示す。PFSとOSは全集団において、MetMAB+エルロチニブ治療群及びプラセボ+エルロチニブ治療群において有意に違いは無かった。MetMAB+エルロチニブの治療は、プラセボ+エルロチニブの治療に比べて全集団において利益を示さなかった。全体(同じ意味で「治療する意図」又はITTと称す)集団におけるPFSおよびOSに対するハザード比は、1.09(95% CI 0.73, -1.62; p = 0.69)および0.8(95% CI 0.5, -1.3; p = 0.76)であった。PFS中央値とOS中央値は、類似疾患の設定で以前に報告された知見と一致していた。

10

【0335】

OSはサブグループでも調べた(図16)。Met診断陽性IHCの状態が3と2の患者は、MetMAB+エルロチニブ治療の利益を示し、状態3の患者はより大きな利益を示した。Met診断陰性IHCの状態が0と1の患者は、MetMAB+エルロチニブ治療の利益を受けず、状態0の患者は状態1の患者よりもMetMAB+エルロチニブで悪化した。MetMAB+エルロチニブ治療の選択的な利益は、組織構造区分(非扁平上皮対扁平上皮)、喫煙経歴、ECOGCC、EGFR変異またはKras変異を含む他のサブグループにおいて観察されなかった。

20

【0336】

図17は、Met診断陰性患者におけるOSのサブグループの分析を示す。

【0337】

全生存はまた患者の主な亜集団にて分析された: MET FISH陽性患者(5コピー以上のMETとして定義される)、Met診断陽性/MET FISH陰性、Met診断陽性/EGFR野生型、およびMET診断陽性/MET FISH陰性/EGFR野生型(図18)。MetMABをエルロチニブに追加する利点はMET FISH陽性患者に排他的でなく、MET FISH陰性/Met診断陽性患者でも観察され、IHCはMetMABからの利益のより敏感な予測子であることを示唆している。Met診断陽性患者におけるMetMAB+エルロチニブからの利益はEGFR変異の状態によって駆動されなかった。

30

【0338】

Metの状態による主な予後変数を表14に示す。

表 14: Met の状態による主な診断変数

	Met 陽性 (n=65)		Met 陰性 (n=56)	
	エルロチニブ + プラセボ (n=30)	エルロチニブ +MetMAb (n=35)	エルロチニブ +プラセボ (n=29)	エルロチニブ +MetMAb (n=27)
病理組織診断(n=128)				
腺癌	21 (70.0)	26 (73.3)	17 (58.6)	12 (44.4)
扁平上皮	4 (13.3)	5 (14.3)	10 (34.5)	10 (37.0)
変異解析 (n=112)				
Kras 変異体	6 (23.1)	7 (22.6)	7 (25.0)	6 (24.0)
EGFR 変異体	2 (7.7)	7 (22.6)	4 (14.3)	0

10

20

30

## 【 0 3 3 9 】

Met の発現は悪い転帰の予後であった ( 図 1 9 ) 。 エルロチニブの + プラセボによる治療を受けた患者の分析では、Met 診断陽性患者は進行のリスクが増加しており ( HR = 1 . 7 、 PFS 中央値は 1 . 5 月 ) 、 Met 診断陰性患者 ( PFS 中央値が 2 . 7 月、OS 中央値が 1 5 . 3 月 ) に比べて、死亡のリスクの増大 ( HR = 3 . 8 ; OS が 3 . 8 月 ) を抱えていた。従って、Met の発現は、エルロチニブで治療された第二または第三ラインの NSCLC 患者において、進行と生存についての予後因子である。Met 診断陽性患者はエルロチニブで治療されたときに悪化した、一方 Met 診断陰性患者はエルロチニブで治療されると良好であった。

## 【 0 3 4 0 】

安全性：エルロチニブ + MetMAb による治療は十分に容認された。安全性のデータが表 1 5 に要約される。

表 15: 安全性データの要約.

	Met 診断陽性		Met 診断陰性	
	プラセボ + エルロチニブ (n=31)	MetMAb + エルロチニブ (n=35)	プラセボ + エルロチニブ (n=31)	MetMAb + エルロチニブ (n=31)
患者の数 (%)				
任意の有害事象	31 (100)	35 (100)	31 (100)	31 (100)
グレード3以上の有害事象	17 (54.8)	20 (57.1)	13 (41.9)	17 (54.8)
重篤な有害事象	11 (35.5)	15 (42.9)	9 (29.0)	13 (41.9)
MetMAb/プラセボ の中止へ導く有害事象	2 (6.5)	8 (22.9)	0	2 (6.5)
死を導く有害事象	4 (12.9)	1 (2.9)	0	3 (9.7)

10

20

30

40

50

## 【0341】

MetMAbの添加は、末梢性浮腫を除いて、診断される集団の両方において任意の特定の有害事象の頻度を(10以上)実質的に増加させず、このことはMet診断陽性及び診断陰性の集団におけるMetMAb治療群において高かった。MetMAb治療は、MetMAb+エルロチニブにおけるMet診断陽性患者の多くの割合が有害事象のために中止となり、MetMAb+エルロチニブにおけるMet診断陰性患者がグレード3以上の有意な有害事象を有していたが、Metの診断状態に関わらず、実質的に新たな毒性を加えたり、既知のエルロチニブの毒性を悪化させなかった。

## 【0342】

腫瘍の増殖及び疾患の進行：腫瘍増殖率は、サイクル2におけるMetの状態による治療群間で有意な違いは無く、その時点までに大半のPFSの事象が生じていた。

## 【0343】

MetMAb+エルロチニブ治療の全生存治療効果はまた、「met陽性」としてスコア化された患者を定義するため、患者において異なるIHCスコアリング方式を用いて評価された。

## 【0344】

IHC染色強度が中程度(2+)又は高い(3+)10%以上の腫瘍細胞のそれほど厳密でないカットオフ(「10%Met診断陽性」)

IHC染色強度が中程度(2+)又は高い(3+)90%以上の腫瘍細胞のより厳密なカットオフ(「90%Met診断陽性」)

## 【0345】

患者のサブセットにおける治療効果の推定は、95%信頼区間を含む無成層のコックス・モデルを用いてハザード比として表した。この解析の結果を図21に示す。カットオフとして10%を使用するとき、10%Met診断陽性として選択された患者におけるHR(n=87)は0.52で95%CIが0.30, 0.92であった。50%をカットオフとして用いるとき(すなわち、50%以上の腫瘍細胞が中程度(2+)又は高い(3+

) IHC 染色強度を持ち)、Met 診断陽性として選択された患者における HR (n = 66) は 0.38 で 95% CI が 0.20、0.71 であった。カットオフとして 90% を使用するとき、90% Met 診断陽性として選択された患者 (n = 47) における HR は 0.30 で 95% CI が 0.14、0.64 であった。(a) 10% Met 診断陽性として、かつ (b) 50% カットオフを用いて Met 診断陽性でないとして選択された患者において (n = 21)、HR は 0.28 で、95% CI は 0.53、15.2 であった。(a) 50% カットオフを用いて 10% Met 診断陽性として、かつ (b) 90% Met 診断陽性でないとして選択された患者において (n = 19)、HR は 0.75 で、95% CI は 0.24、2.42 であった。異なる IHC のスコアリング方式の本詳細解析は、IHC による Met の中程度 (2+) 又は高 (3+) 強度での 50% 以上の腫瘍細胞の染色として、Met 診断陽性の定義の使用を支持している。

10

## 【0346】

## 結論

抗 c - met 抗体の Met MA b は、Met 受容体の選択的かつ強力な阻害剤であった。

Met の高発現はプラセボで処置された患者におけるより悪い転帰と関連していた。

エルロチニブ + Met MA b の併用による治療は、Met 診断陽性 NSCLC 患者に利益をあたえた。

エルロチニブ + Met MA b で治療された Met 診断陽性 NSCLC 患者に対する悪い転帰は、有害事象により説明することができない。

20

エルロチニブ + Met MA b は十分に容認され、新たな有意な安全上の知見はなかった。

全集団に対する Met 診断陽性 NSCLC 患者についての結果は、診断を用いるすることの重要性を強調する。

## 【0347】

OAM4558g からの例示的なバイオマーカー解析：進行した非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者におけるエルロチニブ ± Met MA b のプラセボで制御されたフェーズ II 試験 c - Met 及び / 又は EGFR シグナル伝達に関連する探索腫瘍バイオマーカーは、アーカイブ腫瘍組織標本から FISH、qRT - PCR または種々の変異検出法により測定された。血漿 HGF レベルは、ELISA によって測定した。転帰による分析は、Met の臨床診断状態に依存しないで行った。

30

## 【0348】

結果：評価可能な腫瘍または血漿検体による患者のベースライン特性は、一般的に同等であった。

## 【0349】

EGFR および KRAS 変異：EGFR と KRAS のデータは n = 112 (93%) の患者から得られ、MET エキソン 14 変異体が n = 87 (72%) の患者から、および MET N375S snp が n = 113 (93%) の患者から得られた。EGFR 変異は、研究上の 6 / 7 の客観的応答を予測し、治療群間で同等であった。KRAS 変異 (評価可能な標本の 23% (26 / 112) で検出された) は、EGFR 変異 (評価可能な標本の 12% (13 / 112) で検出された) と互いに排他的であり、ITT または Met 診断陽性 / 陰性集団において、Met MA b による転帰に大きな影響を与えなかった。

40

## 【0350】

MET 変異体のデータ：MET エキソン 14 欠失変異が評価可能な標本のうち 1% (n = 1) で同定された。MET N375S snp が評価可能な標本のうち 11% (n = 12) で同定された。治療群間の不均衡により、転帰分析は行うことができなかった。

## 【0351】

MET FISH：FISH データは、n = 96 (75%) の患者から得た。MET FISH 陽性である EGFR - 野生型患者では、低い閾値 (例えば 4 コピー以上 (HR = 0.89、P = 0.82)) でなく、5 コピー以上の MET / 細胞により定義されるように

50

、改善された転帰に向けて有意な傾向は無かった。全体的に、FISH陽性患者の74%がMet診断が陽性であった。真の遺伝子増幅は、患者の8%で検出された。しかしながら、Met診断陽性およびMET FISH陰性であるEGFR-野生型患者は、改善された転帰への傾向を示し(OS HR = 0.45、P = 0.07)、FISHを使用してmet遺伝子の増幅を評価することは、MetMab治療法の恩恵を受ける可能性のある患者の大きなサブグループが潜在的に欠けていることを示している。

【0352】

METとEGFR FISH陽性患者におけるOSにおいて有意な違いは無かった。qRT-PCRによるMETとEGFR経路遺伝子解析、および血漿HGFレベル分析：mRNAのデータは、n = 67の患者(49%)から得た(図20)。腫瘍のMET mRNAレベルとMET IHC臨床スコアとの統計的に有意な関連は観察されなかった；しかし、MET mRNA遺伝子又は他の遺伝子の発現は、mRNAデータを持つ患者のサブセットにおいてPFS又はOSを独立に予測しなかった(表16)。

表16 MET, EGFR, AREG および EREG 発現の転帰との関連

mRNA (中央値)		プラセボ+ エルロチニブ		MetMab+ エルロチニブ		HR	95%CI	P値
		n	中央値 (月)	n	中央値 (月)			
MET (3.16)	High	12	6.5	22	8.7	0.59	0.25-1.4	0.23
	Low	19	15.3	14	11.7	1.48	0.54-4.1	0.45
EGFR (7.75)	High	13	8.3	21	7.1	1.1	0.44-2.76	0.83
	Low	18	7.1	15	11.7	0.88	0.33-2.33	0.80
AREG (7.11)	High	13	8.3	21	NA	0.77	0.30-1.99	0.58
	Low	18	6.9	15	6.5	1.31	0.53-3.25	0.55
EREG (0.26)	High	13	6.9	21	10.2	0.67	0.28-1.63	0.37
	Low	18	9.2	15	8.1	1.34	0.50-3.60	0.57

【0353】

ベースライン血漿HGFデータは、n = 96の患者(70%)から得た。治療の前に採取された血漿中で低いHGFタンパク質レベルを有する患者において、改善された転帰が有意ではない傾向が明らかであった。

【0354】

結論：本明細書に示されたデータは、MetMab治療からのOSの利益の最も強い、敏感な、独立した予測因子としてMet IHCを支持している。この研究が小規模であることを考慮すると、これらのバイオマーカーの更なる探求が必要とされる。

【0355】

前述の発明は、理解を明確にする目的のために例示および実施例によってある程度詳細に説明してきたが、説明や例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

【 図 3 】

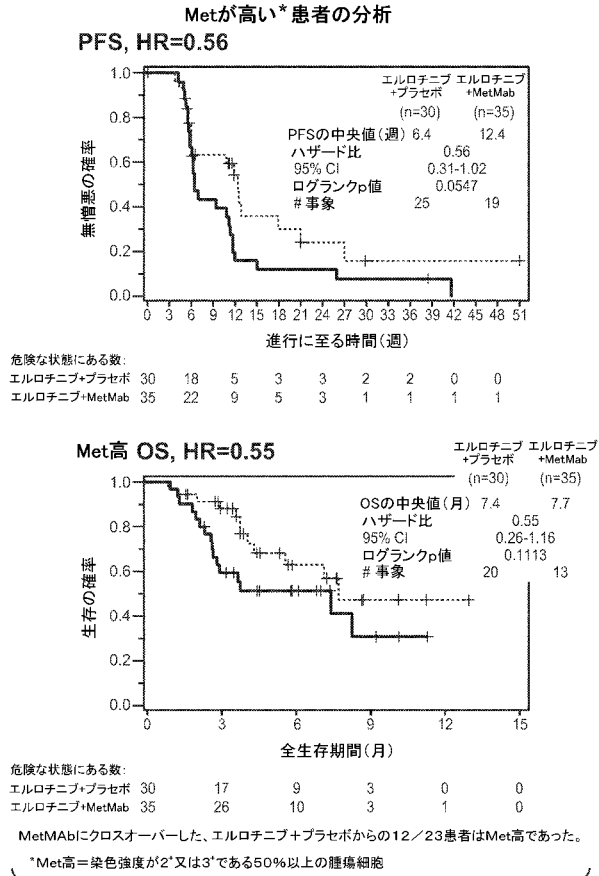


FIG. 3

【 図 4 】

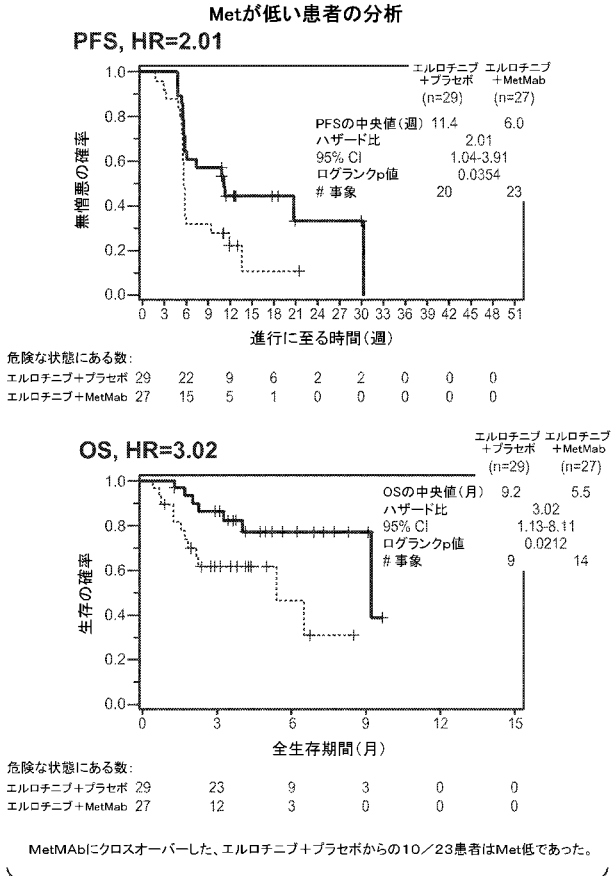


FIG. 4

【 図 5 】

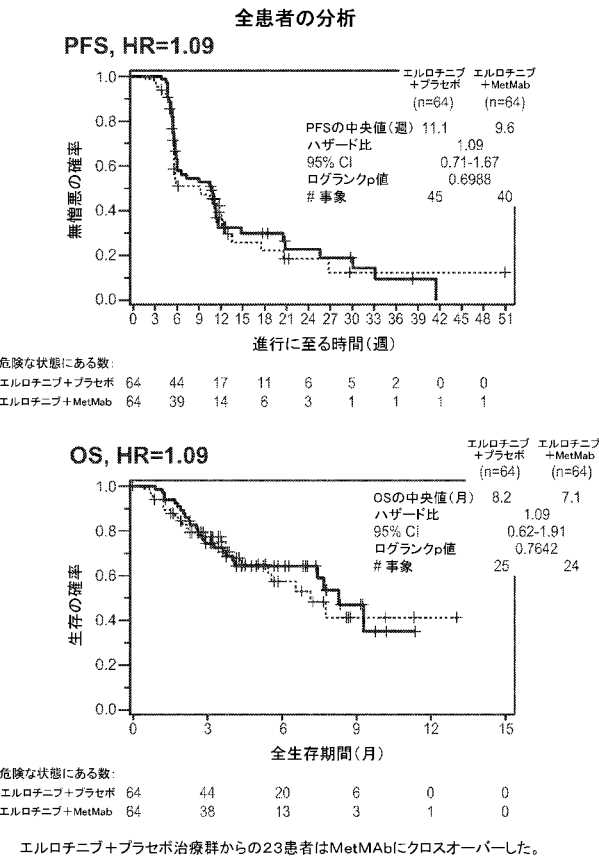


FIG. 5

【 図 6 】

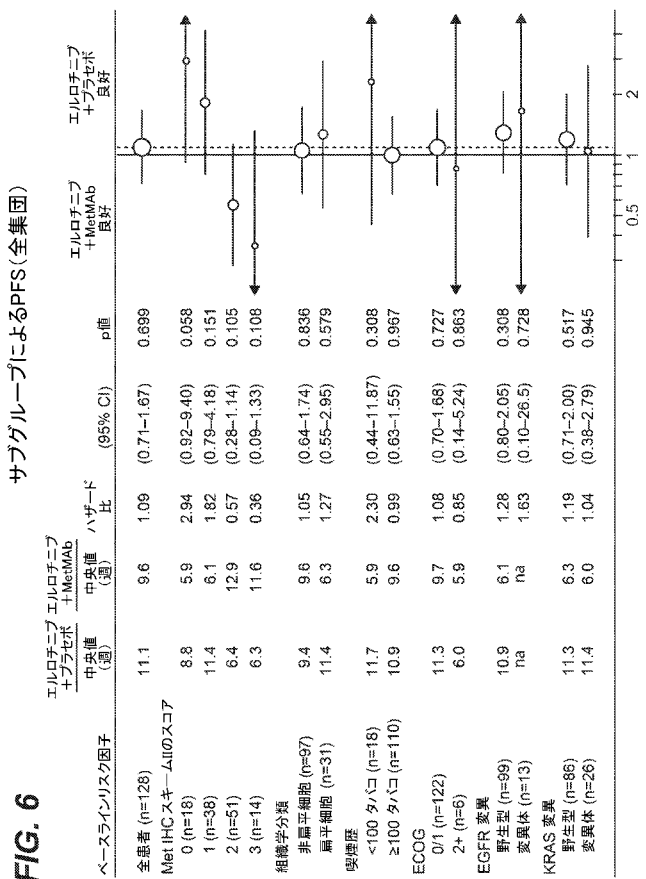


FIG. 6

【 図 7 】

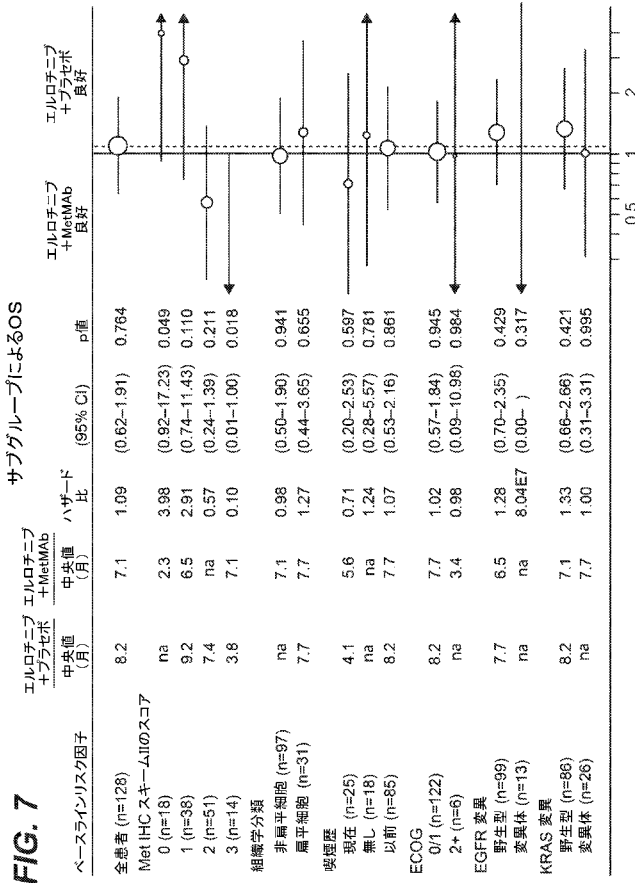


FIG. 7

【 図 8 】

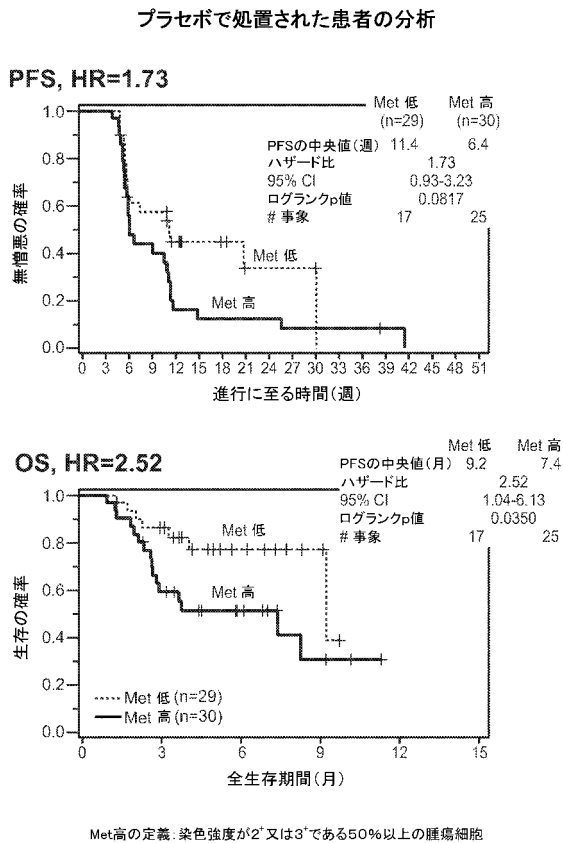


FIG. 8

【 図 9 】

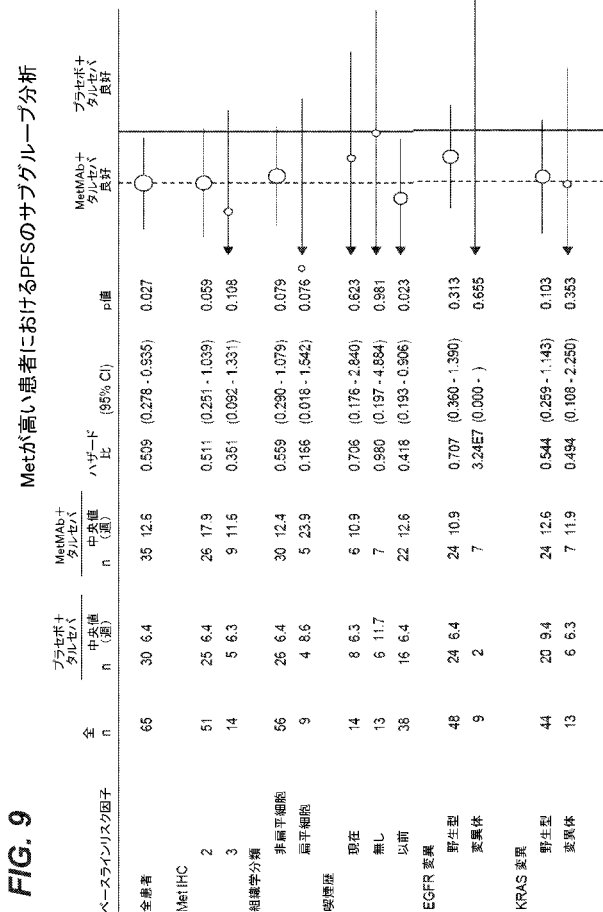


FIG. 9

【 図 10 】

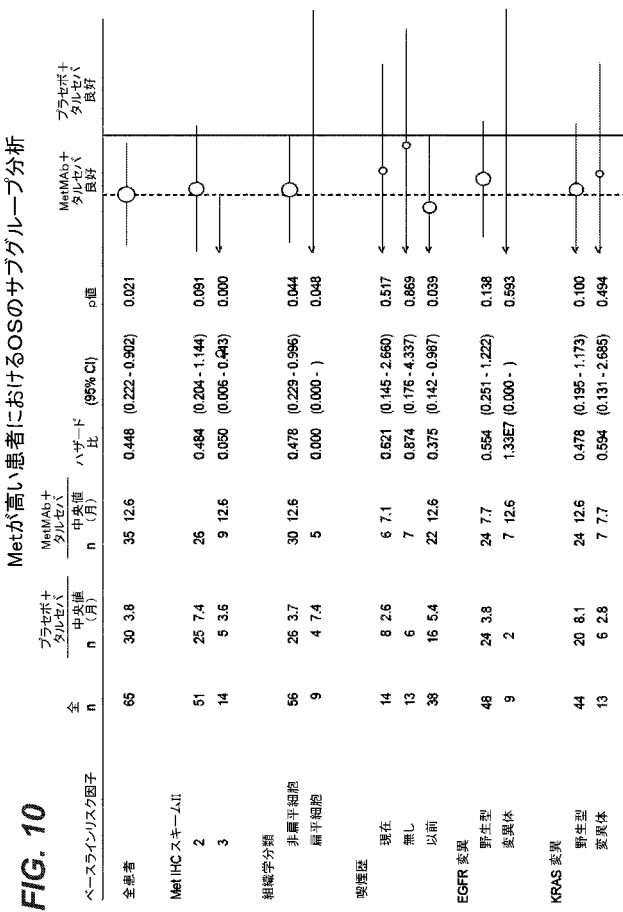


FIG. 10

【 図 1 1 】

Metが低い患者におけるPFISのサブグループ分析

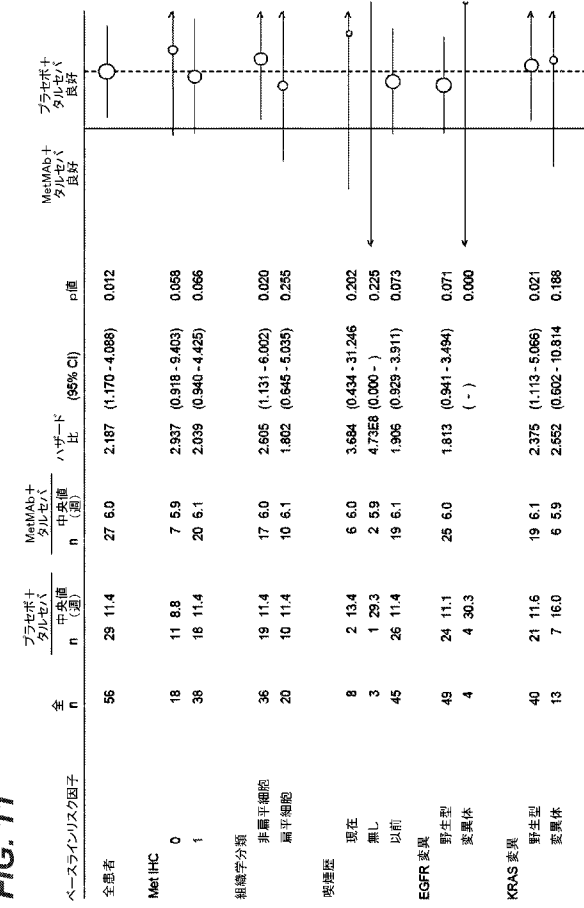


FIG. 11

【 図 1 3 】

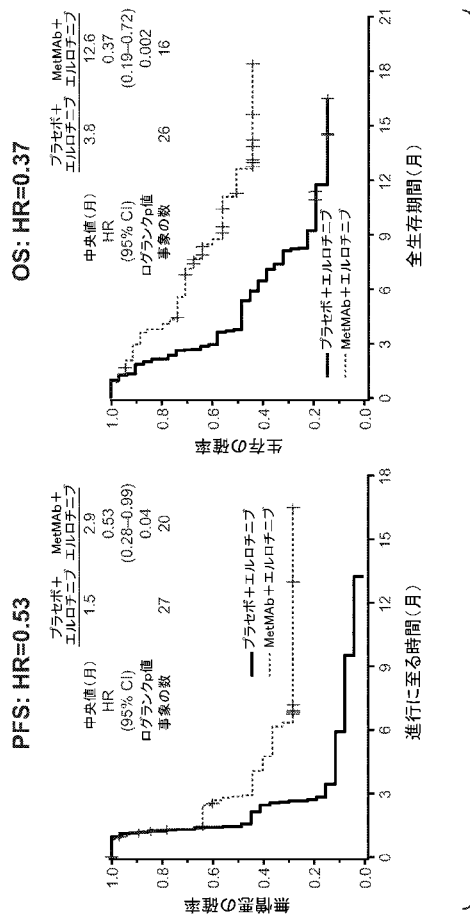


FIG. 13

【 図 1 2 】

Metが低い患者におけるOSのサブグループ分析

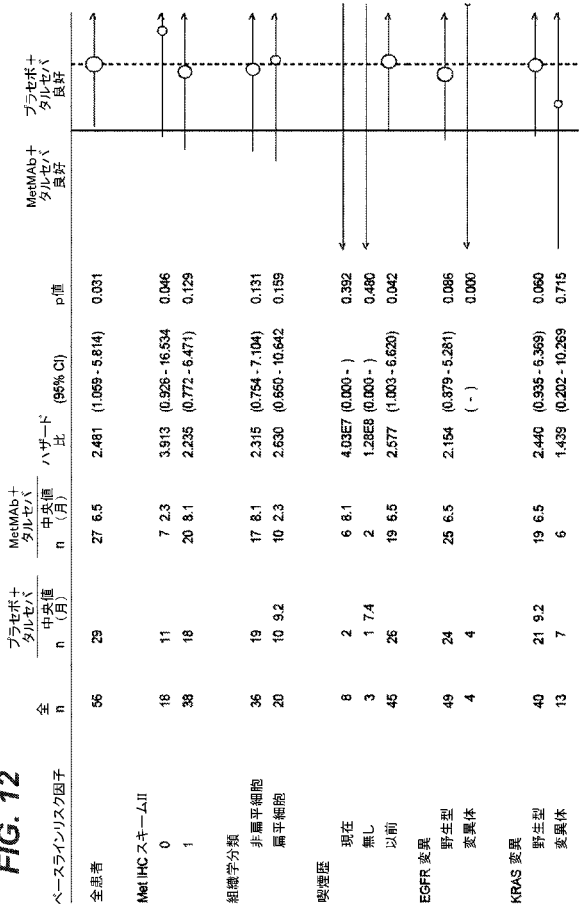


FIG. 12

【 図 1 4 】

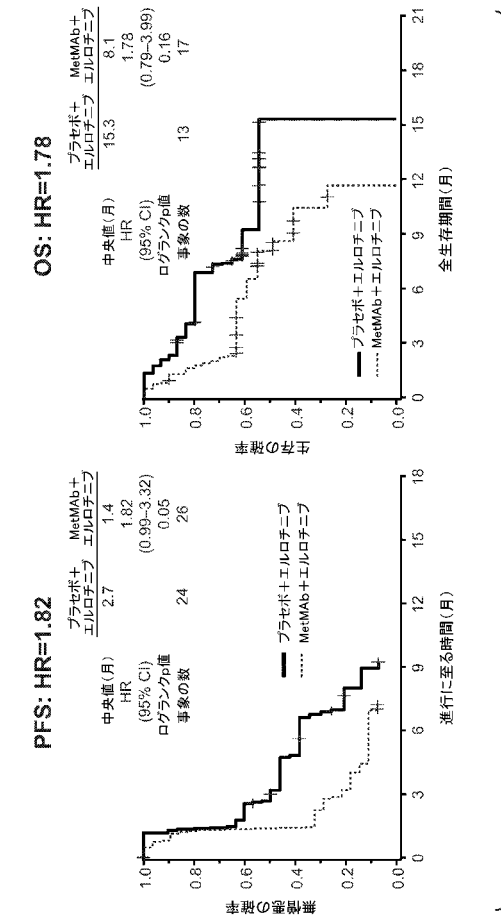


FIG. 14

【 図 1 5 】

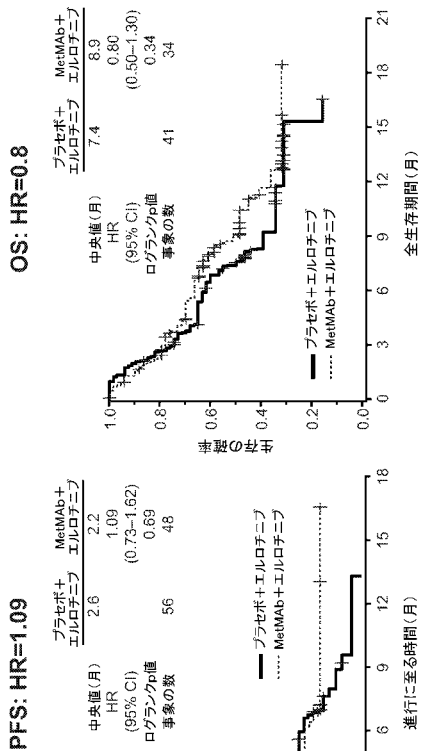


FIG. 15

【 図 1 6 】

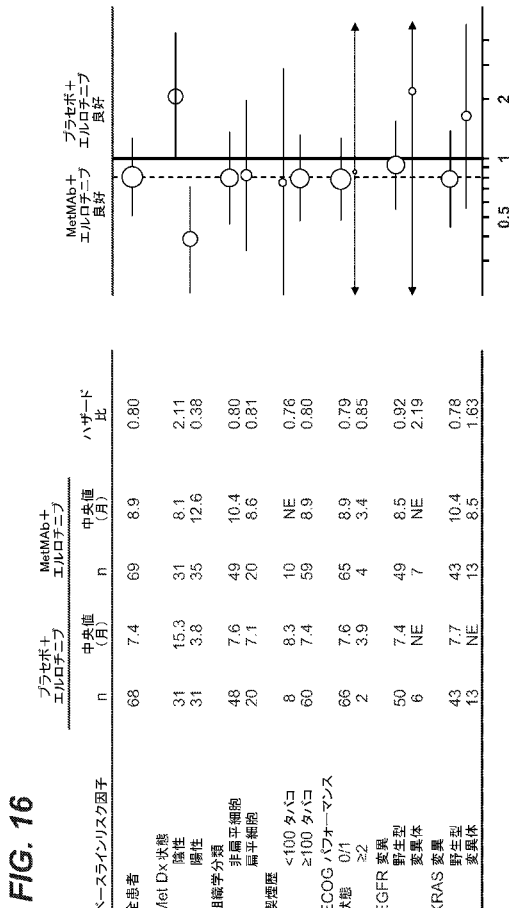
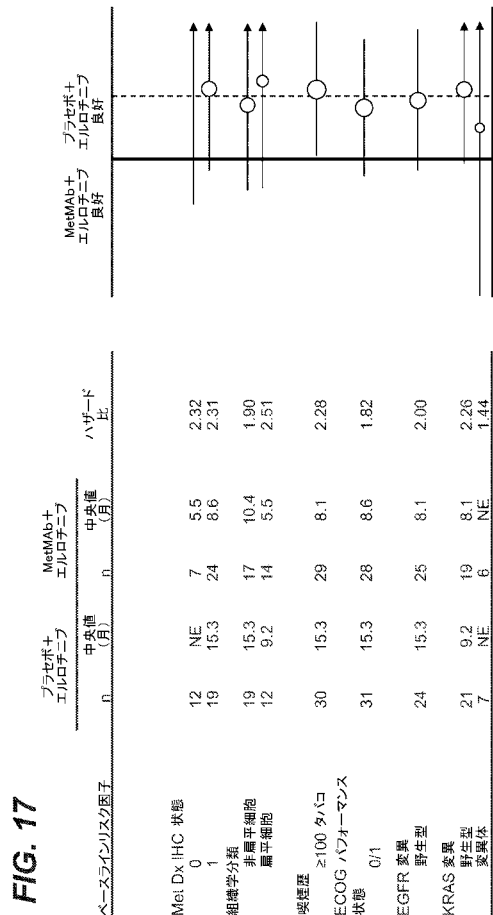


FIG. 16

全生存期間の中央値は Kaplan-Meier 曲線から見積もられた。プラセボ+エルロチニブに対するハザード比はコックス回帰により見積もられた。非層別化ハザード比が表示される。NE: 人手不可

【 図 1 7 】



全生存期間の中央値は Kaplan-Meier 曲線から見積もられた。プラセボ+エルロチニブに対するハザード比はコックス回帰により見積もられた。非層別化ハザード比が表示される。NE: 人手不可

FIG. 17

【 図 1 8 】

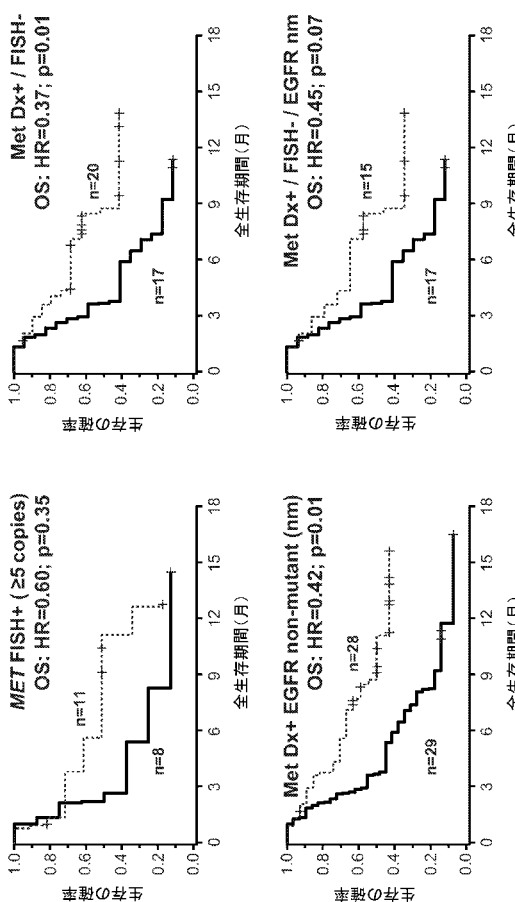
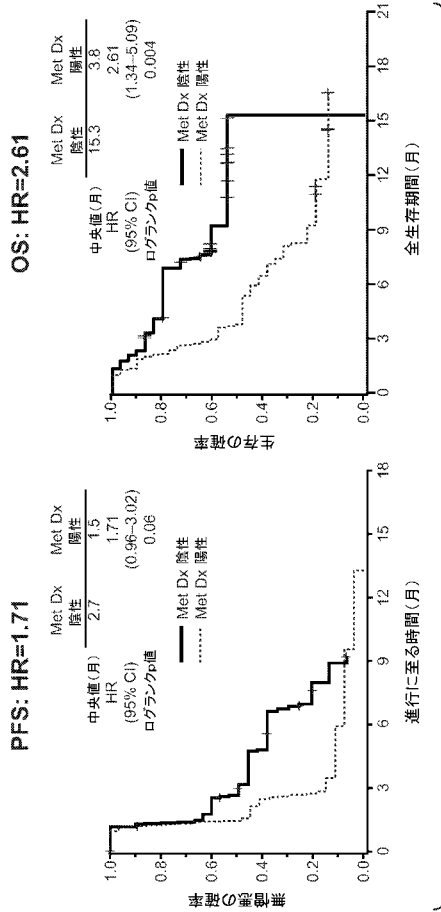
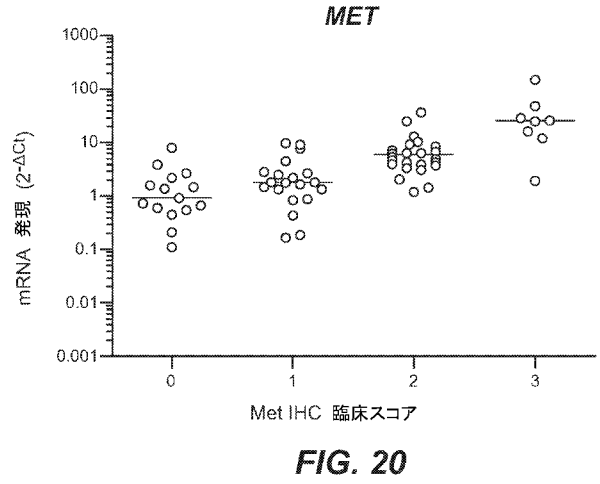


FIG. 18

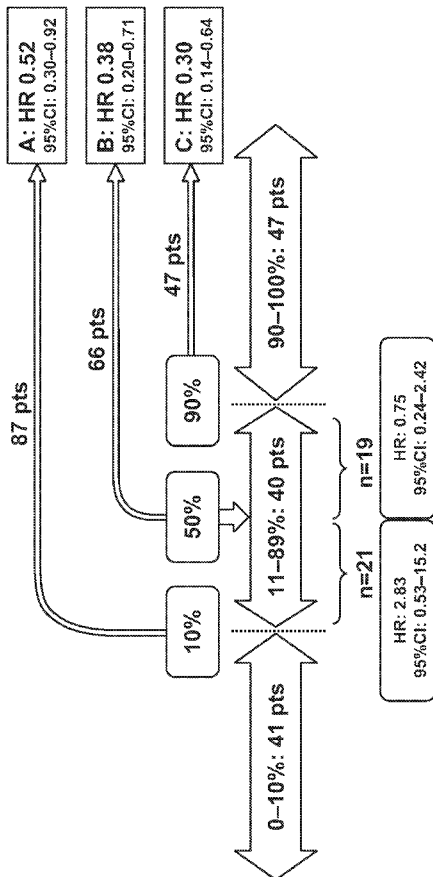
【 図 19 】



【 図 20 】



【 図 21 】



【 図 1 】

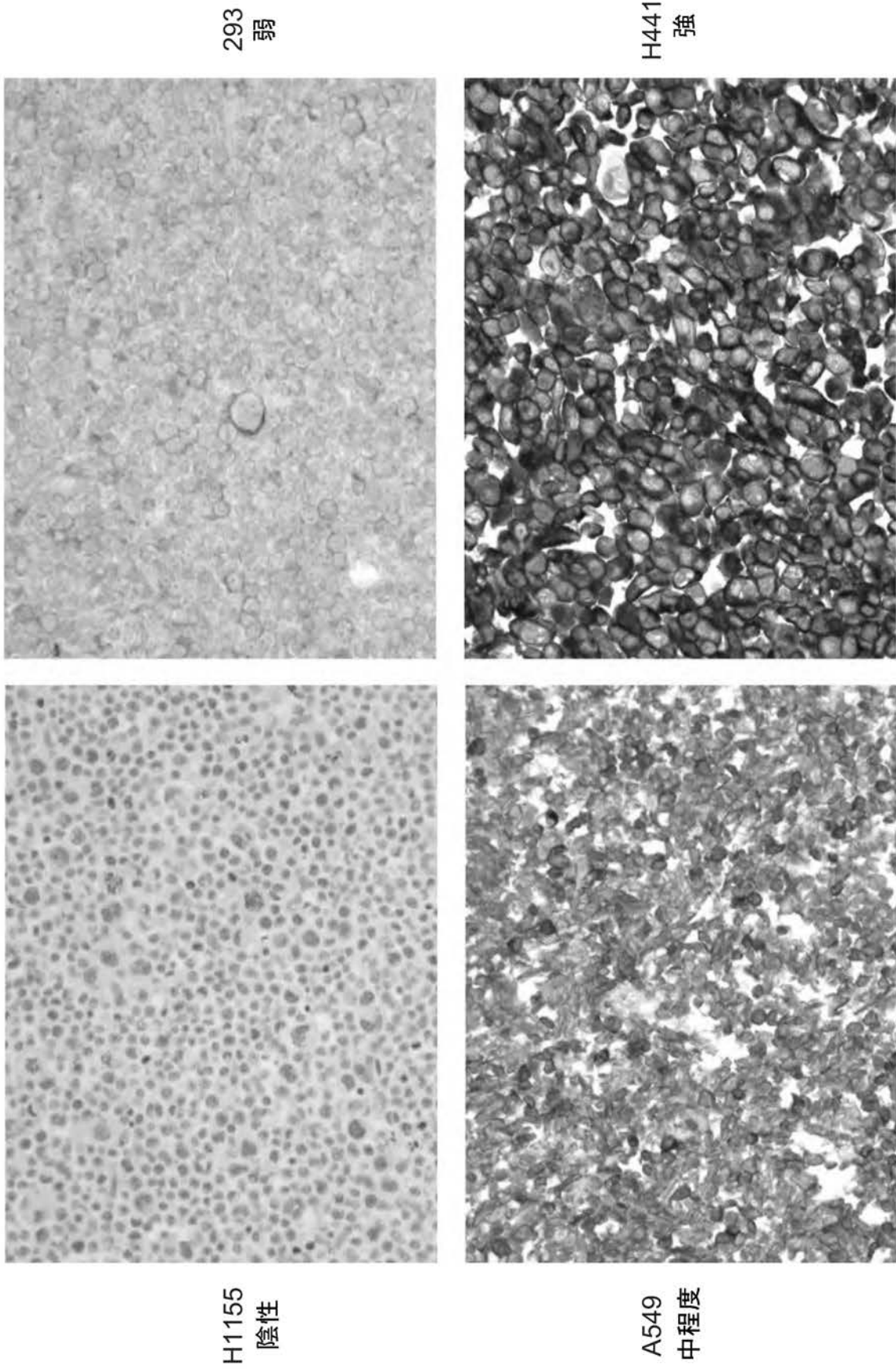


FIG. 1

【 图 2 】

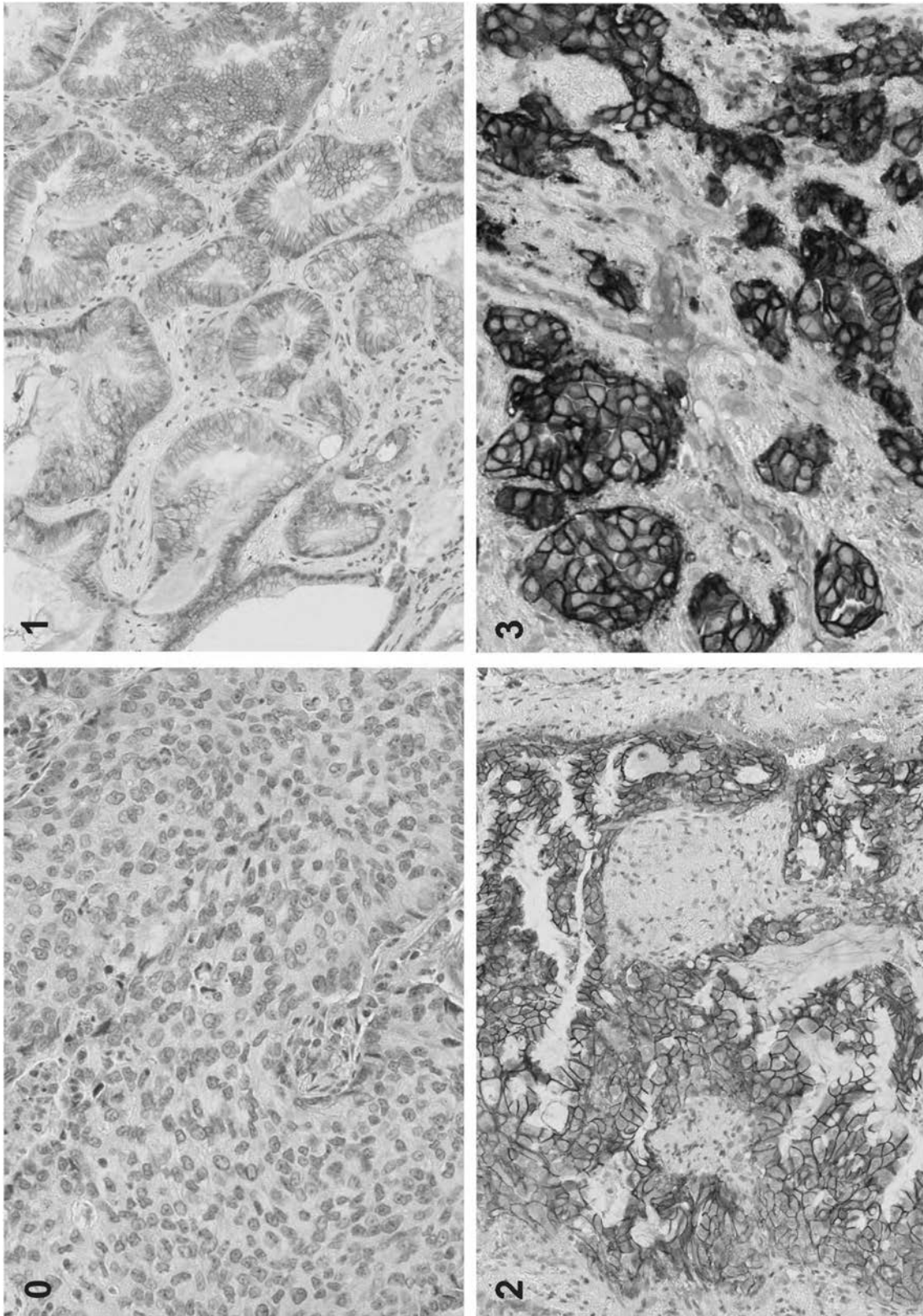


FIG. 2

【 配列表 】

2013537966000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2011/050069
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. G01N33/574 A61K39/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GOETSCH L ET AL: "Selection criteria for c-Met-targeted therapies: Emerging evidence for biomarkers", BIOMARKERS IN MEDICINE 2010 FUTURE MEDICINE LTD. GBR LNKD-DOI:10.2217/BMM.09.67, vol. 4, no. 1, February 2010 (2010-02), pages 149-170, XP009154090, ISSN: 1752-0363	1-30,33, 38-61, 65-67
Y	paragraph "C-met overexpression" on pages 151-152; table 2; paragraph "monoclonal antibody against c-Met" on pages 161-162 ----- -/--	31,32, 34-37, 62-64
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
21 November 2011		08/12/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Vanmontfort, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/050069

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SMOLEN GROMOSLAW A ET AL: "Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-665752", PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC; US, vol. 103, no. 7, 1 February 2006 (2006-02-01), pages 2316-2321, XP002392188, ISSN: 0027-8424, DOI: 10.1073/PNAS.0508776103 abstract	1-3,10, 11,20, 21,25, 39,48, 50,57, 65-67
X	----- KATSUHIRO OKUDA ET AL: "Met gene copy number predicts the prognosis for completely resected non-small cell lung cancer", CANCER SCIENCE, vol. 99, no. 11, 1 November 2008 (2008-11-01), pages 2280-2285, XP55012508, ISSN: 1347-9032, DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00916.x Abstract; paragraph "Met DNA amplification" on page 2280; paragraph "Met immunohistochemistry" on page 2281; page 2285	1-5, 10-15, 23,25, 26,28, 29,39, 42-44, 48-53, 57,58, 60,61, 65-67
X	----- KAMIYA: "Human c-Met ELISA For the quantitative determination of c-Met in human serum, EDTA-plasma or cell culture media", 20080201, no. KT-444, 1 February 2008 (2008-02-01), pages 1-6, XP007919726, the whole document	76-78
Y	----- WO 2010/045345 A2 (GENENTECH INC [US]; BENDER BRENDAN C [US]; EPPLER STEVE [US]; HEGDE PR) 22 April 2010 (2010-04-22) cited in the application claims;figure 1	31,32, 34-37, 62-64
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/050069

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	<p>SATTLER MARTIN ET AL: "The role of the c-Met pathway in lung cancer and the potential for targeted therapy.", THERAPEUTIC ADVANCES IN MEDICAL ONCOLOGY JUL 2011 LNKD- PUBMED:21904579, vol. 3, no. 4, July 2011 (2011-07), pages 171-184, XP55012527, ISSN: 1758-8359</p> <p>Page 180, column 1, paragraph 2; conclusions -----</p>	<p>1-5, 11-14, 19-21, 25,26, 30, 34-36, 38-44, 49-53, 57,58, 62,63, 65-67</p>

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/050069

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010045345 A2	22-04-2010	AR 073853 A1	09-12-2010
		AU 2009303392 A1	22-04-2010
		CA 2739302 A1	22-04-2010
		CN 102216331 A	12-10-2011
		EP 2344543 A2	20-07-2011
		KR 20110069092 A	22-06-2011
		TW 201022214 A	16-06-2010
		US 2011262436 A1	27-10-2011
		WO 2010045345 A2	22-04-2010
-----			

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
C 0 7 K 16/32 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	C 0 7 K 16/32	

- (31) 優先権主張番号 61/420,703  
 (32) 優先日 平成22年12月7日(2010.12.7)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)
- (31) 優先権主張番号 61/390,995  
 (32) 優先日 平成22年10月7日(2010.10.7)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)
- (31) 優先権主張番号 61/389,922  
 (32) 優先日 平成22年10月5日(2010.10.5)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)
- (31) 優先権主張番号 61/378,911  
 (32) 優先日 平成22年8月31日(2010.8.31)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, I D, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO , NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA

(72) 発明者 ピーターソン, エイミー シー.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94110, サン フランシスコ, キャップ ストリート  
 952

(72) 発明者 ヤウク, ロバート エル.  
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サン フランシスコ, ディーエヌエ  
 ー ウェイ 1, シーノオー ジェネンテック, インコーポレイテッド

(72) 発明者 チャー, チーピン  
 中華人民共和国 チアンスー プロビンス 215400, タイツァン エコノミック ディベ  
 ロップメント エリア, 베이ジン ウェスト ロード 6

F ターム(参考) 2G045 AA13 AA24 AA26 BA13 BA14 BB24 CA25 CB01 CB02 DA14  
 DA32 DA36 FA16 FB01 FB02 FB03 FB05 FB08 FB15 JA01  
 4B063 QA19 QQ02 QQ08 QQ53 QQ79 QR36 QR48 QR62 QR72 QR77  
 QS02 QS33 QS34 QX01  
 4C084 AA17 NA14 ZB262  
 4C085 AA14 CC23  
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA76 EA28 EA51 FA71

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	<a href="#">JP2013537966A5</a>	公开(公告)日	2014-10-16
申请号	JP2013526209	申请日	2011-08-31
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	パテルプレマール ピーターソンエイミーシー ヤウクロバートエル チャーチャーピン		
发明人	パテル, プレマール ピーターソン, エイミー シー. ヤウク, ロバート エル. チャー, チーピン		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/53 G01N33/48 C12Q1/68 C12Q1/02 A61K45/00 A61K39/395 A61P35/00 C07K16/32		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/04 A61P1/18 A61P11/00 A61P13/08 A61P13/10 A61P13/12 A61P15/00 A61P17/00 A61P19/00 A61P25/00 A61P35/00 A61P43/00 G01N33/57423 G01N2333/4753 G01N2800/52 G06Q99/00 A61K39/00 G01N33/00 G01N33/574 G01N33/68 A61K31/517 A61K39/39558 G01N33/6893		
FI分类号	G01N33/574.A G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/48.P C12Q1/68.ZNA.A C12Q1/02 A61K45/00 A61K39/395.N A61P35/00 C07K16/32		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA24 2G045/AA26 2G045/BA13 2G045/BA14 2G045/BB24 2G045/CA25 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/DA14 2G045/DA32 2G045/DA36 2G045/FA16 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB05 2G045/FB08 2G045/FB15 2G045/JA01 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QR36 4B063/QR48 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QS02 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QX01 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA14 4C085/CC23 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA71		
优先权	61/503489 2011-06-30 US 61/492338 2011-06-01 US 61/487527 2011-05-18 US 61/420703 2010-12-07 US 61/390995 2010-10-07 US 61/389922 2010-10-05 US 61/378911 2010-08-31 US		
其他公开文献	JP2013537966A		

#### 摘要(译)

本发明涉及癌症生物标志物。特别地，本发明涉及c-met作为患者选择和癌症患者预后的生物标志物，以及治疗方法，制品和制备它们的方法，诊断试剂盒，检测方法和与其相关的广告方法。

