

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5705836号
(P5705836)

(45) 発行日 平成27年4月22日 (2015. 4. 22)

(24) 登録日 平成27年3月6日 (2015. 3. 6)

(51) Int.Cl.	F I				
GO 1 N 33/574 (2006. 01)	GO 1 N	33/574	A		
CO 7 K 16/28 (2006. 01)	CO 7 K	16/28			
C 1 2 Q 1/68 (2006. 01)	C 1 2 Q	1/68	A		
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 K	45/00			
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	A 6 1 P	35/00			

請求項の数 33 (全 27 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2012-512393 (P2012-512393)	(73) 特許権者	306021192
(86) (22) 出願日	平成22年5月28日 (2010. 5. 28)		エフ・ホフマン-ラ・ロシュ・アクチュエン
(65) 公表番号	特表2012-528312 (P2012-528312A)		ゲゼルシャフト
(43) 公表日	平成24年11月12日 (2012. 11. 12)		スイス、ツェハー-4070パーゼル、グ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2010/057429		レンツァッハーシュトラ-セ 1 2 4 番
(87) 国際公開番号	W02010/136569	(74) 代理人	100109726
(87) 国際公開日	平成22年12月2日 (2010. 12. 2)		弁理士 園田 吉隆
審査請求日	平成24年1月27日 (2012. 1. 27)	(74) 代理人	100101199
(31) 優先権主張番号	09007217. 4		弁理士 小林 義教
(32) 優先日	平成21年5月29日 (2009. 5. 29)	(72) 発明者	キエールマイヤー, アルトリート
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		ドイツ国 7 9 5 3 9 レーラッハ, ア
(31) 優先権主張番号	10155170. 3	(72) 発明者	ピクル, マルレーネ
(32) 優先日	平成22年3月2日 (2010. 3. 2)		ドイツ国 8 2 3 7 7 ペンツベルク,
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		ビルケンシュトラ-セ 2 5

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 HER 2 を発現する胃癌患者のHER 2 シグナル伝達のためのモジュレーター

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

胃癌を患っていると疑われ、HER 2 / neu (Erb B 2) シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンス又は感受性のある患者として、HER 2 タンパク質の不確かな発現レベルを有する患者を識別するためのインビトロ法であって、該方法は、

前記患者から得られた前記試料中のHER 2 遺伝子の遺伝子増幅状態を評価する工程を含み、

HER 2 タンパク質の不確かな発現レベル、及びHER 2 遺伝子の高い遺伝子増幅状態が反応する患者の指標であるか、又はHER 2 / neu (Erb B 2) シグナル伝達経路の前記モジュレーターに対する前記患者の感受性の指標である方法。

10

【請求項 2】

HER 2 の前記タンパク質発現レベルが免疫組織化学的 (I H C) 方法により決定されるか又はされた、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

生検試料において決定された、HER 2 の前記不確かなタンパク質発現レベルがHER 2 (2 +) である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

切除試料において決定された、HER 2 の前記不確かなタンパク質発現レベルがHER 2 (2 +) である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 5】

20

HER2 遺伝子の前記遺伝子増幅状態がインサイツハイブリダイゼーション (ISH) 法によって検出される、請求項 1 から 4 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 6】

HER2 遺伝子の前記高増幅状態が、4 を超える HER2 遺伝子の平均遺伝子コピー数であるか、又は第 17 染色体コピーあたり 2 以上の HER2 の平均遺伝子コピー数である、請求項 1 から 5 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 7】

請求項 1 から 6 の何れかに記載の方法により識別される患者の一群の HER2 / neu (ErbB2) シグナル伝達経路のモジュレーターに対する奏功率が少なくとも 20 % である、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の方法。

10

【請求項 8】

前記試料が、胃組織切除、胃組織生検、転移病巣切除由来組織、及び循環性腫瘍細胞からなる群から選択される、請求項 1 から 7 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記免疫組織化学的方法が Hercept TestTM アッセイにより実施される、請求項 2 から 8 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記インサイツハイブリダイゼーションが蛍光インサイツハイブリダイゼーション (FISH)、発色インサイツハイブリダイゼーション (CISH) 及び銀インサイツハイブリダイゼーション (SISH) からなる群から選択される、請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 11】

前記 FISH 検査が「Inform (登録商標)」キット、「PathvysionTM」キット又は「pharmDxTM」キットからなる群から選択される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記 CISH 検査が SPOT - Light (登録商標) HER2 CISHTM 及び Zytodot (登録商標) SPEC HER2 プローブキットからなる群から選択される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 SISH 検査は ultraViewTM SISH 検出キットと組み合わせた「InformTM」HER2 DNA プローブである、請求項 10 に記載の方法。

30

【請求項 14】

前記試料が抗転移、ネオアジュバント、又はアジュバント療法の前に得られる、請求項 1 から 13 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 15】

請求項 1 から 14 の何れか一項に記載の方法により識別される患者における胃癌の治療のための薬学的組成物の調製のための HER2 / neu (ErbB2) シグナル伝達経路のモジュレーターの使用。

【請求項 16】

HER2 / neu (ErbB2) シグナル伝達経路の前記モジュレーターが HER の二量体化 / シグナル伝達阻害剤、又は HER 分断阻害剤である、請求項 1 から 14 の何れか一項に記載の方法。

40

【請求項 17】

前記 HER の二量体化阻害剤が HER2 の二量体化阻害剤である、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記 HER の二量体化阻害剤が HER のヘテロ二量体化又は HER のホモ二量体化を阻害する、請求項 16 又は 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 HER の二量体化阻害剤が HER 抗体である、請求項 16 から 18 の何れか一項に

50

記載の方法。

【請求項 20】

前記HER抗体がEGFR、HER2及びHER3からなる群から選択されるHERレセプターに結合する、請求項19に記載の方法。

【請求項 21】

前記抗体がHER2に結合する、請求項20に記載の方法。

【請求項 22】

前記HER2抗体がHER2細胞外ドメインのドメインIIに結合する、請求項21に記載の方法。

【請求項 23】

前記抗体がHER2細胞外ドメインのドメインI、IIとIIIの間の接合部に結合する、請求項22に記載の方法。

【請求項 24】

前記HER2抗体がペルツズマブである、請求項20から23の何れか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記HER分断の阻害剤がHER2分断阻害剤である、請求項16に記載の方法。

【請求項 26】

HER分断の前記阻害剤がHERヘテロ二量体化又はHERホモ二量体化を阻害する、請求項16又は25に記載の方法。

【請求項 27】

HER分断の前記阻害剤がHER抗体である、請求項16、25及び26の何れか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記HER抗体がEGFR、HER2及びHER3からなる群から選択されるHERレセプターに結合する、請求項27に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗体がHER2に結合する、請求項28に記載の方法。

【請求項 30】

前記HER2抗体がHER2細胞外ドメインのサブドメインIVに結合する、請求項29に記載の方法。

【請求項 31】

前記HER2抗体がハーセプチン/トラツズマブである、請求項28から30の何れか一項に記載の方法。

【請求項 32】

前記胃癌が浸潤性胃癌である、請求項1から14の何れか一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記胃癌が腸型腺癌、混合型腺癌、及びびまん型腺癌からなる群から選択される、請求項32に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はHER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンドー又は感受性のある患者を識別するための手段と方法に関する。また本願明細書において記載するものは、本発明の識別方法に従って決定され確定した患者群の治療に相当する方法であって、前記患者群は胃癌、特に浸潤性胃癌を患うか又は患いやすいと分かっているか又はその疑いがある。

【背景技術】

【0002】

レセプターチロシンキナーゼのHERファミリーのメンバーは、細胞の増殖、分化及び

10

20

30

40

50

生存の重要なメディエーターである。レセプターファミリーは、上皮増殖因子レセプター（EGFR、ErbB1またはHER1）、HER2（ErbB2またはp185^{neu}）、HER3（ErbB3）及びHER4（ErbB4）を含む4つの異なるメンバーを含む。erbB1遺伝子によって、コード化されるEGFRは必然的にヒトの悪性腫瘍に関与している。特に、EGFRの発現の増加が、乳房、膀胱、肺、頭、首、及び胃の癌、並びに神経膠芽腫に観察される。EGFRレセプター発現の増加はしばしば同一腫瘍細胞によるEGFRリガンド、トランスフォーミング増殖因子アルファ（TGF- α ）産生の増加に関連し、自己分泌刺激経路によるレセプター活性化をもたらす。Baselga及びMendelsohn, *Pharmac. Ther.* 64:127-154 (1994)。EGFR又はそのリガンドであるTGF- α 及びEGFに対するモノクローナル抗体が、そうした悪性腫瘍の治療における治療薬として評価されてきた。例えば、Baselga及びMendelsohn, 上記; Masui等、*Cancer Research* 44:1002-1007 (1984); 及びWu等、*J. Clin. Invest.* 95:1897-1905 (1995)を参照。

10

【0003】

HERファミリーの2番目のメンバーであるp185^{neu}は当初、化学処理したラットの神経芽細胞腫由来の形質転換遺伝子の産物として同定された。neu遺伝子（別名HER2）のヒトホモログの増幅は、乳癌、及び卵巣癌に観察され、予後不良に関係する（Slamon等、*Science*, 235:177-182 (1987); Slamon等、*Science*, 244:707-712 (1989); 及び米国特許第4968603号明細書）。HER2の過剰発現は、胃、子宮内膜、唾液腺、肺、腎臓、大腸、甲状腺、膵臓および膀胱の癌腫を含む、他の癌腫にも観察される。特に、King等、*Science*, 229:974 (1985); Yokota等、*Lancet*:1:765-767 (1986); Fukushima等、*Mol Cell Biol.*, 6:955-958 (1986); Guerin等、*Oncogene Res.*, 3:21-31 (1988); Cohen等、*Oncogene*, 4:81-88 (1989); Yonemura等、*Cancer Res.*, 51:1034 (1991); Borst等、*Gynecol. Oncol.*, 38:364 (1990); Weiner等、*Cancer Res.*, 50:421-425 (1990); Kern等、*Cancer Res.*, 50:5184 (1990); Park等、*Cancer Res.*, 49:6605 (1989); Zhai等、*Mol. Carcinog.*, 3:254-257 (1990); Aasland等、*Br. J. Cancer* 57:358-363 (1988); Williams等、*Pathobiology* 59:46-52 (1991); 及びMcCann等、*Cancer*, 65:88-92 (1990)。HER2は前立腺癌に過剰発現し得る。（Gu等、*Cancer Lett.* 99:185-9 (1996); Ross等、*Hum. Pathol.* 28:827-33 (1997); Ross等、*Cancer* 79:2162-70 (1997); 及びSadasivan等、*J. Urol.* 150:126-31 (1993)を参照。ラットp185^{neu}及びヒトHER2タンパク質に対する抗体が記載されている。

20

30

【0004】

Drebinとその同僚は、ラットneu遺伝子産物p185^{neu}に対する抗体を産生させた。例えば、Drebin等、*Cell* 41:695-706 (1985); Myers等、*Meth. Enzym.* 198:277-290 (1991); 及び国際公開第94/22478号パンフレットを参照。Drebin等による“*Oncogene* 2:273-277 (1988)”では、p185^{neu}の2つの異なる領域に反応する抗体の混合物は、ヌードマウスに埋め込まれたneu形質転換NIH-3T3細胞に相乗的抗腫瘍効果をもたらすと報告している：1988年10月20日発行の米国特許第5824311号明細書も参照のこと。

40

【0005】

Hudzjak等による*Mol. Cell. Biol.* 9(3):1165-1172

50

(1989)は、ヒト乳房腫瘍細胞株SK-BR-3を用いて特徴付けられたHER2抗体パネルの作製を記載している。抗体に曝露後の相対的なSK-BR-3細胞増殖を、単分子膜のクリスタルバイオレット染色により72時間後に決定した。本アッセイを使用して、最大の阻害は、細胞増殖を56%阻害する4D5なる抗体により得られた。パネルの他の抗体は、本アッセイにおいてより少ない程度に細胞増殖を減少させた。抗体4D5は更に、TNF- α の細胞毒効果に対してHER2過剰発現乳房腫瘍細胞株を感作することが見いだされた；1997年10月14日に発行された米国特許第5677171号明細書を参照。Hudziak等において議論されたHER2抗体は更に、Fendly等、Cancer Research 50:1550-1558(1990)；Kotts等、In Vitro 26(3):59A(1990)；Sarup等、Growth Regulation 1:72-82(1991)；Shepard等、J. Clin. Immunol. 11(3):117-127(1991)；Kumar等、Mol. Cell. Biol. 11(2):979-986(1991)；Lewis等、Cancer Immunol. Immunother. 37:255-263(1993)；Pietras等、Oncogene 9:1829-1838(1994)；Vitetta等、Cancer Research 54:5301-5309(1994)；Sliwkowski等、J. Biol. Chem. 269(20):14661-14665(1994)；Scott等、J. Biol. Chem. 266:14300-5(1991)；D'souza等、Proc. Natl. Acad. Sci. 91:7202-7206(1994)；Lewis等、Cancer Research 56:1457-1465(1996)；及びSchaefer等、Oncogene 15:1385-1394(1997)において特徴付けられている。マウスHER2抗体4D5(huMAb4D5-8、rhMAbHER2、トラツズマブ又はハーセプチン(登録商標)；米国特許第5821337号明細書)の組換えヒト化バージョンは、広範な従前の抗癌治療を受け、HER2が過剰発現した転移性乳癌患者において臨床的に有効である(Baselga等、J. Clin. Oncol. 14:737-744(1996))。トラツズマブは腫瘍がHER2タンパク質を過剰発現する転移乳癌の患者の治療のために、1998年9月25日、食品医薬品局から販売承認を受け取った。

【0006】

様々な性質を持つ他のHER2抗体が、Tagliabue等、Int. J. Cancer 47:933-937(1991)；McKenzie等、Oncogene 4:543-548(1989)；Maier等、Cancer Res. 51:5361-5369(1991)；Bacus等、Molecular Carcinogenesis 3:350-362(1990)；Stancovski等、PNAS(USA) 88:8691-8695(1991)；Bacus等、Cancer Research 52:2580-2589(1992)；Xu等、Int. J. Cancer 53:401-408(1993)；国際公開第94/00136号パンフレット；Kasprzyk等、Cancer Research 52:2771-2776(1992)；Hancock等、Cancer Res. 51:4575-4580(1991)；Shawver等、Cancer Res. 54:1367-1373(1994)；Arteaga等、Cancer Res. 54:3758-3765(1994)；Harwerth等、J. Biol. Chem. 267:15160-15167(1992)；米国特許第5783186号明細書；及びKlapper等、Oncogene 14:2099-2109(1997)に記載されている。

【0007】

ホモロジースクリーニングは結果として2つの他のHERファミリーメンバーを同定した；HER3(米国特許第5183884号明細書、及び第5480968号明細書、並びにKraus等、PNAS(USA) 86:9193-9197(1989))及びHER4(欧州特許第599274号明細書；Plowman等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:1746-1750(1993)；及びPlowman

10

20

30

40

50

等、Nature, 366:473-475(1993)。これらのレセプターは両方とも少なくとも若干の乳癌細胞株で発現の増加を示した。HERレセプターは一般的に細胞中に様々な組合わせで見つかり、ヘテロダイマー化は様々なHERリガンドに対する細胞応答の多様性を増加させると考えられている。(Earp等、Breast Cancer Research and Treatment 35:115-132(1995))。EGFRは6つの異なるリガンドが結合する；上皮増殖因子(EGF)、(トランスフォーミング増殖因子アルファ(TGF-)、アンフィレギュリン、ヘパリン結合上皮増殖因子(HB-EGF)、ベータセルリン及びエピレギュリン(Groenen等、Growth Factors 11:235-257(1994))。単一遺伝子の選択的スプライシングから得られたヘレグリンタンパク質のファミリーはHER3及びHER4 10
に対するリガンドである。ヘレグリンファミリーはアルファ、ベータ、及びガンマヘレグリンを含む(Holmes等、Science, 256:1205-1210(1992))；米国特許第5641869号明細書；及びSchaefer等、Oncogene 15:1385-1394(1997))；neu分化因子(NDF)、グリア細胞増殖因子(GGF)；アセチルコリンレセプター誘導活性(ARIA)；及び感覚と運動ニューロン由来因子(SMDF)。レビューのために、Groenen等、Growth Factors 11:235-257(1994)；Lemke, G. Molec. & Cell. Neurosci. 7:247-262(1996)及びLee等、Pharm. Rev. 47:51-85(1995)を参照。最近、3つの異なるHERリガンドが同定された；HER3又はHER4の何れかに結合すると報告されるニューレグリン- 20
2(NRG-2)(Chang等、Nature 387:509-512(1997))；及びCarraway等、Nature 387:512-516(1997))；HER4に結合するニューレグリン-3(Zhang等、PNAS(USA)94(18):9562-7(1997))；及びHER4に結合するニューレグリン-4(Harari等、Oncogene 18:2681-89(1999))。HB-EGF、ベータセルリン、及びエピレギュリンもHER4に結合する。

【0008】

EGFとTGF- はHER2と結合しないが、EGFはEGFRを刺激しHER2とヘテロダイマーを形成し、結果としてEGFRによるHER2のリン酸基転移をもたらし、及びヘテロダイマーにおいて逆も真である；上記のEarp等を参照。同様に、HER 30
3がHER2と共発現された場合、活性なシグナル伝達複合体が形成され、HER2に対する抗体がこの複合体を破壊することができる(Sliwowski等、J. Biol. Chem., 269(20):14661-14665(1994))。更に、HER2と共発現した場合に、ヘレグリン(HRG)に対するHER3の親和性が増加され高親和性状態となる。HER2-HER3タンパク質複合体に関して、Levi等、Journal of Neuroscience 15:1329-1340(1995)；Morrissett等、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:1431-1435(1995)；及びLewis等、Cancer Res., 56:1457-1465(1996)も参照のこと。HER3同様HER4はHER2と活性なシグナル伝達複合体を形成する(Carraway及びCantley, Cell 78:5-8 40
(1994))。HER抗体に係る特許公開は、米国特許第5677171号明細書、米国特許第5720937号明細書、米国特許第5720954号明細書、米国特許第5725856号明細書、米国特許第5770195号明細書、米国特許第5772997号明細書、米国特許第6165464号明細書、米国特許第6387371号明細書、米国特許第6399063号明細書、米国特許出願公開第2002/0192211(A1)号明細書、米国特許第6015567号明細書、米国特許第6333169号明細書、米国特許第4968603号明細書、米国特許第5821337号明細書、米国特許第6054297号明細書、米国特許第6407213号明細書、米国特許第6719971号明細書、米国特許第6800738号明細書、米国特許出願公開第2004/0236078(A1)号明細書、米国特許第5648237号明細書、米国特許第6267958 50

号明細書、米国特許第6685940号明細書、米国特許第6821515号明細書、国際公開第98/17797号明細書、米国特許第6127526号明細書、米国特許第633398号明細書、米国特許第6797814号明細書、米国特許第6339142号明細書、米国特許第6417335号明細書、米国特許第6489447号明細書、国際公開第99/31140号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0147884(A1)号明細書、米国特許出願公開第2003/0170234(A1)号明細書、米国特許出願公開第2005/0002928(A1)号明細書、米国特許第6573043号明細書、米国特許出願公開第2003/0152987(A1)号明細書、国際公開第99/48527号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0141993(A1)号明細書、国際公開第01/00245号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0086924号明細書、米国特許出願公開第2004/0013667(A1)号明細書、国際公開第00/69460号パンフレット、国際公開第01/00238号パンフレット、国際公開第01/15730号パンフレット、米国特許第6627196(B1)号明細書、米国特許第6632979(B1)号明細書、国際公開第01/00244号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0090662(A1)号明細書、国際公開第01/89566号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0064785号明細書、米国特許出願公開第2003/0134344号明細書、国際公開第04/24866号パンフレット、米国特許出願公開第2004/0082047号明細書、米国特許出願公開第2003/0175845(A1)号明細書、国際公開第03/087131号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0228663号明細書、国際公開第2004/008099(A2)号パンフレット、米国特許出願公開第2004/0106161号明細書、国際公開第2004/048525号パンフレット、米国特許出願公開第2004/0258685(A1)号明細書、米国特許第5985553号明細書、米国特許第5747261号明細書、米国特許第4935341号明細書、米国特許第5401638号明細書、米国特許第5604107号明細書、国際公開第87/07646号パンフレット、国際公開第89/10412号パンフレット、国際公開第91/05264号パンフレット、欧州特許第412116(B1)号明細書、欧州特許第494135(B1)号明細書、米国特許第5824311号明細書、欧州特許第444181(B1)号明細書、欧州特許第1006194(A2)号明細書、米国特許出願公開第2002/0155527(A1)号明細書、国際公開第91/02062号パンフレット、米国特許第5571894号明細書、米国特許第5939531号明細書、欧州特許第502812(B1)号明細書、国際公開第93/03741号パンフレット、欧州特許第554441(B1)号明細書、欧州特許第656367(A1)号明細書、米国特許第5288477号明細書、米国特許第5514554号明細書、米国特許第5587458号明細書、国際公開第93/12220号明細書、国際公開第93/16185号パンフレット、米国特許第5877305号明細書、国際公開第93/21319号パンフレット、国際公開第93/21232号パンフレット、米国特許第5856089号明細書、国際公開第94/22478号パンフレット、米国特許第5910486号明細書、米国特許第6028059号明細書、国際公開第96/07321号パンフレット、米国特許第5804396号明細書、米国特許第5846749号明細書、欧州特許第711565号明細書、国際公開第96/16673号パンフレット、米国特許第5783404号明細書、米国特許第5977322号明細書、米国特許第6512097号明細書、国際公開第97/00271号パンフレット、米国特許第6270765号明細書、米国特許第6395272号明細書、米国特許第5837243号明細書、国際公開第96/40789号パンフレット、米国特許第5783186号明細書、米国特許第6458356号明細書、国際公開第97/20858号パンフレット、国際公開第97/38731号パンフレット、米国特許第6214388号明細書、米国特許第5925519号明細書、国際公開第98/02463号パンフレット、米国特許第5922845号明細書、国際公開第98/18489号パンフレット、国際公開第98/33914号パンフレット、米国特許第5994071号明細書、国際公開第98/45479号パンフ

10

20

30

40

50

レット米国特許第6358682(B1)号明細書、米国特許出願公開第2003/0059790号明細書、国際公開第99/55367号パンフレット、国際公開第01/20033号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0076695(A1)号明細書、国際公開第00/78347号パンフレット、国際公開第01/09187号パンフレット、国際公開第01/21192号パンフレット、国際公開第01/32155号パンフレット、国際公開第01/53354号パンフレット、国際公開第01/56604号パンフレット、国際公開第01/76630号パンフレット、国際公開第02/05791号パンフレット、国際公開第02/11677号パンフレット、米国特許第6582919号明細書、米国特許出願公開第2002/0192652(A1)号明細書、米国特許出願公開第2003/0211530(A1)号明細書、国際公開第02/44413号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0142328号明細書、米国特許第6602670(B2)号明細書、国際公開第02/45653号パンフレット、国際公開第02/055106号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0152572号明細書、米国特許出願公開第2003/0165840号明細書、国際公開第02/087619号パンフレット、国際公開第03/006509号パンフレット、国際公開第03/012072号パンフレット、国際公開第03/028638号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0068318号明細書、国際公開第03/041736号パンフレット、欧州特許第1357132号明細書、米国特許出願公開第2003/0202973号明細書、米国特許出願公開第2004/0138160号明細書、米国特許第5705157号明細書、米国特許第6123939号明細書、欧州特許第616812(B1)号明細書、米国特許出願公開第2003/0103973号明細書、米国特許出願公開第2003/0108545号明細書、米国特許第6403630(B1)号明細書、国際公開第00/61145号パンフレット、国際公開第00/61185号パンフレット、米国特許第6333348(B1)号明細書、国際公開第01/05425号パンフレット、国際公開第01/64246号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0022918号明細書、米国特許出願公開第2002/0051785(A1)号明細書、米国特許第6767541号明細書、国際公開第01/76586号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0144252号明細書、国際公開第01/87336号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0031515(A1)号明細書、国際公開第01/87334号パンフレット、国際公開第02/05791号パンフレット、国際公開第02/09754号パンフレット、米国特許出願公開第2003/0157097号明細書、米国特許出願公開第2002/0076408号明細書、国際公開第02/055106号パンフレット、国際公開第02/070008号パンフレット、国際公開第02/089842号パンフレット及び国際公開第03/86467号パンフレットを含む。

【0009】

HER2抗体トラスツズマブで治療を受けた乳癌患者は、HER2過剰発現/増幅に基づいた治療のために選択される；例えば、国際公開第99/31140号パンフレット(Paton等)、米国特許出願公開第2003/0170234(A1)号明細書(Hellmann, S.)、及び米国特許出願公開第2003/0147884号明細書(Paton等)；並びに国際公開第01/89566号パンフレット、米国特許出願公開第2002/0064785号明細書、及び米国特許出願公開第2003/0134344号明細書(Mass等)を参照。

【0010】

先行技術では、高HER2タンパク質発現レベル(例えば、IHCによるHER2(3+)に基づいたトラスツズマブ/ハーセプチン治療の乳癌患者の適格性に焦点が絞られた。しかし、そうした抗体治療に対する胃癌患者の適格性についてほとんど情報が得られていない。また、他の癌型、特に、かなり異なる病理組織学的パターンを示し、全般的に異なる病理に関わる胃癌に対して、抗体治療に応じるかもしれない乳癌患者のスクリーニング及び同定のために開発された評価システムと判断基準が適用可能かどうかの論争も当

10

20

30

40

50

技術分野にて存在する。

【0011】

免疫組織化学 (I H C) 及び蛍光インサイツハイブリダイゼーション (F I S H) による H E R 2 過剰発現及び増幅を検出する方法はまた米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 2 9 8 7 号明細書、C o h e n 等、に記載されている。

【0012】

国際公開第 2 0 0 4 / 0 5 3 4 9 7 号パンフレット及び米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 2 4 8 1 5 (A 1) 号明細書 (B a c u s 等)、並びに米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 9 0 6 8 9 号明細書 (C r o s b y と S m i t h) は、トラスツズマブ治療への反応を決定すること又は予測することに言及する。米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 3 2 9 7 (A 1) 号明細書 (B a c u s 等) は、A B X 0 3 0 3 E G F R 抗体治療への反応を決定すること又は予測することと関係する。国際公開第 2 0 0 4 / 0 0 0 0 9 4 号パンフレット (B a c u s 等) は、低分子であって E G F R - H E R 2 チロシンキナーゼ阻害剤である G W 5 7 2 0 1 6 に対する反応を決定することに関する。国際公開第 2 0 0 4 / 0 6 3 7 0 9 号明細書、A m l e r 等は、E G F R 阻害剤のエルロチニブ H C 1 に対する感受性を決定するためのバイオマーカー及び方法について言及している。米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 2 0 9 2 9 0 号明細書 (C o b l e i g h 等) は、乳癌予後の遺伝子発現マーカーに関係する。ペルツズマブ (本明細書で下記により詳しく記される H E R 2 の二量体化阻害剤) で治療されるべき乳癌患者が、H E R 過剰発現 / 増幅、活性化又は二量体化に基づいた治療のために選択され得る。ペルツズマブ及びそれによる治療を要する患者の選択に関する特許公開は、国際公開第 0 1 / 0 0 2 4 5 号パンフレット (A d a m s 等) ; 米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 0 8 6 9 2 4 号明細書 (S l i w k o w s k i , M .) ; 米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 0 1 3 6 6 7 (A 1) 号明細書 (S l i w k o w s k i , M .) ; 並びに国際公開第 2 0 0 4 / 0 0 8 0 9 9 (A 2) 号明細書、及び米国特許出願公開第 2 0 0 4 / 0 1 0 6 1 6 1 号明細書 (B o s s e n m a i e r 等) を含む。

【0013】

ペルツズマブ (以前は 2 C 4) は H E R 二量体化阻害剤 (H D I) として知られた新型薬の第一号である。ペルツズマブはその二量体化ドメインで H E R 2 に結合し、それにより活性化された二量体レセプター複合体形成能を阻害し、最終的に細胞増殖と分化をもたらす下流のシグナル伝達カスケードを遮断する ; F r a n k l i n (2 0 0 4) , C a n c e r C e l l 5 , 3 1 7 - 3 2 8 を参照。ペルツズマブは H E R 2 の細胞外ドメインに対する完全ヒト化組換えモノクローナル抗体である。ヒト上皮細胞の H E R 2 へのペルツズマブの結合は H E R 2 が H E R ファミリーの他のメンバー (E G F R 、 H E R 3 、 H E R 4 を含む) と複合体を形成すること、及び恐らく H E R 2 ホモ二量体化もを阻む。複合体形成を遮断することで、ペルツズマブは H E R 1 、 H E R 3 及び H E R 4 のリガンド (例えば、E G F 、 T G F 、 アンフィレギュリン、及びヘレグリン) により活性化された増殖促進効果と細胞生存シグナルを阻む。ペルツズマブの別名称は 2 C 4 である。ペルツズマブはヒト I g G 1 () フレームワーク配列に基づいた完全ヒト化組換えモノクローナル抗体である。ペルツズマブの構造は 2 本の重鎖 (4 4 9 残基) と 2 本の軽鎖 (2 1 4 残基) からなる。トラスツズマブ (ハーセプチン (登録商標)) と比較すると、ペルツズマブは軽鎖に 1 2 アミノ酸の相違、及び I g G 1 重鎖に 2 9 アミノ酸の相違を有す。

【0014】

ハーセプチンは、腫瘍が H E R 2 タンパク質を過剰発現するか又は H E R 2 遺伝子増幅を有する早期性並びに転移性の乳癌患者の治療のために広く用いられ、かつ当技術分野で知られている。当技術分野で、ハーセプチン / トラスツズマブによる乳癌患者の治療は、例えば、H E R 2 陽性疾患を持つ患者に推奨され慣用されている。乳癌における H E R 2 陽性疾患は、免疫組織化学法、例えば、H E R 2 (+ + +) 又は H E R 2 遺伝子増幅 (例えば、腫瘍細胞あたり H E R 2 遺伝子が 4 コピーより高い H E R 2 遺伝子コピー数)、又は両方により検出される高い H E R 2 (タンパク質) 発現レベルが、乳房組織生検又は乳

10

20

30

40

50

房組織の切除等の患者由来試料又は転移部位に由来する組織に見いだされる場合に存在する。

【 0 0 1 5 】

しかしながら、不確かな、又は高いHER2タンパク質発現レベル、例えば、HER2(2+)又はHER2(3+)を持つ胃癌患者がハーセプチンで首尾良く治療され得るか否か、及びHER2の増幅状態が胃癌治療に対する感受性を示し得るか否かについては不明である。

【 0 0 1 6 】

従って、本発明の基礎となる技術的課題は、HER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターによる胃癌の治療、特にトラスツズマブ/ハーセプチン等のHER2抗体による治療に対して反応し得る、胃癌を患うか又は患いやすい、患者又は患者群の識別の手段と方法の提供である。

10

【 0 0 1 7 】

技術的課題は請求項に特徴付けられた実施態様の提供によって解決される。

【発明の概要】

【 0 0 1 8 】

従って、本発明は、HER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンドーとして、又は感受性のある患者として、胃癌を患っていることが疑われる患者を識別するためのインビトロ法に関し、該方法は、

(a) 前記患者から試料を得て、

20

(b)

(b1) 前記試料中のHER2タンパク質発現レベル、及び

(b2) 前記試料中のHER2遺伝子の遺伝子増幅状態、

を評価する

工程を含み、

HER2タンパク質の不確かな発現レベル及びHER2遺伝子の高い遺伝子増幅状態は、反応する患者の指標であるか、又はHER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路の前記モジュレーターに対する前記患者の感受性の指標である方法である。

【 0 0 1 9 】

本発明の文脈では、HER2タンパク質発現レベルは免疫組織化学法で検出されることが好まれ、前記HER2遺伝子増幅状態は、蛍光インサイツハイブリダイゼーション(FISH)、発色インサイツハイブリダイゼーション(CISH)、又は銀インサイツハイブリダイゼーション(SISH)等のインサイツハイブリダイゼーション(ISH)法で測定することが可能である。タンパク質発現アッセイ並びに遺伝子増幅の検出のために、対応するアッセイ法及びキットは当技術分野で良く知られている。

30

【 0 0 2 0 】

本発明は本明細書の下記の通り、例えばIHCで決定されるHER2タンパク質の不確かな発現レベル、すなわちHER2(2+)で特徴付けられる予期せぬ患者群、及びHER2遺伝子の高増幅状態(例えば、腫瘍細胞あたり4より大きなHER2遺伝子の平均コピー数、又は第17番染色体コピーあたり(腫瘍細胞あたり)2以上のHER2遺伝子の平均遺伝子コピー数)が、HER2/neu(erbB2)シグナル伝達経路のモジュレーター、特に、ハーセプチン/トラスツズマブの様なHER2抗体による治療に反応することを驚くべきことに見いだしたため、上に定義した技術的課題を解決する。

40

【 0 0 2 1 】

本明細書で使用する「平均」なる用語は、例えばHER2遺伝子の平均コピー数に関する文中で、調べるべき生物学試料の少なくとも2つの腫瘍細胞の腫瘍細胞あたりのHER2遺伝子コピーの平均数、又は調べるべき生物学試料の少なくとも2つの腫瘍細胞における第17染色体コピーあたりのHER2遺伝子コピーの平均数に関する。

【 0 0 2 2 】

本発明では生物学試料中(例えば生検又は切除)のHER2タンパク質の不確かな発現

50

レベルと、同時に生物学試料中（例えば生検又は切除）のHER2遺伝子の高い増幅を持つ胃癌患者がHER2抗体等による治療に対して反応することを驚くべきことに見いだした。予期せぬことに、これらの患者のHER2/neu(erbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターによる治療に対する奏効率は、HER2遺伝子の高い増幅を有するがIHCにおいて弱又は中程度の染色のみを有する胃癌患者と比較してはるかに高い；添付の実施例及び図、特に図2と3を参照。本発明に従って識別された新規の患者群は、高HER2遺伝子増幅で更に特徴付けられた低HER2タンパク質発現群（例えば、IHCによるIHC(0)又はIHC(1+)）と比較してHER2モジュレーターによる治療に対してより良好な反応を示す。

【0023】

当技術分野で、HER2モジュレーターで治療するためにいかにして胃癌患者を分類するかについて明確な推奨は無い。HER2タンパク質の発現が不確かであると評価される胃癌を患う患者から得られる試料は、ISHにより更に調査されるかどうかはわからない。当技術分野では、胃癌におけるHER2過剰発現の発生率、及び/又は遺伝子増幅に関するデータがあるのみであり、HER2タンパク質レベルにもHER2遺伝子レベルにも関連しないHER2モジュレーターによる治療の利益に関して、HER2状態の予測可能性に関するデータは無い。それゆえ、先行技術では、HER2タンパク質発現が不確かか又は中間のレベルを示す試料における増幅状態の更なる検査を提案していない。HER2遺伝子増幅状態のISH検査は胃癌患者に定期的には実施されない。先行技術は、癌患者におけるHER2タンパク質の中間又は不確かな発現レベルを決定し見いだした後において、HER2遺伝子増幅状態の更なる検査を提案していない。

【0024】

驚くべきことに、本明細書では、HER2タンパク質の不確かな発現レベル及びHER2遺伝子の高遺伝子増幅を示す患者は、HER2/neu(erbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターにより首尾良く治療可能であることが見いだされた。更に、本発明に従って識別され治療を受けるべき患者/患者群は、HER2遺伝子の高い増幅を同時に有するIHC（不確かな評価、下の表を参照）により決定されるHER2タンパク質の不確かな発現レベル（例えば、本明細書で定義する“2+”スコア、すなわちHER2(2+)）で好ましくは特徴付けられる。添付の実施例に説明される通り、HER2タンパク質の不確かな発現レベル（例えば、IHCで決定されるHER2(2+)）、及び本明細書で定義されるHER2遺伝子の高増幅状態（例えば、4より大きいHER2遺伝子のコピー数又は第17染色体コピーあたり2以上のHER2遺伝子のコピー数）を持つこの患者群は驚くべきことに、HER2タンパク質の低HER2発現レベル（例えば、本明細書で定義される“0”又は“1+”スコア、すなわちHER2(0)又はHER2(1+)）及び高HER2遺伝子増幅を示す患者よりも反応が良く、HER2/neu(erbB2)シグナル伝達経路のモジュレーター、特に、ハーセプチン/トラスツズマブに対して、高い感受性を示す。

【0025】

他の態様の中で本発明に従った方法は、最初にHER2遺伝子増幅に関して患者試料を検査することは偽陽性をもたらし得ることという驚くべき知見に基づく。示した結果から分かる通り、不確かなHER2タンパク質発現レベルが無い場合にHER2遺伝子増幅を示す患者はハーセプチン/トラスツズマブにあまり反応しない。胃癌におけるこの知見は、乳癌においてはHER2モジュレーターに対する反応がIHCで検出されるHER2タンパク質レベルとは独立に、HER2遺伝子増幅レベルと相関すると一般的に知られているため、もっと驚くべきことである。胃癌患者において、標準的治療（例えば、フルオロピリミジン/シスプラチン）と比較して、HER2モジュレーターに対するいっそう優れた反応は、先行技術にて確かに知られてない。更に、HER2遺伝子の増幅をも有する低発現HER2タンパク質群と比較して、HER2遺伝子の高増幅を示し、不確かにHER2遺伝子を発現するサブグループの少なくとも同程度の又はより良好な反応は、胃癌治療における予期せぬ知見であった。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 6 】

従って、本発明は一実施態様にて、胃癌を患っていることが疑われ、HER2/neu (Erbb2)シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンドー、又は感受性のある患者として、HER2タンパク質の不確かな発現を有する患者を識別するためのインピトロ法に関し、該方法は、

(a) 前記患者から試料を得て、

(b)

前記試料中のHER2遺伝子の遺伝子増幅状態、
を評価する

工程を含み、

HER2タンパク質の不確かな発現レベル、及びHER2遺伝子の高い遺伝子増幅状態は反応する患者の指標であるか、又はHER2/neu (Erbb2)シグナル伝達経路の前記モジュレーターに対する前記患者の感受性の指標である方法である。

10

【 0 0 2 7 】

また添付の実施例に記録された通り、本明細書で定義されるIHCにおける“HER2(2+)”スコアと同時にHER2遺伝子の増幅を有する患者/患者群のみならず、“3+”IHCスコアを示す患者群も首尾良く治療することができ、かつHER2/neu (Erbb2)シグナル伝達経路のモジュレーター、特にハーセプチン/トラスツズマブに反応し/高い感受性を示す。HER2タンパク質発現の高いレベルを有する本患者群(例えば、IHC(3+)はまたHER2モジュレーターによる治療に対し反応し、遺伝子増幅状態に関係無く治療されるべきである。遺伝子増幅を示さないがHER2タンパク質発現の高陽性(IHC 3+)が検査された患者でさえも、良好な反応を示す(図2及び3を参照)。

20

【 0 0 2 8 】

HER2 IHC及びHER2 ISHによる連続検査は、不確かなHER2 ISH結果である場合(例えば、IHCにより測定されるHER2(2+)等)、また本発明の好ましい実施態様を表わす。言い換えれば、本発明の方法は、第一工程において評価したHER2タンパク質の発現レベルが不確実である場合にのみ(例えばIHCでHER2(2+)、第一工程にてHER2タンパク質発現レベルの評価後に、第二工程においてHER2遺伝子の増幅状態の評価を含む。述べた通り、例えばIHCで測定されるHER2タンパク質の過剰発現、又は例えばISH法で決定されるHER2遺伝子増幅は乳癌におけるHER2モジュレーター治療のために同等に価値ある適格性基準を表わす。しかしながら驚くべきことに、このことは胃癌患者には当てはまらない。

30

【 0 0 2 9 】

従って、本発明は更なる実施態様にて、HER2/neu (Erbb2)シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンドー又は感受性のある患者を識別するためのインピトロ法に関し、該方法は、

(a) 胃癌を患うか又は患いやすい患者から試料を得て、

(b)

(b1) 第一工程にてHER2タンパク質の発現レベル、及び

(b2) 第一工程で評価したHER2タンパク質の発現レベルが不確かである場合、第二工程において前記試料中のHER2遺伝子の遺伝子増幅状態、

40

を評価する

工程を含み、

HER2タンパク質の不確かな発現レベル、及びHER2遺伝子の高い遺伝子増幅状態は反応する患者の指標であるか、又はHER2/neu (Erbb2)シグナル伝達経路の前記モジュレーターに対する前記患者の感受性の指標である方法である。

【 0 0 3 0 】

HER2タンパク質又は遺伝子発現のレベルは、タンパク質か又は核酸レベルで評価可能である。HER2タンパク質発現レベルは、好ましくは「IHC」(免疫組織化学)の

50

ような免疫組織学法を用いて評価される（本明細書の詳細を参照）。HER2 遺伝子増幅は限定しないが、所与の試料細胞中の平均HER2 遺伝子コピー数の決定、又はHER2 / CEP 17 の比率の決定を含む、当技術分野で知られた更なる方法で評価可能である。代表的方法の詳細は本発明で下に与えられる。

【0031】

本発明に従って、HER2 タンパク質の発現レベルは好ましくはHER2 タンパク質に対する抗体を採用する免疫組織化学法（IHC）で測定され、一方生物学試料中のHER2 遺伝子増幅は、好ましくはFISH、CISH又はSISHのようなインサイツハイブリダイゼーション法（ISH）で検出される。本明細書で記載する通り、HER2 タンパク質の不確かな発現を示す患者群（例えば、HER2（2+））、及びHER2 遺伝子の高い遺伝子増幅状態（例えば、4より大きな（平均）コピー数等）は、HER2 / neu（Erbb2）シグナル伝達経路のモジュレーターに対して反応していると識別される。また本明細書ではHER2 タンパク質の不確かな発現（例えば、HER2（2+））及びHER2 遺伝子の高い遺伝子増幅状態（例えば、4より大きな（平均）コピー数等）を示す患者は、前記モジュレーターに感受性があることが想定されかつ好まれる。

10

【0032】

当業者はHER2 タンパク質の発現レベルを決定するための標準検査、特に免疫組織化学検査を承知しているため、HER2 タンパク質の不確かな発現（例えば、HER2（2+））、及びHER2 遺伝子の高増幅状態の患者は、HER2 タンパク質が低発現（例えば、HER2（0）又はHER2（1+））である患者から容易に区別することができる。このことは不確かなHER2 タンパク質の発現レベルを示している大きな患者群のサブグループ、すなわち不確かなHER2 タンパク質の発現及びHER2 遺伝子の高い増幅状態を示している患者は、首尾良くHER2 抗体による治療を受けることが可能であることを意味する。本明細書の下段にさらに詳しく記載した通り、胃癌患者、特に不確かなHER2 タンパク質の発現レベルを示す浸潤性胃癌患者の成功した治療は、先端技術において記載も提案もされてない。逆に、当業者は患者がHER2 遺伝子の高い増幅状態を起こしている場合、不確かなHER2 タンパク質発現レベルを示す分離した患者群から外れた特定の個人はもっと首尾良く治療されることができると信用しなかったであろう。

20

【0033】

乳癌では様々な異なる患者を含めるアルゴリズムが、HER2 タンパク質の発現レベル、HER2 遺伝子増幅状態、又は両方（単独又は組み合わせ）に基づいて知られており、一般的にHER2 の発現レベルが高いほど、乳癌患者が治療に反応する可能性が高いと信じられている。しかしながら胃癌は様々な態様において乳癌とは異なり、胃癌における適格性基準としてHER2 遺伝子の増幅状態の有用性について何も知られてない。

30

【0034】

当技術分野で知られた乳癌の状況と対比して、本明細書に呈示した研究結果（図2及び3を参照）は、低いHER2 タンパク質発現（すなわちHER2（0）又はHER2（1+））を有する患者は、たとえHER2 遺伝子が増幅されたとしてもHER2 モジュレーターによる治療から利益を得てないよう見えるが、不確かなHER2 タンパク質（HER2（2+））発現レベルとHER2 遺伝子得の高増幅を有する患者は、予期せぬことに首尾良く治療されることが可能であることを明確に示している。

40

【0035】

本発明は不確かなHER2 タンパク質発現レベル（例えば、胃癌細胞/組織等の生物学試料中のHER2 タンパク質の免疫組織化学検出におけるHER2（2+））、及び生物学試料中のHER2 遺伝子の高増幅を示す胃癌患者、特に浸潤性胃癌患者はHER2 / neu（Erbb2）シグナル伝達経路のモジュレーターで首尾良く治療可能であることを初めて記載する。特に有用なのは治療抗体、例えばハーセプチン/トラスツズマブ等のHER2 抗体である。本適用の方法で識別された患者群は、驚くべきことにHER2 治療に対して、HER2 タンパク質発現の低いレベル（例えば、IHCによりHER2（0）又はHER2（1+））、及びHER2 遺伝子の高い増幅を示す患者における奏功率よ

50

り高い奏功率を示した。結果として、HER2タンパク質の不確かな発現レベルを持つ患者のサブグループはHER2/neu (erbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターにより首尾良く治療を受けることが可能であり、従ってこれらの患者の生存率と無増悪生存率は上昇する。本発明の知見は従って当該技術に対する大きな貢献を表わし、多くの胃癌患者、特に浸潤性胃癌患者に重要な利益を提供する。更に、本発明はHER2タンパク質の不確かな発現レベル(HER2(2+))及び高度に増幅したHER2遺伝子を持つ患者の治療法、及び対応する手段と方法に関する。

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1】24カ国からのTOGA試験由来の3807の腫瘍試料は、上記の表に記載の改良されたシステムを使用して、中央研究所においてHER2の状態が評価された。このうち、584人の患者が研究に含まれていた。

【図2】HER2サブグループのハザード比(HR)及びCI；全生存期間(OS)

【図3】HER2サブグループのハザード比(HR)及びCI；無増悪生存期間(PFS)

【発明を実施するための形態】

【0037】

「HER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーター」なる用語は本発明の文脈では、胃癌を患うか又は患いやすいことが疑われる被験者/患者がモジュレーターによる治療に反応を示すことを意味する。技術者は早速、モジュレーターによる治療を受ける人が反応を示すかどうか決定する立場にいるであろう。例えば、モジュレーターに対する反応は、胃癌腫瘍の減少、及び/又は増殖停止、及び/又は腫瘍の大きさの減少、転移形成の予防、又は転移の数又は大きさの減少等、胃癌の苦痛の減少に反映され得る。反応は、例えば、疾患進行までの期間延長における腫瘍の切除後の胃癌腫瘍又は転移の進行予防に、又は例えば抗転移又は腫瘍免疫賦活薬療法における腫瘍及び/又は転移の大きさの減少に反映されるのが望ましい。

【0038】

同様に、「HER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターに感受性の患者」なる用語は本発明の文脈では、モジュレーターにより治療された場合、何らかの方法で陽性反応を示す患者を指す。患者のこの反応は、本明細書の上記に記載のレスポンスと比較した場合にはあまり目立たない可能性がある。例えば、腫瘍増殖の減少は測定され得ないものの、患者は胃癌による苦しみが減る経験をし得る。モジュレーターに対する患者の反応はまたほんの一時的性質にすぎない可能性があり、すなわち腫瘍及び/又は転移の増殖は一時的にのみ減少するか又は停止する可能性がある。モジュレーターのレスポンスはモジュレーターによる治療後に胃癌を患うことが無いのが望ましい。好ましくは、HER2モジュレーターで治療された胃癌腫瘍、及び/又は胃癌転移は、モジュレーターによるレスポンスの治療を終了後1年以内に、また好ましくは治療終了後15ヶ月、18ヶ月、又は2年以内に再発しないであろう。

【0039】

本明細書で使用する「胃癌」なる用語は、胃食道接合部(GEJ)癌を含む全ての型の胃癌を指す。好ましい一実施態様では、本発明の意味での胃癌は、手術不可能な癌、例えば、局所的に進行し、又は再発し、及び/又は胃又は胃食道接合部の転移癌に関する。

【0040】

「抗転移」治療なる用語は、手術を行うことなく、手術不可能な腫瘍又は進行した腫瘍を患う患者の治療に関する。

【0041】

熟練した技術者が完全に理解する通り、本発明によるHER2タンパク質が不確かなサブグループにおけるHER2遺伝子増幅の陽性検査は、良好な治療に1:1で変換可能ではない。これらの方法により、これらの陽性検査結果を示さない患者のサブグループと比較して、HER2シグナル伝達阻害剤による治療に対する反応の可能性が高い患者のサブ

10

20

30

40

50

グループが識別される。治療に対する反応の改善は、例えば、腫瘍の縮小、無増悪生存率（PFS）、並びに全生存（OS）に対する奏功率に関して見られる。本発明の方法により識別された孤立した患者群のHER2/neu（ErbB2）シグナル伝達経路のモジュレーターに対する反応の改善は少なくとも15%である。また好まれるのは、反応の改善は少なくとも18%又は少なくとも20%である。また好まれるのは、反応の改善は少なくとも25%又は少なくとも30%である。他の言葉では、陽性結果は、例えば、低HER2タンパク質（好ましくはIHCで評価した）及び高HER2遺伝子増幅を示す患者と比較して、患者はHER2シグナル伝達阻害剤による治療に反応する（=影響を受けやすい）可能性（=確率、見込み）が高いことを意味する（=指標となる）。一実施態様では、反応の改善はより良好な奏功率に関する。他の実施態様では、反応の改善は例えば、図2又は3それぞれから明白であるように、PFS又はOSに関する。

10

【0042】

上述の通り、本明細書ではHER2タンパク質の発現レベルは免疫組織化学法により検出されることが好ましい。そうした方法は当技術分野で良く知られており、対応する商用キットは容易に入手できる。本発明に従って使用され得る典型的なキットは、とりわけ、デンマークのダコ社により製造され流通したHercept TestTM、又は米国ツーズンのヴェンタナ社により製造され流通したヴェンタナ PathwayTMと称される検査である。好ましくはHER2タンパク質の発現レベルはHercept TestTMのプロトコールに従い提供される試薬を用いて評価される。当業者は、免疫組織化学法でHER2タンパク質の発現レベルを決定するための更なる手段と方法を心得ているであろう；例えば、国際公開第2005/117553号パンフレットを参照。従って、HER2タンパク質の発現レベルは、当業者により容易にかつ再現性良く過度の負担無し決定可能である。しかしながら、正確かつ再現性ある結果を確実にするために、検査は、検査手順の検証を請け負うことが可能な専門の研究室で行われるべきである。

20

【0043】

胃癌におけるHER2タンパク質の発現レベルは、低発現レベル、不確かな発現レベル及び高発現レベルに分類可能である。本発明の文脈の中では、胃癌を患っているか又は患いやすいと疑われた患者から得た試料は、HER2タンパク質の不確かな発現レベルを示すことが好まれる。

【0044】

最も好ましくは、不確かなタンパク質発現レベルはHER2（2+）である。更に、本明細書で使用する通り、低タンパク質発現レベルはHER2（0/1+）であり、及び高タンパク質発現レベルはHER2（3+）である。

30

【0045】

異なる基準が切除試料及び生検試料に適用されるべきであることは新規で驚くべき知見である。

【0046】

本発明の文脈の中では、生検試料と比較して異なるスコアリングシステムが切除試料に対して適用される。

【0047】

本発明の一実施態様では、HER2の低い、不確かな、又は高いタンパク質発現レベル（例えば、それぞれHER2（0/1+）、HER2（2+）又はHER2（3+））が切除試料において決定され、スコアリングは以下の表の基準に基づく。

40

【0048】

スコア	染色パターン(切除試料)	分類
0	反応無し、又は細胞の<10%で膜の反応性	陰性
1+	細胞の>10%で、かすかに／かろうじて認知できる膜の反応性;細胞は膜の一部においてのみ反応する。	陰性
2+	腫瘍細胞の>10%で、弱から中程度に完全な、又は側底膜の反応性	不確か
3+	腫瘍細胞の>10%で、中から強度に完全な、又は側底膜の反応性	陽性

10

【0049】

胃癌切除試料はまた、もし切除試料が腫瘍領域の10%未満を覆う領域において高いタンパク質発現レベルを示し(例えば、IHCによりIHC(3+))、特にもし本試料中のIHC(3+)クローンが凝集性である場合、陽性と見なされる。

【0050】

本発明のその他の実施態様では、HER2の低い、不確かな、又は高いタンパク質発現レベル(例えば、それぞれHER2(0/1+)、HER2(2+)又はHER2(3+))が生検試料において決定され、スコアリングは以下の表の基準に基づく。

20

【0051】

スコア	染色パターン(生検試料)	分類
0	反応性無し、又は任意の腫瘍細胞において膜の反応性無し	陰性
1+	染色された細胞の割合に関係無く、かすかに／かろうじて認知できる膜の反応性を有する腫瘍細胞クラスター	陰性
2+	染色された腫瘍細胞の割合に関係無く、弱から中程度に完全な側底膜又は側膜の反応性を有する腫瘍細胞クラスター	不確か
3+	染色された腫瘍細胞の割合に関係無く、強度に完全な側底膜又は側膜の反応性を有する腫瘍細胞クラスター	陽性

30

【0052】

好ましくは生検試料は少なくとも5つの染色腫瘍又は細胞を含む。少なくとも5つの腫瘍細胞は好ましくは凝集性腫瘍細胞である。中間型又は不確実な染色は、弱から中程度に完全な基底外側の又は側部の膜状染色を持つ腫瘍細胞クラスターが生検試料に存在する場合に認められる。

40

【0053】

本明細書で使用されるHER2(+), HER2(++)及びHER2(+++)なる用語は、HER2(1+), HER2(2+)及びHER2(3+)なる用語と等価である。本発明の文脈の中で用いた「低タンパク質発現レベル」は「0」又は「1+」のスコア(本明細書上記の表による「陰性評価」)に対応し、「不確かなタンパク質発現レベル」は「2+」のスコアに対応し、及び「高タンパク質発現レベル」は「3+」のスコアに対応する。本明細書の上記に詳細を記載の通り、タンパク質発現レベルの評価(例えば、

50

表に示したスコアリングシステム)は免疫組織化学的方法により得られた結果に基づく。標準として又は日常的に、HER-2の状態は、従って、FDA承認の市販に入手可能な2つのキット、すなわち、ダコ Hercept TestTM及びヴェンタナ PathwayTMのそれぞれのうち一つを用いた免疫組織化学法で実施される。これらは、半定量的アッセイであり、発現レベルを0(細胞あたり<20,000レセプター、IHC染色で可視的な発現無し)、1+(細胞あたりおよそ100,000レセプター、部分的な膜染色、HER2を過剰発現する細胞は<10%)、2+(細胞あたりおよそ500,000レセプター、薄いから中程度の完全性の膜染色、HER2を過剰発現する細胞は>10%)、及び3+(細胞あたりおよそ2,000,000レセプター、強い完全なる膜染色、HER2を過剰発現する細胞は>10%)。

10

【0054】

あるいは、HER2のタンパク質発現レベルの評価のための更なる方法は、例えば、ウエスタンブロット、ELISAに基づく検出システム等に使用され得る。HER2タンパク質の不確かな又は高い発現レベルはこれらの技術により決定することができ、HER2タンパク質発現の不確かなレベルを持つと分類されたそれらの患者の生物学試料は更にHER2遺伝子増幅のために分析され得る。

【0055】

本明細書で指摘される通り、本発明の方法で識別され、かつ治療に感受性のある患者群は「不確かな」HER2タンパク質発現と、加えて高いHER2遺伝子増幅により特徴付けられる。情報の完全性のために、「高い」HER2発現を有していると識別された患者群はまたHER2シグナル伝達のモジュレーターによる治療に感受性があると述べても良い。

20

【0056】

高いHER2遺伝子増幅状態は、とりわけ4より大きいHER2遺伝子の遺伝子コピー数、特に腫瘍細胞あたりHER2遺伝子のコピー数が4より大きい平均HER2遺伝子コピー数(それらの検査システムにおいては内部のセントロメア制御プローブ無しで)、又は(腫瘍細胞あたり)第17番染色体コピーあたり2以上のHER2遺伝子の平均遺伝子コピー数、言い換えれば、2より大きいHER2/CEP17の比率(それらの検査システムにおいては内部の第17番染色体制御プローブを使用して)(腫瘍あたり)、に関する。高いHER2遺伝子増幅状態は好ましくはまた、少なくとも5,6,7,8,又はそれ以上のHER2遺伝子コピー数、又は少なくとも3,4,5,又は6のHER2/CEP17比率に関する。HER2遺伝子コピー数5は、例えば、HER2遺伝子の2コピーの重複から(例えば、2つの染色体上の2つの遺伝子の重複、又はHER2遺伝子のコピーを運搬する染色体の重複により)、及び同一染色体内のHER2遺伝子の1コピーの更なる重複から起き得る。好ましくは、試料は腫瘍領域の10%以上に広がる領域においてHER2遺伝子の高増幅状態を示す。例えば、本明細書で定義される高増幅状態である細胞は、本発明に従って評価した腫瘍領域/細胞の10%以上に広がる。高増幅状態であるこれらの腫瘍細胞はまた凝集性であり得る。

30

【0057】

本発明の好ましい実施態様では、HER2遺伝子の増幅状態はインサイツハイブリダイゼーション(ISH)で評価される。好ましくは、インサイツハイブリダイゼーションは蛍光インサイツハイブリダイゼーション(FISH)、発色インサイツハイブリダイゼーション(CISH)及び銀インサイツハイブリダイゼーション(SISH)である。これらの方法は当業者に知られている。これらの方法の原理は標準的な教科書から導くことが可能である。インサイツハイブリダイゼーションによりHER2の増幅状態を決定する市販のキットは容易に入手できる。本発明に従って用いられる好ましいFISH検査は、ヴェンタナ社の「Inform(登録商標)」キット、アボット社の「PathvysionTM」及びダコ社の「pharmDxTM」キットである。好ましいCISHアッセイは、インビトロジェンのSPoT-Light(登録商標)HER2 CISHTM、及びZytovision社のZytoDot(登録商標)SPEC HER2 Probe

40

50

キットである。好ましいS I S Hアッセイはヴェンタナ社のultraView™ S I S H検出キットを組み合わせたヴェンタナ社の「Inform™」HER2 DNAプローブである。

【0058】

HER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路は当技術分野で良く知られており、当業者は一般的な知識と本明細書に提供された教えに基づいて、容易にそうしたモジュレーターを識別する立場にある。本発明に従って使用されるモジュレーターの非限定的実施例は、ハーセプチン/トラスツズマブ、又はペルツズマブ(国際公開第2007/145862号パンフレットを参照)等の抗体、好ましくはモノクローナル又はヒト化抗体である。本発明に従った好ましい実施態様は、ハーセプチン/トラスツズマブを、HER2タンパク質の不確かな発現レベル(例えば、IHCによるHER2(2+))及び本明細書で定義されたHER2遺伝子の高増幅により特徴付けられた胃癌患者のサブグループに投与することである。

10

【0059】

本発明の好ましい実施態様では、HER2/neu (ErbB2)シグナル伝達のモジュレーターは、HER二量体化/シグナル伝達阻害剤、又はHER2細胞外ドメイン(ECD)の分断の阻害剤である。

【0060】

好ましくは、HER二量体化/シグナル伝達の阻害剤はHER2の二量体化阻害剤である。本明細書でまた好まれるのは、HER二量体化阻害剤がHERヘテロ二量体化、HERホモ二量体化、又は両方を阻害することである。

20

【0061】

本発明の特に好ましい実施態様では、HER二量体化/シグナル伝達の阻害剤はHER抗体である。HER抗体は、EGFR、HER2及びHER3等のHERレセプターに結合し得る。好ましくは、抗体はHER2に結合する。HER2抗体はHER2細胞外ドメインのドメインIIに結合し得て、及び/又はHER2細胞外ドメインのドメインI, II, とIIIの間の接合部に結合し得る。

【0062】

本発明のその他の好ましい実施態様では、HER二量体化阻害剤はHER2とEGFR又はHER3又はHer4とのヘテロ二量体化を阻害する。更に好ましい実施態様では、本発明に従ってレセプターの二量体化/シグナル伝達を阻害することでHER2シグナル伝達経路のモジュレーターとして用いられるHER2抗体はペルツズマブである。

30

【0063】

好ましくは、HER二量体化阻害剤は抗体であり、好ましくは抗体2C4である。本適用に渡って好ましいのは、「抗体2C4」、特にそのヒト化変異体であり(国際公開第01/00245号パンフレット; American Type Culture Collection, Manassas, VA、米国、によりATCC HB-12697という型番で預けられたハイブリドーマ細胞株により作成)、HER2の細胞外ドメインの領域(例えば、HER2の残基約22から残基約584の包括的な領域の任意の一以上の残基)に結合する。ヒト化2C4抗体の実施例が国際公開第01/00245号パンフレットの実施例3に提供されている。ヒト化抗体2C4はペルツズマブとも言う。

40

【0064】

好ましくは、HER分断の阻害剤はHER2分断阻害剤である。本明細書においてはまたHER分断阻害剤はHERのヘテロ二量体化又はHERのホモ二量体化を阻害することが好まれる。

【0065】

本発明の特に好ましい実施態様は、HER分断阻害剤はHER抗体である。HER抗体は、EGFR、HER2及びHER3等のHERレセプターに結合し得る。好ましくは、抗体はHER2に結合する。同様に好ましいのは、HER2抗体はHER2細胞外ドメイン(ECD)のサブドメインIVに結合する。

50

【 0 0 6 6 】

更に好ましい実施態様では、本発明に従って E C D 分断を阻害することで H E R 2 シグナル伝達経路のモジュレーターとして使用される H E R 2 抗体はハーセプチン/トラスツズマブである。

【 0 0 6 7 】

本明細書の以下に指摘の通り、特に本明細書に提供された医学的使用及び方法において、ハーセプチン/トラスツズマブは、本明細書に記載の通りに上記に記載の方法で識別された胃癌の患者/患者群の治療のために、H E R 2 / n e u (E r b B 2) シグナル伝達経路の好ましいモジュレーターである。この新規な胃癌の患者/患者群は、インビトロ検査において、2つのバイオマーカーの H E R 状態 (H E R 2 のタンパク質発現レベル及び H E R 2 の遺伝子増幅状態) を使用して、H E R 2 の不確かなタンパク質発現レベル (H E R 2 (2 +))、及び H E R 2 遺伝子の高増幅状態 (例えば、4 より大きいコピー数) を示す、それらの生物学試料/生検により特徴付けられる。「H E R 2 の不確かな発現レベル」、及び「H E R 2 遺伝子の高増幅状態」なる用語は、本明細書の上記に記載されている。H E R 2 タンパク質発現レベル及び H E R 2 遺伝子数の前記半定量的評価は、正常組織試料、すなわち健常なコントロール試料を含み得る所与のコントロール試料に対し相関して確定され得る。そのようなコントロール試料は、例えば健常なボランティアから得る可能性があり、又は H E R 2 遺伝子増幅状態及びタンパク質発現レベルを評価されるべき患者由来の確定した明らかに健常なコントロール組織である。前記 H E R 2 の状態/レベルが試験されかつ評価されるべき生物学試料は、特に胃癌組織の生検、又は切除を通じて得られる組織試料であり得る。

【 0 0 6 8 】

本明細書で広義にかつ特異的に使用される「抗体」なる用語は、望まれる生物学的活性を示すかぎり、インタクトなモノクロナール抗体、ポリクロナール抗体、少なくとも2つのインタクトな抗体から形成される多重特異性抗体、(例えば、二重特異性抗体)、及び抗体断片に及ぶ。またヒト及びヒト化並びに C D R 移植抗体が含まれる。

【 0 0 6 9 】

本明細書で使用される「モノクロナール抗体」なる用語は、実質的に同種抗体の集団から得た抗体を指し、すなわち少量存在する可能性のある恐らくは天然に存在する変異体を除いて、集団を構成する個々の抗体は同一である。モノクロナール抗体は単一の抗原性部位に対し高度に特異的である。更に、異なる決定因子 (エピトープ) に対する異なる抗体を含むポリクロナール抗体作製とは対照的に、各々のモノクロナール抗体は抗原の単一の決定因子に対する。それらの特異性に加え、モノクロナール抗体は、他の抗体で汚染されずに合成され得る点で有利である。修飾語句の「モノクロナール」は、実質的に同種な抗体集団から得ているため、抗体の特徴を意味し、任意の特定の方法による抗体の生産を必要とするものとして作製されるべきでない。例えば、本発明に従って用いられるべきモノクロナール抗体は、最初に K o h l e r , G . 等、N a t u r e 2 5 6 (1 9 7 5) 4 9 5 により記載されたハイブリドーマ法、又は組換え D N A 法 (米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号明細書を参照) により作られ得る。「抗体断片」はインタクトな抗体の一部を含む。本発明の文脈の中では、本明細書にて提供された手段と方法、及び本明細書に定義された新たに識別された胃癌患者群の治療において用いられるべき H E R 2 経路の抗体モジュレーターは、好ましくはヒト化、完全ヒトの、又は C D R 移植抗体分子である。好ましい抗体はハーセプチン/トラスツズマブである。

【 0 0 7 0 】

「試料」なる用語は一般的に個体/患者から得た任意の生物学試料を意味するべきである。発明の方法は評価工程を含むのみとするように、試料を得る工程は本発明の方法において省略され得る。従って、本発明は一実施態様にて、胃癌を患うと疑われ、かつ H E R 2 / n e u (E r b B 2) シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンス、又は感受性のある患者として、H E R 2 タンパク質の不確かな発現レベルを有する患者を識別するためのインビトロ法に関し、前記方法は試料中の H E R 2 遺伝子の遺伝子増幅状

態の評価工程を含み、HER2タンパク質の不確かな発現レベル及びHER2遺伝子の高増幅状態は反応する患者の指標であり、又はHER2/neu(ERBB2)シグナル伝達経路の前記モジュレーターに対する前記患者の感受性の指標である。

【0071】

「生検」及び「切除」なる用語は当業者に良く知られている。本発明の文脈の中では、生検試料は、針、ブラシ、スクレーパー、又はパンチを使用して患者から同一細胞又は組織(の部分)を除去して得た生物学試料である。実施例は吸引生検、ブラシ生検、コア生検、真空生検、コア針生検、針生検、又はパンチ生検である。切除試料は外科的切除、又はメス、ナイフ、はさみ、又は切断のために考案された他の器具を用いて、患者から臓器又は組織(の部分)の切りとりにより得た生物学試料である。実施例は、少なくとも原発腫瘍の一部を含む胃組織切除、及び転移巣の切除である。生物学試料はまた循環性腫瘍細胞をも含む。

10

【0072】

本発明に従って、生物学試料は胃癌細胞及び非胃癌細胞(他の細胞)を含み得る。熟練した病理学者は正常な胃組織細胞から癌細胞を鑑別することができる。組織生検、切除、及び哺乳類の体液を得る方法は当技術分野で良く知られている。

【0073】

本発明の一実施態様では、本明細書で定義され、不確かなHER2タンパク質の発現レベル(HER2のレベル(HER2(2+))、及びHER2遺伝子の高い遺伝子増幅(例えば、核/腫瘍細胞あたり4を越えた平均遺伝子コピー数)を示す、生物学試料/生検によって特徴付けられる胃癌患者の新規なサブグループは、浸潤性胃癌、特に腸管型腺癌、混合型腺癌、又は散在型腺癌を患っている可能性があり得る。

20

【0074】

本発明の一実施態様では、HER2レベル/状態に関して、本発明に従って検査されるべき前記患者の試料は、抗転移治療前に、すなわち、HER2/neu(ERBB2)シグナル伝達経路のモジュレーターによる治療が開始される前に得られる。しかしながら、ネオアジュバント又はアジュバント療法、及び対応する試料の検査もまた予想される。

【0075】

本発明の更なる実施態様では、胃癌患者(特に浸潤性胃癌)の治療方法が提供され、前記方法は、本明細書の以上に提供された方法で識別された患者、及びそのような治療を必要とする被験者にHER2/neu(ERBB2)シグナル伝達経路のモジュレーターを有効な量、投与する工程を含む。前記被験者は、本発明に従い、好ましくはヒトの被験者である。生物学試料、特に前記被験者/患者の胃の組織生検/切除はHER2タンパク質の不確かな発現レベル、及びHER2遺伝子の高い増幅/増幅レベルを有することを特徴とする。本明細書で文書化された通り、当業者は容易に、特に当技術分野で知られた免疫組織化学法により、前記生物学試料中の前記HER2タンパク質の発現レベルを決定する立場にある。同じことは、所与のHER2増幅/増幅レベルの決定において準用する。ここで、以上に指摘の通り、好ましい(しかし限定しない)決定法は、蛍光インサイツハイブリダイゼーション(FISH)、発色インサイツハイブリダイゼーション(CISH)又は銀インサイツハイブリダイゼーション(SISH)等のインサイツハイブリダイゼーションの技術である。本発明に従って治療されるべき患者は好ましくはヒトの患者であり、HER2タンパク質の前記発現レベル及びHER2遺伝子の前記増幅状態がインビトロで決定される前記生物学試料は、本明細書で記載のヒト患者由来の生物学試料である。

30

40

【0076】

再び、本発明の主旨は、驚くべきことに、胃癌を患い、HER2タンパク質発現の不確かな状態/レベル、及び高いHER2遺伝子増幅のみを示す患者が首尾良くHER2/neu(ERBB2)シグナル伝達経路のモジュレーターで治療可能であるという事実に関する。前記モジュレーターは特にHER2タンパク質に対する抗体分子を含む。この点において好ましい抗体分子はハーセプチン/トラスツズマブ及びペルツズマブ(特に国際公開第2007/145862号パンフレットに記載の通り)である。

50

【 0 0 7 7 】

本明細書に定義される H E R 2 タンパク質の不確かな発現レベル及び高い H E R 2 遺伝子増幅を示す患者において、本発明に従って使用されるべき他の H E R 2 シグナル伝達モジュレーター又は H E R 2 作用薬は、また経口チロシンキナーゼ阻害剤タイケルブ（トシル酸ラパチニブ）、H K I 2 7 2 又は B I B W 2 2 9 等のチロシンキナーゼ阻害剤を含む。

【 0 0 7 8 】

本明細書上記に定義された通り、H E R 2 / n e u (E r b B 2) シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンドー又は感受性のある患者を識別するための本発明によるインビトロ法に関する文脈にて、当業者は前記患者の生物学試料中において、どのような「H E R 2 発現状態」が呈示されているか、既知の方法で容易に推測可能である。本明細書に定義された H E R 2 / n e u (E r b B 2) シグナル伝達経路のモジュレーターにより治療されるべき患者は、その生物学試料中に不確かなタンパク質発現レベル及び H E R 2 遺伝子の高増幅レベル/状態を示す。再び、H E R 2 の「不確かなタンパク質発現レベル」は、本明細書上記に定義された通り免疫組織化学検査において 2 + のスコア（「不確かな分類」、上の表を参照）に対応し、及び、胃癌を患うか又は患いやすいと疑われる前記患者から得た試料中において、高 H E R 2 遺伝子増幅は、腫瘍細胞あたりの H E R 2 遺伝子が 4 コピーを上回る平均 H E R 2 遺伝子コピー数（それらの検査システムにおいては内部のセントロメア制御プローブ無しで）、又は、コピーあたり 2 を上回る H E R 2 / C E P 1 7 の比率（それらの検査システムにおいては内部の第 1 7 番染色体セントロメアコントロールプローブを使用して）に関する。

【 0 0 7 9 】

当業者はまた H E R 2 遺伝子の遺伝子増幅状態を容易に検出、及び/又は検証することが可能である。これはまた、蛍光インサイツハイブリダイゼーション（F I S H）又は明視野インサイツハイブリダイゼーション等のインサイツハイブリダイゼーションにより日常的に行われる。従って、H E R 2 の遺伝子増幅状態が検査される場合、F I S H 検査が日常的に使用され、その読み出しは平均 H E R 2 遺伝子コピー数、又は、前記 H E R 2 / C E P 1 7 の比率が、セントロメアプローブ（C E P 1 7）により得られるシグナルに関連して H E R 2 シグナルを定める、いわゆる H E R 2 / C E P 1 7 の比率の決定を含み得る。本発明の文脈にて、本明細書に定義された H E R 2 シグナル伝達経路のモジュレーターによる治療に接しやすい新しい患者群は、H E R 2 の高い遺伝子増幅、及び不確かな H E R 2 タンパク質発現を示す胃癌患者である。

【 0 0 8 0 】

本発明に従って、好ましくはヒト胃癌患者を治療する方法が提供され、前記患者は、H E R 2 タンパク質の発現レベルが不確かな場合、H E R 2 タンパク質の発現レベル及び H E R 2 遺伝子増幅レベルが評価される。本発明に従って、H E R 2 の「不確かなタンパク質発現レベル」（2 + のスコア、又は「不確かな分類」に対応する。上の表を参照）を示し、かつ「高い H E R 2 遺伝子増幅レベル」（好ましくは、本明細書に定義される、4 より大きいコピー数、又は 2 より大きい H E R 2 / C E P 1 7 の比率）を示す、胃癌、また浸潤性胃癌を患うか又は患いやすいと疑われる患者は、本発明に従って明確な延命効果、無増悪期間の延長を示し、及び/又は本明細書に定義された H E R 2 / n e u (E r b B 2) シグナル伝達経路のモジュレーター、特にハーセプチン/トラスツズマブで治療された場合、再発性の少ない胃癌を示すことが予測される。

【 0 0 8 1 】

本明細書に記載の医学的な使用及び方法は、本明細書に定義された H E R 2 の「不確かなタンパク質発現状態」（本明細書の上記に定義された「低いタンパク質発現レベル」に対して）、及び本明細書に定義された「高い H E R 2 遺伝子増幅状態」、例えば腫瘍細胞あたり平均して 4 コピーを上回る）を有する患者に対して、本明細書に記載の H E R 2 / n e u (E r b B 2) シグナル伝達経路のモジュレーター、特にハーセプチン/トラスツズマブ等の H E R 2 に対する抗体の使用に関する。本発明の文脈にて、前記 H E R 2 /

neu (ErbB2)シグナル伝達経路、特に、好ましくはハーセプチン/トラスツズマブ等のHER2に対する抗体は、転移抑制のアジュバント並びにネオアジュバント胃癌療法に用いられ得る。従って、前記「HER2モジュレーター」はそうした治療を必要とし、かつ癌組織の外科的処置/切除の前か、その間、その後に本明細書で定義されたバイオマーカー状態を有する患者に投与され得る。従って、本発明は転移抑制並びにネオアジュバント治療において、すなわち、本明細書で定義された胃癌患者群に対して、手術前並びにアジュバント療法において与えられる、本明細書で定義されたHER2シグナル伝達経路のモジュレーター(ハーセプチン/トラスツズマブ等)による治療に有用である。再び、本明細書に与えられた手段と方法で(特にハーセプチン/トラスツズマブによる)治療されるべき本発明の患者群は胃癌患者であり、2つのバイオマーカー、すなわちHER2タンパク質発現及びHER2遺伝子増幅状態、が評価され、患者は「不確かな発現状態」(HER2(2+))、及び高いHER2遺伝子増幅状態(すなわち腫瘍細胞あたり4コピーを上回る、言い換えれば少なくとも5コピー)を有しているとして治療される。

10

【0082】

本明細書に提供された医療並びに診断法(インビトロ)に従って、当業者は当技術分野で知られた手段と方法で、所与の試料中のHER2増幅の状態/レベル、及びHER2タンパク質の発現レベル/状態をとりわけ決定することができる。これらの方法はまた所与の試料を正常コントロール試料、すなわち癌性でなく、健常な(コントロール)個体又は非疾患組織にとりわけ由来する生物学試料との比較を含む。

【0083】

20

従って、本発明は、本明細書に記載され定義した方法により識別される患者の胃癌治療に使用されるHER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターに関する。また、本発明の方法で識別される患者の胃癌治療のための薬学的組成物の調製のためのHER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターの使用が予測される。

【0084】

本明細書に与えられた医学的実施態様、すなわち方法及び使用に関する文脈にて、本明細書に定義される患者群(胃癌患者/浸潤性胃癌患者で、HER2タンパク質の不確かな発現レベル(HER2(2+))かつ同時に「高い」HER2遺伝子増幅状態を有する)に投与されるべきHER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターは単一の抗腫瘍薬として投与され得る。しかしながら、とりわけ更なる医薬、特に抗癌薬を、例えば併用療法の形で投与することを含む共治療的アプローチと使用もまた予測される。そうした付加的治療は化学療法である可能性があり、シスプラチンと組み合わせたフルオロピリミジン、抗代謝剤(例えば、ゲムシタピン)、抗ホルモン化合物、チロシンキナーゼ阻害剤、raf阻害剤、ras阻害剤、2重チロシンキナーゼ阻害剤、タキソール、タキサン(パクリタキセル又はドセタキセル等)、ドキシソルビシン又はエピルビシン又は等のアントラサイクリン、シスプラチン等の薬の投与を含み得る。また、ピノレルピンは本発明の共治療的アプローチに使用可能である。更に、特にハーセプチン/トラスツズマブによる共治療的アプローチはシクロホスファミド、メトトレキサート、又はフルオロウラシル(5-FUとしても知られる)を個々に又はこれら3つの薬を含む組み合わせ療法(「CMF療法」)の形での投与を含み得る。HER2/neu(ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターの組み合わせ療法、特に、フルオロピリミジン及びシスプラチンを併用のハーセプチン/トラスツズマブはまた本発明の好ましい実施態様を表わす。

30

40

【0085】

本明細書に与えられた好ましい治療のアプローチ、すなわちHER2シグナル伝達のモジュレーターの使用はまた他の療法と組み合わせられ得る。そうした組み合わせ療法は好ましくはまた化学療法剤の使用に依存し、又は(限定しないが)例えばペバシズマブ/アパステン、又はスーテント(リンゴ酸スニチニブ-SU-11248)等のVEGF遮断薬の投与を含む血管新生阻害剤を含み得る。

【0086】

50

当業者は、例えば主治医は、容易に本明細書に定義されたHER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターを本明細書に定義された患者/患者群に投与する立場にある。そのような投与は、非経口経路、経口経路、静脈内経路、皮下経路、鼻腔内経路又は経皮経路を含み得る。ハーセプチン/トラスツズマブの場合、好ましい投与経路は静脈内投与である。更に、HER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターは抗転移、ネオアジュバント又はアジュバント療法において投与され得る。ハーセプチン/トラスツズマブのそうした投与は、本明細書に定義される新規な胃癌患者(群)/浸潤性胃癌患者(患者群)において、とりわけ毎日、1日おきに、2日おきに、3日おきに、4日おきに、週に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、等の投与を含む。

10

【0087】

再び、主治医は彼/彼女の専門職として経験に従ってHER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターの投与計画を修飾、変更、又は修正し得る。本発明の特に好ましい実施態様では、胃癌患者又は患者群の治療のための方法が提供され、前記方法は、前記患者/患者群が生物学試料(特に生検又は切除)の評価において特徴付けられ、前記試料がHER2タンパク質の不確かな発現レベル(HER2(2+))、及び「高いHER2遺伝子増幅状態」を示す前記患者/患者群に、ハーセプチン/トラスツズマブを投与することを含む。従って、本発明はまた、本明細書に開示されるバイオマーカーの状態(HER2タンパク質の不確かな発現レベル及び本明細書の上記に定義される「高いHER2遺伝子増幅状態」、又はHER2/neu (ErbB2)シグナル伝達経路のモジュレーターに対するレスポンス又は感受性のある患者のための本明細書に記載されるインビトロ法により識別された胃癌患者の治療のための薬学的組成物の調製におけるハーセプチン/トラスツズマブの使用を提供する。前記の胃癌患者/患者群はまた浸潤性胃癌を患う可能性がある。

20

【0088】

本発明は以下の非限定的な図と実施例の参照により更に説明される。

【0089】

方法

研究のデザイン

T o G A 試験は、HER2陽性進行胃癌(GC)において、シスプラチン+フルオロピリミジン単独に対して、シスプラチン+フルオロピリミジン(カペシタピンまたは5-フルオロウラシル)と併用したトラスツズマブの安全性と有効性を調査するために設計された、無作為化、非盲検で、多施設における、第III相臨床試験である。

30

【0090】

患者

組み入れ基準:

- 根治治療に適さない手術不能な、局所的に進行した、又は再発性の、及び/又は転移性の病変を持つ胃又は胃食道接合部(GEJ)における組織学的に確認された腺癌
- 画像法技術(コンピュータ断層撮影又は磁気共鳴イメージング)を用いて評価された、固形がんの治療効果判定のためのガイドライン(RECIST)に従って測定可能な疾患、又は測定できない評価可能疾患 - 中央研究所により評価されたHER2陽性腫瘍(原発腫瘍または転移)。IHCとFISHの両方は、中央研究所内の全ての患者の試料(切除又は生検の何れか)において行われた。

40

【0091】

- 0、1又は2の東部共同腫瘍学グループのパフォーマンスステータス

【0092】

- 3ヶ月の平均余命

- 一般的な組み入れ基準: - 男性又は女性、18才 - 署名付きインフォームドコンセント

【0093】

評価

50

主要エンドポイントは全生存期間であり、二次エンドポイントは無増悪生存期間、全奏効率と反応の持続時間を含む。有効性評価の更なる情報については要約 L B A 4 5 0 9 . 1 0 H E R 2 検査を参照。

【 0 0 9 4 】

胃癌腫瘍試料をホルマリン固定しパラフィン包埋した。試料（切除又は生検の何れか）は、H E R 2 の状態を決定するため、胃癌における H E R 2 検査の検証研究により推奨される通りに、I H C（改良 H e r c e p T e s t^{T M}）及び F I S H（p h a r m D x^{T M}；ダコ）を両方使用して中央研究所で分析した。I H C H E R 2 スコアリングは以下の改良 H e r c e p T e s t^{T M} パラメーターを使用した；染色強度、完全な / 不完全な膜染色；染色された細胞の割合；ルーメン / その他の理由による不完全な膜染色。F I S H 解析において、H E R 2 陽性は H E R 2 : C E P 1 7 の比率が 2 以上として定義された。本研究において H E R 2 陽性の結果は I H C 3 + 及び / 又は F I S H 陽性と定義された。

10

【 0 0 9 5 】

結果

T o G A 試験の H E R 2 - スクリーニングプロセスはこれで完了する。2 4 カ国から 3 8 0 7 の腫瘍試料は、記載の改良されたシステムを使用して中央研究所において、H E R 2 の状態が評価されている。これらのうち、3 6 6 7 のサンプルは評価が可能であり、8 1 0 は 2 2 . 1 % の全 H E R 2 陽性評価を与え、H E R 2 陽性として定義されている。予想外に高い数値の事例は、F I S H 陽性 / I H C 0 / 1 + であることが判明し、これらは、治療群（図 1）の間で無作為であった。乳癌の H E R 2 検査では、ほとんどの I H C 0 / 1 + の試料は F I S H 陰性であることがわかっているが、T o G A 試験では I H C 0 / 1 + / F I S H - 陽性検体の頻度は、I H C 2 + / F I S H - 陽性試料（それぞれ 2 5 % 対 2 8 %）とほぼ同じ高さであった。I H C 3 + である場合のうち、5 % は F I S H 陰性であることがわかった。

20

【 0 0 9 6 】

H E R 2 陽性率は、ヨーロッパ（2 3 . 6 %）とアジア（2 3 . 5 %）の間で類似していた。H E R 2 陽性率は、台湾の 5 . 9 %（N = 3 4）から、オーストラリアの 3 2 . 8 パーセント（N = 6 1）まで、国間で異なる。

【 0 0 9 7 】

H E R 2 陽性は、腫瘍の部位によって異なり、胃癌よりも、G E J（胃食道接合部）癌において H E R 2 陽性率が高い（それぞれ 3 3 . 2 パーセント対 2 0 . 9 %；P < 0 . 0 0 1）。

30

【 0 0 9 8 】

一般的には、G E J：胃癌の最も高い比率を持つ国は、患者数が少ないものの平均以上の H E R 2 陽性率を有することがわかった。これらはフランス（比率 0 . 5 3；H E R 2 陽性は 2 6 . 9 %）、ドイツ（比率 0 . 5 3；H E R 2 陽性は 2 3 . 7 %）と英国（比率 0 . 3 3；H E R 2 陽性は 2 5 . 8 %）を含んでいた。同様に、組織学的サブタイプ（ローレン分類）に基づいて、H E R 2 陽性で有意差（p < 0 . 0 0 1）があり、腸において 3 2 . 2 % に対してびまん性 / 混在型癌において 6 . 1 / 2 0 . 4 % であった。再び、腸：びまん性 / 混在型癌の比率の高い国は、英国（比率 3 . 4；H E R 2 陽性は 2 5 . 8 %）、オーストラリア（比率 2 . 6；H E R 2 陽性は 3 2 . 8 %）、日本（比率 2 . 8；H E R 2 陽性は 2 8 . 1 %）及びポルトガル（比率 3 . 3 3；H E R 2 陽性は 2 2 . 4 %）等、高い H E R 2 陽性率を有していた。

40

【 0 0 9 9 】

T o G A 試験は、進行した胃癌において見込みのある方法で H E R 2 陽性の発生率に関する情報を提供する最初の第 I I I 相臨床試験である。T o G A スクリーニングプログラムは、進行胃癌において以前に乳癌で観察された比率に匹敵する 2 2 . 1 % の H E R 2 陽性率を観察した。データはまた、各国にわたり胃癌における H E R 2 陽性の変化が組織学的サブタイプと腫瘍部位の違いによって説明できることを示している。胃の腫瘍は乳房腫

50

瘍よりはるかに異質である傾向があり、それ故に胃癌におけるHER2検査は、乳癌におけるそれに対して異なる。ToGA試験の有効性に対するこのスクリーニングデータの比較は、本発明に開示されたように新たな治療アルゴリズムを導いている。

【図1】

図1.

eher2_10_2001 HER2ステータスの概要

プロトコール:BO18255(ToGA):HER2陽性進行胃癌におけるトラスツマブ
分析:フルアナリシス セット

複合型FISH/IHC 結果	フルオロピリミジン/ シスプラチン N=290	トラスツマブ/フルオロピリミジン/ シスプラチン N=294
n	290	294
FISH+/IHC0	38 (13.1%)	23 (7.8%)
FISH+/IHC1+	32 (11.0%)	38 (12.9%)
FISH+/IHC2+	79 (27.2%)	80 (27.2%)
FISH+/IHC3+	125 (43.1%)	131 (44.6%)
FISH-/IHC3+	6 (2.1%)	9 (3.1%)
FISH+/IHC 結果無し	2 (0.7%)	5 (1.7%)
FISH 結果無し/IHC3+	8 (2.8%)	8 (2.7%)

フルオロピリミジン:研究者の選択はカペシタビン又は5-FU

Program : \$PROD/cdp12032/bo18255/eher2.sas

Output : \$PROD/cdp12032/bo18255/reports/eher2_10_2001.r18

18APR2009 3:46

【図2】

図2.

HER2サブグループのHR及びCI:OS

プロトコール:BO18255(ToGA):HER2陽性進行胃癌におけるトラスツマブ

分析:フルアナリシス セット

サブグループ	フルオロピリミジン/ シスプラチン		トラスツマブ/フルオロピリミジン/ シスプラチン		N	期間の 中央値	群あたりの 患者	群あたりの 患者	N	期間の 中央値	ハザード比 95%CI
	群あたりの 患者	中央値	群あたりの 患者	中央値							
HER2結果	FISH+/IHC0	38	24	7.2	15	10.6	0.92	[0.48;1.76]			
	FISH+/IHC1+	32	21	10.2	28	8.7	1.24	[0.70;2.20]			
	FISH+/IHC2+	79	53	10.8	51	12.3	0.75	[0.51;1.11]			
	FISH+/IHC3+	125	76	12.3	61	17.9	0.86	[0.44;1.91]			
	FISH-/IHC3+	6	4	11.7	5	17.5	0.83	[0.29;3.38]			

フルオロピリミジン:研究者の選択はカペシタビン又は5-FU

GE=胃癌

+ 中央研究所による評価

Program : \$PROD/cdp12032/bo18255/ehercovd_10.sas / Output : \$PROD/cdp12032/bo18255/reports/ehercovd_10_2001.list

18APR2009 3:17

HER2サブグループのHR及びCI:PFS

プロトコール:BO18255(ToGA):HER2陽性進行胃癌におけるトラスツズマブ
 分析:フルアナリシス セット

サブグループ	フルオロピリミジン/ シスプラチン		トラスツズマブ/フルオロピリミジン/ シスプラチン		ハザード比 95%CI				
	群あたりの 患者	N 期間の 事象 中央値	群あたりの 患者	N 期間の 事象 中央値					
HER2結果	FISH+/IHC0	38	32	4.0	23	18	5.8	0.78	[0.44;1.40]
	FISH+/IHC1+	32	28	5.9	38	33	4.5	1.22	[0.74;2.03]
	FISH+/IHC2+	79	68	5.0	80	66	5.7	0.73	[0.52;1.03]
	FISH+/IHC3+	125	98	5.6	131	91	8.4	0.55	[0.41;0.74]
	FISH-/IHC3+	6	5	6.0	9	7	10.1	0.52	[0.14;1.96]

フルオロピリミジン:研究者の選択はカベシタペン又は5-FU
 GeE
 十 中央研究所による評価

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 45/06	(2006.01)	A 6 1 K 45/06	
A 6 1 K 39/395	(2006.01)	A 6 1 K 39/395	T
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
G 0 1 N 33/48	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
G 0 1 N 33/15	(2006.01)	G 0 1 N 33/48	P
G 0 1 N 33/50	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
		G 0 1 N 33/15	Z
		G 0 1 N 33/50	Z

(72)発明者 リュシヨフ, ヨーゼフ
ドイツ国 3 4 1 3 0 カッセル, ツム ベルクガルテン 4 0

審査官 加々美 一恵

(56)参考文献 GRAVALOS C, HER2 IN GASTRIC CANCER: A NEW PROGNOSTIC FACTOR AND A NOVEL THERAPEUTIC TARGET, ANNALS OF ONCOLOGY, 2 0 0 8年, V19 N9, P1523-1529

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)
G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8

专利名称(译)	用于HER2表达胃癌患者中HER2信号传导的调节剂		
公开(公告)号	JP5705836B2	公开(公告)日	2015-04-22
申请号	JP2012512393	申请日	2010-05-28
申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏股份公司		
当前申请(专利权)人(译)	F.霍夫曼 - 罗氏股份公司		
[标]发明人	キエールマイヤーアルトリート ピクルマルレーネ リュシヨフヨーゼフ		
发明人	キエールマイヤー, アルトリート ピクル, マルレーネ リュシヨフ, ヨーゼフ		
IPC分类号	G01N33/574 C07K16/28 C12Q1/68 A61K45/00 A61P35/00 A61K45/06 A61K39/395 G01N33/53 G01N33/48 G01N33/15 G01N33/50		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P35/00 C07K16/32 C12Q1/6886 C12Q2600/106 G01N33/57446		
FI分类号	G01N33/574.A C07K16/28 C12Q1/68.A A61K45/00 A61P35/00 A61K45/06 A61K39/395.T A61K39/395. E G01N33/53.Y G01N33/48.P G01N33/53.M G01N33/15.Z G01N33/50.Z		
优先权	2009007217 2009-05-29 EP 2010155170 2010-03-02 EP		
其他公开文献	JP2012528312A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于鉴定对HER2 / neu (ErbB2) 信号传导途径的调节剂敏感的应答者或对其敏感的患者的手段和方法。本文还描述了根据本发明的鉴定方法确定和定义的一组患者的相应治疗方法，其中所述患者组已知或怀疑患有或易患胃癌，特别是侵入性胃癌。胃癌。

スコア	染色パターン(生検試料)	分類
0	反応性無し、又は任意の腫瘍細胞において膜の反応性無し	陰性
1+	染色された細胞の割合に関係無く、かすかに/かろうじて認知できる膜の反応性を有する腫瘍細胞クラスター	陰性
2+	染色された腫瘍細胞の割合に関係無く、弱から中程度に完全な側底膜又は側膜の反応性を有する腫瘍細胞クラスター	不確か
3+	染色された腫瘍細胞の割合に関係無く、強度に完全な側底膜又は側膜の反応性を有する腫瘍細胞クラスター	陽性